1- دراسة صفات المجاميع البكتيرية

2- عزل البكتريا و تنقيتها

3- تنمية البكتريا اللاهوائية

1- دراسة صفات المجاميع البكتيرية

الهدف من دراسة المجاميع البكتيرية:-

فصل و تنقية وتمييز وتصنيف الميكروبات

دراسة ووصف المجموعات البكتيرية

صفات تدرس بالعين المجردة	صفات تدرس ميكروسكوبيا بالعدسة الصغرى	دراسة الشكل المورفولوجي للخلايا
1- الشكل 2- الإرتفاع 3- اللون 4- القوام 5- الإنتشار 6- الشفافية	1- الحافة 2- التركيب الداخلي	عمل شريحة من المجموعة البكتيرية و صبغها بطريقة جرام

صفات تدرس بالعين المجردة

1- الشكل الخارجى	دائرى – أهليجى – مغزلى – قوقعى – وردى – جذرى - خيطى
2-الأرتفاع	مسطح – مرتفع – مدرج – محدب - مقعر
3- اللون	أصفر- وردى - كريمى.....
4- القوام	مائى – لزج – ثقيل - يابس
5-الأنتشار	منتشرة - محددة
6- الشفافية	شفافة - نصف شفافة - معتمة

صفات تدرس ميكروسكوبيا بالعدسة الصغرى

1- الحافة	كاملة – ممزقة – متموجة – مفصصة - هدبية.
2- التركيب الداخلى	حبيبى – شبكى – متراكم – مجعد - مشعع.

2-عزل البكتيريا وتنقيتها

تتواجد الميكروبات فى الطبيعة عادة بصورة مختلطة الا فى (حالة المرض – المزارع النقية) لذلك يجب عزلها للحصول على مزارع نقية أى تحتوى على نوع واحد فقط.

أهمية العزل:-

دراسة كل نوع من الخلايا البكتيرية فى صورة منفردة لتمييز صفاته وخواصه.

طرق العزل:-

1- طريقة الأطباق المصبوبة

Pour plate method

2- طريقة الأطباق المخطوطة

Streak plate method

3- طريقة التخفيف

Dilution method

طريقة الأطباق المصبوبة
Pour plate method

الأساس العلمي:-

تعتمد على تخفيف عدد الخلايا التى تحملها عقدة ابرة التلقيح بنقلها عدة مرات مع الرج الجيد فى بيئة الأجار المغذى العميق المسال ثم صبها فى الأطباق ثم التحضين فتنمو كل خلية منفردة مكونة لمجموعة ميكروبية نقية.

الأدوات المطلوبة:

1- مزرعة بويون مختلطة تحتوى على ميكروبى:-

Micrococcus* sp.+ *Escherichia coli

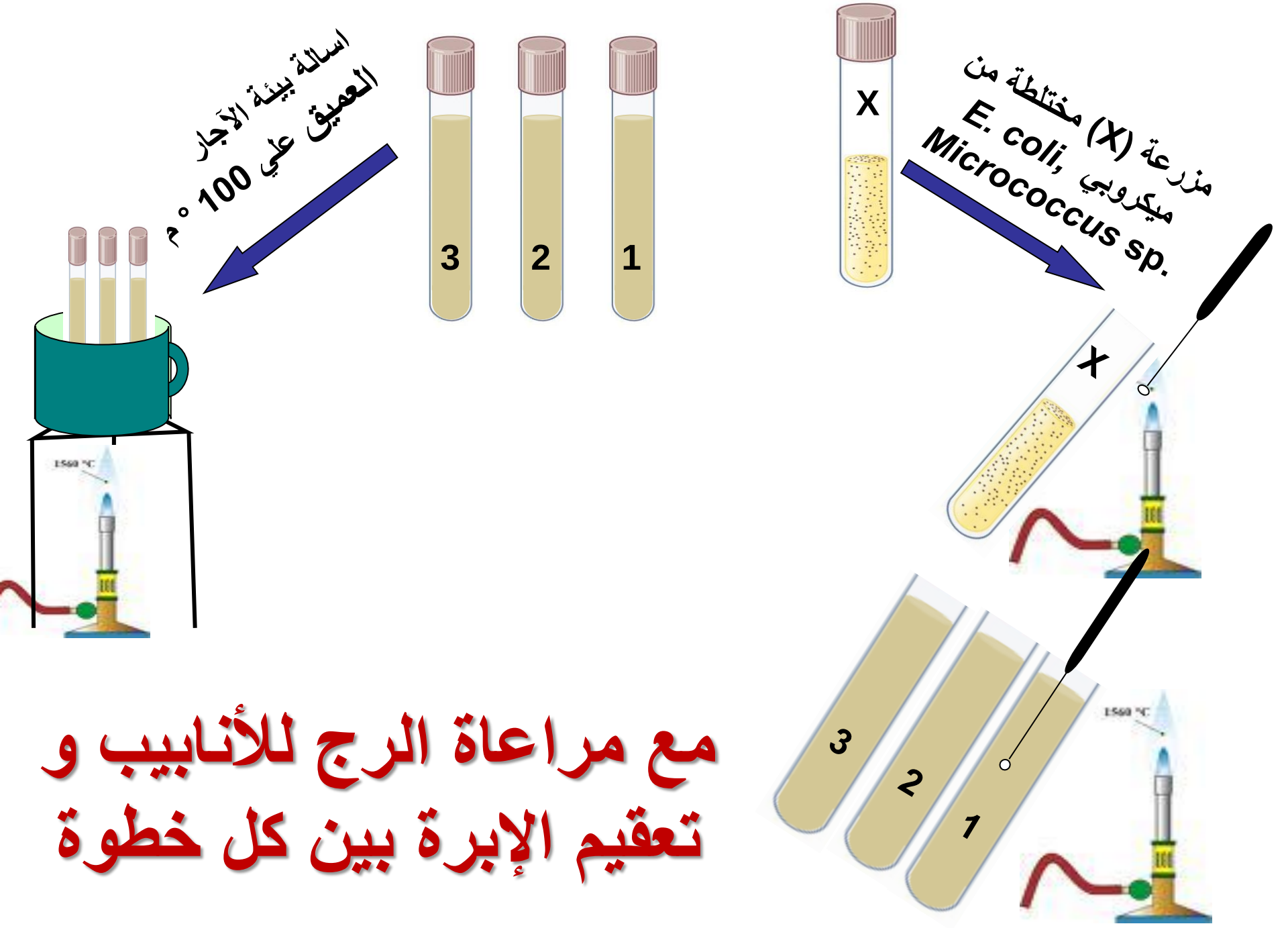
2- عدد 3 أنابيب بيئة أجار مغذى عميق معقم.

3- عدد 2 طبق بترى معقم.

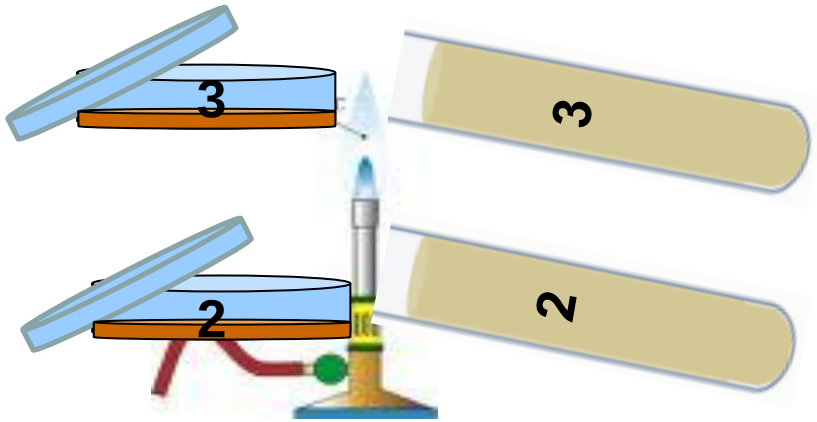
4- حمام مائى.

5- ترمومتر.

6- أبرة تلقيح ذات عقدة.



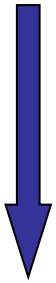
مع مراعاة الرج للأنابيب و تعقيم الإبرة بين كل خطوة



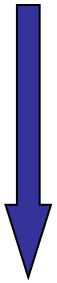
-رج الأطباق رحويا

- ترك الأطباق حتى تتجمد البيئة الملقحة

التحضين على 30 °م / 24 ساعة

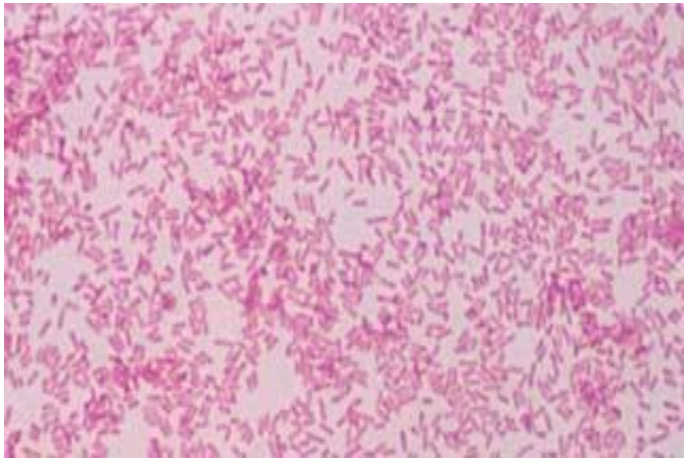


إختيار مجموعة ميكروبية منفصلة وردية اللون لميكروب *Micrococcus* sp. و أخرى شفافة لميكروب *E. coli*

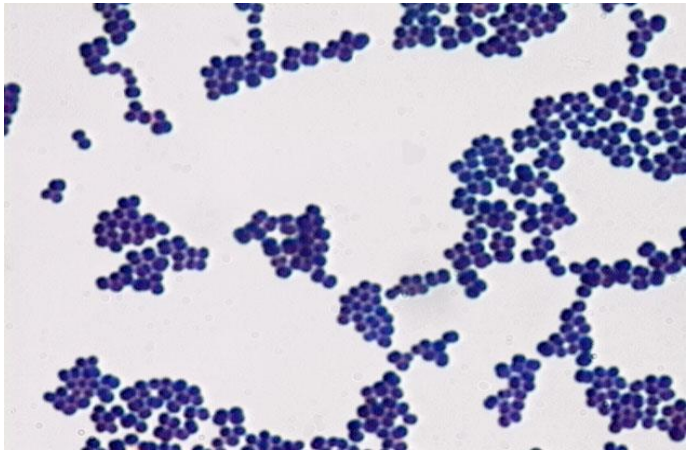


إختبار نقاوة كل مجموعة بعمل غشاء وصبغه بطريقة جرام

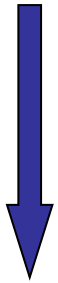
اذا كانت نقية



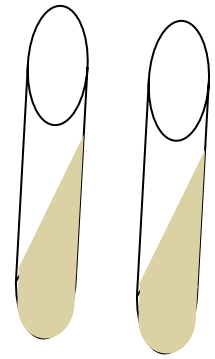
E. coli



Micrococcus sp.



-التلقيح علي آجار مائل والتحضين على 30 °م / 24 ساعة



C M

- إختبار نقاوة المزرعة بعمل شريحة و صبغها بطريقة جرام

تقسيم الميكروبات تبعا لاحتياجاتها الهوائية:

1- ميكروبات هوائية حتما: Obligate aerobes

تحتاج الـ O_2 في نموها، مثل: *Bacillus* sp.

2- ميكروبات لاهوائية حتما: Obligate anaerobes

تنمو في غياب الـ O_2، مثل: *Clostridium* sp.

3- ميكروبات أختيارية: Facultative anaerobes

تنمو في وجود وغياب الـ O_2، مثل: *Micrococcus* sp.

4- ميكروبات شحيحة الأحتياج للأكسجين: Microaerophilic

محبة للتركيزات المنخفضة من الـ O_2، مثل: *Campylobacter* sp.

3- طرق تنمية البكتريا اللاهوائية

البكتريا اللاهوائية هي: نوع من البكتريا التي تنمو في غياب الأكسجين , ووجوده في البيئة يؤدي لتثبيط نمو أو قتل هذه البكتريا.

وتوجد طرق عديدة لتنمية البكتريا بعيدا عن الأكسجين ومنها:

1- تنمية ميكروب هوائي مع آخر لاهوائي بغرض أستهلاك الأكسجين

2-أمتصاص الأكسجين بواسطة المواد الكيميائية

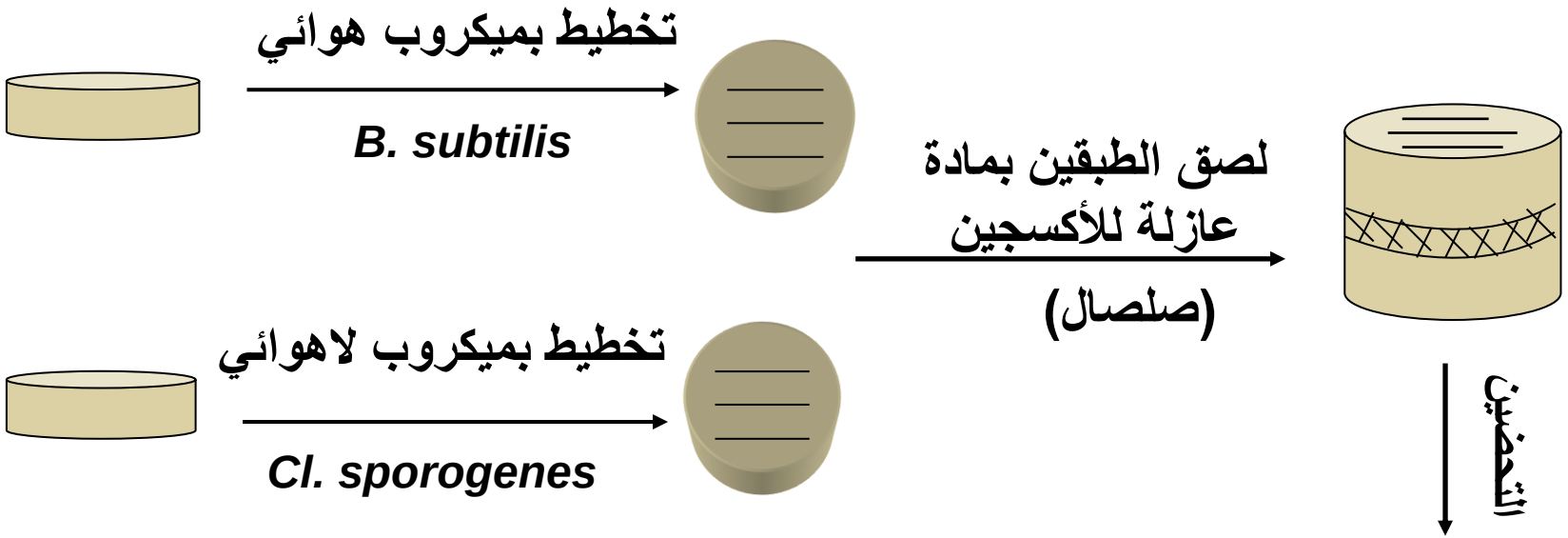
3-حجز البيئة عن الأكسجين بأستخدام الفاسبر

4-الوخز في آجار الجلوكوز العميق

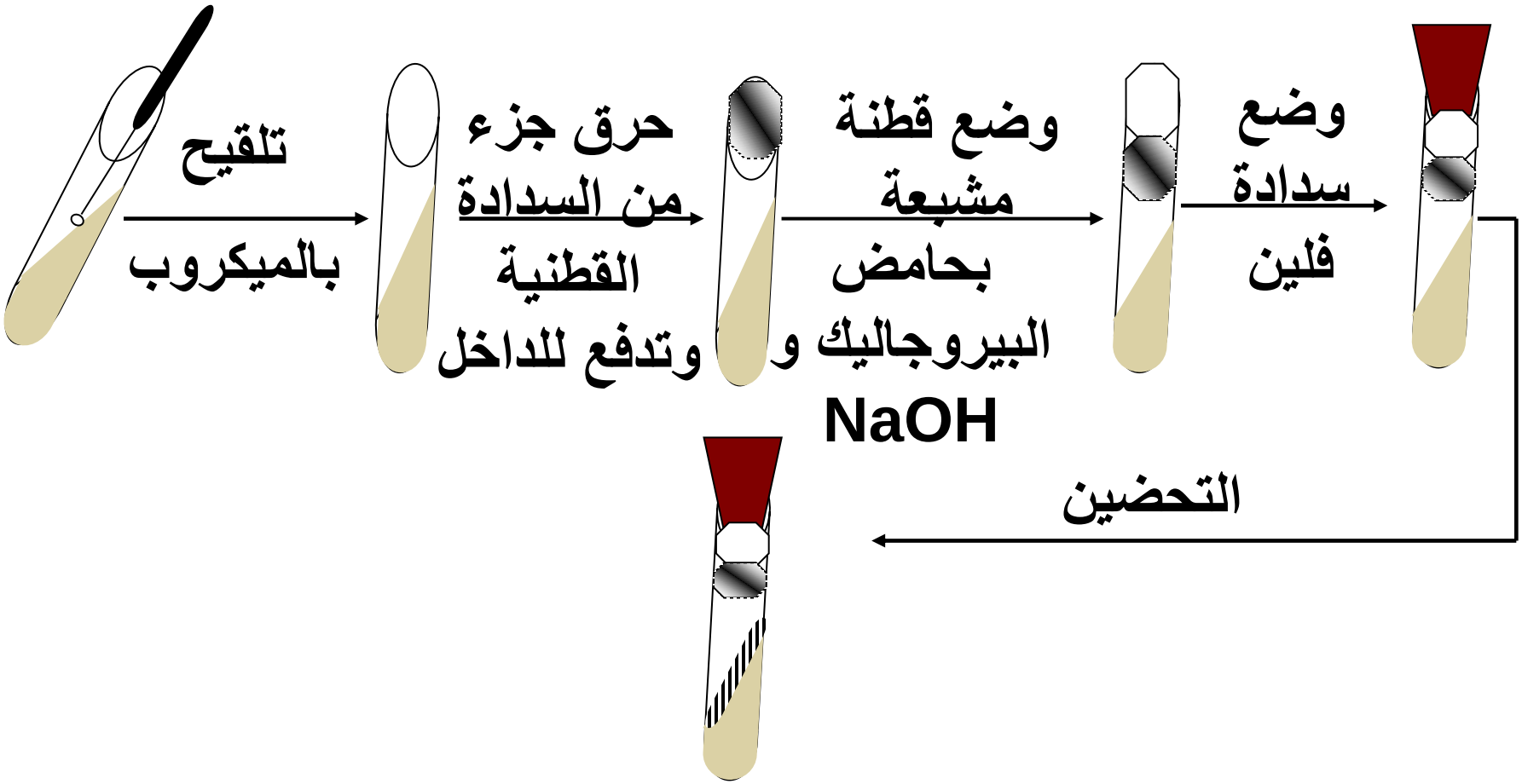
5- المزرعة المهتزة

6- احلال غاز خامل محل الأكسجين (جهاز ماكنتوش)

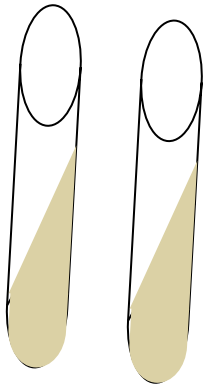
1- تنمية ميكروب هوائي مع آخر لاهوائي بغرض إستهلاك الأكسجين



2-أمتصاص الأكسجين بواسطة المواد الكيميائية

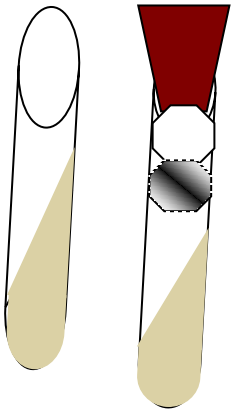


هل تستخدم تلك الطريقة لتقدير إحتياج الميكروبات للأكسجين؟



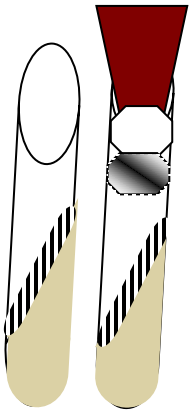
2 أنبوبة أجار
جلوكوز مائل

تلقيح الأنبوبتين
بالميكروب المختبر

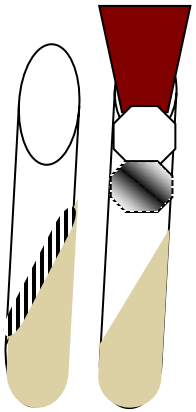


التحضين

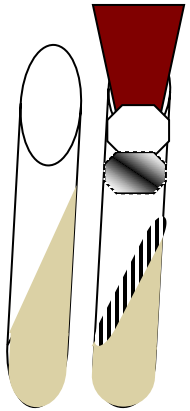
جعل الظروف لاهوائية فى
إحدى الأنبوبتين و هوائية
في الأخرى



ميكروب اختياري

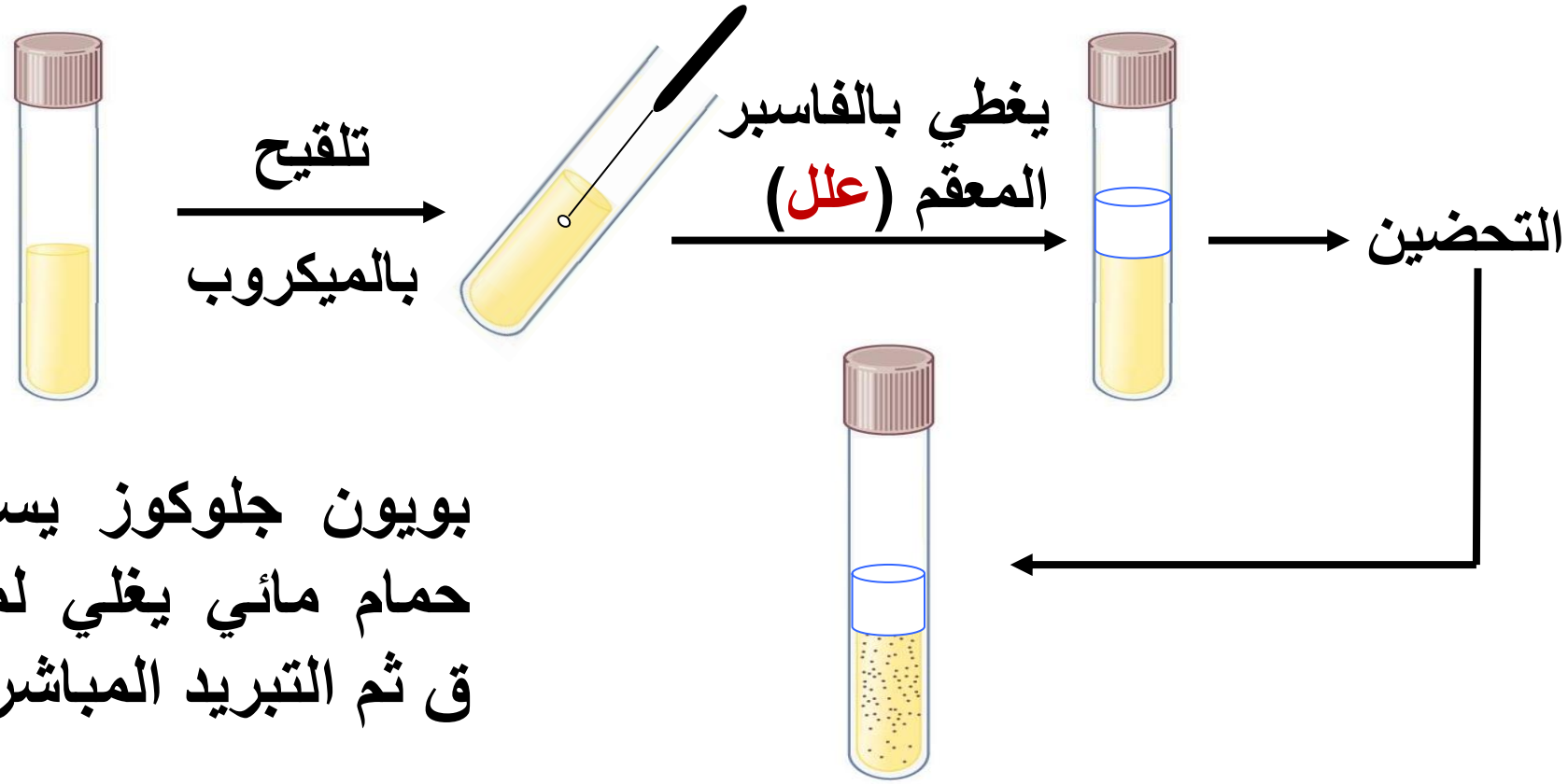


ميكروب هوائي



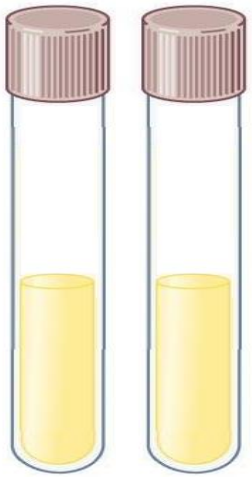
ميكروب لاهوائي

3- حجز البيئة عن الأكسجين بأستخدام الفاسبر



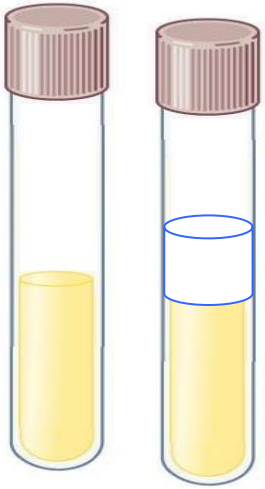
بويون جلوكوز يسخن في حمام مائي يغلي لمدة 10 ق ثم التبريد المباشر (علل)

هل تستخدم تلك الطريقة لتقدير إحتياج الميكروبات للأكسجين؟



2 أنبوبة بويون جلوكوز

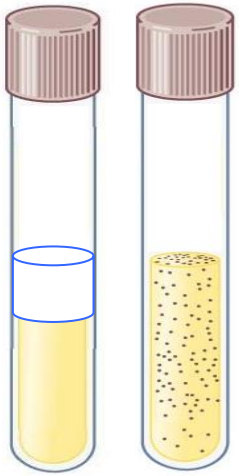
تسخين إحدى الانبوبتين على 100° م /10ق



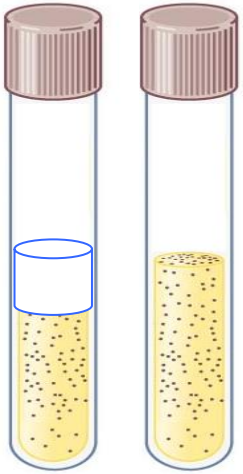
التحضين

تلقيح الأنبوبتين بالميكروب المختبر

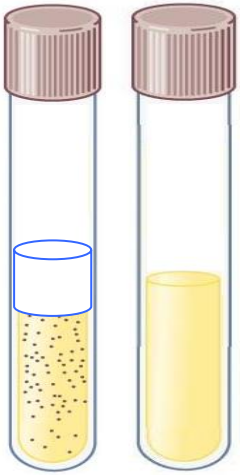
جعل الظروف لاهوائية فى إحدى الأنبوبتين و هوائية في الأخرى



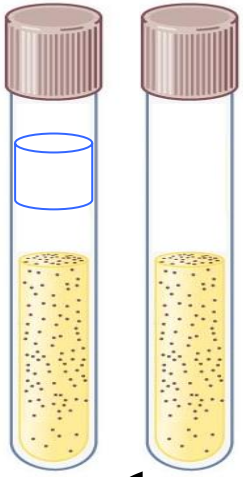
ميكروب هوائي



ميكروب اختياري

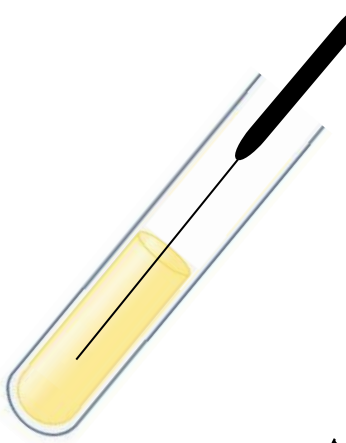


ميكروب لاهوائي

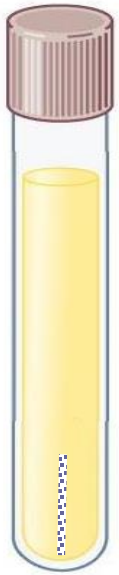


ميكروب اختياري+ غاز

4- الوخز في آجار الجلوكوز العميق

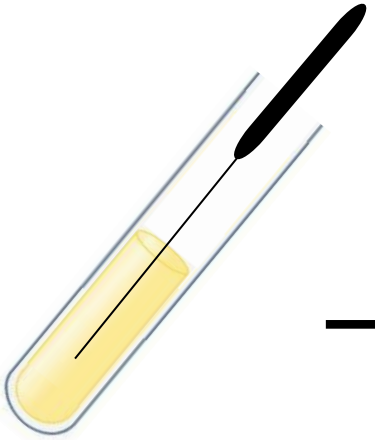


تلقيح بالوخز
والتحضين



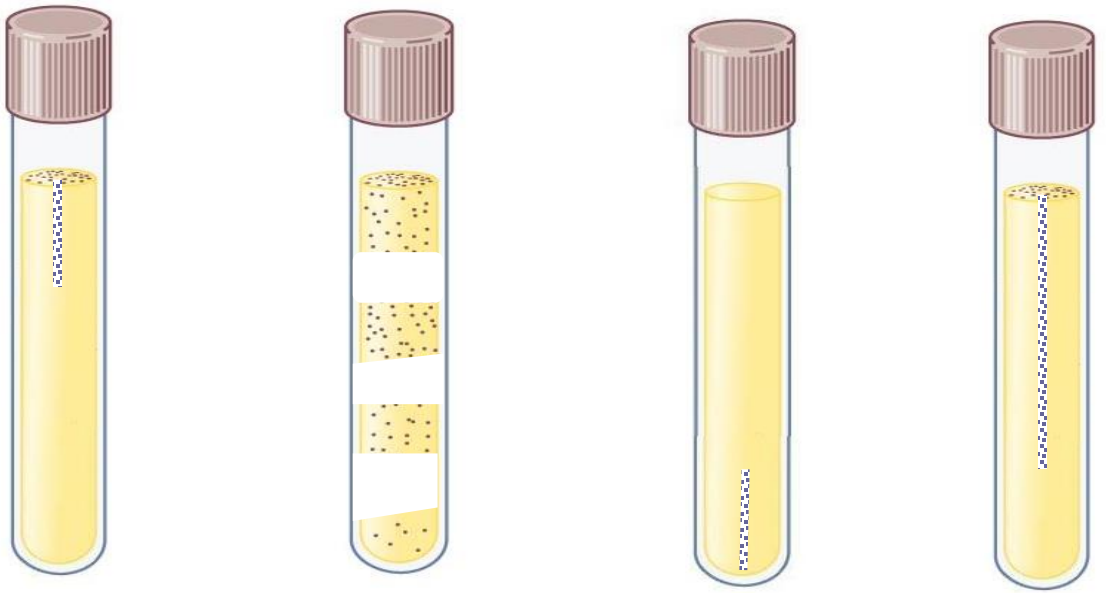
اجار جلوكوز عميق يسال في حمام مائي يغلي لمدة 10 ق ثم التبريد المباشر حتى يتجمد (علل)

هل تستخدم تلك الطريقة لتقدير إحتياج الميكروبات للأكسجين؟



تليقح بالوخز والتحضين

اجار جلوكوز عميق يسال في حمام مائي يغلي لمدة 10 ق ثم التبريد المباشر حتى يتجمد



ميكروب اختياري

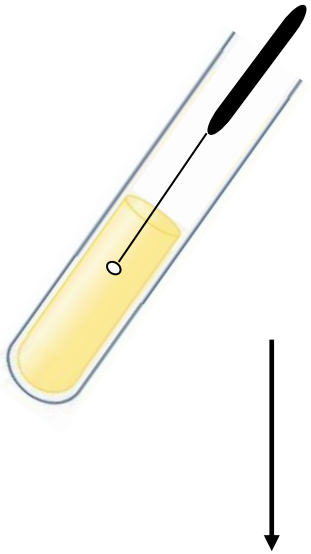
ميكروب لاهوائي

ميكروب اختياري + غاز

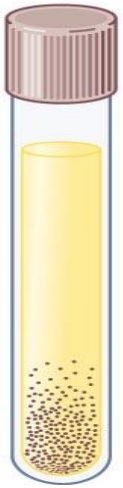
ميكروب هوائي

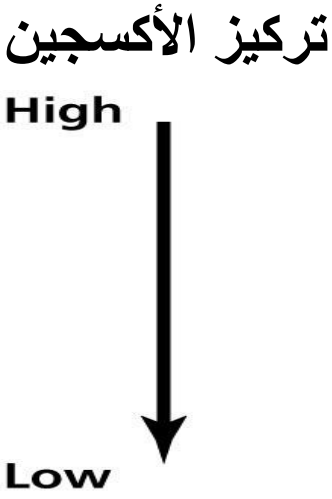
5- المزرعة المهتزة

التلقيح بابرة التلقيح ذات العقدة والتحضين



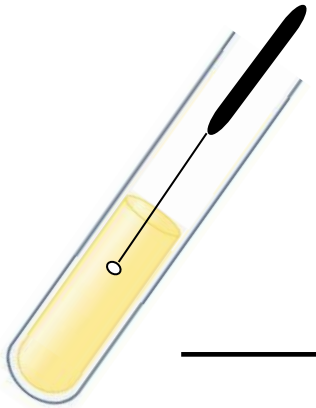
آجار جلوكوز عميق يسال في حمام مائي يغلي لمدة 10 ق ثم التبريد المباشر مع مراعاة عدم تصلب البيئة.

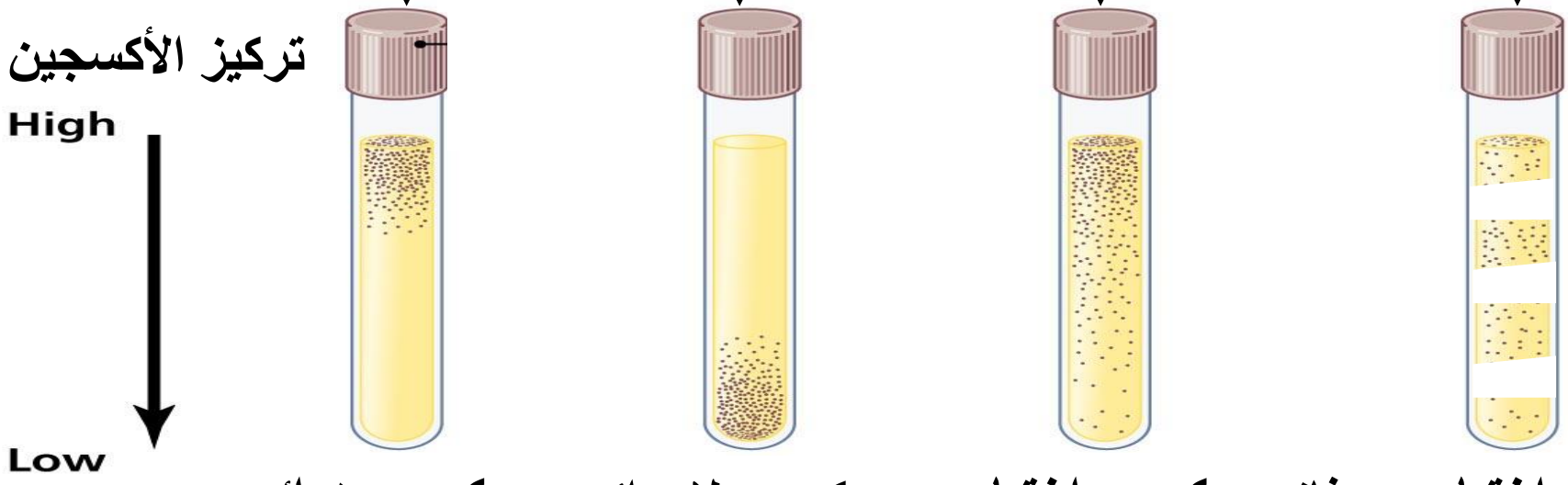




آجار جلوكوز عميق يسال في حمام مائي يغلي لمدة 10 ق ثم التبريد المباشر مع مراعاة عدم تصلب البيئة.

التلقيح بابرة التلقيح ذات العقدة والتحضين





6- احلال غاز خامل محل الأكسجين (جهاز ماكنتوش)



- تلقح المزارع وتوضع في الجهاز
- يوضع أنبوبة دليل (محلول مائي من الجلوكوز و الصودا الكاوية و أزرق الميثيلين) بعد أن تغلى للتأكد من خلو الجهاز من الـ O_2
- يتم احلال غاز H_2 محل الـ O_2
- قفل الصمامات و تشغيل الملف الكهربائي
- تحضين الجهاز في المحضن

صبغ ميكروب *Actinomyces* sp. بطريقة جرام

خيوط طويلة رفيعة - متفرعة - غير مقسمة بجدر عرضية
- تتكاثر بالكونيديا – موجبة لصبغة جرام G+

