

## عزل البكتريا من مصادر مختلفة Isolation of Bacteria from different Sources

توجد عدة مصادر لعزل البكتريا التي يكون بعضها متواجد بشكل طبيعي كفلورا طبيعية وبعضها يكون ممرض للإنسان والحيوان ومن تلك المصادر (الانسان، الماء، التربة، الهواء) وغيرها

### ١- الانسان

يحتوي جسم الإنسان على أعداد لا حصر لها من الكائنات الدقيقة، يحتوي الفم على سبيل الذكر على ما يزيد عن ٧٠٠ نوع من الكائنات الدقيقة، والقناة الهضمية تحتوي على ما بين ٥٠٠ و ١٠٠٠ نوع من الكائنات الدقيقة، ويحتوي سطح الجلد على عدد كبير من الكائنات الدقيقة اذ يعد بيئة مناسبة لأنواع كثيرة جداً من هذه الكائنات، يمكن ان تقسم الكائنات المجهرية من حيث تأثيرها على الإنسان إلى:

١- **الفلورا الطبيعية Normal Flora** كائنات صديقة للإنسان تستوطن الأسطح الخارجية والداخلية للإنسان السليم ولا تسبب أي مرض له.

٢- **كائنات ممرضة Pathogenic Microorganisms**: تسبب الامراض للإنسان في حاله سنحت له أي فرصة لإحداث المرض للإنسان.

٣- **كائنات انتهازية Opportunistic Microorganisms**: أشد هذه الأنواع خطراً فهي تعيش داخل الجسم إلا أنه تتحين الفرصة لتضرر الجسم.

تعيش الجماعات الميكروبية في توازن و حدوث خلل في توازن جماعات الفلورا الميكروبية نتيجة تعاطي مضادات حيوية لفترات طويلة أو عقاقير وعوامل أخرى تثبط مناعة الجسم يؤدي إلى سوء تصرف هذه الجماعات وتصبح ضارة وتسمى حينئذ ميكروبات انتهازية.

### فوائد الفلورا الميكروبية:

١- منع الميكروبات الممرضة من الاستيطان.

٢- تزويد الجسم ببعض الفيتامينات وتحويل بعض المركبات الضارة إلى مشتقات غير ضارة.

## أ - الفلورا الطبيعية للفم Normal flora of mouth

الفلورا البكتيرية للفم Oral Bacterial Flora تلعب دوراً كبيراً في أكثر أمراض الفم شيوعاً التهاب اللثة وتسوس الأسنان عندما تتوفر لها ظروف ملائمة منها وذلك بإفرازها للسموم والإنزيمات والأحماض نتيجة لاستهلاك بقايا الطعام التي تبقى في الفم دون عناية صحية.

المواد: القطن، كحول ٧٠%، اطباق بتري تحتوي وسط مغذي، ماسحة قطنية cotton swab

### طريقة العمل

يتم تعقيم اصبع اليد بالكحول وبعد ان يجف يوضع الابهام على سطح سقف الفم ثم تنقل البصمة للابهام الى سطح وسط المغذي وتحضن الاطباق بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة فيلاحظ النمو واشكاله على الوسط بعد التحضين.

كذلك يمكن اخذ مسحة من تجويف الفم او اللعاب بماسحة قطنية cotton swab معقم ونقله الى سطح وسط مغذي وتحضينه بالحاضنة بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة فيلاحظ النمو واشكاله على الوسط بعد التحضين.

## ب - الفلورا الطبيعية للجلد

الاحياء المجهرية التي تتواجد بشكل طبيعي على الجسم أو فتحاته تدعى الفلورا الطبيعية Normal flora تعتبر هذ الكائنات تعايشية commensals لانها لا تضر المضيف بل احيانا تلعب دورا هاما لصالحه .حيث تمنع الكائنات المضرة من مهاجمة الجلد بسبب تنافسها مع الاحياء الممرضة على المواد الغذائية، التعرف على هذ الاحياء الموجودة طبيعيا على الجلد غاية في الاهمية لانها كثيرا ما تصادفنا كملوثات في الهواء ( على خلايا الجلد التي تنتشر باستمرار وتبقى في الجو) من اهم انواع هذه البكتريا:

١ - *Staphylococcus epidermidis* بكتريا خلاياها كروية، وعنقودية التجمع) تحت

(المجهر ) تتواجد طبيعيا على جلد الانسان وبعض الحيوانات.

٢ - *Staphylococcus aureus* على الاقل ٢٠% من الاشخاص يحملون هذ الجرثومة

خاصة في فتحات الانف (بشكل طبيعي ) وهي لا تضر المضيف ولكنها تكون ممرضة عند دخولها إلى داخل الجسم إذ تسبب التسمم الغذائي او الجروح.

٣- *Micrococcus luteus* بكتريا كروية الشكل تتواجد على الجلد لبعض الاشخاص وهي غير ممرضة وتعد من البكتريا الملوثة للهواء

٤- *Propionbacterium acnes* عصيات لا هوائية (يعتقد انها تسبب حب الشباب بسبب عزلها من هذ المناطق).

**المواد:** القطن ، كحول ٧٠% ، cotton swab ، محلول الملح الفسلجي المعقم Normal saline (NaCl في الماء ٠,٩%) ، اطباق nutrient agar.

#### طريقة العمل:

١- تمسح منطقة الجلد من أي جزء (الايدي او فروة الراس) بقطعة قطن مشبعة بالكحول بتركيز ٧٠% لمدة دقيقة ولتطهير المنطقة من الاحياء المجهرية غير المتوطنة (Transient organisms) والتي لا تشكل جزء من الفلورا الطبيعية.

٢- تترك لتجف.

٣- ترطيب swab بالسلاين ويمسح الجلد في منطقة محددة لمدة ١٥ ثانية

٤- يفتح الطبق تحت ظروف معقمة ويلقح سطح الاكار بواسطة ماسحة قطنية swab ويتم التخلص من المسحة بوضعها في بيكر يحتوي على ديتول.

٥- يحضن الطبق في الحاضنة لمدة ٢٤ ساعة عند درجة حرارة ٣٧ ° م.

٦- تفحص الاطباق وتدرس انواع المستعمرات واشكالها و الوانها، قوامها.

ملاحظه: يمكن عزل البكتريا من تجويف الانف باخذ مسحة بواسطة ماسحة قطنية وزرعها على سطح وسط صلب معقم وتحضينه بالحاضنة بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة.

كذلك يمكن عزل البكتريا من الشعر بنقل جزء من الشعرة او اظافر بواسطة مقص معقم الى سطح وسط معقم وتحضن في الحاضنة بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.

## ٢- عزل البكتريا من الهواء والماء

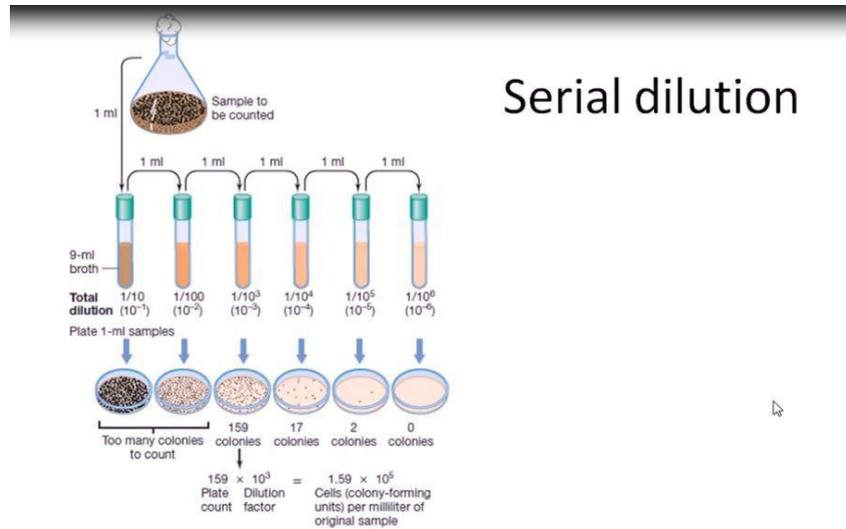
عند عزل البكتريا من الهواء يترك الطبق الذي يحوي وسط معقم مفتوح في المختبر لمدة (١٠-٣٠) دقيقة ثم يغطى ويحضن في الحاضنة وتسجل النتائج اما في حالة اخذ عينة ماء سواء حنفيه او مياه معدنية تنقل حملة ابرة تلقيح من الماء الى سطح وسط معقم بطريقة التخطيط ويحضن الطبق بالحاضنة.

## ٣- عزل البكتريا من التربة

تحتوي التربة على أعداد كبيرة من الاحياء المجهرية من ضمنها البكتريا التي قد تكون هوائية او لاهوائية التي تختلف في اشكالها والوانها وانواعها، توجد عدة طرق لعزل البكتريا من التربة حسب نوع البكتريا اذا كانت هوائية او لاهوائية ومكونة او غير مكونة للأبواغ بعد تحضير تخافيف لإجراء العزل للبكتريا:

## تحضر التخافيف

يوزن ( ١ غم) من نموذج من النماذج المختلفة ( تربة زراعية وتربة رملية ) ويضاف إلى أنابيب اختبار التي تحتوي ٩ مل من الوسط المعقم فنحصل على التخفيف الأول ١/١٠ نجري سلسلة تخافيف أخرى بنقل ١ مل من التخفيف الأول الى أنبوب اخر يحتوي وسط مغذي سائل للحصول على التخفيف الثاني ١/١٠٠ وينقل من هذا التخفيف ١ مل لأنبوب اخر فنحصل على تخفيف ١/١٠٠٠ وكما موضح في الشكل ادناه .



بعد هذه الخطوة توجد طرق للحصول على مزارع نقية للبكتريا منها في حالة البكتريا الهوائية الغير مكونة للأبواغ تستعمل احد الطرق التالية

أ- طريقة التخطيط Streaking Method

٢- طريقة النشر Spreading Method

تصلح هذه الطريقة للحصول على مزرعة نقية من عينة يشك بانها تحتوي عدة أنواع من الاحياء المجهرية حيث في هذه الطريقة ينقل ٠.١ مل من العالق الى سطح وسط اكار مغذي معقم ثم ينشر العالق بناشر زجاجي معقم في اتجاهات متعددة لضمان نشر الخلايا البكتيرية بشكل منفصل ثم تحضن الاطباق لمدة ٧٢ ساعة او اكثر بدرجة (٢٨-٣٠) مئوية.

اما في حالة البكتريا المكونة للأبواغ التي قد تكون هوائية مثل بكتريا جنس Bacillus او لاهوائية مثل جنس Clostridium فيمكن ان تعزل البكتريا الهوائية وكما يلي:

١- بعد ان تحضر التخافيف توضع انابيب التخافيف في حمام حمائي بدرجة ٨٠ مئوية لمدة ٢٠ دقيقة

٢- ينقل من تلك التخافيف المحضرة مسبقا مقدار يتراوح من ٠.١ الى ١ الى الطبق فارغ في حالة بكتريا هوائية غير مكونة للأبواغ ويصب الوسط الصلب المعقم (درجة حرارته ٤٥ مئوية) وتخلط العينة والوسط بتحريك محتويات الطبق افقيا باتجاه وعكس اتجاه عقرب الساعة وتترك يتصلب ويحضن بالحاضنة بدرجة (٣٠) مئوية لمدة اسبوع

٣- يلاحظ شكل المستعمرات والوانها وتسجل النتائج

في حالة البكتريا اللاهوائية تستعمل نفس الخطوات للبكتريا اللاهوائية المكونة للأبواغ فيما عدا النماذج المأخوذة من التربة على عمق ٥٠ سم عن سطح التربة وتستعمل أوساط خاصة للتنمية Thioglycolat-medium ووسط clostridium-medium .