

# ELISA

## PÅVISNING AF SALMONELLA I LEVNEDSMIDLER

KENNETH BUCHWALD JOHANSEN

OKTOBER 2008

TEMA: LEVNEDSMIDLER II

3LABA0808

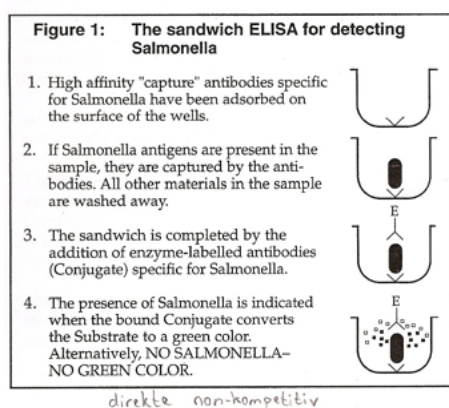
### 1 Formål

Påvisning af Salmonella i levnedsmidler (frikadel-lepølse) ved ELISA-metoden.

### 2 Princip og metode

Der bruges et kit, som laver direkte non-kompetitiv sandwich-ELISA. Dette vil sige, at hvis der er Salmonella-antigener til stede i prøve, vil de binde sig direkte til antistoffet, som brøndene er beklædt med. At metoden er non-kompetitiv vil sige, at antigenerne ikke skal kæmpe med andre antigener om pladserne på antistoffet. Når antigenet er bundet til antistoffet, tilsættes der konjugat, som er specifikt for Salmonella. Dette konjugat binder sig også til antigenet (og danner en "sandwich"). Det bundede konjugat kan omdanne farven i substratet, og det er derfor muligt at måle absorptionsen og derved bestemme, om prøven har indeholdt Salmonella. Princippet kan ses i figur 1.

The TECRA SALMONELLA VIA is an Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) performed in a "sandwich" configuration (see Figure 1).



**Figur 1:** Princippet i direkte non-kompetitiv sandwich-ELISA

I praksis opføres en prøve og der videregøres til RV-bouillon, som er selektivt. Der videregøres

til M broth.

Med kittet kommer nogle plastikbrønde, der er beklædt med antistoffer. Disse brønde tilsættes prøver, kontroller og blindprøve, hvorefter de inkuberes. På dette tidspunkt vil antigenerne have bundet sig til antistofferne. Brøndene vaskes og der tilsættes konjugat og inkuberes. Nu vil antigenerne være pakket ind i en antistof/konjugat-sandwich. Hvis dette er lykkedes, vil konjugatet kunne omdanne substratets farve. Der vaskes igen og tilsættes substrat. Straks måles der (absorbans) på alle brøndene. Herved haves en blindprøve (negativ kontrol). Efter 10-30 min vil den positive kontrols absorbans nå over 1, hvorefter der måles på samtlige brønde.

### 3 Resultater

Målingen af blindprøve kan ses i figur 2 på næste side og målingerne på prøverne kan ses i figur 3. C1-3 er prøver, E1 er positiv kontrol og E2 er negativ kontrol.

For at testen kan erklæres gyldig, skal den positive kontrol have en absorbans  $\geq 1$  og den negative kontrol skal have absorbans  $< 0,2$ .

En prøve regnes for at være positiv, hvis absorbansen overstiger 0,3.

Blindværdien (abs=0,080) trækkes fra alle absorbanserne.

### 4 Kommentarer

Ingen af prøverne kunne siges at indeholde Salmonella, da den højeste absorbans på en prøve var  $0,218 - 0,080 = 0,138$ . Til gengæld var det tydeligt, at den positive kontrol indeholdte Salmonella.

Metoden er meget nem og hurtig at bruge. Dette skyldes naturligvis at der er tale om et kit, hvor brøndene allerede er beklædt fra levering. Men alt i alt må man sige, at det er en metode, der er lige til at gå til.

DYNATECH MRX												
TEST NO.	:		W/L MODE	:	SINGLE	DATE	:	21.12.06				
TEST NAME	:		TEST FILTER	:	410 nm	TIME	:	12:56				
PLATE	:	0062	REF. FILTER	:	*	OPERATOR	:					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.076	0.077	0.075	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
B	0.079	0.079	0.077	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
C	0.081	0.082	0.081	-0.001	-0.001	0.000	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
E	0.084	0.080	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
F	0.000	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
G	0.000	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000	0.000

Figur 2: Måling af blindprøve

DYNATECH MRX												
TEST NO.	:		W/L MODE	:	SINGLE	DATE	:	21.12.06				
TEST NAME	:		TEST FILTER	:	410 nm	TIME	:	13:22				
PLATE	:	0064	REF. FILTER	:	*	OPERATOR	:					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.106	0.094	0.096	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000
B	0.098	0.105	0.103	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000
C	0.218	0.240	0.202	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000
D	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000
E	1.475	0.100	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000
F	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.002	-0.002	-0.001	0.000	0.000	-0.001
G	0.000	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.000	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.001	-0.002	-0.001	0.000	0.000	0.000

Figur 3: Måling af prøve