



کیت انتخابی و غنی‌کننده برای شناسایی همزمان *E. coli* و *Coliforms*  
مورد تایید سازمان استاندارد، سازمان غذا و دارو کشور، سازمان  
دامپزشکی کشور، سازمان آب و فاضلاب کشور

باکتری‌های کلیفرم، شاخص متداولی برای بررسی سلامت و ایمنی آب هستند. *Hafnia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* و *Yersinia* و *Klebsiella* از جمله باکتری‌های کلیفرم هستند. کلیفرم‌ها به‌طور معمول در محیط‌زیست ما یافت می‌شوند و یکی از منابع اصلی بیماری‌های حاد ناشی از آلودگی آب هستند. سالانه میلیون‌ها مورد بیماری باکتریایی شامل موارد مرگبار، به‌دلیل آلودگی آب رخ می‌دهد. در موارد خفیف‌تر می‌توان به اسهال، استفراغ و انواعی از علائم گوارشی اشاره کرد.

به این دلیل که آب آلوده می‌تواند با طعم یا بوی بد همراه نباشد، اغلب آلودگی‌های آب بدون روش‌های صحیح قابل شناسایی نیستند. حضور باکتری‌های کلیفرم و *E. coli* در آب آشامیدنی نشان می‌دهد که لازم است تصفیه آب انجام شود. در صورتی که آلودگی در آب در حال تصفیه مشاهده شود به این معناست که تصفیه کافی برای حذف تمامی میکروب‌های زنده انجام نشده‌است. در صورتی که تصفیه آب به‌صورت کامل انجام نشود، این آب بطور بالقوه می‌تواند سمی باشد و باعث بیماری شود.

علاوه بر موارد طبیعی آلوده‌کننده آب مانند فضولات حیوانی، سیلاب‌ها، حضور انواع حشرات و ... آلودگی می‌تواند در مخازن و حتی لوله‌کشی‌های نامطلوب نیز رخ بدهد. به همین دلیل ضرورت بررسی آلودگی، در سایر منابع نیز باید لحاظ شود.

کیت *ColiZist™* روشی ساده برای بررسی حضور یا عدم حضور باکتری‌های کلیفرم همزمان با *E. coli* است. *ColiZist™* به آزمایشگاه‌ها کمک می‌کند تا اطمینان حاصل کنند آب تمیز و ایمن است. *ColiZist™* یک آزمون براساس ریکآوری و غنی‌سازی و سپس سنجش آنزیمی برای شناسایی کلیفرم‌ها و *E. coli* در نمونه‌های آب است.

مواد مغذی موجود در این محیط، رشد سریع کلیفرم‌ها را امکان‌پذیر می‌کند. همچنین مهارکننده‌ها به میزان زیادی باکتری‌های گرم مثبت را مهار می‌کنند. سوبسترای کروموژن موجود در کیت، پس از هضم توسط کلیفرم‌ها بصورت رنگ نامحلول آبی دیده می‌شود. همچنین سوبسترای فلوروژنیک به‌کار رفته نیز اختصاصیت بالایی برای *E. coli* دارد. در نتیجه شناسایی همزمان کلیفرم‌ها و *E. coli* را امکان‌پذیر می‌کند.



کیت *ColiZist™* در دو بسته‌بندی متفاوت براساس نیاز مشتری تولید می‌شود. یک بسته‌بندی شامل بطری‌های ۱۰۰ ml حاوی پودر محیط کشت است که کافی است مقدار ۵۰ ml تا ۱۰۰ ml نمونه آب مورد نظر به بطری اضافه شود. بسته‌بندی دوم به‌صورت ویال‌های کوچک حاوی پودر محیط کشت است. لازم است پودر موجود در ویال به ظرف نمونه‌برداری آزمایشگاه، اضافه شود.

## مزیت‌های کیت *Colizist™*

استفاده آسان در زمان یک دقیقه

دقت بسیار بالای تشخیص (شناسایی یک باکتری هدف در ۱ میلیون باکتری هم‌تروف در ۱۰۰ ml نمونه آب)

برپایه روش‌های مورد تایید EPA



مقرون به صرفه  
مناسب برای آزمون آلودگی آب آشامیدنی  
نمونه‌گیری در محل (برای سایت‌های صنعتی یا سنجش خانگی)  
زمان خوانش انعطاف‌پذیر از ۱۶ تا ۴۸ ساعت  
بدون نیاز به تجهیزات تخصصی

## هنگام استفاده از کیت ColiZist™ لازم است به این نکات توجه داشته باشید

چنانچه نمونه آب زمینه رنگی داشته‌باشد، نمونه تلقیح شده باید با نمونه شاهد از همان منبع آب مقایسه شود.  
ColiZist™ جز آزمایش‌های اصلی آب می‌باشد و برای نمونه‌های غنی و یا تغلیظ‌شده مناسب نیست و نباید استفاده شود.  
هنگام افزودن نمونه‌هایی با کلر فراوان به ColiZist™ ممکن است تشعشع آبی رنگی مشاهده شود که در صورت بروز چنین حالتی، نتیجه معتبر نبوده و آزمایش باید متوقف شود.  
در صورت امکان بهتر است آزمایش در شرایط استریل و مطابق با GLP انجام شود.

## نمونه‌گیری

### آماده‌سازی

در بطری ColiZist™ را باز کنید و ۵۰ ml تا ۱۰۰ ml از نمونه آب مورد آزمایش را به آن اضافه کنید. در صورتی که از ویال‌های ColiZist™ استفاده می‌کنید، لازم است پودر محیط کشت را به شیشه حاوی ۵۰ ml تا ۱۰۰ ml نمونه آب اضافه کنید.  
\* توجه داشته باشید، در صورت کلرینه بودن آب مورد آزمایش نتیجه مثبت کاذب برای حضور *E. coli* مشاهده خواهد شد.  
برای جلوگیری از این اتفاق، لازم است ۱۰۰ میکرولیتر سدیم تیوسولفات با غلظت ۳٪ را به نمونه اضافه کنید و حدود ۱۵ ثانیه به خوبی تکان دهید.

بطری را کمی تکان دهید تا پودر محیط کشت به خوبی حل شود و محلول شفاف و زرد رنگ تشکیل شود.

### گرماگذاری

بطری را در دمای  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  به مدت ۲۴ - ۱۸ ساعت گرماگذاری کرده و سپس نتایج را بررسی کنید. در صورتی که بطری‌ها در دمای  $25 - 20^\circ\text{C}$  قرار داده شوند، بایستی زمان گرماگذاری را تا ۴۸ ساعت افزایش دهید.

## تفسیر

**نتیجه منفی:** هیچ تغییر رنگی در محیط کشت مشاهده نمی‌شود و رنگ محیط زرد باقی می‌ماند.

\* گاهی ممکن است باکتری در نمونه اصلی تحت شرایط استرس قرار گرفته و دچار جهش‌های ژنتیکی شده باشد. در این صورت، ممکن است برخی از آنزیم‌های اختصاصی باکتری، برای واکنش هیدرولیز سوبستراهای مورد استفاده، غیرفعال شده و تغییر رنگ یا فلورسنس مشاهده نشود و نتیجه منفی کاذب به دست بیاید. در این صورت زرد بودن محیط بعد از ۲۴ ساعت به طور قطع بیانگر عدم وجود باکتری نمی‌باشد. برای اطمینان از صحت نتایج باید پس از ۲۴ ساعت بر روی محیط‌های زرد رنگ تست ایندول با استفاده از معرف KOVAC's انجام شود.





تغییر رنگ پایدار در بالای بطری

**توتال کلیفرم:** هر گونه تغییر رنگ محیط از زرد به سبز - آبی که پایدار باشد و با تکان دادن کیت از بین نرود، نشان‌دهنده وجود کلیفرمها در نمونه است.

- \* تغییر رنگ حتی اگر فقط در بالای بطری باشد نیز نشان‌دهنده حضور کلیفرمها است.
- \* توجه داشته باشید که بدون توجه به حضور *E. coli*، در صورتی که حضور باکتری‌های کلیفرم تایید شود، لازم است آب ضد عفونی شود و به هیچ‌وجه استفاده نشود.

***E. coli*:** مشاهده فلورسنس در مقابل نور UV برای بطری‌های تغییر رنگ داده نشان‌دهنده حضور *E. coli* است. برای این کار لازم است در محیطی تاریک، بطری را در مقابل لامپ UV شش وات دارای طول موج ۳۶۶ نانومتر در فاصله چند سانتی‌متری قرار دهید.

- \* در صورت مشاهده فلورسنس در مقابل نور UV و تشکیل حلقه قرمز بعد از افزودن معرف KOVAC's، می‌توان با اطمینان ۹۹٪ حضور *E. coli* را تایید کرد. در این صورت نیازی به مراحل تاییدی دیگری ندارد.
- \* **اخطار:** از تاباندن مستقیم نور UV به چشم خودداری نمایید.

محیط کشت آماده پیش از گرماگذاری  
زرد و شفاف

تغییر رنگ به سبز - آبی  
حضور کلیفرمها

مشاهده فلورسنس  
حضور *E. coli*



## کنترل کیفی تست کیت Colizist™

برای تایید کیفیت و عملکرد کیت **Colizist™** می‌توان سویه‌های مشخص شده را کشت داد و الگوهای واکنش مشخص شده را بررسی کرد. بطری را در دمای  $2 \pm 35^\circ\text{C}$  به مدت ۲۴ - ۱۸ ساعت گرماگذاری کرده و سپس نتایج را بررسی کنید. در صورتی که بطری‌ها در دمای  $20 - 25^\circ\text{C}$  قرار داده شوند، بایستی زمان گرماگذاری را تا ۴۸ ساعت افزایش دهید.

واکنش ایندول	فلورسنس	تغییر رنگ به سبز - آبی	رشد	ارگانیزم (ATCC)
+	+	+	+	<i>Escherichia coli</i> (25922)
-	-	-	+	<i>Shigella flexneri</i> (12022)
-	-	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)
-	-	-	+	<i>Salmonella typhimurium</i> (14028)
-	-	+	+	<i>Citrobacter freundii</i> (8090)



## بهترین زمان مصرف

در دمای °C ۲۵ - ۲۰ و دور از نور نگهداری شود. نگهداری بطری‌ها (یا ویال‌های) حاوی پودر محیط کشت در دمای بالاتر یا محیط مرطوب باعث کلوخه شدن پودرها می‌شود. نگهداری در دمای پایین‌تر باعث طول عمر بیشتر محصول خواهد شد.

## امحا و دفع

بطری‌های حاوی محیط‌های آلوده را در دمای °C ۱۲۱ به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو کنید. در صورتی که اتوکلاو در دسترس نیست، بطری‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در آب در حال جوش قرار دهید. همچنین می‌توانید از ماده ضدعفونی کننده مناسب استفاده کنید.

