الأوساط الزرعية Culture Media

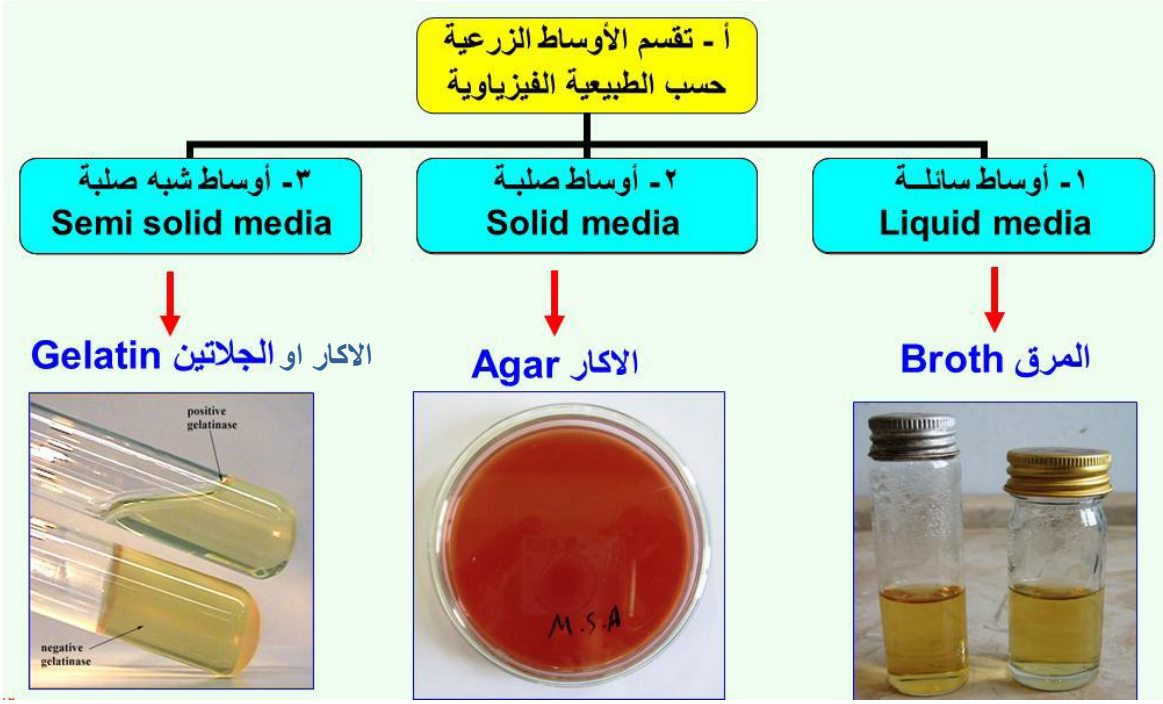
الوسط الزرعي: هو خليط متوازن من المواد الغذائية التي تحتاجها الاحياء المجهرية.

تتطلب تنمية الاحياء المجهرية بشكل عام توفر الماء ومصدر للطاقة ومصادر من الكاربون والنتروجين والعناصر المعدنية فضلا عن توفير بعض الفيتامينات أحيانا.

ما العرض والهدف من استعمال الأوساط الزرعية:

1- تنمية الاحياء المجهرية مختبريا
2- دراسة خصائص الاحياء النامية عليها لغرض التشخيص
3- عزل وتنقية الاحياء المجهرية لغرض دراستها
4- تقدير اعداد الاحياء المجهرية في عينة (غذاء، ماء، تربة....الخ)
5- حفظ وادامة الاحياء المجهرية مختبريا ولفترات طويلة.

أ- تقسيم الاوساط الزرعية حسب قوامها:

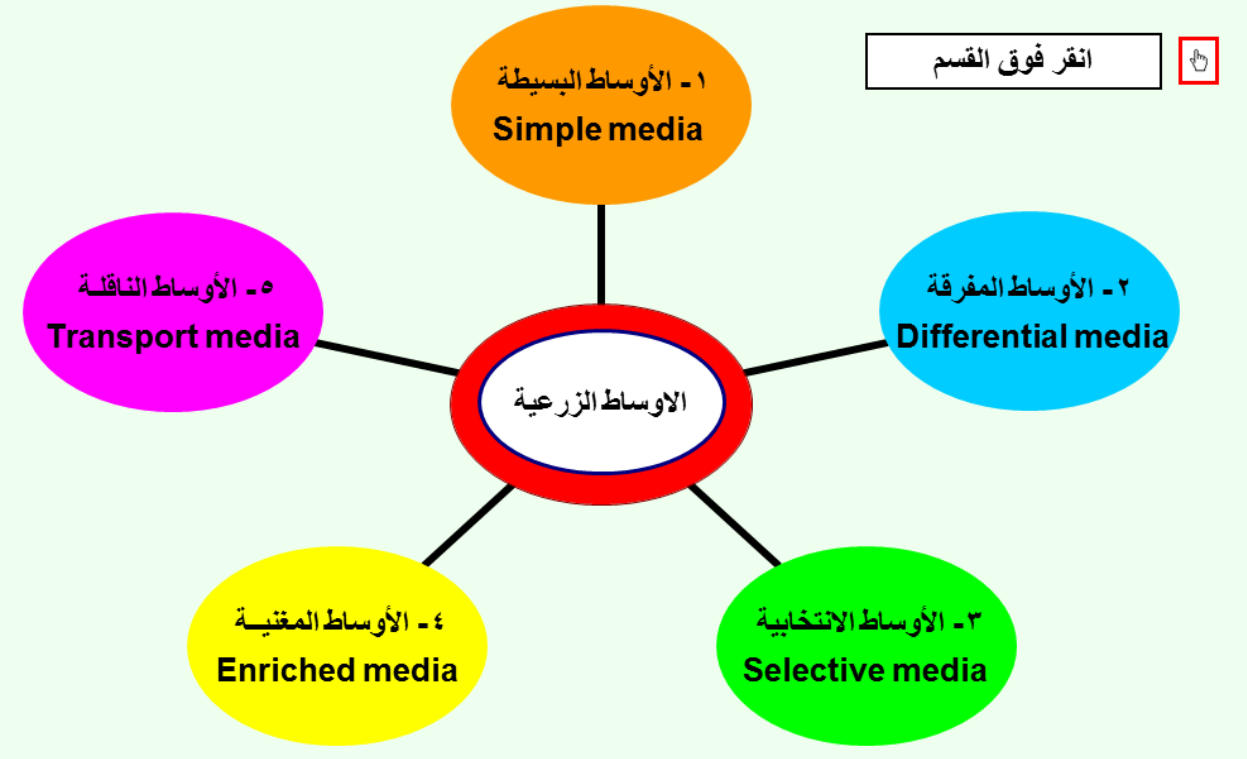


1- **الأوساط السائلة Liquid media:** هي الأوساط التي لاتحتوي على مواد تصليب مثل الاكار والجيلاتين.والشركات المنتجة لهذه الأوساط تضع كلمة Brorh عليها.

2- **الأوساط شبه الصلبة Semi-Solid media:** هي الأوساط التي يضاف لها مواد تصليب بنسب قليلة (1%)

3- **الأوساط الصلبة Solid media:** هي الأوساط التي يضاف لها مواد تصليب بنسبة (1.5-2%) مما يسمح بتصليبها عند درجة حرارة بين 40-45 °م.

ب- تقسيم الاوساط الزرعية حسب الغاية من استعمالها :



1- الاوساط البسيطة Simple media :

تحتوي هذه الاوساط على المواد الغذائية الأساسية كمصدر للنتروجين والكاربون وتنمو فيها معظم الجراثيم التي لاتحتاج إلى مواد غذائية نادرة أو معقدة، أمثلــة :

- المرق المغذي Nutrient broth
- ماء الببتون Peptone water
- الاكار المغذي Nutrient agar

2- الاوساط المفرقة Differential media :

يمكن بواسطة هذه الأوساط التفريق بين أنواع الجراثيم مثل وجود سكر اللاكتوز في وسط الماكونكي فالجراثيم المخمرة تظهر بلون وردي أما الجراثيم غير المخمرة فتكون عديمة اللون أمثلــة :

- **أكار الماكونكي MacConkey agar:** يعمل على التفريق بين الجراثيم المخمرة لسكر اللاكتوز عن الجراثيم غير المخمرة لسكر اللاكتوز.

- **أكار الدم Blood agar:** يعمل على التفريق بين الجراثيم المحللة للدم عن تلك غير المحللة للدم ويتكون أكار الدم من الوسط الأساس blood agar base، ملح الطعام ، ببتون ثم يضاف له الدم المعقم بتركيز نهائي ٥ – ١٠ % . حيث تتم إضافة الدم بدرجة حرارة ٥٠ °م.

3- الاوساط الانتخابية Selective media :

تحتوي هذه الأوساط على مواد مثبطة للجراثيم الغير مرغوب فيها وفي نفس الوقت تعزز من نمو الجراثيم المراد عزلها، أمثلــة :

- **وسط بزموث سلفايت Bismuth Sulphite agar**
يستعمل هذا الوسط لعزل جراثيم السالمونيلا Salmonella ، أهم مكونات الوسط هي الأخضر اللماع Brilliant green الذي يعمل كمثبط لنمو الجراثيم بالإضافة إلى احتواءه على كاشف Bismuth Sulphite indicator.

- **وسط سكر المانيتول والملح Mannitol Salt agar**
يستعمل هذا الوسط لعزل جراثيم المكورات العنقودية Staphylococci يتم تثبيط الجراثيم الاخرى باحتوائه على التركيز المرتفع من ملح الطعام NaCl كما يحتوى الوسط على سكر المانيتول الذي يعمل على التفريق بين جراثيم المكورات العنقودية المخمرة للسكر والذي يظهر بلون اصفر عن غير المخمرة للسكر والذي تظهر بلون أحمر Reddish.

- **وسط السالمونيلا والشايكلا Salmonella Shigella agar**
يستعمل هذا الوسط لتنمية جراثيم العصيات المعوية من جنس السالمونيلا والشايكلا ويحتوي على أملاح الصفراء والأخضر اللماع الذي يعمل على تثبيط الجراثيم الأخرى غير المرغوب فيها كما يحتوي على الثيوسلفيت لتوليد غاز كبريتيد الهيدروجين حيث تظهر المستعمرات المنتجة للغاز سوداء المركز.

4- الاوساط الغنية Enriched media:

تنمو معظم أنواع الجراثيم على الأوساط البسيطة ولكن في بعض الأحيان هناك أنواع من الجراثيم قد تحتاج إلى مواد مغذية حيث يمكن إغناء الأوساط البسيطة بإضافة مواد غنية بالمواد العضوية والفيتامينات والخمائر والأملاح. أمثلــة على الأوساط المغنية.

- أكار الدم **Blood agar**
- أكار الشوكولاتة **Heated Blood agar (Chocolate agar)**
- أكار نقيع المخ والقلب **Brain heart infusion agar**
- خلاصات الأنسجة الحيوانية أو سوائل الجسم **Tissue and body fluid's extract**
- أكار المصل **Serum agar**

5- الاوساط الناقلة Transport media :

ان هذه الأوساط عادة تكون بسيطة التركيب وفي الغالب تكون سائلة حيث تستعمل لنقل العينات من مناطق بعيدة وذلك للحفاظ عليها من الجفاف لحين وصول العينة الى المختبر ومثال عليها وسط stuart transport medium.

♣امثلة على بعض الاوساط الزرعية ومكوناتها:

١- الاكار المغذي **Nutrient agar**
يحتوى على : خلاصة اللحم ، خلاصة الخميرة، ببتون ، ملح طعام ، أكار أكار. وهو من الأوساط البسيطة.

٢- المرق المغذي **Nutrient broth**
يحتوي على : خلاصة اللحم ، خلاصة الخميرة ، ببتون ، ملح طعام ويعتبر من الأوساط البسيطة والسائلة.

٣- ماء الببتون **Peptone water**
يحتوي على : ببتون ، ملح الطعام NaCl. ويعتبر من الأوساط السائلة.

٤- وسط أكار الماكونكي **MacConkey agar**
يحتوي على : لاكتوز ، أملاح الصفراء Bile Salts ، ملح الطعام ، الأحمر المتعادل Neutral red ، ببتون ، أكار أكار ، ويعتبر من الأوساط التفريقية والأوساط الانتخابية.

٥- أكار الدم Blood agar

يحتوي على : الوسط الأساس الحاوي على كبد مهضوم ، خلاصة الخمائر ، ملح الطعام ويضاف لـه الدم المعقم بتركيز نهائي ٥ – ١٠ % الإضافة بدرجة ٥٠ °م بعد تعقيم الوسط. ويعتبر من الأوساط المغنية والتفريقية في نفس الوقت.

٦ - أكار نقيع المخ والقلب Brain heart infusion agar

يحتوي على : نقيع مخ العجل ، نقيع قلب العجل ، ببتون ، ملح الطعام ، دكستروز ، فوسفات الصوديوم ، أكار أكار. ويعتبر من الأوساط المغنية.

٧- مرق نقيع المخ والقلب Brain heart infusion broth

يحتوي على : نقيع مخ العجل ، نقيع قلب العجل ، ببتون ، ملح الطعام ، دكستروز ، فوسفات الصوديوم. ويعتبر من الأوساط المغنية والسائلة.

٨- وسط الهلام أو الجلاتين Gelatin medium

يحتوي على : خلاصة اللحم ، ببتون ،هلام. وهو من الأوساط الشبهة صلبة Semi Solid media.

٩- وسط أكار سكر المانيتول والملح Mannitol salt agar

يحتوي على : وسط أساس ، سكر المانيتول ، ملح الطعام ٥ – ٧ % ، الفينول الأحمر، الببتون ، أكار أكار. ويعتبر من الأوساط الانتخابية.

١٠- وسط أكار السالمونيلا والشايكلا Salmonella Shigella agar

يحتوي على : لاكتوز ، أملاح الصفراء ، ثيوسلفات الصوديوم ، سترات الصوديوم ، سترات الحديد ، الأخضر اللماع ، الأحمر المتعادل ، ببتون ، خلاصة اللحم ، أكار أكار. ويعتبر من الأوساط الانتخابية.

١١- وسط أكار الايوسين والمثلين الأزرق Eosin Methylene blue agar

يحتوي على : لاكتوز ، ايوسين ، المثلين الأزرق ، فوسفات البوتاسيوم ، ببتون ، أكار أكار. يعتبر من الأوساط الانتخابية.

١٢- وسط أكار الأخضر اللماع Brilliant green agar

يحتوي على : ببتون ، خلاصة الخميرة ، لاكتوز ، سكروز ، ملح الطعام ، الأخضر اللماع ، الفينول الأحمر ، أكار أكار. ويعتبر من الأوساط الانتخابية.

١٣- وسط ثلاثي السكر والحديد Triple sugar Iron agar (TSI)

يحتوي على : سترات امونيوم الحديد ، فينول الأحمر ، السستين ، لاكتوز ، كلوكوز ، سكروز ، ثيوسلفات الصوديوم ، ملح الطعام ، أكار أكار. يستخدم للكشف عن انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S.

١٤- وسط لوينشتاين جينشن Lowenstein – Jensen medium

يحتوي على الملاكايت الأخضر ، بيض ، كليسرول ، اسبارجين ، سترات المغنيسيوم ، سلفات المغنيسيوم ، فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين. ويعتبر من الأوساط الانتخابية.

١٥- أكار اليوريـا Urea agar

يحتوي على : ببتون ، كلوكوز ، ملح الطعام ، فوسفات الصوديوم ، فوسفات البوتاسيوم ، الفينول الأحمر ، أكار أكار. يعقم الوسط ثم يبرد إلى ٥٠ درجة مئوية . يضاف إليه محلول ٢٠ % يوريا معقمة بالترشيح تركيز اليوريا النهائي ٥ %. يستخدم هذه الوسط للكشف عن أنزيم Urease الذي تنتجه بعض الجراثيم.

ح- تقسيم الأوساط الزرعية حسب مكوناتها والمواد الداخلة في تركيبها:

أولا: الأوساط الطبيعية Natural media

ثانيا: الأوساط التركيبية (الصناعية) synthetic media

ثالثا: الأوساط الطبيعية - التركيبية Natural-synthetic media

طريقة تحضير الوسط الزرعي:

1- وزن الوسط الزرعي 2- اذابة الوسط باستخدام الحرارة مع التحريك 3- التعقيم بالمؤصدة Autoclave4- تبريد الوسط بعد تعقيمه 5- تلهيب فوهة الفلاسك قبل الصب 6- صب الوسط في طبق بتري7- تلهيب الوسط بعد الصب 8- تلهيب غطاء بتري اذا كان زجاجي بعد الصب 9- ترك الاكار يتصلب 10- وضع الاطباق في اكياس لحين الاستعمال 11- الحفظ في الثلاجة بشكل مقلوب