

CRONOBACTER SCREENING BROTH BASE VANCOMYCIN CSB SUPPLEMENT

RISPOSTA CULTURALE



Cronobacter Screening Broth : a sinistra provetta con crescita di *Cronobacter sakazakii*. A destra provetta non inoculata.

FORMULA TIPICA (G/L) *

Digerito enzimatico di tessuti animali	10,00
Estratto di carne	3,00
Sodio cloruro	5,00
Bromocresolo porpora	0.04
Saccarosio	10,00

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

IMPIEGO PREVISTO

Cronobacter Screening Broth Base addizionato di vancomicina è impiegato come brodo d'arricchimento selettivo dei campioni della filiera alimentare per la determinazione (presenza o assenza) di *Cronobacter*, in accordo a ISO 22964:2017. Usare in abbinamento a Chromogenic Cronobacter Isolation (CCI) Agar.

PRINCIPIO DEL METODO

Cronobacter sakazakii è un bastoncino Gram negativo, classificato in passato come variante pigmentata di giallo di *Enterobacter cloacae*. E' un patogeno emergente, coinvolto in meningiti, sepsi ed enterocoliti necrotizzanti in neonati immaturi o immunocompromessi con elevati tassi di mortalità. E' altresì responsabile di infezioni nosocomiali.

Le patologie sono state associate al consumo di preparati per neonati in polvere a base di latte o di soia, contaminati da *Cronobacter*. Episodi di infezioni sono stati segnalati nelle unità di terapia intensiva neonatale in Canada, USA, UK, Grecia, Olanda.

Cronobacter Screening Broth Base con vancomicina è un terreno selettivo per Gram negativi per l'arricchimento dei campioni dopo la fase di pre-arricchimento non selettivo in Buffered Peptone Water e prima della semina su terreno in piastra.

METODO DI PREPARAZIONE

Sciogliere 14,0 grammi in 500 ml di acqua distillata fredda, scaldando se necessario. Sterilizzare in autoclave a 121° C per 15 minuti. Conservare il terreno di base autoclavato, a 5 °C per non più di 6 mesi.

Ricostituire il contenuto di un flaconcino di Vancomycin CSB Supplement (REF 4240057C) con 5 ml di acqua purificata sterile. Aggiungere a 500 ml di terreno di base raffreddato. Distribuire in provette da 18 x 160 mm, in ragione di 10 ml per provetta con le precauzioni dell'asepsi.

Il terreno completo di vancomicina può essere conservato a 5° C per non più di un giorno.

CARATTERISTICHE CHIMICO FISICHE

Aspetto del terreno disidratato: polvere fine di colore grigiastro

Aspetto del terreno in provetta: viola limpido.

pH finale del terreno a 25°C : 7.4 ± 0.2

IMPIEGO

Preparare l'aliquota campione in accordo alla parte della norma ISO 6887 applicabile.

Aggiungere 10 g o 10 ml di campione a 90 ml di Buffered Peptone Water (Casein) (REF 401278C). Per inoculi superiori ai 10 g preriscaldare il brodo a 34-38 °C.

Incubare il brodo di pre-arricchimento a 36 ± 2°C per 18 ore ± 2 ore

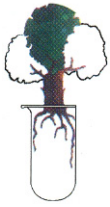
Trasferire 0,1 ml di brodo di pre-arricchimento incubato come al punto precedente in 10 ml di Cronobacter Screening Broth preparato come sopra descritto.

Incubare le provette di brodo d'arricchimento a 41.5 ± 1°C per 24 ore ± 2 ore

Inoculare con un'ansata di brodo d'arricchimento (circa 10 mcl) una piastra di Chromogenic Cronobacter Isolation (CCI) Agar (REF 408030) ed incubare capovolta a 41.5 ± 1°C per 24 ore ± 2 ore

Dopo incubazione osservare per la presenza di colonie tipiche di *Cronobacter*: colonie da 1 a 3 mm di colore blu o verde blu. Colonie di batteri Gram negativi non tipiche possono sviluppare sul CCI Agar con le seguenti caratteristiche: bianche, con o senza centro grigio o nero o verde.

Eseguire sulle colonie tipiche i test di conferma come riportato sulla norma citata.



CONTROLLO QUALITA'

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità come indicato da ISO 22964.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>C.sakazakii</i> ATCC 29544+ <i>S.aureus</i> ATCC 25923	41,5 °C ± 1 °C 24 h ± 2 h.	Crescita con viraggio al giallo
<i>C.muytjensis</i> ATCC 51329+ <i>S.aureus</i> ATCC 25923	41,5 °C ± 1 °C 24 h ± 2 h.	Crescita con viraggio al giallo
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	41,5 °C ± 1 °C 24 h ± 2 h.	Inibito

LIMITI

- *Cronobacter* può essere presente in bassi numeri nei campioni, accompagnati da altri Enterobatteri, come *E.colocae*, che possono interferire nella determinazione del microorganismo target.
- L'impiego di campioni di grandi dimensioni può compromettere la determinazione di *Cronobacter* stressati, quando vi sia la presenza concomitante di microflora non target (es. probioti).

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.).

Supplemento selettivo: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C.

PRECAUZIONI

Terreno in polvere: il terreno qui descritto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di questo terreno deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Supplemento selettivo: il preparato qui descritto contiene vancomicina ed è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

BIBLIOGRAFIA

- ISO 22964:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of *Cronobacter* spp.

PRODOTTI

Descrizione	Tipo	Cat. N°	Confezione
CRONOBACTER SCREENING BROTH BASE	Terreno in polvere	4013552	500 g (15.7 L)
VANCOMYCIN CSB SUPPLEMENT	Supplemento liofilo	4240057C	10 flaconi (ciascuno x 500 ml di terreno di base)



Biolife Italiana Srl, Viale Monza 272, 20128 Milano.