

---

# RAPID'*Staph* Agar

## User Guide

Chromogenic medium used for the detection of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) in products intended for human or animal consumption and environmental samples

Catalog #3563960, Prepared plates, 90 mm x 20 dishes  
Catalog #3564704, Dehydrated, 500 g



**BIO-RAD**

# Table of Contents

Section 1	Introduction .....	1
Section 2	RAPID' <i>Staph</i> Principle .....	1
Section 3	Theoretical Formula .....	1
Section 4	Shelf Life and Storage .....	1
Section 5	Materials Required but Not Supplied .....	1
	Equipment.....	2
	Supplies .....	2
Section 6	Precautions, Limitations of Use, and Quality Control .....	3
Section 7	Protocol.....	3
	Preparation of Complete Medium .....	3
	Sample Preparation .....	4
	Inoculation and Plate Reading.....	4
Section 8	Confirmation of Positive Results.....	4
Section 9	Confirmation of Other Methods.....	4
Section 10	Test Performance and Validation .....	5
Section 11	References.....	5
Section 12	Revision History.....	5

## Section 1

### Introduction

Coagulase-positive staphylococci, primarily represented by *Staphylococcus aureus*, are gram-positive spherical (coccus) bacteria that are seen microscopically in pairs, short chains, or clusters. Some strains are capable of producing a highly heat-stable toxin that can cause nausea, vomiting, and diarrhea in humans within 1–7 hours of ingestion. Foods that require considerable handling during preparation and that are kept at slightly elevated temperatures after preparation are frequently involved in staphylococcal food poisoning. Contributing factors leading to food contamination include improper holding temperatures, contaminated equipment, inadequate cooking, and poor personal hygiene. Humans are the primary reservoir for food contamination, as staphylococci can be found in nasal passages, in the throat, and on the skin of healthy individuals. Staphylococci are also among the most predominant bacteria found in slaughtering and processing lines of poultry facilities, with many isolated strains possessing resistance to multiple antibiotics.

## Section 2

### RAPID'Staph Principle

RAPID'Staph is based on a Baird-Parker formula optimized for the detection and enumeration of coagulase-positive *Staphylococcus* (*S. aureus*) in 24 hr. The principle of the medium relies on the capacity of *S. aureus* to reduce tellurite (black colonies) and induce the proteolysis of egg yolk (clear halo around colonies).

## Section 3

### Theoretical Formula

Peptone	10.0 g
Yeast extract	1.0 g
Meat extract	5.0 g
Lithium chloride	5.0 g
Agar	14.0 g
L-glycine	12.0 g
Sodium pyruvate	10.0 g
Potassium tellurite	0.1 g
Egg yolk	10 ml
Sulfamethazine	0.05 g
Distilled water	qsp 1,000 ml

---

Final pH at 25°C = 7.2 ± 0.2

## Section 4

### Shelf Life and Storage

- Dehydrated agar: 15–25°C in carefully sealed package, in a dry and dark place
- Prepoured agar plates: 2–8°C in a dark place

## Section 5 Materials Required but Not Supplied

- Plate prepared from the dehydrated agar: 5 days at 2–8°C in carefully sealed package, in a dry and dark place

## Section 5 Materials Required but Not Supplied

### Equipment

- All usual laboratory equipment
- Hot plate
- Scale, sensitivity of 0.1 g
- Stirrer/homogenizer
- Thermostatically controlled incubator or incubation room, precise to  $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Water bath

### Supplies

- Confirmation
  - Pastorex *Staph* Plus (catalog #3556356, 50 tests; 3556353, 250 tests)
  - Baird-Parker + RPF (catalog #3563996, prepared plates x 20 dishes; 3578618, ready-to-use kit [90 ml x 6 bottles agar base + 6 bottles supplement]; 3564814, dehydrated, 500g; 3564618, RPF Supplement, 10 vials)
- Diluent for enumeration: Buffered Peptone Water (BPW) (catalog #3554179, 225 ml x 6 bottles; 3564684, dehydrated, 500 g; 3555790, 5 L x 2 bags; 3555795, 3 L x 4 bags); Tryptone Salt (catalog #3555754, 9 ml x 25 tubes; 3555756, 90 ml x 6 bottles; 3564544, dehydrated, 500 g; 3555796, 3 L x 4 bags)
- Media bottles: 125 ml, autoclavable
- Medium supplement: Egg yolk + potassium tellurite (catalog #3554201, 5 ml; 3554205, 25 ml)
- Sterile petri dishes (90 mm)
- Sterile pipets
- Sterile spreaders
- Sterile weigh bags

## Section 6

# Precautions, Limitations of Use, and Quality Control

### Precautions

- Respect Good Laboratory Practice (EN ISO 7218). Appropriate protection, such as gloves and lab coats, should be worn when working with potentially infectious live bacteria
- Media that have come in contact with food samples should be considered contaminated and should be disposed of in accordance with local rules and regulations
- Ensure the base medium containing potassium tellurite, sodium pyruvate and L-glycine does not exceed 47°C before adding egg yolk
- The time lapse between the end of preparation of the stock solution (or 10<sup>-1</sup> dilution for a solid product) and inoculation of the culture medium must not exceed 45 min
- Some coagulase-positive staphylococci can form colonies with a small halo or without a halo after 24 hr of incubation. An additional 24 hr incubation could be necessary to see the halo. If there is any doubt, confirmation testing should be performed on the suspect colony

### Limitations of Use

Not applicable.

### Quality Control

- Every product manufactured and marketed by Bio-Rad is subject to a quality assurance procedure at all stages, from reception of raw materials through to marketing of the finished products. Each batch of finished product undergoes quality control according to EN ISO 11133 and is marketed only if it satisfies the acceptability criteria. Documentation relative to the production and quality control of each batch is kept on file
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

## Section 7

# Protocol

### Preparation of Complete Medium

1. Always shake bottle before use.
2. Dissolve 57 g of powder in 1 L of distilled water.
3. Wait 5 min and mix again until a homogenous suspension is obtained.
4. Heat gently, agitating frequently, then boil until completely dissolved.

## Section 8 Confirmation of Positive Results

5. Dispense 90 ml of medium into a bottle, then autoclave at  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  for 15 min.
6. Cool the medium to  $44\text{--}47^\circ\text{C}$ .
7. Add 5 ml egg yolk and potassium tellurite supplement. Mix thoroughly.
8. Do not overheat the complete medium (maximum  $47^\circ\text{C}$ ).
9. Dispense in petri dishes and leave on the bench to dry.
10. One 500 g bottle of powder makes 8.7 L of medium.

## Sample Preparation

Dilute sample according to the standard method applicable to the product concerned.

## Inoculation and Plate Reading

1. Spread 0.1 ml of sample or its decimal dilutions over the surface of the dried agar. If it is necessary to estimate small numbers, spread 1 ml of sample over three 90 mm dishes ( $\sim 0.33$  ml/dish) or over one 140 mm dish (refer to EN ISO 7218 standard).
2. Incubate plate at  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  for  $24 \pm 2$  hr.
3. Presumptive coagulase-positive staphylococci form black colonies with a clear halo around the colony on RAPID'*Staph* Agar.
4. Refer to EN ISO 7218 standard for inoculation, colony counting, calculation, and expression of results.

## Section 8 Confirmation of Positive Results


Select three typical colonies for confirmation by one of the following ways:

- Using Pastorex *Staph* Plus Latex Test
- By spot culture on Baird-Parker + RPF Agar. Up to 12 colonies can be spot cultured on one plate

## Section 9 Confirmation of Other Methods

Not applicable.

## Section 10 Test Performance and Validations

Certification	Scope	Validation Protocol	Reference Protocol	Certificate Reference
NordVal	Broad range of food products	EN ISO 16140-2	ISO 6888-1	 NordVal #049

## Section 11 References

ISO 6888-1. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Method using Baird-Parker agar medium.

## Section 12 Revision History

Release Date	Document Number	Change
November 2020	10000135568 Ver A	- New document design - Document number change – previous version RAPID'Staph_V5_July 2018

Visit [www.bio-rad.com/rapidmedia](http://www.bio-rad.com/rapidmedia) for more information on our complete range of RAPID<sup>®</sup> Chromogenic Media.

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

Website [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Sig 0220





# RAPID'*Staph* Agar

## Guide d'utilisation

Milieu chromogénique pour la détection des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale, ainsi que dans les échantillons environnementaux

N° de référence 3563960, boîte préparée, 90 mm x 20 boîtes

N° de référence 3564704, base déshydratée, 500 g



**BIO-RAD**

# Sommaire

Section 1	Introduction.....	1
Section 2	RAPID' <i>Staph</i> - Principe .....	1
Section 3	Formule théorique .....	1
Section 4	Durée de conservation et stockage.....	1
Section 5	Matériel requis non fourni.....	2
	Matériel.....	2
	Produits .....	2
Section 6	Précautions, limites d'utilisation et contrôle qualité.....	3
Section 7	Protocole .....	3
	Préparation du milieu complet.....	3
	Préparation des échantillons .....	4
	Inoculation et lecture .....	4
Section 8	Confirmation des résultats positifs .....	4
Section 9	Confirmation d'autres méthodes .....	4
Section 10	Performance du test et validations.....	5
Section 11	Références .....	5
Section 12	Historique des révisions .....	5

## Section 1

### Introduction

Les staphylocoques à coagulase positive, principalement représentés par *Staphylococcus aureus*, sont des bactéries sphériques (coccus) à Gram positif qui apparaissent au microscope sous la forme de paires, de courtes chaînes ou d'amas. Certaines souches sont capables de produire une toxine hautement thermostable, susceptible de causer des nausées, vomissements et diarrhées chez l'homme, 1 à 7 heures après l'ingestion. Les aliments fortement manipulés au cours de leur préparation, et conservés à des températures plutôt élevées après leur préparation, sont fréquemment associés aux intoxications alimentaires par staphylocoque. Les facteurs contribuant à la contamination des aliments incluent : une température de maintien inadéquate, un équipement contaminé, une cuisson insuffisante et une hygiène personnelle insuffisante. L'homme est le principal réservoir de contamination des aliments ; en effet, les staphylocoques sont présents dans les voies nasales, dans la gorge et sur la peau des personnes en bonne santé. Ces bactéries sont également prédominantes sur les chaînes d'abattage et de traitement des installations avicoles. En outre, de nombreuses souches isolées ont développé une résistance à plusieurs antibiotiques.

## Section 2

### RAPID'Staph - Principe

Le milieu RAPID'Staph s'appuie sur une formule Baird-Parker optimisée pour la détection et le dénombrement de *Staphylococcus* (*S. Aureus*) à coagulase positive en 24 hr. Le principe du milieu repose sur la capacité de *S. aureus* à réduire le tellurite (colonies noires) et à entraîner la protéolyse du jaune d'œuf (halo transparent autour des colonies).

## Section 3

### Formule théorique

Peptone	10,0 g
Extrait de levure	1,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Chlorure de lithium	5,0 g
Agar	14,0 g
Glycine	12,0 g
Pyruvate de sodium	10,0 g
Tellurite de potassium	0,1 g
Jaune d'œuf	10 ml
Sulfadimidine	0,05 g
Eau distillée	q.s.p. 1 000 ml

---

pH final à 25 °C = 7,2 ± 0,2

## Section 4

### Durée de conservation et stockage

- Gélose base déshydratée : 15–25 °C en emballage soigneusement scellé, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière

## Section 5 Matériel requis non fourni

- Boîtes de gélose précoulée : 2–8 °C à l'abri de la lumière
- Boîte préparée à partir de la gélose base déshydratée : 5 jours à 2–8 °C, en emballage soigneusement scellé, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière

## Section 5

### Matériel requis non fourni

#### Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Plaque chauffante
- Balance, sensibilité 0,1 g
- Agitateur/homogénéisateur
- Étuve ou enceinte thermostatique, précision  $\pm 1$  °C
- Bain-marie

#### Produits

- Confirmation
  - Pastorex *Staph* Plus (n° de référence 3556356, 50 tests ; 3556353, 250 tests)
  - Baird-Parker + RPF (n° de référence 3563996, boîtes préparées x 20 boîtes ; 3578618, kit prêt à l'emploi [90 ml x 6 flacons base gélosée + 6 flacons Supplement] ; 3564814, base déshydratée, 500 g ; 3564618, supplément RPF, 10 flacons)
- Diluant pour le dénombrement : Eau peptonée tamponnée (EPT) n° de référence 3554179, 225 ml x 6 flacons ; 3564684, base déshydratée, 500 g ; 3555790, 5 L x 2 poches ; 3555795, 3 L x 4 poches) ; tryptone-sel (n° de référence 3555754, 9 ml x 25 tubes ; 3555756, 90 ml x 6 flacons ; 3564544, base déshydratée, 500 g ; 3555796, 3 L x 4 poches)
- Flacons de milieu : 125 ml, autoclavables
- Supplément de milieu : Jaune d'œuf + tellurite de potassium (n° de référence 3554201, 5 ml ; 3554205, 25 ml)
- Boîtes de Pétri stériles (Ø 90 mm)
- Pipettes stériles
- Étaleurs stériles
- Sacs de pesée stériles

## Section 6

### Précautions, limites d'utilisation et contrôle qualité

#### Précautions

- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (EN ISO 7218). Porter un équipement de protection approprié, par exemple des gants et une blouse de laboratoire, pour travailler avec des bactéries vivantes potentiellement infectieuses.
- Les milieux qui sont entrés en contact avec des échantillons alimentaires doivent être considérés comme contaminés et doivent être éliminés conformément aux règles et réglementations locales.
- Avant d'ajouter le jaune d'œuf, vérifier que le milieu de base contenant le tellurite de potassium, le pyruvate de sodium et la glycine ne dépasse pas 47 °C.
- Le temps écoulé entre la fin de la préparation de la solution mère (ou dilution  $10^{-1}$  dans le cas d'un produit solide) et l'inoculation du milieu de culture ne doit pas excéder 45 min.
- Certains staphylocoques à coagulase positive peuvent donner des colonies avec un petit halo ou sans halo après 24 hr d'incubation. Une incubation supplémentaire de 24 hr peut être nécessaire pour observer le halo. En cas de doute, il convient de réaliser un test de confirmation sur la colonie suspecte.

#### Limites d'utilisation

Sans objet.

#### Contrôle qualité

- Chaque produit fabriqué et commercialisé par Bio-Rad est soumis à une procédure d'assurance qualité à toutes les étapes, de la réception des matières premières jusqu'à la mise sur le marché du produit fini. Chaque lot de produits finis subit un contrôle qualité conforme à EN ISO 11133 et est mis sur le marché uniquement s'il satisfait aux critères d'acceptabilité. La documentation relative à la production et au contrôle qualité de chaque lot est archivée.
- Pour consulter la fiche de données de sécurité (FDS) et le certificat d'analyse, visiter [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

## Section 7

### Protocole

#### Préparation du milieu complet

1. Toujours agiter le flacon avant utilisation.
2. Dissoudre 57 g de poudre dans 1 L d'eau distillée.
3. Attendre 5 minutes et mélanger de nouveau jusqu'à obtenir une suspension homogène.

## Section 8 Confirmation des résultats positifs

4. Chauffer doucement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
5. Distribuer 90 ml dans un flacon, puis soumettre à l'autoclave à  $121 \pm 1$  °C pendant 15 min.
6. Refroidir le milieu de culture à 44–47 °C.
7. Ajouter 5 ml de supplément jaune d'œuf au tellurite de potassium. Mélanger soigneusement.
8. Ne pas surchauffer le milieu complet (maximum 47 °C).
9. Répartir dans les boîtes de Pétri et laisser sécher.
10. 500 g de poudre permettent de reconstituer 8,7 L de milieu.

## Préparation des échantillons

Diluer l'échantillon conformément à la méthode normalisée applicable au produit concerné.

## Inoculation et lecture

1. Étaler 0,1 ml de l'échantillon ou de ses dilutions décimales sur la surface de la gélose séchée. S'il est nécessaire d'estimer de petits nombres, étaler 1 ml d'échantillon sur trois boîtes de Ø 90 mm (~ 0,33 ml/boîte) ou sur une boîte de Ø 140 mm (se reporter à la norme EN ISO 7218).
2. Incuber la boîte à  $37 \pm 1$  °C pendant  $24 \pm 2$  hr.
3. Les staphylocoques à coagulase positive présumés forment des colonies noires avec halo transparent sur la gélose RAPID'*Staph*.
4. Consulter la norme EN ISO 7218 pour obtenir des informations sur l'inoculation, le comptage des colonies, les calculs et l'expression des résultats.

## Section 8 Confirmation des résultats positifs

Sélectionner trois colonies typiques puis procéder à la confirmation de l'une des façons suivantes :


- Test au latex Pastorex *Staph* Plus.
- Culture par spot sur gélose Baird-Parker + RPF. Jusqu'à 12 colonies peuvent faire l'objet d'une culture par spot sur une boîte.

## Section 9 Confirmation d'autres méthodes

Sans objet.

## Section 10

### Performance du test et validations

Certification	Domaine	Protocole de validation	Protocole de référence	Référence de certificat
NordVal	Large gamme de produits alimentaires	EN ISO 16140-2	ISO 6888-1	 NordVal n° 049

## Section 11

### Références

ISO 6888-1. Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) — Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker.

## Section 12

### Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Novembre 2020	10000135568 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Nouvelle conception de document</li><li>- Modification du numéro de document (version précédente RAPID'Staph_V5_Juillet 2018)</li></ul>

Visitez [www.bio-rad.com/rapidmedia](http://www.bio-rad.com/rapidmedia) pour plus d'informations sur la gamme complète de milieux chromogènes RAPID.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Sig 0220





# RAPID'*Staph* Agar

## Anwenderhandbuch

**Chromogenes Medium zum Nachweis von Koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Erzeugnissen für den menschlichen Verzehr, in Tierfuttermitteln und in Umgebungsproben**

Katalog-Nr. 3563960, gebrauchsfertige Agarplatten, 20 Agarplatten x 90 mm  
Katalog-Nr. 3564704, dehydriert, 500 g



**BIO-RAD**

# Inhaltsverzeichnis

Abschnitt 1	Einleitung.....	1
Abschnitt 2	RAPID' <i>Staph</i> Testprinzip.....	1
Abschnitt 3	Theoretische Zusammensetzung.....	1
Abschnitt 4	Haltbarkeit und Lagerung .....	1
Abschnitt 5	Zusätzlich benötigtes Material.....	2
	Geräte.....	2
	Zubehör .....	2
Abschnitt 6	Vorsichtsmaßnahmen, Anwendungsbeschränkungen und Qualitätskontrolle.....	3
Abschnitt 7	Protokoll.....	3
	Zubereitung des Kompletmediums .....	3
	Probenvorbereitung.....	4
	Beimpfung und Auswertung der Platten.....	4
Abschnitt 8	Bestätigung positiver Ergebnisse.....	4
Abschnitt 9	Bestätigung anderer Methoden .....	4
Abschnitt 10	Testleistung und Testvalidierungen .....	5
Abschnitt 11	Literatur .....	5
Abschnitt 12	Revisionshistorie .....	5

## Abschnitt 1

### Einleitung

Koagulase-positive Staphylokokken mit *Staphylococcus aureus* als wichtigstem Vertreter sind grampositive, kugelige Bakterien (Kokken), die im Mikroskop als Paare, kurze Ketten oder Cluster sichtbar sind. Manche Stämme können ein sehr hitzestabiles Toxin bilden, das beim Menschen innerhalb von 1–7 Stunden nach der Aufnahme Übelkeit, Erbrechen und Durchfall verursachen kann. Bei einer Lebensmittelvergiftung durch Staphylokokken spielen häufig Nahrungsmittel mit hohem Verarbeitungsgrad eine Rolle, die nach der Zubereitung bei leicht erhöhten Temperaturen gelagert werden. Zu den Faktoren, die eine Kontamination von Nahrungsmitteln begünstigen, zählen falsche Lagerungstemperaturen, kontaminiertes Equipment, unzureichendes Garen und mangelhafte Personenhygiene. Der Mensch ist das primäre Reservoir für die Kontamination von Nahrungsmitteln, da Staphylokokken in den Nasengängen, im Hals und auf der Haut gesunder Personen vorkommen. Staphylokokken gehören auch zu den an den häufigsten vorkommenden Bakterien in Schlacht- und Verarbeitungstrecken von Geflügelbetrieben, wobei viele isolierte Stämme Resistenz gegen mehrere Antibiotika aufweisen.

## Abschnitt 2

### RAPID'Staph Testprinzip

RAPID'Staph beruht auf einer Baird-Parker-Zusammensetzung, die für den Nachweis und die Zählung von Koagulase-positivem *Staphylococcus* (*S. aureus*) in 24 hr optimiert ist. Das Medium nutzt die Fähigkeit von *S. aureus* zur Reduzierung von Tellurit (schwarze Kolonien) und Induktion der Proteolyse von Eigelb (transparenter Hof um die Kolonien).

## Abschnitt 3

### Theoretische Zusammensetzung

Pepton	10,0 g
Hefeextrakt	1,0 g
Fleischextrakt	5,0 g
Lithiumchlorid	5,0 g
Agar	14,0 g
L-Glycin	12,0 g
Natriumpyruvat	10,0 g
Kaliumtellurit	0,1 g
Eigelb	10 ml
Sulfamethazin	0,05 g
Destilliertes Wasser	qsp 1.000 ml

---

Finaler pH-Wert bei 25°C = 7,2 ± 0,2

## Abschnitt 4

### Haltbarkeit und Lagerung

- Dehydrierter Agar: Trocken und lichtgeschützt in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 15–25°C.
- Gebrauchsfertige Agarplatten: Lichtgeschützt bei 2–8°C

## Abschnitt 5 Zusätzlich benötigtes Material

- Aus dehydriertem Agar hergestellte Agarplatten: 5 Tage bei trockener und lichtgeschützter Lagerung in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 2–8°C

## Abschnitt 5 Zusätzlich benötigtes Material

### Geräte

- Alle üblichen Laborgeräte
- Heizplatte
- Waage, bis auf 0,1 g genau
- Rührer / Homogenisator
- Thermostatisch kontrollierter Inkubator oder Inkubationskammer, bis auf  $\pm 1^\circ\text{C}$  genau
- Wasserbad

### Zubehör

- Bestätigung
  - Pastorex *Staph* Plus (Katalog-Nr. 3556356, 50 Tests; 3556353, 250 Tests)
  - Baird-Parker + RPF (Katalog-Nr. 3563996, 20 gebrauchsfertige Agarplatten; 3578618, gebrauchsfertiges Kit [6 Flaschen Basisagar x 90 ml + 6 Flaschen Supplement]; 3564814, dehydriert, 500 g; 3564618, RPF Supplement, 10 Fläschchen)
- Verdünnungsmittel zum Zählen: Gepuffertes Peptonwasser (GPW; Buffered Peptone Water; BPW) (Katalog-Nr. 3554179, 6 Flaschen x 225 ml; 3564684, dehydriert, 500 g; 3555790, 2 Beutel x 5 L; 3555795, 4 Beutel x 3 L); Tryptonsalz (Katalog-Nr. 3555754, 25 Röhrchen x 9 ml; 3555756, 6 Flaschen x 90 ml; 3564544, dehydriert, 500 g; 3555796, 4 Beutel x 3 L)
- Mediumflaschen: 125 ml, autoklavierbar
- Medium-Supplement: Eigelb + Kaliumtellurit (Katalog-Nr. 3554201, 5 ml; 3554205, 25 ml)
- Sterile Petrischalen (90 mm)
- Sterile Pipetten
- Sterile Spatel
- Sterile Wägebeutel

## Abschnitt 6

# Vorsichtsmaßnahmen, Anwendungsbeschränkungen und Qualitätskontrolle

### Vorsichtsmaßnahmen

- Es sind die Richtlinien der guten Laborpraxis zu beachten (EN ISO 7218). Bei der Arbeit mit potenziell infektiösen, lebenden Bakterien sollte angemessene Schutzkleidung wie Handschuhe und Laborkittel getragen werden.
- Medien, die mit Lebensmittelproben in Kontakt gekommen sind, sind als kontaminiert zu betrachten und gemäß den vor Ort geltenden Vorschriften und Bestimmungen zu entsorgen.
- Es ist darauf zu achten, dass die Temperatur des Basismediums, das Kaliumtellurit, Natriumpyruvat und L-Glycin enthält, vor der Zugabe von Eigelb nicht höher als 47°C ist.
- Zwischen dem Ende der Herstellung der Stammlösung (bzw. der 10<sup>-1</sup>-Verdünnung im Fall eines festen Produkts) und der Beimpfung des Kulturmediums dürfen nicht mehr als 45 min verstreichen.
- Manche Koagulase-positive Staphylokokken können nach 24-stündiger Inkubation Kolonien mit einem kleinen Hof oder ohne Hof bilden. Möglicherweise muss weitere 24 hr inkubiert werden, damit der Hof sichtbar wird. Im Zweifelsfall sollten Bestätigungstests mit der vermutlichen Kolonie durchgeführt werden

### Anwendungsbeschränkungen

Nicht zutreffend

### Qualitätskontrolle

- Jedes von der Firma Bio-Rad hergestellte und verkaufte Produkt unterliegt vom Rohstoffeingang bis zur Vermarktung der Fertigprodukte einer umfassenden Qualitätssicherung. Jede Charge des fertigen Produkts wird einer Qualitätskontrolle gemäß EN ISO 11133 unterzogen und gelangt nur dann in den Vertrieb, wenn sie die Akzeptanzkriterien erfüllt. Die Dokumente im Zusammenhang mit der Herstellung und der Überprüfung jeder Charge werden archiviert.
- Das Sicherheitsdatenblatt und das Analysezertifikat für das Produkt sind im Internet auf [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com) erhältlich.

## Abschnitt 7

# Protokoll

### Zubereitung des Komplettmediums

1. Den Behälter vor jedem Gebrauch schütteln.
2. 57 g Pulver in 1 l destilliertem Wasser lösen.

## Abschnitt 8 Bestätigung positiver Ergebnisse

3. 5 min warten und mischen, bis eine homogene Suspension entstanden ist.
4. Unter ständigem Rühren vorsichtig erhitzen und zum Kochen bringen, bis sich das Medium vollständig gelöst hat.
5. 90 ml Medium in eine Flasche geben und anschließend 15 min bei  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  autoklavieren.
6. Das Medium auf  $44\text{--}47^\circ\text{C}$  abkühlen lassen.
7. 5 ml Eigelb und Kaliumtellurit-Supplement zugeben. Gründlich mischen.
8. Das Komplettmedium nicht zu stark erwärmen (auf maximal  $47^\circ\text{C}$ ).
9. In Petrischalen geben und auf dem Tisch fest werden lassen.
10. 500 g Pulver ergeben 8,7 L Medium.

## Probenvorbereitung

Die Probe nach der für das jeweilige Produkt geltenden Standardmethode verdünnen.

## Beimpfung und Auswertung der Platten

1. 0,1 ml Probe oder ihre Dezimalverdünnungen auf der Oberfläche des fest gewordenen Agars ausstreichen. Wenn die zu schätzende Keimzahl gering ist, 1 ml Probe auf drei Agarplatten mit 90 mm Durchmesser ( $\sim 0,33$  ml/Agarplatte) oder in einer Agarplatte mit 140 mm Durchmesser verteilen (gemäß EN ISO 7218).
2. Die Platte bei  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  für  $24 \pm 2$  hr inkubieren.
3. Vermutliche Koagulase-positive Staphylokokken bilden auf RAPID'*Staph* Agar schwarze Kolonien mit einem transparenten Hof.
4. Die Norm EN ISO 7218 enthält Informationen zum Beimpfen, Zählen von Kolonien sowie zum Berechnen und Angeben der Ergebnisse.

## Abschnitt 8 Bestätigung positiver Ergebnisse

Drei typische Kolonien auswählen, um das Ergebnis mit einer der folgenden Methoden zu bestätigen:


- Mit dem Pastorex *Staph* Plus Latex Test
- Durch Kultur auf Baird-Parker + RPF Agar. Auf einer Platte können Spot-Kulturen von bis zu 12 Kolonien angelegt werden.

## Abschnitt 9 Bestätigung anderer Methoden

Nicht zutreffend

## Abschnitt 10

### Testleistung und Testvalidierungen

Zertifizierungsstelle	Umfang	Validierungsprotokoll	Referenzprotokoll	Zertifikat-Referenz
NordVal	Breites Spektrums von Nahrungsmitteln	EN ISO 16140-2	ISO 6888-1	 NordVal #049

## Abschnitt 11

### Literatur

ISO 6888-1. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für die Zählung von Koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) — Teil 1: Verfahren mit Baird-Parker-Agar.

## Abschnitt 12

### Revisionshistorie

Veröffentlichungsdatum	Dokumentnummer	Änderung
November 2020	10000135568 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Neues Dokumentdesign</li><li>- Änderung der Dokumentnummer - vorhergehende Version RAPID'Staph_V5_Juli 2018</li></ul>

Weitere Informationen über unser vollständiges Angebot an chromogenen RAPID' Medien finden Sie bei uns im Internet auf [www.bio-rad.com/rapidmedia](http://www.bio-rad.com/rapidmedia).

BIO-RAD ist eine Marke von Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle hierin verwendeten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Sig 0220





# RAPID' *Staph* Agar

## Manuale utente

**Terreno cromogenico utilizzato per la rilevazione di stafilococchi coagulasi-positivi (*Staphylococcus aureus* e altre specie) in prodotti destinati al consumo umano e animale, nonché nei campioni ambientali.**

Catalogo # 3563960, piastre preparate, 90 mm x 20 piastre  
Catalogo # 3564704, disidratato, 500 g



**BIO-RAD**

# Indice

Sezione 1	Introduzione.....	1
Sezione 2	Principio di RAPID' <i>Staph</i> .....	1
Sezione 3	Formula teorica .....	1
Sezione 4	Durata e conservazione .....	1
Sezione 5	Materiali necessari ma non forniti .....	2
	Apparecchiatura .....	2
	Materiali .....	2
Sezione 6	Precauzioni, limitazioni d'uso e controllo qualità .....	3
Sezione 7	Protocollo .....	3
	Preparazione del terreno completo .....	3
	Preparazione dei campioni .....	4
	Inoculazione e lettura delle piastre.....	4
Sezione 8	Conferma dei risultati positivi .....	4
Sezione 9	Conferma di altri metodi .....	4
Sezione 10	Performance del test e validazioni .....	5
Sezione 11	Riferimenti .....	5
Sezione 12	Cronologia delle revisioni .....	5

## Sezione 1

### Introduzione

Gli stafilococchi coagulasi-positivi, principalmente rappresentati da *Staphylococcus aureus*, sono batteri sferici (cocchi) gram-positivi che al microscopio appaiono disposti in coppie, in catenelle o in raggruppamenti. Alcuni ceppi sono in grado di produrre una tossina altamente termostabile che può causare nausea, vomito e diarrea negli esseri umani entro 1-7 ore dall'ingestione. Gli alimenti che richiedono una manipolazione considerevole durante la preparazione e che vengono mantenuti a temperature leggermente elevate dopo la preparazione sono spesso coinvolti nell'intossicazione alimentare da stafilococco. I fattori che contribuiscono alla contaminazione degli alimenti includono temperature di conservazione non appropriate, apparecchiature contaminate, cottura inadeguata e scarsa igiene personale. L'uomo rappresenta il serbatoio principale per la contaminazione alimentare, poiché gli stafilococchi possono essere trovati nelle vie nasali, nella gola e sulla pelle di individui sani. Gli stafilococchi sono anche tra i batteri più predominanti che si trovano nelle linee di macellazione e lavorazione degli impianti avicoli, con numerosi ceppi isolati che presentano una resistenza a più antibiotici.

## Sezione 2

### Principio di RAPID' Staph

RAPID' Staph si basa su una formula Baird-Parker ottimizzata per la ricerca e la conta di *Staphylococcus* (*S. Aureus*) coagulasi-positivo in 24 hr. Il principio del terreno si basa sulla capacità dello *S. aureus* di ridurre la tellurite (colonie nere) e di indurre la proteolisi del tuorlo d'uovo (formando un alone chiaro attorno alle colonie).

## Sezione 3

### Formula teorica

Peptone	10,0 g
Estratto di lievito	1,0 g
Estratto di carne	5,0 g
Cloruro di litio	5,0 g
Terreno di coltura agar	14,0 g
L-glicina	12,0 g
Piruvato di sodio	10,0 g
Tellurite di potassio	0,1 g
Tuorlo d'uovo	10 ml
Sulfametazina	0,05 g
Acqua distillata	QSP 1.000 ml

---

pH finale a 25°C = 7,2 ± 0,2

## Sezione 4

### Durata e conservazione

- Terreno di coltura agar disidratato: 15-25°C in una confezione sigillata con cura, in un luogo asciutto e buio

## Sezione 5 Materiali necessari ma non forniti

- Piastre di agar preparate: 2-8°C in un luogo buio
- Piastra preparata con il terreno di coltura agar disidratato: 5 giorni a 2-8°C in una confezione sigillata con cura, in un luogo asciutto e buio

## Sezione 5

### Materiali necessari ma non forniti

#### Apparecchiatura

- Tutta la normale apparecchiatura di laboratorio
- Piastra riscaldante
- Bilancia, sensibilità di 0,1 g
- Agitatore/omogeneizzatore
- Incubatore o camera di incubazione con controllo termostatico, con precisione di  $\pm 1^\circ\text{C}$
- Bagnomaria

#### Materiali

- Conferma
  - Pastorex *Staph* Plus (catalogo #3556356, 50 test; 3556353, 250 test)
  - Baird-Parker + RPF (catalogo #3563996, piastre preparate x 20 piastre; 3578618, kit pronto per l'uso [90 ml x 6 flaconi di base agar + 6 flaconi di supplemento]; 3564814, in forma disidratata, 500 g; 3564618, supplemento RPF, 10 fiale)
- Diluente per l'enumerazione: acqua peptonata tamponata (APT) (catalogo #3554179, 225 ml x 6 flaconi; 3564684, in forma disidratata, 500 g; 3555790, 5 L x 2 sacche; 3555795, 3 L x 4 sacche); sale triptone (catalogo #3555754, 9 ml x 25 provette; 3555756, 90 ml x 6 flaconi; 3564544, in forma disidratata, 500 g; 3555796, 3 L x 4 sacche)
- Flaconi di terreno: 125 ml, autoclavabile
- Terreno di supplemento: Tuorlo d'uovo + tellurite di potassio (catalogo #3554201, 5 ml; 3554205, 25 ml)
- Piastre Petri sterili (90 mm)
- Pipette sterili
- Spatole sterili
- Sacche di pesatura sterili

## Sezione 6

# Precauzioni, limitazioni d'uso e controllo qualità

### Precauzioni

- Rispettare le buone pratiche di laboratorio (EN ISO 7218). Indossare protezioni adeguate, come guanti e camici da laboratorio, quando si manipolano batteri vivi potenzialmente infettivi
- I terreni entrati in contatto con campioni di alimenti devono essere considerati come contaminati e quindi smaltiti in conformità alle normative e direttive locali
- Assicurarsi che il terreno di base contenente tellurite di potassio, piruvato di sodio e L-glicina non superi i 47°C prima di aggiungere il tuorlo d'uovo
- Il tempo che intercorre tra la fine della preparazione della soluzione concentrata (o della diluizione  $10^{-1}$  per un prodotto solido) e l'inoculazione del terreno di coltura non deve superare i 45 min
- Alcuni stafilococchi coagulasi-positivi possono sviluppare colonie con un piccolo alone o senza alone dopo 24 hr di incubazione. Per osservare l'alone potrebbe essere necessaria una ulteriore incubazione di 24 hr. In caso di dubbio, eseguire il test di conferma sulla colonia sospetta

### Limitazioni d'uso

Non applicabile.

### Controllo qualità

- Tutti i prodotti fabbricati e commercializzati dalla società Bio-Rad sono sottoposti a un sistema di assicurazione qualità dal momento del ricevimento delle materie prime fino alla commercializzazione dei prodotti finiti. Ciascun lotto di prodotto finito è soggetto a un controllo di qualità conformemente alla norma EN ISO 11133 e viene messo in commercio soltanto se risulta conforme ai criteri di accettazione. Tutta la documentazione relativa alla produzione e al controllo qualità di ciascun lotto è conservata a cura del fabbricante
- Per informazioni sulla sicurezza del prodotto (schede dati di sicurezza) e il certificato di analisi, visitare il sito [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

## Sezione 7

# Protocollo

### Preparazione del terreno completo

1. Agitare sempre il flacone prima dell'uso.
2. Sciogliere 57 g di polvere in 1 L di acqua distillata.
3. Attendere 5 minuti e miscelare nuovamente fino ad ottenere una sospensione omogenea.

## Sezione 8 Conferma dei risultati positivi

4. Riscaldare lentamente, agitando frequentemente, quindi portare a ebollizione fino al completo scioglimento.
5. Dispensare 90 ml di terreno in un flacone, quindi autoclavare a  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  per 15 minuti.
6. Raffreddare il terreno a  $44\text{--}47^\circ\text{C}$ .
7. Aggiungere 5 ml di tuorlo d'uovo e tellurite di potassio di supplemento. Miscelare accuratamente.
8. Non surriscaldare il terreno completo (massimo  $47^\circ\text{C}$ ).
9. Dispensare su piastre di petri e lasciare asciugare sul banco.
10. Un flacone di polvere da 500 g produce 8,7 L di terreno.

## Preparazione dei campioni

Diluire il campione secondo il metodo standard applicabile al prodotto in questione.

## Inoculazione e lettura delle piastre

1. Distribuire 0,1 ml di campione o le sue diluizioni decimali sulla superficie di agar essiccato. Se è necessario stimare numeri ridotti, distribuire 1 ml di campione su tre piastre di 90 mm ( $\sim 0,33$  ml/piastra) o su una piastra di 140 mm (fare riferimento alla norma EN ISO 7218).
2. Incubare la piastra a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  per  $24 \pm 2$  hr.
3. I presunti stafilococchi coagulasi-positivi formano colonie nere con un alone chiaro attorno alla colonia su RAPID'*Staph* Agar.
4. Fare riferimento alla norma EN ISO 7218 per l'inoculazione, la conta delle colonie, il calcolo e l'espressione dei risultati.

## Sezione 8 Conferma dei risultati positivi

Scegliere tre colonie tipiche per la conferma in uno dei seguenti modi:


- Utilizzando il test al lattice Pastorex *Staph* Plus
- Tramite la coltura spot su Baird-Parker + RPF Agar. È possibile eseguire la coltura spot di un massimo di 12 colonie su un'unica piastra

## Sezione 9 Conferma di altri metodi

Non applicabile.

## Sezione 10

### Performance del test e validazioni

Certificazione	Ambito di applicazione	Protocollo di validazione	Protocollo di riferimento	Riferimento al certificato
NordVal	Ampia gamma di prodotti alimentari	EN ISO 16140-2	ISO 6888-1	 NordVal #049

## Sezione 11

### Riferimenti

ISO 6888-1. Microbiologia della catena alimentare — Metodo orizzontale per la conta di stafilococchi coagulasi-positivi (*Staphylococcus aureus* e altre specie) — Parte 1: Metodo mediante l'impiego di terreno di agar Baird-Parker.

## Sezione 12

### Cronologia delle revisioni

Data di pubblicazione	Numero di documento	Modifica
Novembre 2020	10000135568 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Nuovo design del documento</li><li>- Modifica al numero di documento – versione precedente RAPID'Staph_V5_Luglio 2018</li></ul>

Per ulteriori informazioni sulla nostra gamma completa di terreni cromogenici RAPID', visitare il sito [www.bio-rad.com/rapidmedia](http://www.bio-rad.com/rapidmedia).

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

Website [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Sig 0220



10000135568 Ver A US/EG



# RAPID'*Staph* Agar

## Guia do usuário

**Meio cromogênico usado para a detecção de estafilococos coagulase positivos (*Staphylococcus aureus* e outras espécies) em produtos destinados ao consumo humano ou animal e amostras ambientais**

Nº do catálogo 3563960, Meios de cultura preparados, 90 mm x 20 placas

Nº do catálogo 3564704, Desidratado, 500 g



**BIO-RAD**

# Índice

Seção 1	Introdução .....	1
Seção 2	RAPID' <i>Staph</i> Princípio .....	1
Seção 3	Fórmula Teórica .....	1
Seção 4	Prazo de validade e armazenamento .....	1
Seção 5	Materiais necessários, mas não fornecidos .....	2
	Equipamento .....	2
	Suprimentos .....	2
Seção 6	Precauções, limitações de uso e controle de qualidade.....	3
Seção 7	Protocolo .....	3
	Preparação do Meio Completo .....	3
	Preparação da amostra.....	4
	Inoculação e Leitura de Meios de Cultura.....	4
Seção 8	Confirmação de Resultados Positivos .....	4
Seção 9	Confirmação de outros métodos .....	4
Seção 10	Desempenho e validação do teste.....	5
Seção 11	Referências .....	5
Seção 12	Histórico de Revisão .....	5

## Seção 1 Introdução

Os estafilococos coagulase-positivos, principalmente representados por *Staphylococcus aureus*, são bactérias esféricas (cocos) Gram-positivas que são observadas microscopicamente em pares, cadeias curtas ou agrupamentos. Algumas cepas são capazes de produzir uma toxina altamente estável ao calor que pode causar náusea, vômito e diarreia em humanos em 1–7 hr após a ingestão. Alimentos que requerem manuseio considerável durante o preparo e que são mantidos em temperaturas ligeiramente elevadas após o preparo estão frequentemente envolvidos em intoxicações alimentares estafilocócicas. Os fatores que contribuem para a contaminação dos alimentos incluem temperaturas de manutenção inadequadas, equipamento contaminado, cozimento inadequado e higiene pessoal deficiente. Os seres humanos são o principal reservatório de contaminação de alimentos, pois os estafilococos podem ser encontrados nas vias nasais, na garganta e na pele de indivíduos saudáveis. Os estafilococos também estão entre as bactérias mais predominantes encontradas nas linhas de abate e processamento de aviários, com muitas cepas isoladas possuindo resistência a múltiplos antibióticos.

## Seção 2 RAPID' Staph Princípio

RAPID' Staph é baseado em uma fórmula de Baird-Parker otimizada para a detecção e enumeração de *Staphylococcus* (*S. aureus*) coagulase-positivo em 24 hr. O princípio do meio depende da capacidade de *S. aureus* em reduzir telurito (colônias pretas) e induzir a proteólise da gema de ovo (halo claro ao redor das colônias).

## Seção 3 Fórmula Teórica

Peptona	10,0 g
Extrato de levedura	1,0 g
Extrato de carne	5,0 g
Cloreto de lítio	5,0 g
Ágar	14,0 g
L-glicina	12,0 g
Piruvato de sódio	10,0 g
Telurito de potássio	0,1 g
Gema de ovo	10 ml
Sulfametazina	0,05 g
Água destilada	qsp 1.000 ml

---

pH final a 25°C = 7,2 ± 0,2

## Seção 4 Prazo de validade e armazenamento

- Ágar desidratado: 15–25°C em embalagem cuidadosamente vedada, em um ambiente seco e arejado
- Placas de ágar pré-distribuídas: 2–8°C em local escuro

## Seção 5 Materiais necessários, mas não fornecidos

- Meio de cultura preparado a partir do ágar desidratado: 5 dias a 2–8°C em embalagem cuidadosamente vedada, em um ambiente seco e arejado

## Seção 5

### Materiais necessários, mas não fornecidos

#### Equipamento

- Todo o equipamento comum de laboratório
- Placa de aquecimento
- Escala, sensibilidade de 0,1 g
- Misturador/homogeneizador
- Incubadora ou sala de incubação controlada termostaticamente, com precisão de  $\pm 1^\circ\text{C}$
- Lavagem em água

#### Suprimentos

- Confirmação
  - Pastorex *Staph* Plus (catálogo #3556356, 50 testes; 3556353, 250 testes)
  - Baird-Parker + RPF (catálogo # 3563996, placas preparadas x 20 placas; 3578618, kit pronto para uso [90 ml x 6 frascos à base de ágar + 6 frascos de suplemento]; 3564814, desidratado, 500g; 3564618, suplemento de RPF, 10 ampolas)
- Diluente para enumeração: Água Peptonada Tamponada (BPW) (catálogo #3554179, 6 frascos de 225 ml; 3564684, desidratado, 500 g; 3555790, 2 sacos de 5 L; 3555795, 4 sacos de 3 L); Sal de triptona (catálogo #3555754, 25 tubos de 9 ml; 3555756, 6 frascos de 90 ml; 3564544, desidratado, 500 g; 3555796, 4 sacos de 3 L)
- Frascos de meios: 125 ml, autoclavável
- Suplemento do meio: Gema de ovo + telurito de potássio (catálogo # 3554201, 5 ml; 3554205, 25 ml)
- Placas de Petri estéreis (90 mm)
- Pipetas estéreis
- Espalhadores estéreis
- Sacos de pesagem estéreis

## Seção 6

# Precauções, limitações de uso e controle de qualidade

## Precauções

- Respeite as boas práticas de laboratório (EN ISO 7218). Proteção adequada, como luvas e jalecos, deve ser usada ao trabalhar com bactérias vivas potencialmente infecciosas
- O meio que entrou em contato com amostras de alimentos deve ser considerado contaminado e descartado de acordo com as regras e regulamentos locais
- Certifique-se de que o meio de base contendo telurito de potássio, piruvato de sódio e L-glicina não exceda 47°C antes de adicionar a gema de ovo
- O lapso de tempo entre o final da preparação da solução estoque (ou diluição  $10^{-1}$  para um produto sólido) e a inoculação do meio de cultura não deve exceder 45 min
- Alguns estafilococos coagulase-positivos podem formar colônias com um pequeno halo ou sem halo após 24 hr de incubação. Uma incubação adicional de 24 hr pode ser necessária para ver o halo. Se houver alguma dúvida, o teste de confirmação deve ser realizado na colônia suspeita

## Limitações de uso

Não se aplica.

## Controle de qualidade

- Todos os produtos fabricados e comercializados pela Bio-Rad estão sujeitos aos procedimentos de garantia de qualidade em todas as etapas, desde a recepção da matéria-prima até a comercialização do produto final. Cada lote de produto acabado passa por um controle de qualidade de acordo com a EN ISO 11133 e é comercializado apenas quando satisfaz os critérios de aceitabilidade. A documentação relativa à produção e ao controle de qualidade de cada lote é mantida arquivada
- Para informações de segurança do produto SDS e certificado de análise, visite [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

## Seção 7

# Protocolo

## Preparação do Meio Completo

1. Agite sempre a garrafa antes de usar.
2. Dissolva 57 g de pó em 1 L de água destilada.
3. Aguarde 5 min e misture novamente até obter uma suspensão homogênea.
4. Aqueça delicadamente, agitando com frequência, e ferva até dissolver completamente.
5. Dispense 90 ml de meio em um frasco e, em seguida, autoclave a  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 min.

## Seção 8 Confirmação de Resultados Positivos

6. Resfrie o meio até 44–47°C.
7. Adicione 5 ml de gema de ovo e suplemento de telurito de potássio. Misture cuidadosamente.
8. Não sobreaqueça o meio completo (máximo 47°C).
9. Dispense em placas de Petri e deixe na bancada para secar.
10. Um frasco de 500 g de pó produz 8,7 L de meio.

## Preparação da amostra

Dilua a amostra de acordo com o método padrão aplicável ao respectivo produto.

## Inoculação e Leitura de Meios de Cultura

1. Espalhe 0,1 ml de amostra ou suas diluições decimais sobre a superfície do ágar seco. Se for necessário estimar pequenos números, espalhe 1 ml da amostra em três pratos de 90 mm (~ 0,33 ml/prato) ou em um prato de 140 mm (consulte a norma EN ISO 7218).
2. Deixe incubar o meio de cultura a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por  $24 \pm 2$  hr.
3. Os estafilococos coagulase presumivelmente positivos formam colônias pretas com um halo claro ao redor da colônia no RAPID'*Staph* Agar.
4. Consulte o padrão EN ISO 7218 para inoculação, contagem de colônias, cálculo e expressão dos resultados.

## Seção 8 Confirmação de Resultados Positivos

Selecione três colônias típicas para confirmação por uma das seguintes maneiras:


- Usando o teste Pastorex *Staph* Plus Latex
- Por cultura local no Baird-Parker + RPF Agar. Até 12 colônias podem ser cultivadas localmente em uma placa

## Seção 9 Confirmação de outros métodos

Não se aplica.

## Seção 10

### Desempenho e validação do teste

Certificação	Escopo	Protocolo de Validação	Protocolo de Referência	Referência de Certificado
NordVal	Ampla gama de produtos alimentícios	EN ISO 16140-2	ISO 6888-1	 NordVal #049

## Seção 11

### Referências

ISO 6888-1. Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para a contagem de estafilococos coagulase-positivos (*Staphylococcus aureus* e outras espécies) - Parte 1: Método usando meio de ágar Baird-Parker.

## Seção 12

### Histórico de Revisão

Data de lançamento	Número do documento	Alteração
Novembro de 2020	10000135568 Ver A	- Novo design de documento - Alteração do número do documento - versão anterior RAPID'Staph_V5_July 2018

Visite [www.bio-rad.com/rapidmedia](http://www.bio-rad.com/rapidmedia) para obter mais informações sobre a nossa completa linha de meios cromogênicos RAPID'.

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas as marcas comerciais usadas neste documento são de propriedade de seus respectivos proprietários.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Sig 0220





# RAPID'*Staph* Agar

## Manual del usuario

Medio cromogénico para la detección de *Staphylococcus* coagulasa-positivos (*Staphylococcus aureus* y otras especies) en productos destinados al consumo humano o animal y en muestras ambientales

Referencia #3563960, placas preparadas, placas de 90 mm x 20  
Referencia #3564704, deshidratado, 500 g



**BIO-RAD**

# Índice de contenidos

Apartado 1	Introducción .....	1
Apartado 2	Principio de RAPID' <i>Staph</i> .....	1
Apartado 3	Fórmula teórica .....	1
Apartado 4	Vida útil y conservación.....	1
Apartado 5	Materiales necesarios, no suministrados .....	2
	Equipamiento .....	2
	Fungibles .....	2
Apartado 6	Precauciones, limitaciones de uso y control de calidad.....	3
Apartado 7	Protocolo .....	3
	Preparación del medio completo.....	3
	Preparación de las muestras .....	4
	Inoculación y lectura de la placa .....	4
Apartado 8	Confirmación de resultados positivos .....	4
Apartado 9	Confirmación de otros métodos .....	4
Apartado 10	Aplicaciones del ensayo y validaciones .....	5
Apartado 11	Referencias .....	5
Apartado 12	Historial de revisiones .....	5

## Apartado 1 Introducción

Los *Staphylococcus* coagulasa-positivos, representados principalmente por los *Staphylococcus aureus*, son bacterias esféricas (cocos) grampositivas que se observan microscópicamente en pares, cadenas cortas o agregados. Algunas cepas son capaces de producir una toxina altamente termoestable que puede provocar náuseas, vómitos y diarrea en humanos entre 1 y 7 horas después de su ingestión. Los alimentos que requieren una manipulación considerable durante su elaboración y que se mantienen a temperaturas ligeramente elevadas después de la preparación suelen verse implicados en intoxicaciones alimentarias Staphylocócicas. Los factores que contribuyen a la contaminación de los alimentos son, entre otros, temperaturas de conservación inapropiadas, instrumentación contaminada, cocinado inadecuado y falta de higiene personal. Los seres humanos son el principal reservorio de contaminación alimentaria, ya que los *Staphylococcus* se pueden encontrar en los conductos nasales, en la garganta y en la piel de individuos sanos. Los *Staphylococcus* son también una de las bacterias más predominantes en las líneas de sacrificio y procesamiento de las instalaciones avícolas, con muchas cepas aisladas resistentes a varios antibióticos.

## Apartado 2 Principio de RAPID'Staph

RAPID'Staph está basado en una fórmula de Baird-Parker optimizada para la detección y el recuento de *Staphylococcus* (*S. aureus*) coagulasa-positivo en 24 hr. El principio del medio se basa en la capacidad del *S. aureus* para reducir el telurito (colonias negras) e inducir la proteólisis de la yema de huevo (halo transparente alrededor de las colonias).

## Apartado 3 Fórmula teórica

Peptona	10,0 g
Extracto de levadura	1,0 g
Extracto de carne	5,0 g
Cloruro de litio	5,0 g
Agar	14,0 g
L-glicina	12,0 g
Piruvato de sodio	10,0 g
Telurito de potasio	0,1 g
Yema de huevo	10 ml
Sulfametazina	0,05 g
Agua destilada	c.s.p. 1.000 ml

---

pH final a 25 °C = 7,2 ± 0,2

## Apartado 4 Vida útil y conservación

- Agar deshidratado: 15–25 °C en un paquete cuidadosamente sellado, en un lugar seco y oscuro
- Placas de agar preparadas: 2–8 °C en un lugar oscuro

## Apartado 5 Materiales necesarios, no suministrados

- Placa preparada desde agar deshidratado: 5 días a 2–8 °C en un paquete cuidadosamente sellado, en un lugar seco y oscuro

## Apartado 5

### Materiales necesarios, no suministrados

#### Equipamiento

- Todo el instrumental habitual del laboratorio
- Placa calefactada
- Balanza, sensibilidad de 0,1 g
- Agitador/homogeneizador
- Incubador o sala de incubación controlada termostáticamente, con una precisión de  $\pm 1$  °C
- Baño termostático

#### Fungibles

- Confirmación
  - Pastorex *Staph* Plus (referencia #3556356, 50 pruebas; 3556353, 250 pruebas)
  - Baird-Parker + RPF (referencia #3563996, placas preparadas x 20 placas; 3578618, kit listo para usar [90 ml x 6 frascos de agar base + 6 frascos de suplemento]; 3564814, deshidratado, 500 g; 3564618, suplemento RPF, 10 viales)
- Diluyente para recuento: Agua de peptona tamponada (APT) (referencia #3554179, 225 ml x 6 frascos; 3564684, deshidratado, 500 g; 3555790, 5 l x 2 bolsas; 3555795, 3 l x 4 bolsas); Sal Triptona (referencia #3555754, 9 ml x 25 tubos; 3555756, 90 ml x 6 frascos; 3564544, deshidratado, 500 g; 3555796, 3 l x 4 bolsas)
- Frascos de medio: 125 ml, aptos para autoclave
- Suplemento del medio: Yema de huevo + telurito de potasio (referencia #3554201, 5 ml; 3554205, 25 ml)
- Placas de Petri estériles (90 mm)
- Pipetas estériles
- Asas de Digrafsky estériles
- Bolsas estériles para pesada

## Apartado 6

# Precauciones, limitaciones de uso y control de calidad

## Precauciones

- Deben respetarse las buenas prácticas de laboratorio (EN ISO 7218). Se debe usar una protección adecuada, como guantes y batas de laboratorio, cuando se trabaja con bacterias vivas potencialmente infecciosas.
- Los medios que han estado en contacto con muestras de alimentos deben considerarse potencialmente contaminados y deben eliminarse de conformidad con las normas y reglamentos locales.
- Es preciso asegurar que el medio base que contiene telurito de potasio, piruvato de sodio y L-glicina no supere los 47 °C antes de añadir la yema de huevo.
- El tiempo que transcurre desde que se termina la preparación de la suspensión inicial (o la dilución  $10^{-1}$  en el caso de un producto sólido) y se inocula el medio de cultivo no debe superar los 45 min.
- Algunos *Staphylococcus* coagulasa-positivos pueden formar colonias con un pequeño halo o sin halo después de 24 hr de incubación. Para observar el halo es posible que se necesite una incubación adicional de otras 24 hr. En caso de tener dudas, habrá que realizar una prueba de confirmación en la colonia sospechosa.

## Limitaciones de uso

No aplicable.

## Control de calidad

- Todos los productos fabricados y comercializados por Bio-Rad están sujetos a un protocolo de garantía de calidad en todas las etapas, desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización de los productos acabados. Cada lote de producto acabado se somete a un control de calidad según la norma EN ISO 11133 y solo se comercializa si cumple los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y el control de calidad de cada lote se mantiene archivada.
- Para información de seguridad del producto SDS y del certificado de análisis, visite [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

## Apartado 7

# Protocolo

## Preparación del medio completo

1. Agitar siempre el frasco antes de usar.
2. Disolver 57 g de polvo en 1 l de agua destilada.
3. Esperar 5 minutos y mezclar hasta obtener una suspensión homogénea.

## Apartado 8 Confirmación de resultados positivos

4. Calentar ligeramente, agitando con frecuencia, y después hervir hasta que se disuelva por completo.
5. Dispensar 90 ml de medio en un frasco y después esterilizar en autoclave a  $121 \pm 1$  °C durante 15 min.
6. Enfriar el medio a 44–47 °C.
7. Añadir 5 ml de suplemento de yema de huevo y telurito de potasio. Mezclar bien.
8. No sobrecalentar el medio completamente formulado (máximo 47 °C).
9. Dispensar en placas de Petri y dejar sobre una superficie nivelada para su correcto secado .
10. Un frasco de 500 g de polvo permite obtener 8,7 l de medio.

## Preparación de las muestras

Diluir la muestra según el método normalizado aplicable al producto en cuestión.

## Inoculación y lectura de la placa

1. Extender 0,1 ml de muestra o de sus diluciones decimales en la superficie del agar. Si es necesario calcular bajas concentraciones, se debe extender 1 ml de muestra sobre tres placas de 90 mm (~0,33 ml/placa) o sobre una placa de 140 mm (consultar la norma EN ISO 7218).
2. Incubar la placa a  $37 \pm 1$  °C durante  $24 \pm 2$  hr.
3. Los supuestos *Staphylococcus* coagulasa-positivos formarán colonias negras con un halo transparente alrededor de la colonia sobre RAPID'*Staph* Agar.
4. Consultar en la norma EN ISO 7218 la inoculación, el recuento de colonias, el cálculo y la expresión de los resultados.

## Apartado 8 Confirmación de resultados positivos

Seleccione tres colonias típicas y proceda con la confirmación de una de las siguientes formas:


- Utilizando la prueba de látex Pastorex *Staph* Plus.
- Mediante cultivo por técnica de Spot en Baird-Parker + RPF Agar. En una placa se puede realizar el cultivo en Spot de hasta 12 colonias.

## Apartado 9 Confirmación de otros métodos

No aplicable.

## Apartado 10

### Aplicaciones del ensayo y validaciones

Certificación	Alcance	Protocolo de validación	Protocolo de referencia	Referencia de certificado
NordVal	Amplia gama de alimentos	EN ISO 16140-2	ISO 6888-1	 NordVal #049

## Apartado 11

### Referencias

ISO 6888-1. Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de *Staphylococcus* coagulasa-positivos (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Parte 1: Técnica que utiliza el medio agar de Baird-Parker.

## Apartado 12

### Historial de revisiones

Fecha de publicación	N.º de documento	Cambio
Noviembre 2020	10000135568 Ver A	<ul style="list-style-type: none"><li>- Nuevo diseño del documento</li><li>- Cambio en el número de documento - versión anterior RAPID'Staph_V5_julio de 2018</li></ul>

Visite [www.bio-rad.com/rapidmedia](http://www.bio-rad.com/rapidmedia) para obtener más información sobre nuestra gama completa de medios cromogénicos RAPID.

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 2 3473 4460 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Sig 0220

