

Typical formula	g/l
Meat extract	1.0
Peptone	10.0
D-mannitol	10.0
Sodium chloride	10.0
Phenol red	0.025
Polymyxin B	100000 IU
Egg yolk emulsion	100 ml
Agar	14.0
Final pH	7.2 ± 0.2

## DESCRIPTION

BACILLUS CEREUS AGAR (Mossel) is used for growing and isolation of *Bacillus cereus*, which causes food toxoinfections. *Bacillus cereus* produces two toxins, one heat stable and emetic, the other thermostable that causes diarrhea.

## PRINCIPLE

The meat extract supplies vitamins and growth factors to *Bacillus cereus*. Peptone supplies nitrogen, vitamins and aminoacids. Sodium chloride keeps the medium osmotic balance. D-mannitol is present as fermentable carbohydrate and phenol red as pH indicator. Polymyxin B is a selective agent that inhibits the growth of coliforms. Egg yolk emulsion is added for the lecithinase production test. Agar is the solidifying agent.

## TECHNIQUE

Distribute 0.1 ml of test sample, if liquid, or 1 ml of the initial suspension if solid, onto the surface of two agar plates. Repeat the procedure using decimal dilutions in Maximum Recovery Broth, code 412400, until a 10<sup>-6</sup> dilution is reached. Incubate the plates in aerobic condition for 18-24 hours at 30 ± 2 °C. If the colonies are not clearly visible, than incubate for others 24 hours.

## RESULTS INTERPRETATION

Observe the colonies formation. *Bacillus cereus* shows crenated colonies, about 5 mm in diameter, pink in color, surrounded by a distinct opaque zone of egg yolk precipitation of the same color as the colonies (mannitol-, lecithinase+). Given the low lecithinase production by some *B. cereus* strains, also colonies without halo but with others typical characteristics, must be confirmed. Microorganisms that ferment D-mannitol, as *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*, show yellow colonies caused by low pH in presence of phenol red. Suspect colonies must be submitted to the follow confirmation tests:

- microscope observation (spores presence);
- glucose fermentation test;
- Voges Proskauer test;
- nitrate reduction;

## STORAGE

Keep away from light at 2-8 °C until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

## WARNING AND PRECAUTIONS

The product is not classified as hazardous by current legislation and it does not contain harmful substances in concentration of ≥ 1%. The product is designed to *in vitro* diagnostic use only and it must be used by properly trained operators.

## WASTE DISPOSAL

Waste disposal must be carried out according to local and national legislation in force.

## REFERENCES

1. Mary Jo Zimbro, B.S., David A. Power, Ph.D. 2003. Difco TM & BBL TM Manual of Microbiological Culture Media.
2. Microbiology-General guidance for the enumeration of *Bacillus cereus*-Colony count technique. ISO 7932:1993, 2end ed.
3. Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D. De Medici, L. Fenicia, L. Orefice e A. Stacchini.



**NAME**

BACILLUS CEREUS AGAR (Mossel).

**PRESENTATION**

Ready plates (90 mm) containing  $22 \pm 1$  ml of medium.

**PACKAGING**

Code	Content	Packaging
10027	20 plates	5 plates in thermally soldered film
		4 x 5 plates in cardboard boxes

**pH OF THE MEDIUM**

$7.2 \pm 0.2$

**USE**

Selective medium for *Bacillus cereus* isolation and enumeration in foodstuffs, recommended by ISO 7932.

**TECHNIQUE**

Refer to technical sheet of the product.

**APPEARANCE OF THE MEDIUM**

Opaque pink medium.

**SHELF LIFE**

120 days.

**QUALITY CONTROL**

- Control of general characteristics, label and print
- Sterility control
  - 7 days at  $25 \pm 1$  °C, in aerobiosis
  - 7 days at  $36 \pm 1$  °C, in aerobiosis
- Microbiological control
  - Inoculum for productivity: 10-100 CFU/ml
  - Inoculum for selectivity:  $\leq 10^4$  CFU/ml
  - Inoculum for specificity:  $10^4 - 10^5$  CFU/ml
  - Incubation conditions: 18-24 h at  $30 \pm 2$  °C in anaerobiosis

Microorganisms		Growth	Colonies color	Precipitation
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	good	red	+
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6051	good	yellow	-
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	inhibited	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	inhibited	yellow	+

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	<b>IVD</b> In Vitro Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult accompanying documents	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Made in Italy  
www.liofilchem.net



## FORMULA TIPICA (g/L)

Estratto di carne.....	1.0
Peptone.....	10.0
D-mannitolo.....	10.0
Sodio cloruro.....	10.0
Rosso fenolo.....	0.025
Polimixina B.....	100000 IU
Emulsione d'uovo.....	100 ml
Agar.....	14.00
pH finale 7.2 ± 0.2	

## DESCRIZIONE

Il BACILLUS CEREUS AGAR (Mossel) è utilizzato per la coltivazione e l'isolamento di *Bacillus cereus*, responsabile di tossinfezioni alimentari. Il *Bacillus cereus* produce due tossine, una stabile al calore ed emetica, l'altra termolabile che causa diarrea.

## PRINCIPIO

L'estratto di carne fornisce vitamine e fattori di crescita per il *Bacillus cereus*. Il peptone fornisce azoto, vitamine e aminoacidi. Il cloruro di sodio mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il D-mannitolo è presente come carboidrato fermentabile, il rosso fenolo come indicatore di pH. La polimixina B è un agente selettivo che inibisce la crescita dei coliformi. L'emulsione d'uovo viene aggiunta per il test della lecitinasi. L'agar è l'agente solidificante.

## TECNICA

Distribuire 0.1 ml di campione, se liquido, o 1 ml della sospensione iniziale se solido, sulla superficie di due piastre di terreno. Ripetere la procedura utilizzando diluizioni decimali in Maximum Recovery Broth, codice 412400, fino ad arrivare alla diluizione di 10<sup>-6</sup>. Incubare a 30 ± 2°C per 18-24 ore in aerobiosi. Se le colonie non sono chiaramente visibili, incubare per ulteriori 24 ore.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Osservare la formazione delle colonie. Il *Bacillus cereus* presenta colonie sfrangiate di circa 5 mm di diametro, rosa con un distinto alone opaco di precipitazione del rosso d'uovo dello stesso colore delle colonie (mannitolo-, lecitinasi+). Data la scarsa produzione di lecitinasi da parte di alcuni ceppi di *B. cereus*, anche le colonie prive di alone, ma con altre caratteristiche tipiche, dovrebbero essere sottoposte a test di conferma. I microrganismi che fermentano il D-mannitolo, come per esempio il *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, presentano una colorazione gialla delle colonie dovuta ad un abbassamento di pH in presenza dell'indicatore rosso fenolo. Sottoporre le colonie sospette ai seguenti test di conferma:

- osservazione microscopica (presenza di spore)
- test di fermentazione del glucosio (+)
- reazione di Voges Proskauer (+)
- riduzione dei nitrati (+)

## CONDIZIONE DI CONSERVAZIONE

2-8°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta o fino a segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente e non contiene sostanze nocive in concentrazione ≥ 1%. Il prodotto è destinato solo per uso diagnostico *in vitro*, e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati.

## SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Mary Jo Zimbro, B.S., David A. Power, Ph.D. 2003. Difco<sup>TM</sup> & BBL<sup>TM</sup> Manual of Microbiological Culture Media.
2. Microbiology-General guidance for the enumeration of *Bacillus cereus*-Colony count technique. ISO 7932:1993, 2nd ed.
3. Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D. De Medici, L. Fenicia, L. Orefice e A. Stacchini.

**NOME**  
BACILLUS CEREUS AGAR (Mossel)

**PRESENTAZIONE**  
Piastrre pronte da 90 mm contenenti 22 ± 1 ml di terreno.

**CONSERVAZIONE**  
2-8°C

**CONFEZIONE**

Codice	Contenuto	Modalità di confezionamento
10027	20 piastre	5 piastre in film bisaldante, saldato termicamente 4 x 5 piastre in scatola di cartone

**pH DEL TERRENO**  
7.2 ± 0.2

**IMPIEGO**  
Terreno utilizzato per la coltivazione e l'isolamento di *Bacillus cereus*, responsabile di tossinfezioni alimentari in accordo alla ISO 7923.

**TECNICA**  
Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto.

**ASPETTO DEL TERRENO**  
Terreno rosa opalescente.

**VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE**  
120 giorni.

- CONTROLLO DI QUALITÀ**
- Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa.
  - Controllo sterilità  
7 giorni a 25 ± 1°C, in aerobiosi  
7 giorni a 36 ± 1°C, in aerobiosi
  - Controllo microbiologico  
Dimensione dell'inoculo per produttività: 10-100 UFC/ml  
Dimensione dell'inoculo per specificità: ≤ 10<sup>4</sup> UFC/ml  
Dimensione dell'inoculo per selettività: 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> UFC/ml  
Condizione di incubazione: 30 ± 2°C per 18-24 ore in anaerobiosi.

Microrganismi		Crescita	Colore delle colonie	Precipitazione
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	Buono	Rosso	+
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6051	Buono	Giallo	-
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	Inibito	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Inibito	Giallo	+

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Per uso diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Data di scadenza	Fragile, maneggiare con cura
<b>REF</b> Numero di catalogo	Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> test	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	Non riutilizzare