تحضير وسط الكليكر

Kligler Iron Agar (KIA)

هو نوع من وسائل النمو التفاضلي المستخدمة في علم الأحياء الدقيقة للتمييز والتعرف على البكتيريا الأمعائية، بشكل رئيسي من عائلة الإنتروباكتيرياسي. وهو يسمى بهذا الاسم نسبةً إلى مُطوِّره جاكوب كليجلير. الوسط الحديد الكليجلير (KIA) هو وسط صلب يحتوي على عدة مكونات، وهو مفيد بشكل خاص للتمييز بين أنواع مختلفة من البكتيريا استنادًا إلى قدرتها على تخمير الكربوهيدرات وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين.

اهم مكوناته هي

- الببتون: مصدر للنيتروجين والمواد الغذائية الأخرى لدعم نمو البكتيريا.
- ببتون البروتياز: يوفر النيتروجين وأحماض أمينية إضافية لدعم نمو البكتيريا.
- لاكتوز وجلوكوز: هي الكربوهيدرات التي يمكن تخميرها في الوسط ، ويعتبر قدرة البكتيريا على تخمير هذه السكريات هي عامل رئيسي في تمييز الأنواع البكتيرية.
- فينول أحمر: هو مؤشر الحموضة يتحول إلى اللون الأصفر في بيئة حمضية ويبقى أحمر في بيئة قلوية.
- كبريتات الصوديوم: مصدر الكبريت يُستخدم بواسطة بعض البكتيريا لإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين.
- كبريتات الحديد: مركب يتفاعل مع كبريتيد الهيدروجين لتكوين ترسبات سوداء (كبريتيد الحديد).

عادةً ما يتم توزيع وسط KIA في أنابيب مائلة تسمى "سلانت"، وهي أنابيب اختبار مائلة بزاوية. يتم تلطيخ البكتيريا على السلانت، ثم تُحضر الأنابيب في حاضنة عند درجة حرارة تتراوح بين 35-37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة. يمكن مشاهدة الردود التالية في مؤشر الحديد الكليجلير:

1- قاعدي/قاعدي :(K/A) يحدث هذا الرد عندما تتمكن البكتيريا من تخمير كل من اللاكتوز والجلوكوز، مما يؤدي إلى إنتاج حمض يجعل الوسط أصفرًا أولاً. مع مرور الوقت، إذا استهلكت البكتيريا كل السكر المتاح، ستعود قيمة الحموضة في الوسط إلى القيمة القاعدية (اللون الأحمر).

2- قاعدي/حمض :(K/NC) في هذه الحالة، تستطيع البكتيريا تخمير الجلوكوز ولكن لا تستطيع تخمير اللاكتوز. يبقى الوسط أصفرًا بسبب الحمض الناتج عن تخمير الجلوكوز، ولكنه لا يتحول إلى اللون الأحمر لأن اللاكتوز يبقى غير مخمر.

3- حمض/حمض :(A/A) البكتيريا التي تستطيع تخمير كل من الجلوكوز واللاكتوز ستنتج كمية كبيرة من الحمض، مما يؤدي إلى اللون الأصفر الدائم في الوسط.

4- لا تغيير :(NC/NC) قد تكون بعض البكتيريا غير قادرة على تخمير أي من السكريات، وبالتالي يبقى الوسط أحمرًا (قاعدي) طوال الوقت.

طريقة العمل

1- المواد والأدوات والأجهزة اللازمة

ماده التحضير	
ميزان حساس	
سباجله (ملعقة)	
سلندر	
قنينه حجميه	
ماده فلاكس	
سداده من القطن وماده قصدير	

2- وزن المادة:

3- خطوات العمل

بعد وزن المادة المراد تحضيرها في الميزان الحساس بواسطة الورقة، نضع المادة في دورق زجاجي قياسي، ثم نضيف ماء مقطر ليصل الى 100 مل. نضع Magnatic bar في الدورق لتعمل على خلطه باستمرار اثناء عملية التسخين ولمدة 10 دقائق الى ان تبدأ المادة بالذوبان وتظهر الرغوة.

نقوم بعد ذلك بوضع كرة قطنية داخل فوهة الدورق وتغليفها بالقصدير لمنع تسرب المادة الى الخارج اثناء التعقيم بالاوتوكليف على درجة حرارة 121 ولمدة 15 دقيقة.