

# Real time PCR módszerrel végzett patogén vizsgálatok tapasztalati

Zoller Linda, Rohonczy Kata, Fodor Andrea,  
Tabajdiné dr. Pintér Vera

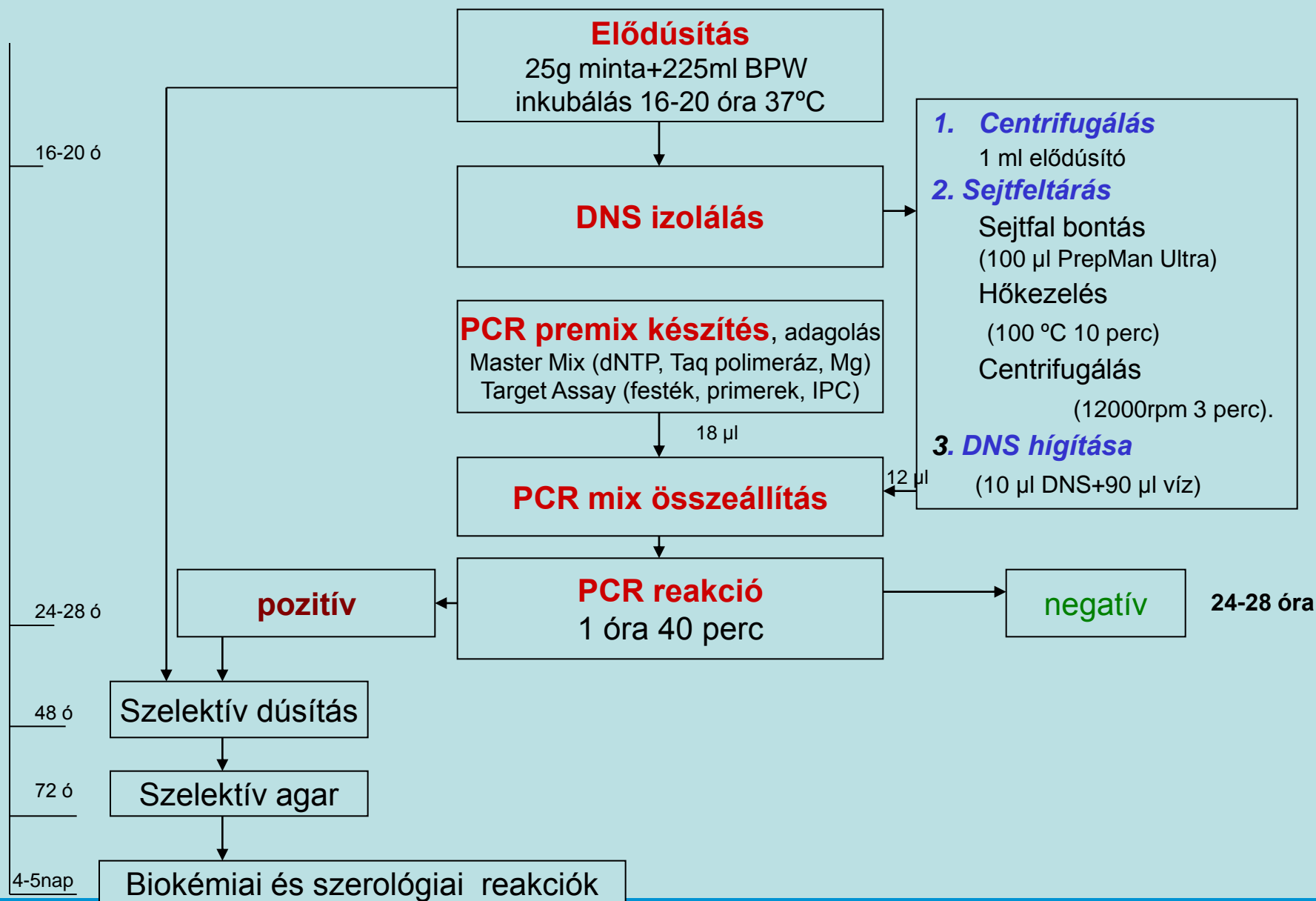
*FoodMicro Kft.*

Élelmiszerekben és takarmányokban előforduló patogén mikroorganizmusok  
(Salmonella, Listeria monocytogenes, E.coli O157) kimutatásához szüksége idő  
lerövidítése

Molekuláris biológiai eljárással nyert adatok összehasonlítása a referencia  
módszerekkel

Különböző élelmiszermátrixok hatásának elemzése a biztonságos  
kimutathatóságra

Az ISO 16140 szabvány alapján a jellemző paraméterek meghatározása



- **PCR reakció ciklusonként**

1. Denaturáció

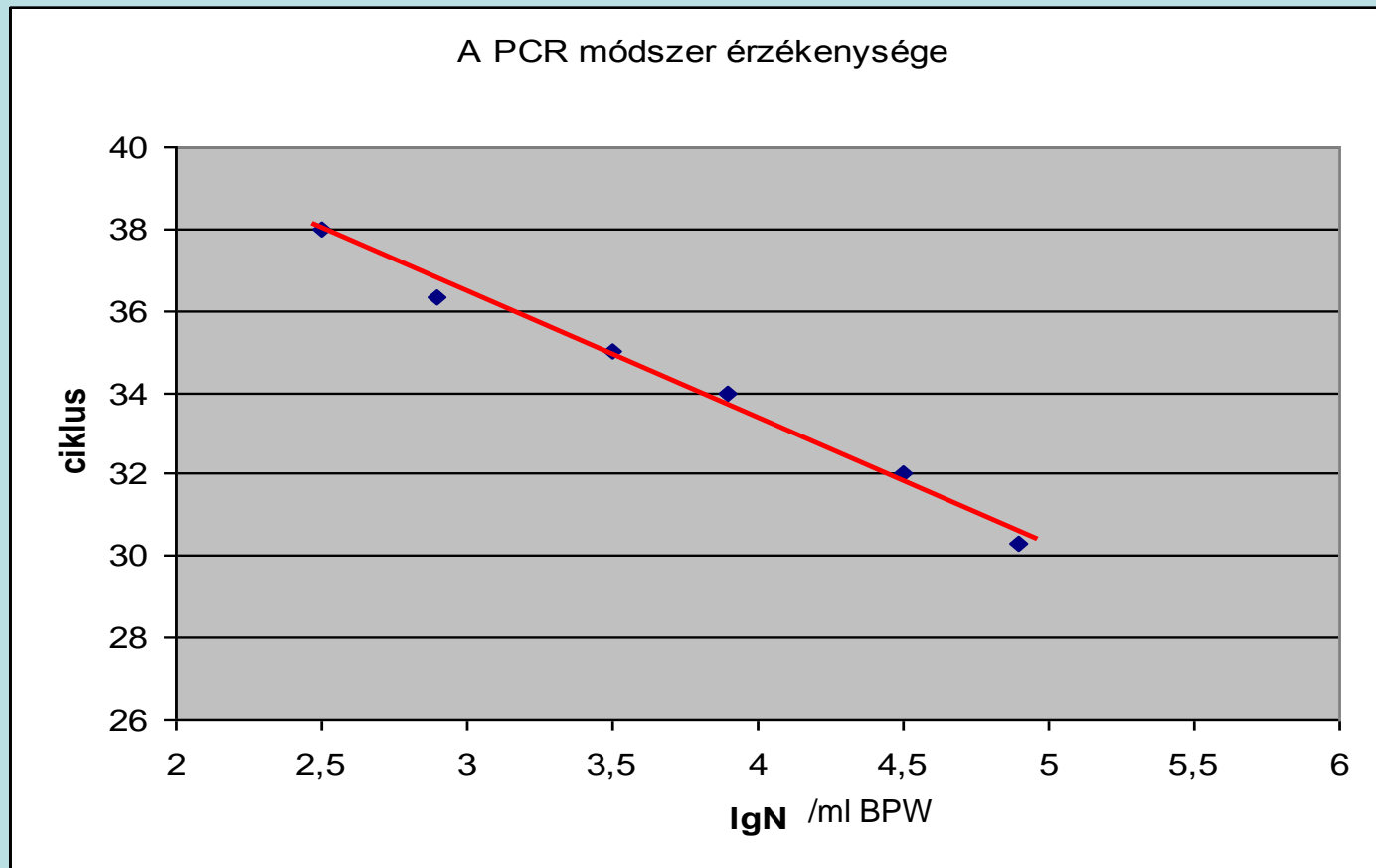
2. Primerek bekapcsolódnak az egyszálú DNS-ek célszekvenciáiba

3. Lánchosszabbítás

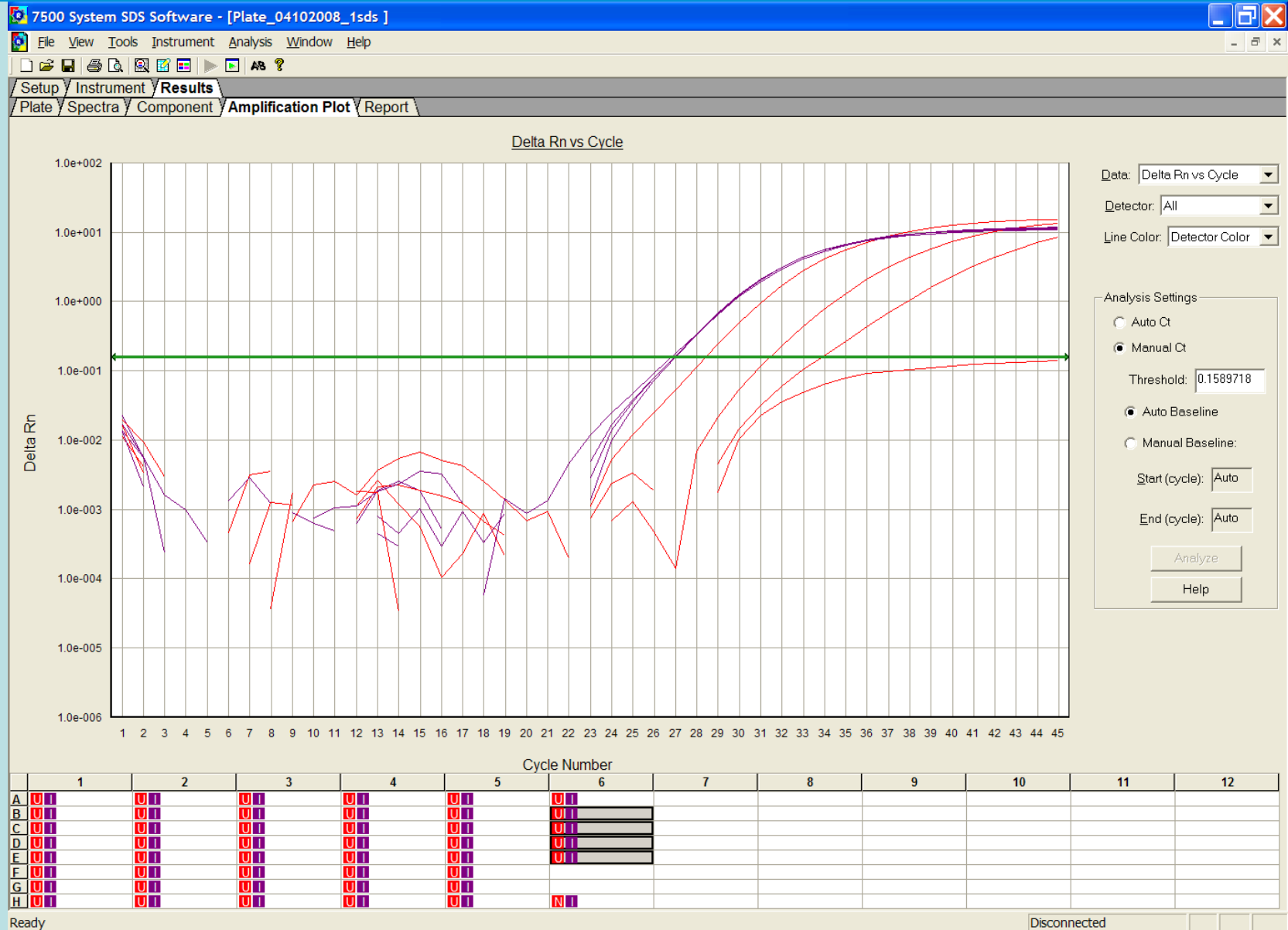
A specifikus DNS szakaszok felszaporítása és a detektálása egy időben történik.

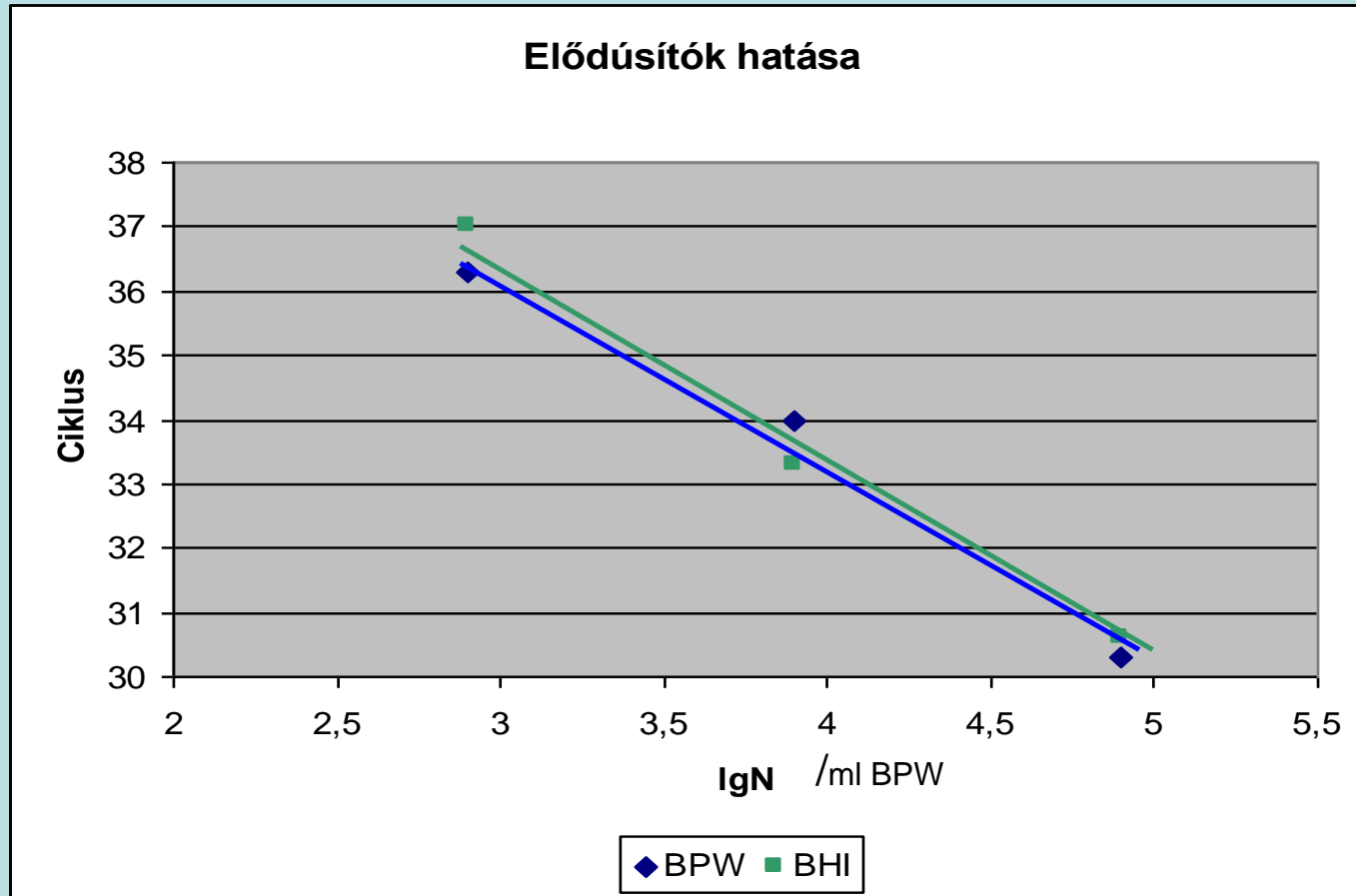
ABI 7300 Real-Time készülék

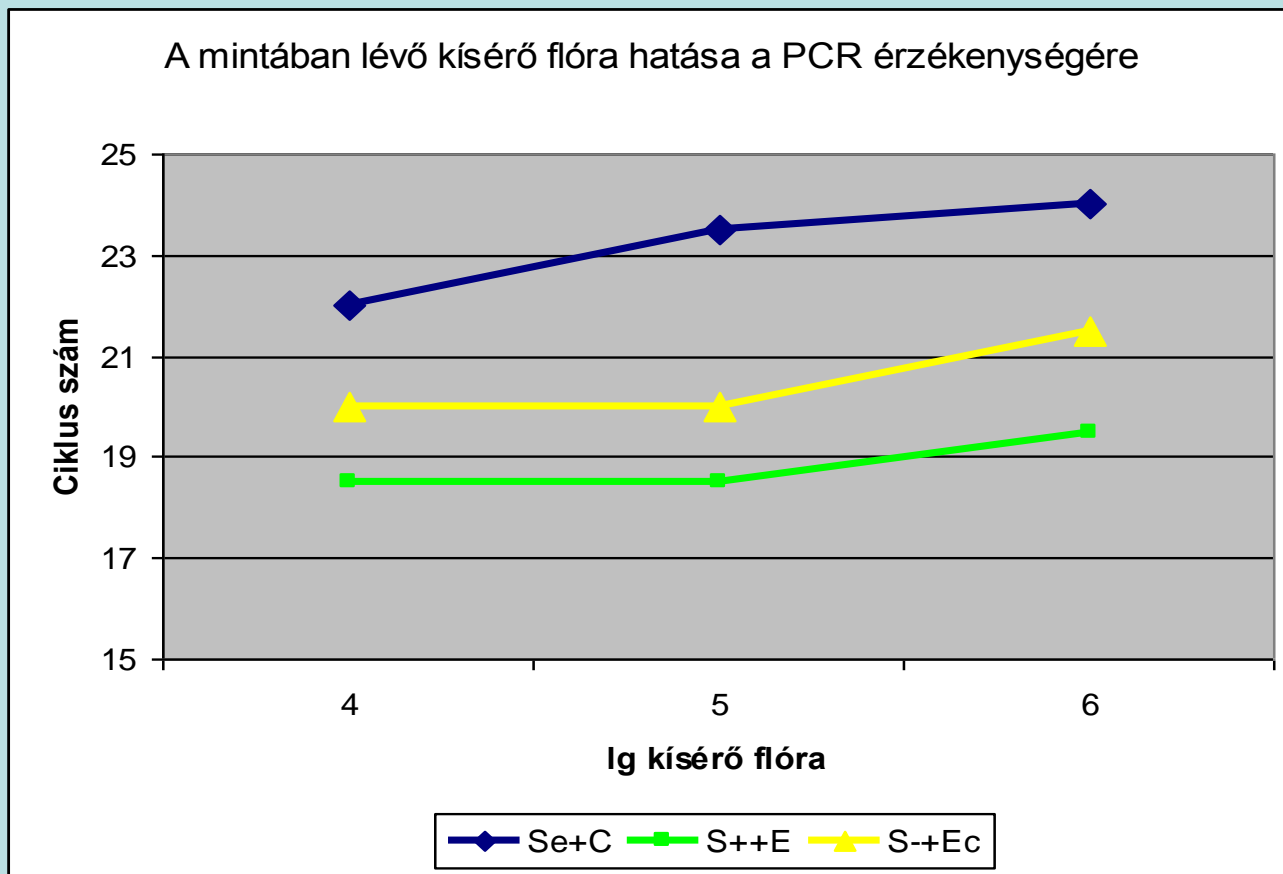




1-5 sejt/12  $\mu$ l PCR \_\_\_\_ 10-50 sejt/ml BPW \_\_\_\_ 1---10<sup>4</sup> dúsulás a BPW-ben











Vizsgálatok száma: 15954

28 ó után kiadott negatív eredmények: **14929 (94%)**

## Termék csoportok

Fűszeres v. előkészített hús

Nyers hús

Felvágottak

Tejtermékek

Kakaó és csokoládé

Fűszerek, Tea, Kávé

Higiéniai minták

Tojás termékek

Zöldség-gyümölcs

Liszt, keksz, magok, méz.....

Hidegkonyha, Szószok

Takarmány száraz

Takarmány higiénia

Relatív pontosság:  $100 \cdot (p+n) / N \%$

Relatív specifikusság:  $100 \cdot n / (n+f_p) \%$

Relatív érzékenység:  $100 \cdot p / (p+f_n) \%$

	Referencia +	Referencia -
Alternatív +	p	$f_p$
Alternatív -	$f_n$	n

<i>Élelmiszer mátrix</i>	<i>Összes vizsgált minta</i>	<i>Relatív pontosság</i>	<i>Relatív specifikusság</i>	<i>Relatív érzékenység</i>
<b><i>Hús, hús készítmények</i></b>	73	100	100	100
<b><i>Tej, tejtermék</i></b>	66	97	93,5	100
<b><i>Zöldségek</i></b>	63	98,4	97	100
<b><i>Tojás és tojás termékek</i></b>	65	98,5	100	97,1
<b><i>Takarmány (pet foods)</i></b>	66	98,5	96,7	100

98,5

97,4

99,4

<i>Élelmiszer mátrix</i>	<i>Összes vizsgált minta</i>	<i>Relatív pontosság</i>	<i>Relatív specifikusság</i>	<i>Relatív érzékenység</i>
<i>Hús fűszeres vagy előkészített</i>	163	96,32	96,29	100
<i>Nyers hús</i>	368	92,66	91,82	100
<i>Felvágottak</i>	270	98,88	99,28	100
<i>Tej, tejtermék</i>	244	96,59	96,59	100
<i>Csokoládé és kakaó</i>	173	100,00	100,00	100
<i>Fűszerek, tea, kávé</i>	125	98,63	98,63	100
<i>Higiéniai minták</i>	253	96,27	96,27	100
<i>Tojás</i>	48	77,08	77,08	100
<i>Zöldségek</i>	107	99,04	99,04	100
<i>Egyebek (liszt, keksz, méz)</i>	378	96,47	96,47	100
<i>Hidegkonyha, szószer</i>	53	100,00	100,00	100

<i>Élelmiszer mátrix</i>	<i>Összes vizsgált minta</i>	<i>Relatív pontosság</i>	<i>Relatív specifikusság</i>	<i>Relatív érzékenység</i>
<i>Takarmány száraz késztermék (pet foods)</i>	7590	94,71	94,71	100
<i>Higiéniai minták</i>	4579	98,79	98,79	100
<i>Környezeti minták</i>	1333	92,25	95,56	100
<i>Alapanyagok (hőkezelt állati és növényi anyagok)</i>	270	85,2	85,2	100

13772

- **Előkészített húsok**

Fűszerezés, felületi kezelés hatása

- **Csokoládé , kakaópor, cappuccino por**

kakaó inhibíciója

- **Fűszerek** részleges vagy teljes inhibíció (pl.majoranna, fekete bors, piros paprika)

fitoncidok (kiküszöbölés ---elődúsítás megfelelő vezetése 5g/l káliumszulfid vagy hígítás)

- Sötét színű gyümölcsök (pl. szeder, narancs)

- Fagylalt (csokis)

- Pisztácia



- **Előkészített húsok, nyers húsok**

„fals pozitivitás” ----holt sejtek kimutatása ---- higiéniai indikátor

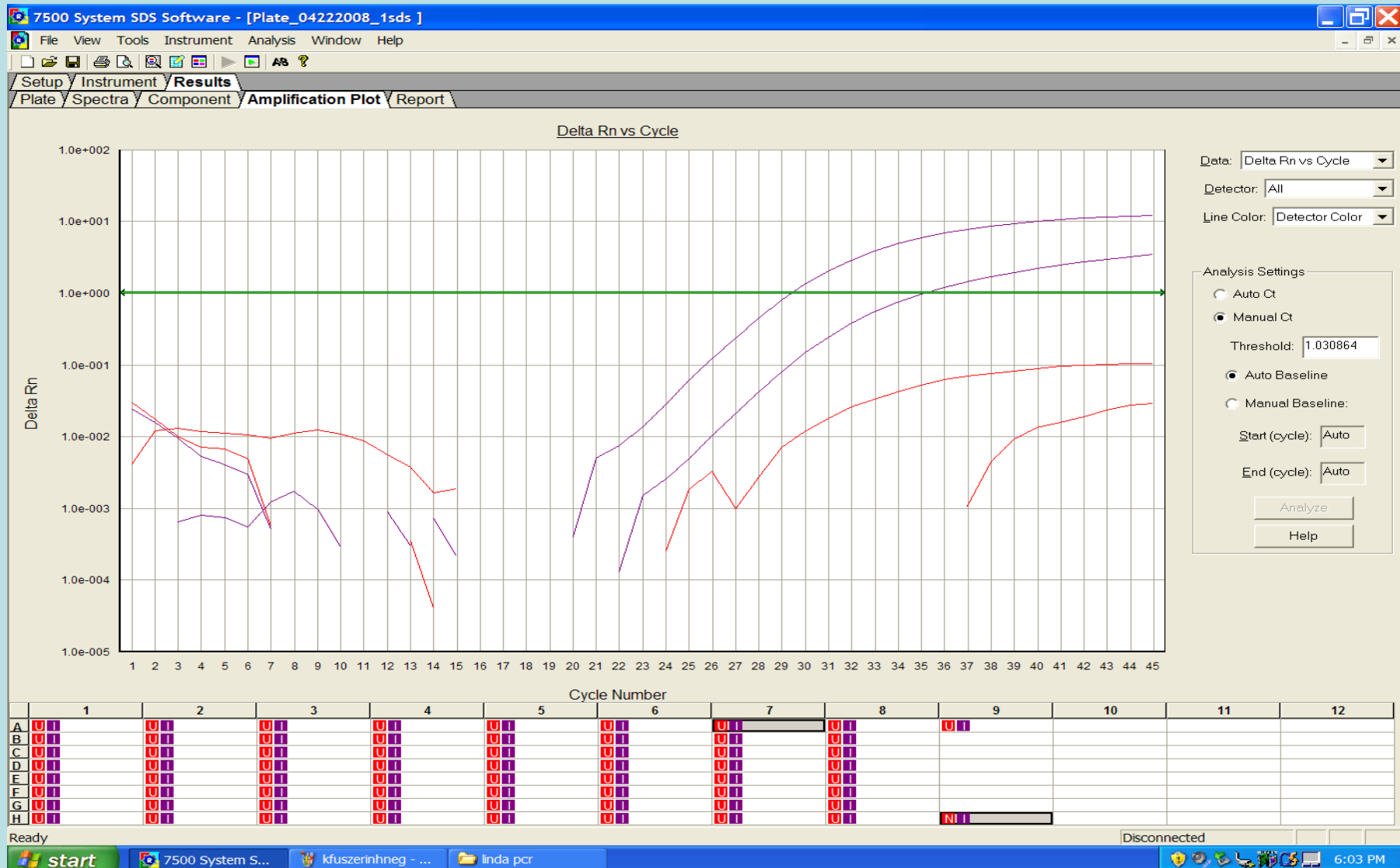
- Tojáslé, Tojáspor
- Száraztészta
- Májas pástétom
- Fagylalt, lágysajt (nyers tej eredet)
- Takarmány

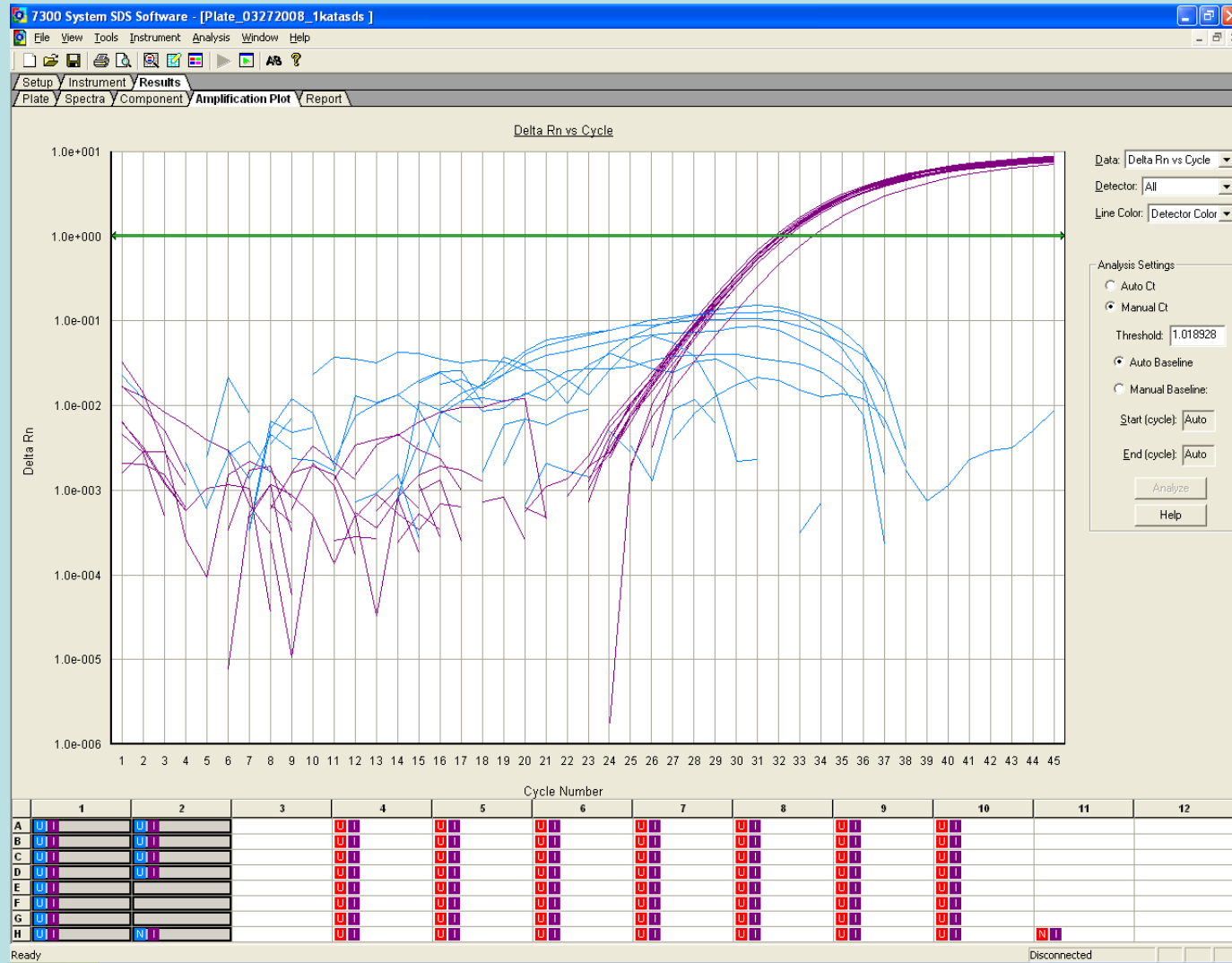
**LEHETŐSÉG A FELDOLGOZOTT NYERSANYAG HIGIÉNIAI ÁLLAPOTÁNAK  
UTÓLAGOS ELLENŐRZÉSÉRE**

Kiszűrés: elődúsítás nélküli vizsgálat.



- **Előkészített húsok**  
fűszerek, felületi kezelések
- **Csokoládé , kakaópor, cappuccino por**  
kakaóanyag (a gátló hatás a sovány tejben történő elődúsítással kiküszöbölhető)
- **Fűszerek** részleges vagy teljes inhibíció  
kiküszöbölés    -elődúsítás megfelelő vezetése 5g/l káliumszulfít  
                              -hígítás
- Fermentált tejtermékek (joghurt, kefir, túró, túrórudi)  
                              kiküszöbölés pH állítás
- Egyes gyümölcsök
- Liszt, lisztkeverék, szójaőrlemény, müzli
- Magvak, marcipán
- Jégkrém, puding







# WESSLING

## FoodMicro Kft.

## E. Coli O157





**30 órán belül kiadható negatív eredmény**

- 1. *Salmonella*,**
- 2. *L. monocytogenes*,**
- 3. *E.coli* 0157,**
- 4. *Campylobacter*,**

**CALITAX, FEPAS, OKI, OÉVI, OMMI, és általunk szervezett körvizsgálatokban  
tesztelt akkreditált módszerek.**

- Összefoglaló értékelés
- 28 ó alatt kiadható a patogének negatív eredménye
- Rávilágított a vizsgálat a klasszikus módszer hibáira ill. az elődúsítás megfelelő átgondolására
- A salmonella vizsgálat nem egy standard módszer automatikus alkalmazása, hanem a mátrix tulajdonságait is figyelembevevő optimális elődúsítás kiválasztását is jelenti
- A kockázatbecslésekhez szükséges nagyszámú adat nyeréséhez elengedhetetlenek a gyors vizsgálatok
- Biztonságos mintavételi tervek kiszolgálása már elképzelhetetlen gyors módszerek nélkül
- A PCR a többi gyors módszertől eltérően lehetőséget nyújt a nyersanyag utólagos higiéniai minősítésére is

Köszönöm megtisztelő figyelmüket!

