



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

KA 2340/1-4 Detekce bakterií r. *Salmonella* v potravinách metodou ELFA s využitím přístroje miniVIDAS[®]

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP

VIDAS[®] *Salmonella* (SLM, SPT) je automatizovaný kvalitativní test pro použití na přístrojích VIDAS[®] k detekci salmonel ve vzorcích potravin a vzorcích odebraných z prostředí pomocí techniky ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

VIDAS[®] *Salmonella* (SLM), enzymová screeningová technika založená na imunologických testech, využívá k detekci salmonely ve vzorcích směs vysoce specifických zachytávacích protilátek proti povrchovým antigenům salmonel (somatickým i bičíkovým), což umožňuje detekci pohyblivých i nepohyblivých salmonel.

Metoda SLM je certifikována AFNOR VALIDATION (BIO 12/16-09/05) jako alternativní metoda analýzy pro všechny produkty určené lidské výživě nebo jako krmivo a pro vzorky prostředí (vyjma primární produkce).

Je možná detekce salmonely v prostředí a v potravinách: vejce, hovězí, vepřové, drůbeží maso, ryby, plody moře, mléčné výrobky, sýry, sušené mléko, cukrovinky, čokoláda, ovocné džusy, ovoce, zelenina, koření, ořechy, sojová mouka, kvasnice, želatina, těstoviny.

VIDAS[®] *Salmonella* (SPT) je enzymová imunoanalýza založená na detekci fágových receptorů salmonel. Technologie zahrnující rekombinantní fágové proteiny umožňuje detekci pohyblivých i nepohyblivých salmonel.

Metoda SPT je certifikována NF VALIDATION (BIO-12/32-10/11) jako alternativní metoda pro analýzu všech potravin pro lidskou spotřebu (kromě sýrů z nepasterovaného mléka), zvířecích krmiv a vzorků výrobního prostředí.

Složení testu:

- 1) SPR[®] - komůrka s pevnou fází
- 2) Reagenční strip

SPR[®]: slouží jako pevná fáze a zároveň jako pipetovací pomůcka. Na vnitřní plochu SPR[®] jsou během výroby adsorbovány protilátky proti povrchovým antigenům salmonel (SLM) nebo proteiny specifické pro fágové receptory salmonel (SPT). Reakční médium je opakovaně vhnáno dovnitř SPR[®] a ven.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Reagenční strip:

1. jamka pro vzorek: aplikuje se 500 µl obohacené půdy/standardu/kontroly.

2., 3., 4., 5., 7., 8., 9. jamka – předmývací/promývací roztok: fyziologický roztok pufrovaný TRIS (TBS), Tween, konzervans.

6. jamka – konjugát: protilátka (SLM)/protein specifický pro receptory salmonel (SPT) s navázanou alkalickou fosfatázou, konzervans.

10. jamka – odečítací kyveta se substrátem 4-methylumbelliferylfosfát, diethanolamin, konzervans.

Fluorescence vzniklého produktu 4-methylumbelliferon se měří fotodiodovým fluorimetrem při 450 nm.

Výsledek: POZITIVNÍ / NEGATIVNÍ.

Pracovní postup - SLM:

- Předběžné pomnožení – asepticky přidejte 25 g (25 ml) vzorku do 225 ml pufrované peptonové vody. Smíchejte v sáčku typu Stomacher. Inkubujte 16 až 22 h při teplotě 37 ± 1 °C.
- Pomnožení – po inkubaci přeneste 0,1 ml suspenze do 10 ml půdy Xpress broth (SX2 broth). Inkubujte 22 až 26 h při teplotě $41,5 \pm 1$ °C.
- Po inkubaci homogenizujte půdu SX2. 1 – 2 ml SX2 půdy zahříváte po dobu 15 ± 1 minut při teplotě 95 – 100 °C. Poté zchlaďte.
- Do reagenčního stripu napipetujte 0,5 ml inaktivované suspenze a proveďte test VIDAS[®] *Salmonella*. Půdu SX2 uchovejte při teplotě 2 až 8 °C pro případ, že se bude vyžadovat potvrzení výsledku.

Pracovní postup - SPT:

- Předběžné pomnožení – asepticky přidejte 25 g (25 ml) vzorku do 225 ml pufrované peptonové vody obsahující 1 ml suplementu. Smíchejte v sáčku typu Stomacher. Inkubujte 18 až 24 h při teplotě $41,5 \pm 1$ °C.
- (Pouze u mléčných výrobců: pomnožení – po inkubaci přeneste 1 ml suspenze do 10 ml půdy Xpress broth (SX2 broth). Inkubujte 6 až 8 h při teplotě $41,5 \pm 1$ °C.)
- Po inkubaci homogenizujte pomnožený vzorek. 1 – 2 ml SX2 půdy zahříváte po dobu 5 ± 1 minut při teplotě 95 – 100 °C. Poté zchlaďte.
- Do reagenčního stripu napipetujte 0,5 ml inaktivované suspenze a proveďte test VIDAS[®] *Salmonella*. Pufrovanou peptonovou vodu, popř. SX2, uchovejte při teplotě 2 až 8 °C pro případ, že se bude vyžadovat potvrzení výsledku.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Potvrzení pozitivních výsledků:

Všechny pozitivní výsledky získané testem VIDAS[®] *Salmonella* musí být potvrzeny!

Potvrzení je nutno provést pomocí půdy SX2 a je nutno jej zahájit do 72 h po ukončení inkubace selektivní půdy při teplotě $41,5 \pm 1$ °C.

Izolujte na selektivním agaru, inkubujte dle doporučených inkubačních podmínek a potvrďte podle ČSN EN ISO 6579 (2003) Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*.