يعرف الوسط الزرعي Culture Media على انه الماده التي تنمو فيها او عليها الاحياء المجهريه وتكون حاويه على المكونات الاساسيه الضروريه لنمو تلك الكائنات لذا فهناك اعداد كبيره من الاوساط الزرعيه المختلفه في مكوناتها تبعا للغايه من استخدامها ومتطلبات الجراثيم التي تنمو عليها .

تقسم الاوساط الزرعيه بعدة طرق :

1 – حسب قوامها (وجود او عدم وجود مادة الاكار او وجوده بنسبة قليله) الى :

أ – الصلبه solid media

ب – السائله liquid media

ج – شبه الصلبه semi solid media

2 – اما حسب بساطتها او محتواها الكيميائي فتقسم الى

أ – الاوساط الطبيعيه او المعقده natural or complex media

ب – الاوساط الكيميائيه او المصنعه chemical or synthetic media

3 – تقسم حسب الغايه من استخدامها الى :

أ – اوساط عزل او الوسط العام General or isolation media

ب – اوساط تفريقيه differential media

ج – اوساط اختياريه او انتخابيه selective media

ح – اوساط مدعمه enriched media

خ – اوساط اختباريه assay media

د – اوساط العد count media

ذ – اوساط الحفظ preservation media

وفيما يلي امثلة لبعض الاوساط المستخدمه في مختبرات الاحياء المجهريه الطبيه لعزل الجراثيم الممرضه :

1 – وسط لون ستين جنشن (Lowenstein _ Jensen medium (LJ medium

يستخدم هذا الوسط لتنميه جرثومة *Mycobacterium* خاصة *M. tuberculosis* اذا تظهر مستعمراتها بلون بني ، محببه (احيانا تكون برتقالية اللون buff و منتفخه وخشنه)

يحضن الوسط لفترة طويله عادة لأسابيع لأن تضاعف الجرثومه بطئ مقارنة بالبكتريا الاخرى (15-20 ساعه)

مكونات الوسط هي malachite green , glycerol , asparagines , potato starch , coagulated eggs , potassium dihydrogen phosphate ,magnesium sulfate , sodium citrate

االوسط الاصلي كان يحوي النشأ ، لكن وجد حديثا انه غير ضروري لنمو البكتريا لذلك تم حذفه
تضاف مضادات penecilline , nalidixic acid لتثبيط نمو الجراثيم السالبه والموجبه لصبغة كرام الاخرى ولغرض تنمية جرثومة *Mycobacterium* فقط .
وجود صبغة الخضراء يثبط الجراثيم الاخرى ايضا ، يتم تصلب الوسط بالتثخين ، الكليسيرول يحسن من نمو الجرثومه .
تحفظ انابيب الوسط المائل بالتبريد ولمدة لا تزيد عن شهر ، لزرع جرثومة *M. bovis* يضاف sodium pyruvate ويحذف الكليسيرول .
لون الوسط اخضر براق ومعتم

(HEK , HE , HEA) : Hektoen enteric agar – 2
وسط انتخابي وتفريقي يستخدم لعزل جرثومتي *Salmonella* , *Shigella* من العينات المرضيه
يحوي الوسط على دلائل يتغير لونها بتخمر سكر اللاكتوز وانتاج غاز H_2S اضافة لمثبطات لمنع نمو الجراثيم الموجبة لصبغة كرام .
نمط تخمر سكر اللاكتوز وانتاج غاز كبرتيد الهيدروجين يساعد في تشخيص الجراثيم المزروعة على الطبق ، السالمونيلا تنتج مستعمرات سوداء اللون بينما الشكلا تنتج مستعمرات خضراء شفافه ، لون الوسط نفسه هو الاخضر .
يحوي الوسط على ثلاث انواع من السكريات هي اللاكتوز والسكروز والسالسين salicin

: Hoyle's agar - 3
وسط اختياري يستخدم للانتخاب التفريقي لجرثومة *Corynebacterium diphtheriae* عن باقي الجراثيم المتعايشه في الجهاز التنفسي العلوي :
يتكون الوسط من

Proteose Peptone	10 g/L
Beef extract	10 g/L
Sodium chloride	5 g/L
Blood, laked	
tellurite	3.5 g/L
Agar	15 g/L

4 – Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar (TCBS) :

هو نوع من الاوساط الزرعيه الانتخابيه الذي يستخدم في مختبرات الاحياء المجهرية لعزل جرثومة *Vibrio* ويكون عالي الانتقائيه لعزل *V. cholerae* و*V. parahaemolyticus* وتثبط الجراثيم الموجبة لصبغة كرام الاخرى من خلال وجود ox gall المادة الطبيعية التي تحوي مزيج من املاح الصفراء bile salt و sodium cholate املاح الصفراء النقيه و sodium thiosulphate تستخدم كمصدر للكبريت وبالاتحاد مع سترات الحديد ferric citrate يتم الكشف عن انتاج كبرتيد الهيدروجين ، السكروز يستخدم كمصدر للكربوهيدرات الضروريه للفعاليات الايضيه للجرثومه ، الداله الحامضيه القاعديه تساعد على انتقاء جرثومة *V. cholerae* ، صبغة thymole blue او bromothymol blue تستخدم كدلائل لتغير الداله الحامضيه للوسط .

مكونات الوسط

- Yeast extract 5.0g
- Proteose Peptone 10.0g
- Sodium citrate 10.0g
- Sodium thiosulfate 10.0g
- Ox gall 8.0g
- Saccharose 20.0g
- Sodium chloride 10.0g
- Ferric ammonium citrate 1.0g
- Bromothymol blue 0.04g
- Thymol blue 0.04g
- Agar 15.0g

شكل المستعمرات على الوسط

- *V. cholerae* ..... Large yellow colonies.
- *V. parahaemolyticus* ..... Colonies with blue to green centers.
- *V. alginolyticus* ..... Large yellow mucoidal colonies.
- *V. harvey* / *V. fishceri*.....Greyish green to bluish green colonies which show luminiscence in dark. Older colonies fail to show bioluminiscence.
- Proteus/Enterococci ..... Partial inhibition. If growth, colonies are small and yellow to translucent.
- Pseudomonas/Aeromonas .... Partial inhibition. If growth, colonies are blue.

الجراثيم غير *Vibrio* والمنتجه لكبريتيد الهيدروجين تظهر بشكل مستعمرات سوداء بسبب انتاج كبرتيد الهيدروجين من thiosulphate (التي دورها كمصدر للكبريت اضافة الى خلق جو اختزالي

الذي تحتاجه الجرثومه لنموها لأنها لاهوائية اختياريه) يتحد مع ايون الحديد الناتج من سترات الحديد الامونياكيه لينتج كبرتيد الحديد الاسود اللون .
تخمر السكروز ينتج حامض يرفع الداله الحامضيه فيغير لون الدليل الى الاصفر ووجود صبغتين بدل الواحده ينتج لون اصفر شعاعي اخضر او ازرق والذي يجعل التفريق حتى بين اجناس *Vibio* ممكنا

5 - (XLD agar) Xylose lysine deoxycholate agar:
وسط انتخابي يستخدم لعزل جرثومتي *Salmonella* و*Shigella* من العينات المرضية والغذائيه الداله الحامضية له هي تقريبا 7.4 مما يعطيه لون وردي لماع أو احمر نتيجة لوجود دليل الفينول الاحمر phenol red . تخمر السكر يهبط الدالة الحامضية للوسط ويغير لون الدليل الى الاصفر . معظم بكتريا الامعاء يمكنها تخمير سكر الزايلوز لانتاج حامض لكن *Shigella* لا يمكنها تخميره لذا تبقى بلون احمر . بعد استهلاك الزايلوز ستعمل السالمونيلا على استغلال اللايسين فتزداد الداله الحامضيه نحو القاعديه مما يزيد احمرار مستعمرات الشكلا ، السالمونيلا يمكنها تحليل thiosulfate لتنتج غاز كبريتيد الهيدروجين الذي يؤدي الى تكوين مركز اسود للمستعمره مما يميزها عن مستعمرات الشكلا المشابهه لها ، افراد العائلة المعوية الاخرى مثل *E. coli* تخمر سكر اللاكتوز والسكروز الموجودين في الوسط وبفعل ازالة مجموعة الكاربوكسيل فستنخفض الدالة الحامضية للوسط محولة لون الدليل الى الاصفر .

- مستعمرات السالمونيلا حمراء بعضها ذو مركز اسود .
- مستعمرات الشكلا حمراء
- Coliform مستعمرات صفراء الى برتقاليه
- *Pseudomonas aeruginosa* وردية مسطحه خشنه وهذه ممكن ان تسبب خلل في التشخيص لانها تشبه السالمونيلا .

مكونات الوسط :

Yeast extract	3g/l
L-Lysine	5g/l
Xylose	3.75g/l
Lactose	7.5g/l
Sucrose	7.5g/l
Sodium deoxycholate	1g/l
Sodium chloride	5g/l
Sodium thiosulfate	6.8g/l
Ferric ammonium citrate	0.8 mg/l
Phenol red	0.08g/l
Agar	12.5g/l

: XLT Agar (Xylose Lysine Tergitol-4) – 6

وسط انتقائي لعزل وتشخيص السالمونيلا من العينات الغذائيه والبيئية وهو مشابه لوسط XLD لكنه يحوي Tergitol 4 المثبط لجرثومة *Proteus* spp. والجراثيم غير السالمونيلا الاخرى ويظهر مستعمرات السالمونيلا حمراء ذات مركز اسود .

مكونات الوسط

- XLT Agar contains:

Proteose Peptone	1.6g/l
Yeast extract	3g/l
L-Lysine	5g/l
Xylose	3.75g/l
Lactose	7.5g/l
Sucrose	7.5g/l
Sodium chloride	5g/l
Sodium thiosulphate	6.8g/l
Ferric ammonium citrate	0.8 mg/l
Phenol red	0.08g/l
Agar	18g/l

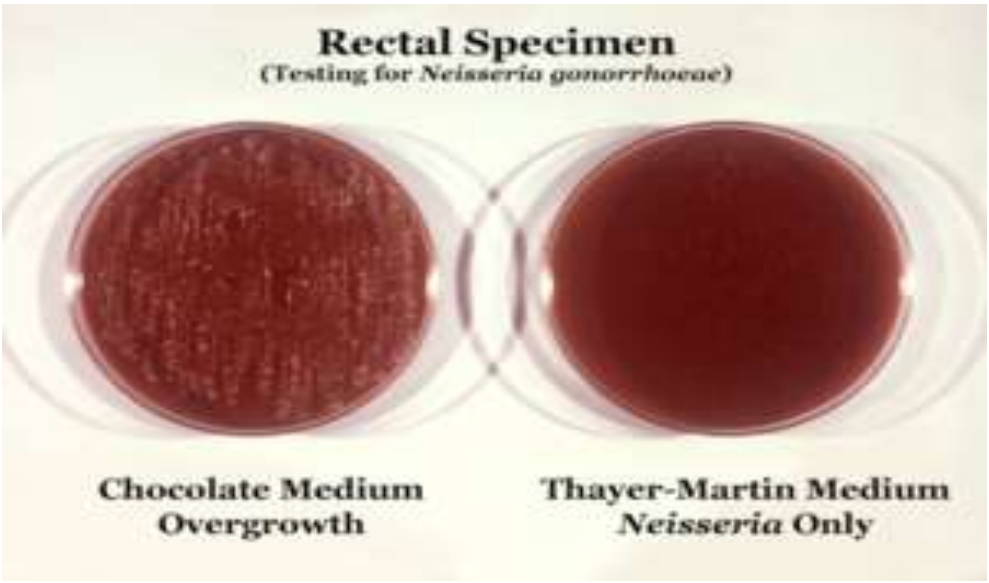
: Thayer-Martin agar (or Thayer-Martin medium) – 7

هو وسط Mueller-Hinton agar مضاف له 5 % دم اغنام مجلط chocolated ومضادات حيوية antibiotics يستخدم للعزل الاولي وزرع *Neisseria* الممرضه والمتضمنه *Neisseria gonorrhoeae* و*Neisseria meningitidis* ويثبط معظم الاحياء المجهريه الاخرى ، عند نمو *Neisseria meningitidis* عند بداية زرع السوائل الجسميه المعقمه كالدم وسائل النخاع الشوكي يستخدم وسط الجكليت .

يحوي وسط TM على المضادات التاليه :

1 - Vancomycin : الذي يقتل معظم الجراثيم الموجبة لصبغة كرام وتقاومة فقط جرثومتي *Lactobacillus*و*Pediococcus*
2 - Colistin : يضاف ليقتل معظم الجراثيم السالبة لصبغة كرام عدا *Neisseria* وتقاومه جرثومة Legionella .
3 - Nystatin : يستخدم لقتل معظم الفطريات fungi .
4 - SXT : يثبط نمو الجراثيم السالبة لصبغة كرام وخاصة السابحات *Proteus* .

النتيجة السلبيه للزرع على وسط TM للمرضى الذين لديهم اعراض التهابات الحوض pelvic inflammatory diseaseاحتمال كبير نتيجة لأصابتهم بجرثومة Chlamydia trachomatis .



8 – Müller-Hinton agar : وسط لنمو الاحياء المجهريه ويستخدم بشكل شائع لاجراء اختارات الحساسية الدوائية للمضادات الحيويه antibiotic susceptibility ويستخدم ايضا لعزل وحفظ جرثومتي Neisseriaو.Moraxella

يستخدم معه الدم بنسبة 5% عندما يراد اجراء الحساسية الدوائية لجراثيم Streptococcus و Campylobacter .
مكونات الوسط

- 30.0% beef infusion
- 1.75% casein hydrolysate
- 0.15% starch
- 1.7% agar
- pH adjusted to neutral at 25 °C.

11 – Cetrimide agar : نوع من الاوساط الانتقائية لعزل البكتريا السالبة لصبغة كرام *Pseudomonas aeruginosa* كما يوحي الاسم فهو حاوي على cetrimide وهو عنصر انتقائي للجراثيم المتعايشة الاخرى ومحسن لأنتاج الصبغات من الجرثومه كصبغة pyocyanin و fluorescein التي تظهر اللون الاخضر المزرق او الاصفر المخضر على التوالي .

12 – Bordet_Gengou agar : نوع من الاكار المفضل لعزل جرثومة *Bordetella* يحوي دم ومستخلص البطاطا والكليسيرول ومضادات cephalexin او penicillin وبعض الاحيان nicotinamide ، مستخلص البطاطا مصدر للنتروجين والفيتامينات ونشأ البطاطا يمتص الاحماض الدهنية الموجودة في الافرازات الانفيه او القطيلة القطنية التي يتم جمع العينات فيها والذي يثبط النمو . الكليسيرول مصدر للكربون .

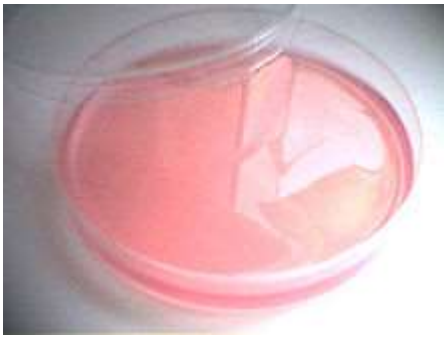
13 – BCYE : وسط انتقائي يستخدم لزرع ونمو بكتريا مرضيه خاصة سالبة لصبغة كرام مثل *Francisella tularensis* و *Legionella pneumophilla* و *Haemophilus influenzae* ويستخدم ايضا لعزل *Acanthamoeba keratitis*

14 – Endo agar : وسط وردي اللون يستخدم اساسا لتنمية *Salmonella typhi* الا انه الان يستخدم لكل جراثيم coliform ينمي معظم الجراثيم السالبة لصبغة كرام ويثبط الموجبة ، الجراثيم المخمرة لسكر اللاكتوز تظهر حمراء اللون مثل *E. coli* وغير المخمره تظهر شفافه مثل *Salmonella* .

مكوناته :

- peptone0.1%
- 0.25 % dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)
- 1.0 % lactose
- 0.33 % anhydrous sodium sulfite (Na_2SO_3)
- 0.03 % fuchsine

1.25 % agar



9 – Bismuth sulfite agar : نوع من الاوساط الزرعيه المستخدمه لعزل *Salmonella* ويستخدم الكلوكوز كمصدر للكربون ، BLBG وbismuth يوقف نمو الجراثيم الموجبة لصبغة كرام ، يتميز هذا الوسط بقدرة الجراثيم على استغلال ferrous sulfate وتحويله الى hydrogen sulfide .

يعقم الوسط بالترشيح وليس بالاتوكليف .

مكونات الوسط هي :

1.6% bismuth sulfite $Bi_2(SO_3)_3$
1.0% pancreatic digest of casein
1.0% pancreatic digest of animal tissue
1.0% beef extract
1.0% glucose
0.8% dibasic sodium phosphate
0.06% ferrous sulfate • 7 water
pH adjusted to 7.7 at 25 C

10 – Bile Esculin Agar (BEA) : وسط انتقائي وتفريقي يستخدم لعزل وتمييز اعضاء *Enterococcus* والتي تعرف ايضا بـ "group D streptococci" .

يحوي الوسط على املاح الصفراء التي تعد العامل الانتقائي اما esculinفهو المكون التفريقي بكتريا *Enterococcus* تحلل الاسكولين ونواتج التحلل تتفاعل مع ferric citrate في الوسط لتنتج املاحا لا ايونيه غير ذائبه ينتج عنها لون اسود في الوسط ، ويستخدم هذا الوسط اساسا لتفريقEnterococcus عن Streptococcus اعضاء Enterococcus قادره على النمو بوجود 4% من املاح (oxgall) وتحلل esculin الى glucoseوesculetin والـ esculetin يتحد مع ايونات الحديد لينتج معقد اسود اللون . هناك جراثيم خاصة يمكنها استغلال esculetin ، وعند وجود esculetin في الطبق فسيظهر بلون ازرق شاحب مشع تحت اشعة UV والطبق الغير حاوي عليه يظهر بلون داكن .

11 – CLED agar (cystine lactose electrolyte deficient medium) :

وسط مهم جدا غير مثبط ويستخدم لعزل وتشخيص الاحياء المجهرية في الادرار . وبما انه منقوص الاملاح فهو يمنع ظاهره swarming لجرثومة *Proteus* ، Cystine يشجع تكوين مستعمرات dwarf معتمده على السستين ، تخمر سكر اللاكتوز ينتج مستعمرات صفراء اللون على الوسط بينما غير المخمرة تظهر زرقاء الدالة الحامضية للوسط مقاربه لـ7.3

مكوناته هي :

Peptone	4 g / l
'Lab Lemco' powder	3 g / l
Tryptone	4 g / l
Lactose	10 g / l
L-Cystine	128 g / l
Bromothymol blue	20 g / l
Agar No. 1	15 g / l