

**Mueller Hinton 2 agar (MH2-D)****Мюллер-Хинтон агар 2**

Определение чувствительности к антибиотикам и сульфамидам

**КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ**

Агар Мюллер-Хинтон 2 предназначен для определения чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом (1, 2).

**ПРИНЦИП**

Состав агара Мюллер-Хинтон обеспечивает хороший рост неприхотливых бактерий (энтеробактерий, аэробных и микроаэрофильных грамотрицательных палочек, стафилококков и энтерококков), встречающихся в клинической практике, оказывая минимальное влияние на результаты определения чувствительности (1, 2).

При добавлении 5% бараньей крови агар можно использовать для определения чувствительности видов, требующих наличия крови для роста (пневмококки и другие стрептококки).

Концентрация двухвалентных ионов в агаре оптимальна для определения чувствительности к аминогликозидам и тетрациклинам представителей рода *Pseudomonas*.

Добавление тимида - тимидина (ингибиторы сульфамидов) в небольших концентрациях предотвращает рост вокруг дисков, благодаря чему возможно точное определение диаметра зон ингибирования роста (3, 4, 5).

**СОСТАВ НАБОРА****Сухая среда**

REF 51075

500 г флаcon

**СОСТАВ****Расчетная формула после растворения**

**Состав среды можно модифицировать в соответствии с объектами и целями исследования:**

Казеин (бычий) .....	17,5 г
Мясной экстракт (бычий или свиной).....	2 г
Картофельный крахмал.....	1,5 г
Агар.....	17 г
Дистилированная вода.....	1 л

Ионы Ca <sup>++</sup> .....	50 мг
Ионы Mg <sup>++</sup> .....	25 мг

рН 7.3

**НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР****Реактивы:**

- Диски с антибиотиками.

**Материалы:**

- Автоклав.
- Стерильные чашки Петри.
- Автоклавируемые флаconы.
- Термостат.
- Водяная баня.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ**

- Дефибринированная баранья кровь (Ref. 55822 или 55823)

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

- Только для диагностики *in vitro*.
- Для профессионального использования.
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных, от которых были получены данные материалы, не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных микроорганизмов. Рекомендуется обращаться с этими веществами как потенциально опасными в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – действующая версия". За дополнительной информацией обращайтесь к "Biosafety in Microbiological and Biochemical Laboratories - CDC/NIH – Последнее издание", а также нормативам, принятым в Вашей стране.
- Среду для культивирования нельзя использовать в качестве сырья при производстве.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Не используйте среду при наличии комков и других включений.
- При вскрытии флаconа убедитесь в целостности пробки.
- Тщательно закрывайте флаconы после использования.
- Не открывайте флаconы во влажной атмосфере (пар, испарения).
- Среда предназначена для использования в соответствии со стандартами CLSI/NCCLS и CASSFM. При использовании других стандартов лаборатории следует самостоятельно утвердить метод и корректность результатов.
- При интерпретации результатов следует принимать во внимание результаты идентификации (природную устойчивость), эпидемиологический контекст и, при необходимости, результаты других исследований.

**ХРАНЕНИЕ**

- Хранить при 2-30°C до истечения срока годности.
- Беречь от влаги.
- Держать тщательно закрытыми.
- Не открывать флаcon более 10 раз.

**ОБРАЗЦЫ**

Данная среда не предназначена для работы непосредственно с клиническими образцами или культуральной массой.

На среду следует вносить стандартизованную суспензию чистой культуры после выделения на твердой среде.

## ПРИМЕНЕНИЕ

### Подготовка:

- Растворите 38 г порошка в 1 литре дистиллированной или деминерализованной воды.
- Тщательно перемешайте.
- Доведите до кипения (однородного состояния).
- Разлейте по флаконам.
- Автоклавируйте в течение 15 минут при 116 °C.
- Оставьте при комнатной температуре минимум на 15 секунд, затем перенесите в термостатируемую водяную баню, установленную на 45-50°C. Оставьте при этой температуре вплоть до использования.
- При необходимости добавьте 5% бараньей крови.
- Разлейте в чашки (25 мл на чашку 90 мм, чтобы получить равномерный слой агара толщиной 4 мм).
- Оставьте до застывания.

### Посев и культивирование:

В соответствии со стандартным методом, используемым в Вашей лаборатории (1, 2). Примечание: при использовании стандарта CA-SFM фирма bioMérieux рекомендует производить посев тампоном.

## УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- По окончании инкубации измерьте диаметр зон ингибирования роста вокруг дисков с антибиотиками и оцените результат (S: чувствительный, I: умеренно устойчивый и R: устойчивый).
- Интерпретацию полученных данных следует осуществлять в соответствии со стандартным методом, используемым в Вашей лаборатории.

### Примечание:

Результаты корректны при условии сплошного равномерного роста.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

### Среда без добавления крови:

#### Протокол:

Для контроля качества среды рекомендуется:

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™.

Результаты, в соответствии с CLSI/NCCLS M2-A8 (1):

Антибиотик	Зона ингибирования роста, мм
Ампициллин 10 µг	16 - 22
Цефалотин 30 µг	15 - 21
Гентамицин 10 µг	19 - 26
Нитрофурантоин 300 µг	20 - 25
Триметопrim / сульфаметоксазол 1.25 / 23.75 µг	23 - 29

### Среда с добавлением крови:

#### Протокол:

Для контроля качества среды рекомендуется:

- *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619™.

Результаты, в соответствии с CLSI/NCCLS M2-A8 (1):

Антибиотик	Зона ингибирования роста, мм
Оксациллин 1 µг	8 - 12
Эритромицин 15 µг	25 - 30

### Примечание:

Ответственность за проведение контроля качества в соответствии с местными нормами и положениями несут сотрудники лаборатории (частота, количество штаммов, условия культивирования, антибиотики...).

## ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Агар Мюллер-Хинтон 2 имеет невысокую питательную ценность для обеспечения стандартных результатов (стандартизации зон ингибирования роста). Некоторые прихотливые микроорганизмы не растут на данном агаре.
- Посев тампоном, как рекомендовано стандартом CA-SFM, не дает возможности определить устойчивость *Staphylococcus aureus* к гликопептидам (VRSA). В данном случае фирма bioMérieux рекомендует придерживаться стандарта CLSI/NCCLS (1).
- Некоторые штаммы метициллин-устойчивого золотистого стафилококка (MRSA) могут быть ложно чувствительными к цефокситину на этой среде, в частности, при использовании дискового метода. Это касается:
  - Штаммов, несущих ген *mecC* (LGA251 вариант), новый аналог гена *mecA* (в настоящее время этот вариант редко выделяется из образцов человека).
  - Штаммов с низким уровнем резистентности, несущих ген *mecA*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в соответствии со стандартом CLSI/NCCLS M2-A7 (6).

### Среда без добавления крови:

#### Питательные свойства:

В исследовании использовали 25 бактериальных штаммов (энтеробактерии, представители родов *Pseudomonas*, *Staphylococcus* и *Enterococcus*). Культивирование осуществляли при 37°C.

Для всех штаммов наблюдался хороший рост через 16-18 часов культивирования.

#### Зоны ингибирования роста:

- Чувствительность к антбактериальным препаратам определяли для референсных штаммов, рекомендованных стандартом CLSI/NCCLS M2-A7(6):

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853™
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™

- Было протестировано 16 антибиотиков. Для всех были получены корректные результаты.

**Среда с добавлением крови:****Питательные свойства:**

В исследовании использовали 25 штаммов (*Streptococcus pneumoniae* и другие стрептококки). Культивирование осуществляли при 37°C. Для всех штаммов наблюдался хороший рост через 20-24 часа культивирования.

**Зоны ингибиования роста:**

- Чувствительность к антибактериальным препаратам определяли для референсного штамма, рекомендованного стандартом CLSI/NCCLS M2-A7(6): *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619™.
- Было протестировано 10 антибиотиков. Для всех были получены корректные результаты.

**УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ**

Не использованные реагенты считаются не опасными и должны утилизироваться соответствующим образом.

Утилизируйте использованные реактивы, а также контаминированные материалы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Ответственность за утилизацию несут сотрудники лаборатории.

**ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ**

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Для диагностики in vitro
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Беречь от влаги

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard – NCCLS M2-A8* - Eighth edition, vol. 23, n° 1, Jan. 2003, ISBN 1-56238-485-6.
2. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) – Communiqué 2004 (01/2004).
3. D'AMATO R.F., THORNSBERRY C. – Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results – *Curr. Microbiol.*, 1979, vol. 2, p. 135-138.
4. HALTINER R.C., MIGNEAULT P.C., ROBERTSON R.G. – Incidence of thymidine-dependent enterococci detected on Mueller-Hinton agar with low thymidine content – *Antimicrob. Agents Chemother.*, Sept. 1980, vol. 18, n°3, p. 365-368.
5. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. – Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests – *J. Clin. Microbiol.*, Nov. 1983, vol. 18, n°5, p. 1269-1271.
6. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard – NCCLS M2-A7* - Seventh edition, vol. 20, n° 1, ISBN 1-56238-393-0.

## ИСТОРИЯ ПЕРЕСМОТРОВ

### Изменение категорий типа

Н/П	Не применимо (первое издание)
Корректура	Исправление ошибок в документации
Технические изменения	Добавление, пересмотр и/или удаление касающейся продукта информации
Административные изменения	Введение изменений нетехнического характера, заслуживающих внимания пользователя
<b>Примечание:</b>	<i>Незначительные типографские, грамматические изменения и изменения в форматировании в историю пересмотров не включены.</i>

Дата выпуска	Номер раздела	Тип изменений	Обзор изменений
2014/09	11934G	Административные изменения	Создание истории пересмотров Обновление блока адресов
		Технические изменения	Пересмотр раздела "ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ"

BIOMERIEUX и голубой логотип являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации торговыми марками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний.

CLSI торговая марка, принадлежащая Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Торговая марка и товарный знак ATCC, а также любые номера по каталогу ATCC – торговые марки компании American Type Culture Collection.

Другие названия или торговые знаки являются собственностью их владельцев.



**bioMérieux SA**  
Chemin de l'Orme  
69280 Marcy-l'Etoile - France

RCS LYON 673 620 399  
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)

