



## دستورالعمل نگهداری و کار با نمونه باکتری کشت شده در لوله TSA

**نگهداری:** لوله های TSA حاوی کشت باکتری مجهول را در یخچال  $2^{\circ}\text{C}$  -  $8^{\circ}\text{C}$  و دور از رطوبت نگهداری کنید. بعد از دریافت نمونه ها هر چه سریعتر (حداکثر ۴۸ ساعت) نسبت به کشت آنها روی محیط های مناسب اقدام نمایید.

**نحوه کشت از لوله TSA:** تحت شرایط استریل بوسیله لوپ یا سوآب استریل از کلنی های سطح و عمق محیط TSA برداشته و بر روی محیط بلاد آگار حاوی ۳ تا ۵ درصد خون گوسفند (Sheep Blood Agar) و همچنین محیط های مورد نیاز جهت کشت نمونه مورد نظر کشت دهید، به گونه ای که کلنی های ایزوله روی محیط رشد کنند. پلیت ها را به مدت یک شبانه روز در دمای  $35^{\circ}\text{C}$  -  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه نمایید.

**توجه:** در صورت عدم رشد باکتری بر روی پلیت ها، یک لوپ یا سوآب پر از کشت TSA برداشته و در یک محیط براث مغذی مانند TSB یا BHIB کشت دهید. براث را به مدت یک شبانه روز در دمای  $35^{\circ}\text{C}$  -  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه نمایید. سپس چند قطره از براث فوق را روی محیط بلاد آگار حاوی ۳ تا ۵ درصد خون گوسفند (Sheep Blood Agar) تلقیح کرده، با لوپ آن را کشت دهید، به گونه ای که کلنی های ایزوله روی محیط رشد کنند. پلیت را به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $35^{\circ}\text{C}$  -  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه کنید.

**هشدار:** نمونه های ارسالی تنها برای استفاده *In Vitro* می باشند. میکروارگانیسم های ارسالی باید در آزمایشگاه و توسط اشخاص آموزش دیده و مجرب تحت نظارت مسئول فنی مورد استفاده قرار گیرند. در صورت آلوده شدن سطوح و وسایل به سوسپانسیون میکروبی، با یک محلول باکتریسیدال مثل ایزوپروپیل الکل ۷۰-۹۰٪، فنل ۱-۲٪، ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی یا هیپوکلریت سدیم (سفید کننده خانگی به نسبت ۱:۱۰ با آب رقیق شود) آنها را ضد عفونی کنید. ویال های استفاده شده را قبل از دور ریختن به مدت ۳۰ دقیقه در  $121^{\circ}\text{C}$  اتوکلاو نمایید.

## روش نگهداری بلند مدت باکتری های ارسالی

از آنجا که باکتری های ارسالی به آزمایشگاه شما، سویه هایی با خصوصیات فنوتیپی مشخص می باشند، شما می توانید با نگهداری صحیح از آنها برای برنامه های کنترل کیفیت داخلی بخش میکروبی شناسی استفاده نمایید. از کلنی های (۱۸-۲۴ساعته) رشد یافته بر روی محیط بلاد آگار، سوسپانسیون غلیظی در محیط Tryptic Soy Broth (TSB) حاوی ۱۰ تا ۱۵ درصد گلیسرول تهیه نمایید. در شرایط آسپتیک، سوسپانسیون تهیه شده را در ظروف مناسبی مثل لوله های کرایو به میزان حدود ۵۰۰ میکرولیتر توزیع کنید. لوله های حاوی سوسپانسیون سویه را می توان در برودت  $60^{\circ}\text{C}$  - تا  $70^{\circ}\text{C}$  به مدت طولانی نگهداری نمود. در صورت عدم دسترسی به فریزر  $70^{\circ}\text{C}$  - می توان آنها را در فریزر  $20^{\circ}\text{C}$  - حداکثر تا یک سال نیز نگهداری کرد.