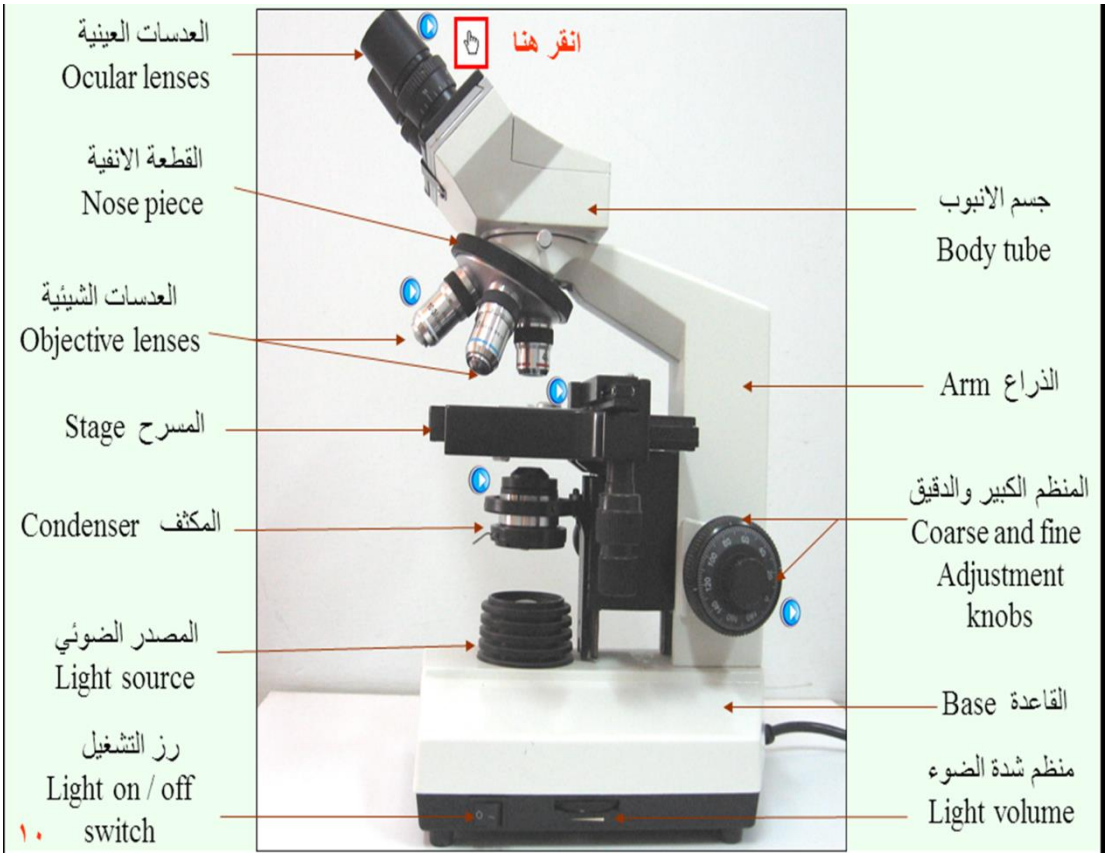
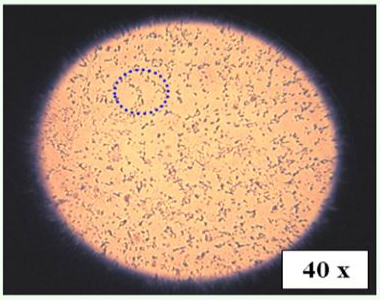
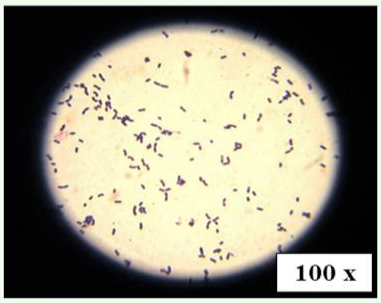

العدسات العينية
Ocular lenses
انقر هنا
القطعة الانفية
Nose piece
جسم الانبوب
Body tube
العدسات الشيئية
Objective lenses
Arm الذراع
Stage المسرح
المنظم الكبير والدقيق
Coarse and fine
Adjustment
knobs
Condenser المكثف
المصدر الضوئي
Light source
Base القاعدة
رز التشغيل
Light on / off
switch
منظم شدة الضوء
Light volume
١٠

Objective Lenses العدسات الشيئية
مقطع طولي للعدسة الشيئية
4 x
10 x
40 x
100 x
١٤

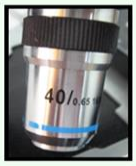
Ocular Lenses العدسات العينية، منظر جانبي

Objective Lenses قوة تكبير العدسات الشيئية





مسحة مثبتة ومصبوغة

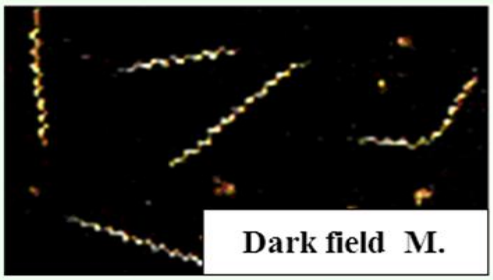


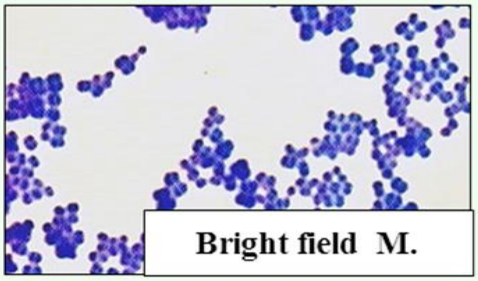
400 x

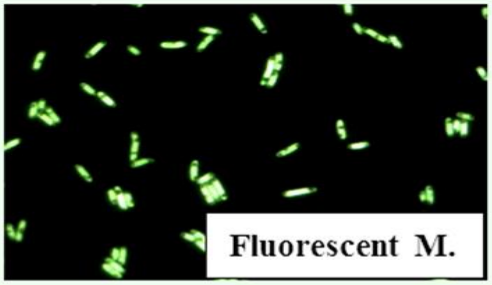
1000 x

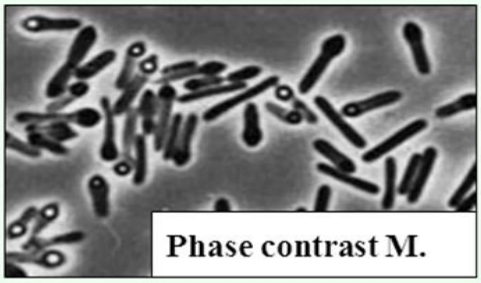
١٦

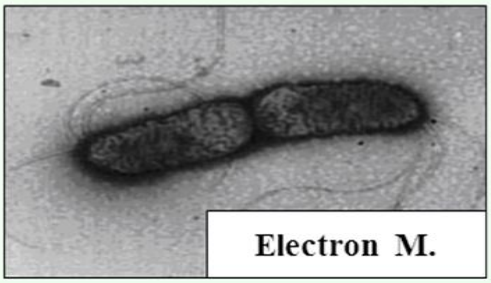
صور مجهرية لأنواع من الجراثيم باستخدام المجاهر السابقة الذكر

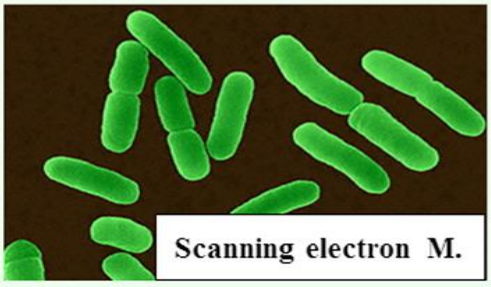












التطهير Disinfection:

هي قتل أو تحطيم الاحياء المجهرية المرضية الخضرية (vegetative pathogens) في او على المواد بحيث لم تعد تشكل خطراً ويستعمل مصطلح المطهر (disinfectant) للإشارة الى العوامل الكيمياوية المستخدمة في تطهير الأشياء الغير حية (inanimate objects) .

التعقيم Sterilization:

هي عملية إزالة أو قتل جميع الاحياء المجهرية من على سطح شيء معين أو مادة ما ولا توجد درجات للتعقيم فأما ان تكون المادة معقمة sterile او غير معقمة not sterile , تقسم طرق التعقيم الى قسمين رئيسين هما:

1- الطرق الفيزيائية (Physical methods): وتشمل كل من:

أ- الحرارة (Heat)

ب- الترشيح (Filtration)

ج- الاشعاع (Radiation)

2- الطرق الكيميائية (Chemical methods):

أ- الفينول (Phenol)

ب- الكحولات (Alcohols)

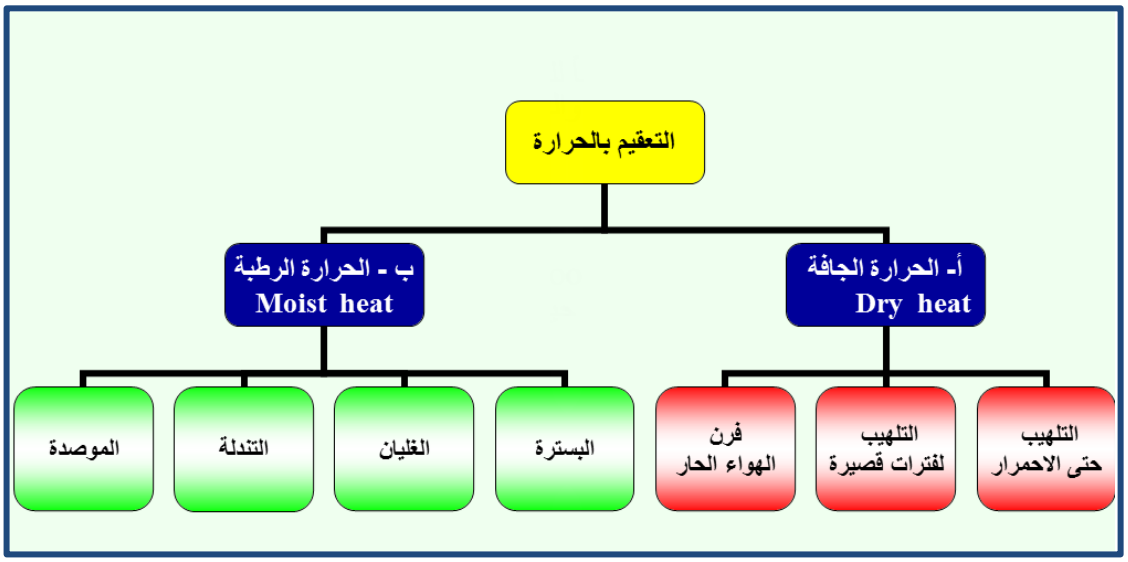
ج- الهالوجينات (Halogens)

د- المعادن الثقيلة (Heavy metals)

ه- الصوابين والمنظفات (Soap and detergents)

أولا: الطرق الفيزيائية (physical methods):

1- **التعقيم بالحرارة (Sterilization by Heat):** يعتبر التعقيم بالحرارة من أكثر الطرق استخداما للسيطرة على الاحياء المجهرية ويمكن توضيح اقسام التعقيم بالحرارة بالمخطط الاتي:



أ- الحرارة الجافة (dry heat):

1- التلهيب حتى الاحمرار (Flaming):

وتستعمل مع الناقلة الجرثومية bacteriological loop needle، نهايات الملقط forceps والمقصات scissors والشفرة الجراحية blade حيث تمرر الأدوات السابقة الذكر خلال اللهب الى درجة الاحمرار ومن ثم تستخدم بعد تبريدها.

2 - التلهيب لفترات قصيرة (short time flaming):

تستخدم هذه الطريقة لتلهيب فتحات الانابيب والقناني المختبرية وكذلك الماصات لمنع التلوث الجرثومي عند فتحها، حيث يتم التلهيب لفترة قصيرة دون الوصول الى درجة الاحمرار.

3- فرن الهواء الحار (Hot air oven):

يستخدم فرن الهواء الحار لتعقيم المواد الزجاجية مثل أنابيب الاختبار وأطباق بتري والماصات...الخ، بالإضافة الى المواد المعدنية التي لا تتأثر بالحرارة الجافة ويستخدم لهذا الغرض فرن يعتمد على تدوير الهواء الساخن من خلال مراوح خاصة حيث تتراوح درجة الحرارة المستخدمة من(160 – 180 °م) ولمدة ساعة واحدة.

ب- الحرارة الرطبة: وتقسم تصاعدياً حسب درجة غليان الماء الى:

1- البسترة Pasteurization:

سميت نسبة الى العالم لويس باستور، وتجري البسترة بدرجة حرارة 62.9°م لمدة 30 دقيقة وتدعى بطريقة المسك holding method او بدرجة 71.6°م لمدة 15 ثانية وتدعى بطريقة الوميض flash method وتستخدم البسترة للقضاء على أغلب الجراثيم الممرضة وخصوصاً عصبيات السل وبروسيلا الإجهاض وجراثيم السالمونيلا.

2- الغليان Boiling:

ان التسخين الى درجة غليان الماء 100°م لمدة 5 – 10 دقائق كافية لقتل الجراثيم الخضرية وقسم من الجراثيم المكونة للابواغ حيث تستخدم الغلايات Boilers لهذا الغرض ومن عيوب هذه الطريقة ان هذه المواد تفقد بريقها وتتعرض للتآكل والصدأ بالإضافة الى سرعة تلوثها بسهولة.

3- التندلة Tantalization:

ويقصد بها التعقيم باستخدام الحرارة المتقطعة خلال فترة زمنية طويلة حيث يتم تسخين المواد الى درجة 100°م باستخدام الحمام المائي أو البخار ولمدة 30 دقيقة ومن ثم تحضن هذه المواد بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة وتكرر هذه العملية على مدى 3 أيام متتالية وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم لمواد والمحاليل التي تحتوي على السكريات التي تتأثر عند تعقيمها بالمؤصدة.

4- التعقيم بالمؤصدة Autoclaving:

يعتمد التعقيم بالمؤصدة على مبدأ استخدام الحرارة الرطبة (البخار) مع الضغط حيث توضع المواد المرد تعقيمها داخل جهاز المؤصدة autoclaving (وهو عبارة عن قدر للضغط يتم التحكم فيه بالحرارة والضغط والزمن اللازم للتعقيم) وتضبط الحرارة على درجة 121°م وضغط 15 باوند / انج^2 ولمدة تتراوح بين 15 – 30 دقيقة وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم معظم أنواع الأوساط الزرعية والملابس والمواد المطاطية التي تتلف باستخدام الحرارة الجافة.

5- معقم ارنولد Arnold sterizer:

عبارة عن إناء يوضع فيه ماء وبداخله رف لوضع البيئات والمحاليل المراد تعقيمها ويلحق بالجهاز ثيرمومتر ويستعمل في تعقيم البيئات التي تفسد عند استعمال الحرارة العالية (أكثر من 100م) مثل البيئات التي يدخل في تركيبها الجيلاتين أو اللبن أو السكريات والتي يخشى من تحللها بالحرارة العالية ويتم التعقيم في هذا النوع من الاجهزه على ثلاث فترات في ثلاثة أيام متتالية ويسمى ايضا بالتعقيم المتقطع.

2- الترشيح Filtration:

تستعمل المرشحات في تعقيم الأوساط والمحاليل التي تتأثر بالحرارة مثل الأمصال المضادة ومحاليل السكريات والمضادات الحياتية حيث تعتمد على مبدأ الفصل بالترشيح اما من خلال الثقوب الصغيرة او من خلال الالتصاق على أسطح المرشحات, ان فعالية المرشحات الجرثومية تتغير مع حجم ثقوبها كذلك مع الطبيعة الكيميائية للمادة ومقدار الضغط المستخدم عبر الترشيح.

3- **الاشعاع Radiation:**

ينقسم التعقيم بالإشعاع الى نوعين أساسيين هما:

أ- **التعقيم بالأشعة المؤينة ionizing radiation**:

وهي أشعة كهرومغناطيسية electromagnetic rays ذات أطوال متناهية في القصر (أقل من 10 – 40 أنكيستروم) مثل الاشعة السينية X- rays وأشعة كاما Gamma rays.

ان آلية عمل أشعة كاما غير معروفة بشكل كامل ولكن يعتقد بأنها تسبب الضرر الدائم للحامض النووي DNA بالإضافة الى تأين ماء الخلية وتكوين جذور الهيدروكسيل الحر (H_2O_2, HO_2, HO) الذي يعتبر عامل مؤكسد قوي والتي تؤثر بدورها على الحامض النووي DNA وتستخدم أشعة كاما في تعقيم المواد التي تستخدم لمرة واحدة disposable medical supplies مثل الحقن البلاستيكية plastic syringes وكذلك الكفوف الجراحية والمواد الصيدلانية التي تتأثر بالحرارة.

ب- **التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية U.V light:**

وهي الأشعة ذات الطول الموجي (2400 – 2800 انكيستروم).

ثانيا: الطرق الكيمياوية Chemical methods:

ان تأثير العوامل الكيمياوية chemical agents اما ان يكون قاتلاً للجراثيم bactericidal حيث يؤدي الى قتل الجراثيم أو ان يكون مثبطاً لنموها bacteriostatic حيث يعمل فقط على إيقاف نمو الجراثيم ومنع تكاثرها, ان تركيز المطهر والفترة الزمنية التي تتعرض فيها الجراثيم للمعقم

ودرجة الحرارة وكمية التلوث كلها عوامل لها تأثير مباشر على كفاءة عمل العوامل الكيمياوية ويمكن تقسيم أهم العوامل الكيمياوية الى المجاميع التالية:

أ- **الفينول Phenol**:

ان الفينول النقي لا يستعمل حالياً وذلك بسبب تأثيره المخدش ورائحته الغير مقبولة إلا انه الأساس لتطوير العديد من المطهرات التي تدعى بالمطهرات الفينولية والتي تضم الكريسولات cresols والديتول Dettol حيث ان الفينولات تعمل على الاغشية السايتوبلازمية للجراثيم وتسبب تسرب محتويات الخلية في التراكيز الواطئة وتسبب تخثر البروتين في التراكيز العالية.

ب- الكحولات Alcohols:

يعتبر الكحول الاثيلي والكحول الايزوبروبيلي ذا فعالية سريعة في قتل الجراثيم الخضرية والفطريات وان طبيعة عمل الكحولات هي تغيير طبيعة البروتين داخل الخلية الجرثومية كما يعمل مذيباً جيداً للمواد الدهنية في الغشاء الخلوي حيث ان استخدام تركيز 70% من الكحولات هو أكثر فعالية من التراكيز النقية 99,9% وذلك يعود الى ان إضافة الماء الى الكحول يزيد من فعاليته ويمكن جعل الكحول قاتلاً للابواغ بإضافة 1% من حامض الكبريتيك او هيدروكسيد الصوديوم الى محلول الكحول 70%.

ج- الهالوجينات Halogens:

تضم الهالوجينات عدة عناصر ولكن الكلور واليود فقط هي التي لها تأثير مطهر وتعتبر عناصر مؤكسدة ويستخدم الهايبوكلورات hypochlorite في صناعة المواد القاصرة bleaching agents المستخدمة في تعقيم أدوات صناعة الألبان وحمامات السباحة ويستخدم اليود كصبغة بتركيز 1% ومن مساوئ اليود هي الحساسية واصطباغ الجلد وقد تم التغلب على هذه المشاكل من خلال إضافة بعض المواد المنظفة والتي تدعى بحاملات اليود, ان آلية عمل الهالوجينات تتمثل بأكسدة البروتينات الخلية الجرثومية وبالتالي موتها.

د- المعادن الثقيلة Heavy metals:

ان معظم المعادن الثقيلة تحتوي على الزئبق والفضة وتشمل المركبات العضوية وغير العضوية لهذه المعادن والمثال الشائع هو المركب التجاري الميركروكروم mercurochrome المستخدم في تطهير الجروح وتستخدم مركبات الزئبق في الوقت الحاضر كمواد حافظة تبيد الجراثيم وتمنع نمو الفطريات.

ان آلية عمل المعادن الثقيلة هي تثبيط الخمائر حيث يعمل الزئبق مثلاً على الارتباط عكسياً بمجاميع السلفادريل SH في البروتينات الجرثومية مما يؤدي الى تثبيط عمل هذه البروتينات وموت الخلية الجرثومية.

ه- **الصوابين والمنظفات Soap and detergents:**

هي مواد تقلل الشد السطحي وتمتاز بكونها مرطبة وقابلة للذوبان في الماء وتمتاز الصوابين والمنظفات بأهميتها في السيطرة على الجراثيم من خلال استحلاب الطبقة الدهنية الجلدية وإزالة الجراثيم المتمركزة فيها ومن أهم هذه المركبات هي مركبات الامونيوم الرباعية quaternary ammonium compounds التي تعمل على مهاجمة الغشاء الخلوي للجراثيم باعتباره يحتوي على الشحوم بالإضافة الى تثبيط الخمائر وعادة ما تكون المنظفات مواد غير سامة وثابتة stable ورخيصة الثمن.

هناك طرق أخرى لقتل الجراثيم وهي طرق مختبرية عادة ما تجرى اثناء القيام بالأبحاث وهي:

1- تحطيم الجراثيم بالموجات فوق الصوتية.
2- تحطيم الجراثيم بالتجميد والتذويب المتكرر.
3- تحطيم الجراثيم بالموجات الحرارية تحت الحمراء.

ثالثا: الطرق الميكانيكية mechanical methods :

تعتمد هذه الطرق على إزالة خلايا الكائنات الحية الدقيقة من الوسط الكامنة فيه بطريقة ميكانيكية كأن تحجز الثقوب الدقيقة للمرشحات المستعملة خلايا الكائنات الحية ذات الأقطار التي تزيد عن أقطار ثقوبها والتعقيم بالمرشحات لا يتوقف على قطر الثقوب فقط بل يعتمد أيضا على الشحنة الكهربائية

للمرشح وكذلك الشحنة الكهربائية للكائنات الدقيقة المحتوي عليها السائل وهناك العديد من المرشحات التي تختلف فيما بينها في نوع المادة التي يصنع منها المرشح وكما يلي :

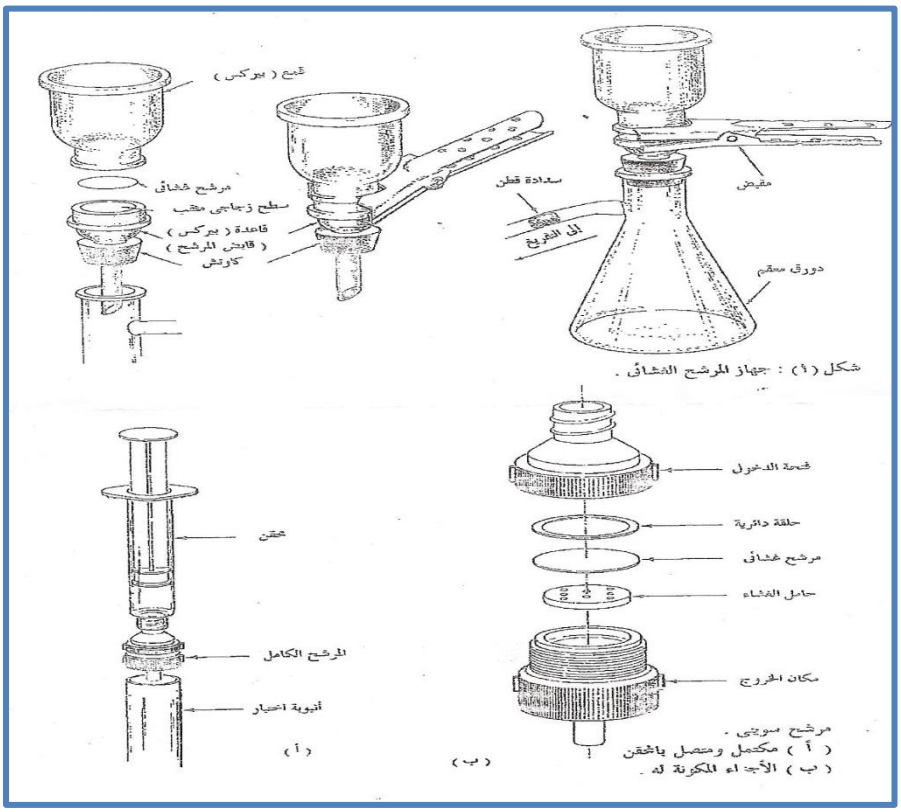
أ- مرشح بيركفيلد: يتكون من الطين الدياتومي.

ب- مرشح عجينة باريس: يتكون من الجبس.

ج- مرشح زايتس: يتكون من مادة الأسبستوس.

د- مرشح الزجاج المسامي: يتكون من الزجاج المسامي.

ه- المرشحات الغشائية أو الجزيئية: يتكون من استرات السيليلوز.



تستعمل المرشحات في تعقيم بعض المواد التي لا يمكن تعقيمها عن طريق الحرارة الرطبة بنوعيها حيث أن الحرارة المرتفعة تغير من الخواص الكيميائية و الفيزيائية لهذه المواد مثل التحضيرات الإنزيمية ومحاليل المضادات الحيوية.

الصبغات البكتيرية Bacterial staining

تقسم الصبغات البكتيرية المستعملة في التصبيغ الى ثلاثة مجاميع :

1_ Simple stains الصبغات البسيطة

- الصبغات القاعدية Basic stain

- الصبغات الحامضية Acidic stain

2_ stains (Differential , Compound) الصبغات التفريقية (المركبة)

_Gram's stain صبغة كرام

- الصبغة المقاومة للحامض Acid-Fast Stain

3_ Structural stains صبغات التراكيب

- صبغة الابواغ stain Spore

- صبغة المحفظة stain Capsule

- صبغة الاسواط stain flagellar

وسوف نتناول فكرة عامة عن هذه الصبغات :

1_ الصبغات البسيطة

للصبغات البسيطة دور مهم في التعرف على شكل البكتريا ، حجمها ، وترتيبها و بالتالي تساعد في التشخيص الاولي للبكتريا ، وتشمل هذه الصبغات ما يلي :

- الصبغات القاعدية

الصبغات هي عبارة املاح ، والمالح بصورة عامة تتكون من ايونات موجبة وايونات سالبة ، ان وجود اللون في الايون الموجب من الصبغة يعني ان الصبغة قاعدية ، من الامثلة على الصبغات القاعدية صبغة ازرق المثيلين Methylene blue ، اذ ان الجزء المسؤول عن اللون محمول على الايون الموجب للصبغة . وبما ان الخلية البكتيرية مشحونة بشحنة سالبة فأنها سوف تتحد مع الايون الموجب للصبغة والمسؤول عن اللون وبالتالي تصطبغ الخلية البكتيرية باللون الازرق .

الصبغات الحامضية

اذا كان اللون محمول على الايون السالب من الصبغة ، فأن الصبغة تعد حامضية ، مثالها صبغة الحبر الهندي Indian ink وصبغة النيكروسين Nigrosin المستخدمان في صبغ المحفظة البكتيرية .

طريقة العمل Procedure

A .نحضر شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة وجافة .

B .نضع قطرة صغيرة من المزرعة البكتيرية السائلة بواسطة الناقل الحلقي على الشريحة الزجاجية ، بينما لو اخذنا البكتريا من مزرعة صلبة ففي هذه الحالة توضع قطرة من الماء على الشريحة وتمزج جيدا مع جزء المستعمرة المأخوذ بواسطة الناقل .

C .ننشر العينة على الشريحة بواسطة غطاء الشريحة لغرض تكوين طبقة رقيقة .

D .نجفف المسحة بالهواء او بواسطة مجففة السلايد .

E .نثبت المسحة وذلك بأمرار الشريحة فوق اللهب ثالث مرات .

F .نضيف عدة قطرات من الصبغة المراد استعمالها (ازرق المثيلين ، البنفسجي البلوري ، الكاربول فوكسين ، السفرانين)

G .نغسل الشريحة بالماء بهدوء ، ثم نجفف الشريحة ، ونفحص بالعدسة الزيتية .

صبغ كرام gram stain

هي أهم الصبغات المركبة او التفريقية وأول من استعملها (كريستيان جرام1884م) لذلك تعرف باسمة.

عند إتباع هذه الطريقة نجد أن البكتريا تنقسم إلى مجموعتين

1-بكتريا تصبغ بالصبغة القاعدية الأساسية (الكريستال البنفسجي) في وجود اليود بدرجة لا يمكن معها إزالة الصبغة من الخلايا بالغسيل بالكحول او الأسيتون .

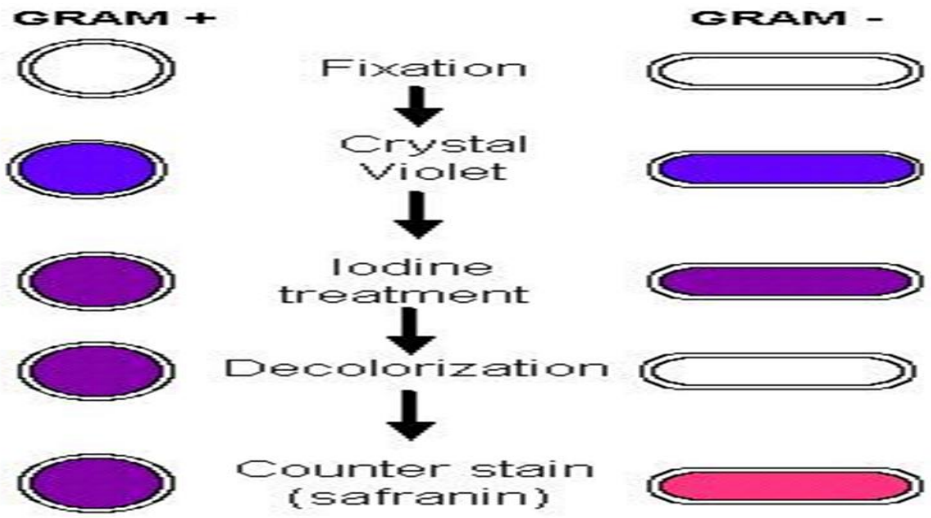
وتصبغ خلايا البكتريا باللون البنفسجي وتعرف بالبكتريا الموجبة لجرام gram positive

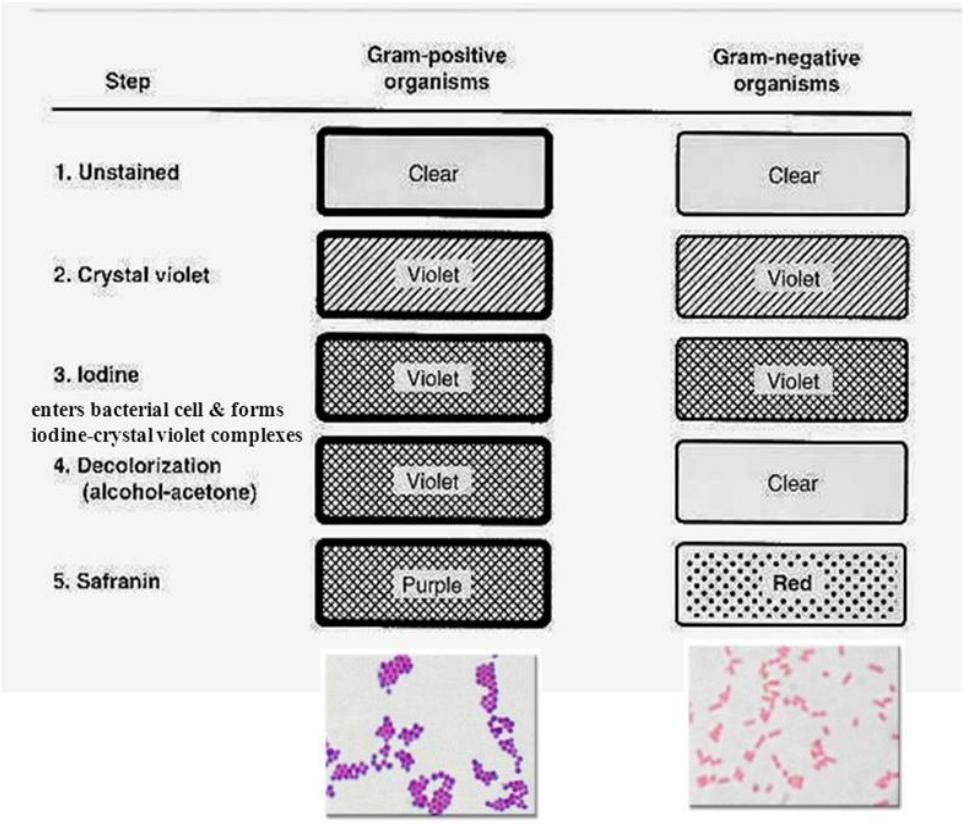
- بكتريا تزال منها الصبغة البنفسجية بعد الغسل بالكحول بسهولة لذلك (لذلك تصبح الخلايا شفافة بعد الغسل بالكحول).

ولتسهيل رؤية خلاياها تصبغ بصبغ احمر مثل (الصفرانين)

وتسمى بالصبغة العكسية .

حيث تصبغ خلايا البكتريا باللون الاحمر وتسمى البكتريا السالبة لجرامgram negative .





الأوساط الزرعية Microbial culture media

يمكن تلخيص فوائد الأوساط الزرعية المستعملة في مختبرات الجراثيم بما يلي:

1- يتم بواسطتها عزل الجراثيم وتكثيرها وإدامتها بصورة نقية.
2- تستعمل بعض الأوساط لنقل العينات السريرية وتعرف بالأوساط الناقلة.
3- تساعد بعض الأوساط على دراسة بعض الخواص الحيوية وكذلك الوصف الحيوي والكيمياوي.
4- وصف المظهر الزرعي للجراثيم النامية يساعد في التعرف عليها.
5- تستعمل الأوساط في تحضير الجراثيم بكميات كبيرة والتي تستعمل بدورها في تحضير اللقاحات والمستضدات vaccines and antigens.

تصنيف الأوساط (Classification of Media):

1- أوساط محددة التركيب الكيميائي : Chemically defined method

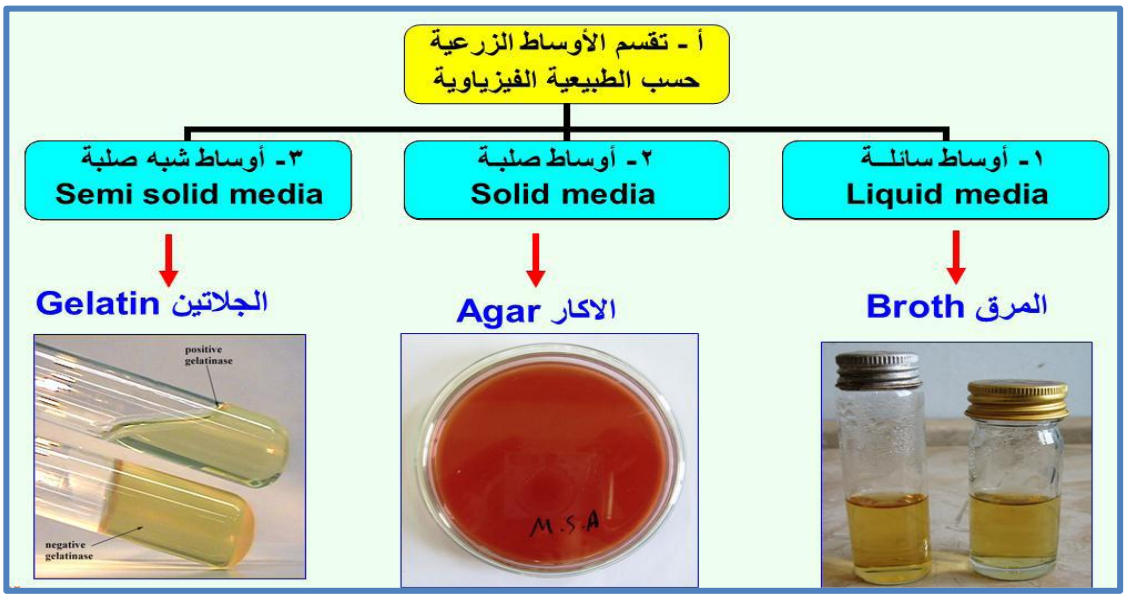
وهي التي تتكون من مواد ذات تركيب كيماوي محدد "بتركيزات معروفة" وعلى ذلك فهي تتكون من أملاح غير عضوية, أو مخلوط من الأملاح غير العضوية ومركبات غير عضوية, ونظراً لأن التركيب الكيماوي لكل مكونات الوسط التركيبية يكون معروفاً ومحدداً, فإنه يمكن تكرار تجهيز مثل هذه الأوساط بنفس الدقة في كل مرةٍ من مرات التحضير.

2- أوساط غير محددة التركيب الكيماوي : Chemically no defined method

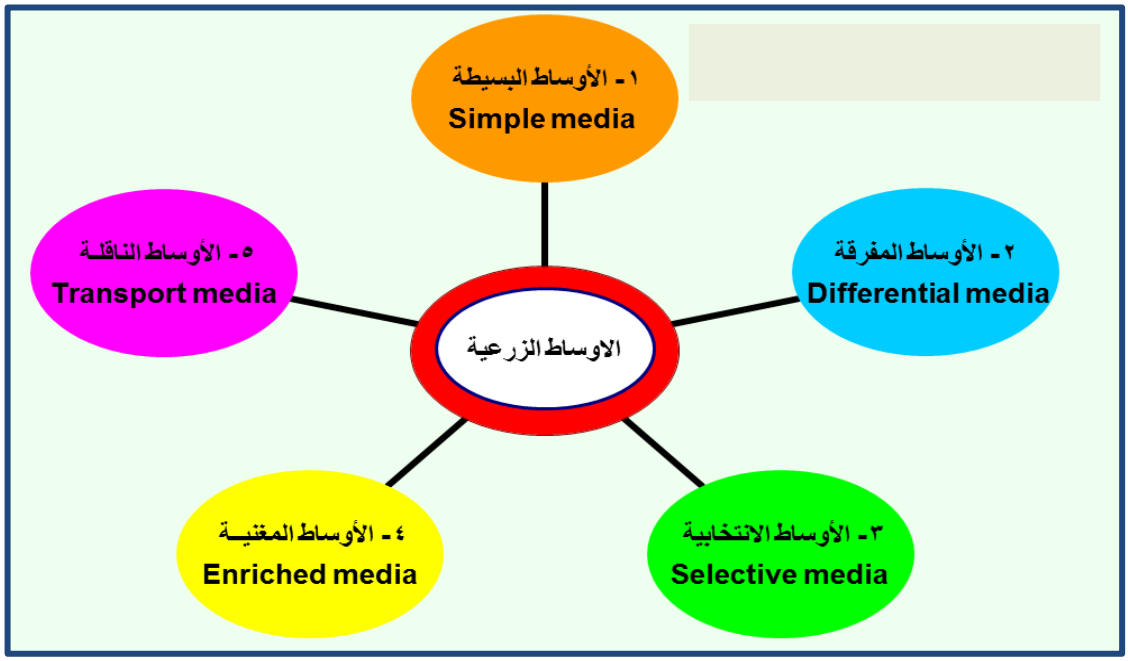
وهي التي تحتوي على ما يلزم لنمو الميكروبات من مواد بشكلها الخام مثل الأوساط التي تدخل في تركيبها المواد الطبيعية كمستخلص اللحم أو الدم أو مستخلص الأنسجة النباتية ولما كان التركيب الكيماوي الدقيق لمثل هذه المواد غير محدد بمعنى أن جميع مكونات الوسط وكمياتها غير معروفة بالضبط وتختلف باختلاف المادة الطبيعية المستعملة كان من الصعب تكرار تحضيرها عملياً.

تقسيم الأوساط الزرعية:

أ- حسب الطبيعة الفيزيائية:



ب- حسب الغاية من استعمالها:



1- الأوساط البسيطة simple media:

تحتوي هذه الأوساط على المواد الغذائية الأساسية كمصدر للنتروجين والكاربون وتنمو فيها معظم الجراثيم التي لا تحتاج الى مواد غذائية نادرة او معقدة مثل:

- المرق الغذائي nutrient broth
- ماء الببتون peptone water
- الاكار المغذي Nutrient agar

2- الأوساط المفرقة different media:

يمكن بواسطة هذه الأوساط التفريق بين أنواع الجراثيم مثل وجود سكر اللاكتوز في وسط الماكونكي فالجراثيم المخمرة تظهر بلون وردي اما الجراثيم غير المخمرة فتكون عديمة اللون مثل:

أ- **أكار الماكونكي MacConkey agar:** يعمل على التفريق بين الجراثيم المخمرة لسكر اللاكتوز عن الجراثيم غير المخمرة لسكر اللاكتوز.

ب- **أكار الدم Blood agar:** يعمل على التفريق بين الجراثيم المحللة للدم عن تلك غير المحللة للدم ويتكون أكار الدم من الوسط الأساس blood agar base، ملح الطعام، ببتون ثم يضاف له الدم المعقم بتركيز نهائي 5- 10% حيث تتم إضافة الدم بدرجة حرارة 50°م.

ت-

3- الأوساط الانتخابية Selective media:

تحتوي هذه الأوساط على مواد مثبطة للجراثيم الغير مرغوب فيها وفي نفس الوقت تعزز من نمو الجراثيم المراد عزلها مثل:

أ- وسط بزموث سلفايت Bismuth Sulphite agar:

ويستعمل هذا الوسط لعزل جراثيم السالمونيلا Salmonella، أهم مكونات الوسط هي الأخضر اللماع Brilliant a green الذي يعمل كمثبط لنمو الجراثيم بالإضافة الى احتواءه على كاشف Bismuth Sulphite indicator.

ب- وسط سكر المانيتول والملح Mannitol Salt agar:

يستعمل هذا الوسط لعزل جراثيم المكورات العنقودية Staphylococci حيث يتم تثبيط الجراثيم الأخرى باحتوائه على التركيز المرتفع من ملح الطعام NaCI كما يحتوي الوسط على سكر المانيتول الذي يعمل على التفريق بين جراثيم المكورات العنقودية المخمرة للسكر والتي تظهر بلون أصفر عن غير المخمرة للسكر والتي تظهر بلون أحمر Reddish.

4- الأوساط المغنية او الغنية Enriched media:

تنمو معظم أنواع الجراثيم على الأوساط البسيطة ولكن في بعض الأحيان هناك أنواع من الجراثيم قد تحتاج الى مواد مغذية حيث يمكن اغناء الأوساط البسيطة بإضافة مواد غنية بالمواد العضوية والفيتامينات والخمائر والاملاح ومن الأمثلة على الأوساط المغنية:

أ- أكار الدم Blood agar

ب- أكار الشوكلاته Heated Blood agar (Chocolate agar)

ج- أكار نقيع المخ والقلب Brain heart infusion agar

د- خلاصات الانسجة الحيوانية او سوائل الجسم Tissue and body fluid's extract

ه- أكار المصل Serum agar

5- **الأوساط الناقلة Transport media**:

ان هذه الأوساط تكون عادة بسيطة التركيب وفي الغالب تكون سائلة حيث تستعمل لنقل العينات من مناطق بعيدة وذلك للحفاظ عليها من الجفاف لحين وصول العينة الى المختبر ومثال عليها وسط Stuart Transport medium.

المكونات الأساسية للأوساط الزرعية: تشترك الأوساط الزرعية في احتوائها على المواد التالية:

1- **الببتون Peptone:** يعتبر مصدراً هاماً للنتروجين العضوي في البيئات المعدة لتنمية البكتيريا غير ذاتية التغذية ويحضر من اللحم الخالي من الدهون بعد تحلله بإنزيم الببسين.

2- الاكار المغذي Nutrient agar:

يحتوي على خلاصة اللحم، خلاصة الخميرة، ببتون، ملح الطعام، أكار أكار، وهو من الأوساط البسيطة.

3- خلاصة اللحم Beef extract:

تحضر من اللحم البقري الخالي من الدهون بعد غليه وترشيح الخلاصة وتركيزها حيث يحتوي المستخلص على بعض الأحماض غير العضوية وبعض المواد العضوية مثل الأحماض الأمينية, الجلوكوز, اليوريا, حامض اللكتيك, الفيتامينات, عوامل النمو الأخرى.

4- خلاصة الخمير Yeast extract:

تحتوي على بعض الأحماض الأمينية وبعض العوامل المساعدة للنمو وأملاح معدنية.

5- الماء Water:

تحتاج الخلايا الحية إلى الماء لنموها ولإتمام عملياتها الأيضية وذلك علاوة على استخدامه كمادة مذيبة للمواد الغذائية ويفضل استخدام الماء المقطر لخلوه من الأملاح المعدنية.

6- المواد التصليبية Solidifying agents:

تضاف إلى بيئة الزرع السائلة بعض المواد التي تعمل على تحولها إلى بيئة صلبة تساعد على تكوين مستعمرات فرديه مثل:

أ- الجيلاتين Gelatin:

أول ما استعمل كمادة تصليبية في بيئات الزرع وهو عبارة عن مادة بروتينية تحضر بمعاملة عظام الحيوانات ويندر حالياً استعمال الجيلاتين كمادة تصليبية في البيئة نظراً لأن كثير من البكتيريا يمكن تحليلها مائياً ولأنه ينصهر عند درجات التحضين.

ب- الآجار آجار Agar agar:

مادة كربوهيدراتية تستخلص من بعض الطحالب البحرية الحمراء والتي تنمو بوفرة على سواحل بعض الدول مثل اليابان وهو يتصلب عند درجة حرارة من (42- 45م) ويمكن إسالته مرة ثانية عند درجة حرارة (98م) ويتميز عن الجيلاتين بكونه لا يمكن تحليله بيولوجيا لأن عدد الكائنات المحللة له قليلة جداً.

ج- **السليكا Silica:** لا تعتبر مادة غذائية فهي عادة تستعمل في تحضير البيئات اللازمة لتنمية الكائنات الذاتية التغذية وذلك لمنع نمو البكتيريا غير ذاتية التغذية معها.

طريقة تحضير الوسط الزرعي:

1- وزن الوسط الزرعي.
2- اذابة الوسط باستخدام الحرارة مع التحريك.
3- التعقيم بالمؤصدة Autoclave.
4- تبريد الوسط بعد تعقيمه.
5- تلهيب فوهة flask قبل الصب.
6- صب الوسط في طبق بتري.
7- تلهيب الوسط بعد الصب.
8- تلهيب غطاء بتري بعد الصب.
9- ترك الاكار يتصلب.
10- وضع الاطباق في أكياس لحين الاستعمال.
11- الحفظ في الثلاجة بشكل مقلوب.

تنمية الجراثيم على الأوساط الزرعية Bacterial growth on synthetic media:

أ- **تنمية الجراثيم في المزارع السائلة:**

ان أسهل طريقة للتعامل مع الجراثيم تتم في تنميتها في أنابيب اختبار تحوي على أوساط زرعية سائلة كوسط المرق المغذي ووسط نقيع المخ والقلب ، يظهر النمو في المرق المغذي على النحو التالي:

1- **عكارة turbidity:** تتفاوت في كثافتها حسب نوع الجرثومة وكمية الحقنة كما في جراثيم القولونية E.coli.
2- **تكوين تجمع سطحي pellicle formation:** وهذه تمثل طبقة رقيقة من الخلايا (قشرة) تطفو على سطح المرق، كما في جراثيم العصيات Bacillus.

3- **تكوين راسب sediment formation:** يظهر النمو على شكل راسب من الخلايا يستقر في قعر الانبوب ولكنه يرتفع بشكل لولبي او حلزوني عند رج الانبوبة بهدوء، كما في جراثيم المكورات العنقودية Staphylococcus.

4- **تكوين مخاط Slime formation:** اذا لم ترتفع الخلايا المترسبة في القعر فيعني ان راسب الخلايا النامية مخاطية، كما في جراثيم Kebsiella.

5- **تكوين الغاز gas formation:** يمكن التأكد من وجوده بمشاهدة فقاعات الغاز التي سوف تنتج عند مزج الانبوب كما في الجراثيم القولونية E.coli.

6- **الخضاب الخارجي depigmentation:** حيث يلاحظ تغير لون الوسط الزرعي كما في جراثيم الزوائف Pseudomonas.

ب- تنمية الجراثيم في المزارع الصلبة:

ان من فوائد استخدام المزارع الصلبة هو عزل الجراثيم عن بعضها لتكوين مستعمرات نقية منفردة single pure colonies وبالتالي يسهل التعامل معها وتشخيصها بسهولة والمستعمرة الواحدة تمثل النمو الناتج من انقسام خلية جرثومية واحدة.

الطرق المستعملة في تنمية الجراثيم على الاوساط الصلبة:

1- طريقة تخطيط الطبق Streak – plate method

2- طريقة الصب في الطبق Pour – plate method

3- النشر في الطبق spreading – plate method

4- الأكار المائل Agar – slop method

1- طريقة تخطيط الطبق Streak – plate method:

يتم بهذه الطريقة وضع النقلة الجرثومية على سطح الاكار قرب حافة الطبق ومن ثم تخطط بإتباع احدى الطرق الموضحة في الاشكال التخطيطية لاحقاً حيث يتم النقل والتخطيط باستخدام الناقلة المعقمة sterile loop وان الخلايا المتكدسة مع بعضها في بداية التخطيط قد تؤدي الى تكوين مستعمرات متصلة مع بعضها ولكن مع استمرار التخطيط لا يبقي الا عدد قليل من الخلايا الجرثومية على الناقلة حيث يؤدي ذلك الى تكوين مستعمرات منفردة في نهاية التخطيط (وتظهر نتيجة التخطيط بعد حضانة الطبق ونمو الجراثيم) ومن الطرق الشائعة في التخطيط:

التخطيط المستمر	Continuous Streaking
التخطيط المتقطع	Interrupted Streaking
التخطيط المتقاطع	Cross Streaking
التخطيط الشعاعي	Radiant Streaking

يتم تلهيب الناقلة كلما تم تغيير اتجاه الخطوط في الطريقة (2، 3، 4) كي بقل عدد الخلايا ويتم الحصول على مستعمرات منفردة.

ملاحظة: توضع الاطباق في الحاضنة بصورة مقلوبة أي الغطاء الى الأسفل، وذلك لان وضع الطبق بصورة اعتيادية (أي الغطاء الى الأعلى) وبوجود التراكيز العالية من الماء في الوسط الزرعي الصلب سوف يؤدي الى تبخر الماء وتكدسه على السطح العلوي للطبق، ولذلك فأن أي تحريك للطبق سيؤدي الى انسياب قطرات الماء على سطح الاكار ودمج المستعمرات الجرثومية مع بعضها.

2- طريقة الصب في الطبق Pour – plate method :

تستعمل هذه الطريقة للأغراض التالية:

أ- دراسة نمط التحلل الدموي لمستعمرات الجراثيم المحللة للدم مثل Streptococci.

ب- فصل المستعمرات الواحدة عن الأخرى بصورة أفضل مع نقاوة المستعمرة.

ج- تعداد الجراثيم الحية.

وفي هذه الطريقة يتم حقن الجراثيم اثناء فترة سيولة الاكار في درجة 45°م ومن ثم يصب في الطبق وبذلك تنتشر الجراثيم في كل الوسط وليس فقط على السطح مكونة مستعمرات منفردة في الاطباق.

3- طريقة النشر في الطبق spreading – plate method:

توضع كمية 0,1 مل من معلق الجراثيم المخفف على سطح الاكار قرب المركز ثم تنشر بواسطة ناشرة زجاجية معقمة بشكل حرف L او بواسطة ماسحة قطنية cotton swap.

4- طريقة الأكار المائل Agar – slop method:

تفضل هذه الطريقة لحفظ الجراثيم كما تستعمل لمشاهدة تكوين الخضاب او انتاج الغازات ويتم تحضير الاكار المائل بوضع أنبوب الاختبار الحاوي على وسط الاكار المغذي بصورة مائلة مرتفع الفوهة عن سطح الطاولة bench بما يقارب 30° او أقل اذا اريد الحصول على سطح مائل slant فقط اما اذا أريد الحصول على سطح مائل بالإضافة الى قعر slant – butt لزراعة الجراثيم بواسطة الطعن stabbing فيتم وضع الانبوب الحاوي على الاكار المغذي بزاوية اكبر من 30°.

طريقة حقن الجراثيم على الأوساط الزرعية:

ان تنمية الجراثيم على الأوساط الزرعية الصلبة او السائلة تتم باتخاذ الاحتياطات والتدابير اللازمة للحفاظ على النقاوة وعدم التلوث وكما يلي:

1- تعقيم منطقة العمل باستخدام الكحول 70% وبحركة دائرية من المركز الى الخارج ومن ثم تلهيب السطح لفترات قصيرة.
2- يجب تلهيب الابرة الناقلة او الحلقة الناقلة حتى الاحمرار وبهذا سوف يتم تحطيم كافة الجراثيم الملوثة ويجب الانتباه الى تسخين الجزء السفلي من المقبض ايضاً لكي لا تدخل جراثيم ملوثة الى قناني الاختبار.
3- اثناء النقل يجب مسك الناقلة باليد اليمنى وكما يمسك القلم مع مسك الانبوبة باليد اليسرى ترفع السدادة القطنية او الغطاء بين أصابع اليد اليمنى او الاصبع الصغير وراحة الكف مع مراعاة عدم وضع الغطاء او السدادة على الطاولة، كذلك يجب مسك الانبوبة بصورة مائلة مع الأفق مع مراعاة عدم انسكاب الوسط الزرعي السائل، يجب ان يتم الحقن قرب اللهب لان تيارات الحمل من اللهب سوف تمنع دخول الجراثيم الملوثة الى داخل الانبوب.
4- ضرورة تعقيم فوهات القناني والأنابيب المنقول منها واليها وذلك بتهليبها لفترة قصيرة قبل حقنها بالجراثيم .

النمو على الوسط شبه الصلب (مادة الجيلاتين المطعون) Growth in semi- slid medium:

ان بعض الجراثيم تتصف بقابليتها على تمييع الجلاتين liquefaction of gelatin وتظهر هذه الصفة بعد حضانة قد تطول الى أسبوع او اكثر لذلك يجب وضع مواد مغذية وذلك لتعزيز نمو الجراثيم بالإضافة الى الجلاتين ويستفاد من التنمية على وسط الجلاتين أيضا لمعرفة حركة الجراثيم حيث يمكن معرفة فيما اذا كانت الجراثيم متحركة ام لا من خلال طعن الوسط باستخدام ابرة خاصة لذلك ويتم قراءة نتيجة نمو الجراثيم في وسط الجلاتين من خلال امالة الوسط بعد تبريده (بعد انتهاء فترة الحضانة) حيث ان الجزء المتميع يتحول الى سائل حتى بعد التبريد في حين يكون الجزء الغير متميع صلباً في درجة حرارة التبريد.

Species الأنواع

الأنواع المهمة بيطرياً :

C. tetani

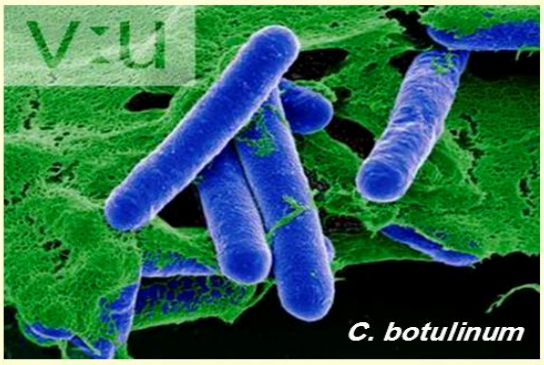
C. botulinum

C. chauvoei

C. septicum

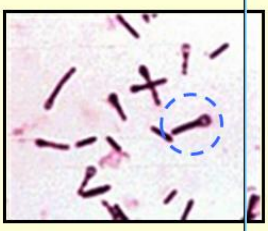
C. novyi

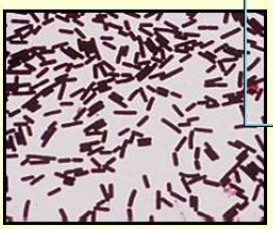
C. perfringens (type A, B, C, D, E)



Morphology and staining الشكل والتصبيغ

- عصيات موجبة لصبغة كرام ، مكونة للابواغ والتي تشكل دورا مهما في حياة المطثيات.
- إن موقع وشكل هذه الابواغ يشكل صفات مهمة لتصنيف هذه الجراثيم حيث تكون وسطية الموقع أو شبه نهائية أو نهائية الموقع كما في حالة مطثيات الكزاز التي تشكل ما يشبه مضرب الطبل ، وقد تكون الأبواغ منتفخة عن جسم العصية أو غير منتفخة.





- تكون المطثيات متحركة ما عدا مطثيات *C. perfringens* التي تكون غير متحركة ومحاطة بمحفظة واضحة.
- أبعاد أنواع المطثيات 2 – 10× 1 – 1.5 µm.

Cultural Characteristics الخواص الاستنباتية

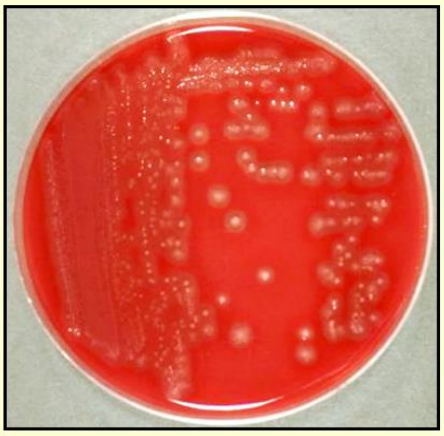
- إن أغلب أنواع هذا الجنس لاهوائية وبعضها لاهوائية متزمتة وفي حين أن البعض الأخر اقل طلبا للمناخ اللاهوائي.

- تنمو على الأوساط الزرعية الاعتيادية بدرجة 37 – 47 °م ودرجة الحرارة المثلى للنمو هي 37 °م يتحسن النمو عند إضافة الكلوكوز أو الدم.

- المستعمرات على الأوساط الصلبة كبيرة الحجم محدبة ، ناعمة ، مدورة ، لماعة ، أو معتمة ذات حافات منتظمة بعض العتر تكون مستعمرات مسطحة ، ذات حافات مسننة وغير منتظمة.

- يعتبر وسط اللحم المطبوخ من الأوساط المهمة وقد يتحول لون اللحم إلى لون الوردي.

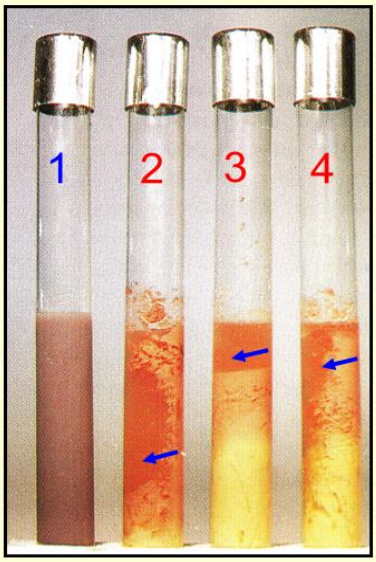
٤



C. perfringens

C. tetani

٥



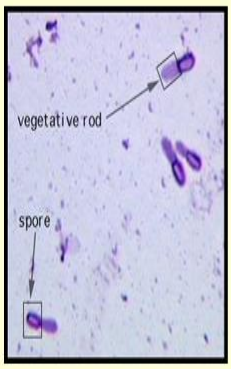
Litmus milk test اختبار حليب اللتموس

الأنبوب رقم (1) غير مزروع ، الانابيب الثلاثة الاخرى (2، 3 ، 4) تظهر تفاعل التخمر العاصف مع تكون الخثرة لجراثيم ***C. perfringens***

Diseases الأمراض

النوع	المضيف	المرض
C. tetani	الخيول ، المجترات ، الإنسان وحيوانات أخرى	Tetanus الكـزاز
C. botulinum	مجاميع مختلفة من الحيوانات ، الإنسان	Botulism التسمم الوشيقي
C. chauvoei	الأبقار ، الأغنام ، الخنازير	Black leg مرض الساق الأسود
C. septicum	الأبقار ، الأغنام ، الخنازير الأغنام الدواجن	Malignant odema الوذمة الخبيثة Braxy مرض براكسي Necrotic dermatitis التهاب الجلد التنخري
C. novyi type A	الأغنام	مرض الرأس الكبير فـي الكباش Big- head of rams
C. novyi type B	الاغنام ، الأبقار	المرض الأسود (التهاب الكبد التنخري) Black disease (Necrotic hepatitis)

التشخيص Diagnosis



١. تحضير شرائح مصبوغة بصبغة كرام.

٢. تحضير شرائح مصبوغة بصبغة الابواغ وملاحظة شكل وموقع الابواغ.

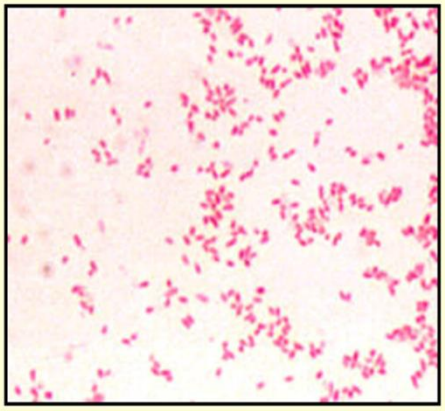
٣. استنبات العينات المشكوك بها على الأوساط الزرعية وإجراء الاختبارات الكيموحيوية.

٤. إجراء الاختبارات المصلية.

أ- اختبار التعادل Neutralization test

ويتم بمزج كميات متساوية من الذيفان المعزول من الحالة المرضية مع ضد معلوم لأحد ذيفانات المطثيات وحقنه في الوريد الذنبي للفئران فإذا احدث التعادل بين الذيفان وضده فإن الفئران سوف لن تموت وبذلك يعرف النوع طبقاً للضد المعلوم المستعمل.

Morphology and staining الشكل والتصبيغ



١. أفـــراد هـــذا الجـــنس عصـــيات صـــغيرة أو عصـــــيات مكـــــورة coccobacilli .µm 0.7 – 0.5 × 1.5 – 0.6

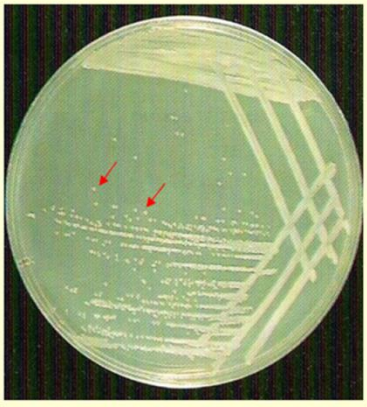
٢. ليس لها ترتيب متميز فقد تكون منفردة أو مزدوجة أو بشكل مجاميع صغيرة أو سلاسل قصيرة.

٣. سالبة الكرام وأحياناً نشاهد ظاهرة التصبيغ القطبي bipolar staining.

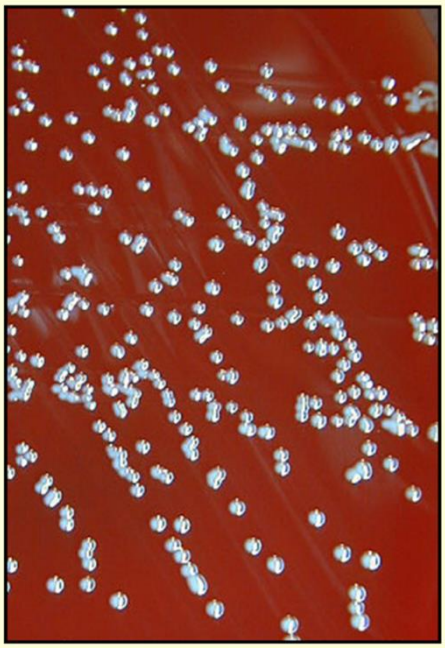
٤. غير متحركة غير مكونة للابواغ ، تقاوم القصر بـ 0.5 % acetic acid عند استخدام صبغة زيل نلسن المحورة (MZN) Modified Ziehl – Neelsen stain.

Cultural Characteristics الخواص الاستنباتية

- تنمو على الأوساط الزرعية البسيطة ببطء ولا يمكن مشاهدتها إلا بعد مرور ٣ – ٥ أيام بدرجة حرارة ٣٧ م°. جراثيم البروسيلا هوائية ولكن *B. abortus* , *B. ovis* تحتاج إلى CO_2 بتركيز ٥ – ١٠% لعزلها الابتدائي، جراثيم البروسيلا لاتنمو على اكار الماكونكي.



- مستعمرات *B. abortus* , *B. melitensis* , *B. suis*, *B. neotomae* على الاكار المغذي صغيرة pinpoint دائرية شفافة غير متميزة أما العتر الخشنة *B. canis* , *B. ovis* تكون مستعمراتها كبيرة مسطحة صفراء فاتحة.



- لاحظ مستعمرات جراثيم البروسيلا على أكار الدم ، المستعمرات صغيرة دائرية لماعة وغير محللة للدم.

Selective media الأوساط الانتخابية للبر وسيلا

- أكار المصل — **Serum Agar**
- وسط البيمي — **Albimi medium**
- أكار خلاصة الكبد والمصل — **Liver extract serum agar**
- أكار المصل والدكستروز — **Serum dextrose agar**

يتم اضافة المضادات الحياتية لمنع نمو الملوثات الجرثومية والفطريات الى الاوساط الخاصة بتنمية جراثيم البروسيلا والمضادات الحياتية هي :

Polymyxin B sulphate , Bacitracin, Cycloheximide, Nalidixic acid, Nystatin , Vancomycin.

Diseases الأمراض

النوع	المضيف	المرض
B. abortus	الأبقار	الإجهاض Abortion
	الأغنام ، الماعز	الإجهاض
	الخيول	ناسور الحارك Fistulous withers
	الإنسان	الحمى المتموجة (حمى مالطة) Malta fever
B. melitensis	الأغنام ، الماعز	الإجهاض
	الأبقار	الإجهاض
	الإنسان	الحمى المتموجة (حمى مالطة) Undulant fever
B. suis	الخنازير	الإجهاض ،التهاب المفاصل
	الإنسان	الحمى المتموجة (حمى مالطة)
B. ovis	الأغنام	الإجهاض

١٠

Diagnosis التشخيص

١. تشخيص افتراضي سريع عمل مسحات من أنسجة المشيمة أو محتويات معدة الجنين ، او إفرازات الرحم وصبغها بصبغة زيل نلسن المحورة أو صبغة كوستر.

٢. عزل جرثومي يتم العزل من الأغشية المشيمية ومحتويات معدة الجنين ، إفرازات رحمية وتزرع على وسط البيمي albimi medium أو أكار المصل والدكستزوز المضاف له المضادات الحياتية وكذلك الجنشن البنفسجي أو البلورات البنفسجية وتحضن في مناخ يحتوي من ٥ – ١٠ % CO_2 حيث نشاهد مستعمرات الجراثيم بعد 3 – 2 أيام ويتم التعرف على هذه المستعمرات باختبار التلازن مع المصل الخاص.

٣. حقن خنازير غينيا

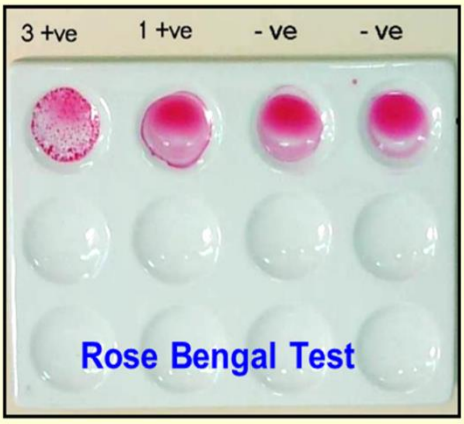
١٣

٤. فحوصات مصلية

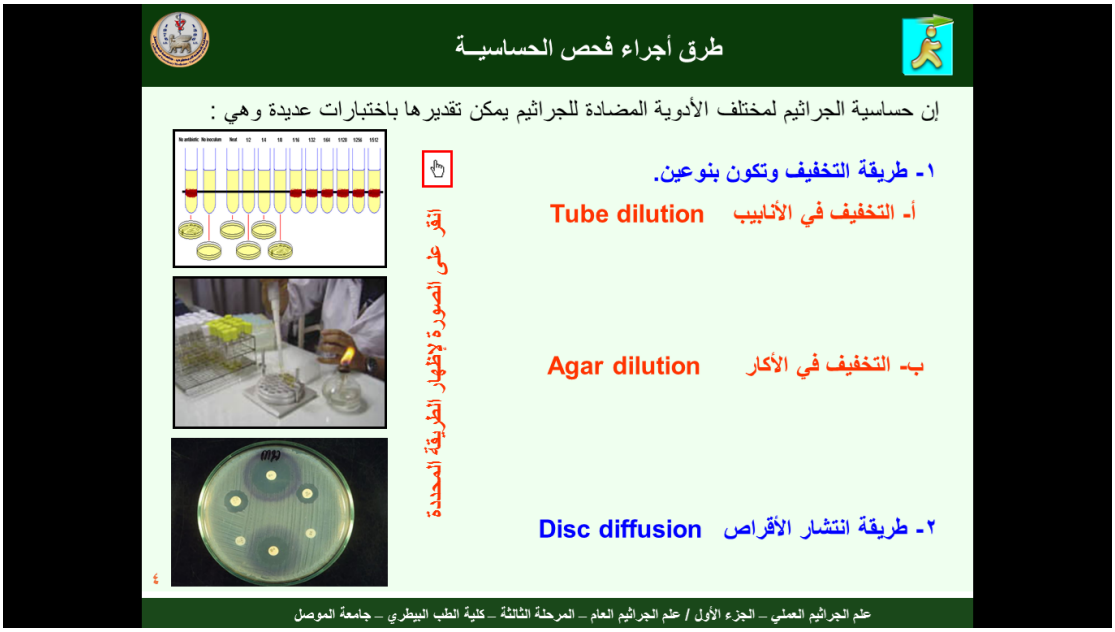
أ- اختبار التلازن Agglutination test

ب- الاختبار السريع Rapid test

ت- اختبار صحيفة الروزينكال (Card test (Rose Bengal Test (مستضد البروسيلا مصبوغ بصبغة وردية).



اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic susceptibility testing



التقدير الكمي للحساسية:

تقدر حساسية المايكروبات للمضادات الحيوية المختلفة من خلال قدرة تلك المضادات على تثبيط نمو تلك المايكروبات .وهناك عدة طرق لتقدير حساسية المضادات الحيوية ,منها طرق نوعية ومنها كمية.

الغرض من اجراء اختبار الحساسية هو لمعرفة فيما اذا كان الكائن المسبب للاصابة حساس او غير حساس (مقاوم) لعدد من المضادات التي تكون وثيقة الصلة بعلاج المريض. وقبل اجراء أي اختبار لتقدير الحساسية لابد من مراعاة مايلي:

1- معرفة الخلفية الوراثية للمايكروب in vitro لان بعض الانواع من المايكروبات يحصل بها طفرات.

2- مدى حساسية السلالة قيد الاختبار مقارنة مع افراد النوع الواحد.

3- معرفة نبذة عن المضاد قيد الاختبار مثل سميته, تركيبه ,امتصاصيته من قبل الجسم وعمله أي (mode of action).

طرق تقدير الحساسية:

1) طريقة التخافيف Dilution method

2) اختبار الحساسية بطريقة الانتشار Diffusion methods of sensitivity testing

وسنتطرق في هذا المختبر الى طريقة التخافيف

تعتبر طريقة التخافيف طريقة كمية Quantative تعتمد من حيث المبدا على تحضير سلسة من التراكيز المضاعفة تدريجيا للمضاد في وسط ملائم للنمو ثم اضافة عدد محدد من البكتيريا وملاحظة قدرة المضاد على تثبيط النمو او قتل البكتيريا قيد الاختبار من خلال ملاحظة تكون او عدم تكون العكورة في الانابيب.

ان اختبار الانتشار باستخدام الاقراص Disc method غير مجدية في كثير من الحالات ولا تعطي صورة واضحة عن حساسية البكتيريا كما في الحالات التالية:

1- في حالة استخدام كائن مجهري بطيئ النمو slow growing rate microorganism مثل بكتيريا Mycobacterium tuberculosis (زمن الجيل لها 48 ساعة) حيث ان استخدام طريقة الاقراص تعطي نتائج خاطئة لان انتشار المضاد في الاكار اسرع من نمو البكتيريا لذلك تظهر مناطق التثبيط اكبر من الحالة الاعتيادية (غير حقيقية).

2- في حالة الاحياء المجهرية التي تظهر ظاهرة التموج Swarming كما في بكتيريا ال Proteus وهنا هذه الظاهرة تعيق عملية انتشار المضاد (أي ان مناطق التثبيط اصغر من الاعتيادي).

3- في حالة استخدام مضادات حيوية ذات وزن جزيئي عالي مثل Bacitracin و Polymyxin والتي تنتشر ببطئ في الاكار لذلك فان مناطق التثبيط قد لا تظهر او تكون صغيرة جدا لان نمو البكتيريا اسرع من انتشار المضاد.

لذلك ففي الحالات المذكورة اعلاه يفضل استخدام طريقة التخافيف وفيها يتم تقدير كلا من التركيز المثبط الادنى (Minimal inhibitory concentration - MIC) وهو اقل تركيز يؤدي الى تثبيط نمو البكتيريا قيد الاختبار , والتركيز القاتل الادنى (Minimal bactericidal concentration - MBC) وهو اقل تركيز يؤدي الى قتل البكتيريا قيد الاختبار.

طريقة العمل

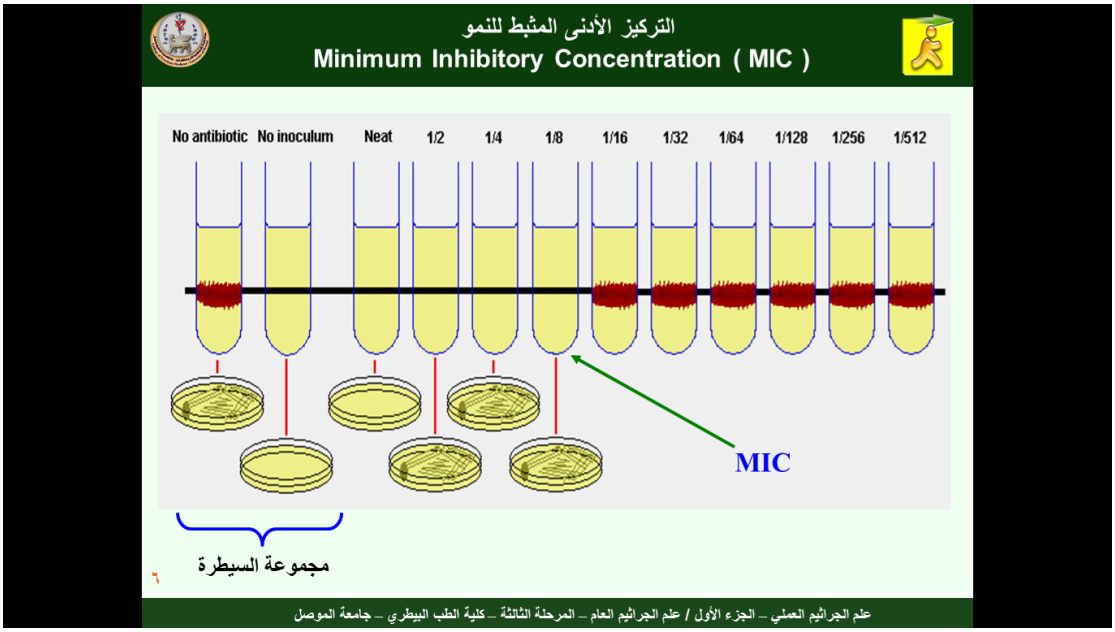
1- تزرع كمية ثابتة من البكتيريا في وسط سائل هو وسط Muller Hinton Broth في انابيب اختبار معقمة بعدد التراكيز المطلوب تحضيرها من المضاد (عدد البكتيريا يتراوح بين 105-106 خلية/مل).

2- يتم اضافة المضاد الحيوي بتراكيز متزايدة بحيث يحتوي الانبوب الاول (رقم 1) على التركيز (صفر) من المضاد Control ثم يليه الانبوب الثاني (رقم 2) الذي يحتوي على اوطا تركيز من المضاد ويليه الانبوب الثالث (رقم 3) الذي يحتوي تركيز ضعف ما موجود في الانبوب رقم 2 وهكذا بالنسبة لبقية الانابيب.

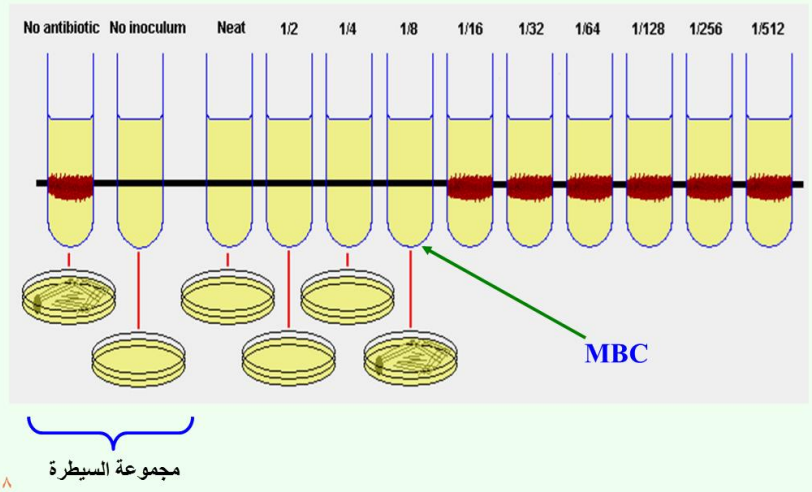
3- تحضن الانابيب جميعا في درجة حرارة ملائمة للبكتيريا المدروسة ويتم فحص الانابيب بعد الحضن للتعرف على أي منها يحتوي نمو بدلالة العكورة اما الانابيب الرائقة فتشير الى عدم حدوث نمو نتيجة فعالية المضاد.

* لتحديد ال MIC : يتم اختبار اول انبوب رائق ياتي بعد سلسلة انابيب عكرة فيكون تركيز المضاد فيه هو ال MIC.

* لتحديد ال MBC : يتم اخذ كمية من الوسط الزرعي (0.1 مل) من الانابيب الرائقة الى طبق فيه وسط زرعي صلب Muller Hinton agar ثم تحضن الاطباق بدرجة 37 م لمدة 24-48 ساعة ثم تلاحظ المستعمرات النامية في كل طبق. يعتبر اول طبق لم يظهر فيه نمو هو MBC.



التركيز الأدنى القاتل للجراثيم
Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

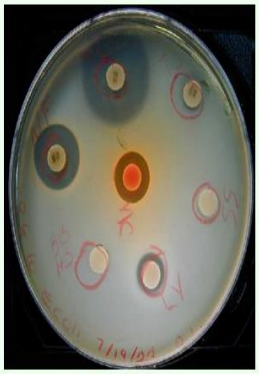


٨

2 - طريقة انتشـار الأقراص Disc diffusion test

- هذه الاختبارات كثيرة الاستعمال وشائعة لكونها بسيطة ، سريعة واقتصادية.
- مبدأ عمل هذا الاختبار يعتمد على استعمال أقراص ورقية مشبعة بالمضاد الحيوي المراد اختبار حساسية الجرثومة له.
- حيث توضع هذه الأقراص على سطح الاكار الذي يحتوى على الجرثومة وتسمى هذه الطريقة بـ (Kirby Bauer method) وتكون الأقراص على نوعين وهي الأقراص المفردة uni disc والتي تكون منفصلة عن بعضها ، والأقراص المتعددة multi disc والتي تكون متصلة مع بعضها.

multi disc الأقراص المتعددة



uni disc الأقراص المفردة

انواع مختلفة من الأقراص المفردة

١١

CTX 30
CAZ 30
GM 10
PIP 100
CIP 5

علم الفايروسات :**Virology** هو العلم الذي يتعامل مع الفايروسات.

الفيروسات هي تراكيب لا خلويه تقع على الحد الفاصل بين الماده غير الحيه والأحياء الدقيقه , وهي تستطيع أن تصيب شتى الكائنات الأخرى .

* وقد اكتشفها العالم ايفانوفسكي في عام 1882 اثناء دراسته لمرض تبرقش الدخان ..

* وقد اشتقت كلمة فيروس من الاصل اللاتيني Venum وهي تعني سم الثعبان .

تاريخ الفيروسات

* تتميز الفيروسات بأنها كائنات دقيقه متطفلة اجباريه ولذا فإن زراعتها لابد وأن تتم في أنسجه حيه وذلك بطرق مختلفة تعتمد على طبيعة الفيروس والغرض من عملية إكثاره.

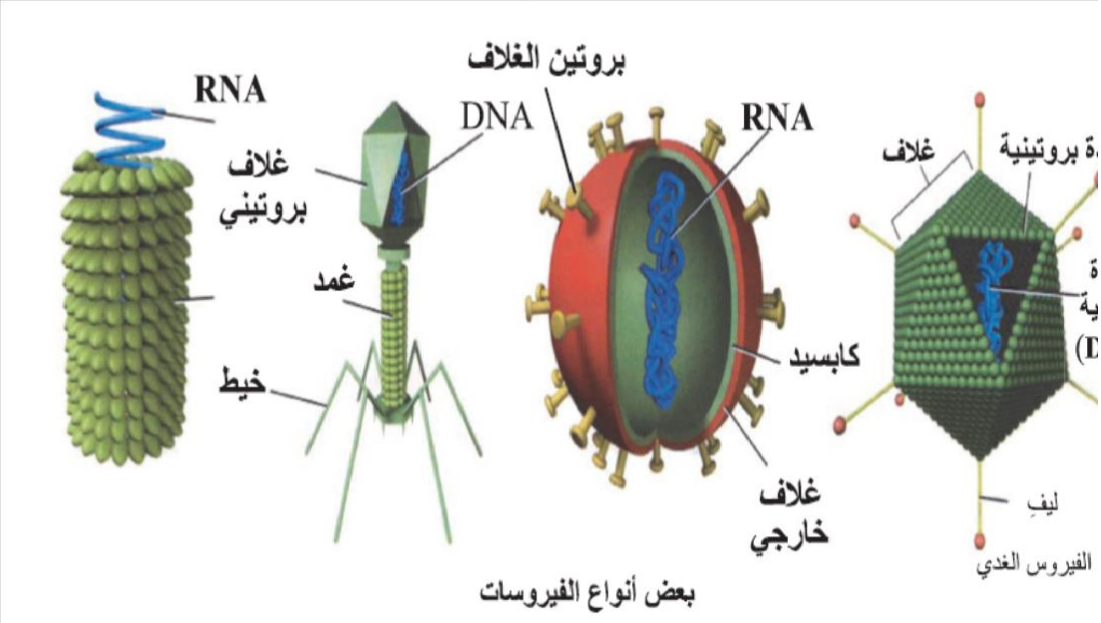
* الفيروسات جسيمات معديه دقيقه جدا تصغر البكتيريا كثيراً ولا ترى الا بواسطة المجهر الالكتروني ويمكنها أن تعيش وتتضاعف داخل الخلية الحيه فقط وهي تسبب أمراضاً خطيره مثل : شلل الاطفال والحصبة والجدري وجنون البقر وداء الكلب.

تركيب الفايروسات: تتألف معظم الفيروسات من ثلاثة أجزاء:

1 . الحامض النووي وهو الجزء المركزي المؤلف من أما DNA أو RNA

2 .غلاف بروتيني (كابسيد) يغطي المادة النووية ويحميها.

3 .غلاف لبيدي يغلف الكابسيد. وهو غشاء نسيجي يحيط بغلاف البروتين (يوجد فقط في بعض أنواع الفيروسات مثل الإنفلونزا، هذه الأنواع تسمى الفيروسات المغلفة).



بعض أنواع الفيروسات

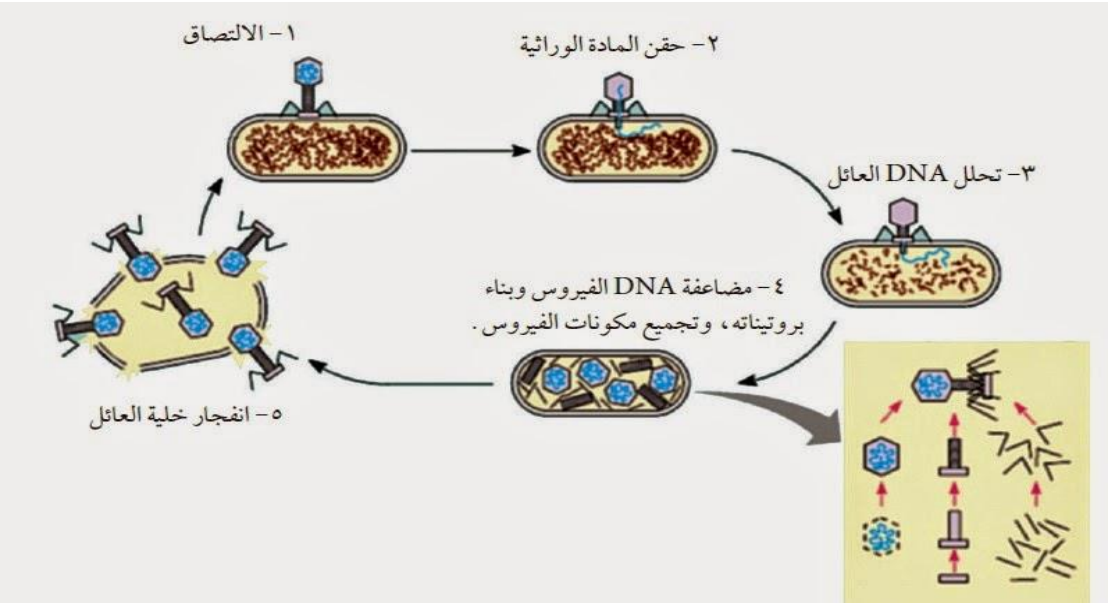
تعد الفيروسات اصغر من البكتيريا عموما بحوالي 200 نانومتر في القطر. تحمل الفيروسات كالخلايا معلومات جينية مشفرة في الحمض النووي، وتستطيع أن تتضاعف وتزداد عدداً. تعيش الفيروسات بشكل حصري حياة طفيلية داخل الخلايا الحية. ويجب عليها أن تتابع التكاثر داخل الخلية المضيفة، اذ لا يمكنها التضاعف خارج الخلايا الحية.

تصيب الفيروسات كل أنواع الخلايا من البكتيريا إلى خلايا الانسان، ولكنها لايمكن لها أن تتضاعف إلا ضمن الخلايا الحية المضيفة. كأمثلة على تخصصية الفيروسات نذكر مثل أن فيروس فسيفساء التبغ لا يصيب إلا بعض أنواع النباتات كالتبغ والخيار، ويصيب فيروس الـكَلَب بعض أنواع الحيوانات الثديية، ويصيب فيروس نقص المناعة المكتسبة فقط بعض أنواع خلايا الدم (الخلايا اللمفاوية) عند الانسان.

التضاعف

تتطفل الفيروسات على أنواع معينة من الخلايا، لان بروتينات الغلاف الفيروسي تلتصق بنقاط استقبال محددة على غلاف الخلية المضيفة. نذكر فيما يأتي خطوات تضاعف (تكاثر) الفيروس آكل البكتيريا الذي يتطفل على بعض خلايا البكتيريا.

التصاق غلاف الفيروس بمواقع التصاق معينة على غلاف الخلية المضيفة ثم حقن الحمض النووي الفيروسي داخل الخلية المضيفة. بعدها تكاثر الفيروس وصناعة نسخ من المادة الوراثية الفيروسية وإ نتاج بروتينات الكابسيد وأخيرا تحلل الخلية المضيفة، وانتقال الفيروسات الجديدة لتصيب خلايا أخرى.



الأمراض الفيروسية

احدى الدوافع الرئيسية لدراسة الفيروسات هي حقيقة أنها تسبب العديد من الأمراض المعدية الهامة، من بينها الزكام والانفلونزا وداء الكلب والحصبة والعديد من أشكال الإسهال والتهاب الكبد وحمى الضنك والحمى الصفراء وشلل الأطفال والجدري ومرض الإيدز. فيروس الحلأ البسيط (الهربس البسيط) يسبب القروح الباردة والهربس التناسلي ناهيك عن أنه يجري التحقيق في احتمالية كونه عامل مؤثر في مرض الزهايمر.

بعض الفيروسات، المعروفة باسم الفيروس الورمي، تساهم في تطوير أشكال معينة من السرطان. وأفضل مثال مدروس في ذلك هو الارتباط بين فيروس الورم الحليمي البشري وسرطان عنق الرحم: تقريبا، جميع حالات سرطان عنق الرحم تسبب من قبل بعض سلالات هذا الفيروس الذي يتم انتقاله بالاتصال الجنسي. مثال اخر هو اجتماع العدوى بفيروسات التهاب الكبد ب والتهاب الكبد C وسرطان الكبد.

كما و تسبب بعض الجزيئات الفيروسية أمراضا مثل اعتلالات الدماغ الإسفنجية المعدية، والتي تشمل كورو، مرض كروتزفيلد جاكوب واعتلال الدماغ الإسفنجي البقري (مرض "جنون البقر")، الناجمة عن البريونات، ومرض التهاب الكبد الفيروسي د[5] الذي يسببه (satellite virus).

الفيروسات واللقاحات

حيث يتم إعطاء الاشخاص لقاحات تحتوي على فيروسات ضعيفة أو جزء من الفايروس حيث يقوم الجسم بتشكيل مناعة ضد الفايروس والتعرف عليه ومهاجمته في حال دخوله إلى الجسم مرة أخرى.

الفيروسات الحيوانيه
Animal viruses

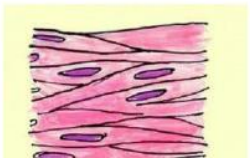
الزراعه
Cultivation

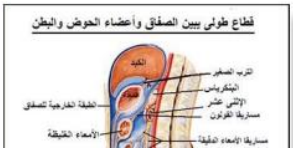
أ - استخدام الحيوانات المعمليه ..

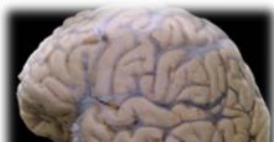
لزراعة الفيروسات الحيوانيه ، يمكن أن تستخدم : **حيوانات بأكملها** أو **أطوار منها** لهذا الغرض . ويمكن أن تؤسس إصابة الحيوان بحقن معلق الفيروس ، باستخدام **محقن** أو **إبره** في الحيوان .

ويمكن أن يكون طريق الحقن إما في :

المخ ، وإما في التجويف البريتوني ، أو في العضلات . وفي حالات نادره ، يتم الحقن في الوريد أو بالرش في الأنف .





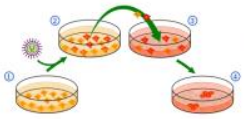


Virus Isolation

عزل الفيروسات

لعزل الفيروسات نستخدم :

١- مزارع الأنسجة + المزارع الخلوية



٢- أجنة البيض

الغرض من عزل الفيروسات :

١- التشخيص

٢- الأبحاث

هناك طريقة واحدة فقط لتأكيد هذا: **صوره بالمجهر الإلكتروني**

Electron microscope