

# Patogén mikroorganizmusok kimutatására szolgáló korszerű gyorsmódszerek összehasonlító vizsgálatai

**Rohonczy Kata<sup>1</sup>, Fodor Andrea,  
Tabajdiné dr. Pintér Veronika<sup>1</sup>,  
Mohácsiné dr. Farkas Csilla**

**<sup>1</sup>*FoodMicro Kft.***

**<sup>2</sup>*Budapesti Corvinus Egyetem***

# *Salmonella* nemzetség előfordulása és jellemzői

- **Természetben:** ▪ Emberek és állatok bélrendszerében, szennyvíz, talaj
- **Élelmiszerben:** ▪ Hús, tej, zöldség, víz, tojás, fűszerek, csokoládé stb.
- **Jellemzői:** Enterobakteriaceae család tagja, patogén, Gram negatív, peritrich csillóval rendelkezik, H antigén.

# Korszerű *Salmonella* vizsgálati módszerek

## AOAC 2006

34 gyártó

	ÖSSZES	AOAC AFNOR DANVAL	módszerek
DÚSÍTÁS	13	8	IMS, ICS MSRV Diassalm
KIMUTATÁS	45	23	ELISA, ELFA Konduktom. PCR, Reveal

# Célkitűzés

- A rendelkezésünkre álló alternatív mikrobiológiai módszerekkel végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása a szabványos tenyésztéses módszerrel

# *Salmonella* vizsgálatok időigénye

IMS, PCR,  
VIDAS ICS+SLM,  
TECRA UNIQUE(ICS)  
FIZIKAI MÉRÉSEK  
MSRV, Diassalm

VIDAS SLM(ELFA),  
ELISA, TECRA, FIA,  
Enzimreakciók  
Latex agglutináció  
Gen próba

API, BBLCrystal  
Micro ID,  
Enterotube II

Szerológiai  
vizsgálatok

Élelmiszer  
25g

Elődúsítás  
6-24 óra

Szelektív dúsítás  
24-48 óra

Szelektív agar  
XLD, HARLEQIN,  
COMPASS, SM2  
24-48 óra

Nutrient agar  
24 óra

Biokémiai reakciók  
6-24 óra

# Felhasznált módszerek *Salmonellák* kimutatására

- **Szelektív dúsító:**

Diasalm (Szelektív, félfolyékony, mozgás vizsgálatra alkalmas. Novobiocin, és malachitzöld biztosítja a szelektivitást.)

- **Szelektív táptalaj:**

XLD (A kénhidrogén képződés tioszulfáttal és vas(III)sóval mutatható ki. A telepek felületén vas-szulfid csapadék, mely a telepek fekete színét adja.)

Kromogén szubsztrátot tartalmazó táptalajok:

Harlequin, Compass, SM2

- **ELISA módszer:**(Antigén –antitest kapcsolódás, fotometriás végpontjelzés)

TECRA UNIQUE (ICS)

TECRA

- **ELFA :**(Antigén –antitest kapcsolódás, fluorimetriás végpontjelzés)

VIDAS ICS+SLM

VIDAS SLM





# Vizsgálat menete *Salmonella* esetén

Elődúsítás: 25g minta 225ml Salmonella  
elődúsító

37°C 24 óra inkubálás → VIDAS  
ICS+SLM

TECRA UNIQUE ICS 1 ml

Dúsítás: RAPPAPORT V. dúsítóba

42 °C 24 óra inkubálás → VIDAS SLM

Szélesztés : XLD+Diasalm

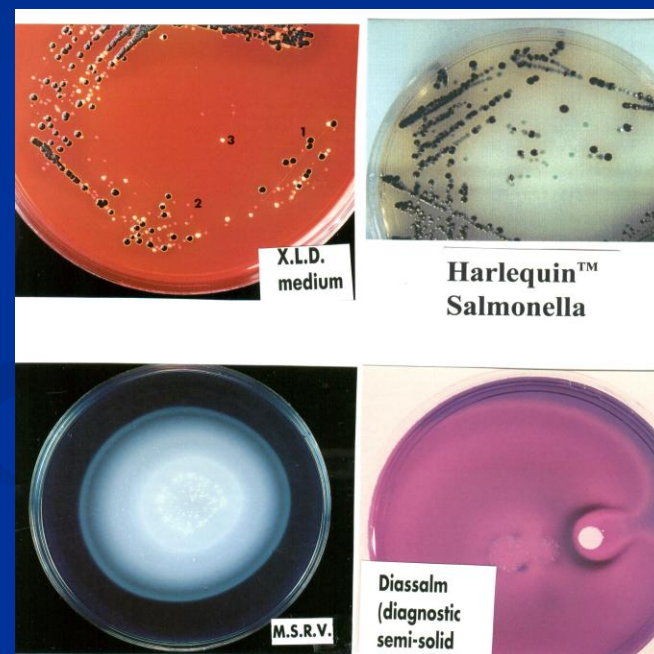
COMPASS

HARLEQUIN

SM2

Szélesztés nutrient agarra

Biokémiai reakciók, szerológiai azonosítás



# Vizsgált minták

- **Minták:** darálthús, saláta, fűszer, tej, csirkemáj, csirke szárny, csirke mell, szezámmag, kolbász
- S.Enteritidissel fertőzött minták (2-15 cfu/25g)
- S.Infantissal fertőzött minták (2-15 cfu/25g)
- Természetes Salmonella tartalmú minták
- Negatív minták

Összesen: 85 db



# Jellemző paraméterek

## MSZ EN ISO 16140

- Relatív pontosság:  $100 \cdot (p+n) / N \%$
- Relatív specifikusság:  $100 \cdot n / (n+fp) \%$
- Relatív érzékenység:  $100 \cdot p / (p+fn) \%$

	Referencia +	Referencia -
Alternatív +	p	f <sub>p</sub>
Alternatív -	f <sub>n</sub>	n

A módszerek jellemző paraméterei  
n=85 (MSZ EN ISO 16140)

	Relatív pontosság (%)	Relatív specifitás (%)	Relatív érzékenység (%)
<b>COMPASS</b>	100	100	100
<b>HARLEQUIN</b>	100	100	100
<b>SM2</b>	100	100	100
<b>VIDAS SLM</b>	100	100	100
<b>VIDAS ICS+SLM</b>	99	100	98
<b>TECRA ICS</b>	99	100	95

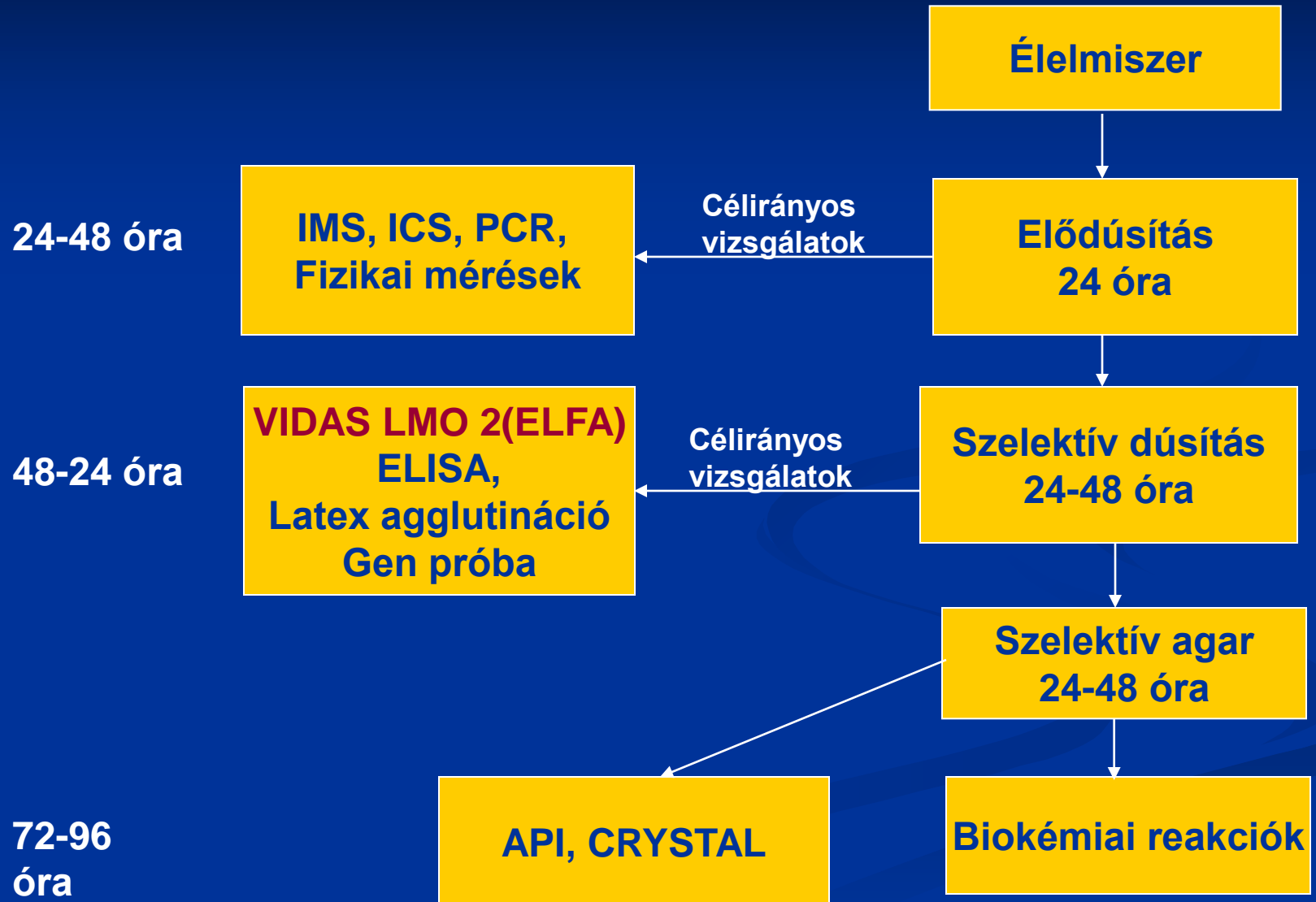
- A vizsgált módszerek esetében az AOAC eredményeinek megfelelő paramétereket kaptunk.
- E módszerekkel ez évtől már akkreditáltan tudjuk ügyfeleink vizsgálati igényeit kiszolgálni.
- Elértük, hogy Salmonella vizsgálati eredményt a minta beküldését követő nap délutánján már tudunk kiadni.

# *Listeria monocytogenes* előfordulása és jellemzői

- **Természetben:** ▪ Emberek és állatok bélrendszerében, húgy és nemi szervrendszerében
- **Élelmiszerben:** ▪ Hús, tej, zöldség, víz
- **Jellemzői:** Patogén, Gram pozitív, pálcá alakú, sótűrő, alacsony pH tűrés, pszichrofil

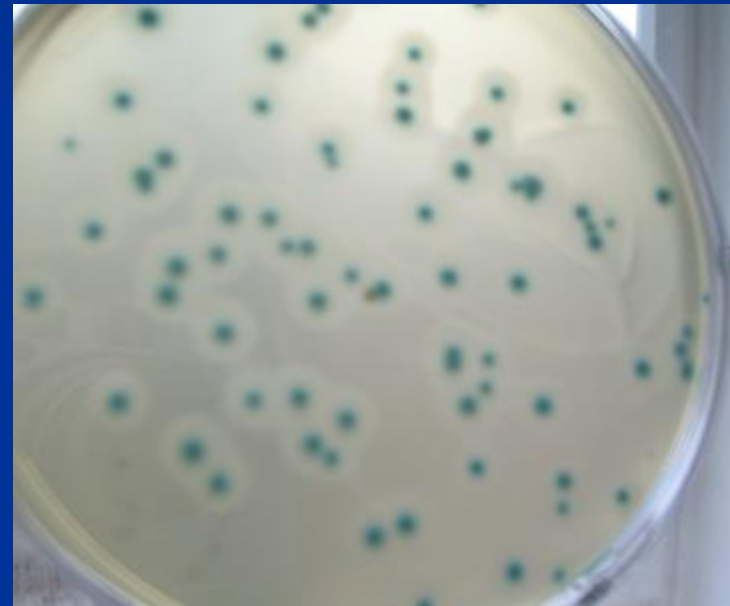
# *L. monocytogenes* vizsgálatok időigénye

MSZ EN ISO 11290-1:1998



# Felhasznált módszerek *L.monocytogenes* kimutatására

- **Kromogén szubsztrátot tartalmazó táptalajok:**  
ALOA, Compass
- **Műszeres eljárások:**  
VIDAS LMO2 (ELFA)





# Vizsgálat menete *Listeria monocytogenes* esetén

Elődúsítás: 25g minta+ 225ml feles erősségű Fraser

Inkubálás: 30°C 24 óra

Dúsítás: Fraser szelektív dúsító

Inkubálás: 37 °C 24 óra →

Szélesztés:

VIDAS LMO2

ALOA

COMPASS

Szélesztés nutrient agarra

Biokémiai reakciók

# Vizsgált minták

Minták: darálthús, saláta, tej, gyf. zöldségek, gy.f. spenót, gyf. sonka, gyf. tészta

- *L. monocytogenes* fertőzött minták

(2-15cfu/25g)

- *L. ivanovii*-val fertőzött minták (2-15cfu/25g)

- Természetes *L. monocytogenes* tartalmú minták

- Negatív minták

- Összes minta: 63

# A módszerek jellemző paramétereit n= 63 (MSZ EN ISO 16140)

	Relatív pontosság (%)	Relatív specifitás (%)	Relatív érzékenység (%)
<b>ALOA</b>	100	100	100
<b>COMPASS</b>	100	100	100
<b>VIDAS LMO2</b>	100	100	100

- Az új alternatív vizsgálati módszerek segítik a vizsgáló laboratórium munkáját.
- A kromogén szubsztrátot tartalmazó táptalajok szelektívebbek és jól elkülöníthető telepeket képeznek.
- A műszeres vizsgálatokkal pedig idő takarítható meg.

# Következtetések

- Olyan módszerek összehasonlítására került sor, melyek segítségével a patogén mikroorganizmusok kimutatása egyszerűbb, gyorsabb a hagyományos eljárásoknál.
- Műszeres vizsgálatokat olyan laboratóriumok számára javasoljuk, ahol gyors eredményekre van szükség, pl.: Gyorsan romló élelmiszerek, raktárkapacitás jobb kihasználtsága érdekében
- Az általunk tesztelt vizsgálati módszereknek:
  - alacsony a kimutatási határa
  - nagyobb szelektivitás a kimutatandó kórokozóra
  - validáltak
  - mind a fals pozitív és fals negatív eredmények aránya minimális

A klasszikus vizsgálatok gyors diagnosztikai módszerekkel való helyettesítésével a jelenleg használatos minőségbiztosítási rendszereket maximálisan ki tudjunk szolgálni.