



PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Nutrient Agar è un supporto generico per la coltivazione di un'ampia varietà di organismi batterici.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Sciogliere Nutrient Agar in provette A riscaldando in acqua bollente. Raffreddare fino a 45 – 50 °C e versare in piastre di Petri e far solidificare per almeno 30 min.
2. Strisciare le piastre con prese d'ansa calibrate da 0,01 mL per ottenere colonie di isolati. Per colture batteriche in provetta, inoculare le superfici dell'agar con un'aliquota di inoculo. Utilizzare diluizioni a 10^{-1} di colture di **Trypticase** Soy Broth da 18 – 24 h degli organismi menzionati sotto.
3. Incubare le piastre o le provette in atmosfera aerobica a 35 ± 2 °C. Sui supporti in provetta è necessario non serrare completamente i tappi.
4. Esaminare l'aliquota di crescita nelle piastre o nelle provette dopo 18 – 24 h.
5. Risultati attesi

Pseudomonas aeruginosa Crescita da moderata a sostenuta, verde
ATCC 10145 pigmentazione

**Shigella flexneri* Crescita da moderata a sostenuta
ATCC 12022

**Staphylococcus aureus* Crescita da moderata a sostenuta, crema
ATCC 25923 alle colonie dorate

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

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Nutrient Agar viene utilizzato per la coltivazione di batteri e per la conta degli organismi presenti in acqua, scarichi fognari, feci ed altri materiali.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

All'inizio del 20° secolo, l'American Public Health Association pubblicò la formula di un supporto generico per la crescita di un'ampia varietà di microrganismi non esigenti.¹ Ciò rappresentava il riconoscimento della necessità di un supporto standard da utilizzare negli esami dell'acqua e dell'acqua di scarico, prodotti caseari e vari alimenti. Questa formula relativamente semplice ha resistito alla prova del tempo, e assumendo la nomenclatura di Agar nutriente, viene ancora specificata nei compendi attuali sui metodi di indagine microbiologica di un vasto spettro di materiali.²⁻⁵ Inoltre, viene utilizzata in laboratorio per la coltivazione ed il mantenimento di specie non esigenti.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'Agar nutriente consiste di peptone, estratto di carne bovina e agar. Questa formula relativamente semplice offre i principi nutritivi necessari per la formazione di repliche di un gran numero di microrganismi non eccessivamente nocivi. La carne bovina contiene sostanze solubili in acqua tra cui carboidrati, vitamine, composti nitrogeni organici e sali. I peptoni sono le principali sorgenti di nitrogeno organico, in particolare gli amminoacidi e i peptidi a catena lunga. L'agar è l'agente solidificante.

VII REAGENTI

Nutrient Agar

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di gelatina	5,0	g
Estratto di carne bovina	3,0	g
Agar	15,0	g

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

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

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 25 °C. Evitare di congelare e surriscaldare. Aprire soltanto al momento dell'uso. I terreni in provetta 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. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.

Deterioramento del prodotto

Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni specifiche, consultare la documentazione appropriata.^{6,7} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

Nutrient Agar

Materiali necessari ma non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test

Adottare tecniche asettiche.

Sciogliere l'agar contenuto nelle provette A, raffreddare a 45 – 50 °C e versare nelle piastre di Petri. Far solidificare per almeno 30 min. Strisciare il campione non appena possibile dopo il ricevimento in laboratorio. La piastra di striscio viene utilizzata principalmente per isolare colture pure da campioni contenenti diverse varietà di flora. In alternativa, se il materiale viene coltivato direttamente da tampone, passare il tampone su una piccola area della superficie alla sommità; poi strisciare da quest'area inoculata. Incubare le piastre a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h e 42 – 48 h, se necessario.

Le colture in provetta vengono utilizzate principalmente per la coltivazione ed il mantenimento di colture pure. È necessario inocularle con un'ansa da inoculazione ed incubarle nelle medesime condizioni del supporto su piastra.

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 in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

X RISULTATI

Dopo l'incubazione, molte piastre mostreranno un'area di crescita confluyente. Dato che la procedura dello striscio non è altro che una tecnica di "diluizione", sulle aree strisciate viene depositato un numero decrescente di microrganismi. Di conseguenza, una o più di queste aree mostrerà colonie isolate degli organismi contenuti nel campione. Inoltre, la crescita di ogni organismo può essere valutata in modo semi-quantitativo sulla base della crescita in ogni area strisciata.

La crescita da provette inoculate con colture pure può essere utilizzata per test biochimici e/o sierologici.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

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 informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.⁶⁻⁸

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di slant Nutrient Agar. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati con uno striscio di colture in **Trypticase** Soy Broth di *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022), e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) diluiti 10⁻¹. I contenitori inoculati vengono incubati a 35 ± 2 °C con i tappi non completamente avvitati. I risultati di crescita e di pigmentazione nei contenitori vengono letti dopo un'incubazione di 18 – 24 h. Tutte le colture mostrano una crescita da moderata a sostenuta; le colonie di *P. aeruginosa* mostrano una pigmentazione verde; le colonie di *S. aureus* sono color crema-dorate.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

220971	BD BBL Nutrient Agar Slants, scatola da 100 provette di misura K
298235	BD BBL Nutrient Agar Slants, scatola da 100 provette di misura D
220968	BD BBL Nutrient Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, confezione da 10 provette di misura A

XIV RIFERIMENTI

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.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito 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.