① علم الأحياء الدقيقة Microbiology يدرس ← الكائنات الحية الدقيقة Microorganism.
- منفعة الضار المسبب للأمراض
- وفساد الأغذية
- النافع ذو الأهمية الاقتصادية والبيئية

Fungi ④ فطريات ③ بروتوزوا Protozoa ② بكتريا Bacteria ① فيروسات Viruses

② التعقيم Sterilization: التخلص من جميع الكائنات الحية سواء بالإبادة أو الإزالة
- لدراسة كل ميكروب على حدى في وسط خالي من الميكروبات وأماكن معقمة.

الإزالة بالترشيح ← الإبادة (أنواعه) ← طبيعياً / كيميائياً

بالحرارة (جافة / رطبة)

بالأشعاع Radiation

* تتلف مكونات الخلية الميكروبية وتحدث Denaturation فتفقد الخلية قدرتها على النمو والتكاثر.
ملحوظة: الحرارة الرطبة أكفأ من الجافة؟
لأن فيها جزيئات الوصول للحرارة

عند تعرض الخلايا للإشعة خاصة قصيرة الطول الموجي تحدث تفاعلات كيميائية ضوئية تؤدي لتلف مكونات الخلية.
أنواع: أشعة مغناطيسية - حرارية - موجية (α-β) - موجية - فوتونية - فوتونية بتقسيمة

الحرارة الجافة ← لهب بنزن مباشر Sterilization by Flaming
- تصل الحرارة لـ 1560
- لا يؤثر على الخواص.
- يُعقم: ذات حدة
* إبرة التلقيح (المستعملة لمرة)
* الشرائح الزجاجية
* الشوكات
* المشارط والملاقط
يعقمها بالكحول حتى لا تسود.
- يظهر في صورة مخروط بين الداخلي لزرعه

المعقم بالهواء الساخن ← Hot air sterilizer
- مزدوج الجدار مصدر حراري وثرموستات وأرفف منثقبة.
- الحرارة (160 - 180)
h 2 - 3
- يُعقم: أطباق بتري الماصات الزجاجية - الأنابيب والزجاجات الفلاسكات الزجاجية
- توضع الأدوات قبل بدأ التشغيل لعدم قطع الوقت
- عدم ازدحام الأجهزة ليمر الهواء بين الأدوات بسهولة
- عدم فتح الجهاز إلا بعد خفض الحرارة.

الأدوات التي تعقم بها ← الأدوات الطبية البلاستيكة.
- تعقيم حجرات العمليات معامل زراعة الأنسجة
- حفظ بعض المواد الغذائية

هناك طريقة كاسة بين الأول الموجي للأشعة والطاقة المنبعثة منها.

R.M :")

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

- التعقيم بالحرارة الرطبة :-

أ تحت ضغط عالى

- جهاز الأوتوكلاف
- يغلى السائل عند تساوى ضغط البخار مع ضغط الوسط المحيط
- كلما ارتفع الضغط على سائل زادت درجة غليانه
- وعاء مزدوج الجدار ليتحمل ضغط عالى.
- به (مانوميتر لقياس الضغط، وثرموستات لضبط الحرارة)
- وجهاز للتحكم بالوقت.
- يوجد به سبت صدأ لك توضع به الأدوات.

ضغط	حرارة	وقت
atm ½	١١١ م	Mint ٣٠
atm 1	١٢١ م	Mint ٢٠-١٥
atm 1,½	١٢٨ م	Mint ٥

ب تحت ضغط جوى عادى

- (تعقيم متقطع بالبخار) آرنولد
- تعقيم على ١٠٠ م لمدة ٣ أيام متتالية
- وحرارة (30 - 37) Mint 30
- يعقم المواد التى تتغير خواصها بعد ١٠٠ درجة
- كالبيئات المحتوية على السكر - سكر حليب

(بيئة غذائية + جراثيم) اليوم الأول ٣٠ م ٢٤ ساعة ← بيئة غذائية (جراثيم)

(بيئة غذائية معقمة) اليوم الثالث ١٠٠ م ٣٠ د

(خلايا خضرية + جراثيم) اليوم الثانى ١٠٠ م ٣٠ د ← (خلايا خضرية + جراثيم)

٢٤ ساعة ← (جراثيم) ٣٠ م ← (خلايا خضرية + جراثيم) ١٠٠ م ٣٠ د

لأن الهواء يردع التوصيل الحرارى

لضمان الكفاءة (يملأ الحيز الداخلى بالبخار ويطرد الهواء) ويؤدى لتقليل درجة الحرارة.

ضغط	بخار	حرارة
1	١٠٠ ٪	١٢١ م
1	٧٥ ٪ بخار + ٢٥ ٪ هواء	١١٥ م
1	٥٠ ٪ " + ٥٠ ٪ "	١١٢ م

- زيادة الحرارة المعرضة
- العاد المحضر
- البلاطى
- أجهزة الترشيح
- الخراطيم والسدادات
- البيئات الغذائية التى لا تحوى سكر

⇐ يُعقم ← المواد التى لا تتغير خواصها بارتفاع الحرارة عند ١٠٠ م

⇐ المواد الحرارية تأخذ وقت أطول عن الحقيقة؟؟

- فيها زيوت ودهون يأخذ وقت أطول

⇐ المواد المتعادلة تأخذ فترة أطول عن القلوية والحامضية؟؟

- فيها خلايا ميكروبية عالية

⇐ الضغط الفعلى = الضغط الحقيقى + ضغط الأوتوكلاف

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

بروتين + مادة وراثية ← تسبب تلف الخلايا الميكروبية

التعقيم بالمواد الكيميائية: ← تفقد الأغشاء اللازمي خاصية النفاذية الاختيارية

مواد قاتلة ← مقسم إلى ← مواد مثبطة للنمو الحافظة:

Disinfectants 5% ← Antiseptics ← (الأكتيك - البنزويك - الخليك - حمض اللبنيك - كحول - فينول - كريزول - كلوروفورم - خور الأكسجين / السوربيك)

يُعقم: القشات - الأيدي - الدم (يضاف كلوروفورم 25 و٪) حمام مائي ← تيطاير أبيوهما.

← لا يعقم البيئة الغذائية لأنه يقتل الميكروبات المراد تنميتها.

التعقيم بالإزالة: "Filtration" تحجز الخلايا الميكروبية (بكتيريا وميكروب) قطره أقل قطره.

- يعقم السوائل المتغيرة بالحرارة أغشاء (سكريات ← تتكربن بالحرارة)

① بروتينات - إنزيمات - أحماض أمينية ← تتحلل ② سيرم الدم ← يتحلل

③ بيكربونات صوديوم ← تحول لكربونات صوديوم ④ اليوريا ← تتحلل *

⑤ الفيتامينات - الهرمونات - الأوكسينات.

أنواع المرشحات: ① الغشائي ② الزجاجي ③ زايتس ④ بركفيلد ⑤ تشمبرلاند

ترشيح صد خلال قرص: ألياف زجاجية - قرص سيك - شمعة صد الخزف - شمعة صد أغلفة الدياتوما الحمر مصقول

- ترابات أوخارات سيلوز - مضغوطة - صد بسكويت (طحالب)

احتياطات: ① قبل الترشيح: يعقم الجهاز بالفحص وبركرافت في الأوتوكلاف.

② بعد ": ينظم المرشح ① ماء في الاتجاه العكسي ② حمض كبريتيك مركز ③ يغسل بالماء المقطر للتخلص من القلوي أو الحمض / ساخنة وضغط 5 ٪ للتخلص من البروتينات.

اختبار كفاءة التعقيم: "Test Sterility" يتم إجراءه على جميع البيئات والسوائل المعقمة.

المعقم ← بالحرارة ← عينة البيئة على 30 م° لمدة 48 h

- الاستدلال بعدم ظهور نموات ميكروبية

المعقم ← سوائل المترشحة ← تلقيح جزء من السائل المترشح في بيئة غذائية معقمة ثم التحضين

- عدم ظهور نموات ميكروبية.

تحفظ الأدوات المعقمة بـ (القطن غير الماص).

يسمح بمرور الهواء ← يحجز الميكروب الخارجي ← يسمح بمرور O_2 لتنفس الميكروبات

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الميكروسكوب

أجزاء ميكانيكية

- القاعدة
- الذراع
- المسرح
- الضابط الكبير (معدل تقريبي)
- الضابط الصغير (معدل دقيق)

أجزاء بصرية

- المرآة
- المكثف
- الجهاز المكبر
  - عدسة عينية
  - عدسة شيئية

① عدسة صغرى	8-10X	ضعيفة	لأسفل
② كبرى	40-45	متوسطة	في المنتصف
③ زيتية منغمسة	90-100	قوية	لأعلى

أصغر فتحة ← أضف فتحة ← مفتوح تماماً

قوة تكبير ↑ قوة الإضاءة ↑ موضع المكثف ↑ فتحة الحجاب الحاجز

طرق صبغ الميكروبات

بسيط
يستخدم نوع واحد من الصبغة.
لدراسة الشكل المورفولجي للخلايا الميكروبية.

- أحمر الفوكسين
- صبغة حامضية قوية
- صبغة الصبغ من كولد Mint
- لا تستخدم في صبغ البكتريا
- العالقة في وسط قابل للتلوين.

- أزرق الميثيلين
- قاعدية ضعيفة
- من ٣ له تقابله
- تستخدم في صبغ البكتريا
- العالقة في وسط قابل للتلوين

مركب
يستخدم نوعين من الصبغة.
الأهمية محققة على الطريقة المستخدمة.

① الخلايا العصوية الطويلة (Bacilli)

عصوية طويلة	عصوية طويلة غير منجرة
منجرة تخم بجرثومة وعصية	في سلاسل
أحمر فوكسين	

Bacillus subtilis

② الخلايا الكروية (Cocci)
- مفردة أو تجمعات غير منتظمة
- أحمر الفوكسين
- ex MicroCocus

③ البكتريا الخيطية Actinomycetes
- هيفات طويلة رفيعة
- متفرعة غير مقسمة
- بجدر عرضية تتكاثر
- بالكونيديا
- أحمر فوكسين

④ خلايا حلزونية Spiral (مفردها Spirillum)
- مفردة غير منجرة
- أحمر الفوكسين
- ex Escherichia

⑤ خلايا فاصلة أو Vibrio
واوية الشكل

⑥ أشكال الفطر Fungi

Yeasts	Molds
خمائر بيضاوية توجد في مجاميع غير منتظمة تتكاثر بالتبرعم	خيطية طويلة سيكة مقسمة بجدر عرضية تتكاثر بالكونيديا

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

محاضرة ١٣، ٤

مع صورة ذاتية

١ تعريف البيئة الغذائية: الوسط المحتوى على جميع العناصر الغذائية.

أهميتها: (تنقية - إكثار - عزل - حفظ - دراسة) الميكروبات.

شروطها: (توافر مصدر طاقة - كربون - نيتروجين - أملاح معدنية - ماء - هواء - عوامل مشجعة للنمو - درجة PH).

معايرة ورمز PH. - جهاز PH meter - الأحالة ومقارنة جهاز الأولوية

طرق التعقيم: ① الأوتوكلاف ← تتحمل البيئة حرارة أعلى من ١٠٠

② آرنولد ← لا " " " " " " "

③ المرشحات ← بيئة لا تتحمل أي حرارة ويسهل ترشيحها.

تجميدها: إضافة مادة مجمدة لا علاقة لها بالقيمة الغذائية ليسهل تداولها.

آجار	جيلاتين
- كربوهيدراتية معقدة من طحالب بحرية Gelidium لا تحللها الميكروبات.	- بروتينة ناقصة من كولاجين في أظافر الحيوانات تحللها بعض الميكروبات التي لها القدرة على افراز الجيلاتينيز
مداها الحراري 43 - ٥٥ يضاف بنسبة 1.5 - 2 % (سائل)	مداها الحراري 25 - 27 م° بنسبة 15 - 20 %

خطوات تحضيرها: (وزن المكونات وإضافتها للماء - طبخها بالغليان مع التقليب - ترشيح البيئة - ضبط PH - تعبئتها وتعقيمها).

تقسيم البيئات تبعاً للقوام:

① سائلة ← ② صلبة ③ شبه صلبة بنسبة 0.5 % آجار

بيوبتون (مغذي - سكريات - جيلاتين مغذي (يضاف الآجار 95 %

سكريات لاختبار التخمر اللبن) آجار " + سكريات + ترات صوديوم)

① البيوبتون المغذي Nutrien broth:

٣ جرام مستخلص لحم + 5 gm بيبتون

٣ جرام مستخلص لحم + تعقيم في الأوتوكلاف. + 7 PH

- لتنمية البكتريا بشكل مفاجئ

② بيوبتون سكريات:

بيوبتون مغذي + (5 - 10) gm سكر

7 PH - تعقيم في آرنولد

- لتنمية الميكروبات التي تحتاج لسكر مثل: الحمائر - لاكتوموسيتات

② بيوبتون السكريات لاختبار التخمر:

- بيوبتون سكريات + دليل حمضة وقلوية + أنبوبة دورهام مقلوبة - تعقيم في آرنولد - 7 PH - لاختبار المجاميع الميكروبية التي تخمر السكريات وتنتج حمض وغاز

③ بيئة لبن عباد الشمس:

- لبن غير طازج + دليل عباد الشمس 2 % - PH = ٦٥ - ٦٫٨ - تعقم في آرنولد للتميز والتعرف على الميكروبات تبعاً للتغيرات التي تحدثها في مكونات البيئة

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

البيئة الصلبة

[1] بيئة الآجار الغذائي Nutrient agar:
- بيئة بوليو غذائي + 15-20 gm آجار
- PH = 7 ، تعقم في الأوتوكلاف
- تستخدم في تنقية معظم الميكروبات والعزلات

[2] بيئات آجار السكريات مثل:
- بوليو سكريات + (10-20) gm آجار
- PH = 7 وتعقم في آزنولد
- غير الميكروبات المحتاجة للسكر مثل: الخمائر والأكتينوميسيات

[3] الجيلاتين الغذائي:
- بوليو غذائي + 150-200 gm جيلاتين
- PH = 7 - تعقم في آزنولد
- لدراسة قدرة الميكروبات لتحليل الجيلاتين

[4] بيئة ستراث الصوديوم:
- أملاح معدنية + ستراث صوديوم + آجار + دليل Bromo Thymol blue
- PH = 7 ويعقم في الأوتوكلاف لدراسة قدرة البكتريا على استخدام الستراث كمصدر وحيد للكربون

تقسيم البيئات تبعاً لطبيعتها:
- طبيعية: اللبن - اللحم
- تركيبية: غير مخلقة غير معروفة التركيب: مستخلص التربة - الدم - مهضوم النباتات
- مخلقة معروفة التركيب:
  - عضوية: الجلوكوز
  - معدنية: طحالب

تقسيم تبعاً للغرض من استخدامها:
- اختيارية Selective media: ستراث الصوديوم
- مفرقة Differential: (لبن عباد الشمس - بوليو السكريات لاختبار التخمر)
- بيئات اكثار Enrichment

المزارع الميكروبية: هي إدخال ميكروب حي أو نموه في البيئة الغذائية.

أنواعها:
1. نقية ← بها نوع واحد من الميكروب
2. مختلطة ← بها نوعين أو أكثر.

أو احتواء ميكروبات غير مرغوبة فيها تصبح مزرعة ملوثة Contaminated culture

كيف تتحول البيئة الغذائية إلى مزرعة ميكروبية؟

بيئة غذائية ← Inoculation (تلقيح) إدخال ميكروب للبيئة الغذائية المعقمة باستخدام إبرة التلقيح

بيئة غذائية معقمة (خلالها حية) ← Incubation (تحضين) توفير ظروف مناسبة (حرارة - هواء) باستخدام أجهزة تسمى المحضنة Incubator

مزرعة ميكروبية (بيئة غذائية + خلايا حية نامية)

تحضير الأنابيب عمودياً.
تحضير الأطباق مقلوبة.
يمثل ما تبخر العاء ويمنع تكثفه على السطح الداخلي لغطاء الطبق

(رفوف معدنية مثقبة - مصدر حراري - ثرموستات لحفظ الحرارة ثابتة)

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

أنواع المزارع :-
① مزارع صلبة (مائلة (slants) / عميقة / مهتزة / أطباق) — مقسمة حسب طبيعة النمو في البيئة
(slope cultures)
Stab // Shake // Plate //
② مزارع سائلة: Turbidity — النمو الميكروبي عكارة

طرق حفظ المزارع الميكروبية: حالة نقية دون حدوث تغير في الصفات المنيولوجية والمورفولوجية والفزيولوجية — إحداث تجفيد (تحت التجميد)
نقل المزارع على بيئات معقمة — حفظ في حرارة منخفضة في الثلاجة Lyophilization

انتشار البكتريا في الطبيعة :- صغير جمع، سهولة تعاملها بالهواء — سرعة تكاثرها وتنوع احتياجها الغذائي
أماكن خالية من البكتريا: الأنسجة الداخلية السليمة
الأعضاء البعيدة في التربة — داخل الصخور — والبراكين النشطة.

دراسة وصف المجموعات البكتيرية :-
بالعين المجردة — بالعدسة المكبرة
① الشكل الخارجي Form : دائري — أهليجي — مغزلي — متموج
التركيب Structure — الحافة Margin
② الارتفاع Elevation : مسطح — مرتفع — مدرج — محدب — مقعر / متراكم — مجعد
③ اللون Colour :- أصفر — وردي — ...
④ القوام Consistency : مائي — لزج — ثقيل — يابس
⑤ الانتشار Spread :- منتشر — محدود
⑥ الشفافية Transparency :- شفافة — نصف شفافة — معتمة

صبغة جرام :- صبغة لأنسجة العصابة بكتريا تأخذ الأنسجة لونه بنفسجي خفيف والبكتريا لونه بنفسجي غامق باختلاف صبغة الجنسيانا البنفسجي مع اليود داخل معقد بنفسجي + بزيله الكحول أو الاسيتون صد بكتريا G+ فزيله الكحول أو الاسيتون صد السالبة لجرام.

خطوات العمل :- ① الجنسيانا البنفسجي ② اليود ③ الكحول ④ أحمر الفوكسين

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

⇐ النظرية الأولى (الاختلاف في تركيب الجدار): جدار البكتريا G^+ بسيط يحتوي على Peptidoglycan ونسبة منخفضة من الدهون و G^- به نسبة عالية من الدهون ومعاملته بالكحول تذيب الدهون في جدار البكتريا G^- يخرج منها مواد كثيرة تخرج منها مركب الصبغة وصبغة G^+ لا يخرج منها المركب.

- النظرية الثانية (الاختلاف في تركيب البروتوبلازم):
- يختلف التركيب الكيميائي لبروتوبلازم الخلايا G^+ و G^- تتكون من (الجليكوجين واليود والبروتوبلازم) الخلايا G^+ تحتفظ باللون البنفسجي و G^- لا

⇐ أهمية صبغة جرام: ① تقسيم البكتريا لنوعين G^+ و G^-
② تشخيص بعض الأمراض
③ الكشف عن مقاومة المضادات البكتيرية.

(Escherichia coli) G^- < (Micrococcus _ Bacillus) G^+ ⇐

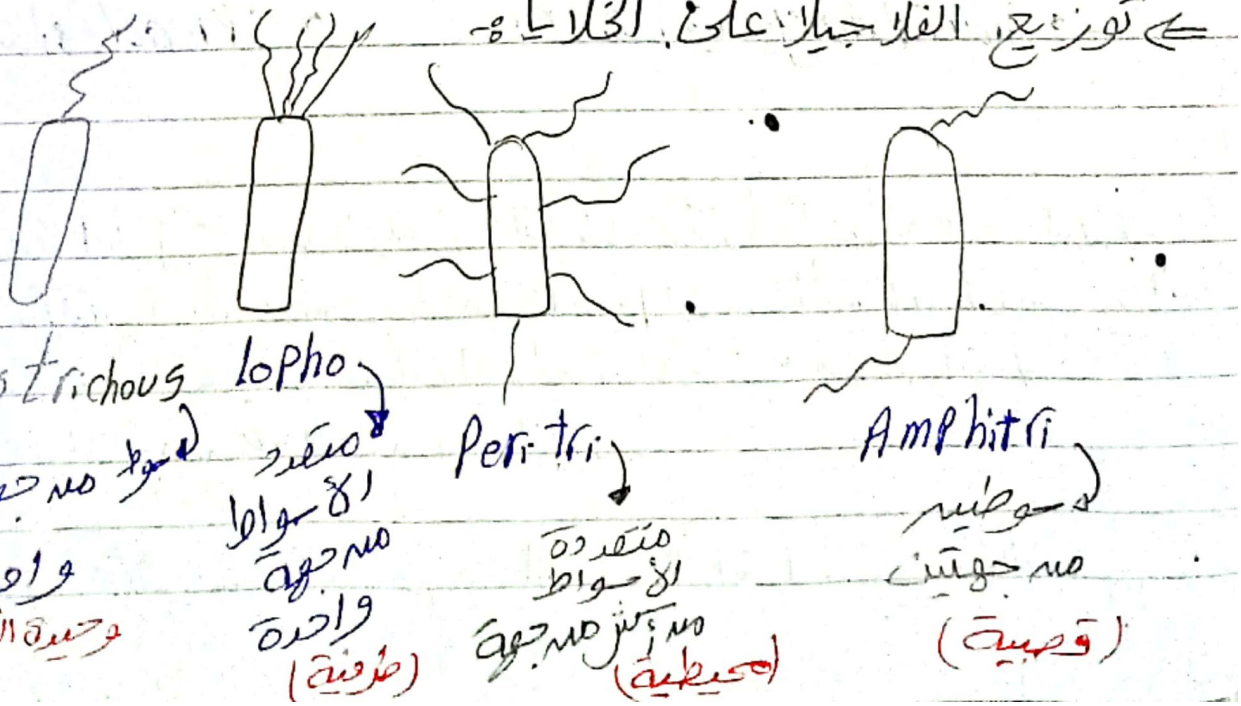
- حركة البكتريا (Motility of bacteria) (wet mount)

* الفلاجيلا Flagella مفردها Flagellum بكتريا متحركة.

⇐ دراسة حركة البكتريا:
اختبار النقطة المعلقة (مزرعة سائلة)

→ Bacillus subtilis and Saccharomyces cerevisiae

⇐ توزيع الفلاجيلا على الخلايا:



الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

محاضرة 5، 6

Pour Plate method

① طرق عزل البكتيريا وتنقيتها (طريقة الأطباق الصبوبة):

الهدف من العزل ← الميكروبات توجد مختلطة الأفي حالة (المرض - المزارع النقية)
لذا يجب عليها في مزارع نقية تحوي نوع واحد.
أهميته ← دراسة كل نوع من الخلايا البكتيرية في صورة منفردة لتميز خواصها و صفاتها.

طريقة الأطباق تعتمد تخفيف الخلايا التي تحملها عدة أبرة التلقيح بنقلها الصبوبة: فكرتها على عدة مرات مع الرج وبيئة الأجار المغذي العميق ثم صبها في الأطباق ثم التحضين فتنمو خلية معزولة طرزية نقية.

② طرق تنمية البكتريا اللاهوائية:

- obligate aerobes ← ① ميكروبات هوائية حتماً ← تحتاج O2 للنمو
  Bacillus. SP
- obligate anaerobes ← ② " لا هوائية " ← لا تحتاج "
  clostridium
- Micro aerophilic ← ③ " شحيحة الاحتياج إلى O2
  cambylobacter
- Facultative anaerobes ← ④ ميكروبات اختيارية
  - Micrococuss

← البكتريا اللاهوائية: نوع من البكتريا تنمو في غياب الأكسجين حيث أن وجوده يثبط أو يقلل هذه البكتريا.

طرقه: ① ميكروب لهوائي على آخر لاهوائي ② إمتصاص O2 ③ حجز البيئة عن التنفس: لا متصاص الأكسجين. بالمواد الكيميائية الأكسجين بالفاسير
④ الوخز في آجار الجلوكوز ⑤ المزارع ⑥ إحلال غاز خامل محل O2
العميقة (يلقح بالوخز بابرة المعبرة ذات عقدة - بيئة مسيلة) بجهاز ماكنتوش
مستقيمة - البيئة صلبة)

← إمتصاص الأكسجين بالمواد الكيميائية ← وضع قطنة مشبعة بـ NaOH والبيروجاليك لامتصاص الأكسجين.
تستخدم لتقدير احتياج الميكروبات للأكسجين.

← الفاسير ← بوبو حلوكوز يسخن في حمام مائي يغلى لـ 10 دقائق ثم يبرد مباشر

← جهاز ماكنتوش ← تلقح المزارع وتوضع في الجهاز لطرد الأكسجين بالزئبق
- توضع أنبوبة الدليل للتأكد من خلو O2 (جلوكوز + NaOH + أزرق الميثيلين)
- يحل H2 محل O2 - قفل الصمامات وتشغيل الجلف الكهربائي.
- تحضين الجهاز في المحضن.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

غير متجرثمة
متجرثمة - خطوط طويلة رفيعة :- Actinomyces [3] شكلة بجرام
[4] التأثير القابل للجفاف للبنسلين البنفسجي :- تتكاثر بالكويزيا - موجبة لجرام
يلقح النصف الأول من الطبق لجيكروب موجب لجرام Bacillus subtilis
و // الآخر // // // سالب لجرام E.coli
- التحضين على 30°م / 18-24 ساعة.
- تقتل البكتريا الموجب لجرام ولا يؤثر على السالبة لجرام.
[5] تأثير المضادات الحيوية على نمو الميكروبات :-
- ميكروب عينة مقاوم لتأثير المضاد الحيوي = ميكروب حساس للمضاد الحيوي
- منطقة خالية من النمو Inhibition (منطقة التثبيط)
يعتمد على ① نوع المضاد الحيوي Zone ② نوع الميكروب المختبر
③ تركيز المضاد الحيوي



[6] التأثير الديناميكي للمعادن الثقيلة :-
- حمالة قاسية توضع فيها قرص نيتروك 10٪ تحضين على 30°م / 24 h
- ميكروب عينة مقاوم لتأثير النحاس (حساس للنحاس).

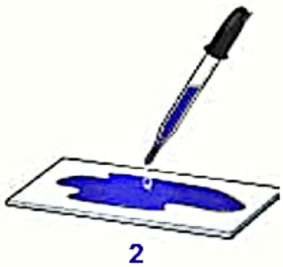
//

Done :)

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

خطوات صبغة جرام

1- تحضير الغشاء وتثبيته جيدا .



2

غمر الغشاء بصبغة الجنسيان البنفسجي لمدة 1 دقيقة

3- إزالة الزيادة من الصبغة في حوض الصبغ.

4- غسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.



5

غمر الغشاء باليود لمدة 1 دقيقة.

6- إزالة الزيادة من اليود في حوض الصبغ.



7

غسل الغشاء بالكحول 95% حتى تتساقط قطرات خالية من الصبغة.

8- غسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.



9

غمر الغشاء بصبغة أحمر الفوكسين لمدة 1 دقيقة

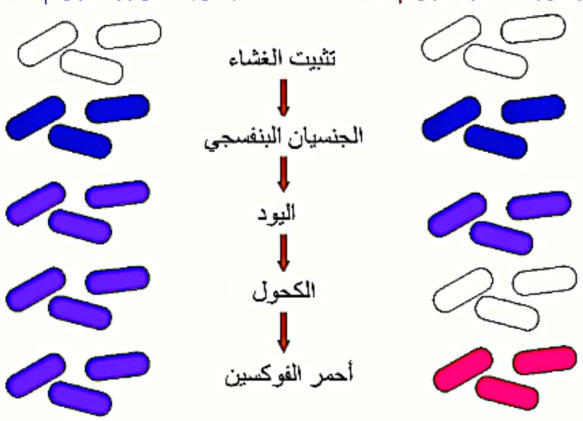
10- إزالة الزيادة من الصبغة في حوض الصبغ.

11- غسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.

12- تجفيف الغشاء باستخدام اللهب المباشر.

البكتريا السالبة لجرام G^-

البكتريا الموجبة لجرام G^+



الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

إختبار مدى إنتشار البكتريا في الهواء و التراب و الجلد

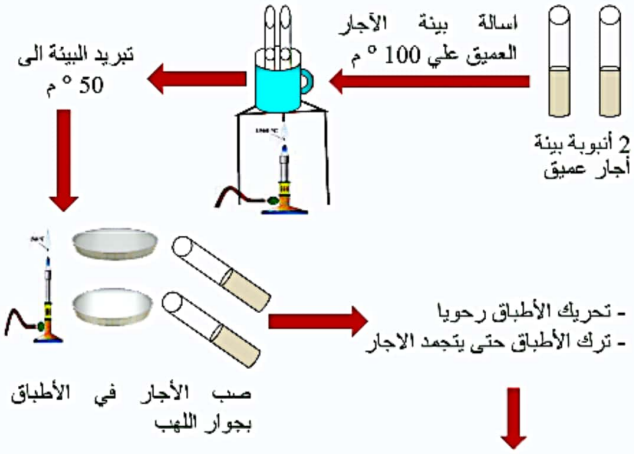
الأدوات المطلوبة:

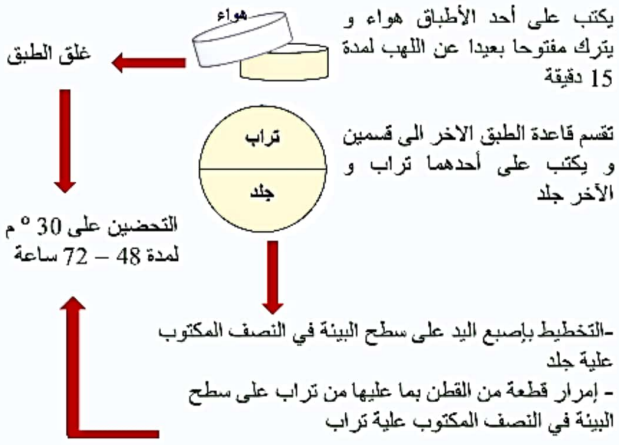
1- عدد 2 انبوبة اجار مغذي عميق معقم.

2- عدد 2 طبق بترى معقم.

3- حمام مائي.

4- ترمومتر.

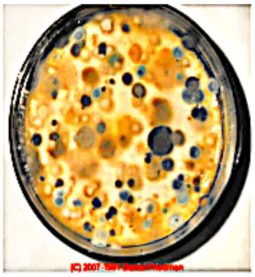




بعد التحضين:

تتكون مجاميع ميكروبية (مستعمرات Colonies) يمكن رؤيتها بالعين المجردة نتيجة لتكاثر الميكروبات وتكون عدد كبير من الخلايا.





الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

تختبر حركة الميكروبات بتحضير **النقطة المعلقة**.

خطوات تحضير النقطة المعلقة:

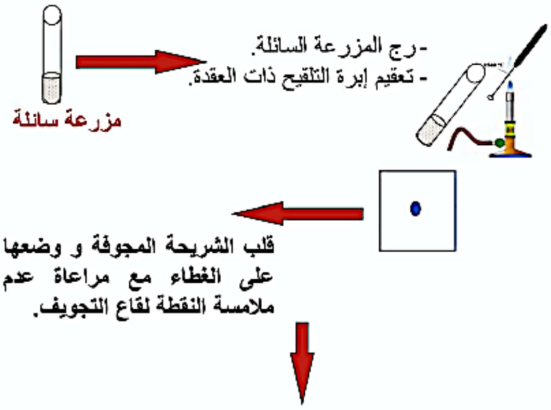
1- تنظيف شريحة النقطة المعلقة جيدا خاصة التجويف.



2- غسل غطاء الشريحة **Cover** بالماء وتجفيفه جيدا.



3- وضع الـ **cover** فى وضع أفقى.



رفع الشريحة وقلبها للوضع الصحيح بحيث يكون الترتيب من أعلى لأسفل كالتالى:-

الـ cover.
الصلصال وبداخل تجويفه النقطة المعلقة.
الشريحة الزجاجية.



خطوات فحص النقطة المعلقة بالميكرسكوب:-

أولا: ضبط حافة النقطة (أرفع خط لامع) بإستخدام العدسة الصغرى (x 10).

- خفض المكثف لأسفل نقطة ممكنة.
- غلق الحجاب.
- تقليل المسافة بين العدسة الصغرى و غطاء الشريحة بإستخدام الضابط الكبير.
- النظر في العدسة العينية و إبعاد العدسة عن غطاء الشريحة بإستخدام الضابط الكبير.
- بإستخدام الضابط الصغير و حركة الشريحة يتم ضبط حافة النقطة.
- جعل حافة النقطة في منتصف الحقل الميكروسكوبي.

ثانيا: تمييز حركة الخلايا بإستخدام العدسة الشيئية المتوسطة (x 40) مع إستعمال الضابط الصغير و دون تحريك الشريحة.

- جعل المكثف في المنتصف.
- فتح الحجاب نصف فتحة.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

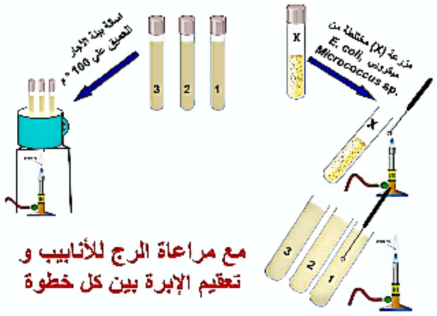
طريقة الأطباق المصبوبة
Pour plate method

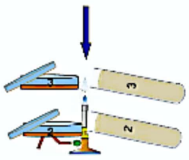
الأساس العلمي:-

تعتمد على تخفيف عدد الخلايا التى تحملها عقدة ابرة التلقيح بنقلها عدة مرات مع الرج الجيد فى بيئة الأجار المغذى العميق المسال ثم صبها فى الأطباق ثم التحضين فتنمو كل خلية منفردة مكونة لمجموعة ميكروبية نقية.

الأدوات المطلوبة:

1- مزرعة بويون مختلطة تحتوى على ميكروبى:-
Micrococcus* sp.+ *Escherichia coli
2- عدد 3 أنابيب بيئة أجار مغذى عميق معقم.
3- عدد 2 طبق بترى معقم.
4- حمام مائى.
5- ترمومتر.
6- أبرة تلقيح ذات عقدة.

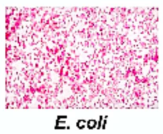


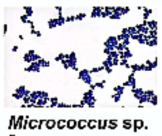


التحضين على 30 °م / 24 ساعة

إختيار مجموعة ميكروبية منفصلة وردية اللون لميكروب *Micrococcus* sp. و أخرى شفافة لميكروب *E. coli*

إختبار نقاوة كل مجموعة بعمل غشاء وصبغه بطريقة جرام





اذا كانت نقية

-التلقيح علي آجار مائل والتحضين على 30 °م / 24 ساعة



- إختبار نقاوة المزرعة بعمل شريحة و صبغها بطريقة جرام

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner