



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Stanovení počtu vybraných patogenních a indikátorových mikroorganismů v potravinách pomocí automatizované metody TEMPO®

Mikrobiologie potravin, 3. ročník MSP

Ústav hygieny a technologie mléka, FVHE, VFU Brno

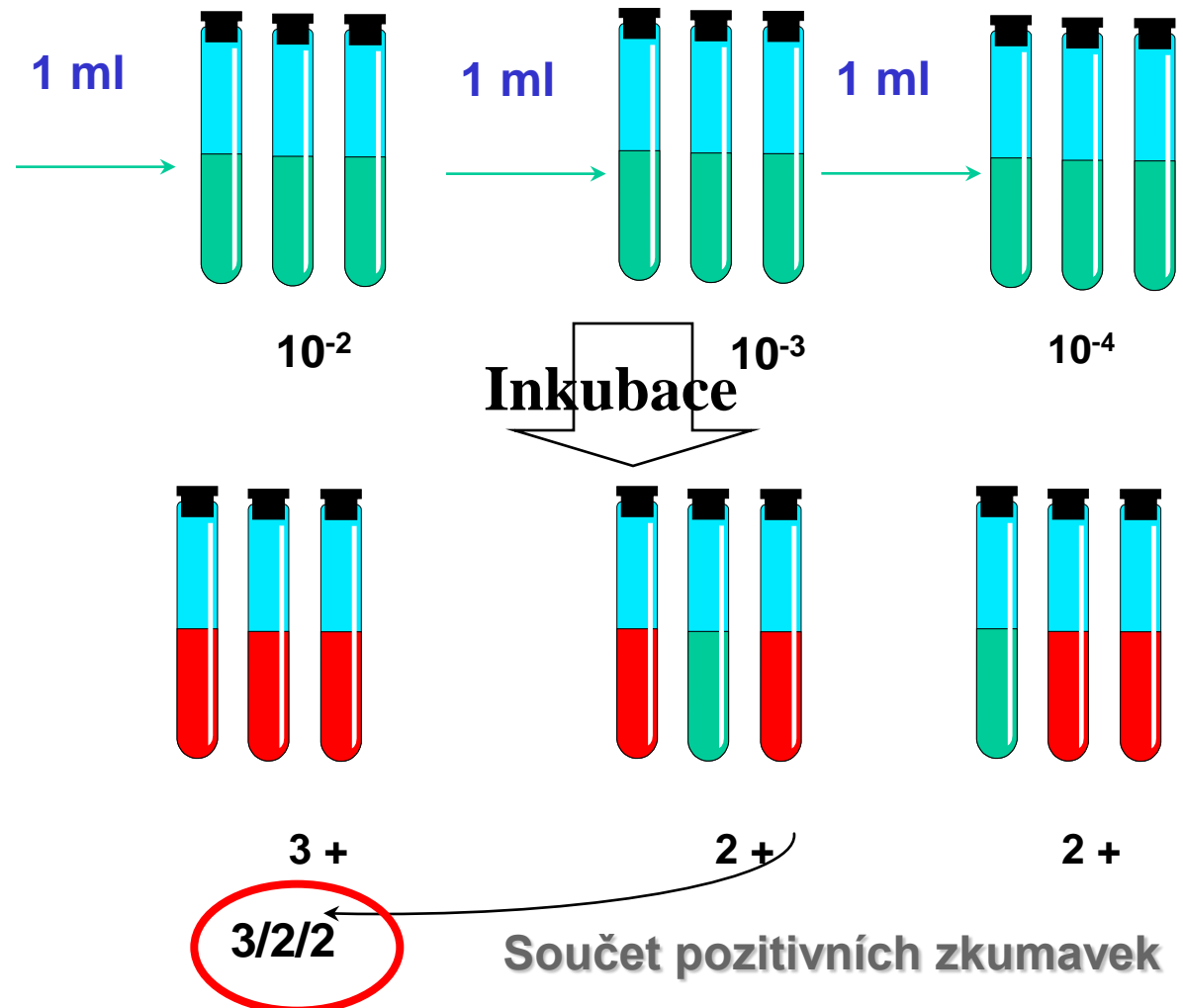
říjen 2013

TEMPO



- Automatizovaná metoda stanovení počtu MO
- Založena na principu MPN (miniaturizace metody)

MPN - Sériové ředění & inkubace



Stanovení počtu

3/2/2

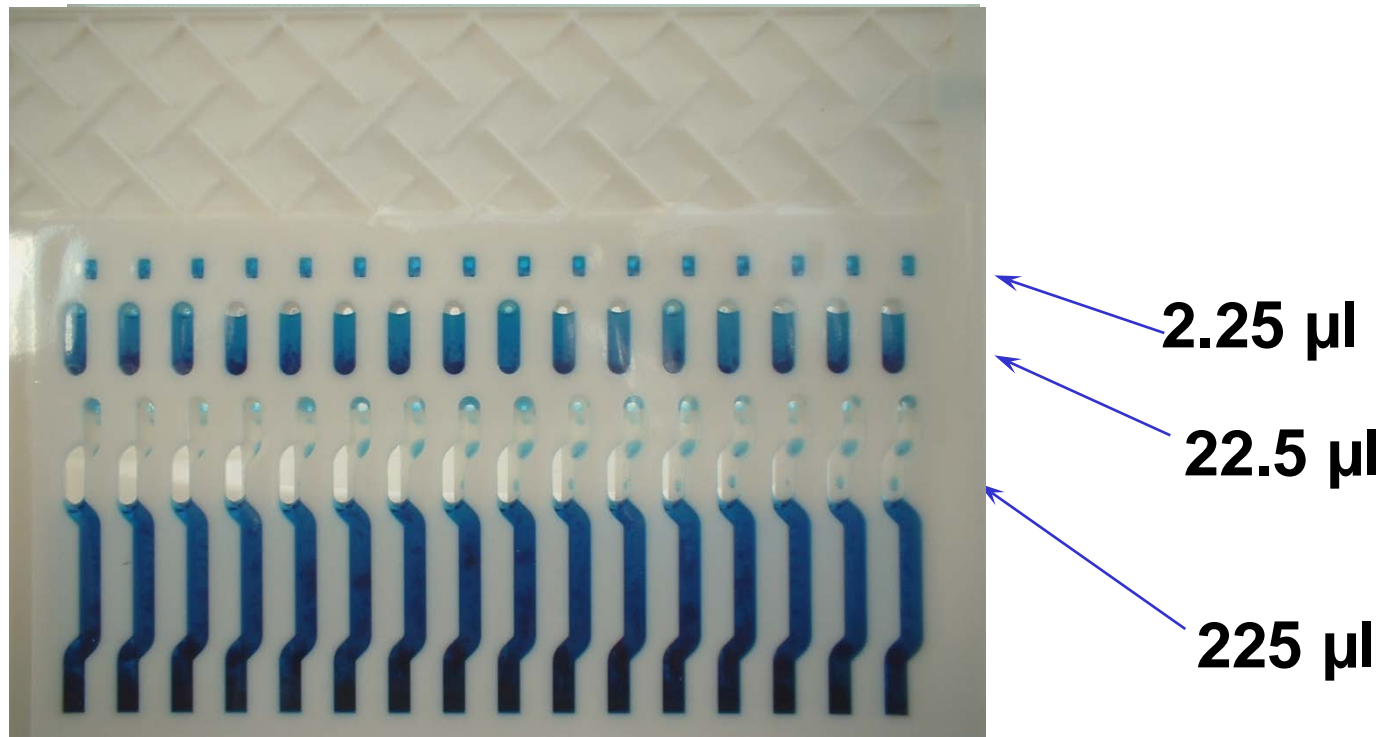
= Most probable
Number

MPN statistická tabulka

x.10^y cfu/g

TEMPO

Patentovaná karta pro stanovení počtu
(miniaturizace metody)



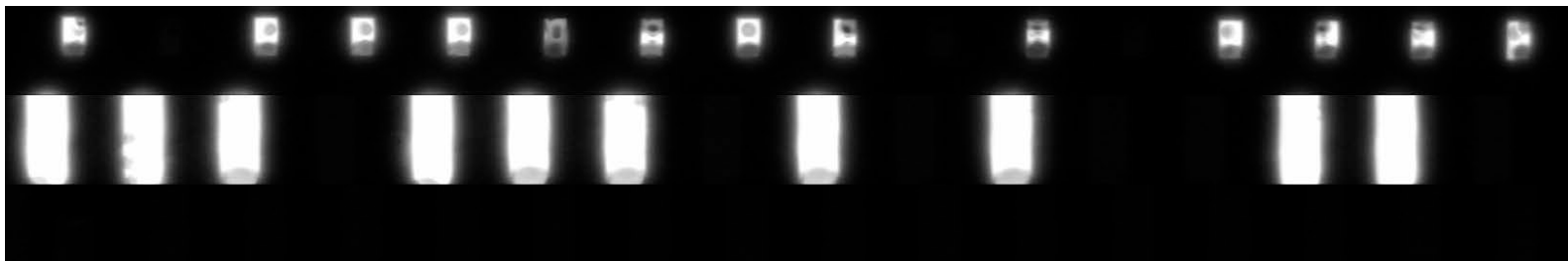
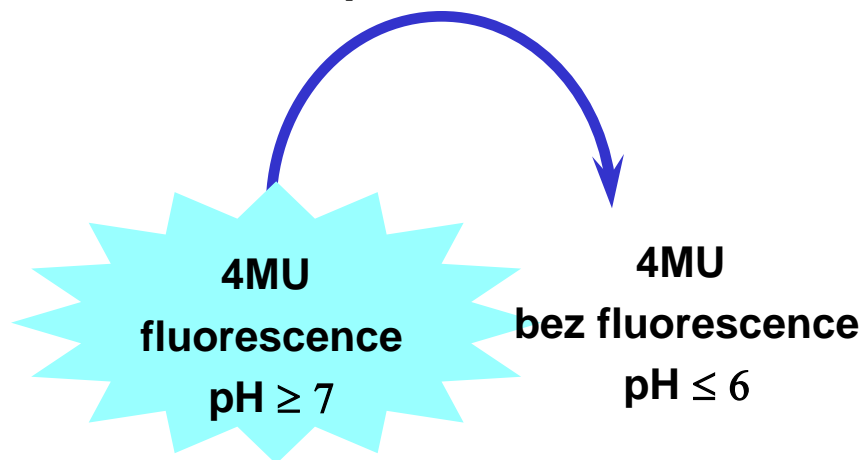
3 řady zkumavek – 16 zkumavek v jedné řadě

TEMPO TC: acidifikace

Total Coliforms (TC) – Stanovení celkového počtu koliformních MO

fluorescenční pH indikátor :4-Methylumbeliferon (4MU)

Acidifikace media způsobená rozkladem cukrů



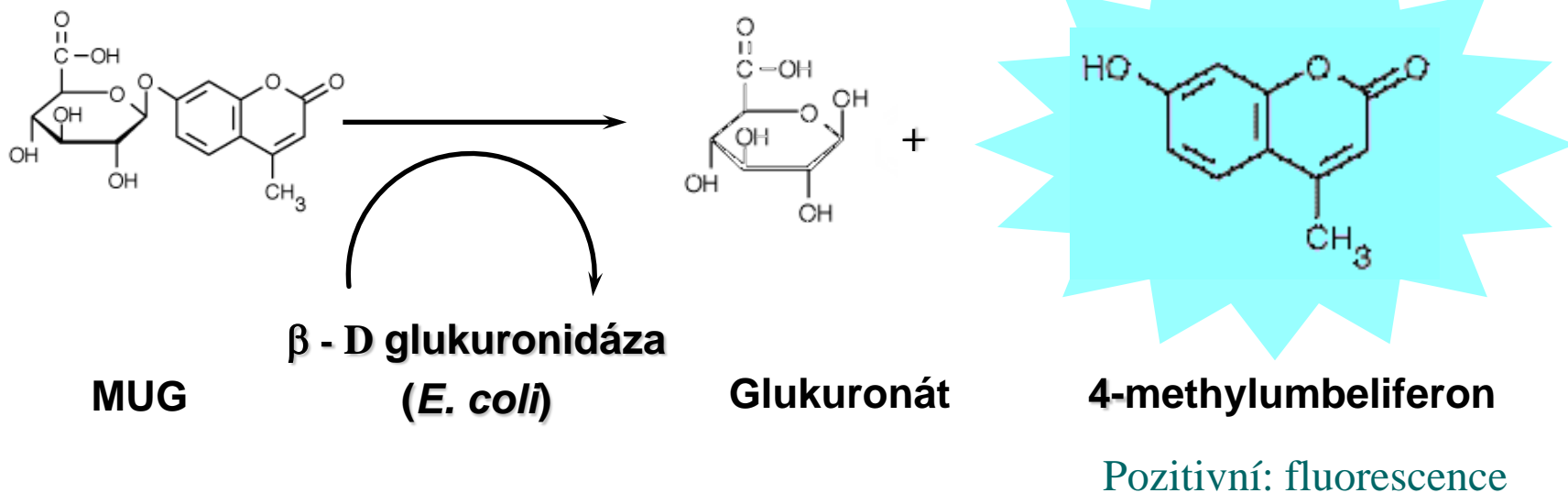
Pozitivní : není fluorescence

Negativní : fluorescence

TEMPO EC

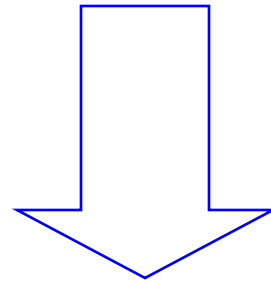
Stanovení počtu *E. coli*

specifický enzymatický substrát pro detekci *E. coli* :
4-methylumbeliferyl-D-glukuronid (MUG)



MPN kombinace

- - - + + - - - - - + - + - - -
- + + + + + + + + + + + + + + +
+ + + + + + + + + + + + + + +



16 / 15 / 4 $\xrightarrow[\text{ředění}]{\text{MPN tabulka} +}$ **cfu/g**

TEMPO System



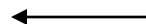
Příprava vzorku



Filler - Inokulace

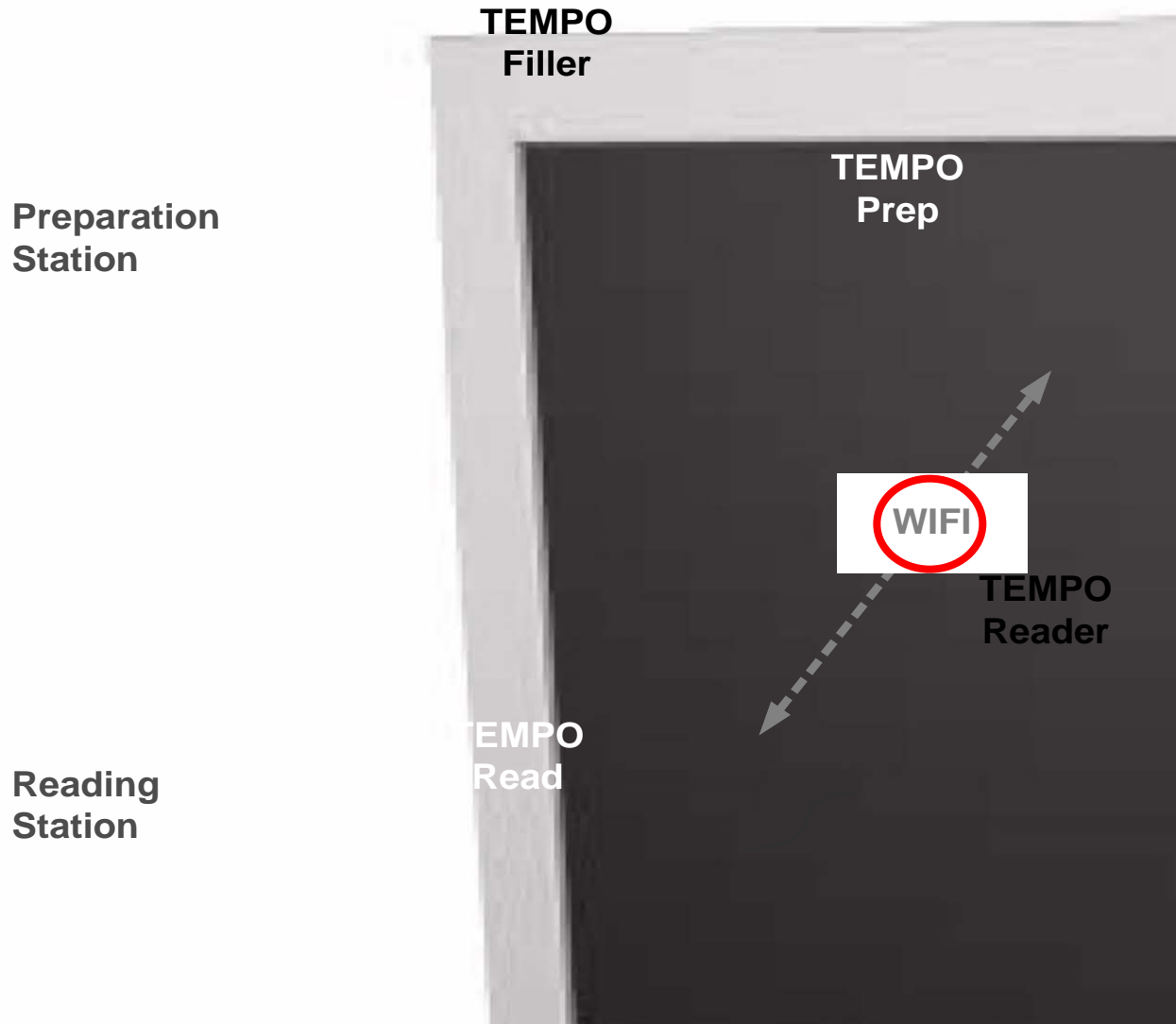


Reader – čtečka (interpretace výsledků)



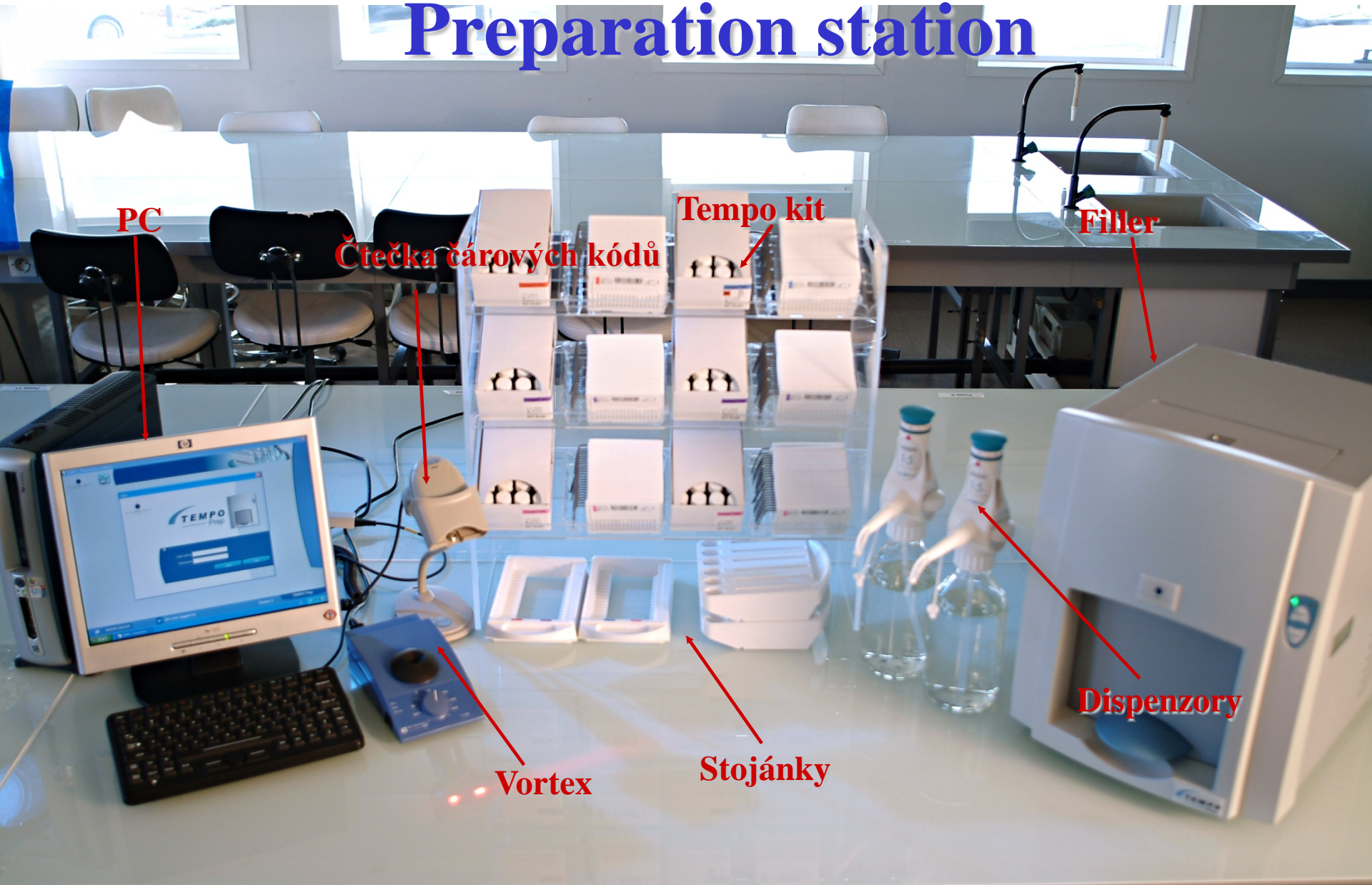
Inkubace

TEMPO System



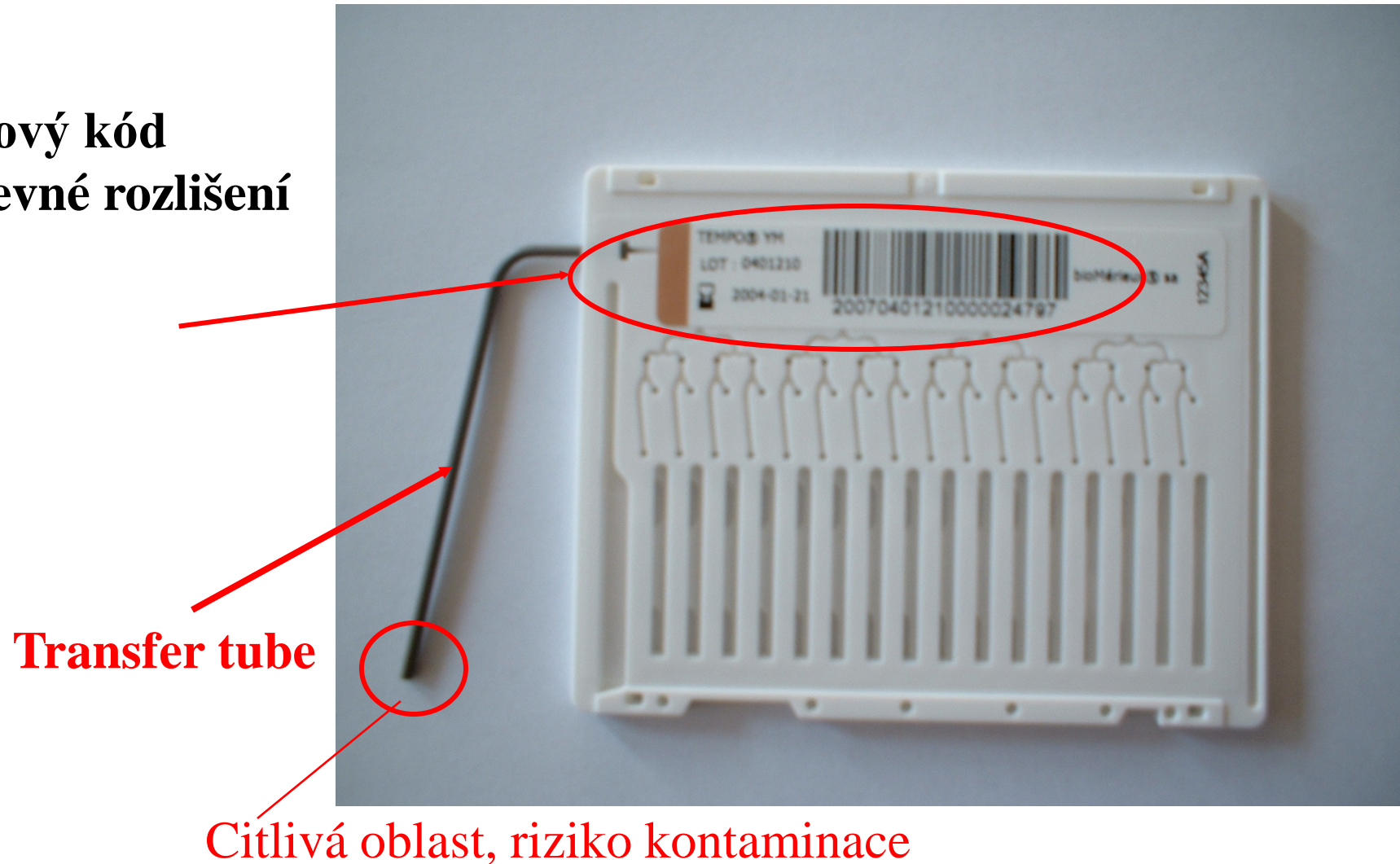
Plnicí stanice

Preparation station



TEMPO KIT - karta

- Čárový kód
- Barevné rozlišení



TEMPO KIT -Vialky s médiem

- Dehydratované médium

- Čárový kód
- Barevné rozlišení



+

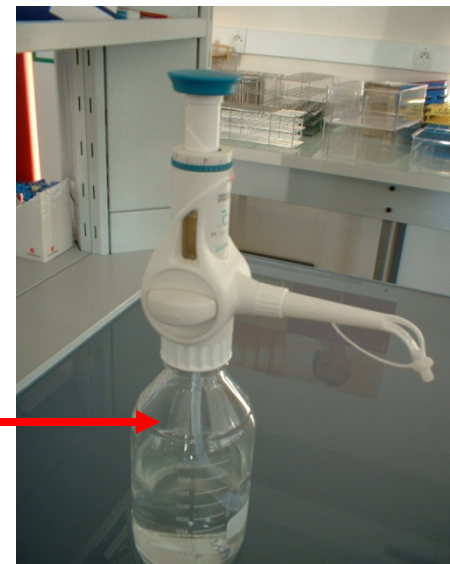


Vzorek potravin + PPV (10^{-1})

Ředící roztok

- Sekundární:
 - Destilovaná voda

STERILNÍ



Re-hydratace media ve vialce

ŘEDĚNÍ

EC

TC

Ředící roztok
(sekundární)

3 ml

3,9 ml

+

+

Vzorek
(1/10)

1 ml

0,1 ml

=

=

Celkový objem

4 ml

4 ml

Finalní ředění

1/40

1/400

Stanovení počtu - rozpětí

- Ředění 1/40:
 - 10 to 49 000 cfu/g
- Ředění 1/400:
 - 100 to 490 000 cfu/g
- Ředění 1/4000:
 - 1 000 to 4 900 000 cfu/g

Příprava -Filler

Čtečka čárových kódů



Filler



Přípravené vzorky do filleru

Inkubace

Inkubace

| | TEMPO °C /
24 - 27 h |
|-----------|---------------------------------|
| TC | 30°C +/- 1°C |
| EC | 37°C +/- 1°C |

TEMPO Prep




Version R1.0.0
Loading in progress, please wait...

Označení vzorku

TEMPO - Preparation Software

| Reference | Status | Creation date | Operator | Dilution |
|-----------|--------|---------------|----------|----------|
|-----------|--------|---------------|----------|----------|

Keyboard capture



Enter a barcode

13/02/04 03:22:25 smithp Station 1 TEMPO Prep

TEMPO Prep




Version R1.0.0

Loading in progress, please wait...

Načtení čárového kódu vialky

Available tests



| Kit | Test | Expiration date | Lot number |
|-----|-----------|-------------------------|------------|
| 04 | EC E.coli | Fri 09/03/2004 12:00 AM | 0409030 |

OK



Po naskenování karty



Reference

Status

Creation date

Operator

Dilution

Test recording



Sample Meat 12354-55

Test tvc Total Viable Count

Incubation 40:00

Card 20010505230000030353

Used as

First card of a new test

Requested on Fri 03/11/2005 02:14 PM

By admin

Dilution 1/ 400

Number of cards 1



OK

Cancel

Nastavení
ředění



13/02/04 03:22:25

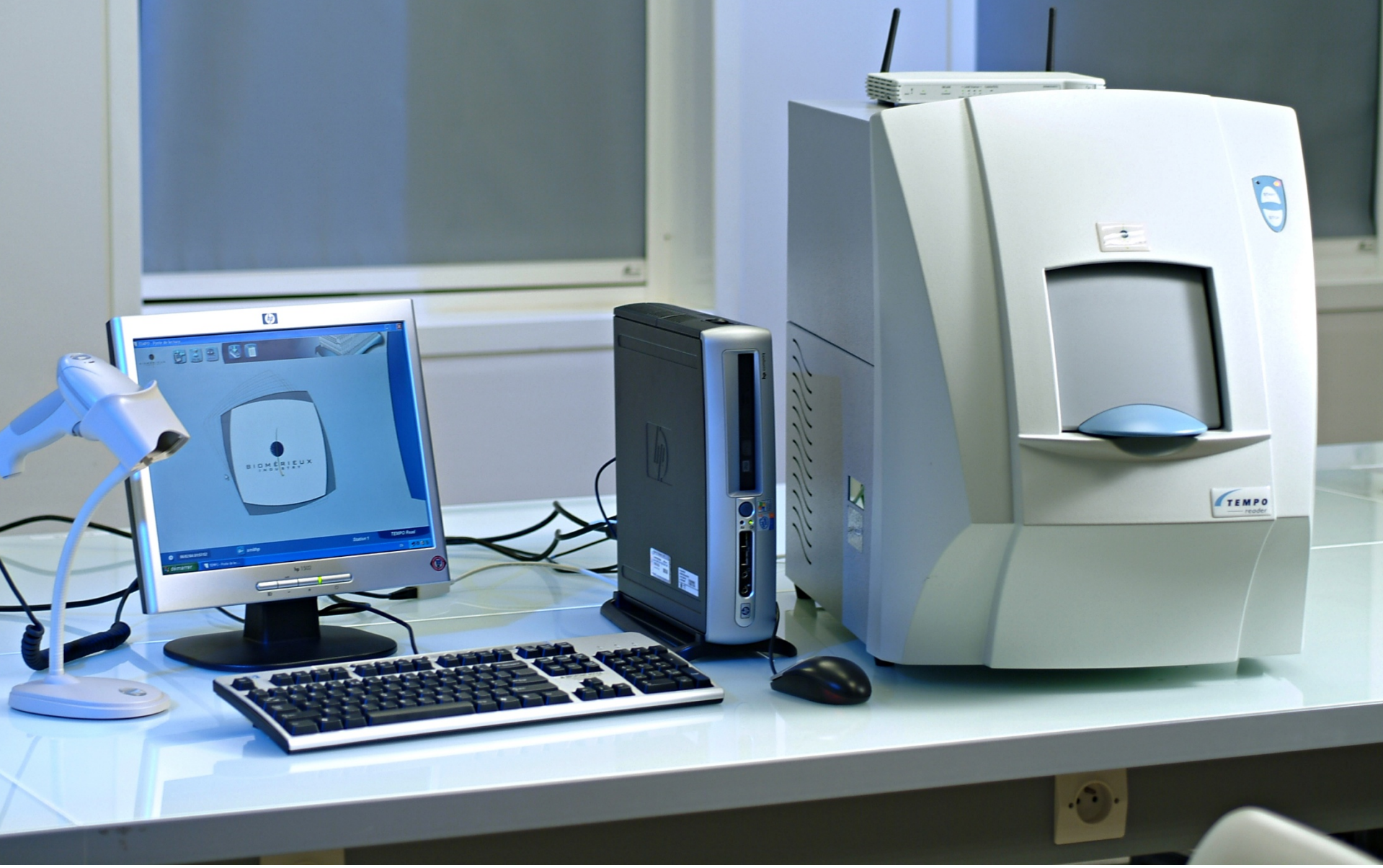


smithp

Station 1

TEMPO Prep

Čtecí stanice



TEMPO Read



Version R1.1.0
Loading in progress, please wait

TEMPO - Reading Software

F1 F2 F3 F4 F5

F2

04/02/04 06:04:03 smithp Station 1 TEMPO Read

Kontola doby inkubace

TEMPO - čtečka



TEMPO - Reading Software

BIOMERIEUX

Filter on Tests Loading completed

Display with or without result(s) Produced between And

Display validated or not

| Sample | Test | Prepared on | By | CFU/g | Status | Annotations | Validated |
|---------------|------|-------------------------|-------|--------------|--------|-------------|-----------|
| Meat 12354-55 | TVC | Fri 03/11/2005 02:14 PM | admin | 5.3 E4 CFU/g | | | |

Comment

| Code | Severity | Meaning |
|------|----------|---------|
|------|----------|---------|

3/11/05 2:18:06 PM admin Station 1 TEMPO Read