

## TÀI LIỆU KỸ THUẬT

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

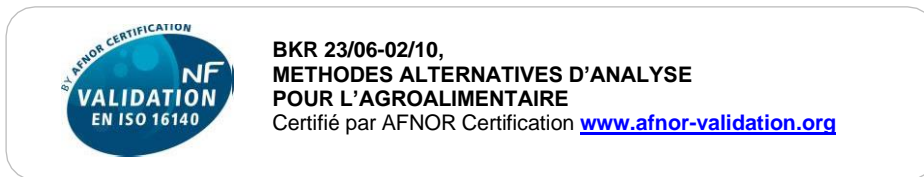
## ĐỊNH LƯỢNG *BACILLUS CEREUS*

### 1 MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

COMPASS® *Bacillus cereus* Agar là một phương pháp được sử dụng để phát hiện và định lượng *Bacillus cereus* giả định trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

Việc phát hiện và định lượng có thể được thực hiện trực tiếp trên môi trường này mà không cần các bước làm thuần, thử nghiệm sinh hóa (lên men glucose, Voges-Proskauer, khử nitrat và thử nghiệm tan huyết) hoặc kiểm tra bằng kính hiển vi theo các phương pháp tiêu chuẩn hóa (đặc biệt là ISO 7923 và ISO 21871).

Phương pháp COMPASS® *Bacillus cereus* Agar và COMPASS® *Bacillus Plus* Agar được chứng nhận NF VALIDATION để định lượng vi khuẩn nhóm *Bacillus cereus* mà không cần kháng định, theo quy trình xác nhận giá trị sử dụng phương pháp ISO 16140-2 2016, cho tất cả các sản phẩm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.



Tham khảo chứng chỉ có sẵn trên trang web NF VALIDATION để biết ngày hết hạn hiệu lực của phương pháp. Phương pháp tham chiếu được sử dụng để xác nhận là tiêu chuẩn ISO 7932.

### 2 NGUYÊN TẮC

Cơ chất tạo màu trong môi trường nuôi cấy được thủy phân bởi các loài thuộc nhóm *Bacillus cereus*; các khuẩn lạc phát triển có màu xanh lục nhạt đến xanh lục đặc trưng. Hệ thống chọn lọc được sử dụng cho phép ức chế phần lớn các hệ thực vật thứ cấp tạp nhiễm.

Sự liên kết giữa chất nền tạo màu và các tác nhân chọn lọc trong công thức của COMPASS® *Bacillus cereus* Agar cho phép đếm trực tiếp các khuẩn lạc đặc trưng chỉ sau 24 giờ ủ mà không cần kháng định.

Việc bổ sung chất bổ sung dinh dưỡng vào công thức COMPASS *Bacillus cereus* Agar là một lựa chọn được chứng nhận bởi NF Validation nhằm tối ưu hóa sự phát triển của *Bacillus* từ nhóm cereus và do đó giảm thời gian ủ xuống còn 21 giờ.

### 3 THÀNH PHẦN MÔI TRƯỜNG

Thành phần môi trường có thể được điều chỉnh để có hiệu suất tối ưu.

Trong 1 lit môi trường:

- Nutrient system .....	38,7 g
- Sodium chloride .....	5,0 g
- Selective system.....	5,0 g
- Chromogenic substrate.....	0,1 g
- Bacteriological agar .....	16,0 g

pH of the ready-to-use medium at 25 °C: 7,0 ± 0,2.

## 4 CHUẨN BỊ

### CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG CƠ BẢN

- Hòa tan 64,8 g môi trường bột khô (BK189) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Đun sôi từ từ, khuấy liên tục cho đến khi tan hoàn toàn.
- Phân phối 100ml vào mỗi chai nhỏ.
- Khử trùng tại 121 °C trong 15 minutes.
- Làm nguội và duy trì ở 44-47 °C.

✓ **Hoàn nguyên:** 64,8 g/L  
✓ **Khử trùng:** 15 min at 121 °C

### CHUẨN BỊ CHẤT BỔ SUNG CHỌN LỌC

- Hoàn nguyên chất Bổ sung chọn lọc COMPASS® *Bacillus cereus* bằng cách thêm 5 mL nước cất vô trùng vào mỗi lọ BS085 hoặc 1 mL cho mỗi lọ BS069.

### CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG COMPASS *BACILLUS CEREUS* AGAR

- Trong mỗi lọ 100 mL môi trường cơ bản đã chuẩn bị như trên hoặc môi trường cơ bản đã pha sẵn (code: BM130), thao tác vô trùng, thêm 1 mL chất bổ sung chọn lọc đã hoàn nguyên.
- Trộn đều.

### CHUẨN BỊ COMPASS *BACILLUS PLUS* AGAR

- Ôn nhiệt 100 mL môi trường cơ bản ở 44-47 °C, thêm 1 mL chất bổ sung chọn lọc và 10 mL chất bổ sung dinh dưỡng (BS06608).

#### **HOẶC**

- Đối với mỗi lọ 100 mL môi trường cơ bản đã chuẩn bị hoặc môi trường cơ bản đã pha sẵn (BM130), thêm vào 10 mL chất bổ sung hoàn chỉnh *Bacillus Plus* (BS09808).
- Trộn đều.

## 5 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Luôn tuân thủ Hệ thống an toàn chất lượng phòng thí nghiệm GLP.

Tham khảo các khuyến nghị trong NF EN ISO 7218 về cấy, đếm và đọc kết quả.

Chuẩn bị mẫu huyền phù gốc của mẫu và các dung dịch pha loãng thập phân theo hướng dẫn được xác định trong tiêu chuẩn ISO 6887.

#### **Phương pháp trải trang:**

- Trên bề mặt của môi trường đã đổ sẵn (BM126) hoặc môi trường hoàn chỉnh đã chuẩn bị trong các đĩa, chuyển 0,1 mL huyền phù ban đầu và / hoặc các dung dịch pha loãng của nó vào các đĩa.
- Trải đều bằng que trải.
- Ủ tại 30 ± 1 °C trong 24 - 27 h trên COMPASS *Bacillus cereus* Agar
- Ủ tại 30 ± 1 °C trong 24 - 27 h trên COMPASS *Bacillus Plus* Agar

✓ **Cấy**  
0,1 mL on surface  
✓ **Ủ:**  
24-27 h at 30 °C  
Or 21-27 h at 30 °C  
(COMPASS *Bacillus Plus*)

**Lưu ý:** Có thể cấy bằng cách rải 1,0 mL huyền phù ban đầu được chia thành 3 trên đĩa Petri Ø 90 mm hoặc trên đĩa Petri Ø 140mm.

#### **Phương pháp đổ đĩa:**

- Chuyển 1 mL huyền phù và / hoặc các dung dịch pha loãng vào mỗi đĩa Petri vô trùng.
- Thêm 15ml môi trường hoàn chỉnh vào đĩa.
- Lắc đều và để yên cho đĩa đông lại.
- Ủ tại 30 ± 1 °C trong 24 - 27 h trên COMPASS *Bacillus cereus* Agar
- Ủ tại 30 ± 1 °C trong 24 - 27 h trên COMPASS *Bacillus Plus* Agar

✓ **Cấy**  
1 mL pour plates  
✓ **Ủ:**  
24-27 h at 30 °C  
Or 21-27 h at 30 °C  
(COMPASS *Bacillus Plus*)

## 6 KẾT QUẢ

Đếm các khuẩn lạc có sắc tố đặc trưng từ xanh lục nhạt đến xanh lục có đường kính lớn hơn 1 mm (đối với trái trứng) hoặc 0,5 mm (đối với đồ đĩa) trong các đĩa có tối đa 150 khuẩn lạc.

Xem PHỤ LỤC: HÌNH ẢNH HỖ TRỢ

### Ghi chú COMPASS *Bacillus cereus* Agar:

- Trên bề mặt của COMPASS® *Bacillus cereus* Agar, sự xuất hiện của các khuẩn lạc thuộc nhóm *Bacillus cereus* có thể thay đổi tùy thuộc vào chủng gặp phải.
- Các khuẩn lạc đặc trưng có đường kính lớn hơn hoặc bằng 0,5 mm (đối với đồ đĩa). Trong trường hợp có nhiều vi khuẩn nghi ngờ về kích thước của các khuẩn lạc, có thể xác nhận nó thuộc nhóm *Bacillus cereus* bằng cách thực hiện phép thử tan huyết như mô tả trong ISO 7932.
- Trong nghiên cứu NF VALIDATION, chủng *Bacillus cytotoxicus* Ad 2163 được thử nghiệm không phát triển trên COMPASS Thạch *Bacillus cereus* agar.

### Ghi chú COMPASS *Bacillus Plus* Agar:

- Trên bề mặt của COMPASS® *Bacillus Plus* Agar, màu của khuẩn lạc thuộc nhóm *Bacillus cereus* có thể thay đổi từ xanh lam đến xanh lục.
- Việc bổ sung lòng đỏ trứng cho phép phục hồi tất cả các chủng thuộc nhóm *Bacillus cereus*, bao gồm cả *Bacillus cytotoxicus*.
- Sử dụng COMPASS *Bacillus Plus* Agar sẽ tạo ra quầng đục xung quanh khuẩn lạc nhóm *Bacillus cereus* có hoạt tính phospholipase.

## 7 QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

### Môi trường khử nước: bột màu be, chất lỏng và đồng nhất.

Phản ứng nuôi cấy điển hình sau 24 giờ ủ ở 30 °C:

Vi sinh vật	Phát triển (Productivity Ratio : $P_R$ )	Đặc trưng
<i>Bacillus cereus</i> WDCM 00001	□ 50 %	Green colonies
<i>Bacillus cereus</i> WDCM 00218	□ 50 %	Green colonies
<i>Bacillus subtilis</i> WDCM 00003	Inhibited, score 0	-
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inhibited, score 0	-

## 8 BẢO QUẢN/ HẠN SỬ DỤNG

Môi trường bột khô: 2-30 °C.

Chất bổ sung chọn lọc: 2-8 °C.

Môi trường đồ đĩa sẵn: 2-8 °C.

Môi trường base đã pha sẵn trong chai: 2-8 °C

Chất bổ sung dinh dưỡng: 2-8 °C

Môi trường compass Plus bổ sung hoàn chỉnh: 2-8 °C

Hạn sử dụng ghi trên bao bì.

Môi trường base pha sẵn trong chai (\*): 180 days at 2-8 °C.

Môi trường hoàn chỉnh trong đĩa thạch (\*): 30 ngày tại 2-8 °C.

Chất bổ sung đã hoàn nguyên (\*): 30 ngày tại 2-8 °C.

(\*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

## 9 QUY CÁCH ĐÓNG GÓI

---

### COMPASS *Bacillus cereus* Agar, dạng đĩa đổ sẵn (Ø 90 mm):

20 plates ..... BM12608

### COMPASS *Bacillus Plus* Agar, dạng đĩa đổ sẵn (Ø 90 mm):

20 plates ..... BM21308

### Môi trường hoàn chỉnh:

10 x 100 mL ..... BM13008

### Môi trường bột khô:

500 g/ chai ..... BK189HA

### Chất bổ sung chọn lọc:

10 chai (1 chai cho 100 mL môi trường cơ bản) ..... BS06908

10 chai (1 chai cho 500 mL môi trường cơ bản) ..... BS08508

### Chất bổ sung dinh dưỡng: Sterile Egg Yolk Emulsion

10 chai x 50 mL ..... BS06608

### Chất bổ sung COMPASS *Bacillus plus* hoàn chỉnh

10 chai x 50 mL ..... BS09808

## 10 TÀI LIỆU THAM KHẢO

---

NF EN ISO 6887-1. June 2017. Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

NF EN ISO 7932. July 2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*. Colony-count technique at 30 °C.

NF EN ISO 7218. October 2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs General requirements and guidance for microbiological examinations. Modified in October 2013 by Amendment A1.

NF EN ISO 16140-2. September 2016. Microbiology of the food chain — Method validation — Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method

## 11 THÔNG TIN THÊM

---

COMPASS® là nhãn hiệu đã đăng ký của BIOKAR DIAGNOSTICS (thương hiệu của SOLABIA S.A.S.)

Mã tài liệu : COMPASS BACILLUS CEREBUS\_V12

(en) Ngày tạo : 06-2006

Ngày cập nhật : 05-2021

Lý do cập nhật : Hiệu chỉnh công thức lý thuyết, Tham khảo tiêu chuẩn ISO 7218 cho phép định lượng.

PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH MINH HỌA  
COMPASS® *Bacillus cereus* Agar

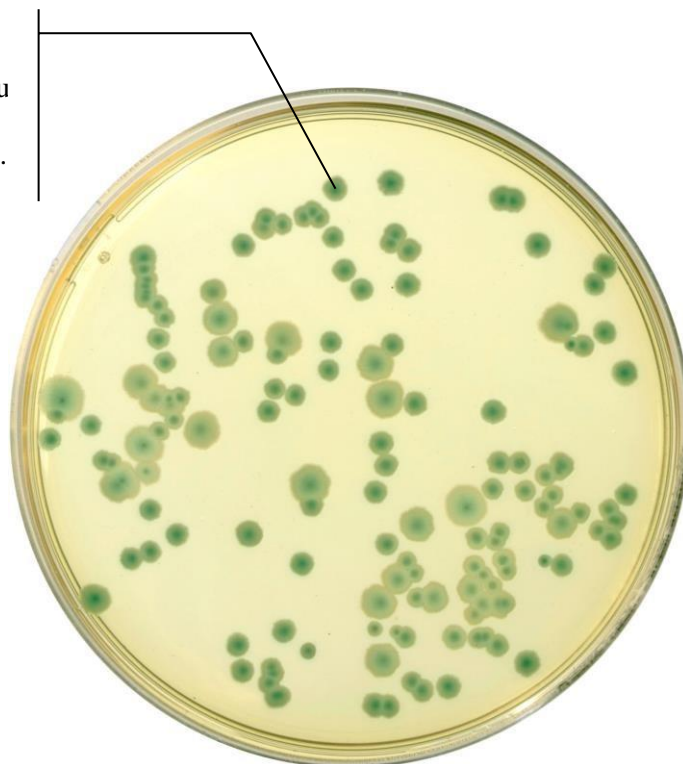
Đếm số bào tử và dạng sinh dưỡng giả định thuộc nhóm *Bacillus cereus*.

**Kết quả:**

Tăng trưởng thu được sau 24 giờ ủ ở 30 ° C (trái trang)

***Bacillus cereus***

Khuẩn lạc đặc trưng : Màu  
xanh lục với đường kính  
lớn hơn 1 mm trên bề mặt.



## PHỤ LỤC 2: HÌNH ẢNH HỖ TRỢ

### COMPASS<sup>®</sup> *Bacillus Plus* Agar

Enumeration of spores and vegetative forms of species belonging to the group *Bacillus cereus*

#### Kết quả:

Tăng trưởng thu được sau 24 giờ ủ ở 30 ° C (trái trang)

*Bacillus of the  
cereus  
group* Example

