

الأحياء المجهرية

Microbiology

(())

صفاء نعمت حسين

تصبغ الأبواغ Spore staining

يعد الطور البوغي هو الطور الساكن للبكتريا إذ تكون مقاومة للحرارة والمواد الكيميائية والجفاف و غيرها من الظروف غير المناسبة للنمو . هنالك بعض الأجناس من البكتريا مثل Bacillus Clostridium تكون سبورات داخلية Endospore . تتميز الأبواغ البكتيرية بأن لها جدار سميك يحتوي على بروتين فاقد لكمية كبيرة من الماء فضلاً على احتوائها على نسبة عالية من الكالسيوم وهذه الميزات لا تتوفر في الخلية البكتيرية الخضرية Vegetative cell لذلك فإن الأبواغ لا تصطبغ بطرق التصبغ التقليدية بشكل سهل نتيجة الجفاف وسمك الجدار ولكن يمكن تصبغها بطرق تصبغ خاصة كما في الطريقة التالية :

- 1- تحضير غشاء بكتيري Smear .
- 2- Malachite green صبغته بكتيري ، بعد ذلك تسخن الصبغة على اللهب لمدة 3-5 دقيقة مع مراعاة عدم جفاف او غليان الصبغة وفي حال جفاف الصبغة تضاف بضع قطرات اخرى من الصبغة ثم تغسل بماء الحنفية.
- 3- Safranin صبغته على الغشاء البكتيري وتترك الصبغة لمدة 0.5 دقيقة ثم تغسل الشريد .
- 4- تجفف الشريحة و تضاف قطرة من زيت السيدر وتفحص بالعدسة الزيتية.

نتيجة التصبغ:

في هذه الحالة فإن الأبواغ تصطبغ باللون الاخضر العائد الي صبغة Malachite green حال وجود جزء من الخلية الخضرية فهذا الجزء سوف يصطبغ باللون الاحمر العائد الي صبغة Safranin وحدها فأنا تظهر باللون الاخضر فقط البوغ داخل الخلية وهي بكتريا عصوية Endospore مثل بكتريا *Bacillus subtilis* .

جمع العينات

- يتطلب مراعاة بعض الفروض :
- 1- تسجيل البيانات بدقة ، تتضمن معلومات عن اسماء الفاحصين ، موقع جمع العينات ، تاريخ جمع العينات، نوع العينات ، رموز او ارقام العينات .
 - 2- ان تكون العينة بحجم مناسب للدراسة.
 - 3- مراعاة منع تلوث العينة بحالات التلوث الخارجي وذلك من خلال تعقيم المواد المراد جمع العينات فيها مسبقاً كالعلب الزجاجية او المعدنية او الاكياس البلاستيكية وتعقم باحدى طرق التعقيم المتبعة كالحرارة الرطبة او الجافة .
 - 4- تؤخذ العينات بشكل عشوائي من موقع جمع العينات و احياناً تطبق نظريات معينة في جمع العيـد لضمان عشوائية العينات .

5- مراعاة السرعة في العزل من العينة لمنع تلفها ويفضل وضع العينات في اوعية مبردة لحين وصولها الى المختبر ، وتحفظ العينات في الثلاجة عند درجة حرارة 4 ° لحين العزل منها .

طرائق عزل وتنقية الأحياء المجهرية

Isolation & Purification Methods of Microorganisms

تتطلب الخطوة الأولى في أي دراسة تتناول أي كائن مجهري ، فصل ذلك الكائن عن أشكال الحياة الأخرى كافة بحيث يغدو في بيئته المختبرية الجديدة وحيداً معزولاً عن غيرها ونقياً وتسمى هذه الخطوة بعملية العزل في مزرعة نقية Isolation in pure culture وهذا يعني ضمناً إن الهدف من عملية العزل Isolation والتنقية Purification هو الحصول على مزرعة نقية Pure culture مزرعة تحتوي على نوع واحد فقط من الأحياء المجهرية وهي خطوة لها أهميتها الاستثنائية لتجنب الوقوع في الأخطاء عند تشخيص الكائن المجهري ، وفي الدراسات الفسلجية والحيوية الأخرى حول ذلك الكائن وتسمى المزرعة النقية هذه بالعزلة Isolate لحين تشخيصها على مستوى الجنس والنوع .

ومعروف إن الأحياء المجهرية تتواجد في بيئاتها الطبيعية كالتربة مثلاً أو على صورة تشكيلية جومها وأشكالها وتمثل هذه التشكيلة المختلطة ما تعرف

Mixed Culter , Mixed Population ويمكن الحصول

على مزارع مختلطة في مختبرات الأحياء المجهرية عند زرع عينة من التربة مثلاً في وسط Nutrient Agar إذ تنشأ على سطح هذ

الأشكال والأحجام والألوان فالبكتريا التي تعود إلى الجنس والنوع نفسها غالباً ما تكون مستعمرات متماثلة ومتشابهة إلى حد كبير على الأوساط الغذائية نفسها ، ويتم تحضير مزارع نقية من المزارع المختلطة هذه بالتقاط مستعمرة مقصودة بواسطة إبرة التلقيح Loop ونقلها إلى سطح وسط زرع صلب حيث تنمو لوحدها في هذا الوسط ويتم الالتقاط والنقل بطرائق خاصة ستذكر لاحقاً وكان ابتكار تقنيات المزرعة النقية انجازاً كبيراً حقق قفزات نوعية في عالم الأحياء المجهرية حتى يمكن القول إن العصر الذهبي لهذا العالم قد بدأ مع بداية مفهوم المزرعة النقية كان الطبيب الألماني روبرت كوخ Robert Koch 1905

أكثر من ساهم في تطوير تقنيات المزرعة النقية ذلك لأنه قد أولى اهتماماً خاصاً بعزل البكتريا الممرضة في مزارع نقية لغرض دراستها وتشخيصها وقد تحقق هذا الأمر لديه باستخدام الأوساط الصلبة ويذكر إن كوخ قد استخدم مادة الجيلاتين بادئ الأمر لتصليب الأوساط الزرعية بيد انه استعان لاحقاً بمادة الاكار Agar .

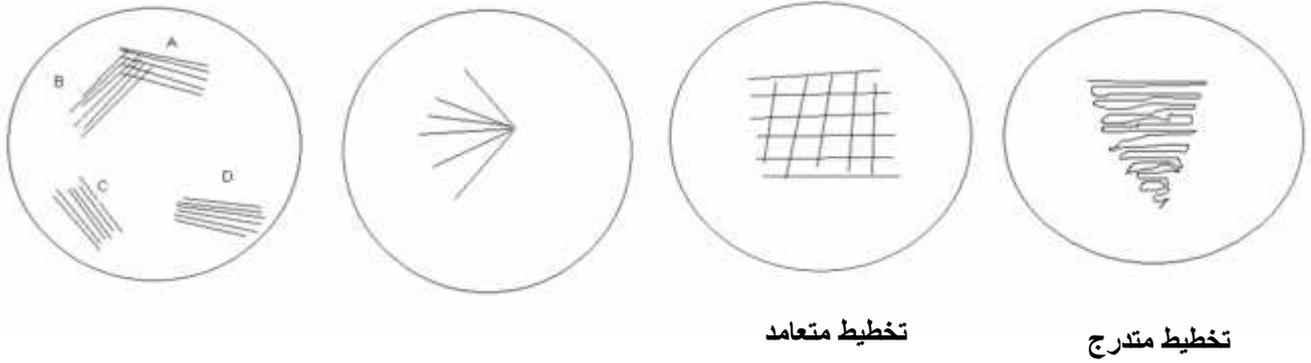
المزرعة النقية :

يمكن الحصول على مزارع نقية بطريقتين اساسيتين هما:

أولاً : تقنية تخطيط الأطباق Streak Plate Technique

وهي ابسط التقنيات المستعملة في تقنية الأحياء المجهرية ولاسيما البكتريا والحصول عليها بصورة نقية مفردة ويكمن انجازها باتباع الخطوات التالية :

- يحضر وسط زرعى صلب مثل Nutrient Agar ويعقم ويبرد ثم يصب في أطباق بترى نظيفة ومعقمة ويترك لحين التصلب التام .
- ينقل مسحة ملئ إبرة التلقيح Loop full من مستعمرة مميزة في مزرعة مختلطة وتخطط على سطح الوسط الزرعى الصلب المحضر في الخطوة السابقة ويكون التخطيط برفق واحد الأشكال الموضحة أدناه :



ثانياً: تقنية الصب في الأطباق Pour Plate Technique

وهي طريقة أخرى للحصول على مستعمرات معزولة مفردة وفيها تخرج مسحة من إحدى المستعمرات المراد تنقيتها بواسطة إبرة التلقيح Nutrient Agar المحضر في أنابيب اختبار بعد تبريده إلى 50 ° أي قبل تصلبه بقليل . ثم يصب مزيج البكتريا

الوسط مستعمرات مفردة ومتمائلة أو متشابهه ويمكن إجراء سلسلة من التخفيف في الوسط الزرعى الصلب في أنابيب الاختبار قبل صب الوسط في أطباق بترى بغية تخفيف أو تقليل عدد

:

