استعراض لأهم الأجهزة والأدوات المستخدمة في مختبر الفطريات :

١. المجهر Microscope

يعتبر المجهر من أهم الأدوات المستخدمة في علم الأحياء ، نظراً لاستخدامه في دراسة الأجسام الدقيقة التي لا ترى بالعين المجردة ، فهو يمكننا من رؤية التفاصيل الدقيقة التي للعينة المراد الكشف عنها وبما إن هذه الأداة ثمينة وحساسة لذا يجب التعامل معها بدقة وحذر .

٢. الحاضنة Incubator

وتستخدم لتنمية الفطريات عند درجة الحرارة المثلى لنموها أو قريبة منها والتي تتراوح بين (٢٥–٣٥) م° حسب النوع الفطري .

٣. الثلاجة Refrigerator

تستخدم الثلاجة لحفظ العزلات الفطرية لفترة من الزمن وذلك من خلال درجة حرارتها الواطئة التي تتراوح بين (٤ - ٨) م° حيث تعمل على تثبيط نمو الفطريات Inhibition of growth . إذ ان استمرار نمو الفطريات يؤدي إلى استهلاك المواد الغذائية في بيئة الزرع Culture Media وبالتالي موتها .

٤. الفرن Oven

ويستخدم لتعقيم كافة الأدوات الزجاجية المستخدمة في مختبر الفطريات كأطباق بتري ، أنابيب الاختبار Test Tube ، الماصات Pipettes ، دوارق Flasks . . . الخ .

٥. جهاز التعقيم بالحرارة الرطبة Autoclave

وهو جهاز يشبه قدر الضغط من حيث العمل ويستخدم لتعقيم الأوساط الغذائية كافة كالوسط PDA والوسط SDA وكذلك يستخدم لتعقيم التربة والماء . . . الخ .

٦. الحمام المائي Water Path

ويستخدم لإذابة الأوساط الغذائية والمحافظة على درجة حرارة معينة للوسط الغذائي .

٧. غرفة العزل Isolation Chamber (Hood)

عبارة عن صندوق زجاجي مغلق تقريباً ، توجد في مقدمته الأمامية فتحتين دائريتين لإدخال الأيدي لغرض عزل الفطريات ، كما يحتوي عل ساحب هواء لسحب التيارات الهوائية المحملة ببعض سبورات الفطريات Spores .

٨. أدوات معدنية يدوية

a. إبرة التلقيح Needle

b. الملقط Forceps

c. حامل Rack

٩. أدوات زجاجية

a. أطباق بتري Petri Dish

b. ماصات مختلفة Pipettes

C. أنابيب اختبار Test Tube

D. أنابيب حفظ العزلات Slants
e. دوارق بأحجام مختلفة Conical Flasks and Volumetric Flasks
f. اسطوانات بأحجام مختلفة Cylinders
g. أوعية مختلفة الأحجام Beakers

التعقيم Sterilization

يعرف مصطلح التعقيم في علم الأحياء الدقيقة بأنه الحالة التي تصبح فيها المواد والعينات خالية من أي نوع من أنواع الحياة المتمثلة عادة في خلايا البكتريا أو ابواغها أو الغزل الفطري وابواغه .
أما التطهير فهو العملية التي تتحطم فيها الأحياء الدقيقة القادرة على إحداث الإصابة أو إحداث أي تأثير غير مرغوب فيه (تلوث Contamination) ، أو يتوقف نشاطها ، وبعبارة أخرى هو تقليل حجم المواد البيولوجية بحيث تصبح غير مؤثرة .
هنالك معايير معينة يجب أن تراعى أثناء عمليات التعقيم ، حيث يوجد تركيبين في الأحياء الدقيقة هما الابواغ المقاومة والخلايا الخضرية ، وفي أي عملية تعقيم يجب أن يكون الهدف منصب تجاه قتل الابواغ المقاومة (Resistant Spores) .

طرق التعقيم Sterilization Methods

- ❖ طرق فيزيائية Physical Methods
- ❖ طرق كيميائية Chemical Methods
- ❖ طرق ميكانيكية Mechanical Methods

- تقسم طرق التعقيم الفيزيائية إلى قسمين :

١. التعقيم بالحرارة Sterilization By Heat

تعتبر الحرارة من أكثر الوسائل المفضلة في تعقيم المواد ، عدا المواد التي تتأثر بالحرارة ، يعتبر التعقيم بالحرارة سواء الجافة أو الرطبة أكثر فعالية من طرق التعقيم الأخرى كالتعقيم بالكيمياويات أو بالإشعاع ، ويعود السبب في ذلك ان التعقيم بالحرارة هو تعقيم غير انتقائي بمعنى ان كل الكائنات المنتجة للأبواغ تكون حساسة للحرارة ، وتأثير الحرارة يكون نتيجة لإفساد البروتينات ونزع مجموعة أمينيه من جزيئات الأحماض النووية . وعموما فان إفساد البروتين أو تمزيق جدار الخلية يعتبر دليلا كافيا على كفاءة التعقيم .

a. التعقيم بالحرارة الرطبة (البخار المضغوط pressed steam)

وتتم هذه العملية باستخدام جهاز خاص يشبه قدر الضغط من حيث العمل يسمى Autoclave ، وتحت الضغط المرتفع فان البخار تصل درجة حرارته أعلى من ١٠٠ م° وفي التعقيم الطبيعي الذي يتم داخل المختبر فان درجة الحرارة تكون مضبوطة على ١٢١ م° ولمدة ١٥ – ٣٠ دقيقة حسب المواد والعينات التي يراد تعقيمها .

يتكون جهاز Autoclave من خزان للماء المقطر (لكي لا تترسب الأملاح على جدران الحوض والسخانات) وهذا الجهاز مزود بسخان كهربائي Heater لتسخين الماء إلى درجة الغليان فيبدأ البخار بالخروج من صمام الأمان ، ويجب عدم إغلاق صمام الأمان إلا بعد أن يرتفع الضغط إلى ٥ بار لطرد الهواء المحصور ، ثم نغلق الصمام فيبدأ الضغط بالارتفاع إلى أن يصل إلى ١٥ بار وعند درجة حرارة ١٢١ م° . ثم نقطع التيار الكهربائي ونترك الجهاز ليبرد تدريجيا مع فتح صمام الأمان لتسريع العملية ، ولا نفتح الجهاز بعد أن ينخفض الضغط إلى الصفر .

ومن الأشياء التي يتم تعقيمها داخل هذا الجهاز ، الأوساط الغذائية Culture Media ، الأواني الزجاجية ، الماء المقطر D.W ، المحاليل الملحية ، كما ويستخدم هذا الجهاز في إتلاف المزارع الفطرية منعا لانتشارها وحصول التلوث .

b. التعقيم بالحرارة الجافة Dry Heat

يعتبر استعمال الحرارة الجافة طريقة شائعة في مختبرات الأحياء ألمجهريه والعيادات والمستشفيات ، وتستعمل لتعقيم الماصات الزجاجية وأطباق بتري والأدوات الجراحية حيث يتم تعريضها لدرجة حرارة ١٨٠ م° لمدة ١-٢ ساعة داخل الفرن أو معقم الهواء الساخن Oven . والمعقمات الحديثة مزودة بمراوح لتوزيع الهواء الساخنة بالدخل بالتساوي كما أنها أيضا مزودة بأجهزة تحكم أوتوماتيكية لدرجة الحرارة والزمن.

أثناء التعقيم بالحرارة الجافة لابد من توافر كمية عالية من الحرارة مقارنة بجهاز Autoclave لكي يتم قتل الأحياء الدقيقة ، حيث ان درجات الحرارة المنخفضة مع قصر فترة التعرض يؤدي إلى جفاف الخلايا دون تحطمها وإفساد بروتينها ، وللتأكد من قتل هذه الأحياء الدقيقة لا بد من رفع درجة الحرارة وزمن التعريض .

C. التعقيم باللهب المباشر

هي العملية التي يتم فيها تعريض العينات (غير القابلة للاشتعال) للهب المباشر لغرض التعقيم . لان الأحياء الدقيقة ستحترق وتزال تماما بواسطة اللهب ، وتعقم بهذه الطريقة إبرة التلقيح Needle ، ابر التلقيح ذات الحلقة Loop ، فوهات الدوارق المحتوية على الأوساط الغذائية ، وفوهة أنابيب الاختبار . وفي معظم الحالات فان مصباح بنزن يكون هو مصدر اللهب .

٢. التعقيم بالإشعاع Sterilization By Radiation

a. التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet Radiation

الضوء الذي تتراوح أطوال موجاته من ١٠٠ – ٤٠٠ نانومتر يطلق عليه الضوء فوق البنفسجي ، ان الأطوال خاصة التي تقارب ٢٦٠ نانومتر لها أهمية بايولوجية ، حيث انها تمتص بواسطة جزيئات الحامض النووي DNA والطاقة الضوئية التي يتم امتصاصها تسبب تعاقب في ترتيب جزيئات هذا الحامض مما يؤدي إلى إحداث طفرة Mutation ينتج عنها موت الأحياء الدقيقة ، الضوء فوق البنفسجي جاهز للامتصاص بواسطة المواد السائلة والصلبة وبالتالي فانه يستعمل في التعقيم السطحي لمساحات العمل وفي غرف التلقيح والمستشفيات وصالات العمليات .

b. التعقيم بالإشعاع المشرد Ionizing Radiation

تستعمل الأشعة السينية (X-Ray) وأشعة كاما وأشعة الكاثود لتعقيم الأجهزة والمعدات قبل التعبئة مثل أطباق بتري البلاستيكية ، المحقنات ، والعديد من المعدات الجراحية الاستبدالية Disposable الأخرى .

الإشعاع المشرد له طاقة عالية وقدرة اختراق كبيرة بالمقارنة مع الضوء فوق البنفسجي ولكن استعماله محدود بسبب خطورته وتكلفته العالية .

- **التعقيم بالطرق الكيمياوية :**

ليست كل المواد والعينات يمكن تعقيمها بالطرق الفيزياوية وفي هذه الحالة ينصح باستعمال الطرق الكيمياوية في التعقيم ، وهناك مواد مختلفة مستعملة لهذا الغرض منها الكحول الاثيلي بتركيز ٧٠% والكلور ومركباته كالقاصر (هايبوكلورات الصوديوم) والفورمالدهيد ، وتستعمل هذه المواد لتعقيم أسطح المناضد والأيدي وغير ذلك .

- **التعقيم بالطرق الميكانيكية :**

التعقيم بالترشيح Sterilization by Filtration

هناك بعض المواد يخشى عليها من التحلل إذا ما عوملت بطرق التعقيم السابقة كاليوريا ومصل الدم وغيرها ، لذا يتم تعقيم هذه المواد بواسطة مرشحات خاصة لا تسمح للخلايا البكتيرية من والجسيمات الدقيقة بالمرور من خلالها . وهذه المرشحات مصنوعة من مواد سليلوزية (Cellulose Acetate) وبها مسام مختلفة الأحجام ، ان الترشيح الدقيق باستعمال مرشحات تحتوي على أغشية دقيقة الثقوب يسمح بالحصول على راشح خالي تماماً من جسيمات الفيروسات .