

الدرس العملى الثانى عشر

الصبغ المركب

(المزدوج أو التفريقى)

٣- صبغ الألبكتيريا الصامدة (المقاومة)

للأحماض

بطريقة زيل نلسون

طريقة زيل نلسون لصبغ البكتيريا الصامدة للأحماض :

توجد بعض أنواع من البكتيريا تكسو جدرها الخلوية طبقة دهنية أو شمعية لا تسمح للصبغة بتخللها عند الصبغ بالطرق البسيطة أو المعتادة، ولهذا يستخدم لصبغها طرق خاصة يستعمل فيها محلول صبغة قوية تحتوي على مثبت للون Mordant كالفينول ، ويترك عليها مدة طويلة أو يسخن قليلاً، ومتى صبغت هذه الأنواع من البكتيريا تثبت فيها الصبغة ويتعذر إزالتها منها حتى بإستعمال كحول مضاف إليه حامض (الكحول الحامضى acid alcohol)، ولهذا الخاصية أطلق عليها لفظ الصامدة أو المقاومة للأحماض (acid fast).

تنحصر الطريقة الأساسية في الصبغ **بكربول الفوكسين** كصبغة أساسية ثم إزالة اللون **بالكحول الحامضى** ثم إضافة صبغة أزرق الميثيلين كصبغة مضادة.

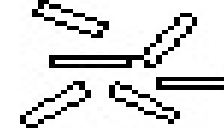
خطوات صبغ البكتيريا المقاومة للأحماض بطريقة زيل نلسون

البكتيريا الغير مقاومة للأحماض

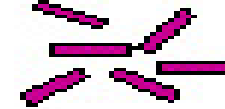
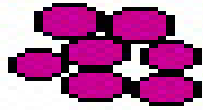


عمل غشاء وتثبيتته

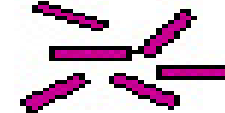
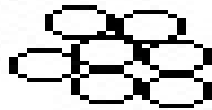
البكتيريا المقاومة للأحماض



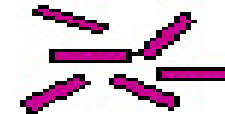
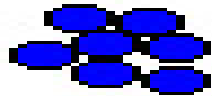
الصبغ بالصبغة الأساسية
بالكربول فوكسين



إزالة اللون
بالكحول الحامضي

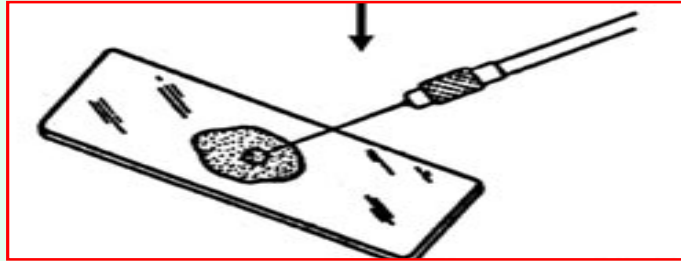
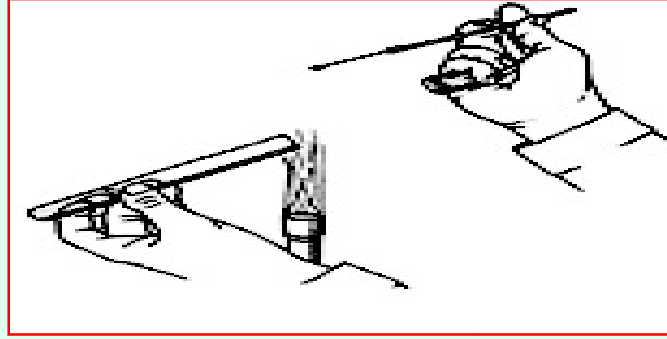


الصبغ بالصبغة المضادة
أزرق المثيلين



خطوات صبغ البكتيريا الصامدة للأحماض بطريقة زيل نلسون

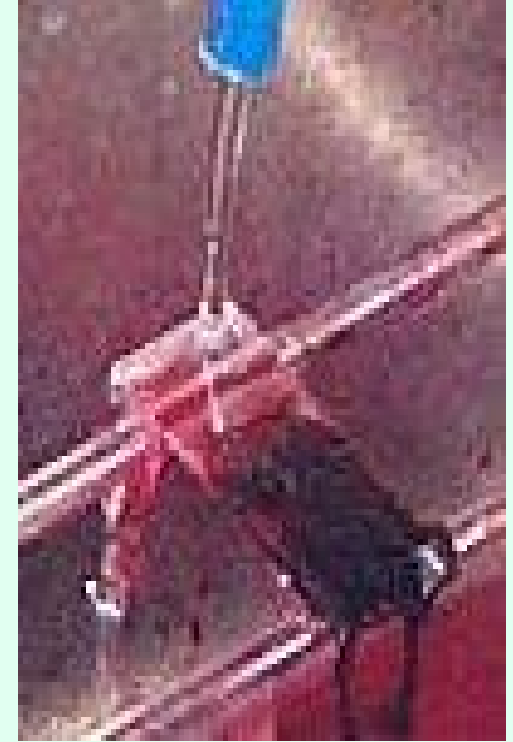
١- حضر غشاء من المزرعة الموجودة أمامك وثبته كالمعتاد



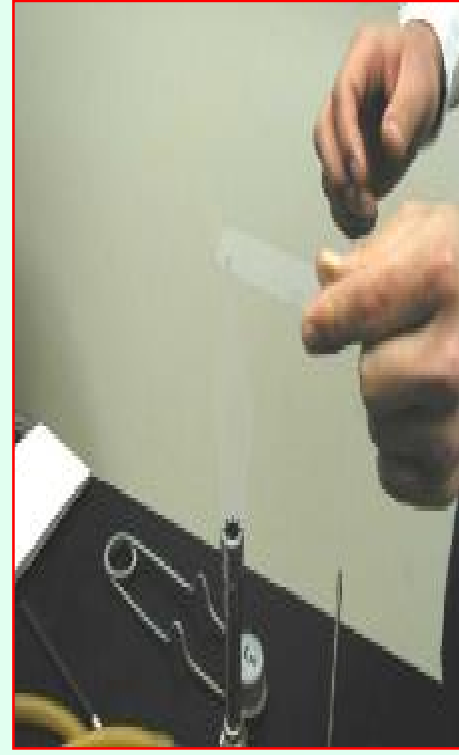
٢- أغمر الغشاء بصبغة الكربول فوكسين ثم سخن أعلى اللهب إلى أن يبدأ البخار في التصاعد فأبعد الشريحة عن اللهب ، وكرر ذلك (حوالي ٣- ٥ دقائق) مع مراعاة عدم جفاف الصبغة أو غليانها.



- ٣- تخلص من الصبغة المتبقية على الشريحة ثم اغسل الغشاء بالماء.
- ٤- اغمس الشريحة في كأس به كحول حامضى لبضع ثوانى حتى يصبح لون الغشاء أحمر باهت Faint pink ثم اغسل جيداً بالماء لإزالة أثر الحامض المتبقى.
- ٥- أصبغ الغشاء بصبغة أزرق الميثيلين لمدة دقيقة ثم اغسل الغشاء جيداً بالماء.

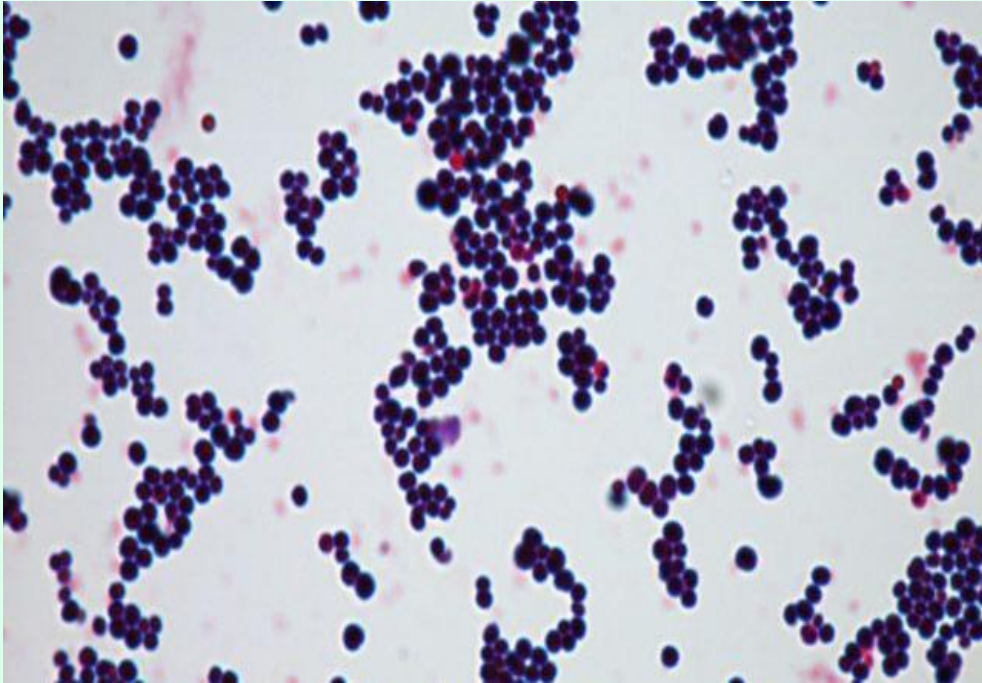


- ٦- جفف الشريحة كالمعتاد بين ورقتي نشاف ثم على اللهب.
- ٧- ضع نقطة من زيت السيدر على الغشاء.
- ٨- إفحص بإستخدام العدسة الزيتية ، وصف وإرسم ما تشاهده ودون نتيجة الصبغ.



الإسم العلمي : Micrococcus luteus

- شكل الميكروب : كروي
- نظام التجمع : مفرد أو في تجمعات غير منتظمة
- نوع الصبغ : مركب (صبغ البكتيريا الصامدة للأحماض)
- إسم الصبغة الأساسية : كربول فوكسين
- إسم الصبغة المضادة : أزرق الميثيلين
- لون الخلايا : أزرق
- النتيجة : سالبة



الإسم العلمي : Mycobacetiun phlei

- شكل الميكروب : عصى طويل ذو إنحناءة خفيفة
- نظام التجمع : مفرد
- نوع الصبغ : مركب (صبغ البكتيريا الصامدة للأحماض)
- إسم الصبغة الأساسية : كربول فوكسين
- إسم الصبغة المضادة : أزرق الميثيلين
- لون الخلايا : أحمر
- النتيجة : موجبة



يمكنك زيارة المواقع التالية على الشبكة الدولية للإتصالات

<http://www.textbookofbacteriology.net/Bacillus.html>

http://biosci.sierra.cc.ca.us/materials/4/illustrations/dorner_method.html

<http://www.sirinet.net/~jgjohnso/monerans.html>