

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

پس از مشاهده ظاهری پرگنه های رشد یافته در محیط کشت B.G.A و تشخیص احتمالی نوع باکتری ها بر اساس رنگ ظاهری آنها، لازم است تا از پرگنه مشکوک به سالمونلا (پرگنه های قرمز رنگ در محیط B.G.A) در یک محیط کشت ایزوله کننده به صورت کشت چند خطی کشت صورت گیرد تا کلونی های کاملاً متمایز قابل تشخیص باشد.

محیط کشت مک کانگی آگار (Mac Conkey Agar) یکی از مناسب ترین محیط های کشت جهت خالص و جداسازی باکتری های باسیلی شکل و گرم منفی سالمونلا یا باکتری های هم خانواده آنهاست. در محیط M.C.A ترکیبات زیر وجود دارد:

- ✓ پپتون
- ✓ لاکتوز
- ✓ نمک کلرید سدیم
- ✓ نمک های صفراوی
- ✓ معرف نوترال رد و کریستال ویوله
- ✓ آگار

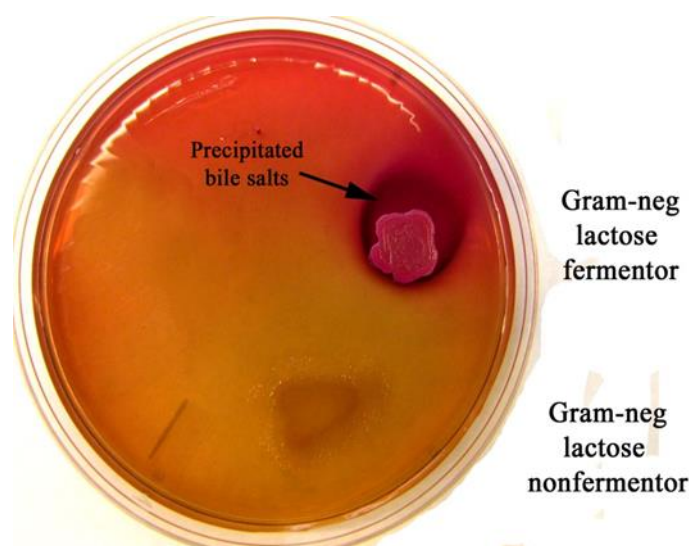
زمانیکه باکتری ها در سطح این محیط کشت شروع به فعالیت می کنند، چنانچه مانند باکتری های سالمونلا قادر به استفاده از قند لاکتوز نباشند به ناچار از پپتون ها به عنوان منبع انرژی تغذیه می کنند و با هیدرولیز آنها اسیدهای آمینه و در نهایت آمونیاک تولید خواهد شد. با افزایش pH در اثر حضور نمک های آمونیوم معرف Neutral Red که در pH بالا به رنگ زرد متمایل می شود، رنگ پرگنه های سالمونلا به صورت زرد کدر، شگلا زرد کمرنگ و شفاف و پروتئوس به رنگ زرد مایل به نارنجی تغییر می کند. به این ترتیب می توان پس از گذشت زمان اینکوباتور گذاری با مشاهده ظاهری پرگنه ها وجود هر یک از باکتری ها را در محیط کشت تأیید و شناسایی کرد. اما چنانچه باکتری های رشد یافته از نوع کلی فرم (اشریشیا و اینتروباکتر) باشند، طی عمل هیدرولیز و تخمیر لاکتوز تولید اسید لاکتیک و انرژی می کنند که با کاهش pH، رنگ پرگنه ها به قرمز می گراید.

یکی از ترکیبات خاص محیط کشت M.C.A که به شناسایی بهتر و دقیق تر نوع باکتری کمک می کند، نمک های صفرای هستند که این نمک با تولید شدن اسید لاکتیک به شکل رسوبی زرد رنگ و شفاف در حاشیه پرگنه باکتری های کلی فرم نمایان می گردد.

حضور معرف کریستال ویوله در این محیط سبب نابودی یا توقف فعالیت میکروارگانیسم های گرم مثبت احتمالی در کشت شده و به این طریق می توان از محیط مک کانگی آگار به عنوان یک محیط کشت خالص کننده و مناسب برای باکتری های سالمونلا و هم خانواده های آنها یاد کرد.

شرح آزمایش:

- ۱- برداشتن مقداری از پرگنه مشکوک به سالمونلا از محیط B.G.A توسط آنس حلقوی استریل
- ۲- انتقال نمونه به سطح محیط کشت M.C.A و انجام کشت چند خطی
- 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 پرگنه محیط کشت B.G.A ، رنگ آمیزی گرم و مشاهده میکروسکوپی



محیط کشت M.C.A و تفاوت پرگنه کلی فرم ها و غیر کلی فرم ها