Ministery of Higher education and scientific research

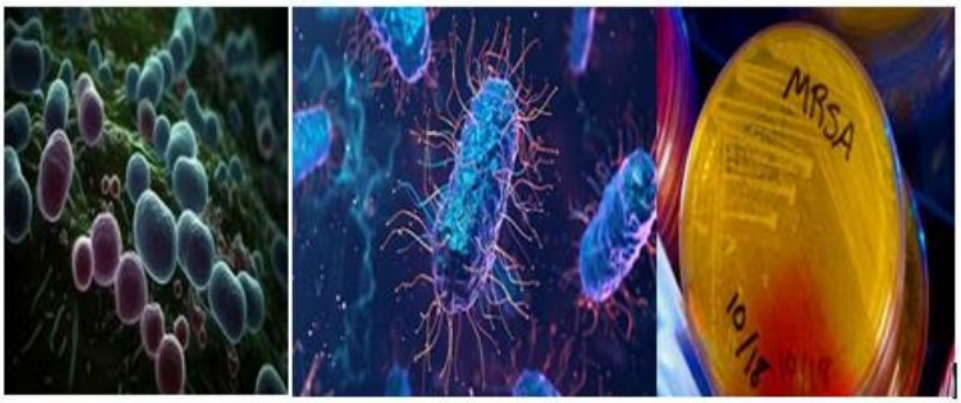
University of Tikrit

College of science

Department of Biology

Lab. of Practical Microbiology (1)

For second stage - 2025-2026



مدرس المادة .: بشرى علي كاظم

جامعة تكريت / كلية العلوم
قسم علوم الحياة
المادة: الاحياء المجهرية 1 العملي
المختبر الثامن
مدرسة المادة: بشرى علي

صبغة زيل ويلسون/ الصبغة المقاومة الحامض
Acid Fast Stain -Z-N Stain

تقنية التلوين التفاضلي التي طورها زيل أولاً، ثم عدّلها نيلسن لاحقاً. ولذلك تُعرف هذه الطريقة أيضاً بتقنيات **تلوين زيل-نيلسن** . في عام ١٨٨٣، استخدم نيلسن صبغة كاربول-فوشين الخاصة بزيل، ثم سخّنها، ثم أزال لونها باستخدام كحول حمضي، ثم صبغها بصبغة الميثيلين الأزرق. وهكذا تطورت تقنيات تلوين زيل-نيلسن.

الهدف الرئيسي من هذا التلوين هو التمييز بين البكتيريا إلى مجموعات مقاومة للأحماض ومجموعات غير مقاومة للأحماض.

تُستخدم هذه الطريقة مع الكائنات الحية الدقيقة التي لا تتلون بطريقة التلوين البسيطة أو طريقة تلوين غرام، وخاصةً أفراد جنس المتفطرة ، فهي مقاومة ولا يمكن رؤيتها إلا عن طريق التلوين المقاوم للأحماض.

مبدأ الصبغة

عند تلوين المسحة بصبغة كاربول فوكسين، فإنها تُذيب المادة الدهنية الموجودة في جدار الخلية البكتيرية، ولكن بتطبيق الحرارة، تخترق صبغة كاربول فوكسين جدار الخلية الدهني وتدخل إلى السيتوبلازم. بعد ذلك، تظهر جميع الخلايا باللون الأحمر. ثم تُزال صبغة المسحة باستخدام عامل إزالة اللون (3% حمض الهيدروكلوريك في 95% كحول)، ولكن الخلايا المقاومة للأحماض تُقاوم ذلك بسبب وجود كمية كبيرة من المادة الدهنية في جدارها الخلوي، مما يمنع اختراق محلول إزالة اللون. أما الكائنات غير المقاومة للأحماض، فتفتقر إلى المادة الدهنية في جدارها الخلوي، ولذلك تُزال صبغتها بسهولة، فتصبح الخلايا عديمة اللون. ثم تُصبغ المسحة بصبغة مضادة، وهي أزرق الميثيلين. تمتص الخلايا التي أُزيل لونها فقط الصبغة المضادة وتكتسب لونها فتظهر باللون الأزرق، بينما تحتفظ الخلايا المقاومة للأحماض باللون الأحمر.

خطوات العمل

1. حضر نسخة من عينة القشع أو مزرعة بكتريا السل النقية الموجودة في المختبر.
2. اترك المسحة تجف في الهواء ثم ثبّتها بالحرارة بانرار السلايد من الاسفل على لهب مصباح بنزن.
3. أغمر النسخة بصبغة كاربول فوكسين الحمراء.

4. سخّن الصبغة حتى يبدأ البخار بالتصاعد (أي حوالي 60 درجة مئوية). لا تُسخّنها أكثر من اللازم. اترك الصبغة الساخنة على الشريحة لمدة 5 دقائق.

تسخين الصبغة: يجب توخي الحذر الشديد عند تسخين صبغة كاربول فوكسين، خاصةً إذا تم التلوين فوق صينية أو وعاء آخر تراكمت فيه مواد كيميائية شديدة الاشتعال من عمليات تلوين سابقة. ضع كمية قليلة من اللهب أسفل الشرائح باستخدام مسحة مشتعلة مُبللة مسبقًا ببضع قطرات من الكحول الحمضي أو الإيثانول أو الميثانول بتركيز 70% حجم/حجم. لا تستخدم مسحة كبيرة مشبعة بالإيثانول لأن ذلك يُشكل خطرًا للحريق.

5. اغسل المسحة بالماء النظيف.

ملاحظة: إذا لم يكن ماء الصنبور نظيفًا، اغسل البقعة بالماء المفلتر أو بماء المطر المغلي النظيف.

6. غطِّ المسحة بكحول حمضي بتركيز 3% لمدة 5 دقائق أو حتى يصبح لونها ورديًا باهتًا.

تنبيه: الكحول الحمضي قابل للاشتعال، لذا استخدمه بحذر بعيدًا عن اللهب المكشوف.

7. اغسل جيداً بالماء النظيف.
8. قم بتغطية المسحة بصبغة الميثيلين الأزرق (يمكن استخدام الأخضر المالاكيت أحيانًا) لمدة 1-2 دقيقة، مع استخدام وقت أطول عندما تكون المسحة رقيقة.
9. اغسل المسحة بالماء النظيف.

١٠-امسح الجزء الخلفي من الشريحة جيدًا، وضعها في رف تجفيف حتى تجف .

١١- افحص المسحة مجهريًا باستخدام العدسة الشيئية ذات الغمر الزيتي X100.

قراءة النتيجة

بكتريا السل تظهر بشكل عصيات حمراء .

باقي أنواع البكتريا تظهر بلون ازرق .