

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ**I GİRİŞ**

Nutrient Agar (Besleyici Agar), çok çeşitli bakteriyel organizmaların kültivasyonu için genel amaçlı bir besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

1. A tüplerindeki Nutrient Agar'ı kaynar suda ısıtarak sıvılaştırın. 45 – 50 °C'ye soğutun, Petri kaplarına dökün ve en az 30 dakika sertleşmeye bırakın.
2. İzole koloniler elde etmek için 0,01 mL'ye kalibre edilmiş özeler ile plaklara sürme yöntemi ile ekim yapın. Tüpe koyulmuş slantlar için, agar yüzeylerini bir öze dolusu inokulum ile inoküle edin. Aşağıda listelenen organizmaların 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Broth kültürlerinin 10⁻¹ seyreltimlerini kullanın.
3. Plakları veya tüpleri aerobik atmosferde 35 ± 2 °C'de inkübe edin. Tüplere yerleştirilmiş besiyeri üzerindeki kapaklar gevşetilmelidir.
4. 18 ila 24 s sonra plakları veya tüpleri gelişim miktarı açısından inceleyin.
5. Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Geri Kazanım
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Orta ila yoğun gelişim, yeşil pigmentasyon
* <i>Shigella flexneri</i>	12022	Orta ila yoğun gelişim
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Orta ila yoğun gelişim, krem ila altın sarısı koloniler

*Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

III EK KALİTE KONTROLÜ

1. Tüpleri "Ürünün Bozulması" altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
2. Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımı etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüpleri görsel olarak inceleyin.
3. İnoküle edilmemiş temsili tüpleri 20 – 25 °C ve 30 – 35 °C'de inkübe edin ve 7 gün sonra mikrobiyal kontaminasyon açısından inceleyin.

ÜRÜN BİLGİLERİ**IV KULLANIM AMACI**

Nutrient Agar, bakterilerin kültivasyonu için ve su, atık su, dışkı ve diğer maddelerde organizma sayımı için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

20. yüzyıl başlarında, American Public Health Association, güç üremeyen çok çeşitli mikroorganizmaların yetiştirilmesi için genel amaçlı bir besiyerinin formülünü yayımlamıştır.¹ Bu, su ve atık su, süt ürünleri ve çeşitli gıdaların incelenmesinde kullanım için standardize edilmiş bir besiyeri ihtiyacının giderilmesi içindir. Bu görece basit formülasyon, zaman testinden geçmiş ve Nutrient Agar adıyla çok çeşitli maddelerin mikrobiyolojik inceleme yöntemleri için geçerli farmakopede hala belirtilmektedir.²⁻⁵ Ayrıca, zor üremeyen türlerin kültivasyonu ve idame ettirilmesi için laboratuvarında kullanılmaktadır.

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Nutrient Agar, pepton, sığır eti ekstraktı ve agar içerir. Bu görece basit formülasyon, çok sayıda aşırı zor üremeyen mikroorganizmanın replikasyonu için gerekli besinleri sağlar. Sığır eti ekstraktı, karbonhidratlar, vitaminler, organik nitrojen bileşikler ve tuzlar gibi suda çözünen maddeleri içerir. Peptonlar organik nitrojen, özellikle aminoasitler ve uzun zincirli peptidlerin esas kaynaklarıdır. Agar katılaştırıcı ajandır.

VII REAKTİFLER**Nutrient Agar**

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Jelatinin Pankreatik Dijesti	5,0 g
Sığır Eti Ekstraktı	3,0 g
Agar	15,0 g

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

Uyarılar ve Önlemler: *In vitro* Diyagnostik Kullanım içindir.

Sıkılmış kapaklı tüpler, camın kırılmasına bağlı yaralanmaları önlemek için dikkatli bir şekilde açılmalıdır.

Tüm prosedürler boyunca mikrobiyolojik tehlikelere karşı uygun aseptik teknikleri ve belirlenen önlemleri uygulayın. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine olmuş malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 25 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. Kullanım öncesine kadar etikette belirtildiği şekilde saklanan tüp besiyeri, son kullanma tarihine kadar inoküle edilebilir ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. Işığa maruz kalmamasını sağlayın.

Ürünün Bozulması: Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma veya diğer bozulma belirtileri görmeniz halinde tüpleri kullanmayın.

VIII ÖRNEK TOPLAMA VE İŞLEME

Kültür için uygun örnekler çeşitli teknikler kullanılarak işlenebilir. Ayrıntılı bilgi için ilgili metinlere bakın.^{6,7} Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Nutrient agar

Gerekli fakat sağlanmamış malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrol organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

A tüplerinde bulunan agarı sıvılaştırın, 45 ila 50 °C'ye soğutun ve Petri kutularına dökün. En az 30 dakika katılaşmasını bekleyin. Örnek laboratuvara ulaştığında olabildiğince kısa sürede örneği sürme yöntemi ile ekin. Sürme plağı birincil olarak karışık flora içeren örneklerden saf kültürleri izole etmek için kullanılır. Alternatif olarak, eğer materyal doğrudan swab'dan yetiştirilecekse, swab'ı kenarın yüzeyinde küçük bir alanın üzerinde döndürün, ardından bu inoküle edilmiş alandan sürme yöntemi ile ekim yapın. Plakları 35 ± 2 °C'de 18 ila 24 s ve gerekli ise 42 ila 48 s inkübe edin.

Tüp slantlar, birincil olarak kültürasyon ve saf kültürlerin idamesi için kullanılır. Bir inokülasyon özesi ile inoküle edilmeli ve plak besiyeri ile aynı koşullar altında inkübe edilmelidir.

Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü: "Kalite Kontrolü Prosedürleri"ne bakın.

Kalite Kontrolü gereksinimleri ilgili yerel, resmi ve/veya federal düzenlemelere veya akreditasyon gerekliliklerine ya da laboratuvarınızın standart Kalite Kontrolü prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanıcının, uygun Kalite Kontrolü uygulamaları için ilgili CLSI (eski adı NCCLS) yönergelerine ve CLIA düzenlemelerine uyması önerilir.

X SONUÇLAR

İnkübasyondan sonra, plakların çoğu birleşik gelişim alanı gösterecektir. Sürme yöntemi ile ekim yapma prosedürü, aslında, bir "seyreltme" tekniği olduğundan, sürme yöntemi ile ekim yapılan alanlarda sınırlı miktarda organizma birikir. Dolayısıyla bu alanlardan bir veya daha fazlası, örnekte bulunan organizmaların izole kolonilerini göstermelidir. Ayrıca, her organizmanın gelişimi, sürme yöntemi ile ekim yapılan her alanda gelişim temelinde yarı kantitatif olarak puanlanabilir.

Saf kültürler ile inoküle edilen tüplerden alınan gelişimler biyokimyasal ve/veya serolojik test için kullanılabilir.

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Teşhis için, organizma saf kültürde bulunmalıdır. Nihai teşhis için morfolojik, biyokimyasal ve/veya serolojik testler gerçekleştirilmelidir. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için ilgili metinlere bakın.⁶⁻⁸

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm Nutrient Agar slantları ve tüpler performans özellikleri açısından test edilir. 0,01 mL'ye kalibre edilmiş bir öze kullanılarak, temsili lot örnekleri, 10⁻¹ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) ve *Staphylococcus aureus*'un (ATCC 25923) seyreltilmiş **Trypticase** Soy Broth kültürleri ile sürme yöntemi ile inoküle edilir. İnoküle edilmiş kaplar, 35 ± 2 °C'de kapakları gevşek bir halde inkübe edilir. Kaplar, 18 ila 24 s inkübasyondan sonra gelişim ve pigmentasyon açısından okunur. Bütün kültürler orta ila yoğun gelişim gösterir; *P. aeruginosa* kolonileri yeşil pigmentasyon gösterir; *S. aureus* kolonileri krem ila altın rengidir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
220971	BD BBL Nutrient Agar Slants, 100'lü boyut K tüp kutusu
298235	BD BBL Nutrient Agar Slants, 100'lü boyut D tüp kutusu
220968	BD BBL Nutrient Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, 10'lu boyut A tüp paketi

XIV REFERANSLAR

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. Tenenbaum (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.

BD Diagnostics Teknik Desteği: yerel BD temsilcinizle temasa geçin veya www.bd.com/ds adresine başvurun.



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.