دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، آزمایشگاه میکروبیولوژی

گزارش کار آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط

مطالعه و جداسازی کلستریدیوم ها

تهیه کننده : سهیلا عباسی

- کلستریدیوم ها باکتری های گرم مثبت ، اسپوردار ، بی هوازی مطلق ، کاتالاز منفی و بیشتر در محیط بلاد آگار رشد می کنند . بعضی از کلستریدیوم ها مانند کلستریدیوم تتانی دارای اسپور انتهایی و بعضی مانند کلستریدیوم 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 بتولینوم 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 شورک 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 .
4. از نمونه به میزان ۱ سی سی روی سه محیط کوکومیت ، تیوگلیکولات و TSB می بریم .
5. 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 بیتشرین 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 .

با سپاس فراوان از توجه شما