

RAPID'Enterobacteriaceae / Gélose**355-4012**
356-4004**DOMAINE D'APPLICATION**

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* en 24 heures et sans confirmations, dans les produits alimentaires, humain et animal, et les échantillons de l'environnement.

NF VALIDATION par AFNOR CERTIFICATION selon le protocole EN ISO 16140

La méthode RAPID'Enterobacteriaceae est certifiée NF VALIDATION comme méthode alternative à la norme ISO 21528-2 (décembre 2004) pour le dénombrement des *Enterobacteriaceae* par comptage de colonies, selon le protocole ISO 16140, pour tous produits d'alimentation humaine et animale, et pour les échantillons d'environnement, avec lecture manuelle et automatisée.



BRD-07/24-11/13
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSES POUR
L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFNOR Certification
www.afnor-validation.org

PRINCIPE

Le principe du milieu RAPID'Enterobacteriaceae repose sur l'aptitude des *Enterobacteriaceae* à fermenter le glucose.

Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram positives et de certaines bactéries Gram négatives par la présence simultanée du cristal violet et des sels biliaires. Des indicateurs colorés permettent l'optimisation du contraste de lecture des colonies d'*Enterobacteriaceae* de couleur rouge intense.

PRESENTATION

- **Prêt à l'emploi**
200 ml x 6 flacons **code 355-4012**
- **Déshydraté**
500 g **code 356-4004**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8 °C.

- Déshydraté : + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Éléments nutritifs	17.3 g
Glucose	9.0 g
Éléments sélectifs	0.7 g
Indicateurs colorés	70 mg
Agar	11.0 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,4 ± 0,2	

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 125 ml en Pyrex
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml,....)
- Bain-marie
- Etuve ou enceinte thermostatée
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE**Toujours agiter avant chaque utilisation**

Mettre 38 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis **porter à ébullition** jusqu'à complète dissolution.

Ne pas autoclaver.

Ce milieu peut être utilisé après sa préparation. Ce milieu peut être conservé en flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec (contrôler la stérilité du milieu au moment de l'emploi).

Taux de reconstitution : 38 g/l.

500 grammes de poudre permettent de réaliser 13,15 litres de milieu.

RAPID'Enterobacteriaceae / Gélose

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement en masse

- Déposer 1 ml du produit à analyser (ou une dilution décimale) dans une boîte de Pétri stérile.
- Couler environ le milieu fondu, refroidi à 44 - 47 °C, homogénéiser et laisser solidifier.
- Si une forte contamination est suspectée, couler une seconde couche (environ 2 mm d'épaisseur) de ce milieu maintenu à 44 - 47 °C et laisser solidifier à nouveau.

• Ensemencement en surface

- Étaler 0.1 ml du produit à analyser (ou une dilution décimale) sur une boîte de RAPID'Enterobacteriaceae.

NB : S'il est nécessaire, pour certains produits, de procéder à l'estimation de petits nombres, étaler 1 ml du produit à analyser sur 3 boîtes de 90 mm (~ 0,33 ml/boîte) ou sur 1 boîte de 140 mm.

• Incubation

- Incuber à 37°C ± 1°C pendant 24 h ± 2 h.
- Alternativement une température de 30°C ou 35°C ± 1°C pendant 24 h ± 2 h peut être utilisée pour le dénombrement des Enterobacteriaceae psychrotrophes.

NB : Après incubation, les boîtes de RAPID'Enterobacteriaceae peuvent être conservées jusqu'à 72 h à 2 / 8 °C avec le protocole d'ensemencement en masse.

LECTURE ET INTERPRETATION

Après 24 heures d'incubation, dénombrer les colonies typiques d'Enterobacteriaceae.

Les Enterobacteriaceae forment des colonies rouge ayant un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm avec ou sans zone de précipitation.

La lecture peut être également réalisée à l'aide du compteur automatique de colonies interscience Scan® 1200. Pour cela, sélectionner le milieu « Rapid Entero » puis lancer le dénombrement.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Ne pas autoclaver.
- Pour le dénombrement des Enterobacteriaceae dans les matrices contenant une flore mésophile abondante, il est préférable d'utiliser le milieu en double couche.
- Dans le cadre la marque NF VALIDATION, l'ensemencement en surface par méthode spirale n'a pas été testé.

- Un biais median de 0.23 log UFC/g associé à la lecture automatisée et à l'ensemencement en surface a été observé lors de la validation de la méthode.

- Dans le cadre la marque NF VALIDATION, le compteur automatique de colonies interscience Scan® 1200 a été validé avec la version de logiciel V 6.3.7 Kernel Biorad 1.2

- Pour toutes questions concernant l'utilisation du Scan® 1200, se reporter au manuel utilisateur de l'appareil.

- Pour toute information concernant la fin de validité de la certification NF VALIDATION, consulter l'attestation BRD 07/24-11/13 disponibles auprès de votre représentant Bio-Rad ou d'AFNOR Certification.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire (EN ISO 7218).

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturelles sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24H à 37 °C		
	Fermentation du glucose	Diamètre	PR*
Productivité			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Positive. Colonies roses à rouges avec ou sans halo de précipitation.	≥ 0.5 mm	≥ 0.5
<i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i> ATCC 14028	Positive. Colonies roses à rouges avec ou sans halo de précipitation.	≥ 0.5 mm	≥ 0.5
Sélectivité			
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Pas de croissance		

*PR = Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de milieu V.R.B.G./ Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de milieu T.C.S. gélose

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

RAPID' *Enterobacteriaceae* / Gélose

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Enterobacteriaceae / Produits alimentaires / Recherche / Dénombrement / Cristal Violet / Sels biliaires / Glucose / Fermentation / Milieu.