

Bacillus cereus Selectivo Agar

USO

Medio diagnóstico utilizado para el aislamiento y recuento de *Bacillus cereus* en alimentos. Conocido también por su sigla en inglés como Medio PEMBA (Polymyxin Pyruvate Egg Yolk Mannitol Bromothymol Blue Agar).

FUNDAMENTO

Bacillus cereus ha sido implicado en toxoinfecciones alimentarias, particularmente asociado al consumo de arroz contaminado, y también en algunos procesos infecciosos en seres humanos y animales.

En el medio de cultivo, el contenido de peptona es bajo (0.1%), y la adición de piruvato de sodio y emulsión de yema de huevo mejoran el aislamiento y esporulación de esta bacteria. Además la yema de huevo permite estudiar la actividad lecitínásica de los microorganismos. El manitol es el hidrato de carbono fermentable y el azul de bromotimol es el indicador de pH que es de color azul y vira al color amarillo en medio ácido. Las sales fosfato constituyen el sistema buffer, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante.

Puede lograrse el aislamiento selectivo de *Bacillus cereus* inhibiendo el desarrollo de la flora acompañante presente en la muestra, por el agregado del suplemento para *Bacillus cereus* con el que se obtiene una concentración final de 100 U de Polimixina B por ml de medio.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0216105: envase x 100 g.

Código B0216106: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PEPTONA DE CARNE.....	1.0
MANITOL	10.0
CLORURO DE SODIO.....	2.0
SULFATO DE MAGNESIO.....	0.1
FOSFATO DISÓDICO.....	2.5
FOSFATO MONOPOTÁSICO.....	0.25
AZUL DE BROMOTIMOL.....	0.12
PIRUVATO DE SODIO.....	10.0
AGAR.....	14.0
pH FINAL: 7.2 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 40 g del polvo en 950 ml de agua purificada. Dejar re-

posar 5 a 10 minutos. Calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 minuto hasta completar disolución. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 50°C y aseptícamente agregar 50 ml de emulsión yema de huevo Emulsión Yema de Huevo Sin Telurito (**REF B0360261**). Si se desea el aislamiento selectivo de *Bacillus cereus*, agregar al medio fundido y enfriado a 50 °C, el contenido de 1 vial de *Bacillus cereus* Suplemento (**REF B0360632**) reconstituido con 2 ml de agua purificada estéril.

Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color amarillo, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color verde manzana.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

- Directa, estriando la superficie del medio de cultivo.
- Si se trabaja con muestras de alimentos y se debe hacer recuento microbiano, proceder de la siguiente manera:
Homogeneizar: 10 g de la muestra en 90 ml de agua peptonada 0.1%. Si es necesario efectuar diluciones.
Inocular: una alícuota determinada (ejemplo 0,1 ml) sobre la superficie del medio de cultivo y esparcirla en toda su superficie.

Incubación

En aerobiosis, a 33-37 °C durante 24 - 48 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El diagnóstico primario y presuntivo de *Bacillus cereus*, se basa en la morfología y color de la colonia, en la precipitación de la lecitina hidrolizada y en la no fermentación de manitol.

Las colonias típicas de *Bacillus cereus* en este medio son crenadas, filamentosas de aproximadamente 5 mm de diámetro a las 24 horas de incubación, y tienen un color turquesa (peacock blue) rodeado por un precipitado de hidrólisis de yema de huevo. A las 48 horas de incubación presentan el color con centro grisáceo.

CONTROL DE CALIDAD

Corresponde al medio de cultivo suplementado con yema de huevo y polimixina B, siguiendo las instrucciones de preparación descritas previamente.

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO	COLOR DE LA COLONIA	PRECIPITADO
Bacillus cereus ATCC 10876	Satisfactorio	Turquesa	+
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Satisfactorio	Blanco-Amarillo	+
Bacillus subtilis ATCC 6633	Satisfactorio	Amarillo	-
Proteus mirabilis ATCC 43071	Inhibido	-----	-----
Escherichia coli ATCC 8739	Inhibido	-----	-----

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

- No calentar el medio de cultivo luego que se agregó la yema de huevo ya que es termolábil.
- Las características de las colonias de Bacillus cereus permiten diferenciar este microorganismo de Bacillus subtilis y de Bacillus licheniformis, pero pueden no diferenciar Bacillus cereus de otras especies de Bacillus, tales como Bacillus thuringiensis, Bacillus anthracis y Bacillus mycoides. En estos casos, será necesario realizar pruebas bioquímicas adicionales para su identificación.
- Staphylococcus aureus, Serratia marcescens y Proteus vulgaris pueden desarrollar en el medio de cultivo, pero se diferencian de Bacillus cereus por la forma y el color de la colonia, y porque producen una reacción de aclaramiento sobre la yema de huevo, a diferencia del precipitado que produce Bacillus cereus.
- Bacillus megaterium y Bacillus coagulans son completamente inhi-

bidos en este medio de cultivo.

- Se recomienda la realización de un examen microscópico para evaluar la presencia de glóbulos de lípidos en las células vegetativas, debido a que es una prueba rápida y confirmatoria de Bacillus cereus.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Billing, E. And Luckhurst, E.R. 1957. A simplified method for the preparation of egg yolk media. J. Appl. Bacteriol. 20,90.
- Holbrook, R. and Anderson, J.M. 1980. An improved selective and diagnostic medium for the isolation and enumeration of Bacillus cereus in foods. Can. J. Microbiol. 26, 753-759.
- Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. 2003. Handbook of Culture Media for Food Microbiology, volume 37, Elsevier Science.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento. Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS

							
CÓDIGO N°	ELABORADOR	ESTÉRIL	N° DE DETERMINACIONES	LOTE N°	FECHA DE VENCIMIENTO	LÍMITE DE TEMPERATURA	INSTRUCCIONES DE USO