

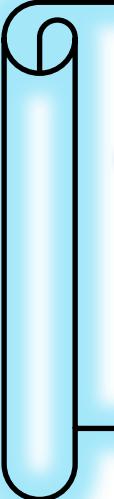
كلية العلوم

القسم : علم العيادة

السنة : الرابعة



٩



المادة : بиولوجيا الجراثيم والفيروسات

المحاضرة : الاولى/عملي/د. مرسال

{{{ A to Z مكتبة }}}}

Facebook Group : A to Z مكتبة

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

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



الجلسة الأولى

التجهيزات المستخدمة في مخبر الأحياء الدقيقة

المجهر الضوئي

• إن أقصر مسافة بين نقطتين تستطيع العين المجردة أن تميزها هي ١٠٠ مم أو ١٠٠ ميكرون، وبهدف دراسة الأحياء الدقيقة وتحديد صفاتها الشكلية (المورفولوجية) وتحديد أنواعها يجب استخدام المكبرات أو المجاهر نظراً لعدم إمكانية مشاهدتها بالعين المجردة بسبب أبعادها الصغيرة حيث أن معظم أنواع البكتيريا تترواح أبعادها بين ٥٠-٥٠ ميكرون.

- ويتألف المجهر من الأجزاء الآلية والأجزاء البصرية.
- **الأجزاء الآلية:** مهمتها تسهيل عمل وحركة الأجزاء البصرية وتألف من:
 - **أنبوبة المجهر:**
 - تتركب عليها العدسات العينية من الأعلى، ويركب عليها من الأسفل قرص دوار يضم العدسات الجسمية وعدها ٣ أو ٤ أو ٥ ويكون التكبير الكلي للمجهر حاصل جراء تكبير العدستين الجسمية والعينية.
 - **المنصة:**
 - هي اللوحة الحاملة للشرائح ، وهي عبارة عن لوحة معدنية مربعة الشكل تضم فتحة من الوسط يمر فيها الضوء وتوضع عليها المحضرات

- **المطلوب** فحصها، ويركب على المنصة مقابض نابضية لثبيت المحضرات ، وجملة ميكانيكية تساعد في تحريك المحضر بالاتجاهات الأربع، ومسطرة مدرجة لتحديد أبعاد الحركة، ويمكن تحريك المنصة باتجاه الأعلى والأسفل، أو بمعنى آخر تقريب المنصة أو إبعادها عن العدسات الجسمية، وذلك بواسطة لوبي الإحكام السريع والبطيء.

الأجزاء البصرية:

- **العدسات العينية:** تكون العدسات العينية محمولة على الطرف العلوي لأنبوبة المجهر ، ولكل عدسة منها وجه محدب والآخر مسطح أي أن العدسة العينية عدسة مركبة مهمتها تكبير صورة المحضر الحقيقية الناتجة عن العدسة الجسمية .
- **العدسات الجسمية أو الشيئية:** تعد أهم جزء بالمجموعة البصرية مهمتها تكوين صورة حقيقة ومكثرة للمحضر وتكون عادة ذات تكبير ٤ ، ٤٠ ، ٦٠ ، ١٠٠ و تستخدم العدسة الصغرى لفحص الفطور والمستعمرات البكتيرية في الأطباق أما العدسة الكبرى فتستخدم لدراسة حركة الفطور والبكتيريا.
- **العدسة الزيتية الغاطسة:** وهي أكثر عدسات المجهر العادي تكبيراً ، تستعمل في فحص الشرائح البكتيرية المصبوغة وسميت بالزيتية لأنها تغمر بالزيت الذي تصب منه نقطة بين الشريحة والعدسة ويستخدم عادة زيت الأرز ، وقد اختير هذا النوع من الزيت نظراً لكون قرينة انكسار الضوء فيه ($n=1.515$) مساوية تقريباً لقرينة انكسار الضوء في الزجاج ($n=1.52$) وهذا يؤدي إلى الإقلال من بعثرة الضوء ومنع انكساره عند خروج الأشعة من زجاج الشريحة إلى العدسة .

- **المكتف:** يوجد تحت المنصة ويتركب من عدستين مثبتتين في أسطوانة و مهمته تجميع الأشعة الضوئية الواردة من المنبع الضوئي قبل دخولها إلى المحضر والعدسة الجسمية.
- **المنبع الضوئي:** قد يكون المنبع الضوئي مرآة عاكسة لها وجهاً م-cur والآخر مسطح وتحرك بكل اتجاهات حسب الحاجة ، وقد يكون المنبع مصباح كهربائي عادي أو من نوعية خاصة.
- وقد يركب على المجهر أجهزة تصوير يمكن بواسطتها تصوير المحضرات أو نقل هذه الصورة إلى شاشة تلفزيون أو كومبيوتر.

• **الحاضنة:**

- تستخدم لإكثار الكائنات الحية الدقيقة ضمن ظروف حرارية تتناسب والخواص الوظيفية لها، و تعمل ضمن المجال الحراري من ٥٠-١٠ ، ويمكن أن تستخدم عند دراسة تأثير الحرارة في نمو الكائنات الدقيقة .
- تزود الحاضنات ببابين : خارجي أساسى، وداخلى زجاجي، وبفتحات تهوية يتم استخدامها عند ضرورة تجديد الهواء في الحاضنة ، وبمؤقت زمني يمكن بواسطته برمجة عمل الحاضنة وتوقيف عمل الوسیعة الكهربائية بعد زمن محدد.

• **جهاز عد المستعمرات:**

- هو عبارة عن مكورة عادية يمكن بواسطتها مشاهدة طبق بتري الذي يحتوي على البيئة الغذائية التي نمت عليها مستعمرات للأحياء الدقيقة ، ولتوسيع المشهد زود الجهاز بمنبع ضوئي من الأسفل بحيث تمر الأشعة الضوئية عبر سطح زجاجي أو بلاستيكي شفاف مقسم إلى مربعات لتسهيل عملية العد ، وعبر البيئة الغذائية والمستعمرات

جهاز عد المستعمرات:



- يتم التأشير على السطح العلوي لطبق بترى المقابل لكل مستعمرة بواسطة قلم خاص يترك أثر على غطاء الطبق حتى لا تعد هذه المستعمرة ثانية. ويقوم الجهاز بإحصاء عدد المرات التي يتم الضغط فيها بواسطة القلم الخاص على الطبق ويكون العدد الإجمالي هو عدد المستعمرات التي نمت على الطبق المدروس أو على جزء منه.
- **الصاد الموصد (الأتوغلاف):**
- جهاز يعمل على إبادة الأحياء الدقيقة بالحرارة الرطبة تحت الضغط في وسط مائي حيث تصل درجة الحرارة بالأجهزة المستخدمة في المختبرات إلى 134°C ، ويستخدم هذا الجهاز لتعقيم البيئات الغذائية والماء، وبعض المواد غير البلاستيكية التي لا تتأثر بالحرارة المرتفعة.

الصاد الموصد (الأتو غلاف):



فرن التعقيم بالهواء الساخن:

- يستخدم لتعقيم الزجاجيات (أطباق بتري ، أنابيب اختبار ، أرلينات ، ماصات ، وحوجلات) والأدوات المعدنية.
- يزود الفرن بممؤشر للحرارة وبمؤقت زمني ومنظم للحرارة ، ويمكن أن ترتفع درجة الحرارة فيه إلى 220°C ، إلا أن التعقيم يتم عادة عند $185-160^{\circ}\text{C}$ لمدة ساعتين .
- بعض الأدوات لمستخدمة في مخبر الأحياء الدقيقة:
- أطباق بتري: هي عبارة عن أطباق مضاعفة قطر الطبق العلوي يفوق قليلا قطر الطبق السفلي يتم فيها تتميم الأحياء الدقيقة على بيئات غذائية صلبة ، منها ما هو زجاجي يستخدم لأكثر من مرة ويتحمل درجات الحرارة العالية عند التعقيم ، ومنها ما هو بلاستيكي يستخدم لمرة واحدة فقط .

- يستخدم الطبق الواحد لزرع عينة واحدة من المادة المطلوب تحليلها ، وقد يكون مقسماً لأقسام عديدة.
- **الإبر اللاقحة:** هي عبارة عن قضيب معدني ينتهي بسلك من البلاطين الذي يسخن ويبعد بسرعة، أو من أي معدن آخر لا يتأكسد عند تسخينه مثل النيكل والكروم، ولها أشكال مختلفة منها الإبرية ومنها الحلقية أو تستخدم لنقل قطرات الماء أو المحاليل الزلجية.
- **زجاجيات مختلفة:** الشرائح .. الساترات... ماصات... أنابيب اختبار..

فرن التعقيم بالهواء الساخن:



التعقيم :sterilization

- يقصد بالتعقيم إبادة كافة أنواع الأحياء الدقيقة الممرضة وغير الممرضة و أبواغها الموجودة على الأدوات أو في المواد المستخدمة.
- تختلف فوائد وأهداف التعقيم بحسب المجالات المستخدمة فيه ، فالتعقيم في الدراسات والاختبارات الميكروبية ضروري جداً لعزل وتنقية نوع ميكروبي محدد يراد الحصول عليه، أما في المجالات الطبية فهو ضروري لتطهير كافة الأدوات والتجهيزات والمواد منعاً للتلوث والإصابة بالعدوى، أما التعقيم في الصناعات الغذائية فيهدف إلى تخلص المواد الغذائية من الأحياء الدقيقة لفترة حفظها، وعزل السلالات النقية في الصناعات الميكروبيولوجية ، وتخليص كافة الأدوات والتجهيزات من الأحياء الدقيقة.

- تقسم طرق التعقيم إلى : فيزيائي ، كيميائي، حيوي
- حيث تتوقف طريقة التعقيم على خواص المادة المراد دراستها.
- **التعقيم الفيزيائي:**
- **أولاً- التعقيم بالحرارة :**
- **التعقيم بالحرارة الجافة:**
- حيث تشمل هذه الطريقة التلبيب والهواء الساخن.
- **التلبيب:** تجرى عادة عملية التلبيب بواسطة المصباح الغازي أو الكحولي بشكل مباشر لبعض الأدوات قبل استخدامها مثل: الإبر اللاقحة، الأدوات المعدنية، كذلك بعض الزجاجيات مثل القضبان الزجاجية والشرائح والساترات.

- الهواء الساخن: وهي الطريقة الأساسية لتعقيم الأدوات الزجاجية كأطباقي بتري والماصات الزجاجية والأدوات المعدنية وكافة المواد الجافة، ويستخدم لذلك جهاز المعقم بالهواء الساخن أو فرن باستور، حيث توضع المواد المراد تعقيمها في الفرن لمدة ساعتين على حرارة $160-165^{\circ}\text{C}$ ولا ينصح بان ترتفع درجة الحرارة عن 170°C حتى لا تحرق حواف الأوراق المستخدمة في تغليف هذه الأدوات.
- وتجدر الإشارة عند اتباع هذه الطريقة إلى ما يلي:
- لا تستخدم هذه الطريقة في تعقيم السوائل والمحاليل الفيزيولوجية وكذلك المواد البلاستيكية.
- لا يجب عدم وضع المواد المراد تعقيمها في الفرن بشكل مزدحم ، إنما تترك فراغات فيما بينها بحيث تتغلغل الحرارة الازمة إلى جميع المناطق.
- يجب أن تكون المواد المراد تعقيمها على بعد ٨-٦ سم من حواف الفرن، منعاً لاحترق حواف الورق المستخدمة في تغليف الأدوات المراد تعقيمها.
- يجب حساب زمن التعقيم من لحظة وصول درجة حرارة الفرن إلى 160°C .

- لا ينصح بفتح باب الفرن عند انتهاء فترة التعقيم الازمة إنما ينتظر حتى تنخفض درجة حرارته لتصل إلى درجة حرارة الغرفة، لأن دخول الهواء البارد نسبياً يؤدي إلى تصدع الزجاجيات نتيجة تفاوت درجات الحرارة.
- تعقم أطباقي بتري بهذه الطريقة إما بوضعها ضمن علب معدنية أسطوانية الشكل ومزودة بغطاء، أو تغليف كل طبقتين بلفافة ورقية، وكذلك الأمر بالنسبة للماصات إما بوضعها في علبها الخاصة أو تغليفها بالورق مع ضرورة وضع قطعة من القطن المفتول في النهاية العلوية المفتوحة للماصة قبل عملية التعقيم ، وكذلك الأمر يفترض سد أنابيب الاختبار والحوجلات بسدادات قطنية قبل التعقيم، مع الإشارة إلى أن الأدوات غير المزودة بسدادات قطنية أو غير الملفوفة بأوراق يمكن تعقيمها عند 180°C لمدة ساعة واحدة

- **ثانياً - التعقيم بالحرارة الرطبة:**
 - يتم التعقيم بهذه الطريقة ببخار الماء العادي أو المضغوط ، والتعقيم بالحرارة الرطبة أكثر كفاءة من الحرارة الجافة، بسبب قدرة الحرارة الرطبة العالية في التغلغل داخل الخلية وتخثير البروتين الخلوي.
 - ومن أهم طرق التعقيم بالحرارة الرطبة : البسترة، التعقيم بالبخار تحت الضغط.
 - **البسترة:** وهي العملية التي يتم فيها تسخين المادة لمرة واحدة لدرجة حرارة أقل من 100°C ، وقد اقترحت هذه الطريقة من قبل العالم باستور لقتل الكائنات الدقيقة غير المشكلة للأبوااغ وبذلك تعد البسترة عملية تعقيم جزئية أو غير مكتملة.
 - ونظام البسترة وفق التالي:
 - البسترة عند 60°C لمدة ٣٠ دقيقة.
 - البسترة عند 70°C لمدة ١٥ دقيقة.
 - البسترة عند 80°C لمدة ١٠ دقائق.
 - البسترة عند 90°C لمدة ٥ دقائق.
 - ويتم تبريد الوسط المعامل مباشرة بعد التسخين ، وتشتمل البسترة على نطاق واسع في الصناعات الغذائية عند تعقيم الحليب وعصائر الفاكهة والبيرة والنبيذ أو الخل ...

- **التعقيم بالبخار تحت الضغط:** وهي طريقة التعقيم الأكثر شيوعاً وأماناً، حيث يتم قتل الخلايا الإعashية والمتبوعة على حد سواء، والجهاز المستخدم هو الصاد الموصد (الأوتوفلاف) ، ويتم التعقيم داخله ببخار الماء الساخن تحت ضغط أعلى من الضغط الجوي فعندما يرتفع ضغط البخار تزداد حرارته وفق القيم التالية:

- **الضغط الجوي:** ٢ ١.٥ ٠.٥ ١ ٠.٥ ٢
- **درجة الحرارة:** ١٣٣ ١٢٧ ١٢٠ ١١٥ ١٠٠ ١٣٣
- يمكن بهذه الطريقة تعقيم البيئات الغذائية التي لا تتغير محتوياتها عند ارتفاع الحرارة فوق 100°C ويمكن كذلك تعقيم الزجاجيات والقطن والشاش وتشتمل هذه الطريقة على نطاق واسع في تعقيم الأغذية المعلبة وتعقيم الأدوية وأدوات الجراحة....

التعقيم الكيميائي:

- يستخدم التعقيم الكيميائي لدرء إمكانية تلوث البيئات الغذائية بالأحياء الدقيقة، حيث يضاف إلى البيئات مواد مثل الكلوروفورم أو التولوين أو الإيتير، ويمكن التخلص من هذه المواد الحافظة عند الضرورة عن طريق تسخين الوسط في حمام مائي عند حرارة 56°C حيث يتم تبخرها.
- يختلف تأثير المواد الكيميائية في الأحياء الدقيقة باختلاف طبيعة وتركيز هذه المواد، ونوعية الأحياء الدقيقة فبعض الأحياء الدقيقة تعد مقاومة لتأثير المواد الكيميائية (البكتيريا التي تتكاثر بالأبوااغ) وبعض شوارد المعادن تأثير مثبط وسام في بروتوبلازما الخلية، أما الحموض والمؤكسدات فتعمل على حلمة البروتين وتخريبيه ، ومن هذه المواد:
- الكحول الإيتيلي: يستعمل للتعقيم بالتركيز $70-80\%$ لأن نفوذية الكحول تكون في أشدتها عند هذا التركيز ، وكذلك القدرة التخثيرية للبروتين تتم ضمن هذا التركيز ، إلا أن تأثير الكحول معدهم في الأبوااغ.
- الفورمول (الفورم الدهيد HCHO): بتركيز 5% معقم للغرف والتجهيزات وبعد محلول ذو التركيز 1% قاتل للبكتيريا.
- الفينول - كلور الزئبق. - الكريزول. - الليزول.

التعقيم الحيوي (البيولوجي):

- يستخدم في الصناعات الغذائية (الكونسروة والتعليق) بشكل واسع مثل المضادات الحيوية، وعلى المستوى المخبري يكون تعقيم نوعي لتحديد نوعية الأحياء الدقيقة وخاصة الممرضة منها والكشف عن وجودها في المواد الغذائية المختلفة، أو عند التخلص من مجموعة من الأحياء الدقيقة والإبقاء على أخرى وذلك عن طريق استخدام صادات حيوية ذات تأثير تخصصي.