الأوساط الزرعية Culture Media :

إن غالبية الدراسات والبحوث البكتيريولوجيه تتطلب استعمال بيئات زرع مختلفة تحضر بالمختبر , وهذه البيئات وإن لم تكن متماثلة تماما مع البيئات التي تعيش فيها أو عليها هذه الكائنات في الطبيعة إلا أنها قريبة الشبه منها قرباً قد يوفر الاحتياجات والمتطلبات الغذائية اللازمة لتنميتها. لذا يمكن تعريف **البيئة** : بأنها أوساط زراعية مناسبة لنمو الأحياء المجهرية تتوفر فيها متطلبات النمو والتكاثر الأساسية, أو أي مادة يمكن أن تنمو عليها الكائنات الدقيقة ، إن الأحياء المجهرية عموماً تقسم إلى مجموعتين رئيسيتين من حيث التغذية وهما :

a) **ذاتية التغذية Autotrophs** : تتمكن من النمو معتمدة على مركبات غير عضوية .
b) **غير ذاتية التغذية (عضوية التغذية) Heterotrophs** : بإمكان هذه المجموعة استغلال المركبات العضوية كمصادر للعناصر المذكورة أعلاه .

فوائد الأوساط الزرعية المستعملة:

1-يتم بواسطتها عزل الجراثيم وتكثيرها وإدامتها بصورة نقية.

2- تستعمل بعض الأوساط لنقل العينات السريرية وتعرف بالأوساط الناقلة.

3-تساعد بعض الأوساط على دراسة بعض الخواص الحيوية وكذلك الوصف الحيوي والكيمياوي.

4-وصف المظهر الزرعي للجراثيم النامية يساعد في التعرف عليها.

5-تستعمل الأوساط في تحضير الجراثيم بكميات كبيرة والتي تستعمل بدورها في تحضير اللقاحات والمستضدات vaccines and antigens.

تصنيف الأوساط (Classification of Media):

1-أوساط محددة التركيب الكيميائي : Chemically defined method:

وهي التي تتكون من مواد ذات تركيب كيماوي محدد "بتركيزات معروفة" وعلى ذلك فهي تتكون من أملاح غير عضوية, أو مخلوط من الأملاح غير العضوية ومركبات غير عضوية, ونظراً لأن التركيب الكيماوي لكل مكونات الوسط التركيبية يكون معروفاً ومحدداً, فإنه يمكن تكرار تجهيز مثل هذه الأوساط بنفس الدقة في كل مرةٍ من مرات التحضير.

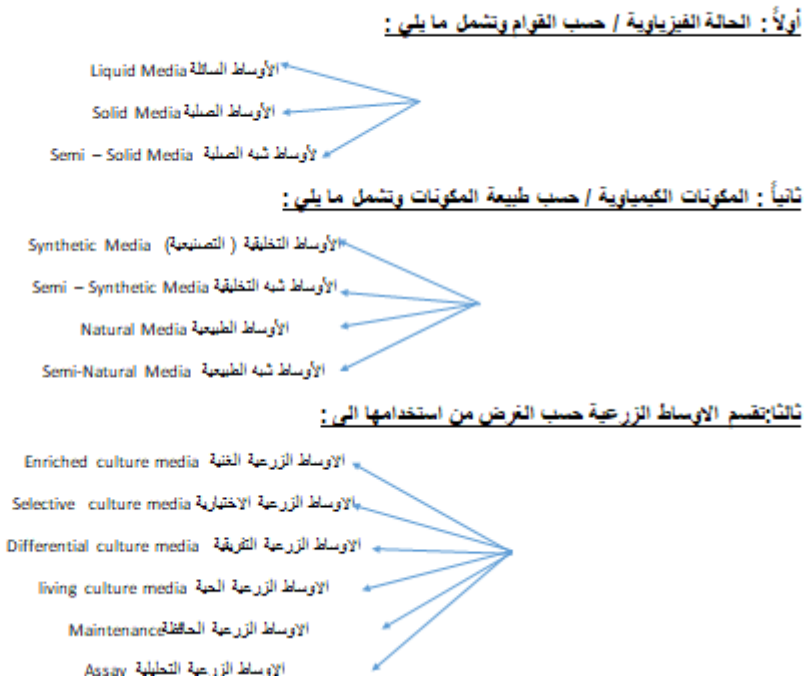
2-أوساط غير محددة التركيب الكيماوي : Chemically no defined method:

وهي التي تحتوي على ما يلزم لنمو الميكروبات من مواد بشكلها الخام مثل الأوساط التي تدخل في تركيبها المواد الطبيعية كمستخلص اللحم أو الدم أو مستخلص الأنسجة النباتية ولما كان التركيب الكيماوي الدقيق لمثل هذه المواد غير محدد بمعنى أن جميع مكونات الوسط وكمياتها غير معروفة بالضبط وتختلف باختلاف المادة الطبيعية المستعملة كان من الصعب تكرار تحضيرها عملياً.

تقسيم الأوساط الزرعية:

ولتسهيل دراسة الأوساط الزرعية أو الغذائية كما تسمى أحيانا تقسم هذه الأوساط إلى مجاميع مختلفة وكما يلي:

:



أولاً : الحالة الفيزياوية / حسب القوام وتشمل ما يلي :

1-**الأوساط السائلة Liquid Media** : وهذه تكون خالية من الأكار Agar(لاحظ تعريف وأهمية هذه المادة في الفقرات اللاحقة) لذلك تبقى سائلة بعد تحضيرها وتعقيمها وتنتهي تسمية الأوساط الجاهزة من هذا النوع إما بكلمة Medium Broth مثال: Nutrient Broth و Mac Conky Broth و Litmus Milk Medium .

2-**الأوساط الصلبة Solid Media** : وهذه الأوساط تحتوي على 1.5 – 2 % من مادة الأكار التي تجعل قوام الوسط هلامياً (يشبه الجلي) وتنتهي تسمية الأوساط الجاهزة من هذا النوع بكلمة Agar للدلالة على احتواء الوسط .

3-**الأوساط شبه الصلبة Semi – Solid Media** : تحتوي هذه الأوساط على نسبة قليلة من مادة Agar .

ثانياً : المكونات الكيمياوية / حسب طبيعة المكونات وتشمل ما يلي :

1-الأوساط التخليقية (التصنيعية) Synthetic Media : وهي الأوساط التي تتألف من مركبات كيمياوية معروفة التركيب كماً ونوعاً

2-الأوساط شبه التخليقية Semi – Synthetic Media: وهي الأوساط التي تكون جميع مكوناتها معروفة كماً ونوعاً عدا مادة واحدة مثل (Blood Nutrient Agar) .

3-الأوساط الطبيعية Natural Media (الأوساط غير الصناعية) : وهذه تتكون من مواد طبيعية أو مشتقاتها أو أجزاء منها كالحليب واللحم والبيض وبعض الأنسجة النباتية والتي تحتوي على الاحتياجات الغذائية المطلوبة للأحياء المراد تنميتها على شكل مركبات عضوية متعددة ومن الأمثلة عليها Nutrient Broth.

4-الأوساط شبه الطبيعية Semi-Natural Media: وهي الأوساط التي تكون جميع مكوناتها مجهولة كماً ونوعاً عدا مادة واحدة مثل الدم + 5غم كلوريد الصوديوم (Blood + 5 gm NaCl).

ثالثا :: حسب التركيب والغرض من الاستخدام

1. الأوساط الغنية Enriched media: هي أوساط بسيطة مضافاً إليها مواد غذائية غنية مثل الدم, المصل, مستخلصات النباتات أو الحيوانات لمواجهة متطلبات النمو الصعب الإرضاء مثل Serum agar – Milk agar – Blood agar.
2. الأوساط الاختيارية Selective media : مثل إضافة بعض المواد بتركيز معين كالصبغات, أملاح الصفراء, المضادات الحيوية, الأحماض للسماح بنمو مجموعة من البكتيريا دون غيرها كإضافة صبغة الايوسين الكريستال البنفسجي بتركيز معين يؤدي إلى نمو مختلف أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام ويمنع نمو البكتيريا الموجبة.
3. الأوساط التفريقية Deferential media : الأوساط التي تسمح بنمو نوعين من البكتيريا يمكن التمييز بينهما, مثل بيئة آجار الدم فبإضافة الدم إلى الوسط الزراعي يسمح بتمييز البكتيريا المحللة للدم وغير المحللة, حيث تظهر حلقة فارغة حول المستعمرة المحللة, وبذا تلعب الأوساط المحتوية على الدم دور الوسيط الغني المفرق في الوقت ذاته.

4. الاوساط الزرعية الحية Living culture media: يتكون الوسط الغذائي الحي من خلايا او انسجة حيوانية او نباتية حية موجودة في وسط غذائي ملائم ، ومن الاحياء المجهرية التي تنمو اجباريا على هذه الاوساط هي الفيروسات والركتيسيا .
5. الاوساط الزرعية الحافظة Maintenance media: تستعمل هذه الاوساط للحفاظ على حيوية الاحياء المجهرية وخواصها الفسلجية لمدة معينة . وتستعمل اوساط معينة لهذا الغرض غير الاوساط التي تستخدم للنمو الافضل اذ ان النمو السريع يصاحبه موت سريع للخلايا وهذا غيرمرغوب في الاوساط الحافظة ولهذا يفضل عدم استخدام الكلوكوز في هذه الاوساط ، كما ان كل نوع من الاحياء المجهرية له وسط زرعي خاص به بحيث يمكن حفظه لمدة اطول .
6. الاوساط الزرعية التحليلية Assay media: وهي اوساط معرفة كيميائيا و تستخدم لتقييم بعض المواد مثل الفيتامينات والحوامض الامينية والمضادات .

تشترك معظم الأوساط الزرعية في احتوائها على المواد التالية:

1-الببتون Peptone:

يعتبر مصدراً هاماً للنتروجين العضوي في البيئات المعدة لتنمية البكتيريا غير ذاتية التغذية ويحضر من اللحم الخالي من الدهون بعد تحلله بإنزيم الببسين.

2-الاكار المغذي Nutrient agar:

يحتوي على خلاصة اللحم، خلاصة الخميرة، ببتون، ملح الطعام، أكار أكار، وهو من الأوساط البسيطة.

3-خلاصة اللحم Beef extract:

تحضر من اللحم البقري الخالي من الدهون بعد غليه وترشيح الخلاصة وتركيزها حيث يحتوي المستخلص على بعض الأحماض غير العضوية وبعض المواد العضوية مثل الأحماض الأمينية, الجلوكوز, اليوريا, حامض اللكتيك, الفيتامينات, عوامل النمو الأخرى.

4-خلاصة الخمير :Yeast extract:

تحتوي على بعض الأحماض الأمينية وبعض العوامل المساعدة للنمو وأملاح معدنية.

5-الماء :Water:

تحتاج الخلايا الحية إلى الماء لنموها ولإتمام عملياتها الأيضية وذلك علاوة على استخدامه كمادة مذيبة للمواد الغذائية ويفضل استخدام الماء المقطر لخلوه من الأملاح المعدنية.

6-المواد التصليبية Solidifying agents :

تضاف إلى بيئة الزرع السائلة بعض المواد التي تعمل على تحولها إلى بيئة صلبة تساعد على تكوين مستعمرات فرديه مثل:

أ-الجيلاتين Gelatin:

أول ما استعمل كمادة تصليبية في بيئات الزرع وهو عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات ويندر حالياً استعمال الجيلاتين كمادة تصليبية في البيئة نظراً لأن كثير من البكتيريا يمكن تحليلها مائياً ولأنه ينصهر عند درجات التحضين.

ب-الآجار آجار :Agar agar:

مادة كربوهيدراتية تستخلص من بعض الطحالب البحرية الحمراء والتي تنمو بوفرة على سواحل بعض الدول مثل اليابان وهو يتصلب عند درجة حرارة من (42- 45م) ويمكن إسالته مرة ثانية عند درجة حرارة (98م) ويتميز عن الجيلاتين بكونه لا يمكن تحليله بيولوجيا لأن عدد الكائنات المحللة له قليلة جداً.

ج-السليكا Silica:

لا تعتبر مادة غذائية فهي عادة تستعمل في تحضير البيئات اللازمة لتنمية الكائنات الذاتية التغذية وذلك لمنع نمو البكتيريا غير ذاتية التغذية معها.

طريقة تحضير الوسط الزرعي:

1-وزن الوسط الزرعي.

2- اذابة الوسط باستخدام الحرارة مع التحريك.

3-التعقيم بالمؤصدة Autoclave.

4-تبريد الوسط بعد تعقيمه.

5- تلهيب فوهة flask قبل الصب.

6- صب الوسط في طبق بتري.

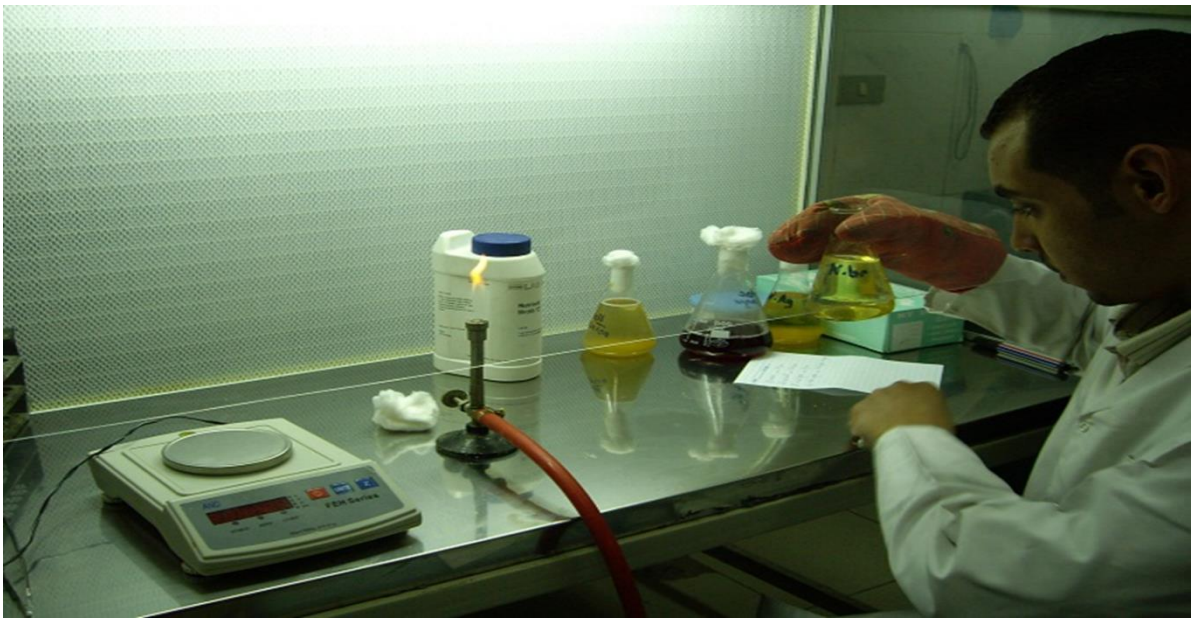
7- تلهيب الوسط بعد الصب.

8-تلهيب غطاء بتري بعد الصب.

9- ترك الاكار يتصلب.

10- وضع الاطباق في أكياس لحين الاستعمال.

11-الحفظ في الثلاجة بشكل مقلوب.



<u>الجزء العملي: تمارين تطبيقية على الأوساط الزرعيه :</u>

1) الاطلاع على أمثلة من الأوساط الزرعية التجارية مثل :

Nutrient Broth, Nutrient Agar, MacConky Agar, Potato Dextrose Agar (PDA

2) تسجيل المعلومات الأساسية عن هذه الأوساط .
3) تحضير الاوساط.