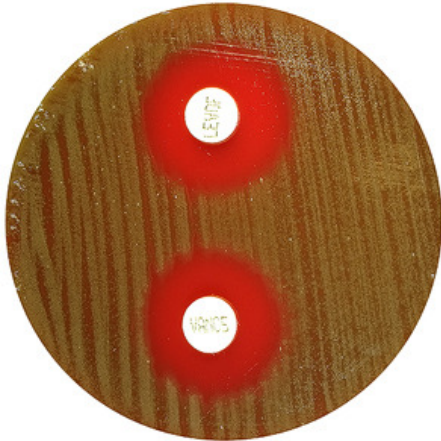




MUELLER HINTON AGAR BLOOD SHEEP

Piastre pronte



MHA Blood Sheep: antibiogramma di *S.pneumoniae* con tavolette di levofloxacina e vancomicina

DESTINAZIONE D'USO

Terreno per l'esecuzione del test di sensibilità agli antibiotici con il metodo dell'agar diffusione su ceppi isolati da materiali clinici. Indicato per batteri a crescita "fastidiosa" (es. *Streptococcus* spp.).

FORMULA TIPICA*

Estratto di carne	2,0 g
Digerito acido di caseina	17,5 g
Amido solubile	1,5 g
Agar	17,0 g
Sangue defibrinato di montone	50 ml
Acqua purificata	1000 ml

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il test di sensibilità con il metodo dell'agar diffusione, con dischi di carta impregnati di agenti antimicrobici è stato descritto da Bauer e Kirby. Ericsson e Sherris prima, l'NCCLS (divenuto CLSI) poi, hanno sviluppato un programma di standardizzazione della metodica, dell'applicabilità a diverse tipologie microbiche, del controllo qualità e di lettura ed interpretazione dei risultati. Più di recente è stato implementato un sistema di standardizzazione europeo (EUCAST). Mueller Hinton Agar Blood Sheep è il terreno indicato da CLSI, per l'esecuzione del test di sensibilità agli agenti antimicrobici con il metodo dell'agar-diffusione con dischetti contenenti antibiotici su ceppi d'isolamento clinico a crescita "fastidiosa": *Streptococcus* spp. (incluso *S.pneumoniae*),

CARATTERISTICHE DEL TERRENO IN PIASTRA

Aspetto: terreno opaco, color rosso sangue.
pH finale a 25 °C: 7,3 ± 0,1

MATERIALI FORNITI

Piastre pronte all'uso di Mueller Hinton Agar Blood Sheep.

MATERIALI NON FORNITI

Anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori, dischi o tavolette impregnati di antibiotici, standard McFarland 0,5, materiali per la generazione dell'atmosfera di incubazione controllata, termostato e strumentazione di laboratorio.

CAMPIONI

Mueller Hinton Agar Blood Sheep non è destinato all'isolamento microbico da campioni clinici. Il terreno deve essere seminato con ceppi microbici d'isolamento clinico in coltura pura.

PROCEDURA DELL'ANALISI

- Portare le piastre a temperatura ambiente ed assicurarsi che siano ben asciutte.
- Per mezzo di un'ansa o di un tampone prelevare diverse colonie con la medesima morfologia da una coltura di 18-24 ore su terreno non selettivo.
- Sospendere le colonie in soluzione fisiologica sterile fino ad ottenere una opacità simile a quello dello Standard McFarland 0,5 (per *S.pneumoniae* da agar cioccolato preparare un'inoculo pari a McFarland 1). Se è il caso aggiungere più colonie o aggiungere soluzione fisiologica. Questa sospensione deve essere usata entro 60 minuti dalla preparazione.
- Immergere un tampone di cotone nella sospensione. Spremere il tampone sulle pareti della provetta per evitare un eccesso di inoculo.
- Con il tampone di cotone inoculare la piastra di Mueller Hinton Agar Blood Sheep facendo uso di un inoculatore rotante automatico o strisciando manualmente su tutta la superficie del terreno avendo cura di verificare che non vi siano zone della piastra prive di inoculo.



- Entro 15 minuti dalla semina delle piastre posizionare i dischi con antibiotici. Prima della apertura delle cartucce contenenti i dischi lasciare che raggiungano la temperatura ambiente. Premere leggermente i dischi in modo che aderiscano bene alla superficie del terreno; una volta depositi sulla piastra non spostarli per nessuna ragione. Normalmente il numero di dischi che devono essere impiegati sulla piastra da 90 mm sono 4-6 e 9-12 su piastre da 150 mm. Evitare di posizionare un numero eccessivo di dischi per non incorrere in problemi di lettura degli aloni di inibizione.
- Entro 15 minuti dalla deposizione dei dischi, capovolgere le piastre, assicurandosi che non vi sia caduta dei dischetti di carta, e trasferire in termostato.
- Incubare a 35 ± 1 °C in CO₂ 4-6% per 18-24 ore.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione, osservare la crescita sulla superficie della piastra: essa deve essere uniforme senza aree di interruzione, senza colonie isolate ed i bordi degli aloni di inibizione non devono essere frastagliati. Nel caso la crescita non risultasse confluyente ed omogenea ed i bordi degli aloni frastagliati, il test deve essere ripetuto.

Controllare che gli aloni sui ceppi del controllo qualità siano entro i limiti delle specifiche.

Rimuovere il coperchio della piastra e misurare gli aloni di inibizione, tenendo conto del punto di completa inibizione della crescita, con le piastre a circa 30 cm dagli occhi e illuminando le piastre con luce riflessa.

Per gli streptococchi beta emolitici leggere il punto di interruzione della crescita e non quello dell'emolisi.

Per specifiche istruzioni di lettura delle piastre si rimanda al documento CLSI corrente.

Interpretare la misura degli aloni per la categorizzazione del ceppo in Sensibile/Intermedio/Resistente facendo uso delle tabelle riportate sul documento CLSI in edizione corrente.

CONTROLLO QUALITÀ

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio.

CLSI indica quale ceppo di controllo *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Si rimanda al documento CLSI M2 per le tabelle con le specifiche degli aloni di inibizioni.

LIMITI DEL METODO

- Fare riferimento all'edizione ultima/corrente dello Standard CLSI per l'applicabilità alle specie di batteri "fastidious", delle piastre di Mueller Hinton Agar con il 5% di sangue defibrinato di montone, per i dettagli operativi, per la scelta degli antibiotici, ed i criteri interpretativi degli aloni di inibizione.
- L'ottenimento di risultati accurati nel test di sensibilità per agar diffusione dipende dalla qualità del terreno di coltura e dalla qualità dei dischi con antibiotici. E' responsabilità dell'utilizzatore implementare un piano per il controllo qualità dei dischi con antibiotici.
- In letteratura vi sono diverse evidenze sull'effetto che hanno l'inoculo, l'eccessiva umidità delle piastre, lo spessore dell'agar, il pH, sui risultati del test di sensibilità. E' opportuno che l'utilizzatore abbia in essere un piano per il controllo dei fattori che influenzano la qualità del test.
- Nonostante la presenza di sangue animale, alcuni ceppi a crescita "fastidiosa" possono non crescere o crescere stentatamente sul terreno.
- Il terreno in piastra qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- Il prodotto qui descritto contiene sangue animale. Anche se esso è raccolto in ambiente controllato, da animali sani e con la supervisione veterinaria, è comunque consigliabile maneggiare le piastre con le precauzioni adeguate, considerandole come potenzialmente infettive.
- Il prodotto qui descritto contiene peptoni di origine animale. Scaricare da sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.
- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata e nei limiti di specifiche definite.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire i rifiuti in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare le piastre con l'imballaggio deteriorato. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, colore alterato)
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.



Biolife

Scheda tecnica - foglio istruzioni

N°ST-541743.doc rev 21 2017/07/17 pag. 3 di 3

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

BIBLIOGRAFIA

- Bauer, A.W.; Kirby, W.M.M.; Sherris, K.C. & Truck, M. (1966), Amer. Clin. Path, 45, 493-496.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Approved Standard: M2. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI, Wayne, PA, USA. Consultare l'ultima versione disponibile su www.clsi.org
- Ericsson H.M. and J.C. Sherris (1971) - Antibiotic Sensitivity Testing Report of an International collaborative Study - Acta Path. Microbiol - Second Su. N° 217.

CONFEZIONI

541743 Mueller Hinton Agar Blood Sheep,
2 x 10 piastre ø 90 mm, confezionate in film plastico / scatola di cartone
CODICE CND: W0104010403 – RDM: 1444957/R

501743P Mueller Hinton Agar Blood Sheep,
5 piastre ø 150 mm, confezionate in film plastico
CODICE CND: W0104010403– RDM: 1458978/R



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.