



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I. INTRODUCCION

Nutrient Agar (agar nutriente) es un medio de uso general para el cultivo de una amplia variedad de organismos bacterianos.

II. REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Licuar Nutrient Agar en tubos de tamaño A, calentándolo en agua hirviendo. Enfriar a 45 – 50 °C, volcar en placas de Petri y dejar solidificar durante al menos 30 minutos.
2. Extender en las placas 0,01 mL de asas calibradas para obtener colonias aisladas. Para los agares inclinados en tubos, inocular las superficies de agar con un asa llena de inóculo. Utilizar diluciones de 10⁻¹ de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18 – 24 h de los organismos enumerados a continuación.
3. Incubar las placas o los tubos en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C. Es necesario aflojar las tapas de los tubos con medios.
4. Examinar las placas o tubos después de 18 – 24 h para determinar la cantidad de crecimiento.

5. Resultados previstos

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Crecimiento entre moderado y denso, pigmentación de color verde
* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crecimiento de moderado a denso
* <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento de moderado a denso, colonias de color beige a dorado

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III. CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección “Deterioro del producto”.
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV. USO PREVISTO

Nutrient Agar se utiliza para el cultivo de bacterias y para el recuento de organismos en agua, alcantarillado, heces y otros materiales.

V. RESUMEN Y EXPLICACION

A principios del siglo XX, la American Public Health Association publicó la fórmula para un medio de uso general para el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos no exigentes¹. Esto era en reconocimiento de la necesidad de un medio estandarizado para uso en el examen de agua, aguas residuales, productos lácteos y diversos alimentos. Esta fórmula relativamente sencilla se siguió utilizando con el paso del tiempo y todavía se especifica con el nombre de Nutrient Agar en compendios actuales de métodos de examen microbiológico para una amplia variedad de materiales²⁻⁵. Además, se utiliza en el laboratorio para el cultivo y mantenimiento de especies no exigentes.

VI. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Nutrient Agar está formado por peptona, extracto de carne bovina y agar. Esta fórmula relativamente sencilla proporciona los nutrientes necesarios para la multiplicación de un amplio número de microorganismos que no son necesariamente exigentes. El extracto de carne bovina contiene sustancias solubles en agua incluidos los carbohidratos, vitaminas, compuestos de nitrógeno orgánicos y sales. Las peptonas son la fuente principal de nitrógeno orgánico, en particular aminoácidos y péptidos de cadena larga. El agar es el agente solidificante.

VII. REACTIVOS

Nutrient Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de gelatina 5,0 g

Extracto de carne bovina 3,0 g

Agar 15,0 g

* Ajustada y/o suplementada según requisitos para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Reducir al mínimo la exposición a la luz.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consulte los textos correspondientes^{6,7}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX. PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Nutrient Agar

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Licuar el agar contenido en tubos de tamaño A, enfriar a 45 – 50 °C y verter en placas de Petri.

Dejar que solidifique durante al menos 30 minutos. Extender la muestra tan pronto como sea posible después de recibirla en el laboratorio. La placa para extender las muestras se utiliza principalmente para aislar cultivos puros de las muestras con flora mixta. Si, por el contrario, el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego a partir de esta área inoculada. Incubar las placas a 35 ± 2 °C durante 18 – 24 h y 42 – 48 h, si fuera necesario.

Los agares inclinados en tubos se utilizan principalmente para el cultivo y mantenimiento de cultivos puros. Deben ser inoculados con un asa de inoculación e incubados en las mismas condiciones que el medio en placas.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X. RESULTADOS

Después de la incubación, la mayoría de las placas mostrarán un área de crecimiento confluyente. Dado que el procedimiento de extensión de la muestra es, de hecho, una técnica de “dilución”, se depositan cada vez menos microorganismos en las áreas en que se realiza. Por consiguiente, una o más de estas áreas presentarán colonias aisladas de los organismos que contenga la muestra. Por otra parte, el crecimiento de cada microorganismo podrá medirse semi-cuantitativamente basándose en el crecimiento ocurrido dentro de las áreas en que se realiza la extensión.

El crecimiento a partir de tubos inoculados con cultivos puros puede utilizarse para pruebas bioquímicas y/o serológicas.

XI. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{6,8}.

XII. CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de agares inclinados y tubos de Nutrient Agar se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Mediante un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan mediante extensión muestras representativas del lote con cultivos de caldo de soja **Trypticase** diluidos a 10^{-1} de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Los tubos inoculados se incuban a 35 ± 2 °C con las tapas flojas. Se efectúa la lectura de los recipientes para determinar el crecimiento y la pigmentación después de 18 – 24 h de incubación. Todos los cultivos muestran crecimiento de moderado a denso; las colonias de *P. aeruginosa* muestran pigmentación de color verde; las colonias de *S. aureus* presentan un color de crema a dorado.

XIII. DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

220971 **BD BBL** Nutrient Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño K

298235 **BD BBL** Nutrient Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño D

220968 **BD BBL** Nutrient Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño A

XIV. REFERENCIAS

1. American Public Health Association. 1917. Standard methods of water analysis, 3rd ed. American Public Health Association, New York.
2. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
3. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
4. Horwitz, W. (ed.). 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed, vol.1. AOAC International, Gaithersburg, MD.
5. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. 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.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.