

ISTRUZIONI PER L'USO

NUTRIENT AGAR

Piastre pronte all'uso

Salmonella Typhimurium su Nutrient Agar

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno d'uso generale per la coltivazione, la subcoltura e la purificazione delle colonie di microrganismi non esigenti, isolati da campioni clinici e non clinici.

2 - COMPOSIZIONE

Estratto di carne	3 g
Peptone	5 g
Agar	15 g
Acqua purificata	1000 mL

* 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 1027³. 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 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in piastra	terreno limpido di colore giallo molto chiaro
pH finale a 25 °C	7,0 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Nutrient Agar	Piastre pronte all'uso	541810	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio, anse e tamponi sterili da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

7 - CAMPIONI

Generalmente il terreno qui descritto è utilizzato per la sub-coltura di microrganismi isolati su altri terreni di coltura e non si presta all'inoculo diretto di campioni clinici o non clinici.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno. Inoculare con l'ansa su quattro quadranti della piastra, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate assicurandosi che la semina sul quarto quadrante non si sovrapponga a quella del primo. Per attività di routine incubare 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.

9 - 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

10 - 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 comunque facoltà dell'utilizzatore 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 (34-38° in acc. ISO 6579:2017) ³	buona crescita
<i>E.coli</i>	ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A (34-38° in acc. ISO 6579:2017) ³	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

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI




Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di Nutrient Agar e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Nutrient Agar REF 401810) (test batch: TB), vengono testati 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.

12 - LIMITI DEL METODO

- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura 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 di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, 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.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- 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, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. 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, rotture dell'agar, colore alterato).

15 - 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.
- ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Non riutilizzare	Fragile maneggiare con cura	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 5	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	10/2020
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 6	Rimozione della classificazione obsoleta	03/2023

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

