

CONGEN

SureFast[®] Salmonella ONE

Art. No. F5211

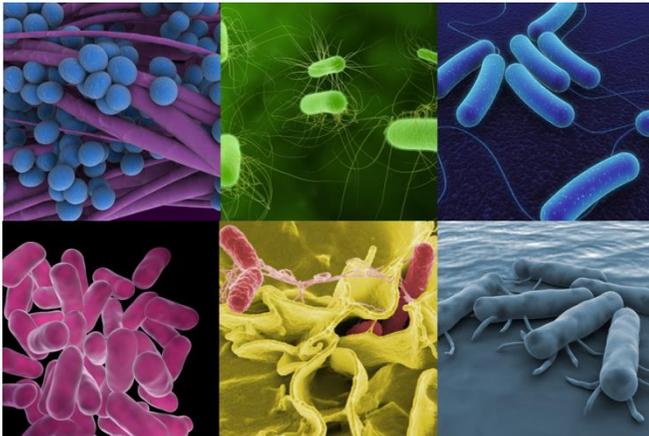
100 rxn

User Manual



MICROVAL 

European validation and certification organisation



November 2018

 Inhalt /  Content

1	Allgemeines	2
1.1	Beschreibung	2
1.2	Nachweisgrenze	2
1.3	Kit-Inhalt und Lagerung	2
1.4	Zusätzliche benötigte Geräte, Materialien und Nährmedien	2
1.5	Vorsichtsmaßnahmen	3
2	Protokoll	3
2.1	Anreicherung	3
2.2	DNA-Präparation	3
2.3	Herstellen des Master-Mix	3
2.4	Geräteeinstellungen	4
2.5	Herstellen des real-time PCR-Mix	4
2.6	Interpretation der Ergebnisse	4
2.7	Kulturelle Bestätigung	5
3	Validierung	5
4	Produktinformationen	5
5	Technischer Support	5
1	General Information	6
1.1	Description	6
1.2	Limit of Detection	6
1.3	Kit components and storage	6
1.4	Additionally required equipment, materials and media	6
1.5	Precautions for users	7
2	Protocol	7
2.1	Enrichment	7
2.2	DNA preparation	7
2.3	Preparation of the master-mix	7
2.4	Setup	8
2.5	Preparation of the real-time PCR-mix	8
2.6	Interpretation of results	8
2.7	Cultural Confirmation	9
3	Product Information	9
4	Validation	9
5	Technical Support	9

1 Allgemeines

1.1 Beschreibung

Das SureFast® Salmonella ONE Kit dient der einfachen und zeitsparenden Extraktion und Detektion von *Salmonella* spp. in verschiedenen Lebensmitteln und eignet sich zur Anwendung in der Diagnostik von Laboratorien für Lebensmittelanalytik.

Die Methode setzt sich aus folgenden Einzelschritten zusammen: 1) kulturelle Anreicherung, 2) DNA-Extraktion, 3) spezifischer real-time PCR Nachweis und 4) Datenanalyse und -interpretation. SureFast® Salmonella ONE wurde von MicroVal (Lizenz-Nr. 2014LR43) und AOAC (Lizenz-Nr. 081803) validiert und zertifiziert.

Der Test ist mit einer internen Amplifikationskontrolle ausgestattet. Das Nachweisverfahren kann mit allen gängigen real-time PCR Geräten, die mindestens zwei Reporterfarbstoffe gleichzeitig im FAM und VIC/HEX Kanal detektieren können, verwendet werden.

Die interne Validierung erfolgte am Agilent Mx3005P, BioRad CFX 96, Roche LightCycler® 480 II, Roche cobas z 480 Analyzer, Roche LightCycler® 2.0¹, Applied Biosystems® 7500, Qiagen RotorGene Q, Cepheid SmartCycler®, Bio Molecular Systems MIC sowie am LTF MyGo Pro.

Die externe Validierung durch MicroVal und AOAC erfolgte am Roche LightCycler® 480 II, Applied Biosystems® 7500, BioRad CFX 96, Bio Molecular Systems MIC sowie am Agilent AriaMx.

1.2 Nachweisgrenze

Die SureFast® Salmonella ONE real-time PCR hat eine Nachweisgrenze von ≤ 5 DNA-Kopien. Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von Probenmatrix, Prozessierungsgrad, DNA-Präparation und DNA-Gehalt.

1.3 Kit-Inhalt und Lagerung

Kit Code	Reagenz	Menge	Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2 x 1100 µl	Gelb
2	Taq Polymerase	1 x 80 µl	Dunkelrot
3	Positive Control	1 x 200 µl	Heißblau
L	Lysis Buffer	2 x 25 ml	Klar

Die Reagenzien sind lichtgeschützt bei -20 °C zu lagern. Die Taq Polymerase kann bei mehrfacher Verwendung am selben Tag bei +2 bis +8 °C gelagert werden. Der Lysis Buffer soll bei -20 bis +8 °C gelagert werden. Die Reagenzien können bis zum Erreichen des auf den Etiketten aufgedruckten Haltbarkeitsdatums verwendet werden.

1.4 Zusätzliche benötigte Geräte, Materialien und Nährmedien

- Real-time PCR Gerät mit zwei Detektionskanälen (FAM und VIC/HEX Kanal)
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Gefäße, Kapillaren, Folien, Deckel)
- Pipetten, Pipettenspitzen mit Filtern
- 2 mL Reaktionsgefäße
- Einmalhandschuhe
- Vortexmischer
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße
- Thermomixer/Heizblock (bis 95 °C)
- Nicht-selektive Anreicherungsflüssigkeit (z.B. gepuffertes Peptonwasser)

¹ Für die Benutzung des Roche LightCycler® 2.0 ist eine Color Compensation (Farbstoffkalibrierung) notwendig. Für die Color Compensation dieses Gerätes muss der SureCC Color Compensation Kit II (Art. Nr. F4010) verwendet werden.

1.5 Vorsichtsmaßnahmen

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Dieser Test ist nur von molekularbiologisch geschultem Laborpersonal durchzuführen.
- Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.
- Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In den Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Lebensmittelproben und Anreicherungskulturen müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

2 Protokoll

2.1 Anreicherung

Für die Probenvorbereitung von Lebens- und Futtermitteln gelten die Vorgaben von ISO 6887 und ISO 6579. Zur Vorbereitung der Anreicherung werden 25-g- bzw. 25-ml-Probemenge in 225 ml einer nicht-selektiven Anreicherungsflüssigkeit (z.B. gepuffertes Peptonwasser) eingewogen und homogenisiert. Weicht die Probenmenge von 25 g ab, sollte das Volumen des Mediums in einem 1:10-Verhältnis gewählt werden. Anschließend erfolgt die Anreicherung bei einer Temperatur von $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ für 18 h \pm 2 h. Alternativ können auch andere geeignete, validierte Anreicherungsverfahren angewendet werden.

Um das Wachstumspotenzial des Bakteriums besser beurteilen zu können, wird empfohlen, die Proben zu Beginn und am Ende der kulturellen Anreicherung zu analysieren (Wachstum ab einer C_p -Wert Differenz von >3).

2.2 DNA-Präparation

Wenn die Anreicherungskultur geschüttelt oder durchmischt wurde, soll diese für 5 bis 10 min sedimentieren.

Aus dem oberen Drittel der Anreicherungskultur 500 μ l entnehmen und in ein 2,0 mL Tube überführen (nicht im Kit enthalten).

Zugabe von 500 μ l Lysis Buffer (**Code L**) zu den 500 μ l der Anreicherungskultur. Im Anschluss das Tube vortexen und in den Heizblock stellen.

Die Inkubation erfolgt bei 95 °C für 10 min ohne Schütteln.

Das Tube aus dem Heizblock entnehmen und 1 min bei Raumtemperatur stehen lassen.

Achtung: Bei der weiteren Verwendung des Lysates muss beachtet werden, dass das Sediment nicht aufgewirbelt wird und keine Partikel in den PCR Ansatz pipettiert werden.

Das Lysat kann direkt in der PCR eingesetzt werden. Wird das Lysat nicht direkt in der PCR eingesetzt oder ist eine längere Lagerung vorgesehen, werden 100 μ l des Überstandes in ein neues Tube (nicht im Kit enthalten) überführt und bei -20 °C gelagert.

2.3 Herstellen des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Folgende Kontrollen werden empfohlen: Positivkontrolle, Negativkontrolle und Extraktionskontrolle. Der Master-Mix enthält eine interne Amplifikationskontrolle (Inhibitionskontrolle) pro Reaktion.

Es wird empfohlen den Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen. Vor der Benutzung die Reagenzien auftauen, mischen und zentrifugieren.

Beispiel für die Berechnung und Herstellung von 10 Reaktionen:

Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10%)
Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
Taq Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
Gesamtvolumen	20 µl	220 µl

Master-Mix im Vortex mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

Hinweis: Die Taq Polymerase kann in gefrorenem und/oder nicht gefrorenem Zustand vorliegen. Dies hat keinen Einfluss auf die Qualität der Taq Polymerase oder die Performance der real-time PCR.

2.4 Geräteeinstellungen

	Blockcycler/MIC SmartCycler®	Rotorcycler/ LightCycler® 480 II
Initial Denaturation (HOLD) Cycles	1 min, 95°C 45	1 min, 95°C 45
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum
Fluorescence Detection Setup (exemplarisch)	Detection: End of Extension Phase Nachweissystem <i>Salmonella</i> spp.: Diverse Geräte FAM -Kanal, Quencher: BHQ Rotor-Gene Q Green LightCycler 2.0 530 nm - none LightCycler 480 II 465 nm - 510 nm Interne Amplifikationskontrolle: Diverse Geräte VIC/HEX -Kanal, Quencher: BHQ Rotor-Gene Q Yellow LightCycler 2.0 560 nm - none LightCycler 480 II 533 nm - 580 nm Passive Reference: None	
Detaillierte Informationen zur Einstellung bestimmter real-time PCR Geräte stehen auf der CONGEN-Homepage zur Verfügung: http://www.congen.de/unternehmen/download		

2.5 Herstellen des real-time PCR-Mix

- Pipettieren von 20 µl des Master-Mix in das jeweilige Reaktionsgefäß.
- Verschließen der Negativkontrolle (Die Negativkontrolle besteht nur aus dem Master-Mix).
- Pipettieren von 5 µl der Proben-DNA in die vorgesehenen Reaktionsgefäße. Verschließen der Gefäße.
- Pipettieren von 5 µl Positive Control in die vorgesehenen Reaktionsgefäße. Verschließen der Reaktionsgefäße.
- Kurzes Zentrifugieren der Reaktionsgefäße mit wenigen Umdrehungen pro Minute.
- Reaktionsgefäße in das real-time PCR Gerät einsetzen und entsprechend der Geräteeinstellungen starten.

2.6 Interpretation der Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse wird mit der Analysen-Software der jeweiligen real-time PCR Geräte nach den Angaben des Herstellers durchgeführt. Negativ- und Positivkontrollen müssen die korrekten Ergebnisse zeigen.

November 2018

Eine Probe wird **positiv** bewertet, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt (FAM). Eine Probe wird als **negativ** bewertet, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation im Nachweissystem zeigt und die zugehörige interne Amplifikationskontrolle (Inhibitionskontrolle) **positiv** (VIC/HEX) mit einer Cp-Abweichung ≤ 2 zur Negativkontrolle ist. Sollte die Proben-DNA im VIC/HEX-Kanal **keine Amplifikation** oder eine Cp-Abweichung > 2 zur Negativkontrolle zeigen, sind in der Proben-DNA Inhibitoren enthalten, die die PCR unterdrücken. Ein starker Abfall des Fluoreszenzsignals kann ebenfalls eine Inhibition anzeigen. In diesen Fällen muss die Isolierung und Reinigung der DNA aus der entsprechenden Probe verbessert werden. Alternativ kann die DNA verdünnt (Empfehlung 1:2 in PCR-Wasser) und wiederholt auf Inhibition getestet werden. Beachten Sie bitte, dass sich die Nachweisgrenze für die Probe im spezifischen Nachweissystem für *Salmonella* mit dem gewählten Verdünnungsfaktor ändert.

Hinweis: Während der MicroVal-Studie wurden erhöhte Inhibitionslevel für frische Kräuter, Kakaopulver, Gewürze und Aromaten sowie Eiprodukte beobachtet.

2.7 Kulturelle Bestätigung

Positive PCR Ergebnisse sollten mittels kultureller Nachweismethoden bestätigt werden (z.B. ISO 6579).

3 Validierung

Die externe Validierung von SureFast® Salmonella ONE erfolgte nach AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Microbiological Methods for Food and Environmental Surfaces und der ISO 16140-2:2016 [Microbiology of the food chain -- Method validation -- Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method]. In der Matrixstudie wurde die Referenzmethode ISO 6579:2002 (Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.) eingesetzt.

Das Kit stellt eine Erweiterung der SureFast® Salmonella PLUS Methode dar und wurde AOAC-RI für die folgenden zusätzlichen Matrices validiert: rohes Hackfleisch, Geflügelfleisch, Rohmilch, Spinat, Ei, Tierfutter.

Die MicroVal-Studie erfolgte nach ISO 16140-2:2016 mit jeweils 25 g Portionen des jeweiligen Probenmaterials. Die Probenpräparation wurde nach ISO 6887 durchgeführt. In der Sensitivitätsstudie wurden insgesamt 391 Proben aus sechs Lebensmittel-Kategorien untersucht. SureFast® Salmonella ONE wurde für die folgenden Lebensmittel-Kategorien validiert: Geflügelfleisch, Fleischprodukte, Milchprodukte, Gemüse (ausgenommen Sprossen), Eiprodukte und Tierfutter.

4 Produktinformationen

- Validierungsdaten
- Zertifikat für MicroVal (Lizenz-Nr. 2014LR43) und AOAC (Lizenz-Nr. 081803)

5 Technischer Support

Für Fragen zur Durchführung und Auswertung kontaktieren Sie bitte:

CONGEN Biotechnologie GmbH
Robert-Roessle-Str. 10
13125 Berlin, Germany

Phone: +49 (0)30 9489 3500
Fax: +49 (0)30 9489 3510
E-Mail: info@congen.de

1 General Information

1.1 Description

The SureFast® Salmonella ONE kit can be applied for the fast and simple isolation and detection of *Salmonella* spp. in different types of food and is intended to be used by all kinds of food testing laboratories.

The method consists of the following steps: 1) cultural enrichment, 2) DNA extraction, 3) specific real-time PCR detection and 4) data analysis and interpretation. SureFast® Salmonella ONE has been validated and certified by MicroVal (License-No. 2014LR43) and AOAC (License-No. 081803).

Each reaction contains an internal amplification control. The real-time PCR assay can be used with established real-time PCR instruments, equipped for detection of two fluorescence emissions in the FAM and VIC/HEX channel at the same time.

Internal validation was performed on Agilent Mx3005P, BioRad CFX 96, Roche LightCycler® 480 II, Roche cobas z 480 Analyzer, Roche LightCycler® 2.0², Applied Biosystems® 7500, Qiagen RotorGene Q, Cepheid SmartCycler®, Bio Molecular Systems MIC and LTF MyGo Pro.

External validation by MicroVal and AOAC was performed on Roche LightCycler® 480 II, Applied Biosystems® 7500, BioRad CFX 96, Bio Molecular Systems MIC and Agilent AriaMx.

1.2 Limit of Detection

The SureFast® Salmonella ONE real-time PCR has a limit of detection of ≤ 5 DNA copies. The assay limit of detection depends on sample matrix, processing grade, DNA preparation and DNA content.

1.3 Kit components and storage

Kit Code	Reagent	Amount	Lid Color
1	Reaction Mix	2 x 1100 µl	Yellow
2	Taq Polymerase	1 x 80 µl	Dark Red
3	Positive Control	1 x 200 µl	Light Blue
L	Lysis Buffer	2 x 25 ml	Clear

Store all reagents at -20 °C and protected from light. The Taq Polymerase can be stored at +2 to +8 °C for multiple use on the same day. The Lysis Buffer should be stored at -20 to +8 °C. Reagents should be used until the expiry date indicated on the label.

1.4 Additionally required equipment, materials and media

- Real-time PCR instrument, equipped with two detection channels (FAM and VIC/HEX channel)
- Real-time PCR consumables (plates, tubes, foils, capillaries, caps)
- Pipettes with filter tips
- 2 mL tubes
- Disposable gloves
- Vortexmixer
- Centrifuge with a rotor for the reaction tubes
- Thermomixer/heating block (up to 95 °C)
- Non-selective enrichment broth (e. g. buffered peptone water)

² note: For the use of the Roche LightCycler® 2.0 a Color Compensation is necessary. The SureCC Color Compensation Kit II (Art. No. F4010) must be used for the color compensation of such devices.

1.5 Precautions for users

- Extraction, PCR preparation and the PCR run should be separated in different rooms to avoid cross-contaminations.
- This test must only be performed by laboratory personnel trained in molecular biology methods.
- Strictly follow the working instructions.
- When handling samples, wear disposable gloves. After finishing the test, wash your hands.
- Do not smoke, eat or drink in areas where samples or test reagents are being used.
- Food samples and enrichment cultures must be treated as potentially infectious as well as all reagents and materials being exposed to the samples and have to be handled according to the national safety regulations.
- Do not use the kit after the expiration date.

2 Protocol

2.1 Enrichment

Sample preparation of food and feed matrices should apply to ISO 6887 and ISO 6579 standards. For enrichment, a volume of 25 g or 25 ml sample material is homogenized with 225 ml of a non-selective enrichment broth (e. g. buffered peptone water). If test portions deviate from 25 g, the enrichment broth volume should be chosen in a 1:10 ratio. Enrichment is performed for 18 h ± 2 h at 37 °C ± 1°C. Alternatively, other suitable, validated enrichment procedures can be used.

To assess the process of bacterial growth, it is recommended to compare samples at the beginning and at the end of the culturing (bacterial growth at Cp difference >3).

2.2 DNA preparation

If the enrichment culture has been shaken or stirred, let the solids settle out for 5 to 10 min.

Transfer 500 µl of the upper third from the enrichment culture into a 2.0 mL tube (not provided with the kit).

Add 500 µl of Lysis Buffer (**Code L**) to the 500 µl of the enrichment culture. Vortex the tube briefly and put the tube in the heating block.

Incubate for 10 minutes at 95 °C without shaking.

Remove the tube from the heating block and leave the tube at room temperature for 1 minute.

Note: It is necessary to ensure that the sediment is not stirred up and no particles are pipetted in the PCR reaction.

The lysate is ready-to-use for PCR. If the lysate is not used immediately in the PCR or is intended for a longer storage, transfer 100 µl of the lysate in a new tube (not provided with the kit) and store at -20 °C.

2.3 Preparation of the master-mix

Calculate the total number of reactions needed (samples and control reactions). Recommended control reactions: negative control, positive control and extraction control. The master-mix includes an internal amplification control (inhibition control) for each reaction.

It is also recommended to prepare the master-mix with 10 % additional volume in order to compensate reagent loss. Allow the reagents to thaw, mix and centrifuge before opening and use.

Example for the calculation and preparation of 10 reactions:

Components for master-mix	Amount per reaction	10 reactions (with 10% excess)
Reaction Mix	19.3 µl	212.3 µl
Taq Polymerase	0.7 µl	7.7 µl
Total volume	20 µl	220 µl

Mix each master-mix well and centrifuge shortly before use.

Note: The Taq Polymerase may be in a frozen and/or unfrozen state. This does not affect the quality of the Taq Polymerase or the performance of the real-time PCR.

2.4 Setup

	Blockcycler/MIC SmartCycler®	Rotorcycler/LightCycler® 480 II
Initial Denaturation (HOLD) Cycles	1 min, 95°C 45	1 min, 95°C 45
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum
Fluorescence Detection Setup (exemplary)	Detection: End of Extension Phase Detection System: <i>Salmonella</i> spp. Various devices FAM -Channel, Quencher: BHQ Rotor-Gene Q Green LightCycler 2.0 530 nm - none LightCycler 480 II 465 nm - 510 nm Internal Amplification Control: Various devices VIC/HEX -Channel, Quencher: BHQ Rotor-Gene Q Yellow LightCycler 2.0 560 nm - none LightCycler 480 II 533 nm - 580 nm Passive Reference: None	
Detailed information on the setup of several real-time PCR devices is available at the CONGEN homepage: http://www.congen.de/en/company/downloads		

2.5 Preparation of the real-time PCR-mix

- Pipette 20 µl of the master-mix into appropriate tubes/wells or capillaries.
- Close the tube of the negative control (the negative control consist of the master-mix).
- Pipette 5 µl of sample DNA into the designated tubes/wells or capillaries.
- Pipette 5 µl of the Positive Control into the designated tubes/wells or capillaries.
- Centrifuge all tubes/wells or capillaries shortly at low speed.
- Place tubes/wells or capillaries into the real-time PCR instrument and start the run according to the setup.

2.6 Interpretation of results

The evaluation has to be made according to the usual analysis program recommended by the real-time PCR instrument manufacturer. The control reactions need to give the correct results.

A sample is stated **positive**, if the sample DNA shows an amplification in the detection system (FAM).

A sample is stated **negative**, if the sample DNA shows no amplification in the detection system and the internal amplification control (inhibition control) of the sample is **positive** (VIC/HEX) with a shift in Cp-Value ≤ 2 compared to the negative control.

If the sample DNA in the VIC/HEX-Channel shows **no amplification** or a shift in Cp-value > 2 compared to the negative control, it contains PCR inhibiting substances. A significant decrease in the fluorescence signal can also show the presence of PCR inhibiting substances. Under these circumstances DNA isolation and

November 2018

purification of the sample need to be improved. Alternatively the DNA can be diluted (recommendation 1:2 in PCR-water) and analysed again for inhibition. Please note that the dilution factor also affects the detection limit of the specific *Salmonella* PCR assay.

Note: During the MicroVal study increased inhibition levels were observed for fresh herbs, cocoa, spices and aromatics and egg products. In these cases, please proceed as recommended above. If you require further assistance please contact info@congen.de.

2.7 Cultural Confirmation

Positive PCR results should be confirmed by cultural detection methods (e.g. ISO 6579).

3 Product Information

- Validation Report
- Certificate for MicroVal (License-No. 2014LR43) and AOAC (License-No. 081803)

4 Validation

SureFast® Salmonella ONE was validated per the AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Microbiological Methods for Food and Environmental Surfaces and the ISO 16140-2:2016 [Microbiology of the food chain -- Method validation -- Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method]. The reference method for the matrix study was ISO 6579:2002 (Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.).

The kit is an extension of the SureFast® Salmonella PLUS method and has been AOAC RI validated for the following additional food matrices: raw ground beef, frozen poultry meat, raw milk, fresh spinach, pasteurized liquid whole egg, pet food pellets.

The MicroVal method comparison study according to ISO 16140-2:2016 was carried out using 25 g portions of sample material. Sample preparations were done according to ISO 6887 parts. In the sensitivity study a total of 391 samples from six different food categories were investigated. SureFast® Salmonella ONE has been MicroVal validated for the following food categories: poultry meat, meat products, dairy products, vegetables (excluding sprouts), egg products, feed.

5 Technical Support

For further questions please contact:

CONGEN Biotechnologie GmbH
Robert-Roessle-Str. 10
13125 Berlin, Germany

Phone: +49 (0)30 9489 3500
Fax: +49 (0)30 9489 3510
E-Mail: info@congen.de