

مبانی و روش های

تهیه محیط کشت و رنگ آمیزی عوامل میکروبی

الیهف:

مهدی بابایی

(عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران)

مهدی دهقانپور

کارشناس ارشد میکروبیولوژی



سرشناسه	: بابایی، مهدی، ۱۳۶۳
عنوان و نام پدیدآور	: مبانی و روش‌های تهیه محیط کشت و رنگ‌آمیزی عوامل میکروبی / تألیف مهدی بابایی، مهدی دهقانپور
مشخصات نشر	: تهران: آوای فهم، ۱۳۹۳
مشخصات ظاهری	: ۳۱۷ص: مصور
شابک	: ۸ - ۳۴ - ۶۸۱۰ - ۶۰۰ - ۹۷۸
وضعیت فهرست‌نویسی: فیپا	
موضوع	: میکروب‌شناسی پزشکی -- دست‌نامه‌های آزمایشگاهی
رصوع	: میکروب‌شناسی تشخیصی -- دست‌نامه‌های آزمایشگاهی
شماره افزوده	: دهقانپور، مهدی، ۱۳۶۲
رده‌بندی کنگره	: ۱۳۹۳ م ۲ ب ۴۷ QR
رده‌بندی دیربی	: ۶۱۶/۹۰۴۱
شماره کتابشناسی ملی	: ۲۵۷، ۳۶

شابک: ۹۷۸ - ۶۰۰ - ۶۸۱۰ - ۳۴



تهران: خ توحید، خیابان فرصت شیرازی، بعد از تقاطع خیابان قریب، پلاک ۸۳، واحد ۸۱۰
تلفن: ۰۹۱۲۳۱۸۱۰۰۴ - ۶۶۵۹۴۸۸۴

مبانی و روش‌های تهیه محیط کشت و رنگ‌آمیزی عوامل میکروبی
تألیف: مهدی بابایی - مهدی دهقانپور
© حق چاپ: ۱۳۹۳ انتشارات آوای فهم

نوبت چاپ: اول

مدیر تولید: محمد برخوردار

طراح جلد: سمیه غلامی

صفحه‌آرا: منیژه فاتحی

شمارگان: ۱۱۰۰

بهها: ۲۵۰۰۰ ریال

همه حقوق محفوظ است. هرگونه نسخه‌برداری، اعم از زیراکس و بازنویسی، ذخیره کامپیوتری، اقتباس کلی و جزئی (به جز اقتباس جزئی در نقد و بررسی، و اقتباس در گیومه در مستندنویسی، و مانند آنها) بدون مجوز کتبی از ناشر ممنوع و از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری است.

فهرست مطالب

۱۳	مقدمه
۱۵	بخش اول: کلیات
۱۹	کشت و تکثیر میکروب‌ها
۲۲	تهیه و ساخت محیط کشت میکروب‌ها
۲۸	کنترل و تنظیم pH محیط‌های کشت
۲۹	استریل نمودن محیط کشت
۲۹	توزیع محیط در ظروف
۲۹	اشکالات نگهداری و تهیه محیط کشت
۳۱	رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها
۳۲	اختصاصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی، میه‌ارگانیسم‌ها
۳۴	شکل باکتری‌ها
۳۵	اندازه باکتری‌ها
۳۵	انتقال باکتری‌ها
۳۹	تهیه کشت خالص باکتری‌ها
۳۹	کشت خطی روی محیط جامد برای جداسازی باکتری‌ها
۴۲	جداسازی باکتری‌ها
۴۳	روش‌های مختلف جداسازی باکتری‌ها از مخلوط میکروبی
۴۴	محیط‌های کشت مورد مصرف در آزمایشگاه
۴۶	روش تهیه محیط کشت
۴۷	طرز ریختن محلول غذایی به درون پتری‌دیش
۴۷	تهیه کشت درون پلیت
۴۸	روش قرار دادن پلیت
۴۸	تهیه محیط کشت شیب‌دار درون لوله
۵۰	کشت میکروب در لوله‌ی حاوی محیط کشت مایع

- ۵۲..... کشت میکروب در لوله‌ی حاوی محیط کشت جامد
- ۵۴..... کشت خالص و کلنی تک
- ۵۵..... استفاده از رقت برای ایجاد کلنی تک
- ۵۶..... استفاده از کشت خطی برای تهیه‌ی کلنی خالص
- ۵۸..... مشخصات کشت باکتری‌ها
- ۶۳..... بخش دوم: محیط‌های کشت
- ۶۵..... محیط بایر-پارکر آگار (Baird-Parker Agar)
- ۶۷..... محیط بایل اسکولین آگار (Bile Esculin Agar)
- ۶۹..... بیسموت سولفاید آگار (Bismuth Sulphite Agar)
- ۷۱..... محیط آگار خون دار (Blood Agar)
- ۷۳..... برین هرت اینفیوژن آگار (Brain Heart Infusion Agar)
- ۷۵..... برین هرت اینفیوژن براث (Brain Heart Infusion Broth)
- ۷۷..... برلیانت گرین آگار (Brilliant Green Agar)
- ۷۹..... برلیانت گرین بایل براث ۲٪ (Brilliant Green Bile Broth 2%)
- ۸۱..... بروسلا آگار (Brucella Agar)
- ۸۳..... بروسلا براث (Brucella Broth)
- ۸۵..... کری و بلر (Cary-Blair)
- ۸۷..... ستریماید آگار (Cetrimide Agar)
- ۸۹..... کلمبیا بلاد آگار (Columbia Blood Agar)
- ۹۱..... کوک میت براث (Cook Meat Broth)
- ۹۳..... کورن میل آگار (Corn Meal Agar)
- ۹۴..... دکستروز آگار (Dextrose Agar)
- ۹۶..... دورست هنلی ترکیبی / با آگار (Dorset-Henley synthetic/with agar)
- ۹۸..... اشریشیا کولای براث (Escherichia Coli Broth (EC Broth))
- ۱۰۰..... اتوزین متیلن بلو آگار (Eosin Methylene Blue Agar (E.M.B Agar))
- ۱۰۲..... گلوکز براث (Glucose Broth)
- ۱۰۴..... هکتون انتریک آگار (Hektoen Enteric Agar)

۱۰۶.....	کلیگلر آبرون آگار (Kligler Iron Agar (K.I.A))
۱۰۸.....	لاکتوز براٹ (Lactose Broth)
۱۱۰.....	لوریل سولفات براٹ (Lauryl Sulphate Broth)
۱۱۲.....	لویناشتاین - جانسن (Lowenstein - Jensen)
۱۱۵.....	لیور براٹ (Liver Broth)
۱۱۷.....	لایزین دکربو کسلاز براٹ (Lysine Decarboxylase Broth)
۱۱۹.....	لایزین آبرون آگار (Lysine Iron Agar)
۱۲۱.....	مکانکی آگار (Mac Conkey Agar)
۱۲۳.....	مکانکی براٹ (Mac Conkey Broth/with purple)
۱۲۵.....	مالاشیت گرین براٹ (Malachite Green Broth)
۱۲۷.....	مانیتول سالت آگار (Mannitol Salt Agar)
۱۲۹.....	میدل بروک 7H11 آگار (Middle Broth 7H11 Agar)
۱۳۲.....	ام.آر.وی.پی (MR-VP)
۱۳۴.....	مولر - هینتون آگار (Muller-Hinton Agar)
۱۳۶.....	مولر - هینتون براٹ (Muller-Hinton Broth)
۱۳۷.....	نترات آگار/برائٹ (Nitrate Agar/Broth)
۱۳۹.....	نوٹریٹ آگار/با نمک (Nutrient Agar/with NaCl)
۱۴۱.....	نوٹریٹ براٹ (Nutrient Broth)
۱۴۳.....	اورنج سرم آگار (Orange Serum Agar)
۱۴۵.....	پی.ای.برائٹ (PA Broth)
۱۴۷.....	پپٹون وائر (Peptone Water)
۱۴۹.....	فنل رد آگار/برائٹ (Phenol Red Agar/Broth)
۱۵۱.....	پلیٹ کانت آگار (Plate Count Agar)
۱۵۳.....	پوتیتو دکسروز آگار (Potato Dextrose Agar)
۱۵۵.....	R-2A آگار (R-2A Agar)
۱۵۷.....	رینگر پودر (Ringer Powder)
۱۵۸.....	سابرو دکسروز آگار ۲٪ (Sabouraud Dextrose Agar 2%)

۱۶۰.....	سابرو دکستروز آگار ۴٪ (Sabouraud Dextrose Agar 4%)
۱۶۲.....	سابرو کلرامفنیکل آگار (Sabouraud Chloramphenicol Agar)
۱۶۴.....	سابرو مالتوز آگار/براث (Sabouraud Maltose Agar/Broth)
۱۶۶.....	سلنیت سیستین براث (Selenite Cystine Broth)
۱۶۸.....	سولفید ایندول موتیلیتی (Sulphide Indole Motility (S.I.M))
۱۷۰.....	سیمون سترات آگار (Simmon's Citrate Agar)
۱۷۲.....	سالمونلا-شیگلا آگار (Salmonella-Shigella Agar (S.S Agar))
۱۷۴.....	آگار نشانه دار (Starch Agar)
۱۷۶.....	تیوسولفات سیترات بایل و ریزوز آگار (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (T.C.B.S Agar))
۱۷۸.....	تتراتیونات براث (Tetrathionate Broth)
۱۸۰.....	تایو گلیکولات براث (Thioglycollate Broth)
۱۸۲.....	تومیتو جوس آگار (Tomato Juice Agar)
۱۸۴.....	تریپتون واتر (Tryptone Water)
۱۸۵.....	تریپتون سویا آگار (Tryptone Soya Agar (T.S.A))
۱۸۷.....	تریپتون سویا براث (Tryptone Soya Broth (T.S.B))
۱۸۹.....	تریپل شوگر آیرون آگار (Triple Sugar Iron Agar (T.S.I))
۱۹۱.....	اوره آگار (Urea Agar)
۱۹۳.....	اوره براث (Urea Broth)
۱۹۵.....	ویولت رد بایل آگار (Violet Red Bile Agar (V.R.B. Agar))
۱۹۷.....	ویولت رد بایل گلوکز آگار (Violet Red Bile Agar (V.R.B.G Agar))
۱۹۹.....	گزبلوز لایزین داوکسیکولات آگار (Xylose Lysine Deoxycholate Agar (X.L.D Agar))
۲۰۱.....	یست اکسترکت آگار (Yeast Extract Agar)
۲۰۳.....	یست گلوکز کلرامفنیکل آگار (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar (Y.G.C))
۲۰۳.....	راهنمای کلی محیط‌های کشت آزمایشگاهی

۲۰۷.....	بخش سوم: مواد پایه
۲۰۹.....	آگار (Agar)
۲۱۰.....	بیف اکسترکت (Beef Extract)
۲۱۰.....	بایل سالت (Bile Salt)
۲۱۰.....	پپتون (Peptone)
۲۱۱.....	پروتوز پپتون (Proteose Peptone)
۲۱۱.....	سویا پپتون (Soya Peptone)
۲۱۱.....	تریپتون (Tryptone)
۲۱۱.....	یست اکسترکت (Yeast Extract)
۲۱۳.....	بخش چهارم: معرف ها و اختلاط ها
۲۱۵.....	معرف ارلیش (Ehrlich's Reagent)
۲۱۵.....	معرف کواک (Kovac's Reagent)
۲۱۶.....	بافر فسفات (Phosphate Buffer)
۲۱۷.....	مکمل ها (Supplements)
۲۱۷.....	محلول ۴۰٪ اوره (Urea 40% Solution)
۲۱۷.....	پتاسیم تلوریت ۳/۵٪ (Potassium Tellurite 3.5%)
۲۱۷.....	امولسیون زرده تخم مرغ (Egg Yolk Emulsion)
۲۱۸.....	امولسیون تلوریت-زرده تخم مرغ (Egg Y. Tellurite Emulsion)
۲۱۸.....	مکمل بروسلا (Brucella Supplement)
۲۱۹.....	مکمل کمپیلوباکتر-I (Blaser-Wang) (Campylobacter Supplement-I)
۲۱۹.....	مکمل کمپیلوباکتر-II (Butzler) (Campylobacter Supplement-II)
۲۲۰.....	مکمل کمپیلوباکتر-III (Skirrow) (Campylobacter Supplement-III)
۲۲۱.....	بخش پنجم: رنگ آمیزی عوامل میکروبی
۲۲۳.....	رنگ آمیزی باکتری ها
۲۲۳.....	مقدمات رنگ آمیزی
۲۲۴.....	تثبیت کردن نمونه
۲۳۰.....	توصیه های نکاتی قبل از انجام رنگ آمیزی

۲۳۱	انواع رنگ آمیزی
۲۳۱	رنگ آمیزی ساده
۲۳۲	رنگ آمیزی مرکب (مضاعف)
۲۳۲	رنگ آمیزی گرام (The Gram Staining)
۲۴۰	رنگ آمیزی اسید-فاست (Acid Fast Staining)
۲۴۴	رنگ آمیزی ذیل نیلسن (Ziehl-Neelsen Staining)
۲۴۸	رنگ آری فلونورکرم (Fluorescent staining)
۲۵۰	رنگ آری فلونورکرم (روش اصلاح شده)
۲۵۱	رنگ آمیزی فایورم و ورامین - ورامین
۲۵۲	رنگ آمیزی اسپور (Spore Staining)
۲۵۵	انواع روش های مختلف رنگ آمیزی اسپور
۲۵۹	رنگ آمیزی کپسول (Capsule Staining)
۲۶۱	رنگ آمیزی کپسول با روش چربی (Churchman)
۲۶۴	رنگ آمیزی دیواره ی سلولی (Cell wall staining)
۲۶۶	رنگ آمیزی دانه های چربی (Lipid Granules Staining)
۲۶۸	رنگ آمیزی دانه های ذخیره ای پلی ساکاریدی
۲۶۹	رنگ آمیزی هسته (Nucleus Staining)
۲۷۱	رنگ آمیزی تاژک (Flagella Staining)
۲۷۶	رنگ آمیزی دانه های ولوتین یا متاکروماتیک
۲۷۶	Volutin-Metachromatic Granules Staining
۲۷۸	روش رنگ آمیزی دانه های متاکروماتیک (دانه های ولوتین)
۲۷۸	رنگ آمیزی آلبرت (Albert's Staining)
۲۸۰	رنگ آمیزی نایسر (Neisser's Staining)
۲۸۱	رنگ آمیزی کینیون (Canyon's Staining)
۲۸۲	رنگ آمیزی منفی
۲۸۳	رنگ آمیزی لاکتوفل کانن بلو (برای قارچ)
۲۸۴	محلول پتاس (جهت شفاف کردن نمونه های قارچی)

۲۸۵.....	رنگ آمیزی لیشمن (Leishman's Staining)
۲۸۵.....	رنگ آمیزی گیمسا (Giemsa's Staining)
۲۸۶.....	رنگ آمیزی رایت (Wright's Staining)
۲۸۷.....	رنگ آمیزی رایت- گیمسا (Wright - Giemsa's Staining)
۲۸۸.....	نگهداری لام‌ها
۲۸۹.....	چند تست آزمایشگاهی مهم
۲۸۹.....	آزمایش احیاء نیترات (Nitrate Reduction Test)
۲۹۰.....	آزمایش CAMP
۲۹۱.....	آزمایش Voges-Proskauer
۲۹۲.....	آزمایش MR
۲۹۳.....	آزمایش سیتوکروم اکسیداز (Cytochrome Oxidase)
۲۹۵.....	پیوست
۲۹۵.....	تصاویر مربوط به محیط کشت‌های مختلف
۳۱۱.....	جدول دسته‌بندی محیط کشت‌ها
۳۱۱.....	(جداسازی - نگهداری - تشخیصی)
۳۱۷.....	منابع و مآخذ

مقدمه

امروزه با گسترش علوم و توسعه جامع بشری لزوم حفظ سلامتی و بهداشت عمومی به منظور جلوگیری از برر بیماری‌های مختلف میکروبی و تشخیص به موقع آنان بیش از پیش احساس می‌گردد. برای نیل به این اهداف سالانه تعداد آزمایشگاه‌های کنترل میکروبی (میکروبیولوژی) در بخش‌های مختلف تشخیصی-درمانی، صنایع غذایی و زیست محیطی افزایش می‌یابد. به همان میزان نیز مصرف مواد مورد نیاز و به خصوص محیط‌های کشت آزمایشگاهی به صورت انبوه به دانش فنی بالا، وسایل پیشرفته و آزمایشگاه‌های کنترل کیفی مجهز نیاز دارد، لذا تعداد کمی از کشورها قادر به تولید این مواد می‌باشند.

روش انجام آزمایش‌های کنترل کیفی محصولات و محیط‌های تولید شده در کتاب به صورت قیاسی با محیط‌های معتبر و همچنین بر طبق اصول کلی ثبت شده در کتاب‌ها، مقالات و جزوه‌های معتبر می‌باشد.