



Microbiology

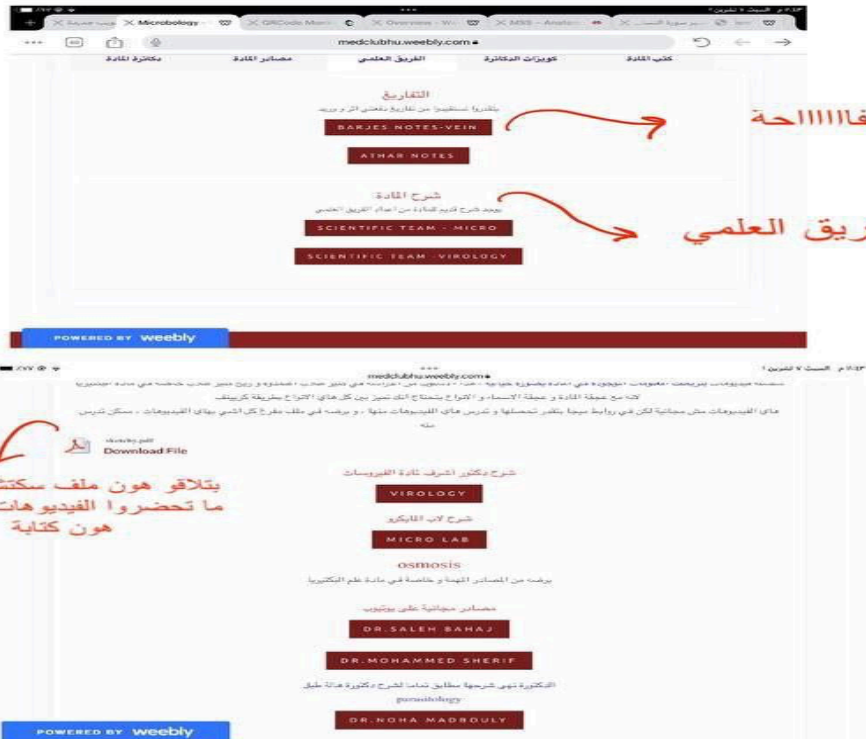
Subject : Diagnosis of Microbial Growth

Lec no : 6

Done By : Mofeed Obeidat & Saif Jebawi

وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا

تجدون في guidance مادة المايكرو على موقع النادي :



قاريغ برجس جدا!!!!!! قوية ، سفا!!!!!! حة

شرح للفريق العلمي

للوصول الى guidance المايكرو و تفاريغ
المادة كاملة :



كل اعمال الفريق العلمي تنشر على قناة
التليغرام



خلونا يا جماعة قبل ما نبلش بالمحاضرة نعطيكم طريقة تكسبوا فيها أجر
وانتو قاعدين بمحلكم

طب يلا اتحمسنا شو هي طريقة؟

الموضوع هو كالاتي التبرع برصيد الطباعة تبعكم للطلاب المحتاجة
الأغلب عنا يستخدم ايباد وما يحتاج هاد الرصيد فليش ما تكسب أجر وتعطيه لناس
محتاجيته

طب خلص أنا اقتنعت وبدي اتبرع شو أعمل؟

الموضوع جدا بسيط عزيزي الطالب كل يلي عليك عمله هي أنه تتأكد أول اشي أنه
عندك رصيد طب كيف؟ سهلة بتروح على
بوابة < خدمات أخرى > رصيد الطباعة

إذا أعطاك (لا يوجد أي حركات طباعة حاليا) معناها رصيدكم موجود وفيكم تتبرعوا

طب تأكدت كيف أتبرع هسا؟

من البوابة < خدمات أخرى > الدخول لشبكة الانترنت (المختبرات واللاسلكية)
بتأخذ اسم المستخدم (ويلي هو رقمك الجامعي) وبتنسخ كلمة السر
واخر اشي بتدخل على QR CODE يلي تحت وبتعبي فورم تبع التبرع بالرصيد

وبس كده انتهت القصة شفتوا قديش سهلة وبتكسب فيها
أجر كل حدا رح يدرس من الورق يلي اتبرعت فيه

قال -صلى الله عليه وسلم-: (صنائع المعروف تقي مصارع السوء و
الآفات و الهلكات، وأهل المعروف في الدنيا هم أهل المعروف في الآخرة)

يلا روحواكملوا المحاضرة
يعطيكم العافيه



6. Diagnosis of Microbial Growth

Faculty of Medicine
Hashemite University
Dr Mohammad Al-Tamimi, MD, PhD

Objectives

- Understand principals of culture and direct observation in microbiology
- Understand the main Immunological assay used in microbiology and describe antigen and antibody interaction
- Understand DNA structure and function, and describe the main genetic and molecular assay used in Microbiology
- Describe the main Biochemical assay used in Microbiology

Laboratory techniques in Microbiology

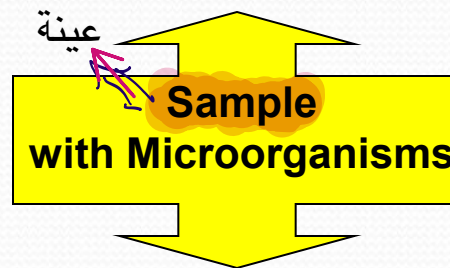
- 1 ● Microscopy بحط العينة تحت الميكروسكوب وبشوف شو فيه
- 2 ● Culture – Gold standard culture اهم فحص بالممايكروسكوب هو ال culture ✖
- 3 ● Immunological assays فحوصات مناعية
- 4 ● Molecular assays (PCR) فحوصات ال DNA
- 5 ● Biochemical assays فحوصات الكيمياء الحيوية والانزيمات

Testing Methods in Microbiology

Culture-dependent techniques



الي هو



Culture-independent techniques

1
Direct Observation

4
**Nucleic Acid-Based
(molecular methods)**

2
Biochemical

3
**Immunological
Methods**

المقصود هون انو نحط عينة المريض تحت المايكروسكوب ونشوف اذا
في microorganisms

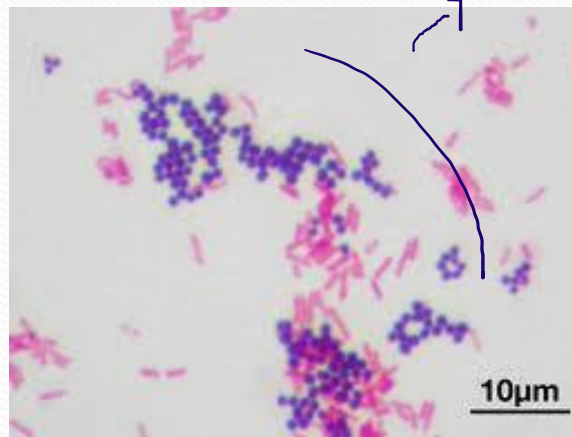
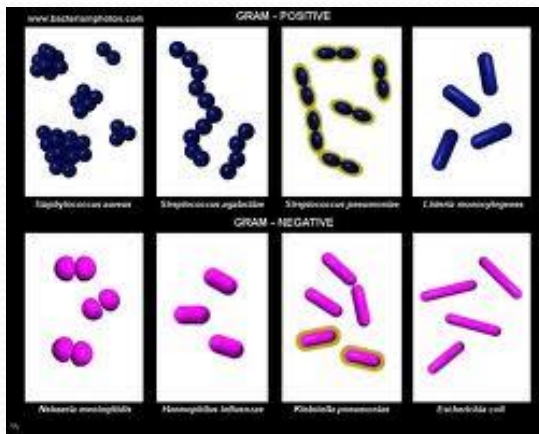
1. Direct Observation

- Using light microscope to visualize bacterial shape and arrangement
- Using special stains to differentiates bacteria like gram stain and acid fast stain
- Quick and informative yet not definitive

بالعينة بشوف ال shape و Arrangements و gram اذا positive او negative *

هاى الطريقة
بتمطيني معلومات
بس مش نهائية

هون ما بينلنا العدد الحقيقي لانو في في بكتيريا dead (٢)

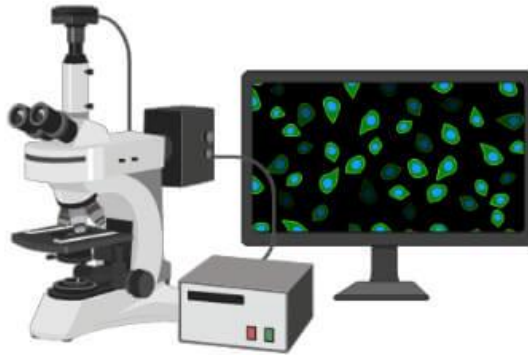


Gram positive cocci arranged most like staphylococci



Light Microscope

x100



Fluorescence Microscope

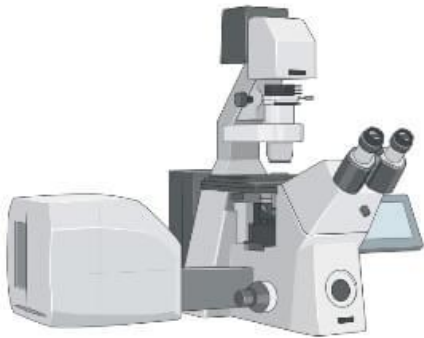


Electron Microscope

x100,000 - 1,000,000



Stereo Microscope



Confocal Microscope



Atomic Force Microscope



Inverted Microscope



Retinal Imaging Microscope

2. Culture

مبدأ ال culture حطيتها على media عينة زراعة وبستنى عليها اقل اشى
يوم ل يومين وببين اذا بنمو البكتيريا او لا

- Culture: Microbes growing in/on culture medium
- Culture Medium: Nutrients prepared for microbial growth
ال agar عبارة عن Polysaccharides ومواد اخرى بخلي ال media تصوير solid وبخد شكل اي اشى بتحطو فيه
- **Agar**: Complex polysaccharide used as solidifying agent for culture media in Petri plates, slants, and deeps
the most common
- Agar is not metabolized by microbes, liquefies at 100°C and solidifies ~40°C



مثل مبدأ الجلي

Types of Media

- Media can be classified on three primary levels

1. Physical State

- Liquid Media
- Semisolid → the best media (↑ mortality)
- Solid (Can be converted into a liquid) Agar → most common used
- Solid (Cannot be converted into a liquid)

2. Chemical Composition

- Synthetic – exact formula → هون كمية المواد الي فيه ثابتة carbon iron Sulphur and Hydrogen المواد اللازمة لنمو البكتيريا
- Non synthetic or complex - No exact formula → اما هون كمية المواد مش ثابتة

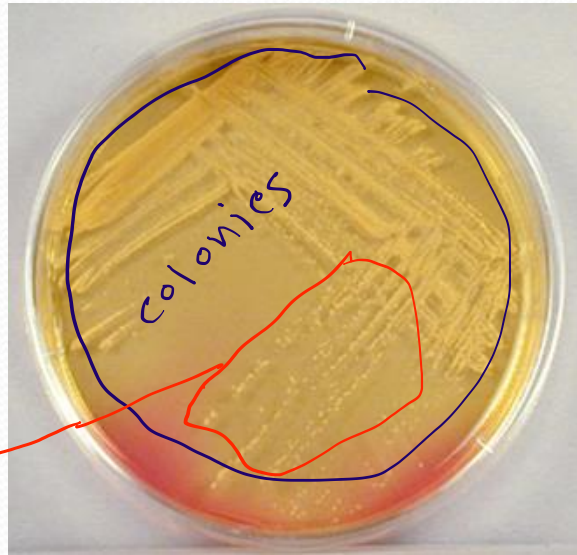
3. Functional Type

- General → بعلج معطوع الأنواع هاض خطي
- Selective → لنوع محدد
بخط فيها الظروف المناسبة لنمو النوع الي بدى اياه بدل ما ينمو انواع ما بدى اياها
بالعادة عشان اخلي ال media selective بخط Antibiotic

Bacterial Colonies on Solid Media

شكل المستعمرة مهم في تشخيص المرض

إذا في نمو بالهينة يعني في بكتيريا



selective
Mannitol salt agar
MSA

isolated colonies

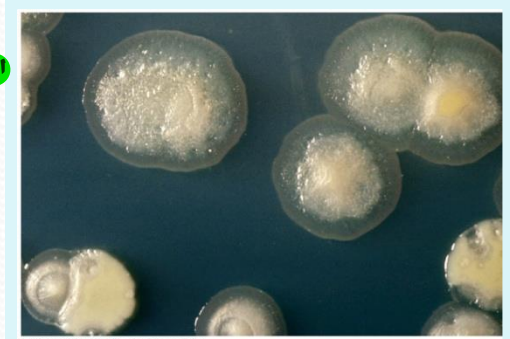


Figure 5-2c Brock Biology of Microorganisms 11/e

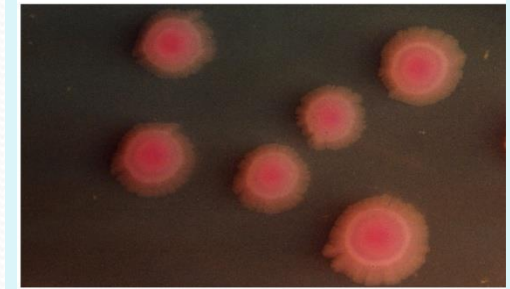


Figure 5-2d Brock Biology of Microorganisms 11/e © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

general
Blood agar



(١) سلبياتها الوقت (يتوخذ) وقت ويمكن يصل اربع اسابيع!

(٤)



Figure 5-2b Brock Biology of Microorganisms 11/e © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

برضه بدها لاب مجهز يعني يعتبر سلبيه وبرضه بدها واحد خبيرة عثمان ما يصير عدوى

3. Immunologic Methods

- ^{فحص} Any assay that relies on the characterization of antigen and/or antibody reaction
- Antibodies can reveal the history of a patient's contact with microorganisms or other antigens
- Serology: the branch of immunology that traditionally deals with *in vitro* diagnostic testing of the serum

tests done on samples such as blood or tissue that have been taken from the

طريقة فعالة عشان اعرف الامراض الفيروسية
لانه ما بقدر ازوع فيروس

* بدل ما اروح ازرع ال microorganisms واتعب حالي بروح وبشوف ال
antibody الي في blood المريض ولكل microorganisms antibody
خاص فيها

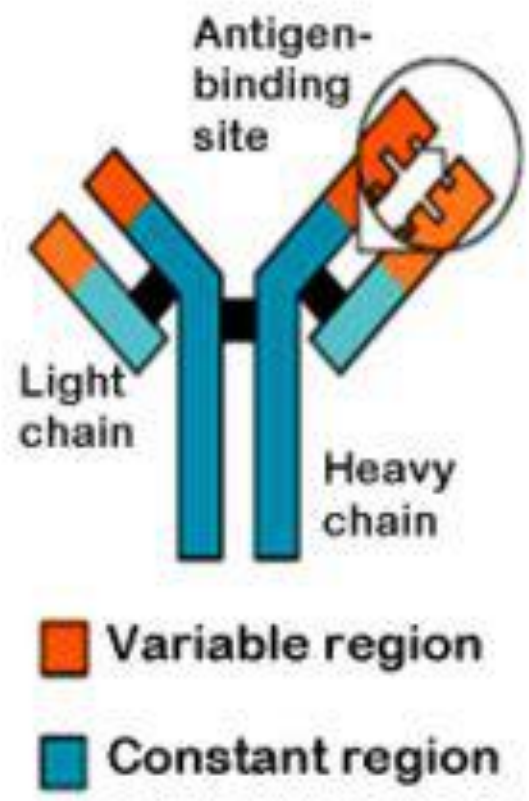
immune system

غريب كل ال

- **Antigen**: any “thing”, foreign to the immune system. e.g. bacteria, viruses, (or their parts), pollen, etc

- **Antibody**: proteins produced by the immune system which help defend against antigens

- Antigen/antibody interaction



Visualizing Antigen-Antibody Interactions

Antigen- antibody interaction occurs at molecular level and can not be seen directly

^{لعشاهدة}
To visualize antigen-antibody interaction multiple strategies can be applied:

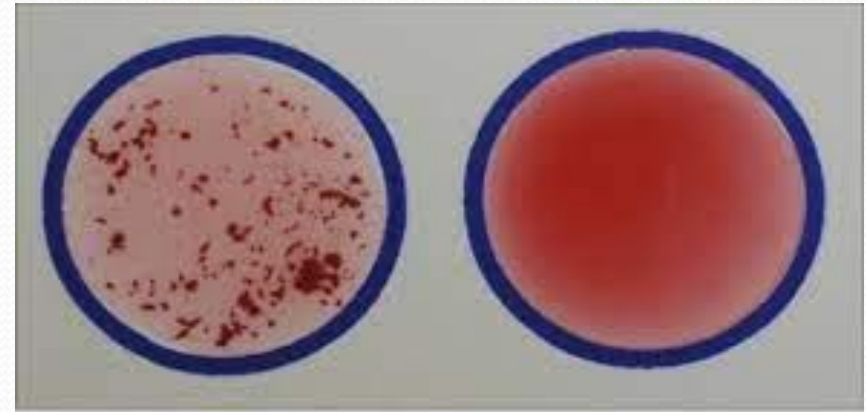
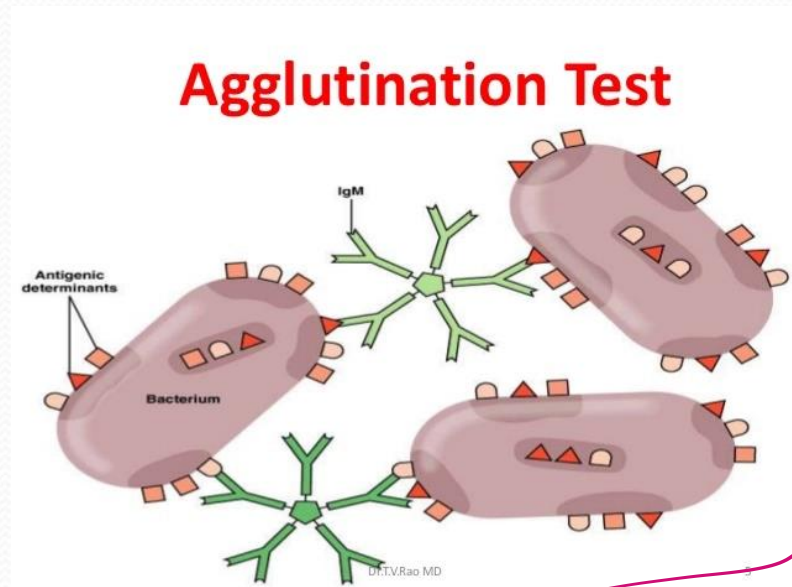
1. **Agglutination** →
2. Precipitation
3. Immunodiffusion
4. Complement fixation
5. Fluorescent antibody tests
6. Other Immunoassay tests

قاي الطلوبة

Agglutination Test

- Agglutination: antigens are whole cells such as red blood cells or bacteria with determinant groups on the surface
- Antibodies cross-link the antigens to form visible clumps
- Performed routinely to determine ABO and Rh blood types
- **Widal test:** tube agglutination test for diagnosing salmonella and undulant fever
- **Latex agglutination tests:** tiny latex beads with antigens affixed

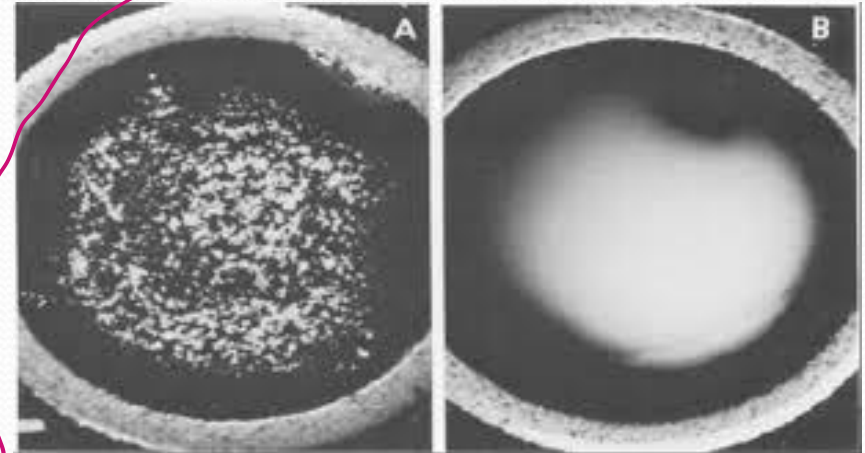
سليباته انه يعلول
+



+ -

في antibody للخلية

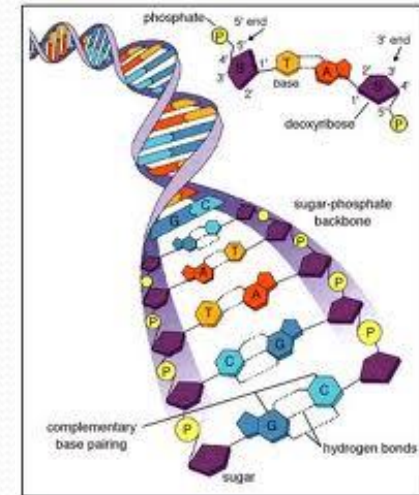
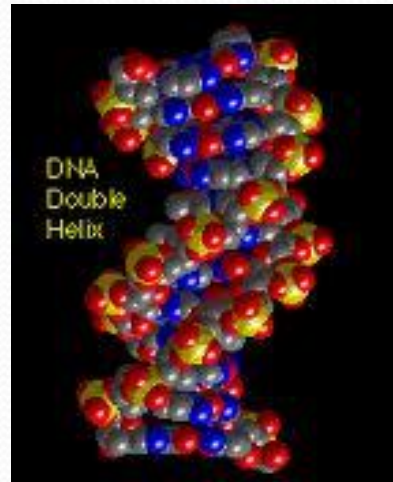
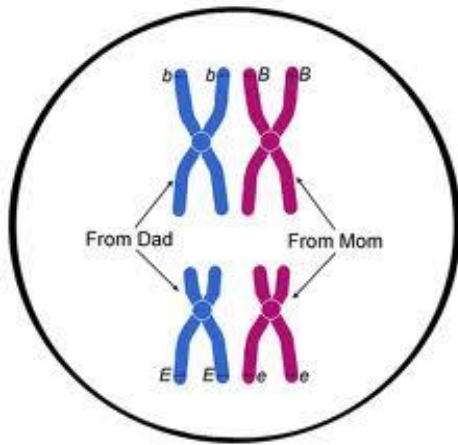
ما في antibody للخلية



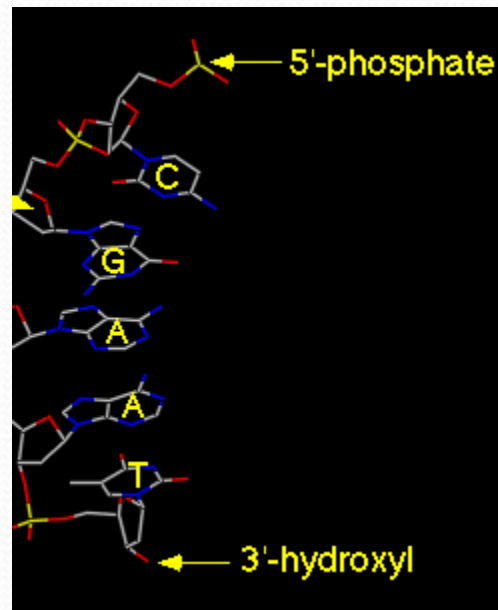
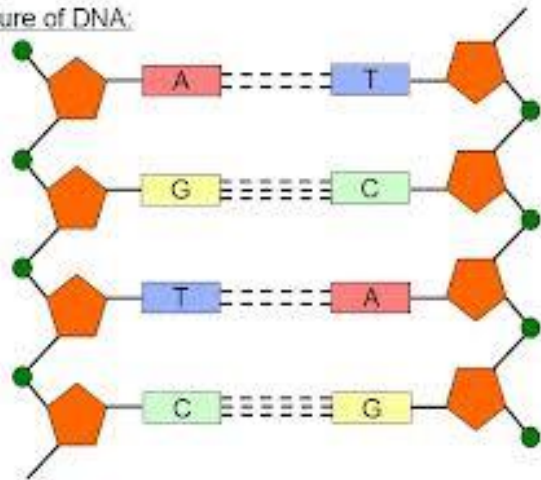
4. Molecular Methods (PCR)

- Every organism contain unique species specific DNA sequence (NUCLEIC ACID) that differentiate it from other organisms
- DNA carry all the inherited characteristics of each organism
- Molecular methods make the species specific DNA visible

DNA Structure



Structure of DNA:



DNA is formed by 4 nucleotides

- A** is for adenine
- G** is for guanine
- C** is for cytosine
- T** is for thymine

Molecular Methods

- Polymerase chain reaction (PCR)
- DNA hybridization
- Nucleic acid sequence analysis
- Plasmid fingerprinting.

The most common

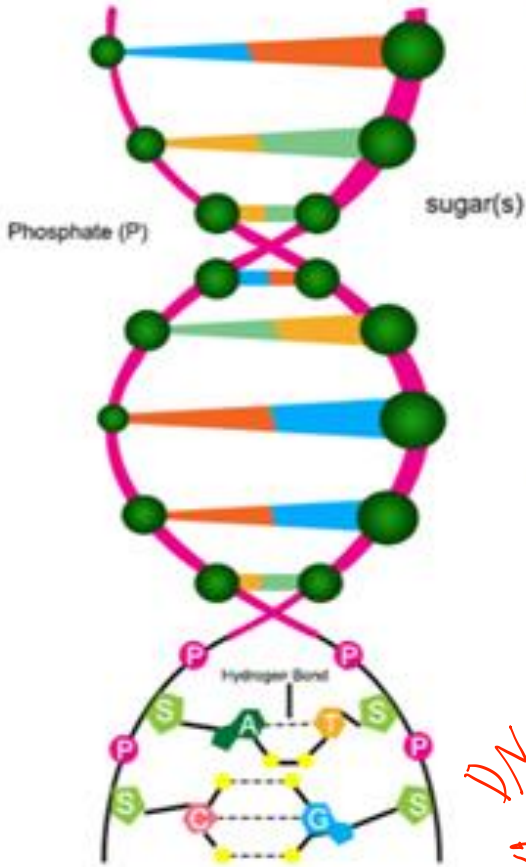
سنتھ مطابقت

Polymerase Chain Reaction (PCR)

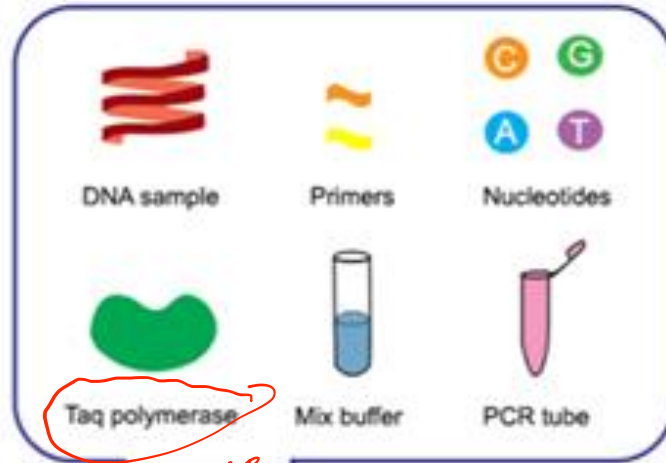
من التطبيقات عليه فحص
كورونا

- PCR is widely used for the identification of microorganisms.
- Sequence specific primers are used with PCR in the amplification of DNA or RNA of specific pathogens.
- PCR allows for the detection even if only a few cells are present and can also be used on viable nonculturables
- The presence of the appropriate amplified PCR product confirms the presence of the organisms

The structure of DNA



PCR Components

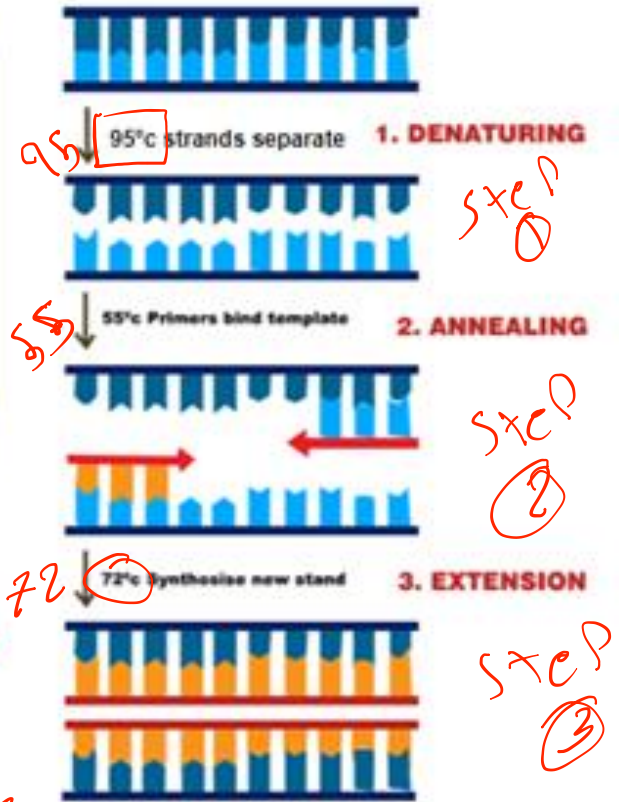


polymerase
هو اني بيتي اول DNA
وبكده ال DNA



PCR Cycle

PCR Process (ONE Cycle)



* مشكله expensive

كل دورة بتضاعف ال DNA

كل بكتيريا الى الفحوصات معينة يدل ما البحث على الخلايا يبحث عن الفحوصات

5. Biochemical Tests

expensive

- The microbe is cultured in a media with a special substrate and tested for an end product
- Prominent biochemical tests include carbohydrate fermentation, acid or gas production and the hydrolysis of gelatin or starch
- Many of these test used in rapid system for quik detection of certain infection called Rapid test



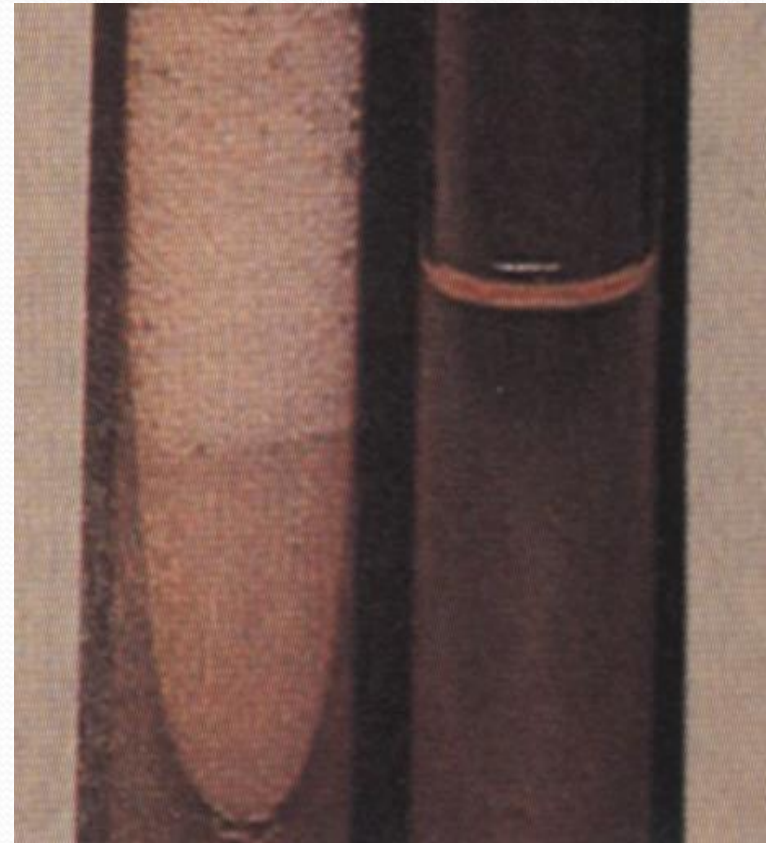
هذا التفاعل يحول ال H2O2 الى H2O و O2

Catalase Test

Positive reaction



- This test is used to identify organisms that produce the enzyme, catalase
- This enzyme detoxifies hydrogen peroxide by breaking it down into water and oxygen gas
- Place a drop of H_2O_2 on the culture. A positive reaction show gas bubbles





Thank you....