

AOAC–RI onaylı GLISA-Rapid E. coli O157 Test Kiti (Gold Labelled ImmunoSorbent Assay)

E. coli O157:H7 serotipi yeryüzünde en tehlikeli gıda kaynaklı patojendir. Hiçbir gıdanın 25 g (mL) analiz örneğinde *E. coli* O157:H7 serotipinin bulunmasına izin verilmez. Singlepath® *E. coli* O157 kiti ile sadece O157 serotiplerinin varlığı araştırılır. Başta kıyma olmak üzere pek çok hayvan ve/veya bitki kökenli gıdada analizinin yapılması istenmektedir.

Singlepath® *E. coli* O157 gıdalarda ve hayvan yemlerinde *E. coli* O157 serotiplerinin belirlenmesinde kullanılan immüno kromatografi esaslı hızlı bir test kitidir. Toplam 21 saatlik analiz süresi sonunda analiz edilen materyalde *E. coli* O157 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 *E. coli* O157 analizinde negatif sonucun alınması için en az 72 saate gerek vardır.

Uygulama

25 g (mL) materyal 225 mL selektif zenginleştirme ortamında gerekirse homojenize edildikten sonra 35–37 °C 'da 18–24 saat süre ile inkübe edilir. Selektif zenginleştirme ortamı olarak süt ve ürünlerinde mTSB, et ve ürünlerinde mEC Broth kullanılması önerilir. 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® *E. coli* O157 kitinin yuvarlak girişine damlatılır. Bu kaynatma işlemi zorunlu değildir. Ancak, bu uygulama ile bakteri öldürüleceği için kontaminasyon riski kaldırılmış olur. 20 dakika içinde kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit oluşmalıdır. Aynı süre içinde test "T" penceresinde de kırmızı şerit görülmesi analiz edilen kültürde *E. coli* O157 olduğunu gösterir. Kitin daha önce buzdolabından çıkartılıp, oda sıcaklığına getirilmiş olması gereklidir. Analiz sonunda kullanılan tüm malzeme otoklavlandıktan ya da dezenfektan uygulandıktan sonra atılır/ yıkanır.

Petri kutusunda elde edilmiş şüpheli koloninin *E. coli* O157 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.

Uyarılar

Tüm immünojenik esaslı hızlı analizlerde olduğu gibi Singlepath® *E. coli* O157 kitinde de pozitif sonuç sadece muhtemel *E. coli* O157 varlığını gösterir. Pozitif sonuç alındığında klasik kültürel yöntemlerle analize devam edilmelidir. Negatif sonuçta ise analiz bitmiştir ve sonuç "25 g (mL) materyalde *E. coli* O157 yok" şeklinde verilir. Pozitif sonuçta klasik kültürel yöntemlerle elde edilen kolonilerin verotoksin oluşturup oluşturmadığı Duopath® Verotoxins ile kontrol edilmelidir.

Analiz edilen örnekte *E. coli* O157 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® *E. coli* O157 kiti buzdolabı sıcaklığında (2–8 °C) korunmalı, kit poşetinden çıkarıldıktan sonra 2 saat içinde kullanılmalıdır.

Ürün	Merck Katalog no	Ambalaj
Singlepath® <i>E. coli</i> O157	1.04141.0001	25 test
mEC Broth *	1.14582.0500	500 g
mTSB Broth *	1.09205.0500	500 g

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

MERCK

Singlepath®



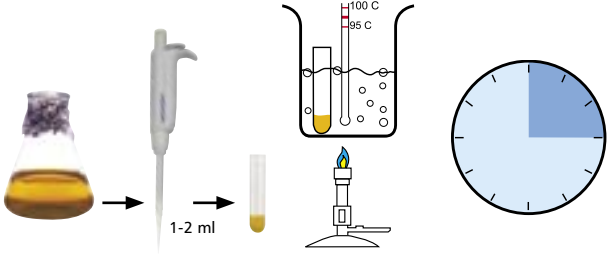
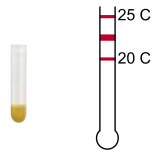
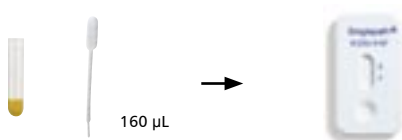
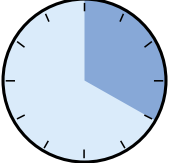



E. coli O157
Test kiti



Negatif



Pozitif

	<p>➤ 25 g (mL) gıda 225 mL selektif zenginleştirme besiyerine ilave edilir. Gerekirse homojenizasyon yapılır.</p>
	<p>➤ İnkübasyon: 35 – 37 °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 katı besiyeri parçalarının gelmemesine dikkat edilerek 1–2 mL saf suda çözülür ve kaynar su banyosunda 15 dakika tutulur.</p>
	<p>➤ Oda sıcaklığına getirilir.</p>
	<p>➤ Singlepath E. coli O157 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>E. coli</i> O157 pozitif, olmazsa <i>E. coli</i> O157 negatif olarak değerlendirilir.</p>
	<p>➤ Toplam analiz süresi 21 saat 35 dakika</p>
	<p>➤ Kullanılan tüm malzeme otoklavlandıktan ya da dezenfektana bırakıldıktan sonra yıkanır/ atılır.</p>