MIC 463

LAB REPORT (no.2)

Names: 437200017 سارة آل مريع

437200506 نورة الدوسري

437925832 غيداء موريا

437202342 أروى المالكي

437 200249وجدان الصفيان

عنوان التجربة : اختبار قدرة الكائنات الحية على انتاج المضادات الحيوية

الهدف : التعرف على ظاهرة التضاد الطبيعي التي تحصل عندما يعيش كائنين معا فيحاول احدهما الاضرار بالكائن الاخر عن طريق افرازات مادة كيمايئية تعرف بالمضاد الحيوي

الأدوات :

أدوات التعقيم (ديتول 50% ,قطن او منديل , لهب)

مسحات قطنية (سواب)

الأطباق :

Muller-Hinton Agar1

Nutrient agar 2

3 اجار الجلوكوز

معلقات بكتيرية (Bacillius – Pseudomonas – E.coli – Streptococcus Staphylococcus)

ملقط

كحول 70%

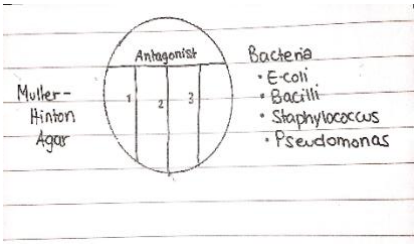
ابرة التلقيح Inoculating loop

مزرعة نقية من الاكتينوميسيتات

قمع باستير

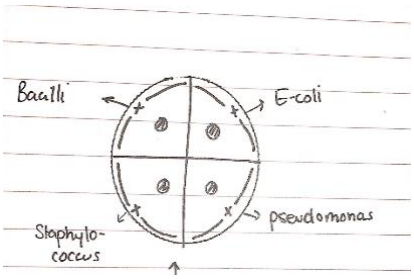
طريقة العمل:

1. بعد ظروف التعقيم (الديتول 50% مع القطن على السطح + خمس دقائق Bunsen Burner) . نقوم بتقسيم ال (MH) بالماركر بهذا الترتيب.
2. . تعقيم Inoculating loop باللهب
3. و إدخالها داخل المزارع النقية من البكتيريا (E.coli, Bacilli, Pseudomonas, Staphylococcus)



4. تلقيح البيئة بالبكتيريا على طول الخط المرسوم ,والاستمرار في التعقيم باللهب ابرة التلقيح بين كل مره نلقح فيها نوع بكتيري آخر

3.تكرار الخطوة الثانية حتى تم نقل الأربع الأنواع من البكتيريا وتغطية ال media ووضعها في الحضان مقلوبة 24 ساعه



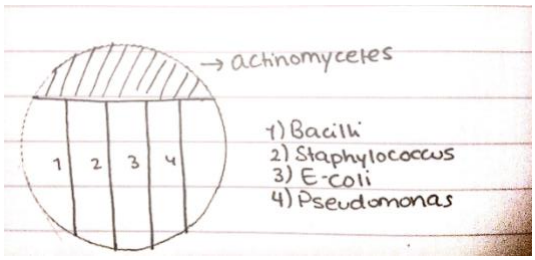
4. تحت الظروف التعقيم, نقوم بتسمية وتقسيم بيئة ال (NA)بهذا الترتيب.

5. أخد 4 سواب قطن معقمة (وحدة لكل نوع من البكنيريا)التي هي (E.coli, Bacilli, Pseudomonas, Staphylococcus) و أخذ عينة من كل واحدة منهم و تغطية الربع الكامل لها.

6. تكرار الخطوة الخامسة حتى تم تغطية كل الmedia بالأربع أنواع البكتيريا المختلفة

7. أخذ الباستير و تعقيمه بالكحول ثم باللهب نقوم بتشكيل أو تكوين قرص من الفطر

8. تعقيم الملقاط بالكحول 70% ثم بالهب و نقلها الى البيئة بالشكل المقلوب ثم قفل غطاء البيئة ووضعها في الحضان لمدة 5 أيام .



9. تحت ظروف التعقيم, تسمية و التشكيل أجار الجلوكوز بهذا الترتيب.

10. تعقيم Inoculating loop باللهب

11. أخذ عينة من الأكتينوميسيتات و تغطية الطرف الأولي الكامل

12. مسح الغطاء بالكلوفورم لتقليل حصول تلوث ووضعها في الحضان لمدة أسبوع

بعد اسبوع

13. تحت ظروف التعقيم,

14. أخذ عينة من أربع أنواع البكتيريا (E.coli, Bacilli, Pseudomonas, Staphylococcus) بالقطن سواب المعقم وتلقيحها في الخطوط الأربعة المرسومة مسبقا ثم غطاءها ووضعها في التحضين 24 ساعه حتى وقت فحصها.

المناقشة والاستنتاج :

بعد وضع الاطباق في الحاضنات الخاصه بالبكتيريا لمدة ٢٤ ساعه بالنسبة لطبق

(muller hinton agar) وطبق اجار الجلوكوز الذي يعتبر بديل لكازين النشا ولمدة ٥ ايام في حضان الفطريات بالنسبة لطبق

(nutrient agar)

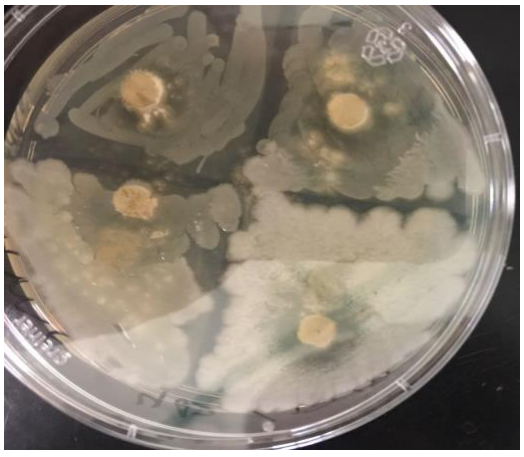
كانت النتائج كالآتي :

نتيجة البكتيريا:

اولا طبق بيئة (muller hinton agar)
تم اختيار هذه البيئة لانها تساعد على نمو جميع انواع البكتيريا كما ان المواد الغذائية تتواجد بنسب قليلة لذلك هي مناسبة لعمل اختبارات الحساسية لانها لاتحتوي على أية نسب من المواد الكيميائية بحيث لا تتفاعل مع المضادات الحيوية
.
وتم اختيار (الكائن المضاد) وهو Pseudomonas
الذي ينتج المضاد الحيوي
والبكتيريا المختبره هي كلا من staphylococcus و bacillus و E.coli
ولوحظ عدم وجود اي تضاد طبيعي او ما يسمىinhibition zone
في جميع البكتيريا المختبرة
ولكن لوحظ في بكتيريا ال bacillusأن قطر النمو في الجهة العلوية المقاربة للكائن المضاد اقل من قطر النمو في الجهة السفليه
لذلك نعتقد انه حصل تثبيط قليلا لبكتيرياbacillus
وبالتالي نمت جميع انواع البكيتيريا جيدا وبالقرب من الكائن المضاد ولم تكن هناك اي مسافه بينها حيث كانت قريبه متلاصقة بالكائن المضاد ويرجع ذلك الى سببين محتملين إما ان الكائن المضاد لم ينتج مضاد حيوي فعال أو انا البكتيريا المختبره كانت مقاومه

.

نتيجة الفطريات:



طبق بيئة (nutrient agar)

والتي هي مناسبه لنمو طيف واسع من البكتيريا وبعض انواع الفطريات عليها وكانت البكتيريا المختبره هي كالسابق بالاضافة الىPseudomonas

والكائن المضاد هو فطر aspergillus فكانت النتائج كالتالي :

بكتيرياbacillus:

اظهرت مقاومة غير قوية لانها نمت بشكل بسيط بالقرب من الفطر بينما كان نموها كثيف بعيدا عنه ولَم يكون التضاد قوي لوصفها بالحساسة وكما ان مضاد الفطر فعال بشكل خفيف

بكتيريا pseudomonas: أعطت نفس نتيجة ال bacillus

حيث كان النمو خفيف بالقرب من الفطر ويكون كثيف كلما ابتعدنا عن الفطر

ويرجع سبب ذلك الى أمرين اما ان المضاد المنتج لم يكن فعال بدرجة قوية او ان البكتيريا كانت لديها نوع من المقاومه البسيطه

بكتيرياEcoli .لم يظهر اي تضاد اي انها اما مقاومة بقوة للمضاد المنتج من الفطر او ان مضاد الفطر لم يكن غيرفعال

بكتيريا staphylococcus:وجدنا انه حصل تثبيط قوي لنمو البكتريا وكانت ال inhibition zone واضحه جدا

ويرجع ذلك الى ان المضاد الحيوي المنتج من فطر aspergillus فعال بقوة تجاه البكتيريا ومثبط لنموها

نتيجة الاكتينوميسيتات:

:طبق أجار الجلوكوز
يتم اختبار ودراسة مدى حساسية البكتيريا ضد المضاد المنتج من الاكتينوميسيتات في البيئه المغذية كازين النشا
لان الاكتينوميسيتات تتغذى على كازين النشا
ولكن في هذه التجربه تم استبدالها بأجار الجلوكوز
:بعد التحظين لمدة اسبوع لوحظ الآتي
تركنا الاكتينوميسيتات في حضان البكتيريا لمدة اسبوع وذلك لان نمو الاكتينوميسيتات بطئ جدا ويحتاج وقت

نمت الاكتينوميسيتات بشكل كامل في الربع الذي تم فيه التلقيح وانتجت نوع من الصبغات وهي الكائن المنتج للمضاد وبعد اسبوع من نمو الاكتينوميسيتات تم تلقيح البكتيريا المختبرة وهي staphylococcus و bacillus و E.coli و pseudomonas
وتحظينها لمدة ٢٤ ساعة في حضان البكتيريا

بعد ذلك نلاحظ :
عدم ظهور أي تثبيط في مناطق البكتيريا الأربعة وكانت ملاصقة للأكتينوميسيتات , فقط يظهر خط تلقيح ال pseudomonas نمو خفيف للمستعمرات البكتيرية وذلك لأننا استخدمنا كمية قليلة من المعلق البكتيري اما النمو كان كامل على طول الخط وملاصق للأكتينوميسيتات

وذلك يرجع لأحد السببين اما ان المضاد الذي أفرزه الكائن المضاد غير فعال او انا البكتيريا كانت مقاومة لهذا المضاد

وأخيرا يرجع الاختلاف في النتائج من مجموعة لأخرى لعدة اسباب

- ✓ اختلاف السلالات.
- ✓ اختلاف كمية وطريقة التلقيح.
- ✓ اختلاف الظروف المحيطة