

عزل البكتريا من البيئة

Isolation of bacteria from the environment

كل ما حولنا مليء بالحياة فهناك احياء في الهواء، في التربة، في الماء، الغذاء... الخ . حياة لا نعرف عنها الا القليل ... احياء تنظر اليها كغريسة لها.

أ- طريقة القطرة المعلقة Hunging Drop Slide

كل متر مكعب من الهواء يحتوي على مئات الالاف من البكتريا، الفطريات الخ . عند العطاس يتحرر من 10 ملايين جرثومة. لا عجب ان تنتشر الامراض مثل السل، الانفلونزا، الجدري ... عن طريق الهواء. يذكر ان احد الصواريخ التي اطلقتها روسيا تمكنت من عزل بكتريا من عينة هواء اخذت عن بعد 40 ميل.

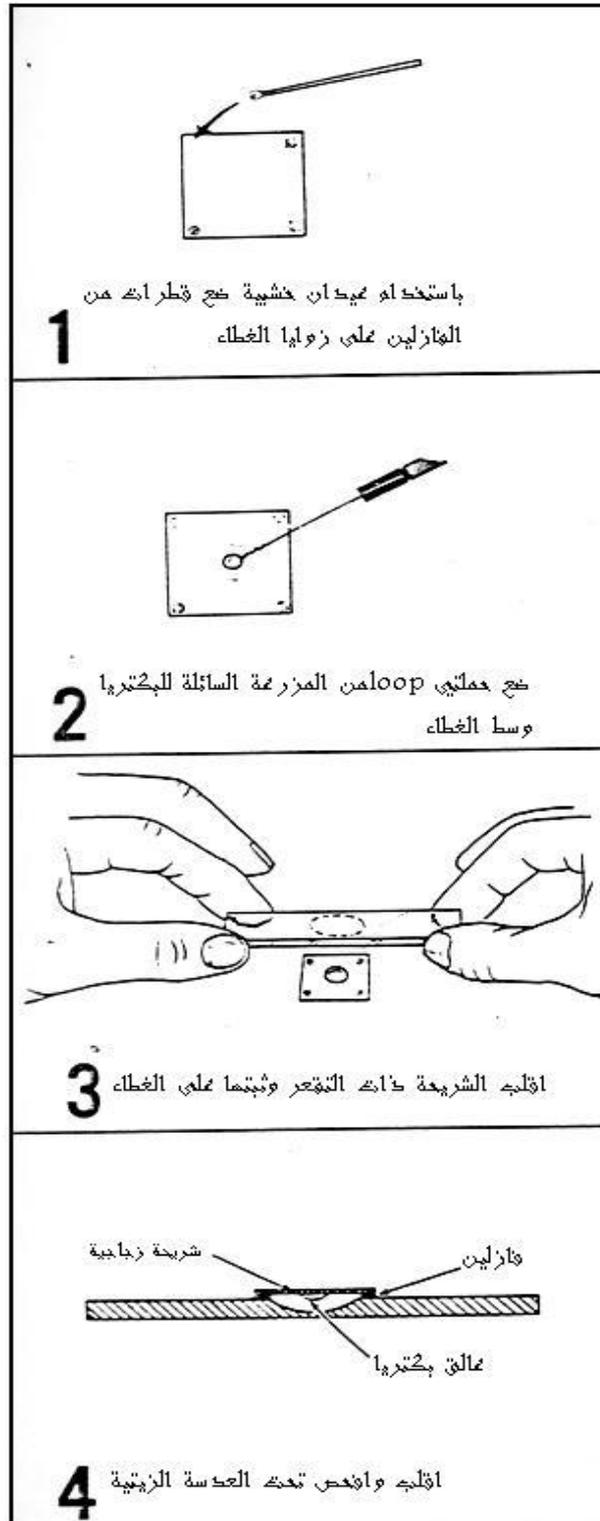
المواد المطلوبة:

- 1- مجهر ضوئي
- 2- Loop
- 3- شريحة القطرة المعلقة Hunging Drop Slide
- 4- Swab
- 5- مزرعة بكتريا في وسط مغذي سائل
- 6- ديتول
- 7- nutrient agar ووسط مغذي صلب nutrient broth ووسط مغذي سائل.

طريقة العمل:

- 1- تعقيم الايدي والمناضد بالمطهر قبل البدء بالعمل.
- 2- تنظيف شريحة القطرة المعلقة بالماء والصابون وتجفف جيدا مع الغطاء.
- 3- تتبع الخطوات الموجودة في (الشكل 3) .
- 4- افحص تحت قوة التكبير 10 ثم حول على قوة التكبير الاعلى. ثم سجل ما تشاهد .

* يجب الاسراع في فحص العينة وذلك لان التأخير قد يؤدي إلى تكاثف الماء المحصور بين الغطاء والشريحة وبالتالي عدم وضوح الرؤية اضافة إلى تباطؤ حركة البكتريا مع مرور الوقت.



(شكل 3) خطوات تحضير القطرة المعلقة

ب- الفلورا الطبيعية للجلد Normal skin flora

الاحياء المجهرية التي تتواجد بشكل طبيعي على الجسم أو فتحاته تدعى الفلورا الطبيعية، Normal flora، تعتبر هذه الكائنات تعايشيه commensals لأنها لا تضر المضيف بل احيانا تلعب دورا هاما لصالحه. حيث تمنع الكائنات المضرة من مهاجمة الجلد بسبب تنافسها مع الاحياء الممرضة على المواد الغذائية، اضافة الى ان بعضها قد ينتج انزيمات أو مواد مثبطة للكائنات الغريبة على الجسم. التعرف على هذه الاحياء الموجودة طبيعيا على الجلد غاية في الاهمية لأنها كثيراً ما تصادفنا كملوثات في الهواء (على خلايا الجلد التي تنتشر باستمرار وتبقى في الجو). من اهم انواع هذ البكتريا:

1- *Staphylococcus epidermidis*

كروية، وعنقودية التجمع (تحت المجهر) تتواجد طبيعيا على جلد الانسان وبعض الحيوانات.

2- *Staphylococcus aureus*

على الاقل 20% من الاشخاص يحملون هذه 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

3- *Micrococcus luteus*

كروية تتواجد على الجلد لبعض الاشخاص وهي غير ممرضة. وهي احد الجراثيم الملوثة للهواء.

4- *Propionbacterium acnes*

عصيات لا هوائية (يعتقد انها تسبب حب الشباب بسبب عزلها من هذه المناطق).

5- *propionbacterium granulosum* عصيات غير ممرضة.

المواد المطلوبة:

1- القطن.

2- كحول 70%.

3- cotton swab

4- محلول الملح الفسلجي المعقم saline (NaCl % 0.9 في الماء).

5- اطباق nutrient agar .

طريقة العمل:

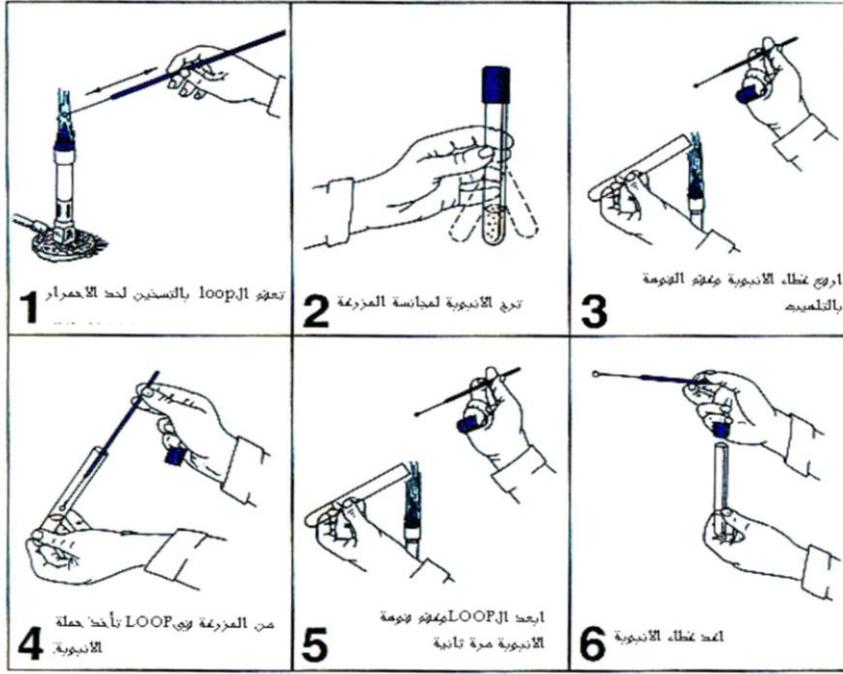
- 1- تمسح منطقة الجلد بقطعة قطن مشبعة بالكحول بتركيز 70% دقيقة ولتطهير المنطقة من الاحياء المجهرية غير المتوطنة (Transient organisms) والتي لا تشكل جزء من الفلورا الطبيعية.
- 2- تترك لتجف.
- 3- ترطب الـ swab بالسلاين ويمسح الجلد في منطقة محددة لمدة 15 ثانية.
- 4- يفتح الطبق تحت ظروف معقمة ويلقح سطح الاكار بواسطة مسحة القطني ويتم التخلص من المسحة بوضعها في بيكر يحتوي على ديتول.
- 5- يحضن الطبق في الحاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37° م.
- 6- تفحص الاطباق وتدرس انواع المستعمرات واشكالها ما الوانها، قوامها.. اما لدراسة الفلورا في الهواء يترك الطبق مفتوح في المختبر لمدة نصف ساعة ثم يغلق ويحضن بنفس الطريقة.

طرق نقل وعزل البكتريا تحت ظروف معقمة

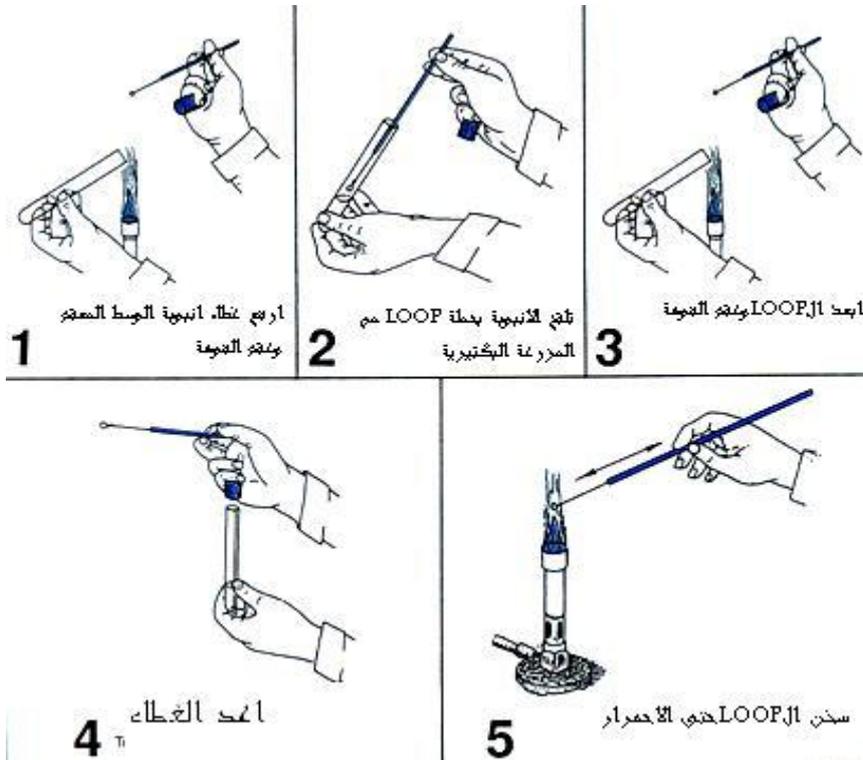
تتواجد البكتريا في الطبيعة في بيئات مناسبة لها من درجة حرارة و PH و رطوبة الخ. اما في المختبر فتنمى البكتريا على مواد تدعى الاوساط الزرعية. تدعى الاداة التي تستخدم لنقل البكتريا من مكان إلى اخر بـ loop وهي عبارة عن سلك من البلاتين أو الكروم + النيكل حيث تتميز هذ المعادن بانها تسخن بسرعة وتبرد بسرعة.

طريقة العمل:

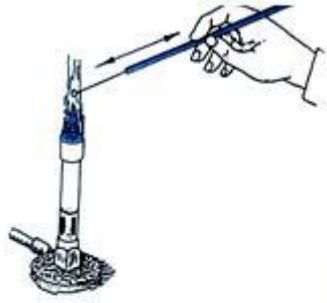
بعد غسل وتعقيم اليدين والمنضدة تتبع الخطوات المبينة في (الاشكال 4-7) تحت اشراف التدريسي.



(شكل 4) طريقة نقل البكتريا من مزروع سائل.



(شكل 5) طريقة تلقح الوسط المغذي السائل

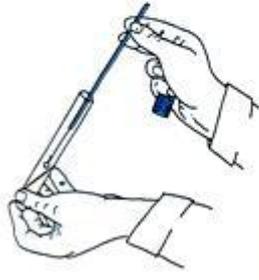


1 سخن ال LOOP حتى الاحمرار



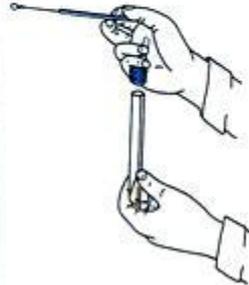
2

ارفع غطاء طبق بتري قليلا ثم انقل جزء من مستعمرة البكتريا بواسطة ال LOOP



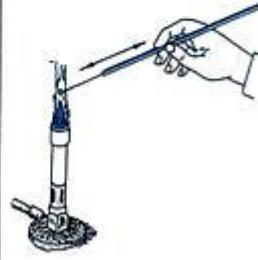
3

نحو نقطة الوسط المائل ثم لفتح سطح الوسط بالتخطيط



4

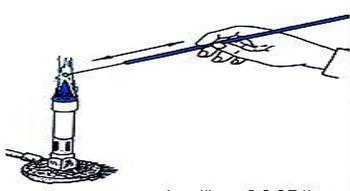
نحو النقطة واعد الغطاء



5

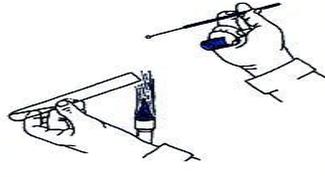
سخن ال LOOP واعد ما بي مكانها

(شكل 6) طريقة تلقح مائل الاكار المغذي من طبق بتري



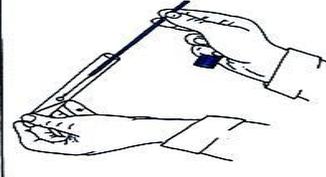
1

سخن ال LOOP حتى الاحمرار



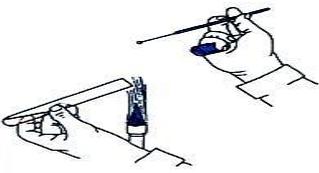
2

ارفع غطاء انبوية المزرعة المائلة وخذ التوتمة



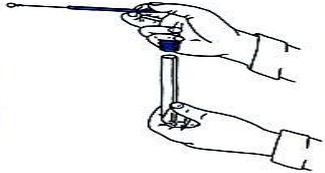
3

خذ جزء من المزرعة بواسطة ال LOOP



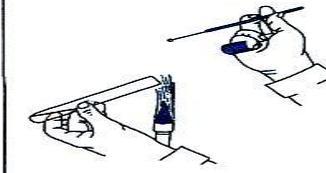
4

نحو نقطة الانبوية



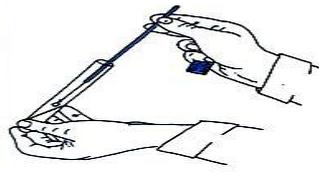
5

اعد غطاء المزرعة المائلة



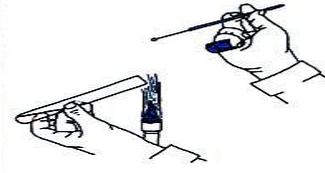
6

خذ انبوية اخرى لوسط الاشار المائل وخذ التوتمة



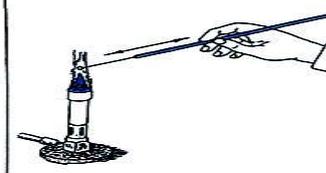
7

لوح السطح المائل للوسط بالتخطيط



8

نحو نقطة الانبوية. اعد الغطاء وخصن



9

سخن ال LOOP حتى الاحمرار

(شكل 7) طريقة تلقح مائل الاكار من مزرعة مائلة