



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le SIM (Sulfide Indole Motility) Medium est utilisé pour déterminer la production de sulfure, la formation d'indole et la motilité des microorganismes entériques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Desserrer les bouchons, porter à ébullition et faire refroidir avant utilisation.
 - b. Ensemencer les tubes avec des cultures de bouillon de **Trypticase** Soy Broth diluées à 1/10 et incubées pendant 18 à 24 heures. Pour ce faire, utiliser une aiguille droite et piquer le milieu jusqu'à mi-profondeur environ.
 - c. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2 °C.
2. Au bout de 18 à 24 heures et de 42 à 48 heures, examiner les tubes afin de contrôler la croissance, la motilité et la présence de sulfure.
3. Après 48 h, tester la production d'indole. Ajouter 0,2 mL de réactif de Kovacs dans les tubes. Observer l'apparition d'une couleur rose à rouge (réaction positive).
4. Résultats attendus

	H ₂ S	Indole	Motilité
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	+	+
* <i>Salmonella enterica</i> sous-espèce. <i>enterica</i> sérotipe Typhimurium ATCC 13311	+	-	+
* <i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	-	-	-

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

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 déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

Le SIM Medium (Milieu sulfure-indole-motilité) sert à différencier les bacilles entériques sur la base de la production de sulfure, de la formation d'indole et de la motilité.

V RESUME ET EXPLICATION

La production d'acide sulfhydrique, la formation d'indole et la motilité sont des caractéristiques permettant d'identifier les *Enterobacteriaceae*, et en particulier les *Salmonella* et les *Shigella*. Le SIM Medium est donc utile dans le processus d'identification des agents entéro-pathogènes.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Les ingrédients du SIM Medium permettent de déterminer trois activités distinguant les entérobactéries. Le thiosulfate de sodium et le sulfate d'ammonium ferreux sont des indicateurs de production d'acide sulfhydrique. Le sulfate d'ammonium ferreux réagit au gaz H₂S en produisant du sulfure de fer, un précipité noir.¹ La peptone de caséine est riche en tryptophane, qui, lorsqu'il est attaqué par certains microorganismes, produit de l'indole. L'addition de réactifs chimiques après la période d'incubation permet de détecter l'indole. La détection de la motilité

est possible en raison de la nature semi-solide du milieu. Si l'organisme est motile, la croissance prolifère à partir de la ligne de piqûre centrale.

VII REACTIFS

SIM Medium

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	20,0	g
Digestion peptique de tissu animal	6,1	g
Sulfate d'ammonium ferreux	0,2	g
Thiosulphate de sodium	0,2	g
Gélose	3,5	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

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité à une température comprise entre 2 et 25 °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.^{2,3} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

SIM Medium

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.

Desserrer les bouchons, porter à ébullition et faire refroidir avant utilisation. A l'aide d'un inoculum léger de culture pure, enfoncer une aiguille à ensemencer à mi-profondeur au centre du tube. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, pendant 18 à 48 h à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

Après incubation, observer la motilité (croissance diffuse à partir de la ligne de piqûre ou turbidité dans tout le milieu) et la production de H₂S (noircissement sur la ligne de piqûre). Pour détecter la production d'indole, ajouter trois ou quatre gouttes de réactif de Kovács² et vérifier si une coloration rouge apparaît (réaction positive).

Pour connaître les activités de microorganismes spécifiques, consulter les publications citées en référence.⁴⁻⁶

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.²⁻⁶

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de SIM Medium 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 de **Trypticase** Soy broth diluées à 1/10 de *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311), d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) et de *Shigella sonnei* (ATCC 9290) par piqûre au centre du milieu avec une aiguille à ensemencer, jusqu'à mi-profondeur approximativement. Les tubes sont incubés, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C. Au bout de 18 à 24 h et de 42 à 48 h, ils sont examinés afin d'évaluer la croissance, la motilité, la formation d'indole et la production de sulfure. La croissance de tous les organismes est modérée à forte dans les 48 h. La motilité d'*E. coli* et de *Salmonella* Typhimurium est indiquée par le schéma de la croissance de l'organisme dans le milieu (la croissance part de la ligne centrale d'ensemencement et se répand régulièrement dans tout le milieu). *S. sonnei* n'est pas motile (sa croissance n'est visible que sur la ligne centrale d'ensemencement). Seule la bactérie *Salmonella* Typhimurium est positive pour la production d'acide sulfhydrique indiquée par le noircissement du milieu. Après une incubation de 48 h, ajouter 0,2 mL de réactif de Kovács dans chaque tube. Seule la bactérie *E. coli* est positive pour la formation d'indole, cela étant indiqué par une coloration rose à rose foncé du milieu dans le tube.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221010	BD BBL SIM Medium, boîte de 10 tubes de taille K
221011	BD BBL SIM Medium, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.) 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
5. 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.
6. 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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.