



## PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ (Facoltativo)

### I INTRODUZIONE

BBL Simmons Citrate Agar (agar citrato Simmons) è un terreno di coltura per la differenziazione dei batteri gram-negativi in base all'utilizzo di citrato.

### II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
  - a. Con l'ausilio di un ago da inoculo, inoculare leggermente le provette strisciando lo slant e penetrando in profondità con colture slant di 18 – 24 h in **Trypticase Soy Agar**.
  - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a  $35 \pm 2$  °C in aerobiosi.
  - c. Includere slant di **Trypticase Soy Agar** come controlli non selettivi per entrambi i microrganismi.
2. Esaminare le provette dopo 48 e 96 h per verificare crescita e variazione cromatiche.
3. Risultati attesi
  - \**Enterobacter aerogenes*..... Crescita con viraggio dello slant al blu  
ATCC 13048
  - \**Escherichia coli*..... Crescita assente o minima senza viraggio  
ATCC 25922

\*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

**NOTA:** Questo terreno è esente dai test di controllo qualità a cura dell'utente ai sensi della norma CLSI M22-A3.

### III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

## INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

### IV USO PREVISTO

BBL Simmons Citrate Agar è usato per la differenziazione dei batteri gram-negativi in base all'utilizzo di citrato.

### V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Nel 1923, Koser<sup>1</sup> sviluppò un terreno liquido composto da sali inorganici dei quali sale di ammonio e citrato rappresentavano rispettivamente l'unica fonte di azoto e carbonio, allo scopo di differenziare tra loro i microrganismi oggi conosciuti come *Escherichia coli* ed *Enterobacter aerogenes* nell'ambito delle reazioni IMViC (Indolo-Rosso di metile-Voges Proskauer-Citrato). Nel 1926, Simmons<sup>2</sup> modificò la formulazione di Koser aggiungendo blu di bromotimolo e agar all'1,5%.<sup>3</sup> I microrganismi in grado di metabolizzare il citrato crescono bene in questo terreno.

### VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I microrganismi in grado di utilizzare il fosfato di ammonio diidrogenato e il citrato di sodio come uniche fonti rispettivamente di azoto e carbonio, crescono in questo terreno e producono una reazione alcalina evidenziata dal viraggio dell'indicatore blu di bromotimolo da verde (neutro) a blu (alcalino).

### VII REAGENTI

#### BBL Simmons Citrate Agar

Formula approssimata\* per L di acqua purificata

Fosfato di ammonio diidrogenato .....	1,0	g
Fosfato dipotassico .....	1,0	g
Cloruro di sodio .....	5,0	g
Citrato di sodio .....	2,0	g
Solfato di magnesio .....	0,2	g
Agar .....	15,0	g
Blu bromotimolo .....	0,08	g

\*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

## **Avvertenze e precauzioni**

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

## **Istruzioni per la conservazione**

Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno si porti a temperatura ambiente.

## **Deterioramento del prodotto**

Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamiento o altri segni di deterioramento.

## **VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI**

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.<sup>4,5</sup> Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

## **IX PROCEDURA**

### **Materiale fornito**

BBL Simmons Citrate Agar Slants

### **Materiali necessari ma non forniti**

Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

### **Procedura del test**

Adottare tecniche asettiche.

Inoculare gli slant con la crescita da una coltura pura usando un inoculo leggero. Incubare tutte le provette in aerobiosi, a  $35 \pm 2$  °C per 24 – 48 h o un massimo di 4 giorni.

### **Controllo di qualità a cura dell'utente**

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Ciascun lotto di terreno è stato testato utilizzando organismi per il controllo di qualità appropriati, e tali test soddisfano le specifiche di prodotto e gli standard CLSI, ove opportuno. Come di consueto, i test di controllo qualità devono essere eseguiti in ottemperanza alle normative locali, statali, federali o nazionali vigenti, nonché ai requisiti di certificazione e/o alle procedure standard di controllo di qualità del laboratorio specifico.

## **X RISULTATI**

La crescita associata a viraggio al blu intenso nello slant indica una reazione positiva, mentre crescita minima o assente senza viraggio (il terreno resta di colore verde scuro) indica una reazione negativa. Per altre caratteristiche di differenziazione, consultare la documentazione appropriata.<sup>6,7</sup>

## **XI PERFORMANCE**

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di slant Simmons Citrate Agar.

Campioni rappresentativi del lotto vengono testati con colture in *Trypticase Soy Agar* di *Escherichia coli* (ATCC 25922) ed *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) strisciando lo slant e penetrando in profondità con un ago da inoculo. Le provette vengono esaminate dopo 2 e 4 giorni di incubazione a  $35 \pm 2$  °C.

*E. aerogenes* evidenzia almeno una leggera crescita associata a un viraggio alcalino (blu) dell'indicatore nel terreno. Con *E. coli*, non si osserva alcuna reazione (viraggio) e la crescita può risultare scarsa o completamente inibita.

## **XII DISPONIBILITÀ**

### **N. di cat. Descrizione**

221026	<b>BD BBL</b> Simmons Citrate Agar Slant, confezione da 10 provette di misura K
221027	<b>BD BBL</b> Simmons Citrate Agar Slant, scatola da 100 provette di misura 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. Yolken (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. Yolken (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito  
[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, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD