مدیریت نمونه دربخش میکروبشناسی

مدیریت امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان دانشگاه علوم‌پزشکی اردبیل

نشریه علمی آزمایشگاه- نوبت پانزدهم (آبان ماه 1403)

استانداردهای جمع آوری مناسب نمونه های میکروبی

انتقال نمونه:

انتقال نمونه های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه گیری به آزمایشگاه بخش مهمی از چرخه کاری در آزمایشگاه‌های پزشکی می باشد. آزمایشگاه باید شرایط انتقال نمونه را از نظر درجه حرارت مناسب، ظروف استاندارد حمل نمونه، حداکثر زمان مجاز جهت انتقال نمونه، فرآیند انتقال نمونه با درخواست اورژانسی و ملاحظات ایمنی لازم را تعریف و مکتوب نموده و کارکنان مرتبط نیز باید از آن مطلع باشند.

به طور ایده‌آل بیشتر نمونه ها باید تا حداکثر 2 ساعت پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه انتقال یابند. حتی در برخی موارد در صورت عدم امکان رعایت شرایط دمایی و یا استفاده از محیط انتقالی مناسب، لازم است نمونه در کمتر از 15 دقیقه برای شروع آنالیز و انجام کشت به آزمایشگاه انتقال یابد.

تمامی ظروف حمل نمونه باید برچسب مشخصات و ایمنی مناسب داشته و دارای جنسی مقاوم و بدون نشتی مطابق با استانداردهای تعریف شده باشند.

بسیاری از میکروارگانیسم ها به شرایط محیطی مانند اکسیژن (باکتری‌های بی هوازی)، تغییرات دما (نایسریا منتژیتیدیس) و یا تغییرات pH (شیگلا) حساس هستند. بنابراین به کار بردن نگه-دارنده‌های مخصوص یا استفاده از محیط نگه‌دارنده و یا دمای تحت کنترل برای اطمینان از زنده ماندن ارگانیسم در فرآیند حمل و نقل نمونه ها اهمیت دارد.

باید توجه شود که نمونه های میکروبی به درستی و با اطلاعات کافی برچسب‌گذاری شوند. به عنوان مثال علاوه بر نام و نام خانوادگی بیمار، اطلاعات دیگری همچون شماره پرونده بر روی نمونه درج شود تا از اشتباهاتی همانند تشابه اسمی جلوگیری گردد. همچنین نام فرد نمونه‌گیر و زمان جمع آوری نیز مشخص باشد. همچنین لازم است یکسری اطلاعات پایه در مورد هر نمونه در اختیار بخش میکروب شناسی قرار داده شود. به عنوان مثال، تشخیص احتمالی بیماری، ماهیت و محل دقیق نمونه، نوع درمان و آنتی‌بیوتیکی که بیمار دریافت کرده است.

محیط های انتقالی متداول:

دو محیط استوارت و Amie محیط های انتقالی متداول در میکروب‌شناسی هستند. این دو محیط علی‌رغم اینکه موجب زنده ماندن ارگانیسم ها می شوند اما تکثیر آن‌ها را پشتیبانی نکرده و مانع رشد بیش از حد سایر ارگانیسم ها در نمونه می گردند. گاهی به این محیط ها برای جذب اسیدهای چرب زغال نیز اضافه می‌شود زیرا وجود اسیدهای چرب منجر به تغییرات pH در محیط و از بین رفتن ارگانیسم‌های سخت رشد همچون نایسریا گونوره یا بوردتلا پرتاسیس می شود.

ضدانعقاد محیط ها:

ضدانعقاد مانع لخته شدن کشت خون، نمونه مغز استخوان و مایع سینوویال و... می شود. افزودن ضدانعقاد به این نمونه ها باعث می-گردد که باکتری ها درون لخته گیر نکرده و بهتر تکثیر یابند. نوع ضدانعقاد نیز حائز اهمیت است چون بعضی از این ضدانعقادها باکتری‌ها را از بین می برند. به عنوان مثال ضدانعقاد هپارین (مناسب برای ویروس) مانع رشد باکتری های گرم مثبت و مخمرها می شود. ضدانعقادهای سیترات و EDTA **نباید** مورد استفاده قرار بگیرند زیرا تاثیر آن‌ها بر رشد میکروارگانیسم‌های مختلف نامشخص می باشد. ضدانعقاد مورد استفاده متداول، SPS می-باشد که در مورد این ضدانعقاد باید به غلظت آن توجه شود زیرا غلظت بالای آن منجر به از بین رفتن بعضی از باکتری ها از جمله نایسریا می شود. به همین دلیل حجم خون مورد استفاده در کشت خون از اهمیت بالایی برخوردار است و بهتر است از ویال های جداگانه برای کودکان و بزرگسالان استفاده شود. همچنین برای

نمونه های با حجم کم مثل مغز استخوان و مایع سینوویال استفاده از ویال کشت خون کودکان به دلیل مقدار کمتر SPS مناسب تر می باشد.

ذخیره سازی:

اگر به هر دلیل در هنگام ورود نمونه میکروب به آزمایشگاه، انجام کشت میسر نباشد نمونه باید ذخیره شود که بسته به نوع نمونه، دما و شرایط نگه‌داری متفاوت می‌باشد. نمونه‌های مربوط به ادرار، مدفوع، خلط، سواب ها، عوامل خارجی مثل کاتترها و تمامی نمونه-های ویروسی باید در 4 °C نگه‌داری شوند. نمونه سرم برای تست-های سرولوژیک تا 1 هفته در فریزر 20 °C- قابل نگه داری است و در صورت نیاز به نگه‌داری طولانی مدت بافت و نمونه ها باید از فریزر 70°C- استفاده نمود. جهت کشت از کاتتر IV، زمان انتقال به آزمایشگاه زیر 15 دقیقه بوده و نگه‌داری آن در دمای 4°C و حداکثر تا دو ساعت مجاز می باشد. از دیگر نمونه هایی که بلافاصله بعد از ورود به آزمایشگاه باید کشت داده شوند نمونه بیوپسی استخوان می‌باشد.

پاتوژن هایی که به سرما حساسند باید در دمای مناسب نگه داری شوند. مثلا در مورد مایع CSF به دلیل حضور این نوع از پاتوژن ها، به منظور کشت **باکتریایی**، در صورتی که امکان کشت نباشد دمای مناسب نگه داری دمای اتاق است.

نگه دارنده ها:

اسید بوریک نگه‌دارنده‌ای مناسب جهت کشت و شمارش کلنی برای نمونه ادرار است. با استفاده از این نگه‌دارنده نمونه ادرار تا 24 ساعت در دمای اتاق جهت بررسی باکتریولوژیک قابل نگه‌داری است.

همچنین جهت انتقال و نگه داری نمونه مدفوع از محیط انتقالی کری بلر می توان استفاده کرد. به طور کلی دو محیط استوارت و Amie علاوه بر اینکه محیط انتقالی هستند، می توانند به عنوان محیط های نگه دارنده نیز برای نمونه های میکروبی استفاده شوند.

رد نمونه:

در صورتی که نمونه ای شرایط استاندارد و ضروری تعریف شده برای انجام تست های آزمایشگاهی را نداشته باشد باید توسط آزمایشگاه عودت داده شده و درخواست نمونه مجدد شود. اگر بخواهیم به طور کلی موارد رد نمونه را در آزمایشگاه میکروب-شناسی بیان کنیم می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- عدم تناسب بین اطلاعات بیمار و نوع نمونه ارسالی
- قرار گرفتن نمونه در دمای نامناسب
- حمل و نقل و قرار دادن نمونه در محیط نامناسب
- حجم ناکافی نمونه
- نشتی نمونه
- ارسال با تاخیر نمونه، بدون در نظر گرفتن استانداردهای موجود
- استفاده از نگه دارنده نامناسب (مثل فرمالین که منجر به از بین رفتن باکتری ها می شود).
- درخواست کشت بی هوازی برای نمونه هایی که باکتری های بی هوازی فلور طبیعی آن ناحیه می باشد (مثل واژن و دهان)
- خشک بودن نمونه.
- انجام کشت از نمونه ای که ارزش بالینی نتیجه آن زیر سوال است (مانند کشت از نوک کاتتر Foley)

دقت شود: آزمایشگاه بایستی پیش از دور انداختن نمونه های غیرقابل قبول، پرستار و پزشک مربوطه را در جریان بگذارد. این هماهنگی به ویژه در مورد نمونه هایی که با روش های تهاجمی مثل بیوپسی و یا جراحی جمع آوری شده از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا احتمال دارد نمونه‌گیری مجدد غیرممکن و یا بسیار سخت باشد. همچنین اگر علت رد نمونه عدم همخوانی با اطلاعات بیمار باشد ممکن است مشکل از این طریق حل گردد و یا در بیماری که پس از دادن نمونه ادرار، مصرف آنتی بیوتیک را شروع کرده باشد ممکن است انجام آزمایش کشت بر روی نمونه اولیه نامناسب ضرورت یابد. در هر حال اگر تحت چنین شرایطی مجبور به کشت نمونه باشید، حتما باید همراه گزارش جواب، در مورد وضعیت نامناسب نمونه توضیحات لازم داده شود.

پردازش نمونه:

بر اساس درخواست پزشک، نمونه‌های میکروبی نیاز به بررسی اسمیر، انجام کشت، آنتی بیوگرام، تست نوکلئیک اسید و ... دارند.

برای نمونه های جراحی یا نمونه بیمار بخش اورژانس باید بلافاصله هر تست درخواست شده مثل اسمیر مستقیم با رنگ آمیزی گرم یا اسیدهای نوکلئیک را قبل از شروع درمان آنتی بیوتیک انجام داد.

هنگامی که چندین نمونه به طور همزمان به آزمایشگاه ارسال می-شود، اولویت شروع کار با نمونه هایی است که اهمیت حیاتی بیشتری دارند مانند مایع CSF، خون، بافت و دیگر مایعات استریل بدن.

همانطور که اشاره شد، نمونه هایی مثل نمونه ادرار، گلو، خلط، مدفوع و زخم را می توان ذخیره سازی کرده و در زمان مناسب تست های مربوطه را انجام داد اما باید توجه شود که هنگام دریافت نمونه بر روی آن زمان و تاریخ ارسال و دریافت نمونه ثبت شود.

بررسی کلی نمونه:

تمامی نمونه های دریافتی در آزمایشگاه باید از نظر ظاهری بررسی شوند و در صورت مشاهده خون و مخاط از آن نواحی برای کشت و اسمیر استفاده شود.

اسمیر مستقیم نمونه:

از تمامی نمونه های ارسالی به آزمایشگاه که امکان تهیه اسمیر مستقیم وجود داشته باشد، باید اسمیر تهیه گردد (از نمونه اولیه). این عمل به چند دلیل ضرورت دارد:

1. کیفیت نمونه ارزیابی می شود. برای مثال شمارش WBC و یا مشاهده سلول‌های اپی‌تلیال سنگفرشی در نمونه خلط می‌تواند آزمایشگاه را در مورد اینکه نمونه حاوی بزاق است و یا شامل ترشحات سیستم تنفسی تحتانی است راهنمایی نماید.

2. کارشناس آزمایشگاه با گزارش اسمیر می تواند در تشخیص اولیه به پزشک کمک کند. مثلا مشاهده خوشه های کوکسی گرم مثبت به صورت +4 در اسمیر ترشحات اگزودایی.

3. اسمیر اولیه نمونه با نتیجه کشت مقایسه می شود. به عنوان مثال در صورت مشاهده دو مورفوتایپ مختلف در یک نمونه و رشد فقط یک نوع کلنی در نتیجه کشت، احتمال وجود باکتری بی-هوازی را مطرح می نماید. همچنین در مثال فوق در صورت رشد سه نوع کلنی و یا بیشتر باید احتمال وجود آلودگی محیط کشت را در نظر گرفت.

4. گاهی میکروارگانیسم ها توسط WBC بلعیده می شوند و با اینکه در رنگ آمیزی مستقیم دیده می شوند اما ممکن است حین کشت، رشدی مشاهده نشود که در این شرایط نیز تهیه اسمیر بسیار کمک کننده می باشد.

* باید دقت شود که نتیجه اسمیر مستقیم (که بهتر است بلافاصله به اطلاع پزشک برسد) به هنگام گزارش نتیجه کشت نیز ضمیمه گردد تا نتایج به طور صحیح توسط پزشک تفسیر شود.

* بررسی اسمیر مستقیم نمونه‌های گلو، نازوفارنکس یا مدفوع معمولا انجام نمی شود زیرا وجود میکروب های طبیعی در این نواحی ممکن است منجر به تفسیر اشتباه گردد.

* رایج ترین رنگ در باکتری شناسی رنگ آمیزی گرم و در نمونه های قارچی KOH و PAS (پریودیک اسید شیف)، GMS (رنگ آمیزی گوموری متنامین سیلور) و رنگ آمیزی کالکوفلور می باشد. متداول‌ترین رنگ آمیزی اسیدفست نیز Kinyoun اصلاح شده (روش سرد) و زیل نلسون (روش گرم) است.

انتخاب محیط کشت:

محیط های کشت اولیه به چند دسته تقسیم می شوند:

1- **محیط‌های غنی شده (Enrichment media)**: این محیط‌ها دارای مواد مغذی مورد نیاز برای رشد **برخی** از میکروارگانیسم ها می باشند. به عنوان مثال محیط شکلات آگار برای رشد هموفیلوس انفلوآنزا و یا BCYE آگار که حاوی ماده L-سیستئین و یکسری مواد مغذی بوده، برای رشد لژیونلا پنوموفیلا مناسب می باشد.

برخی از این محیط ها به صورت براث هستند که در دو حالت مورد استفاده قرار می گیرند: الف- در شرایطی که یک میکروارگانیسم توانایی رشد در محیط جامد را ندارد. ب- در شرایطی که به محیط جامد و کیفیت آن شک شود و هیچ میکروارگانیسمی روی آن نتواند رشد کند.

نکته: در کشت نمونه های بافت، مایعات استریل بدن و آبسه های عمیق بیماران تحت درمان با آنتی بیوتیک بهتر است همزمان از محیط های **براث پشتیبان (براث غنی شده)** و یک محیط آگار جامد مناسب استفاده شود. این محیط براث امکان تشخیص تعداد کم باکتری و حتی باکتری های بی هوازی را فراهم می کند. یکی از کاربردهای مهم این محیط ها، در شرایطی است که بیمار آنتی-بیوتیک دریافت کرده و غلظت باکتری به طور قابل توجهی کاهش یافته اما عفونت کاملا از بین نرفته است. تیوگلیکولات براث، BHIB و TSB از جمله این محیط ها محسوب می شوند.

* بعضی از این محیط ها می توانند خاصیت انتخابی نیز داشته باشند و بتوانند میکروارگانیسم های آلوده کننده را مهار کنند. مثل محیط‌های تیوگلیکولات برای جداسازی باکتری های بی هوازی، LIM برای غنی سازی انتخابی استرپتوکوک های گروه B و GN براث برای غنی سازی انتخابی باکتری های گرم منفی روده ای.

2- **محیط های مغذی (Nutritive media)**: در این محیط ها بیشتر میکروارگانیسم ها می توانند رشد نمایند (محیط غیر انتخابی). مثل بلاد آگار، TSB و نوترینت آگار. ممکن است برخی از این محیط ها نقش افتراقی هم داشته باشند مثل دسته بندی باکتری ها براساس نوع همولیز در محیط بلاد آگار.

3- **محیط های انتخابی (Selective media)**: با افزودن مواد ضد میکروبی مثل رنگ، الکل یا مواد شیمیایی خاص مثل اسیدها و آنتی بیوتیک ها اجازه رشد فقط به برخی از میکروارگانیسم ها داده می شود. مانند محیط های مک کانکی (رنگ کریستال ویوله)، کلمبیا آگار با کولیستین و نالیدیکسیک اسید یا همان CNA مناسب باکتری های گرم مثبت (گرم منفی ها را از بین می برد). یا محیط فنیل اتیل الکل آگار (PEA) با 5٪ خون گوسفندی که از رشد باسیل های گرم منفی هوازی و بی هوازی اختیاری جلوگیری کرده و به کوکسی های گرم مثبت اجازه رشد می دهد. این محیط-ها نیز ممکن است نقش افتراقی داشته باشند مثل افتراق باکتری ها بر روی محیط مک کانکی بر اساس تخمیر لاکتوز.

4- **محیط های افتراقی (Differential media)**: مواد و ترکیباتی به این محیط ها اضافه شده تا فقط به یک گروه یا به یک نوع باکتری اجازه نشان دادن ویژگی های متابولیکی خاص خود را بدهد و از سایر باکتری ها متمایز شود. به عنوان مثال مک کانکی آگار بین باکتری های گرم منفی براساس تخمیر لاکتوز افتراق ایجاد می نماید.

5- **محیط های ترکیبی (Combination media)**: برخی از محیط های کشت مورد استفاده در باکتریولوژی می تواند بیش از یک عملکرد داشته باشد. مثلا مک کانکی آگار هم می تواند به عنوان محیط افتراقی و هم انتخابی عمل نماید، زیرا اجازه رشد به باکتری های گرم مثبت را نمی دهد و توان افتراق باکتری براساس قدرت تخمیر لاکتوز را هم دارد.

* انتخاب محیط کشت مناسب بر اساس نوع نمونه باید انجام شود. مثلا برای مایع CSF احتمال رشد باکتری هایی مثل استرپتوکوک پنومونیه، همـــوفیلوس آنفلوانزا، نایســـریا مننـــژیتیدیس، E.coli و استرپتوکوک گروه B مطرح می باشد. پس محیط انتخاب شده باید به گونه ای باشد که حتما اجازه رشد به این باکتری ها را بدهد. به همین دلیل استفاده از محیط های بلادآگار و شکلات آگار در کشت مایع CSF ضرورت دارد. اما در مورد نمونه هایی مثل فیستول مقعدی که احتمال آلودگی با فلور نرمال وجود دارد بهتر است از محیطی مثل CNA استفاده شود تا اجازه رشد به باکتری های گرم منفی داده نشده و باکتری گرم مثبت یا قارچ عفونت‌زا امکان رشد یابد (خلاصه ای از محیط های کشت قابل استفاده در آزمایشگاه میکروب‌شناسی در جدول صفحه آخر گردآوری شده است).

* همچنین پلیت های حاوی محیط های کروموژنیک آگار می‌توانند به تشخیص باکتری‌های حاوی کلنی پیگمان دار و یا برخی مخمرها کمک نمایند. این محیط ها نقش غربالگری دارند و ممکن است برای رشد برخی پاتوژن ها مثل استاف اورئوس MRSA، انتروکوک

های مقاوم به ونکومایسین، آسینتوباکترها، ارگانیسم‌های تولید کننده بتالاکتامازهای با طیف وسیع و کارباپنماز، E.coli $O_{157}H_7$ تولیدکننده شیگا توکسین، سودوموناس آئروژینوزا، لیستریا منوسیتوژنز، یرسینیا انتروکولیتیکا، گونه های کاندیداها و ... مناسب باشند.

نکته : نمونه های سواب ارسالی باید ابتدا در محیط هایی با حداقل بازدارندگی قرار داده شوند و سپس **قبل** از تهیه اسمیر رنگ آمیزی بر روی محیط اصلی کشت داده می شوند.

آماده سازی نمونه:

بسیاری از نمونه ها قبل از کشت به یکسری اقدامات (Treatment) و آماده سازی نیاز دارند مانند همگن سازی و آسیاب کردن نمونه استخوان، خرد کردن بافت، تغلیظ کردن (با استفاده از سانتریفیوژ) یا فیلتر کردن مایعات استریل بدن با حجم زیاد مثل مایع آسیت (صفاق) یا مایع پلور. همچنین برای نمونه‌های تنفسی به منظور یافتن باکتری های لژیونلا و مایکوباکتریوم نیاز به آلودگی زدایی می باشد.

– سواب های معمولی دارای یک سر با بالشتک مرکزی هستند که می تواند ارگانیســـم ها را به دام بیندازد. بنـــابراین لازم است در 0.5 -1 mL سرم فیزیولوژی یا محیط براث به مدت 20-10 ثانیه ورتکس شوند تا موجب خروج ارگانیسم ها گردد. سواب های flocked (فشرده)، فاقد سر پنبه ای مشابه مدل سنتی هستند. الیاف آن ها برای اتصال یونی با بارهای منفی روی سلول ها طراحی شده اند. به منظور کشت دادن برخی از نمونه ها که با سواب های Flocked و در محیط مایع (براث) به آزمایشگاه ارسال می شوند، ابتدا باید برای مایع (براث) حاوی سواب یک ورتکس اولیه انجام شده و سپس هم اسمیر مستقیم و هم کشت انجام گیرد.

تلقیح نمونه بر روی محیط کشت جامد:

نمونه ها را می توان به صورت کمی با روش رقیق‌سازی یا به وسیله یک لوپ با حجم مشخص و یا به صورت نیمه کمی با استفاده از لوپ معمولی در یک محیط جامد کشت داد. کشت ادرار و بافت حاصل از سوختگی معمولا به صورت کمی (با ضریب 1/100 و 1/1000) و موارد دیگر به صورت نیمه کمی بر روی محیط های جامد کشت داده می شوند. برای کشت نیمه کمی اغلب به صورت خطی در 4 گوشه محیط، کشت انجام می شود. در روش نیمه کمی، streak به منظور ایزولاسیون (جداسازی تک کلنی) انجام می گیرد و نمونه حاوی میکروارگانیسم به تدریج در هر بار کشت رقیق شده و در نهایت هر مورفوتایپ به صورت یک کلنی مجزا رشد می نماید. در روش نیمه کمی تعداد میکروارگانیسم می تواند به صورت +1 تا +4 بر اساس وجود یا عدم رشد باکتری در چهار ربع محیط کشت درجه بندی و گزارش شود.

شرایط انکوباسیون:

محیط های کشت داده شده در دماها و pH های مختلف، بسته به نوع باکتری احتمالی انکوبه می شوند. برای مثال دمای 35-37 °C برای اغلب باکتری ها و باسیل های اسید فست و دمای 25-30 درجه برای قارچ ها مناسب می باشد . میکروارگانیسم های هوازی در هوای محیط حاوی 21% O_2 و مقدار کم (0.03%) CO_2، رشد می نمایند. میکروارگانیسم های بی هوازی در حضور O_2 از بین می روند. لذا برای رشد نیاز به 5-10 % H_2، 5-10 % CO_2 و 5-10 % N_2 80-90 دارند. میکروارگانیسم های آئروتولرانت، بی هوازی بوده و از O_2 استفاده نمی کنند اما می توانند مقدار کم O_2 را تحمل نمایند. اصطلاح میکروائروبیک به هر دو میکروارگانیسم میکروآئروفیلیک و کاپنوفیلیک اطلاق می‌شود. کاپنوفیل‌ها مثل هموفیلوس آنفلونزا و نایسریا گونوره به 5-10 % CO_2 و O_2 تقریبا 15 % نیاز دارند که این شرایط می تواند از طریق جار شمع‌دار (3% CO_2) و یا انکوباتور، کیسه یا چمبر CO_2 دار تامین شود. میکروآئروفیل‌ها (کمپیلوباکتر ژژونی، هلیکوباکتر پیلوری) در فشار کم O_2 (5-10 %) و CO_2 8-10 % رشد می کنند که با کمک جار، انکوباتور و یا کیسه‌های ویژه می توان این شرایط را فراهم نمود.

گزارش نتایج بحرانی:

برخی از نتایج در آزمایشگاه میکروب شناسی، به عنوان وضعیت بحرانی در نظر گرفته شده و باید سریعا به پزشک اطلاع داده شوند. هر آزمایشگاهی باید با توجه به نوع بیماران مراجعه کننده و

مشورت با پزشکان بالینی فهرستی از نتایج بحرانی را برای خود تهیه نماید. در اینجا به نمونه هایی از نتایج بحرانی اشاره می شود:

- کشت خون مثبت
- رنگ آمیزی گرم یا کشت مایع مغزی نخاعی مثبت
- رشد استرپتوکوکوس پیوژنز گروه A (گروه A استرپتوکوکی) در زخم جراحی
- رنگ آمیزی گرم نمـــونه که احتمال گانگـرن گازی را مطرح می نمایند: رشد باسیل های گرم مثبت واگنی شکل بزرگ
- رنگ آمیزی اسید فست مثبت
- تشخیص باکتری های خاص (مانند بروسلا) یا پاتوژن های مهم دیگر (مانند لژیونلا، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومایسین)
- ارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیکی که به صورت اختصاصی برای آن مرکز به عنوان بحرانی شناخته شده است.
- اسمیر مثبت مالاریا در نمونه های خونی
- تست آنتی ژن کریپتوکوکی مثبت در مایع CSF

ردیف	محیط کشت	موارد استفاده
1	بایل اسکولین آگار	شناسایی احتمالی استرپتوکوک های گروه D و انتروکوک های غیر گروه D، انتروباکتریال (کلبسیلا، انتروباکتر، سراشیا از سایر باکتری های روده ای) و همچنین تمایز لیستریا مونوسیتوژنز
2	BCYE آگار	محیط بدون آنتی بیوتیک:مغذی برای لژیونلا وحمایت ازرشد گونه های نوکاردیا و فرانسیسیلا محیط با آنتی بیوتیک: مغذی وانتخابی برای گونه های لژیونلا
3	Burkholderia cepacia selective agar	برای بازیابی B. cepacia از نمونه بیماران با سیستیک فیبروزیس
4	کمپیلوباکتر تیوگلیکولات براث	محیط انتخابی جهت نگه داری و انتقال کمپیلوباکترها
5	محیط کشت CIN	محیط انتخابی گونه های یرسینیا. ممکن است برای جداسازی گونه های آئرومونواس هم مفید باشد.
6	شکلات آگار	کشت باکتری های سخت رشد مثل گونه های هموفیلوس، بروسلا و گونه های بیماریزای نایسریا
7	سیستئین تلوریت بلاد آگار	جداسازی کورینه باکتریوم دیفتری
8	EMB و مک کانکی آگار	جداسازی و تمایز باسیل های گرم منفی روده ای تخمیر کننده لاکتوز
9	GN براث	محیط مایع انتخابی (غنی کننده) برای پاتوژن های روده ای گونه های سالمونلا و شیگلا
10	هکتون انتریک آگار	محیط افتراقی، انتخابی برای جداسازی و تمایز گونه های سالمونلا و شیگلا از سایر باکتری های گرم منفی روده ای
11	LIM براث با آنتی بیوتیک	محیط انتخابی و غنی کننده استرپتوکوک آگالاکتیه در نمونه های تناسلی زنان
12	محیط لوفلر	جهت جداسازی و رشد گونه های کورینه باکتریوم
13	مک کانکی سوربیتول آگار	محیط انتخابی وافتراقی برای E.coli $O_{157}H_7$ درنمونه مدفوع
14	مانیتول سالت آگار	محیط انتخابی گونه های استافیلوکوکوس
15	سلنیت براث	غنی سازی و جداسازی گونه های سالمونلا
16	تتراتیونات براث	محیط انتخابی گونه های سالمونلا و شیگلا (بجز گونه های سالمونلا انتریکا تیفی و آریزونا)
17	تایر مارتین آگار اصلاح شده	محیط انتخابی نایسریا گونوره و نایسریا مننژیتیدیس. کمک به رشد گونه های فرانسسیلا و بروسلا
18	تیوگلیکولات براث	کمک به رشد باکتری های هوازی، بی هوازی، میکروآئروفیل و سخت رشد
19	TCBS	محیط انتخابی و افتراقی برای ویبریو کلره و ویبریو پاراهمولیتیکوس
20	TSB	محیط براث پایه پشتیبان و مغذی برای ساب کالچر انواع مختلف باکتری ها از پلیت اولیه کشت

Reference: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Fifteenth Edition