

مختبر رقم 2

تحضير الأوساط الزرعية culture media وتعقيمها

الوسط الزرعي : هو تلك المادة التي يمكن للكائن الحي ان ينمو ويتكاثر فيها .

تختلف الأوساط بالنسبة لمكوناتها وقوامها ويعتمد اختيار الوسط الزرعي على طبيعة الاحياء المجهرية المراد زرعها وكذلك على الغرض الذي من اجله يزرع.

عند تحضير الأوساط الزرعية يجب عدم استعمال أدوات مصنوعة من النحاس او الزنك وفي حالة تحضير كميات كبيرة من الأوساط الغذائية يمكن استخدام اوعية مصنوعة من المعدن غير قابلة للصدأ (Stainless steel).

في حالة تحضير كميات متوسطة او صغيرة يفضل استعمال اواني زجاجية تتحمل الحرارة ويفضل استخدام الماء المقطر كمادة مذيبة للمواد الغذائية المستخدمة في تحضير الوسط الزرعي للمحافظة على قيمة الاس الهيدروجيني القريب من المتعادل.

تقسم الأوساط الغذائية المستعملة لتنمية الاحياء المجهرية الى منابت طبيعية ومنابت صناعية يمكن تحضيرها في المختبر :

1. الأوساط الغذائية الطبيعية Natural culture media

يمكن استغلال بعض المواد الطبيعية كوسط غذائي مع العلم ان بعض الكائنات الحية كالفيروسات لا تنمو الا في الانسجة الحية او عليها او على افرازاتها او مستخرجاتها.

يمكن استعمال مصل الدم المعقم المخلوط مع قطع الكبد لاجل تنمية بعض البكتيريا المرضية ويستعمل الدم الكامل المعقم او مصل الدم لزرع بعض البكتيريا المسببة للأمراض.

يعد الحليب من الأوساط الزرعية التي يكثر استعمالها بعد إزالة المادة الدهنية.

تستعمل أوساط من مستخلص البطاطا والجزر كمزارع لكثير من الاحياء المجهرية.

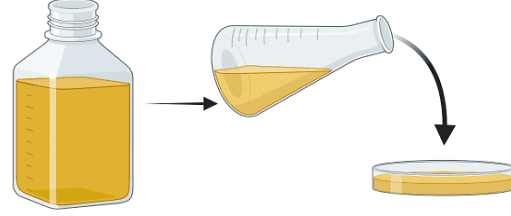
ومن المصادر الطبيعية الأخرى هي نقيع اللحم وخلاصة اللحم حيث تكون غنية بالاملاح والمواد العضوية والبروتينات والكربوهيدرات.

يستخدم البيض المتخثر أيضاً كوسط زرعي لتنمية بكتيريا السل والخناق .

اما خلاصة الخميرة والبيبتون فهما عبارة عن بروتين من مصدر طبيعي محلل مائياً وبصورة جزئية .

2. الأوساط الغذائية المصنعة Synthetic culture media

تتركب الأوساط الغذائية التي يمكن تحضيرها في المختبر من مواد عضوية وغير عضوية معقدة ومختلفة ومكوناتها معروفة بشكل مضبوط ودقيق كما ونوعا ، وتستعمل لتنمية أنواع معينة من الاحياء المجهرية ولاغراض الصناعات والبحوث .

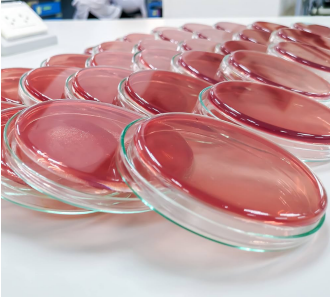


تصنف الأوساط الزرعية نسبة الى قوامها الى :

1. صلبة Solid

2. شبه صلبة semi solid

3. سائلة broth or liquid



Solid media (agar)



Liquid media (broth)

ولغرض الحصول على أوساط زرعية صلبة تستعمل المواد التالية :

1. الجيلاتين :

وهو مادة بروتينية ذات قيمة غذائية ناقصة ويضاف عادة بنسبة 10-15% الى الوسط المراد تحضيره ومن مساوئه انه يذوب في درجة حرارة الحاضنة (حوالي 30-35) درجة مئوية كما انه عرضة للتحلل من قبل اغلب أنواع البكتريا وبذلك يفقد خاصية التصلب ولهذين السببين حدد استعماله لأغراض معينة فقط ويستعمل في زرع الفيروسات وبعض الخلايا الحية كالخلايا السرطانية وخلايا الانسان والحيوان والنبات

2. اكار-اكار:

وهو مادة كربوهيدراتية معقدة مستخرجة من بعض اعشاب البحر ، ليس له قيمة غذائية كما انه لايمكن لاغلب أنواع الاحياء المجهرية من تحليله واستخدامه كمادة غذائية وهو يضاف عادة الى الأوساط الغذائية بنسبة 1.5-2% ، ومن خصائص الاكار انه يذوب في درجة حرارة 100 ويتصلب في (32-43) درجة مئوية ويبقى سائلا في (45-50) لذلك فهو يمكن ان يمزج مع الاحياء المجهرية في هذه الدرجة دون ان يؤثر عليها اما في الأوساط شبه الصلبة فيضاف بنسبة 0.3 – 0.5 %.

أنواع الأوساط الغذائية :

من الأوساط الزرعية التي تستعمل لمعظم أنواع البكتريا هو وسط المرق المغذي (Nutrient broth) ويتكون من مستخلص اللحم والببتون وملح الطعام مع الماء المقطر وعند اضافة مادة الاكار اليه يسمى الاكار المغذي (Nutrient agar)

هناك بعض البكتريا التي تنمو ببطء والبعض الاخر لاينمو على الاطلاق على مثل هذه الأوساط حيث يتطلب نموها إضافة بعض العناصر او المواد الضرورية الى الوسط الغذائي لكي تنمو وتتكاثر ويطلق عليها البكتريا النحسة (Fastidious) لذا وجدت أنواع متعددة من الأوساط الزرعية نسبة الى طبيعة الاحياء المجهرية المنماة والغرض من تنميتها ، وتصنف الأوساط الزرعية الى الأنواع التالية :

1. الأوساط الزرعية المكثفة او الغنية (Enriched media)

يضاف الدم او المصل او مستخلص النبات او الحيوانات والفيتامينات الى وسط المرق المغذي او وسط الاكار المغذي وذلك لتساعد على نمو افضل. ان نمو بعض الانواع البكتيرية على مثل هذه الاوساط يعني حاجتها الى هذه المواد الإضافية مثل وسط السلنايت.

2. الأوساط الزرعية الاختيارية (Selective media)

تضاف بعض المواد الكيميائية الى الوسط الغذائي لاجل منع نمو نوع معين من الانواع البكتيرية وهذا يعني ان الوسط سيكون اختياري، فمثلا إضافة صبغة الايوسين او الكريستال البنفسجية او المثيل الأزرق الى الوسط الغذائي حيث يؤدي الى نمو أنواع معينة من البكتريا وعدم نمو الأنواع الأخرى مثل وسط الماكونكي ووسط الايوسين المثيلين الازرق EMB .

3. الأوساط الزرعية التفريقية (Differential media)

وهي الأوساط التي ينمو عليها نوعين او اكثر و يمكن تفرقة هذه الانواع مظهرها من خلال نموها على هذه الاوساط مثل وسط الدم الذي يستخدم للتفرقة بين البكتريا المحللة للدم عن البكتريا التي لاتحلله بعد ان تنمو البكتريا على هذا الوسط ، ولهذا فان وسط اكار الدم يكون بنفس الوقت من النوع الاغنائي والتفريقي.

4. الاساط 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 الأوساط هي الفايروسات والركتسيا.

5. الأوساط الزرعية الحافظة (Maintenance media)

تستعمل هذه الأوساط للحفاظ على حيوية الاحياء المجهرية وخواصها الفسلجية لمدة معينة . وتستعمل أوساط معينة لهذا الغرض غير الأوساط التي تستخدم للنمو الأفضل اذ ان النمو السريع يصاحبه موت سريع للخلايا وهذا غير مرغوب في الأوساط الحافظة ولهذا يفضل عدم استخدام الكلوكوز في هذه الأوساط ، كما ان كل نوع من البكتريا او الاحياء المجهرية له وسط زرعي خاص به بحيث يمكن حفظه لمدة أطول .

6. الأوساط الزرعية التحليلية (Assay media)

وهي أوساط معرفة كيميائيا (صناعية) تستخدم لتقييم بعض المواد مثل الفيتامينات والحوامض الامينية والمضادات .

ومن الجدير بالذكر الى انه يتوجب على العاملين في مجال الاحياء المجهرية تهيئة أدوات زجاجية نظيفة لغرض استعمالها في تعبئة الأوساط الزرعية .