

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI (Opcjonalnie)

I WPROWADZENIE

Podłoże Simmons Citrate Agar jest podłożem hodowlanym służącym do odróżniania bakterii gram-ujemnych na podstawie wykorzystania cytrynianu.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Inokulować reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - Używając hodowli drobnoustrojów hodowanych 18 – 24 h na podłożu skośnym **Trypticase** Soy Agar, inokulować rozcieńczeniem próbówki igłą do inokulacji poprzez przebicie słupka oraz wykonanie pasmowego posiewu wzdłuż powierzchni skosu.
 - Inkubować próbówki z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w warunkach tlenowych.
 - Dołączyć podłoża skośne **Trypticase** Soy Agar jako nieselektywne kontrole obu drobnoustrojów.
- Zbadać próbówki po upływie 48 i 96 h pod względem wzrostu i wyników reakcji.
- Oczekiwane wyniki

Mikroorganizmy	ATCC	Odzysk	Reakcja
* <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	Wzrost	Niebieski kolor skosu
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Brak wzrostu lub śladowy wzrost	Brak zmiany koloru

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

UWAGA: Niniejsze podłoże jest zwolnione z testów kontroli jakości użytkownika zgodnie ze standardem CLSI M22-A3.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Oceń próbówki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo ocenić reprezentatywne próbówki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne istniejące wady fizyczne.
- Reprezentatywne próbówki bez wysianych drobnoustrojów inkubować w temperaturze $20 - 25^\circ\text{C}$ i $30 - 35^\circ\text{C}$ i ocenić po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Podłoże Simmons Citrate Agar służy do odróżniania bakterii gram-ujemnych na podstawie wykorzystania cytrynianu.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Koser¹ w 1923 roku opracował płynne podłoże składające się z soli nieorganicznych, w którym sól amoniowa była jedynym źródłem azotu, a cytrynian jedynym źródłem węgla. Podłoże miało służyć do rozróżnienia bakterii obecnie znanych jako *Escherichia coli* i *Enterobacter aerogenes* jako część reakcji IMViC (Indole-Methyl Red-Voges Proskauer-Citrate, indol, czerwień metylowa, Voges-Proskauer i cytrynian). W 1926 roku Simmons² zmodyfikował formułę Kosera, dodając 1,5% agaru i błękit bromotymolowy.³ Drobnoustroje zdolne do metabolizowania cytrynianu dobrze rosną na tym podłożu.

VI ZASADY PROCEDURY

Drobnoustroje mogące wykorzystywać dwuwodorofosforan amonu i cytrynian sodu jako jedyne źródła odpowiednio azotu i węgla rosną na tym podłożu i wywołują reakcję zasadową, czego dowodzi zmiana koloru wskaźnika błękitu bromotymolowego z zielonego (obojętny) na niebieskie (zasadowe).

VII ODCZYNNIKI

Simmons Citrate Agar

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Dwuwodorofosforan amonu	1,0	g
Wodorofosforan potasu	1,0	g
Chlorek sodu	5,0	g
Cytrynian sodu	2,0	g
Siarczan magnezu	0,2	g
Agar	15,0	g
Błękit bromotymolowy	0,08	g

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Próbówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

Wykonywanie wszystkich procedur wymaga przestrzegania aseptycznych technik i środków ostrożności związanych z zagrożeniem mikrobiologicznym. Gotowe próbki, pojemniki zawierające próbki oraz inne skażone materiały po użyciu i przed usunięciem należy wysterylizować w autoklawie.

Przechowywanie: Otrzymane próbki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. W podłożach przechowywanych do momentu użycia w próbkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa^{4,5}. Probki należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Simmons Citrate Agar Slants

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Na skośnych podłożach inokulować rosnące czyste hodowle za pomocą rozcieńczonego inokulum. Inkubować wszystkie próbki przez 24 – 48 h lub do 4 dni w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$, w warunkach tlenowych.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Każda partia podłoża została przetestowana przy użyciu odpowiednich drobnoustrojów do kontroli jakości. Ten rodzaj testowania jest zgodny ze specyfikacją produktu i standardami CLSI, jeśli mają zastosowanie. Jak zwykle, testy należy wykonać zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, stanowych, federalnych lub krajowych, wymogami akredytacji i/lub rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium.

X WYNIKI

Reakcję dodatnią wskazuje wzrost oraz intensywny niebieski kolor skosu. Reakcji ujemnej dowodzi brak wzrostu lub wzrost śladowy bez zmiany koloru (podłoże pozostaje ciemnozielone).

Aby uzyskać dodatkowe informacje na temat cech odróżniających, należy zapoznać się z odpowiednią literaturą.^{6,7}

XI CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie podłoża skośnego Simmons Citrate Agar sprawdza się pod kątem ich skuteczności. Reprezentatywne próbki z danej partii są testowane z użyciem hodowanych na podłożu **Trypticase** Soy Agar szczepów *Escherichia coli* (ATCC 25922) i *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048); zaszczepia się je poprzez posiew pasmowy skosu oraz przebicie słupka igłą do posiewów. Odczyt probówek następuje po 2 i 4 dniach inkubacji w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$. *E. aerogenes* wykazują co najmniej lekki wzrost, czemu towarzyszy wskazująca zasadowość zmiana (kolor niebieski) wskaźnika w podłożu. Brak reakcji (zmiany koloru) jest dowodem, że wzrost *E. coli* może być całkowicie zahamowany lub dobry.

XII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221026	BD BBL Simmons Citrate Agar Slants, opakowanie zawierające 10 probówek w rozmiarze K
221027	BD BBL Simmons Citrate Agar Slants, opakowanie zawierające 100 probówek w rozmiarze K

XIII PIŚMIENICTWO

1. Koser, S.A. 1923. Utilization of the salts of organic acids by the colon-aerogenes group. *J. Bacteriol.* 8:493-520.
2. Simmons, J.S. 1926. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon-aerogenes groups and for isolation of certain fungi. *J. Infect. Dis.* 39:209-214.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. 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.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. 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.
7. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD