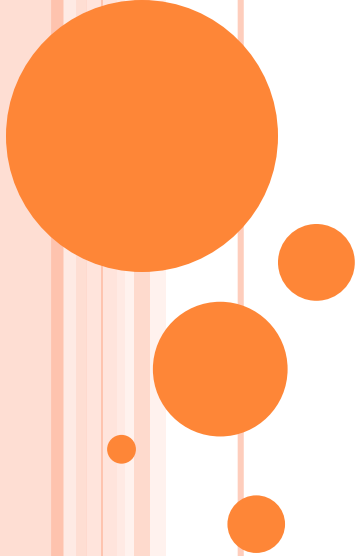


عملي مقرر الأحياء الدقيقة الجلسة العملية الخامسة والسادسة

القائمة بالأعمال : لانا الجمعات



التوجيهات النظرية:

- ❖ الإشريكية الكولونية (العصيات الكولونية). دراسة صفاتها الشكلية و التلوينية و المزرعية و ذكر بعض الأمراض التي تسببها.
- ❖ الوتديات الخناقية. دراسة صفاتها الشكلية و التلوينية و المزرعية و ذكر بعض الأمراض التي تسببها.
- ❖ العصوية الجمرية (أنوبيات الجمرة). دراسة صفاتها الشكلية و التلوينية و المزرعية و ذكر بعض الأمراض التي تسببها.
- ❖ شرح طريقة زيل نلسن لتلوين المحضرات الجرثومية من أجل الكشف عن العصيات المقاومة للحمض (مثل المتفطرة السلية).
- ❖ المتفطرة السلية : دراسة صفاتها الشكلية و التلوينية و المزرعية و ذكر المرض الذي تسببه .



التوجيهات العملية :

- ✓دراسة الصفات المزرعية للإشريكية الكولونية و الوتديات الخناقية و العصوية الجمرية على منبت الغراء المغذي.
- ✓دراسة مجهرية للطاخات جرثومية محضرة من **مزارع** للجراثيم الثلاثة السابقة و ملونة بطريقة غرام.
- ✓دراسة مجهرية للطاخات محضرة من **قشع** ملونة بطريقة تسيل نلسن للتحري عن وجود المتفطرة السلية (سل ايجابي) أو غيابها (سل سلبي)



الإشريكية الكولونية

(العصيات الكولونية) E. coli

الامراضية والأخماج:

تسبب الإشريكية الكولونية أخماجها بسبب امتلاكها لعوامل فوعة كثيرة مثل **الأشعار** المحيطة بها و هي عوامل التصاق على الأغشية المخاطية، و قدرة بعض ذراتها على إنتاج الكثير من **الأنزيمات** (التي تجعلها مقاومة للصادات)، و **الذيفانات** مثل الذيفانات المعوية (ذيفانات خارجية) و إطلاقها للذيفان الداخلي بعد موتها و تحليلها. لذلك تسبب الأخماج التالية:

1. أخماج معوية (إسهالات).
2. أخماج غير معوية: تسبب أخماج بولية (مسؤولة عن 90% منها)، التهاب سحايا عند الوليد، انتان دم و غيرها.....).

❖ العصيات الكولونية ساكن طبيعي متعايش في الأمعاء، (تشكل 80% من النبيت الجرثومي الهوائي في الأمعاء). وجودها في الماء أو الغذاء أو الوسط المحيط يشير إلى تلوث برازي عارض.

الصفات الشكلية و التلوينية:

- i. عصيات، مستديرة الطرفين، طولها 2- 5 ميكرون $0.5-0.7 \times$ ميكرون. **سلبية الغرام**، ذات تلون قطبي، **اصطفافها عشوائي**.
- ii. متحركة، غير مبوغة، بعض ذراتها لها محفظة.

الصفات المزرعية:

- تنمو على المنابت البسيطة، مدّة الحضان 24/ ساعة، بدرجة حرارة 37 درجة مئوية، هوائية مخيرة.
1. صفات المستعمرات على الأغار المغذي: مستعمرات دائرية (2-3) ملم، منتظمة، مقبية، **لماعة، كثيفة، مخاطية، بيضاء مسمرة**.
 2. على وسط EMB (منبت إيوزين ميثيلين بلو): تتميز المستعمرات بلمعة معدنية خضراء مميزة.

المطلوب:

- (a) - دراسة مجهرية لمحضر جاهز
من مزرع العصيات الكولونية
ملون بطريقة غرام وفحصه،
ورسم ساحته المجهرية.
- (b) - دراسة صفات المستعمرات
على وسط الغراء المغذي.



CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIA **الوتديات الخناقية**

الإمراضية والأمراض:

تسبب الوتدية الخناقية مرض الدفتريا (الخانوق) وهو التهاب في البلعوم و اللوزتين يسبب حدوث غشاء كاذب على اللوزتين والبلعوم ومحاولة نزعه تسبب نزف خطير (ليس غشاء حقيقي بل طبقة من الخلايا الالبثالية (الظهارية) من البلعوم واللوزات (مقتولة) +جراثيم + كريات بيض مقتولة + نضحة فيبرينية. وسبب حدوث الغشاء الكاذب قدرة الجرثوم على إطلاق ذيفان خارجي سام للخلايا (يمنع تركيب البروتين في الخلايا مما يسبب موتها)، و يعتبر عامل الفوعة الوحيد للجرثوم. لا يخترق الجرثوم الأنسجة ولا يصل إلى الدم لكن الذيفان ينتشر بالمجرى الدموي و يسبب أذية أعضاء و نسج أخرى بعيدة عن البلعوم مثل القلب و الأعصاب و الكظر و الكبد و غيرها.

جراثيم ممرضة بشكل نوعي للبشر، تصيب منطقة البلعوم الفموي والبلعوم الأنفي، تسبب مرض الدفتريا أو الخانوق و هو مرض خطير يصيب الأطفال (قلّ كثيراً بعد استخدام اللقاح).

الصفات الشكلية والتلويينية:

- (a) عصيات وتدية الشكل ذات نهاية مدورة عريضة ونهاية مدورة مستدقة، طولها 3-7 ميكرون $0.5 \times$ ميكرون، اصطفاها على شكل أحرف صينية (توازي وتزوي) تتميز بوجود خلايا عرطلة (20-30 ميكرون). إيجابية الغرام بضعف (في جدارها نسبة قليلة من الدسم).
- (b) غير متحركة، ليس لها أبواغ، ولا محفظة.

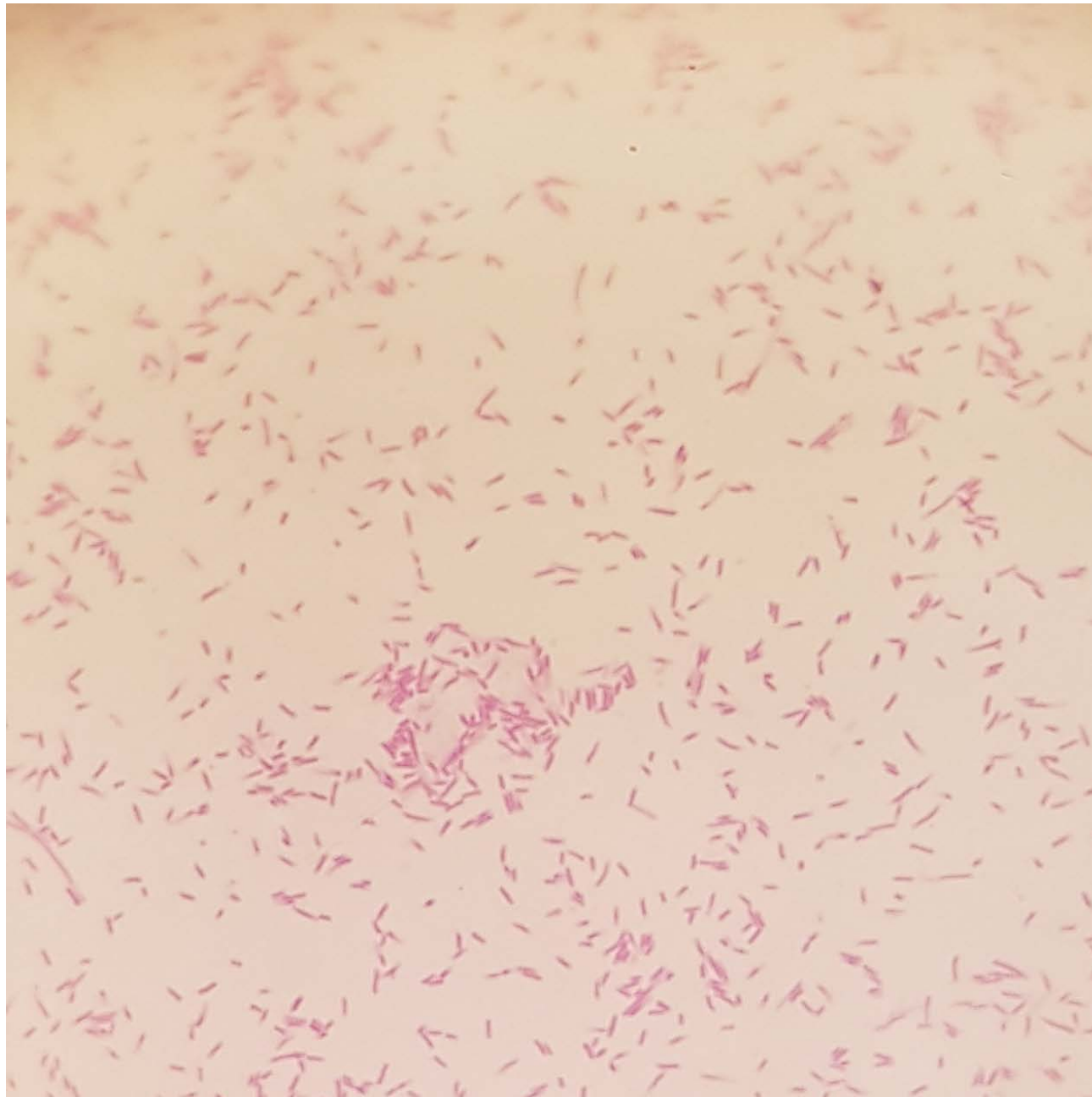
الصفات المزرعية:

- ❖ تنمو على المنابت البسيطة و لكن نموها يكون أسرع على المنابت الغنية (منابت تحوي دم أو مصل) مدة الحضان 24 ساعة، بدرجة 37 درجة، و هي هوائية.
- ❖ مستعمراتها على الأغار المغذي: دائرية، مقببة، لماعة، مسننة، بيضاء مسمرة، كثافتها متوسطة (بين العقدية والعنقودية).

المطلوب:

➤ دراسة مجهرية لمحضر
جاهز من مزروع الوتديات
الخنافية على العدسة 100 و
رسم ساحته المجهرية.

➤ دراسة صفات المستعمرات
من أنبوب الزرع.



العصوية الجمرية (أنبوبيات الجمرة)

العصوية الجمرية جراثيم ذات انتشار واسع في التراب وعلى النباتات وعلى جلد و صوف وأشعار بعض الحيوانات وتكون على شكل أبواغ. هذا الجرثوم عامل ممرض للحيوانات بشكل رئيسي و يصيب الإنسان بشكل عارض.

الصفات الشكلية والتلويينية:

عصيات مقطوعة الطرفين بشكل مستطيل (4-8 ميكرون، إيجابية الغرام، تصطف على شكل سلاسل، غير متحركة، لها أبواغ (تبدو تحت المجهر على شكل أجسام مدورة أو ببيضوية، عاكسة للضوء غير متلونة، توجد في منتصف العصية أو بين العصيات. هذه الجراثيم ذات محفظة (تفقد مع تكرار الزرع) ولا ترى المحفظة في العينات المأخوذة من المستعمرات المزروعة بشكل متكرر، لكنها تكون واضحة في العينات المأخوذة من الحالات المرضية.

الصفات المزروعية:

تنمو العصوية الجمرية على المنابت البسيطة، مدة الحضان 24 ساعة، بدرجة 37 وهي هوائية.

صفات المستعمرات على الغراء العادي:

مستعمرات ضخمة، كبيرة، كثيفة، ذات حواف مشرشرة، جافة، كامدة (ليس لها لمعة)، لونها أبيض رمادي يتحول إلى أبيض مصفر مع قدم الزرع.

الإمراضية والأخماج

ترتبط الإمراضية عند عصيات الجمرة بإفراز الجرثوم للذيفانات السامة و امتلاك المحفظة. الإصابات عند الإنسان غالباً ناجمة عن التماس المباشر مع الآفات الحيوانية الحاوية على عصيات الجمرة أو أبواغها. يسبب الجرثوم للإنسان:

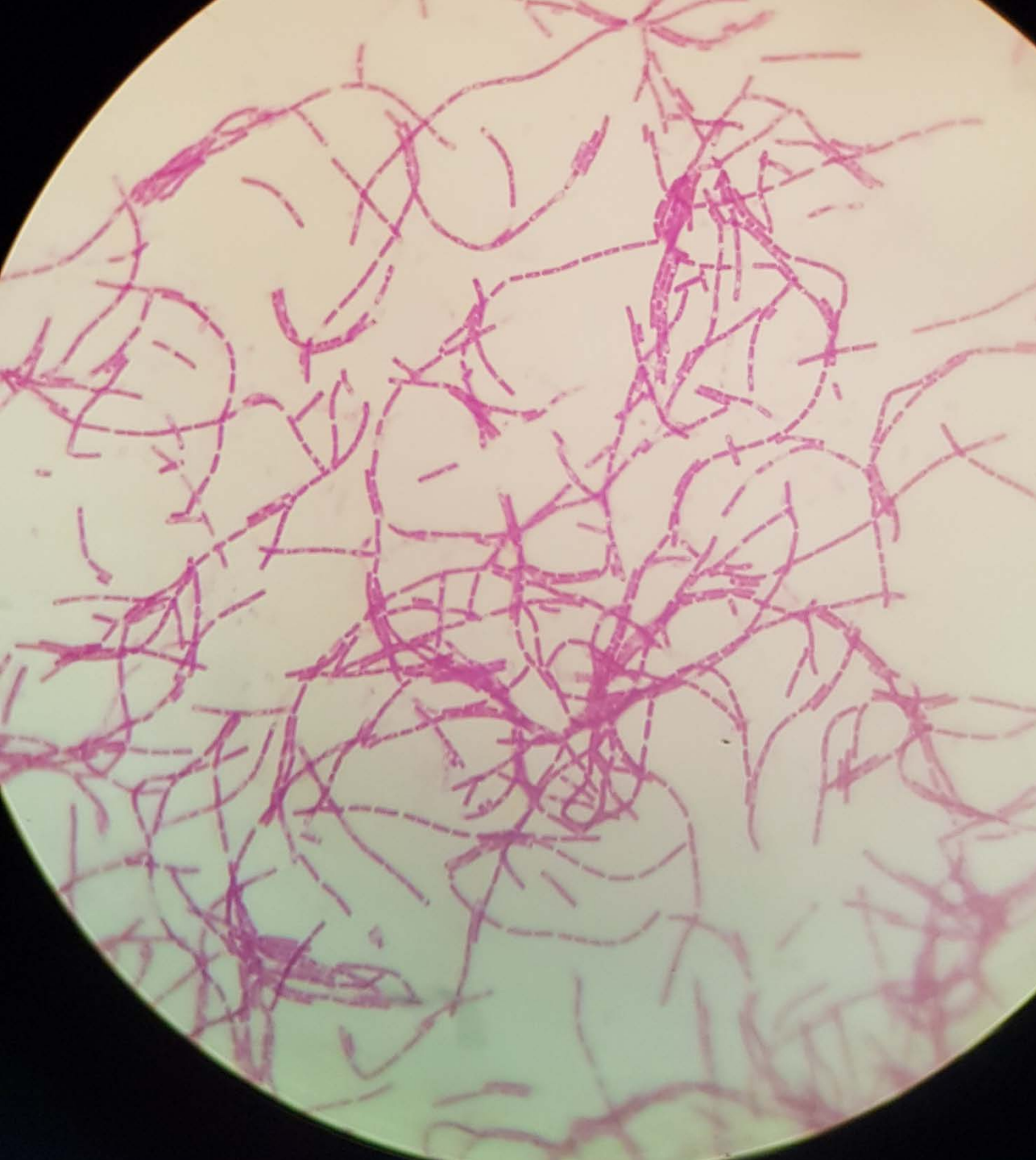
(a) إصابة جلدية: تسمى الجمرة الخبيثة و هي أشيع الأخماج و أحسنها إنذاراً.

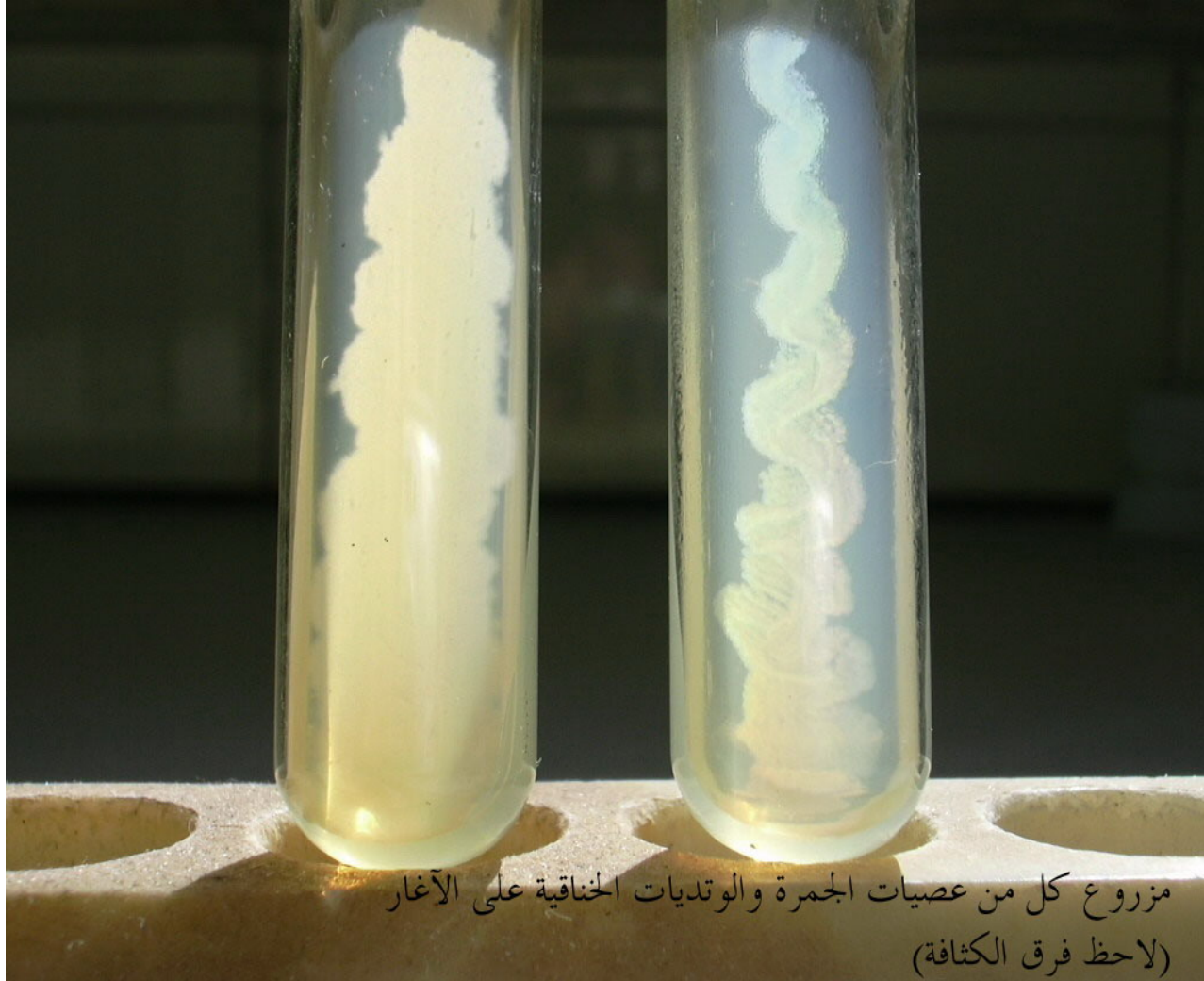
(b) إصابة رئوية على شكل ذات رئة نزفية قاتلة غالباً (حوالي 100% من الحالات) و هي أخطر الأخماج.

(c) إصابة هضمية و هي أندر أشكال الأخماج.

المطلوب

- دراسة مجهرية لمحضر
جاهز لمزروع أنبوبيات
الجمرة على العدسة الغاطسة
100 ورسم ساحته المجهرية.
- دراسة صفات المستعمرات
من أنبوب زرع الجرثوم على
الغراء المغذي.





مزرع كل من عصيات الجمرة والوتديات الخنافية على الآغار
(لا حظ فرق الكثافة)

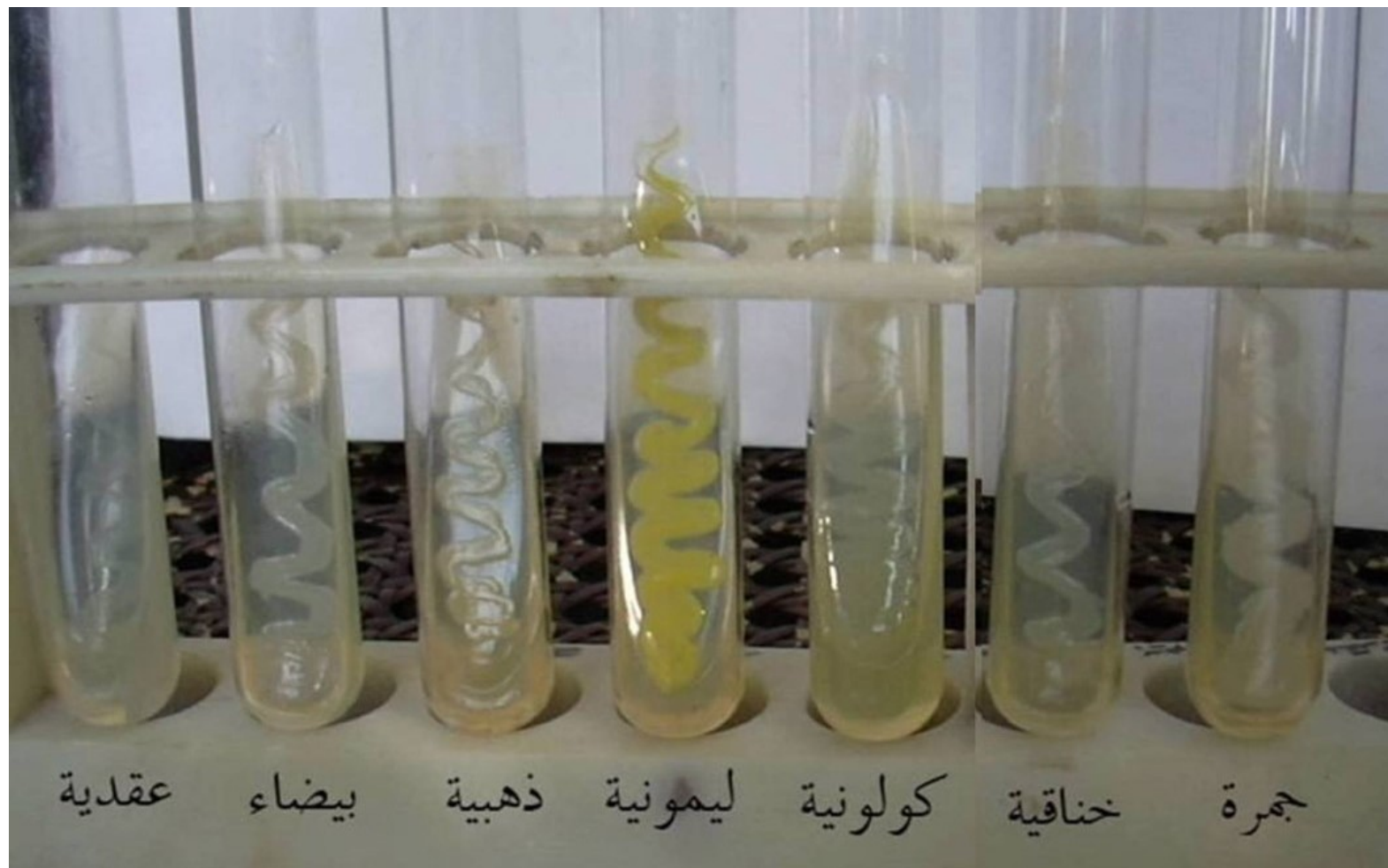




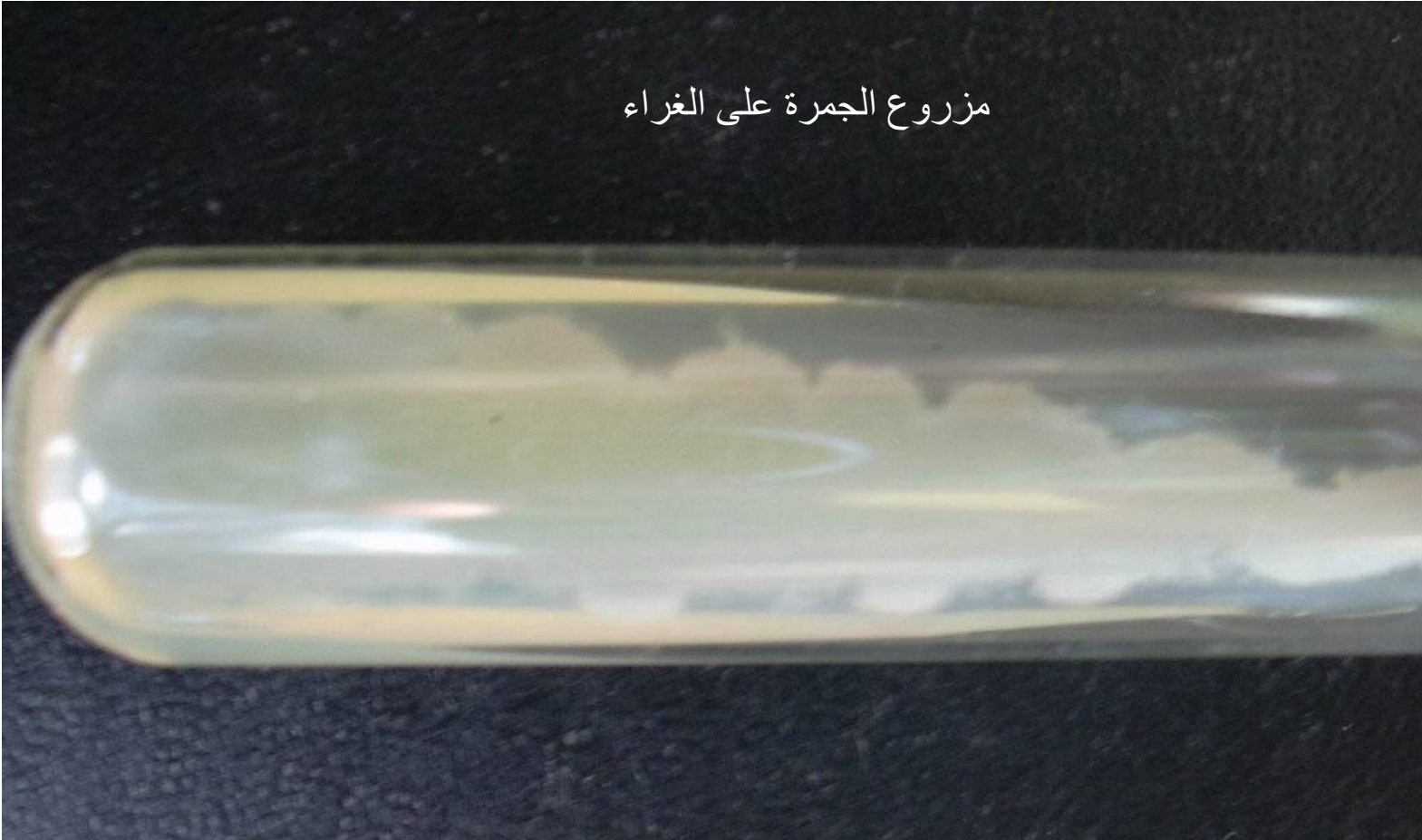


كولونية





مزرّوع الجمرّة على الغراء



المتفطرات السلية (الدرنية)

Mycobacteria tuberculosis

تتميز المتفطرات عن باقي الجراثيم
ببنية جدارها الخلوي حيث أن
حوالي 60 % من تركيب جدارها
الخلوي هي مواد شحمية معقدة
(حموض متفطرية Mycolic acid
و شموع wax مما يكسبها صفة
مقاومة الحمض و الكحول و تقاوم
إزالة اللون أثناء التلوين لذلك لا
تتلون بالملونات العادية مثل طريقة
غرام بل بطريقة خاصة هي طريقة
تسيل نلسن)

يضم جنس المتفطرات :

1. المتفطرات السلية البشرية M. tuberculosis : تصيب
الإنسان - سل رئوي و خارج رئوي .
2. المتفطرات السلية البقرية M.bovis: تصيب الإنسان
والأبقار - سل معوي و رئوي .
3. المتفطرة الجذامية M .leprae: تسبب الجذام للإنسان .
4. عصية كالميت Bacillus of Calmette Gurein
BCG: متفطرة سلية بقرية حية مضعفة تستخدم كلقاح
ضد السل .

المتفطرة السلية البشرية جراثيم ممرضة بشكل نوعي للبشر ,
لا توجد في الوسط الخارجي الا في حال التلوث تنتقل
العدوى بها عن طريق التنفس و الابتلاع و تسبب للإنسان
مرض السل الذي يصيب بشكل رئيسي الرئتين و يمكن ان
ينتشر خارج الرئتين فيصيب أي عضو بالجسم .

(البولي - التناسلي - العصبي - العظام - المفاصل)

خطوات طريقة تسيل نلسن في تلوين العصيات المقاومة

للحمض

➤ يتم تحضير اللطاخة الجرثومية و تثبيتها بالطريقة العادية.

➤ يغمر المحضر بالفوكسين الكربولي (محلول مشبع للفوكسين مع محلول مائي لبلورات الفول 5%) لمدة 10-5 دقائق مع تسخين المحضر المغمور بالصبغة بشكل متقطع بشرط ألا تغلي الصبغة و لا تجف .

➤ يغسل المحضر جيداً بالماء .

➤ يغمر المحضر بمزيل اللون لتسيل نلسن: مزيج من الحمض المعدني و الكحول (حمض كلور المركز 3مل + 97 مل كحول 95%) لمدة 2-3 دقائق (أو حمض الكبريت بتركيز 20%) و ذلك لإزالة الفوكسين الأحمر من المحضر .

ملاحظة: إذا بقي لون الفوكسين الأحمر تكرر العملية حتى يزول تماماً عن اللطاخة .

➤ يغسل المحضر جيداً بالماء

➤ يغمر المحضر بزرقة المتيلين لمدة دقيقة واحدة .

➤ يغسل المحضر بالماء و ينشف و يفحص تحت العدسة الغاطسة.

تطبق طريقة تسيل نلسن لتلوين الجراثيم المقاومة للحمض وبشكل خاص المتفطرات , حيث تتلون الجراثيم و كافة محتويات المحضر في لطاخة القشع باللون الأحمر عند غمر المحضر بالفوكسين, و عند إضافة مزيل اللون الحمض و الكحول يزول اللون الأحمر "الجراثيم المقاومة للحمض و الكحول" لأن جدارها الخلوي يحتوي حموض متفطرية و شموع بنسبة 60%, مما يجعلها مقاومة لتأثير الحمض و الكحول أثناء التلوين .

أما ملون زرقة المتيلين فيلون كافة الموجودات التي خسرت لونها الأحمر بمزيل اللون باللون الأزرق , و هكذا تظهر العصيات السلية بوضوح بلون أحمر على ارضية زرقاء (تباين لوني)

الصفات الشكلية و التلوينية :

- المتفطرة السلية عصيات مستقيمة او منحنية .
- ابعادها $5-2 > 0,5-0,3$ ميكرون
ميكرون < تتلون باللون الأحمر عن
تلوين المحضرات بطريقة تسيل
نلسن .
- مظهرها حبيبي او متجانس .
- تصطف بشكل متبعثر (مفرد) او
ثنائيات بشكل الاحرف Y-X-V-L
او على شكل حزام غير متحركة ليس
لها ابواغ و لا محفظة .

الصفات المزرعية

- المتفطرة السلية جراثيم هوائية مجبرة
- لا تنمو على الأوساط العادية تنمو
على منابت خاصة غنية بالبيض و
الغليسرول و الأملاح المعدنية مثل
منبت لوفنشتاين جونسون (بطيئة
النمو تحتاج مستعمراتها 2-4 اسابيع
حتى تنمو).
- درجة الحضان 37 درجة مئوية .
- تعطي مستعمرات جافة خشنة لونها
كريمي مصفر , حوافها غير منتظمة
سطحها و شكلها يشبه زهرة القرنبيط
أو الثؤلؤل (ثأليل مصفرة) .



محضر من قشع ملون بطريقة تيسيل نلسن تظهر
فيه العصيات السلية باللون الأحمر

