



ARGENTA

Vademecum Bezpieczeństwa Żywności

Wykrywanie bakterii z rodzajów
Salmonella i *Listeria* techniką PCR

AGENDA

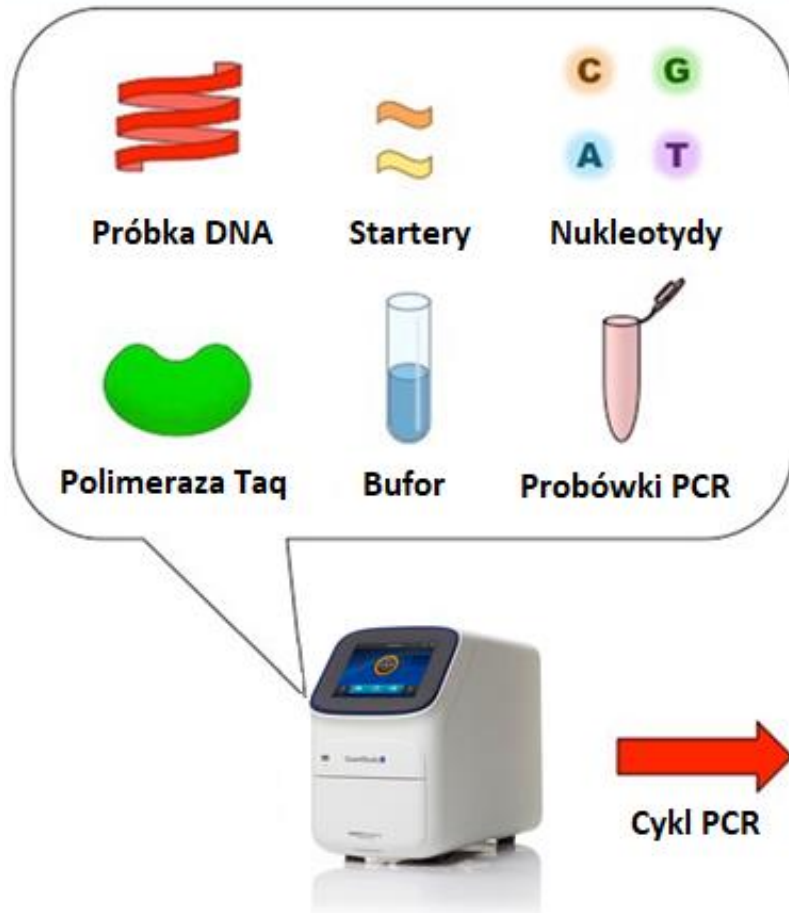
1. Podstawy techniki PCR
2. Sprzęty wchodzące w skład zestawu do PCR
3. Testy Suretect
4. Procedura namnożenia
5. Procedura izolacji
6. Procedura badania PCR
7. Potwierdzanie wyników
8. Oprogramowanie
9. Przewaga metod molekularnych.



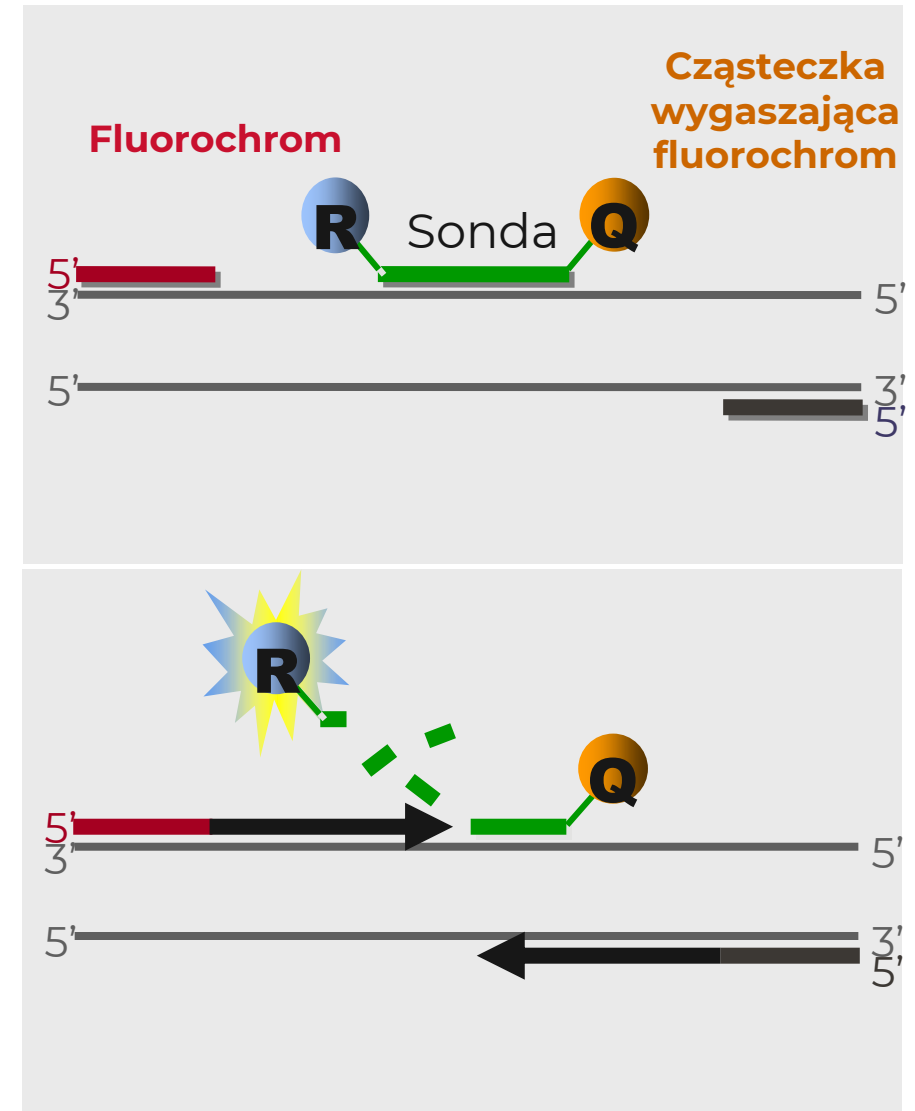
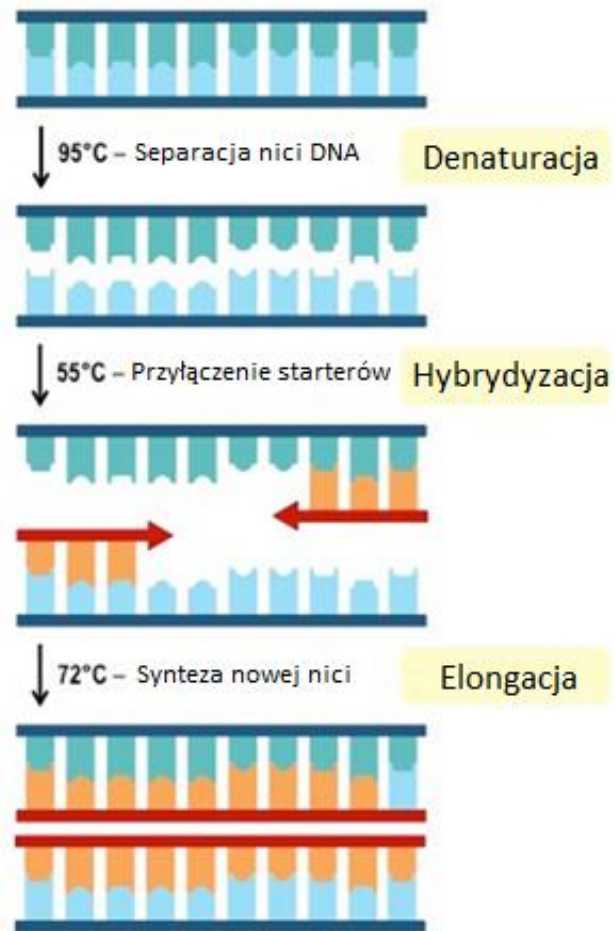
ARGENTA

Schemat reakcji PCR

Składowe reakcji PCR



1 cykl reakcji PCR



ARGENTA

Sprzęty wchodzące w skład zestawu do PCR



ARGENTA

Automatyczny blok grzewczy SimpliAmp

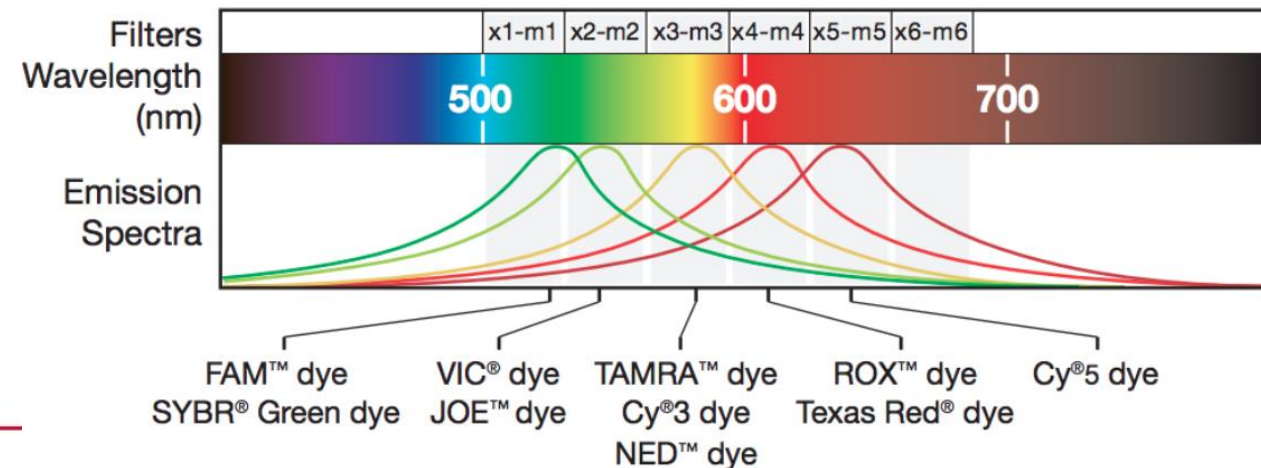


- 96 miejscowy
- prosty i intuicyjny w użyciu
- elektroniczna kontrola temperatury izolowanej próbki z dokładnością 0,25°C
- szybkość działania 3,5°C/s
- bardzo cicha praca 45 dB
- wymiary: 24x21x46 cm
- po etapie izolacji przetrzymuje próbkę w 4°C w oczekiwaniu na kolejny etap PCR

Termocykler QS5



- 96 testów jednocześnie
- duży, dotykowy ekran
- najszybszy układ (**do 9.0° C/sec**)
- dokładność 0.25 ° C
- OptiFlex technology: **6 kanałów detekcji**
- źródło światła **LED**
- cicha praca
- małe wymiary, 40x50x27 cm
- laptop Dell i oprogramowanie zestawie



Finnpipette™ Novus – elektroniczna pipeta z funkcją dozowania



- m.in. funkcja dozowania
- oszczędność czasu
- mniej tipsów w przeliczeniu na oznaczenie
- wysoka dokładność $\pm 0.8\%$ i powtarzalność
- wygoda dla dłoni, ergonomiczna obsługa palcem wskazującym
- przestawny przycisk dla leworęcznych
- duży czytelny wyświetlacz z podświetleniem
- wydajny akumulator na 4000 pipetowań, ładowanie w 1 godzinę

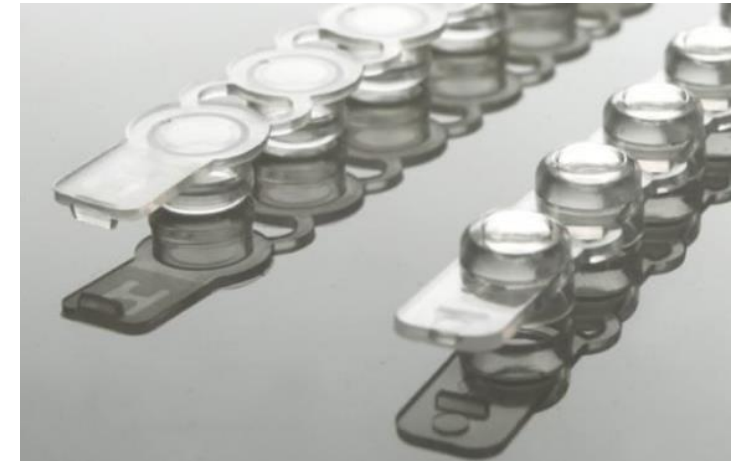


ARGENTA

Testy Suretect



PCR Tubes



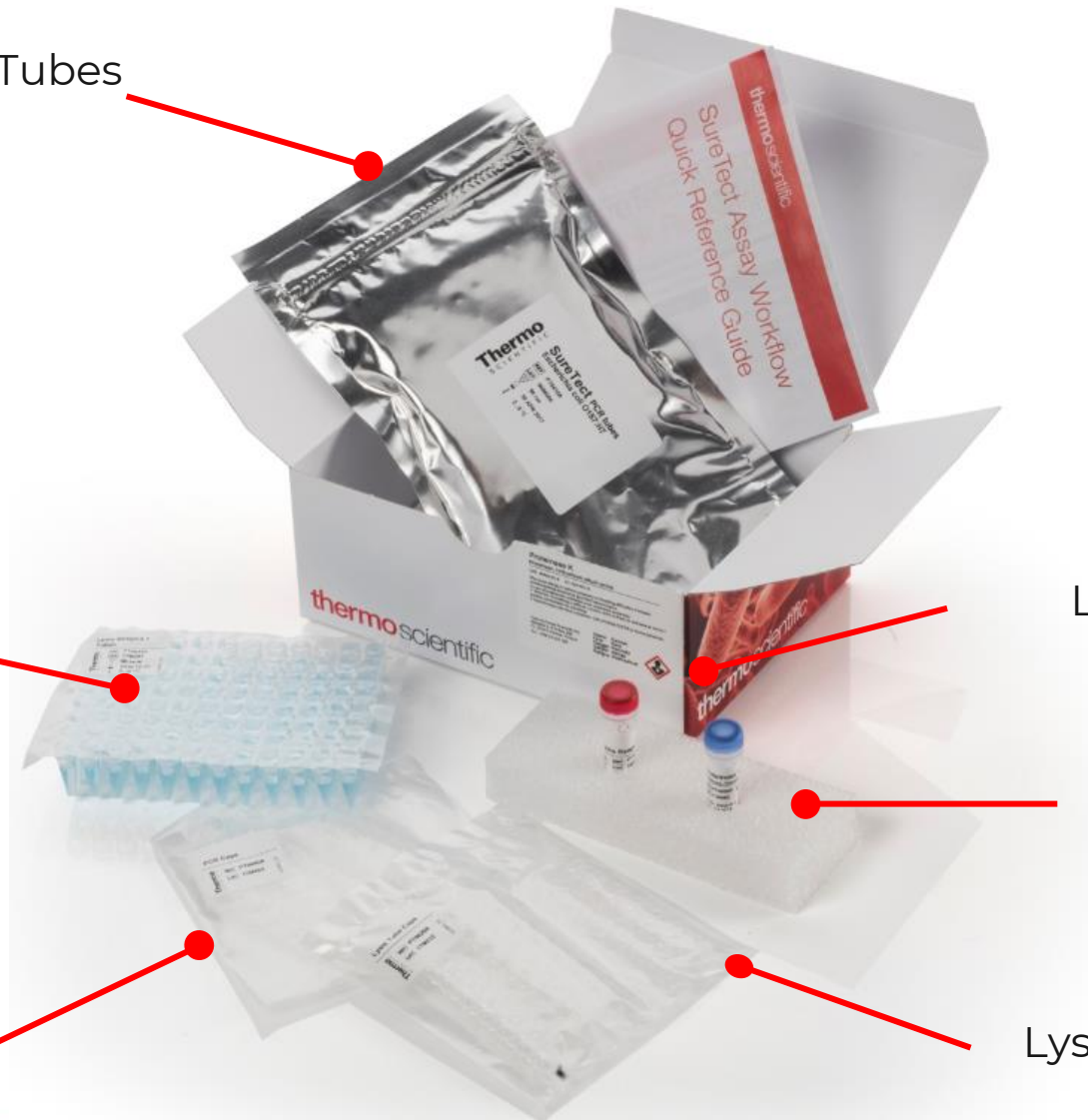
Pre-Filled
Lysis Reagent 1

Lysis Reagent 2
(tylko Listeria)

Proteinase K

PCR Tube Caps

Lysis Tube Caps



ARGENTA

Testy Suretect – walidacje wg ISO 16140



Procedura namnożenia



Homogenizacja próbki 25 g żywności lub wymazów środowiskowych z odpowiednim bulionem:

- Salmonella 225 ml ZWP:
- Listeria 225 ml 24LEB:
- Staphylococcus aureus – bulion Giolitti-Cantoni z tellurem potasu i Tween™ 80



ARGENTA

Procedura namnożenia

Inkubacja w odpowiedniej temperaturze:

- Salmonella :
 - próbki żywności, wymazy $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 20–24 h
 - szybki protokół wołowina $41.5\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 9–24 h
- Listeria :
 - próbki żywności $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 24–28 h
 - wymazy $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 24–28 h
- Staphylococcus aureus
 - próbki żywności $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 22–28 h



ARGENTA

Procedura izolacji DNA



Dodanie do probówek SureTect lysis tube (możliwość dzielenia) :

- **10 µL** Proteinase K (i 10 µL Lysis Reagent 2, tylko SureTect Listeria)
- **10 µL** namnożonej próbki lub kontroli negatywnej do Lysis Tube
- Zamknięcie probówek korkami do lizy (w zestawie)
- Automatyczna inkubacja w SimpliAmp, czas **20 min.**



ARGENTA

Procedura badania PCR – przygotowanie testów



- uwodnienie liofilizowanych tabletek zawierających wszystkie reagenty PCR – 20 μ l
- korki optyczne w zestawie
- paski z testami i korkami można dowolnie docinać



ARGENTA

Procedura badania PCR – uruchomienie termocyklera

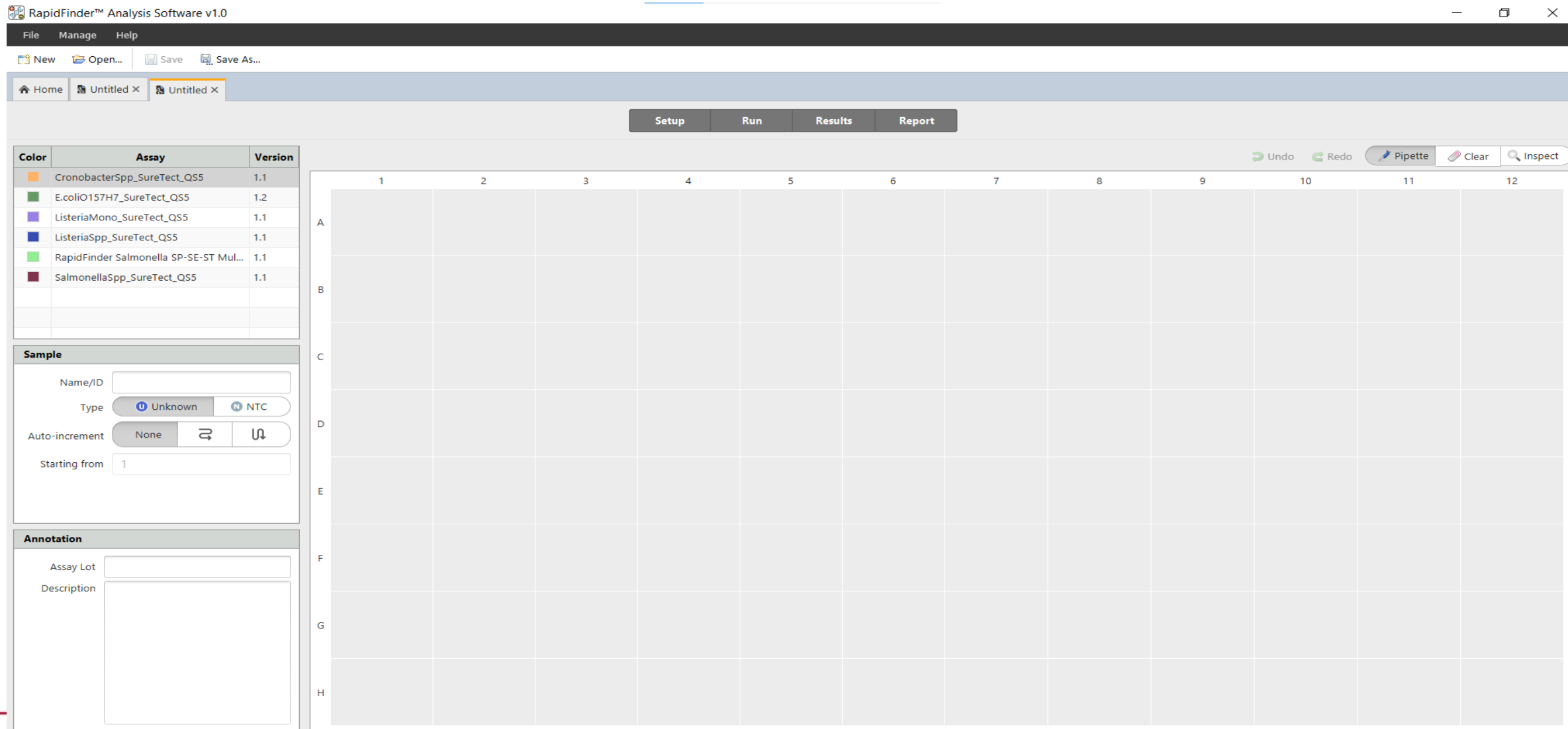


- uruchamiamy start w oprogramowaniu
- czas badania 75-80 minut
- nie wymaga obecności użytkownika
- automatyczna analiza otrzymanych wyników
- zalecane jest stosowanie awaryjnego podtrzymania zasilania - UPS

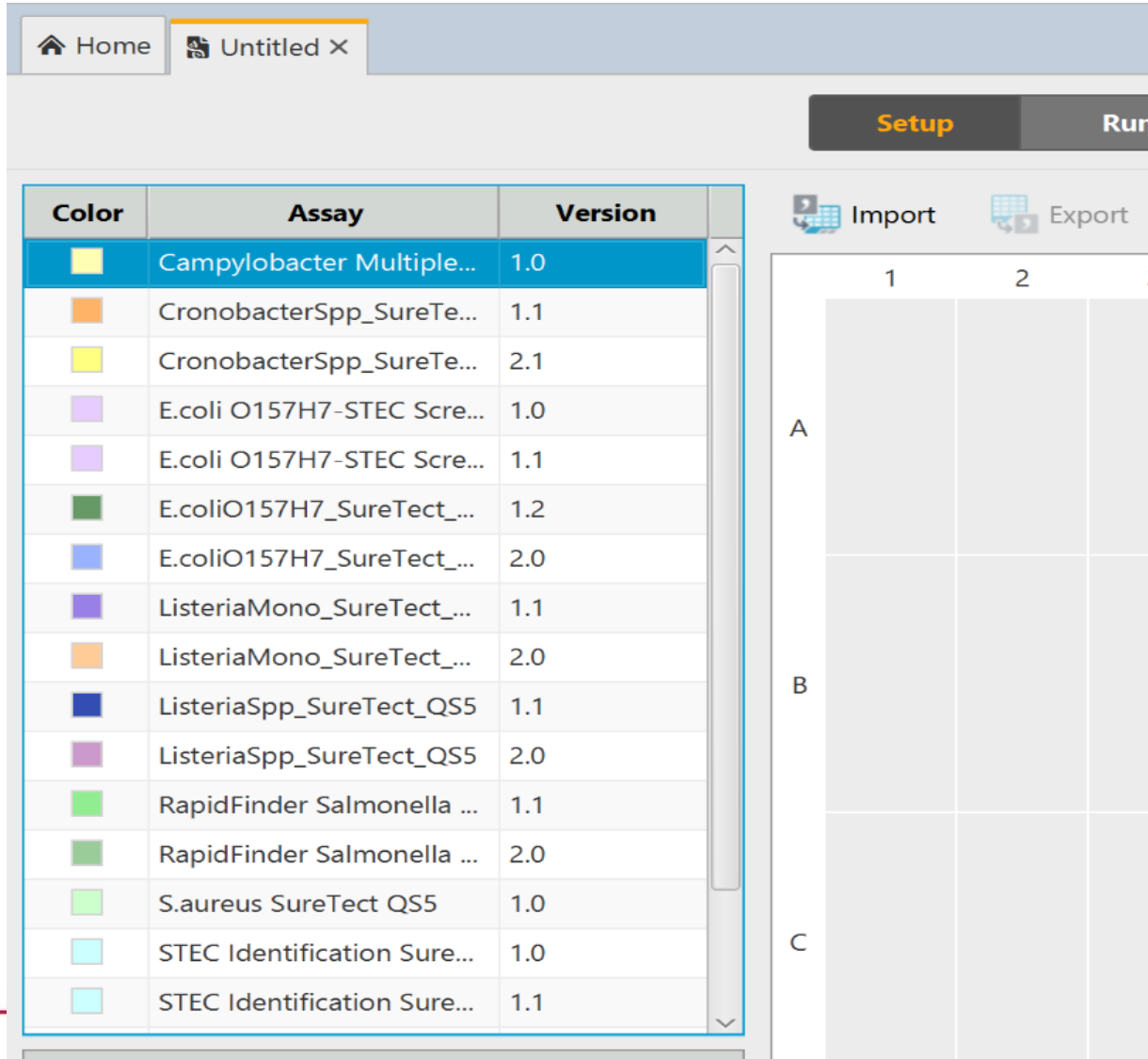


ARGENTA

RapidFinder™ Analysis Software - przygotowanie



RapidFinder™ Analysis Software - przygotowanie



The screenshot displays the RapidFinder Analysis Software interface. At the top, there is a navigation bar with 'Home' and 'Untitled X' tabs. Below this, a 'Setup' button is visible. The main area is divided into two panels. The left panel contains a table of assays, and the right panel shows a grid for configuring tests.

Color	Assay	Version
Yellow	Campylobacter Multiple...	1.0
Orange	CronobacterSpp_SureTe...	1.1
Yellow	CronobacterSpp_SureTe...	2.1
Purple	E.coli O157H7-STECScre...	1.0
Purple	E.coli O157H7-STECScre...	1.1
Green	E.coliO157H7_SureTect_...	1.2
Blue	E.coliO157H7_SureTect_...	2.0
Purple	ListeriaMono_SureTect_...	1.1
Orange	ListeriaMono_SureTect_...	2.0
Dark Blue	ListeriaSpp_SureTect_QS5	1.1
Purple	ListeriaSpp_SureTect_QS5	2.0
Light Green	RapidFinder Salmonella ...	1.1
Green	RapidFinder Salmonella ...	2.0
Light Green	S.aureus SureTect QS5	1.0
Cyan	STEC Identification Sure...	1.0
Cyan	STEC Identification Sure...	1.1

The right panel shows a grid with columns labeled 1, 2, and 3, and rows labeled A, B, and C. The grid is currently empty, indicating that no tests have been configured for these positions.

- 12 rodzajów testów
- producent zapowiedział kolejne aplikacje
- testy mogą być wykonywane razem w jednym cyklu pracy urządzenia (wspólne profile temperaturowe reakcji PCR)

RapidFinder™ Analysis Software - przygotowanie

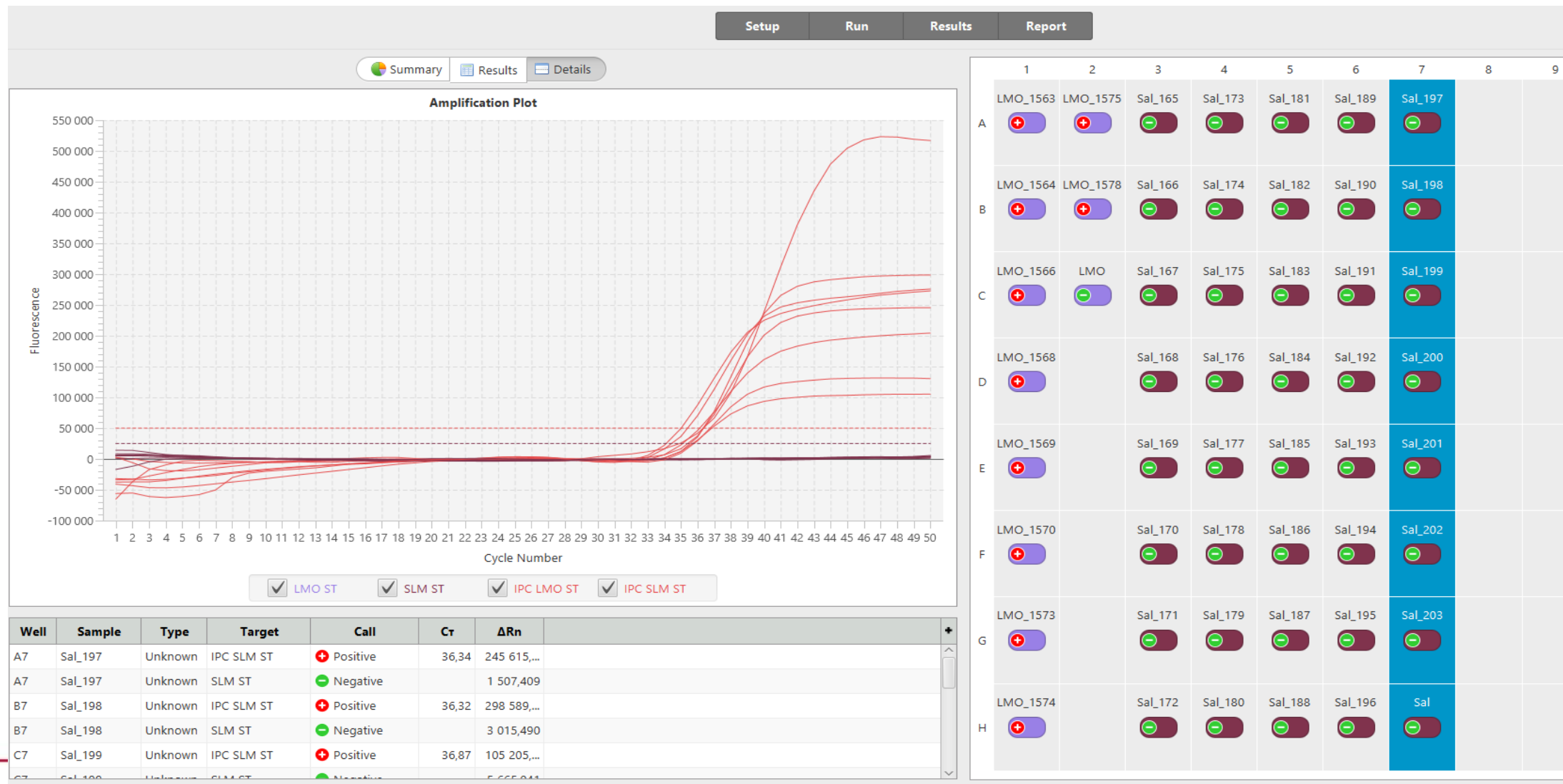
Color	Assay	Version
	ListeriaMono_SureTect_QS5	1.1
	SalmonellaSpp_SureTect_QS5	1.1

Sample	
Name/ID	
Type	U Unknown N NTC
Auto-increment	None ↺ ↻
Starting from	1

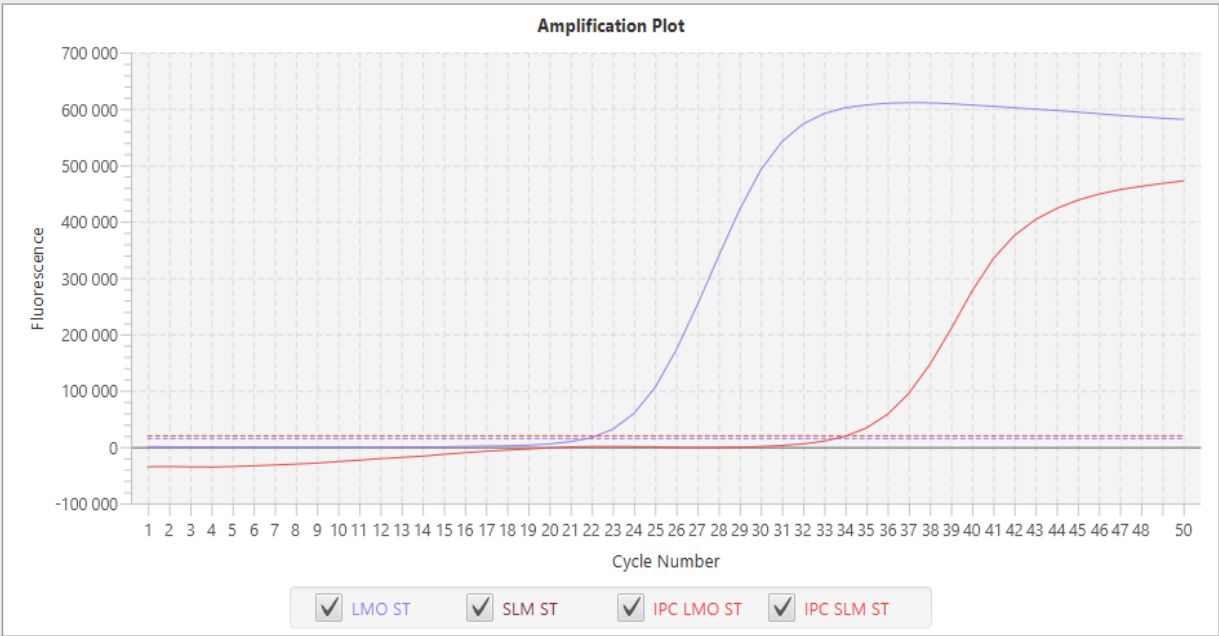
Annotation	
Assay Lot	
Description	

	1	2	3	4	5	6	7	
A	LMO_1563 	LMO_1575 	Sal_165 	Sal_173 	Sal_181 	Sal_189 	Sal_197 	
B	LMO_1564 	LMO_1578 	Sal_166 	Sal_174 	Sal_182 	Sal_190 	Sal_198 	
C	LMO_1566 	LMO 	Sal_167 	Sal_175 	Sal_183 	Sal_191 	Sal_199 	
D	LMO_1568 		Sal_168 	Sal_176 	Sal_184 	Sal_192 	Sal_200 	
E	LMO_1569 		Sal_169 	Sal_177 	Sal_185 	Sal_193 	Sal_201 	
F	LMO_1570 		Sal_170 	Sal_178 	Sal_186 	Sal_194 	Sal_202 	
G	LMO_1573 		Sal_171 	Sal_179 	Sal_187 	Sal_195 	Sal_203 	

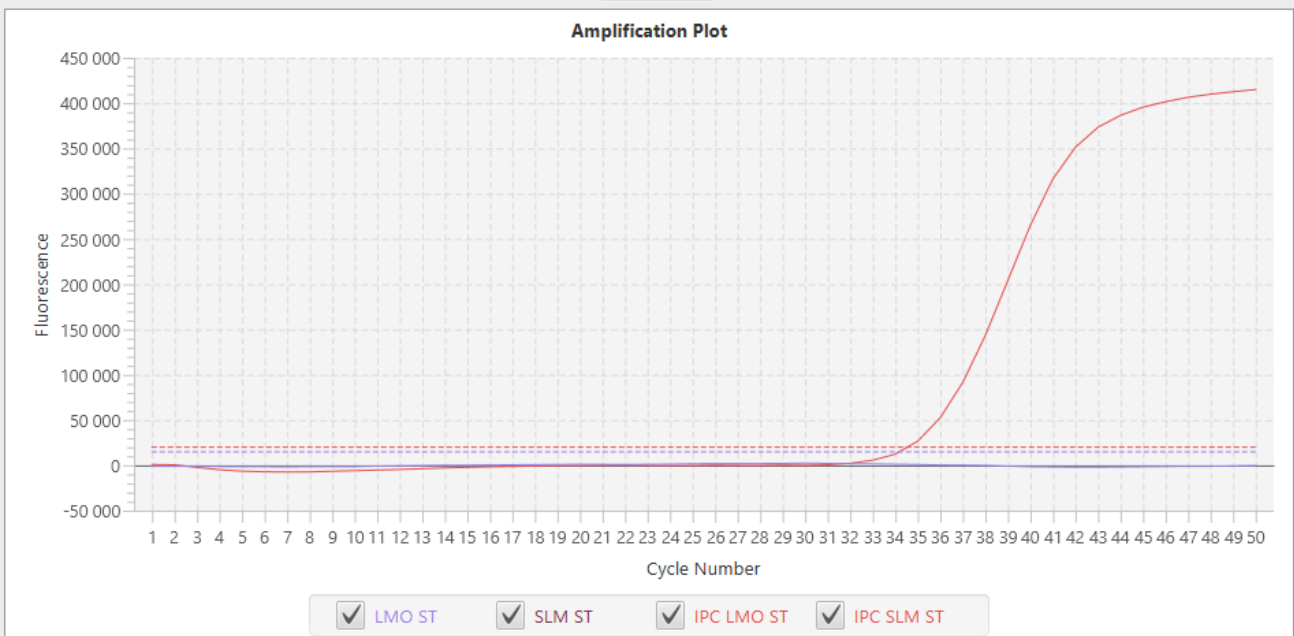
RapidFinder™ Analysis Software - wyniki



RapidFinder™ Analysis Software - wyniki



Well	Sample	Type	Target	Call	C _T	ΔR _n		+
B2	LMO_1578	Unknown	IPC LMO ST	Positive	34,11	472 178,...		
B2	LMO_1578	Unknown	LMO ST	Positive	21,86	581 273,...		



Well	Sample	Type	Target	Call	C _T	ΔR _n		+
C2	LMO	NTC	IPC LMO ST	Positive	34,60	414 969,...		
C2	LMO	NTC	LMO ST	Negative		-269,919		

RapidFinder™ Analysis Software - raportowanie

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Report

qPCR Food Safety Results
2021-02-11

011

Results Table

Well	Sample	Type	Assay	Call	Assessment	Assay Lot	Description
A2	1.1	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
A11	3.1	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
B2	1.2	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
B11	3.2	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
C2	1.3	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
C11	3.3	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
D2	1.4	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
D11	3.4	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
E2	1.5	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
E11	3.5	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
F2	1.6	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
F11	3.6	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
G2	1.7	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
G11	3.7	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
H2	1.8	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		
H11	3.8	Unknown	ListeriaMono_SureTect_QS5	Negative	Negative for target.		

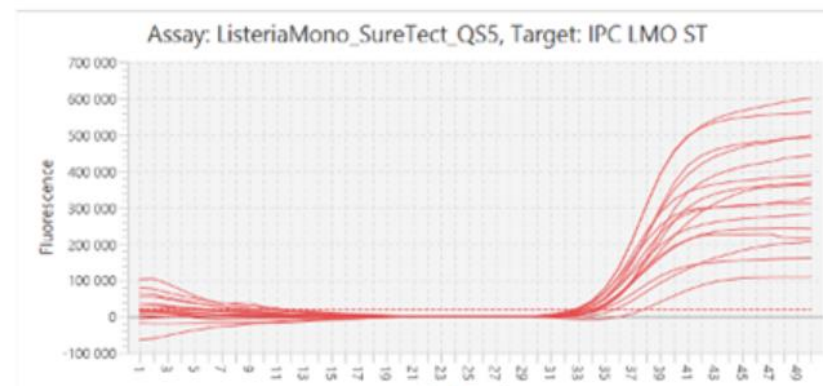
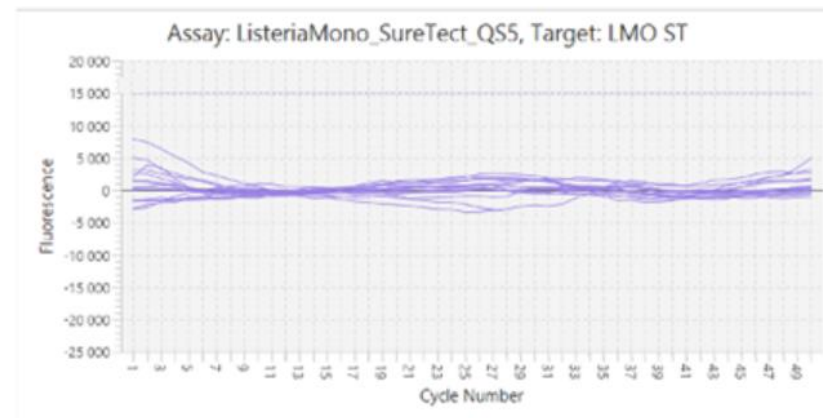
ThermoFisher
SCIENTIFIC

Report

qPCR Food Safety Results
2021-02-11

011

Graphs

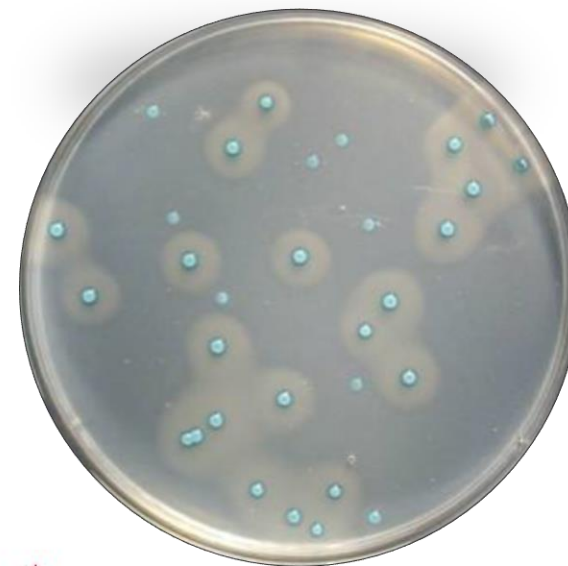


ENTA

Potwierdzanie wyników dodatnich

Posianie eż 10ul namnożenia na:

- Brilliance™ Salmonella Agar - 22–26 w $37\pm 1^{\circ}\text{C}$,
- Brilliance™ Listeria Agar - 22–26 h w $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, brak wzrostu dodatkowe 24h.
- Brilliance™ Staph 24 Agar lub Baird-Parker Agar - 20–24 h w 37°C



ARGENTA

Procedura - podsumowanie



- proste namnożenie
- gotowe reagenty - minimalna ilość pipetowania
- szybki cykl, 1-96 próbek, różne kierunki badań jednocześnie
- potwierdzenie wyników dodatnich bezpośrednio na płytkach chromogennych

Patogeny – procedura film



QuantStudio Design and Analysis Desktop Software

QuantStudio™ Design & Analysis Software v1.5.1

File Edit Analysis Tools Help

Properties Method Plate Run Results Export

Experiment Method

Volume

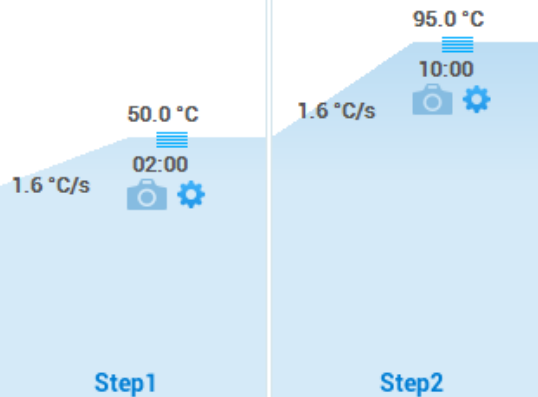
20

μL

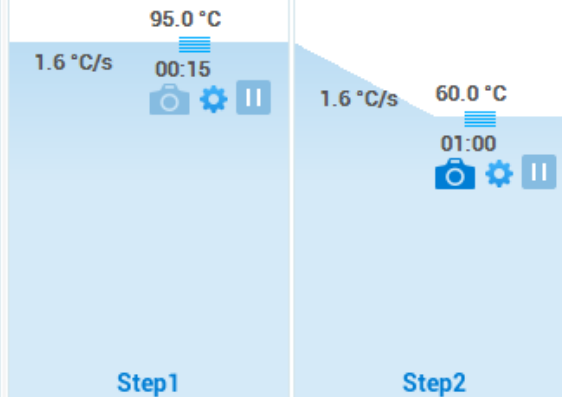
Cover

105.0 °C

Hold Stage



PCR Stage



40 x

Legends: Data Collection On Data Collection Off Pause On Pause Off Advanced Settings VeriFlex

- dodatkowe bezpłatne tzw. otwarte oprogramowanie
- możliwość badań GMO, wirusów, gatunkowości itd.



ARGENTA

Przewaga PCR



Skrócenie czasu analizy



Większa powtarzalność wyników



Większa efektywność



Łatwe wdrożenie metody



Duża różnorodność zastosowań



ARGENTA



Znaczne skrócenie czasu analizy - wyniki poniżej 24 h



Niższe koszty
magazynowania
dzięki szybszemu
zwolnieniu produktu



Dłuższy termin przydatności
do spożycia ze względu na
wcześniejsze dostarczenie
produktu na rynek



Szybsza reakcja
w przypadku
wykrytego skażenia



ARGENTA

Lista testów dla patogenów

1. Salmonella Species
2. Salmonella Species, Typhimurium and Enteritidis
3. Listeria monocytogenes
4. E. coli O157:H7
5. E. coli O157:H7 oraz STEC Screening
6. Escherichia coli STEC Identification
7. Listeria Species
8. Staphylococcus aureus
9. Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus and V. vulnificus
10. Campylobacter jejuni, C. coli and C. lari
11. Cronobacter Species
12. Legionella



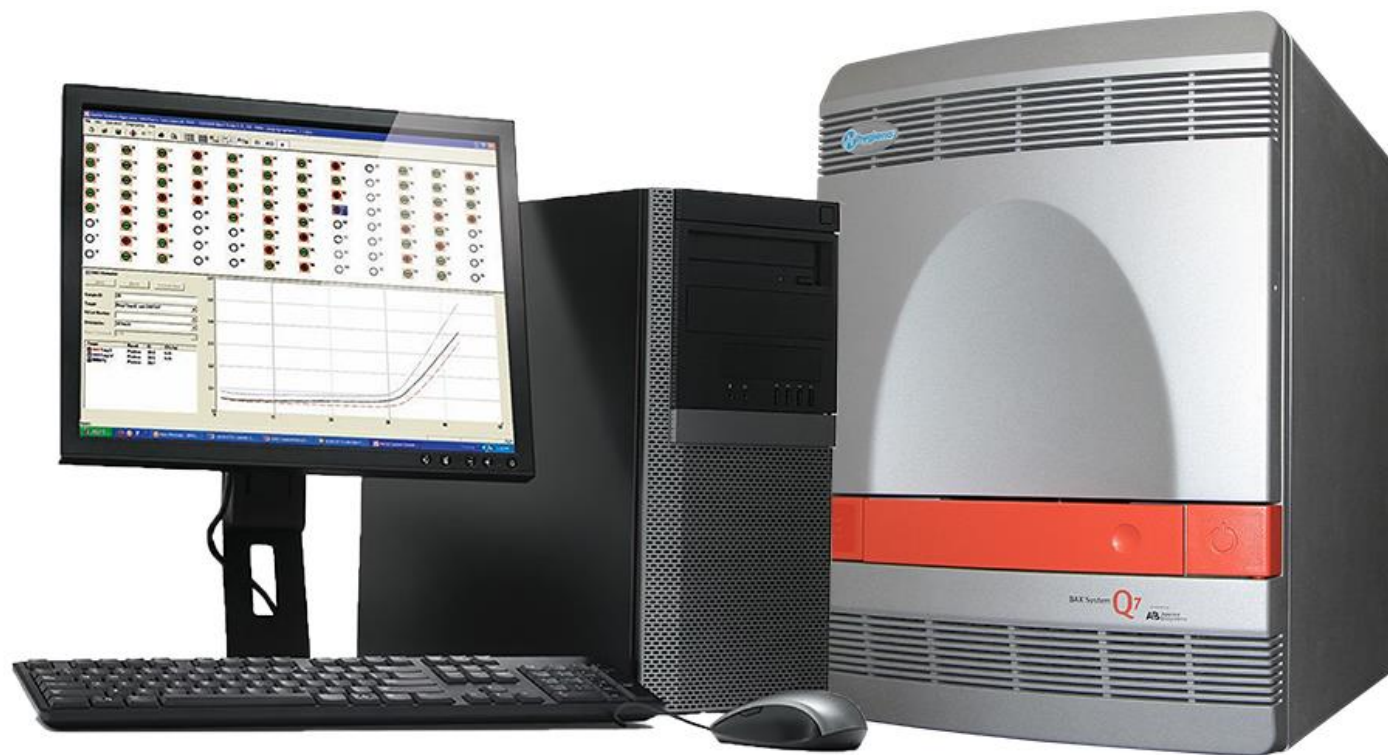
Oferta testów do diagnostyki PCR

INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA MOLEKULARNE



ARGENTA

BAX Q7



ARGENTA

BAX Q7



Campylobacter (C. jejuni, C. coli, C. lari)

Cronobacter (E. sakazakii)

E. Coli

- O157:H7
- STEC Screening: *stx* and *eae*
- STEC Panel 1: E. coli O26, O111, and O121
- STEC Panel 2: E. coli O45, O103, and O145

Listeria spp, *L.monocytogenes*

Salmonella

Shigella

Staphylococcus aureus

Vibrio

Yeast & Mold



ARGENTA

Nowości 2021



Oferta testów do diagnostyki PCR

INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA MOLEKULARNE



Biologia molekularna

Oferta asortymentowa
do diagnostyki molekularnej
dla przemysłu

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Life
Technologies

QIAGEN
The miracles of science

PROFESJONALNA MIKROBIOLOGIA



Plastikowe materiały zużywalne do laboratorium PCR

Oferta asortymentowa

PROFESJONALNA MIKROBIOLOGIA



ARGENTA

Dziękujemy za uwagę



Bogusław Wiera

e: b.wiera@argenta.com.pl

Krzysztof Knop

e: k.knop@argenta.com.pl