

بررسی حضور عامل مولد عفونت سالمونلوسیس در مواد غذایی (بخش پنجم)

پس از بررسی محیط کشت T.S.I.A و شناسایی باکتری های موجود بر اساس خصوصیات و چگونگی فعالیتشان در محیط کشت، لازم است تا برای تأیید نهایی باکتری های موجود در نمونه غذایی از یک سری تست های بیوشیمیایی در دو محیط کشت اختصاصی S.I.M و سیمون سترات اگار (S.C.A) استفاده شود.

❖ محیط S.I.M محیطی به رنگ زرد شفاف است که در لوله آزمایش و به صورت بدون شیب تهیه می شود.

ترکیبات این محیط عبارتست از:

- ✓ عصاره گوشت
- ✓ پپتون
- ✓ آهن
- ✓ نمک تیوسولفات سدیم
- ✓ آگار به میزان ۰/۳٪

برای انجام کشت در محیط S.I.M لازم است پس از مشخص گردیدن پرگنه باکتری به کمک یک سوزن صاف استریل آنس مقداری از پرگنه در محیط T.S.I.A برداشته و در کنار شعله و شرایط استریل به مرکز محیط S.I.M وارد نموده و تا نزدیکی انتهای لوله، کشت عمقی انجام گیرد. بایستی پس از ثبت مشخصات لوله به مدت ۴۸ ساعت در اینکوباتور 37°C نگهداری شود.

تولید SH_2 و در نهایت SFe

تولید ایندول (Indol)

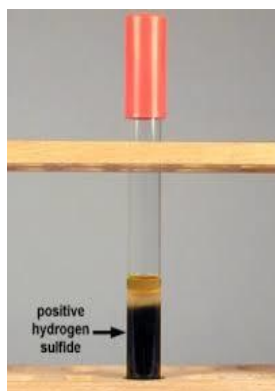
قابلیت تحرک (Motility)

در محیط S.I.M سه ویژگی قابل مشاهده است:

۱- تولید سولفید هیدروژن و سولفید آهن:

از میان باکتری های خانواده ایتروباکتریاسه ، سالمونلا تایفی موریوم و پروتئوس ولگاریس قادرند با مصرف منابع پروتئینی محیط S.I.M نظیر عصاره گوشت و پپتون گازهای CO_2 و H_2 تولید کنند که H_2 می تواند با نمک تیوسولفات سدیم موجود در محیط وارد واکنش شده و ایجاد گاز سولفید هیدروژن (SH_2) نماید. این گاز محلول در نهایت با آهن محیط ترکیب شده و سبب ایجاد سولفید سیاه رنگ آهن (SFe) و آزاد سازی H_2 می گردد.

از این نظر ایجاد رنگ سیاه در محیط زرد رنگ S.I.M می تواند با تأیید بیشتری حضور سالمونلاها را مشخص سازد.



۲- تولید ایندول:

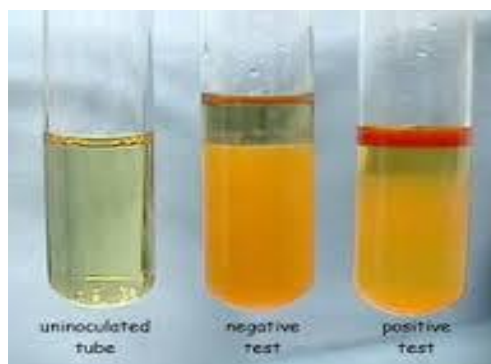
ایندول ترکیبی بیرنگ و بسیار بدبو است که توسط تعدادی از باکتری ها نظیر اشریشیا کلی تولید می شود.

این باکتری با مصرف منابع پروتئینی محیط آنها را به اسیدهای آمینه تجزیه کرده و چنانچه اسید آمینه "تریپتوفان" در هیدرولیز پروتئینی موجود باشد، آن را تجزیه کرده و بخش حلقوی و خطی آن را از هم جدا می سازد و تولید ایندول می کند.

به دلیل بی هوازی بودن این واکنش، معمولاً ایندول در عمق لوله تولید می شود.

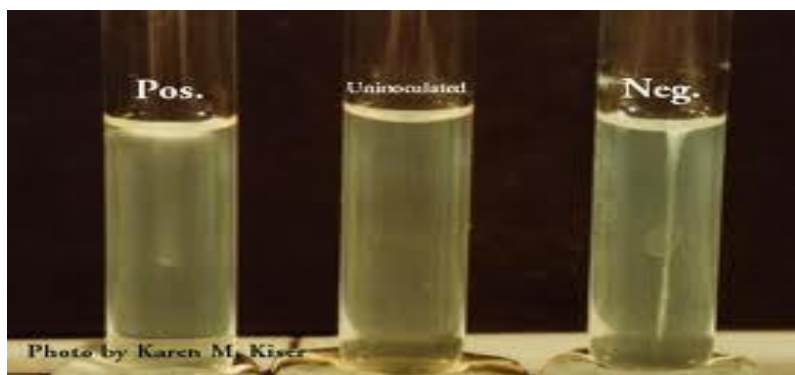
با توجه به بیرنگ بودن ایندول برای اثبات وجود آن بایستی از معرف خاصی استفاده شود به این ترتیب که:

ابتدا درب لوله آزمایش حاوی S.I.M را باز نموده و ۴-۵ قطره محلول کلروفرم در زیر هود به آن اضافه می کنیم. سپس به منظور انتقال حلال کلروفرم به نقاط عمیق کشت، لوله آزمایش را بین انگشتان دست و به آرامی ، چند مرتبه حرکت می دهیم. در آخر، معرف کوواک (Kovac's Reagent) را به میزان ۴-۵ قطره به داخل لوله وارد می کنیم. در صورت وجود ایندول ، پس از نگهداری لوله در جای ثابت در زمان ۳۰ ثانیه تا حداکثر ۱ دقیقه در حدفاصل بین محیط و کلروفرم یک لایه صورتی یا بنفش رنگ مشاهده می شود. در غیر این صورت آزمون از نظر تولید ایندول منفی است.



۳- قابلیت تحرک:

در بین باکتری های خانواده اینتروباکتریاسه، اشیریشیا کلی - سالمونلا و پروتئوس به عنوان باکتری های متحرک با قدرت تحرک زیاد شناخته می شوند. این باکتری ها در محیط های کشت نیمه جامد (دارای آگار به میزان کم ۰/۳٪) می توانند تحرک بیشتری داشته باشند و با تحرک خود ایجاد مخروطی بنمایند که قاعده آن در سطح محیط S.I.M و سر آن در عمق لوله باشد.



❖ محیط سیمون سیترات آگار (S.C.A) برای مشخص نمودن مصرف یا عدم مصرف سیترات به عنوان منبع آلی استفاده می شود. این محیط جامد در لوله و به صورت شیدار با رنگی سبز تهیه می شود که شامل

ترکیبات زیر است:

- ✓ سولفات منیزیم
- ✓ مونوآمونیم فسفات
- ✓ فسفات دی پتاسیک
- ✓ سیترات سدیم
- ✓ کلرید سدیم
- ✓ آگار
- ✓ معرف برم تیمول بلو

برای انجام کشت از پرگنه محیط T.S.I.A با آنس حلقوی استریل برداشته و از انتهای قسمتی که شیب محیط کشت شروع می شود به سمت بالا به صورت مارپیچ کشت سطحی داده می شود. پس از ۴۸ ساعت اینکوباتور گذاری در دمای 37°C ، می توان مصرف یا عدم مصرف سیترات را پیگیری نمود.

در خانواده اینتروباکتریاسه، سالمونلا و اینتروباکتر قابلیت مصرف سیترات را به عنوان منبع آلی دارند بنابراین در محیط S.C.A سیترات سدیم را تجزیه و پس از مصرف سیترات، سدیم را در محیط رها می کنند. باقیمانده سدیم چنانچه با OH حاصل از متابولیسم سلولی (نتیجه تجزیه آب) همراه شود ایجاد هیدروکسید سدیم قلیایی می نماید. با تولید NaOH، pH محیط افزایش یافته و معرف برم تیمول بلوی سبز رنگ در حالت خنثی به رنگ آبی تغییر رنگ می دهد (برم تیمول بلو در pH های اسیدی به رنگ سبز مایل به زرد است).

