

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	1 de 15

Republica de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE *BACILLUS CEREUS* PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 DEL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	2 de 15

CONTENIDO

1. OBJETIVO	3
2. ALCANCE	3
3. RESPONSABILIDADES	3
4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS	3
5. CONDICIONES GENERALES	3
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO.....	4
7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS	4
8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	5
9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA	5
10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA.....	5
10.1 Equipos y materiales.....	5
10.2 Reactivos	5
11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	5
12. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO	6
13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS	7
13.1 Confirmación.....	7
13.2 Método de cálculo después de la confirmación	8
14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS.....	9
16. OTRAS CONFRIMACIONES	10
16.1 Reducción de Nitratos.....	10
16.2 Reducción de Nitratos.....	10
16.3 Fermentación de carbohidratos (glucosa, xilosa y arabinosa)	10
16.4 Hidrólisis de la Caseína	10
16.5 Hidrólisis del Almidón.....	10
16.6 Batería bioquímica del <i>Bacillus cereus</i>	11
17. CONTROL DE CAMBIOS	11
18. ANEXOS.....	12

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	3 de 15

1. OBJETIVO

Describir la metodología llevada a cabo por el laboratorio de microbiología de alimentos para realizar el recuento de *Bacillus cereus*. Basados en la norma International ISO 7932:2004, Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de *Bacillus cereus* presuntivos. Técnica de recuento de colonias a 30°C

2. ALCANCE

Este procedimiento se aplica para realizar el recuento de *Bacillus cereus* por técnica de recuento de colonias a 30°C en muestras de alimentos. Esta Técnica aplica para los siguientes productos: Productos Cárnicos (crudo, cocido, maduro,); Aves (crudo, cocido); pescados y productos alimenticios marinos (crudos, cocidos); productos de frutas y a base de vegetales (crudos) productos lácteos (crudos, congelados, secos, procesados); productos de chocolate y panadería, misceláneos (salsa, huevos y derivados, enriquecidos, precocidos, deshidratados).

3. RESPONSABILIDADES

Sera responsabilidad del profesional asignado, como según cronograma de análisis de muestras, verificar que el procedimiento se lleve a cabo según esta consignado en este documento.

4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

BACILLUS CEREUS: microorganismo aerobio, Gram positivo, esporulado, común en el suelo vegetales, alimentos crudos y preparados, forma colonias típicas en la superficie del medio de cultivo selectivo referenciado en este procedimiento.

AGAR MYP (Manitol-Yema de huevo y Polimixina): Medio selectivo y diferencial específico para el aislamiento de *Bacillus cereus* en alimentos.

5. CONDICIONES GENERALES

Bacillus cereus es una bacteria ubicua, encontrándose en suelo, polvo, ambiente, de fácil propagación a vegetales. También se ha encontrado en otros tipos de alimentos debido a contaminación cruzada. Cuando se encuentra un número alto, mayor de 10⁶ colonias/g, en un alimento puede ocasionar intoxicación alimentaria. *Bacillus cereus* causa dos tipos de intoxicaciones, según la toxina involucrada: síndrome emético y síndrome diarreico. Según la cepa, producen una u otra toxina, pero hay algunas que tienen la capacidad de sintetizar las dos.

El síndrome emético es ocasionado por una toxina preformada en el alimento. La

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	4 de 15

toxina involucrada es llamada cereulida o vomitoxina, es un péptido altamente resistente a los extremos de pH de 2 y 11, al calor (no se destruye por tratamiento a 121°C por 90 minutos) y a la acción de enzimas proteolíticas (tripsina y pepsina). El síndrome diarreico se debe a la germinación in vivo de las esporas de la bacteria en el intestino con la consecuente producción de enterotoxinas termolábiles. Suelen aparecer en alimentos mal refrigerados. Los síntomas aparecen entre las 6 y 8 horas de realizada la ingesta y duran entre 12 y 24 horas. La sintomatología principal consiste en diarrea y dolor abdominal y, ocasionalmente, náuseas y vómitos.

Alimentos amiláceos como el arroz, papas, pastas y otros están particularmente asociados a brotes por *Bacillus cereus*. También las especias son un importante vehículo de transmisión ya que las esporas son muy resistentes a la desecación. En productos cárnicos, la incidencia suele ser mayor debido a que en muchos de ellos se incorporan aditivos, como las especias, que incrementan el número de *Bacillus cereus*. La contaminación de leche con esta bacteria está muy relacionada a vacas enfermas con mastitis aguda. Alimentos que poseen leche en polvo en su composición pueden estar altamente contaminados con esporas, esto es especialmente importante en el desarrollo de fórmulas para lactantes y niños. Otros alimentos de los que fue aislada la bacteria son té, postres, legumbres, salsas, sopas, entre otros.

6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

Una cantidad específica de la muestra de prueba si el producto inicial es líquido, o una cantidad específica de una suspensión inicial en el caso de otros productos, se sembrará en la superficie de un medio de cultivo selectivo sólido contenido en placas de Petri.

Se preparan otras placas en las mismas condiciones, utilizando diluciones decimales de la muestra de ensayo o de la suspensión inicial. Las placas se incuban en condiciones aeróbicas a 30 °C durante 18 a 48 h.

El número de *B. cereus* por gramo o por mililitro de muestra se calcula a partir del número de colonias confirmadas obtenidas en placas a niveles de dilución elegidos para dar un resultado significativo y confirmado de acuerdo con la prueba especificada.

7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS

Algunas normas establecen para su determinación pasos muy largos, con una extensa batería de pruebas bioquímicas. El término “presuntivo” se utiliza con el fin de reconocer el hecho que la fase de confirmación no permite la distinción entre *B. cereus* y otras especies de *Bacillus* estrechamente relacionadas pero aisladas con menor frecuencia, tales como *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. mycoides*. En estos casos, la determinación más importante se considera que es la capacidad hemolítica de la bacteria, ya que se relaciona esta propiedad con la

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	5 de 15

patogenicidad de la misma (norma ISO 7932:2004) En caso que se sospeche la presencia de *B. anthracis* se puede agregar un test de movilidad para ayudar a diferenciarlo de *B. cereus*.

8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Ver manual de toma y recepción de muestras de alimentos y bebidas alcohólicas laboratorio de salud pública de Santander MI-GS-MA-08, inciso 3: Toma de muestras de alimentos, Tabla 2: Método de recolección de muestras de alimentos y materias primas sólidas, líquidas, deshidratadas y congeladas e inciso 6.2 Entrega de muestras al laboratorio.

9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra se conserva de acuerdo a la naturaleza del producto manteniendo las temperaturas de almacenamiento correspondientes

10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

10.1 Equipos y materiales

- ✓ Cabina de Flujo laminar
- ✓ Homogeneizador de muestras
- ✓ Autoclave
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Incubadora a 30° C +/-1°C
- ✓ Cajas de Petri estériles
- ✓ Micropipeta 100-1000 uL
- ✓ Varilla de hockey en forma de L
- ✓ Gradillas
- ✓ Tubos tapa rosca
- ✓ Baño serológico 44°C – 47 °C

10.2 Reactivos

- ✓ Agar manitol yema de huevo polimixina (MYP) para aislamiento de *Bacillus cereus*
- ✓ Solución de polimixina B (suplemento)
- ✓ Emulsión de yema de huevo al 20%
- ✓ Agar base sangre
- ✓ Cepa de *Bacillus cereus* ATCC 11778 (Control Positivo)
- ✓ Cepa de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Control Negativo)

11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	6 de 15

1. Desinfectar con alcohol al 70% el sitio por donde se vaya a extraer la muestra.
2. Rotular los frascos schott con su respectivo número de muestra
3. Mezclar muy bien la muestra para asegurar su homogenización antes de preparar las diluciones.
4. Abrir aséptica y adecuadamente la muestra.
5. Preparar la muestra: macerar, picar, mezclar y pesar 10 g representativos de la muestra total, en el frasco previamente marcado de dilución que contiene 90 ml de agua peptonada 0.1%, en una balanza previamente tarada, para obtener una dilución 10^{-1}
6. Realizar diluciones según el patrón definido para cada alimento.
7. Preparar diluciones consecutivas (10^{-2} , 10^{-3}). Preparar la dilución 10^{-2} , tomando 1ml de muestra de la dilución 10^{-1} (es la dilución que contiene 90 ml de agua peptonada 0.1% y 10 g de la muestra) y transferirlos a un tubo que contenga 9 ml de agua peptonada 0.1%, agitar cuidadosamente.
8. Atemperar las placas de Agar MYP, dejar solidificar y secar la superficie.
9. Transferir 0.1 ml de cada una de las diluciones sobre la superficie del agar
10. Extender el inóculo sobre la superficie del agar, con ayuda de la varilla de hockey hasta que la superficie quede seca.
11. Invertir las placas e incubarlas a 30 °C durante 18-24 horas.

Nota: El tiempo transcurrido entre el final de la preparación de la suspensión inicial y el instante en que el inóculo entra en contacto con el medio de cultivo no debe superar los 45 minutos, mientras que el lapso de tiempo límite entre la preparación de la suspensión inicial y el comienzo de la preparación de las diluciones decimales sucesivas es de 30 minutos.

Si la temperatura ambiente del laboratorio es muy alta estos dos lapsos de tiempo deben ser reducidos.

12. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

Los ensayos se realizarán de acuerdo con el procedimiento de aseguramiento de la calidad de técnicas y medios de Cultivo, Preparación, esterilización y control de calidad de medios de cultivo MI-GS-GI-79, y registrar los datos de preparación en el formato control de medios de cultivo preparados MI-GS-RG-113.

Verificar el crecimiento en el control positivo observando que el crecimiento sea adecuado y las colonias características.

El control negativo no debe presentar crecimiento. Las colonias no deben poder diferenciarse claramente si los medios utilizados son selectivos.

La prueba de esterilidad de los medios utilizados, no debe presentar crecimiento de

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECUENTO DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	7 de 15

ningún tipo.

13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Seleccionar las placas, preferiblemente en dos diluciones sucesivas, en las que el recuento *Bacillus cereus* sea menor a 150 colonias, contar en cada placa las colonias.

Las colonias presuntas son grandes, rosas (indicando que no ocurre fermentación del manitol, Rosadas (Manitol Negativo) que presenten un halo denso (lecitina Positiva), sobre un fondo rojo violeta. Si las placas contienen numerosos organismos fermentadores de manitol que producen ácido, la característica de color rosa de las colonias de *Bacillus cereus* puede reducirse o desaparecer por completo. Algunas cepas de *Bacillus cereus* producen poco o nada de lecitinasa.

1. Agar manitol yema de huevo polimixina (MYP)



***Bacillus cereus* ATCC 4778:** colonias típicas rosa rodeada de precipitado

13.1 Confirmación

- **Selección y purificación de las colonias para confirmación**

Elegir cinco colonias presuntas de cada placa seleccionada, Si hay menos de cinco colonias en la placa, tomar todas las colonias presentes.

Si las placas están con sobrecrecimiento y no es posible seleccionar colonias bien aisladas, estriar 5 colonias presuntivas en placas con el medio selectivo (MYP). Incubar las placas a 30°C durante 18 h a 24 h. Seleccionar de cada placa al menos una colonia bien aislada.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	8 de 15

Confirmar las colonias aisladas por el test de hemólisis

- **Confirmación por el test de hemólisis en agar sangre de oveja**

Sembrar por picadura o por punción las colonias seleccionadas anteriormente a partir de las placas de MYP en la superficie de agar sangre de oveja de modo de obtener colonias aisladas que permitan una buena interpretación de la reacción de hemólisis.

Incubar a 30°C durante 24 h y leer la reacción de hemólisis.

Cada colonia rodeada de una zona clara se considera hemólisis.

13.2 Método de cálculo después de la confirmación

Tras la confirmación se calcula el número de colonias de cada placa (a) que cumplan con los criterios de la confirmación, utilizando la ecuación (1):

$$a = \frac{b}{A} \times C$$

Dónde:

b: Es el número de colonias que cumplen con los criterios de confirmación dentro de las colonias sospechosas

A: Es el número total de colonias que se someten a confirmación.

C: es el número total de colonias sospechosas contadas en cada placa

El resultado calculado se aproxima al número entero más próximo. Cuando se realiza esta operación, si la primera cifra decimal es inferior a 5, no se modifica la cifra anterior; si la primera cifra decimal es igual o superior a 5, la cifra anterior se incrementa en una unidad

El número de microorganismos N presentes en la muestra de análisis se calcula reemplazando ΣC por Σa en la ecuación general

$$N = \frac{\Sigma c}{V \times 1,1 \times d} \quad \text{quedando} \quad N = \frac{\Sigma a}{V \times 1,1 \times d}$$

Dónde:

V: es el volumen de inóculo utilizado en cada placa, en mililitros

d: es la dilución correspondiente a la primera dilución elegida

(d = 1 cuando se utiliza el producto líquido sin diluir)

El resultado calculado se redondea a dos cifras significativas. Cuando se realiza esta operación, si la tercera cifra es inferior a 5, no se modifica la cifra anterior; si la

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	9 de 15

tercera cifra es igual o superior a 5, la cifra anterior se incrementa en una unidad. Preferiblemente el resultado se expresa como un número entre 1.0 y 9.9 multiplicado por la potencia de 10 adecuada, o como un número entero con dos cifras significativas.

El resultado se expresa como número de microorganismos N por mililitro (para productos líquidos) o por gramo (para el resto de productos).

EJEMPLO: El recuento ha proporcionado los siguientes resultados: para la primera dilución escogida (10^{-3}): 66 colonias, para la segunda dilución escogida (10^{-4}): 4 colonias Realizando el análisis de las colonias escogidas:

de las 66 colonias, se analizaron 8, de las que 6 cumplieron los criterios, por consiguiente, $a = 50$

de las 4 colonias, las 4 cumplieron los criterios; por consiguiente, $a = 4$

$$N = \frac{\sum a}{V \times 1,1 \times d} = \frac{50 + 4}{1 \times 1,1 \times 10^{-3}} = \frac{54}{1,1 \times 10^{-3}} = 49090$$

Redondeando el resultado el número de microorganismos es de 49000 o $4,9 \times 10^4$ por mililitro o por gramo de producto.

NOTA: en caso de sembrar 0.1 ml $V = 0.1$ ml

El reporte se informaría: 49000 Ufc presuntivas de *Bacillus cereus* /ml o gr

Cajas sin crecimiento en ninguna dilución siembra en superficie se informa < 100 ufc/g ó ml

14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS

Los resultados se emiten en la plantilla que contiene información general del punto de toma, información de la muestra recibida y los análisis realizados. Se informará el resultado del análisis en el formato de datos primarios y formato de resultados de alimentos.

15. EXAMENES COMPLEMENTARIOS

La norma ISO 7932:2004 no requiere exámenes complementarios sin embargo en este manual mencionamos que la identificación de *Bacillus cereus* se puede realizar mediante la confirmación bioquímica de las colonias sospechosas mediante batería o API 50 para complementar la identificación.

- ✓ Sembrar las colonias aisladas y purificadas en placas de agar TSAYE.
- ✓ Incubar las placas inoculadas a $37 \text{ °C} \pm 1$ a 24 horas ± 3 horas.
- ✓ Proceder a su identificación. Utilizando cepas puras para la confirmación bioquímica para la identificación de *Bacillus cereus*.

Identificación de Batería Bioquímica comercial API 50 CH para Bacillus, realizar montaje como lo describe la casa comercial.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	10 de 15

16. OTRAS CONFRIMACIONES

- ✓ Inocular con asa los tubos de los caldos glucosa, xilosa, arabinosa, el caldo nitrato y el caldo glucosa tamponado.
- ✓ Sembrar con estría el Agar leche, Agar almidón y Agar gelatina.
- ✓ Incubar a 35°C ± 2°C durante 48 horas.
- ✓ Pasado este tiempo, revelar las pruebas bioquímicas.

16.1 Reducción de Nitratos

Añadir a cada uno de los tubos, unos miligramos del reactivo de Griess y observar el color que presenta: el color rojo representa una prueba positiva de reducción de nitratos. Si no hay cambio de color debe efectuarse la prueba con polvo de zinc.

A cada uno de los tubos negativos de la prueba de Griess; agregar una pequeña cantidad de polvo de zinc, agitar.

Color rojo: No reducción de nitratos

Color del reactivo: Reducción de nitratos.

16.2 Reducción de Nitratos

Comprobar la presencia de acetilmetilcarbinol en el caldo glucosa tamponado, añadiendo 0.6 ml de la solución de alfa naftol al 5% y 0.2 ml de una solución de hidróxido de potasio al 40% agitar suavemente. La producción de un color definido rosa a rojo indica una reacción positiva.

16.3 Fermentación de carbohidratos (glucosa, xilosa y arabinosa)

Observar el cambio de color, según el indicador de pH utilizado.

Rojo de Fenol: vira de amarillo a rosado cuando la reacción es positiva.

Andrade: vira de rosado a amarillo cuando la reacción es positiva.

16.4 Hidrólisis de la Caseína

La aparición de una zona clara alrededor de la estría realizada en Agar leche indica hidrólisis de la caseína.

Verter sobre la superficie de la placa de Agar gelatina, cloruro de mercurio al 15% y eliminarlo después de cinco minutos, lavar con agua corriente; la reacción es positiva cuando una zona clara rodea la estría.

16.5 Hidrólisis del Almidón

Cubrir la superficie de la placa de Agar almidón con solución de Lugol. La aparición de una zona clara alrededor de la estría indica la hidrólisis del almidón.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	11 de 15

16.6 Batería bioquímica del *Bacillus cereus*

Fermentación del Manitol	-	Fermentación de Xilosa	-
Presencia de Lecitinasa	+	Hidrólisis de la Gelatina	+
Fermentación de la Glucosa	gas) + (sin	Hidrólisis de la Caseína	+
Reducción de Nitrato	+	Hidrólisis del Almidón	+
Fermentación de Xilosa	-	Acetil-metil-carbinol	+

17. CONTROL DE CAMBIOS

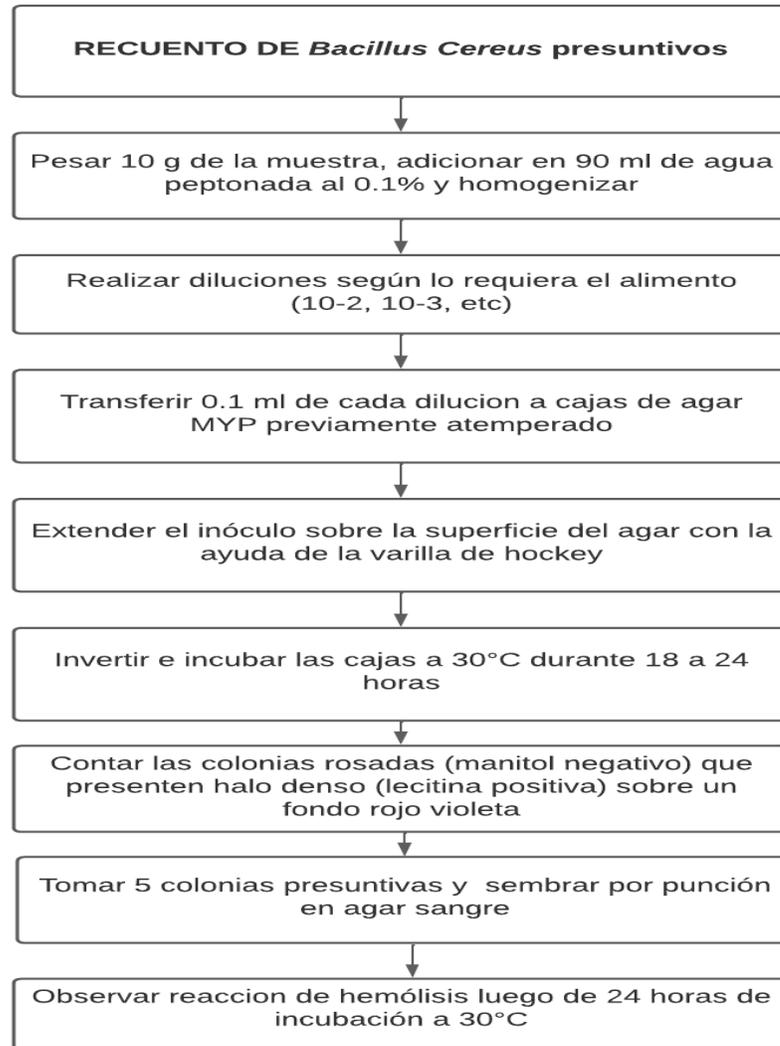
CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	08/11/2023	Emisión inicial del documento	Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud	Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	12 de 15

18. ANEXOS

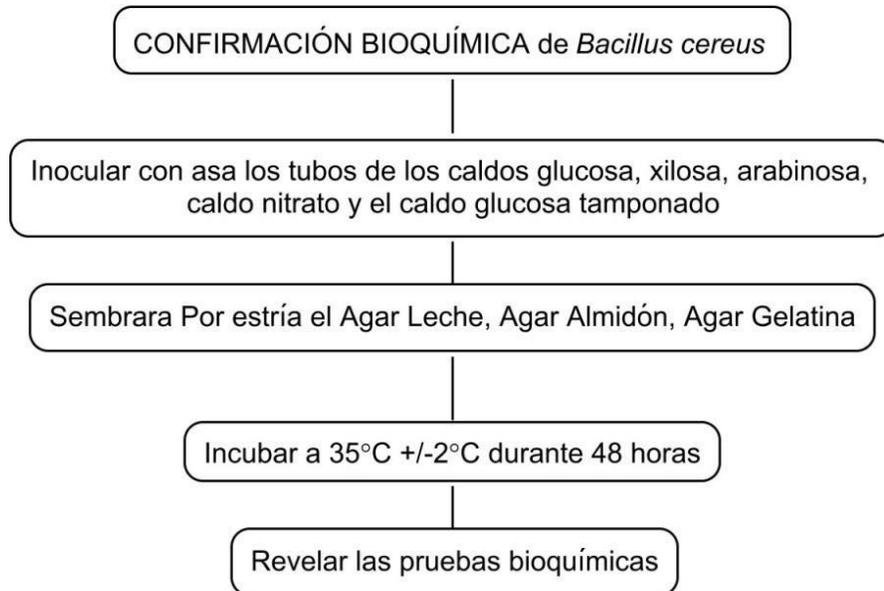
ANEXO 1



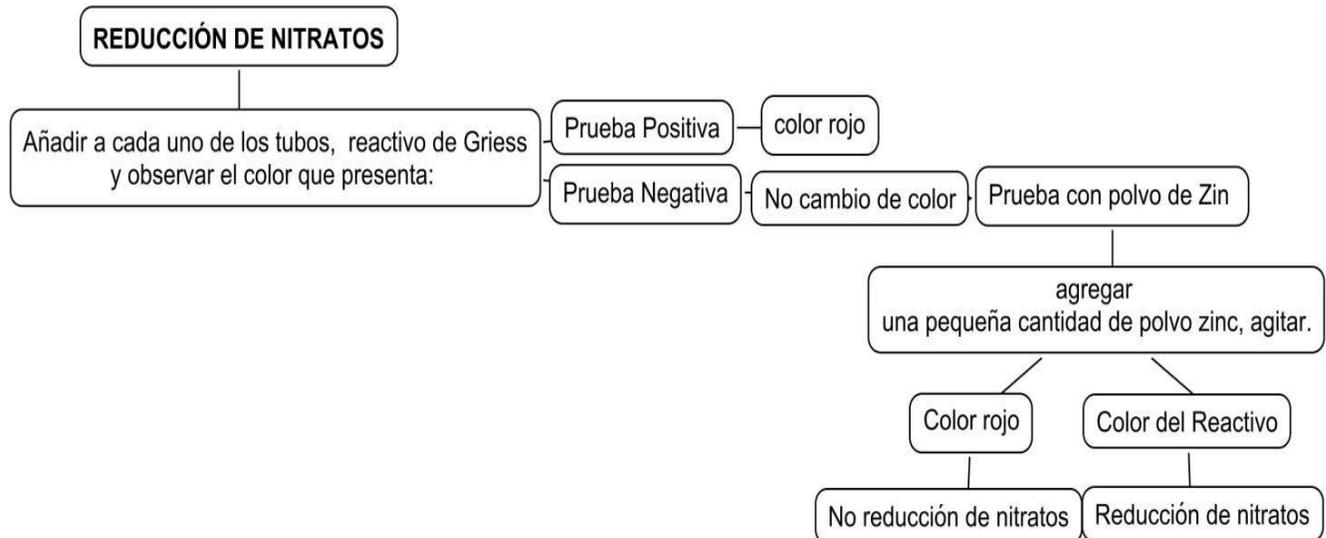
Version	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	13 de 15

ANEXO 2



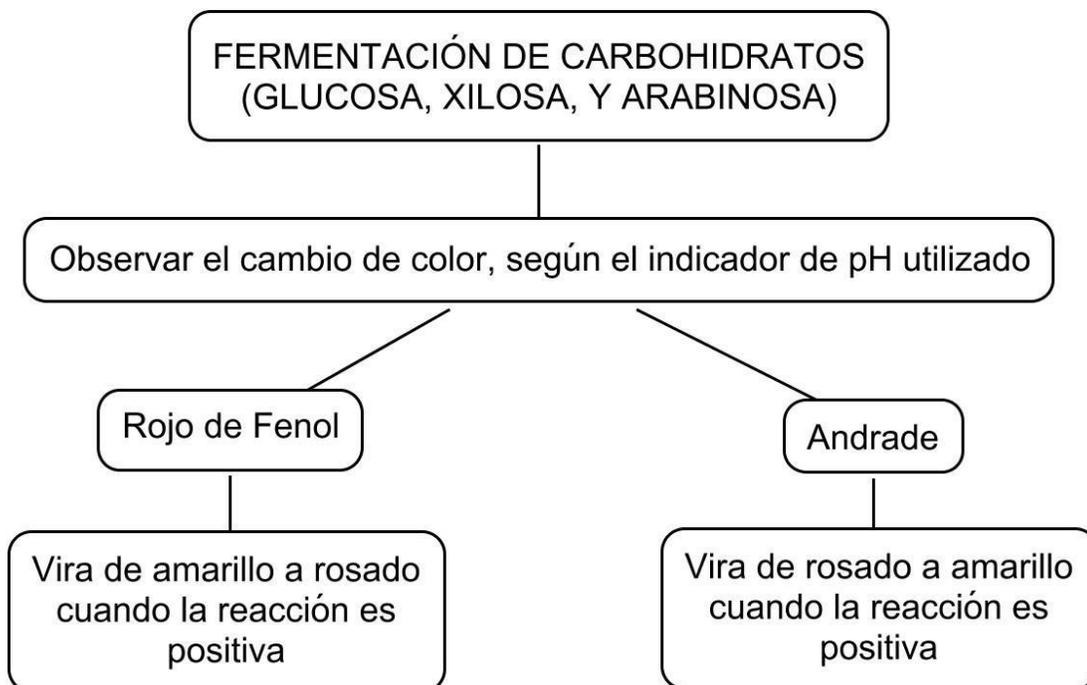
ANEXO 3



Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-94
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	14 de 15

ANEXO 4



ANEXO 5

AGAR	FORMULA	g/L	PREPARACIÓN
AGAR SELECTIVO PARA CEREUS Según MOSSEL	Extracto de carne Peptona de carne D (-) Manita Cloruro de sodio Rojo de Fenol Agar-agar	1.0 10.0 10.0 5.0 0.025 12.0	- Añadir los componentes a un litro de agua destilada mezclar bien y calentar hasta ebullición para disolverlos completamente. Enfriar hasta 50-60 °C - Repartir volúmenes de 90 ml y esterilizar a 121 durante 15 minutos. - Enfriar hasta 45 °C y añadir 10ml de solución de yema de huevo al 20 % y 1 ml de solución acuosa al 01 % de sulfato de polimixina B esterilizada por filtración. - Servir en cajas de Petri estériles 15 ml demedio, y secarlas antes de su uso.
AGAR ALMIDON	Extracto de carne Peptona Almidón soluble Agar	3.0 5.0 2.0 15.0	- Añadir los ingredientes excepto el almidón a un litro de agua destilada y calentar hasta la ebullición. Añadir en este momento y poco a poco el almidón,

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>BACILLUS CEREUS</i> PRESUNTIVOS SEGÚN ISO 7932:2004 LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA		CÓDIGO	MI-GS-MA-94
			VERSIÓN	0
			FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
			PÁGINA	15 de 15
			agitando vigorosamente. - Hervir durante 3-4 minutos hasta que la disolución sea completa, enfriar hasta 50a 60 °C y ajustar la reacción de tal modo que el pH después de la esterilización sea de 7.2 ±0.1. - Distribuir en la forma convenida y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 10 minutos. Enfriar a ± 50°C y repartir en cajas de Petri.	
AGAR GELATINA	Extracto de levadura en polvo Triton Gelatina Agar	3.0 5.0 4.0 15.0	Después de la disolución de los ingredientes excepto en un litro de aguadestilada, llevar el pH a 7.0 ± 0.1 esterilizar 20 minutos a 121 °C. Enfriar a ± 50°C y repartir en cajas de Petri.	
AGAR LECHE	Extracto de levadura Peptona de carne Leche en polvo Agar	3.0 5.0 1.0 12.0		
CALDO CARBOHIDRAT OROJO DE FENOL (Glucosa, xilosa, Arabinosa)	Peptona o tripsina Cloruro sódico Rojo de fenol Carbohidrato	10.0 5.0 0.025 5.0	- Disolver los componentes excepto el carbohidrato en 900 ml de agua, ajustar la reacción de tal forma que el pH después de la esterilización sea de 7.0 ±0.1 - Distribuir volúmenes de 4.5 ml en tubos de cultivo que contengan tubos de fermentación de Durham invertidos y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos. - Enfriar a temperatura ambiente y añadir a cada tubo 0.5 ml de una solución acuosa del correspondiente carbohidrato (Glucosa, xilosa, Arabinosa) al 5% esterilizada por filtración (pH 7.0). Cuando no sea necesaria la producción de gas puede omitirse los tubos de fermentación.	
CALDO NITRATO	Cloruro de sodio Peptona de carne Nitrato potásico	6.4 8.6 1.5	Disolver 16.5 g en un litro de agua, distribuir 5 ml en tubos de ensayo y Esterilizar en autoclave.	

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas