

## Uso Sistema Petrifilm Salmonella Express

Para el enriquecimiento de una muestra a analizar por Petrifilm Salmonella, debe preparar la base del enriquecimiento SEB 500 con el suplemento SESUP001

### Preparación de medio Salmonella Enrichment Broth 3M™ (SEB 500)

Suspenda 37.0 g del polvo en 1.0 L de agua. Mezcle. Si es necesario, calendar hasta que se disuelva completamente el polvo. Dispense y autoclave a 121°C por 15 minutos. Tempere el medio y chequee pH. Las especificaciones de pH son 7.0±0.2 a 25°C. Si el pH está fuera del rango, el medio no se puede utilizar y debe ser descartado. Si cumple con las especificaciones, permita que el medio se tempere a 20 - 42.5°C **y luego agregue la cantidad de suplemento necesaria.**

*\*\*El medio preparado tiene una vida útil de 28 días almacenado protegido de la luz entre 15°-25°C*

### Preparación del suplemento Salmonella Enrichment supplement 3M™

Se puede preparar una solución hidratada del suplemento, utilizando una concentración 2.5 mg/ml en agua estéril

Cantidad a pesar del Suplemento	Volumen de agua estéril a agregar	Vida útil	Condiciones de almacenamiento
1 g (+/- 0.05 g)	400 ml	15 días	2-8 °C
0.5 g (+/- 0.025 g)	200 ml	15 días	2 -8°C

### Solución de suplemento- Volumen a agregar al 3M Salmonella enrichment base preparado

3M Salmonella enrichment base preparado	Volumen de solución de Suplemento- volumen a agregar al caldo preparado	Tiempo de almacenamiento de la combinación del caldo y suplemento	Condiciones de almacenamiento
225 ml	4.5 ml	Se considera que el máximo tiempo de almacenamiento lo da el caldo o el suplemento de acuerdo a su propia fecha de elaboración o preparación de la solución*	2 a 8°C protegido de la luz
450 ml	9.0 ml		
675 ml	13.5 ml		
900 ml	18.0 ml		
1000 ml (1L)	20.0 ml		
2000 ml (2L)	40.0 ml		
5000 ml (3L)	100 ml		

\*Ej: Si al suplemento le quedan 2 días de vida útil y al medio base le quedan 15 días de vida útil el tiempo de ambos combinado será 2 días.

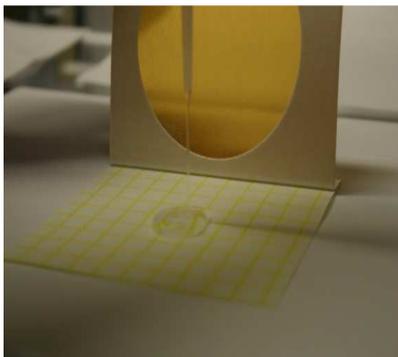


Pese 25 g de muestra en 225 ml del medio suplementado e incube por 48 hrs a 41.5°C

*\*Un enriquecimiento selectivo en Rappaport será necesario dependiendo de la matriz a trabajar.*

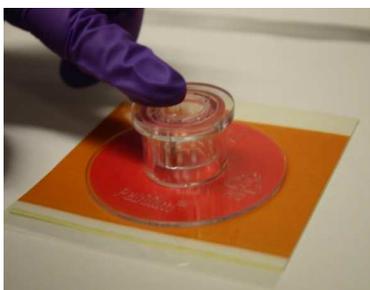
**3M™ Petrifilm™ Salmonella Express System**

- a. **Hidratación de la placa:** Diluyente Butterfield's Phosphate, agua destilada, o agua estéril.  
Levante el film y en forma perpendicular con una pipeta agregar 2.0 mL  $\pm$  0.1 mL en el centro de la placa



Baje el film y distribuya el inoculo con el difusor y dejar reposar por 1 minuto.

Dejar la placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana por al menos 2 horas a temperatura ambiente (20-25°C), protegida de luz. Las placas hidratadas pueden permanecer hasta 8 horas a temperatura ambiente o **5 días congeladas** en doble bolsa plástica, protegido de la luz.

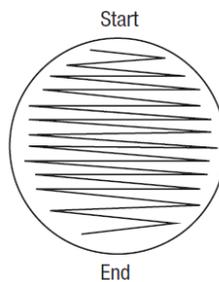
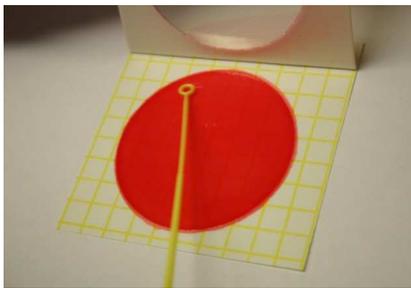


- b. **Siembra de las muestras.**

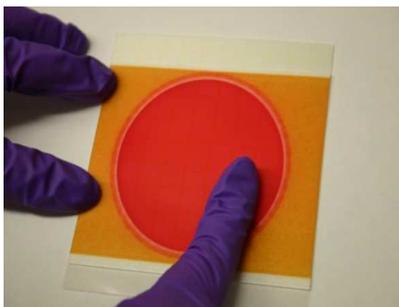
Remueva la muestra de la incubadora y mezcle.

Utilice un asa estéril 10  $\mu$ L (3 mm diámetro) para cada muestra.

Abra la placa 3M Petrifilm SALX y estrie en el gel con estriado simple

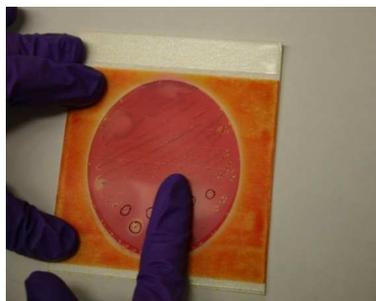


Baje la película superior y asegúrese de eliminar posibles burbujas, aplicando un movimiento suave de presión



Incube las placas a  $41.5 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$  por 24 horas  $\pm$  2 horas en forma horizontal (no apilar más de 20).

Interprete las placas y si observa colonias presuntivas (anexo 1) enciérrelas en un círculo (sobre el film) y luego introduzca el disco de confirmación e incube la placa nuevamente por 4 horas a  $41.5^{\circ}\text{C}$ . Exprese los resultados como ausencia o presencia (anexo 2) de Salmonella en 25 g.



**ANEXO 1. COLONIAS PRESUNTIVAS POSITIVAS QUE DEBE ENCERRAR EN UN CÍRCULO**

Color Colonia			Metabolismo colonia		Resultado
Rojas	Rojas oscuras	Café	Halo amarillo	Fomación de gas	
✓			✓		Presuntivo +
✓				✓	Presuntivo +
✓			✓	✓	Presuntivo +
	✓		✓		Presuntivo +
	✓			✓	Presuntivo +
	✓		✓	✓	Presuntivo +
		✓	✓		Presuntivo +
		✓		✓	Presuntivo +
		✓	✓	✓	Presuntivo +

**ANEXO 2. COLONIAS CONFIRMADAS BIOQUÍMICAMENTE CON DISCO DE CONFIRMACIÓN**

Color de la colonia			Resultado de confirmación bioquímica
Verde azulosa	Azula azul oscura	Negra	
✓			Positivo (+) bioquímicamente confirmado
	✓		Positivo (+) bioquímicamente confirmado
		✓	Positivo (+) bioquímicamente confirmado