



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O Simmons Citrate Agar é um meio de cultura para diferenciação de bactérias Gram-negativas baseado na utilização do citrato.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando uma agulha de inoculação, inocule ligeiramente os tubos, fazendo riscas no ágar inclinado e perfurando o fundo do ágar com culturas em **Trypticase** Soy Agar inclinado com 18 a 24 h.
 - b. Incube os tubos com as tampas pouco apertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ numa atmosfera aeróbia.
 - c. Inclua tubos de **Trypticase** Soy Agar inclinado como controlos não selectivos para ambos os microrganismos.

2. Examine os tubos após 48 e 96 h, verificando se existe crescimento e alteração de cor.

3. Resultados esperados

**Enterobacter aerogenes*..... Crescimento com ágar inclinado de cor azul

ATCC 13048

**Escherichia coli*..... Ausência ou vestígios de crescimento sem alteração de cor

ATCC 25922

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

NOTA: Este meio está isento de testes de controlo da qualidade realizados pelo utilizador, em conformidade com CLSI M22-A3.

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 Simmons Citrate Agar (Ágar de citrato Simmons) é utilizado para diferenciação de bactérias Gram-negativas com base na utilização do citrato.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

Em 1923, Koser¹ desenvolveu um meio líquido constituído por sais inorgânicos em que um sal de amónio era a única fonte de nitrogénio e o citrato era a única fonte de carbono, de forma a diferenciar bactérias agora conhecidas como *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*, como parte das reacções IMViC (Indol-Vermelho de metilo-Voges Proskauer-Citrato). Em 1926, Simmons² modificou a formulação de Koser com a adição de ágar a 1,5% e de azul de bromotimol.³ Os microrganismos com capacidade para metabolizar o citrato crescem bem neste meio.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Os microrganismos que tenham capacidade para utilizar o diidrogénio de fosfato de amónio e o citrato de sódio como as únicas fontes de nitrogénio e carbono crescerão neste meio e produzirão uma reacção alcalina evidenciada por uma alteração da cor do indicador azul de bromotimol de verde (neutro) para azul (alcalino).

VII REAGENTES

Simmons Citrate Agar

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Diidrogénio de fosfato de amónio	1,0	g
Fosfato dipotássico	1,0	g
Cloreto de sódio	5,0	g
Citrato de sódio	2,0	g
Sulfato de magnésio	0,2	g
Ágar	15,0	g
Azul de bromotimol	0,08	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.

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 receção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. 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. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

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.^{4,5} 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

Simmons Citrate Agar Slants

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.

Utilizando um inóculo pouco concentrado obtido a partir de uma cultura pura, inocule os ágaros inclinados. Incube todos os tubos durante 24 a 48 h ou até 4 dias a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

X RESULTADOS

Uma reacção positiva é indicada pelo crescimento com uma cor azul intensa do ágar inclinado. Uma reacção negativa é evidenciada pela ausência ou vestígios de crescimento, sem alteração de cor (o meio permanece verde escuro).

Consulte os textos apropriados relativamente a outras características de diferenciação.^{6,7}

XI CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Antes de serem comercializados, são testadas as características do desempenho de todos os lotes de Simmons Citrate Agar Slants. As amostras representativas do lote são testadas através da inoculação, fazendo riscas sobre o ágar inclinado e perfurando o fundo com uma agulha de inoculação, com culturas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em **Trypticase** Soy Agar. Os tubos devem ser lidos após 2 a 4 dias de incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. O *E. aerogenes* exhibe, pelo menos, um crescimento ligeiro acompanhado por uma alteração do indicador do meio para alcalino (azul). Com a *E. coli* não ocorre reacção (alteração de cor) e o crescimento poderá ser totalmente inibido a razoável.

XII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

221026 BD BBL Simmons Citrate Agar Slants, emb. com 10 tubos K

221027 BD BBL Simmons Citrate Agar Slants, caixa com 100 tubos K

XIII BIBLIOGRAFIA

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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite 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