

MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VI SINH VẬT MELAB MUELLER HINTON AGAR + 5% SHEEP BLOOD

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật MELAB Mueller Hinton Agar + 5% Sheep Blood là môi trường thường dùng để thực hiện thao tác kháng sinh đồ trong lâm sàng, được đề xuất bởi CLSI cho kiểm tra sự nhạy cảm với kháng sinh của vi sinh vật khó mọc.

MÔ TẢ SẢN PHẨM

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật MELAB Mueller Hinton Agar + 5% Sheep Blood là đĩa thạch đỏ sẵn, với thành phần dinh dưỡng bao gồm: beef extract và acid hydrolysate của casein cung cấp amino acid, các hợp chất chứa nitơ, vitamin, muối khoáng cần thiết cho phát triển của vi sinh vật. Sự có mặt của tinh bột có tác dụng như một chất keo bảo vệ chống lại các tác nhân gây độc trong môi trường. Thêm vào đó môi trường chứa hàm lượng nhỏ thymidine và thymine giúp nồng độ của các ion hóa trị 2 trong môi trường đều được kiểm soát khi thực hiện kháng sinh đồ trên môi trường Mueller Hinton Agar cơ bản. Agar là chất tạo thể rắn cho môi trường. Máu cừu được bổ sung vào môi trường nhằm tăng khả năng phát triển cho các loài vi sinh vật khó mọc.

Sản phẩm được bao gói bằng màng bán thấm Cellophane có tính năng chống ẩm giúp đảm bảo chất lượng trong quá trình bảo quản, dễ dàng phân huỷ bảo vệ môi trường.

THÀNH PHẦN CỦA BỘ KIT

Môi trường sử dụng ngay:

Mã sản phẩm	Quy cách
P901493	Hộp 10 đĩa 90mm (2x5)

CÔNG THỨC

Thành phần	Thành phần trong 1 lít nước tinh khiết
Acid Digest of Casein	17.5 g
Beef Extract	2 g
Starch	1.5 g
Sodium chloride	5.0 g
Defibrinated sheep blood	50 ml
Agar	17 g

pH 7.3 ± 0.2, 25°C

THIẾT BỊ YÊU CẦU

- Tủ ẩm
- Tủ an toàn sinh học

CHÚ Ý VÀ CẢNH BÁO

- Dùng cho chẩn đoán *in vitro* và kiểm tra chất lượng vi sinh.
- Tất cả các mẫu xét nghiệm phải được coi là mẫu nhiễm khuẩn và được xử lý thích hợp.
- Cần tuân thủ kỹ thuật vô khuẩn và các biện pháp phòng ngừa để xử lý các vi khuẩn thực hiện. Tham khảo “CLSI M29-A Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline- Current Revision”.
- Không sử dụng môi trường này như là vật tư hoặc nguyên liệu cho sản xuất.
- Không được sử dụng đĩa đã hết hạn sử dụng.
- Không được sử dụng sản phẩm nếu màng đóng gói đã bị tổn hại trước đó.
- Không được sử dụng những đĩa đã bị nhiễm hoặc đĩa đã quá khô.
- Dữ liệu hiệu quả nuôi cấy được chỉ rõ trong hướng dẫn sử dụng này. Bất kỳ sự thay đổi quy trình thực hiện nào có thể ảnh hưởng tới kết quả.
- Đọc, giải thích kết quả xét nghiệm cần được xem xét từ tiền sử bệnh nhân, nguồn gốc mẫu bệnh phẩm, hình thái khuẩn lạc và hình thái trên kính hiển vi và nếu cần thiết có thể xem xét từ các test khác.

ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN

- Bảo quản đĩa thạch trong gói màng bán thấm Cellophane, bên trong hộp giấy. Nhiệt độ bảo quản từ 2 – 8°C, tránh ánh sáng trực tiếp cho tới hết hạn sử dụng. Đĩa thạch sau khi được lấy ra khỏi màng có thể dùng trong 1 tuần tiếp theo ở cùng điều kiện bảo quản. Lưu ý bảo quản vô trùng.
- Các dấu hiệu của sản phẩm hư hỏng: thạch bị co, vỡ, chảy nước từ bên trong môi trường, biến đổi màu sắc, nhiễm. Sản phẩm nhạy cảm với ánh sáng và nhiệt độ do đó cần kiểm soát ánh sáng, quá nhiệt, độ ẩm cao, đông đá.
- Hạn sử dụng: 80 ngày kể từ ngày sản xuất.

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

1. Để các đĩa và khoanh kháng sinh ổn định tại nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.
2. Tạo huyền dịch vi khuẩn: Lựa chọn khuẩn lạc riêng rẽ từ đĩa thạch đã nuôi trong 18h-24h (sử dụng môi trường không chọn lọc), tiến hành hòa tan vi sinh vật vào nước muối sinh lý. Điều chỉnh độ đục của dịch huyền dịch đạt độ đục chuẩn 0.5 Mcfarland.

3. Trong vòng 15 phút sau khi chuẩn bị huyền dịch. Nhúng tấm bông vô trùng vào huyền dịch mẫu, ép nhẹ và xoay theo chiều cao của ống ở trên mức chất lỏng, để loại bỏ chất lỏng dư thừa thấm vào tấm bông.
4. Cấy ria đều tấm bông lên trên toàn bộ bề mặt của đĩa thạch, sau đó xoay mặt đĩa thạch 60° cho chiều cấy thứ 2 và 3.
5. Để đĩa thạch khô tự nhiên trong tủ cấy ít nhất 3 phút và không được quá 15 phút nhằm mục đích để chủng cấy hấp thụ vào bề mặt thạch trước khi đặt các khoanh kháng sinh.
6. Dùng pank kẹp đặt các khoanh kháng sinh riêng rẽ đặt lên bề mặt đĩa thạch: Không đặt quá 5 khoanh trên một đĩa thạch đường kính 90 mm. Không nên xê dịch hoặc đặt lại vị trí của các khoanh kháng sinh bởi vì tác dụng khuếch tán của kháng sinh gần như là ngay lập tức. Dùng que cấy vô trùng ấn nhẹ khoanh kháng sinh để đảm bảo chúng tiếp xúc hoàn toàn với bề mặt thạch.
7. Trong vòng 15 phút sau khi đặt khoanh kháng sinh, mang đĩa thạch nuôi ủ với điều kiện từ 35-37°C trong 20-24h, 5% CO₂. Lật ngược đĩa khi nuôi ủ (Tham khảo CLSI đối với thời gian nuôi ủ, nhiệt độ và khí trường đối với các vi khuẩn khó mọc).

ĐỌC KẾT QUẢ

- Sau khi ủ theo thời gian yêu cầu, quan sát khuẩn lạc phát triển trên bề mặt đĩa và các vòng ức chế tròn, đồng nhất xung quanh các khoanh kháng sinh
- Để định danh của vi khuẩn phân lập được phải được tiến hành tiếp theo bởi các test thích hợp. Nếu các khuẩn lạc riêng rẽ còn xuất hiện thì cần phải thực hiện kiểm tra lại.
- Mở nắp đĩa thạch, soi nhìn bề mặt của đĩa thạch dưới ánh sáng phản chiếu, sử dụng thước kẹp chia vạch tới milimet để đo đường kính các vòng ức chế hoàn chỉnh (bao gồm cả khoanh kháng sinh). Đường viền của vòng ức chế nên được đọc từ khu vực mà không phát hiện được sự phát triển của vi khuẩn bằng mắt thường. Các vi khuẩn có khuẩn lạc mờ nhạt hoặc khuẩn lạc bé tại viền của vòng ức chế sinh trưởng chỉ có thể nhìn được khi phóng đại thì nên bỏ qua.
- Để giải thích cho vùng ức chế, tham khảo CLSI M100 cho mỗi chủng vi sinh vật.

KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM

MELAB Diagnostic kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn nhà sản xuất đáp ứng yêu cầu kiểm soát chất lượng tối thiểu theo khuyến cáo của CLSI bằng các chủng chuẩn sau đây:

Chủng chuẩn	Điều kiện ủ	Kết quả (Theo CLSI)	
		Kháng sinh	Vùng ức chế
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Ủ tại 35-37°C, 20-24h, 5% CO ₂	Ampicillin 10 µg	30-36mm
		Erythromycin 15 µg	25-30mm
		Oxacillin 1 µg	≤12mm

		Trimethoprim/ Sulfamethoxazole 25 µg	20-28mm
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Ủ tại 35-37°C, 20-24h, hiếu khí	Phát triển tốt	

Lưu ý:

Trách nhiệm của người sử dụng là thực hiện kiểm tra chất lượng có tính đến mục đích sử dụng của môi trường và phù hợp với bất kỳ quy định của địa phương (tần số, số lượng chủng, nhiệt độ ủ, ...)

HẠN CHẾ

- Môi trường này không sử dụng cho các vi khuẩn kỵ khí, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* hoặc các vi sinh vật gây bệnh khác không có trong danh sách hiện tại của CLSI.
- Phòng xét nghiệm lâm sàng nên thường xuyên kiểm tra quy trình cho các lỗi kỹ thuật có thể gây tác động không tốt tới tính chính xác của kết quả khuếch tán. Một số lỗi được liệt kê như: bảo quản khoanh kháng sinh không đúng, cấy chủng điều chỉnh nồng độ không đúng, điều kiện nuôi ủ không đúng nhiệt độ, thời gian, khí trường, đo đặc và diễn giải không đúng đường kính vòng ức chế, nhiễm tạp hoặc xảy ra đột biến với chủng được xét nghiệm.
- Điều kiện nuôi cấy tại 35°C, 5-7% CO₂, 20-24h. Thời gian nuôi cấy dài hơn có thể làm sai lệch kết quả. Ví dụ: vùng ức chế quá nhỏ.

LOẠI BỎ RÁC THẢI

- Các môi trường không sử dụng có thể được xem như rác thải không nguy hiểm và loại bỏ theo quy định. Loại bỏ tất cả các môi trường đã sử dụng theo quy trình cho các sản phẩm nhiễm trùng hoặc tiềm ẩn gây nhiễm.
- Xử lý và loại bỏ rác thải và nước thải theo quy định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

“Tiêu chuẩn hiệu năng cho thử nghiệm nhạy cảm với môi trường kháng sinh đồ” theo tiêu chuẩn của CLSI. Tham khảo:

1. “*Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*” (CLSI M100-Ed35 January 2025)
2. “*Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*” (CLSI M02-Ed14 March 2024)