

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	AIREANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		

MONOGRAFÍA *Bacillus cereus* y otros *Bacillus spp.* de interés

1-El microorganismo y su interrelación con el ser humano

El género **Bacillus** contiene 266 especies de bacilos Gram positivos, esporulados, que a diferencia de los clostridios, no son anaerobios estrictos (pueden ser aerobios estrictos o bien facultativos); también a diferencia de los Clostridium, sus esporas no deforman la célula. El género *Bacillus* ha sido recientemente revisado en una nueva edición del manual Bergey's de sistemática en bacteriología, diferenciando varios nuevos géneros y numerosas nuevas especies. Sin embargo, a medida que se definen mejor día a día por secuenciación genética, se descubren aún más numerosas nuevas especies.



La gran perjudicada por estos microorganismos es 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 que genera mal olor en alimentos ácidos (guayacol). *B.coagulans (thermoacidurans)* en zumos, tomates y otros productos de acidez incluso 4,2. *Bacillus sporthermodurans* como especie alterativa típicamente resistente al proceso UHT gracias a sus esporas resistentes al calor (HRS)... También 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...

La **industria farmacéutica** queda también muy afectada porque los pocos microorganismos del aire y superficies que son capaces de resistir en sus instalaciones, pertenecen también a menudo al género *Bacillus*.

Algunas cepas **ayudan al ser humano**, por ejemplo *B. thuringiensis* en la guerra biológica contra la procesionaria del pino. *B.subtilis* en investigaciones que han permitido grandes avances en el conocimiento de los procarionas. *B.stearothermophilus* para la elaboración de kits de control biológico de autoclavado correcto o de control de la presencia de residuos de antibióticos en leche y otros alimentos. *B.megaterium* es el ejemplo de células procarionas enormes en la enseñanza de la microbiología. *Bacillus coagulans (thermoacidurans)* es un

probiótico de enorme potencial, porque produce ácido láctico pero a diferencia de los Lactobacilos, además, produce esporas resistentes que atraviesan el tracto intestinal; se utiliza también para problemas digestivos en general, para el síndrome del intestino irritable (SII), para las enfermedades inflamatorias intestinales (EII, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), para la colitis por *Clostridium difficile*, contra el crecimiento excesivo de bacterias "malas" en el síndrome de intestino corto y para la infección por *Helicobacter pylori* que produce úlceras; se emplea también para prevenir las infecciones respiratorias y para reforzar el sistema inmunológico.

Otras cepas en cambio son **patógenas**: *B.anthraxis* del ántrax (carbunco), *B.circulans*, *B.macerans*, *B.sphaericus*...

Al ser un género tan prolífico, pocos **medios de cultivo** sirven para diferenciarlo de otros grupos de microorganismos (ej: DTA con polimixina).

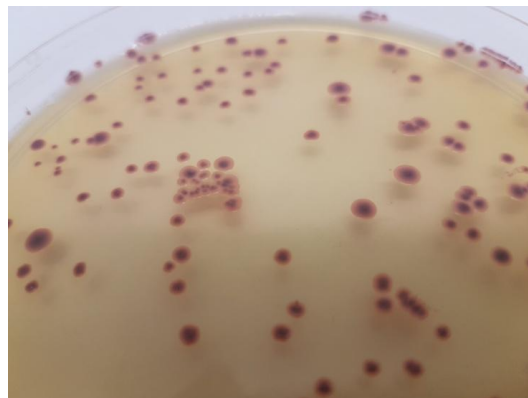
Hay un clado, que contiene *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* y *B. weihenstephanensis*, que bajo las normas actuales de clasificación, debería considerarse una misma especie, pero por razones fenotípicas, se mantiene dividido en ellas.

Trataremos en esta monografía de las dos especies de Bacillus que más afectan a la industria, uno como patógeno (*B.cereus*) y otro como alterativo (*B.sporothermodurans*):

Bacillus cereus hidroliza la lecitina de la yema de huevo y no fermenta el manitol, su temperatura óptima es de 30 a 37 °C, su temperatura de crecimiento varía entre 5 y 55 °C y su temperatura de germinación es de 5 a 8 °C; su pH óptimo es de 4,5 a 9,3, y su concentración de sal, de hasta un 7,5 %. Su crecimiento puede ser extremadamente rápido (se puede duplicar en 20 minutos a 30°C) y verse en las placas desde sólo 6 horas tras la siembra. Produce dos tipos de toxiinfecciones alimentarias: la forma diarreica (produce diarrea desde 8-16 horas tras la ingestión del alimento contaminado, típicamente verduras, sopas y embutidos); y la forma emética (produce vómitos desde 1-5 horas tras la ingestión), que es termoestable, por lo que puede causar toxiinfección en alimentos ya cocinados (ej: pizza, arroz recalentado), igual que sucede con *St.aureus*.



Bacillus sporothermodurans es otra especie de gran interés de este género Bacillus, porque es capaz de resistir incluso procesos de ultrapasteurización (UHT) y estropear después los productos así tratados (tetrabiks, postres...). Junto con otras especies similares, se denomina HRS (siglas en inglés de esporas resistentes al calor).



2-Los tipos de productos donde la legislación exige su búsqueda o recuento, así como otros tipos de productos donde a nuestro criterio, sería recomendable analizarlos

-*Bacillus cereus* debe buscarse (según legislación española y europea, actualizada en 2020) en los siguientes alimentos: caldos, consomés, sopas y cremas que lleven como ingredientes productos vegetales desecados (umbral 10^2 ufc/g y $< 10^3$ ufc/g), cereales en copos o expandidos ($< 10^1$ ufc/g), alimentos para bebés (umbral 50 ufc/g y < 500 ufc/g), especias / hierbas (umbral 10^3 ufc/g y $< 10^4$ ufc/g), galletas simples, rellenas o cubiertas (ausencia/g), derivados de levadura de *S.cerevisiae* (<100 ufc/g), tomate frito (<10 ufc/g), té y derivados ($<10^3$ ufc/g).



-En países tropicales se analiza en prácticamente todos los alimentos, ya que en zonas cálidas y húmedas su capacidad de proliferación (como la de casi todos los microorganismos, sean analizados o no en climas templados) aumenta exponencialmente.

-Del mismo modo que *Listeria*, buscar *B.cereus* sólo en el alimento, olvidándose de las instalaciones, no garantiza una correcta prevención, dado que también se acumula en el ambiente de la fábrica, por lo que puede crear problemas recurrentes. Debería buscarse en aires y superficies de las fábricas de los alimentos antes mencionados.

-La búsqueda de *Bacillus sporothermodurans* no es obligada, ya que es un alterativo de riesgo biológico 1 (inocuo), de modo que las empresas que la buscan, lo hacen para prevenir el deterioro de su imagen corporativa, por provocar alimentos con aspecto desagradable.



3-Los métodos oficiales para su detección/recuento

Se aplica la Norma ISO 7932 de *B.cereus* y/o la posterior ISO 21871 de “presuntos” *B.cereus*, donde el caldo de cultivo es el TSB-polimixina y el Agar es el Mossel (también llamado PREP y MYP) con rojo fenol, medio de color salmón, al que se añade polimixina B; o bien el PEMBA, con azul de bromotimol, al que también se añade polimixina. Las colonias presuntivas en el agar con rojo fenol tienen aspecto de gotas de cera, rosadas-fucsia, a menudo con lisis de la yema de huevo alrededor de las colonias y a menudo con viraje del medio a fucsia. Para la confirmación presuntiva se emplea agar sangre, ya que *B.cereus* provoca hemólisis alrededor de sus colonias/estrías. Para la confirmación definitiva se usan los test Dextrosa-Polimixina, VP, Nitratos y Movilidad.

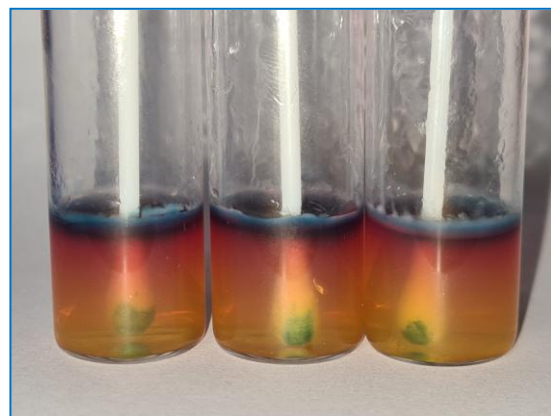
4-Los métodos alternativos que mejoran la rapidez de los resultados y la robustez del análisis

MICROKIT diseñó desde Octubre de 2012 el **Cromokit *B.cereus* Agar**, medio Mossel con un cromógeno específico que provoca un viraje azul del centro de las colonias de *B.cereus*, lo que ayuda a distinguirlas de otras cepas en un primer paso. Por lo demás, el medio es idéntico al Mossel.



Aunque no es un método alternativo y está dentro de la Norma ISO 7932, queremos destacar aquí la aportación de MICROKIT en *B.cereus*, al ofrecer un kit (**M-Ident-*B.cereus***) que incluye las 4 pruebas de confirmación de colonias sospechosas de dicha ISO (Dextrosa-Polimixina, VP, Nitratos y Movilidad).

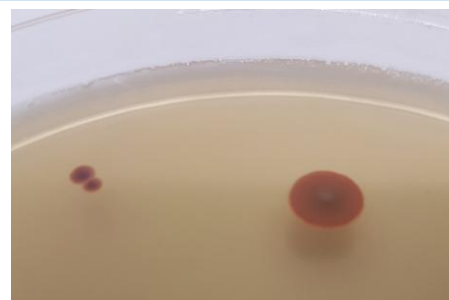
También fabricamos la patente USAL del kit de Identificación de especies de Bacillus, el **M-Ident-Bacillus**



Otra de nuestras aportaciones (tampoco es un método alternativo y sigue la Norma ISO 7932 y la ISO 18593-ANSES de superficies) es el kit **X-Swabs *B.cereus*** para la búsqueda de *B.cereus* en superficies.

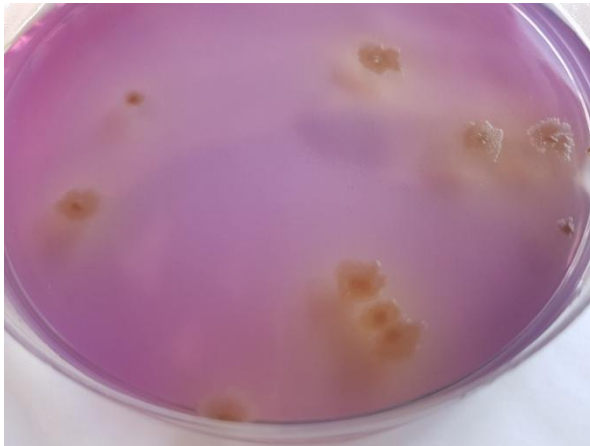
Disponemos también del medio para *B.coagulans* (*B.thermoacidurans*), el ***B.coagulans* Agar**.

Y del medio cromogénico rápido para detectar esporas resistentes al calor (entre ellas *B.sporothermodurans*): **Cromokit HRS Rapid Agar**.



Asimismo, ofrecemos los medios para los acidotermófilos más típicos: *Alicyclobacillus acidocaldarius* (**YSG Broth**) y el **BAT Agar**, así como el kit de detección del consecuente **Guayacol** (subproducto que genera mal olor en zumos, néctares, bebidas de té frío y conservas ácidas).

También el medio general para *Bacillus spp*, el **DTA (Dextrosa Triptona Purple Agar)** que se suplementa con polimixina.



Y la **polimixina estéril** ya reconstituida, con o sin yema de huevo, en frascos pinchables para adaptarse a la dosis exacta que Ud. fabrique de medio.



5-Cómo vemos el futuro en la detección de este grupo

Como ya hemos esbozado, la búsqueda *B.cereus* no se limitará a los alimentos y ampliará a las instalaciones: superficies X-Swabs-*B.cereus* y aire con muestreadores como MBS o Microflow y medios DTA o Cromokit *B.cereus* Agar.

Y cada vez más laboratorios de autocontrol realizarán activamente la búsqueda de *B.sporothermodurans* y de Guayacol.

