



ÁGAR CROMOGÊNICO DE ISOLAMENTO DE *CRONOBACTER*

DETECÇÃO DE *CRONOBACTER*

USO

O Ágar CCI é usado para a detecção de *Cronobacter* spp. em produtos alimentícios e ingredientes destinados a consumo humanos e rações. Também é utilizado para o controle de amostras ambientais. O Ágar CCI é usado em particular para a detecção de *Cronobacter sakazakii* e outras espécies em leite em pó, produtos desidratados e formulações infantis. O tipo de composição do Ágar Cromogênico de Isolamento *Cronobacter* está em conformidade com a formulação encontrada na diretiva NF EN ISO 22964.

HISTÓRIA

Cronobacter sakazakii (anteriormente *Enterobacter sakazakii*) é um bacilo Gram-negativo, móvel, não esporulado, anaeróbio facultativo, que forma colônias amarelas pigmentadas após 48-72 horas de incubação em meio não seletivo. É um patógeno oportunista, causador de meningite e enterite, particularmente em recém-nascidos e crianças, e embora a frequência seja bastante baixa em 1 em 100.000, a mortalidade é alta em cerca de 20 a 50%. Enquanto cepas desta espécie foram isoladas de diferentes alimentos, apenas aqueles produtos destinados a alimentos infantis são envolvidos nos episódios infecciosos. Estudos têm mostrado que 100% do *Cronobacter sakazakii* foram positivos para α -glucosidase quando ao mesmo tempo 100% das outras espécies de *Cronobacter* foram negativas para esta enzima. Com base nessas observações, o substrato cromogênico 5-bromo-4-cloro-3-indolil- α -D-glucopiranosídeo (X- α -glucosídeo) foi proposto para diferenciar esta cepa de outros membros da família *Enterobacteriaceae*.

PRINCÍPIOS

Triptona estimula o crescimento do *Cronobacter*.

O extrato de levedura é uma fonte de vitamina B complexa.

O cloreto de sódio mantém a pressão osmótica.

O desoxicolato de sódio permite a inibição da flora Gram positiva.

A enzima α -glicosidase hidrolisa o X- α -glucosídeo e libera a aglicona 5-bromo-4-cloro-indolol.

Na presença de oxigênio, essa aglicona é dimerizada e forma o pigmento bromo-cloro-índigo.

A associação de citrato de amônio férrico e tiossulfato de sódio permite a diferenciação de enterobactérias H₂S positivas das de *Cronobacter*.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para atingir o desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- Triptona	7,00g
- Extrato de levedura	3,00g
- Cloreto de sódio	5,00g
- Desoxicolato de sódio	0,25g
- Citrato de amônio e ferro	1,00g
- Tiossulfato de sódio	1,00g
- 5-bromo-4-cloro-3-indolil, α -D-glucopiranosídeo	150,0mg



- Ágar bacteriológico 14,2g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,3 ± 0,2.

PREPARAÇÃO

- Dissolver 31,6 g de meio desidratado (BK200) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve à ebulação, com agitação constante, até a completa dissolução.
- Distribuir em tubos ou frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter a 47-50°C.
- Despejar em placas de Petri e deixar solidificar em uma superfície fria.

-
Reconstituição:
36,1 g/L
- Esterilização:
15 min a 121°C

INSTRUÇÃO DE USO

- Adicionar assepticamente 10 g ou 10 mL da amostra para testar em 90 mL de água peptonada tamponada.
- Usar um misturador mecânico se necessário.
- Incubar o caldo a 36 ± 2°C por 18 ± 2 horas.
- Retirar 0,1 mL do pré-enriquecimento e adicionar em 10 mL de caldo de triagem para *Cronobacter* (BM155).
- Incubar a 41,5 ± 1,0°C por 24 ± 2 horas.
- Inocular 0,1 mL do meio de enriquecimento no meio CCI.
- Incubar a 41,5 ± 1,0°C por 24 ± 2 horas.

- Pré-enriquecimento
Diluição 1:10
18 h a 36°C
- Enriquecimento:
0,1 mL
24 h a 41,5°C
- Detecção:
Estriar uma alçada do inóculo
24 h a 41,5°C

NOTAS:

Para tamanhos de amostra maiores, pré-aqueça a Água Peptonada Tamponada a 36 ± 2°C. Determinada concentração da amostra pode comprometer a recuperação de cepas estressadas de *Cronobacter* na presença de outros microrganismos. O usuário deve determinar protocolo a ser seguido.

RESULTADO

Característica das colônias:

Microrganismos	Característica da colônia
<i>Cronobacter</i> spp.	Colônias azuis a verde-azuladas de 1 a 3 mm
<i>Escherichia coli</i>	Colônias brancas com centro esverdeado
<i>Salmonella</i> spp, <i>Proteus</i>	Colônias com centro preto
Bactérias Gram-positiva	Inibido

Prosseguir com os testes de confirmação.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó bege e homogêneo.

Meio preparado: ágar âmbar transparente



Resposta de cultura típica após 24 de incubação a 41,5°C:

Microrganismos	Crescimento	Característica
<i>Cronobacter sakazakii</i>	WDCM 00214	Colônias verde-azuladas
<i>Cronobacter muytjensii</i>	WDCM 00213	Colônias verde-azuladas
<i>Enterobacter cloacae</i>	WDCM 00083	Colônias brancas
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE

Meio desidratado: 2-30°C.

Meio pré-derramado em placas de Petri: 2-8°C.

A data de validade está indicada na etiqueta.

Meios preparados em placas (*): 30 dias a 2-8°C.

(*) Valor de referência determinado sob condições de preparação padrão, seguindo as instruções do fabricante.

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 gBK200HA

Meio pré-derramado em placas de Petri (Ø 90 mm):

20 placasBM15408

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Muytjens, H.L., van der ROS, van de Repe, J., and van Druten, H.A. 1984. Enzymatic profiles of *Enterobacter sakazakii* and related species with special reference to the alpha-glucosidase reaction and reproducibility of the test system. *Journal of Clinical Microbiology*, 20:684-686.

Simmons, B.P., Gelfand, M.S., Haas, M., Metts, L., and Ferguson, J. 1989. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 10:398-401.

Iversen, C., Drugan, P., and Forsythe, S. 2004. A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. *International Journal of Food Microbiology*, 96:133-139.

Lehner, A., and Stephan, R. 2004. Microbiological, epidemiological and food safety aspects of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Food Protection*, 67(12):2850-2857.

Guillaume-Gentil, O., Sànnard, V., Kandhai, M.C., Marugg, J.D., and Joosten, H. 2005. A simple and rapid cultural method for detection of *Enterobacter sakazakii* in environmental samples. *Journal of Food Protection*, 68(1):64-69.

Gurtler, J.B., Kornacki, J.L., and Beuchat, L.R. 2005. *Enterobacter sakazakii*: a coliform of increased concern to infant health. *International Journal of Food Microbiology*, 104:1-34.

NF EN ISO 22964. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthode horizontale pour la recherche de *Cronobacter* spp.



OUTRAS INFORMAÇÕES

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: CCI AGAR_EN V5

Criação de data: 03-2016

Data de revisão: 02-2019

Motivo da revisão: Nova embalagem, meio desidratado.