

Simple and Easy Dry Medium for Microbial biological detection of Salmonella

Background

The food poisoning outbreak caused by *Salmonella* is increasing in recent years and the necessity of *Salmonella* control becomes important especially for food manufacturing processes and handling procedures. Especially for food manufacturers it is important to detect *Salmonella* rapidly and simply for the purpose of controlling product stock and confirming safety of the product.

Compact Dry SL is a simple dry culture medium that detects existence of *Salmonella* qualitatively based on its specific character, such as biochemical reactivity and motility. Following pre-enrichment culture, a rapid screening for *Salmonella* is possible on the next day. Single colonies on Compact Dry SL can be isolated for further confirmation tests.

Features and Benefits

- 1) Ready to use and portable plate: No need to prepare medium, which eliminates waste of medium as well as sterilizing apparatus to prepare the medium.
- 2) Compact Dry SL can detect *Salmonella* **one day earlier** than conventional culture methods.
- 3) Detection of colonies on plate is simple and clear. Isolated colonies on the plate can be isolated for further identification tests.

Detection Principle

Compact Dry SL is a dry medium for *Salmonella* detection, which contains chromogenic substrate and Novobiocin. The presence of *Salmonella* in the sample is detected by the combination of three independent test principles:

- Alkalinization of the medium by *Salmonella*'s lysine decarboxylase ability (medium color will **change blue-purple to yellow**)
- **Greening colony** caused by decomposition of chromogenic substrate with specific enzyme of *Salmonella* (**black colonies** are generated by hydrogen sulfide producing *Salmonella*)
- **Motility of *Salmonella***.

Additionally, the colonies isolated from Compact Dry SL can be used for confirmation of *Salmonella*. Coliforms generate color change from blue-purple to red-purple by fermented lactose and/or sucrose in the medium. Please follow this operating procedure precisely, especially how to inoculate sample and sterilized water, to exploit the specific advantages of Compact Dry SL.

Operating Procedure:

Preparation of Apparatus and Materials

- 1) Prepared and sterilized medium made from Buffered Peptone Water (BPW) (HyServe Ident No. 05131) or EEM Broth (Hyserve Ident No. 1000071)
- 2) Sterilized homogenize bag with filter
- 3) Homogenizer
- 4) Stand for homogenize bag
- 5) Sterilized disposable pipette (1 mL) or sterilized measuring pipette

For the application and incubation of the sample on the Compact Dry SL plate:

- 6) Sterilized water
- 7) Incubator (36 ± 1°C and 42 ± 1°C)

Preparation of Specimen

1) Solid Foodstuffs:

Take 25g of solid specimen into the sterilized homogenizer bag. Add 225 mL of sterile Buffered Peptone Water or EEM Broth into the bag, and homogenize with stomacher for about one (1) minute.

2) Water or Liquid Foodstuffs:

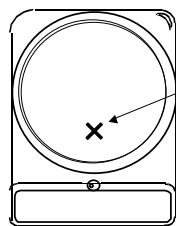
Add 9 times volume of Buffered Peptone Water or EEM Broth to liquid specimen. Filtrate the liquid sample through membrane filter, and put the filter into BPW or EEM Broth.

3) Wiped sample:

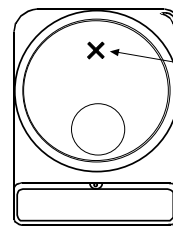
Add 9 times the volume of Buffered Peptone Water or EEM Broth to the whole liquid made from wiped samples.

Direction

- 1) Prepared specimen shall be kept in the closed homogenized bag, and incubate the bag 20 - 24 hours at 35 - 37 °C in the incubator for pre-enrichment.
- 2) Take the bag out from the incubator and rub the bag for homogenization. Use sterilized disposable pipette for sample inoculation. Drop 0.1 mL (3 drops from the 1 mL pipette) of enriched specimen on the dry sheet (approx. 1 cm from the plate's rim) gently. Enriched culture will stay at dropped point. Diffusion of this spotted specimen shall not reach to the rim of a plate.
- 3) After inoculation of the enriched culture, drop 1 mL of sterilized water gently at the opposite point where the specimen was plotted. Sterilized water will diffuse automatically and the sheet will become uniformly wet.
- 4) Flip the closed plate, put in an incubator and incubate 20 - 24 h at 41 - 43 °C.



Gently drop 0.1 mL of enriched specimen at approx. 1cm away from the plate's rim.



Drop 1 mL of sterilized water at the opposite point where specimen was dropped. Water will diffuse automatically.

Precaution for use

1. Please follow this operating procedure precisely for detecting *Salmonella*.
2. Be careful to avoid any contamination by airborne microorganisms or touching the medium during inoculation.
3. Keep cap tight of Compact Dry SL to avoid any possible dehydration during incubation.
4. It is recommended to use a homogenizer bag with filter to eliminate risks of carry over of tiny pieces of foodstuffs into the medium.

Interpretation

Interpretation for screening

<Salmonella Positive>

Black to green isolated or fused colonies are observed, and the medium around the colonies changes to yellow. If a large number of *Salmonella* is present, no isolated colonies are formed (there may be several spots with fused black or green colonies), however, the plate becomes completely yellow.

<Salmonella Negative>

There is no color within the medium. In this case, the sheet color would change to red or reddish purple. No black or green colonies are observed.

Caution: The sheet color might change to yellow caused by *Pseudomonas* or *Proteus*. But yellow portion is small and limited due to less motility.

Isolation of *Salmonella* from Compact Dry SL:

1. It is possible to use colonies on Compact Dry sheet for isolation/ identification tests. Take black to green colonies with loop, and inoculate and culture on e.g. MLCB agar (HyServe Ident No. 1000079) for isolation of *Salmonella*.
2. After the isolation of single colonies on the agar plate, continue and follow conventional identification/confirmation test procedure.

Precaution for Interpretation

Final report for *Salmonella* positive or negative result shall be followed by identification/confirmation tests. While isolating colonies, it is possible to isolate *Salmonella* from colonies away from the point where specimen was inoculated, due to the motility of *Salmonella*. It is also possible to isolate *Salmonella* from yellow portion.

Warning and Direction for Use

1 General precautions

Read and follow precisely the warning and direction for use described on this package insert and/or label. Do not use the product after its expiry date. Quality of the product is not warranted after being expired. Do not use the product that contains any foreign materials, discolored or dehydrated, or its container is damaged. After opening the aluminum bag, any plates unused should be put back into the aluminum bag to be sealed with tape to avoid light and moisture, and use up as soon as possible. Cap tightly again after inoculation to avoid dehydration of medium during incubation.

2 Precautions for danger

Immediately wash with plenty of water, and consult a physician if medium or reagent touched eyes or mouth. Manipulations with microorganisms involve always certain risks of laboratory-acquired infections. Manipulations should be practiced under the supervision of key specialist with biohazard protection measures. After contact with specimen any laboratory equipment and medium should be regarded as potentially infectious in the laboratory.

3 Precautions for disposal of waste

Any medium, reagent and materials must be sterilized by autoclaving or boiling water after use, and then dispose them as industrial waste according to the Law on Waste Disposal and Cleaning. Also adhere to local laws and regulations related to disposal.

4 User responsibility

It is user's responsibility in selecting any test method to evaluate a sufficient number of samples with particular food and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria. It is also the user's responsibility to determine that any test method and result meet customer or supplier requirements. The user must train it's personnel in appropriate techniques.

Storage and Shelf life

Storage : Keep at room temperature (1 - 30 °C)

Shelf life: Maximum 18 months after manufacturing.

Shelf life is printed on both label of the aluminum bag and outer box.

KEYdiagnostics

T: 02 8212 4074 F: 02 9423 6992

info@keydiagnostics.com.au

www.keydiagnostics.com.au

PO Box 1038, Gympie, NSW, 2227

Compact Dry SL (zum Nachweis von Salmonellen)

40/240/500/1400 Platten

Id No. 1002973/1002938/1402938/1502887

Einfach zu handhabendes Fertig-Medium zum qualitativen Nachweis von Salmonellen

Hintergrund:

Nahrungsmittelvergiftungen aufgrund von *Salmonellen* Kontaminationen haben in den letzten Jahren kontinuierlich zugenommen. Aus diesem Grund ist eine Notwendigkeit, die Abwesenheit von Salmonellen während der Herstellung und der Handhabung von Lebensmitteln zu kontrollieren. Speziell für Lebensmittelhersteller ist es wichtig *Salmonellen* mittels einer schnellen und einfachen Methode zu detektieren, um so die Sicherheit der Produktion und der produzierten Ware zu gewährleisten. Compact Dry SL ist eine einfach anzuwendende, sensitiver Schnelltest, der auf dem qualitativen Nachweis auf *Salmonellen* mittels verschiedener biochemischer Merkmale beruht. Es ist daher mit der Compact Dry SL Methode möglich, *Salmonellen* aus Vorkulturen bereits nach einer Vorkultur an zu züchten und zu detektieren. Im Gegensatz zu vielen anderen Schnelltests besteht bei Compact Dry SL zudem die Möglichkeit, Kolonien anschließend einfach zu isolieren und einem weiteren Test zu unterziehen.

Eigenschaften und Vorteile

- 1) Compact Dry SL ist eine Fertigplatte mit einer extrem langen Haltbarkeit bei Raumtemperatur. Es besteht keine Notwendigkeit verschiedene Medien herzustellen. Es ist keine Sterilisierung und keine Kühlung nötig.
- 2) Compact Dry SL detektiert *Salmonellen* einen Tag schneller als traditionelle Mehrstufen-Methoden.
- 3) Der Nachweis der *Salmonellen* Kolonien ist aufgrund der Anwendung mehrerer Marker einfach und eindeutig. Zudem können die *Salmonellen* einzeln isoliert werden und weiteren Bestätigungstest unterzogen werden.

Funktionsprinzip

Compact Dry SL ist ein Trockenmedium zum Nachweis von *Salmonellen* und enthält verschiedene chromogene Substrate und Novobiocin.

Die Anwesenheit von *Salmonellen* in der Probe wird durch den **gleichzeitigen** Nachweis folgender Eigenschaften erreicht:

1. Alkalisierung des Medium durch das *Salmonellen* spezifische Enzym Lysine Decarboxylase. Dies führt zu einem **Farbumschlag des Medium von Blau/Lila nach Gelb**.
2. Die **Entwicklung grüner Kolonien** beruht auf dem Abbau chromogener Substrate durch *Salmonellen*-spezifische Enzyme. **Schwarze Kolonien** entstehen durch H_2S produzierende *Salmonellen*.
3. **Beweglichkeit (Motilität)** der *Salmonellen*.

Wie bereits erwähnt, können Kolonien die von der Compact Dry SL Platte isoliert wurden, um einer Bestätigung durch andere biochemischer Test unterworfen zu werden. Bitte befolgen Sie die unten beschriebene Vorgehensweise genau, speziell bei der Inokulation der Probe und der Verwendung sterilen Wassers.

Benötigte Materialien

Für die Vorkultur:

- 1) Gebrauchsfertiges, steriles Medium entweder Gepuffertes Pepton Wasser (BPW) (HyServe Ident No. 05131) oder EEM Broth (HyServe Ident No. 1000071)
- 2) Sterile "Homogenisierungsbeutel" mit Filter
- 3) Homogenisator (Stomacher)
- 4) Halter für Homogenisierungsbeutel
- 5) Inkubator (36 ± 1 °C)

Für die Auftragung und Inkubation der Probe auf der Compact Dry SL Platte:

- 6) Sterile Einwegpipette (1 mL) oder sterile Messpipette
- 7) Steriles Wasser
- 8) Inkubator (42 ± 1 °C)

Probenvorbereitung:

1) Feste Lebensmittel:

Überführen Sie 25 g des zu untersuchenden Lebensmittel in den sterilen Homogenisierungsbeutel. Nach Zugabe von 225 mL sterilen gepufferten Pepton Wasser oder EEM Broth bitte die Mischung circa 1 Minute mit dem Stomacher homogenisieren.

2) Wasser oder flüssige Lebensmittel

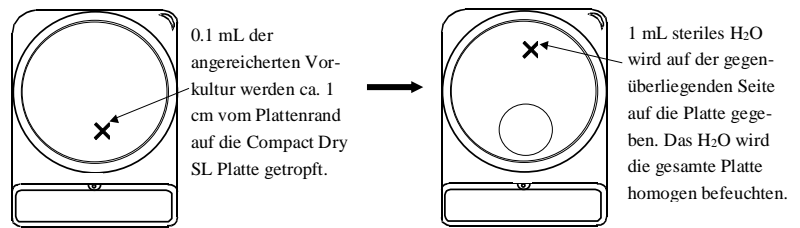
9 Volumenteile gepuffertes Pepton-Wasser oder EEM Broth werden mit der flüssigen Probe versetzt. Anschließend wird die flüssige Probe durch einen Membranfilter filtriert und der Filter anschließend in BPW oder EEM Broth überführt.

3) Gewischte Proben/Compact Dry Swab (Hyserve Ident No. 1002952/53)

9 Volumenteile gepuffertes Pepton Wasser oder EEM Broth werden mit der flüssigen Wischprobe versetzt.

Durchführung des Testes

- 1) Die Proben im geschlossenen Homogenisierungsbeutel für 20 - 24 Stunden bei $35 - 37$ °C zur Voranreicherung inkubieren.
- 2) Den Beutel aus dem Inkubator nehmen und den geschlossenen Beutel manuell homogenisieren. Mit einer sterilen Einmal- oder Messpipette werden nun 0.1 mL (3 Tropfen einer 1 mL Pipette) dieser Vorkultur vorsichtig auf die Compact Dry SL aufgetragen. Die Auftragstelle soll circa 1 cm vom Rand der Platte entfernt sein. Die Probe soll am Auftragort von der Platte aufgesaugt werden und soll nicht den Plattenrand erreichen.
- 3) Anschließend wird 1 mL steriles Wasser vorsichtig auf der gegenüberliegenden Seite des Proben-Auftragungspunktes auf die Platte getropft. Das Wasser wird selbstständig die gesamte Platte homogen befeuchten
- 4) Die Platte anschließend verschließen und mit dem Deckel nach unten im Inkubator für 20 - 24 Stunden bei $41 - 43$ °C inkubieren.



Bitte beachten

1. Bitte folgen Sie den hier beschriebenen Anweisungen genau
2. Bitte vermeiden Sie das Berühren der Compact Dry Platte. Um Luftkeime auszuschließen, ist ein Arbeiten unter einer Sterilbank zu empfehlen.
3. Bitte verschließen Sie die Compact Dry SL Platte gut, um ein Austrocknen während der Inkubation zu verhindern.
4. Es wird empfohlen einen Homogenisierungsbeutel mit Filter zu benutzen, umso keine Lebensmittelreste auf die Platte zu übertragen.

Ergebnisse/Interpretation der Platten

<Salmonellentest positiv>

Es treten einzelne oder verschmierte schwarze oder/und grüne Kolonien auf. Das Medium um diese Kolonien hat eine gelbe Färbung angenommen.

Die Kolonien können vom Austragungsort der Probenvorkultur auf die andere Plattenseite gewandert sein (Motilität).

Beim Vorhandensein aller drei Merkmale: Farbumschlag nach gelb, grün-schwarze Kolonienbildung und einer Motilität ist von einer *Salmonellen* Kontamination auszugehen. Bei einem Probenauftrag mit einer sehr hohen Anzahl von *Salmonellen* werden keine unterscheidbaren Einzelkolonien gebildet. Die gesamte Compact Dry SL Platten zeigt einen Farbumschlag nach gelb mit fusionierten schwarzen/grünen Kolonien

<Salmonellentest negativ>

Die Platte zeigt keinen Farbumschlag nach gelb. Grüne oder schwarze Kolonien sind nicht sichtbar. Ein Farbumschlag nach rot oder rot/lila ist ebenfalls *Salmonellen* negativ.

Achtung:

Coliforme führen aufgrund der Fermentation von Lactose und/oder Sucrose im Medium zu einem Farbumschlag des Mediums nach blau/blau-lila/rot.

Sehr hohe Bakterienkonzentrationen verschiedener Proteus- und Pseudomonas Stämme können aufgrund ihrer geringen Beweglichkeit ebenfalls zu einem limitierten gelben Farbumschlag führen. Hierbei sind aber keine schwarzen oder grünen Kolonien sichtbar. Da in einigen Lebensmittelmatrixen auch gänzlich unbewegliche *Salmonellen* wie z.B. *S. Galliarum* oder *S. Pullorum* vorkommen, ist nicht auszuschließen, dass schwarze/ grüne Kolonien mit Farbumschlag nach gelb nur lokal am Auftragungspunkt der Probe zu erkennen ist.

Isolierung von Salmonellen von der Compact Dry SL Platte:

Kolonien auf der Compact Dry SL Platte können weiteren Identifikationstesten unterzogen werden. Kolonien können sowohl vom Proben-Auftragungspunkt, von Bereichen mit gelbem Farbumschlag als auch von der gegenüberliegenden Seite des Proben-Auftragungspunktes isoliert werden, vorausgesetzt die *Salmonellen* waren noch beweglich. Bitte schwarze oder grüne Kolonien mit einer Öse abnehmen und z.B. auf MLCB Agar (HyServe Ident No. 1 000 079) verifizieren.

Beachtung bei der Interpretation der Ergebnisse

Ein endgültige Nachweis der Anwesenheit von *Salmonellen* sollte nur nach entsprechender Identifikation und einer unabhängigen Bestätigung getroffen werden.

Weitere Hinweise zur Anwendung

1 Generelle Beachtung

Bitte beachten Sie die Packungsbeilage sorgfältig. Bitte benutzen sie das Produkt nicht nach Ablauf der aufgedruckten Haltbarkeit. Die Qualität des Produktes ist nach Ablauf der Haltbarkeit nicht garantiert. Bitte benutzen sie das Produkt nicht, falls es augenscheinlich geöffnet, seltsame Färbungen aufweist oder fremde Materialien enthält.

Nachdem Öffnen der Aluminiumtaschen können einzelne Platten entnommen werden.

Nicht benötigte Platten bitte in der Aluminium Tasche lassen und diese mit Tesafilm gegen Licht und Luftfeuchtigkeit verschließen. Platten aus geöffneten Aluminiumbeuteln schnellstmöglich verbrauchen. Nach der Inokulation der Probe die Platte sorgfältig schließen, um ein Austrocknen des Medium während der Inkubation zu verhindern.

2 Generelle Vorsichtsmaßnahmen

Falls das Medium Mund oder Auge berührt hat, bitte sofort mit reichlich Wasser waschen und einen Arzt aufsuchen. Ein Arbeiten mit Mikroorganismen beinhaltet grundsätzlich das Risiko einer Infektion. Daher sollte das Arbeiten mit Mikroorganismen generell nur von entsprechend geschultem und erfahrenen Personal durchgeführt werden.

Jegliche Laborausstattung, die mit dem Medium in Berührung gekommen ist, sollte als potentiell infektiös betrachtet werden.

3 Beachtung bei der Entsorgung kontaminierter Abfälle

Jegliches Medium und Material sollte nach Benutzung autoklaviert werden. Eine Entsorgung sollte nach den gültigen Richtlinien erfolgen.

Lagerung und Haltbarkeit

Lagerung: Bitte bei Raumtemperatur lagern ($1 - 30$ °C)

Haltbarkeit: bis zu 1 Jahr nach Herstellung; Datum/Lot auf Aluminiumfolie aufgedruckt