



ARGENTA

Monitoring środowiska produkcyjnego żywności



Agenda

1. Bezpieczeństwo i higiena żywności - definicja
2. Wybrane podstawy prawne
3. GHP, GMP, HACCP
4. Źródła zakażenia mikrobiologicznego
5. Monitoring środowiska produkcyjnego
6. Metody pobierania próbek zgodnie z ISO 18593:2018-08
7. Szybkie metody monitorowania obecności mikroorganizmów na powierzchni za pomocą wymazówek
8. Technika PCR
9. Analiza wyników



Bezpieczeństwo żywności

Bezpieczeństwo zdrowotne żywności jest definiowane przez Kodeks Żywnościowy (*Codex Alimentarius*).

Codex Alimentarius wskazuje, że bezpieczeństwo zdrowotne żywności to zapewnienie, że żywność nie spowoduje uszczerbku na zdrowiu konsumenta, jeśli jest przygotowywana i/lub spożywana zgodnie z zamierzonym zastosowaniem.

Poprzez zbiór wytycznych i rekomendacji Kodeks Żywnościowy reguluje obszar produkcji pierwotnej żywności, nadzór sanitarny nad procesami produkcyjnymi, stan sanitarny zakładów, higienę pracowników i wiele innych.



ARGENTA

Higiena żywności

Codex Alimentarius definiuje **higienę żywności** jako całość warunków oraz działań, które mają zapewnić bezpieczeństwo i odpowiednie właściwości żywności na wszystkich etapach jej produkcji.

Zgodnie z definicją podaną w ustawie o bezpieczeństwie żywności i żywienia **Dobra Praktyka Higieniczna** to działania, które muszą być podjęte i warunki higieniczne, które muszą być spełnione i kontrolowane na wszystkich etapach produkcji lub obrotu, aby zapewnić bezpieczeństwo żywności



ARGENTA

Bezpieczeństwo żywności – ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia (Dz.U z 2006r. Nr 171 poz.1225)

Polska **ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia** z dnia 25 sierpnia 2006 r. definiuje **bezpieczeństwo żywności** jako „ogół warunków, które muszą być spełniane, dotyczących w szczególności:

- a) stosowanych substancji dodatkowych i aromatów,
- b) poziomów substancji zanieczyszczających,
- c) pozostałości pestycydów,
- d) warunków napromieniania żywności
- e) cech organoleptycznych,

i działań, które muszą być podejmowane na wszystkich etapach produkcji lub obrotu żywnością – w celu **zapewnienia zdrowia i życia człowieka**”



ARGENTA

Rozporządzenie komisji (WE) nr 2073/2005

Dopuszczalne poziomy zanieczyszczeń drobnoustrojami w żywności określa **Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005** z dnia 15 listopada 2005 r. (Dz. U. L 338 z 22.12.2005, s. 1 z późniejszymi zmianami) w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych wprowadza pojęcie kryterium mikrobiologicznego, odnoszącego się zarówno do bezpieczeństwa samego produktu żywnościowego, jak i **higieny procesu** jego wytwarzania.



ARGENTA

Rozporządzenie komisji (WE) nr 2073/2005 – kryterium mikrobiologiczne

Kryterium mikrobiologiczne oznacza wymaganie pozwalające na akceptację produktu, partii środków spożywczych lub procesu na podstawie braku, obecności lub liczby mikroorganizmów i/lub ilości ich toksyn lub metabolitów w jednostce masy, objętości, na powierzchni lub w partii

Rodzaj żywności	Mikroorganizmy	Plan pobierania próbek (1)		Limity (2)		Referencyjna metoda badania (3)	Etap stosowania kryterium	Działanie w wypadku niezadawalających wyników
		n	c	m	M			
2.1.4. Tusze wieprzowe	<i>Salmonella</i>	50 (5)	5 (6)	Brak w badanym obszarze na jedną tuszę		EN/ISO 6579	Tusze po wytrzewieniu, ale przed schłodzeniem	Poprawa higieny uboju oraz przegląd środków kontrolnych procesu, pochodzenia zwierząt i środków bezpieczeństwa biologicznego w gospodarstwie.
▼M3 2.1.5. Tusze drobiowe brojlerów i indyków	<i>Salmonella</i> spp. (10)	50 (5)	7 (6) Od 1.1.2012 r. c = 5 dla brojlerów Od 1.1.2013 r. c = 5 dla indyków	Nieobecne w 25 g zbiorczej próbki skóry szyi		EN/ISO 6579 (wykrywanie)	Tusze po schłodzeniu	Poprawa higieny uboju oraz przegląd środków kontrolnych procesu, pochodzenia zwierząt i środków bezpieczeństwa biologicznego w gospodarstwach pochodzenia
▼M1 2.1.6. Mięso mielone	Liczba bakterii tlenowych (7)	5	2	5×10^5 jtk/g	5×10^6 jtk/g	ISO 4833	Koniec procesu produkcji	Poprawa higieny produkcji oraz poprawa selekcji i/lub pochodzenia surowców.
	<i>E. coli</i> (8)	5	2	50 jtk/g	500 jtk/g	ISO 16649-1 lub 2	Koniec procesu produkcji	Poprawa higieny produkcji oraz poprawa selekcji i/lub pochodzenia surowców.
2.1.7. Mięso odkostnione mechanicznie (MOM) (9)	Liczba bakterii tlenowych	5	2	5×10^5 jtk/g	5×10^6 jtk/g	ISO 4833	Koniec procesu produkcji	Poprawa higieny produkcji oraz poprawa selekcji i/lub pochodzenia surowców.
	<i>E. coli</i> (8)	5	2	50 jtk/g	500 jtk/g	ISO 16649-1 lub 2	Koniec procesu produkcji	Poprawa higieny produkcji oraz poprawa selekcji i/lub pochodzenia surowców.

Tab. 1. Przykładowe kryteria higieny procesu

(22) Badanie próbek środowiska, w którym odbywa się produkcja i przetwarzanie, może być użytecznym narzędziem wykrywania i przeciwdziałania obecności mikroorganizmów chorobotwórczych w środkach spożywczych



ARGENTA

System kontroli żywności w Polsce

System kontroli zewnętrznej

Niezależny od producenta

Sprawowany przez organy urzędowej kontroli żywności

System kontroli wewnętrznej

Zależny od producenta

Prowadzonym w danym zakładzie

Bazujący na zasadach GMP i GHP oraz na systemie HACCP

GMP - Dobra Praktyka Produkcyjna

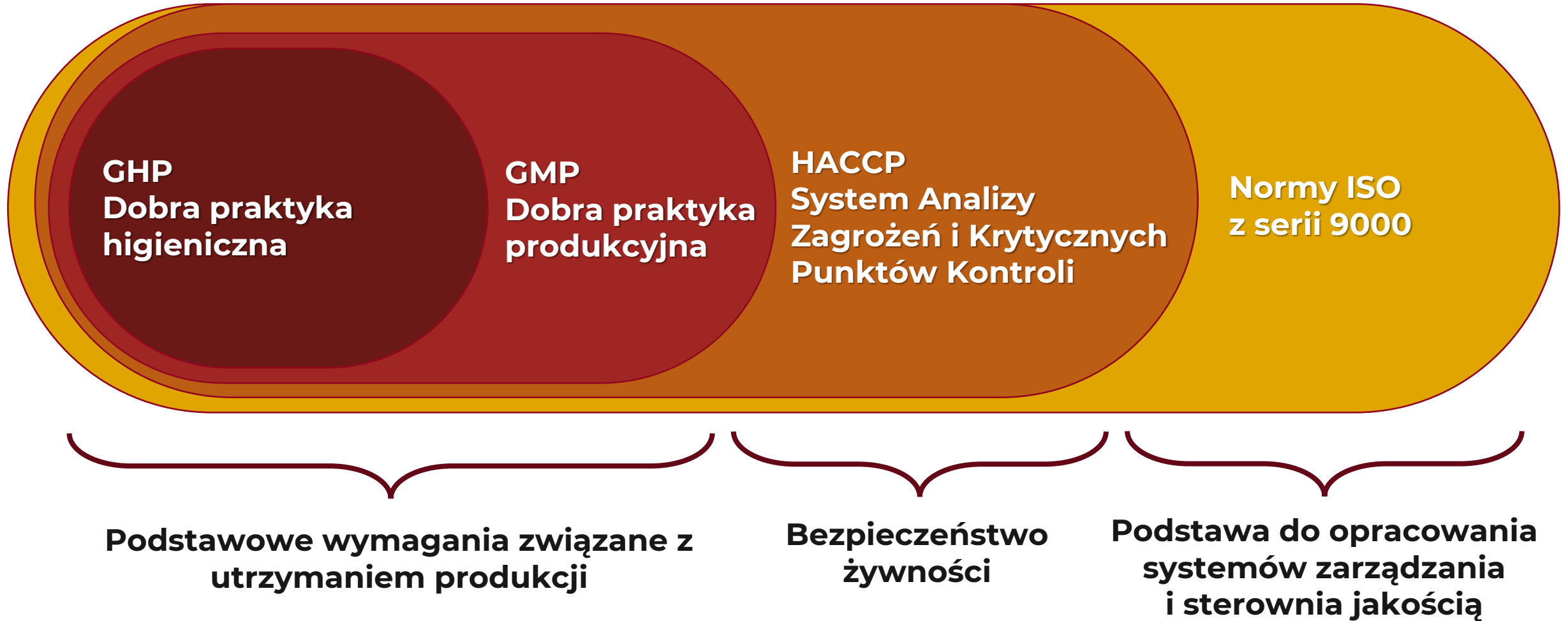
GHP – Dobra Praktyka Higieniczna

HACCP – Analiza Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli



ARGENTA

Narzędzia do zapewnienia bezpieczeństwa i jakości żywności



GHP - Dobra Praktyka Higieniczna

GHP to zasady i procedury stosowane w celu zapewnienia czystości i bezpieczeństwa w miejscach, gdzie produkowane, przechowywane lub serwowana jest żywność. GHP wskazuje jakie działania muszą być podjęte i spełnione warunki higieniczne na wszystkich etapach produkcji żywności

Czystość

- Wszystkie powierzchnie, narzędzia i urządzenia są regularnie czyszczone i dezynfekowane.

Zabezpieczenie przed szkodnikami

- Zapobieganie obecności szkodników, takich jak myszy, karaluchy czy owady.

Bezpieczne przechowywanie żywności:

- Żywność jest przechowywana w odpowiednich warunkach, aby zapobiec jej zepsuciu lub zanieczyszczeniu.

Higiena osobista

- Osoby zajmujące się żywnością utrzymują wysokie standardy czystości osobistej oraz zapewnione są środki ochrony indywidualnej

Szkolenie pracowników

- Wszyscy pracownicy są regularnie szkoleni w zakresie higieny i bezpieczeństwa żywności oraz znają procedury w zakładzie.



GMP - Dobra Praktyka Produkcji

GMP to zestaw zasad i wytycznych, które gwarantują, że produkty są konsekwentnie produkowane i kontrolowane zgodnie z ustalonymi standardami jakości. Celem GMP jest zapewnienie, że produkty są bezpieczne i spełniają wymagane standardy jakości. Jest to niezwykle ważne dla ochrony konsumentów i utrzymania zaufania do produktów i marek.

Dokumentacja

- Wszystkie procedury i zmiany muszą być dobrze udokumentowane, tak aby można było śledzić cały proces produkcji i zapewnić jego przejrzystość.

Procedury kontrolne

- Istnieje system zapewniający, że każda partia produktu jest konsekwentnie produkowana na wysokim poziomie jakości.

Higiena

- Zarówno środowisko produkcyjne, jak i personel muszą utrzymywać wysokie standardy higieny.

Sprzęt

- Maszyny i urządzenia używane w produkcji muszą być odpowiednie do zadania i regularnie serwisowane oraz kalibrowane.

Zgłaszanie problemów

- Istnieje system umożliwiający zgłaszanie i rozwiązywanie problemów, które mogą wpływać na jakość produktu.



GHP i GMP – nierozzerwalny duet w monitoringu żywności

Dobra Praktyka Higieniczna i Dobra Praktyka Produkcji mają wiele wspólnych elementów, szczególnie jeśli chodzi o utrzymanie higieny i bezpieczeństwa. Różnice polegają głównie na 3 elementach, dzięki czemu podejścia te dobrze się dopełniają.

Zakres

- GHP jest często skupiona na aspektach higieny, takich jak czystość, dezynfekcja i bezpieczne przechowywanie żywności. GMP ma szerszy zakres, obejmujący cały proces produkcji - od surowców, przez obróbkę, aż po kontrolę jakości gotowego produktu.

Sektor

- GHP jest najczęściej wykorzystywane w sektorach związanych z żywnością, gdzie czystość jest kluczowa. GMP jest stosowane w wielu różnych sektorach, w tym przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, spożywczym i innych, gdzie konsekwencja i jakość produktu są kluczowe.

Kontrola jakości

- GMP ma silny nacisk na kontrolę jakości i zapewnienie, że każda partia produktu jest konsekwentnie produkowana na wysokim poziomie jakości. Chociaż GHP również może wpływać na jakość, głównym celem jest zapewnienie bezpieczeństwa i higieny.



HACCP - Analiza Zagrożeń i Krytyczne Punkty Kontroli

HACCP to system zarządzania bezpieczeństwem żywności, który ma na celu zapobieganie zagrożeniom dla bezpieczeństwa żywności, zamiast reagowania na nie po fakcie. Istotą HACCP jest identyfikacja i ocena wszelkich potencjalnych zagrożeń dla bezpieczeństwa żywności, które mogą wystąpić w trakcie jej produkcji, przetwarzania, dystrybucji czy konsumpcji. Zagrożenia te mogą obejmować mikroorganizmy chorobotwórcze, zanieczyszczenia chemiczne czy ciała obce.

Identyfikacja zagrożeń

- Zidentyfikowanie wszystkich potencjalnych zagrożeń, które mogą wpływać na bezpieczeństwo żywności w danym procesie. To mogą być zagrożenia biologiczne (np. bakterie, wirusy), chemiczne (np. pestycydy, metale ciężkie) lub fizyczne (np. kawałki szkła lub metalu).

Krytyczne Punkty Kontroli (KPK)

- Znajomość zagrożeń umożliwia określenie punktów w procesie, w których te zagrożenia mogą być kontrolowane. Dla każdego KPK muszą być określone graniczne wartości, które muszą być spełnione, aby zagrożenie było skutecznie kontrolowane. Zdefiniowane KPK i limity są następnie stale monitorowane

Prowadzenie działań korygujących

- Jeżeli monitorowanie wykazuje, że krytyczny limit nie jest spełniony, muszą być podjęte działania korygujące, aby naprawić problem i zapewnić, że żywność jest bezpieczna.



Normy ISO z serii 9000

Normy ISO z serii 9000 są używane w kontekście badań żywności do zapewnienia wysokiej jakości i zachowania powtarzalności procesów badawczych oraz spełnienia wymagań klientów. Chociaż normy nie dotyczą bezpośrednio bezpieczeństwa produkcji, to jednak jako system zarządzania jakością wpływają na cały proces i jego poprawny przebieg.

ISO 9000

- Norma definiuje podstawowe terminy i zasady związane z zarządzaniem jakością. Choć nie zawiera konkretnych wymagań, dostarcza ogólnej wiedzy na temat systemów zarządzania jakością i może być użyteczna w zrozumieniu i wdrażaniu innych norm z serii 9000. Rozszerzeniem normy ISO 9000 jest ISO 90003, której celem jest dostarczenie wskazówek dotyczących wdrożenia systemów zarządzania jakością w zakresie tworzenia, dostarczania i utrzymania oprogramowania.

ISO 9001

- Norma nakłada wymagania dotyczące dokumentacji, co jest niezwykle istotne w przypadku badań żywności. Badania muszą być odpowiednio udokumentowane, włączając w to protokoły, metody, wyniki, środki kontroli jakości i inne informacje istotne dla procesu badawczego.

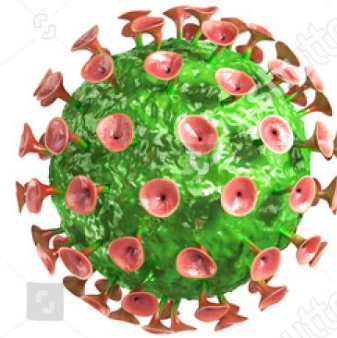
ISO 9004

- Norma dotyczy zarządzania jakością i doskonalenia organizacyjnego. Pomaga organizacjom w rozszerzeniu podejścia do zarządzania jakością, koncentrując się na osiągnięciu trwałej doskonałości. W kontekście badań i monitoringu żywności, ISO 9004 może dostarczyć wskazówek dotyczących doskonalenia procesów, innowacji i doskonalenia jakości.



Źródła zagrożeń mikrobiologicznych w zakładzie produkcyjnym:

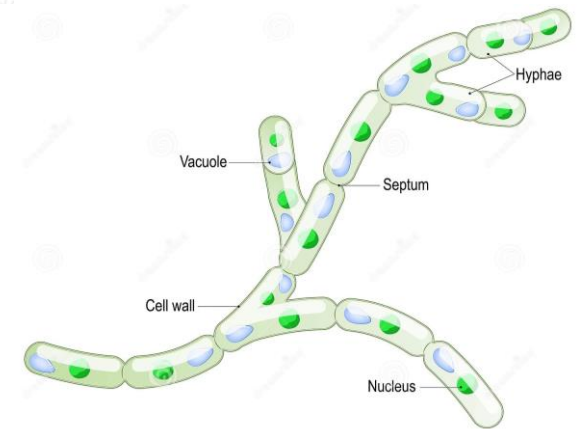
- mikroflora pierwotna produktów zwierzęcych i roślinnych (mięso, ryby, mleko, jaja, warzywa, owoce)
- mikroflora surowców dodatkowych (sól, cukier, przyprawy)
- mikroflora środowiska i urządzeń produkcyjnych
- higiena personelu produkcyjnego
- woda używana do produkcji i mycia



Wirusy



Bakterie



Grzyby



Monitoring środowiska produkcyjnego

Monitorowanie środowiska to proces pobierania próbek i testowania w celu oceny ogólnego środowiska zakładu pod kątem patogenów, organizmów powodujących psucie się, mikroorganizmów wskaźnikowych oraz alergenów.

Dobrze „zaprojektowany” program monitorowania środowiska produkcyjnego, jako element Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP), jest niezwykle efektywnym narzędziem prewencyjnym, który zapobiega wystąpieniu zanieczyszczeń mikrobiologicznych produktu, a tym samym zmniejsza ryzyko jego wycofania z obrotu.



ARGENTA

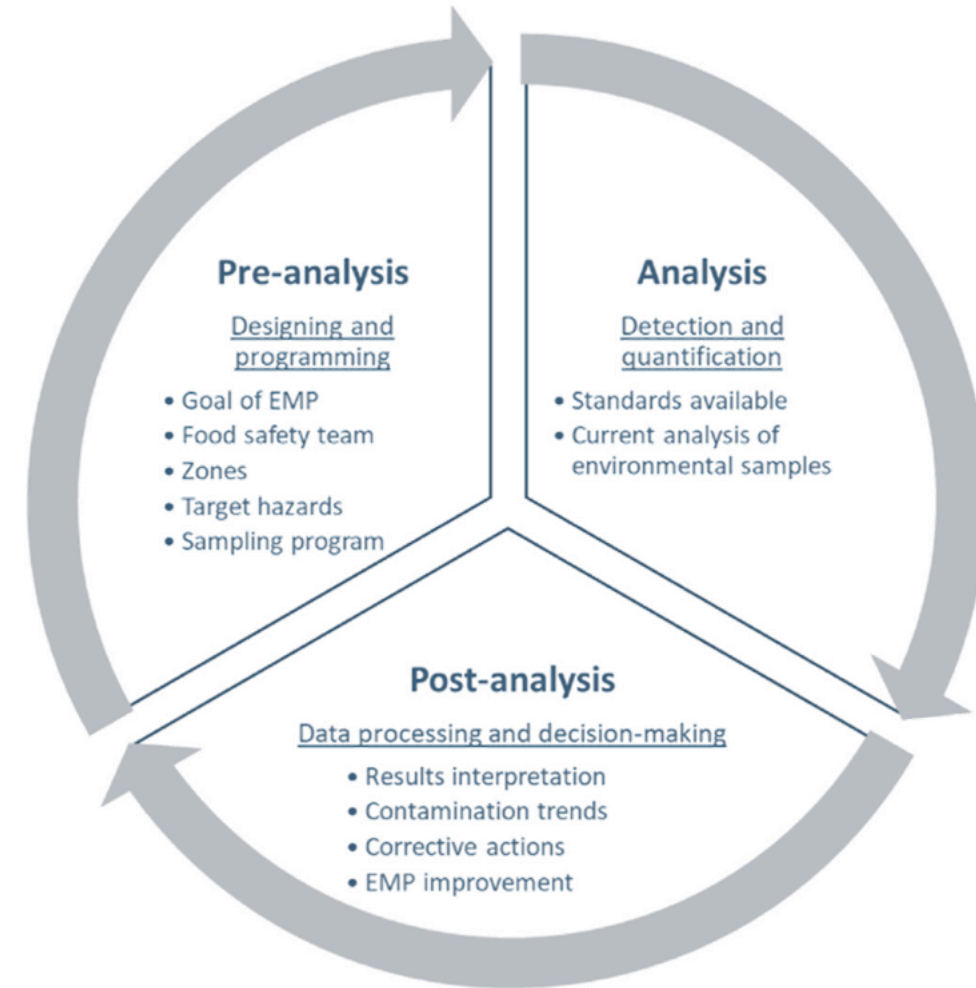
Monitoring środowiska produkcyjnego

Proces EMP można podzielić na 3 etapy:

- (1) Etap przedanalityczny: projektowanie i programowanie,
- (2) Etap analityczny: wykrywanie i analiza ilościowa oraz
- (3) Etap poanalityczny: przetwarzanie danych i wspomaganie podejmowania decyzji.

Cztery cele skutecznego EMP to:

- (1) określenie skuteczności procedur czyszczenia i dezynfekcji,
- (2) identyfikacja i monitorowanie obecności określonych patogenów, zarówno trwałych, jak i przejściowych,
- (3) poszerzenie wiedzy na temat ekologii drobnoustrojów w zakładach spożywczych oraz
- (4) identyfikacja potencjalnych źródeł zanieczyszczeń (DeVault, 2018; Spanu & Jordan, 2020).



ARGENTA

Gdzie pobierać próbki?

STREFA 4

Obszary oddalone od produkcji oraz produktu

- Szatnie
- Chłodnie
- Magazyny
- Pokoje socjalne
- Biura
- Toalety



Co miesiąc

STREFA 3

Miejsca przylegające do strefy 2, niemające bezpośredniego kontaktu z produktem.

- Elementy ruchome (wózki, skrzynki, palety)
- Ściany, podłogi, sufity
- Kratki wentylacyjne
- Odpływy



Co tydzień

STREFA 2

Powierzchnie robocze niemające bezpośredniego kontaktu z produktem, ale bezpośrednio sąsiadują ze strefą 1

- Panele sterownia
- Przyciski maszyn
- Obudowy i ścianki działowe
- Lodówki, półki



Co tydzień

STREFA 1

Powierzchnie robocze mające bezpośredni kontakt z produktem

- Mieszadła, młynki, krajalnice, Kuchenki
- Pojemniki, tace, worki
- Pracownicy



Co tydzień



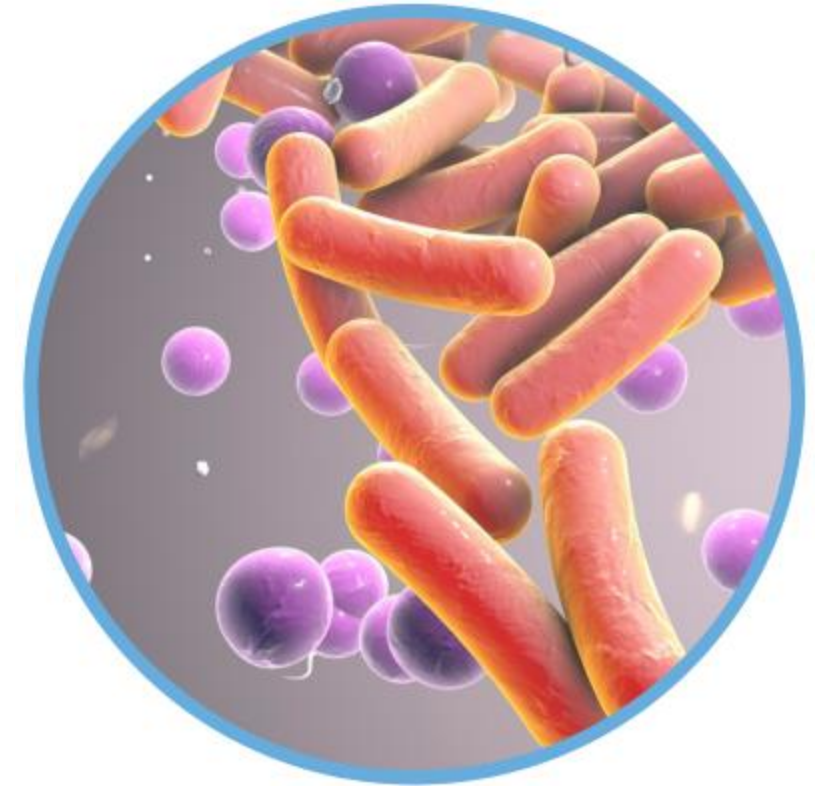
ARGENTA

Patogeny i mikroorganizmy wskaźnikowe

Cechy bakterii wskaźnikowych:

- muszą być stale obecne w przewodzie pokarmowym
- ich liczebność musi być duża
- ich identyfikacja musi być tania, łatwa i jak najszybsza
- przeżywalność nie może być krótsza niż organizmów chorobotwórczych
- nie powinny się namnażać w środowisku produkcji

Patogeny	Mikroorganizmy wskaźnikowe
<i>Salmonella</i>	Escherichia coli
<i>Listeria monocytogenes</i>	Bakterie grupy coli
<i>E. coli</i> O157:H7	Enterobacteriaceae
STEC	Pleśnie i drożdże
<i>Cronobacter</i> spp.	Ogólna liczba drobnoustrojów (OLD)



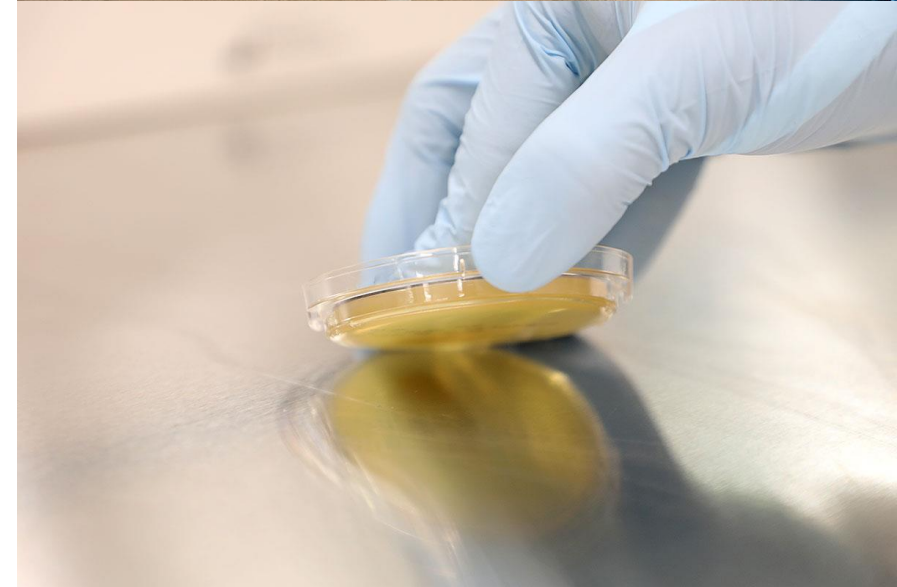
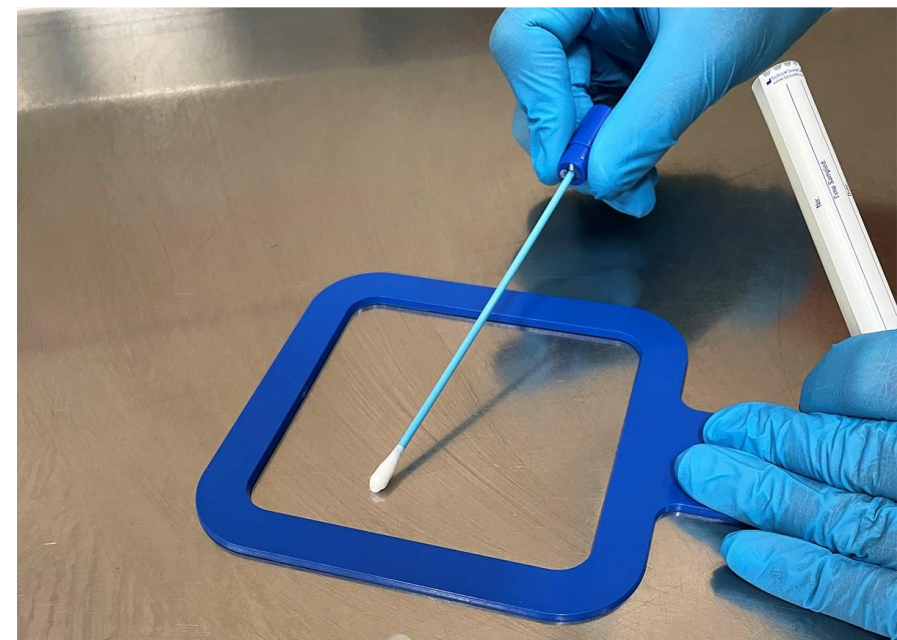
ARGENTA

PN-EN ISO 18593:2018-08

- Próbkę pobieramy z określonego obszaru, który jest reprezentatywny dla danej strefy. Rekomendowane jest, aby każdy obszar był dokładnie opisany i sparametryzowany.
- W celu zwiększenia prawdopodobieństwa wykrycia mikroorganizmów jeśli to możliwe, zaleca się pobranie próbki o powierzchni między 1000 cm² a 3000 cm².
- W celu zliczenia liczby mikroorganizmów wymaz należy pobrać z powierzchni mniejszej lub równej 100 cm²

Zgodnie z normą do poboru próbek można użyć:

- **płytek kontaktowych** – płaskie powierzchnie; 10 sekund, nacisk 500g;
- **wymazówek** - trudnodostępne i mniejsze obszary (≤ 100 cm²)
- **Tkanin i gąbek** - obszary powyżej 100 cm²



ARGENTA

Pobieranie próbek

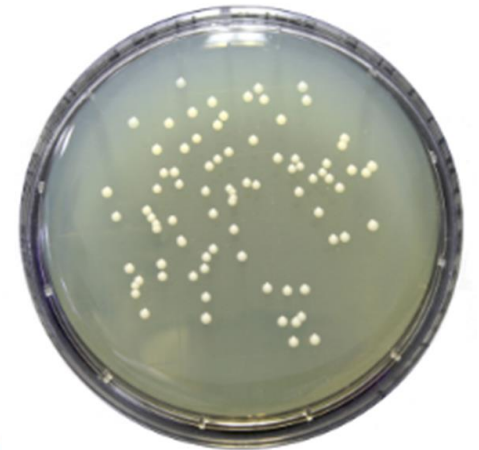
Płytki kontaktowe to płytki wypełnione odpowiednią pożywką agarową z meniskiem wypukłym, procedura polega na przyciśnięciu płytki do powierzchni poddawanej badaniu.



Gotowe wymazówki z pałeczkami drewnianymi lub z tworzywa sztucznego, zakończone tamponem z bawełny lub tworzywa sztucznego (sztuczny jedwab, alginian, nylon, dakron). Pakowane w sterylne opakowania pojedyncze (folia, probówki)

Gąbki - gładkie z tworzywa nie hamującego wzrost drobnoustrojów (np. z celulozy lub poliuretanu) o kształcie sześciangu, pakowane pojedynczo w sterylne woreczki.

Tkaniny - zwilżony i sterylny materiał niehamujący wzrost drobnoustrojów, pakowane pojedynczo w sterylne woreczki.

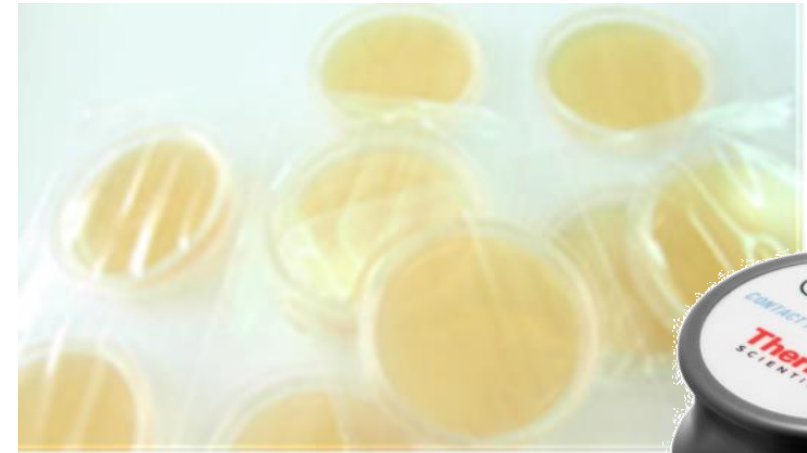


ARGENTA

Płytki kontaktowe

Technika pobierania:

- usunąć opakowanie
- Przycisnąć powierzchnią agaru do powierzchni badanej nie wykonując ruchów bocznych
- czas nacisku powinien wynosić 10 s. przy sile nacisku odpowiadającej masie 500g.
- można użyć aplikatora, który zapewni zachowanie parametrów badania
- Po pobraniu próbki płytkę kontaktową należy zamknąć i inkubować w warunkach odpowiednich dla badanego parametru
- Ważne jest aby po pobraniu wymazu powierzchnię umyć i zdezynfekować, żeby nie pozostawić na badanej powierzchni substancji odżywczych.



ARGENTA

Płytki kontaktowe

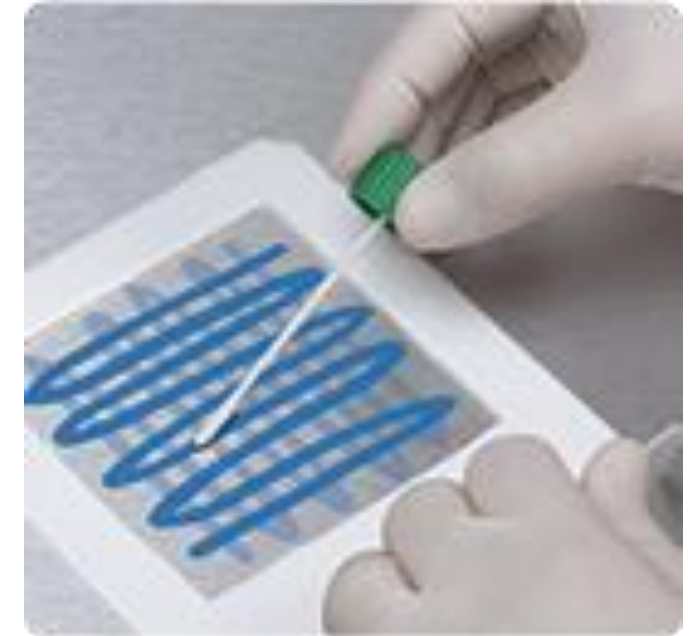
Rodzaj płytki kontaktowej typu Rodac; op. 10 szt	Numer katalogowy	Termin ważności
Columbia + krew barania, gotowa pożywka na płytkach	PB5084C	10 tyg.
MacConkey Agar No. 3, gotowa pożywka na płytkach	PO5053C	16 tyg.
Sabouraud glucose + chloramphenicol, gotowa pożywka na płytkach	PO5094C	12 tyg.
Tryptone Soya Agar + disinhibitor, gotowa pożywka na płytkach	PO5024C	15 tyg.
VRBG Agar, gotowa pożywka na płytkach.	PO5323C	12 tyg.
TSA+ neutralizatory, gotowa pożywka na płytkach, potrójnie pakowana ; op.10 szt	PO5511D	43 tyg.



ARGENTA

Pobieranie prób z powierzchni metodą wymazów

- W metodzie wymazów należy wyznaczyć określony obszar powierzchni do badania, precyzyjnie można to zrobić za pomocą szablonów.
- Prawidłowa technika pobierania wymazu polega na pobraniu wymazów w dwóch kierunkach (poziomo i pionowo) oraz na obracaniu wymazówką (pomiędzy kciukiem a palcem wskazującym) podczas pobierania.
- Po pobraniu wymazu umieszcza się go w rozcieńczalniku lub płynie z neutralizatorami.
- Większe powierzchnie należy badać zwilżoną gąbką lub tkaniną.



ARGENTA

Metody wymazów



Suche wymazówki

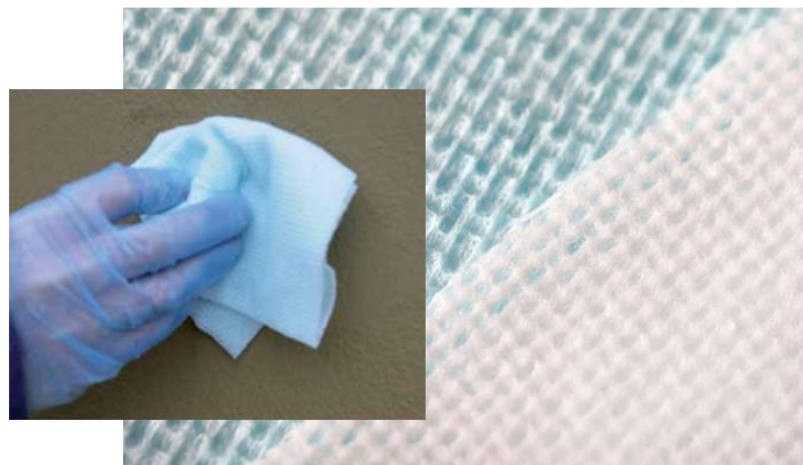


Transwab®



Gąbki do wymazów Polywipes™

Tkanina do wymazów



Contam Swabs



ARGENTA

PN-EN ISO 18593:2018-08

Pobrane próbki powinny być:

- **transportowane w temperaturze od 1 °C do 8 °C**
- **płytki kontaktowe** powinny być inkubowane w ciągu **48h** od pobrania próbki.
- **wymazówki/gąbki/tkaniny** – badanie w ciągu **24h** od pobrania próbki.

Płytki kontaktowe należy inkubować zgodnie z typem mikroorganizmu, a następnie określić liczbę wyrosłych kolonii bakteryjnych.

Do wymazówek/gąbek/tkanin dodać odpowiednią objętość rozcieńczalnika/pożywki. Próbkę zhomogenizować, inkubować w określonym czasie i temperaturze w zależności od rodzaju drobnoustroju. Dalsze badania prowadzić zgodnie z metodami ISO lub metodami alternatywnymi, zależnie od kierunku badań.

Oznaczanie ogólnej liczby mikroorganizmów – zgodnie z ISO 7218

Wykrywanie, detekcja i potwierdzenia określonych mikroorganizmów – zgodnie z odpowiednimi normami ISO lub wskazanymi metodami alternatywnymi.



ARGENTA

Częstotliwość badań

Liczba próbek jest określana na podstawie indywidualnej wiedzy specjalistycznej i jest różna dla poszczególnych zakładów.

Ogólnie rzecz biorąc, częstotliwość pobierania próbek i liczba próbek dla patogenów, mikroorganizmów wskaźnikowych zależy od specyfiki zakładu i procesu, częstotliwości zabiegów sanitarnych i rodzaju produktu.

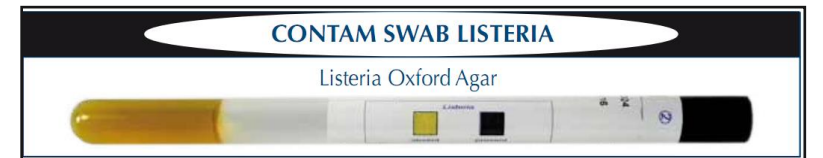
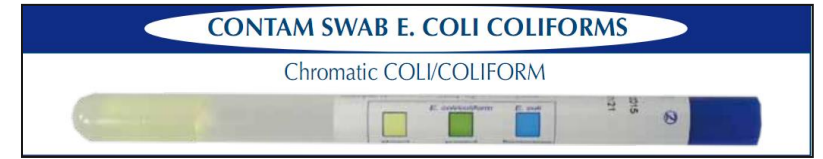
A także, od rodzaju danego mikroorganizm, prawdopodobieństwa przeniesienia do żywności, ilości wyprodukowanego produktu spożywczego i historii zakładu.



ARGENTA

Szybkie metody monitorowania występowania drobnoustrojów na powierzchni za pomocą wymazówek.

- Metoda oparta jest na pobraniu wymazu i hodowli w pożywce selektywno-różnicującej.
- Nie wymaga dodatkowych odczynników
- Nie wymaga potwierdzeń
- Wynik w 18-24 godziny
- Granica wykrywalności 10 jtk w wymazie
- Badanie poglądowe stanu sanitarnego środowiska produkcji



ARGENTA

Szybkie metody monitorowania występowania drobnoustrojów na powierzchni za pomocą wymazówek

- Stosowane do nadzoru nad środowiskiem produkcji
- Wymazówki z neutralizatorem i chromogenną pożywką namnażającą
- Wyniki dodatnie po 24h, ujemne po 48h
- Testy łatwe do wykonania i interpretacji
- Czułość: 10 jtk
- Znaczna redukcja kosztów badań

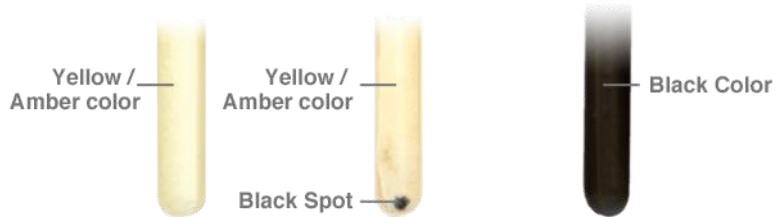


ARGENTA

Szybkie metody monitorowania występowania drobnoustrojów na powierzchni za pomocą wymazówek.






Interpreting Results





Negative

Negative

Positive (+)
presumptive positive

NATURAL LIGHT		
NEGATIVE	<i>LISTERIA</i> SPP.	<i>LISTERIA</i> SPP.
—	+ spp.	+ spp.
		
YELLOW	GREY	BLACK
	PRESUMPTIVE POSITIVE FOR <i>LISTERIA</i> SPP.	

UV LIGHT	
<i>LISTERIA</i> SPP.	<i>L. MONO</i>
+ spp.	+ spp.
	
NO FLUORESCENCE	GREEN FLUORESCENCE
NEGATIVE FOR <i>L. MONO</i>	PRESUMPTIVE POSITIVE FOR <i>L. MONO</i>



ARGENTA

Metody luminometryczne

- Wykrywanie ATP
- Zapewnia szybki skryning
- Pokazuje wiarygodny obraz ogólnej czystości powierzchni
- Daje natychmiastową informację o potencjalnym problemie biologicznym
- Pozwala na znaczną redukcję kosztów związanych z testami na specyficzne patogeny
- Metoda odporna na ekstremalne wartości pH i pozostałości środków dezynfekcyjnych (nawet do 1000 podchlorynu)

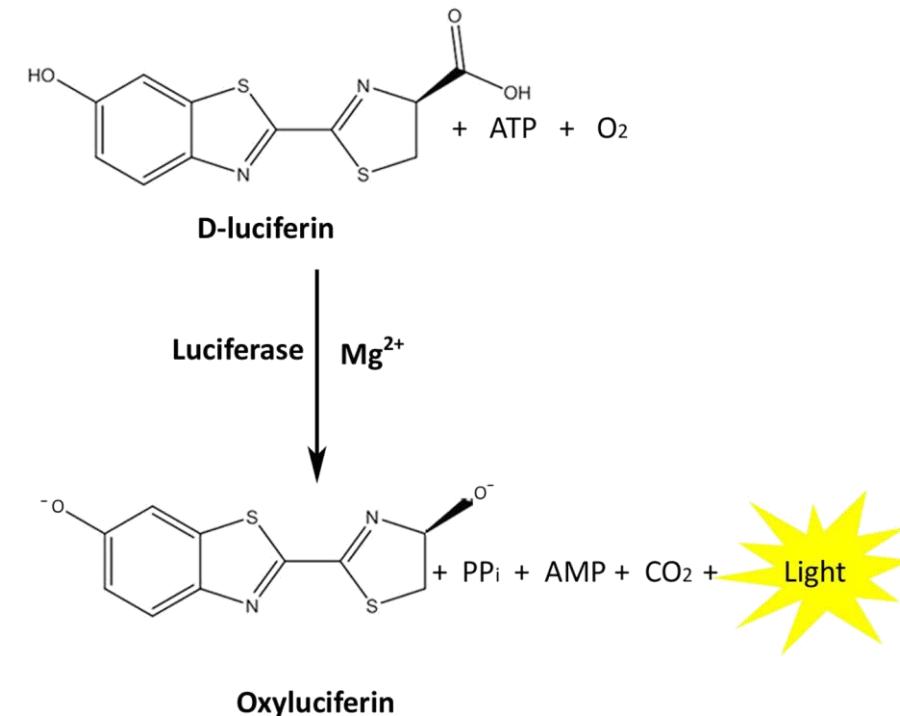


ARGENTA

Metoda luminometryczna

Metoda luminometryczna wykrywa oraz oznacza ilościowo ATP które zawarte jest we wszystkich, żywych lub martwych komórkach pochodzenia organicznego (w tym w mikroorganizmach).

- Enzym lucyferaza odpowiedzialny jest za emisję światła (katalizuje utlenianie lucyferyny)
- Bardzo czuła i specyficzna reakcja
 - Adenozyno-5'-trifosforan (ATP) jest obecny w każdej komórce i pozostałościach organicznych
 - Wykrywalność to 1 cząsteczka na 10^{15}
- Emitowane światło zostaje zamienione w sygnał podawany w RLU (Relative Light Units)
- Dobrze poznana i rozpowszechniona technologia



Technika PCR - Jakiego sprzętu potrzebujemy do przeprowadzenia reakcji PCR?

System BAX® Q7



Oznaczenia dostępne w BAX® w kierunku badania:

- ✓ Obecności *Salmonella*
- ✓ Obecności *Listeria monocytogenes*
- ✓ Obecności Rodzaju *Listeria*
- ✓ Obecności Pleśni i drożdży
- ✓ Obecności *E. coli* O157:H7 MP (multiplex)
- ✓ Obecności STEC
- ✓ Obecności *Shigella*
- ✓ Obecności *Vibrio*
- ✓ Obecności *Cronobacter (E.sakazakii)*
- ✓ Obecności *Staphylococcus aureus**
- ✓ Obecności *Campylobacter jejuni/coli/lari***

*Możliwość określenie cfu/ml

**Możliwość określenie cfu/ml, protokół nie uznany przez AOAC



Każdy KIT zestaw zawiera odczynniki (na 96 oznaczeń) a w nim:

- Probówki do PCR wraz z tabletkami
- Korki optyczne
- Bufor lizujący
- Odczynnik do lizy 2 (tylko w przypadku *Listeria* spp. i *L.monocytogenes*)
- Proteaza

KIT należy przechowywać w 2-8°C

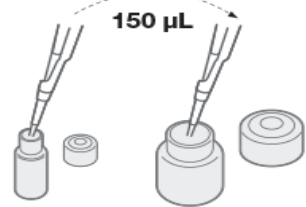


ARGENTA

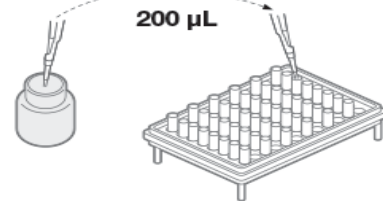
Ready Reference for Real-Time PCR Assays*

STEP 1: PREPARATION

Add 150 µL protease to 12 mL lysis buffer



Add 200 µL lysis reagent to cluster tubes

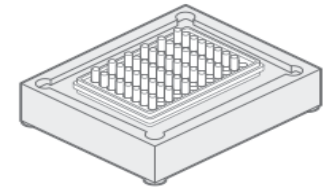


Lysis reagent can be stored at 2-8°C for up to two weeks

Ensure thermal blocks are pre-heated to 37°C and 95°C prior to use

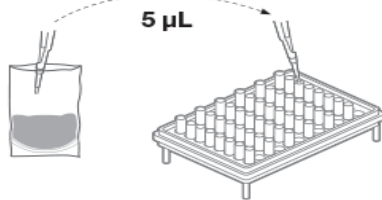


Ensure cooling blocks are stored at 2 – 8°C prior to use



STEP 2: LYSIS

Transfer 5 µL* enriched samples to cluster tubes

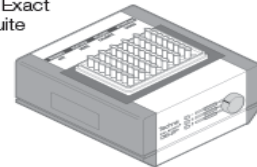


*For *E. coli* O157:H7 and STEC, use 20 µL

Heat cluster tubes (First Stage)



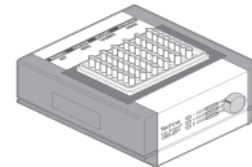
37°C for 20 minutes:
Campylobacter
E. coli O157:H7 Exact
E. coli - STEC suite
Salmonella
Shigella
Vibrio



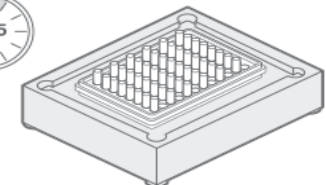
Heat cluster tubes (Second Stage)



95°C for 10 minutes:
 All targets



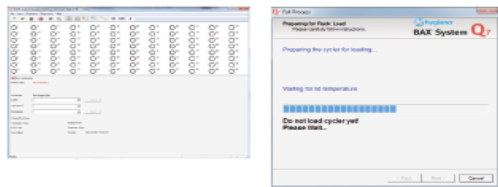
Cool cluster tubes for a minimum of 5 minutes in cooling block



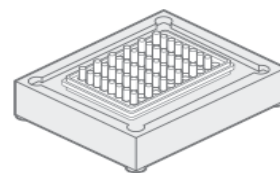
Unopened processed lysates can be stored at 2-8°C for up to two weeks

STEP 3: PCR

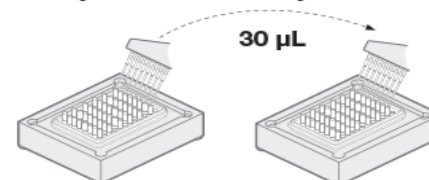
Create rack file, turn on cycler, and initialize



Arrange PCR tubes in PCR cooling block with black carrying tray



Hydrate PCR tablets with 30 µL lysate from cooled lysates



For Real-Time *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 Exact, let hydrated tablets sit in the cooling block for 10-30 minutes prior to placing tubes in Q7 Cycler.

On software, click next, place PCR tubes in Q7 cycler and run program



Review results on screen

- Negative
- Positive
- Indeterminate
- Signal error

Przewaga PCR

- Najprecyzyjniejsza metoda
- Wysoka selektywność - wykrywanie charakterystycznych genów dla danego patogenu
- Skrócenie czasu analizy poniżej 3 godzin
- Większa powtarzalność wyników
- Większa efektywność
- Łatwe wdrożenie metody
- Duża różnorodność zastosowań



ARGENTA

Analiza wyników

Dokumenty zawierające wytyczne zalecają rejestrowanie wyników i śledzenie trendów zanieczyszczeń w zakładach przetwórstwa spożywczego, a także informacji o poprzednich niezgodnych wynikach.

Takie monitorowanie pozwala zwiększyć wiedzę na temat warunków środowiskowych w czasie i zapobiegać ryzyku zanieczyszczenia.

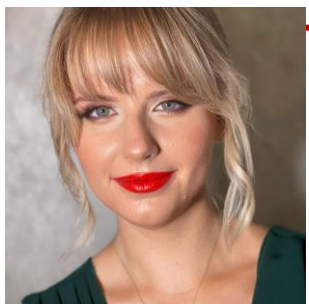
Podążając za trendem warunków środowiskowych, można określić poziom wyjściowy obecności określonego mikroorganizmu lub grupy mikroorganizmów wyrażony we wcześniej określonej jednostce (np. CFU, CFU/cm²), na obszar i sprzęt, na podstawie wcześniejszych danych z 6 do 12 miesięcy programu pobierania próbek.

Ważne jest, aby pamiętać, że głównym celem EMP nie jest wykazanie zgodności produktu końcowego z kryteriami bezpieczeństwa żywności, ale bycie świadomym stanu zanieczyszczenia środowiska zakładu spożywczego.



ARGENTA

Dziękuję za uwagę!



Marta Koziel

e: m.koziel@argenta.com.pl

m: 506 381 531

