

RAPID' Staph/Gélose

356-4704
356-3960

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour dénombrer les Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) à 37 °C **en 24h** dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale et les échantillons de l'environnement. La confirmation du RAPID' Staph s'effectue par un test latex Pastorex™ Staph Plus ou sur une gélose Baird Parker + RPF précoulée.

NF VALIDATION par AFNOR CERTIFICATION selon le protocole EN ISO 16140

La méthode RAPID' Staph est certifiée NF VALIDATION pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) pour **tous produits d'alimentation humaine et animale, et les échantillons de l'environnement**, selon le protocole ISO 16140.



BRD - 07/09- 02/05
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSES POUR
L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFNOR Certification
www.afnor-validation.com

Pour toute information concernant la fin de validité de la certification NF VALIDATION, consulter l'attestation BRD 07/09 - 02/05 disponible auprès de votre représentant BIO-RAD ou d'AFNOR Certification.

VALIDATION AOAC-RI

RAPID' Staph est validé AOAC Research Institute selon le protocole « Performance Methods Tested », sous le n° d'attestation : 80602

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 6888-1 (Octobre 1999)** : Microbiologie des aliments - 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 (IC : V08-014-1).

• **NF EN ISO 6888-3 (Mars 2003)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et d'autres espèces) - Partie : 3 Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres.

PRINCIPE

Le milieu RAPID' Staph est basé sur une formule Baird Parker optimisée pour garantir la détection et le dénombrement des *Staphylococcus aureus* en 24h. Le principe du repose sur l'aptitude des Staphylococcus aureus à réduire le tellurite (colonies noires), à entraîner la protéolyse du jaune d'oeuf (halo clair autour des colonies).

PRESENTATION

• Base

Déshydraté
500 g

code 356-4704

• Complet

Précoulé
90 mm x 20 dishes

code 356-3960

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Précoulé : + 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.
- Boîtes de Petri préparées par l'utilisateur : 5 jours maxi à + 2 - 8 °C, à l'abri de la lumière.

FORMULE THEORIQUE

Peptones	10 - 20 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Tellurite de potassium	0,1 g
Sulfaméthazine	0,05 g
Pyruvate de sodium	10 g
Jaune d'oeuf	10 ml
L-Glycine	12 g
Agar	14 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) final = 7.2 ± 0.2

RAPID' Staph/Gélose

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

- **Emulsion de jaune d'oeuf au tellurite de potassium**
5 ml x 1 ampoule **code 355-4201**
25 ml x 1 flacon **code 355-4205**
- **Pastorex™ Staph Plus**
50 tests **code 355-6356**
50 tests x 5 **code 355-6353**
- **Baird Parker +RPF**
Déshydraté (base non supplémentée)
500 g **code 356-4814**

Supplément RPF
10 flacons lyophilisés **code 356-4618**

Prêt à l'emploi
90 ml x 6 flacons de Base Baird Parker
+ 6 suppléments lyophilisés **code 357-8618**

Précoulé
90 mm x 20 **code 356-3996**

Voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 125 ml avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (0,1 ml, 1 ml,...)
- Etaleurs stériles
- Bains-marie avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 57 grammes de poudre dans un 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. Répartir 90 ml de milieu par flacon. Stériliser à l'autoclave à 121 °C (± 1 °C) pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 57 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 8,7 litres de milieu.

PREPARATION DU MILIEU COMPLET

A partir du milieu déshydraté:

- Ajouter au moment de l'emploi, à 90 ml de ce milieu de base fondu et refroidi entre 44 °C et 47 °C, les solutions suivantes :
 - 5 ml de jaune d'oeuf au tellurite de potassium
- Bien homogénéiser.
- Couler en boîtes de Pétri (épaisseur ~ 4 mm) et laisser solidifier sur une surface horizontale.

PROTOCOLE

Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

Ensemencement et incubation

- Etaler, en surface de la gélose "séchée", 0,1 ml de l'échantillon à analyser ou 0,1 ml de la suspension mère (autres produits) et/ou 0,1 ml de ses dilutions décimales.
 - Retourner les boîtes et incuber à 37 °C (± 1 °C) pendant 24 h (± 2 h).
- S'il est nécessaire, pour certains produits, de procéder à l'estimation de petits nombres, étaler 1 ml de la SM sur 3 boîtes de 90 mm (< 0,33 ml/boîte) ou sur 1 boîte de 140 mm.*

LECTURE ET INTERPRETATION

Comptage des colonies (UFC)

Après incubation, procéder au comptage des colonies caractéristiques. Les staphylocoques à coagulase positive présumés forment des colonies noires et produisent sur ce milieu opaque:

- Un halo clair autour de la colonie qui correspond à une zone de protéolyse (éclaircissement du jaune d'oeuf).
- Dans quelques rares cas, certains Staphylococcus aureus ne donnent pas de colonies caractéristiques.*

Confirmation des colonies (UFC)

A partir des boîtes, prélever 3 colonies caractéristiques et les confirmer.

- sur un Latex PASTOREX® STAPH+ (**codes 355-6356 et 355-6353**)
- ou par spot d'une colonie isolée sur une gélose Baird Parker + RPF précoulée directement à partir du RAPID' Staph. Il est possible de confirmer jusqu'à 12 colonies sur une boîte de Baird Parker + RPF précoulée (**code 356-4814, code 357-8613 et code 356-3996**)

(voir Fiches Techniques correspondantes)

Expression des résultats / Calculs

- pour le mode de calcul, se reporter à la norme NF EN ISO 7218 et à la norme spécifique.

RAPID' Staph/Gélose

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10^{-1} dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 45 minutes.
- Ne pas ajouter le jaune d'oeuf au tellurite de potassium, dans un milieu de base à une température supérieure à 47 °C.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire (EN ISO 7218).

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Aspect des colonies après 24-48H d'incubation à 37 °C	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Réduction du Tellurite	Positive Colonies noires
	Halo	Positive
	Croissance	PR* ≥ 0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Réduction du Tellurite	Positive Colonies noires
	Halo	Positive
	Croissance	PR* ≥ 0,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Réduction du Tellurite	Colonies grises à noires
	Halo	Negative
	Croissance	Faible à bonne
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Pas de croissance	

* PR = Nombre total de colonies obtenu sur 1 boîte de milieu RAPID' Staph / Nombre total de colonies obtenu sur 1 boîte 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.

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

RAPID' Staph / *Staphylococcus aureus* / Produits alimentaires / Dénombrement / Coagulase / Milieu