



Mueller Hinton Chocolate Agar

Medium for isolation and cultivation of fastidious bacteria.

INTENDED USE

Mueller Hinton Chocolate Agar is a plated medium used for the isolation and cultivation of fastidious organisms, particularly *Neisseria gonorrhoeae* and *Haemophilus influenzae*, from clinical specimens.

This medium can also be used for antimicrobial susceptibility testing (AST) of *N. gonorrhoeae* with the MTS™ (MIC Test Strip) method.

DESCRIPTION

MH Chocolate Agar supports satisfactory growth of fastidious strains belonging to the genera *Neisseria* and *Haemophilus*. It is reliable for AST of gonococci using the MTS™ gradient test.

TYPICAL FORMULA* (Per Litre of Purified Water)

Tryptone	11.0 g	Cyanocobalamin	0.001 g
Peptone	3.0 g	L-Cystine-HCl	0.02 g
Sodium Chloride	3.0 g	L-Tryptophan	0.02 g
Glucose	2.0 g	Pyridoxine	0.003 g
Starch	1.0 g	D-Pantothenic Acid	0.003 g
Sodium Phosphate Bibasic	2.0 g	NAD	0.003 g
Sodium Acetate	1.0 g	Biotin	0.0003 g
Magnesium Glycerophosphate	0.2 g	Thiamine	0.00004 g
Calcium Gluconate	0.1 g	Adenine	0.01 g
Cobalt Sulphate	0.001 g	Guanine	0.01 g
Copper Sulphate	0.001 g	Xanthine	0.01 g
Zinc Sulphate	0.001 g	Uracil	0.01 g
Ferric Sulphate	0.001 g	Agar	15.0 g
Manganese Chloride	0.002 g	Defibrinated Horse Blood	50.0 ml
Menadione	0.002 g	Vitalex Growth Supplement	10.0 ml
Final pH 7.4 ± 0.2 at 25°C			

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

The medium consists of a nutritive base enriched with several growth factors. The cultivation of *Haemophilus influenzae* and *parainfluenzae* is ensured by NAD which is an essential coenzyme in the respiratory chain of many fastidious microorganisms. *Neisseria gonorrhoeae* requires L-glutamine, which is present in Vitalex growth supplement. Adenine and guanine are used for nucleic acids synthesis. Cyanocobalamin, thiamine, cocarboxylase and p-aminobenzoic acid are used for the synthesis of enzymes and coenzymes. The content of p-aminobenzoic acid, which is present in Vitalex growth supplement, is reduced to a minimum in order to reduce the inactivation of sulphonamides and trimethoprim when the medium is used for susceptibility testing of bacteria to these antimicrobics. L-cysteine is a source of organic sulphur and allows the regulation of the redox potential of the medium. Glucose is a source of energy. Horse defibrinated blood is a further growth factor for fastidious microorganisms. Agar is the solidifying agent.

TEST PROCEDURE

For isolation of fastidious organisms, streak the specimen directly onto the agar surface immediately after reception in the laboratory. Incubate plates in an inverted position at 36 ± 1°C for 24-48 hours in an aerobic atmosphere enriched with 5% carbon dioxide (*). It is recommended to inoculate specimens also onto appropriate selective media.

For routine AST of *N. gonorrhoeae*, MH Chocolate must be inoculated with adjusted bacterial suspensions obtained by pure culture on a Petri plate. Then, the strips are applied to the agar surface and plates are incubated at 36 ± 1°C for 16-20 hours in air with 5% CO₂ (*). For more details, please refer to current instructions for use and additional technical sheets available for MTS™.

***Note:** Incubation conditions (i.e. temperature, time and atmosphere) may vary depending on the specific requirements of the organism being tested.

INTERPRETING RESULTS

At the end of the incubation period, observe the microbial growth. Identification of the microorganisms isolated must be followed by appropriate additional tests.

Refer to appropriate instructions for the MTS™ susceptibility testing.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

Avoid quick temperature shifts to prevent condensation.

SHELF LIFE

4 months.

QUALITY CONTROL

Appearance of Medium: Opalescent, brown.

Expected Cultural Response:

Control strain		Inoculum	Incubation	Specification
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 10211	50-100 CFU	18-24 36 ± 1°C 5% CO ₂	Good growth
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 43069			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 49226			
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 13090			

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

LIMITATIONS

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium.

In vitro susceptibility of an organism to a specific antimicrobial agent does not necessarily mean that the agent will be effective *in vivo*. Consult appropriate references for guidance in the interpretation of results.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in-vitro* diagnostic use. For professional use only. Operators must be trained and have certain experience in the laboratory methods. Please read the instructions carefully before using this product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.

Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

Product	Format	Packaging	Ref.
Mueller Hinton Chocolate Agar	Plate 90 mm	20 (2 x 10) plates	10335

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

liofilchem.com/ifu-sds



Mueller Hinton Chocolate Agar

Terreno per l'isolamento e la coltivazione di batteri esigenti.

Istruzioni per l'uso

ITALIANO

USO PREVISTO

Mueller Hinton Chocolate Agar è un terreno in piastra per l'isolamento e la coltivazione di batteri esigenti, in particolare *Neisseria gonorrhoeae* e *Haemophilus influenzae*, da campioni clinici.

Questo terreno può essere anche utilizzato per i test di sensibilità (AST) di *N. gonorrhoeae* con il metodo MTS™ (MIC Test Strip).

DESCRIZIONE

MH Chocolate Agar supporta una crescita soddisfacente di ceppi esigenti appartenenti ai generi *Neisseria* e *Haemophilus*. È affidabile per l'AST dei gonococchi utilizzando i test a gradiente MTS™.

FORMULA TIPICA* (Per Litro di Acqua Purificata)

Triptone	11.0 g	Cianocobalamina	0.001 g
Peptone	3.0 g	L-Cisteina-HCl	0.02 g
Sodio Cloruro	3.0 g	L-Triptofano	0.02 g
Glucosio	2.0 g	Piridossina	0.003 g
Amido	1.0 g	Acido D-Pantotenico	0.003 g
Sodio Fosfato Bibasico	2.0 g	NAD	0.003 g
Sodio Acetato	1.0 g	Biotina	0.0003 g
Magnesio Glicerofosfato	0.2 g	Tiamina	0.00004 g
Calcio Gluconato	0.1 g	Adenina	0.01g
Cobalto Solfato	0.001 g	Guanina	0.01g
Rame Solfato	0.001 g	Xantina	0.01g
Zinco Solfato	0.001 g	Uracile	0.01g
Ferro Solfato	0.001 g	Agar	15.0 g
Manganese Cloruro	0.002 g	Sangue Defibrinato di Cavallo	50.0 ml
Menadione	0.002 g	Vitalex Growth Supplement	10.0 ml
pH finale 7.4 ± 0.2 a 25°C			

*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno consiste di una base nutritiva arricchita con molti fattori di crescita. La coltivazione di *Haemophilus influenzae* e *parainfluenzae* è assicurata dal NAD, un coenzima essenziale nella catena respiratoria di molti microrganismi esigenti. *Neisseria gonorrhoeae* richiede L-Glutammina che è contenuta nel Vitalex growth supplement. Adenina e guanina sono utilizzate per la sintesi degli acidi nucleici. Cianocobalamina, tiamina, cocarbossilasi ed acido p-amminobenzoico sono utilizzati per la sintesi di enzimi e coenzimi. Il contenuto di acido p-amminobenzoico, presente nel Vitalex growth supplement, è ridotto al minimo al fine di ridurre l'inattivazione di sulfonammidi e Trimetoprim quando il terreno è utilizzato per il test di sensibilità dei batteri a questi antibiotici. La L-Cisteina è una fonte di zolfo organico e permette la regolazione del potenziale di ossidoriduzione del terreno. Il glucosio è una fonte di energia. Il sangue defibrinato di cavallo costituisce un'ulteriore fonte di fattori nutritivi per i microrganismi esigenti.

PROCEDURA DEL TEST

Per l'isolamento di microrganismi esigenti, strisciare il campione direttamente sulla superficie dell'agar subito dopo la ricezione in laboratorio. Incubare le piastre in posizione capovolta a 36 ± 1°C per 24-48 ore in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica al 5% (*). Si raccomanda di inoculare i campioni anche su terreni selettivi appropriati.

Per l'AST di routine di *N. gonorrhoeae*, MH Chocolate deve essere inoculato con sospensioni batteriche calibrate, ottenute mediante coltura pura su piastra Petri. Quindi, le strisce a gradiente MTS™ vengono applicate sulla superficie dell'agar e le piastre vengono incubate a 36 ± 1°C per 16-20 ore in aria con 5% di CO₂ (*). Per maggiori dettagli, fare riferimento alle istruzioni per l'uso e alle schede tecniche aggiuntive disponibili per MTS™.

***Nota:** Le condizioni di incubazione (ovvero temperatura, tempo e atmosfera) possono variare a seconda dei requisiti specifici del microrganismo da testare.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine del periodo di incubazione, osservare la crescita microbica. L'identificazione dei microrganismi isolati deve essere seguita da appropriati test aggiuntivi.

Fare riferimento alle istruzioni appropriate per il test di sensibilità MTS™.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

Evitare rapidi cambiamenti di temperatura per prevenire la formazione di condensa.

VALIDITÀ

4 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Aspetto del Terreno: Marrone, opalescente.

Risultati Attesi dei Test Microbiologici:

Ceppo di controllo		Inoculo	Incubazione	Specifiche
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 10211	50-100 UFC	18-24 36 ± 1°C 5% CO ₂	Crescita buona
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 43069			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 49226			
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 13090			

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

LIMITAZIONI

A causa della variazione nutrizionale, alcuni ceppi possono mostrare una crescita scarsa o non crescere affatto su questo terreno.

La suscettibilità *in vitro* di un microrganismo a uno specifico agente antimicrobico non significa necessariamente che l'agente sarà efficace *in vivo*. Consultare i riferimenti appropriati per una guida nell'interpretazione dei risultati.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*. Esclusivamente per uso professionale. Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza nei metodi di laboratorio. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare questo prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita se ci sono deviazioni dalle istruzioni riportate in questo documento.

Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle modalità di manipolazione sicure.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Prodotto	Formato	Confezionamento	Ref.
Mueller Hinton Chocolate Agar	Piastra 90 mm	20 (2 x 10) piastre	10335











Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

References

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI document M02. CLSI, Wayne, PA, USA. *Search for latest version at www.clsi.org*
2. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, and Tenover RH (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Ericsson HM, and Sherris JC. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl. 217.
4. Barry AL, Garcia F, and Thrupp LD. 1970. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. Am. J. Clin. Pathol. 53: 149-158.
5. Ryan KJ, Schoenknecht FD, and Kirby WMM. 1970. Disc sensitivity testing. Hospital Practice 5:91-100.
6. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, and Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496.
7. Mueller JH, and Hinton J. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48: 330-333.

Table of Symbols

	Batch code
	Catalogue number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Use by
	Fragile, handle with care
	Temperature limitation
	Contains sufficient for <n> tests
	Consult Instruction For Use
	Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

