

المعمل الرابع

ثانياً : الاختبار التأكيدي

The confirmatory test

● ثانياً : الاختبار التأكيدي (التحقيقي) :

❖ الأساس العلمي :

الأنابيب التي أعطت نتيجة موجبة (ظهور غاز بعد 24 ساعة), و الأنابيب التي أعطت نتيجة مشكوكاً فيها (ظهور غاز بعد 48 ساعة), يتم تكملة العمل بها و ذلك بزراعتها على إحدى البيئتين :

1. بيئة أيوسين ميثلين بلو آجار (EMB) .

2. بيئة آجار الأندو Endo agar .

وذلك للتأكد من أن المستعمرات البكتيرية التي أعطت نتيجة إيجابية من الاختبار السابق أو نتيجة مشكوك فيها تتبع بكتيريا القولون حيث أن مستعمرات *E.coli* تظهر على بيئة EMB على هيئة مستعمرات ذات مركز داكن و لمعان معدني مخضر (Metalic sheem) , يشبه الكوبيا .

أما المستعمرات *Aerobacter aerogenes* فتظهر على هيئة مستعمرات بنية و ليس بها لمعان معدني, و المستعمرات الحقيقية من هذا الاختبار (التأكيدية) يتم عمل الاختبار التكميلي لها .

❖ الأدوات و المواد اللازمة :

1. الأنابيب التي أعطت نتيجة موجبة أو مشكوك فيها من الاختبار الاحتمالي .

2. أطباق من بيئة Eosine methylene blue agar (EMB)

3. أطباق من بيئة Endo agar

4. إبرة تلقيح .

5. مزارع نقية من *E.coli* و *Aerobacter aerogenes*

❖ طريقة العمل :

1. تحت ظروف التعقيم يتم تقسيم أسفل طبق بتري للبينتين إلى ثلاثة أقسام بواسطة قلم .
2. بواسطة ابرة تلقيح معقمة بالتلبيب الكحولي يتم تلقيح قسم بواسطة *E.coli* و القسم الثاني بواسطة *A. aerogenes* و القسم الثالث بواسطة الأنبوبة التي أظهرت اختباراً احتمالياً مشكوكاً فيه و ذلك بطريقة التخطيط .
3. تحضن الأطباق مقلوبة عند 37 م° لمدة 24 ساعة .
4. بعد فترة التحضين يتم اختبار المجاميع و تدون النتائج في جدول مع مقارنة مجاميع الميكروبات المعروفة مع المجاميع الناتجة عن الاختبار الاحتمالي .