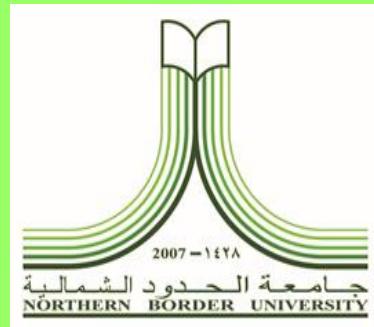


**Kingdom of Saudi Arabia
Ministry of Education
Northern Border University
Faculty of Science and Arts
Department of Biology
(Microbiology)**



PRACTICAL GENERAL MICROBIOLOGY COURSE **(3303-211)**



Prepared by

Dr. Mohamed Helal El-Sayed

Associate Prof. of Microbiology (Bacteriology)



معلم الأحياء الدقيقة

احذر



احذر!!!!!! أنت تعمل في بيئة خطرة بيولوجيا لذا عند الدخول للمعمل والبدء بممارسة الفحوصات العملية ومغادرة المعمل عليك إتباع إرشادات السلامة.

قبل البدء بإجراء الفحص المقرر يجب الالتزام بالتالي:



- يمنع منعاً باتاً الأكل والشرب أو جلب طعام آو شراب إلى المعمل.
- يجب غسل اليدين بالماء والصابون قبل البدء بإجراء الفحص.
- يجب إرتداء القفازات لضمان الوقاية من أي عينات ممرضة أثناء التعامل معها.
- يجب إرتداء المعطف الأبيض النظيف.

على الأخوات الطالبات وضع غطاء الرأس داخل المعطف مع تعطية أكمام المعطف لأكمام الملابس لتجنب التلوث بأي عينات ممرضة.

أثناء إجراء الفحص المقرر يجب الالتزام بالتالي:



- تحضير الأدوات وكافة المواد اللازمة في منطقة العمل للاستفادة من الوقت.
- يجب عدم التجول في المعمل إلا للضرورة وبحذر وانتبه واحرص على عدم التحدث.
- احرص على التخلص من الأدوات الحادة المستخدمة في الحاوية المخصصة لذلك.
- في حال تعرضك لأى حادث عرضي أو انسكاب أي من المحاليل الكيميائية أو العينات الممرضة يجب إبلاغ المدرس / المشرف على المعمل للقيام بالإجراءات الالزمة لحفظ سلامتك.

عند الانتهاء من إجراء الفحص المقرر يجب الالتزام بالتالي:



- تأكد من إعادة جميع الأدوات المستخدمة إلى أماكنها المخصصة.
- تأكد من إغلاق كافة الأجهزة التي تم استخدامها.
- احرص على نظافة منطقة العمل المخصص بك.
- قم بخلع المعطف أولاً ثم القفازات.
- يجب وضع المعطف المستخدم في الحقيبة الخاصة به لتجنب ملامسة الأشياء الأخرى.
- إعادة المقعد للمكان المخصص به.
- ملحوظة/ يمنع التجمع في المعمل قبل الوقت المحدد أو الخروج منه دون إذن المشرف على المعمل.

شكرا لكم على حسن اهتمامكم

معلم الأحياء الدقيقة – قسم الأحياء – كلية العلوم والآداب – رفحاء

أنا الطالب/ة قد قرأت ما ورد من إرشادات وعليه أتعهد بالالتزام.
..... التوقيع:

Lab (1): Microbiology Laboratory Equipment (Apparatus)

(1) Autoclave



(1) الأوتوكلاف (جهاز التعقيم)



Function: Used for sterilization of liquid substances such as culture media and saline solutions, also to sterilize glassware's, when required.

الوظيفة: يستخدم لتعقيم المواد السائلة مثل الاوساط الغذائية والمحاليل أيضاً يمكن استخدامه لتعقيم الأدوات الزجاجية عند الحاجة لذلك.

Conditions of sterilization: Usually sterilization is done at 121 °C, 15 psi for 20 minutes.

يتم تعريض المواد المراد تعقيمها للدرجة حرارة تصل 121°C و 1.5 ضغط لفترة زمنية تتراوح بين 15-20 دقيقة.

(2) Incubator

(2) الحضان



Function: Maintains a constant temperature suitable for the growth of a specific microbe.

الوظيفة: يحافظ على درجة حرارة ثابتة مناسبة لنمو الميكروب.

(3) Hot Air Oven

فرن الهواء الساخن (3)



Function: Used for sterilization of glassware's, such as test tubes, pipettes and petri dishes.

الوظيفة: يستخدم لتعقيم الأدوات الزجاجية مثل أنابيب الاختبار ، الملاصات ، أطباق بتري

Liquid substances, such as media and saline solutions cannot be sterilized in oven, as they lose water due to evaporation

(4) Laminar flow cabinet/hood

(4) لامينار فلو (كابينة الحقن)



Function: an enclosed workstation that is used to create a contamination-free work environment through filters to capture all the particles entering the cabinet, it used for inoculation of microbs and transfer of sterilized materials

الوظيفة: تستخدم لحقن الميكروبات ولنقل المواد المعقمة تحت ظروف خالية من الميكروبات

(5) Analytical Balance

(5) الميزان الحساس



Function: Used to weigh small quantities of chemicals and samples precisely and quickly.

الوظيفة: يستخدم لوزن كميات صغيرة من المواد الكيميائية والعينات بدقة وبسرعة

(6) Refrigerator

(6) الثلاجة



Function: Used for storage of sterilized media, thermo labile chemicals, solutions, antibiotics, serums and biochemical reagents at cooler temperatures

الوظيفة: تستخدم لحفظ وتخزين الوسائط الغذائية المعقمة ، المحاليل ، المضادات الحيوية ، الأمصال والكواشف الكيميائية الحيوية عند درجات حرارة منخفضة

(7) Microwave oven

(7) فرن الميكرويف

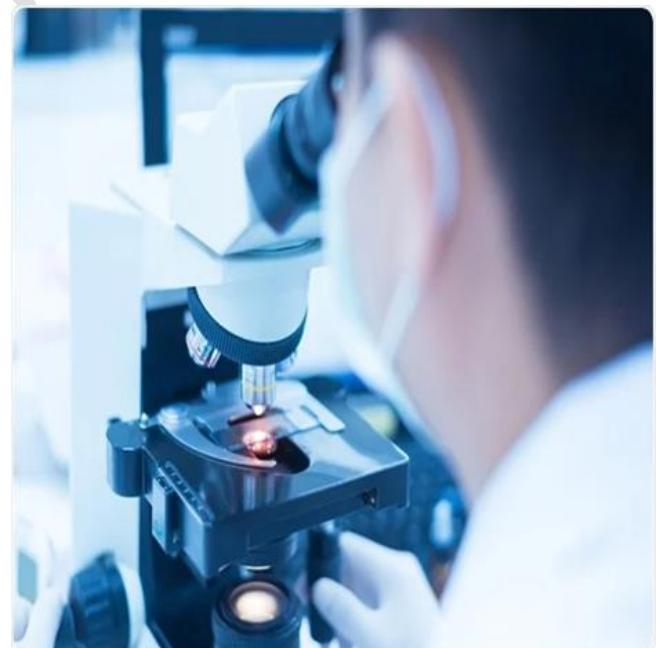
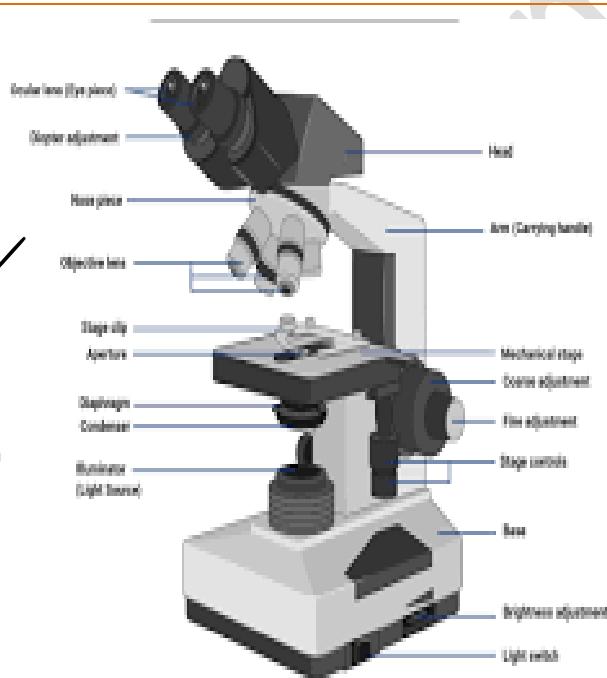


Function: Used for rapid heating of materials, cooking or liquefaction the solid culture media

الوظيفة: يستخدم للتسخين السريع للمواد – وكذلك لطهي وإسالة الأوساط المزرعية الصلبة.

(8) Microscope

(7) المِجَهَرُ أو المِيكَرُوْسُكُوبُ



Function: Used to identify and visualize microorganisms such as bacteria, fungi and algae.

Lab (2): Microbiology Laboratory Tools

(1) Petri dish or Petri plate (plastic/glass)

طبق بترى



The name is due the German bacteriologist Julius Richard Petri. There are two types: Glass and plastic

Function: Used to make agar plates for microbiology studies

الوظيفة: تصب فيها البكتيريا المعقمة والتي تستعمل فيما بعد كمزراع للميكروبات.

(2) Inoculation Loop (wire/plastic)

إبرة الحقن (التلقيح) ذات العقدة



Function: Used for cultivation of microbes (Bacteria) on plates by transferring inoculum for streaking

الوظيفة: تستخدم لزراعة الميكروبات (بالأخص البكتيريا) على الأطباق عن طريق نقل حصة من البكتيريا إلى طبق بالتحيط.

(3) Inoculation Needle (wire/plastic)

(3) إبرة الحقن المستقيمة (ذات الوخز)

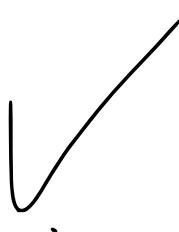


Function: Used for inoculation of fungi and sometimes bacteria on semi-solid media

الوظيفة: تستخدم أساساً لزراعة الميكروبات (بالأخص الفطريات) وأحياناً البكتيريا على الأوساط الغذائية الشبه صلبة

(4) Cotton Swab

(4) مسحة قطنية

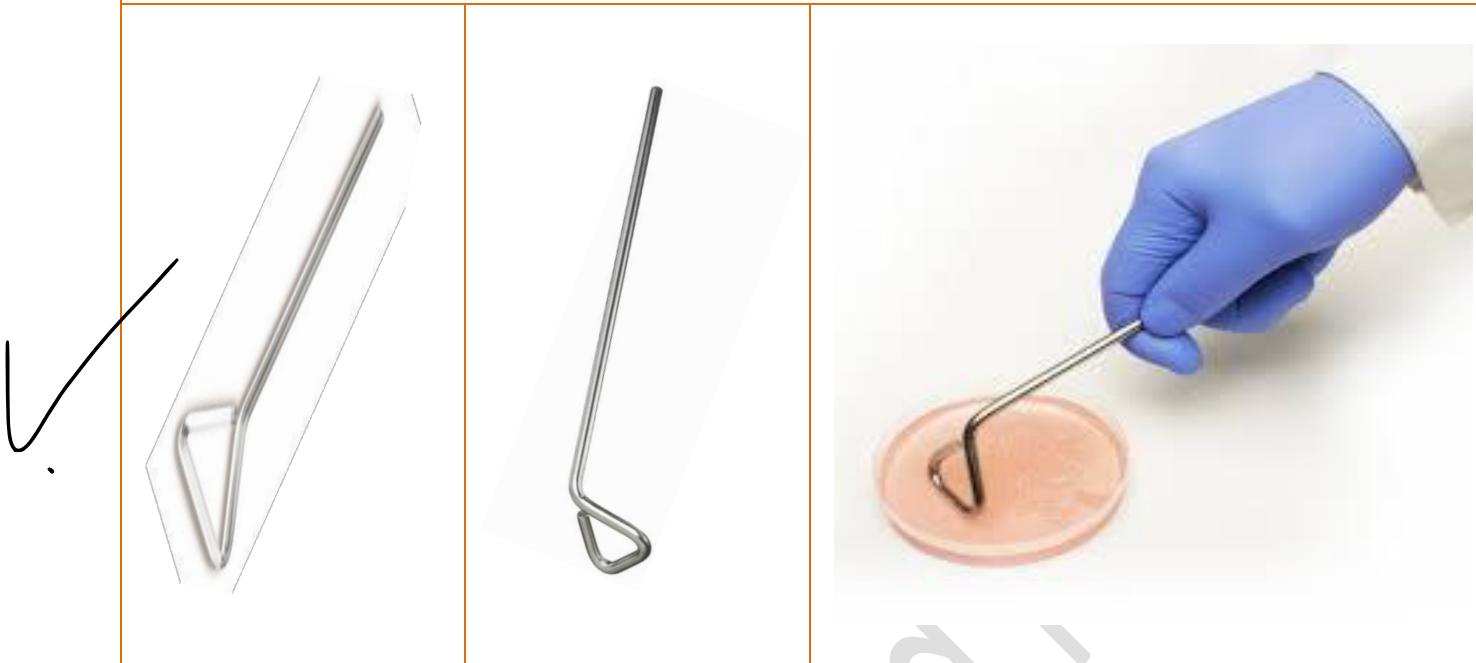


Function: Used for swabbing the microbes from different surfaces and cultivation on the culture plates.

الوظيفة: تستخدم لأخذ مسحة من الميكروب الموجود على الأسطح المختلفة وكذلك لعمل زرع للميكروب على الأطباق المزرعية.

(5) Plate spreader (glass/plastic/steel)

(5) موزع (مفرشة)

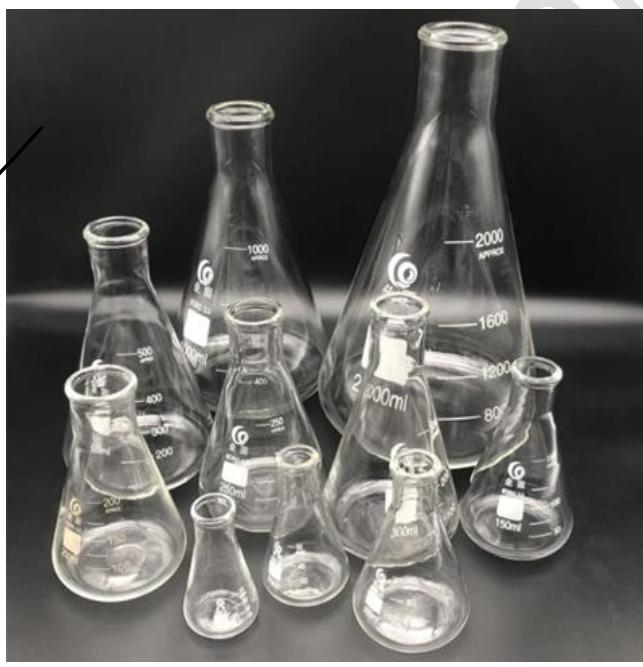


Function: Used to spread samples and bacterial cells on a culture plate

الوظيفة: تستخدم لتوزيع ونشر العينات والخلايا البكتيرية على الأطباق المزرعية.

(6) Conical Flask

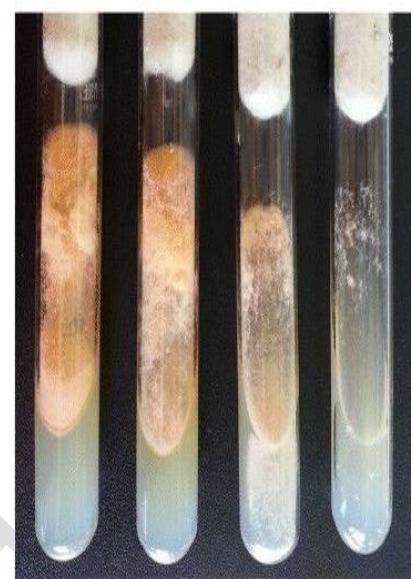
(6) دورق مخروطي



Function: Used for preparation the culture media (with different volumes).

الوظيفة: تستخدم لتحضير الأوساط المزرعية (بأحجام مختلفة).

(7) أنبوب اختبار



Function: Used for preservation of the microbial cultures on solid (agarslant) and liquid (broth) media.

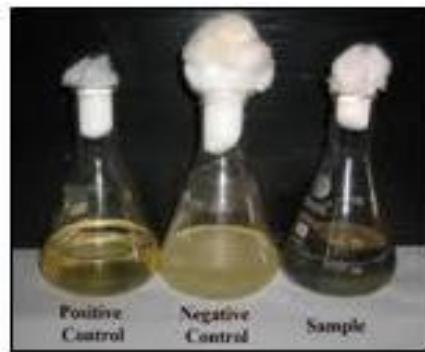
الوظيفة: تستخدم لحفظ المزراع الميكروبية على وسط غذائي صلب (مايل) او سائل (بروث).

(8) Cotton Plug

(8) سدادة من القطن



Test tube with cotton plug
انبوبة اختبار بسدادة من القطن



Cotton plug

Conical flasks with cotton plug

دوارق مخروطية بسدادة من القطن

Function: Used for fill the test tubes and Conical flask to prevent the contamination

الوظيفة: تستخدم لغلق أو لسد انبوب الاختبار او الدوارق المخروطية لمنع تلوث ما بداخليها.

(9) ماصة زجاجية



Function: Used to transfer of measured volumes of culture media and sterile solutions

الوظيفة: تستخدم لنقل أحجام مقاسة من الأوساط المزرعية والمحاليل المعقمة.

(10) Measuring Cylinder

(10) الأسطوانة المدّرجة أو المِختبار المُدرَج

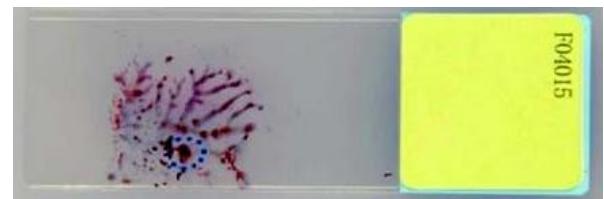


Function: Used to transfer of measured volumes of different solutions and liquid materials.

الوظيفة: تستخدم لنقل أحجام مقاسة من المحاليل والسوائل المختلفة.

(11) Glass Slide

شريحة زجاجية (11)



Function: Used to hold objects (microbial cells) for examination under a microscope

الوظيفة: يستخدم لحمل الأشياء (الخلايا الميكروبية) لفحصها تحت المجهر.

(12) Bunsen burn

موقن بنزن (12)



Function: Used for heating, sterilization (loops, spreaders & forceps) and combustion

الوظيفة: يستخدم للتدفئة والتتعقيم (إبر التلقيح والموزع والملقط) والحرق.

Lab (3): Sterilization

التعقيم: هو عملية إزالة أو إبادة لكافة صور الأحياء الدقيقة (فيروسات - بكتيريا - فطريات - طحالب -الخ) سواء كانت خضرية أو جرثومية من الشيء المراد تعقيمه (قتل أو إزالة ميكانيكية)

طرق التعقيم

يوجد ثلاث طرق أساسية للتعقيم:

- (1) الطرق الفيزيائية (الطبيعية).
- (2) الطرق الكيميائية.
- (3) الطرق الميكانيكية.

(1) Physical Methods

(1) الطرق الفيزيائية (الطبيعية)

تنقسم الطرق الفيزيائية إلى نوعين:

- (أ) تعقيم بالحرارة
- (ب) تعقيم بالأشعاع

(أ) التعقيم بالحرارة **Heat** : (يوجد ثلاثة أنواع من التعقيم بالحرارة)

أولاً: التعقيم بالحرارة الجافة (Dry heat)

1. **الحرق Incineration**: باستخدام اللهب المباشر (موقد بإنزن) يستخدم لتعقيم إبر التلقيح حيث يسخن السلك البلاتيني لدرجة الأحمراء وينتظر عن ذلك قتل كل الكائنات الدقيقة الملوثة للأبرة.

2. **التلهيب الكحولي Alcohol-flamed**: يستخدم اللهب والكحول معاً حيث يتم غمس المshares أو الملاقط أو المقصات أو الشرائط الزجاجية في الكحول أولاً ثم تعرضاً للهرب مما ينتج عنه إشتعال الكحول وبالتالي نضمن عملية التلقيح.

3. **الهواء الساخن Hot air**: تستخدم الأفران التي تكون مجهزة بطريقة تسمح بتسخين الهواء إلى درجات حرارة مختلفة وعادة ما يستخدم هذا الجهاز في تعقيم الأدوات التي لا تتأثر بالحرارة العالية مثل الزجاجيات بأنواعها. وعادة ما يتم التعقيم عند درجة حرارة تتراوح بين 160-180 م لمنتهى تراوح بين 1-3 ساعات حسب المواد المراد تعقيمهما ولا تستخدم هذه الأفران لتعقيم البيئات الغذائية لأنها تجف بالحرارة.

ثانياً: التعقيم بالحرارة الرطبة (Moist heat)

التعقيم بالحرارة الرطبة يتم باستخدام جهاز الاتوكلايف (Autoclave)

يتم تعريض المواد المراد تعقيمها لدرجة حرارة تصل 121°C وعند ضغط جوي عالي قدرها 15 رطل لكل بوصة مربعة لفترة زمنية تتراوح بين 15-20 دقيقة . تستخدم هذه الطريقة لتعقيم الأوساط الغذائية التي تتحمل درجات الحرارة العالية. تعتبر هذه الطريقة من أفضل وسائل التعقيم لأنها توفر الوقت وتعطي درجة حرارة أعلى من درجة الغليان ثم إن وجود البخار يساعد على تغلغل الحرارة داخل الخلايا وبالتالي تكون عملية تجمع وتختزال البروتين الخلوي أسرع مما هو عليه عند الإعتماد على الحرارة الجافة.

(ب) التعقيم بالأشعاع Radiations

يستخدم الأشعاع في تعقيم بعض الأماكن كغرف العمليات الجراحية وعنابر تعبئة الأدوية والعقاقير المعقمة وغرف التلقيح الملتحقة عادة بالمعامل البكتيرولوجية الكبيرة وفي بعض الصناعات الغذائية وصناعة الألبان وفي تعقيم السطوح الكبيرة الملوثة ومحطات الحجر الزراعي لتطهير المنتجات الزراعية.

أمثلة من الأشعاع: أشعة x-ray اشعة جاما ، الأشعة فوق البنفسجية.

(2) Chemical Methods

(2) الطرق الكيميائية

يمكن إستعمال بعض المواد الكيماوية في أغراض التعقيم وذلك لفعلها المميت أو الموقف لنمو خلايا الأحياء الدقيقة ، وفيما يلي بعض المواد الكيماوية:

1. الكحول الإيثيلي Alcohol

يستخدم بتركيز 50-70% في تطهير الأيدي أو المناطق المختلفة في الجسم والتأثير السام للكحول هو أنه يعمل على تجفيف الخلايا حيث يسحب الماء منها علاوة على ذلك تأثيرها المميت يرجع إلى تجميعها وتختيزها للبروتين الخلوي .

2. الفينول Phenol

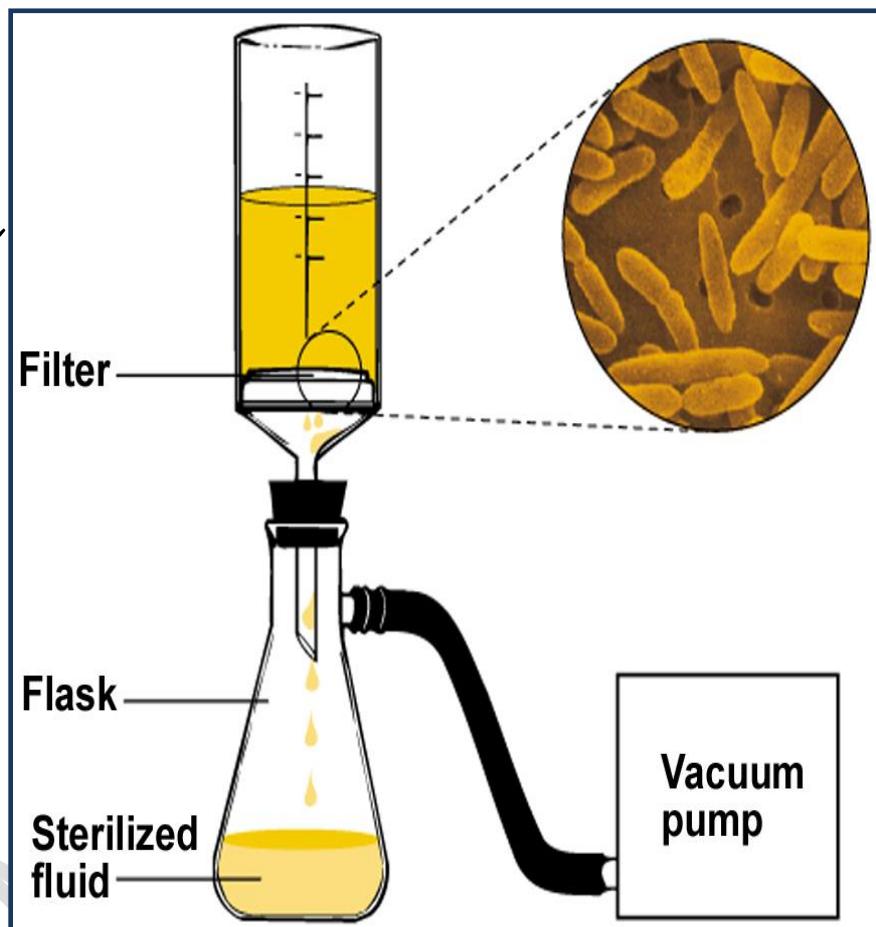
يستعمل الفينول بتركيز 5% للتعقيم السطحي للأرضيات في الغرف والمستشفيات والعيادات وبعض الأدوات والإجهزة والمعامل .

3. أكسيد الإيثيلين Ethylene Oxide

ويستخدم في تعقيم أطباق بولي البلاستيكية أو تعقيم أي مواد قد تنصهر على درجة حرارة أعلى من 100

(3) الطرق الميكانيكية

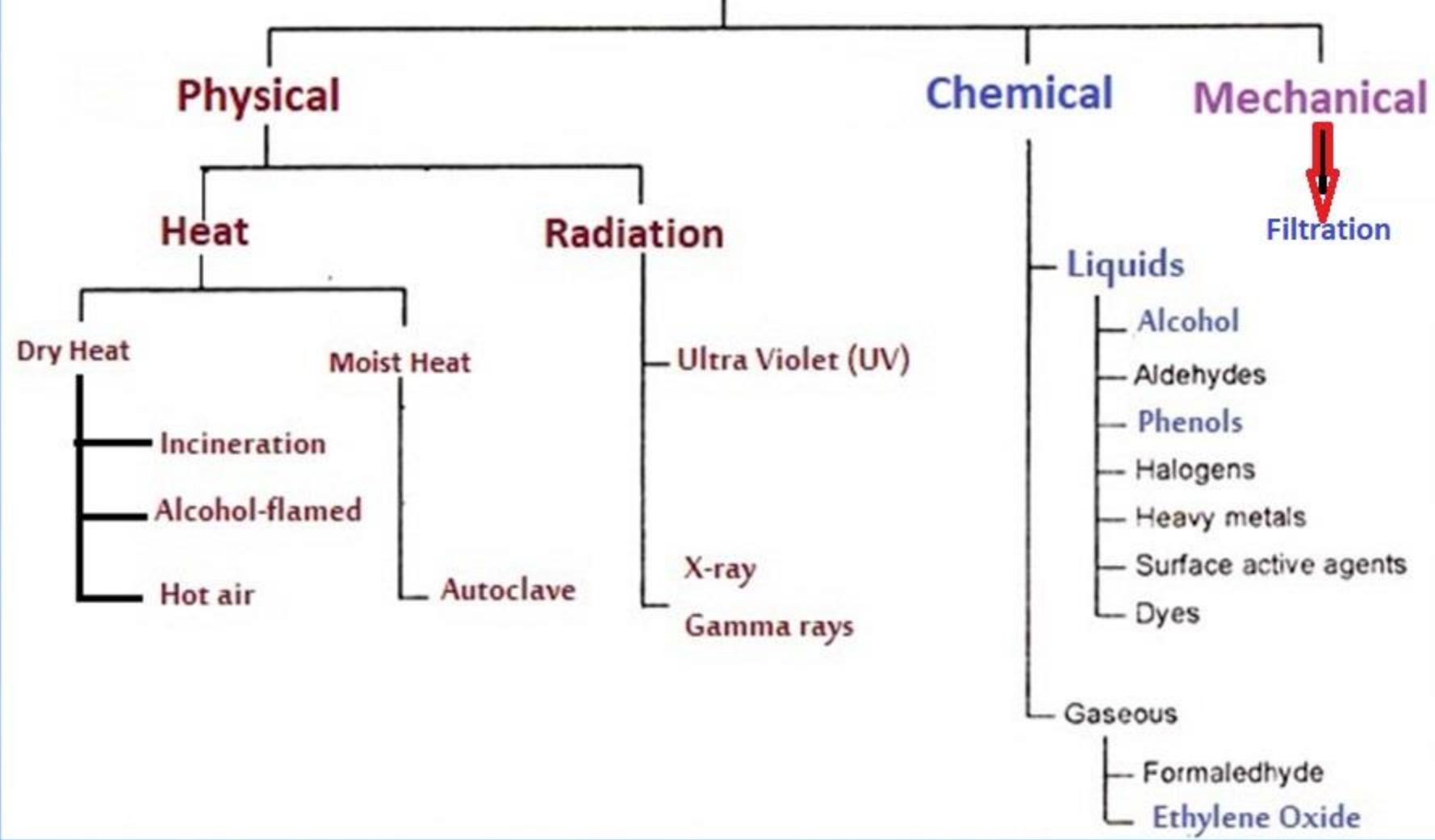
تعتمد هذه الطرق على إزالة خلايا الكائنات الحية الدقيقة من الوسط الكامنة فيه بطريقة ميكانيكية لأن تحجز الثقوب الدقيقة للمرشحات المستعملة خلايا الكائنات الحية ذات الأقطار التي تزيد عن قطر ثقوبها، ومن أهم المرشحات الدارج استخدامها مرشح زايتز.



- **Sterilization:** complete destruction of ALL microbes
- **Disinfection:** destruction, inhibition or removal of microbes that may cause disease or other problems. Disinfection does not necessarily kill all microorganisms especially resistant bacterial spores.
- **Disinfectant:** is a chemical substance or compound used to inactivate or destroy microorganisms on inert surfaces (e.g: Formaldehyde, Phenols)
- **Antiseptics:** is a chemical agent that slows or stops the growth of microorganisms on external surfaces of the body and helps to prevent infections (e.g: Alcohol, Hydrogen peroxide).

Dr Mohamed Helal

Sterilization Methods



Lab (4): Microbiological Culture Media

• الغرض من استخدام الاوساط المزرعية:

- (1) تنمية وحفظ أي نوع من الميكروبات.
- (2) دراسة تأثير الكائنات الدقيقة على أحد المواد الغذائية الموجودة بالوسط.
- (3) استحثاث البكتيريا على انتاج او تكون بعض المواد.
- (4) تصنيف البكتيريا ودراسة صفاتها المزرعية.

➤ Types of Culture media:

Cultures media are classified based on different factors such as consistency, type of the grown microorganism, purpose or used of the medium, etc.

(A) Classification based on consistency القوام

There are three types: solid, semi solid and liquid (broth).

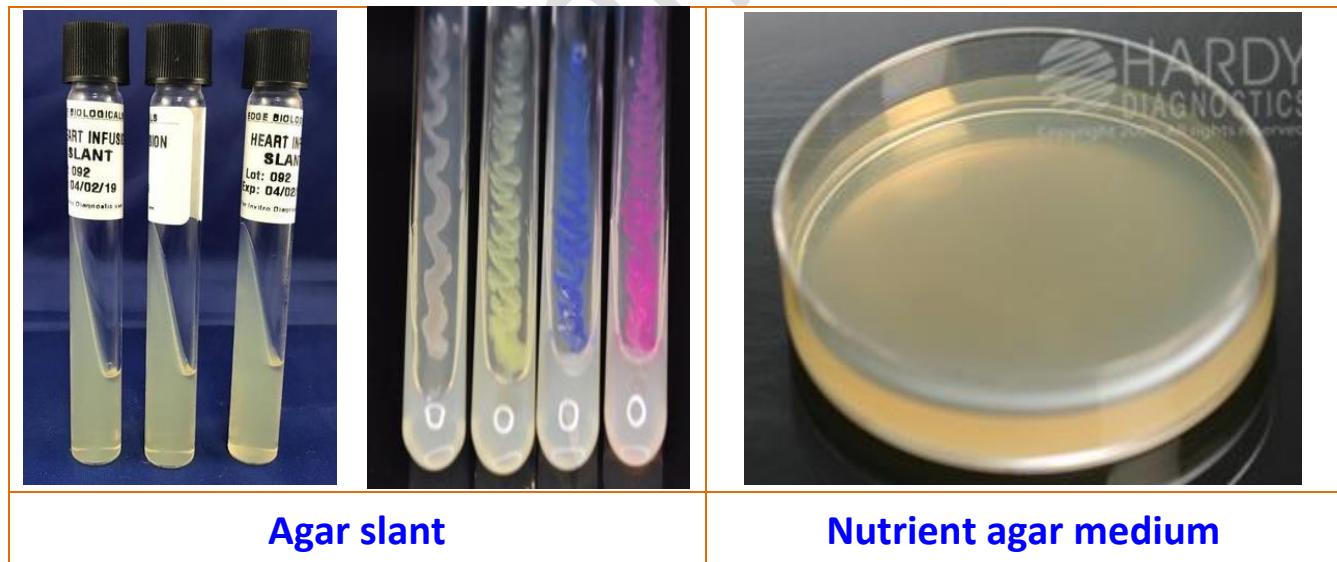
(1) Solid medium: medium that contains agar-agar (15-20 g/l)

صلب

Example: Nutrient agar medium

Solid (agar) medium can be poured in Petri dish or in test tube

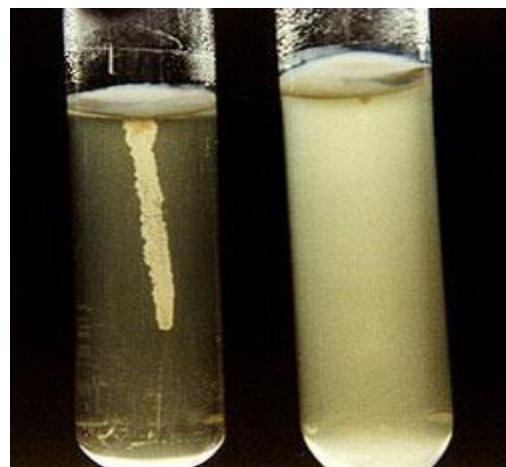
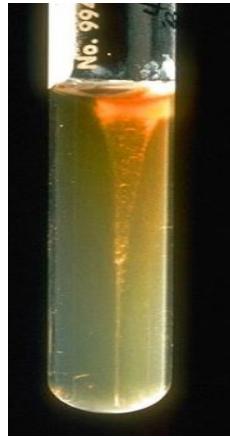
الوسط الغذائي الصلب يتم صبه في طبق بتري (الشكل على اليمين) أو في أنبوبة يسمى بالوسط الغذائي المائل (الشكل على اليسار)



• **الآجاري Agar :** مادة كربوهيدراتية تستخرج من بعض انواع الطحالب الحمراء، ويمتاز الآجاري بأنه على درجة عالية من الثبات ، لا يتتأثر بدرجة حرارة الأوتوكلايف ، يسهل الآجاري المتصلب عند 98م ولا يتجمد إلا عند درجة حرارة أقل من 45م يسهل تحضيره عند درجات حرارة مرتفعة دون الخوف من إنصهاره.

(2) **Semi solid medium:** medium that contain agar at 0.5 % شبه صلب

الوسط الغذائي شبه الصلب يتم صبه في أنابيب اختبار.

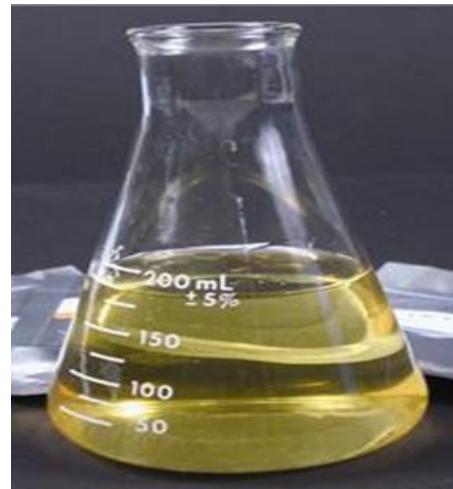


Semi solid medium

(3) **Liquid medium:** medium that doesn't contains agar-agar (0% agar) سائل

Example: Nutrient broth medium المركب الغذائي

الوسط الغذائي السائل يتم وضعه في دورق مخروطي (الشكل على اليمين) أو في أنبوبة اختبار (الشكل على اليسار):



Nutrient broth medium

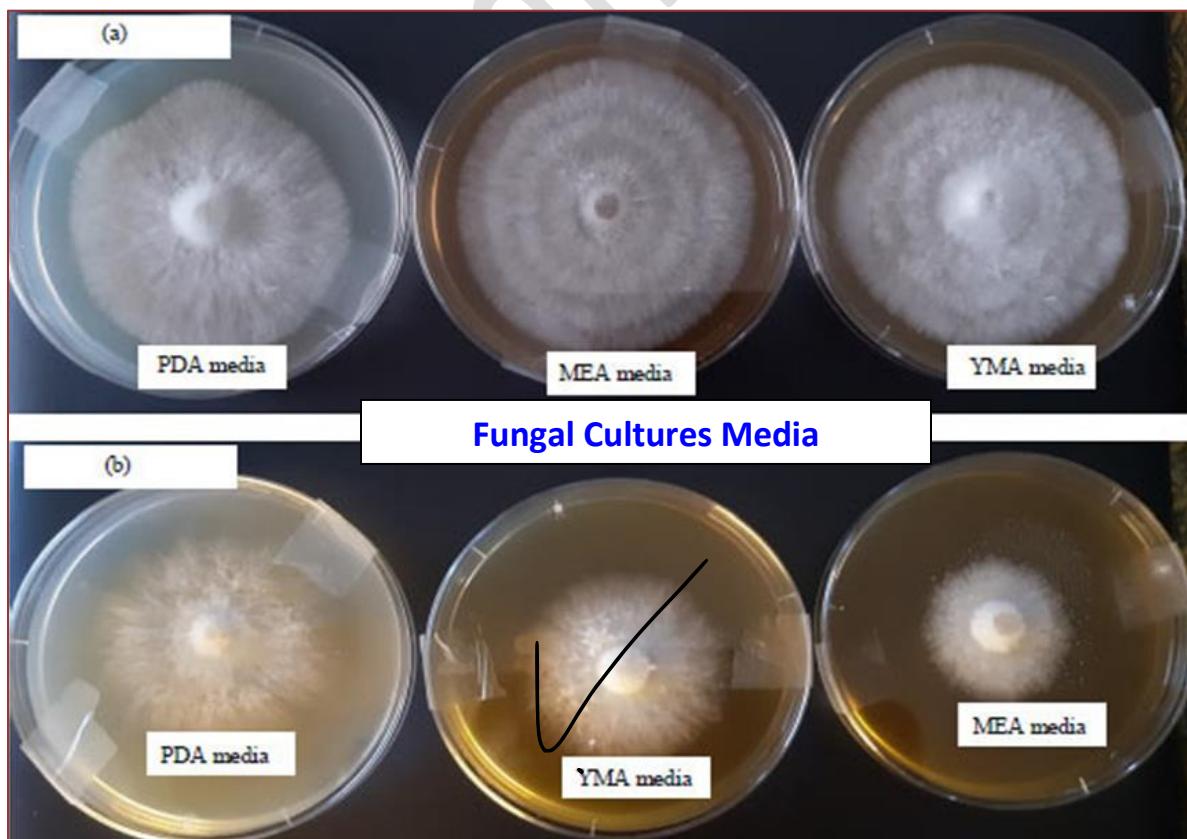
(2) According to type of the microorganism نوع الميكروب

According to type of the grown microorganism, there is bacterial, actinomycetal, fungal, algal, etc culture media.

(1) Bacterial culture media: used for growth of bacterial cultures (e.g: Nutrient agar, MacConkey agar, Blood agar, Chocolate agar).



(2) Fungal culture media: used for growth of fungal cultures (Dox's agar medium, Potato dextrose agar (PDA) medium, malt extract agar (MEA) medium, yeast malt agar (YMA) medium).



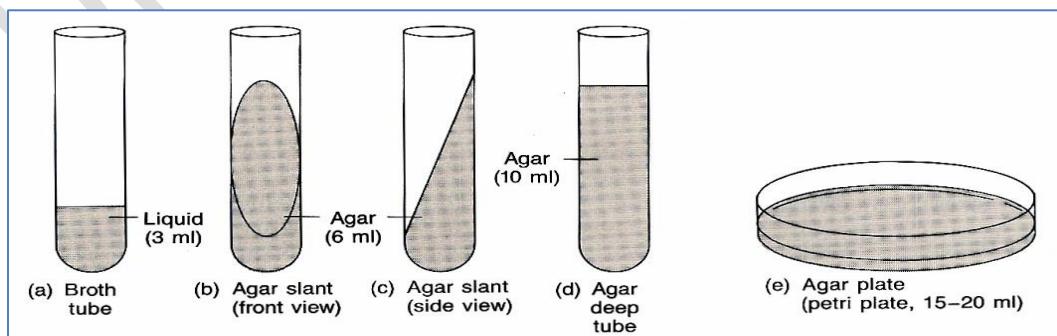
(3) Classification based on functional use: According to the function use, there are many types of media: Basal media, Enriched media, Selective media, Differential media, Transport, Storage media.

Culture media	Use
Nutrient agar plate 	A basal and general purpose medium and support growth of a wide variety of bacteria
Blood agar plate 	Enriched medium used to culture those bacteria or microbes that do not grow easily. Blood agar contains general nutrients and 5% defibrinated blood (sheep or horse)
MacConkey agar plate 	A selective and differential medium designed to isolate and differentiate enterics based on their ability to ferment lactose
Chocolate agar plate 	A nonselective, enriched growth medium used for isolation of pathogenic bacteria such as <i>Neisseria meningitidis</i>

مكونات الوسط الغذائي (بكل أنواعه) يتم طبخها في دورق مخروطي بإستخدام جهاز الميكرويف عند درجة حرارة 45 ملدة 5 دقائق.

The component of nutrient medium is cooked in conical flak.

يتم تعقيم الوسط الغذائي في جهاز الاتوكلاف عند درجة حرارة 121 م و 1.5 ضغط لمدة 20 دقيقة.
بعد التعقيم والتبريد حتى درجة حرارة أعلى من 45 م يتم صبه (توزيعه) في أطباق بتري أو أنابيب اختبار.



رابط فيديو يوضح كيفية تحضير الوسط الغذائي في المعمل

<https://www.youtube.com/watch?v=cneascR3OEc>

Lab (5): Isolation of Microorganisms from the environment

➤ Environmental Sources of Microorganisms:

- ❖ Microorganisms are present in different environmental sources such as (Soli, water, air, foods & bodies of living organisms).

➤ Isolation:

- ❖ The term isolation refers to the separation of a strain (Microbe) from a natural, mixed population of living microbes, as present in the environment (for example in water or soil flora) or from living beings with skin flora, oral flora or gut flora, in order to identify the microbe(s) of interest.
- ❖ The purpose of isolation is the obtaining of pure culture (microbe) from mixed microbial cultures.
- ❖ The first step in isolation process is collection of sample (sampling) as in figures below:



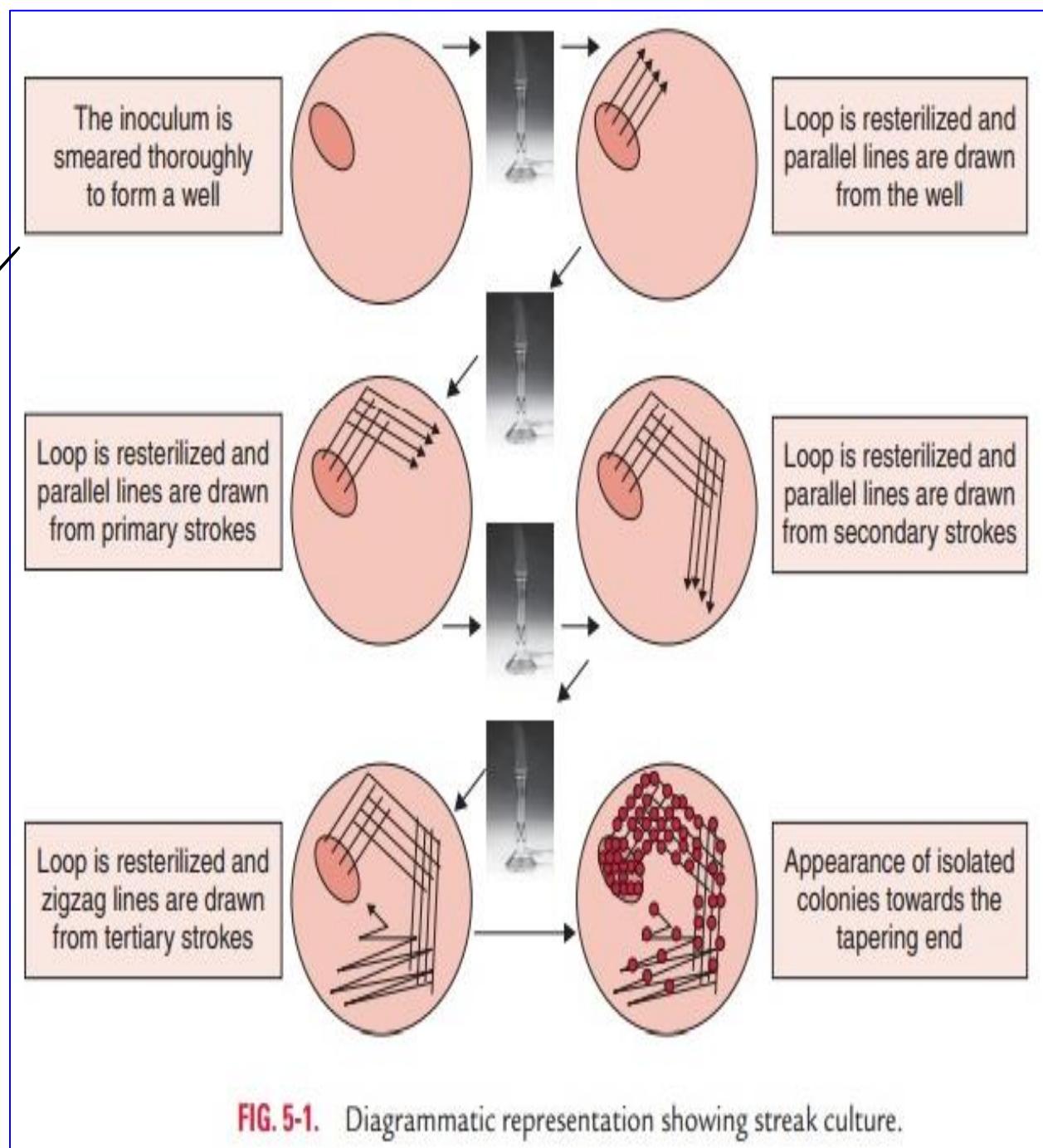


➤ **Isolation techniques:**

There are many isolation methods employed to isolate microbes from mixed cultures for example streaking, plating and dilution.

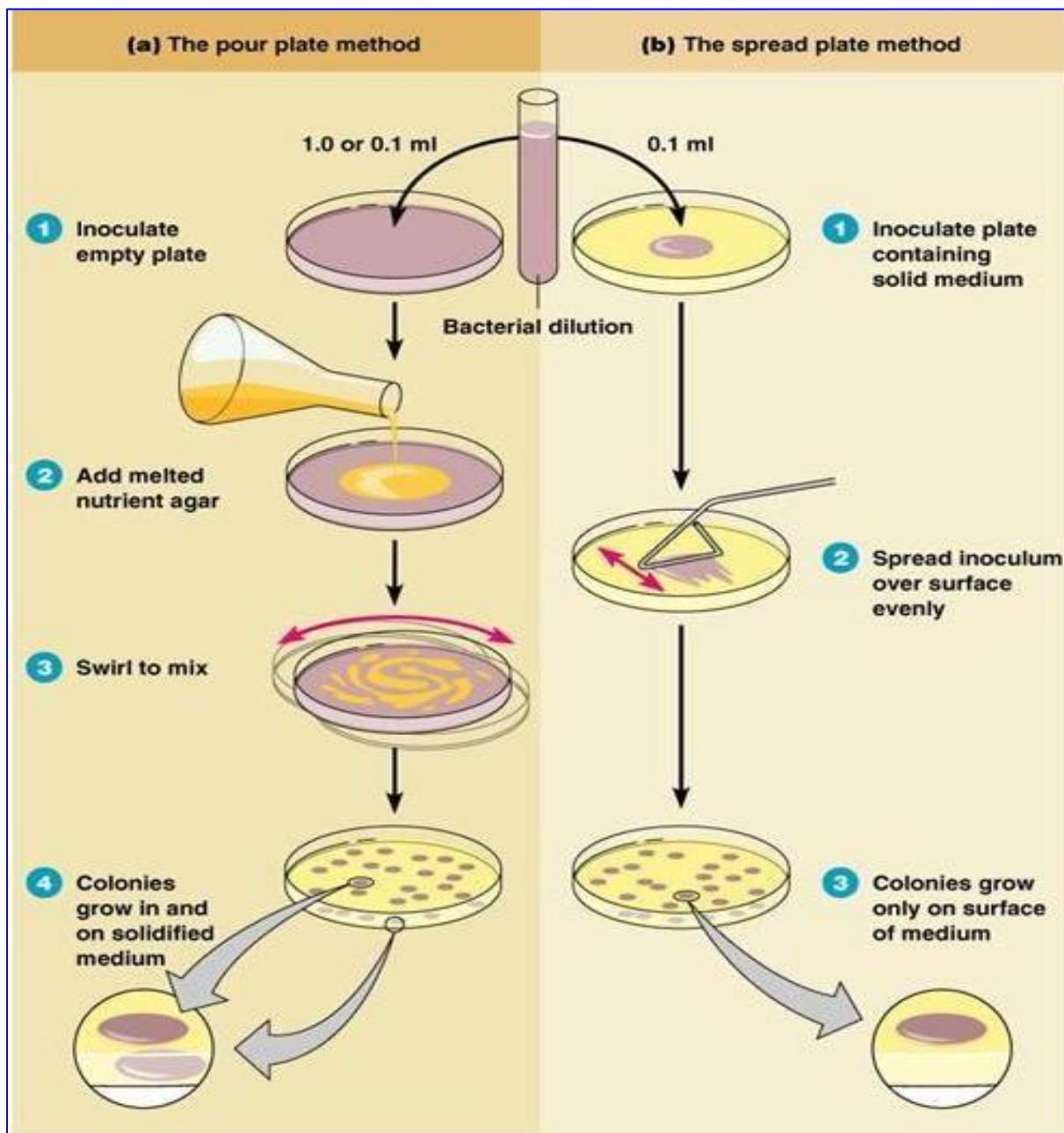
(1) Streaking method:

طريقة التخطيط



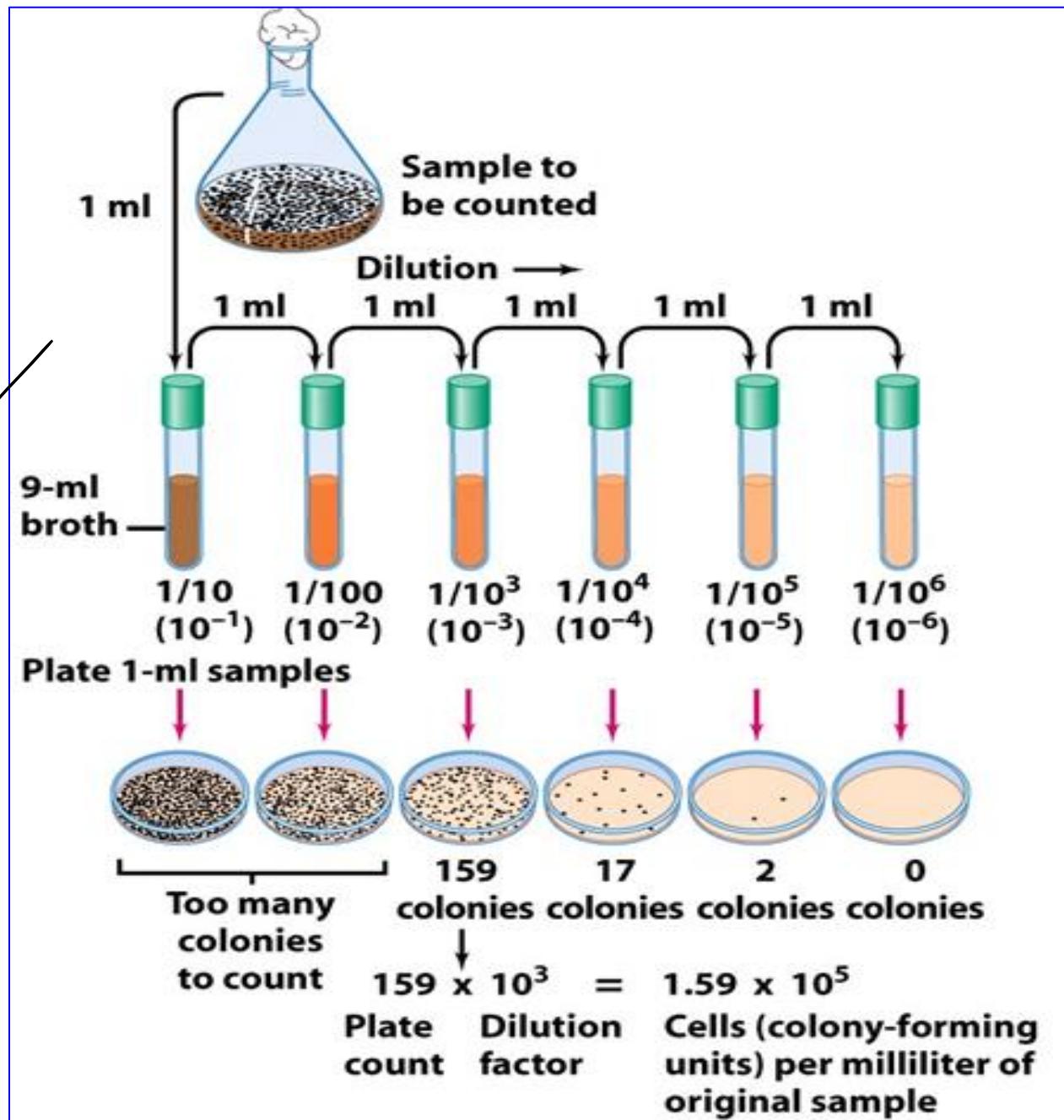
(2) Plating method:

طريقة الأطباق



(3) Dilution method:

طريقة التخفيف



مرفق روابط فيديو توضح طرق العزل المختلفة

https://www.youtube.com/watch?v=_1KP9zOtjXk&ab_channel=AmritaVlab

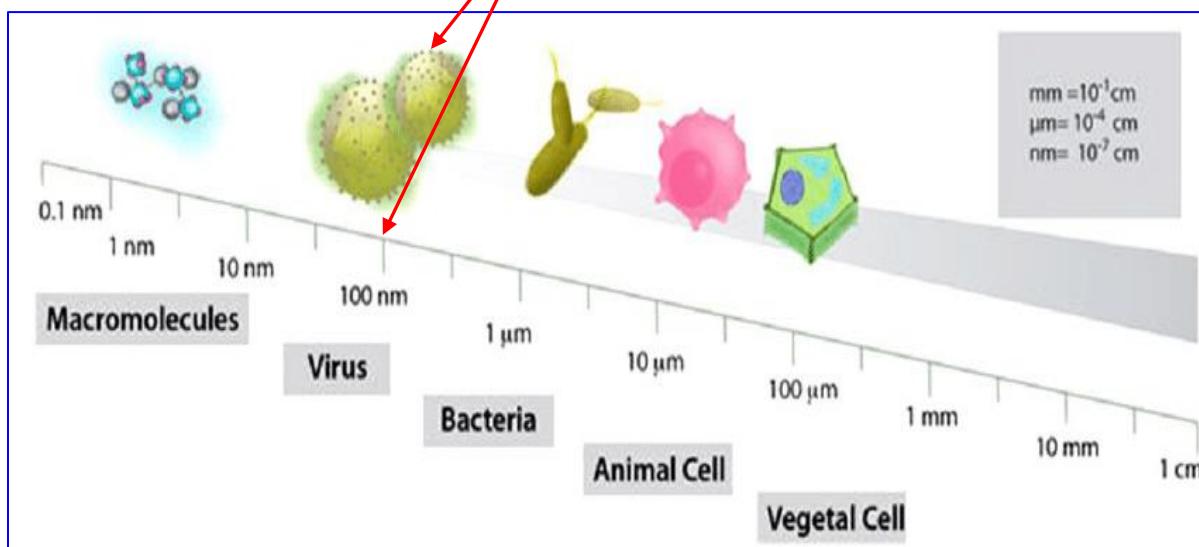
https://www.youtube.com/watch?v=Rye6DfMv66Q&ab_channel=OCCBiology

https://www.youtube.com/watch?v=alTgt0h5jOE&ab_channel=AdtUDigitalLearningPlatform

Lab (6): Virology

➤ Viruses:

- are submicroscopic (tiny particles 20 - 400 nm), thus it can't be seen with the light microscope.

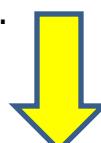


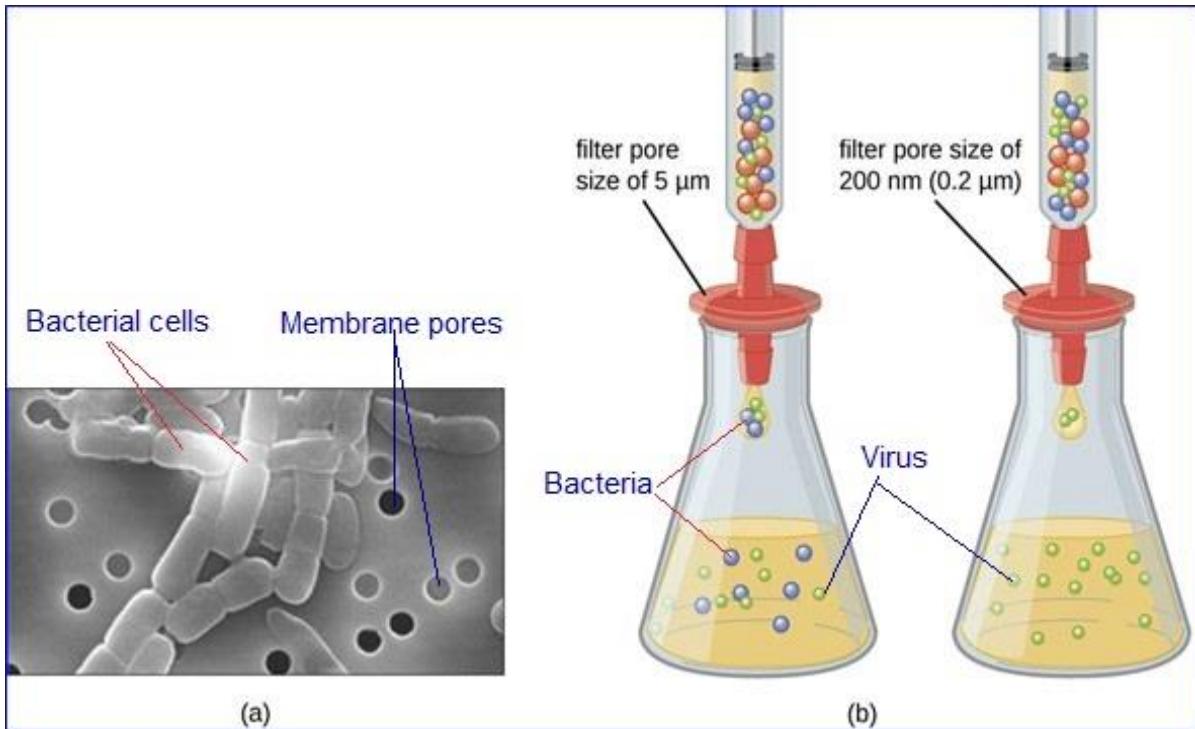
الفيروسات هي وحدات تحت مجهرية (جزيئات متناهية الصغر 20-400 نانومتر) ولذلك لا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي.

➤ Isolation, Culture, and Identification of Viruses عزل وزراعة وتعريف الفيروسات

(A) Isolation of Viruses

- Unlike bacteria, many of which can be grown on an artificial nutrient medium, viruses require a living host cell for replication.
- Infected host cells (eukaryotic or prokaryotic) can be cultured and grown, and then the growth medium can be harvested as a source of virus.
- Virions in the liquid medium can be separated from the host cells by either centrifugation or filtration.
- Filters can physically remove anything present in the solution that is larger than the virions; the viruses can then be collected in the filtrate (see Figure).





Isolation of viruses by membrane filters (used to remove cells or viruses from a solution)

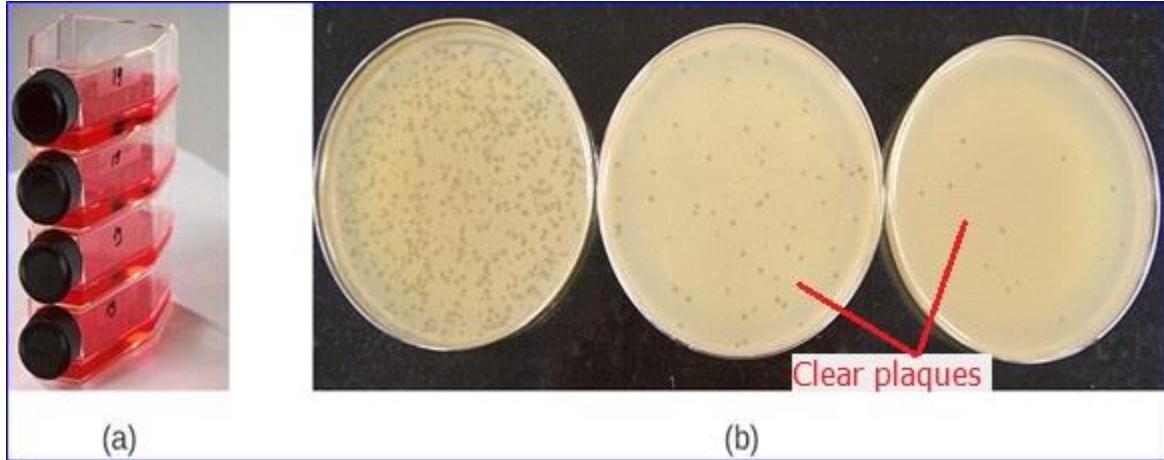
(a) This scanning electron micrograph shows rod-shaped bacterial cells captured on the surface of a membrane filter. Note differences in the comparative size of the membrane pores and bacteria. Viruses will pass through this filter. (b) The size of the pores in the filter determines what is captured on the surface of the filter (animal [red] and bacteria [blue]) and removed from liquid passing through. Note the viruses (green) pass through the finer filter.

(B) Cultivation of Viruses

Viruses can be grown *in vivo* (within a whole living organism, plant, or animal) or *in vitro* (outside a living organism in cells in an artificial environment, such as a test tube, cell culture flask, or agar plate).

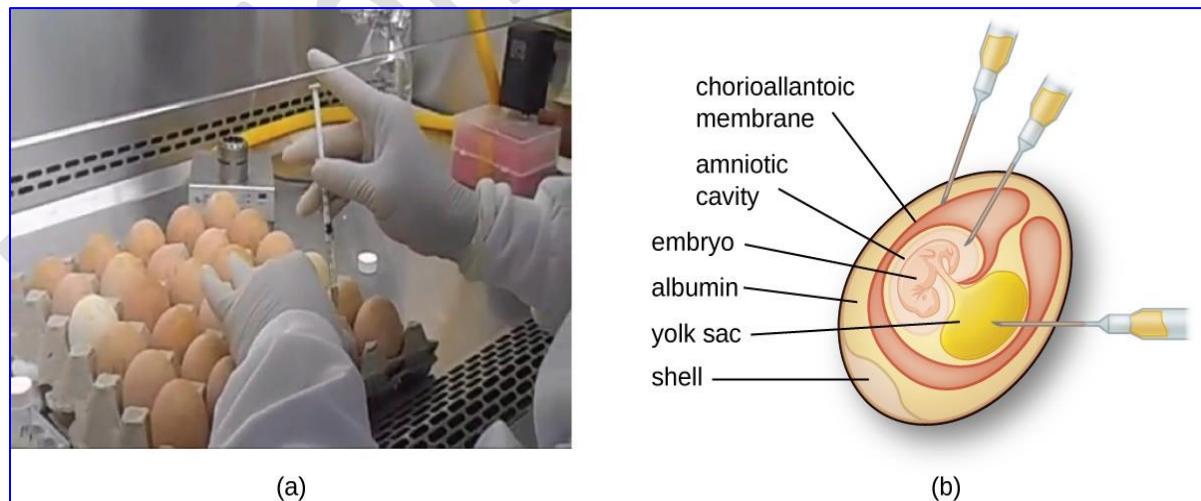
(1) **Bacteriophages:** can be grown in the presence of a dense layer of bacteria (also called a bacterial lawn) grown in a 0.7 % soft agar in a Petri dish or flat (horizontal) flask (see Figure below). The agar concentration is decreased from the 1.5% usually used in culturing bacteria. The soft 0.7% agar allows the bacteriophages to easily diffuse through the medium.

- For lytic bacteriophages, lysing of the bacterial hosts can then be readily observed when a clear zone called a plaque is detected (see Figure 2). As the phage kills the bacteria, many plaques are observed among the cloudy bacterial lawn.



(a) **Tissue culture Flasks;** like this may be used to culture human or animal cells for viral culturing. (b) **Agar plates;** contain bacteriophage T4 grown on an *Escherichia coli* lawn. Clear plaques are visible where host bacterial cells have been lysed. Viral titers increase on the plates to the left.

(2) Animal viruses: require cells within a host animal or tissue-culture cells derived from an animal such as hens' eggs.



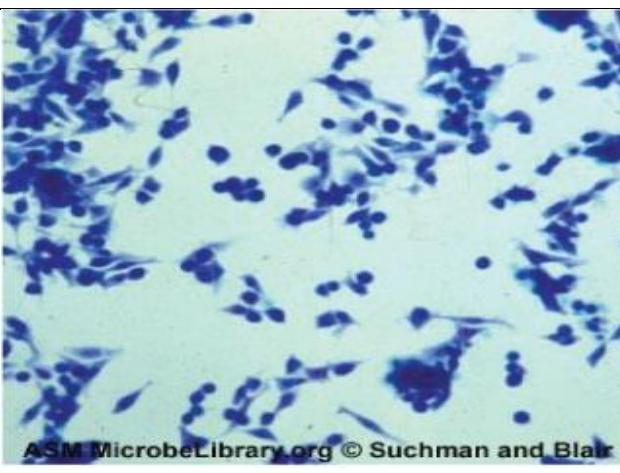
(a) The cells within chicken eggs are used to culture different types of viruses. (b) Viruses can be replicated in various locations within the egg, including the chorioallantois membrane, the amniotic cavity, and the yolk sac.

Animal virus cultivation is important for 1) identification and diagnosis of pathogenic viruses in clinical specimens, 2) production of vaccines, and 3) basic research studies. In vivo host sources can be a developing embryo in an embryonated bird's egg (e.g., chicken, turkey) or a whole animal. For example, most of the influenza vaccine manufactured for annual flu vaccination programs is cultured in hens' eggs.

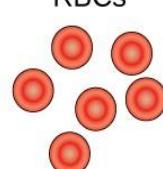
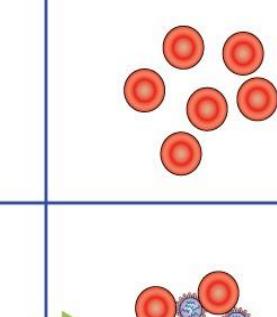
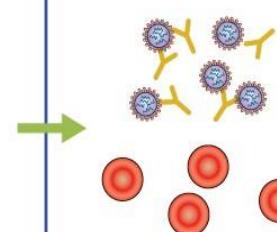
(C) Detection of a Virus

Regardless of the method of cultivation, once a virus has been introduced into a whole host organism, embryo, or tissue-culture cell, a sample can be prepared from the infected host, embryo, or cell line for further analysis under a brightfield, electron, or fluorescent microscope.

(1) Cytopathic effects (CPEs): are distinct observable cell abnormalities due to viral infection. CPEs can include changes in cell shape from flat to round, shrinkage of the nucleus, vacuoles in the cytoplasm, fusion of cytoplasmic membranes, inclusion bodies in the nucleus or cytoplasm, and complete cell lysis.

Herpesvirus	Cytoplasmic stranding (arrows) and nuclear inclusion bodies (dashed arrow)	
Adenovirus	Cell enlargement, rounding, and distinctive grape-like clusters	 ASM MicrobeLibrary.org © Suchman and Bla

(2) Hemagglutination Assay: A serological assay is used to detect the presence of certain types of viruses in patient serum which can be used in a direct assay called a hemagglutination assay to detect specific types of viruses in the patient's sample. Hemagglutination is the agglutination (clumping) together of erythrocytes (red blood cells). Many viruses produce surface proteins or spikes called hemagglutinins that can bind to receptors on the membranes of erythrocytes and cause the cells to agglutinate. Hemagglutination is observable without using the microscope, but this method does not always differentiate between infectious and noninfectious viral particles, since both can agglutinate erythrocytes.

	Components	Interaction	Microtiter Results
A	RBCs		No reaction 
B	Virus + RBCs		Hemagglutination 
C	Virus + Antibody + RBCs		Hemagglutination inhibition 

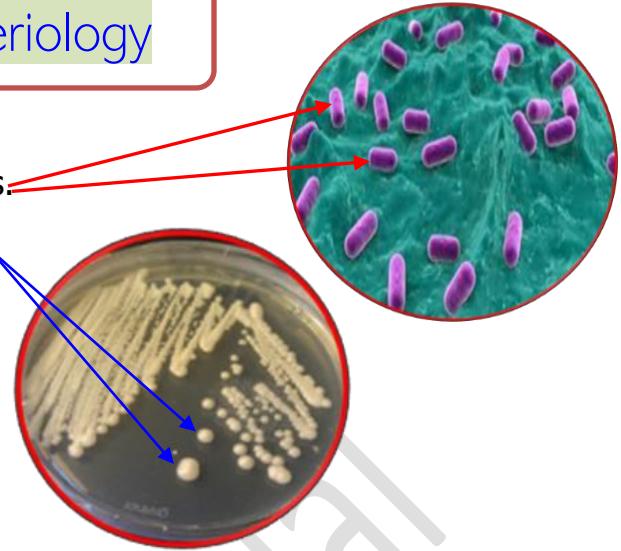
رابط فيديو يوضح كيفية عمل عزل وزراعة الفيروسات في المعمل:


https://www.youtube.com/watch?v=Yc7CLOviOPk&ab_channel=TheScientistCreativeServicesDivision

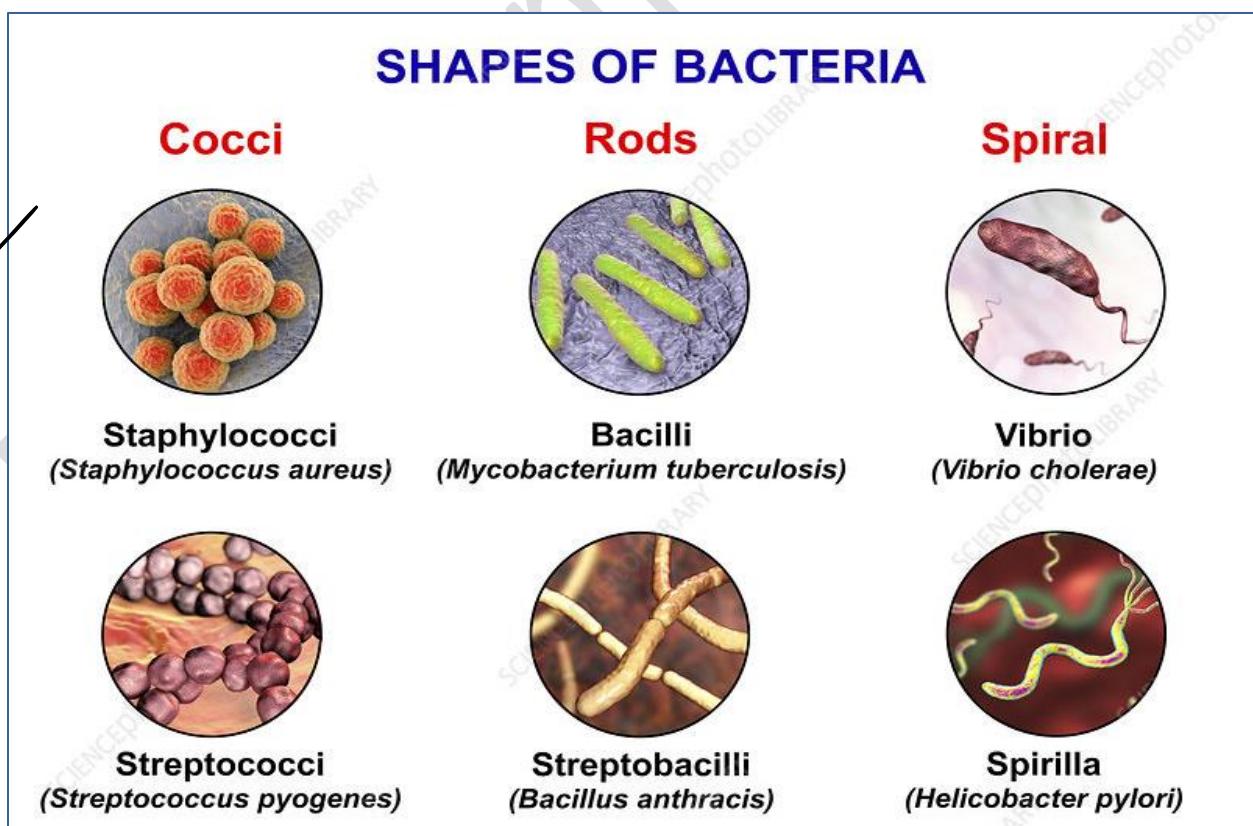
Lab (7): Bacteriology

➤ Bacteria:

- Bacteria are small single-celled organisms.
- Bacteria grow on solid media as colonies.



- **COLONY** is a cluster of microorganisms growing on the surface of or within a solid medium; originating from a single mother cell.
- ❖ Bacteria display a wide diversity of shapes (spherical, called cocci (singular coccus, rod-shaped, called bacilli (sing. *Bacillus*), vibrio are shaped like slightly curved rods or comma-shaped; others can be spiral-shaped, called spirilla, or tightly coiled called spirochaetes.



الخلايا البكتيرية شفافة ولكي يمكن رؤيتها وتمييز أشكالها المختلفة لابد من صبغها.

➤ Bacterial Staining

الصبغ البكتيري

- Improve visibility by greater contrast between the organism and background.
- Differentiate various morphological types (size, shape and arrangement).
- Demonstrate the purity of the culture.

➤ Types of Bacterial staining

أنواع الصبغ البكتيري

(1) Simple staining: in which only one stain is used. صبغ بسيط

مثال من الصبغات المستخدمة في الصبغ البسيط:

Crystal violet or Safranin or Methylene blue الكريستال البنفسجي أو الصفرانين أو ازرق الميثيلين

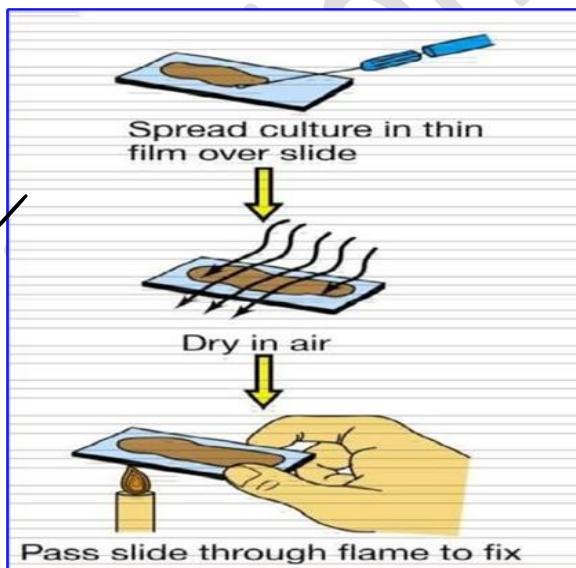
(2) Compound staining: in which more than one stain is used. صبغ مركب

مثال من الصبغات المستخدمة في الصبغ المركب هي صبغة جرام فيها يتم استخدام صبغتين:

(الكريستال البنفسجي+الصفرانين)

قبل البدء في تنفيذ أي نوع من أنواع الصبغ (بسيط أو مركب) لابد من تحضير الفيلم البكتيري

➤ **Bacterial Smear:** a small amount of bacterial culture are mixed with a drop of water and spread in a very thin film on the surface of the slide then fixed by heat.



Bacterial Smear Preparation

الفيلم البكتيري: يتم خلط كمية صغيرة من المزرعة البكتيرية مع قطرة ماء وتوزيعها بإستخدام إبرة حقن معقمة في صورة غشاء رقيق جداً على سطح الشريحة ثم تثبيتها بالحرارة.

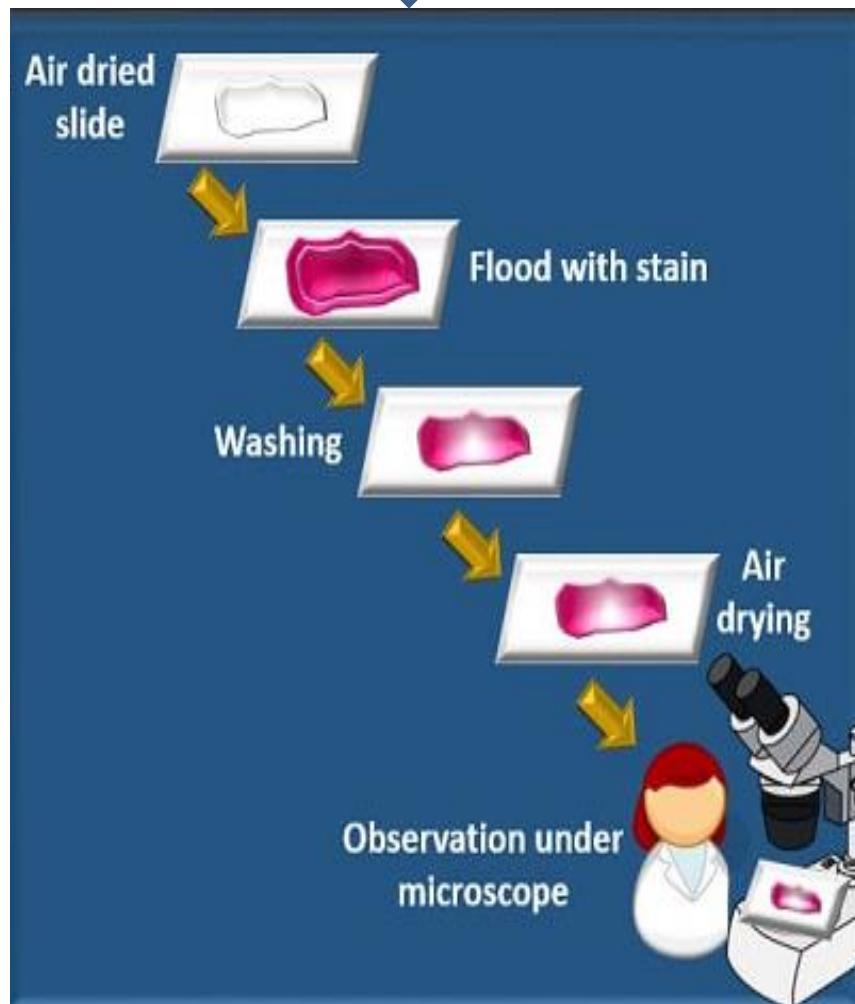
رابط فيديو لتحضير الفيلم البكتيري

https://www.youtube.com/watch?v=SLkipIg4WRg&ab_channel=SridharRao

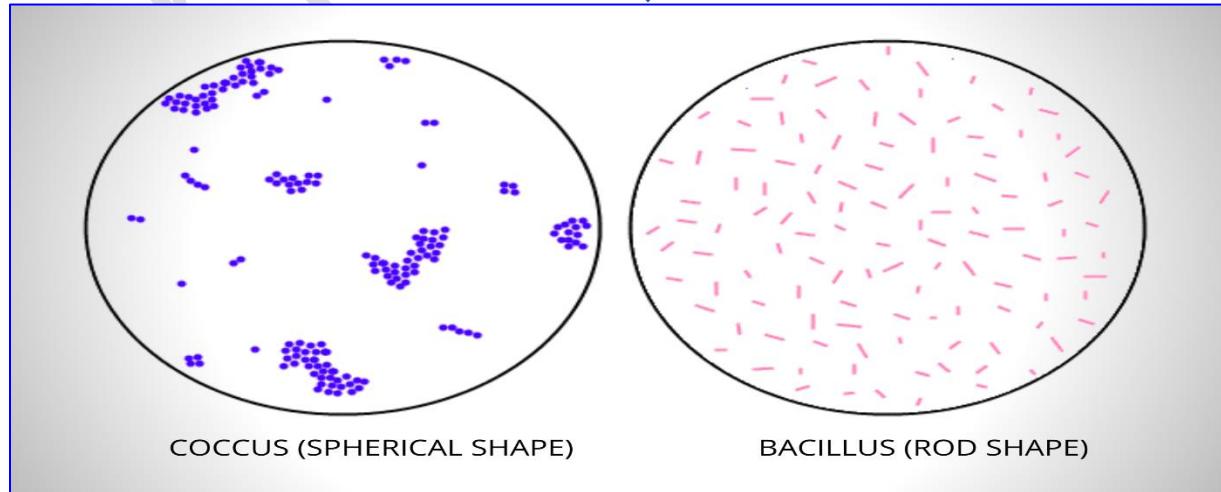
(1) Simple Staining

الصبغ البسيط

► Procedures



► Results



(2) Compound Staining (Gram stain)

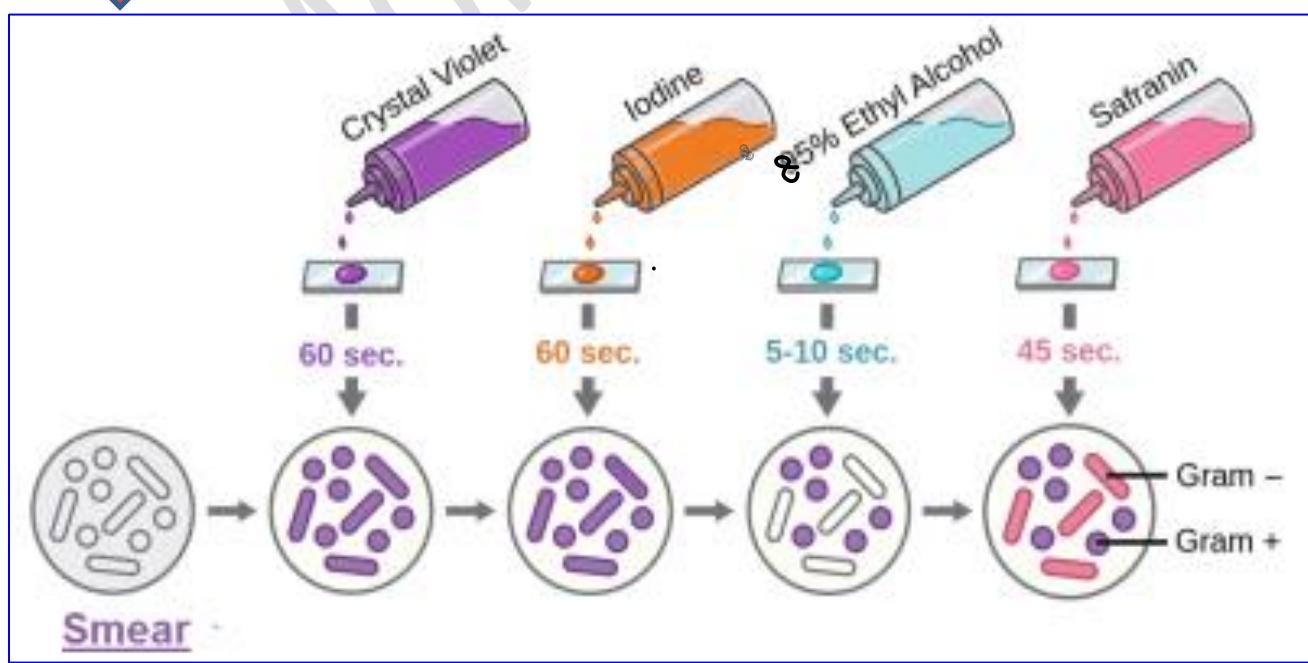
الصبغة المركب (صبغة جرام)

تعد صبغة جرام (Gram stain) : من أهم أنواع الصبغ المركب حيث يتم فيها استخدام نوعين من الصبغات ، الصبغة الأولى هي صبغة الكريستال البنفسجي (صبغة ذات لون بنفسجي) ، والصبغة الثانية هي صبغة الصفرانين (صبغة ذات لون أحمر). وتعد صبغة جرام واحدة من الصبغات المستخدمة في المستشفيات للتعرف على البكتيريا. ويعود الفضل في اكتشافها إلى الطبيب ذو الأصل الدانماركي هانس كريستيان غرام (Hans Christian Gram) الذي كان يعمل في مختبر التشريح التابع لمستشفى برلين في العام 1880 للميلاد.

► Procedures

خطوات عمل صبغة جرام:

- 1 - تحضير الفيلم البكتيري Bacterial film/smear
- 2 - وضع الصبغة الأساسية أو الأولية (صبغة الكريستال البنفسجي) لمدة دقيقة.
- 3 - غسل الزيادة من الصبغة بالماء.
- 4 - إضافة محلول المثبت (محلول اليود) لمدة دقيقة.
- 5 - غسل الزيادة من اليود بالماء.
- 6 - إضافة محلول نزع اللون (الكحول الإيثيلي 85%) لمدة 10 ثانية.
- 7 - غسل الزائد من الكحول بالماء.
- 8 - إضافة الصبغة الثانوية (الصفرانين) لمدة دقيقة.
- 9 - غسل الزيادة من الصبغة بالماء.
- 10 - تجفيف الشرحة في الهواء لمدة دقيقة.
- 11 - وضع نقطة من زيت سيدرثم الفحص بالعدسة الزيتية.



في صبغة جرام يجب معرفة الآتي:

- The primary stain is Crystal violet (Violet color).
- The secondary stain is Safranin (Red color).
- The mordant solution is Iodine.
- The decolorizing agent is Alcohol 85%.
- Oil immersion lens is used for investigation of the bacterial cells.

➤ Results



نتيجة صبغة جرام

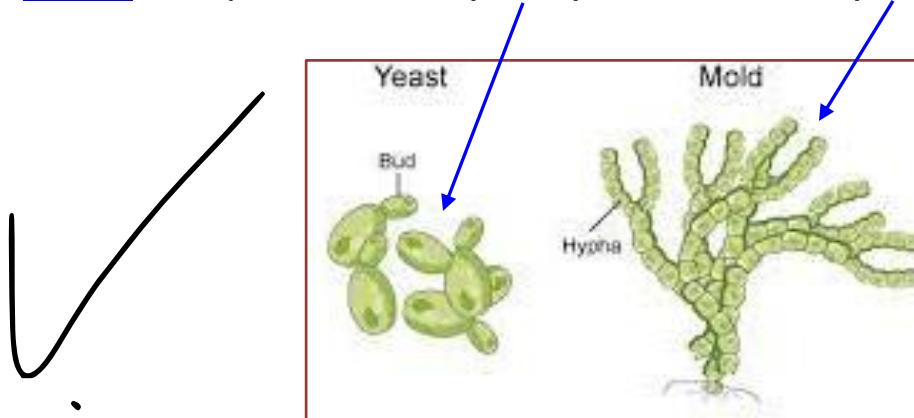
Type of Gram stain: Gram positive	Bacterial cell shape: Cocci	Type of Gram stain Gram positive	Bacterial cell shape: Bacilli
Type of Gram stain: Gram Negative		Type of Gram stain: Gram Negative	Bacterial cell shape: Bacilli
Bacterial cell shape: Cocci			

رابط فيديو يوضح كيفية عمل صبغة جرام في المعمل:

<https://www.youtube.com/watch?v=sxa46xKfIOY>

Lab (8): Mycology

- **Fungi:** Eukaryotic unicellular (**Yeast**) and multicellular (**Molds**) microorganisms.



• الفطريات: هي كائنات حية دقيقة حقيقة النواة وحيدة الخلية (**الخمائر**) وعديدة الخلايا (**الأعفان**).

- **Cultivation of Fungi**

زراعة الفطريات

- Fungal cultures are usually grown on many types of media.

- **Media used for fungal growth**

الأوساط الغذائية التي تستخدم لنمو الفطريات

- (1) Yeast Malt Extract Agar (YMEA)
- (2) Malt extract agar (MEA)
- (3) Czapek's medium agar (CZA)
- (4) Sabouraud's dextrose agar (SDA)
- (5) Potato-dextrose agar (PDA)



(A)



(B)

Fungal growth on Sabouraud's dextrose agar (SDA) media;

(A) Yeast growth

(B) Mold growth

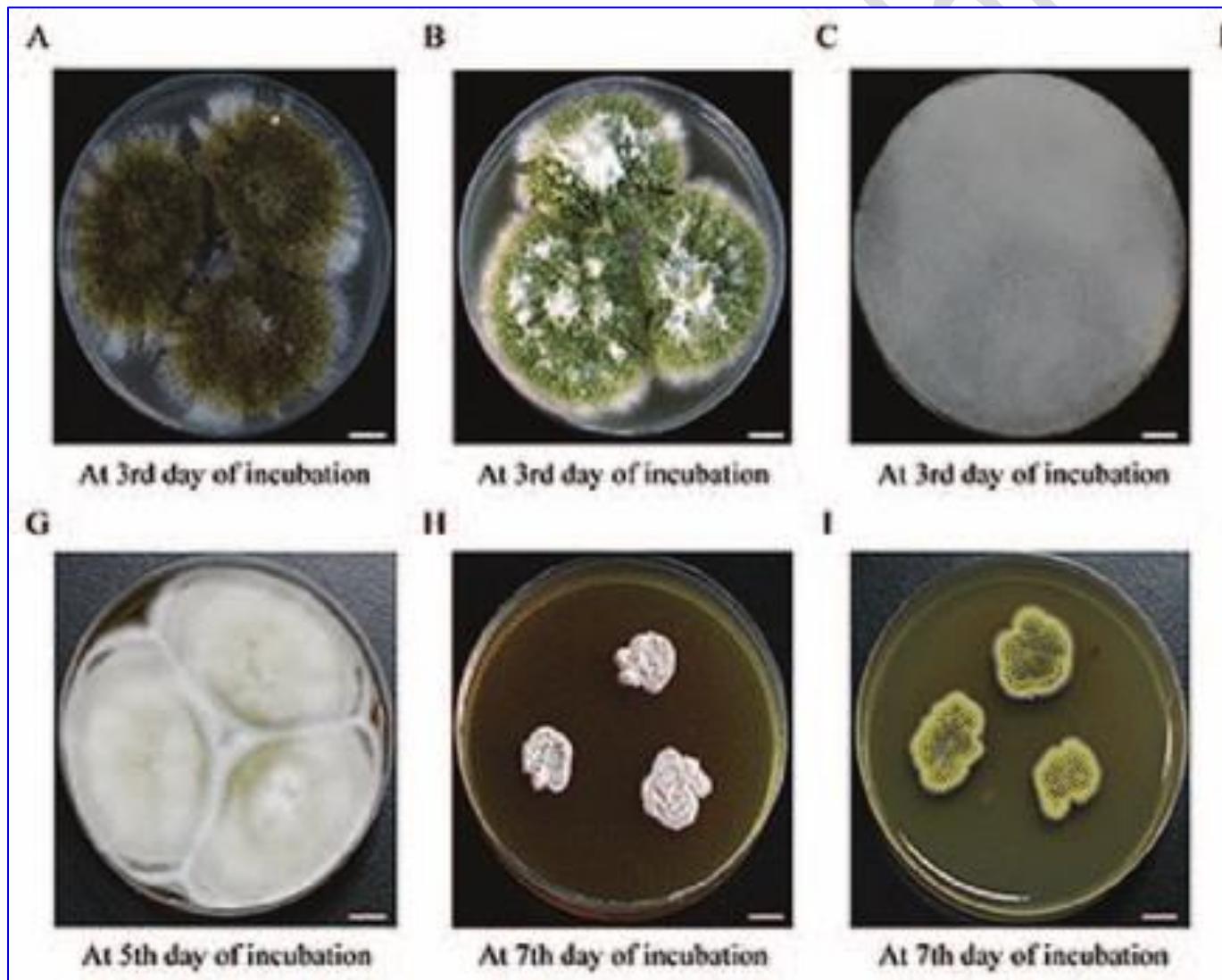
➤ **Identification of Fungi:**

تعريف الفطريات

The fungal cultures are defined through both morphological and microscopic characteristics.

(1) Morphological characteristics:

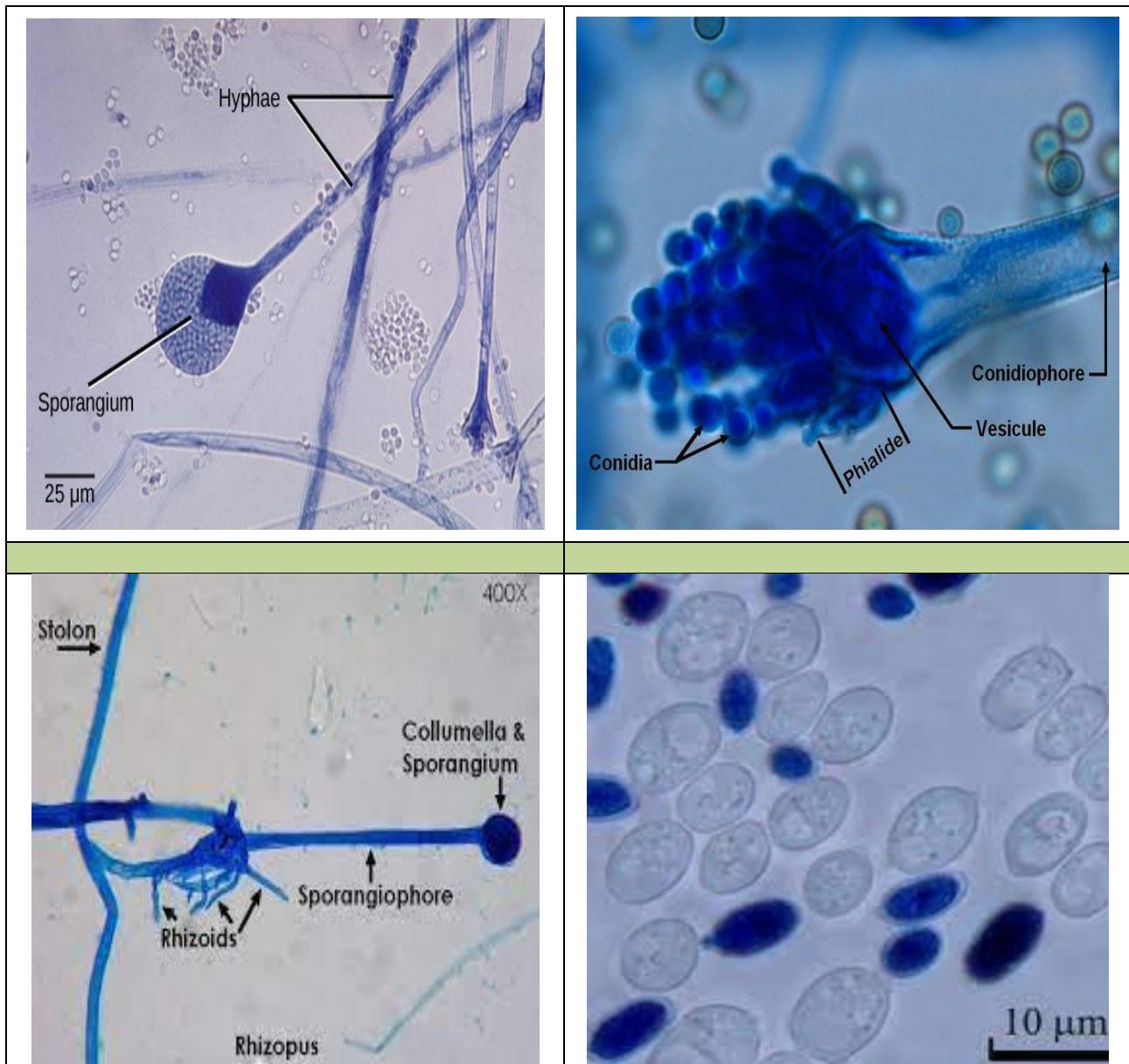
Morphological characteristics of the fungal cultures such as color of the culture, shape of the colonies, nature of the growth, growth degreeetc. are recorded at different incubation periods.



Colony morphology of different filamentous fungi

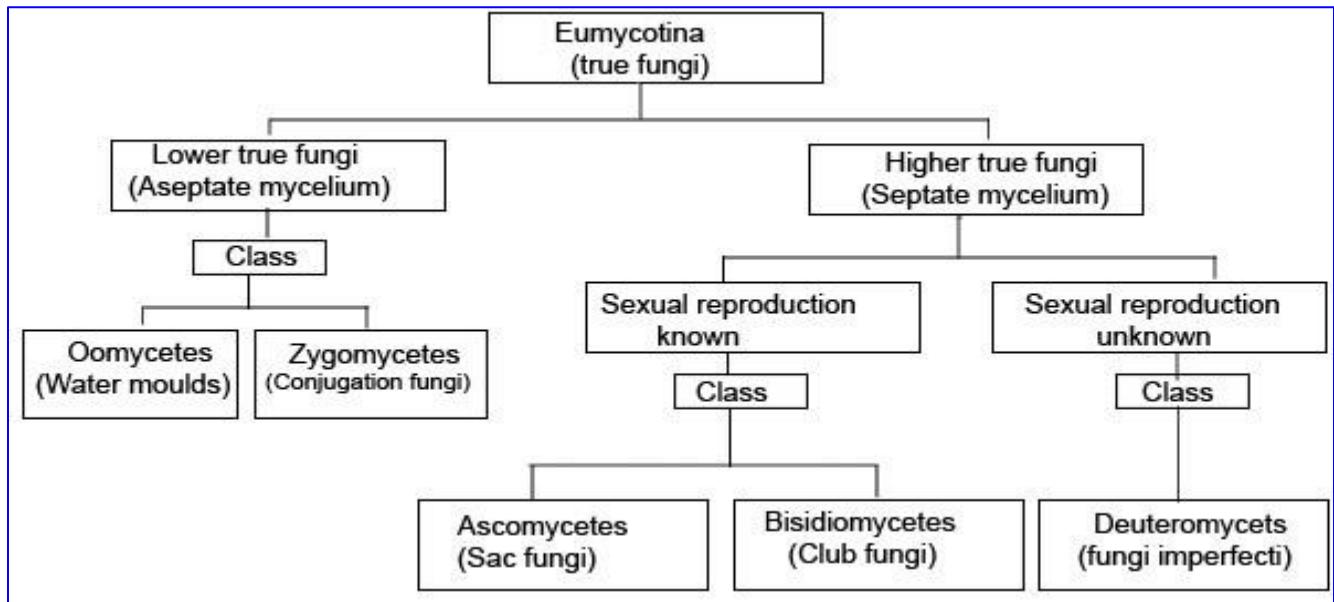
(2) Microscopic characteristics:

The microscopic characteristics of the fungal culture such as form of the fungal hyphae, form of the fungal spores and spore dimensions are recorded through investigation of the stained slides by lactophenol dye.



➤ Classification of fungi:

تصنيف الفطريات

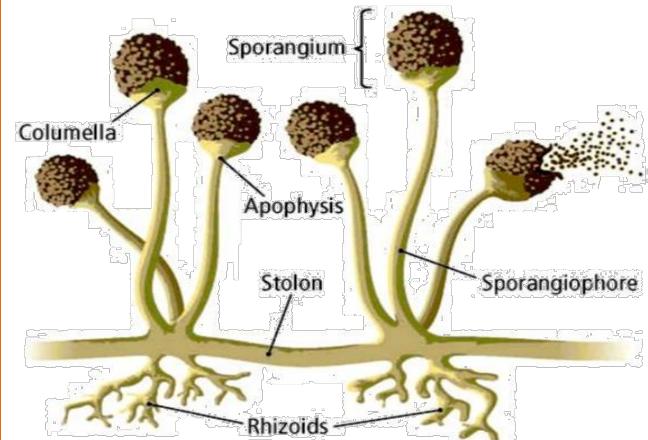
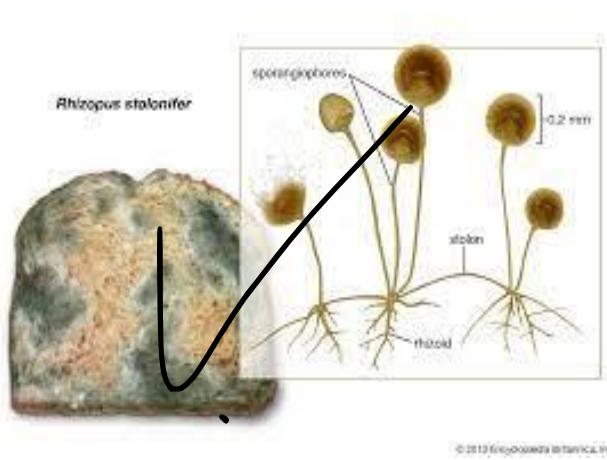


(1) Class: Zygomycetes

طائفة الفطريات الزيجوتية

Example: *Rhizopus sp*

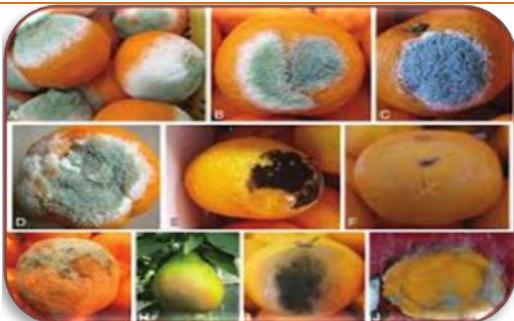
مثال: فطر عفن الخبز



Rhizopus sp

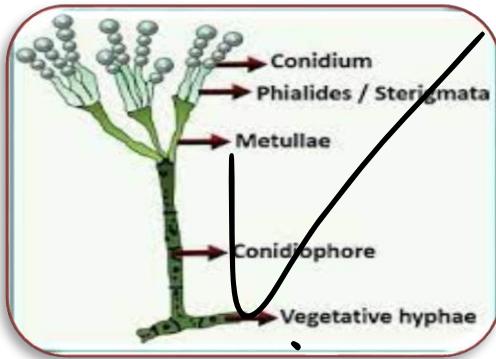
(2) Class: Ascomycetes

Example (1): *Penicillium sp*



طائفة الفطريات الكيسية (الزرقية)

مثال (1): فطر البنسلينوم

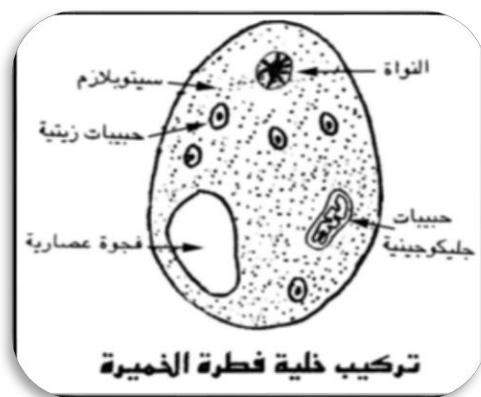
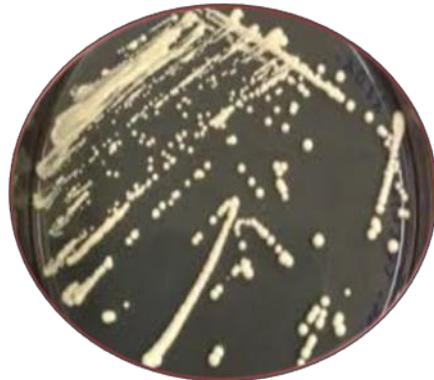


Penicillium sp

Example (2): *Saccharomyces sp*



مثال (2): فطر الخميرة



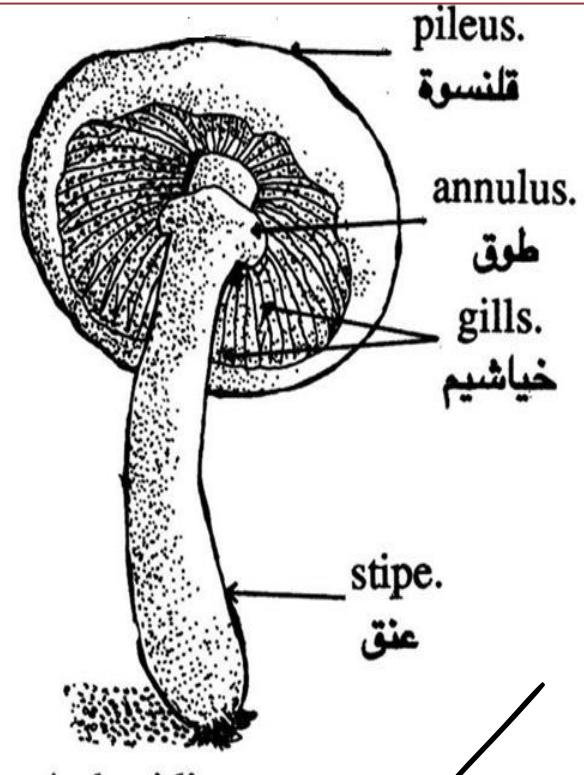
Saccharomyces sp

(3) Class: Basidiomycetes

طائفة الفطريات البازيدية

Example: *Agaricus sp*

مثال: فطر عيش الغراب



A, basidiocarp.
ثمرة بازيدية
Agaricus sp.
· عيش الغراب ·

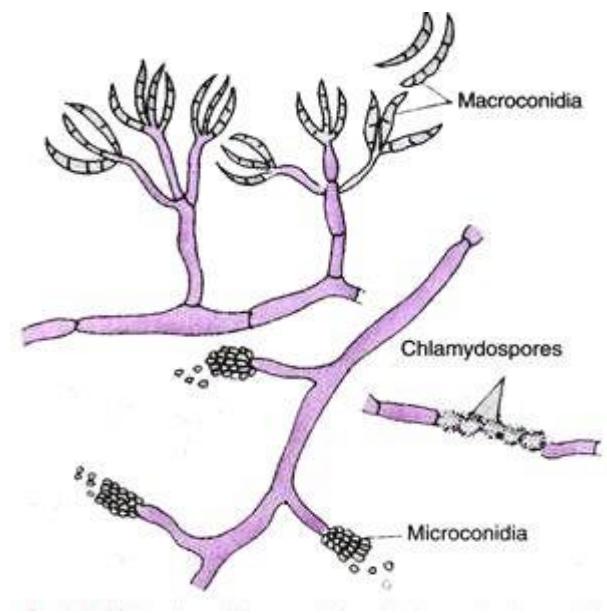
Agaricus sp

(3) Class: Deuteromycetes

طائفة الفطريات الناقصة

Example: *Fusarium sp*

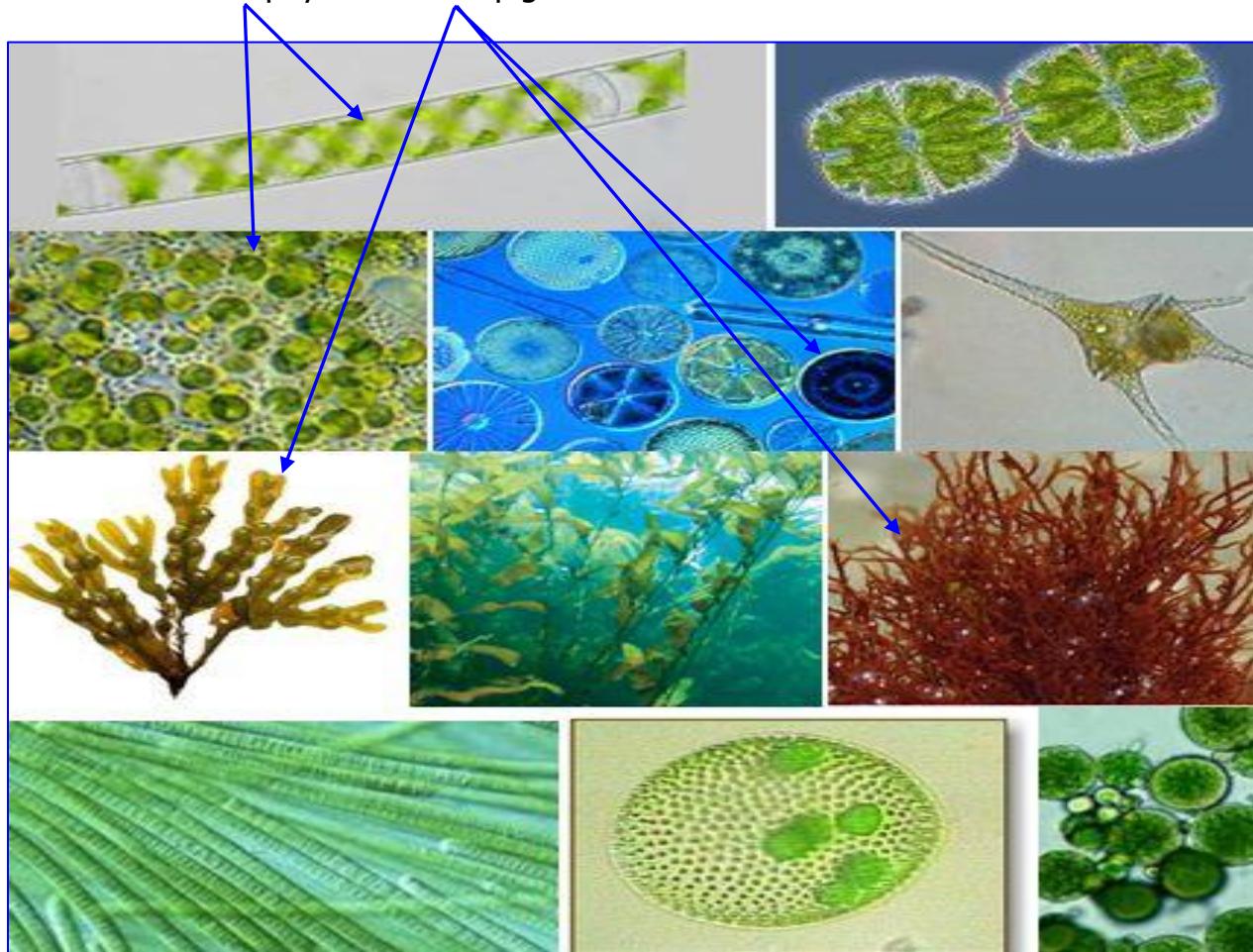
مثال: فطر الفيوزاريم



Fusarium sp

Lab (9): Phycology

➤ **Algae:** Eukaryotic unicellular and multicellular microorganisms that have chlorophyll and other pigments.



• الطحالب: هي كائنات حية دقيقة حقيقة النواة وحيدة الخلية وعديدة الخلايا وتمتلك صبغة الكلوروفيل وأصباغ أخرى.

➤ Algal Isolation and Cultivation

عزل الطحالب وزراعتها

Algal cultures are usually grown on many types of media.

➤ Media used for Algal growth

الأوساط الغذائية التي تستخدم لنمو الطحالب

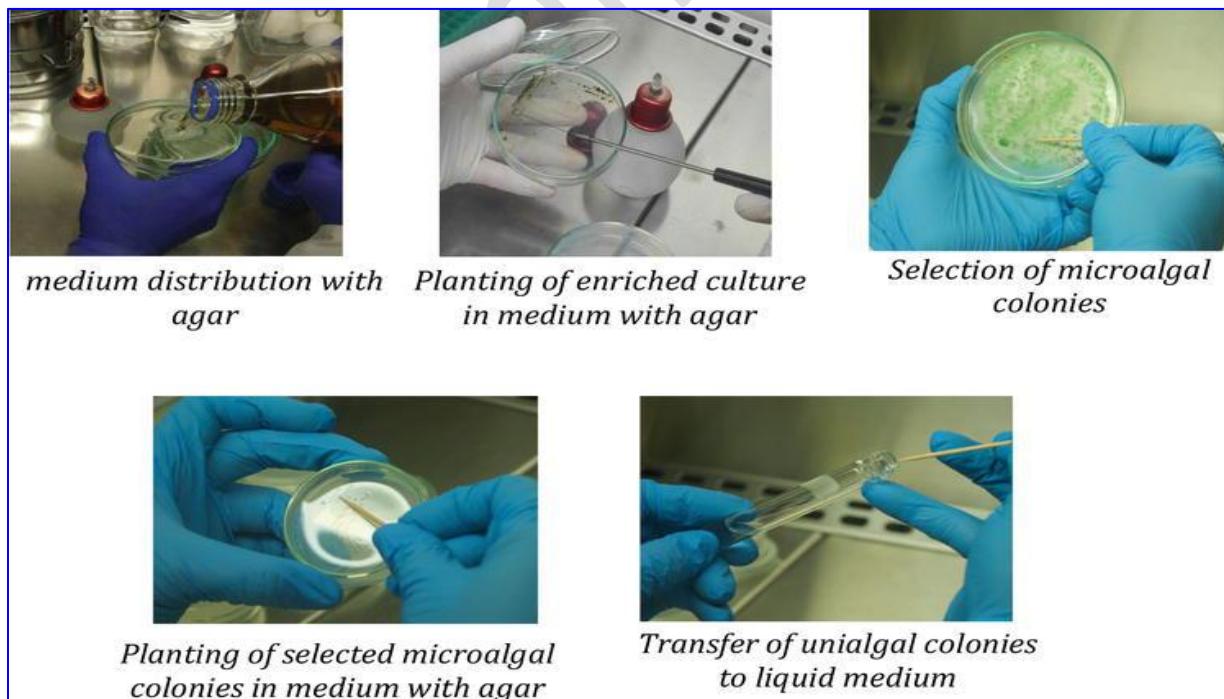
- (1) Bold's basal medium (BBM) good for many green algae
- (2) Allen's Cyanidium Medium
- (3) Forsberg's Medium II
- (4) BG-11 Medium

توجد طرق عديدة لعزل الطحالب من المصادر المختلفة، وتهدف طرق العزل الطحلبية إلى الحصول على عزلات تحتوي على طحلب واحد وتسمى عزلات وحيدة الطحلب unialgal cultures ويمكن أن تكون على شكل تجمعات ولكنها ربما تحتوي على فطريات او بكتيريا ، في حين تحتوي العزلات النقية Axenic cultures على نوع طحلبي واحد خال من اي ميكروبات أخرى. ولغرض الحصول على عزلات وحيدة الطحلب يرشح حجم معين من الماء من المصدر الذي جلب منه بواسطة أوراق ترشيح ثم نتقل هذه الأوراق في حجم قليل من الماء المقطر وتفحص الأنواع الطحلبية تحت المجهر.

➤ Isolation of algae on agar:

طريقة عزل الطحالب على وسط الاجار الصلب

- 1 تحضر أطباق بتري تحتوي على اوساط زراعية صلبة (خاصة بالطحالب) .
- 2 توضع قطرة أو قطرتان من العينة التي تحتوي على الطحلب في مركز الطبق المحتوى على الوسط الزراعي الصلب.
- 3 تحضن الأطباق لمدة من 4 إلى 8 أيام.
- 4 بعد إنتهاء فترة التحضير يتم فحص الأطباق مجهرياً لغرض تحديد الخلية الطحلبية المراد عزلها وتسحب بطريقة حذرة بواسطة إبرة أو سلك ضعيف معقم LOOP .
- 5 بعد عزلها تنقل إلى اوساط مزرعية سائلة وتفحص باستمرار بالمجهر حتى يتم التأكد من الحصول على عينة طحلبية وحيدة Unialgal Cultures .

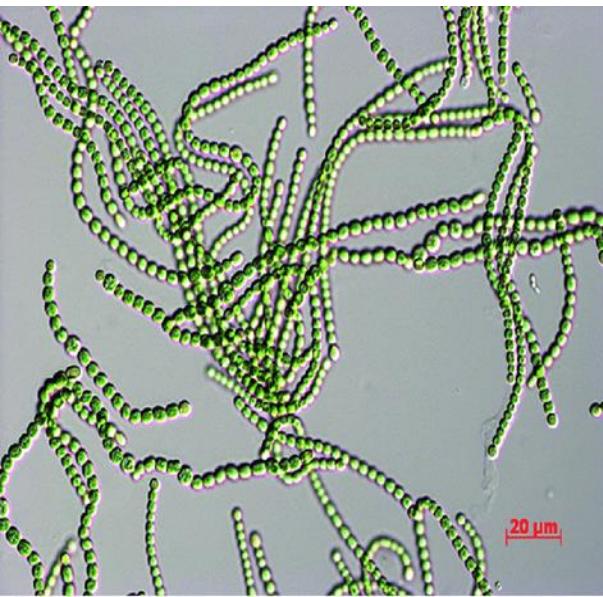
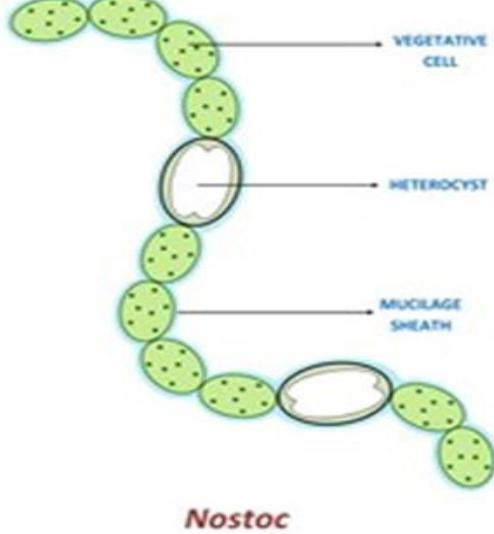
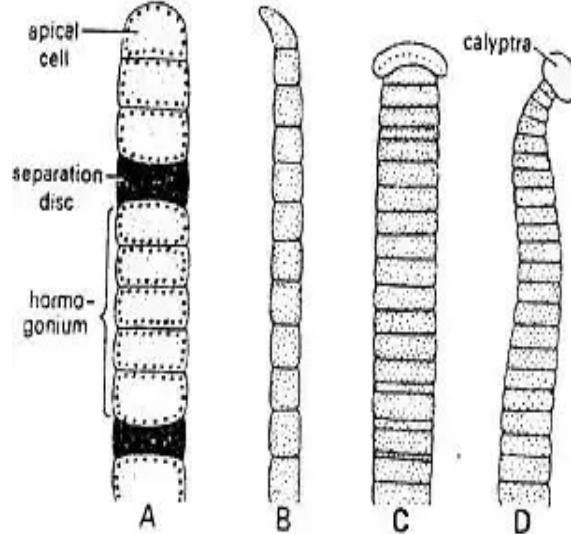


رابط فيديو يوضح طريقة عزل الطحالب في المعمل:

https://www.youtube.com/watch?v=AAB6RoO22qg&ab_channel=bdelder42

➤ Divisions of Algae

أقسام الطحالب

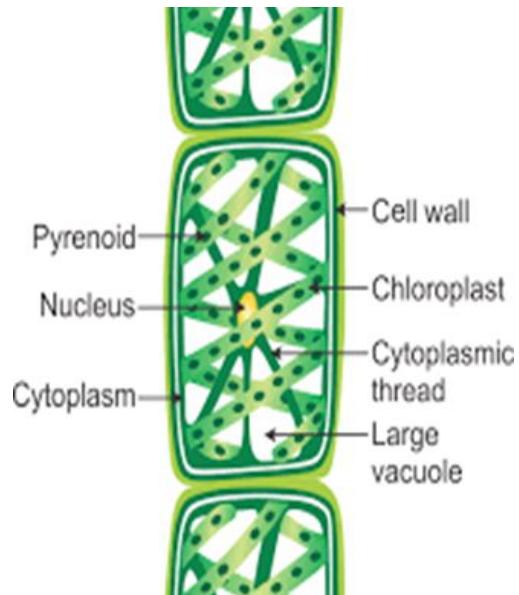
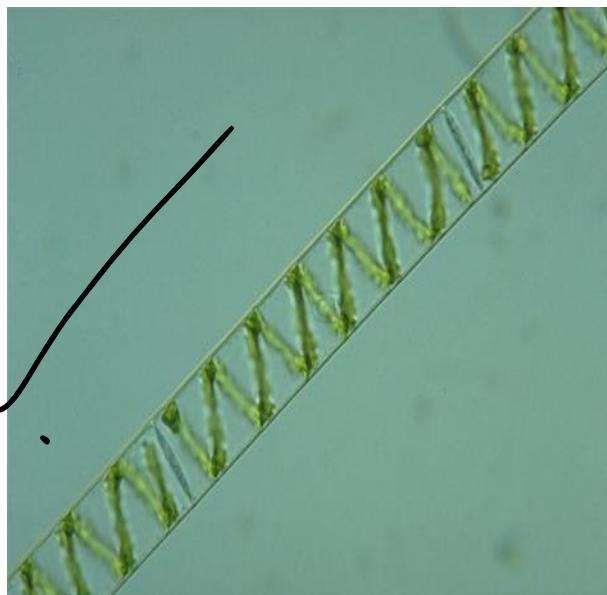
<p>Division (1): Cyanophyta (Cyanobacteria)</p>	<p>قسم الطحالب الخضراء المزرقة</p>
<p>Example (1): <i>Nostoc</i></p>	<p>مثال (1): التوستوك</p>
	
<p><i>Nostoc</i> sp</p>	
<p>Example (2): <i>Oscillatoria</i></p>	<p>مثال (2): الأوسيلاتوريا</p>
	
<p><i>Oscillatoria</i> sp</p>	

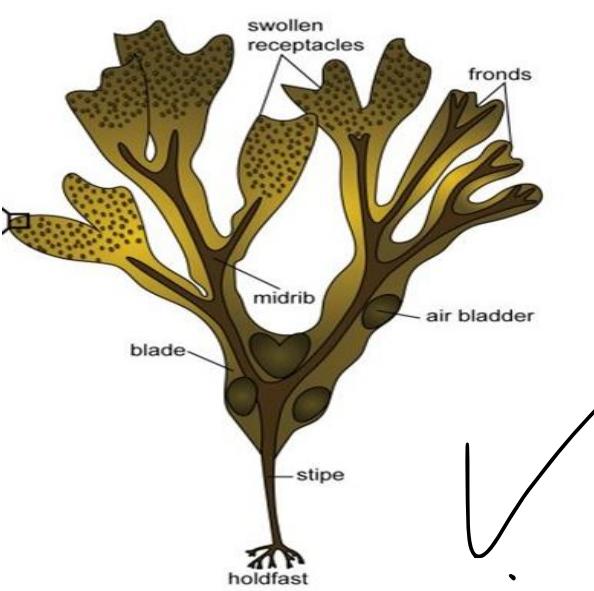
Division (2): Chlorophyta

قسم الطحالب الخضراء

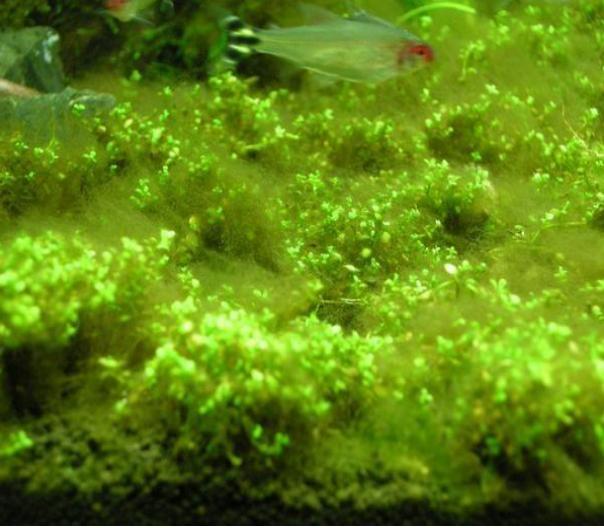
Example: *Spirogyra*

مثال : الأسيروجيرا

***Spirogyra sp***

Division (3): Phaeophyta (brown algae)	قسم الطحالب البنية
Example: <i>Fucus</i>	مثال : الفيوكس
	
	

Fucus sp

Division (4): Chrysophyta (Golden algae)	قسم الطحالب الذهبية
Example: <i>Diatoms</i>	مثال : الدياتومات
	
	
<i>Diatoms sp</i>	

Lab (10): Parasitology

➤ **Protozoa:** are single-celled eukaryotes have animal like characteristics.

كائنات حقيقية النواة وحيدة الخلية ذات صفات متشابهة مع الحيوان.

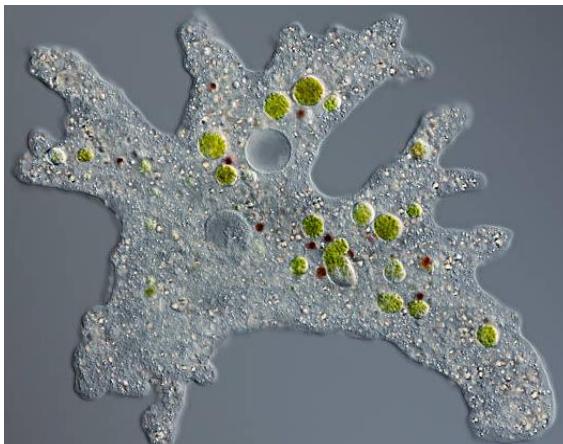
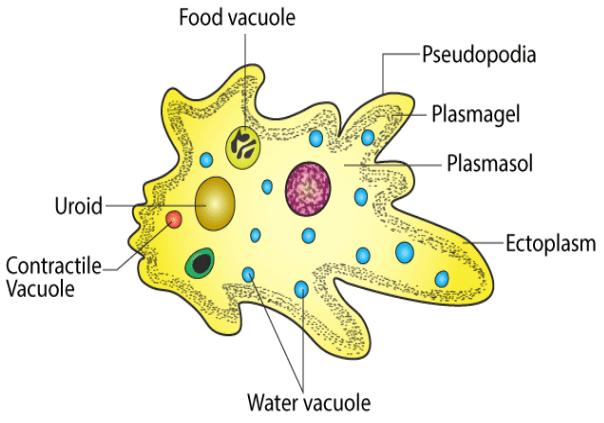
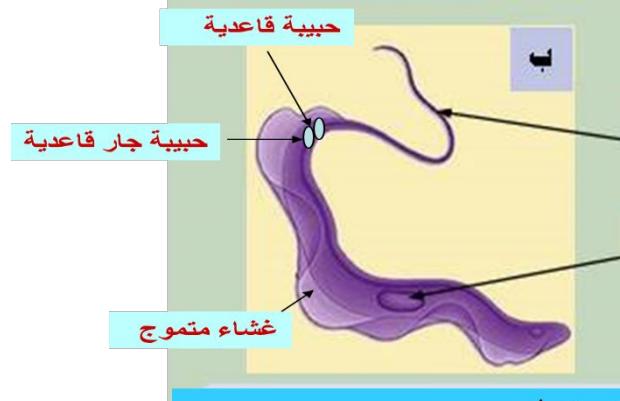
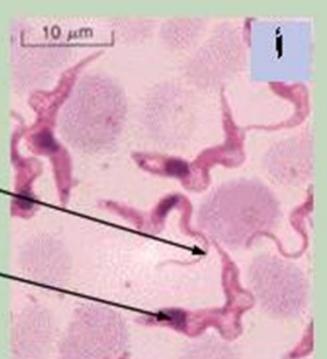
➤ **Classification of Phylum Protozoa:**

تصنيف شعبة البروتوزوا

On the basis of presence or absence of locomotory organs this phylum is divided into the following classes.

➤ **Classes of phylum Protozoa**

طوائف شعبة البروتوزوا

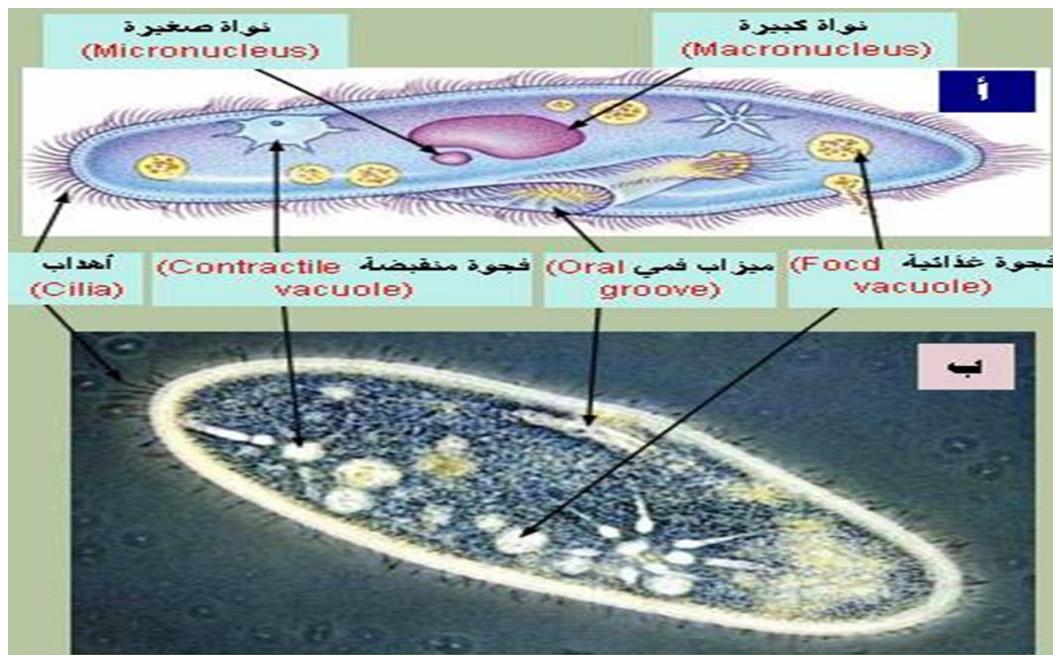
Class (1): Rhizopods (Sarcodina)	طائفة اللحميات
Example: Amoeba	مثلاً: الأميما
	
<i>Amoeba sp</i>	
Class (2): Mastigophora	طائفة السوطيات
Example: Trypanosoma	مثلاً: التربانوسوما
	
<i>Trypanosoma sp</i>	

Class (3): Ciliata (Ciliophora)

طائفة المدببات

Example: *Paramecium*

مثال: البراميسيوم



رسم تخطيطى لتركيب البراميسيوم

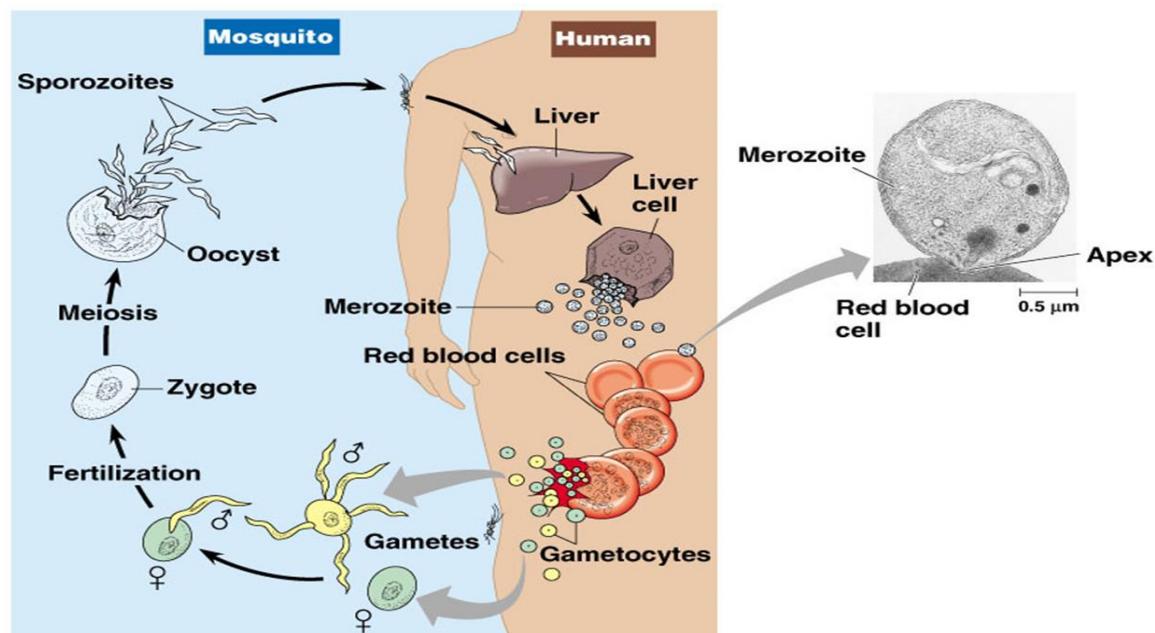
Paramecium sp

Class (4): Sporozoa

طائفة البوغيات

Example: *Plasmodium*

مثال: البلازموديوم



Plasmodium sp