الكلية	العلوم
القسم	علوم الحياة
المادة باللغة الانجليزية	Microbiology
المادة باللغة العربية	الاحياء المجهرية
المرحلة الدراسية	الثانية
اسم التدريسي	عبدالباسط محمد جاسم حمادي
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	**Enzymes and bacterial identification**
عنوان المحاضرة باللغة العربية	**الانزيمات وتشخيص البكتريا**
رقم المحاضرة	الثالثة
المصادر والمراجع	الشماع، عبد الستار عبد الله .**تشخيص الأحياء المجهرية الطبية** .بغداد: مطبعة التعليم العالي، ٢٠٠٩. القيسي، محمود حسن .**الأحياء الدقيقة الطبية: التشخيص المخبري للبكتيريا** .عمان: دار المسيرة للنشر والتوزيع، ٢٠١٥.

الاوساط الزرعية Culture Media

هي المواد الغذائية المستخدمة لنمو وتكاثر الاحياء المجهرية مختبريا ويجب ان يحتوي الوسط على جميع الاحتياجات الغذائية الضرورية للنمو وتوفير الطاقة والوحدات الاساسية لبناء اجزاء الخلية وتراكيبها.

يمكن تلخيص فوائد الأوساط الزرعية المستعملة في مختبرات الاحياء المجهرية بما يلي:

١- يتم بواسطتها عزل الجراثيم وتكثيرها وإدامتها بصورة نقية.

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

٣- تساعد بعض الأوساط على دراسة بعض الخواص الحيوية وكذلك الوصف الحيوي والكيمياوي.

٤- وصف المظهر الزرعي للجراثيم النامية يساعد في التعرف عليها.

٥- تستعمل الأوساط في تحضير الجراثيم بكميات كبيرة والتي تستعمل بدورها في تحضير اللقاحات والمستضدات vaccines and antigens.

تقسم الأوساط الزرعية حسب:

أولا: حالتها الفيزيائية:

١ - البيئات السائلة Liquid Media: وتشمل الأوساط السائلة التي تحمل كلمة broth وتكون خالية من المواد المصلبة مثل nutrient broth, glucose broth, tryptic soy broth

٢ - البيئات الصلبة Solid media: تحضر هذه الاوساط باضافة مواد مصلبة للوسط مثل الاكار agar او الجيلاتين إلى البيئة الغذائية السائلة بنسبة (١,٥-٢%). مثال على الاوساط الصلبة الاكار المغذي Nutrient Agar، اكار الدم Blood Agar.

Agar مادة متعددة السكريات polysaccharide تستخلص من نوع من الطحالب البحرية *Geledium spp*. من أهم خصائصه:

١- لا يتحلل بيولوجيا، أي ان معظم الاحياء المجهرية غير قادرة على تكسيره واستهلاكه كمادة غذائية.

٢- لا يتحطم بالدرجات الحرارية العالية كذلك من الممكن تعقيمه بالحرارة العالية للموصد (١٢١°م).

٣- يذوب بدرجة حرارة ٩٨ °م ويتجمد بدرجة حرارة ٤٥ °م ولا يتميع بدرجة حرارة الغرفة.

اما **الجيلاتين** هو عبارة عن مادة بروتينية تتكون من ١٥ حامض أميني يضاف إلى الوسط بنسبة (١٠-١٥%) من خصائصه:

١- يتحلل بيولوجياً من قبل بعض البكتريا المنتجة لانزيم .Gelatinase

٢- يتميع بدرجة حرارة ٢٦°م ويتجمد عند الدرجات الحرارية الواطئة.

٣- البيئات شبه الصلبة Semi Solid Media

يستخدم هذا النوع من البيئات لدراسة حركة البكتريا وتنمية البكتريا اللاهوائية ويحتوي على الاكار ولكن بنسبة اقل.

ثانيا: حسب طبيعة مكوناتها إلى:

١- الاوساط الصناعية Synthetic Media: وهي الاوساط التي تحتوي على مكونات معلومة التركيب والتركيز.

٢- الاوساط الطبيعية Non-Synthetic Media: وهي اوساط مكوناتها طبيعية وغير معلومة التركيب والتركيز وغني بالفيتامينات والمغذيات مثل الحليب

والبيض والبطاطا و خلاصة اللحم ... الخ.

ثالثا- حسب الغاية من استعمالها:

١- الأوساط البسيطة Simple media:

تحتوي هذه الأوساط على المواد الغذائية الأساسية كمصدر للنتروجين والكاربون وتنمو فيها معظم البكتريا التي لا تحتاج الى مواد غذائية نادرة او معقدة مثل: nutrient broth، peptone water، Nutrient agar

٢- الأوساط التفريقية Differential media:

يمكن بواسطة هذه الأوساط التفريق بين أنواع البكتريا مثل:

أ- **وسط الماكونكي MacConkey agar:** يعمل على التفريق بين البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز عن الجراثيم غير المخمرة لسكر اللاكتوز.

ب- **أكار الدم Blood agar:** يعمل على التفريق بين البكتريا المحللة للدم عن تلك غير المحللة للدم ويتكون أكار الدم من الوسط الأساس blood agar base يضاف له الدم المعقم بتركيز نهائي ٥- ١٠% حيث تتم إضافة الدم بدرجة حرارة ٥٠°م.

٣- الأوساط الانتخابية Selective media:

تحتوي هذه الأوساط على مواد مثبطة للبكتريا الغير مرغوب فيها وفي نفس الوقت تعزز من نمو الانواع المراد عزلها مثل:

وسط المانيتول Mannitol Salt agar:

يستعمل هذا الوسط لعزل بكتريا المكورات العنقودية Staphylococci حيث يتم تثبيط الجراثيم الأخرى باحتوائه على التركيز المرتفع من ملح الطعام NaCI كما يحتوي الوسط على سكر المانيتول الذي يعمل على التفريق بين جراثيم المكورات العنقودية المخمرة للسكر والتي تظهر بلون أصفر عن غير المخمرة للسكر والتي تظهر بلون أحمر Reddish.

٤- الأوساط الاغنائية Enriched media:

تنمو معظم أنواع البكتريا على الأوساط البسيطة ولكن في بعض الأحيان هناك أنواع من الجراثيم قد تحتاج الى مواد مغذية حيث يمكن اغناء الأوساط البسيطة بإضافة مواد غنية بالمواد العضوية والفيتامينات والخمائر والاملاح ومن الأمثلة على الأوساط المغنية: Blood agar، Brain heart infusion agar, Chocolate agar

٥- الأوساط الناقلة Transport media:

ان هذه الأوساط تكون عادة بسيطة التركيب وفي الغالب تكون سائلة حيث تستعمل لنقل العينات من مناطق بعيدة وذلك للحفاظ عليها من الجفاف لحين وصول العينة الى المختبر ومثال عليها وسط Stuart Transport medium.

طريقة تحضير الاوساط الزرعية Preparation of Culture Media

١- يتم إذابة وزن معلوم من الوسط في حجم معلوم أيضا من الماء المقطر اعتماداً على التعليمات الموجودة على علب الاوساط الزرعية الجاهزة.

٢- تستخدم الحرارة في مجانسة الاوساط الزرعية الحاوية على الاكار لاذابة جميع مكونات الوسط ويمكن استخدام جهاز المحرك المغناطيسي Magnetic stirrer في هذه الخطوة.

٣-يتم اغلاق فوهة الوعاء الحاوي على الوسط الزرعي وتعقيمه باستخدام autoclave لمدة ١٥ دقيقة.

٤- بعدها يتم تركه حتى تنخفض درجة حرارته مابين ٤٥-٥٠ درجة مئوية ثم يصب في اطباق بتري او الانابيب.

صب الأوساط الزرعية Culture media pour

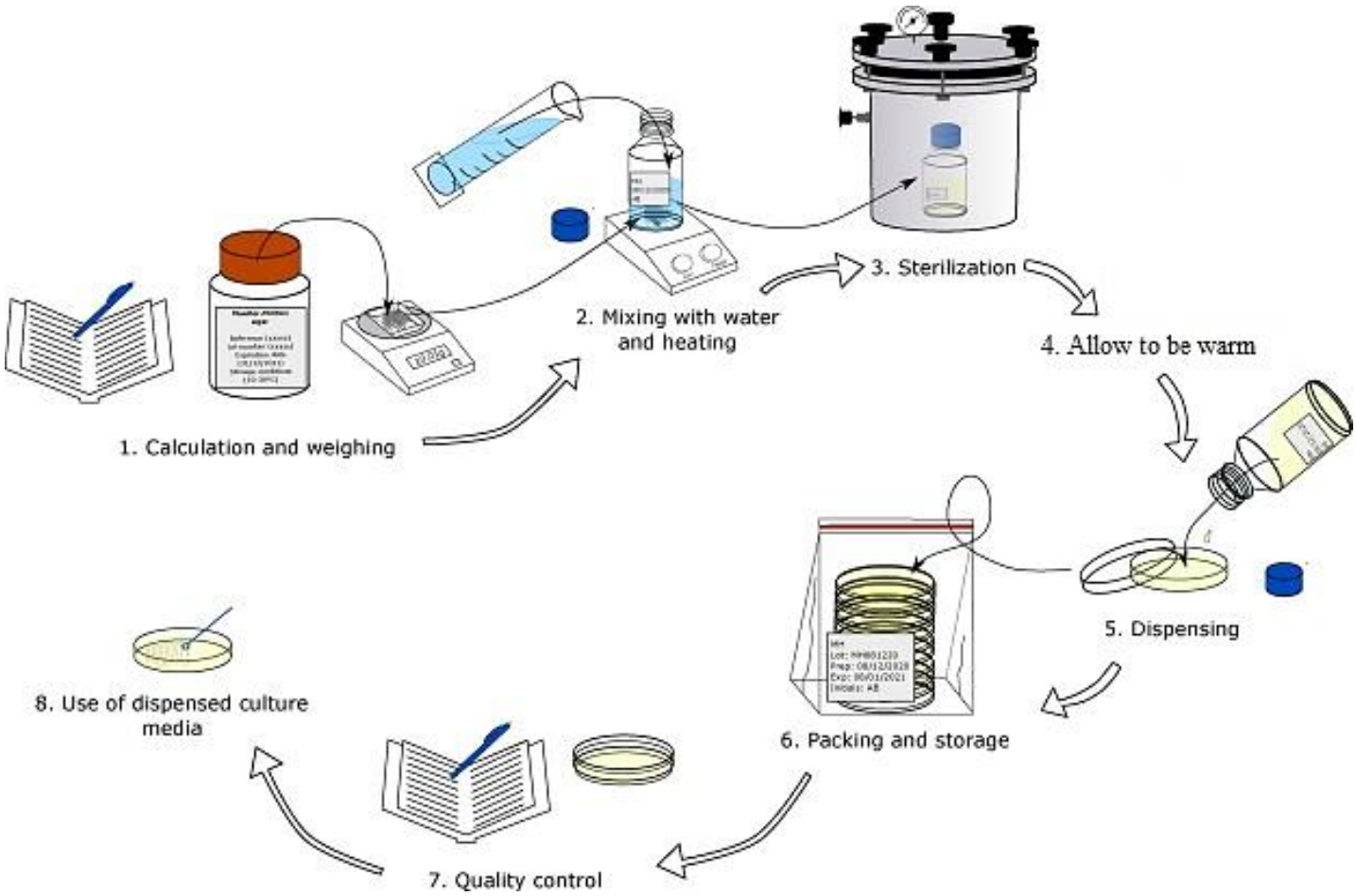
بعد تعقيم السطح باستخدام كحول الايثانول وبالقرب من لهب Bunsen burner يتم تلهيب فوهة الدورق الحاوي على الوسط ثم يتم صب الاوساط الصلبة في اطباق Petri Dish او في انابيب اما على هيئة:

أ- اكار عميق Deep Agar لتنمية الاحياء المجهرية اللاهوائية.

ب- الاكار المائل Slant Agar لحفظ المزارع ودراسة بعض الصفات البايوكيميائية

اما الأوساط السائلة وشبه الصلبة فتصب في انابيب الاختبار test tubes او فيالات vials

وأخيرا تغلق الاطباق والانابيب والفيالات وتلف الاطباق بعد التصلب بـ parafilm وتحفظ حتى الاستخدام.


1. Calculation and weighing
2. Mixing with water and heating
3. Sterilization
4. Allow to be warm
5. Dispensing
6. Packing and storage
7. Quality control
8. Use of dispensed culture media