



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

La Simmons Citrate Agar est un milieu de culture servant à la différenciation des bactéries Gram négatives qui est basé sur l'utilisation du citrate.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'une aiguille à ensemencer, inoculer légèrement les tubes. Pour ce faire, strier la pente et piquer le culot en utilisant des cultures de gélose **Trypticase** Soy Agar Slant âgées de 18 à 24 h.
 - b. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2 °C.
 - c. Incorporer des **Trypticase** Soy Agar Slants pour qu'elles jouent le rôle de contrôles non sélectifs pour les deux organismes.
2. Examiner les tubes au bout de 48 h et de 96 h afin de contrôler la croissance et le changement de couleur.
3. Résultats attendus
 - **Enterobacter aerogenes*. Croissance avec pente de couleur bleue
ATCC 13048
 - **Escherichia coli*.....Aucune croissance ou des traces de croissance, sans changement de couleur
ATCC 25922

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur.

REMARQUE : Ce milieu n'est pas soumis aux tests de Contrôle Qualité par l'utilisateur selon CLSI M22-A3.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour détecter une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La Simmons Citrate Agar (gélose au citrate Simmons) est utilisée pour différencier les bactéries Gram négatives sur la base de l'utilisation du citrate.

V RESUME ET EXPLICATION

En 1923, Koser¹ a développé un milieu liquide composé de sels inorganiques dans lequel le sel d'ammonium constituait la seule source d'azote et le citrate la seule source de carbone, dans le but de différencier des espèces aujourd'hui connues sous le nom d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter aerogenes* dans le cadre de tests de l'IMViC (Indole-Methyl Red-Voges Proskauer-Citrate). En 1926, Simmons² a modifié cette formulation en ajoutant 1,5 % de gélose et de bleu de bromothymol.³ Les organismes capables de métaboliser le citrate se développent bien dans ce milieu.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Les organismes capables d'utiliser le phosphate d'ammonium dihydrogéné et le citrate de sodium comme uniques sources d'azote et de carbone respectivement se développent dans ce milieu et produisent une réaction alcaline, laquelle est mise en évidence par le passage de l'indicateur au bleu de bromothymol du vert (réaction neutre) au bleu (réaction alcaline).

VII REACTIFS

Simmons Citrate Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Phosphate d'ammonium dihydrogéné	1,0	g
Phosphate bipotassique	1,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g
Citrate de sodium	2,0	g
Sulfate de magnésium	0,2	g
Gélose	15,0	g
Bleu de bromothymol	0,08	g

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation

Des réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{4,5} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Simmons Citrate Agar Slants

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Ensemencer les pentes avec une croissance provenant d'une culture pure en utilisant un inoculum léger. Incuber tous les tubes pendant 24 à 48 h ou pendant 4 jours maximum à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Chaque lot de milieu a été testé à l'aide des organismes de contrôle de qualité adaptés et ces tests sont conformes aux spécifications du produit, ainsi qu'aux normes CLSI, lorsqu'elles sont applicables. Comme toujours, les tests de CQ doivent être réalisés conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales, aux exigences d'accréditation et/ou aux protocoles de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement.

X RESULTATS

Une croissance avec une pente d'un bleu intense indique une réaction positive. Aucune croissance, ou la présence de traces de croissance sans changement de couleur (le milieu reste vert sombre) indique une réaction négative.

Pour connaître les autres caractéristiques de différenciation, consulter les publications citées en référence.^{6,7}

XI CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de Simmons Citrate Agar Slants sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. Des échantillons représentatifs du lot sont testés avec des cultures **Trypticase Soy Agar** d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) et d'*Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) par striage de la pente et piqûre du culot avec une aiguille à ensemencer. Les tubes sont examinés après 2 et 4 jours d'incubation à 35 ± 2 °C.

E. aerogenes présente au moins une légère croissance qui s'accompagne d'une réaction alcaline marquée par un passage à la couleur bleue de l'indicateur dans le milieu. Aucune réaction (aucun changement de couleur) n'est visible avec *E. coli* et sa croissance peut être complètement inhibée à faible.

XII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
---------	-------------

221026	BD BBL Simmons Citrate Agar Slants, boîte de 10 tubes de taille K
--------	---

221027	BD BBL Simmons Citrate Agar Slants, carton de 100 tubes de taille K
--------	---

XIII REFERENCES

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.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site 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