



FÖRFARANDE FÖR KVALITETSKONTROLL

I INLEDNING

Nutrient Agar (näringsagar) är ett universalmedium för odling av en lång rad olika bakteriella organismer.

II PRESTANDATESTFÖRFARANDE

1. Omvandla Nutrient Agar till vätska i rör av storlek A genom uppvärmning i kokande vatten. Kyl till 45 – 50 °C, håll över i petriskålar och låt stelna i minst 30 min.
2. Bestryk plattorna med 0,01 mL kalibrerade öglor för att erhålla isolerade kolonier. För skivor i rör inokulerar du agarytorna med en full ögla av inokulat. Använd 10^{-1} spädningar av 18- till 24-h **Trypticase** Soy Broth (sojabuljongodlingar) av organismerna som anges nedan.
3. Inkubera plattorna eller rören i en aerob miljö vid 35 ± 2 °C. Lock ska lossas på rör som innehåller medier.
4. Undersök plattorna eller rören efter 18 – 24 h avseende mängd av växt.
5. Förväntade resultat

Organismer	ATCC	Utbyte
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Måttlig till kraftig växt, grön pigmentering
* <i>Shigella flexneri</i>	12022	Måttlig till kraftig växt
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Måttlig till kraftig växt, kräm- till guldfärgade kolonier

*Rekommenderad organismstam för kvalitetskontroll utförd av användaren.

III YTTERLIGARE KVALITETSKONTROLL

1. Undersök rören enligt beskrivningen i avsnittet "Produktförsäkring".
2. Undersök representativa rör visuellt för att försäkra dig om att inga existerande fysiska defekter kommer att inverka på användningen.
3. Inkubera oinokulerade representativa rör vid 20 – 25 °C och 30 – 35 °C och undersök dem efter 7 dagar med avseende på mikrobiell kontamination.

PRODUKTINFORMATION

IV AVSEDD ANVÄNDNING

Nutrient Agar (näringsagar) används till odling av bakterier och till räkning av organismer i vatten, avloppsvatten, faeces och andra material.

V SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Under tidigt 1900-tal publicerade American Public Health Association sammansättningen av ett universalmedium för tillväxt av en lång rad olika lättodlade mikroorganismer.¹ Detta var ett svar på behovet av ett standardiserat medium för användning vid undersökning av vatten och spillvatten, mejeriprodukter och olika typer av livsmedel. Denna relativt enkla sammansättning har stått sig genom tiderna, och vid namnet Nutrient Agar (näringsagar) nämns den fortfarande i aktuella kompendier med metoder för mikrobiologisk undersökning av ett brett spektrum av material.²⁻⁵ Dessutom används den i laboratorier för odling och underhåll av lättodlade arter.

VI PRINCIPER FÖR METODEN

Nutrient Agar består av pepton, nötextrakt och agar. I denna relativt enkla sammansättning finns den nödvändiga näringen för replikation av ett stort antal mikroorganismer som inte är alltför svårödlade. Nötextraktet innehåller vattenlösliga substanser, bland annat kolhydrater, vitaminer, organiska kväveföreningar och salter. Peptoner är den huvudsakliga källan till organiskt kväve, särskilt aminosyror och långkedjiga peptider. Agar är stelningsmedlet.

VII REAGENSER

Nutrient Agar

Ungefärlig sammansättning* per liter renat vatten

Pankreatisk spjälkning av gelatin.....	5,0 g
Nötextrakt.....	3,0 g
Agar	15,0 g

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

Varningar och försiktighetsbeaktanden: Avsedd för *in vitro*-diagnostik.

Rör med lock som sitter åt hårt ska öppnas försiktigt så att inte skador inträffar på grund av att glaset går sönder. Använd aseptisk teknik och vedertagna infektionsförebyggande försiktighetsåtgärder under samtliga förfaranden. Efter användning ska alla preparerade rör, provbehållare och övrigt kontaminerat material steriliseras i autoklav innan de kasseras.

Förvaringsanvisningar: Förvara rör mörkt vid 2 – 25 °C efter leverans. Överhettning och nedfrysning ska undvikas. Får ej öppnas förrän omedelbart före användning. Medier i rör som förvarats enligt anvisningarna tills precis före användning kan inokuleras fram till utgångsdatum och inkuberas under de rekommenderade inkubationstiderna. Undvik exponering för ljus.

Produktförsämring: Rören får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning eller annan försämring.

VIII PROVTAGNING OCH -FÖRBEREDELSE

Prover som är lämpliga för odling kan hanteras med olika metoder. För detaljerad information hänvisas till lämplig litteratur.^{6,7} Prover ska tas före administrering av antimikrobiella medel. Åtgärder måste vidtas för snabb leverans till laboratoriet.

IX FÖRFARANDE

Tillhandahållet material: Nutrient Agar

Material som krävs men ej medföljer: Extra odlingsmedier, reagenser, organismer för kvalitetskontroll och laboratorieutrustning efter behov.

Testförfarande: Använd aseptisk teknik.

Omvandla agarn till vätska i rör av storlek A, låt svalna till 45 – 50 °C och håll i petriskålar. Låt stelna i minst 30 min. Stryk ut provet så snart som möjligt efter att det ankommit till laboratoriet. Plattan med utstryket används primärt för isolering av renkulturer från prover med blandflora. Vid odling direkt från provtagningspinne rullas istället pinnen över ett litet område på ytan nära kanten varefter plattan stryks från det inokulerade området. Inkubera plattorna vid 35 ± 2 °C under 18 – 24 h och 42 – 48 h vid behov.

Skivor i rör används främst för odling och underhåll av renkulturer. De ska inokuleras med en ympögla och inkuberas under samma förhållanden som plattmediet.

Kvalitetskontroll utförd av användaren: Se "Förfaranden för kvalitetskontroll".

Kvalitetskontroll måste utföras i enlighet med gällande bestämmelser eller ackrediteringskrav samt laboratoriets etablerade förfaranden för kvalitetskontroll. Det rekommenderas att användaren konsulterar tillämpliga CLSI-riktlinjer (tidigare NCCLS) och CLIA-föreskrifter för lämpliga kvalitetskontrollförfaranden.

X RESULTAT

Efter inkubation kommer de flesta plattor att uppvisa ett område med sammanhängande växt. Eftersom strykningssproceduren egentligen är en "spädningsteknik" minskar antalet mikroorganismer som avsätts på de strykta områdena. Följaktligen bör en eller flera av dessa områden uppvisa isolerade kolonier av organismerna som finns i provet. Vidare kan växt av varje enskild organism räknas semikvantitativt på basen av växt i vart och ett av de strykta områdena.

Växt från rör som inokulerats med renkulturer kan användas till biokemiska och/eller serologiska analyser.

XI PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

För identifiering måste organismer vara i renkultur. Morfologiska, biokemiska och/eller serologiska analyser bör utföras för fullständig identifiering. Se lämplig litteratur för detaljerad information och rekommenderade förfaranden.⁶⁻⁸

XII KLINISKA PRESTANDA

Alla partier med skivor och rör med Nutrient Agar har testats med avseende på kliniska prestanda innan de släppts på marknaden. Representativa prover i partiet inokuleras med hjälp av en 0,01 mL kalibrerad ögla med utstryk av **Trypticase** sojabuljongodlingar spädda 10⁻¹ av *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) och *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Inokulerade behållare inkuberas vid 35 ± 2 °C med löst påsatta lock. Behållarna läses av med avseende på växt och pigmentering efter 18 – 24 h inkubering. Alla kulturer uppvisar måttlig till kraftig växt. Kolonier av *P. aeruginosa* uppvisar grön pigmentering och kolonier av *S. aureus* är kräm- till guldfärgade.

XIII TILLGÄNGLIGHET

Kat. nr.	Beskrivning
220971	BD BBL Nutrient Agar Slants (skivor), kartong med 100 rör i storlek K
298235	BD BBL Nutrient Agar Slants (skivor), kartong med 100 rör i storlek D
220968	BD BBL Nutrient Agar Deeps (fördjupningar) (fyllningsrör), 20 mL, förpackning med 10 rör i storlek A

XIV REFERENSER

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.

BD Diagnostics teknisk service: Kontakta närmaste BD-representant eller besök 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.