



Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar

Chromogenic medium for detection of *Cronobacter* spp (formerly *E. sakazakii*), according to ISO 22964.

DESCRIPTION

Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar is a chromogenic medium used for the selective isolation of *Cronobacter* spp (formerly *E. sakazakii*) in infant milk products, according to ISO 22964.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Pancreatic Digest of Casein	7.0
Yeast Extract	3.0
Sodium Chloride	5.0
α -D-glucopyranoside	0.15
Sodium Desoxycholate	0.6
Crystal Violet	0.002
Agar	15.0
Final pH 7.0 $\pm$ 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl α -D-glucopyranoside is the chromogenic substrate. Sodium desoxycholate and crystal violet inhibit Gram-positive bacteria. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

<u>Dehydrated medium</u>	Suspend 31.0 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
--------------------------	--

TEST PROCEDURE

ISO 22964 recommends the following procedure:

1. Homogenize the sample diluted 1:10 in Buffered Peptone Water (ref. 24099) and incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 18 ± 2 hours.
2. Transfer 0.1 ml of the enrichment culture into 10 ml of Lauryl Sulfate Tryptose Broth Modified (mLST) (ref. 24452) and incubate at $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$ for 24 ± 2 hours.
3. Streak a loopful (10 μl) onto the surface of an Enterobacter (Cronobacter) Sakazakii Isolation Agar plate and incubate aerobically at $44 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24 ± 2 hours.

Alternatively, samples can be directly streaking onto the plate omitting pre-enrichment and enrichment steps.

INTERPRETING RESULTS

After incubation observe the color of the colonies and interpret the results as indicated in the ID table. Confirm typical colonies with proper biochemical tests.

ID Table.

Microorganism	Typical colony color
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Green to blue-green
Other Gram-negative bacteria (if not inhibited)	Transparent and light purple

See pictures in Appendix I.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, beige.

Prepared medium: slightly opalescent, purplish blue.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store prepared plates at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.

Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU

Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU

Inoculum for specificity: 10³-10⁴ CFU

Incubation conditions: aerobically at 44 ± 1°C for 24 ± 2 hours.

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Cronobacter sakazakii</i>	ATCC® 29544	Good	Green-blue colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Good	Light purple (transparent) colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Good	Light purple (transparent) colonies
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Inhibited	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inhibited	---

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. ISO 22964:2006. Milk and milk products detection of *Enterobacter sakazakii*.
2. Guilleme-Gentil O., Sonnard V., Kandahai M.C., Mauragg J.D., and Jootsen H.A. A simple Rapid Cultural Method for Detection of *Enterobacter sakazakii* in environmental samples. J Food Prot. 68 (1), 2005, 64-69.

PRESENTATION

		Contents	Ref.
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	11623
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610623

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net



Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar

Terreno cromogenico per la ricerca di *Cronobacter* spp (già *E. sakazakii*), secondo ISO 22964.

DESCRIZIONE

Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar è un terreno cromogenico utilizzato per l'isolamento selettivo di *Cronobacter* spp (già *E. sakazakii*) in prodotti a base di latte per bambini, secondo ISO 22964.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Pancreatico di Caseina	7.0
Estratto di Lievito	3.0
Sodio Cloruro	5.0
α -D-glucopiranoside	0.15
Sodio Desossicolato	0.6
Cristal Violetto	0.002
Agar	15.0
pH Finale 7.0 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di caseina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il 5-bromo-4-cloro-3-indoil α -D-glucopiranoside è il substrato cromogenico. Il sodio desossicolato ed il cristal violetto inibiscono i batteri Gram positivi. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato Sospendere 31.0 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

PROCEDURA DEL TEST

ISO 22964 raccomanda la seguente procedura:

1. Omogeneizzare il campione diluito 1:10 in Buffered Peptone Water (ref. 24099) ed incubare a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 18 ± 2 ore.
2. Trasferire 0.1 ml della coltura di arricchimento in 10 ml di Lauryl Sulfate Tryptose Broth Modified (mLST) (ref. 24452) ed incubare a $44 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ per 24 ± 2 ore.
3. Con un'ansa prelevare il brodo di coltura (10 μl) e seminare su una piastra di Enterobacter (Cronobacter) Sakazakii Isolation Agar. Incubare in condizioni aerobiche a $44 \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ± 2 ore.

In alternativa, il campione può essere strisciato direttamente sulla superficie della piastra omettendo i passaggi di pre-arricchimento ed arricchimento.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione osservare il colore delle colonie ed interpretare i risultati come indicato nella tabella ID. Confermare le colonie tipiche con adeguati test biochimici.

Tabella ID.

Microrganismo	Colore delle colonie tipiche
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Da verde a blu-verde
Altri batteri Gram negativi (se non inibiti)	Trasparente e viola chiaro

Vedere le foto nell'appendice I.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige.

Terreno preparato: violaceo blu, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare le piastre pronte a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 50-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC.

Inoculo per specificità: 10³-10⁴ UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a 35±2°C per 18-48 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Cronobacter sakazakii</i>	ATCC® 29544	Buona	Colonie verdi-blu
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Buona	Colonie viola chiaro (trasparenti)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Buona	Colonie viola chiaro (trasparenti)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Inibita	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inibita	---

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso esclusivo in ambito professionale e deve essere utilizzato da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. ISO 22964:2006. Milk and milk products detection of *Enterobacter sakazakii*.
2. Guilleme-Gentil O., Sonnard V., Kandahai M.C., Mauragg J.D., and Jootsen H.A. A simple Rapid Cultural Method for Detection of *Enterobacter sakazakii* in environmental samples. J Food Prot. 68 (1), 2005, 64-69.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	11623
Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610623

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

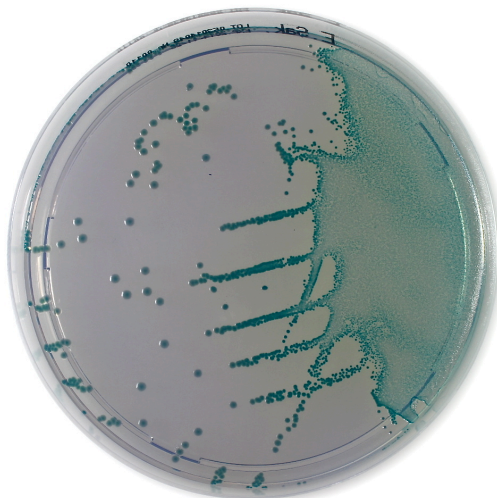
www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net

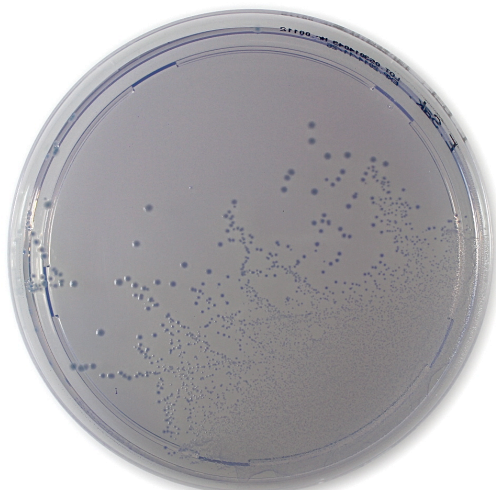


Enterobacter (Cronobacter) sakazakii Isolation Agar

Chromogenic medium for detection of *Cronobacter* spp (formerly *E. sakazakii*), according to ISO 22964.



C. sakazakii ATCC® 29544



E. coli ATCC® 25922



E. coli ATCC® 8739



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net

