



**ÁGAR MUELLER HINTON +  
SANGUE MHF**

**Instruções de Uso**

## FINALIDADE

O meio de cultura Mueller Hinton + Sangue MH-F (5% de cavalo + 20mg/L de  $\beta$ NAD) é um meio nutritivo, enriquecido e pronto para uso destinado à execução de testes de sensibilidade aos antimicrobianos, por meio da técnica de disco difusão, para microrganismos fastidiosos, que segue os padrões estabelecidos pelo BrCAST (*The Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*).

Somente para uso diagnóstico “in vitro”.

## PRINCÍPIO DO MÉTODO

A presença de sangue de cavalo e  $\beta$ NAD fornece suplementos adequados para o crescimento de microrganismos fastidiosos como *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. O método de sensibilidade aos antimicrobianos por disco difusão consiste na dispensação dos discos de antimicrobianos sobre a placa de ágar após inoculação da bactéria. Os antibióticos impregnados nos discos são difundidos pelo meio de cultura impedindo ou não o crescimento da bactéria em seu entorno. Após o período de incubação os halos de inibição são mensurados e as cepas são classificadas como sensíveis ou resistentes para o antimicrobiano testado.

## 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.
- As placas devem permanecer fora do refrigerador somente no momento de uso.
- 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 140x15, pacote com 10 placas 90x15 contendo Ágar Mueller Hinton MHF (5% de sangue de cavalo+  $\beta$ NAD).

Peptona de caseína, extrato de carne, amido, ágar, sangue de cavalo, B-NAD, água deionizada.

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

Cor do meio: Vermelho.

## PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- A utilização de sangue na formulação pode acarretar leve fotossensibilidade, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- 2- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico “in vitro”;
- 3- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se utilizar como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo, segundo normas de biossegurança;
- 4- Não utilizar placas com sinais de contaminação ou com alterações de cor;
- 5- 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;
- 6- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- 7- Armazenar o produto conforme especificações do rótulo. O armazenamento inadequado poderá afetar a qualidade do produto;
- 8- 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.
- 9- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

## LIMITAÇÕES DO ENSAIO E RISCOS RESIDUAIS

- Algumas variações de coloração na colônia, morfologia e tamanho podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.
- Temperaturas de incubação muito altas podem interferir no crescimento.
- A presença de mais de uma variante genética intrínseca à cepa analisada, pode interferir nas características de crescimento e viragem de cor. É possível que características únicas ou mutadas da cepa possam interferir no desempenho do meio de cultura afetando ou retardando o total desenvolvimento das colônias.
- Inóculos com excesso de carga microbianas 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.
- Recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- Este produto foi fabricado sob condições assépticas e controle de qualidade rigoroso. Apesar de todos os controles aplicados durante o processo produtivo, há risco residual de contaminação por fungos e bactérias, especialmente decorrente de condições inadequadas de armazenamento, transporte ou manuseio após a fabricação.

## 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 24 horas a 35°C ±2°C, contendo padrões 0,5 e 1,0 da escala Mac Farland;

Descartar culturas que se apresentem contaminadas ou que apresentem crescimento de mais de uma espécie no cultivo primário e que não possam ser separadas visualmente.

## 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 seletivo para a realização de provas de sensibilidade.

### Preparo do inóculo

- Cultivar a bactéria de interesse por 18-24 horas a 35 °C ±2 °C antes do uso no ensaio de sensibilidade aos antimicrobianos. Selecionar colônias do cultivo anterior, com uma alça bacteriológica e inocular em solução salina 0,85%, estéril, até obter a turvação 0,5 da escala de Mac Farland. Para *Streptococcus pneumoniae* repicados em ágar chocolate, utilizar suspensão semelhante a 1,0 da escala de Mac Farland. A suspensão deve ser utilizada de preferência até 15 minutos, e obrigatoriamente até 60 minutos após a preparação. Embeber um swab estéril na suspensão bacteriana e, para microrganismos gram-negativos, retirar o excesso de líquido comprimindo-o contra a parede do tubo. Para microrganismos gram-positivos não pressionar o swab contra a parte interna do tubo. Semear suavemente, em todos os sentidos, na superfície do MHF, que deverá estar à temperatura ambiente ou a 35 °C ±2 °C.

### Aplicação dos Discos

- O tempo entre a semeadura na placa e a adição dos discos não deve ultrapassar 15 minutos. Aplicar os discos com auxílio de um dispensador ou manualmente. Quando manualmente, aplicar os discos sobre a superfície da placa inoculada utilizando uma pinça flambada e fria. Após aplicar o disco sobre a placa, fazer leve pressão sobre o mesmo, 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 as placas sob tensão de CO<sub>2</sub> (4-6%) em estufa bacteriológica a 35 °C ±2 °C por 16-20h.
- Consulte as recomendações do BrCAST para mais informações sobre as condições de incubação. Medir o diâmetro dos halos na zona de inibição com régua apropriada ou paquímetro

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os halos de inibição devem ser qualificados com o auxílio de um paquímetro ou régua milimetrada. A aferição e interpretação dos diâmetros dos halos de inibição apresentam variação entre algumas espécies bacterianas. Consultar o documento “Método de disco difusão” disponível em <http://brcast.org.br/documentos/> para informações detalhadas sobre as diferentes espécies avaliadas. Classificar a cepa como:

**S - Sensível, dose padrão:** Um microrganismo é categorizado como “Sensível” dosagem padrão quando há uma alta probabilidade de sucesso terapêutico utilizando o regime de dosagem padrão do agente.

**I - Sensível, aumentando exposição:** Um microrganismo é categorizado como “Sensível” aumentando exposição quando há uma alta probabilidade de sucesso terapêutico devido ao aumento da exposição ajustando-se o regime de dosagem ou sua concentração no local de infecção.

**R - Resistente:** um microrganismo é categorizado como “Resistente” quando há alta probabilidade de falha terapêutica mesmo quando há aumento da exposição.

## 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 cepa ATCC de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 e *Haemophilus influenzae* ATCC 49766.
- 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/BRCAS.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Microrganismo	Antibióticos	Especificação do Halo
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Ampicilina 2µg	
	Imipenem 10µg	25,0 – 31,0 mm
	Nitrofurantoína 100µg	34,0 – 42,0 mm

	Sulfametoxazol+Trimetoprim 25µg	25,0 – 31,0 mm
	Vancomicina 5µg	18,0 – 26,0 mm
	Linezolid 10µg	17,0 – 23,0 mm
	Eritromicina 15µg	23,0 – 29,0 mm
<b>Microrganismo</b>	<b>Antibióticos</b>	<b>Especificação do Halo</b>
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49766	Amoxicilina + clavulanato 2/1µg	17,0 – 23,0 mm
	Ampicilina 2µg	19,0 – 25,0 mm
	Eritromicina 15µg	10,0 – 16,0 mm
	Sulfametoxazol+Trimetoprim 25µg	27,0 – 35,0 mm
	Cefotaxima 05µg	29,0 – 37,0 mm
	Tetraciclina 30µ	28,0 – 34,0 mm
	Imipenem 10µg	24,0 – 30,0 mm

## 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).



Revisão: 04 – 06/2025

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)

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