

التصبغ الخاص Selective or Special staining

السوط

عبارة عن آلة نانوية جزيئية متطورة مصنوعة من 25 بروتين مختلف تساعد البكتريا على السباحة في بيئتها عن طريق تدوير خيوط حلزونية صلبة ولها اعداد ومواقع مختلفة .

هناك عدة طرق للاستدلال على وجود الاسواط

1- طريقة التصبغ Flagella staining

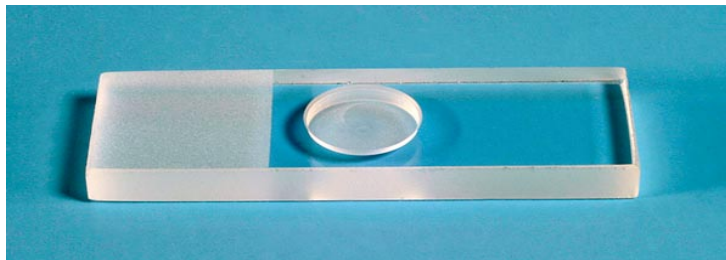
وفية تستخدم صبغات معدنية تترسب حول الاسواط تزيد من سمكها لكي تلاحظ تحت المجهر وهي عملية دقيقة لان السوط بسهولة ينفصل كذلك الصبغة تترك ارضية تجعل الاسواط صعبة الملاحظة ومن هذه الصبغات املاح الفضة وصبغة الفوكسين القاعدية.

2- طريقة القطرة المعلقة Hanging –Drop method

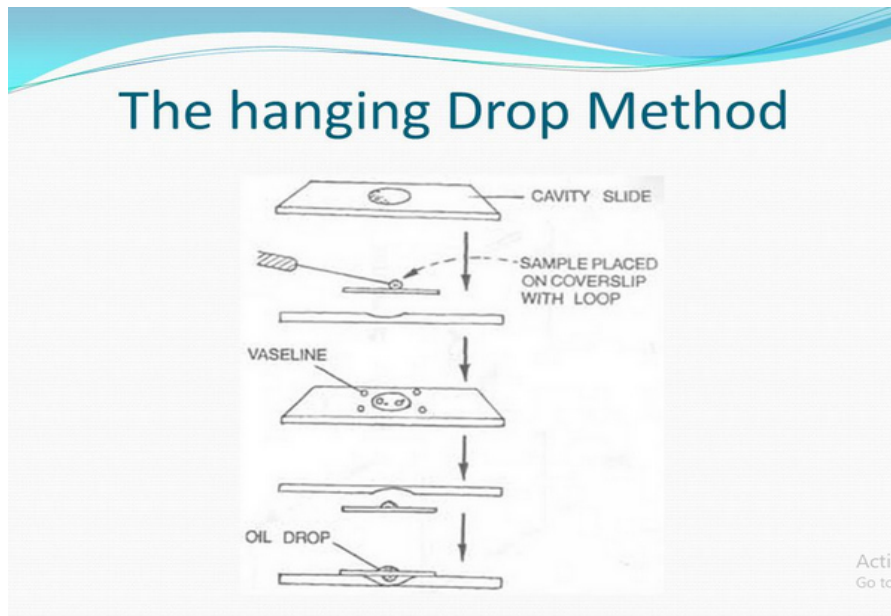
في هذه الطريقة يمكن ملاحظة حركة البكتريا وذلك باستخدام شريحة ذات فجوة (Cavity slid) وهنا يجب التميز بين الحركة الحقيقية للبكتريا التي تنتقل من نقطة الى اخرى والحركة غير الحقيقية وتمسى بالحركة البروانية Brownian movement التي تحدث بفعل التيارات المتولدة في السائل العالقة في الخلية البكتيرية التي لا تمتلك الاسواط وهذه الحركة لا تؤدي الى انتقال البكتريا من نقطة الى اخرى .

طريقة العمل :

- 1- نضع قطرة من العالق البكتريا في وسط غطاء شريحة زجاجية Cover slide
- 2- غطي حافتي الغطاء بالفازلين لماذا؟
- 3- خذ شريحة زجاجية ذات فجوة Cavity slide واقربها على غطاء الشريحة بحيث تكون قطرة المعلق في فراغ التجويف مع الضغط على الفازلين لماذا؟
- 4- تقلب الشريحة الى وضعها الطبيعي بسرعة بحيث تبقى القطرة معلقة في غطاء الشريحة داخل التجويف وتفحص تحت المجهر باستخدام العدسات ذات التكبير الواسع ثم تنتقل الى العدسة الزيتية .
- 5- في حالة عدم توفر الشريحة ذات الفجوة فستستخدم غطاء شريحة يوضع على حافتيه الطين الاصطناعي وفيها قطرة المعلق البكتيري وتقلب فوقها شريحة عادية وتقلب بسرعة وتفحص تحت المجهر.

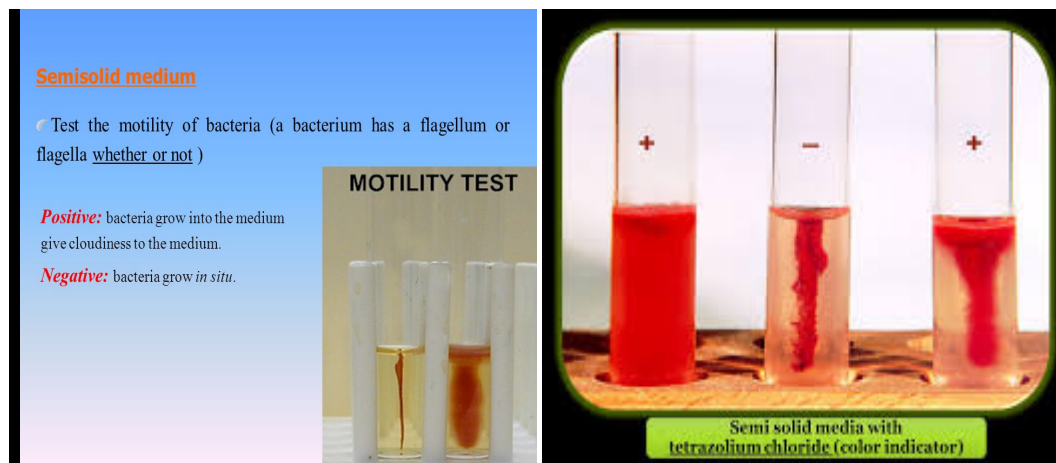


Cavity slide



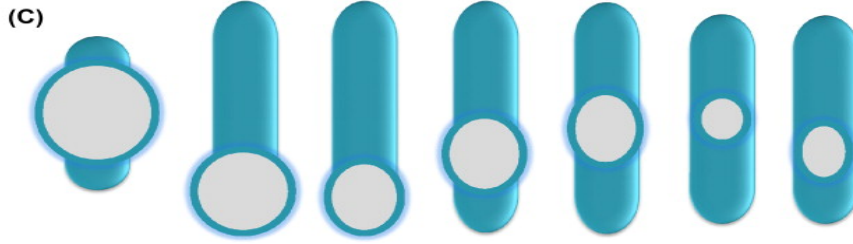
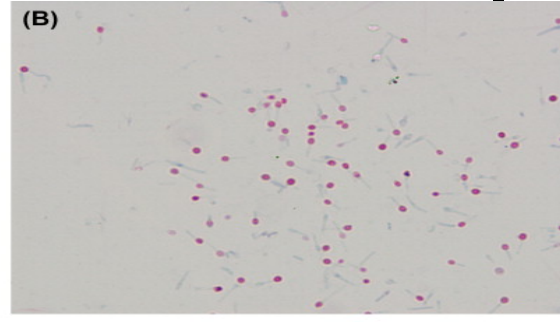
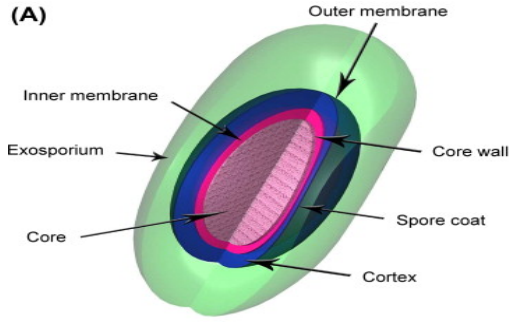
3- طريقة الطعن Stabbing method

وهي ملاحظة انتشار النمو للبكتريا Spreading growth خلال وسط زرعي نصف صلب Semi-solid media الموجود في الانبوبة من خلال طعن البكتريا بالوسط وملاحظة الانتشار بعد الحضانة



البوغ Spore

كثير من انواع البكتريا التي تكون ممرضة للانسان وخصوصا البكتريا الموجبة لصبغة كرام وكنوع من الوقاية من الظروف البيئية القاسية كالحرارة العالية والجفاف والمطهرات وقلة الاوكسجين تنتج في طور متاخر من النمو Stationary phase اجسام ساكنة صلبة مقاومة لتلك الظروف قد تكون كروية Spherical او Ovoid او elliptical تدعى السبور او البوغ والتي عند تحسن الظروف تنمو الى خلية خضرية من جديد قد تنشأ السبورات خارج الخلية وتسمى Exospores او تنشأ داخل الخلية وتسمى الابواغ الداخلية Endospore مواقعها كذلك مختلفة قد تكون وسط الخلية Central او طرفية Terminal او شبة طرفي Sub terminal اهم الاجناس التي تنتج الابواغ . *Bacillus cereus, Clostridium botulinum, Bacillus anthracis*



السبور

خطوات التصبغ للبوغ

- 1- حضر لطخة Smear من النمو البكتيري وجففها وثبتها بالحرارة .
- 2- اغمر اللطخة بصبغة Malachite green وسخنها على لهب مصباح بنزن حتى يتصاعد البخار من الصبغة ثم ابعد اللهب وانتظر مدة 5 دقائق (يستخدم التسخين لفتح مسامات جدران البوغ لكي تخترقه الصبغة لانه غير نفاذ بسبب تركيبه المكون ((Dipicolinic acid +Calicium+Peptidoglycan)) علما ان حامض الديكولينك غير موجود في الخلايا الخضرية هذا التركيب الفريد هو من يجعل البوغ يتحمل الظروف غير الملائمة .
- 3- اغسل الشريحة بالماء الجاري غسلا جيدا للتخلص من بقايا الصبغة .
- 4- اغمر الشريحة بالصبغة المغايرة وهي السفرانين لمدة 30 ثانية لصبغ اجزاء الخلية غير الابواغ .
- 5- اغسل الشريحة بالماء الجاري ثم جفف .
- 6- ضع قطرة زيت وافحص تحت العدسة الزيتية .



(اللون الاخضر يدل على السبور داخل او خارج الخلية الخضرية ذات اللون الاحمر)

المحفظة Capsule

هي عبارة عن طبقة متعددة السكريات جيلاتينية تفرز الى الخارج من الجدار البكتيري تصنع من الغشاء البلازمي من خلال ثقب الجدار الخلوي تحيط بالخلية البكتيرية وهي طبقة ليس من السهل ازلتها لها دور كبير في احداث الامراضية للانسان وهي من عوامل الفوعة المهمة تعمل المحفظة على حماية البكتيريا من الالتهام من قبل Phagocytosis من قبل كريات الدم البيضاء وكما تحميها في محيطها الخارجي بالنسبة للبكتيريا غير المرضية من الالتهام من قبل الابدائيات و تقلل من فقدان الخلية البكتيرية للمواد الغذائية المهمة وتساعد على تسهيل التصاق الخلايا بالسطوح الملامسة لماذا؟

Klebsiella pneumoniae, Neisseria meningitidis

خطوات الصبغة

1-ضع قطرة من صبغة India ink على السلايد ثم اصف القليل من النمو البكتيري وامزجها جيدا وانشر المزيج.

2- اترك المسحة تجف دون استخدام لهب لماذا؟

3-ضع قطرة زيت ثم افحص تحت العدسة الزيتية .

Capsule Staining

