

Finalidade:

Meio diferencial para execução da prova de utilização do citrato.

Registro ANVISA:

10097010135

Apresentação:

510014 - CITRATO SIMMONS-AGAR-3mL-TB13X100-CX10TB

LB 172138

Rev. 06 – 07/2024

1. INTRODUÇÃO

Algumas bactérias utilizam o citrato como única fonte de carbono. O Citrato de Simmons Ágar permite avaliar a utilização do citrato pela bactéria em análise através de seu crescimento ou através da alcalinização do meio (mudança da coloração esverdeada original para azulada).

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração g/L
Sulfato de Magnésio	0,2
Fosfato di-hidrogênio de amônio	1,0
Citrato de Sódio	2,0
Azul de Bromotimol	0,08
Cloreto de Sódio	5,0
pH 6,9 ± 0,2 a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- Colônias recém-obtidas de bacilos Gram-negativos puros provenientes de meios de isolamento diferencial que permitam a leitura da lactose, como o Mac Conkey Agar, Ágar Eosina Azul de Metileno, CLED, etc.

- As colônias a serem identificadas devem ser recentes (no máximo de 24h). Caso a identificação tenha que ser protelada, deve-se proceder o repique do material em meio apropriado e a uma nova incubação a 35±2°C por 18 a 24 horas, para então realizar a identificação.

- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

- Sempre considerar as necessidades específicas dos micro-organismos alvos das análises, micro-organismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

- Rejeitar as colônias provenientes de culturas com mais de 24 horas de semeadura.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

A colônia a ser identificada é semeada no Ágar Citrato Simmons, incubada a seguir a 35°C por 18-24h. Terminada a incubação, é realizada a leitura do tubo.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os tubos devem ser armazenados em temperatura de 2 a 12°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

d- Precauções e cuidados especiais

- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;

- Uso restrito por profissionais;

- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;

- Não inalar ou ingerir;

- Não utilizar tubos com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;

- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;

- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;

- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detritab.

- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, de 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;

- Alça bacteriológica;

- Bico de Bunsen.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Retirar a caixa do refrigerador, e em ambiente asséptico, separar os tubos a serem usados, devolver os que não serão utilizados;

b- Colocar os tubos em estufa bacteriológica entre 35 – 37°C pelo tempo necessário para adquirir esta temperatura;

c- Encostar uma alça de platina flambada e resfriada em uma colônia da bactéria a analisar, remover aproximadamente a metade desta;

d- Inocular o material na superfície inclinada do meio, deixar a tampa do frasco frouxo e incubar a 35°C por 18-24h;

e - Após a incubação analisar o desenvolvimento de colônias e se houve alteração na cor do meio;

f- A interpretação das colônias deve sempre levar em consideração as características morfológicas e, quando necessário, as microscópicas.

g- Pode ser necessário a incubação por mais 24h, para melhor desenvolvimento completo dos microrganismos, das cores das colônias e diferenciação das espécies.

h- Caso haja crescimento de qualquer colônia que não corresponda as características descritas, ou para casos em que não ocorra a formação completa da coloração sugerida, proceder com a avaliação do Gram da colônia e testes identificação e confirmatórios para Bacilos Gram-negativos conforme metodologia seguida pelo laboratório.

7. RESULTADOS

O crescimento na superfície do meio e/ou a mudança de cor do meio de verde para azul, caracterizam a positividade da prova.

Observação: O excesso de inóculo pode ocasionar um ligeiro crescimento na superfície do meio quando se trata de bactéria citrato negativa, caracterizando assim falsa positividade.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise. Ao utilizar colônias isoladas em um período superior a 24 horas, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer. Em colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido, e algumas provas podem não ocorrer.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Utilização de agulha flambada não resfriada.
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. A semeadura de inóculos mais carregados fornecem resultados falsamente positivos e inóculos em menor quantidade podem fornecer resultados falsamente negativos.
- Interpretação equivocada de resultados.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Tempo excessivo ou insuficiente de incubação. Tempo excessivo de incubação fornece resultados falsamente positivos e tempo insuficiente fornece resultados falsamente negativos.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- *Controle de qualidade recomendado:*

Cepas	Resultado esperado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição parcial a total. Meio apresenta com sua coloração original (verde).
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Crescimento. Meio apresenta-se na coloração azul.

- *Periodicidade*

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- *Análise dos resultados*

O meio Citrato de Simmons testado com cepas padrão devem expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

- 1- Difco Manual, edition 2009.
- 2- Koneman, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 5a ed., 1997.
- 3- Mahon, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
- 4- Murray, P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31

Insc. Estadual 1370012926

Rua: Casimiro de Abreu, 521

Pinhais/PR CEP 83.321-210

Telefone: (41) 3661-9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:










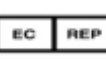
















Maire Wakamori – CRF/PR-20176

Serviço de Assessoria ao Cliente

SAC 0800-0410027

sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)