

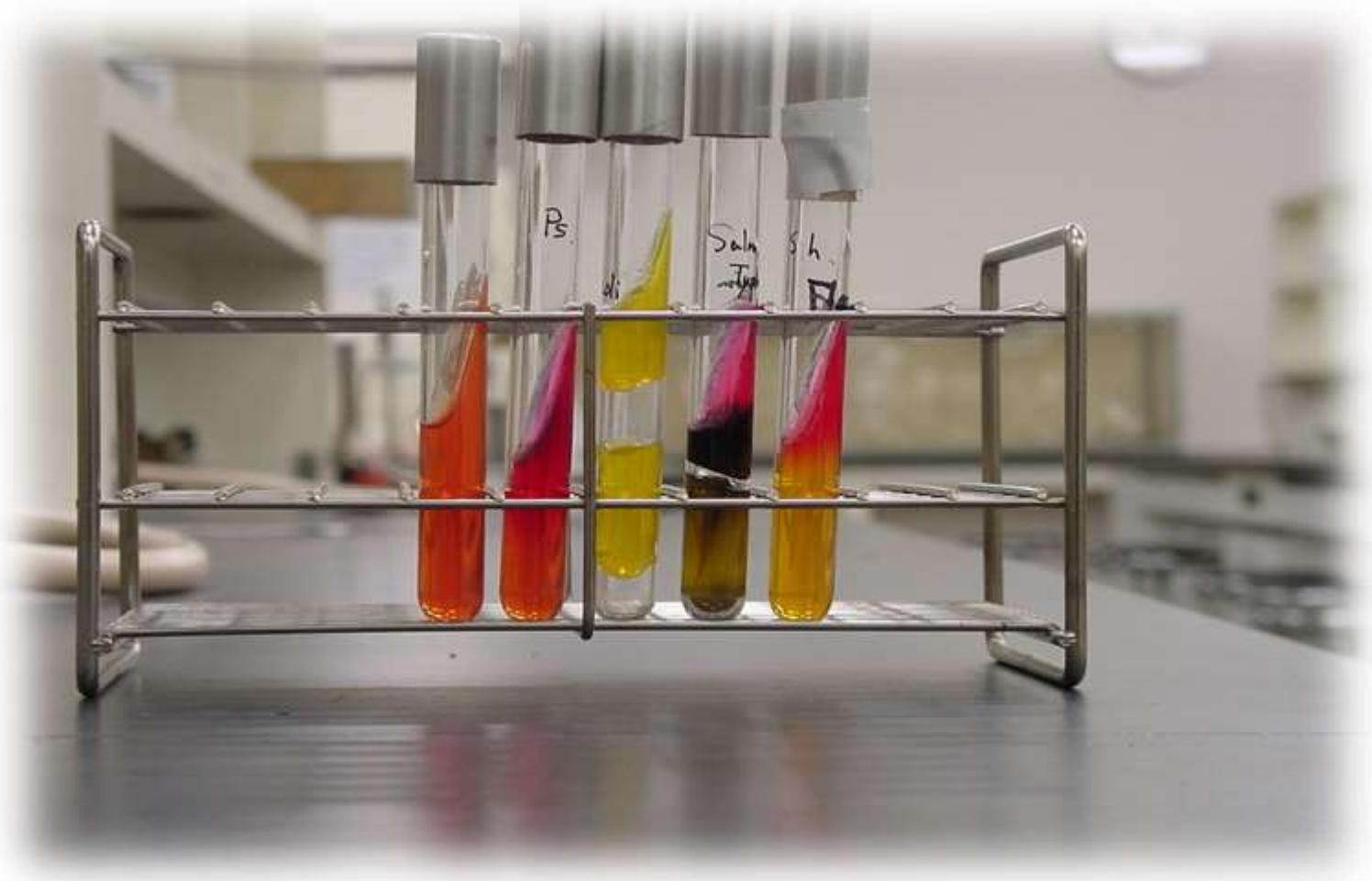
معمل ميكروبيولوجيا المياه والصرف الصحي

“ 344 MBIO ”

نورة الكبيسي

Nalkubaisi@ksu.edu.sa

اختبارات التفرقة بين مجموعة القولون IMViC



بعد ظهور نتائج الاختبارات السابقة و التحقق من وجود مجموعة ميكروبات القولون يتم عمل الاختبارات التالية لها وذلك للفرقة بينها:

Indole Test

اختبار انتاج الأندول .

Methyle Red Test

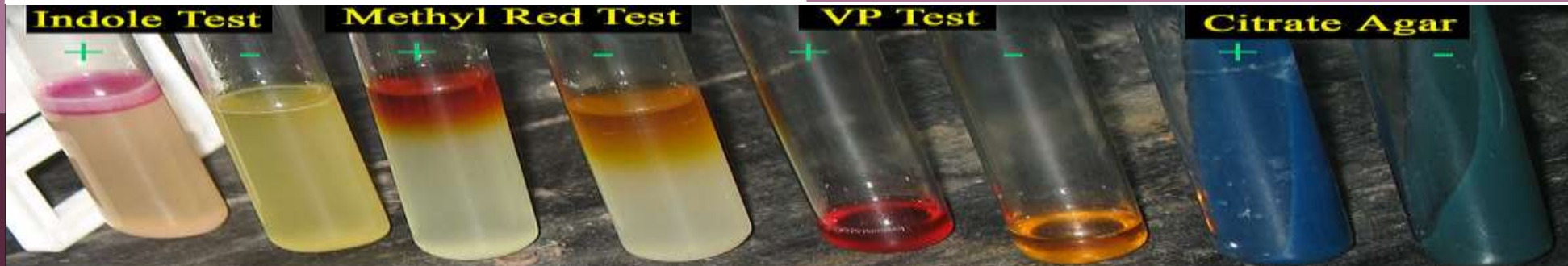
اختبار أحمر الميثيل.

Vp Test

اختبار فوجس بروسكر .

Citrate agar

اختبار تمثيل السترات .



Fecal Coliforms



Indole positive



MR positive



VP negative



Citrate
negative

Nonfecal Coliforms



Indole negative



MR negative

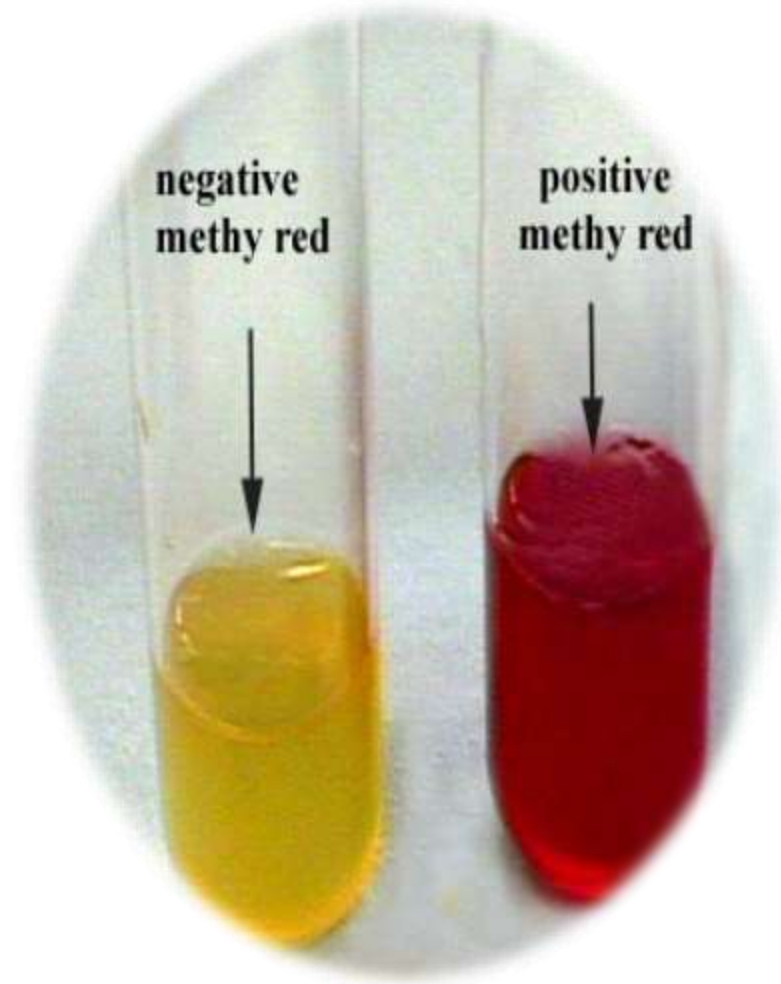


VP positive



Citrate
positive

ثانياً اختبار أحمر الميثيل



مبدأ عمل هذا الاختبار



1. بعض أنواع بكتيريا مجموعة القولون لها القدرة على تخمر الكربوهيدرات (السكريات

كالجلوكوز) منتجة أحماض.

2. هذا الاختبار يقوم بتمييز الأنواع الميكروبية المنتجة للأحماض بكميات كبيرة عن التي لا

تنتج إلا كميات قليلة .

3. يستدل على قدرة البكتيريا على تخمر السكريات الموجودة في البيئة باستخدام دليل

أحمر الميثيل Methyl Red.

❖ تختلف درجة اللون الناتج باختلاف كمية الأحماض المنتجة في الوسط البيئي فكلما

كانت الكمية كبيرة تحول لون الدليل إلى اللون الأحمر (أي أن كمية الحمض كافية

لتغيير اللون).

❖ في حين أن الأنواع التي أنتجت كمية قليلة من الأحماض فيظل لون الدليل أصفر وذلك

لعدم وجود كمية كافية من الحمض لتغيير لون الدليل.

يتكون كاشف ميثيل الأحمر من :

- | | | |
|-------------------------|-----|----|
| 1. Methyl red indicator | 0.1 | gr |
| 2. Ethyl alcohol 95% | 300 | ml |
| 3. Distilled Water | 200 | ml |



الأدوات والمواد اللازمة

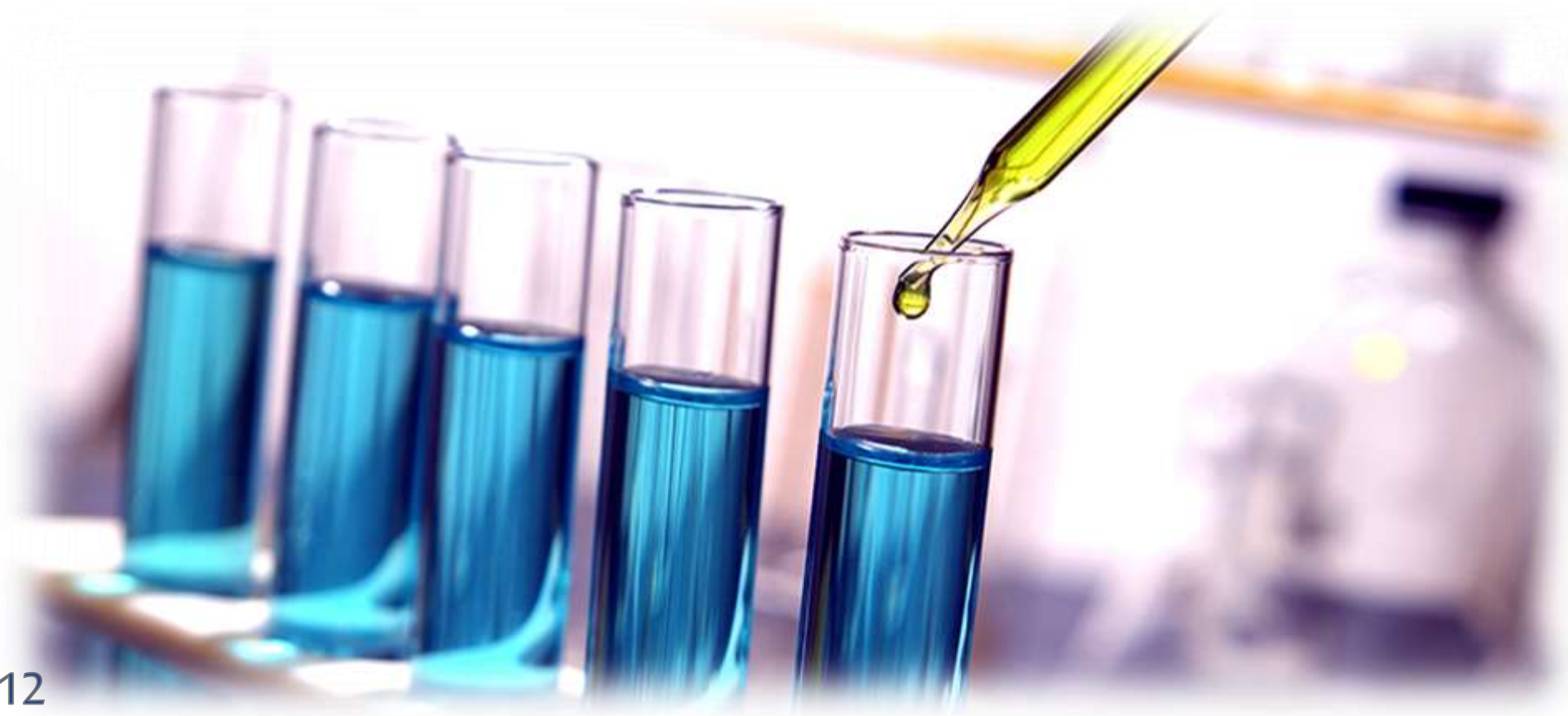




- أنابيب من بيئة مرق الجلوكوز *Glucose broth*.
- الأنابيب التي أعطت نتيجة من الاختبار التكميلي.
- مزارع نقية من بكتيريا *E. coli*.
- دليل أحمر الميثيل *Methyl Red reagent*.
- ابر تلقيح.

ثالثاً

خطوات العمل



1. تحت ظروف التعقيم يتم تلقيح بيئة مرق الجلوكوز بلاقحة من الأنابيب التي أعطت

نتيجة موجبة من الاختبار السابق .

2. يتم تلقيح أنبوبة واحدة ببكتيريا *E. coli* .

3. يتم ابقاء الأنبوبة الثالثة بدون تلقيح ككنترول .

4. تحضن الأنابيب عند 37 م° لمدة 2 - 5 أيام .

5. أضف 5 نقط من دليل أحمر الميثيل مع الرج الخفيف لمدة من 15 - 20 دقيقة .

6. تفحص النتائج .



النتائج



عندما تخمر البكتيريا سكر الجولوكوز أو اللاكتوز فإن أول ناتج من عمليات التخمر هو:

Pyruvic acid

كنواتج أساسي لجميع البكتيرات, ثم تختلف بعدها مسارات التخمر حسب احتياج البكتيريا

الهوائي .

لذلك تقسم النتائج حسب التخمر لما بعد حمض البيروفيك إلى ما يلي

- النتائج حسب التخمر لما بعد حمض البيروفيك -

-

+

بكتيريا تخمر الجلوكوز منتجة نواتج ذات pH متعادل تقريباً مثل
Butanidol - Acetoin
وبالتالي تنخفض قيمة pH بصورة قليلة جداً

بكتيريا تخمر الجلوكوز منتجة نواتج حمضية مثل :
Acetate - Format
وبذلك يتم خفض قيمة pH



pH = 2



pH = 3



pH = 4



pH = 5



pH = 6



pH = 7



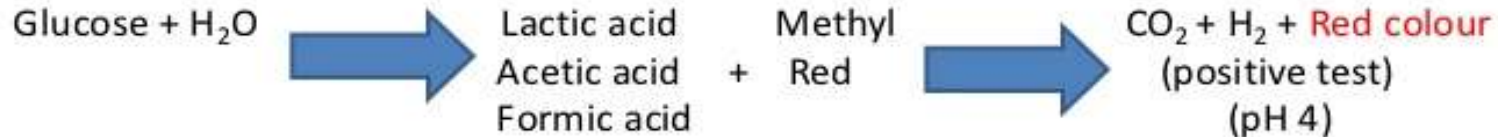
pH = 8

METHYL RED TEST (MR TEST)

Aim: To *differentiate E.coli and E.aerogen* and to determine the ability of microbes to oxidize glucose with production and stabilization of high content of acid end product.

Principle:

E.coli:



E. aerogen:



احمر الميثيل

Mixed Acid Fermentation - Methyl Red

Uninoculated

(+)

(-)

(-)

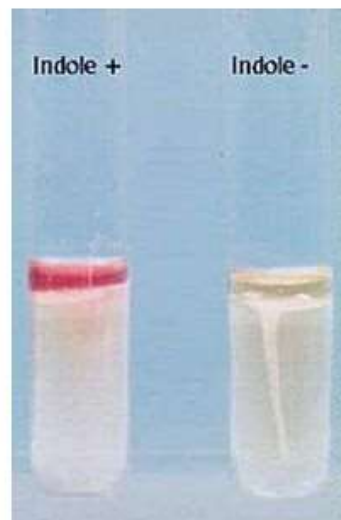
E. coli

E. aerogenes

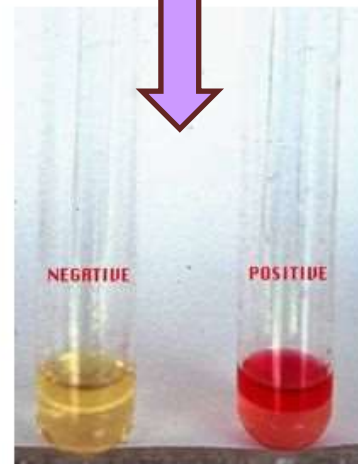
S. marcescens

نتيجة احمر الميثيل

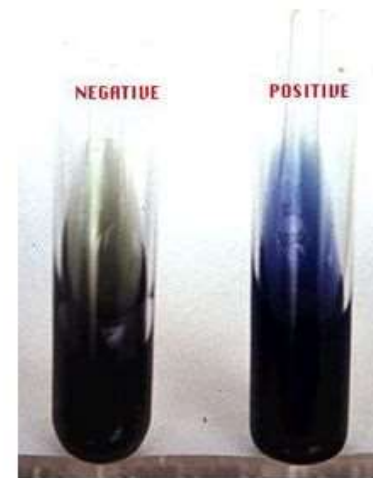
IMViC Test



Indole



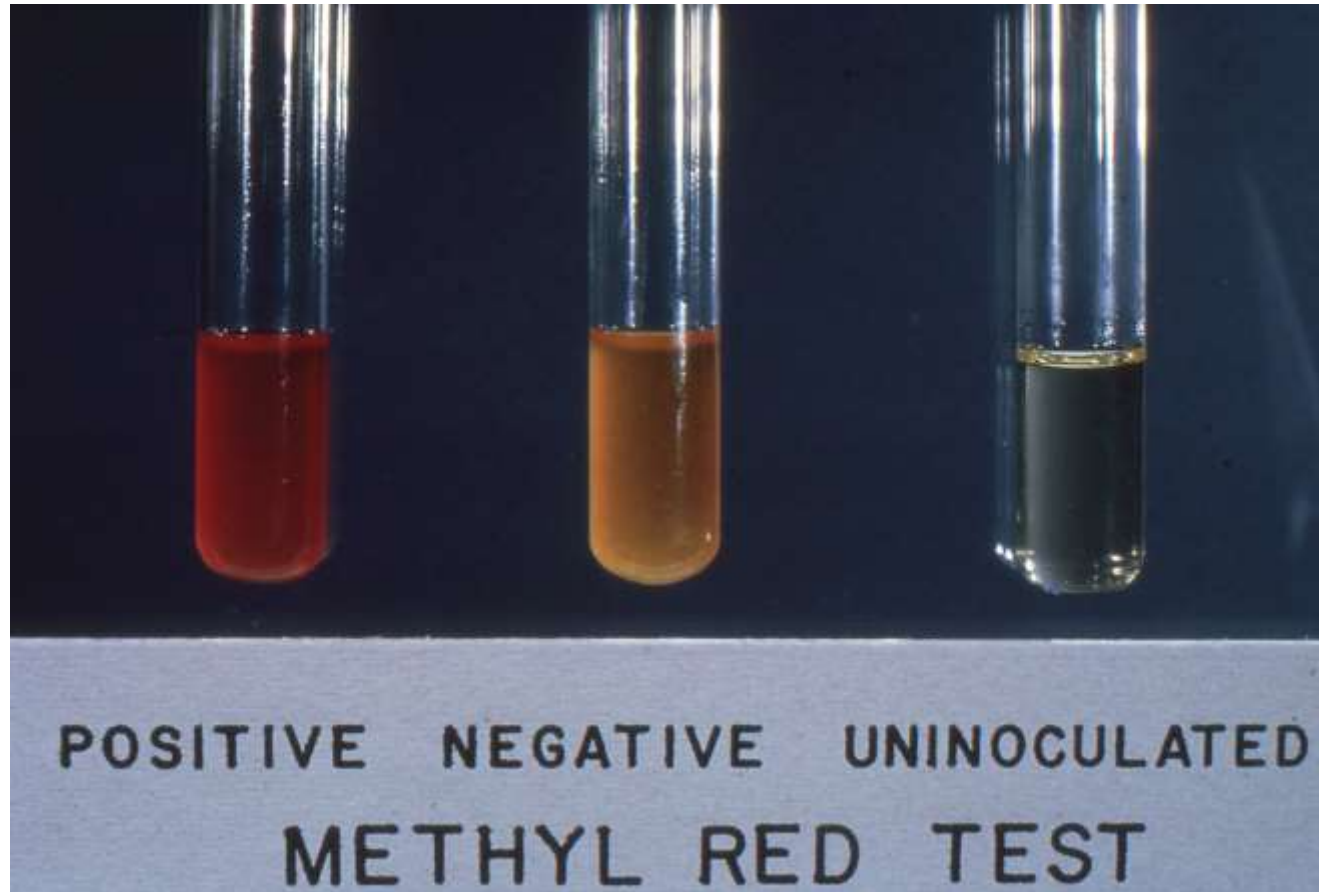
MR- VP



Citrate

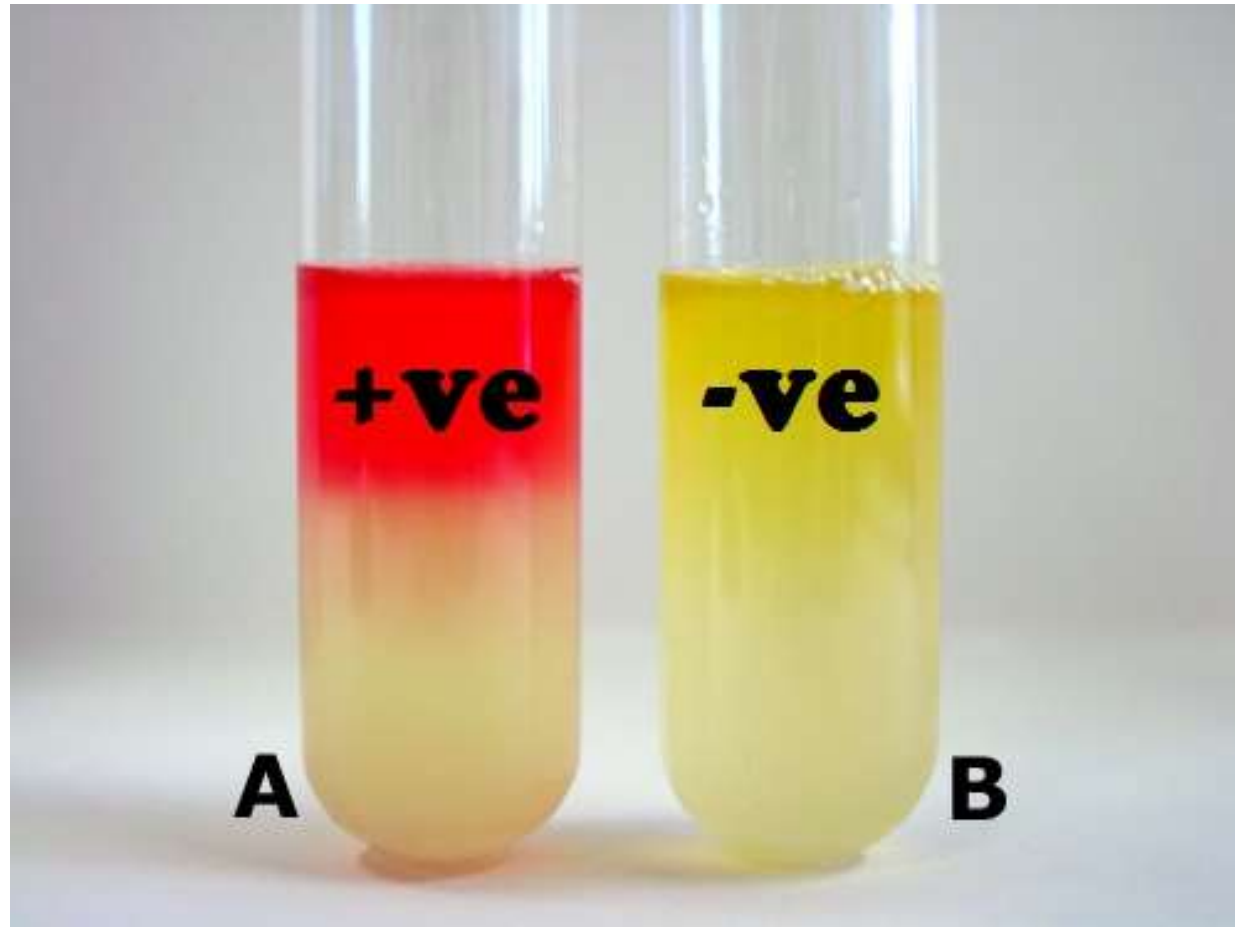
الآن عزيزتي دورك هو الآتي :

التعليق على التجربة ومناقشة التعليق



الآن عزيزتي دورك هو الآتي :

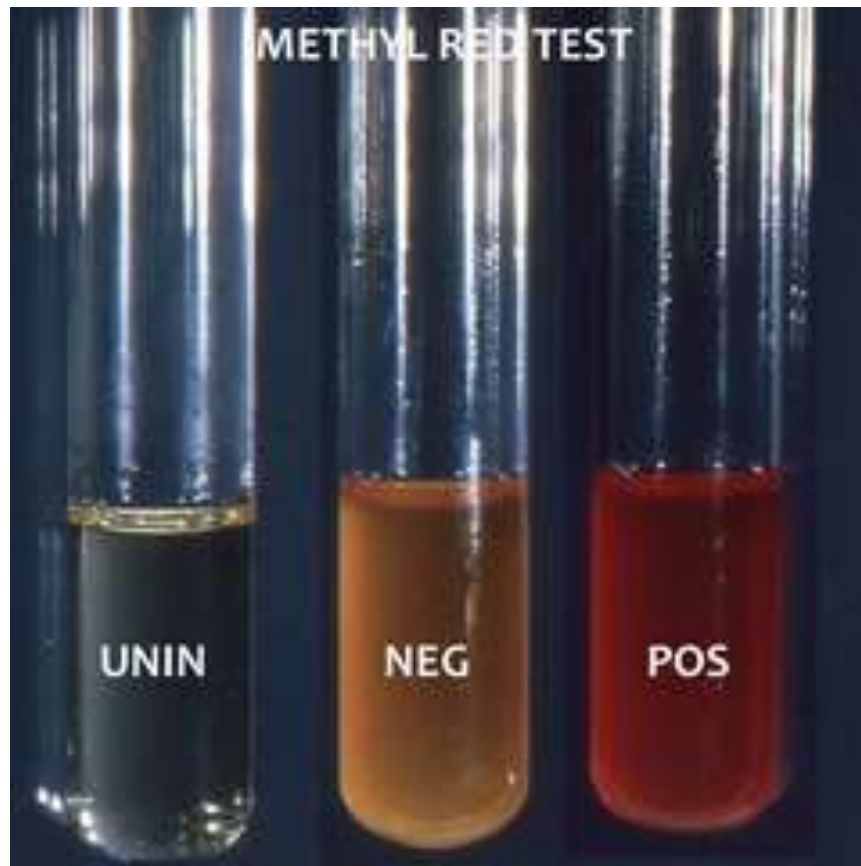
التعليق على التجربة ومناقشة التعليق



الآن عزيزتي

من خلال الشرح السابق، أي مما يلي يمثل النتيجة

الموجبة للاختبار السابق؟



الآن عزيزتي

من خلال الصورة التالية حددي الاختبار الذي يمثل
النتيجة الموجبة من اختبارات الكشف عن مجموعة
القولون؟



الآن عزيزتي

من خلال الشرح السابق، أي مما يلي يمثل النتيجة الموجبة لأحمر الميثيل؟





نهاية المعمل السابع

