

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

La **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** est un milieu sélectif et différentiel servant à l'isolement et à la différenciation de microorganismes à Gram positif à partir d'échantillons cliniques et non cliniques. La **BD BBL MacConkey II Agar** (gélose de MacConkey II) est un milieu sélectif et différentiel servant à détecter des coliformes et des pathogènes entériques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

A. BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A chaque boîte, ajouter 0,1 mL d'une culture en bouillon âgée de 18 à 24 h diluée à la concentration de 10^3 à 10^4 UFC/0,1 mL pour les souches de *Streptococcus* et *Staphylococcus*, et 10^4 à 10^5 UFC/0,1 mL pour la souche de *Proteus*. Ensemencer par étalement à l'aide d'un étaleur de verre stérile.
 - b. Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone.
 - c. Inclure des boîtes de **BD Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** comme contrôles non sélectifs pour l'ensemble des microorganismes.
2. Examiner les boîtes après 18 à 24 h pour évaluer la croissance bactérienne, la taille des colonies, les réactions hémolytiques, l'apparition d'une pigmentation et sa sélectivité.
3. Résultats attendus

Souches de contrôle CLSI	ATCC	Résultat
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Croissance, bêta-hémolyse
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Croissance, alpha-hémolyse
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Croissance
* <i>Proteus mirabilis</i>	12453	Inhibition (partielle à complète)

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

B. BD BBL MacConkey II Agar

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec des dilutions des cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Strier les boîtes servant à l'isolement avec une culture en bouillon d'*Enterococcus faecalis* âgée de 18 à 24 h et diluée à une concentration de 10^4 à 10^5 UFC/boîte. Pour les autres microorganismes, utiliser une culture en bouillon âgée de 18 à 24 h et diluée à une concentration de 10^3 à 10^4 UFC/boîte.
 - b. Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
 - c. Inclure des boîtes de TSA II comme contrôles non sélectifs pour l'ensemble des microorganismes.
2. Examiner les boîtes après 18 à 24 h pour évaluer la croissance bactérienne, la taille des colonies, l'apparition d'une pigmentation et sa sélectivité.
3. Résultats attendus

Souches de contrôle CLSI	ATCC	Résultat	Couleur des colonies
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Croissance	Roses
* <i>Proteus mirabilis</i>	12453	Croissance, inhibition de l'essaimage (partielle)	Incolores
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> sérotipe Typhimurium	14028	Croissance	Incolores
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Inhibition (partielle)	
Souches supplémentaires utilisées			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Croissance	Roses à vertes
<i>Shigella dysenteriae</i>	9361	Croissance	Incolores à roses

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

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les boîtes comme indiqué à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des boîtes représentatives pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de $7,3 \pm 0,2$ (**BD BBL Columbia CNA With 5% Sheep Blood**) et $7,1 \pm 0,2$ (**BD BBL MacConkey II Agar**).
4. Noter la fermeté des boîtes pendant l'ensemencement.
5. Incuber des boîtes représentatives non ensemencées à 35 ± 2 °C et les examiner après 72 h pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (gélose **BD BBL Columbia CNA** avec 5 % de sang de mouton) est un milieu sélectif et différentiel servant à l'isolement et à la différenciation de microorganismes à Gram positif à partir d'échantillons cliniques et non cliniques.

La **BD BBL MacConkey II Agar** (gélose de MacConkey II) est un milieu légèrement sélectif et différentiel servant à détecter les coliformes et les pathogènes entériques.

V RESUME ET EXPLICATION

A. **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

En 1966, Ellner et al. ont décrit la mise au point d'une nouvelle formulation de gélose au sang appelée « Columbia Agar ». ¹ La base de gélose Columbia, qui favorise une croissance rapide et abondante et des réactions hémolytiques bien définies, sert de base pour les milieux au sang et les formulations sélectives dans lesquelles différentes associations d'agents antimicrobiens sont utilisées comme additifs.

Ellner et al. ont montré qu'un milieu contenant 10 mg de colistine et 15 mg d'acide nalidixique par litre dans une base de gélose Columbia enrichie de 5 % de sang de mouton favorise la croissance des staphylocoques, des streptocoques hémolytiques et des entérocoques tout en inhibant la croissance de *Proteus* et de *Klebsiella* et de *Pseudomonas* sp. ¹⁻³ Dans la **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**, la concentration d'acide nalidixique a été ramenée à 10 mg/L afin d'améliorer la mise en évidence de cocci à Gram positif dans les échantillons cliniques.

B. **BD BBL MacConkey II Agar**

Aujourd'hui, de nombreux milieux permettent d'isoler, de cultiver et d'identifier les bactéries entériques en laboratoire. L'un des premiers milieux mis au point a été décrit par MacConkey dans une brève publication. ² L'article fondateur sur la gélose de MacConkey a été publié en 1905 et contenait des descriptions détaillées du milieu et des profils de croissance bactérienne obtenus. ³ Cette formulation s'appuyait sur le fait que les sels biliaires sont précipités par les acides et que certains microorganismes entériques fermentent le lactose alors que d'autres n'ont pas cette capacité.

Depuis la publication de ces travaux, la formule de la gélose de MacConkey a été modifiée plusieurs fois. Une compilation des milieux de culture publiée en 1930 répertoriait dix modifications publiées à cette époque. ⁴ Les modifications plus récentes portent sur l'utilisation d'additifs (p. ex., kanamycine ⁵) et la suppression de certains ingrédients (p. ex., cristal violet ⁶ et rouge neutre ⁷).

Une MacConkey Agar (MCIC Agar) modifiée est l'un des milieux de culture recommandés par l'American Public Health Association pour l'analyse de l'eau de mer et des fruits de mer. ⁸ La gélose de MacConkey s'emploie également pour les analyses microbiologiques des aliments. ⁹ Elle est recommandée pour les échantillons cliniques susceptibles de contenir des flores microbiennes mixtes, comme l'urine et les prélèvements effectués dans les voies respiratoires ou sur les plaies, car elle permet un regroupement préliminaire des bactéries entériques et des autres bactéries à Gram négatif. ¹⁰

La formulation du **BD BBL MacConkey II Agar** a été mise au point en 1983. Elle a été spécialement conçue pour renforcer l'inhibition de l'essaimage des espèces de *Proteus* afin de différencier plus résolument les fermentants des non-fermentants du lactose et favoriser une meilleure croissance des pathogènes entériques.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

A. **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

La **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** tire ses remarquables propriétés nutritives de l'association de peptones issues de produits de digestion pancréatique de caséine, de produits de digestion peptique de tissus animaux et d'extraits de bœuf. L'extrait de levure et la fécule de maïs entrent également dans la composition et servent de sources d'énergie, l'extrait de levure apportant le complexe vitaminique B.

Le sang de mouton permet de détecter les réactions hémolytiques et apporte le facteur X (hème) nécessaire à la croissance de nombreuses espèces bactériennes, mais il est dépourvu de facteur V (nicotinamide adénine dinucléotide, NAD), car il contient une NADase qui hydrolyse le NAD. Noter que ce milieu possède une teneur relativement élevée en hydrates de carbone. Par conséquent, les streptocoques bêta-hémolytiques peuvent y produire une réaction hémolytique verdâtre que l'on peut confondre avec une réaction d'alpha-hémolyse.

L'ajout d'agents antimicrobiens (colistine et acide nalidixique) rend le milieu sélectif pour les microorganismes à Gram positif. La colistine désorganise les membranes plasmiques des microorganismes à Gram négatif, alors que l'acide nalidixique bloque la réplication de l'ADN chez les bactéries à Gram négatif sensibles. ¹¹

B. **BD BBL MacConkey II Agar**

La **BD BBL MacConkey II Agar** est un milieu sélectif et différentiel. Elle est seulement légèrement sélective car la concentration de sels biliaires, qui inhibent les microorganismes à Gram positif, est faible par comparaison avec d'autres milieux d'étalement entériques. Du cristal violet est également inclus dans le milieu pour inhiber la croissance des bactéries à Gram positif, notamment les entérocoques et les staphylocoques.

L'isolement des microorganismes entériques s'obtient par l'association du lactose et de l'indicateur rouge neutre. Les colonies sont incolores ou de couleur rose à rouge suivant la capacité de l'isolat à fermenter l'hydrate de carbone.

VII REACTIFS

BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	12,0 g	Chlorure de sodium	5,0 g
Digestion peptique de tissu animal	5,0 g	Gélose	13,5 g
Extrait de levure	3,0 g	Colistine	10,0 mg
Extrait de bœuf	3,0 g	Acide nalidixique	10,0 mg
Fécule de maïs	1,0 g	Sang de mouton défibriné	5 %

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

BD BBL MacConkey II Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	17,0 g	Chlorure de sodium.....	5,0 g
Digestion pancréatique de caséine	1,5 g	Rouge neutre	0,03 g
Digestion peptique de tissu animal.....	1,5 g	Cristal violet	0,001 g
Lactose.....	10,0 g	Gélose.....	13,5 g
Sels biliaires	1,5 g		

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

Avertissements et précautions: Réservé au diagnostic *in vitro*.

En présence d'une condensation excessive, poser de biais un rebord du fond sur un rebord du couvercle retourné pour sécher la condensation afin d'empêcher la formation d'un joint entre la partie supérieure et la partie inférieure de la boîte pendant l'incubation.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »¹²⁻¹⁵ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les boîtes préparées, les récipients ayant contenu des échantillons et le matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation: Dès réception, conserver les boîtes dans l'obscurité, à une température de 2 à 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Conservées dans leur emballage d'origine, à une température comprise entre 2 et 8 °C, jusqu'au moment de l'utilisation, les boîtes préparées peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption et incubées pendant la durée d'incubation recommandée. Laisser le milieu s'équilibrer jusqu'à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit: Ne pas utiliser les boîtes si elles présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Différents écouvillons et récipients ont été conçus pour recueillir les échantillons. Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire. Plusieurs milieux ou systèmes de transport, comme les produits de prélèvement et de transport des échantillons **BD BBL**, ont été conçus pour prolonger la survie des microorganismes lorsqu'un délai important sépare le prélèvement et la mise en culture effective des échantillons.

Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes de prélèvement et de préparation des échantillons.^{16,17}

Le laboratoire doit disposer d'informations cliniques suffisantes pour permettre au microbiologiste de sélectionner les milieux de culture et les techniques les mieux appropriés.

IX METHODE

Matériaux fournis: **BD BBL** Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood and **BD BBL** MacConkey II Agar (**BD I Plate**)

Matériaux requis mais non fournis: Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test:

La surface de la gélose doit être lisse et humide, mais sans excès d'humidité.

Strier le milieu avec l'échantillon dès que possible après réception au laboratoire. La boîte d'étalement sert principalement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant des flores mixtes. Si le prélèvement est mis en culture directement à partir d'un écouvillon, rouler l'écouvillon sur une petite partie de la gélose au niveau du bord de la boîte, puis strier la gélose à partir de cette zoneensemencée.

Incuber les boîtes à l'abri de la lumière, à 35 °C ± 2 °C, pendant 18 à 24 h. Incuber les prélèvements d'origine respiratoire en atmosphère aérobie enrichie de dioxyde de carbone. Incuber les autres échantillons en atmosphère aérobie non enrichie de CO₂.

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

A l'issue de l'incubation, la plupart des boîtes présentent une zone de croissance agglomérée. Comme la méthode de striage est en fait une technique de « dilution », un nombre décroissant de microorganismes est déposé sur la gélose striée. Par conséquent, une ou plusieurs de ces zones doivent présenter les colonies isolées des microorganismes contenus dans l'échantillon. La nature inhibitrice de ces milieux améliore la mise en évidence.

Les colonies isolées sur **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** présentent typiquement la morphologie suivante :

Streptocoques (hors groupe D) Petite taille, blanche à grisâtre. Alpha ou bêta-hémolyse.

Entérocoques (groupe D) Petite taille, mais plus importante que celle des streptocoques de groupe A, couleur gris-bleu.
Alpha ou bêta-hémolyse.

Staphylocoques Grande taille, blanche à grise ou crème à jaune, avec ou sans hémolyse

Microcoques Grande taille, blanche à grise ou jaune à orange, avec ou sans hémolyse

Corynebactéries Petite à grande taille, blanche à grise ou jaune, avec ou sans hémolyse

Candida Petite taille, blanche

Listeria monocytogenes Petite à grande taille, couleur gris-bleu, avec bêta-hémolyse

Bactéries à Gram négatif Croissance nulle ou très faible

Les colonies isolées sur **BD BBL MacConkey II** présentent typiquement la morphologie suivante :

E. coli Rose à rose-rouge (parfois entourée d'une zone de précipités biliaries.)

Enterobacter/Klebsiella Aspect muqueux, rose

Proteus Incolore ; l'essaimage dans les zones des colonies isolées est inhibé

Salmonella Incolore

Shigella Incolore

Pseudomonas Irrégulière, incolore à rose

Bactéries à Gram positif Croissance nulle à légère

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Des auteurs ont observé que certaines *Entérobactéries* et *Pseudomonas aeruginosa* sont inhibés sur gélose de MacConkey lorsqu'ils sont incubés dans une atmosphère enrichie en CO₂.¹⁸

Toutes les souches d'*E. coli* ne fermentent pas le lactose.

Certains tests diagnostiques peuvent être réalisés avec le milieu primaire. Cependant, une culture pure est recommandée pour réaliser des tests biochimiques et d'autres tests d'identification. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.¹⁹⁻²³

Un milieu unique est habituellement insuffisant pour détecter l'ensemble des microorganismes d'importance clinique éventuellement présents dans un échantillon. Il faut savoir que la croissance des microorganismes habituellement sensibles à l'agent antimicrobien d'un milieu sélectif peut être complètement ou seulement partiellement inhibée en fonction de la concentration de l'antimicrobien, des caractéristiques de la souche microbienne et du nombre de microorganismes présents dans l'inoculum. La croissance des microorganismes habituellement résistants à l'agent antimicrobien ne doit pas être inhibée. Les échantillons cultivés sur des milieux sélectifs doivent, par conséquent, être également cultivés sur des milieux non sélectifs pour recueillir des informations complémentaires et faciliter la mise en évidence de pathogènes éventuels.

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Les caractéristiques de performances de tous les lots de **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** sont testées en usine.

Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés par striage avec 0,1 mL des cultures suivantes : *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 6305) et *S. pyogenes* (ATCC 19615). Les inoculums de *S. aureus*, *S. pneumoniae* et *S. pyogenes* sont dilués à une concentration de 10³ à 10⁴ unités formant colonies (UFC) par 0,1 mL ; l'inoculum de *P. mirabilis* est dilué à la concentration de 10⁴ à 10⁵ UFC/0,1 mL. Les boîtes ensemencées sont incubées à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie, enrichie en dioxyde de carbone. Après 18 à 24 h d'incubation, *S. aureus*, *S. pneumoniae* et *S. pyogenes* présentent une croissance moyenne à importante, avec des colonies de morphologie et pigmentation typiques et une hémolyse caractéristique, alors que *P. mirabilis* présente une croissance nulle à moyenne, des colonies incolores et une inhibition de l'essaimage.

BD BBL MacConkey II Agar

Les caractéristiques de performances de tous les lots de **BD BBL MacConkey II Agar** sont testées en usine. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés par striage avec les cultures suivantes. *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Shigella dysenteriae* (ATCC 9361) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). L'inoculum d'*E. faecalis* est dilué de façon à obtenir 10⁴ à 10⁵ unités formant colonies (UFC) par boîte ; les inoculums des autres microorganismes sont dilués à 10³ à 10⁴ UFC/boîte. Les boîtes ensemencées sont incubées à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie. Après 18 à 24 h d'incubation, les colonies d'*E. coli* sont de couleur rose-rouge et parfois entourées d'une zone de précipités biliaries ; *P. mirabilis* présente une croissance moyenne à importante de colonies incolores avec inhibition de l'essaimage ; *P. aeruginosa* présente des zones de croissance agglomérée avec parfois une pigmentation verte à jaune-vert, tandis que les colonies isolées présentent une pigmentation rose à verte ; *Salmonella* Typhimurium présente une croissance moyenne à importante et des colonies incolores ; *S. dysenteriae* présente des colonies incolores à roses ; *E. faecalis* est partiellement à complètement inhibé (croissance moyenne) et présente des colonies parfois roses.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221600	BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood and BD BBL MacConkey II Agar BD I Plate , coffret de 20 boîtes C €
221601	BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood and BD BBL MacConkey II Agar BD I Plate , carton de 100 boîtes

XIV REFERENCES

1. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:502–504.
2. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. *The Lancet*, Part II:20.
3. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J. Hyg.* 5:333–379.
4. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
5. Andersen, R.L., D.R. Graham, and R.E. Dixon. 1981. Rapid presumptive identification of *Citrobacter diversus* as an aid in controlling infections. *J. Clin. Microbiol.* 14:161–164.
6. World Health Organization. 1963. International standards for drinking waters, 7th ed. Churchill Ltd. London.
7. Walters, E.W., M.L. Cooper, and H.M. Keler. 1954. The detection microscopically of colonies of *Shigella* in stool cultures. *J. Bacteriol.* 67:247–251.
8. Greenberg, A.E., and D.A. Hunt (ed.). 1985. Laboratory procedures for the examination of seawater and shellfish, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
9. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. 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.
11. Estevez, E.G. 1984. Bacteriologic plate media: review of mechanisms of action. *Lab. Med.* 15:258–262.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
13. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53–80.
14. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
15. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021–0045.
16. Isenberg, H.D., F.D. Schoenknecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. Miller, J.M. and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p.33–63. 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.
18. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.
19. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
20. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
21. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
22. 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.
23. 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.

Service et assistance technique : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com.



 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.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.