

VERSNELDE VRIJGAVE VAN VERSPRODUCTEN MET NIEUWE DETECTIEMETHODEN



Deze studie vergelijkt de klassieke kweekmethode volgens de International Organisation for Standardization (ISO) 6579 ter detectie van Salmonella met de GDS™ Assurance kit voor Salmonella van BioControl Systems en de iQ-Check™ Salmonella II kit van Bio-Rad.

Medeauteur Malika Azhimi aan het werk met apparatuur van BioControl



Medeauteur Joady Coolen aan het werk met Bio-Rad test

te hebben op de detectie met de PCR methoden. De ISO 6579 methode bleek in de selectieve fase niet inhiberend genoeg voor E.coli en coliformen, waardoor eventueel aanwezige Salmonelleae op de XLD- of BGAM-platen gemist werden. Daarnaast bleek in een enkel geval de matrix inhiberend te werken in de kweekmethode.

GEBRUIKSVRIENDELIJK

Bij afwezigheid van Salmonella konden resultaten twee dagen eerder verkregen worden bij gebruik van de PCR methoden, en bij (bevestigde) aanwezigheid van Salmonella zelfs 3 dagen eerder dan bij de ISO 6579 methode. Gevolg: een versnelde vrijgave van versproducten. Beide PCR methoden zijn gebruiksvriendelijk, en in tegenstelling tot de kweekmethode weinig milieubelastend. Met betrekking tot de kosten van de drie methoden blijkt dat bij grotere afname van de testen, de PCR technieken zeer concurrerend zijn met de kweekmethoden.

Meer informatie: c.vanbeuningen@fontys.nl

MAZHIMI¹, C. VAN BEUNINGEN², J.COOLEN¹

1. STUDENT FONTYS HOGESCHOLEN, APPLIED SCIENCE

2. DOCENT APPLIED SCIENCE, LECTORAAT MEDISCHE MOLECULAIRE DIAGNOSTIEK, FONTYS HOGESCHOLEN EINDHOVEN

SAMENVATTING

Bij een aan- of afwezigheidsdetectie zijn de moleculair diagnostische methoden (PCR) sneller dan de klassieke kweekmethode. Daarnaast worden de detectiegrenzen die de fabrikanten van beide PCR kits aangeven inderdaad ruimschoots gehaald, terwijl detectie bij de klassieke kweekmethoden regelmatig bemoeilijkt werd of onmogelijk was door stoorflora. Zowel deze flora als de matrix hebben geen invloed op de detectiegrens van beide PCR kits.

Er is weinig verschil in performance en prijs tussen de iQ-Check™ Salmonella II kit van Bio-Rad en de GDS™ Assurance kit voor Salmonella van BioControl Systems. De keus hangt af van de individuele voorkeur van de klant.

Salmonella is anno 2008 met een geschat aantal van 50.000 gastro-enteritis gevallen in Nederland per jaar nog steeds een van de meest voorkomende oorzaken van voedselvergiftiging. Een snelle, betrouwbare en prijsgunstige detectiemethode voor deze bacteriële humane voedselpathogeen is daarom zeer gewenst.

De methoden van BioControl en Bio-Rad zijn gebaseerd op nucleïnezuurdetectie met behulp van de nucleïnezuur amplificatiemethode PCR (polymerase chain reaction). Detectiegrens, tijdsduur en gebruikersgemak golden als belangrijkste beoordelingscriteria.

PROEFOPZET EN RESULTATEN

25 gram van twee eiprodukten en twee bakkerijproducten werden in vijfvoud kunstmatig besmet met respectievelijk 10, 5, en 1 kve Salmonella typhimurium. Daarnaast werd iedere keer van elk product een onbesmet monster meegenomen (blanco).

Voor deze besmettingen werd gekozen omdat volgens de wettelijke norm Salmonella afwezig dient te zijn in 25 gram product.

De iQ-check™ Salmonella II kit van Bio-Rad geeft een detectiegrens aan van 1 tot 10 kve per 25 gram; de GDS™ Assurance kit voor Salmonella van BioControl Systems tot 1 kve per 25 gram. Verdere verwerking gebeurde volgens het bijgeleverde protocol van de iQ-check™ Salmonella II kit van Bio-Rad en de GDS™ Assurance kit voor Salmonella van BioControl Systems, danwel volgens de richtlijnen van de ISO 6579.

De diverse monsters waren uiteindelijk daadwerkelijk besmet met gemiddelde hoeveelheden van 0,

1, 5 en 10 kve per 25 gram product, bepaald volgens de Most Probable Number (MPN) methode.

Beide PCR methoden vonden in alle producten de artificiële besmettingen terug en hadden daarmee een recovery van 100 %. De niet-besmette monsters waren negatief. De ISO 6579 methode vond 100 % van de besmettingen terug in de eiprodukten, maar slechts 46 % van de besmettingen in de bakkerijproducten. Dit alles bij negatieve uitslagen van de onbesmette monsters.

SNELLER RESULTAAT

Aangezien alle methoden uitgaan van een algemene ophoping- en resuscitatiestap van achttien uur, kan deze het beste op dag één ingezet worden; in de loop van de middag, zodat de volgende ochtend met een van de methoden verder gewerkt kan worden.

Uitgaande van 32 monsters (die bewerkt dienen te worden), betekent dit voor de iQ-Check™ Salmonella II kit van Bio-Rad dat de producten op dag twee, na ongeveer 3,5 uur vrijgegeven kunnen worden: voor de GDS™ Assurance kit voor Salmonella van BioControl is dat na ongeveer 2,5 uur.

Bij de ISO 6579 methode kunnen de producten bij afwezigheid van Salmonella pas op dag vier vrijgegeven worden. Bij verdacht positieve kolonies dient nog een bevestiging te volgen, een test die minimaal 24 uur duurt.

CONCLUSIES

Beide PCR methoden zijn zeer gebruiksvriendelijk en robuust. Ze leveren in tegenstelling tot de ISO 6579 methode weinig afvalproducten op. Naast deze gebruiksvoordelen zit het grote voordeel uiteraard in de detectiegrens. Een minimale hoeveelheid Salmonella dient aangetoond te kunnen worden. Beide PCR

methoden bleken 100 % van de besmettingen terug te vinden, ongeacht de voedingsmatrix (in tegenstelling tot de ISO 6579 kweekmethode, die slechts 73 % van de besmettingen terugvond). Daarmee hadden ze een detectiegrens van 1 kve per 25 gram, in deze testen. Bij de ISO 6579 methode werd aflezing van de resultaten bemoeilijkt door stoorflora.

De gebruikte PCR methoden bleken niet kwantitatief gerelateerd aan de mate van besmetting. Dit kan verklaard worden uit de voorophoping (in BPW), waarin ook kleine aantallen bacteriën tot in de stationaire fase konden uitgroeien in 18 uur. De complexe voedingsmatrix bleek geen negatief effect

REGIONALE AANDACHT VOOR ACTIE EN KENNISCIRCULATIE

Dit onderzoek is uitgevoerd binnen het RAAK-project 'Moleculaire detectie van pathogenen in voedselbereiding' (projectleiders drs. W. van der Zanden, dr. A. van den Brule, lector Fontys Hogescholen, Eindhoven). RAAK-gelden (RAAK – Regionale Aandacht voor Actie en Kenniscirculatie) zijn beschikbaar gesteld door het ministerie van Onderwijs, Cultuur en Wetenschap.

De initiële doelstelling van deze regeling is de kennisuitwisseling tussen hogescholen, beroeps- en volwasseneneducatie (BVE) instellingen en het midden- en kleinbedrijf (MKB) in regionale innovatieprogramma's te verbeteren. (www.foodconnectionpoint.nl)



OMGEVING

PATHOGEN TESTING • HYGIENE AND HACCP MONITORING • QUALITY ASSURANCE TESTING

Pathogeen detectie zonder compromissen.

Assurance GDS™ combineert de nieuwste innovaties in microbiologie en moleculaire techniek en brengt u daarmee het meest geavanceerde DNA detectie systeem. Het biedt een weergaloze detectie snelheid zonder opoffering van gebruiksgemak of nauwkeurigheid.

Een gepatenteerde monsterconcentratie stap gevolgd door zeer specifieke primers en probes verzekeren een ongeëvenaarde accuratesse met minder twijfelachtige resultaten zonder 'melt curves' interpretaties. Het resultaat is een in drie stappen opgebouwde specificiteit.

Ontdek hoe Assurance GDS uw analyse problemen oplost.

Bezoek www.biocontrolsys.com of bel ons: 0180.333.955

Beschikbare analyses zijn *Listeria* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *E.sakasaki*, *E. coli* O157:H7, en Shiga Toxin genes.

BIOCONTROL

Results. Right now.