

مقرر المضادات الحيويه العملي

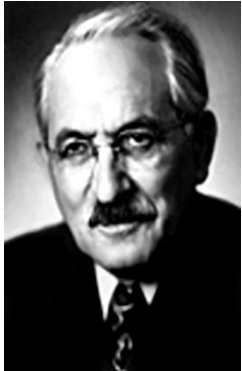
Antibiotics Practical Course

مقدمة إلى المضادات الحيوية

Introduction to Antibiotics

تعريف:

المضادات الحيوية مصطلح يطلق عادة على النواتج الميكروبية. ينتج بواسطة أحد الأحياء الدقيقة سواء فطريات أو بكتيريا أو أكتينومييسيتات. يمكن للمضاد الحيوي أن يثبط نمو الكائن الحي الدقيق الضار أو أن يقتله تماما باستخدام تركيزات قليلة جدا منه.



Selman Waxman

و مؤخرا أصبح يشمل هذا المصطلح أيضا المنتجات الشبه طبيعية المصنعة من المضادات الحيوية الطبيعية. مصطلح Antibiotics يعني ضد الحياة (بالنسبة للكائنات الحية الدقيقة الممرضة)، أول من أطلق عليه هذا المسمى هو العالم الأميركي Selman Waxman.

ما لفرق بين مصطلح Antibiotic و مصطلح Antimicrobial؟

Antimicrobial

- عادةً أضعف تأثيراً على الأحياء الدقيقة الممرضة بالمقارنة مع antibiotic.

- يفوق التركيز الفعال من هذه المواد $100 \mu\text{g/ml}$.

Antibiotic

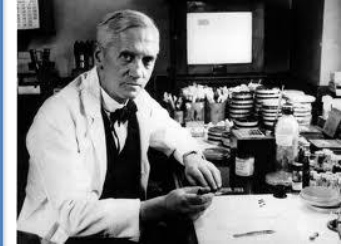
- أقوى في تأثيرها على الأحياء الدقيقة الممرضة.

- يُقاس التركيز الفعال من هذه المواد بالميكروجرام /مل ($\mu\text{g/ml}$) ويكون «أقل تركيز مثبت لنمو الكائن الدقيق الممرض» ويُسمى عادةً بـ MIC (Minimal Inhibitory Conc.)

تاريخ المضادات الحيوية

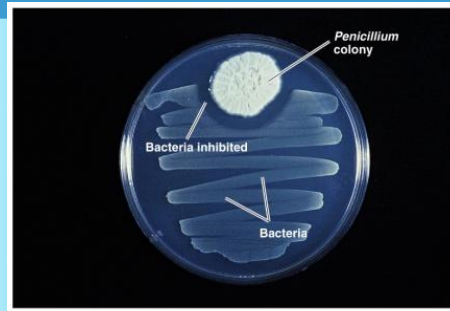
History of Antibiotics

- 1927 - 1928 م.
- عمل فليمينج أبحاث مستفيضة في مستشفى Saint Mary's Hospital على النوع البكتيري *Staphylococcus aureus*



الكسندر فليمينج
Alexander Fleming

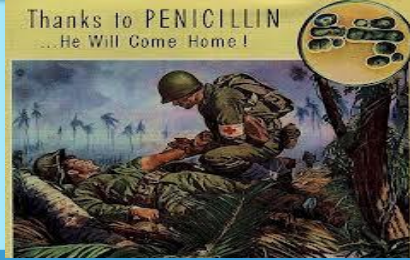
اكتشف أن أحد أطباق بكتيريا *S. aureus* قد تلوثت بنمو فطري والذي عرف فيما بعد بفطر *Penicillium notatum*.



عمل العديد من الأبحاث عقب هذا الاكتشاف من عزل و تنقية للنوع الفطري المنتج للمضاد الحيوي ووجد بأن هذا المضاد فعال ضد البكتيريا الموجبة لجرام.

تابع: تاريخ المضادات الحيوية

History of Antibiotics



حين وقوع الحرب العالمية الثانية وحدث نفس المشكلات مع الجنود.



Ernst Chain



Howard Florey

الكيميائي إيرنست تشين Ernst Chain و عالم الأمراض هاورد فلوري Howard Florey قاما باستخلاص المضاد الحيوي الذي ينتجه فطر *Penicillium notatum* والذي أطلق عليه اسم Penicillin. وقد حصل كلا من فليمينج و تشين و فلوري على جائزة نوبل عام 1945 م.

تابع: تاريخ المضادات الحيوية

History of Antibiotics

اكتشف المضاد الحيوي
المعروف باسم
Streptomycin عام
1944 م

من جنس
Streptomyces وهي
نوع من أنواع بكتيريا
التربة والتي تسمى بـ
الأكتينومايسيتات

على يد العالم الأميركي
Selman Waksman.

هناك مضادات حيوية تم استخراجها من فطريات الجنس *Aspergillus*.
تم اكتشاف نوع آخر من فطريات الـ *Penicillium* والذي ينتج الـ penicillin
بكميات وفيرة وهو *Penicillium chrysogenum*.

الهدف من معامل المضادات الحيوية:

عزل الكائنات الحية الدقيقة من التربة والقيام بزراعتها وتنقيتها ومحاولة دراسة ما تنتجه من مضادات حيوية وأثر هذا المضاد على النمو البكتيري، حيث تعتبر التربة بيئة غنية لعزل الكثير من الأحياء الدقيقة سواء المنتج للمضادات الحيوية وتلك المتأثرة (الحساسه sensitive) بالمضادات الحيوية.

طريقة جمع عينات التربة للبدء بالدراسة:

Soil Sampling technique

- تجمع عينات التربة من مناطق مختلفة لإعطائنا فرصة جيدة للمقارنة.
- تؤخذ العينات على عمق 10-15 سم من التربة.
- تستخدم أداة spatula المعقمة لجمع عينات التربة ويتم وضعها في أكياس بلاستيكية معقمة محكمة الغلق (تعقم الأدوات المستخدمة بحول 70%).
- يتم أخذ العينات مباشرة إلى معامل الأحياء الدقيقة لأغراض الدراسة.
- تجفف عينات التربة لمدة أسبوع ويتم نخلها.
- تستخدم التربة المنخولة لعزل الأحياء الدقيقة فيما بعد.

الأوساط الغذائية المستخدمة لعزل الأحياء الدقيقة:

Media for Isolation

أهم البيئات المستخدمة لعزل الفطريات:

- بيئة Malt Extract Agar (MEA) وبيئة Potato Dextrose Agar (PDA).

أهم البيئات المستخدمة لعزل الأكتينومايسيتات:

- بيئة Starch Casein Agar وبيئة Yeast Extract.

أهم البيئات المستخدمة لعزل البكتيريا:

- بيئة Nutrient Agar (NA) وبيئة Mueller Hinton Agar (MHA) و بيئة Brain Heart Infusion Agar (BHIA).

*ملاحظة هامة:

إضافة المضادات الحيوية المناسبة لبيئة العزل المستخدمة . مثال: يمكن استخدام المضاد الحيوي Riphampicin 2.5 µg/ml و مضاد Amphotericin B 75µg/ml لتثبيط نمو البكتيريا و الفطريات على التوالي، عند دراسة عزل الأكتينومايسيتات.

العوامل المؤثرة على نمو الأحياء الدقيقة و قدرتها على إنتاج المضادات الحيوية:

وجه المقارنه	البكتيريا	الفطريات	الأكتينوميسيتات
درجة الحرارة (م°)	45-15	معظمها وسطية الحرارة	37-28
الرطوبة	50-75% من السعه المائيه للتربه للهوائيه	تكون نشيطه عند الحد الادنى من الرطوبه-الفطريات الخيطيه معظمها هوائيه حتما	هوائيه
درجه pH	الوسط المتعادل	لها نطاق واسع بين الحموضه العاليه والقلويه الشديده	المتعادل او القلوي 6.5-8
الماده العضويه	الدبال-المواد الكربونيه	اعتماد كلي!	كميات كبيره في الاراضي الغنيه بالمواد العضويه
العمليات الزراعيه	نوع العمليه-عمق التربه-نوع المخلفات والمحاصيل	يتوقف على نوع المحاصيل	يزيد عددها مع اضافه المواد العضويه مثل مخلفات المحاصيل
المواسم	عامل ثانوي مركب تزيد في فصلي الربيع والخريف	تنشط في الربيع والخريف	عاليه في فصلي الربيع والخريف
العمق	عامل رئيسي	تتواجد في عدة طبقات وتقل مع العمق	تتناقص مع زياده العمق

الأدوات المستخدمة و طريقة العمل:

Material and Methods

أولاً: تحضير تخفيفات متتاليه من عينة التربه باستخدام المحلول الملحي (Normal Saline):

1. عينات مختلفه من التربه.
2. ميزان – ورق للوزن- أدوات التعقيم (ديتول+قطن+كبريت)
3. كلوريد الصوديوم NaCl
4. ماء مقطر
5. دوارق سعة 250 مل
6. سداده قطنيه

الأدوات المستخدمة و طريقة العمل:

Material and Methods

- الأوساط الغذائية المستخدمة:
أوساط ملائمة لكل من
البكتيريا- الفطريات- الطحالب- الأكتينوميسيتات

ناشر زجاجي
كحول للتعقيم

الأدوات المستخدمة و طريقة العمل:

Material and Methods

1. لكل مجموعه من الطالبات (5 طالبات/مجموعه) عينه تربيه مختلفه معلومه المصدر.
2. يحضر 4 تخفيفات من التربيه في المحلول الملحي 0.9% (1:10 - 1:100 - 1:1000 - 1:10000).
3. يلقح كل طبق من الأوساط الغذائيه (نوعان لكل من البكتيريا والفطريات والأكتينومييسيتات، كل على حده) بنقل 1 مل من كل تخفيف مع مراعاة إعداد التكرارات.
4. بعد توزيع اللقاح بالناشر المعقم وتشربه داخل الأجار، تُحضان الأطباق في حضان ملائم للميكروب المراد عزله ولمده ملائمه.

تحضير التخفيفات من التربه

Preparation of Soil Suspension`s Serial Dilutions

يُحضر 100 مل من المحلول الملحي 0.9% بإذابة 0.9 جم من كلوريد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر ثم يعقم. يُوزن 1 جم من التربه وينقل إلى أنبوبة 10 مل محلول ملحي باستخدام ماصه 1 مل معقمه، يُنقل 1 مل من معلق التربه المعقم إلى أنبوبة تحتوي 9 مل من المحلول الملحي المعقم- وهكذا نحصل على تخفيف 1:10 ثم ينقل 1 مل من تخفيف 1:10 إلى أنبوبة أخرى تحتوي 9 مل محلول ملحي معقم- وهكذا نحصل على تخفيف 1:100 تكرر الخطوه السابقه حتى نصل لتركيز 1:1000

المطلوب

- علي: استخدام التربيه كمصدر لعزل الكائنات الدقيقة المنتجه للمضادات الحيويه؟
- هل هناك مصادر أخرى؟
- علي: استخدام المحلول الملحي Normal Saline في تحضير التخفيفات من التربيه محل الدراسه؟
- علي: استخدام المضادات الحيويه خلال عملية العزل من التربيه محل الدراسه؟
- كتابة اسم للتجربه مع توضيح الهدف منها متبوعا بالأدوات المستخدمه وطريقة العمل.