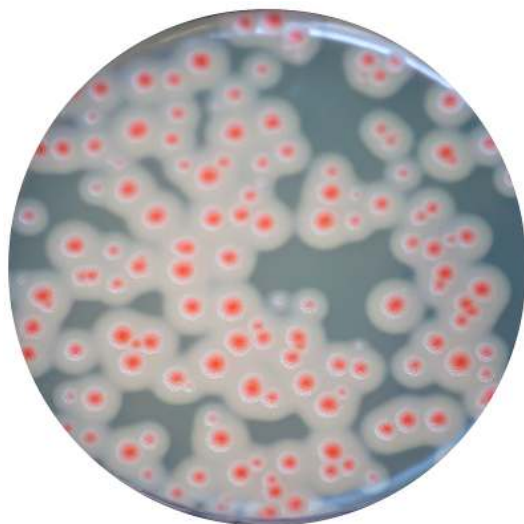


**ChromArt**

CHROMOGENIC BACILLUS CEREUS AGAR

Terreno in polvere, supplemento selettivo e di arricchimento, piastre pronte all'uso.

Bacillus cereus: colonie rosa-arancio con alone opaco su terreno con fondo trasparente.

1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno di base in polvere, supplemento selettivo e di arricchimento e piastre pronte all'uso per l'isolamento ed il conteggio di *Bacillus cereus* Group negli alimenti, senza test di conferma.

2 - COMPOSIZIONI

TERRENO IN POLVERE - FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA)*

CHROMOGENIC BACILLUS CEREUS AGAR BASE

| | |
|--------------------|--------|
| Peptoni | 20,3 g |
| Glucosio | 2,3 g |
| Sodio cloruro | 5,0 g |
| Tampone fosfato | 2,4 g |
| Composti inibitori | 2,2 g |
| Agar | 14,0 g |

PIASTRE PRONTE - FORMULA TIPICA ***CHROMOGENIC BACILLUS CEREUS AGAR**

| | |
|--------------------|---------|
| Peptoni | 20,3 g |
| Glucosio | 2,3 g |
| Sodio cloruro | 5,0 g |
| Tampone fosfato | 2,4 g |
| Composti inibitori | 2,2 g |
| Agar | 14,0 g |
| Composti cromogeni | 10,0 mg |
| Egg Yolk Emulsion | 40,0 ml |
| Acqua purificata | 1000 ml |

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

CONTENUTO DEI FLACONI DEI SUPPLEMENTI**BACILLUS CEREUS CHROMOGENIC SELECTIVE SUPPLEMENT**

| | |
|--------------------|-------|
| Composti cromogeni | 5 mg |
| Composti inibitori | 20 mg |
| Alcool etilico 50% | 5 ml |

EGG YOLK EMULSION 50% (FLACONE DA 50 ML)

| | |
|-----------------------|-------|
| Tuorlo d'uovo | 25 ml |
| Soluzione fisiologica | 25 ml |

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Bacillus cereus Group, è costituito da almeno 8 specie Gram-positive sporigene, facoltativamente mobili ed anaerobi facoltativi, saprofiti: (*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. anthracis*, *B. cytotoxicus* e *B. toyonensis*)¹. I membri di *B. cereus* Group sono diffusi in natura sia a livello di spore che di cellule vegetative; le spore sono resistenti a condizioni ambientali estreme (es. calore, congelamento, essiccamento, radiazioni) e germinano quando entrano in contatto con materiale organico o all'interno di un animale ospite.² Il gruppo comprende *B. cereus*, *sensu stricto*, responsabile di tossinfezioni alimentari, provocate da due tossine, una stabile al calore ed emetica, l'altra termolabile e causa di diarrea. L'infezione è provocata dall'ingestione di riso, carne e vegetali contaminati da *B. cereus* e rimasti a temperatura ambiente dopo la cottura.

Il terreno cromogeno qui descritto ha uno spiccato potere selettivo e consente un più agevole conteggio delle colonie di *B. cereus* Group anche quando il campione alimentare è pesantemente contaminato da flora mista.

Le specie di *B. cereus* Group sviluppano colonie di colore rosa-arancio per la degradazione del composto cromogeno e sono circondate da un alone opaco, prodotto dell'attività fosfolipasica. A causa dell'elevato potere selettivo e della specificità della reazione cromatica, le colonie tipiche di *B. cereus* Group sviluppate sul terreno non richiedono test di conferma.³

4 - PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 23,1 g in 500 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C ed aggiungere il contenuto di un flacone (5 ml) di Chromogenic Bacillus Cereus Selective Supplement (cat. n° 4240072). Mescolare bene. Aggiungere inoltre 20 ml di Egg Yolk Emulsion 50% (cat. n° 42111601), mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili in ragione di 15-20 ml per piastra.

5 - CARATTERISTICHE CHIMICO-FISICHE

| | |
|--|------------------------------|
| Aspetto del terreno disidratato | polvere fine di colore beige |
| Aspetto del terreno in piastra | giallo chiaro, opaco. |
| Aspetto del supplemento selettivo | liquido limpido incolore |
| Aspetto del supplemento all'uovo | giallo, opaco |
| pH finale del terreno completo (20-25°C) | 7,2 ± 0,2 |



**6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI**

| Prodotto | Tipo | REF | Confezione |
|--|------------------------|----------|---|
| Chromogenic Bacillus Cereus Agar Base | Terreno in polvere | 4011142 | 500 g (10,8 L) |
| Bacillus Cereus Chromogenic Selective Supplement | Supplemento selettivo | 4240072 | 10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno |
| Egg Yolk Emulsion 50% | Arricchimento liquido | 42111601 | 50 mL |
| Chromogenic Bacillus Cereus Agar | Piastre pronte all'uso | 541114 | 2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane; confezionamento secondario: scatola di cartone |

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

Alimenti, mangimi, campioni della filiera alimentare. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni operare in accordo alle norme di buona prassi di laboratorio e fare riferimento alle norme ed agli Standard internazionali applicabili (es. ISO 6887-1)⁴.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Per l'isolamento ed il conteggio di *B. cereus* Group, negli alimenti, operare come segue⁵:

- Sospendere 25 g di campione in 225 ml di diluente e preparare le diluizioni decimali necessarie sulla base della carica attesa.
- Sulla superficie di due piastre di terreno, distribuire in duplicato, 0,1 ml del campione, se liquido, o della sospensione madre, per i prodotti non liquidi e delle diluizioni successive.
- Per incrementare la sensibilità del metodo e se si attendono cariche basse, con le medesime modalità, seminare 1 ml di campione su una piastra da 150 mm.
- Incubare a 30° ± 1°C in aerobiosi per 24 ± 2 ore.

Il terreno può essere usato anche con la tecnica della semina per inclusione: 1 ml di sospensione del campione e delle sue diluizioni decimali in piastre in cui si versano 18-20 ml di terreno; incubazione a 30° ± 1°C in aerobiosi per 24 ± 2 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica delle colonie.

Contare le colonie tipiche di *B. cereus* Group, nelle piastre contenenti da 15 a 150 colonie, considerando come tali le crescite che abbiano le seguenti caratteristiche: colonie larghe di colore rosa-arancio con un distinto alone opaco.

Come per altri terreni cromogeni, Chromogenic Bacillus Cereus Agar, non richiede l'esecuzione di test di conferma.³

Alcuni batteri possono coltivare con colonie arancio ma senza alone opaco e quindi sono facilmente distinguibili da *B. cereus*.

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

| CEPPI DI CONTROLLO | | INCUBAZIONE T°/t / ATM | SPECIFICHE |
|------------------------|------------|---------------------------|--|
| <i>B. cereus</i> | ATCC 11778 | 30°C / 24 h / A | CRESCITA, COLONIE ROSSE ED ALONE OPACO |
| <i>B. cereus</i> | ATCC 14579 | 30°C / 24 h / A | CRESCITA, COLONIE ROSSE ED ALONE OPACO |
| <i>B. subtilis</i> | ATCC 6633 | 30°C / 24 h / A | COMPLETAMENTE INIBITO |
| <i>E. coli</i> | ATCC 25922 | 30°C / 24 h / A | COMPLETAMENTE INIBITO |
| <i>L. monocytogens</i> | ATCC 13932 | 30°C / 24 h / A | COMPLETAMENTE INIBITO |

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 - LIMITI DEL METODO

- Alcuni ceppi di *B. cereus* producono solo piccole quantità di lecitinasi o sono lecitinasi negativi. Le colonie di questi ceppi non saranno circondate dall'alone opaco.⁵
- *B. amyloliquifaciens*, *B. circulans*, *B. mycooides* potrebbero essere inibiti sul terreno.³

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono da impiegare per controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il terreno di coltura ed il supplemento qui descritti devono essere usati congiuntamente in accordo al metodo di preparazione indicato.
- I terreni in polvere ed i supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura in polvere e pronto all'uso in piastra e l'arricchimento liquido qui descritti contengono materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare i prodotti con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.



- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura, supplemento o agenti microbici.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno di base ed il supplemento non utilizzati ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti qui descritti sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Terreno in polvere - Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).













Supplemento selettivo ed arricchimento - Conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C. Aprire il flacone con le precauzioni dell'asepsi e, se non utilizzato completamente il contenuto, conservare a 2-8°C.

Piastre pronte all'uso - Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Schulz ME, Lereclus D. The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* species with Pathogenic Potential. *Microbiol Spectr.* 2019 May; 7(3): 10.
2. Bianco A, Capozzi L, Monno MR, Del Sambro L, Manzulli V, Pesole G, Loconsole D and Parisi A. Characterization of *Bacillus cereus* Group Isolates From Human Bacteremia by Whole-Genome Sequencing. *Front. Microbiol.* 2021, 11:599524. doi: 10.3389/fmicb.2020.599524
3. Tallent MS, Kotewicz KM, Strain EA, Bennett RW. Efficient isolation and identification of *Bacillus cereus* Group. *J AOAC Intern.* 2012, 95:446
4. ISO 6887-1:2017 Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions
5. ISO 7932:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* — Colony-count technique at 30 degrees C

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

| | | | | | |
|---|--|--|--|---|--|
|  REF Numero di catalogo |  LOT Numero di lotto |  Fabbricante |  Utilizzare entro |  Proteggere dall'umidità |  Fragile, maneggiare con cura |
|  Limiti di temperatura |  Contenuto sufficiente per <n> test |  Consultare le Istruzioni per l'Uso |  Lato superiore |  Proteggere dalla luce |  Monouso |

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

| Versione | Descrizione delle modifiche | Data |
|-------------|---|---------|
| Revisione 5 | Modifiche del contenuto del capitolo "Conservazione e validità" | 03/2023 |

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

