

FICHE TECHNIQUE

COMPASS® BACILLUS CEREUS AGAR COMPASS® BACILLUS PLUS AGAR

DENOMBREMENT DE *BACILLUS CEREUS*

1 DOMAINES 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.

La recherche ou la 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).

La méthode **COMPASS® Bacillus cereus Agar** et **COMPASS® Bacillus Plus Agar** est certifiée 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, nommée **COMPASS® Bacillus Plus Agar**. Celle-ci 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

✓ **Stérilisation:**
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 Qsp 500 mL (BS085) et 1 mL par flacon Qsp 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.
Dans chaque flacon de 200 mL de milieu de base prêt à liquéfier (BM236), ajouter stérilement 2 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).
Dans chaque flacon de 200 mL de milieu de base prêt à liquéfier (BM236), ajouter stérilement 2 mL de supplément sélectif reconstitué et 20 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).
Dans chaque flacon de 200 mL de milieu de base prêt à liquéfier (BM236), ajouter stérilement 20 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.
- Etaler 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

Notes

- Il est possible d'ensemencer par également 1 mL de la suspension mère répartie sur 3 boîtes de Petri Ø 90 mm ou sur une boîte Ø 140 mm.
- Le dénombrement utilisant une seule boîte et une seule dilution est une option certifiée NF Validation par AFNOR Certification. Dans ce contexte, les exigences de la norme ISO 7218 concernant l'utilisation de deux dilutions successives ou de deux boîtes d'une même dilution ne peuvent pas être appliquées (voir les paragraphes « Ensemencement » et « Calculs et expression des résultats »).

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

Notes

- Dans le cadre de l'estimation de petits nombres, se référer à la norme ISO 7218.
- Le dénombrement utilisant une seule boîte et une seule dilution est une option certifiée NF Validation par AFNOR Certification. Dans ce contexte, les exigences de la norme ISO 7218 concernant l'utilisation de deux dilutions successives ou de deux boîtes d'une même dilution ne peuvent pas être appliquées (voir les paragraphes « Ensemencement » et « Calculs et expression des résultats »).

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

- A la surface de la gélose, l'aspect des colonies appartenant au groupe des *Bacillus cereus* peut être variable en fonction des souches rencontrées.
- En cas de forte charge bactérienne et de doute sur les 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.

Notes COMPASS® *Bacillus cereus* Agar:

- 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.
- Durant la validation, des colonies bleues, de taille inférieure à la spécification, ont été identifiées comme *Leuconostoc* spp principalement.

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 culturelle 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 %
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	Inhibée, score 0
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Suppléments sélectifs : 2-8 °C.

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

Milieux 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.

Milieux 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® *Bacillus cereus* Agar pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

20 boîtes.....BM12608

Milieu COMPASS® *Bacillus Plus* Agar pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

20 boîtes.....BM21308

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons (base) :

10 flacons de 100 mLBM13008

10 flacons de 200 mLBM23608

Milieu déshydraté :

500 g.....BK189HA

Supplément sélectif pour COMPASS® *Bacillus cereus* 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® *Bacillus Plus*

(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. 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 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 7932/A1. Avril 2020. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présomptifs. Technique par comptage des colonies à 30 °C – Amendement 1 : ajout de tests optionnels.

NF EN ISO 7218. Juillet 2024. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Exigences générales et recommandations pour les examens microbiologiques.

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 BIOKAR DIAGNOSTICS (division de SOLABIA S.A.S.)

Code document : COMPASS BACILLUS CEREUS_v16 (fr).

Date de création : 06-2006

Date de révision : 05-2025

Motif de révision : Dénombrement optionnel sur une boîte, une dilution.

ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

COMPASS® *Bacillus cereus* Agar

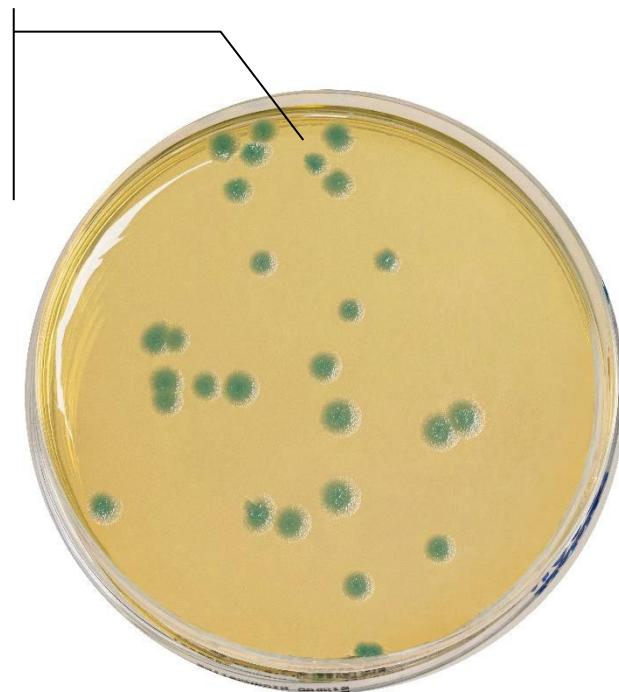
Dénombrement des spores et formes végétatives des espèces appartenant au groupe des *Bacillus cereus*.

Lecture :

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

Bacillus cereus

Colonne 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

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

