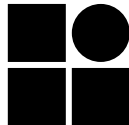


11 1		

تهیه و کنترل کیفیت محیط های کشت

نکات عمومی در مورد محیط های کشت:

آب:

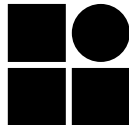
کیفیت محیط های کشت بطور مستقیم بستگی به کیفیت مواد خام مورد استفاده در تهیه آنها دارد. آب یکی از مهمترین موادی است که در تهیه محیط های کشت بکار میرود. سه معیار مهم برای آب مورد استفاده در تهیه محیط های کشت شامل وجود یونهای مس، قدرت هدایت الکتریکی و pH می باشد. در شرایط ایده آل یونهای مس بدلیل خاصیت مهارکنندگی برای اغلب میکروارگانیسم ها نباید در آب مورد استفاده جهت تهیه محیط های کشت وجود داشته باشد. قدرت هدایت الکتریکی آب باید کمتر از ۱۵ میکرو زیمنس باشد و همچنین pH آب مورد استفاده بهتر است کمی اسیدی باشد ولی نباید کمتر از ۵/۵ باشد.

توزین محیط کشت و افزودن آب:

طبق دستورالعمل تهیه محیط کشت که بر روی قوطی نصب گردیده است، مقدار مناسبی از پودر محیط کشت را با دقت وزن نمایید. ظرف محیط کشت را دور از کوران هوا و رطوبت باز کنید. از استنشاق پودرها به خصوص آنهایی که دارای مواد سمی هستند و تماس طولانی مدت آنها با پوست اجتناب کنید. پودر را به سرعت، به دقت و بدون ایجاد توده ای از غبار وزن کنید. هرچه زودتر درب ظرف را ببندید. نصف حجم آب مورد نیاز را داخل ظرف بریزید. سپس مقدار وزن شده محیط کشت را به آن اضافه نمایید. برای چند دقیقه به تندي تکان دهید. باقیمانده آب را به دیواره ظرف بریزید تا ذرات محیط کشت چسبیده به دیواره نیز وارد محلول شوند. این مرحله بسیار مهم است، چون پودر خشک محیط کشت در بالای سطح آب، ممکن است در اتوکلاو استریل نشود و منبع آلودگی گردد.

حل کردن محیط کشت:

محیط های کشت بدون آگار، معمولاً با تکان دادن آهسته و ملایم حل خواهند شد. اما محیط های کشت حاوی آگار باید قبل از حرارت دادن به مدت چند دقیقه با آب مخلوط شوند. سپس حرارت داده شوند تا آگار قبل از اتوکلاو کردن، حل شود. محیط های کشت را بجوشانید بدون آنکه بسوزند. محیط های کشتی که نباید اتوکلاو شوند، بعد از این مقدار حرارت دادن، برای تقسیم داخل پلیت ها یا ظروف دیگر آماده خواهند بود. اکثر محیط های کشت به استریلیزاسیون نهایی (در دمای C ۱۲۱° به مدت ۱۵ دقیقه) نیاز خواهند داشت.

11 2		

اندازه گیری و تنظیم pH:

محیط های کشت دهیدراته اگر بطور مناسب تهیه شوند نیازی به تنظیم pH ندارند. pH نهایی محصول استریل شده را می توان روی پلیت یا بطری اندازه گیری کرد، اما باید آنها را بعد از سنجش pH دور ریخت. بنابراین بعد از استریل شدن و خنک شدن محیط کشت تا دمای 25°C ، مقدار pH را در حد مورد نظر (± 0.2) تنظیم نمایید. تنظیم pH معمولاً با استفاده از هیدروکسید سدیم ۴۰ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) و یا با استفاده از اسید کلریدریک ۳۶/۵ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) انجام می شود.

توزیع:

محیط کشت را در ظرفی مناسب با حجم ۲ تا ۳ برابر حجم محیط کشت بریزید تا بتوانید آنرا به خوبی تکان دهید و مخلوط کنید.

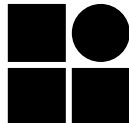
استریلیزاسیون:

بعضی از محیط های کشت به استریلیزاسیون با اتوکلاو احتیاجی نداشته و با جوشاندن استریل می شوند که دستور ساخت آنها بر روی برچسب قوطی محیط کشت قید گردیده است. استریلیزاسیون سایر محیط های کشت توسط حرارت مرطوب یا صافی غشایی انجام می گردد که این موارد نیز بر روی برچسب قوطی محیط کشت قید گردیده است.

الف) استریلیزاسیون با حرارت مرطوب:

استریلیزاسیون محیط کشت تا حجم یک لیتر، در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای 121°C (فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع) انجام می گیرد. برای حجم های بیشتر از یک لیتر باید چرخه استریلیزاسیون را بطور مناسب تغییر داد. اما چون اکثر مشکلات در استریلیزاسیون محیط های کشت وقتی رخ میدهد که مقادیر بیشتر از دو لیتر محیط کشت باید استریل شود، لذا توصیه می شود که مقادیر زیاد محیط کشت را در حجم های کوچکتر تقسیم نمایید.

کنترلی کیفی اتوکلاو، کنترل دما و فشار اتوکلاو بایستی بطور مداوم انجام گردد. برای کنترل اتوکلاو از اندیکاتورهای شیمیائی TST استفاده می کنند. از اندیکاتورهای بیولوژیکی که جهت کنترل کارائی اتوکلاو استفاده می کنند اسپور *Bacillus Stearothermophilus* را می توان نام برد که بصورت تجاری قابل دسترس می باشد.

11 3		
-------------	--	---

(ب) استریلیزاسیون با صافی غشایی:

از صافی غشایی برای استریل کردن محیط های کشت و ترکیبات حساس به حرارت استفاده می شود. استریلیزاسیون بوسیله صافی غشایی تحت شرایط خلاء یا افزایش فشار انجام می پذیرد. از غشاء ها و صافیهای با قطر منفذ ۰/۲۲ یا ۰/۴۵ میکرومتر استفاده نمایید. این فیلترها باید قبل از استفاده، در اتوکلاو استریل شوند. در مورد غشاء ها و صافیهایی که در بسته بندیهای استریل به فروش می رسند، به دستورالعمل سازنده مراجعه نمایید. قسمت های مختلف دستگاه صافی را با صافی یا بدون صافی در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 121°C استریل نمایید.

آماده سازی جهت مصرف:


بعد از استریلیزاسیون، اجازه دهید دمای محیط کشت به حدود 50°C برسد، سپس با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم نمایید. هیچ وقت محیط کشت را در دمای بالاتر از 50°C تقسیم نکنید. مکمل های حساس به گرما و حرارت باید بعد از این که دمای محیط کشت به حدود 50°C رسید، به آن اضافه شوند. اجازه دهید دمای مکمل (سابلمنت) استریل قبل از این که به محیط کشت اضافه شود، به دمای اتاق برسد. سپس مکمل را با رعایت شرایط آسپتیک به محیط کشت اضافه نموده، خوب مخلوط کنید و در ظروف نهایی که از قبل استریل شده اند، تقسیم نمایید.

پتری دیش:

کیفیت پتری دیش های مورد استفاده در تهیه محیط نیز اهمیت دارد. معمولاً پتری دیش ها را با اتیلن اکساید و یا اشعه گاما استریل می کنند. در صورت استفاده از پتری دیش هایی که با اتیلن اکساید استریل شده باشند بایستی از نظر وجود بقایای این ماده بررسی شود زیرا اتیلن اکساید دارای خاصیت مهار کنندگی برای میکروارگانیسم ها می باشد و می توان آن را با روش کروماتوگرافی اندازه گرفت. در صورت استفاده از پتری دیش های شیشه ای بایستی از پتری دیش هایی از جنس بروسیلیکات استفاده کرد. استفاده از پتری دیش هایی از جنس پلیانی ممکن است موجب آزاد سازی قلیا در داخل محیط کشت گردد.

پارامترهای فیزیکی:

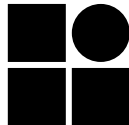
محیط کشت های تهیه شده باید قبل از استفاده، از لحاظ فیزیکی و ظاهری نیز بررسی شوند. معیارهای ظاهری قابل بررسی شامل وجود حباب، حفره، ناصافی سطح محیط، ترک خوردگی، یخ زدگی می باشد. ضخامت محیط نیز اهمیت دارد. ضخامت محیط های کشت پلیتی نباید کمتر از ۳ میلی متر باشد.

11 4		
------	--	---

نگهداری محیط های کشت تهیه شده:

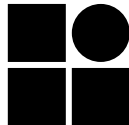
طول عمر محیط های کشت تهیه شده بستگی به نوع اجزاء تشکیل دهنده محیط، نحوه نگهداری و ذخیره کردن آنها دارد. تمامی محیط های کشت باید دور از نور نگهداری شوند. تابش نور به محیط های کشت موجب تشکیل مواد باکتریوستاتیک و باکتریساید مانند پراکسیداز می گردد. طول عمر اغلب محیط های کشت پلیتی در دمای ۴ درجه سانتیگراد یک هفته می باشد ولی اگر در داخل کیسه های پلاستیکی بسته بندی شوند بطوریکه هوا داخل آنها نفوذ نکند تا ۳-۴ هفته قابل مصرف هستند. طول عمر محیط های کشت حاوی آنتی بیوتیک بستگی به پایداری آنتی بیوتیک موجود در آن دارد. در مجموع محیط های حاوی آنتی بیوتیک را در مدت یک هفته باید مصرف کرد. از سوی دیگر با گذشت زمان اینگونه محیط های کشت رطوبت خود را از دست داده، بدلیل افزایش غلظت آنتی بیوتیک قدرت انتخابی آنها افزایش می یابد. پلیت ها را باید قبل از مصرف به دمای اتاق رساند. اگر پلیت محیط کشت بیش از ۸ ساعت در دمای اتاق باقی بماند برای مصرف مناسب نمی باشد. محیط های کشت لوله ای در مقایسه با محیط های کشت پلیتی عمر طولانی تری دارند. اغلب این محیط های کشت اگر در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شوند ۳-۶ ماه قابل مصرف می باشند.

موارد استثناء: تایوگلیکولات براث، اندول نیترات براث و SIM فقط به مدت یکماه قابل نگهداری می باشند. محیط های CTA Medium و OF Medium حاوی کربوهیدرات و مولر هینتون براث فقط به مدت ۶ هفته قابل نگهداری می باشند.

11 5		

جدول ۱- علل اشکالات رایج در محیط های کشت

علت	اشکال
حرارت بیش از حد، pH پایین که موجب هیدرولیز اسید در محیط کشت می گردد، توزین یا مخلوط نکردن درست، حل نشدن کامل آگار، حجم نادرست آب، رقیق سازی زیاد با مایع تلقیح یا مکمل ها و ذخیره سازی طولانی در دمای ۵۰ °C	نرم بودن آگار
استفاده از شیشه های قلیائی، آب ناخالص، حرارت بیش از حد، آلودگی شیمیائی، اندازه گیری pH در دمای نامناسب، استفاده از pH متر غیرکالیبره، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، ذخیره سازی نادرست محیط کشت دهیدراته و کیفیت پایین آب یا ظروف	pH نامناسب
ناخالص بودن آب، استفاده از شیشه آلات کثیف، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، حرارت دادن بیش از حد، pH نامناسب، حل نشدن کامل محیط کشت و ذخیره سازی طولانی در دمای ۵۰ °C	رنگ یا تیرگی غیرطبیعی
حرارت دادن بیش از حد (سوزاندن محیط)، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، قرارگیری در معرض مستقیم نور خورشید و حجم نادرست مکمل اضافه شده	سمیت
استفاده از آب و یا شیشه آلات آلوده، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، توزین یا مخلوط نکردن درست، حرارت بیش از حد، ذخیره سازی طولانی محیط کشت، خشک شدن، تیرگی و تغییر pH محیط کشت	رشد ضعیف ارگانیزم یا داشتن خاصیت ضعیف انتخابی و یا افتراقی
حرارت بیش از حد محیط در هنگام افزودن مکمل به آن	لخته یا کواگوله شدن محیط کشت
رگه رگه سیاه: نیم سوز شدن آگار رگه رگه روشن: سرد شدن آگار موقع افزودن مکمل	رگه رگه شدن محیط کشت
pH نامناسب، ناخالص بودن آب، استفاده از شیشه آلات کثیف، حل نشدن محیط کشت، کیفیت پایین آب یا ظروف، حرارت بیش از حد و ذخیره سازی طولانی در دمای ۵۰ °C	ایجاد رسوب یا کدورت

11 6		

کنترل کیفی محیط های کشت میکروبی:

اصطلاحات مربوط به سویه های میکروبی کنترل

- سویه کنترل (Control Strain): میکروارگانیسمی که برای ارزیابی عملکرد میکروبی محیط کشت استفاده می شود.
- سویه مرجع (Reference Strain): میکروارگانیسمی که حداقل تا سطح جنس و گونه شناسایی شده و بر اساس ویژگی ها و ترجیحاً منشا آن، فهرست بندی و تعریف شده است.
- ذخیره های مرجع (Reference Stocks): کشت های بدست آمده از پاساژ سویه مرجعی که از مراکز بین المللی تهیه شده است.
- ذخیره های کاری (Working Stocks): کشت مجددی که از کشت های ذخیره جهت کنترل کیفیت محیط های کشت استفاده می شود.

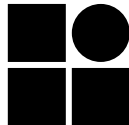
منبع سویه های کنترل:

همه سویه های کنترل که در جدول ۲ از آنها نام برده شده است، ATCC می باشند (American type culture collection). این سوشها، حداقل سوشهایی هستند که باید برای ارزیابی هر محیط کشت استفاده شوند. ارگانیسم های مورد استفاده برای اهداف کنترل کیفی می تواند از سویه های National collection باشد. سویه های دیگری نیز ممکن است توسط سازنده محیط کشت به کار رود که شامل مجموعه ای از سویه های وحشی (Wild strain) یا بدست آمده از نمونه های بیمار می باشد که مختص هر آزمایشگاه بوده و برای انجام آزمایش های بیشتر به کار می روند.

روش انجام آزمون کنترل کیفیت محیط های کشت

تهیه سوسپانسیون میکروبی:

یک کشت از ارگانیسم کنترل کیفی روی پلیت بلادآگار تهیه کنید. بعد از انکوباسیون پلیت ۵-۳ کلنی ایزوله را در مقدار کمی تریپتیکس سوی برای (TSB) استریل حل نمایید تا سوسپانسیون میکروبی حاصل شود و آن را برای چهار یا پنج ساعت انکوبه نمایید. سپس کدورت آن را با استاندارد نیم مک فارلند تنظیم کنید. (استاندارد نیم مک فارلند در طول موج 625 nm، دارای جذب ۰/۰۸ تا ۰/۱ ناتومتر می باشد) به جای این روش می توان مستقیماً از کلنی های ایزوله روی پلیت، سوسپانسیون میکروبی مطابق با کدورت نیم مک فارلند تهیه کرد. بدین ترتیب که ۵-۳ کلنی ایزوله روی پلیت ۲۴ ساعته را در ۵-۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل کرده و کدورت آن را با نیم مک فارلند تنظیم نمایید. با هر روشی که این سوسپانسیون

11 7		

میکروبی تهیه شود، باید کدورتی حاوی 10^7-10^8 CFU/ml کلنی داشته باشد. (مطابق با استاندارد نیم مک فارلند).

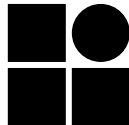
بررسی آزمایش های عملکردی محیط کشت (Performance testing)

۱- آزمایش ظرفیت مغذی بودن (Nutritional activity) محیط های کشت پلیتی مانند بلاد آگار
 سوسپانسیون اولیه را به نسبت ۱ به ۱۰۰ در نرمال سالین یا آب مقطر استریل رقیق نموده و مقدار $10 \mu\text{l}$ یا 0.1 ml سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح کنید. تعداد کلنی های مورد انتظار در هر پلیت (CFU/plate) 10^2-10^4 می باشد. برای اجتناب از رشد زیاد باکتری در بعضی از محیطهای کشت انتخابی ممکن است نیاز باشد که سوسپانسیون را ده بار رقیق تر تهیه نمایید.

۲- آزمایش ظرفیت مهار کنندگی محیط های کشت انتخابی پلیتی مانند مکانکی آگار
 سوسپانسیون اولیه را به نسبت ۱ به ۱۰ در نرمال سالین یا آب مقطر استریل رقیق نموده و مقدار $10 \mu\text{l}$ یا 0.1 ml سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح کنید. تعداد کلنی های مورد انتظار در هر پلیت (CFU/plate) 10^4-10^5 می باشد. برای اجتناب از رشد زیاد باکتری در بعضی از محیطهای کشت انتخابی ممکن است نیاز باشد که سوسپانسیون ده بار رقیق تر تهیه شود.

۳- آزمایش محیط های کشت لوله ای
 هر لوله باید با $10 \mu\text{l}$ یا 0.1 ml از سوسپانسیون اولیه تهیه شده مطابق با نیم مک فارلند (بدون رقیق سازی) تلقیح شود. گاهی ممکن است به تلقیح کمتر یا بیشتر نیاز باشد.

محیط مورد آزمون را بعد از تلقیح تحت شرایطی که در جدول ۲ آمده است، انکوبه نمایید. به طور نرمال زمان انکوباسیون، ۱۸-۲۴ ساعت یا ۲۴-۴۸ ساعت در دمای $35 \pm 2^\circ \text{C}$ می باشد. محیط شکلات آگار و سایر محیط های کشت برای جداسازی انتخابی گونه های نیسریای بیماریزا باید در ۱۰-۵% CO_2 انکوبه شوند و در فواصل زمانی ۱۸-۲۴ ساعت و سپس ۲۴-۴۸ ساعت بررسی گردند.
 برای باکتری های بی هوازی، کشتها عموماً به حداقل ۴۸ ساعت انکوباسیون در شرایط بی هوازی و غنی از CO_2 نیاز دارند.
 در مورد کمپلوباکتر آگار، پلیتها باید در 42°C در شرایط میکروآنروفلیک غنی از CO_2 به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شوند.

11 8		

۴- کنترل محیط های کشت برای آزمایشهای بیوشیمیایی

از سوسپانسیون میکروبی رقیق نشده برای کنترل این محیطها استفاده می کنیم. پس از تلقیح، تمام کشت ها را در شرایط لازم (از نظر CO₂، رطوبت و یا شرایط بیهوازی و درجه حرارت مناسب) قرار داده و پس از طی مدت زمان لازم (۲۴ تا ۴۸ ساعت) آنها را مورد بررسی قرار می دهیم. محیط های مناسب دارای رشد کافی از کلنی های باکتریهای مورد نظر می باشند و در مورد محیطهای انتخابی مهار میکروارگانیسمهای مورد نظر باید مشخص باشد.

کنترل محیط های ساخته شده تجاری (آماده مصرف):

- ۱- رطوبت: محیطهای کشت باید بدون هر گونه رطوبت اضافی بوده، همچنین هیچ نشانه ای از خشک شدن اطراف محیط کشت نباید مشاهده گردد.
 - ۲- سترون بودن: محیطهای کشت باید عاری از آلودگی باشند.
- رنگ: محیطهای کشت آگار خوندار نباید هیچ نشانه ای از همولیز داشته باشند و محیطهای کشت دیگر نباید هیچگونه تغییر رنگ غیر طبیعی داشته باشند.

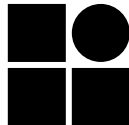
بررسی آلودگی محیط های کشت (استریل بودن محیط های کشت):

در صورتیکه تعداد پلیت یا لوله تهیه شده در هر سری ساخت یا Lot، ۱۰۰ عدد یا کمتر باشد، باید به تعداد ۳-۵٪ محیط های تهیه شده را در دمای ۳۷-۳۵ °C به مدت ۲-۵ روز انکوبه نمود. برای Lot های با تعداد بیش از ۱۰۰، باید به تعداد ۱۰ پلیت یا لوله را به طور تصادفی برداشته و در شرایط فوق انکوبه نمود. بعد از انکوباسیون هیچ گونه رشد میکروبی نباید مشاهده شود.

تفسیر نتایج:

یک محیط کشت زمانی قابل قبول می باشد که با همه سویه های پیشنهادی برای آزمون محیط کشت که در جدول ۲ مشخص شده است، رشد کافی داشته و خصوصیات مورفولوژیکی کلنی ها بارز باشد. در مورد محیط های انتخابی، رشد بعضی از ارگانیسم های خاص مهار می شود، ضمن اینکه اجازه رشد کافی به سایر ارگانیسم می دهد. در بعضی موارد، واکنشهای رنگی خاص یا همولیز همچنانکه در جدول ۲ آمده است، باید ایجاد شود. مثلاً در مورد کشت بلاآگار ایجاد همولیز مناسب ضروری است و یا برای محیط مکانکی آگار ایجاد واکنش های رنگی برای سویه های میکروبی مشخص ضروری می باشد.

سایر معیارهای تضمین کیفیت:

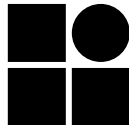
11 9		

محیطهای کشت آماده مصرف باید از نظر موارد زیر نیز بررسی شوند:

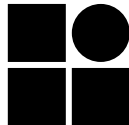
- شکستگی ظروف پتری
- پر شدن ناصاف پلیتها
- ترک خوردگی محیط کشت در پلیتها
- وجود همولیز (برای بلاد آگار)
- یخ زدگی
- وجود مقدار زیاد حباب یا حفره در سطح محیط کشت

جدول ۲

نتیجه قابل انتظار	ارگانیسم های کنترلی	زمان انکوباسیون	محیط کشت
رشد مثبت، محیط سیاه رنگ می شود رشد منفی	<i>S. faecalis</i> استرپتوکوک فکالیس <i>S. pyogenes</i> استرپتوکوک پایوژنز	۲۴ ساعت	بایل اسکولین آگار
رشد مثبت دارای همولیز بتا رشد مثبت دارای همولیز آلفا رشد مثبت	<i>Streptococcus pyogenes</i> استرپتوکوک پایوژنز <i>S. pneumoniae</i> استرپتوکوک پنومونیه هموفیلوس آنفلوانزا	۲۴ ساعت	بلاد آگار جار شمع دار CO ₂
مثبت (بفش رنگ می شود) منفی (بدون تغییر رنگ) مثبت	<i>S. typhimurium</i> سالمونلا تایفی موریروم <i>Shigella flexneri</i> شیکلافلکسنری	۴۸ ساعت	لایزین دکربوکسیلاز (محیط بوسیله روغن استریل پوشانده میشود)
منفی مثبت	<i>S. typhimurium</i> سالمونلا تایفی موریروم <i>K. pneumoniae</i> کلیسیلا پنومونیه	۴۸ ساعت	اورنیتین (دکربوکسیلاز)
منفی منفی	<i>S. typhimurium</i> سالمونلا تایفی موریروم <i>Proteus mirabilis</i> پروتئوس میرابیلیس <i>E. coli</i> اشرشیا کلی	۴۸ ساعت	آرژینین (دی هیدرولاز)
مثبت	<i>Bacillus subtilis</i> باسیلوس سوبتیلیس	۲۴ ساعت	ژلاتیناز
گاز A/A, SH ₂ + گاز یا بدون گاز K/A, SH ₂ + K/A تغییر نمی کند	<i>Citrobacter freundii</i> سیتروباکتر فروندی <i>S. typhimurium</i> سالمونلا تایفی موریروم <i>Sh. flexneri</i> شیکلا فلکسنری اسیتوباکتر کالکوستیکوس <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	۲۴ ساعت	کلاپگر آبرون آگار

11 10		

کلنی های قرمز رنگ کلنی های بیرنگ، بدون سوارمینگ (خزش) رشد منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> پروتئوس میرابیلیس <i>Proteus mirabilis</i> استریتوکوک فکالیس <i>S. faecalis</i>	۲۴ ساعت	مک کانکی آگار (همراه با کریستال ویوله)
منفی (سبز رنگ) مثبت (آبی رنگ)	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> کلیسیلا پنومونیه <i>K. pneumonia</i>	۲۴ ساعت	مالونات
کلنی های زرد رنگ کلنی های قرمز رنگ رشد منفی	استافیلوکوک اورئوس <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> استافیلوکوک اپیدرمیدیس اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	مانیتول سالت آگار
MR مثبت- VP منفی MR منفی- VP مثبت	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> کلیسیلا پنومونیه <i>K. pneumonia</i>	۴۸ ساعت	MRVP
به جدول میزان هاله عدم رشد قابل قبول در بخش آنتی بیوگرام مراجعه شود	استافیلوکوک اورئوس <i>S. aureus</i> ATCC 25923 سودوموناس آئروژینوزا <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 اشرشیا کلی <i>E. coli</i> ATCC 25922	۲۴ ساعت	مولر هینتون آگار
مثبت منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> اسیتوبا کتر کالکوستیکوس <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	۲۴ ساعت	نیترات برات
مثبت منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> کلیسیلا پنومونیه <i>K. pneumoniae</i>	۲۴ ساعت	آب پیپتونه (اندول)
منفی منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> پروتئوس میرابیلیس <i>P. mirabilis</i>	۲۴ ساعت	فنیل آلانین دامیناز
منفی کلنی های بیرنگ کلنی های بیرنگ	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> سالمونلا تایفی موربیوم <i>Salmonella typhimurium</i> یرسینیا انتروکولیتیکا <i>Yersinia enterocolitica</i>	۲۴ ساعت	سالمونلا شیگلا آگار (S.S) یا دزوکسی کلات سیترات آگار
کلنی های بیرنگ بعد از کشت مجدد رشد می کند	شیگلا فلکسنری <i>Shigella flexneri</i> سالمونلا تایفی موربیوم <i>S. typhimurium</i>	۲۴ ساعت	سلنیت برات (SF)
بعد از کشت مجدد رشد نمی کند رشد منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	سیمون سیترات (در لوله های با دریچ شل در انکوباتور گذاشته شود)
رشد مثبت- رنگ آبی	کلیسیلا پنومونیه <i>K. pneumonia</i>	۴۸ ساعت	

11 11		

کلنی های زرد رنگ	<i>Vibrio SPP</i>	۲۴ ساعت	آگار TCBS
رشد مثبت	نایسریا مننژیتیدیس <i>Neisseria meningitidis (CO₂)</i>	۲۴ ساعت	تایر مارتین
رشد مثبت	نایسریا گونوره <i>N. Gonorrhoeae</i>	۲۴ ساعت	تایر مارتین
رشد منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	تایوگلیکولات براث
رشد مثبت	باکترئیدس فراجیلیس <i>Bacteriodes fragilis</i>	۲۴ ساعت	Thioglycollate broth
گاز + SH ₂ , A/A	سیتروباکتر فروندی <i>Citrobacter frundii</i>	۲۴ ساعت	TSI
گاز یا بدون گاز + SH ₂ , K/A	سالمونلا تایفی موربیوم <i>S. typhimurium</i>	۲۴ ساعت	عمق محیط باید ۳ سانتی متر باشد (با دربیچ شل اتوو گذاری شود)
K/A	شیگلا فلکسنری <i>Sh. flexneri</i>	۲۴ ساعت	عمق محیط باید ۳ سانتی متر باشد (با دربیچ شل اتوو گذاری شود)
تغییر نمی کند	اسینتوباکتر کالکوستیکوس <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	۲۴ ساعت	عمق محیط باید ۳ سانتی متر باشد (با دربیچ شل اتوو گذاری شود)
منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	محیط اوره
مثبت، صورتی	پروتئوس میرابیلیس <i>P. mirabilis</i>	۲۴ ساعت	محیط اوره

منابع :

1- Quality Assurance for commercially prepared Microbiological Culture Media- Second Edition ; Approved standard.- Third edition document M22-A3. Vol. 24 No.19; 2006.

2- Oxoid company- General Guide to the use of Oxoid culture Media.

۳- محیط های کشت آزمایشگاهی (موارد مصرف و کنترل کیفی) به انضمام اطلس رنگی محیط های کشت؛

گرد آوری و ترجمه مهناز صارمی - محمد علی صارمی؛ آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت،

درمان و آموزش پزشکی؛ ۱۳۸۷