

Tunnus:	E.coli, Roal
Versio:	1.3
Vastuhenkilö:	Eeva Klemettilä-Kirjavainen
Päiväys:	16.1.2009

***ESCHERICHIA COLI* -BAKTEERIN TOTEAMINEN JA PITOISUUDEN MÄÄRITTÄMINEN MPN-TEKNIKALLA**

Kvalitatiivinen määrittäminen

Punnitse 25 g näytettä laktoosipeptonilihaliemeen ja inkuboi $44,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$:ssa 2 vuorokautta.

Mikäli inkuboinnin jälkeen liemen väri on muuttunut keltaiseksi/kellertäväksi, suorita positiivisen tuloksen varmistus.

Siirrosta rikasteesta silmukallinen viiteen Fluorocult-LMX-putkeen ja inkuboi $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$:ssa 1 vuorokausi.

Tuloksen ilmoittaminen

Näyte on *Escherichia coli* todettu/25 g, mikäli yksikin LMX-putkista antaa positiivisen *E.coli* –reaktion ja positiivisen testituloksen Kovac´s reagenssilla suoritettavassa indolitestissä.

Kvantitatiivinen määrittäminen

Annostele 10:een koeputkeen kuhunkin 5 ml 3 x väkevöityä laktoosipeptonilihalientä.

Punnitse 25 g entsyyminäytettä + 100g steriiliä vettä.

Sekoita hyvin ja annostele 10:een koeputkeen, kuhunkin putkeen 10 ml.

Mikäli näytettä jää sekoituksesta huolimatta pullon pohjalle, annostele loppu tasaisesti putkiin.

Inkuboi seosta $44,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 2 vrk.

Laske kuinka monta putkista on positiivista (keltainen/kellertävä) ja siirrosta niistä 100 µl LMX-liemiputkiin.

Inkuboi LMX-putkia normaalisti ja tarkista inkuboinnin jälkeen värinmuutos/fluoresenssi/indoli.

Tuloksen ilmoittaminen

Ilmoita niiden putkien määrä, jotka olivat alkuperäisessä viljelmässä positiivisia ja jotka LMX:ssä osoittivat *E.colia*. Mikrobiologi laskee tuloksen tilastollisesta MPN-taulukosta