

Sinonimia

CIN Agar; *Yersinia* Selective Agar

Especificación

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

Fórmula * en g/L

Peptona especial.....	20,000	Sulfato de magnesio.....	0,010
Extracto de levadura.....	2,000	Rojo neutro.....	0,030
Manitol.....	20,000	Cristal violeta.....	0,001
Piruvato sódico.....	2,000	Agar.....	15,000
Cloruro sódico.....	1,000		
Desoxicolato sódico.....	0,500		

pH final a 25 °C, 7,4 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Suspender 30,25 g del polvo en 500 mL de agua destilada y llevar a ebullición. Esterilizar al autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar hasta 50-55°C y asépticamente, añadir el contenido de un vial del Suplemento Selectivo para *Yersinia* CIN (Ref. DSHB3109). Homogeneizar y verte en placas.

Descripción

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-pep 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.

Suplemento necesario

Suplemento Selectivo para *Yersinia* (Ref.DSHB3109))

Composición por vial:

Cantidad necesaria para 500 mL de medio completo.

Cefsulodina	7,50 mg	
Irgasan®		2,00 mg
Novobiocina	1,25 mg	

Agua destilada (Disolvente)

Técnica

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
Temperatura de incubación: 30 ± 2 °C

Tiempo de incubación : 21±3h

Inóculo: Rango práctico 50-100 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ UFC (Selectividad) según UNE-EN ISO 11133:2014/Amd 1:2018

Microorganismo	Crecimiento	Observaciones
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC® 9610	Bueno	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inhibición parcial	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Inhibido	-

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.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).