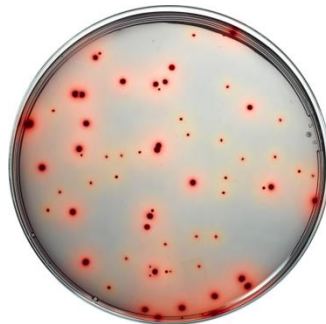

RAPID'*Enterobacteriaceae* Agar

User Guide

Chromogenic media for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*, without confirmation, in 24 hr in human food, feed, and environmental samples

Catalog #3554012, Ready-to-use, 200 ml x 6 bottles
Catalog #3564004, Dehydrated, 500 g



BIO-RAD

Table of Contents

Section 1	Introduction	1
Section 2	RAPID' <i>Enterobacteriaceae</i> Principle.....	1
Section 3	Theoretical Formula.....	1
Section 4	Shelf Life and Storage.....	1
Section 5	Materials Required but Not Supplied	2
	Equipment	2
	Supplies	2
Section 6	Precautions, Limitations of Use, and Quality Control	2
Section 7	Protocol	3
	Preparation of Dehydrated 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 Validations.....	5
Section 11	References	5
Section 12	Revision History	5

Section 1 Introduction

Indicator microorganisms are used as a sign of quality or hygienic status in food, feed, water, and environmental samples. These microorganisms can signify the presence of pathogens and highlight issues with sanitation or production processes. Different indicators may be used for different applications, according to context and goals. *Enterobacteriaceae* is a large family of rod-shaped gram-negative bacteria. Some are commensal; some, such as *Salmonella*, *Cronobacter*, and some *Escherichia coli* strains are pathogenic. Quantification of *Enterobacteriaceae* is often used for hygiene and quality monitoring in food matrices and environmental samples.

Section 2 RAPID'*Enterobacteriaceae* Principle

The principle of the RAPID'*Enterobacteriaceae* medium relies on the ability of *Enterobacteriaceae* to ferment glucose. Due to the simultaneous presence of crystal violet and bile salts, the medium inhibits gram-positive bacteria and some gram-negative bacteria. The combination of color indicators allows a high level of contrast of *Enterobacteriaceae* colonies which appear red on a clear gray medium.

Section 3 Theoretical Formula

Nutritive mix	17.3 g
Glucose	9.0 g
Selective agents	0.7 g
Color indicators	0.07 g
Agar	11 g
Distilled water	qsp 1,000 ml

Final pH at 25°C = 7.4 ± 0.2

Section 4 Shelf Life and Storage

- Dehydrated: 15–25°C in carefully sealed package, in a dry and dark place
- Bottles: 2–8°C in a dark place
- Plate prepared from the dehydrated agar: 2 weeks 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

- Diluent for enumeration: Buffered Peptone Water (BPW) (catalog #3554179, 225 ml x 6 bottles; 3564684, dehydrated, 500 g; 3555790, 2 x 5 L bags; 3555795, 4 x 3 L 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)
- Inoculating loops
- Sterile petri dishes (90 mm)
- Sterile pipets
- 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 such as *Enterobacteriaceae*
- 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
- Do not autoclave the medium

Section 7 Protocol

- It is preferable to use a double-layered medium in matrices containing abundant mesophilic flora. The aim of the second layer is to limit invasion of the surface, which can interfere with reading

Limitations of Use

- In the context of the NF VALIDATION mark, a spiral plate system was not been tested
- In the context of the NF VALIDATION mark, Scan 1200 instrument with software version "V 6.3.7 kernel Biorad 1.2" was tested. Refer to the instrument user manual for any questions regarding the use of the colony counter. A median bias of 0.23 log CFU/g was observed during the validation study using the surface inoculation method with the automatic colony counter

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.

Section 7 Protocol

Preparation of Dehydrated Medium

1. Always shake bottle before use.
2. Dissolve 38 g of powder in 1 L of distilled water and mix until a homogenous suspension is obtained.
3. Heat gently, agitating frequently, then bring to a boil.
4. Do not autoclave.
5. Cool the medium to 44–47°C before use.
6. This medium can be used directly after preparation or dispensed in bottles that are sealed and stored in a dry cool place. Sterility of the medium should be checked before use.
7. One 500 g bottle of powder makes 13.5 L of medium.

Sample Preparation

Dilute sample according to the standard method applicable to the product concerned. In the context of the NF Validation certified method, prepare the initial suspension and subsequent dilutions in accordance with the ISO 6887 standard series.

Inoculation and Plate Reading

1. **Pour plate method:** Pour 1 ml of sample and/or its decimal dilutions in single layer in an empty petri dish. Pour the melted medium, cooled to 44–47 °C, onto the sample and homogenize by swirling. A second layer can be poured (approximately 2 mm thick) in case of high level of contamination.
2. **Surface inoculation method:** Spread 0.1 ml of sample and/or its decimal dilutions on a petri dish. If it is necessary to estimate small numbers, spread 1 ml of sample over three dishes of Ø 90 mm (~ 0.33 ml/dish) or over one dish of 140 mm.
3. Incubate plates at 37 ± 1°C for 24 ± 2 hr. Alternatively, a temperature of 30 or 35°C can be used when enumerating specific *Enterobacteriaceae* (e.g., psychrotrophic *Enterobacteriaceae*).
4. *Enterobacteriaceae* form red colonies with a diameter equal to or exceeding 0.5 mm, with or without a zone of precipitation.
5. **Pour plate method:** The reading step can be also performed with the Scan 1200 Automatic Colony Counter with the pour plate inoculation protocol. Select "Rapid Entero" and follow the instructions in order to enumerate the colonies.
6. Refer to ISO 7218 standard for inoculation, colony counting, calculation and expression of results. Enumeration using a single plate and a single dilution is an option certified under NF Validation by AFNOR Certification. In this context, the requirements of ISO 7218 concerning the use of two successive dilutions or two plates from the same dilution cannot be applied (see the sections "Inoculation" and "Calculations and Expression of Results").
7. **Pour plate method:** In the context of the NF Validation certified method, after the incubation step, plates can be stored at 2–8°C for 72 hr prior to colony counting step.
8. **Surface inoculation method:** After the incubation step, plates can be stored at 2–8°C for 48 hr according to ISO 7218


Section 8 Confirmation of Positive Results

Not applicable.

Section 9 Confirmation of Other Methods

Not applicable.

Section 10 Test Performance and Validations

Certification	Scope	Validation Protocol	Reference Protocol	Certificate Reference
NF VALIDATION	All human food, feed, and environmental samples	EN ISO 16140-2	ISO 21528-2	 <p>BRD 07/24-11/13 ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS Certified by AFNOR Certification http://nf-validation.afnor.org/en Refer to the certificate available on the website mentioned above for the end of validity.</p>

Section 11 References

ISO 6887-1:2017 /AMD1: 2024. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

ISO 7218:2024. Microbiology of the food chain – General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: Colony-count technique

Section 12 Revision History

Release date	Document number	Change
June 2025	10000251395 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Document number change (previous version 10000127900 Ver B) - Extension of NF Validation for simple plate and single dilution protocol - Update of bibliographic references

Visit www.bio-rad.com/rapidmedia for more information on our complete range of RAPID 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

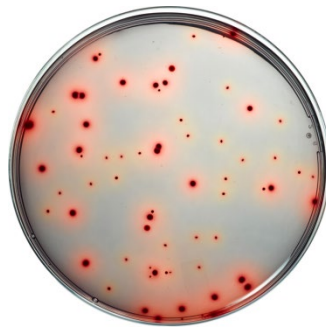
Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23
Brazil 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23
Finland 00 800 00 24 67 23 **France** 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 82 080 007 7373 **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

RAPID'*Enterobacteriaceae* Agar

Guide d'utilisation

Milieu chromogène pour la détection et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*, en 24 hr sans confirmation, dans les échantillons environnementaux et les échantillons d'aliments destinés à la consommation humaine ou animale

N° de référence 3554012, prêt à l'emploi, 200 ml x 6 flacons
N° de référence 3564004, base déshydratée, 500 g



BIO-RAD

Sommaire

Section 1	Introduction.....	1
Section 2	RAPID' <i>Enterobacteriaceae</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	2
Section 7	Protocole.....	3
	Préparation du milieu de culture déshydraté.....	3
	Préparation des échantillons.....	3
	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 micro-organismes indicateurs sont utilisés comme signes de qualité ou d'hygiène dans les échantillons environnementaux, les échantillons d'aliments destinés à la consommation humaine ou animale et les échantillons d'eau. Ils peuvent signaler la présence d'agents pathogènes et mettre en lumière des défaillances des processus d'hygiène et de fabrication. Il est possible d'utiliser différents indicateurs pour différentes applications, en fonction du contexte et des objectifs. Les *Enterobacteriaceae* constitue une grande famille de bacilles à Gram négatif. Certains sont commensaux, d'autres tels que *Salmonella*, *Cronobacter* et certaines souches *Escherichia coli* sont pathogènes. La quantification des *Enterobacteriaceae* est souvent utilisée pour la surveillance de l'hygiène et de la qualité des matrices alimentaires et des échantillons environnementaux.

Section 2 RAPID'*Enterobacteriaceae* - Principe

Le principe du milieu RAPID'*Enterobacteriaceae* repose sur la capacité des *Enterobacteriaceae* à faire fermenter le glucose. En raison de la présence simultanée de violet cristallisé et de sels biliaires, le milieu inhibe les bactéries à Gram positif et certaines bactéries à Gram négatif. La combinaison d'indicateurs colorés permet un niveau de contraste élevé, les colonies d'*Enterobacteriaceae* apparaissant en rouge sur un milieu gris clair.

Section 3 Formule théorique

Mélange nutritif	17,3 g
Glucose	9,0 g
Agents sélectifs	0,7 g
Indicateurs colorés	0,07 g
Agar	11 g
Eau distillée	q.s.p. 1 000 ml

pH final à 25 °C = 7,4 ± 0,2

Section 4 Durée de conservation et stockage

- Base déshydratée : 15–25 °C en emballage soigneusement scellé, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière
- Flacons : 2–8 °C à l'abri de la lumière
- Boîte préparée à partir de la gélose base déshydratée : 2 semaines 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 thermostatée, précision ± 1 °C
- Bain-marie

Produits

- Diluant pour le dénombrement : Buffered Peptone Water (BPW) (n° de référence 3554179, 225 ml x 6 flacons ; n° de référence 3564684, base déshydratée, 500 g ; n° de référence 3555790, 2 x 5 L poches ; n° de référence 3555795, 4 x 3 L poches) ; tryptone-sel (n° de référence 3555754, 9 ml x 25 tubes ; n° de référence 3555756, 90 ml x 6 flacons ; n° de référence 3564544, base déshydratée, 500 g ; n° de référence 3555796, 3 L x 4 sachets)
- Öse d'inoculation
- Boîtes de Petri stériles (\varnothing 90 mm)
- Pipettes 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 telles que les *Enterobacteriaceae*.
- 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.
- Ne pas soumettre le milieu à l'autoclave.
- Il est préférable d'utiliser un milieu à deux couches dans les matrices qui contiennent une abondante flore mésophile. La deuxième couche permet de limiter l'invasion de la surface, laquelle peut perturber la lecture.

Limites d'utilisation

- Dans le contexte de la marque NF VALIDATION, le système d'ensemencement en spirale n'a pas été testé
- Dans le contexte de la marque NF VALIDATION, la version logicielle « V 6.3.7 kernel Biorad 1.2 » du Scan 1200 a été utilisée. Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument pour toute question concernant l'utilisation du compteur de colonies. Un biais médian de 0,23 log UFC/g a été observé lors de l'étude de validation effectuée à l'aide de la méthode d'inoculation de surface avec le compteur automatique de colonies.

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

Section 7 Protocole

Préparation du milieu de culture déshydraté

1. Toujours agiter le flacon avant utilisation.
2. Dissoudre 38 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et mélanger jusqu'à obtenir une suspension homogène.
3. Chauffer doucement en mélangeant fréquemment, puis amener à ébullition.
4. Ne pas soumettre à l'autoclave.
5. Faire refroidir le milieu de culture à 44–47 °C avant utilisation.
6. Ce milieu peut être utilisé directement après la préparation, ou mis en flacon fermé et stocké dans un endroit sec et frais. Vérifier la stérilité du milieu avant de l'utiliser.
7. 500 g de poudre permettent de reconstituer 13,5 L de milieu.

Préparation des échantillons

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

Dans le contexte de la méthode certifiée NF Validation, préparer la suspension mère et les dilutions suivantes conformément à la série de normes ISO 6887.

Inoculation et lecture

1. **Méthode du milieu coulé** : Verser 1 ml de l'échantillon et/ou de ses dilutions décimales en une couche unique dans une boîte de Petri vide. Verser le milieu fondu, refroidi à 44–47 °C, sur l'échantillon et homogénéiser en mélangeant. Une deuxième couche peut être versée (approximativement 2 mm d'épaisseur) en cas de degré élevé de contamination.
2. **Méthode d'inoculation de surface** : Étaler 0,1 ml de l'échantillon et/ou de ses dilutions décimales sur une boîte de Petri. 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 référer à la norme EN ISO 7218).
3. Incuber les boîtes à 37 ± 1 °C pendant 24 ± 2 hr. Une température de 30 °C ou 35 °C peut également être choisie lorsque le dénombrement est effectué pour des *Enterobacteriaceae* spécifiques (par ex. *Enterobacteriaceae* psychrotrophes).
4. Les *Enterobacteriaceae* forment des colonies rouges avec un diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm, avec ou sans zone de précipitation.
5. **Méthode du milieu coulé** : L'étape de lecture peut également être effectuée à l'aide du Scan 1200 (compteur automatique de colonies), avec le protocole d'ensemencement du milieu coulé. Sélectionner « Rapid Entero » et suivre les instructions afin de dénombrer les colonies.
6. Consulter la norme ISO 7218 pour obtenir des informations sur l'ensemencement, le comptage des colonies, les calculs et l'expression des résultats. Le dénombrement à l'aide d'une seule boîte et d'une seule dilution est une option certifiée NF Validation par AFNOR Certification. Dans ce contexte, il n'est pas possible d'appliquer les exigences de la norme ISO 7218 en ce qui concerne l'utilisation de deux dilutions successives ou de deux boîtes issues de la même dilution (voir les sections « Ensemencement » et « Calculs et expression des résultats »).
7. **Méthode du milieu coulé** : Dans le contexte de la méthode certifiée NF Validation, après l'étape d'incubation, il est possible de stocker les boîtes à 2–8 °C pendant 72 hr avant l'étape de comptage des colonies.
8. **Méthode d'inoculation de surface** : Après l'étape d'incubation, il est possible de stocker les boîtes à 2–8 °C pendant 48 hr, conformément à la norme ISO 7218.


Section 8 Confirmation des résultats positifs

Sans objet.

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
NF VALIDATION	Tous les échantillons environnementaux et les échantillons d'aliments destinés à la consommation humaine ou animale	EN ISO 16140-2	ISO 21528-2	 <p>BRD : 07/24-11/13 MÉTHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE Certifié par AFNOR Certification https://nf-validation.afnor.org/ Se reporter au certificat disponible sur le site Web mentionné ci-dessus pour connaître la fin de validité.</p>

Section 11 Références

ISO 6887-1:2017/AMD1: 2024. Microbiologie de la chaîne alimentaire – Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique – Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

ISO 7218:2024. Microbiologie de la chaîne alimentaire – Exigences générales et recommandations pour les examens microbiologiques

ISO 21528-2:2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* – Partie 2 : Technique par comptage des colonies.

Section 12 Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Juin 2025	10000251395 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Modification du numéro de document (version précédente 10000127900 Ver B) - Extension de NF Validation au protocole à une seule boîte et une seule dilution - Mise à jour des références bibliographiques

Visitez 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 **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 82 080 007 7373 **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

RAPID'*Enterobacteriaceae* Agar

Anwenderhandbuch

Chromogenes Medium zum Nachweis und zur Zählung von *Enterobacteriaceae* ohne erforderliche Bestätigung in Lebensmittel-, Futtermittel- und Umgebungsproben innerhalb von 24 hr

Katalog-Nr. 3554012, Gebrauchsfertig, 6 Flaschen x 200 ml
Katalog-Nr. 3564004, Dehydriert, 500 g



BIO-RAD

Inhaltsverzeichnis

Abschnitt 1	Einleitung	1
Abschnitt 2	RAPID' <i>Enterobacteriaceae</i> Testprinzip.....	1
Abschnitt 3	Theoretische Zusammensetzung	1
Abschnitt 4	Haltbarkeit und Lagerung	1
Abschnitt 5	Zusätzlich benötigte Materialien	2
	Geräte.....	2
	Zubehör	2
Abschnitt 6	Vorsichtsmaßnahmen, Anwendungsbeschränkungen und Qualitätskontrolle	2
Abschnitt 7	Protokoll	3
	Vorbereitung des dehydrierten Mediums	3
	Probenvorbereitung	3
	Beimpfung und Auswertung der Platten	4
Abschnitt 8	Bestätigung positiver Ergebnisse	4
Abschnitt 9	Bestätigung anderer Methoden	4
Abschnitt 10	Testleistung und Testvalidierung.....	5
Abschnitt 11	Literatur	5
Abschnitt 12	Revisionshistorie	5

Abschnitt 1 Einleitung

Mikrobielle Indikator-Organismen in Lebensmittel-, Futtermittel-, Wasser- und Umgebungsproben zeigen den Qualitäts- oder Hygienestatus an. Diese Mikroorganismen können auf Vorhandensein von Keimen und auf Probleme mit der Hygiene oder mit Herstellungsverfahren aufmerksam machen. Je nach Kontext und Zielsetzung werden für verschiedene Anwendungen eventuell unterschiedliche Indikator-Organismen verwendet. *Enterobacteriaceae* sind eine große Familie von stäbchenförmigen gramnegativen Bakterien. Manche davon leben symbiotisch, andere, wie beispielsweise *Salmonella*, *Cronobacter* und einige *Escherichia coli*-Stämme, sind pathogen. Die Zählung von *Enterobacteriaceae* dient häufig der Überwachung der Hygiene und Qualität in der Lebensmittelbranche und in Proben aus der Umwelt.

Abschnitt 2 RAPID'*Enterobacteriaceae* Testprinzip

Das Testprinzip von RAPID'*Enterobacteriaceae* beruht auf der Fähigkeit von *Enterobacteriaceae* zur Fermentierung von Glukose. Das gleichzeitigen Vorhandenseins von Kristallviolett und Gallensalzen hemmt das Medium grampositiver Bakterien und einiger gramnegativer Bakterien. Die Kombination von Farbindikatoren ermöglicht einen hohen Kontrast von *Enterobacteriaceae*-Kolonien, die auf einem klaren grauen Medium rot erscheinen.

Abschnitt 3 Theoretische Zusammensetzung

Nährstoffmischung	17,3 g
Glukose	9,0 g
Selektive Agenzien	0,7 g
Farbindikatoren	0,07 g
Agar	11 g
Destilliertes Wasser	qsp 1.000 ml

Finaler pH-Wert bei 25°C = 7,4 ± 0,2

Abschnitt 4 Haltbarkeit und Lagerung

- Dehydriert: Trocken und lichtgeschützt in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 15–25°C.
- Flaschen: Lichtgeschützt bei 2–8°C
- Aus dehydriertem Medium hergestellte Agarplatte: 2 Wochen bei trockener und lichtgeschützter Lagerung in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 2–8°C.

Abschnitt 5

Zusätzlich benötigte Materialien

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

- Verdünnungsmittel zum Zählen: Gepuffertes Peptonwasser (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)
- Impfösen
- Sterile Petrischalen (\varnothing 90 mm)
- Sterile Pipetten
- Sterile Wägebeutel

Abschnitt 6

Vorsichtsmaßnahmen, Anwendungsbeschränkungen und Qualitätskontrolle

Vorsichtsmaßnahmen

- Es sind die Richtlinien der guten Laborpraxis einzuhalten (EN ISO 7218). Bei der Arbeit mit potenziell infektiösen, lebenden Bakterien wie *Enterobacteriaceae* 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.
- Das Medium nicht autoklavieren.
- Für Matrizes, die reich an mesophiler Flora sind, sollte vorzugsweise ein zweischichtiges Medium verwendet werden. Die zweite Schicht dient dazu, das Eindringen in die Oberfläche zu begrenzen, was das Ablesen stören könnte.

Anwendungsbeschränkungen

- Im Rahmen der NF VALIDATION-Zertifizierung wurde kein Spiralplattensystem getestet.
- Im Rahmen der NF VALIDATION-Zertifizierung wurde das Scan 1200-Instrument mit der Softwareversion „V 6.3.7 Kernel Bio-Rad 1.2“ getestet. Informationen zur Verwendung des Kolonienzählers sind der Bedienungsanleitung des Geräts zu entnehmen. Während der Validierungsstudie ergab sich unter Verwendung der Oberflächeninokulationsmethode mit dem automatischen Koloniezähler eine mittlere Abweichung von 0,23 Log KBE/g.

Qualitätskontrolle

- Jedes von der Firma Bio-Rad hergestellte und verkaufte Produkt unterliegt einer umfassenden Qualitätssicherung, d. h. vom Rohstoffeingang bis zur Vermarktung der Fertigprodukte. 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.
- Das Sicherheitsdatenblatt und das Analysezertifikat für das Produkt sind im Internet auf www.bio-rad.com erhältlich.

Abschnitt 7 Protokoll

Vorbereitung des dehydrierten Mediums

1. Den Behälter vor jedem Gebrauch schütteln.
2. 38 g Pulver werden in 1 L destilliertem Wasser gelöst und zu einer homogenen Suspension gemischt.
3. Unter ständigem Rühren vorsichtig erhitzen und zum Kochen bringen.
4. Nicht autoklavieren.
5. Das Medium vor der Verwendung auf 44–47°C abkühlen lassen.
6. Dieses Medium kann direkt nach der Zubereitung verwendet oder in Behälter abgefüllt werden, die verschlossen und an einem trockenen, kühlen Ort gelagert werden. Vor dem Gebrauch sollte die Sterilität des Mediums überprüft werden.
7. 500 g Pulver ergeben 13,5 L Medium.

Probenvorbereitung

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

Im Rahmen der von NF Validation zertifizierten Methode die Erstverdünnung und Nachfolgeverdünnungen unter Einhaltung der ISO 6887 Standardreihen vorbereiten.

Beimpfung und Auswertung der Platten

1. **Plattengussverfahren:** 1 ml Probe und/oder ihrer Dezimalverdünnungen in einer Schicht in eine leere Petrischale gießen. Das geschmolzene auf 44–47°C abgekühlte Medium auf die Probe gießen und durch Schwenken homogenisieren. Bei einer hochgradigen Kontamination kann eine zweite Schicht eingegossen werden (ca. 2 mm dick).
2. **Oberflächenverfahren:** 0,1 ml Probe und/oder ihrer Dezimalverdünnungen auf einer Agarplatte ausstreichen. Wenn die zu schätzende Keimzahl gering ist, 1 ml Probe auf drei Agarplatten mit 90 mm Durchmesser (~ 0,33 ml/Agarplatte) oder in einer Agarplatte mit 140 mm Durchmesser verteilen (siehe Norm EN ISO 7218).
3. Die Platten bei $37 \pm 1^\circ\text{C}$ für 24 ± 2 hr inkubieren. Alternativ kann eine Temperatur von 30°C oder 35°C verwendet werden, wenn spezifische *Enterobacteriaceae* (z. B. psychotrophe *Enterobacteriaceae*) gezählt werden.
4. *Enterobacteriaceae* bilden rote Kolonien mit einem Durchmesser von 0,5 mm oder mehr mit oder ohne Präzipitationszone.
5. **Plattengussmethode:** Das Ablesen kann beim Plattenguss-Inokulationsprotokoll mit dem Scan 1200 Automatic Colony Counter (automatischer Kolonienzähler) erfolgen. „Rapid Entero“ auswählen und den Anweisungen zur Zählung der Kolonien folgen.
6. Informationen zur Inokulation, Koloniezählung, Berechnung und Darstellung der Ergebnisse sind in der Norm ISO 7218 enthalten. Die Zählung unter Verwendung einer einzelnen Platte und einer einzelnen Verdünnung ist eine nach NF Validation durch die AFNOR-Zertifizierungsstelle zertifizierte Option. In diesem Zusammenhang können die Anforderungen der ISO 7218 bezüglich der Verwendung von zwei Nachfolgeverdünnungen bzw. zwei Platten aus der gleichen Verdünnung nicht angewendet werden (siehe Abschnitte „Inokulation“ und „Berechnung und Darstellung der Ergebnisse“).
7. **Plattengussmethode:** Im Rahmen der von NF Validation zertifizierten Methode können vor der Zählung der Kolonien die Platten nach der Inkubation für 72 hr bei 2–8°C gelagert werden.
8. **Oberflächeninokulationsmethode:** Gemäß ISO 7218 können die Platten nach der Inkubation für 48 hr bei 2–8°C gelagert werden.

Abschnitt 8

Bestätigung positiver Ergebnisse


Nicht zutreffend

Abschnitt 9

Bestätigung anderer Methoden

Nicht zutreffend

Abschnitt 10 Testleistung und Testvalidierung

Zertifizierungsstelle	Umfang	Validierungsprotokoll	Referenzprotokoll	Zertifikat-Referenz
NF VALIDATION	Alle Lebensmittel-, Futtermittel- und Umgebungsproben	EN ISO 16140-2	ISO 21528-2	 <p>BRD 07/24-11/13 ALTERNATIVE ANALYSE- METHODEN FÜR DAS AGRIBUSINESS Zertifiziert durch die AFNOR- Zertifizierungsstelle http://nf-validation.afnor.org/en Das Gültigkeitsende entnehmen Sie bitte dem Zertifikat, das auf der oben genannten Website verfügbar ist</p>

Abschnitt 11 Literatur

ISO 6887-1:2017 /AMD1: 2024. Mikrobiologie der Lebensmittelkette – Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen – Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen

ISO 7218:2024. Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen

ISO 21528-2:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Enterobacteriaceae* — Teil 2: Koloniezählverfahren

Abschnitt 12 Revisionshistorie

Versionsdatum	Dokumentnummer	Änderung
Juni 2025	10000251395 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Änderung der Dokumentnummer (vorhergehende Version 10000127900 Ver B) - Erweiterung der NF-Validierung für das Protokoll für eine einzelne Platte und einzelne Verdünnung - Aktualisierung der Literaturangaben

Weitere Informationen über unser vollständiges Angebot an chromogenen RAPID Medien finden Sie bei uns im Internet auf www.bio-rad.com/rapidmedia.

BIO-RAD ist eine Marke der Bio-Rad Laboratories, Inc.

Alle hier genannten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website 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 82 080 007 7373 **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

RAPID'*Enterobacteriaceae* Agar

Manuale utente

Terreno cromogenico per la rilevazione e l'enumerazione di *Enterobacteriaceae* in 24 hr, senza fase di conferma, in prodotti alimentari destinati al consumo umano, mangimi e campioni ambientali

N. catalogo 3554012, Pronto per l'uso, 200 ml x 6 flaconi

N. catalogo 3564004, Disidratato, 500 g



BIO-RAD

Indice

Sezione 1	Introduzione.....	1
Sezione 2	Principio di RAPID' <i>Enterobacteriaceae</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	2
Sezione 7	Protocollo.....	3
	Preparazione del terreno disidratato	3
	Preparazione dei campioni.....	3
	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

I microrganismi indicatori vengono utilizzati come indice della qualità o dello stato igienico di prodotti alimentari, mangimi, acqua e campioni ambientali. Questi microrganismi possono indicare la presenza di agenti patogeni ed evidenziare problemi inerenti processi igienico-sanitari o produttivi. A seconda del contesto e degli obiettivi, è possibile utilizzare diversi indicatori per diverse applicazioni. Le *Enterobacteriaceae* sono un'ampia famiglia di batteri gram-negativi a forma di bastoncello. Alcuni sono commensali; alcuni, come *Salmonella*, *Cronobacter* e alcuni ceppi di *Escherichia coli*, sono patogeni. La quantificazione di *Enterobacteriaceae* viene spesso utilizzata per il monitoraggio dell'igiene e della qualità nelle matrici alimentari e nei campioni ambientali.

Sezione 2 Principio di RAPID'*Enterobacteriaceae*

Il principio del terreno RAPID'*Enterobacteriaceae* si basa sulla capacità delle *Enterobacteriaceae* di fermentare il glucosio. A causa della presenza simultanea di cristalvioletto e sali biliari, il terreno inibisce i batteri gram-positivi e alcuni batteri gram-negativi. L'associazione con indicatori cromatici consente di ottenere un elevato livello di contrasto delle colonie di *Enterobacteriaceae* che appaiono rosse su terreno grigio chiaro.

Sezione 3 Formula teorica

Miscela nutritiva	17,3 g
Glucosio	9,0 g
Agenti selettivi	0,7 g
Indicatori cromatici	0,07 g
Terreno di coltura agar	11 g
Acqua distillata	QSP 1.000 ml

pH finale a 25°C = 7,4 ± 0,2

Sezione 4 Durata e conservazione

- Disidratato: 15-25°C in una confezione sigillata con cura, in un luogo asciutto e buio
- Flaconi: 2-8°C in un luogo buio
- Piastra preparata con il terreno di coltura disidratato: 2 settimane 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

- Diluente per l'enumerazione: Acqua peptonata tamponata APT (BPW catalogo #3554179, 225 ml x 6 flaconi; 3564684, in forma disidratata, 500 g; 3555790, 2 sacche x 5 L; 3555795, 4 sacche x 3 L); 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)
- Anse per inoculazione
- Piastre Petri sterili (90 mm)
- Pipette 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 quali *Enterobacteriaceae*
- I terreni entrati in contatto con campioni di alimenti devono essere considerati come contaminati e quindi smaltiti in conformità alle normative e direttive locali
- Non autoclavare il terreno
- È preferibile utilizzare un terreno a doppio strato in matrici contenenti abbondante flora mesofila. Lo scopo del secondo strato è limitare l'invasione della superficie, che potrebbe interferire con la lettura

Limitazioni d'uso

- Nell'ambito del marchio NF VALIDATION, non è stato testato un sistema di piastre a spirale
- Nell'ambito del marchio NF VALIDATION, è stato testato lo strumento Scan 1200 con la versione software "V 6.3.7 kernel Biorad 1.2". Per qualsiasi informazione riguardante l'uso del contatore di colonie, consultare il manuale utente dello strumento. Durante lo studio di validazione è stato osservato uno scostamento medio di 0,23 log CFU/g con il metodo di inoculazione superficiale mediante il contatore automatico di colonie

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.

Sezione 7 Protocollo

Preparazione del terreno disidratato

1. Agitare sempre il flacone prima dell'uso.
2. Dissolvere 38 g di polvere in 1 L di acqua distillata e miscelare fino ad ottenere una sospensione omogenea.
3. Riscaldare lentamente, agitando frequentemente, quindi portare a ebollizione.
4. Non autoclavare.
5. Raffreddare il terreno a 44–47°C prima dell'uso.
6. Questo terreno può essere utilizzato direttamente dopo la preparazione o dispensato in flaconi sigillati e conservati in un luogo fresco e asciutto. Verificare la sterilità del terreno prima dell'uso.
7. Un flacone di polvere da 500 g produce 13,5 L di terreno.

Preparazione dei campioni

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

Nel quadro del metodo di certificazione NF, la preparazione della sospensione iniziale e delle diluizioni successive deve essere effettuata in conformità alla serie di norme ISO 6887.

Inoculazione e lettura delle piastre

1. **Metodo di semina per inclusione** : Versare 1 ml di campione e/o le sue diluizioni decimali in un singolo strato in una piastra Petri vuota. Versare il terreno fuso, raffreddato a 44–47 ° C, sul campione e omogeneizzare agitando. È possibile versare un secondo strato (con spessore di circa 2 mm) in caso di elevato livello di contaminazione.
2. **Metodo di inoculazione superficiale**: Distribuire 0,1 ml di campione e/o le sue diluizioni decimali su una piastra Petri. Se è necessario stimare numeri ridotti, distribuire 1 ml di campione su tre piastre di Ø 90 mm (~ 0,33 ml/piastra) o su un piastra di 140 mm (fare riferimento alla norma EN ISO 7218).
3. Incubare le piastre a 37 ± 1°C per 24 ± 2 ore. In alternativa, è possibile utilizzare una temperatura di 30 o 35°C quando si esegue l'enumerazione di *Enterobacteriaceae* specifiche (ad es., *Enterobacteriaceae* psicotrofiche).
4. Le *Enterobacteriaceae* formano colonie di colore rosso con diametro pari o superiore a 0,5 mm, con o senza zona di precipitazione.
5. **Metodo Pour Plate**: La fase di lettura può essere effettuata anche utilizzando il contatore automatico di colonie Scan 1200, seguendo il protocollo di inoculazione della piastra di riempimento. Selezionare "Rapid Enter" e seguire le istruzioni per enumerare le colonie.
6. Fare riferimento alla norma EN ISO 7218 per l'inoculazione, la conta delle colonie, il calcolo e l'espressione dei risultati. L'enumerazione mediante una singola piastra e una singola diluizione è un'opzione certificata in base alla certificazione NF mediante certificazione AFNOR. In tale contesto, non possono essere applicate le prescrizioni della norma ISO 7218 relative all'uso di due diluizioni successive o di due piastre della stessa diluizione (cfr. Le sezioni "inoculazione" e "calcoli ed espressione dei risultati").
7. **Metodo pour plate**: Nel contesto della certificazione NF, dopo la fase di incubazione, le piastre possono essere conservate a 2-8°C per 72 hr prima della fase di conteggio delle colonie.
8. **Metodo di inoculazione superficiale**: Al termine della fase di incubazione, le piastre possono essere conservate a 2–8°C per 48 hr, secondo le direttive ISO 7218.

Sezione 8

Conferma dei risultati positivi

Non applicabile.

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
NF VALIDATION	Tutti i prodotti alimentari destinati al consumo umano, i mangimi e i campioni ambientali	EN ISO 16140-2	ISO 21528-2	 <p>BRD: 07/24-11/13 ANALITICA ALTERNATIVA METODI PER AGROINDUSTRIA Certificato da AFNOR Certificazione http://nf-validation.afnor.org/en Fare riferimento al certificato disponibile sul sito Web sopra indicato per la scadenza della validità.</p>

Sezione 11 Riferimenti

ISO 6887-1:2017 /AMD1: 2024. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

ISO 7218:2024. Microbiology of the food chain - General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21528-2:2017. Microbiologia della catena alimentare — Metodo orizzontale per la ricerca e la conta di *Enterobacteriaceae* — Parte 2: Metodo per la conta delle colonie.

Sezione 12 Cronologia delle revisioni

Data di pubblicazione	Numero di documento	Modifica
Giugno 2025	10000251395 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Modifica al numero di documento (versione precedente 10000127900 Ver B) - Estensione della certificazione NF per piastra semplice e protocollo di diluizione singola - Aggiornamento dei riferimenti biografici

Per ulteriori informazioni sulla nostra gamma completa di terreni cromogenici RAPID, visitare il sito 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 dei rispettivi titolari.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website 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 82 080 007 7373 **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

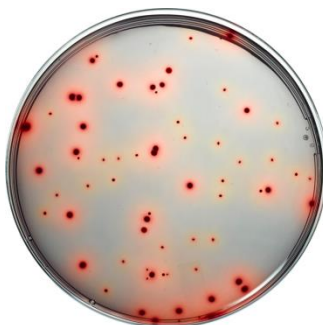
RAPID'*Enterobacteriaceae* Agar

Guia do usuário

Meios cromogênicos para a detecção e enumeração de *Enterobacteriaceae*, sem confirmação, em 24 hr, em alimentos humanos, ração e amostras ambientais

Nº do catálogo 3554012, pronto para uso, 200 ml x 6 frascos

Nº do catálogo 3564004, Desidratado, 500 g



BIO-RAD

Índice

Seção 1	Introdução.....	1
Seção 2	RAPID' <i>Enterobacteriaceae</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.....	2
Seção 7	Protocolo.....	3
	Preparação do Meio Desidratado.....	3
	Preparação da amostra.....	3
	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

Microrganismos indicadores são usados como sinal de qualidade ou status higiênico em alimentos, rações, água e amostras ambientais. Estes microrganismos podem mostrar a presença de patógenos e destacar problemas com saneamento ou processos de produção. Diferentes indicadores podem ser usados para diferentes aplicações, de acordo com o contexto e os objetivos. *Enterobacteriaceae* é uma grande família de bactérias gram-negativas em forma de bastão. Algumas vivem em associação; algumas, como a *Salmonella*, *Cronobacter*, e alguns tipos de *Escherichia coli* são patogênicas. A quantificação de *Enterobacteriaceae* é muitas vezes utilizada para o monitoramento de higiene e qualidade em matrizes alimentares e amostras ambientais.

Seção 2 RAPID'*Enterobacteriaceae* Princípio

O princípio do meio RAPID'*Enterobacteriaceae* se baseia na capacidade das *Enterobacteriaceae* de fermentar a glicose. Devido à presença simultânea de violeta cristal e sais biliares, o meio inibe as bactérias gram-positivas e algumas bactérias gram-negativas. A combinação de indicadores de cor permite um alto nível de contraste das colônias de *Enterobacteriaceae*, que parecem vermelhas em um meio cinza claro.

Seção 3 Fórmula Teórica

Mistura nutritiva	17,3 g
Glicose	9,0 g
Agentes seletivos	0,7 g
Indicadores de cor	0,07 g
Ágar	11 g
Água destilada	qsp 1.000 ml

pH final a 25°C = 7,4 ± 0,2

Seção 4 Prazo de validade e armazenamento

- Desidratado: 15–25°C em embalagem cuidadosamente vedada, em um ambiente seco e arejado
- Garrafas: 2–8°C em local escuro
- Meio de cultura preparado a partir do ágar desidratado: 2 semanas 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

- Diluente para enumeração: Buffered Peptone Water (BPW) (nº do catálogo 3554179, 225 ml x 6 garrafas; 3564684, desidratado, 500 g; 3555790, sacos de 2 x 5 L; 3555795, sacos de 4 x 3 L); sal de triptona (nº do catálogo 3555754, tubos de 9 ml x 25; 3555756, 90 ml x 6 garrafas; 3564544, desidratado, 500 g; 3555796, sacos 3 L x 4)
- Inoculação de loops
- Placas de Petri estéreis (90 mm)
- Pipetas 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). É necessário o uso de proteção adequada, como luvas e jalecos, ao trabalhar com bactérias vivas potencialmente infecciosas, como a *Enterobacteriaceae*
- O meio que entrou em contato com amostras de alimentos deve ser considerado contaminado e descartado de acordo com as regras e regulamentos locais
- Não autoclave o meio
- É preferível utilizar um meio de dupla camada em matrizes contendo abundante flora mesófila. O objetivo da segunda camada é limitar a invasão da superfície, o que pode interferir na leitura

Limitações de uso

- No contexto da marca NF VALIDATION, um sistema de placa espiral não foi testado
- No contexto da marca NF VALIDATION, o instrumento Scan 1200 com a versão de software "V 6.3.7 kernel Biorad 1.2" foi testado. Consulte o manual do usuário do instrumento para quaisquer perguntas sobre o uso do contador de colônias. Uma tendência média de 0,23 log CFU/g foi observada durante o estudo de validação usando o método de inoculação de superfície com o contador automático de colônias

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.

Seção 7 Protocolo

Preparação do Meio Desidratado

1. Agite sempre a garrafa antes de usar.
2. Dissolva 38 g de pó em 1 L de água destilada e misture até obter uma suspensão homogênea.
3. Aqueça delicadamente, agitando com frequência, e deixe ferver.
4. Não autoclave.
5. Antes de usar, resfrie o meio até 44–47°C.
6. Este meio pode ser usado diretamente após a preparação ou dispensado em garrafas, seladas e armazenadas em um local seco e fresco. A esterilidade do meio deve ser verificada antes do uso.
7. Um frasco de 500 g de pó produz 13,5 L de meio.

Preparação da amostra

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

No contexto do método certificado NF Validation, prepare a suspensão inicial e as diluições subsequentes de acordo com a série de normas ISO 6887.

Inoculação e Leitura de Meios de Cultura

1. **Método de placa de incorporação:** Coloque 1 ml de amostra e/ou suas diluições decimais em uma única camada em uma placa de Petri vazia. Coloque o meio derretido, resfriado a 44–47 °C, sobre a amostra e uniformize, girando. Uma segunda camada pode ser incorporada (aproximadamente 2 mm de espessura) em caso de alto nível de contaminação.
2. **Método de inoculação de superfície:** Distribua 0,1 ml de amostra e/ou suas diluições decimais em uma placa de Petri. Se for necessário estimar números pequenos, distribua 1 ml de amostra em três placas de Ø 90 mm (~ 0,33 ml/prato) ou em uma placa de 140 mm (consulte a norma EN ISO 7218).
3. Incubar placas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 hr. Em alternativa, uma temperatura de 30 ou 35°C pode ser usada ao enumerar *Enterobacteriaceae* específicas (por ex., *Enterobacteriaceae* psicrotrófica).
4. As *Enterobacteriaceae* formam colônias vermelhas com diâmetro igual ou superior a 0,5 mm, com ou sem uma zona de precipitação.
5. Método de placa de incorporação: A etapa de leitura também pode ser feita com o Contador automático de colônia Scan 1200, com o protocolo de inoculação de placa de incorporação. Selecione "Rapid Entero" e siga as instruções a fim de enumerar as colônias.
6. Consulte a norma EN ISO 7218 para inoculação, contagem de colônias, cálculo e expressão de resultados. A enumeração utilizando uma única placa e uma única diluição é uma opção certificada pela AFNOR Certification sob a NF Validation. Neste contexto, os requisitos da ISO 7218 relativos à utilização de duas diluições sucessivas ou de duas placas da mesma diluição não podem ser aplicados (ver as secções "Inoculação" e "Cálculos e expressão de resultados").
7. Método de placa de incorporação: No contexto do método certificado NF Validation, após a etapa de incubação, as placas podem ser armazenadas a 2–8 °C por 72 hr antes da etapa de contagem de colônias.
8. Método de inoculação de superfície: Após o passo de incubação, as placas podem ser armazenadas a 2–8 °C por 48 hr, segundo a ISO 7218.


Seção 8 Confirmação de Resultados Positivos

Não se aplica.

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
NF VALIDATION	Todos os alimentos humanos, rações e amostras ambientais	EN ISO 16140-2	ISO 21528-2	 <p>BRD: 07/24-11/13 MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNATIVOS PARA O AGRONEGÓCIO Certificado pela AFNOR Certificação http://nf-validation.afnor.org/en Consulte o certificado disponível no site mencionado acima para verificar a data de validade</p>

Seção 11 Referências

ISO 6887-1:2017 /AMD1: 2024. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

ISO 7218:2024. Microbiology of the food chain – General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: Colony-count technique.

Seção 12 Histórico de Revisão

Data de lançamento	Número do documento	Alteração
Junho de 2025	10000251395 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Alteração do número do documento (versão anterior 10000127900 Ver B) - Extensão da NF Validation para protocolo de placa simples e diluição única - Atualização das referências bibliográficas

Visite 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

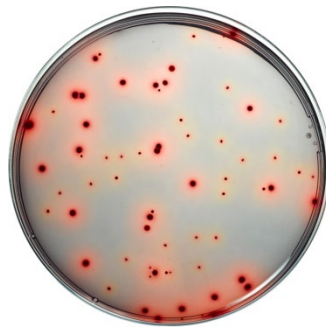
Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23
Brazil 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23
Finland 00 800 00 24 67 23 **France** 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 82 080 007 7373 **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

RAPID'*Enterobacteriaceae* Agar

Manual del usuario

Medio cromogénico para la detección y recuento de *Enterobacteriaceae*, en 24 hr sin confirmación, en muestras de alimentos, piensos y muestras ambientales.

Referencia #3554012, listo para usar, 200 ml x 6 frascos
Referencia #3564004, deshidratado, 500 g



BIO-RAD

Tabla de Contenidos

Apartado 1	Introducción.....	1
Apartado 2	Principio de funcionamiento de RAPID' <i>Enterobacteriaceae</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	2
Apartado 7	Protocolo.....	3
	Preparación del medio deshidratado.....	3
	Preparación de las muestras.....	3
	Inoculación y lectura de la placa.....	4
Apartado 8	Confirmación de los 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 microorganismos indicadores se emplean para evidenciar la calidad o estado higiénico en muestras de alimentos, piensos, agua y muestras ambientales. Estos microorganismos pueden señalar la presencia de patógenos y poner de relieve cuestiones relacionadas con los procesos de saneamiento o de producción. Pueden utilizarse diferentes indicadores para diferentes aplicaciones, en función del contexto y los objetivos. Las *Enterobacteriaceae* son una amplia familia de bacterias gramnegativas en forma de bacilo. Algunas son comensales, mientras que otras, como la *Salmonella*, *Cronobacter*, y algunas cepas de *Escherichia coli*, son patógenas. La cuantificación de *Enterobacteriaceae* a menudo se utiliza para la supervisión de la higiene y la calidad en matrices de alimentos y muestras ambientales.

Apartado 2 Principio de funcionamiento de RAPID'*Enterobacteriaceae*

El principio del medio RAPID'*Enterobacteriaceae* se basa en la capacidad de las *Enterobacteriaceae* para fermentar la glucosa. Debido a la presencia simultánea de cristal violeta y sales biliares, el medio inhibe las bacterias gram-positivas y algunas gram-negativas. La combinación de indicadores cromáticos permite un alto nivel de contraste de las colonias de *Enterobacteriaceae* que aparecen en rojo en un medio gris claro.

Apartado 3 Fórmula teórica

Mezcla nutritiva	17,3 g
Glucosa	9,0 g
Agentes selectivos	0,7 g
Indicadores cromáticos	0,07 g
Agar	11 g
Agua destilada	c.s.p. 1.000 ml

pH final a 25°C = 7,4 ± 0,2

Apartado 4 Vida útil y conservación

- Deshidratado: 15–25°C en un paquete cuidadosamente sellado, en un lugar seco y oscuro
- Frascos: 2–8°C en un lugar oscuro
- Placa preparada desde agar deshidratado: 2 semanas a 2–8°C en un paquete cuidadosamente sellado, en un lugar seco y oscuro

Apartado 5 Materiales necesarios, no suministrados

Apartado 5

Materiales necesarios, no suministrados

Equipamiento

- Todo el instrumental de laboratorio habitual
- Placa calefactada
- Balanza, sensibilidad de 0,1 g
- Agitador/homogeneizador
- Incubadora o sala de incubación controlada por termostato, grado de precisión $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Baño termostático

Fungibles

- Diluyente para recuento: Agua de peptona tamponada (APT) (referencia #3554179, 225 ml x 6 frascos; 3564684, deshidratado, 500 g; 3555790, 2 x 5 L bolsas; 3555795, 4 x 3 L 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)
- Asas de siembra
- Placas de Petri estériles (90 mm)
- Pipetas 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 como *Enterobacteriaceae*
- 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
- No utilizar autoclave con el medio
- Es preferible utilizar un medio de doble capa en matrices que contengan abundante flora mesofílica. El objetivo de la segunda capa es limitar la invasión de la superficie, que puede interferir con la lectura

Apartado 7 Protocolo

Limitaciones de uso

- En el contexto NF VALIDACIÓN, no se incluyó la prueba de un sistema de siembra de placas en espiral
- En el contexto NF VALIDATION, se incluyó la prueba del instrumento Scan 1200 con la versión de software "V 6.3.7 kernel Biorad 1.2". Consulte las instrucciones de uso del instrumento para cualquier cuestión relativa al uso del contador de colonias. Se observó un sesgo medio de 0,23 log UFC/g durante el estudio de validación utilizando el método de inoculación en superficie con el contador automático de colonias

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 su comercialización está condicionada a que cumpla los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y el control de calidad de cada lote se mantiene archivada.
- Para más información sobre la seguridad de los productos en las fichas de datos de seguridad y el certificado de análisis, visite www.bio-rad.com.

Apartado 7 Protocolo

Preparación del medio deshidratado

1. Agitar siempre el frasco antes de usar.
2. Disolver 38 g de polvo en 1 L de agua destilada y mezclar hasta obtener una suspensión homogénea.
3. Calentar suavemente, agitando frecuentemente, y luego llevar a ebullición.
4. No utilizar la autoclave.
5. Enfriar el medio a 44--47°C antes de usar.
6. Este medio se puede utilizar directamente después de la preparación o se puede dispensar en botellas selladas y almacenadas en un lugar fresco y seco. La esterilidad del medio se debe comprobar antes de su uso.
7. Una botella de 500 g de polvo deshidratado permite obtener 13,5 L de medio.

Preparación de las muestras

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

En el contexto del método certificado por NF Validation, preparar la suspensión inicial y las diluciones posteriores de acuerdo con la serie de normas ISO 6887.

Apartado 8 Confirmación de los resultados positivos

Inoculación y lectura de la placa

1. **Método de vertido en placa o siembra en masa** : Diepense 1 ml de la muestra y/o de sus diluciones decimales en una sola capa en una placa de Petri vacía. Vierta el medio fundido, enfriado a 44–47°C, sobre la muestra y homogeneice con movimientos circulares. Puede verse una segunda capa (de aprox. 2 mm de grosor) en caso de un alto nivel de contaminación.
2. **Método de siembra en superficie**: Distribuya 0,1 ml de la muestra y/o de sus diluciones decimales en una placa de Petri. Si es necesario estimar bajas concentraciones, extienda 1 ml de muestra sobre tres placas de Ø 90 mm (~ 0,33 ml/placa) o sobre una placa de 140 mm (consulte la norma EN ISO 7218).
3. Incube la placa a 37 ± 1°C durante 24 ± 2 hr. De forma alternativa, se puede utilizar una temperatura de 30 o 35°C cuando se enumeran *Enterobacteriaceae* específicas (por ejemplo, *Enterobacteriaceae psicrótróficas*).
4. Las *Enterobacteriaceae* forman colonias rojas con un diámetro igual o superior a 0,5 mm, con o sin zona de precipitación.
5. **Método de vertido en placa**: La lectura también se puede realizar con el contador automático de colonias Scan 1200 con el protocolo de inoculación de vertido en placa. Seleccionar «Rapid Entero» y seguir las instrucciones para enumerar las colonias.
6. Consulte en la norma ISO 7218 para la inoculación, el recuento de colonias, el cálculo y la expresión de los resultados. El recuento utilizando una sola placa y una sola dilución es una opción certificada por NF Validation por AFNOR Certification. En este contexto, no se pueden aplicar los requisitos de la norma ISO 7218 en relación con la utilización de dos diluciones sucesivas o dos placas de la misma dilución (véanse las secciones «Inoculación» y «Cálculos y expresión de los resultados»).
7. **Método de vertido en placa**: En el contexto del método certificado NF Validation, tras la fase de incubación, las placas se pueden almacenar a 2-8 °C durante 72 hr antes de la fase de recuento de colonias.
8. **Método de inoculación en superficie**: Tras la fase de incubación, las placas pueden almacenarse a 2-8 °C durante 48 hr, de acuerdo con la norma ISO 7218.

Apartado 8

Confirmación de los resultados positivos


No aplicable.

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
NF VALIDATION	Todas las muestras de alimentos humanos, piensos y muestras ambientales	EN ISO 16140-2	ISO 21528-2	 <p>BRD: 07/24-11/13 MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNATIVOS PARA LA AGROINDUSTRIA Certificado por AFNOR Certification http://nf-validation.afnor.org/en Para conocer la fecha de caducidad, consultar el certificado disponible en el sitio web mencionado anteriormente.</p>

Apartado 11 Referencias

ISO 6887-1:2017/AMD1: 2024. Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

ISO 7218:2024. Microbiology of the food chain – General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21528-2:2017. Microbiología de la cadena alimentaria – Método horizontal para la detección y el recuento de *Enterobacteriaceae* – Parte 2: Técnica de recuento de colonias.

Apartado 12 Historial de revisiones

Fecha de publicación	N.º de documento	Cambio
Junio de 2025	10000251395 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Cambio en el número de documento (versión anterior 10000127900 Ver B) - Ampliación de NF Validation para el protocolo de placa simple y dilución única - Actualización de las referencias bibliográficas

Visite www.bio-rad.com/rapidmedia para 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 utilizadas en el presente documento son propiedad de sus respectivos dueños.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website 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 82 080 007 7373 **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
