

POSTUPCI KONTROLE KVALITETE (Neobavezno)

I UVOD

Citratni agar Simmons podloga je stanične kulture za diferencijaciju gram-negativnih bakterija na temelju stvaranja citrata.

II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI

- Inokulirajte reprezentativne uzorke s dolje navedenim kulturama.
 - Pomoću igle za inokulaciju, lagano inokulirajte epruvete tako da ubodete kraj i razmažete cijelu površinu kosog agara s kulturama kosog sojinog agara **Trypticase** od 18 do 24 h.
 - Inkubirajte epruvete s popuštenim čepovima na $35 \pm 2^\circ\text{C}$ u aerobnoj atmosferi.
 - Uključite kose sojine agare **Trypticase** kao neselektivne kontrole za oba organizma.
- Pregledajte epruvete nakon 48 i 96 h i provjerite rast i promjenu boje.
- Očekivani rezultati

Organizam	ATCC	Izolacija	Reakcija
* <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	Rast	Plava boja kosog agara
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Nema rasta do tragova rasta	Bez promjene boje

*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

NAPOMENA: Ta se podloga provjerava u korisničkom ispitivanju kontrole kvalitete prema standardu CLSI M22-A3.

III DODATNA KONTROLA KVALITETE

- Pregledajte epruvete prema objašnjenju iz poglavlja „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
- Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete kako biste utvrdili da nemaju fizičkih oštećenja koja mogu utjecati na upotrebu.
- Inkubirajte neinokulirane reprezentativne epruvete na $20 - 25^\circ\text{C}$ i $30 - 35^\circ\text{C}$ te nakon 7 dana potražite znakove kontaminacije mikrobima.

INFORMACIJE O PROIZVODU

IV NAMJENA

Citratni agar Simmons koristi se za diferencijaciju gram-negativnih bakterija na temelju stvaranja citrata.

V SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Koser¹ je 1923. godine razvio tekuću podlogu koja se sastoji od anorganskih soli u kojima su amonijeve soli bile jedini izvor dušika, a citrat jedini izvor ugljika kako bi se diferenciralo što su vrste *Escherichia coli*, a što *Enterobacter aerogenes* u reakcijama IMViC (eng. Indole-Methyl Red-Voges Proskauer-Citrate). Simmons² je 1926. godine modificirao Koserovu formulaciju dodavanjem 1,5% agara i bromtimol plave.³ Organizmi koji mogu metabolizirati citrat dobro rastu na takvoj podlozi.

VI NAČELA POSTUPKA

Organizmi kojima koristi amonijev dihidrogen fosfat i natrijev citrat kao jedini izvori dušika i ugljika rast će na podlozi i stvarati alkalnu reakciju što se pokazuje promjenom boje plavog bromtimol indikatora iz zelene (neutralno) do plave (alkalno).

VII REAGENSI

Simmons Citrate Agar

Približna formula* po litri pročišćene vode

Amonijev dihidrogen fosfat	1,0	g
Dikalijev fosfat	1,0	g
Natrijev klorid	5,0	g
Natrijev citrat	2,0	g
Magnezijev sulfat	0,2	g
Agar	15,0	g
Bromtimol plavo	0,08	g

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

Upozorenja i mjere opreza: Za *in vitro* dijagnostiku.

Epruvete sa zategnutim čepovima treba oprezno otvarati kako ne bi došlo do ozljeda pri pucanju stakla.

Primjenjujte aseptične tehnike i utvrđene mjere opreza protiv mikrobioloških opasnosti tijekom svih postupaka. Nakon upotrebe, pripremljene epruvete, spremnici za uzorke i ostali kontaminirani materijali moraju se sterilizirati u autoklavu prije odlaganja.

Upute za čuvanje: Epruvete po primitku čuvajte na tamnom mjestu na temperaturi od 2 – 8°C. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Otvorite neposredno prije upotrebe. Smanjite izlaganje svjetlosti na najmanju moguću mjeru. Hranjive podloge u epruvetama koje se čuvaju prema uputama na naljepnici prije same upotrebe mogu se inokulirati sve do isteka roka valjanosti i inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije. Prije inokulacije pričekajte da se hranjiva podloga zagrije do sobne temperature.

Pogoršanje kvalitete proizvoda: Ne upotrebljavajte epruvete ako pokazuju vidljive znakove kontaminacije mikrobima, promjene boje, sušenja ili ostale znakove pogoršanja kvalitete.

VIII PRIKUPLJANJE UZORAKA I RUKOVANJE

Uzorci pogodni za hranjivu podlogu mogu se obraditi raznim tehnikama. Detaljne informacije potražite u odgovarajućim tekstovima.^{4,5} Uzorke treba uzeti prije obrade protumikrobnih agensa. Potrebno je izraditi propise za brzu dostavu u laboratorij.

IX POSTUPAK

Priloženi materijal: Simmons Citrate Agar Slants

Potreban materijal koji se nabavlja zasebno: dodatne hranjive podloge, reagensi, organizmi za kontrolu kvalitete i laboratorijska oprema prema potrebi.

Postupak ispitivanja: Primjenjujte aseptične tehnike.

Inokulirajte kose podloge rastom iz čiste kulture s laganim inokulumom. Inkubirajte sve epruvete 24 – 48 sati do 4 dana na 35 ± 2°C u aerobnoj atmosferi.

Korisnička kontrola kvalitete: Pogledajte poglavlje „Postupci kontrole kvalitete“.

Svaka serija podloga ispitana je pomoću odgovarajućih organizama za kontrolu kvalitete, a ta su ispitivanja, kada je to bitno, usklađena sa specifikacijama i standardima instituta CLSI. Kao i uvijek, ispitivanja za kontrolu kvalitete moraju se provoditi u skladu s važećim lokalnim, državnim, saveznim ili nacionalnim propisima, uvjetima akreditiranja i/ili standardnim postupcima kontrole kvalitete vašeg laboratorija.

X REZULTATI

Pozitivna reakcija pokazuje se rastom uz intenzivno plavu boju kosog agara. Negativna reakcija pokazuje se izostankom rasta ili bez promjene boje (podloga ostaje tamnozeleno).

Dodatne informacije o karakteristikama diferencijacije potražite u odgovarajućim tekstovima.⁶⁻⁷

XI RADNA SVOJSTVA

Prije izdavanja ispitana su radna svojstva svih pakiranja citratnog agara Simmons. Reprezentativni uzorci pakiranja ispituju se kulturama sojinog agara **Trypticase** vrsta *Escherichia coli* (ATCC 25922) i *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) tako da se razmaže kosi agar i ubode kraj epruvete odgovarajućom iglom. Epruvete se provjeravaju nakon 2 i 4 dana inkubacije na 35 ± 2°C. *E. aerogenes* pokazuje barem lagani rast uz alkalnu (plavu) promjenu indikatora u podlozi. Nema reakcije (promjene boje) za *E. coli*, a rasta gotovo uopće nema ili je prosječan.

XII DOSTUPNOST


Kat. br.	Opis
221026	BD BBL Simmons Citrate Agar Slants (kosi), pakiranje od 10 epruveta veličine K
221027	BD BBL Simmons Citrate Agar Slants (kosi), pakiranje od 100 epruveta veličine K


XIII REFERENCE

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.

Tehnički servis i podrška na BD Diagnostics: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD ili posjetite 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