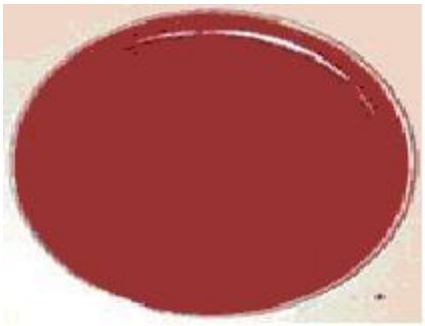
المحاضرة الثانية

أنواع الأوساط الغذائية Media وخصائصها

1- Chocolate Agar

- بيئة غنية Enriched Media تنمو عليها أغلب البكتيريا
- تحتوي على عوامل X و V الناتجة من تفجر كريات الدم الحمراء RBCsوالتي يمكن من خلالها نمو Heamophilus spp و Neisseriae والتي تعتبر هذه الأنواع من البكتيريا صعبة النمو. Fastidious



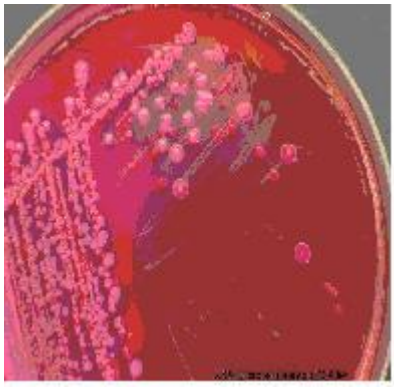
2- Blood Agar

- بيئة غنية Enriched Media تنمو عليها معظم البكتيريا
- بيئة تفريقية Differential بين أنواع البكتيريا المحللة للدم عن طريق التحلل الكامل للدم Beta hemolytic مثل Sterpt. Pyogenes و Sterpt. Agalactiae أو التحلل الجزئي للدم مثل Alpha hemolytic مثل Sterpt. Pneumonia و Sterpt. Viridans أو عدم التحلل للدم Non hemolytic مثل Sterpt. Faecalis و Sterpt. Bovis .

3- MacConkey Agar

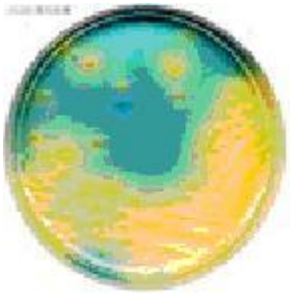
•بيئة تفريقية للتفريق بين البكتيريا المخمرة للاكتوز Lactose fermentingوالتي تأخذ اللون الأحمر مثل E.coli و Klebsiella و Enterobacter، وبين البكتيريا الغير مخمرة للاكتوز Non-lactose fermentingوالتي ليس لها لون (شفاف (مثل Proteus و Salmonellaو. Shigella

•تحتوي على Crystal violet أو Bile Salts بحيث تسمح للبكتيريا السالبة لصبغة جرام بالنمو وتثبط نمو الموجبة لصبغة جرام



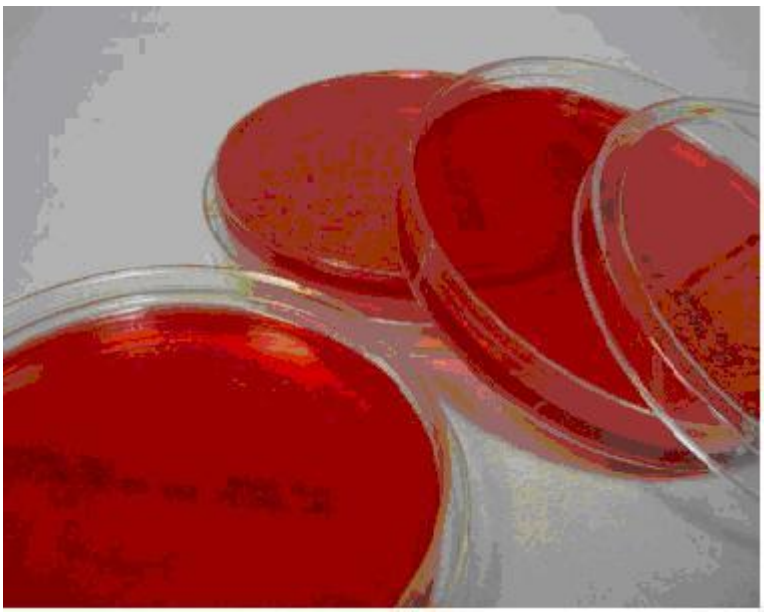
4- (stine Lactose electrolyte deficient (CLED

- وسط لزراعة عينات الجهاز البولي.
- بيئة تفريقية للتفريق بين البكتيريا المخمرة للاكتوز Lactose fermentingوالتي تأخذ اللون الأصفر مثل E.coli ، وبين البكتيريا الغير مخمرة للاكتوز Non-lactose fermenting والتي ليس لها لون (شفاف) مثل Acnitobacterبسبب وجود الكاشف Bromo-thymol blue .
- لها نفس وظيفة الـ MacConkey Agar



5- (Xylose lysine deoxycholate (XLD

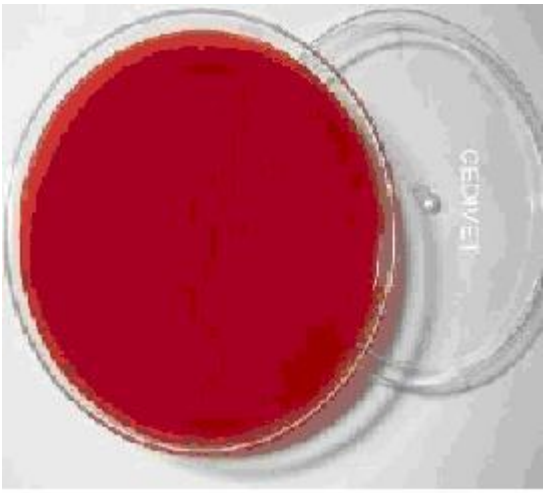
●بيئة اختيارية تفريقية لـ Salmonella و Shigella حيث أن الـ Salmonellaتأخذ اللون الوردي لوجود Phenol Red مع وجود لون أسود في المركز نتيجة تحلل مواد موجودة في البيئة ينتج عنها غاز H2Sوالـ Shigella تأخذ مستعمراتها اللون الوردي فقط.



6- Salmonella Agar (S.S Agar) Shigella

●بيئة اختيارية لا تسمح بنمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وبعض البكتيريا السالبة لصبغة جرام ماعدا Salmonella Shigella & بسبب وجود Na-citrate & bile salts

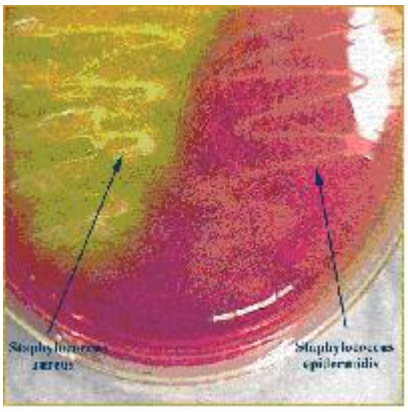
●بيئة تفريقية لـ Salmonella و Shigella حيث أن الـ Salmonella تأخذ لون البيئة (شفاف) مع وجود لون أسود في المركز نتيجة تحلل مواد موجودة في البيئة ينتج عنها غاز H2S والـ Shigella تأخذ مستعمراتها لون الوسط(شفاف).



7- (Mannitol salt Agar (MSA

●بيئة تفريقية للتفريق بين Staphylococcus species و Staphylococcus aureusالتي تخمر المانيتول بتأثيرها على لون الكاشف Phenol Red وتعطي اللون الأصفر بينما الـ .Staph الأخرى لا تخمر المانيتول.

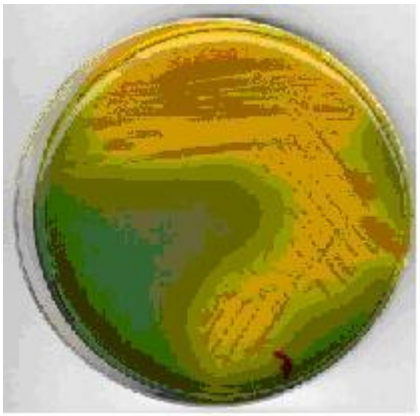
●بيئة اختيارية لأن تركيز الأملاح العالي (Nacl 7.5%) الموجود فيه يثبط نمو الميكروبات الأخرى.



8- (Thiosulphate citrate bile salt Agar (TCBS

●بيئة اختيارية لعزل الكوليرا Vibrio Cholerae

●تثبط نمو معظم الـ Enterbacteria والبكتيريا الموجبة لصبغة جرام بسبب احتوائها على مواد مثبطة وكذلك قلوية PH الوسط العالية.



9- Mueller Hinton Agar

•بيئة ضعيفة المواد الغذائية.
•مناسبة لعمل اختبارات الحساسية لأنها لا تحتوي على أية نسب من المواد الكيميائية بحيث لا تتفاعل مع المضادات الحيوية.

10- Bile Esculine

•بيئة تفريقية بين الأنواع المختلفة من الـ Streptococcus و الـ Enterococcus (Strept. Faecalis)التي تفرز عند نموها على هذه البيئة إنزيماً يفكك مادة الأسكولين فيتشكل مركب أسكولتين والذي يتحد مع أيونات الحديد الموجود بالبيئة على شكل سترات الحديد ويتكون مركب اسود يدل على وجودEnterococcus
•أيضاً وجود (٤% أملاح الصفراء) يثبط الكثير من البكتيريا دون أن يؤثر على نمو. Enterococcus

11- (Sabouroud Dextrose Agar (SDA

•بيئة اختيارية لنمو الفطريات.

•الـ PH حامضي لذلك لا تسمح بنمو البكتيريا.

جدول يوضح العينات الطبية والأوساط المفضلة لزراعتها كما يُعمل به في كثير من المستشفيات

خطأ!

أهم انواع العينات والأوساط الغذائيه المفضله لزراعتها طبياً

specimens	mac conkey	blood Agar	chocolate Agar	XLD Agar	cled Agar	mannitol saltAgar
sputun	●	●	●			
Throat	●	●	●			
Nasal	●	●	●			
Ear	●	●	●			
Tracheal aspiration	●	●	●			
Urethral saeb	●	●	●			
Semen	●	●	●			
wound or pus sawb	●	●	And also culture on Thiol broth			
Umbilical sawb	●	●				
Placental Sawb	●	●				
HVS	●	●	And also culture on Anaerobic blood agar			
ECS	●	●				
Pericardial fluid	●	●	●			
Pleural fluid	●	●	●			
Peritoneal Fluid	●	●	●			
Ascitic Fluid	●	●	●			
Synovial Fluid		●	●			

خطأ!

أهم انواع العينات والأوساط الغذائيه المفضله لزراعتها طبياً

specimens	mac conkey	blood Agar	chocolate Agar	XLD Agar	cled Agar	mannitol saltAgar
Bronchial Washing	●	●	●			
ETT aspriate	●	●	●			
Tracheostomy		●	●			
Tube aspriate	●	●	●			
Urine					●	
Eye swab	●	●	●	And also culture on Brain HeartInfusion (BHI)		
Conjunctiva Swab	●	●	●			
CSF deposit	●	●	●	And culture on (BHI)		
Stool	●			●	And also culture on Selenite F broth	
Restal Swab	●			●		
Anal Swab	●			●		
Blood Culture	●	●	●			
Tip	●	●				
IUCD	●	●				
Pus Sample	●	●	●	And also culture on Thiol borth and Anaerobic B.A. and cooked meat meadia		
Lung abscess	●	●	●			
MARSA (Eye, nasal,throat swab						●

Types of the media and samples
بواسطتي بتعاون مع الأخHIV

Mac Conkey Agar
Selective medium
"stool , sputum , Eye , Ear , wound , vagina sample "
selective for G -ve bacteria and also Group D in G+ve bacteria can grows on this media
and differential between lactose fermentation bacteria and non lactose fermentation bacteria

CLED Agar
Used on Urine samples
for G+Ve and G-Ve bacteria
properties:- Inhibition Proteus Swarming Species on this media like Mac Conkey media
CLED in the upper part of the media which seen in the picture below
and the other one is Horse blood agar

XLD medium
Used on stool sample
XLD selective media for G -ve bacteria
and differential for lactose ferment and non lactose ferment

Chocolate Agar
for Haemophilus & Neissria
and also another bacteria which grow in blood agar can grow in this agar easily
" sputum , Eye , Ear , blood , nasal , csf sample "

Blood Agar
"sputum , Eye , Ear , nasal , blood , wound , vagina"
Most of the bacteria can grow in this media
and we dont use this media in stool sample

Manitol salt Agar
Used in suspected (Nosocomial infection) " MRSA" (Eye ,

nasal , throat samples)

Mueller Hinton agar
Used for sensitivity tests

DNase Agar
Biochemical test
used for differentiate between Staph.aureus and Staph species

T.C.B.S medium
for Vibrio Species
The high of PH in this media allows growing of vibrio SSP

Thyer Martin Medium
For Neisseria gonorrehea
samples from vagina and penis
and in uncommon area like oral cavity and anal canal

Sterilization of Media
تعقيم الأوساط الغذائية

***All media are sterilized by moist heat only; there is no dry heat sterilization (160c/2hours) or (170c/1.5 hour).**
***The most common sterilization of media by autoclave (121c/15minute).**
Autoclave is part of moist heat sterilization.
***Sterilization by inspissations (80c) for example: L J media.**
***membrane filtration for thermolabile for example: Christian media for urease test.**
***most of the selective media are sterilized by boiling (No autoclave**

المحاضرة الثالثة

المزارع البكتيرية

مكونات المزارع البكتيريه وتحضيرها

تمثل الاوساط الزراعيه للبكتيريا العنصر الغذائي من متطلبات النمو ولذلك فان هناك انواعا كثيرة مختلفه من حيث المحتوى الغذائي بحيث يواجه متطلبات نمو انواع شتى من البكتيريا ،وتصنف الاوساط الزراعيه حسب قوامها الى صنفين هما :

الاوساط الصلبة (شبه الصلبة)
وهذه تشبه في شكلها وقوامها الجلي . وسبب صلابتها هو اضافته ماده الاجار اليها التي تقوم بتصليب الوسط ولا يتدخل في التغذيه ابدا ولذلك تسمى احيانا هذه الاوساط .

الاوساط السائله
وهذه الاساك قد تحتوي على نفس المواد الغذائيه في الوسك الصلب لكن بدون مادة تصليب.نصب النوع الاول في اطباق خاصه تسمى اطباق بتري ،بينما نصب الثانيه في انابيب زجاجيه او قناني لسهولة التداول.امامن ناحية المحتوي الكيماوي فان الاوساط تنقسم الى الاقسام التاليه :

١- الاوساط البسيطة الطبيعيه
وهذه تواجه متطلبات نمو البكتيريا ذاتية التغذية ، وبعضها غير ذاتية التغذيه ، وتحتوي مركبات غذائيه بسيظه .

٢- الاوساط الغنية
وهذه الاوساط العادية البسيطه مضافا اليها مواد غذائيه غنية اضافية مثل الدم والمصل او مستخلصات النباتات او الحيوانات لمواجهة متطلبات نمو الجراثيم صعبة الارضاء .

٣- الاوساط الاختياريه
اضافة مواد كيماوية معينة بتركيز معين يؤدي الى السماح لنمو مجموعة من البكتيريا ،ومنع نمو مجموعة اخرى مثل اضافة صبغة جرام ،بتركيز محدد مثال ذلك :

الاوساط المفرقة
الوسطالذي يسمح لنمو نوعين من البكتيريا بحيث يستطيع المشاهد ان يميز بينهما لظهورهما بصفات مختلفة،مثل اضافة الدم الى الوسط الزراعي يؤدي الى التمييز بين البكتيريا المحلله من البكتيريا غير المحللة له ،حيث تظهر حلقة فارغة من الدم حول المستعمرة اذا كانت الخلية البكتيريه من النوع المحلل للدم بينما لاتظهر حلقة شفافة حول المستعمرة في حالى ما تكون البكتيريا غير المحللة للدم وبذلك تلعب الاوساط المحتوية على الدم دور الوسط الغني والمفرق في نفس الوقت .

هذه هي الانواع الرئيسيه الاهم، رغم ذلك يوجد انواع اخرى خاصة لخدمة باحث معين ، ونوع لعدالخلاياالخلايا البكتيريه و(اخرى) لتشخيص صفات بكتيريا معينه .

تحضير الاوساط الزراعية

يمكن تحضير المزارع الجرثومية باتباع الخطوات التالية :

١- زن مسحوق الوسط الجاهز الجاف وحسب التعليمات المثبته على علبه الوسط .

٢- اذبها في حجم الماء المقطر المحدد في التعليمات ، وغالبا ما يكون لتر وتتم الاذابة اما بالتحريك او قد يحتاج اللى التسخين .

٣- وزع المحلول (الوسط)في انابيب اختبار وغطها .

٤- ضع الانابيب او القارورة (اذا كان الوسط صلبا)في جهاز التعقيم بالبخار لدة١٥دقيقة تحت ضغط ١٥باوند|انش، ودرجة الحرارة ١٢١م لهدف التعقيم .

٥- اخرجها من الجهاز وانتظر حتى تبرد قليلا وصبها في اطباق معقمه من اطباق بتري في جو خال من تيار هوائي على طاولة نظيفه مظهرة ومحاطة بلهب بنسون مشتعل،وتبقى الاطباق مفتوحة حتى لايتكثف البخار على غطاء الطبق بعد التجميد تحفظ في الثلاجة اذا كان الوسط سائلا فلا داعي للصب وتخرج الانابيب من جهاز التعقيم، وينتظر حتى تبرد ثم تحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

أنواع الأوساط هناك نوعان واسعان للأوساط هما كالتالي:
١- أوساط سائلة القوام.
٢- أوساط صلبة أو متماسكة القوام.

أولاً / أوساط سائلة القوام:
١- ماء الببتون:- Peptone Water

هو عبارة عن وسط بسيط يتكون من ١ % من الببتون و ٠,٥ % من NACL في ماء مقطر
يوضعوا في أنابيب يتم تعقيمها في جهاز الـAUTOCLAVE
الإستخدامات كالتالي : ١ -يعتبر كقاعدة للـSUGAR MEDIUM
٢- يستخدم في إختبار الـ INDOL.

2-الوسط المغدى باللحم الـMEAT INFUSION BROTH
عبارة عن ماء ببتون مضاف إليه قطع اللحم متناهية الصغرويتم ضبط ال PHليكون مقداره ٧,٢
.
الإستخدامات كالتالي : ١- يساعد في نمو معظم المايكروبات ويكاثرها.
٢- يعتبر قاعدة لوسط Nutrient agar.

-هناك الكثير من العيوب لهذه الأوساط ومن أهمها:

١- النمو لا يملك مواصفات نستطيع أن نميزها بالعين و نفرق بين روائحها بالأنف مثل المواصفات التي تظهر في الأوساط الصلبة لها مميزات في شكلها ولونها ورائحتها.

٢- لايمكن عزل الميكروبات من الوسط السائل لنقوم بعمل إختبارات الـ ديسكات المحتوية على المضادات(test sensitivity) بينما الأوساط الصلبة يمكننا بسهولة عزل المستعمرات التي نمت.

ثانياً / أوساط صلبة القوام-:
الأغلب استخدما لعزل مستعمرات بكتيرية نقية.
لها سبعت أنواع رئيسية ويتفرع منها العديد من الأنواع كالتالي:
A-Simple Media
1- Nutrient agar medium يستخدم في التالي:
-يساعد في النمو لمعظم البكتيريا.
-يعتبر القاعدة الأساسية لـ selective and ennriched media.
2- Nutrient Gelatin يستخدم في التالي:
تشخيص وتميز الـ The proteolyticmicr organisms
مثل الـv.cholerae

B-Enrrished Media
يضم العديد من الأوساط المهمة وهو أساسي لإكتشاف العديد من البكتيريا كالتالي:
1- Blood agar

يستخدم للتفريق بين العديد من الميكروبات طبقا لتفاعلها و تأثيرها الإنحلالي
-تحلل كامل يحدث معstaph aureus and strept pyogenes
-تحلل جزئي يحدث معstrept viridans and pneumococci

2- Chocolate agar
هو عبارة عن blood agar تم تسخينه.
-يستخدم لـNeisseria and Haemophilus groups

3- Loffler's serum
-يستخدم لدراسة الـ proteolytic activity of bacteria
-مفيذ في زراعة الـC.diphtheriae

C-Selective Media
تحتوي بعض الصبغات و المضادات والالكيماويات التي تمنع نمو بعض البكتيريا وتحفز نمو البعض الآخر.

1- Lowenstein-Jensen medium
يعتبر وسط إختياري يستخدم لنمو فقط الـ Mycobacteria
2- Blood tellurit medium
يعتبر وسط إختياري يستخدم لنمو فقط الـC.diphtheriae
3-DCA (Desoxycholate Citrate Agar) medium
يعتبر وسط إختياري يستخدم لنمو فقط الـsalmonella and shigella
4-T.C.B.S
يعتبر وسط إختياري يستخدم لنمو فقط الـV.Choerae

D-Indicator Media
تحتوي على مواد تجعل اللون يختلف حسب الـPH
1- MacConkey medium
يستخدم للتفريق بين الـ enterobacteriae إلى التالي:
- lactose Fermenters -تنتج لون pink على الطبق.
- Non lactos Fermenters لاتنتج لون أو أصفر فاااتح.

2- Triple Sugar iron agar
للتفريق بين أنواع البكتيريا التي تقوم بالتفاعل لتنتج لون محدد تعرف به.

E-Enrichment Media
-وهذا النوع من الأوساط يحتوي على مواد تحفز نمو بعض البكتيريا عن البعض الآخرمثل.
Selenite broth-
Tetrathionate broth-

F-LITMUS Media
وفيه يتم تقسيم البكتيريا على حسب فعلها على الحليب قاعدية أو حامضية

G-SUGAR Media

فيه يتم ملاحظة فعل البكتيريا الكيميائي.