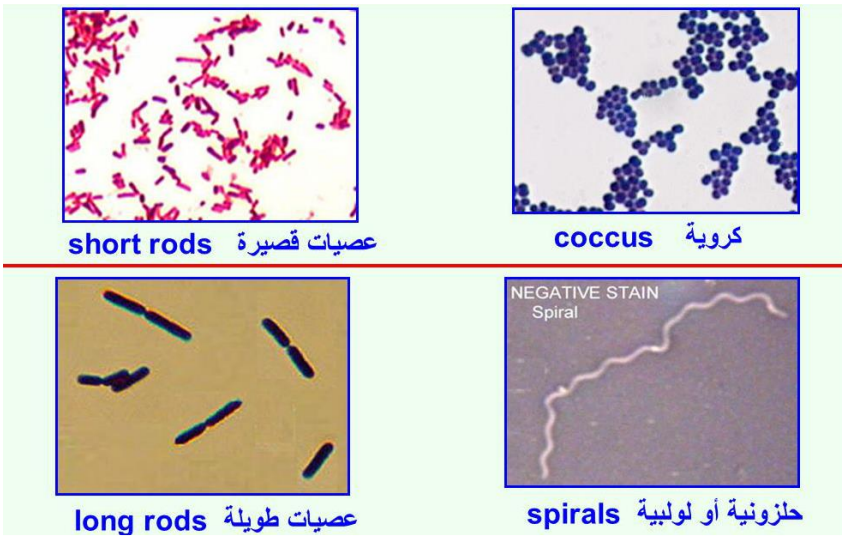
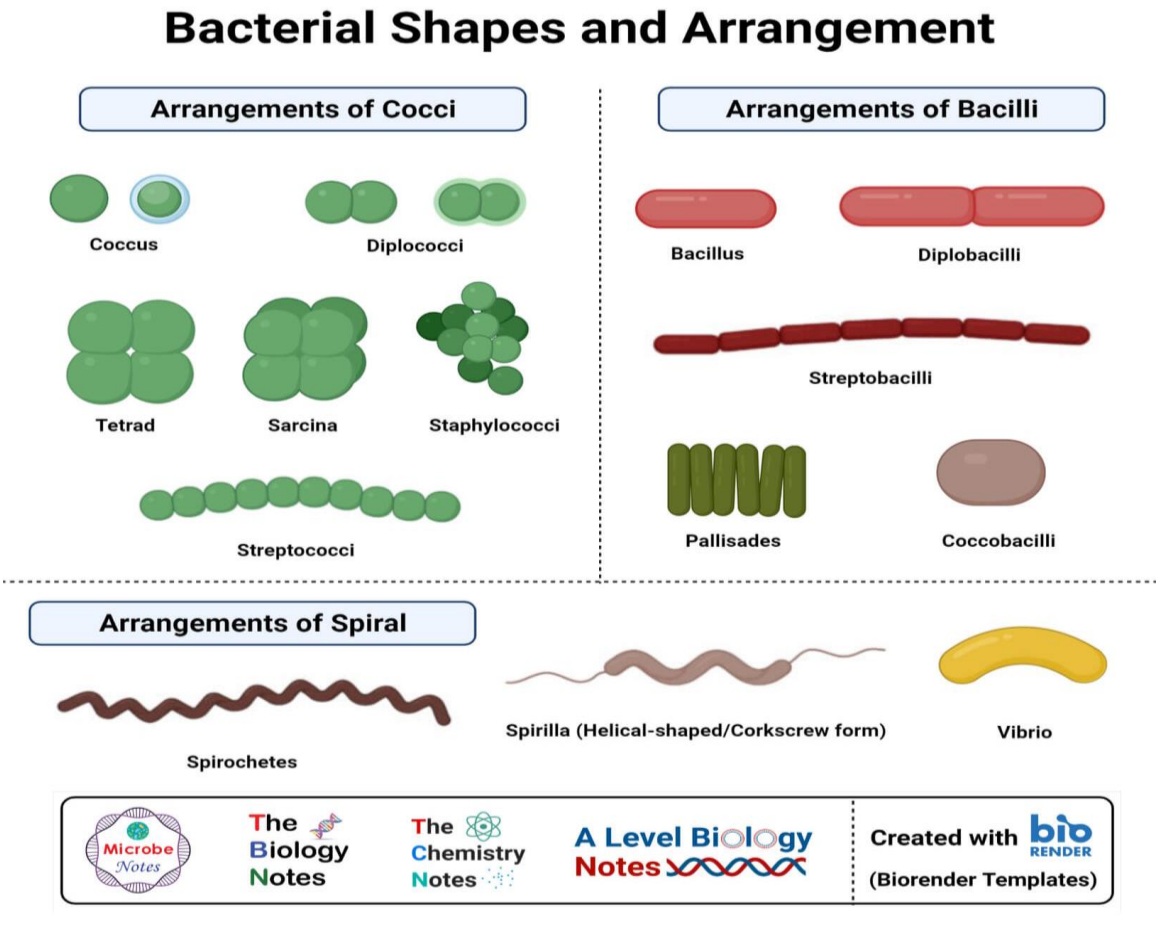
# Lab - 8

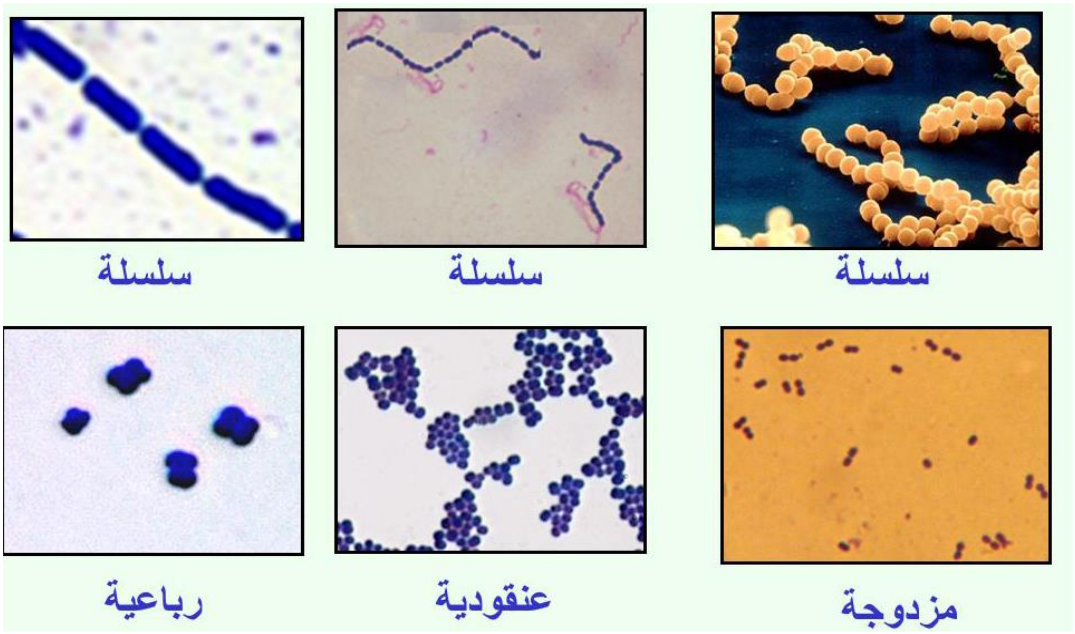
ثانياً- التشخيص المجهري للبكتيريا Microscopical Identification of bacteria: -
يتطلب فحص الجراثيم بالمجهر الضوئي اعطاء أوصاف لتلك الجراثيم من أجل تفريقها عن غيرها وبالتالي سهولة تشخيصها وتتضمن تلك الصفات :-




**1- الشكل shape: -**
أ- كروية
Coccus or spherical
ب- عصيات قصيرة
Short rods or Bacilli
ج- خيطية
Filament
د- حلزونية أو لولبية Spirals

**2- الترتيب Arrangement:-**
أ- منفردة singular
ب- مزدوجة Diplo
ج- سلسلة Strepto
د- رباعية Tetrad
ه- عنقودية Staphylo



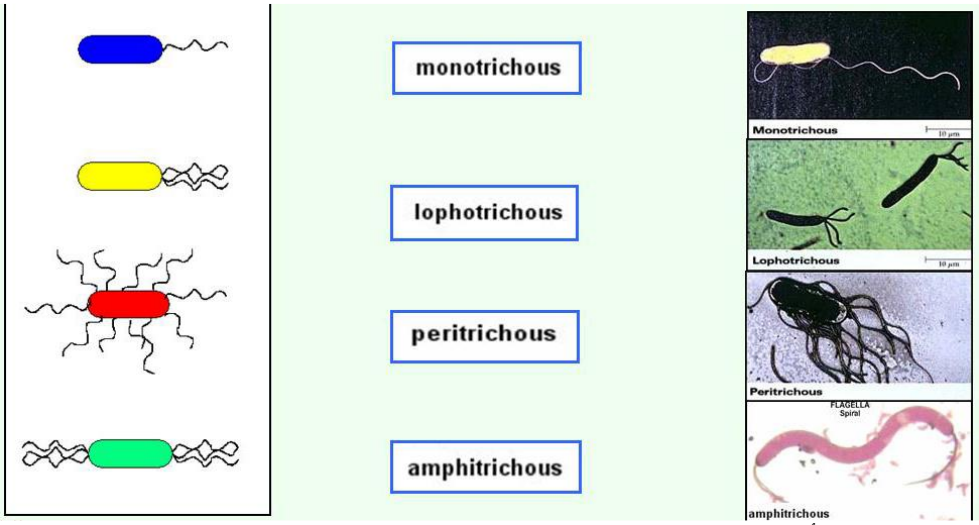



اعلاه أشكال حقيقة للخلايا البكتيرية تحت المجهر

س: اذكر خمسة امثلة لأنواع بكتيرية مختلفة لكل شكل وترتيب في الفقرة 1و2 أعلاه مع الرسم.

### 3- الحركة والأسواط :Motility and flagella -

الجراثيم إما أن تكون متحركة motile أو غير متحركة non-motile, وتعتبر الأسواط من التراكيب المهمة لحركة الجراثيم ويكون ترتيبها بعدة أشكال هي:-




س: اذكر خمسة امثلة لأنواع بكتيرية مختلفة تمتلك اسواط مع الرسم.

### 4- الأبواغ Spores: -

تختلف الأبواغ في شكلها وموقعها وحجمها بالنسبة إلى جسم الخلية الجرثومية وطبقا لهذه المواصفات فإن الأبواغ تكون كالتالي:-

أ- كروية وسطية

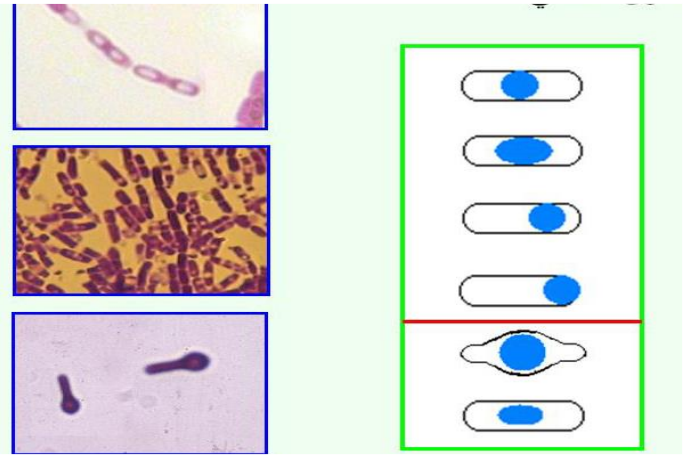
ب- بيضوية وسطية

ج- كروية تحت طرفي

د- كروي نهائي

ه- تسبب انتفاخ الخلية

و- لا تسبب انتفاخ الخلية



**5- المحفظة Capsule:-**

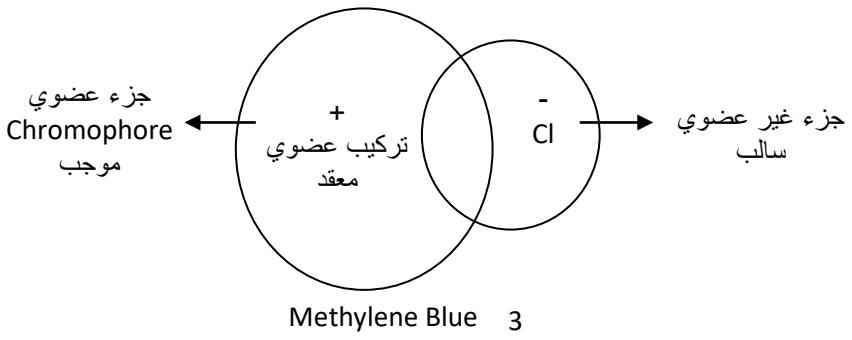
1-بكتريا ذات محفظة capsulated
2- بكتيريا غير حاوية على محفظة Non-capsulated bacteria

## الصبغات البكتيرية Bacterial staining

تمتاز الأحياء المجهرية بشفافيتها العالية وهذا يعني إنها تسمح بمرور الضوء من خلالها وبهذا يصعب تمييزها تحت المجهر وهي بحالتها الاعتيادية (غير المصبوغة) أي إنها لا تتميز كثيراً من الشريحة الزجاجية ومن هنا يتم تصبيغ Staining خلايا الأحياء المجهرية ولاسيما البكتريا لتسهيل دراستها او تفريق بعضها عن بعض حسب قابليتها على التصبغ بصبغة معينة دون اخرى ، ويمكن أن تلخيص الغرض الأساس من تصبيغ البكتريا كما يلي :

- جعل الخلايا البكتيرية قابلة للرؤيا تحت المجهر على نحو واضح.
- التصبيغ يساعد في تمييز الأشكال الخارجية للبكتريا وتمييز بعض أجزائها كالسبورات ( Spores) والكبسولة (Capsule) والاسواط Flagella

إذا ما هي الصبغات (Dyes) وما هي آلية التصبيغ ؟ الصبغات هي مواد كيمياوية مؤلفة من جزئين أحدهما عضوي وهو المسؤول عن التصبيغ ( أي منح خلايا البكتريا لون الصبغة ) ويسمى Chromophore والجزء الثاني غير عضوي مكمل قد يكون ايوناً سالباً أو موجباً مثل **صبغة المثيلين الأزرق** Methylene blueالذي يتألف من جزء عضوي موجب وجزء غير عضوي هو أيون الكلور السالب .




Methylene Blue

## خطوات عمل المسحة Smear

**1-** تؤخذ شريحة زجاجية نظيفة ونرسم دائرة في منتصفها وبعدها وتوضع فوقها قطرة ماء مقطر بواسطة Loop .

2- تسحب مسحة من النمو البكتيري من مزرعة البكتريا ويمزج جيداً مع قطرة الماء على الشريحة مع نشرها بواسطة Loop .

3 يجفف مزيج البكتريا وقطرة الماء على الشريحة تجفيفاً هوائياً او على الطبق الساخن المخصص للتجفيف ثم تثبت بإمرار الشريحة على اللهب وبذلك يتحقق التصاق الخلايا بالشريحة.

4 وبهذا تكون المسحة المجهرية جاهزة لعملية التصبيغ

**خطوات التصبيغ البسيط**

1. توضع قطرة من الصبغة المطلوبة ( صبغة المثيلين الازرق) على المسحة المحضرة وتترك لمدة 1-2 دقائق.
2. تغسل الصبغة بإمرار ماء حنفية جاري خفيف على الغشاء المصبوغ.
3. تجفف الشريحة هوائياً أو باللهب ثم تفحص الخلايا تحت المجهر على القوة الكبرى تحت العدسة الزيتية.
4. يتم الفحص من خلال **وضع قطرة من زيت السيدر في وسط الشريحة وتفحص بالمجهر الضوئي عند قوة التكبير X100**

**التصبيغ السالب Negative Staining**

يهدف هذا النوع من التصبيغ إلى التعرف على الشكل المورفولوجي للبكتريا حيث يستخدم فيه صبغات حامضية أي التي تتنافر مع خلايا البكتريا ذات الطبيعة الحمضية أيضا فيحدث إن الصبغة لا تدخل إلى داخل الخلية البكتيرية ولا تتصبغ بها فتبقى الصبغة خارج الخلية وتعمل على تلوين محيط الخلية بلون الصبغة المستخدمة .

وتتم عملية التصبيغ بأتباع الخطوات التالية :

1. توضع قطرات من صبغة النيكروسين (Nigrosin) قريباً من إحدى نهايتي الشريحة .
2. تؤخذ مسحة من النمو البكتيري من المزرعة بواسطة Loop تمزج مع الصبغة على الشريحة.

يتم نشر مزيج النمو البكتيري والصبغة على طول الشريحة بإمرار حافة شريحة ثانية نظيفة ويوزع المزيج على طول الشريحة الأولى.

تترك الشريحة إلى أن تجف تماماً وتفحص تحت المجهر باستعمال العدسة الصغرى ثم الزيتية حيث تلاحظ الخلايا شفافة ( غير مصبوغة ) تلألأ في محيط أسود مصبوغ بلون صبغة النيكروسين الأسود .