

تعیین حضور باکتری های سودوموناس و استافیلوکوک در نمونه های آب، مواد غذایی و لبنیات



مورد استفاده در صنایع نفت، گاز و پتروشیمی، صنایع هوایی، صنایع غذایی، آب و فاضلاب، دارویی و سایر صنایع با فرمولاسیون های اختصاصی جهت بررسی نمونه های مختلف از جمله آب آشامیدنی، نمونه های فاضلاب، نمونه های غذایی و نمونه های کلینیکی.

استافیلوکوک یک باکتری پاتوژن انسانی است که توانایی ایجاد مجموعه ای گسترده از عفونت های جدی بیمارستانی تا بیماری های التهاب ریه، باکتری، سپسیس و سندروم شوک سمی را شامل می شود.

سودوموناس ها نیز در آب های حاوی اکسیژن و غنی از آلودگی های آلی مانند گازوییل، حلال ها و ... یافت می شوند. وجود سودوموناس در نمونه ها نشان دهنده تجزیه زیستی و هوازی در سیستم می باشد که در پی آن رسوباتی در سیستم تشکیل خواهد شد. سودوموناس ها قادر به تولید رنگدانه های فلورسنت هستند که از نظر بهداشتی خطرناک در نظر گرفته می شوند.

حضور باکتری های سودوموناس در نمونه های آبی، با مشکلات زیادی مانند تشکیل توده های موسوم به اسلایم، کدورت، طعم و بوی بد، خوردگی، تجزیه زیستی و مشکلات بهداشتی همراه است. این باکتری ها معمولا بوی ماهی یا نفت سفید تولید می کنند. حضور سودوموناس های تولید کننده فلورسنت تهاجمی، باید حتما مورد توجه قرار بگیرد زیرا می تواند با عفونت های پوست، چشم، گوش و مجاری ادراری همراه باشد.

پیوسیانین و پیووردین دو پیگمنت اصلی تولید شده توسط سودوموناس ها هستند. پیوسیانین پیگمندی است که با رنگ مایل به آبی مشخص می شود و ناشی از حضور سودوموناس آئروژینوزا است. این سویه معمولا با نمونه های کلینیکی مثل زخم ها، سوختگی ها، التهاب گوش، زخم های ریه و عفونت های دستگاه ادراری مرتبط است و در آب های مناطق تفریحی به عنوان مشکل بهداشتی مهمی در نظر گرفته می شود.

اسلایدهای MicrobCheck™ S/P دارای محیط کشت آگار غنی و اختصاصی برای سودوموناس با فرمولاسیون خاص در یک سمت و محیط غنی و اختصاصی برای استافیلوکوک ها با فرمولاسیون منحصر بفرد در سمت دیگر هستند. با استفاده از این اسلایدها، حضور سودوموناس ها و استافیلوکوک های موجود در یک نمونه به آسانی قابل تعیین و شناسایی است. در صورت وجود استافیلوکوک در نمونه، کلنی هایی به رنگ سیاه بر روی محیط آگار ایجاد می شود. همچنین رشد سودوموناس ها نیز با کلنی های سبز بر روی سمت دیگر اسلاید، قابل تشخیص است.

اسلایدهای MicrobCheck™ S / P دارای دو محیط کشت متفاوت در دو سمت اسلاید و سطح بررسی با ابعاد ۸ سانتی متر مربع است.

توصیه تولید کننده

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، آن را وارونه، به صورتی که کف آن به سمت زمین باشد، روی سطحی تمیز قرار دهید.

روش انجام تست

نمونه گیری 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 آگار دار اسلاید کاملاً بر روی سطوح مورد بررسی کشیده‌شود تا بیشترین احیا باکتریایی صورت‌پذیرد.

نمونه‌گیری هوا: اسلاید را از داخل فالكون استریل خارج کنید و به مدت ۱۵ دقیقه در معرض هوا قرار دهید و سپس دوباره به داخل فالكون برگردانید.

گرماگذاری: اسلایدها را در دمای °C ۳۵ - ۳۰ به مدت ۷۲-۴۸ ساعت گرماگذاری کنید.

تفسیر نتایج

الگوی رشد باکتری‌ها را با تصاویر مرجع مقایسه کنید. تعداد براساس واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی (CFU) بر ml محاسبه می‌شود. رشد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا با تولید پیگمنت‌های سبز همراه است به‌همین دلیل رنگ محیط آگار به سبز تغییر پیدا می‌کند. هرچه میزان آلودگی نمونه به سودوموناس آئروژینوزا بیشتر باشد، رنگ سبز محیط تیره‌تر خواهد بود. توجه داشته باشید که مورفولوژی کلنی‌های این باکتری بر روی محیط آگار به‌صورت موکوئیدهای نامنظمی است که بر روی محیط پخش می‌شوند و در صورت بالا بودن تعداد کلنی‌ها، قابل تفکیک و شمارش نیستند. در دو تصویر مرجع اول برای سودوموناس آئروژینوزا، کلنی‌ها با دایره مشخص شده‌اند. گاهی ممکن است اطراف اسلاید رنگ مشکی یا سبز ایجاد شود که در شمارش کلنی‌ها تاثیری نداشته و محاسبه نمی‌شود.

شمارش کل باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا

CFU / ml	۱۰ ^۷	۱۰ ^۶	۱۰ ^۵	۱۰ ^۴	۱۰ ^۳	۱۰ ^۲
تصاویر مرجع						

شمارش کل باکتری‌های استافیلوکوک کوآگولاز مثبت

CFU / ml	≥ ۱۰ ^۷	۱۰ ^۶	۱۰ ^۵	۱۰ ^۴	۱۰ ^۳	۱۰ ^۲
تصاویر مرجع						



کنترل کیفی تست کیت MicrobCheck™ S / P

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

ارگانیسم (ATCC)	واکنش در سمت / استافیلوکوک اسلاید	واکنش در سمت سودوموناس اسلاید
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	مهار رشد	کلنی‌های سبز - زرد
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	کلنی‌های مشکی	مهار رشد
<i>Escherichia coli</i> (25922)	مهار رشد	مهار رشد

بهترین زمان مصرف

انقضای کیت‌ها ۶ ماه است و لازم است در دمای یخچال نگهداری شوند. توصیه می‌شود از تغییرات مکرر دما و نگهداری در فریز و یخ‌زدگی خودداری 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 صورتیکه 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.

