



T.C.
TARSUS BELEDİYESİ
KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ
TALİMATLAR VE FORMLAR EL KİTABI
TS-EN-ISO 9001:2008



PİŞMİŞ ET TÜRÜ ELİSA KİTİ ÇALIŞMA TALİMATI (SİMD - TL - 06)

1.0 MAKSAT ve KAPSAM :

Bu talimatın maksadı, birim çalışanları tarafından Sartorius BP 2215 model hassas teraziyi daha elverişli bir şekilde kullanmasıdır.

2.0 SORUMLULAR : Birim çalışanları

3.0 UYGULAMA :

3.1. Kit Materyalinin Hazırlanması

3.1.1 Çalışmaya başlamadan önce kiti oda ısısına gelinceye kadar **1 saat** bekletin

3.2. Dokudan Örneğin Hazırlanması

3.2.1. Dokudan 5 gr alınıp, stomacher veya 100 lük beher içerisine koyunuz,

3.2.1. Üzerine 10 ml. Normal saline (%0,9 sodyum klorit) ekleyiniz

3.2.2. 10 saniye boyunca manule olarak homejenize edebilirsiniz

3.2.3. Numuneyi 30-60 dakika beklemeye tabi tutunuz.

3.2.4. Sonra bir santrifüj tüpüne sıvı kısmından aktarıp, 15 sn 10.000×G devirde santrifüj ediniz. Ya da süzgeç kağıdı ile süzerek süpernatant kısmını çalışma için kullanabilirsiniz.

3.3. Çalışma Protokölü

3.3.1. Aradığınız türe ait 8 li kuyucuğu mikropleyte yerleştirin.

3.3.2. Seçtiğiniz 1. Kuyucuğa 100 µl negatif kontrol.

3.3.3. Seçtiğiniz 2. Kuyucuğa 100 µl pozitif kontrol.

3.3.4. Seçtiğiniz 3. Kuyucuğa 100 µl %1 pozitif kontrol koyunuz. (%1 pozitif kontrol bir kuyucuğa 99 mikrolitre distile su konup içinde bulunan pozitif kontrolden 1 mikro litre eklenir ve kuyucuk karışım için pipetaj yapılır. Taze hazırlanmalıdır.

3.3.5. Diğer kuyucuklara sırasıyla örneklerden 100'er µl koyunuz.

3.3.6. Mikropleyti yavaşça elle sarsıp karışmasını sağlayınız. Üzerini kapatıp (alüminyum folyo) 1 saat oda ısısında inkübasyona bırakınız.

3.3.7. İnkübasyon sonrası tüm kuyucukları tek bir hamle ile karışmadan lavaboya boşaltınız.

3.3.8. Üç kez yıkamaya tabi tutunuz. (yıkama solüsyonu 300 µl kullanılabilir).

3.3.9. Sekiz kuyucuk için: 8 µl Wash Solüsyon 72 ml deiyonize su karıştırılır. 1 kuyucuk için **Wash Solüsyon Concentrate 1:10 oranında deiyonize su ile dilüe edilir.**

HAZIRLAYAN
Sağlık İşleri Müdürü
Yıldız ÖZBEY YARPUZ

ONAYLAYAN
Belediye Başkan Yardımcısı
Hüseyin BORO



T.C.
TARSUS BELEDİYESİ
KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ
TALİMATLAR VE FORMLAR EL KİTABI
TS-EN-ISO 9001:2008



- 3.3.10.** İşlenmiş tüm kuyucuklara **25 µl Anti-species biotinylates Antibody** ekleyip. Üzerini kapatıp (alüminyum folyo) 1 saat oda ısısında inkübasyona bırakınız.
- 3.3.11.** Üç kez yıkamaya tabi tutunuz. (yıkama solüsyonu 300 µl kullanılabilir).
- 3.3.12.** İşlenmiş tüm kuyucuklara **25 µl Avidin Peroxidaz Konjugat** ilave edilir.
- 3.3.13.** Üzerini kapatıp (alüminyum folyo) 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakınız.
- 3.3.14.** Altı kez yıkamaya tabi tutunuz. (yıkama solüsyonu 300 µl kullanılabilir).
- 3.3.15.** İşlenmiş tüm kuyucuklara **50 µl ABTS solüsyonu** ilave ediniz. ABTS Cancestrate önceden hazırlanmalıdır.(Avidin Peroxidaz Konjugat inkübasyonu sırasında) **8 kuyucuk için 0,025 ml (25 mikrolitre) ABTS Cancestrate ve 0,6 ml (600 mikrolitre) Peroxide Citrate Buffer** karıştırılır. **Bu oran 1/25 oranında çalışılacak kuyucuk kadar da hazırlanabilir.**
- 3.3.16.** Üzerini kapatıp (alüminyum folyo) 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakınız.
- 3.3.17.** İşlenmiş tüm kuyucuklara 50 µl Stop solüsyonu ilave ediniz.
- 3.3.18.** Mikropleyt 405-420 nm de okunur. Absorbans (O.D) değerleri yorumlanır.

3.4. GÖRSEL OKUMA

Testin geçerli olması için gereken şartlar.

- 3.4.1.** Pozitif kontrol koyu yeşil renk olmalıdır.(beef testindeki beef kontrolü, pork testindeki pork kontrolü vs.)
- 3.4.2.** Negatif kontrol açık yeşil veya renksiz olmalıdır.
- 3.4.3.** %1 pozitif kontrol yeşilin orta tonu olması gerekir. Yani negatif kontrolden daha yeşil ve pozitif kontrolden daha az yeşil.
- 3.4.4.** Bu şartlar sağlanırsa örneklerin yorumuna geçilebilir.

3.5. ÇALIŞMANIN GÖRESEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

- 3.5.1.** %1 Pozitif kontrolden daha yeşil ise, örnek **POZİTİF** tir.
- 3.5.2.** %1 Pozitif kontrolden daha az yeşil ise, örnek **NEGATİF** tir.
- 3.5.3.** **NEGATİF** kontrol gibi renksiz ise, örnek **NEGATİF** tir.
- 3.5.4.** %1 Pozitif kontrolden daha az yeşil, **NEGATİF** kontrolden daha yeşil ise bu örnek **B.R.A.L.** (Below Regulator Action Levels) olarak nitelendirilir. Yani şüphelidir, örnek yeniden hazırlanıp testin tekrarı lazımdır.

HAZIRLAYAN Sağlık İşleri Müdürü Yıldız ÖZBEY YARPUZ		ONAYLAYAN Belediye Başkan Yardımcısı Hüseyin BORO	
Form No: KYMR - FR - 03	Doküman No: KYS - 04	Rev. no ve tarihi : 00 / 01.06.2010	Sayfa No: 2 / 2