

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A	COSMETIKIT®	DRY PLATES®	MUGPLUS
CRIOTECA®	CHROMOSALM	DESINFECTEST®	CCCNT
PLAQUIS®	KITPRO-PLUS	CROMOKIT®	MBS
M-IDENT®	SEILAGUA®	SALMOQUICK	AIRESANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		



M-IDENT®-BACILLUS

Kit diseñado para la identificación de especies de *Bacillus* a partir de colonias

INTRODUCCIÓN:

La identificación del género *Bacillus* es necesaria en numerosas ocasiones, sobre todo por parte de:

*Laboratorios Farmacéuticos, donde es frecuente encontrar sus especies en el aire, y debe caracterizarse toda colonia aislada, en cumplimiento de los protocolos farmacéuticos.

*La industria alimentaria, donde además de numerosas especies alterativas (en conservas, sobre todo, *B.stearothermophilus* acidifican sin producir gas, *B.subtilis*, *B.pumilus*, *B.licheniformis* acidifican con ablandamiento, *B.circulans* genera gas nitrógeno, *B.polimyxa* y *B.macerans* abomban con otros gases, *Alicyclobacillus acidocaldarius* como típico acidotermófilo...) se han descrito especies generadoras de toxiinfecciones alimentarias (*B.cereus* en arroz, galletas, pizzas..., *B.subtilis* / *B.brevis* en empanadillas, carne..., *B.licheniformis* en sopas, patés, embutidos, estofados, postres...), *B.coagulans* (*thermoacidurans*) en zumos...

*Los laboratorios clínicos, al existir cepas patógenas (*B.anthraxis* del antrax, *B.circulans*, *B.macerans*, *B.sphaericus*...).

*En la guerra biológica contra insectos (*B.thuringiensis* contra la procesionaria del pino).

Conscientes de la inexistencia de kits de identificación de especies de *Bacillus* hasta la fecha, así como de bases de datos, la Universidad de Salamanca ha desarrollado un programa informático en PC que, combinado con MICROKIT-IDENT-BACILLUS, permite la identificación específica de las 34 especies de la sistemática actual. Cuando el manual de Bergey se

modifique, se realizará una revisión para incluir las nuevas especies que sean desgajadas de las actuales.

El kit contiene las 20 pruebas bioquímicas necesarias en tubos individuales. Es un kit no restringido, a diferencia de las galerías comerciales liofilizadas, de modo que al basarse en la bibliografía del investigador que definió cada especie, no da lugar a falsas identificaciones.

MODO DE EMPLEO:

Aislar la bacteria en el medio apropiado, por ejemplo DTA (tubos TPL092). Incubar 12-72 horas a 30 ó 55 °C, según se trate de especies mesófilas o termófilas. Realizar una dilución en agua estéril (FPL111) y agitar hasta obtener un McFarland 0.5-1 (KMT555). Añadir a cada tubo 0.5µl e incubar a 30 ó 55 °C de 3-14 días.

Pruebas: **Controles positivos:** deben estar turbios si la reacción es positiva. **Control positivo A**, para comprobar que el microorganismo crece a la Tª elegida; **Control positivo B**, para comprobar que el microorganismo crece en el medio de los azúres, por lo que si no crece aquí no debe interpretarse como negativa la ausencia de viraje en las producciones de ácidos. **Producción de ácido a partir de azúcares (Xilosa, Arabinosa, Mannitol y Glucosa):** positivo amarillo, negativo verde o azul. **Crecimiento a distintas concentraciones de ClNa (2%,5%,7%):** positivo turbio; **Crecimiento a distintos pH (5.7 y 6.8):** positivo turbio; **Crecimiento a 50°C:** positivo turbio; **Medio con Citrato y Medio con Propionato:** sembrar en zig-zag, positivo azul, negativo amarillo; **Hidrólisis de Caseína:** sembrar en estria recta en el medio del pico, positivo halo transparente, negativo ausencia de halo. **Fenilalanina Desaminasa:** sembrar en zig-zag y revelar a las 48h con Cloruro Férrico (SGC001), positivo azul verdoso, negativo amarillo dorado; **Nitratos:** revelar a las 48h con los reactivos del test de Nitratos (SMN001), positivo rojo, negativo incoloro; la ausencia de color rojo antes y después de añadir polvo de Zinc (SRO001), también es prueba positiva; **Voges Proskauer (test de acetoína),** antes de revelar con los reactivos VP (SRH083) medir el pH con pHmetro, positivo rosa, negativo incoloro; **Crecimiento anaerobio:** positivo crecen hasta el fondo, negativo crecen sólo en superficie. **Catalasa:** añadir reactivo catalasa (KMT299) a las 48h, positivo burbujas, negativo ausencia de burbujas.). Ordenar los datos y utilizar el programa del diskette para la identificación. Comenzar teniendo en cuenta sólo las pruebas positivas, que siempre son más vinculantes que las negativas. Sólo si no llegamos a nada claro, introducir las negativas confirmadas como negativas tras 2 semanas de incubación. Se admite hasta un 20% de no coincidencias, al no tratarse de las cepas tipo con las que se definieron el 100% de las características conocidas de la especie.

ESPECIES DE BACILLUS IDENTIFICABLES CON EL KIT:

<i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i>	<i>Bacillus lentus</i>
<i>Bacillus acidophilus</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Bacillus alvei</i>	<i>Bacillus macerans</i>
<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus macquariensis</i>
<i>Bacillus azotoformans</i>	<i>Bacillus marinus</i>
<i>Bacillus badius</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
<i>Bacillus brevis</i>	<i>Bacillus mycoides</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus pantothenicus</i>
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Bacillus pasteurii</i>
<i>Bacillus coagulans (thermoacidurans)</i>	<i>Bacillus polymyxa</i>
<i>Bacillus fastidiosus</i>	<i>Bacillus popilliae</i>
<i>Bacillus firmus</i>	<i>Bacillus pumilus</i>
<i>Bacillus globisporus</i>	<i>Bacillus schlegelii</i>
<i>Bacillus insolitus</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>
<i>Bacillus larvae</i>	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
<i>Bacillus lasterosporus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacillus lentimorbus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>

¡Si no encuentra el nombre de la especie que busca, verifique que no se trata de un antiguo sinónimo!. Ha habido una gran remodelación del género en la última edición de Bergey's.

Referencia: **KUS700**, 20 kits de 20 pruebas bioquímicas cada uno, para 20 identificaciones de las 34 especies de *Bacillus*. El diskette con la base de datos y el programa de identificación, o la tabla de identificación, se regalan sólo al reclamarlos con el primer pedido, a los Laboratorios que lo soliciten.

ADEMÁS SON NECESARIOS LOS SIGUIENTES REACTIVOS, que puede suministrarle MICROKIT: Vogues- Proskauer (1+2)(SRH083), Nitratos (A+B) (SMN001), Zinc polvo (SRO001) para Nitratos, Catalasa (KMT299) y Cloruro Férrico al 4% (SGC001) y el medio de aislamiento DTA-Polimixina, en tubos preparados (TPL092) o en polvo (DMT183). El kit tampoco incluye:

- Cepas de reserva (LENTÍCULAS WDCM ISO 11133-2), o de trabajo, cuantitativas para validar los reactivos una vez llegados a fábrica o tras almacenamientos prolongados o inadecuados.
- Participación en servicios intercomparativos como SEILALIMENTOS para validar los procedimientos y los operarios

El usuario es el único responsable de la destrucción de los microorganismos generados en el interior del kit durante su uso, de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Sumerja en lejía o alcohol, o mejor autoclávalos, antes de desecharlos a la basura. Mantener fuera del alcance de los niños. No ingerir.

Diseñado y patentado por la Universidad de Salamanca, y fabricado en exclusiva en la UE por MICROKIT, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, desde Junio de 1999, Revisado en Mayo-2020