AGAR MUELLER HINTON GLICOSE E AZUL DE METILENO

Indicações

Meio de Cultura pronto indicado para teste de susceptibilidade pelo método de disco difusão, para os Antifúngicos: Fluconazol e Voriconazol. E determinação da concentração inibitória mínima de Anfotericina pelo método epsilométrico (Etest[®]).

Apresentação





PMHGAM90 e PMHGAM150

Meio de Cultura pronto para uso, pacote contendo 10 Placas de Petri nas medidas de 90 mm ou 150 mm.

Composição

Agar Mueller Hinton, Glicose, Azul de Metileno e Água Purificada.

Princípio

O Agar Mueller Hinton suplementado com 2 % de Glicose e 0,5 µg/mL de Azul de Metileno, utilizado para testes de susceptibilidade para os Antifúngicos: Fluconazol, Voriconazol através do método de disco difusão e Anfotericina B através do método epsilométrico (Etest[®]).

Controle de Qualidade

Os seguintes resultados foram obtidos nos ensaios de desempenho do meio, com diferentes espécies de cultura após incubação em temperatura de 35,0°C e observado após 24hs.

Todos os lotes são submetidos a ensaios com cepas padrões ATCC, conforme descrito na tabela a seguir:

Cepas*	Antifúngico	Halo
C. Albicans ATCC 90028	Fluconazol	28 – 39 mm
* Inóculo de Turvação 0,5 na Escala de McFarland.		

Todos os documentos pertinentes a este produto como Certificado de Análise, FISPQ e Bula estão disponíveis no site www.probac.com.br.

Procedimento

Preparação do inóculo:

Para *Candida spp*, homogeneizar as colônias isoladas em solução salina 0.85% para turvação 0.5 na Escala de McFarland. Para *Cryptococcus neoformans, Fusarium* e *Rhizopus spp*, homogeneizar as colônias em solução salina 0.85% para turvação 1 na Escala de McFarland.

Inoculação: Mergulhar um swab estéril na suspensão e espalhar na superfície do meio uniformemente. Aguardar 10 a 15 minutos para que a superfície do meio seque.

Aplicação: Colocar a fita com a concentração máxima na periferia da placa, pressionando a fita no Agar para evitar formação de bolhas. A escala numérica deve estar na face superior e não em contato com o Agar, uma vez aplicada, a posição da fita não pode ser modificada.

Incubação: Para leveduras, incubar as placas em estufa de câmara úmida a 35°C até que haja crescimento visível (isto é,

24 - 48hs para *Candida spp* e 48 - 72hs para *Criptococcus neoformans*). Para bolores, incubar as placas em estufa de câmara úmida a 35°C, por 24 - 72hs, dependendo do gênero.

Leitura: Após incubação, quando há crescimento visível, ler o valor de CIM no ponto de intersecção entre o halo e a fita de Ftest.

Observações:

- 1. O tipo de combinação de levedura/antifúngico/meio/período pode afetar a clareza da zona de inibição, na intersecção da CIM, principalmente para os Azólicos.
- 2. Para a 5 Flucitosina e Anfotericina B, ler a CIM no ponto de inibição completa (100%) ou parcialmente completa (95%) de crescimento.
- 3. Azólicos: podem dar pontos de intersecção difusos, principalmente em alguns meios. Ler a CIM no primeiro ponto de inibição significativa (80% de crescimento visível).
- 4. A densidade do inóculo pode afetar a clareza do ponto da CIM, especialmente Azólicos. Um inóculo mais leve geralmente gera um ponto mais claro.
- 5. A técnica de inoculação também pode afetar o aspecto da linha de intersecção. Passar o swab em 3 direções para garantir cobertura uniforme da superfície do Agar. Placas excessivamente úmidas ou semeadas de forma irregular podem afetar o crescimento. Repetir o teste se os halos são difíceis de ler.
- 6. O período de incubação também pode afetar a clareza de halos, especialmente para Azólicos. Quando testar *Candida spp*, as placas devem ser lidas com 24hs e confirmadas com 48hs.
- 7. Quando houver crescimento ao longo da fita, a CIM deve ser reportada como > que o máximo valor da escala, se houver ponto de intersecção, ou melhor, se a elipse estiver abaixo da fita, o valor é < que o mínimo.

Para Bolores:

Faça a primeira leitura depois de 24 horas e a segunda após 48 horas. Os de crescimento lento requerem até 72 horas. Ignore os filamentos no interior da elipse, geralmente causando por supercrescimento quando a incubação é prolongada.

Interpretação: De acordo com o CLSI.

Limitações:

- 1. O procedimento do Etest aqui descrito só pode ser usado para testar cepas com velocidade de crescimento habitual.
- 2. Com certas combinações de fungo/antifúngico/meio. As zonas de inibição podem ser difusas e microcolônias podem persistir em várias diluições.
- 3. Certas discrepâncias entre CIM por Etest e CIMs não realizadas em agar, como diluição em caldo e sistemas comerciais podem ocorrer como consequência de características inerentes a estes métodos.
- 4. Como em todos os métodos de teste de sensibilidade fúngica, os resultados obtidos com Etest são valores "in vitro" e indicam a sensibilidade do organismo apenas "in vitro", a interpretação final do valor de CIM para escolher um antifúngico deve ser de responsabilidade do médico.



SOMENTE PARA USO "IN VITRO" Rev.: 02



Conservação



Manter sob refrigeração, entre 2º e 8ºC.

Validade



1 mês a partir da data de fabricação.

Precauções

Após a realização dos testes, este material deverá ser descartado conforme as recomendações vigentes para resíduos de serviços de saúde.

Referências Bibliográficas

- 1. Bolmström A., Esberg K., Aronsson M., Wiman, A, Mills K., Susceptibility testing of yeast with fluconazole using Etest. Poster, 3rd. Focus on Fungal Infections, Tuscon, USA, April 1993.
- 2. Bolmström A., Karlsson A., Mills K., Esberg K., Antifungal susceptibility testing of yeast with Etest. ICAAC, poster 260, New Orleans, October 1993.



SOMENTE PARA USO "IN VITRO" Rev.: 02