الأوساط الزرعية Culture Media

الوسط الزرعي Culture medium: هي البيئة التي تستعمل لتنمية الأحياء المجهرية والتي تحتوي على عوامل النمو بشكل عام.

العناصر الأساسية للوسط الزرعي:

1. الكاربون: ويكون بشكل بسيط CO_2 أو معقد مثل الكاربوهيدرات (السكريات).
2. النتروجين: بشكل N_2 الجوي أو يضاف بشكل أحماض أمينية.
3. العناصر المعدنية: مثل البوتاسيوم والمغنيسيوم والمنغنيز والكالسيوم وغيرها وتضاف عادة بشكل أملاح.
4. الفيتامينات وعوامل النمو: والتي تشمل الببتون ومستخلص الخميرة ومستخلص اللحم وملح الطعام.
5. الماء: ويعد المذيب العام لكل العناصر السابقة.

تقسم الأوساط الزرعية حسب التركيب أو الحالة الفيزيائية أو وظيفة الوسط الزرعي:

أولاً: حسب التركيب تقسم إلى قسمين:

1. الأوساط الطبيعية: وهي التي تتكون من مواد طبيعية غير معلومة التركيز.
2. الأوساط الصناعية: وهي التي تتكون من مواد كيميائية معلومة التركيب والتركيز وهي أكثر استخداماً في المختبرات.

ثانياً: حسب الحالة الفيزيائية

1. الأوساط الصلبة: وهي التي تحتوي على كميات معلومة من الأگار حوالي 15–20 غرام في اللتر الواحد.
2. الأوساط شبه الصلبة: وهي التي تحوي كمية قليلة من الأگار.
3. الأوساط السائلة: وهي التي لا تحوي أي مادة مصلبة.

ثالثاً: تقسم الأوساط الزرعية حسب الوظيفة

1. الأوساط البسيطة أو الأساسية Basal or Simple Media

تستخدم للعزل Isolation وهي أوساط تحوي جميع مكونات الوسط الزرعي وعوامل النمو بحيث تستطيع جميع الأحياء المجهرية من النمو على هذه الأوساط مثل Nutrient broth و Nutrient agar و Peptone water.

2. الأوساط الإغنائية Enriched Media

وتحضر من إضافة بعض المستخلصات المختبرية والمواد المغذية كالدم والمصل والبيض إلى الأوساط البسيطة ليصبح الوسط الناتج قادراً على تنشيط الأحياء المجهرية الحساسة في خليط من الأحياء المجهرية المختلفة مثل Tetrathionate medium والذي يساعد على نمو بكتريا التيفوئيد ويثبط نمو البكتريا الأخرى. ومثال آخر على الأوساط الإغنائية هو وسط Lowenstein-Jensen media الذي يستخدم لتنمية نوع واحد فقط من الأحياء المجهرية وهي بكتريا السل الرئوي والذي يحوي صبغة أخضر الملكايت Malachite green والكليسيرول الذي يشجع نمو هذه البكتريا فقط ويثبط نمو بقية الأنواع، وكذلك وسط اللحم المفروم الذي يهيئ الظروف اللاهوائية لتنمية بكتريا *Clostridium*.

3. الأوساط الانتقائية (الاختيارية) Selective Media

تحضر بإضافة مواد كيميائية مثل صبغة البنفسج البلوري Crystal violate إلى الوسط البسيط لغرض منع نمو البكتريا الموجبة لصبغة گرام Gram Positive Bacteria وتشجيع نمو البكتريا السالبة لصبغة گرام Gram Negative Bacteria مثل وسط ماكونكي MacConkey agar إذ يحوي هذا الوسط على أملاح الصفراء Bile Salts والتي تقوم بتثبيط نمو البكتريا الموجبة وتشجيع نمو السالبة لصبغة گرام، كذلك يحتوي على دليل الأحمر المتعادل Neutral red الذي يساعد على التمييز بين البكتريا المعوية المخمرة لسكر اللاكتوز عن غيرها التي لا

تخمر هذا السكر. ومن الأمثلة الأخرى وسط Tellurite Blood agar لنمو بكتريا الخناق *Corynebacterium dipheria* ووسط SS agar لتنمية بكتريا *Salmonella* و *Shigella*.

4. الأوساط التفريقية (التمييزية) Indicator or Differential Media

وتحضر بإضافة بعض المواد الكيميائية للوسط البسيط لغرض إحداث بعض التغييرات في النمو يمكن بواسطتها التمييز بين الأنواع المختلفة مثل Blood agar وهو وسط الدم الذي يستخدم لتشخيص بكتريا المسبحيات *Streptococcus* ووسط Chocolate agar.

5. الأوساط التحليلية (الاختبارية) Assay Media

تحوي على مكونات معينة تستخدم في اختبار الفيتامينات والمضادات الحيوية antibiotic مثل Muller Hinton agar.

6. أوساط الحفظ Maintenance Media

وهي تستخدم لحفظ سلالات الأحياء المجهرية لفترات طويلة مع المحافظة على خصائصها الفسلجية (لا تهيء ظروف النمو المثالي).

7. أوساط النقل Transport Media

تستخدم للبكتريا التي لا يمكن زرعها بسرعة مثل Amies medium و Carry-Blair medium.

تحضير وتلقيح الأوساط الزرعية

تحضير الوسط الزرعي: يتم باتباع الخطوات التالية:

1. يوزن الوسط المطلوب حسب تعليمات الشركة على العلبة وحسب الحجم المراد تحضيره.
2. يذاب الوسط الموزون في كمية الماء المقطر المحددة له وتوضع في دورق مخروطي Flask ويوضع على المحرك الساخن ليكتمل ذوبان الوسط ويصبح الوسط رائقاً (صافياً).

3. تغلق فوهة الدورق بالقطن وتغطى بالسليفون إن وجد وتوضع في جهاز المؤصدة للتعقيم.
4. يستخرج الوسط بواسطة كفوف قماش بعد التعقيم الذي استمر لمدة 15 دقيقة أو حسب نوع الوسط المعقم ويترك حتى يبرد ليكون جاهزاً للصب في الأطباق.

صب الأوساط

يتم الصب في أنابيب tubes أو أطباق بتري Petri dish أو vial ويجب مراعاة الآتي:

1. الاهتمام بالنظافة في جميع مراحل العمل.
2. يصب حوالي 20–25 مل من الوسط في الطبق وهو سائل قبل أن يبرد لأنه سوف يكون بشكل كتل في الطبق أو يتصلب في الدورق قبل الصب.
3. تترك الأطباق مفتوحة قرب اللهب لخروج بخار الماء الزائد الذي يكوّن قطرات ماء تتساقط على الوسط بعد التبريد.
4. بعد تصلب الوسط في درجة حرارة الغرفة يكون جاهزاً للتلقيح.
5. بالنسبة للأنابيب والفيالات فيتم وضع كمية الوسط المناسب ثم توضع بشكل مائل حتى تتصلب من أجل تكوين الأوساط المائلة Slands.
6. تستعمل الأطباق لتحضير الأوساط الصلبة أما الأنابيب والفيالات فتستخدم للصلبة والسائلة وشبه الصلبة.

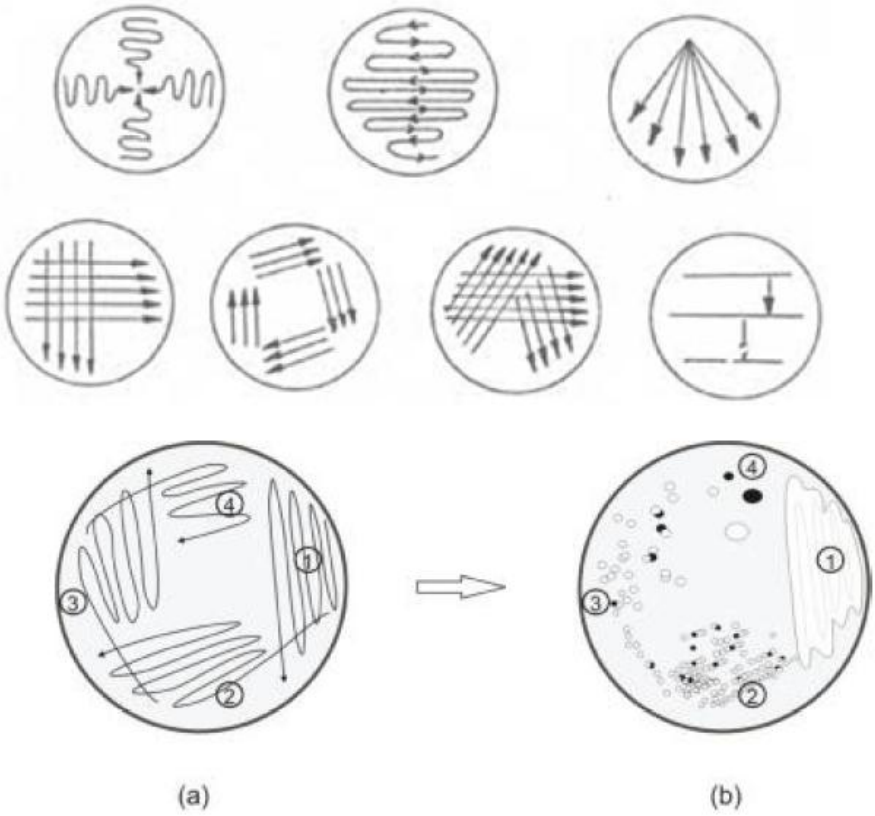
التلقيح

يقصد به زرع الأحياء المجهرية على وسط غذائي معين وتتم باستخدام الناشر Loop وغيره وهناك طريقتان هما:

1. الطعن: ويكون بواسطة إبرة خاصة للأوساط في الأنابيب.
2. النشر: ويكون بواسطة الإبرة أو الناشر من خلال عمل حركة تموجية.

التلقيح في الأطباق

1. التخطيط Streaking: باستعمال الناشر للحصول على مستعمرات البكتريا لعزلها كما تستخدم للتنقية.



2. طريقة النشر Spreading: يكون باستعمال الناشر الزجاجي من أجل اختبار التعداد البكتيري من خلال نشر 1 مل من النموذج وتحريكه في الوسط بواسطة الناشر بحركات مناسبة.