

AOAC–RI onaylı GLISA-Rapid Listeria Test Kiti (Gold Labelled ImmunoSorbent Assay)

Listeria monocytogenes yeryüzünde en fazla görülen ve buna bağlı olarak hastalanma ve ölüme yol açan gıda kaynaklı patojenlerden birisidir. Asıl patojen tür *L. monocytogenes* olmakla beraber, gıdanın 25 g (mL) analiz örneğinde *Listeria* türlerinin bulunmasına izin verilmez. Pek çok hayvan ve/ veya bitki kökenli gıdada analizinin yapılması istenmektedir.

Singlepath® Listeria gıdalarda ve hayvan yemlerinde *Listeria* spp. belirlenmesinde kullanılan immüno kromatografi esaslı hızlı bir test kitidir. Toplam 43 saatlik analiz süresi sonunda analiz edilen materyalde *Listeria* spp. olup olmadığı belirlenebilir. Selektif zenginleştirme aşamasından sonra negatif sonuç alınırsa, selektif katı besiyerine ekim ve inkübasyon sonunda elde edilecek izolatlara uygulanacak biyokimyasal ve/ veya serolojik esaslı ilave testlere gerek yoktur. Standart kültürel yöntemle *Listeria* analizinde negatif sonucun alınması için en az 96 saate gerek vardır.

Uygulama

25 g (mL) materyal 225 mL yarı selektif zenginleştirme ortamında gerekirse homojenize edildikten sonra 28–30 °C 'da 18–24 saat süre ile inkübe edilir. Yarı selektif zenginleştirme besiyeri olarak ½ Fraser Broth veya bLEB Broth ya da UVM–I Broth besiyeri kullanılabilir. Buradan alınan 0,1 mL kültür 9,9 mL selektif zenginleştirme besiyerine inoküle edilip, 28–30 °C 'da 18–24 saat süre ile inkübe edilir. Selektif zenginleştirme besiyeri olarak Fraser Broth veya LEB Broth ya da UVM–II Broth besiyeri kullanılabilir. Bu kültürden alınan 1–2 mL örnek cam ya da polipropilen bir tüpe aktarılıp, kaynar su banyosunda 15 dakika tutulur. Oda sıcaklığına soğutulur ve buradan, 160 µL (Pastör pipeti ile 5 damla) alınıp, Singlepath® Listeria kitinin yuvarlak girişine damlatılır. 20 dakika içinde kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit oluşmalıdır. Aynı süre içinde test "T" penceresinde de kırmızı şerit görülmesi analiz edilen kültürde *Listeria* olduğunu gösterir. Kitin daha önce buzdolabından çıkartılıp, oda sıcaklığına getirilmiş olması gereklidir. Analiz sonunda kullanılan tüm malzeme otoklavlanır ya da dezenfektan uygulanır

Petri kutusunda elde edilmiş şüpheli koloninin *Listeria* olup olmadığının analizi için basit olarak koloni 2 mL saf suda çözülüp, yukarıda anlatıldığı şekilde cam ya da polipropilen tüp içine aktarılır, kaynatma ve diğer işlemler yukarıda anlatıldığı gibidir. Gerekirse birden fazla koloni tek tüp içinde çözülebilir. Bununla beraber, koloninin izole edildiği besiyeri 37 °C 'da inkübe edilmiş ise bakterinin flagella oluşturmasındaki zayıflığa bağlı olarak pozitif reaksiyon da zayıf olmaktadır. Buna bağlı olarak sahte negatif sonuçlardan kaçınmak için şüpheli koloninin herhangi bir sıvı besiyerinde 28–30 °C 'da 18–24 saat süre ile inkübe edilmesi ve buradan alınacak 1–2 mL örnekle analize devam edilmesi gereklidir.

Uyarılar

Tüm immünojenik esaslı hızlı analizlerde olduğu gibi Singlepath® Listeria kitinde de pozitif sonuç sadece muhtemel *Listeria* varlığını gösterir. Pozitif sonuç alındığında klasik kültürel yöntemlerle analize devam edilmelidir. Negatif sonuçta ise analiz bitmiştir ve sonuç "25 g (mL) materyalde *Listeria* yok" şeklinde verilir.

Analiz edilen örnekte *Listeria* olmaması diğer patojenlerin olmayacağı anlamına gelmez. Örneğin ilave edildiği pencerede kuruma başlamadan önce sonuç okunmalıdır. Bu süre 25 dakikadır. Bir diğer deyiş ile analiz sonucunun 25 dakikadan fazla sürede okunmaması önerilir. Singlepath® Listeria kiti buzdolabı sıcaklığında (2–8 °C) korunmalı, kit poşetinden çıkarıldıktan sonra 2 saat içinde kullanılmalıdır.

Ürün	Merck Katalog no	Ambalaj
Singlepath® Listeria	1.04140.0001	25 test
FRASER Listeria Selective Enrichment Broth (base) *	1.10398.0500	500 g
FRASER Listeria Supplement *	1.10399.0001	16 vial
Listeria Enrichment Broth, Buffered (base) acc. to FDA/BAM 1995 (bLEB) *	1.09628.0500	500 g
Listeria Selective Enrichment Supplement acc. to FDA/BAM 1995 *	1.11781.0001	16 vial
UVM-Listeria Selective Enrichment Broth Modified *	1.10824.0500	500 g
UVM-II Supplement *	1.04039.0001	1 vial

* Bu besiyerleri hakkında www.mikrobiyoloji.org sitesi ana sayfasındaki Merck Mikrobiyoloji Hızlı Erişim dosyasından bilgi alınabilir.



Singlepath® Listeria Test kiti



Negatif



Pozitif

	<p>25 g (mL) gıda 225 mL yarı selektif zenginleştirme besiyerine ilave edilir. Gerekirse homojenizasyon yapılır.</p>
	<p>İnkübasyon: 28–30 °C 'da 18–24 saat</p>
	<p>Yarı selektif zenginleştirme kültüründen 0,1 mL alınıp 9,9 mL selektif zenginleştirme besiyerine aktarılır.</p>
	<p>İnkübasyon: 28–30 °C 'da 18–24 saat</p>
	<p>Selektif zenginleştirme kültüründen 1–2 mL alınıp, kaynar su banyosunda 15 dakika tutulur. Her hangi bir katı besiyerinden izole edilen koloni önce uygun bir sıvı besiyerinde 28–30 °C 'da 18–24 saat inkübe edilir ve buradan alınan 1–2 mL kaynar su banyosunda 15 dakika tutulur.</p>
	<p>Oda sıcaklığına getirilir.</p>
	<p>Singlepath Listeria kitine 160 µL (Pastör pipeti ile 5 damla) ilave edilir. Kit daha önceden oda sıcaklığına getirilmiş olmalıdır.</p>
	<p>20 dakika beklenir</p>
	<p>Kitte (C) şeridi kırmızı olmalıdır. (T) şeridi kırmızı olursa <i>Listeria</i> pozitif, olmazsa <i>Listeria</i> negatif olarak değerlendirilir.</p>
	<p>Toplam analiz süresi 42 saat 35 dakika</p>
	<p>Kullanılan tüm malzeme otoklavlandıktan ya da dezenfektana bırakıldıktan sonra yıkanır/ atılır.</p>