

المحاضرة السادسة

عزل وتنمية الأحياء المجهرية

تنتشر الأحياء المجهرية في طبيعة بصورة واسعة جداً وتوجد في أماكن مختلفة منها، مثلاً بالماء والهواء وعلى سطوح الأشجار وفي النباتات وأجسام الحيوانات وجسم الإنسان وفي الينابيع الحارة وفي المناجم على الرغم من تواجد الأبخرة والغازات السامة إلا أنها تستطيع النمو في هذه البيئات.

كيف يمكن عزل الأحياء من تلك المصادر؟

يمكن عزل الأحياء المجهرية الموجودة بالهواء وذلك بتحضير طبق يحتوي على وسط غذائي مناسب ونفتح الطبق في أحد جوانب المختبر ونتركه لمدة 5-10 دقائق، بعد ذلك نغلق الطبق ويوضع بالحاضنة بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة. بعدها نلاحظ نمو المستعمرات البكتيرية والأحياء المجهرية.

بينما يمكن أن نعزل من مناطق أخرى مختلفة مثلاً (جسم الإنسان، الشعر، البلعوم، الفم، الأسنان، الصدرية..... الخ) نستخدم وسط غذائي معقم ونستعين بـ swab وهي عبارة عن قضيب خشبي يحمل في نهايته قطعة من القطن، نضع السواب على الجزء المراد عزل الأحياء المجهرية منه ويخطط على الوسط ونوزعه، ثم نضع الطبق بالحاضنة بصورة مقلوبة لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م°.

طرق عزل وتنقية الأحياء المجهرية:

توجد الأحياء المجهرية في الطبيعة بصورة مختلفة فعند عزل هذه الأحياء من الهواء نحصل على أنواع وأجناس مختلفة منها ويطلق على هذا النوع من المزارع بالمزارع المختلطة mixedculture وهي المزارع الحاوية على أنواع مختلفة من الأحياء المجهرية، وللحصول على مزرعة نقية pure culture (وهي المزرعة الحاوية على نوع واحد فقط من الأحياء المجهرية).

طرق الزرع والعزل البكتيري:

1- تخطيط الأطباق Streak plating

عندما نضع المزارع البكتيرية على سطح الأجار بواسطة أبره الزرع ذات العقدة Loop أو

منحنية الطرفان إن هذا يسمى تخطيطاً .

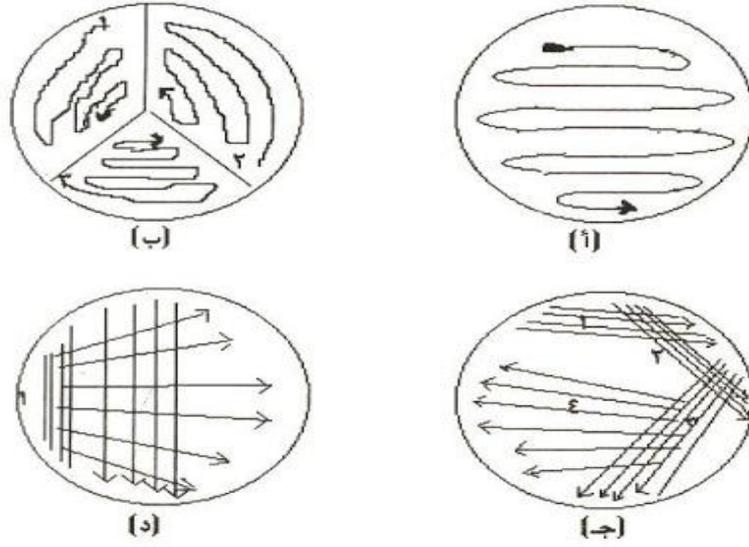
يمكن عمل الأطباق المخطوطة بأكثر من طريقة لتعطي نتائج ممتازة إذا أجريت بدقة وإن الهدف من الأطباق المخطوطة هو الحصول من معلق البكتريا المركز علي مستعمرات منفصلة تماما وعند التلقيح فإن الخلايا الكثيرة المتزاحمة الموجودة في بداية التخطيط تكون مستعمرات قريبة جدا من بعضها ولكن باستمرار التخطيط فإن أعدادها تصبح أقل فأقل .

طريقة التخطيط الأولي:

- 1- عقم اللوب في اللهب حتى الاحمرار ثم أتركها لتبرد 20-30 ثانية.
- 2-أغمس اللوب في المزرعة السائلة المراد زرعها وانقل المستعمرة الي طبق آخر.الخاص بالزرع والمحتوي على الوسط الزراعي الصلب .
- 3- أبدأ بالتخطيط بادئا من الجهة البعيدة عنك في الطبق ثم سر باللوب في اتجاهك ملامسا سطح الأجار ذهابا وإيابا من حافة الي حافة مكونا خطوطا متوازية تبعد عن بعضها حوالي نصف سنتيمتر.
- 4-عندما تصل الي منتصف الطبق لف الطبق 180 درجة واستمر في التخطيط متجها الي الجهة البعيدة عنك هذا التغير في الاتجاه لتجنب تعارض اللوب مع حافة الطبق.
- 5- غط الطبق بغطائه الممسوك بيدك الأخرى.
- 6-حضن الطبق في درجة الحرارة المطلوبة لمدة 24 ساعة.

طريقة التخطيط الثاني:

- 1- عقم اللوب في اللهب حتى الاحمرار ثم أتركه ليجرد 20-30 ثانية ومن ثم اعمل خطين أو ثلاثة أو أربعة خطوط متوازية.
- 2-عقم مرة أخرى باللهب ثم أعمل خطوط عمودية علي الخطوط الأولي.
- 3- عقم وكرر العملية وبهذا أنك تحقق نفس النتيجة الطريقة الأولي وهي تخفيف المزرعة .
- 4- غط الطبق بغطائه الممسوك بيدك الأخرى.
- 5- حضن الطبق في درجة الحرارة المطلوبة لمدة 24 ساعة.



الطرق المتبعة في تخطيط سطح الآجار .

يجب تحضين الأطباق وهي مقلوبة والغرض من ذلك تجنب تكاثف الماء علي الغطاء من الداخل ثم سقوطه علي المجاميع البكتيرية النامية فيسبب انتشارها وتداخلها مما يصعب عملية الفصل في أشكال المستعمرات.

2- طريقة النشر Spread method

يستخدم في هذه الطريقة الاوساط الصلبة اذ يحضر الوسط الغذائي الصلب ويعقم بعدها يصب في اطباق بتري وبعد ان تتصلب ثم يؤخذ اما بواسطة الماصة المعقمة او المايكروبايبيت 0.1 مل من المزرعة السائلة الحاوية على معلقات بكتيرية (كالحليب السائل ومياه المستنقعات او ماء الحنفية الخ) في وسط طبق بتري وبواسطة الناشر الزجاجي نبدأ بنشر المعلق البكتيري في جميع اتجاهات الطبق بعدها يوضع الطبق بالحاضنة بدرجة حرارة 37م° ولمدة 24 ساعة بعدها يلاحظ نمو المستعمرات المختلفة بالأشكال والالوان الخاصة وبالتالي ممكن عدّها وتشخيصها.

3-طريقة الزرع على السطح المائل: Slant method

Slant: عبارة عن انبوبة اختبار تحتوي على وسط غذائي متصلب بصورة مائلة وتستعمل هذه الطريقة لعزل وحفظ المزارع البكتيرية ، وان تصلب الوسط الغذائي بصورة مائلة بالانبوبة يعطي مساحة اكبر لنمو البكتريا عليه ويسهل تلقیح الوسط بالأحياء المجهرية. ويتم تحضير

السلانت بتهيئة وسط غذائي مناسب وصبه في انبوبة اختبار ثم نضع الانبوبة بصورة مائلة الى ان يتصلب الوسط بعدها يعقم اللوب بالحرارة ويؤخذ بواسطة قطرة من المحلول المحتوي على البكتريا المراد فحصها وتنشر القطرة بشكل حلزوني على سطح الوسط المائل باستخدام اللوب وتحضن الانبوبة بدرجة 37م لمدة 24-48 ساعة ويلاحظ النمو عليها .

4-طريقة الصب Pour method

تستعمل هذه الطريقة للحصول على مزرعة نقية من مزرعة نامية عليها انواع مختلفة من الاحياء المجهرية وتختلف هذه الطريقة بنقل الاحياء المجهرية الى الوسط الغذائي وهو بحالته السائلة قبل ان يتصلب وكما بالخطوات التالية:

- 1-يحضر الوسط الغذائي ويعقم بعدها يوزع الوسط في انابيب اختبار بعد ترقيمها كل انبوبة تحتوي على 12-15 مل من الوسط الغذائي
 - 2-يعقم اللوب ونقل بواسطته قطرتين من محلول يحتوي على البكتريا المراد فحصها الى انبوبة الاختبار رقم (1) .
 - 3-نعقم اللوب مرة ثانية. وننقل بواسطته قطرتين من الانبوبة رقم (1) الى الانبوبة رقم (2) ونرجها
 - 4-نكرر العملية بنقل قطرتين من الانبوبة رقم (2) الانبوبة رقم (3)
 - 5-نتترك الانبوبة رقم (4) بدون تلقيح ونستعملها للمقارنة control
 - 6-نسكب محتويات كل انبوبة اختيار في طبق بتري معقم ونتركها حتى تتصلب الوسط الغذائي وهو في انبوبة الاختبار يجب اجراء خطوات العمل اعلاه بصورة سريعة كما يمكن سكب الوسط الغذائي في الطبق مباشرة بعد نقل القطرات في كل خطوة.
 - 7-نحضن الاطباق على حرارة 37م لمدة 24 ساعة وبعدها نلاحظ النمو
- ملاحظة: اثناء عملية التخطيط على الوسط الصلب سواء في الطبق أو على السلانت يجب مراعاة عدم تخديش سطح الوسط الغذائي.