правильный выбор с одного взгляда

Новые цветомаркированные подложки MC-Media Pads

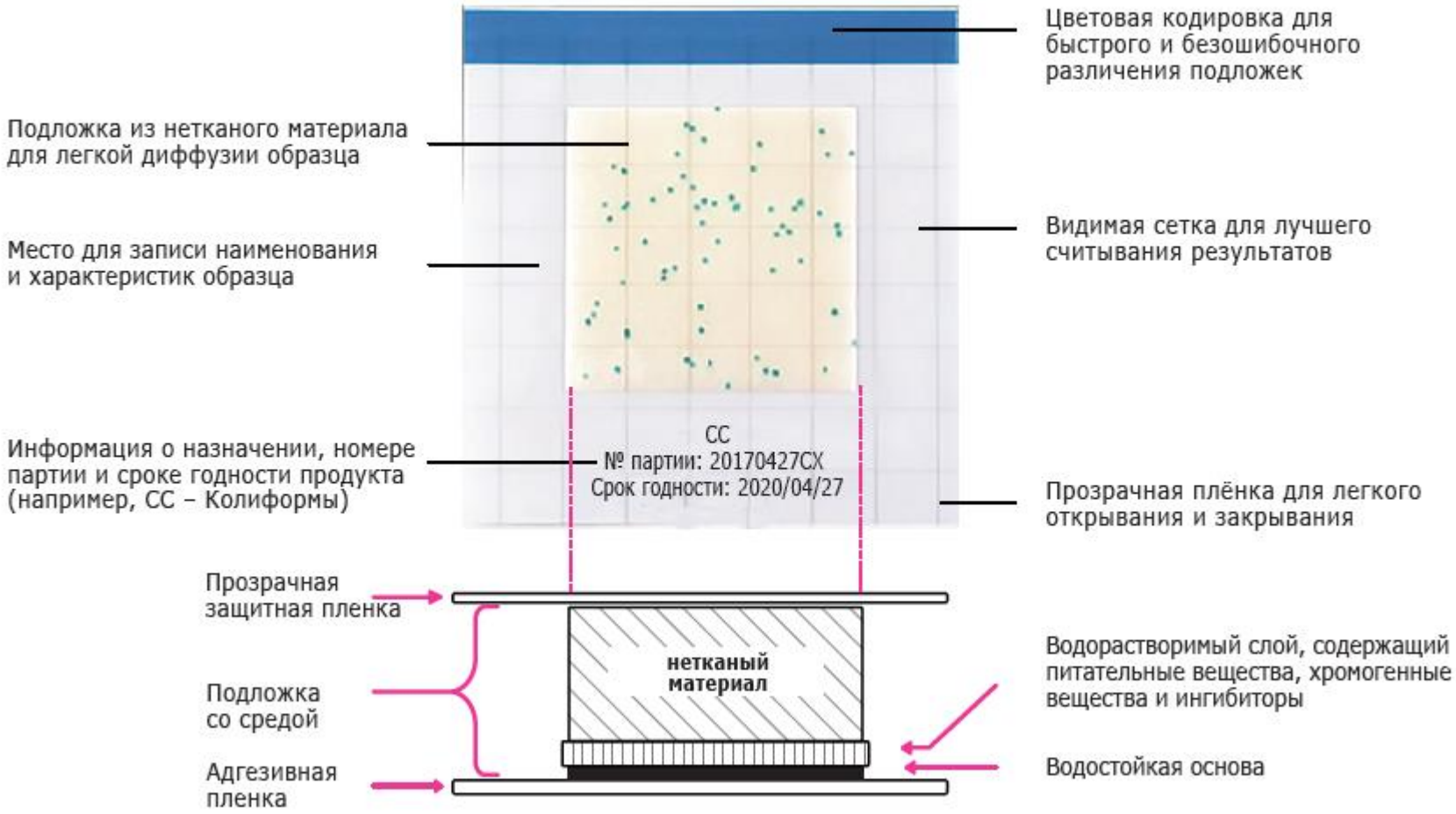
Алексей Ельфимов, к.б.н.,
Merck Life Sciences BioMonitoring

MERCK

MC-Media Pads – готовые к использованию питательные среды

- Подложки, пропитанные питательной средой, для быстрого и удобного тестирования пищевых продуктов и напитков на присутствие микробиологического загрязнения
- Соответствуют требованиям международных стандартов (AOAC-PTM, Microval, ISO 11133)
- Длительный срок хранения – 24-36 месяцев
- Цветовая маркировка для быстрого и безошибочного выбора подложек

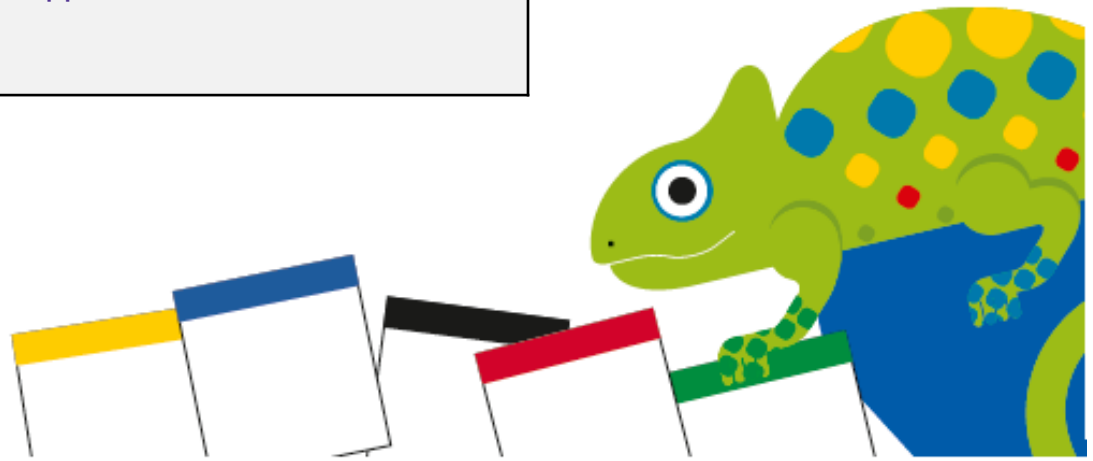
MC-Media Pads
Разработаны для удобного применения



!

MC-Media Pad – Удобные к использованию готовые питательные среды

Название	Назначение
MC-Media Pad Rapid Aerobic Count	Подложки со средой для быстрого подсчёта количества аэробных микроорганизмов
MC-Media Pad Coliform	Подложки со средой для подсчёта количества колиформных бактерий
MC-Media Pad E. coli & Coliform	Подложки со средой для подсчёта количества кишечной палочки и колиформных бактерий
MC-Media Pad Yeast & Mold	Подложки со средой для подсчёта количества дрожжевых и плесневых грибов



MC-Media Pads
4 простых шага для выполнения исследования

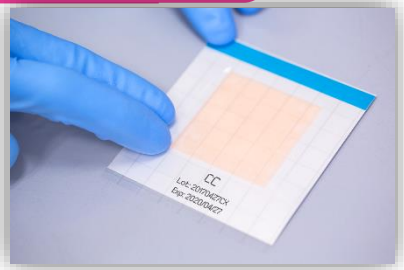
1

Откройте защитную пленку по диагонали и нанесите образец в центр подложки

2

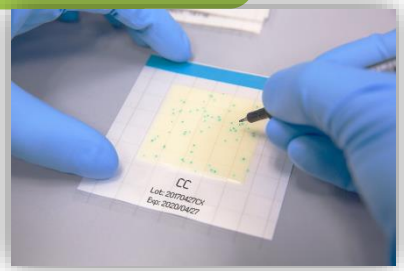
После посева образец самостоятельно распределится по всей подложке

3



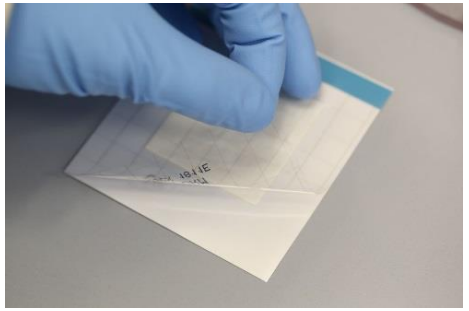
Закройте защитную пленку и инкубируйте при соответствующих условиях

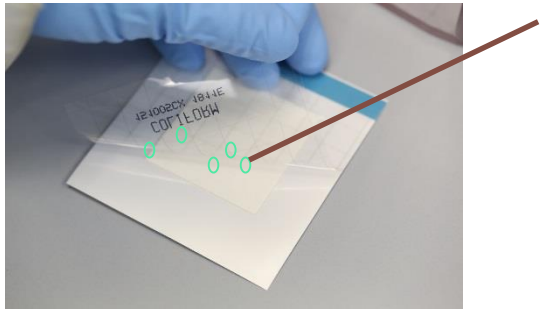
4



Проведите подсчет

Как осуществить идентификацию?





используйте любой метод для идентификации (питательные среды, ПЦР)

- Возьмите колонию и идентифицируйте любым удобным методом
- Красители, присутствующие в подложке, не влияют на результат идентификации

Преимущества MC-Media Pads

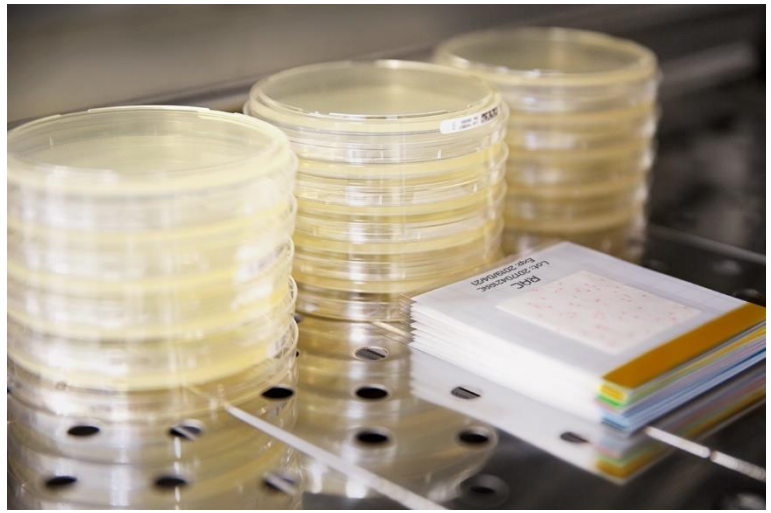
просто выберите нужный цвет

Экономят пространство в холодильнике и инкубаторе

Способствуют защите природы: снижают воздействие на окружающую среду

Улучшают систему управления материально-техническими ресурсами благодаря длительному сроку хранения – 36 месяцев

Упрощают процедуру тестирования



MC-Media Pads
Содержимое упаковки и условия хранения

Упаковка:

100 подложек в упаковке

(4x25 подложек)

Хранение: 2-15°C (холодильник 2-8°C)

Срок годности :

E.coli / Coliform, Coliform :	36 месяцев
Rapid Aerobic Count:	24 месяцев
Yeast & Mold:	24 месяцев

MC-Media Pads
Просто выберите нужный цвет

Одинаковый цвет

Экспресс-тесты на патогенные микроорганизмы: singlepath и duopath

Патогенные микроорганизмы

Методы выявления и подтверждения

1. Выявление

- Культуральные методы (селективные/хромогенные среды)
- Иммунологические методы (ELISA, Lateral Flows)
- Молекулярные (PCR)

Все положительные результаты должны быть подтверждены!

2. Подтверждение

Культуральные, биохимические тесты (субстраты, API)

Иммунологические тесты (ELISA, Lateral Flows)

Молекулярные методы (PCR)

Электрофорез

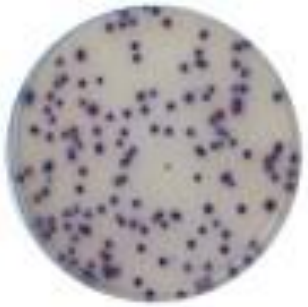
Патогенные микрорганизмы

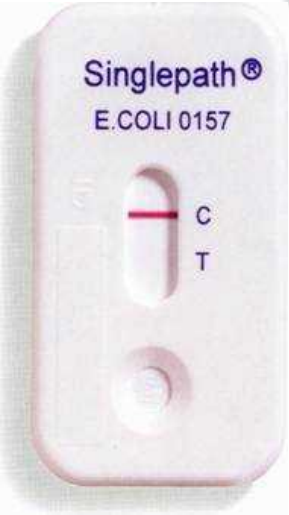
Сравнение различных методов анализа

Параметр	Культуральный метод	Lateral Flow	PCR
Специфичность	низкая	средняя	высокая
Чувствительность	средняя	средняя	высокая
Время до негативного результата	3 дня	24 - 48 ч	< 24 ч
Время до позитивного результата	3-6 дней	24 – 48 ч	< 24 ч
Влияние других м/о на результат	высокая	низкая	нет
Квалификация специалиста-требования	высокая	низкая	средняя
Себестоимость 1 анализа	низкая	средняя	высокая

Патогенные микрорганизмы

Экспресс-тесты от Merck





Singlepath®

Экспресс-тесты для выявления патогенов в продуктах питания и сырье

- В основе –иммунохроматографическая методика с использованием меченых золотом антител (GLISA - Gold Labelled Immuno Sorbent Assay)

- Быстрота, результат через 20 минут

- Ручной тест, не требуется оборудование

- Чувствительность, надежность, воспроизводимость

- Качественное определение патогенов

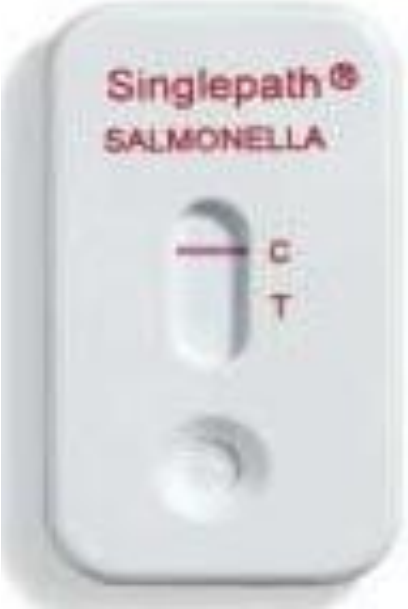
(Salmonella, Listeria mono, Campylobacter, E.coli O157, веротоксины E.coliO157)

- Простота в исполнении и прочтении результатов

- Упаковка 25 тестов, большой срок годности

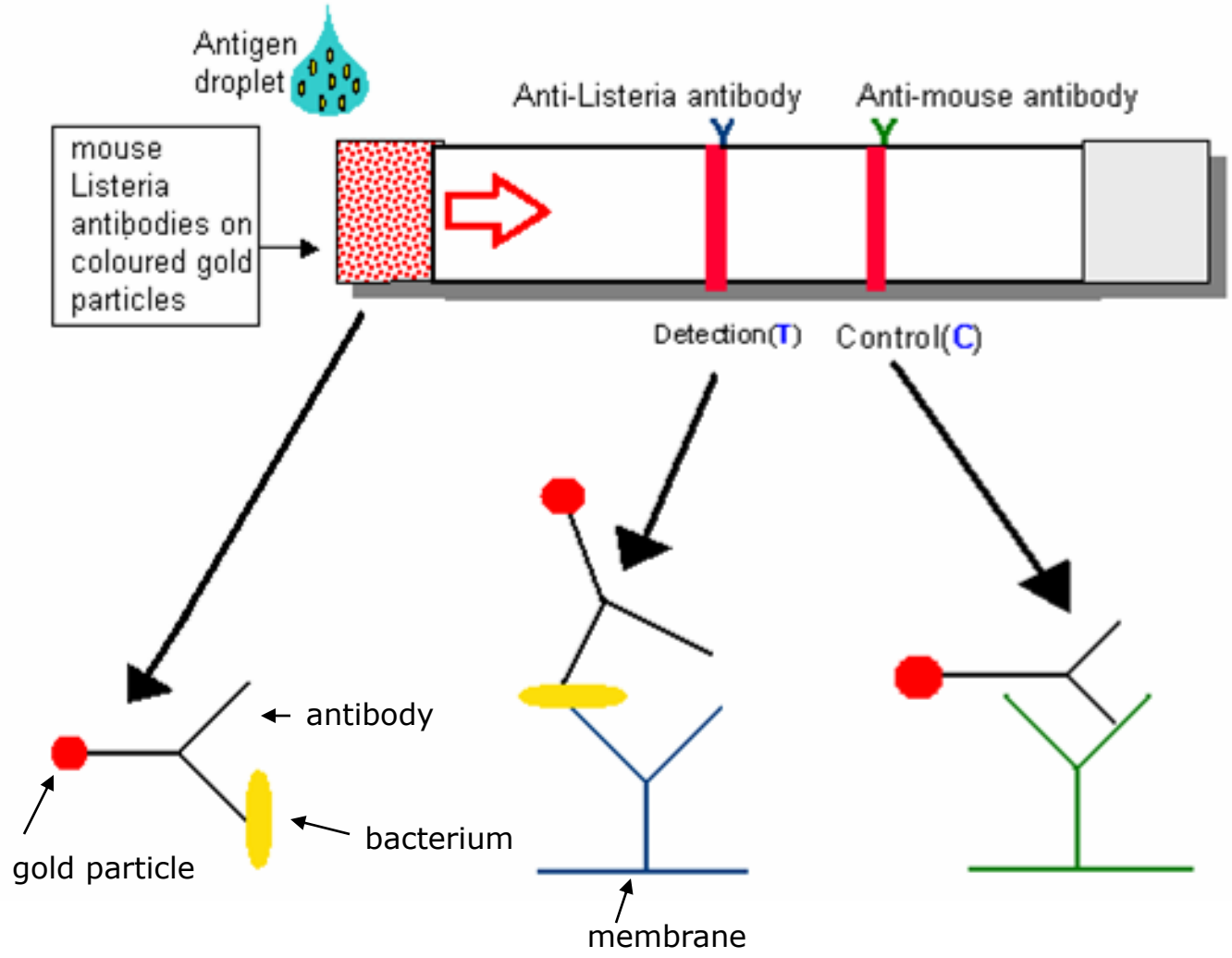
- Невысокая себестоимость исследования

- Внесены в МР



Singlepath®

Иммунохроматографические экспресс-тесты - принцип



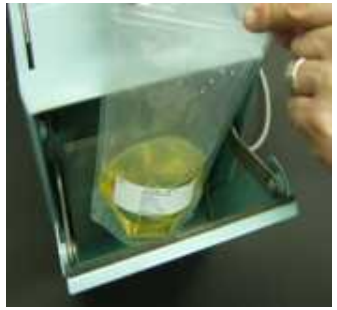
Singlepath®

Проведение анализа

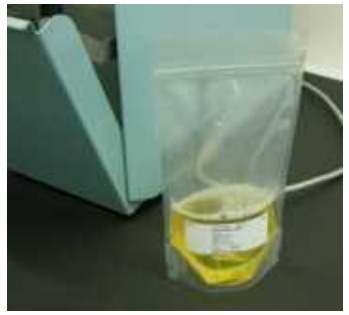
1.Накопит. среда

2. Проба

3. Гомоген-ия

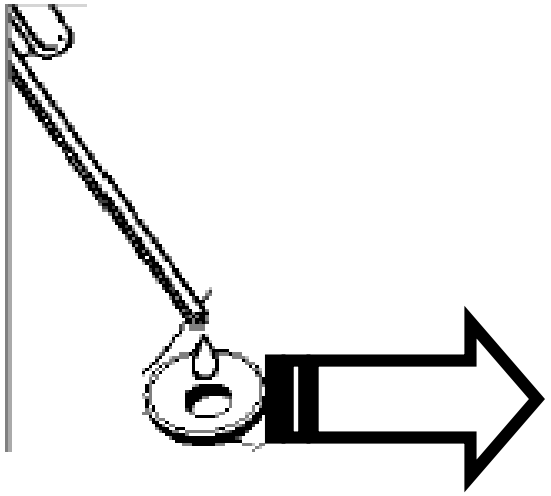


4. Инкубация



5.Отбор образца

6. Капаем в лунку



Отрицат.

Через 20 -25 мин

Положит.

Выявление бактерий рода Salmonella
Стандартная схема

День1

25 г/мл пробы 1:10
в 225 мл BPW
16 - 20 ч/ 35 - 37 °C

4 дня-до отриц.

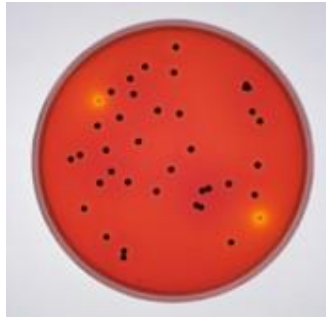
День 2

1мл BPW в
10 мл RVS
24 ч при t =41.5°C h

1 мл BPW в
10 мл MKTTn или селенитовая среда
24 ч t= 37t°C

День 3

XLD Agar 24 ч / 35-37°C 1 чашка 14 cm / 2 чашки 9 cm	Другой агар, 1 чашка 14 cm / 2 чашки 9 cm



XLD Agar 24 ч / 35-37°C 1 чашка 14 cm / 2 чашки 9 cm	Другой агар 1 чашка 14 cm / 2 чашки 9 cmcm

День 4

Нет роста – отсутствие бактерий рода Salmonella,
рост на чашках – идентификация

День 5

1-5 колоний с каждой среды поверхностно пересевают на МПА, ГРМ-агар 24 h / 35 - 37 °C

День 6

Биохимия и серология

Выявление бактерий рода Salmonella
С использованием экспресс-тестов Singlepath®

Неселективное обогащение
25 г/мл пробы 1:10
25 г 225 мл BPW
(21±3)ч T=(37±1) - 37 °C

3 дня

День1

Селективное обогащение
0,1мл культуры переносим в 10мл RVS-бульона (24±3)ч T=41,5°Ch

День 2

Инактивация
1-2мл культуры перенести в пробирку, водяная баня на 15 мин, охладить

2среды+

Singlepath

День 3

Определение
Поместить 150-160 мкл в тест-секцию Singlepath, результат – через 20 минут

Отриц.результат

Положит.рез – Рамбах хромоген

Выявление бактерий рода Listeria mono
Стандартная схема

25 г/мл пробы 1:10
Фразер бульон 1/2
24ч Т=30°С/ 35 - 37 °С

4-5 дней-до отриц.

День1

0,1мл в
10 мл Фразер бульон
48 ч Т =37°С h

День 2

День 3

День 4

Оксфорд, Палкам

Нет роста – отсутствие бактерий Listeria,
рост на чашках – идентификация

День 5

1-5 колоний с каждой среды поверхностно пересевают на МПА, TSA 24 h / 37 °С

День 6

Биохимия и серология

Выявление бактерий рода Listeria mono
С использованием экспресс-тестов Singlepath®

Предварит.селективное обогащение
25 г/мл пробы 1:10
25 г 225 мл Фразер бульон 1/2
(21±3)ч Т=30°С7 °С

3 дня

День1

Селективное обогащение
0,1мл культуры переносим в 9,9мл
Фразер бульона (24±3)ч Т=30°Ch

День 2

Инактивация
1-2мл культуры перенести в пробирку, водяная баня на 15 мин, охладить

День 3

2 среды +Singlepath

Определение
Поместить 150-160 мкл в тест-секцию Singlepath, результат – через 20 минут

Отриц.результат

Положит.рез – Палкам,Оксфорд

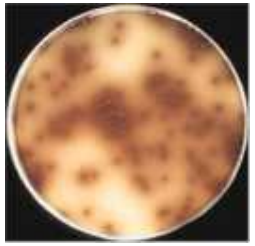
Singlepath®

Подтверждение L.monocytogenes

ALOA® Agar

Суспендировать 1 - 3 колонии в 250 µl CASO, Fraser бульонах

PALCAM Agar



OXFORD Agar

Термостатировать 1 ч при 37°C

150 µl

L. monocytogenes не обнаружена

L. monocytogenes обнаружена

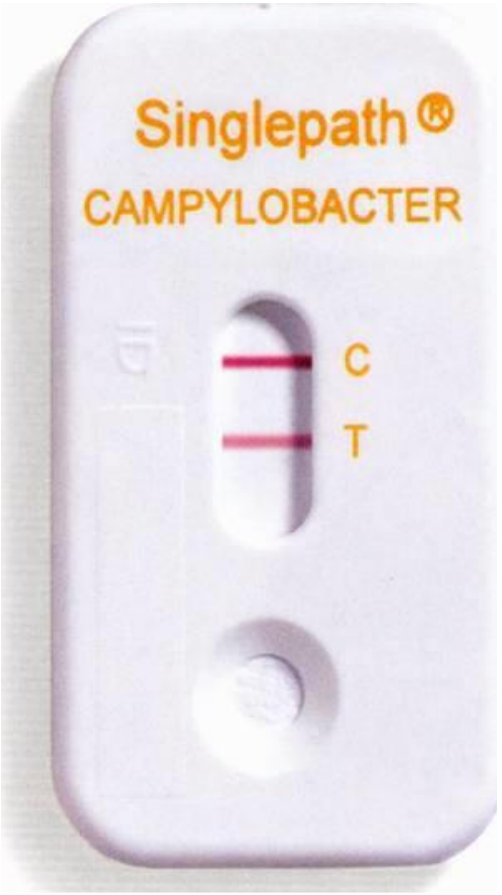
Singlepath®
Campylobacter

Для определения термофильных C. jejuni и C. coli в продуктах питания

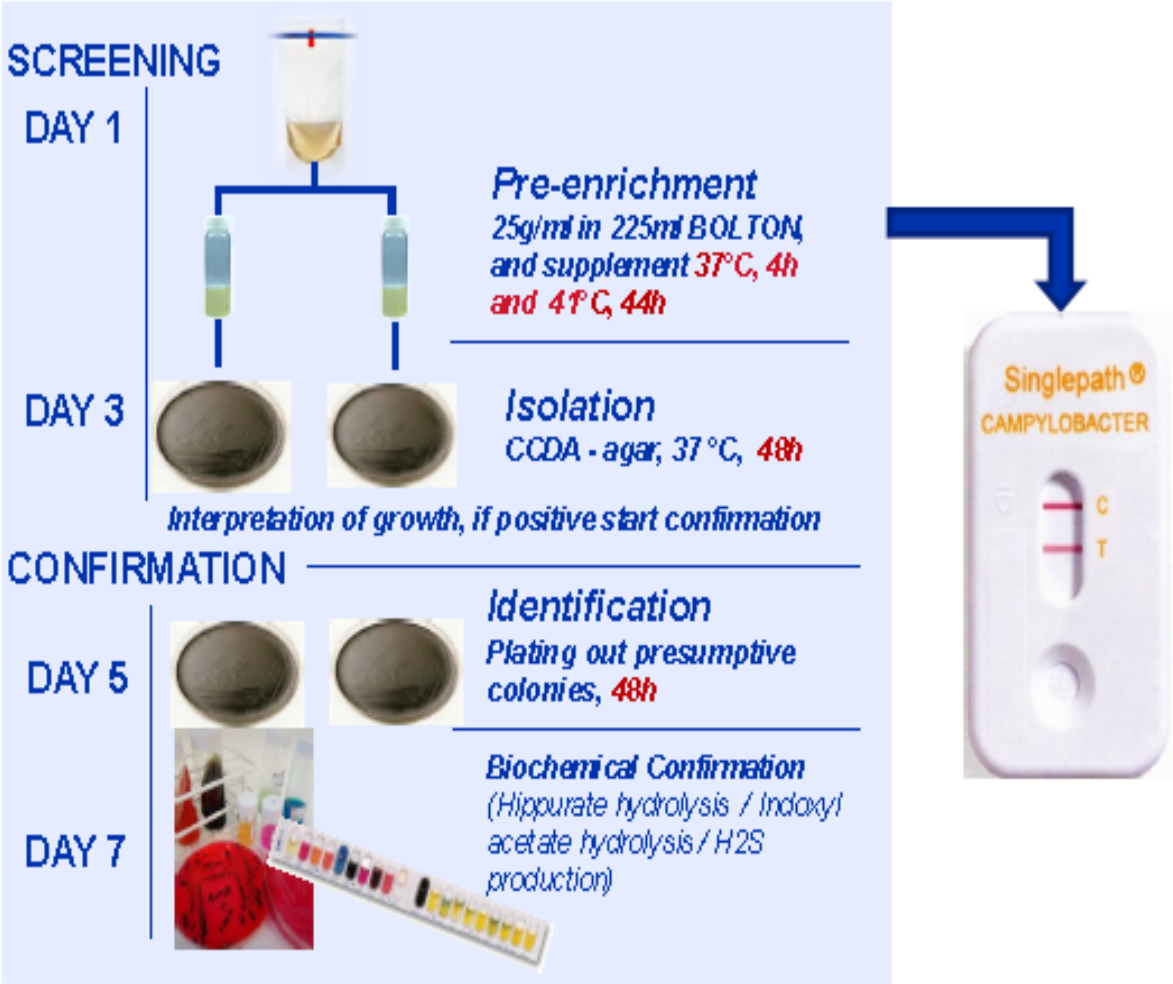
Нижний уровень детекции: 105-106 КОЕ/мл, в зависимости от серотипа

Шаги после предварительного инкубирования

- отобрать образец после предварительного инкубирования в бульоне Болтона
- 15 мин нагрева
- Окончательный результат в течении 20 мин



Campylobacter
Определение по ISO 10272



Singlepath® Direct Campy Poultry Kit

Выявление *Campylobacter* в фекальном материале птицы

Тип образца: Фекальный материал птицы

Предел определения: ~10_7/г фекального материала

Место проведения анализа: Площадка по выращиванию птицы, бойня или лаборатория

Время анализа: <1 часа

Доп. оборудование: Доступ к горячей воде

Условия проведения анализа: Дневное освещение и комнатная температура

IN LABORATORY / ON-FARM / AT SLAUGHTER

+

1g / 1 full scoop faecal dropping / caecal content + 9mL Sample Diluent

→

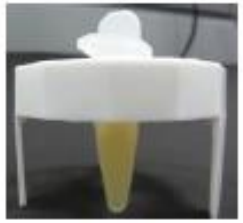
Mix thoroughly by vortex / by hand incubate 10min

→

Heat-inactivate 1mL supernatant 15min at ≥95°C

Add 50µl / 2 drops Sample Buffer

→



Mix thoroughly by vortex / by hand, incubate 10min

→

Apply 160µl / 5 drops

→

NEGATIVE

<10^7 cfu / g faeces

READ AFTER 20 MIN

POSITIVE

$\geq 10^7$ cfu / g faeces

Singlepath®
Важно - !

- **Все экспресс-тесты полностью зависят от качества селективных / неселективных бульонов обогащения**

- **Если бульон не позволяет вырастить минимум 10*5 КОЕ/мл – будет ложно-отрицательный результат !**

Singlepath® & Duopath®
8 экспресс-тестов для основных патогенов

спасибо за внимание!

ООО «Мерк»
г. Москва, ул. Валовая, 35
MM.russia@merckgroup.com
тел. +7 (495) 937-33-04