



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0665—2008

MH 琼脂培养基

Mueller hinton agar medium

2008-04-25 发布

2009-06-01 实施



国家食品药品监督管理局 发布

前 言

本标准是在参考《中华人民共和国药典》2005 年版(二部)、WS 231—2002《用于纸片扩散法抗生素敏感试验的脱水 Mueller-Hinton 琼脂的检验规程》及临床和实验室标准协会[CLSI, 原美国国立临床实验室标准化委员会(NCCLS)]发布的抗微生物药物敏感性试验执行标准(第 15 版)的基础上,结合中国国情及实际情况和要求而制定。

本标准附录 A 为规范性附录。

本标准由国家食品药品监督管理局提出。

本标准由中国药品生物制品检定所归口。

本标准由中国药品生物制品检定所负责起草。

本标准主要起草人:孙彬裕、康国华、曲守方、刘艳、高尚先。

MH 琼脂培养基

1 范围

本标准规定了 MH 琼脂培养基的质量要求、检验方法、使用说明、标志、标签以及包装、运输、贮存。
本标准适用于 MH 琼脂培养基。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 191 包装储运图示标志

中华人民共和国药典 2005 年版(二部)

JJF 1070—2000 定量包装商品净含量计量检验规则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

培养基 culture medium

培养基是指由人工方法配合而成的，专供微生物培养、分离、鉴别、研究和保存使用的混合营养物制品。

3.2

质控菌株 quality control strain

质控菌株通常指用于培养基质量控制和性能测定的微生物。

3.3

菌落形成单位 colony forming unit, CFU

菌落形成单位是指在活菌培养计数时，由单个菌体或聚集成团的多个菌体在固体培养基上生长繁殖所形成的集落，以其表达活菌的数量。

4 培养基配方

单位: g/L

酸水解酪蛋白	17.5
可溶性淀粉	1.5
牛肉浸出粉	2.0
琼脂	13.0~17.0

参考配方中琼脂的含量均可根据凝胶强度适当调节。

5 质量要求

5.1 理化要求

5.1.1 外观

应为均一的浅黄色粉末。

5.1.2 装量

应不低于标示量。

5.1.3 pH 值

灭菌后,20℃~25℃时,该培养基 pH 值应为 7.4±0.2。

5.1.4 干燥失重

应不超过 6.0%。

5.2 药敏试验

按照临床和实验室标准协会[CLSI,原美国国立临床实验室标准化委员会(NCCLS)]发布的抗微生物药物敏感性试验执行标准(第 15 版)要求,培养基接种质控菌应生长良好,抑菌圈应符合表 1 的要求。

表 1 药敏试验抑菌圈允许范围

抗生素名称	纸片抗生素含量	大肠埃希氏菌 (ATCC 25922) 抑菌圈直径/mm	金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923) 抑菌圈直径/mm	铜绿假单胞菌 (ATCC 27853) 抑菌圈直径/mm	大肠埃希氏菌 (ATCC 35218) 抑菌圈直径/mm
氨苄青霉素 (Ampicillin)	10 μg	16~22	27~35	—	纸片直径 ^a
哌拉西林 (Piperacilin)	100 μg	24~30	—	25~33	12~18
庆大霉素 (Gentamycin)	10 μg	19~26	19~27	16~21	—
环丙沙星 (Ciprofloxacin)	5 μg	30~40	22~30	25~33	—
氯霉素 (Chloramphenicol)	30 μg	21~27	19~26	—	—
青霉素 (Penicillin)	10 units	—	26~37	—	—
四环素 (Tetracycline)	30 μg	18~25	24~30	—	—
头孢他啶 (Ceftazidime)	30 μg	25~32	16~20	22~29	—
氧氟沙星 (Ofloxacin)	5 μg	29~33	24~28	17~21	—
复合磺胺 (Trimethoprim-Sulfamethoxazole)	1.25/ 23.75 μg	23~29	24~32	—	—

^a 临床和实验室标准协会[CLSI,原美国国立临床实验室标准化委员会(NCCLS)]发布的抗微生物药物敏感性试验执行标准(第 15 版)中规定为 6 mm,这也是美国所采用的纸片的直径,即该抗生素对该菌无抑制作用,不产生抑菌圈。但是由于菌株产生变异,会被抑制,该项实验一定要进行以确证菌株未产生变异。而各国的纸片直径会有所不同,故此按表中所述进行规定。

6 检验方法

6.1 理化检验

6.1.1 外观

采用目测法,在自然光线明亮处目视,应符合 5.1.1 的规定。

6.1.2 装量

按 JJF 1070—2000,使用通用量具,测定装量,应符合 5.1.2 的规定。

6.1.3 pH 值

按使用说明配制培养基,灭菌后,在 20℃~25℃时,按中华人民共和国药典 pH 值测定法或其他适宜固体培养基检测的 pH 计测定,应符合 5.1.3 的规定。

6.1.4 干燥失重

按《中华人民共和国药典》干燥失重测定法测定,应符合 5.1.4 的规定。

6.2 药敏试验

按附录 A 试验方法进行,结果应符合 5.2 的规定。

7 使用说明

使用说明至少应当具有下列内容:

- a) 产品名称、规格;
- b) 配方;
- c) 用途;
- d) 使用方法;
- e) 注意事项;
- f) 贮存条件与失效期;
- g) 生产单位名称、联系方式。

8 标志与标签

标志与标签至少应当具有下列内容:

- a) 执行标准号;
- b) 产品注册证号;
- c) 产品名称、规格、数量、批号;
- d) 制造厂名称、商标和厂址;
- e) 贮存条件和失效期。

9 包装、运输、贮存

9.1 包装

包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。包装容器应保证密封性良好,不易破碎。

9.2 运输

培养基在运输过程中,应防潮,应防止重物堆压,避免阳光直射和雨雪浸淋,防止与酸碱物质接触,防止内外包装破损。

9.3 贮存

产品应置阴凉干燥处贮存。

附 录 A
(规范性附录)

MH 琼脂培养基药敏试验方法

A.1 质控菌株

大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)(ATCC 25922)

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)(ATCC 25923)

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)(ATCC 27853)

大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)(ATCC 35218)

培养基药敏试验所用的菌株传代次数不得超过 5 代(从菌种保存中心获得的冷冻干燥菌种为第 0 代),并采用适宜的菌种保藏技术,以保证试验菌株的生物学特性。

不应同时操作 2 个以上菌株。

A.2 方法

A.2.1 无菌操作要求

培养基药敏试验应严格遵守无菌操作,防止微生物污染。

稀释液、培养基、实验器具等灭菌时,应按照中华人民共和国药典中灭菌法的要求,采用验证合格的灭菌程序灭菌。

A.2.2 菌种复苏

启开质控菌种,用 0.9% 无菌氯化钠溶液 0.3 mL 制成菌悬液,加至营养琼脂斜面培养基中,置 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~20 h。

A.2.3 菌种传代

刮取上述复苏后的质控菌种的新鲜培养物,加至营养琼脂斜面培养基中, $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h。

A.2.4 菌种增菌培养

刮取上述传代后的质控菌种的新鲜培养物,加至营养琼脂斜面培养基中, $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。

A.2.5 菌悬液制备

将上述增菌培养后的质控菌种的新鲜培养物用 0.9% 无菌氯化钠溶液制成均匀菌液,并稀释至浊度为 0.5 麦氏标准单位(即约 1.5×10^8 CFU/mL)的菌悬液,作为工作菌液。

A.2.6 培养基制备

将待检 MH 琼脂培养基,用蒸馏水或去离子水按照说明上标出的浓度配制成溶液, 121°C 灭菌 15 min 后,冷却至 $45^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$ 左右,混匀后迅速加入每个平皿(直径为 90 mm),制成 4 mm 厚度的平皿。待冷却至室温凝固后进行检测。

A.2.7 培养基接种

检测时,用无菌棉拭浸取工作菌液(在管壁内轻轻转压除去过多菌液)轻轻均匀涂抹到待检 MH 琼脂培养基表面,每一平皿涂抹三次,每次涂抹后均需将平皿转动 60° ,再行下一次涂抹,最后沿平皿壁圆周涂抹一次,使细菌呈融合的菌苔生长。每一质控菌株接种 2~3 个平皿。

A.2.8 放置药敏纸片

上述平皿于室温放置片刻,待培养基表面稍干后,用无菌镊子将药敏纸片均匀贴布于培养基表面(5 片/皿),各纸片间中心间距不得少于 24 mm,纸片距平皿边不得小于 15 mm。一旦纸片接触培养基表面,即不可移动。在 15 min~30 min 内将接种过质控菌并加好药敏纸片的培养基,置 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养

培养 18 h~20 h。

A.2.9 观察记录结果

观察抑菌圈大小,同时测量并记录抑菌圈直径。

参 考 文 献

- [1] WS/T 231—2002 用于纸片扩散法抗生素敏感试验的脱水 Mueller-Hinton 琼脂的检验规程.
 - [2] 抗微生物药物敏感性试验执行标准(第 15 版). 临床和实验室标准协会[CLSI, 原美国国立临床实验室标准化委员会(NCCLS)]发布.
 - [3] 美国微生物临床手册.
-

中华人民共和国医药
行 业 标 准
MH 琼脂培养基
YY/T 0665—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

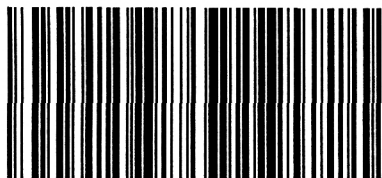
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 11 千字
2008 年 8 月第一版 2008 年 8 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-18976 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



YY/T 0665—2008