



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 stafylokokových enterotoxinů v potravinách metodou ELFA s využitím přístroje miniVIDAS

Návody na cvičení

Stafylokokové enterotoxiny

Za vznik jednoho z nejčastějších onemocnění z potravin typu alimentární intoxikace – stafylokokové enterotoxikózy jsou zodpovědné stafylokokové enterotoxiny (SEs), jejichž značení SEA - SEU koresponduje s označením genů *sea* - *seu*. Schopnost produkovat SEs je prokázána u 50-60 % kmenů *S. aureus*. SEs vznikají v potravině jako metabolické produkty při množení těchto bakterií. Je známo 22 typů SEs - pět tzv. klasických stafylokokových enterotoxinů SEA, SEB, SEC (SEC1, SEC2, SEC3), SED, SEE je nejčastěji zodpovědných za otravu z potravin projevující se nevolností, zvracením, bolestmi břicha, průjmem (bez horečky) a bolestmi hlavy. Příznaky onemocnění se objevují za 1-6 hodin po konzumaci potravin.

Princip metody

Plně automatický systém založený na metodě ELFA (enzyme-linked immunofluorescent assay) využívá přístroj MiniVIDAS (Vitek Immuno Diagnostic Assay System). ELFA je založena na specifické reakci antigen-protilátka.

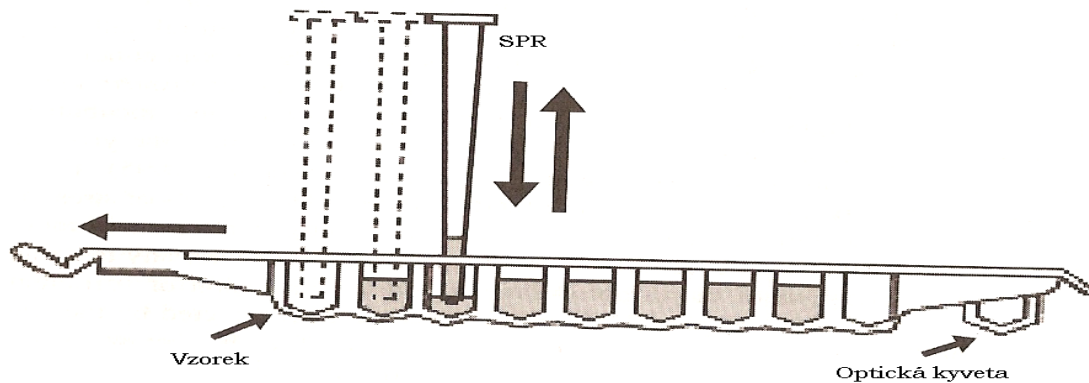
Testy využívané přístrojem MiniVIDAS se skládají ze dvou částí. První částí jsou „pipety“, označované jako **komůrka s pevnou fází (SPR)**, jejichž vnitřní část je potažena protilátkou specifickou k hledanému antigenu. Druhou částí je **reagenční strip** složený z deseti jamek (obrázek 1). První z nich je prázdná, do ní se pipetuje vzorek. Dalších osm jamek obsahuje promývací roztoky nebo reagenční roztoky, konjugát z části tvořený alkalickou fosfatázou a substrát 4-methyl-umbelliferyl fosfát. Hledaný antigen se naváže na protilátku uvnitř SPR a v průběhu promývacích kroků se odstraní nenavázané složky vzorku. Fluorogenický substrát 4-methyl-umbelliferyl fosfát používaný v testu je enzymem alkalickou fosfatázou navázanou na komplex antigen-protilátka konvertován na fluorescentní produkt 4-methyl-umbelliferon (obrázek 2). Poslední jamka stripu je optická kyveta, ve které je změřena intenzita fluorescence pomocí fotodiodového fluorimetru.

VIDAS SET 2 (bioMérieux, Francie) je test používaný přístrojem MiniVIDAS pro detekci SEs (SEA – SEE) v potravinách. Nevýhodou je, že SEs přítomné ve vzorku jsou detekovány jako suma a přístroj určí pouze jejich přítomnost či nepřítomnost. Z výsledků nelze vyvodit, který typ SE je ve vzorku přítomen. Detekční limit je 0,5 – 1,0 ng SE.g⁻¹ (ml⁻¹) vzorku s ohledem na typ SE a druh potravin.

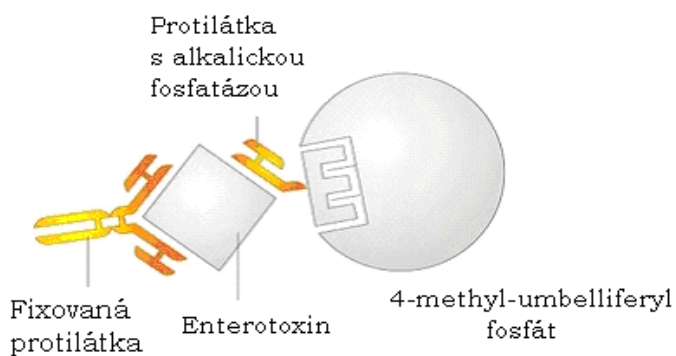
Příprava vzorku trvá přibližně minut.

Analýza vzorků přístrojem VIDAS trvá přibližně minut.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Obrázek 1: MiniVIDAS reagenční strip s komůrkou s pevnou fází (SPR), (Baylis, 2003)



Obrázek 2: Komplex antigen-protilátka s imobilizovaným enzymem (bioMérieux, Francie)



Obrázek 3: Přístroj VIDAS® veškeré kroky testu provádí automaticky, do přístroje se vkládá „špička“ SPR® a reagenční strip, na konci analýzy přístroj výsledky vytiskne