



Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar

Chromogenic medium for detection of *Cronobacter* spp, according to ISO 22964.

DESCRIPTION

Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar (CCI) is a chromogenic medium used for the isolation of *Cronobacter* spp (formerly *Enterobacter sakazakii*) from food, animal feed and environmental samples in areas of food production and handling.

According to ISO 22964:2017, CCI is used in conjunction with Cronobacter Selective Broth (CSB).

TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Tryptic Digest of Casein	7.0
Yeast Extract	3.0
Sodium Chloride	5.0
5-Bromo-4-Chloro-3-Indoxyl- α -D-Glucopyranoside	0.15
Sodium Desoxycholate	0.25
Ammonium Iron Citrate	1.0
Sodium Thiosulfate	1.0
Agar	15.0
Final pH 7.3 \pm 0.2 at 25°C	

PREPARATION

Dehydrated medium Suspend 32.4 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. Cool to 45-50°C and pour into Petri dishes.

METHOD PRINCIPLE

Tryptic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, minerals and vitamins essential for bacterial 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-Indoxyl- α -D-Glucopyranoside is the chromogenic substrate. Sodium desoxycholate is the selective agent inhibiting the growth of Gram positive competitors. Ammonium iron citrate and sodium thiosulfate are included to differentiate hydrogen sulphide-producing Enterobacteriaceae. Agar is the solidifying agent.

TEST PROCEDURE

- To prepare the initial suspension, add 10 g or 10 ml of the test sample to 90 ml of Buffered Peptone Water (ref. 414030).
- Incubate the inoculated pre-enrichment medium at 36 \pm 2°C for 18 \pm 2 h.
- Mix well and transfer 0.1 ml of the pre-enrichment culture to a tube of CSB (ref. 24483).
- Incubate the inoculated enrichment medium at 41.5°C for 24 \pm 2 h.
- Select tubes which appear yellow and use a 10 μ l loop to streak the enrichment culture onto plates of CCI.
- Incubate the plates at 41.5°C for 24 \pm 2 h.

INTERPRETING RESULTS

After incubation observe the color of the colonies and interpret the results as indicated in the ID table.

For confirmation, select 1 to 5 typical colonies and streak onto a non-selective agar, such as Tryptic Soy Agar (ref. 10037), in order to achieve well isolated colonies. Incubate at 36 \pm 2°C for 21 \pm 3 h. Refer to ISO 22964 for more details.

ID Table.

Microorganism	Typical Colony Appearance
<i>Cronobacter</i> strains	Blue to blue-green colonies (1-3 mm)
Other microorganisms (if not inhibited)	Non- <i>Cronobacter</i> colonies are often white or white with a green centre, gray or black. Some naturally pigmented colonies can appear yellow or red

See pictures in Appendix I.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, yellowish.
Prepared medium: slightly opalescent, light amber.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store 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 41.5 ± 1°C for 24 ± 2 h.

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Cronobacter sakazakii</i>	WDCM 00214	Good	Small to medium-sized (1-3 mm) blue to blue-green colonies
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00032	Inhibited	---
<i>Enterobacter cloacae</i>	WDCM 00083	Weak to good	Colonies do not have a green or blue-green color

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

- ISO 22964:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection of *Cronobacter* spp.
- EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- Guillame-Gentil O., Sonnard V., Kandahai M.C., Mauragg J.D., and Jootsen H.A. (2005) A simple Rapid Cultural Method for Detection of *Enterobacter sakazakii* in environmental samples. J Food Prot. 68 (1): 64-69.

PRESENTATION

		Contents	Ref.
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	11636
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610390
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620390
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Dehydrated medium	5 kg of powder	6103905

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



Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar

Terreno cromogenico per la ricerca di *Cronobacter* spp, secondo ISO 22964.

DESCRIZIONE

Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar (CCI) è un terreno cromogenico utilizzato per l'isolamento di *Cronobacter* spp (*Enterobacter sakazakii*) da alimenti, mangimi, e campioni ambientali nelle aree adibite alla produzione e lavorazione degli alimenti.

Secondo ISO 22964:2017, CCI è utilizzato in associazione con Cronobacter Selective Broth (CSB).

FORMULA TIPICA (g/l)

Digerito Tryptico di Caseina	7.0
Estratto di Lievito	3.0
Sodio Cloruro	5.0
5-Bromo-4-Cloro-3-Indoxil- α -D-Glucopiranoside	0.15
Sodio Desossicolato	0.25
Ammonio Ferro Citrato	1.0
Sodio Tiosolfato	1.0
Agar	15.0

pH Finale 7.3 \pm 0.2 a 25°C

PREPARAZIONE

Terreno disidratato Sospendere 32.4 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata. Miscelare benel. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C e versare in piastre Petri.

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito triptico di caseina fornisce amino acidi, azoto, carbonio, minerali e vitamine essenziali per la crescita batterica. 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-Indoxil- α -D-Glucopiranoside è il substrato cromogenico. Il sodio desossicolato è l'agente selettivo che inibisce la crescita dei batteri Gram positivi. Ammonio ferro citrato e sodio tiosolfato sono inclusi per la differenziazione delle Enterobacteriaceae che producono solfuro di idrogeno. L'agar è l'agente solidificante.

PROCEDURA DEL TEST

1. Per preparare la sospensione iniziale, aggiungere 10 g o 10 ml del campione a 90 ml di Buffered Peptone Water (ref. 414030).
2. Incubare il terreno di pre-aricchimento inoculato a 36 \pm 2°C per 18 \pm 2 ore.
3. Miscelare bene e trasferire 0.1 ml della coltura di pre-aricchimento in una provetta di CSB (ref. 24483).
4. Incubare il terreno di arricchimento inoculato a 41.5°C per 24 \pm 2 ore.
5. Selezionare le provette che appaiono gialle ed utilizzare un'ansa da 10 μ l per strisciare la coltura di arricchimento su piastre di CCI.
6. Incubare le piastre a 41.5°C per 24 \pm 2 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione osservare il colore delle colonie ed interpretare i risultati come indicato nella tabella ID.

Per confermare, selezionare da 1 a 5 colonie tipiche e strisciare su un terreno non selettivo, come Tryptic Soy Agar (ref. 10037), cercando di ottenere colonie ben isolate. Incubare a 36 \pm 2°C per 21 \pm 3 ore. Far riferimento a ISO 22964 per maggiori dettagli.

Tabella ID.

Microrganismo	Aspetto Colonie Tipiche
Cepi di <i>Cronobacter</i>	Colonie da blu a blu-verde (1-3 mm)
Altri microrganismi (se non inibiti)	Le colonie non-Cronobacter sono spesso bianche o bianche con centro verde, grigie o nere. Alcune colonie appaiono gialle o rosse

Vedere le foto nell'appendice I.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, giallastro.

Terreno preparato: ambra chiaro, 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 da 90 mm 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 41.5 ± 1°C per 24 ± 2 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Cronobacter sakazakii</i>	WDCM 00214	Buona	Colonie da blu a blu-verde, di dimensioni medie o piccole (1-3 mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00032	Inibita	---
<i>Enterobacter cloacae</i>	WDCM 00083	Da scarsa a buona	Colonie che non sono di colore verde o blu-verde

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 22964:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection of Cronobacter spp.
2. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. Guillame-Gentil O., Sonnard V., Kandahai M.C., Mauragg J.D., and Jootsen H.A. (2005) A simple Rapid Cultural Method for Detection of Enterobacter sakazakii in environmental samples. J Food Prot. 68 (1): 64-69.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	11636
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610390
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620390
Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar	Terreno disidratato	5 kg di polvere	6103905

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

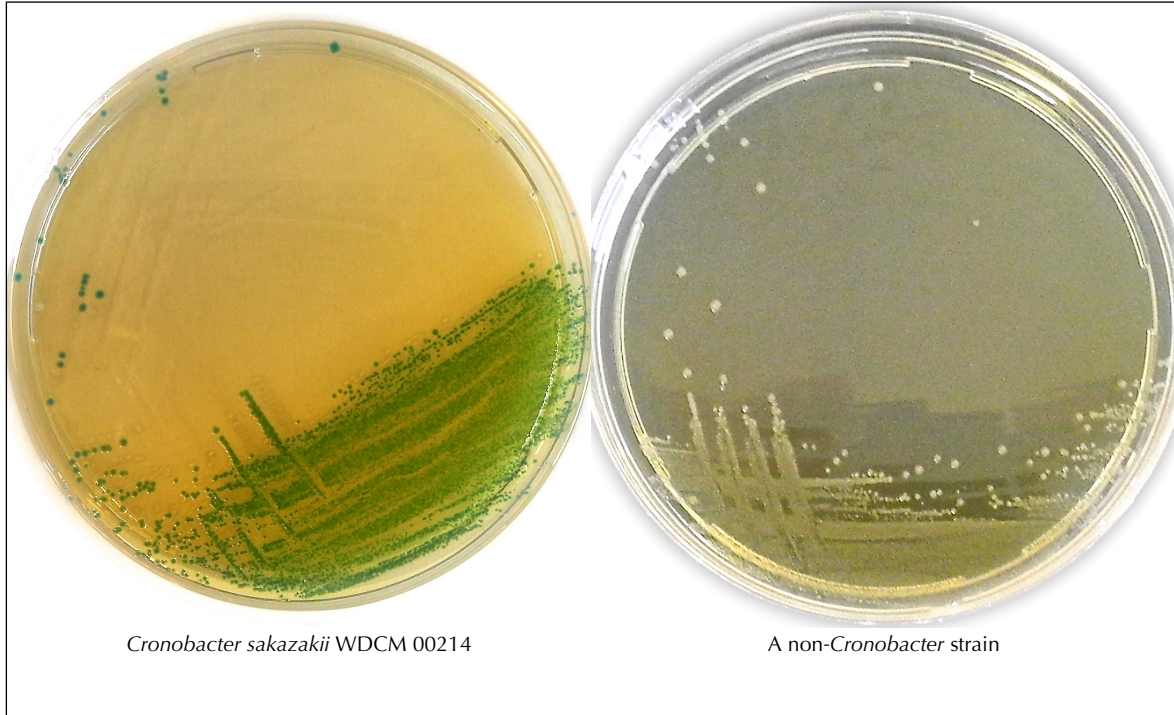
liofilchem@liofilchem.net



Chromatic™ Cronobacter Isolation Agar

Appendix I

Chromogenic medium for detection of *Cronobacter* spp, according to ISO 22964.



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