الكلية	العلوم
القسم	التقنيات الطبية
المادة باللغة الانجليزية	Medical Microbiology
المادة باللغة العربية	الاحياء المجهرية الطبية
المرحلة الدراسية	الثانية
اسم التدريسي	سمية اياد عبدالرزاق
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	**Microbiology diagnosis steps**
عنوان المحاضرة باللغة العربية	خطوات تشخيص الاحياء المجهرية
رقم المحاضرة	٢
المصادر والمراجع	https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1551&sectionid=94112218
	https://en.wikipedia.org/wiki/Diagnostic_microbiology
	/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8014

محتوى المحاضرة

Medical Microbiology Lab 2

Microbiology diagnosis steps

1- Microbial culture (Type of culture media) :

A- Classification based on physical type :

- liquid media used for **broth cultures,**
- Solid media using **agar plates** for isolated colonies, and semi-solid media for
- Examining **motility**

B- Classification based on the ingredient :

-Simple medium (Nutrient broth and Nutrient agar)

- Complex medium (MacConkey agar)

- Synthetic or defend medium (Peptone water)

- Special medium :

1- **Enriched media** (Blood agar , Chocolate agar)

2-**Selective media** (MacConkey agar , Eosin Methylene Blue ,Mannitol salt agar)

3- **Deferential media** (MacConkey agar, Xylose Lysine Deoxycholate S.S .agar)

4- **Transport media** (Stuart's medium , Buffered glycerol saline)

5- **Anaerobic media** (Robertson's cooked meat medium , Thioglycolate broth medium)

2- Microscopy (Stains):

- Gram stain (Crystal violet , Lugols Iodine ,Ethyl alcohol and Safranine)
- Acridine orange , Malachite green

UNIVERSITY OF ANBAR

3- Biochemical test:

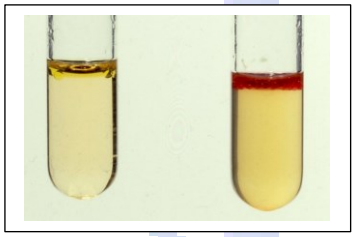
- **IMViC test:**
- "I" = Indole Test
- "M" = Methyl Red (MR) Test
- "V" = Voges – Proskauer (VP) Test
- "C" = Citrate Utilization Test (simply Citrate Test)
- ***The letter "i" after 'V' is only for the rhyming purpose, it does not indicate any test.***

- **API 20 system**
- **Vitek 2**

-اختبار (IMViC)يشمل اربع اختبارات:

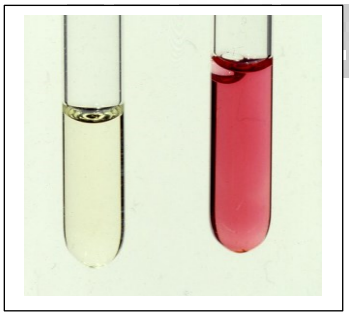
١-اختبار الاندول :

- تنمية البكتريا على وسط Tryptone broth
- إضافة بضع قطرات بهدوء على حافة جدار الانبوبة من كاشف كوفاك (Kovacs reagent)
- **عدم رج الانبوبة اطلاقا**
- نتيجة موجبة **:ظهور حلقة حمراء**
- نتيجة سالبة : عدم ظهور



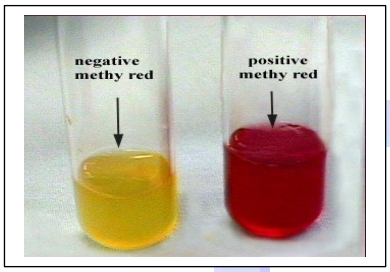
٢-اختبار فوكس – بروسكاور

- اسحب ١ مل من وسط MR-VP المزروع بالبكتريا سابقا وضعه في انبوبة معقمة.
- ضع ٠,٥ مل من كاشف باريت محلول (A) او ما يعرف (VP1)
- ضع ٠,٥ مل من كاشف باريت محلول (B) او ما يعرف (VP2)
- **رج الانبوبة جيدا معرضة على الهواء والانتظار لمدة ٥-١٥ دقيقة**
- نتيجة موجبة : ظهور **لون احمر او وردي** تدل على انتاج (Acetyl Methyl Carbinol)
- نتيجة سالبة : عدم تغيير اللون



٣- اختبار المثيل الأحمر

-اسحب ١مل من وسط MR-VP المزروع بالبكتريا سابقا وضعه في انبوبة معقمة.



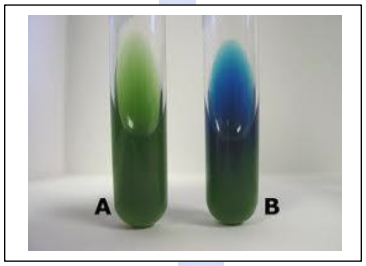
- اضف ٥ قطرات من كاشف المثيل الأحمر **(رج الانبوبة جيدا)**

-نتيجة موجبة: ظهور **لون احمر- وردي** (pH=7-6)

- نتيجة سالبة : عدم تغيير اللون (pH=4-5)

٤- اختبار استهلاك السترات

- يتم الكشف عن استهلاك السترات بواسطة وسط (Simmon Citrate agar) المزروع بالبكتريا



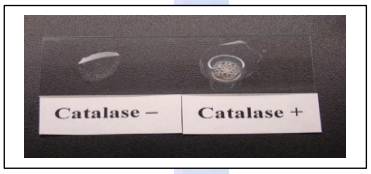
نتيجة موجبة : تحول اللون **الأخضر** الى **الأزرق**

نتيجة سالبة : عدم تغيير اللون

*اختبارات إضافية

-اختبار انزيم الكتاليز Catalase test

- إضافة قطرات من كاشف بيروكسيد الهيدروجين على شريحة زجاجية تحتوي على جزء من مستعمرات بكتيرية



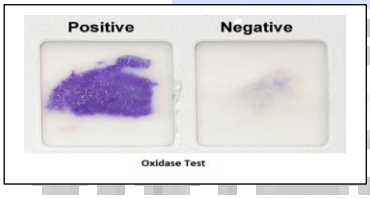
نتيجة موجبة : ظهور فقاعات

نتيجة سالبة : عدم ظهورها

- اختبار انزيم الاوكسيديز (Cytochrome C)Oxidase test

- إضافة قطرات من كاشف الاوكسيديز علة ورقة ترشيح معقمة تحتوي على جزء من مستعمرات بكتيرية

نتيجة موجبة : تغيير لون المستعمرة الى **اللون البنفسجي** خلال ثواني – دقيقتين (تأخير قراءة النتيجة يعطي نتيجة كاذبة)



نتيجة سالبة: عدم حدوث تغيير باللون

*يجب تحضير الكاشف قبل اجراء التجربة لمنع تاكسده بفعل الاوكسجين الحر ويصبع عديم الفائدة

*نقل البكتريا بواسطة ناقل (Loop) مصنوع من البلاستك او البلاتين لمنع تفاعله مع الكاشف فيعطي نتيجة موجبة كاذبة

* جميع الاختبارات يجب ان تتم خلال ٢٤ ساعة بعد الزرع

*يكون تسلسل خطوات التشخيص (Mix culture →Pure culture→ Biochemical test + staining + Antibiotic susceptibility testing

-اختبار حساسية المضادات الحيوية Antibiotic susceptibility testing:

هو قياس تأثير المضادات الحيوية أو العوامل الأخرى المضادة للميكروبات لمنع نمو البكتيريا في بيئة مختبرية. إحدى هذه الطرق هي طريقة تحديد قطر منطقة التثبيط أو انتشار القرص(Disc diffusion). تُعرف هذه الطريقة أيضًا باسم طريقة Kirby-Bauer.

في هذه الطريقة :

١- بعد عزل وتنشيط البكتيريا ، يتم زراعة البكتريا على وسط Muller Hinton agar بطريقة النشر بواسطة سواب معقم

٢- توضع أقراص الانتي بايوتك المختارة بواسطة ملقط معقم وتترك مسافة بين قرص واخر

٣- تحضن بدرجة حرارة 37ولمدة 24ساعة وبعدها يتم فحص مناطق التثبيط بواسطة مسطرة خاصة ومن ثم تسجل النتائج على أنه حساس (Susceptible) أو مقاوم (Resistant) أو وسط (Intermediate).

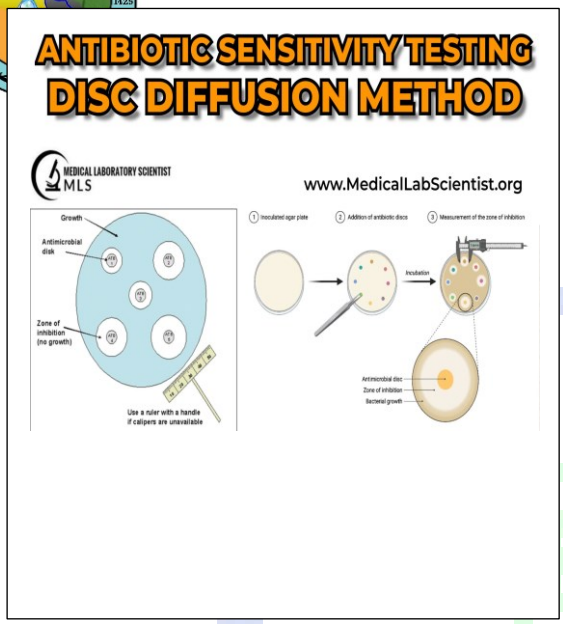
وقبل اجراء أي اختبار لتقدير الحساسية لابد من مراعاة ما يلي:

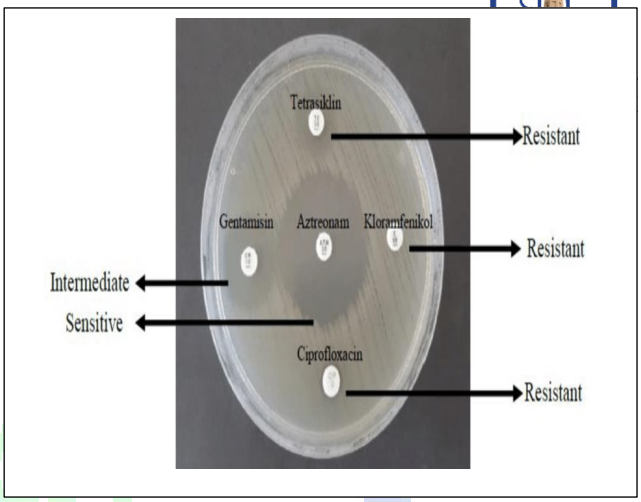
1-معرفة الخلفية الوراثية للبكتيريا المراد اجراء الاختبار عليها لان بعض الأنواع البكتيرية يحصل لها طفرات.

2-مدى حساسية السلالة قيد الاختبار مقارنة مع افراد النوع الواحد.

3- معرفة نبذة عن المضاد قيد الاختبار مثل سميته، تركيبه ،امتصاصيته من قبل الجسم وعمله أي mode of infection

UNIVERSITY OF ANBAR





UNIVERSITY OF ANBAR