



# ÁGAR MUELLER HINTON

Instruções de Uso

## FINALIDADE

O Ágar Mueller Hinton Mbio, é um meio de cultura recomendado para a realização de antibiograma (teste de sensibilidade Kirby Bauer), baseando-se na difusão dos discos através do ágar pela técnica de difusão de papel impregnados com substâncias antimicrobianas.

Somente para uso diagnóstico "in vitro".

## PRINCÍPIO DO MÉTODO

Possui substâncias que são fonte de proteínas e carboidratos, que proporcionam o desenvolvimento e crescimento de cepas bacterianas de interesse clínico. Além disso, a baixa concentração de timina e timidina e níveis adequados de cálcio e magnésio, evitam falsos resultados de sensibilidade ou resistência.

## ARMAZENAMENTO, TRANSPORTE E VALIDADE

- A data de validade está descrita no rótulo da placa e no rótulo externo. Não usar placas cuja data de validade tenha expirado.
- As placas devem ser armazenadas sob refrigeração na faixa entre 2 a 8°C, mesmo após a retirada da embalagem externa. As placas não devem ser expostas ao congelamento ou calor excessivo.
- Podem ser transportadas por até 72 horas, entre 2-30°C, sem que isso afete a qualidade do mesmo.
- Manter ao abrigo da luz e da umidade.
- Devem permanecer fora do refrigerador somente no momento de uso.
- As placas, quando respeitado o armazenamento correto, são estáveis até a data de validade informada nos rótulos.
- Depois da abertura da embalagem externa e em uso, mantendo sobre a bancada a temperatura ambiente, as placas são estáveis por até 5 dias.

Atenção: produto de uso único, não sendo passível de reutilização.

## COMPOSIÇÃO E APRESENTAÇÃO

Pacote com 10 placas 90x15 ou 140x15, contendo ágar Mueller Hinton.

Peptona de caseína, peptona de carne, amido, ágar, água destilada

pH final  $7,3 \pm 0,2$  a 25°C.

A formulação poderá ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

Cor do meio: Âmbar claro, ligeiramente opalescente.

## PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico "in vitro";
- 2- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se utilizar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo, segundo normas de biossegurança;
- 3- Não utilizar placas com sinais de contaminação ou com alterações de cor;
- 4- Os meios de cultura são fornecidos estéreis pelo método de calor úmido. A abertura das placas em ambiente não estéril configura a perda de sua esterilidade e não deve ser utilizado. Proceder com o descarte;
- 5- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- 6- Armazenar o produto conforme especificações do rótulo. O armazenamento inadequado poderá afetar a qualidade do produto;
- 7- As placas, bem como todo o material utilizado no processo de análise, devem ser descartadas de acordo com as Boas Práticas de Descartes de Resíduos de Laboratório.
- 8- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

## LIMITAÇÕES DO ENSAIO E RISCOS RESIDUAIS

- Recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- Temperaturas de incubação muito altas podem interferir no crescimento.
- A presença de mais de uma variante genética intrínseca à cepa analisada, pode interferir na avaliação correta da sensibilidade dos antibióticos testados.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana irão interferir na avaliação de resultados.
- A qualidade dos resultados de análises microbiológicas está intimamente ligada à qualidade da amostra. As melhores práticas pré-analíticas, como cuidados extremos com a antisepsia do paciente, garantem um melhor resultado.

## INSUMOS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- ✓ Bico de Bunsen ou câmara de fluxo laminar;
- ✓ Estufa bacteriológica;
- ✓ Alças de platina ou alças descartáveis estéreis.

## AMOSTRA BIOLÓGICA

Colônias com mesmo tipo morfológico, isoladas de uma cultura de 18 a 24hs a 35°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) (caso não seja possível a execução da prova após 18 a 24 horas de incubação, realizar novo repique). Observar culturas que se apresentem contaminadas, ou que apresentem crescimento com mais de uma espécie no cultivo primário e realizar o reisolamento.

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

### Teste de sensibilidade

- A metodologia proposta por Kirby-Bauer é recomendada mundialmente para a determinação da sensibilidade a antibacterianos, através da difusão em ágar. A OMS recomenda a utilização de Ágar Mueller Hinton como meio para a realização de provas de sensibilidade.

### Preparo do Inóculo

- Em um tubo de ensaio estéril, dispensar 5 mL de caldo soja tripticaseína (TSB) e dissolver neste meio, 4 a 5 colônias puras da bactéria a ser testada. Incubar durante 2-6 horas à temperatura ideal para crescimento da bactéria (usualmente entre 35 e 37°C). Períodos de incubação elevados para o inóculo podem fornecer menores halos de inibição do que os usualmente obtidos. Em contrapartida, inóculos de baixa densidade bacteriana promovem halos de inibição maiores do que os normalmente verificados. Poderá também ser usada uma solução fisiológica estéril e nela introduzir colônias até que seja atingida uma turbidez de 0,5 na escala de Mc Farland.

### Semeadura

- Embeber a extremidade do swab no inóculo aferido e então pressioná-la na parede do tubo, de forma a remover o excesso de inóculo. Delicadamente, aplicar o inóculo sobre a superfície da placa de Ágar Mueller Hinton, em três direções, de forma a cobrir toda a placa.

### Aplicação dos Discos

- Aplicar os discos com auxílio de um dispensador ou manualmente, em no máximo 15 minutos. Quando manualmente, aplicá-los à superfície da placa inoculada utilizando uma pinça flambada e fria. Após aplicação dos discos, fazer leve pressão, de forma a melhorar a sua aderência ao meio. Deve-se permitir que a distância entre os discos seja suficiente para se evitar a sobreposição dos halos de inibição. Incubar a placa em posição invertida, durante 16-18 horas, entre 35 e 37°C.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os halos de inibição devem ser qualificados com o auxílio de um paquímetro ou régua milimetrada. Baseado em informações da CLSI, EUCAST/BRCAST, é feita a leitura dos resultados. Colônias diferentes da colônia da cepa testada, que crescem no interior de halos são sugestivas de impureza no inóculo empregado ou de linhagens diferentes da mesma espécie. Determinados antibacterianos promovem a formação de halos duplos; nesses casos, deve-se considerar apenas o halo interno, mais claro, e ignorar o halo mais externo e denso.

## CONTROLE DE QUALIDADE

- O laboratório deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC. Para controle interno de qualidade, recomendamos cepas ATCC de: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

- Periodicidade: testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.
- Análise dos resultados: cada antibiótico testado deve apresentar um halo dentro da faixa estabelecida como referencial pelo CLSI ou EUCAST/BRCast.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Microrganismo	Especificação dos Halos
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Consultar tabela de Controle de Qualidade CLSI e EUCAST/BRCast
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	

## GARANTIA DA QUALIDADE

A MBIolog Diagnósticos, faz o controle de qualidade de todos os lotes produzidos, seguindo as normas de Boas Práticas de Fabricação e Controle de Produtos para diagnóstico in vitro.

Para que o laboratório tenha uma garantia de resultados confiáveis, é necessário que mantenham rigor durante a coleta, armazenamento e transporte das amostras. Importante enfatizar também, o uso de controles internos, para garantir a confiabilidade dos resultados liberados.

Seguir rigorosamente as instruções de uso do produto.

A qualidade do produto é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

Quaisquer intercorrentes relacionados à qualidade do produto, ou dúvidas com relação ao uso, devem ser comunicados ao Serviço de Atendimento ao Consumidor MBIolog, [sac@mbiolog.com.br](mailto:sac@mbiolog.com.br).

Os certificados de análises dos produtos são disponibilizados no site da MBIolog Diagnósticos: [www.mbiolog.com.br](http://www.mbiolog.com.br).



Rua Gama, 337 | Vila Paris | Contagem/MG | CEP: 32372-120  
CNPJ: 03.590.360/0001-89  
Tel.: (31) 3507.0707 | (31)3507.0700  
[mbiolog@mbiolog.com.br](mailto:mbiolog@mbiolog.com.br) | [www.mbiolog.com.br](http://www.mbiolog.com.br)

Revisão: 06 – 02/2024

Farm. Resp.: Fabrício Galvão de Brito - CRF-MG: 9587