

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

ΠΡΟΪΟΝ: **BACILLUS CEREUS MEDIUM (PREP)** (ISO 7932) (MOSEEL, MYP), Phenol Red Egg Yolk Polymyxin Agar (P.R.E.P.)

ΚΩΔΙΚΟΣ: **010423**



Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 4^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Εκλεκτικό υλικό για την απομόνωση και καταμέτρηση του *Bacillus cereus* στα τρόφιμα. Παράγεται σύμφωνα με το ISO 7932 και FDA BAM.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το PREP χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τον Mossel και τους συνεργάτες του το 1967 για την καταμέτρηση του *Bacillus cereus* στα τρόφιμα. Στο μέσο αυτό ο *B. Cereus* διαφοροποιείται από άλλα μέλη της ομάδας *Bacillus* από τη ζύμωση της μαννιτόλης και την παραγωγή λεκιθινάσης. Με τη διάσπαση της μαννιτόλης το υλικό γύρω απ' την αποικία βάφεται κίτρινο. Ο *B. Cereus* δε ζυμώνει τη μαννιτόλη και το υλικό γύρω απ' τις αποικίες παραμένει κόκκινο. Η παραγωγή λεκιθινάσης φαίνεται από ένα λευκό ίζημα γύρω απ' την αποικία. Η Polymyxin προστίθεται στο υλικό για την αναστολή *Εντεροβακτηρίων*, αλλά μερικές φορές ο *Proteus spp* και μερικοί Gram (+) κόκκοι μπορεί να αναπτυχθούν.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Beef Extract	1.0
Balanced Peptone No. 1	10.0
D-Mannitol	10.0
Sodium chloride	10.0
Phenol red	0.025
Agar No. 1	15.0
Egg Yolk Emulsion	100ml
Polymyxin B	8mg

Εμφάνιση: Άγαρ ροζ μη διαυγές.

Τελικό pH $7,2 \pm 0.2$ στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το BACILLUS CEREUS MEDIUM είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου. Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε. Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης. Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι. Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους **2 – 12 °C** μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των **2 °C** δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους **14 - 25 °C** για **3 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **24 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣΜέθοδος επίστρωσης τρυβλίων:

Σε 2 τρυβλία ρίχνουμε από 0,1ml ομογενοποιημένο δείγμα και το επιστρώνουμε σε όλη την επιφάνεια του άγαρ. Όταν σε ορισμένα δείγματα έχει εκτιμηθεί ότι ο *B. cereus* είναι σε χαμηλό αριθμό αυξήστε την ποσότητα του δείγματος σε 1ml και μοιράστε από 0,33ml περίπου σε τρία διαφορετικά τρυβλία 90mm. Αφήστε τα τρυβλία να στεγνώσουν με τα καπάκια τους κλειστά για περίπου 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Επώαστε τα τρυβλία στους 30 °C για 18 - 24 ώρες. Αν οι αποικίες δεν είναι αρκετά ορατές, επώαστε τα τρυβλία για επιπλέον 24 ώρες.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Μετά την επώαση επιλέξτε τα τρυβλία που έχουν λιγότερες από 150 αποικίες. Μετρήστε τις πιθανές *B. cereus* μεγάλες ροζ αποικίες (μαννιτόλη-) που περιβάλλονται από θολερό ροζ - λευκό ίζημα (παραγωγή λεκιθινάσης) και κάνετε επιβεβαίωση.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ορισμένα στελέχη *B. cereus* παράγουν λίγη ή καθόλου λεκιθινάση (αποικίες χωρίς θολерό ροζ - λευκό ίζημα). Οι αποικίες αυτών των στελεχών θα πρέπει επίσης να υποβληθούν σε δοκιμές επιβεβαίωσης. Εάν τα τρυβλία έχουν πολλές αποικίες μαννιτόλη θετικές (+) το υλικό γίνεται κίτρινο λόγω της παραγωγής οξέος με αποτέλεσμα να μην φαίνονται οι τυπικές αποικίες *B. cereus*.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

ΜΙΚΡΟΒΙΟ	ATCC	ΑΝΑΠΤΥΞΗ	ΧΡΩΜΑ ΑΠΟΙΚΙΩΝ
<i>B. cereus</i>	NCTC 2599	Αναπτύσσεται	Ροζ με θολερή λευκή άλω
<i>B. subtilis</i>	NCTC 3610	Αναπτύσσεται	Λευκές με κίτρινη άλω
<i>Escherichia coli</i>	25922	Δεν Αναπτύσσεται	



B. cereus NCTC 2599

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικός μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

BACILLUS CEREUS MEDIUM (PREP) (ISO 7932)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010423	10 τεμάχια	2 – 12 °C	2 μήνες

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Inal, T.: Vergleichende Untersuchungen über die Selektivmedien zum qualitativen und quantitativen Nachweis von *Vacillus cereus* in Lebensmitteln. Mitteilung I. : Fleischwritsch, 51: 1629-1632 (1971). IV. Mitteilung: Fleischwritsch, 52: 1160-1162 (1972).
 Mossel, D.A.A., Koopman, M.J. and Jongerius, E. (1967). Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Appl. Microbiol. 15: 650-653.
 Thatcher, F.S., Clarke, D.S. (1978) Micro-organisms in foods. Volume 1 second edition. University of Toronto.
 BS5763 Part 1L:1994. ISO7932:(1993) 3/100.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φάξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr

**TECHNICAL DATA SHEET**

PRODUCT: **BACILLUS CEREUS MEDIUM (PREP)** (ISO 7932) (MOSEEL, MYP), Phenol Red Egg Yolk Polymyxin Agar (P.R.E.P.)

REFERENCE: **010423**



Date 1st Edition:

7th 2009

Date 4th Revision:

6th 2024

DESCRIPTION

Selective medium for the isolation and enumeration of *Bacillus cereus* in food. Produced according to ISO 7932 and FDA BAM.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The PREP medium was first used by Mossel and colleagues in 1967 for the enumeration of *Bacillus cereus* in food. In this medium, *B. cereus* is differentiated from other members of the *Bacillus* group by its inability to ferment mannitol and its production of lecithinase. When mannitol is fermented, the area around the colony turns yellow. Since *B. cereus* does not ferment mannitol, the surrounding medium remains red. Lecithinase production is indicated by the formation of a white precipitate around the colony. Polymyxin is added to the medium to inhibit Enterobacteriaceae; however, *Proteus* spp. and some Gram-positive cocci may sometimes grow.

FORMULA	g/litre
Beef Extract	1.0
Balanced Peptone No. 1	10.0
D-Mannitol	10.0
Sodium chloride	10.0
Phenol red	0.025
Agar No. 1	15.0
Egg Yolk Emulsion	100ml
Polymyxin B	8mg

Appearance: Pink, opaque agar.

Final pH 7,2 ± 0.2. στους 25 °C.

PRECAUTIONS

The *Bacillus cereus* medium is an in vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by trained laboratory personnel. This medium contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. Therefore, these materials should be considered potentially infectious and handled with standard safety precautions, avoiding ingestion or inhalation. Petri dishes should always be handled with gloves and inside a Class II Laminar Flow Hood to prevent contamination, especially from saprophytic fungi. If the Petri dish is cracked or the packaging is damaged, it should not be used. Plates showing signs of microbial contamination should also not be used. The agar thickness should be 4-5 mm, and the medium should be free of cracks, dryness, or other signs of deterioration. The medium should not be used after its expiration date. In case of skin contact, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be disposed of following proper biosafety guidelines for infectious sample management.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The plates should be stored at **2–12°C** in their packaging until use. Prolonged storage below **2°C** may cause excessive moisture buildup in the medium, increasing the risk of contamination. Freezing, even momentarily, will destroy the medium. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used up to the expiration date indicated on the label. Stability studies have shown that the plates can be stored at **14–25°C** for up to 3 days or at **25–40°C** for up to **24 hours** without affecting product performance.

USAGE INSTRUCTIONSPlate Streaking Method:

In two Petri dishes, spread 0.1 ml of homogenized sample evenly over the entire agar surface. If *Bacillus cereus* is estimated to be present in low numbers, increase the sample volume to 1 ml and distribute approximately 0.33 ml across three separate 90 mm Petri dishes. Allow the plates to dry with their lids closed for about 15 minutes at room temperature. Incubate the plates at 30°C for 18–24 hours. If the colonies are not sufficiently visible, extend incubation for an additional 24 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

After incubation, select the plates containing fewer than 150 colonies. Count the suspected *B. cereus* colonies, which appear as large pink (mannitol-negative) colonies surrounded by a turbid pink-white precipitate due to lecithinase production and proceed with confirmation tests.

METHOD LIMITATIONS

Some *B. cereus* strains produce little or no lecithinase, resulting in colonies without a turbid pink-white precipitate. These colonies should also undergo confirmation testing. If the plates contain numerous mannitol-positive (+) colonies, the medium may turn yellow due to acid production, making it difficult to distinguish typical *B. cereus* colonies.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Germ	ATCC	Growth	Haemolysis
<i>B. cereus</i>	NCTC 2599	Grows	Pink with a cloudy white halo
<i>B. subtilis</i>	NCTC 3610	Grows	White with a yellow halo

<i>Escherichia coli</i>	25922	Does not grow	
-------------------------	-------	---------------	--



B. cereus NCTC 2599

DISPOSAL OF MATERIAL IN WASTE

Materials that show no microbial growth can be considered non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials with colony growth must be discarded following regulations for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper handling of infectious waste based on its nature and risk level and must manage and dispose of it (or delegate its disposal) in compliance with applicable regulations.

SPECIFICATIONS

BACILLUS CEREUS MEDIUM (PREP) (ISO 7932)

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Petri dish 9cm	010423	10 pieces	2 – 12 °C	2 months

Produced in Greece by the company Bioprepare in accordance with the requirements of the European Directive 2017/746.

BASIC UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) non-chromogenic media (Plates).

The Bioprepare company has been certified according to the standards: EN ISO 9001:2015 / EAOT EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

BIBLIOGRAPHY

Inal, T.: Vergleichende Untersuchungen über die Selektivmedien zum qualitativen und quantitativen Nachweis von *Vacillus cereus* in Lebensmitteln. Mitteilung I. : Fleischwritsch, 51: 1629-1632 (1971). IV. Mitteilung: Fleischwritsch, 52: 1160-1162 (1972).

Mossel, D.A.A., Koopman, M.J. and Jongerius, E. (1967). Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Appl. Microbiol. 15: 650-653.

Thatcher, F.S., Clarke, D.S. (1978) Micro-organisms in foods. Volume 1 second edition. University of Toronto.

BS5763 Part 1L:1994. ISO7932:(1993) 3/100.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprepare.gr