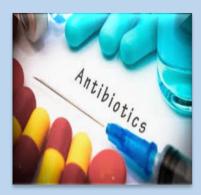


جامعة الانبار كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة

محاضرات مادة البكتريا التطبيقية المرحلة الرابعة / للعام الدراسي ٢٠٢٠-٢٠٢

البكتريا التطبيقية







المصادر:

1 حامد الزيدي ٢٠٠٠ الاحياء المجهرية - وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

٢ مواقع مختلفة من شبكة الانترنيت.

٣. محاضرات من اعداد تدريسين من جامعات مختلفة.



جامعة الانبار كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة المرحلة الرابعة / البكتريا التطبيقية اعداد / أ.م. د. فرقد حواس موسى العاني المحاضرة السابعة

ثانياً: بكتريا القولون Coliform bacteria

تشمل مجموعة بكتريا القولون جميع البكتريا التي تتصف بكونها هوائية او غير هوائية اختيارية، سالبة لصبغة كرام، عصيات غير مكونة للسبورات، تنتج حامضا وغازا نتيجة تخمر سكر اللاكتوز سكر الحليب) وان الأنواع التقليدية لهذه المجموعة تتمثل في E.coli والـ P.coli والـ E.coli والـ E.coli والـ عدر معوية طبيعية في الانسان وبقية الحيوانات في معتوية طبيعية في الانسان وبقية الحيوانات في حين ان الـ A.aerogenes توجد بكثرة على الحبوب والنباتات وقد توجد في فضلات الانسان والحيوانات، ويتشابه هذان النوعان فيما بينهما من الناحية المظهرية والزرعية، وبهذا فان اتباع والحرق الكيمياوي الحيوية يصبح ضروريا للتميز بينهما، والفحص عن الخصائص الأربع الاتية يعد مهما لهذا الغرض:

1 القابلية على انتاج الاندول في بكتريا E.coli في حين ان A.aerogenes لا تنتجه .

راعة النوعين على مرق الكلوكوز المغذي الخاص الحاوي على احمر المثيل ككاشف Methyl Red ، فان كلا النوعين ينمو وينتج حامضا نتيجة تخمر الكلوكوز الا ان انتاج الـ E.coli اكثر انتاج من النوع الأخر وبهذا فان الاس الهيدروجيني في النوع الأول يكون اقل مما هو عليه في النوع الثاني ، وعلى هذا الأساس فان الـ E.coil تعطي لونا احمر في حين ان الـ E.coil A.aerogenes لا تعطي هذا اللون .

T. القابلية على انتاج مادة الـ Acetyl methyl carbinol عند النمو في وسط -Acetyl methyl carbinol لا E.coli الـ Voges Proskauer وتفحص هذه المادة ضمن كشف peptone medium . تنتج هذه المادة في حين A.aerogenes تنتجها .

4. استغلال سترات الصوديوم اذ تتمكن بكتريا A.aerogenes من استغلال السترات مصدر وحيد للكربون عند تنميتها في وسط صناعي في حين ان الـ E.coli لا تستطيع ولتسهيل الفحص اطلق عليه تسمية E.coli:

I=Indol.

M=Methyl Red.

Vi=Voges Proskauer

C=Citrate

والجدول (٢) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية

Citrate	Voges Proskauer	Methyl Red	Indol	البكتريا
-	-	+	+	E.coli
+	+	3 -	-	A.aerogenes

- سالبة للاختبار

+ إيجابية للاختبار

ثالثاً: التقنية البكتريولوجية Bacteriological Techniques

توجد العديد من الطرق متخصصة في مجال الفحص البكتريولوجي للماء يجب تطبيقها بدقة عند العمل بها وتشمل:

١ يجب ان يؤخذ نموذج الماء في اوعية معقمة.

٢ يجب ان يمثل النموذج المصدر المائي الذي اخذ منه.

٣ يجب تجنب تلوث النموذج اثناء او بعد جمعه .

٤ يجب الإسراع في فحص النموذج بعد جمعه .

 $^{\circ}$ اذا كان $^{\circ}$ لابد ان يتأخر فحص النموذج فيجب ان يحفظ النموذج تحت درجة حرارة صفر $^{\circ}$ م $^{\circ}$.

ان الطرق البكتريولوجية اليومية تشمل:

ا العد الطبقي Plate Count لتحديد عدد البكتريا الموجودة .

٢ الفحوصات التي تكشف عن بكتريا القولون .

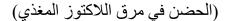
*العد الطبقي: يؤخذ عادة 1مل او 0.1 مل من النموذج في الاطباق على أوساط زرعية معينة ، ثم تحضن اما في 20 م لمدة 48 ساعة او في 35 م لمدة 24 ساعة . ثم تحسب عدد المستعمرات (عدد البكتريا في المللتر الواحد من النموذج)، الا انه علينا ان ندرك بان الماء الذي يحتوي عدد قليل جدا من بكتريا مرضية يعد اخطر بكثير من الماء الحاوي على عدد كبير من البكتريا المتعايشة غير المرضية .

*الكشف عن بكتريا القولون

يستخدم العديد من الأوساط الغذائية الانتخابية والتفريقية في هذا المجال ويتضمن الكشف ثلاث خطوات متعاقبة وهي:

- Presumptive Test .۱ الاختبار الافتراضي (التخميني)
 - Confirmed Test .٢ الاختبار التأكيدي
 - Completed Test . ٣ الاختبار المكمل (التكميلي)

المخطط التالي يوضح خطوات المتعاقبة للكشف عن بكتريا القولون



لا يوجد غاز (لا وجود لبكتريا القولون)

ينتج الغاز (دليل تخميني على وجود بكتريا القولون)

يتوقف الفحص

يستمر الفحص

الفحص الاثباتي

(EMB) Eosin -Methylene blue Agar (EMB) ان مستعمرات E.coli تكون هنا كبيرة غامقة ذات مركز اسود وببريق اخضر معدني.في حين تكون مستعمرات A.aerogenes كبيرة وردية اللون مخاطية بمركز اسود

يؤخذ الانموذج من انابيب ويزرع في Brillient يؤخذ الانموذج من انابيب ويزرع في BGLB green lactosebile broth حيث يقوم هذا الوسط الغذائي بمنع نمو مخمرات اللاكتوز التي لا تنتمي الى بكتريا القولون وبهذا فان ظهور الغاز هنا يمثل الفحص الاثباتي أي يؤكد وجود بكتريا القولون

الفحص الكامل

تختار المستعمرات النموذجية من اطباق EMB ، واذا استخدم BGLB فيخطط أولا على اطباق الـ EMB ثم تلقح هذه المستعمرات في

مائل الاكار حيث تجري على المستعمرات بعض الفحوص مثل صبغة كرام

مرق اللاكتوز (حيث ينتج الغاز) في حالة وجود بكتريا القولون

الكشف عن بكتريا القولون

توجد طريقة أخرى للفحوص البكتريولوجي للماء وقد طبقت هذه الطريقة ضمن الطرق القياسية وهي تدعى تقنية الترشيح الغشائي Membrane filter technique تتضمن:

١. يوضع قرص ترشيح معقم في وحدة الترشيح المعدة لهذا الغرض.

٢. يمرر حجم معين من الماء خلال قرص الترشيح هذا فتحجز البكتريا ان وجدت على سطح
الغشاء.

٣. يؤخذ قرص الترشيح ويوضع على ورق نشاف (غالبا ما يستخدم ورق الترشيح) مشبع مسبقا بوسط غذائي مناسب، وهناك اطباق لحجوم مناسبة تستوعب قرص الترشيح وورق النشاف.

٤. عند الحضن تتكون مستعمر ات على قرص الترشيح.

مميزات هذه التقنية:

١ بالامكان فحص حجوم كبيرة من الماء.

٢ بالامكان نقل غشاء الترشيح من وسط غذائي الى اخر بغية انتخاب السلالات البكتيرية
وتفريقها.

٣. الحصول على النتائج بوقت اقل بكثير من الطرق الأخرى.

٤ بالامكان القيام بالتقدير الكمي لبعض الأنواع البكتيرية مثل بكتريا القولون عند استخدام وسط غذائي مناسب.

الاحياء المجهرية الموجودة في الماء إضافة الى بكتريا القولون:

- - . iron bacteria بكتريا الحديد
- . Sulfer-reducing Bacteria بكتريا الكبريت. ٣
 - ٤. الطحالب Algae