






Product Instructions

-  (EN) *Salmonella* Express System
-  (ES) Sistema *Salmonella* Express
-  (JA) サルモネラエクスプレスシステム
-  (ZH) 沙门氏菌快速系统
-  (TH) ชุดทดสอบ *Salmonella* Express

Product Instructions

Salmonella Express System

Product Description and Intended Use

The Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) System is used for the rapid qualitative detection and biochemical confirmation of *Salmonella* species in enriched food and food process environmental samples. The Neogen Petrifilm SALX System consists of the Neogen® *Salmonella* Enrichment Base, the Neogen® *Salmonella* Enrichment Supplement, the Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) Plate, and the Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) Confirmation Disk, which are all packaged separately.

The Neogen Petrifilm SALX Plate is a sample ready-to-use chromogenic culture medium system that contains a cold-water-soluble gelling agent and is selective and differential for *Salmonella*, providing a presumptive result. The Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk contains a biochemical substrate that facilitates the biochemical confirmation of *Salmonella* organisms.

The Neogen Petrifilm SALX Plate is used with or without the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk. The Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk may be used only in conjunction with the Neogen Petrifilm SALX Plate.

The Neogen Petrifilm SALX System is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food. For example, Neogen has not documented this product for testing water, pharmaceutical, cosmetic, clinical or veterinary samples. The Neogen Petrifilm SALX System has not been evaluated with all possible food products, food processes and food processing environments, testing protocols or with all possible strains of bacteria and may not detect all *Salmonella* strains. Neogen has not validated the Neogen Petrifilm SALX System using composite samples.

As with all test methods, the enrichment medium formulation can influence the results. The Neogen Petrifilm SALX Plate has only been evaluated for use with the Neogen *Salmonella* Enrichment Base, the Neogen *Salmonella* Enrichment Supplement, and Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) Broth (typical formulation of R-V R10 broth follows below):

Typical Formula

Magnesium chloride (anhydrous)	13.4 grams
Sodium chloride	7.2 grams
Casein peptone	4.54 grams
Monopotassium phosphate	1.45 grams
Malachite green	0.036 grams
Demineralized water	1000.0 mL
pH 5.1 ± 0.2 @ 25°C	

Adjust pH as required to meet performance standards.

Neogen Petrifilm SALX Plate and Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk components are decontaminated though not sterilized. Neogen Food Safety is certified to International Organization for Standardization (ISO) 9001 for design and manufacturing. Neogen Petrifilm SALX Plate and Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk have not been evaluated with all possible food products, food processes, testing protocols or with all possible microorganism strains.

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Petrifilm SALX System. Retain the safety instructions for future reference.

⚠ **WARNING:** Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage.

⚠ **NOTICE:** Indicates a potentially hazardous situation, which, if not avoided, could result in property damage.

**⚠ WARNING**

Do not use the Neogen Petrifilm SALX System in the diagnosis of conditions in humans or animals.

Neogen Petrifilm SALX System will not specifically differentiate some lactose positive *Salmonella* sp. (primarily *S. arizonae* and *S. diarizonae*) from other lactose positive organisms. Lactose positive *Salmonella* strains will appear as non-*Salmonella* (blue colonies, green colonies, blue to green colonies, and/or black colonies with or without a yellow zone and/or associated gas bubble). It has been stated that these strains account for less than 1% of the total *Salmonella* serotypes¹.

The user must train its personnel in current proper testing techniques: for example, Good Laboratory Practices² or ISO 17025³ or ISO 7218⁴.

To reduce the risks associated with a false negative result leading to the release of contaminated product and/or the possibility of false positive results requiring a retest:

- Upon each plate use, verify hydrated Neogen Petrifilm *Salmonella* Express Plate for any gel discoloration.
- Do not use Neogen Petrifilm *Salmonella* Express Plate that show discoloration.
- Always use the Neogen Petrifilm SALX System before the expiration date.
- Use the Neogen Petrifilm SALX System with food samples and food process environmental samples that have been validated either by the user or by a third party.
- Use the Neogen Petrifilm SALX System only with surfaces, neutralizing buffers, and protocols that have been validated either by the user or by a third party.
- Store the Neogen Petrifilm SALX System as indicated on the package and in the product instructions.
- Follow the procedures and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- **Always use a permanent, ultra fine tip marker** to circle the characteristic presumptive *Salmonella* colonies on the top film before placing the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk onto the gel.

To reduce the risks associated with exposure to chemicals and biohazards:

- Perform pathogen testing in a properly equipped laboratory under the control of trained personnel.
- Always follow standard good laboratory safety practices (GLP)², including proper containment procedures, wearing appropriate protective apparel and eye protection while handling testing materials and test samples.
- Avoid direct contact with the contents of the enrichment medium and inoculated plates.
- Dispose of enrichment media and inoculated plates according to all applicable government, regulatory regulations and applicable laboratory procedures.
- Wear appropriate protective apparel while handling the Neogen Petrifilm SALX Plate as some of the components may be considered allergenic and irritants to some individuals.

To reduce the risks associated with environmental contamination:

- Follow current industry standards and local regulations for disposal of contaminated waste.

NOTICE

Neogen Petrifilm SALX System does not differentiate any one *Salmonella* strain from another.

Consult the Safety Data Sheet for additional information.

For information on documentation of product performance, visit our website at www.neogen.com or contact your Neogen representative or authorized distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at www.neogen.com, or contact your Neogen representative or authorized distributor for more information.

When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples with the appropriate matrices 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 methods and results meet its customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from use of any Neogen Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.



Limitation of Warranties / Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, NEOGEN DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any Neogen Food Safety Product is defective, Neogen or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify Neogen within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to Neogen. Please contact your Neogen representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

Limitation of Neogen Liability

NEOGEN WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall Neogen's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage

Plate storage

Upon receipt, store **unopened** Neogen Petrifilm SALX Plate pouches at 2 to 8°C. They are sensitive to both moisture and light. Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature (20 - 25°C / <60% RH) before opening. Return unused Neogen Petrifilm SALX Plates to pouch. **To prevent exposure to moisture, store** opened Neogen Petrifilm SALX Plate pouches in a sealed bag, protected from light, at -20 to -10°C for no longer than 4 weeks.

Confirmation Disk storage

Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks are individually packaged within a foil pouch. They are sensitive to both moisture and light. Store unopened pouches of Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks at 2 to 8°C. Remove only those individually packaged Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks that will be used immediately and store the remaining Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks in the foil pouch by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened** Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk **pouches**. Store resealed pouches in a cool (20-25°C) dry place (less than 60% RH) for no longer than 4 weeks or placed resealed pouches in a re-sealable storage bag and store at -20 to -10°C for no longer than 5 months.

Do not use Neogen Petrifilm SALX Plates that show discoloration after hydration. Do not use Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks that show discoloration. Expiration date and lot number are noted on each package of Neogen Petrifilm SALX Plates and Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks. The lot number is also noted on individual plates and on individual confirmation disk packages.

△ Disposal

After use, Neogen Petrifilm SALX Plates and Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks may contain microorganisms that may be a potential biohazard. Follow current industry standards and local regulations for disposal of contaminated waste. Consult the Safety Data Sheet for additional information.

Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.

Wear appropriate protective apparel and follow standard good laboratory safety practices (GLP)².

Sample Enrichment

Foods

Tables 1 and 2 present guidance for test matrix samples. It is the user's responsibility to validate alternate sampling protocols (e.g., compositing) or dilution ratios to ensure this test method meets the user's criteria.

For Low Microbial Load Foods:

Low microbial load foods have a total aerobic colony count of $\leq 10^4$ colony forming units/gram. Examples include: pasteurized, cooked, or processed foods.

1. Pre-warm Neogen *Salmonella* Enrichment Base with the added Neogen *Salmonella* Enrichment Supplement to $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (see Tables 1 and 2).
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample. For all meat and highly particulate samples, the use of stomacher filter bags is recommended. Homogenize thoroughly for 2 minutes. Incubate at $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ for 18-24 hours (see Tables 1 and 2).

For High Microbial Load Foods:

High microbial load foods have a total aerobic colony count of $> 10^4$ colony forming units/gram and require the use of Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) Broth. Examples include: raw, unprocessed foods.

1. Pre-warm Neogen *Salmonella* Enrichment Base with the added Neogen *Salmonella* Enrichment Supplement to $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (see Tables 1 and 2).
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample. For all meat and highly particulate samples, the use of stomacher filter bags is recommended. Homogenize thoroughly for 2 minutes. Incubate at $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ for 18-24 hours (see Tables 1 and 2).
3. After primary enrichment incubation, transfer 0.1 mL of the primary enrichment into 10.0 mL Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) Broth. Incubate at $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ for 8-24 hours.

Environmental samples

For sample collection, use a biocide-free cellulose sponge hydrated with Dey-Engley (D/E) Neutralizing Broth. Following user established procedures, remove any remaining D/E Neutralizing Broth residue from the sampled surface.

The recommended size of the sampling area to verify the presence or absence of the pathogen on the surface is 100 cm^2 (10 cm x 10 cm or 4 in. x 4 in.)⁵. When sampling with a sponge, cover the entire area going in two directions (left to right then up and down).

1. Pre-warm Neogen *Salmonella* Enrichment Base with the added Neogen *Salmonella* Enrichment Supplement to $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (see Tables 1 and 2).
2. Aseptically combine the enrichment medium and sample. Mix thoroughly. Incubate at $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ for 18-24 hours.
3. If the environmental sample has a high microbial load (total aerobic colony count of $> 10^4$ colony forming units/sample), then after primary enrichment incubation, transfer 0.1 mL of the primary enrichment into 10.0 mL Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) Broth. Incubate at $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ for 8-24 hours.
4. If the environmental sample has a low microbial load (total aerobic colony count of $\leq 10^4$ colony forming units/sample), then step 3 can be skipped.

AOAC® Official Method of AnalysisSM (OMA) 2014.01

AOAC® Performance TestedSM (PTM) Certificate #061301



In AOAC Research Institute OMASM and PTMSM studies, the Neogen Petrifilm SALX System was found to be an effective method for the detection of *Salmonella*. The matrices tested in these studies are shown in Table 1. The limit of detection of the Neogen Petrifilm SALX System method is 1-5 colony forming units per validated test portion size (in Table 1).

Table 1: Sample Enrichment Protocols according to AOAC OMASM 2014.01 and AOAC PTMSM Certificate #061301

Test Matrix	High Microbial Load	Sample Size	Primary Enrichment			Secondary Enrichment		
			Enrichment Volume (mL)	Temperature (±1.0°C)	Enrichment Time (hour)	Enrichment Medium	Temperature (±1.0°C)	Enrichment Time (hour)
Raw ground beef, raw ground pork, raw ground chicken	✓	25 g	225	41.5	18-24	R-V R10 Broth: 0.1 mL into 10.0 mL	41.5	8-24
Frozen, uncooked shrimp	✓	25 g	225			R-V R10 Broth: 0.1 mL into 10.0 mL	41.5	8-24
Pasteurized liquid whole egg		100 g	900			Not required for low microbial load foods.		
Dry dog food		375 g	3375			Not required for low microbial load foods.		
Fresh, bunched spinach	✓	25 g	225			R-V R10 Broth: 0.1 mL into 10.0 mL	41.5	24
Environmental – stainless steel surface (100 cm ² sample size)		1 Sponge	225			Not required for low microbial load samples.		
Cooked chicken nuggets		25 g	225					

For other matrices:

Table 2: Sample Enrichment Protocols

Test Matrix	High Microbial Load	Sample Size	Primary Enrichment			Secondary Enrichment		
			Enrichment Volume (mL)	Temperature (±1.0°C)	Enrichment Time (hour)	Enrichment Medium	Temperature (±1.0°C)	Enrichment Time (hour)
Foods: Raw Meat, Poultry, Seafood and Fish	✓	25 g	225	41.5	18-24	R-V R10 Broth: 0.1 mL into 10.0 mL	41.5	8-24
Animal Feed		375 g	3375			Not required for low microbial load foods.		
Foods: Produce	✓	25 g	225			R-V R10 Broth: 0.1 mL into 10.0 mL	41.5	8-24
Environmental	*	1 Sponge	225			Not required for low microbial load samples.		
Other Foods	*	Follow appropriate reference method for sample size and enrichment volume						

* Some environmental and other food samples may have a high microbial load and require the use of R-V R10 secondary enrichment.

Plate Hydration

1. Use prescribed sterile diluents to hydrate the Neogen Petrifilm SALX Plates:
Butterfield’s Phosphate Diluent, distilled water, or reverse osmosis water.
2. Place the Neogen Petrifilm SALX Plate on a flat, level surface (figure A).
3. Lift the top film and with the pipette perpendicular dispense 2.0 mL ± 0.1 mL of sterile diluent onto the center of bottom film (figure B). Do not close the top film before dispensing the entire 2.0 mL volume.
4. Gently roll down the top film onto the diluent to prevent trapping air bubbles (figure C).
5. Place the Neogen® Petrifilm® Flat Spreader (Catalog #6425) on the center of the plate. Press gently on the center of the spreader to distribute the diluent evenly. Spread the diluent over the entire Neogen Petrifilm SALX Plate growth area before the gel is formed. Do not slide the spreader across the film (figure D).
6. Remove the spreader and do not disturb the Neogen Petrifilm SALX Plate for at least 1 minute.
7. Place Neogen Petrifilm SALX Plate on a flat surface for at least 1 hour at room temperature (20-25°C / <60% RH), protected from light, to allow the gel to form. Hydrated Neogen Petrifilm SALX Plates can be stored at room temperature (20-25°C / <60% RH) protected from light, for up to 8 hours before use. If hydrated Neogen Petrifilm SALX Plates will not be used within 8 hours, store them in a sealed plastic bag. Protect Neogen Petrifilm SALX Plates from light and store at -20 to -10°C for up to 5 days.
8. After Neogen Petrifilm SALX Plates are removed from storage, allow them to warm to room temperature before use.

Plate Inoculation

1. Remove the enrichment medium from the incubator and agitate contents by hand.
2. Use a sterile 10 µL loop (3 mm diameter) to withdraw each sample. Use a smooth loop (one that does not have jagged edges and is not distorted) to prevent the gel surface from breaking.
3. Open the Neogen Petrifilm SALX Plate and streak onto the gel (figure E). Perform a single streak to obtain isolated colonies (Figure 1).

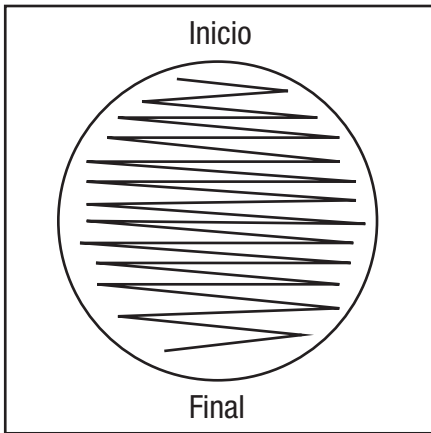


Figure 1: Streaking pattern on the Neogen Petrifilm SALX Plate

4. Roll down the top film to close the Neogen Petrifilm SALX Plate.
5. Using a gloved hand (while practicing good laboratory practices to avoid cross contamination and/or direct contact with the plate), gently apply a sweeping motion with even pressure onto the top film to remove any air bubbles in the inoculation area (figure F).

Plate Incubation

Incubate plates at 41.5 ± 1.0°C for 24 hours ± 2 hours in a horizontal position with the colored side up in stacks of no more than 20 plates.

Interpretation

1. Remove the Neogen Petrifilm SALX Plates from the incubator and proceed with visually reading the results.
2. **Using indirect back lighting may enhance reading of colony color, discrete yellow zones, and gas bubbles associated with a colony.**
3. For interpretation, visually examine the isolated colonies. See Table 3. Do not count artifact bubbles that may be present.
4. Presumptive positive *Salmonella* species are red to brown colonies with a yellow zone or associated gas bubble, or both (figure G). An associated gas bubble is defined as being located within one colony diameter distance from the colony (see Table 3 below).

Table 3: Interpretation for Presumptive Positive *Salmonella* species

Colony Color			Colony Metabolism		Result
Red	Dark Red	Brown	Yellow zone	Gas bubble	
✓			✓		Presumptive +
✓				✓	Presumptive +
✓			✓	✓	Presumptive +
	✓		✓		Presumptive +
	✓			✓	Presumptive +
	✓		✓	✓	Presumptive +
		✓	✓		Presumptive +
		✓		✓	Presumptive +
		✓	✓	✓	Presumptive +

Non-*Salmonella* species (figure H):

- Blue colonies, green colonies, blue to green colonies, and/or black colonies with or without a yellow zone and/or associated gas bubble are non-*Salmonella* organisms.
- Red, dark red, and brown colonies with no yellow zone and no associated gas are non-*Salmonella* organisms.
- Red, dark red, and brown colonies with a magenta zone are non-*Salmonella* organisms.

If presumptive positive *Salmonella* colonies are not present, then *Salmonella* organisms were not detected in the matrix.

Presumptive *Salmonella* species:

If presumptive positive *Salmonella* colonies are present, then perform the following steps and continue to the Biochemical Confirmation step:

- On the Neogen Petrifilm SALX Plate top film, **circle a minimum of five isolated presumptive positive *Salmonella* colonies (if present) using a permanent, ultra fine tip marker** (figure I).
- Biochemically confirm all *Salmonella* presumptive positive results using the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk. See the Biochemical Confirmation section.
- If the Neogen Petrifilm SALX Plates cannot be analyzed within 1 hour of removal from the incubator, **first circle the presumptive *Salmonella* colonies on the top film by using a permanent, ultra fine tip marker** and then place the plates in a sealed plastic bag for later analysis. Protect Neogen Petrifilm SALX Plates from light and store at -20 to -10°C for no longer than 72 hours. Allow plates to warm to room temperature (20-25°C / <60% RH) before adding the disk to the plate.

⚠ WARNING: To reduce the risks associated with a false-negative result leading to the release of contaminated product and the possibility of false positive results requiring a retest, always use a permanent, ultra fine tip marker to circle the characteristic presumptive *Salmonella* colonies on the top film of the Neogen Petrifilm SALX Plate before appropriate storage of the plate and/or before placing the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk onto the gel.

Biochemical Confirmation

- Perform good laboratory practices to avoid cross contamination and/or direct contact with the Neogen Petrifilm SALX Plate and/or Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk.
- Remove an individually packaged Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk from its pouch and allow it to come to room temperature (20-25°C / <60% RH). Then remove the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk from its individual package by peeling the package to expose the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk's tab, grasping the tab, and removing the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk.
- Lift the top film (with the already circled presumptive *Salmonella* colonies) of the Neogen Petrifilm SALX Plate and insert the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk by rolling it onto the gel to avoid entrapping air bubbles (figure J). Close the Neogen Petrifilm SALX Plate.
- Using a gloved hand, gently apply a sweeping motion with even pressure onto the top film to remove any air bubbles in the inoculation area and assure good contact between the gel and the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk (figure K).
- Incubate the Neogen Petrifilm SALX System (plate and disk) at 41.5 ± 1.0°C for 4 - 5 hours in a horizontal position, right side up, no higher than 20 plates.
- Remove the Neogen Petrifilm SALX System from the incubator and proceed with reading the results.
Only read the circled presumptive *Salmonella* colonies (See Table 4):

Table 4: Interpretation of Neogen Petrifilm SALX System:

Colony Color			Biochemical Confirmation Result
Green to Blue	Blue to Dark Blue	Black	
✓			Biochemically Confirmed +
	✓		Biochemically Confirmed +
		✓	Biochemically Confirmed +

Biochemically confirmed positive results:

- Colonies that are green to blue, blue to dark blue, or black or have a blue precipitate around them are biochemically confirmed positive for *Salmonella* species.

Biochemically confirmed negative results:

- Colonies that remain the same red, dark red or brown color without a blue precipitate are negative for *Salmonella* species.

7. Colonies may be subcultured for further identification. When subculturing, wear appropriate protective apparel and follow standard good laboratory safety practices (GLP)².
 - a. Lift the top film and aseptically remove the colony either from the gel or the Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk. If a Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disk is covering the gel, aseptically peel the disk away and then aseptically remove the colony from the gel.
 - b. Streak the colony per appropriate reference method^{6,7,8}.
8. If the colonies cannot be subcultured within 1 hour of plate removal from the incubator, then store the Neogen Petrifilm SALX Plates for later analysis by placing in a sealed plastic bag at -20 to -10°C for no longer than 72 hours in the dark. Allow Neogen Petrifilm SALX Plates to warm to room temperature (20-25°C / <60% RH) before continuing subculturing for identification.
9. After the test is complete, dispose of the Neogen Petrifilm SALX Plates and Neogen Petrifilm SALX Confirmation Disks in accordance with current industry standards and/or local regulations.

For further information refer to the Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express System “Interpretation Guide.” If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at www.neogen.com or contact your local Neogen representative or distributor.

References

1. McDonough P.L, et al. (2000). Diagnostic and Public Health Dilemma of Lactose-Fermenting *Salmonella* enterica Serotype *Typhimurium* in Cattle in the Northeastern United States. J. Clin. Microbiol. 38:1221-1226.
2. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
3. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
5. ISO 18593:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
6. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5 *Salmonella*.
7. US Department of Agriculture (USDA) Microbiology Laboratory Guidebook 4.09. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges.
8. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

Refer to the current versions of the standard methods listed above.

Explanation of Symbols

info.neogen.com/symbols

AOAC™ is a registered trademark of AOAC International.

Official Methods (OMA)SM is a service mark of AOAC International.

Performance Tested MethodsSM is a service mark of AOAC International.

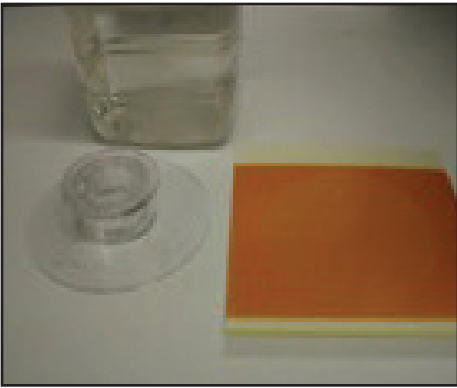


Figure A.

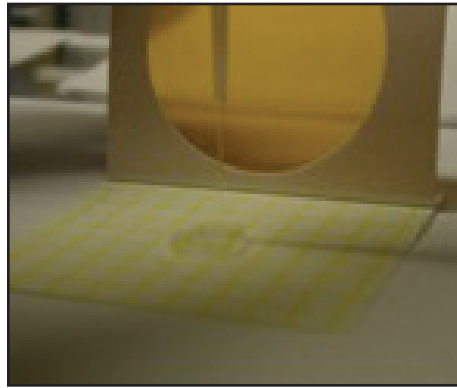


Figure B.

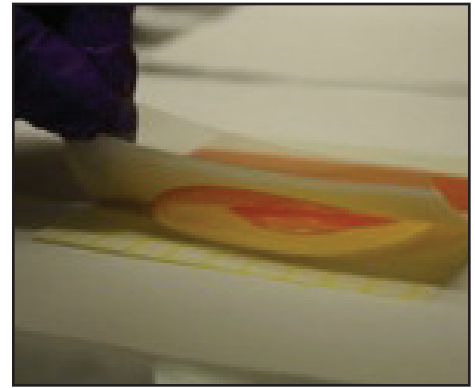


Figure C.

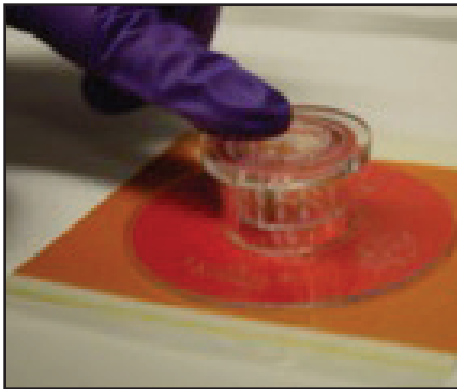


Figure D.

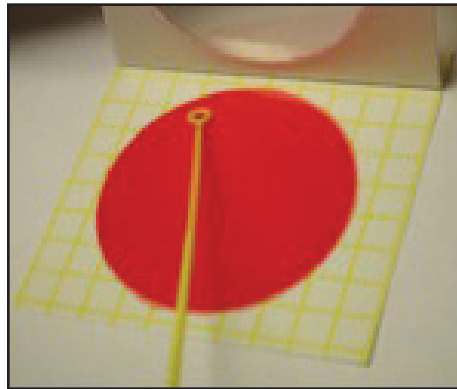


Figure E.

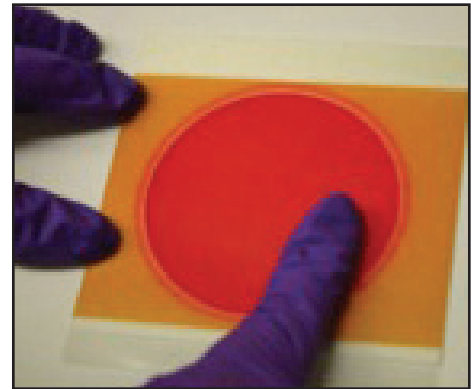


Figure F.

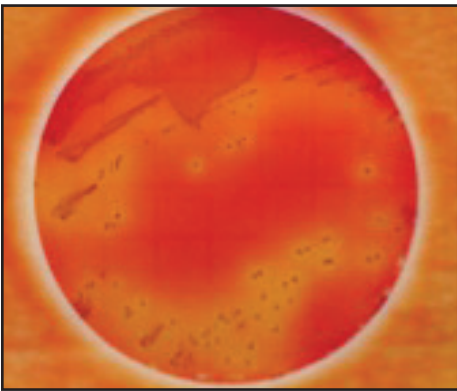


Figure G.

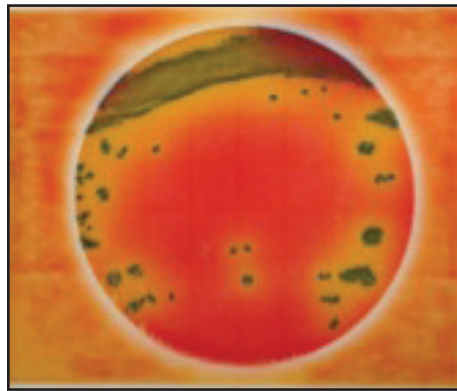


Figure H.

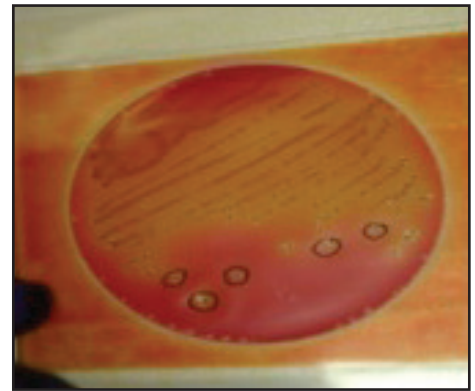


Figure I.

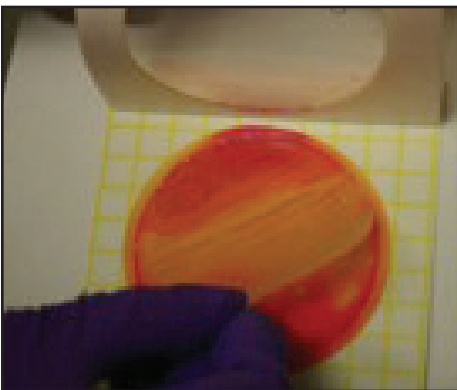


Figure J.

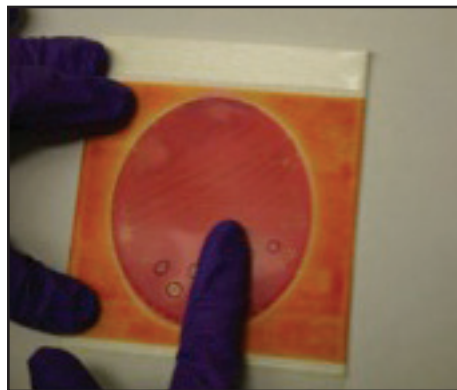


Figure K.

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00828A

Instrucciones del Producto

Sistema *Salmonella* Express

Descripción del producto y uso previsto

El Sistema Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) se utiliza para la detección cualitativa rápida y la confirmación bioquímica de especies de *Salmonella* en muestras ambientales de alimentos enriquecidos y del proceso de alimentación. El Sistema Neogen Petrifilm SALX consiste en la Base enriquecida de Neogen® *Salmonella*, el Suplemento enriquecido de Neogen® *Salmonella*, la Placa Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) y el Disco de Confirmación Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX), que están todos envasados por separado.

La Placa Neogen Petrifilm SALX es un sistema de medio de cultivo cromogénico de muestra lista para usar que contiene un agente gelificante soluble en agua fría y es selectivo y diferencial para la *Salmonella*, lo que proporciona un resultado presunto. El Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX contiene un sustrato bioquímico que facilita la confirmación biológica de organismos de *Salmonella*.

La Placa Neogen Petrifilm SALX se utiliza con o sin el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX. El Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX se puede utilizar solo en conjunto con la Placa Neogen Petrifilm SALX.

El Sistema Neogen Petrifilm SALX está previsto para el uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. Neogen no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria. Por ejemplo, Neogen no documentó este producto para el análisis de muestras de agua, farmacéuticas, cosméticas, clínicas o veterinarias. El Sistema Neogen Petrifilm SALX no ha sido evaluado con todos los posibles productos alimenticios, procesos alimenticios y entornos de procesamiento de alimentos, protocolos de prueba ni con todas las cepas de bacterias posibles, y puede que no detecte todas las cepas de *Salmonella*. Neogen no ha validado el Sistema Neogen Petrifilm SALX utilizando muestras compuestas.

Como con todos los métodos de prueba, la formulación del medio de enriquecimiento puede influir en los resultados. La Placa Neogen Petrifilm SALX solo ha sido evaluada para utilizar con la Base de enriquecimiento Neogen *Salmonella*, el Suplemento de enriquecimiento Neogen *Salmonella* y con el caldo Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) (la formulación típica del caldo R-V R10 que aparece a continuación):

Fórmula típica

Cloruro magnésico (anhidro)	13,4 gramos
Cloruro de sodio	7,2 gramos
Peptona caseína	4,54 gramos
Fosfato monopotasio	1,45 gramos
Verde de malaquita	0,036 gramos
Agua desmineralizada	1000,0 mL
pH 5,1 ± 0,2 @ 25 °C	

Ajuste el PH según sea necesario para reunir los estándares de rendimiento.

Los componentes de la Placa Neogen Petrifilm SALX y el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX están descontaminados, aunque no esterilizados. Neogen Food Safety cuenta con certificación de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación. La Placa Neogen Petrifilm SALX y el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX no han sido evaluados con todos los productos alimenticios, procesos alimenticios, protocolos de prueba posibles, ni con todas las posibles cepas de microorganismos.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones del Sistema Neogen Petrifilm SALX. Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

- ⚠ **ADVERTENCIA:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves, y/o daños materiales.
- ⚠ **ATENCIÓN:** Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar daños materiales.



⚠ ADVERTENCIA

No utilice el Sistema Neogen Petrifilm SALX para diagnosticar enfermedades de humanos o animales.

El Sistema Neogen Petrifilm SALX no diferenciará de manera específica algunos casos de *Salmonella* sp. lactosa positiva (principalmente *S. arizonae* y *S. diarizonae*) de otros organismos de lactosa positiva. Las cepas de *Salmonella* lactosa positiva aparecerán como no-*Salmonella* (colonias azules, colonias verdes, colonias azules a verdes o colonias negras con o sin zonas amarillas o burbujas de gas asociadas). Se ha establecido que estas cepas significan menos del 1 % del total de los estereotipos de *Salmonella*¹.

El usuario debe capacitar a su personal en las técnicas de evaluación adecuadas, por ejemplo, las Buenas Prácticas de Laboratorio² o ISO 17025³ o ISO 7218⁴.

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la liberación de productos contaminados o la posibilidad de resultados falsos positivos que necesiten una nueva prueba:

- Luego del uso de cada placa, controle que la Placa Neogen Petrifilm *Salmonella* Express hidratada en busca de alguna decoloración del gel.
- No utilice la Placa Neogen Petrifilm *Salmonella* Express con alguna decoloración.
- Utilice siempre el Sistema Neogen Petrifilm SALX antes de la fecha de vencimiento.
- Utilice el Sistema Neogen Petrifilm SALX con muestras de alimentos y muestras ambientales del proceso alimenticio que hayan sido validadas por el usuario o por un tercero.
- Utilice el Sistema Neogen Petrifilm SALX solo con superficies, soluciones amortiguadoras neutralizantes y protocolos que hayan sido validados por el usuario o por un tercero.
- Almacene el Sistema Neogen Petrifilm SALX como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Siga los procedimientos y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- **Utilice siempre un marcador permanente de punta ultrafina** para encerrar las colonias de *Salmonella* presuntas características en la superficie de la película colocando antes el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX sobre el gel.

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a productos químicos y riesgos biológicos:

- Realice las pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de personal capacitado.
- Siempre proceda de acuerdo con las prácticas estándar de seguridad del laboratorio (GLP)², lo que incluye usar procedimientos de contención correctos, ropa de protección adecuada y protección para los ojos al manipular los materiales de prueba y las muestras de la prueba.
- Evite el contacto directo con los contenidos del medio enriquecido y las placas inoculadas.
- Deseche el medio enriquecido y las placas inoculadas según todas las normativas regulatorias y gubernamentales, y usando los procedimientos de laboratorio correspondientes.
- Utilice ropa de protección adecuada al manipular la Placa Neogen Petrifilm SALX, ya que algunos de los componentes pueden ser alergénicos e irritantes para algunas personas.

Para reducir los riesgos relacionados con la contaminación ambiental:

- Proceda de acuerdo con las normas de la industria y la normativa local actuales para el desecho de residuos contaminados.

ATENCIÓN

El Sistema Neogen Petrifilm SALX no diferencia ninguna cepa de *Salmonella* de otra.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información.

Para obtener más información sobre la documentación del desempeño del producto, visite nuestro sitio web en www.neogen.com o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones y la información del producto. Visite nuestro sitio web en www.neogen.com o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Neogen para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio pueden afectar los resultados.



Al seleccionar cualquier método de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar un número suficiente de muestras con retos microbianos y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios necesarios.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de Neogen Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a Neogen en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen o distribuidor autorizado de Neogen si tuviera cualquier otra pregunta.

Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de Neogen conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento

Almacenamiento de la placa

Luego de la recepción, almacene las bolsas de Placa Neogen Petrifilm SALX **cerradas** en un ambiente de 2 a 8 °C. Son sensibles a la humedad y la luz. Antes de usarlas, deje que las bolsas cerradas alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas (20 °C-25 °C / <60 % de humedad relativa). Vuelva a colocar las Placas Neogen Petrifilm SALX que no haya usado en la bolsa. **Para evitar la exposición a la humedad, almacene** las bolsas de Placa Neogen Petrifilm SALX abiertas en una bolsa sellada, protegida contra la luz, en un ambiente de -20 °C a -10 °C durante no más de 4 semanas.

Almacenamiento del Disco de confirmación

Los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX están embalados por separado dentro de una bolsa de aluminio. Son sensibles a la humedad y la luz. Almacene las bolsas cerradas de los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX en un ambiente de 2 °C a 8 °C. Saque solo los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX embalados por separado que se utilizarán inmediatamente y almacene los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX restantes en la bolsa de aluminio doblando el extremo de la bolsa y colocando cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas del Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX.** Almacene las bolsas reselladas en un lugar frío (20 °C-25 °C) y seco (menos del 60 % de humedad relativa) durante no más de 4 semanas o coloque las bolsas reselladas en una bolsa de almacenamiento resellable y almacene en un ambiente de -20 °C a -10 °C durante no más de 5 meses.

No use las Placas Neogen Petrifilm SALX que presenten decoloración después de la hidratación. No use los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX que presenten decoloración. La fecha de vencimiento y el número de lote figuran en cada paquete de Placas Neogen Petrifilm SALX y Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX. El número de lote también se anota en las placas individuales y en los paquetes de discos de confirmación individuales.

⚠ Desecho

Después del uso, las Placas Neogen Petrifilm SALX y los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX que pueden representar un posible riesgo biológico. Proceda de acuerdo con las normas de la industria y la normativa local actuales para el desecho de residuos contaminados. Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información.

Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones atentamente. De lo contrario, los resultados obtenidos podrían llegar a ser incorrectos.

Use la ropa de protección adecuada y respete las buenas prácticas de seguridad de laboratorio (GLP) estándares².



Enriquecimiento de la muestra

Alimentos

Las tablas 1 y 2 ofrecen orientación para las muestras matrices de prueba. Es responsabilidad del usuario validar protocolos de muestreo (p. ej., composición) o proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.

Para los alimentos de baja carga microbiana:

Los alimentos de baja carga microbiana tienen un recuento total de colonias de bacterias aerobias de $f \leq 10^4$ que forma unidades/gramos. Los ejemplos incluyen alimentos pasteurizados, cocidos o procesados.

1. Base enriquecida Neogen *Salmonella* precalentada con Suplemento enriquecido Neogen *Salmonella* de $41,5 \pm 1,0$ °C (Consulte las Tablas 1 y 2).
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda utilizar bolsas con filtro Stomacher. Homogenice bien durante 2 minutos. Encube a $41,5$ °C \pm $1,0$ °C durante 18-24 horas (consulte las Tablas 1 y 2).

Para los alimentos de alta carga microbiana:

Los alimentos de alta carga microbiana tienen un recuento total de colonias de bacterias aerobias de $> 10^4$ colonias que forman unidades/gramos y requiere el uso de caldo Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10). Los ejemplos incluyen alimentos crudos, no procesados.

1. Base enriquecida Neogen *Salmonella* precalentada con Suplemento enriquecido Neogen *Salmonella* de $41,5 \pm 1,0$ °C (Consulte las Tablas 1 y 2).
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica. Para todas las muestras con alto contenido de partículas y carne, se recomienda utilizar bolsas con filtro Stomacher. Homogenice bien durante 2 minutos. Encube a $41,5$ °C \pm $1,0$ °C durante 18-24 horas (consulte las Tablas 1 y 2).
3. Después de la primera incubación enriquecida, transfiera 0,1 mL del enriquecimiento principal a 10,0 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10). Incube a una temperatura de $41,5$ °C \pm $1,0$ °C durante 8-24 horas.

Muestras ambientales

Para la recolección de muestras, utilice una esponja de celulosa libre de biocidas hidratada con el caldo neutralizante Dey-Engley (D/E). Siguiendo los procedimientos establecidos para el usuario, quite cualquier residuo de caldo neutralizante D/E restante de la superficie muestreada.

El tamaño recomendado del área de muestra para verificar la presencia o ausencia del patógeno en la superficie es de 100 cm^2 (10 cm x 10 cm o 4 in. x 4 in.)⁵. Cuando se extraiga la muestra con una esponja, cubra toda el área moviéndose en dos direcciones (de izquierda a derecha y luego de arriba a abajo).

1. Base enriquecida Neogen *Salmonella* precalentada con Suplemento enriquecido Neogen *Salmonella* de $41,5 \pm 1,0$ °C (Consulte las Tablas 1 y 2).
2. Combine el medio de enriquecimiento y la muestra de forma aséptica. Mezcle bien. Incube a una temperatura de $41,5$ °C \pm $1,0$ °C durante 18-24 horas.
3. Si la muestra ambiental contiene una carga microbiana alta (conteo total de colonias de bacterias aerobias de $> 10^4$ colonias que forman unidades/muestra), después de la primera incubación enriquecida, transfiera 0,1 mL del enriquecimiento principal a 10,0 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10). Incube a una temperatura de $41,5$ °C \pm $1,0$ °C durante 8-24 horas.
4. Si la muestra ambiental contiene una carga microbiana baja (conteo total de colonias de bacterias aerobias de $\leq 10^4$ colonias que forman unidades/muestras), se puede saltar el paso 3.



En los estudios de AOAC Research Institute OMASM y PTMSM, se descubrió que el Sistema Neogen Petrifilm SALX era un método efectivo para la detección de *Salmonella*. Las matrices evaluadas en estos estudios se muestran en la Tabla 1. El límite de detección del método del Sistema Neogen Petrifilm SALX es de 1-5 colonias que forman unidades por tamaño de parte de prueba validada (en la Tabla 1).

Tabla 1: Protocolos de Enriquecimiento de la muestra según AOAC OMASM 2014.01 y AOAC PTMSM Certificado 061301

Matriz de prueba	Alta cara microbiana	Tamaño de la muestra	Enriquecimiento primario			Enriquecimiento secundario		
			Volumen de enriquecimiento (mL)	Temperatura (± 1,0 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Medio de enriquecimiento	Temperatura (± 1,0 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)
Carne de res molida cruda, carne de cerdo molida cruda, carne de pollo molida cruda	✓	25 g	225	41,5	18-24	Caldo R-V R10: 0,1 mL en 10,0 mL	41,5	8-24
Camarones congelados, sin cocinar	✓	25 g	225			Caldo R-V R10: 0,1 mL en 10,0 mL	41,5	8-24
Huevo entero líquido pasteurizado		100 g	900			No se requiere para los alimentos de baja carga microbiana.		
Comida seca para perros		375 g	3375			No se requiere para los alimentos de baja carga microbiana.		
Racimo de espinaca fresca	✓	25 g	225			Caldo R-V R10: 0,1 mL en 10,0 mL	41,5	24
Ambiental: superficie de acero inoxidable (tamaño de la muestra 100 cm ²)		1 esponja	225			No se requiere para las muestras de baja carga microbiana.		
Pollo empanizado cocido		25 g	225					



Para otras matrices:

Tabla 2: Protocolos Enriquecimiento de la muestra

Matriz de prueba	Alta carga microbiana	Tamaño de la muestra	Enriquecimiento primario			Enriquecimiento secundario				
			Volumen de enriquecimiento (mL)	Temperatura ($\pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Medio de enriquecimiento	Temperatura ($\pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$)	Tiempo de enriquecimiento (horas)		
Alimentos: Carne cruda, carne de ave, mariscos y pescado	✓	25 g	225	41,5	18-24	Caldo R-V R10: 0,1 mL en 10,0 mL	41,5	8-24		
Alimento para animales		375 g	3375			No se requiere para los alimentos de baja carga microbiana.				
Alimentos: Producto	✓	25 g	225			41,5	18-24	Caldo R-V R10: 0,1 mL en 10,0 mL	41,5	8-24
Ambiental	*	1 esponja	225			No se requiere para las muestras de baja carga microbiana.				
Otros alimentos	*	Siga el método de referencia adecuado para el tamaño de la muestra y el volumen de enriquecimiento								

* Algunas muestras ambientales y de otros alimentos pueden tener una carga microbiana alta y requieren del uso de enriquecimiento secundario R-V R10.

Hidratación de placas

- Use los diluyentes estériles prescritos para hidratar las Placas Neogen Petrifilm SALX:
Diluyente fosfato de Butterfield, agua destilada o agua por ósmosis inversa.
- Coloque la Placa Neogen Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana (figura A).
- Levante la película superior y, con la pipeta en posición perpendicular, distribuya $2,0\text{ mL} \pm 0,1\text{ mL}$ de diluyente estéril en el centro de la película inferior (figura B). No cierre la película superior antes de dispensar el volumen total de $2,0\text{ mL}$.
- Desenrolle suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar que se formen burbujas de aire (figura C).
- Coloque el Neogen® Petrifilm® Difusor Plano (N.º de catálogo 6425) en el centro de la Placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Esparza el diluyente por toda el área de crecimiento de la Placa Neogen Petrifilm SALX antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película (figura D).
- Quite el difusor y no interrumpa la Placa Neogen Petrifilm SALX durante, al menos, 1 minuto.
- Coloque la Placa Neogen Petrifilm SALX en una superficie plana durante, al menos, 1 hora a temperatura ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $<60\%$ de humedad relativa), protegida contra la luz, para dejar que se forme el gel. Las Placas Neogen Petrifilm SALX hidratadas se pueden almacenar a temperatura ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $<60\%$ de humedad relativa) protegidas contra la luz durante hasta 8 horas antes del uso. Si las Placas Neogen Petrifilm SALX hidratadas no se usarán dentro de las 8 horas, almacénelas en una bolsa plástica sellada. Proteja las Placas Neogen Petrifilm SALX contra la luz y almacénelas en un ambiente de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante hasta 5 días.
- Después de que se quiten las Placas Neogen Petrifilm SALX del almacenamiento, deje que alcancen la temperatura ambiente antes del uso.

Inoculación de placas

1. Quite el medio de enriquecimiento de la incubadora y agite los contenidos a mano.
2. Use un asa esterilizada de 10 μL (3 mm de diámetro) para retirar cada muestra. Use un asa lisa (una que no tenga bordes irregulares o torcidos) para evitar que se quiebre la superficie del gel.
3. Abra la Placa Neogen Petrifilm SALX y páselo por el gel (figura E). Realice una pasada única para obtener colonias aisladas (figura 1).

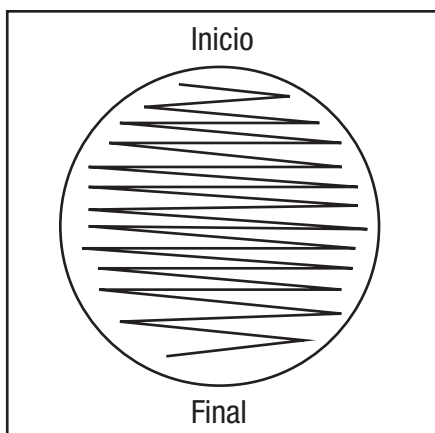


Figura 1: Patrón de rayado en la Placa Neogen Petrifilm SALX

4. Desenrolle la película superior para cerrar la Placa Neogen Petrifilm SALX.
5. Usando la mano con guante (mientras ejercita buenas prácticas de laboratorio para evitar la contaminación cruzada o el contacto directo con la placa), aplique suavemente un movimiento amplio con presión uniforme sobre la película superior para eliminar cualquier burbuja de aire de la zona de inoculación (figura F).

Incubación de placas

Incube las Placas a $41,5 \pm 1,0$ °C durante 24 horas \pm 2 horas en posición horizontal, con la parte coloreada hacia arriba, en pilas de hasta 20 placas.

Interpretación

1. Saque las Placas Neogen Petrifilm SALX de la incubadora y proceda con la lectura visual de los resultados.
2. **Usar luz interior indirecta puede mejorar la lectura del color de la colonia, las zonas amarillas discretas y las burbujas de gas relacionadas con una colonia.**
3. Para la interpretación, examine visualmente las colonias aisladas. Consulte la Tabla 3. No cuente las burbujas del artefacto que puedan estar presentes.
4. Las especies de *Salmonella* presuntamente positivas son colonias de rojo a marrón con una zona amarilla o burbujas de gas asociadas, o con ambas características (figura G). Una burbuja de gas asociada se define así por estar ubicada dentro de la distancia del diámetro de una colonia desde la colonia (consulte la Tabla 3 que aparece a continuación).

**Tabla 3:** Interpretación de especies de *Salmonella* presuntamente positivas

Color de la colonia			Metabolismo de la colonia		Resultado
Rojo	Rojo oscuro	Marrón	Zona amarilla	Burbuja de gas	
✓			✓		Presuntamente +
✓				✓	Presuntamente +
✓			✓	✓	Presuntamente +
	✓		✓		Presuntamente +
	✓			✓	Presuntamente +
	✓		✓	✓	Presuntamente +
		✓	✓		Presuntamente +
		✓		✓	Presuntamente +
		✓	✓	✓	Presuntamente +

Especies de no-*Salmonella* (figura H):

- Las colonias azules, verdes, azules a verdes o negras con o sin una zona amarilla o con burbujas de gas asociadas se consideran organismos de no-*Salmonella*.
- Las colonias rojas, rojo oscuro y marrones sin zona amarilla y sin gas asociado se consideran organismos de no-*Salmonella*.
- Las colonias rojas, rojo oscuro y marrones con una zona magenta se consideran organismos de no-*Salmonella*.

Si no hay presentes colonias de *Salmonella* presuntamente positiva, los organismos de *Salmonella* no se detectaron en la matriz.

Especies de *Salmonella* presunta:

Si hay presentes colonias de *Salmonella* presuntamente positiva, realice los siguientes pasos y continúe hasta el paso de Confirmación bioquímica:

- En la película superior de la Placa Neogen Petrifilm SALX, **encierre un mínimo de cinco colonias de *Salmonella* presuntamente positiva (si están presentes) usando un marcador permanente de punta ultrafina** (figura I).
- Confirme bioquímicamente todos los resultados de *Salmonella* presuntamente positiva usando el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX. Consulte la sección de Confirmación bioquímica.
- Si las Placas Neogen Petrifilm SALX no se pueden analizar dentro de 1 hora de la extracción de la incubadora, **encierre primero las colonias de *Salmonella* presuntas sobre la película superior usando un marcador permanente de punta ultrafina** y luego coloque las placas en una bolsa plástica sellada para un análisis posterior. Proteja las Placas Neogen Petrifilm SALX contra la luz y almacénelas en un ambiente de -20 °C a -10 °C durante no más de 72 horas. Deje que las placas alcancen la temperatura ambiente (20 °C-25 °C / <60 % de humedad relativa).

⚠ ADVERTENCIA: Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la liberación de productos contaminados y la posibilidad de resultados falsos positivos que requieran una nueva prueba, siempre use un marcador permanente de punta ultrafina para encerrar las colonias de *Salmonella* presunta características en la película superior de la Placa Neogen Petrifilm SALX antes del almacenamiento adecuado de la placa o antes de colocar el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX sobre el gel.

Confirmación bioquímica

- Ejercite buenas prácticas de laboratorio para evitar la contaminación cruzada o el contacto directo con la Placa Neogen Petrifilm SALX o el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX.
- Saque de la bolsa un Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX embalado por separado y deje que alcance la temperatura ambiente (20 °C-25 °C / <60 % de humedad relativa). Para sacar el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX de su envoltorio individual, desprenda el envoltorio para exponer la solapa del Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX, sujete la solapa y quite el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX.



3. Levante la película superior (con las colonias de *Salmonella* presunta ya encerradas) de la Placa Neogen Petrifilm SALX e inserte el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX estirándolo sobre el gel para evitar atrapar burbujas de aire (figura J). Cierre la Placa Neogen Petrifilm SALX.
4. Usando la mano con guante, aplique suavemente un movimiento amplio con presión uniforme sobre la película superior para eliminar cualquier burbuja de aire del área de inoculación y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX (figura K).
5. Incube el Sistema Neogen Petrifilm SALX a 41,5 °C ± 1.0 °C durante 4 a 5 horas en posición horizontal, hacia arriba, en pilas de no más de 20 placas.
6. Quite el Sistema Neogen Petrifilm SALX de la incubadora y proceda con la lectura de los resultados.
Solo lea las colonias de *Salmonella* presuntas que se encerraron (consulte la Tabla 4):

Tabla 4: Interpretación del Sistema Neogen Petrifilm SALX:

Color de la colonia			Resultado de confirmación bioquímica
Verde a azul	Azul a azul oscuro	Negro	
✓			Confirmado bioquímicamente +
	✓		Confirmado bioquímicamente +
		✓	Confirmado bioquímicamente +

Resultados positivos confirmados bioquímicamente:

- Las colonias de color verde a azul, azul a azul oscuro o negras, o que tienen un azul precipitado a su alrededor son confirmadas bioquímicamente confirmadas como positivas para las especies de *Salmonella*.

Resultados negativos confirmados bioquímicamente:

- Las colonias que mantienen el mismo color rojo, rojo oscuro o marrón sin un azul precipitado son negativas para las especies de *Salmonella*.

7. Puede que las colonias se deban subcultivar para una mayor identificación. Cuando realice subcultivos, use la ropa de protección adecuada y respete las buenas prácticas de seguridad de laboratorio (GLP) estándares².
 - a. Levante la película superior y quite de manera aséptica la colonia del gel o del Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX. Si un Disco de Confirmación Neogen Petrifilm SALX está cubriendo el gel, desprenda el disco de manera aséptica y quite la colonia del gel de manera también aséptica.
 - b. Raye la colonia según el método de referencia adecuado^{6, 7, 8}.
8. Si las colonias no se pueden subcultivar dentro de 1 hora de haber quitado la placa de la incubadora, almacene las Placas Neogen Petrifilm SALX para un análisis posterior colocándolas en una bolsa plástica sellada en un ambiente de -20 °C a -10 °C durante no más de 72 horas en la oscuridad. Deje que las Placas Neogen Petrifilm SALX alcancen la temperatura ambiente (20 °C-25 °C / <60 % de humedad relativa) antes de seguir con el subcultivo para la identificación.
9. Después de que se haya completado la prueba, deseche las Placas Neogen Petrifilm SALX y los Discos de Confirmación Neogen Petrifilm SALX de acuerdo con los estándares de la industria o la normativa local.

Para obtener mayor información, consulte la "Guía de interpretación" del Sistema Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express. Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.



Referencias

1. McDonough P.L, et al. (2000). Diagnostic and Public Health Dilemma of Lactose-Fermenting *Salmonella enterica* Serotype *Typhimurium* in Cattle in the Northeastern United States. J. Clin. Microbiol. 38:1221-1226.
2. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
3. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
5. ISO 18593:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
6. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5 *Salmonella*.
7. US Department of Agriculture (USDA) Microbiology Laboratory Guidebook 4.09. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges.
8. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándar enumerados anteriormente.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

AOAC™ es una marca registrada de AOAC International.

Official Methods (OMA)SM es una marca de servicio de AOAC International.

Performance Tested MethodsSM es una marca de servicio de AOAC International.

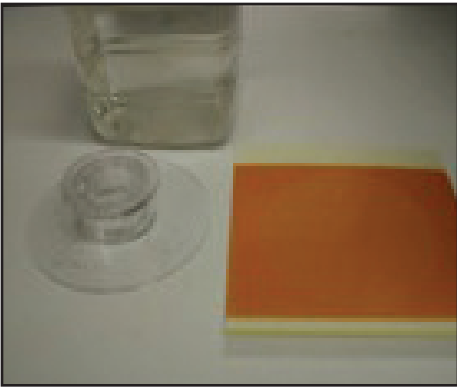


Figura A.

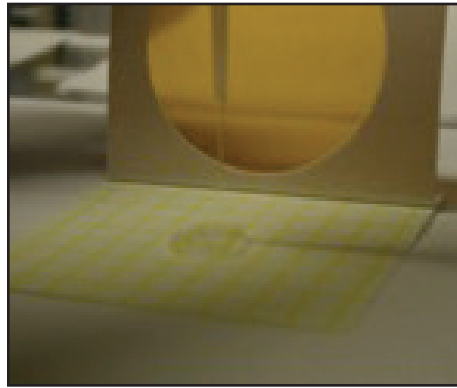


Figura B.

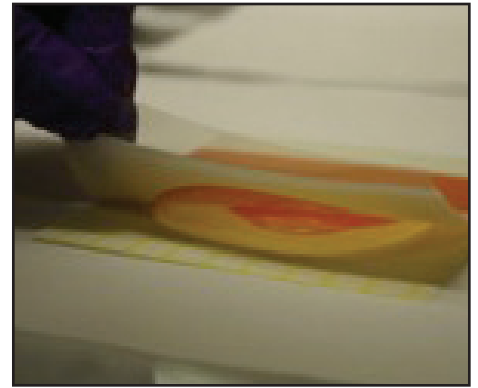


Figura C.

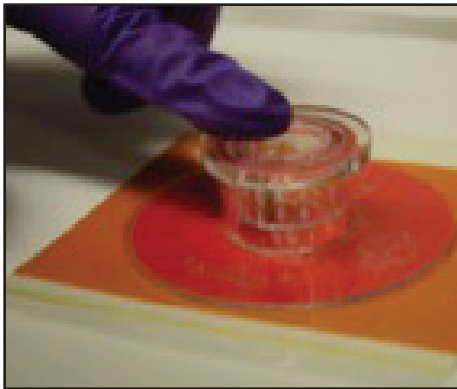


Figura D.

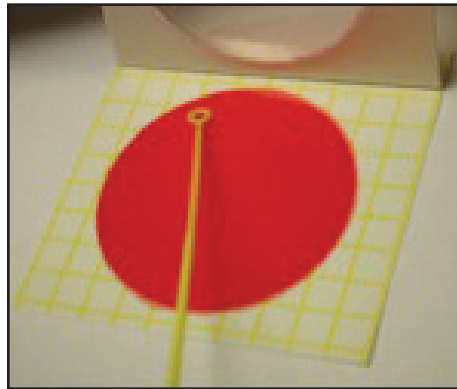


Figura E.

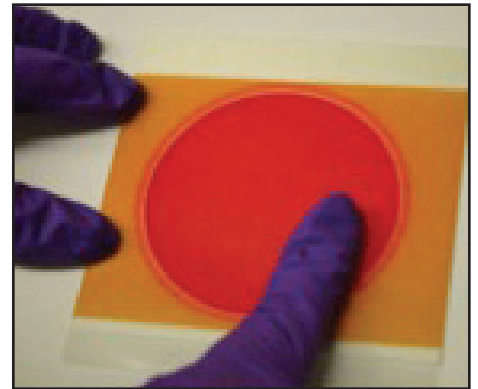


Figura F.

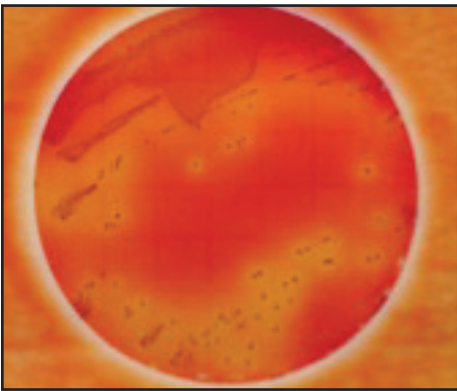


Figura G.

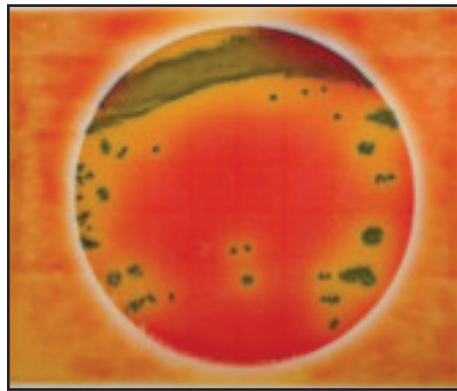


Figura H.

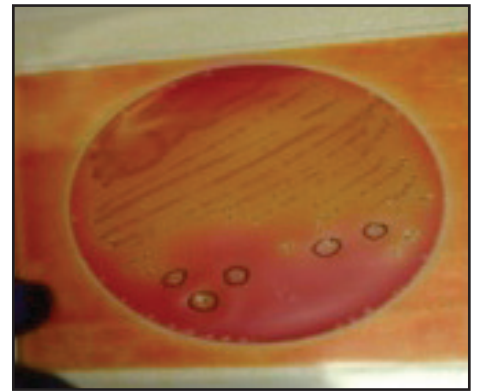


Figura I.

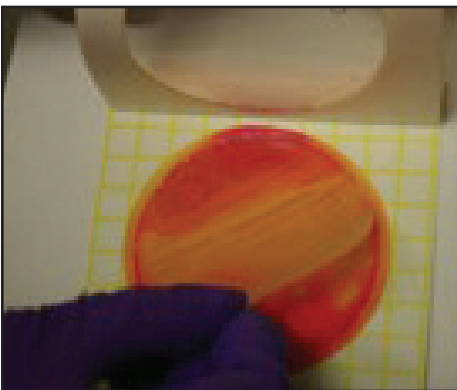


Figura J.

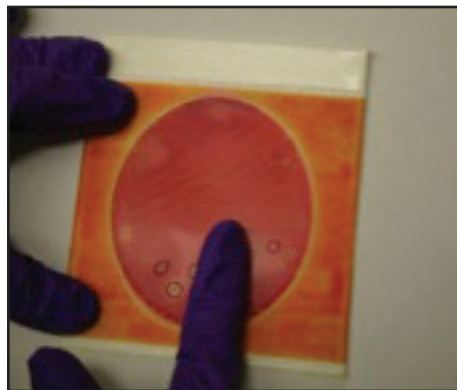


Figura K.

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00828A

製品情報

サルモネラエクスプレスシステム

製品の概要および用途

Neogen® ペトリフィルム® サルモネラエクスプレスシステム (SALX) は、食品増菌検体および食品加工環境検体におけるサルモネラ属菌の、迅速な定性的検出および生化学的確認に使用されます。Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、Neogen® サルモネラエンリッチメントベース、Neogen® サルモネラエンリッチメントサプリメント、Neogen® ペトリフィルム® サルモネラエクスプレプレート (SALX)、およびNeogen® ペトリフィルム® サルモネラエクスプレス確認ディスク (SALX) で構成されて、すべて個別に包装されています。

NeogenペトリフィルムSALXプレートは、冷水可溶性ゲル化剤を含有する発色性のできあがり培地システムで、サルモネラを選択、識別し、推定結果を提供します。Neogen ペトリフィルムSALXディスクは、サルモネラ菌の生化学的確認を行いやすくする生化学的基質を含有しています。

NeogenペトリフィルムSALXプレートは、プレート単体またはNeogen ペトリフィルムSALXディスクと併用します。Neogen ペトリフィルムSALXディスクは、NeogenペトリフィルムSALXプレートとの併用でのみ使用できます。

Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、検査技術の訓練を受けた専門家による検査室環境での使用を目的としています。Neogenは、食品以外の産業における本製品の使用に関しては検証しておりません。たとえば、Neogenは、本製品を水、医薬品、化粧品、臨床または動物検体の検査に使用することについては検証しておりません。Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、すべての食品、食品製造行程、食品可能環境、検査プロトコル、またはすべての菌株による評価は実施しておらず、一部のサルモネラ菌株は検出されない場合があります。Neogenは、Neogen ペトリフィルムSALXシステムにおける混合検体の使用については検証しておりません。

すべての検査法と同様に、増菌培地の配合が結果に影響を与える可能性があります。NeogenペトリフィルムSALXプレートは、Neogen サルモネラエンリッチメントベース、Neogen サルモネラエンリッチメントサプリメント、ラパポートバシリアディスR10 (R-V R10) プロスとの併用についてのみ、評価されています (R-V R10培地の一般的な配合を以下に示します)。

一般的な配合

塩化マグネシウム (無水)	13.4 g
塩化ナトリウム	7.2 g
カゼインペプトン	4.54 g
リン酸一カリウム	1.45 g
マラカイトグリーン	0.036 g
脱イオン水	1000.0 mL

25°CでpH 5.1±0.2

必要に応じて、性能基準を満たすようpHを調整してください。

NeogenペトリフィルムSALXプレートおよびNeogen ペトリフィルムSALXディスクは、汚染除去済みですが未滅菌です。Neogen 食品衛生部門は、設計と製造についてISO (国際標準化機構) 9001認証を取得しています。NeogenペトリフィルムSALXプレートおよびNeogen ペトリフィルムSALXディスクは、すべての食品、食品製造工程、検査プロトコルや、混入の可能性があるすべての微生物菌株について評価されているわけではありません。

安全性

Neogen ペトリフィルムSALXシステムの使用説明書にあるすべての安全情報をお読みになり、よく理解し遵守してください。また、この安全指示書を今後の参照のために保管してください。

- △ **警告:** 警告は、それを避けなければ死亡または重篤な傷害ないし物的損害が発生しうる危険な状況を示します。
- △ **注記:** 適切な危険予防措置が行われていない場合、危険な状況により物的損害が発生する場合があります。

▲ 警告

Neogen ペトリフィルムSALXシステムをヒトや動物の疾患診断に使用しないでください。

Neogen ペトリフィルムSALXシステムを使用しても、一部の乳糖陽性サルモネラ属菌(主に*S. arizonae*および*S. diarizonae*)については、他の乳糖陽性菌との違いを識別することはできません。乳糖陽性のサルモネラ菌株は、非サルモネラ属菌として判定されます(黄色域および/またはガスの有無にかかわらず、青色コロニー、緑色コロニー、青緑色コロニーおよび/または黒色コロニー)。これらの菌株はサルモネラの血清型全体の約1%未満であると言われています¹。

検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください(例:GLP²、ISO 17025³、ISO 7218⁴)。

偽陰性結果に伴い汚染製品が流出するリスク、および/または再検査が必要となる偽陽性判定の可能性を低下させるために:

- プレートの使用時に必ず、水和したNeogenペトリフィルムサルモネラエキスプレスのゲルの変色を確認してください。
- Neogenペトリフィルムサルモネラエキスプレートが変色している場合は、使用しないでください。
- Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、必ず使用期限を守って使用してください。
- Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、お客様または第三者による検証済みの食品検体および食品加工環境検体に使用してください。
- Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、お客様または第三者による検証済みの検査表面、中和緩衝液および試験プロトコルでのみ使用してください。
- Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、外箱表示および製品指示書に記載のとおり保管してください。
- 手順に従い、製品指示書に記載のとおり検査を実施してください。
- Neogen ペトリフィルムSALXディスクをゲルに配置する前に、必ず超極細の油性マーカーを使用して上部フィルムに特徴的な推定サルモネラコロニーをマーキングしてください。

化学物質およびバイオハザードへの暴露に伴う危険を回避するために:

- 食中毒菌検査は技能訓練を受けた検査実施担当者の管理下で、適切な設備のある検査室にて行ってください。
- 試験材料および検体の取り扱いには、正しい封じ込め手順、適切な防護服および保護メガネの着用など、必ず標準的なGLP (Good Laboratory Practice)² を遵守してください。
- 増菌培地および培養プレートの内容物に直接触れないでください。
- 増菌培地および培養プレートは、政府、規制当局の適用規則および検査施設の該当手順に従って廃棄してください。
- NeogenペトリフィルムSALXプレートを取り扱う際は、人によりアレルギー反応や炎症を起こす成分が含まれている可能性があるため、適切な防護服を着用してください。

環境汚染に伴う危険を回避するために:

- 汚染廃棄物に関する現行の産業基準および地域の規制に従って廃棄してください。

注記

Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、サルモネラの血清を特定することはできません。

その他の情報については製品安全データシートを参照してください。

製品性能に関するドキュメントについては、当社ウェブサイト(www.neogen.com)をご覧ください。Neogenの担当者または正規代理店にお問い合わせください。

お客様の使用責任

お客様には、製品説明書および製品情報を熟知していただく責任があります。詳しくは当社ウェブサイト(www.neogen.com)をご覧ください。Neogenの担当者または正規代理店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、検体採取方法、検査プロトコル、検体調製、取り扱い、および検査手技などの外的要因が結果に影響する可能性があることを認識することが重要です。

検査方法または製品を選択する際に、適切なマトリックスおよび微生物負荷を用いて十分な数の検体を評価し、選択した試験方法がお客様の基準を満たすことをお客様の責任でご確認ください。

また、検査方法および結果が顧客または供給業者の要件を満たしているかについても、事前にお客様の責任でご確認ください。

どの検査方法を使用した場合でも、Neogen食品衛生製品を用いて得られた結果は、検査を実施した食品マトリックスまたは工程の品質を保証するものではありません。



保証の範囲/賠償の制限

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示されている場合を除き、NEOGENは明示または黙示を問わず、商品性または特定の目的への適合性に関する保証を含むがこれに限定されない、いかなる種類の保証も負いかねます。Neogen食品衛生製品部門の製品に欠陥があった場合、Neogenまたは指定販売店で交換あるいは製品購入価格の払い戻しをいたします。対応は上記のみとさせていただきます。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内に速やかにNeogenに通知し、製品をNeogenに返品する必要があります。ご不明な点がございましたら、Neogenの担当者またはNeogenの正規代理店にお問い合わせください。

Neogenの保証責任範囲

NEOGENは、直接的、間接的、特殊なもの、偶発的または必然的であるかを問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失または損害に対しての責任を負わないものとします。いかなる場合も、いかなる法的理論の下でも、Neogenの保証責任範囲は、欠陥と申し立てられた製品の購入金額を超えないものとします。

保管

プレートの保管

NeogenペトリフィルムSALXプレートパウチは、受け取り次第**未開封のまま**2~8°Cで保管してください。本製品は湿気と光に感応します。使用直前に、未開封のパウチを室温(20~25°C、<60% RH)に戻してください。未使用のNeogenペトリフィルムSALXプレートはパウチに戻してください。**湿気を避けるため**、一度開封したNeogenペトリフィルムSALXプレートパウチは袋に密封し、光を避け、-20~-10°Cで最大4週間保管できます。

ディスクの保管

Neogen ペトリフィルムSALXディスクは、ホイルパウチに個包装されています。本製品は湿気と光に感応します。未開封のNeogen ペトリフィルムSALXディスクパウチは、2~8°Cで保管してください。すぐに使用する個包装のNeogen ペトリフィルムSALXディスクのみを取り出し、残りのNeogen ペトリフィルムSALXディスクはホイルパウチ内で保管し、パウチの口を折り曲げ、粘着テープで留めます。**湿気への曝露を避けるため、開封したNeogen ペトリフィルムSALXディスクパウチを再冷蔵しないでください。**封をしたパウチの保管は、乾燥した(RH 60%未満)冷所(20~25°C)で最長4週間、または再封可能な保管用袋に入れ、-20~-10°Cで最長5か月間、保管できます。

NeogenペトリフィルムSALXプレートが水和後に変色した場合は、使用しないでください。NeogenペトリフィルムSALXディスクが変色している場合は、使用しないでください。使用期限と製品ロット番号は、NeogenペトリフィルムSALXプレートおよびNeogenペトリフィルムSALXディスクの包装に記載されています。なお、ロット番号は、個々のプレートおよびディスクのパッケージにも記載されています。

△ 廃棄

使用済みのNeogenペトリフィルムSALXプレートおよびNeogen ペトリフィルムSALXディスクには、バイオハザードをもたらす可能性のある微生物が混在している場合があります。汚染廃棄物に関する現行の産業基準および地域の規制に従って廃棄してください。その他の情報については製品安全データシートを参照してください。

使用方法

すべての指示に、注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

適切な防護服を着用し、GLP²を遵守してください。

検体の増菌

食品

表1および表2は、検査用食品検体のガイドラインです。別の検体採取手順(混合検体など)または希釈率については、お客様の責任で検証を行い、この検査法がお客様の基準を満たしていることを確認してください。

低夾雑の食品:

低夾雑の食品とは、好気性菌の総数が $\leq 10^4$ CFU/gであるものを指します。例:低温殺菌、調理済み、加工済み食品など。

1. Neogen サルモネラエンリッチメントベースにNeogen サルモネラエンリッチメントサプリメントを加え、41.5±1.0°Cに加熱します(表1および表2参照)。
2. 増菌培地と検体を無菌的に混合します。すべての肉検体および微粒子を多く含む検体に関しては、ストマッカーフィルターバッグの使用を推奨します。2分間よくホモジナイズします。41.5±1.0°Cで、18~24時間培養します(表1および表2参照)。



高夾雑の食品:

高夾雑の食品は、好気性菌の総数が $> 10^4$ CFU/gであるものを指し、ラポポートバシリアディスR10 (R-V R10) ブロスの使用を必要とします。例:生の未加工食品など。

1. Neogen サルモネラエンリッチメントベースにNeogen サルモネラエンリッチメントサプリメントを加え、 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ に加温します(表1および表2参照)。
2. 増菌培地と検体を無菌的に混合します。すべての肉検体および微粒子を多く含む検体に関しては、ストマッカーフィルターバッグの使用を推奨します。2分間よくホモジナイズします。 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で、18~24時間培養します(表1および表2参照)。
3. 一次増菌培養後、0.1 mLをラポポートバシリアディスR10 (R-V R10) ブロス10.0 mLに滴下します。 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で8~24時間培養します。

環境検体

検体採取には、Dey-Engley (D/E) 中和液を染み込ませたバイオサイドフリーのセルローススポンジを使用してください。お客様が確立した手順の後、検体の表面に残った余分なD/E中和ブロスを取り除きます。

表面の病原菌の有無を確認するための検体採取部分の推奨サイズは、 100 cm^2 ($10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ または $4\text{ in} \times 4\text{ in}$)⁵です。スポンジでの採取の際、全体を2方向に網羅してください(左右の次に上下)。

1. Neogen サルモネラエンリッチメントベースにNeogen サルモネラエンリッチメントサプリメントを加え、 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ に加温します(表1および表2参照)。
2. 増菌培地と検体を無菌的に混合します。よく混合します。 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で18~24時間培養します。
3. 高夾雑の環境検体の場合(好気性菌総数 $> 10^4$ CFU/g)、一次増菌培養後、0.1 mLを10.0 mLのラポポートバシリアディスR10 (R-V R10) ブロスに滴下します。 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ で8~24時間培養します。
4. 低夾雑の環境検体の場合(好気性菌総数 $\leq 10^4$ CFU/g)、手順3は省略します。

AOAC® Official Method of AnalysisSM (OMA) 2014.01

AOAC® Performance TestedSM (PTM) 認証 #061301



AOAC Research Institute OMASMおよびPTMSM認証を受けた試験法において、Neogen ペトリフィルムSALXシステムは、サルモネラの検出に有効な方法であることが確認されています。上記試験において検査の対象となったマトリックスは、表1に記載されています。Neogen ペトリフィルムSALXシステムを用いた検査法の検出限界は、1~5 CFU/有効測定分量サイズです(表1を参照)。



表1: AOAC OMASM 2014.01およびAOAC PTMSM 認証#061301に基づく検体増菌プロトコル

検体	高夾雑	検体量	一次増菌			二次増菌		
			増菌量 (mL)	温度 (±1.0°C)	増菌時間 (時間)	増菌培地	温度 (±1.0°C)	増菌時間 (時間)
生の牛挽肉、生の豚挽肉、生の鶏挽肉	✓	25 g	225	41.5	18~24	R-V R10ブロス: 0.1 mLを 10.0 mLへ	41.5	8~24
冷凍生エビ	✓	25 g	225			R-V R10ブロス: 0.1 mLを 10.0 mLへ	41.5	8~24
低温殺菌液状全卵		100 g	900			低夾雑の食品には不要です。		
ドライドッグフード		375 g	3375			低夾雑の食品には不要です。		
生ホウレンソウ束	✓	25 g	225			R-V R10ブロス: 0.1 mLを 10.0 mLへ	41.5	24
環境検体 - ステンレスチール表面 (検体範囲 100 cm ²)		スポンジ1個	225			低夾雑の検体には不要です。		
加熱調理済みチキンナゲット		25 g	225					

その他の食品検体:

表2: 検体増菌プロトコル

検体	高夾雑	検体量	一次増菌			二次増菌		
			増菌量 (mL)	温度 (±1.0°C)	増菌時間 (時間)	増菌培地	温度 (±1.0°C)	増菌時間 (時間)
食品: 生肉、鶏肉、魚介類	✓	25 g	225	41.5	18~24	R-V R10ブロス: 0.1 mLを 10.0 mLへ	41.5	8~24
動物飼料		375 g	3375			低夾雑の食品には不要です。		
食品: 農産物	✓	25 g	225			R-V R10ブロス: 0.1 mLを 10.0 mLへ	41.5	8~24
環境検体	*	スポンジ1個	225			低夾雑の検体には不要です。		
その他の食品	*	検体量と増菌量に応じて、適切な参照方法に従ってください。						

* 高夾雑の環境検体およびその他の食品検体の場合、R-V R10を用いた二次増菌培養が必要です。

プレートの水和

1. 処方された滅菌希釈液を用いて、NeogenペトリフィルムSALXプレートを水和します
(バターフィールドリン酸希釈水、蒸留水、逆浸透水)。
2. NeogenペトリフィルムSALXプレートを平らで水平な面に置きます(図A)。
3. 上部のフィルムを持ち上げ、ピペットで垂直に、2.0 mL±0.1 mLの滅菌希釈液を下部フィルムの中央に滴下します(図B)。2.0 mL全量を滴下するまで、上部フィルムを閉じないでください。
4. 気泡が入らないように上部フィルムを希釈液の上に静かにおろします(図C)。
5. Neogen® ペトリフィルム® フラットスプレッダー(カタログ#6425)をプレートの中心に置きます。スプレッダーの中心部を軽く押し、希釈液を均等に広げます。ゲルが形成される前に、希釈液をNeogenペトリフィルムSALXプレート増殖エリア全体に広げます。フィルム上でスプレッダーをすべらせないでください(図D)。
6. スプレッダーを取り外し、NeogenペトリフィルムSALXプレートを静かに1分以上放置します。
7. NeogenペトリフィルムSALXプレートを、水平面に、光を避けて室温(20~25°C、<60% RH)で1時間以上置き、ゲル化されるまで待ちます。水和したNeogenペトリフィルムSALXプレートは、使用時まで光を避け、室温(20~25°C、<60% RH)で最大8時間保管できます。水和したNeogenペトリフィルムSALXプレートを8時間以内に使用しない場合は、プラスチック製の袋に密封して保管してください。NeogenペトリフィルムSALXプレートは光に当たらないよう保護し、最大5日間、-20~-10°Cで保管します。
8. NeogenペトリフィルムSALXプレートを保管場所から取り出した後、室温に戻してから使用します。

プレートへの接種

1. 培養器から増菌培地を取り出し、内容物を手動で攪拌します。
2. 滅菌済みの10 µLループ(直径3 mm)を使用し、各検体を採取します。ゲル表面を破損しないように、滑らかな(縁に傷がなく、歪みのない)ループを使用します。
3. NeogenペトリフィルムSALXプレートを開き、ゲルの表面に塗抹します(図E)。コロニーが分離するよう、1回で塗抹します(図1)。

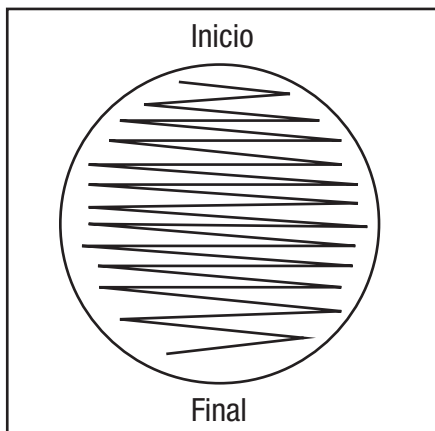


図1: NeogenペトリフィルムSALXプレートへの塗抹パターン

4. 上部フィルムを戻し、NeogenペトリフィルムSALXプレートを閉じます。
5. 手袋をした手で(GLPを実践し交差汚染および/またはプレートへの直接接触を避けながら)、上部フィルムの上を均等な圧力で静かにこすり、培養エリアから気泡を取り除きます(図F)。

プレートの培養

プレートの色の付いた面を上に向けて水平面に置き、41.5±1.0°Cで24±2時間培養します。プレートは20枚まで重ねられます。

判定

1. NeogenペトリフィルムSALXプレートを培養器から取り出し、目視で結果を判定します。
2. バックライトを使用すると、コロニーの色、個別の黄色域、コロニーに伴う気泡が判読しやすくなります。
3. 分離したコロニーを目視で確認し、判定を行います。表3を参照してください。作業中に混入した気泡は数えないでください。
4. 陽性と推定されるサルモネラ属菌は、赤色から茶色のコロニーで、黄色域または気泡のいずれか、または両方を伴います(図G)。コロニーが産生した気泡は、当該コロニーの直径未満の距離に位置するものと定義されます(下の表3参照)。



表3:陽性と推定されるサルモネラ属菌の判定

コロニーの色			コロニーの代謝		結果
赤色	暗赤色	茶色	黄色域	気泡	
✓			✓		推定 +
✓				✓	推定 +
✓			✓	✓	推定 +
	✓		✓		推定 +
	✓			✓	推定 +
	✓		✓	✓	推定 +
		✓	✓		推定 +
		✓		✓	推定 +
		✓	✓	✓	推定 +

非サルモネラ属菌 (図H):

- 黄色域および/またはガスの気泡の有無にかかわらず、青色コロニー、緑色コロニー、青緑色コロニーおよび/または黒色コロニーは非サルモネラ属菌です。
- 赤色、暗赤色、茶色のコロニーで、黄色域やガスの気泡を伴わないものは、非サルモネラ菌です。
- 赤色、暗赤色、茶色のコロニーで、マゼンタ色の帯域を伴うものは、非サルモネラ菌です。

陽性と推定されるサルモネラコロニーが存在しない場合、サルモネラ菌は検体上に検出されなかったと判定します。

推定サルモネラ属菌:

陽性と推定されるサルモネラコロニーが存在する場合、次の手順を実施し、続いて生化学的確認手順に進んでください。

- NeogenペトリフィルムSALXプレートの上部フィルムに**超極細の油性マーカー**を使用し、**分離された陽性と推定されるサルモネラコロニー (存在する場合) を5つ以上、丸で囲みます (図I)**。
- Neogen ペトリフィルムSALXディスクを使用して、すべての陽性と推定されるサルモネラを、生化学的に確認します。「生化学的確認」セクションを参照してください。
- NeogenペトリフィルムSALXプレートを培養器から取り出して1時間以内に分析できない場合、**まず超極細の油性マーカーを使用し、陽性と推定されるサルモネラコロニーを上部フィルムの上から丸で囲み**、プレートを袋に密封して、分析を行うまで保管します。NeogenペトリフィルムSALXプレートは光に当たらないよう保護し、最大72時間、-20~-10°Cで保管します。プレートを室温 (20~25°C、<60% RH) に戻してからディスクを挟みます。

警告: 偽陰性結果に伴い汚染製品が流出するリスク、および再検査が必要となる偽陽性判定の可能性を低下させるために、プレートを適切に保管する前および/またはNeogen ペトリフィルムSALXディスクをゲル上に置く前に、必ず超極細の油性マーカーを使用して、NeogenペトリフィルムSALXプレートの上部フィルムの上に特徴的な推定サルモネラコロニーを丸で囲んでください。

生化学的確認

- GLP (Good Laboratory Practice) を実践して、交差汚染および/またはNeogenペトリフィルムSALXプレートおよび/またはNeogen ペトリフィルムSALXディスクへの直接接触を避けてください。
- 個包装されたNeogen ペトリフィルムSALXディスクをパウチから取り出し、室温 (20~25°C、<60% RH) に戻します。次に、Neogen ペトリフィルムSALXディスクの個包装を剥がして開封し、Neogen ペトリフィルムSALXディスクのタブを露出させ、タブをつまみ、Neogen ペトリフィルムSALXディスクを取り出します。
- NeogenペトリフィルムSALXプレートの上部フィルム (陽性と推定されるサルモネラコロニーに既に○印が付いている) を持ち上げ、気泡が入り込まないようにNeogen ペトリフィルムSALXディスクをゲルの上にすべらせながら置きます (図J)。NeogenペトリフィルムSALXプレートを閉じます。
- 手袋をした手で静かに表面を拭くように手を動かして上部フィルムに均一な圧力をかけ、培養エリアの気泡を取り除き、Neogen ペトリフィルムSALXディスクをしっかりとゲルに密着させます (図K)。



5. Neogen ペトリフィルムSALXシステム(プレートおよびディスク)を、正しい上下の向きで水平に保ち、41.5±1.0°Cで4~5時間培養します(プレートは20枚まで重ねられます)。
6. Neogen ペトリフィルムSALXシステムを培養器から取り出し、結果を判定します。
丸で囲んだ推定サルモネラコロニーのみを調べます(表4)：

表4: Neogen ペトリフィルムSALXシステムの判定

コロニーの色			生化学的確認の結果
緑色~青色	青色~暗青色	黒色	
✓			生化学的確認結果 +
	✓		生化学的確認結果 +
		✓	生化学的確認結果 +

生化学的確認結果陽性：

- 緑色から青色、青色から暗青色、または黒色のコロニー、もしくは周囲に青色の沈殿物を伴うコロニーは、生化学的にサルモネラ属菌陽性であると確認されます。

生化学的確認結果陰性：

- 色が赤色、暗赤色または茶色のまま変化せず、青色の沈殿物を伴わないコロニーは、サルモネラ属菌陰性です。

7. コロニーを二次培養してさらに同定を行うこともできます。二次培養時は、適切な防護服を着用し、GLP²を遵守してください。
 - a. 上部フィルムを持ち上げ、ゲルまたはNeogen ペトリフィルムSALXディスクから無菌的にコロニーを釣菌します。Neogen ペトリフィルムSALXディスクがゲルを覆っている場合は、無菌的にディスクを取り除いてから、無菌的にゲルからコロニーを釣菌します。
 - b. 適切な参照方法^{6,7,8}に従って、培地にコロニーを塗抹します。
8. プレートを培養器から取り出して1時間以内に二次培養を行わない場合、NeogenペトリフィルムSALXプレートをプラスチック袋に密封し、分析を行うまでの間、-20~-10°Cで、72時間まで暗所で保管できます。二次培養の確認を行う際は、事前にNeogenペトリフィルムSALXプレートを室温(20~25°C、<60% RH)まで加温します。
9. 検査終了後、NeogenペトリフィルムSALXプレートおよびNeogen ペトリフィルムSALXディスクは、現行の産業基準および/または地域の規制に従って廃棄します。

詳細については、Neogen® ペトリフィルム® サルモネラエクスプレスシステムの「解説書」を参照してください。具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社のウェブサイト(www.neogen.com)をご覧ください。Neogen営業担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。



参考文献

1. McDonough P.L, et al. (2000). Diagnostic and Public Health Dilemma of Lactose-Fermenting *Salmonella enterica* Serotype *Typhimurium* in Cattle in the Northeastern United States. J. Clin. Microbiol. 38:1221-1226.
2. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
3. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
5. ISO 18593:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
6. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5 *Salmonella*.
7. US Department of Agriculture (USDA) Microbiology Laboratory Guidebook 4.09. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges.
8. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

上述の標準試験法については、現行の最新版を参照してください。

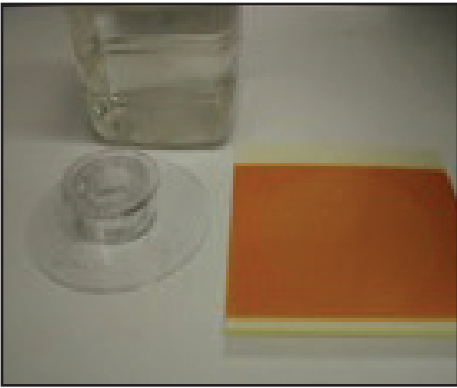
記号の説明

info.neogen.com/symbols

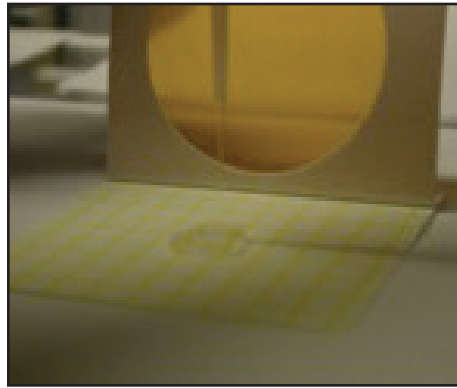
AOAC™ は、AOAC International の登録商標です。

Official Methods (OMA)SM は、AOAC International のサービス マークです。

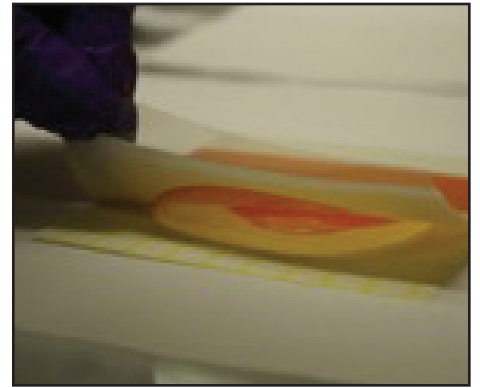
Performance Tested MethodsSM は、AOAC International のサービス マークです。



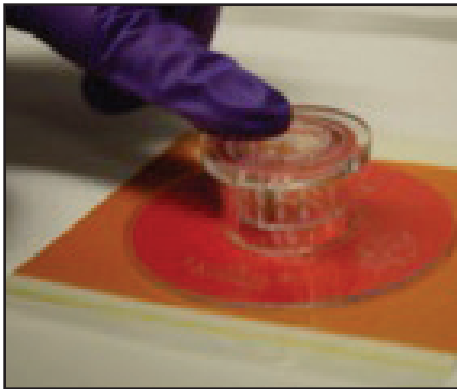
図A.



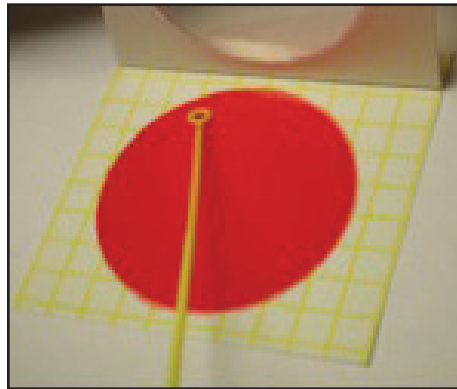
図B.



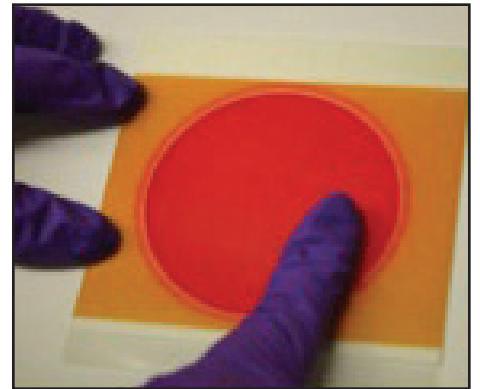
図C.



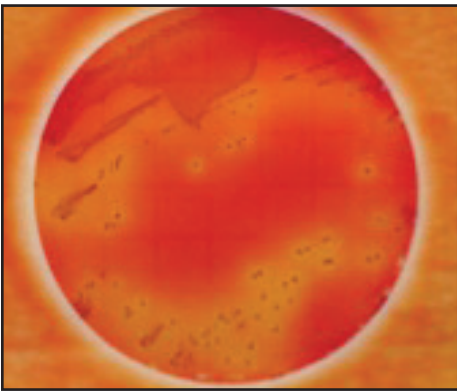
図D.



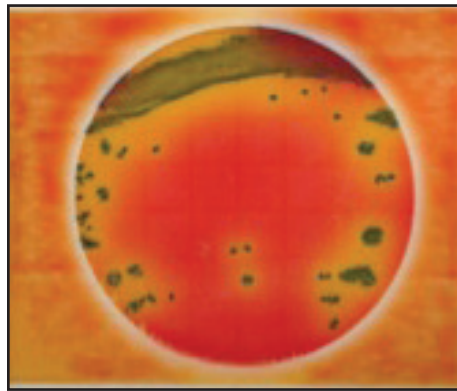
図E.



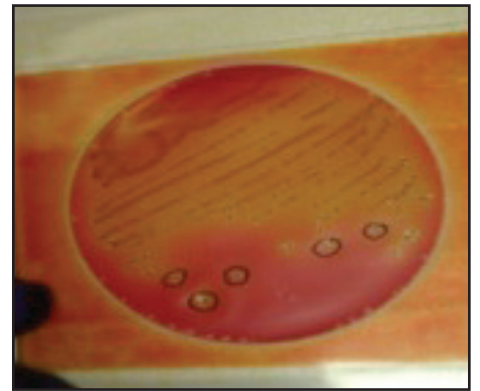
図F.



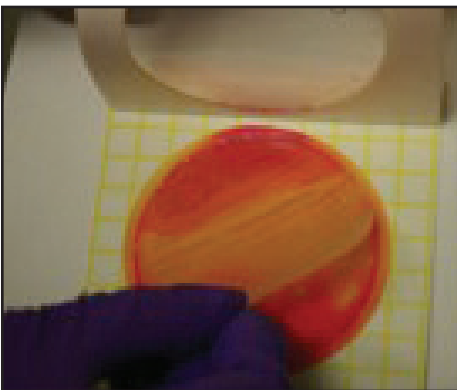
図G.



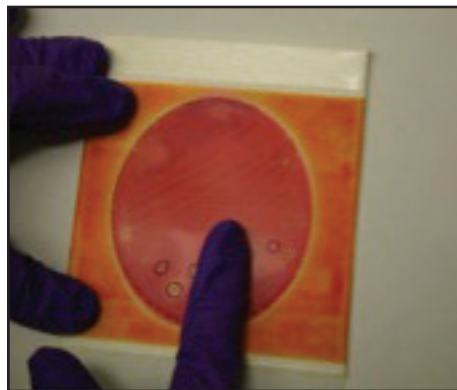
図H.



図I.



図J.



図K.

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00828A

产品信息

沙门氏菌快速系统

产品说明及预期用途

Neogen® Petrifilm® 沙门氏菌快速系统 (SALX) 用于对增菌后的食品和食品加工环境样品中的沙门氏菌属进行快速定性检测和生化确认。Neogen Petrifilm SALX 系统包含 Neogen® 沙门氏菌基础增菌培养基、Neogen® 沙门氏菌增菌补充物、Neogen® Petrifilm® 沙门氏菌快速 (SALX) 测试片和 Neogen® Petrifilm® 沙门氏菌快速确认反应片 (SALX)，以上物品均采用独立包装。

Neogen Petrifilm SALX 测试片是一个样品即用型显色培养基系统，其中包含冷水可溶性凝胶，对沙门氏菌具有选择性和差异性，可提供假定结果。Neogen Petrifilm SALX 确认反应片包含生化基质，可帮助对沙门氏菌有机体进行生化确认。

Neogen Petrifilm SALX 测试片可搭配或不搭配 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片使用。Neogen Petrifilm SALX 确认反应片只能搭配 Neogen Petrifilm SALX 测试片使用。

Neogen Petrifilm SALX 系统专供受过实验室技术培训的专业人员在实验室环境下使用。对于在食品以外的行业中使用此产品，Neogen 尚未有资料可证。例如，对于将此产品用于检测水、药品、化妆品、临床或家畜样品，Neogen 尚未有资料可证。Neogen Petrifilm SALX 系统尚未针对所有可能的食品产品、食品工艺和食品加工环境、检测方案或所有可能的菌株进行评估，可能无法检测到所有沙门氏菌菌株。Neogen 尚未使用复合样品验证 Neogen Petrifilm SALX 系统。

正如所有检测方法一样，增菌培养基配方可能会影响结果。仅针对 Neogen Petrifilm SALX 测试片与 Neogen 沙门氏菌基础增菌培养基、Neogen 沙门氏菌增菌补充物和 Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) 肉汤 (R-V R10) 肉汤典型配方如下) 的搭配使用进行了评估：

典型配方

氯化镁(无水)	13.4 克
氯化钠	7.2 克
酪蛋白胨	4.54 克
磷酸二氢钾	1.45 克
孔雀绿	0.036 克
软化水	1000.0 mL

pH 5.1 ± 0.2 @ 25°C

根据需要调整 pH 以满足性能标准。

Neogen Petrifilm SALX 测试片和 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片组件虽未经灭菌，但已经进行了净化处理。Neogen 食品安全部的产品设计和生产已经获得国际标准化组织 (ISO) 9001 认证。尚未针对所有可能的食品产品、食品加工、检测方案或所有可能的微生物菌株对 Neogen Petrifilm SALX 测试片和 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片进行评估。

安全

用户应该阅读、理解并遵守 Neogen Petrifilm SALX 系统说明中的所有安全信息。妥善保存安全说明书，以备日后查阅。

- ▲ **警告：** 表示危险情况，如果不注意避免，可能造成死亡或严重的人身伤害和/或财产损失。
- ▲ **注意：** 表示潜在的危险情况，如果不注意避免，可能导致财产损失。

▲ 警告

请勿在人类或动物的各种疾病诊断中使用 Neogen Petrifilm SALX 系统。

Neogen Petrifilm SALX 系统无法明确区分部分乳糖阳性沙门氏菌属 (主要是沙门氏菌亚利桑那亚种和沙门氏菌双相亚利桑那亚种) 和其他乳糖阳性有机体。乳糖阳性沙门氏菌菌株将显示为非沙门氏菌 (蓝色菌落、绿色菌落、蓝绿色菌落，和/或带有或不带黄色区域和/或相关气泡的黑色菌落)。这些菌株在沙门氏菌血清型总数中所占比例不到 1%¹。

用户必须就当前适用的检测技术对其人员进行培训，例如：良好实验室规范²、ISO 17025³ 或 ISO 7218⁴。

为了降低因假阴性结果而放行受污染产品的风险和/或产生需要重新进行检测的假阳性结果的可能性：

- 每次使用测试片时，确认水化 Neogen Petrifilm 沙门氏菌快速测试片是否存在凝胶变色现象。
- 切勿使用已变色的 Neogen Petrifilm 沙门氏菌快速测试片。
- 始终在有效期前使用 Neogen Petrifilm SALX 系统。
- 将 Neogen Petrifilm SALX 系统用于经用户或第三方验证的食品样品和食品加工环境样品。

- 仅将 Neogen Petrifilm SALX 系统用于经用户或第三方验证的表面、中和缓冲液和方案。
- 按照包装和产品信息中的指示储存 Neogen Petrifilm SALX 系统。
- 遵守操作流程并严格按照产品信息中提供的方法执行检测。
- **始终使用超细笔尖永久性记号笔在上层薄膜上圈出典型的假定沙门氏菌菌落，然后再将 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片放到凝胶上。**

为了降低与化学品和生物危害接触相关的风险，请注意以下事项：

- 在训练有素的工作人员的控制下，于妥善配备的实验室中执行致病菌检测。
- 始终遵守标准优良实验室安全规范 (GLP)²，包括在处理检测材料和检测样品时遵循正确的控制程序、穿戴适当的防护服和护眼装置。
- 避免直接接触增菌培养基和接种测试片中的内容物。
- 对增菌培养基和接种测试片进行废弃处理时，遵守所有适用的政府和监管法规以及适用的实验室操作规程。
- 处理 Neogen Petrifilm SALX 测试片时，应穿着适当的防护服，因为部分人群可能会因某些组件而引发过敏和刺激反应。

为了降低与环境污染相关的风险，请注意以下事项：

- 对于受污染废弃物的废弃处理，请遵循当前的行业标准和当地的法规要求。

注意

Neogen Petrifilm SALX 系统不能用于区分两种不同的沙门氏菌菌株。

请参阅“安全数据表”以了解其他信息。

有关产品性能文件的信息，请访问我们的网站 www.neogen.com 或联系您的 Neogen 代表或授权经销商。

用户责任

用户负责熟悉产品说明和信息。请访问我们的网站 www.neogen.com，或联系您的 Neogen 代表或授权经销商获取更多信息。

选择检测方法时，务必认识到各种外部因素（如取样方法、检测方案、样品制备、处理和实验室技术）都可能影响结果。

用户在选择检测方法或产品时，应自行负责选用合适的基质和微生物激发试验对足够多的样品进行评估，以确保所选择的检测方法达到用户的标准。

检测方法及其结果能否满足客户及供应商的要求也由用户负责。

同所有检测方法一样，使用任何 Neogen Food Safety 产品所得到的结果并不能保证受检基质或程序的质量。

有限保证/有限补救措施

除非各个产品包装的有限保证部分明确声明，否则，Neogen 将不提供任何明示或默示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性保证。如果证明任何 Neogen 食品安全部产品存在缺陷，Neogen 或其授权经销商可以自行决定换货或是退款。这是向您提供的唯一补救方案。您必须在发现产品存在任何可疑缺陷的 60 天内立即通知 Neogen，并将该产品退还给 Neogen。如有任何其他问题，请联系您的 Neogen 代表或授权的 Neogen 分销商。

Neogen 责任限制

对于任何损失或损害，无论是直接、间接、特殊、偶然或非直接原因造成的损害，Neogen 概不承担任何责任，包括但不限于利润损失。根据法律理论，Neogen 对所谓存在缺陷的产品的赔付不会超过产品的购买价格。

储存

测试片储存

收货后，请将**未开封的** Neogen Petrifilm SALX 测试片包装袋储存在 2-8°C 环境中。产品对湿度和光照非常敏感。使用之前，要先使未开封的包装袋达到室温 (20-25°C/相对湿度 <60%) 再开封。将未使用的 Neogen Petrifilm SALX 测试片装回包装袋中。**为防止受潮**，请将已开封的 Neogen Petrifilm SALX 测试片包装袋放入密封袋子中，然后避光存放在 -20°C 至 -10°C 环境下不超过 4 周。

确认反应片储存

Neogen Petrifilm SALX 确认反应片单独包装在铝箔袋中。产品对湿度和光照非常敏感。请将未开封的 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片包装袋储存在 2-8°C 环境中。仅在立即需要使用这些独立包装的 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片时，再将其取出，然后通过折叠包装袋的末端并粘贴胶带，将剩余的 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片储存在铝箔袋中。**为防止受潮**，请勿冷藏已开封的 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片**包装袋**。将重新密封的包装袋储存在阴凉 (20-25°C) 干燥地点 (相对湿度低于 60%) 不超过 4 周，或将重新密封的包装袋放入可重新密封的袋子中，并储存在 -20°C 至 -10°C 环境下不超过 5 个月。

切勿使用在水化后变色的 Neogen Petrifilm SALX 测试片。切勿使用已变色的 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片。Neogen Petrifilm SALX 测试片和 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片的每个包装上均标有产品的有效期和批号。测试片和确认反应片的独立包装上也标有批号。

△ 废弃处理

使用后, Neogen Petrifilm SALX 测试片和 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片可能因含有微生物而具有潜在生物危害性。对于受污染废弃物的废弃处理, 请遵循当前的行业标准和当地的法规要求。请参阅“安全数据表”以了解其他信息。

使用说明

请仔细遵循所有说明。否则, 可能会导致结果不准确。

应穿着适当的防护服并遵守标准优良实验室安全规范 (GLP)²。

样品增菌

食品

表 1 和表 2 陈述了检测基质样品指南。用户有责任验证备用取样方案 (例如复合) 或者稀释率, 以确保本检测方法符合用户的标准。

对于微生物负载量低的食物:

微生物负载量低的食物需氧菌菌落总数为每克 $\leq 10^4$ 个菌落形成单位。示例包括: 经过巴氏杀菌、烹调或加工的食物。

1. 将添加了 Neogen 沙门氏菌增菌补充物的 Neogen 沙门氏菌基础增菌培养基预热至 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (参见表 1 和表 2)。
2. 在无菌环境下将增菌培养基和样品进行混合。对于所有肉类和微粒样品, 建议使用均质过滤袋。充分混匀 2 分钟。在 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 环境下培养 18-24 小时 (参见表 1 和表 2)。

对于微生物负载量高的食物:

微生物负载量高的食物需氧菌菌落总数为每克 $> 10^4$ 个菌落形成单位, 并且需要使用 Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) 肉汤。示例包括: 生的、未经加工的食物。

1. 将添加了 Neogen 沙门氏菌增菌补充物的 Neogen 沙门氏菌基础增菌培养基预热至 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (参见表 1 和表 2)。
2. 在无菌环境下将增菌培养基和样品进行混合。对于所有肉类和微粒样品, 建议使用均质过滤袋。充分混匀 2 分钟。在 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 环境下培养 18-24 小时 (参见表 1 和表 2)。
3. 初步增菌培养后, 将 0.1 mL 初步增菌物转移至 10.0 mL Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) 肉汤中。在 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 环境下培养 8-24 小时。

环境样品

采集样品时, 可使用通过 Dey-Engley (D/E) 中和肉汤水化的不含生物杀菌剂的纤维素海绵。按照用户的既定程序, 清除取样表面上剩余的 D/E 中和肉汤残留物。

用于验证表面是否存在病原体的取样区域的建议尺寸为 100 cm^2 ($10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ 或 $4'' \times 4''$)⁵。使用海绵取样时, 从两个方向 (从左到右, 然后从上到下) 覆盖整个区域。

1. 将添加了 Neogen 沙门氏菌增菌补充物的 Neogen 沙门氏菌基础增菌培养基预热至 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (参见表 1 和表 2)。
2. 在无菌环境下将增菌培养基和样品进行混合。充分混合。在 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 环境下培养 18-24 小时。
3. 如果环境样品的微生物负载量高 (需氧菌菌落总数为每个样品 $> 10^4$ 个菌落形成单位), 则在初步增菌培养后, 将 0.1 mL 初步增菌物转移至 10.0 mL Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) 肉汤中。在 $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 环境下培养 8-24 小时。
4. 如果环境样品的微生物负载量低 (需氧菌菌落总数为每个样品 $\leq 10^4$ 个菌落形成单位), 则可以跳过第 3 步。

AOAC® Official Method of AnalysisSM (OMA) 2014.01

AOAC® Performance TestedSM (PTM) 证书 #061301



AOAC 研究所 OMASM 和 PTMSM 研究显示, Neogen Petrifilm SALX 系统是一种有效的沙门氏菌检测方法。这些研究中检测的基质显示在表 1 中。根据已验证的检测部分大小, Neogen Petrifilm SALX 系统方法的检测限为 1-5 个菌落形成单位 (参见表 1)。

表 1:遵照 AOAC OMASM 2014.01 和 AOAC PTMSM 证书 #061301 实施的样品增菌方案

检测基质	微生物负载量高	样品大小	初步增菌			二次增菌		
			增菌量 (mL)	温度 (±1.0°C)	增菌时间 (小时)	增菌培养基	温度 (±1.0°C)	增菌时间 (小时)
生的碎牛肉、生的碎猪肉、生的碎鸡肉	✓	25 g	225	41.5	18-24	R-V R10 肉汤: 0.1 mL 加入 10.0 mL	41.5	8-24
冷冻生虾	✓	25 g	225			R-V R10 肉汤: 0.1 mL 加入 10.0 mL	41.5	8-24
巴氏杀菌全蛋液		100 g	900			微生物负载量低的食物不需要。		
干狗粮		375 g	3375			微生物负载量低的食物不需要。		
新鲜的成捆菠菜	✓	25 g	225			R-V R10 肉汤: 0.1 mL 加入 10.0 mL	41.5	24
环境 — 不锈钢表面 (样品大小 100 cm ²)		1 块海绵	225			微生物负载量低的样品不需要。		
熟鸡块		25 g	225					

对于其他基质:

表 2:样品增菌方案

检测基质	微生物负载量高	样品大小	初步增菌			二次增菌		
			增菌量 (mL)	温度 (±1.0°C)	增菌时间 (小时)	增菌培养基	温度 (±1.0°C)	增菌时间 (小时)
食品: 生的肉类、家禽、海鲜和鱼类	✓	25 g	225	41.5	18-24	R-V R10 肉汤: 0.1 mL 加入 10.0 mL	41.5	8-24
动物饲料		375 g	3375			微生物负载量低的食物不需要。		
食品: 农产品	✓	25 g	225			R-V R10 肉汤: 0.1 mL 加入 10.0 mL	41.5	8-24
环境	*	1 块海绵	225			微生物负载量低的样品不需要。		
其他食品	*	遵循适用于样品大小和增菌量的参考方法						

* 一些环境样品和其他食品样品的微生物负载量可能较高, 需要使用 R-V R10 二次增菌方法。

测试片水化

1. 使用规定的无菌稀释剂对 Neogen Petrifilm SALX 测试片进行水化：
Butterfield 磷酸稀释剂、蒸馏水或反渗透水。
2. 将 Neogen Petrifilm SALX 测试片放置在平坦且水平的表面上(图 A)。
3. 掀起上层薄膜,使用移液管将 2.0 mL ± 0.1 mL 无菌稀释剂垂直滴于底层薄膜的中央位置(图 B)。滴完全部 2.0 mL 前,请勿盖上上层薄膜。
4. 将上层薄膜轻轻盖压在稀释剂上,避免产生气泡(图 C)。
5. 将 Neogen® Petrifilm® 压板(目录号 6425)放在测试片中心位置。轻轻地压按压板的中心以使稀释剂均匀覆盖。在凝胶固化之前,应使稀释剂均匀覆盖于整个 Neogen Petrifilm SALX 测试片的培养区域内。请勿在薄膜上滑动压板(图 D)。
6. 将压板拿开,让 Neogen Petrifilm SALX 测试片至少静置 1 分钟。
7. 在室温(20-25°C/相对湿度 <60%)下,将 Neogen Petrifilm SALX 测试片放置于水平表面上至少 1 小时,避免光照,以便形成凝胶。在避光的情况下,水化 Neogen Petrifilm SALX 测试片可以在使用前于室温(20-25°C/相对湿度 <60%)下最长储存 8 小时。如果不在 8 小时内使用水化的 Neogen Petrifilm SALX 测试片,请将其储存在密封塑料袋中。将 Neogen Petrifilm SALX 测试片避光储存在 -20°C 至 -10°C 温度下最多 5 天。
8. 将 Neogen Petrifilm SALX 测试片从储存区取出后,待其恢复到室温后再使用。

测试片接种

1. 从培养器中取出增菌培养基后,手动摇动培养基内容物。
2. 使用无菌的 10 µL 圆环(直径 3 mm)抽取每份样品。使用光滑的圆环(没有锯齿边缘且不会变形)可以防止凝胶表面破裂。
3. 打开 Neogen Petrifilm SALX 测试片,并在凝胶上划线(图 E)。单次划线可获取隔离菌落(图 1)。

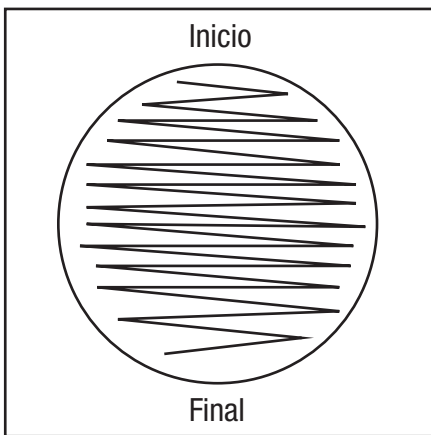


图 1: Neogen Petrifilm SALX 测试片上的划线图形

4. 放下上层薄膜,盖住 Neogen Petrifilm SALX 测试片。
5. 用戴手套的手(确保执行优良实验室规范,避免交叉污染和/或直接接触测试片)在上层薄膜上均匀滑动按压,清除接种区中的气泡(图 F)。

测试片培养

在 41.5 ± 1.0°C 下将测试片培养 24 ± 2 小时,将测试片的彩色面朝上水平放置,最多可堆叠至 20 片。

判读

1. 从培养器中取出 Neogen Petrifilm SALX 测试片后,通过目视观察读取结果。
2. 使用间接逆光照明可以帮助读取菌落颜色、离散的黄色区域以及与菌落相关的气泡。
3. 目视检查隔离菌落以进行判读。参见表 3。请勿计数可能因人为操作而产生的气泡。
4. 假定阳性沙门氏菌属表现为拥有黄色区域和/或相关气泡的红棕色菌落(图 G)。相关气泡的定义是位于菌落周围一个菌落直径内(参见下文表 3)。

表 3: 假定阳性沙门氏菌属的判读

菌落颜色			菌落代谢		结果
红色	深红色	棕色	黄色区域	气泡	
✓			✓		假定 +
✓				✓	假定 +
✓			✓	✓	假定 +
	✓		✓		假定 +
	✓			✓	假定 +
	✓		✓	✓	假定 +
		✓	✓		假定 +
		✓		✓	假定 +
		✓	✓	✓	假定 +

非沙门氏菌属 (图 H):

- 蓝色菌落、绿色菌落、蓝绿色菌落, 和/或带有或不带黄色区域和/或相关气泡的黑色菌落是非沙门氏菌有机体。
- 没有黄色区域且没有相关气泡的红色、深红色和棕色菌落是非沙门氏菌有机体。
- 带有品红色区域的红色、深红色和棕色菌落是非沙门氏菌有机体。

如果假定阳性沙门氏菌菌落不存在, 则不会在基质中检测到沙门氏菌有机体。

假定沙门氏菌属:

如果存在假定阳性沙门氏菌菌落, 则执行以下步骤, 然后继续执行生化确认步骤:

- 在 Neogen Petrifilm SALX 测试片上层薄膜上, **使用超细笔尖永久性记号笔圈出至少五个假定阳性沙门氏菌隔离菌落 (如果存在)** (图 I)。
- 使用 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片以生化方式确认所有沙门氏菌假定阳性结果。请参见生化确认部分。
- 如果从培养器中取出 Neogen Petrifilm SALX 测试片后, 无法在 1 小时内对其进行分析, **则首先使用超细笔尖永久性记号笔在上层薄膜上圈出假定沙门氏菌菌落**, 然后将测试片放入密封塑料袋中, 以便之后进行分析。将 Neogen Petrifilm SALX 测试片避光储存在 -20°C 至 -10°C 温度下不超过 72 小时。将确认反应片添加到测试片之前, 先让测试片恢复到室温 (20-25°C/相对湿度 <60%)。

警告: 为了降低因假阴性结果而放行受污染产品的风险和/或产生需要重新进行检测的假阳性结果的可能性, 始终使用超细笔尖永久性记号笔在 Neogen Petrifilm SALX 测试片的上层薄膜上圈出典型的假定沙门氏菌菌落, 然后妥善储存测试片和/或将 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片放在凝胶上。

生化确认

- 执行优良实验室规范, 以免发生交叉污染和/或直接接触 Neogen Petrifilm SALX 测试片和/或 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片。
- 从包装袋中取出单独包装的 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片并让其恢复到室温 (20-25°C/相对湿度 <60%)。然后, 撕开包装, 将 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片从其独立包装中取出, 露出 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片的翼片, 抓住翼片并取出 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片。
- 掀开 Neogen Petrifilm SALX 测试片的上层薄膜 (已经圈出假定沙门氏菌菌落), 通过将 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片压盖到凝胶上的方式将其插入, 从而避免产生气泡 (图 J)。盖上 Neogen Petrifilm SALX 测试片。
- 用戴手套的手在上层薄膜上均匀滑动按压, 以清除接种区中的气泡, 同时确保凝胶与 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片充分接触 (图 K)。
- 在 41.5 ± 1.0°C 温度下, 以水平位置 (正面朝上) 将 Neogen Petrifilm SALX 系统 (测试片和确认反应片) 培养 4-5 小时, 最多培养 20 片。



6. 将 Neogen Petrifilm SALX 系统从培养器中取出, 并读取结果。
只读取圈出的假定沙门氏菌菌落 (请参见表 4):

表 4: Neogen Petrifilm SALX 系统的判读:

菌落颜色			生化确认结果
绿色到蓝色	蓝色到深蓝色	黑色	
✓			经生化确认 +
	✓		经生化确认 +
		✓	经生化确认 +

经生化确认的阳性结果:

- 绿色到蓝色、蓝色到深蓝色、黑色, 或周围存在蓝色沉淀的菌落表示经生化确认沙门氏菌属阳性。

经生化确认的阴性结果:

- 仍然为红色、深红色或棕色且没有蓝色沉淀的菌落为沙门氏菌属阴性。

7. 可能需要对菌落再次进行培养以进一步鉴定。再次培养时, 应穿着适当的防护服并遵守标准优良实验室安全规范 (GLP)²。
- 掀起上层薄膜, 以无菌方式清除凝胶或 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片上的菌落。如果 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片盖住了凝胶, 请以无菌方式剥开确认反应片, 然后以无菌方式清除凝胶上的菌落。
 - 按照适用的参考方法在菌落上划线^{6,7,8}。
8. 如果将测试片从培养器中取出后, 无法在 1 小时内再次对菌落进行培养, 请将 Neogen Petrifilm SALX 测试片放入密封塑料袋中, 然后存放在 -20°C 至 -10°C 的黑暗环境中不超过 72 小时, 以备之后进行分析。再次培养并鉴定前, 应让 Neogen Petrifilm SALX 测试片恢复到室温 (20-25°C/相对湿度 <60%)。
9. 检测完成后, 根据当前的行业标准和/或当地法规对 Neogen Petrifilm SALX 测试片和 Neogen Petrifilm SALX 确认反应片进行废弃处理。

更多信息, 请参阅 Neogen® Petrifilm® 沙门氏菌快速系统“判读指南”。如果您对于特定的应用或程序存有疑问, 请访问我们的网站 www.neogen.com, 也可与您当地的 Neogen 代表或经销商联系以获得帮助。

参考资料

- McDonough P.L 等人。(2000)。美国东北部牛群发酵乳糖的肠道血清型鼠伤寒沙门氏菌的诊断和公共卫生难题。临床微生物学杂志。38:1221-1226。
- 美国食品药品监督管理局。美国联邦法规第 21 篇第 58 部分。非临床实验室研究的优良实验室规范。
- ISO/IEC 17025:2017。检测和校准实验室能力的通用要求。
- ISO 7218。食品和动物饲料微生物学 — 微生物检验的一般要求和指南。
- ISO 18593:2004。食品和动物饲料微生物学 — 利用接触板和棉签进行表面取样的水平方法。
- 美国食品药品监督管理局微生物学分析手册。第 5 章沙门氏菌。
- 美国农业部 (USDA) 微生物实验室指南 4.09。肉、家禽、巴氏杀菌蛋、鲶形目 (鱼类) 产品以及胴体和环境海绵中沙门氏菌的分离和鉴定。
- ISO 6579-1:2017。食物链微生物学 — 沙门氏菌检测、计数和血清学分型的水平方法 — 第 1 部分:沙门氏菌属的检测。

请参考以上所列标准方法的现行版本。

符号说明

info.neogen.com/symbols

AOAC™是 AOAC International 的注册商标。

官方方法 (OMA)SM是 AOAC International 的服务标志。

性能测试方法SM是 AOAC International 的服务标志。

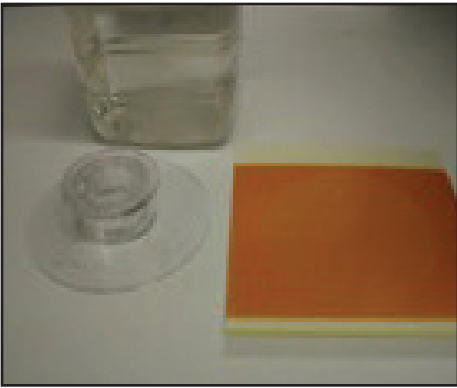


图 A.

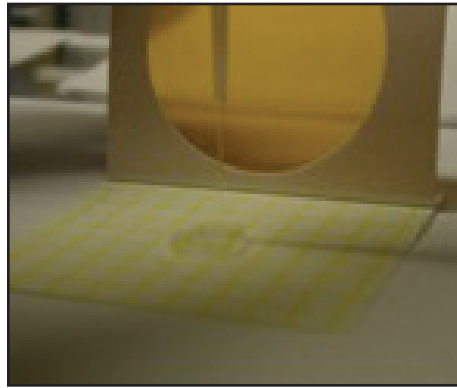


图 B.

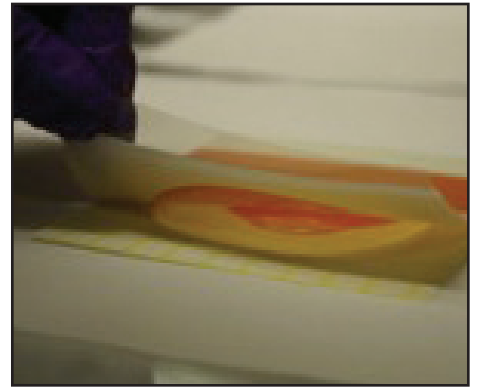


图 C.

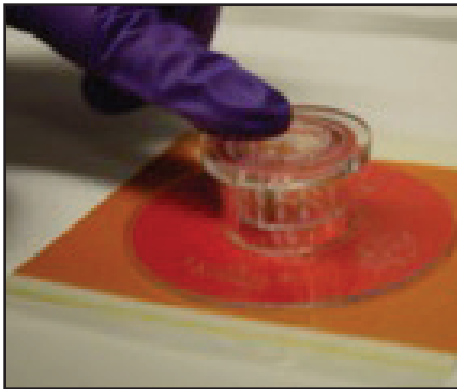


图 D.

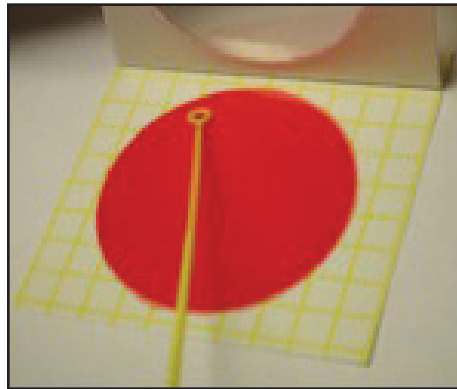


图 E.

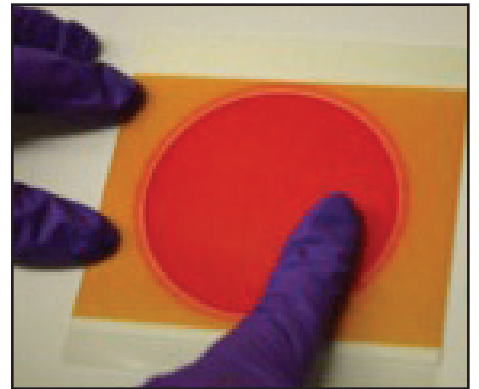


图 F.

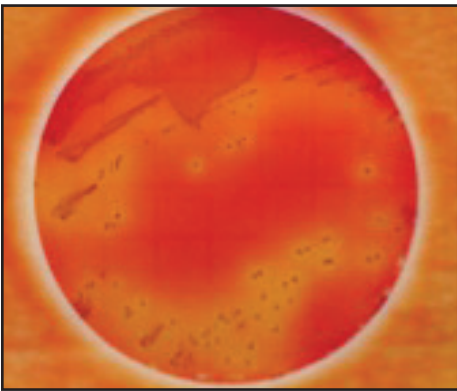


图 G.

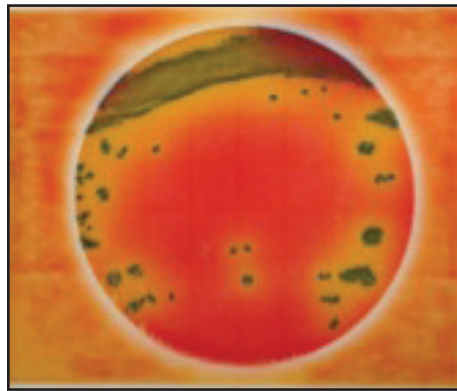


图 H.

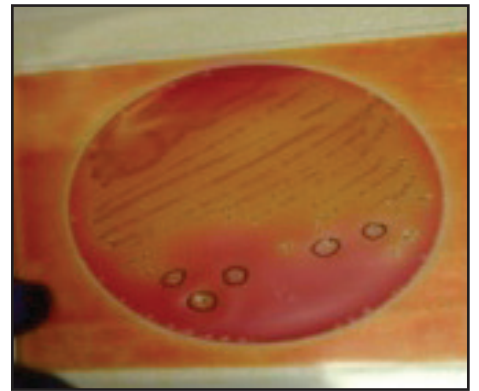


图 I.

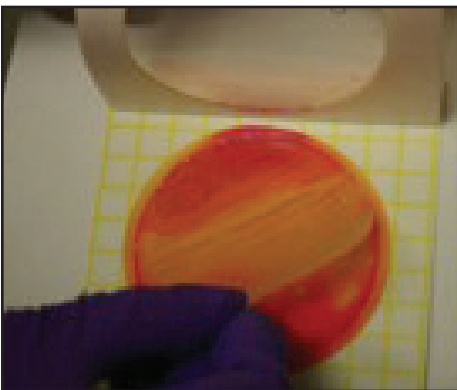


图 J.

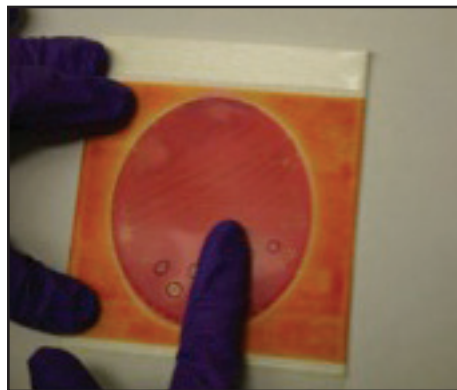


图 K.

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00828A

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบ *Salmonella* Express

รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

ชุดทดสอบ Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) ใช้สำหรับการตรวจสอบเชิงคุณภาพอย่างรวดเร็วและการยืนยันทางชีวเคมีของเชื้อในสปีชีส์ *Salmonella* ในตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมกระบวนการแปรรูปอาหาร ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ประกอบด้วย Neogen® อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อ *Salmonella* Neogen® ซัพพลีเมนต์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) และแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) ซึ่งบรรจุแยกทั้งหมด

แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX เป็นตัวอย่างระบบการเพาะเลี้ยง chromogenic แบบพร้อมใช้ที่มีสารก่อเจลละลายในน้ำเย็น และมีการคัดเลือกและแยกชนิดกัน *Salmonella* ที่ให้ผลการเบื่องต้น แผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX มีสารตั้งต้นทางชีวเคมีที่ช่วยในการยืนยันทางชีวเคมีของจุลชีพ *Salmonella*

สามารถใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX โดยมีหรือไม่มีแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ก็ได้ แผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX อาจใช้ร่วมกับแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX เท่านั้น

ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ออกแบบมาให้ใช้ในสภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการ โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการอบรมเทคนิคการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหาร ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างน้ำ ตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างด้านสัตวแพทยศาสตร์ ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ยังไม่ได้รับการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร กระบวนการแปรรูปอาหารและการแปรรูปอาหาร ระเบียบการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมด หรือกับสายพันธุ์แบคทีเรียที่เป็นไปได้ทั้งหมดและอาจตรวจไม่พบ *Salmonella* ทุกสายพันธุ์ Neogen ไม่ได้ตรวจสอบชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX โดยใช้ตัวอย่างคอมโพสิต

เช่นเดียวกับวิธีทดสอบทั่วไป สูตรอาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อสามารถส่งผลกระทบต่อผลของการทดสอบที่ได้ แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ได้รับการประเมินเพื่อใช้งานกับ Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อ *Salmonella* Neogen ซัพพลีเมนต์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* และอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) เท่านั้น (สูตรทั่วไปของอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ R-V R10 เป็นดังด้านล่างนี้):

สูตรทั่วไป

แมกนีเซียมคลอไรด์ (ปราศจากน้ำ)	13.4 กรัม
โซเดียมคลอไรด์	7.2 กรัม
เคซีนเปปโตน	4.54 กรัม
โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต	1.45 กรัม
มาลาโคทกรีน	0.036 กรัม
น้ำปราศจากแร่ธาตุ	1000.0 มล.
pH	5.1 ± 0.2 @ 25°C

ปรับค่า pH ตามที่ต้องการเพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน

ส่วนประกอบของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX นี้ได้ผ่านกระบวนการลดการปนเปื้อนแต่ไม่ผ่านกระบวนการทำให้ปลอดเชื้อ Neogen Food Safety ได้รับการรับรองตามมาตรฐานองค์การมาตรฐานสากล (ISO) 9001 ด้านการออกแบบและการผลิต ส่วนประกอบของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ยังไม่ผ่านการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร กระบวนการแปรรูปอาหาร ระเบียบการทดสอบ หรือกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ทั้งหมดที่อาจเป็นไปได้

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลด้านความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำการใช้งานชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

- ⚠ **คำเตือน:** บ่งชี้ว่าเป็นสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่มีการหลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สินได้
- ⚠ **ข้อสังเกต:** ระบุสถานการณ์ที่อาจจะเป็นอันตราย ที่หากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน



⚠ คำเตือน

ห้ามใช้ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ในการวินิจฉัยสถานะต่างๆ ในมนุษย์หรือสัตว์

ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX จะไม่แยกชนิดอย่างจำเพาะเจาะจงระหว่างเชื้อ *Salmonella* sp. (ส่วนมากเป็น *S. arizonae* และ *S. diarizonae*) ที่ให้ผลลบต่อแลคโตสออกจากรูปร่างที่ให้ผลบวกต่อแลคโตส *Salmonella* ที่ให้ผลบวกต่อแลคโตส จะปรากฏเป็น non-*Salmonella* (โคโลนีสีฟ้า โคโลนีสีเขียว โคโลนีสีฟ้าเป็นสีเขียว และ/หรือโคโลนีสีดำที่มีหรือไม่มีเขตสีเหลือง และ/หรือฟองก๊าซที่เกี่ยวข้อง) มีการระบุว่าสายพันธุ์เหล่านี้มีสัดส่วนน้อยกว่า 1% ของซีโรไทป์ *Salmonella* ทั้งหมด¹

ผู้ใช้งานต้องฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่ถูกต้องเหมาะสมในปัจจุบัน: ตัวอย่างเช่น หลักปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม² หรือ ISO 17025³ หรือ ISO 7218⁴

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลลบปลอมซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนไปขาย และ/หรือความเป็นไปได้ของผลลัพธ์ที่เป็นผลบวกปลอมซึ่งต้องทำการทดสอบซ้ำ ให้ปฏิบัติตามนี้:

- เมื่อใช้งานแต่ละแผ่น ให้ตรวจสอบว่าแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm *Salmonella* Express ที่ได้รับการเติมน้ำว่ามีการเปลี่ยนสีของเจลหรือไม่
- ห้ามใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm *Salmonella* Express ที่มีสีผิดเพี้ยนจากปกติ
- ใช้ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- ใช้ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX กับตัวอย่างอาหารและตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมในกระบวนการผลิตอาหาร ซึ่งได้รับการพิสูจน์ยืนยันจากผู้ใช้หรือโดยหน่วยงานภายนอกแล้ว
- ใช้ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX กับพื้นผิว กำจัดสารบัพเฟอร์ และระเบียบวิธีทดสอบ ซึ่งได้รับการพิสูจน์ยืนยันจากผู้ใช้หรือโดยหน่วยงานภายนอกแล้ว
- เก็บชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ปฏิบัติตามระเบียบการและขั้นตอนที่ตั้งระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- **ควรใช้ปากกามาร์คเกอร์ปลายแหลมแบบถาวรเสมอ** เพื่อวงกลมจุดสันนิษฐานลักษณะโคโลนี *Salmonella* บนฟิล์มด้านบนก่อนที่จะวางแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ลงบนเจล

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีหรือสารอันตรายทางชีวภาพ ให้ปฏิบัติตามนี้:

- ให้ทำการทดสอบเชื้อก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์อย่างเหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ได้รับการอบรม
- ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติที่เหมาะสมเพื่อความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการมาตรฐานทุกครั้ง (GLP)² โดยรวมถึงขั้นตอนการควบคุมโรคที่เหมาะสม การสวมเครื่องแต่งกายเพื่อป้องกันและอุปกรณ์ปกป้องดวงตาในขณะที่จัดการกับอุปกรณ์การทดสอบและตัวอย่างการทดสอบ
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสโดยตรงกับอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและแผ่นเชื้อ
- กำจัดอาหารเลี้ยงเชื้อและแผ่นเชื้อตาม ระเบียบข้อบังคับของรัฐบาลและระเบียบที่ใช้บังคับและระเบียบวิธีทางห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้อง
- สวมชุดป้องกันที่เหมาะสมในขณะที่ใช้งานแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX เนื่องจากส่วนประกอบบางอย่างอาจก่อให้เกิดภูมิแพ้และระคายเคืองในบางคน

ควรปฏิบัติตามนี้เพื่อลดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม:

- ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมล่าสุดและระเบียบข้อบังคับของท้องถิ่นในการทิ้งของเสียที่มีการปนเปื้อนของสิ่งเจือปน

ข้อสังเกต

ชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ไม่สามารถแยกความแตกต่างสายพันธุ์ *Salmonella* หนึ่งออกจากสายพันธุ์อื่นได้

ศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัยของวัสดุหากต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม

สำหรับข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับเอกสารประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาต

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ซื้อสินค้าที่รับผิดชอบในการทำความเข้าใจกับคำแนะนำและข้อมูลผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตหากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม

การเลือกวิธีทดสอบ จะต้องศึกษาปัจจัยภายนอกต่างๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง ระเบียบวิธีการทดสอบ วิธีการเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม และเทคนิคของห้องปฏิบัติการที่อาจกระทบต่อผลการทดสอบได้

ผู้ใช้งานระเบียบวิธีเป็นผู้รับผิดชอบในการประเมินความเหมาะสมสำหรับการเลือกวิธีการทดสอบหรือวิธีการเลือกตัวอย่าง เพื่อประเมินจำนวนตัวอย่างที่เพียงพอกับเมทริกซ์ที่เหมาะสมและความสามารถในการเลือกรอดของจุลินทรีย์ เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้เอง

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของซัพพลายเออร์ เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลการทดสอบที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมทริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ



เงื่อนไขการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

NEOGEN ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใด ๆ ถึงความสามารถในการจำหน่าย หรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น หากผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดๆ มีตำหนิกพร่อง บริษัท Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตของบริษัทจะใช้ดุลยพินิจของตนในการพิจารณาเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินค่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว อันนี้คือการชดเชยพิเศษ หากสงสัยว่ามีข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้ง Neogen ภายใน 60 วันหลังจากที่พบ และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง Neogen โปรดโทรติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐอเมริกา) หรือตัวแทน Neogen Food Safety เพื่อขอสิทธิ์คืนผลิตภัณฑ์ โปรดติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ที่ได้รับอนุญาตหากมีคำถามเพิ่มเติม.

ขอบเขตความรับผิดชอบของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง Neogen ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

การเก็บรักษา

การเก็บรักษาแผ่นเชื้อ

เมื่อได้รับแล้ว ให้เก็บแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ที่ยังไม่ได้เปิดถุงใช้งาน ที่ 2 ถึง 8°C อุปกรณ์มีความไวต่อความชื้นและแสง ก่อนใช้งาน วางถุงบรรจุที่ยังไม่เปิดใช้ทิ้งไว้ในถุงบรรจุตามเดิม (20 - 25°C / <60% RH) ก่อนเปิดใช้งาน นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ที่ยังไม่ได้เปิดใช้กลับเข้าไปในถุงบรรจุตามเดิม เพื่อป้องกันความชื้น ให้เก็บ ถุงแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ที่เปิดแล้วในถุงปิดผนึก เพื่อป้องกันแสง ที่อุณหภูมิ -20 ถึง -10°C ไม่เกิน 4 สัปดาห์

การเก็บรักษาแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล

แผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX บรรจุแยกแผ่นในถุงพอยล์ อุปกรณ์มีความไวต่อความชื้นและแสง เก็บถุงแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX ที่ยังไม่ได้เปิดใช้งานที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8°C นำแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX ออกมาที่ละถุงที่จะนำมาใช้งานทันทีและเก็บแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX ที่เหลืออยู่ในซองพอยล์โดยพับปลายของซองพอยล์ให้แน่นแล้วใช้เทปกาปิด **อย่าแช่เย็นถุงบรรจุที่เปิดใช้แล้วเพื่อป้องกันไม่ให้ความชื้นเข้าไปภายในถุง** แผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX ที่เปิดแล้ว เก็บถุงที่ปิดผนึกในที่เย็น (20-25°C) ที่แห้ง (น้อยกว่า 60% RH) ไม่เกิน 4 สัปดาห์ หรือใส่ถุงปิดผนึกในถุงปิดผนึกซ้ำและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ถึง -10°C ไม่เกิน 5 เดือน

ห้ามใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ที่มีสีผิดเพี้ยนจากปกติหลังการการเติมน้ำ ห้ามใช้แผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX ที่มีสีผิดเพี้ยนจากปกติ วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนบรรจุภัณฑ์ของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX แต่ละกล่อง ยังมีการระบุหมายเลขล็อตไว้บนแผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละแผ่นและบรรจุภัณฑ์ของแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผลแต่ละแผ่นอีกด้วย

⚠ การทิ้ง

ภายหลังจากการใช้งานแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และแผ่นดิสก์สำหรับยีนย่นผล Neogen Petrifilm SALX อาจจะมีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายทางชีวภาพได้ ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมล่าสุดและระเบียบข้อบังคับของท้องถิ่นในการทิ้งของเสียที่มีการปนเปื้อนของสิ่งเจือปน ศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัยของวัสดุหากต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติตามเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

สวมใส่ชุดป้องกันที่เหมาะสมและปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติมาตรฐานที่เหมาะสมเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ (GLP)²

การเพิ่มจำนวนเชื้อในตัวอย่าง

อาหาร

ตารางที่ 1 และ 2 ค่าแนะนำในปัจจุบันสำหรับตัวอย่างการทดสอบเมทริกซ์ ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการพิสูจน์ยืนยันระเบียบการสุ่มตัวอย่าง (เช่น การประกอบของครีม) หรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นเพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทดสอบนี้สอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งานเอง

สำหรับอาหารที่มีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำ:

อาหารที่บรรจุเชื้อจุลินทรีย์ตามจำนวนโคโลนีของแอโรบิกรวม $\leq 10^4$ cfu/g (Colony Forming Units/Gram) ตัวอย่างรวมถึง: อาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ปรงสุก หรือแปรรูป

1. ถ้วย Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อ *ซาลโมเนลลา* ส่องหน้าพร้อมเติม Neogen ชัฟฟลิมันท์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ *ซาลโมเนลลา* เป็น $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (ดูตาราง 1 และ 2)
2. ผสมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อกับตัวอย่างเข้าด้วยกันโดยใช้วิธีการแบบปลอดเชื้อ สำหรับตัวอย่างประเภทเนื้อสัตว์และตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นละอองอนุภาคขนาดเล็กทั้งหมด แนะนำให้ใช้ถุงกรองเก็บตัวอย่างแบบปลอดเชื้อ ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันอย่างละเอียดเป็นเวลา 2 นาที บ่มที่ $41.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ดูตาราง 1 และ 2)

สำหรับอาหารที่มีปริมาณจุลินทรีย์สูง:

อาหารที่มีปริมาณจุลินทรีย์สูงมีจำนวนโคโลนีของเชื้อแอโรบิกรวม > 10⁴ cfu/g และจำเป็นต้องใช้อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) ตัวอย่างรวมถึง: อาหารที่ยังไม่ผ่านการแปรรูป

1. ถู่น Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อซาลโมเนลล่าสว่างหน้าพร้อมเติม Neogen ซัพพลีเมนต์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อซาลโมเนลล่า เป็น 41.5 ± 1.0°C (ดูตาราง 1 และ 2)
2. ผสมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อกับตัวอย่างเข้าด้วยกันโดยใช้วิธีการแบบปลอดเชื้อ สำหรับตัวอย่างประเภทเนื้อสัตว์และตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นละอองอนุภาคขนาดเล็กทั้งหมด แนะนำให้ใช้ถุงกรองเก็บตัวอย่างแบบปลอดเชื้อ ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันอย่างละเอียดเป็นเวลา 2 นาที บ่มที่ 41.5 ± 1.0°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ดูตาราง 1 และ 2)
3. หลังจากการบ่มเชื้อปฐุมภูมิ ย้ายเชื้อปฐุมภูมิ 0.1 มล. ไปยังอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) 10.0 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ถึง 1.0°C เป็นเวลา 8-24 ชั่วโมง

ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม

สำหรับการเก็บตัวอย่าง ใช้ฟองน้ำเซลลูโลสที่ปราศจากสารละลายไปโอไซด์ที่เติมน้ำด้วย อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Dey-Engley (D/E) Neutralizing Broth ปฏิบัติตามขั้นตอนผู้ใช้ที่กำหนด นำสารละลายอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ D/E Neutralizing Broth ใด ๆ ที่ตกค้างจากพื้นผิวตัวอย่างออก

ขนาดพื้นที่เก็บตัวอย่างที่แนะนำเพื่อตรวจสอบยืนยันการมีอยู่หรือการไม่มีอยู่ของเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวคือขนาดอย่าง 100 ซม.² (10 ซม. x 10 ซม. หรือ 4 นิ้ว x 4 นิ้ว)⁵ เมื่อเก็บตัวอย่างด้วยฟองน้ำ ครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดในสองทิศทาง (จากซ้ายไปขวาจากนั้นขึ้นและลง)

1. ถู่น Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อซาลโมเนลล่าสว่างหน้าพร้อมเติม Neogen ซัพพลีเมนต์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อซาลโมเนลล่า เป็น 41.5 ± 1.0°C (ดูตาราง 1 และ 2)
2. ผสมอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อกับตัวอย่างเข้าด้วยกันโดยใช้วิธีการแบบปลอดเชื้อ ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ถึง 1.0°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
3. หากตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมมีปริมาณจุลินทรีย์สูง (จำนวนโคโลนีของแอโรบิกรวม > 10⁴ cfu/g) จากนั้นหลังการบ่มเชื้อปฐุมภูมิ ย้ายเชื้อปฐุมภูมิ 0.1 มล. ไปยังอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) 10.0 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ถึง 1.0°C เป็นเวลา 8-24 ชั่วโมง
4. หากตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมมีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำ (จำนวนโคโลนีของเชื้อแอโรบิกรวม ≤ 10⁴ cfu/u) จากนั้นข้ามขั้นตอนที่ 3 ได้

ใบรับรอง AOAC® Official Method of AnalysisSM (OMA) 2014.01

AOAC® Performance TestedSM (PTM) หมายเลข 061301



จากการศึกษา OMASM และ PTMSM ของสถาบันวิจัย AOAC Research Institute พบว่าชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหา เชื้อซาลโมเนลล่า เมทริกซ์ที่ได้รับการทดสอบในการศึกษาดังกล่าวแสดงไว้ในตาราง 1 ชัดจำกัดในการตรวจหาเชื้อของวิธีทดสอบของชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX คือ 1-5 cfu/g ต่อขนาดการทดสอบที่ตรวจสอบแล้ว (ในตาราง 1)



ตาราง 1: ตัวอย่างขั้นตอนปฏิบัติในการเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐาน AOAC OMASM 2014.01 และตามใบรับรอง AOAC PTMSM หมายเลข 061301

เมทริกซ์การทดสอบ	ปริมาณจุลินทรีย์สูง	ขนาดตัวอย่าง	การเพิ่มจำนวนเชื้อปฐมภูมิ			การเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิ		
			ปริมาตรการเพิ่มเชื้อ (มล.)	อุณหภูมิ ($\pm 1.0^{\circ}\text{C}$)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	อาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิ ($\pm 1.0^{\circ}\text{C}$)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)
เนื้อวัวดิบบด เนื้อหมูดิบบด เนื้อไก่ดิบบด	✓	25 กรัม	225	41.5	18-24	อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ R-V R10: 0.1 มล. ไปยัง 10.0 มล.	41.5	8-24
กุ้งแช่แข็งที่ไม่ผ่านการปรุงสุก	✓	25 กรัม	225			อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ R-V R10: 0.1 มล. ไปยัง 10.0 มล.	41.5	8-24
ไข่ดิบทั้งฟองที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว		100 กรัม	900			อาหารที่มีจุลินทรีย์ต่ำไม่จำเป็นต้องใช้		
อาหารสุนัขชนิดแห้ง		375 กรัม	3375			อาหารที่มีจุลินทรีย์ต่ำไม่จำเป็นต้องใช้		
ผักโขมมัดสด	✓	25 กรัม	225			อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ R-V R10: 0.1 มล. ไปยัง 10.0 มล.	41.5	24
สภาพแวดล้อม – พื้นผิว เหล็ก สเตนเลส (ขนาดตัวอย่าง 100 ซม. ²)		ฟองน้ำ 1 ชิ้น	225			ตัวอย่างที่มีจุลินทรีย์ต่ำไม่จำเป็นต้องใช้		
นักเก็ตไก่ปรุงสุก		25 กรัม	225					



สำหรับเมทริกซ์อื่น ๆ:

ตาราง 2: ตัวอย่างระเบียบวิธีการเพิ่มจำนวนเชื้อ

เมทริกซ์การทดสอบ	ปริมาณจุลินทรีย์สูง	ขนาดตัวอย่าง	การเพิ่มจำนวนเชื้อปฐมภูมิ			การเพิ่มจำนวนเชื้อทุติยภูมิ		
			ปริมาตรการเพิ่มเชื้อ (มล.)	อุณหภูมิ ($\pm 1.0^{\circ}\text{C}$)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	อาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิ ($\pm 1.0^{\circ}\text{C}$)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)
อาหาร: เนื้อสัตว์ ตับ สัตว์ปีก อาหารทะเลและเนื้อปลา	✓	25 กรัม	225	41.5	18-24	อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ R-V R10: 0.1 มล. ไปยัง 10.0 มล.	41.5	8-24
อาหารสัตว์		375 กรัม	3375			อาหารที่มีจุลินทรีย์ต่ำไม่จำเป็นต้องใช้		
อาหาร: ผลผลิต	✓	25 กรัม	225			อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ R-V R10: 0.1 มล. ไปยัง 10.0 มล.	41.5	8-24
จากสิ่งแวดล้อม	*	ฟองน้ำ 1 ชิ้น	225			ตัวอย่างที่มีจุลินทรีย์ต่ำไม่จำเป็นต้องใช้		
อาหารอื่น ๆ	*	ปฏิบัติตามวิธีการอ้างอิงที่เหมาะสมสำหรับขนาดตัวอย่างและปริมาณเชื้อ						

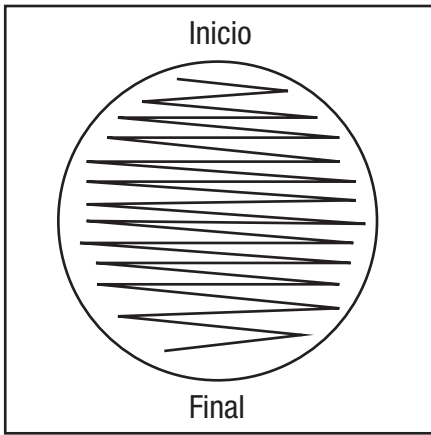
* ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมและอาหารอื่น ๆ อาจมีปริมาณจุลินทรีย์สูงและจำเป็นต้องใช้การเพิ่มจำนวนเชื้อแบบทุติยภูมิด้วย R-V R10

การเติมน้ำแผ่นละลาย

- ใช้สารละลายสำหรับเจือจางปลอดเชื้อที่กำหนดเพื่อเติมน้ำให้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX: สารละลายสำหรับเจือจาง Butterfield's phosphate, น้ำกลั่น หรือน้ำ Reverse Osmosis
- วางแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX บนพื้นผิวเรียบและอยู่ในแนวราบ (รูป ก)
- เปิดแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นและหยดสารละลายตัวอย่างในแนวตั้งฉากด้วยปิเปตต์ 2.0 มล. \pm 0.1 มล. ของสายละลายสำหรับเจือจางปลอดเชื้อลงตรงกลางของกันฟิล์ม (รูป ข) อย่าปิดฟิล์มด้านบนก่อนถึงปริมาตร 2.0 มล.
- ค่อย ๆ ม้วนฟิล์มด้านบนลงบนสารละลายสำหรับเจือจางเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศ (รูป ค)
- วางตัวกดแบบเรียบ Neogen® Petrifilm® (แค็ตตาล็อก #6425) กดบนตรงกลางของแผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อ กดเบาๆ บริเวณส่วนกลางของตัวกดแบบเรียบเพื่อให้ตัวทำละลายกระจายอย่างสม่ำเสมอ เคลี่ยสารละลายสำหรับเจือจางให้ทั่วทั้งบริเวณที่เชื้อเจริญเติบโตบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ก่อนที่เจลจะก่อตัวขึ้น ห้ามเลื่อนตัวกดแบบเรียบไปมาบนแผ่นฟิล์ม (รูป ง)
- นำตัวกดแบบเรียบออก และห้ามทำสิ่งใดกับแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX อย่างน้อย 1 นาที
- วางแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX บนพื้นเรียบอย่างน้อย 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ($20-25^{\circ}\text{C}$ / $<60\% \text{ RH}$) เพื่อป้องกันแสง ให้เจลก่อตัว แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ที่เติมน้ำแล้วสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($20-25^{\circ}\text{C}$ / $<60\% \text{ RH}$) เพื่อป้องกันแสง นานถึง 8 ชั่วโมงก่อนการใช้งาน หากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ที่เติมน้ำแล้วจะใช้งานไม่ได้ภายใน 8 ชั่วโมงให้เก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดผนึก ป้องกันแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX จากแสง และแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 ถึง -10°C ได้นานถึง 5 วัน
- หลังจากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ถูกนำออกจากที่จัดเก็บ ให้ปล่อยทิ้งไว้ให้อุ่นขึ้นที่อุณหภูมิห้องก่อนการใช้งาน

การนำแบคทีเรียไปเพาะเชื้อบนแผ่นเพาะเชื้อ (Inoculation)

- นำอาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากตูบและเขย่าเครื่องด้วยมือ
- ใช้ลูปปราศจากเชื้อ 10 μL (เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม.) เพื่อเก็บแต่ละตัวอย่าง ใช้ลูปที่เรียบ (ไม่มีขอบหยักและไม่บิดเบี้ยว) เพื่อป้องกันไม่ให้ผิวเจลแตก
- เปิดแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และขีดเชื้อลงบนเจล (รูป จ) ขีดเชื้อเส้นเดียวเพื่อให้โคโลนีที่แยกกลุ่มกัน (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ชัดเชื้อบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX

4. ม้วนฟิล์มด้านบนของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX เพื่อปิด
5. สวมถุงมือ (ในขณะที่ปฏิบัติตามหลักปฏิบัติของห้องปฏิบัติการที่ดีเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามและ/หรือการสัมผัสโดยตรงกับแผ่นเพาะเชื้อ) ลูบอย่างเบามือและกดบนฟิล์มด้วยแรงที่สม่ำเสมอ เพื่อกำจัดฟองอากาศในบริเวณที่มีน้ำเชื้อไปเพาะ (รูป ฉ)

การบ่มแผ่นเพาะเชื้อ

นำแผ่นเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ $41.5 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ในแนวนอนหันด้านที่มีสีขึ้นบน วางซ้อนกันไม่เกิน 20 ชั้น

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

1. นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ออกจากเครื่องบ่มเพาะและดำเนินการอ่านผลลัพธ์ที่มองเห็น
2. การใช้แสงด้านหลังโดยอัตโนมัติช่วยเพิ่มการอ่านสีโคโลนี เขตสีเหลืองที่แยกกันและฟองก๊าซที่เกี่ยวข้องกับโคโลนีเชื้อ
3. สำหรับการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ ตรวจสอบโคโลนีที่แยกด้วยสายตา โปรดดูตาราง 3 ไม่ต้องนับจำนวนฟองอากาศที่เกิดขึ้นที่อาจมีอยู่
4. สปีชีส์ *Salmonella* ที่ให้ผลบวกเบื้องต้นเป็นสีแดงถึงสีน้ำตาลที่มีเขตสีเหลืองหรือฟองก๊าซที่เกี่ยวข้องหรือทั้งสองอย่าง (รูป ช) ฟองก๊าซที่เกี่ยวข้องดูจากกลุ่มที่อยู่ภายในรัศมีเส้นผ่านศูนย์กลางหนึ่งโคโลนีจากโคโลนีนั้น (โปรดดูตาราง 3 ด้านล่าง)

ตาราง 3: การแปลผลการตรวจวิเคราะห์สำหรับสปีชีส์ *Salmonella* ที่ให้ผลบวกเบื้องต้น

สีของโคโลนี			เมตาบอลิซึมของโคโลนี		ผลการตรวจ
สีแดง	สีแดงเข้ม	สีน้ำตาล	เขตสีเหลือง	ฟองก๊าซ	
✓			✓		ผลเบื้องต้นเป็น +
✓				✓	ผลเบื้องต้นเป็น +
✓			✓	✓	ผลเบื้องต้นเป็น +
	✓		✓		ผลเบื้องต้นเป็น +
	✓			✓	ผลเบื้องต้นเป็น +
	✓		✓	✓	ผลเบื้องต้นเป็น +
		✓	✓		ผลเบื้องต้นเป็น +
		✓		✓	ผลเบื้องต้นเป็น +
		✓	✓	✓	ผลเบื้องต้นเป็น +

สปีชีส์ Non-Salmonella (รูป ช):

- โคโลนีสีฟ้า โคโลนีสีเขียว โคโลนีฟ้าไปเขียว และ/หรือโคโลนีสีดำที่มีหรือไม่มีเขตสีเหลืองและ/หรือมีฟองก๊าซเกี่ยวข้องเป็นจุลชีพ non-*Salmonella*
- โคโลนีสีแดง สีแดงเข้ม และสีน้ำตาลที่ไม่มีเขตสีเหลืองที่ไม่มีก๊าซเกี่ยวข้องเป็นจุลชีพ non-*Salmonella*
- โคโลนีสีแดง สีแดงเข้ม และสีน้ำตาลที่มีเขตสีม่วงแดงเป็นจุลชีพ non-*Salmonella*



หากผลเบื้องต้นไม่พบโคลิฟอร์มของ *Salmonella* เป็นบวก แสดงว่าไม่มีการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเมทริกซ์

ผลเบื้องต้นของสปีชีส์ *Salmonella*:

หากผลเบื้องต้นพบโคลิฟอร์มของ *Salmonella* เป็นบวก ให้ทำตามขั้นตอนต่อไปนี้และดำเนินการต่อไปยังขั้นตอนการยืนยันทางชีวเคมี:

- ก. ด้านบนของฟิล์มแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX วงกลมอย่างน้อยห้าโคโลนีที่ให้ผลเบื้องต้นเป็นบวกสำหรับ *Salmonella* (หากมี) โดยใช้ปากกามาร์คเกอร์ปลายแหลมแบบถาวร (รูป ฅ)
- ข. ยืนยันทางชีวเคมีผล *Salmonella* ที่ผลเบื้องต้นเป็นบวกโดยใช้แผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ดูหมวดการยืนยันทางชีวเคมี
- ค. หากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากนำออกจากเครื่องบ่มเพาะ ขั้นแรก วงกลมโคโลนี *Salmonella* ที่ให้ผลเบื้องต้นเป็นบวกด้านบนแผ่นฟิล์ม โดยใช้ปากกามาร์คเกอร์ปลายแหลมแบบถาวร แล้วนำแผ่นเพาะเชื้อมาใส่ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทเพื่อทำการวิเคราะห์ในภายหลัง ป้องกันแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX จากแสงและเก็บที่อุณหภูมิ -20 ถึง -10°C ไม่เกิน 72 ชั่วโมง ให้แผ่นเพาะเชื้ออุ่นขึ้นโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C / <60% RH) ก่อนจะเพิ่มดิสก์ลงในแผ่นเพาะเชื้อ

คำเตือน: เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลปลอมซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนไปขายและความเป็นไปได้ของผลบวกปลอม ต้องทำการทดสอบซ้ำโดยใช้ปากกามาร์คเกอร์ปลายแหลมแบบถาวรเสมอ เพื่อวงลักษณะของโคโลนี *Salmonella* จากผลเบื้องต้นที่ด้านบนของฟิล์มแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ก่อนการเก็บรักษาแผ่นเพาะเชื้อที่เหมาะสมและ/หรือก่อนจะวางแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ลงบนเจล

การยืนยันทางชีวเคมี

1. ดำเนินการตามหลักห้องปฏิบัติการที่ดีเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามและ/หรือสัมผัสโดยตรงกับแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และ/หรือแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX
2. นำแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ที่บรรจุแยกแผ่นออกจากถุงและให้อยู่ในอุณหภูมิห้อง (20-25°C / <60% RH) หลังจากนั้นนำแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ออกจากการบรรจุแยกแผ่นโดยแกะบรรจุภัณฑ์เพื่อแสดงแท็บของแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX จับแท็บและนำแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ออก
3. ยกแผ่นฟิล์มด้านบน (โดยที่วงกลมโคโลนีที่ให้ผลเบื้องต้นว่าเป็น *Salmonella* แล้ว) ของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX ขึ้นและใส่แผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX โดยหมุนไปบนเจลเพื่อหลีกเลี่ยงการทำให้เกิดฟองอากาศ (รูป ญ) ปิดแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX
4. สวมถุงมือ ลูบเบา ๆ และกดบนแผ่นฟิล์มด้วยแรงที่สม่ำเสมอเพื่อกำจัดฟองอากาศในบริเวณที่เพาะเชื้อลงไป และต้องแน่ใจว่าเจลและแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX มีการสัมผัสกันดี (รูป ฎ)
5. บ่มชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX (แผ่นเพาะเชื้อและแผ่นดิสก์) ที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1.0°C เป็นเวลา 4 - 5 ชั่วโมง ในแนวนอนหันด้านขวาขึ้นบน วางซ้อนกันไม่เกิน 20 ชั้น
6. นำชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX ออกจากเครื่องบ่มเพาะและดำเนินการอ่านผลลัพธ์ **อ่านเฉพาะจุดที่วงกลมโคโลนีที่ให้ผลเบื้องต้นว่าเป็น *Salmonella* (โปรดดูตาราง 4):**

ตาราง 4: การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ของชุดทดสอบ Neogen Petrifilm SALX

สีของโคโลนี			ผลการยืนยันทางชีวเคมี
สีเขียวไปสีฟ้า	สีฟ้าไปสีน้ำตาลเงิน	สีดำ	
✓			ได้รับการยืนยันทางชีวเคมี +
	✓		ได้รับการยืนยันทางชีวเคมี +
		✓	ได้รับการยืนยันทางชีวเคมี +

ได้รับผลการยืนยันทางชีวเคมีว่าเป็นบวก:

- โคลิฟอร์มที่มีสีเขียวไปสีฟ้า สีฟ้าไปสีน้ำตาลเงิน หรือสีดำ หรือมีการตกตะกอนสีฟ้ารอบ ๆ โคลิฟอร์มได้รับการยืนยันทางชีวเคมีว่าเป็นบวกสำหรับสปีชีส์ *Salmonella*

ได้รับผลการยืนยันทางชีวเคมีเป็นลบ:

- โคลิฟอร์มที่ยังคงเป็นสีแดง สีแดงเข้ม หรือสีน้ำตาลโดยไม่มีตะกอนสีฟ้าเป็นผลลบสำหรับสปีชีส์ *Salmonella*

7. อาจนำโคโลนีไปเพาะเชื้อต่อเพื่อจำแนกชนิดเพิ่มเติมได้ เมื่อนำไปเพาะเชื้อต่อ สวมใส่ชุดป้องกันที่เหมาะสมและปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติตามมาตรฐานที่เหมาะสมเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ (GLP)²

- ก. ยกฟิล์มด้านบนขึ้นและนำโคโลนีออกจากเจลหรือแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX อย่างปลอดภัย หากแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ห่อเจลอยู่ แกะแผ่นดิสก์ออกอย่างปลอดภัยแล้วจึงนำโคโลนีออกจากเจล
- ข. ให้ขีดเชื้อจากโคโลนีเป็นไปตามวิธีการอ้างอิงที่เหมาะสม^{6, 7, 8}

8. หากโคลนนี้ไม่สามารถเพาะเชื้อต่อได้ภายใน 1 ชั่วโมงของการนำแผ่นจากเครื่องบ่มเพาะ ให้เก็บแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX เพื่อวิเคราะห์ในภายหลังโดยใส่ไว้ในถุงพลาสติกปิดผนึกที่อุณหภูมิ -20 ถึง -10°C ไม่เกิน 72 ชั่วโมงในที่มืด ให้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX อุณหภูมิห้อง (20-25°C / <60% RH) ก่อนจะดำเนินการเพาะเชื้อต่อเพื่อระบุเชื้อ
9. หลังจากการทดสอบเสร็จสิ้นให้กำจัดแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Neogen Petrifilm SALX และแผ่นดิสก์สำหรับยืนยันผล Neogen Petrifilm SALX ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบันและ/หรือข้อบังคับท้องถิ่น

สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดดูในหัวข้อ "คู่มือการแปลผล" ชุดทดสอบ Neogen® Petrifilm® *Salmonella* Express หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดการจำหน่ายของบริษัท Neogen ในท้องถิ่นของท่าน

ข้อมูลอ้างอิง

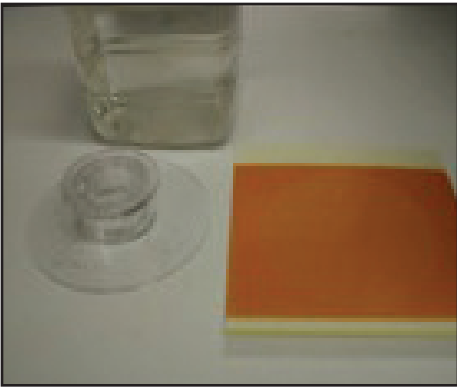
1. McDonough P.L, et al. (2000). Diagnostic and Public Health Dilemma of Lactose-Fermenting *Salmonella* enterica Serotype *Typhimurium* in Cattle in the Northeastern United States. J. Clin. Microbiol. 38:1221-1226.
2. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
3. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
5. ISO 18593:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
6. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5 *Salmonella*
7. US Department of Agriculture (USDA) Microbiology Laboratory Guidebook 4.09. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges.
8. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

โปรดอ้างอิงวิธีการมาตรฐานฉบับปัจจุบันที่แสดงรายการไว้ข้างต้น

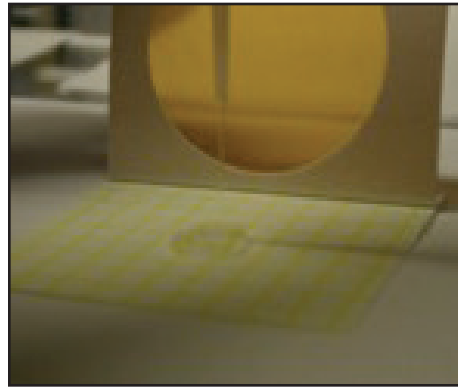
คำอธิบายสัญลักษณ์

info.neogen.com/symbols

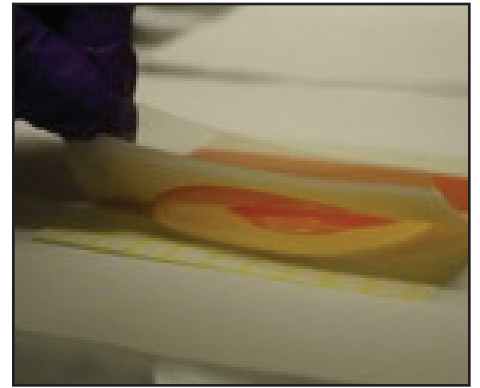
AOAC™ เป็นเครื่องหมายการค้าจดทะเบียนของ AOAC International
 Official Methods (OMA)SM เป็นเครื่องหมายบริการของ AOAC International
 Performance Tested MethodsSM เป็นเครื่องหมายบริการของ AOAC International



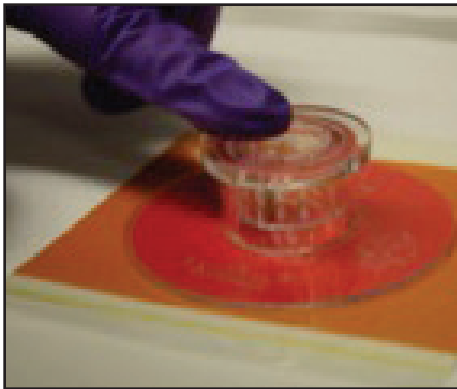
รูป ก



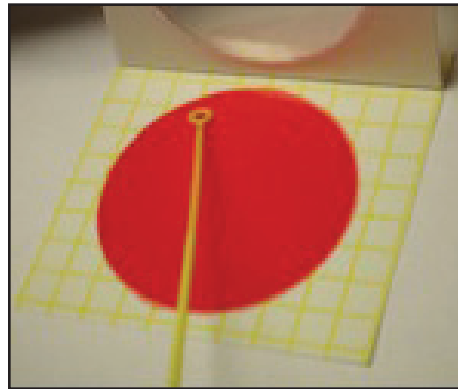
รูป ข



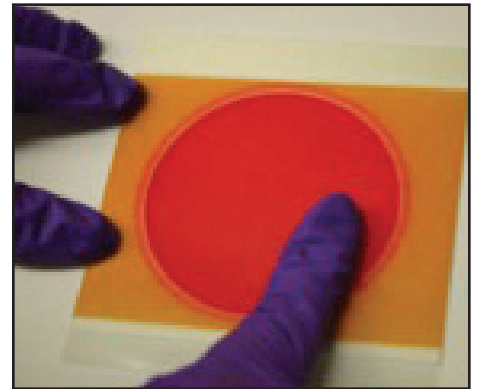
รูป ค



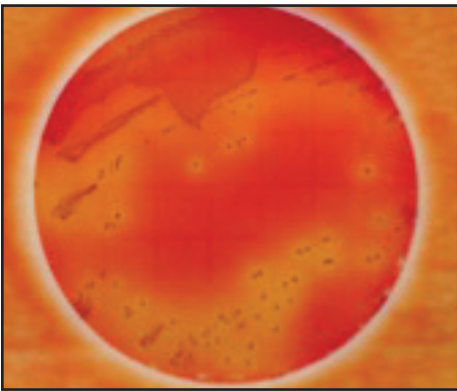
รูป ง



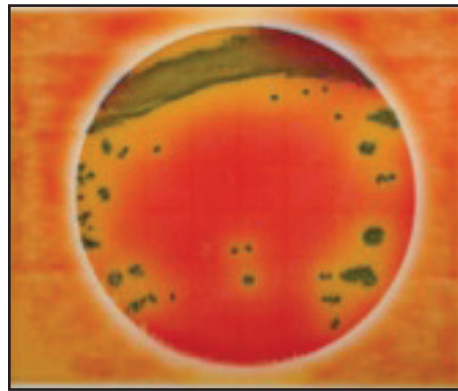
รูป จ



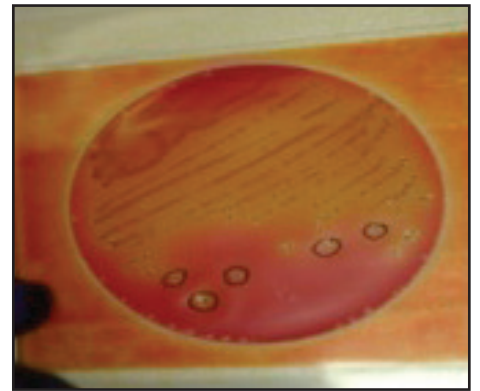
รูป ฉ



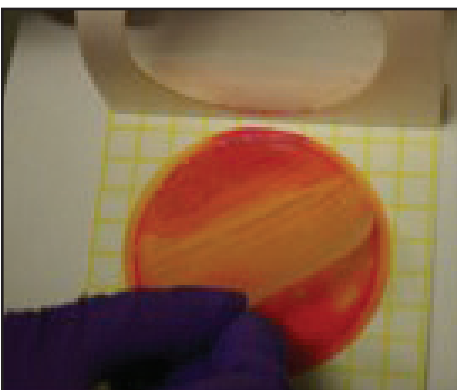
รูป ช



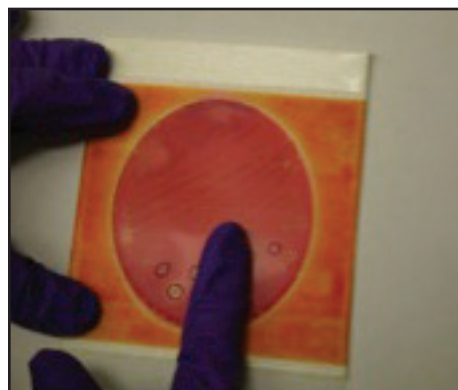
รูป ซ



รูป ฅ



รูป ญ



รูป ด

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00828A