

محیط‌های کشت باکتری‌ها

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فراگیر باید بتواند:

- ۱- اهمیت محیط‌های کشت و تفاوت بین انواع آن‌ها را بیان نماید.
- ۲- محیط‌های کشت آماده را در آزمایشگاه تهیه نماید.

۴- محیط‌های کشت باکتری‌ها

۴-۱- تعریف

منظور از محیط کشت مخلوطی متعادل از مواد مغذی موردنیاز برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد به نحوی که بتواند از لحاظ مواد غذایی، رطوبت و pH شرایط رشد میکروب موردنظر را تأمین نماید.

۴-۲- انواع محیط‌های کشت^۱

در میکروبیولوژی انواع متعددی از محیط‌های کشت بکار می‌رود این محیط‌ها برحسب نیازهای مخصوص میکروارگانیسم‌های مورد نظر از یکدیگر متفاوتند. از لحاظ فرم فیزیکی محیط کشت شامل انواع جامد و مایع هستند. از نظر ترکیب نیز شامل محیط کشت‌های عمومی (ساده)، افتراقی و اختصاصی می‌شوند.

۴-۲-۱- محیط‌های کشت عمومی: این محیط‌ها به نحوی گزینش می‌شوند که بتوانند

مواد مغذی لازم برای رشد و نمو تمام میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده را فراهم سازند. مهم‌ترین نمونه‌های این نوع محیط کشت عبارتند از نوتریت آگار (جامد)^۲ و نوتریت برات (مایع)^۳ که بیشتر

۱- Media

۲- Nutrient agar

۳- Nutrient broth

برای شمارش تعداد کل میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده مواد غذایی به کار می‌روند، بدیهی است شرایط کشت میکروبی با استفاده از این محیط‌ها تابع نوع میکروارگانیسم‌ها است و برای نمونه چنانچه لازم باشد تعداد کل میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی شناسایی و شمارش شوند. محیط کشت تلقیح شده باید در شرایط بی‌هوازی قرار گیرد.

۲-۲-۴- محیط کشت اختصاصی^۱: به گروهی از محیط کشت‌ها می‌گویند که به دلیل دارا بودن یک سری از ترکیبات خاص فقط اجازه رشد به یک و یا تعداد محدودی از باکتری‌ها را می‌دهند. ۲-۲-۳- محیط کشت افتراقی^۲: این گروه از محیط‌های کشت دارای ترکیباتی هستند که با توجه به متابولیسم مختلف باکتری‌ها باعث تفکیک و یا جدایی گروه‌های مختلف باکتری‌ها از هم می‌شوند مثل Blood Agar که به کمک آن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زا از هم تشخیص داده می‌شود.

۳-۴- آماده سازی محیط‌های کشت

هنگامی که بخواهیم باکتری‌ها را روی یک محیط کشت جامد رشد دهیم معمولاً از یک ماده جامدکننده به نام آگار در محیط کشت استفاده می‌شود. (آگار یک پلی‌ساکارید پیچیده است که از جلبک دریایی گرفته شده است و به‌عنوان یک قوام‌دهنده‌ی ژله، بستنی و ... مدت‌های طولانی مورد استفاده بوده است) آگار با خواص مهمی که دارد برای میکروبیولوژی باارزش است. تاکنون جانشین مطلوبی برای آگار پیدا نشده است. تعداد کمی از باکتری‌ها می‌توانند آگار را تجزیه کنند بنابراین آگار جامد باقی می‌ماند. آگار در حدود نقطه‌ی جوش آب ذوب می‌شود و در موقع سرد کردن تا 4°C مایع باقی می‌ماند که این خاصیت بسیار مهمی است. برای آزمایشگاه از آگاری استفاده می‌شود که در حمام‌های آب گرم با دمای 5°C نگهداری می‌شود. در این دما اگر آگار بر روی یک مایع تلقیح میکروبی ریخته شود به آن‌ها آسیب نمی‌رساند.

در مواردی که محیط کشت مورد نظر به‌صورت پودر است به اندازه مناسب از آن وزن نموده (مقدار مناسب در روی بسته مشخص شده است)، در داخل ارلن بریزید و بعد از افزودن آب مقطر به اندازه‌ی تعیین شده و حل کردن محیط کشت (به کمک حرارت) و قرار دادن در پیچ و یا درپوش پنبه‌ای و بستن دهانه آن با کاغذ آلومینیومی، ارلن را داخل اتوکلاو قرار دهید و در دمای 121 درجه سانتی‌گراد

۱- Selective media

۲- Differential media

و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع (15PSI) آن را برای مدت حداقل ۱۵ دقیقه استریل نمایید. در مرحله بعد پتری دیش و ظرف کشت‌های استریل شده را که مورد نیاز هستند از آون خارج نموده، داخل لوله فلزی پوششی یا کاغذ آلومینیومی باقی بگذارید تا سرد شوند. سپس محلول محیط کشت استریل شده بعد از قدری سرد شدن (حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد) آماده استفاده است. در این موقع میز کار را با پارچه تمیز نموده، با پنبه‌ی الکلی آلودگی سطح آن را پاک نمایید. بعد از چیدن پلیت بر روی میز و نوشتن نام محیط کشت بر روی درب آن‌ها با بلند کردن دربشان در هر کدام به اندازه‌ای که تمام سطح پلیت را بپوشاند از محلول محیط کشت ریخته، سپس درب آن‌ها را برای مدتی به حالت زاویه‌دار روی لبه آن‌ها قرار دهید. بعد از افزودن مواد محیط کشت به تمام پلیت، درب آن‌ها را به حالت اول برگردانید تا از ورود میکروب‌ها به داخل پلیت جلوگیری شود. پس از سرد شدن و بسته شدن محیط کشت، آن‌ها را تا زمان استفاده داخل یخچال قرار دهید.

خودآزمایی

- ۱- آیا تنظیم pH محیط کشت ضروری است؟ چرا؟
- ۲- چرا رشد بعضی از انواع میکروارگانیسم‌ها روی یک محیط مشخص غیرممکن است؟
- ۳- منظور از محیط کشت چیست و به‌طور کلی چند نوع محیط کشت موجود است؟
- ۴- محیط‌های کشت متمایزکننده را شرح دهید.
- ۵- معمول‌ترین محیط کشت میکروارگانیسم‌ها چیست و از چه موادی ساخته می‌شود؟
- ۶- آگار چیست و چه استفاده‌ای از آن در میکروبیولوژی بعمل می‌آید؟
- ۷- طرز تهیه و آماده‌سازی محیط‌های کشت پودری موجود در بازار را بنویسید.