



احياء مجهرية

Staining التصبيغ

المرحلة الرابعة

م.م ساره عبدالحميد حسن

التصبغ Staining:

ويقصد به توزيع الصبغة وتجانسها في الخلية الجرثومية . ان تصبغ الجراثيم يجعلها متمايزة او مرئية



بص يعتبر مصبوغه بترق شملين

وره واضحة بوساطة اللون الذي اكتسبته والذي يميزها عن محيطها مما يمكننا من

مشاهدتها بسهولة

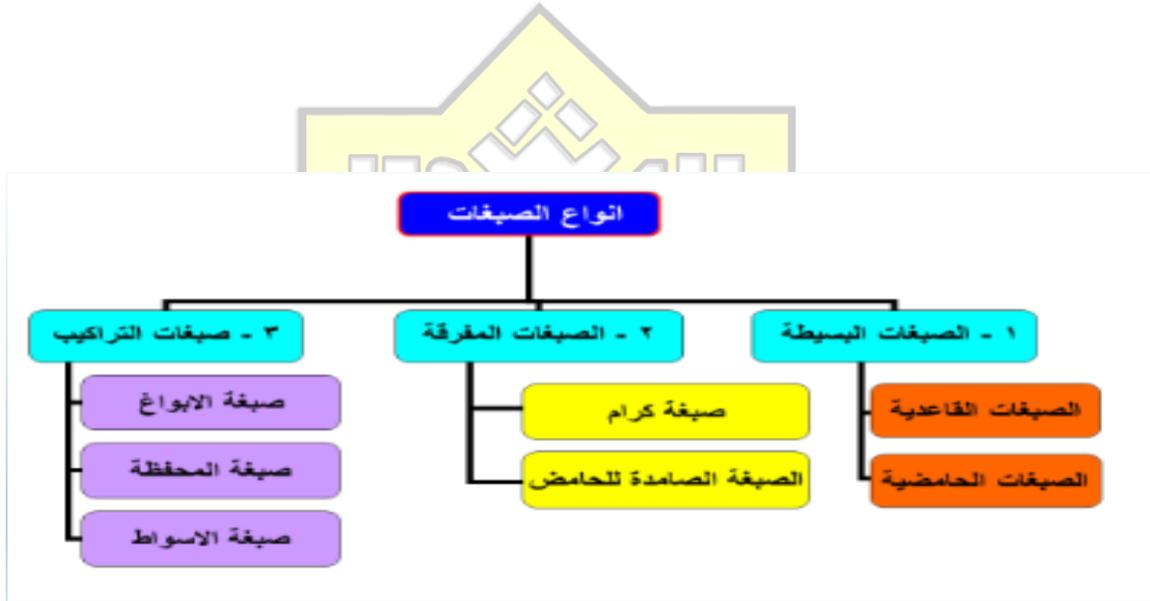
تصبغ البكتريا Bacterial Staining

تمتاز بعض الأحياء المجهرية بشفافيتها العالية وهذا يعني إنها تسمح بمرور الضوء من خلالها بكثافة عالية تقارب كثافة الضوء المار من خلال الشريحة الزجاجية تقريباً ، عليه فأن رؤيتها تحت المجهر وهي بحالتها الاعتيادية غير المصبوغة لا تكون واضحة أي إنها لا تتميز كثيراً من الشريحة الزجاجية ومن هنا يتم تصبغ Staining خلايا الأحياء المجهرية ولاسيما البكتريا ، بعبارة أخرى يمكن تلخيص الغرض الأساس من تصبغ البكتريا كما يلي :

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

الصبغات (Dyes) هي مواد كيميائية مؤلفة من جزئين أحدهما عضوي وهو المسؤول عن التصبغ (أي منح خلايا البكتريا لون الصبغة) ويسمى Chromophore والجزء الثاني غير عضوي مكمل قد يكون ايوناً

سالباً أو موجباً مثل صبغة المثيلين الأزرق الذي يتألف من جزء عضوي موجب وجزء غير عضوي هو أيون الكلور السالب .



تقسم الصبغات المستعمله في تصبغ الجراثيم الى ثلاث مجاميع

١. الصبغات البسيطة simple stains

الامثلة عليها:

*الصبغات القاعدية basic dyes

*الصبغات الحامضية acidic dyes

٢. الصبغات المفرقة (المركبة) compound stain

الامثله عليها:

* صبغة كرام gram's stain

٣. صبغة التراكيب structural stain

الامثلة عليها:

*صبغة الابواغ spore stain

*صبغة المحفظة capsule stain

*صبغة الاسواط flagellar stain

طريقة تحضير شريحة بكتيرية Smear

- تؤخذ شريحة زجاجية نظيفة وتوضع فوقها قطرة ماء بواسطة Loop.
- تسحب مسحة من النمو البكتيري من مزرعة البكتريا ويمزج جيداً مع قطرة الماء على الشريحة مع نشرها بواسطة Loop على مساحة ١ سم دائري واحد .
- يجفف مزيج البكتريا وقطرة الماء على الشريحة تجفيفاً هوائياً ثم تثبت بأحدى الطريقتين التاليتين:
- *تثبيت بالحرارة بإمرار الشريحة ثلاث مرات على اللهب يبعد ٢٠ سم عنها وبذلك يتحقق التصاق الخلايا بالشريحة .
- *تثبيت كيميائي بوضع عدة قطرات من كحول مثيلي ٩٥% لمدة دقيقة بعدها تميل الشريحة للتخلص من الكحول

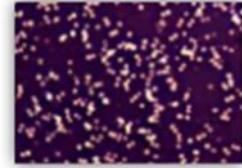
مسحة Smear : هو عبارته عن تحضير لخلايا بكتريا مجففة ومثبتة على الشريحة الزجاجية لغرض صبغها وفحصها

الصبغة البسيطة Simple stain

وهي اسهل واسرع في التصبيغ وسميت بذلك لاننا نستخدم صبغة واحدة في خطوة واحدة في خطوه واحده وتكون الاصباغ عبارته عن املاح اما تكون قاعدية تحمل شحنة موجبة مثل ازرق المثلين والنفسج البلوري او تكون املاح حامضية تحمل شحنة سالبة مثل السفرانيين
وبما ان البكتريا تعد جسم سالب الشحنة حسب شحنة الجزيئات الحيوية المكونه لتراكيبها وعند صبغ البكتريا بالاصباغ السابقة يحصل ما يلي :

* عند تصبغ البكتريا بصبغة قاعدية مثل ازرق الميثيلين فإن الصبغة تتجذب نحو الخلايا البكتيرية وبذلك تصطبغ الخلايا البكتيرية نفسها ويسمى الصبغ المباشر direct stain

* عند تصبغ البكتريا بصبغة حامضية مثل النكروسين فإن الصبغة تتنافر مع الشحنة السالبة للبكتريا وبذلك negative stain تصبغ الخلفية فقط ويسمى الصبغ السالب



بكتريا مصبوغة بصبغة النكروسين

خطوات عمل التصبغ البسيط :

_ نغسل شريحة زجاجية جيدا ثم نجففها بالهواء

_ ننقل قطره من المزرعة الجرثومية السائلة بواسطة الناقل الجرثومية (بعد تعقيمها باللهب) على الشريحة الزجاجية , واذا ما اخذت العينة من مستعمره جرثومية نامية على وسط صلب ففي البداية توضع قطرة ماء على الشريحة وتمزج مع نقلة جرثومية صغيرة جدا وتوزع بشكل دائره رقيقة صغيره قطرها ١ سم
_ تترك لتجف في الهواء ثم تمرر ثلاث مرات على لهب مصياح بنزن وبسرعة لغرض التثبيت مع مراعاة وضع الطبقة الجرثومية للاعلى.

_ تغمر الشريحة بصبغة ازرق الميثيلين او السفرائين لمدة دقيقة واحدة

_ تغسل الشريحة بماء الصنبور ثم تجفف

_ تفحص الشريحة تحت المجهر بالعدسة الزيتيه

ملاحظة: يتم تثبيت الجراثيم بقتلها بالحراره حيث تعمل الحراره على تجلط بروتوبلازم الخلية الجرثومية والتصاق الخلية الجرثومسة على الشريحة الزجاجية فتثبت على الشرحة اذ ان عدم تثبيتها يؤدي الى زوال الغشاء اثناء التصبغ

