



## ÁGAR SELETIVO PARA *BACILLUS CEREUS* (MYP)

### ENUMERAÇÃO DE *BACILLUS CEREUS*

#### USO

O Ágar seletivo para *Bacillus cereus* (MYP) de acordo com Mossel é utilizado para a detecção e enumeração de esporos e formas vegetativas de *Bacillus cereus* em alimentos.

A fórmula padrão atende à composição do ágar MYP (manitol, gema de ovo e polimixina) definida nas normas NF EN ISO 7932 e NF EN ISO 21871.

#### HISTÓRIA

Em 1967, Mossel *et al.*, recomendou o uso de um meio com manitol, vermelho de fenol e gema de ovo, cujo princípio é baseado na ausência de fermentação de manitol por *Bacillus cereus* e na presença de uma lecitinase na maioria das cepas testadas.

Os autores demonstraram que na presença de polimixina B a 10 mg/L, o grau de seletividade obtido foi satisfatório.

#### PRINCÍPIOS

A triptona e o extrato de carne promovem o crescimento do *Bacillus cereus*.

A emulsão estéril de gema de ovo utilizada como aditivo demonstra a presença de lecitinase na maioria das cepas de *Bacillus cereus*. Os produtos insolúveis resultantes da degradação da lecitina na gema do ovo acumulam-se ao redor das colônias formando um halo.

A presença do manitol permite diferenciar os microrganismos contaminantes que o fermentam.

A polimixina, inibir quase toda a microflora secundária quando a amostra testada está contaminada.

#### COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio completo:

- 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
- Polimixina B.....	1x10 <sup>5</sup> UI
- Emulsão de gema de ovo estéril.....	100 mL
- Ágar bacteriológico.....	13,5 g

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

#### **Para 44,5 g de base desidratada BK116**

- 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
- Ágar bacteriológico..... 13,5 g

**Para um frasco de suplemento Polimixina BS007**

- Polimixina B .....5x10<sup>4</sup> IU

**Para um frasco de suplemento BS066 (50 mL)**

- Emulsão de gema de ovo estéril .....50,0 mL

**Para um frasco de suplemento BS055 (50 mL)**

- Polimixina B (sulfato) .....5x10<sup>4</sup> UI
- Emulsão de gema de ovo estéril .....50,0 mL

**PREPARAÇÃO**

- Suspender 44,5 g de meio desidratado (BK116) em 0,9 litro de água destilada ou deionizada.
- Lentamente, leve o meio à fervura com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir em frascos a um volume de 90 mL.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e mantenha a 44-47°C.
- Para cada frasco de 90 mL de meio base, adicione 10 mL estéril de emulsão de gema de ovo estéril com Polimixina B (BS055).
- Homogeneizar perfeitamente.
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixe solidificar em uma superfície fria.

- Reconstituição: 44,5 para 900 mL
- Esterilização: 15 min a 121°C

**INSTRUÇÃO DE USO**

**Contagem de *Bacillus cereus* (NF EN ISO 7932)**

- Na superfície do meio preparado ou do meio pré-moldado (BM038, BM199), transferir 0,1 mL da amostra a ser analisada e suas sucessivas diluições decimais.
- Espalhar o inóculo na superfície usando uma alça de Drigalski estéril.
- Incubar a 30°C por 18-24 horas. Se as colônias não estiverem claramente visíveis, incubar por mais 24 horas.

- Semeando: 0,1 mL em superfície
- incubação: 18 h a 48 h a 30°C

**Deteção ou contagem de pequenos números de *Bacillus cereus* (NF EN ISO 21871)**

- Na superfície do meio preparado, retirar uma alçada do caldo de enriquecimento.
- Incubar a 30°C por 18-24 horas. Se as colônias não estiverem claramente visíveis, incubar por mais 24 horas.

- Semeando: Em superfície
- incubação: 18 h a 48 h a 30°C

**LEITURA**

As colônias de *Bacillus cereus* são de cor rosa (manitol-negativo) e quase sempre circundadas por um halo de precipitado, indicando a produção de lecitinase. Normalmente, elas têm de 2 a 5 mm de tamanho.



Consulte o ANEXO1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

### **CONTROLE DE QUALIDADE**

**Meio base desidratado:** pó rosa e homogêneo.

**Aparência da Polimixina liofilizada:** branca, após reconstituição a solução é incolor e límpida.

**Suplementos com gema de ovo:** emulsão opaca amarelada com um precipitado que pode ser ressuspendido.

**Meio preparado (completo):** ágar rosa a laranja, opaco.

Resultado do cultivo após 24 (1) ou 48 horas de incubação a 30°C (NF EN ISO 11133):

<b>Microrganismos</b>	<b>Crescimento</b>	<b>Características</b>
(1) <i>Bacillus cereus</i> WDCM 00001	Bom a excelente	Colônias rosa com halo
<i>Bacillus subtilis ssp. spizizenii</i> WDCM 00003	Limitada	Colônias amarelas sem halo
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inibido	-

### **ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA**

**Meio básico desidratado:** 2-30°C.

**Meio pronto em placas de Petri:** 2-8°C.

**Emulsão de gema de ovo estéril:** 2-8°C

**Emulsão de gema de ovo estéril com Polimixina B:** 2-8°C

**Suplemento seletivo de Polimixina B:** 2-8°C.

As datas de validade são mencionadas nas etiquetas.

**Meio básico preparado em frascos (\*):** 180 dias a 2-8°C.

**Meio completo preparado em placas (\*):** 30 dias a 2-8°C.

**Suplemento de Polimixina reidratada (\*):** 30 dias a 2-8°C.

(\*) Valor indicativo determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

### **APRESENTAÇÃO**

**Meio de base desidratado (sem gema de ovo ou polimixina B):**

Frasco de 500g .....BK116HA

**Emulsão de gema de ovo estéril com Polimixina B:**

Caixa de 10 frascos de 50 mL .....BS05508

**Emulsão de gema de ovo estéril:**

Caixa de 10 frascos de 50 mL.....BS06608

**Suplemento seletivo de polimixina B:**

Caixa com 10 frascos .....BS00708

**Meio em placas de Petri (Ø 90 mm):**

Caixa com 20 placas .....BM03808

Caixa com 120 placas .....BM19908



## **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.

NF EN ISO 7932. Juillet 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présomptifs. Technique par comptage des colonies à 30 °C.

NF EN ISO 21871. 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.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

## **OUTRAS INFORMAÇÕES**

As informações nas etiquetas prevalecem sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitas a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: GELOSE SELECTIVE MOSSEL\_FR\_V13

Data de criação: 02-2003

Data de revisão: 04-2018

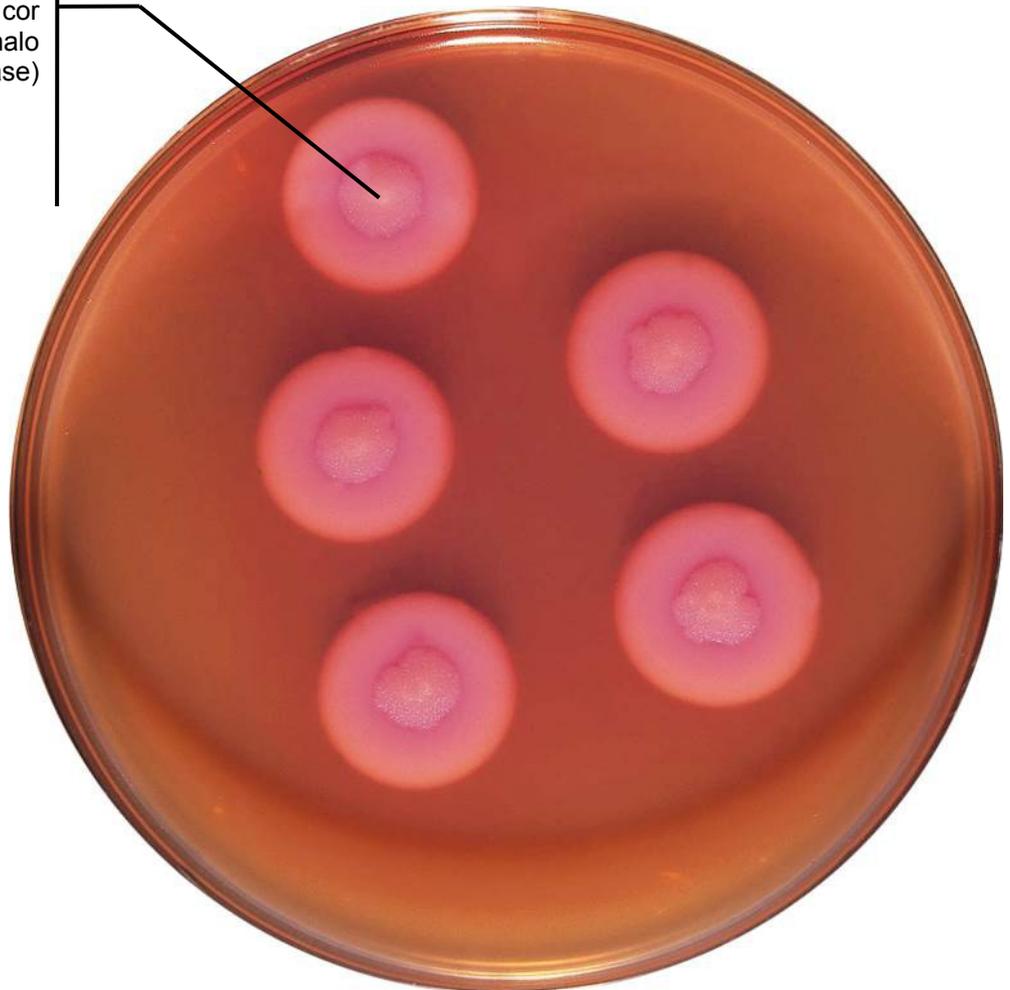
Motivo da revisão: adição de nova referência BM19908

**ANEXO1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.**

**Ágar MYP (para *Bacillus cereus* de acordo com Mossel)**  
Detecção e enumeração de *Bacillus cereus*.

**Leitura:**  
Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 30°C.

***Bacillus cereus***  
Colônia característica: cor rosada com presença de halo opaco (produção de lecitinase)





**Testemunha (-)**

***Escherichia coli:***  
Lactose, sacarose,  
glicose (+) / H<sub>2</sub>S  
(-) / Gás (+)

***Shigella sonnei:***  
Lactose, sacarose  
(-) / glicose (+) /  
H<sub>2</sub>S (-) / Gás (-)

***Pseudomonas  
aeruginosa:***  
Lactose, sacarose,  
glicose (-) / H<sub>2</sub>S (-)  
/ Gás (-)

***Salmonella  
Enteritidis:*** Lactose,  
sacarose (-) / glicose  
(+) / H<sub>2</sub>S (+) / Gás (+)  
*ainda não visível*