بسم الله الرحمن الرحيم

المقرر الدراسي : مضادات حيويه - عملي (حدق 463)
اسماء الطالبات : الجوهرة الجريّد ، مُنيره القُويزاني ، اماني ناصر ، اروى الحمدان ، شوق الغنام ، ريم الخويطر
الشعبه : 32978 – يوم الإربعاء 1~3
الدكتورة : امل الغامدي

 # عنوان التجربة :
عزل الكائنات الدقيقه المنتجه للمضادات الحيويه من التربه للكشف عن وجود المضادات الحيويه

 # الأهداف :
1) استخلاص المضادات الحيوية من الكائنات الحية الدقيقة المختلفه ودراستها
2) اكتشاف خصائص ومميزات المضادات الحيوية المستخلصه .
3) معرفة مدى نشاط المضادات الحيوية على الاحياء الدقيقة
4) تصنيف المضادات الحيوية وتقسيمها .

 # الادوات :
1) عينات مختلفه من التربه.
2) ميزان – ورق للوزن – ادوات التعقيم (ديتول – قطن – كبريت)
3) كلوريد الصوديوم
4) ماء مقطر
5) دوارق سعة 250 مل
6) سداده قطنيه
7) الاوساط الغذائية المستخدمة :
   a. اوساط ملائمة لكل من البكتيريا – الفطريات – الاكتينوميسيتات
8) ناشر زجاجي
9) كحول للتعقيم

 # طريقة العمل :
1) اخذ عينة مختلفة من التربة
2) تحضير 4 تخفيفات من التربة في المحلول المحلي 0.9%
   a. (1:10-1:100-1:1000-1:10000)

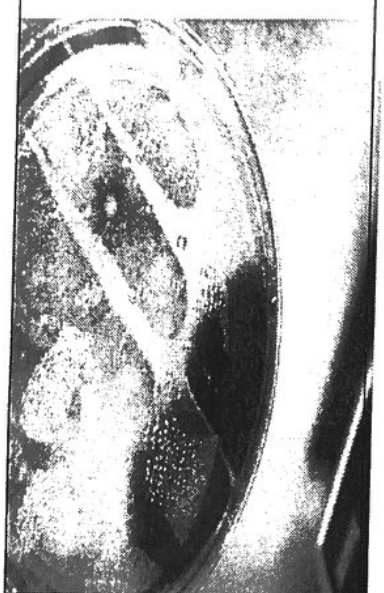
3) يلقح كل طبق من الاوساط الغذائية (لكل من البكتريا و الفطريات والاكتينوميسستات) بـ ٥٠،١ مـــل من التخفيف الأخير

4) وبعد توزيع اللقاح بالناشر المعقم وتشربه داخل الاجار ، وتحضن الاطباق في حضان ملائم للميكروب المراد عزله ولمده ملائمه

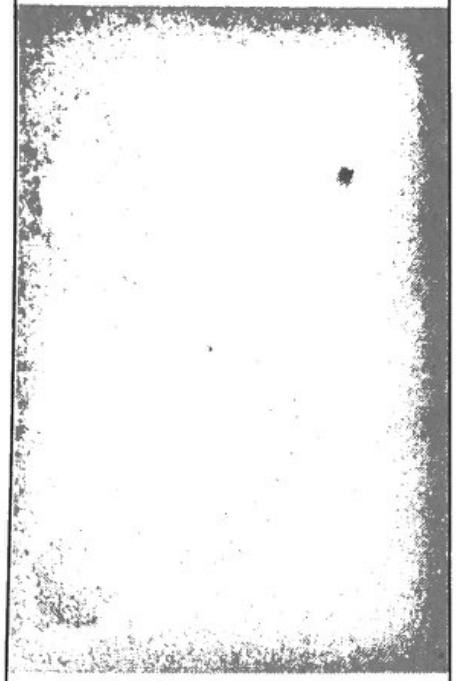
النتائج :

+++ نمو جيد, ++ نمر متوسط, + نمو ضعيف, - عدم نمو

مدة التحضين

نوع الوسط الغذائي	وصف المستعمرات	فترة التحضين	كثافة النمو	متى ظهور المستعمرات	
Nutrient Agar (NA) 1/2	-:edge Lobate Whole colony :- Puuctiforn Elevation:- flat Surface:- Smooth , glistening Color:- little white --- مستعمره أخرى :- -:edge Curled Whole colony :- circular Elevation:- flat Surface:- Smooth , glistening Color:- White	4 ايام (من يوم الاربعاء 201/2/7 8 إلى يوم الأحد 20/2/11 (18	+++	الخميس 2018/2/8	
Potato dextrose agar (PDA) 1/2	filamentous -:edge Whole colony :- Filamentous Elevation:- Raised Surface:- Rough Color:- Dark green --- مستعمره اخرى : undulate -:edge Whole colony :- irregular Elevation:- Raised Surface:- Rough Color:- It is white but it have little brown around	5 ايام (من يوم الاربعاء 201/2/7 8 إلى يوم الاثنين 20/2/12 (18	++	الجمعه-السبت – 2018/2/9 2018/2/10	

اجار ~~سكر~~ الجلوكوز 1/2	entire -:edge Whole colony :- circular Elevation:- raised Surface:- Smooth , glistening Color:- Light yellow ----------- مستعمره أخرى :- filamentous -:edge Whole colony :- Filamentous Elevation:- Raised Surface:- Rough Color:- White مستعمره أخرى -:edge entrie Whole colony :- circular Elevation:- umbonate Surface:- smoth,glistening Color:- It is red but it have little white around	5 ايام (من يوم الاربعاء 201/2/7 8 إلى يوم الاثنين 20/2/12 (18	++	الخميس 2018/2/8	



المناقشة والاستنتاج :

بعد ان تم عزل عينه من التربه وتخفيفها تمت زراعتها على 3 أنواع مختلفه من البيئات " Nutrient Agar (NA)و Potato dextrose agar (PDA و الجلوكوز", حيث كل بيئة تكون مُختصه لِنمو نوع معين من الكائنات الحية الدقيقه .
وقد تم اختيار مكان العزل من التربه وذلك لأن ؛ التربه تتميز بأنها بيئة كبيره ومليئة بالكائنات الحية الدقيقه ذات الصفات المختلفه حيث قد يتم ملاحظة تفاعل تلك الكائنات الحية بين بعضها البعض من ناحية التنافس في الموطن والغذاء مما يجعلها تتجه للمسار الحيوي الثانوي لها للدفاع عن نفسها وهو مايُسمى بالمضادات الحيويه, وهذا يساعدنا على اكتشاف ودراسة تلك المضادات الحيويه التي تنتجها الكائنات الحية الدقيقه.
وقد لوحظ في تجربتنا مايلي:
قد نمت البكتيريا في بيئة Nutrient Agar (NA), وتمت ملاحظة نمو أنواع متباينه في الشكل والحجم واللون حيث ظهرت بكتريا ذات نمو كثيف تميزت باللون الأبيض ودرجاته ومستعمرات أخرى ذات اللون الأصفر الفاتح.

و الفطريات نمت على بيئة Potato dextrose agar (PDA), وايضًا لوحظ نمو مستعمرات مختلفة. احداهما تميزت بالنمو الكثيف ذا اللون الأخضر الغامق وأخرى صغيرة الحجم ذات اللون الابيض وحوله اللون البني.

وفي آخر عينه تم نمو بكتيريا الأكتينوميسيتات في بيئة الجلوكوز, وشوهد مستعمرات متباينه في كل من الحجم والشكل واللون .

وبهذا يثبت لنا ان التربه المصدر الرئيسي لعزل الكائنات الدقيقه الحيه والتي قد تستخدم لغرض الحصول على سلالات من الكائنات الدقيقه المُنتجه لمضادات حيويه جديده .
ولوحظ بأن لهذه الكائنات الحية الدقيقه خصائص تميزها عن بعضها البعض .

اختبار التخفيف المتسلسل للمضاد الحيوي على المرق المغذي

9.5/5.0

الهدف من التجربة :

- تحديد Minimum Inhibitory Concntration (MIC) اقل تركيز من مثبط للنمو ، من خلال اجراء تخفيفات متسلسة للمضاد الحيوي Augmentin
- تحديد Minimum Bacterial Concentration (MBC) اقل تركيز المضاد قاتل البكتيريا ، من خلال تنمية احد التراكيز من بعد الـMIC

الأدوات :

1. مضاد حيوي (Augmentin)
2. انابيب تحتوي على بيئة سائلة Nutrant broth
3. بكتيريا Ecoli

طريقة العمل :

عمل سلسة من التخافيف للمضاد في بيئة سائلة تحت ظروف التعقيم

1. نبدا بعملStook كنترول من المضاد الحيوي في انبوبة 6g Augmentin (+10ml Nutrant broth)
2. ننقل 5mlمن انبوبة الكنترول الى انبوبة تحتوي على 5mlمن البيئة السائلة = تخفيف ١
3. ثم ننقل 5mlمن انبوبة التخفيف ١ الى انبوبة تحتوي 5mlعلى بيئة سائلة = تخفيف ٢
4. ويتم عمل ٧ تخفيفات أخرى بنفس الطريقة حتى نحصل على ٩ تخفيفات متسلسلة من انبوبة الكنترول للمضاد الحيوي
5. ثم تلقح البكتيريا بمقدار في كل انبوبة
6. تُحضن الانابيب عند درجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة

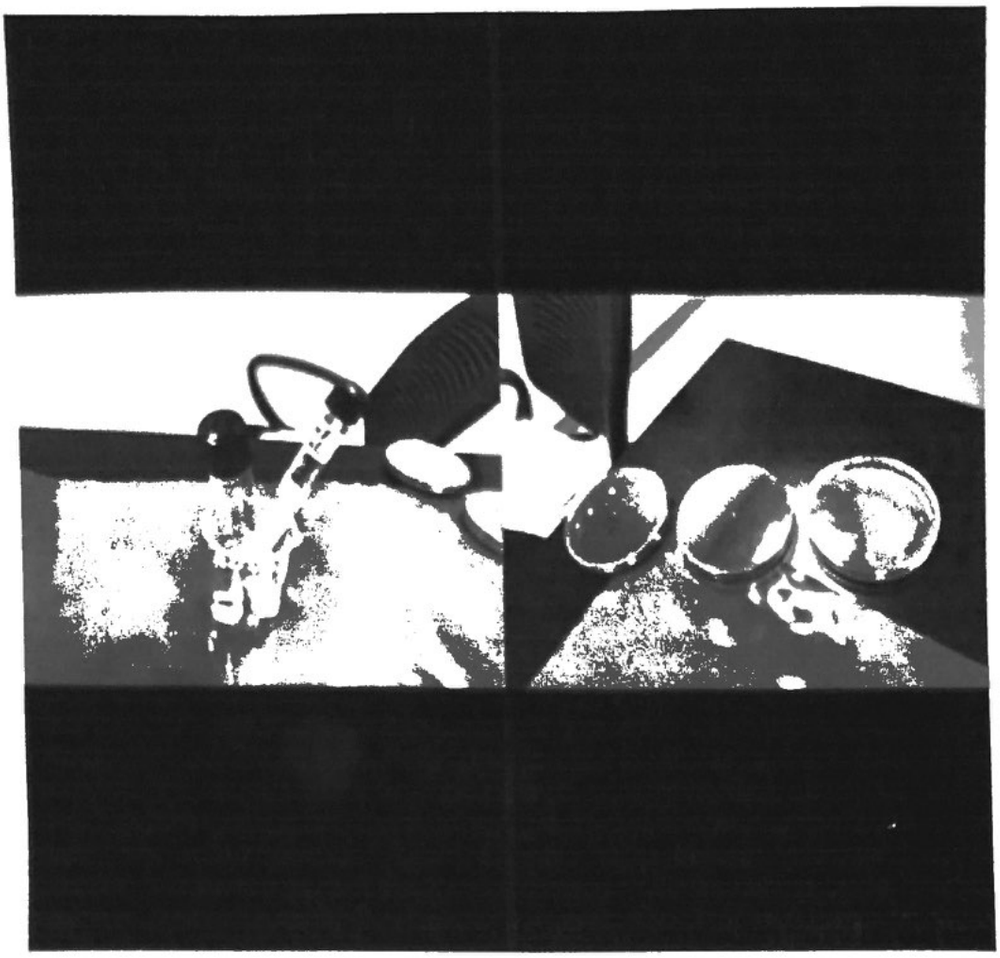
لتحديد MBC

تلقح احد الانابيب التي لم تعطي عكارة (MIC)على طبق يحتوي بيئة Streaking , sheep bloog

agar method لان المضاد قد يسبب في ظهور عكارة بيضاء في البيئة السائلة ويشابه النمو البكتيري فنضطر لاستخدام الاطباق للتأكد من صحة النمو

ثم يحضن الطبق عند درجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة

النتائج :



سلسلة تخفيفات المضاد بكتيريا Ecoli انبوبة رقم ٦-٩ لم فيها عكارة

سلسلة من التخفيفات ضد بكتيريا Ecoli ظهرت فيها عكارة

الطبق قبل التلقيح وبعد التلقيح بانبوبة رقم ٨ من تخفيفات المضاد ضد البكتيريا Ecoli

ظهور نمو لمستعمرات بكتيريا Ecoli

المناقشة :-

لم تظهر عكارة في سلسلة تخفيفات المضاد Augmentin ضد بكتيريا Ecoli في الانابيب ٦-٩ وذالك يدل على عدم نمو البكتيريا. اما بالنسبة لانبوبة ٨ هي MIC أي أقل تركيز من المضاد مثبط للنمو البكتيري.

اما بالنسبة لانبوبة ٨ لم تكن MBC اي اقل تركيز من المضاد قاتل البكتيري حيث مستعمرات Ecoli في البيئة، لكن لايزال يمكننا استخدام انبوبة ٧ ودراسة النتيجة حيث اذا لم يوجد نمو فهي MBC لهذا المضاد اما في حال وجد نمو فهذا يدل على ان المضاد غير قادر على قتل البكتيريا بهذا التركيز فنحضر تراكيز أخرى من المضاد شرط يكون اعلى من تركيز المضاد في انبوبة ٧ واقل من انبوبة ٦