

## **A - الفلو را الطبيعية للفم Normal flora of mouth**

الفلورا البكتيرية للفم Oral Bacterial Flora تلعب دوراً كبيراً في أكثر أمراض الفم شيوعاً التهاب اللثة وتسوس الأسنان عندما تتوفر لها ظروف ملائمة منها وذلك بإفرازها للسموم والإنزيمات والأحماض نتيجة لاستهلاك بقايا الطعام التي تبقى في الفم دون عناية صحية.

المواد: القطن، كحول ٧٠٪، اطباق بتري تحتوي وسط مغذي، ماسحة قطنية cotton swab

### **طريقة العمل**

يتم تعقيم أصبع اليد بالكحول وبعد أن يجف يوضع الابهام على سطح سقف الفم ثم تنقل البصمة للابهام إلى سطح المغذي وتحضرن الأطباق بدرجة ٣٧°C لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة فيلاحظ النمو واشكاله على الوسط بعد التحضير.

كذلك يمكن اخذ مسحة من تجويف الفم او اللعاب بمسحة قطنية cotton swab معقّم ونقله الى سطح مغذي وتحضرته بالحاضنة بدرجة ٣٧°C لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة فيلاحظ النمو واشكاله على الوسط بعد التحضير.

## **B - الفلورا الطبيعية للجلد**

الاحياء المجهرية التي تتواجد بشكل طبيعي على الجسم أو فتحاته تدعى الفلورا الطبيعية Normal flora تعتبر هذه الكائنات تعايشية commensals لأنها لا تضر المضيف بل أحياناً تلعب دوراً هاماً لصالحه حيث تمنع الكائنات المضرة من مهاجمة الجلد بسبب تنافسها مع الاحياء المعرضة على المواد الغذائية، التعرف على هذه الاحياء الموجودة طبيعياً على الجلد غاية في الامانة لأنها كثيراً ما تصادفنا كملوثات في الهواء (على خلايا الجلد التي تتساقط باستمرار وتبقى في الجو) من اهم انواع هذه البكتيريا:

**١ - *Staphylococcus epidermidis*** بكتيريا خلاياها كروية، وعنقودية التجمع (تحت

المجهر) تتواجد طبيعياً على جلد الانسان وبعض الحيوانات.

**٢ - *Staphylococcus aureus*** على الأقل ٢٠٪ من الاشخاص يحملون هذا الجرثومة خاصة في فتحات الانف (بشكل طبيعي) وهي لا تضر المضيف ولكنها تكون ممرضة عند دخولها إلى داخل الجسم إذ تسبب التسمم الغذائي أو الجروح.

## **عزل البكتيريا من مصادر مختلفة Isolation of Bacteria from different Sources**

توجد عدة مصادر لعزل البكتيريا التي يكون بعضها متواجد بشكل طبيعي كفلورا طبيعية وبعضها يكون ممرض للإنسان والحيوان ومن تلك المصادر (الإنسان، الماء، التربة، الهواء) وغيرها

### **١ - الإنسان**

يحتوي جسم الإنسان على أعداد لا حصر لها من الكائنات الدقيقة، يحتوي الفم على سبيل الذكر على ما يزيد عن ٧٠٠ نوع من الكائنات الدقيقة، والقناة الهضمية تحتوي على ما بين ٥٠٠ و ١٠٠٠ نوع من الكائنات الدقيقة، ويحتوي سطح الجلد على عدد كبير من الكائنات الدقيقة اذ يعد بيئه مناسبه لأنواع كثيرة جداً من هذه الكائنات، يمكن ان تقسم الكائنات المجهرية من حيث تأثيرها على الإنسان إلى:

**١ - الفلورا الطبيعية Normal Flora** كائنات صديقة للإنسان تستوطن الأسطح الخارجية والداخلية للإنسان السليم ولا تسبب أي مرض له.

**٢ - كائنات ممرضة Pathogenic Microorganisms**: تسبب الامراض للإنسان في حالة سمحت له أي فرصة لإحداث المرض للإنسان.

**٣ - كائنات انتهازية Opportunistic Microorganisms**: أشد هذه الأنواع خطراً فهي تعيش داخل الجسم إلا أنه تتحين الفرصة لنضر الجسم.

تعيش الجماعات الميكروبية في توازن و حدوث خلل في توازن جماعات الفلورا الميكروبية نتيجة تعاطي مضادات حيوية لفترات طويلة أو عقاقير وعوامل أخرى تبطئ مناعة الجسم يؤدي إلى سوء تصرف هذه الجماعات وتصبح ضارة وتسمى حينئذ ميكروبات انتهازية.

### **فوائد الفلورا الميكروبية:**

- ١ - منع الميكروبات الممرضة من الاستيطان.**
- ٢ - تزويد الجسم ببعض الفيتامينات وتحويل بعض المركبات الضارة إلى مشتقات غير ضارة.**

٣- *Micrococcus luteus* بكتيريا كروية الشكل تتواجد على الجلد لبعض الاشخاص وهي غير ممرضة وتعد من البكتيريا الملوثة للهواء

٤- *Propionbacterium acnes* عصيات لا هوائية (يعتقد انها تسبب حب الشباب بسبب عزلها من هذه المناطق).

المواد: القطن ، كحول cotton swab، محلول الملح الفسلجي المعقم Normal saline .nutrient agar في الماء (%) ، اطباق NaCl (٪ ۹) ،

طريقة العمل:

١- تمسح منطقة الجلد من أي جزء (الايدي او فروة الراس) بقطعة قطن مشبعة بالكحول بتراكيز ٧٠% لمنطقة دقيقة ولتطهير المنطقة من الاحياء المجهرية غير المتوطنة (Transient organisms) والتي لا تشكل جزء من флора الطبيعية.

٢- ترك لتجف.

٣- ترتيب swab بالسلالين ويسخن الجلد في منطقة محددة لمدة ١٥ ثانية

٤- يفتح الطبق تحت ظروف معقمة ويملأ سطح الاكار بواسطة ماسحة قطنية swab ويتم التخلص من المسحة بوضعها في بيكر يحتوي على ديتول.

٥- يحضن الطبق في الحاضنة لمدة ٢٤ ساعة عند درجة حرارة ٣٧ ° م.

٦- تفحص الاطباق وتدرس انواع المستعمرات وشكالها و الوانها، قوامها.

ملاحظه: يمكن عزل البكتيريا من تجحيف الانف باخذ مسحة بواسطة ماسحة قطنية وزرعها على سطح وسط صلب معقم وتحضينه بالحاضنة بدرجة ٣٧ ملم لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة.

كذلك يمكن عزل البكتيريا من الشعر بنقل جزء من الشعرة او اظافر بواسطة مقص معقم الى سطح وسط معقم وتحضن في الحاضنة بدرجة ٣٧ ملم لمدة ٢٤ ساعة.

## ٢- عزل البكتيريا من الهواء والماء

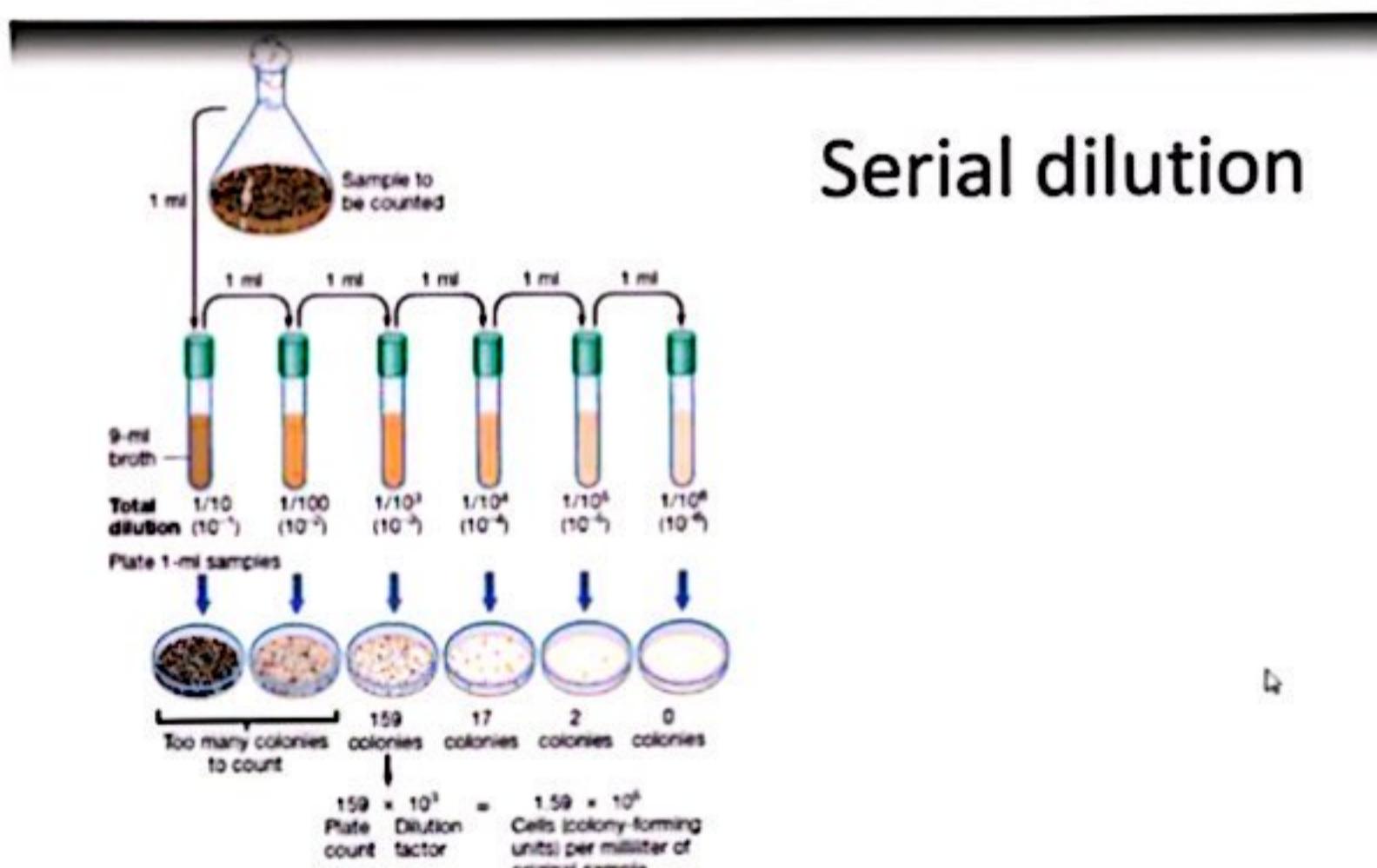
عند عزل البكتيريا من الهواء يترك الطبق الذي يحوي وسط معقم مفتوح في المختبر لمدة (٣٠-١٠) دقيقة ساعة ثم يغطى ويحضن في الحاضنة وتسجل النتائج اما في حالة اخذ عينة ماء سواء حنفية او مياه معدنية تنقل حملة ابرة تلقيح من الماء الى سطح وسط معقم بطريقة التخطيط ويحضر الطبق بالحاضنة.

## ٣- عزل البكتيريا من التربة

تحتوي التربة على أعداد كبيرة من الاحياء المجهرى من ضمنها البكتيريا التي قد تكون هوانية او لاهوانية التي تختلف في اشكالها والوانها وانواعها، توجد عدة طرق لعزل البكتيريا من التربة حسب نوع البكتيريا اذا كانت هوانية او لاهوانية ومكونة او غير مكونة للأبوااغ بعد تحضير تخفيف لإجراء العزل للبكتيريا:

### تحضير التخفيف

يوزن (١ غم) من نموذج من النماذج المختلفة (تربة زراعية وتربة رملية ) ويضاف إلى أنابيب اختبار التي تحتوى ٩ مل من الوسط المعقم فنحصل على التخفيف الأول ١٠/١ نجري سلسلة تخفيف أخرى بنقل ١مل من التخفيف الأول الى أنبوب اخر يحتوى وسط مغذي سائل للحصول على التخفيف الثاني ١٠٠/١ وينقل من هذا التخفيف ١مل لأنبوب اخر فنحصل على تخفيف ١٠٠٠/١ وكما موضح في الشكل ادناه .



بعد هذه الخطوة توجد طرق للحصول على مزارع نقية للبكتيريا منها في حالة البكتيريا الهوائية الغير مكونة للأبواغ تستعمل احد الطرق التالية

#### A- طريقة التخطيط Streaking Method

#### B- طريقة النشر Spreading Method

تصلح هذه الطريقة للحصول على مزرعة نقية من عينة يشك بانها تحتوي عدة أنواع من الاحياء المجهرية حيث في هذه الطريقة ينقل ٠٠١ مل من العالق الى سطح وسط اكار مغذي معقم ثم ينشر العالق بنشر زجاجي معقم في اتجاهات متعددة لضمان نشر الخلايا البكتيرية بشكل منفصل ثم تحضن الاطباق لمدة ٧٢ ساعة او اكثر بدرجة (٣٠-٢٨) منوية.

اما في حالة البكتيريا المكونة للأبواغ التي قد تكون هوائية مثل بكتيريا جنس *Bacillus* او لاهوائية مثل جنس *Clostridium* فيمكن ان تعزل البكتيريا الهوائية وكما يلى:

١- بعد ان تحضر التخافيف توضع انبيب التخافيف في حمام حمائي بدرجة ٨٠ منوية لمدة ٢٠ دقيقة

٢- ينقل من تلك التخافيف المحضرة مسبقا مقدار يتراوح من ٠٠١ الى ١ مل الى الطبق فارغ في حالة بكتيريا هوائية غير مكونة للأبواغ ويصب الوسط الصلب المعقم ( درجة حرارته ٤٥ منوية ) وتخلط العينة والوسط بتحريك محتويات الطبق افقيا باتجاه وعكس اتجاه عقرب الساعة وتنترك يتصلب ويحضر بالحاضنة بدرجة (٣٠) منوية لمدة اسبوع

٣- يلاحظ شكل المستعمرات والوانها وتسجل النتائج

في حالة البكتيريا اللاهوائية تستعمل نفس الخطوات للبكتيريا اللاهوائية المكونة للأبواغ فيما عدا النماذج المأخوذة من التربة على عمق ٥٠ سم عن سطح التربة وستعمل أوساط خاصة للتنمية . *clostridium -medium* ووسط *Thioglycolat -medium*