



Singlepath® & Duopath®

Dünyanın her yerinde gıda ve su kaynaklı mikrobiyel enfeksiyonlar giderek artan sayılarda ve kayda değer ölçüde ciddi sağlık sorunları oluşturmaktadır. Bu enfeksiyonlarda ölümlerle sonuçlanan hastalıklar küçümsenmeyecek sayılardadır. Yeryüzünde gıda kaynaklı tüm hastalıkların neden olduğu ölümler konusunda sağlıklı tahmin yapılamamaktadır. Batı ülkelerinden daha sağlıklı veri elde edilmesi öncelikle hastalanmalardaki ekonomik kayıplar ile ilişkilidir. Mikotoksinler ve ağır metallerin birikimine bağlı erken ölümler de dikkate alındığında her yıl ölümlerin yüz binlerce olduğu söylenebilir. Mikroorganizmaların ve özellikle bakterilerin bu hastalık ve ölümlerdeki payının çok yüksek olduğu açıktır.

Gıda sanayisinde kaliteye yönelik uygulamalarda her gün gelişme sağlanmakla beraber, pahalı ve yanlış kalite yatırımları maliyetlerde ticari üretimde kabul edilemeyecek düzeyde olumsuz etki yapmaktadır. Çoğu defa gözden kaçan gizli maliyetlerdir.

Mikrobiyolojik analizler için gereken sürenin uzun olması hızlı analizler üzerinde yoğunlaşmaya neden olmuştur. Hızlı testler ise otomatik sistemler ve elle yapılan analizler olarak iki temel gruba ayrılmaktadır. Otomatik sistemler 10.000-50.000 € maliyetlerle kurulmakta olup, günde 50 'den fazla patojenin analizinin yapıldığı merkezi laboratuvarlar için uygundur. Bu sayının altındaki analizler gizli maliyet olarak yansımaktadır. Bu sistemlerin kalibrasyon ile yıllık bakım giderleri de çoğu defa gözden kaçan maliyet unsurlarıdır.

Merck Singlepath® ve Duopath® hızlı analiz sistemi elle yapılan bir analiz olup, hiçbir gizli maliyet unsuru yoktur. Her kitle bir iç standart olarak kontrol penceresi vardır ve analiz sırasında bu pencerede kırmızı çizginin oluşması kitin doğru çalıştığının göstergesidir ve ilave bir kalibrasyon ya da ayar gibi işlem yoktur.

Kitlerin okunması ve değerlendirilmesi ilave bir eğitim ve uzmanlık gerektirmez. Analiz başladıktan sonra 20 dakika içinde kontrol penceresinde kırmızı şerit oluşursa kit doğru çalışmaktadır. Test penceresinde kırmızı şerit oluşması aranan patojenin var olduğunu, kırmızı şerit oluşmazsa aranan patojenin olmadığı şeklindeki değerlendirme ile analiz biter. Duopath® Verotoxins'de bakteri değil, toksin analizi yapılmaktadır.

Merck güvencesi ile üretilmiş olan Singlepath ve Duopath sistemlerinin tümü AOAC-RI onaylıdır.

Lateral Flow Analizinin Prensipli

Singlepath® ve Duopath® lateral akış testleri immuno tanımlama esaslı analizler olup, belirli bir patojen ya da toksini belirlemeye yöneliktir. Her iki test Sandwich ELISA sistemi ile çalışır ve buna göre antijen olan patojen ya da toksin antikor tabakaları arasında tutuklanır. Burada antijen bir toksin molekülü veya patojenik alttürler için bir marker molekül ya da *Salmonella* 'da olduğu gibi serovarlara ait bir grup olabilir.

Singlepath® ve Duopath® sistemlerinde 0,16 mL zenginleştirme kültürü örnek penceresine aktarılır. Bu pencere antijen için altınla işaretlenmiş (gold-labelled) antikor emdirilmiş bir konjugat ped için giriş yoludur. Analiz edilen örnekteki antijenler altınla işaretlenmiş antikora bağlanır. Bu antikor ve antijen kompleksi çözeltisi konjugat pedden connecting (iletici) ped aracılığı ile diğer uçtaki absorbant (bağlayıcı) pede doğru geçer. Singlepath connecting ped test (örnek) şeridi (T) ve iç kontrol şeridi (C) olmak üzere 2 adet yakalayıcı antikor şeridi içerir. Duopath® sisteminde ise 2 test şeridi ve 1 kontrol test şeridi vardır.

Altınla işaretlenmiş antikor-antijen kompleksi konjugat pedden yakalayıcı antikor içeren T şeridine geçer. Burada kompleks ile reaksiyona girer ve göç durur. Yeterli miktarda altınla kaplanmış antikor-antijen kompleksi yakalayıcı antikorlara bağlanınca 20 dakika içinde gözle görülebilir berrak ve keskin bir kırmızı şerit oluşur. Eğer yeterli miktarda altınla kaplanmış antikor-antijen kompleksi bağlantısı yoksa (örneğin, test edilen örnekte *Salmonella* yoksa) (T) penceresinde kırmızı şerit oluşmaz.

Test edilen örnekte *Salmonella* olsun ya da olmasın, altınla işaretlenmiş antikorların fazlası (T) şeridinden devam ederek (C) şeridine gelir ve buradaki yakalayıcı antikorlarla bağlanarak bu şeridin kırmızı olarak görülmesini sağlar. (C) şeridinde kırmızı renk oluşumu sistemin doğru çalıştığının kanıtıdır.

İmmuno tanımlama test sistemlerinin en büyük özellikleri spesifiklikleri ve duyarlılıklarıdır. Spesifiktikten kasıt, antijen-antikor arasında sahte pozitif sonuçlara izin vermeyecek özgüllüktür. Duyarlık ise sahte negatif sonuçlara izin vermeyecek düzeyde az miktardaki antijenin belirlenebilmesidir. Singlepath® sistemindeki duyarlık hedef patojenin 10⁴ kob/mL sayıdaki varlığıdır. Bu analizlerde sahte negatif sonuçlar tümüyle yetersiz zenginleştirme kaynaklıdır.

Buna bağlı olarak immuno tanımlama esaslı testlerde en iyi sonuçlar standart kalitedeki kültür besiyerleri ile elde edilebilir. Bu besiyerleri hasar görmüş hedef patojenlerin hasarlarını hızla onarmalarını, kısa bir lag fazı geçirmelerini ve log fazında optimum olarak gelişerek antijenik moleküllerin çoğalmasını sağlar.

Merck Singlepath® sistemleri dünyada en fazla gıda kaynaklı hastalanma ve ölüme neden olan *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* O157:H7 ve *Campylobacter* varlığının gösterilmesi için geliştirilmiştir. Duopath ise izolatin verotoksin oluşturup oluşturmadığının analizinde kullanılmaktadır.

Singlepath® sistemi kalite kriterlerine bağlı olarak mikrobiyolojik anlamda da kaliteli üretim yapan gıda işletmeleri için uygundur. Bir diğer deyiş ile, analiz edilen örnekte zaten *Listeria monocytogenes* olma olasılığı çok düşük ise Singlepath® *Listeria* ile analizi yapılır. Sonuç *Listeria* yok şeklinde alındığında hiçbir *Listeria* türü olmadığına göre *L. monocytogenes* de olmayacaktır. Analiz edilen örnekte *L. monocytogenes* değil ancak, diğer türler doğal olarak buluyorsa bu analiz sisteminin kullanılması uygun değildir. Aynı durum *Campylobacter jejuni* ve *E. coli* O157:H7 için de geçerlidir.

