

**ISTRUZIONI PER L'USO****NUTRIENT AGAR**

Terreno di coltura in polvere

*Salmonella Typhimurium* su Nutrient Agar**1 - DESTINAZIONE D'USO**

Diagnostico *in vitro*. Terreno di uso generale per la coltivazione, la subcultura e la purificazione di colonie di microrganismi non esigenti, isolati da campioni clinici e non.

2 - COMPOSIZIONE**FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)***

Estratto di carne	3 g
Peptone	5 g
Agar	15 g

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Nutrient Agar è un terreno a base di peptoni di carne utilizzato per la coltivazione dei microrganismi non particolarmente esigenti sotto il profilo delle richieste nutritive. I peptoni forniscono carbonio, azoto e vitamine sufficienti per la crescita della maggior parte dei microrganismi non esigenti (enterobatteri, stafilococchi). L'assenza di sodio cloruro limita il fenomeno della sciamatura dei protei. La formulazione del Nutrient Agar è conforme a quanto indicato da ISO 6579¹ ed ISO 10273². Il Nutrient Agar è stato tra i primi terreni utilizzati in microbiologia e tuttora può essere usato per l'esame delle acque, degli alimenti, per preparare colture stock, per la purificazione delle colonie, per la coltivazione preliminare di un campione da sottoporre a successivi esami batteriologici e sierologici, per l'isolamento dei microrganismi in coltura pura.

4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 23 g in 1000 mL di acqua purificata fredda; portare ad ebollizione sotto agitazione distribuire e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, biancastra
Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra	terreno limpido di colore giallo molto chiaro
pH finale a 25 °C	7,0 ± 0,2

6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Nutrient Agar	Terreno di coltura in polvere	4018102	500 g (21,7 L)
		4018104	5 kg (217 L)

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, incubatore, attrezzatura da laboratorio necessaria, anse sterili, tamponi, piastre di Petri, provette, beute, terreni di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

Generalmente il Nutrient Agar è utilizzato per la sub-coltura di microrganismi isolati su altri terreni di coltura e non si presta all'inoculo diretto dei campioni.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre o le provette a temperatura ambiente e attendere che la superficie dell'agar si asciughi.

Inoculare con l'ansa su quattro quadranti della piastra o sul becco di clarino del terreno in provetta, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate. Per attività di routine incubare in condizioni aerobiche a 35-37°C per 18-24 ore.

L'utilizzatore è comunque responsabile della scelta del tempo di incubazione, della temperatura e dell'atmosfera appropriata, a seconda del campione in esame, delle esigenze nutrizionali degli organismi da coltivare e dei protocolli operativi locali applicabili.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza di microrganismi è indicata dalla comparsa di colonie di varia morfologia e dimensione. Le caratteristiche delle crescite sono in stretto rapporto al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati

11 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È facoltà dell'utilizzatore finale eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità:

CEPPI DI CONTROLLO		INCUBAZIONE (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>S. Typhimurium</i>	ATCC 14028	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita
<i>E.coli</i>	ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita
<i>Y.enterocolitica</i>	ATCC 23715	29-31°C / 18-24H / A	buona crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection



**12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI**

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di terreno disidratato Nutrient Agar (test batch: TB), viene testato per la produttività confrontando i risultati con un Lotto di Riferimento precedentemente approvato (RB).

La produttività è testata con metodo quantitativo con i seguenti ceppi: *E.coli* ATCC 25922, *S.Typhimurium* ATCC 14028, *Y.enterocolitica* ATCC 23715. Le piastre vengono inoculate con appropriate diluizioni decimali in soluzione salina delle sospensioni delle colonie ed incubate a 35-37°C (*E.coli*, *S.Typhimurium*) ed a 29-31°C (*Y.enterocolitica*) per 18-24 ore. Le colonie sviluppate sulle piastre sono contate per entrambi i lotti ed è calcolato il rapporto di produttività ($Pr = \frac{UFC_{TB}}{UFC_{RB}}$). Se $Pr \geq 0,7$ i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche. La produttività del Nutrient Agar è altresì valutata con tecnica ecometrica semiquantitativa con i ceppi *S.aureus* ATCC 25923 ed *E.faecalis* ATCC 19433. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore viene valutata e registrata l'entità della crescita. I ceppi seminati mostrano una buona crescita, comparabile a quella ottenuta sul lotto di riferimento.

13 - LIMITI DEL METODO

- In microbiologia clinica, questo terreno di coltura ha lo scopo di aiutare la diagnosi di malattie infettive; l'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione e i risultati di altri test diagnostici.
- Si raccomanda di eseguire test biochimici, immunologici, molecolari o di spettrometria di massa sugli isolati, a partire da colture pure, per una completa identificazione. Se pertinente, eseguire test di suscettibilità antimicrobica.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Questo prodotto è un diagnostico *in vitro* qualitativo, solo per uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato, osservando le precauzioni approvate per il rischio biologico e le tecniche asettiche.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con una protezione adeguata. Prima dell'uso, consultare la Scheda di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli ante e post mortem degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime, non possono garantire completamente che questo prodotto non contenga alcun patogeno trasmissibile. Pertanto, si raccomanda di considerare il terreno di coltura come potenzialmente infettivo e di manipolarlo osservando le consuete precauzioni specifiche: non ingerire, non inalare e non permettere che venga a contatto con la pelle, gli occhi e le mucose. Scarica dal sito www.biolifeitaliana.it la Dichiarazione TSE, che descrive le misure messe in atto da Biolife Italiana per la riduzione del rischio legato alle malattie infettive degli animali.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di produzione dei terreni preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima dello smaltimento. Smaltire il terreno di coltura inutilizzato e le piastre inoculate con campioni o ceppi microbici in conformità alla legislazione locale vigente.
- Non utilizzare il terreno di coltura come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale di produzione destinato al consumo umano e animale.
- I certificati di analisi e la scheda di sicurezza sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*.
- Le informazioni fornite in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida per l'uso corretto del prodotto, ma senza alcun obbligo o responsabilità. In ogni caso, per l'esame di campioni raccolti da distretti organici umani e animali, per i campioni ambientali e per i prodotti destinati al consumo umano o animale, devono essere rispettate le leggi, le normative e le procedure standard locali vigenti. Le nostre informazioni non sollevano i nostri clienti dalla responsabilità di verificare l'idoneità del nostro prodotto per lo scopo previsto.

15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utente è responsabile dei processi di produzione e di controllo della qualità dei terreni di coltura preparati e della convalida della durata di conservazione dei prodotti finiti, a seconda del tipo (piastre/tubi/bottiglie) e del metodo di conservazione (temperatura e imballaggio).

Secondo MacFaddin, le piastre preparate possono essere conservate a +2°C /+8°C per un massimo di 6-8 settimane, mentre i terreni in provetta e in flacone possono essere conservati a +2°C /+8°C per un massimo di 6 mesi³.

16 - BIBLIOGRAFIA

- ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella -- Part 1: Detection of Salmonella spp.
- ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection of pathogenic Yersinia enterocolitica.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>In vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Proteggere dalla luce	Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	06/2020
Revisione 4	Modifiche a: "destinazione d'uso", "procedura dell'analisi", "precauzioni ed avvertenze", "conservazione e validità"	05/2022
Revisione 5	Aggiornamento dei capitoli 1, 13, 14, 15, 16	03/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

