



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی
و میکروبیولوژی، آزمایشگاه میکروبیولوژی



آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

مطالعه و جداسازی کستریدیوم ها

1

▶ کلسترید یوم ها باکتری های گرم مثبت، اسپوردار، بی هوازی مطلق، کاتالاز منفی و بیشتر در محیط بلاد آگار رشد می کنند.

▶ بعضی از کلسترید یوم ها مانند کلسترید یوم تتانی دارای اسپور انتهایی و بعضی مانند کلسترید یوم بوتیریکوم دارای اسپور نزدیک به انتهاست .

می توانند به صورت بیماریزا باشند و یا بعضی از گونه ها برای تولید استون ، بوتان دی ال ، متانول استفاده شوند . چون به صورت بی هوازی رشد می کنند ، به لحاظ اقتصادی می توان از آن ها برای تولید حلال استفاده کرد .

این باکتری ها مانند باسیلوس ها درجه حرارت ۸۰ درجه را به مدت ۱۰ دقیقه تحمل می کنند و چون بعضی از باسیلوس ها در شرایط بی هوازی نیز رشد می کنند.

برای تشخیص باسیلوس ها از کلستریدیوم از تست کاتالاز استفاده می کنند . (لازم به تذکر است کاتالاز را معمولاً نباید از کلنی روی محیط بلاد آگار انجام داد) در ضمن کلستریدیوم ها باریکتر و هیچ گاه آرایش زنجیره ای ندارد و اسپور متورم دارند .

➤ جداسازی کلستریدیوم ها

➤ برای جداسازی کلستریدیوم از محیط ها و مواد مختلف می توان استفاده کرد.

➤ به طور مثال :

➤ برای جداسازی کلستریدیوم ولشای معمولاً مدفوع را حرارت می دهند.

➔ کلستریدیوم بوتولینوم را می توان از مواد غذایی جدا کرد.

➔ کلستریدیوم پاستورانیوم را می توان از خاک جدا کرد برای

جداسازی آن می توان از عمق خاک نمونه برداری کرده و بعد از

شوک حرارتی در محیط ازتوباکتر کشت داده و در شرایط بی هوازی

نیز انکوباتور می کنیم.

روش کار

1. از نمونه های مختلف خاک که ساییده و الک شده است استفاده می کنیم .
2. ده گرم خاک را به ۹۰ سی سی آب مقطر اضافه کرده و تکان می دهیم بعد به مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر قرار می دهیم سوسپانسیون خاک آماده است .
3. سوسپانسیون را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه شوک حرارتی می دهیم .
نباید زمان بیشتر شود چون ممکن است اسپور ها از بین بروند .

۴- از نمونه به میزان ۱ سی سی روی سه محیط کوکومیت، تیوگلیکولات و TSB می بریم .

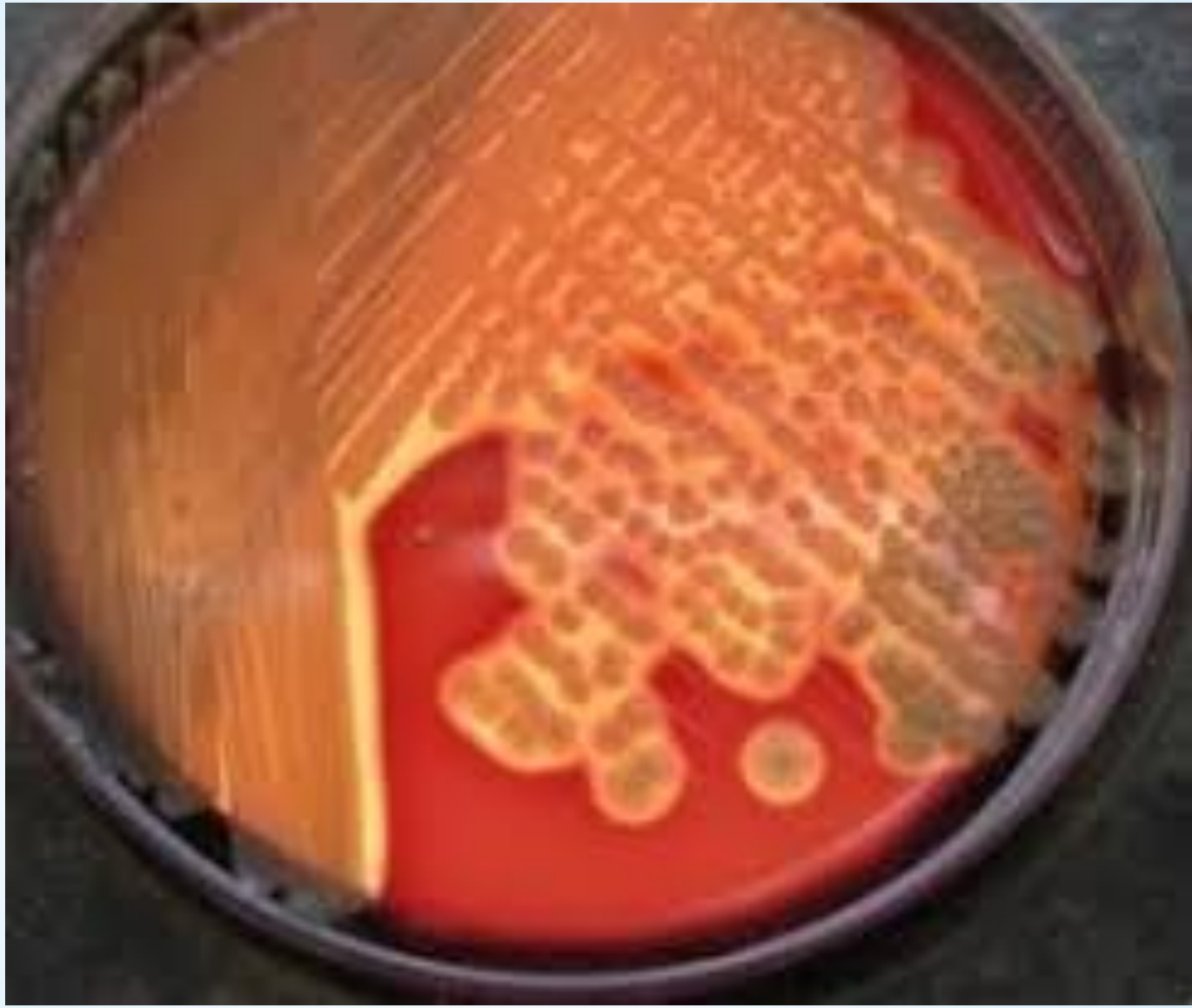
۵- روی کوکومیت و TSB پارافین مذاب ریخته و روی محیط تیوگلیکولات آن قدر اضافه می کنیم تا پر شود و بعد درب لوله را می بندیم . هر سه لوله را ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار می دهیم .

➤ ۶- لوله ها را بررسی می کنیم در لوله های کشت داده شده اگر باکتری بی هوازی باشد گاز باعث بالا آمدن پارافین می شود و در تیوگلیکولات رشد همراه با کدورت است.

➤ از لوله هایی که بیشترین گاز و کدورت را دارد روی بلاد آگار و نوترینت آگار می بریم (حتماً باید نوترینت آگار و بلاد آگار تازه باشند یا اگر از قبل درست شده اند آن ها را در دسیکاتور همراه با گازپک در یخچال گذاشته باشیم) و به روش استریک پلیت متد کشت می دهیم .

۷- پلیت ها را به همراه گاز پک درون جار بی هوازی در انکوباتور ۳۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت می گذاریم.

۸- ضمن بررسی کلنی ها از آن ها لام گرم و اسپور تهیه می کنیم .

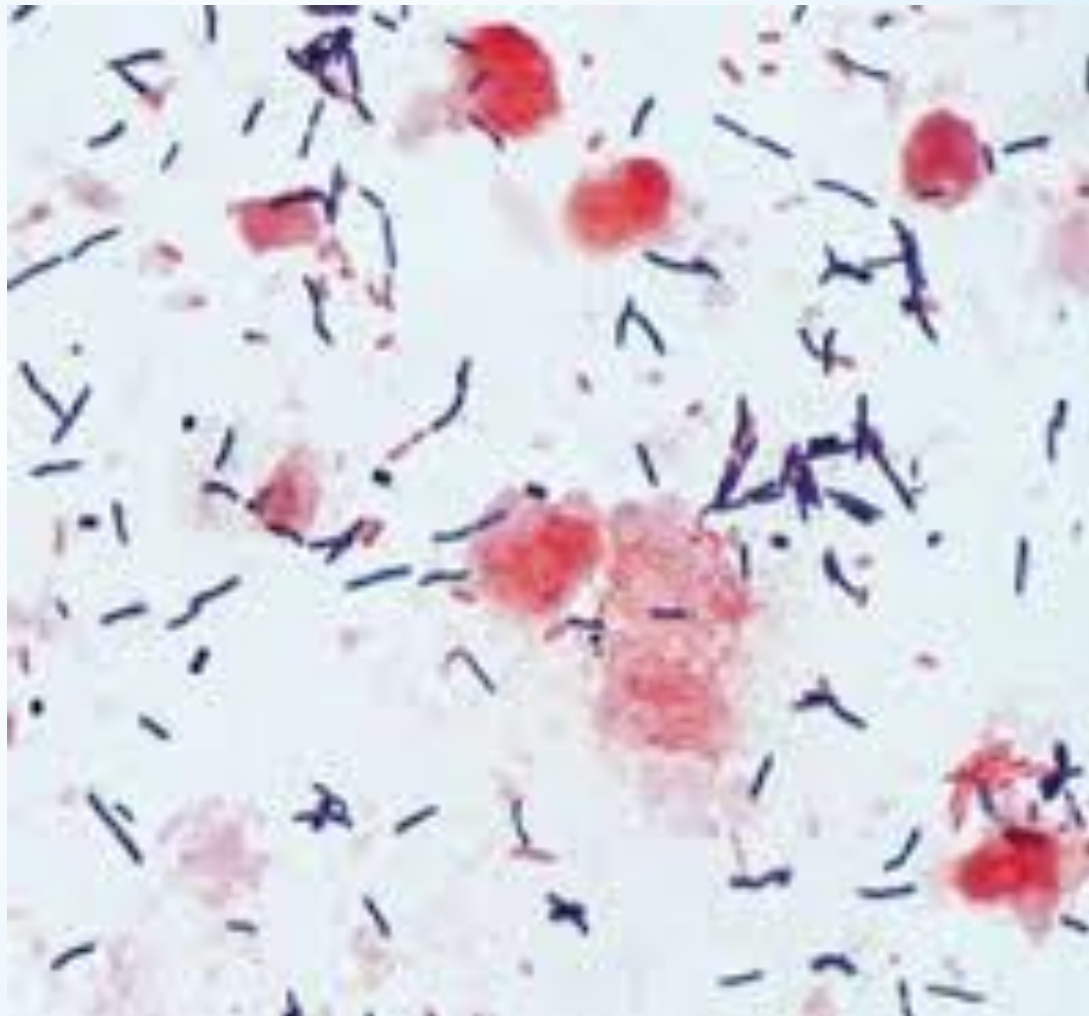


تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی

کلسترید یوم دیفیسیل



تهیه کننده : سهیلا عباسی



با سیاسی فراوان از توجه شما