

Especificación

Medio sólido, selectivo y diferencial usado para el aislamiento de *Yersinia* de muestras muy contaminadas, de acuerdo a la norma ISO 10273.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
20 Placas 90 mm con: 21 ± 2 ml	1 caja con 2 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa de celofán.	3 meses	2-14°C

Composición

Composición (g/l):

Peptona.....	20.0
Extracto de levadura.....	2.00
Manitol.....	20.00
Piruvato sódico.....	2.00
Cloruro sódico.....	1.00
Desoxicolato sódico.....	0.50
Sulfato magnésico.....	0.01
Rojo neutro.....	0.03
Cristal violet a.....	1.00 mg
Cefsulodina.....	15.0 mg
Irgasan®.....	4.00 mg
Novobiocina.....	2.50 mg
Agar.....	15.0

Descripción/Técnica

El Agar de Cefsulodina-Irgasan®-Novobiocina, también conocido como Agar CIN, Agar Selectivo para *Yersinia* o Agar Selectivo *Yersinia* CIN, fue formulado originalmente por Schieman en 1979 para la detección de *Yersinia enterocolitica*. Posteriormente, en 1982, el mismo autor lo revisó sustituyendo las sales biliares por desoxicolato y redujo la concentración de novobiocina. Su selectividad la proporcionan el desoxicolato, el cristal violeta, la cefsulodina, el Irgasan® y la novobiocina. La diferenciación se consigue con la fermentación del manitol, cuya reducción de pH localizada en la colonia, la tinte de rojo por el viraje del rojo neutro, y al mismo tiempo provoca un halo de precipitación del desoxicolato a su alrededor.

El aspecto característico del crecimiento de *Yersinia* spp. en este medio y al aire, tras una incubación de 18-24 horas a 30°C o de 48 horas a 22°C es de colonias convexas, redondeadas, rojizas, de un diámetro aproximado de 2 mm, con un núcleo rojo oscuro y un halo de precipitación. Siempre deberán ser confirmadas con pruebas bioquímicas.

Las colonias típicas de *Yersinia enterocolitica* se desarrollan con aspecto de ojo-de-pepe rojo, con el borde incoloro y transparente, pero los diferentes serotipos pueden presentarse con una considerable variabilidad en cuanto a tamaño y consistencia colonial, y a la relación entre el diámetro del borde transparente y el núcleo central coloreado.

La mayoría de los otros organismos capaces de crecer en este medio producen colonias más grandes (> 2 mm de diámetro) con núcleos centrales difusos y rosados y zonas externas opacas. Algunas cepas de *Serratia*, *Citrobacter* y *Enterobacter* en el Agar CIN pueden dar colonias con una morfología muy parecida a las de *Yersinia enterocolitica*, pero todos estos microorganismos pueden diferenciarse e identificarse con pruebas bioquímicas.

Actualmente no hay ningún procedimiento de aislamiento eficaz para la recuperación de todas las cepas patógenas de *Yersinia enterocolitica*. La selección del procedimiento de aislamiento idóneo dependerá del bio/serogrupo investigado y el tipo de muestra en examen. La metodología ISO para la detección de *Yersinia enterocolitica* presuntamente patógena incluye la utilización en paralelo de dos procedimientos de aislamiento:

- 1.-Enriquecimiento en Caldo de Peptona, Sorbitol y Sales Biliares (PSB Broth) durante 2-3 días a 22-25°C con agitación o bien 5 días sin agitación; Luego se pasa a placa de Agar CIN directamente y tras un tratamiento alcalino y se incuba a 30°C durante 24 horas.
- 2.-Enriquecimiento en Caldo Irgasan®-Ticarclina-Clorato (ITC Broth) durante 2 días a 24°C y luego se pasa a placa de Agar de *Salmonella-Shigella-Desoxicolato-Cloruro Cálcico* (SSDC Agar) y se incuba dos días a 30°C.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : Púrpura rojizo

pH: 7,4 ± 0,2 a 25°C

Control de FertilidadSiembra en Espiral: rango práctico 100±20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ UFC para Selectividad.

Aerobiosis. Incubación a 30 ± 2°C Lectura a las 48h

Microorganismo*Yersinia enterocolitica* ATCC® 9610, WDCM 00038*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013**Desarrollo**

Bueno

Inhibición parcial

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35°C v 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

Bibliografía

- ATLAS, R.M. & J.W. SNYDER (1995) Handbook of Media for Clinical Microbiology. CRC Press. Boca Raton. Fla. USA.
- BAYLIS, C.L. (Ed.) (2007) Manual of Microbiological Methods for the Food and Drinks Industry. 5th ed. Guideline No. 43, Campden & Chorleywood Food Research Association. (CCFRA). U.K.
- CORRY, J.E.L., G.D.W. CURTIS & R.M. BAIRD (2003) Handbook of Culture Media for Food Microbiology. Progress in Industrial Microbiology, vol. 37. Elsevier Science Amsterdam.
- De BOER, E. (2003) Isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods in "Handbook of Culture Media for Food Microbiology". J.E.L. Corry *et al.* (Eds.) Elsevier Sci. B.V.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed, revision A. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- ISENBERG, H.D. (ed.) (1992) Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM. Washington. DC. USA.
- ISO Standard 10273 (2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica*.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- SCHIEMAN, D.A. (1979) Synthesis of a selective medium for *Yersinia enterocolitica*. Can. J. Microbiol. 25:1298-1304.
- SCHIEMAN, D.A. (1980) *Yersinia enterocolitica*: Observations on some growth characteristics and response to selective agents. Can. J. Microbiol. 26:1232-1240.
- SCHIEMAN, D.A. (1982) Development of a two step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food. Appl. Environm. Microbiol. 43:14-27.
- WEAGANT, S.D. & P. FENG (2001) *Yersinia*, in "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods". 4th ed. Downes & Ito (Eds.) APHA. Washington. DC. USA.