



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΔΙΕΥΝΣΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΟΥ ΚΕΝΤΡΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΑΛΚΙΔΑΣ

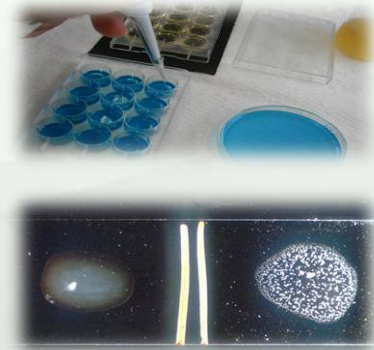
ISO 6579-1: Οριζόντια μέθοδος ανίχνευσης Σαλμονέλλας

Δρ. Αφροδίτη Π. Σμπιράκη



ISO 6579: ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ- ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ, ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΟΡΟΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΑΛΜΟΝΕΛΛΑΣ

- ✓ ISO/TS 6579-2 (2012). Καταμέτρηση Σαλμονελλών, μέθοδος μικρογραφίας πολλαπλών σωλήνων (MPN)
- ✓ ISO/TR 6579-3 (2014). Κατευθυντήριες οδηγίες για την οροτυποποίηση Σαλμονελλών



ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ (1^η έκδοση 6579-1): Οριζόντια μέθοδος ανίχνευσης Σαλμονέλλας

European Committee for Standardization (CEN) + TC 34, *Food products*+ Subcommittee SC9, *Microbiology*

- ΑΚΥΡΩΝΕΙ & ΑΝΤΙΚΑΘΙΣΤΑ: ISO 6579:2002
- ΑΚΥΡΩΝΕΙ & ΕΝΣΩΜΑΤΩΝΕΙ: ISO 6785: 2001, Milk and milk products- Detection of *Salmonella* spp.
- ΕΝΣΩΜΑΤΩΝΕΙ: ISO 6579:2002/Cor 1:2004, /ISO 6579:2002/Amd 1: 2007
- ΚΑΝΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ: ISO 7218 , ISO 11133:2014

ISO 6579-1: ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΣΑΛΜΟΝΕΛΛΑΣ

ΤΡΟΦΙΜΑ

(+ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ)

ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ



ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΟΜΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ & ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



ΠΕΡΙΤΤΩΜΑΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΖΩΩΝ



ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΤΑΔΙΩΝ ΠΡΩΤΟΓΕΝΟΥΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

(**ΔΕΙΓΜΑ**: μάζα, όγκος, μέγεθος επιφάνειας, ανά είδος δείγματος)

➤ *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi (ως Παράρτημα)

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

- ISO/TS 17728, Microbiology of the food chain-Sampling techniques for microbiological analysis of food & feed samples
- ISO 707, Milk and milk products – Guidance on sampling
- ISO 13307, Microbiology of food and animal feed - Primary production stage – Sampling techniques
- ISO 17604, Microbiology of the food chain-Carcass sampling for microbiological analysis
- ISO 18593, Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs



ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ (ΑΡΧΙΚΟΥ) ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ & ΑΡΑΙΩΣΕΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

- ISO 6887-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*
- ISO 6887-2, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products*
- ISO 6887-3, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products*
- ISO 6887-4, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products*
- ISO 6887-5, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products^{***}*
- ISO 6887-6, *Microbiology of food and animal feed — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage*

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΡΧΙΚΟΥ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

**Γάλα και
προϊόντα του
(Παράρτημα)**



- ❖ **ΝΩΠΟ ΓΑΛΑ, ΘΕΡΜ. ΕΠΕΞΕΡ. ΓΑΛΑ, ΥΓΡΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ:** 25 ml σε 225 ml BPW: ανάμιξη
- ❖ **ΑΦΥΔΑΤΩΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ:** 25 g επιφανειακά σε 225 ml BPW: όχι ανάμιξη. Αναμονή για 1h
- ❖ **ΛΑΚΤΟΖΗ:** 25 g σε 225 ml BPW: ανακίνηση
- ❖ **ΚΑΖΕΪΝΗ - ΚΑΖΕΪΝΙΚΑ ΑΛΑΤΑ-ΤΥΡΙ:** 25 g με 225 ml BPW (προθερμ. 45 C). Σε περισταλτικού τύπου αναμικτήρα για 1-3 min
- ❖ **ΒΟΥΤΥΡΟ:** 25 g, λιώσιμο σε φλάσκα (υδατόλουτρο 45 C). Προσθήκη 225 ml BPW (προθερμ. 45 C). Ανάμιξη
- ❖ **ΠΑΓΩΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ, παγάκια:** 25 g λιωμένο (37 C) σε 225 ml BPW. Ανάμιξη
- ❖ **ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΥΠΟΣΤΕΙ ΖΥΜΩΣΗ, ΓΙΑΟΥΡΤΙΑ, ΚΡΕΜΕΣ, ΕΠΙΔΟΡΠΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ:** 25 g σε φλάσκα με γυάλινα σφαιρίδια και 225 ml BPW: Ανακίνηση

4 ΔΙΑΔΟΧΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ



1. ΠΡΟΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΜΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟ, ΥΓΡΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ
2. ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ
3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ) ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ
4. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

1. ΠΡΟΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΜΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟ, ΥΓΡΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ

Σκοπιμότητα: Ανίχνευση χαμηλών πληθυσμών – ανάκτηση «ζωτικότητας» Σαλμονελλών

Διαδικασία:

- ✓ **Ενοφθαλισμός** Buffered Peptone Water (θ. π.) → Αραίωση 1/10 25 g δείγματος σε 225 ml BPW
 - Μικρότερο μέγεθος δείγματος, δεν απαιτείται επικύρωση / επαλήθευση (1:10)
 - Μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος, απαιτείται **επαλήθευση** (ISO 6887-1:1999, Παρ. D) * **Pooling / K.M.**
 - Για > 1 Lt, **προθέρμανση** BPW 34-38 C (ANTI: 37 ± 1 C)
- ✓ **Επώαση** 34-38 C x για 18 ± 2h (ANTI: 37 ± 1 C για 18 ± 2h)
- ✓ **Αποθήκευση** του επωασμένου υποστρώματος στους 5 C έως 72 ώρες



Έλεγχος απόδοσης BPW:

Αποδοτικότητα με *S. Typhimurium* / *S. Enteritidis*. Κριτήριο: Θολερότητα (1-2)

2. ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

Τρόφιμα, ζωοτροφές,
περιβαλλοντικά δείγματα
τομέα
παραγωγής/επεξεργασίας
τροφίμων

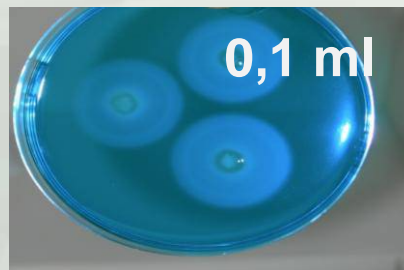


Mueller –Kauffmann
Tetrathionate(+40mg/L novob) broth
37 C **για 24** 3h

ΚΑΙ



ή



Rappaport-Vassiliadis(+Soya)
broth
41,5 C **για 24** 3h

ΚΙΝΗΤΕΣ ΣΑΛΜΟΝΕΛΛΕΣ
Modified Semi-solid Rappaport-
Vassiliadis agar (+10mg/L* novob)
41,5 C **για 24** 3h

- ✓ **Αποθήκευση** του επωασμένου εκλεκτικού εμπλουτιστικού μέσου στους 5 C έως 72 ώρες
- ✓ Αφ. Πρ. Γαλ. & Τυρί: **ΕΠΩΑΣΗ ΚΑΙ 2^ο 24ωρο (& σε outbreaks)**

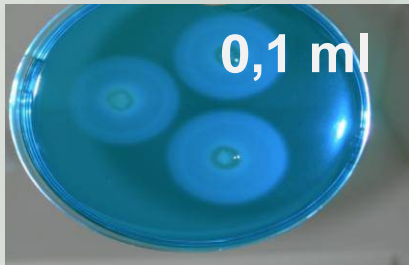
2. ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

Περιττωματικά υλικά
ζώων, υλικά σταδίου
πρωτογενούς
παραγωγής

και (?)



Mueller –Kauffmann
Tetrathionate+novobiocin broth
41,5 C για 24 3h



ΚΙΝΗΤΕΣ ΣΑΛΜΟΝΕΛΛΕΣ

Modified Semi-solid Rappaport-
Vassiliadis agar
41,5 C για 24 3h - (48h)

✓ Αποθήκευση του επωασμένου
εκλεκτικού εμπλουτιστικού
μέσου στους 5 C έως 72 ώρες

2. ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

ΕΛΕΓΧΟΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΕΚΛΕΚΤΙΚΩΝ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΤΙΚΩΝ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ



Υπόστρωμα	Μ/Ο στόχος	Λειτουργία	Επίαση	Στελέχη ελέγχου	Μέθοδος ελέγχου	Κριτήρια	Χαρακτηριστικές αντιδράσεις των Μ/Ο στόχων
MKTTn	Salmonella	Παραγωγικότητα	24h /37°C	<i>S.Typhimurium</i> WDCM 00031 (ATCC 14028) ή <i>S.Enteritidis</i> WDCM 00030 (ATCC 13076) 10 - 100 cfu / σωλήνα + <i>E.coli</i> WDCM 00013 ή 00012 (ATCC 25922 ή 8739) >1000 cfu/ σωλήνα + <i>Ps.aeruginosa</i> WDCM 00025 (ATCC 27853) >1000 cfu/ σωλήνα	<u>Ημιποσοτική</u> <u>Ποιοτική</u>	>10 αποικίες στο XLD ή σε άλλο υπόστρωμα επιλογής (σπορά με 10 μl μικτής καλλιέργειας)	Χαρακτηριστικές αποικίες ανάλογα με το υπόστρωμα (Βλ πρότυπο)
			24h /37°C	<i>E.coli</i> WDCM 00013 ή 00012 (ATCC 25922 ή 8739) 10 ⁴ -10 ⁸ cfu/ ml		<u>Ημιποσοτική</u> <u>Ποιοτική</u>	
		Εκλεκτικότητα	<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 ή 00009 (ATCC 29212 ή 19433) 10 ⁴ -10 ⁸ cfu/ ml	<10 αποικίες σε TSA			

Υπόστρωμα	Μ/Ο στόχος	Λειτουργία	Επώαση	Στελέχη ελέγχου	Μέθοδος ελέγχου	Κριτήρια	Χαρακτηριστικές αντιδράσεις των Μ/Ο στόχων
RVS	Salmonella	Παραγωγικότητα	24h /41,5°C	S.Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S.Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076) 10 - 100 cfu / σωλήνα + E.coli WDCM 00013 ή 00012 (ATCC 25922 ή 8739) >1000 cfu/ σωλήνα + Ps.aeruginosa WDCM 00024 (ATCC 27853) >1000 cfu/ σωλήνα	Ημιοσοφική Ποιοτική	>10 αποικίες στο XLD ή σε άλλο υπόστρωμα επιλογής (σπορά με 10 μl μικτής καλλιέργειας)	Χαρακτηριστικές αποικίες ανάλογα με το υπόστρωμα (Βλ πρότυπο)
			Εκλεκτικότητα	24h /41,5°C		E.coli WDCM 00013 ή 00012 (ATCC 25922 ή 8739) 10 ⁴ -10 ⁸ cfu/ ml	Μερική αναστολή ≤ 100 αποικίες σε TSA (σπορά με κρίκο 10 μl)
						E. faecalis WDCM 00087 ή 00009 (ATCC 29212 ή 19433) 10 ⁴ -10 ⁸ cfu/ ml	<10 αποικίες σε TSA (σπορά με κρίκο 10 μl)

Μέθοδος ελέγχου MSRV	Στελέχη - μάρτυρες	Τελική C / 0,1 ml	Επώαση MSRV	Κριτήρια
Εκλεκτικότητα <u>Ποιοτική</u>	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ή ATCC 8739	10 ⁴ -10 ⁶ cfu	41,5° C ± 1° C, 2x 24h ± 3h	Πιθανή ανάπτυξη στο σημείο που έγινε ο ενοφθαλμισμός χωρίς την παρουσία ζώνης θολερότητας.
	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 ή ATCC 19433			Χωρίς ανάπτυξη
Παραγωγικότητα <u>Ποιοτική</u>	<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028 ή <i>S. Enteritidis</i> ATCC 13076 (η <i>S. Typhimurium</i> εμφανίζει ταχύτερη ανάπτυξη και ευρύτερες ζώνες ανάπτυξης)	≤100 cfu	41,5° C ± 1° C, 2x 24h ± 3h	Λευκόφαιη, θολερή ζώνη που εκτείνεται περιφερικά του ενοφθαλμίσματος. Μετά από 24-48 ώρες οι θολερές ζώνες των 3 σταγόνων ενοφθαλμίσματος θα έχουν επεκταθεί (σχεδόν) σε όλο το πετρί. Επιπρόσθετα: Ανακαλλιέργεια υλικού που λαμβάνεται με κρίκο 1 μl στα όρια της θολερής ζώνης ανάπτυξης και στη συνέχεια γίνεται ενοφθαλμισμός σε XLD άγαρ. Επώαση στους 37° C ± 1° C για 24h ± 3h. Κριτήρια: ανάπτυξη των χαρακτηριστικών αποικιών, κατά πλειοψηφία

3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ) ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ

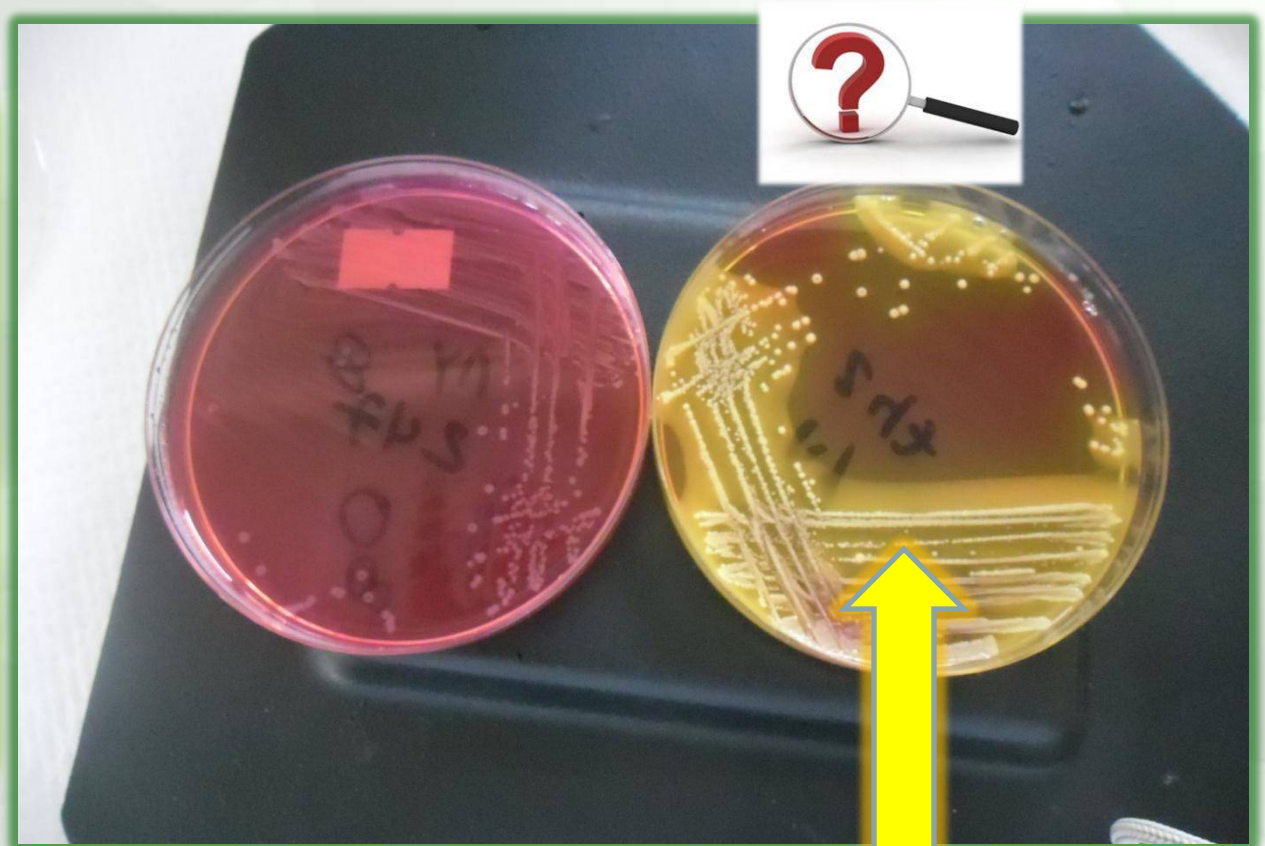
1ο (Annex E)

Xylose Lysine
Deoxycholate Agar



37 C για 24 h

140 mm ή 2 x 90 mm
ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΕΣ



XLD: *S. Livingstone*
Lactose +, H₂S -

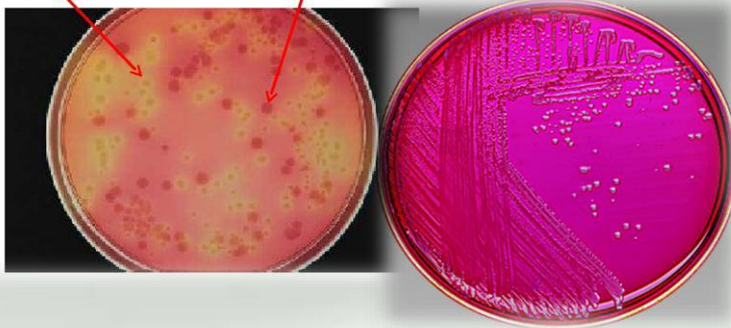
3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ) ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ

2ο (επιλογής, Annex E)

Brilliant Green Agar

Lactose fermenter
E. coli

Non-lactose fermenter
Salmonella



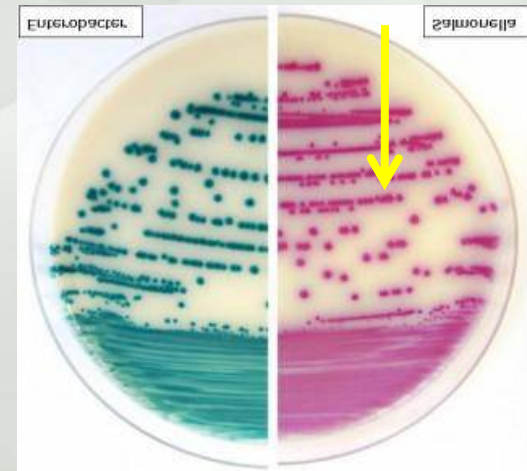
chromID *Salmonella*



Rambach Agar



IRIS *Salmonella*



Salmonella Shigella Agar plates



Escherichia coli



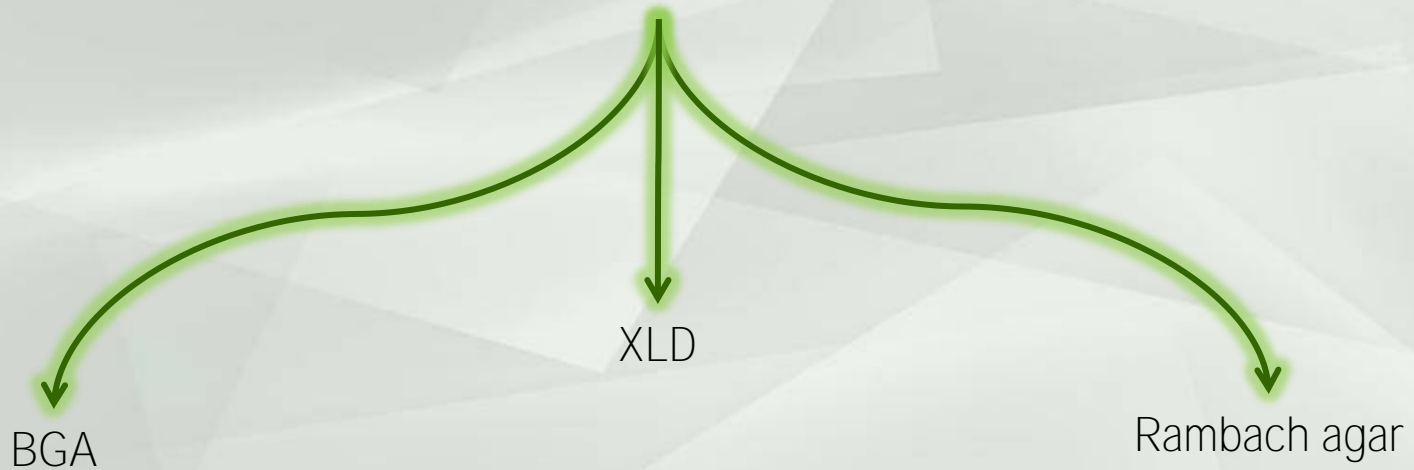
Salmonella



Shigella

3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ (ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ) ΣΕ ΕΚΛΕΚΤΙΚΑ ΣΤΕΡΕΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ

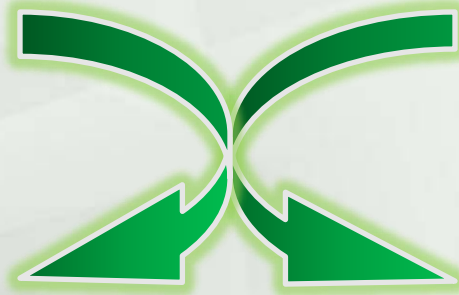
ΕΛΕΓΧΟΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΕΚΛΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ



Υπόστρωμα	Τύπος	Μ/Ο στόχος	Λειτουργία	Επώαση	Στελέχη ελέγχου	Μέθοδος ελέγχου	Κριτήρια	Χαρακτηριστικές αντιδράσεις των Μ/Ο στόχων
XLD	S	Salmonella	Παραγωγικότητα	24-48 h 37°C	S.Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S.Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076)	Ποιοτική	Καλή ανάπτυξη (2)	Χαρακτηριστικές αποικίες ανάλογα με το υπόστρωμα (βλ πρότυπο)
			Εκλεκτικότητα	24-48 h 37°C	E.coli WDCM 00013 ή 00012 (ATCC 25922 ή 8739)		Ολική αναστολή ή μικρή ανάπτυξη (0-1)	Όχι χαρακτηριστικές αποικίες
					E. faecalis ATCC 29212 ή 19433		Ολική αναστολή (0)	-

Υπόστρωμα	Τύπος	Μ/Ο στόχος	Λειτουργία	Επώαση	Στελέχη ελέγχου	Μέθοδος ελέγχου	Κριτήρια	Χαρακτηριστικές αντιδράσεις των Μ/Ο στόχων
BGA	S	Salmonella	Παραγωγικότητα	24-48 h /37°C	S.Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S.Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076)	Ποιοτική	Καλή ανάπτυξη (2)	Χαρακτηριστικές αποικίες ανάλογα με το υπόστρωμα (Βλ πρότυπο)
Rambach agar	S	Salmonella	Παραγωγικότητα	24±2 h /35-37°C	S.Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S.Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076)	Ποιοτική	Καλή ανάπτυξη (2)	Χαρακτηριστικές κόκκινες αποικίες αποικίες
			Εκλεκτικότητα	24-48 h /37°C	Staph. Aureus WDCM 00034 (ATCC 25923)		Ολική αναστολή (0)	
			Ειδικότητα	24 h /37°C	E.coli WDCM 00013 ή 00012 (ATCC 25922) ή 8739			Πράσινο-μπλε αποικίες

4. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ



ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

(& ΠΙΣΤΟΤ. galleries, ISO 7218)



Υλικό: **Μία** τυπική ή ύποπτη μεμονωμένη αποικία *Salmonella*

→ Εάν είναι αρνητική, ελέγχουμε έως 5 αποικίες από συνδυασμούς Ε&ΕΜ (& σε outbreaks)

→ Για έλεγχο καθαρότητας καλλιέργειας:
Σε **ΜΗ** εκλεκτικό στερεό υπόστρωμα (π.χ. Nutrient Agar)

ΟΡΟΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ

(ISO/TR 6579-3)

Πολυδύναμος- **Ο** αντιορός
Πολυδύναμος- **Η** αντιορός

4. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

1. Triple Sugar Iron Agar (Επώαση 37 °C για 24 h)

ή double Sugar Iron Agar (Kigler-Haina)

Salmonella spp. (λακτόζη -, σουκρόζη -)

✓ Μεταβολισμός γλυκόζης

→ παραγωγή οξέων (↓ pH)

→ κίτρινος πυθμένας

✓ Εξάντληση γλυκόζης (0,1%), S.+O₂ (επιφάνεια κεκλιμένου)

Καταβολισμός
πεπτονών/αμινοξέων

→ παραγωγή αλκαλικών (↑ pH)

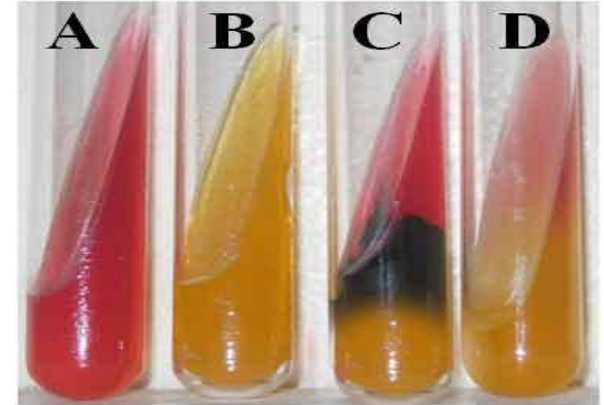
→ κόκκινο κεκλιμένο (18-24h)

✓ Μεταβολισμός γλυκόζης

→ παραγωγή CO₂ → φουσαλίδες, ρωγμές υποστρώματος στον πυθμένα

✓ Παραγωγή H₂S

→ Σχηματισμός θειούχου σιδήρου → μαύρος χρωματισμός



A) *Pseudomonas aeruginosa*: Gluc (-), Lac/Suc (-), H₂S (-)

B) *Escherichia coli*: Gluc (+), Lac/Suc (+), H₂S (-)

C) *Salmonella typhimurium*: Gluc (+), Lac/Suc (-), H₂S (+)

D) *Shigella boydii*: Gluc (+), Lac/Suc (-), H₂S (-)

4. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

2. Urea Agar (Επώαση 37 °C για 24-3h)

ουρία

↓ ουρέαση

CO₂ + NH₃

↓ H₂O

NH₄OH

↑ pH

phenol red

ροζ χρώμα (τεστ +)

Salmonella (-) !

Urease Test



Salmonella spp.

Negative result (acidic)

Uninoculated urea agar

Positive result (alkaline)



2-4 ώρες

Slow positive

4. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

3. L-lysine decarboxylation medium (LDC)

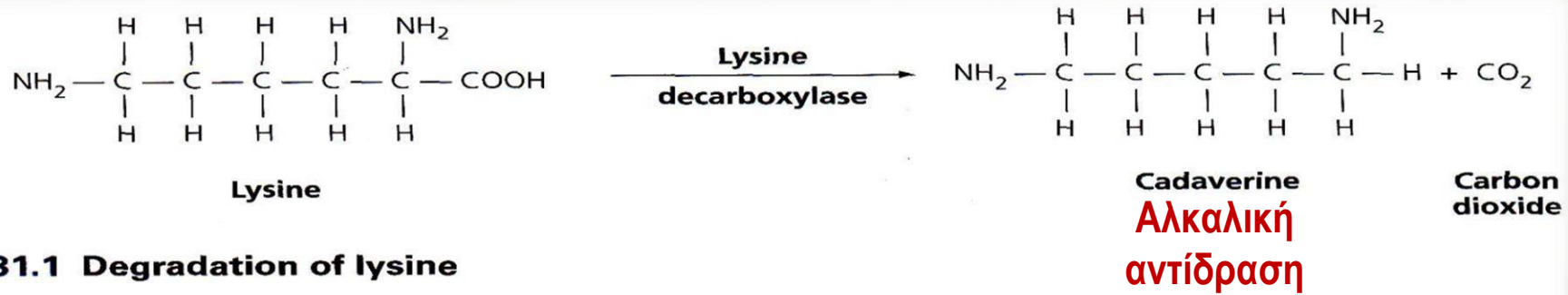
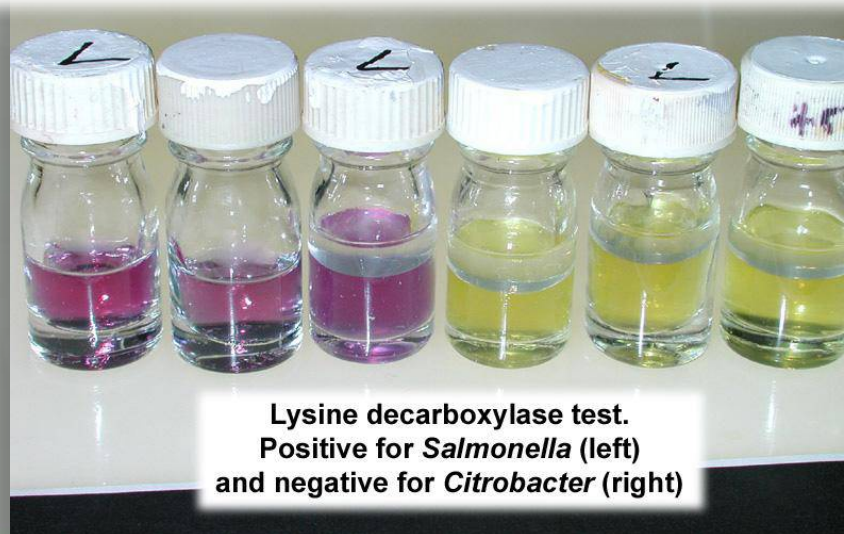


Figure 31.1 Degradation of lysine

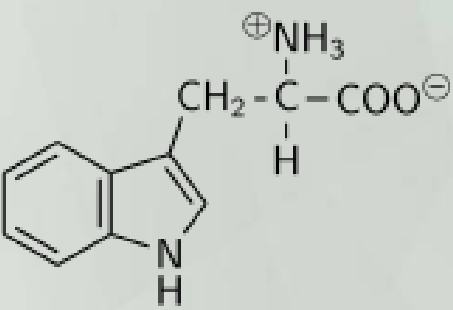
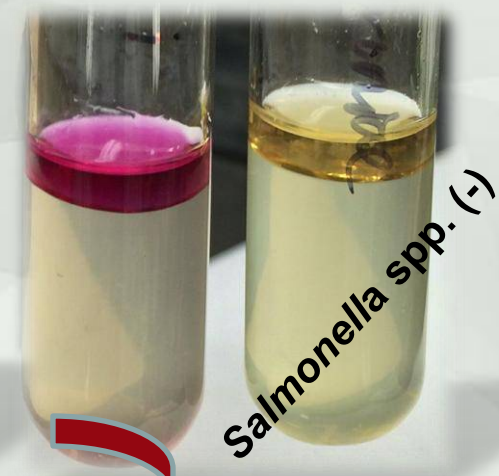
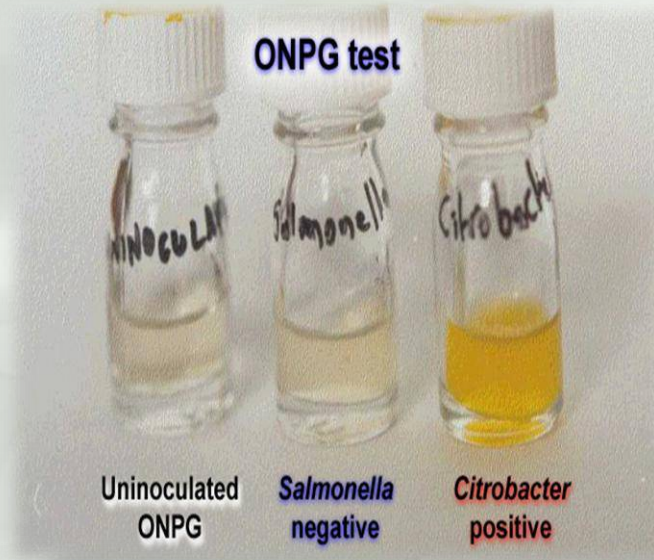


4. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ (προαιρετικές)

ΔΟΚΙΜΗ	ΓΙΑ ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΜΕ:	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ
β -galactosidase test	<i>S.arizonae</i> , <i>S.diarizonae</i> , άλλα εντεροβακτηριοειδή	ΘΕΤΙΚΟ
Indole test	<i>E.coli</i> , <i>Citrobacter</i> spp.	ΘΕΤΙΚΟ

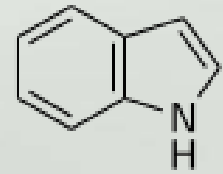
~~Voges-Proskauer test~~



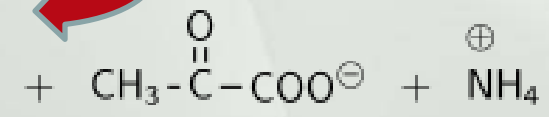
Tryptophan



Water



Indole



Pyruvate

Ammonium

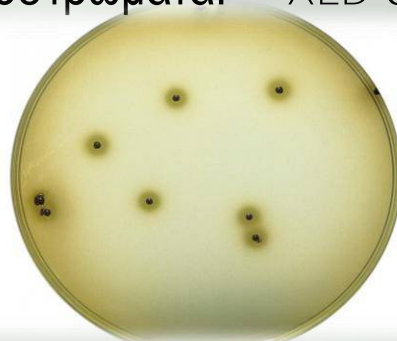
Υπόστρωμα	Τύπος	M/O στόχος	Λειτουργία	Επώαση	Στελέχη ελέγχου	Μέθοδος ελέγχου	Κριτήρια
Triple Sugar Iron agar (TSI)	S	Salmonella	Βιοχημική δοκιμή	24 h / 37 °C	S. Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S.Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076)	Ποιοτική	Πυθμένας κίτρινο, Κεκλιμένο κόκκινο, αέριο θετικό, H ₂ S θετικό
					<i>E.coli</i> WDCM 00013 (ATCC 25922)		Πυθμένας κίτρινο, Κεκλιμένο κίτρινο, αέριο θετικό
UREA Agar	S	Salmonella	Βιοχημική δοκιμή	24 h / 37 °C	S. Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S. Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076)	Ποιοτική	Χρώμα Κίτρινο - Αρνητικό
					<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933		Χρώμα κώδες - φούζια (Θετικό)
Lysine broth	L	Salmonella	Βιοχημική δοκιμή	24 h / 37 °C	S. Typhimurium WDCM 00031 (ATCC 14028) ή S. Enteritidis WDCM 00030 (ATCC 13076)	Ποιοτική	Χρώμα Μωβ - Θετικό
					<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933		Χρώμα Κίτρινο - Αρνητικό

Annex D – *S. enterica* subsp. *enterica* – Ορότυποι *S. Typhi* / *S. Paratyphi*

ΠΡΟΣΟΧΗ: Hazard group 3

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

1. Προεμπλουτισμός
2. Εμπλουτισμός σε υγρά εκλεκτικά μέσα: RVS, MKTTn, &
3. Καλλιέργεια σε στερεά εκλεκτικά υποστρώματα: XLD &



Selenite Cystine broth
(37°C x 24 - 48h ± 3)



Bismuth sulphite agar
(37°C x 24 - 48h ± 3)

4. Βιοχημική επιβεβαίωση: Τυπική εικόνα, εκτός από:
S. Paratyphi A: H₂S (-), Λυσίνη (-)
S. Typhi : αέριο (-)
5. Οροτυποποίηση: *S. Typhi* 9,12[Vi] :d : -, *S. Paratyphi A* 1,2,12: a: [1,5]
6. Έλεγχος απόδοσης υποστρωμάτων, ISO 11133: 2014

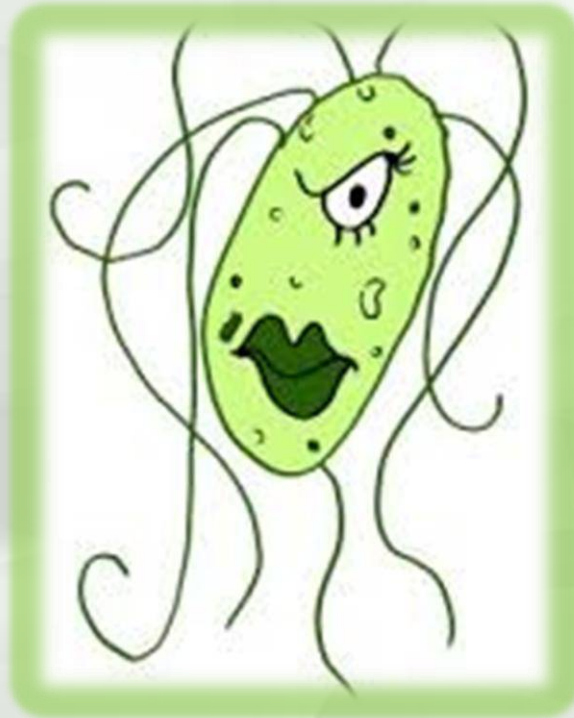
1 INTERNATIONAL STANDARD !

7 ΧΡΟΝΙΑ !

50 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ !

ΕΚΔΟΣΗ: Ιούνιος 2016





... ευχαριστώ για την προσοχή σας.