كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : بيولوجيا الجراثيم والفيروسات

المحاضرة : الثانية/عملي/د.مرسال

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

٣

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

بيولوجيا الجراثيم والفيروسات
الجلسة الثانية
طرق فحص العينات الميكروبية

- تسمى عملية تنمية وإكثار الكائنات الحية الدقيقة على بيئات مغذية بالاستزراع أو الاستنبات والكائنات الحية الدقيقة الثابتة بالمزارع أو المستنبتات.
- تشكل المزارع عند نموها في بيئات مغذية صلبة مستعمرات وكل مستعمرة أتت غالبا من نمو كائن حي دقيق واحد وعند نمو هذه المزارع في بيئات سائلة فإنها تكون إما معلقة أو راسبة أو على شكل طبقة غشائية رقيقة.
- يمكن أن تكون المزارع نقية أي أنها تحتوي خلايا تتبع لنوع واحد أو مزرعة مختلطة وتحوي خلايا أكثر من نوع.
- تسمى عملية نقل خلايا الكائنات الحية الدقيقة أو أي مادة مدروسة أخرى (عينات ماء، مادة غذائية) إلى بيئة معقمة للحصول على مزارع نقية أو مختلطة **بالزرع**، أما عملية إعادة نقل الخلايا النامية من بيئة مغذية إلى أخرى معقمة فتدعى إعادة الزرع، ويطلق على العملية التي يتم فيها تنمية الكائنات الحية الدقيقة عند درجة حرارة معينة **بالتحضين**.
- وتتم زراعة الكائنات الدقيقة في أوعية زجاجية معقمة مثل أنابيب الاختبار أو في حوجلات مزودة بسدادات مطاطية أو أطباق بتري.

تجهيز محضرات الأحياء الدقيقة:

- طريقة أخذ العينة: عند أخذ العينة من مزارع منماة في أنابيب اختبار يتبع ما يلي:
- تعقم الإبرة بواسطة التلهيب.
- يثبت أنبوب الاختبار باليد اليسرى وبشكل أفقي قرب مصباح اللهب وبواسطة خنصر وراحة كف اليد اليمنى ينزع الغطاء القطني لأنبوب الاختبار.
- يمرر الطرف العلوي لأنبوب الاختبار على اللهب.
- نؤخذ كمية مناسبة من الكتلة البكتيرية بواسطة الإبرة اللاقحة الممسوكة بين الأصبع الكبير وسبابة ووسطى اليد اليمنى.
- يمرر الغطاء القطني وفوهة الأنبوب على اللهب ويتم إغلاق الأنبوب بالغطاء القطني.
- في حال أخذ عينة من وسط سائل لا ينبغي إمالة أنبوب الاختبار كثيراً حتى لا تبتل جوانبه وغطاؤه القطني ويمكن عندها أخذ العينة بواسطة ممص معقم أو بواسطة الإبرة اللاقحة ذات النهاية الحلقية.

دراسة الخلايا الحية للكائنات الدقيقة بطريقتي الفحص المباشر والقطرة المعلقة:

- تستخدم هاتان الطريقتان لإظهار خاصة الحركة عند الأحياء الدقيقة وملاحظة انقسامها ودراسة أبعادها وأشكالها.
- **طريقة الفحص المباشر:**
- تتم بإتباع الخطوات التالية:
- توضع قطرة من الماء على شريحة زجاجية نظيفة وخالية من آثار الدهون ((يتم إزالة الدهون باستخدام مزيج من الكحول الإيتيلي والإيتر بنسبة ١:١)).
- تؤخذ بواسطة الإبرة اللاقحة كمية من الكتلة الحيوية المراد فحصها وتمزج مع قطرة الماء بشكل جيد.
- تغطى الشريحة بالساترة الزجاجية، ويراعى عدم تشكل فقاعات هوائية في المحضر، ويتم ضغط الساترة بلطف على الشريحة بواسطة قضيب زجاجي، ويجري التخلص من الماء الزائد على أطراف الساترة الزجاجية باستخدام ورق نشاف يفحص بعدها المحضر بالعدسات الجسمية وفي حال فحص بالعدسة الغاطسة ينبغي وضع نقطة من زيت الأرز على الساترة.

طريقة القطرة المعلقة:

- تتم بإتباع الخطوات التالية:
- يؤخذ بواسطة الإبرة اللاقحة قطرة صغيرة من مستحلب المعلق البكتيري المنمى في بيئة سائلة أو أي محلول فيزيولوجي أعد لهذا الغرض ((NaCl 0.5%)) وتوضع على ساترة زجاجية نظيفة ومعقمة دلك أطرافها بالفازلين.
- توضع الشريحة الزجاجية ذات التجويف الخاص فوق الساترة بحيث تكون القطرة في مركز التجويف .
- تقلب الشريحة بحذر وتفحص مجهرياً.
- يمكن صبغ المحضرات المجهزة بالطريقتين السابقتين بصبغات كأزرق الميتيلين أو الأحمر المعتدل على أن تكون بتراكيز من 0.001%_0.0001% .

طريقة تجهيز محضرات الخلايا المثبتة والملونة:

- تستخدم هذه الطريقة لإظهار الخواص الشكلية للأحياء الدقيقة وتتميز هذه المحضرات بإمكانية حفظها لمدة طويلة.
- ويتم تجهيز المحضرات وفق هذه الطريقة بإتباع الخطوات التالية:
- **تحضير اللطاخة (الغشاء):**
- توضع نقطة من الماء على شريحة زجاجية نظيفة وخالية من الدهون، وتؤخذ بواسطة الإبرة اللاقحة كمية مناسبة من الكتلة البكتيرية المراد دراستها وتوزع على الشريحة بشكل متجانس وبطبقة رقيقة وذلك بواسطة الإبرة اللاقحة وعلى مساحة قدرها 4 سم^2 تقريباً.
- **تجفيف اللطاخة:**
- تجفف اللطاخة عند درجة حرارة الغرفة وكلما كانت الكتلة البكتيرية موزعة بشكل طبقة رقيقة متجانسة قلت المدة الزمنية اللازمة للتجفيف، ويمكن أن نجفف المحضر بإمساك الشريحة الزجاجية على ارتفاع مناسب أعلى مصباح اللهب (40 -30سم) ويراعى أن يكون اتجاه اللطاخة نحوالأعلى.

تثبيت اللطاخة:

تهدف هذه الخطوة إلى لصق الخلايا إلى الزجاج وجعلها أكثر تقبلاً للصبغة، ذلك لأن الخلايا الميتة تنصبغ بشكل أفضل من الخلايا الحية، ويتم تثبيت المحضر بإمراره 4-3مرات من خلال لهب المصباح وبسرعة مع مراعاة أن يكون اتجاه اللطاخة نحو الأعلى.

صبغ المحضر:

يتم صبغ المحضر بقطرات عدة من صبغة واحدة او أكثر (حسب هدف الدراسة) كما تختلف الفترة الزمنية اللازمة لصبغ المحضر حسب نوع الصبغة وأهداف الدراسة.

غسل المحضر:

بعد الانتهاء من الصبغ يغسل المحضر بالماء، ويزال الماء المتبقي بواسطة ورق نشاف، يجفف المحضر بعد ذلك في الهواء وتتم المشاهدة المجهرية وفي حال تم استخدام العدسة الغاطسة توضع نقطة من زيت الأرز على المحضر.

الملونات المستخدمة في صبغ المحضرات الجرثومية:

- تقسم هذه الصبغات إلى ملونات طبيعية وملونات صناعية.
- فالملونات الطبيعية هي الصبغات المستخلصة من النسج النباتية مثل الهيماتوكسللين.
- ولكن المنتشر استخدامه هو الملونات الصناعية وهي إما قاعدية أو حامضية.
- الصبغات الحامضية: مثل ايوزين Eosin– البكريك أسيد Pecric acid– الفوكسين الحامضي Acidic fucsin.
- الصبغات القاعدية: مثل أزرق الميتلين – الكريستيال البنفسجي- السفرانين- الفوكسين القاعدي.
- وهناك صبغات متعادلة...
- أكثر الصبغات استخداماً في تلوين البكتريا هي الصبغات القاعدية لاحتواء الخلية الميكروبية على عدد كبير من الريبوزومات التي تنتشر في السيتوبلازما والتي تحتوي على حمض نووي والذي يقوم بالارتباط بالصبغات القاعدية بسهولة وسرعة.
-

مكتبة A to Z