

### Principe

Un milieu solide, sélectif et différentiel pour l'isolement présomptif de *Cronobacter sakazakii* (*E.sakazakii*) dans des échantillons de lait et de produits laitiers, selon ISO / TS 22964 et FIL / RM 210.

### Formule \* en g/L

Pancreatic Peptone de caséine.....	7,000
Extrait de levure.....	3,000
Chlorure de sodium.....	5,000
Sodium deoxycholate.....	0,600
5-Br-4-Cl-3-indolyl- α-D-glucopyranoside.....	0,150
Cristal violet .....	0,002
Agar.....	15,000

pH final 7,0 ± 0,2 à 25 °C

\*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

### Préparation

Mettre 30,75 g de poudre en suspension dans 1 litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Répartir dans des récipients adaptés et stériliser en autoclavage à 121 ° C pendant 15 minutes.

### Description

*Cronobacter* spp (anciennement *Enterobacter sakazakii*) peut provoquer diverses affections cliniques telles que l'entérocolite nécrosante, la bactériémie et même la méningite. Ces infections peuvent être mortelles chez les nouveau-nés et même s'ils survivent à la méningite, des lésions neurologiques peuvent survenir tout au long de la vie. Pour réduire le risque d'infection par le tube digestive via les préparations nutritives pour nourrissons à base de lait, un règlement sur la détection de *Cronobacter* dans le lait et les produits laitiers a été publié conjointement par l'ISO et la FIL-IDF dans lequel le milieu de culture pour l'identification présomptive est la *Sakazakii* Chromogenic Agar.

*Cronobacter* produit de la β-glucosidase, qui hydrolyse le 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-glucopyranoside et libère la fraction colorée du substrat. Il en résulte des colonies bleu-vert, qui permettent de différencier ces bactéries des autres entérobactéries présentes dans l'échantillon. Le désoxycholate et le cristal violet dans le milieu de culture inhibent la croissance des bactéries à Gram positif.

### Utilisation

La méthodologie de travail détaillée se trouve dans l'ISO / TS 22964: 2006 et la FIL / RM 210: 2006 qui fait référence au technicien concerné.

En résumé, la méthode recommandée est un pré-enrichissement en BPW à 37 ° C, un enrichissement sélectif en lauryl tryptose modifié avec du bouillon de vancomycine à 44 ° C et un isolement présomptif sur gélose chromogène à 44 ° C.

Toutes les colonies suspectes doivent être confirmées ultérieurement par des méthodes établies, sérologiques, biochimiques ou génétiques.

Limites:

L'ancienne espèce *Enterobacter sakazakii* est maintenant devenue le nouveau genre *Cronobacter* avec sept espèces décrites, dont le comportement et les aspects coloniaux peuvent varier en fonction des conditions de croissance.

Certaines souches de ces espèces ne peuvent pas croître ou poussent très mal à des températures de 44 ° C et plus.

Il est fortement recommandé que l'identification finale soit faite avec des preuves à l'appui.

### Contrôle qualité

**Température d'incubation:** 44° C ± 1,0

**Temps d'incubation:** 24 h ± 2

**Inoculum:** Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) / 10<sup>4</sup>-10<sup>8</sup> UFC (sélectivité), ≥10<sup>3</sup> UFC (spécificité), selon l' ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018.

#### Micro-organismes

*Cronobacter sakazakii* ATCC® 29544  
*Cronobacter muytjensii* ATCC® 51329  
*Escherichia coli* ATCC® 25922  
*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923  
*Enterobacter aerogenes* ATCC® 13048

#### Croissance

Bonne  
 Bonne  
 Faible à Bonne  
 Fair à faible  
 Bonne

#### Remarques

Colonies bleues-vertes de 1-2 mm diamètre  
 Colonies bleues-vertes de 1-2 mm diamètre  
 Colonies jaunes paille de 0.25-1 mm  
 Inhibé ou pas de croissance  
 Colonies incolores

---

**Références**

- FIL-IDF/RM 210 (2006) Lait et produits laitiers – Détection de l'Enterobacter sakazakii
- FORSYTHE, S.J. (2012) Myths and legends of Cronobacter: A new bacterial pathogen of babies? Microbiology Today 31:1:30-33
- HOCHÉL, I., H. RŮZICKOVÁ, I. KRÁSNÝ & H. DEMNEROVÁ (2012) Occurrence of Cronobacter spp. in retail foods. J. Appl Microbiol 112:6:1257-1265.
- ISO/TS 22964 (2006) Milk and milk products.- Detection of Enterobacter sakazakii.
- IVERSEN, C. & S.J. FORSYTHE (2006) Comparison of media for the isolation of Enterobacter sakazakii. Appl. Environ. Microbiol 73:1:48-52
- JOSEPH, S. & S. J. FORSYTHE (2001) Association of Cronobacter sakazakii ST4 with neonatal infections. Emerging Infectious Disease 17:1713-1715.

**Conservation**

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).