

NUTRIENT AGAR WITH NaCl

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di uso generale per la coltivazione, la subcoltura e la purificazione di colonie di un'ampia varietà di microrganismi non esigenti.

2 – COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA *

Estratto di carne	1,0 g
Estratto di lievito	2,0 g
Peptone	5,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Agar	15,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

In letteratura sono state proposte diverse formulazioni di Nutrient Agar. La rassegna di Atlas e Parks¹ ne elenca oltre 30. Biolife include 4 formulazioni nel suo portafoglio prodotti: la formulazione classica (Nutrient Agar REF 401810) con 3 g/L di estratto di manzo e 5 g/L di peptone di carne, Nutrient Agar No. 3 (REF 401814) in cui alla formulazione classica viene aggiunto NaCl 5 g/L, Nutrient Agar n°2 (REF 401813) che deriva dal Nutrient Broth n°2 integrato con 15 g/L di agar e contenente 10 g/L di estratto di manzo, 10 g/L di peptone di carne e 5 g/L di NaCl e infine Nutrient Agar w/NaCl (REF 401811). A seconda delle loro esigenze operative, gli utenti finali potranno scegliere la formulazione che ritengono più appropriata.

La formulazione di Nutrient Agar W/NaCl corrisponde al Nutrient Agar raccomandato dalla norma ISO 16266² per la subcoltura di colonie di sospetto *Pseudomonas aeruginosa* da sottoporre a test di conferma.

Questo terreno può essere arricchito con altri ingredienti come sangue, siero, zuccheri, ecc. per scopi specifici.

L'estratto di carne e il peptone forniscono nutrienti essenziali a base di azoto e carbonio e oligoelementi per la crescita della maggior parte dei microrganismi non esigenti. Il cloruro di sodio è una fonte di elettroliti, mantiene l'equilibrio osmotico e previene l'emolisi quando viene aggiunto il sangue; l'agar è l'agente solidificante.

4 - PREPARAZIONE

Sospendere 28 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Riscaldare fino all'ebollizione con agitazione frequente per dissolverlo completamente. Distribuire e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 – CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in soluzione e in piastra	giallo chiaro, limpido
pH finale (20-25 °C)	7,4 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Nutrient Agar W/NaCl	Terreno in polvere	4018112	500 g (17.8 L)
Nutrient Agar W/NaCl	Piastre pronte all'uso	541811	2 x 10 plates ø 90 mm

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, beute, piastre Petri sterili, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Generalmente Nutrient Agar W/NaCl viene utilizzato per la subcoltura di microrganismi isolati su altri terreni di coltura e non viene utilizzato per l'inoculazione diretta dei campioni.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Lasciare che le piastre o le provette arrivino a temperatura ambiente e che la superficie del terreno di coltura si asciughi. Inoculare e strisciare il campione con un'ansa sui quattro quadranti della piastra o sul terreno inclinato per ottenere colonie ben isolate. Incubare a 37°C in condizioni aerobiche per 24 ore. Utilizzare colture pure per i test di conferma biochimici e sierologici. L'utente è responsabile della scelta del tempo di incubazione, della temperatura e dell'atmosfera appropriati in base agli organismi da coltivare e ai protocolli 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 colonie sono strettamente correlate 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 comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	37°C / 24H / A	buona crescita
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	37°C / 24H / A	buona crescita

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





12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Nutrient Agar con NaCl disidratato e pronto all'uso viene sottoposto a test di produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata con una tecnica ecometrica semiquantitativa con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 10145, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 19433. La quantità di crescita viene valutata dopo incubazione a 37°C per 24 ore: tutti i ceppi mostrano una buona crescita.

Inoltre, la produttività è stata testata integrando il terreno con il 5% di sangue defibrinato di pecora con i seguenti ceppi: *S. pyogenes* ATCC 19615, *Streptococco* di gruppo B ATCC 12386, *Streptococco* di gruppo C ATCC 12388. Dopo incubazione a 37°C per 24 ore, i ceppi testati presentano una buona crescita con beta-emolisi.

13 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è 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.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. 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 in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza 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.
- Ogni piastra di questo terreno di coltura è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerarsi un "prodotto sterile" in quanto non sono soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto con biocontaminazione controllata, entro i limiti delle specifiche riportate sul Certificato di Controllo di Qualità.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente 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 della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- 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

Terreno disidratato

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'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento). Secondo la norma ISO 16266, le piastre preparate autonomamente possono essere conservate al buio, al riparo dall'essiccazione, a 2-8 °C, per un massimo di 1 mese.²

Piastre pronte

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Le piastre estratte dal sacchetto di plastica possono essere utilizzate entro 7 giorni. Eliminare se vi sono segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, disidratazione, restringimenti o screpolature del terreno, colore atipico, eccesso di condensa).

15 - BIBLIOGRAFIA

- Atlas R. Parks LC. Handbook of Microbiological Media. 2nd edition. CRC Press,1997.
- ISO 16266:2006 Water quality — Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* — Method by membrane filtration.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	Monouso	Fabbricante	Lato superiore	Proteggere dall'umidità
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Utilizzare entro	Fragile maneggiare con cura	Proteggere dalla luce diretta	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	03/2023

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

