

BacterLab Division



Ngày ban hành: 02/01/2025
Phiên bản: 01.2025



MÔI TRƯỜNG KHÁNG SINH ĐỒ

BacterPlate™ Mueller Hinton Agar Máu Ngựa (MHHBA)

BacterPlate™
Mueller Hinton Horse Blood Agar

Môi trường sẵn sàng sử dụng trên đĩa 90mm để kiểm tra độ nhạy kháng sinh của các loại vi khuẩn để nuôi cấy.

Code: 05041



1. MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

BacterPlate™ Mueller Hinton Agar Máu Ngựa (MHHBA) được sử dụng để kiểm tra độ nhạy kháng sinh hoặc kiểm tra giấy MIC trên các vi sinh vật khó nuôi. Thành phần điển hình của môi trường đáp ứng theo tiêu chuẩn NF U47-106 và NF U47-107.

Bao gói bằng màng bán thấm Cellophane film giúp cân bằng độ ẩm môi trường trong quá trình bảo quản.

2. NGUYÊN TẮC

Việc lựa chọn thành phần của môi trường được thiết kế để đảm bảo lượng thymine và thymidine rất thấp, vì đây là những chất có thể làm giảm hiệu quả của trimethoprim (một loại kháng sinh). Đồng thời, lượng para-aminobenzoic acid (PABA) và các chất tương tự cấu trúc của nó cũng được giữ ở mức rất thấp, vì chúng có thể cản trở tác dụng của sulfonamid.

Do canxi và magie ảnh hưởng đến khả năng nhạy cảm của vi khuẩn *Pseudomonas* với aminoglycoside, Reller và cộng sự đã đề xuất giới hạn nồng độ các ion này như sau:

- Canxi: 50 – 100 mg/ lít
- Magie: 20 – 35 mg/ lít

Phương pháp Kirby-Bauer được thực hiện bằng cách sử dụng các đĩa giấy nhỏ, đã được thấm kháng sinh và làm khô trước, sau đó đặt lên bề mặt môi trường agar. Khi đặt lên agar, đĩa giấy hút nước từ môi trường và làm kháng sinh tan ra, khuếch tán dần vào môi trường. Kết quả là, xung quanh mỗi đĩa hình thành một vùng nồng độ kháng sinh giảm dần.

Trong khi kháng sinh khuếch tán, vi khuẩn trên bề mặt agar cũng bắt đầu phát triển. Ở những nơi nồng độ kháng sinh đủ thấp, vi khuẩn tiếp tục nhân lên và tạo thành mảng khuẩn lạc có thể nhìn thấy. Tuy nhiên, ở những vùng nồng độ kháng sinh đủ cao để ngăn chặn sự phát triển, sẽ không có vi khuẩn xuất hiện, tạo thành một vùng ức chế (vùng không có vi khuẩn) xung quanh đĩa giấy.

Kích thước của vùng ức chế này được đo để đánh giá độ nhạy cảm của vi khuẩn. Đường kính vùng ức chế càng lớn, vi khuẩn càng nhạy với kháng sinh. Kết quả này được so sánh với bảng tiêu chuẩn để xác định vi khuẩn có nhạy cảm hay kháng với kháng sinh được thử nghiệm.

3. THÀNH PHẦN CƠ BẢN

Trong 1L môi trường (tham khảo)

Acid hydrolysate of casein	17,5 g
Meat extract	2,0 g
Soluble starch	1,5 g
Defibrinated horse blood	50 – 70 mL
Agar	17,0 g

pH của môi trường hoàn chỉnh ở 25°C: 7,3 ± 0,2

4. CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG

Đĩa môi trường đã được chuẩn bị sẵn, không cần thực hiện pha chế.

5. HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Kiểm tra Độ nhạy Kháng sinh (Phương pháp Tiêu chuẩn Kirby-Bauer)

- Sử dụng một giống vi khuẩn thuần khiết từ môi trường **BacterTube™ Tryptone Soy Broth (TSB)** với độ đục tương đương với độ mờ chuẩn của dung dịch bari sulfat (0,5 theo thang McFarland).
- Thu thập mẫu vi khuẩn bằng một que cấy vô trùng.
- Cấy lên thạch agar bằng cách vạch que cấy 2 – 3 lần trên toàn bộ bề mặt thạch agar để phân phối mẫu vi khuẩn đồng đều.
- Đề đĩa thạch agar khô trong 10 phút trước khi đặt các đĩa kháng sinh.
- Đặt các đĩa kháng sinh lên thạch agar với một lực nhẹ để đảm bảo chúng dính chắc trên bề mặt thạch. Các đĩa kháng sinh nên được đặt cách ít nhất 15 mm từ viền đĩa và có khoảng cách đủ xa để không gây chồng lấn các vùng ức chế.
- Nuôi cấy ở 37°C trong khoảng 18 đến 24 giờ.

CHÚ Ý:

Phương pháp Kirby-Bauer được công nhận là phương pháp đáng tin cậy và có thể tái tạo tốt nhất. Tuy nhiên, các phương pháp khác cũng có thể được sử dụng, miễn là các thủ tục chuẩn bị mẫu giống vi khuẩn và cấy giống vi khuẩn đã được nghiên cứu và chuẩn hóa đầy đủ trước đó.

6. ĐỌC KẾT QUẢ

- Đo kích thước các vùng ức chế.
- Tham khảo bảng diễn giải kích thước vùng ức chế được cung cấp bởi nhà sản xuất đĩa kháng sinh để xác định mối tương quan giữa vùng ức chế và nồng độ ức chế tối thiểu (M.I.C.).

7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

BacterLab đảm bảo chất lượng của mỗi lô sản phẩm bằng cách kiểm tra với các chủng chuẩn ATCC.

Chủng chuẩn vi sinh vật	Điều kiện nuôi cấy	Kết quả mong đợi
<i>H. pylori</i> ATCC 43504	3 – 5 ngày 35°C, 5 – 10% CO ₂	Mọc tốt, kích thước vùng ức chế theo tiêu chuẩn CLSI
<i>H. influenzae</i> ATCC 33533	18 – 24 giờ, 35°C, 5 – 10% CO ₂	
<i>N. meningitidis</i> ATCC 13090		

8. ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN

- Bảo quản và lưu trữ: 2 – 8°C.
- Vận chuyển: Nhiệt độ môi trường

9. ĐÓNG GÓI

- Đóng gói: 10 đĩa/ hộp hoặc theo yêu cầu của khách hàng.

10. HẠN SỬ DỤNG

- Hạn sử dụng: 04 tháng kể từ ngày sản xuất.

11. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Mueller, J.H., and Hinton, J. 1941. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 48: 330-333.

- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin Pathol., 45: 493-496.
- Daguet, G.L., et Chabbert, Y.A. 1972. Techniques en bactériologie. 3. Sérologie bactérienne, antibiotiques en bactériologie médicale. Ed. Flammarion, Paris.
- Reller, L.B., Schoenknecht, F.D., Kenny, M.A., and Sherris, J.C. 1974. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. J. Infect. Dis., 130: 454-463.
- Acar, J.F. 1976. Journées Nationales de Biologie. Grenoble-Lyon.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1984. Approved standard: M2 A3. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 3rd Ed, NCCLS, Villanova, Pa.
- Courvalin, P., Goldstein, F., Philippon, A., et Sirot, J. 1985. L'antibiogramme. MPC. Bruxelles.
- National Committee for Clinical Laboratory Standard. 1987. Second informational supplement : M100-S2. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, NCCLS, Villanova, Pa. NF U47-106. Décembre 2004. Méthodes d'analyse en santé animale. Détermination in vitro de la sensibilité des bactéries aux anti-infectieux par la méthode de dilution en milieu gélosé.
- NF EN ISO 10272-1. Avril 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp..Partie 1 : Méthode de recherche.
- XP CEN ISO/TS 10272-3. Juin 2010. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. Partie 3 : Méthode semi-quantitative.
- NF U47-107. Décembre 2012. Méthodes d'analyse en santé animale. Guide de réalisation des antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé.