# مخبر الأحياء المجهرية

اعداد: د.نوال القرواني

Microbial Laboratory

-قسم الجراثيم

-قسم الفطور

-قسم الحمات

-قسم الفحوص المناعية والمصلية

-غرف ملحقة إضافية كغرف التعقيم والغسيل وتحضير المحاليل والبيئات الزرعية

## قواعد العمل في مخابر الأحياء المجهرية

-يجب أن يتم العمل في كافة مراحله بصورة عقيمة

-يجب ارتداء المعاطف الطبية النظيفة أثناء العمل

-يجب تنظيف الأيدي وتعقيمها قبل البدء بالعمل وبعده

-يجب عدم تناول الطعام والشراب وعدم التدخين في المخبر

يجب عدم العمل في المخبر عند وجود جروح ظاهرة أو إصابات في أيدي العاملين حتى تلتئم تماماً

-يجب أن يكون مكان العمل مغلق تماماً

-يجب تغطية الرأس والأنف والفم بقناع قماشي وارتداء القفازات اليدوية خاصةً عند التعامل مع الحمات أو عند حقن الحيوانات المخبرية بأحد مسببات الأمراض الخطيرة

يجب تعقيم اللاقحة الجرثومية (Loop) على اللهب حتى الاحمرار قبل وبعد أخذ العينة المراد فحصها، كما يجب الاختصار قدر الإمكان من مدة فتح السدادة أو طبق بتري أثناء أخذ العينة التي ستزرع على وسط جديد.

-يجب وضع جميع الأدوات المستخدمة ( ماصات، شرائح زجاجية، أنابيب... ) في وعاء يحوي محلولاً مطهراً ( ماء جافيل مثلاً ) ريثما يتم تعقيمها وتنظيفها أو التخلص منها بشكل صحي

-يجب التخلص الصحي من البيئات الجرثومية والمزارع الحمّوية بعد انتهاء الحاجة إليها لمنع تلوث الوسط الخارجي

-يجب تعقَيم جميع الأواني والأدوات الملوثة بعد الاستخدام ثمَ تغسل وتجفف، ولا يجوز استخدامها ثانيةً قبل التعقيم

يجب مراعاة قواعد النظافة بشكل كامل، إذ يجب العمل على طاولة ملساء مقاومة للحموض والأسس والحرارة، وتنظف كل يوم قبل البدء بالعمل وبعد الانتهاء منه وذلك بالماء المضاف له أحد المطهرات أو يتم مسحها بالكحول

**التعقيم والتطهير Sterilization and Disinfection**

**التعقيم** من حيث التعريف يعني إتلاف كافة الأحياء المجهرية الممرضة وغير الممرضة ( جراثيم وأبواغ، فطور، حمات ) والتي يمكن أن توجد على الأدوات أو في الأوساط الزرعية المستخدمة في دراسة الجراثيم

**التطهير** هو القضاء على الشكل الإنباتي للجراثيم وليس على الأبواغ وتستخدم فيه عادةً المواد الكيميائية التي تعمل على تأخير أو عرقلة النمو الجرثومي

## مصادر دخول الجراثيم إلى القطيع

-من الطيور البرية.

-القوارض.

-بواسطة الإنسان وأدواته.

-اختلاط الطيور المريضة مع السليمة (يمكن أن يحدث خلال إدخال طيور جديدة للقطيع)

## استنبات وعزل العوامل المسببة المرضية

**استنبات الجراثيم** هو الحفاظ على العامل المسبب المرضي خارج الجسم في أوساط ملائمة وقريبة من ظروف الجسم. و يتم على منابت تميزية تؤمن نمو الجرثوم وتعيق نمو الأنواع الأخرى.

## أماكن أخذ العينات للفحص الجرثومي

-المفرزات الالتهابية للخراجات

- الزرق

- البيض

- الفتحات الطبيعية لجسم الطائر

- الأعضاء بعد التشريح

- وتحضن العينات على وسط الزرع (مرق مغذي - الأغار) وبدرجة ٣٧مئوية/ ٢٤ساعة

## أخذ عينات من الزرق:

-تؤخذ عينة الزرق من المجمع مباشرة أو من الزرق الساقط على سطح معقم.

-يجب إجراء فحص دوري على منبت الأغار الدموي - ماكونكي.

-في حالة الشك بالسلمونيلة يجب إرسال العينات إلى مخابر اختصاصية،

-ملاحظة: السلمونيلة تيفيموريوم هي الأكثر شيوعاً من بين هذه المجموعة

-معظم الجراثيم تكون متعايشة وتتحول إلى ممرضة عندما تضعف مقاومة الجسم وعندما توجد في غير القناة الهضمية

## أخذ عينات من البيض

-تعقيم سطح البيضة بالكحول.

-يعمل فتحة قصيرة في القشرة.

-استخدام لوب أو ماسحة لأخذ العينات.

-تزرع العينة المأخوذة على الأجار الدموي أو ماكونكي.

-عند الشك السلمونيلة يمدد جزء من الصفار بمرق السيلينات ويحضن لمدة ٢٤ ساعة/٣٧م°، ومن ثم يتم الزرع على المنابت تميزية.

## من أين تؤخذ العينات بعد التشريح؟

-يوضع الطائر على الظهر ، ويبلل مكان التشريح بمعقم كالكحول أو اليود الطبي ، ثم يرفع الجلد .

-يفتح تجويف الطائر بمقص معقم، مع استكمال فتح التجويف من الجانب الأيسر للجثة حتى الوصول إلى عظم الترقوة ، وبعد كسره يتم رفع القص إلى الجزء الأيمن وبذلك تتكشف الأعضاء الداخلية.

-أخذ العينات من الأعضاء الداخلية بواسطة مشرط معقم ونقلها إلى طبق بتري معقم لحفظ العينات من التلوث وغالبا ماتؤخذ العينات من الكبد – الرئة – القلب – الطحال.

-تؤخذ مسحة للزرع على المنابت من داخل الأعضاء.

-ملاحظة: العينات المأخوذة بعد نفوق الطائر بحوالي٢٤ساعة لاتعبرعن الحالة.

**كيف تؤخذ العينات من الأعضاء للزرع الجرثومي؟**

-عزل أجزاء من الأعضاء إلى أطباق بتري أو علب بلاستيكية باستخدام مشرط و ملقط معقمين.

-عرض السطح الخارجي للعضو للهب بشكل طفيف ، ومن ثم إجراء تجديد لحواف العضو بالمقص المعقم.

-استخدام العضو مباشرةً للزرع على وسط الزرع (أغار المغذي أو أغار الدموي) .

يمكن استخدام الملقط المعقم لتثبيت العضو وإجراء شق بالمشرط ومن ثم فتح الملقط قليلاً حتى يظهر الشق الذي تم إجراؤه في العضو واستخدام اللوب (عقدة الزرع) للأخذ من العينة والزرع مباشرةً على الأجار المغذي أو الأغار الدموي

## طرق تحديد نوع الجرثوم

## Identification methods of bacterium

١-الفحص المجهري

٢-الزرع الجرثومي

٣-الاختبارات الكيميا حيوية والمصلية

## أهم أوساط الزرع الجرثومي

**المرق المغذي-الأغار المغذي-الأغار الدموي**

**أغار السلمونيلة والشيجيلة-أغارالخضرة اللامعة- TSI**

**آجار المانيتول المالح-أغار الصويا المهضومة-أغار ادوارد**

**أغار ماكونكي-أغار الايوزين وأزرق الميتيلين**

## أهم المسببات المرضية الجرثومية

**العنقوديات .Staphylococcus spp**

**العقديات Streptococcus spp**

**الإشريكية القولونية Escherichia coli**

**البستوريلة مالتوسيدا Pasteurella multocida**

**المفطورات Mycoplasma**

**السلمونيلة Salmonella spp.**

## الاختبارات الكيمياحيوية

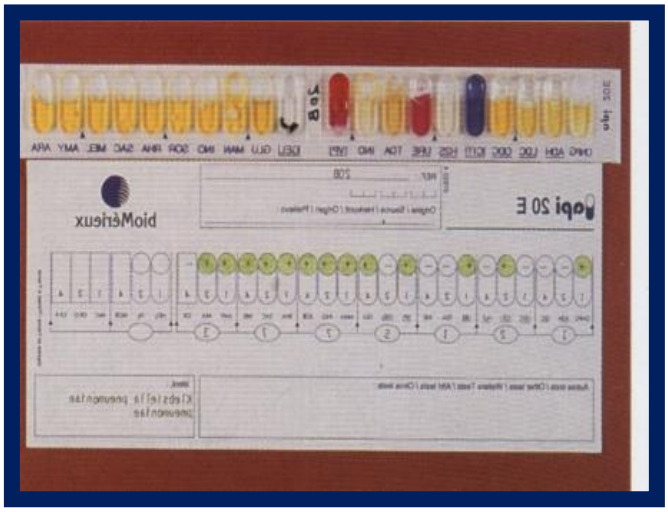
-لا تكفي دراسة الخواص الشكلية والتلوينية مجهرياً أو الخواص الزرعية للجراثيم من أجل تشخيص الجراثيم الممرضة

-هناك العديد من أنواع الجراثيم التابعة لنفس الجنس التي تتشابه من حيث الصفات الشكلية والزرعية

-وبما أن الجراثيم تقوم بكثير من النشاطات الاستقلابية الحيوية بمساعدة العديد من الإنظيمات النوعية الخاصة بها، لذلك غالباً ما يلجأ إلى إجراء الاختبارات الكيمياحيوية بهدف دراسة الفعاليات الوظيفية التي تميز كل جرثوم عن الآخر

-هذه الاختبارات تكون عادةً كافية لتحديد هوية الجرثوم أو تكون مساعدة أثناء متابعة دراسة بعض أنواع الجراثيم لتشخيصها بشكل دقيق عن طريق الاختبارات المناعية والمصلية التالية – مخابر التشخيص والتحليل الجرثومي تستخدم حالياً ما يسمى بنظام API (API Systeme) وذلك من أجل السرعة في العمل

-يمكَن هذا النظام من إجراء معظم الاختبارات السابقة في وقت واحد وذلك على قطعة بلاستيكية تحوي على حفر في كل حفرة من هذه الحفر يجري اختبار معين من الاختبارات الكيميا حيوية



# اختبار التحسس الجرثومي للصادات الحيوية

## Biosensitivity test of bacteria

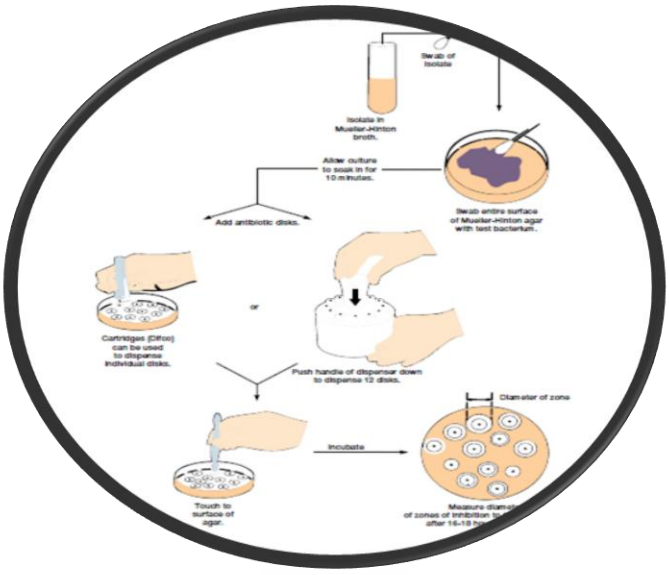
يؤخذ ٣ مستعمرات نقية من المنبت الرئيسي وتذوب في ٢ مل من الماء المقطر المعقم وتحضن لمدة ٢/١ساعة.

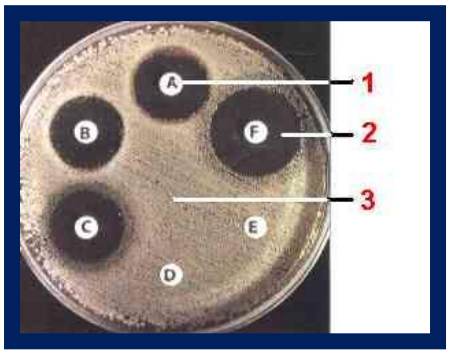
يسكب الماء على طبق بتري من الأغار المغذي أو أغار موللر هينيتون (أحياناً يتم مد المستعمرات السابقة بواسطة لوب زرع على الطبق مباشرةً).

يتم وضع أقراص الصادات الحيوية على سطح المنبت بواسطة ملقط معقم ويترك الطبق مغلق لـ ٢/١ ساعة في درجة حرارة الغرفة.

يحضن الطبق بدرجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ٢٤ ساعة وتقاس بعدها أقطار منع النمو.

**ملاحظة:** يجب الانتباه إلى تركيز الصاد الحيوي في القرص وانعكاس ذلك على الجرعة






١. صاد حيوي متوسط الفعالية ضد الجرثوم المزروع

٢. صاد حيوي شديد الفعالية ضد الجرثوم المزروع

٣. النمو الجرثومي على الأغار المستخدم