



SIMMONS-CITRAT-AGAR

Zur Differenzierung von Mikroorganismen auf Basis der Citratverwertung
Koser-Citrat-Agar (modifiziert), nach ISO 10273
5774

Zusammensetzung in g/l:

Natriumchlorid	5,0
Natriumcitrat	2,0
Ammoniumdihydrogenphosphat	1,0
Kaliumphosphat	1,0
Magnesiumsulfat	0,2
Bromthymolblau	0,08
Agar	15,0
pH	6,9 ± 0,2

HERSTELLUNG

24,3 g des Mediums werden in einem Liter destillierten Wasser suspendiert. Man mische gut und erhitze unter häufigem Rühren/Schütteln und lasse eine Minute lang kochen. Kulturröhrchen werden zu etwa 1-1,5 cm mit flüssigem Agar gefüllt und im Autoklaven für 15 Minuten bei 121 °C sterilisiert. Man lässt in schräger Lage abkühlen, so dass eine geneigte Oberfläche entsteht. Alternativ dazu wird der Agar im Kolben autoklaviert und dann in Petrischalen gegossen. Der zubereitete Agar sollte bei 2-8 °C gelagert werden. Die Farbe ist blau-grün.

EINSATZGEBIET

Simmons-Citrat-Agar wird verwendet zur Differenzierung Gram-negativer Enterobakterien auf der Basis von Natriumcitrat als Kohlenstoff- und anorganisches Salz als Stickstoffquelle. Es wird speziell empfohlen zur Differenzierung von Coliformen aus Wassern und klinischen Proben im Rahmen der IMViC-Reaktionen. Auf der Schräge der Agarröhrchen wachsen ausschließlich diejenigen Mikroorganismen, die Citrat als Quelle verwerten können. Durch den Indikator Bromthymolblau verschiebt sich in diesen Kolonien die Farbe nach blau (alkalisch), während bei den Mikroorganismen, die Citrat nicht verwerten können (negativer Test), das Medium grün bleibt.

Bitte beachten: Um eine sichere Selektion von Citratverwertern und nicht-Citratverwertern zu gewährleisten, muss jegliche weitere Kohlenstoffquelle vermieden werden. Eine Vorverdünnung der Proben muss daher statt in Peptonwasser in Salzlösung (z.B. PBS) stattfinden.

Escherichia coli, neben *Shigella*, *Yersinia* und *Edwardsiella* Spezies, wachsen nicht auf diesem Medium. *Serratia* sowie die meisten Spezies von *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* und *Providencia*, außer *Morganella morganii* und *Klebsiella rhinoscleromatis*, verwerten Citrat und zeigen die typische blaue Färbung.

Simmons-Citrat-Agar wird ebenfalls verwendet, um die citratpositiven Serotypen *Salmonella enteritidis* und Mitglieder der *Salmonella* Untergruppen II, III und IV von den citratnegativen Serotypen *Salmonella typhi*, *S. paratyphi A*, *S. pullorum* und *S. gallinarum* zu unterscheiden. Diese zeigen nur sehr schwaches Wachstum bei grüner Medien/Kolonienfarbe.

zur Inokulation von Röhrchen wird die Oberfläche des Agars bestrichen und das Inokulum in die Tiefe gedrückt. Die Röhrchen werden bei 35±2 °C für 4 Tage inkubiert. Die ISO-Norm 10273 empfiehlt dieses Medium zur Bestätigung von *Yersinia enterocolitica*. Das inokulierte Medium wird bei 30 °C für 24 Stunden inkubiert. Da *Y. enterocolitica* Citrat nicht als Kohlenstoffquelle verwerten kann, bleibt das Medium grün. Wenn keine eindeutigen Resultate erzielt werden, wie es bei einigen Stämmen von *Providencia* vorkommen kann, muss für 7 Tage inkubiert werden.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von 35±2 °C für 24-48 Stunden.

e.: *enterica*; e.e.: *enterica*, Subspezies *enterica*

Mikroorganismen	Wachstum	Kolonie-/ Medienfarbe	Citrat	Subspezies
<i>Salmonella e. e. enteritidis</i> ATCC 13076	Gut	Blau	positiv	I
<i>Salmonella e. e. typhimurium</i> ATCC 14028	Gut	Blau	positiv	I
<i>Salmonella e. e. typhi</i> ATCC 19430	schwach	Grün	negativ	I
<i>Salmonella e. ssp. salamae, arizonae, diarizonae, houtenae</i> **	Gut	Blau	positiv	II, III, IV
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Gut	Blau	positiv	-
<i>Citrobacter ssp.</i> **	Gut	Blau	positiv	-
<i>Klebsiella ssp.</i> **	Gut	Blau	positiv	-
<i>Proteus ssp.</i> **	Gut	Blau	positiv	-
<i>Providencia ssp.</i> **	Gut	Blau	positiv	-
<i>Morganella morganii</i> **	Inhibiert	Grün	negativ	-
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> **	Inhibiert	Grün	negativ	-
<i>Edwardsiella ssp.</i> **	Inhibiert	Grün	negativ	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibiert	Grün	negativ	-
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	Inhibiert	Grün	negativ	-
* <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 27729	Inhibiert	Grün	negativ	-

* Inkubation inokulierter Platten bei 30 °C für 24 Stunden. ** Keine Teststämmen. Typisches Erscheinungsbild.

Simmons (1926) *J. Inf. Dis.* 39:209-241

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Eleventh Edition. APHA Inc. New York, 1960.

Edwards & Ewing. Enterobacteriaceae. USPHS. Publications 743. Washington, 1972.

Torregrosa, M.V., Ortiz, A. (1961) Severe infections in children due to rare Gram negative rods. *Pediatrics* 59:35-41

ISO 10273. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Y. enterocolitica*

SIMMONS-CITRAT-AGAR

500 g

5774.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe
 Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.de • www.carlroth.de

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428. Geschäftsführer: André Houdelet

sse 07/2021

Product Data Sheet



SIMMONS CITRATE AGAR

For differentiation of microorganisms on the basis of citrate utilization
Koser Citrate Agar (modified), acc. to ISO 10273
5774

Formulation in g/l:

Sodium chloride	5.0
Sodium citrate	2.0
Ammonium dihydrogen phosphate	1.0
Potassium phosphate	1.0
Magnesium sulphate	0.2
Bromothymol blue	0.08
Agar	15.0
pH	6.9 ± 0.2

PREPARATION

Suspend 24.3 g of the medium in one litre of deionised or distilled water. Mix well and heat while frequently stirring/shaking. Allow to boil for one minute. Fill approx. 1-1.5 cm of culture vials with liquid agar and sterilise for 15 minutes in the autoclave at 121 °C. Allow to cool at a slanted angle so that a slanting surface can form. Alternatively, the agar may be autoclaved in the flask and poured into petri dishes. The prepared medium should be stored at 2-8 °C. The color is bluish-green.

USES

Simmons Citrate Agar is used to differentiate Gram negative enteric rods on the basis of sodium citrate as a source of carbon and inorganic ammonium salt as a source of nitrogen. It is recommended for the differentiation of coliforms isolated from water and clinical samples as one of the IMViC reactions.

Only those organisms capable of utilizing citrate as a source of carbon grow on the slant and, due to the indicator bromothymol blue, produce a colour change from green to blue (alkaline), whilst when no citrate utilization takes place (negative test), the colour of the medium remains green.

Please note: In order to guarantee reliable discrimination of citrate users and non-citrate users, each other potential carbon source has to be avoided. Hence, sample dilution has to be done in salt solution (for instance PBS) instead of buffered peptone water.

Escherichia coli, alongside *Shigella*, *Yersinia* and *Edwardsiella* species, do not grow on the medium. *Serratia* and most *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Providencia* species, except for *Morganella morganii* and *Klebsiella rhinoscleromatis*, utilize citrate and produce the typical blue coloration.

Simmons Citrate Agar is also used to differentiate citrate-positive serotypes like *Salmonella enteritidis* and members of *Salmonella* subspecies II, III and IV from the citrate-negative serotypes *Salmonella typhi*, *S. paratyphi A*, *S. pullorum* and *S. gallinarum*. These grow only poorly with green colour of medium and colonies.

For inoculation of tubes, the surface of the slant is inoculated and the base stabbed. The tubes are incubated at 35±2 °C for 4 days. ISO 10273 recommends this medium for the confirmation of *Yersinia enterocolitica*. Inoculate and incubate at 30 °C during 24 hours. The medium remains green since *Y. enterocolitica* does not use citrate as the sole source of carbon. If no distinct results are obtained, as in the case of some *Providencia* strains, incubate for 7 days.

Sample dilution may only be done in physiological salt solution, in order to avoid introduction of nutrients and, therefore, false-positive results.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 35±2 °C and observed after 24-48 hours.

e.: *enterica*; e.e.: *enterica*, subspecies *enterica*

Microorganisms	Growth	Colour Colonies / Medium	Citrate	Subspecies
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Good	Blue	positive	I
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Good	Blue	positive	I
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 19430	Poor	Green	negative	I
<i>Salmonella e. ssp salamae, arizonae, diarizonae, houtenae</i> **	Good	Blue	positive	II, III, IV
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Good	Blue	positive	-
<i>Citrobacter ssp.</i> **	Good	Blue	positive	-
<i>Klebsiella ssp.</i> **	Good	Blue	positive	-
<i>Proteus ssp.</i> **	Good	Blue	positive	-
<i>Providencia ssp.</i> **	Good	Blue	positive	-
<i>Morganella morganii</i> **	Inhibited	Green	negative	-
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> **	Inhibited	Green	negative	-
<i>Edwardsiella ssp.</i> **	Inhibited	Green	negative	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibited	Green	negative	-
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	Inhibited	Green	negative	-
* <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 27729	Inhibited	Green	negative	-

* Inoculate and incubate at 30 ° C for 24 hours. ** No test strains. Typical colony appearance.

Simmons (1926) *J. Inf. Dis.* 39:209-241

Edwards & Ewing. Enterobacteriaceae. USPHS. Publications 743. Washington, 1972.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Eleventh Edition. APHA Inc. New York, 1960.

Torregrosa, M.V., Ortiz, A. (1961) Severe infections in children due to rare Gram negative rods. *Pediatrics* 59:35-41

ISO 10273. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the det. of presumptive pathogenic *Y. enterocolitica*

SIMMONS CITRATE AGAR

500 g

5774.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe

Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 07/2021