

دراسة تأثير المضادات الحيوية على الاحياء المجهرية**Study the effects of antibiotics on microorganisms****الطريقة الثانية طريقة الإنتشار بالحفر Wells Diffusion method**

وفي هذه الطريقة يت عمل حفر بقياس معين من خلال استخدام اداة ثاقبة للوسط الزراعي بحيث يصل عمق الحفرة الى منتصف سمك الوسط الزراعي المصبوب في الاطباق ثم يتم بعد ذلك زرع البكتريا على سطح الطبق ثم توضع في الحفر المضادات الحيوية المراد اختبار تأثيرها على البكتريا ويمكن استخدام تراكيز مختلفة من المضاد الحيوي / او المستخلص النباتي / او المادة الكيميائية (كل حفرة يوضع فيها تركيز معين).

الغرض من استخدام هذه الطريقة :

الكشف عن تأثير المضادات الحيوية او المستخلصات او الواد الكيميائية التي يتم تحضيرها حسب تجربة الباحث .

طريقة العمل :

1. تحضير وسط مولر هنتون اكار (حسب الكمية التي نحتاجها ولا ننسى ان الطبق الزراعي الواحد يسع من 20-25 مل من الوسط وعلى هذا الاساس يتم احتساب كمية الوسط التي نحضرها (مثلاً نحتاج 5 أطباق اي نحضر 100 مل من الوسط كل طبق نصب فيه 25 مل من الوسط).
2. تعقيم وسط مولر هنتون اكار بالاولوتوكليف (كل انواع الاوساط الزراعية تعقم بجهاز الاولوتوكليف).
3. بعد التعقيم يبرد الوسط ثم يصب في الاطباق (25 مل لكل طبق).
4. تترك الاوساط لتتصلب .
5. يتم زرع البكتريا بواسطة ماسحة قطنية وذلك بغمرها في المعلق البكتيري المعايير مع انبوب ماكفر لاند الثالث والذي يحتوي على $1.5 * 10^8$ خلية بكتيرية لكل مل ، حيث يتم نشر البكتريا على كل الطبق وبحذر شديد.
6. يتم عمل حفر في الطبق (عدد الحفر 1-6 حفر) بواسطة أداة ثاقبة تسمى cork borer وحجم الحفر يكون مناسب.
7. نضع في الحفر المضادات الحيوية او المستخلصات النباتية او المواد الكيميائية بواسطة سرنجة معقمة وبحجم يقارب 0.1-0.5مل (بضع قطرات توضع في الحفرة دون ان يطفو محلول المضاد على سطح الوسط الزراعي خارج الحفرة حتى لايسبب خطأ في النتيجة من خلال اختلاط تراكيز المضادات الحيوية المختلفة) .
8. تحضن الاطباق في الحاضنة بدرجة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة .

9. تقرأ النتائج من خلال ملاحظة وجود او عدم وجود منطقة تثبيط نمو البكتريا حول الحفر بقياس قطر المنطقة بواسطة المسطرة ثم مقارنة القياس مع جداول قياسية وضعت من قبل منظمة الصحة العالمية بالنسبة للمضادات الحيوية .

10. تسجل النتائج وتصور الاطباق .

11. عمل التقرير ومناقشة النتائج وادراج صور الاطباق في التقرير .



