

Agar Mueller Hinton II

Cat. 1055

Para pruebas de sensibilidad a antibióticos y para el aislamiento primario de gonococos, meningococos y otros patógenos de muestras clínicas

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana	Uso general

Industria: Clínica / Test de susceptibilidad antimicrobianos



Principios y usos

El Agar Mueller Hinton II se desarrolló originalmente para el cultivo y aislamiento de cepas patógenas de Neisseria. Se vio que este medio era útil para identificar cepas de gonococos sensibles y resistentes a la sulfonimida. Sin embargo, el agar Mueller Hinton ahora se utiliza en pruebas de susceptibilidad de discos antimicrobianos.

Bauer y Kirby desarrollaron un procedimiento estandarizado para determinar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos, en el cual se seleccionó el agar Mueller Hinton como medio estándar, porque los laboratorios de microbiología clínica en los años 60 utilizaban una amplia variedad de medios y procedimientos diferentes. Su rendimiento está especificado por el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), y se recomienda para cultivar patógenos bacterianos aerobios o anaerobios facultativos y especies fastidiosas como H. influenzae, N. gonorrhoeae o S. pneumoniae, cuando se agrega sangre de oveja desfibrinada.

El Agar Mueller Hinton II se fabrica de tal manera que contiene niveles bajos de timina y timidina, y niveles controlados de calcio y magnesio. El uso de un medio con características de crecimiento adecuadas es esencial para probar la susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos. También se recomienda para el desarrollo de las bacterias anaeróbicas aeróbicas y facultativas más comunes.

La infusión de carne res y la peptona ácida de caseína (H) proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El almidón absorbe cualquier metabolito tóxico producido. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Fórmula en g/L

Peptona de caseína ácida (H)	17,5	Agar bacteriológico	17
Infusión de carne	2	Almidón	1,5

Fórmula típica g / L * Ajustada y/o suplementada según sea necesario para cumplir con los criterios de rendimiento.

Preparación

Suspender 38 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver calentando agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta disolver por completo. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 °C y agregar sangre desfibrinada si se desea. La mezcla de sangre se debe chocolatear calentando a 80 °C durante 10 minutos si se desea el desarrollo de Neisseria. NO SOBRECALENTAR. Para volver a fundir el medio frío, calentar lo más brevemente posible.

Instrucciones de uso

Para diagnóstico clínico, el tipo de muestra es bacterias aisladas de la orina:

- Inocular según método Bauer-Kirby.
- Incubar en condiciones aeróbicas a 35±2 °C durante 24-48 horas.
- Lectura e interpretación de los resultados.

Para pruebas de susceptibilidad de antibióticos:

- Dispensar el medio en placas Petri estériles para obtener una profundidad de 4±0,5 mm (aproximadamente 25 mL en una placa circular de 90 mm, 31 mL en una placa circular de 100 mm, 71 mL en una placa circular de 150 mm y 40 mL en una placa cuadrada de 100 mm).
- Ajustar la densidad de la suspensión del organismo a 0,5 Mac Farland. Un inóculo más denso producirá zonas de inhibición más reducidas y un inóculo menor dará lugar al efecto opuesto.
- La suspensión no debe usarse después de 15 minutos y siempre se usará antes de 60 minutos de preparación.

- Sumerge un hisopo de algodón estéril en la suspensión.
- Para evitar la sobreinoculación de bacterias gram negativas, elimine el exceso de líquido presionando y girando el hisopo contra el interior del tubo.
- Para bacterias gram positivas, no presionar ni girar el hisopo contra el interior del tubo.
- Aplique los discos antes de que pasen 15 minutos desde la inoculación.
- Incubar a una temperatura de 35±2 °C durante 24 horas.
- Los resultados son tomados desde el borde donde se observa inhibición completa con la placa a unos 30 cm del ojo.
- Leer las placas de MH desde la parte posterior sobre un fondo oscuro iluminado con luz reflejada.
- En caso de colonias distintas dentro de las zonas, verificar la pureza y repetir la prueba si es necesario.
- Para *Proteus* spp., Ignorar el swarming y leer inhibición del crecimiento.
- En caso de zonas dobles, leer la zona interna.

Para el cultivo de *Neisseria*:

- Incubar las placas a una temperatura de 35±2 °C en una atmósfera de CO₂ durante 18-24 horas.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Ligeros precipitados	Polvo fino	Crema	Sin sangre: Ámbar opalescente. Con sangre: Rojo	7,4±0,2

Test microbiológico

Prueba de sensibilidad de difusión de disco. Incubation conditions: (35±2 °C / 24 h).

Diámetro del halo en mm.

Microrganismos	Gentamycin 10 µg	Ampicilina 10 µg	Tetraciclina 30 µg	Polimixina B 300 µg	SXT: Trimetoprim (1,25µg)+Sulfametoxazol (23,75 µg)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 CLSI	19-26	15-22	18-25	13-19	23-29
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 EUCAST	19-26	15-22		13-19	23-29
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 CLSI	19-27	27-35	24-30		24-32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 EUCAST					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 CLSI	17-23			14-18	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 EUCAST	17-23				
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 CLSI					
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 EUCAST					26-34
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 CLSI					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 EUCAST	19-25		23-31		26-32

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C
Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

- Mueller and Hinton A. Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 48:330. 1941.
- Harris and Coleman Diagnostic. Procedures and Reagents. 4th Edition APH, Inc. New York, 1963.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993.
- Atlas, R.M. 1993 Handbook of microbiological media. CRC Press, Boca Raton. FL.