



### برای شناسایی و شمارش تعداد کل کلیفرم‌های موجود در مایعات، روی سطوح یا هوا

آلودگی آب و مواد غذایی ناشی از باکتری‌های روده‌ای یک مشکل جدی محسوب می‌شود. باکتری‌های کلیفرم، شاخص متداولی برای بررسی سلامت و ایمنی آب و مواد غذایی هستند. *Yersinia Hafnia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* و *Klebsiella* از جمله باکتری‌های کلیفرم هستند. تشخیص باکتری *E. coli* نیز برای نشان دادن آلودگی مدفوعی که به‌تازگی حین تولید مواد غذایی رخ داده و یا بررسی فرآیند غیر بهداشتی مد نظر قرار می‌گیرد. 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 MicrobCheck™ C/E اختصاصی کلیفرم‌ها بوده و سوبسترای کروموژن استفاده شده، پس از هضم توسط کلیفرم‌ها و *E. coli* بصورت رنگ نامحلول سبز-آبی دیده می‌شود.

دقت این کیت‌ها تفاوتی با محیط‌های آگار رایج ندارد و سهولت استفاده در مناطق کارگاهی و صنعتی حایز اهمیت است. کار با این کیت‌ها نیاز به تخصص خاصی ندارد و تمامی افراد می‌توانند به‌سادگی از آنها استفاده کنند. کافی است طبق دستورالعمل نمونه‌گیری از سطح، مایعات یا هوا را انجام بدهید. استفاده از این کیت‌ها بدون فرآیندها و دستگاه‌های پرهزینه و زمان‌بر، نتایج دقیق را به همراه دارد.

در صورتی که از نمونه مورد نظر خود رقت تهیه می‌کنید لازم است در انتها نتیجه را برای نمونه اصلی گزارش کنید. برای مثال یک نمونه دارای آلودگی  $10^7$  باکتری در هر ml است. در صورتی که 1 ml از آن به 99 ml آب اضافه شود و تعداد باکتری در این رقت جدید مورد بررسی بگیرد، مقدار  $10^5$  باکتری در ml برای این رقت برابر با  $10^7$  باکتری در هر ml از نمونه اولیه است.

کیت MicrobCheck™ C/E به‌صورت اسلاید و سطح مورد بررسی آن 8 سانتی‌متر مربع است.

#### توصیه تولیدکننده

از تماس با جداره داخلی فالكون و در آن خودداری کنید و در شرایط استریل آزمایش را انجام دهید. پس از باز کردن در فالكون، در را وارونه، به‌صورتی که کف آن به سمت زمین باشد، روی سطحی تمیز قرار دهید.

#### روش انجام تست

**نمونه‌گیری مایعات:** پس از بیرون آوردن اسلاید از داخل فالكون استریل آن را به داخل مایع مورد بررسی فرو برده و ده ثانیه صبر کنید سپس اسلاید را بیرون آورده و چند ثانیه صبر کنید تا مایع اضافی از روی محیط اسلاید پاک شود. پس از آن اسلاید را به داخل فالكون برگردانید و در فالكون را به خوبی ببندید.

**نمونه‌گیری سطوح:** اسلاید را از داخل فالكون استریل خارج کنید و آن را در تماس مستقیم با سطح مورد بررسی قرار دهید. تماس دو سطح باید به‌گونه‌ای باشد که محیط اگاردار اسلاید کاملاً بر روی سطوح مورد بررسی کشیده شود تا بیشترین احیا باکتریایی صورت پذیرد.

**نمونه‌گیری هوا:** اسلاید را از داخل فالكون استریل خارج کنید و به مدت 15 دقیقه در معرض هوا قرار دهید و سپس دوباره به داخل فالكون برگردانید.



گرماگذاری: فالکون حاوی اسلاید را در دمای °C ۳۷ - ۳۵ به مدت ۲۴ - ۱۶ ساعت گرماگذاری کنید.

### تفسیر نتایج

الگوی رشد باکتری‌های رشد یافته با رنگ سبز-آبی را با تصاویر مرجع مقایسه کنید. تعداد براساس واحدهای تشکیل دهنده کلنی (CFU) بر میلی لیتر محاسبه می‌شود. باکتری‌های سبز-آبی شامل تمامی کلیفرم‌ها و *E. coli* می‌شود. در صورت مثبت شدن تست ایندول، باکتری سبز-آبی *E. coli* خواهد بود. در این تست تعداد میکروارگانیسم‌ها با CFU (Colony forming Units) گزارش می‌شود. توجه داشته باشید که MPN (Most Probable Number) غلظت باکتری‌ها را براساس رشد در محیط براث تخمین می‌زند. گاهی ممکن است اطراف اسلاید رنگ سبز-آبی ایجاد شود که در شمارش کلنی‌ها تاثیری نداشته و محاسبه نمی‌شود.

CFU / ml	$\geq 10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$
تصاویر مرجع					

### کنترل کیفی تست کیت MicrobCheck™ C/E

برای تایید کیفیت و عملکرد کیت MicrobCheck™ C/E می‌توان سویه‌های مشخص شده را کشت داد و نتایج را براساس جدول زیر بررسی کرد. برای انجام این تست، از باکتری مرجع، سوسپانسیون رقت تهیه کنید و اسلایدهای کیت را در آن غوطه‌ور کنید.

ارگانیسم	رشد	رنگ کلنی	واکنش ایندول
<i>Escherichia coli</i>	+	سبز - آبی	+
<i>Salmonella enterica</i>	+	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	سبز - آبی	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	سبز - آبی	-



### 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 جلوگیری شود. از نگهداری در فریز و یخ‌زدگی شدید جلوگیری شود. امکان دارد مقدار کمی رطوبت در کف فالكون مشاهده شود. این مورد تاثیری بر عملکرد تست کیت ندارد. در صورت نگهداری نامناسب ممکن است نشانه‌ای از رشد، دهیدراته شدن یا جدا شدن آگار از اسلاید مشاهده شود. در این صورت از تست کیت‌ها استفاده نکنید.

### امحا و دفع

تست کیت‌ها 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 فالكون‌ها 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.

