

ÁGAR CITRATO SIMMONS – SIMMONS CITRATE AGAR (7156)

Uso Previsto

O **Ágar Citrato Simmons** é utilizado para a diferenciação de micro-organismos com base na utilização do citrato.

Sumário e Explicação do Produto

Koser desenvolveu primeiro um meio líquido para a diferenciação entre coliformes e coliformes termotolerantes. Os coliformes termotolerantes não foram capazes de utilizar o citrato como a única fonte de carbono e o sal de amônio inorgânico como a única fonte de nitrogênio. Os coliformes não tolerantes, tais como *Enterobacter aerogenes* puderam utilizar o citrato no meio, com alcalinidade resultante. Uma desvantagem do meio líquido foi a sua aparência turva quando se utilizou um inóculo concentrado, mesmo sem a ocorrência de crescimento. Esta observação levou Simmons a criar um meio sólido para eliminar o problema da turvação.²

O **Ágar Citrato Simmons** é uma modificação do meio Koser, com a adição de azul de Bromotimol e 1,5 % de ágar. Os organismos capazes de metabolizar o citrato crescerem com exuberância. O meio é alcalinizado e a cor muda de verde para um azul escuro em 24 – 48 horas. A *Escherichia coli* não cresce neste meio, ou cresce tão esparsamente que nenhuma alteração é aparente. O **Ágar Citrato Simmons** é recomendado para a diferenciação de bacilos entéricos Gram-negativos provenientes de espécimes clínicos,^{3,4} amostras de água⁵ e alimentos.^{6,7}

Princípios do Procedimento

Di-hidrogenofosfato de Amônio é a única fonte de nitrogênio no **Ágar Citrato Simmons**. O Fosfato Dipotássico atua como um tampão. O Cloreto de Sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio. O Citrato de Sódio é a única fonte de carbono deste meio. O Sulfato de Magnésio é um cofator para uma variedade de reações metabólicas. O Azul de Bromotimol é o indicador de pH. Os organismos que podem utilizar o Di-hidrogenofosfato de Amônio e o Citrato de Sódio como suas únicas fontes de nitrogênio e carbono, crescerão neste meio e produzirão uma mudança na coloração, de verde (neutro) para azul (alcalino). O ágar é o agente solidificante.

Fórmula / Litro

| | |
|------------------------------------|--------|
| Di-hidrogenofosfato de Amônio..... | 1 g |
| Fosfato Dipotássico..... | 1 g |
| Cloreto de Sódio..... | 5 g |
| Citrato de Sódio..... | 2 g |
| Sulfato de Magnésio..... | 0,2 g |
| Azul de Bromotimol | 0,08 g |
| Ágar..... | 15 g |

pH Final: 6,9 ± 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. IRRITANTE. Irritante para os olhos, pele e sistema respiratório.

Modo de Preparo

1. Suspenda 24,2 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 1 minuto para dissolver completamente o meio.
3. Dispense em tubos e autoclave a 121°C por 15 minutos.
4. Após a autoclave, deixe o meio solidificar em uma posição inclinada.

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e de amarelo com tons verdes a verde com tons amarelos.

Aparência Preparado: O meio preparado é de coloração verde floresta a levemente turvo.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no Ágar Citrato Simmons incubado em condições e temperatura apropriadas e examinado para crescimento após 18 - 48 horas.

| Micro-organismo | Inóculo Aproximado (UFC) | Resultados Esperados | |
|--|--------------------------|--------------------------|------------|
| | | Crescimento | Reações |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC® 13048 | Inoculação Direta | Crescimento | Meio azul |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 | Inoculação Direta | Inibição parcial a total | Meio verde |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC® 13076 | Inoculação Direta | Crescimento | Meio azul |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028 | Inoculação Direta | Crescimento | Meio azul |
| <i>Shigella flexneri</i> ATCC® 12022 | Inoculação Direta | Inibição parcial a total | Meio verde |

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para o teste de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

1. Obtenha uma colônia pura do organismos a ser testado.
2. Semeie somente a superfície da inclinação com um leve inóculo.
3. Incube os tubos a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 – 48 horas com as tampas frouxas.

Resultados

Uma reação positiva é indicada pelo crescimento no tubo com uma coloração azul intensa (reação alcalina). Uma reação negativa é indicada pela inibição ou crescimento fraco sem mudança na coloração (o meio permanece verde).

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre 2 - 30°C. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

1. Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento fraco ou ausência de crescimento neste meio.
2. Alguns organismos citrato-positivos necessitam de uma período de incubação de 48 horas ou mais para que ocorra uma mudança no pH.⁸

Embalagem

| | | | |
|----------------------|-----------|-------|-------|
| Ágar Citrato Simmons | N° Código | 7156A | 500 g |
| | | 7156B | 2 kg |
| | | 7156C | 10 kg |

Referências

1. **Koser, S. A.** 1923. Utilization of the salts of organic acids by the colon-aerogenes group. J. Bacteriol. **8**:493.
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.
3. **Isenberg, H. D. (ed.)**. 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. **Baron, E. J., L. R. Peterson, S. M. Finegold.** 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
5. **Eaton, A. D., L. S. Clesceri, and A. E. Greenberg (eds.)**. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. **Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.)**. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. **www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm**.
8. **MacFaddin, J. D.** 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.