جامعة الانبار

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

محاضرات مادة البكتريا التطبيقية المرحلة الرابعة / للعام الدراسي ٢٠٢٠-٢٠٢١

أعداد : أ.م.د. فرقد حواس موسى العاني

البكتريا التطبيقية

المصادر :

١.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 *Aerobacter aerogenes* ، *تعد بكتريا E.coli* مستوطنات معوية 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 الطرق الكيمياوي الحيوية يصبح ضروريا للتميز بينهما ، والفحص عن الخصائص الأربع الاتية يعد مهما لهذا الغرض :

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

٢.عندما يتم زراعة 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 الاخر 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 *A.aerogenes* لا تعطي هذا اللون .

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

٤. 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 ImVic :

I=Indol.

M=Methyl Red.

Vi=Voges Proskauer

C=Citrate

والجدول (٢) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية

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

+ إيجابية للاختبار - سالبة 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 .

٥. اذا كان لابد ان يتأخر فحص النموذج فيجب ان يحفظ النموذج تحت درجة حرارة صفر _ ١٠ م ° .

ان الطرق البكتريولوجية اليومية تشمل :

١.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:

١. Presumptive Testالاختبار الافتراضي (التخميني)

٢. Confirmed Testالاختبار التأكيدي

٣. Completed Testالاختبار المكمل (التكميلي)

المخطط التالي يوضح خطوات المتعاقبة للكشف عن بكتريا القولون

الفحص الابتدائي

(الحضن في مرق اللاكتوز المغذي)

ينتج الغاز (دليل تخميني على وجود بكتريا القولون) — **لا يوجد غاز (لا وجود لبكتريا القولون)**

يستمر الفحص — **يتوقف الفحص**

الفحص الاثباتي

يؤخذ الانموذج من انابيب ويزرع في Brillient green lactosebile broth BGLB 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

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

الفحص الكامل

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

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

مائل الاكار حيث تجري على المستعمرات بعض الفحوص مثل صبغة كرام

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 مستعمرات 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:

١. البكتريا المخاطية myxobacteria .
٢. بكتريا الحديد iron bacteria .
٣. بكتريا الكبريت Sulfer-reducing Bacteria .
٤. الطحالب Algae .