A. KULLANIM AMACI VE PRENSİBİ

GSD E. coli O157:H7 Latex Test Kit, gıdalardan veya klinik örneklerden katı besiyerinde izole edilen şüpheli *Escherichia coli* O157 serogrubu kolonilerinin doğrulanmasına için hızlı bir lateks aglütinasyon test kitidir.

Kit içeriğindeki test reaktifine bulunan lateks partiküller O157 antijenine karşı antikorlar ile kaplanmıştır. Kültür ortamından alınan koloniler lateks partikül süspansiyonu ile bir reaksiyon kartı üzerinde test edilir.

B. PROSEDÜR

⚠ Yalnızca profesyonel in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Son kullanma tarihinden sonra kontrol ve reaktifler kullanılmamalıdır.

Reaktiflerin veya örneklerin çapraz kontaminasyonundan kaçınılmalıdır.

Reaktifler koruyucu olarak %0.5-0.1 oranında sodyum azid içerir. Reaktiflerin lavaboya dökülmesi durumunda bol miktarda suyla yıkanmalıdır.

Potansiyel patojen mikroorganizmalar ile yapılan çalışmalarda gerekli **biyogüvenlik önlemleri** alınmalıdır.

Kontrol ve reaktifler **2-8°C'**da muhafaza edilmelidir ve dondurulmamalıdır.

B1. Kit İçeriği

Negative Control (Negatif Kontrol) İnaktive edilmiş *E. coli* K99 hücre süspansiyonu, mavi kapaklı vial	0.5 mL
Positive Control (Pozitif Kontrol) *İnaktive edilmiş E. coli* O157 hücre süspansiyonu, kırmızı kapaklı vial	0.5 mL
Antibody-Latex Beads Reagent (Test Lateks Reaktifi) *E. coli* O157 antijenine karşı tavşan antikorları kaplı lateks partikülleri içeren solüsyon, gri kapaklı vial	1,5 mL
Control Latex Reagent (Kontrol Lateks Reaktifi) *E. coli* O157 antijenine karşı reaktif olmayan tavşan antikorları kaplı lateks partikülleri içeren solüsyon, beyaz kapaklı vial	1 mL
PBS Fosfat tamponlu salin solüsyonu, şeffaf kapaklı vial	1 mL
Reaksiyon kartları ve karıştırma çubukları	
Transfer pipetleri	10 adet (Yeşil etiketli poşet içinde) 5 adet (Kırmızı etiketli poşet içinde) 5 adet (Mavi etiketli poşet içinde)

B2. Örnek Hazırlama

Test için bir izolasyon besiyeri üzerinde elde edilen koloniler kullanılmalıdır. Bu amaçla koyun kanı ilave edilmiş tryptic soy agar tercih edilebilir.

B3. Test Prosedürü

1. Tüm reaktifleri **oda sıcaklığına** getirin.
2. Reaksiyon kartı üzerindeki **bir daireye** transfer pipeti (Yeşil etiketli poşette) ile **bir damla PBS** damlatın. Birden çok sayıda izolatı test edecekseniz, izolat sayısı kadar daire kullanınız.
3. **İzolasyon besiyeri** üzerindeki karakteristik birkaç koloniyi öze veya test içeriğindeki karıştırma çubuğu ile alınız ve dairedeki PBS içinde emülsifiye ediniz.
4. Reaksiyon kartı üzerindeki ikinci bir daireye transfer pipeti (Kırmızı etiketli poşette) ile **bir damla Pozitif Kontrol** (Kırmızı kapaklı vial) damlatınız.
5. Reaksiyon kartı üzerindeki üçüncü bir daireye transfer pipeti (Mavi etiketli poşette) ile **bir damla Negatif Kontrol** (Mavi kapaklı vial) damlatınız.
6. Her üç daireye bir damla **Test Lateks Reaktifi** (Gri kapaklı vial) damlatınız.
7. Reaksiyon kartını yavaşça ve nazikçe **bir dakikaya kadar** sallayın ve döndürünüz. Bu esnada kartı **aglütinasyon** varlığı için inceleyiniz. Aglütinasyon çıplak gözle açıkça görülebilmelidir.
8. Test Lateks Reaktifi ile aglütinasyon gözlendiğinde, **izolatın otoaglütinasyon yapabilen bir suş olmadığını** teyit etmek için **Kontrol Lateks Reaktifi** (Beyaz kapaklı vial) **ile test edilmelidir**.

B4. Sonuçların Yorumlanması

Geçerli bir sonuç için Pozitif Kontrol ve Negatif Kontrol ile beklenilen sonuçlar elde edilmelidir.

Test Lateks Reaktifi ile **aglütinasyon gözlenmemesi durumunda** izolat ***E. coli* O157 serogrubuna dahil değildir**.

Test Lateks Reaktifi ile **aglütinasyon gözlenmesi durumunda**, izolat otoaglütinasyon için Kontrol Lateks Reaktifi ile test edilmelidir;

- Kontrol Lateks Reaktifi ile aglütinasyon gözlenmediği takdirde **izolat *E. coli* O157 serogrubuna dahildir**.
- Kontrol Lateks Reaktifi ile aglütinasyon gözlenmesi izolatın otoaglütinasyon özelliğini gösterir. **Otoaglütinasyon gözlenmesi durumunda izolatın doğrulanması için kitin kullanımı uygun değildir.**