جامعة تكريت
كلية التربية للبنات
قسم الاقتصاد المنزلي

المادة :- احياء مجهرية عملي

المرحلة الثانية

عنوان المحاضرة :- التحصين الهوائي واللاهوائي

مدرس المادة

م.م. بيادر جلال عبد الحميد النعيمي

الايميل الجامعي:- Bayaderjalal@tu.edu.iq

المدرس المساعد بيادر جلال عبد الحميد

جامعة تكريت
كلية التربية للبنات
قسم الاقتصاد المنزلي

- **التحصين الهوائي واللاهوائي**

يتباين مستوى الاوكسجين في البيئات المختلفة في الكرة الارضية على سبيل المثال يحتوي الهواء الجوي على 20% من غاز الاوكسجين والباقي نتروجين (خامل) وثاني اوكسيد الكاربون ،اما في البيئات المائية فتكون قابلية ذوبان الاوكسجين ضعيفة . وسرعان ما تستفيد هذه الكميات القليلة من قبل الكائنات الحية المائية لذلك تنشا بيئات خالية نسبيا من الاوكسجين ومع ذلك قد تتواجد بعض الاحياء حسب احتياجها للاوكسجين الى المجاميع التالية ...

a) Obligate aerobic bacteria :- وهي البكتريا التي لا تعيش بدون الهواء (20%اوكسجين) ومن امثلتها بكتريا *Pseudomonas fluorescence* هذا النوع من البكتريا يحصل على الطاقة من التنفس الهوائي تحتوي على انزيمي ال catalase and superoxide dismutase.

b) anaerobic bacteria :- وهي البكتريا التي تحصل على الطاقة من التنفس اللاهوائي او التخمر . لا تتكاثر بوجود الاوكسجين بل تموت في حالة وجوده من امثلتها بكتريا *Clostridium botulinum* التي تسبب التسمم الغذائي خاصة قي المعلبات غير المعقمة بصورة صحيحة حيث تنبت السبورات في ظروف لاهوائية داخل الاغذية المعلبة الى خلايا خضرية تنتج سموم خارجية .

c) Facultative aerobic bacteria:- تنمو بوجود الاوكسجين وبغيابه اي انها اختيارية تحصل على الطاقة من التنفس الهوائي (بوجود O2) او من عمليات التخمر (بغيابه) عادة يكون النمو افضل في الظروف الهوائية مما هو في التخمر وذلك لان كمية الطاقة (ATP) تكون اكثر من اي عملية اخرى مثال على ذلك E.coli التي تعيش في الامعاء .

d) Microaerophilic bacteria:- وهي التي تحتاج الى كميات قليلة من الاوكسجين (2-10%) للتنفس الهوائي اما التركيز الاعلى من ذلك تكون مثبطة لها .من امثلتها بكتريا *Spirillum volutans* التي تعيش في البيئات المائية و*Helicobacter pylori* التي تسبب القرحة . تنتج كميات قليلة من انزيمي catalase and superoxide dismutase.

e) Aerotolerant bacteria:- تستطيع النمو بوجود الاوكسجين ولكن لاتستفاد منه لاغراض الطاقة . وهي مخمرة اجبارية مثل بكتريا Lactobacillus التي تستخدم في انتاج الاجبان Streptococcus pyogenes التي تسبب التهاب اللوزتين .يطلق عليها احيانا مصطلح مخمرة مجبرة ولذلك النمو غير كثيف على السطح .

طرق الحصول على الظروف لاهوائية

1- Deep agar: الطبقات السطحية منه تحتوي على كميات من الاوكسجين اكثر من الطبقات السفلى ،وتقل هذه الكميات كلما اخترقنا الاكار الى الاسفل .

2- الوسط المغذي السائل : ممكن ازالة الاوكسجين منه وذلك بتسخين الوسط الى درجة الغليان لمدة عشر دقائق لطرد الاوكسجين ، اضافة الى استخدام البرافين المعقم بعد التلقيح لعزل الهواء عن الوسط .

3- اضافة مواد مختزلة لمنع تهوية الوسط بتيارات الحمل مثل

- الكلوكوز او اي سكر اخر
- حامض الثايوكلايكوليك الذي يحتوي على مجموعة SH – حرة تتحد مع الاوكسجين .
- عوامل مختزلة مثل حامض الاسكوربيك ، اللحم المطبوخ....
- مسامير

4- Anaerobic jar: هو عبارة عن وعاء محكم السد ممكن خلق ظروف لاهوائية بداخله اما بسحب الاوكسجين منه بواسطة الضغط واستبداله بخليط من نتروجين وثاني اوكسيد الكربون (كلاهما يسرع نمو بعض الاحياء المجهرية). يمر الهيدروجين عند دخوله الى الوعاء على مصدر بلاتني (عامل يسرع من تفاعل اللاوكسجين المتبقي داخل الوعاء مع الهيدروجين لتكوين الماء)او ممكن استخدام اكياس (gas pack) الجاهزة بعد اضافة 10 مل من الماء الى محتويات هذا الكيس ليتحرر غاز الهيدروجين وثاني اوكسيد الكاربون . يتفاعل الاوكسجين المحصور داخل الوعاء مع الهيدروجين المتحرر من الكيس لتكوين الماء وخلق ظروف لاهوائية .

5- Wrights tube : ممكن ايضا خلق ظروف لا هوائية داخل الوسط الصلب المائل باستخدام بلورات ال pyrogallol التي تتأكسد في الوسط بوجود هيدروكسيد الصوديوم .بعد تلقيح البكتريا على سطح المائل توضع طبقة من القطن ثم طبقة من بلورات Pyogallol واخيرا يضاف NaOH 10% ثم تغلق بسدد محكم تقلب وتحضن .

6- Brewers anaerobic petri dish : هذا النوع من الاطباق مصمم بحيث يحتوي الغطاء على جسر يحجز سطح الوسط عند غلق الطبق ويمنع دخول الهواء الى داخل الطبق. يستخدم وسط اكار خاص بهذه الطريقة Brewers anaerobic agar الذي يحتوي على تركيز عالي من thioglycolate acid الذي يحتوي على الوسط.

7- تنمية البكتريا اللاهوائية مع بكتريا هوائية في نفس الطبق مع ترك مسافة بينهما لمنع التلوث وسد الطبق سد محكم في هذه الحالى ستقتل البكتريا الهوائية من oxygentesion لتسمح للبكتريا اللاهوائية بالنمو .

- **عزل البكتريا من البيئة**

كل ما حولنا ملئ بالحياة فهناك احياء في الهواء ، في التربة ، في الماء والغذاء ....الخ حياة لا نعرف عنها الا القليل وجميع هذه الاحياء تنظر الينا كفريسة لها ...
وهناك طرق مختلفة لفحص هذه الاحياء ومنها ....

جامعة تكريت
كلية التربية للبنات
قسم الاقتصاد المنزلي

1- طريقة القطرة المعلقة .... Hunging Drop Slide

كل متر مكعب من الهواء يحتوي على مئات الالاف من البكتريا والفطريات ...الخ عند العطاس يتحرر من 10 ملايين جرثومة لا عجب ان تنتشر الامراض مثل السل والانفلاونزا والجدري وغير ذلك عن طريق الهواء ...

2- الفلورا الطبيعية للجلد ... Normal skin flora

الاحياء المجهرية التي تتواجد بشكل طبيعي على الجسم او فتحاته تدعى الفلورا الطبيعية تعتبر هذه الكائنات تعايشيه لا نها لا تضر المضيف بل احيانا تلعب دورا هاما لصالحه . حيث تمنع الكائنات المضرة من مهاجمة الجلد بسبب تنافسها مع الاحياء الممرضة على المواد الغذائية ، اضافة الى ان بعضها قد ينتج انزيمات او مواد مثبطة للكائنات الغريبة على الجسم . التعرف على هذه الاحياء الموجودة طبيعيا على الجلد غاية في الاهمية لا نها كثيرا ما تصادفنا كملوثات في الهواء (على خلايا الجلد التي تتأثر باستمرار وتبقى في الجو ....

ومن اهم انواع البكتريا ...

1- ***Staphylococcus epidermidis***

وهي بكتريا كروية عنقودية التجمع (تظهر تحت المجهر) تتواجد طبيعيا على جلد الانسان وبعض الحيوانات .

2- ***Staphylococcus aureus***

على الاقل 20% من الاشخاص يحملون هذه الجرثومة خاصة في فتحات الانف (بشكل طبيعي) وهي لا تضر المضيف ولكنها تكون ممرضة عند دخولها الى داخل الجسم اذ تسبب التسمم الغذائي او الجروح ....

3- ***Micrococcus luteus***

وهي بكتريا كروية تتواجد على الجلد لبعض الاشخاص وهي غير ممرضة وهي احد الجراثيم الملوثة للهواء

4- ***Propionbacterium acnes***

وهي عصيات لاهوائية (يعتقد انها تسبب حب الشباب بسبب عزلها من هذه المناطق).

5- ***Propionbacterium granulosum***

وهي عبارة عن عصيات غير ممرضة ,

جامعة تكريت
كلية التربية للبنات
قسم الاقتصاد المنزلي

- **طريقة فحص الفلورا الطبيعية ....**
- المواد المستعملة

1- القطن
2- الكحول تركيز 70%
3- Cotton swab
4- محلول الملح الفسلجي المعقم Saline(0.9%NaCl) في الماء
5- اطباق Nutrient agar

- طريقة العمل

1- تمسح منطقة الجلد بقطعة قطن مشبعة بالكحول بتركيز 70% لمدة دقيقة واحدة لتطهير المنطقة من الاحياء المجهرية غير المتوطنة (transient organisms)والتي لا تشكل جزء من الفلورا الطبيعية .
2- تترك لتجف
3- ترطب ال swab بالسلاين ويمسح الجلد في منطقة محددة لمدة 15 دقيقة .
4- يفتح الطبق تحت ظروف معقمة ويلقح سطح الاكار بواسطة مسحة القطني ويتم التخلص من المسحة بوضعها في بيكر يحتوي على الديتول .
5- `يحضن الطبق في الحاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37درجة مئوية .
6- تفحص الاطباق وتدرس انواع المستعمرات واشكالها والوانها وقوامها ...اما دراسة الفلورا في الهواء يترك الطبق مفتوح في المختبر لمدة نصف ساعة ثم يغلق ويحضن بنفس الطريقة .

- **طرق نقل وعزل البكتريا تحت ظروف معقمة ...**

تتواجد البكتريا في الطبيعة في بيئات مناسبة لها من درجات حرارة وPH ورطوبة ...الخ اما في المختبر فتنمى البكتريا على مواد تدعى الاوساط الزرعية .

وتدعى الاداة التي تستعمل لنقل البكتريا من مكان الى اخر بـ Loop وهو عبارة عن سلك من البلاتين او الكروم + النيكل حيث تتميز هذه المعادن بانها تسخن بسرعة وتبرد بسرعة .

انتهت المحاضرة.

المدرس المساعد ايمان رجاء عبدالحميد