فصيلة المستدميات *Haemophilus*

المستدميات جراثيم مؤاكلة توجد بشكل خاص على مخاطيات الجهاز التنفسي العلوي، كذلك في مخاطيات الجهاز التناسلي، وهي عصيات سلبية الغرام تتطلب لنموها في الوسط الهوائي وجود الهيمين Hemine (العامل X) والـ NAD Nicotine Amide Dinucleotide (العامل V)، كما أن بعض السلالات لاتنمو إلا في جو يحتوي على 10% من CO_2. وسندرس منها :

المستدمية النزلية *Haemophilus influenzae*

1- قدرتها الإمراضية

لقد تم عزل المستدمية النزلية بشكل متكرر، وهي المسؤولة عند الأطفال (من عمر 3 أشهر إلى 3 سنوات) عن التهاب السحايا القيحي Meningite purulente (سلالات تحتوي على محافظ تكون في غالبيتها من النمط المصلي b)، والتهاب لسان المزمار Epiglottite، والتهاب النسيج الخلوي Cellulite، وداء الرثية (التهاب المفاصل) Arthrite.

2- العينات المرضية

غالباً ما تؤخذ من القشع، والسائل الدماغي الشوكي، والقيح، والدم بحسب توضع الإصابة.

3- التشخيص الجرثومي

3-1- الفحص المباشر للعينات المرضية: تظهر هذه الجراثيم تحت المجهر بشكل عصيات صغيرة غير متحركة، وتبدو بعد تلوينها بطريقة غرام أو بأزرق الميتيلين ذات تلون قطبي، ذات محفظة وتتجمع بشكل مزدوج أو سلاسل قصيرة، وفي القشع بشكل خاص يكون تجمعها كتجمع الأسماك وأحياناً تكون داخل الكريات البيضاء. وتعتبر جراثيم المستدمية النزلية متعددة الأشكال حيث يمكن ملاحظة وجود أشكال طويلة وحتى خيطية في العينات المرضية، وفي المزارع الغنية المضاف إليها خلاصات كريات الدم الحمراء.

3-2- زرع العينات المرضية: تزرع العينات المرضية على وسط الآغار بالدم أو على وسط الآغار المضاف إليه العامل X والعامل V، والوسط المستخدم عادة هو الآغار الشوكولاتي (الآغار بالدم المطبوخ) المضاف إليه مجموعة فيتامينات. وبعد 36 ساعة من حضن المزارع في درجة حرارة 37 مئوية تنمو مستعمرات صغيرة جداً شفافة على الآغار بالدم تكاد لا ترى بالعين المجردة، وغالباً ما تكون منعزلة، ويمكن أن تنمو بشكل أفضل فيما لو حضنت في جو لاهوائي. أما على وسط الآغار الشوكولاتي فتنمو

Dr.Hiba Alhamed Aldughi

وتعطي مستعمرات قطرها 1–2 ملم لونها رمادي أو تتلون بالأصفر الخفيف. إن سلالات المستدمية النزلية الحاوية على محافظ تعطي مستعمرات مخاطية قطرها أكبر قليلاً يتراوح بين 2–3 ملم.

وينصح عادة عند زرع العينات المرضية كالقشع وغيرها لعزل جراثيم المستدمية النزلية بأن يضاف إلى الوسط الصاد الحيوي باسيتراسين بمقدار 50 وحدة دولية/مل لكي تثبط نمو الجراثيم الاخرى غير جراثيم المستدمية النزلية.

3–3– التعرف على جراثيم المستدمية النزلية: إن تحديد متطلباتها من العامل X والعامل V يعتبر مرحلة أساسية في التشخيص، ويتم ذلك بعدة طرق أهمها :

يحضر معلق جرثومي بأخذ 2–3 مستعمرات من جراثيم المستدمية النزلية وتوضع في 5 مل من الماء المعقم، ثم يزرع هذا المعلق بطريقة الفرش على سطح وسط صلب من تريبتكاز الصويا Trypticase Soja، بعدئذ يوضع على سطح الوسط المزروع قرص مشرب بالعوامل X و V ثم تحضن مدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 مئوية. إن نمو الجراثيم حول القرص فقط يدل على أهمية هذه العوامل بالنسبة لنمو الجرثوم.

3–4– دراسة الخصائص الكيميائية الحيوية: تتم دراسة الخصائص الكيميائية الحيوية للتفريق بين أنواع المستدميات ولتحديد الأنماط الحيوية للمستدمية النزلية، حيث يتم اختبار الاورنثين ديكاربوكسيلاز ODC، واختبار الـ Ortho Nitro Phenyl Galactoside (ONPG)، اختبار الإندول، اختبار اليورياز، واستهلاك السكاروز تساهم في تحديد نوع المستدميات

الخصائص التفريقية لجراثيم المستدميات.

		الحاجة إلى العامل		إنتاج البورفرين من الآلانين	الحاجة إلى CO_2	أورنثين ديكاربوكسيلاز	البولة	أندول	ONPG	سكاروز	انحلال الدم	أوكسيداز	كتالاز
		X	V										
H.influenzae **Biotype**	**I**	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
	II	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
	III	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
	IV	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
	V	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
	VI	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
H.haemolyticus		+	+	-	-	-	+	d	-	-	+	+	+
H.para-influenzae **Biotype**	**I**	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
	II	-	+	+	-	+	+	-	d	+	d	+	d
	III	-	+	+	d	-	+	-	d	+	d	+	+
H.segnis		-	+	+	-	-	-	-	d	(+)	-	-	(+)
H.aphorophilus		-(1)	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
H.paraphorophilus		-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-

Dr.Hiba Ahamed Aldulmi

(1) يتطلب العامل X لعزله ، ( ) تفاعل ضعيف ، =dمتغير

3-5- تحديد الأنماط المصلية للمستدمية النزلية: توجد 6 أنماط مصلية للمستدمية النزلية تحتوي على محافظ هي a, b, c, d, e, f والتي تشكل بحسب الدراسات 20-70% من العزلات، أما العزلات الأخرى فلا تحتوي على محافظ. والنمط المصلي b هو النمط الغالب، ويمكن أن نقول إنه الوحيد المسؤول عن التهاب السحايا والالتهابات المعممة. إن تحديد النمط المصلي يتم على السلالات التي تعطي مستعمرات مخاطية، ويتم ذلك باختبار التراص Agglutination على شريحة زجاجية باستخدام المصول الضدية.

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

المتفطرات *Mycobacteries*

تنتمي المتفطرات إلى رتبة الأكتينوميسيتال، وهي عصيات مقاومة للحموض والكحول، هوائية أو أليفة للهواء القليل Microaerophillic، غير متحركة، غير متبوغة، وتمتلك جداراً خلوياً غنياً بالليبيدات. إن سرعة نموها في الأوساط الزرعية، وشكل مستعمراتها، وتلونها، ودرجة الحرارة المثلى لنموها تشكل العناصر الهامة في التعرف عليها وتشخيصها.

قدرتها الإمراضية

بعض هذه المتفطرات رمية عزلت من البيئة على أوساط زرعية بسيطة، وبعضها الآخر هي طفيلية إجبارية لا يمكنها النمو إلا في الخلايا الحية، وبعض أنواعها تشكل مجموعة متوسطة يتطلب نموها إضافة عوامل نمو إلى الأوساط الزرعية وتدعى هذه العوامل بـ Mycobactines. وسنتعرض هنا إلى دراسة المتفطرة السلية *Mycobacterium tuberculosis*.

المتفطرة السلية *Mycobacterium tuberculosis*

هي عامل مرض السل بأشكاله المتعددة عند الإنسان، وقد أُكتشفت من قبل العالم روبرت كوخ Robert KOCH عام 1882 لذلك أطلق عليها أسم عصيات كوخ. ينشأ مرض السل من استقرار عصيات السل في ناحية من نواحي الجسم وحدوث عوامل التهابية حولها فتأخذ شكل درنات Tubercules. وتعتبر الرئتان من أكثر الأعضاء إصابة، ولذلك غالباً ما نشاهد السل الرئوي المزمن أو الحاد. أما الأعضاء الاخرى التي يمكن أن تصاب بالسل فهي الغدد اللمفاوية والعظام والأغشية المصلية (الصفاق، غشاء الرئة) والسحايا والكلية والأمعاء والجلد، هذا وتختلف الأعراض بحسب مكان توضع السل.

1- العينات المرضية

إن كل العينات التي يتم فيها البحث عن المتفطرات، يجب أن تؤخذ بوساطة ماصات آلية أو ماصات ذات إجاصة لسحب هذه العينات أو أخذ أجزاء منها. وتعقم اللاقحات الجرثومية في أنبوب الترميد أو بتحريكها ضمن وعاء يحتوي في قعره على الرمل المغمور بالكحول 90° قبل أن تعقم على اللهب.

2- الفحص المباشر

المتفطرات جراثيم مقاومة للحموض والكحول Acide-alcohole-Fast. ولدراستها يجب استخدام أنابيب ذات استخدام لمرة واحدة لتثفيل العينات السائلة ثم بعدئذ تعمل لطاخة اعتباراً من راسب التثفيل.

يتم عمل لطاخة جرثومية وتثبيتها ثم تلوينها **بطريقة زيل Ziehl- Nelsoon** كما يلي:

توضع الشريحة الزجاجية التي حضرت عليها اللطاخة على سخانة وتغمر بالفوشين الفينيكي وتترك لمدة 10 دقائق حيث يضاف إليها الفوشين الفينيكي من وقت إلى آخر من أجل تجنب عملية الجفاف. ثم تغسل بالماء، وتغطس الشريحة لمدة 2 دقيقة في محلول من حمض الآزوت الممدد بنسبة 3/1 ، ثم تغسل

Dr.Hiba Ahamed Aljuini

بالماء. بعدئذ تغطس الشريحة لمدة 5 دقائق في الكحول 90°، وتغسل بالماء، ثم تغمر الشريحة بأزرق الميتلين لمدة 30 ثانية وتغسل بالماء ثم تجفف. العصيات المقاومة للحموض والكحول تبقى ملونة بالأحمر.

الكشف بطريقة التألق Fluorescence (طريقة Degommier)

يتم فيها تلوين مضاعف باستخدام مادتين متألقتين، تحتفظ المتفطرات بالتألق الأصفر لمادة الأورامين Auramine وما تبقى من العناصر تأخذ التألق الأحمر لمادة أحمر التيازين Thiazine.

3- الفحص غير المباشر

بوساطة تفاعل السلين Tuberculin Test وذلك بحقن 0.1 مل من السلين النقي في الأدمة وبعد 48 ساعة، تقرأ النتائج، فالتفاعل الإيجابي يتجلى بإرتشاح مع وزمة حمراء. أما التفاعل السلبي فلا يحدث فيه أي تغير في مكان الحقن. وعلى العموم إذا كان قطر الوذمة 5 مم فهو أمر عادي، أما إذا أصبحت 15 مم فهذا دليل على تكاثر العصيات داخل الوذمة.

4- الزرع الجرثومي

يستخدم الراسب الذي تم الحصول عليه بعد التثفيل لزراعة أربعة أنابيب (انبوبين من وسط لوفنشتاين-جنسن Löwenstein-Jensen وأنبوبين من وسط Coletsos). تحضن الأنابيب في وضع مائل في الدرجة 37 مئوية، كما يجب عدم إغلاق الأنابيب بشكل محكم إلا بعد 48 ساعة من الحضن وذلك للسماح بتبخر الماء الزائد.

يمكن إجراء الزراعة مباشرة لعينات البول وعينات السائل الدماغي الشوكي، وسائل الجنب والسوائل المفصلية .....الخ المأخوذة بشكل عقيم. أما بالنسبة للعينات الجلدية فيجب على الأقل حضن أنبوب واحد من الأنابيب المزروعة في درجة حرارة 30 مئوية

5- قراءة النتائج

5-1- الفحص العياني للمزارع : تراقب أنابيب الزراعة بعد 3-4 أيام من الحضن بهدف الكشف عن التلوثات والتي تؤدي بشكل عام إلى تغير في لون الوسط. ثم تفحص الأنابيب كل أسبوع لمدة سبعة أسابيع، ثم تفحص بعد ثلاثة أشهر من الحضن. والقول أن الزراعة عقيمة لا يكون إلا بعد سبعة أسابيع من الحضن، ومع ذلك فإن بعض المتفطرات يمكن أن تنمو بشكل متأخر جداً.

إذا تم ظهور مستعمرات، فإن عمل لطاخة على شريحة زجاجية تلون بطريقة زيل Ziehl يسمح بمعرفة إن كانت جراثيم هذه المستعمرات هي عصيات مقاومة للحموض والكحول. إن مظهر أو شكل مستعمرات المتفطرة السلية *Mycobacterium tuberculosis* والمتفطرة البقرية *Mycobacterium bovis* والمتفطرة الإفريقية *Mycobacterium africanum* يظهر كما هو موضح في الفقرة التالية. أما الأنواع الاخرى من المتفطرات فلها أبعاد وألوان مختلفة.

خصائص مستعمرات المتفطرة السلية: تظهر مستعمراتها بعد 10-30 يوم من الزراعة، حوافها مدورة، ملساء، يمكن رؤيتها بالمكبرة، نزعها صعب من على سطح وسط الزرع، وعادة يمكن رؤيتها بشكل جيد مع إضاءة بزاوية مقدارها 45 مئوية. ثم تأخذ شكلاً غير نظامي (شكل ثأليل Verruca أو على شكل تاج

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

Crown) ذات مظهر جاف، وسطح متموج أو حلمي Teatic، عاتمة، ذات لون كريمي ثم تصبح بلون بيج غامق ثم أصفر فاتح (الشاموا) Chamois

تظهر مستعمراتها ملساء على الأوساط الرطبة، لكن لا يمكن رؤيتها إلا بالمكبرة، وتظهر بدقة على شكل حلمي (يشبه حلمة الثدي). وعندما تكون المستعمرات متباعدة عن بعضها بشكل جيد، فإنها تأخذ مظهر القرنبيط وابعادها تتراوح مابين 5–10 ملم. مستعمراتها صعبة التفكك أو التبعثر في الماء.

خصائص مستعمرات المتفطرة البقرية: تتكاثر ببطء وتظهر مستعمراتها بعد فترة تتراوح بين 20–40 يوم وتكون هذه المستعمرات صغيرة جداً، مسطحة، ملساء، لماعة، عديمة اللون أو بيضاء صدفية، ثم تصبح محدبة ذات نقطة زهرية، وفي النهاية تأخذ شكلَ مخروط تم ضغطه من الأعلى ليصبح مسطحاً وفي مركزه حبة (ما يشبه البثرة blister) لا يتجاوز قياسها رأس الدبوس. يمكن أن تتبعثر بسهولة في الماء وتشكل معلقاً متجانساً.

خصائص مستعمرات المتفطرة الإفريقية: مستعمراتها مسطحة، جافة، ذات مظهر حبيبي ناعم، تبعثرها أو انحلالها صعب في الماء. من الصعب رفعها عن سطح الوسط الزرعي.

5-2- الفحص المجهري: تظهر في اللطاخة الجرثومية (التي حضرت اعتباراً من مستعمرة ولونت بطريقة زيل Ziehl) عصيات من قياسات مختلفة تتراوح أطوالها مابين 2 – 5 مكرومتر وعرضها مابين 0.4–0.6 مكرومتر ذات نهايات مدورة، وتحتوي في بعض الأحيان على حبيبات شديدة التلون بالأحمر، في حين يكون لون السيتوبلاسما زهرياً شاحباً، وتتجمع معظم العصيات على شكل حبال أو ضفائر. وتكون طريقة تجمعها هذه نموذجية في الوسط السائل الخالي من مادة التوين Tween 80 (وسط Youmans).

5-2-2- المتفطرة البقرية والمتفطرة الإفريقية: خصائصها المورفولوجية المجهرية مشابهة للمتفطرة السلية، لكن يوجد عدد قليل من العصيات نوعاً ما أكبر وأعرض من العصيات الأخرى تحتوي على حبيبات متجمعة في المحيط وستوبلاسما صافية.

ملاحظة: إن تجمع الجراثيم على شكل حبال أو ضفائر صفة مميزة للعصيات السلية ولا تشاهد إلا نادراً عند المتفطرات اللانظامية Mycobacterium atypiques.

6- تفسير النتائج

إذا كانت نتيجة الفحص المباشر إيجابية لايمكن اعتبارها دليلاً على الإصابة بالسل وعلى المخبر أن يعلم الطبيب المعالج عن مشاهدة جراثيم مقاومة للحموض والكحول دون أن يفترض تشخيصها. ويعود للطبيب المعالج بناءً على الأعراض السريرية ونتائج الفحص الجرثومي المباشر أن يستخلص التشخيص.

بالمقابل، إن عزل جراثيم المتفطرة السلية أو المتفطرة البقرية أو المتفطرة الإفريقية يجب إعتباره دائماً دليلاً على وجود عدوى، وعلى المخبر أن يعلم الطبيب المعالج بسرعة. وإن كان هناك شك بالسل (بناءً على الأعراض السريرية)، فإن عملية العزل تؤكد التشخيص وتسمح بدراسة العلاج المناسب (أي اجراء تحسس للصادات ومعرفة أفضلها للقضاء على الجرثوم).

Dr.Hiba Ahmed Alduini

- المتفطرات المسؤولة عن العدوى الرئوية عند الإنسان هي: *M.xenopi, M.avium, M.kansasii, M. simiae, M. fortuitum, M. chelonei*. وفي أغلب الأحيان فإن هذه العدوى بالمتفطرات اللانظامية تُطعم أو تنضاف إلى بارانشيم رئوي تبدل بواسطة جروح ندبية لمرض السل، أو جروح في الرئة ناتجة عن استنشاق دقائق معدنية، أو انتفاخ الرئة الفقاعي أو تصيب الأشخاص الذين انخفضت دفاعاتهم مثل مرضى السرطان، أو في حالة امراض التثبيط المناعي Immunosuppression.
- إصابات الشجرة البولية حالة استثنائية، لكن وجود المتفطرات الرمية على المخاطيات الناسلية يكون متكرراً.
- *Mycobacterium scroflaceum* والمتفطرات من مجموعة Avium تحرض بشكل أساسي على التهاب الغدد عند الأطفال.
- إن عزل المتفطرات اللانظامية من جروح مغلقة (خراجات، عدوى عظمية مفصلية، التهاب الغدد Adenitis)، عندما تؤخذ العينات في شروط جيدة من العقامة أو التطهير تسمح بإثبات أن هناك عدوى.
- *Mycobacterium marinum* مسؤولة عن جروح جلدية، *M. fortuitum, M. chelonei* مسؤولة عن بثور أو تقرحات تحت الجلد.

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

فصيلة الوتديات Corynebacteriaceae

عزلت الوتديات من الإنسان والحيوان، وهي عصيات إيجابية الغرام، غير متحركة، غير متبوغة، إحدى نهاياتها منتفخة، إيجابية الكاتلاز سالبة الأوكسيداز، تتلون بطريقة غير منتظمة وتتجمع بطريقة خاصة.

الوتدية الحناقية *Corynebacterium diphteriae*

1- قدرتها الإمراضية

تسبب جراثيم الوتدية الخناقية للإنسان مرض الخناق الغشائي، الذي يتميز بظهور أغشية كاذبة على مخاطية الجهاز التنفسي العلوي (البلعوم والحنجرة واللوزتين والأنف) وبشكل نادر على الجلد وملتحمة العينين والأعضاء التناسلية عند الإناث. وتوجد هذه الجراثيم في الأغشية الكاذبة وفي الأغشية المخاطية المصابة، حيث تبقى في مكانها وتفرز ذيفانها في العضوية والذي يؤدي إلى ظهور الأعراض السريرية للعدوى مثل حدوث شلل محيطي نتيجة وصول الذيفان إلى الجملة العصبية المركزية. ونادراً ما تعزل هذه الجراثيم وبشكل استثنائي من الدم.

2- أخذ العينات المرضية

يؤخذ جزء من الغشاء الكاذب بطريقة عقيمة بوساطة ماسحة قطنية من البلعوم أو من مخاطية الأنف عند الأطفال.

3- تشخيص الوتدية الخناقية

3-1- الفحص المباشر: يتم عمل لطاخة من عينات الأغشية الكاذبة، وتلون بطريقة غرام أو بأزرق الميتيلين حيث تبدو الجراثيم وتدية الشكل منحنية قليلاً، إيجابية الغرام طولها 1-8 مكرومتر وعرضها 0.2-0.8 مكرومتر أحد نهاياتها منتفخة، غير متبوغة، عديمة المحفظة تتوضع أحياناً بشكل أحرف صينية، أو على شكل حزمة من الدبابيس. تفقد تلونها البنفسجي بسهولة عند تطبيق ملون غرام إذا تركنا مزيج الكحول والأسيتون مدة 5-10 دقائق ولايبقى منها سوى حبيبات تأخذ شكل السبحة داخل سيتوبلاسما الخلية وتكون إيجابية الغرام بشكل خفيف وهذا ما يسمح بتمييزها من بقية الوتديات. يبدو تلونها غير نظامي، وتظهر فيها حبيبات ميتاكروماتينية داخل الخلية الجرثومية حيث تتوضع في قطبي الخلية، لذلك سميت ايضاً بالحبيبات القطبية. وتستخدم طريقة إرنست-نايسر Ernest-Neisser في تلوينها لذلك عرفت أيضاً بجسيمات إرنست-نايسر.

3-2- زرع العينات المرضية : يتم استخدام نوعين من الأوساط الزرعية من أجل عزل الوتدية الخناقية هما:

- **أوساط غنية:** مثل وسط الآغار بالدم، وسط مولر هينتون Mueller-Hinton، وسط لوفلر Loeffler بالمصل البقري المخثر.

Dr.Hiba Alhamed Aldiri

- **أوساط انتقائية:** مثل الآغار بالدم المضاف إليه التللوريت Tellurite أو وسط GHT أو وسط تينسدال Tinsdale أو وسط الآغار بالدم المضاف إليه حمض النااليديكسيك Nalidixic.

بعد 24 ساعة من زراعة العينات المرضية على الآغار بالدم وحضنها بدرجة حرارة 37 مئوية تظهر مستعمرات يتراوح قطرها بين 1–3 ملم، خشنة غير منتظمة وفي بعض الأحيان محللة للدم. أما على وسط لوفلر فتظهر المستعمرات بعد 12–15 ساعة (من الحضن بدرجة حرارة 37 مئوية) بقطر 1–2 ملم وتكون ملساء لونها مائل للرمادي مركزها عاتم مثل نقطة الشمع. وعلى وسط GHT تكون مستعمراتها ذات لون أسود، أما على وسط تينسدال فتظهر حول المستعمرات هالة سوداء.

3–3– تشخيص الوتدية الخناقية: يتم تشخيصها إعتماداً على :

3–3–1– خصائصها الكيميائية الحيوية: إيجابية الكاتلاز، وعلى اعتبار أن هذه الجراثيم ذات متطلبات غذائية، لذلك يجب أن يتم إجراء الاختبارات الكيميائية الحيوية في وسط يحتوي على مصل الدم. تخمر الغلوكوز ولا تخمر السكاروز، كما أنها تخمر الديكسترين، وهي سالبة اليورياز وتطلق غاز H_2S بشدة.

3–3–2– البحث عن ذيفان الوتدية الخناقية: إن البحث عن ذيفان الوتدية الخناقية يعتبر اختباراً مهماً لتشخيصها، ويمكن أن يتم ذلك بطريقتين :

أ– **في الزجاج *In Vitro*:** اعتماداً على اختبار إليك Elik الذي يجرى كما يلي:

- يسكب في طبق بتري 15 مل من وسط أساس لاختبار إليك.
- يشرب شريط من ورق النشاف المعقم (طوله 70 ملم وعرضه 15 ملم) بأضداد الذيفان Antitoxine الممدد الحاوي على 750 وحدة/مل.

الخصائص التفريقية لأنواع جراثيم الوتديات.

أنواع الوتديات	الكتلاز	حل الدم	إرجاع النترات	اليورياز (1)	الجيلاتيناز	غلوكوز (2)	مالتوز (2)	سكاروز (2)	تريالوز (2)
C.diphteriae	+	+	+	–	–	+	+	–	–
C.ulcerans	+	+	-	+	+(°25)	+	+	–	+
C.pseudotuberculosis	+	+	var	var	var	+	+	var	-
C.equi	+	-	var	var	-	-	-	-	-
C.renal	+	-	-	+	-	+	-	-	-
C.xerosis	+	-	+	-	-	+	+	+	-
C.pseudodiphtericum	+	-	+	+	-	-	-	-	-
C.pyogenes	-	+	-	-	+	+	+	-	-
C.hemolyticum	-	+	-	-	-	+	+	var	var

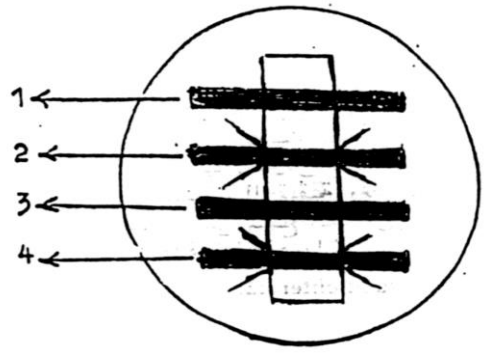
(1) اختبار اليورياز يتم على وسط Urée de Christensen.

(2) تجرى هذه الاختبارات على وسط Cystine Trypticase Agar +10% مصل الدم.

Dr.Hiba Ahamed Aldujhi

- يوضع الشريط على سطح علبة البتري بحيث يمر من مركزها وتحضن لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة 37 مئوية، عندئذ تنتشر أضداد الذيفان في الوسط الزرعي.
- يؤخذ في وعاء 15 مل من وسط الأساس (المعقم والمميع والمبرد للدرجة 45 مئوية) ويضاف إليه 3 مل من مصل الأرنب أو مصل الحصان المعقم، وبعد خلطهما يسكب محتوى الوعاء على سطح علبة البتري بحيث يصبح شريط ورق النشاف بين طبقتين من الوسط المغذي، ويترك ليجمد.
- على السطح السفلي لطبق البتري وباستخدام قلم نرسم خطوطاً متعامدة على شريط ورق النشاف ومتوازية فيما بينها (عرض الخط 5ملم والبعد بين الواحد والآخر 10 ملم). كل علبة بتري قطرها 90 ملم يمكن استخدامها لاختبار 5–6 سلالات جرثومية.
- باستخدام لاقحة معقمة تتم زراعة السلالات الجرثومية (المراد اختبارها على سطح الوسط الزرعي) بحيث تتم زراعتها فوق الخطوط التي تم رسمها على السطح السفلي لطبق البتري. وعلى سطح كل طبق بتري تتم زراعة سلالة مولدة للذيفان (شاهد إيجابي)، وسلالة أخرى غير مولدة للذيفان (شاهد سلبي) بالإضافة إلى السلالات المراد اختبار إنتاجها للذيفان.
- تحضن اطباق البتري في درجة حرارة 37 مئوية لمدة 24 ساعة ثم تقرأ النتائج:

قراءة النتائج: إن السلالات المنتجة لذيفان الخناق ستنتج هذا الذيفان أثناء تكاثرها على سطح الوسط الزرعي، حيث سينتشر الذيفان في الوسط الزرعي وبالتالي سيتفاعل عندئذ مع مضاد الذيفان ويحدث ترسب على شكل خط عاتم في الوسط الزرعي (شاهد إيجابي)، أما السلالات غير القادرة على إنتاج الذيفان فلن تشكل مثل هذه الخطوط (شاهد سلبي)، لذلك تقارن السلالات المراد معرفة إن كانت قادرة على إنتاج الذيفان مع الشاهد الإيجابي ومع الشاهد السلبي، فإن شكلت خطوط عاتمة في الوسط الزرعي فهي منتجة للذيفان وإن لم تشكل خطوط عاتمة فهي غير قادرة على إنتاج الذيفان .



1– ذرية من الوتدية الخناقية غير سامة لاتصطنع الذيفان (شاهد سلبي).
2– ذرية من الوتدية الخناقية سامة تصطنع الذيفان (شاهد إيجابي).
3– ذرية من الوتدية الخناقية لاتصطنع الذيفان (مجهول سلبي).
4– ذرية من الوتدية الخناقية تصطنع الذيفان (مجهول إيجابي).

طريقة الكشف عن إنتاج الذيفان عند جراثيم الوتدية الخناقية (اختبار إليك).

Aisha Ahamed Alduini