

AGAR MUELLER-HINTON

Código : CM0337

Un medio de prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos que puede usarse en procedimientos estándar reconocidos internacionalmente.

Fórmula típica*	gramos/litro
Carne de res, infusión deshidratada de hidrolizado de caseína	300.0
Almidón	17,5
Agar	1.5
pH 7,3 ± 0,1 a 25°C	17.0

* Ajustado según sea necesario para cumplir con los estándares de desempeño

Modo de empleo

Añadir 38 ga 1 litro de agua destilada. Llevar a ebullición para disolver el medio por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Descripción

Mueller-Hinton Agar fue diseñado para ser un medio de cultivo reproducible para el aislamiento de especies patógenas de *Neisseria* (Mueller y Hinton ¹). La inclusión de almidón garantiza que los factores tóxicos encontrados durante el crecimiento serán absorbidos y su presencia suele ser esencial para establecer el crecimiento a partir de inóculos muy pequeños ².

Sin embargo, medios de GC específicos han reemplazado al agar Mueller-Hinton para este propósito.

El uso principal del agar Mueller-Hinton es para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (AST). Se ha convertido en el medio estándar para el método Bauer-Kirby ^{3,4} y está especificado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), anteriormente Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS) ^{5,6,7} y el Comité Europeo de Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (EUCAST) ⁸.

Oxoid Mueller-Hinton Agar cumple con los requisitos de la OMS ^{9,10}. Se han hecho críticas sobre la variación en el rendimiento del agar Mueller-Hinton entre y con los lotes/lotés de medio de los fabricantes ¹¹. Las causas de tal variación son:

1. Diferencias en la concentración de cationes divalentes Mg⁺⁺ y Ca⁺⁺. Estos efectos se muestran como variaciones de CIM con aminoglucósidos contra *Pseudomonas aeruginosa* y tetraciclina contra estafilococos ^{12,13,14}.
2. Variación en el contenido de timina y timidina, que afecta los valores de CMI de sulfonamida y trimetoprima ^{15,16}.
3. La concentración de manganeso, que afecta las interpretaciones de resistencia con glicilcilinas ¹⁷.
4. La concentración de zina, que afecta las interpretaciones de resistencia con imipenem y potencialmente otros carbapenémicos. ¹⁸
5. Diferencias en las características del agar utilizado en el medio, especialmente propiedades de difusión ¹⁹.

A la luz de tales críticas, el CLSI convocó a los fabricantes interesados para discutir la estandarización y estabilización del agar Mueller-Hinton. Se establecieron métodos de control mediante los cuales las combinaciones críticas de antimicrobianos y organismos tenían que producir zonas consistentes de inhibición dentro de 2 mm de los diámetros especificados en los estándares ⁷.

El resultado de este esfuerzo cooperativo es que Mueller-Hinton Agar se convirtió en un medio estándar y, además de ser el medio elegido para la metodología CLSI, también está especificado

por EUCAST⁸. El medio cumple con los criterios descritos en la Especificación Técnica ISO/TS 16782. :2016¹⁸.

Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos se realizan de acuerdo y cumplen con los límites de aceptación de la norma ISO/TS 16782 actual utilizando los siguientes microorganismos:

Staphylococcus aureus ATCC®25923 WDCM00034
Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDCM00131
Staphylococcus aureus ATCC®43300 WDCM00211
Staphylococcus aureus NCTC 12493 WDCM00212
Escherichia coli ATCC®25922 WDCM00013
Escherichia coli ATCC®35218
Pseudomonas aeruginosa ATCC®27853 WDCM00025
Enterococcus faecalis ATCC®33186 WDCM00210
Enterococcus faecalis ATCC® 29212 WDCM00087
Streptococcus pneumoniae ATCC®49619
Haemophilus influenzae ATCC®49247
Haemophilus influenzae ATCC®49766

El agar Mueller-Hinton suplementado con levadura, NAD y hematina se utiliza específicamente para las pruebas de susceptibilidad de *Haemophilus influenzae*²⁰. Para obtener más detalles, consulte Medio de prueba de Haemophilus (HTM), CM0898.

EUCAST especifica el agar Mueller-Hinton suplementado con un 5 % de sangre de caballo desfibrinada (SR0050) y 20 mg/l de β-NAD para analizar organismos exigentes.

El agar y caldo Mueller-Hinton se utilizan como base de medios sólidos y líquidos que contienen cefoperazona, trimetoprima, piperacilina y cicloheximida para el aislamiento selectivo de *Arcobacter* spp. de carnes²¹.

Condiciones de almacenamiento y vida útil

Almacene el medio deshidratado a 10-30 °C y utilícelo antes de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta.

Guarde las placas preparadas a 2-8°C.

Aspecto

Medio deshidratado: Polvo de color pajizo que fluye libremente

Medio preparado: Gel de color pajizo

Control de calidad

Controles positivos:	Resultados previstos
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 *	Buen crecimiento; colonias de color pajizo pálido
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853 *	Buen crecimiento; colonias color paja
<i>Estafilococo aureus</i> ATCC® 25923 *	Buen crecimiento; colonias color crema
Control negativo:	
Medio no inoculado	Ningún cambio

* Este organismo está disponible como Culti-Loop®

Nota: consulte los estándares pertinentes para realizar más pruebas de control de calidad.

Precauciones

No se recomienda la incubación en una atmósfera enriquecida con dióxido de carbono debido a su efecto en el pH del medio. Si es imperativo utilizar CO₂, entonces se deben incluir organismos de control conocidos en las placas de prueba para medir su efecto.

No se deben agregar carbohidratos al agar Mueller-Hinton porque pueden influir en la tasa de crecimiento del organismo y el pH resultante del medio.

La adición de sangre de caballo lisada al medio puede reducir aún más los niveles de timidina y prevenir el crecimiento de organismos dependientes de timidina.

Es posible que el medio no admita el crecimiento de algunas cepas exigentes, por ejemplo, microorganismos que requieren timina y timidina para crecer. Se requiere un estricto cumplimiento de la metodología para obtener resultados satisfactorios.

Referencias

1. Mueller JH y Hinton Jane (1941) Proc. Soc. Exp. Biol. y Med. 48. 330-333.
2. Olsen AM y Scott WJ (1946) Nature 157. 337.
3. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC y Turck M. (1966) Amer. J.Clin. Camino. 45. 493-496.
4. Ryan KJ, Schoenknecht FD y Kirby WM (1970) Hosp. Practica. 5. 91-100.
5. Normas de desempeño del CLSI para pruebas de susceptibilidad de discos antimicrobianos; Suplemento CLSI M100S Wayne PA: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio
6. Estándares de desempeño del CLSI para pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos; Norma aprobada. Documento CLSI M02. Wayne PA: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio
7. Pollock HM et al. (1986) J. Clin. Microbiol. 24. 1-6.
8. Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos. Metodología de la prueba de difusión en disco EUCAST www.eucast.org
9. OMS (1961) Estandarización de métodos para realizar pruebas de sensibilidad microbiana. Ginebra. Tecnología. Representante Ser. No.210.
10. OMS (1977) Comité de Expertos en Estandarización Biológica. Ginebra. Tecnología. Representante Ser. No.610.
11. Barry AL y Effinger LJ (1974) Amer. J.Clin. Camino. 62. 113-117.
12. Reller LB, Schoenknecht FD, Kenny MA y Sherris JC (1974) J. Infect. Dis. 130. 454-463.
13. D'Amato RF, Thornsberry C., Baker N. y Kirven LA (1975) Antimicrob. Agentes de quimioterapia. 7. 596-600.
14. D'Amato RF y Thornsberry C. (1979) Curr. Microbiol. 2.135-138.
15. Ferone R., Bushby SRM, Burchall JJ, Moore WD y Smith D. (1975) Antimicrob. Agentes de quimioterapia. 7. 91-98.
16. Ferguson RW y Weissfeld AS (1984) J. Clin. Microbiol. 19. 85-86
17. Veenemans J., Mouton JW, Kluytmans JA, JW, Donnerly R. Verhulst, C., van Keulen, PHJ. *Efecto del manganeso en los medios de prueba sobre la susceptibilidad in vitro de Enterobacteriaceae y Acinetobacter baumannii a la tigeciclina.* J.Clin.Microbiol 2012, **50** págs. 3077-3079
18. Daly JSm Dodge RA, Glew RH, Soja DT, Deluca BA, Herbert S. *Efecto de la concentración de zinc en agar Mueller-Hinton sobre la susceptibilidad de Pseudomonas aeruginosa al imipenem.* J.Clin. Microbiol. 1997, **35** págs. 1027-1029
19. Bridson EY y Brecker A. (1970) en ` *Métodos en Microbiología* ' Eds. Norris y Cintas. Vol.3A Academic Press Londres. págs. 257-266.
20. Organización Internacional de Normalización ISO/TS 16782:2016 *Pruebas de laboratorio clínico: criterios para lotes aceptables de agar y caldo Mueller-Hinton deshidratados para pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos.*
21. Jorgensen JH, Redding JS, Maher LA y Howell AW (1987) J. Clin. Microbiol. 25. 2105-2113.
22. De Boer E., Tilburg JJHC, Woodward DL, Lior H. y Johnson WM (1996) *Izquierda. Aplica. Microbiol.* 23. 64-66.