

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

Başta *E. coli* O157:H7 olmak üzere verotoksin (VT) üreticisi bakteriler tarafından üretilen VT1 (ST1) ve VT2 (ST2) toksinlerinin belirlenmesi için kullanılan kittir. Duopath® kiti ile bakterinin kendisi değil, bu toksinleri üretme yeteneği belirlenir. Her iki VT için de negatif sonuç alınırsa bunlar arasında VT oluşturan bakteri olmadığına göre *E. coli* O157: H7 serotipinin de olmadığına karar verilir.

● Uygulama

Duopath® Verotoxins kiti izole edilmiş bakterilerin verotoksin oluşturup oluşturmadıklarının analizi içindir. Buna göre gıda ya da dışkı örneğinden kuralına uygun olarak zenginleştirme kültürü elde edilir ve bu kültürden CT–SMAC Agar besiyerine sürme yapılır. İnkübasyondan sonra sorbitol negatif (renksiz) ve tipik kolonilerden 1 ya da daha fazlası 1 mL Caye Broth + Carbadox besiyerine inoküle edilip, 37 °C 'da 6 saat inkübe edilir. Bu besiyeri verotoksin oluşumunu destekler. Bu kültürden 180 µL alınıp, üzerine 20 µL polimixin çözeltisi ilave edilir ve 35–37 °C 'da 10 dakika inkübe edilir. Polimiksin, oluşan verotoksinin ortama salgılanmasını sağlar. Buradan 160 µL (Pastör pipeti ile 5 damla) alınıp, Duopath® Verotoxins kitinin yuvarlak girişine damlatılır. 20 dakika içinde kontrol "C" penceresinde kırmızı şerit oluşmalıdır. Aynı süre içinde test "VT1" ve/veya "VT2" pencerelerinde de kırmızı şerit görülmesi analiz edilen kültürde verotoksin(ler) 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.

● Uyarılar

Analiz edilen örnekte verotoksinlerin bulunmaması diğer patojenlerin toksinlerinin olmayacağı anlamına gelmez.

Test penceresindeki kırmızı rengin yoğunluğu antijen miktarı ile ilgilidir. Bununla beraber, tüm VTEC serovarları yeterli yoğunlukta kırmızı renk verir.

Kite 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.

Duopath® Verotoxins kiti buzdolabı sıcaklığında (2–8 °C) korunmalı, kit poşetinden çıkarıldıktan sonra 2 saat içinde kullanılmalıdır.

Ürün	Merck Katalog no	Ambalaj
Duopath® Verotoxins	1.04144.0001	25 test
mEC Selective Enrichment Broth w/Novobiocin *	1.14582.0500	500 g
mTSB Selective Enrichment Broth w/Novobiocin *	1.09205.0500	500 g
CAYE Broth mod. acc. to Evans *	1.00060.0500	500 g
CAYE Broth Supplement (Carbadox) *	1.00051.0001	16 vial
Bacillus cereus Selective Supplement (Polymycin B-sulfate) *	1.09875.0001	16 vial
SMAC agar *	1.09207.0500	500 g
CT-Supplement *	1.09202.0001	16 vials

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



Singlepath® Verotoxins Test Kiti Uygulama Şeması

	25 g gıda 225 mL mTSB ya da mEC Broth besiyerine ilave edilir. Süt ürünleri için mTSB Broth, et ürünleri için mEC Broth kullanılmalıdır. Gerekirse homojenizasyon yapılır.
	mEC Broth 42°C 'da, mTSB Broth 35–37 °C 'da 18–24 saat inkübe edilir.
	Selektif zenginleştirme kültüründen CT–SMAC Agar besiyerine tek koloniler düşecek şekilde sürme ya da yayma yapılır.
	CT–SMAC Agar 35–37 °C 'da 18–24 saat inkübe edilir.
	CT–SMAC Agar besiyerinden tipik birkaç koloni 1 mL Caye Broth + Carbadox besiyerine inoküle edilir.
	37 °C 'da 6 saat inkübe edilir.
	Bu kültürden Eppendorf tüpüne 180 µL alınır, üzerine 20 µL polimiksin çözeltisi ilave edilir.
	35–37 °C 'da 10 dakika inkübe edilir.
	Duopath Verotoksins kitine 160 µL (Pastör pipeti ile 5 damla) ilave edilir. Kit daha önceden oda sıcaklığına getirilmiş olmalıdır.
	20 dakika beklenir
	Kitte (C) şeridi kırmızı olmalıdır. (VT1) ve/veya (VT2) şeridi kırmızı olursa bu verotoksin(ler) açısından pozitif, olmazsa negatif olarak değerlendirilir.
	Toplam analiz süresi 48 saat 35 dakika
	Kullanılan tüm malzeme otoklavlandıktan ya da dezenfektana bırakıldıktan sonra yıkanır/ atılır.