

Salmonellabestemmelse

ved hjælp af NMKL 187.

Kenneth Buchwald Johansen

Oktober 2008

TEMA: LEVNEDESMIDLER II

3LABA0808

1 Formål

test, oxidasetest, agglutination og med kittet API.

At på-/afvise indholdet af Salmonella i en prøve af "Chorizo Extra. Spansk paprikapølse". Ved hjælp af NMKL 187.

2 Princip og metode

NMKL'ene benytter selektive og indikative substrater til påvisning af Salmonella.

Der oplyses følgende om Salmonella:

Fakultativt anaerob
gram÷
bevægelige med peritrike flageller
glucose+
mannitol+
xylose+
sakkarose÷
laktose÷
indol÷
H ₂ S+
decarboxylerer lysin

Tabel 1: Salmonella-data

Prøven opformerer og videredyrkes i det selektive medium MSR/V (selektive og indikative principper for substrater findes i tabel 2 på den følgende side).

Herefter udpodes der på agarene XLD, BG og Rambach (se tabel 2 på næste side).

Herefter laves der konfirmering på positive kolonier (i dette tilfælde positive kontroller). Biokemisk foregår det i TSJ og i LJ (se igen i tabel 2 på den følgende side). Serologisk bekræftes det ved KOH-

3 Resultater

Der blev ikke fundet nogle positive kolonier fra prøveudpodningen, så i stedet blev en positiv kontrol viderepodet.

KOH-testen blev positiv og oxidasetesten blev negativ. Agglutination er cellers eller partiklers evne til at "klumpe sammen". Det er en antistoftest, hvor man undersøger, om en koloni giver størkning i antiserum. Testen var positiv.

API-kittet bestod af en masse forskellige tests, som udførtes samtidig. Kittet kan ses i figur 1(a) på side 3. Kittet aflæses ved hjælp af tabeller, og man kan evt. udfylde et skema som i figur 1(b). Når man har resultaterne af testene, kan man slå op, hvilken bakterie, der er tale om i en tabel (figur 1(c)) eller på internettet (figur 1(d)).

Kittet viste, at der var tale om Salmonella.

4 Kommentarer

Der kunne ikke påvises Salmonella i prøven.

Metoden har fungeret fint, men kræver et godt overblik (dvs. podeplan med inkubationstider og temperaturer).

API-kittet har især imponeret undertegnede, da det er let at bruge og giver svar på mange tests samtidig.

Substrat	Selektivt princip	Indikativt princip
MSRV (Modified Semi-solid Vassilliadis)	MgCl ₂ , malachitgrønt og novobiocin hæmmer bevægelighed og evt. vækst af følgefloora. Der inkuberes ved høj varme (42°C). pH 5,4.	Bevægelige Salmonella ses ved stor opaque zone omkring podedpunkt.
XLD (Xylose Deoxycholate)	Lysin Tarmbakterier er tolerante overfor Deoxycholate, som er et galdesalt.	Salmonella er H ₂ S+ og der Fe ³⁺ i substratet ⇒ sortsværtning. Salmonella er xylose+, hvilket giver en gulfarvning (pga pH-indikator), men Salmonella kan også decarboxylere lysin, hvorved der bliver dannet base. Derfor farves kolonierne røde. Kolonierne bliver altså gennemskinneligt røde med sort centrum.
BG (Brilliant-Grøn Agar)	Brilliantgrønt hæmmer følgefloora.	Salmonella er laktose/sucrose÷, men følgefloora, der kan nedbryde disse, vil danne syre og danne grøn/gule kolonier (pga pH-indikator). Agaren indeholder proteiner, som Salmonella kan nedbryde ⇒ basedannelse ⇒ røde/pinke kolonier.
Rambach	Tarmbakterier er tolerante overfor Deoxycholate, som er et galdesalt.	Salmonella danner syre med propylenglycol og danner derfor røde kolonier. Koliforme bakterier (E. coli og Klebsiella) er laktose+ og vil danne blålige kolonier. Andre Enterobacteriaceae- og gram÷-bakterier vil danne farveløse kolonier.
TSI (Three Sugar Iron agar)		Der er tale om skrårør, hvori der er sukkerstoffer. Salmonella nedbryder glucose aerobt på toppen og anaerobt på bunden. På overfladen betyder det en relativt ringe syredannelse, som vil fordampe ⇒ gul farve. I bunden er syredannelsen kraftig (i forhold til toppen) ⇒ gul farve. Agaren indeholder Fe ³⁺ , så der vil ske en sortsværtning. Gasdannelse kan ses som bobler eller "sprængt" agar.
LJ (Lysin Jern agar)		Der er tale om skrårør, der indeholder lysin, som Salmonella kan decarboxylere ⇒ basedannelse. Salmonella nedbryder glucose og danner syre. På toppen vil syren fordampe (så der kun er base) ⇒ violet farve. I bunden vil der blive violet med sortsværtning.

Tabel 2: Substratprincipper

