فحص حركة البكتريا Bacterial Motility Test

تستخدم عدة طرق لاختبار قدرة البكتريا الحية على الحركة وملاحظة مدى حركتها خلال الحقل المجهري وهناك نوعان من الحركة:

1- **حركة حقيقية فعلية (الحركة من مكان لأخر)** ، هي حركة ناتجة عن امتلاك بعض الانواع من البكتريا اعضاء حركة.

2- **حركة كاذبة على شكل اهتزازات (حركة براونية Brownian movement).**

- **الطرق المستخدمة لاختبار قدرة البكتريا على الحركة هي:**
  - **طريقة القطرة المعلقة Hanging Drop method**

في هذه الطريقة يتم وضع قطرة من المزرعة السائلة على غطاء الشريحة coverslip محاطة بالفازالين (أو أي مادة لزجة أخرى). ثم يتم قلب غطاء الشريحة ووضع القطرة مقابل الانخفاض الموجود على شريحة خاصة depression slide. الفازلين يمنع التبخر.

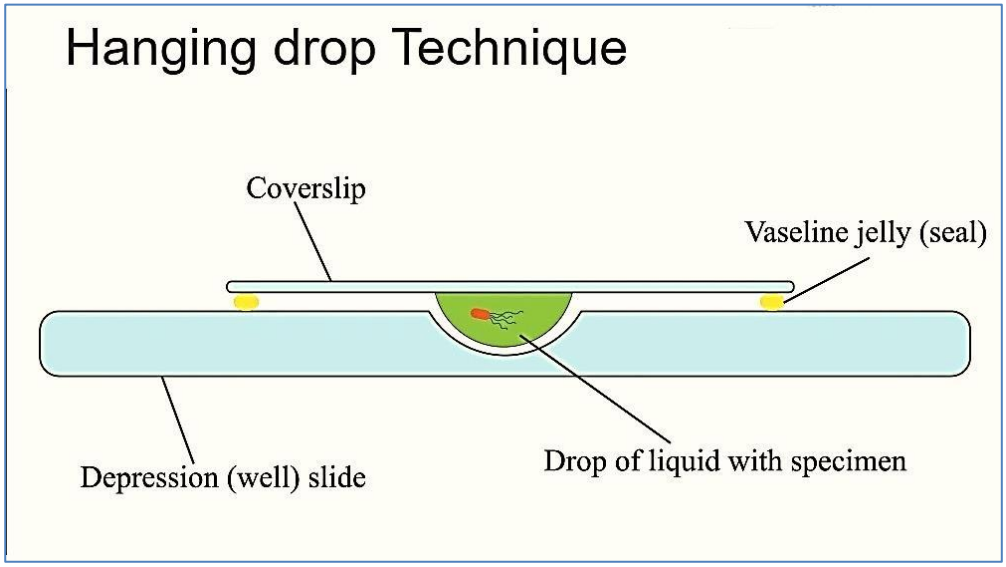
- **مميزات هذه الطريقة :**
  1. مراقبة حركة البكتريا في نقطة معلقة داخل تجويف زجاجي مغلق
  2. نادرا ما يحدث جفاف للشريحة.
  3. تبقى الخلايا البكتيرية نشطة لمدة أطول من الطريقة الرطبة

- **طريقة العمل Procedure :**

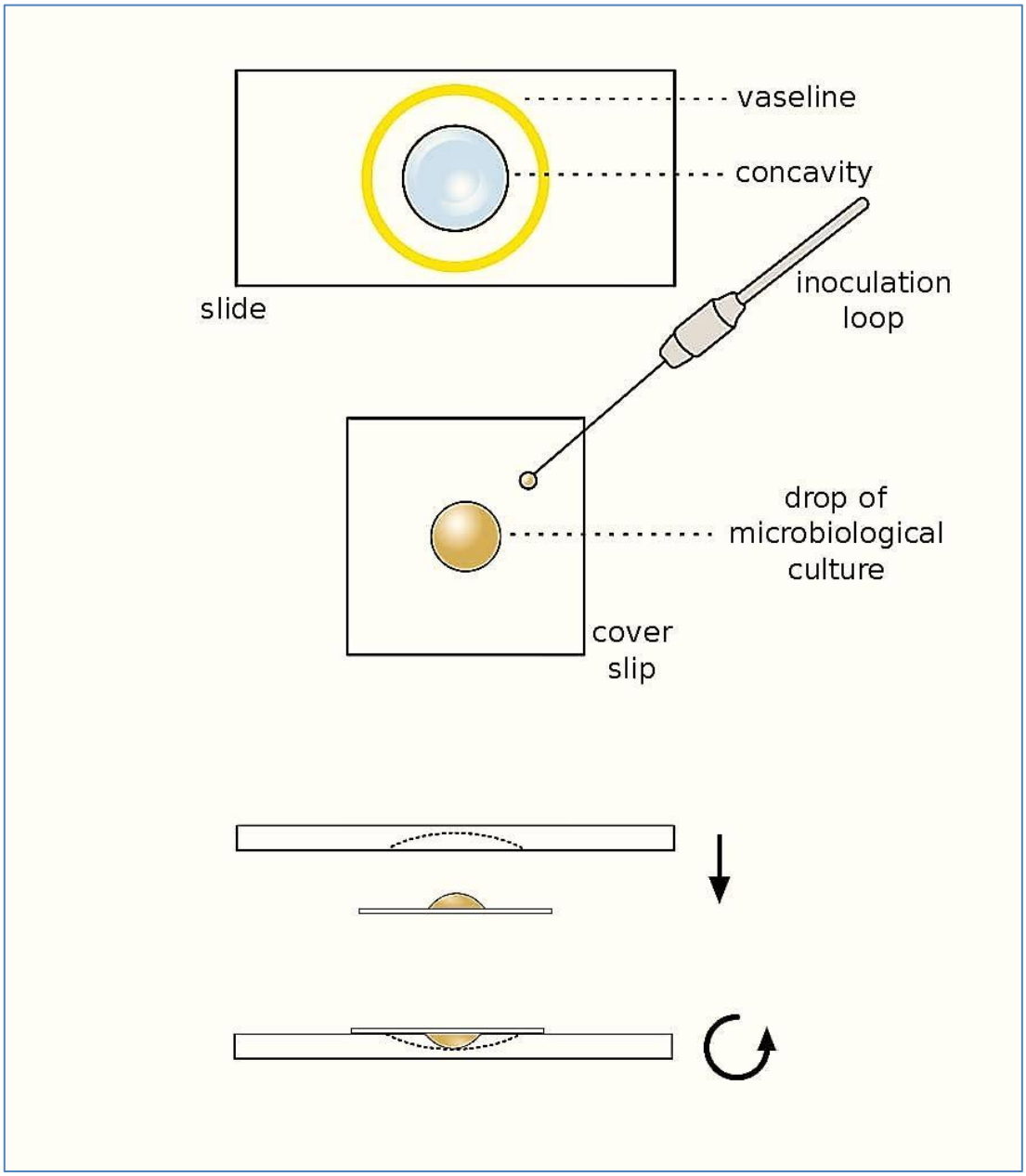
1. نأخذ شريحة زجاجية نظيفة ، ونستعمل حلقة من البارافين وحلقة من شريط لاصق لعمل الانخفاض الدائري. هذه الخطوة غير مطلوبة في حالة توفر شريحة زجاجية فيها انخفاض depression slide
2. امسك غطاء شريحة coverslip نظيف من الحواف وادهن الفازلين بعناية على زواياه باستعمال عود اسنان toothpick .
3. ضع قطرة من المزرعة السائلة في وسط غطاء الشريحة الزجاجية.
4. اقلب الشريحة الزجاجية فوق الغطاء بحيث يكون الانخفاض الموجود على الشريحة مقابل القطرة، الفازالين الموجود على غطاء الشريحة يساعد على لصق الغطاء بالشريحة حول التقعر.

5. اقلب الشريحة بحيث يكون الغطاء في الأعلى ويمكن ملاحظة القطرة المعلقة.
6. ضع الشريحة على المجهر، وافحص باستعمال العدسة الشيئية الصغرى.
7. انظر من خلال العدسة العينية وارفع مسرح المجهر ببطء باستعمال المنظم الكبير coarse adjustment حتى يتم ملاحظة حافة القطرة.
8. اضبط الضوء باستعمال ذراع الحاجز diaphragm لزيادة الوضوح. و افحص حافة القطرة باستعمال العدسات الشيئية 100، 40 لملاحظة حركة البكتيريا.

ملاحظة / الحركة البروانية تلاحظ في جميع الشرائح المحضرة، لذا يجب التركيز على ملاحظة الحركة الحقيقية للبكتريا.



طريقة القطرة المعلقة



مراحل تحضير القطرة المعلقة

- **اختبار الحركة باستعمال الأوساط شبه الصلبة**

وسط الحركة :

يحضر وسط اختبار الحركة بإذابة المكونات الآتية في لتر من الماء المقطر

Beef Extract 3.0g
Pancreatic Digest of Casein 10.0g
Sodium Chloride 5.0g
Agar 4.0g

طريقة العمل Procedure :

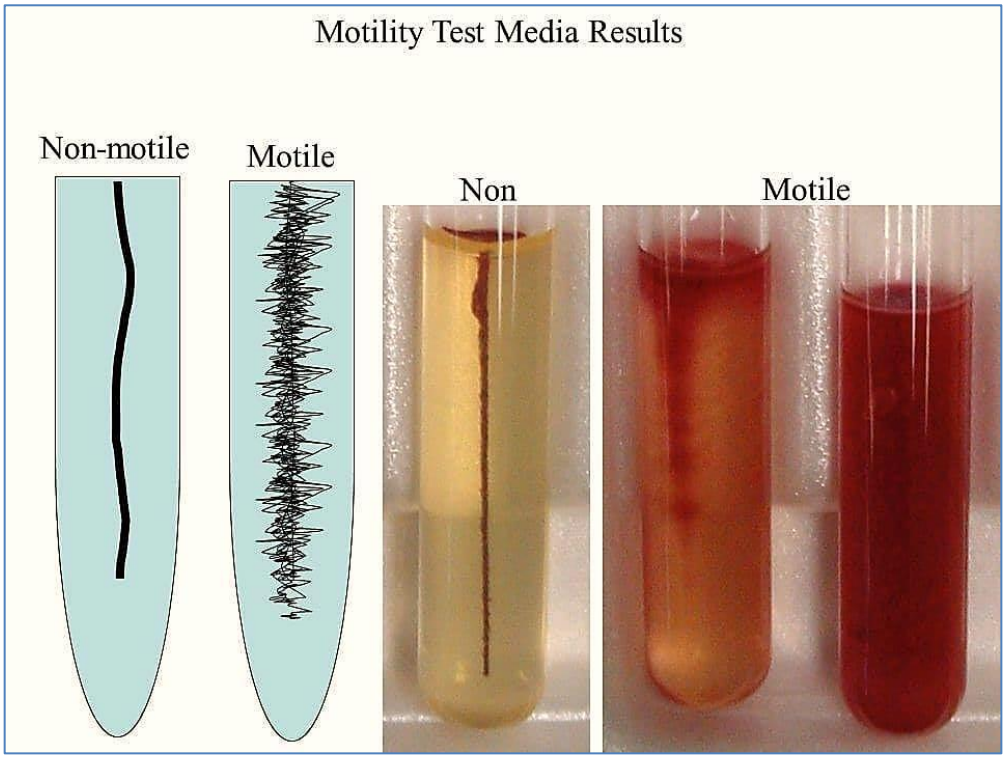
1. يحضر الوسط شبه الصلب semisolid agar medium في أنابيب ذات غطاء لولبي.
2. تعقم الانابيب بالمؤصدة.
3. يلقح الوسط بسلك مستقيم straight wire بطريقة الطعن stabbing method من مركز الأنبوب إلى حوالي أكثر من نصف عمق الوسط بحيث لا يلمس رأس السلك قعر الانبوب.
4. تحضن الانابيب عند درجة حرارة ملائمة.
5. تفحص الأنابيب على فترات على سبيل المثال 12 ساعة، 1 يوم و 2 يوم ، وهذا يعتمد على زمن الجيل generation time للبكتيريا.
6. امسك الأنبوب للأعلى باتجاه الضوء وانظر إلى خط الطعنة لتحديد الحركة.

النتائج Results :

1. تعطي البكتيريا غير المتحركة Non- motile bacteria عموما نموا محصورا في خط الطعن وتترك الوسط المحيط شفافًا بشكل واضح.
2. تعطي البكتيريا المتحركة Motile Bacteria نمو ينتشر خارج خط الطعن stab- line او يكون منتشر في جميع أنحاء الوسط مما يجعله معتنا opaque قليلاً.

ملاحظات :

- إن اضافة **Triphenyl tetrazolium chloride, TTC** بتركيز **0.005 %** في الوسط يكون مفيد في ملاحظة الحركة بصورة أسهل بكثير. **TTC** عديم اللون في الشكل المؤكسد ، ولكن يكون أحمر في الشكل المختزل (يحدث الاختزال نتيجة التمثيل الغذائي البكتيريا). وبهذا يشير اللون الأحمر إلى مكان حدوث نمو البكتيريا.
- يضاف **TTC** بعد التعقيم بالمؤصدة.


Motility Test Media Results
Non-motile
Motile
Non
Motile