

Read instructions carefully before starting test

Reveal[®] 2.0

for
Group D1 *Salmonella*
(including *Salmonella* Enteritidis)



INTENDED USE

Reveal[®] 2.0 for Group D1 *Salmonella* provides for the rapid recovery and detection of Group D1 *Salmonella* spp. serovars (including *S. Enteritidis*) in layer or broiler house environmental samples, raw shell eggs, chicken carcass rinses, and poultry feed. Following plating for confirmation of positive Reveal results, identification of presumptive isolates as *S. Enteritidis* is accomplished using conventional biochemical and serological procedures. This test is approved by the National Poultry Improvement Plan (NPIP) for testing of poultry house environmental samples.

In an AOAC Performance Tested MethodsSM validation study, the Reveal 2.0 for Group D1 *Salmonella* test was found to be an effective method for detection of group D1 *Salmonella*, including *S. Enteritidis*, in raw shell eggs, chicken carcass rinse, and poultry feed.

ASSAY PRINCIPLES

The sample is wicked through a reagent zone in the test device, which contains specific antibodies (anti-SE) conjugated to colloidal gold particles. If antigens are present in the sample, they will bind to the gold-conjugated antibodies. This antigen-antibody complex then leaves the reagent zone and travels through the membrane, which contains a zone of anti-SE antibody. The immune complex with gold conjugate is captured and aggregates in this zone, thus displaying a visible line. The remainder of the sample continues to migrate to the end of the membrane where it will eventually be deposited into a waste reservoir.

The membrane also contains a control zone where an immune complex present in the reagent zone is captured by an antibody, forming a visible line. The control line will always form regardless of the presence of Group D1 *Salmonella* spp., ensuring the strip is working properly.

INTENDED USER

The Reveal 2.0 test is designed for use by personnel familiar with the appropriate aseptic techniques for the isolation and identification of *Salmonella* spp. Training, which is available through Neogen, is recommended for those without a basic knowledge of microbiology.

MATERIALS PROVIDED

Reveal 2.0 for Group D1 *Salmonella* (including *S. Enteritidis*)

1. 20 Reveal 2.0 for Group D1 *Salmonella* (including *S. Enteritidis*) test devices

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Tetrathionate Broth Base, Hajna (TT Hajna) (Neogen item 7740A) or equivalent
2. Rappaport-Vassiliadis Medium Semisolid Modified (MSRV) (Neogen item 7511A) or equivalent
3. Tryptic Soy Broth (TSB) (Neogen Item 7164A) or equivalent
4. Buffered Peptone Water (BPW) (Neogen item 7418A) or equivalent
5. Reveal 2.0 for *S. Enteritidis* Media (Neogen Item 9865A)
6. Novobiocin (Neogen item 7985) or equivalent
7. Pipette, 20–200 μL (Neogen item 9276) or equivalent
8. Filtered pipette tips, 100 μL (Neogen item 9389) or equivalent
9. Tubes, 13 x 100 mm glass test tubes (box of 250) (Neogen item 9438A) or equivalent
10. Caps for 13 x 100 mm glass tubes (bag of 250) (Neogen item 9509A) or equivalent
11. Potassium iodide (Sigma no. 221945) or equivalent
12. Iodine (Sigma no. 207772) or equivalent
13. Incubator capable of maintaining $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (Neogen item 9735) or equivalent
14. Incubator capable of maintaining $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (Neogen item 9735) or equivalent
15. Scale capable of weighing a minimum of 25 g (Neogen item 9427) or equivalent
16. Stomacher-type bags or equivalent
17. Stomacher or equivalent
18. Pipette pump for serological pipettes, 10 mL (Neogen item 9277) or equivalent
19. Pipettes, sterile serological, 10 mL, pack of 100 (Neogen item 9415) or equivalent
20. Timer (3-channel) (Neogen item 9426) or equivalent
21. Test tube rack, 13 mm (Neogen item 9440) or equivalent

OPTIONAL MATERIALS (FOR ADDITIONAL CONFIRMATION)

1. Reveal *Salmonella* Enteritidis confirmation bead kit (Neogen item 9723)
2. Phosphate Buffered Saline (PBS) (Neogen item 8425) or equivalent

STORAGE

Store Reveal 2.0 devices and dry media at room temperature (15–30°C).

PRECAUTIONS

Good microbiological laboratory practices should be used where appropriate

MEDIA PREPARATION

I. TT Hajna (for environmental samples)

1. Follow manufacturer's instructions for media preparation.

II. TSB (for pooled raw shell eggs)

1. Follow manufacturer's instructions for media preparation.

III. BPW (for chicken carcass rinse)

1. Follow manufacturer's instructions for media preparation.

IV. Reveal 2.0 for *S. Enteritidis* Media (for chicken carcass rinse and poultry feed)

1. Rehydrate 22.5 g of Reveal 2.0 for *S. Enteritidis* Media with 1 L sterile water prewarmed to 37°C. Do not autoclave.

V. MSRV media with novobiocin supplement preparation

1. Suspend 31.6 g of the MSRV medium in 1 L of purified water. Heat with frequent agitation and boil for **1 minute** to completely dissolve the medium. **NOTE:** Do not autoclave.
2. Cool medium to 45–50°C and aseptically add 10 mL (20 mg) of novobiocin supplement.

VI. MSRV tube preparation

1. Add 2.5 mL of MSRV medium with novobiocin supplement (cooled to 45–50°C) to a 13 x 100 test tube.
2. Cap and allow to cool undisturbed for **1 hour**.

SAMPLE PREPARATION AND ENRICHMENT

A. Environmental Samples (drag swabs, boot swabs, chick papers, fluff, rinse, etc.)

NOTE: Not part of the AOAC PTM study or approved matrices.

1. Place environmental sample into a Stomacher-type bag.
2. Aseptically add 100 mL of TT Hajna (prepared earlier) to a Stomacher-type bag containing the environmental sample. Shake the bag vigorously in a side-to-side motion at least 10 times to mix.
3. Incubate the samples at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.
4. Pipette 100 μL of the enriched sample into the bottom of the center of the MSR/V tube. Slowly dispense the sample as the pipette tip is drawn up through the media, making sure to dispense completely before the tip is removed from the top of the media. Cap the tube.
5. Incubate the samples in the capped MSR/V tube(s) at $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.

B. Pooled Raw Shell Eggs

1. Prepare a pool of 20 shell eggs as described in Bacteriological Analytical Manual, chapter 5 [ref. 2].
2. Add 2 L TSB and mix thoroughly.
3. Incubate the samples at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.
4. Pipette 100 μL of the enriched sample into the bottom of the center of the MSR/V tube. Slowly dispense the sample as the pipette tip is drawn up through the media, making sure to dispense completely before the tip is removed from the top of the media. Cap the tube.
5. Incubate the samples in the capped MSR/V tube(s) at $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.

C. Chicken Carcass Rinse

1. Prepare the carcass rinse as described in Microbiology Laboratory Guidebook, chapter 4.08 [ref. 3].
2. To 30 mL rinse, add 30 mL Reveal 2.0 for SE Media containing 5 mg/L novobiocin.
3. Incubate the samples at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.
4. Pipette 100 μL of the enriched sample into the bottom of the center of the MSR/V tube. Slowly dispense the sample as the pipette tip is drawn up through the media, making sure to dispense completely before the tip is removed from the top of the media. Cap the tube.
5. Incubate the samples in the capped MSR/V tube(s) at $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.

D. Poultry Feed

1. Combine 25 g poultry feed with 225 mL Reveal 2.0 for *S. Enteritidis* Media containing 5 mg/L novobiocin.
2. Incubate the samples at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.
3. Pipette 100 μL of the enriched sample into the bottom of the center of the MSR/V tube. Slowly dispense the sample as the pipette tip is drawn up through the media, making sure to dispense completely before the tip is removed from the top of the media. Cap the tube.
4. Incubate the samples in the capped MSR/V tube(s) at $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ for **24 ± 2 hours**.

TESTING WITH REVEAL

1. Remove test tubes containing MSR/V from the $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ incubator.
2. Holding a Reveal 2.0 device at the top with the arrows facing down, place the device into the middle of the tube and incubate at room temperature for **10 minutes**.
NOTE: It is important to ensure the strip is inserted into the inoculated portion of the tube.
3. Observe and record test results immediately (within 30 seconds) after **10 minutes**.

INTERPRETATION OF RESULTS

Line in C (top line) but no line in T zone **Negative**

Line in C zone and T zone in 10 minutes..... **Positive**

If no line appears in the C zone regardless if there is a line in the T zone..... **Invalid**

NOTE: The Reveal 2.0 device forms a distinct line in the test zone in the presence of Group D1 *Salmonella* spp. If a distinct visual line forms in the test window, regardless of intensity, the sample should be considered positive.

CONFIRMATION

For environmental samples, Neogen recommends that presumptively positive enrichment cultures be verified by plating a sample of the enriched culture onto media described in the NPIP procedure [1]. Cultural confirmation can be continued from the MSR/V tubes using a loop for plating onto selective media plates, XLT-4 and BGN. Continue with identification using standard biochemical and serological procedures (MLG 4.06). For raw shell eggs and poultry feed, follow BAM chapter 5 [ref. 2]. For chicken carcass rinse, follow MLG chapter 4.08 [ref. 3]. Immunomagnetic separation using serotype D1-specific magnetic particles (Neogen item 9723) may be used prior to plating to enrich the target organism population.

OPTIONAL: SE IMS BEAD ISOLATION PROTOCOL

To use this protocol, the Reveal *Salmonella* Enteritidis confirmation beads kit (Neogen item 9723) is needed.

Preparation of wash buffer

1. Empty powder from buffer packet into a sterile 1 L bottle.
2. Add 1 L of sterile water to the powder. Cap bottle and shake to dissolve powder.
3. Store buffer at 2–8°C for no longer than 6 months.
4. To avoid buffer contamination, do not work directly from the stock buffer bottle. Place the approximate amount of buffer needed into a smaller sterile container and dispose of any unused portion.

Immunomagnetic separation

1. Remove the magnetic plate from the magnetic particle concentrator (MPC) and load the necessary number (one per sample) of 1.5 mL Eppendorf tubes into the rack.
2. Resuspend the anti-SE beads by vortexing until the pellet in the bottom of the tube disappears. Pipette 20 µL of bead solution into each Eppendorf tube.
3. Add 1 mL PBS to the 20 µL bead suspension.
4. Using a sterile disposable inoculation loop, transfer 10 µL of media from the MSR/V tube to the PBS containing SE specific beads.
5. Follow the instructions in the Reveal *Salmonella* Enteritidis confirmation bead kit insert beginning at step 4 in the **Immunomagnetic separation** section.

References

[REF 1] http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_dis_spec/poultry/downloads/salmonella_procedures.pdf

[REF 2] US FDA (2014) Bacteriological Analytical Manual, chapter 5
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>

[REF 3] USDA-FSIS (2014) Microbiology Laboratory Guidebook, chapter 4.08.
<http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/700c05fe-06a2-492a-a6e1-3357f701f52/MLG-4.pdf?MOD=AJPERES>

DISPOSAL

Dispose (autoclave, bleach, etc.) of Reveal test devices, pipettes, and media in accordance with all applicable local, state and federal regulations.

CUSTOMER SERVICE

Neogen Customer Assistance and Technical Services can be reached by using the contact information on the back of this booklet. Training on this product, and all Neogen test kits, is available.

SDS INFORMATION AVAILABLE

Safety data sheets (SDS) are available for this test kit, and all of Neogen's test kits, on Neogen's website at foodsafety.neogen.com, or by calling Neogen at 800/234-5333 or 517/372-9200.

TERMS AND CONDITIONS

For Neogen's full terms and conditions, please visit www.neogen.com/en/terms-and-conditions.

WARRANTY

Neogen Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, Neogen will provide a replacement of the product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product or of the fitness of the product for any purpose. Neogen shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

PRODUCTS AVAILABLE

- 9809 **Reveal 2.0 for Group D1 *Salmonella* (including *Salmonella* Enteritidis) – contains 20 devices for 20 tests**
- 7164A **Tryptic Soy Broth, 500 g**
- 9865A **Reveal 2.0 for SE Media, 500 g**
- 7740A **Tetrathionate Broth Base, 500 g**
- 7511A **Rappaport-Vassiliadis Medium Semisolid Modified, 500 g**
- 7418A **Buffered Peptone Water, 500g**
- 7985 **Novobiocin Supplement, 10 mL vial – 10 vials/pkg (lyophilized)**
- 9706 **Reveal 2.0 for *Salmonella* – contains 20 devices for 20 tests**
- 9802 **Reveal 2.0 One-Step *Salmonella* Complete System – contains devices, RV selective medium and sampling bags for 20 tests**
- 9803 **Reveal 2.0 for *Salmonella* Complete System with RV – contains devices, Revive, RV selective medium and sampling bags for 20 tests**
- 9805 **Reveal 2.0 for *Salmonella* Complete System with M-Broth and RV – contains devices, Revive, RV selective medium, M-Broth and sampling bags for 20 tests**
- 9804 **Reveal 2.0 for *Salmonella* Environmental Sampling System – contains devices, Revive, RV selective medium and environmental sampling kits for 20 tests**
- 9724 ***Salmonella* confirmation kit – contains *Salmonella* magnetic beads, buffer packets and Rambach chromogenic agar and supplement for 20 tests**
- 9723 **Bulk *Salmonella* Enteritidis (SE) confirmation beads – contains SE magnetic beads for 50 tests**



North America

Neogen Headquarters
800/234-5333 (USA/Canada)
foodsafety@neogen.com
foodsafety.neogen.com/en

Europe, Middle East and Africa

Neogen Europe
+ 44 (0) 1292 525 600
info_uk@neogeneurope.com
foodsafety.neogen.com/uk

Mexico

Neogen Latinoamerica
+52 (55) 5254-8235
informacion@neogenlac.com
foodsafety.neogen.com/sp

Brazil

Neogen do Brasil
+55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br
foodsafety.neogen.com/pt

China

Neogen Bio-Scientific Technology
+86 21 6271 7013
info@neogenchina.com.cn
www.neogenchina.com.cn

India

Neogen Food and Animal Security
+91 484 2306598, 2301582
info@neogenindia.com
www.neogenindia.com

©Neogen Corporation, 2019. Neogen, AccuScan, and Reveal are registered trademarks of Neogen Corporation. All other brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies.

Patent: <http://www.neogen.com/Corporate/patents.html>

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

Reveal[®] 2.0

para

Salmonella grupo D1

(incluyendo *Salmonella* Enteritidis)



USO PREVISTO

Reveal[®] 2.0 para *Salmonella* grupo D1 proporciona la rápida recuperación y detección de los serovares *Salmonella* spp. grupo D1 (incluyendo *S. Enteritidis*) en muestras ambientales de galpones de gallinas ponedoras o pollos de engorde, huevos crudos con cáscara, enjuagues de canales de pollos y alimento para aves. Después de la preparación de la placa para la confirmación de los resultados positivos de Reveal, la identificación de presuntos aislados como *S. Enteritidis* se realiza mediante procedimientos bioquímicos y serológicos convencionales. Esta prueba está aprobada por el Plan Nacional de Mejoramiento Avícola (NPIP) para el análisis de muestras ambientales de gallineros.

En un estudio de validación Performance Tested MethodSM de la AOAC, se descubrió que la prueba Reveal 2.0 para *Salmonella* grupo D1 es un método eficaz para la detección de *Salmonella* grupo D1, incluyendo *S. Enteritidis*, en huevos crudos con cáscara, enjuagues de canales de pollos y alimento para aves.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

La muestra pasa a través de la zona reactiva en el dispositivo de prueba que contiene anticuerpos específicos (anti-SE) conjugados con partículas de oro coloidal. Si los antígenos están presentes en la muestra, se unirán a los anticuerpos conjugados con oro. Este complejo antígeno-anticuerpo luego sale de la zona reactiva y pasa a través de la membrana que contiene una zona de anticuerpo anti-SE. El complejo inmune con conjugado de oro se captura y se agrega en esta zona, mostrando así una línea visible. El resto de la muestra continúa migrando hacia el extremo de la membrana donde finalmente se depositará en un reservorio de desechos.

La membrana también contiene una zona de control donde el complejo inmune presente en la zona reactiva es capturado por un anticuerpo, formando una línea visible. La línea de control se formará independientemente de la presencia de *Salmonella* spp. grupo D1, garantizando que la tira funciona correctamente.

USUARIO PREVISTO

La prueba Reveal 2.0 está diseñada para ser usada por personal familiarizado con las técnicas asépticas adecuadas para el aislamiento e identificación de especies de *Salmonella* spp. Se recomienda ofrecer entrenamiento, disponible a través de Neogen, a aquellas personas que no tengan conocimiento básico de microbiología.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Reveal 2.0 para *Salmonella* grupo D1 (incluyendo *S. Enteritidis*)

1. 20 dispositivos de prueba Reveal 2.0 para *Salmonella* grupo D1 (incluyendo *S. Enteritidis*)

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROPORCIONADOS

1. Base de caldo de tetrionato, Hajna (TT Hajna) (producto Neogen 7740A) o equivalente
2. Medio semisólido Rappaport-Vassiliadis modificado (MSRV) (producto Neogen 7511A) o equivalente
3. Caldo de soya triptico (TSB) (producto Neogen 7164A) o equivalente
4. Agua de peptona tamponada (BPW) (producto Neogen 7418A) o equivalente
5. Medio Reveal 2.0 para *S. Enteritidis* (producto Neogen 9865A)
6. Novobiocina (producto Neogen 7985) o equivalente
7. Pipeta, 20–200 µL (producto Neogen 9276) o equivalente
8. Puntas de pipeta con filtro, 100 µL (producto Neogen 9389) o equivalente
9. Tubos de ensayo de vidrio, 13 x 100 mm (caja de 250) (producto Neogen 9438A) o equivalente
10. Tapas para tubos de vidrio 13 x 100 mm (bolsa de 250) (producto Neogen 9509A) o equivalente
11. Yoduro de potasio (núm. Sigma 221945) o equivalente
12. Yodo (núm. Sigma 207772) o equivalente
13. Incubadora capaz de mantener $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (producto Neogen 9735) o equivalente
14. Incubadora capaz de mantener $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (producto Neogen 9735) o equivalente
15. Balanza capaz de pesar un mínimo de 25 g (producto Neogen 9427) o equivalente
16. Bolsas tipo Stomacher o equivalente
17. Stomacher o equivalente
18. Bomba para pipetas serológicas, 10 mL (producto Neogen 9277) o equivalente
19. Pipetas, serológicas, estériles, 10 mL, paquete de 100 (producto Neogen 9415) o equivalente
20. Cronómetro (3 canales) (producto Neogen 9426) o equivalente
21. Gradilla para tubos de ensayo, 13 mm (producto Neogen 9440) o equivalente

MATERIALES OPCIONALES (PARA CONFIRMACIÓN ADICIONAL)

1. Kit de perlas para confirmación Reveal *Salmonella* Enteritidis (producto Neogen 9723)
2. Buffer fosfato salino (PBS) (producto Neogen 8425) o equivalente

ALMACENAMIENTO

Almacene los dispositivos Reveal 2.0 y medio en polvo a temperatura ambiente (15–30°C).

PRECAUCIONES

Se deben utilizar buenas prácticas de laboratorio de microbiología cuando sea apropiado.

PREPARACIÓN DE MEDIOS

- I. TT Hajna (para muestras ambientales)**
 1. Siga las instrucciones del fabricante para la preparación de los medios.
- II. TSB (para conjuntos de huevos crudos con cáscara)**
 1. Siga las instrucciones del fabricante para la preparación de los medios.
- III. BPW (para enjuagues de canales de pollos)**
 1. Siga las instrucciones del fabricante para la preparación de los medios.
- IV. Medio Reveal 2.0 para *S. Enteritidis* (para enjuagues de canales de pollos y alimento para aves)**
 1. Rehidrate 22.5 g del medio Reveal 2.0 para *S. Enteritidis* con 1 L de agua estéril precalentada a 37°C. No autoclave.
- V. Medio MSRV con suplemento de novobiocina**
 1. Suspenda 31.6 g del medio MSRV en 1 L de agua purificada. Caliente con agitación frecuente e hierva durante **1 minuto** para disolver completamente el medio. **NOTA:** No autoclave.
 2. Enfríe el medio a 45–50°C y añada asepticamente 10 mL (20 mg) de suplemento de novobiocina.
- VI. Preparación del tubo MSRV**
 1. Añada 2.5 mL del medio MSRV con suplemento de novobiocina (enfriado a 45–50°C) a un tubo de ensayo 13 x 100.
 2. Tape y deje enfriar sin perturbar durante **1 hora**.

PREPARACIÓN Y ENRIQUECIMIENTO DE MUESTRAS

A. Muestras ambientales (hisopos de arrastre, hisopos de botas, papeles de pollitos, plumón, enjuagues, etc.)

NOTA: No forman parte del estudio PTM de la AOAC o matrices aprobadas.

1. Coloque la muestra ambiental en una bolsa tipo Stomacher.
2. Añada aseptícamente 100 mL de TT Hajna (preparado anteriormente) a la bolsa tipo Stomacher que contiene la muestra ambiental. Agite la bolsa vigorosamente con un movimiento de lado a lado 10 veces para mezclar.
3. Incube las muestras a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.
4. Pipetee 100 μL de la muestra enriquecida en la parte inferior del centro del tubo MSR.V. Dispense lentamente la muestra a medida que la punta de la pipeta pasa a través del medio, asegurándose de dispensar completamente antes de sacar la punta de la parte superior del medio. Tape el tubo.
5. Incube las muestras en el(los) tubo(s) MSR.V tapado(s) a $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.

B. Conjunto de huevos crudos con cáscara

1. Prepare un conjunto de 20 huevos con cáscara como se describe en el Manual de Análisis Bacteriológicos, capítulo 5 [ref. 2].
2. Añada 2 L de TSB y mezcle completamente.
3. Incube las muestras a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.
4. Pipetee 100 μL de la muestra enriquecida en la parte inferior del centro del tubo MSR.V. Dispense lentamente la muestra a medida que la punta de la pipeta pasa a través del medio, asegurándose de dispensar completamente antes de sacar la punta de la parte superior del medio. Tape el tubo.
5. Incube las muestras en el(los) tubo(s) MSR.V tapado(s) a $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.

C. Enjuague de canal de pollo

1. Prepare el enjuague de canal como se describe en el Manual de Análisis Bacteriológicos, capítulo 4.08 [ref. 3].
2. A 30 mL de enjuague, añádale 30 mL de medio Reveal 2.0 para SE que contenga 5 mg/L de novobiocina.
3. Incube las muestras a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.
4. Pipetee 100 μL de la muestra enriquecida en la parte inferior del centro del tubo MSR.V. Dispense lentamente la muestra a medida que la punta de la pipeta pasa a través del medio, asegurándose de dispensar completamente antes de sacar la punta de la parte superior del medio. Tape el tubo.
5. Incube las muestras en el(los) tubo(s) MSR.V tapado(s) a $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.

D. Alimento para aves

1. Combine 25 g de alimento para aves con 225 mL de medio Reveal 2.0 para *S. Enteritidis* que contenga 5 mg/L de novobiocina.
2. Incube las muestras a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.
3. Pipetee 100 μL de la muestra enriquecida en la parte inferior del centro del tubo MSR.V. Dispense lentamente la muestra a medida que la punta de la pipeta pasa a través del medio, asegurándose de dispensar completamente antes de sacar la punta de la parte superior del medio. Tape el tubo.
4. Incube las muestras en el(los) tubo(s) MSR.V tapado(s) a $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante **24 ± 2 horas**.

ANALIZANDO CON REVEAL

1. Retire los tubos de prueba que contienen MSR.V de la incubadora a $42 \pm 0.2^\circ\text{C}$.
2. Aguantando el dispositivo Reveal 2.0 en la parte superior con las flechas hacia abajo, coloque el dispositivo en el centro del tubo e incube a temperatura ambiente durante **10 minutos**.
NOTA: Es importante asegurarse de que la tira se inserte en la parte inoculada del tubo.
3. Observe y registre los resultados de la prueba inmediatamente (dentro de 30 segundos) después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Línea en la zona C (línea superior), pero ninguna línea en la zona T **Negativo**

Línea en la zona C y zona T en 10 minutos **Positivo**

Si no aparece línea en la zona C, independientemente de si hay una línea en la zona T..... **Inválido**

NOTA: El dispositivo Reveal 2.0 forma una línea distintiva en la zona de prueba cuando hay *Salmonella* spp. grupo D1 presente. Si se forma una línea distintiva visible, independientemente de la intensidad, la muestra debe considerarse positiva.

CONFIRMACIÓN

Para muestras ambientales, Neogen recomienda que los cultivos enriquecidos presuntamente positivos se verifiquen estriando una muestra del cultivo enriquecido en un medio descrito en el procedimiento del NPIP [1]. La confirmación del cultivo puede continuarse desde los tubos MSR/V usando una asa para estriar en placas con medios selectivos, XLT-4 y BGN. Continúe con la identificación usando procedimientos bioquímicos y serológicos estándar (MLG 4.06). Para los huevos crudos con cáscara y alimento para aves, siga el capítulo 5 del BAM [ref. 2]. Para enjuagues de canales de pollos, siga el capítulo 4.08 del BAM [ref. 3].

Se puede usar la separación inmunomagnética usando partículas magnéticas específicas del serotipo D1 (producto Neogen 9723) antes del estriado para enriquecer la población del organismo de interés.

OPCIONAL: PROTOCOLO DE AISLAMIENTO DE SE CON PERLAS DE

SEPARACIÓN INMUNOMAGNÉTICA

Para usar este protocolo, se necesita el kit de perlas de confirmación Reveal *Salmonella* Enteritidis (producto Neogen 9723).

Preparación del buffer de lavado

1. Vacíe el polvo del paquete de buffer en una botella estéril de 1 L.
2. Añada 1 L de agua estéril al polvo. Tape la botella y agite para disolver el polvo.
3. Almacene el buffer a 2–8°C por no más de 6 meses.
4. Para evitar la contaminación del buffer, no trabaje directamente desde la botella de buffer de reserva. Coloque la cantidad aproximada de buffer necesario en un recipiente estéril más pequeño y deseche cualquier porción no usada.

Separación inmunomagnética

1. Retire la placa magnética del concentrador de partículas magnéticas (MPC) y cargue el número necesario (uno por muestra) de tubos Eppendorf de 1.5 mL en una gradilla.
2. Vuelva a suspender las perlas anti-SE mezclando en vortex hasta que desaparezca el gránulo en la parte inferior del tubo. Pipetee 20 µL de la solución de perlas en cada tubo Eppendorf.
3. Añada 1 mL de PBS a los 20 µL de suspensión de perlas.
4. Usando una asa de inoculación estéril desechable, transfiera 10 µL de medio desde el tubo MSR/V al PBS que contiene perlas específicas de SE.
5. Siga las instrucciones en el kit de perlas de confirmación Reveal *Salmonella* Enteritidis comenzando con el paso 4 en la sección **Separación inmunomagnética**.

Referencias

[REF 1] http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_dis_spec/poultry/downloads/salmonella_procedures.pdf

[REF 2] US FDA (2014) Manual de Análisis Bacteriológicos, capítulo 5

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>

[REF 3] USDA-FSIS (2014) Manual de Análisis Bacteriológicos, capítulo 4.08.

<http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/700c05fe-06a2-492a-a6e1-3357f7701f52/MLG-4.pdf?MOD=AJPERES>

ELIMINACIÓN

Deseche (autoclave, cloro, etc.) los dispositivos de prueba Reveal, pipetas y medios de acuerdo con todas las regulaciones locales, estatales y federales aplicables.

SERVICIO AL CLIENTE

Puede contactar los Servicios Técnicos y Asistencia al Cliente de Neogen usando la información de contacto en la parte posterior de este folleto. Entrenamiento para este producto, y para todos los kits de Neogen, está disponible.

INFORMACIÓN DE HOJAS DE SEGURIDAD (SDS) DISPONIBLE

Las Hojas de Seguridad (SDS) para este kit, y para todos los kits de Neogen, están disponibles en la página electrónica de Neogen foodsafety.neogen.com/sp, o llamando a Neogen al +1 800-234-5333 o +1 517-372-9200.

TÉRMINOS Y CONDICIONES

Por favor visite www.neogen.com/sp/terms-and-conditions para los términos y condiciones completos de Neogen.

GARANTÍA

Neogen Corporation no ofrece ningún tipo de garantía expresa o implícita, excepto que los materiales utilizados en la fabricación de los productos son de calidad estándar. Si cualquiera de sus materiales resulta defectuoso, Neogen proveerá un reemplazo del producto. El comprador asume toda la responsabilidad y riesgos resultantes por el uso de este producto. No hay ningún tipo de garantía de comerciabilidad de este producto o de la idoneidad de éste para cualquier propósito. Neogen no será responsable de ningún daño, incluyendo daños especiales o consecuenciales, o de gastos derivados directa o indirectamente del uso del producto.

PRODUCTOS DISPONIBLES

- 9809 **Reveal 2.0 para *Salmonella* grupo D1 (incluyendo *Salmonella* Enteritidis) – contiene 20 dispositivos para 20 pruebas**
- 7164A **Caldo de soya triptico, 500 g**
- 9865A **Medio Reveal 2.0 para SE, 500 g**
- 7740A **Base de caldo de tetrionato, 500 g**
- 7511A **Medio semisólido Rappaport-Vassiliadis modificado, 500 g**
- 7418A **Agua de peptona tamponada, 500g**
- 7985 **Suplemento novobiocina, vial de 10 mL– 10 viales/paquete (liofilizado)**
- 9706 **Reveal 2.0 para *Salmonella* – contiene 20 dispositivos para 20 pruebas**
- 9802 **Sistema completo Reveal 2.0 para *Salmonella* de un solo paso – contiene dispositivo, medio selectivo RV y bolsas de muestreo para 20 pruebas**
- 9803 **Sistema completo Reveal 2.0 para *Salmonella* con RV – contiene dispositivos, Revive, medio selectivo RV y bolsas de muestreo para 20 pruebas**
- 9805 **Sistema completo Reveal 2.0 para *Salmonella* con caldo M y RV – contiene dispositivos, Revive, medio selectivo RV, caldo M y bolsas de muestreo para 20 pruebas**
- 9804 **Sistema de muestreo ambiental Reveal 2.0 para *Salmonella* – contiene dispositivos, Revive, medio selectivo RV y kits de muestreo ambiental para 20 pruebas**
- 9724 **Kit de confirmación de *Salmonella* – contiene perlas magnéticas para *Salmonella*, paquetes de buffer, agar cromogénico Rambach y suplemento para 20 pruebas**
- 9723 **Perlas de confirmación para *Salmonella* Enteritidis (SE) a granel – contiene perlas magnéticas para SE, para 50 pruebas**



Norteamérica

Oficinas Corporativas de Neogen
+1 800-234-5333 (EEUU/Canadá)
foodsafety@neogen.com
foodsafety.neogen.com/sp

Europa, Medio Oriente y Africa

Neogen Europe
+ 44 (0) 1292 525 600
info_uk@neogeneurope.com
foodsafety.neogen.com/uk

México

Neogen Latinoamérica
+52 (55) 5254-8235
informacion@neogenlac.com
foodsafety.neogen.com/sp

Brasil

Neogen do Brasil
+55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br
foodsafety.neogen.com/pt

China

Neogen Bio-Scientific Technology
+86 21 6271 7013
info@neogenchina.com.cn
www.neogenchina.com.cn

India

Neogen Food and Animal Security
+91 484 2306598, 2301582
info@neogenindia.com
www.neogenindia.com