المحاضرة الرابعة

تصبيغ أجزاء الخلية البكتيرية

1- تصبيغ السبورات : Spores staining

بعض البكتريا لها القابلية على انتاج جسم بيضوي ذي جدار سميك ويكون مقاوم للعوامل الخارجية المحيطة به بدرجة عالية ويعرف هذا الجسم بالسبور والذي يمثل الطور الساكن والخلية البكتيرية لها القابلية على انتاج سبور واحد وتتصف أنواع جنسي *Clostridium* و *Bacillus* بقابليتها على انتاج السبورات

تقاوم السبورات التصبيغ العادي لان جدارها يكون سميكاً لذا يجب استخدام صبغات لتسهيل ادخال الصبغة اليها ، وبمجرد دخول الصبغة الى السبورات فانها تثبت بها ويصعب ازالتها منها ، تبقى السبورات لفترات طويلة في طور سكون ويعود العديد منها الى النمو بتوفر الظروف الملائمة لتكوين الخلية البكتيرية .

طريقة شيفر وفولتون لتصبيغ السبورات Schaeffer and Fulton:

1- تحضر اللطخة المثبتة بالنار

2- نضع محلول صبغة ملاكايت كرين malachite green على اللطخة ثم نسخن الشريحة الى ان يبدأ المحلول بالتبخر (لا ندع الشريحة تجف حيث نضيف المحلول ونحسب الوقت لمدة 3-4 دقائق .

3- نغسل الشريحة بالماء ثم نضيف صبغة السفرانين لمدة 1-2 دقيقة

4- نجفف الشريحة الزجاجية لمدة 1-2 دقيقة ونضعها تحت المجهر فنلاحظ ان البكتريا تصبغت باللون الاحمروالسبورات باللون الاخضر .

تصبيغ الكبسولات : Capsules staining

الكبسولة (العلبة) هي طبقة سميكة صمغية لزجة تتكون من مادة كربوهيدراتية معقدة وحامض اليورانيك ومن انواع البكتريا المكونة للكبسول هي :

pneumoniae , Streptococcus pneumoniae, Bacillus, Klebsilla

بسبب الطبيعة غير الأيونية للعلبة فأن الصبغات البسيطة لا تلتصق بها ولذا يفضل صبغات خاصة ،عدم استخدام الماء عند التصبيغ لان المادة الكربوهيدراتية تذوب بالماء وان الصبغة المستخدمة هي الحبر الهندي Nigrosine والحبر الصيني .

طريقة تصبيغ الكبسول :

نحضر اللطخة المثبتة بالنار ونضع عليها عدة قطرات من صبغة كريستال فايوليت لمدة 5دقائق بعدها نضيف محلول كبريتات النحاس بتركيز 20% وتجفف الشريحة وتفحص تحت المجهر حيث يظهرالكبسول مصبغ بالازرق الفاتح بينما تصبغ محتويات الخلية بالازراق الغامق .

تصبيغ الاسواط : Flagella staining

الاسواط عبارة عن زوائد أو بروزات شبه شعرية تخترق جدار الخلية البكتيرية الى الخارج من قاعدة منطقة حبيبية في السايتوبلازم . ويتركب السوط من مادة بروتينية تسمى **Flagellin** تتكون من سلاسل بروتينية ،، ان تقنية تصبيغ الاسواط صعبة نوعاً ما لذا يجب اتخاذ الحذر اثناء عملية التحضير والتصبيغ والصبغة المستخدمة هي carbolfuchsine .

التصبيغ السلبي : Negative saining

وهي التقنية التي تظهر فيها الخلايا البكتيرية لامعة من غير تصبيغ اذ تصبغ خلفية المسحة فقط وتظهر الكائنات واضحة لامعة في حقل مجهري غامق والصبغة المستخدمة هي النكروسين وتستخدم هذه التقنية بصورة خاصة للبكتريا المكونة للكبسول اذ تظهر الكبسولات على شكل مناطق فاتحة وصافية .

تصبيغ البكتريا المقاومة للاحماض : Acid fast staining

تحتوي بعض البكتريا مثل mycobacteria على نسبة عالية من الدهن تجعلها تقاوم التصبيغ بالطرق الاعتيادية ولكن يمكن تصبيغها باستخدام صبغات خاصة مع الحرارة وبعد اخذ البكتريا للصبغة سوف يصعب ازالتها منها حتى باستعمال اقوى الكحولات الحامضية لذا تسمى هذه البكتريا بالبكتريا المقاومة للاحماض . وفيما يلي طريقة التصبيغ:

1- نحضر اللطخة المثبتة بالنار

2- نضيف عدة قطرات من صبغة carbolfuchsin ونسخنها على اللهب لمدة 3-4 دقائق الى ان يتبخر

3- نضيف كحول مع حامض لمدة نص دقيقة

4- نغسل الشريحة بالماء ونضيف صبغة methylene blue

5- نغسل الشريحة ونجففها ونفحصها بالمجهر فتبدو البكتريا المقاومة للاحماض مصبغة باللون الاحمر ، في حين البكتريا غير المقاومة للاحماض مصبغة باللون الازرق .

ومن الامثلة على البكتريا المقاومة للاحماض ***Mycobacterium tuberculosis***