البكتريا المرضية (٢) العملي

المختبر الأول

اعداد

م.م. ارشد مهدي حمد

اساتذة المادة

م.م. أرشد مهدي حمد

م.م. موج صدام زين

م.م. لُبنى أركان

مقدمة عن محاضرات علم البكتريا المرضية العملي

يعد علم البكتريا المرضية من أهم فروع علم الأحياء المجهرية، حيث يهتم بدراسة البكتيريا المسببة للأمراض في الإنسان . وتُعد محاضرات علم البكتريا المرضية العملي من أهم المقررات الدراسية في مجال العلوم الطبية، حيث تزود الطلاب بالمهارات العملية اللازمة لدراسة البكتيريا المرضية وطرق عزلها وتصنيفها وتشخيصها وتحديد العوامل المؤثرة على نموها ونشاطها.

أهداف محاضرات علم البكتريا المرضية العملي

تهدف محاضرات علم البكتريا المرضية العملي إلى تحقيق الأهداف التالية:

* تزويد الطلبة بالمعرفة الأساسية عن البكتيريا المرضية، بما في ذلك العزل والتشخيص واختبارات الحساسية للمضادات الحيوية.

* إعداد الطلبة للعمل في مجال المختبرات الطبية والمختبرات البحثية بما يتعلق بدراسة البكتريا المسببة للامراض.

المواضيع التي يتم تناولها في محاضرات علم البكتريا المرضية العملي

تتناول محاضرات علم البكتريا المرضية العملي مجموعة واسعة من الموضوعات، بما في ذلك:

* اجراءات السلامة والامن المختبري.

* العينات المرضية وآليات جمعها .

* طرق عزل وزراعة البكتيريا المرضية.

* تقنيات تشخيص البكتيريا المرضية.

* دراسة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية.

* اهم اماكن العزل واهم الانواع المسببة للامراض.

أهمية محاضرات علم البكتريا المرضية العملي

تُعد محاضرات علم البكتريا المرضية العملي من أهم المقررات الدراسية في مجال العلوم الطبية، حيث توفر للطلاب المهارات العملية اللازمة لدراسة البكتيريا المرضية وطرق الوقاية منها والعلاج منها. كما أن هذه المحاضرات تساهم في إعداد الطلاب للعمل في مجال المختبرات الطبية والمختبرات البحثية.

إجراءات السلامة العامة في مختبرات الاحياء المجهرية:

قبل دراسة علم البكتريا المرضية العملي يجب الاطلاع على بعض إجراءات السلامة العامة المطلوب اتباعها في مختبرات الاحياء المجهرية. وذلك من خلال انتقال العدوى إلى العاملين أو إلى البيئة المحيطة وأهم هذه التدابير هي..

١. يمنع تناول الطعام أو الشراب أو داخل المختبر .

٢. لمنع تلوث الملابس يجب ارتداء المعطف المختبري واغلاقه وكذلك ارتداء القفازات المختبرية المطاطية عند العمل .

٣. غسل اليدين بالماء والصابون وتعقيمها بالكحول بشكل مستمر .

٤. عدم لمس العين أو الفم أو الأنف أثناء العمل.

٥. قبل العمل يجب أن يتم تعقيم مكان العمل بالكحول ٧٠% ويفضل القيام بعملية الزراعة في خزانة السلامة البايولوجية Safety cabinate لتلافي التلوث.

٦. المحافظة على مكان العمل نظيفا ومعقماً وتجنب ازدحامه بالعينات والاجهزة .

٧. اخذ الحذر عند التعامل مع العينات المرضية أو الادوات الحادة مثل الإبر والسرنجات والواخزة Lancet .

٨. يجب أن يتم الحفاظ على الأوعية المحتوية على العينات مغلقة بشكل جيد وعدم فتحها إلا في مساحة معقم أو بجانب لهب.

٩. وضع المواد الملوثة أو المزارع القديمة في أوعية خاصة تمهيداً للتخلص منها وإتلافها بجهاز المؤصدة Autoclave .

١٠. التعقيم المباشر للأدوات المخبرية المستخدمة قبل وبعد كل استعمال مثلاً تعقيم Loop باللهب وتعقيم الماصات بالكحول أو محلول هيبوكلورات الصوديوم Na- hypochlorite.

١١ . يجب عدم استخدام الماصات Pipettes الفموية لنقل المزارع البكتيرية وانما استخدام الماصات الأتوماتيكية Automatic pipettes.

١٢. عند حدوث تلوث للملابس أو الجلد أو أسطح العمل بالبكتيريا أو العينات المرضية يستخدم الكحول ٧٠% أو محلول هيبوكلورات الصوديوم بتركيز ١٠% للتعقيم المباشر .

١٣. تحصين أجسام العاملين في مختبرات الاحياء المجهرية باللقاحات اللازمة مثل لقاح التهاب الكبـــــــــد الفيروسي Hepatitis B.virus أو لقاح الايدز AIDS أو لقاح السل T.B لتلافي انتقال العدوى لهم.

١٤. المحافظة علي ظروف التعقيم بشكل عام ومستمر عند التعامل مع أية عينة مرضية أو مزرعة جرثومية.

١٥. في حالة حصول حادث في المختبر أو سقوط المزارع الحية أو العينات المرضية يجب اتباع ما يلي.

أ) إخبار مشرف المختبر بسرعة عن الحادث.

ب) وضع منشفة ورقية فوق المادة المسكوبة .

ج) سكب أي مادة مطهرة Disifectant بكمية كافية فوق المنشفة الورقية .

د) رفع المنشفة بعد مرور حوالي ١٥ دقيقة وإتلافها بشكل جيد.

١٦. يجب التعامل مع العينات المرسلة إلى مختبر الاحياء المجهرية على أنها عينات مرضية من المفروض الحذر واتباع الإجراءات السليمة في التعامل معها ومراعاة ظروف التعقيم و السلامة في كافة مراحل العمل من اجل منع التلوث وانتقال العدوى والخروج بنتائج سليمة وصحيحة بعد إجراء الفحوصات اللازمة على العينة .

العينات The specimens

علم البكتريا المرضية هو أحد فروع علم الاحياء المجهرية ويعرف على أنه:

"هو العلم الذي يُعنى بدراسة البكتريا المسببة للأمراض في جسم الانسان ويتضمن مجموعة الطرق المستخدمة في التعرف على الكائن الحي الدقيق الموجود في العينة أو المسبب للمرض من حيث اختيار العينة وطرق عزل الكائن الدقيق الموجود فيها أو المسبب للمرض ودراسة الخواص الشكلية و التركيبية المميزة له"

منذ اكتشاف المجهر الضوئي على يد العالم الهولندي لوفينهوك Leeuwen hook تم إثبات وجود الكائنات الحية الدقيقة في البيئات المختلفة.

وتبع ذلك جهود عدة علماء أهمهم روبرت كوخ R.koch الذي اكتشف علاقة البكتيريا بالمرض وقام بإيجاد تقنية الحصول على مزارع نقية للبكتيريا Pure culture ، ثم تظافرت جهود العلماء ليتم الكشف عن أنواع كثيرة جداً من الاحياء المجهرية الممرضة وغير الممرضة ودراسة صفاتها وأشكالها .

وتطور تبعاً لذلك علم التشخيص الذي اصبح علماً منفصلاً عن باقي فروع علم الأحياء بحيث ظهرت تقنيات عدة ومتطورة تؤدي إلى التمييز الدقيق بين كل نوع وآخر من أنواع الاحياء المجهرية اعتماداً على صفات ذلك الكائن المكتشفة أصلاً.

وقد اصبح بالإمكان التمييز بين الأنواع المرضية Pathogenic وغير المرضيةNon Pathogenic و الانتهازية Opportunistic واصبح من السهل تمييز الساكن الطبيعي Normal flora في الجسم عن الأنواع الطارئة عليه و التي قد تكون سبباً لحالة مرضية معينة .

وتتم عملية التشخيص في مختبر الأحياء المجهرية الذي يجب أن يكون مزوداً بالتجهيزات اللازمة لهذه العملية وتتوفر فيه مقومات السلامة العامة لتلافي العدوى وانتقال الأمراض كما يجب أن يكون الفني أو الشخص الذي يقوم بعملية التشخيص ذا كفاءة عالية ومعلومات غنية تمكنه من القيام بعملية التشخيص بجودة عالية وشكل جيد.

القواعد العامة لجمع العينات

تعتمد نتائج المختبر التشخيصي بشكل كبير على نوعية العينة و الوقت وحالة المريض عند اخذ العينة و المواد المستخدمة وطريقة العمل بحيث تكون كل الخطوات السابقة مناسبة لحالة المريض ولنوعية المرض و الكائن المسبب وتكون ذات كفاءة ودقة عالية .

ويعتبر جمع العينة المرضية أول واهم خطوة من خطوات تشخيص الإصابة و الكائن المسبب وذلك لان صحة الفحوصات التشخيصية للمرض و المسبب تعتمد بشكل أساسي على دقة عملية الجمع من حيث اختيار وقت وطريقة الجمع ومراعاة حساسية الكائن المراد الكشف عنه لبعض المواد الكيميائية وأماكن وجوده أثناء فترة الإصابة لان عزل الكائن المسبب حياً من الأمور المهمة جدا في عملية التشخيص ومن الأمور المهمة أيضا أثناء جمع العينة معرفة الفلورا الطبيعية Normal flora لمنطقة اخذ العينة حتى لا يختلط التشخيص بين الكائن المسبب للمرض و الفلورا الطبيعية.

وتقع مسؤولية جمع العينة المرضية في الغالب على فني المختبر ولكن قد تتم هذه العملية في بعض الحالات خارج المختبر وهذا يستوجب التنسيق بين الطبيب و الممرض و فني المختبر من اجل الحصول على عينة سليمة صالحة لعملية التشخيص. اما نوع العينة فيعتمد على أمور عدة منها الحالة المرضية ومرحلة المرض ونوع الكائن المسبب المراد البحث عنه وتختلف تبعاً لذلك أنواع العينات المستخدمة في تشخيص الالتهابات فهي قد تكون دم Blood أو بول Urine أو بلغم Sputum أو براز Stool أو قيح pus ومن اجل جمع افضل عينة مرضية يجب مراعة الأمور التالية :

١ - اختيار نوع العينة المراد جمعها بحيث تكون معبرة عن المرض ومفيدة في التشخيص وهذا يتطلب أموراً عدة منها :-

أ- معرفة جيدة بالحالة المرضية ومرحلة الإصابة ويكون ذلك بالتنسيق مع الطبيب فمثلاً يكون عدد الجراثيم كثيراً في المرحلة الحادة من الإصابة Acute phase ويكون عدد الجراثيم أيضا كبيراً في الإسهال اكثر من البراز الصلب أو اللين في حالات التهاب الأمعاء .

ب - المعرفة العامة بالكائن المتوقع عزله من اجل إعداد الأوساط وطرق العزل المناسبة له وكذلك من المفروض معرفة مكان وجود الكائن الدقيق في هذه المرحلة من الإصابة فمثلاً لتشخيص وعزل بكتيريا Salmonella المسببة للتيفوئيد تأخذ عينة البراز للزراعة بالفترة ما بين الأسبوع الثاني والثالث من الإصابة.

ج - اخذ العينة المناسبة والصحيحة لتشخيص الحالة المرضية اعتماداً على الأعراض Symptoms و العلامات Signs ، مثلاً في حالة التهاب الرئة Pneumonia يتم أخذ عينة بلغم Sputum وليس اللعاب Saliva كذلك يجب اخذ المسحة Swab من عمق الجرح وليس من سطحه وفي حالة عدم وجود مكان مباشر لأخذ العينة يستعاض عن ذلك بزراعة الدم مثلاً أو بالفحوصات الأخرى كالفحوصات المصلية Serological test .

٢- يجب أن تكون أوعية جمع العينات نظيفة ومعقمة ومحكمة الإغلاق ومميزة بمعلومات عن العينة و المريض .

٣ - يجب اخذ العينة من المريض قبل تناول المضادات الحيوية أو العوامل القاتلة للجراثيم Antimicrobial agents وفي حال تناول المريض لأي من المواد السابقة يجب التوقف عن أخذ العلاج و الانتظار مدة ٣-٥ أيام ثم أخذ العينة منه .

وفي حال كون زراعة العينة ضرورة مستعجلة في بعض الأوقات يتم اللجوء إلى إضافة مواد محللة للعلاجات مثل انزيم Penicillinase الذي يحطم البنسلين .

ويكون ذلك لأن تناول المضادات الحيوية يؤدي إلى اختفاء الجرثومة في العينة وإعطاء نتائج سلبية كاذبة فمثلاً لا تظهر الجراثيم في السائل النخاعي الشوكي CSF لمدة ٢٤ ساعة بعد تناول المضادات الحيوية كما وتعطي زراعة البراز culture stool للكشف عن Salmonella نتيجة سلبية خلال ٢٤ ساعة من تناول المضادات الحيوية أيضاً.

٤ - يجب تجنب التلوث الخارجي وذلك بمراعة ظروف التعقيم كافة أثناء جمع أو حفظ أو نقل العينة كتعقيم الجلد الجيد قبل سحب الدم للزراعة مثلاً.

٥- يجب أن تكون كمية العينة كافية ومناسبة للفحوصات المطلوبة .

٦- عند توقع احتواء العينة على أعداد كبيرة من الفلورا الطبيعية Normal flora يفضل وضع العينة في الثلاجة تحت درجة حرارة من ٢-٥م لعدة ساعات من اجل تقليل الساكن الطبيعي الموجود فيها .

٧- عند توقع وجود جراثيم لاهوائية في العينة يجب اخذ العينة ووضعها في أوعية خاصة مفرغة من الهواء وحاوية على ثاني أوكسيد الكربون CO_2 أو إضافة مواد مختزلة للأوكسجين إلى العينة .

٨- الإسراع في نقل العينة إلى المختبر في حالة جمعها خارجه.

٩- الإسراع في التعامل مع العينة من زراعة أو فحص أو حفظها في أوساط حفظ خاصة حتى يتم التعامل معها . فمثلا يفضل فحص عينة إفرازات الاحليل للكشف عن جرثومة مرض السيلان N.*gonorrhoeae* مباشرة أو وضعها في وسط حافظ بسبب تلفها السريع و تأثرها بالبيئة المحيطة.

١٠ - يجب أن تكون العينة مميزة برقم خاص أو باسم المريض ورقمه أن وجد ويكون نموذج طلب الفحص يحتوي على معلومات متعلقة بالمريض مثل الاسم والجنس والعمر ومعلومات متعلقة بالعينة مثل نوع العينة ومصدرها والفحص المطلوب ووقت أخذها.

١١ - يجب رفض العينة غير الصحيحة وغير المناسبة لشروط صحة الفحص مثل عدم توافق العينة مع المعلومات المدونة على الوعاء أو النموذج المرفق أو أن تكون جافة أو مفتوحة غير معقمة أو أية شروط تجعلها غير صالحة للفحص .