

معمل ميكروبيولوجيا المياه والصرف الصحي

“ 344 MBIO ”

نورة الكبيسي

[Nalkubaisi@ksu.edu.sa](mailto:Nalkubaisi@ksu.edu.sa)

# اختبار التلوث بمياه المجاري

## Examination of water for sewage pollution





الماء.. عرضة للتلوث بمياه المجاري ويمكن الكشف عن هذا النوع من التلوث بالكشف عن

مجموعة بكتيريا القولون، حيث يعتبر الماء صالحاً للشرب إذا كان :

■ خالياً من الملوثات الكيميائية السامة .

■ خالياً من ميكروبات القولون .



## اختبارات تلوث العينة بميكروبات القولون يتم هذا الاختبار على ثلاث مراحل (اختبارات)

**Presumptive Test**

الاختبار الاحتمالي

**Confirmatory Test**

الاختبار التأكيدي

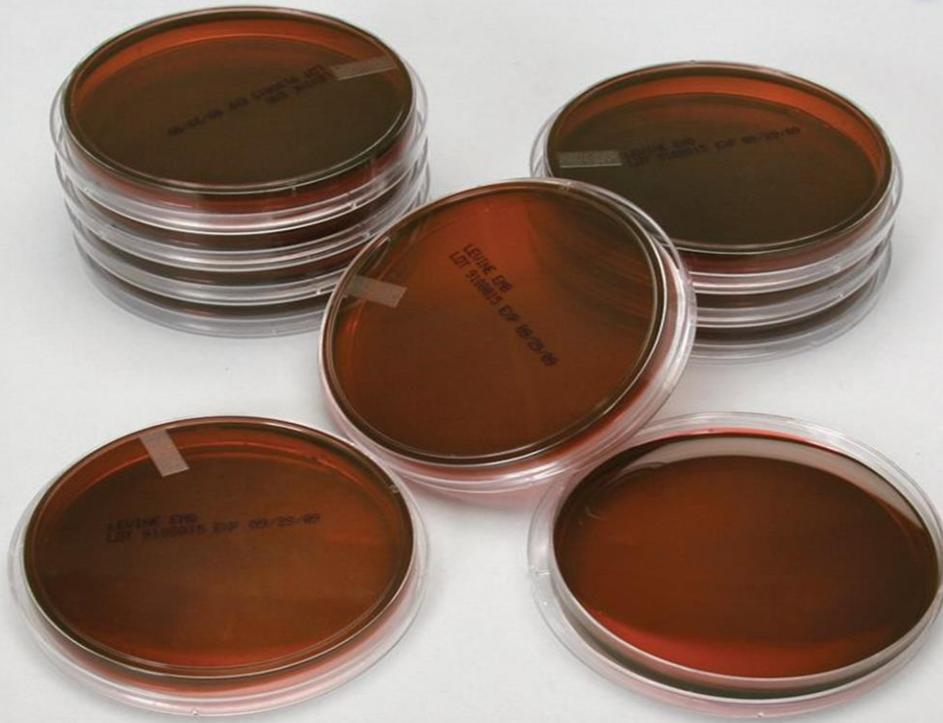
**Completed Test**

الاختبار التكميلي



ثانياً

الاختبار التأكيدي



# الأدوات والمواد اللازمة



1. الأنابيب التي أعطت نتيجة موجبة أو مشكوك فيها من الاختبار الاحتمالي .

2. أطباق من بيئة Eosin Methylene blue agar (EMB)

3. إبر تلقيح .

4. مزارع نقية من *E.coli* و *Aerobacter areogenes* للمقارنة.



Acid  
+  
Gas



# البيئة المستخدمة في هذا الاختبار





# مكونات بيئة أيوسين أزرق الميثلين (EMB).

## نسبتها والغرض منها

10g

5g

helps to differentiate lactose fermenter from non  
lactose fermenter

2g

0.4g  
Indicator

0.65g  
pH indicator

13.5g  
Solidify agent

Add to make 1 Liter

## المكونات

Peptone

**Lactose: Sugar**

sucrose

Potassium Phosphate

**Eosin Y**

**Methylene Blue**

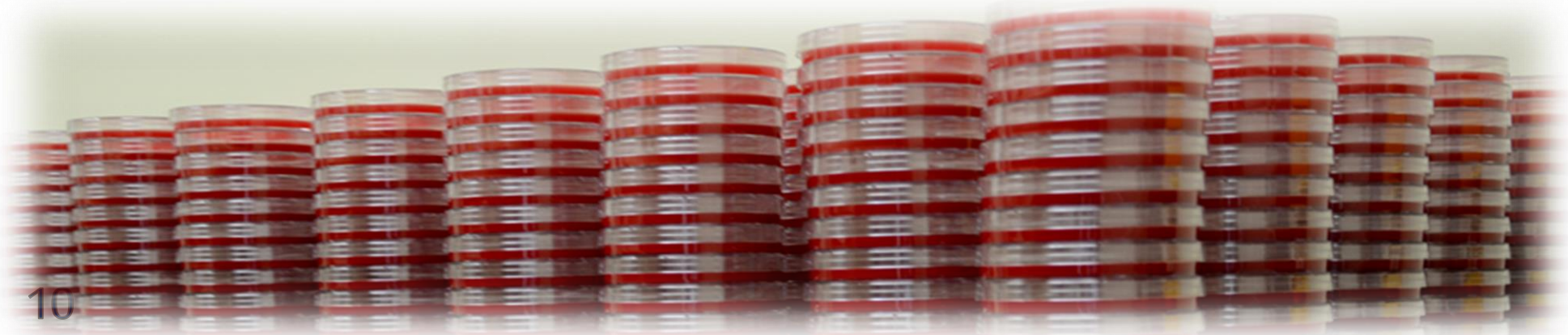
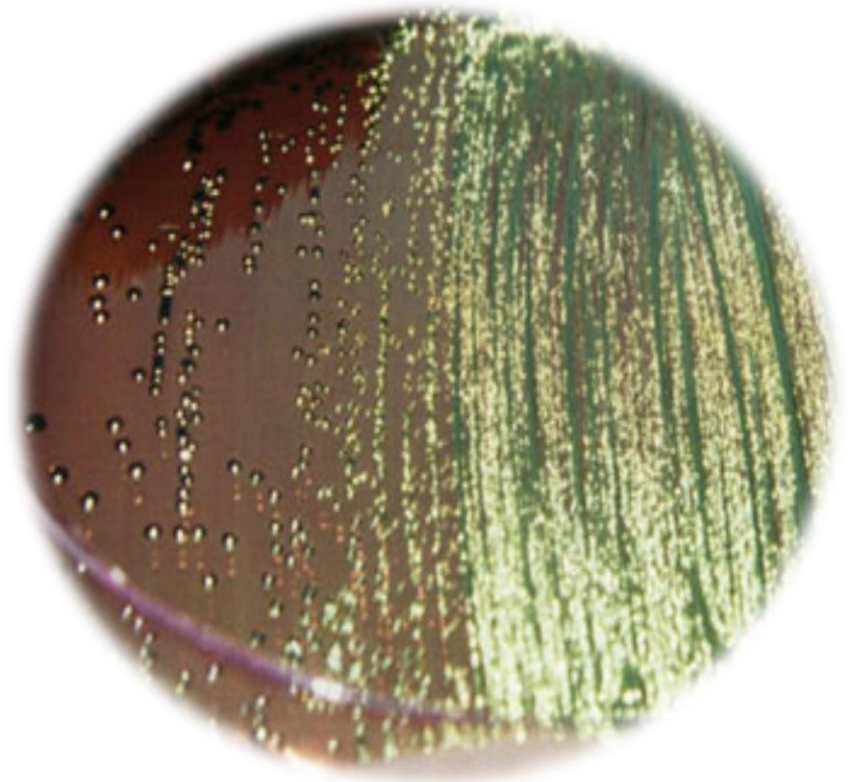
Agar

Distilled Water

**Eosin Methylene Blue  
(EMB):**

**selective, differential**

Peptone	10 g
Lactose	5 g
Sucrose	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Agar	13.5 g
Eosin Y	0.5 g
MB	0.06 g

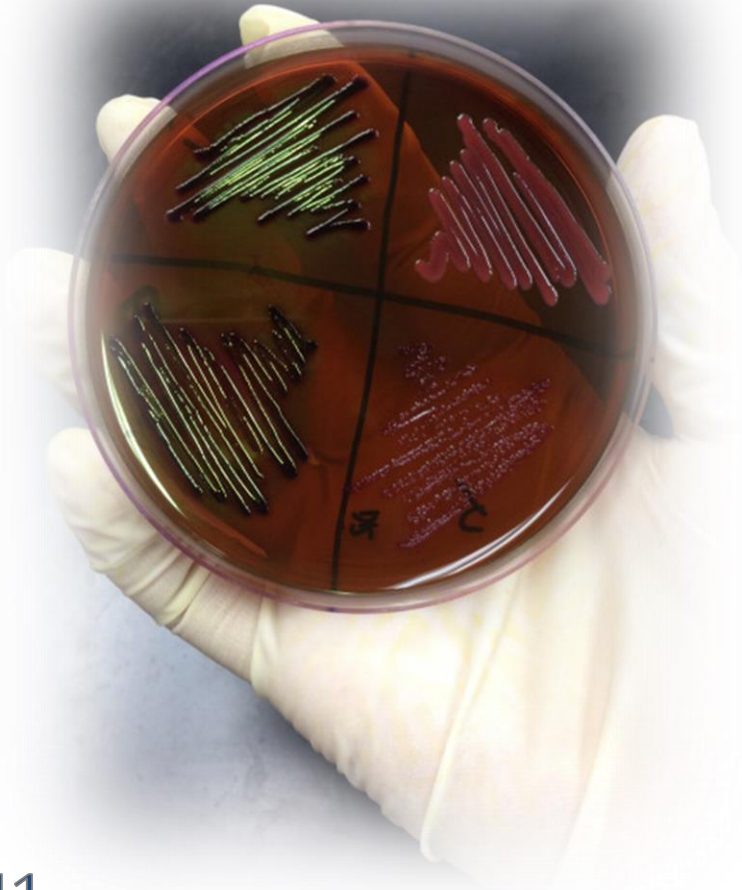


# استخدامات بيئة أيوسين أزرق الميثلين

1. لعزل البكتيريا المعوية السالبة لجرام.

2. للتفريق ما بين البكتيريا المخمرة للاكتوز  
والغير مخمرة.

3. لعزل بكتيريا القولون ومسببات الأمراض  
المعوية في المياه، منتجات الألبان والعينات  
البيولوجية.



# مبدأ عمل بيئة مكونات بيئة أيوسين أزرق الميثيلين EMB

- تحضر هذه البيئة بإضافة كمية معلومة من سكر اللاكتوز مع الصبغتين ( الأيوسين و الميثيلين الأزرق ) إلى الآجار المغذي .
- 1- المستعمرات الملونة على البيئة تعتبر مخمرة لسكر اللاكتوز.
- 2- المستعمرات الغير ملونة على البيئة تعتبر غير مخمرة لسكر اللاكتوز.
- 3- مزيج الصبغتين (الايوسين الحامضية مع الميثيلين الزرقاء القاعدية) يمنع نمو أغلب البكتيريا الموجبة لجرام ويسمح لنمو البكتيريا السالبة لجرام.



# نتائج النمو على بيئة EMB

- تعتبر وسط تفرقي من خلاله يتم التعرف على ميكروبات القولون
  - 1- تتفرد بكتيريا *E.coli* بإظهار النمو المعدني الأخضر metallic green sheen.
  - 2- بقية ميكروبات القولون تظهر داكنة .
  - 3- البكتيريا التي لا تخمر سكر اللاكتوز تظهر شفافة لأن الصبغة المركبة لا تعمل في وسط قلوي حيث تظهر البيئة باللون الأحمر .
- يمكن تفسير لون المجاميع التي تنمو على البيئة كما يلي :

# يتوقف لون المجاميع التي تنمو في البيئة على عاملين

- 2 -

تكوين كمية من الأحماض

الناجمة من تخمر اللاكتوز

تؤدي إلى

**خفض pH**

مسبباً

امتصاص الصبغة المركبة

على الخلايا النامية

- 1 -

تفاعل

صبغة الايوسين (حامضية)

مع

صبغة الميثيلين الأزرق (قاعدية)

لتكون

صبغة ذات خواص متعادلة

قريبة إلى الحامضية

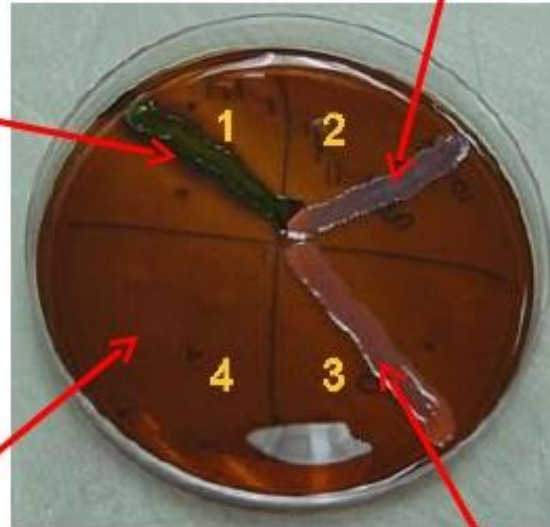
# نتائج النمو على بيئة أيوسين أزرق الميثيلين

## Levine Eosin-Methylene Blue (EMB) Agar

Agar

Lactose fermenter  
(high acid producer:  
black colonies)

Non-lactose fermenter



Gram positive  
(growth inhibited)

Lactose fermenter  
(low acid producer:  
pink colonies)

# نتائج النمو على بيئة أيوسين أزرق الميثلين

## Levine Eosin-Methylene Blue (EMB) Agar

Agar



Lactose  
fermenter

Nonlactose  
fermenters

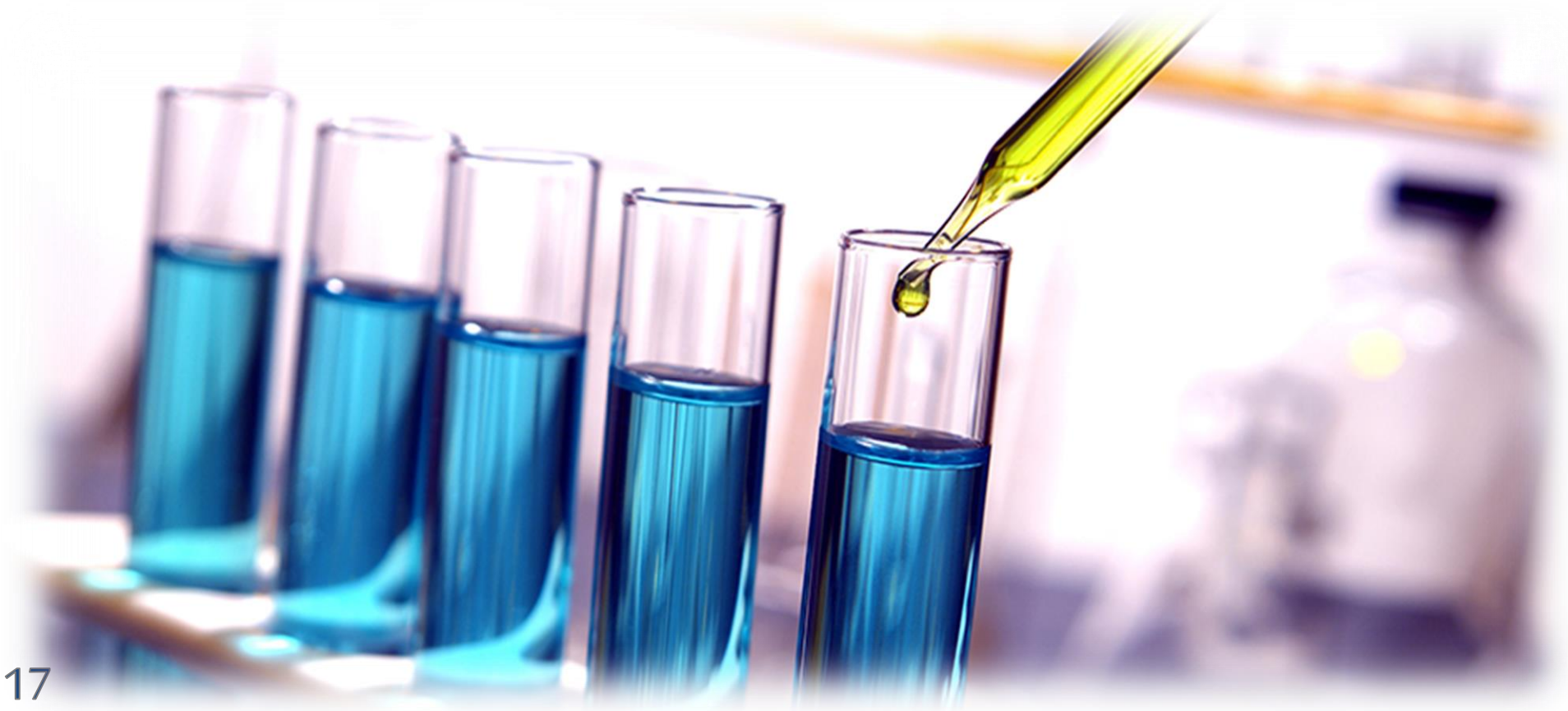


**DIFFERENTIAL MEDIUM**



ثالثاً

خطوات العمل



1. تحت ظروف التعقيم يتم تقسيم أسفل طبق بيئة EMB إلى ثلاثة أقسام بواسطة قلم .

2. بواسطة ابرة تلقيح معقمة يتم تلقيح القسم الأول من أنابيب الاختبار السابقة و يلحح

القسم الثاني من مزرعة *E.coli* و القسم الثالث من مزرعة *Aerobacter aerogenes*

3. تحضن الأطباق عند 37م° لمدة 24 ساعة .

4. تفحص النتائج .

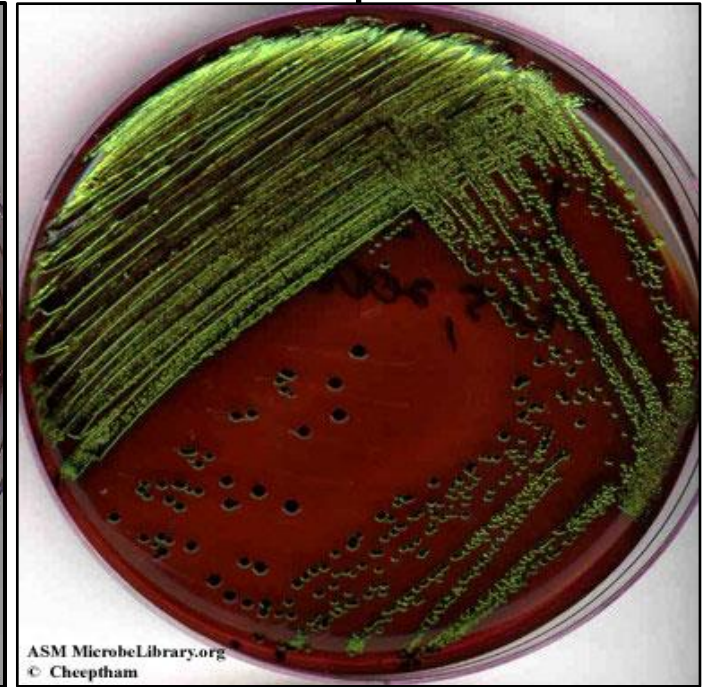


# النتائج

بكتيريا غير مخمرة  
لسكر اللاكتوز

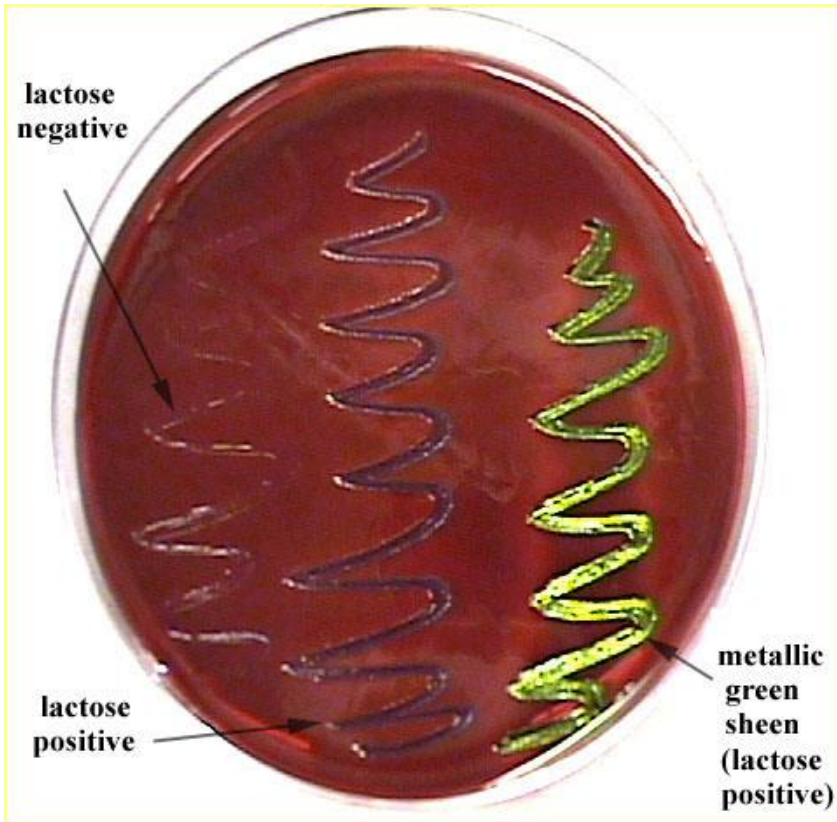
*Aerobacter aerogenes*

*E. coli*





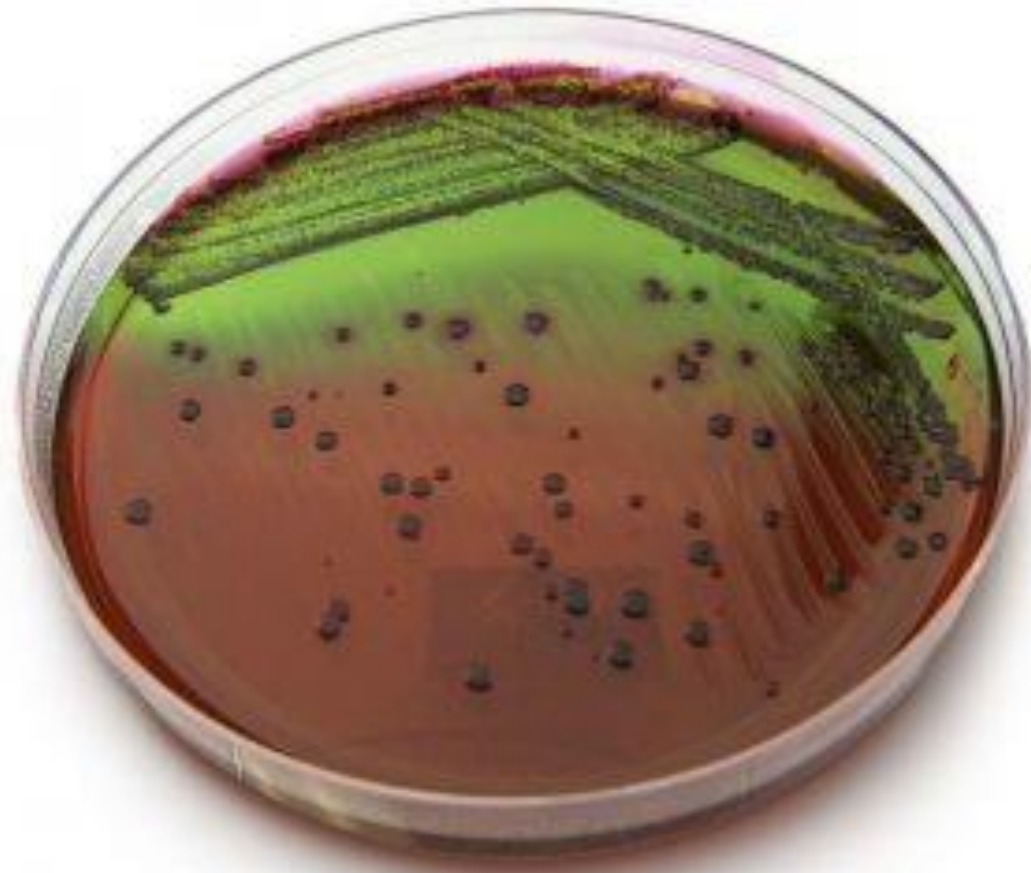
# النتائج





# الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة و مناقشة التعليق



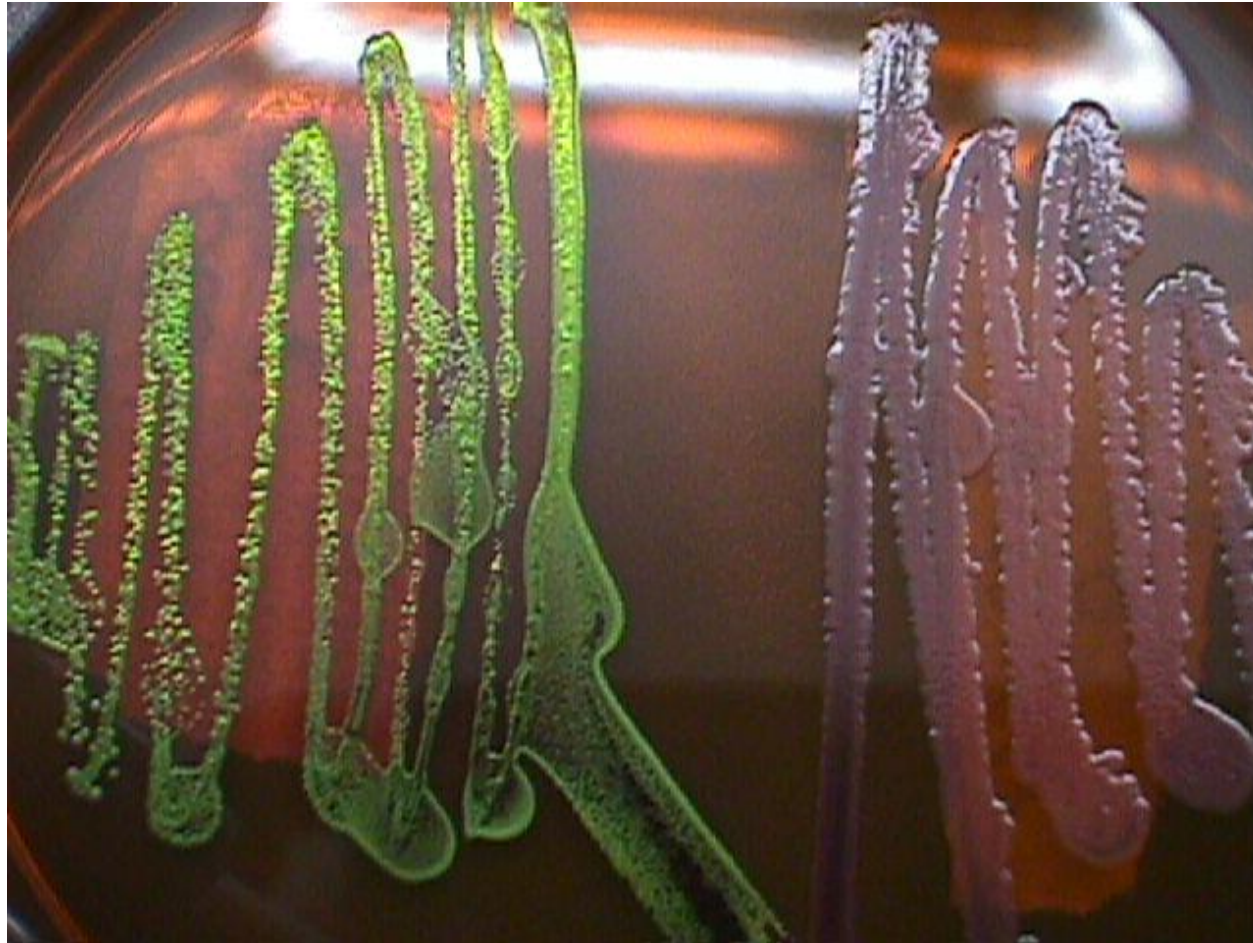
# الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة ومناقشة التعليق



# الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة و مناقشة التعليق







# نهاية المعمل الرابع

