

ÁGAR MUELLER HINTON SANGUE DE CAVALO COM 5% DE β -NAD

REV 09 – FEV/2025

OBJETIVO

O Agar Mueller Hinton Sangue + β NAD, é um meio suplementado com 5% de Sangue de Cavalo desfibrinado e 20 mg/L de β NAD, preconizado pelo EUCAST/BrCAST e pelo CLSI para a realização de testes de avaliação da resistência antimicrobiana em microrganismos fastidiosos como *Streptococcus* spp. e *Haemophilus* spp., através do método de difusão de disco (Kirby-Bauer).

Sua formulação possui baixos níveis de timina e timidina e níveis controlados de cálcio e magnésio. O hidrolisado de caseína e infusão de carne fornece aminoácidos, fontes de nitrogênio e carbono, além de vitaminas e minerais necessários ao crescimento dos microrganismos.

A adição de sangue de cavalo favorece o crescimento de microrganismos hemolíticos e fastidiosos, e o β NAD fornece nutrientes necessários para o crescimento de *Haemophilus* spp.

A metodologia de Kirby Bauer se baseia na difusão das substâncias antibacterianas impregnadas nos discos de papel pelo gel do ágar, levando à formação, ou não, de um halo de inibição ao redor dos discos; esse halo deverá ser lido e interpretado de acordo com cada microrganismo pesquisado e com a normativa seguida pelo laboratório (EUCAST/BrCAST ou CLSI), o qual será interpretado como "sensível, resistente ou resistência intermediária"

APRESENTAÇÃO

PL 4616 - Embalagem com 10 placas descartáveis estéreis, tamanho 90x15mm contendo 25 a 27mL de meio de cultura.

PL 4615 - Embalagem com 05 placas descartáveis estéreis, tamanho 150x15mm, contendo 65 a 67mL de meio de cultura.

VALIDADE

A data de validade está descrita no produto.

COMPOSIÇÃO POR LITRO

Infusão de carne	300g
Hidrolisado de caseína	17,5g
Amido	1,5g
Ágar	17,0g
Suplementos	
Sangue de cavalo desfibrinado estéril	50mL
β - NAD	20mg/L

pH a 25°C: 7,3 $\pm$ 0,1

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Este material se destina apenas ao diagnóstico *in vitro*.

A data de expiração aplica-se ao produto na sua embalagem intacta, quando armazenado em condições adequadas. Portanto, os meios não devem ser usados se houver algum sinal da deterioração, contaminação ou se a data de validade expirar.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

O meio deverá ser armazenado em ambiente com temperatura controlada entre 2 - 15°C.

Cabe ressaltar que, a faixa de temperatura escolhida para o seu armazenamento deverá ser seguida até o término do seu prazo de validade, a fim de evitar a formação de água de condensação no produto.

CONTROLE DE QUALIDADE

O meio de cultura apresenta aspecto firme, com coloração vermelho opaco.

Nota: Cabe inspecionar o meio no momento do seu recebimento, a fim de verificar as características acima descritas.

Nota: Considerando que o meio de cultura é um produto gelatinoso, e por isso pode apresentar em sua composição até 90% de água; ao sofrer variações de temperatura pode haver a geração de água de condensação na placa. Para diminuir essa possibilidade, recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima. É importante ressaltar que a água de condensação ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que, o mesmo não apresente ressecamento ou diminuição de espessura.

PROCEDIMENTOS

Aguardar que o meio atinja a temperatura ambiente antes da inoculação;

1. Preparar uma suspensão da bactéria a ser testada em salina 0,9% ou caldo TSB na escala 0,5 McFarland para *S. pneumoniae*, ou 1,0 MacFarland para *H. influenzae*;
2. Embeber o "swab" na suspensão, comprimir o mesmo na parede do tubo (para eliminar o excesso) e semear em todas as extremidades da placa;
3. Acrescentar os discos a serem testados conforme orientação do comitê adotado pelo Serviço, (CLSI, EUCAST ou BRCAST);
4. Incubar a placa de acordo com instruções do comitê adotado, para a bactéria a ser testada.

Nota: Caso o meio apresente água de condensação, as placas podem secar em temperatura ambiente em área controlada, ou, a fim de reduzir o tempo de secagem, serem incubadas por aproximadamente 10 minutos em estufa de 35 $\pm$ 2°C. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, uma vez que a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

- Concentração do inóculo – Se muito elevada ou muito abaixo do padronizado, o teste poderá ter um resultado de falsa resistência ou sensibilidade.
- pH – Quando baixo, observa-se halos de inibição reduzidos para aminoglicosídeos, quinolonas, macrolídeos e lincosaminas, e halos aumentados para outros antibióticos; quando elevado, leva a resultados opostos.
- Espessura do meio – Se menor que 4 mm leva à falsa sensibilidade geral, e se maior que 4 mm à falsa resistência.

FERTILIDADE

A fertilidade do meio deve ser testada frente às cepas puras, que tenham origem conhecida e confiável, conforme quadro abaixo:

Cepas controle	Resultados após Incubação a 35°C $\pm$ 1°C por 18-24 horas em microaerofilia
<i>Streptococcus pneumoniae</i> – ATCC 49619	Crescimento bom com alfa hemólise
<i>Haemophilus influenzae</i> – ATCC 49766	Crescimento bom com gama hemólise

* Adotar o documento vigente do BrCast como referência para avaliar os limites aceitáveis de cada antimicrobiano testado.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

O descarte dos resíduos após a utilização dos tubos deve ser realizado após descontaminação em autoclave a 121° C durante, pelo menos 30 minutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

M100 - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Tests, 32ed. Clinical Standards Laboratory Institute, CLSI, 2022.

EUCAST- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2022.

BRCAST - Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Método de Disco-Difusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Versão 9.0, 2021.

DIFCO & BBL Manual - Manual of Microbiological Culture Media Second Edition, 2009

Microbiologia Clínica Para O Controle De Infecção Relacionada à Assistência à Saúde - Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, 2020.

**ÁGAR MUELLER HINTON SANGUE DE CAVALO
COM 5% DE β-NAD**

REV 09 – FEV/2025

GARANTIA

A **PlastLabor Ind. E Com. De Equip. Hosp. E Lab. Ltda.** garante os seus produtos, desde que sejam utilizados como descrito nas respectivas instruções de uso e em referências nacionais e internacionais. A PlastLabor não se responsabiliza no caso de seus produtos serem comercializados e utilizados para outra finalidade diferente da descrita e aprovada pela PlastLabor. Todo diagnóstico clínico deve ser estabelecido em conjunto com demais evidências clínicas e não apenas em resultado laboratorial. Sob nenhuma hipótese, a PlastLabor se responsabiliza por eventuais danos causados pelo uso inadequado de seus produtos.

SIGLA

MIC	Diagnóstico <i>IN VITRO</i>
CLSI	Clinical Standards Laboratory Institute
BrCAST	Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
RG	MS 80035670007

FABRICADO POR:**PLASTLABOR IND. E COM. DE EQUIPAMENTOS HOSP. E LAB. LTDA.**

Rua Arraias, 88 – Curicica

CEP: 22.780-020 – Rio de Janeiro – RJ

CNPJ: 31.864.051/0001-95

Insc. Est.: 83.535.113

Ind. Brasileira

Resp. Técnico: Daiana Nunes

CRBio – RJ 131937/02

SAC – Fone: (21) 2501-0888

Site: www.plastlabor.com.brEmail: plabor@plastlabor.com.br