**2. استاندارد نيم مک فارلند**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل غلظت استاندارد نيم مک فارلند** | |
| **کد سند:** | D-007-0002 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل و کنترل کیفی آنتی بیوگرام | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | {{ReviewDate}} | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **تصدیق و امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری | {{ConfirmerOneName}} | {{ConfirmerTwoName}} |

**(1) هدف:**

این دستورالعمل جهت شرح روش تهیه و کنترل کیفیت غلظت مناسب سوسپانسیون میکروبی به نام استاندارد نيم مک فارلند جهت تلقیح در محیط آنتی­بیوگرام می­باشد.

**(2) تعاریف و اصطلاحات:**

**استاندارد نیم مک فارلند:** تمامی جداول استاندارد آمده در دستورالعملCLSI بر اساس تلقیح تعداد مشخص و استاندارد از باکتری ها به محیط مولر هینتون می باشد و بنابراین استانداردسازی مایع تلقیح برای استفاده از این دستورالعمل بسیار مهم است.

* برای استاندارد کردن چگالی تلقیح، از استانداردی به نام استاندارد نیم مک فارلند یا معادل نوری آن (مثلاً سوسپانسیون ذرات لاتکس) استفاده می شود. همچنین می توان از دستگاه فتومتریک استفاده کرد.
* کدورت استاندارد نیم مک فارلند معادل CFU/mL 108 × 1-2 باکتری می باشد.

**(3) شرح دستورالعمل:**

**مواد و وسایل مورد نیاز:** اسید سولفوریک 1%، کلرور باریم gr/lit 10، لوله آزمایش، پی­پت مدرج 10 میلی­لیتر، سمپلر 50 میکرولیتر.

**روش تهیه استاندارد نیم مک فارلند:**

1. ابتدا 175/1 گرم از پودر کلرور باریوم دو آبه را با آب مقطر به حجم 100 میلی لیتر برسانید.

2. سپس 1 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ را با آب مقطر به حجم 100 میلی لیتر برسانید.

3. میزان 10 میلی لیتر از اسید سولفوریک 1 درصد را درون لوله بریزید و با استفاده از سمپلر، 50 میکرولیتر از اسید را از لوله خارج کنید و 50 میکرولیتر از محلول کلرور باریوم به لوله اضافه کنید.

4. جذب نوری محلول را با استفاده از اسپکتروفتومتر کالیبر و کووت با قطر یک سانتی متری اندازه بگیرید. جذب نوری محلول با طول مسیر نوري cm1 در طول موج nm620 باید در محدوده 08/0 الی 13/0 باشد. نتایج باید در فرم کنترل کیفی نیم مک فارلند ثبت شود.

* سوسپانسيون سولفات باريم تهیه شده بايد به مقدار ml4-6 در لوله هاي در پيچ دار هم اندازه با لوله هايی که در آن سوسپانسيون باکتري آماده می شود ريخته شود.
* درب اين لوله ها بايد محکم بسته شوند و با قید تاریخ ساخت، در دماي اتاق و در تاريکي نگهداري گردند. در این شرایط محلول تا 6 ماه پایدار است اما باید هر ماه جذب نوری آن کنترل شود تا از محدوده خارج نباشد و همچنین ایجاد آلودگی و کدورت یا رسوب نکرده باشد.
* بهتر است این استاندارد به صورت ماهانه جايگزين شود.
* استاندارد سولفات باريم قبل از هر بار استفاده بايد به شدت (ترجيحاً با ورتکس مکانيکی) همزده شود، تا کدورت يکنواختي ايجادگردد. در صورت مشاهده ذرات بزرگ، بايد استاندارد تازه اي تهيه گردد.

**(4) کنترل کیفی:**

برای انجام کنترل کیفی کافی است کدورت ساخته شده در طول موج nm620 اندازه گیری شود که باید جذب آن در محدوده 13/0-08/0 باقی بماند و نتایج هر بار خوانش در فرم مربوطه آن ثبت شود.

**(5) منابع:**

1. کتاب آنتی بیوگرام (تست حساسیت ضدمیکروبی). دکتر داریوش شکری. انتشارات مانی. 1404.
2. مجموعه جداول انتخاب شده از CLSI M100 33th 2023 برای میکروارگانیسم های اولویت دار در برنامه کشوری مهار مقاومت میکروبی بر اساس راهنمای سازمان بهداشت جهانی. (GLASS).ویرایش هفتم.1402. آزمایشگاه مرجع سلامت.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 35th edition. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100. Wayne، PA: CLSI; 2025.