

دستورالعمل استفاده از کیت شناسایی و شمارش باکتری های توتال کلیفرم - اشیریشیاکلای برای مایعات با

خواص آنتی باکتریال کم تا متوسط: TTC-L Kit

کیت شناسایی و شمارش باکتری های توتال کلیفرم - همزمان شناسایی بیوشیمیایی اشیریشیاکلای برای نمونه های مایع با خواص آنتی باکتریال کم (TTC-L Kit) به عنوان روشی برای شناسایی و شمارش باکتری های توتال کلیفرم در انواع مایعات محلول در آب یا با ویسکوزیته نزدیک به آب قابل استفاده است. این کیت در حوزة های زیر کاربرد دارد:

آب و فاضلاب:

• انواع آب آشامیدنی و آب های تصفیه خانگی و صنعتی (به شرط آلودگی بیش تر از باکتری در میلی لیتر)، آب های سطحی و محیطی، آب های تفریحی
• آب های صنعتی:

• آب های صنعتی کم املاح، فاقد بایوساید و با شوری کمتر از ۱۰٪ • آب های در گردش در صنایع نفت و پتروشیمی، فولادسازی، داروسازی
• آب های صنعتی در تولید فرآورده های صنعتی:

• غذایی، نوشیدنی، عرقجات، آرایشی و بهداشتی، دارویی و ...

آب و پساب تصفیه خانه ها:

• آب فرآیند میانی و نهایی تصفیه خانه های آب و پساب

فرآورده های پایه آب و انواع نوشیدنی:

• انواع آبمیوه، انواع عرقجات، نوشیدنی های غیرالکلی گازدار و بدون گاز، انواع شربت

محدودیت:

- این کیت فقط برای نمونه های مایع کاربرد دارد.
- این کیت برای نمونه های سبزی یا آبی رنگ یا نمونه هایی با پس زمینه رنگی شدید (مانند برخی ادویه ها یا مواد رنگزا) کارایی ندارد.
- این کیت برای نمونه هایی با شوری زیاد (بیش تر از ۱۰٪) کارایی ندارد و در این مورد باید رقیق سازی اضافه در محلول مخصوص Riz-Fluid انجام شود.
- این کیت برای تشخیص برخی سویه های باکتری اشیریشیاکلای (بتاگالاکتوزیداز منفی) مانند E.Coli O157 مناسب نیست.
- این کیت در حوزة صنایع لبنی، فرآورده های تخمیری و محصولات حاوی میکروارگانیسم زنده، کاربرد ندارد.
- استفاده از سدیم تیوسولفات جهت خنثی سازی یون های کلرین جایز نیست و در عملکرد کیت اختلال ایجاد می کند.
- با توجه به حد تشخیص این کیت، این وسیله برای جایگزینی روش های استاندارد متد که در آن ها یافتن شمار باکتری های کلیفرمی در ۱۰۰ یا ۲۵۰ میلی لیتر آب مهم است، مناسب نیست.

حساسیت:

TCC-L Kit می تواند کمتر از ۱ و حداکثر تا بیش از ۲۱۰۰ میکروارگانیسم را در ۱ میلی لیتر نمونه شمارش کند.

شرایط نگهداری:

کیت قبل از استفاده در یخچال دمای $^{\circ}C$ ۸-۲ و در دما رطوبت نگهداری شوند و تا ۶ ماه پس از تولید مصرف شوند. در صورت نگهداری در دمای اتاق ($^{\circ}C$ ۲۵-۹)، از نور مستقیم خورشید و رطوبت دور نگه داشته شود و ۳ ماه پس از زمان تولید مصرف شود، دور از دسترس کودکان و اطفال قرار گیرد. ارقام نباید تا قبل از زمان استفاده از بسته بندی خارج شوند.

محتویات جعبه بسته بندی:

Riz-Fluid: بطری حاوی مایع استریل

Riz-Agent: میکروتیوب حاوی پودر معرف استریل

Riz-Base: بستر پلاستیکی استریل درب دار و بشقاب استریل

Riz-Kov: میکروپیپت حاوی معرف اشیریشیاکلای

Kit-Decoder: نصب اپلیکیشن با اسکن QR Code روی جعبه

ادوات استریل: بطری ۶۰ ml نمونه گیری، پاستور پیپت انتقال نمونه استریل

اجرای تست:

نکته ۱: حداقل ۱۰ دقیقه قبل از اجرای آزمون، کیت را از یخچال خارج و در دمای اتاق قرار دهید.

نکته ۲: قبل از اجرای آزمون، سطح میزکار را کاملاً تمیز و با پد الکی یا اتانول ۷۰٪ ضد عفونی نمایید و سپس دستان خود را با آب و صابون شسته و با اتانول ۷۰٪ ضد عفونی نمایید.

نکته ۳: دقت کنید در کل مدت اجرای آزمون نباید دست یا هر شی دیگری به لبه های درب ظروف یا لبه های روزه دار بطری ها و هر ادوات استریل دیگر برخورد کند (حفظ شرایط استریل)، در صورت عدم رعایت این نکته، نتیجه ممکن است بصورت مثبت کاذب یا تعداد بیش از حد واقعی گزارش گردد.

• نمونه برداری را مطابق استانداردهای مربوط به هر نمونه در هر حوزة به کمک بطری ۶۰ ml استریل درون بسته انجام دهید.

• لفاف Riz-Fluid را گشوده و سپس درب بطری را باز کنید و آن را بدون برخورد دست یا سایر سطوح با لبه های آن، رو به بالا روی میز قرار دهید.

• مقدار ۱ میلی لیتر از نمونه را پس از همزدن کامل، با کمک پاستور پیپت نمونه برداری به بطری Riz-Fluid اضافه کنید.

• لفاف Riz-Agent را گشوده و محتویات درون میکروتیوب را با حفظ شرایط استریل به درون بطری Riz-Fluid تخلیه کنید.

• درب بطری Riz-Fluid را بسته و به آرامی با حداقل ۲۵ حرکت رفت و برگشتی بهم بزنید؛ از انجام حرکات شدید اجتناب کنید.

• Riz-Base را بگونه ای روی سطح بگذارید که برچسب رو به پایین باشد (بشقاب بالا)؛ لفاف را حداقل از ۳ سمت با قیچی ببرید؛ دقت کنید قیچی به لبه های بشقاب برخورد نکند.

• بشقاب را از محل نشانه گذاری شده دست (Hand) بردارید و روی سطح صاف بگذارید و سپس کل محتویات بطری Riz-Fluid را درون بشقاب خالی کنید و از همان محل نشانه Hand آن را با کمی تکان، بطور یکنواخت درون بشقاب پخش کنید.

• با گرفتن دسته ۸ شکل در پشت Riz-Base، آن را از درب جدا کنید و سپس برجستگی های سفید رنگ را با حالت مهر زدن ۳ مرتبه هر بار ۳ ثانیه به مایع درون بشقاب (به عنوان استامپ) آغشته کنید و مطمئن شوید تمام برجستگی ها از مایع اشباع شده اند.

- ایجاد چندین تکانه آرام، مایع اضافی را از سطح و فاصله میان برجستگی ها حذف کنید؛ با انجام این عمل باید قطرات اضافه درون بشقاب بازگردند؛ از ایجاد تکانه شدید و پخش قطرات مایع روی سطوح اجسام دیگر بپرهیزید.
- همانطور که سطح برجستگی ها رو به بالاست، بشقاب را از محل نشانه گذاری شده Hand برداشته و از سمت محل نشانه گذاری شده فلش (مثلث)، مایع مایع را به آرامی درون چاهک بریزید و منتظر شوید تا مایع کاملاً جذب قیطان گردد.
- درب را با احتیاط و بدون برخورد لبه های آن به سطح برجستگی ها و خصوصاً قیطان ببندید و از جفت شدن صحیح آن ها اطمینان حاصل فرمایید.
- مجموعه را بصورت معکوس درون انکوباتور در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۶ ساعت قرار دهید؛ خواندن نتایج پس از ۲۸ ساعت معتبر نیست.
- نکته: بهترین جهت پیگیری تغییرات رنگی، از سطح پشتی کیت قبل از انکوباسیون در یک پس زمینه سفید عکس بگیرید.

تفسیر نتایج:

پس از گذشت مدت زمان انکوباسیون، Riz-Base را به همان صورت معکوس روی سطح صاف قرار دهید؛ با کمک یک مارکر، حفرات تغییر رنگ یافته (تغییر رنگ محدوده سبز، آبی یا سبز-آبی) در هر کدام از ۳ ناحیه و شیار قیطان را علامت گذاری و همزمان شمارش و یادداشت کنید؛ سپس تعداد را در اپلیکیشن Kit-Decoder با انتخاب Coliform/General وارد کنید. نتایج بصورت تعداد توتال کلیفرم در هر میلی لیتر نمونه برحسب MPN/ml با اعلام حد اطمینان بالا و پایین نمایش داده می شود؛ عدم ایجاد رنگ های سبز یا سبز-آبی در نمونه به معنی عدم وجود باکتری های توتال کلیفرم در نمونه است به صورت $1 > \text{per ml}$ (کمتر از ۱ در میلی لیتر) گزارش می شود.

یادآوری: چنانچه قبل از استفاده از کیت، رقیق سازی دیگری روی نمونه انجام داده اید، باید عدد رقیق سازی را مطابق راهنمای استفاده از Kit-Decoder، در اپلیکیشن وارد نمایید.

راهنمای استفاده از Kit-Decoder:

۱. QR Code روی جعبه کیت را اسکن و اپلیکیشن Kit-Decoder را دانلود و نصب کنید.
۲. با انتخاب ردیف Coliform/General در صفحه اصلی، وارد صفحه مخصوص به آن شوید.
۳. تعداد جاذب های با پاسخ مثبت (رنگ سبز یا سبز-آبی) شمارش شده را در جای خالی مربوط به هریک از ۳ ناحیه تشخیصی و شیار قیطانی وارد کنید.

نکته: چنانچه تغییرات رنگی را بصورت یک یا چند نقطه روی برجستگی ها یا روی قیطان مشاهده کردید، هر تعداد نقاط رنگی روی یک برجستگی یا روی قیطان را "۱" شمارش کنید.

۴. چنانچه نمونه اولیه قبل از استفاده شدن در این کیت، رقیق شده باشد، باید عدد رقیق سازی را در جای خالی مربوط به Dilution وارد کنید. بطور مثال اگر قبل از استفاده ۱ میلی لیتر نمونه در ۴ میلی لیتر آب یا رقیق کننده های دیگر مخلوط شده باشد، باید در جای خالی عدد ۵ (عدد رقیق سازی) را وارد کنید تا تعداد باکتری به درستی نمایش داده شود.

۵. کلید Calculate را فشار دهید.

۶. تعداد باکتری برحسب بیشترین تعداد احتمالی در واحد میلی لیتر (MPN/ml) و با در نظرگیری ۹۵٪ حد اطمینان بالا و پایین نمایش داده می شود.

شناسایی اشریشیاکلائی:

پس از اتمام دوره انکوباسیون، نزدیک به نوک میکروپیپت Riz-Kov را با یک سوزن سوراخ کنید. با برخورد دادن سوراخ ایجاد شده در میکروپیپت Riz-Kov روی برجستگی های دارای پاسخ مثبت (رنگ سبز یا سبز-آبی) و بلافاصله تشکیل رنگ ارغوانی، وجود باکتری اشریشیاکلائی تأیید می گردد؛ دقت کنید رنگ ارغوانی ایجاد شده بیشتر از ۱۰ ثانیه معتبر نیست. عدم ایجاد رنگ ارغوانی روی برجستگی های سبز یا سبز-آبی، به معنی عدم وجود باکتری اشریشیاکلائی در میان سایر کلیفرم هاست و بصورت negative/ml گزارش می شود.

نکته: در صورت اعمال سریع Riz-Kov روی تمام برجستگی های سبز رنگ و همزمان شمارش رنگ ارغوانی و متعاقباً وارد کردن نتایج بصورت مستقل به اپلیکیشن Kit-Decoder، تعداد باکتری های اشریشیاکلائی در ۱ میلی لیتر نمونه برحسب MPN/ml با در نظرگیری ۹۵٪ حد اطمینان بالا و پایین محاسبه می گردد.

هشدار: دقت شود برای انجام این مرحله، درب کیت را در محلی با تهویه مناسب و ترجیحاً در فاصله ۱۵-۲۰ سانتی متری از یک شعله روشن باز کنید و موقعیت سر فرد انجام دهنده آزمون باید در حداکثر فاصله نسبت به سطح میز باشد تا از استنشاق آلودگی های احتمالی جلوگیری شود.

هشدار: تماس محتویات Riz-Kov با دست، باعث تغییر رنگ پوست می شود، هنگام استفاده از آن، از دستکش استفاده کنید.

دفع ایمن ضایعات:

پس از تفسیر نتایج، درب کیت را در محلی با تهویه مناسب باز کرده و بلافاصله مایع سفیدکننده رقیق شده را درون درب آن بریزید و بخش زیرین را روی درب قرار دهید؛ سپس با ایجاد تکان، تمام فضای داخلی را غرق در مایع سفیدکننده کنید. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، مایع را در فاضلاب تخلیه کنید و کیت را دور بیندازید.

پشتیبانی: خوشحالیم که محصول ما نظر شما را جلب کرده است. لطفاً جهت ارائه نظرات و پیشنهادات خود یا دریافت مشاوره در مورد این محصول، از طریق راه های ارتباطی زیر با ما در تماس باشید.

تلفن تماس: ۰۳۱ ۵۴۲۱ ۹۲۱۲ | شماره پیام رسان: ۰۹۲۲ ۲۹۱ ۱۸۵۴ | وب سایت: Sanjesharya.com | پست الکترونیک: Rizsanjesharya@gmail.com