

عزل و تشخيص الـ Clostridium

General characters :

1- Gram stain (+ve) .

2- Rod shape

3- Motility (+ve) .

♣ تكون المطثيات كلها متحركة ما عدا مطثيات *Clostridium perfringenes* حيث تكون غير متحركة و محاطة بكبسولة واضحة .

4- Spore production (+ve) .

♣ ان موقع وشكل الابواغ تعتبر صفة تصنيفية لأنواع جنس الـ Clostridium حيث ان السبور يكون موقعه اما مركزي **Central** او **Terminal** وقد يكون شبه طرفي **Sub terminal** .

♣ *Clostridium tetanii* يكون موقع السبور فيها نهائيا او طرفيا **Terminal** ويكون ما يشبه عصا الطبل **Drum stick shape** .

♣ قد تكون الابواغ منتفخة اي اكبر من جسم العصية البكتيرية او غير منتفخة .

♣ شكل السبورات اما ان تكون كروية او بيضوية او أسطوانية

5- Obligate an aerobic bacteria .

6- catalase(-ve) .

7- Oxidase (variable) . N,N,N,N-tetra methyl -p- phenyl diamine – dihydrochloride

8- Glucose fermentation (v) .

♣ اهم انواع المطثيات :

Clostridium tetanii , *Clostridium botulinum* , *Clostridium perfringenes* , *Clostridium welchii* , *Clostridium sporogenes* .

- ♣ بعض انواع المطثيات تهاجم السكريات بقوة و البعض الاخر بطيء و بعضها يكون في البداية بطيئا ومن ثم يصبح قويا .
- ♣ الانواع التي تهاجم السكريات تسمى Saccharolytic bacteria
- ♣ الانواع التي لا تهاجم السكريات تسمى Non - Saccharolytic bacteria .
- ♣ بعض الانواع تهاجم البروتينات وتفككها تسمى Proteolytic bacteria .
- ♣ بعض انواع المطثيات لا يهاجم السكريات ولا البروتينات ولكن تأثيرها يكون عالي الكربوهيدرات .
- ♣ *Clostridium tetanii* تأثيرها ضعيف على السكريات و البروتينات .
- ♣ *Clostridium welchii* تدمر عضلات الجسم الحية اي تفرز سموم ولا تتركها حتى تهاجم السكريات في العضلة و تولد غازات في حين تأثيرها ضعيف على البروتينات .
- ♣ تنمو المطثيات على الاوساط الزرعية الاعتيادية بدرجة 37 م° - 47 م° اما درجة الحرارة المثلى لنموها هي 37 م° ويزداد نموها بإضافة الدم والكلوكوز الى الوسط الزراعي .
- ♣ توصف مستعمراتها على الاوساط الصلبة كبيرة الحجم ، محدبة ، ناعمة ، مدورة ، لماعة ، او معتمة ، ذات حافات منتظمة وبعضها غير منتظمة الحافات حيث تكون ذات حافات مسننة، كذلك بعض العتر تكون ذات مستعمرات مسطحة.

❖ طريقة عزل جنس ال *Clostridium* من التربة :-

ان طريقة العزل الاولي لانواع جنس *Clostridium* خضعت عملية جمع عينات التربة التي عُزلت منها البكتريا الى عدة نقاط هي :

1- العشوائية Randomization :

جُمعت عينات التربة بطريقة عشوائية لكي تعطي تمثيلا حقيقيا للمجتمع الميكروبي في موقع محدد.

2- الموقع Location :

ان عملية اختيار الموقع مهمة وهي واحدة من النقاط الأساسية التي من خلالها يتم اعطاء بيانات تعزز المجتمع الميكروبي لذلك الموقع وبعكسها تصبح عديمة الجودة لأنها لا تمثل موقعا محددًا حيث سحبت العينات من على عمق 45 سم .

3- الحجم Size :

حجم العينة المراد دراسة المحتوى الميكروبي لها 1-2 كغم تقريبا من كل موقع من المواقع التي تمت دراستها لاحتمال حصول تلف في الكياس الحفظ او حصول خطأ في التجربة أو غيرها من الأسباب .

4- التعليم والتأريخ Labeling & Date :

تعد عملية التعليم ووضع تأريخ على الحاويات أو الأكياس التي تحتوي على نموذج التربة مهمة جدا لكي لا تختلط العينات المأخوذة من مناطق مختلفة وفي اوقات مختلفة .

5- الحفظ Preserving :

حُفِظَت العينات عند سحبها من المواقع في صندوق فليبي يحتوي على ثلج وتنقل الى المختبر والمباشرة بالعمل واذا لم يتم العمل مباشرة تحفظ العينات بدرجة 4 م° لحين اجراء الفحص عليها .

♣ الفحص المختبري :

- 1- توضع العينات (عينات التربة) في ماء مقطر او Normal saline
- 2- توضع في حمام مائي بدرجة حرارة 80 م° ولمدة تتراوح بين 15- 20 دقيقة .
- 3- تخرج العينات من الحمام المائي وتزرع على Nutrient broth لاهوائيا .
- 4- يحضن الوسط السائل المزروع بالعينة المراد فحصها بدرجة 37 م° ولمدة تتراوح ما بين 24-48 ساعة .
- 5- تصبغ العينة بملون كرام للتأكد من وجود نمو للبكتريا .

6- ينقل المزرع البكتيري على الاوساط التالية لغرض تشخيص انواع جنس *Clostridium* . والاوساط هي Blood agar ، Nutrient agar ، و تحضن لا هوائيا بدرجة 37 م° ولمدة تتراوح ما بين 24-48 ساعة .

♣ وصف المستعمرات النامية على وسط Blood agar مستعمرات دائرية كبيرة جدا تحللها من النوع بيتا .

♣ كل انواع ال *Clostridium* تحللها من النوع بيتا باستثناء النوع *Clostridium sporogenes* فهي لا تحلل الدم أي من النوع كاما .