

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A	COSMETIKIT®	DRY PLATES®	MUGPLUS
CRIOTECA®	CHROMOSALM	DESINFECTEST®	CCCNT
PLAQUIS®	KITPRO-PLUS	CROMOKIT®	MBS
M-IDENT®	SEILAGUA®	SALMOQUICK	AIRESANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		

## **E. SAKAZAKII CROMOKIT IMPROVED CRISTAL VIOLET AGAR**

Agar selectivo y cromogénico para el aislamiento presuntivo de *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*) en alimentos infantiles y lácteos, según Norma ISO/TS 22964:2006, optimizada en 7/2013.

### **COMPOSICIÓN**

Triptona	7,0 g
Cloruro Sódico	5,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Desoxicolato Sódico	0,60 g
Thiosulfato sódico	1,0 g
Mix cromogénico	0,15 g
Cristal Violeta	0,002 g
Agar-Agar cromogénico	15,0 g

(Fórmula por litro)

pH final: 7,0 ± 0,2

### **PREPARACIÓN**

Disolver 31,75 gramos en 1 litro de agua bidestilada. Agitar calentando hasta ebullición. Autoclavar a 121°C durante 15 minutos. No sobrecalentar! El color del medio es púrpura, a veces floculado por el tipo de agar-agar.

PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR, PARA ASEGURAR LA HOMOGENEIZACIÓN DE LOS EVENTUALES GRADIENTES DE DENSIDAD DE LOS COMPONENTES. MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO.

**PRESENTACIÓN:** MEDIO DESHIDRATADO, CODIGO: **DMT315**.

### **CONTROL DE CALIDAD DEL MEDIO:**

Realizado en nuestro laboratorio; es prudente repetirlo en su laboratorio siempre que varíen las condiciones (más de 3 meses sin usar, tras desinfectar laboratorio, tras conservar a alta Tª, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de la etiqueta,...).

DESHIDRATADO: Polvo grueso, Crema-rosado

PREPARADO: Estéril, Púrpura, puede contener flóculos de agar-agar cromogénico: dejarlos precipitar y dispensar en placas el medio sin ellos.

CONTROL DE CRECIMIENTO 24 h a 41°C aproximadamente:

*Enterobacter sakazakii* WDCM00214, Excelente, colonias verde-azuladas. PR >50%

*Escherichia coli* WDCM00013, Excelente, colonias incoloras.

*Enterobacter aerogenes* WDCM00175, Excelente, colonias incoloras con el centro azulado.

*Enterococcus faecalis* WDCM00087, Inhibido.

*Staphylococcus aureus* WDCM 00034, Inhibido.

## SIEMBRA E INTERPRETACIÓN

Sembrar en superficie, en estría, a partir del caldo enriquecido CSEB Broth (DMT313) según ISO/TS 22964:2006: un caldo lauryl sulfato modificado con cloruro sódico y vancomicina que elimina la flora competitiva (incluido *Staphylococcus aureus* y parcialmente *E.coli*).

Incubar 18-24 h a 37-41°C aproximadamente.

Observar la aparición de colonias verde-azuladas, que son presuntivas para *E.sakazakii* y deben confirmarse resemebrando en TSA (BCD011), donde este microorganismo crece con colonias amarillas. Identificar con test bioquímicos (ej. Crystal Gram negativos, ref.MICROKIT 245000, Enterotubos ref.MICROKIT 49578619).

El patógeno emergente *Enterobacter sakazakii* (nueva nomenclatura tras encontrarse, por identificación molecular, 5 especies diferentes dentro del mismo grupo: *Cronobacter sakazakii*) es responsable de gravísimas complicaciones en neonatos de menos de 4 semanas que toman leche contaminada por él, causando hasta un 40-80% de muertes. Pero también crea enfermedades en personas de todas las edades. Ello exige la ausencia de este patógeno en preparados infantiles que estén destinados a este colectivo, así como en productos lácteos, aunque se trate de un microorganismo ubicuo en el medio ambiente y que por tanto, puede contaminar el biberón en el hospital aunque en la fábrica del alimento se haya constatado su ausencia. De todas formas es en la industria donde hay mayor riesgo de contaminación, sobre todo si no hay un riguroso control de la disminución del recuento de enterobacterias (mejor que coliformes) ambientales. El comité del Microbiological Risk Assessment (MRA) de la Food and Agriculture Organization (FAO) y la World Health Organization (WHO) proponen clasificar *C.sakazakii*, junto a Salmonella, como un riesgo de categoría “A” y recomiendan que los análisis de las plantas alimentarias incluyan su detección.

La enzima Beta-D-glucosidasa de este microorganismo reacciona con el sustrato cromogénico beta-X-glucopiranosido presente en el medio, provocando la aparición de colonias verde-azuladas en tan sólo 24 horas. Otras enterobacterias no expresan bien la Beta-D-glucosidasa en este medio, creciendo con colonias crema o púrpura (por el cristal violeta), traslúcidas. El desoxicolato, el cristal violeta y la temperatura de incubación inhiben el crecimiento de otros microorganismos. La adición de más agar-agar del tipo cromogénico a la fórmula inicial termoestabiliza el cromógeno, aunque puede llegar a flocular. El tiosulfato sódico inactiva desinfectantes residuales, como el cloro del agua.

El usuario es el único responsable de la eliminación de los microorganismos según la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar a la basura.

Medio diseñado y fabricado en la UE por MICROKIT desde 2008, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en 3-2020