

**PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ****I INTRODUZIONE**

Mueller Hinton Broth è un terreno universale utilizzabile per la coltivazione di un'ampia gamma di microrganismi esigenti e non esigenti.

**II PROCEDURA DEL TEST**

- Inoculare dei campioni rappresentativi con le colture sottoelencate.
  - Inoculare 1 µL (0,001 mL) di una coltura di 4 – 5 h di **Trypticase Soy Broth** diluito fino a  $10^6 - 10^7$  UFC/mL.
  - Incubare a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  in condizioni atmosferiche appropriate.
- Esaminare le provette dopo 18 – 24 h per verificare la crescita.

Risultati attesi

<b>Microrganismi</b>	<b>ATCC</b>	<b>Isolamento</b>
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Crescita moderata – intensa
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Crescita moderata – intensa
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Crescita moderata – intensa

\*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

**III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE**

- Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
- Eeguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
- Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di  $7,3 \pm 0,2$ .
- Incubare a  $33 - 37^\circ\text{C}$  e  $20 - 25^\circ\text{C}$  per 72 h delle provette rappresentative non inoculate ed esaminarle per verificare la contaminazione microbica.

**INFORMAZIONI SUL PRODOTTO****IV USO PREVISTO**

BBL Mueller Hinton Broth è un terreno universale utilizzabile per la coltivazione di un'ampia gamma di microrganismi esigenti e non esigenti. Le concentrazioni di ioni calcio e magnesio di questa formulazione non sono state corrette per il terreno compatibile con l'uso in procedure quantitative per i test di sensibilità agli antibiotici.

**V SOMMARIO E SPIEGAZIONE**

La formulazione Mueller Hinton è stata originariamente sviluppata come semplice terreno agar trasparente per la coltivazione di *Neisseria* patogene.<sup>1</sup> In seguito, sono stati sviluppati altri terreni che hanno sostituito l'agar Mueller Hinton nella coltivazione di *Neisseria* patogene; tale agar ha tuttavia trovato ampio impiego nella determinazione della resistenza di gonococchi e altri microrganismi alle sulfonamidi. ed è attualmente raccomandato come il terreno da usare nei test di sensibilità agli antibiotici.<sup>2-3</sup>

Il brodo Mueller Hinton, non corretto, ha una formula simile a quella del terreno solido, ma è privo di agar ed è destinato a essere usato quando è preferibile un terreno liquido. Può essere usato per la coltivazione generale di batteri.

**VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA**

L'idrolisato acido di caseina e l'estratto di carne bovina forniscono aminoacidi e altre sostanze azotate, minerali, alcune vitamine e altri composti nutritivi per supportare la crescita dei microrganismi. L'amido funge da colloidale protettivo contro le sostanze tossiche eventualmente presenti nel terreno. L'idrolisi dell'amido durante l'autoclavaggio fornisce una piccola quantità di destrosio, fonte di energia.

**VII REAGENTI****BBL Mueller Hinton Broth**

Formula approssimata\* per litro di acqua purificata

Idrolisato acido di caseina .....	17,5 g
Estratto di carne bovina .....	3,0 g
Amido .....	1,5 g

\*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

**Avvertenze e precauzioni:** Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con cautela le provette e i flaconi con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Durante tutte le procedure, attenersi alle tecniche asettiche e alle precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso e prima dell'eliminazione, sterilizzare in autoclave le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

**Modalità di conservazione:** Al ricevimento, conservare le provette e i flaconi al buio a  $2 - 25^\circ\text{C}$ . Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta e in flacone conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

**Deterioramento del prodotto:** Non usare le provette o i flaconi se presentano evidenze di contaminazione microbica, evaporazione, precipitazione o altri segni di deterioramento.

#### VIII RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Questo terreno non è adatto a essere usato direttamente con campioni clinici o altri materiali contenenti flora microbica mista, salvo se usato come terreno di arricchimento di "backup" in aggiunta al terreno di isolamento. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione appropriata.<sup>4-6</sup>

#### IX PROCEDURA

**Materiale fornito:** Mueller Hinton Broth

**Materiali necessari ma non forniti:** Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

**Procedura del test:** Durante tutte le procedure, attenersi alle tecniche asettiche e alle precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici.

I microrganismi da porre in subcoltura devono essere prima isolati in coltura pura in un terreno solido appropriato. Trasferire la crescita dal terreno di isolamento nel brodo Mueller Hinton usando tecniche standard di batteriologia.<sup>5-7</sup>

Ai fini dell'arricchimento, inoculare il campione nei terreni primari e quindi nel brodo in conformità alle procedure raccomandate.

Incubare le provette e i flaconi a 35 °C in condizioni appropriate per il microrganismo in coltura.

**Controllo di qualità a cura dell'utente:** Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

#### X RISULTATI

La crescita nel brodo è indicata dalla presenza di torbidità rispetto al controllo non inoculato.

#### XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I brodi di arricchimento non devono essere usati come unico terreno di isolamento. Essi vanno usati insieme a terreni in piastra selettivi e non selettivi per aumentare le probabilità di isolamento di patogeni, soprattutto quando sono presenti in numero limitato.

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione appropriata.<sup>4-7</sup>

#### XII CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Mueller Hinton Broth. Campioni rappresentativi del lotto vengono testati con sospensioni cellulari di *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, diluite in soluzione fisiologica in modo da contenere 10<sup>3</sup> – 10<sup>4</sup> UFC per provetta di brodo. Le provette vengono incubate con i tappi non completamente avvitati, per la durata di un giorno a 35 ± 2 °C in aerobiosi. Con i tutti i microrganismi si osserva crescita.

#### XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
296164	BBL Mueller Hinton Broth, 2 mL, conf. da 100 provette di misura K

#### XIV BIBLIOGRAFIA

1. Mueller, J.H., and J. Hinton. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330-333.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Approved standard M7-A8. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 8th ed. CLSI, Wayne, Pa.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Approved standard M2-A10. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 10th ed. CLSI, Wayne, Pa.
4. Washington, J.A. (ed.). 1985. Laboratory procedures in clinical microbiology, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.



 Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, MD 21152 USA  
800-638-8663  
[www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds)

 Benex Limited  
Rineanna House  
Shannon Free Zone  
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.  
BD, BD Logo, BBL, and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2012 BD.