

Especificación

Medio sólido selectivo para la prospección de *Bacillus cereus* en muestras de alimentos según Mossel y las normas ISO.

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 de caseína.....	10,000
Manitol.....	10,000
Cloruro sódico.....	10,000
Extracto de carne.....	1,000
Rojo fenol.....	0,025
Agar.....	15,000
Polimixina B sulfato.....	100.000UI
Yema de huevo	100 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

Esta formulación de Mossel está concebida para la detección y enumeración de *B. cereus* en todo tipo de alimentos, ya que permite una buena diferenciación y selección de estos microorganismos. La adición de la polimixina inhibe la mayor parte de la microbiota acompañante, pero no afecta al crecimiento de *B. cereus*, que es incapaz de atacar al manitol y por lo tanto, no provoca viraje del indicador alrededor de sus colonias. Por otra parte, la activa lecitinasa de *B. cereus* hace que alrededor de sus colonias se forme un halo de precipitados blancos como resultado de la degradación de la lecitina de la yema de huevo.

Se considera que poblaciones superiores a 100.000 células de *B. cereus* por gramo de producto son peligrosas para el consumo, ya que la fosforil-colina acumulada por la actividad microbiana puede dar síntomas de intoxicación en los niños. Por este motivo además de las prospecciones rutinarias en los alimentos deben realizarse una enumeración viable para determinar el número de células existentes.

Técnica de uso recomendada:

Las muestras deshidratadas o secas deben someterse previamente a un proceso de recuperación de la forma siguiente: 20 g de muestra se mezclan con 90 mL de solución estéril de Agua Peptonada, durante un período mínimo de una hora a temperatura ambiente. Posteriormente se añaden otros 90 mL de agua peptonada y se homogeniza, con lo cual se obtiene una dilución 1:10. Si se cree conveniente, se puede hacer un banco de diluciones decimales utilizando siempre agua de peptona como diluyente. Mediante un Asa de Drigalski se esparcen alícuotas de 0,1 mL sobre la superficie de las placas y se dejan reabsorber. Se incuban a 30°C durante 18-24 horas para permitir la germinación de las esporas antes de dar los resultados definitivos, que se refieren como "Colonias de *B. cereus* por g de muestra".

Las colonias que sobre este medio se presentan con bordes irregulares, color rosado y a veces hasta púrpura en su zona central, con un halo de precipitados blanco, deben contabilizarse como dudosas y precisarán confirmación. Las colonias con halos amarillentos deben descartarse con seguridad. En algunas ocasiones pueden presentarse confusiones con colonias de otros bacilos Gram positivos y en cualquier caso, la confirmación de identidad debe hacerse verificando la fermentación de la glucosa, degradación de la gelatina y reducción de nitratos, pruebas siempre positivas para *Bacillus cereus*.

Proceder al recuento de todas las colonias aparecidas y considerar las diluciones realizadas para calcular la carga microbiana en la muestra analizada.

Cada laboratorio puede variar los métodos de control establecidos según criterios de aceptación o normativas seguidas.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Naranja

pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) /10⁴-10⁶ (Selectividad)

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación a 30 ± 1 °C, lectura a las 24 ±3h - 44 ±4h

Microorganismo

Bacillus cereus ATCC® 11778, WDCM 00001

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013

Bacillus subtilis ATCC® 6633, WDCM 00003

Desarrollo

Bueno (≥50%)-colonias rosas con halo de precipitación

Inhibido

Colonias amarillas sin halo de precipitación

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografía

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. London.
- CORRY, J.E.L., G.D.W. CURTIS & R.M. BAIRD. (2003) Handbook of Culture Media for Food Microbiology. Elsevier Sci. B.V. Amsterdam. The Netherlands.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. APHA. Washington DC. USA.
- FIL-IDF 181:1998 Provisional Int. Standard. Dried Milk Products. Enumeration of *Bacillus cereus*.- Most probable number technique.
- ISO 7932 Standard (2004) 3rd ed. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*. Colony count technique at 30°C.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 21871 Standard (2006) Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive *Bacillus cereus*.- Most probable number technique and detection method.
- MOSSEL, D.A.A., KOOPMAN. M.J. & JONGERIUS, E. (1967) Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Appl. Microbiol. 15:650-653.
- PASCUAL ANDERSON, M^a.R^a (1992) Microbiología Alimentaria. Díaz de Santos, S.A. Madrid.