

COMPASS® *BACILLUS CEREUS* AGAR COMPASS® *BACILLUS PLUS* AGAR

DENOMBREMENT DE *BACILLUS CEREUS*

1 DOMAINE D'UTILISATION

COMPASS® *Bacillus cereus* Agar est une méthode utilisée pour la détection et le dénombrement des spores et des formes végétatives des espèces appartenant au groupe des *Bacillus cereus* dans les produits destinés à l'alimentation humaine et animale.

Recherche ou numération sont directement réalisées sans passer par les étapes de purification des colonies, de confirmation biochimique (tests de fermentation du glucose, de Voges-Proskauer, de réduction du nitrate et test de l'hémolyse) et/ou d'examen microscopique habituellement requises par les protocoles des méthodes normalisées (ISO 7932 et ISO 21871 notamment).

Les méthodes COMPASS® *Bacillus cereus* Agar et COMPASS® *Bacillus Plus* Agar sont certifiées NF VALIDATION pour le dénombrement des bactéries du groupe *Bacillus cereus*, sans confirmation des colonies, selon le protocole de validation ISO 16140-2 de 2016, pour tous produits d'alimentation humaine et animale.



Se référer au certificat disponible sur le site NF VALIDATION pour la date de fin de validité de la méthode. La méthode de référence utilisée pour la validation est la norme ISO 7932.

2 PRINCIPES

Le substrat chromogénique inclus dans le milieu de culture est hydrolysé par les espèces appartenant au groupe des *Bacillus cereus*; les colonies développées présentent alors une coloration caractéristique vert pâle à bleu-vert. Le système sélectif retenu permet l'inhibition de la majorité de la flore de contamination secondaire.

L'association entre le substrat chromogénique et le mélange inhibiteur de la formulation de COMPASS® *Bacillus cereus* Agar permet d'obtenir le résultat directement par comptage des colonies caractéristiques, après seulement 24 heures d'incubation, sans confirmation.

L'ajout de supplément nutritif à la formulation du COMPASS *Bacillus cereus* Agar est une option certifiée NF Validation qui permet d'optimiser la croissance des *Bacillus* du groupe *cereus* et ainsi de réduire le temps d'incubation à 21 heures.

3 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu COMPASS *Bacillus cereus* Agar :

- Système nutritif	38,7 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Système sélectif	5,0 g
- Substrat chromogénique	0,1 g
- Agar agar bactériologique	16,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2.

4 PREPARATION

GELOSE DE BASE

- Mettre en suspension 64,8 g de milieu de base déshydraté (BK189) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons, à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution:**
64,8 g/L

✓ **Sterilisation:**
15 min à 121 °C

SUPPLEMENT SELECTIF

- Reconstituer le supplément sélectif COMPASS® *Bacillus cereus* en ajoutant aseptiquement 5 mL d'eau distillée stérile par flacon Qs 500 mL (BS085) et 1 mL par flacon Qs 100 mL (BS069)

COMPASS BACILLUS CEREUS AGAR

- Dans chaque flacon de 100 mL de milieu de base ainsi préparé ou prêt à liquéfier (BM130), ajouter stérilement 1 mL de supplément sélectif reconstitué.
- Homogénéiser parfaitement.

COMPASS BACILLUS PLUS AGAR

- Dans chaque flacon de 100 mL de milieu de base ainsi préparé ou prêt à liquéfier (BM130), ajouter stérilement 1 mL de supplément sélectif reconstitué et 10 mL de supplément nutritif stérile (BS06608).

Ou

- Dans chaque flacon de 100 mL de milieu de base ainsi préparé ou prêt à liquéfier (BM130), ajouter stérilement 10 mL de supplément complet *Bacillus Plus* (BS09808)
- Homogénéiser parfaitement.

5 MODE D'EMPLOI

Respecter les bonnes pratiques de laboratoire.

Se référer à la norme NF EN ISO 7218 pour l'ensemencement, le comptage des colonies et l'expression des résultats.

Préparer la suspension mère de l'échantillon et les dilutions décimales selon les règles définies dans les normes ISO 6887 correspondantes.

Ensemencement en surface :

- A la surface du milieu pré-coulé ou du milieu complet préparé en boîtes, transférer 0,1 mL de la suspension mère et/ou des dilutions nécessaires.
- Étaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 24 heures à 27 heures pour le COMPASS *Bacillus cereus* Agar.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 21 heures à 27 heures pour le COMPASS *Bacillus Plus* Agar.

✓ **Ensemencement**
0,1 mL en surface

✓ **Incubation :**
24-27 h à 30 °C
Ou 21-27 h à 30°C

Note : Il est possible d'ensemencer par étalement 1 mL de la suspension mère réparti sur 3 boîtes de Petri Ø 90 mm ou sur une boîte Ø 140 mm .

Ensemencement en profondeur :

- Transférer 1 mL de la suspension et/ou des dilutions nécessaires par boîte de Petri stérile.
- Couler environ 15 mL de milieu complet.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 24 heures à 27 heures pour le COMPASS *Bacillus cereus* Agar.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 21 heures à 27 heures pour le COMPASS *Bacillus Plus* Agar.

✓ **Ensemencement**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
24-27 h à 30 °C
Ou 21-27 h à 30°C

6 LECTURE ET DENOMBREMENT

Procéder au comptage des colonies présentant une pigmentation vert pâle à bleu-vert caractéristique avec un diamètre supérieur à 1 mm (protocole d'ensemencement en surface) ou 0,5 mm (protocole d'ensemencement en profondeur) dans les boîtes en contenant 150 au maximum.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

Notes COMPASS *Bacillus cereus* Agar:

- A la surface de COMPASS® *Bacillus cereus* Agar, l'aspect des colonies appartenant au groupe des *Bacillus cereus* peut être variable en fonction des souches rencontrées.
- Les colonies caractéristiques présentent en profondeur un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm. En cas de forte charge bactérienne et de doute sur la taille des colonies, il est possible de confirmer l'appartenance au groupe des *Bacillus cereus* en réalisant le test de l'hémolyse tel que décrit dans la norme ISO 7932.
- Dans le cadre de l'étude NF VALIDATION, la souche de *Bacillus cytotoxicus* Ad 2163 testée ne s'est pas développée sur la gélose COMPASS *Bacillus cereus* agar.

Notes COMPASS *Bacillus Plus* Agar:

- L'ajout de jaune d'œuf permet la récupération de l'ensemble des souches du groupe des *Bacillus cereus*, y compris *Bacillus cytotoxicus*.
- L'utilisation du COMPASS *Bacillus Plus* Agar entraînera l'apparition d'un halo opaque autour des colonies de *Bacillus* du groupe *cereus* possédant l'activité phospholipase.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 30 °C (sur COMPASS *Bacillus Cereus* Agar) et après 21 heures d'incubation à 30 °C (sur COMPASS *Bacillus Plus* Agar)

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
<i>Bacillus cereus</i> WDCM 00001 ou WDCM 00218	≥ 50 % ≥ 50 %	Colonies bleu vertes Colonies bleu vertes
<i>Bacillus subtilis</i> WDCM 00003	Inhibée, score 0	-
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inhibée, score 0	-

8 CONSERVATION

Milieu deshydraté : 2-30 °C.

Suppléments sélectifs : 2-8 °C.

Milieus pré-coulés en boîtes : 2-8 °C.

Milieu de base prêt-à-liquéfier en flacons : 2-8 °C

Supplément nutritif : 2-8°C

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieus complets préparés en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

Suppléments réhydratés (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

9 PRESENTATION

Milieu COMPASS <i>Bacillus cereus</i> Agar pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :	
20 boîtes	BM12608
Milieu COMPASS <i>Bacillus Plus</i> Agar pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :	
20 boîtes	BM21308
Milieu prêt-à-liquéfier en flacons (base) :	
10 flacons de 100 mL	BM13008
Milieu déshydraté :	
500 g	BK189HA
Supplément sélectif pour COMPASS <i>Bacillus cereus</i> Agar:	
10 flacons (1 flacon q.s.p. 100 mL de milieu)	BS06908
10 flacons (1 flacon q.s.p. 500 mL de milieu)	BS08508
Supplément nutritif : Emulsion stérile de jaune d'œuf	
(10 flacons de 50 mL)	BS06608
Supplément complet pour COMPASS <i>Bacillus Plus</i>	
(10 flacons de 50 mL)	BS09808

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 6887-1. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

NF EN ISO 6887-2. Mars 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire.- Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits carnés

NF EN ISO 6887-3. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire.- Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche.

NF EN ISO 6887-4. juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire.- Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation de produits variés

NF EN ISO 6887-5. Mai 2020. Microbiologie de la chaîne alimentaire.- Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers.

NF EN ISO 7932. Juillet 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présomptifs. Technique par comptage des colonies à 30 °C.

NF EN ISO 7218. Octobre 2007. Microbiologie des Aliments. Exigences générales et recommandations. Modifié en Octobre 2013 par l'amendement A1.

NF EN ISO 16140-2. Septembre 2016. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Validation des méthodes - Partie 2 : protocole pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) par rapport à une méthode de référence - Microbiologie des aliments

11 AUTRES INFORMATIONS

COMPASS® est une marque de BOKAR DIAGNOSTICS (division de SOLABIA S.A.S.)

Code document : COMPASS BACILLUS CEREUS_FR_V13.

Date de creation : 06-2006

Date de révision : 12-2021

Motif de révision : Corrections mineures (couleur bleu-vert, photo, bibliographie)

COMPASS® *Bacillus cereus* Agar

Dénombrement des spores et formes végétatives des espèces appartenant au groupe des *Bacillus cereus*.

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 30 °C, (en surface).

Bacillus cereus

Colonie caractéristique :
Couleur vert pâle à bleu-vert
avec un diamètre supérieur à
1 mm en surface



COMPASS® *Bacillus Plus* Agar

Dénombrement des spores et formes végétatives des espèces appartenant au groupe des *Bacillus cereus*.

Lecture :

Croissance obtenue après 21 heures d'incubation à 30 °C, (en surface).

Bacillus cereus

Colonie caractéristique :
Couleur vert pâle à bleu-vert
avec un diamètre supérieur à
1 mm en surface

