



Baird-Parker Agar with RPF

Catalog #	Description
3578618	Baird-Parker + RPF Agar , ready-to-use kit: 90 ml x 6 bottles, 6 bottles of supplement
3563996	Baird-Parker + RPF Agar , complete medium, 90 mm x 20 dishes
3564814	Baird-Parker Agar , dehydrated base, 500 g
3564618	RPF Supplement , 10 bottles

For laboratory use only.

Intended Use

Selective medium used with rabbit plasma fibrinogen (RPF) for direct enumeration of coagulase-positive staphylococci in products for human or animal consumption and in water.

Principle

Coagulase-positive staphylococci reduce tellurite (gray/black colonies) and transform the plasma fibrinogen to fibrin (clear halo around colonies). The complete medium (Baird-Parker plus RPF supplement) contains lithium chloride and potassium tellurite that inhibit other bacteria. Gray-black colonies surrounded by a whitish opaque halo can be presumed to be coagulase-positive staphylococci colonies.

Theoretical Composition

Baird-Parker Base Agar

Peptone mixture	10 g
Yeast extract	1 g
Meat extract	5 g
Lithium chloride	5 g
L-Glycine	12 g
Sodium pyruvate	10 g
Agar	14 g
Distilled water	1,000 ml
Final pH at 25°C = 7.2 ± 0.2	

Freeze-Dried Supplement (per bottle)

Rabbit plasma	2.5 ml
Bovine fibrinogen	0.375 g
Trypsin inhibitor	2.5 mg
Potassium tellurite	2.5 mg

Ready-to-Use Baird-Parker + RPF

Peptone mixture	10 g
Yeast extract	1 g
Meat extract	5 g
Lithium chloride	5 g
L-Glycine	12 g
Sodium pyruvate	10 g
Agar	14 g
Rabbit plasma	25 ml
Bovine fibrinogen	3.75 g
Trypsin inhibitor	25 mg
Potassium tellurite	25 mg
Distilled water	1,000 ml

Shelf Life and Storage

Store ready-to-use media at 2–8°C in a dark place until the expiration date. Store dehydrated media at 15–25°C in a carefully sealed package in a cool, dry place. Store RPF supplement at 2–8°C in a dark place. Store media prepared from dehydrated base and supplements at 2–8°C for 2 weeks in a dark place.

Required Materials Not Supplied

This list is not exhaustive.

Equipment

- All usual laboratory equipment
- Incubators or incubation room
- Scales
- Stirrer/homogenizer
- Vortexer
- Filtration apparatus
- Filter membranes ($\varnothing = 47$ mm, ≤ 0.45 μm)
- Tweezers for handling membranes

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
- Avoid excessive or prolonged heating of the medium when melting
- The medium may froth after gelling in bottles but this has no effect on quality and will disappear when mixed or shaken
- The dilutions must come into contact with culture medium within 15 min after preparation of the stock solution (or 10^{-1} dilution in the case of a solid product)
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit bio-rad.com

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.

Protocol

RPF Supplement Reconstitution

- Slowly add 10 ml of sterile distilled water preheated to 37°C to the bottle of freeze-dried supplement (preheating the water helps dissolve lyophilized reagent)
- Shake bottle until supplement is completely dissolved (use a vortexer if necessary)
- Avoid frothing and if necessary, incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ until contents are completely dissolved

Dehydrated Medium Preparation

- Add 57 g of powder to 1 L of distilled water.
- Wait 5 min and mix until a homogenous suspension is obtained.
- Heat gently, swirling frequently, then bring to a boil until completely dissolved.
- Dispense 90 ml of medium per bottle.
- Autoclave at $121 \pm 3^\circ\text{C}$ for 15 min

Reconstitution ratio: 57 g/L (500 g of powder makes 8.7 L of medium)

Note: Prepared medium can be used with or without RPF Supplement.

Complete Medium Preparation Using Dehydrated Base

- Add one bottle of reconstituted RPF Supplement to 90 ml of melted Baird-Parker base cooled to 44–47°C
- Mix thoroughly
- Pour into petri dishes (~3 mm thick) and let stand on a level surface until solid

Note: Preparation should be done immediately before use.

Complete Medium Preparation Using Ready-to-Use Medium

- Add one bottle of reconstituted RPF Supplement to 90 ml of melted Baird-Parker base cooled to 44–47°C

Note: One bottle of RPF Supplement should be used with 90 ml of Baird-Parker base supplemented with L-glycine and sodium pyruvate.

Sample Preparation for Food Products

- Prepare sample according to the standard method applicable to the product concerned
- Use sterile pipets to transfer 1 ml of sample or 1 ml of stock suspension and/or 1 ml of its decimal dilutions to sterile petri dishes
- Quickly add ~18 ml of complete medium to the dish containing sample
- Homogenize and let stand on a cool, level surface until solid
- Turn the dishes over and incubate at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24 ± 2 hr, and if necessary, an additional 24 ± 2 hr

Note: Surface inoculation can be done according to the standards for the product concerned.

Sample Preparation for Water Testing

- Filter 100 ml of water sample with a membrane and place the membrane on the surface of pre-poured dry petri dishes, avoiding air bubbles
- Incubate at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ for 44 ± 4 hr, a first reading can be performed after 21 ± 3 hr

Reading and Interpretation

- After incubation, count characteristic colonies that are gray/black with a whitish opaque halo
- Refer to EN ISO 7218 standard for inoculation, colony counting, calculation and expression of results
- It is not necessary to confirm coagulase activity, as it is the basis for the RPF agar.

References

Beckers HJ et al. (1984). Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. Can J Microbiol 30, 470–474.

ISO 6888-1:2021. 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

ISO 6888-2:2021. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium

ISO 6888-3:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 3: Detection and MPN technique for low numbers.

NF T90-412:2016. Water quality — Detection and enumeration of pathogenic staphylococci — Method by membrane filtration.

NF T90-421:2006. Bacteriological test for water in swimming pools.

NF T90-461:2016. Water quality — Microbiology — Culture media quality control.

NF V 08-057-1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Routine method for enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* by colony-count technique at 37°C — Part 1: Technique with confirmation of the colonies.

Sawhney D (1986). The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. J Appl Bacteriol 61, 149–155.

Revision History

Release date	Document number	Change
April 2021	5045 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Major change - New document design - Document number change — previous version:

		V6 – 04/08/11
--	--	---------------

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

Baird-Parker Agar with RPF

Référence	Description
3578618	Baird-Parker + RPF Agar , kit prêt à l'emploi : 90 ml x 6 flacons, 6 flacons de supplément
3563996	Baird-Parker + RPF Agar , milieu complet, 90 mm x 20 boîtes
3564814	Baird-Parker Agar , base déshydratée, 500 g
3564618	RPF Supplément , 10 flacons

Uniquement pour une utilisation en laboratoire.

Usage prévu

Milieu non sélectif utilisé avec du plasma de lapin et du fibrinogène pour le dénombrement direct des staphylocoques à coagulase positive dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale et dans les eaux.

Principe

Les staphylocoques à coagulase positive réduisent le tellurite (colonies grises/noires) et transforment le fibrinogène plasmatique en fibrine (halo clair autour des colonies). Le milieu complet (Baird-Parker plus RPF supplément) contient du chlorure de lithium et du tellurite de potassium qui inhibent les autres bactéries. Les colonies gris-noir entourées d'un halo opaque blanchâtre peuvent être présumées comme étant des colonies de staphylocoques à coagulase positive.

Formule théorique

Base gélosée Baird-Parker

Mélange de peptones	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g
Eau distillée	1 000 ml

pH final à 25 °C = 7,2 ± 0,2

Supplément lyophilisé (par flacon)

Plasma de lapin	2,5 ml
Fibrinogène bovin	0,375 g
Inhibiteur de trypsine	2,5 mg
Tellurite de potassium	2,5 mg

Baird-Parker + RPF prêt à l'emploi

Mélange de peptones	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g
Plasma de lapin	25 ml
Fibrinogène bovin	3,75 g
Inhibiteur de trypsine	25 mg
Tellurite de potassium	25 mg
Eau distillée	1 000 ml

Durée de conservation et stockage

Milieu prêt à l'emploi : 2–8 °C à l'abri de la lumière jusqu'à la date d'expiration.

Milieu déshydraté : 15–25 °C en emballage soigneusement scellé, dans un endroit froid et sec. Supplément RPF : 2–8 °C à l'abri de la lumière.

Milieu préparé avec la base déshydratée et les suppléments : 2–8 °C pendant deux semaines à l'abri de la lumière.

Matériel requis non fourni

Liste non exhaustive.

Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Incubateurs ou salle d'incubation
- Balances
- Agitateur-homogénéisateur
- Agitateur-mélangeur vortex
- Dispositif de filtration
- Membranes filtrantes ($\varnothing = 47 \text{ mm}$, $\leq 0,45 \mu\text{m}$)
- Pinces pour la manipulation des membranes

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
- Éviter de chauffer le milieu de façon excessive ou prolongée pendant la fusion
- Le milieu peut mousser après gélicification dans les flacons, mais cela n'a aucun impact sur sa qualité et disparaîtra en mélangeant ou agitant les flacons
- Les dilutions doivent entrer en contact avec le milieu de culture dans les 15 minutes suivant la préparation de la solution mère (ou dilution 10^{-1} dans le cas d'un produit solide)
- Pour obtenir les informations sur la sécurité du produit (fiche de données de sécurité, FDS) et le certificat d'analyse, visiter bio-rad.com

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.

Protocole

Reconstitution de RPF Supplément

- Ajouter lentement 10 ml d'eau distillée stérile préchauffée à 37 °C au flacon de supplément lyophilisé (préchauffer l'eau afin de dissoudre le réactif lyophilisé)
- Agiter le flacon jusqu'à dissolution complète du supplément (utiliser un agitateur-mélangeur vortex si nécessaire)
- Éviter de faire mousser et, si nécessaire, incuber à $37 \pm 1 \text{ °C}$ jusqu'à dissolution complète du contenu

Préparation du milieu déshydraté

- Ajouter 57 g de poudre dans 1 L d'eau distillée.
- Attendre 5 minutes et mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.
- Chauffer doucement en mélangeant fréquemment, puis amener à ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Distribuer 90 ml de milieu par flacon.
- Stériliser en autoclave à $121 \pm 3 \text{ °C}$ pendant 15 min

Taux de reconstitution : 57 g/L (500 g de poudre donnent 8,7 L de milieu)

Remarque : le milieu préparé peut être utilisé avec ou sans supplément RPF.

Préparation du milieu complet avec la base déshydratée

- Ajouter un flacon de supplément RPF reconstitué à 90 ml de base Baird-Parker fondue puis refroidie à 44–47 °C
- Bien mélanger
- Verser dans les boîtes de Petri (épaisseur ~3 mm) et laisser solidifier sur une surface plane

Remarque : la préparation doit être effectuée immédiatement avant utilisation.

Préparation du milieu complet avec le milieu prêt à l'emploi

- Ajouter un flacon de supplément RPF reconstitué à 90 ml de base Baird-Parker fondue puis refroidie à 44–47 °C

Remarque : un flacon de supplément RPF doit être utilisé avec 90 ml de base Baird-Parker supplémentée en L-Glycine et pyruvate de sodium.

Préparation des échantillons pour les produits alimentaires

- Préparer l'échantillon conformément à la méthode normalisée applicable au produit concerné
- Utiliser des pipettes stériles pour transférer 1 ml d'échantillon ou 1 ml de suspension mère et/ou 1 ml de ses dilutions décimales dans les boîtes de Petri stériles
- Ajouter rapidement ~18 ml de milieu complet à la boîte contenant l'échantillon
- Homogénéiser et laisser solidifier sur une surface plane et fraîche
- Retourner les boîtes et incuber à 36 ± 2 °C pendant 24 ± 2 hr et, si nécessaire, 24 ± 2 hr supplémentaires

Remarque : l'inoculation de surface peut être effectuée conformément aux normes applicables au produit concerné.

Préparation des échantillons pour l'analyse des eaux

- Filtrer 100 ml d'échantillon d'eau avec une membrane et placer la membrane sur la surface de boîtes de Petri pré-remplies, en évitant la formation de bulles d'air
- Incuber à 36 ± 2 °C pendant 44 ± 4 hr. Une première lecture peut être réalisée après 21 ± 3 hr

Lecture et interprétation

- Après incubation, compter les colonies caractéristiques de couleur grise/noire et présentant un halo opaque blanchâtre
- Consulter la norme EN ISO 7218 pour obtenir des informations sur l'inoculation, le comptage des colonies, les calculs et l'expression des résultats
- Il n'est pas nécessaire de confirmer l'activité coagulase, celle-ci étant la base de la gélose RPF.

Références

Beckers HJ et al. (1984). Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. *Can J Microbiol* 30, 470–474.

ISO 6888-1:2021. 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.

ISO 6888-2:2021. Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) — Partie 2 : Technique utilisant le milieu gélosé au plasma de lapin et au fibrinogène

ISO 6888-3:2003. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) — Partie 3 : Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres.

NF T90-412:2016. Qualité de l'eau — Dénombrement des staphylocoques pathogènes (coagulase positifs) — Méthode par filtration sur membrane.

NF T90-421:2006. Qualité de l'eau — Examens bactériologiques des eaux de piscines.

NF T90-461:2016. Qualité de l'eau — Microbiologie — Contrôle qualité des milieux de culture.

NF V 08-057-1:2004. Microbiologie des aliments — Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies obtenues à 37 °C — Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies.

Sawhney D (1986). The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. J Appl Bacteriol 61, 149–155.

Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Avril 2021	5045 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Modification importante- Nouvelle conception de document- Modification du numéro de document — version précédente : V6 – 04/08/11

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

Baird-Parker Agar with RPF

Katalog-Nr. Beschreibung

3578618	Baird-Parker + RPF Agar , gebrauchsfertiges Kit: 6 Flaschen x 90 ml Agar; 6 Flaschen Supplement
3563996	Baird-Parker + RPF Agar , gebrauchsfertige Agarplatten, 20 Agarplatten x 90 mm
3564814	Baird-Parker Agar , dehydriertes Basismedium, 500 g
3564618	RPF Supplement , 10 Flaschen

Nur für die Verwendung im Labor.

Verwendungszweck

Selektives Medium zur Verwendung mit Kaninchenplasmafibrinogen (RPF) zur direkten Zählung von Koagulase-positiven Staphylokokken in Produkten für den menschlichen oder tierischen Verzehr und in Wasser.

Prinzip

Koagulase-positive Staphylokokken reduzieren Tellurit (graue/schwarze Kolonien) und wandeln das Plasmafibrinogen in Fibrin um (transparenter Hof um die Kolonien). Das Komplettmedium (Baird-Parker plus RPF Supplement) enthält Lithiumchlorid und Kaliumtellurit, die das Wachstum anderer Bakterien hemmen. Koagulase-positive Staphylokokken-Kolonien bilden grauschwarze Kolonien, die von einem weißlichen, opaken Hof umgeben sind.

Theoretische Zusammensetzung

Baird-Parker Basisagar

Peptonmischung	10 g
Hefeextrakt	1 g
Fleischextrakt	5 g
Lithiumchlorid	5 g
L-Glycin	12 g
Natriumpyruvat	10 g
Agar	14 g
Destilliertes Wasser	1.000 ml
Finaler pH-Wert bei 25°C = 7,2 ± 0,2	

Gefriergetrocknetes Supplement (je Flasche)

Kaninchenplasma	2,5 ml
Rinderfibrinogen	0,375 g
Trypsininhibitor	2,5 mg
Kaliumtellurit	2,5 mg

Gebrauchsfertiger Baird-Parker Agar + RPF

Peptonmischung	10 g
Hefeextrakt	1 g
Fleischextrakt	5 g
Lithiumchlorid	5 g
L-Glycin	12 g
Natriumpyruvat	10 g
Agar	14 g
Kaninchenplasma	25 ml
Rinderfibrinogen	3,75 g
Trypsininhibitor	25 mg
Kaliumtellurit	25 mg
Destilliertes Wasser	1.000 ml

Haltbarkeit und Lagerung

Gebrauchsfertige Medien bis zum Ablauf des Verfallsdatums lichtgeschützt bei 2 – 8°C lagern. Dehydrierte Medien trocken und lichtgeschützt in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 15 – 25°C lagern. RPF Supplement lichtgeschützt bei 2 – 8°C lagern. Die aus dem dehydrierten Basismedium und den Supplementen hergestellten Medien können 2 Wochen lichtgeschützt bei 2 – 8°C gelagert werden.

Zusätzlich benötigtes Material

Diese Liste ist nicht vollständig.

Geräte

- Alle üblichen Laborgeräte
- Inkubatoren oder Inkubationsraum
- Waagen
- Rührer/Homogenisator
- Vortex
- Filtrationsapparat
- Filtermembranen ($\varnothing = 47 \text{ mm}$, $\leq 0,45 \mu\text{m}$)
- Pinzetten zur Handhabung von Membranen

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.
- Beim Schmelzen des Mediums zu hohe Temperaturen und längeres Erhitzen vermeiden.
- Beim Festwerden des Mediums in den Flaschen kann es zu Schaumbildung kommen. Diese hat jedoch keinen Einfluss auf die Qualität und verschwindet beim Mischen oder Schütteln.
- Die Verdünnungen müssen innerhalb von 15 min nach Herstellung der Stammlösung (oder der 10^{-1} Verdünnung im Fall eines festen Produkts) mit dem Kulturmedium gemischt werden.
- Das Sicherheitsdatenblatt (SDS) und das Analysezertifikat für das Produkt sind auf **bio-rad.com** erhältlich.

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 Unterlagen zur Produktion und Qualitätskontrolle jeder Charge werden archiviert.

Protokoll

Rekonstitution des RPF Supplements

- Langsam 10 ml steriles destilliertes Wasser, das auf 37°C vorgewärmt ist, in die Flasche mit dem gefriergetrockneten Supplement geben (durch Vorwärmen des Wassers löst sich das lyophilisierte Reagenz besser auf).
- Die Flasche schütteln, bis sich das Supplement vollständig gelöst hat (gegebenenfalls einen Vortexer verwenden).
- Schaumbildung vermeiden und gegebenenfalls bei $37 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubieren, bis sich der Inhalt vollständig gelöst hat.

Herstellung von Medium ausgehend vom dehydrierten Basismedium

- 57 g Pulver in 1 L destilliertes Wasser geben.
- Fünf Minuten warten und mischen, bis eine homogene Suspension entstanden ist.
- Unter häufigem Schwenken vorsichtig erhitzen, dann bis zum vollständigen Auflösen kochen lassen.
- 90 ml Medium in jede Flasche geben.
- In einem Autoklaven 15 Minuten bei $121 \pm 3^\circ\text{C}$ sterilisieren.

Rekonstitutionsverhältnis: 57 g/L (500 g Pulver ergeben 8,7 L Medium)

Hinweis: Das hergestellte Medium kann mit oder ohne RPF Supplement verwendet werden.

Herstellung des Kompletmediums ausgehend von der dehydrierten Basis

- Eine Flasche rekonstituiertes RPF Supplement zu 90 ml, auf 44 – 47°C abgekühlten geschmolzenen Baird-Parker Basisagar geben.
- Gründlich mischen.
- In Petrischalen gießen (~3 mm hoch) und auf einer ebenen Fläche fest werden lassen.

Hinweis: Die Herstellung sollte erst kurz vor der Verwendung erfolgen.

Herstellung des Kompletmediums ausgehend vom gebrauchsfertigen Medium

- Eine Flasche rekonstituiertes RPF Supplement zu 90 ml, auf 44 – 47°C abgekühlten geschmolzenen Baird-Parker Basisagar geben.

Hinweis: Eine Flasche RPF Supplement sollte mit 90 ml Baird-Parker Basisagar, der L-Glycin und Natriumpyruvat zugegeben worden sind, verwendet werden.

Vorbereitung von Lebensmittelproben

- Die Probe nach der für das jeweilige Produkt geltenden Standardmethode verdünnen.
- Mithilfe einer sterilen Pipette 1 ml Probe oder 1 ml SuspensionsstammLösung und/oder 1 ml ihrer Dezimalverdünnung in sterile Petrischalen überführen.
- Zügig ~18 ml Kompletmedium in die Schale mit der Probe geben.
- Homogenisieren und auf einer kühlen, ebenen Fläche fest werden lassen.
- Die Schalen umdrehen und bei 36 ± 2°C 24 ± 2 hr und bei Bedarf weitere 24 ± 2 hr inkubieren.

Hinweis: Das Beimpfen der Oberfläche kann gemäß der für das betreffende Produkt üblichen Standardvorgehensweise erfolgen.

Vorbereitung von Wasserproben

- 100 ml Wasserprobe durch eine Membran filtern und die Membran auf die Oberfläche von vorgegossenen trockenen Petrischalen legen. Darauf achten, dass sich zwischen Membran und Agar keine Luftblasen bilden.
- Bei 36 ± 2°C für 44 ± 4 hr inkubieren, eine erste Messung kann nach 21 ± 3 hr durchgeführt werden.

AbleSEN und Auswerten der Ergebnisse

- Nach der Inkubation charakteristische Kolonien (grau-schwarz mit einem weißlichen opaken Hof) zählen.
- Die Norm EN ISO 7218 enthält Informationen zum Beimpfen, Zählen von Kolonien sowie zum Berechnen und Angeben der Ergebnisse
- Eine Bestätigung der Koagulase-Aktivität ist nicht erforderlich, da ihr Vorhandensein die Grundlage für die Verwendung von RPF-Agar darstellt.

Literatur

Beckers HJ et al. (1984). Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. Can J Microbiol 30, 470–474.

ISO 6888-1:2021. 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.

ISO 6888-1:2021. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für die Zählung von Koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) — Teil 2: Verfahren mit Kaninchenplasma-/Fibrinogen-Agar.

ISO 6888-3:2003. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) — Teil 3: Nachweis und MPN-Verfahren für niedrige Keimzahlen.

NF T90-412:2016. Water quality — Detection and enumeration of pathogenic staphylococci — Method by membrane filtration.

NF T90-421:2006. Bacteriological test for water in swimming pools.

NF T90-461:2016. Water quality — Microbiology — Culture media quality control.

NF V 08-057-1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Routine method for enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* by colony-count technique at 37°C — Part 1: Technique with confirmation of the colonies.

Sawhney D (1986). The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. J Appl Bacteriol 61, 149–155.

Revisionshistorie

Freigabedatum	Dokumentnummer	Änderung
April 2021	5045 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Bedeutende Änderung- Neues Dokumentdesign- Änderung der Dokumentnummer — vorhergehende Version: V6 – 04/08/11

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

Baird-Parker Agar with RPF

N. catalogo Descrizione

3578618	Baird-Parker + RPF Agar , kit pronto per l'uso: 90 ml x 6 flaconi, 6 flaconi di supplemento
3563996	Baird-Parker + RPF Agar , terreno completo, 90 mm x 20 piastre
3564814	Baird-Parker Agar , base disidratata, 500 g
3564618	RPF Supplement , 10 flaconi

Esclusivamente per uso in laboratorio.

Uso previsto

Terreno selettivo utilizzato insieme a fibrinogeno e plasma di coniglio (RPF) per l'enumerazione diretta di stafilococchi coagulasi-positivi in prodotti per il consumo umano o animale e nell'acqua.

Principio

Gli stafilococchi coagulasi-positivi producono la riduzione del tellurito (colonie di colore grigio/nero) e trasformano il fibrinogeno plasmatico in fibrina (alone di colore chiaro attorno alle colonie). Il terreno completo (Baird-Parker plus RPF supplement) contiene cloruro di litio e tellurito di potassio che inibiscono gli altri batteri. Colonie di colore grigio/nero circondate da un alone biancastro opaco si presumono essere colonie di stafilococchi coagulasi-positivi.

Composizione teorica

Baird-Parker Base Agar

Miscela di peptone	10 g
Estratto di lievito	1 g
Estratto di carne	5 g
Cloruro di litio	5 g
L-glicina	12 g
Piruvato di sodio	10 g
Terreno di coltura agar	14 g
Acqua distillata	1000 ml
pH finale a 25°C = 7,2 ± 0,2	

Supplemento liofilizzato (per flacone)

Plasma di coniglio	2,5 ml
Fibrinogeno bovino	0,375 g
Inibitore della tripsina	2,5 mg
Tellurito di potassio	2,5 mg

Baird-Parker + RPF pronto all'uso

Miscela di peptone	10 g
Estratto di lievito	1 g
Estratto di carne	5 g
Cloruro di litio	5 g
L-glicina	12 g
Piruvato di sodio	10 g
Terreno di coltura agar	14 g
Plasma di coniglio	25 ml
Fibrinogeno bovino	3,75 g
Inibitore della tripsina	25 mg
Tellurito di potassio	25 mg
Acqua distillata	1000 ml

Durata e conservazione

Conservare i terreni pronti per l'uso a 2-8°C in un luogo buio fino alla data di scadenza. Conservare il terreno disidratato a 15-25°C in una confezione accuratamente sigillata in un luogo fresco e asciutto. Conservare il supplemento RPF a 2-8°C in un luogo buio. Conservare i terreni preparati dalla base disidratata e i supplementi a 2-8°C per 2 settimane in un luogo buio.

Materiali richiesti non in dotazione

Il presente elenco non è esaustivo.

Apparecchiatura

- Tutta la normale apparecchiatura di laboratorio
- Incubatori o camera di incubazione
- Bilance
- Agitatore/omogeneizzatore
- Vortex
- Apparecchiatura di filtrazione
- Membrane filtranti ($\varnothing = 47 \text{ mm}$, $\leq 0,45 \text{ }\mu\text{m}$)
- Pinzette per manipolazione delle membrane

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
- Evitare il riscaldamento eccessivo o prolungato del terreno durante la procedura di scioglimento
- Il terreno nel flacone può schiumare dopo la gelificazione, ma questo fenomeno non ha alcun effetto sulla qualità e scompare in seguito a miscelazione o agitazione
- Le diluizioni devono entrare in contatto con il terreno di coltura entro 15 min dalla preparazione della soluzione madre (o della diluizione 10^{-1} in caso di prodotto solido)
- Per informazioni sulla sicurezza del prodotto (schede dati di sicurezza) e il certificato di analisi, visitare bio-rad.com

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. La documentazione relativa alla produzione e al controllo di qualità di ciascun lotto è conservata a cura del fabbricante.

Protocollo

Ricostituzione del supplemento RPF

- Aggiungere lentamente 10 ml di acqua distillata sterile preriscaldata a 37°C al flacone di supplemento liofilizzato (il preriscaldamento dell'acqua agevola lo scioglimento del reagente liofilizzato)
- Agitare il flacone fino al completo scioglimento del supplemento (se necessario, utilizzare un vortex)
- Evitare la formazione di schiuma e, se necessario, incubare a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ fino al completo scioglimento del contenuto

Preparazione del terreno disidratato

- Aggiungere 57 g di polvere in 1 litro di acqua distillata.
- Attendere 5 minuti e miscelare fino ad ottenere una sospensione omogenea.
- Riscaldare lentamente, agitando frequentemente, quindi portare a ebollizione fino al completo scioglimento.
- Dispensare 90 ml di terreno per flacone.
- Autoclavare a $121 \pm 3^\circ\text{C}$ per 15 min

Rapporto di ricostituzione: 57 g/L (500 g di polvere producono 8,7 L di terreno)

Nota: il terreno preparato può essere utilizzato con o senza supplemento RPF.

Preparazione del terreno completo con la base disidratata

- Aggiungere un flacone di supplemento RPF ricostituito a 90 ml di base Baird-Parker sciolta e raffreddata a 44-47°C
- Miscelare accuratamente
- Versare in piastre di Petri (~3 mm di spessore) e lasciare riposare su una superficie piana fino alla solidificazione

Nota: la preparazione deve essere effettuata immediatamente prima dell'uso.

Preparazione del terreno completo con il terreno pronto per l'uso

- Aggiungere un flacone di supplemento RPF ricostituito a 90 ml di base Baird-Parker sciolta e raffreddata a 44-47°C

Nota: un flacone di supplemento RPF deve essere utilizzato con 90 ml di base Baird-Parker supplementata con L-glicina e piruvato di sodio.

Preparazione dei campioni per prodotti alimentari

- Preparare il campione secondo il metodo standard applicabile al prodotto in questione
- Utilizzare pipette sterili per trasferire 1 ml di campione o 1 ml di sospensione madre e/o 1 ml delle relative diluizioni decimali su piastre di Petri sterili
- Aggiungere rapidamente ~18 ml di terreno completo alla piastra contenente il campione
- Omogeneizzare e lasciare riposare su una superficie piana e fredda fino alla solidificazione
- Capovolgere le piastre e incubare a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 24 ± 2 hr e, se necessario, per ulteriori 24 ± 2 hr

Nota: l'inoculazione della superficie può essere effettuata secondo gli standard per il prodotto in questione.

Preparazione dei campioni per l'analisi dell'acqua

- Filtrare 100 ml di campione d'acqua con una membrana e collocare la membrana sulla superficie di piastre di Petri preparate e asciutte, evitando la formazione di bolle d'aria
- Incubare a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 44 ± 4 hr; una prima lettura può essere effettuata dopo 21 ± 3 hr

Letture e interpretazione

- Dopo l'incubazione, effettuare la conta delle colonie caratteristiche di colore grigio/nero con un alone biancastro opaco
- Fare riferimento alla norma EN ISO 7218 per l'inoculazione, la conta delle colonie, il calcolo e l'espressione dei risultati
- Non è necessario confermare l'attività della coagulasi, in quanto è la base dell'agar RPF.

Riferimenti

Fraser HJ et al. (1984). Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. *Europ J Appl Microbiol* 30, 470-474.

ISO 6888-1:2021. 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.

ISO 6888-2:2021. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium.

ISO 6888-3:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 3: Rilevamento e tecnica MPN per cariche basse.

NF T90-412:2016. Water quality — Detection and enumeration of pathogenic staphylococci — Method by membrane filtration.

NF T90-421:2006. Bacteriological test for water in swimming pools.

NF T90-461:2016. Water quality — Microbiology — Culture media quality control.

NF V 08-057-1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Routine method for enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* by colony-count technique at 37°C — Part 1: Technique with confirmation of the colonies.

Sawhney D (1986). The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. *J Appl Bacteriol* 61, 149–155.

Cronologia delle revisioni

Data di pubblicazione	Numero documento	Modifica
Aprile 2021	5045 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Modifica importante- Nuova struttura del documento- Modifica al numero di documento – versione precedente: V6 – 04/08/11

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

Baird-Parker Agar with RPF

Nº catálogo Descrição

3578618	Baird-Parker + RPF Agar , kit pronto para uso: 90 ml x 6 frascos, 6 frascos de suplemento
3563996	Baird-Parker + RPF Agar , meio completo, 90 mm x 20 placas
3564814	Baird-Parker Agar , base desidratada, 500 g
3564618	RPF supplement , 10 frascos

Somente para uso em laboratório.

Uso previsto

Meio seletivo usado com fibrinogênio de plasma de coelho (RPF) para enumeração direta de estafilococos coagulase-positivos em produtos para consumo humano ou animal e em água.

Princípio

Os estafilococos coagulase-positivos reduzem o telurito (colônias cinza/pretas) e transformam o fibrinogênio plasmático em fibrina (halo transparente ao redor das colônias). O meio completo (Baird-Parker plus RPF supplement) contém cloreto de lítio e telurito de potássio que inibem outras bactérias. As colônias preto-acinzentadas cercadas por um halo opaco esbranquiçado podem ser consideradas colônias de estafilococos coagulase-positivas.

Composição teórica

Agar Base Baird-Parker

Mistura de peptona	10 g
Extrato de levedura	1 g
Extrato de carne	5 g
Cloreto de lítio	5 g
L-glicina	12 g
Piruvato de sódio	10 g
Agar	14 g
Água destilada	1.000 ml
pH final a 25 °C = 7,2 ± 0,2	

Suplemento Liofilizado (por frasco)

Plasma de coelho	2,5 ml
Fibrinogênio bovino	0,375 g
Inibidor de tripsina	2,5 mg
Telurito de potássio	2,5 mg

Baird-Parker + RPF Pronto para Uso

Mistura de peptona	10 g
Extrato de levedura	1 g
Extrato de carne	5 g
Cloreto de lítio	5 g
L-glicina	12 g
Piruvato de sódio	10 g
Agar	14 g
Plasma de coelho	25 ml
Fibrinogênio bovino	3,75 g
Inibidor de tripsina	25 mg
Telurito de potássio	25 mg
Água destilada	1.000 ml

Prazo de validade e armazenamento

Armazene os meios prontos para uso a 2–8 °C em um local escuro até a data de validade. Armazene os meios desidratados a 15–25 °C em um pacote cuidadosamente selado em um local fresco e seco. Armazene o suplemento de RPF a 2–8 °C em um local escuro. Armazene os meios preparados com base desidratada e suplementos a 2–8 °C por 2 semanas em um local escuro.

Materiais necessários não fornecidos

Essa lista não é exaustiva.

Equipamento

- Todo o equipamento comum de laboratório
- Incubadoras ou sala de incubação
- Balanças
- Misturador/homogeneizador
- Agitador
- Dispositivo de filtragem
- Membranas de filtro ($\varnothing = 47$ mm, ≤ 0.45 μ m)
- Pinças para manuseio de membranas

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
- Evite o aquecimento excessivo ou prolongado do meio ao derreter
- O meio pode espumar após gelificar nos frascos, mas isso não tem efeito sobre a qualidade e irá desaparecer quando misturado ou agitado
- As diluições devem entrar em contato com o meio de cultura dentro de 15 minutos após a preparação da solução de reserva (ou diluição 10^{-1} no caso de um produto sólido)
- Para informações de segurança do produto SDS e certificado de análise, visite bio-rad.com

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.

Protocolo

Reconstituição de suplemento de RPF

- Adicione lentamente 10 ml de água destilada estéril pré-aquecida a 37 °C ao frasco de suplemento liofilizado (o pré-aquecimento da água ajuda a dissolver o reagente liofilizado)
- Agite o frasco até que o suplemento esteja completamente dissolvido (use um vortex, se necessário)
- Evite espumar e, se necessário, incube a 37 ± 1 °C até que o conteúdo esteja completamente dissolvido

Preparação do Meio Desidratado

- Adicione 57 g de pó a 1 L de água destilada.
- Aguarde 5 min e misture até obter uma suspensão homogênea.
- Aqueça delicadamente, girando com frequência, e deixe ferver até dissolver completamente.
- Dispense 90 ml de meio por frasco.
- Esterilize em autoclave a 121 ± 3 °C por 15 min

Taxa de reconstituição: 57 g/L (500 g de pó faz 8,7 L de meio)

Nota: O meio preparado pode ser usado com ou sem suplemento de RPF.

Preparação do Meio Completo Usando Base Desidratada

- Adicione um frasco de suplemento de RPF reconstituído a 90 ml de base Baird-Parker derretida resfriada a 44–47 °C
- Misture cuidadosamente
- Despeje em placas de Petri (~ 3 mm de espessura) e deixe repousar sobre uma superfície nivelada até ficar sólido

Nota: A preparação deve ser feita imediatamente antes do uso.

Preparação do Meio Completo Usando Meio Pronto para Uso

- Adicione um frasco de suplemento de RPF reconstituído a 90 ml de base Baird-Parker derretida resfriada a 44–47°C

Nota: Um frasco de suplemento de RPF deve ser usado com 90 ml de base Baird-Parker suplementado com L-glicina e piruvato de sódio.

Preparação de Amostras para Produtos Alimentares

- Prepare a amostra de acordo com o método padrão aplicável ao respectivo produto
- Use pipetas estéreis para transferir 1 ml de amostra ou 1 ml de suspensão de reserva e/ou 1 ml de suas diluições decimais para Placas de Petri estéreis
- Adicione rapidamente ~ 18 ml de meio completo à placa que contém a amostra
- Homogeneíze e deixar repousar em uma superfície fria e nivelada até que esteja sólido
- Vire as placas e incube a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 hr e, se necessário, por mais 24 ± 2 hr

Nota: A inoculação da superfície pode ser feita de acordo com os padrões do produto em questão.

Preparação de Amostra para Teste de Água

- Filtre 100 ml da amostra de água com uma membrana e coloque a membrana na superfície de placas de petri secas preparadas, evitando bolhas de ar
- Incubar a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ por 44 ± 4 hr, uma primeira leitura pode ser realizada após 21 ± 3 hr

Leitura e Interpretação

- Após a incubação, conte as colônias características que são cinza/pretas com um halo opaco esbranquiçado
- Consulte o padrão EN ISO 7218 para inoculação, contagem de colônias, cálculo e expressão dos resultados
- Não é necessário confirmar a atividade da coagulase, pois ela é a base para o ágar RPF.

Referências

Beckers HJ et al. (1984). Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. *Can J Microbiol* 30, 470–474.

ISO 6888-1:2021. 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.

ISO 6888-2:2021. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium.

ISO 6888-3:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 3: Detection and MPN technique for low numbers.

NF T90-412:2016. Water quality — Detection and enumeration of pathogenic staphylococci — Method by membrane filtration.

NF T90-421:2006. Bacteriological test for water in swimming pools.

NF T90-461:2016. Water quality — Microbiology — Culture media quality control.

NF V 08-057-1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Routine method for enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* by colony-count technique at 37°C — Part 1: Technique with confirmation of the colonies.

Sawhney D (1986). The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. *J Appl Bacteriol* 61, 149–155.

Histórico de Revisão

Data de lançamento	Número do documento	Alteração
Abril de 2021	5045 Ver A	- Alteração importante - Novo design de documento - Alteração do número do documento — versão anterior: V6 – 04/08/11

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.
2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA 94547
510-741-1000

Boletim 5045 Ver A



Baird-Parker Agar with RPF

Referencia # Descripción

3578618	Baird-Parker + RPF Agar , kit listo para usar: 90 ml x 6 frascos, 6 frascos de suplemento
3563996	Baird-Parker + RPF Agar , medio completo, 90 mm x 20 placas
3564814	Baird-Parker Agar , base deshidratada, 500 g
3564618	RPF Supplement , 10 base deshidratada

Sólo para uso en laboratorio.

Uso previsto

Medio selectivo utilizado con fibrinógeno plasmático de conejo (RPF) para el recuento directo de estafilococos coagulasa-positivos en productos para el consumo humano o animal y en el agua.

Principio

Los estafilococos coagulasa-positivos reducen el telurito (colonias grises/negras) y transforman el fibrinógeno plasmático en fibrina (halo claro alrededor de las colonias). El medio completo (Baird-Parker plus RPF supplement) contiene cloruro de litio y telurito de potasio que inhiben otras bacterias. Las colonias de color negro grisáceo rodeadas de un halo opaco blanquecino se pueden interpretar como colonias de estafilococos coagulasa-positivos.

Composición teórica

Baird-Parker Base Agar

Mezcla de peptona	10 g
Extracto de levadura	1 g
Extracto de carne	5 g
Cloruro de litio	5 g
L-glicina	12 g
Piruvato de sodio	10 g
Agar	14 g
Agua destilada	1.000 ml
pH final a 25 °C = 7,2 ± 0,2	

Suplemento liofilizado (por frasco)

Plasma de conejo	2,5 ml
Fibrinógeno bovino	0,375 g
Inhibidor de la tripsina	2,5 mg
Telurito de potasio 2,5 mg	

Mezcla de peptona	10 g
Extracto de levadura	1 g
Extracto de carne	5 g
Cloruro de litio	5 g
L-glicina	12 g
Baird-Parker + RPF listo para usar	
Agar	14 g
Plasma de conejo	25 ml
Fibrinógeno bovino	3.75 g
Inhibidor de la tripsina	25 mg
Telurito de potasio	25 mg
Agua destilada	1.000 ml

Vida útil y almacenamiento

Almacenar los medios listos para usar a 2-8 °C en un lugar oscuro hasta la fecha de caducidad. Almacenar el medio deshidratado a 15-25 °C en un envase cuidadosamente sellado y en un lugar fresco y seco. Almacenar el suplemento RPF a 2-8 °C en un lugar oscuro. Almacenar los medios preparados con la base deshidratada y los suplementos a 2-8 °C durante 2 semanas en un lugar oscuro.

Materiales necesarios, pero no suministrados

Esta lista no es exhaustiva.

Equipos

- Todo el equipo habitual del laboratorio
- Incubadoras o sala de incubación
- Balanzas
- Agitador/homogeneizador
- Vórtex
- Equipo de filtración
- Membranas de filtración ($\varnothing = 47$ mm, $\leq 0,45$ μ m)
- Pinzas para manipular las membranas

Precauciones

- Deben respetarse las buenas prácticas de laboratorio (EN ISO 7218). Usar 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
- Evitar el calentamiento excesivo o prolongado del medio cuando se funde
- El medio puede formar espuma después de la gelificación en los frascos, esto no afecta a la calidad y desaparecerá al mezclarlo o agitarlo
- Las diluciones deben entrar en contacto con el medio de cultivo en los 15 min siguientes a la preparación de la solución madre (o dilución 10–1 en el caso de un producto sólido)
- Visite bio-rad.com para obtener información de seguridad del producto (SDS) y certificados de análisis

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 terminados. Cada lote de producto terminado se somete a un control de calidad según la norma EN ISO 11133 y sólo se comercializa si cumple los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y al control de calidad de cada lote se mantiene archivada.

Protocolo

Reconstitución del suplemento RPF

- Añadir lentamente 10 ml de agua destilada estéril precalentada a 37 °C al frasco de suplemento liofilizado (el precalentamiento del agua ayuda a disolver el reactivo liofilizado)
- Agitar el frasco hasta que el suplemento esté completamente disuelto (si es necesario, utilizar un vórtex)
- Evitar la formación de espuma y, si es necesario, incubar a 37 ± 1 °C hasta que el contenido esté completamente disuelto

Preparación de medio deshidratado

- Añadir 57 g de polvo a 1L de agua destilada.
- Esperar 5 minutos y mezclar hasta obtener una suspensión homogénea.
- Calentar suavemente, agitando frecuentemente, y a continuación llevar a ebullición hasta que se disuelva por completo.
- Dispensar 90 ml de medio por frasco.
- Esterilizar en autoclave a 121 ± 3 °C durante 15 min

Proporción de reconstitución: 57 g/L (500g de polvo permite obtener 8,7 L de medio)

Nota: El medio preparado puede utilizarse con o sin suplemento RPF.

Completar la preparación del medio utilizando la base deshidratada

- Añadir un frasco de suplemento RPF reconstituido a 90 ml de base Baird-Parker fundida y enfriada a 44-47 °C
- Mezclar completamente

- Verter en placas de Petri (~3 mm de grosor) y dejar reposar en una superficie plana hasta que se solidifique

Nota: La preparación debe realizarse inmediatamente antes de su uso.

Completar la preparación del medio utilizando el medio listo para usar

- Añadir un frasco de suplemento RPF reconstituido a 90 ml de base Baird-Parker fundida y enfriada a 44-47 °C

Nota: Un frasco de suplemento RPF debe utilizarse con 90 ml de base Baird-Parker suplementada con L-glicina y piruvato sódico.

Preparación de la muestra para productos alimenticios

- Preparar la muestra según el método normalizado aplicable al producto en cuestión
- Utilizando pipetas estériles, transferir 1ml de muestra o 1 ml de suspensión madre y/o 1 ml de sus diluciones decimales a placas de Petri estériles
- Añadir rápidamente ~18 ml de medio completo a la placa que contiene la muestra
- Homogeneizar y dejar reposar en una superficie fría y plana hasta que se solidifique
- Dar la vuelta a las placas e incubar a $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 hr y, en caso necesario, otras 24 ± 2 hr más

Nota: La inoculación de la superficie puede hacerse conforme al estándar del producto en cuestión.

Preparación de la muestra para el análisis de agua

- Filtrar 100 ml de muestra de agua con una membrana y colocar la membrana en la superficie de placas de Petri secas previamente vertidas, evitando que se formen burbujas de aire
- Incubar a $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 44 ± 4 hr, pudiéndose realizar una primera lectura después de 21 ± 3 hr

Lectura e interpretación

- Tras la incubación, contabilizar las colonias características de color gris/negro con un halo opaco blanquecino
- Consultar en la norma EN ISO 7218 la inoculación, el recuento de colonias, el cálculo y la expresión de los resultados
- No es necesario confirmar la actividad de la coagulasa, ya que es la base del agar RPF

Referencias

Beckers HJ et al. (1984). Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma-bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. *Can J Microbiol* 30, 470–474.

ISO 6888-1:2021. 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

ISO 6888-2:2021. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium

ISO 6888-3:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 3: Detection and MPN technique for low numbers.

NF T90-412:2016. Water quality — Detection and enumeration of pathogenic staphylococci — Method by membrane filtration.

NF T90-421:2006. Bacteriological test for water in swimming pools.

NF T90-461:2016. Water quality — Microbiology — Culture media quality control.

NF V 08-057-1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Routine method for enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* by colony-count technique at 37°C — Part 1: Technique with confirmation of the colonies.

Sawhney D (1986). The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. *J Appl Bacteriol* 61, 149–155.

Historial de revisiones

Fecha de publicación	N.º de documento	Cambio
----------------------	------------------	--------

Abril de 2021	5045 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Cambio significativo- Nuevo diseño del documento- Cambio en el número de documento - versión anterior:
---------------	------------	--

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