

دراسة الصفات المزرعية للبكتيريا

صبغ جرام

الصبغ السالب

دراسة الصفات المزرعية للبكتيريا

Bacterial cultural characteristics

الهدف من دراسة أشكال ومظاهر النمو المختلفة للبكتيريا على مختلف الاوساط الغذائية

- حيث تعتبر من أهم الدراسات لتعريف وتصنيف البكتيريا
- تعطي وصف دقيق للبكتيريا أثناء نموها على الأوساط الصلبة والسائلة

وصف النمو على بيئة

الآجار المغذي في
أطباق بتري

وصف النمو على بيئة

الآجار المائل

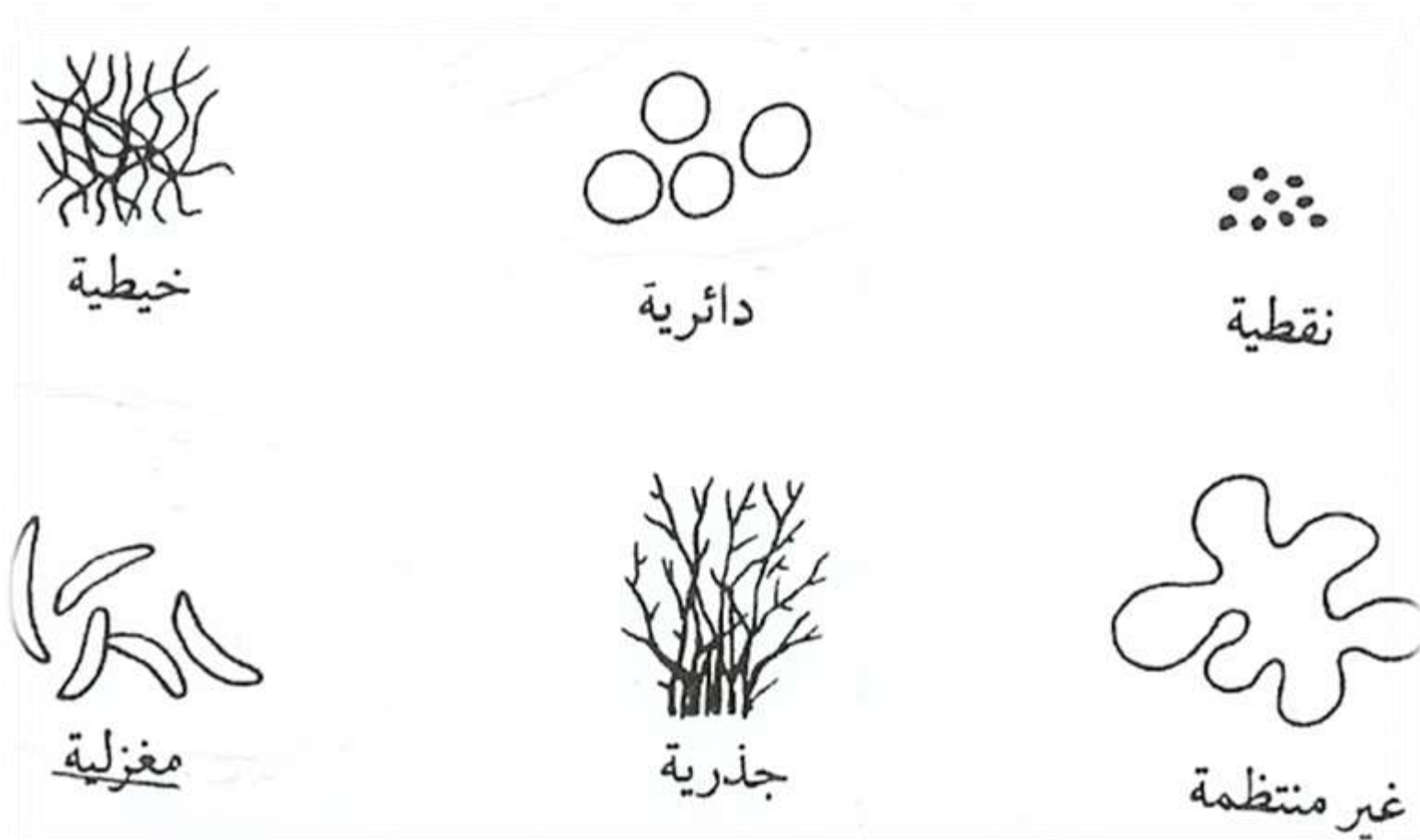
وصف النمو على بيئة

سائلة (المرق المغذي)

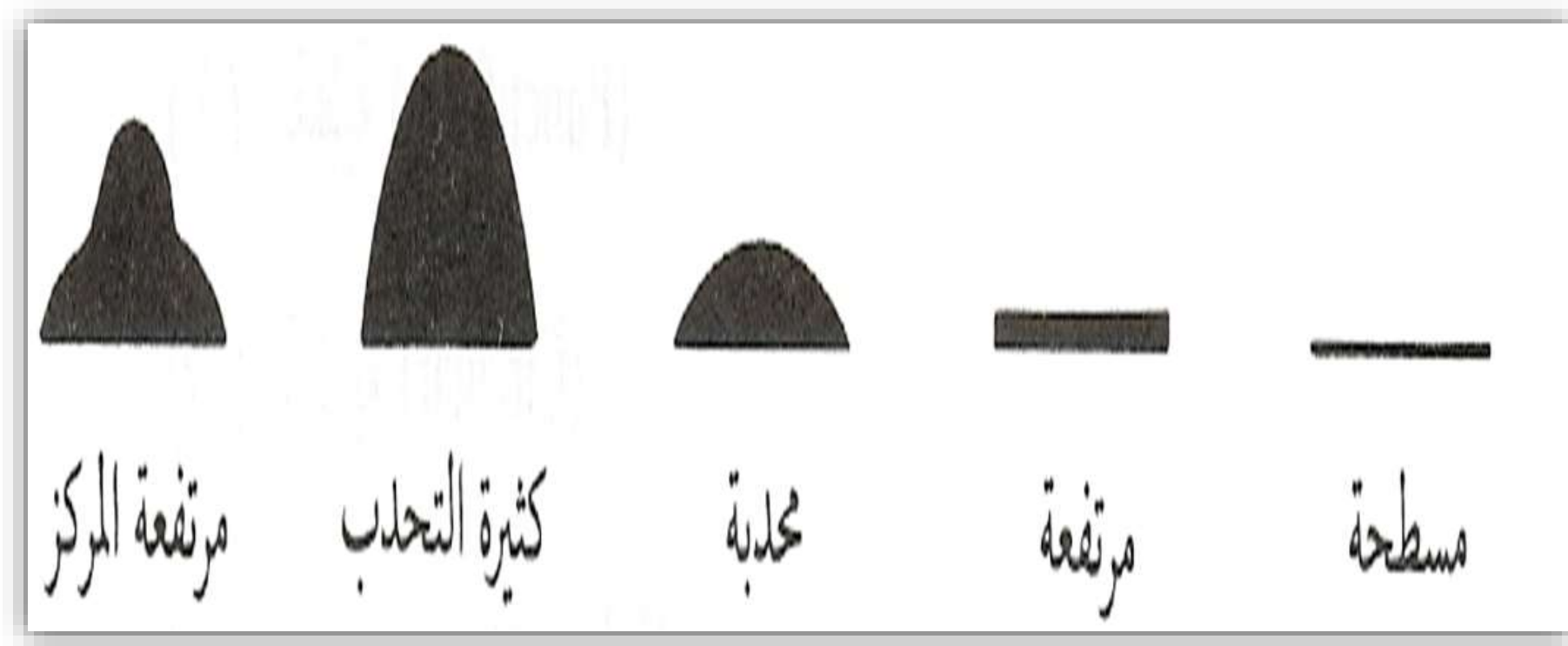
الخواص المزرعية
لمستعمرات البكتيريا

أولاً: وصف النمو البكتيري على البيئات الصلبة في أطباق بتري Solid media بتري

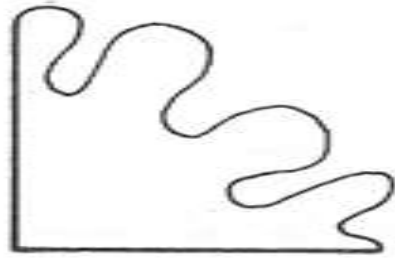
1- شكل المستعمرة Colony form:



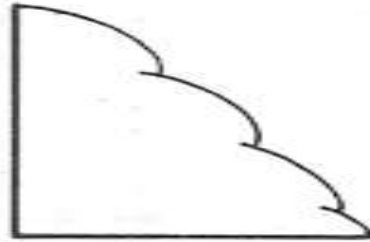
2- ارتفاع المستعمرة : Colony elevation



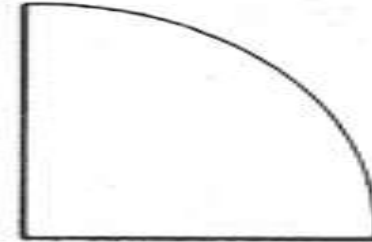
3- شكل حافة المستعمرة : Colony margin



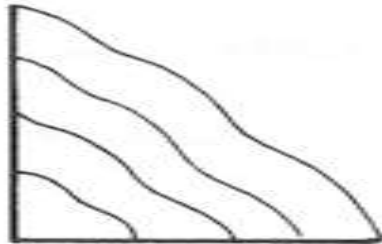
مفصصة



موجة



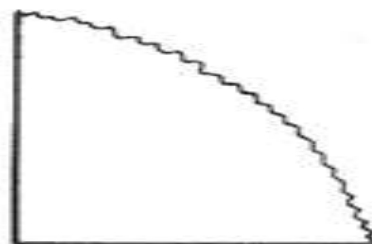
كاملة



مجعدة



خيطة



مسننة



4- Colony surface سطح المستعمرة

ناعم - خشن

5- Colony optics الصفات الضوئية للمستعمرة

معتمة - شبه شفافة - شفافة

6- Colony size حجم المستعمرة

7- Odor الرائحة

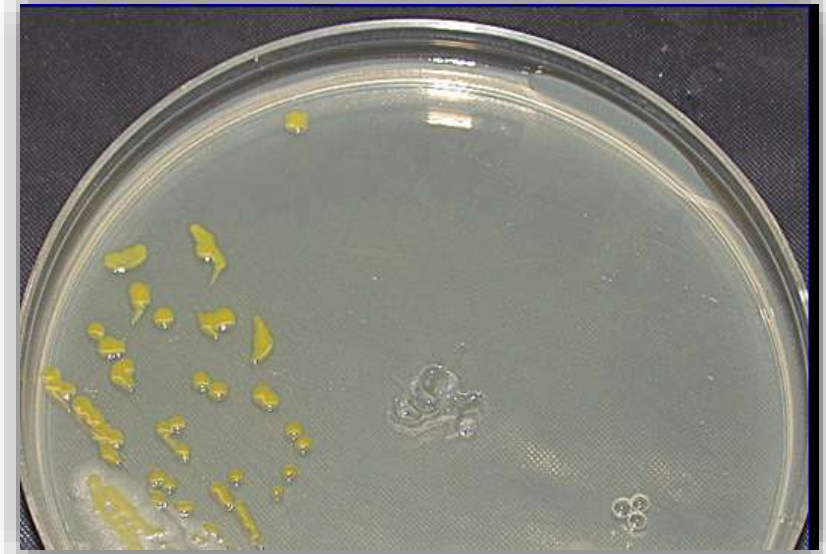
متعفنة - عطرية - بدون رائحة

8- Colony consistency قوام المستعمرة

غشائي - لزج (مخاطي) - زبدي - هش

Pigmentation - لون المستعمرة (انتاج الصبغات)

ملونة أو غير ملونة



10- التأثير في الدم Hemolytic activity

- **Beta hemolysis** تحلل الدم تحليل كامل
- **Alpha hemolysis** تحلل الدم جزئيا
- **Gamma hemolysis or non hemolysis** لا تحلل الدم



ثانياً: مظاهر النمو البكتيري على انبوبة الاجار المائل Nutrient agar slant

1- كمية النمو

لا يوجد نمو - قليل - متوسط - غزير

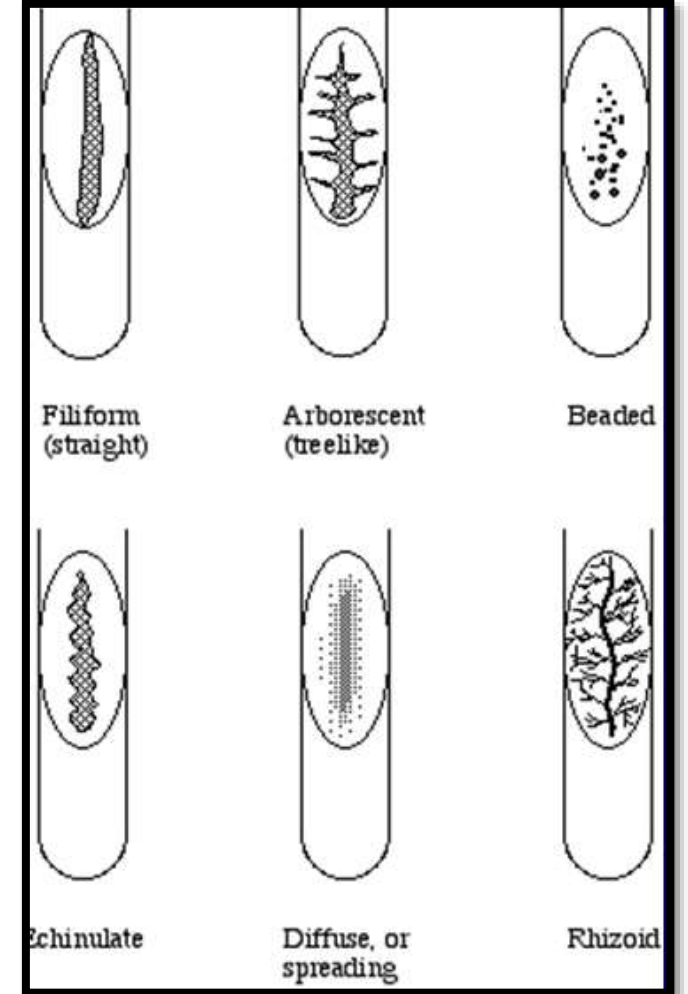
2- اللون

على النمو نفسه - منتشر في البيئة

3- الصفات الضوئية والشفافية

4- شكل النمو

خيطي - منتظم - مسنن - سبحي - منتشر - متفرع



ثالثا: وصف النمو البكتيري في البيئات السائلة Liquid media

1- كمية النمو

ضئيل - متوسط - غزير

2- النمو على السطح

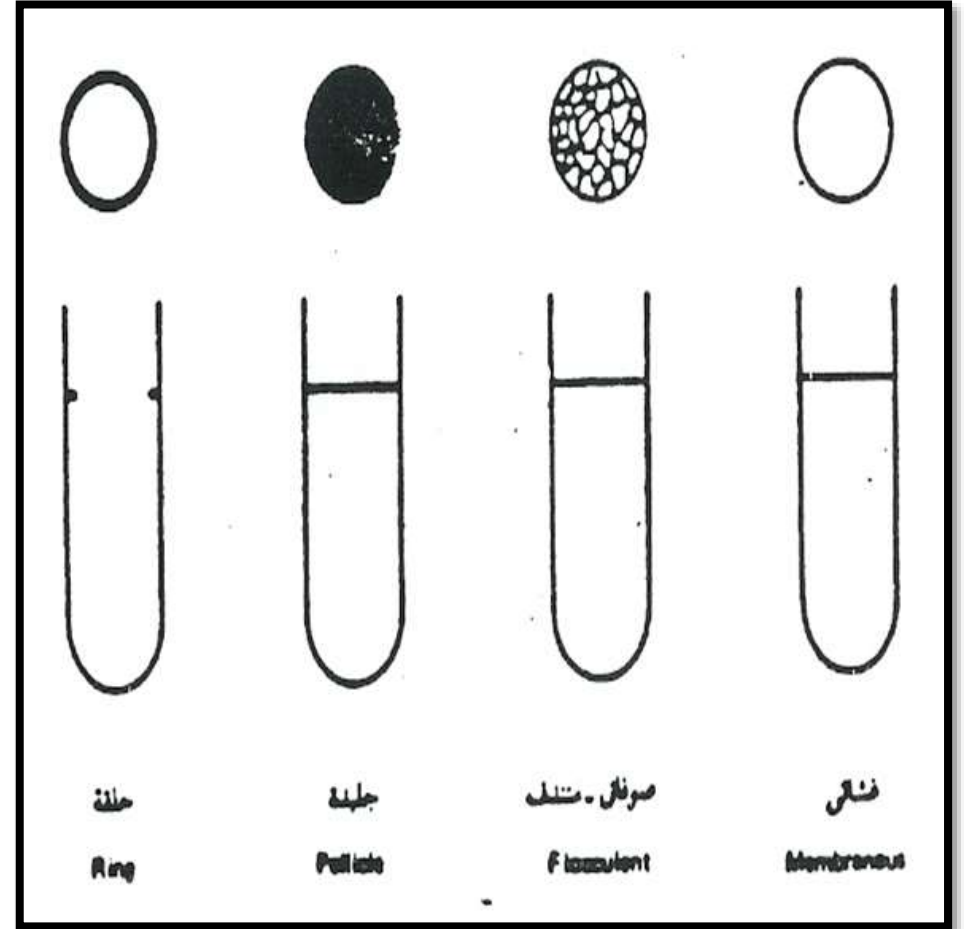
لا يوجد - حلقي - غشائي كثيف - غشائي - نمو متجمع

3- النمو تحت السطح

لا يوجد - عكر - حبيبي - طيفي - صفيحي

4- النمو المترسب

لا يوجد - حبيبي - طيفي - صفيحي - لزج



دراسة الصفات الشكلية للخلايا البكتيرية Morphological Studies (صبغ الخلايا البكتيرية Bacterial Staining)

الهدف من الفحص المجهرى :

التعرف المبدئي على البكتيريا من خلال تحضير شرائح مجهرية للمزارع البكتيرية وذلك بعمل غشاء رقيق يساعد على رؤية الشكل الظاهري للبكتيريا بوضوح

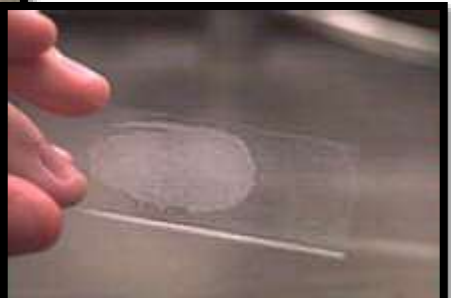
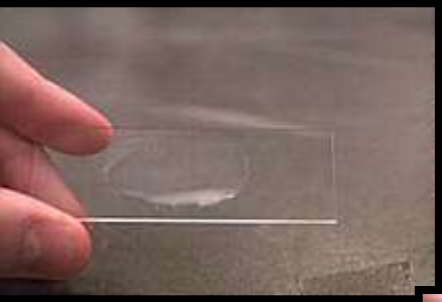
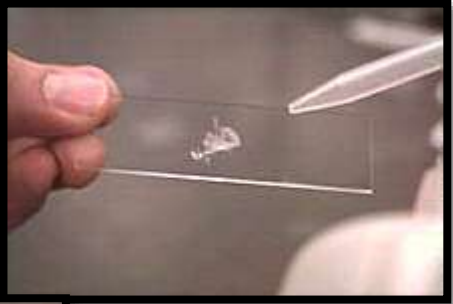
الصبغ .. هو دراسة مورفولوجية يقصد بها دراسة شكل الخلية البكتيرية

الصبغة **Stain**: هي مادة ملونة عضوية لها القدرة على الالتحام مع المواد الأخرى معطية لها اللون

س: لماذا تصبغ الخلايا البكتيرية؟

الطرق العامة للصبغ تختلف باختلاف الدراسة والغرض ، تبدأ عملية فحص الخلايا البكتيرية **بتحضير الغشاء البكتيري** ثم يتم الصبغ وبعده الفحص بالمجهر باستخدام العدسة الزيتية.

Smear preparation تحضير الغشاء البكتيري



1. تحت ظروف التعقيم, ينقل الى منتصف شريحة زجاجية نظيفة قطرة من الماء المقطر
2. باستخدام ابرة التلقيح المعقمة ينقل جزء من المزرعة البكتيرية حديثة العمر ويخلط مع قطرة الماء, ويفرد الغشاء على الشريحة
3. تترك الشريحة لتجف في جو المعمل
4. يثبت الغشاء البكتيري بتمريره على اللهب من 3-4 مرات
5. تترك الشريحة لتبرد ومن ثم نبدأ بعملية الصبغ

ما أهمية التثبيت ..؟

صبغ جراه Gram Stain

- تعتبر صبغة مركبة **Compound stain** وصبغة تفرقية **Differential stain** لأنه يتم فيها استخدام أكثر من صبغة واحدة، وذلك للتمييز بين مجموعات بكتيرية مختلفة (موجبه و سالبه لجرام وذلك على أساس اختلاف التركيب الكيميائي للجدار الخلوي)
- من أهم طرق الصبغ شيوعا في المختبرات الميكروبيولوجية
- أول من استخدمها كريستيان جرام
- تكمن أهميتها في استعمالها لتشخيص البكتيريا حيث بواسطتها يمكن تقسيم البكتيريا الى قسمين:

Gram positive bacteria – **Gram negative bacteria**

- لها أهمية في توضيح الاختلافات الأساسية في تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا
- الغرض من صبغ جرام: معرفة شكل الخلايا البكتيرية – انتظامها – الاستجابة

المواد والأدوات المطلوبة

1- شريحة زجاجية

2- ابرة تلقيح

3- المزرعة البكتيرية (نقيه)



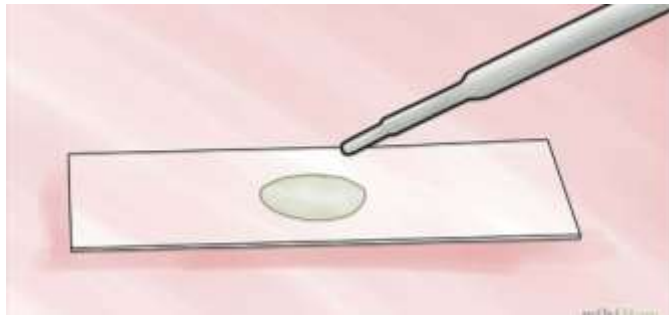
Gram stain ingredients are:

Crystal Violet, Iodine, Alcohol and Safranin

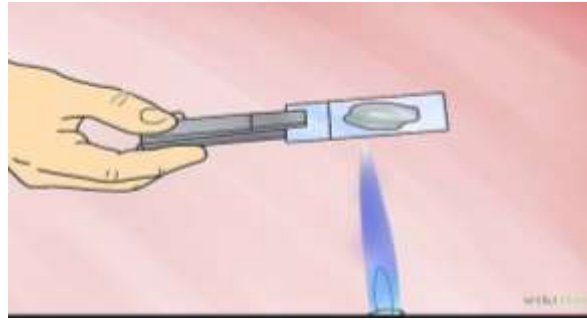
-4

Gram Stain – Procedure

1. Crystal Violet - 1 minute
2. Gram's Iodine – 1 minute
3. Acetone Alcohol – 10 -15 seconds
4. Safranin – 1 minute



تحضير الغشاء البكتيري



تثبيت الغشاء (تمرير الشريحة في اللهب من 3-4 مرات)



صبغ بالكريستال البنفسجي (دقيقه)



غسل بالماء



يود (30 ثانيه-دقيقه)



غسل بالماء



غسل بالكحول (10-15 ثانيه)



غسل بالماء



صبغ بالسفرانين (دقيقه)



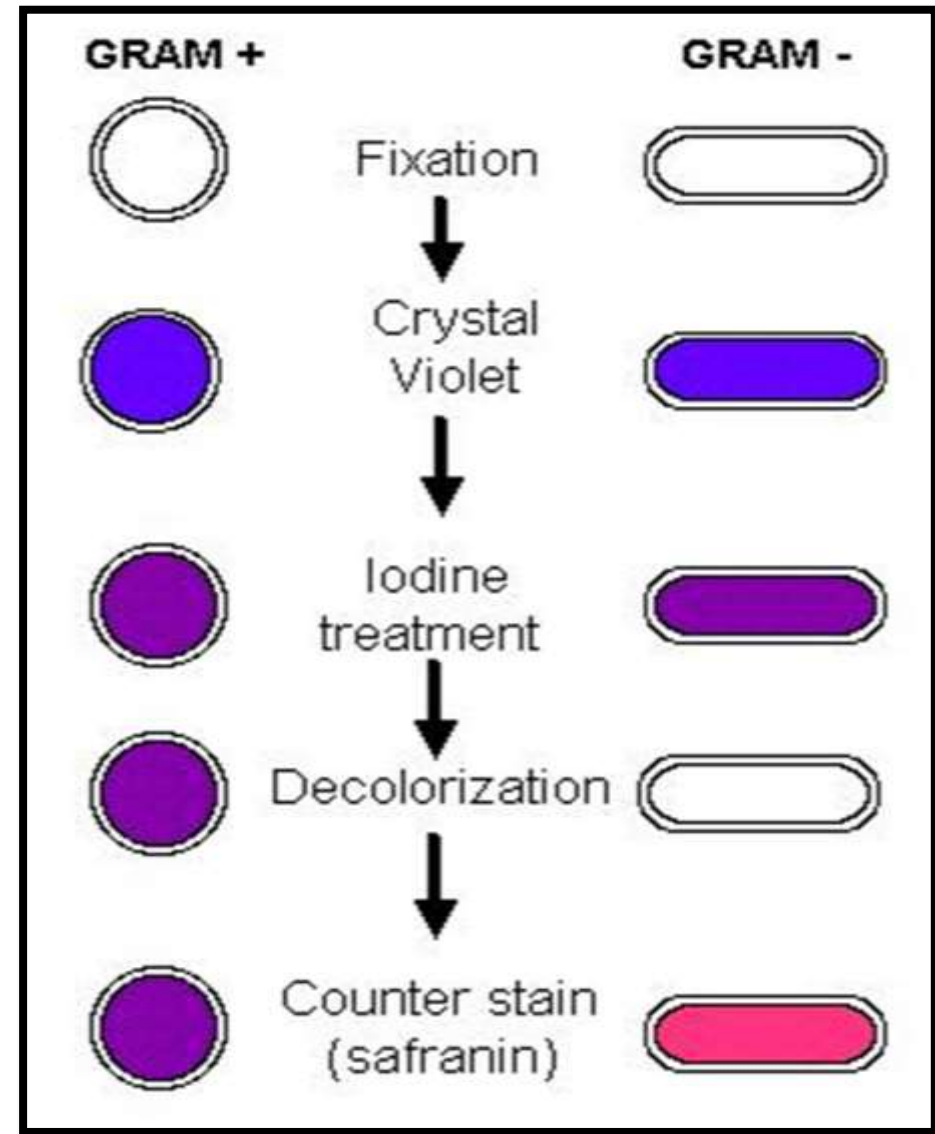
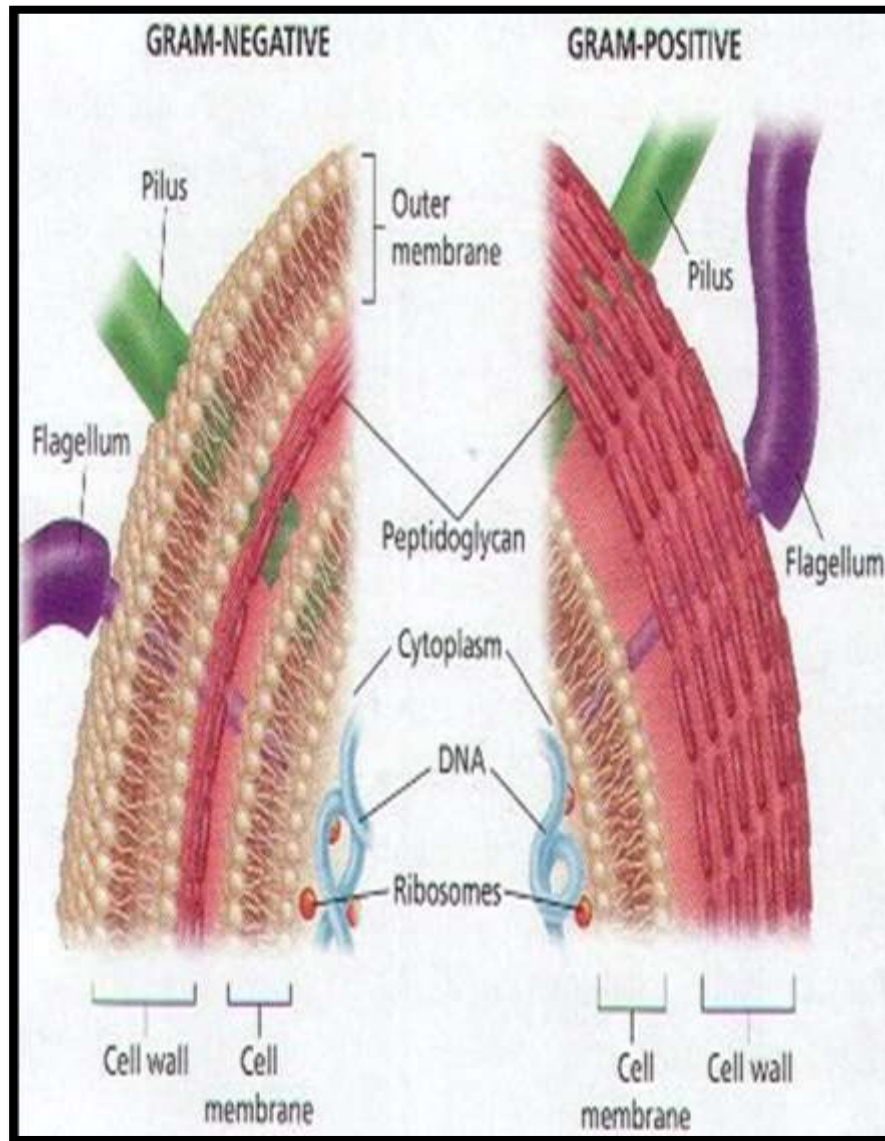
غسل بالماء



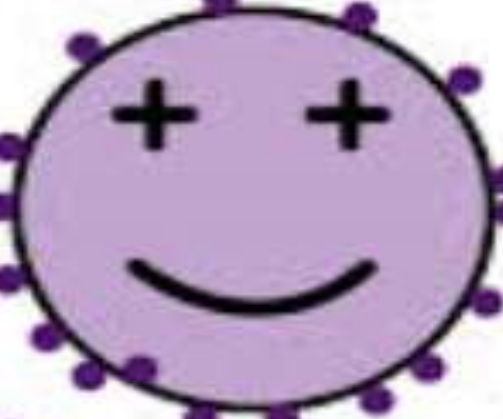
تجفيف الشريحة بورق ترشيح



الفحص بالعدسة الزيتية



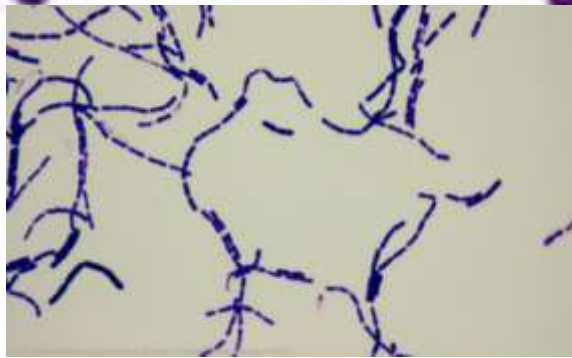
GRAM +



GRAM -

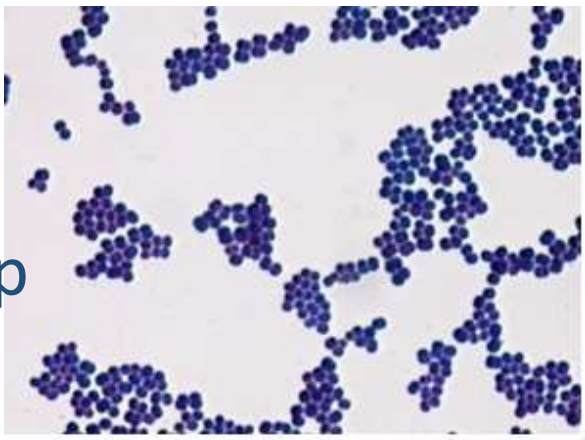


Bacillus spp

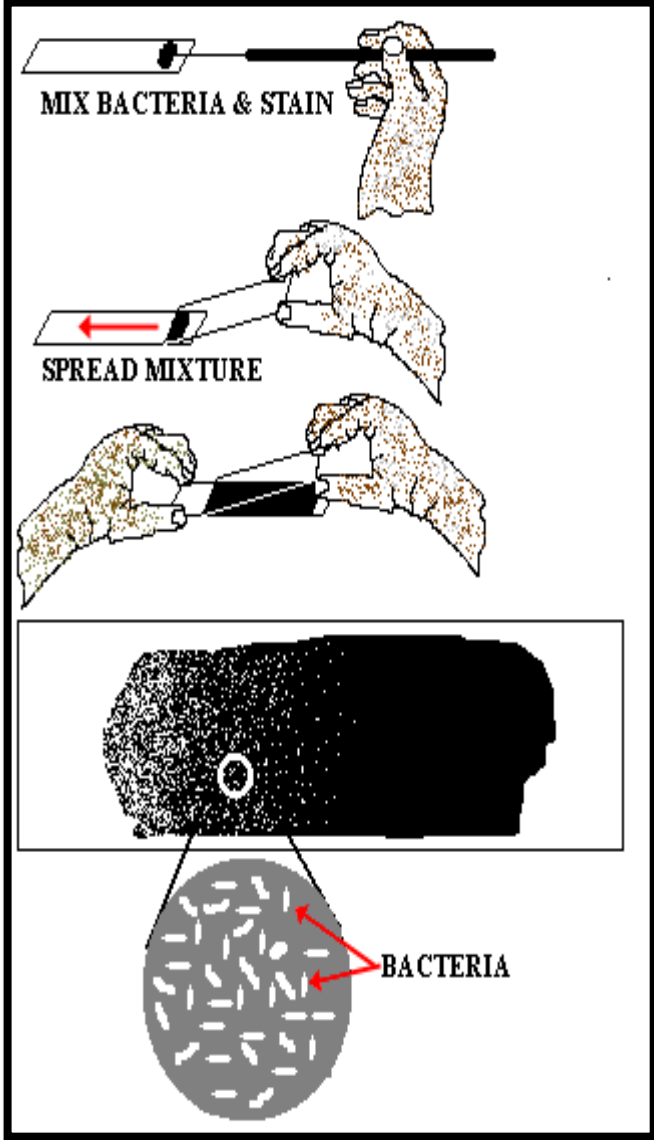


Escherichia coli

Staphylococcus spp



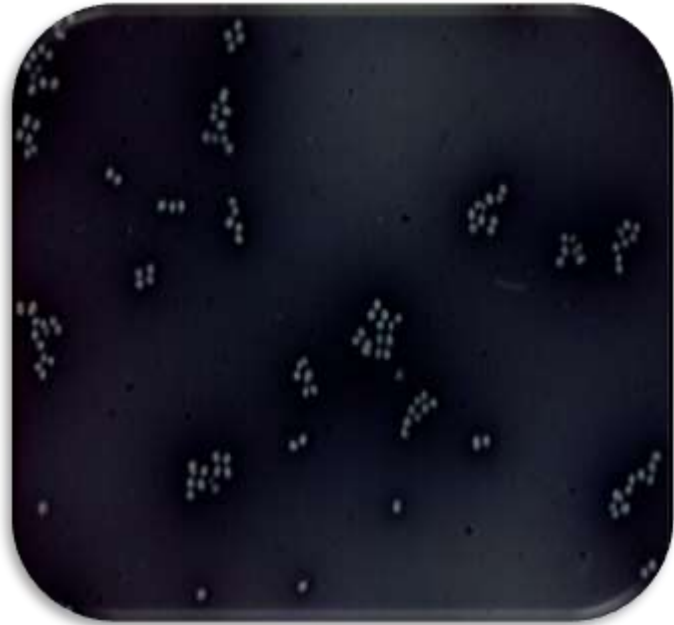
الصبغ السالب Negative Stain



الهدف من الصبغ السالب: معرفة شكل الخلايا البكتيرية- انتظامها

طريقة العمل:

- تضاف قطرة من صبغة النيجروسين على طرف الشريحة الزجاجية
- تحت ظروف التعقيم, باستخدام ابرة التلقيح المعقمة ينقل جزء من اللقاح البكتيري ويضاف إلى الصبغه الموجوده على الشريحة ويُمزج بواسطة الإبره
- يفرد الخليط على الشريحة بواسطة شريحة أخرى (بزاوية 45 درجة)
- تترك الشريحة تجف في جو المعمل
- تفحص الشريحة باستخدام العدسة الزيتية وتسجل النتيجة



علي .. تسميته بالصبغ السالب؟