

Mueller Hinton Agar II

Kat. 1055

Pro testy citlivosti na antibiotika a primární izolaci gonokoků, meningokoků a dalších patogenů z klinických vzorků.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Testy citlivosti na antimikrobiální látky	Obecné použití

Odvětví aplikace: Klinická medicína / Testování citlivosti na antimikrobiální látky



Principy a použití

Mueller Hinton Agar II byl původně vyvinut pro kultivaci a izolaci patogenních kmenů *Neisseria*. Bylo zjištěno, že toto médium je užitečné při identifikaci kmenů gonokoků rezistentních a citlivých na sulfonimidy. Mueller Hinton Agar se však nyní používá při testování citlivosti disků na antimikrobiální látky.

Bauer a Kirby vyvinuli standardizovaný postup pro stanovení citlivosti bakterií na antibiotika, v němž byl jako testovací médium zvolen Muellerův Hintonův agar, protože klinické mikrobiologické laboratoře v 60. letech používaly širokou škálu různých médií a postupů. Jeho provedení je specifikováno CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) a je doporučeno pro testování rychle rostoucích aerobních nebo fakultativně anaerobních bakteriálních patogenů a rychlých druhů, jako jsou *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* nebo *S. pneumoniae*, pokud se přidá defibrinovaná ovčí krev.

Mueller Hinton Agar II je vyroben tak, aby obsahoval nízké hladiny thyminu a thymidinu a kontrolované hladiny vápníku a hořčíku. Použití média s vhodnými růstovými vlastnostmi je nezbytné pro testování citlivosti mikroorganismů na antibiotika. Doporučuje se také pro testování většiny běžně se vyskytujících aerobních a fakultativně anaerobních bakterií.

Hovězí infuze a kyselý kaseinový pepton (H) poskytují dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Škrob absorbuje veškeré produkované toxické metabolity. Bakteriologický agar je ztužujícím činidlem.

Složení v g/l

Kyselý kaseinový pepton (H)	17,5 Bakteriologický agar	17
Hovězí infuze	2 Škrob	1,5

Typické složení g/l * Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo výkonnostní kritéria.

Příprava

Suspendujte 38 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Rozlijte do vhodných nádob a sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Ochlaďte na 45-50 °C a v případě potřeby přidejte defibrinovanou krev. Pokud je požadován vývoj *neisserií*, měla by se krevní směs zchladit zahřátím na 80 °C po dobu 10 minut. **NEPŘEHŘÍVEJTE**. Chcete-li studené médium znovu rozpustit, zahřívajte je co nejkratší dobu.

Návod k použití

Pro klinickou diagnózu jsou typem vzorku bakterie izolované z moči:

- Očkujte podle Bauerovy-Kirbyho metody.
- Inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 24-48 hodin.
- Odečť a interpretejte výsledků.

Pro testy citlivosti na antibiotika podle EUCAST:

- Dávkujte médium do sterilních Petriho misek tak, aby hloubka hladiny byla 4 ± 0,5 mm (přibližně 25 ml na 90mm kruhovou misku, 31 ml na 100mm kruhovou misku, 71 ml na 150mm kruhovou misku, 40 ml na 100mm čtvercovou misku).
- Hustotu suspenze organismů upravte na hodnotu McFarland 0,5 přidáním fyziologického roztoku nebo dalších bakterií. Hustší inokulum bude mít za následek snížení inhibičních zón a snížené inokulum bude mít opačný účinek.
- Suspenze by měla být optimálně použita do 15 minut a vždy do 60 minut od přípravy.
- Do suspenze ponořte sterilní vatový tampon.

- Abyste zabránili nadměrnému naočkování gramnegativních bakterií, odstraňte přebytečnou tekutinu přitlačením a otočením tamponu k vnitřní straně zkumavky.
- V případě gram pozitivních bakterií netlačte ani neotáčejte tamponem proti vnitřku zkumavky.
- Disky aplikujte do 15 minut po inokulaci.
- Inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 24 hodin.
- Okraje zóny by měly být odečteny v místě úplné inhibice, jak se posuzuje pouhým okem, přičemž destička se drží asi 30 cm od oka.
- Čtete desky MH zezadu na tmavém pozadí osvětleném odraženým světlem.
- V případě odlišných kolonií v zónách zkontrolujte čistotu a v případě potřeby test opakujte.
- U *Proteus* spp. ignorujte rojení a přečtete si inhibici růstu.
- V případě dvojitých zón čtete vnitřní zónu.

Pro kultivaci vzorků *Neisseria*:

- Inkubujte na destičkách při teplotě 35 ± 2 °C v atmosféře CO₂ po dobu 18-24 hodin.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
jemné sraženiny	Jemný prášek	Smetanový	bez krve: jantarová, opaleskující. s krví: červená	7,4±0,2

Mikrobiologický test

Testování citlivosti diskové difúze. Inkubační podmínky: (35 ± 2 °C / 24 h). Diametrální halo v mm.

		Gentamicin	Ampicilin	Tetracyklin	Polymyxin B	SXT Trimethoprim + Sulfamethoxazol
		10 µg	10 µg	30 µg	300 µg	1,25 µg + 23,75 µg
Escherichia coli	ATCC 25922	19-26	15-22	18-25	13-19	23-29
CLSI						
Escherichia coli	ATCC 25922	19-26	15-22		13-19	23-29
EUCAST						
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	19-27	27-35	24-30		24-32
CLSI						
Staphylococcus aureus	ATCC 25923					
EUCAST						
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	17-23			14-18	
CLSI						
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	17-23				
EUCAST						
Enterococcus faecalis	ATCC 29212					
CLSI						
Enterococcus faecalis	ATCC 29212					26-34
EUCAST						
Staphylococcus aureus	ATCC 29213					
CLSI						
Staphylococcus aureus	ATCC 29213	19-25		23-31		26-32
EUCAST						

Teplota. Min.: 2 °C
Teplota. Max.: 25 °C

Bibliografie

- Müller a Hinton A. Bezbílkovinné médium pro primární izolaci gonokoků a meningokoků. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 48:330. 1941.
Harris and Coleman Diagnostic.Postupy a činidla. 4. vydání APH, Inc. New York, 1963. Národní výbor pro klinické laboratorní standardy. 1993.
Atlas, R.M. 1993 Příručka mikrobiologických médií. CRC Press, Boca Raton. Fl..