

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



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

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)
Slightly opalescent	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	Gentamicin 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..