**[کشت مدفوع - stool culture](http://lab-sciences.blogfa.com/post/118)**

کشت مدفوع برای ایزوله کردن باکتری هایی مورد استفاده قرار می گیرد که اکثریت آنها باعث ایجاد بیماری های GI (گاستروانتریت) می شوند . عمده باکتری های ایزوله شده در کشت ها ، اکلای پاتوژن ، سالمونلا و شیگلا است . بعد از کشت و ایزوله کردن اکلای پاتوژن و سالمونلا برای تعیین نوع سوش از انتی سرم هایی استفاده می کنیم که به صورت تجاری در دسترس هستند . ویژگی های نمونه در کشت مدفوع بسیار مهم است . نمونه باید قبل از 2 ساعت گرفته شده باشند و در صورتی که تاخیر بیشتر از 2 ساعت باشد باید نمونه را در محیط انتقال دهنده مناسب قرار داد . محیط هایی که اکثرا برای انتقال استفاده می کنند ، کری بیلیر یا استوارت است . نمونه هایی که به آزمایشگاه فرستاده می شود دو نوع بودند : یا به صورت سواب رکتال بودند که در محیط انتقال دهنده قرار داده شده بودند و با نمونه های تازه مدفوع بودند که در ظرف مخصوص و مناسب جمع اوری شده بودند .

**نحوه کشت**

قبل از هر چیزی  نمونه دریافتی (سواب رکتال – مدفوع تازه )را بررسی می کنیم که اگر شرایط لازم برای کشت را داشته باشد کشت انجام گیرد . همیشه نمونه مدفوع به نمونه سواب برتری دارد و اگرنمونه دریافتی تازه ، دارای چرک،موکوس،خون و .. باشد سعی می کنیم که برای کشت از این مناطق نمونه برداریم . برای کشت از محیط های مختلف و گوناگون استفاده می شود . با مخلوط کردن محیط های افتراقی با محیط های تقویت کننده می توان صحت آزمایشات خود را افزایش دهیم . در حالت روتین ، شامل محیط SS (سالمونلا - شیگلا) و محیط سلنیتF – محیط تقویت کننده – است . سلنیت به صورت آبگوشت است اما محیط سالمونلا-شیگلا به صورت آگار صورتی کم رنگ جامد است .

برای اغاز کشت ، مقداری از نمونه را برداشته و به صورت زیر عمل می کنیم :

* نمونه را به محیط SS آغشته می کنیم و به صورت خطی کشت می دهیم .
* مقداری دیگر از نمونه را به آبگوشت سلنیتF انتقال داده و کشت می دهیم .

لازم به ذکر است که ابتدا سواب را به محیط SS1  آغشته می کنیم و بعد همان سواب را در ادامه به محیط آبگوشت سلنیت F اغشته می کنیم سپس هر دو محیط را به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه می کنیم . بعد از 24 ساعت محیط SS1   را از نظر حضور و یا عدم حضور کلنی بررسی می کنیم و از محیط ابگوشت سلنیت F مقداری نمونه توسط لوپ بر می داریم  و بر روی محیط SS2  کشت خطی می دهیم و سپس محیط SS2  را به مدت 24 ساعت در 37درجه سانتی گراد انکوبه می کنیم و نتایج را بعد از 24 ساعت بررسی می کنیم . علت کشت در محیط SS2  این است که محیط سلنیت F ، محیطی غنی شده است و باعث می شود تا باکتری های مدفوعی بهتر رشد کنند . برای نمونه : ممکن است اکلای در SS1  رشد نکند اما در محیط SS2  رشد کند که این نشان دهنده اهمیت این نوع کشت مدفوع است .

 نحوه کشت در روی محیط SS به صورت خطی است و توسط لوپ انجام میگیرد به این صورت که ابتدا به صورت خطی در یک قسمت از محیط SS  کشت می دهیم و سپس مقداری پلیت را می چرخانیم تا در ربع دیگر کشت را با غلظت کم خطوط کشت ادامه دهیم واین کار را تا ربع چهارم ادامه می دهیم و در هر ربع مقدار خطوط کشت را کاهش می دهیم تا نتایج به خوبی قابل مشاهده و بررسی باشند . نکته مهم در این کشت این است که در هر بار تعویض ربع ، باید لوپ را به وسیله حرارت استریل کنیم .

**بررسی نتایج کشت مدفوع**

بعد از 24 ساعت اولیه ، محیط کشت SS1  را بررسی می کنیم و اگر کلنی مشاهده نشد 24 ساعت دیگر منتظر می مانیم تا نتایج محیط SS2  را بررسی کنیم  .

باکتری های شایع کشت مدفوع در محیط SS  به صورت زیر دیده می شوند :

* شیگلا : کلونی های زرد رنگ و ریز
* اکلای پاتوژن : صورتی رنگ
* سالمونلا : زرد متمایل به بی رنگی که دارای مراکز سیاه است .

**stool culture**

Stool culture is used to isolate bacteria, the majority of which cause GI diseases (gastroenteritis). The main bacteria isolated in cultures are E. coli, Salmonella and Shigella. After culturing and isolating E. coli and Salmonella, we use antisera that are commercially available to determine the type of strain. Sample characteristics are very important in stool culture. . Sample characteristics are very important in stool culture. The sample must have been taken before 2 hours, and if the delay is more than 2 hours, the sample must be placed in a suitable transfer medium. The environments that are mostly used for transfer are Kerry Belier or Stuart. The samples that are sent to the laboratory were of two types: either they were in the form of rectal swabs that were placed in the transfer medium and they were with fresh stool samples that were collected in a special and appropriate container.

**how to kill**

First of all, we check the received sample (rectal swab - fresh stool) and if it meets the necessary conditions for culture, the culture can be done. Stool samples are always superior to swab samples, and if a fresh sample has pus, mucus, blood, etc., we try to take samples from these areas for culture. Different environments are used for cultivation. We can increase the accuracy of our tests by mixing differentiating media with amplifying media. In routine mode, it includes SS medium (Salmonella-Shigella) and selenite F medium - strengthening medium. Selenite is in the form of broth, but Salmonella-Shigella medium is solid in the form of pale pink agar.

To start cultivation, we take some of the sample and proceed as follows:

• We dip the sample in SS medium and grow it linearly.

• Another amount of the sample is transferred to the selenite F broth and cultured.

It should be noted that first we dip the swab in the SS1 medium and then we dip the same swab in the selenite F broth medium, then we incubate both mediums for 24 hours at a temperature of 37 degrees Celsius. After 24 hours, we check the SS1 medium for the presence or absence of a colony, and we take a sample from the selenite F medium with a loop and do a linear culture on the SS2 medium, and then the SS2 medium for 24 hours in We incubate at 37 degrees Celsius and check the results after 24 hours. The reason for cultivation in the SS2 environment is that the selenite F environment is an enriched environment and makes fecal bacteria grow better. For example: Ecola may not grow in SS1, but it can grow in SS2 environment, which shows the importance of this type of fecal culture.

The method of cultivation on the SS medium is linear and it is done by a loop, in this way, first we cultivate linearly in one part of the SS medium and then we rotate some plate to cultivate in the other quarter with a low concentration of the lines. Let's continue and we will continue this work until the fourth quarter and in each quarter we will reduce the amount of crop lines so that the results can be well seen and checked. The important point in this culture is that every time the quarter is changed, we must sterilize the loop by heat.

**Examining the results of stool culture**

After the initial 24 hours, we check the SS1 culture medium and if no colony is observed, we wait another 24 hours to check the results of the SS2 medium.

Common fecal culture bacteria in SS environment can be seen as follows:

• Shigella: small yellow colonies

• Ecla pathogen: pink color

• Salmonella: colorless yellow with black centers.