



ÁGAR *BACILLUS CEREUS* (de acordo com Mossel)

USO

Ágar *Bacillus cereus* é usado para a detecção e enumeração de esporos e células vegetativas de *Bacillus cereus* em produtos alimentícios.

HISTÓRIA

Em 1967, Mossel *et al.* recomendou o uso de um meio com gema de ovo e manitol-fenol vermelho, cujos princípios foram baseados em dois fatores:

- A falta de fermentação do manitol pelo *Bacillus cereus*.
- A presença de uma lecitinase na maioria das cepas testadas

Os autores mostraram que uma seletividade satisfatória foi obtida com polimixina B a 10 mg/litro

PRINCÍPIOS

- Triptona e extrato de carne favorecem o crescimento do *Bacillus cereus*.
- Emulsão de gema de ovo estéril é usada para detectar a presença de lecitinase presente na maioria das cepas de *Bacillus cereus*. Os produtos insolúveis da decomposição da lecitina da gema do ovo se acumulam ao redor das colônias, formando um precipitado esbranquiçado.
- O manitol é usado para diferenciar microrganismos contaminantes que o fermentam, transformando vermelho de fenol em amarelo.
- A polimixina é usada para inibir a microflora associada quando a amostra testada é fortemente contaminada.

PREPARAÇÃO

- Suspender 44,5g de meio desidratado (BK116) em 0,9 L de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve à ebulição, mexendo até a dissolução completa.
- Dispensar 90 mL em frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.

NOTA: A fusão incompleta do ágar durante a preparação poderá levar a uma inconsistência significativa no gel do ágar solidificado, após esterilização e resfriamento.

INSTRUÇÃO DE USO

- Derreter o meio (se foi preparado com antecedência).
- Resfriar e manter a 44-47 ° C.
- A cada 90 mL de base, adicionar assepticamente 10 mL de Enriquecimento de Gema de Ovo (BS066) e 1 mL de Suplemento seletivo de polimixina B reconstituído (BS007), ou 10 mL de emulsão de gema de ovo estéril com Polimixina B (BS055).
- Misturar rapidamente e cuidadosamente.
- Despejar em placas de Petri estéreis.
- Deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Secar em uma incubadora.
- Transferir 0,1 mL da amostra para analisar.



- Espalhar o inóculo na superfície do ágar com o auxílio de alça de drigalski um triângulo estéril.
- Incubar a 30°C por 24 e 48 horas.

RESULTADO

As colônias presumidas de *Bacillus cereus* são rosa (manitol-negativo) e quase sempre cercadas por um halo claro, indicando a produção de lecitinase. Confirmar as colônias duvidosas através de testes bioquímicos apropriados.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(Pode ser ajustado para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio base:

- Triptona..... 10,0 g
- Extrato de carne..... 1,0 g
- D-Manitol..... 10,0 g
- Cloreto de sódio..... 10,0 g
- Vermelho de fenol..... 25,0 mg
- Emulsão de gema de ovo estéril..... 100,0 ml
- Polimixina B..... 1 x 10⁵ IU
- Ágar bacteriológico..... 13,5 g

pH do meio pronto a usar a 25°C: 7,2 ± 0,2.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó rosado e homogêneo.

Meio preparado (completo): ágar opaco rosado a alaranjado.

Resposta típica da cultura após 48 horas de incubação a 30 °C:

Microrganismos		Crescimento (razão de produtividade: <i>PR</i>)	Características	
			Cor da colônia	Lecitinase
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC® 11778	<i>PR</i> ≥ 50%	Rosado	Positivo
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Limitado	Amarelo	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Inibido	-	-

ARMAZENAGEM / VALIDADE

Meio desidratado (sem gema de ovo nem polimixina B): 2-30°C.

- A data de validade está indicada na etiqueta.

Meio preparado a partir de base desidratada (valor de referência*):

- Meios de base em frascos: 6 meses a 2-8°C.
- Meios completos em placas: 5 dias a 2-8°C

Emulsão de gema de ovo estéril com polimixina B:

- Armazenar entre 2-8°C, protegido da luz.
- As datas de validade estão indicadas nas etiquetas.

Meios pré-vazados em placas de Petri:

- Armazenar entre 2-8°C, protegido da luz.
- A data de validade está indicada na etiqueta.

EMBALAGEM

	Código
Meios pré-vazados em placas de Petri (Ø 90 mm):	
- 20 placas	BM03808
Meio de base desidratado (sem Emulsão de Gema de Ovo nem Polimixina B):	
- Frasco com 500g	BK116HA
Emulsão de gema de ovo em frascos:	
- 10 X 50 mL	BS06608
Suplemento seletivo de polimixina B:	
- Embalagem com 10 frascos	BS00708
Emulsão de gema de ovo estéril com polimixina B:	
- Embalagem com 10 frascos	BS05508

SUPORTE FOTOGRÁFICO

Referência de produto: BK116HA + BS05508, BM03808

Meios usados para: Detecção e enumeração de esporos e células vegetativas de *Bacillus cereus*.





Bacillus cereus (colônias individuais)

Ágar *Bacillus cereus* de acordo com Mosell

Ref: **BM03808**

Incubação: 24 horas / 30°C

Características: Colônias rosas (manitol negativo) rodeadas por um halo turvo (produção de leticinase).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mossel, D.A.A., Koopman, M.J., and Jongerius, E. 1967. Enumeration of *Bacillus cereus* in Foods. App. Microb., 15, (3): 650-653.

XP V 08-058. Novembre 1995. Microbiologie des aliments. Dénombrement de *Bacillus cereus* par comptage des colonies à 30 °C. Méthode de routine.

FIL provisoire 181. Décembre 1998. Produits laitiers secs. Dénombrement de *Bacillus cereus*. Technique du nombre le plus probable.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 7932 (V 08-023). Juillet 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présumptifs. Technique par comptage des colonies à 30 °C.

NF EN ISO 21871 (V 08-063). Juillet 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présumés en petit nombre. Technique du nombre le plus probable et méthode de recherche.

* O valor de referência refere-se ao prazo de validade esperado quando preparado em condições laboratoriais padrão seguindo as instruções do fabricante. É fornecido como um guia apenas e nenhuma garantia, implícita ou não está associada a estas informações.

As informações fornecidas na embalagem prevalecem sobre as formulações ou instruções descritas neste documento.

As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 17/02/2009.

Eles são suscetíveis a modificações a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: BK116 / A / 2003-01: 7