

روشی نوین جهت شناسایی باکتری‌ها از انواع نمونه‌های مایع با فرمولاسیون انحصاری و دارای ثبت اختراع

جایگزین مناسب برای روش Pour Plate

مورد استفاده در صنایع غذایی، آب و فاضلاب، دارویی، صنایع نفت، گاز و پتروشیمی، صنایع هوایی و سایر صنایع.



استفاده از روش Pour Plate برای کشت باکتری‌ها روشی مرسوم و فراگیر است. اما شرایط ویژه انجام این روش، کار را کمی زمان‌بر و همچنین نسبت به کشت آگار متداول، سخت می‌کند. همچنین نیاز است بلافاصله پس از استریل شدن محیط، کشت انجام شود. کیت MicrobCheck™ Flask برای رفع محدودهای روش Pour Plate و سهولت کار طراحی شده است. این کیت با فناوری جدید توسط ایبرسکو و با همکاری شرکت Biosynth سوئیس فرموله و تولید شده است. این کیت علاوه بر شمارش کل باکتری‌ها (TBC)، قابلیت بهینه‌سازی برای شمارش انواع مختلف باکتری‌ها مانند کلیفرم‌های گوارشی، *E. coli*، سودوموناس، استافیلوکوک، سالمونلا و ... را دارد. تست کیت MicrobCheck™ Flask به صورت فلاسک‌های ۵۰ ml حاوی محیط کشت طراحی شده است.

مزایای MicrobCheck™ Flask نسبت به روش Pour Plate

عدم شوک حرارتی به نمونه با استفاده از MicrobCheck™ Flask و در نتیجه شمارش دقیق باکتری‌ها امکان افزودن حجم‌های مختلف از نمونه براساس میزان آلودگی سادگی تفسیر نتایج بسته‌بندی کامل همراه با تمامی وسایل مورد نیاز ارائه انواع فرمولاسیون برای شناسایی باکتری‌های مختلف مانند کلیفرم‌ها، *E. coli*، سودوموناس، استافیلوکوک، سالمونلا و ... امکان استفاده در محل، بدون نیاز به داشتن تجهیزات آزمایشگاهی و افراد متخصص استفاده بسیار ساده، دقت بالا و عدم نیاز به محیط‌سازی

روش انجام تست

آماده‌سازی

ابتدا در فلاسک را باز کرده و روی یک سطح تمیز قرار دهید. توجه شود که دست با بخش داخلی در یا دهانه فلاسک تماس نداشته‌باشد. ۱ ml از نمونه مورد نظر را با سرنگ در شرایط استریل به فلاسک اضافه کنید. سپس در را ببندید. برای نمونه آب شرب (که دارای آلودگی کمتری هستند) و نمونه‌های با احتمال آلودگی پایین، مقدار ۱ ml و برای نمونه‌های فاضلاب، ۰/۱ ml تا ۱/۱ ml اضافه شود. می‌توان از نمونه‌های با آلودگی بالا رقت تهیه نمود و از رقت برای تلقیح استفاده کرد.





با گوشه فلاسک به کف دست ضربه بزنید تا ساختار سفت ژله بهم بریزد. به مدت ۳۰ ثانیه فلاسک را به طور محکم تکان دهید. توجه شود که ژله به صورت توده‌ای نباشد و نمونه به خوبی مخلوط شود. با چند ضربه محکم تمام ژل را در قسمت پایینی فلاسک جمع کنید.



فلاسک را به صورت افقی تکان داده و روی سطح ضربه بزنید تا تمام ژل کف فلاسک قرار گیرد. سپس به صورت افقی در انکوباتور گرماگذاری کنید.

گرماگذاری

انتخاب دمای مناسب به میزان زیادی تحت تاثیر منبع آلودگی و کاربرد این تست است. در صورتی که بررسی آلودگی محیطی مد نظر باشد دمای ۳۰ °C مناسب است. در صورتی که نمونه‌های پاتوژن انسانی مورد بررسی قرار بگیرد دمای ۳۷ - ۳۵ °C بهتر است. در صورتی که انکوباتور در دسترس نیست، فلاسک‌ها را در جای گرم قرار دهید. وابسته به دما، گرماگذاری را به مدت حداقل ۱۸ ساعت و حداکثر ۴۸ ساعت ادامه دهید.

توجه کنید که در زمان‌های بررسی حین گرماگذاری، از تکان دادن و جابجا کردن‌های غیرضروری جهت اجتناب از حرکت ژل خودداری کنید.

نتایج

پس از یک شب گرماگذاری فلاسک‌ها را از نظر رشد بررسی کنید. در بررسی تعداد کل باکتری‌ها (TBC)، کلنی‌ها به رنگ قرمز دیده می‌شود که به خوبی قابل شمارش هستند. کلنی‌های تشکیل شده در تمام سطح فلاسک باید شمارش شود. شمارش کلنی‌های بالاتر از ۳۰۰ عدد دشوار و با دقت پایین است. در این صورت بهتر است با مقایسه الگوی جمعیت کلنی‌های داخل فلاسک با تصاویر مرجع، تعداد نسبی باکتری‌ها را گزارش کنید. اگر هدف شمارش دقیق باشد، می‌توانید از نمونه مورد نظر رقت تهیه کرده و از رقت‌ها برای بررسی استفاده نمایید.



تصاویر مرجع شمارش کلنی



شمارش ۱۰۰ کلنی - ۱۰^۵ کلنی در لیتر شمارش حدود ۱۰ کلنی - ۱۰^۴ کلنی در لیتر عدم مشاهده کلنی - عدم آلودگی نمونه



شمارش ۱۰۰۰۰۰ کلنی - ۱۰^۸ کلنی در لیتر شمارش ۱۰۰۰۰ کلنی - ۱۰^۷ کلنی در لیتر شمارش ۱۰۰۰ کلنی - ۱۰^۶ کلنی در لیتر

نکات

حباب‌هایی که در ژل ایجاد می‌شود طبیعی است و نباید به‌عنوان کلنی شمارش شوند. گاهی به‌علت وجود باکتری‌های متحرک قسمت‌هایی از محیط ممکن است به رنگ صورتی کمرنگ مشاهده شوند، این قسمت‌ها را به‌عنوان نتیجه در نظر نگرفته و تنها کلنی‌های قرمز تیره را شمارش کنید. در حالتی که آلودگی بسیار بالا باشد، محیط کاملاً به‌صورت قرمز یا صورتی پررنگ دیده می‌شود به‌طوری که کلنی‌های تک قابل تشخیص نمی‌باشند. از قرار دادن فلاسک ژل در معرض نور خودداری شود. در صورت تغییر رنگ محیط از زرد به صورتی کمرنگ، در صورتی که تا قبل از اتمام تاریخ مصرف کالا باشد و در شرایط مناسب نگهداری شده باشد، خللی در عملکرد محیط وارد نمی‌کند. اگر تمام محیط قرمز شده باشد محیط غیر قابل استفاده خواهد بود. هنگام شمارش کلنی، فلاسک جلو نور گرفته شود و تمام کلنی‌ها، در تمامی دیواره‌ها شمارش شوند. بهترین کار شمارش کلنی‌هاست و تنها زمانی از الگو استفاده شود که شمارش میسر نباشد. در تفسیر نتایج این کیت، تعداد کلنی‌ها مهم است. اندازه کلنی‌ها را در نظر بگیرید.

کنترل کیفی تست کیت MicrobCheck™ Flask

برای تایید کیفیت و عملکرد کیت MicrobCheck™ Flask می‌توان رقت‌های مختلف را کشت داد و نتایج را بررسی کرد. در شمارش کل باکتری‌ها (TBC) رنگ کلنی‌ها قرمز خواهد بود و شمارش را نیز با توجه با تصاویر مرجع می‌توان مشخص کرد.

ارگانیزم (ATCC)	الگوی قابل مشاهده
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	کلنی‌های قرمز
<i>Escherichia coli</i> (25922)	کلنی‌های قرمز



بهترین زمان مصرف

انقضای کیت‌ها ۶ ماه است و لازم است در دمای یخچال ($4 - 8^{\circ}\text{C}$) نگهداری شوند. توصیه می‌شود از تغییرات مکرر دما و نگهداری در فریز و یخ‌زدگی شدید جلوگیری شود.

امحا و دفع

تست‌کیت‌ها پس از استفاده و رشد باکتری کاملاً آلوده هستند. در نتیجه لازم است اتوکلاو شوند یا در کوره سوزانده شوند. در صورتی که این امکان وجود ندارد، در زیر هود، در فلاسک‌ها را باز کنید و آن را با مایع سفیدکننده با غلظت ۵ تا ۱۰٪ پر کنید. اجازه دهید یک شب بماند و بعد از آن دور بریزید.

