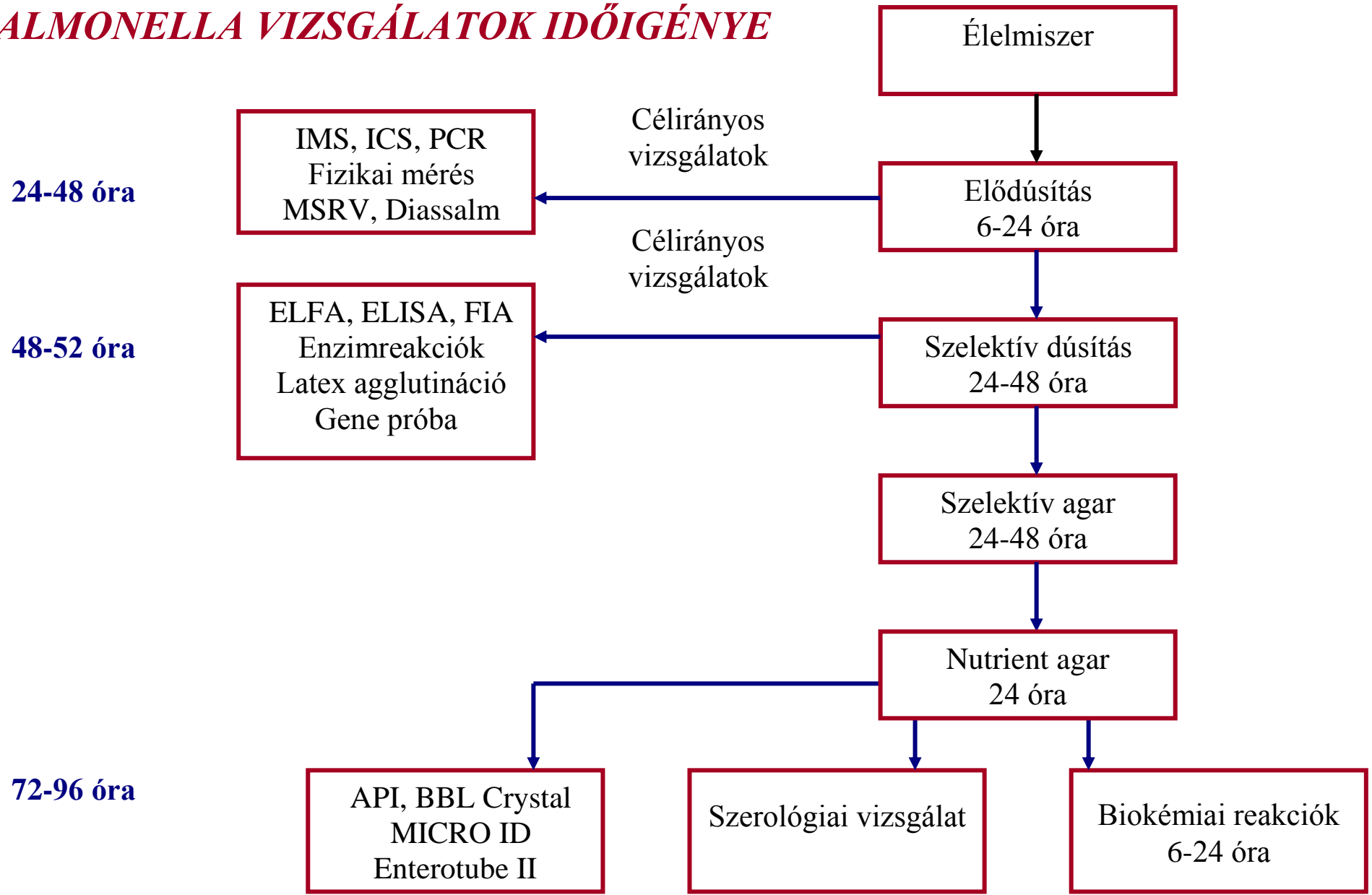


SALMONELLA
KIMUTATÁSA ELISA
TESZTTEL 24 ÓRA
ALATT

FODOR ANDREA, TABAJDINÉ DR. PINTÉR VERONIKA

A SALMONELLA VIZSGÁLATOK IDŐIGÉNYE



BEVEZETÉS

Az élelmiszerbiztonság napjainkban is fontos tényező mind a fogyasztók egészsége, mind piacpolitikai kérdések miatt.

Ennek a kérdéskörnek fontos eleme a mikrobiológia vizsgálatok elvégzése, ezen belül a szalmonellák kimutatása, mely mind a hazai, mind az Európai Unió előírásai között kiemelt helyen szerepel.

A klasszikus módszerek mellett sok új vizsgálati eljárás került validálásra: szelektív táptalajok (Diassalm, MSR-V), konduktometriás eljárások (RABIT), immundiagnosztikai (ELISA, ELFA) és genetikai alapokon nyugvó (PCR) vizsgálatok, valamint ezek összetett változatai (GenProbe).

CÉLKITŰZÉS

A gyorsan romló élelmiszerek Salmonella vizsgálatára 24 óra alatt eredményt adó módszer kiválasztása.

Erre lehetőséget kombinált eljárások adhatnak (pl. elődúsítás+ PCR, elődúsítás+ dúsítás+ ELISA)

ELISA VIZSGÁLAT

Mintaelőkészítés:

25 g minta bemérése 225 ml 37°C-ra előmelegített elődúsítóba

↓
inkubálás 6 óra 37°C

↓
1 ml inkubált mintamennyiség átoltása 9 ml 42°C-ra előmelegített Bioline szelektív dúsítóba

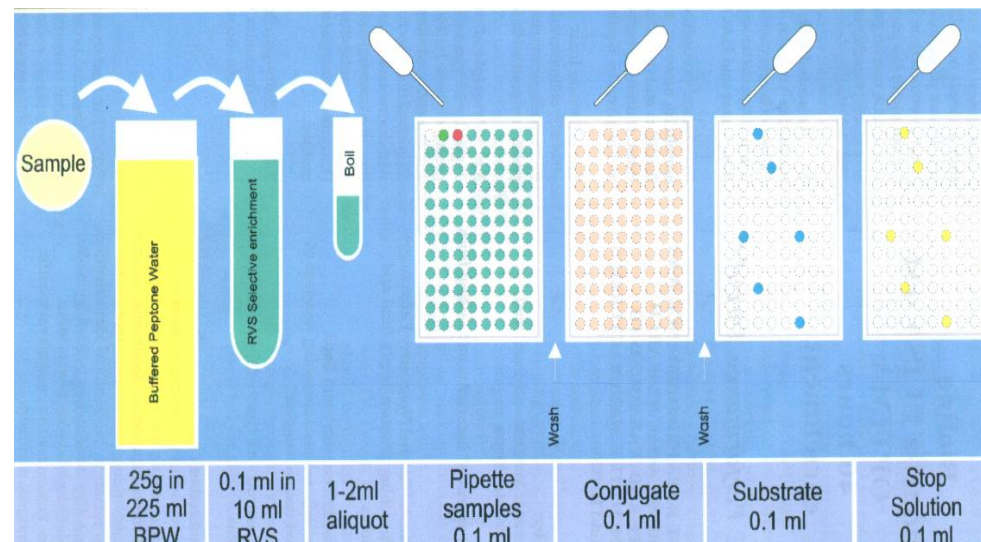
↓
inkubálás 16 óra 42°C

↓
hőkezelés (80°C 20 perc)

ELISA vizsgálat: BIOLINE ELISA teszt

AOAC 960901

Kontroll módszer: MSZ EN ISO 6579:2002



ELŐDÚSÍTÓK

Pufferolt peptonvíz
UHT tej + brillantzöld oldat

MÁTRIXOK

Nyers hús
Hőkezelt tej
Tojásfehérje

Csokoládé

BAKTÉRIUM TÖRZSEK

Baktérium neve	Sejtsűrűség db/ml
Salmonella Enteritidis, Salmonella Brandenburg	2-5
Escherichia coli	$2.0 \cdot 10^3 - 6.0 \cdot 10^3$
Enterobacter aerogenes	$2.0 \cdot 10^3 - 6.0 \cdot 10^3$
Proteus mirabilis	$2.0 \cdot 10^3 - 6.0 \cdot 10^3$
Citrobacter freundii	$2.0 \cdot 10^3 - 6.0 \cdot 10^3$

AOAC VALIDÁLT SALMONELLA VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Név	Validálás	Termék	Gyártó
Salmonella Immuncapture	VDI(Australia)		TECRA Diagnostics
Dynabeads	AOAC(1997), AFNOR	Élelmiszer	Dynal Ltd.
MSRV	AOAC(1996)	Kakaó, csokoládé	
ISO-Grid+EF18 Agar	AOAC (1994)	Élelmiszer	QA Life Sciences
VIDAS Immuno Concentration	AFNOR	Élelmiszer	bioMerieux
TECRA Unique Salmonella	VDI(Australia), AOAC (1997)	Élelmiszer, környezet	TECRA Diagnostics
BacTrac 4100	MICROVAL	Élelmiszer, környezet	SyLab
Foodproof Salmonella	DIN	Száritott élelmiszer, édesség, hús	BioteCon Diagnostics
Mastazyme	DANVAL, AFNOR, NMKL	Élelmiszer, környezet	Mast Diagnostics
BAX for Screening Salmonella	AOAC(2000)	Élelmiszer, baromfi	Qualicon
TECRA Salmonella VIA	AOAC(1999), AFNOR, DANVAL, USDA	Élelmiszer, környezet	TECRA Diagnostics
TECRA Salmonella Unique	AOAC, VDI, NMKL	Élelmiszer, környezet	TECRA Diagnostics
Gold EIA Salmonella	AOAC(1999)	Élelmiszer	BioControl
VIP for Salmonella	AOAC(1999)	Élelmiszer	BioControl
EiaFoss Salmonella	AOAC(1998), DANVAL	Hús, tej	Foss Electric A/S
1-2 Test	AOAC(1998), AFNOR, Zenoh	Élelmiszer	BioControl
Locate ELISA	AOAC(1997)AFNOR	Élelmiszer	Rhone Poulenc Diagnostics
VIDAS SLM	AOAC(1996), AFNOR	Élelmiszer	bioMerieux
MALTHUS	AOAC(1996)	Élelmiszer	IDG
GENE TRAK	AOAC(1996)	Élelmiszer	GENE TRAK
Rapid Salmonella TestKit	AOAC(1996)	Élelmiszer, környezet	OXOID Ltd.
REVEAL for Salmonella	AOAC(1995)	Élelmiszer, környezet	Neogen Corp.
Salmonela Tek	AOAC(1994), USDA-FSIS	Élelmiszer	Organon Teknika
Salmonella ELISA	AOAC (1996),DANVAL, AFNOR,	Élelmiszer környezet	Bioline
Transia Salmonella	AOAC (1996), DANVAL, AFNOR,	Élelmiszer, környezet	Diffchamb Ltd.
GENE TRAK DLP	AOAC (1996)	Élelmiszer	GENE TRAK
Salmonella Screen	AOAC (1996)	Élelmiszer, környezet	Vicam LP
PATH-STIK	AOAC (1994)	Élelmiszer	Celsis Ltd.
Fluorescent Antibody (FA) Screening Met.	AOAC (1977)	Élelmiszer	BD Biosciences
Assurance Salmonella EIA	AOAC	Élelmiszer,összetevők, környezet	BioControl
Salmonella Immuncapture D		Élelmiszer	Bioline
API20E, Enterotubel Micri ID, REemel	AOAC (1978)	Tiszta tenyészet	BioMerieux Becton Dickinson
POBELIA	AFNOR	Tiszta tenyészet	Sanofi Diagnostics Pasteur

VIZSGÁLATI MÓDSZER

A FoodMicro Kft-nél egy olyan dúsítással kombinált immundiagnosztikai módszert (Bioline Salmonella ELISA test) próbáltunk ki, mely eltérően az eddigi gyakorlatban alkalmazott 48-72 órás vizsgálatoktól 24 órán belül ad eredményt.

Modellkísérleteinkben különféle Salmonella törzsekkel eltérő koncentrációban végeztünk vizsgálatokat 2 –3 nagyságrenddel nagyobb kísérőflóra mellett.

A vizsgálatok során modelleztük a napi rutinban előforduló élelmiszerek (hús, tej, tojás, édesipari termékek) mátrixhatását, valamint a technológiai eljárások során felmerülő, a sejtek sérülését okozó (pl. hőkezelés, fagyasztás) hatásokat.

Ezt követően szabványos módszerrel pozitívnak bizonyult élelmiszer mintákkal validáltuk a módszert.

ÖSSZEFOGLALÁS

A patogén mikroorganizmusok ELISA módszerrel történő kimutatásának alapvető feltétele a dúsítás megfelelő vezetése, melynek célja a 10^5 , 10^6 nagyságrendű sejtsűrűség elérése.

Az elődúsítók és dúsítók megfelelő hőmérsékletre történő előmelegítése, a szabványban előírtaknál nagyobb mennyiségű (1 ml) elődúsító átoltása mind ezt a célt szolgálja.

A teszt érzékenységének megállapítása után vizsgálataink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a Bioline ELISA rendszer alkalmas 24 órán belül Salmonella kimutatására olyan nyers élelmiszerekből, ahol a sejtek életképesek, nem sérültek.

A teszt alacsony vízaktivitású termékek vizsgálatára való alkalmasságát a későbbiek során elemezzük.

