Lab - 7

طرق تشخيص البكتيريا
Bacterial Identification methods

بعد ان تناولنا طرق الزرع وكيفية الحصول على مزارع نقية في المختبرات السابقة نبدأ الان بخطوة مهمة من خطوات دراسة الاحياء المجهرية وهي خطوة **تشخيص البكتيريا Bacterial Identification** وابسط تعريف للتشخيص هو التعرف على جنس ونوع Genus & Species الميكروب المزروع او النامي على الوسط الزرعي بعد زراعته بالطرق المعروفة مسبقا ليكون في النهاية تثبيت اسم البكتيريا المسببة لمرض معين او التي تتواجد في عينة معينة بغض النظر عن باقي الأنواع التي قد تتواجد معها بشكل طبيعي والتي تعرف بـ Normal flora اثناء اخذ العينة.

بما ان الكائنات المجهرية لا ترى بالعين المجردة الامر الذي يصعب تشخيصها بشكل مباشر فانه من الضروري اتباع طرق وخطوات معينة لغرض تشخيص البكتيريا.

الطرق الرئيسية لتشخيص البكتيريا

أولاً- التشخيص المظهر المستعمري :Cultural (morphological) Identification-
وهو التشخيص الذي يعتمد على وصف شكل وترتيب ولون المستعمرات على او داخل الوسط الزرعي ويتضمن هذا التشخيص وصف النمو على:

- ✓ الوسط الصلب Solid media
- ✓ آكار الدم Growth on blood agar
- ✓ الوسط السائل Broth
- ✓ النمو في الوسط شبه الصلب أو وسط الجيلاتين Semi-solid or gelatin

ثانياً- التشخيص المجهري للبكتيريا Microscopical Identification of bacteria: -
وهو التشخيص الذي يعتمد على وصف تفاصيل الخلية البكتيريا المفردة تحت المجهر الضوئي او الالكتروني او غيرها من المجاهر.

ثالثاً- التشخيص البايوكيميائي (الكيموحيوي) Biochemical Identification: -
تعتمد هذه الطريقة على التفاعلات البيوكيميائية (الكيموحيوية) التي تسلكها البكتيريا عند نموها او تفاعلها مع مادة معينة حيث ان كل تفاعل يعطي نواتج معينة او يحدث تغيرات معينة والتي تكون ذات خصوصية لبكتيريا معينة او مجموعة معينة من الأنواع البكتيرية تميزها عن باقي الانواع.

رابعاً - التشخيص المصلي (السيرولوجي) Serological Identification:
يعتمد هذا النوع من التشخيص على التفاعل ما بين الجسم المضاد Antibody والمستضد Antigen ولقد سمي هذا التشخيص بالمصلي على أصل مكان التفاعل وهو المصل.

خامساً - التشخيص الجزيئي Molecular Identification:
وهو التشخيص الذي يعتمد على DNA الميكروب المعزول وهذه الطريقة هي الخطوة الختامية من خطوات التشخيص وتكون بالعادة دقيقة جدا.

سادسا : التشخيص بالطرق التكنلوجية التجارية

أولاً- التشخيص المظهر المستعمري :Cultural (morphological) Identification -:

وصف المستعمرات الجرثومية على الوسط الصلب

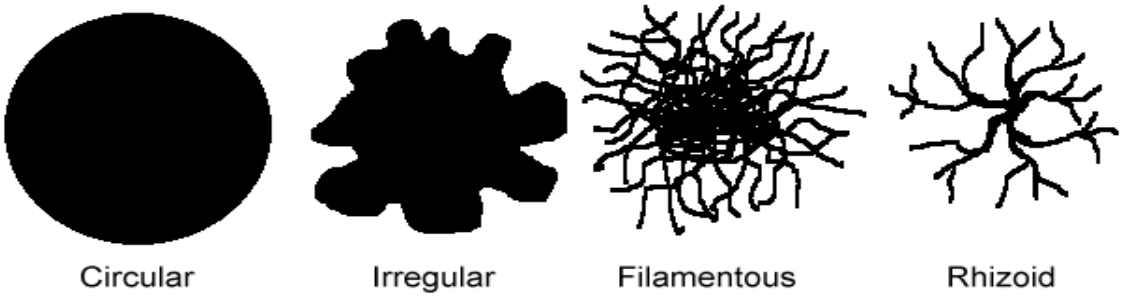
يتم وصف المستعمرات على الوسط الصلب بناءً على المواصفات التالية

1- الشكل	Shape
2- الحجم	Size
3- الارتفاع	Elevation
4- الحافة	Edge
5- العتمة	opacity
6- التحلل الدموي	Blood hemolysis
7- القوام	Consistency
8- الظواهر	Phenomena
9- اللون والخضاب	Pigmentation
10- الرائحة	Odor

1- الشكل form: - ويقصد به الوصف العام للمستعمرة من خلال النظر بشكل عمودي من الأعلى ويدعى هذا التشخيص ب **Colony morphology** حيث تظهر بالأشكال التالية: -

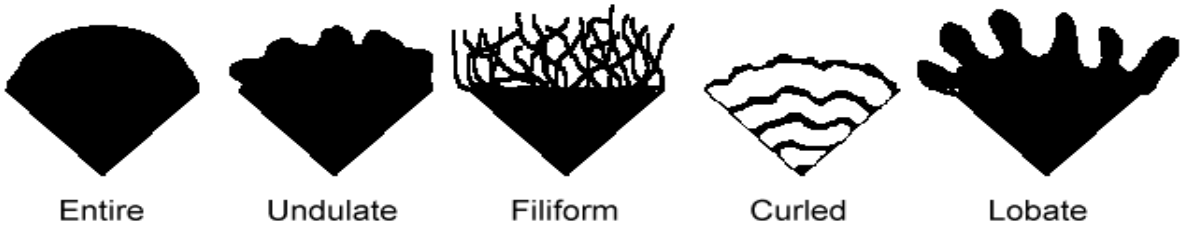
أ- دائرية	Circular
ب-غير منتظمة	Irregular
ج - شعاعية	Radiated
د - جذرية	Rhizoid
ه - خيطية	Filamentous

Form



Elevation

Margin



س: في أي طريقة من طرق زرع البكتيريا يمكننا الحصول على مستعمرات منفردة تسهل تشخيصها؟

2- الارتفاع Elevation :- ويقصد به ارتفاع سطح المستعمرة من الوسط ويكون بعدة أنواع هي

أ- مسطح Flat
ب- مرتفع Raised
ج- محدب أو شكل القبة Convex, Dam

3- الحافة Edge: -

أ- كاملة Entire
ب- متموجة Undulate
ج- مفصصه Lobate
د- تاجية Crown
ه- مسننة Dentate
و- مجعدة Curled
ز- مهدبة Fimbriate
ح- جذرية Rhizoid

4- الحجم Size: - حجم المستعمرة قد تكون صغيرة عندها تسمى المستعمرة برأس الدبوس Pin head وعادة يكون حجمها أقل من 1 ملم او كبيرة الحجم :Large size - يكون حجم هذه المستعمرات أكبر من 3ملم مثل مستعمرات العصيات حيث يصل قطرها إلى 5 ملم أو أكثر.

5- العتمة opacity: - يقصد باللون والعتمة هو النظر إلى المستعمرة من خلال تسليط الضوء على سطح المستعمرة بالإضافة إلى النظر إليها من خلال تسليط الضوء على الجهة الخلفية من طبق بتري (خلف المستعمرة) حيث يمكن ادراج صفات العتامة كما يلي:

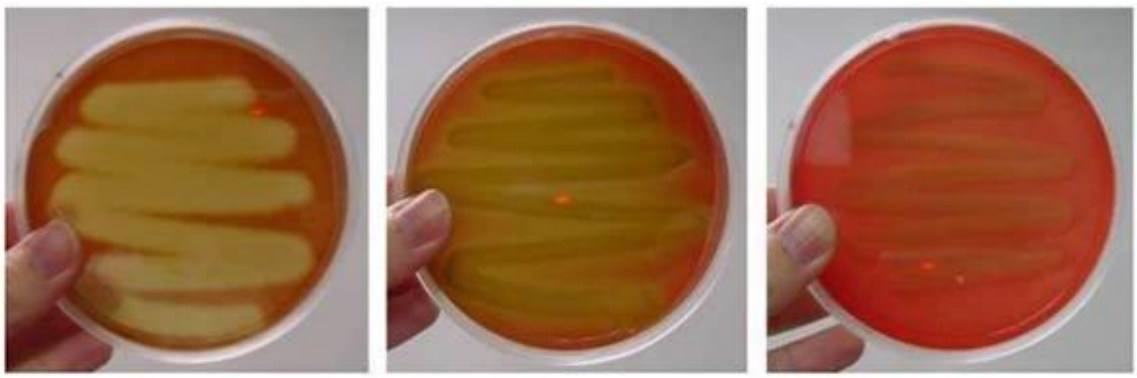
أ- شفافة Transparent
ج- معتمة Opaque
ه- معدنية اللمعة Metallic sheen

6- التحلل الدموي Blood hemolysis :- ويقصد به قابلية الجرثومة على تكسير كريات الدم الحمراء RBC ويمكن ملاحظة هذه الصفة فقط عند نمو الجراثيم على Blood agarحيث يمكن ملاحظة 3 أنماط من التحلل الدموي وهي :-

أ- التحلل الدموي ألفا Alpha hemolysis:- يكون نمط التحلل الدموي جزئيا Partial hemolysis حيث يتصف بوجود منطقة مخضرة من التحلل الجزئي حول المستعمرات النامية.

ب- التحلل الدموي بيتا Beta hemolysis:- يكون نمط التحلل الدموي كاملا Complete hemolysis حيث يتصف بوجود منطقة رائقة وشفافة من التحلل الدموي الكامل.

ج- التحلل الدموي كاما Gamma hemolysis:- لا يوجد أي تحلل دموي No hemolysis



Beta Hemolysis Alpha Hemolysis Gamma Hemolysis

7- القوام Consistency: - ويقصد به الصفة التي تتمتع بها المستعمرة في حالة ملامستها بالناقلة الحلقية bacteriological loop حيث يمكن ملاحظة الصفات التالية: -

ب- لزجة Viscid

ج- هشة Friable

8- الظواهر Phenomena:- تتصف بعض الجراثيم بقابليتها على احداث بعض الظواهر العيانية مثل ظاهرة العج swarming والتي تحدثها جراثيم المتقلبات *Proteus mirabilis* في الأوساط الإغنائية حيث يتصف نموها بما يشبه الأمواج.

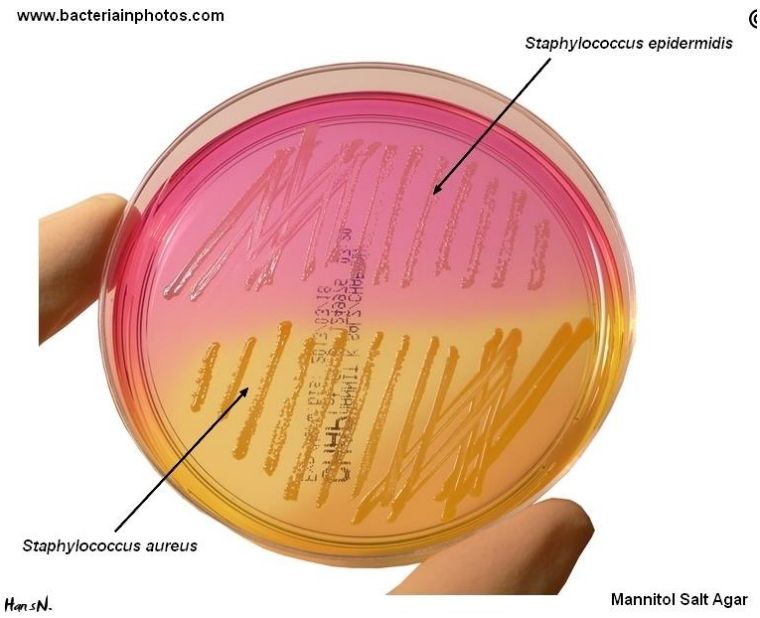
9- اللون و الخضاب:Color and Pigmentation - تنتج العديد من الجراثيم الخضاب والألوان نتيجة لنموها على الوسط مثال لذلك

- الخضاب الأخضر المزرق البايوسيانين pyocyanin الذي تنتجه بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*.

p.aerugenosa
Nutrient agar على وسط

- جراثيم المكورات العنقودية Staphylococci تنتج 3 أنماط او الوان و هي :-

- الخضاب الذهبي تنتجه المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*
- الخضاب الأصفر تنتجه المكورات العنقودية الصفراء *Staphylococcus citrus*
- الخضاب الأبيض تنتجه المكورات العنقودية البيضاء *Staphylococcus albus*



-بكتيريا E. coli تكون بالوان مختلفة في أوساط مختلفة وسط حيث يكون النمو على وسط ماكونكي ب شكل مستعمرات وردية اما على الوسط EMB- Eosin methylene blue يكون على شكل مستعمرات خضراء ذات لمعان معدني Metallic green shine

10- الرائحة Odor: - إن نمو الجراثيم على الأوساط الزرعية يؤدي إلى انتاج مواد أيضية ذات رائحة مميزة لتلك الجراثيم مثل رائحة التفاح المتفسخ والتي تنتجها جراثيم الزوائف *Pseudomonas* ورائحة السمك المتعفن التي تنتجها جراثيم المتقلبات.*Proteus*