

المادة: مبادئ الاحياء المجهرية العملي
أستاذ المادة: أ.م. سهيله جواد كاظم
قسم علوم التربة والموارد المائيه
كلية الزراعة/ جامعة البصرة

العراق

suhailajowad@gmail.com

تثبيط الأحياء المجهرية : Microorganisms Inhibition

يتعرض الانسان والحيوان الى الامراض والعدوى منذ الاف السنين . ان اختراع اول مجهر بدائي في عام 1664 ادى الى اكتشاف الاحياء المجهرية ومنذ ذلك الوقت بدأ فهم طبيعة الأحياء المجهرية وقابليتها على احداث الامراض والعدوى وقد ازدادت معرفة الأحياء المجهرية بسبب تطوير المجاهر واتباع التقنيات التحليلية الحديثة . ونتيجة لذلك تم السيطرة على الأحياء المجهرية او تثبيطها اي خفض اعدادها او شل نشاطها ونموها ، ثم القضاء عليها او ازلتها كلياً او جزئياً . اذن يجب تثبيط نمو البكتريا لمنع انتقال الامراض والعدوى ووقف التحلل والتلف ومنع التلوث الجرثومي غير المرغوب فيه .

ان الاهداف الرئيسية لتثبيط او السيطرة على الاحياء المجهرية هي :

- 1 - منع انتقال الامراض والعدوى .
- 2 - منع التلوث ونمو الاحياء المجهرية غير المرغوب فيها .
- 3 - منع تحلل وتلف المواد بواسطة الاحياء المجهرية.

هناك عدة عوامل فيزيائية وكيميائية تؤثر في نمو الاحياء المجهرية يمكن من خلالها تثبيط الاحياء المجهرية والسيطرة عليها ، تشمل العوامل الفيزيائية درجات الحرارة والـ pH والجفاف والضغط الازموزي والاشعاع والترشيح . أما العوامل الكيميائية فتشمل استخدام المطهرات والمعقمات والمضادات الحيوية والمواد الكيميائية المختلفة .

سوف نقوم بدراسة بعض هذه العوامل في المختبر وهي :

1-درجة الحموضة (pH) :

تعتبر درجة الحموضة من العوامل المؤثر في نمو الاحياء المجهرية فتوقف الحموضة الشديدة او القلوية الشديدة نمو الاحياء المجهرية وعموما تفضل اغلب انواع البكتريا الـ pH القريب من التعادل 6.5-7.5 و افضل pH لنمو الفطريات هو 3.5-4 ويمكن بيان تأثير الحموضة بالتجربة التالية :

- 1- حضر مجموعتين من انابيب الاختبار تحتوي على الوسط الغذائي N.B. وذات قيم pH (3 و5 و7 و9) .
- 2- لقم المجموعة الاولى ببكتريا *E. Coli* والمجموعة الثانية بالخميرة *Saccharomyces cerevisiae* .
- 3- احضن انابيب المجموعة الاولى في درجة حرارة 35-37 م° والمجموعة الثانية 25-30 م° .
- 4- افحص النمو في الانابيب بعد يومين ودون النتائج مشيرا الى النمو الممتاز (+++) والمتوسط (++) والضعيف (+) اما اذا لا يوجد نمو فتضع العلامة (-).
- 5 -بين قيم الـ pH الملائمة لنمو بكتريا *E. Coli* والخميرة *Saccharomyces* واي قيمة pH قد تثبتت او اوقفت نموها .

النوع	قيم الـ pH			
	3	5	7	9
<i>E.coli</i>				
<i>Saccharomyces</i>				

2 - درجة حرارة : Temperature

أ- درجة حرارة الحضانة Incubation temperature

تعتبر الحرارة من اهم العوامل البيئية المؤثرة في نمو الاحياء المجهرية وتنمو الاحياء المجهرية ضمن الدرجة الحرارية المثلى optimum في ظروف حرارية متباينة فمثلا بعضها يفضل الدرجات الحرارية المنخفضة Psychrophiles واهياء مجهرية تفضل الحرارة المتوسطة Mesophiles وهناك احياء مجهرية تفضل الحرارة المرتفعة Thermophiles ولبيان تأثير درجة حرارة الحضانة في تثبيط النمو اجري التجربة التالية :

- 1- حضر مجموعتين من الانابيب تحوي على الوسط الغذائي Nutrient Broth .
- 2- لقم المجموعة الاولى ببكتريا *Escherichia coli* والثانية ببكتريا الـ *Bacillus* .
- 3- احضن الانبوبة الاولى من كل مجموعة في الثلاجة (4-6)°م والانبوبة الثانية في الحاضنة (35-37)°م والثالثة في درجة (55-60)°م .
- 4- افحص النمو في الانابيب بعد يومين ودون النتائج مشيرا الى النمو الممتاز(+++) والمتوسط(++) والضعيف(+) اما اذا لا يوجد نمو فتضع العلامة (-) . ورتب النتائج كما في الجدول التالي مبينا الدرجات الحرارية المثبطة للنمو لكل من هذه الكائنات .

النوع	درجة الحرارة °م		
	4-6	35-37	55-60
<i>E. coli</i>			
<i>Bacillus</i>			

ب- تأثير درجة الحرارة العالية في نمو الاحياء المجهرية : Effect of high temperature on the growth of microorganisms

ان درجة الحرارة المنخفضة تثبط او توقف نمو وتكاثر الاحياء المجهرية ولكن في الغالب لا تقتل البكتريا ، اما درجات الحرارة العالية فتكون قاتلة للعديد من الاحياء المجهرية .

يمكن بيان تأثير درجة الحرارة العالية في في الاحياء المجهرية من خلال التجربة التالية :

1 - حضر مجموعتين من انابيب الاختبار المحتوية على الوسط الغذائي Nutrient Broth بحيث تتكون كل مجموعة من ثلاث انابيب اختبار .

2 - لقم المجموعة الاولى من الانابيب ببكتريا *Escherichia coli* ولقم المجموعة الثانية ببكتريا الـ *Bacillus* .

3 - اترك الانبوبة الاولى من كل مجموعة بدون تسخين لتستعمل كمقارنة (control) .

4 - سخن الانبوبة الثانية من كل مجموعة في حمام مائي على حرارة 60 °م ولمدة 10 دقائق ثم بردها مباشرة بماء الحنفية .

5 - سخن الانبوبة الثالثة من كل مجموعة في حمام مائي على حرارة 100 °م ولمدة 10 دقائق ثم بردها بماء الحنفية .

6 - احضن جميع الانابيب حرارة (35 - 37) °م لمدة يومين .

7 - بعد انتهاء فترة الحضانة دون النتائج كما في الجدول التالي مشيرا الى النتائج التي تحتوي على نمو ميكروبي بعلامة (+) والتي ليس فيها نمو بعلامة (-) .

كثافة النمو			الكائن المجهرى
100°م	60°م	بدون تسخين	
			<i>E. coli</i>
			<i>Bacillus</i>

3 – المطهرات والمواد المعقمة : Antiseptics and Disinfectants

المطهرات Antiseptics هي مواد تستعمل من اجل تثبيط فعل الاحياء المجهرية اما المعقمات Disinfectants فهي مواد تستعمل من اجل القضاء على الاحياء المجهرية . يمكن استعمال بعض المواد في تركيز معين كمطهر وفي تركيز اعلى يستعمل كمعقم مثلا يستعمل الفينول بتركيز 0.2% كمادة مطهرة ولكن يستعمل بتركيز 1% كمادة معقمة .

يمكن اجراء التجربة التالية لمعرفة تأثير بعض هذه المواد في نمو الاحياء المجهرية :

1 – حضر المواد التالية وحسب التراكيز المبينة

أ- بيروكسيد الهيدروجين 3% hydrogen peroxide

ب- فينول 0.5 % phenol .

ج- كحول ايثيلي 70 % ethyl alcohol

2 – اصف 5 سم³ من المادة الكيميائية الى انبوبة اختبار معقمة .

3 – اصف 0.5 سم³ من المحتوى على البكتريا الى انبوبة الاختبار ورج الخليط جيدا .

4 – بعد مرور 2.5 دقيقة انقل قطرتين من الخليط بواسطة اللوب الى انبوبة اختبار تحتوي على الوسط الغذائي

Nutrient Broth ثم انقل قطرتين بعد مرور 5 دقائق الى انبوبة اختبار اخرى ، كرر العملية بأخذ قطرتين بعد

مرور 10 دقائق .

5 – انقل قطرتين من محلول البكتريا فقط الى انبوبة اختبار رابعة محتوية على Nutrient Broth لتستعمل

كمقارنة .

6 – كرر خطوات العمل (1 – 5) باستعمال مادة كيميائية اخرى .

7 – احضن الانابيب في الحاضنة على حرارة (35 – 37) °م ولمدة 48 ساعة .

8 – بعد فترة الحضانة افحص النمو في الانابيب مشيرا الى التي فيها نمو بعلامة (+) والتي لا يوجد فيها نمو

بعلامة (-) ودون النتائج كما في الجدول التالي :

كثافة النمو				المادة الكيميائية وتركيزها	الكائن المجهرى
فترة بقاء المادة الكيميائية (دقيقة)					
10	5	2.5	0		
					<i>E. coli</i>
					<i>Bacillus</i>

4 - المضادات الحيوية : Antibiotics

تتواجد الاحياء المجهرية عادة في بيئتها الطبيعية مختلطة مع غيرها من الكائنات المجهرية ولا شك ان لهذه المعيشة المختلطة تأثيرا واضحا في نمو وتأقلم البكتيريا في هذه البيئات . وتتواجد علاقات مختلفة بين الكائنات الحية وبعضها في المعيشة المختلطة ، من هذه العلاقات علاقة الحياد ، التكافل ، التعاون الاولي ، المنفعة من جهة واحدة ، التنافس ، التطفل والافتراس ، وعلاقة التضاد Antagonism أو Antibiosis . ان للكائنات المجهرية طرقا مختلفة للمحافظة على بقائها فهي اما ان تفرز مواد تغير من ظروف البيئة مثل تلك التي تزيد من حموضتها او تغير من الضغط الازموزي او التوتر السطحي للبيئة جاعلة اياها غير مناسبة لنمو الكائنات الاقل تحملا لهذه الظروف ، وقد يفرز الميكروب مادة تثبط نمو الكائنات الاخرى للمحافظة على بقائه وهذا النوع من التضاد يطلق عليه التضاد الحيوي Antibiosis ويمكن تعريف ظاهرة التضاد الحيوي بانها معيشة كائنين معا يعمل احدهما على احداث ضرر واضح بالكائن الاخر نتيجة لافرازه لمادة كيميائية والمواد الكيميائية السامة التي تفرز تعرف باسم المضادات الحيوية Antibiotics.

تنتج بعض اجناس الاحياء المجهرية مثل الـ *Bacillus* والـ *Penicillium* والـ *Streptomyces* المضادات الحيوية لكي تؤثر على نمو الاحياء المجهرية الاخرى . وتوجد انواعا مختلفة من هذه المضادات تستعمل ضد مختلف انواع الاحياء المجهرية المسببة للامراض والالتهابات في الانسان والحيوان .

يمكن دراسة مدى حساسية نوع معين من الاحياء المجهرية لمضاد حيوي معين باستعمال طريقة Disk-plate techniques التي تتلخص بالخطوات التالية :

- 1- اسكب الوسط الغذائي Nutrient agar في صحن زجاجي Petri dishe حتى يتصلب جيدا .
- 2- لقع الوسط الغذائي بنشر كالمحلول المحتوي على البكتيريا (0.1 مل) على سطح الوسط .
- 3 - شبع ورقة ترشيح دائرية الشكل قطرها حوالي 1 سم بمحلول المضاد الحيوي . ثم انقلها بواسطة ملقط معقم الى الوسط الغذائي (يمكن وضع اكثر من ورقة واحدة في الصحن الواحد)

4- احضن الصحن الزجاجي في الحاضنة على حرارة (35 – 37) °م ولمدة 48 ساعة .
5 - بعد فترة الحضانة افحص تأثير المضاد الحيوي على البكتريا وذلك بقياس قطر الدائرة المحيطة بالمضاد والخالية من النمو البكتيري ، فكلما زاد قطر هذه الدائرة دل ذلك على قوة تأثير المضاد الحيوي وحساسية البكتريا لذلك المضاد .

