



## PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

### I INTRODUÇÃO

O Nutrient Agar é um meio líquido de utilização geral para cultura de várias espécies de microrganismos bacterianos.

### II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Liquefaça o Nutrient Agar em tubos A, aquecendo-os em água a ferver. Arrefeça até 45 a 50°C e verta para placas de Petri; deixe repousar durante, pelo menos, 30 min.
2. Utilizando ansas calibradas de 0,01 mL, semeie as placas, fazendo riscas sobre o ágar de forma a obter colónias isoladas. Para os tubos com ágar inclinado, inocule a superfície do ágar com uma ansa cheia de inóculo. Utilize diluições de  $10^{-1}$  de culturas dos microrganismos listados abaixo em **Trypticase Soy Broth**, com 18 a 24 h.
3. Incube as placas ou os tubos numa atmosfera aeróbia a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Nos meios em tubo, as tampas devem estar desapertadas.
4. Examine os tubos após 18 a 24 h, verificando o nível de crescimento.
5. Resultados esperados

*Pseudomonas aeruginosa* ..... Crescimento moderado a intenso, pigmentação verde  
ATCC 10145

\**Shigella flexneri* ..... Crescimento moderado a intenso  
ATCC 12022

\**Staphylococcus aureus* ..... Crescimento moderado a intenso, colónias bege a douradas  
ATCC 25923

\*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

### III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

## INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

### IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Nutrient Agar (Ágar de nutrientes) é utilizado para cultura de bactérias e para contagem de microrganismos na água, esgotos, fezes e outros materiais.

### V RESUMO E EXPLICAÇÃO

No início do século XX, a *American Public Health Association* (Associação Americana de Saúde Pública) publicou a fórmula para um meio de utilização geral para cultura de uma larga variedade de microrganismos não exigentes.<sup>1</sup> Tal ocorreu em reconhecimento da necessidade de um meio padronizado para análise da água e esgotos, produtos lácteos e vários alimentos. Esta formulação relativamente simples superou o teste do tempo e, sob o nome de Nutrient Agar, continua ainda a ser especificada nos compêndios actuais dos métodos para análise microbiológica de um largo espectro de produtos.<sup>2-5</sup> Além disso, é utilizada em laboratórios para cultura e manutenção de espécies não exigentes.

### VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Nutrient Agar é constituído por peptona, extracto de carne e ágar. Esta formulação relativamente simples fornece os nutrientes necessários para a replicação de um grande número de microrganismos que não sejam excessivamente exigentes. O extracto de carne contém substâncias solúveis em água, incluindo hidratos de carbono, vitaminas, compostos orgânicos de nitrogénio e sais. As peptonas são a

principal fonte de nitrogénio orgânico, especialmente de aminoácidos e de péptidos de cadeia longa. O ágar é o agente de solidificação.

## VII REAGENTES

### Nutrient Agar

Fórmula\* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de gelatina.....	5,0	g
Extracto de carne.....	3,0	g
Ágar.....	15,0	g

\*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

### Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Utilizar técnicas assépticas e cumprir as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos em todos os procedimentos. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

### Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 25°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Minimizar a exposição à luz.

### Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

## VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.<sup>6,7</sup> As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

## IX PROCEDIMENTO

### Material fornecido

Nutrient Agar

### Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

### Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Liquefaça o ágar contido nos tubos A, arrefeça até 45 a 50°C e verta para placas de Petri. Deixe solidificar durante, pelo menos, 30 min. Semeie a amostra, fazendo riscas sobre o ágar, o mais rapidamente possível após a recepção no laboratório. Esta placa é utilizada principalmente para isolar culturas puras de amostras que contenham flora mista. Em alternativa, se o material for cultivado directamente a partir de uma zaragatoa, rode a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície no bordo; em seguida, faça riscas a partir desta área inoculada. Incube as placas a 35 ± 2°C durante 18 a 24 h e 42 a 48 h, se necessário.

Os tubos com ágar inclinado destinam-se principalmente à cultura e manutenção de culturas puras. Devem ser inoculados com uma ansa de inoculação e incubados nas mesmas condições referidas para o meio em placa.

### Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do

CLSI e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

## X RESULTADOS

Após a incubação, a maioria das placas mostrará uma área de crescimento confluyente. Devido ao facto de o procedimento de sementeira com riscas sobre o ágar ser, na realidade, uma técnica de "diluição", é depositado um número diminuto de microrganismos nas áreas com riscas. Consequentemente, uma ou mais destas áreas deve exibir colónias isoladas dos microrganismos presentes na amostra. Mais ainda, o crescimento de cada um dos microrganismos poderá ser avaliado de forma semi-quantitativa com base no crescimento de cada uma das áreas com riscas. O crescimento a partir de tubos inoculados com culturas puras pode ser utilizado para testes bioquímicos e/ou serológicos.

## XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.<sup>6-8</sup>

## XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Antes de serem comercializados, todos os lotes de tubos e ágares inclinados de Nutrient Agar são testados relativamente às características do desempenho. Utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL, são inoculadas, fazendo riscas sobre o ágar, amostras representativas do lote com diluições de  $10^{-1}$  de culturas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) em **Trypticase Soy Broth**. Os recipientes inoculados são incubados a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  com as tampas desapertadas. A ocorrência de crescimento e pigmentação nos recipientes deve ler-se após 18 a 24 h de incubação. Todas as culturas apresentam crescimento moderado a intenso; as colónias de *P. aeruginosa* exibem pigmentação verde; as colónias de *S. aureus* têm uma cor bege a dourada.

## XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

220971	<b>BD BBL Nutrient Agar Slants</b> , caixa com 100 tubos K
298235	<b>BD BBL Nutrient Agar Slants</b> , caixa com 100 tubos D
220968	<b>BD BBL Nutrient Agar Deeps (Pour Tubes)</b> , 20 mL, emb. de 10 tubos A

## XIV BIBLIOGRAFIA

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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite [www.bd.com/ds](http://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.