الوسط الزرعي Culture media

هو البيئة التي تستدم لزراعة وانماء الاحياء المجهرية المختلفة في المختبر ، ويحتوي على جميع المكونات الضرورية للنمو.

فوائد الوسط الزرعي:

١ - يتم بواسطتها عزل الجراثيم وتكثيرها وادامتها بصورة نقية.

٢ - تستعمل بعض الاوساط لنقل العينات السريرية وتعرف بالأوساط الناقلة.

٣ - تساعد بعض الاوساط على دراسة بعض الخواص الحيوية والكيموحيوية للبكتريا.

٤ - دراسة الصفات المظهرية للجراثيم.

هناك عدة اسس لتقسيم الاوساط الزرعية :

أ – على اساس محتوياتها او مكوناتها ، وتقسم الى

١- اوساط صناعية او كيميائية Synthetic or chemical defined media

وهي تتكون من مواد ذات تركيب كيميائي معروف ، مثل الاملاح العضوية وغير العضوية ، وهي تنتمي الى انواع خاصة ومعينة من البكتريا . مثال عليها وسط Tauson الذي يستخدم في اختبار قابلية البكتريا على اكسدة الهيدروكاربونات النفطية، ووسط Czapek- Dox لعزل الفطريات..

٢- اوساط شبه صناعية Semi synthetic media

وهي اوساط تحتوي على خليط من املاح و مركبات كيميائية مضافا لها مواد طبيعية غير محددة التركيب الكيميائي ، مثل وسط Nutrient agar لعزل البكتريا ،ووسط Potato dextrose agar (PDA) لعزل الفطريات.

٣ – اوساط طبيعية Natural media

وهي اوساط غذائية غنية تستخدم لزراعة مدى واسع من البكتريا والاحياء المجهرية الاخرى ، وتحتوي على مواد طبيعية مختلفة مثل Pepton ومستخلص الشعير Malt extract ومستخلص الخميرة Yeast extract ومستخلص اللحم Meat extract وغيرها ، ومثال على هذا النوع من الوسط : وسط Nutrient broth لعزل وتنمية البكتريا، ووسط Potato carrot agar (PCA) لعزل وتنمية الفطريات.

ب - على اساس قوامها ، تقسم الى

١ - اوساط زراعية صلبة Solid media

يضاف لها مادة الاكار agar لغرض تصلبها ، اذ يضاف بنسبة ٥-٢٠ غرام/لتر ، مثل Nutrient agar لعزل وتنمية البكتريا، ووسط Sabouraud agar لعزل وتنمية الفطريات.

والاكار هو مادة كاربوهيدراتية معقدة التركيب يستخلص من الطحالب البحرية الحمراء من الطحلب *Gelidium* ، اذ كان سابقا يستخدم الجيلاتين لغرض تصلب الاوساط ولكنه استبدل بالاكار لعدة اسباب:

١- يتصلب الاكار بدرجة ٤٥-٥٠ مº ولا يذوب الا بدرجة حرارة قريبة من الغليان بعكس الجيلاتين الذي يميل الى السيولة بدرجة حرارة ٣٧-٤٠ مº.

٢ - لا تستطيع البكتريا استخدام الاكار كمادة غذائية بينما بعض انواع البكتريا قادرة على استخدام الجيلاتين وتحلله.

٣ – اوساط شبه صلبه Semi solid media

وفي هذه الاوساط يضاف الاكار بمقدار نصف او ربع الكمية المطلوبة تقريبا ، وتستخدم هذه الاوساط في الكشف عن بعض الفعاليات الحيوية ، مثل وسط الاكسدة والتخمر Oxidation Fermentation media/ ويرمز له O/F كما يستخدم الوسط شبه الصلب لدراسة حركة البكتريا ايضا لسهولة الحركة فيه .

ج – على اساس الوظيفة ، تقسم الى

١ – اوساط العزل Isolation media

وهي اوساط زرعية اعتيادية تحتوي على المكونات الضرورية للنمو ، مثل وسط Nutrient agar ووسط Malt extract agar.

٢ – الاوساط المدعمة Enrichment media

وهي اوساط زرعية بسيطة يضاف لها مواد غذائية مدعمة لنمو بعض الاحياء المجهرية ، مثل اضافة الدم او المصل او الفيتامينات او بعض المستخلصات النباتية او الحيوانية ، اذ تشجع هذه المواد الاحياء المجهرية على النمو بصورة اكبر ، مثل وسط Blood agar الذي يضاف له الدم بسبة ٥-١٠ % بعد ان يبرد الوسط وقبل ان يتصلب ، ووسط Chocolate agar والذي يضاف له الدم والوسط حار بدرجة ٩٥مº وذلك ليسمح بتحلل الدم وتكسره وتحرر العناصر الموجودة في كريات الدم الحمر مثل عوامل V,X التي تشجع نمو البكتريا الصعبة النمو Fastidious

bacteria مثل بكتريا *Haemophilus influenza* ووسط Yeast extract agar المدعم بالفيتامينات المستخدم لعد الفطريات في عينة ماء ومنتجات الالبان.

٣ – الاوساط الانتقائية (الاختيارية) Selective media

تحتوي على مواد كيميائية معينة تسمح بنمو الانواع المرغوبة وتثبط الانواع الاخرى غير المرغوبة مثل :

أ – وسط MacConky agar

يحتوي هذا الوسط على املاح الصفراء Bile salt او Crystal violet بحيث تسمح للبكتريا السالبة لصبغة كرام بالنمو وتثبط نمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام .

ب – وسط Eosein methylen blue

هو وسط ايضا يحتوي على املاح الصفراء و crystal violet التي تسمح للبكتريا السالبة بالنمو وتثبط الموجبة لصبغة كرام .

ج – وسط Mannitol salt agar

وسط انتقائي لانه يحتوي على تركيز املاح عالي ، اذ يحتوي على ملح NaCl بتركيز ٧.٥% لذلك فهو يشجع نمو انواع من البكتريا دون الانواع الاخرى وخصوصا تنمية البكتريا الموجبة لصبغة كرام.

٤ – الاوساط التفريقية Differential media

وهي اوساط مضافة لها بعض المواد او العوامل الكيميائية لانتاج تغييرات معينة في الوسط والتي يمكن بواسطتها التمييز بين الانواع المختلفة ومن امثلتها :

a - وسط Blood agar

يفرق هذا الوسط بين البكتريا المحللة للدم وغير المحللة Hemolytic and non-hemolytic

b – وسط MacConky agar

يحتوي على سكر اللاكتوز فيفرق بين البكتريا المخمرة لهذا السكر وغير المخمرة ، اذ تظهر البكتريا المخمرة بلون وردي في حين غير المخمرة تظهر عديمة اللون وشفافة.

c - وسط Mannitol salt agar

وسط يحتوي على سكر المانيتول فيفرق بين البكتريا المخمرة لهذا السكر والتي تظهر بلون اصفر عن غير المخمرة .

e – وسط Eosin methylene blue

يفرق هذا الوسط بكتريا *Escherichia coli* المعدية عن باقي انواع جنس Enterobacter ، اذ تظهر البكتريا على هذا الوسط بلون اخضر لماع اما البكتريا الخرى تظهر بلون شاحب.

٥ – الاوساط الاختبارية Assay media

وهي اوساط محددة التركيب الكيميائي تستخدم لاختبار بعض المواد وفعاليتها على البكتريا مثل وسطMuller Hinton agar الذي يستخدم في اختبار المضادات الحيوية ضد البكتريا، ووسطIso-Sensitest agar لاختبار المضادات الحيوية ضد الفطريات.

٦ – اوساط العد Enumeration media

لتحديد كمية البكتريا في العينات مثل عينة الماء والحليب ، مثل وسط fecal agar (M-fc)coliforms لعد بكتريا *E.coli* المعوية .

٧ – اوساط التشخيص Characterization media

وهي مدى واسع من الاوساط الزرعية يمكن من خلالها تحديد النوع البكتيري او الفطري القادر على احداث تغييرات كيمياوية معينة بالوسط.

٨ – اوساط الحفظ Maintenance media

اوساط بسيطة تنمى فيها المزارع من اجل الحفاظ على حيويتها وصفاتها الفسلجية لفترات طويلة ولاتشجع هذه الاوساط على النمو المثالي الجيد ومثال عليها وسط Nutrient agar يضاف له ٣٠% كليسرول ويحفظ بمزارع مائلة Slant في درجات حرارة منخفضة جدا في الثلاجة.

ولحفظ الاحياء المجهرية لفترات طويلة يتم حفظها في deep freezer بدرجة حرارة تصل الى -٧٠م°.

كما تحفظ لفترات طويلة بطريقة التجفيد Lyophilization باستخدام جهاز Lyophilizer اذ تجفف البكتريا تحت التجميد والضغط المخلخل وتتحول الى مسحوق يتم حفظه فترات طويلة.

طريقة تحضير الوسط الزرعي

يحضر الوسط الزرعي باتباع الخطوات ادناه

١ – يوزن الوسط بميزان حساس

٢ – يذوب الوسط الزرعي في فلاسك او دورق بالماء المقطر

٣ – يسخن على النار لحد الغليان

٤ – تسد فوهة الدورق بقطنة وورق المنيوم

٥ – يدخل الوسط الى جهاز التعقيم Autoclave

٦ – يترك الوسط بعد التعقيم ليبرد ثم يصب بالاطباق الزجاجية

٧ – توضع الاطباق بكيس نايلون وتوضع بشكل مقلوب بالحاضنة

٨ – تختبر بعد الحضن للتاكد من التلوث ان وجد