



Агар Мюллера-Хінтона (DM172)

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРОБУ

АГАР МЮЛЛЕРА-ХІНТОНА (DM172)

Призначення:

Агар Мюллера-Хінтона з сорбітом (DM172) використовується для культивування *Neisseria* і для визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів.

Короткий опис та пояснення:

Агар Мюллера-Хінтона був спочатку розроблений для вирощування патогенних *Neisseria* (6). Тим не менш, для виділення цих організмів в даний час широко використовуються селективні середовища. На початку 1960-х років лабораторії клінічної мікробіології використовувати широкий спектр процедур для визначення чутливості бактерій до антибіотиків і хіміотерапевтичних препаратів. Bauer, Kirby і ін. розробили стандартизовану процедуру, в якій агар Мюллера-Хінтона був обраний як випробувальне середовище (1, 2). Подальше міжнародне спільне дослідження підтвердило цінність агару Мюллера-Хінтона для цієї мети через відносно хорошу відтворюваність середовища, простоту формули і багатство експериментальних даних (7). CLSI написав стандарт виконання для процедури Bauer-Kirby, і до цього документу слід звертатися за додатковою інформацією (4). Процедура рекомендується для швидкого тестування росту аеробних або факультативно анаеробних бактеріальних патогенів, таких як стафілококи, члени *Enterobacteriaceae*, аеробних грамнегативних паличок; наприклад, *Pseudomonas spp.* і *Acinetobacter spp.*, ентерококи і *Vibrio cholerae*. Процедура модифікується для тестування вибагливих видів; тобто *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* and *S. pneumoniae* та інші стрептококів.

Агар Мюллера-Хінтона містить низькі рівні тиміну і тимідину (8,9) і контрольовані рівні кальцію та магнію (10-12). Рівні тиміну і тимідину визначаються за допомогою процедури диско-дифузійним методом дисками з триметоприм-сульфаметоксазолом (COT) і *Enterococcus faecalis* ATCC™ 33186 або/та 29212. Рівні кальцію і магнію контролюються тестуванням сировини і доповненням джерел кальцію і / або магнію, необхідних для утворення зон правильного діаметру з аміноглікозидами і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (13).

Агар Мюллера-Хінтона відповідає вимогам ВООЗ(14) і вказується FDA в бактеріологічному аналітичному керівництві для тестування харчових продуктів.(15) Агар Мюллера-Хінтона без добавок хоча і підходить для тестування чутливості швидко зростаючих аеробних патогенів, але не підходить для більш вибагливих організмів, таких як *S. pneumoniae*. CLSI M2 Документ, виробничих нормативів для тестів на визначення чутливості до протимікробних дисків, рекомендує агар Мюллера-Хінтона з додаванням 5% дефібринованої овечої крові. Детальна інформація про процедури контролю якості та інтерпретацію критеріїв для використання середовища з *S. pneumoniae* та інших стрептококів міститься в додаткових таблицях (5) Ці документи повинні бути затребувані в якості додаткової інформації (4,5).

Принцип дії:

Кислотний гідролізат казеїну і екстракт яловичини поставляють амінокислоти і інші азотисті речовини, мінерали, вітаміни, вуглець та інші поживні речовини для підтримки зростання мікроорганізмів. Крохмаль додається для поглинання токсичних метаболітів і виступає в якості захисного колоїду від токсичних речовин. Гідроліз крохмалю в процесі автоклавування забезпечується невеликою кількістю глюкози, яка є джерелом енергії. Агар є агентом затвердіння. Підходяще середовище має важливе значення для перевірки чутливості мікроорганізмів до сульфонамідів і триметоприму. Антагонізм до сульфонамідної активності демонструється пара-амінобензойною кислотою (ПАБА) і її аналогами. Зниження активності триметоприму, результатом чого є більш дрібні зони інгібування росту і внутрішній зональний рост, демонструється на середовищах з високим рівнем тимідину. ПАБА і зміст тиміну / тимідин в агарі Мюллера-Хінтона зводяться до мінімуму, що знижує інактивацію сульфонамідів і триметоприму.

Інгредієнти	Грам/літр
М'ясний настій	300,00
Кислотний гідролізат казеїну	17,50
Крохмаль	1,50
Агар	17,00
Вирішальне значення рН (при 25°C)	7,3 ± 0,2
Формула може змінюватися і/або доповнюватися у відповідності до технічних вимог.	

Засоби застереження:

1. Тільки для лабораторного використання.
2. ШКІДЛИВО. Подразнює очі, шкіру та респіраторні органи.

Приготування:

1. Розмішати 38 г сухого середовища у 1000 мл дистильованої води. Ретельно перемішати.
2. Підігріти при необхідності протягом 1хв для повного розчинення частинок.
3. Стерилізуйте автоклавуванням при 1,1 ат (121 °С) протягом 15 хвилин. НЕ ПЕРЕГРІВАТИ. Додатково: охолодити середовище до 45-50 ° і додати 5% стерильної дефібрированої овечої крові.
4. Розлийте охолоджений агар Мюллера-Хінтона у стерильні чашки Петрі на рівній горизонтальній поверхні з отриманням однорідної глибини близько 4 мм (60-70 мл середовища для 150-мм чашок і 25-30 мл для 100 мм чашок) і охолодіть до кімнатної температури (4).
5. Перевірте готове середовище, щоб забезпечити кінцевий рН 7,3 ± 0,1 при 25 ° С.

Контроль якості:

Зовнішній вигляд сухого середовища	Колір від кремового до жовтого; гомогенний, легко сипучий порошок
Готове середовище	Світло-бурштиновий, прозорий або злегка опалесцюючий гель, що формується в чашках Петрі.
Реакція 3,9% розчину (основне середовище)	рН: 7.3 ± 0.2 при температурі 25 ⁰ С
Міцність гелю	Щільний, подібний до 1,7% агарозного гелю

Культуральні властивості: культуральні особливості відмічаються після інкубації при 35-37⁰С на протязі 18-24 годин

№ з/п	Штами мікроорганізмів	Інокулят (КУО)	Ріст	Виділення
1.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50-100	Пишний	>=70%
2.	<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	50-100	Добрий-пишний (на шоколадному агарі Мюллера-Хінтона)	>=70%
3.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 49226	50-100	Пишний	>=70%
4.	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	50-100	Пишний	>=70%
5.	<i>Streptococcus pneumonia</i> ATCC 6305	50-100	Добрий-пишний (на кров'яному агарі Мюллера-Хінтона)	>=70%
6.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	50-100	Пишний	>=70%
7.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	50-100	Пишний	>=70%
8.	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ATCC 77853	50-100	Пишний	>=70%
9.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	50-100	Пишний	>=70%

У таблиці наданій мінімальний перелік штамів мікроорганізмів, що повинні бути використані для проведення контролю якості.

Процедура тестування:

Для повної інформації про тестування на чутливість до антимікробних препаратів, див. протоколи процедур, викладені у відповідних посиланнях (19,20). Протоколи, розроблені CLSI і використовувані виробниками для оцінки продуктивності агару Мюллера-Хінтона в порівнянні з еталонним середовищем, публікуються в CLSI документі M6-A (21).



Pseudomonas aeruginosa ATCC27853 на агарі Мюллера-Хінтона



Streptococcus pneumoniae ATCC49619 на агарі Мюллера-Хінтона з 5% овечої крові

Результати:

Діаметр зон, вимірюваних навколо дисків, слід порівнювати згідно до тих, що викладені в CLSI M100 документах (M2). Результати, отримані для конкретних організмів, потім можуть бути представлені як стійкі, помірно чутливі або чутливі.

Зберігання:

Зберігайте герметично закрити упаковку, що містить сухе середовище при температурі 2 - 30 °С. Після розкриття або перепакування зберігайте флакон в приміщеннях з низьким рівнем вологості при тій же температурі. Бережіть від потрапляння вологи та світла.

Термін зберігання:

Див термін дії на упаковці. Не використовуйте середовища що втратили сипучість, або якщо зовнішній вигляд відрізняється від оригінального. Термін зберігання відноситься до середовищ за умов збереження цілісності контейнера та при зберіганні відповідно до вказівок.

Обмеження процедури:

1. На результати можуть вплинути численні фактори: об'єм інокуляту, темпи росту, модифікація середовища та рН. Потрібно суворе дотримання протоколу для забезпечення надійних результатів (22).
2. Коли агар Мюллера-Хінтона доповнюється кров'ю, зони інгібування для оксациліну і метициліну може бути на 2-3 мм менше, ніж отримані з агаром без добавок (23). І навпаки, овеча кров може помітно збільшити діаметри зон деяких цефалоспоринових при їх випробуванні для ентерококів (24). Овеча кров може викликати нечіткість зон або пливчастий ріст в зонах інгібування навколо сульфаніламідних та триметопримних дисків (23)
3. Агар Мюллера-Хінтона глибший, ніж 4 мм, може викликати помилкові результати про резистентність, і агар менше 4 мм глибиною може бути пов'язаний з помилково-сприйнятливим результатом(23).
4. рН поза діапазоном $7,3 \pm 0,1$, може негативно вплинути на результати випробувань чутливості. Якщо рН занадто низький, аміноглікозиди та макроліди можуть втратити ефективність; інші можуть проявляти надмірну активність (23). Протилежні ефекти також можливі, якщо рН занадто високий. (23)

Упаковка: 250 г

Найменування середовища: Агар Мюллера-Хінтона

Каталожний номер: DM172

Доступний розмір упаковки: 250 г

Посилання на літературу:

1. Bauer, Kirby, Sherris and Turck. 1966. Am. J. Clin. Pathol. 45:493.
2. Ryan, Schoenknecht and Kirby. 1970. Hospital Practice 5:91.
3. Barry, Garcia and Thrupp. 1970. Am. J. Clin. Pathol. 53:149.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved standard: M2-A9. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 9th ed. CLSI, Wayne, Pa.

5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement, M100-S18(M2). CLSI, Wayne, Pa.
6. Mueller and Hinton. 1941. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330.
7. Ericsson and Sherris. 1971. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl. 217.
8. Koch and Burchall. 1971. Appl. Microbiol. 22:812.
9. Ferone, Bushby, Burchall, Moore and Smith. 1975. Antimicrob. Agents Chemother. 7:91.
10. Reller, Schoenknecht, Kenny and Sherris. 1974. J. Infect. Dis. 130:454.
11. Pollock, Minschew, Kenny and Schoenknecht. 1978. Antimicrob. Agents Chemother. 14:360.
12. D'Amato and Thornsberry. 1979. Current Microbiol. 2:135.
13. Thornsberry, Gavan and Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coord. ed., Sherris. American Society for Microbiology, Washington, DC.
14. World Health Organization. 1961. Standardization of methods for conducting microbic sensitivity tests. Technical Report Series No. 210, Geneva, Switzerland.
15. U.S. Food and Drug Administration. 2001. Bacteriological analytical manual, online. AOAC International, Gaithersburg, Md.
16. Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaller (ed.). 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
17. Hindler and Anderbied. 1985. J. Clin. Microbiol. 21:205.
18. Baker, Thornsberry and Hawkinson. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:450.
19. Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger and Winn. 1997. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa.
20. Forbes, Sahn and Weissfeld. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis, Mo.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved standard: M6-A2. Protocols for evaluating dehydrated Mueller-Hinton agar, 2nd ed. CLSI, Wayne, Pa.
22. Isenberg and Garcia (ed.). 2004 (update, 2007). Clinical microbiology procedures handbook, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
23. Wood and Washington. 1995. In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
24. Buschelman, Jones and Bale. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:565.

Для отримання більш детальної інформації звертайтеся до місцевого представника MICROMASTER.



MICROMASTER LABORATORIES PRIVATE LIMITED

Unit 38/39, Kalpataru Industrial Estate,
Off G.B. Road, Near 'R-Mall', Thane (W) – 400607. M.S. INDIA.
Ph: +91-22-25895505, 4760, 4681. Cell: 9320126789.
Email: micromaster@micromasterlab.com

DM172PI, Rev.0, 01.08.2008