

## **Analýza vzorků masných výrobků na přítomnost koňské DNA – ověření doporučené evropské a interní real-time PCR metodiky**

**Garanti:** MVDr. Eva Renčová, Ph.D., Mgr. Pavel Krčmář, Ph.D.

Vzhledem ke zjištění nedeklarovaného koňského masa v masných výrobcích v tržní síti ČR a dalších zemích EU, čímž došlo k porušení Nařízení EP a Rady (ES) č. 178/2002, je nutné disponovat vhodnou analytickou metodou pro jeho stanovení. Studie si klade za cíl srovnání citlivosti a specifity dvou real-time PCR metodik pro stanovení koňské DNA z hlediska vhodnosti užití těchto metod pro kontrolu potravin v České republice.

Cílem této práce bylo porovnání parametrů dvou real time PCR metodik – akreditované interní metody a doporučené evropské metody pro druhovou identifikaci koňské DNA z hlediska jejich aplikovatelnosti a využitelnosti pro kontrolu masných produktů v České republice (ČR). Bylo vyšetřeno celkem 40 vzorků masných výrobků s deklarácí hovězího masa. Byl ověřen detekční limit 1 % příměsí koňské DNA v hovězí DNA (Evropská doporučená real-time PCR metoda) pro stanovení koňské DNA. Ve vzorcích č. 27 a 31 byl zjištěn amplifikační produkt pouze u 1 vzorku z duplikátu. U vzorku č. 27 byla hodnota  $C_p$  nižší než hodnota  $C_p$  odpovídající detekčnímu limitu 1 %. U vzorku č. 31 byla hodnota  $C_p$  přibližně stejná jako hodnota  $C_p$  odpovídající detekčnímu limitu 1 %. Oba tyto PCR produkty byly sekvenovány a přítomnost koňské DNA nebyla potvrzena. U všech ostatních vzorků nebyla amplifikace koňské DNA prokázána.

Byl ověřen doporučený detekční limit 1 % příměsí koňské DNA v hovězí DNA.

Byla vypracována metoda pro identifikaci DNA obratlovců ve vzorcích masných výrobků. Sekvence DNA specifická pro obratlovce (*UC27*) byla prokázána v 38 vzorcích. Ve vzorcích č. 8 a 9 DNA detekována nebyla, což bylo zřejmě způsobeno malou koncentrací DNA obratlovců v těchto vzorcích.

Byla vypracována metoda pro identifikaci DNA specifické pro eukaryota ve vzorcích masných výrobků. Sekvence DNA specifická pro eukaryota (*18 S rRNA*) byla detekována ve všech vyšetřovaných vzorcích.

Obě metody (interní i evropská) pro druhovou identifikaci koňské DNA lze považovat za dostatečně specifické a citlivé pro analýzu vzorků masných výrobků. Rovněž obě metody pro kontrolu přítomnosti DNA pro obratlovce a eukaryota ve vzorcích vyvinuté v naší laboratoři jsou vhodné pro praktické využití. Tyto metody mohou být vhodným doplněním doporučené evropské real-time PCR metody jako důležitý kontrolní mechanismus v případě nezjištění amplifikace koňské DNA ve vzorcích. V případě zjištění DNA pro obratlovce a eukaryota ve vzorku je zřejmé, že vzorek neobsahuje inhibitory polymerázy a zároveň obsahuje amplifikovatelnou tj. nedegradovanou DNA.