

بررسی وجود باکتری های مولد بیماری عفونی سالمونلوسیس در مواد غذایی (بخش دوم)

پس از استفاده از محیط های کشت اولیه نظیر S.B و حذف تقریبی باکتری های گرم مثبت، برای جداسازی انواع باکتری های گرم منفی از یکدیگر از محیط های کشت افتراقی استفاده میکنیم که این محیط های کشت برای رشد سالمونلاها بسیار مناسب است و با استفاده از آنها می توان حضور یا عدم حضور سالمونلاها را با تأیید بیشتری معلوم ساخت.

یکی از مهم ترین محیط های کشت افتراقی مصرفی در این مرحله از آزمون، محیط کشت بریلیانت گرین آگار (brilliant green agar) است.

محیط کشت B.G.A حاوی ترکیبات زیر است:

- ✓ عصاره مخمر
- ✓ پپتون آنزیمی
- ✓ قند لاکتوز
- ✓ قند ساکاروز
- ✓ معرف فنول رد
- ✓ معرف بریلیانت گرین
- ✓ نمک کلرور سدیم
- ✓ آگار

باکتری های سالمونلا به دلیل عدم مصرف لاکتوز و ساکاروز، برای کسب انرژی از عصاره مخمر و پپتون آنزیمی استفاده می کنند که ضمن تجزیه این مواد به اسیدهای آمینه، میزان زیادی یون آمونیوم (NH_4^+) در محیط کشت تولید می کنند. با تولید یون های آمونیوم pH محیط کشت از ۷ به مقادیر بالاتر تغییر می کند و در حضور معرف فنول رد پرگنه ها و حتی محیط کشت به رنگ قرمز روشن و یا صورتی در می آیند. (فنول رد در محیط های اسیدی زرد رنگ و در محیط قلیایی رنگ قرمز دارد)

اما چنانچه در نمونه کشت شده، باکتری های هم خانواده سالمونلا به ویژه کلی فرم ها (اشریشیا و انتروباکتر) موجود باشد، این نوع باکتری ها با مصرف لاکتوز و ساکاروز تولید اسید لاکتیک و انرژی می کنند. با تولید اسید و کاهش

، معرف بریلیانت گرین به رنگ سبز متمایل به زرد تغییر می کند. (معرف بریلیانت گرین در محیط اسیدی قوی سبز، اسیدی ضعیف زرد می شود)

شرح آزمایش:

- ۱- برداشتن ۰/۱ میلی لیتر از محلول سلنایت براث (حاوی میکروارگانیزم های نمونه از جلسه قبل)
- ۲- انتقال نمونه به سطح محیط کشت B.G.A و انجام کشت سطحی
- ۳- ثبت مشخصات بر روی پلیت حاوی محیط کشت و اینکوباتور گذاری به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در حرارت $37-35^{\circ}\text{C}$
- ۴- تهیه لام از محیط کشت S.B، رنگ آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی

لازم است که پس از سپری شدن زمان لازم، پرگنه ها را از نظر تغییرات رنگی مورد بررسی قرار دهیم. سپس از دو پرگنه متفاوت از نظر رنگ و اندازه لام تهیه کرده و پس از رنگ آمیزی به روش گرم آنها را مورد مشاهده میکروسکوپی قرار داد و وجود سالمونلا یا دیگر باکتری های هم خانواده آنها را با تأیید بیشتری مشخص نمود.

پرگنه های قرمز رنگ کلی فرم



پرگنه های زرد رنگ غیر کلی فرم ها

محیط کشت B.G.A