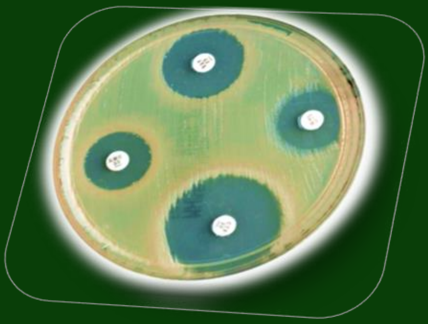
សាកលវិទ្យាល័យភូមិន្ទកសិកម្ម
មហាវិទ្យាល័យ កសិឧស្សាហកម្ម

សៀវភៅ
អនុវត្តន៍មីក្រូជីវសាស្ត្រក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍
Laboratory Manual of Microbiology

បណ្ឌិត ជ្រុន រិទ្ធី



ឧបត្ថម្ភដោយ

២០២១

សាកលវិទ្យាល័យភូមិន្ទកសិកម្ម

មហាវិទ្យាល័យកសិឧស្សាហកម្ម

សៀវភៅ

អនុវត្តន៍មីក្រូជីវសាស្ត្រក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍

Laboratory Manual of Microbiology

បណ្ឌិត ជ្រុន រិទ្ធី

២០២១

រក្សាសិទ្ធ

© ឆ្នាំ ២០២១

រក្សាសិទ្ធគ្រប់យ៉ាង

គ្មានផ្នែកណាមួយនៃសៀវភៅនេះ អាចត្រូវបានថតចម្លង និងផលិតឡើងវិញ ដោយគ្មានការអនុញ្ញាតជាលាយលក្ខណ៍អក្សរពីអ្នកនិពន្ធ និងសាកលវិទ្យាល័យភូមិន្ទកសិកម្ម។

បោះពុម្ពលើកទី១ ដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា នៅព្រះរាជាណាចក្រកម្ពុជា

ទំនាក់ទំនងព័ត៌មាន:

អ្នកនិពន្ធ៖ បណ្ឌិត ជ្រុន រិទ្ធី, Ph.D.

ទូរស័ព្ទ៖ (+៨៥៥) ៧០ ៦៣៨ ៤៤៩

អ៊ីមែល៖ crithy@rua.edu.kh

©. 2021, Chrun Rithy. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted by any process without the prior written permission from the author and the Royal University of Agriculture.

First Edition

Printed by the Research Creativity and Innovation Fund (RCI Fund) of Ministry of Education, Youth and Sport, the Kingdom of Cambodia

Enquiries about the book:

Author: Dr. Chrun Rithy, Ph.D.

Email: crithy@rua.edu.kh

បុព្វកថា

ដំណើរអភិវឌ្ឍនៃព្រះរាជាណាចក្រកម្ពុជានៅក្នុងយុគសម័យទំនើបនេះ ជាមេរៀនដ៏ជោគជ័យបំផុតមួយ ដែលចាប់ឫសគល់ចេញពីការបញ្ចប់របបប្រល័យពូជសាសន៍ ការបញ្ចប់សង្គ្រាម ការផ្សះផ្សារជាតិ ការកសាងមូលដ្ឋានរឹងមាំនៃសន្តិភាពនិងស្ថេរភាព និងការអភិវឌ្ឍសេដ្ឋកិច្ច។ នៅក្រោយពេលដែលសន្តិភាពត្រូវបានកើតឡើងដោយបរិបូរណ៍នៅឆ្នាំ១៩៩៨ កម្ពុជាទទួលកំណើនសេដ្ឋកិច្ចខ្ពស់ គឺប្រមាណ៨% ក្នុងមួយឆ្នាំ។ លើសពីនេះទៀត អត្រានៃភាពក្រីក្រត្រូវបានកាត់បន្ថយពីប្រមាណ៥៣% នៅឆ្នាំ២០០៤ មកនៅទាបជាង១០% នៅឆ្នាំ២០១៩។ ដំណើរនៃការអភិវឌ្ឍជាតិជាសកម្មភាពដែលបន្តទៅមុខជាប់ជានិច្ច ហើយគោលនយោបាយថ្មីៗដែលមានលក្ខណៈអន្តរវិស័យគ្រប់ដណ្តប់ក៏កំពុងលេចរូបរាងឡើងដើម្បីតម្រង់ទិសកម្ពុជាឆ្ពោះទៅកាន់ប្រទេសមានប្រាក់ចំណូលមធ្យមកម្រិតខ្ពស់នៅឆ្នាំ២០៣០ និងឈានឡើងជាប្រទេសមានប្រាក់ចំណូលខ្ពស់ នៅឆ្នាំ២០៥០។ ការប្រែប្រួលឆាប់រហ័សនៃនិម្មាបនកម្មពិភពលោកនិងតំបន់ រួមទាំងទំនាក់ទំនងភូមិសាស្ត្រនយោបាយ បានផ្តល់កាលានុវត្តភាពសម្រាប់ការអភិវឌ្ឍឧស្សាហកម្មនៅកម្ពុជា ដែលត្រូវបានរាជរដ្ឋាភិបាលចាត់ទុកជាមូលដ្ឋានគ្រឹះនៃកំណើនសេដ្ឋកិច្ចកម្ពុជា។ រាជរដ្ឋាភិបាលកម្ពុជាបាន និងកំពុងបន្តពង្រឹងនិងអភិវឌ្ឍវិស័យអប់រំឆ្ពោះទៅរកការស្រាវជ្រាវនិងនវានុវត្តន៍ ដើម្បីពង្រឹងសមត្ថភាពនិងជំនាញរបស់ធនធានមនុស្សនៅកម្ពុជា ឱ្យស្របទៅនឹងបរិបទថ្មីនៃការអភិវឌ្ឍ ជាពិសេសការពង្រឹងសហគ្រិនភាពក្នុងការរៀបចំម៉ូដែលធុរកិច្ចថ្មីៗ។ ដើម្បីចាប់យកកាលានុវត្តភាពពីបដិវត្តន៍ឧស្សាហកម្មទី៤ និងសេដ្ឋកិច្ចឌីជីថលដែលកំពុងផុសផុលឡើង ប្រព័ន្ធអេកូឡូហ្ស៊ីដែលបង្កលក្ខណៈអំណោយផលដល់ការបង្កើតថ្មី នវានុវត្តន៍ ការស្រាវជ្រាវ និងអភិវឌ្ឍន៍ត្រូវតែមានការកែលម្អ។

បណ្តាប្រទេសនៅទ្វីបអាស៊ីកំពុងនាំមុខក្នុងការវិនិយោគលើការស្រាវជ្រាវនិងអភិវឌ្ឍ ដោយមានភាគហ៊ុនប្រមាណ៤៤% នៃការវិនិយោគទាំងមូលរបស់ពិភពលោក។ ប្រទេសចិនកំពុងបន្តកសាងហេដ្ឋារចនាសម្ព័ន្ធនៃការវិនិយោគលើការស្រាវជ្រាវនិងអភិវឌ្ឍ ក៏ដូចជាសមត្ថភាពមនុស្ស។ ផ្ទុយទៅវិញប្រទេសនៅទ្វីបអាមេរិកខាងត្បូងនិងអាហ្វ្រិក កំពុងស្ថិតនៅឆ្ងាយពីការវិនិយោគនេះ ហើយជាលទ្ធផលប្រទេសទាំងនោះក៏ពុំមានកំណើនសេដ្ឋកិច្ចគួរឱ្យកត់សម្គាល់ដែរ។ ទុនវិនិយោគសរុបលើការស្រាវជ្រាវនិងអភិវឌ្ឍរបស់ប្រទេសនៅទ្វីបអាមេរិកខាងត្បូងនិងអាហ្វ្រិក មានប្រមាណ៥%នៃការវិនិយោគទាំងមូលរបស់ពិភពលោក ក្នុងពេលដែលតំបន់ទាំង២នេះមានប្រជាជនប្រមាណ២០%នៃប្រជាជនពិភពលោក។ ប្រទេសចំនួន៦ដែលមានលំដាប់ខ្ពស់ជាងគេនៅក្នុងការវិនិយោគលើការស្រាវជ្រាវនិងអភិវឌ្ឍ រួមមានសហរដ្ឋអាមេរិក ចិន ជប៉ុន អាល្លឺម៉ង់ ឥណ្ឌា និងកូរ៉េខាងត្បូង ដែលស្មើនឹងប្រមាណ៧០%នៃទុនវិនិយោគសរុបរបស់ពិភពលោក។

តើចំណេះដឹង ផលិតផល និងសេវាកម្មថ្មីទាំងនេះកើតឡើងពីអ្វី? ហើយកើតឡើងដោយរបៀបណា? ព្រះរាជាណាចក្រកម្ពុជាកំពុងតែកសាងមូលដ្ឋានសម្រាប់ការត្រៀមខ្លួនទទួល និងប្រកួតប្រជែងក្នុងយុគសម័យបដិវត្តឧស្សាហកម្មទី៤ នៅក្នុងសេដ្ឋកិច្ចដែលផ្អែកលើពុទ្ធិ ហើយដែលប្រការនេះ

ចាំបាច់តម្រូវឱ្យពលរដ្ឋកម្ពុជា ត្រូវក្លាយខ្លួនជាពលរដ្ឋឌីជីថល ពលរដ្ឋសកល និងពលរដ្ឋដែលប្រកបដោយការទទួលខុសត្រូវ ដែលមានសមត្ថភាពក្នុងការផលិត ចែកចាយ និងប្រើប្រាស់ពុទ្ធិដើម្បីទទួលមនុញ្ញផល និងរួមចំណែកក្នុងកំណើន។ ធនាគារពិភពលោកបានធ្វើការកត់សម្គាល់តាំងពីឆ្នាំ ២០០២នូវបម្លាស់ប្តូរនៃមូលដ្ឋានសេដ្ឋកិច្ច ពីសេដ្ឋកិច្ចដែលពឹងផ្អែកលើកម្លាំងពលកម្ម និងធនធានអតិកម្ម (Labour and Resource Based Economy) ទៅកាន់សេដ្ឋកិច្ចដែលពឹងផ្អែកលើពុទ្ធិ (Knowledge Based-Economy) ដែលក្នុងន័យនេះ ពុទ្ធិគឺជាគន្លឹះនៃការអភិវឌ្ឍ។ អាស្រ័យហេតុនេះ នៅលើគន្លងដែលកម្ពុជាកំពុងធ្វើដំណើរឆ្ពោះទៅកាន់សេដ្ឋកិច្ចឌីជីថល សង្គមកម្ពុជាត្រូវតែមានសមត្ថភាពក្នុងការផលិត ជ្រើសរើស បន្សាំ បង្កើតមុខរបរ និងប្រើប្រាស់ពុទ្ធិ ដើម្បីរក្សានិរន្តរភាពនៃកំណើន និងកែលម្អជីវភាពរស់នៅ។ សមត្ថភាពទាំងនេះ អាចកើតឡើងនៅពេលពលរដ្ឋកម្ពុជាមានឱកាសក្នុងការទទួលបានបទពិសោធន៍ពីការស្រាវជ្រាវ ការបណ្តុះគំនិតច្នៃប្រឌិត និងការស្វែងរកនវានុវត្តន៍។

កំណែទម្រង់វិស័យអប់រំ គឺជាការត្រួសត្រាយមាគ៌ាសម្រាប់ដំណើរឆ្ពោះទៅកាន់សង្គមប្រកបដោយពុទ្ធិ និងប្រជាពលរដ្ឋប្រកបដោយភាពរស់រវើក។ តាមរយៈមូលដ្ឋានអប់រំ សង្គមប្រកបដោយពុទ្ធិនឹងប្រមូលផ្តុំ បង្កើត និងចែករំលែក ទៅកាន់សមាជិកក្នុងសង្គមនូវសម្បទាអប់រំ ពិសេសគឺពុទ្ធិសម្បទាក្នុងបុព្វហេតុនៃមនុស្សជាតិនិងឧត្តមប្រយោជន៍នៃប្រទេស។ សង្គមប្រកបដោយពុទ្ធិ គឺពុំគ្រាន់តែជាសង្គមដែលសម្បូរព័ត៌មានប៉ុណ្ណោះទេ តែជាសង្គមដែលប្រជាពលរដ្ឋអាចធ្វើបរិវត្តកម្មពីព័ត៌មានទៅជាមូលធនប្រកបដោយប្រសិទ្ធភាព។ ការរីកចម្រើនទៅមុខជាលំដាប់នៃបច្ចេកវិទ្យានិងតំណភ្ជាប់ បានពង្រីកព្រំដែននៃការចូលទៅកាន់ និងការទទួលបានព័ត៌មានជាសកល ហើយដែលក្នុងន័យនេះ ការអប់រំនឹងបន្តវិវត្តទៅមុខនិងមានការផ្លាស់ប្តូរ។ សង្គមមួយដែលមានអំណាន និងរបាប់ជាបុរេលក្ខខណ្ឌនៃជីវភាពប្រចាំថ្ងៃនៃប្រជាពលរដ្ឋ ពេលនោះបំណិននៃអំណាន និពន្ធ និងការគណនាលេខនព្វន្ត គឺជាចលករនៃការរៀនរបស់សិស្ស។ ជាតុដ៏ចម្បងមួយដែលស្ថិតនៅក្នុងការកសាងសង្គមដែលប្រកបដោយពុទ្ធិគឺសៀវភៅសិក្សា ហើយការរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អសៀវភៅសិក្សាជាប្រចាំ គឺជានវានុវត្តន៍នៃវិស័យអប់រំដែលនាំទៅរកការសិក្សាពេញមួយជីវិត ការអភិវឌ្ឍសម្បទាអប់រំ និងការចែករំលែកចំណេះដឹង។ មូលដ្ឋានអប់រំ ជាពិសេសគឺគ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សាត្រូវមានតួនាទីដែលប្រកបដោយការឆ្លើយតប ចំពោះតម្រូវការខាងលើនេះ។ សាស្ត្រាចារ្យ អ្នកស្រាវជ្រាវ និងបុគ្គលិកអប់រំត្រូវបន្តសិក្សាជាប់ជានិច្ច តាមរយៈការរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អសៀវភៅសិក្សា ហើយដែលសៀវភៅសិក្សាទាំងនេះនឹងក្លាយជាស្ពាននៃទំនាក់ទំនងរវាងនវានុវត្តន៍នៃបច្ចេកវិទ្យា និងការរៀននិងបង្រៀននៅក្នុងថ្នាក់រៀន។

សង្គមដែលប្រកបពុទ្ធិ ក៏ជាសង្គមដែលបណ្តុះឱ្យមានរចនាសម្ព័ន្ធទន់នៃសេដ្ឋកិច្ចដែលពឹងផ្អែកលើពុទ្ធិដែរ។ ឧទាហរណ៍ជាក់ស្តែងនៃបែបផែននេះរួមមាន Silicon Valley នៃសហរដ្ឋអាមេរិក សួនឧស្សាហកម្មវិស្វកម្មអាកាសយានយន្តនិងយានយន្តនៅទីក្រុង Munich ប្រទេសអាល្លឺម៉ង់ តំបន់ជីវបច្ចេកវិទ្យានៅក្រុង Hyderabad ប្រទេសឥណ្ឌា តំបន់ផលិតគ្រឿងអេឡិចត្រូនិកនិងសារគមនាគមន៍ឌីជីថលនៅទីក្រុង Seoul ប្រទេសកូរេខាងត្បូង ក៏ដូចជាសួនឧស្សាហកម្មថាមពល និងឥន្ទនគីមីសាស្ត្រនៃប្រទេសប្រេស៊ីល ហើយក៏នៅមានទីក្រុងនៃប្រទេសជាច្រើនទៀតនៅលើពិភពលោក។ លក្ខណៈសម្បត្តិ

នៃទីក្រុងទាំងនេះគឺការប្រើប្រាស់និន្នាការនៃការអភិវឌ្ឍដែលជំរុញ និងតម្រង់ទិសដោយចំណេះដឹង ហើយដែលចំណេះដឹងទាំងនោះកើតចេញជាដំបូងពីការវិនិយោគទៅលើគ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សា ស្ថាប័នស្រាវជ្រាវ មជ្ឈមណ្ឌលឧត្តមភាពនៃជំនាញជាន់ខ្ពស់ ការប្រកួតប្រជែងដោយគុណាធិបតេយ្យ និងជាពិសេសគឺការបណ្តុះវប្បធម៌អំណាននិងនិពន្ធសៀវភៅ។ ល្បឿននៃការរីកចម្រើនផ្នែកពុទ្ធិ និងបច្ចេកវិទ្យាកំពុងមានសន្ទុះលឿនជាងអ្វីដែលសិស្ស និងនិស្សិតអាចទទួលបានពីគ្រូនៅគ្រឹះស្ថានសិក្សា ដែលធ្វើឱ្យគោលដៅនៃការអប់រំនៅពេលបច្ចុប្បន្ននេះ មានការប្រឈមខ្លាំងជាងពេលណាទាំងអស់។ ឧទាហរណ៍ក្នុងមួយឆ្នាំ មានសៀវភៅជាង២,២លានចំណងជើង ត្រូវបានសរសេរនិងបោះពុម្ព ដែលក្នុងនោះប្រទេសចិនមាន៤៤០ពាន់ ចំណែកឯសហរដ្ឋអាមេរិកមាន៣០៥ពាន់ និងប្រទេសរុស្ស៊ីមាន១២០ពាន់ចំណងជើង។

ខណៈពេលដែលបច្ចេកវិទ្យាកំពុងរីកចម្រើនជារៀងរាល់ថ្ងៃ មធ្យោបាយសម្រាប់អំណានក៏មានច្រើនជម្រើសសម្រាប់សិស្ស-និស្សិត និងសាធារណៈជន រួមមានការអានសៀវភៅ ការអានលើឧបករណ៍អេឡិចត្រូនិក ការអានដោយប្រើទូរសព្ទវៃឆ្លាត និងការអានលើកុំព្យូទ័រ ដែលសុទ្ធសឹងជាមធ្យោបាយសំខាន់ៗដែលនាំអ្នកអានទាំងឡាយឱ្យសម្រេចគោលបំណងអានរបស់ខ្លួន។ ម្យ៉ាងវិញទៀត អំណានដោយប្រើមធ្យោបាយបច្ចេកវិទ្យាទំនើប ចំណាយពេលតិច ងាយស្រួលអាន និងជួយដល់បរិស្ថានមួយកម្រិតទៀត។ នាពេលបច្ចុប្បន្ន សិស្ស-និស្សិត និងសាធារណៈជនកម្ពុជាដែលស្រឡាញ់អំណានកំពុងតែប្រើប្រាស់មធ្យោបាយអំណានទាំងនេះ។ បើយើងក្រឡេកមើលទៅប្រទេសជឿនលឿន ទោះបីជាបច្ចេកវិទ្យារីកចម្រើនខ្លាំងយ៉ាងណា អំណានតាមរយៈសៀវភៅនៅតែមានសន្ទុះដដែល។ ម្យ៉ាងវិញទៀតបច្ចេកវិទ្យាអានបែបទំនើបតាមរយៈឧបករណ៍ទំនើប អាស្រ័យលើលទ្ធភាពនៃធនធានអប់រំឌីជីថល និងមាតិកាឌីជីថលគ្រប់គ្រាន់ដែលបានផលិត និងបង្ហោះចែកចាយសម្រាប់អំណាន។

ក្នុងបរិបទកម្ពុជា ជាពិសេសក្នុងបរិការណ៍នៃការផ្ទុះរីករាលដាលនៃជំងឺកូវីដ-១៩ ក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា បានជំរុញឱ្យមានបរិវត្តកម្មឌីជីថលនៅក្នុងអេកូស៊ីស្តែមនៃការអប់រំ ជាពិសេសការអប់រំតាមប្រព័ន្ធអេឡិចត្រូនិកនិងការអប់រំពីចម្ងាយ ដើម្បីលើកកម្ពស់អំណាន តាមរយៈការផលិតមាតិកាឌីជីថលដែលមានភាពចំរុះ ការកសាងសមត្ថភាពផ្នែកតំណភ្ជាប់និងវេទិកាឌីជីថល ការពង្រីកវិសាលភាពនៃមជ្ឈមណ្ឌលទិន្នន័យ និងការលើកកម្ពស់គុណភាពនៃការផលិតធនធានអប់រំឌីជីថល គួបផ្សំជាមួយការចែកសន្លឹកកិច្ចការឱ្យសិស្សយកទៅរៀននៅផ្ទះ និងការចុះទៅជួបជាមួយសិស្សជាបណ្តុំនៅតាមសហគមន៍។ ក្នុងន័យលើកកម្ពស់អំណាន និងភាពសម្បូរបែបនៃធនធានសៀវភៅសិក្សា ឱ្យកាន់តែមានប្រសិទ្ធភាពនិងភាពសក្តិសិទ្ធិ និងផ្តល់ឱកាសអំណានកាន់តែច្រើនថែមទៀតដល់សិស្សានុសិស្ស និស្សិត និងសាធារណៈជន ក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡាលើកទឹកចិត្តនូវចំណុចមួយចំនួនដូចខាងក្រោម៖

១. សាស្ត្រាចារ្យ អ្នកស្រាវជ្រាវ និងបុគ្គលិកអប់រំ សូមបន្តនិងបង្កើនការបោះពុម្ពស្នាដៃបន្ថែមទៀត ដើម្បីធ្វើឱ្យធនធានសម្រាប់អំណានកាន់តែសម្បូរបែប ជាពិសេសធនធានអំណានជាខេមរភាសា

២. គ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សា សូមផ្តល់លទ្ធភាពគ្រប់បែបយ៉ាង ដើម្បីឱ្យបុគ្គលិកអប់រំគ្រប់លំដាប់ថ្នាក់ និងនិស្សិតគ្រប់កម្រិតសិក្សាអាចចូលរួមអាន និងសិក្សាស្រាវជ្រាវតាមគ្រប់លទ្ធភាពជាមួយធនធានអំណាន ជាពិសេសការរៀបចំឱ្យមានពេលវេលាសម្រាប់សហសិក្សា និងអំណានក្នុងបណ្ណាល័យ
៣. សាស្ត្រាចារ្យតាមមុខវិជ្ជា និងអ្នកស្រាវជ្រាវតាមជំនាញឬវិស័យ ត្រូវរៀបចំដំណើរការរៀនបង្រៀន និងស្រាវជ្រាវដែលមានដាក់បញ្ចូលកិច្ចការស្វ័យសិក្សា សហសិក្សា ឬការស្រាវជ្រាវបណ្ណាល័យដែលតម្រូវឱ្យនិស្សិត ត្រូវអាននិងស្រាវជ្រាវជាមួយធនធានអំណាន
៤. គ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សា និងមជ្ឈមណ្ឌលស្រាវជ្រាវ ត្រូវខិតខំឱ្យអស់លទ្ធភាពក្នុងការបង្កើតបណ្ណាល័យ មជ្ឈមណ្ឌលរក្សាឯកសារ ឬមជ្ឈមណ្ឌលអប់រំឌីជីថលជាដើម ដើម្បីឱ្យបុគ្គលិកអប់រំគ្រប់លំដាប់ថ្នាក់និងនិស្សិតគ្រប់កម្រិតសិក្សាអាចទទួលបាន និងស្វែងរកប្រភពសម្រាប់អំណានកាន់តែសម្បូរបែប និងមានភាពបត់បែន ឆ្លើយតបតាមតម្រូវការអ្នកអាន
៥. និស្សិតគ្រប់កម្រិតសិក្សាត្រូវខិតខំនិងចំណាយពេលវេលាដើម្បីអាន និងចាត់ទុកវប្បធម៌និងអកប្បកិរិយាអំណានជាផ្នែកមួយ នៃពេលវេលានិងភាពស៊ីវិល័យនៃជីវិតប្រចាំថ្ងៃ
៦. បងប្អូនជនរួមជាតិ ដែលជាមាតាបិតា ឬអ្នកអាណាព្យាបាល សូមជួយជំរុញនិងបង្កលក្ខណៈកាន់តែច្រើនថែមទៀត ជាពិសេសការលៃលកចំណាយនៅក្នុងគ្រួសារសម្រាប់ការទិញសម្ភារៈសិក្សា សៀវភៅអាន និងឧបករណ៍សម្រាប់អំណានដល់កូនៗ ដែលចាត់ទុកជាការវិនិយោគមួយដ៏សំខាន់ សម្រាប់ បង្កើនចំណេះដឹង និងអនាគតរបស់ពួកគេ។

ដោយមានការគាំទ្រពីក្រសួងសេដ្ឋកិច្ច និងហិរញ្ញវត្ថុ នៅឆ្នាំ២០២០ ក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា បានបង្កើតមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ ដែលហៅកាត់ថា “មូលនិធិ ស.គ.ន.” និងហៅជាភាសាអង់គ្លេសថា The Research Creativity and Innovation Fund ដែលហៅកាត់ជាភាសាអង់គ្លេសថា “RCI Fund”។ គោលដៅចម្បងនៃមូលនិធិនេះ គឺរួមចំណែកលើកកម្ពស់វប្បធម៌នៃការស្រាវជ្រាវ បំផុសគំនិតច្នៃប្រឌិត និងជំរុញការធ្វើនវានុវត្ត ដើម្បីជាប្រយោជន៍ដល់វិស័យអប់រំ យុវជន និងកីឡា ដែលឆ្លើយតបទៅនឹងទីផ្សារពលកម្ម និងសាកលភាវូបនីយកម្ម។ មូលនិធិ ស.គ.ន. បានសម្រេចកំណត់ប្រធានបទ ជាអាទិភាពសម្រាប់ការគាំទ្រដោយមូលនិធិចំនួន៣ រួមមានឌីជីថលនីយកម្មសម្រាប់បដិវត្តឧស្សាហកម្ម៤.០ (Digitalization for IR.4.0) ការស្រាវជ្រាវអនុវត្តលើវិស័យកសិកម្ម (Applied Agricultural Research) និងការស្រាវជ្រាវគរុកោសល្យសតវត្សទី២១ (21st Century Pedagogy Research)។

ដោយមានការធ្វើអាទិភាពូបនីយកម្មទៅលើទិសដៅ នៃការប្រើប្រាស់ថវិកាមូលនិធិសម្រាប់ឆ្នាំ២០២០ ក្រសួងសេដ្ឋកិច្ច និងហិរញ្ញវត្ថុ និងក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា បានផ្តល់ការគាំទ្រដល់ការរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អ សៀវភៅសិក្សា (Text book) ដែលនឹងត្រូវប្រើប្រាស់នៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា។ គោលបំណងនៃការរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អ សៀវភៅសិក្សានៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា គឺដើម្បីបង្កើនបរិមាណ លើកកម្ពស់គុណភាព និងពង្រីកសមធម៌នៃធនធានសិក្សាជាខេមរភាសា ជូនដល់និស្សិត

ដែលកំពុងបន្តការសិក្សា និងត្រៀមខ្លួនធ្វើការស្រាវជ្រាវនៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា។ លើសពីនេះទៀត ការរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អសៀវភៅសិក្សានៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា មានគោលដៅដូចខាងក្រោម ៖

១. ឆ្លើយតបជាបន្ទាន់ចំពោះការខ្វះខាតធនធានសិក្សា ដែលជាតម្រូវការសិក្សារបស់និស្សិតនៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា
២. លើកកម្ពស់ទំនើបភាវូបនីយកម្ម និងឧត្តមានុវត្តន៍នៃការរៀននិងបង្រៀន និងការស្រាវជ្រាវនៅលើមុខវិជ្ជា កម្មវិធីសិក្សា ឬមុខជំនាញជាក់លាក់
៣. បង្កើនភាពស៊ីជម្រៅក្នុងការកសាងវិជ្ជាជីវៈនិងបទពិសោធន៍សម្រាប់បានៈសាស្ត្រាចារ្យ និងអ្នកស្រាវជ្រាវ
៤. រួមចំណែកដល់ការកសាងភាពជាសហគមន៍វិជ្ជាជីវៈ ការចែករំលែកបទពិសោធន៍ និងវប្បធម៌នៃការរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អសៀវភៅសិក្សានៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា។

ក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា បានវាយតម្លៃខ្ពស់ចំពោះការបោះជំហានប្រកបដោយមនសិការវិជ្ជាជីវៈនៃគ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សា និងបុគ្គលិកអប់រំទាំងអស់ ក្នុងការរៀបចំ រៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អសៀវភៅសិក្សា ដើម្បីបង្កើនបរិមាណ លើកកម្ពស់គុណភាព និងពង្រឹងសមធម៌នៃធនធានសិក្សាជាខេមរភាសា ជូននិស្សិតដែលកំពុងបន្តការសិក្សា និងត្រៀមខ្លួនធ្វើការស្រាវជ្រាវនៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា។ សៀវភៅសិក្សាជាផ្នែកមួយនៃការទទួលស្គាល់គុណភាពអប់រំនៃគ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សា និងជាធនធានសិក្សាដែលជាមូលដ្ឋានមួយដ៏សំខាន់ ក្នុងការគាំទ្រដល់ការបង្រៀន និងរៀន ហើយត្រូវមានបរិមាណគ្រប់គ្រាន់ ឆ្លើយតបទៅនឹងកម្មវិធីអប់រំ និងតម្រូវការសិក្សាស្រាវជ្រាវ។ ជាគោលការណ៍ គ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សាទាំងអស់ ត្រូវមានសៀវភៅសិក្សាដែលប្រើជាគោលសម្រាប់មុខវិជ្ជានីមួយៗ។ ចំនួនសៀវភៅសិក្សាដែលគ្រប់គ្រាន់សម្រាប់ការស្រាវជ្រាវ និងការសិក្សារបស់និស្សិត ត្រូវមានយ៉ាងតិចមួយចំណងជើងក្នុងមួយមុខវិជ្ជា ហើយត្រូវតម្កល់យ៉ាងតិច២ច្បាប់នៅក្នុងបណ្ណាល័យ ឬអាចរកបានតាមប្រព័ន្ធអេឡិចត្រូនិក។ ក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា លើកទឹកចិត្តបន្ថែមទៀតជូនដល់គ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សារដ្ឋ និងឯកជនដែលបានស្នើសុំថវិកាមូលនិធិ ស.គ.ន រួច សូមចូលរួមបន្ថែមទៀតដើម្បីបង្កើនចំនួនចំណងជើងសៀវភៅ។ ចំណែកគ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សារដ្ឋ និងឯកជនដែលពុំទាន់បានដាក់ពាក្យស្នើសុំថវិកាមូលនិធិ ដើម្បីរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អ សៀវភៅសិក្សានៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា សូមរួសរាន់ចូលរួមដើម្បីជាគុណប្រយោជន៍ដល់តម្រូវការដ៏ទទូចនិងថ្លៃថ្លានៃនិស្សិតកម្ពុជាក្នុងការសិក្សា និងស្រាវជ្រាវនៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា។

សេចក្តីបញ្ជាក់
នៃមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍

សៀវភៅសិក្សានេះជាលទ្ធផលនៃការស្នើសុំអនុវត្តថវិកាមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ ក្នុងគម្រោងរៀបរៀង និពន្ធ និងកែលម្អសៀវភៅសិក្សា ដែលនឹងត្រូវប្រើប្រាស់នៅកម្រិតឧត្តមសិក្សា។ សៀវភៅសិក្សានេះ ត្រូវបានរៀបរៀង និពន្ធ ឬកែលម្អដោយមានការធានាអះអាងថាជាស្នាដៃរបស់អ្នកនិពន្ធផ្ទាល់ និងបានឆ្លងកាត់ត្រួតពិនិត្យ ផ្តល់យោបល់ និងវាយតម្លៃដោយក្រុមប្រឹក្សាអប់រំ ក្រុមប្រឹក្សាស្រាវជ្រាវ ឬក្រុមប្រឹក្សាដែលមានតម្លៃស្មើនៃគ្រឹះស្ថានឧត្តមសិក្សា និងតាមរយៈកិច្ចសន្យាដែលបានធ្វើឡើង និងដែលបានតម្កល់ទុកនៅមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍។ រាល់ខ្លឹមសារ ការបកស្រាយ ឬរូបភាព ដែលមាននៅក្នុងសៀវភៅនេះ គឺជាជំហរនិងទស្សនៈផ្ទាល់របស់អ្នកនិពន្ធ ហើយពុំឆ្លុះបញ្ចាំង ឬជាតំណាងដល់មូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡាឡើយ។

សេចក្ដីថ្លែងអំណរគុណ

សៀវភៅអនុវត្តន៍មីក្រូជីវសាស្ត្រក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍ នេះត្រូវបានសំយោគចេញពីសៀវភៅវិទ្យាសាស្ត្របរទេសជាច្រើន ដែលទាក់ទងនិងទាន់សម័យកាល ហើយត្រូវបានបកបកប្រែជាខេមរភាសា ដើម្បីងាយស្រួលដល់និស្សិតកូនខ្មែរក្នុងការរៀន និងអនុវត្តក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍។

សូមថ្លែងអំណរគុណយ៉ាងជ្រាលជ្រៅចំពោះឯកឧត្តមសាស្ត្រាចារ្យបណ្ឌិត **ង៉ោ ប៊ុនថាន** សាកលវិទ្យាធិការនៃសាកលវិទ្យាល័យភូមិន្ទកសិកម្ម ក៏ដូចជាគណៈកម្មការបច្ចេកទេសទាំងអស់ក្នុងមហាវិទ្យាល័យកសិឧស្សាហកម្មនៃសាកលវិទ្យាល័យភូមិន្ទកសិកម្ម ដែលបានផ្ដល់អនុញ្ញាត និងលើកទឹកចិត្តដល់ការរៀបចំសរសេរសៀវភៅមួយក្បាលនេះ ដើម្បីចែករំលែកចំណេះដឹងដល់អ្នកអាន ជាពិសេសនិស្សិតដែលសិក្សាពាក់ព័ន្ធនិងគីមីអាហារ។

សូមថ្លែងអំណគុណជាអនេកប្បការផងដែរដល់ការខិតខំប្រឹងប្រែងត្រួតពិនិត្យ និងផ្ដល់ជាមតិល្អៗក្នុងការរៀបចំសៀវភៅនេះដោយៈ

- មូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា
- ឯកឧត្តម **សាន វឌ្ឍនា** អនុរដ្ឋលេខាធិការនៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា
- អង្គភាព/ស្ថាប័ននានា ក្រៅពីស.វ.ភ.ក ដែលបានសម្របសម្រួលដល់ការសរសេរសៀវភៅជាភាសាខេមរយានកម្ម
- អ្នកផ្ដល់យោបល់ ក៏ដូចជាអ្នកផ្ដល់ឯកសារយោងនានា
- គណៈកម្មការបច្ចេកទេសសៀវភៅមាន លោកសាស្ត្រាចារ្យរង **គង់ ថុង** លោកសាស្ត្រាចារ្យរងបណ្ឌិត **ហួន ថាវរៈ** និងលោកបណ្ឌិត **ប៊ុនតុង ប៊ូរារិន**
- អនុគណៈកម្មការត្រួតពិនិត្យសៀវភៅតាមមហាវិទ្យាល័យមាន លោកសាស្ត្រាចារ្យរង **គង់ ថុង** លោកបណ្ឌិត **ឯក សុភាព** និងបណ្ឌិត **ចាយ ជីម**។

សូមជូនពរដល់ឯកឧត្តម លោក និងលោកស្រី ទាំងអស់មានសុខភាពល្អបរិបូណ៍ អាយុយឺនយូរ កម្លាំងមាំមួន ដើម្បីរួមចំណែកកសាង និងអភិវឌ្ឍន៍មាតុភូមិកម្ពុជាឲ្យកាន់តែរីកចម្រើនរុងរឿង។

អារម្ភកថា

ការងារនៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍មីក្រូសរីរាង្គ ជាឱកាសតែមួយគត់ ដែលនិស្សិតបានអនុវត្តពីគោលការណ៍មូលដ្ឋានគ្រឹះមួយចំនួន ដូចជាការប្រើប្រាស់សម្ភារៈក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍ សារធាតុរាវនិងរឹងផ្សេងទៀតដែលផ្ទុកមីក្រូសរីរាង្គ ប្រកបដោយសុវត្ថិភាព។ តាមរយៈស៊េរីនៃការពិសោធ និស្សិតនឹងរៀនបច្ចេកទេសសម្លាប់មេរោគ និងភាពអនាម័យនៃទីកន្លែងការងារ ជាមួយពពួកមីក្រូសរីរាង្គប្រកបដោយប្រសិទ្ធិភាព និងសុវត្ថិភាព។ ការយល់ដឹងមួយចំនួនដែលអ្នកបានសិក្សាទាក់ទងពីមីក្រូសរីរាង្គ និងជីវិតនឹងត្រូវបានយកទៅអនុវត្តក្នុងការរស់នៅប្រចាំថ្ងៃរបស់អ្នក។

ក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍តែងតែមានច្បាប់ និងបទបញ្ញត្តិជាក់លាក់ទាក់ទងនឹងសុវត្ថិភាព។ គ្រូបង្ហាត់បង្រៀននឹងបង្ហាញព័ត៌មាននេះទៅអ្នក ហើយអ្នកគួរតែអនុវត្តតាមឲ្យបានខ្ជាប់ខ្ជួន។ ពាក្យទំនៀមចាស់តែងពោលថា៖ នៅពេលដែលឆ្ងល់ ត្រូវសួរនិងស្តាប់គ្រូ។ អ្នកនឹងមានសុវត្ថិភាព និងមានបទពិសោធន៍ច្រើនជាងមុន។

សៀវភៅនេះមានប្រយោជន៍ច្រើនសំរាប់និស្សិត គឺជាជំនួយមួយដើម្បីឲ្យនិស្សិតត្រៀមខ្លួន មុននឹងចូលអនុវត្តក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍។ ក្រៅពីការពិសោធ និស្សិតអាចធ្វើការងារជាក្រុម យល់ដឹងពីរបៀបសរសេររបាយការណ៍តាមបែបវិទ្យាសាស្ត្រ និងចេះបកស្រាយលទ្ធផលរបស់ខ្លួន។ ចំណេះដឹងពីការវិភាគមេរោគក្នុងអាហារ មានសារសំខាន់ណាស់ ក្នុងការលើកកំពស់សុវត្ថិភាពអាហារសំរាប់យើងរាល់គ្នា និងសុខភាពសាធារណៈ។

ដោយសារសៀវភៅនេះជាការបោះពុម្ពលើកទីមួយ អាចមានការខុសឆ្គងខ្លះៗជាពិសេសនូវពាក្យប្រយោគមួយចំនួន ហេតុនេះខ្ញុំបាទសូមអភ័យទោសរាល់ការខុសឆ្គង និងរង់ចាំទទួលនូវការរិះគន់កែលំអក្នុងន័យស្ថាបនា ដើម្បីធ្វើឲ្យ "សៀវភៅអនុវត្តន៍មីក្រូជីវសាស្ត្រក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍" នេះកាន់តែប្រសើរឡើងជាងនេះនៅពេលបោះពុម្ពបន្ទាប់។ សង្ឃឹមយ៉ាងមុតមាំថា និស្សិតនឹងរីករាយជាមួយពេលវេលានៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍។

ខ្ញុំបាទសូមជូនពរ ដល់អស់លោក លោកស្រី អ្នកនាង និងនិស្សិតទាំងអស់ជួបតែនឹងសេចក្តីសុខ និងជោគជ័យក្នុងការសិក្សាគ្រប់ពេលវេលា។

ថ្ងៃ.................ខែ.............ឆ្នាំឆ្លូវ ត្រីស័ក ព.ស ២៥៦៥

រាជធានីភ្នំពេញថ្ងៃទី......... ខែ...........គ.ស ២០២១

អ្នកនិពន្ធ បណ្ឌិត ជ្រុន រិទ្ធី

អ្នកនិពន្ធ

នាម និងគោត្តនាម ៖ បណ្ឌិត **ជ្រុន រិទ្ធី**

អាស័យដ្ឋាន ៖ # 34A, ផ្លូវបេតុង ភូមិខ្វា សង្កាត់ដង្កោ ខណ្ឌដង្កោ រាជធានីភ្នំពេញ

ស្ថាប័នការងារ ៖ មហាវិទ្យាល័យកសិឧស្សាហកម្ម នៃសាកលវិទ្យាល័យភូមិន្ទកសិកម្ម

ឯកទេស ឬមុខជំនាញ ៖ គីមីអាហារ និងជីវៈបច្ចេកវិទ្យាអាហារ

ប្រវត្តិការសិក្សា ៖

- ១៩៨៥ - ១៩៩១ បរិញ្ញាបត្រជាន់ខ្ពស់ ផ្នែកគីមីអាហារ និងបច្ចេកវិទ្យាអាហារ
- ២០០៤ - ២០០៦ បរិញ្ញាបត្រជាន់ខ្ពស់ ផ្នែកវិទ្យាសាស្ត្រអាហារ
- ២០១៥ - ២០២១ បណ្ឌិត ផ្នែកវិទ្យាសាស្ត្រអាហារ

បទពិសោធន៍ការងារ ៖ ២០០៧ មកដល់បច្ចុប្បន្ន ជាគ្រូថ្នាក់ឧត្តម

- បង្រៀនមុខវិជ្ជា៖ គីមីអាហារ មីក្រុបវិទ្យា បច្ចេកវិទ្យាប្រេងនិងខ្លាញ់
- ដឹកនាំនិស្សិតធ្វើសារណាបទ
- បាន និងកំពុងធ្វើការស្រាវជ្រាវក្នុងគម្រោង៖
  - UNU - Kirin Holdings Co., Ltd., Tokyo
  - Center of Excellence on Sustainable Agricultural Intensification and Nutrition (CE SAIN)
  - Higher Education Improvement Project (HEIP)-Cambodia

មាតិកា

បុព្វកថា និងសេចក្តីបញ្ជាក់នៃមូលនិធិ

ទំព័រ

សេចក្តីថ្លែងអំណរគុណ i
អារម្ភកថា ii
អ្នកនិពន្ធ iii
មាតិកា iv
បញ្ជីតារាង xiv
បញ្ជីរូបភាព xv
បញ្ជីពាក្យសរសេរកាត់ xvi
បទបញ្ជាទូទៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍ xvii

លំហាត់ ១៖ ភាពដែលឃើញនៅគ្រប់កន្លែងនៃមីក្រូសរីរាង្គ

១.១ សេចក្តីផ្តើម ១
១.២ សម្ភារៈ ១
១.៣ ដំណើរការពិសោធ ១
១.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១ .... ២

លំហាត់ ២៖ ប្រសិទ្ធិភាពនៃការលាងសម្អាតដៃ

២.១ សេចក្តីផ្តើម ៤
២.២ សម្ភារៈ ៤
២.៣ ដំណើរការពិសោធ ៥
២.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២ .... ៥

លំហាត់ ៣៖ មីក្រូទស្សន៍វិទ្យា (Microscopy)

៣.១ ប្រវត្តិមីក្រូទស្សន៍ ៧
៣.២ ការថែទាំមីក្រូទស្សន៍ ៨
៣.៣ សម្ភារៈ ៩
៣.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៣ .... ១១

លំហាត់ ៤៖ អឺការីយ៉ូត: មីក្រូសរីរាង្គដែលមានទំហំធំៗ

៤.១ ប្រវត្តិមីក្រូសរីរាង្គអឺការីយ៉ូតនៅក្នុងបរិស្ថានធម្មជាតិ ១៣

៤.២ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ១៖ ផ្សិត និងប្រតូសូអារស់លើគោក ១៣
៤.២.១ សម្ភារៈ.. ១៥
៤.២.២ ដំណើរការពិសោធ ១៥
៤.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ១ .... ១៦
៤.៣ លំហាត់ ៤ ផ្នែក២៖ សារាយ (Algae) ១៨
៤.៣.១ សម្ភារៈ.. ១៨
៤.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ១៨
៤.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ២ .... ១៨
៤.៤ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ៣៖ ប្រូតូសូអាដែលរស់នៅក្នុងទឹក(Aquatic Protozoa) ២០
៤.១.១ សម្ភារៈ ២០
៤.៤.២ ដំណើរការពិសោធ ២០
៤.៤.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ៣................................ ២១

លំហាត់ ៥៖ ការរៀបចំពិនិត្យមីក្រូសរីរាង្គ

៥.១ លំហាត់ ៥ ផ្នែក ១ .... ២២
៥.១.១ សេចក្ដីផ្ដើម ២២
៥.១.២ សម្ភារៈ.. ២២
៥.១.៣ ដំណើរការពិសោធ ២២
៥.២ លំហាត់ ៥ ផ្នែក ២ .... ២៣
៥.២.១ សេចក្ដីផ្ដើម... ២៣
៥.២.២ សម្ភារៈ ២៤
៥.២.៣ ដំណើរការពិសោធ ២៤
៥.២.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៥ ផ្នែក ២ .... ២៧

លំហាត់ ៦៖ ការផ្ទេរមេរោគដោយគ្មានចម្លង (Aseptic Transfer)

៦.១ សេចក្ដីផ្ដើម.. ២៩
៦.២ សម្ភារៈ ២៩
៦.៣ ដំណើរការពិសោធ.. ២៩
៦.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៦ .... ៣១

លំហាត់ ៧៖ ការញែកបាក់តេរីឲ្យបានពូជសុទ្ធ

៧.១ សេចក្ដីផ្ដើម ៣៣
៧.២ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ១៖ ការបណ្ដុះបែបជម្រើស (Enrichment Culture) ៣៣

៧.២.១ សម្ភារៈ ៣៤
៧.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៣៤
៧.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ១ .... ៣៥
៧.៣ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ២៖ ការញែកមេរោគដោយវិធីសាស្ត្រឆូតនៅលើចាហួយ ៣៥
៧.៣.១ សម្ភារៈ ៣៦
៧.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៣៦
៧.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ២ .... ៣៧

លំហាត់ ៨៖ កាយវិភាគវិទ្យានៃបាក់តេរី (Cross Anatomy of Bacteria)

៨.១ សេចក្តីផ្តើម ៣៩
៨.២ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ១៖ ផ្លាសែល ៣៩
៨.២.១ សម្ភារៈ ៤០
៨.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៤១
៨.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ១ .... ៤១
៨.៣ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ២៖ អង់ដូស្ពរ (Endospores) ៤២
៨.៣.១ សម្ភារៈ ៤២
៨.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៤៣
៨.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ២ .... ៤៣

លំហាត់ ៩៖ ចំណីសម្រាប់បណ្តុះមេរោគ (The Culture Medium)

៩.១ សេចក្តីផ្តើម ៤៤
៩.២ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ១៖ ប្រភពនៃកាបូន អាសូត និងថាមពល ៤៥
៩.២.១ សម្ភារៈ ៤៦
៩.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៤៦
៩.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ១ .... ៤៧
៩.៣ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ២៖ ចំណីបណ្តុះប្រភេទជ្រើសរើស (selective media) ៤៧
៩.៣.១ សម្ភារៈ ៤៨
៩.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៤៨
៩.៣.៣ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២ .... ៤៩
៩.៣.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ២ .... ៤៩

លំហាត់ ១០៖ លក្ខណៈពិសេសៗនៃការលូតលាស់របស់បាក់តេរី និងផ្សិត

១០.១ សេចក្តីផ្តើម ៥១

១០.២ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ១៖ លក្ខណៈពិសេសនៃផ្សិត (Features of the Fungi) ៥១
១០.២.១ សម្ភារៈ ៥២
១០.២.២ ដំណើរការពិសោធ........ ៥៣
១០.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ១ .... ៥៤
១០.៣ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ២៖ លក្ខណៈពិសេសៗរបស់បាក់តេរីពេលបណ្តុះ........ ៥៥
១០.៣.១ សម្ភារៈ ៥៦
១០.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៥៦
១០.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ២ .... ៥៦

លំហាត់ ១១៖ ឥទ្ធិពលនៃបរិស្ថានទៅលើមីក្រូសរីរាង្គ

១១.១ សេចក្តីផ្តើម ៥៨
១១.២ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ១៖ អុកស៊ីសែន (Oxygen) ៥៨
១១.២.១ សម្ភារៈ ៥៩
១១.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៥៩
១១.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ១ .... ៦០
១១.៣ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ២៖ សីតុណ្ហភាព ៦១
១១.៣.១ សម្ភារៈ ៦២
១១.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៦២
១១.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ២ .... ៦២

លំហាត់ ១២៖ អង់ស៊ីមដែលធ្វើអ៊ីដ្រូលីសខាងក្រៅកោសិកា

១២.១ សេចក្តីផ្តើម ៦៤
១២.២ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ១៖ ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសអាមីដុង ៦៤
១២.២.១ សម្ភារៈ ៦៥
១២.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៦៥
១២.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ១ .... ៦៦
១២.៣ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ២៖ ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសកាសេអ៊ីន ៦៦
១២.៣.១ សម្ភារៈ ៦៦
១២.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៦៧
១២.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ២ .... ៦៧
១២.៤ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ៣៖ ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសទៅលើប្រូតេអ៊ីនដែលឡាទីន........ ៦៧
១២.៤.១ សម្ភារៈ ៦៨
១២.៤.២ ដំណើរការពិសោធ........ ៦៨

១២.៤.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ៣ .... ៦៨

លំហាត់ ១៣៖ ឥទ្ធិពលនៃសីតុណ្ហភាពខ្ពស់ទៅលើបាក់តេរី

១៣.១ សេចក្តីផ្តើម ៧០
១៣.២ សម្ភារៈ ៧១
១៣.៣ ដំណើរការពិសោធ ៧១
១៣.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៣ .... ៧៣

លំហាត់ ១៤៖ ការរាប់ចំនួនបាក់តេរី និងក្រាហ្វិចនៃការលូតលាស់

១៤.១ សេចក្តីផ្តើម ៧៤
១៤.២ ការរាប់ចំនួនមីក្រុបដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ផ្ទាល់ (Direct Microscopic Counts)... ៧៤
១៤.៣ ការរាប់មីក្រុបទាំងអស់ដែលមាននៅលើចានបណ្តុះ (Plate Counts)................ ៧៤
១៤.៤ ដង់ស៊ីតេពន្លឺ (Optical Density) ៧៦
១៤.៥ បច្ចេកទេសពង្រាវ (Dilution Technique) ៧៦
១៤.៦ បច្ចេកទេសចាក់ចម្លងមេរោគទៅលើចានបណ្តុះ (Plating Technique) ៧៧
១៤.៦.១ សម្ភារៈ ៧៨
១៤.៦.២ ដំណើរការពិសោធ ៧៨
១៤.៧ វិធីសាស្ត្រដែលប្រើដើម្បីរាប់កូឡូនីនៅលើចានបណ្តុះនីមួយៗ៖ ៨០
១៤.៨ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៤ .... ៨០

លំហាត់ ១៥៖ ការឆ្លើយតបគីមី និងពន្លឺទៅកាន់បរិស្ថាន

១៥.១ សេចក្តីផ្តើម ៨២
១៥.២ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ១៖ ការឆ្លើយតបគីមីនៅក្នុងបាក់តេរី................................. ៨២
១៥.២.១ សម្ភារៈ ៨៣
១៥.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៨៣
១៥.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ១ .... ៨៤
១៥.៣ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ២៖ លក្ខណៈនៃការឆ្លើយតបពន្លឺនៅក្នុងផ្សិត Pilobolus ៨៥
១៥.៣.១ សម្ភារៈ ៨៥
១៥.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ៨៦
១៥.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ២ .... ៨៦

លំហាត់ ១៦៖ ការផ្លាស់ប្តូរទម្រង់របស់បាក់តេរី (Bacterial Transformation)

១៦.១ សេចក្តីផ្តើម ៨៨

១៦.២ សម្ភារៈ ៨៩
១៦.៣ ដំណើរការពិសោធ ៨៩
១៦.៣.១ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖ ការរៀបចំ DNA និងល្បាយសូលុយស្យុងមេរោគដែលបានបម្លែងស្បែនរួច ៨៩
១៦.៣.២ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖ ការធ្វូតល្បាយបាក់តេរីដែលបានប្រែប្រួលស្បែនទៅលើចាហួយបណ្ដុះ ៩០
១៦.៣.៣ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ៣៖ ការអង្កេតតាមដានទៅលើការផ្លាស់ប្ដូរទម្រង់របស់បាក់តេរី ៩១
១៦.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៦ .... ៩១

លំហាត់ ១៧៖ បន្ទេរភាពធន់នឹងថ្នាំផ្សះពីបាក់តេរីមួយទៅបាក់តេរីមួយ

១៧.១ សេចក្ដីផ្ដើម ៩២
១៧.២ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖ ៩៣
១៧.២.១ សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយ៖ ៩៣
១៧.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៩៣
១៧.៣ ការពិសោធដំណាក់កាលទី ២៖ ៩៥
១៧.៣.១ ដំណើរការពិសោធ ៩៥
១៧.៣.២ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៧ .... ៩៦

លំហាត់ ១៨៖ វីរុសដែលជាបរាសិតលើបាក់តេរី (Viruses of Bacteria)

១៨.១ សេចក្ដីផ្ដើម ៩៨
១៨.២ ការញែក និងការកំណត់កំហាប់ Bacteriophage ៩៨
១៨.២.១ សម្ភារៈ ៩៩
១៨.២.២ ដំណើរការពិសោធ ៩៩
១៨.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៨ .... ១០០

លំហាត់ ១៩៖ ការសម្លាប់ និងបង្ខាក់សកម្មភាពមីក្រូសរីរាង្គ

១៩.១ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ១៖ សារជាតុបង្អាក់ការដុះលូតលាស់ និងបន្តពូជរបស់មេរោគ (antiseptics) និងសារជាតុសម្លាប់មេរោគ (disinfectants) ១០១
១៩.១.១ សេចក្ដីផ្ដើម ១០១
១៩.១.២ សម្ភារៈ ១០២
១៩.១.៣ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖ ១០៣
១៩.១.៤ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖ ១០៤

១៩.១.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ១............................ ១០៤
១៩.២ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ២៖ សកម្មភាពនៃពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ១០៥
១៩.២.១ សេចក្តីផ្តើម.. ១០៥
១៩.២.២ វិធីសាស្ត្រប្រើបន្ទះក្រដាស សម្រាប់ធ្វើតេស្តកំណត់ភាពរួសនឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ១០៦
១៩.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ២.......................... ១០៨

លំហាត់ ២០៖ បាក់តេរីដែលបម្លែងអាសូត (The Nitrogen-Fixing Bacteria)

២០.១ សេចក្តីផ្តើម ១១០
២០.២ បាក់តេរីដែលបម្លែងអាសូតក្នុងទម្រង់ជាបរាសិតផ្តល់ប្រយោជន៍ទាំងសងខាង ១១០
២០.៣ សម្ភារៈ.. ១១០
២០.៤ ដំណើរការពិសោធ ១១១
២០.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២០ .... ១១២

លំហាត់ ២១៖ ការវិភាគផ្នែកមីក្រូសរីរាង្គក្នុងទឹកដោះគោ

២១.១ សេចក្តីផ្តើម ១១៣
២១.២ លំហាត់ ២១ ផ្នែក១៖ ចំនួនមីក្រូសរីរាង្គសរុបដែលដុះនៅលើ agar.................. ១១៣
២១.២.១ សម្ភារៈ ១១៣
២១.២.២ ដំណើរការពិសោធ.. ១១៤
២១.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២១ ផ្នែក ១ .... ១១៥
២១.៣ លំហាត់ ២១ ផ្នែក ២៖ ចំនួនបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យសរុប (Coliform Count).... ១១៦
២១.៣.១ សម្ភារៈ ១១៦
២១.៣.២ ដំណើរការពិសោធ.. ១១៦
២១.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២១ ផ្នែក ២......................... ១១៧

លំហាត់ ២២៖ ការវិភាគផ្នែកមីក្រូសរីរាង្គក្នុងផលិតផលចំណីអាហារ

២២.១ សេចក្តីផ្តើម... ១១៨
២២.២ សម្ភារៈ.. ១១៨
២២.៣ ដំណើរការពិសោធ ១១៨
២២.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២២....................................... ១២០

លំហាត់ ២៣៖ ការវិភាគផ្នែកអនាម័យទៅលើទឹក

២៣.១ សេចក្តីផ្តើម... ១២១

២៣.២ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ១៖ ការវិភាគរកបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យនៅក្នុងទឹក ១២១
២៣.២.១ ការធ្វើតេស្តសង្ស័យ (PRESUMPTIVE TEST) ១២១
២៣.២.២ ការធ្វើតេស្តបញ្ជាក់ (CONFIRMATIVE TEST) ១២២
២៣.២.៣ សម្ភារៈ ១២២
២៣.២.៤ ដំណើរការពិសោធ ១២៣
២៣.២.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ១ .... ១២៣
២៣.៣ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ២៖ ការធ្វើតេស្ត IMViC ១២៤
២៣.៣.១ សម្ភារៈ ១២៥
២៣.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ១២៥
២៣.៤ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ៣៖ ការពិពណ៌នាពីវិធីសាស្រ្តចម្រោះភ្នាស ១២៧
២៣.៤.១ សម្ភារៈ ១២៨
២៣.៤.២ ដំណើរការពិសោធ ១២៨
២៣.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ៣ .... ១២៨

លំហាត់ ២៤៖ អំពើនៃពួកអង់ទីប្យូទិច (Action of Antibiotics)

២៤.១ សេចក្តីផ្តើម ១៣០
២៤.២ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ១៖ ថ្នាំគុណភាពអង់ទីប្យូទិចកំណត់ ដោយវិធីសាស្រ្តឆ្លូតខ្វែង ១៣០
២៤.២.១ សម្ភារៈ ១៣០
២៤.២.២ ដំណើរការពិសោធ ១៣១
២៤.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ១ .... ១៣២
២៤.៣ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ២៖ វិធីសាស្រ្តតេស្តភាពរួសបាក់តេរីជាមួយអង់ទីប្យូទិចបន្ទះក្រដាស ១៣៤
២៤.៣.១ សម្ភារៈ ១៣៤
២៤.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ១៣៥
២៤.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ២ .... ១៣៧

លំហាត់ ២៥៖ ប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស្សែន និងអង់ទីករ (Serological Reactions)

២៥.១ សេចក្តីផ្តើម ១៣៨
២៥.១ តេស្តដែលបង្ហាញពីប្រតិកម្មដែលឲ្យផលជាសូលុយស្យុងមានទម្រង់ស្អិតដូចកាវ .១៣៩
២៥.១.១ សម្ភារៈ ១៣៩
២៥.១.២ ដំណើរការពិសោធ ១៣៩
២៥.១.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៥ .... ១៤០

លំហាត់ ២៦៖ ពួកបាក់តេរីរាងមូលដែលបង្ករោគ (The Pathogenic Cocci)

២៦.១ សេចក្តីផ្តើម ១៤១
២៦.២ សម្ភារៈ ១៤១
២៦.៣ ដំណើរការពិសោធ ១៤២
២៦.៣.១ ការធ្វើតេស្តទៅលើការបំផ្លាញកោសិកាឈាមក្រហម និងបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីន (Hemolysis testing) ១៤២
២៦.៣.២ ការធ្វើតេស្តប្រសិទ្ធិភាព Bacitracin/Optochin ១៤៣
២៦.៣.៣ តេស្ត Coagulase នៅក្នុងទីប (Tube Coagulase Test) ១៤៤
២៦.៣.៤ តេស្ត Catalase (Catalase Test) ១៤៤
២៦.៣.៥ តេស្ត Bile Solubility (Bile Solubility Test) ១៤៥
២៦.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៦ .... ១៤៥

លំហាត់ ២៧៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងបង្ករោគ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន

២៧.១ សេចក្តីផ្តើម ១៤៧
២៧.២ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ១៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងបង្កើតអង់ដូស្ពរ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន ១៤៧
២៧.២.១ សម្ភារៈ ១៤៨
២៧.២.២ ដំណើរការពិសោធ ១៤៨
២៧.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ១ .... ១៥០
២៧.៣ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ២៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងមិនផលិតស្ពរ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន ១៥១
២៧.៣.១ សម្ភារៈ ១៥១
២៧.៣.២ ដំណើរការពិសោធ ១៥១
២៧.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ២ .... ១៥២

លំហាត់ ២៨៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមអវិជ្ជមានដែលអាចបម្លែងស្ករឲ្យទៅជាអាស៊ីត

២៨.១ សេចក្តីផ្តើម ១៥៣
២៨.២ សម្ភារៈ ១៥៤
២៨.៣ ដំណើរការពិសោធ ១៥៥
២៨.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៨ .... ១៥៩

លំហាត់ ២៩៖ ការកំណត់អត្តសញ្ញាណពួកបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់

២៩.១ សេចក្តីផ្តើម ១៦១

២៩.២ ដំណើរការពិសោធ ១៦១
២៩.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៩ .... ១៦២

លំហាត់ ៣០៖ គម្រោងតាមក្រុម

៣០.១ ការរៀបប្លង់គម្រោង៖ ១៦៣
៣០.២ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៣០ .... ១៦៤

បណ្ណាល័យសាស្រ្ត

បញ្ជីតារាង

តារាង ៩.២ កំណត់វត្តមាន ឬអវត្តមានរបស់ប្រភេទមេរោគផ្សេងៗគ្នាទាំងបួន ---------------------- ៤៧
តារាង ៩.៣ ឥទ្ធិពលកម្រិត Crystal Violet និង Phenylethyl Alcohol លើវត្តមានបាក់តេរី ------- ៤៩
តារាង ១១.១ បំពេញលទ្ធផលនៃការតេស្តបាក់តេរី៤ប្រភេទ លើលក្ខខណ្ឌផ្សេងៗ-------------------- ៦០
តារាង ១១.២ លទ្ធផលនៃការលូតលាស់ក្រុមផ្សេងគ្នានៃបាក់តេរីយោងទៅតាមសីតុណ្ហភាព-------- ៦១
តារាង ១៣.៤ បំពេញលទ្ធផលនៃដំណុះបាក់តេរីតាមលក្ខខណ្ឌនៃកំដៅ ----------------------------៧៣
តារាង ១៤ លទ្ធផលនៃការរាប់ចំនួនកូឡូនី *E. coli* ទៅតាមរយៈពេលភ្ញាស់ ------------------------ ៨០
តារាង ១៧.១ ការពិពណ៌នាពីទំហំនៃផ្នែកដែលរងនូវការបង្អាក់ការលូតលាស់បាក់តេរី--------------- ៩៦
តារាង ១៩.១ ឥទ្ធិពលនៃសារធាតុសម្លាប់មេរោគដែលត្រូវបានប្រើប្រាស់ជាធម្មតា ----------------១០៤
តារាង ១៩.២ ការបកស្រាយអំពីអង្កត់ផ្ចិតតំបន់ដែលរងការបង្អាក់បាក់តេរីដោយអង់ទីប្យូទិក ----- ១០៨
តារាង ២៤.១ អង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់ដែលរងការបង្អាក់តាមស្តង់ដារ (Kirby-Bauer Method) ------- ១៣៦
តារាង ២៤.២ បំពេញលទ្ធផលទំហំតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ គិតជា mm --------------------------១៣៧
តារាង ២៦ ចរិតលក្ខណៈនៃបាក់តេរីរាងមូលដែលបង្ករោគ--- ១៤៦
តារាង ២៧.២ បំពេញចរិតលក្ខណៈរបស់បាក់តេរី *B. cereus, C. sporogenes* និង *L. casei*- ១៥២

បញ្ជីរូបភាព

រូបភាព ៣.១ សមាសភាគនៃមីក្រូទស្សន៍ ៩

រូបភាព ៤.១ *Epidermophyton floccosum* មើលដោយមីក្រូទស្សន៍ ១៤

រូបភាព ៤.២ ទម្រង់ប្រូតូសូអា ប៉ារ៉ាមីស្យូម(protozoan Paramecium) ១៥

រូបភាព ៥.១ ជំហាននៃដំណើរការពិសោធបន្សុំពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី ២៦

រូបភាព ៦.១ ការរុញលូបដែលបានស្ទេរីលរួចទៅក្នុងកំណារនៃកោសិកាមីក្រុប ៣០

រូបភាព ៦.២ ការស្ទេរីលលូបសម្រាប់ចម្លងមេរោគដោយអណ្តាតភ្លើង ៣១

រូបភាព ៧.១ ផ្លាផ្ទែកដែលមានចាហួយនៃចានបណ្តុះ ៣៧

រូបភាព ៨.១ ការបន្សុំពណ៌ផ្លាសែល Leifson បង្ហាញឲ្យឃើញ នូវចំនួនដ៏ច្រើននៃផ្លាសែល ៤០

រូបភាព ៨.២ ផ្លាសែលនៅលើខ្លួនបាក់តេរី ៤០

រូបភាព ១០.១ ប្រភេទ hyphae ដែលមានដែបញ្ជោត (pseudohyphae) នៃយីសមួយចំនួន .. ៥២

រូបភាព ១០.២ ស្ពរនៃផ្សិតដែលសំយោគដោយឥតភេទ (conidia) នៃ Deuteromycetes.......... ៥២

រូបភាព ១៤.១ ការរាប់កោសិកាមេរោគសរុប ដោយប្រើឧបករណ៏រាប់ឈ្មោះ Petroff Hauser counting chamber ៧៥

រូបភាព ១៤.២ ការរាប់កោសិកាមេរោគសរុប ដោយការបណ្តុះលើចានចាហួយ ៧៥

រូបភាព ១៤.៣ វិធីសាស្ត្របណ្តុះដោយលាយចាហួយរាវ និងសំណាក (Pour plate method) ៧៨

រូបភាព ១៦.១ ការផ្លាស់ប្តូរទម្រង់បាក់តេរីដោយអង្កត់ DNA ៨៨

រូបភាព ១៧.១ ការរួមបញ្ចូលគ្នារបស់មេរោគ ៩៤

រូបភាព ២២.១ វិធីសាស្ត្របណ្តុះមេរោគលើចានចាហួយ(Agar plate)........................ ១១៩

រូបភាព ២៤.១ វិធីសាស្ត្រឆូតខ្វែងរវាងផ្សិត និងបាក់តេរី ១៣១១

រូបភាព ២៤.១ ការវាស់អង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់បង្អាក់សកម្មភាពបាក់តេរីដោយសារថ្នាំអង់ទីប្យូទិក......១៣៦

រូបភាព ២៧.១ មែកធាងនៃពួកបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន ១៤៩

រូបភាព ២៨.១ មែកធាងរបស់បាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន ១៥៨

រូបភាព ២៨.២ សង្ខេបនៃការធ្វើតេស្ត IMViC ១៥៩

បញ្ជីពាក្យសរសេរកាត់

អក្សរសរសេរកាត់		ការពន្យល់
AM	:	Ampicillin
B. subtilis	:	*Bacillus subtilis*
B. cereus	:	*Bacillus cereus*
CFU	:	Colony forming unit
BHI	:	Brain Heart Infusion
C. sporogenes	:	Clostridium sporogenes
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
E. coli	:	*Escherichia coli*
E. aerogenes	:	*Enterobacter aerogenes*
EMB	:	Eosin methylene blue
IMViC	:	Indole, Methyl red, Voges-Proskauer, and Citrate utilization test
K. pneumoniae	:	*Klebsiella pneumonia*
L. casei	:	*Lactobacillus casei*
M. luteus	:	Micrococcus luteus
NA	:	Nalidixic acid
P. notatum	:	*Penicillium notatum*
pH	:	Potential hydrogen
P. vulgaris	:	*Proteus vulgaris*
P. aeruginosa	:	*Pseudomonas aeruginosa*
RBC	:	Red blood cells
RNA	:	Ribonucleic acid
S. aureus	:	*Staphylococcus aureus*
S. faecalis	:	Streptococcus faecalis (Enterococcus faecalis)
S. flexneri	:	*Shigella flexneri*
S. griseus	:	*Streptomyces griseus*
S. pyugenes	:	*Streptococcus pyogenes*
Str^r	:	Streptomycin-resistant
S. typhimurium	:	*Salmonella typhimurium*
TE	:	Tetracycline
TTC	:	Triphenyl tetrazolium chloride

បទបញ្ជាទូទៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍

ដើម្បីជានាសុវត្ថិភាពនៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍ផ្នែកមីក្រូសរីរាង្គ បទបញ្ញត្តិមួយចំនួនគួរតែត្រូវបានអនុវត្តៈ

១. លាងដៃរបស់អ្នកដោយប្រុងប្រយ័ត្នជាមួយសាប៊ូ មុនពេលចូល និងក្រោយចេញពីមន្ទីរពិសោធន៍។ សម្អាត និងសម្លាប់មេរោគនៅកន្លែងធ្វើការមុន និងបន្ទាប់ពីពិសោធន៍ម្តងៗ។

២. ត្រូវមានអាវពណ៌សសំរាប់ក្នុងមន្ទីពិសោធន៍ ស្បែកជើងគ្របម្រាមជើង (បើចាំបាច់ ត្រូវមានម៉ាស់ និងវ៉ែនតា)

៣. មិនត្រូវបរិភោគ ឬផឹកនៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍។ មិនត្រូវដាក់វត្ថុអ្វីចូលក្នុងមាត់របស់អ្នកឡើយ (ឧទាហរណ៍ ម្រាមដៃ ឬខ្មៅដៃ)

៤. ប្រសិនបើអ្នកមានសក់វែង ត្រូវចងវាទៅក្រោយ។ ត្រូវពាក់ស្បែកជើងគ្រប់ពេលនៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍។

៥. ដាក់អាវធំ ឬសំលៀកបំពាក់ផ្សេងៗទៀតនៅកន្លែងសមរម្យ មិនត្រូវដាក់នៅកន្លែងពិសោធន៍ទេ។ ប្រសិនបើមានចម្ងល់ ត្រូវសួរគ្រូបង្ហាត់បង្រៀនរបស់អ្នក។ សៀវភៅតែមួយគត់ដែលអ្នកនឹងត្រូវការនៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍គឺក្បួនមន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

៦. ហាមលេងសើច ឬការធ្វើអ្វីផ្តេសផ្តាស់ក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍

៧. ហាមយក Lab top មកប្រើក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍

៨. អ្នកគ្មានភារកិច្ច ហាមចូលមកលេងក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍

៩. មន្ទីរពិសោធន៍ ត្រូវបានបំពាក់ជាមួយចំហេះបិញ្ញសិន (Bunsen burner) លួសផ្ទេរមេរោគ (wire transfer loop) ក្រដាសទន់ និងប្រដាប់បញ្ឆេះចំហេះបិញ្ញសិន។ ឧបករណ៍នេះត្រូវបានប្រើប្រាស់ដោយនិស្សិតថ្នាក់ផ្សេងផងដែរ ដូចនេះ មិនត្រូវទុកទ្រព្យសម្បត្តិផ្ទាល់ខ្លួននៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍ទេ។

១០. ការភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C គួរតែត្រូវបានដាក់នៅលើធ្នើរ ដែលមានលេខបញ្ជាក់ច្បាស់លាស់។ ត្រូវតែប្រាកដថាចានបណ្តុះរបស់អ្នក ត្រូវបានកំណត់សម្គាល់យ៉ាងច្បាស់ដើម្បីចៀសវាងការច្រឡំ។

១១. ត្រូវប្រុងប្រយ័ត្នថា អ្នកត្រូវចោលបន្ទះកញ្ចក់ (silde) និងមេរោគភ្លាមៗនៅពេលដែលការងារត្រូវបញ្ចប់។ រាល់មេរោគនិងវត្ថុដទៃទៀតដែលត្រូវបោះចោល អ្នកត្រូវតែដាក់ក្នុងស្បោងឲ្យបានត្រឹមត្រូវ។ ប្រសិនបើអ្នកមានសំណួរ អ្នកត្រូវសួរអ្នកគ្រប់គ្រងមន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

១២. រាយការណ៍រាល់គ្រោះថ្នាក់ទាំងអស់ទៅកាន់អ្នកបង្ហាត់បង្រៀនអ្នកជាបន្ទាន់។

១៣. បិទចំហេះបិញ្ញសិនភ្លាមនៅពេលដែលអ្នកបញ្ចប់ការងារជាមួយវារួច។

១៤. មិនត្រូវប្រើពីប៉ែតប្រើមាត់ទេ។ ត្រូវបើឧបករណ៍ជំនួយដែលផ្តល់ឲ្យជានិច្ច។

១៥. ប្រសិនបើ អ្នកធ្វើឲ្យបរិក្ខារកញ្ចក់មួយចំនួនបែកបាក់ ត្រូវហៅអ្នកបង្ហាត់បង្រៀនភ្លាមៗ។ មិនត្រូវប៉ះពាល់បរិក្ខារកញ្ចក់ដែលបែកបាក់ដោយដៃទទេនោះទេ។ ប្រសិនបើបរិក្ខារកញ្ចក់មួយចំនួនផ្ទុកមីក្រូសរីរាង្គ ត្រូវគ្របវាភ្លាមជាមួយនឹងក្រដាសជូតមាត់ ព្រមទាំងបញ្ជោកក្រដាសនោះជាមួយសារធាតុសម្លាប់មេរោគ។ ត្រូវផ្តល់ដំណឹងដល់អ្នកបង្ហាត់បង្រៀនអ្នកភ្លាមៗ។

១៦. ប្រសិនបើ ចានបណ្តុះដែលមានមេរោគ ឡើងហៀរត្រូវគ្របវាភ្លាមជាមួយនឹងក្រដាសជូតមាត់ ព្រមទាំងបញ្ជោកក្រដាសនោះជាមួយសារធាតុសម្លាប់មេរោគ។ ត្រូវផ្តល់ដំណឹងដល់អ្នកបង្ហាត់បង្រៀនអ្នកភ្លាមៗ។

១៧. ប្រសិនបើអ្នកឆ្លងមីក្រូសរីរាង្គទៅលើដៃរបស់អ្នកដោយចៃដន្យត្រូវលាងសម្អាតដៃរបស់អ្នកភ្លាមៗជាមួយសារធាតុសម្លាប់មេរោគ។ ដុសសម្អាតដៃជាមួយសាប៊ូដុំយ៉ាងហោចណាស់ឲ្យបាន ៣០ វិនាទី។

១៨. ត្រូវប្រើមីក្រូទស្សន៍ដោយការប្រុងប្រយ័ត្ន។ ត្រូវប្រាកដថា អ្នកប្រើក្រដាសទន់ ដើម្បីជូតប្រេងចេញពីកញ្ចក់ពង្រីក។ កញ្ចក់ពង្រីកប្រើប្រេង ត្រូវតែសម្អាត បន្ទាប់ពីការប្រើប្រាស់រាល់ដងណាមួយ។

១៩. មុនពេលមកកាន់មន្ទីរពិសោធន៍ អ្នកត្រូវសិក្សាពីលំហាត់ដែលបានដាក់សម្រាប់ថ្ងៃនោះ។ វានឹងជួយសន្សំសំចៃពេលរបស់អ្នក ធ្វើឲ្យលទ្ធផលរបស់អ្នកកាន់តែប្រសើរឡើង និងអាចកាត់បន្ថយភាពបរាជ័យរបស់អ្នក។

២០. នៅពេលចាកចេញពីមន្ទីរពិសោធន៍ ត្រូវប្រាកដថា សម្ភារៈដែលបានប្រើត្រូវបានសំអាតរួចរាល់ តុកន្លែងធ្វើការងារត្រូវបានជូតសំអាត និងសំរាមក៏ត្រូវបានយកទៅបោះចោល។

លំហាត់ ១៖ ភាពដែលឃើញនៅគ្រប់កន្លែងនៃមីក្រូសរីរាង្គ

១.១ សេចក្តីផ្តើម

មីក្រូសរីរាង្គគឺជាសរីរៈទំហំតូច មានការបន្តពូជយ៉ាងរហ័ស និងមានភាពខុសគ្នានៃដំណើរការមេតាបូលីស ដែលមាននៅគ្រប់ទីកន្លែង។ មីក្រូសរីរាង្គកើតឡើងនៅគ្រប់ទីកន្លែងដែលមនុស្សមានទំនាក់ទំនងជាមួយ។ ពពួកមីក្រូសរីរាង្គនីមួយៗ ប្រហែលជាត្រូវបានកំណត់ឲ្យរស់ក្នុងលក្ខខណ្ឌជាក់លាក់ខ្លាំងមួយ ហើយប្រហែលជា អាចលូតលាស់បានតែនៅពេលដែលពួកវា ជួបនឹងលក្ខខណ្ឌទាំងនោះ បើមិនដូច្នេះទេ ទម្រង់របស់ពួកវា ប្រហែលជាត្រូវបែងចែកដោយងាយ និងទូលំទូលាយ ហើយអាចចេញជាលទ្ធភាពមួយ ដែលអាចរស់ក្នុងស្ថានភាពមិនសមស្រប។ ដោយសារតែ ពពួកទម្រង់បង្កជំងឺដែលតែងតែរើសមជ្ឈដ្ឋានលូតលាស់ខ្លាំង និងមានមុខងារឯកទេសខ្ពស់ ប្រហែលស្ថិតនៅគ្រប់ទិសទី និងអាចរស់បានយ៉ាងយូរ ដើម្បីចម្លងរោគសារជាថ្មី ដូចនេះសំខាន់ណាស់ដែលត្រូវដឹងថាមីក្រូសរីរាង្គគឺនៅគ្រប់ទីកន្លែង។ ពពួកខ្លះ ស្ថិតនៅកន្លែងដែលពួកវាត្រូវបានគេប្រទះឃើញ ហើយពួកវាស្ថិតនៅលើពោះវៀនសត្វ ឬមនុស្សជាធម្មតាពីធម្មជាតិ ដែលគេហៅថា microflora ឬរស់នៅជាទម្រង់បរាសិត (microbiota) ដែលមានលំនឹងជាមួយនឹងបរិស្ថានជាក់លាក់ដែលពួកវារស់នៅនោះ ចំណែកឯពួកខ្លះទៀត ប្រហែលជាមានអាយុខ្លី ដែលត្រូវប្រកួតប្រជែងគ្នាដើម្បីរស់ដោយមានប្រសិទ្ធិភាពខ្លាំង ឬតិច ឬគ្រាន់តែរស់នោះទេ ហើយពេលខ្លះ ពួកវា ត្រូវបានគេរកឃើញនៅកន្លែងមួយដែលមានមីក្រុបស្រាប់ទៅហើយ។

គោលបំណងនៃលំហាត់នេះ គឺដើម្បីបង្ហាញវត្តមានមីក្រូសរីរាង្គដែលមាននៅកន្លែងជិតៗ និងភាពមិនអាចកាត់ផ្តាច់ចេញពីមនុស្ស និងអ្វីៗដែលនៅជុំវិញខ្លួនរបស់ពួកវា។ និស្សិតប្រហែលជាប្រើចានបណ្តុះតាមជម្រើសរបស់ពួកគាត់។

១.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សម្នាក់៖

- ចានបណ្តុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុក Trytone/glucose/yeast extract agar (TGYE*)
- សំឡីត្បារស្ទេរីល្បែច ចំនួន ១ ដើម (Sterile cotton swab)
- ទីបចំនួន ១ ដែលដាក់ទឹកអំបិលដែលបានសម្លាប់មេរោគរួច (Tube of sterile saline)

*TGYE ជាចំណីសម្បូរសារជាតុចិញ្ចឹម ដែលទ្រទ្រង់ការលូតលាស់របស់មីក្រូសរីរាង្គជាច្រើន ប៉ុន្តែមិនមែនទាំងអស់ទេ ។

១.៣ ដំណើរការពិសោធ

១. ដាក់ផ្ទៃនៃចានបណ្តុះ TGYE របស់អ្នកទៅលើសម្ភារៈ ដែលអ្នកអាចយកមកប្រើប្រាស់ពេលក្រោយដោយងាយ ។ អ្នកអាចនឹងធ្វើឲ្យធ្លាក់កម្ទេចធូលី ក្រម៉ដំបៅ សក់ ឬក្រាសសិត

សក់ចូលក្នុងចានបណ្ដុះឬការប្រឡូកប្រឡាក់ដោយដៃ។ អ្នកអាចនឹងក្អកដាក់ចានបណ្ដុះ ឬដាក់ចានបណ្ដុះឲ្យត្រូវខ្យល់។ អ្នកអាចនឹងដាក់ចានបណ្ដុះទៅកាន់ឡារ៉ាបូលាងដៃ។ អ្នកអាចនឹងចាក់បណ្ដុះមីក្រុប (ក្នុងពេលសម្រាកបរិភោគ) ដោយមានធ្លាក់ចូលនូវកម្ទេចចំណីអាហារ ឬសម្បកវេចខ្ចប់អាហារ ឬក៏អ្នកអាចរាប់មេរោគនៅលើចាន ឬសម្ភារៈផ្ទះបាយរបស់អ្នក។ អ្នកមិនត្រូវបានហាមឃាត់ទៅលើការផ្ដល់យោបល់ខាងលើនេះទេ។ ដោយប្រើការស្រម៉ៃរបស់អ្នក ប្រូបាប៊ីលីតេនៃភាពចម្លងមេរោគ គឺមានតម្លៃខ្ពស់ណាស់។

២. ដាក់បណ្ដុះ (ភ្ញាស់) មេរោគដែលប្រឡូកប្រឡាក់នេះនៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ រហូតដល់ពិសោធន៍លើកក្រោយមកដល់។ វិភាគសរីរាង្គដែលមាននៅលើចានបណ្ដុះ។ (អ្នកនឹងត្រូវបានគេសួរនៅក្នុងរបាយការណ៍របស់អ្នកពីរបៀបគ្រោង និងបកស្រាយហេតុការណ៍ទាំងនេះ ដោយផ្អែកលើដោយភ្នែករបស់អ្នកពិនិត្យមើលលក្ខណៈរបស់ពួកវា។

១.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១

១. ត្រូវគ្រោង និងបកស្រាយដោយផ្អែកលើភ្នែករបស់អ្នកពិនិត្យលក្ខណៈនៃការលូតលាស់របស់ពួកមីក្រូសរីរាង្គ ដែលអ្នកកំពុងតាមដាន ។ ត្រូវកត់បញ្ចូលនូវព័ត៌មានលម្អិតដូចជា តើពួកវាមានសភាពភ្លឺ ឬរាបស្មើ ឬប៉ោង ? តើគែមកូឡូនីមានសភាពគ្រាត ឬរលោង ? តើកូឡូនីមានទំហំធំ ឬតូច ?

____

____

____

២. តើមានកូឡូនីប៉ុន្មានប្រភេទប្រភេទដែលអ្នកឃើញ ? តើមានកូឡូនីប៉ុន្មានដែលដូចគ្នា ?

____

____

____

៣. តើអ្នកបានសិក្សាអ្វីខ្លះពីសម្ភារៈដែលអ្នកប្រើដើម្បីបណ្តុះមេរោគ?

____

____

____

៤. តើអ្នកគិតថាអ្នកបានដាក់បណ្តុះរាល់សរីរាង្គដែលអាចនឹងមានវត្តមាន ឬក៏គ្មាន? ប្រសិនបើគ្មាន អ្នកត្រូវបកស្រាយ ហេតុអ្វី?

____

____

____

____

លំហាត់ ២៖ ប្រសិទ្ធិភាពនៃការលាងសម្អាតដៃ

២.១ សេចក្តីផ្តើម

ការលាងសម្អាតដៃ និងវិធីសាស្ត្រឯទៀតក្នុងការសម្អាត មានលក្ខណៈសាមញ្ញនៅក្នុងការរស់នៅប្រចាំថ្ងៃរបស់យើង។ ការលាងសម្អាត ជម្រះពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិតបណ្តោះអាសន្ន (transient microbiota) នៅលើស្បែក ។ មីក្រូសរីរាង្គ ជាធម្មតាស្ថិតនៅកន្លែងជាច្រើននៃរាងកាយ។ ពួកមីក្រូសរីរាង្គទាំងនេះ តំណាងឲ្យអ្វីដែលយើងហៅថា ពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិតដែលមានជាប់នៅនឹងរាងកាយ (indigenous or resident microbiota)។ ការលាងសម្អាត មិនជម្រះមីក្រូសរីរាង្គបានទាំងស្រុងទេ ប៉ុន្តែវាកាត់បន្ថយចំនួនពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិត ដែលមានជាប់នៅនឹងរាងកាយបាន។

ការចម្លងចូលនៃពពួកមីក្រូសរីរាង្គទៅលើរាងកាយ ចាប់ផ្តើមឡើងនៅពេលផ្តល់កំណើត និងវាឆ្លងតាមរយៈផ្ទៃនៃមាត់ បំពង់ក បំពង់អាហារ និងពោះវៀន។ បើទោះបីជា ទាំងបម្រែបម្រួលគុណភាព និងបរិមាណ កើតឡើងក៏ដោយ ក៏សមាជិកសំខាន់ ដែលផ្ទុកនូវពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិតដែលមានជាប់នៅនឹងរាងកាយ (indigenousmicrobiota) នៅតែមានវត្តមាន ក្នុងបរិមាណច្រើនមួយដដែល ។

អតិសុខុមប្រាណនៃមាត់ ធ្មេញ អញ្ចាញ និងទឹកមាត់ ស្ថិតនៅក្នុងចំណាប់អារម្មណ៍ពិសេស ព្រោះប្រភេទអតិសុខុមប្រាណជាច្រើន មានវត្តមាននៅកន្លែងទាំងនេះ ។ សរីរាង្គភាគច្រើននៅក្នុងកន្លែងនេះ ជាប្រភេទមិនអាស្រ័យខ្យល់ (anaerobic)។ រូបរាងផ្សេងៗគ្នានៃអតិសុខុមប្រាណ អាចត្រូវបានឃើញនៅលើសំណាកវិភាគចេញពីប្រហោងនៅចន្លោះធ្មេញ ។ ការរៀបចំទាំងនេះ ត្រូវបានតាមដានទាំងពេលដែលមេរោគបានបន្សុីពណ៌រួច នៅពេលមានជំនួយពីមីក្រូទស្សន៍ដែលប្រើពន្លឺ។ សរីរាង្គទាំងនេះមានវត្តមានជាធម្មតា ក្នុងទម្រង់ជាស្ប៉ៀ (spirochetes) គ្រាប់មូលតូច (micrococci) ទ្រវែង ឬដំបងតូច (small bacilli) និងច្រវាក់គ្រាប់មូល (streptococci)។

ពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិតដែលមានជាប់នៅនឹងស្បែក នឹងប្រែប្រួលទៅតាមកន្លែងផ្សេងគ្នានៃរាងកាយ។ បរិមាណផ្សេងគ្នានៃសំណើម និងទម្លាប់អនាម័យផ្ទាល់ខ្លួន ជាធម្មតាជាសូចនាករកំណត់ប្រភេទ និងបរិមាណផ្សេងគ្នានៃមីក្រូសរីរាង្គដែលមាននៅលើរាងកាយ។ ពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិតដែលមានជាប់នៅនឹងរាងកាយ ជាធម្មតារាប់បញ្ចូលទាំងពួក *Staphylococcus spp.* ដែលអាស្រ័យខ្យល់ ឬអាស្រ័យខ្យល់ក៏បាន មិនអាស្រ័យខ្យល់ក៏បាន (aerobic or facultative anaerobic *Staphylococcus spp.*) និង *Propionibacterium spp.* ដែលមិនអាស្រ័យខ្យល់ (an anaerobic *Propionibacterium spp.*)។

២.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈចាំបាច់សម្រាប់សិស្សម្នាក់៖

- ចានបណ្តុះ ចំនួន ១ ដែលផ្ទុក Brain Heart Infusion (BHI) Agar
- សំឡីត្បារស្ទេរីលរួច ចំនួន ២ ដើម (sterile swabs)

- ទឹកស្ទេរីលរួចដែលដាក់ក្នុងទីបរិភាគ (Sterile water in test tube)

២.៣ ដំណើរការពិសោធ

១. ចែកចានបណ្តុះ BHI ជាពីរ។ នៅផ្នែកបាតនៃចានបណ្តុះ (ជាកន្លែងដែលផ្ទុកចាហួយបណ្តុះ) ត្រូវសរសេរកំណត់ចំណាំនៅផ្នែកម្ខាង មុនពេលលាងសម្អាត និងផ្នែកម្ខាងទៀត បន្ទាប់ពីលាងសម្អាត។ លើសពីនេះ ត្រូវសរសេរឈ្មោះរបស់អ្នក និងលេខនៅលើចានបណ្តុះ។

២. មុនពេលលាងសម្អាតដៃរបស់អ្នក បន្សើមសំឡីដែលបានសម្លាប់មេរោគរួច ជាមួយទឹកស្ទេរីលរួច និងជូតបាតដៃរបស់អ្នកដោយប្រុងប្រយ័ត្នដោយប្រើសំឡីសើមនេះ។ យកសំឡីសើមនេះប៉ាតថើៗទៅលើចានបណ្តុះ និងបង្វិលត្រឡប់ទៅក្រោយ និងទៅមុខថ្នមៗនៅកន្លែងនោះ ។ យកសំឡីសើមដែលប្រើនេះទៅចោលនៅក្នុងសម្បកវេចខ្ចប់ដែលសមស្រប។

៣. លាងសម្អាតដៃរបស់អ្នក។

៤. យកសំឡីត្បារដែលបានស្ទេរីលថ្មី បន្សើមវាជាមួយទឹកដែលបានស្ទេរីលរួច និងជូតបាតដៃរបស់អ្នកនៅត្រង់កន្លែង ដដែលដោយប្រុងប្រយ័ត្ន ។ ចម្លងលើចានបណ្តុះ BHI ដោយបង្វិលសំឡីសើមថ្នមៗនៅត្រង់កន្លែងនោះ ។ យកសំឡីសើមដែលប្រើនេះទៅចោលនៅក្នុងសម្បកវេចខ្ចប់ដែលសមស្រប ។

៥. ដាក់ភ្ញាស់រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C ។

៦. ធ្វើកំណត់សម្គាល់រូបរាងនៃកូឡូនី។ សរីរាង្គទាំងនេះ អាចស្ថិតក្នុងចំណោមមីក្រូសរីរាង្គដែលជាបរាសិតនៅលើស្បែករបស់អ្នក ។

២.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២

១. យកគម្របចានបណ្តុះ BHI ចេញ។ អ្វីដែលដុះនៅលើចានបណ្តុះ BHI ជាបាក់តេរីដែលបានពីដៃរបស់គ្នា។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់ប្រភេទផ្សេងៗគ្នានៃសរីរាង្គ ឬកូឡូនីដែលមាននៅលើចានបណ្តុះ។ កូឡូនីនីមួយៗ តំណាងឲ្យសរីរាង្គផ្សេងៗគ្នា។ តើមានសរីរាង្គខុសគ្នាប៉ុន្មានប្រភេទដែលមានវត្តមាននៅលើចានបណ្តុះ?

____

____

២. រកមើលតែប្រភេទកូឡូនីណាដែលមានចំនួនច្រើនជាងគេ នៅលើចានបណ្តុះប៉ុណ្ណោះ។ ពិពណ៌នា លក្ខណៈរូបរាងរបស់កូឡូនីនេះ។ សំណួរដែលអ្នកត្រូវសួរខ្លួនឯងមាន៖ តើកូឡូនីមានពណ៌អ្វី? តើវាមានសភាពប៉ោង ឬរាបស្មើ? តើវាមានសភាពភ្លឺ ឬស្រអាប់? តើទំហំវា

ធំប៉ុណ្ណាដែរ? តើជាយកូឡូនីមានសភាពរលោង ឬគ្រើម? បន្ទាប់មក ធ្វើបែបនេះចំពោះរាល់ប្រភេទកូឡូនីដទៃទៀត ដែលមានវត្តមាននៅលើចានបណ្ដុះ។

____

____

____

៣. បង្កើតតារាងសង្ខេបនូវសរីរាង្គផ្សេងៗគ្នាដែលមានវត្តមាននៅលើចានបណ្ដុះ។ ឆ្លើយសំណួរខាងលើចំពោះសរីរាង្គនីមួយៗដែលមានវត្តមាននៅលើចានបណ្ដុះ។

____

____

៤. តើអ្នកបានសិក្សាអ្វីខ្លះពីលំហាត់នេះ?

____

____

____

៥. តើការលាងសម្អាតដៃមានឥទ្ធិពលអ្វីទៅលើវត្តមាន ឬការលូតលាស់នៃសរីរាង្គទាំងនេះ?

____

____

____

៦. តើអ្នកគិតថាអ្នកបានដកចេញអស់នូវពពួកសរីរាង្គបង្កជំងឺធ្ងន់ធ្ងរពីដៃរបស់អ្នកដែរ ឬទេ? តើអ្នកដឹងថាអ្នកបាន ឬមិនបានដកសរីរាង្គទាំងនោះចេញពីដៃរបស់អ្នកដោយរបៀប?

____

____

៧. តើអ្នកគិតថាដៃរបស់អ្នកដើរតួនាទីអ្វីក្នុងការរាតត្បាតចំណីអាហារ?

____

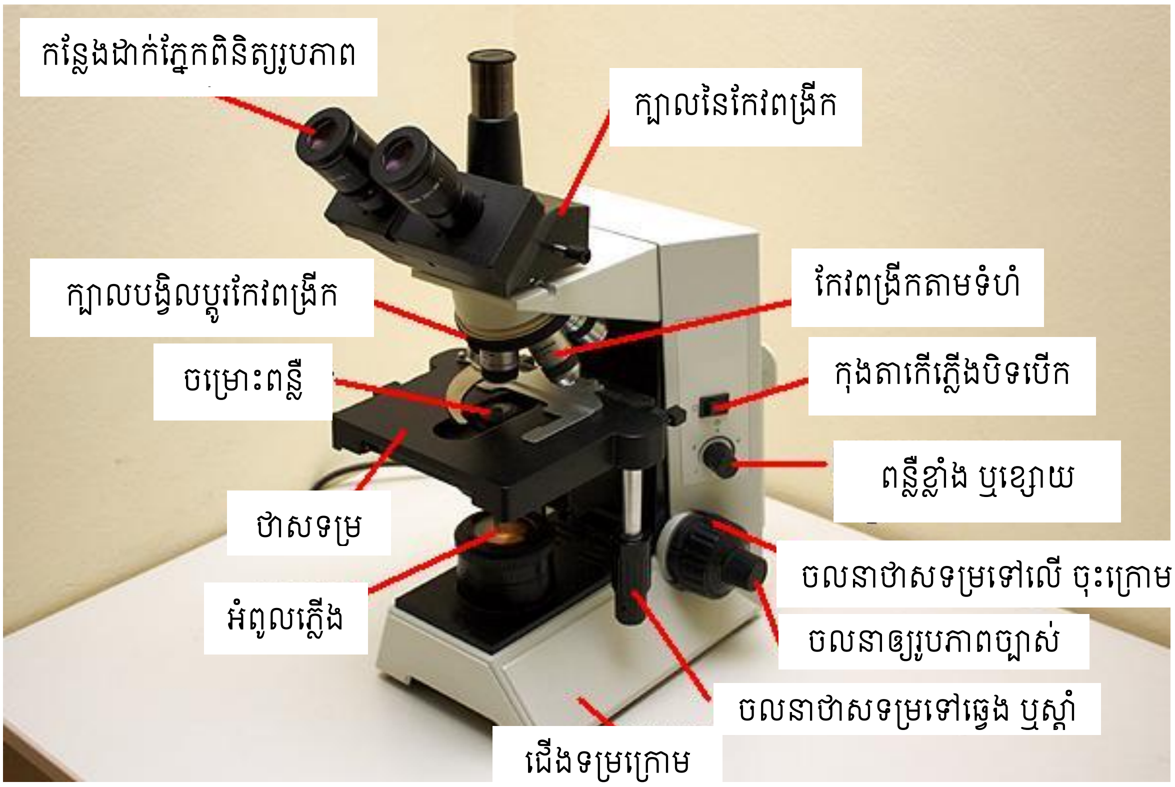
____

____

លំហាត់ ៣៖ មីក្រូទស្សន៍វិទ្យា (Microscopy)

៣.១ ប្រវត្តិមីក្រូទស្សន៍

នៅក្នុងអតិសុខុមប្រាណវិទ្យាជាជាងនៅក្នុងវិទ្យាសាស្ត្រជីវៈផ្សេងទៀត អ្នកត្រូវមានទេពកោសល្យប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍ឲ្យបានស្ទាត់ជំនាញ។ អ្នកនឹងប្រើមីក្រូទស្សន៍ យ៉ាងទូលំទូលាយនៅក្នុងវគ្គនេះ នៅពេលដែលអ្នកសិក្សាពីទម្រង់ រចនាសម្ព័ន្ធ ភាពមានចលនា និងការបន្សុំពណ៌នៃសរីរាង្គផ្សេងៗគ្នា។ នៅក្នុងការអង្កេតមើលរចនាសម្ព័ន្ធផ្សេងៗគ្នារបស់មីក្រូសរីរាង្គ អ្នកនឹងប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍ពន្លឺរហូតជិតដល់ព្រំដែនដែលមីក្រូទស្សន៍តែដំណើរការដោយមានប្រសិទ្ធិភាព។ ព្រំដែនបច្ចេកទេសនេះជាអនុភាព (resolving power) ដែលមីក្រូទស្សន៍ពន្លឺនៅតែអាចដំណើរការបាន ដែលប្រវែងរលកពន្លឺខ្លួនវាជាអ្នកកំណត់សេចក្តីលម្អិតដែលអាចត្រូវបានគេឃើញជាក់ស្តែងនៅពេលពិសោធន៍។ សេចក្តីលម្អិតនៃវិធីសាស្ត្រដែលមីក្រូទស្សន៍ពន្លឺត្រូវបានប្រើប្រាស់សព្វថ្ងៃ (ពហុមីក្រូទស្សន៍) និងសេចក្តីលម្អិតដែលប្រភេទផ្សេងៗនៃមីក្រូទស្សន៍ដំណើរការ ត្រូវបានពិភាក្សានៅក្នុងសៀវភៅនេះ វាមានភាពចាំបាច់ណាស់ដែលអ្នកសិក្សាពីការតម្រង់ សំខាន់ៗទៅលើផ្នែកនីមួយៗនៃមីក្រូទស្សន៍ដែលចាំបាច់ដើម្បីប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍ដោយមានសមត្ថភាព និងប្រសិទ្ធិភាព។



រូបភាព ៣.១ សមាសភាគនៃមីក្រូទស្សន៍

អ្នកត្រូវស្គាល់ផ្នែកផ្សេងៗនៃមីក្រូទស្សន៍ និងតួនាទី។ នៅក្នុងការប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍សម្រាប់ហេតុផលនេះ និងហេតុផលផ្សេងៗទៀត អ្នកត្រូវលើកមីក្រូទស្សន៍ទៅកន្លែងពិសោធន៍ដោយចាប់ដៃមីក្រូទស្សន៍ឲ្យជាប់ជាមួយដៃមួយចំហៀង ហើយបញ្ឈរមីក្រូទស្សន៍ឲ្យត្រង់ដោយត្រូវទ្រពីក្រោម។

ផ្នែកដំបូងមីក្រូទស្សន៍ដែលត្រូវកត់ចំណាំ ជាប្រភពពន្លឺ។ ផ្នែកនេះ ដឹកនាំពន្លឺដោយផ្ទាល់ និងមានជំហានរលកស្មើៗគ្នាទៅកាន់ប្រព័ន្ធអុបទិចនៃមីក្រូទស្សន៍ ។ ផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺ (condenser) ដែលពន្លឺត្រូវបានដឹកនាំដោយផ្ទាល់ពីប្រភពពន្លឺ តែងតែប្រមូលផ្តុំបាច់ពន្លឺទៅជាកោនពន្លឺ ដែលកំពូលកោននេះ ត្រូវប្រសព្វគ្នានៅលើសំណាក។ សន្ទះតូច (substage diaphragm) ឬសន្ទះប្រស្រីភ្នែក (iris diaphragm) ជាផ្នែកមួយដែលកំណត់ទំហំកោននៃពន្លឺ។ នៅពីលើផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺ ជាដំណាក់ (stage) ដែលដំណាក់នេះជាផ្ទៃរាបស្មើមួយ ដែលសំណាក ត្រូវបានដាក់នៅក្នុងផ្លូវពន្លឺដើម្បីឲ្យពន្លឺពីផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺ អាចត្រូវបានប្រសព្វគ្នានៅលើវា។ តម្បៀតខ្ទាស់ (clip) នៅលើដំណាក់មេកានិច (mechanical stage) ត្រូវបានប្រើដើម្បីទ្របន្ទះកញ្ចក់ (glass slide) ដែលត្រូវយកមកវិភាគ។

៣.២ ការថែទាំមីក្រូទស្សន៍

មីក្រូទស្សន៍ ជាឧបករណ៍មានតម្លៃថ្លៃ ដែលអាចត្រូវបានរងការបំផ្លាញយ៉ាងធ្ងន់ធ្ងរដោយការធ្វេសប្រហែសតែមួយភ្លែត។ ត្រូវប្រើប្រាស់ឧបករណ៍នេះដោយការថែទាំ និងត្រូវពេញចិត្តក្នុងការអភិវឌ្ឍជំនាញមីក្រូទស្សន៍វិទ្យារបស់អ្នក។ វានឹងបង្កើនចំណេះដឹង និងភាពរីករាយរបស់អ្នកនៅក្នុងថ្នាក់ ។ ត្រូវអង្កេតលើបម្រាមដូចខាងក្រោម៖

១. នៅពេលលើកដាក់មីក្រូទស្សន៍ ត្រូវចាប់វាដោយទ្រពីក្រោម។ ត្រូវកាន់វាដោយប្រើដៃទាំងពីរ ដែលដៃម្ខាងទប់ពីលើ ហើយម្ខាងទៀតទ្រពីក្រោមដោយត្រូវបញ្ឈរឲ្យត្រង់។
២. ជៀសវាងញ័រស្ទួម្បីតែមួយភ្លែត។
៣. កម្ទេចធូលី ប្រហែលជាអាចត្រូវបានឃើញនៅលើកែវភ្នែកមីក្រូទស្សន៍(eyepiece lenses) ដោយសារតែកម្ទេចទាំងនោះវិលនៅពេលភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ត្រូវបានគេបង្វិល។ កម្ទេចធូលី គួរតែត្រូវបានយកចេញ ហើយកែវភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ ត្រូវបានសម្អាតដោយប្រើតែក្រដាសកែវ (lens paper) តែប៉ុណ្ណោះ ព្រោះកញ្ចក់អុបទិច មានសភាពទន់ និងងាយរងកំណូត។
៤. វត្ថុជាតុស្ទួតប្រហែលជាត្រូវបានសម្អាតជាមួយទឹកបិត ហើយបន្ទាប់មកសម្ងួតភ្លាមៗដោយប្រើក្រដាសកែវ។
៥. កែវភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ដែលប្រឡាក់ដោយប្រេង គួរតែត្រូវបានជូតសម្អាតដោយប្រុងប្រយ័ត្ន ដោយប្រើក្រដាសកែវបន្ទាប់ពីប្រើម្តងៗ ។ ប្រសិនបើ ប្រេងជាប់ខ្លាំងនៅលើកែវភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ ត្រូវលាងសម្អាតដោយប្រើក្រដាសកែវថ្មីៗ ដែលត្រូវបានបន្សើមជាមួយទឹកលាង (lens cleaner)។ ទឹកលាងនេះ ត្រូវតែបានដោយប្រុងប្រយ័ត្ន និងជូតចេញក្រោយពេលប្រើម្តងៗ ដោយសារតែវា អាចនឹងកាត់បន្ថយភាពចាប់ពន្លឺ នៃកែវភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ (lens attachments)។

៦. មុនពេលបង្វែរមីក្រូទស្សន៍ម្តងៗ អ្នកត្រូវធ្វើឲ្យឃោលជានិច្ចកាល១៦មីលីម៉ែត្រដោយមិនលម្អៀងទៅចំបន្ទាត់នៃភ្នែក និងបង្វិលដងលែនមីក្រូទស្សន៍ (body tube) ចុះក្រោមដោយប្រុងប្រយ័ត្នទៅកាន់ផ្នែកលំនឹងបាត។
៧. រាយការណ៍នូវបញ្ហានានាទាក់ទងនឹងមីក្រូទស្សន៍ដល់អ្នកបង្ហាត់បង្រៀនរបស់អ្នក។ មិនត្រូវរុះរើផ្នែកផ្សេងៗនៃមីក្រូទស្សន៍ទេ។

គោលបំណងនៃលំហាត់នេះគឺ ឲ្យសិស្សយល់ដឹងពីមីក្រូទស្សន៍ និងការប្រើប្រាស់មីក្រូទស្សន៍។ មីក្រូសរីរាង្គដែលមានទំហំរាងធំបន្តិច ដូចជាពួក *Saccharomyces cerevisiae* ត្រូវបានប្រើជាយីសនៃនំប៉ុង។ យីសនេះ ជាផ្សិតឯកកោសិកា។ មីក្រូសរីរាង្គដែលមានទំហំតូចខ្លាំង ដូចជាបាក់តេរី *Bacillus subtilis* ត្រូវបានប្រើសម្រាប់គោលបំណងអនុវត្តបន្ថែមនៅក្នុងមីក្រូទស្សន៍វិទ្យា និងសម្រាប់រកភាពខុសគ្នាប្រៀបធៀបនឹងយីស។ វាត្រូវបានគេពង្រាយនៅលើបន្ទះកញ្ចក់កែវ ដែលត្រូវបានរៀបចំទុកជាមុនដោយប្រើបច្ចេកទេស ដែលនឹងត្រូវសិក្សាពេលក្រោយ។

៣.៣ សម្ភារៈ

សម្ភារៈដែលប្រើសម្រាប់តុនីមួយៗ៖

- យីសនំប៉ុង (*Saccharomyces cerevisiae*) ដាក់ក្នុងទឹកមិនទាន់ស្ងួតរួច
- ពីប៉ែតដែលបានប៉ាស្ទ័ររួច (pasteur pipette)
- បន្ទះកញ្ចក់ (glass slides)
- បន្ទះគម្របកញ្ចក់ (coverslips)
- បន្ទះកញ្ចក់ដាក់ *Bacillus subtilis* ដែលបានបន្សុំពណ៌រួច
- មីក្រូទស្សន៍ដែលប្រើប្រេងជាជំនួយដល់គំហើញ (immersion oil) ទឹកលាងសម្អាត (Xylen) លែនមីក្រូទស្សន៍ (lens cleaner) និងក្រដាសជូតកែវ (lens paper)។

៣.៤ ដំណើរការពិសោធ

១. ត្រូវត្រួតពិនិត្យដើម្បីឲ្យប្រាកដថាមីក្រូទស្សន៍នៅចំលេខតូច ។ វាគួរតែត្រូវបានបង្វិលនៅចំលេខតូចដោយមិនឲ្យខុសទីតាំងសំណាកវិភាគ។ ប្រសិនបើ វាមិនត្រូវបានដាក់ចំទីតាំងទេ បង្វិលផ្នែកដែលទ្រលែនមីក្រូទស្សន៍រហូតដល់លេខតូច (១៦មីលីម៉ែត្រ10x) ស្ថិតទៅដល់ទីតាំងសំណាកវិភាគ និងត្រូវចាំថាតែងតែបង្វិលវាត្រឡប់ទៅកាន់ទីតាំងសំណាកដែលដាក់វិភាគ។ ធ្វើបែបនេះជាមួយនឹងទីតាំងមួយដែលស្ថិតនៅប្រហែល ១ សង់ទីម៉ែត្រពីលើដំណាក់ ហើយធ្វើបែបនេះដោយឲ្យផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺ ប្រមូលផ្តុំពន្លឺទៅកាន់ផ្នែកកំពូលឲ្យពេញលេញ ហើយធ្វើបែបនេះដោយឲ្យសន្ទះបើកចំហតែពាក់កណ្តាល។ នៅត្រង់ទីតាំងពន្លឺ តាមជានឥទ្ធិពលនៃការទម្លាក់ផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺចុះក្រោម និងឥទ្ធិពលនៃការរុញសន្ទះភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ឲ្យបើក។

២. ដោយប្រើពីប៉ែតដែលបានប៉ាស្ទ័ររួច បន្តក់ដំណក់ដ៏តូចមួយនៃយីសពីក្នុងចំណីរាវ ទៅក្បែរចំណុចកណ្តាលនៃបន្ទះកញ្ចក់ដែលស្អាត។ គ្របគម្របកញ្ចក់ពីលើដំណក់កំណយីស។ យកបន្ទះកញ្ចក់នេះទៅដាក់លើដំណាក់នៅត្រង់ទីតាំងដែលត្រូវវិភាគ ដោយផ្ទាល់ពីលើកែវប្រមូលផ្តុំពន្លឺ ហើយវិភាគវាដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ត្រង់លេខតូច។

៣. បង្វិលដៃបង្វិលមូល (coarse adjustment knob) ដើម្បីទម្លាក់ដងនៃលែនមីក្រូទស្សន៍ រហូតដល់ទីតាំងដែលទាបបំផុតរបស់វា (មិនត្រូវយកភ្នែកទៅមើលតាមលែនមីក្រូទស្សន៍ (ocular lens) ទេ នៅពេលអ្នកអនុវត្តដំណាក់កាលនេះ)។ ខណៈពេលកំពុងយកភ្នែកមើលតាមលែនមីក្រូទស្សន៍ អ្នកត្រូវបង្វិលដៃបង្វិល ដើម្បីលើកសំណាកឡើងលើយឺតៗរហូតដល់សំណាក (specimen) មកដល់ចំណុចប្រសព្វពន្លឺ។ ទម្លាក់ដងនៃលែនមីក្រូទស្សន៍បានល្អ អាចធ្វើឲ្យសំណាកស្ថិតនៅចំទីតាំងប្រសព្វពន្លឺបានល្អ។ តម្រង់ផ្នែកប្រមូលពន្លឺនៃដំណាក់តូច ហើយបើក និងបិទសន្ទះភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ដើម្បីទទួលបានការជះពន្លឺដែលល្អបំផុត ។

ចំណាំ៖ មីក្រូទស្សន៍ភាគច្រើន មានលែនច្រើនដែលឲ្យចំណុចប្រសព្វនៅលើផ្ទៃតែមួយ (parfocal) ដែលមានន័យថានៅពេលដែលលែនមួយស្ថិតត្រង់ចំណុចប្រសព្វ នោះលែនផ្សេងទៀតនឹងមានប្រវែងរលកពន្លឺប្រសព្វដូចគ្នា ហើយអាចត្រូវបានបង្វិលទៅកាន់ទីតាំងគោលដៅមួយដោយមិនបាច់តម្រង់បន្ថែមទៀតទេ។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ ដើម្បីទទួលបានរូបភាពដែលច្បាស់ ដៃបង្វិល ត្រូវតែបានគេបង្វិលយឺតៗទៅកាន់ទីតាំងទាំងពីរ។

៤. នៅពេលដែល សំណាកវិភាគ ត្រូវបានរុញទៅចំចំណុចប្រសព្វដែលល្អដែលលែនមានលេខតូច នោះលេចចេញរូបជាចំណុចខ្មៅហើយ អ្នកត្រូវមើលសំណាកវិភាគរបស់អ្នក ដោយពង្រីកឲ្យធំជាងមុន។ ត្រូវបង្វិលលេខឲ្យខ្ពស់ចំលេខ ៤០x ហើយតម្រង់ឲ្យចំចំណុចប្រសព្វដែលល្អ។ ផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺ គួរតែត្រូវបានលើកឡើងលើទៅកាន់ទីតាំងកំពូលដែលមានពន្លឺពេញលេញ។ អ្នកប្រហែលជាត្រូវការតម្រូវអាំងតង់ស៊ីតេពន្លឺដោយប្រើសន្ទះភ្នែកនៃមីក្រូទស្សន៍។

៥. ដើម្បីពង្រីកបន្ថែមទៀត អ្នកត្រូវបន្តក់ប្រេងមួយដំណក់ដោយផ្ទាល់ទៅលើសំណាកវិភាគដែលមានលើបន្ទះកញ្ចក់ ដែលត្រូវយកមកពិនិត្យ ។ បង្វិលទម្រយឺតៗរហូតដល់កន្លែងបន្តក់ប្រេងនេះស្ថិតនៅចំទីតាំងល្អ។ បង្វិលដៃបង្វិលម្តងទៀតដើម្បីឲ្យរូបភាពទៅកាន់ចំណុចប្រសព្វល្អ។ នៅពេលមានប្រេង មិនត្រូវបង្វិលឲ្យចំលេខ១០x និង៤០x ។ ប្រសិនបើរឿងនេះកើតឡើង អ្នកត្រូវជូតប្រេងចេញភ្លាម។ **ចំណាំ៖** ដំបូង ត្រូវប្រសព្វសំណាកវិភាគ ឲ្យចំលេខ ១០x និង ៤០x ហើយបន្ទាប់មក ត្រូវបន្ថែមប្រេង និងបង្វិលផ្នែកដែលមានប្រេងឲ្យចំទីតាំង ឬបង្វិលចំលេខ ១០០x ។

៦. ត្រូវត្រួតពិនិត្យទៅលើលក្ខណៈរបស់*Bacillus subtilis* និងយីសលើបន្ទះកញ្ចក់វិភាគ។ ត្រូវធ្វើការកំណត់សម្គាល់ដោយប្រុងប្រយ័ត្ន ដើម្បីកំណត់នូវភាពខុសគ្នានៃលក្ខណៈរបស់កោសិកានីមួយៗនៅកម្រិតពង្រីកដូចគ្នា។ អ្នកនឹងត្រូវបានគេបង្គាប់ឲ្យបញ្ចូលនូវការអង្កេតរបស់អ្នកទៅក្នុងរបាយការណ៍។

៧. ត្រូវត្រួតពិនិត្យបន្ទះកញ្ចក់ដែលមានដាក់ *Bacillus subtilis* កំពុងលូតលាស់ ។ ត្រូវធ្វើកំណត់ចំណាំលក្ខណៈពិសេសនៃបាក់តេរី ដែលបង្ហាញដោយលែនដែលប្រើប្រេងជាជំនួយ ។ ពន្លឺត្រូវតែបានមូលបន្ថយ ហើយសន្ទះភ្នែកត្រូវតែបានបិទ ដើម្បីឲ្យអ្នកអាចអង្កេតកោសិកាទាំងនោះបាន ។ ប្រសិនបើ ពន្លឺភ្លឺខ្លាំងពេក អ្នកនឹងមិនអាចមើលឃើញអ្វីទាំងអស់ ។

៣.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៣

១. តើអ្នកអាចមើលឃើញរូបរាងរបស់បាក់តេរីដែរ ឬទេនៅពេលអ្នកប្រើលេខ ១០x និង ៤០x។ ហេតុអ្វី? តើអ្នកអាចឃើញកោសិកានីមួយៗរបស់ឃីសដែរ ឬទេ? ហេតុអ្វី?

____

____

____

២. តើមានអ្វីកើតឡើងនៅពេលដែលអ្នកមូលបញ្ចុះ និងបង្ខិតឡើងផ្នែកប្រមូលផ្តុំពន្លឺ?

____

____

____

៣. នៅពេលដែលកញ្ចក់ពង្រីករូបភាពដែលប្រើប្រេង (oil immersion objective) កំពុងត្រូវបានប្រើដើម្បីមើលរូបរាងបាក់តេរី តើមានអ្វីកើតឡើងនៅពេលអ្នកបើក និងបិទសន្ទះភ្នែកមីក្រូទស្សន៍?

____

____

____

៤. ហេតុអ្វីបានជាលេខតូចមានសារសំខាន់ខ្លាំងសម្រាប់ការមើលឃីស?

____

____

____

៥. ពិពណ៌នាពីអ្វីដែលអ្នកបានតាមដាននៅក្នុងដំណាក់កាលទី ៧ ខាងលើ។

____

____

____

៦. តើអ្នកអាចមើលឃើញសរីរាង្គខាងក្នុងរបស់ឃីសដែរ ឬទេ? តើអ្នកអាចមើលឃើញរចនាសម្ព័ន្ធដូចគ្នានៅក្នុងបាក់តេរីដែរ ឬទេ? ហេតុអ្វីអាច ឬហេតុអ្វីមិនអាច?

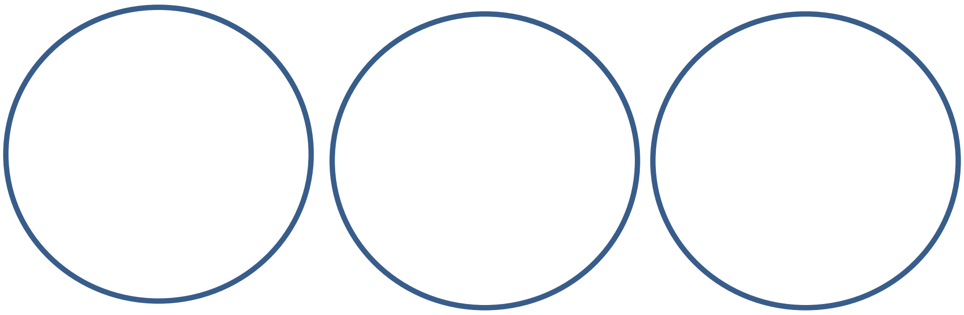
____

____

____

៧. គូរកោសិកាតំណាងពីរបីសម្រាប់មេរោគនីមួយៗនៅក្នុងកម្រិតពង្រីកដូចគ្នា ។ ត្រូវប្រាកដថារូបភាពទាំងអស់តំណាងយ៉ាងច្បាស់នូវរូបរាងរបស់មេរោគនីមួយៗនៅក្នុងកម្រិតពង្រីកនីមួយៗ ។

យីស និងបាក់តេរី



កម្រិតពង្រីកសរុប _____x _____x _____x

(ភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ x លេខពង្រីក x ប្រវែងតួនៃលែនមីក្រូទស្សន៍ ប្រសិនបើអាចធ្វើទៅបាន)

៨. តើមានអ្វីកើតឡើងនៅពេលអ្នកមើលកោសិកាមេរោគនៅក្នុងកម្រិតពង្រីកដែលធំជាងមុន?

___

___

___

លំហាត់ ៤៖ អឺការីយ៉ូត: មីក្រូសរីរាង្គដែលមានទំហំធំៗ

៤.១ ប្រវត្តិមីក្រូសរីរាង្គអឺការីយ៉ូតនៅក្នុងបរិស្ថានធម្មជាតិ

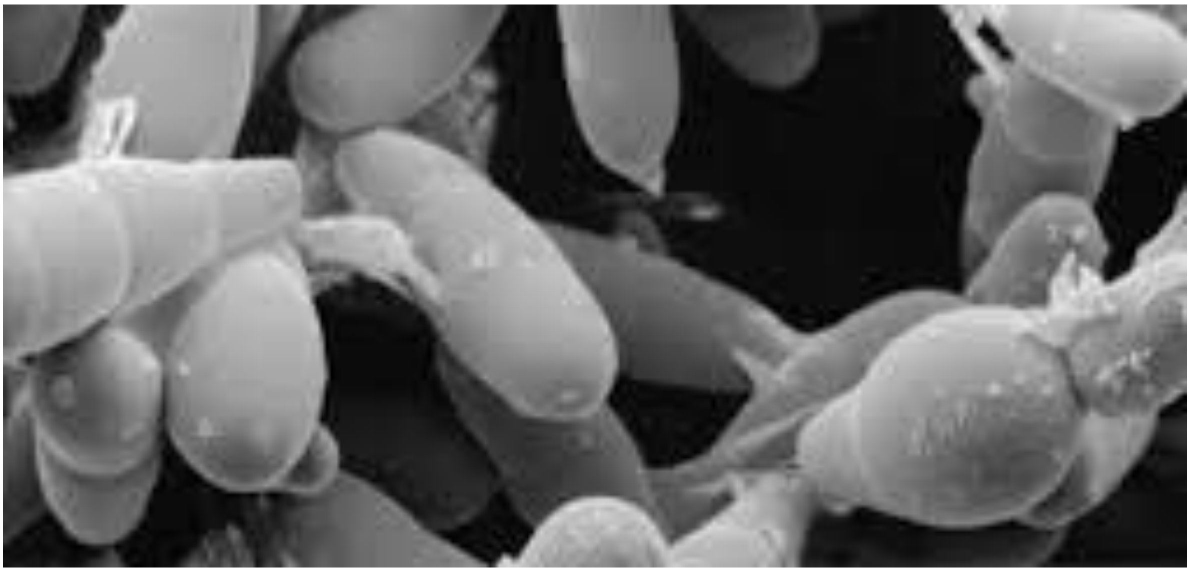
មីក្រុប ឬមីក្រូសរីរាង្គជាសរីរាង្គមានជីវិត ដែលមានទំហំតូចរហូតមិនអាចត្រូវបានគេមើលឃើញករណីគ្មានវត្តមានមីក្រូទស្សន៍។ ពួកវា ត្រូវបានគេរកឃើញនៅគ្រប់ទីកន្លែងនៅលើផែនដី ដែលមនុស្សរស់នៅ ។ លើកលែងតែវីរុសចេញ គ្រប់មីក្រូសរីរាង្គទាំងអស់ មានកោសិកា ហើយតាមលក្ខណៈបែបនេះ ពួកវាត្រូវបានគេចាត់ថ្នាក់ជា ពួកប្រូការីយ៉ូត (បាក់តេរី និងអាឆា(archaea) ឬអឺការីយ៉ូត (ផ្សិត ប្រូតូសូអា និងសារាយ (algae))។ ភាពខុសគ្នាចម្បងរវាងប្រភេទទាំងពីរនេះគឺថាពួកកោសិកាប្រូការីយ៉ូត មានសភាពជាទម្រង់ងាយជាង (គ្រង់រចនាសម្ព័ន្ធ និងរូបរាង) មានទំហំតូចជាង ហើយគ្មានភ្នាសព័ទ្ធជុំវិញសរីរតូចៗ (membrane-bound organelles) និងមានជញ្ជាំងកោសិកាដែលមានរចនាសម្ព័ន្ធស្មុគស្មាញ និងសមាសធាតុផ្សំគឺមីខុសពីគេ ។ ផ្ទុយទៅវិញ ពពួកកោសិកាអឺការីយ៉ូត មានទំហំធំជាង ហើយមានណៃ្វយ៉ូព័ទ្ធជុំវិញភ្នាស និងសរីរៈផ្សេងៗទៀត ហើយជាធម្មតាគ្មានជញ្ជាំងកោសិកា (ប៉ុន្តែបើមានវត្តមាន នោះជញ្ជាំងកោសិការបស់ពួកវា មានលក្ខណៈសាមញ្ញ និងមិនមានលក្ខណៈគឺមីស្មុគស្មាញ)។ លំហាត់នេះ មានគោលបំណងលាតត្រដាងឲ្យអ្នកឃើញរូបភាពពួកមីក្រូសរីរាង្គអឺការីយ៉ូតមួយចំនួន ដែលមានរូបរាងធំជាងគេ និងអាចត្រូវបានគេពិនិត្យមើលដោយមីក្រូទស្សន៍ក្នុងកម្រិតពង្រីកទាប។

ការពិនិត្យមើលបរិស្ថានធម្មជាតិជាច្រើនដោយប្រើកម្រិតពង្រីកទាប មានលទ្ធភាពគ្រប់គ្រាន់ដើម្បីបញ្ជាក់ថាមីក្រូសរីរាង្គមានទំហំ រូបរាង និងប្រភេទផ្សេងៗគ្នា។ បើទោះបីជា មនុស្ស អាចបញ្ជាក់តែមួយផ្នែកតូចនៃមជ្ឈដ្ឋានមួយ និងអាចឆ្លុះបញ្ចាំងឲ្យឃើញតែមួយផ្នែកតូចនៃពួកអឺការីយ៉ូតក៏ដោយ ក៏នានាភាពនៅតែជាអ្វីដែលយើងត្រូវដឹងពីតម្លៃរបស់វា។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់ទៅលើភាពស្មុគស្មាញនៃសារធាតុផ្សំ ដែលបង្កើតឲ្យបានជាបរិស្ថានដែលអាចមើលឃើញដោយមីក្រូទស្សន៍ ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងបំណែករុក្ខជាតិ និងបំណែកសត្វ និងផ្នែកដែលបានញែកចេញពីរុក្ខជាតិ ឬសត្វ។ ពួកប្រូការីយ៉ូតកាន់តែតូចជាពិសេសបាក់តេរី នឹងជាធាតុសំខាន់ៗ នៃបរិស្ថាន ប៉ុន្តែពួកវានឹងមានទំហំតូចរហូតដល់មិនអាចត្រូវបានគេមើលឃើញដោយងាយ។

៤.២ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ១៖ ផ្សិត និងប្រូតូសូអារស់លើគោក

ដីព្រៃច្រើនប្រភេទ មានស្រទាប់ខាងលើបង្អស់មួយ ដែលមានសមាសធាតុផ្សំភាគច្រើនជាស្លឹកឈើ និងកម្ទេចរុក្ខជាតិដែលកំពុងបំបែកធាតុ លាយជាមួយសមាមាត្រផ្សេងៗគ្នានៃដីរ៉ែ។ បរិស្ថាននេះមានសភាពសរីរាង្គខ្លាំង មានសំណើមខ្ពស់ និងសម្បូរអុកស៊ីសែន ហើយជាលទ្ធផល សម្បូរទៅដោយពួកសត្វដែលអាចមើលឃើញបានដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ (microscopic animals) ផ្សិតសរសៃ (filamentous fungi) និងប្រូតូសូអា(protozoa)។ ស្រទាប់សរីរាង្គនៃដី ដែលវិវត្តនៅក្រោមព្រៃ ជាធម្មតាសម្បូរទៅដោយទម្រង់សត្វ និងផ្សិត។

ផ្សិត (Fungi) ជាពាក្យទូទៅមួយដែលរាប់បញ្ចូលទាំងសរីរាង្គអឺការីយ៉ូតឯកកោសិកាហៅថាយីស និងពួកសរីរាង្គមានសរសៃ សំដៅទៅលើម៉ូល (mold) ឬផ្សិត (fungi)។ ផ្សិត (fungi) ប្រើសមាសធាតុសរីរាង្គជាប្រភពកាបូន (heterotrophic) ដូចនេះពួកវាមិនធ្វើរស្មីសំយោគ (nonphototrophic) ហើយភាគច្រើន ជាប្រភេទសាប្រូហ្វីត (saprophyte) (ទាញយកសារជាតុចិញ្ចឹមពីសារជាតុសរីរាង្គដែលងាប់)។ ដូចនេះ ពួកនេះ ដើរតួនាទីយ៉ាងសំខាន់នៅក្នុងវដ្តនៃការបំបែកសារជាតុសរីរាង្គ។



រូបភាព ៤.១ *Epidermophyton floccosum* មើលដោយមីក្រូទស្សន៍ ជាផ្សិតមួយប្រភេទក្នុងចំណោមផ្សិតជាច្រើនដែលបង្ករោគដល់ជើងរបស់អត្តពលករ

ប្រូតូសូអា ជាមីក្រូសរីរាង្គអឺការីយ៉ូតឯកកោសិកា ដែលមានរចនាសម្ព័ន្ធស្មុគស្មាញណាស់។ ដូចផ្សិត (fungi) ដែរពួកវាជាមីក្រូសរីរាង្គប្រភេទអេតេរ៉ូត្រូហ្វិច មិនធ្វើរស្មីសំយោគ និងផ្លាស់ទីបាន តែគ្មានជញ្ជាំងកោសិកាទេ។ ទោះបីជាយ៉ាងណា ពួកវាមានភ្នាសពីក្រៅដែលមានសភាពស្វិតក្រាស់។ ប្រូតូសូអាលេបអាហារដូចជាវត្ថុជាតុតូចៗ ឬវត្ថុធាតុដែលជាម៉ូលេគុលធំៗដោយដំណើរការមួយឈ្មោះថា ពីណូស៊ីតូស៊ីស (pinocytosis)។ ទាំងនេះ ជាលក្ខណៈគ្រឹះសំខាន់បំផុត ដែលធ្វើឲ្យប្រូតូសូអាខុសប្លែកពីបាក់តេរី អាខាអេ (archae) ផ្សិត (fungi) សារាយ និងយីស។

រូបភាព ៤.២ ទម្រង់ប្រូតូសូអា ប៉ារ៉ាមីស្យូម(protozoan Paramecium) ដែលត្រូវបានបង្ហាញនៅកម្រិតពង្រីក ១០០០x ដោយមីក្រូទស្សន៍

៤.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈចាំបាច់សម្រាប់ការអនុវត្តក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍

- សំណាកស្រទាប់សរីរាង្គនៃដីព្រៃ ដែលត្រូវបានប្រមូលមកពីព្រៃ
- ការពិនិត្យមើលមេរោគដែលបានពីស្រទាប់សរីរាង្គដោយដាក់លើចានបណ្ដុះដែលមានទឹក និងប្រើមីក្រូទស្សន៍ស្តេរេអូទស្សន៍ជាជំនួយ។
- Lactophenol Cotton Blue Stain
- ដាក់ល្បាយម្សៅចាហួយលាយទឹក (ទឹករ៉ូប៊ីណេ ម្សៅចាហួយ ០.៥%) ទៅក្នុងចានបណ្ដុះពីលើភាគល្អិតនៃស្រទាប់សរីរាង្គបានពីដីព្រៃ ដែលបានភ្ញាស់ ពី ១ ទៅ ២ សប្ដាហ៍ក្នុងលក្ខខណ្ឌសំណើមខ្ពស់

៤.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. វិភាគសំណាកស្រទាប់ដីសរីរាង្គពីព្រៃ និងធ្វើកំណត់សម្គាល់រូបរាង និងលក្ខណៈពិសេសខាងក្រៅនៃវត្ថុធាតុដែលឃើញដោយភ្នែកទទេ។

២. យកចានបណ្តុះមួយក្នុងចំណោមចានបណ្តុះ ដែលភាគល្អិតនៃស្រទាប់ដីសរីរាង្គបានភ្ជាស់រួច ដកគម្របចានបណ្តុះចេញ និងវិភាគមេរោគក្នុងចានបណ្តុះដោយប្រើកម្រិតពង្រីកតូច។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់នូវកំហាប់របស់ផ្សិត (fungi) ប្រូតូសូអា និងពពួកមីក្រូសរីរាង្គជាបរាសិត (microbiota)។ ពួកណេម៉ាតូត (nematodes) (ដង្កូវខ្លួនមូល) និងពួកអាត្រូប៉ូត (arthropods) (សត្វល្អិត ចៃជាដើម) សម្បូរនៅក្នុងដី និងគួរតែមានវត្តមាន។ (អ្នកនឹងត្រូវបានគេសួរនាំឲ្យពន្យល់ពីទម្រង់ផ្សេងៗគ្នា ព្រមទាំងគូររូបតំណាងនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក)។

៣ ឆ្កឹះកូឡូនីផ្សិត (fungi) ទៅដាក់លើមួយដំណក់នៃ Lactophenol Phenol Cotton Blue stain ដែលមានរៀបចំជាស្រេចនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ ។ គ្របដំណក់នេះជាមួយគម្របកែវ និងវិភាគវាដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍។ តាមដានទៅលើលក្ខណៈលម្អិតមួយចំនួនរបស់រចនាសម្ព័ន្ធផ្សិត (fungus structure) និងផ្នែកដែលពាក់ព័ន្ធនឹងផ្សិត។ (អ្នកនឹងគូររូបទាំងអស់នេះនៅពេលក្រោយ)។

៤. រៀបចំកន្លែងមួយសម្រាប់ការវិភាគប្រូតូសូអា និងរៀបចំបន្ទះកញ្ចក់សម្រាប់ការវិភាគឲ្យបានលម្អិតបន្ថែម។ ឆ្កឹះកូឡូនីប្រូតូសូអាចំនួនមួយលូប ឬពីរ (a loop or two of protozoa material) ទៅដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់ និងបន្ថែមទឹកមួយតំណក់។ គ្របគម្របទៅលើបន្ទះកញ្ចក់ និងសិក្សាពីទម្រង់នៃប្រូតូសូអាដែលអាចត្រូវបានឃើញក្នុងមីក្រូទស្សន៍ ។

៤.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ១

១. ពិពណ៌នាពីអ្វីដែលអ្នកឃើញដោយភ្នែកទទេរបស់អ្នក។ ត្រូវពិនិត្យមើលឲ្យជិត តើអ្នកមានឃើញមានប្រភេទសរីរាង្គលូតលាស់នៅលើផ្ទៃកនៃបន្ទះកម្ទេចធូលី និងស្មៅ ដែលប្រហែលជាមានវត្តមាននៅក្នុងចានបណ្តុះដែរ ឬទេ? ការពូកែអង្កេតតាមដានពិតជាសំខាន់ណាស់នៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍អតិសុខុមប្រាណ។ ចាប់ផ្តើមឥឡូវនេះដើម្បីសំលៀងជំនាញនេះ។ តើអ្នកឃើញប្រភេទសរីរាង្គដែលលូតលាស់មានប៉ុន្មានប្រភេទ? តើពួកវាមានពណ៌អ្វីខ្លះ? តើអ្នកមានឃើញវត្តមានផ្សិតដែរឬទេ? ត្រូវប្រៀបធៀបការអង្កេតរបស់អ្នកជាមួយនឹងអ្នកដទៃជុំវិញអ្នក។

____

____

____

២. ប្រើមីក្រូទស្សន៍ត្រង់លេខពង្រីកទាប និង ៤0x រួចហើយពិពណ៌នា ពីទម្រង់ផ្សេងគ្នានៃសរីរាង្គដែលអ្នកបានឃើញ និងរៀបចំរូបភាពតំណាងចំពោះទម្រង់នៃសរីរាង្គដែលមានច្រើនជាងគេបំផុត។ តើផ្សិត និងប្រូតូសូអាមួយណាមានចំនួនច្រើនជាង? តើអ្នកឃើញប្រូតូសូអាប៉ុន្មានប្រភេទ? គូររូបភាពតំណាងឲ្យគូនៃសរីរាង្គដែលមានចំនួនច្រើនបំផុត។ តើអ្នក

អាចមើលឃើញសរីរាង្គខ្លះ ដែលនៅខាងក្នុងខ្លួនប្រូតូសូអា ឬផ្សិតដែរឬទេ? បន្ថយបរិមាណបន្លឺដែលកំពុងឆ្លងកាត់ចានបណ្ដុះ និងមើលម្ដងទៀត។ តើអ្នកមើលឃើញអ្វី?

៣. មើលទៅកាន់ផ្នែក ៥ - ៦ ផ្សេងៗគ្នានៃចានបណ្ដុះ។ តើប្រូតូសូអា និង/ឬផ្សិត ដែលត្រូវបានពង្រាយជាលក្ខណៈឯកសណ្ឋានភាពនៅលើចានបណ្ដុះ? ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគួរតែគិតថាប្រសិនបើពួកវាអាច ឬមិនអាចត្រូវបានពង្រាយដោយស្មើនៅលើចានបណ្ដុះ?

៤. ខណៈពេលដែលអ្នកបានរកឃើញប្រូតូសូអាមួយចំនួនពេលប្រើលេខពង្រីកតូចហើយ ដូចនេះអ្នកត្រូវបន្តរកមើលពួកវាដោយប្រើលេខពង្រីកធំ។ ខណៈពេលដែលអ្នកបានរកឃើញវាអ្នកត្រូវបិទសន្ទះភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ ហើយព្យាយាមអង្កេតទៅលើរចនាសម្ព័ន្ធខាងក្នុងមួយចំនួន ត្រូវមើលឲ្យជិត។ តើអ្នកមានឃើញបាក់តេរីមួយចំនួននៅក្នុងខ្លួនប្រូតូសូអាដែរ ឬទេ?

៥. ក្រឡេកទៅមើលផ្សិតគម្រូ (representative fungi) ដែលបានប្រើលក្ខ Lactophenol Cotton Blue stain ទៅលើ។ គូររូបភាពតំណាងឲ្យផ្សិតដែលមានរូបរាងសាមញ្ញជាងគេដែលមានវត្តមាននៅលើចានបណ្ដុះ។ តើអ្នកអាចមើលឃើញរចនាសម្ព័ន្ធខាងក្នុងមួយចំនួនរបស់ផ្សិតដែរ ឬទេ? តើអ្នកមើលឃើញវត្តមានជញ្ជាំងខ្វែង (cross walls) ខ្លះដែរ ឬទេ?

៤.៣ លំហាត់ ៤ ផ្នែក២៖ សារាយ *(Algae)*

ការវិវត្តគួរឲ្យកត់សម្គាល់របស់សារាយ នឹងចេញជាលទ្ធផលកំឡុងពេលភ្ញាស់នៃទឹកត្រពាំង ឬទឹកក្នុងទូចិញ្ចឹមត្រី ដែលត្រូវបានគេរៀបចំភ្ញាស់នៅមួយសប្តាហ៍មុនពិសោធន៍។ មុនពេលពិសោធន៍ ទឹកនេះ ត្រូវបានគេបំភ្លឺដោយអំពូលនៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ២០ ^{0}C ទៅ ២៥ ^{0}C។

សារាយ ជាសរីរាង្គអឺការីយ៉ូត ដែលផ្ទុកក្លរ៉ូហ្វីល (មានក្លរ៉ូប្លាស) តែគ្មានឫស ទង និងស្លឹក ប៉ុន្តែវាធ្វើរស្មីសំយោគ។

៤.៣.១ សម្ភារៈ

- ធុងទឹកធំដែលផ្ទុកស្រទាប់ដីពីសួនច្បារកម្រាស់ ១០ មីលីម៉ែត្រ ដោយមានដាក់ទឹកត្រពាំង ឬទឹកពីកន្លែងចិញ្ចឹមត្រីឲ្យបានជម្រៅទឹក ១០ ទៅ ២០ សង់ទីម៉ែត្រ និងត្រូវបានគេភ្ញាស់ពីមុនរួចមកហើយដោយប្រើអំពូលក្នុងបន្ទប់ពី ៤ ទៅ ៧ ថ្ងៃ។
- ពីប៉ែតដែលបានប៉ាស្ទ័ររួច
- បន្ទះកញ្ចក់ និងគម្របរបស់វា

៤.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ប្រើពីប៉ែតដែលបានប៉ាស្ទ័ររួច ដើម្បីបូមទឹកដែលនៅផ្នែកខាងលើនៃធុងភ្ញាស់ និងបណ្តក់មួយតំណក់តូចទៅលើបន្ទះកញ្ចក់។ គ្របគម្របដោយប្រុងប្រយ័ត្នទៅលើដំណក់ទឹក។ ធ្វើការរៀបចំឲ្យបានពី ៣ទៅ ៤ចំណុច ដើម្បីរកឲ្យឃើញនូវទម្រង់នៃមីក្រូសរីរាង្គដែលមានច្រើនជាងគេ។

២. ដំបូង ប្រើលេខពង្រីកតូចដើម្បីអង្កេតផ្នែកបីបួននៅលើបន្ទះកញ្ចក់។ បន្ទាប់មក អង្កេតផ្នែកបីបួនផ្សេងទៀតនៃបន្ទះកញ្ចក់ ដោយប្រើលេខពង្រីកធំ។ បន្ថយបរិមាណពន្លឺដោយបិទសន្ទះភ្នែកមីក្រូទស្សន៍ បន្ទាប់មកអង្កេតមើលពួកសរីរាង្គដែលមានវត្តមាន។

៣. ជ្រមុញពីប៉ែតចុះក្រោមទៅបាតធុង និងបូមយកទឹកតែបន្តិចពីលើបាតបន្តិច។ ធ្វើការអង្កេតតាមដានរកសារាយដោយប្រើទឹកនេះ។

៤.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ២

ធ្វើកំណត់សម្គាល់ជាពិសេសទៅលើលក្ខណៈពណ៌ និងរូបរាង(ទាក់ទងនឹងទម្រង់ និងរចនាសម្ព័ន្ធ ឧទាហរណ៍ ទ្រង់ទ្រាយ ទំហំជាដើម) នៃសារាយដែលអ្នកបានប្រទះឃើញ ។

១. រៀបចំរូបភាពមីក្រូសរីរាង្គនានា ដែលអ្នកបានអង្កេតនៅពេលមើលទឹកដែលយកមកពីក្នុងធុងផ្នែកខាងលើ។ តើអ្នកបានឃើញសារាយខុសគ្នាប៉ុន្មានប្រភេទ? គូរក្រាហ្វិចតំណាងឲ្យសារាយ ដែលមានរូបរាងសាមញ្ញបំផុតដែលអ្នកបានអង្កេតរួច។ គូរក្រាហ្វិចតំណាងឲ្យ

សារាយដដែលហ្នឹងនៅពេលពន្លឺត្រូវបានបន្ថយចុះ។ តើមានលក្ខខណ្ឌអ្វីខ្លះដែលអាចឲ្យអ្នកមើលឃើញរចនាសម្ព័ន្ធខាងក្នុងបំផុតរបស់ សារាយ?

២. តើអ្នកអាចមើលឃើញក្លរ៉ូប្លាសខ្លះ នៅក្នុងខ្លួនសារាយដែរឬទេ? តើពណ៌អ្វីដែលពួកវាបង្ហាញឲ្យអ្នកឃើញ? តើអ្នកមើលឃើញលក្ខណៈរូបរាងដែលពិសេសៗដែរឬទេ? ប្រសិនបើអ្នកបានឃើញ តើមានលក្ខណៈពិសេសៗអ្វីខ្លះ?

៣. នៅពេលមើលទឹកដែលបានពីបាតផុង តើអ្នកបានឃើញសារាយខ្លះដែរ ឬទេ? ហេតុអ្វីបានជារំពឹង ឬហេតុអ្វីបានជាមិនរំពឹងថាមានវត្តមានសារាយខ្លះ? គូររូបភាពតំណាងឲ្យប្រភេទសារាយដែលសាមញ្ញបំផុត ដែលអ្នកបានអង្កេតរួច។ បន្ថយពន្លឺដោយប្រើសន្ទះមីក្រូទស្សន៍ និងអង្កេតមើលសារាយដដែលនោះ។ គូររូបតំណាងឲ្យច្រើន។ តើអ្នកបានឃើញសារាយផ្សេងទៀតដែរឬទេនៅពេលដែលពន្លឺត្រូវបានបន្ថយ?

៤. នៅពេលដែលពន្លឺ ត្រូវបានបន្ថយចុះបន្តិច តើអ្នកអាចឃើញអ្វីផ្សេងទៀត ឬអត់? ហេតុអ្វី?

៤.៤ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ៣៖ ប្រូតូសូអាដែលរស់នៅក្នុងទឹក(*Aquatic Protozoa*)

កម្ទេចស្មៅ ស្លឹកស្មៅ និងស្មៅដែលកំពុងបំបែកជាតុក្នុងទឹកស្រះ ជាជំនួយដល់ការលូតលាស់របស់ប្រូតូសូអា។ សារជាតុជំនួយដែលបានពីរុក្ខជាតិ (plant infusion) សម្រាប់ការពិសោធ បានភ្ញាស់ពី ១ ទៅ ២ សប្តាហ៍នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ក្នុងទីងងឹត ឬកន្លែងដែលបានបិទបាំងពីពន្លឺ។ ទម្រង់នៃប្រូតូសូអាដែលត្រូវបានឃើញនៅក្នុងមជ្ឈដ្ឋានទឹកនេះ ប្រហែលជាមានភាពស្រដៀងគ្នាបន្តិចទៅនឹងប្រូតូសូអាដែលត្រូវបានអង្កេតនៅក្នុងស្រទាប់ដីព្រៃសរីរាង្គដែលមិនលិចទឹក។ ជាការពិតណាស់ ប្រភេទប្រូតូសូអាដូចគ្នាដែលមាននៅក្នុងមជ្ឈដ្ឋានទឹក នឹងត្រូវបានឃើញនៅក្នុងការពិសោធន៍ ប៉ុន្តែប្រភេទដែលមានក្នុងដី នឹងមានទំហំតូចជាងដែលគួរឲ្យកត់សម្គាល់។

៤.១.១ សម្ភារៈ

សារជាតុជំនួយបានពីស្មៅ (soil infusion) ៖ ទឹកស្រះ ឬទឹកដែលបានពីកន្លែងចិញ្ចឹមត្រី ដែលមានបន្ថែមបំណែកតូចៗនៃស្មៅ ឬស្លឹកស្មៅកំពុងបំបែកជាតុ ហើយទឹកនេះ ត្រូវបានភ្ញាស់ក្នុងទីងងឹត ឬក្នុងទីដែលបានបិទបាំងពីពន្លឺរយៈពេលពី ១ ទៅ ២ សប្តាហ៍ ឬអង្គធាតុរាវនៃក្រពះទីមួយ(rumen contents) របស់គោដែលមិនទាន់ស៊ីចំណី។

៤.៤.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ដោយប្រើពីប៉ែតដែលបានប៉ាស្ទឺររួច បូមទឹកមួយតំណក់តូច ឬអង្គធាតុរាវនៃក្រពះទីមួយរបស់គោដែលមិនទាន់ស៊ីចំណី ដាក់ទៅលើបន្ទះកញ្ចក់សម្រាប់វិភាគ ហើយគ្របគម្របដោយប្រុងប្រយ័ត្ន។ អង្កេតដោយមីក្រូទស្សន៍ដោយប្រើលេខពង្រីកទាប និង៤0x។ ត្រូវតែប្រាកដថាបានបញ្ជាំងឡើងចុះដោយប្រើដៃបង្វិលតូច (fine adjustment) ដើម្បីត្រួតពិនិត្យមីក្រូសរីរាង្គ ដែលមានក្នុងកម្រិតផ្សេងៗគ្នា។
២. ព្យាយាមកាត់បន្ថយបរិមាណពន្លឺ ដែលឆ្លងកាត់សំណាកវិភាគដោយប្រើសន្ទះមីក្រូទស្សន៍។ ត្រួតពិនិត្យមើលសំណាកវិភាគដោយប្រើទាំងលេខពង្រីកតូច និងធំ (low and high dry objectives)។

៤.៤.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៤ ផ្នែក ៣

១. គូររូបភាពតំណាងឲ្យប្រភេទផ្សេងៗគ្នានៃប្រូតូសូអា ដែលអ្នកបានអង្កេតរួច ដោយធ្វើកំណត់សម្គាល់ទៅលើកម្រិតពង្រីកទំហំ សមស្របនិងរចនាសម្ព័ន្ធ ដែលអាចមើលឃើញ។

លេខពង្រីកតូច　　　　លេខពង្រីកធំ

២. តើអ្នកអាចឃើញរោមដែលកំពុងញ័រខ្លះដែរ ឬទេ? តើអ្នកអាចឃើញផ្កាសែលដែរ ឬទេ?

___

___

___

លំហាត់ ៥៖ ការរៀបចាំពិនិត្យមីក្រូសរីរាង្គ

៥.១ លំហាត់ ៥ ផ្នែក ១

៥.១.១ សេចក្តីផ្តើម

ការរៀបចំបន្ទះកញ្ចក់វិភាគ (Slide Preparation)

ការពិនិត្យមីក្រុបដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ដែលជោគជ័យ ចាប់ផ្តើមដោយការរៀបចំដែលត្រឹមត្រូវទៅលើមេរោគដែលបានដាក់នៅលើបន្ទះកញ្ចក់វិភាគ។ បន្ថែមពីលើការប្រើប្រាស់បន្ទះកញ្ចក់ដែលស្អាត វាមានសារសំខាន់ណាស់ដែលត្រូវយកចិត្តទុកដាក់ឲ្យបានខ្លាំងទៅលើដង់ស៊ីតេនៃវត្ថុធាតុដែលដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់។ សិស្សដែលទើបតែចាប់ផ្តើមពិសោធន៍លើកដំបូង ទំនងជាប្រើកោសិកាមេរោគច្រើនពេកខណៈពេលដែលពួកគេមិនបានយកចំនួនដ៏ច្រើនសន្ធឹកសន្ធាប់ នៃកោសិកានីមួយៗ ដើម្បីដាក់ទៅលើបន្ទះកញ្ចក់ដោយប្រើលូប (loop) ទៅប៉ះនឹងជាយកូឡូនីរបស់បាក់តេរី។ ដង់ស៊ីតេដែលត្រឹមត្រូវ ស្ថិតនៅក្បែរលទ្ធផលនៃការវាយតម្លៃដែលល្អដោយផ្អែកលើពិសោធន៍ ពីព្រោះតែវត្ថុធាតុដែលយកមកវិភាគមានភាពខុសគ្នា ហើយគោលបំណង ឬធម្មជាតិនៃការវិភាគ ប្រហែលជាត្រូវការដង់ស៊ីតេមេរោគដែលខុសពីធម្មតា ឬការរៀបចំពង្រាវដែលខុសពីធម្មតា។ ជាគោលការណ៍ទូទៅមួយ ស្រទាប់ឬបន្ទះវត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីដែលមានពណ៌ស (ស្រដៀងនឹងទឹកដោះគោជកខ្លាញ់ដែលបានពង្រាវរួច) មានភាពថ្លុះតែមួយចំហៀង និងមានកម្រាស់ស្តើងខ្លាំង បង្ហាញថាពង្រាយមេរោគនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ទទួលបានលទ្ធផលល្អ (a good smear)។

៥.១.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ

- ទីប nutrient agar slant ចំនួន ១ ដែលមានផ្ទុក *Serratia marcescens*
- ទីប nutrient agar slant ចំនួន ១ ដែលមានផ្ទុក *Micrococcus luteus*
- ទីប nutrient agar slant ចំនួន ១ ដែលមានផ្ទុក *Bacillus megaterium*
- ទីប nutrient agar slant ចំនួន ១ ដែលមានផ្ទុក *Escherichia coli*
- បន្ទះកញ្ចក់
- លូបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ (inoculating loop)
- ចំហេះបិញស៊ិន (Bunsen burner)

៥.១.៣ ដំណើរការពិសោធ

ការពង្រាយមេរោគលើបន្ទះកញ្ចក់វិភាគ (smears)

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

ដុតលួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគដោយដាក់វាលើអណ្តាតភ្លើងនៃចំហេះបិញស៊ិន ហូតដល់វាក្តៅឡើងពណ៌ក្រហម។ ទុកលួបឲ្យត្រជាក់រយៈពេលប្រហែល ៣០ ទៅ ៤៥ វិនាទី ឬលួបអាចចុះត្រជាក់លឿនជាងនេះ ដោយប៉ះវាសើៗទៅលើចាហួយបណ្តុះដែលនៅតាមជាយចានបណ្តុះ ដែលគ្មានមេរោគដុះលូតលាស់។ ត្រូវចាំថា ហាមប៉ះលួបដោយផ្ទាល់។ យកទឹកមួយលួបតូច ឬមួយតំណក់តូចដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់ ប្រសិនបើវត្ថុធាតុដែលធ្ពឹះពីកូឡូនី ត្រូវការរំលាយ។ (នៅពេលពង្រាយមេរោគពីធាតុបណ្តុះរាវ (broth culture) ត្រូវដុតលួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគម្តងទៀត និងយកបរិមាណដ៏តិចនៃវត្ថុធាតុរបស់កូឡូនី ឬយកទឹកបីលួបពីសារធាតុបណ្តុះរាវ។ លាយវត្ថុធាតុរបស់កូឡូនីដែលយកពី slant យឺតៗជាមួយទឹកដែលនៅលើបន្ទះកញ្ចក់។ ពង្រាយកំណវត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីនេះឲ្យស្មើតាមដែលអាចធ្វើទៅបាននៅលើផ្ទៃ ១ ទៅ ៣ cm^2។ ដុតលួបមុនពេលអ្នកដាក់វាចុះ។ សម្ងួតស្រទាប់វត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ដោយប្រើខ្យល់។ ត្រូវចាំផងដែរថា ស្រទាប់ ឬបន្ទះដែលមានពណ៌ស្រដៀងសបន្តិច មានភាពថ្លុះតែមួយចំហៀង និងមានកម្រាស់ស្តើងខ្លាំង ជាអ្វីដែលអ្នកពិសោធន៍ចង់បានជាទីបំផុត។

វិធីសាស្ត្របញ្ជាប់វត្ថុធាតុស្ងួតបានពីកូឡូនីជាមួយនឹងបន្ទះកញ្ចក់ (fixation) ជាធម្មតាពិតជាសំខាន់ណាស់ដើម្បីធានាថាវានៅតែអាចស្អិតជាប់នៅលើផ្ទៃបន្ទះពេលពិសោធន៍។ វិធីសាស្ត្របញ្ជាប់ដោយប្រើកម្តៅធម្មតា មានលក្ខណៈស្រួលជាងគេ ដោយគ្រាន់តែកាន់ចុងបន្ទះកញ្ចក់ដោយឲ្យផ្នែកដែលបានពង្រាយវត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីបែរឡើងផ្ទារលើ បន្ទាប់មករុញវាទៅលើផ្នែកលើនៃអណ្តាតភ្លើងប្រហែលពីរ ឬបីដង។ មិនត្រូវឲ្យបន្ទះកញ្ចក់ក្តៅហួតកាន់មិនបាននោះទេ។ ប្រសិនបើអ្នកនៅតែអាចប៉ះបន្ទះកញ្ចក់ដោយប្រើខ្នងដៃរបស់អ្នកភ្លាមៗ បន្ទាប់ពីការកម្តៅ បន្ទាប់មកវាមិនក្តៅពេកហួតដល់ប៉ះមិនបាន។ បន្ទះវត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីដែលបានពង្រាយរួច និងបញ្ជាប់រួច (fixed smear) ឥឡូវនេះ គឺរួចរាល់សម្រាប់បន្សុំពណ៌ហើយ។ គេអាចដាក់បន្ទះវត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីដែលបានពង្រាយរួចច្រើនជាងមួយ នៅលើបន្ទះកញ្ចក់តែមួយ។

ចំណាំ៖ គ្មានរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍សម្រាប់លំហាត់ ៥ ផ្នែក ១ ទេ។

៥.២ លំហាត់ ៥ ផ្នែក ២

៥.២.១ សេចក្តីផ្តើម

លំនាំដើមនៃការបន្សុំពណ៌ (Introduction to Staining)

ល័ក្ត (stains) ជាសារធាតុពណ៌អង្គធាតុ ដែលត្រូវបានប្រើដើម្បីបង្កើនភាពថ្លុះ ផ្នែកជាក់លាក់នៃកោសិកា។ ជាលទ្ធផល ការបន្សុំពណ៌ លាតត្រដាងឲ្យឃើញនូវអ្វីដែលមិនអាចមើលឃើញ ឬស្ទើរតែមិនអាចមើលឃើញ បើសិនជាគ្មានពណ៌។

សារធាតុពណ៌អង្គធាតុភាគច្រើនដែលត្រូវបានប្រើសម្រាប់បន្សុំពណ៌ មានអ៊ីយ៉ុង។ សារធាតុពណ៌ជាអង្គធាតុមានលក្ខណៈបាស (កាចុង) ជាអ៊ីយ៉ុងដែលមានបន្ទុកវិជ្ជមាន។ សារធាតុបណ្តុំពណ៌អង្គធាតុមានលក្ខណៈអាស៊ីត (អាញ៉ុង) ជាអ៊ីយ៉ុងដែលមានបន្ទុកអវិជ្ជមាន។ ដោយសារតែ ផ្ទៃនៃមីក្រូ

សរីរាង្គភាគច្រើន ផ្ទុកនូវបន្ទុកអវិជ្ជមានតិចតួច ដូចនេះសារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុមានលក្ខណៈបាស (ដែលមានបន្ទុកវិជ្ជមាន) ចងភ្ជាប់គ្នាបានយ៉ាងល្អបំផុត។ (សារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុមានលក្ខណៈអាស៊ីត ភ្ជាប់ទៅនឹងផ្នែកដែលមានបន្ទុកអវិជ្ជមានរបស់កោសិកា ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងពួកប្រូតេអ៊ីន។

ក្នុងបណ្តាលំហាត់ខាងក្រោមនេះ អ្នកនឹងអនុវត្តដំណើរការពិសោធបន្សុំពណ៌ពីរប្រភេទមានការបន្សុំពណ៌ធម្មតា (simple stain) និងការបន្សុំពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី (Gram stain)។

៥.២.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយៈ

- បន្ទះកញ្ចក់ដែលបានរៀបចំរួចរាល់សម្រាប់ផ្នែក ១
- សារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុឈ្មោះ Methylene blue
- សូលុយស្យុង Crystal violet
- សូលុយស្យុងអ៊ីយ៉ូត ("mordant" ជាសមាសធាតុមួយដែលត្រូវបានប្រើសម្រាប់ជំនួយដល់ការបន្សុំពណ៌ដោយបង្កើនភាពចាប់ពណ៌របស់សំណាកជាមួយនឹងសារធាតុបណ្តុរពណ៌។)
- ល្បាយអាសេតូន អាល់កុល (៥០/៥០)
- សូលុយស្យុងសាហ្វ្រានីនអូដែលមានទឹក (aqueous safranin O)
- ដង្កៀបសម្រាប់គៀបបន្ទះកញ្ចក់ពេលដំណើរការបន្សុំពណ៌

៥.២.៣ ដំណើរការពិសោធ

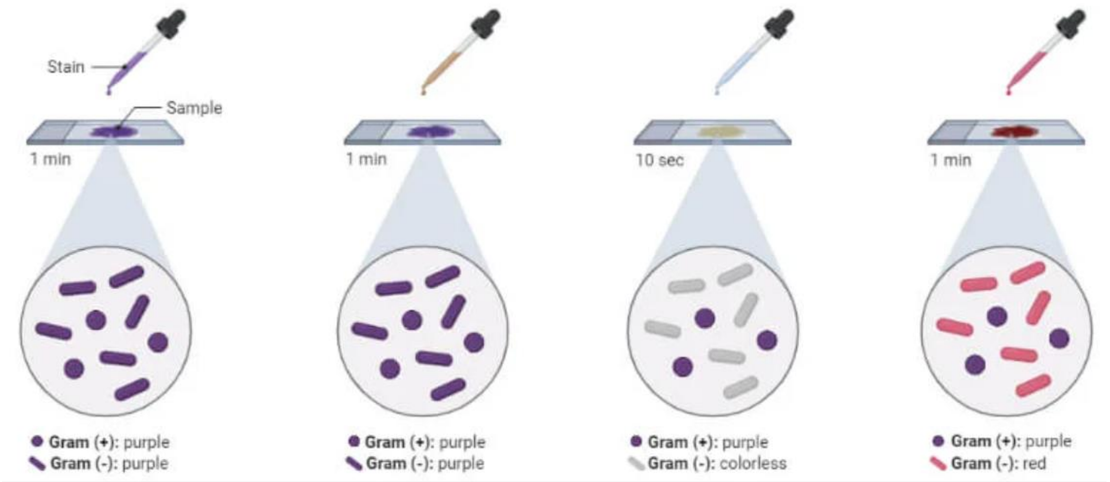
១. ការបន្សុំពណ៌ធម្មតា (The simple stain)៖ ការបន្សុំពណ៌បែបនេះ ប្រើសម្រាប់តែសារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុមានលក្ខណៈបាសមួយមុខគត់។ ជាធម្មតា គ្រប់កោសិកាទាំងអស់ដែលស្រូបសារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុមានលក្ខណៈបាស ត្រូវបានបន្សុំពណ៌ជាមួយនឹងពណ៌ដូចគ្នា។ គោលបំណងនៃការបន្សុំពណ៌នេះ គឺធ្វើឲ្យកោសិកាអាចមើលឃើញ ដើម្បីឲ្យអ្នកពិសោធ ពន្យល់ឲ្យបានច្បាស់ទៅលើលក្ខណៈទម្រង់ និងរចនាសម្ព័ន្ធ។ ដាក់បន្ទះកញ្ចក់ដែលបានផ្ទុកកោសិកាបាក់តេរីនៅលើកញ្ច្រែងទ្រ នៅក្នុងកន្លែងលាងចាន និងបញ្ជោកវាដោយប្រើសូលុយស្យុងបន្សុំពណ៌ Methylene blue។ Methylene blue ជាសារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុមានលក្ខណៈបាសមួយប្រភេទ និងមានសារសំខាន់ណាស់សម្រាប់ទាំងប្រតិកម្មបន្សុំពណ៌ទូទៅ និងជាក់លាក់។ បន្ទាប់ពីសារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុ បានប៉ះជាមួយស្រទាប់វត្ថុធាតុបានពីកូឡូនីដែលត្រូវបានគេពង្រាយនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ រយៈពេលពី ២ ទៅ ៣ នាទីរួចមក ត្រូវចាប់វាឡើងដោយប្រើដង្កៀប និងលាងសម្អាតវាថ្នមៗជាមួយទឹករ៉ូប៊ីណេ។ បង្ហូរទឹកដែលមានលើបន្ទះកញ្ចក់ចេញ ឬក៏ទុកវាឲ្យស្ងួតដោយត្រូវខ្យល់ ឬជូតវាឲ្យស្ងួតដោយប្រុងប្រយ័ត្នជាមួយនឹងក្រដាសជូតមាត់។ មិនត្រូវជូតសម្អាតបន្ទះកញ្ចក់ ដែលបាន

បន្សុីពណ៌ចេញនោះទេ។ អ្នកអាចនឹងបន្សុីពណ៌បន្ទះកញ្ចក់២ ឬ ៣ក្នុងពេលតែមួយ នៅពេលអ្នកស្ទាត់ជំនាញ។ វិភាគរាល់បន្ទះកញ្ចក់ដែលបានបន្សុីពណ៌ជាមួយ methylene blue រាល់ការបណ្តុះនីមួយៗដោយប្រើលែនមីក្រូទស្សន៍ដែលត្រូវការជំនួយពីប្រេង ដោយមិនចាំបាច់ប្រើគម្របគ្របទេ។ ដំបូង រកចំណុចប្រសព្វពន្លឺនៃមេរោគដោយប្រើលេខពង្រីកទាបសំគាល់ធ្នូតពណ៌ខៀវ។ នៅពេលដែលអ្នកបញ្ចាំងចំកន្លែងហើយ អ្នកត្រូវប្តូរលេខពង្រីកដែលធំទៅកាន់ទៅទីតាំងនោះ ហើយរកចំណុចប្រសព្វពន្លឺ។ បន្ទាប់មកដាក់ប្រេងមួយដំណក់ដោយផ្ទាល់ទៅលើកន្លែងដែលបានបន្សុីពណ៌នៃបន្ទះកញ្ចក់ និងបង្វិលលែនដែលប្រើប្រេងជាជំនួយ (oil immersion objective) ទៅកាន់ទីតាំងវិភាគ។ ដោយប្រើដៃបង្វិលតូច (fine adjustment knob) ប្តូរទីតាំងសំណាកវិភាគឲ្យចំចំណុចប្រសព្វពន្លឺ។ ធ្វើបែបនេះដដែលៗឲ្យបានញឹកញាប់តាមដែលចាំបាច់ ដើម្បីបង្វិលឲ្យចំកន្លែងដែលមានដង់ស៊ីតេមេរោគសមស្រប ដូចនេះបាក់តេរីនីមួយៗ អាចត្រូវបានគេមើលឃើញក្នុងទម្រង់ ដែលបានបន្សុីពណ៌ដោយឯកសណ្ឋានភាព និងពង្រាយក្នុងទម្រង់ជាកោសិកាមួយៗដាច់ពីគ្នា។

២. ការបន្សុីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី (Gram stain)៖(នេះជាការបន្សុីពណ៌មួយដែលត្រូវបានគេប្រើប្រាស់យ៉ាងទូលំទូលាយ និងមានសារសំខាន់បំផុតសម្រាប់បាក់តេរីវិទ្យា។ គេបែងចែកបាក់តេរីជាពីរក្រុមមាន ក្រាមវិជ្ជមាន (ពណ៌ខៀវ-ស្វាយ) និងក្រាមអវិជ្ជមាន (ពណ៌ក្រហម)។ បច្ចេកទេសនេះ ត្រូវបានអភិវឌ្ឍឡើងដោយរូបវិទូជនជាតិដេនីស លោក Hans Christian Gram។ ការបន្សុីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី ជាការបន្សុីពណ៌ដែលខុសគ្នា (differential stain)ដែលត្រូវបានប្រើដើម្បីញែកឲ្យដាច់គ្នានូវប្រភេទមីក្រូសរីរាង្គ។ ដំណើរការពិសោធបែបទាំងនេះ ជាធម្មតាមានពីរជំហានគឺ ការបន្សុីពណ៌ដំបូង (ឬការបន្សុីពណ៌ធម្មតា) (primary staining or simple staining) ដែលបន្ទាប់មកជាការបន្សុីពណ៌ប្រាស (counter staining)។ នៅក្នុងការបន្សុីពណ៌ប្រាស សារធាតុបណ្តុះពណ៌អង្គធាតុមួយផ្សេងទៀត ត្រូវបានប្រើដើម្បីបង្ហាញឲ្យឃើញនូវពួកកោសិកា ឬបណ្តាផ្នែកនៃកោសិកាដែលមិនត្រូវបានបន្សុីពណ៌នៅក្នុងការបន្សុីពណ៌ដំបូង។ សារសំខាន់ដ៏ខ្លាំងនៃការបន្សុីពណ៌ដែលខុសគ្នាជាពិសេសនេះ គឺធ្វើឲ្យលក្ខណៈសំខាន់ជាច្រើនរបស់បាក់តេរី ត្រូវបានប្រមូលផ្តុំគ្នាយ៉ាងជិតស្និទ្ធដើម្បីចូលរួមប្រតិកម្មបន្សុីពណ៌ក្រាមរបស់វា (Gram stain reaction)។ សិស្ស ត្រូវតែចេះគ្រប់បច្ចេកទេសបន្សុីពណ៌ និងកត់សម្គាល់រាល់ទំនាក់ទំនងដែលកើតឡើងក្នុងការអនុវត្តបន្តបន្ទាប់។ ការបន្សុីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី មានបញ្ចូលដំណាក់កាលបន្សុីពណ៌ដំបូង ការដេកពណ៌ និងការបន្សុីពណ៌ប្រាស (counter staining) ។ ការបន្សុីពណ៌ដំបូង ជាដំណាក់កាលដែលទាំងបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន និងអវិជ្ជមានប្រែពណ៌ទៅផ្កាឈូក (ប្រើសូលុយស្យុង crystal violet)។ mordant ជាអ្នកកំណត់ពណ៌។ នៅក្នុងដំណាក់កាលដកពណ៌ បាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន បាត់បង់ពណ៌ផ្កាឈូកដើមរបស់វា ចំណែកឯបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន មិនបាត់ ឬប្រែពណ៌ទេ។ ការបន្សុីពណ៌ប្រាស ប្តូរបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន ដែលគ្មានពណ៌ឲ្យទៅជាពណ៌ក្រហម/ផ្កាឈូក ហើយក្រាមវិជ្ជមានមានពណ៌

ស្វាយចាស់ជាង។ ភាពខុសគ្នានៃការបន្សុំពណ៌រវាងបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន និងក្រាមអវិជ្ជមាន បង្ហាញឲ្យឃើញច្បាស់ពីភាពខុសគ្នានៃជញ្ជាំងកោសិការបស់ពួកវា។ **ចំណាំ៖** បាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមានមួយចំនួន អាចចេញពណ៌ក្រហមពេលធ្វើការបន្សុំពណ៌។ បាក់តេរីទាំងនេះត្រូវបានគេកំណត់ថាជាមានក្រាមប្រែប្រួល (Gram-variable)។ ហេតុការណ៍នេះ កើតឡើងយ៉ាងញឹកញាប់ខ្លាំងចំពោះមីក្រូសរីរាង្គដែលបានបណ្តុះទុកចោលយូរៗនិងជាលក្ខណៈ របស់បាក់តេរីមួយចំនួនផងដែរ។

ជំហានទី ១	ជំហានទី ២	ជំហានទី ៣	ជំហានទី ២
Crystal violet (១ នាទី) បង្ហូរចេញ និងលាង	Iodine (១ នាទី) បង្ហូរចេញ និងលាង	ដកពណ៌ដោយប្រើល្បាយអាសេតូន អាល់កុល (លាងឲ្យលឿន) ភ្លាមៗបន្ទាប់ពីលាងទឹក	Safranin(៣០ទៅ ៦០ វិនាទី) បង្ហូរចេញ លាងសម្អាត និងទុកឲ្យស្ងួត



រូបភាព ៥.១ ជំហាននៃដំណើរការពិសោធបន្សុំពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី

បន្សុំពណ៌ស្រទាប់ដែលពង្រាយលើបន្ទះកញ្ចក់ (smears) ដូចខាងក្រោម៖

- បន្តក់ ១០ ទៅ ២០ ដំណក់នៃសូលុស្យុង crystal violet (បានពីcrystal violet លាយទឹក bicarbonate buffer) ទៅលើស្រទាប់មីក្រូសរីរាង្គដែលបានបញ្ជាប់ដោយកម្តៅនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ ទុកសារធាតុបណ្តុរពណ៌អង្គធាតុនេះឲ្យនៅលើបន្ទះកញ្ចក់រយៈពេល ១ នាទី។ បាញ់សម្អាតសារធាតុប្តូរពណ៌នេះចេញដោយប្រើទឹកបិត។
- បន្តក់ ២០ ទៅ ៣០ ដំណក់នៃសូលុយស្យុងអ៊ីយ៉ូត (mordant) ទៅលើបន្ទះកញ្ចក់ និងទុកវាចោលរយៈពេល ១ នាទី។ បាញ់សម្អាតសារធាតុប្តូរពណ៌នេះចេញដោយប្រើទឹក។
- ដកពណ៌ចេញដោយប្រើល្បាយអាសេតូន/អាល់កុល ។ បន្តក់ដំណក់ល្បាយអាល់កុល/អាសេតូនទៅលើស្រទាប់មីក្រូសរីរាង្គដែលនៅលើបន្ទះកញ្ចក់នោះ។ បន្តដកពណ៌រហូតដល់

បាត់វត្ថុមានការបន្សុីពណ៌ដំបូង (ពណ៌ផ្កាឈូក) ប៉ុន្តែកុំឲ្យលើសពី ៥ វិនាទី។ ភ្លាមៗនោះបាញ់ជម្រះដោយប្រើទឹករ៉ូប៊ីណេដោយថ្នមៗ។

- បន្សុីពណ៌ក្រហមរយៈពេលពី ៤០ ទៅ ៦០ វិនាទីដោយប្រើ ២%នៃសូលុស្យុងសាហ្វ្រានីនអូរាវ (aqueous safranin O) និងបាញ់សម្អាតបន្ទះកញ្ចក់នេះចេញដោយប្រើទឹក។
- សម្ងួតផ្ទៃបន្ទះកញ្ចក់ដោយប្រុងប្រយ័ត្នដោយប្រើការសម្ងួតដែលលឿន បន្ទាប់មកវិភាគសំណាកស្ងួតដោយប្រើលេខពង្រីកត្រូវការពន្លឺ។ ព្យាយាមបង្កើន និងបន្ថយពន្លឺដោយប្រើសន្ទះភ្នែកមីក្រូទស្សន៍។

៥.២.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៥ ផ្នែក ២

១. **ការបន្សុីពណ៌ធម្មតា៖** គោលបំណងនៃការបន្សុីពណ៌នេះគឺដើម្បីសិក្សាឲ្យច្បាស់ពីទម្រង់រចនាសម្ព័ន្ធនិងការតម្រៀបនៃកោសិកា។ ប្រៀបធៀបសរីរាង្គដែលបានបន្សុីពណ៌ក្រាមដែលមានដូចជាទំហំ ទ្រង់ទ្រាយ និងឯកសណ្ឋានភាពនៃការបន្សុីពណ៌។ គូររូបតំណាងកោសិកាសម្រាប់ពិសោធន៍នីមួយៗ។ តើអ្នកអាចការតាំងចិត្តជាមួយការបន្សុីពណ៌នេះដែរ ឬទេ? នៅពេលមើលបាក់តេរីដែលបានកំណត់ក្រាមរួច ដោយប្រើលេខពង្រីកធំ ហើយតើអ្នកអាចមើលឃើញទម្រង់ និងរចនាសម្ព័ន្ធរបស់កោសិកាបានដោយងាយដែរ ឬទេ?

____

____

____

២. **ការបន្សុីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមបាក់តេរី៖** គូររូបភាពតំណាង និងបញ្ជាក់ឲ្យច្បាស់នូវពួកកោសិកាណាដែលមានក្រាមវិជ្ជមាន និងពួកណាដែលមានក្រាមអវិជ្ជមាន។ ខណៈពេលដែលពិនិត្យមើលបាក់តេរីដោយប្រើលេខពង្រីកធំ តើអ្នកអាចបញ្ជាក់ថាមួយណា មានក្រាមវិជ្ជមាន និងមួយណាមានក្រាមអវិជ្ជមានដែរឬទេ? តើកោសិកាណាខ្លះមានជាគ្រាប់មូលតូចៗ? តើកោសិកាណាខ្លះមានរាងជាដំបង? តើអ្នកអាចមើលឃើញទម្រង់ និងរចនាសម្ព័ន្ធរបស់បាក់តេរីបានដែរឬទេ? តើអ្វីជាឥទ្ធិពលដែលធ្វើឲ្យប្រែប្រួលបរិមាណពន្លឺឆ្លងកាត់សំណាកវិភាគ? តើមានអ្វីកើតឡើងពេលប្រើពន្លឺខ្សោយ? តើមានអ្វីកើតឡើងពេលប្រើប្រាស់ពន្លឺខ្លាំង?

៣. រៀបចំតុមួយប្រើសម្រាប់បញ្ជាក់លទ្ធផលដែលបង្ហាញពីទម្រង់ រចនាសម្ព័ន្ធ និងការបន្ស៊ីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមរបស់បាក់តេរី។

លំហាត់ ៦៖ ការផ្ទេរមេរោគដោយគ្មានចម្លង (Aseptic Transfer)

៦.១ សេចក្តីផ្តើម

ទំហំដ៏តូចក្រៃលែងនៃពួកមីក្រូសរីរាង្គ សកម្មភាពមេតាបូលីសយ៉ាងរហ័សរបស់ពួកវា និងលទ្ធភាពនៃបង្កើនចំនួនក្នុងរយៈពេលមួយដ៏ខ្លី ហើយទាមទារឲ្យយើងប្រើប្រាស់នូវបច្ចេកទេសពិសេសដោយម៉ត់ចត់ និងប្រុងប្រយ័ត្នជាទីបំផុត នៅពេលយើងសិក្សាពីពួកវា។ ត្រូវចាំទុកជានិច្ចថា បច្ចេកទេសពិសេសៗទាំងនេះជាមធ្យោបាយ ដែលមិនត្រឹមតែសិក្សាពីពួកមីក្រូសរីរាង្គទេ ប៉ុន្តែថែមទាំងធ្វើការជាមួយពួកវាដោយសុវត្ថិភាពទៀតផង។ កោសិកាពីរបី អាចនឹងបំបែកខ្លួនយ៉ាងច្រើនភ្លាមៗ និងចំពោះករណីខ្លះ ការចាក់ចម្លងមេរោគទៅលើសារធាតុបណ្តុះដែលខុស ឬដោយមិនប្រុងប្រយ័ត្ន អាចនឹងបណ្តាលឲ្យចម្លងជំងឺគ្រោះថ្នាក់ភ្លាមៗ។

ការផ្ទេរមេរោគដោយគ្មានចម្លងចូលនៃមេរោគពីដែលមិនចង់បាន (aseptic transfer) ជាបច្ចេកទេសគ្រឹះមួយនៃអតិសុខុមប្រាណវិទ្យា ដែលធ្វើឲ្យការផ្ទេរនូវបរិមាណដ៏តិចមួយនៃវត្ថុធាតុរបស់មេរោគដែលបានបណ្តុះ គ្មានការចម្លងចូលនូវសារធាតុធ្វើឲ្យកង្វក់ ឬមីក្រុបឯទៀតៗ។ សិក្សាគោលការណ៍ឲ្យបានច្បាស់ និងអនុវត្តវាដដែលៗរហូតដល់វាក្លាយជាជំនាញពីធម្មជាតិទី២ របស់អ្នក នៅកំឡុងពេលប៉ុន្មានសប្តាហ៍ក្រោយ។ បន្ទាប់មក បន្តអនុវត្តវាដោយប្រុងប្រយ័ត្ន និងយឺតៗ ដើម្បីអនុវត្តជំហាននីមួយៗដដែលជាមួយមេរោគបណ្តុះដែលគេផ្តល់ឲ្យ។

៦.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុរិភាគមួយ៖

- nutrient agar slant ដែលមានផ្ទុក *Serratia marcescens* ចំនួន ១ ទីប
- nutrient agar slant ដែលមានផ្ទុក *Micrococcus luteus* ចំនួន ១ ទីប
- nutrient agar slant ចំនួន ៤ ទីប
- លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ
- ចំហេះបិញ្ញសិន (Bunsen burner)

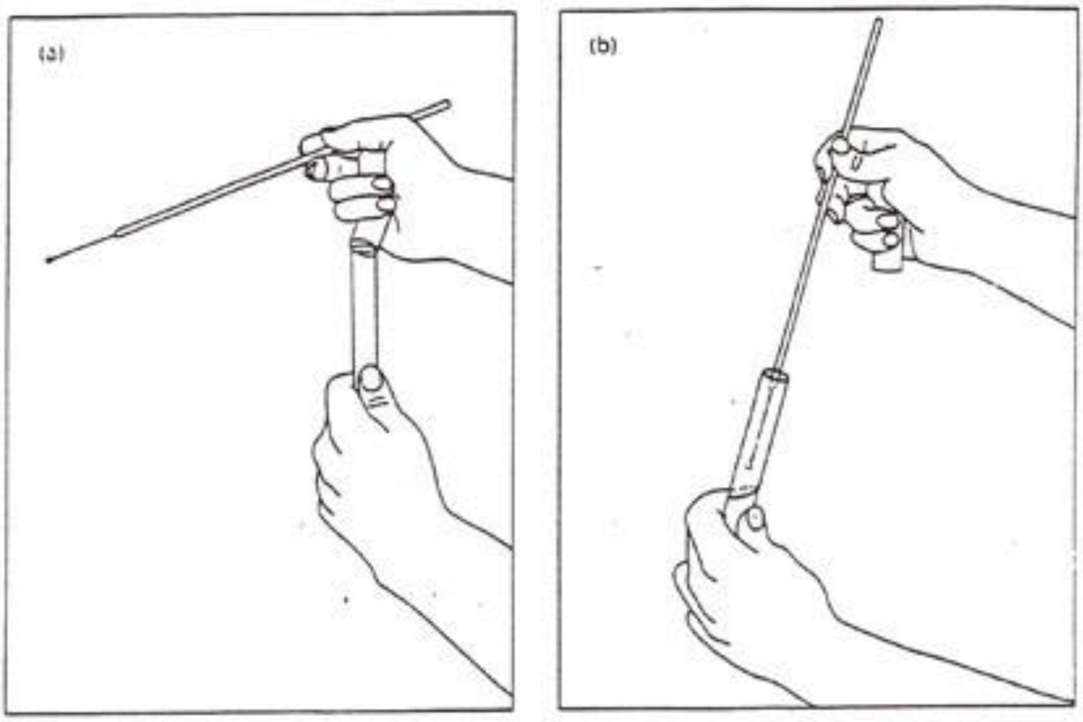
៦.៣ ដំណើរការពិសោធ

១. ផ្ទេរមេរោគ *Serratia marcescens* ដែលបានបណ្តុះរួច។ រៀបចំទីបសម្រាប់បណ្តុះ (culture tubes) ដាក់ក្នុងចង្កាក់ដាក់ទីបនេះនៅពីមុខអ្នក។ កាន់ទីបដែលមានមេរោគ *Serratia marcescens* ដោយប្រើដៃឆ្វេង ដោយឲ្យតួនៃទីបនេះបញ្ឈរត្រង់ឈមស្របនឹងបាតដៃដោយប្រើមេដៃរបស់អ្នក (រូបភាព ៦.១)។ កាន់លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគនៅដៃស្តាំ ដូចពេលអ្នកកាន់ខ្មៅដៃសរសេរដែរ។ ប្តូរទីតាំងទីបបណ្តុះមកដៃស្តាំវិញប្រសិនបើអ្នកសរសេរអក្សរដៃឆ្វេង។

២. ស្ទេរីលលូបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ ដោយកម្តៅផ្នែកដែលជាលួសទាំងអស់ឲ្យទៅជាពណ៌ក្រហមដោយប្រើអណ្តាតភ្លើងនៃចំហេះបិញស៊ិន (រូបភាព ៦.២)។

៣. ខណៈដែលទុកឲ្យលួសចុះត្រជាក់រយៈពេលពីរបីវិនាទីនេះ អ្នកត្រូវដកគម្របទីបចេញដែលមានបង្ហាញដូចខាងក្រោមៈ
ខណៈពេលដែលកាន់លូបក្នុងទម្រង់ដូចជាខ្មៅដៃ ត្រូវកាន់គម្របទីបដោយប្រើកូនដៃ និងបាតដៃស្តាំ បន្ទាប់មកអ្នកយកគម្របទីបចេញ និងកាន់វាដូចទីតាំងបានបញ្ជាក់។ ចៀសវាងប៉ះគែមនៃមាត់ទីប ខណៈពេលអ្នកដកគម្របចេញ។ កម្តៅមាត់ទីបដោយរុញវាសើៗទៅលើអណ្តាតភ្លើង។

(a) (b)



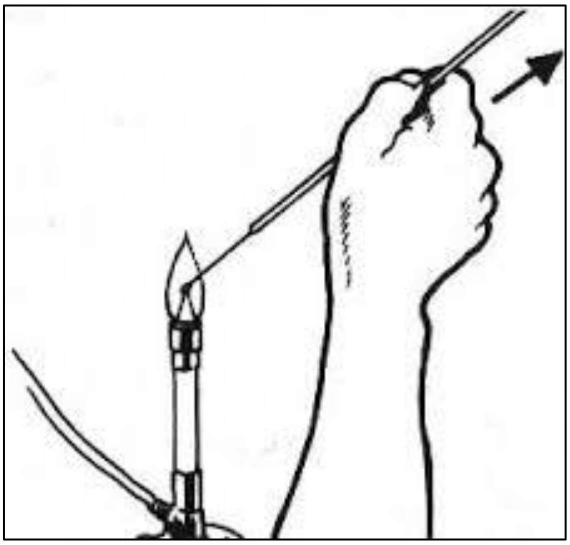
រូបភាព ៦.១ ការផ្ទេរមីក្រុមពីចំណិរើងមកចខំណីពរដោយប្រើលូបស្ទេរីលរួច

៤. យកលូបត្រជាក់ ដែលបានស្ទេរីលរួចនេះទៅប៉ះតិចៗសើៗនៅលើផ្ទៃនៃបាក់តេរី ដែលបានបណ្តុះរួច បន្ទាប់មកដកលូបចេញ និងបិទគម្របទីបវិញ និងដាក់ទីបនេះទៅក្នុងចង្កាក់។ ដកចេញទីបមួយ ដែលមិនទាន់បានចាក់ចម្លងមេរោគបញ្ចូល ដែលអ្នកគិតថាអ្នកនឹងចាក់ចម្លងមេរោគទៅក្នុង រួចដកគម្របចេញដោយប្រើកូនដៃស្តាំ និងបាតដៃដូចការធ្វើលើកមុន។ ផ្ទេរមេរោគមួយចំនួន ដែលបានធ្វើទៅកាន់ផ្ទៃនៃចំណីចាហួយស្ទេរីលរួចថ្មីមួយទៀត ដោយពង្រាយពួកមេរោគទាំងនេះឲ្យបានទម្រង់ជាបន្ទាត់ទឹករលកដោយការឆូតលូបដោយកម្លាំងសង្កត់តិចៗ ចាប់ពីផ្នែកបាតនៃ slant រហូតដល់ផ្នែកចុងបំផុតនៃ slant។

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

៥. ដុតមាត់ទីបដូចលើកមុន។ បន្ទាប់ពីដកលួបចេញ ត្រូវគ្របគម្របវិញ និងដុតផ្នែកដែលជាលួសឲ្យបានសព្វដើម្បីសម្លាប់រាល់មេរោគដែលនៅសេសសល់ទាំងអស់។

៦. អនុវត្តដដែលនូវដំណើរការពិសោធនេះដោយការផ្ទេរមេរោគ *Micrococcus luteus* ។ សរសេរស្លាកសម្គាល់នៅលើទីបនីមួយៗដែលមានមេរោគ។ យកពួកslant ដែលបានចាក់ចម្លងមេរោគបញ្ចូលរួចថ្មីៗចំនួនមួយសម្រាប់ ទៅដាក់បណ្ដុះក្នុងទូនៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C និងទុកមួយសម្រាប់ទៀតនៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់។



រូបភាព ៦.២ ការស្ទេរីលលួបសម្រាប់ចម្លងមេរោគដោយអណ្ដាតភ្លើង

ការត្រួតពិនិត្យទីបជាដំណាក់កាលទី ២

អង្កេតលក្ខណៈរូបរាងនៃគ្រប់មេរោគដែលបានផ្ទេរទៅក្នុងទីបទាំងអស់ បន្ទាប់ពីការភ្ញាស់រយៈពេលចន្លោះពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង។ ត្រូវឲ្យអ្នកបង្រៀនរបស់អ្នក ត្រួតពិនិត្យលក្ខណៈរូបរាងនៃមេរោគក្នុងទីប ដែលវាជាអ្នកកំណត់ភាពប៉ិនប្រសព្វនៃបច្ចេកទេសចាក់ចម្លងមេរោគរបស់អ្នក។

៦.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៦

១. តើអ្នកគិតថាទីប slants គួរតែត្រូវបានប្រើដើម្បីអ្វី?

____

____

____

ហេតុអ្វីបានជាអ្នកដុតលួបមុនពេលផ្ទេរមេរោគ?

____

____

____

២. ហេតុអ្វីបានជាវាសំខាន់ដែលប្រើបច្ចេកទេសសម្លាប់មេរោគ?

____

____

____

៣. ហេតុអ្វីបានជាអ្នកត្រូវទុកលូបឲ្យចុះត្រជាក់មុនពេលផ្ទេរមេរោគ?

____

____

____

៤. តើមានអ្វីផ្សេងទៀតក្រៅពីលូប ដែលអ្នកប្រើដើម្បីផ្ទេរបាក់តេរី?

____

____

____

លំហាត់ ៧៖ ការញែកបាក់តេរីឲ្យបានពូជសុទ្ធ

៧.១ សេចក្តីផ្តើម

ការអភិវឌ្ឍដំបូងរបស់អតិសុខុមប្រាណវិទ្យាឲ្យទៅជាមុខវិជ្ជាវិទ្យាសាស្ត្រ បានផ្អែកលើបច្ចេកទេសសាមញ្ញពីរ ដែលជាវិធីសាស្ត្រញែកមីក្រូសរីរាង្គឲ្យចេញជាប្រភេទផ្សេងៗដាច់គ្នា និងថែរក្សាពួកវាទុកបានយូរក្នុងទម្រង់ជាពូជសុទ្ធ។ បន្ទាប់ពីបច្ចេកទេសទាំងពីរប្រភេទនេះ ត្រូវបានបង្កើតឡើង ទើបគេអាចមានលទ្ធភាពញែកមីក្រូសរីរាង្គចេញពីសរីរាង្គ ដែលវារស់នៅជាមួយបាន។ បន្ទាប់មក មីក្រូសរីរាង្គទាំងនេះ អាចត្រូវបានគេយកមកសិក្សាស្រាវជ្រាវដោយមានទំនុកចិត្ត សារសំខាន់ រួមនិងលក្ខណៈអត្តចរិតរបស់ពួកវា ក៏អាចត្រូវបានគេព្យាករណ៍ទុកនោះដែរ។ បាក់តេរីពូជសុទ្ធ (*pure culture*) សម្តៅទៅលើពូជ ដែលកោសិកានីមួយៗ គឺជាជំនាន់ក្រោយផ្ទាល់នៃកោសិកាតែមួយ។ បាក់តេរីពូជសុទ្ធ ត្រូវបានគេប្រទះឃើញដោយកម្រនៅក្នុងមជ្ឈដ្ឋានធម្មជាតិ ក្រោយពីប្រើបច្ចេកទេសពិសេសៗនៃការញែក។

ការញែកនូវមីក្រូសរីរាង្គមួយប្រភេទពីសហគមន៍មីក្រុបដែលមានទំនាក់ទំនងយ៉ាងស្អិតរមួត ជានិច្ចកាលចាប់ផ្តើមដោយប្រើការបណ្តុះបែបជម្រើស (enrichment culture)។ លក្ខខណ្ឌដែលប្រើដើម្បីទទួលបានការបណ្តុះបែបជម្រើសដែលសមស្រប មានភាពខុសគ្នាខ្លាំង ដែលអាស្រ័យទៅលើប្រភេទមីក្រូសរីរាង្គដែលយើងកំពុងវិភាគរក។ ទោះបីជាយ៉ាងក៏ដោយ គោលបំណងនៃការបណ្តុះបែបជម្រើស តែងតែមានសភាពដូចគ្នាចំពោះការបង្កើតលក្ខខណ្ឌលូតលាស់ ដែលនឹងសមស្របសម្រាប់តែមីក្រុបដែលយើងចង់វិភាគរក ដើម្បីទទួលបាននូវចំនួនដ៏ច្រើនសន្ធឹកសន្ធាប់នៃមីក្រុបនោះ បើប្រៀបធៀបជាមួយមីក្រុបឯទៀតដែលមិនចង់បាន។ តាមរយៈការបណ្តុះបែបជម្រើសបែបនេះ មីក្រូសរីរាង្គដែលយើងចង់បាន ប្រហែលជាត្រូវបានញែកដោយស្រួលខ្លាំង ឬមិនសូវស្រួល។ បច្ចេកទេសសាមញ្ញសម្រាប់ការញែក ត្រូវបានបង្ហាញនៅក្នុងផ្នែក ២ នៃលំហាត់នេះ ដែលវាជាវិធីសាស្ត្រឆូតនៅលើចានបណ្តុះ (streak plate method)។ វិធីសាស្ត្រផ្សេងៗទៀត មានបច្ចេកទេសពង្រាវសំណាក (dilution methods) ដែលនឹងមិនត្រូវបានអនុវត្តនៅក្នុងថ្នាក់រៀនទេ។

៧.២ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ១៖ ការបណ្តុះបែបជម្រើស (*Enrichment Culture*)

ចាប់ផ្តើមអនុវត្តការបណ្តុះបែបជម្រើសដែលត្រូវបានរៀបចំរួចជាស្រេចសម្រាប់ការញែកបាក់តេរីពួក Azobacter ពីដី ដើម្បីបានពូជសុទ្ធ។ Azobacter មានសមត្ថភាពរូបសាស្ត្រពិសេសដែលអាចប្រើអាសូតនៃបរិយាកាស (N_2) ដើម្បីបំពេញតម្រូវការអាសូតរបស់វាកំឡុងពេលលូតលាស់។ ដោយសារតែមីក្រូសរីរាង្គតិចតួចពេក អាចប្រើប្រាស់អាសូតក្នុងទម្រង់បែបនេះ ហើយមីក្រូសរីរាង្គតិចតួចមែនទែនរស់នៅដោយសេរី និងត្រូវការខ្យល់ ដូចនេះដំណើរការពិសោធនេះ ប្រើប្រាស់សម្រាប់មីក្រូសរីរាង្គដែលមានលក្ខណៈពិសេសទាំងបីនេះតែប៉ុណ្ណោះ។ ដូចនេះ លំនាំដើមនៃវិធីសាស្ត្របណ្តុះចម្រុះ (mixed culture) ដែលយក Azobacter ទៅបណ្តុះនៅលើចំណីដែលគ្មានបន្ថែមអាសូត នឹងផ្តល់លក្ខខណ្ឌជម្រើសមួយដល់ការលូតលាស់នៃមីក្រូសរីរាង្គ ដែលមានលទ្ធភាពប្រើប្រាស់អាសូត ពីបរិយាកាស

ប៉ុណ្ណោះ។ កោសិកា Azobacter មានទំហំធំខ្លាំង ហើយកោសិកាជាច្រើន នឹងមានទំហំធំដូចកោសិកាយីស។ ពួកគីស (cysts) ត្រូវបានបង្កើតឡើងដោយ Azobacter ដែលមានលក្ខណៈដូចអង់ដូស្ពរបាក់តេរី (bacterial endospores) ហើយពួកវាមានជំណាកដង្ហើមខាងក្នុងតិចតួច និងធន់នឹងភាពស្ងួត ការបំផ្លាញបែបមេកានិច និងកាំរស្មី។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ ពួកវាមិនធន់នឹងកម្តៅ និងមិនមានលក្ខណៈសំងំពេញលេញនោះទេ។ ភាពធន់របស់គីសនេះ គឺដោយសារតែស្រោមគីស (cyst coat)។

៧.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយៈ

- ដីសួនច្បារដែលទើបយកមកថ្មីៗ
- ចាហួយបណ្តុះចំនួន ២ ចានដែលគ្មានផ្ទុកអាសូត (nitrogen-free (Ashby's) agar)
- ចាហួយបណ្តុះចំនួន ១ ចានដែលគ្មានផ្ទុកអាសូត តែមានអាម៉ូញ៉ូមស៊ុលផាត 0.១% (Ashby's agar with 0.1% ammonium sulfate)
- បន្ទប់បណ្តុះដែលសើម ឬស្កុតប្លាស្ទិចរុំខ្សែភ្លើង

៧.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. រាយកម្ទេចដី បានពីសួនច្បារចំនួន ២ ទៅ ៣ ដុំ ទៅលើចាហួយបណ្តុះមួយចាន ដែលគ្មានសារធាតុអាសូត។ ស្រដៀងគ្នានេះដែរ ដាក់កម្ទេចដីទៅលើចាហួយបណ្តុះមួយចានដែលគ្មានអាសូត តែមានអាម៉ូញ៉ូមស៊ុលផាត 0.១ %។ ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ដោយឲ្យផ្នែកផ្ទុកចាហួយបណ្តុះផ្កាប់ចុះក្រោម។ ដាក់ចានបណ្តុះនៅក្នុងសម្បុកវេចខ្ចប់ដែលអាចធានាបានថា មីក្រូសរីរាង្គមិនឡើងស្ងួត។ បន្ទប់បណ្តុះនេះ អាចជាសម្បុកវេចខ្ចប់ដ៏ធំមួយដែលមានកន្សែងសើមនៅលើបាតសម្បុកវេចខ្ចប់ និងមានគម្រប (ជាបន្ទះអាលុយមីញ៉ូម បន្ទះប្លាស្ទិច) ដែលការពារកុំឲ្យហួតជាតិទឹកចេញ។ លើសពីនេះទៅទៀត សិស្សអាចរុំគែមចានបណ្តុះរបស់ខ្លួនដោយប្រើស្កុតប្លាស្ទិចរុំខ្សែភ្លើង។

២. ធ្វើការវិភាគបន្ទាប់ពីភ្ញាស់បាន ៥ ទៅ ៧ ថ្ងៃ។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់ការលូតលាស់ផ្នែកខាងក្រៅមីក្រូសរីរាង្គដែលបានពីកម្ទេចដី។ Azobacter នឹងត្រូវបានគេរកឃើញនៅលើចានបណ្តុះដោយសារការបង្ហាញជាកូឡូនី ដែលភ្លឺ ប៉ោង ថ្លាបន្តិច និងមានស្លេស្មច្រើន។ ប្រៀបធៀបលក្ខណៈខាងក្រៅនៃទម្រង់កូឡូនី នៅលើចានបណ្តុះផ្ទុកអាសូត ជាមួយនឹងចានបណ្តុះដែលគ្មានអាសូត។ អ្នកនឹងកត់ត្រាការអង្កេតរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។ ហាមដកគម្របចេញពីចានបណ្តុះដែលផ្ទុកអាសូត។

៣. រៀបចំស្រទាប់មេរោគដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់ តាមដែលចាំបាច់សម្រាប់អង្កេតមើលការលូតលាស់របស់ Azobacter ដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍។ Azobacter ជាប្រភេទបាក់តេរីមួយប្រភេទ

មានទំហំធំបន្តិច ដែលជាក្រោមអវិជ្ជមាន និងជាញឹកញាប់ស្ថិតនៅជាគូៗ ក្នុងរូបរាងជាគ្រាប់មូលតូចៗ ឬដំបងអេលីប។

៤. ត្រូវធ្វើការញែក Azobacter ឲ្យសុទ្ធ ចេញពីចានបណ្តុំបែបជម្រើស ដោយការប្រើទម្រង់ការឆូតលើចានបណ្តុះ (streak plate) និងចំណី Ashby's medium (គ្មានផ្ទុកអាសូត)។

៥. ដាក់ភ្ញាស់ចានដែលបានឆូតមេរោគលើចាហួយបណ្តុះ (ផ្កាប់ផ្នែកមានចាហួយចុះក្រោម) រួចនេះ នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់រហូតដល់ការពិសោធន៍នៅលើកក្រោយ។

៧.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ១

១. តើនៅលើចានបណ្តុះមួយណា ដែលអ្នកបានឃើញការលូតលាស់មានច្រើនជាងគេ? ទាយថាហេតុអ្វីបានជាហេតុការណ៍នេះបានកើតឡើង ។

___

___

___

២. ធ្វើការអង្កេតមើលចុងក្រោយដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ និងដោយប្រើភ្នែកទទេទៅលើធម្មជាតិនៃការដុះលូតលាស់ដែលមាននៅលើចានបណ្តុះដែលបានឆូតចាហួយបណ្តុះ (streak plate)។ គូររូបភាពតំណាង និងសង្ខេបលទ្ធផលរបស់អ្នក។ ចំណាំ៖ នៅពេលពិពណ៌នាពីកូឡូនីដែលមាននៅលើចានដែលមានចាហួយបណ្តុះ ជាដំបូង អ្នកគួរមើលទៅលើសភាពកូឡូនីទាំងមូល ហើយសួរខ្លួនឯង តើវាមានជាយដែលសភាពភ្លឺ ស្រអាប់ គ្រើម មានរោមញ៉រ មូល ប៉ោង រាបស្មើ មូលប៉ោង ឬក្រឆេងក្រធូញ ? តើមានទំហំប៉ុនណាដែរ? តើវាមានពណ៌ដែរ ឬទេ? តើវាមានពណ៌អ្វី?

___

___

___

៣. ការដុះលូតលាស់មួយចំនួននៃមីក្រុបបានពីកម្ទេចដី នៅលើចាហួយបណ្តុះគ្មានអាសូត មិនមែនជាពួក Azobacter ទេ តែមានមួយចំនួនផ្សេងជាពួកនេះ ។ តើអ្នកគួរពន្យល់តថភាពនេះដោយរបៀបណា?

___

___

___

៧.៣ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ២៖ ការញែកមេរោគដោយវិធីសាស្ត្រឆូតនៅលើចាហួយ

ទម្រង់ការនៃការញែកមេរោគដោយឆូតនៅលើចាហួយបណ្តុះ ជាវិធីសាស្ត្រស្តង់ដារមួយដើម្បីទទួលបានមេរោគពូជសុទ្ធ ។ វាក៏អាចត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ដើម្បីកំណត់ការចម្លងចូលនៃមេរោគផ្សេង

ដែលអាចមានពេលពិសោធន៍។ កំណាបាក់តេរីដែលដាក់នៅលើលួប ត្រូវបានគេពង្រាយនៅលើផ្ទៃរបស់ចាហួយដែលសមស្រប ដែលតាមរយៈនេះ គេអាចញែកបណ្តុំដ៏ធំនៃមេរោគឲ្យទៅជាកោសិកា ដាច់ៗគ្នា ឬបណ្តុំដែលតូចៗ។ កោសិកាមេរោគដែលបានពង្រាយនៅលើចាហួយ នឹងវិវត្តទៅជាកូឡូនីមួយៗដែលដាច់គ្នា។ ការយកចំណែកនៃកូឡូនីដែលបានញែករួច និងឆូតវាម្តងទៀតទៅលើចាហួយថ្មីមួយ ជួយបង្កើនប្រូបាប៊ីលីតេនៃការទទួលបានពូជមេរោគដែលសុទ្ធ។

៧.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សម្នាក់៖

- ចាហួយ nutrient agar ចំនួន ៥ ចាន ដែលពីរចានប្រើសម្រាប់ការពិសោធដំណាក់កាលទី ២
- លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ចំណីរាវដែលមានផ្ទុក *Escherichia coli* (Broth culture of *Escherichia coli*)
- ចំណីរាវដែលមានផ្ទុក *Micrococcus luteus* (Broth culture of *Micrococcus luteus*)
- ចំណីរាវដែលមានផ្ទុកមីក្រូសរីរាង្គចម្រុះ (Broth culture ofmixed organisms)

៧.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

សូមមើលរូបភាព ៧.១

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖

១. ដាក់ចានមានចាហួយបណ្តុះឲ្យរាបស្មើទៅលើតុពិសោធន៍។ ដោយប្រើលួបដែលបានដុតថ្មីៗ និងចុះត្រជាក់ ផ្ទិះយកបរិមាណដ៏តិចនៃ *E.coli* ដែលបានបណ្តុះរួច ចេញពីទីប។ ដកគម្របចានបណ្តុះចេញដោយប្រើដៃម្ខាងទៀតឲ្យបានខ្ពស់ល្មម ចៀសវាងកុំឲ្យចំណីចាហួយឆ្លងចូលមេរោគពីខ្យល់ ពេលប្រើលួបឆូតមេរោគលើចាហួយ។ ឆូតមេរោគដែលជាប់លួបថ្មៗទៅលើផ្ទៃចាហួយដែលត្រូវបានបង្ហាញនៅខាងក្រោម។

២. ចាប់ផ្តើមឆូតពីជាយផ្ទៃរបស់ចាហួយដោយផ្ទាល់។ ឲ្យលួបប៉ះផ្ទៃគែមចាហួយតែបន្តិច និងបន្តឆូតចូលមកក្នុងឲ្យបានជាឆូតស្របជិតៗគ្នារហូតបានផ្ទៃប្រមាណ ១/២ នៃចានដោយគ្មានប្តូរលួបថ្មី។

៣. ដុតលួប និងទុកវាឲ្យត្រជាក់។ បង្វិលចានបណ្តុះក្នុងទិសដៅបញ្ច្រាសទ្រនិចនាទិកាឲ្យបាន ៩០ ដឺក្រេ។ ជាថ្មីម្តងទៀត ចាប់ផ្តើមដាក់លួបនៅចំណុចមួយនៅជាយនៃចានបណ្តុះ ហើយឆូតដូចមុនឲ្យបាន ១/៤ នៃចានបណ្តុះ។ ឆូតពី ១ ទៅ ៣ ដងនៅលើចំណែកដ៏តូចនៃកន្លែងដែលត្រូវបានចាក់ចម្លងមេរោគចូល។ បន្តឆូតផ្ទៃកដែលសល់នៃចំណែកនោះ ប៉ុន្តែលើកនេះមិនត្រូវឆូតឲ្យត្រួតលើកន្លែងដែលបានចាក់ចម្លងមេរោគចូលរួចទេ។

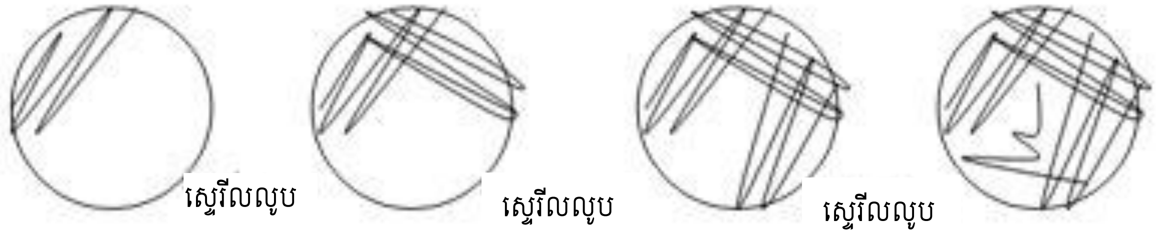
៤. ដុតលួប និងទុកវាឲ្យត្រជាក់។ បង្វិលចានបណ្តុះក្នុងទិសដៅបញ្ច្រាសទ្រនិចនាទិកាឲ្យបាន ៩០ ដឺក្រេមួយទៀត និងឆូតផ្នែកដែលសល់ឲ្យបានពី ៦ ទៅ ៨ ឆូត ។ ត្រូវប្រាកដថា ២ ទៅ ៣ ឆូតដំបូង ត្រូវត្រួតលើផ្នែកដែលទើបតែបានចាក់ចម្លងមេរោគចូលថ្មីៗ។

៥. គ្របគម្របចានបណ្តុះវិញ និងបិទស្លាកសម្គាល់នៅបាតជាមួយខ្មៅដៃក្រមួន ឬហ្វឺត។ ដាក់ភ្ញាស់ដោយឲ្យផ្នែកដែលមានចាហួយផ្កាប់ចុះក្រោម នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧^{0}C រហូតដល់ការពិសោធលើកក្រោយ។ ចានបណ្តុះ ត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់ដោយឲ្យផ្នែកដែលមានចាហួយផ្កាប់ចុះក្រោម (inverted position) ដើម្បីការពារកុំឲ្យកើតកំណកញើស និងការពារកុំឲ្យកំណកញើសធ្លាក់លើផ្ទៃចាហួយ ដែលបណ្តាលឲ្យបាក់តេរីក្លាយជារប៉ាត់រប៉ាយពេញទាំងផ្ទៃចាហួយ។ ចានចាហួយ ត្រូវបានសរសេរស្លាកសម្គាល់នៅខាងបាតនៃផ្នែកដែលមានចាហួយ និងមិនមែននៅលើគម្របទេពីព្រោះគម្របអាចត្រូវបានគេយកចេញពីផ្នែកដែលមានចាហួយ។

៦. ដោយប្រើចានបណ្តុះដាច់ៗពីគ្នា ដើម្បីឆូត *Micrococcus luteus* នៅលើចាហួយ និងពូជចម្រុះ ត្រូវអនុវត្តជំហាន ២ ដល់ ៥ ម្តងទៀត។

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

៧. វិភាគរក *E.coli, Micrococcus luteus* និងពូជចម្រុះ នៅក្នុងចានបណ្តុះដែលបានឆូតរួចដោយស្វែងរកកូឡូនីដែលញែកដាច់ពីគ្នាបានយ៉ាងល្អនៃប្រភេទបាក់តេរីទាំងពីរនេះ។ អ្នកគួរតែមើលតែផ្ទៃរបស់កូឡូនី។ អ្នកជ្រើសរើសយកកូឡូនីមួយដែលស្ថិតនៅដាច់ពីគេ និងប្រើលួបដែលបានស្ទេរីលរួចទៅផ្ទឹះមួយចំណែកនៃកូឡូនីទៅដាក់ចានបណ្តុះដែលមាន nutrient agar (nutrient agar plate)។ ធ្វើស្លាកសញ្ញាសម្គាល់ចានបណ្តុះ និងភ្ញាស់វានៅ ៣៧ ^{0}C រហូតដល់ការពិសោធន៍លើកក្រោយ។ ត្រូវប្រើចានបណ្តុះមួយសម្រាប់កូឡូនីដែលបានញែករួចនីមួយៗ។



រូបភាព ៧.១ ផ្លាផ្នែកដែលមានចាហួយនៃចានបណ្តុះ

៧.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៧ ផ្នែក ២

១. អនុវត្តការបន្សុីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមមេរោគទៅលើកូឡូនីមួយចំនួនដែលដុះដាច់ពីគ្នា។

២. តើអ្វីទៅជាប្រតិកម្មបន្សុំពណ៌ក្រាមនៃ *E.coli* ? *Micrococcus luteus* ?

៣. តើបាក់តេរីនីមួយៗមានរូបរាងដូចម្តេច? តើការតម្រៀបនៃកោសិកាមានលក្ខណៈដូចម្តេចដែរ?

៤. ប្រសិនបើ អ្នកមិនបានទទួលកូឡូនីដែលដុះដាច់ពីគ្នាទេ តើអ្នកគិតថា អ្នកបានធ្វើអ្វីខុស?

៥. ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគិតថា វាមានសារសំខាន់ ដែលអ្នកត្រូវឆ្វូតកូឡូនីដែលដុះដាច់ពីគ្នាម្តងទៀត?

លំហាត់ ៨៖ កាយវិភាគវិទ្យានៃបាក់តេរី (Cross Anatomy of Bacteria)

៨.១ សេចក្តីផ្តើម

ការសិក្សារចនាសម្ព័ន្ធបាក់តេរី ជួយយើងឲ្យយល់ពីលក្ខណៈ និងតួនាទីជីវសាស្ត្រសំខាន់ៗរបស់បាក់តេរី។ ភាគច្រើននៃលក្ខណៈរបស់រចនាសម្ព័ន្ធទាំងនេះ មានទំហំតូចណាស់ ដែលពួកវាអាចត្រូវបានគេសិក្សាតែពេល ដែលមានវត្តមានមីក្រូទស្សន៍អេឡិចត្រុងប៉ុណ្ណោះ។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ បាក់តេរីខ្លះមានលក្ខណៈកាយវិភាគវិទ្យាទាំងមូលជាក់លាក់ ដែលមានសារសំខាន់ណាស់ ក្នុងការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មតាមរយៈតែមីក្រូទស្សន៍ត្រូវការពន្លឺ ឬសូម្បីតែដោយគ្មានមីក្រូទស្សន៍ទាល់តែសោះ។ លំហាត់ពីរដែលនៅបន្ទាប់ គឺផ្តោតសំខាន់ទៅលើលក្ខណៈពីរក្នុងចំនោមលក្ខណៈទាំងនេះរួមមានផ្លាសែល និងអង់ដូស្ពរ។ ផ្លាសែលជាដៃដូចឃ្នាស់របស់បាក់តេរី ប៉ុន្តែងាយបែកបាក់ ដែលមានមុខងារក្នុងការបម្លាស់ទី ឬការកម្រើករបស់បាក់តេរី ដែលអាចឲ្យបាក់តេរីបង្វិលខ្លួន និងជាលទ្ធផល ផ្លាស់ទីពីមួយកន្លែងទៅមួយកន្លែងផ្សេងទៀត។ អង់ដូស្ពរ ផ្តល់ជាលក្ខណៈធន់ពិសេសដល់បាក់តេរីចំពោះភាពមិនសមប្រកបនៃលក្ខខណ្ឌបរិស្ថាន។

៨.២ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ១៖ ផ្លាសែល

រចនាសម្ព័ន្ធដែលដើរតួនាទី សម្រាប់បម្លាស់ទីពិតប្រាកដរបស់បាក់តេរី ដែលអាចចល័តបាននោះគឺ មានទំហំតូចពេករហូតដល់មិនអាចត្រូវគេមើលឃើញបានដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ត្រូវការពន្លឺ។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ ទម្រង់ការបន្សីពណ៌ដែលត្រូវបានរៀបចំបានយ៉ាងល្អត្រូវចំនាយពេលយូរដើម្បីលាបពណ៌ផ្ទៃផ្លាសែល រហូតដល់ផ្ទៃផ្លាសែលមានកម្រាស់ក្រាស់ សមស្របអាចពិនិត្យមើលឃើញបាន។ ទម្រង់ការបន្សីពណ៌ប្រភេទបែបនេះ មានការលំបាកខ្លាំងសូម្បីតែចំពោះអ្នកជំនាញក៏ដោយ ដូចនេះនៅពេលបន្សីពណ៌ផ្លាសែល យើងនឹងជួបអ្វីផ្សេងពីអ្វីដែលបានសិក្សានៅក្នុងថ្នាក់។ បន្ទះកញ្ចក់ នឹងត្រូវបានប្រើប្រាស់ ដើម្បីបង្ហាញឲ្យឃើញនូវពណ៌ដែលបានបន្សីដោយជោគជ័យទៅលើផ្លាសែលនៃបាក់តេរីអាចចល័តមួយចំនួន។ បាក់តេរីមួយចំនួន អាចចល័តបានដោយប្រើផ្លាសែលតែមួយប៉ុណ្ណោះ ប៉ុន្តែបាក់តេរីជាច្រើន មានផ្លាសែលច្រើន ហើយការតម្រៀបគ្នានៃផ្លាសែលទាំងនេះ ជាធម្មតាមាន លក្ខណៈមិនប្រែប្រួល និងមានសភាពខុសៗគ្នា។ ការវិវត្តដ៏អស្ចារ្យនូវចំណេះដឹងពីផ្លាសែល ត្រូវបានបង្កើតឡើងកាលណាមានការអភិវឌ្ឍមីក្រូទស្សន៍អេឡិចត្រុងដែលសុទ្ធល្អ និងការអភិវឌ្ឍបច្ចេកទេសនៃការប្រមូលផ្តុំ និងបន្សុទ្ធផ្លាសែល ដើម្បីការសិក្សាផ្នែកគីមី។

រូបភាព ៨.១ ការបន្សុីពណ៌ផ្លាសែល Leifson បង្ហាញឲ្យឃើញ នូវចំនួនដ៏ច្រើន នៃផ្លាសែល ដែលនៅខាងចុង *Spirillum Volutans* ដ៏ធំរបស់បាក់តេរី

រូបភាព ៨.២ ផ្លាសែលនៅលើខ្លួនបាក់តេរី

៨.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយៈ

- ចំណីរាវ (broth culture) ដែលមានផ្ទុក *Proteus morganii, Escherichia coli, Bacillus subtilis* និង *Staphylococcus aureus*

- ទីបដែលមានជម្រៅជ្រៅចំនួន ៤ ដែលផ្ទុក triphenyl tetrazolium chloride (TTC) សម្រាប់ត្រួតពិនិត្យបម្លាស់ទីរបស់មេរោគ
- លួបដែលធ្វើពីលួស
- ចំហេះបិញ្ញសិន

៨.២.២ ដំណើរការពិសោធ

ការចាក់ចម្លងមេរោគចូលក្នុងទីបដែលផ្ទុក TTC (Inoculation of TTC Medium)

លំហាត់នេះ ផ្តល់ជាភ័ស្តុតាងប្រយោលនៃការបង្ហាញវត្តមានរបស់ផ្លាសែល ដោយការធ្វើតេស្តត្រួតពិនិត្យបម្លាស់ទីរបស់មេរោគ។ នៅទីនេះ មេរោគដែលកំពុងដុះ ត្រូវបានចាក់ចម្លងទៅកាន់ចាហួយដែលមិនសូវរឹង (semi-solid agar medium) ហើយវិសាលភាពនៃការលូតលាស់របស់មេរោគទៅឆ្ងាយពីកន្លែងចាក់ចម្លង បង្ហាញឲ្យឃើញពីលទ្ធភាពនៃមេរោគដែលអាចហែលក្នុងចាហួយនេះ។ សារជាតុបណ្តុរពណ៌អង្គជាតុដ៏សំខាន់មួយប្រភេទ ត្រូវបានប្រើជាជំនួយទៅក្នុងចាហួយដើម្បីកំណត់វិសាលភាពនៃការលូតលាស់នេះ ។ ការបន្ថែមអំបិលតេត្រាស្សូលៀម (tetrazolium salt) ទៅក្នុង TTC ដោយកំហាប់ ០.០០៥% អាចកំណត់ពីសកម្មភាពជីវសាស្ត្ររបស់មេរោគបាន។ នៅគ្រប់កន្លែងនៃទីបដែលមានការលូតលាស់របស់មេរោគ នោះសារជាតុបណ្តុរពណ៌នេះ ត្រូវបានស្រូបចេញមកក្រៅ ហើយរងអុកស៊ីតកម្មដោយសារអង់ស៊ីមដេអ៊ីដ្រូសែនណាស (dehydrogenase enzymes) នៃកោសិកាបាក់តេរីដែលអុកស៊ីតកម្មនេះ បម្លែង TTC គ្មានពណ៌ទៅជាពណ៌ formazan ក្រហមមិនរលាយ និងជិតខ្លាំង។

១. ចាក់ចម្លងគ្រប់មេរោគទាំងអស់ដែលផ្តល់ឲ្យនេះ ទៅកាន់ទីបផ្ទុក TTC ដោយប្រើលួបចាក់ចូលសាច់ចាហួយនេះតែម្តងគត់ ដោយឲ្យបានជម្រៅតែពាក់កណ្តាលនៃសាច់ចាហួយប៉ុន្នោះ។ ការចាក់លួបចូលសាច់ចាហួយនេះ គួរតែមានសភាពត្រង់ពីលើចុះទៅក្រោម និងដកលួបចេញវិញក្នុងទិសដៅដដែល។ ហាមចាក់លួបចូលក្នុងសាច់ចាហួយច្រើនជាងមួយដង។

២. ដាក់ទីបទាំងនេះភ្ញាស់ដោយបញ្ឈរឲ្យត្រង់ នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧°C។

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

៣. ធ្វើការអង្កេតការលូតលាស់របស់មេរោគ ដែលមានលក្ខណៈជាបន្សាយចេញពីកន្លែងដែលចាក់លួបចូល។

៨.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ១

១. ពិពណ៌នាពីលក្ខណៈខាងក្រៅរបស់ការលូតលាស់នេះ។

____

____

____

២. សរីរាង្គណាខ្លះដែលផ្លាស់ទី? សរីរាង្គណាខ្លះ ដែលមិនផ្លាស់ទី?

៣. គូររូបភាពតំណាងការលូតលាស់នៃសរីរាង្គនីមួយៗ ។

៨.៣ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ២៖ អង់ដូស្ព័រ *(Endospores)*

ស្ព័រជាជីវិតសំងំដោយមានរចនាសម្ព័ន្ធធន់មួយ ដែលត្រូវបានបង្កើតឡើងជាចំបងដោយបាក់តេរីពីរប្រភេទ គឺ *Bacillus* និង *Clostridium* ដែលមានសារសំខាន់ផ្នែកវេជ្ជសាស្ត្រ ហើយថែមទាំងមានសារសំខាន់ចំពោះឧស្សាហកម្មផលិតចំណីអាហារ។ បាក់តេរីទាំងនេះ មានសឹងគ្រប់ទីកន្លែងក្នុងធម្មជាតិ និងមានតួនាទីយ៉ាងសំខាន់ជាអ្នកបំបែក និងអ្នកបង្កជំងឺធ្ងន់ធ្ងរ ពីព្រោះតែ ពួកវាមួយចំនួន អាចបង្កើតសារធាតុពុលដែលពុលខ្លាំង។ ស្ព័រ (spores) ត្រូវបានសរសេរជាអង់ដូស្ព័រ (endospores) ពីព្រោះពួកវាត្រូវបានបង្កើតនៅក្នុងកោសិកាបាក់តេរី ដែលនៅក្នុងកោសិកាមួយមានអង់ដូស្ព័រមួយ។ អង់ដូស្ព័រ ជាទម្រង់កោសិកាធន់ជាងគេ ដែលគេស្គាល់។ ស្ព័រអាចនៅរស់ក្នុងរយៈពេលដ៏យូរក្រោមលក្ខខណ្ឌបរិស្ថានដែលមិនសមប្រកប បន្ទាប់មកបង្កើតបានកោសិកាបាក់តេរីថ្មីមួយ។ ទម្រង់ការបន្ស៊ីពណ៌ដែលធម្មតា មិនអាចបន្ស៊ីពណ៌អង់ដូស្ព័របានទេ ដោយសារសារធាតុបណ្តុរពណ៌ មិនអាចជ្រាបតាមស្រោមស្ព័របាន។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ នៅពេលដែលស្ព័រត្រូវបានបន្ស៊ីពណ៌ដោយបច្ចេកទេសពិសេស នោះស្ព័រអាចស្រូបសារធាតុបណ្តុរពណ៌បាន ហើយពណ៌នេះ មិនអាចត្រូវបានដកចេញដោយងាយទេ។

៨.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់មន្ទីរពិសោធន៍៖

- ឆ្នាំងទឹកពុះ (boiling water bath)

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ទីប nutrient agar slants ដែលផ្ទុក *Bacillus cereus* និង *Escherichia coli* បានបណ្តុះរួចរយៈពេលពី ៧២ ទៅ ៩៦ ម៉ោង
- សូលុយស្យុងពណ៌បៃតងបានពី malachite កំហាប់ ៥ %
- សូលុយស្យុងរាវនៃ safranin O កំហាប់ 0.៥ %

- ទីបផ្ទុកសូលុយស្យុងអំបិលដែលបានស្ទេរីលរួច ចំនួន ២
- បន្ទះកញ្ចក់ និងគម្របបន្ទះកញ្ចក់

៨.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ការបន្ស៊ីពណ៌ស្ពរ:

a. ឆ្កឹះបំណែកនៃមេរោគនីមួយៗទៅដាក់ទីបដាច់ពីគ្នាដែលផ្ទុកសូលុយស្យុងអំបិល 0.៨៥%

b. បន្ថែមសូលុយស្យុងពណ៌បៃតងបានពី malachite ប្រហែលជា ១ ទៅ ២ ដំណក់

c. ដាក់នៅលើកន្លែងផ្ទាំងទឹកពុះ (boiling water bath) រយៈពេល ២០ នាទី។ (ដំណាក់កាលពី a ដល់ c ត្រូវបានធ្វើរួចរាល់សម្រាប់អ្នក)

d. ដាក់កំណមេរោគចំនួន ២ លូបទៅលើបន្ទះកញ្ចក់ដែលស្អាត និងពង្រាយវានៅលើនោះដោយប្រើលូប ដូចការបន្ស៊ីពណ៌កំណត់ក្រាមបាក់តេរីដែរ ។

e. សម្ងួតដោយប្រើខ្យល់ និងបញ្ជាប់វាទៅលើបន្ទះកញ្ចក់ដោយប្រើកម្តៅ។

f. បន្ស៊ីពណ៌ជាមួយ Safranin រយៈពេល ១ នាទី ។

g. លាងជម្រះដោយប្រុងប្រយ័ត្នខ្លាំង

h. សម្ងួតដោយប្រើខ្យល់ និងវិភាគវាដោយមានជំនួយពីប្រេង ។

២. រៀបចំបន្ទះមេរោគសម្រាប់បន្ស៊ីពណ៌កំណត់ក្រាម (Gram-stained smears) ឲ្យបានគ្រប់សរីរាង្គនីមួយៗដោយយកចេញពី slant ដើម។ តើពួកស្ពរទាំងនេះលេចឡើងក្នុងទម្រង់បែបណាដែរ? បញ្ចូលការពិពណ៌នានៃទម្រង់ស្ពរទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។ គោលិកាខ្លាញ់ ជារចនាសម្ព័ន្ធខាងក្នុងផ្សេងទៀតតែមួយគត់ ដែលអាចលេចឡើងនៅក្នុងការបន្ស៊ីពណ៌ ក្នុងរូបរាងជាគោលិកាដែលមិនវងនូវការបន្ស៊ីពណ៌។ ការបន្ស៊ីពណ៌ស្ពរបង្ហាញឲ្យឃើញពីភាពខុសគ្នារវាងរចនាសម្ព័ន្ធទាំងពីរនេះ។

៨.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៨ ផ្នែក ២

១. ប្រៀបធៀបទំហំ និងរូបរាងខាងក្រៅនៃស្ពរ និងកោសិកាដែលសកម្ម (vegetative cells)។ ធ្វើការញែកភាពខុសគ្នារវាងស្ពរសេរី (free cell) និងដែលនៅជាមួយកោសិកាសកម្មដែលចាស់ (old vegetative cell) ឬហៅថា sporangium។ កំណត់សម្គាល់ទីតាំងរបស់ស្ពរនៅក្នុងកោសិកា(អង្កេតមើលថា គ្មានកោសិកាណាផ្ទុកស្ពរច្រើនជាងមួយទេ)។ សង្ខេបការអង្កេតតាមដានរបស់អ្នកនៅខាងក្រោមនេះ។

២. តើស្លាវដែលបានបន្សីពណ៌រួចមានពណ៌អ្វី? តើកោសិកាម្ចាស់បញ្ញើ (កោសិកាសកម្ម) (host cell) មានពណ៌អ្វី?

លំហាត់ ៩៖ ចំណីសម្រាប់បណ្តុះមេរោគ (The Culture Medium)

៩.១ សេចក្តីផ្តើម

មីក្រូសរីរាង្គ ត្រូវការជាតុគីមី សម្រាប់ការលូតលាស់ ដូចគ្នាដែលពួកសារពាង្គកាយមានជីវិតធំៗ ត្រូវការដែរ ហើយពួកវាទទួលបានជាតុទាំងនេះក្នុងបរិស្ថានដែលពួកវានៅក្បែរ។

បរិស្ថានមីក្រូបពិសេសៗ ដែលជាសូលុយស្យុង ដើរតួនាទីជាប្រភពនៃសារជាតុចិញ្ចឹម សំដៅទៅលើ " ចំណីបណ្តុះ " (culture media)។ ចំណីបណ្តុះដែលសមស្រប ត្រូវបានគេបង្កើតឡើងដើម្បីជួយញែកពួកមីក្រូសរីរាង្គ កំណត់អត្តសញ្ញាណពួកវា សិក្សាពីពួកវាឲ្យបានលម្អិត ព្រមទាំងតម្រូវការលូតលាស់របស់ពួកវានៅក្នុងបណ្តាលក្ខខណ្ឌដែលជាក់លាក់។ ចំណីបណ្តុះ ជាធម្មតាផ្ទុកនូវប្រភពមួយនៃថាមពលបានពីកាបូន និងផ្ទុកនូវរាល់ប្រភព ដែលសមស្របនៃ អាសូត និងបណ្តាជាតុដូចជា ស៊ុលផួរ ផូស្វ័រ និងជាតុផ្សេងៗទៀត (ពួកអ៊ីយ៉ុងលោហៈ)។ វាមានសារសំខាន់ណាស់ចំពោះចំណីបណ្តុះដែលត្រូវរក្សា pH ឲ្យថេរ កំឡុងពេលលូតលាស់នៃមីក្រូសរីរាង្គ។

ចំណីបណ្តុះ អាចត្រូវបានចែកជាក្រុមដោយផ្អែកទៅលើដំណើរការនៃការបង្កើតទម្រង់ និងការប្រើប្រាស់របស់ពួកវា។ ដោយផ្អែកទៅលើដំណើរការនៃការបង្កើតទម្រង់ ចំណីបណ្តុះមួយ អាចត្រូវបានគេស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ (សំយោគ) (defined or synthetic) ឬមិនអាចត្រូវបានគេស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ (ស្មុគស្មាញ) (undefined or complex)។ សមាសជាតុផ្សំជាក់លាក់នៃចំណីបណ្តុះដែលស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ (សំដៅទៅលើកំហាប់ និងសារជាតុគីមីនៃគ្រប់សមាសជាតុផ្សំ ដែលត្រូវបានបន្ថែម) ត្រូវបានគេស្គាល់។ ចំណីបណ្តុះប្រភេទនេះ មានសារសំខាន់ណាស់នៅពេលសិក្សាពីដំណើរការមេតាបូលីសនៃមីក្រូសរីរាង្គជាក់លាក់មួយ។ នៅក្នុងចំណីបណ្តុះដែលមិនស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ សមាសជាតុផ្សំជាក់លាក់នៃជាតុផ្សំទាំងអស់ មិនត្រូវបានគេស្គាល់ទេ។ ចំណីបណ្តុះដែលមិនស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ ត្រូវបានផលិតចេញពីសារជាតុចម្រាញ់នៃផលិតផលធម្មជាតិ ដូចជាសាច់គោ ឈាម ប្រូតេអ៊ីន (ប្រូតេអ៊ីនទឹកដោះគោ) យីស និងសណ្តែកសៀង។ ចំណីបណ្តុះដែលស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ មានលក្ខណៈស្មុគស្មាញក្នុងការរៀបចំ និងមានតម្លៃថ្លៃ ពីព្រោះពួកវាត្រូវការពពួកអំបិលអសរីរាង្គដែលបានបន្សុទ្ធយ៉ាងល្អ និងពួកសមាសជាតុសរីរាង្គសាមញ្ញជាច្រើន។ ផ្ទុយទៅវិញ ចំណីបណ្តុះដែលមិនស្គាល់សមាសជាតុផ្សំ មានភាពងាយស្រួលជាងក្នុងការរៀបចំ និងមានចំណាយតិចជាង ។ ពួកវាអាចទ្រទ្រង់តែនៃមីក្រូសរីរាង្គភាគច្រើនដែលលូតលាស់យ៉ាងរហ័សប៉ុណ្ណោះ។

ប្រភេទបីផ្សេងទៀតនៃចំណីបណ្តុះដែលត្រូវបានប្រើជាញឹកញាប់មាន ចំណីបណ្តុះ selective, differential, និង enrichment។

ប្រសិនបើ វាចាំបាច់ដើម្បីញែកតែសរីរាង្គមួយប្រភេទចេញពីល្បាយនៃមីក្រូសរីរាង្គ នោះ ចំណីបណ្តុះ selective គួរតែត្រូវបានគេប្រើ ។ ចំណីបណ្តុះ selective ត្រូវបានគេបង្កើតឡើងដើម្បីអនុញ្ញាតឲ្យបាក់តេរីមួយចំនួនលូតលាស់ និងការពារការលូតលាស់នៃបាក់តេរីដែលមិនចង់បាន។ លក្ខណៈនេះអនុគ្រោះដល់ការញែកនៃបាក់តេរីដែលជាក់លាក់ បើសូម្បីតែពួកវាមានចំនួនតិចនៅក្នុងសំណាក ដែលផ្ទុកទៅដោយបាក់តេរីផ្សេងៗគ្នាជាច្រើនក៏ដោយ។

ចំណីបណ្តុះ differential ផ្ទុកនូវសារធាតុគីមី ដែលជម្រុញដល់ការលូតលាស់នៃបាក់តេរីដែលចង់បាន។ បាក់តេរីផ្សេងទៀត នឹងលូតលាស់ តែការលូតលាស់នៃបាក់តេរីដែលចង់បាន នឹងមានភាពប្រសើរជាង។ នៅក្នុងការអនុវត្ត លក្ខខណ្ឌនេះ នឹងបង្កើតបានបាក់តេរីដែលចង់បានក្នុងចំនួនមួយច្រើនជាងគេ ដែលធ្វើឲ្យពួកវាងាយស្រួលជាងក្នុងការញែក។

ប្រសិនបើចំណីបណ្តុះដែលរឹង ត្រូវចាំបាច់យកមកប្រើ នោះសារធាតុចម្រាញ់ពីសារាយក្រហមដែលហៅថា agar ជាធម្មតាត្រូវបានគេបន្ថែមទៅក្នុងចំណីបណ្តុះ។ agar ជាកាបូនអ៊ីដ្រាតដែលស្មុគស្មាញមួយប្រភេទ ដែលមិនងាយត្រូវបានបំបែកក្រោមអំពើរបស់បាក់តេរីភាគច្រើន។ សីតុណ្ហភាព ១០០^{0}C (រំពុះ) ត្រូវបានគេប្រើដើម្បីរំលាយ agar ឬធ្វើឲ្យវារលាយទៅក្នុងសូលុយស្យុង។ នៅពេលដែលagar ត្រូវបានទុកឲ្យចុះត្រជាក់ដល់ក្នុងចន្លោះពី ៤៤ ទៅ ៤៥ ^{0}C វានឹងក្លាយជារឹង និងនៅតែមានសភាពរឹង នៅក្នុងបណ្តាលក្ខខណ្ឌសីតុណ្ហភាពបណ្តុះបាក់តេរីភាគច្រើន។

៩.២ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ១៖ ប្រភពនៃកាបូន អាសូត និងថាមពល

តម្រូវការសារធាតុចិញ្ចឹមរបស់មីក្រូសរីរាង្គភាគច្រើន ប្រហែលជាសមស្របជាមួយសូលុយស្យុងអំបិលរ៉ែសាមញ្ញៗ ដែលមានបន្ថែមបណ្តាសមាសធាតុសរីរាង្គ (គ្លុយកូស ឡាក់តូស ។ល។)។ ល្បាយប្រភេទនេះនៃសូលុយស្យុងអំបិល និងសមាសធាតុសរីរាង្គ ផ្តល់ជាប្រភពកាបូន អាសូត និងប្រភពថាមពលដែលចាំបាច់សម្រាប់ការលូតលាស់របស់ពួកមីក្រូសរីរាង្គ។ ការបន្ថែមនូវសារធាតុផ្សំដែលបានពីកាបូន អាសូត និងថាមពល ជាមធ្យោបាយដែលត្រូវបានប្រើយ៉ាងញឹកញាប់បំផុតដើម្បីរៀបចំចំណីបណ្តុះ ដែលអាចបំពេញបាននូវតម្រូវការនៃការលូតលាស់របស់មីក្រូសរីរាង្គជាក់លាក់មួយ។ ចំពោះមីក្រូសរីរាង្គអេតេរ៉ូត្រូហ្វិចទាំងអស់ ប្រភពកាបូន និងប្រភពថាមពល ជាធម្មតាជាប្រភេទដែលមានម៉ូលេគុលដូចគ្នា។ សារធាតុសរីរាង្គ ឬបណ្តាសារធាតុដែលមានក្នុងចំណីបណ្តុះ ផ្តល់ទាំងប្រភពកាបូនដែលបង្កើតបានជាគ្រោងនៃការសំយោគកោសិកា និងថាមពលដែលត្រូវការសម្រាប់គ្រប់ដំណើរការមេតាបូលីសកោសិកាទាំងអស់។ ប្រភពអាសូត ជានិច្ចកាលប្រហែលជាត្រូវបានប្រើ ក្រៅពីប្រភពកាបូន និងថាមពល ដែលវាមានទម្រង់អសរីរាង្គ (ដែលមាន NH_4^+ , NO_3^-)។ មីក្រូសរីរាង្គមួយចំនួន ត្រូវការអាសូតក្នុងទម្រង់សរីរាង្គសម្រាប់ការលូតលាស់ (ជាឧទាហរណ៍ អាស៊ីតអាមីនេ)។ នៅក្នុងឧទាហរណ៍នេះដែរ សមាសធាតុដូចគ្នា ប្រហែលជាផ្តល់ជាប្រភពមួយនៃកាបូន និងថាមពល។

ចំណាំ៖ ចំណីបណ្តុះដែលផ្ទុកអំបិលអតិបរមាដែលប្រើក្នុងលំហាត់នេះ ជាប្រភពអាសូតតែមួយ (NH_4^+)។ គ្មានប្រភពខាងក្រៅនៃកាបូនណា ត្រូវបានគេបញ្ចូលទៅក្នុងចំណីបណ្តុះ។ ប្រសិនបើបាក់តេរី ត្រូវតែលូតលាស់នៅលើចំណីបណ្តុះប្រភេទនេះ វាត្រូវតែសំយោគគ្រប់សារធាតុ ដែលចាំបាច់

សម្រាប់ការលូតលាស់នៃកោសិកា តែលើកលែងអាសូតចេញ។ នៅក្នុងចំណីបណ្តុះផ្សេងដែលប្រើក្នុងលំហាត់នេះ ប្រភពមួយនៃអាសូត ក៏ដូចជាប្រភពមួយនៃកាបូនក្នុងទម្រង់ជាគ្លុយកូស ឡាក់តូស ឬអាមីដុង ត្រូវបានគេប្រើ។ បាក់តេរីដែលអាចប្រើប្រាស់ម៉ូលេគុលសរីរាង្គនៃអាសូតបាន នឹងអាចលូតលាស់បាននៅក្នុងចំណីនេះ។ មីក្រូសរីរាង្គទាំងនោះ ដែលត្រូវការប្រភពកំផ្លិចៗនៃកាបូន និងអាសូត នឹងលូតលាស់នៅក្នុងតែចំណីដែលមានផ្ទុកសារធាតុចម្រាញ់ពីយីស (yeast extract) ឬពួកប៉ិបតូន (peptones) (ប្រូតេអ៊ីនដែលត្រូវបានបំបែកដោយផ្នែក)។

៩.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយៈ

- ចាហួយបណ្តុះមួយចាន (១៥ក្រាមនៃម្សៅចាហួយបន្សុទ្ធលាយជាមួយ ១០០០ មីលីលីត្រទឹកបិត ដែល pH ៧.០) (A)
- ចាហួយបណ្តុះមានផ្ទុកអំបិលអតិបរមាមួយចាន (១.០ ក្រាមនៃ $NH_4H_2PO_4$,០.៥ ក្រាមនៃ K_2HPO_4, ៥.០ ក្រាមនៃ NaCl, និង ០.២ ក្រាមនៃ $MgSO_4.7H_2O$ ដែលមាន pH ៧.០) (MS)
- ចាហួយបណ្តុះមានផ្ទុកអំបិលអតិបរមាមួយចាន ផ្សំជាមួយ ០.៥% នៃគ្លុយកូស (MSG)
- ចាហួយបណ្តុះមានផ្ទុកអំបិលអតិបរមាមួយចានផ្សំជាមួយ ០.៥% នៃឡាក់តូស (MSL)
- ចាហួយបណ្តុះមានផ្ទុកអំបិលអតិបរមាមួយចាន ផ្សំជាមួយ ០.៥% នៃដិចទ្រីន (អាមីដុង) (MSD)
- ចាហួយបណ្តុះមានផ្ទុកអំបិលអតិបរមាមួយចាន ផ្សំជាមួយ ០.៥% គ្លុយកូស ១%នៃសារធាតុចម្រាញ់ពីយីស ០.៥% នៃប៉ិបតូន (MSGYP)
- ទីបចំណីបណ្តុះរាវដែលផ្ទុក *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa,* និង *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes*

៩.២.២ ដំណើរការពិសោធ

ចំណីបណ្តុះសំយោគគោល ដែលត្រូវបានប្រើក្នុងលំហាត់បច្ចុប្បន្ន ប្រហែលជាត្រូវបានបន្ថែមជាមួយប្រភពអាសូត និងកាបូនផ្សេងៗគ្នា ដើម្បីកេឲ្យឃើញនូវលទ្ធភាពរបស់មីក្រូសរីរាង្គមួយក្នុងការប្រើប្រាស់សមាសធាតុទាំងនោះ។ បច្ចេកទេសទាំងនេះ ជាជំនួយដែលមានសារៈសំខាន់ខ្លាំងសម្រាប់ការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្ម និងការធ្វើចំណាត់ថ្នាក់ របស់មីក្រូសរីរាង្គជាច្រើន។

១. ចែកចានដែលមានផ្ទុកចំណីបណ្តុះនីមួយៗជាបួនភាគស្មើៗគ្នា។ ចាក់ចម្លងមេរោគបញ្ចូលទៅលើចំណែកនីមួយៗនៃចានទាំងអស់ ដោយប្រើតែមួយលូបនៃមេរោគដែលត្រូវបានផ្តល់ឲ្យ។

២. ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ ^{0}C រហូតដល់ការវិភាគលើកក្រោយ។

៩.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ១

តារាង ៩.២ កំណត់វត្តមាន ឬអវត្តមានរបស់ប្រភេទមេរោគផ្សេងៗគ្នាទាំងបួន

	A	MS	MSG	MSL	MSD	MSGYP
E. coli						
P. aeruginosa						
S. aureus						
S. pyogenes						

១. តើបាក់តេរីណាខ្លះ អាចប្រើប្រាស់ប្រភពអាសូតអសរីរាង្គបាន? តើបាក់តេរីណាខ្លះអាចប្រើប្រាស់ប្រភពអាសូតសរីរាង្គបាន? តើអ្វីខ្លះជាប្រភពអាសូតអសរីរាង្គ? តើអ្វីខ្លះជាប្រភពអាសូតសរីរាង្គ?

___

___

___

២. តើប្រភេទកាបូនអ៊ីដ្រាតណាខ្លះ ដែលមេរោគនីមួយៗបានប្រើប្រាស់? តើកាបូនអ៊ីដ្រាតទាំងនេះ បានដើរតួនាទីជាអ្វីនៅក្នុងឧទាហរណ៍នីមួយៗ?

___

___

___

៣. តើម្សៅចាហួយមានមុខងារអ្វីក្នុងនាមជាសារធាតុចិញ្ចឹមមួយ?

___

___

___

៤. តើសារធាតុចម្រាញ់នៃយីស និងប៉ិបតូន ផ្តល់ជាសារធាតុរ៉ែអ្វីខ្លះ?

___

___

___

៩.៣ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ២៖ ចំណីបណ្តុះប្រភេទជ្រើសរើស (*selective media*)

ការបន្ថែមសារធាតុគីមីជាក់លាក់ទៅក្នុងចំណីបណ្តុះ ជាមធ្យោបាយមួយដែលពិតជាមានសារសំខាន់ណាស់ សម្រាប់បង្អាក់ក្រុមមីក្រូសរីរាង្គជាក់លាក់មួយចំនួន និងផ្តល់ជាលក្ខខណ្ឌសមស្របសម្រាប់ក្រុមផ្សេង។ ចំណីបណ្តុះប្រភេទ selective ពិសេសទាំងនេះ ជួយសម្រួលដល់ការញែក ហើយជួនកាល ជួយសម្រួលដល់ការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មនៃមេរោគ ដែលស្ថិតក្នុងពូជលាយឡំគ្នា (mixed cultures)។ ត្រង់កំហាប់ដ៏សមស្របនៅក្នុងចំណីបណ្តុះ សារធាតុបង្អាក់ប្រភេទជម្រើស ពិតជាមិន

ពុល (nontoxic) ចំពោះមេរោគដែលយើងកំពុងវិភាគរកនោះទេ ខណៈដែលបង្អាក់ការលូតលាស់ (bacteriostatic) ឬសម្លាប់ (bacteriocidal) មេរោគដែលនៅលាយឡំ ដោយប្រើប្រាស់នូវសមាសធាតុបង្អាក់ប្រភេទជម្រើសខុសៗគ្នា។ ចំណីបណ្តុះត្រូវបានគេបង្កើតឡើងសម្រាប់ការញែកនៃបាក់តេរីបង្កជំងឺ និងមិនបង្កជំងឺសំខាន់ៗជាច្រើន ដែលអាចកើតមាន។ ចំណីបណ្តុះបែប selective ដែលជាក់លាក់ ថែមទាំងមានភាពខុសគ្នាតាំងពីធម្មជាតិនៃសារធាតុផ្សំ។ ជាឧទាហរណ៍ Eosin-methylene blue (EMB), phenylethyl alcohol or MacConkey agar ជាប្រភេទចំណីបណ្តុះបែប selective ដែលវាបង្អាក់ពួកបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន ដូចនេះវាខុសពីគេផងដែរ ដោយសារវាធ្វើឲ្យគេកំណត់បានភាពខុសគ្នាដ៏សំខាន់មួយរបស់ពួកបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមានដែលបង្កើតកូឡូនីឡើង។ លំហាត់នេះ បង្ហាញពីសកម្មភាពជម្រើសនៃ crystal violet និង phenylethyl alcohol ។

៩.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ទីបចំណីបណ្តុះរាវ៤ ដែលមានផ្ទុករួចជាស្រេចនូវមេរោគ៤ប្រភេទផ្សេងគ្នា ដូចជាបាក់តេរី *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* និង *Escherichia coli*
- ចានបណ្តុះផ្ទុក nutrient agar ចំនួនបី ដែលផ្ទុកកម្រិតពង្រាវបីផ្សេងគ្នានៃ crystal violet រួមមាន ១/១០ ០០០; ១/១០០ ០០០; ១/៥០០ ០០០
- ចានបណ្តុះផ្ទុក nutrient agar ចំនួនបី ដែលផ្ទុកកម្រិតពង្រាវបីផ្សេងគ្នានៃ phenylethyl alcohol រួមមាន ១/១០០; ១/៣០០; ១/៥០០
- ចានបណ្តុះផ្ទុក nutrient agar ចំនួនមួយ (control)

៩.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ចែកចាននីមួយៗនៃចានបណ្តុះផ្ទុក nutrient agar ទាំងបី ដែលផ្ទុកកម្រិតពង្រាវផ្សេងគ្នានៃ crystal violet ទៅជាបួនភាគ ដោយគូសសម្គាល់នៅបាតចាននីមួយៗ។
២. សរសេរឈ្មោះមេរោគមួយៗត្រង់ផ្នែកនីមួយៗនៃចានទាំងបីខាងលើ។
៣. ឆូតមួយលូបនៃមេរោគនីមួយៗ ទៅលើផ្នែកនីមួយៗ ដែលសមស្របសម្រាប់ចានបណ្តុះទាំង បី។
៤. អនុវត្តនូវដំណើរការពិសោធទាំងបីខាងលើនេះម្តងទៀតដោយប្រើចានបណ្តុះបីដែលផ្ទុកកម្រិតពង្រាវ phenylethyl alcohol ជំនួសឲ្យកម្រិតពង្រាវ crystal violet ម្តងវិញ។
៥. អនុវត្តនូវដំណើរការពិសោធទី ៤ ម្តងទៀតដោយឆូតមេរោគនីមួយៗក្នុងចំនោមមេរោគទាំងបួន ទៅលើចានដែលផ្ទុក nutrient agar។
៦. ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C រហូតដល់ការពិសោធន៍លើកក្រោយ។

៩.៣.៣ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២

១. បន្ទាប់ពីភ្ញាស់រួច វិភាគចានបណ្តុះបច្ច័យត្រួតពិនិត្យ (control plate) (ដែលផ្ទុកតែ nutrient agar) និងដាក់ពិន្ទុនៃការលូតលាស់ថា ពិន្ទុ៤⁺ នៃការលូតលាស់ ។ កត់ត្រាការអង្កេតតាមដាន និងលទ្ធផលរបស់អ្នក ទៅក្នុងក្រដាសរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ ។

២. ដាក់ពិន្ទុឲ្យចាននីមួយៗដែលផ្ទុក crystal violet និងចាននីមួយៗដែលផ្ទុក phenylethyl alcohol ថា ៤⁺, ៣⁺, ២⁺, ១⁺ ឬ NG (គ្មានការលូតលាស់) (no growth) និងកត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកទៅក្នុងតារាងដែលផ្តល់ឲ្យនៅក្នុងក្រដាសរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ ។

៩.៣.៤ របាយការណ៍មន្ទីពិសោធន៍ លំហាត់ ៩ ផ្នែក ២

១. ចូរបំពេញវត្តមានបាក់តេរីទាំង៤ប្រភេទក្នុងតាងខាងក្រោម ក្រោយការពិសោធ

តារាង ៩.៣ ឥទ្ធិពលកម្រិត Crystal Violet និង Phenylethyl Alcohol លើវត្តមានបាក់តេរី៤ប្រភេទ

Crystal Violet (បង្អាក់ពួកក្រាមវិជ្ជមាន)				
មេរោគ/ ក្រាម (+ និង-)	១/១០ ០០០	១/១០០ ០០០	១/៥០០ ០០០	0
B. subtilis +				
S. aureus +				
P. aeruginosa -				
E. coli -				
Phenylethyl Alcohol (បង្អាក់ពួកក្រាមអវិជ្ជមាន)				
មេរោគ/ ក្រាមមេរោគ	១/១០០	១/៣០០	១/៩០០	0
B. subtilis +				
S. aureus +				
P. aeruginosa -				
E. coli -				

២. តើសារធាតុណាខ្លះ បង្អាក់បាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន? តើកំហាប់មួយណាដែលបង្អាក់បានល្អជាងគេ? ហេតុអ្វីបានជាបាក់តេរីក្រាម អវិជ្ជមាន ត្រូវបានបង្អាក់? ហេតុអ្វីបានជាបាក់តេរីក្រាម អវិជ្ជមាន មិនត្រូវបានបង្អាក់?

____

____

____

៣. តើសារធាតុណាខ្លះ បង្អាក់បាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន? តើមានកំហាប់មួយនៃសារធាតុបង្អាក់ដែលដំណើរការបានយ៉ាងល្អបំផុតសម្រាប់គ្រប់មេរោគដែលត្រូវយកមកវាយតម្លៃដែរឬទេ? តើអ្នកគិតថាមានវាប្រសិទ្ធភាពដូចគ្នាទៅលើបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមានដទៃទៀតដែរឬទេ? អាចសួរគ្រូបង្រៀនអ្នក ថាតើអ្នកអាចសាកល្បងជាមួយបាក់តេរីផ្សេងទៀត និងវាយតម្លៃពួកវាដោយប្រើប្រព័ន្ធសំណួរខាងលើ ។

____

____

____

____

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

លំហាត់ ១០៖ លក្ខណៈពិសេសៗនៃការលូតលាស់របស់បាក់តេរី និង ផ្សិត

១០.១ សេចក្តីផ្តើម

នៅក្នុងពួកអឺការីយ៉ូត លក្ខណៈពិសេសនៃរចនាសម្ព័ន្ធ គឺមានទំហំធំគ្រប់គ្រាន់ដើម្បីប្រើក្នុងការពិពណ៌នា ធ្វើចំណែកថ្នាក់ និងបែងចែកភាពខុសគ្នា ក្នុងចំនោមមីក្រូសរីរាង្គផ្សេងៗគ្នានៃក្រុមនេះ។ ពួកប្រូការីយ៉ូត ទំហំដ៏តូចខ្លាំងរបស់ពួកវា ធ្វើឲ្យមានភាពលំបាកខ្លាំងក្នុងការវិភាគលក្ខណៈពិសេសៗនៃរចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់ (morphological features)។ ប៉ុន្តែនៅក្នុងលំហាត់នេះ អ្នកនឹងវិភាគមីក្រូសរីរាង្គទាំងពីរប្រភេទ មិនត្រឹមតែផ្សិត (fungi) (ដែលជាសរីរាង្គអឺការីយ៉ូត)ទេ តែថែមទាំងបាក់តេរី (ដែលជាសរីរាង្គប្រូការីយ៉ូត)ផងដែរ។ អ្នកនឹងមានលទ្ធភាពអង្កេតតាមដានលក្ខណៈពិសេសមួយចំនួននៃលក្ខណៈពិសេសដែលអាចញែកបានយ៉ាងងាយ ដែលពួកវាកើតមានកំឡុងពេលលូតលាស់ទាំងរបស់ផ្សិត និងបាក់តេរី ដោយការវិភាគដែលប្រើមីក្រូទស្សន៍កម្រិតពង្រីកតូច។

ផ្សិត (fugi) បញ្ជាក់ពីលក្ខណៈពិសេសដ៏ច្រើនសន្ធឹកសន្ធាប់នៃរចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់ ព្រមទាំងលក្ខណៈកាន់តែស្មុគស្មាញនៃវដ្តជីវិតរបស់ផ្សិត (fungus)។ ក្រៅពីនេះផ្សិតមាន លក្ខណៈ ប្លែកៗគ្នានៃការតម្រៀបរបស់ស្ពរពិសេសៗ បណ្តាប្រភេទពហុកោសិកា និងរចនាសម្ព័ន្ធ ដែលអ្នកនឹងឃើញនៅក្នុងវា។ ផ្សិតត្រូវបានគេបែបចែកជាពីក្រុម គឺផ្សិតឯកកោសិកា ដែលពាក្យអង់គ្លេសហៅថា Yeast និងផ្សិតពហុកោសិកា ដែលមានពពួកផ្សិតសសៃ។

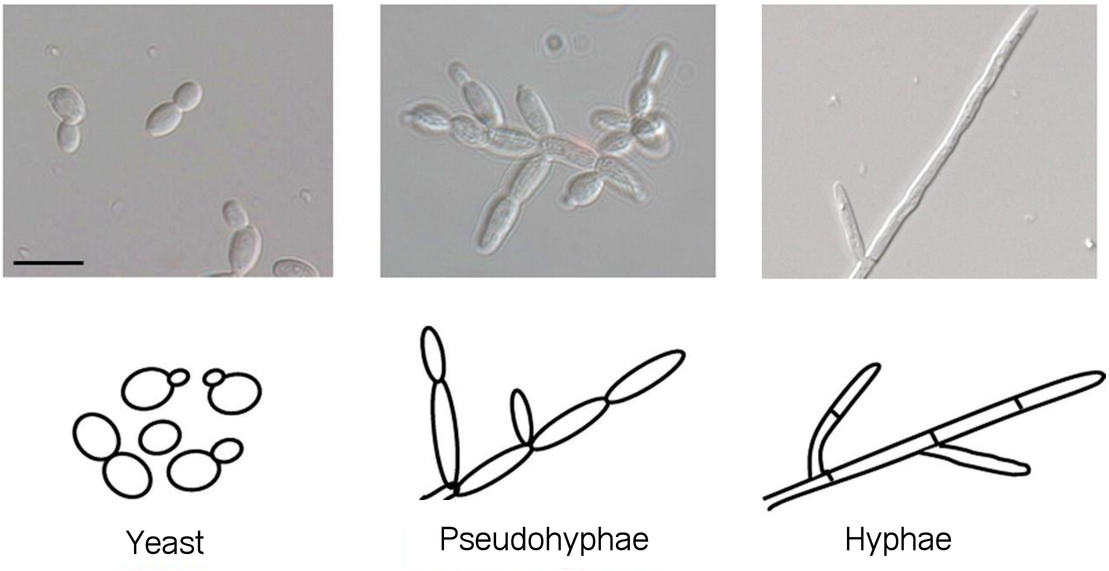
១០.២ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ១៖ លក្ខណៈពិសេសនៃផ្សិត *(Features of the Fungi)*

ផ្សិតវិវត្តលក្ខណៈរបស់ខ្លួនយ៉ាងរហ័ស កាលណាត្រូវបានគេផ្តល់ឲ្យនូវលក្ខខណ្ឌសំរាប់លូតលាស់ដែលសមប្រកប ។ ស្ពរមួយ ឬសរសៃដ៏ធ្មារមួយនៃផ្សិត គឺមានលក្ខណៈគ្រប់គ្រាន់ដើម្បីចាប់ផ្តើមការលូតលាស់នៃផ្សិតថ្មីមួយ ។ ជាធម្មតា ការលូតលាស់ ចាប់ផ្តើមជាមួយនឹងទម្រង់នៃសរសៃដ៏តូចមួយដូចពេលដែលស្ពរចាប់ផ្តើមដុះ ឬបំណែកកោសិកា ដុះចេញមកក្រៅ។ សរសៃនេះ បែកសាខាយ៉ាងលឿននៅពេលដែលវារីកធំ ហើយបន្ទាប់មក សរសៃសាខាទាំងនេះ បែកសាខាក្នុងទិសដៅផ្សេងៗគ្នា។ សរសៃទាំងនេះ ត្រូវបានគេហៅថាជា "hyphae" (ឯកវចនៈ hypha) ហើយប្រព័ន្ធត្របាញ់ជាប់គ្នាដែលបែកសាខាច្រើនរបស់hyphae ដែលនឹងកើតឆាប់ៗ ត្រូវបានគេហៅថាជា "mycelium"។ ជាធម្មតានៅពេលនោះ កូឡូនីផ្សិត ជា mycelium ហើយផ្សិត ដែលជាធម្មតាមានទម្រង់ជា mycelium ច្បាស់មួយ ត្រូវបានគេហៅថា " molds " ។ ការវិភាគ mycelium នេះ ជាដំណោះស្រាយដ៏ល្អមួយដើម្បីទទួលបានព័ត៌មានដែលមានសារប្រយោជន៍។ លក្ខណៈពិសេសមួយចំនួនក្នុងចំនោមលក្ខណៈពិសេសសំខាន់ៗជាងមុននៃការលូតលាស់របស់ផ្សិត គឺទាក់ទងនឹងវត្តមាននៃជញ្ជាំងខ្វែង (cross walls) នៅក្នុង hyphae ប្រភេទនៃពួកស្ពរដែលត្រូវបានបង្កើតឡើង និងរចនាសម្ព័ន្ធរបស់ hyphae ឯកទេសដែលជាប់ជាមួយពួកស្ពរ អង្កត់ផ្ចិតរបស់hyphae និងវត្តមាននៃរចនាសម្ព័ន្ធឯកទេសផ្សេងៗទៀត។

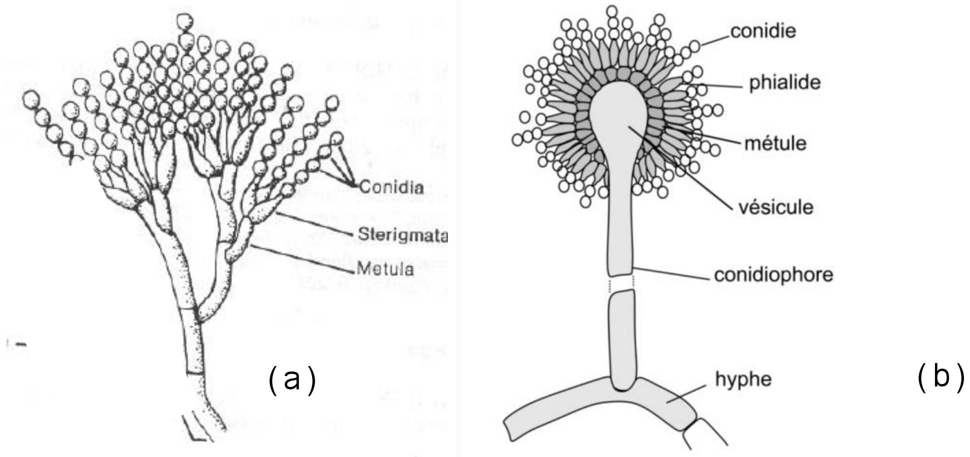
១០.២.១ សម្ភារ:

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយ៖

- ចានបណ្តុះដែលមាន potato dextrose agar (PDA) និងផ្ទុកនូវផ្សិត *Rhizopus nigricans* និង *Aspergillus fischeri*
- ស្កុតដែលរួសនឹងសម្ពាធ (pressure-sensitive tape)
- ចំណីបណ្តុះឈ្មោះ lactophenol cotton blue mounting medium



រូបភាព ១០.១ ប្រភេទ hyphae ដែលមានដែបញ្ជោត (pseudohyphae) នៃយីសមួយចំនួន



រូបភាព ១០.២ ស្ពរនៃផ្សិតដែលសំយោគដោយឥតភេទ (conidia) នៃ Deuteromycetes ។ (a) ស្ពរនៃផ្សិតនៅក្នុងទម្រង់ប្រវាក់របស់អម្បូរ Penicillium នៅលើ hyphae បែកមែកសាខា ដែលបង្កើតដោយ conidia(branching conidiophores) ។ (b) ស្ពរនៃផ្សិតដែលសំយោគដោយឥតភេទនៃទម្រង់ប្រវាក់របស់ Aspergillus នៅលើ conidiophore ដែលមានទម្រង់ដូចផែនដី ។

១០.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. វិភាគរូបរាងដែលអាចឃើញដោយភ្នែកទទេនៃពូជផ្សិតនីមួយៗ។ ធ្វើការអង្កេត បំណែកមួយនៃ mycelium ដែលស្អិតជាប់ចាហួយបណ្តុះនេះ។ ទាំងនេះ ជា hyphae ក្នុងទម្រង់លូតលាស់ (vegetative hyphae) ដោយសារម៉ូល (mold) ស្រូបយកសារធាតុចិញ្ចឹម ហើយត្រូវបានចាក់ឫសទៅនឹងចំណីបណ្តុះ។ បំណែក hyphae ដែលគួរឲ្យកាន់តែទាក់ទាញ ដែលដុះចេញមកក្រៅ និងជាញឹកញាប់បង្កើតស្ព័រ គឺជា hyphae ខ្យល់។ សរសេរការពិពណ៌នារបស់អ្នកបង្ហាញពីរូបរាងទាំងមូលនៃពូជនីមួយៗ នៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

២. កំណត់លក្ខណៈពិសេសនៃការលូតលាស់របស់ម៉ូលនំប៉ុងធម្មតា ដែលជា *Rhizopus nigricans* ដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍។ ត្រូវអង្កេតមើលមុនដំបូងឲ្យឃើញថា ផ្សិតនេះ មិនត្រឹមតែដុះពេញផ្ទៃចាហួយទេ តែថែមទាំងមាន បំណែក hyphae ដែលជាប់នឹងផ្នែកផ្សេងៗ និងគម្របខាងក្នុងរបស់ចានបណ្តុះ។ ធម្មជាតិដ៏ចម្លែកនៃ hyphae ក្នុងទម្រង់លូតលាស់នៃអម្បូរ*Rhizopus* នេះ មានតួនាទីចាំបាច់សម្រាប់ការរីកដុះដាលដ៏រហ័សនៃកូឡូនី និងភាពស្អិតជាប់នៃ mycelium ទៅលើផ្ទៃចាហួយ ។ នៅក្នុងអម្បូរនេះ ពួក hyphae ក្នុងទម្រង់លូតលាស់ទាំងនេះ ត្រូវបានគេហៅថា "rhizoids"។ លក្ខណៈលម្អិតនៃរចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់របស់ *R. nigricans* អាចត្រូវបានគេអង្កេតមើលយ៉ាងល្អបំផុត ដោយការវិភាគនៃផ្សិតលូតលាស់ដែលជាប់នៅផ្ទៃខាងក្នុងនៃគម្របចានបណ្តុះ។ យកគម្របចានបណ្តុះចេញនិងវិភាគផ្ទៃខាងក្នុងដោយប្រើលែនមីក្រូទស្សន៍ ដែលមានកម្រិតពង្រីកតូច។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់ពួក rhizoids ដែលនៅជាប់កញ្ចក់ និង hyphae ខ្យល់ ឬ stolon ដែលជាប់នឹង rhizoids ដែលនៅក្បែរ និងទង ដែលអាចបន្តពូជបាន (fertile hyphal stalk) ឬ " sporangiophore " ដែលមានក្បាលដែលផលិតស្ព័រ មានពណ៌ខ្មៅ ព្រមទាំងបានពន្លូតខ្លួន (enlarged, black, spore-forming head) (sporangium) នៅចុងរបស់វា។ នៅក្នុងរបាយការណ៍ របស់អ្នកត្រូវគូររូបតំណាងឲ្យរចនាសម្ព័ន្ធនៃ *R. nigricans* ដែលឃើញក្នុងមីក្រូទស្សន៍ដោយប្រុងប្រយ័ត្ននិងសរសេរបញ្ជាក់ឈ្មោះផ្នែកនីមួយៗឲ្យបានគ្រប់។

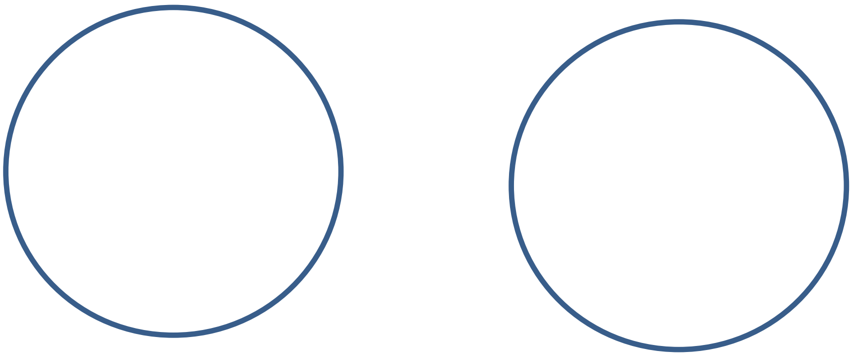
៣. ដកគម្របចេញថ្មមៗ និងពិនិត្យផ្សិត *Aspergillus fischeri*។ សិក្សាពីការលូតលាស់ដែលមាននៅលើផ្ទៃចាហួយ ដោយប្រើកម្រិតពង្រីកតូចនៃមីក្រូទស្សន៍ស្តេរអូទស្សន៍។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់ពួក hyphae ខ្យល់ដែលញែកកោសិកាចេញពីផ្សិត (septate aerial hyphae) និងទងដែលបង្កើតស្ព័រនៅក្នុងអ័ក្សឈរ (upright spore-bearing stalk)។ ទងក្នុងករណីនេះ ត្រូវបានគេហៅថាជា "conidiophore" ពីព្រោះតែពួកស្ព័រ ដែលជាប់នៅពីក្រៅទម្រង់ជាច្រវាក់ខ្លីៗ ជុំវិញផ្ទៃទាំងមូលរបស់ចុងដែលបានពន្លូតខ្លួនបន្តិច គេហៅថា " conidia"។ ពិនិត្យទៅផ្នែកខាងក្រោមនៃទងនេះ ដែលជាស្រទាប់ mycelium និងរកមើលពួកវត្ថុដែលមានពណ៌លឿង មូលតូចៗ។ ទាំងនេះ ជាលទ្ធផលនៃពួកសរសៃ hyphae ដែលបានបម្លែង

ខ្លួន ដែលព័ទ្ធជុំវិញពួកអាសកូស្ព័រភេទ (sexual ascospores) ដែលបន្ទាប់មកបង្កើតបាន ជាបណ្តុំនៃកោសិកាពីរនៅក្នុង mycelium។ ពួកអាសកូស្ព័ររួមជាមួយនឹងគម្របការពារពួកវា បង្កើតបានជារចនា សម្ព័ន្ធទាំងនេះ ដែលផ្នែកនីមួយៗនៃរចនាសម្ព័ន្ធ ត្រូវបានគេហៅថា " perithecium"។

៤. យកស្កុតទៅបិទលើផ្សិត (pressure-tape mounts) ដើម្បីវិភាគមើល mycelium នៃផ្សិតនីមួយៗ។ កាត់ស្កុតមួយចំណែកតូចចេញ ឲ្យបានប្រវែងប្រហែល២ សង់ទោះម៉ែត្រ។ បិទស្កុតជាប់ចុងមេដៃ និងចុងចង្អុលដៃ ដោយឲ្យផ្ទៃដែលស្អិតចេញក្រៅ និងឲ្យម្រាមដៃប៉ះស្កុតតិចបំផុតតាមដែលអាចធ្វើទៅបាន។ ឥឡូវ ជ្រើសរើសយកបំណែកមួយនៃផ្នែកដែលលូតលាស់ក្បែរជាយកូឡូនី ប៉ុន្តែរើសយកផ្សិតដែលពេញវ័យទាំងស្រុងដោយមានផ្ទុកស្ព័រ និងពណ៌។ សង្កត់ផ្នែកដែលកោងដែលនៅកណ្តាលនៃស្កុតចុះក្រោមថ្នមៗទៅលើកូឡូនី។ បន្ទាប់មកផ្ទេរស្កុតនេះទៅដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់វិភាគ ដោយឲ្យផ្នែកកណ្តាលនេះ ដាក់លើដំណក់ lactophenol cotton blue ចំនួន ២លូប ដែលបានដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់កាលរួចហើយ។ បិតចុងទាំងពីរនៃស្កុតទៅលើបន្ទះកញ្ចក់ និងវិភាគវត្ថុធាតុដែលជាប់នឹងស្កុលុយស្បុងនោះ។

១០.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ១

១. គូរនិងសរសេរឈ្មោះគ្រប់ផ្នែកនៃផ្សិត។ ប្រៀបធៀបការអង្កេតរបស់អ្នកជាមួយក្រាហ្វិចគម្រូ។



២. តើលក្ខណៈពិសេសអ្វីខ្លះដែលផ្សិតមានដូចគ្នា? តើលក្ខណៈពិសេសមួយណា ដែលធ្វើឲ្យពួកវាខុសពីគ្នា?

___

___

___

៣. តើអ្នកបានឃើញផ្សិតទាំងនេះនៅត្រង់ណានៃផ្ទះរបស់អ្នក?

___

___

១០.៣ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ២៖ លក្ខណៈពិសេសៗរបស់បាក់តេរីពេលបណ្តុះ

គោលបំណងនៃផ្នែកនេះរបស់លំហាត់នេះ គឺដើម្បីបង្ហាញពី ប្រភេទផ្សេងៗគ្នាជានៃលក្ខណៈពិសេសពេលបណ្តុះ ដើម្បីជាជំនួយក្នុងការកំណត់លក្ខណៈ (characterization) និងធ្វើចំណាត់ថ្នាក់ (classification) នៃបាក់តេរីសាមញ្ញៗ ដោយអវត្តមានរចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់កោសិកាខុសគ្នាដែលមានសារប្រយោជន៍។ ក្រោមលក្ខខណ្ឌឯកសណ្ឋានភាព លក្ខណៈពិសេសៗដែលយើងប្រើដើម្បីជាជំនួយក្នុងការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្ម មានស្ថេរភាពគួរឲ្យកត់សម្គាល់ បើទោះបីជា ជាធម្មតាត្រូវបានជ្រើសរើសតាមតែអំពើចិត្ត និងមានគុណភាពតែបន្តិចបន្តួចក៏ដោយ ក៏លក្ខណៈពិសេសទាំងនេះ មានសារប្រយោជន៍សម្រាប់ការពិសោធធំធេងណាស់។

កូឡូនី ដែលបង្កើតនៅលើចំណីបណ្តុះរឹង មានលក្ខណៈប្លែក និងគួរឲ្យកត់សម្គាល់ច្រើន ។ កូឡូនីនេះ ជាលទ្ធផលនៃការលូតលាស់ខាងក្រៅរបស់កោសិកា ឬស្តរតែមួយគត់ ដែលប្រហែលជាបានដុះលូតលាស់ចេញពីក្រុមតូចៗនៃកោសិកា និងប្រហែលជាកើតមាននៅលើផ្ទៃ ឬផ្នែកខាងក្នុងនៃពពួកកូឡូនីដែលជាប់នឹងចំណីបណ្តុះនោះ។ បាក់តេរីភាគច្រើន មើលទៅដូចគ្នា ដូចនេះ លក្ខណៈរូបរាងនៃកូឡូនីដែលដុះពីក្នុងរបស់ពួកវា មានទំនាក់ទំនងគ្នា ប៉ុន្តែកូឡូនីដែលនៅលើផ្ទៃចាហួយ មានវត្តមានដ៏ច្រើននៃលក្ខណៈពិសេសរបស់រចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់។ លក្ខណៈពិសេសដែលឃើញដោយភ្នែកទទេមួយចំនួនទៀត ត្រូវបានប្រើយ៉ាងញឹកញាប់ណាស់សម្រាប់ធ្វើកំណត់សម្គាល់ទៅលើលក្ខណៈពិសេស២នៃការលូតលាស់របស់ពពួកបាក់តេរីពូជសុទ្ធនៅលើ agar slants ដែលជាលក្ខណៈពិសេសនៃធ្នូតនៅលើចាហួយ។ agar slant ត្រូវបានគេចាក់ចម្លងមេរោគបញ្ចូលទៅក្នុងដោយប្រើធ្នូតដ៏ត្រង់តែមួយនៃលួប ដែលមានជាប់បាក់តេរី។ តាមវិធីនេះ នៅពេលដែលបាក់តេរីលូតលាស់ វានឹងបង្កើត ទម្រង់ផ្សេងៗគ្នានៃលើ agar slant។ បន្ទាប់ពីភ្ញាស់រួច ទីបទាំងនេះ ត្រូវបានគេវិភាគបន្ត ហើយប្រភេទនៃការលូតលាស់នៅក្នុងagar slant ត្រូវបានគេកត់ត្រាទុក។ បាក់តេរីមួយចំនួន ដុះរាលដាល ដោយគ្របដណ្តប់លើផ្ទៃទាំងមូលនៃ agar slant ជាមួយការលូតលាស់ដែលខ្លាំង ឬខ្សោយ (heavy or light growth)។ បាក់តេរីផ្សេងទៀត អាចនឹងដុះជាកូឡូនីតូចៗ ភ្លឺ ខណៈដែលបាក់តេរីខ្លះទៀត អាចនឹងដុះក្នុងទម្រង់ជាមែកៗនៃដើមឈើ ដែលជះពន្លឺចេញពីធ្នូតដែលបានចាក់ចម្លងមេរោគ។ បន្ថែមពីលើនេះ ជាតិពណ៌ប្រហែលជាត្រូវបានវាយតម្លៃនៅក្នុងពេលជាមួយគ្នានេះផងដែរ ។លក្ខណៈនៃការលូតលាស់ និងជាតិពណ៌នៅលើ slant នៃពូជនីមួយៗ ប្រហែលជាត្រូវបានប្រើដើម្បីជាជំនួយក្នុងការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មពួកសរីរាង្គដែលមិនស្គាល់។ ស្រដៀងគ្នានេះដែរ អ្នកពិសោធន៍ ប្រហែលជាអង្កេតទៅលើលក្ខណៈពិសេសដែលមានសារប្រយោជន៍បន្ថែមនៃការលូតលាស់តាមរយៈ stab culture។ stab នេះ ត្រូវបានចាក់ចម្លង ដោយចាក់លួបចូលទៅក្នុងទីបដែលមិនទាន់បាន slant (unslanted tube) នៃចំណីបណ្តុះដែលរឹង។ ប្រភេទផ្សេងៗនៃចំណីបណ្តុះរឹង ប្រហែលជាត្រូវបានគេប្រើ ប៉ុន្តែ stabs នៅក្នុងចំណីបណ្តុះដែលមានប្រូតេអ៊ីន និងជែឡាទីន (gelatin) មានលក្ខណៈសាមញ្ញ ដោយសារតែបែបបទដែលculture មានប្រតិកម្មនៅក្នុង gelatin stab ជាធម្មតាត្រូវបានប្រើដើម្បីកំណត់លក្ខណៈបាក់តេរីដែលជាចំណាប់អារម្មណ៍ផ្នែកវេជ្ជសាស្ត្រ។ stab cultures នៅលើចំណីបណ្តុះផ្សេងៗគ្នា ផ្តល់ជាការវាយតម្លៃមិនជាក់លាក់នៃតម្រូវការអុកស៊ីសែន ដូចនេះការលូតលាស់ដែលមានតែនៅផ្នែកខាងលើនៃ

ចាហួយ ជាពូជបាក់តេរីដែលត្រូវការខ្យល់។ របាយនៃការលូតលាស់នៅក្នុងចំណីបណ្ដុះរាវ ដែលមានលក្ខណៈពិសេសជា broth (broth features) ប្រហែលជាអ្វីដែលផ្ដល់ព័ត៌មានដ៏មានសារសំខាន់ជាច្រើនដល់អ្នកពិសោធន៍។ ការលូតលាស់ ប្រហែលជាអាចមើលឃើញក្នុងទម្រង់ជា a) បន្ទះផ្ទៃ ឬស្បែកស្ដើង (surface mat or pellicle) b) កករល្អក់ដែលមានលក្ខណៈជាឯកសណ្ឋានភាពនៅក្នុងចំណីបណ្ដុះ c) ក្នុងទម្រង់ជាកករម្សៅសើម។

១០.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖

- ទីបចំណីបណ្ដុះរាវដែលផ្ទុក *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli,*និង *Pseudomonas fluorescens*
- ចានបណ្ដុះ៤ដែលមាន nutrient agar
- slants ចំនួន៤ទីបដែលមាន nutrient agar
- លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លង
- ចំហេះបិញស៊ិន

១០.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ធ្វើការឆូតគ្រប់មេរោគទាំងអស់ទៅលើចានបណ្ដុះ nutrient agar។

២. ភ្ញាស់រាល់ *Pseudomonas fluorescens* ទាំងអស់នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់។ ដាក់ភ្ញាស់ប្រភេទមេរោគឯទៀតៗនៅសីតុណ្ហភាព៣៧ ^{0}C។

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

ធ្វើការអង្កេតតាមដានរាល់មេរោគដែលដុះទាំងអស់ និងកត់ត្រាការអង្កេតរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

១០.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១០ ផ្នែក ២

១. វិភាគកូឡូនីដែលដុះលើផ្ទៃចាហួយ នៃចានបណ្ដុះ។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់ទៅលើលក្ខណៈមួយចំនួនខាងក្រោម និងកត់ត្រា៖

- ទំហំ៖ អង្កត់ផ្ចិតដែលធំជាងគេគិតជាមីលីម៉ែត្រ
- ទម្រង់៖ រាងមូល មិនទៀងទាត់ មានសរសៃឆ្មារៗ rhizoid
- នីវ៉ូ៖ រាបស្មើ ប៉ោង កោង (ដោយប៉ោងចេញមកក្រៅ)
- លក្ខណៈអុបទិច៖ ភ្លឺ (មានចំណាំងពន្លឺពីផ្ទៃសើម) ឬស្រអាប់ មិនអាចឲ្យពន្លឺឆ្លងកាត់បាន ឬអាចឲ្យពន្លឺឆ្លងកាត់បានខ្លះ
- ផ្ទៃ៖ រលោង មានធ្នូត គ្រើម

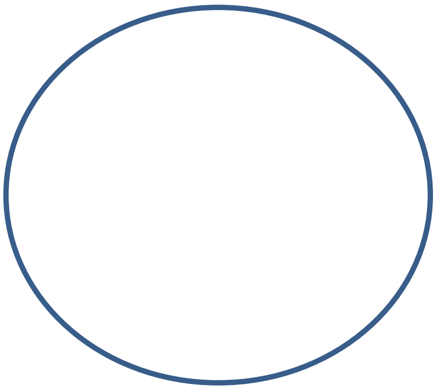
- ជាតិពណ៌៖ ពណ៌កូឡូនី ពណ៌ចំណីបណ្តុះ ប្រសិនបើមានការផ្លាស់ប្តូរដោយសារបាក់តេរីលូតលាស់
- ធម្មជាតិផ្ទៃករូបសាស្ត្រ៖ មានសភាពស្លេក ងាយខូចទ្រង់ទ្រាយ ស្អិត (ដែលចេញរូបរាងជាខ្សែៗ) ងាយដាច់ចេញពីផ្ទៃចាហួយ ឬផ្គុំគ្នាយ៉ាងមាំនៅលើផ្ទៃចាហួយ។

____

____

____

២. គូររូបតំណាងជាយនៃកូឡូនីដូចបានឃើញ ពេលប្រើលែនកែវពង្រីកមីក្រូទស្សន៍ដែលមានកម្រិតពង្រីកតូច។ ពិពណ៌នាពីជាយរបស់កូឡូនីថាតើវាមានរាងពេញលេញ រាងជាកំពូក រាងស្រួចធ្មេញ មានរាងអង្កាញ់ ឬដូចទឹករលក។



____

____

____

៣. វិភាគ agar slants ដោយប្រុងប្រយ័ត្នឲ្យខ្លាំង ត្រូវកំណត់ចំណាំប្រភេទនៃការលូតលាស់។ ប្រើប្រាស់លែនមីក្រូទស្សន៍ក្នុងកម្រិតពង្រីកតូច ដើម្បីវិភាគការលូតលាស់ឲ្យកាន់តែបានច្បាស់។ ពិពណ៌នាពីគម្រូនៃការលូតលាស់ ដែលត្រូវអង្កេតទៅលើការបែកសាខា លក្ខណៈជាគ្រាប់តូចភ្លឺ ជាដើម។ ប្រើប្រាស់ពាក្យពេជន៍ផ្ទាល់ខ្លួនរបស់អ្នកដើម្បីពិពណ៌នាពីការលូតលាស់ដែលបានឃើញ។ ពិភាក្សាទៅលើរាល់ប្រភេទនៃការដុះលូតលាស់ទាំងអស់ជាមួយដៃគូដែលមន្ទីរពិសោធន៍ជាមួយអ្នក ។

____

____

____

____

លំហាត់ ១១៖ ឥទ្ធិពលនៃបរិស្ថាននៅលើមីក្រូសរីរាង្គ

១១.១ សេចក្តីផ្តើម

បរិស្ថាននៃមីក្រូសរីរាង្គ មានកត្តាជាច្រើនដែលស្មុគស្មាញ ។ កត្តាទាំងនេះ មានអន្តរអំពើនៅក្នុងបែបបទដែលគួរឲ្យស្មុគស្មាញជាច្រើន ដែលជានិច្ចកាលពិបាកក្នុងការស្វែងយល់ និងគ្រប់គ្រង។ ប្រសិនបើកត្តាទាំងនេះ អាចត្រូវបានគេកំណត់អត្តសញ្ញាណបានច្បាស់ នោះបន្ទាប់មក យើងអាចស្វែងយល់ ឬចាប់ផ្តើមស្វែងយល់ពីរបៀបដែលសរីរាង្គមួយនៅរស់នៅក្នុងបរិស្ថានជាក់លាក់របស់វា។ បន្ថែមពីលើនេះ យើងអាចធ្វើការញែកមីក្រូសរីរាង្គនោះបានកាន់តែងាយ។ កត្តាបរិស្ថានសំខាន់មួយចំនួនមានការផ្តល់ចំណី សីតុណ្ហភាព អាស៊ីត និងការផ្តល់អុកស៊ីសែន។ កត្តាផ្សេងៗទៀតដូចជាតង់ស្យុងផ្ទៃ កម្រិតកាបូនឌីអុកស៊ីត និងអន្តរអំពើជីវសាស្ត្រ ជាជាតុផ្សំបន្ថែមដ៏ស្មុគស្មាញរបស់មីក្រូសរីរាង្គ។

១១.២ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ១៖ អុកស៊ីសែន *(Oxygen)*

វត្តមាន និងបរិមាណនៃអុកស៊ីសែន ដែលរលាយនៅក្នុងបរិស្ថានរបស់មីក្រុប ជាកត្តាកំណត់មួយអំពីថាតើប្រភេទបាក់តេរីជាក់លាក់ហ្នឹង អាចវិវត្តខ្លួនទាំងស្រុងដែរ ឬទេ ហើយប្រសិនបើ ពួកវាអាចវិវត្តខ្លួន ថាតើវាវិវត្តដោយរបៀបណា។ ទម្រង់ទាំងនោះ ដែលត្រូវបានគេស្គាល់ថាជាពួកមេរោគត្រូវការខ្យល់ដោយបង្ខំ (obligate aerobes) លូតលាស់តែពេលមានវត្តមាននៃអុកស៊ីសែនរលាយ និងប្រើប្រាស់អុកស៊ីសែននៅក្នុងដំណើរការដំណកដង្ហើមរបស់ពួកវា។ បាក់តេរីជាច្រើន និងផ្សិតភាគច្រើន ជាប្រភេទដែលត្រូវការខ្យល់ដោយបង្ខំ។ ក្រៅពីនេះ មានពួកមេរោគដែលមិនត្រូវការខ្យល់ដោយបង្ខំ (obligate aerobes) ដែលមិនប្រើប្រាស់អុកស៊ីសែនដែលមាន សម្រាប់ដំណើរការដំណកដង្ហើមរបស់ពួកវាទេ (aerotolerant anaerobes) ឬត្រូវបានបង្អាក់ដោយបរិមាណដ៏តិចតួចនៃអុកស៊ីសែនដែលរលាយ។ ប្រភេទបាក់តេរីដែលជាក់លាក់ ជាផ្នែកមួយនៃក្រុមមិនត្រូវការខ្យល់ជាកំហិតនេះ។ ភាពពុលនៃអុកស៊ីសែនចំពោះបាក់តេរីទាំងនេះ គឺដោយសារតែការប្រមូលផ្តុំនៃអ៊ីដ្រូសែនពែអុកស៊ីត និងកង្វះខាតនៃអង់ស៊ីម catalase ដែលបង្អាក់សកម្មភាពអ៊ីដ្រូសែនពែអុកស៊ីត។ វត្តមាននៃ catalase អាច និងត្រូវបានប្រើជាការធ្វើតែស្តមួយនៅក្នុងការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មនៃបាក់តេរីមួយចំនួន។ catalase ត្រូវបានគេវិភាគរកវត្តមានដោយងាយ ដោយការបន្ថែមអ៊ីដ្រូសែនពែអុកស៊ីតទៅលើកូឡូនីបាក់តេរីតែមួយប៉ុណ្ណោះ។ ប្រសិនបើ catalase ត្រូវបានបាក់តេរីបង្កើតឡើង នោះកូឡូនីនឹងចេញពពុះ ដែលបញ្ជាក់ថាអុកស៊ីសែន កំពុងត្រូវបានរំដោះចេញមកក្រៅ។ បាក់តេរីជាច្រើន និងផ្សិតតិចតួចណាស់ (ដូចជាឃីសមួយចំនួន) អាចដុះលូតលាស់ក្រោមលក្ខខណ្ឌគ្មានខ្យល់ ឬគ្មានខ្យល់ ហើយអាចផ្លាស់ប្តូរដំណើរការមេតាបូលីសទាំងនេះក្នុងលក្ខខណ្ឌសមប្រកប។ ទម្រង់ទាំងនេះ ជាពួកមេរោគដែលត្រូវការខ្យល់ក៏បាន មិនត្រូវការខ្យល់ក៏បាន (facultative anaerobes) ហើយពួកវា លូតលាស់ទាំងពេលមានវត្តមាន ឬពេលអវត្តមានអុកស៊ីសែនរលាយ។ ភាពខុសគ្នាទាំងនេះដោយសារតែអុកស៊ីសែនដែលជាកត្តាបរិស្ថាន ត្រូវបានគេកំណត់សម្គាល់យ៉ាងងាយនៅក្នុងការសិក្សានៃការបណ្តុះពូជសុទ្ធ។

១១.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់មន្ទីរពិសោធន៍៖

- បរិក្ខារសម្រាប់ភ្ញាស់មេរោគដោយមិនត្រូវការខ្យល់

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ទីបដែលផ្ទុកនូវ *Clostridium sporogenes* នៅក្នុងចំណីបណ្ដុះសាច់ចិញ្ច្រាំ (chopped meat medium)
- ទីប slant ដែលផ្ទុកនូវ *E. coli, Alcaligenes faecalis* ឬ *Pseudomonas aeruginosa Enterococcus faecalis*
- ចានបណ្ដុះពីរដែលផ្ទុក brain heart infusion (BHI)
- សូលុយស្យុងអ៊ីដ្រូសែនពែអុកស៊ីត កំហាប់ ៣%
- ទីបចំនួន៤ ដែលផ្ទុកចំណីរាវ thioglycollate (thioglycollate broth)
- លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ

១១.២.២ ដំណើរការពិសោធ

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖

១. សរសេរចំណាំទីបទាំង៤ ដែលផ្ទុកចំណីរាវ thioglycollate។ ហាមគ្រវីទីប។ ផ្ទេរ *Enterococcus* ចំនួន១លួបដោយមិនឲ្យចម្លងចូលនូវមេរោគដែលមិនចង់បាន ដាក់ទៅក្នុងទីបមួយដែលសមស្រប។ ធ្វើដូចគ្នាសម្រាប់បាក់តេរី *Clostridium, E. coli* និង *Alcaligenes* ឬ *Pseudomonas*។

២. ដាក់ភ្ញាស់មេរោគទាំងអស់ក្នុងទីបនេះ នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C រហូតដល់ពិសោធន៍លើកក្រោយ។

៣. ប្រើហ្វឺត បែងចែកចានបណ្ដុះ BHI នីមួយៗទៅជា ៤ ផ្នែក ដោយគូរគំនូសនៅបាតចាន។ សរសេរនៅបាតចានមួយជាមេរោគត្រូវការខ្យល់ និងមួយទៀតជាមេរោគមិនត្រូវការខ្យល់។

៤. យកមេរោគនីមួយៗមកឆូតជាបន្ទាត់រាងទឹករលកតែមួយប៉ុណ្ណោះ។ មួយផ្នែកក្នុងចំណោមផ្នែកទាំង៤នៃចានបណ្ដុះ នឹងត្រូវបានចាក់ចម្លងចូលនូវមេរោគមួយប្រភេទ។ ត្រូវប្រាកដថាបានសរសេរឈ្មោះមេរោគដែលបានចាក់ចម្លងនៅត្រង់ផ្នែកនោះ។

៥. ដាក់ភ្ញាស់ចានបណ្ដុះដែលផ្ទុកមេរោគត្រូវការខ្យល់ (ដោយឲ្យផ្នែកដែលមានចាហួយផ្កាប់ចុះក្រោម) នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C រហូតដល់ពិសោធន៍លើកក្រោយ។ ដាក់ចានបណ្ដុះដែលផ្ទុកមេរោគមិនត្រូវការខ្យល់ (ដោយឲ្យផ្នែកដែលមានចាហួយផ្កាប់ចុះក្រោម) ទៅក្នុងធុងគ្មានអុកស៊ីសែន ដូចបានបង្ហាញដោយគ្រូបង្រៀនអ្នក។ ធុងគ្មានអុកស៊ីសែននេះ នឹងត្រូវបានទុកនៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ ^{0}C រហូតដល់ពិសោធន៍លើកក្រោយ។

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

៦. វិភាគការលូតលាស់របស់មេរោគ ដែលមានលើចានបណ្តុះដោយប្រុងប្រយ័ត្ន (ទាំងមេរោគត្រូវការ និងមិនត្រូវការខ្យល់)។ កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

៧. អនុវត្តតេស្ត catalase ដោយបន្ថែមសូលុយស្យុងអ៊ីដ្រូសែនពែអុកស៊ីតកំហាប់ ៣% ចំនួន ១ ដំណក់ទៅលើចានបណ្តុះផ្ទុក BHI ។ តេស្ត catalase ដែលវិជ្ជមាន បង្កើតបានជាពពុះ ដែលប្រហែលជាត្រូវបានឃើញពពុះសតូចៗ។ កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

៨. បន្ទាប់មក វិភាគវត្តមាននៃការដុះលូតលាស់របស់មេរោគនៅគ្រប់ទីបទាំងអស់។ ប្រសិនបើមានវត្តមាននៃការដុះលូតលាស់មេរោគ ពួកវានឹងលេចចេញជាពណ៌ស្រអាប់ដូចពពក។ កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

១១.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ១

១. ចូរបំពេញវត្តមាន និងលក្ខខណ្ឌក្រោយការពិសោធក្នុងតារាងខាងក្រោម

តារាង ១១.១ បំពេញលទ្ធផលនៃការតេស្តបាក់តេរី៤ប្រភេទ លើលក្ខខណ្ឌផ្សេងៗ

មីក្រូសរីរាង្គ	លក្ខខណ្ឌមានខ្យល់		លក្ខខណ្ឌគ្មានខ្យល់		ការលូតលាស់នៅក្នុង Thioglycollate
	ការលូតលាស់	Catalase	ការលូតលាស់	Catalase	
Alcaligenes					
Clostridium					
E. coli					
Entercoccus					

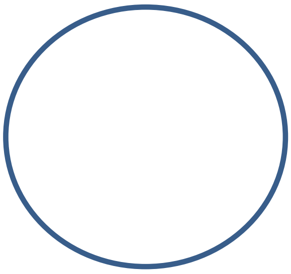
២. តើមេរោគណាខ្លះ ជាប្រភេទមេរោគ ដែលរស់នៅក្នុងមជ្ឈដ្ឋានមានខ្យល់ក៏បាន មិនមានខ្យល់ក៏បាន (facultative anaerobes)? តើមេរោគណាខ្លះ ជាប្រភេទមិនត្រូវការខ្យល់ដោយបង្ខំ (obligate anaerobes)? តើមេរោគណាខ្លះ ជាប្រភេទត្រូវការខ្យល់ដោយបង្ខំ (obligate aerobes)? តើមានវត្តមានបាក់តេរីដែលមិនត្រូវការខ្យល់ ហើយធន់នឹងខ្យល់ (aerotolerant anaerobes) ដែរ ឬទេ? តើអ្នកបកស្រាយដោយរបៀបណា?

____

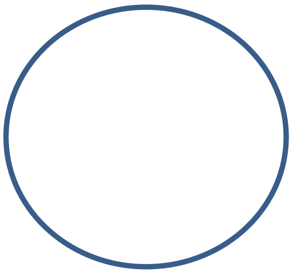
____

____

៣. គូររូបតំណាងឲ្យការលូតលាស់នៃមេរោគនៅលើចាន និងក្នុងទីប។ ចានបណ្តុះដែលផ្ទុក BHI ទីបដាក់ចំណីរាវប្រភេទ Thioglycollate



ត្រូវការខ្យល់



មិនត្រូវការខ្យល់

តារាង ១១.២ លទ្ធផលនៃការលូតលាស់ក្រុមផ្សេងគ្នានៃបាក់តេរីយោងទៅតាមសីតុណ្ហភាព

ថ្នាក់	លក្ខណៈ	កន្លែងរស់នៅធម្មតា
Psychrophiles (psychrotrophs)	ដុះលូតលាស់បានល្អបំផុតក្រោម ៥ °C	
Obligate psychrophiles	មិនអាចដុះលូតលាស់បាននៅ ឬលើ ២០ °C ទេ	ទឹកសមុទ្រត្រជាក់
Facultative psychrophiles	អាចដុះលូតលាស់បាននៅលើ ២០ °C	ដី និងទឹក
Mesophiles	ដុះលូតលាស់ល្អបំផុតនៅសីតុណ្ហភាពក្តៅល្មម ប្រហែល ៣៧ °C	សត្វ
Thermophiles	ដុះលូតលាស់លើ ៥០ °C	
Facultative thermophiles	អាចដុះលូតលាស់បាននៅក្រោម ៣៨ °C	ដី
Stenothermophiles	មិនអាចដុះលូតលាស់បាននៅក្រោម ៣៧ °C	កំប៉ុស
Extreme thermophiles	ដុះលូតលាស់បាននៅលើ ៨០ °C (ខ្លះដុះលូតលាស់លើ ១០០ °C)	អាងទឹកក្តៅធម្មជាតិ

១១.៣ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ២៖ សីតុណ្ហភាព

សីតុណ្ហភាពជះឥទ្ធិពលទៅលើអត្រានៃការលូតលាស់ និងការបង្កើតរចនាសម្ព័ន្ធ រួមនឹងទម្រង់របស់បាក់តេរី ហើយនិងលក្ខណៈពិសេសនៃការដុះលូតលាស់ផ្សេងទៀតជាច្រើននៃពួកមីក្រូសរីរាង្គ ។ នៅក្រោមសីតុណ្ហភាពដែលសមស្របបំផុត អត្រានៃការដុះលូតលាស់ត្រូវបានថយចុះ ដូចនេះ ចំពោះមីក្រូសរីរាង្គជាច្រើន នៅកម្រិតសីតុណ្ហភាពមួយដែលស្ថិតនៅលើសីតុណ្ហភាពសមស្របបំផុតតែបន្តិចប៉ុណ្ណោះ គឺធ្វើឲ្យកោសិកាជាច្រើន ត្រូវបានសម្លាប់ ។ មីក្រូសរីរាង្គ mesophiles ដែលជាប្រភេទមីក្រុបដែលគេប្រទះឃើញញឹកញាប់បំផុត លូតលាស់ល្អបំផុតនៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ២៥ ទៅ ៤០ °C ហើយសម្រាប់មីក្រូសរីរាង្គប្រភេទ thermophiles វិញ សីតុណ្ហភាពដុះលូតលាស់ល្អបំផុតគឺប្រហែល ៦០ °C ។ ពពួកមីក្រូសរីរាង្គបង្ករោគលើសត្វពាហនៈ ជាទូទៅ មានសីតុណ្ហភាពដុះលូតលាស់ល្អបំផុត

ស្ទើតែនៅលើសីតុណ្ហភាពដែលដុះលូតលាស់ល្អបំផុតរបស់បាក់តេរីប្រភេទ mesophiles ដែលរស់នៅជាសាប្រូហ្វីតភាគច្រើន ។

១១.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយះ

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី១៖

- ទីបចំណីបណ្តុះរាវចំនួន ៤ ផ្សេងគ្នាដែលផ្ទុក *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus stearothermophilus Pseudomonas auorescens*
- ចានបណ្តុះចំនួន ៤ ដែលផ្ទុក nutrient agar

១១.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. បែងចែកចានបណ្តុះនីមួយៗដែលផ្ទុក nutrient agar ទៅជា ៤ ផ្នែក។ សរសេរសម្គាល់ឈ្មោះមេរោគខុសគ្នាមួយៗទៅតាមផ្នែកនីមួយៗ។

២. ចាក់ចម្លងមេរោគនីមួយៗ ទៅកាន់ផ្នែកនីមួយៗ នៃចានតាមឈ្មោះ ដែលបានសរសេរពិសេសត្រូវឆូតមេរោគជាឆ្នូតផងដែរ។

២. ដាក់ភ្ញាស់ចានបណ្តុះនីមួយៗនៅសីតុណ្ហភាព ៤ ផ្សេងគ្នារួមមាន ៤ °C សីតុណ្ហភាពបន្ទប់ ៣៧ °C និង ៥៥ °C

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

៤. វិភាគចានបណ្តុះទាំងអស់ និងកត់ត្រានៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នកនូវចំនួននៃមេរោគដែលបានដុះលូតលាស់ ។ លើសពីនេះ ត្រូវកត់ត្រាលក្ខណៈរូបរាងទាំងស្រុងរបស់ពួកវាដូចជា ជាតិពណ៌ ឬទំហំកូឡូនី ដែលលេចឡើងពេលសីតុណ្ហភាពផ្សេងគ្នា ។ បន្តការភ្ញាស់ចានបណ្តុះដែលដាក់ក្នុងសីតុណ្ហភាពទាបរហូតដល់រយៈពេលប្រហែល១សប្តាហ៍។

១១.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១១ ផ្នែក ២

១. តើបាក់តេរីណាខ្លះ អាចដុះលូតលាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៥៥ °C ?

____

____

២. តើបាក់តេរីណាខ្លះ អាចដុះលូតលាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៤ °C ?

____

____

៣. តើមានបាក់តេរីមួយចំនួន ដែលអាចដុះលូតលាស់នៅគ្រប់សីតុណ្ហភាពកំណត់ទាំង ៤ នេះដែរ ឬទេ? តើមានបាក់តេរីមួយចំនួន ដែលអាចដុះលូតលាស់នៅសីតុណ្ហភាពកំណត់ ៣ ផ្សេងគ្នាដែរ ឬទេ?

___

___

___

៤. តើនៅសីតុណ្ហភាពមួយណា ដែលអ្នកបានទទួលការដុះលូតលាស់នៃបាក់តេរីក្នុងចំនួនច្រើនជាងគេ ?

___

___

___

៥. តើបាក់តេរីមួយណា មិនអាចដុះលូតលាស់នៅ ៣៧ °C ? តើអ្នកបានរំពឹងថាបាក់តេរីនេះដុះសីតុណ្ហភាពមួយណា?

___

___

___

លំហាត់ ១២៖ អង់ស៊ីមដែលធ្វើអ៊ីដ្រូលីសខាងក្រៅកោសិកា

១២.១ សេចក្តីផ្តើម

បើគ្មានអង់ស៊ីម នោះបណ្តាដំណើរការគីមីជីវ នឹងមានសភាពយឺតពេក រហូតដល់ទ្រទ្រង់ជីវិតមិនបាន។ អង់ស៊ីម ជាកាតាលីករជីវ (biocatalysts) ក្នុងទម្រង់ជាប្រូតេអ៊ីនរាងស្វ៊ែរ (globular proteins) ដែលត្រូវបានសំយោគដោយសរីរាង្គមានជីវិត និងដែលដើរតួនាទីយ៉ាងឯកទេសនៅក្នុងការពន្លឿនល្បឿនប្រតិកម្មគីមី។ មីក្រូសរីរាង្គ ត្រូវមិនត្រឹមតែសំយោគឲ្យបានគ្រប់គ្រាន់នូវរាល់ប្រភេទម៉ូលេគុលអង់ស៊ីមដែលចាំបាច់ខ្លាំង ដើម្បីគ្រប់គ្រងភាពស្មុគស្មាញខ្លាំងនៃប្រតិកម្ម ដែលចូលរួមក្នុងការលូតលាស់របស់វានោះទេ ប៉ុន្តែប៉ូលីមែរដ៏ធំទាំងនេះ ត្រូវតែបានខ្ចប់ទាំងស្រុងក្នុងបែបបទមួយដែលមិនត្រូវបានគេស្គាល់ និងតម្រៀបយ៉ាងមានរបៀបរៀបរយនៅក្នុងមាឌកំណត់ច្បាស់នៃកោសិកាមីក្រុប។ សារធាតុនៃអាហារ ត្រូវតែត្រូវបាននាំចូលទៅក្នុងកោសិកា និងត្រូវបានប្រើដើម្បីបង្កើតគ្រប់ធាតុផ្សំកោសិកាទាំងអស់ ដែលចាំបាច់សម្រាប់ការលូតលាស់ ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងពួកអង់ស៊ីមខ្លួនវាផងដែរ។ បើទោះបីជា សារជាតុនៃអាហារដែលមិនរលាយ អាចជួយផ្គត់ផ្គង់ដល់មីក្រូសរីរាង្គមួយចំនួន ក្នុងទម្រង់ជាថាមពល និងប្លង់សាងសង់ដែលចាំបាច់សម្រាប់ការសំយោគកោសិកាក៏ដោយ ប៉ុន្តែដំបូង ពួកសារជាតុទាំងនេះ ត្រូវបានរំលាយ និងជានិច្ចកាលត្រូវបានបង្រួមមាឌឲ្យកាន់តែតូច មុនពេលពួកវាចូលទៅក្នុងកោសិកា។

អង់ស៊ីមពិសេសដែលគេហៅថាជា អង់ស៊ីមធ្វើអ៊ីដ្រូលីសកោសិកាខាងក្រៅ ឬអង់ស៊ីមក្រៅ (extracellular hydrolytic enzymes or exoenzymes) បង្កើតដោយកោសិកា រួចសាយចេញមកក្រៅ និងធ្វើអ៊ីដ្រូលីស៊ុបស្រ្តាតដែលធំឲ្យទៅជាផលិតផលរលាយតូចៗ និងត្រូវបានដឹកនាំយ៉ាងសកម្មទៅកាន់កោសិកា និងវដ្តដំណើរមេតាបូលីស។ ពួកវាពិតជាមានសារសំខាន់ខ្លាំងណាស់ ដោយសារពួកវា បង្ហាញឲ្យយើងឃើញពីចលនកម្ម (mechanism) នៃការបំបែកធាតុ និងចុងក្រោយសំយោគប៉ូលីមែរដែលមានទម្ងន់ម៉ូលេគុលធំ ព្រមទាំងជាធាតុនិចលជីវសាស្រ្ត ដែលប្រព័ន្ធជីវិត បង្កើតឡើង និង/ឬរក្សាទុកក្នុងទម្រង់ជាកាកសំណល់។ ជាឧទាហរណ៍ សែលុយឡូស ដែលជាសមាសជាតុសរីរាង្គ មានច្រើនជាងគេនៅលើផែនដី នឹងក្លាយទៅជាចំណែកដែលចាំបាច់សម្រាប់ជីវិតឆាប់ៗ ក្រោមអំពើអង់ស៊ីមសែលុយឡាស ដែលធ្វើអ៊ីដ្រូលីសក្រៅកោសិកា (microbial synthesis of the extracellular hydrolytic enzyme cellulase)។

អំពើនៃអ៊ីដ្រូលីសនេះ អាចត្រូវបានគេបកស្រាយយ៉ាងងាយដោយប្រើបច្ចេកទេសធម្មតាៗ។ យើងនឹងសាកល្បងអនុវត្តបច្ចេកទេសមួយចំនួន ក្នុងចំនោមបច្ចេកទេសទាំងនេះ នៅក្នុងផ្នែកបន្ទាប់ៗនៃលំហាត់នេះ។

១២.២ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ១៖ ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសអាមីដុង

អាមីដុងប៉ូលីសាក់ការីត ជាប៉ូលីមែរមួយនៃគ្លុយកូស ដែលមានច្រើនសន្ធឹកសន្ធាប់នៅក្នុងធម្មជាតិ ដោយសារតែ វាជាទម្រង់កាបូនអ៊ីដ្រាតបម្រុងដំបូងគេ នៅក្នុងរុក្ខជាតិ ។ មីក្រូសរីរាង្គជាច្រើន ជា

ពិសេសសមាជិករបស់ផ្សិត (fungi) ផលិតអង់ស៊ីមខាងក្រៅកោសិកា ដែលអ៊ីដ្រូលីសពួកច្រវាក់វែងៗ និងពួកដៃបែកខ្នែងនៃប៉ូលីមែរនៃអាមីដុង ឲ្យទៅជាទម្រង់ងាយជាមុន។ អង់ស៊ីមធ្វើអ៊ីដ្រូលីសអាមីដុង (amylases) ផលិតនូវ ស្ករដិចទ្រីន (dextrin) (ដែលមានទម្រង់មកពីផ្នែកនៃអាមីដុង ដែលរងអ៊ីដ្រូលីសរួច) និងស្ករម៉ាល់តូស (maltose) (ឌីសាក់ការីតមួយនៃគ្លុយកូស)។ ពូជមួយនៃបាក់តេរី និងផ្សិត ផលិតអង់ស៊ីមអាមីឡាស។ លទ្ធភាពដែលអាចធ្វើអ៊ីដ្រូលីសអាមីដុង មានសារសំខាន់សម្រាប់ការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មនៃមីក្រូសរីរាង្គមួយចំនួន និងសម្រាប់ផលិតកម្មមីក្រុបជាលក្ខណៈពាណិជ្ជកម្មនៃការផលិតអាមីឡាសដុល (crude amylase preparations)។

អ៊ីយ៉ូត មានប្រតិកម្មជាមួយអាមីដុង បង្កើតបានជាម៉ូលេគុលកុំផ្លិចពណ៌ខ្មៅ ខៀវមួយ ហើយកាលណាអ៊ីយ៉ូតមានប្រតិកម្មជាមួយប្រភេទដិចទ្រីនមួយចំនួន វាបង្កើតបានជាម៉ូលេគុលកុំផ្លិច ដែលមានពណ៌ដូចស្រាក្រហម។ ម៉ាល់តូស មិនបង្កើតបានពណ៌ទេ ពេលមានប្រតិកម្មជាមួយអ៊ីយ៉ូត។ ប្រតិកម្មរបស់អ៊ីយ៉ូតទាំងនេះ ផ្តល់ឲ្យយើងនូវការធ្វើតេស្តសាមញ្ញមួយ សម្រាប់ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសអាមីដុង ដែលអាចត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ទៅលើមេរោគបណ្តុះមួយប្រភេទ ដែលដុះលូតលាស់នៅលើចំណីបណ្តុះដែលផ្ទុកអាមីដុង ។

១២.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សម្នាក់៖

- ចានបណ្តុះចំនួនមួយដែលផ្ទុកចាហួយលាយនឹងអាមីដុង (Petri dish of starch agar)
- សារធាតុពណ៌ Mordant ដែលប្រើសម្រាប់ការបន្សុីពណ៌កំណត់ក្រាមមេរោគ

១២.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. យកគម្របចានបណ្តុះចេញ និងទុកឲ្យផ្ទៃនៃចាហួយលាយនឹងអាមីដុងនេះ ប៉ះខ្យល់រយៈពេលពី ១៥ ទៅ ៣០ នាទី។

២. ដាក់ភ្ញាស់ចាននេះនៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C រយៈពេល១ យប់ បន្ទាប់មកដាក់នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ រយៈពេលពី ៤៨ ទៅ ៧២ ម៉ោង។

៣. បន្ទាប់ពីបានដាក់ចានផ្ទុកមេរោគនេះភ្ញាស់រួច ត្រូវធ្វើតេស្ត រកប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសអាមីដុង ដោយចាក់សូលុយស្យុងពណ៌ mordant ទៅក្នុងចានឲ្យលិចផ្ទៃចាហួយ។ បង្វិលចាននេះមួយជុំឲ្យលឿនដោយថ្នមៗ និងចាក់សូលុយស្យុងនេះចោលទៅក្នុងធុង ក្នុងរយៈពេល ៣០ វិនាទី។ បន្ទាប់ពី ប្រហែលជា ១០ នាទី ត្រូវវិភាគចានផ្ទុកមេរោគនេះ និងកត់សម្គាល់កូឡូនីដែលលេចចេញជាក្នុងទម្រង់ជាកន្លែងដែលគ្មានពណ៌ តែមានសភាពច្បាស់ ធៀបជាមួយនឹងផ្ទៃពណ៌ខ្មៅលាយខៀវនៃម៉ូលេគុលកុំផ្លិចរវាងអ៊ីយ៉ូត និងអាមីដុង។ នៅក្នុងករណីខ្លះ អ្នកអាចនឹងឃើញកន្លែងមួយដែលមានពណ៌ក្រហមតូច។ ការចេញពណ៌នេះ ជាអ្នកកំណត់ថាមានវត្តមានពួកដិចទ្រីន។

១២.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ១

១. កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នក ។ ពិពណ៌នាពីកន្លែងដែលរងប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីស និងកន្លែងណាខ្លះដែលចេញពណ៌ក្រហម ឬមិនចេញពណ៌ក្រហម។

____

____

____

២.ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគិតថាការផលិតអាមីឡាស មានសារប្រយោជន៍ចំពោះកោសិកាមីក្រុប?

____

____

____

៣. ហេតុអ្វីបានជាមីក្រូសរីរាង្គមួយអាចផលិតទាំង ដិចត្រង់ (dextran) និងម៉ាល់តូស? តើសារប្រយោជន៍អ្វី ដែលវាមាន?

____

____

____

១២.៣ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ២៖ ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសកាសេអ៊ីន

កាសេអ៊ីនដែលជាប្រូតេអ៊ីនទឹកដោះគោ អាចត្រូវបានប្រើប្រាស់ដោយបាក់តេរីជាក់លាក់ជាច្រើន ដែលផលិតអង់ស៊ីមប្រូតាអាសសមស្របមួយ។ បើទោះបីជា កាសេអ៊ីន ជាប៉ូលីមែរមិនរលាយដ៏ធំមួយក៏ដោយ ប៉ុន្តែសកម្មភាពនៃអង់ស៊ីមប្រូតាអាសដែលធ្វើអ៊ីដ្រូលីសកោសិកាខាងក្រៅ កាត់ផ្តាច់កាសេអ៊ីនឲ្យទៅជាបណ្តាម៉ូលេគុល ដែលកោសិកាមីក្រុប ធ្វើមេតាបូលីសបាន ។ ការបន្ទំដែលសមស្របនៃដុំទឹកដោះគោឲ្យទៅជាឈីស (cheese) ដែលមានគុណភាពល្អគ្រប់គ្រាន់អាចទទួលយកបាន អាស្រ័យយ៉ាងខ្លាំងទៅលើការសំយោគអង់ស៊ីមកាសេអ៊ីនណាសរបស់មីក្រុប (microbial synthesis of caseinase)។

១២.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយគូៗ៖

- ទីបចំនួន ៤ ដែលមានគ្លុយកូស និងផ្ទុក *Bacillus subtilis, Enterobacter aerogenes, Streptococcus liquefaciens* និង *Pseudomonas fluorescens* ព្រមទាំងបានភ្ញាស់រួចរយៈពេល ២៤ ម៉ោង

- ចានបណ្តុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុក nutrient agar លាយគ្លុយកូសព្រមទាំងមានបន្ថែម ២ ទៅ ៣ mlនៃទឹកដោះគោដកជាតិខ្លាញ់ស្ទេរីលរួច (sterile skim milk) មុនពេលធ្វើការចាក់ agar និងទុកឲ្យកករឹង
- លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ

១២.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ប្រើខ្មៅដៃក្រមួនចែកផ្នែកបាតនៃចានបណ្តុះផ្ទុក skim milk agar ឲ្យទៅជា ៤ ផ្នែក។ សរសេរឈ្មោះ ឬក៏និមិ្មតសញ្ញាដែលសមស្របដើម្បីតំណាងឲ្យមេរោគនីមួយៗ នៅត្រង់ផ្នែកនីមួយៗ ដែលបានបែងចែករួច។

២. យកបរិមាណដ៏តិចមួយនៃប្រភេទមេរោគនីមួយៗដែលត្រូវបានយកចាក់ចម្លងពីទីប (ចំនួន ១លួប ដែលត្រូវធ្វូតឲ្យបានប្រវែងប្រហែលជា ១០ មីលីម៉ែត្រប៉ុណ្ណោះ) ទៅដាក់ឲ្យចំចំណុចកណ្តាលនៃផ្នែកនីមួយៗរបស់វា។

៣. ដាក់ចានបណ្តុះដែលផ្ទុកមេរោគនេះភ្ញាស់នៅ ៣៧°C រយៈពេល ១ យប់ និងបន្ទាប់មកទុកវានៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ ចាំរហូតដល់ការពិសោធន៍លើកក្រោយ។

៤. វិភាគផ្នែកដែលអាចបង្ហាញយ៉ាងច្បាស់ ពីការលូតលាស់របស់មេរោគ ដែលត្រង់នោះបំណែកកាសេអ៊ីនដែលមានសភាពដូចការ ត្រូវបានអ៊ីដ្រូលីសឲ្យទៅជាពួកអាស៊ីតអាមីនេ និងពួកប៉ូលីប៉ិបទីតដែលរលាយក្នុងទឹក។

១២.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ២

១. កត់ត្រាលទ្ធផល ដែលប្រាប់អំពី ប្រភេទមេរោគណាខ្លះ ដែលបាន ឬមិនបានផលិតអង់ស៊ីមកាសេអ៊ីនណាស។

____

____

____

២. តើគុណវិបត្តិអ្វីខ្លះ ដែលផលិតកម្មកាសេអ៊ីនណាសមាន ?

____

____

____

១២.៤ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ៣៖ ប្រតិកម្មអ៊ីដ្រូលីសទៅលើប្រូតេអ៊ីនជែលឡាទីន

ជែលឡាទីន ជាប្រូតេអ៊ីនអាល់ប៊ុយមីនមួយប្រភេទ ដែលកើតឡើងពីកម្លាយនៃកូឡាស្សែន (collagen) ដែលកូឡាស្សែននេះ ជាប្រូតេអ៊ីនមួយប្រភេទមាននៅត្រង់ជាលិកាសរសៃភ្ជាប់។ មីក្រូសរីរាង្គមួយចំនួន ផលិតអង់ស៊ីមជែលឡាទីនណាស (proteolytic enzyme gelatinase) ដែលអាចធ្វើ

អ៊ីដ្រូលីសប្រូតេអ៊ីនដែលឡាទីន។ សកម្មភាពអង់ស៊ីមនេះ អាចត្រូវបានកើតឡើងនៅក្នុងចានត្រង់ផ្នែកបាតនៃចាហួយបណ្តុះដែលផ្ទុកនូវប្រូតេអ៊ីនដែលឡាទីន ។

១២.៤.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយគូៗ៖

- ទីបចំនួន ៤ ដែលផ្ទុកក្ដួយកូស (glucose nutrient broth cultures) ព្រមទាំងមានមេរោគ *Bacillus megaterium, Enterobacter aerogenes, Streptococcus liquefaciens,* និង *Pseudomonas fluorescens*
- ចានបណ្តុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុកចាហួយលាយប្រូតេអ៊ីនដែលឡាទីន (nutrient gelatin agar-Difco)
- បារតក្លរួដែលផ្សើមដោយអាស៊ីត (១៥ ក្រាមនៃ $HgCl_2$ និង ២០ mlនៃអាស៊ីត HCl កំហាប់ខ្ពស់លាយក្នុង ១០០ mlនៃ H_2O)

១២.៤.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ដោយប្រើខ្មៅដៃក្រមួន ចែកផ្នែកបាតនៃចានបណ្តុះ ដែលផ្ទុកចាហួយលាយប្រូតេអ៊ីនដែលឡាទីនឲ្យបាន ៤ ផ្នែក។ សរសេរឈ្មោះ (និមិត្តសញ្ញា) តំណាងឲ្យមេរោគទាំង ៤ (ឈ្មោះមេរោគមួយសម្រាប់ផ្នែកនីមួយៗ)។

២. ចាក់ចម្លងមេរោគនីមួយៗទៅលើចានបណ្តុះឲ្យចំណុចកណ្តាលនៃផ្នែកនីមួយៗ ដោយត្រូវឆូតមេរោគនេះនៅលើចាហួយឲ្យបានប្រវែងប្រមាណជា ១០ មីលីម៉ែត្រ។

៣. ដាក់ចានដែលមានមេរោគនេះភ្ញាស់នៅ ៣៧°C រយៈពេល ១ យប់ និងបន្ទាប់មកដាក់នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ ចាំរហូតដល់ការពិសោធលើកក្រោយ

៤. ចាក់សូលុយស្យុងបារតក្លរួដែលបានផ្សើមជាមួយអាស៊ីត (២ ឬ ៣ ml) ឲ្យលិចលើផ្ទៃចាហួយបណ្តុះ។ បន្ទាប់ពី ១ ទៅ ២ នាទីក្រោយមក ចាក់សូលុយស្យុងនេះចេញវិញចូលទៅក្នុងធុង។ អង្កេតតាមដានលក្ខណៈរូបរាងរបស់ចំណីបណ្តុះនេះ ត្រង់កន្លែងណាដែលមានការលូតលាស់នៃមីក្រុបម្តងហើយម្តងទៀតរហូតដល់រយៈពេល ៣០ នាទីក្រោយ។

១២.៤.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១២ ផ្នែក ៣

១. កត់ត្រាការអង្កេតតាមដានរបស់អ្នក។ រកមើល និងគូររូបតំណាងផ្ទៃមួយដែលច្បាស់ ព្រមទាំងមានផលិតកម្មអង់ស៊ីមដែលឡាទីនណាសរបស់កូឡូនីនៅជុំវិញផ្ទៃនោះ។

____

____

____

២. តើមីក្រូសរីរាង្គណា ផលិតអង់ស៊ីមដែលឡាទីនណាស?

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

____

____

____

៣. តើអ្នកគិតថាអ្វីទៅជាគុណវិបត្តិមួយនៃផលិតកម្មអង់ស៊ីម ដែលឡាទីនណាស របស់មីក្រូសរីរាង្គមួយ ?

____

____

លំហាត់ ១៣៖ ឥទ្ធិពលនៃសីតុណ្ហភាពខ្ពស់នៅលើបាក់តេរី

១៣.១ សេចក្តីផ្តើម

វិធីសាស្ត្រមួយចំនួន ត្រូវបានគេបង្កើតឡើងក្នុងការប្រើប្រាស់កម្តៅទៅលើវត្ថុមួយសម្រាប់គោលបំណងនៃការសម្លាប់មេរោគដោយកម្តៅ (sterilization)។ នៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍អតិសុខុមប្រាណ ការដុត ត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ដើម្បីសម្លាប់មេរោគដែលមានជាប់នៅលើលួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ។ វិធីសាស្ត្របែបនេះ អាចត្រូវបានប្រើប្រាស់ជាមួយវត្ថុធាតុទាំងនោះ ដែលមិនត្រូវបានបំផ្លាញដោយអណ្តាតភ្លើង ឬវត្ថុធាតុ ដែលយើងមិនប្រើប្រាស់បន្តទៅទៀតនៅពេលអនាគត ។

កម្តៅបានពីចំហាយទឹកពុះ (moist heat) មុខជាវិធីសាស្ត្រដ៏សាមញ្ញបំផុតនៃការសម្លាប់មេរោគដោយកម្តៅ។ ទម្រង់លូតលាស់នៃបាក់តេរីបង្កជំងឺ (vegetative forms of bacterial pathogens) វីរុសជាច្រើន ព្រមទាំងផ្សិត និងស្ពររបស់ពួកវា ត្រូវបានសម្លាប់ក្នុងរយៈពេល ១០ នាទីដោយកម្តៅ ១០០ °C។ វាប្រហែលជាត្រូវបានគេយកមកអនុវត្តដោយប្រើទឹកកំពុងពុះ ដូចការសម្លាប់មេរោគក្នុងការិយាល័យ ដែលវាត្រូវបានប្រើប្រាស់ក្នុងទម្រង់ជាចំហាយដែលមានលំហូរសេរី ឬវាត្រូវបានប្រើប្រាស់ក្នុងទម្រង់ជាចំហាយដែលរងសម្ពាធ ដូចការប្រើប្រាស់នៅក្នុងទូចំហុយសម្លាប់មេរោគ (autoclave)។ ទឹកកំពុងពុះ និងចំហាយដែលមានលំហូរសេរី ត្រូវបានកំណត់ដោយនីវ៉ូទឹកសមុទ្រ ដែលសីតុណ្ហភាព ១០០ °C ជាសីតុណ្ហភាពអតិបរមាដែលធ្វើឲ្យទឹកពុះ។ ការប្រើប្រាស់ចំហាយដែលរងសម្ពាធ មានសភាពក្តៅជាងចំហាយដែលមានលំហូរសេរី ដូចនេះសីតុណ្ហភាពកើនឡើង នៅពេលដែលសម្ពាធកើនឡើង។ ទូចំហុយសម្លាប់មេរោគ ជាធម្មតាត្រូវបានដំណើរការនៅចំណុចមួយដែលមានសម្ពាធ 3 kg ក្នុងមួយសង់ទីម៉ែត្រការ៉េ ដោយប្រើរយៈពេល ២០ នាទី ។ ដោយប្រើខ្យល់គ្រប់គ្រាន់សីតុណ្ហភាព ១២១ °C ប្រហែលជាត្រូវបានគេប្រើប្រាស់សម្រាប់កម្រិតសម្ពាធនេះ។

កម្តៅបានពីចំហាយទឹកពុះ មានគុណសម្បត្តិពីរបន្ថែមពីលើការប្រើប្រាស់ខ្យល់ស្ងួត។ គុណសម្បត្តិទី ១ គឺថាកម្តៅបានពីចំហាយទឹកពុះ មានកម្លាំងជម្រាបធំជាងកម្តៅស្ងួតច្រើន ។ ជាឧទាហរណ៍ ចំណុចកណ្តាលនៃកញ្ចប់បង់រុំរបួស នឹងឡើងដល់សីតុណ្ហភាព ១០០°C យ៉ាងលឿនខ្លាំងជាងកម្តៅស្ងួត កាលណាគេប្រើចំហាយដែលមានលំហូរសេរី ។ គុណសម្បត្តិទីពីរនៃកម្តៅបានពីចំហាយទឹកពុះ គឺថាវត្ថុធាតុដែលបានប្រូតេអ៊ីន ដូចជាអង់ស៊ីមនៃមីក្រូសរីរាង្គ ត្រូវបានបង្អាក់សកម្មភាពនៅសីតុណ្ហភាពទាបជាងខ្លាំង កាលណាមានវត្ថុមានទឹកចូលរួម ជាជាងពេលអវត្តមានទឹក។

កម្តៅស្ងួត ដែលត្រូវបានប្រើនៅក្នុងទូកម្តៅ (oven) ជាធម្មតាត្រូវបានប្រើប្រាស់ដើម្បីស្តេរីលវត្ថុធាតុប្រភេទដែលធ្វើពីកែវ ឧបករណ៍ និងវត្ថុធាតុផ្សេងទៀត ដែលមិនត្រូវបានបំផ្លាញទ្រង់ទ្រាយកាលណាប្រើកម្តៅនេះ។ វត្ថុធាតុដែលមិនជ្រាបទឹក ដូចជាសារធាតុស្រដៀងចាហួយថ្លា ធ្វើពីប្រេងរំអិល (petroleum jelly) ត្រូវបានស្តេរីលបានយ៉ាងល្អបំផុតនៅក្នុងទូដែលប្រើខ្យល់ក្តៅ។

គោលបំណងនៃលំហាត់នេះ គឺដើម្បីបញ្ជាក់ថា៖ (១) សីតុណ្ហភាពខ្ពស់ សម្លាប់មីក្រូសរីរាង្គ (២) កម្ដៅបានពីចំហាយទឹកពុះ មានប្រសិទ្ធិភាពជាងខ្យល់ក្ដៅនៅសីតុណ្ហភាពដូចគ្នា និង (៣) មីក្រូសរីរាង្គដែលបង្កើតស្ព័រ នៅវគ្គផលិតស្ព័រ មានភាពធន់នឹងកម្ដៅជាងមីក្រូសរីរាង្គដែលមិនបង្កើតស្ព័រ។

១៣.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ចានបណ្ដុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុកបន្ទះចម្រោះចំនួន ១៤ ដែលមានជាប់នូវក្រាមស្ងួតនៃមេរោគ *Staphylococcusaureus* ឬ *Bacillus cereus* ។ (តុពិសោធន៍មួយ នឹងប្រើសម្រាប់ *Staphylococcus* ចំណែកមួយផ្សេងទៀតសម្រាប់ *Bacillus*)
- ទីបចំនួន ១៤ ដែលទីបនីមួយៗមានផ្ទុក ៥ mlនៃចំណីបណ្ដុះរាវ
- ទីបទទេចំនួន ៥ (ប្រើជាមួយកម្ដៅស្ងួត)
- ធុងចំហុយទឹកពុះ ១០០°C ចំនួន ១
- ទូប្រើខ្យល់ក្ដៅចំនួន ១ ដែលសីតុណ្ហភាពអាចឡើងដល់ ១០០ °C

មេរោគទាំងពីរនេះ ត្រូវបានដុះលូតលាស់នៅក្នុងចំណីបណ្ដុះរាវធម្មតា (enriched broth culture medium)។ *Staphylococcus aureus* ត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់រយៈពេល ២៤ ម៉ោង ខណៈដែល Bacillus cereusត្រូវបានដាក់បណ្ដុះរយៈពេល ៩៦ ម៉ោង។ បន្ទះក្រដាសចម្រោះដែលបានស្ទេរីលរួចដែលមាននៅក្នុងកែវវែងតូចមួយ (small flask) បន្ទាប់មកត្រូវបានដាក់ឲ្យប៉ះជាមួយមេរោគទាំងពីរខាងលើ។ បន្ទះក្រដាសចម្រោះទាំងនេះ បន្ទាប់មកត្រូវបានសម្ងួតដោយបង្កក (lyophilization) (ដំណើរការមួយ ដែលការសម្ងួត ត្រូវបានត្រួតពិនិត្យដោយលក្ខខណ្ឌជាក់លាក់ ដែលអនុញ្ញាតឲ្យបាក់តេរីនៅរស់បាន)។ សំខាន់ណាស់ ដែលបន្ទះក្រដាសចម្រោះត្រូវតែមានសភាពស្ងួតទាំងស្រុង។ បន្ទះក្រដាសចម្រោះដែលស្ងួត បន្ទាប់មកត្រូវបានយកមកដាក់នៅក្នុងទីបរិភាគ។

១៣.៣ ដំណើរការពិសោធ

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖

១. កម្ដៅស្ងួត (១០០ °C)

a. បន្ថែមបន្ទះក្រដាសចម្រោះមួយ/ទីប ទៅក្នុងទីបទទេមួយក្នុងចំណោមទីបទទេទាំងអស់។ សរសេរសម្គាល់ទីបនីមួយៗដោយបញ្ជាក់ពីរយៈពេលដែលទីប ត្រូវបានដាក់ឲ្យត្រូវកម្ដៅស្ងួត។

b. ដាក់ទីបមួយដែលផ្ទុកមេរោគរបស់អ្នក (មិនថា *S. aureus* ឬ *B. cereus*) ទៅក្នុងកញ្ជ្រែងនីមួយៗនៃកញ្ជ្រែងទាំង ៧។ កញ្ជ្រែងទាំង ៧ ត្រូវបានសរសេរសម្គាល់ដោយ ១, ៣, ៥, ១០, ៣០, ៦០ និង ៩០ (រយៈពេល ៦០ និង ៩០ នាទី នឹងត្រូវបានធ្វើដោយរួចរាល់សម្រាប់អ្នក) លេខទាំងនេះ តំណាងឲ្យចំនួននាទី ដែលទីបក្នុងកញ្ជ្រែងទាំងនេះ

នឹងត្រូវបានដាក់ឲ្យត្រូវខ្យល់ក្តៅ ១០០ °C។ ទីបដែលដាក់ក្នុងកញ្រ្ចែងទាំងនេះ នឹងមិនមានដាក់អ្វី ក្រៅពីបន្ទះក្រដាសចម្រោះ ដែលស្រោបដោយបាក់តេរីខាងលើនោះទេ។

សូមចំណាំថា៖ ដើម្បីជានាអ្នកអាចកំណត់រយៈពេលបានត្រឹមត្រូវ និងដើម្បីការពារការឡើងចុះនៃសីតុណ្ហភាពទូកម្តៅដោយសារការបើកទូកម្តៅច្រើនសារ គ្រូបង្រៀនផ្នែកមន្ទីរពិសោធន៍នឹងយកកញ្រ្ចែងទៅដាក់ក្នុងទូកម្តៅ ហើយនឹងនិយាយថានេះ ជានាទីទី ០។

c. នៅរយៈពេលដែលដាក់មេរោគឲ្យត្រូវកម្តៅស្ងួត ក្រុមនីមួយៗ នឹងប្រើទីបមួយនៃមេរោគនីមួយៗ នៅពេលដែលវា ត្រូវបានដកចេញពីទូកម្តៅ ។ (**ចំណាំ៖ ទីបទាំងនេះ នឹងឡើងក្តៅ!**) ចាក់ ៥ mlនៃទីបដែលផ្ទុកចំណីបណ្តុះរាវ (nutrient broth tube) ចំនួន ១ ទៅក្នុងទីប ដែលមានដាក់បន្ទះក្រដាសចម្រោះនីមួយៗឲ្យបានលឿនតាម ដែលអាចធ្វើទៅបាន បន្ទាប់ពីដកទីបចេញពីទូកម្តៅ។

d. ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C ចាំរហូតដល់ការពិសោធន៍លើកក្រោយ។ អ្នកប្រហែលជាត្រូវការភ្ញាស់សំណាករបស់អ្នករយៈពេលមួយ ឬពីរថ្ងៃបន្ថែមទៀត ដើម្បីបញ្ជាក់ទាំងស្រុងថា ពួកមេរោគ ត្រូវបានសម្លាប់តាមពិត និងមិនមែនគ្រាន់តែរងរបួសជិតងាប់នោះទេ (sublethal injury)។

២. កម្តៅដែលប្រើចំហាយទឹកពុះ (១០០ °C)

a. បន្ថែមបន្ទះក្រដាសចម្រោះមួយ/ទីប ទៅក្នុងទីបនីមួយៗក្នុងចំណោមទីបទាំង ៦ ដែលផ្ទុកនូវ ៥ ml នៃចំណីបណ្តុះរាវ (nutrient broth)។

b. ដាក់ទីបទាំង ៦ ខាងលើនេះ ទៅក្នុងធុងចំហុយទឹកកំពុងពុះ។ បន្ទាប់ពី ១ នាទីក្រោយមកដកទីបមួយចេញពីប្រភេទមេរោគនីមួយៗ។ បញ្ចុះសីតុណ្ហភាពទីបនេះឲ្យត្រជាក់យ៉ាងលឿនដោយប្រើទឹករ៉ូប៊ីណេ រហូតដល់វាធ្លាក់ចុះមកដល់សីតុណ្ហភាពបន្ទប់។ អនុវត្តគោលការណ៍នេះដដែលៗនៅនាទីទី ៣ ទី ៥ ទី ១០ ទៅ ៣០ និងទី ៦០ ។ (ការកម្តៅនៅរយៈពេល ៦០ នាទី នឹងត្រូវបានធ្វើជាស្រេចឲ្យអ្នក)

c. សរសេររយៈពេលដែលដាក់ទីបឲ្យត្រូវកម្តៅ នៅលើទីបនីមួយៗ។

d. ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧°C ចាំរហូតដល់ការពិសោធលើកក្រោយ។

៣. នៅពេលធ្វើការត្រួតពិនិត្យភាពអាចរស់នៅបានរបស់មេរោគ (viability control) ត្រូវបន្ថែម ៥ mlនៃចំណីបណ្តុះរាវ (nutrient broth) ទៅក្នុងទីបមួយរបស់អ្នកដែលមានមេរោគខាងលើ។ សរសេរសម្គាល់ទីបនេះ និងដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C ចាំរហូតការពិសោធន៍លើក្រោយ។

ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

៤. អង្កេតរកភ័ស្តុតាងដែលបញ្ជាក់ពីការដុះលូតលាស់របស់មេរោគ នៅគ្រប់ទីបទាំង១៤។ ប្រៀបធៀបពួកវាជាមួយទីបត្រួតពិនិត្យ (control tube)។ ប្រសិនបើ ទីបលេចចេញពណ៌ស្រអាប់ (cloudy) នោះវាវិជ្ជមាន (មានការដុះលូតលាស់នៃមេរោគ)។

៥. អង្កេតរកភ័ស្តុតាងដែលបញ្ជាក់ពីការដុះលូតលាស់របស់មេរោគ ដែលអ្នកមិនបានមាន (មិនថា *Staphylococcus aureus* ឬ *Bacillus cereus* នោះទេ) នៅគ្រប់ទីបទាំង ១៤។

១៣.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៣

១. កត់ត្រាលទ្ធផលនៅក្នុងតារាងខាងក្រោម ដោយប្រើសញ្ញា (+) ដើម្បីបញ្ជាក់ថាមានការដុះលូតលាស់ និងសញ្ញា (-) ដើម្បីបញ្ជាក់ថាគ្មានការលូតលាស់ ។ ចំណាំ៖ ប្រសិនបើ អ្នកមានវិលងទម្រង់ការណាមួយ ត្រូវធ្វើការបន្ស៊ីពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមមេរោគ (Gram-stain) ដើម្បីរកឲ្យឃើញថាតើមានការចម្លងចូលពីពពួកមេរោគ ឬគ្មាន។

តារាង ១៣.៤ បំពេញលទ្ធផលនៃជំណុះបាក់តេរីតាមលក្ខខណ្ឌនៃកំដៅ

	រយៈពេលដាក់ឲ្យត្រូវកម្ដៅ គិតជានាទី							
មេរោគ	១	៣	៥	១០	៣០	៦០	៩០	Control
S. aureus (កម្ដៅស្ងួត)								
S. aureus (កម្ដៅសើម)								
B. cereus (កម្ដៅស្ងួត)								
B. cereus(កម្ដៅសើម)								

២. តើមេរោគណា ត្រូវបានសម្លាប់មុនគេ?

____

____

____

៣. តើមេរោគណា ធន់កម្ដៅជាងគេ? ហេតុអ្វី?

____

____

៤. តើដំណើរការកម្ដៅមួយណា មានឥទ្ធិពលជាងគេ ពេលប្រើរយៈពេលកម្ដៅតិចជាងគេ?

____

____

____

៥. តើនៅពេលណាដែលអ្នកអាចផ្ដល់អនុសាសន៍ឲ្យប្រើប្រាស់ការសម្លាប់មេរោគដោយប្រើកម្ដៅស្ងួត?

____

____

លំហាត់ ១៤៖ ការរាប់ចំនួនបាក់តេរី និងក្រាហ្វិចនៃការលូតលាស់

១៤.១ សេចក្តីផ្តើម

ការវាស់វែងជាលក្ខណៈបរិមាណ មានភាពចាំបាច់ណាស់ ដើម្បីអនុវត្តទៅលើការគូរក្រាហ្វិចនៃការលូតលាស់របស់មីក្រូសរីរាង្គ។ ការលូតលាស់ បង្ហាញពីកំណើនបរិមាណជាលំដាប់មួយនៃគ្រប់ផ្នែកទាំងអស់របស់កោសិកាមីក្រុប។ ការប៉ាន់ប្រមាណចំនួននៃមីក្រូសរីរាង្គ ទាមទារឲ្យមានបច្ចេកទេសពិសេសៗ ដោយសារតែចំនួនដ៏ច្រើន និងទំហំដ៏តូចនៃកោសិកានីមួយៗ។ ការកំណត់ចំនួនមីក្រុប ដែលមានវត្តមាននៅក្នុងផលិតផលផ្សេងៗគ្នា ផ្តល់ជាមធ្យោបាយដែលសមស្រប ដើម្បីវាយតម្លៃគុណភាពនៃផលិតផលទាំងនោះដូចជា ផលិតផលទឹក ទឹកដោះគោ ឬអាហារផ្សេងៗទៀត ។ វា ជួយផងដែរនៅក្នុងការវាយតម្លៃសកម្មភាពមីក្រុបនៅក្នុងដី ឬមជ្ឈដ្ឋានទាំងឡាយដែលទឹក។ បច្ចេកទេសជាច្រើន ត្រូវបានគេអភិវឌ្ឍឡើងដើម្បីសម្រេចបាននូវលទ្ធផលនេះ ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងការរាប់ចំនួនមីក្រុបដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ផ្ទាល់ (direct microscopic count) ការរាប់ចំនួនមីក្រុបសរុបលើចាន (plate counts) ឬការវាស់វែងដោយប្រើដង់ស៊ីតេអុបទិច។

១៤.២ ការរាប់ចំនួនមីក្រុបដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ផ្ទាល់ (*Direct Microscopic Counts*)

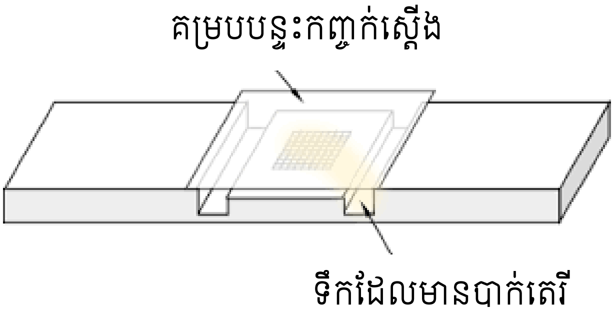
ការរាប់ទាំងនេះ ត្រូវការប្រើប្រាស់នូវឧបករណ៍រាប់ដែលឯកទេសមួយ ជាឧទាហរណ៍ ឧបករណ៍រាប់ឈ្មោះ Petroff Hauser counting chamber ដែលកោសិកាទាំងនេះ ត្រូវបានរាប់ចំនួននៅក្នុងមាឌជាក់លាក់នៃកំណកោសិការាវ និងតាមរយៈការរាប់នេះ ចំនួនកោសិកាសរុប ត្រូវបានគេគណនា។ វិធីសាស្ត្រនេះ មានភាពរហ័ស ប៉ុន្តែគុណសម្បត្តិរបស់វា គឺថាវារាប់ទាំងកោសិកាដែលនៅរស់ និងងាប់ ហើយវាមិនមានភាពរួសចំពោះមេរោគដែលមានចំនួនតិចជាង ១ លានកោសិកាក្នុង ១ mlនោះទេ (រូបភាព ១៤.១)។

១៤.៣ ការរាប់មីក្រុបទាំងអស់ដែលមាននៅលើចានបណ្តុះ (*Plate Counts*)

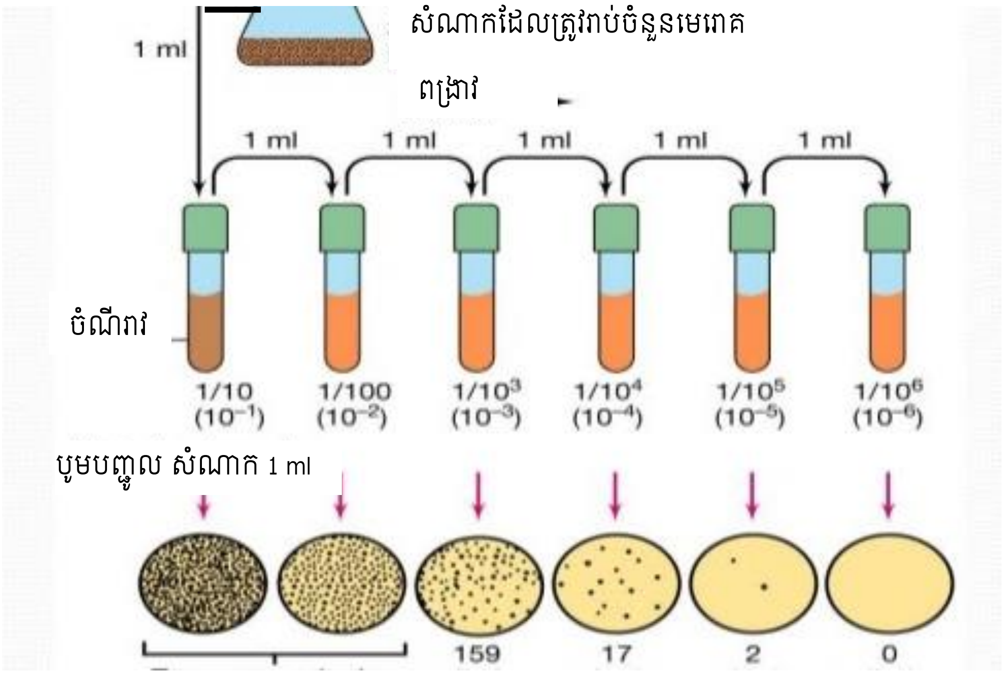
ទម្រង់ការនេះ មានមូលដ្ឋាននៅលើការសន្មត ដែលកោសិកានៅរស់នីមួយៗ នឹងបំបែកខ្លួនដើម្បីបង្កើតជាកូឡូនីដែលអាចមើលឃើញមួយ នៅពេលដែលវាត្រូវបានដាក់នៅលើមជ្ឈដ្ឋានដុះលូតលាស់ដែលសមស្របមួយ។ ចំនួននៃកូឡូនី ដែលបានបង្កើតឡើងបន្ទាប់ពីបានភ្ញាស់ក្នុងរយៈពេលដ៏សមស្របមួយ គឺជាមធ្យោយបាយមួយសម្រាប់គណនាចំនួននៃកោសិការស់ ដែលមានវត្តមាននៅក្នុងសំណាកដើម។ បច្ចេកទេសនេះ រាប់បានតែកោសិការស់ៗប៉ុណ្ណោះ ហើយវាមានភាពរួសខ្លាំង ដែលអ្នកពិសោធន៍ អាចកំណត់បានតែកោសិកាមួយចំនួនតូចក្នុង ១ mlនៃកោសិកាក្នុងចំណីរាវដើមប៉ុណ្ណោះ។ គុណវិបត្តិមួយរបស់វា គឺថាវាទាមទារពេលយូរ (១ ឬច្រើនជាងមួយថ្ងៃ)ដើម្បីកំណត់កូឡូនីដែលអាច

មើលឃើញ ហើយលទ្ធផលនោះ ប្រហែលជាប្រែប្រួលទៅតាមលក្ខខណ្ឌបរិស្ថានផ្សេងៗគ្នាដូចជា pH សីតុណ្ហភាព ចំណីបណ្តុះជាដើម។

បច្ចេកទេសរាប់កូឡូនីសរុបទូទៅ ជាបច្ចេកទេសមួយ ដែលសំណាកត្រូវបានពង្រាវ ហើយបន្ទាប់មក សំណាកពង្រាវទាំងនេះ ត្រូវបានដាក់ទៅលើចានបណ្តុះ។ ការពង្រាវសំណាកបឋម មានភាពចាំបាច់ណាស់ ពីព្រោះចំនួនមីក្រូសរីរាង្គនៅក្នុងសំណា មិនត្រូវបានគេស្គាល់ទេ។ សម្រាប់ការសិក្សាដែលមានភាពសុក្រឹត យើងចាំបាច់ធ្វើយ៉ាងណាមានលទ្ធភាពក្នុងការរាប់ចំនួនកូឡូនីសរុប ដែលស្ថិតនៅត្រង់ណាក៏ដោយនៃចានក្នុងចន្លោះពី ៣០ ទៅ ៣០០ កូឡូនីក្នុងមួយចាន ដែលបានភ្ញាស់រួច។ ចំនួននៃមីក្រូសរីរាង្គដែលមានវត្តមាននៅក្នុងសំណាកដើម ត្រូវបានគេគណនាដោយគុណចំនួននៃកូឡូនីដែលមាននៅលើចានទៅនឹងកម្រិតពង្រាវ (រូបភាព ១៤.២)។



រូបភាព ១៤.១ ការរាប់កោសិកាមេរោគសរុប ដោយប្រើឧបករណ៍រាប់ឈ្មោះ Petroff Hauser counting chamber។



រូបភាព ១៤.២ ការរាប់កោសិកាមេរោគសរុប ដោយការបណ្តុះលើចានចាហួយ

១៤.៤ ដង់ស៊ីតេពន្លឺ *(Optical Density)*

ភាពល្អក់ (turbidity) នៃកំណកោសិកា ត្រូវបានវាស់វែងដោយឧបករណ៍វាស់ពណ៌ (colorimeter) ឧបករណ៍វាស់អាំងតង់ស៊ីតេពន្លឺ (photometer) ឬឧបករណ៍វាស់អាំងតង់ស៊ីតេកាំរស្មីអេឡិចត្រូម៉ាញេទិច (spectrophotometer)។ លក្ខណៈនេះ មានមូលដ្ឋាននៅលើទម្រង់ការ ដែលបំណែកតូចៗ (ដែលជាបាក់តេរី) នឹងដាលរលកពន្លឺដែលឆ្លងកាត់តាមកំណកោសិកានេះ ដែលវាត្រូវបានវាស់វែងដោយប្រើឧបករណ៍វាស់អាំងតង់ស៊ីតេកាំរស្មីអេឡិចត្រូម៉ាញេទិច ឬឧបករណ៍វាស់អាំងតង់ស៊ីតេពន្លឺ។ បរិមាណនៃពន្លឺដែលត្រូវបានដាល ឬបែកខ្ញែកនេះ គឺសមាមាត្រទៅនឹងកំហាប់នៃ បំណែកតូចៗដែលមាននៅក្នុងកំណកោសិកា។ មុនពេលឯកតានៃភាពល្អក់ ត្រូវបានបម្លែងឲ្យទៅជាចំនួនកោសិកាសរុប នោះវាចាំបាច់ណាស់ ដែលការរាប់ចំនួនមេរោគសរុប ឬការរាប់ចំនួនមីក្រុបដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ផ្ទាល់ ត្រូវបានគេធ្វើឡើងនៅលើមេរោគកំពុងដុះលូតលាស់ដែលគេស្គាល់កម្រិតភាពល្អក់។ គុណសម្បត្តិចម្បងនៃបច្ចេកទេសនេះ គឺថាវាមានភាពងាយស្រួលក្នុងការអនុវត្ត និងមានភាពរហ័ស។ បើទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ វិធីសាស្ត្រនេះ នឹងមិនកំណត់បាននូវបរិមាណដ៏តិចនៃបាក់តេរី ហើយចំនួន ១០^{៦} កោសិកាមេរោគ/១ ml ទើបអាចធ្វើឲ្យឧបករណ៍ចាប់ផ្តើមដំណើរការវាស់នូវកម្រិតនៃភាពល្អក់បាន។

១៤.៥ បច្ចេកទេសពង្រាវ *(Dilution Technique)*

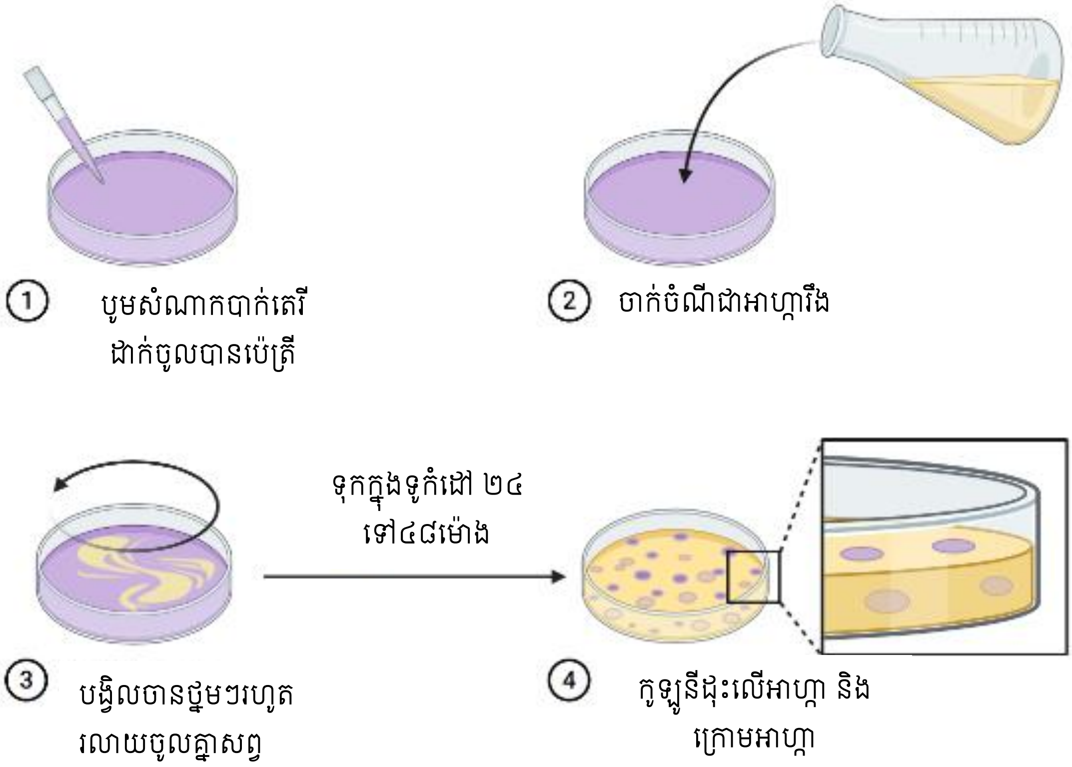
កម្រិតពង្រាវដំបូង ជាធម្មតាត្រូវបានរៀបចំដោយការផ្ទេរ ១ ml នៃសំណាក បាញ់បញ្ចូលទៅក្នុងសូលុយស្យុងសម្រាប់យកមកពង្រាវ ដែលជាធម្មតាអាចមានមាឌ ៩ ឬ ៩៩ ml។ កម្រិតពង្រាវ ជាធម្មតាត្រូវបានគេបង្ហាញជាលេខស្វ័យគុណអវិជ្ជមាន ជាឧទាហរណ៍ ១០$^{-៣}$ ត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ជាជាង ១/១០០០។ ការពង្រាវ ត្រូវបានធ្វើឡើងដោយគ្រវីឲ្យសព្វ ដើម្បីទទួលបានរបាយស្មើគ្នានៃមីក្រូសរីរាង្គ ក៏ដូចជាដើម្បីបំបែកនូវដុំមេរោគកកជាប់គ្នាឲ្យទៅជាកោសិកាមួយៗដាច់ៗពីគ្នាដែរ (រូបភាព ១៤.២)។ ការពង្រាវបន្ថែមទៀត ត្រូវបានគេធ្វើឡើងដោយផ្ទេរសូលុយស្យុងសំណាកដែលបានពង្រាវរួច (ជាធម្មតា ១ ml) ទៅដាក់ក្នុងសូលុយស្យុងសម្រាប់ពង្រាវសំណាក (dilution blanks) ដែលមានជាបន្តបន្ទាប់។ ការពង្រាវនីមួយៗ ត្រូវតែត្រូវបានធ្វើឡើងដោយគ្រវីឲ្យសព្វ មុនពេលផ្ទេរ ១ ml (aliquot) របស់វា ទៅកាន់សូលុយស្យុងសម្រាប់ពង្រាវបន្ទាប់។ ជាធម្មតា កម្រិតពង្រាវចំនួនបី គឺគ្រប់គ្រាន់នៅពេលប្រើប្រាស់សូលុយស្យុងសម្រាប់ពង្រាវសំណាកចំនួន៩៩ ml (99 ml dilution blanks)។ នេះ អាចផ្តល់ឲ្យយើងនូវកម្រិតពង្រាវចុងក្រោយចន្លោះពី ១:១ ០០០ ០០០ ទៅ ១:១០ ០០០ ០០០ ។

១៤.៦ បច្ចេកទេសចាក់ចម្លងមេរោគទៅលើចានបណ្តុះ (*Plating Technique*)

សំណាកដំបូង ជាធម្មតាមិនត្រូវបានគេចាក់ចម្លងទៅលើចានបណ្តុះនោះទេ ពីព្រោះចំនួនមីក្រូសរីរាង្គ ជាធម្មតាមានច្រើនពេក ដែលអាចមានចំនួនច្រើនជាង ៣០០ កូឡូនី ក្នុងមួយចាន។ នៅក្នុងការចាក់ចម្លងមេរោគទៅលើចាន នោះបរិមាណ ០.១ ml និង ១០ mlនៃសំណាកបានពង្រាវរួចពីទីប A និង B ត្រូវបានផ្ទេរទៅក្នុងចានបណ្តុះទទេ (គ្មានមេរោគ) ដោយប្រើពីប៉ែត។ ត្រូវចំណាំថាតាមរយៈការផ្ទេរសំណាក ០.១ ml នោះកម្រិតពង្រាវ ត្រូវបានកើនឡើងចំនួន ១០ ដង។ ដើម្បីធានាបាននូវភាពសុក្រឹត វាចាំបាច់ត្រូវចាក់ចម្លងមេរោគពីកម្រិតពង្រាវនីមួយៗទៅក្នុងចានបណ្តុះចំនួន ២ (ឬ ២ សា)។

បន្ទាប់ពីម្សៅចាហួយរលាយ វាចាំបាច់ណាស់ដែលត្រូវទុកវាឲ្យត្រជាក់ដល់ ៤៥ °C នៅក្នុងធុងចំហុយទឹក ដែលមានសីតុណ្ហភាពត្រឹមនេះ (ការប្រើប្រាស់ចាហួយបណ្តុះនៅសីតុណ្ហភាពខ្ពស់ជាងនេះអាចសម្លាប់មីក្រូសរីរាង្គ ព្រោះមីក្រូសរីរាង្គភាគច្រើន មិនអាចធន់នឹងសីតុណ្ហភាពខ្ពស់ខ្លាំងជាង ៤៥ °C ទេ)។ ទុកចាហួយបណ្តុះឲ្យត្រជាក់បែបនេះ ដើម្បីឲ្យអ្នកអាចដាក់វាលើថ្ពាល់ ឬកដៃបានដោយគ្មានអារម្មណ៍ក្តៅរហូតមិនអាចទ្រាំបាន។ ចាក់ប្រហែល ១៥ mlនៃម្សៅចាហួយដែលបានរំលាយរួច ទៅក្នុងចាននីមួយៗ (បរិមាណនេះគ្រាន់តែ គ្រប់គ្រាន់ដើម្បីគ្របដណ្តប់លើបាតចាន)។ ភ្លាមៗបន្ទាប់ពីនេះមក កាន់គម្របចានបណ្តុះដោយប្រើដៃម្ខាង និងបង្វិលបាតចានបណ្តុះថ្មមៗ (ប្រហែលជា ៨ ដងស្របតាមទ្រនិចនាឡិកា បន្ទាប់មក ៨ ដងផ្ទុយទ្រនិចនាឡិកា និងចុងក្រោយ ផ្លាស់ទីវាទៅស្តាំ ឬឆ្វេងចំនួន ៤ ដង ឬវិធីសាស្ត្រមួយផ្សេងទៀតគឺធ្វើគំនូសលេខ ៨ ចំនួន ៤ ដងដោយប្រើចានបណ្តុះនេះ ដាក់នៅលើបង់ពិសោធន៍) ដើម្បីពង្រាយចាហួយរាវនេះឲ្យបានរាបស្មើគ្រប់ទីកន្លែងនៅលើចានបណ្តុះ។ **ចំណាំ៖** ពេលវេលា មានសារៈសំខាន់ណាស់ក្នុងការអនុវត្តចំណុចនេះ ពីព្រោះមុនពេលបង្វិលចានបណ្តុះទាំងអស់ចាហួយនេះ ត្រូវតែមានសភាពរាវ (មិនឡើងរឹង)។ នេះជាផ្នែកមួយនៃវិធីសាស្ត្របណ្តុះដោយលាយចាហួយរាវ (មិនទាន់ឡើងរឹង) និងសំណាកដែលពង្រាវរួច អាចចាក់សំណាកមុន ឬមួយអាចលាយសំណាក និងចាហួយរាវបញ្ចូលគ្នាមុនពេលចាក់ល្បាយនេះទៅលើចានបណ្តុះ (pour plate method) (រូបភាព ១៤.៣)។ **ចំណាំ៖** សីតុណ្ហភាពនៃចាហួយរាវ មិនត្រូវក្តៅលើស ៤០°C ឡើយ ព្រោះកំដៅលើសនេះអាចងាប់មេរោគដែលត្រូវបណ្តុះ ហើយក៏មិនត្រូវទុកឲ្យត្រជាក់ពេកដែរ ព្រោះអាចបណ្តាលឲ្យចាហួយកកមុនចាក់លើចាន។

អ្នកក៏អាចបន្ថែមសំណាក ដែលពង្រាវរួចទៅលើផ្នែកខាងលើនៃចាហួយដែលឡើងរឹងនេះបានដែរ ហើយបន្ទាប់មកអ្នកអាចពង្រាយសូលុយស្យុងសំណាកពង្រាវនេះឲ្យស្មើ ដោយប្រើចង្កឹះកែវរាងជាអក្សរ L ដែលបានស្ទែរីលរួច (a sterile L-shaped glass rod)។



រូបភាព ១៤.៣ វិធីសាស្ត្របណ្តុះដោយលាយចាហួយរាវ និងសំណាក (Pour plate method)

១៤.៦.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយ៖

- ទីបចំណីបណ្តុះរាវដែល*E. coli* បណ្តុះរួចរយៈពេល ២៤ ម៉ោង
- ទីបដែលមានទឹកស្ទេរីលរួច៩ ml សម្រាប់យកមកពង្រាវសំណាក
- ចានបណ្តុះចំនួន ២៤ ដែលផ្ទុក BHI
- ពីប៉ែតចំណុះ ១ mlដែលបានស្ទេរីលរួច ចំនួន ១២
- ចង្កឹះកែវរាងអក្សរ L
- ចំហេះបិញស៊ិន

១៤.៦.២ ដំណើរការពិសោធ

ក) ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី១៖

១. សម្រាប់ភាពងាយស្រួលពេលពិសោធន៍ ត្រូវរៀបចំ និងសរសេរឈ្មោះតំណាងនៅលើទីប ដែលដាក់ទឹកស្ទេរីលរួចទាំងអស់ និងនៅលើចានបណ្តុះទាំងអស់ មុនពេលចាប់ផ្តើមលំហាត់ ដែលនៅនាទីសូន្យ មានចានបណ្តុះចំនួន ២ សម្រាប់កម្រិតពង្រាវនីមួយៗ។ សូមមើលរូបភាព ១៤.២។

២. រៀបចំកម្រិតពង្រាវផ្សេងៗទៀត។ **ចំណាំ៖** ទីបចំណីរាវដែលផ្ទុក *E. coli* និងទីបកម្រិតពង្រាវបន្តបន្ទាប់ គួរតែត្រូវបានច្របល់ឲ្យបានសព្វល្អមុនពេលផ្ទេរពីទីបកម្រិតពង្រាវមួយទៅទីបកម្រិតពង្រាវមួយផ្សេងទៀត ឬផ្ទេរពីទីបកម្រិតពង្រាវមួយ ទៅកាន់ចានបណ្តុះមួយទៀត។ ដើម្បីធានាថាការពង្រាវមានសភាពសព្វល្អ ត្រូវគ្រលុកដបទៅមុខ ទៅក្រោយឲ្យខ្លាំងរយៈពេល ៣០ វិនាទី។ ការធ្វើបែបនេះ នឹងបំបែករាល់កករដុំមីក្រូសរីរាង្គទាំងអស់។ ពីប៉ែត គួរតែត្រូវបានផ្លាស់ប្តូរចេញ រាល់ទីបពង្រាវនីមួយៗ។ ដោយប្រើពីប៉ែតមួយដែលថ្មី ធ្វើការរៀបចំកម្រិតពង្រាវទាំងអស់ដែលត្រូវចាក់ទៅលើចានបណ្តុះ ចាប់ផ្តើមជាមួយសូលុយស្យុងដែលមានកម្រិតពង្រាវច្រើនជាងគេ (១០$^{-៧}$) និងបញ្ចប់ជាមួយសូលុយស្យុង ដែលខាប់ជាងគេ (១០$^{-៤}$)។ នៅពេលផ្ទេរកម្រិត ពង្រាវមួយទៅដាក់លើចានបណ្តុះមួយ វាមានសារសំខាន់ណាស់ដែលគម្របចានបណ្តុះ ត្រូវបានដាក់គ្របយ៉ាងល្អ ដែលនឹងធានាបានថាគ្មានការធ្លាក់ចូលនូវសារធាតុកខ្វក់នៃខ្យល់ទៅក្នុងចានបណ្តុះ។

៣. បន្ទាប់ពីបានចាក់ចម្លងមេរោគទៅលើចានរួច ត្រូវស្ទេរីលចង្កឹះកែវរាងអក្សរ L ដោយជ្រលក់វាទៅក្នុងសូលុយស្យុងអាល់កុល បន្ទាប់មកដុតវានឹងអណ្តាតភ្លើង ប៉ុន្តែត្រូវឲ្យផ្នែកដែលប្រឡាក់អាល់កុលប៉ុណ្ណោះ ទៅប៉ះនឹងអណ្តាតភ្លើង។ កម្តៅនេះ នឹងស្ទេរីលចង្កឹះកែវនេវ (**គួរប្រុងប្រយ័ត្ន៖** ត្រូវដាក់ចុងចង្កឹះកែវនេះចុះក្រោម ខណៈដែល អាល់កុលកំពុងឆេះ) ទុកឲ្យអណ្តាតភ្លើងឆេះ រហូតដល់ចង្កឹះកែវរលត់។ ទុកចង្កឹះកែវឲ្យត្រជាក់ក្នុងរយៈពេល ២០ ទៅ ៣០ វិនាទី។ ចាប់ផ្តើមពង្រាយមេរោគ ពីទីបដែលមានកម្រិតពង្រាវរាវជាងគេ (១០$^{-៧}$) ឲ្យបានសព្វពីលើផ្ទៃចាហួយនៃចានបណ្តុះ។ បន្ទាប់មក បន្តពង្រាយមេរោគពីទីបដែលមានកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-៦}$ ឲ្យបានសព្វ និងបន្តពង្រាយទៀតពីកម្រិងពង្រាវដែលរាវជាងគេ ទៅកម្រិតពង្រាវដែលខាប់ជាងគេ។

៤. ដាក់ភ្ញាស់ចានបណ្តុះផ្ទុកមេរោគទាំងនេះនៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C ចាំរហូតដល់ការពិសោធបន្ទាប់។

៥. អនុវត្តជំហាន ១ ដល់ ៤ ម្តងទៀត នៅនាទី ៤៥ និង ៩០។ ដាក់ភ្ញាស់ *E. coli* ម្តងទៀតភ្លាមៗបន្ទាប់ពីបានដក ១ mlនៃមេរោគនេះចេញ។

ខ) ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

៦. រាប់តែមេរោគនៅក្នុងចានបណ្តុះដែលមានសុពលភាពតាមស្ថិតិវិទ្យាប៉ុណ្ណោះ ដែលមានកូឡូនីពីចន្លោះពី ៣០ ទៅ ៣០០។ កំណត់ចានបណ្តុះដែលផ្ទុកកូឡូនីតិចជាង ៣០ កូឡូនី ថាតិចពេករហូតរាប់មិនបាន (too few to count [TFTC]) និងចានបណ្តុះដែលផ្ទុកកូឡូនីច្រើនជាង ៣០០ ថាច្រើនពេករហូតរាប់មិនបាន (too numerous to count [TNTC]) សូមមើលរូបភាព ១៤.២។

១៤.៧ វិធីសាស្ត្រដែលប្រើដើម្បីរាប់កូឡូនីនៅលើចានបណ្តុះនីមួយៗ៖

- គូសចំណាំកូឡូនីនីមួយៗនៅលើផ្ទៃបាតនៃចានបណ្តុះ ដោយប្រើខ្មៅដៃដែលអាចសរសេរលើកញ្ចក់បាន ឬប្រើឧបករណ៍រាប់កូឡូនីឈ្មោះ Quebec (Quebeccolony counter) ដែលផ្តល់ជាពន្លឺជំនួយបន្ថែម ក៏ដូចជាកញ្ចក់ពង្រីក និងអាចឲ្យយើងមើលឃើញកូឡូនីដែលខុសពីធម្មតា
- ធ្វើការគណនាចំនួនមេរោគទាំងអស់ដែលមាននៅលើចានបណ្តុះ។ គុណចំនួនកូឡូនីដែលមានលើចានជាមួយចំនួនកម្រិតពង្រាវចំពោះចានបណ្តុះនោះ ។ ឧទាហរណ៍ ប្រសិនបើ មាន ២០០ កូឡូនីនៅលើកម្រិតពង្រាវ $១០^{-៤}$ (១:១០ ០០០) នៃសំណាក នោះការគណនា គឺ ២០០ x ១០ ០០០ = ២ x $១០^{៦}$ (២ ០០០ ០០០) បាក់តេរី/១mlនៃសំណាកដើម។ **ចំណាំ៖** ជាទូទៅ វាត្រូវបានគេឲ្យអនុសាសន៍ថា ចានបណ្តុះចំនួនពីរនៃកម្រិតពង្រាវនីមួយៗ គួរតែត្រូវបានគេរៀបចំ ហើយចំនួនកូឡូនីដែលមានក្នុងកម្រិតពង្រាវនីមួយៗ គួរតែត្រូវបានគេគណនាជាតម្លៃមធ្យម។

១៤.៨ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៤

១. ចូរបំពេញលទ្ធផលក្នុងតារាងខាងក្រោម

តារាង ១៤ លទ្ធផលនៃការរាប់ចំនួនកូឡូនី *E. coli* ទៅតាមរយៈពេលភ្ញាស់

កម្រិតពង្រាវ	រយៈពេលភ្ញាស់បាក់តេរី	ចំនួនកូឡូនីដែលបានរាប់សរុប			(តម្លៃមធ្យមxចំនួនកម្រិតពង្រាវ= CFU/ml
		ចានបណ្តុះទី ១	ចានបណ្តុះទី ២	តម្លៃមធ្យម	
$១០^{-៤}$	០ នាទី				
	៤៥ នាទី				
	៩០ នាទី				
$១០^{-៥}$	០ នាទី				
	៤៥ នាទី				
	៩០ នាទី				
$១០^{-៦}$	០ នាទី				
	៤៥ នាទី				
	៩០ នាទី				
$១០^{-៧}$	០ នាទី				
	៤៥ នាទី				
	៩០ នាទី				

២. គណនារយៈពេលនៃការផលិតកោសិការបស់បាក់តេរីរបស់អ្នក។ តើអ្នកអាចកំណត់ពេលដែលវាបានឡើងទៅដល់វគ្គដែលបាក់តេរីលូតលាស់ខ្លាំងជាងគេ (logarithmic phase of growth) ដែរ ឬទេ ?

____

____

____

លំហាត់ ១៥៖ ការឆ្លើយតបគីមី និងពន្លឺទៅកាន់បរិស្ថាន

១៥.១ សេចក្តីផ្តើម

ពួកមីក្រូសរីរាង្គ ក៏ដូចជាប្រព័ន្ធមានជីវិតឯទៀតដែរ មានលក្ខណៈជីវសាស្ត្រទូទៅដែលគួរឲ្យស្ងួគស្មាញណាស់។ ពួកវា ត្រូវបានភ្ជាប់ខ្លួន ឬផ្តាច់ខ្លួនពីធាតុនៃបរិស្ថាន ឬពួកវា បង្ហាញនូវការឆ្លើយតបផ្សេងទៀតមួយចំនួនទៅកាន់កត្តាបរិស្ថានមួយ។ បម្លាស់ទីរបស់មីក្រូសរីរាង្គមួយចំនួន ប្រហែលជាត្រូវបានគ្រប់គ្រងដោយពន្លឺ (phototaxis) ដោយខ្យល់ (aerotaxis) ឬដោយសារធាតុគីមី (chemotaxis)។ ពពួកផ្សិតជាក់លាក់មួយចំនួន បង្ហាញឲ្យឃើញយ៉ាងច្បាស់ពីលក្ខណៈត្រូវការពន្លឺ (phototropism) របស់ពួកវា ហើយពួកខ្លះ មិនត្រូវការពន្លឺឡើយ។

១៥.២ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ១៖ ការឆ្លើយតបគីមីនៅក្នុងបាក់តេរី

បម្លាស់ទីរបស់បាក់តេរីដែលអាចផ្លាស់ទីបានដើម្បីឆ្លើយតបទៅនឹងភាពឡើងចុះនៃកំហាប់សារធាតុគីមី ត្រូវបានបកស្រាយដោយអ្នកអតិសុខុមប្រាណវិទូនៅចុងទសវត្សន៍ទី ១៩។ ជាមួយនឹងឧបករណ៍ទំនើបៗ និងការប្រើប្រាស់ព័ត៌មានថ្មីៗពីលក្ខណៈគីមីជីវ សេនេទិច និងអាហារូបម្ភរបស់បាក់តេរី នោះលទ្ធផលដែលគួរឲ្យចាប់អារម្មណ៍ខ្លាំង បានលេចឡើងយ៉ាងឆាប់រហ័ស។ ការបកស្រាយនៃតំណាបគីមី ដែល *Escherichia coli* (អាចផ្លាស់ទីបាន) ផ្លាស់ទីនៅក្នុងបណ្តាក្រុម *Escherichia coli* ដែលត្រូវបានរងឥទ្ធិពលពីសារធាតុចិញ្ចឹមសរីរាង្គ គឺមានលំនាំមកពីស្នាដៃរបស់ Adler (1966)។

E. coli (ផ្លាស់ទីបាន) ដែលដាក់នៅចុងម្ខាងនៃទីបមួយមានទំហំប៉ុនសរសៃឈាម(capillary tube) ដែលផ្ទុកដោយចំណីបណ្តុះរាវនៃកាឡាក់តូស (galactose) និងបានបិទជិតនៅចុងទាំងសងខាង ត្រូវបានគេអង្កេតថាមានបម្លាស់នៅក្នុងក្រុមបាក់តេរីពីរដែលកំពុងវិវត្តខ្លួន(two advancing bands) នៅតាមបណ្តោយទីបនេះ។ វា ត្រូវបានគេរកឃើញថាក្រុមបាក់តេរី បានវិវត្តខ្លួនដោយប្រើស្ករកាឡាក់តូសក្នុងពេលមានវត្តមានខ្យល់។ ដោយសារតែ ស្ករកាឡាក់តូស មានវត្តមានពេលមានអុកស៊ីសែនលើស ដូចនេះ ក្រុមបាក់តេរីដែលនៅពីមុខ បានវិវត្តខ្លួន ដោយប្រើប្រាស់រាល់អុកស៊ីសែនរលាយទាំងអស់ ប៉ុន្តែប្រើប្រាស់តែមួយចំណែកនៃស្ករកាឡាក់តូសប៉ុណ្ណោះ។ ស្ករកាឡាក់តូសនៅសល់ ត្រូវបានប្រើប្រាស់ក្នុងទម្រង់គ្មានវត្តមានខ្យល់ដោយក្រុមបាក់តេរីទី ២ ដែលនៅបន្ទាប់។

បាក់តេរីមួយចំនួន បានគាំងជាប់នៅចំណុចចាប់ផ្តើម ដែលពួកវាមិនអាចទៅដល់ប្រភពថាមពលនៃស្ករកាឡាក់តូសទាន់ពេល។ នៅពេលដែលពិសោធន៍ ត្រូវបានគេអនុវត្តនៅក្នុងចានបណ្តុះមានចាហួយទន់ ហើយបាក់តេរីទាំងនេះ ត្រូវបាននាំទៅកាន់ចំណុចកណ្តាលនៃចាហួយទន់នេះ នោះមានតែរង្វង់ចិញ្ចៀនមួយរបស់បាក់តេរីដែលកំពុងផ្លាស់ទីប៉ុណ្ណោះ ទើបអាចវិវត្តខ្លួនឡើង ដោយសារតែបរិមាណអុកស៊ីសែន គ្មានកំណត់។ ជាមួយនឹងវត្តមានស្ករគ្លុយកូសនៅក្នុងចាហួយទន់នៃចានបណ្តុះរួមជាមួយនឹងស្ករកាឡាក់តូស នោះរង្វង់ចិញ្ចៀនពីរ បានវិវត្តខ្លួនឡើង។ រង្វង់ចិញ្ចៀនខាងក្រៅរបស់មេរោគនេះ ចូលចិត្តប្រើប្រាស់បរិមាណស្ករគ្លុយកូសទាំងអស់ និងមួយចំណែកនៃបរិមាណស្ករកាឡាក់តូស

ប៉ុណ្ណោះ។ រង្វង់ចិញ្ចៀនខាងក្នុង ស្ករកាឡាក់តូសដែលនៅសល់ ដូចនេះ វា (រង្វង់ចិញ្ចៀន) បានវិវត្តខ្លួនឡើង។ លំហាត់មន្ទីរពិសោធន៍ ដែលយកមកអនុវត្ត ត្រូវបានយកគម្រូតាមបំណាកស្រាយនៃតំណបរបស់បាក់តេរី ទៅកាន់ស្ករគ្លុយកូស និងស្ករកាឡាក់តូស។

១៥.២.១ សម្ភារៈ

- ពូជ *E. coli* ដែលបានលូតលាស់រយៈពេលពី ១៨ ទៅ ២៤ ម៉ោង នៅក្នុងចំណីបណ្តុះដែលមាននូវសមាសធាតុដូចខាងក្រោម (គិតជា ក្រាម/លីត្រ)៖ កាឡាក់តូស ៥.០, ឡឺស៊ីន ០.០២, មេត្យូនីន ០.០២, ត្រេអូនីន ០.០២, KH_2PO_4 ៤.៨, K_2HPO_4 ១១.២, $Fe(SO_4)_3$ ០.០០០៥, Mg $SO_4.7H_2O$ ០.២៥, $(NH_4)_2SO_4$ ២.០, (pH ៧.០)។ លាយសូលុយស្យុងនេះដោយប្រើកម្លាំងចាកផ្ចិត ២០០០ rpm (ជុំក្នុងមួយនាទី) រយៈពេល ១០ នាទី និងលាងសម្អាតដោយប្រើសូលុយស្យុង buffer ផូស្វាត កំហាប់ ១០$^{-២}$ ដែលស្មើរលិរួច និងផ្ទុកនូវ EDTA ០.០៣៨ g/L ជាមួយ Mg $SO_4.7H_2$ O ០.២៤៦៥ g/L។ គ្រលុកវាឲ្យសព្វម្តងទៀតនៅក្នុងល្បាយ buffer ដោយប្រើ ១/១០ នៃមាឌដើម ដូចនេះ ការចាក់ចម្លងសូលុយស្យុងផ្ទុកបាក់តេរីក្នុងបរិមាណពី ០.០៥ ml ទៅ ០.១០ ml នឹងផ្តល់ឲ្យយើងនូវកោសិកាបាក់តេរីចំនួនប្រហែល ១០^{៩} ។ ដើម្បីបកស្រាយការដុះលូតលាស់របស់បាក់តេរីនៅលើចានបណ្តុះផ្ទុកចាហួយទន់ ដែលមានបន្ថែមតែស្ករគ្លុយកូស តែស្ករកាឡាក់តូស និងល្បាយនៃគ្លុយកូស នឹងកាឡាក់តូសនោះ ការបណ្តុះត្រូវធ្វើឡើង ៣ សារ ហើយការពង្រាវ សូលុយស្យុងផ្ទុកបាក់តេរីត្រូវមាន ៥ កំហាប់ផ្សេងៗគ្នា ដូចដែលបានបង្ហាញនៅក្នុងដំណើរការពិសោធ។
- អំបិល Basal ក្នុង ១ លីត្រនៃ K_2HPO_4-KH_2PO_4 buffer កំហាប់ ១០$^{-២}$ ដែលមានបន្ថែម ០.១៣ ក្រាមនៃ $(NH_4)_2SO_4$ ០.០០៤ ក្រាមនៃឡឺស៊ីន ០.០០៥ ក្រាមនៃមេត្យូនីន និង ០.០០៤ ក្រាមនៃត្រេអូនីន។

១៥.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ដោយសារតែល្បឿននៃការផ្លាស់ទីរបស់ក្រុមមេរោគទាំងពីរ និងតម្រូវការដើម្បីចៀសវាងការប៉ះពាល់ដល់ចាហួយទន់កំឡុងពេលភ្ញាស់ គ្រូបង្រៀនរបស់អ្នក បានបង្កើតនូវចានបណ្តុះមួយឈុតនៅលើបង់សម្រាប់តាំងបង្ហាញ។ វិភាគចានបណ្តុះទាំងនេះនៅពេលចាប់ផ្តើមដំណាក់កាលពិសោធន៍ ហើយវិភាគម្តងទៀតនៅចុងបញ្ចប់នៃដំណាក់កាលពិសោធន៍។ ធ្វើកំណត់សម្គាល់លក្ខណៈរូបរាងខាងក្រៅនៃរង្វង់ចិញ្ចៀនរបស់ការផ្លាស់ទីទាំងនេះ កំណត់ទីតាំងរបស់ពួកវា និងគូររូបតំណាង នៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក ប៉ុន្តែមិនត្រូវប៉ះផ្ទៃចាហួយបណ្តុះទេ។

២. អង្កេតមើលចានបណ្តុះដែលមានដូចខាងក្រោម ៖

a. ចានបណ្តុះផ្ទុកតែស្ករគ្លុយកូស ដែលត្រូវបានលាយជាស្រេចជាមួយអំបិល basal (សូមមើលចំណុច សម្ភារៈ) ០.២ % agar និងគ្លុយកូសកំហាប់ ១.៨ x ១០$^{-៤}$ និងត្រូវបានចាក់ចម្លងចូលនូវកោសិកា *E. coli* ចំនួន១ x ១០^{៨} ដែលដាក់ឲ្យចំចំណុចកណ្តាលនៃចានបណ្តុះនៅក្នុងរយៈពេលខុសៗគ្នាដូចខាងក្រោម៖

(១) ១៨ ទៅ ២៤ ម៉ោង មុនពេលពិសោធន៍ (២) ៦ ទៅ ៨ ម៉ោង មុនពេលពិសោធន៍ (៣) ២ ម៉ោង មុនពេលពិសោធន៍ ។

b. ចានបណ្តុះផ្ទុកតែស្ករកាឡាក់តូស ដូចនៅក្នុងចំណុច (a.) ដែរ ប៉ុន្តែ ត្រូវតែបានលាយជាមួយស្ករកាឡាក់តូសកំហាប់ ៥.៤ x ១០$^{-៤}$ ជំនួសឲ្យស្ករគ្លុយកូស។

c. ចានបណ្តុះផ្ទុកស្ករគ្លុយកូស និងស្ករកាឡាក់តូស ស្ករគ្លុយកូសកំហាប់ ១.៨ x ១០$^{-៤}$ និងស្ករកាឡាក់តូសកំហាប់ ៥.៤ x ១០$^{-៤}$ លាយជាមួយអំបិល basal និង agar ០.២ % ។

១៥.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ១

១. ហេតុអ្វីបានជាស្ករគ្លុយកូស ត្រូវបានប្រើប្រាស់ដំបូងគេ?

___

___

___

២. តើអាចមានអ្វីកើតឡើង ប្រសិនបើអ្នកបានដាក់ពូជ *E. coli* ដែលប្រែប្រួលស្បែន (mutant *E. coli* strain) ដែលចូលចិត្តប្រើស្ករកាឡាក់តូសជាជាងស្ករឯទៀតនៅក្នុងចានបណ្តុះ?

___

___

___

៣. គូររូបតំណាងលទ្ធផលនៃការពិសោធ បន្ទាប់ពីរយៈពេល ២៤ ម៉ោង និងបន្ទាប់ពីរយៈពេល ៤៨ ម៉ោង

៤. ហេតុអ្វីបានជាចាហួយទន់ ត្រូវបានមេរោគប្រើប្រាស់?

___

___

៥. តើអាចមានអ្វីកើតឡើង ប្រសិនបើអ្នកបានដាក់ចានបណ្តុះមានចាហួយទន់នៅក្នុងកន្លែងគ្មានខ្យល់?

___

___

___

១៥.៣ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ២៖ លក្ខណៈនៃការឆ្លើយតបពន្លឺនៅក្នុងផ្សិត *Pilobolus*

ផ្សិត*Pilobolus* មានដែបញ្ចោតដ៏វែងដោយសារតែលក្ខណៈដ៏ខ្លាំងក្លានៃស្ពរផតភេទរបស់វា ត្រូវបានបន្សាយចេញមកក្រៅ ដើម្បីជាការឆ្លើយតបពន្លឺ។ ផ្សិត*Pilobolus* ជាប្រភេទ*Zygomycete* រស់លើគោកមួយ។ វាត្រូវបានពង្រាយយ៉ាងសន្ធឹកសន្ធៃងពាសពេញពិភពលោក ដែលកើតមាននៅក្នុងលាមករឹងនៃពួកសត្វស៊ីស្មៅជាអាហារ។ នៅពេលដែលលាមកប្រភេទនេះ ត្រូវបានភ្ញាស់នៅក្នុងលក្ខខណ្ឌសើម ពួក sporangiophores ជាញឹកញាប់ ត្រូវបានគេប្រទះឃើញនៅលើផ្ទៃលាមកនេះ បន្ទាប់ពីបីបួនថ្ងៃក្រោយមក។ ពួកនេះ លេចឡើងក្នុងទម្រង់ជាទងដែលងាយបែកបាក់ រួមជាមួយសភាពភ្លឺ និងមានប្រវែងប្រហែល៥ ទៅ ៨ មីលីម៉ែត្រ ដែលបង្កើតបានជា sporangium ក្នុងទម្រង់ជាចុងប៉ោងមួយ ដែលត្រូវបានញែកចេញពីផ្នែកដែលនៅសល់នៃ sporangiophore ដោយជញ្ជាំងកាត់មួយ (crosswall)។ ក្នុងរយៈពេលយូរទងនេះវិវត្តបានជាកំពកប៉ោងចេញពីទងមួយ ដែលស្ថិតនៅក្រោម sporangium តែបន្តិចប៉ុណ្ណោះ ហើយ sporangium នេះវិវត្តខ្លួនពេញលេញទៅជាទម្រង់មួយមានរាងដូចថាស ខ្មៅទាំងស្រុង ដែលផ្ទុកនូវស្ពរពហុណ្ឌៃយ៉ូដ៏ច្រើន។ sporangium ពេញវ័យ ត្រូវបានផ្តាច់ខ្លួនចេញពី sporangiophore ដោយកម្លាំងដ៏ខ្លាំង និងចេញឆ្ងាយជាង ២.៥ ម៉ែត្រ។

ការឆ្លើយតបពន្លឺរបស់ *Pilobolus* មានសភាពច្បាស់ជាងគេ ដោយ sporangia ត្រូវបានខ្ទាតចេញសម្តៅទៅរកប្រភពពន្លឺ។ ពន្លឺ ថែមទាំងមានសារៈសំខាន់ណាស់ចំពោះការបង្កើតជារូបរាងនៃរចនាសម្ព័ន្ធរបស់ផ្សិត ដូចនេះ បើទោះបីជា ដំណាក់កាលសំខាន់នៃវដ្តលូតលាស់បែបអភេទរបស់ផ្សិត មានលក្ខណៈជា tropism ក៏ដោយ (ដែលទិសដៅនៃការខ្ទាតរបស់ sporangiophore ជាការឆ្លើយតបតម្រង់ (oriented response) ទៅកាន់ប្រភពនៃសារធាតុជំរុញប្រតិកម្ម [stimulus])។

១៥.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់មន្ទីរពិសោធន៍នីមួយៗ៖

- លាមករឹងរបស់សត្វគោ ឬសេះ
- អំពូលដើម្បីបំភ្លឺពេលបណ្តុះបែប enrichment

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍នីមួយៗ៖

- បាតទូភ្ញាស់ពណ៌ខ្មៅចំនួន ១ ដែលមានគម្របថ្លា
- គម្របការពារពន្លឺចំនួន ១ (Opaque cover)

- ទូដែលអាចរាំងពន្លឺបានចំនួន ១ (Opaque target chamber) ដែលមានរន្ធចំនួន ១ ទំហំពី ០.៥ ទៅ ១.០ មីលីម៉ែត្រ នៅចំផ្នែកកណ្ដាលនៃគម្រប (ជាក្រដាសដែលអាចឲ្យពន្លឺឆ្លងកាត់បានខ្លះ[translucent paper])
- ក្រដាសប្រោះ
- ទឹកដែលស្ទើរលិរួច

១៥.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ក្រុមនីមួយៗ នឹងធ្វើការបណ្ដុះបែប enrichment ទៅលើលាមករឹង ដើម្បីអង្កេតមើលការវិវត្តនៃប្រភេទពូជ *Pilobolus* ព្រៃ។ ដោយងាយ គ្រាន់តែដាក់ ៥ ទៅ ១០ ក្រាមនៃលាមករឹងទៅក្នុងបាតទូភ្ញាស់ពណ៌ខ្មៅ។ បន្សើមលាមករឹងឲ្យសព្វល្អ និងថែមទាំងដាក់ក្រដាសចម្រោះដែលបន្សើមរួចមួយសន្លឹកទៅក្នុងទូ ដើម្បីធ្វើឲ្យមានសំណើមបរិយាកាសខ្ពស់ក្នុងទូ។ គ្របគម្របថ្លាទៅលើទូភ្ញាស់ និងដាក់ភ្ញាស់នៅទីងងឹត តែសីតុណ្ហភាពបន្ទប់។

២. ត្រួតពិនិត្យលាមកនេះ បន្ទាប់ពីបានភ្ញាស់រយៈពេល ៣ ៥ ឬប្រសិនបើ ចាំបាច់ ៧ ថ្ងៃ ដើម្បីរកភស្តុតាងដែលបញ្ជាក់ថាមានពួក sporangiophores។ ប្រើភ្នែកទទេ ឬប្រើមីក្រូទស្សន៍ដែលមានលែនកម្រិតពង្រីកតូច ដើម្បីរកមើលរចនាសម្ព័ន្ធនៃពួក sporangiophores ទាំងនេះ។ ការដាក់ពួកវាឲ្យត្រូវពន្លៃកំឡុងពេលវិភាគ ជំរុញល្បឿនដល់ការបង្កើតទម្រង់ និងភាពពេញវ័យរបស់ sporangia។

៣. នៅពេលអ្នកឃើញ sporangiophores អ្នកត្រូវត្រួតពិនិត្យពួកវាឲ្យជិត ដោយត្រូវយកចិត្តទុកដាក់ឲ្យបានខ្លាំងទៅលើការកកើតឡើង និងពណ៌នៃ sporangium ដែលនៅខាងចុង។ កំណត់ចំណាំប្លោកប៉ោង ដែលនៅខាងក្រោម sporangiumហើយនិងលក្ខណៈខាងក្រៅទូទៅនៃរចនាសម្ព័ន្ធរបស់វា។ គូររូបតំណាងដោយប្រុងប្រយ័ត្ននូវអ្វីដែលអ្នកអង្កេតឃើញនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។ ជំនួសគម្របថ្លាដោយប្រើគម្របការពារពន្លឺវិញដូចនេះពន្លឺភាគច្រើនត្រូវបានដកចេញ ដែលឲ្យពន្លឺចូលតាមតែរន្ធតូចមួយនៅខាងលើប៉ុណ្ណោះ ដែលមានអង្កត់ផ្ចិតពី ០.៥ ទៅ ១.០ មីលីម៉ែត្រ គ្របរន្ធកណ្ដាលនេះ ដោយប្រើក្រដាសការពារពន្លឺ និងបន្តការភ្ញាស់ក្រោមការបញ្ចាំងពន្លឺ ហើយចាំរហូតដល់ការពិសោធលើកក្រោយ។

៤. ធ្វើការអង្កេតតាមដានលើកចុងក្រោយនៅផ្នែកគោលដៅ។

១៥.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៥ ផ្នែក ២

១. ហេតុអ្វីបានជាវាមានសារៈសំខាន់ចំពោះផ្សិត *Pilobolus* ដែលត្រូវបាញ់ពួកស្ពរចេញពីពំនូកលាមក?

___

___

២. ធ្វើការគូររូបតំណាងឲ្យរបាយនៃ sporangia ពណ៌ខ្មៅ ដែលមាននៅលើផ្នែកគោលដៅ។ គូររូបតំណាង និងពិពណ៌នាពីលក្ខណៈរូបរាងខាងក្រៅនៃផ្សិត *Pilobolus* នៅចុងបញ្ចប់នៃពិសោធន៍

៣. តើផ្សិត *Pilobolus* របស់អ្នកបានបាញ់ចេញទៅរកប្រភពពន្លឺបានដាក់លាក់យ៉ាងណាទៅ?

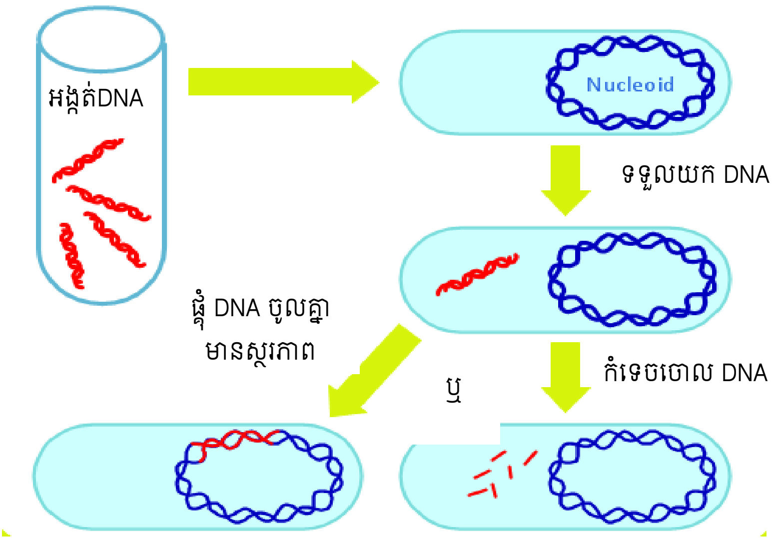
៤. គូររូបតំណាងឲ្យពួកស្ពរដែលមាននៅលើគម្រប ។

លំហាត់ ១៦៖ ការផ្លាស់ប្តូរទម្រង់របស់បាក់តេរី (Bacterial Transformation)

១៦.១ សេចក្តីផ្តើម

ពួកបាក់តេរីជាក់លាក់មួយចំនួន អាចដឹកនាំ DNA ដែលនៅក្រៅកោសិកា ឆ្លងកាត់តាមជញ្ជាំងកោសិកា និងភ្នាសកោសិកាទៅក្នុងស៊ីតូប្លាស។ ប្រសិនបើ DNA ដែលនាំចូលមកក្នុងនេះ ជាកម្លាយពីពូជដែលស្រដៀងគ្នាខ្លាំង ឬដូចគ្នា នោះ DNA អាចត្រូវបានរួមផ្សំគ្នាឡើងវិញជាមួយ DNA នៃក្រូម៉ូសូមដែលថែមទាំងមានទីតាំងនៅក្នុងស៊ីតូប្លាស។ កោសិកាមីក្រុបដែលអាចដឹកនាំ DNA តាមបែបនេះបានត្រូវបានគេហៅថា កោសិកាដែលមានសមត្ថភាព។ បំណែកដែលបានពី DNA អាចផ្តល់ឲ្យបាក់តេរីដែលជាអ្នកទទួលនូវលក្ខណៈថ្មីៗ។ លក្ខណៈទាំងនេះ មានសភាពថ្មី ព្រោះបន្សំស្បែន (genetic recombination) បានកើតឡើង ហើយបាននាំមកនូវបម្លាស់ប្តូរជាច្រើននៅក្នុងបាក់តេរីដំបូងដែលជាអ្នកទទួល។ បម្លាស់ប្តូរទាំងនេះ ត្រូវបាននាំមកដោយបាក់តេរីដែលជាអ្នកទទួល។ ដំណើរការនៃការដឹកនាំ DNA ដែលនៅខាងក្រៅកោសិកា និងប្រមូលផ្តុំផ្នែកមួយចំនួនរបស់ DNA ឲ្យទៅជាបណ្តុំសម្ភារៈដំណពូជដែលពេញលេញ (genome) នៃពូជរបស់បាក់តេរីដែលជាអ្នកទទួល ត្រូវបានគេហៅថាជាការផ្លាស់ប្តូរទម្រង់របស់បាក់តេរី (bacterial transformation)។

នៅក្នុងលំហាត់នេះ អ្នកនឹងរៀបចំសារធាតុចម្រាញ់ដែលមិនទាន់បានបន្សុទ្ធរួចមួយប្រភេទចេញពីបាក់តេរី *Acinetobacter calcoaceticus* ដែលធន់នឹង streptomycin (a crude bacterial extract of a streptomycin-resistant (Str^r) culture of *Acinetobacter calcoaceticus*)។ សារធាតុចម្រាញ់នេះ ដែលផ្ទុកនូវបំណែក DNA (DNA fragments) ដែលផ្ទុកនូវកង់ដែលធន់នឹង Str^r (Str^r determinant) នឹងត្រូវបានប្រើដើម្បីបម្លែងពូជដែលមានសមត្ថភាពរួសនឹង streptomycin (competent streptomycin-sensitive [Str^r] strain) មានលទ្ធភាពលូតលាស់នៅក្នុងមជ្ឈដ្ឋានបណ្តុះដែលមាន streptomycin។



រូបភាព ១៦.១ ការផ្លាស់ប្តូរទម្រង់បាក់តេរីដោយអង្គត់ *DNA*

១៦.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គូពិសោធន៍មួយៈ

- ទីបបណ្ដុះ slant ចំនួន ១ ដែលមានចំណីបណ្ដុះ Brain Heart Infusion (BHI) និងផ្ទុក *Acinetobacter calcoaceticus* Str^s (ពូជព្រៃ)
- ទីបបណ្ដុះ slant ចំនួន ១ ដែលមានចំណីបណ្ដុះ BHI និងផ្ទុក *Acinetobacter calcoaceticus* Str^r (ពូជដែលស្សែនត្រូវបានកែប្រែជារៀងរហូត [stable mutant])
- ទីបចំនួន ១ ដែលមានផ្ទុក 0.៥ mlនៃសូលុយស្យុងស្ទេរីល័រួចពីសូលុយស្យុង (sodium dodecyl [lauryl] sulfate) កំហាប់ 0.0៥ % លាយជាមួយអំបិលស៊ីត្រាតស្តង់ដារ (standard saline citrate)
- ធុងចំហុយទឹក (water bath) ដែលមានសីតុណ្ហភាព ៦0 °C
- ចានបណ្ដុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុកនូវ BHI agar

សំរាប់ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

ចានបណ្ដុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុកនូវ BHI រួមនឹង dihydrostreptomycin (100µg/ml)

១៦.៣ ដំណើរការពិសោធ

១៦.៣.១ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖ ការរៀបចំ DNA និងល្បាយសូលុយស្យុងមេរោគដែលបានបម្លែងស្សែនរួច

១. ដោយប្រើលួបដែលបានស្ទេរីល័រួច ផ្ទេរកំណកោសិកា Str^r ក្នុងបរិមាណដ៏តិចមួយ តែអាចមើលឃើញក្នុង 0.៥ml នៃសូលុយស្យុងស្ទេរីល័រួច ដែលបានពីសូលុយស្យុង (sodium dodecyl [lauryl] sulfate) កំហាប់ 0.0៥ % លាយជាមួយអំបិលស៊ីត្រាតស្តង់ដារ (0.15M NaCl, 0.015M Na_3 citrate)។ ច្របល់កំណកោសិកាឲ្យបានសព្វតាមដែលអាចធ្វើទៅបាន ដោយគ្រលុកថ្នមៗនឹងដៃ។ ចៀសវាងកុំឲ្យជាប់កម្ទេចកំណកោសិកានៅលើផ្នែកខ្លះនៃទីប ដែលស្ថិតនៅលើសូលុយស្យុងចំណីរាវ។ ជ្រមុជទីបដែលបានគ្របរួចជាស្រេច និងផ្ទុកនូវកោសិកានៃកំណបាក់តេរីនេះឲ្យជ្រៅទៅក្នុងធុងចំហុយដែលមានសីតុណ្ហភាព ៦0 °C និងដាក់ភ្ញាស់រយៈពេលពី ៤៥ ទៅ ៦0 នាទី។ ទម្រង់ការខាងលើនេះ អាចជួយកាត់ផ្ដាច់កោសិកា និងផ្ដល់ឲ្យយើងនូវល្បាយ DNA ដែលកំពុងផ្លាស់ប្ដូរទម្រង់។

២. បែងចែកផ្ទៃបាតនៃចានបណ្ដុះផ្ទុក BHI ដែលមិនទាន់បានប្រើរួចទៅជាបួនចំណែក។ ត្រូវចាំបាច់ សរសេរសម្គាល់ចំណែកទាំងអស់នៃចានបណ្ដុះដោយ (១) Str^s (២) Str^r (៣) Str^s + DNA និង(៤) DNA control។ ត្រូវប្រើលួបដែលស្ទេរីល័រួចសម្រាប់ការអនុវត្តក្នុងចំណែកនីមួយៗ និងសម្រាប់ការបន្ថែម DNA។

a. ដោយប្រើលូប ១ ដែលស្ទេរីលរួច ធ្វើការផ្ទេរបរិមាណដ៏តិចមួយនៃបាក់តេរីពី slant ដែលមាន Str^s ទៅលើចំណុចកណ្តាលនៃចំណែកដែលសមស្រប (ចំណែកទី ១)។ ត្រូវពង្រាយពួកបាក់តេរីនេះដោយថ្នមៗ ដើម្បីឲ្យវារាយនៅលើផ្ទៃមួយដែលមានអង្កត់ផ្ចិតប្រហែល ១ សង់ទីម៉ែត្រ។
b. ដោយប្រើលូប ១ ដែលស្ទេរីលរួច ធ្វើការផ្ទេរបរិមាណដ៏តិចមួយនៃបាក់តេរីពី slant ដែលមាន Str^r ទៅលើចំណុចកណ្តាលនៃចំណែកដែលសមស្រប (ចំណែកទី ២)។ ត្រូវពង្រាយពួកបាក់តេរីនេះដោយថ្នមៗ ដើម្បីឲ្យវារាយនៅលើផ្ទៃមួយដែលមានអង្កត់ផ្ចិតប្រហែល ១ សង់ទីម៉ែត្រ។
c. ត្រូវបន្ថែមបរិមាណដ៏តិចមួយនៃបាក់តេរីពូជ Str^s នៅលើចំណុចកណ្តាលនៃចំណែកទី ៣ ដែលបរិមាណនេះគឺតិច តែអាចមើលឃើញដោយភ្នែកទទេបាន។ បន្ថែមពីលើចំណុចកណ្តាលនោះ នូវល្បាយ DNA មិនទាន់បានបន្សុទ្ធចំនួន ១ លូប និងពង្រាយពួកវាទាំង ២ ឲ្យសព្វបញ្ចូលគ្នានៅលើផ្ទៃមួយមានអង្កត់ផ្ចិតប្រហែល ១ សង់ទីម៉ែត្រ។
d. ដោយប្រើនូវលូបមួយដែលស្ទេរីលរួច ធ្វើការឆ្កឹះចេញនូវល្បាយ DNA មិនទាន់បានបន្សុទ្ធចំនួន ១ លូប និងពង្រាយវាទៅលើចំណុចកណ្តាលនៃចំណែកទី ៤ សម្រាប់បច្ច័យ DNA control ។

៣. ដាក់ចានបណ្តុះទាំងនេះភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C ។

១៦.៣.២ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖ ការឆ្លងល្បាយបាក់តេរីដែលបានប្រែប្រួលស្បែននៅលើចាហួយបណ្តុះ

១. ធ្វើការអង្កេតចានបណ្តុះដែលបានចាក់ចម្លងបាក់តេរីបញ្ចូល នៅក្នុងការពិសោធដំណាក់កាលមុន។ ការលូតលាស់នៃកោសិកាបាក់តេរី គួរតែអាចមើលឃើញនៅក្នុងចំណែកទាំង ៣ ដំបូង ដែលផ្ទុកនូវ (១) Str^s (២) Str^r (៣) Str^s+ DNA។ វាគួរតែមិនមានការដុះលូតលាស់ទេនៅក្នុងចំណែកទី ៤ (ដែលផ្ទុកតែ DNA) ដែលត្រូវបានពង្រាយពីលើដោយល្បាយ DNA ។ ប្រសិនបើចំណែកដែលផ្ទុកតែ DNA នៅលើចានបណ្តុះរបស់អ្នក បង្ហាញឲ្យឃើញនូវការដុះលូតលាស់ នោះការរកឃើញបែបនេះ បង្ហាញថាល្បាយ DNA របស់អ្នក មិនបានស្ទេរីលទេ។ តើនេះអាចជាការពិតដែរ ឬទេ ដូចនេះត្រូវខ្ចីចានបណ្តុះរបស់អ្នកដែលនៅជិតអ្នក នៅពេលដែលគាត់/នាង កំពុងពិនិត្យមើលការដុះលូតលាស់របស់បាក់តេរី ដែលវានឹងមានភាពប្រសើរសម្រាប់អ្នកជាជាងការពិនិត្យមើលតែទៅលើចានបណ្តុះរបស់អ្នក។ ប្រសិនបើអ្នកបានប្រុងប្រយ័ត្នគ្រប់គ្រាន់ហើយ ដូចនេះចានបណ្តុះដែលផ្ទុកតែ DNA របស់អ្នក មិនគួរមានការដុះលូតលាស់នៃបាក់តេរីទេ។

២. បែងចែកបាតចានបណ្តុះដែលផ្ទុក BHI រួមនឹង dihydrostreptomycin (200 µg/ml) ទៅជា ៣ ចំណែក ។ សរសេរសម្គាល់ចំណែកទាំងនេះដោយ (១) Str^s (២) Str^r (៣) Str^s + DNA ។ ដោយប្រើលូបមួយដែលស្ទេរីលរួច ឆ្កឹះបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់លើចំណែកទាំង

៣ នៃចានបណ្តុះ heart infusion agar ចំនួន ១ លូប ទៅឆូតលើចំណែកទាំង ៣ នៃចានបណ្តុះ heart infusion agar ដែលផ្ទុក streptomycin។

៣. ដាក់ចានបណ្តុះ ទាំងនេះភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C។

១៦.៣.៣ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ៣៖ ការអង្កេតតាមដានទៅលើការផ្លាស់ប្តូរទម្រង់របស់បាក់តេរី

វិភាគចានបណ្តុះ BHI ដែលផ្ទុកនូវ streptomycin ដែលអ្នកបានឆូតមេរោគពីលើនៅក្នុងការពិសោធដំណាក់កាលមុន។ កត់ត្រាការអង្កេតតាមដានរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក ។

ចំណាំ៖

បាក់តេរី *Acinetobacter* ជាប្រភេទបាក់តេរីមានរាងទ្រវែងមូលៗ មានក្រាមអវិជ្ជមាន និងត្រូវការខ្យល់ ដែលជាធម្មតាត្រូវបានគេប្រទះឃើញនៅក្នុងដី និងទឹក ប៉ុន្តែថែមទាំងរស់នៅជាមួយ (commensals)នឹងស្បែកត្រចៀក បំពង់ខ្យល់ និងរន្ធយោនីរបស់មនុស្ស។ វាត្រូវបានគេបង្ហាញឲ្យឃើញថាបាក់តេរី acinetobacters អាចជាភ្នាក់ងារបង្ករោគជាច្រើនដូចជាការបង្កជារោគធ្ងន់ធ្ងរនៃឈាម (septicemia) រោគរលាកស្រោមខួរ (meningitis) រោគរលាកសរសៃក្នុងបេះដូង (endocarditis) រោគរលាកសួត(pneumonia) និងរោគរលាកបំពង់ផ្លូវភេទ និងតម្រងនោម (genitourinary tract infections) នៅក្នុងខ្លួនមនុស្ស ជាពិសេសនៅក្នុងខ្លួនមនុស្សដែលមានប្រព័ន្ធភាពស៊ាំចុះខ្សោយ។

១៦.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៦

១. នៅលើចានបណ្តុះ BHI ដែលផ្ទុក streptomycin តើបាក់តេរីណាខ្លះ អាចដុះលូតលាស់បាន? តើហេតុអ្វីបានជាពួកវាអាចដុះលូតលាស់បាន?

____

____

____

២. ពិពណ៌នាពីអ្វីដែលបានកើតឡើងនៅពេលអ្នកបានលាយ DNA ពីបាក់តេរីប្រភេទ Str^r និងប្រភេទ Str^s បញ្ចូលគ្នា។ ប្រសិនបើ អ្នកមិនច្បាស់ពីអ្វីដែលបានកើតឡើង អ្នកត្រូវមើលសេចក្តីលម្អិតនៃចលនការដែលបានកើតឡើង នៅក្នុងសៀវភៅកំណត់ត្រារបស់អ្នក។

____

____

____

លំហាត់ ១៧៖ បន្ទេរភាពធន់នឹងថ្នាំផ្សះពីបាក់តេរីមួយទៅបាក់តេរីមួយ

១៧.១ សេចក្តីផ្តើម

របកគំហើញដែលភាពធន់នឹងថ្នាំ អាចត្រូវបានផ្ទេរពីបាក់តេរីមួយទៅបាក់តេរីមួយទៀត ត្រូវបានគេបង្កើតឡើងនៅក្នុងប្រទេសជប៉ុននៅឆ្នាំ ១៩៥៩។ បណ្តាភ្នាក់ងារដែលមានមុខងារក្នុងការផ្ទេរភាពធន់នឹងថ្នាំនេះ គឺពួកប្លាស្មីត (បំណែកតូចៗនៃ DNA ដែលជាចំណែកបន្ថែមទៅលើ DNA នៃកោសិកាម្ចាស់បញ្ញើ (host cell DNA)ដែលត្រូវបានគេស្គាល់ថាជា កត្តា R (R factors) (ពីព្រោះពួកវាផ្ទុកនូវលទ្ធភាព ដែលធ្វើឲ្យបាក់តេរីអាចធន់នឹងភ្នាក់ងារប្រឆាំងមីក្រុបបាន)។ ពួកប្លាស្មីតជាធម្មតាជាចំណែករាងកងតូច នៃ DNA របស់ក្រូម៉ូសូមលើស ដែលចម្លងដោយឯករាជ្យពី DNA នៃកោសិកាម្ចាស់បញ្ញើ។ ពួកប្លាស្មីត អាចត្រូវបានផ្ទេររវាងកោសិកាបាក់តេរី ២តាមរយៈដំណើរការមួយ ដែលត្រូវបានគេហៅថាជា ការរួមបញ្ចូលគ្នា(conjugation)។ នៅកំឡុងពេលនៃការរួមបញ្ចូលគ្នានេះពួកប្លាស្មីត ត្រូវបានផ្ទេរពីកោសិកាបាក់តេរី ១ ទៅកោសិកាបាក់តេរី ១ ទៀតតាមរយៈការភ្ជាប់ដោយផ្ទាល់រវាងកោសិកាពីរ (direct cell-to-cell contact)។ នៅក្នុងបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន ប្លាស្មីតផ្ទុកពួកស្បែនបញ្ជូនឲ្យគ្នាតាម សសៃភីលីភេទ (synthesis of sex pilus)។ ពួកកោសិកាមេរោគក្រាមអវិជ្ជមាន បង្កើតឲ្យមានសារជាតុស្អិត ដែលជួយឲ្យកោសិកាទាំងពីរប៉ះគ្នាផ្ទាល់។ កំឡុងពេលនៃការរួមបញ្ចូលគ្នានេះ ប្លាស្មីតត្រូវបានបង្កើតឡើងវិញ (replicated or reproduced) នៅកំឡុងពេលនៃការផ្ទេររបស់វាទៅកាន់កោសិកាអ្នកទទួលប្លាស្មីត។

ប្រសិនបើប្លាស្មីតផ្ទុកនូវព័ត៌មានដែលធ្វើឲ្យមេរោគធន់នឹងសកម្មភាពរបស់ថ្នាំផ្សះ នោះព័ត៌មានទាំងនេះ ត្រូវបានគេហៅថា កត្តា R(កត្តានៃភាពធន់) (resistance factors)។ ភាពធន់នឹងថ្នាំដែលបានពីកត្តានៃភាពធន់ (resistance factors) ជានិច្ចកាលមានច្រើន ដែលនាំឲ្យបាក់តេរីធន់នឹងអង់ទីប្យូទិចផ្សេងៗគ្នា ឬថ្នាំព្យាបាលជំងឺតាមបែបគីមីផ្សេងៗទៀត។ ភាពធន់នឹងថ្នាំផ្សះនេះ អាចត្រូវបានគេប្រទះឃើញនៅក្នុងបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមានជាច្រើនសន្ធឹកសន្ធាប់ ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងចំនួនដ៏ច្រើននៃគ្រួសារ Enterobacteriaceae។

នៅក្នុងការពិសោធនេះ អ្នកនឹងធ្វើការផ្ទេរភាពធន់នឹងថ្នាំ ពីពូជមួយនៃ *Salmonella typhimurium* ដែលត្រូវបានគេស្គាល់ថាមានផ្ទុកកត្តា R (R factors) ទៅកាន់ *E. coli* ដែលជាអ្នកទទួលយកភាពធន់នេះ។ ការធ្វើតេស្ត ដើម្បីកំណត់ភាពងាយរងគ្រោះដោយសារអង់ទីប្យូទិច (antibiotic susceptibility tests) នឹងត្រូវបានធ្វើឡើងដោយប្រើវិធីសាស្ត្រ Kirby-Bauer ដែលមានលក្ខណៈស្តង់ដារ។

១៧.២ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖

១៧.២.១ សម្ភារៈសម្រាប់គ្រុពិសោធន៍មួយ៖

- ទីបបណ្តុះរាវដែលផ្ទុកចំណីប្រភេទ Mueller-Hinton និង *Salmonella typhimurium* (អ្នកបោះបង់កត្តា R)
- ទីបបណ្តុះរាវដែលផ្ទុកចំណីប្រភេទ Mueller-Hinton និង *E. coli* (អ្នកទទួលយកកត្តា R)
- សម្ភារៈចាំបាច់មួយចំនួនទៀតមានដូចជា៖
    - ចានបណ្តុះផ្ទុក MacConkey's agar សុទ្ធចំនួន ២ សម្រាប់ (I) (plain MacConkey's agar [Mac])
    - ចានបណ្តុះផ្ទុក MacConkey's agar និង nalidixic acid (NA) ចំនួន ២ សម្រាប់ (II)
    - ចានបណ្តុះផ្ទុក MacConkey's agar, nalidixic acid (NA) និង tetracycline (TE) ចំនួន ២ សម្រាប់ (III)
    - ចានបណ្តុះផ្ទុក MacConkey's agar, nalidixic acid (NA) និង ampicillin (AM) ចំនួន ២ សម្រាប់ (IV)
    - លួបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ
    - សំឡីត្បារដែលស្ងួតរួច

១៧.២.២ ដំណើរការពិសោធ

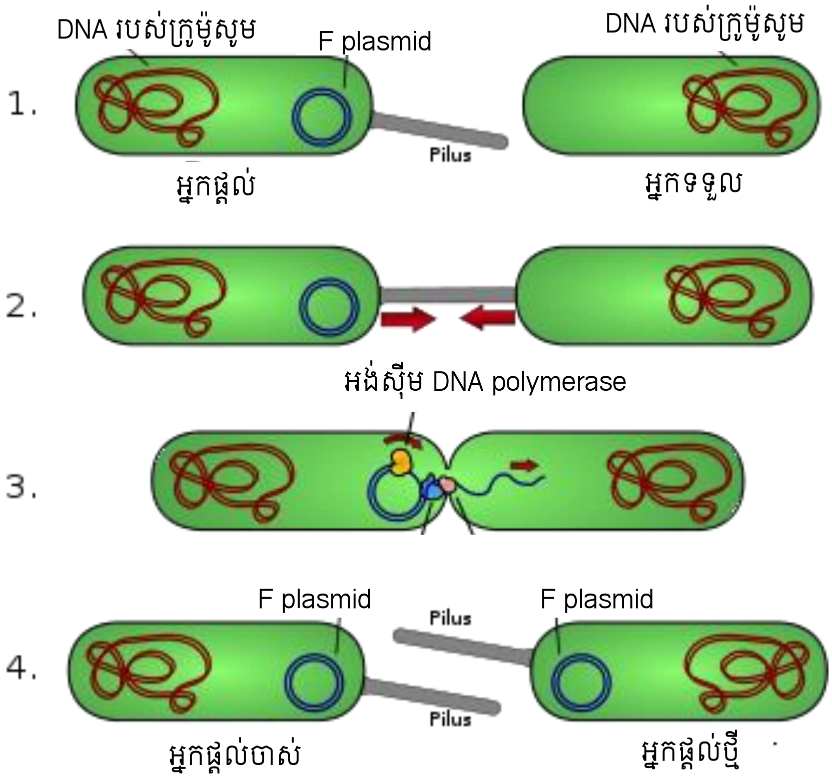
១. បន្ថែម ០.៥ mlនៃ *E. coli* ដែលមានដង់ស៊ីតេអុបទិច (optical density [OD]) ចន្លោះពី ០.៣ ទៅ ០.៥ ទៅក្នុង ០.៥ mlនៃ *S. typhimurium* ដែលមានដង់ស៊ីតេអុបទិចចន្លោះពី ០.៣ ទៅ ០.៥ និងច្របល់បញ្ចូលគ្នាដោយគ្រលុកថ្នមៗ។

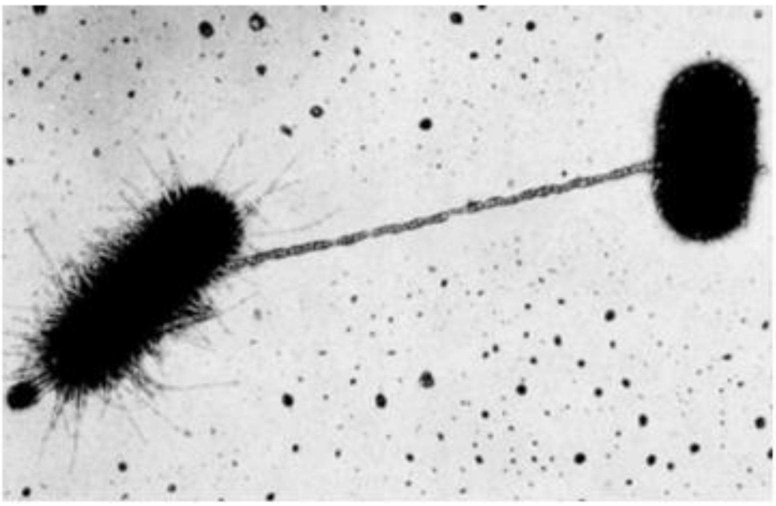
២. ដាក់ភ្ញាស់ល្បាយនៃមេរោគទាំង ២ នេះនៅ ៣៧ °C រយៈពេល ២ ម៉ោងដោយត្រូវគ្រលុកជាប់ជានិច្ច ដើម្បីជម្រុញឲ្យការរួមបញ្ចូលគ្នាកើតឡើងបាន។

ចំណាំ៖ ជំហានទី ១ និង ២ ត្រូវបានធ្វើរួចជាស្រេចសម្រាប់អ្នក។

៣. យកល្បាយនៃមេរោគទាំង ២ចេញ និងជ្រមុជសំឡីត្បារដែលស្ងួតរួចទៅក្នុងល្បាយនេះ។ ប៉ាតផ្ទៃកពាក់កណ្តាលខាងលើនៃចានបណ្តុះ ដោយប្រើសំឡីត្បារនេះ។ បន្ទាប់មក ធ្វើការឆូតល្បាយនេះទៅលើចានបណ្តុះដោយប្រើលួប ដើម្បីញែកមេរោគឲ្យដុះដាច់ៗពីគ្នា។ ធ្វើបែបនេះនៅលើចានបណ្តុះទាំង ៨។

៤. ដាក់ចានបណ្តុះទាំងអស់នេះភ្ញាស់រយៈពេល ១ យប់ នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C។





រូបភាព ១៧.១ ការរួមបញ្ចូលគ្នារបស់មេរោគ។ រូបភាពខាងលើ៖ ដំហាននៅក្នុងការផ្ទេរប្លាស្មីត F (F plasmid) រវាងកោសិកា *E. coli* ពីរ ។ រូបភាពខាងក្រោម៖រូបភាពអេឡិចត្រុងនៃកោសិកា *E. coli* ពីរ នៅដំហានទី ១ នៃដំណើរការនៃការរួមបញ្ចូលគ្នា។

ព័ត៌មានបន្ថែម

១. MacConkey's agar ជាប្រភេទចំណីបណ្តុះបែប selective និង differential មួយប្រភេទ មានលក្ខណៈ selective ចំពោះពួកមេរោគរាងទ្រវែង ក្រាមអវិជ្ជមាន និងញែកឲ្យឃើញភាពខុសគ្នារវាងពួកមេរោគរាងទ្រវែង ក្រាមអវិជ្ជមាន ដែលបម្លែងស្ករឡាក់តូស នឹងពួកមេរោគរាងទ្រវែង ក្រាមអវិជ្ជមាន ដែលមិនបម្លែងស្ករឡាក់តូស។ ពួកមេរោគរាងទ្រវែង ក្រាមអវិជ្ជមាន ដែលបម្លែងស្ករឡាក់តូស មានពណ៌ផ្កាឈូក។ ពួកមេរោគរាងទ្រវែង ក្រាមអវិជ្ជមាន ដែលមិនបម្លែងស្ករឡាក់តូស មានពណ៌ពីត្នោតទៅគ្មានពណ៌។

E. coli បម្លែងស្ករឡាក់តូស (ដែលឲ្យជាកូឡូនីពណ៌ផ្កាឈូក)។

S. typhimurium មិនបម្លែងឡាក់តូស (ដែលឲ្យជាកូឡូនីពណ៌ត្នោត)។

២. *S. typhimurium* ដែលជាអ្នកបោះប្លាស្មីត មានភាពរួសនឹង NA ហើយធន់នឹង TE និង AM ដូចនេះ *S. typhimurium* គួរតែដុះតែនៅលើចានបណ្តុះដែលមានតែ Mac សុទ្ធ។

៣. *E. coli* ដែលបានរួមបញ្ចូលគ្នាជាមួយនឹង *S. typhimurium* គួរតែចាប់យកកត្តា R ដើម្បីធន់នឹង TE និង AM។ ដូចនេះ តាមរយៈល្បាយនៃមេរោគទាំង ២ នេះ *E. coli* នឹងដុះលូតលាស់នៅលើចានបណ្តុះទីI ទីII ទីIII និងទីVI។ *S. typhimurium* ដែលបានពីល្បាយនៃមេរោគទាំង ២ នេះ គួរតែដុះតែនៅលើចានបណ្តុះទី I ដោយសារតែ NA ដែលមានក្នុងចានបណ្តុះទី II ទីIII និងទីIV នឹងបង្អាក់ការដុះលូតលាស់របស់វា។

១៧.៣ ការពិសោធដំណាក់កាលទី ២៖

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយ៖

- ទីបចំនួន ២ ដែលផ្ទុក Tryptic Soy Broth (TSB)
- ចានបណ្តុះចំនួន ២ ដែលផ្ទុក Mueller-Hinton (M-H) agar
- ទឹកអំបិលស្ទេរីលចំនួន ១ ដប
- សំឡីត្បារដែលស្ទេរីលរួចចំនួន ២
- ទីបចំនួន ១ ដែលផ្ទុកនូវសូលុយស្យុងស្តង់ដារ MacFafarland នៃបារ្យ៉ូមស៊ុលផាតដង់ស៊ីតេ 0.៥ (barium sulfate density standard 0.5 MacFafarland)
- ពីប៉ែត 0.៥ ml ស្ទេរីល និង ទីបស្ទេរីល
- បន្ទះក្រដាសចំនួនដែលផ្ទុកអង់ទីប្យូទិច (ចំនួន ២ បន្ទះសម្រាប់អង់ទីប្យូទិចនីមួយៗ)៖
    - Ampicillin 10 µg
    - Nalidixic Acid 30 µg
    - Tetracycline 30 µg

១៧.៣.១ ដំណើរការពិសោធ

១. ត្រូវរកមើលកូឡូនីពណ៌ផ្កាឈូកនៃ *E. coli* ដែលជាអ្នកទទួលប្លាស្មីតនៅលើចានបណ្តុះទីIII (NA + TE) និង IV (NA + AM)។

២. ផ្ទេរយកកូឡូនីដែលមានពណ៌ស្រដៀងផ្កាឈូកពី ១ ទៅ ២ ពីចានបណ្តុះទី III និងចាក់ចម្លងទៅក្នុងទីប ១ នៃ TSB ។ ធ្វើបែបនេះដដែលចំពោះចានបណ្តុះទី IV និងចម្លងទៅក្នុងទីបទី ២ នៃ TSB។

៣. បន្ថែមបាក់តេរីឲ្យបានគ្រប់គ្រាន់ទៅក្នុងទីបនៃTSB រហូតដល់ដង់ស៊ីតេរបស់បាក់តេរី មានលំនឹងជាមួយដង់ស៊ីតេស្តង់ដារនៃបារ្យ៉ូមស៊ុលផាត(barium sulfate density standard)

(**ចំណាំ៖** ដើម្បីជាជំនួយក្នុងការបញ្ជាំងមើលកំណកោសិកាស្តង់ដារដែលល្អក់នេះ ត្រូវគូសបន្ទាត់ពណ៌ខ្មៅមួយនៅលើក្រដាសស។ លើកទីបទាំង ២ ឡើងដាក់ពីលើបន្ទាត់ខ្មៅនេះ។)

៤. ជ្រលក់សំឡីត្បារដែលស្ទេរីលរួច ចំនួន ១ ទៅក្នុងទីប TSB ដែលពង្រាវត្រឹមត្រូវ។ យកអង្គធាតុរាវដែលជាប់នឹងសំឡីត្បារលើសចេញ ដោយបង្វិលវាដោយសង្កត់ឲ្យខ្លាំងទល់នឹងផ្នែកខាងក្នុងនៃទីប ដែលនៅខាងលើនីវ៉ូអង្គធាតុរាវនេះ។

៥. យកសំឡីជាប់អង្គធាតុរាវនេះ ទៅឆូតលើផ្ទៃទាំងមូលនៃចានបណ្តុះ M-H ឲ្យបានទិសដៅ ៣ ផ្សេងគ្នា។ ទុកអង្គធាតុរាវដែលបានចាក់ចម្លងទៅលើចានបណ្តុះនេះឲ្យស្ងួតរយៈពេល ៣ ទៅ ៥ នាទី។

៦. យកបន្ទះក្រដាសដែលផ្ទុកពួកអង់ទីប្យូទិចទៅដាក់ពីលើចានបណ្តុះនេះ ដោយប្រើដង្កៀបដែលស្ទេរីលរួច (sterile forceps) (Kirby-Bauer Method)។

៧. សង្កត់បន្ទះក្រដាសទាំងនេះថ្មមៗទៅលើចានបណ្តុះដោយប្រើដង្កៀបដែលស្ទេរីលរួច ដើម្បីធានាថាវាជាប់នឹងផ្ទៃចាហួយ។

៨. ដាក់ភ្ញាស់ចានបណ្តុះដែលផ្នែកមានចាហួយផ្កាប់ចុះក្រោមនេះ នៅ ៣៧ °C ចាំរហូតដល់ការពិសោធលើកក្រោយ។

៩. វាស់អង្កត់ផ្ចិតរបស់ផ្នែកដែលការដុះលូតលាស់ត្រូវបានបង្អាក់ ដើម្បីកំណត់ថាតើមេរោគនេះងាយរងគ្រោះ (susceptible) ធន់នៅចន្លោះ (intermediate) ឬធន់នឹង (resistant) អង់ទីប្យូទិច។ ប្រើតារាងដែលផ្តល់ឲ្យនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

១៧.៣.២ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៧

១. ដោយប្រើតារាងខាងក្រោម កត់ត្រានូវការរកឃើញរបស់អ្នក។

តារាង ១៧.១ ការពិពណ៌នាពីទំហំនៃផ្នែកដែលរងនូវការបង្អាក់ការលូតលាស់បាក់តេរី

អង់ទីប្យូទិច	កំហាប់ (Disc Potency)	អង្កត់ផ្ចិតនៃផ្នែកដែលរងនូវការបង្អាក់គិតជាមីលីម៉ែត្រ		
		ធន់នឹង	ធន់នៅចន្លោះ	រួសនឹង
Ampicillin	10 µg	១១ មម ឬតូចជាងនេះ	១២ ទៅ ១៣ មម	១៤ មម ឬច្រើនជាងនេះ
Nalidixic acid	30 µg	១៣ មម ឬតិចជាងនេះ	១៤ ទៅ ១៨ មម	១៩ មម ឬច្រើនជាងនេះ
Tetracycline	30 µg	១៤ មម ឬតិចជាងនេះ	១៥ ទៅ ១៨ មម	១៩ មម ឬច្រើនជាងនេះ

២. តើអ្នកបានរៀនអ្វីខ្លះពីពិសោធន៍នេះ ?

លំហាត់ ១៨៖ វីរុសដែលជាបរាសិតលើបាក់តេរី (Viruses of Bacteria)

១៨.១ សេចក្តីផ្តើម

ភាពជាបរាសិត ជាច្បាប់មួយដែលមានសឹងគ្រប់ទីកន្លែងនៅក្នុងពិភពមីក្រុប ក៏ដូចជានៅក្នុងពិភពជីវសាស្ត្រឯទៀតៗ។ ក្រៅពីទំហំដ៏តូច និងភាពជាបរាសិតដ៏មានឯកទេសរបស់បាក់តេរី ពួកវាអាចអនុញ្ញាតសារពាង្គកាយដទៃមករស់នៅជាមួយពួកវាក្នុងទម្រង់ជាបរាសិតបាន។ នៅក្នុងចំណោមពួកភ្នាក់ងារ ដែលចម្លងទៅក្នុងកោសិកាបាក់តេរី គឺជាពួកវីរុស ដែលមានទំហំតូចជាងបាក់តេរីដែលពួកវារស់នៅជាមួយ និងមានឯកទេសខ្ពស់នៅក្នុងការជ្រើសរើសម្ចាស់បញ្ញើរបស់ខ្លួន។ ពួកវីរុស ជាពួកបរាសិតនៅក្នុងកោសិកាដោយបង្ខំ (obligate intracellular parasites) ដែលមានរចនាសម្ព័ន្ធធម្មតា។ ពួកវីរុស ផ្ទុក DNA ឬ RNA ដែលព័ទ្ធជុំវិញដោយស្រោមប្រូតេអ៊ីន។ នៅពេលនៅក្នុងកោសិកាម្ចាស់បញ្ញើ វីរុសប្រើប្រាស់សារធាតុដែលសំយោគដោយកោសិកាម្ចាស់បញ្ញើដើម្បីបង្កើតទម្រង់នៃវីរុសថ្មី។

វីរុសនៃបាក់តេរី ត្រូវបានគេហៅថា bacteriophages ឬជួនកាលជា phages។ bacteriophage ជាបំណែកមួយនៃសម្ភារៈសេនេទិច (អាស៊ីតនុយក្លេអ៊ិច) ដែលព័ទ្ធដោយស្រោមប្រូតេអ៊ីន ហើយមានតែបំណែកអាស៊ីតនុយក្លេអ៊ិចប៉ុណ្ណោះ ដែលចូលទៅក្នុងកោសិកាបាក់តេរី។ នៅក្នុងកោសិកាបាក់តេរីនេះ អាស៊ីតនុយក្លេអ៊ិចរបស់វីរុស បម្លែងដំណើរការមេតាបូលីសកោសិកាទាំងអស់ឲ្យទៅជាការផលិតបំណែកវីរុសថ្មីៗ ដែលបណ្តាលឲ្យមានការបំផ្លាញដល់បាក់តេរី (ដូចនេះ វាក្លាយជា lytic or virulent bacteriophage) ឬ DNA របស់វីរុសប្រមូលផ្តុំគ្នាទៅក្នុង DNA នៃកោសិកាម្ចាស់បញ្ញើ និងត្រូវបានគេហៅថា temperate bacteriophage។ នេះត្រូវបានគេហៅថា ទំនាក់ទំនងដែលមានស្បែនដូចគ្នា (isogenic relationship)។ នៅក្នុង temperate bacteriophage មួយចំនួននៃវីរុស (true viral characteristics) ត្រូវបានបង្អាក់។

១៨.២ ការញែក និងការកំណត់កំហាប់ *Bacteriophage*

នៅក្នុងលំហាត់នេះ អ្នកត្រូវបានផ្តល់ឲ្យនូវមេរោគញែករួចពី *Escherichia coli* ដែលមានក្នុងចំណីបណ្តុះរាវព្រមទាំងមានបន្ថែមនូវ lytic bacteriophage។ ការលូតលាស់នៃ bacteriophage បានឲ្យផលជាម៉ាសដ៏ច្រើននៃបាក់តេរី *E. coli* ដែលខូចទ្រង់ទ្រាយ។ ម៉ាសរបស់ *E. coli* នេះ ត្រូវបានច្រោះដើម្បីយកបាក់តេរីដែលនៅរស់ចេញ។ ដោយធ្វើបែបនេះ នោះឲ្យយើងទទួលបានកំហាប់ដ៏ខ្ពស់នៃ bacteriophage ហើយឥឡូវនេះ យើងចាំបាច់ត្រូវកំណត់បរិមាណ bacteriophage ដែលមាននៅក្នុងសូលុយស្យុងដែលបានច្រោះរួច។ ការកំណត់បរិមាណនេះ ត្រូវបានធ្វើឡើងដោយបច្ចេកទេសកំណត់កំហាប់ (titration technique) ដែលកម្រិតពង្រាវផ្សេងៗគ្នានៃ phage ត្រូវបានលាយជាមួយ *E. coli* និងចាក់បញ្ចូលក្នុងចានបណ្តុះ។ នៅក្នុងចានបណ្តុះដែលមានកំហាប់ bacteriophage ខ្ពស់ៗ បរិមាណបាក់តេរីដែលខូចទ្រង់ទ្រាយ នឹងមានចំនួនច្រើន ដែលគ្រប់ *E. coli* ទាំងអស់ នឹងត្រូវបានសម្លាប់ (killed or lysed)។ នៅក្នុងចានបណ្តុះដែលមានកំហាប់ bacteriophage ទាបៗផ្ទៃថ្លាៗដែល

មានបាក់តេរី (individual plaques or clear areas) នឹងលេចឡើង។ ផ្ទៃថ្លាៗដែលផ្ទុកបាក់តេរីទាំងនេះ ជាលទ្ធផលនៃកំនើនដ៏ច្រើននៃ phage មួយ ដែលកំពុងធ្វើស្វ័យតំឡើងទ្វេដើម្បីបំផ្លាញកោសិកាបាក់តេរីមួយ ហើយវាក៏ជាលទ្ធផលនៃ phage ថ្មីៗ ដែលកំពុងភ្ជាប់ខ្លួនភ្លាមៗជាមួយកោសិកាបាក់តេរីនៅជុំវិញកោសិកាបាក់តេរីដំបូងៗ (initial bacterial cells)។ ប្រសិនបើ អ្នកលើកចានបណ្តុះឡើងលើឲ្យត្រូវពន្លឺ អ្នកនឹងអាចឃើញផ្ទៃថ្លាតូចៗនៅក្នុង agar។ ទាំងនេះ ជាផ្ទៃថ្លាៗដែលផ្ទុកបាក់តេរី (plaques)។

១៨.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយ៖

- ២ mlនៃ *E. coli* 023 bacteriophages
- ទីបចំនួន ៦ នៃ nutrientbroth ចំនួន ៤.៥ ml ដែលផ្ទុកនូវ NaCl កំហាប់ 0.៥ %
- ទីបចំនួន ៧ នៃចំណីបណ្តុះទន់ (soft agar) ចំនួន ៣ ml (0.៥ % នៃagar នៅក្នុង nutrientbroth ដែលផ្ទុក NaCl កំហាប់ 0.៥ %) ដាក់ក្នុងធុងចំហុយ (water bath) សីតុណ្ហភាព ៤៤ °C
- ចានបណ្តុះចំនួន ៧ នៃ nutrient agar ដែលផ្ទុក NaCl កំហាប់ 0.៥ %
- ៣ mlនៃបាក់តេរី *E. coli* 023 ដែលបណ្តុះក្នុងចំណីរាវរយៈពេល ៦ ម៉ោង
- ពីប៉ែតចំណុះ ១ mlដែលស្ទេរីលរួច ចំនួន ១២

១៨.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. បង្កើតសេរីនៃកម្រិតពង្រាវរបស់ phage ពីកម្រិត ១០$^{-១}$ ដល់ ១០$^{-៦}$ ដោយដាក់ 0.៥ ml នៃ phage ទៅក្នុង ៤.៥ mlនៃ nutrient broth ដែលស្ទេរីលរួច។

២. បន្ថែម 0.៣ mlនៃ *E. coli* ដែលបណ្តុះក្នុងចំណីបណ្តុះរាវទៅក្នុងទីបដែលផ្ទុកចំណីបណ្តុះទន់ (soft agar) នីមួយៗ និងដាក់ក្នុងផ្ទាំងទឹកក្តៅ (water bath)។ ចំណីបណ្តុះទន់ ត្រូវតែមានសីតុណ្ហភាព ៤៤ °C (សីតុណ្ហភាពនេះ សំខាន់ណាស់) ដូចនេះ ទុកទីបទាំងនេះចោលនៅក្នុងផ្ទាំងទឹកក្តៅរហូតដល់ចប់ទម្រង់ការទាំងអស់។

៣. បន្ថែម 0.២ mlនៃ phage ក្នុងកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-១}$ ទៅក្នុងទីបចំណីបណ្តុះទន់ដែលផ្ទុក *E. coli* និងច្របល់បញ្ចូលគ្នា។ ចាក់លាយនេះភ្លាមៗទៅក្នុងចានបណ្តុះដែលមាន agar រួចបង្វិលចានបណ្តុះនេះ ដើម្បីពង្រាយល្បាយនេះឲ្យបានសព្វ ។ ទុកផ្ទៃដែលពង្រាយរួចនេះឲ្យឡើងរឹង ។

៤. អនុវត្តដំណើរការពិសោធនេះសាជាថ្មីជាមួយកម្រិតពង្រាវនីមួយៗ (១០$^{-២}$, ១០$^{-៦}$)។ ការប្រុងប្រយ័ត្ន ត្រូវតែអនុវត្តដើម្បីចៀសវាងកុំឲ្យ agar ឡើងរឹង មុនពេលចាក់លើចានបណ្តុះ។

៥. ចាក់ចំណីបណ្តុះទន់ទី ៧នៃទីប ដែលផ្ទុក *E. coli* ទៅក្នុងចានបណ្តុះដែលមាន agar។ មិនត្រូវបន្ថែម phage ទៅក្នុងទីបនេះទេ។ ទីបនេះ នឹងប្រើជាបច្ច័យត្រួតពិនិត្យ (control)។

៦. នៅពេលដែល ផ្ទៃដែលនៅខាងលើចានបណ្តុះទាំងនេះ ឡើងរឹងទាំងអស់ ត្រូវផ្កាប់ផ្នែកមាន agar ចុះក្រោម និងដាក់ភ្ញាស់ពួកវានៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង។

៧. រាប់ចំនួនផ្ទៃថ្លាៗដែលផ្ទុកបាក់តេរី (ផ្ទៃតូចៗថ្លា ដែលមានបណ្តុំ *E. coli* យ៉ាងច្រើន [dense *E. coli* " lawn"]) នៅលើចានបណ្តុះដែលមានចំនួនពី ៣០ ទៅ ៣០០ ។ ផ្ទៃថ្លាដែលផ្ទុកបាក់តេរីនីមួយៗ តំណាងឲ្យបំណែកវីរុស ១។ កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

១៨.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៨

១. ដោយប្រើលទ្ធផលនៃការកំណត់កំហាប់ (titration) ចូរគណនាចំនួនបំណែក phage ក្នុង ១ mlនៃកំណា bacteriophage ដើម ។

___

___

___

២. តើមានបំណែកវីរុសចំនួនប៉ុន្មានដែលអ្នកបានឃើញនៅក្នុងកំណា bacteriophage ដើម?

___

___

៣. ហេតុអ្វីបានជាវីរុសត្រូវការកោសិការស់ដើម្បីធ្វើស្វ័យតំឡើងទ្វេ?

___

___

___

លំហាត់ ១៩៖ ការសម្លាប់ និងបង្អាក់សកម្មភាពមីក្រូសរីរាង្គ

(Destruction and Inhibition of Microoraganisms)

១៩.១ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ១៖ សារធាតុបង្អាក់ការដុះលូតលាស់ និងបន្តពូជរបស់មេរោគ (*antiseptics*) និងសារធាតុសម្លាប់មេរោគ (*disinfectants*)

១៩.១.១ សេចក្តីផ្តើម

Antiseptics ជាបណ្តាសារធាតុ ដែលរារាំងការដុះលូតលាស់របស់មីក្រូសរីរាង្គ ផ្តល់ហានិភ័យខ្លាំង ប៉ុន្តែមិនចាំបាច់សម្លាប់ពួកវាទេ។ antiseptics ដូចជាផលិតផលទឹកលាងមាត់រាប់រយប្រភេទ ត្រូវបានគេបង្កើតឡើង ដើម្បីធ្វើឲ្យប្រូតេអ៊ីនដែលជាប់គ្នាក្លាយជាកករដុំៗ និងបង្កើតជាស្លេស្ម ដែលទាក់បាក់តេរីឲ្យជាប់ជាមួយ និង antiseptics លាងជម្រះមេរោគចេញដោយសកម្មភាពសារធាតុគីមី។ បើទោះបីជា ផលិតផលទឹកលាងមាត់បែប antiseptics មួយចំនួន មានគុណភាពសម្លាប់មេរោគបានក៏ដោយ ក៏ភាគច្រើននៃផលិតផលនេះ នៅតែមានគុណភាពសម្លាប់មេរោគតិចតួច។ ជាទូទៅ antiseptics មិនពុលចំពោះជាលិការស់ទេ។

Disinfectants ជាបណ្តាសារធាតុដែលមានបែបផែនសកម្មភាពជាក់លាក់ក្នុងការបំផ្លាញពួកមេរោគបង្ករោគធ្ងន់ធ្ងរ ប៉ុន្តែមិនចាំបាច់សម្លាប់ពួកមេរោគសាប្រូហ្វីតទេ (saprophytic organisms)។ Disinfectants ត្រូវបានប្រើប្រាស់លើសារពាង្គកាយមានជីវិត។ បែបផែនសកម្មភាពនៃ disinfectants ឬមីក្រូសរីរាង្គ ប្រែប្រួលទៅតាម disinfectant។ បែបផែនសកម្មភាពសាមញ្ញៗមាន៖

- ធ្វើអុកស៊ីតកម្មកោសិកា ឧទាហរណ៍ អ៊ីដ្រូសែនពែកអុកស៊ីត ប៉ូតាស្យូមពែម៉ង់កាណាត សារធាតុលាងជម្រះ ។
- បន្សំជាមួយប្រូតេអ៊ីននៃកោសិកាដើម្បីបង្កើតជាពួកអំបិល ឧទាហរណ៍ សមាសធាតុដែលផ្ទុកលោហៈធ្ងន់ ។
- ធ្វើឲ្យប្រូតេអ៊ីននៃកោសិកាកកដុំៗ ឧទាហរណ៍ formalin, phenols សមាសធាតុអាល់កុល។
- ផ្លាស់ប្តូរជម្រាបភ្នាសកោសិកា ឧទាហរណ៍ សាប៊ូដុំ សាប៊ូម្សៅ ឬសាប៊ូទឹកមានសមាសធាតុអាម៉ូញ៉ូមដែលមានវ៉ាឡង់ ៤។
- បង្អាក់ការសំយោគអង់ស៊ីម ឧទាហរណ៍ cyanides ពួកសារធាតុផ្ទុកក្លយអរ បារត ជាដើម។

មានលក្ខណៈជាច្រើនទៀត ដែលអ្នកនឹងស្វែងរកមើល ដើម្បីជ្រើសយកសារធាតុ antiseptic or disinfectant ដែលប្រសើរបំផុត។ សំណួរដែលនឹងជួយអ្នកក្នុងការសម្រេចចិត្តគឺមានដូចជា តើអ្នកកំពុងព្យាយាមសម្លាប់អ្វី ហើយតើភ្នាក់ងារកម្ចាត់មេរោគអ្វីដែលនឹងត្រូវបានប្រើ ?

១. សារធាតុដែលពុលតែចំពោះមីក្រូសរីរាង្គ ប៉ុន្តែមិនពុលចំពោះមនុស្ស សត្វ ឬបរិស្ថាន

២. អាចរលាយដោយងាយ និងបង្កើតជាកំណាស្មើសាច់ (homogeneous suspensions)

៣. មានស្ថេរភាពពេលស្តុកទុក និងកំឡុងពេលប្រើប្រាស់

៤. មិនអាចផ្សំជាមួយសារជាតុសរីរាង្គដទៃបាន
៥. សកម្មភាពបង្អាក់ មិនអាស្រ័យនឹងសីតុណ្ហភាព
៦. មានលទ្ធភាពអាចជ្រាបបាន
៧. មិនធ្វើឲ្យឡើងច្រែះ និងមិនធ្វើឲ្យប្រឡាក់ពណ៌
៨. អាចដកក្លិនចេញបាន
៩. មានលទ្ធភាពដើរតួនាទីជាសាប៊ូបាន
១០. ងាយរក និងប្រើប្រាស់ជាលក្ខណៈសេដ្ឋកិច្ច

ដើម្បីកំណត់ការជ្រើសរើសរបស់អ្នក អ្នកគួរតែពិចារណាឲ្យបានដូចគ្នាចំពោះកត្តា ឬលក្ខខណ្ឌដែលមានឥទ្ធិពលលើសកម្មភាព antiseptic ឬ disinfectant

១. កំហាប់ និងប្រភេទនៃសារជាតុគីមី
២. រយៈពេលដែលដាក់មីក្រូសរីរាង្គឲ្យប៉ះជាមួយសារជាតុគីមីនេះ (exposure time)
៣. សីតុណ្ហភាព
៤. ប្រភេទមីក្រូសរីរាង្គ
៥. វត្ថុធាតុដែលបាំងមីក្រូសរីរាង្គនេះ

ការប្រមូល និងការលើកដាក់សំណាកសម្រាប់ការវិភាគនៅមន្ទីរពិសោធន៍ ជាកង្វល់របស់អ្នកជំនាញសុភាពសាធារណៈ។ ការលើកដាក់មិនសមស្រប និងការសម្លាប់មេរោគលើឧបករណ៍ ទៃម៉ូម៉ែត្រកម្រាលតុ និងសម្ភារៈផ្សេងទៀតជាច្រើន មានសារសំខាន់ណាស់ ដើម្បីការពារការចម្លងជំងឺតាម រយៈទន្តបណ្ឌិត គិលានុដ្ឋាក វេជ្ជបណ្ឌិត បសុពេទ្យ ឬបណ្ដាអ្នកជំនាញសុភាពសាធារណៈផ្សេងទៀត។

វាពិតជាគួរឲ្យចាប់អារម្មណ៍ណាស់ ដែលមាត់ដែលមានសុភាពល្អ ជាជម្រកនៃសរីរាង្គដូចជា *Streptococci, Diplococci, Meningococci* និង *Diphtheria bacilli* ។ បើទោះបីជាមីក្រូសរីរាង្គទាំងនេះ មិនបង្កជាបញ្ហាដល់អ្នកផ្ទុកពួកវាក៏ដោយ ប៉ុន្តែពួកវាប្រហែលជាបង្កជំងឺធ្ងន់ធ្ងរណាស់ចំពោះមនុស្សដទៃ។ បន្ថែមពីលើពួកមីក្រូសរីរាង្គខាងលើ ពិតណាស់ពួក *bacillus* ដែលនៅនឹងធ្មេញ ជានិច្ចកាលគឺមានបង្កគ្រោះថ្នាក់។ មានតែវិធីសាស្ត្របែបបាក់តេរីវិទ្យាទេ ទើបអាចលាតត្រដាងពីវត្តមាននៃមីក្រូសរីរាង្គទាំងនេះបាន។ មិនថាប្រភពនៃការចម្លងមេរោគ ប្រហែលជាប្រភេទអ្វីក៏ដោយ ក៏ពួកវា នៅតែជាក្ដីបារម្ភដ៏ខ្លាំងចំពោះគ្រប់វិធានការការពារ និងគ្រប់គ្រងជំងឺ។ ពិសោធន៍ខាងក្រោមនេះ ត្រូវបានគេបង្កើតឡើង ដើម្បីបង្ហាញពីរបៀបដែលភ្នាក់ងារចម្លងជំងឺមួយ ប្រហែលជាត្រូវបានចម្លងទៅកាន់សារពាង្គកាយដទៃនិងប្រសិទ្ធិផលនៃវិធីសាស្ត្រដែលប្រើប្រាស់សម្រាប់ការសម្លាប់មេរោគ និងការពារការចម្លងរោគផ្សេងៗ។

១៩.១.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់មន្ទីរពិសោធន៍មួយ៖

- អាល់កុល និងដង្កៀបចំនួន ១ សម្រាប់

- ចានបណ្តុះចំនួន ៣ ដែលចានបណ្តុះនីមួយៗ មានបន្ទះក្រដាសសម្រាប់វិភាគចំនួន ១៥ ទៅ ២០ សន្លឹក ដែលបានជ្រលក់ (coded or soaked) ជាមួយទឹកលាងសម្អាតមាត់មួយក្នុងចំនោមទឹកលាងសម្អាតមាត់ ដែលរួមមាន៖
    - Listerine
    - Lavoris
    - Cepacol
    - Scope
    - ផលិតផលដែលមានស្លាកយីហោផ្សេងៗទៀតឲ្យបានច្រើនតាមដែលអាចរកបាន។
- ចានបណ្តុះចំនួន ៣ ដែលចាននីមួយៗមានផ្ទុកនូវបន្ទះក្រដាសសម្រាប់វិភាគចន្លោះពី ១៥ ទៅ ២០ សន្លឹក ដែលបានជ្រលក់ជាមួយសារធាតុសម្លាប់មេរោគ ១ ក្នុងចំនោមសារធាតុសម្លាប់មេរោគ ដែលរួមមាន៖
    - អាល់កុល
    - បេតាឌីន (betadine)
    - សារធាតុសម្លាប់មេរោគដែលជាបាសនៃphenol ឬបាសដែលមានវ៉ាឡង់ ៤
    - Merthiolate កំហាប់ ១:១០ ០០០
    - សារធាតុលាងជម្រះមានផ្ទុកក្លរីន កំហាប់ 0.0៥%
    - សារធាតុសម្លាប់មេរោគតាមផ្ទះ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ចានបណ្តុះចំនួន ៤ ដែលផ្ទុក Brain Heart Infusion (BHI) agar
- សំឡីត្បារដែលស្ទេរីលរួចចំនួន ៤ ដើម

១៩.១.៣ ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១៖

១. សិស្សម្នាក់ៗ នឹងជូតមាត់របស់គាត់ដោយប្រើសំឡីត្បារដែលស្ទេរីលរួច និងស្ងួត។ ត្រូវប្រាកដថា សំឡីត្បារនេះ ត្រូវបានបន្សើមទាំងស្រុងដោយសំណាកដែលបានពីថ្ពាល់ អញ្ចាញ និងអណ្តាត។

២. បង្វិលសំឡីសើមនេះឲ្យសព្វលើផ្ទៃ BHI agar ដែលមានក្នុងចានបណ្តុះ។

៣. តុពិសោធន៍មួយ នឹងប្រើសម្រាប់ដាក់បន្ទះ antiseptic ទាំងអស់ឲ្យនៅលើចានបណ្តុះនៃ BHI។ អនុវត្តបែបនេះដដែលជាមួយចានបណ្តុះទី ២ ដែលផ្ទុក BHI។ តុពិសោធន៍មួយផ្សេងទៀត នឹងប្រើសម្រាប់ដាក់បន្ទះ disinfectant ទាំងអស់ឲ្យនៅលើចានបណ្តុះ BHI។ អនុវត្តបែបនេះដដែលជាមួយចានបណ្តុះទី ២ ដែលផ្ទុក BHI ។ ចានបណ្តុះ ១ នៃក្រុម antiseptic និងចានបណ្តុះ ១ នៃក្រុម disinfectant នឹងត្រូវបានដាក់ដាក់ភ្ញាស់ក្រោមលក្ខខណ្ឌគ្មានខ្យល់ (៣៧°C) ហើយពួកចានបណ្តុះផ្សេងៗទៀត នឹងត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់ក្រោមលក្ខខណ្ឌមានខ្យល់ (៣៧°C)។

១៩.១.៤ ពិសោធន៍ជំណាក់កាលទី ២៖

១. កំណត់ឲ្យឃើញថាតើប្រភេទ antiseptic ឬ disinfectant ណា ដែលបានបង្អាក់ការដុះលូតលាស់បានល្អជាងគេ តាមរយៈការវាស់ទំហំផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់។ កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

១៩.១.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ១

តារាង ១៩.១ ឥទ្ធិពលនៃសារធាតុសម្លាប់មេរោគដែលត្រូវបានប្រើប្រាស់ជាធម្មតា

សារធាតុសម្លាប់មេរោគ	% កំហាប់	សកម្មភាពលើ:			
		បាក់តេរី		ផ្សិត (fungi)	វីរុស
		ទម្រង់លូតលាស់ (vegetative)	ទម្រង់ជាស្ពរ (spores)		
អេទីលអាល់កុល	៧០-៩០	ល្អ	គ្មាន	មធ្យម	មធ្យម
អ៊ីសូប្រូពីលអាល់កុល	៧០-៩០	ល្អណាស់	គ្មាន	ល្អ	មធ្យម
អ៊ីសូប្រូពីលអាល់កុល - អ៊ីយ៉ូត	៧០ ០.៥-២.០	ល្អណាស់	មធ្យម	ល្អ	ល្អ
សូលុយស្យុង formaldehyde	៣៧	ល្អ	ល្អ	ល្អ	ល្អ
formaldehyde-អាល់កុល	២០- ៥០	ល្អណាស់	ល្អណាស់	ល្អ	ល្អ
ពួកសមាសធាតុផេណុល (Cresols)	១.០-៥.០	ល្អ	ខ្សោយ	ល្អ	ខ្សោយ
ក្លរីន (អ៊ីប៉ូក្លរីត)	១.០-៥.០	ល្អណាស់	មធ្យម	មធ្យម	ល្អ
Glutaraldehyde	២	ល្អណាស់	ល្អណាស់	ល្អ	ល្អ
អ៊ីយ៉ូតឌីន (ពរ)	២.០-៥.០	ល្អណាស់	ខ្សោយ	ល្អ	ល្អ
Idophors	១	ល្អ	ខ្សោយ	ខ្សោយ	ល្អ
Hexachlorophene	៣-៤	មធ្យម	គ្មាន	ល្អ	មិនដឹង
Benzalkonium Chloride	១:៧៥០- ១:១០០០	ល្អណាស់	គ្មាន	ល្អ	គ្មាន
Ethylene Oxide Gas	ល្បាយ	ល្អណាស់	ល្អ	ល្អ	ល្អ

១. ធ្វើសរុបសេចក្ដី ឬធ្វើការវាយតម្លៃរបស់អ្នកដោយខ្លួនឯងទៅលើឥទ្ធិពល និងការប្រើប្រាស់ antiseptic និង disinfectant ។

____

____

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

២. តើសារធាតុសម្លាប់មេរោគមួយណា មានប្រសិទ្ធិភាពជាងគេ? តើអ្នកបានអង្កេតមើលពីភាពខុសគ្នារវាងការប្រើប្រាស់ក្រោមលក្ខខណ្ឌគ្មានខ្យល់ និងការប្រើប្រាស់ក្រោមលក្ខខណ្ឌមានខ្យល់ដែរ ឬទេ? តើមួយណាមានប្រសិទ្ធិភាពជាងគេ? តើមានមួយណាដែលមិនមានប្រសិទ្ធិភាពទាល់តែសោះដែរ ឬទេ?

____

____

____

៣. រកឲ្យឃើញបែបផែនសកម្មភាពនៃសារធាតុសម្លាប់មេរោគទាំងនេះ ។

____

____

____

១៩.២ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ២៖ សកម្មភាពនៃពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិច

១៩.២.១ សេចក្ដីផ្ដើម

មីក្រូសរីរាង្គជាច្រើន ផលិតនូវផលិតផលក្នុងដំណើរការមេតាបូលីស ដែលមានជាតិពុល ឬបង្អាក់សកម្មភាពមីក្រូសរីរាង្គផ្សេងៗទៀត។ ជាពិសេសមួយចំនួននៃផលិតផលទាំងនេះ បង្អាក់ដំណាក់កាលជាក់លាក់មួយចំនួននៅក្នុងដំណើរការមេតាបូលីស។ សមាសធាតុទាំងនេះ ត្រូវបានគេហៅថា ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិច (antibiotics)។ ប្រភពដើមនៃមីក្រុប និងភាពជាក់លាក់នៃសកម្មភាពរបស់ពួកវា ជាអ្នកបែងចែកភាពខុសគ្នានៃពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ពីថ្នាំប្រឆាំងបាក់តេរីបែបសំយោគមួយចំនួន និងពីថ្នាំពុលប្រូតូប្លាសទូ ទៅ។

ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចខុសគ្នារាប់ពាន់ប្រភេទ ត្រូវបានគេលើកយកមកសិក្សា ហើយពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចតិចតួចណាស់ មានប្រសិទ្ធិភាពព្យាបាលជំងឺឆ្លង។ ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមានសារៈសំខាន់មួយចំនួនដើរតួនាទីប្រឆាំងនឹងមីក្រូសរីរាង្គបង្កជំងឺមួយចំនួន ដែលអាចរាលដាលលើរាងកាយ និងមិនពុលខ្លាំងចំពោះកោសិការាងកាយទេ។ ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចដែលមានសារៈសំខាន់សម្រាប់វិស័យវេជ្ជសាស្ត្រ គឺ penicillin។ សមាសធាតុនេះ ត្រូវបានបង្កើតឡើងដោយផ្សិតសរសៃ (filamentous fungi) ពូជ *Penicillium notatum* និង *Penicillium chrysogenum* ។ ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចសំខាន់ៗថ្មីៗផ្សេងទៀតភាគច្រើន ត្រូវបានគេញែកចេញពីផលិតផលដែលបានពីពូជផ្សេងៗគ្នានៃអម្បូរ actinomycete genus ឈ្មោះ *Streptomyces* ។ ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចទាំងនេះ មាន streptomycin, chloromycetin, treomycin, terramycin និង erythromycin។ ការប្រើប្រាស់ថ្នាំអង់ទីប្យូទិច បានពង្រីកខ្លួនទៅជាថ្នាំបសុសត្វ ការបន្ថែមទៅក្នុងចំណីសត្វ ការគ្រប់គ្រងជំងឺរុក្ខជាតិ និងការរក្សាទុកចំណីអាហារឲ្យបានយូរ។ ផលិតកម្មថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ចំណាយថវិកាប្រហែល ១ ពាន់លានដុល្លារ ក្នុងមួយឆ្នាំ សម្រាប់ឧស្សាហកម្មមួយ។

១៩.២.២ វិធីសាស្ត្រប្រើបន្ទះក្រដាស សម្រាប់ធ្វើតេស្តកំណត់ភាពរួសនឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិច (PAPER DISC METHOD FOR TESTING ANTIBIOTIC SENSITIVITY)

ការព្យាបាលការចម្លងរោគដោយបាក់តេរី ជានិច្ចកាលអាស្រ័យជាខ្លាំងទៅលើការប្រើប្រាស់នៃថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយចំនួន ដែលដើរតួនាទីជាភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមី។ ជម្រើសក្នុងការជ្រើសរើសថ្នាំអង់ទីប្យូទិចឲ្យបានសមស្រប ត្រូវបានណែនាំតាមរយៈការវិភាគតាមគ្លីនិក អំពីភាពធម្មជាតិនៃភ្នាក់ងារបង្កជំងឺ ហើយនិងតាមរយៈការធ្វើតេស្តកំណត់ភាពរួសនឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់ភ្នាក់ងារបង្កជំងឺដែលត្រូវបានញែក និងកំណត់អត្តសញ្ញាណភ្លាមៗបន្ទាប់ពីធ្វើតេស្ត។ ចំណេះដឹងទៅលើភាពប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីនៃថ្នាំអង់ទីប្យូទិចផ្សេងៗគ្នា មានសារៈសំខាន់ណាស់ ក្នុងការជ្រើសរើសយកភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមីដែលសមស្រប។ ជាឧទាហរណ៍ penicillin G ជាទូទៅមានប្រសិទ្ធិភាពប្រឆាំងនឹងមីក្រូសរីរាង្គក្រាមវិជ្ជមាន ខណៈដែល streptomycin ជាធម្មតាមានប្រសិទ្ធិភាពប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ អម្បូរជាក់លាក់នៃបាក់តេរីជាច្រើន ជាញឹកញាប់តែងតែវិវត្តភាពធន់នឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់ខ្លួន ដែលជាលទ្ធផលគឺទាមទារឲ្យអ្នកវិទ្យាសាស្ត្រមានការធ្វើតេស្តកំណត់ភាពងាយរងគ្រោះដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់បាក់តេរីទាំងនោះ។

ដំណើរការពិសោធសាមញ្ញបំផុត សម្រាប់ការធ្វើតេស្តកំណត់ភាពងាយរងគ្រោះដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់បាក់តេរី ជាវិធីសាស្ត្រដែលប្រើបន្ទះក្រដាសវិភាគ។ នៅក្នុងលំហាត់នេះ អ្នកនឹងអនុវត្តការកែសម្រួលមួយក្នុងចំណោមការកែសម្រួលទាំងនេះ ដែលមានដូចជា Kirby-Bauer Method។ នៅក្នុងវិធីសាស្ត្រនេះ ការបកស្រាយពីភាពងាយរងគ្រោះដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់បាក់តេរី ត្រូវបានគេបង្កើតឡើងដោយប្រៀបធៀបទំហំនៃផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ ជាមួយនឹងតារាងយោងស្តង់ដារមួយ។

លទ្ធផល មានភាពពេញលេញតែក្នុងករណី ដែលដំណើរការពិសោធមានលក្ខណៈស្តង់ដារប៉ុណ្ណោះ។ ដូចនេះ ប្រសិទ្ធិភាពបន្ទះក្រដាស(disc potency) កំហាប់នៃមេរោគដែលចាក់ចម្លងចូល (concentration of inoculum) និងប្រភេទនៃចំណីបណ្ដុះ ត្រូវតែមានស្ថេរភាព។ ដោយសារតែភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមីផ្សេងៗគ្នាមានល្បឿនបន្សាយផ្សេងៗគ្នា នៅក្នុងចាហួយបណ្ដុះ(agar) ដូចនេះ ទំហំនៃផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់មិនឲ្យដុះលូតលាស់ដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយ មិនអាចត្រូវបានយកមកប្រៀបធៀបជាមួយផ្ទៃ ដែលរងការបង្អាក់ដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយផ្សេងទៀតបានទេ ប៉ុន្តែប្រៀបធៀបបានតែជាមួយស្តង់ដារប៉ុណ្ណោះ ។

ក) សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយៈ

- *Escherichia coli* ដែលបានភ្ញាស់ក្នុងចំណីរាវ (broth culture) រយៈពេលពី ២ ទៅ ៥ ម៉ោង
- *Staphylococcus aureus* ដែលបានភ្ញាស់ក្នុងចំណីរាវ (broth culture) រយៈពេលពី ២ ទៅ ៥ ម៉ោង

- ចានបណ្តុះចំនួន ២ ដែលផ្ទុក Mueller-Hinton agar
- សំឡីត្បារស្ទេរីលរួច ចំនួន ២ ដើម
- ទឹកអំបិលស្ទេរីលរួច ចំនួន ១ ទីប
- ដង្កៀបស្ទេរីលរួច
- ស្តង់ដារដង់ស៊ីតេ McFarland Barium Sulfate ចំនួន ៤ ml
- បន្ទះក្រដាសផ្ទុកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចៈ ២ បន្ទះសម្រាប់ប្រភេទថ្នាំអង់ទីប្យូទិចនីមួយៗ
  - Penicillin G ដែលមាន ១០ ខ្នាត (Penicillin G 10 units)
  - Ampicillin 10 µg
  - Neomycin 30 µg
  - Streptomycin 10 µg
  - Tetracycline 30 µg
- អាល់កុល ១ ដប

ខ) ដំណើរការពិសោធដំណាក់កាលទី១៖

១. ប្រៀបធៀបដង់ស៊ីតេទាំងពីរនៃសូលុយស្យុងចំណីបណ្តុះរាវ ដែលផ្ទុកមេរោគខាងលើជាមួយដង់ស៊ីតេនៃស្តង់ដារ McFarland។ ប្រសិនបើចាំបាច់ ត្រូវពង្រាវជាមួយទឹកអំបិលដែលស្ទេរីលរួច ដើម្បីឲ្យបានដង់ស៊ីតេមួយដែលស្មើនឹងតម្លៃស្តង់ដារ តាមរយៈការមើលដោយភ្នែក។

២. បាតចានបណ្តុះមួយជាមួយនឹងប្រភេទមេរោគនីមួយៗ ដែលបានពីចំណីបណ្តុះរាវដោយប្រើសំឡីត្បារស្ទេរីល។

៣. ទុកឲ្យចានបណ្តុះដែលប្រឡាក់សូលុយស្យុងផ្ទុកមេរោគនេះ ឲ្យស្ងួតរយៈពេលប្រហែលជា ១០ នាទី។ ដោយប្រើដង្កៀបដែលស្ទេរីលរួច យកបន្ទះក្រដាសទាំងនេះទៅដាក់លើផ្ទៃចាហួយ។ សង្កត់បន្ទះទាំងនេះថ្នមៗទៅលើផ្ទៃ agar ដើម្បីធានាពួកវាជាប់នឹងផ្ទៃ agar បានល្អ។ ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧°C។

តារាង ១៩.២ ការបកស្រាយអំពីអង្កត់ផ្ចិតតំបន់ដែលរងការបង្អាក់បាក់តេរីដោយអង់ទីប្យូទិក

ថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ឬភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមី	ប្រសិទ្ធិភាពបន្ទះក្រដាសរីភាគ	អង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់ដែលរងការបង្អាក់គិតជា មីលីម៉ែត្រ (mm)		
		ធន់នឹង	ធន់នៅចន្លោះ	រួសនឹង
Ampicillin				
Gram negative	១០ µg	១១ mm ឬក្រោមនេះ	១២-១៣ mm	១៤ mm ឬលើនេះ
Staphylococci	១០ µg	២០ mm ឬក្រោមនេះ	២១-២៨ mm	២៩ mm ឬលើនេះ
Neomycin	៣០ µg	១២ mm ឬក្រោមនេះ	១៣-១៦ mm	១៨ mm ឬលើនេះ
Penicillin G				
Staphylococci	១០ខ្នាត	២០ mm ឬក្រោមនេះ	២១-២៨ mm	២៩ mm ឬលើនេះ
មីក្រូសរីរាង្គផ្សេងៗទៀត	១០ខ្នាត	១១ mm ឬក្រោមនេះ	១២-២១ mm	២២ mm ឬលើនេះ
Streptomycin	១០ µg	១១ mm ឬក្រោមនេះ	១២-១៤ mm	១៥ mm ឬលើនេះ
Tetracycline	៣០ µg	១៤ mm ឬក្រោមនេះ	១៥-១៨ mm	១៩ mm ឬលើនេះ

គ) ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២៖

វាស់ប្រវែងអង្កត់ផ្ចិតនៃទំហំផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ គិតជា មីលីម៉ែត្រ។ កត់ត្រាការរកឃើញរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

១៩.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ១៩ ផ្នែក ២

១. បកស្រាយលទ្ធផលរបស់អ្នកដោយប្រៀបធៀបទំហំនៃផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ជាមួយនឹងទំហំនៅក្នុងតារាង។

ទំហំនៃផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ គិតជា មីលីម៉ែត្រ					
	Ampicillin	Neomycin	Penicillin G	Streptomycin	Tetracycline
E. coli					
S. aureus					

២.តើភ្នាក់ងារប្រឆាំងមីក្រុបណា មានឥទ្ធិពលលើសគេក្នុងការប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន? តើភ្នាក់ងារប្រឆាំងមីក្រុបណា មានឥទ្ធិពលលើសគេក្នុងការប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន?

___

___

___

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

៣. តើភ្នាក់ងារប្រឆាំងមីក្រុបណាមានឥទ្ធិពលប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីទាំងពីរប្រភេទខាងលើ? ហេតុអ្វីបានជាភ្នាក់ងារនេះ មានឥទ្ធិពលប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីទាំងពីរប្រភេទនេះ?

____

____

____

៤. តើបែបផែនសកម្មភាពរបស់វាមានលក្ខណៈដូចម្តេច?

____

____

____

លំហាត់ ២០៖ បាក់តេរីដែលបម្លែងអាសូត (The Nitrogen-Fixing Bacteria)

២០.១ សេចក្ដីផ្ដើម

អាសូត ជាប្រភពនៃសារជាតុចិញ្ចឹមរបស់រុក្ខជាតិថ្នាក់ខ្ពស់ សត្វពាហនៈ និងពួកមីក្រូសរីរាង្គ មិនថាវាកើតឡើងក្នុងទម្រង់ជាបន្សំជាមួយធាតុដទៃនោះទេ។ មីក្រូសរីរាង្គប្រូការីយ៉ូតដែលនៅរស់ អាចប្រើប្រាស់ម៉ូលេគុលឧស្ម័នអាសូត N_2 ដែលមាន ៨០% ក្នុងបរិយាកាស។ នៅទីបញ្ចប់ គ្រប់ទម្រង់ផ្សេងទៀតនៃជីវិត រស់នៅអាស្រ័យលើការបម្លែងអាសូតបរិយាកាស ឲ្យទៅជាអាសូតសរីរាង្គដោយមីក្រូសរីរាង្គដែលបម្លែងអាសូត។

២០.២ បាក់តេរីដែលបម្លែងអាសូតក្នុងទម្រង់ជាបរាសិតផ្ដល់ប្រយោជន៍ទាំងសងខាង

តាំងពីយូរយារណាស់មកហើយ ចលនការសំខាន់បំផុតដែលម៉ូលេគុលអាសូត ជាលទ្ធផលនៃការបម្លែងតាមបែបជីវសាស្ត្រតាមរយៈការរស់នៅផ្ដុំគ្នាជាបរាសិត (symbiotic association) រវាងបាក់តេរី និងរុក្ខជាតិពួកសណ្ដែក។ ការធ្វើកសិកម្មបែបបុរាណៗ បានប្រើប្រាស់អត្ថប្រយោជន៍នៃការរស់នៅផ្ដុំគ្នាជាបរាសិតនេះ។ សមាជិកនៃអម្បូរបាក់តេរីរស់ក្នុងដី ដែលត្រូវបានគេសិក្សាភាគច្រើន ដូចជា *Rhizobium* និង *Bradyrhizobium* ភ្ជាប់ខ្លួនទៅនឹងកូនសណ្ដែកដែលកំពុងវិវត្តខ្លួនតាមរយៈរោមនៃឫស ដើម្បីជាជំនួយក្នុងការបង្កើតទម្រង់ដូចកំពកខ្នុះនៅលើឫស។ បាក់តេរីដែលរស់នៅក្នុងកំពកឫស (ពួកសណ្ដែក clover, alfalfa, beans and peas) មានលទ្ធភាពប្រើប្រាស់អាសូតពីបរិយាកាសក្រោមលក្ខខណ្ឌទាំងនេ។ អាសូត ដែលបម្លែងតាមបែបបរាសិតផ្ដល់ប្រយោជន៍ទាំងសងខាងនេះ ត្រូវស្តុកទុកក្នុងពួកសណ្ដែកក្នុងទម្រង់ជាប្រូតេអ៊ីន និងសារជាតុចិញ្ចឹមផ្សេងៗទៀត។ បាក់តេរី rhizobia មានរាងទ្រវែង មិនបង្កើតស្ពរ ហើយត្រូវការខ្យល់ វិវត្តខ្លួនបានយ៉ាងល្អនៅក្នុងចំណីបណ្ដុះផ្ទុកកាបូនអ៊ីដ្រាត (ចំពោះគោលបំណងអនុវត្តន៍ជាក់ស្ដែង) ប៉ុន្តែមិនអាចរំដោះអាសូត នៅពេលដែលវាលូតលាស់ដោយឯករាជ្យនៅលើម្ចាស់បញ្ជើដែលជារុក្ខជាតិ។ បាក់តេរីដែលនៅពីក្នុងកំពកឫសនេះ គ្រប់គ្រងទម្រង់នៃការលូតលាស់ផ្សេងៗគ្នា។ ពួកវាជាធម្មតាអាចត្រូវបានគេមើលឃើញតាមរយៈការវិភាគដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ទៅលើបំណែកកំពកឫស ដែលកិនបំបែក ដែលបំណែកនេះជាកោសិកា មានទម្រង់ជាពហុរចនាសម្ព័ន្ធ ព្រមទាំងផ្ទុកនូវវ៉ាគុយអូលយ៉ាងច្រើន(highly vacuolated, pleomorphic cells)។

២០.៣ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សពីរនាក់៖

- រុក្ខជាតិពួកសណ្ដែកដែលមានកំពកឫស
- សូលុយស្យុងអាល់កុលកំហាប់ ៧០% ចំនួន ១០ ml

- ទឹកស្ទេរីលរួច ចំនួន ១៥ ml
- ចានបណ្តុះស្ទេរីលរួច ចំនួន ៦
- ចានបណ្តុះចំនួន ៣ ផ្ទុក yeast extract-mannitol agar (mannitol 10.0g; K_2HPO_4 5.0g; $MgSO_4$ 0.2g; NaCl 0.1g; $CaCO_3$ 3.0g; yeast extract 2.0g; agar 15.0g; ទឹកបិត 1000 ml)
- ល័ក្ត Carbol fuchsin dye
- បន្ទះកញ្ចក់វិភាគ
- លូបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ

២០.៤ ដំណើរការពិសោធ

គ្រូបង្រៀនប្រហែលជាមិនធ្វើការញែកបាក់តេរីដែលមានក្នុងកំពកឫសពីលំហាត់នេះទេ ។ ចំពោះការវិភាគបន្ថែមទៅលើកំពកឫស និងបាក់តេរីដែលនៅខាងក្នុង និងបាក់តេរី *Rhizobium* ដែលមិនទាន់ញែក អ្នកត្រូវអនុវត្តតាមតែជំហាន ដែលមានលេខសេសនៅក្នុងដំណើរការពិសោធនេះប៉ុណ្ណោះ។

១. វិភាគកំពកឫសរបស់រុក្ខជាតិពួកសណ្តែកដែលនៅស្រស់ និងកត់សម្គាល់ទៅលើការតម្រៀប និងរូបរាងខាងក្រៅរបស់កំពកឫសទាំងនេះ។ នៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក អ្នកត្រូវគូររូបតំណាងឲ្យប្រព័ន្ធឫស ១ ចំណែករបស់រុក្ខជាតិបៃតង ដែលមានកំពកឫសនៅជាមួយ។
២. ធ្វើការជាគូៗ ដើម្បីញែកបាក់តេរី ដែលត្រូវបានរកឃើញនៅក្នុងកំពកឫសទាំងនេះ។
៣. ដកមួយចំណែកតូចនៃកំពកឫសចេញ និងលាងសម្អាតឲ្យអស់ដីដោយប្រើទឹករ៉ូប៊ីណេ។
៤. ដកពពួកមេរោគនៅខាងក្រៅកំពកចេញ ដោយអនុវត្តតាមដំណើរការពិសោធនេះ៖ ជ្រមុជកំពកទៅក្នុងអាល់កុលកំហាប់ ៧០% និងទុកវាក្នុងនោះរយៈពេលប្រហែល ១០ នាទី ដោយត្រូវប្រើកម្លាំងឲ្យសូលុយស្យុងអាល់កុលនេះរង្គើ បន្ទាប់មកដកកំពកឫសនេះចេញទៅដាក់ក្នុងចានបណ្តុះស្ទេរីលរួចមួយ ដែលផ្ទុកទឹកហើយត្រូវលាងវានឹងទឹក ឲ្យជ្រះអាល់កុល។
៥. ដាក់ទឹកស្ទេរីលរួច ប្រមាណជា ១ ml ទៅក្នុងចានបណ្តុះស្ទេរីលរួចនីមួយៗក្នុងចំនោមចានទាំង ៣។
៦. ផ្ទេរកំពកឫសដែលបានស្ទេរីលផ្នែកខាងក្រៅនេះ ទៅលើបន្ទះកញ្ចក់មួយ បន្ទាប់មកបន្ថែមទឹកស្ទេរីលរួច ១ ដំណក់ និងកៀបបំបែកកំពកឫសដោយប្រើបន្ទះកញ្ចក់ទី២។
៧. a. ដោយប្រើលូបស្ទេរីលរួច ធ្វើការចាក់ចម្លងកំណកំពកដែលកិនបំបែករួចចំនួន ១ លូប ទៅលើចានបណ្តុះទី ១ និងច្របល់ឲ្យសព្វល្អក្នុងទឹកស្ទេរីលរួច ចំនួន ១ ml។
   b. ស្ទេរីលលូប និងផ្ទេរកំណសូលុយស្យុងកំពកពីចានបណ្តុះទី ១ ចំនួន ២ លូប ទៅដាក់លើទឹកស្ទេរីលរួចដែលមានក្នុងចានទី ២។
   c. ដោយធ្វើដូចមុនដែរ ត្រូវផ្ទេរកំណសូលុយស្យុងកំពកពីចានបណ្តុះទី ២ ចំនួន ៣ លូប ទៅដាក់លើចានបណ្តុះចុងក្រោយ។

d. ចាក់ yeast extract-mannitol agar ដែលរំលាយរួច និងទុកឲ្យត្រជាក់ ចំនួន ១ ទីប ទៅក្នុងចានបណ្ដុះនីមួយៗ បន្ទាប់លាយវាបញ្ចូលគ្នាជាមួយសូលុយស្យុងកំពកឫស ទុកឲ្យវាឡើងរឹង និងដាក់ភ្ញាស់នៅ ២៨ °C រយៈពេល ១ សប្ដាហ៍។

៨. ប្រសិនបើចាំបាច់ ត្រូវថែមទឹកបន្ថែមទៀតទៅលើកំណាត់កំពកឫសដែលសល់លើបន្ទះកញ្ចក់ និងបន្ទាប់មកត្រូវវាសកំណាត់កំពកនេះឲ្យបានជាផ្ទៃរាបស្មើតូចមួយ និងកម្ដៅវាបន្តិចឲ្យជាប់នឹងបន្ទះកញ្ចក់នោះបានល្អ (prepare a fixed smear)។ បន្សុំពណ៌បន្តិច (ប្រហែលជា ១០ នាទី) ដោយប្រើលក្ខ carbol fuchsin និងវិភាគដោយប្រើលែនមីក្រូទស្សន៍ដែលត្រូវការប្រេងជាជំនួយ។ នៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក ធ្វើការគូររូបតំណាងឲ្យបាក់តេរីដែលអ្នករកឃើញ។

៩. វិភាគចានបណ្ដុះដែលមានផ្ទុកកំណាត់កំពកឫស បន្ទាប់ពីភ្ញាស់បាន ១ សប្ដាហ៍។ ពិពណ៌នាពីកូឡូនីដែលនៅលើផ្ទៃ agar។ រៀបចំ smear និងបន្សុំពណ៌ដោយប្រើ carbol fuchsin។ ប្រៀបធៀបលក្ខណៈរូបរាងខាងក្រៅរបស់បាក់តេរីដែលពិនិត្យដោយមីក្រូទស្សន៍ ដែលមាននៅលើ agar ជាមួយនឹងបាក់តេរីដែលឃើញក្នុងកំពកឫស។ កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

២០.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២០

១. តើអ្វីទៅជាលក្ខណៈមានតែមួយ ខុសគេរបស់បាក់តេរីអម្បូរ *Rhizobia*? តើវត្តមាននៃបាក់តេរីទាំងនេះ ផ្ដល់គុណសម្បត្តិអ្វីដល់ពពួកឫស?

____

____

____

២. តើទំនាក់ទំនងបែបណា ដែលអ្នកគួរតែកំណត់លក្ខណៈថាជារបស់ *Rhizobium* និងជារបស់រុក្ខជាតិ?

____

____

____

៣. ហេតុអ្វីបានជាកំពកត្រូវបានបង្កើតឡើងនៅត្រង់ឫសរុក្ខជាតិ?

____

____

____

លំហាត់ ២១៖ ការវិភាគផ្នែកមីក្រូសរីរាង្គក្នុងទឹកដោះគោ

២១.១ សេចក្តីផ្តើម

ទឹកដោះគោ ជាអាហារដែលមានសារសំខាន់មួយប្រភេទ ប៉ុន្តែវាថែមទាំងងាយខូច និងជាអកុសល ប្រហែលជាផ្ទុក ឬក៏ជាប្រភពចំណីនៃបាក់តេរីបង្កជំងឺធ្ងន់ធ្ងរជាច្រើន។ ដូចនេះ អ្នកកែច្នៃផលិតផលពីទឹកដោះគោ ជាអ្នករួមចំណែកក្នុងការធានាថាគុណភាព និងសុវត្ថិភាពនៃការផ្គត់ផ្គង់ទឹកដោះគោរបស់ខ្លួន។ ការយកចិត្តទុកដាក់ទាំងនោះ គួរតែផ្តោតសំខាន់ទៅលើអតិសុខុមប្រាណក្នុងទឹកដោះគោ នៅគ្រប់ដំណាក់កាល តាំងពីអ្នកកែច្នៃរហូតដល់ដៃអតិថិជន។ ការកំណត់ និងការអនុវត្តស្តង់ដារគ្រប់គ្រងគុណភាព អាស្រ័យយ៉ាងខ្លាំងទៅលើការវិភាគរកអតិសុខុមប្រាណ។ សន្ទស្សន៍អតិសុខុមប្រាណពីរ មានសារៈសំខាន់ខ្លាំងណាស់គឺ ចំនួនមីក្រូសរីរាង្គសរុបដែលដុះនៅលើ agar (the agar plate count) និងចំនួនមីក្រូសរីរាង្គផ្នែកអនាម័យដែលមាននៅក្នុងទឹកដោះគោ (the coliform count)។

២១.២ លំហាត់ ២១ ផ្នែក១៖ ចំនួនមីក្រូសរីរាង្គសរុបដែលដុះនៅលើ *agar*

ចំនួនដ៏ច្រើននៃបាក់តេរីនៅក្នុងទឹកដោះគោឆៅ ជាធម្មតាបានបង្ហាញពីការចម្លងចូលនៃមេរោគយ៉ាងខ្លាំង តាមរយៈការលើកដាក់ ឬការទុកឲ្យត្រជាក់មិនសមស្រប ឬទាំងពីរកត្តានេះ។ ប្រសិនប្រើមានកម្រិតកើនឡើងនៃបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ និងបាក់តេរីដែលបង្កើតស្ពរទៅដល់កម្រិតដែលមិនអាចរាប់បាន នេះមានន័យថា ទឹកដោះគោនេះ ត្រូវបានចម្លងចូលមេរោគពីដី ឬលាមក ឬទាំងពីរ។ ការវិភាគអតិសុខុមប្រាណ មិនត្រូវបានប្រើជាកត្តាតែមួយសម្រាប់កំណត់គុណភាពទឹកដោះគោទេ ព្រោះការធ្វើប្រព្រឹត្តិកម្មប៉ាស្ទឺរមិនសមស្រប ឬការចម្លងចូលនៃមេរោគក្រោយពេលធ្វើប្រព្រឹត្តិកម្មប៉ាស្ទឺរ ជានិច្ចកាលជាហានិភ័យមួយ ដែលប្រហែលជាត្រូវបានកើតឡើងដោយសារការស្តុកទុក និងការអនុវត្តពេលលើកដាក់ខ្វះអនាម័យ។ មិនមែនគ្រប់មីក្រូសរីរាង្គទាំងអស់នៅក្នុងសំណាកមួយនៃទឹកដោះគោ សុទ្ធតែដុះលូតលាស់នៅសីតុណ្ហភាពតែមួយ ឬលើ/ក្នុងចំណីបណ្តុះតែមួយនោះទេ។ ដូចនេះ វិធីសាស្ត្រស្តង់ដានៃការកំណត់កម្រិតបាក់តេរី ត្រូវបានគេបង្កើតឡើង ហើយកម្រិតគុណភាព ត្រូវបានគេកំណត់ឡើងដោយយោងទៅតាមវិធីសាស្ត្រស្តង់ដាទាំងនេះ។ ជាទូទៅ ទឹកដោះគោឆៅ ត្រូវតែផ្ទុកបាក់តេរីតិចជាង ២០០ ០០០ ក្នុង ១ ml ដែលត្រូវបានប៉ាន់ប្រមាណដោយស្តង់ដាចំនួនមីក្រូសរីរាង្គដុះសរុបលើagar ដើម្បីកំណត់គុណភាពថាជាទឹកដោះគោឆៅ Grade A។ ចំនួនមីក្រូសរីរាង្គដុះសរុបលើ agar ដែលបានពីទឹកដោះគោប៉ាស្ទឺរ Grade A ប្រហែលជាមិនលើសពី ៣០ ០០០ ក្នុង ១ ml ទេ។

២១.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- ចានបណ្តុះស្ទេរីលរួច ចំនួន ១២

- ដបចំនួន ៤ ដែលមាន ១០០ mlនៃ Difco Standard Methods Agar (tryptone/glucose/yeast extract agar)
- ពីប៉ែតស្ទើរីលរួចចំណុះ ១ ml ចំនួន ៥
- ៩៩ mlនៃសូលុយស្យុងសម្រាប់ពង្រាវសំណាកចំនួន ៣ ទីប (3 dilution blanks, 99 ml)
- សំណាកទឹកដោះគោឆៅ ឬទឹកដោះគោមិនទាន់ដកខ្លាញ់ដែលបានប៉ាស្ទឺររួច

២១.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. សិស្សមួយគូៗ នឹងបណ្តុះមេរោគដែលមានក្នុងទឹកដោះគោឆៅ ឬទឹកដោះគោប៉ាស្ទឺររួច។ រៀបចំផែនការដើម្បីបណ្តុះមេរោគចេញពីកម្រិតពង្រាវ១០$^{-១}$,១០$^{-២}$ និង១០$^{-៣}$ នៃទឹកដោះគោប៉ាស្ទឺររួច និង១០$^{-៣}$,១០$^{-៤}$ និង១០$^{-៥}$ នៃទឹកដោះគោឆៅ។ មុនពេលប្រមូលសំណាកមកពង្រាវ ត្រូវរៀបចំរបៀបមួយសម្រាប់ការពង្រាវទាំងមូល និងសម្រាប់ដំណើរការពិសោធនៃការបណ្តុះមេរោគលើចានបណ្តុះ។ បង្ហាញពីចំនួន និងទំហំនៃមាឌកម្រិតពង្រាវនីមួយៗ ហើយនិងចំនួនពីប៉ែតដែលត្រូវការ។ ការដាក់បណ្តុះមេរោគ ត្រូវតែត្រូវបានធ្វើឡើងនៅលើចានបណ្តុះចំនួន ២ សម្រាប់កម្រិតពង្រាវនីមួយៗ។ គ្មានសំណាកណា នឹងត្រូវបានយកមកបណ្តុះទេ លុះត្រាតែអ្នកបង្រៀនរបស់អ្នក បានយល់ព្រមលើការរៀបចំរបស់អ្នក ហើយការរៀបចំនេះ ត្រូវតែបានបញ្ចូលទៅក្នុងសៀវភៅកត់ត្រារបស់អ្នក។

២. ការក្តាំងជាប់គ្នានៃបាក់តេរី ជាបញ្ហាមួយនៅក្នុងការរាប់ចំនួនមីក្រូសរីរាង្គសរុប នៅក្នុងទឹកដោះគោ ដូចនេះត្រូវគ្រលុកដបកម្រិតពង្រាវនីមួយៗឲ្យខ្លាំង ឲ្យបានយ៉ាងហោចណាស់ ២៥ ដង ដោយធ្វើឲ្យវាផ្លាស់ទីឡើងលើ ចុះក្រោម និងទុកពេលប្រមាណ ៧ វិនាទី នៅចន្លោះការគ្រលុកម្តងៗ។ វាល់មាឌទាំងអស់ដោយប្រុងប្រយ័ត្ន នៅពេលប្រើប្រាស់ពីប៉ែត។

៣. នៅពេលដែល គ្រប់កម្រិតពង្រាវទាំងអស់ ត្រូវបានផ្ទេរទៅក្នុងចានបណ្តុះរួចហើយ ត្រូវបូមប្រហែល ២០ ទៅ ២០ mlនៃ standard plating agar ដែលត្រូវបានទុកឲ្យចុះត្រជាក់ដល់សីតុណ្ហភាព ៤៥ °C ទៅដាក់ក្នុងចានបណ្តុះនីមួយៗ និងច្របល់ឲ្យសព្វមុនពេល ល្បាយនេះឡើងរឹង។ ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣២ °C រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង។

៤. បន្ទាប់ពីភ្ញាស់រួច រាល់ចានបណ្តុះដែលមានកូឡូនីពី ៣០ ទៅ ៣០០ គួរតែត្រូវបានជ្រើសយកមករាប់ចំនួន។ នៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក ត្រូវកត់ត្រានូវលទ្ធផលទៅក្នុងតារាង ដែលបង្ហាញថា ចំនួនមេរោគក្នុងកម្រិតពង្រាវនីមួយៗដែលរាប់រួច និងចំនួនមេរោគជាមធ្យមចុងក្រោយ ស្ថិតនៅក្នុងខ្ទង់ពាន់ដែលក្បែរគ្នាបំផុត។

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

២១.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២១ ផ្នែក ១

១. សរសេរបង្ហាញពីរបៀបនៃការពង្រាវសំណាករបស់អ្នក។

២. តើមានបាក់តេរីចំនួនប៉ុន្មាន ដែលមានវត្តមាននៅក្នុងសំណាកទឹកដោះគោរបស់អ្នក?

៣. ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគិតថាទឹកដោះគោប៉ាស្ទឺររួច នៅតែមានវត្តមានបាក់តេរីមួយចំនួន? ហេតុអ្វីបានជាពួកវាទាំងអស់មិនត្រូវបានសម្លាប់ពេលធ្វើប៉ាស្ទឺរកម្ម?

៤. តើអ្វីទៅជាគោលបំណងនៃការធ្វើប៉ាស្ទឺរកម្ម?

៥. តើទឹកដោះគោត្រូវបានគេធ្វើប៉ាស្ទឺរកម្មនៅសីតុណ្ហភាពប៉ុន្មាន?

៦. តើអ្នកគិតថា អ្នកបានឃើញវត្តមានបាក់តេរីផ្ទែកអនាម័យ (coliform bacteria) ខ្លះដែរឬទេ?តើបាក់តេរីប្រភេទអ្វីខ្លះ ដែលមានវត្តមាននៅលើចានបណ្តុះ?

២១.៣ លំហាត់ ២១ ផ្នែក ២៖ ចំនួនបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យសរុប

បាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ ជាធម្មតាមានវត្តមាននៅក្នុងទឹកដោះគោឆៅ ដែលពួកវាមានប្រភពមកពីសម្ភារៈផ្ទះបាយ ប៉ុន្តែពួកវាប្រហែលជាមានប្រភពមកពីការចម្លងចូលនៃដី លាមក ឬទឹកផងដែរ។ ដោយសារតែពួកបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ ត្រូវបានគេជឿថាមាននៅក្នុងទឹកដោះគោ ហើយកំណើនចំនួនបណ្តាលឲ្យកំរិតស្តង់ដារនៃគុណភាពទឹកដោះគោធ្លាក់ចុះ។ ដូចនេះចំនួនបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យសរុបត្រូវបានគេចាត់ទុកថាជាសញ្ញាមួយបង្ហាញពីកង្វះអនាម័យកំឡុងពេលកែច្នៃទឹកដោះគោ។ ពួកបាក់តេរីទាំងនេះ តែងតែត្រូវបានបំផ្លាញទាំងស្រុងដោយការធ្វើប៉ាស្ទឺរកម្ម។ បើសិនមានវត្តមានរបស់ពួកវានៅក្នុងផលិតផលទឹកដោះគោដែលប៉ាស្ទឺររួច បង្ហាញពីការចម្លងចូលឡើងវិញនៃបាក់តេរីទាំងនេះ បន្ទាប់ពីការធ្វើប៉ាស្ទឺរកម្ម។

២១.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយក្រុម៖

- ចានបណ្តុះស្ទេរីលរួច ចំនួន ៤
- ពីប៉ែតស្ទេរីលរួច ដែលមានចំណុះ ១ ml
- ដបចំនួន ១ ដែលផ្ទុក ១០០ mlនៃ violet red bile agar (Difco)
- សំណាកទឹកដោះគោដែលមានគុណភាពអន់

២១.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. គ្រលុកសំណាកទឹកដោះគោឲ្យសព្វល្អ

២. សិស្ស ១គូៗ នឹងអនុវត្តតេស្តសន្មត (presumptive test)លើក្រុមបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យដូចខាងក្រោម៖
ទុកឲ្យដបចំនួន ១ ដែលផ្ទុក violet red bile agar ចុះត្រជាក់ និងចាក់វាទៅក្នុងចានបណ្តុះ ២ ដែលចានទី ១ ផ្ទុកបរិមាណទឹកដោះគោ ១ ml និងចានទី ២ ផ្ទុកបរិមាណទឹកដោះគោ ០.១ ml (ឬក៏បរិមាណផ្សេងៗទៀត ប្រសិនបើអ្នកបង្រៀនរបស់អ្នក ប្រាប់អ្នកឲ្យធ្វើដូច្នោះ)។ បន្ទាប់ពី agar ឡើងរឹង ត្រូវចាក់ ៣ ទៅ ៤ mlនៃ agar ដដែលនេះ បន្ថែមទៀតទៅលើចានបណ្តុះនីមួយៗ ដើម្បីធានាថាគ្របលើផ្ទៃទឹកដោះគោបានទាំងអស់។ បន្ទាប់ពីស្រទាប់ទី ២ នៃ agar ឡើងរឹង ត្រូវផ្កាប់ផ្នែកដែលមាន agar ចុះក្រោម និងដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៣២ °C រយៈពេលពី ១៨ ទៅ ២៤ ម៉ោង។ បន្ទាប់ពីបានភ្ញាស់រួច ត្រូវធ្វើការវិភាគពួកកូឡូនីដែលមានពណ៌ក្រហមខ្លាំង (dark red colonies) ដែលមានអង្កត់ផ្ចិតយ៉ាងហោចណាស់ ០.៥ មីលីម៉ែត្រ ដូចនេះកាលណាមានវត្តមាននៃពួកកូឡូនីទាំងនេះ មានន័យថា តេស្តសន្មតវិជ្ជមាន (positive presumptive test)។ រាប់ចំនួនកូឡូនីទាំងនេះ និងសរសេររបាយ

ករណីបង្ហាញពីចំនួនរបស់វា ដោយគិតជា "កូឡូនីនៃពួកបាក់តេរីផ្អែកអនាម័យក្នុងមួយml សំណាក ។

៣. កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកនៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ ។

២១.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២១ ផ្នែក ២

១. តើសំណាកទឹកដោះគោរបស់អ្នក មានវត្តមានពួកបាក់តេរីផ្អែកអនាម័យខ្លះដែរ ឬទេ?

___

___

___

២. តើមានបាក់តេរីផ្អែកអនាម័យចំនួនប៉ុន្មាន មានវត្តមាននៅក្នុងទឹកដោះគោឆៅ? ចូរបង្ហាញពីការគណនារបស់អ្នក ។

___

___

___

៣. ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគិតថា វត្តមានពួកបាក់តេរីផ្អែកអនាម័យ អាចបង្កឲ្យមានហានិភ័យធ្ងន់ធ្ងរដល់សុខភាព?

___

___

___

៤. តើអ្នកគួរតែផឹកទឹកដោះគោឆៅដែរ ឬទេ ប្រសិនបើនរណាម្នាក់បានឲ្យវាទៅអ្នក? តើអ្នកគួរតែគិតដូចម្តេច ប្រសិនបើពួកគេបាននិយាយថា ពួកគេផឹកវាគ្រប់ពេល?

___

___

___

លំហាត់ ២២៖ ការវិភាគផ្នែកមីក្រូសរីរាង្គក្នុងផលិតផលចំណីអាហារ

២២.១ សេចក្តីផ្តើម

វត្តមានពួកមីក្រូសរីរាង្គក្នុងអាហារ ប្រហែលជាត្រូវបានគេគិតថាមានគ្រោះថ្នាក់ពេលខ្លះប៉ុន្តែក៏មានអត្ថប្រយោជន៍ដែរនៅពេលខ្លះទៀត។ មីក្រូសរីរាង្គជាក់លាក់ជាច្រើន មានសារៈសំខាន់ណាស់ក្នុងការរៀបចំកែច្នៃផលិតផលចំណីអាហារដូចជា cheese ជ្រក់ ទឹកដោះគោជូរ និងសាច់ក្រក។ ផ្ទុយទៅវិញ វត្តមាននៃពួកមីក្រូសរីរាង្គផ្សេងៗទៀត ជាមូលហេតុបង្កឲ្យមានការពុលអាហារធ្ងន់ធ្ងរ និងជួនកាលពុលដល់ស្លាប់ និងបង្កឲ្យបង្កើតជាសារធាតុពុល ក៏ដូចជាកំហូចអាហារ វត្តមាន និងចំនួននៃបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ និងមីក្រូសរីរាង្គផ្សេងទៀតក្នុងអាហារ ទឹកដោះគោ ឬទឹក ជាកត្តាចង្អុលបង្ហាញថាមានការចម្លងចូលនៃលាមក និងជាសក្តានុពលសម្រាប់ពួកមីក្រូសរីរាង្គបង្កគ្រោះថ្នាក់។

ទឹកដោះគោ ជាអាហារមានសារៈសំខាន់ខ្លាំង ប៉ុន្តែវាថែមទាំងងាយខូចផងដែរ ហើយជាអកុសល ប្រហែលជាផ្ទុក ឬជាប្រភពចំណីអាហាររបស់បាក់តេរីបង្កជំងឺគ្រោះថ្នាក់ជាច្រើន។ ដូចនេះសហគមន៍ មានតួនាទីរួមចំណែកក្នុងការធានានូវគុណភាព និងសុវត្ថិភាពនៃការផ្គត់ផ្គង់ទឹកដោះគោរបស់ខ្លួន។ ការយកចិត្តទុកដាក់ទៅលើពួកមីក្រូសរីរាង្គនៃផលិតផលទឹកដោះគោនៅគ្រប់ដំណាក់កាល ចាប់ពីអ្នកផលិតដល់ដៃអតិថិជន មានសារៈសំខាន់ណាស់ ហើយការកំណត់ក៏ដូចជាការអនុវត្តនូវស្តង់ដារគ្រប់គ្រងគុណភាពចំណីអាហារ អាស្រ័យជាខ្លាំងទៅលើការចម្លងចូលនូវពួកមីក្រូសរីរាង្គ។

២២.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

- សំណាកបន្លែកកដែលត្រូវបានទុកឲ្យរលាយវិញ សាច់គោ សាច់មាន់ គ្រឿងទេស ទឹកដោះគោ និងផ្លែឈើសម្ងួត ឬអាហារផ្សេងទៀតពីផ្ទះរបស់អ្នក
- ទីបចំនួន ២ ដែលទីបនីមួយៗមានទឹកស្ទេរីលរួច ៩ mlសម្រាប់ពង្រាវសំណាក
- ទីបចំនួន ១ ដែលមានទឹកស្ទេរីលរួច ៩០ mlសម្រាប់ពង្រាវសំណាក
- ចានបណ្តុះចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក Brain Heart Infusion (BHI)
- ពីប៉ែតចំណុះ ១ ml ចំនួន ៥
- ចង្កឹះកែវរាងអក្សរ L

២២.៣ ដំណើរការពិសោធ

១. សរសេរស្លាកបង្ហាញពីកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-១}$, ១០$^{-២}$, ១០$^{-៣}$ នៅលើស៊េរីនៃចានបណ្តុះមួយគូៗ

២. ដាក់ ១០ ក្រាមនៃសំណាកអាហារទៅក្នុងទឹកទទេ ៩០ ml។ លាយឲ្យសព្វ។ កម្រិតពង្រាវ ១:១០ (១០$^{-១}$) នៃសំណាកត្រូវបានបង្កើតឡើង។ កម្រិតពង្រាវនេះត្រូវបានបង្កើតជាស្រេចសម្រាប់អ្នកដោយប្រើប្រភេទអាហារផ្សេងៗគ្នា។ ជ្រើសរើសមួយយកមកពិសោធ។

៣. ផ្ទេរ 0.១ml នៃកំណាសំណាកក្នុងកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-១}$ ទៅក្នុងទីបដែលមានទឹកស្ទេរីលរួចចំនួន ៩ mlរបស់វា (បន្ទាប់មក ផ្ទេរបន្តឲ្យបានកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-២}$)។ ច្របល់ឲ្យសព្វដោយបង្វិលវានៅនឹងចន្លោះបាតដៃទាំង ២ របស់អ្នក។ ដោយប្រើពីប៉េតផ្សេងមួយទៀត ធ្វើការផ្ទេរ 0.១ mlពីកម្រិត ១០$^{-២}$ ទៅដាក់ក្នុង ៩ mlនៃទឹកដែលស្ទេរីល និងបានសរសេរស្លាករួច (កម្រិតពង្រាវ១០$^{-៣}$)។ ដោយប្រើពីប៉េតថ្មីមួយទៀត ធ្វើការផ្ទេរ 0.១ mlពីកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-៣}$ ទៅលើចានបណ្ដុះ BHI ទីមួយបន្ទាប់មកធ្វើបែបនេះដដែលសម្រាប់ចានបណ្ដុះទី ២។ បន្ទាប់មក បន្តធ្វើបែបនេះជាមួយកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-២}$ និងត្រូវប្រើចានបណ្ដុះចំនួន ២។ ចុងក្រោយ បញ្ចប់ការផ្ទេរជាមួយនឹងកម្រិតពង្រាវ ១០$^{-១}$ ។

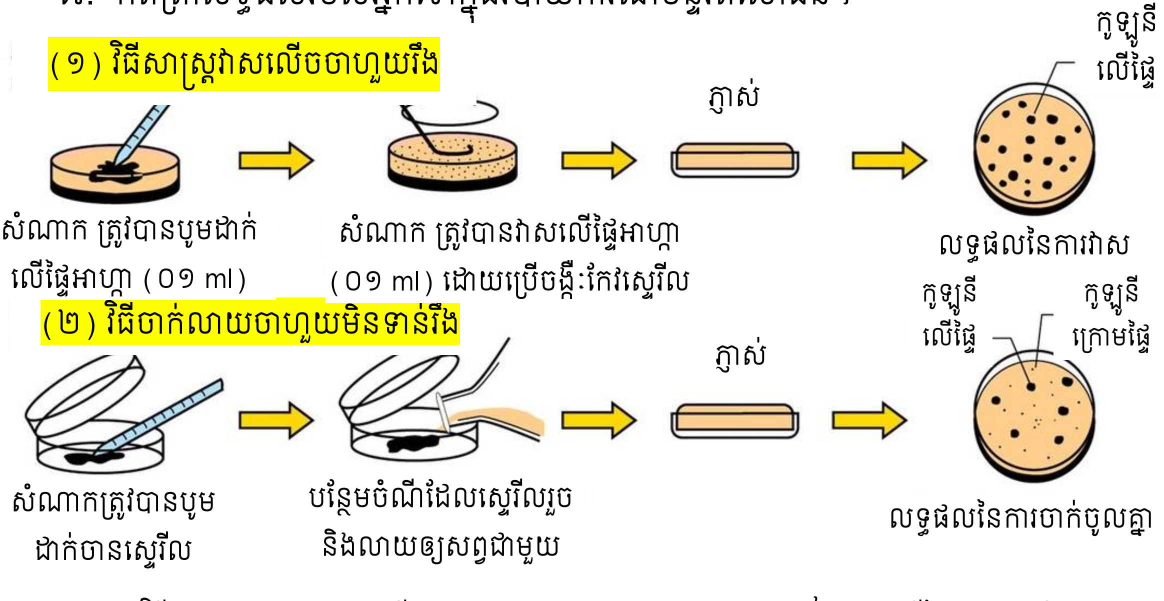
ចំណាំ៖ នៅត្រង់ចំណុចនេះ អ្នកគួរតែមានចានបណ្ដុះចំនួន ២ នៅក្នុងកម្រិតពង្រាវនីមួយៗ ១០$^{-១}$,១០$^{-២}$, ១០$^{-៣}$ ដែលចំនួនសរុបគឺ ចានបណ្ដុះចំនួន ៦។

៤. ធ្វើការស្ទេរីលចង្កឹះកែវរាងអក្សរ L នេះដោយប្រើអាល់កុល និងទុកវាចុះត្រជាក់។ ដោយប្រើចង្កឹះកែវនេះ ធ្វើការពង្រាយ 0.១ mlនៃកម្រិតពង្រាវនីមួយៗនេះដោយថ្នមៗឲ្យស្មើពេញទាំងចានបណ្ដុះ ដែលត្រូវពង្រាវដោយចាប់ផ្ដើមពី កម្រិតពង្រាវដែលរាវជាងគេរហូតដល់កម្រិតពង្រាវដែលខាប់ជាងគេ។

៥. ដាក់ភ្ញាស់ចានបណ្ដុះទាំងអស់ ចន្លោះពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង នៅ ៣៧°C។

៦. រាប់តែចានបណ្ដុះណាដែលមានសុពលភាពបែបស្ថិតិប៉ុណ្ណោះ ដែលមានកូឡូនីចន្លោះពី ៣០ ទៅ ៣០០។ កំណត់ថាចានបណ្ដុះដែលមានកូឡូនីតិចជាង ៣០ ថាមានចំនួនតិចពេករហូតដល់រាប់មិនបាន និងចានបណ្ដុះដែលមានកូឡូនីច្រើនជាង ៣០០ ថាមានចំនួនច្រើនពេករហូតដល់រាប់មិនបាន។

៧. កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។



រូបភាព ២២.១ វិធីសាស្ត្របណ្ដុះមេរោគលើចានចាហួយ(*Agar plate*) (១)តាមរបៀបវាសលើផ្ទៃចាហួយ និង (២) តាមរបៀបចាក់អាហ្គាលាយជាមួយមេរោគ

២២.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២២

១. កត់ត្រាចំនួនកូឡូនីក្នុងមួយចានបណ្តុះនិងចំនួនមេរោគក្នុងមួយmlនៃសំណាកអាហារទៅក្នុងតារាងខាងក្រោម។

ប្រភេទអាហារ	កម្រិតពង្រាវ	ចំនួនកូឡូនីក្នុង ១ ចានបណ្តុះ	ចំនួនមេរោគក្នុង ១ ml
	១ x ១០$^{-១}$		
	១ x ១០$^{-២}$		
	១ x ១០$^{-៣}$		

២. កំណត់ចំនួនមេរោគក្នុងមួយmlនៃសំណាកអាហារនីមួយៗ ដោយគុណចំនួនកូឡូនីដែលរាប់រួច ជាមួយកម្រិតពង្រាវ។

៣. តើអាហារប្រភេទណាផ្ទុកចំនួនមីក្រុបច្រើនជាងគេ? តើអាហារមួយណាផ្ទុកមីក្រុបតិចជាងគេ?

____

____

៤. ប្រៀបធៀបនូវអ្វីដែលអ្នកបានរកឃើញជាមួយអ្នកផ្សេងទៀតនៅក្នុងមន្ទីរពិសោធន៍។

____

____

____

៥. តើអ្នកបានរៀនអ្វីខ្លះពីចំណីអាហារតាមរយៈពិសោធន៍នេះ?

____

____

____

លំហាត់ ២៣៖ ការវិភាគផ្នែកអនាម័យទៅលើទឹក

២៣.១ សេចក្តីផ្តើម

វត្តមាននៃមីក្រូសរីរាង្គបង្ករោគនៅក្នុងទឹក ពិបាកក្នុងការបកស្រាយដោយផ្ទាល់ណាស់ ពីព្រោះពួកវាមិនបំបែកខ្លួននៅក្នុងទឹក ហើយពួកវា ជាធម្មតាពង្រាយខ្លួនយ៉ាងងាយ នៅពេលដែលទឹកត្រូវបានពង្រាវ។ ទោះបីជាយ៉ាងណា មីក្រុបបង្ករោគដែលមានប្រភពមកពីទឹក នៅរស់រានមានជីវិត ហើយពួកវាអាចបណ្តាលឲ្យមានការចម្លងយ៉ាងធ្ងន់ធ្ងរ តាមរយៈការកើតឡើងនៃជំងឺរាតត្បាត និងការផ្ទុះជំងឺសូម្បីតែនៅក្នុងពេលបច្ចុប្បន្នក៏ដោយ។

មីក្រុបបង្ករោគដែលមានប្រភពមកពីទឹក ជាប្រភេទមេរោគជំងឺគ្រុនពោះវៀន ដែលកើតមាននៅក្នុងទឹក ដែលជាលទ្ធផលនៃការចម្លងចូលរបស់លាមក ហើយដោយសារតែ មីក្រុបបង្ករោគដែលមានប្រភពមកពីទឹកទាំងនេះ ពិបាកក្នុងការញែក ដូចនេះប្រភេទមេរោគជំងឺគ្រុនពោះវៀនផ្សេងទៀត ត្រូវបានគេរកឃើញនៅក្នុងប្រព័ន្ធផ្គង់ផ្គង់ទឹក និងដើរតួនាទីជាអ្នកកំណត់បង្ហាញបានច្បាស់ជាងមុនថាមានការចម្លងចូលនៃលាមក។ វត្តមានមួយចំនួននៃបាក់តេរីជាច្រើនដែលមានលើពោះវៀន ត្រូវបានគេកំណត់ថាជាភ័ស្តុតាងដែលបង្ហាញថា មេរោគជំងឺគ្រុនពោះវៀន ប្រហែលជាមានវត្តមានដែរនៅទីនេះ។

មេរោគទាំងនេះ ដែលជាធម្មតាត្រូវបានគេប្រើជាអ្នកចង្អុលបង្ហាញពីការបំពុល ជាបាក់តេរីនៃក្រុមផ្នែកអនាម័យ (coliform group) ដែលតំណាងដោយ *Escherichia coli* និង *Enterobacter aerogenes*។ *E. coli* ជាប្រភេទមួយនៅក្នុងចំណោមប្រភេទចម្បងៗនៃបាក់តេរីដែលមានក្នុងពោះវៀនថនិកសត្វ និងជាអ្នកចង្អុលបង្ហាញដ៏ល្អមួយនៃការចម្លងចូលរបស់លាមក តែវាត្រូវតែខុសប្លែកពី *E. aerogenes* ដែលជាប្រភេទបាក់តេរីដែលមានទំនាក់ទំនងយ៉ាងជិតស្និទ្ធិទៅនឹងបាក់តេរី ដែលត្រូវបានគេរកឃើញនៅក្នុងដី និងពួករុក្ខជាតិកំពុងរលួយ ប៉ុន្តែវាមានចំនួនតិចតួចប៉ុណ្ណោះនៅក្នុងពោះវៀនថនិកសត្វ។ បាក់តេរីប្រភេទទាំងពីរនេះ នៅរស់រានមានជីវិត និងប្រហែលថែមទាំងអាចដុះលូតលាស់នៅក្នុងទឹក។

វិធីសាស្ត្រពីរក្នុងចំនោមវិធីសាស្ត្រសំខាន់ៗភាគច្រើន ដែលត្រូវបានគេប្រើដើម្បីវិភាគរកមីក្រូសរីរាង្គផ្នែកអនាម័យ (coliform organisms) ជាបច្ចេកទេសបន្ទំពហុទីប (multi tube fermentation technique) និងបច្ចេកទេសចម្រោះភ្នាស (membrane filter technique)។

២៣.២ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ១៖ ការវិភាគរកបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យនៅក្នុងទឹក

លក្ខណៈប្លែកពីគេនៃក្រុមបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ ជាលទ្ធភាពរបស់វាក្នុងការបម្លែងស្ករឡាក់តូស ដែលឲ្យផលជាអាស៊ីត និងឧស្ម័ន។

២៣.២.១ ការធ្វើតេស្តសន្មត់ (PRESUMPTIVE TEST)

នេះជាដំណើរការពិសោធនៃការបណ្តុះបែបជម្រើសមួយ(specific enrichment procedure) ទៅលើបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ ដែលដុះក្នុងទីបដែលមានចំណីបណ្តុះរាវផ្ទុកស្ករឡាក់តូស (lactose

broth)។ ទីបទាំងនេះ ត្រូវបានចាក់ចម្លងចូលនូវសំណាកទឹកដែលត្រូវយកមកវិភាគក្នុងបរិមាណមួយ បន្ទាប់មកត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C រយៈពេល ១ ទៅ ២ ថ្ងៃ និងត្រូវបានគេតាមដានទៅលើការបង្កើតឧស្ម័ន។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ បាក់តេរីដែលមិនមែនជាអ្នកកំណត់កម្រិតអនាម័យមួយចំនួន(non-coliform bacteria) ប្រហែលជាអាចបម្លែងស្ករឡាក់តូសដែរ ហើយបាក់តេរីមួយចំនួនប្រហែលជាអាចបង្កើតជាឧស្ម័ន។ ដូចនេះ ការធ្វើតេស្តមួយផ្សេងទៀត ត្រូវតែត្រូវបានគេយកប្រើដើម្បីកំណត់លក្ខណៈរបស់ពួកវា។

២៣.២.២ ការធ្វើតេស្តបញ្ជាក់ (CONFIRMATIVE TEST)

ការធ្វើតេស្តនេះ ត្រូវបានគេប្រើដើម្បីបញ្ជាក់ពីវត្តមាននៃបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ ក្នុងការធ្វើតេស្តសង្ស័យវិជ្ជមាន (positive presumptive test)។

ការធ្វើតេស្តនេះ ត្រូវបានគេអនុវត្តឡើង ដោយធ្វើការឆូតមេរោគដែលបានពីទីបដែលការធ្វើតេស្តសង្ស័យវិជ្ជមាន ទៅលើចានបណ្តុះផ្ទុក Eosin-methylene-blue agar។ បន្ទាប់ពីបានភ្ញាស់នៅ ៣៧°C រយៈពេល ២៤ ម៉ោង ពួកកូឡូនី *E. coli* អាចត្រូវបានគេសម្គាល់តាមរយៈការបង្កើតជាពណ៌ខៀវ ស្វាយជិត (deep purple-blue color) និងផ្ទៃរលោងពណ៌បៃតងផ្លេក(metallic green sheen) របស់ពួកវា។ លក្ខណៈនេះ ដោយសារតែលក្ខ Eosin និង methylene blue ដែល (នៅក្នុងមជ្ឈដ្ឋានអាស៊ីតមួយដែលបង្កើតដោយបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ) បង្កើតបានជាម៉ូលេគុលកុំផ្លិចមួយដែលបណ្តាលឲ្យកូឡូនីនៃបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យជាក់លាក់ប្តូរលក្ខណៈពណ៌។ កូឡូនី *E. aerogenes* មានពណ៌ផ្កាឈូក ដែលមាន ឬគ្មានចំណុចកណ្តាលពណ៌ខ្មៅមួយ និងមានទំហំធំជាង និងជាធម្មតាមានលក្ខណៈអន្ទិល ឬដូចស្លេស្មជាងកូឡូនីរបស់ *E. coli*។ ទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ ប្រសិនបើ កូឡូនី *E. coli* ត្រូវបានគេរកឃើញ នោះវាមានភាពចាំបាច់ណាស់ ដែលត្រូវធ្វើតេស្តចុងក្រោយមួយទៀត (a completed test)។ ការធ្វើតេស្តចុងក្រោយ (ដែលជា a completed test) ត្រូវបានគេធ្វើឡើង ដោយការចាក់ចម្លងទៅក្នុង agar slant មួយ និងទីបមួយដែលមានដាក់ Durham នៅក្នុងចំណីបណ្តុះ selective lactose broth ឧទាហរណ៍ brilliant green bile ដោយប្រើមួយចំណែកតូចនៃបាក់តេរីដែលកំពុងលូតលាស់ចេញពីកូឡូនី ១ ក្នុងចំណោមកូឡូនី ដែលមានរូបរាងស្រដៀងនឹងពួកកូឡូនីនៃបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យ ។ បន្ទាប់ពីបានភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C រយៈពេល ២៤ ម៉ោង នោះប្រភេទបាក់តេរីផ្នែកអនាម័យពិតប្រាកដមួយ (a true coliform species) នឹងបង្កើតឧស្ម័ននៅក្នុង selective lactose broth ។ បន្ទះមេរោគដែលបានបន្សិតពណ៌ដើម្បីប្រភេទក្រាមរួចមួយ (a Gram-stained smear) ដែលបានមកពីមេរោគដែលបណ្តុះក្នុង slant (slant culture) គួរតែបង្ហាញឲ្យយើងឃើញយ៉ាងច្បាស់ថាជាបាក់តេរីដែលមានរាងទ្រវែង មិនបង្កើតស្ពរ និងមានក្រាមអវិជ្ជមាន ។

២៣.២.៣ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយគូៗ៖

- បាក់តេរីប្រភេទ *E. coli* និង *E. aerogenes* ដែលត្រូវបានបណ្ដុះនៅក្នុង nutrient broth រយៈពេល ២៤ ម៉ោង
- ទីបចំនួន ៣ ដែលផ្ទុក ៩.0 mlនៃ lactose broth ព្រមទាំងមានដាក់ Durham ផងដែរ
- ទីបចំនួន ៣ ដែលផ្ទុកទឹក ៩ ml
- ពីប៉ែតស្តេរីលរួចចំនួន ៣ ដែលមានចំណុះ ១ ml
- សំណាកទឹក (ទន្លេ បឹង ។ល។)
- ចានបណ្ដុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុក Eosin-methylene blue (EMB) agar
- ទីបចំនួន ២ ដែលផ្ទុក brilliant green lactose bile broth

២៣.២.៤ ដំណើរការពិសោធ

១. រៀបចំគម្រោងនៃការពង្រាវ ១០$^{-១}$,១០$^{-២}$ និង ១០$^{-៣}$ នៃសំណាកទឹកសាលីន។ បន្ទាប់ពីមានការយល់ព្រមពីអ្នកបង្រៀនរបស់អ្នកទៅលើគម្រោងខាងលើ ត្រូវអនុវត្តតាមគម្រោងនេះ និងចាក់ចម្លងទៅក្នុងទីប ដែលផ្ទុក lactose broth និងមានដាក់ Durham នៅជាមួយ (ទីប ១ សម្រាប់កម្រិតពង្រាវមួយ)។

២. បកស្រាយការធ្វើតេស្តបញ្ជាក់ (confirmative test)ដោយធ្វើការឆូត ១ ភាគ ២ នៃចានបណ្ដុះ EMB ជាមួយនឹងពូជមួយប្រភេទនៃ *E. coli* ដែលគេស្គាល់ និង១ ភាគ ២ នៃចានបណ្ដុះដដែលនេះ ជាមួយនឹងពូជមួយនៃ *E. aerogenes*។

៣. បកស្រាយការប្រើប្រាស់ selective lactose broth នៅក្នុងការធ្វើតេស្តចុងក្រោយ (completed test) តាមរយៈការចាក់ចម្លងចូលនូវពូជដែលស្គាល់នីមួយៗនៃ *E. coli* និង *E. aerogenes* ទៅក្នុងទីបដែលផ្ទុក brilliant green lactose bile broth និងមានដាក់ Durham នៅក្នុងទីបនេះដែរ។

៤. ដាក់ទីប និងចានបណ្ដុះទាំងអស់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C។ អ្នកបង្រៀន នឹងដកទីប និងចានបណ្ដុះទាំងអស់នេះចេញពីទូភ្ញាស់ បន្ទាប់ពី ២៤ ម៉ោងក្រោយមក ហើយគាត់ នឹងដាក់ពួកវានៅក្នុងទូទឹកកករហូតដល់ការពិសោធលើក្រោយ។

៥. វិភាគពួកទីប lactose broth នៃការធ្វើតេស្តសន្មត (presumptive test) ចានបណ្ដុះ EMB និងទីបដែលផ្ទុក brilliant green lactose bile broth។

៦. កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

២៣.២.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ១

១. តើអ្វីខ្លះជាភាពខុសគ្នារវាង *E. coli* និង *Enterobacter* ដែលដុះនៅក្នុងប្រភេទមជ្ឈដ្ឋានបណ្ដុះផ្សេងៗគ្នា? សង្ខេបលទ្ធផលរបស់អ្នក។

២. ហេតុអ្វីបានជា *E. coli* អាចបង្កើតជាមជ្ឈដ្ឋានអាសុីតមួយ និងដុះលូតលាស់ក្នុងពេលមានវត្តមានខ្យល់?

៣. ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគិតថា វាមានសារៈសំខាន់ដើម្បីបញ្ជាក់ថា *E. coli* មានវត្តមាន?

៤. ប្រសិនបើ អ្នកបាននឹងកំពុងដើរទៅឡើងភ្នំ (យកទឹកមកជាមួយ) តើអ្នកអាចធ្វើដូចម្តេចដើម្បីធានាថាសំណាកទឹករបស់អ្នក ពិតជាគ្មានវត្តមានពួកមីក្រូសរីរាង្គបង្កជំងឺធ្ងន់ធ្ងរ? តើអ្នកគិតថា អ្នកត្រូវតែបារម្ភអំពីបញ្ហានេះដែរ ឬទេ?

២៣.៣ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ២៖ ការធ្វើតេស្ត *IMViC*

បើទោះបីជា ប្រភេទ *Escherichia coli* និង *Enterobacter aerogenes* មានលក្ខណៈស្រដៀងគ្នាខ្លាំង និងជាញឹកញាប់ពិបាកក្នុងការញែកភាពខុសគ្នាដោយលក្ខណៈរូបរាងរបស់កូឡូនីដែលមាននៅលើថានបណ្តុះ Eosin-methylene blue agar ក៏ដោយ ក៏តេស្តរូបសាស្រ្តសាមញ្ញចំនួន ៤ ជាធម្មតាមានលក្ខណៈគ្រប់គ្រាន់ សម្រាប់គោលបំណងនៃការញែករកភាពខុសគ្នានៃបាក់តេរីទាំងពីរ។ តេស្តទាំង ៤ នេះ ត្រូវបានគេសំដៅទៅលើតេស្ត IMViC។ *E. coli* ប្រតិកម្មមួយចំនួន រួមមាន៖ Indole (I) ត្រូវបានបង្កើតឡើងដោយ tryptophane ហើយអង្គធាតុចង្អុលពណ៌ methyl red(M) ប្រែទៅជាក្រហម នៅពេលដែលពីរបីតំណក់របស់វា ត្រូវបានបន្តក់ទៅក្នុងទីបដែលមានបាក់តេរីដុះក្នុង glucose broth (glucose broth culture) (ការធ្វើតេស្តពណ៌ methyl red វិជ្ជមាន [positve methyl red test]) ហើយតេស្ត Voges-Proskauer (V) នៃបាក់តេរីដុះក្នុង glucose broth គឺអវិជ្ជមាន (acetoin មិនត្រូវបានបង្កើតចេញពីស្ករគ្លុយកូសទេ) ហើយ citrates (C)មិនត្រូវបានប្រើជាប្រភពតែមួយគត់នៃកាបូននោះទេ។ ដូចនេះ ពូជ *E. coli* ធម្មតាមួយ មានគម្រូប្រតិកម្ម + + - - IMViC ។ *Enterobacter aerogenes* មានប្រតិកម្មផ្ទុយ - - + + ។ ជានិច្ចកាល ពពួកពូជដែលនៅចន្លោះលក្ខណៈទាំងពីរ *coli-aerogenes* (“intermediate” *coli-aerogenes* strains) ត្រូវបានគេប្រទះឃើញដោយចៃដន្យ។

លំហាត់នេះ សម្រាប់ស្រាយបំភ្លឺ ដែលនឹងបង្ហាញពីរបៀបដំណើរការ តេស្ត IMViC។

២៣.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់មន្ទីរពិសោធន៍នីមួយៗ៖

- ចំណីបណ្តុះសម្រាប់តេស្ត IMViC ដែលត្រូវបានប្រើសំរាប់ចម្លងចូលនូវបាក់តេរី *E. coli* និង *E. aerogenes* ដែលបានដុះលូតលាស់នៅ ៣៧ °C រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង
- សារធាតុគីមីសម្រាប់ការធ្វើតេស្ត IMViC

២៣.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

អ្នកបង្រៀនរបស់អ្នក នឹងបកស្រាយពីប្រតិកម្ម IMViC នៅលើចំណីបណ្តុះខាងលើ ដែលត្រូវបានចាក់ចម្លងចូលនូវបាក់តេរី *E. coli* និង *E. aerogenes* ដោយប្រើនូវដំណើរការពិសោធដូចខាងក្រោម៖

a. តេស្ត Indole

១) បន្ថែម ៥ ដំណក់នៃសារធាតុ Kovac ទៅក្នុងបាក់តេរីដែលបានដុះលូតលាស់នៅក្នុង tryptone-beef extract broth។

២) ពីរបីនាទីក្រោយមក ពណ៌ស្រដៀងក្រហម នឹងលេចឡើងនៅលើផ្ទៃខាងលើ ប្រសិនបើ indole មានវត្តមានហើយវាប្រហែលជាបាត់ពណ៌សន្សឹមៗ កាលណាទុកយូរ។

គោលការណ៍៖ ដើម្បីស្រាយបំភ្លឺពីលទ្ធភាពនៃបាក់តេរីជាក់លាក់ដែលផលិត indole តាមរយៈការបំបែកអាស៊ីតអាមីណេឈ្មោះ tryptophane។

លក្ខណៈគីមីជីវៈ៖ tryptophane ត្រូវបានបំបែកដោយបាក់តេរីមួយចំនួនឲ្យទៅជា idole, pyruvic acid និងអាម៉ូញាក់។ ល្បាយ Indole + អាល់ដេអ៊ីត ដែលត្រូវបានប្រទះឃើញនៅក្នុងសារធាតុ Kovac's reagent ឲ្យជាពណ៌ក្រហមមួយ។ Indole មានលក្ខណៈរលាយនៅក្នុងអាល់កុលខ្លាំងជាងរលាយនៅក្នុងអាល់ដេអ៊ីត (សារធាតុ Kovac's reagent ក៏ផ្ទុកនូវអាល់កុលដែរ) ដូចនេះ ពណ៌ក្រហមនេះ នឹងលេចឡើងនៅក្នុងស្រទាប់អាល់កុល ហើយអណ្តែតទៅផ្នែកខាងលើ។

ចំណីបណ្តុះ៖ Tryptone broth, peptone broth ឬ broth មួយចំនួនទៀត ដែលមានផ្ទុកបរិមាណ tryptophane ខ្ពស់។ ចំណីបណ្តុះប្រភេទនេះ មិនគួរផ្ទុកស្ករគ្លុយកូសទេ ពីព្រោះតែអាស៊ីតដែលត្រូវបានបង្កើតចេញពីការបម្លែងគ្លុយកូស ជាអ្នកបង្អាក់ផលិតកម្ម indole។ ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ៣៥ ទៅ ៣៧°C រយៈពេលចន្លោះពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង។

ប្រតិកម្ម៖ ***វិជ្ជមាន៖*** ស្រទាប់អាល់កុលដែលនៅផ្នែកខាងលើ មានពណ៌ក្រហម។ គ្មានការប្រែប្រួលពណ៌នៅក្នុងស្រទាប់បាតដែលជាទឹកទេ។

អវិជ្ជមាន៖ ស្រទាប់អាល់កុលនៅតែរក្សាពណ៌នៃសារជាតុ Kovac's reagent (ពណ៌លឿង)។

b. **តេស្ត Methyl Red**

១) បន្ថែមពីរបីដំណក់នៃសូលុយស្យុង methyl red ទៅលើបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់នៅក្នុង Clark-Lubs broth។

២) ប្រសិនបើ អង្គធាតុចង្អុលពណ៌ ប្តូរទៅជាក្រហម នោះ pH មានតម្លៃក្រោម ៤.៥ ហើយបាក់តេរីដែលកំពុងដុះលូតលាស់នេះជា *E. coli* ហើយកាលណា pH មានតម្លៃធំជាង ៤.៥ នោះ methyl red មិនប្តូរពណ៌ទេ។

គោលការណ៍៖ ដើម្បីស្រាយបំភ្លឺពីផលិតកម្មអាស៊ីតដែលជាផលិតផលចុងក្រោយ ដែលបានពីមេតាបូលីសស្ករគ្លុយកូស តាមរយៈដំណើរការបម្លែងស្ករឲ្យទៅជាអាស៊ីតចម្រុះ (mixed acid fermentation pathway)។

លក្ខណៈគីមីជីវៈ៖ នៅក្នុងដំណើរការបម្លែងស្ករឲ្យទៅជាអាស៊ីតចម្រុះ បាក់តេរី បង្កើតនូវបរិមាណដ៏ច្រើននៃអាស៊ីតដែលជាផលិតផលចុងក្រោយ តាមរយៈការបម្លែងស្ករគ្លុយកូស។ អាស៊ីតទាំងនេះ មានភាពស្ថិតស្ថេរពីព្រោះពួកវាមិនរងនូវមេតាបូលីសបន្តទៀតទៅតាមពេលវេលាទេ។ ជាលទ្ធផល pH នៃចំណីបណ្តុះ ត្រូវបានធ្លាក់ចុះ។

ចំណីបណ្តុះ៖ Clark-Lubs dextrose broth ឬ MR-VP broth ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ៣៥ ទៅ ៣៧ °C រយៈពេលយ៉ាងតិច ៤៨ ម៉ោង។ មិនត្រូវធ្វើតេស្ត បន្ទាប់ពីកាភ្ញាស់រយៈពេល ២៤ ម៉ោងទេ ព្រោះប្រតិកម្មវិជ្ជមានក្លែងក្លាយ (false postive reaction) ប្រហែលជាអាចកើតឡើងនៅពេលនេះ។

ប្រតិកម្ម៖ ***វិជ្ជមាន៖*** ចំណីបណ្តុះរំពេចនោះ ប្រែជាក្រហម ដែលបញ្ជាក់ថា pH មានតម្លៃ ៤.៥ ឬតូចជាងនេះ។

អវិជ្ជមាន៖ ចំណីបណ្តុះប្រែជាលឿង ដែលបញ្ជាក់ថា pH មានតម្លៃ៦ ឬធំជាងនេះ។

c. **តេស្ត Voges-Proskauer**

បន្ថែម ១០ ដំណក់នៃ spot test reagent A (5% alpha-napthol លាយជាមួយអេទីអាល់កុលដែលសុទ្ធ) និង ៥ ដំណក់នៃ spot test reagent B (40% KOH ដែលផ្ទុកនូវ 0.3% creatine)។ គ្រវីទឹបឲ្យខ្លាំង បន្ទាប់ពីបន្ថែមសារជាតុនីមួយៗខាងលើ។

គោលការណ៍៖ ដើម្បីស្រាយបំភ្លឺពីផលិតកម្មនៃផលិតផលចុងក្រោយដែលមាន pHណឺត។ ផលិតផលទាំងនេះ ត្រូវបានបង្កើតឡើងក្នុងពេលមេតាបូលីសស្ករគ្លុយកូស តាមរយៈដំណើរការបម្លែងស្ករឲ្យទៅជា butylene glycol (butylene glycol fermentation pathway)

លក្ខណៈគីមីជីវៈ៖ នៅក្នុងការបម្លែងស្ករឲ្យទៅជា butylene glycol បាក់តេរី បង្កើតជាផលិតផលដែលជាអាស៊ីត តាមរយៈការបម្លែងស្ករគ្លុយកូស ប៉ុន្តែខណៈដែល ពេលវេលាចេះតែបន្តទៅមុខ នោះអាស៊ីតទាំងនេះ ត្រូវបានរងមេតាបូលីសបន្តឲ្យក្លាយទៅជា

ផលិតផលចុងក្រោយ ដែលមាន pH ណឺត។ ផលិតផលដែលមាន pH ណឺតទាំងនេះ គឺជា acetylmethyl-carbinol (acetoin) និង2,3 butylene glycol (2,3 butanediol)។ សារធាតុ alpha-naphthol និង KOH មានប្រតិកម្មជាមួយ acetoin បង្កើតបានជាដំណក់ពណ៌ក្រហមមួយ។

ចំណីបណ្តុះ៖ ដូចគ្នាទៅនឹងតេស្ត methyl red ដែរ ។

ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ៣៥ ទៅ ៣៧ °C រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង ។

ប្រតិកម្ម៖ ***វិជ្ជមាន៖*** នៅទីបញ្ចប់ ចំណីបណ្តុះ ប្រែជាក្រហម។

អវិជ្ជមាន៖ ចំណីបណ្តុះ នៅតែមានពណ៌លឿងរយៈពេល ៣០ នាទី។

d. **ការប្រើប្រាស់ citrate (citrate utilization)**

វិភាគមេរោគដែលដុះលូតលាស់ក្នុងទីប slant ដែលផ្ទុកនូវ Simmon's citrate agar។ ធ្វើកំណត់ចំណាំទៅលើវត្តមាន ឬអវត្តមានរបស់ការដុះលូតលាស់របស់មេរោគ និងទៅលើការប្រែប្រួលពណ៌របស់អង្គធាតុចង្អុលពណ៌ brom thymol blue ពីបៃតង ទៅខៀវ។ ពួកសារធាតុ citrates (នៅពេលបំបែកពីបាក់តេរី) ត្រូវបានបម្លែងទៅជាសូដ្យូមកាបូណាត ដែលធ្វើឲ្យ pH កើនឡើងដូចនេះធ្វើឲ្យពណ៌របស់អង្គធាតុចង្អុលពណ៌ ប្រែទៅជាខៀវ។

គោលការណ៍៖ ដើម្បីស្រាយបំភ្លឺពីលទ្ធភាពរបស់មីក្រូសរីរាង្គមួយ ក្នុងការប្រើប្រាស់ citrate ជាប្រភពតែមួយគត់នៃកាបូន និងថាមពល។

ប្រតិកម្មគីមីជីវៈ៖ ប្រសិនបើ citrate អាចត្រូវបានប្រើប្រាស់ដោយមីក្រូសរីរាង្គមួយ ក្នុងទម្រង់ជាប្រភពតែមួយគត់នៃកាបូន និងថាមពល នោះផលិតផលចុងក្រោយដែលជាលទ្ធផលទាំងអស់ នឹងមាន pH ជាបាសអាល់កាឡាំង។ ដូចនេះ pH នៃអង្គធាតុចង្អុលពណ៌ brom thymol blue នៅក្នុងចំណីបណ្តុះ នឹងប្រែពណ៌ពីបៃតងទៅជាខៀវ ដែលបញ្ជាក់ថាជា pH នៃបាសអាល់កាឡាំង។

ចំណីបណ្តុះ៖ Simon's citrate agar ដែលផ្ទុកនូវ sodium citrate អំបិលអសរីរាង្គ និង brom thymol blue។ ប្រើបរិមាណដ៏តិចមួយនៃមេរោគ (a light inoculum) ទៅឆូតនៅលើផ្ទៃ slant។ ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ៣៥ ទៅ ៣៧ °C រយៈពេលចន្លោះពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង។

ប្រតិកម្ម៖ ***វិជ្ជមាន៖*** ចំណីបណ្តុះ ប្រែពណ៌ពីបៃតង ទៅខៀវ។

អវិជ្ជមាន៖ ចំណីបណ្តុះ នៅតែមានពណ៌បៃតង។

២៣.៤ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ៣៖ ការពិពណ៌នាពីវិធីសាស្ត្រចម្រោះភ្នាស

ទម្រង់ការនៃការវិធីសាស្ត្រចម្រោះភ្នាស ត្រូវបានគេប្រើយ៉ាងញឹកញាប់បំផុត ដើម្បីធ្វើការវិភាគពួកអតិសុខុមប្រាណដែលមាននៅក្នុងទឹក។ អ្នកបង្រៀនរបស់អ្នក នឹងបង្ហាញពីឧបករណ៍ចម្រោះដោយឲ្យ ១០០ mlនៃសំណាកទឹកឆ្លងកាត់ភ្នាសស្តើង ស្វិត និងស្ទើរលែ្បច ដែលមានទំហំរន្ធតូចដូចៗ

គ្នា ដូចនេះ បាក់តេរី ត្រូវទើនៅលើផ្ទៃខាងលើនៃភ្នាសនេះ។ បន្ទាប់ពីច្រោះរួច ភ្នាសនេះ អាចត្រូវបាន ដាក់នៅលើបន្ទះសម្រូប (an absorbant pad) ដែលបញ្ជោកដោយប្រភេទចំណីបណ្តុះ broth សម ស្របមួយប្រភេទ និងត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់នៅក្នុងចានបណ្តុះមួយ។ ពួកកូឡូនី វិវត្តខ្លួនឡើងនៅលើភ្នាស នេះ ហើយអាចត្រូវបានរាប់ចំនួន និងវិភាគបន្តទៀត។ លើសពីនេះទៅទៀត ពពួកភ្នាសផ្ទុកមេរោគទាំង នេះ ក៏អាចត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់នៅលើចានបណ្តុះដែលផ្ទុកនូវ EMB ឬ MacConkey agar សាមញ្ញផង ដែរ ដូចដែលបានបញ្ជាក់នៅក្នុងការពិពណ៌នានេះ។

២៣.៤.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់មន្ទីរពិសោធន៍នីមួយៗ៖

- ឧបករណ៍ចម្រោះដែលប្រើភ្នាស (membrane filter apparatus)
- សំណាកទឹក (សិស្ស ត្រូវបានលើកទឹកចិត្តឲ្យយកសំណាកទឹកពីប្រភពផ្សេងៗគ្នា ដែលពួក គេចាប់អារម្មណ៍)
- ចានបណ្តុះផ្ទុក EMB

២៣.៤.២ ដំណើរការពិសោធ

ចម្រោះភ្នាសដែលត្រូវប្រើដើម្បីវិភាគសំណាកទឹក ដែលគ្រូបង្រៀន ឬសិស្ស បានយកមកកាន់ មន្ទីរពិសោធន៍ នឹងត្រូវបានដាក់ភ្ញាស់នៅលើចានបណ្តុះ EMB ។ វិភាគចានបណ្តុះទាំងអស់នេះ បន្ទាប់ ពីបានភ្ញាស់រយៈពេល ២៤ ម៉ោង និងកត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

២៣.៥ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៣ ផ្នែក ៣

១. តើទំហំរន្ធប្រភេទណា ត្រូវបានប្រើប្រាស់នៅក្នុងចម្រោះភ្នាស ដែលត្រូវបានបង្ហាញដោយគ្រូ បង្រៀនរបស់អ្នក ?

____

____

____

២. តើពួកកូឡូនីដែលជាប់លើចម្រោះភ្នាសដែលត្រូវបានយកដាក់នៅលើ agar ខាងលើ បាន លេចរូបរាងឡើងក្នុងទម្រង់បែបណាដែរ។ តើអ្នកដឹងបានដោយរបៀបណាថាពួកវាជាពួកបាក់តេ រីផ្ទែកអនាម័យ (coliform)?

____

____

____

៣. តើពួកបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់នៅលើ agar នេះ អាចជាពួកក្រាមវិជ្ជមានដែរ ឬទេ? ហេតុ អ្វីអាច ឬហេតុអ្វីមិនអាច?

៤. តើមានបាក់តេរីចំនួនប៉ុន្មាន មានវត្តមាននៅក្នុងសំណាកទឹក ១ ml ? ហេតុអ្វីបានជាសំណាកទឹក ១០០ ml ត្រូវបានគេយកមកប្រោះ ?

លំហាត់ ២៤៖ អំពើនៃពួកអង់ទីប្យូទិច (Action of Antibiotics)

២៤.១ សេចក្តីផ្តើម

មីក្រូសរីរាង្គជាច្រើន បង្កើតផលិតផលជាច្រើនចេញពីដំណើរការមេតាបូលីស ដែលពុល ឬបង្អាក់មីក្រូសរីរាង្គផ្សេងៗទៀត។ ជាពិសេស មួយចំនួននៃផលិតផលទាំងនេះ បង្អាក់ដំហានជាក់លាក់មួយចំនួននៃដំណើរការមេតាបូលីស ដោយសារសកម្មភាពបែបគីមីរបស់ពួកវា។ សមាសធាតុទាំងនេះត្រូវបានគេហៅថាជា ពួកអង់ទីប្យូទិច។ ប្រភពដើមនៃមីក្រុប និងភាពជាក់លាក់នៃអំពើរបស់ពួកវា ជាអ្នកដែលធ្វើឲ្យពួកអង់ទីប្យូទិចខុសប្លែកពីថ្នាំប្រឆាំងបាក់តេរីបែបសំយោគផ្សេងទៀត និងខុសប្លែកពីពួកថ្នាំពុលប្រូតូប្លាសទូទៅ។ ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយ ប្រហែលជាប្រើប្រាស់ឥទ្ធិពលរបស់វា ដោយបង្អាក់ចំណុចជាក់លាក់មួយនៅក្នុងដំណើរការមេតាបូលីសនៃមីក្រូសរីរាង្គ ដែលរងអំពើពីថ្នាំអង់ទីប្យូទិចនេះ ដូចនេះវានឹងធ្វើឲ្យដំណើរការបន្តពូជត្រូវបានបញ្ឈប់។ ប្រសិទ្ធិភាពនៃថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយ អាស្រ័យតែទៅលើមីក្រូសរីរាង្គណា ដែលដំណើរការមេតាបូលីសរបស់វា រងនូវអំពើរបស់ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចនេះតែប៉ុណ្ណោះ។

ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចបីបួនពាន់ប្រភេទ ត្រូវបានគេលើកយកមកសិក្សាតែមានពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចតិចតួចណាស់ ដែលមានគុណតម្លៃសម្រាប់ព្យាបាលជំងឺឆ្លង។ ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចដែលមានសារៈប្រយោជន៍ទាំងអស់ ដើរតួនាទីប្រឆាំងនឹងមួយចំនួននៃមីក្រូសរីរាង្គបង្ករោគ ដែលអាចរាតត្បាតនៅលើសារពាង្គកាយ និងមិនពុលខ្លាំងចំពោះកោសិការបស់សារពាង្គកាយយើងទេ។ ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចដែលត្រូវបានប្រើប្រាស់ជាឱសថព្យាបាលជំងឺលើកដំបូងគេ មានឈ្មោះថា penicillin។ សមាសធាតុនេះ ត្រូវបានបង្កើតឡើងដោយពួកផ្សិតសរសៃពូជ *Penicillium notatum* និង *Penicillium chrysogenum* ។ ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចសំខាន់ៗថ្មីៗផ្សេងទៀតជាច្រើន ត្រូវបានគេញែកក្នុងទម្រង់ជាផលិតផលនៃប្រភេទផ្សេងៗគ្នារបស់អម្បូរ actinomycete ដែលជាអម្បូរ *Streptomyces* ។ ពួកថ្នាំអង់ទីប្យូទិចទាំងនេះ រាប់បញ្ចូលទាំង streptomycin, chloromycetin, aureomycin, terramycin និង erythromycin។ វិសាលភាពនៃការប្រើប្រាស់ថ្នាំអង់ទីប្យូទិច បានពង្រីកខ្លួនទៅដល់វិស័យថ្នាំបសុសត្វ ការបន្ថែមថ្នាំអង់ទីប្យូទិចទៅក្នុងចំណីសត្វ ការគ្រប់គ្រងជំងឺរុក្ខជាតិ និងការរក្សាទុកអាហារឲ្យបានយូរ។ ផលិតកម្មថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ចំណាយអស់ប្រហែលរាប់សិបពាន់លានដុល្លាក្នុងមួយឆ្នាំៗ សម្រាប់ឧស្សាហកម្មមួយ។

២៤.២ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ១៖ គុណភាពអង់ទីប្យូទិចកំណត់ ដោយវិធីសាស្ត្រឆូតខ្វែង (*Antibiotic Production as Determined Qualitatively by the Cross-Streak Plate Method*)

២៤.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយគូៗ៖ (ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១)

- ពូជ *Penicillin notatum* និង *Streptomyces griseus* ដែលអាចផលិតអង់ទីប្យូទិចបាន ដែលកំពុងដុះលូតលាស់នៅលើ malt/yeast extract (Difco) slant
- ទីបចំនួន ១ ដែលផ្ទុកនូវ ៣ mlនៃ agar កំហាប់ ០.២ % ដែលស្ទេរីលរួច
- ចានបណ្ដុះចំនួន ២ ដែលផ្ទុកនូវ malt/yeast extract

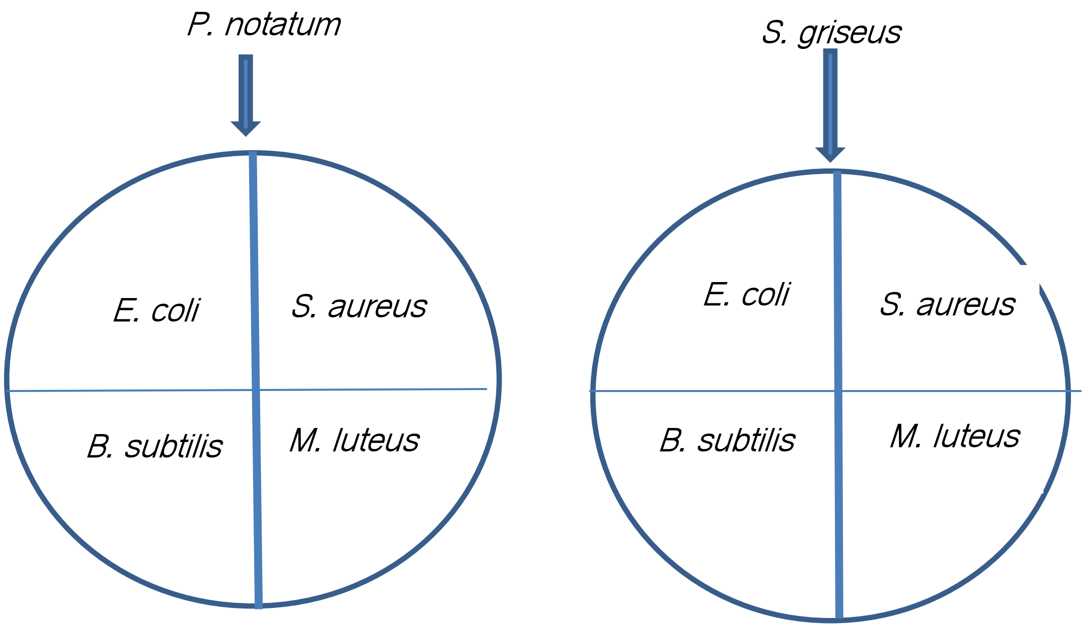
សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយគូៗៈ(ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២)

- បាក់តេរី *Escherichia coli* (ពូជ *E. coli* ដែលរួសនឹង Streptomycin), *Bacillus subtiis, Staphylococcus aureus* (ពូជ*S. aureus* ដែលរួសនឹង Pnicillin) និង *Micrococcus luteus* ដែលបានដុះលូតលាស់នៅក្នុង broth រយៈពេល ២៤ ម៉ោង

២៤.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. រៀបចំកំណាស្ករ ២ ប្រភេទដែលបានពីផ្សិត*P. notatum* និង *S. griseus* ដោយចាក់ agar កំហាប់ ០.២ % ដែលស្ទេរីលរួច ទៅក្នុងទីប slant នីមួយៗ (ដែល agar នេះដើរតួនាទីជាភ្នាក់ងារបេញ្ចាប់ [an emulsifying agent]) ដើម្បីបន្សើមស្ករដែលនឹងធូតពួកស្ករទៅលើចានបណ្ដុះឲ្យកាន់តែមានប្រសិទ្ធិភាពជាងមុន។ ពួកស្ករនឹងចូលទៅក្នុងសូលុយស្យុង agar ដោយប្រើលួបស្ទេរីលរួចទៅរុញផ្ទៃដែលដុះពួកផ្សិតទាំង ២ ខាងលើចុះឡើងថ្មមៗ។ បន្តធ្វើបែបនេះ រហូតដល់ទទួលបានកំណាស្ករ ដែលមានសភាពខាប់ល្មម។

២. ធូតកំណាស្ករ *P. notatum* នេះ ឲ្យកាត់ចំណុចកណ្ដាលនៃចានបណ្ដុះ malt/yeast extract ទីមួយ។ ធ្វើបែបនេះដដែល ដោយធូតកំណាស្ករ *S. griseus* ឲ្យកាត់ចំណុចកណ្ដាលនៃចានបណ្ដុះ M-Y ទីពីរ។ សូមមើលរូបភាព ២៤.១ ។ ដាក់ភ្ញាស់ពួកវានៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង។



រូបភាព ២៤.១ វិធីសាស្ត្រធូតខ្វែងរវាងផ្សិត និងបាក់តេរី

៣. នៅកំឡុងពេលពិសោធន៍លើកក្រោយ ត្រូវយកបាក់តេរី *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* និង *M. luteus* ដែលបានដុះលូតលាស់ក្នុង broth មកធ្វើការចាក់ចម្លងទៅលើចានបណ្តុះចំនួន ២ ដោយធ្វើយ៉ាងណាឲ្យពួកបាក់តេរីនីមួយៗនៅចន្លោះឆ្នូតខ្វែងកណ្តាលទាំងពីរ (ដែលជាឆ្នូតនៃកំណស្ពរ *P. notatum* [ចានទី ១] និង *S. griseus* [ចានទី ២])។ មិនត្រូវគ្រវីដែលធ្វើឲ្យស្ពរដាច់ចេញពីឆ្នូតកណ្តាលនេះទេ។

៤. ចាក់ចម្លងបាក់តេរីនីមួយៗក្នុងចំណោមបាក់តេរីដែលត្រូវយកធ្វើតេស្តទាំង ៤ ខាងលើទៅលើចានបណ្តុះទាំង ២ ធ្វើយ៉ាងណាឲ្យវាស្ថិតនៅក្នុងតំបន់ ៤ ផ្សេងគ្នានៃចានបណ្តុះ (តំបន់ដែលគ្មានការដុះលូតលាស់នៃពួកផ្សិត) ដោយត្រូវផ្លាស់ទីលួបពីក្បែរគែមចានបណ្តុះរហូតដល់ចំណុចកណ្តាល និងផ្លាស់ទីពីជ្រុងខាងស្តាំរហូតដល់ឆ្នូតកណ្តាលដែលមានផ្សិតដុះ។ ត្រូវប្រាកដថាបានឆូតបាក់តេរីនីមួយៗ ដោយចាប់ផ្តើមចេញពីគែមរបស់ចានបណ្តុះឡើងរហូតដល់ឆ្នូតកណ្តាល ដែលមានផ្សិតដុះ ហើយត្រូវស្ទេរីលលួបនេះ បន្ទាប់ពីការឆូតម្តងៗ។

៥. សរសេរសម្គាល់ចានបណ្តុះទាំង២ និងដាក់ភ្ញាស់នៅ៣៧ °C រហូតដល់ពិសោធលើក្រោយ។

៦. វិភាគការដុះលូតលាស់របស់ពួកបាក់តេរីខាងលើ បន្ទាប់ពីបានភ្ញាស់រួច និងកំណត់ចំណាំរាល់ ភ័ស្តុតាងដែលបញ្ជាក់ថា មានការបង្អាក់ដល់ការដុះលូតលាស់របស់បាក់តេរី ដោយត្រូវពិនិត្យមើលទៅលើភាពគ្មានលទ្ធភាពរបស់បាក់តេរីនីមួយៗ ក្នុងការដុះជាកូឡូនីនៅលើឆ្នូតកណ្តាលដែលមានផ្សិតដុះ។

៧. កត់ត្រានូវប្រវែងនៃតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ គិតជាមីលីម៉ែត្រ។ គូររូបតំណាងឲ្យការដុះលូតលាស់នៃពួកផ្សិត និងពួកបាក់តេរីទាំងបួន ដែលបានអង្កេតមើលលើចានបណ្តុះនីមួយៗ។

២៤.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ១

១. តើបាក់តេរីប្រភេទណាខ្លះ ត្រូវបានបង្អាក់ដោយផ្សិត *P.notatum* ? តើបាក់តេរីប្រភេទណាខ្លះ ត្រូវបានបង្អាក់ដោយផ្សិត *S. griseus* ?

____

____

____

២. តើអ្នកមើលឃើញគម្រូមួយ ដែលទាក់ទងនឹងប្រតិកម្ម Gram-stain ដែរ ឬទេ ?

____

____

____

៣. តើប្រភេទផ្សិតមួយណា ដែលអាចចាត់ទុកថាជាអ្នកបង្អាក់ក្នុងទ្រង់ទ្រាយធំ (broad-spectrum inhibitor) ?

____

____

____

៤. តើផ្សិតនីមួយៗបង្អាក់ការដុះលូតលាស់របស់បាក់តេរីនៅត្រង់កន្លែងណា ? រកមើលវានៅក្នុងសៀវភៅមេរៀនរបស់អ្នក។

____

____

____

____

៥. ហេតុអ្វីបានជាតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ ស្ថិតនៅឆ្ងាយពីផ្សិត *P. notatum* ឬ *S. griseus* ?

____

____

____

២៤.៣ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ២៖ វិធីសាស្ត្រតេស្តភាពរួសបាក់តេរីជាមួយអង់ទីប្យូទិច បន្ទះក្រដាស

ការព្យាបាលការចម្លងរោគពីបាក់តេរី ជានិច្ចកាលអាស្រ័យជាខ្លាំងទៅលើការប្រើប្រាស់ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយចំនួន ក្នុងទម្រង់ជាភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមី ។ ជម្រើសក្នុងការប្រើប្រាស់ប្រភេទអង់ទីប្យូទិចដែលសមស្រប ត្រូវបានណែនាំដោយការវិនិច្ឆ័យ (តាមគ្លីនិក) ទៅលើធម្មជាតិនៃភ្នាក់ងារបង្កជំងឺ និងដោយការធ្វើតេស្តកំណត់ភាពរួសនឹងអង់ទីប្យូទិចរបស់ភ្នាក់ងារបង្កជំងឺ ដែលក្នុងពេលជាមួយគ្នានោះពួកមេរោគ ត្រូវបានញែក និងកំណត់អត្តសញ្ញាណ។

ចំណេះដឹងទៅលើប្រសិទ្ធិភាពនៃការប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីរបស់ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចផ្សេងៗគ្នា មានសារៈសំខាន់ណាស់ក្នុងការជ្រើសរើសយកភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមីមួយឲ្យបានសមស្រប។ ជាឧទាហរណ៍ penicillin G ជាធម្មតាមានប្រសិទ្ធិភាពប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន ខណៈដែល streptomycin ជាធម្មតាមានប្រសិទ្ធិភាពប្រឆាំងនឹងបាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន ។ បើទោះបីជាយ៉ាងណាក៏ដោយ អម្បូរបាក់តេរីដែលជាក់លាក់ទាំងអស់ ជាញឹកញាប់មានការវិវត្តភាពធន់ទៅនឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិចដែលត្រូវការឲ្យអ្នកវិទ្យាសាស្ត្រ ធ្វើតេស្តកំណត់ភាពងាយរងគ្រោះដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់ពួកបាក់តេរី (antibiotic susceptibility testing)។

ដំណើរការពិសោធសាមញ្ញមួយ សម្រាប់ការធ្វើតេស្តកំណត់ភាពងាយរងគ្រោះដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចរបស់ពួកបាក់តេរី ជាវិធីសាស្ត្រវិភាគដោយប្រើបន្ទះក្រដាស។ ការកែសម្រួលមួយចំនួនទៅលើវិធីសាស្ត្រនេះ ត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ដើម្បីឲ្យសមស្របទៅតាមកាលៈទេសៈជាក់ស្តែង។ នៅក្នុងលំហាត់នេះ អ្នកនឹងអនុវត្តការកែសម្រួលមួយក្នុងចំណោមការកែសម្រួល ដែលជាវិធីសាស្ត្រ Kirby-Bauer Method។ នៅក្នុងវិធីសាស្ត្រនេះ ភាពងាយរងគ្រោះរបស់បាក់តេរីដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ត្រូវបានគណនាដោយប្រៀបធៀបទំហំនៃផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ជាមួយនឹងទំហំនៃផ្ទៃស្តង់ដារ។

លទ្ធភាព មានភាពពេញលេញ កាលណាដំណើរការពិសោធនេះ មានលក្ខណៈជាទម្រង់ការស្តង់ដា។ ដូចនេះ អំណាចនៃបន្ទះក្រដាស កំហាប់នៃមេរោគដែលត្រូវចាក់ចម្លង និងប្រភេទនៃចំណីបណ្តុះ ត្រូវតែមានស្ថេរភាព។ ដោយសារតែ ភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមីផ្សេងៗគ្នាជាច្រើន មានល្បឿនបន្សាយនៅក្នុង agar ផ្សេងគ្នា ដូចនេះ ផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយ មិនអាចត្រូវបានយកមកប្រៀបធៀបជាមួយផ្ទៃដែលរងការបង្អាក់ដោយថ្នាំអង់ទីប្យូទិចមួយផ្សេងទៀតទេ ប៉ុន្តែអាចត្រូវបានប្រៀបធៀបបានតែជាមួយតម្លៃស្តង់ដាប៉ុណ្ណោះ។

២៤.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សមួយគូៗ៖

- *Escherichia coli* ដែលបានដុះលូតលាស់ក្នុង broth រយៈពេល ២ ទៅ ៥ ម៉ោង និងត្រូវបានដាក់ទៅក្នុង៤ mlនៃ tryticase soy broth

- *Staphylococcus aureus* ដែលបានដុះលូតលាស់ក្នុង broth រយៈពេល ២ ទៅ ៥ ម៉ោង និងត្រូវបានដាក់ទៅក្នុង៤ mlនៃ tryticase soy broth
- ចានបណ្តុះចំនួន ៤ ដែលផ្ទុក Mueller-Hinton agar
- សំឡីត្បារស្ទេរីលរួចចំនួន ៤ ដើម
- ទឹកអំបិលស្ទេរីលរួចចំនួន ១ ដប
- ដង្កៀបស្ទេរីលរួចចំនួន ២
- ទីបចំនួន ១ ដែលមានដាក់ ៤ mlសូលុយស្យុងដង់ស៊ីតេស្តង់ដា [0.5 McFarland standard] (ត្រូវបានរៀបចំដោយបន្ថែម 0.5 ml នៃ $BaCl_2$ កំហាប់ ១% ទៅក្នុង 99.5 ml នៃ H_2SO_4 កំហាប់ 0.36 N)
- បន្ទះក្រដាសផ្ទុកអង់ទីប្យូទិចៈ (៤ បន្ទះសម្រាប់ប្រភេទអង់ទីប្យូទិចនីមួយៗ)
  - Penicillin G ដែលមានត្រឹម ១០ ខ្នាត
  - Ampicillin ១០ µg
  - Neomycin ៣០ µg
  - Streptomycin ១០µg
  - Tetracycline ៣០ µg
- អាល់កុល១ ដប

២៤.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

ក) ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ១

១. ប្រៀបធៀបដង់ស៊ីតេនៃមេរោគដែលមានក្នុង broth និងដង់ស៊ីតេរបស់សូលុយស្យុងស្តង់ដារ $BaCl_2$។ ប្រសិនបើចាំបាច់ ត្រូវពង្រាវជាមួយទឹកអំបិលស្ទេរីលរួច ដើម្បីឲ្យបានដង់ស៊ីតេមួយដែលមានតម្លៃស្មើនឹងដង់ស៊ីតេស្តង់ដារ។ **ចំណាំៈ** ដើម្បីងាយស្រួលក្នុងការមើលកម្រិតភាពល្អក់ ត្រូវគូសបន្ទាត់ខ្មៅមួយនៅលើបន្ទះក្រដាសធម្មតា។ លើកសូលុយស្យុងស្តង់ដារនេះឡើង ខណៈពេលដែលអ្នកលើកសូលុយស្យុងមេរោគដែលពង្រាវរួចឡើង។ លើសពីនេះទៅទៀត អ្នកអាចលើកវាឡើងឲ្យត្រូវនឹងពន្លឺដែលបានពីបង្អួច ឬប្រភពពន្លឺផ្សេងពីនេះ។ ត្រូវប្រយ័ត្នធ្វើយ៉ាងណាមិនឲ្យបាក់តេរីហៀរចេញមកក្រៅទេ ។

២. សិស្សមួយគូៗនឹងជូតប្រភេទមេរោគនីមួយៗទៅលើចានបណ្តុះដោយប្រើសំឡីត្បារ។

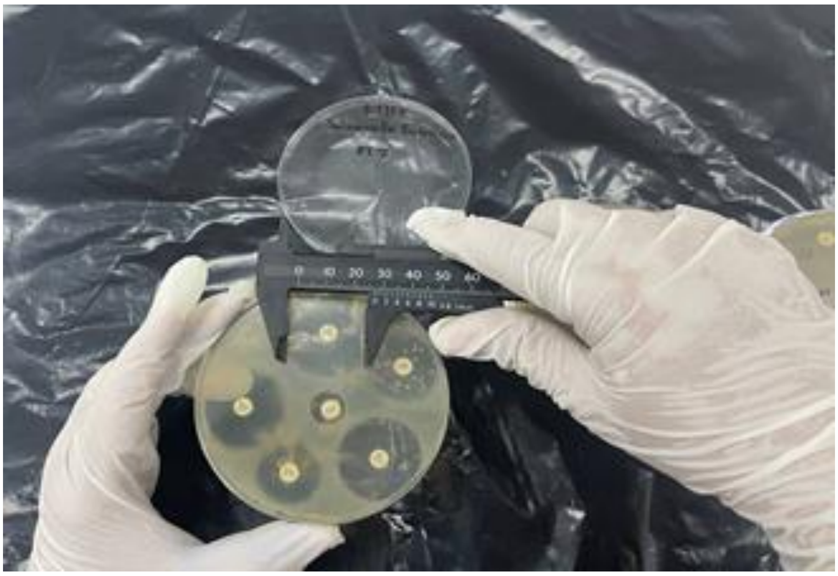
៣. ទុកឲ្យចានបណ្តុះដែលជាប់មេរោគនេះស្ងួតក្នុងរយៈពេលប្រហែល ១០ នាទី។ បន្ទាប់មកស្ទេរីលដង្កៀប ដោយជ្រលក់វាជាមួយអាល់កុល និងដាក់វាកាត់លើអណ្តាតភ្លើង។ ដោយប្រើដង្កៀបស្ទេរីលរួចនេះ ត្រូវដាក់បន្ទះក្រដាសមានជាតិថ្នាំទៅលើផ្ទៃខាងលើនៃចានបណ្តុះ។ សង្កត់បន្ទះក្រដាសថ្នមៗទៅលើ agar ដើម្បីធានាថាបន្ទះក្រដាសប៉ះនឹង agar បានល្អ ។ ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C។

ខ) ពិសោធន៍ដំណាក់កាលទី ២

៤. វាស់ប្រវែងអង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ គិតជា មីលីម៉ែត្រ និងកត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

តារាង ២៤.១ អង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់ដែលរងការបង្អាក់តាមស្តង់ដារ (Kirby-Bauer Method)

ថ្នាំអង់ទីប្យូទិច ឬភ្នាក់ងារព្យាបាលជំងឺបែបគីមី	ប្រសិទ្ធិភាពបន្ទះក្រដាសវិភាគ	អង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់ដែលរងការបង្អាក់គិតជា មីលីម៉ែត្រ (mm)		
		ធន់នឹង	ធន់នៅចន្លោះ	រួសនឹង
Ampicillin Gram negative Staphylococci	 ១០ µg ១០ µg	 ១១ mm ឬក្រោមនេះ ២០ mm ឬក្រោមនេះ	 ១២-១៣ mm ២១-២៨ mm	 ១៤ mm ឬលើនេះ ២៩ mm ឬលើនេះ
Chloramphenicol	៣០ µg	១២ mm ឬក្រោមនេះ	១៣-១៧ mm	១៨ mm ឬលើនេះ
Erythromycin	១៥ µg	១៣ mm ឬក្រោមនេះ	១៤-១៧ mm	១៨ mm ឬលើនេះ
Kanamycin	៣០ µg	១៣ mm ឬក្រោមនេះ	១៤-១៧ mm	១៨ mm ឬលើនេះ
Neomycin	៣០ µg	១២ mm ឬក្រោមនេះ	១៣-១៦ mm	១៨ mm ឬលើនេះ
Penicillin G Staphylococci មីក្រូសរីរាង្គផ្សេងៗទៀត	 ១០ខ្នាត ១០ខ្នាត	 ២០ mm ឬក្រោមនេះ ១១ mm ឬក្រោមនេះ	 ២១-២៨ mm ១២-២១ mm	 ២៩ mm ឬលើនេះ ២២mm ឬលើនេះ
Streptomycin	១០ µg	១១ mm ឬក្រោមនេះ	១២-១៤ mm	១៥ mm ឬលើនេះ
Sulfonomides	៣០០ µg	១២ mm ឬក្រោមនេះ	១៣-១៦ mm	១៧mm ឬលើនេះ
Tetracycline	៣០ µg	១៤ mm ឬក្រោមនេះ	១៥-១៨ mm	១៩ mm ឬលើនេះ



រូបភាព ២៤.១ ការវាស់អង្កត់ផ្ចិតនៃតំបន់បង្អាក់សកម្មភាពបាក់តេរីដោយសារថ្នាំអង់ទីប្យូទិក

២៤.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៤ ផ្នែក ២

១. វាស់ និងកត់ត្រានូវទំហំតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ គិតជា mm។ គូសតារាងមួយ ដែលបង្ហាញពីលទ្ធផលរបស់អ្នក។

តារាង ២៤.២ បំពេញលទ្ធផលទំហំតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ គិតជា mm

	Ampicillin	Neomycin	Penicillin G	Streptomycin	Tetracycline
E. coli					
S. aureus					

២. បកស្រាយលទ្ធផលរបស់អ្នក ដោយប្រៀបធៀបទំហំតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ជាមួយទំហំដែលមាននៅក្នុងតារាងដែលផ្តល់ឲ្យ។

____

____

៣. ហេតុអ្វីបានជាតំបន់ដែលរងការបង្អាក់ មានសភាពខុសគ្នាអាស្រ័យទៅតាមប្រភេទអង់ទីប្យូទិចនីមួយៗ?

____

____

៤. តើបាក់តេរីណាខ្លះ ងាយរងគ្រោះដោយសារអំពើរបស់ថ្នាំអង់ទីប្យូទិចទាំងអស់?

____

____

៥. ហេតុអ្វីបានជាបាក់តេរីមួយចំនួន ធន់នឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិច?

____

____

៦. ហេតុអ្វីបានជាបាក់តេរីមួយចំនួន មានភាពរួសចន្លោះទៅនឹងថ្នាំអង់ទីប្យូទិច (an intermediate sensitivity means)?

____

____

____

៧. ហេតុអ្វីបានជាវាមានសារៈសំខាន់ ក្នុងការធ្វើឲ្យបរិមាណមេរោគដែលត្រូវចាក់ចម្លងស្ថិតនៅក្នុងតម្លៃស្តង់ដា មុនពេលវិភាគម្តងៗ?

លំហាត់ ២៥៖ ប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែន និងអង់ទីករ (Serological Reactions)

២៥.១ សេចក្តីផ្តើម

វិទ្យាសាស្ត្រដែលសិក្សាពីប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែន និងអង់ទីករ (serology) ជាមែកធាងមួយនៃវិទ្យាសាស្ត្រដែលសិក្សាពីប្រព័ន្ធភាពស៊ាំ ដែលបកស្រាយពីប្រតិកម្មរវាងអង្គធាតុទាំងពីរនេះ។ គោលការណ៍ដែលនៅពីក្រោយដំណើរការពិសោធនៃប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែន និងអង់ទីករ គឺថាម្ចាស់បញ្ញើមួយដែលបានផ្ទុកមេរោគ (an infected host) ផលិតនូវពួកអង់ទីករដែលជាក់លាក់ (និង/ឬពួកទ្បាំផ្សឹតដែលសម្លាប់មេរោគ) ដែលមានប្រតិកម្មឯកទេសទៅលើភ្នាក់ងារបង្កជំងឺ។ បច្ចេកទេសសិក្សាពីប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែន និងអង់ទីករ ជាជំនួយក្នុងការធ្វើរោគវិនិច្ឆ័យទៅលើជំងឺឆ្លងបានយ៉ាងលឿន និងដោយមានសុក្រឹតភាព។

នៅក្នុងតេស្តដែលសិក្សាពីប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែន និងអង់ទីករសាមញ្ញមួយ សេរ៉ូមនៃឈាមរបស់អ្នកជំងឺ ត្រូវបានលាយជាមួយនឹងពួកអង់ទីស៊ែនដែលគេស្គាល់ឈ្មោះ។ យើងអាចដឹងថា សេរ៉ូមនៃឈាមរបស់អ្នកជំងឺ ត្រូវបានដឹកនាំទៅជួបនឹងអង់ទីស៊ែននោះ កាលណាសមាសធាតុផ្សំរបស់សេរ៉ូមមានប្រតិកម្មជាមួយវា ។

ប្រតិកម្ម ដែលឲ្យផលជាសូលុយស្យុងមានទម្រង់ឡើងដុំកករ ហើយស្អិតដូចកាវ (agglutination reactions) ជាប្រភេទមួយក្នុងចំណោមប្រភេទផ្សេងៗគ្នារបស់បណ្តាតេស្តដែលសិក្សាពីប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែន និងអង់ទីករ។ ពួករាប់បញ្ចូលទាំងពួកអង់ទីស៊ែនដែលមានទម្រង់ជាកោសិកាទាំងមូល (whole-cell antigens) ដូចជាពួកកោសិកាបាក់តេរី ឬកោសិកាឈាមក្រហម។ ជាទូទៅ ប្រតិកម្មទាំងនេះឲ្យផលជាកំណម៉ាសមួយ ឬឲ្យផលជាបណ្តុំ ដែលអាចត្រូវបានគេមើលឃើញយ៉ាងងាយដោយភ្នែកទទេ។ បណ្តាប្រតិកម្មដែលឲ្យផលជាសូលុយស្យុងមានទម្រង់ស្អិតដូចកាវ អាចត្រូវបានគេប្រើដើម្បីកំណត់អត្តសញ្ញាណបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់ ឬដើម្បីកំណត់ចំនួនអង់ទីករក្នុងសេរ៉ូមរបស់មនុស្សម្នាក់។ បណ្តាប្រតិកម្មដែលឲ្យផលជាសូលុយស្យុងមានទម្រង់ស្អិតដូចកាវ កើតឡើងជា ២ ដំហាន ដែលដំហានទី ១ គឺជាបន្សុំគ្នានៃអង់ទីករឯកទេសជាមួយនឹងអង់ទីស៊ែនដែលតូចដូចធូលីដី (ដែលអង់ទីស៊ែននេះ អាចជាបាក់តេរី ឬកោសិកាឈាមក្រហម) ហើយបន្ទាប់មកជាដំហានទី ២ ដែលមានការបង្កើតជាទម្រង់នៃចង្កោម ឬបណ្តុំដែលអាចមើលឃើញដោយភ្នែកទទេ (formation of visible clumps) (ដែលជាបាក់តេរី និងអង់ទីករឯកទេស)។ នៅក្នុងលំហាត់នេះ អ្នកនឹងអនុវត្តទៅលើតេស្តដែលបង្ហាញពីប្រតិកម្មដែលឲ្យផលជាសូលុយស្យុងមានទម្រង់ស្អិតដូចកាវនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ (the slide agglutinaton test) ដើម្បីកំណត់អត្តសញ្ញាណមេរោគមួយប្រភេទដែលមិនស្គាល់។ កំណនៃបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះ នឹងត្រូវបានលាយជាមួយនឹង ១ ដំណក់នៃពួកអង់ទីករឯកទេសនៅលើបន្ទះកញ្ចក់វិភាគមួយ(a microscopic slide) ហើយល្បាយនេះ នឹងត្រូវបានគេអង្កេតមើលដើម្បីរកឲ្យឃើញនូវកំណស្អិតដូចកាវ ។

២៥.១ តេស្តដែលបង្ហាញពីប្រតិកម្មដែលឲ្យផលជាសូលុយស្យុងមានទម្រង់ស្អិតដូចភាច (*AGGLUTINATION TEST*)

២៥.១.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់ក្រុមមួយៗ៖

- អង់ទីសេរ៉ូមដែលបានពី *Streptococcus pyogenes* ដាក់លាក់មួយ (specific *Streptococcus pyogenes* antiserum) ដែលបានដាក់នៅក្នុងដបសម្រាប់បណ្តក់ (dropper bottle)

សម្ភារៈសម្រាប់សិស្សម្នាក់ៗ៖

- មេរោគ ២ ប្រភេទ ដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះ និងត្រូវបានបណ្តុះក្នុង broth
- ចានបណ្តុះចំនួន ២ ដែលមានដាក់ឈាម
- ពីប៉ែតប៉ាស្ទឺរចំនួន ២
- សូលុយស្យុង extraction buffer ចំនួន ២ ប្រភេទ
- ឈើចាក់ធ្មេញចំនួន ២ ដើម

២៥.១.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ធ្វើការឆូតពួកមេរោគដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះទាំងពីរនេះ ទៅលើចានបណ្តុះដែលផ្ទុក blood agar ពីរផ្សេងគ្នា ហើយការធ្វើបែបនេះ គឺដើម្បីញែកមេរោគ។

២. ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C រហូតដល់ការពិសោធលើកក្រោយ។

៣. យក ៣ ឬ ៤ កូឡូនីនៃមេរោគនីមួយៗចេញពីចានបណ្តុះ ដែលផ្ទុក blood agar និងដាក់វាទៅក្នុងសូលុយស្យុង extraction buffer (ធ្វើយ៉ាងណាកុំឲ្យមានការចម្លងចូលនៃមេរោគផ្សេង)។ សិស្សម្នាក់ៗ គួរតែមានទីប ២ ដែល ១ ទីបៗត្រូវបានប្រើសម្រាប់ដាក់មេរោគដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះនីមួយៗ។

៤. ធ្វើឲ្យប្រតិកម្មសព្វល្អ (ល្បាយនៃមេរោគ និងសូលុយស្យុង extraction buffer) ដោយគ្រវីឬគ្រលុកទីបថ្មមៗ ដូចដែលបានបង្ហាញដោយគ្រូបង្រៀនរបស់អ្នក។ ដាក់ទីបទាំង ២ នេះទៅក្នុងផ្ទាំងទឹកក្តៅសីតុណ្ហភាព ៣៧°C (the 37 °C water bath)រយៈពេលយ៉ាងហោចណាស់ ១៥ នាទី។

៥. បន្ទាប់ពី ១៥ នាទីនេះរួច ដកទីបទាំង ២ ចេញ និងច្របល់ពួកវាឲ្យសព្វដោយប្រើពីប៉ែតបូមបាញ់ចុះបាញ់ឡើងបីបួនដងនៅក្នុងទីបទាំងនេះ។

៦. ដោយប្រើពីប៉ែតផ្សេងគ្នាសម្រាប់មេរោគនីមួយៗ ត្រូវបន្តក់ ១ ដំណក់នៃសូលុយស្យុងមេរោគមួយទៅលើចុងម្ខាងនៃបន្ទះកញ្ចក់។

៧. បន្តក់ ១ ដំណក់នៃអង់ទីសេរ៉ូមដាក់លាក់ ទៅលើដំណក់មេរោគនីមួយៗ និងច្របល់គ្នាបញ្ចូលគ្នាដោយប្រើឈើចាក់ធ្មេញ។

៨. បង្វិលបន្ទះកញ្ចក់នេះថ្នមៗ និងរកមើលកំណស្អិតដូចកាវ (កករជុំៗ) ដែលកើតមាននៅលើបន្ទះកញ្ចក់នេះ។ ប្រសិនបើ កករជុំៗកើតមាននៅលើបន្ទះកញ្ចក់នេះ នោះមេរោគដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះនេះ ត្រូវបានគេកំណត់អត្តសញ្ញាណថាជា *Streptococcus pyogenes*។

៩. ប្រសិនបើគ្មានកករជុំៗកើតឡើង មេរោគនេះមិនមែនជា *Streptococcus pyogenes*។

១០. កត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

២៥.១.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៥

១. តើមេរោគដែលកំពុងបណ្តុះមួយណា ជា*Streptococcus pyogenes*?

____

____

____

២. តើអ្នកអាចយកតេស្តបែបនេះទៅអនុវត្តនៅកន្លែងណាខ្លះ? (គិតទៅដល់ពេលដែលអ្នកឈឺបំពង់កជាដើម)

____

____

____

៣. តើអ្នកអាចគិតទៅលើការអនុវត្តផ្សេងៗដែលប្រើប្រាស់តេស្តបែបនេះដែរ ឬទេ?

____

____

____

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

លំហាត់ ២៦៖ ពួកបាក់តេរីរាងមូលដែលបង្ករោគ (The Pathogenic Cocci)

២៦.១ សេចក្តីផ្តើម

ពួកបាក់តេរីរាងមូល ដែលសំខាន់សម្រាប់ផ្នែកវេជ្ជសាស្ត្រភាគច្រើន ជាប្រភេទ *Neisseria, Staphylococcus* និង *Streptococcus* ។ សមាជិកនៃអម្បូរ *Neisseria* ដែលជា diplococci ក្រាមអវិជ្ជមាន ត្រូវបានគេញែកចេញដោយងាយពីអម្បូរ ២ ផ្សេងទៀត ដែលជាក្រាមវិជ្ជមាន ។ អម្បូរ *Staphylococcus* ខុសពីអម្បូរ *Streptococcus* ដោយផ្អែកលើមូលដ្ឋាននៃរចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់របស់កូឡូនី ដែលបានពិនិត្យមើលដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ និងដោយផ្អែកទៅលើលទ្ធភាពនៃការផលិតជាអង់ស៊ីម catalase របស់វា។

Staphylococcus aureus ដែលជាប្រភេទបង្ករោគខុសពី *Staphylococcus epidemidis* និង *Micrococcus* និងពួកបាក់តេរីរាងមូលៗក្រាមវិជ្ជមានផ្សេងទៀត ដោយសារលទ្ធភាពនៃការផលិតជាអង់ស៊ីម coagulase របស់វា។ ប្រតិកម្មជាមួយអេម៉ូក្លូប៊ីននៃឈាម (Hemolytic reactions) ភាពខុសគ្នានៃពួកអង់ទីស៊ែរ្សនរបស់កោសិកា និងតម្រូវការសម្រាប់ការដុះលូតលាស់ ត្រូវបានប្រើដើម្បីញែកពួកមេរោគដែលនៅក្នុងអម្បូរ *Streptococcus* ។ ពួកបង្ករោគសំខាន់ៗ ២ នៃអម្បូរ *Streptococcus* គឺ *Streptococcus pyogenes* និង *Streptococcus pneumoniae* ។ *Streptococcus pyogenes* ខុសប្លែកពីគេដោយផ្អែកលើមូលដ្ឋាន ដែលវាបង្កើតជាទម្រង់អេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទបែតា (beta-hemolytic) នៅពេលដុះលូតលាស់នៅលើ blood agar និងវាមានសភាពរួសនឹងបន្ទះក្រដាសអង់ទីប្យូទិចឈ្មោះ bacitracin រហូតដល់កម្រិត 0.0៤ ខ្នាត។ *Streptococcus pneumoniae* បង្កើតអេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទអាល់ហ្វា (alpha-hemolytic) នៅពេលដុះលូតលាស់នៅលើ blood agar និងរួសនឹងបន្ទះក្រដាសអង់ទីប្យូទិចឈ្មោះ optochin (ethyl hydrocupreine hydrochloride) រហូតដល់កម្រិត ៥ mcg។ ពួកមេរោគទាំងពីរនេះ ថែមទាំងរលាយនៅក្នុងសារធាតុដែលមានតង់ស្យុងសង្កត់ទៅលើផ្ទៃ (surface tension depressants) ដូចជា sodium dodecyl (lauryl) sulfate (SDS)។ លំហាត់នេះ ត្រូវបានរៀបចំឡើងក្នុងគោលបំណងធ្វើឲ្យសិស្សស្គាល់វិធីសាស្ត្រមួយចំនួនក្នុងចំណោមវិធីសាស្ត្រ ដែលត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ជាធម្មតាដើម្បីធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មពួកបាក់តេរីរាងមូលក្រាមវិជ្ជមានដែលបង្ករោគ។

២៦.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយ៖

- *Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus* និង *Enterococcus faecalis* ដែលដុះលូតលាស់នៅក្នុង agar slant
- *Streptococcus pyogenes* និង *Streptococcus pneumoniae* ដែលដុះលូតលាត់នៅក្នុង BHI broth

- ចានបណ្ដុះចំនួន ៥ ដែលផ្ទុក sheep blood agar
- ទីបចំនួន ២ ដែលផ្ទុក 0.៥ mlនៃ coagulase plasma EDTA
- បន្ទះក្រដាស A (A-discs) ចំនួន ៥ (ដែលផ្ទុក Bacitracin 0.04 units ក្នុង ១ បន្ទះ)
- បន្ទះក្រដាស P (P-discs) ចំនួន ៥ (ដែលផ្ទុក Optochin-Ethyl hydrocuprine hydrochloride 5 mcg ក្នុង ១ បន្ទះ)
- សូលុយស្យុងអ៊ីដ្រូសែនពែអុកស៊ីតកំហាប់ ៣ % ចំនួន ១ ដប
- ទឹកអំបិលស្មើរលីរួចចំនួន ១ ទីប
- Bile solubility reagents
- លូបសម្រាប់ចាក់ចម្លងមេរោគ
- ចំហេះបិញ្ញស៊ិន

២៦.៣ ដំណើរការពិសោធ

រៀបចំ និងវិភាគបន្ទះមេរោគនីមួយៗដែលបានបន្សីពណ៌រួចនៅលើបន្ទះកញ្ចក់ (a Gram stained smear) ក្នុងចំណោមមេរោគទាំង ៥ នេះ។ កត់ត្រាការអង្កេតរបស់អ្នកទៅក្នុងតារាង ដែលមាននៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក ។

២៦.៣.១ ការធ្វើតេស្តទៅលើការបំផ្លាញកោសិកាឈាមក្រហម និងបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីន (Hemolysis testing)

ការធ្វើតេស្តនេះ នឹងបង្ហាញពីផលិតកម្មអង់ស៊ីម hemolysin របស់បាក់តេរី។ អង់ស៊ីម hemolysins ជាអ្នកកាត់ផ្ដាច់ (lysis or breakage) ភ្នាសកោសិកាឈាមក្រហម។ hemolysin មួយចំនួន ត្រូវបានបង្កើតឡើងដោយបាក់តេរី ហើយពួកវា ខុសពីមួយទៅមួយអាស្រ័យទៅតាមប្រភេទនៃកោសិកាឈាមក្រហម ដែលពួកវាភ្ជាប់ខ្លួនជាមួយ (កោសិកាឈាមក្រហមរបស់មនុស្ស ទន្សាយ ចៀម និងសេះ) ហើយនិងប្រភេទនៃប្រតិកម្មកាត់ផ្ដាច់កោសិកាឈាមក្រហម ដែលពួកវាមាន។ ប្រសិនបើកោសិកាឈាមក្រហម (red blood cell [RBC]) ត្រូវបានកាត់ផ្ដាច់ទាំងស្រុង នោះនឹងមានផ្ទៃថ្លាមួយនៅជុំវិញកូឡូនីបាក់តេរី។ នេះ ត្រូវបានគេហៅថា ប្រតិកម្មបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទបេតា (beta-hemolysis)។ កាលណា កោសិកាឈាមក្រហមត្រូវបានបំផ្លាញដោយផ្នែក នោះនឹងឲ្យផលជាផ្ទៃស្រអាប់ ពណ៌បៃតងនៅជុំវិញកូឡូនីបាក់តេរី និងត្រូវបានគេហៅថាជា ប្រតិកម្មបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទអាល់ហ្វា alpha-hemolysis។

ដើម្បីកំណត់បរិមាណអង់ស៊ីម hemolysins នោះagar មួយប្រភេទដែលផ្ទុកនូវកោសិកាឈាមក្រហម (blood agar plate) ត្រូវបានគេយកមកប្រើ។ មេរោគ ត្រូវបានគេឆូតទៅលើ agar ដើម្បីទទួលបានកូឡូនីដែលដុះដាច់ពីគ្នា ។ អង់ស៊ីម hemolysins ត្រូវបានបង្កើតឡើង និងបញ្ចេញមកក្រៅកំឡុងពេលមានការដុះលូតលាស់របស់មេរោគ។ អង់ស៊ីម hemolysins ដែលត្រូវបានបង្កើតឡើងនេះ

ប្រហែលជាអ្នកបំផ្លាញកោសិកាឈាមក្រហម។ ប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមទាំងស្រុង ត្រូវបានគេហៅថា beta-hemolysis (β-hemolysis)។ ប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមដោយផ្នែក ត្រូវបានគេហៅថា alpha-hemolysis (∝-hemolysis)។ ជម្រើសចុងក្រោយ គឺគ្មានប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមកើតឡើង។ ចំពោះប្រតិកម្ម ដែលកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមទាំងស្រុងនោះ (β-hemolysis) ធ្វើឲ្យផ្ទៃដែលនៅជុំវិញកូឡូនីឡើងថ្លា ដោយសារតែមានការកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមទាំងស្រុង។ នៅពេលប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមដោយផ្នែក(∝-hemolysis) កើតឡើងនោះមានផ្ទៃស្រអាប់មួយ (បង្កើតឡើងដោយ *S. aureus*) ឬផ្ទៃពណ៌ស្រដៀងបៃតងមួយ (បង្កើតឡើងដោយបាក់តេរីផ្សេងទៀតក្រៅពី *S. aureus*) នៅជុំវិញកូឡូនីបាក់តេរី។ ពណ៌នេះកើតឡើងដោយសារបម្រែបម្រួលអេម៉ូក្លូប៊ីននៅក្នុងកោសិកាឈាមក្រហម (RBC)។

១. ឆូតមេរោគនីមួយៗក្នុងចំណោមមេរោគទាំង ៥ ប្រភេទទៅលើចានបណ្តុះ blood agar (ដើម្បីទទួលបានកូឡូនីដែលដុះដាច់ពីគ្នា)។

២. ចំពោះចានបណ្តុះសម្រាប់ដាក់បណ្តុះ*Streptococcus pyogenes* ៖ ត្រូវកាត់ផ្ទៃ agar នៅត្រង់ឆ្នូតដែលផ្ទុកបរិមាណ*Streptococcus pyogenes* ច្រើន (ដែលជាឆ្នូតទី ១) ដោយប្រើលួប។

២៦.៣.២ ការធ្វើតេស្តប្រសិទ្ធិភាព Bacitracin/Optochin

Streptococcus pyogenes ងាយរងការបង្អាក់ដោយប្រភេទអង់ទីប្យូទិច bacitracin ក្នុងកម្រិតទាបៗ។ ពួក *Streptococci* ដែលកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហម និងឲ្យផលអេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទបេតា (beta-hemolytic *Streptococci*) ផ្សេងទៀត មានភាពធន់ទៅនឹងអង់ទីប្យូទិចប្រភេទនេះ។ បន្ទះក្រដាសមួយដែលផ្ទុកនូវ bacitracin ត្រូវបានដាក់ទៅលើចានបណ្តុះ blood agar ដែលបានចាក់ចម្លង *Streptococcus pyogenes* ចូលក្នុងបរិមាណច្រើន។ បន្ទាប់ពីការភ្ញាស់រយៈពេល ១ យប់ នោះផ្ទៃទាំងឡាយដែលនៅជុំវិញបន្ទះក្រដាស និងរងនូវការបង្អាក់ ត្រូវបានគេសន្មតថាជា ផ្ទៃដែលរងប្រតិកម្មបង្អាក់ ឬវិជ្ជមាន (susceptibleor positive reaction)។

ភាពងាយរងការបង្អាក់ក្រោមអំពើរបស់ Optochin ត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ដើម្បីកំណត់ភាពខុសគ្នារវាង *S. pneumoniae* និងពួក *Streptococci* ផ្សេងទៀត។ បន្ទះក្រដាសមួយដែលផ្ទុក Optochin ត្រូវបានគេដាក់ទៅលើឆ្នូតដែលមានដង់ស៊ីតេបាក់តេរីខ្ពស់។ បន្ទាប់ពីការភ្ញាស់រយៈពេល ១ យប់ ផ្ទៃដែលរងនូវការបង្អាក់ ត្រូវបានគេវាស់វែង។ ផ្ទៃដែលមានប្រវែង ១៤ មីលីម៉ែត្រ ឬធំជាងនេះ ជាផ្ទៃដែលត្រូវបានគេកំណត់ថារងនូវការបង្អាក់ពីអង់ទីប្យូទិច ហើយមេរោគដែលត្រូវបានគេញែករួចនេះ ត្រូវបានគេកំណត់ថាជា*S. pneumoniae* ។

៣. ដោយប្រើដង្កៀបដែលដុតនឹងអាល់កុលរួច ត្រូវដាក់បន្ទះក្រដាស A (Bacitracin) ទៅលើផ្ទៃដែលមានដង់ស៊ីតេមេរោគច្រើនជាងគេនៃចានបណ្តុះ blood agar ទាំង ៥ របស់អ្នក និងសង្កត់ថ្នមៗដើម្បីធានាថាវាប៉ះនឹងផ្ទៃ agar បានល្អ។

៤. អនុវត្តដំណើរការពិសោធនេះម្តងទៀតចំពោះបន្ទះក្រដាស P(Optochin) ទៅលើចានបណ្តុះ ដែលផ្ទុកនូវ blood agar ដូចគ្នា។
៥. ដាក់ចាន blood agar ទាំងអស់ខាងលើនេះ ភ្ញាស់រយៈពេល ២៤ ម៉ោង នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C។

២៦.៣.៣ តេស្ត Coagulase នៅក្នុងទីប (Tube Coagulase Test)

ការកំណត់អត្តសញ្ញាណ *Staphylococci* គឺផ្អែកលើការវិភាគដោយប្រើមីក្រូទស្សន៍ ទម្រង់កូឡូនី និងបណ្តាលក្ខណៈគីមីជីវៈរបស់ពួកវា។ លទ្ធភាពនៃពួកបាក់តេរីបង្ករោគរាងមូលៗក្នុងការធ្វើឲ្យប្លាស្មាឈាមកកជាដុំៗ នៅតែជាលក្ខណៈវិនិច្ឆ័យមួយដែលមានការទទួលស្គាល់ និងត្រូវបានប្រើប្រាស់យ៉ាងទូលំទូលាយសម្រាប់ការកំណត់អត្តសញ្ញាណប្រភេទបាក់តេរីទាំងនេះ។ អង់ស៊ីម Coagulase ភ្ជាប់ជាមួយប្រូតេអ៊ីន fibrinogen នៃប្លាស្មាឈាម បណ្តាលឲ្យប្លាស្មាឈាមកកជាដុំៗ ឬត្រូវបានគេហៅថាជា ប្រតិកម្មវិជ្ជមាន។

១. ប្រលល់ ១ លូបធំនៃ *Staphylococcus aureus* ទៅក្នុងទីបដែលផ្ទុក coagulase plasma ឲ្យក្លាយល្បាយតែមួយ ។
២. អនុវត្តបែបនេះដដែលជាមួយមេរោគ *Micrococcus luteus* ដែលបានដុះលូតលាស់នៅក្នុង slant ។
៣. ដាក់ទីបទាំងនេះភ្ញាស់នៅក្នុងទូភ្ញាស់ដែលមានសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C រយៈពេល ២៤ ម៉ោង។ ទម្រេតទីបទាំងនេះថ្នមៗនៅពេលវិភាគ ។ ***ហាមគ្រលុក*** ការកកជាដុំក្នុងកម្រិតណាក៏ដោយក៏ត្រូវបានគេចាត់ទុកថា វិជ្ជមានដែរ ។
៤. កត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងតារាងដែលមាននៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក។

២៦.៣.៤ តេស្ត Catalase (Catalase Test)

ត្រូវធ្វើតេស្តគ្រប់មេរោគដែលបណ្តុះក្នុង slant agar ដើម្បីកំណត់លទ្ធភាពផលិតអង់ស៊ីមរបស់ពួកវា។ អម្បូរមេរោគទាំងពីរប្រភេទនេះ មានលទ្ធភាពក្នុងការផលិតអង់ស៊ីមនេះប្លែកពីគេ។ មិនត្រូវប្រើប្រាស់ពួកបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់នៅលើ blood agar សម្រាប់តេស្ត catalase ទេ ដោយសារតែនៅក្នុងកោសិកាឈាមក្រហមមានផ្ទុកអង់ស៊ីម catalase។ មិនត្រូវបញ្ច្រាសលេខរៀងនៃការអនុវត្តនៃការដំណើរការពិសោធនេះទេ ដោយសារវាអាចបណ្តាលឲ្យមានលទ្ធផលវិជ្ជមានដែលមិនពិត។

១. ដោយប្រើលូបដែលស្ងើរីលរួច ១ ត្រូវយកបរិមាណដ៏ច្រើននៃប្រភេទមេរោគមួយពី slant ទៅដាក់លើបន្ទះកញ្ចក់ដែលស្អាត។
២. បន្ថែម ១ ដំណក់នៃសូលុយស្យុង H_2O_2 កំហាប់ ៣ % ទៅលើមេរោគដែលមានលើបន្ទះកញ្ចក់។
៣. អង្កេតមើលការឡើងពពុះភ្លាមៗ (ដែលបានពីការរំដោះម៉ូលេគុលអុកស៊ីសែន) និងកត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។ ការឡើងពពុះ បង្ហាញថាប្រតិកម្មវិជ្ជមាន។

គាំទ្រដោយមូលនិធិស្រាវជ្រាវ គំនិតច្នៃប្រឌិត និងនវានុវត្តន៍ (ស.គ.ន) នៃក្រសួងអប់រំ យុវជន និងកីឡា

៣.អនុវត្តនីតិវិធីនេះដដែលជាមួយមេរោគផ្សេងទៀតដែលនៅសល់។

២៦.៣.៥ តេស្ត Bile Solubility (Bile Solubility Test)

នៅក្នុងវិធីសាស្ត្រដែលប្រើចានបណ្តុះដែលផ្ទុកមេរោគដើម្បីធ្វើតេស្ត bile solubility នោះមួយដំណក់នៃ sodium deoxycholate (សាប៊ូ) កំហាប់ ១០ % ត្រូវបានដាក់ផ្ទាល់ទៅលើកូឡូនីនៃមេរោគដែលដុះដាច់ពីគ្នា (ដែលញែករួច)។ ចានបណ្តុះនេះ ត្រូវបានរក្សាទុកនៅក្នុងសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ រយៈពេល ១៥ នាទី ឬចាំរហូតដល់សាប៊ូនេះឡើងស្ងួត។ កូឡូនី *S. pneumoniae* នឹងបាត់រូបរាង ឬក្លាយជារាបស្មើ ខណៈដែលកូឡូនីពួក streptococcus ដែលធន់នឹង bile មិនប្រែក្លាយជារាបស្មើទេ។

១. បន្ថែម ១ ដំណក់នៃ sodium deoxycholate (សាប៊ូ) កំហាប់ ១០ % ទៅលើកូឡូនី *S. pneumoniae* និង *S. pyogenes* មួយ ដែលដុះដាច់ពីគេ។ បន្តក់សាប៊ូនេះដោយផ្ទាល់ទៅលើចានបណ្តុះ។

២. ទុកចានបណ្តុះនេះនៅកន្លែងដែលរាបស្មើ។ ហាមដាក់វានៅកន្លែងដែលមិនរាបស្មើ។

៣. ទុកចានបណ្តុះនេះនៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់ រយៈពេល ១៥ នាទី ឬចាំរហូតដល់សាប៊ូឡើងស្ងួត

៤. លទ្ធផលវិជ្ជមាន មានន័យថាបាត់វត្តមានកូឡូនី ឬកូឡូនីឡើងរាបស្មើ។

៥. កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកទៅក្នុងតារាងដែលមាននៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

២៦.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៦

១. ពិនិត្យមើលលទ្ធផលរបស់អ្នកដោយប្រុងប្រយ័ត្ន។ កត់សម្គាល់ថាតើមេរោគណាខ្លះមានតេស្ត catalase វិជ្ជមាន។

____

____

____

២. ពិនិត្យមើលរចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់របស់កូឡូនី (colonial morphology) ដោយប្រុងប្រយ័ត្ន ពិនិត្យមើលវត្តមាន នៃប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហម និងការបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីន (hemolysis) ឲ្យបានជិតដល់ ដោយលើកចានបណ្តុះឡើងលើឲ្យប៉ះនឹងប្រភពពន្លឺ (តម្រង់ទៅរកបង្អួច)។ តើចានបណ្តុះណាខ្លះ មានប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមនិងបញ្ចេញអេម៉ូក្លូប៊ីន (hemolytic) កើតឡើង? តើចានបណ្តុះណាខ្លះ មានប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមនិងបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទបែតា (beta-hemolysis)? តើពួកវាត្រូវបានគេសន្មតថាជាពួកបង្ករោគដែរ ឬទេ? តើចានបណ្តុះណាខ្លះ មានប្រតិកម្មកាត់ផ្តាច់កោសិកាឈាមក្រហមនិងបំបែកអេម៉ូក្លូប៊ីនប្រភេទអាល់ហ្វា (alpha-hemolysis)?

____

____

____

តារាង ២៦ ចរិតលក្ខណៈនៃបាក់តេរីរាងមូលដែលបង្កពោគ

	រចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់កូនី	**Gram Stain**	**Catalase Test**	**Coagulase**	**Bile Solubility Test**
S. pneumoniae					
S. faecalis					
S. aureus					
Micrococcus luteus					
S. pyogenes					

លំហាត់ ២៧៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងបង្ករោគ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន
(The Gram-Postive Pathogenic Rods)

២៧.១ សេចក្តីផ្តើម

ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមវិជ្ជមាន និងបង្ករោគញឹកញាប់ជាងគេបំផុត អាចត្រូវបានគេបែងចែកទៅជាក្រុមដែលផលិតអង់ដូស្ពរ ក្រុមដែលមិនផលិតអង់ដូស្ពរ និងមានរូបរាងទៀងទាត់ និងក្រុមដែលមិនផលិតអង់ដូស្ពរ និងមានរូបរាងមិនទៀងទាត់ (ក្រុមខ្លះ មានលក្ខណៈបែកមែកសាខា ក្រុមខ្លះមានរាងកាតិបដូចសន្លឹកបៀ (club-shaped) ក្រុមខ្លះ មានប្រវែងទទឹងប្រែប្រួលជានិច្ច)។ នៅមានក្រុមមួយផ្សេងទៀតដែលមានទម្រង់ស្តួត (nocardioforms) ដែលមានរចនាសម្ព័ន្ធនៃស្រោមខាងក្រៅមិនធម្មតាមួយ (an unusual envelope structure)។

ពីរក្នុងចំណោមអម្បូរសំខាន់ៗបំផុតនៃពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមវិជ្ជមានដែលបង្កើតអង់ដូស្ពរនេះ គឺជាអម្បូរ *Bacillus* និង *Clostridium* ។ ក្នុងចំណោមពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមវិជ្ជមានដែលមិនបង្កើតស្ពរ និងមានរូបរាងទៀងទាត់ មានពួកអម្បូរ *Lactobacillus, Erysipelothrix* និង *Listeria* ។ ក្នុងចំណោមពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមវិជ្ជមានដែលមិនបង្កើតស្ពរ និងមានរូបរាងមិនទៀងទាត់ មានពួកអម្បូរ *Propionibacterium* និង *Corynebacterium* ។

នៅក្នុងពួកអម្បូរ *Bacillus* និង *Clostridium* មានពួកបាក់តេរីបង្ករោគដល់មនុស្ស និងសត្វពាហនៈសំខាន់ៗជាច្រើន។ សមាជិកនៃអម្បូរទាំងនេះ ថែមទាំងមានសារៈសំខាន់ចំពោះឧស្សាហកម្មអាហារផងដែរ ពីព្រោះពួកស្ពររបស់ពួកវា ធន់នឹងកម្តៅខ្ពស់។

ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមវិជ្ជមានមួយចំនួន ដែលមិនបង្កើតស្ពរ ដូចជា *Lactobacillus* និង *Propionibacterium* ជាធម្មតាត្រូវបានគេប្រទះឃើញនៅក្នុងផលិតផលពីទឹកដោះគោ និងក្នុងករណីខ្លះ ត្រូវបានគេប្រើប្រាស់នៅក្នុងផលិតកម្មម្ហូបអាហារ និងផលិតផលពីទឹកដោះគោ។ ពួកបាក់តេរីភាគច្រើននៅក្នុងអម្បូរទាំងនេះ ត្រូវបានគេចាត់ទុកថាមិនបង្ករោគទេ។ ពួកអម្បូរ *Listeria, Erysipelothrix, Corynebacterium* និង *Rhodococcus* ទាំងអស់ មានប្រភេទមួយចំនួន ដែលជាពួកបង្ករោគដល់សត្វ ឬមនុស្ស។

២៧.២ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ១៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងបង្កើតអង់ដូស្ពរ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន

ផ្នែកនេះ ទាក់ទងនឹងប្រភេទនៃក្រុមដែលមានក្រាមវិជ្ជមាន និងបង្កើតអង់ដូស្ពរ។ យើង នឹងប្រើ *Bacillus cereus* និង *Clostridium sporogenes* ដើម្បីជាតំណាងឲ្យអម្បូរ ២ នៃអម្បូរមានសារៈសំខាន់សម្រាប់ការវិភាគតាមគ្លីនិក និងជាអម្បូរដែលងាយរាលដាលជាងគេបំផុត ដែលស្ថិតនៅក្រោមក្រុមនេះ ។

២៧.២.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់តុពិសោធន៍មួយ៖

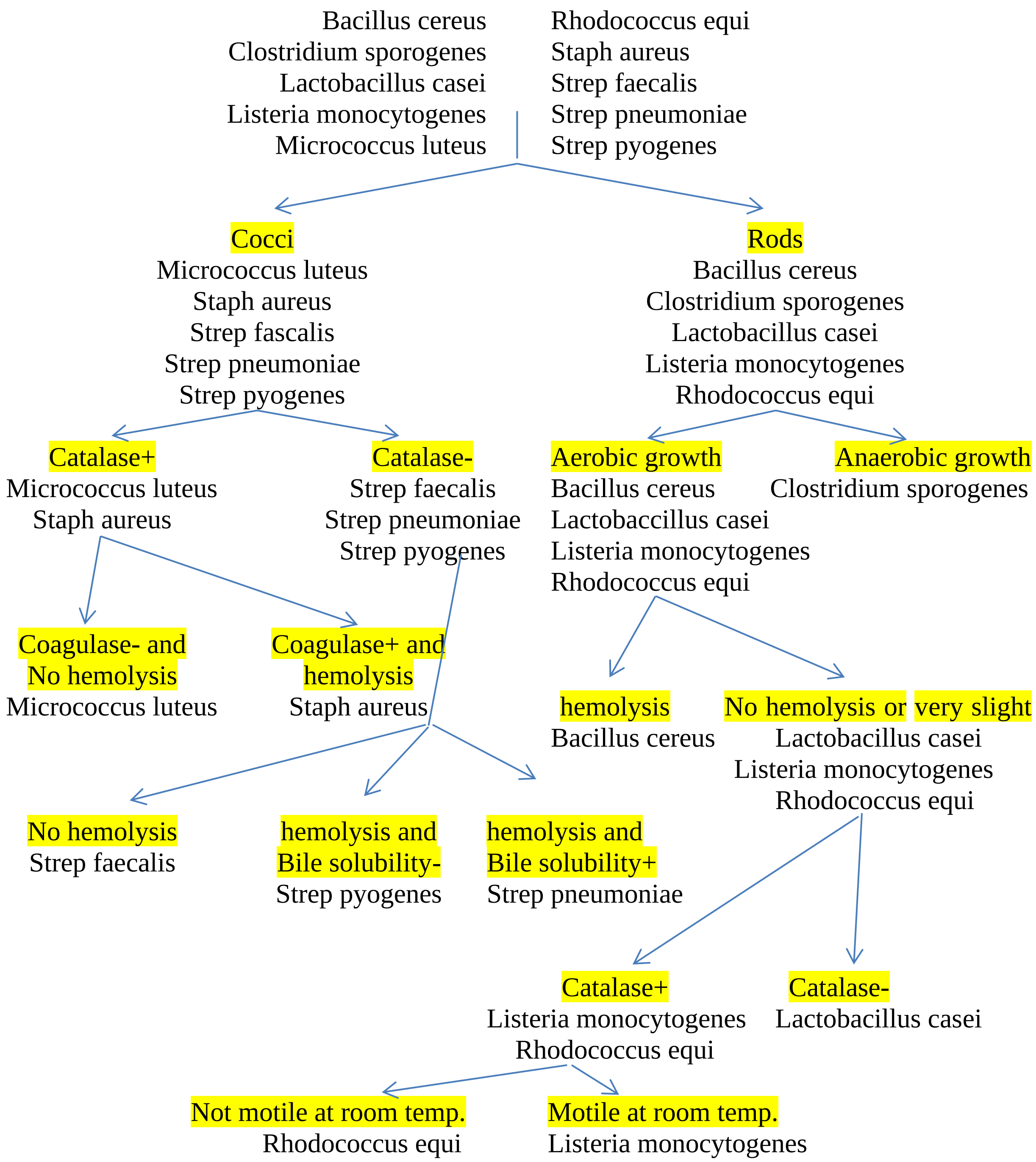
- ទីប slant ចំនួន ១ ដែលផ្ទុកនូវ *Bacillus cereus*
- ចានបណ្ដុះចំនួន ១ ដែលផ្ទុកនូវ *Clostridium sporogenes*
- ចានបណ្ដុះចំនួន ៤ ដែលផ្ទុកនូវ blood agar
- ទីបចំនួន ២ ដែលផ្ទុកនូវចំណីបណ្ដុះ thioglycollate medium
- ធុងបិតជិតមួយដែលគ្មានវត្តមានអុកស៊ីសែន (anaerobic jar)

២៧.២.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ធ្វើបន្សុំពណ៌ដើម្បីកំណត់ក្រាមទៅលើបាក់តេរី *B. cereus* និង *C. sporogenes*។

២. ធ្វើការបណ្ដុះដោយឆ្នូតនៅលើចានបណ្ដុះទាំង ៤ ដែលផ្ទុក blood agar៖ ឆូតចានបណ្ដុះចំនួន ២ ជាមួយ *B. cereus* និងចានបណ្ដុះចំនួន ២ ទៀតជាមួយ *C. sporogenes*។ ដាក់ចានបណ្ដុះទី ១ នៃបាក់តេរីនីមួយៗភ្ញាស់នៅក្រោមលក្ខខណ្ឌមានខ្យល់ នៅ ៣៧ °C និងចានបណ្ដុះទី ២ នៃបាក់តេរីនីមួយៗនៅក្រោមលក្ខខណ្ឌគ្មានខ្យល់ នៅ ៣៧ °C។

៣. ចាក់ចម្លងទីប ១ ដែលផ្ទុកនូវចំណីបណ្ដុះ thioglycollate medium ជាមួយនឹងបាក់តេរីនីមួយៗក្នុងចំណោមបាក់តេរីទាំង ២ នេះ។ បិទគម្របទីបឲ្យជិត និងដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C រហូតដល់ការពិសោធន៍លើកក្រោយ។



រូបភាព ២៧.១ មែកធាងនៃពួកបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន

២៧.២.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ១

កត់ត្រាលទ្ធផលនៃការប្រៀបធៀប *B. cereus* និង *C. sporogenes* របស់អ្នកទៅក្នុងតារាងខាងក្រោម

តារាង ២៧.១ ការប្រៀបធៀបនៃការលូតលាស់របស់ *B. cereus* និង *C. sporogenes*

	Aerobic Growth	Anaerobic Growth	Tioglycollate Growth	Hemolytic Reaction	Gram Stain
B. cereus					
C. sporogenes					

១. តើអ្វីទៅជាភាពខុសគ្នាចម្បងរវាង *Bacillus cereus* និង *Clostridium sporogenes* ?

___

___

___

២. តើបាក់តេរីមួយណា ផ្លាស់ទីនៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់? ហេតុអ្វីបានជាលក្ខណៈបែបនេះមានអត្ថប្រយោជន៍ចំពោះវា?

___

___

___

៣. តើតេស្តមួយណា ដែលអ្នកអាចប្រើដើម្បីកំណត់ភាពខុសគ្នារវាង *Lactobacillus casei* និង *Listeria monocytogenes* ?

___

___

___

៤. តើបាក់តេរីមួយណា ដែលមានទំហំនៃផ្ទៃ beta hemolysis ធំជាងគេ? ហេតុអ្វីបានជាអ្នកគិតថា លក្ខណៈនេះ អាចមានសារៈសំខាន់?

___

___

___

___

២៧.៣ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ២៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងមិនផលិតស្ពរ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន

ផ្នែកនេះ ទាក់ទងនឹងសមាជិកនៃពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែង មិនផលិតស្ពរ និងមានក្រាមវិជ្ជមាន។ ក្រុមតំណាងឲ្យពួកបាក់តេរីទាំងអស់ខាងលើនៅក្នុងពិសោធន៍នេះគឺ *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus casei* និង *Rhodococcus equi* ។

២៧.៣.១ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គូពិសោធន៍នីមួយៗ៖

- ទីប slant ចំនួន ១ ដែលមានបាក់តេរី *Rhodococcus equi* ដុះលូតលាស់ក្នុងចំណីបណ្តុះ Brain Heart Infusion (BHI) រយៈពេល ៧២ ម៉ោង
- ទីប slant ចំនួន ១ ដែលមានបាក់តេរី *Listeria monocytogenes* ដុះលូតលាស់ក្នុងចំណីបណ្តុះ Brain Heart Infusion (BHI) រយៈពេល ៤៨ ម៉ោង
- ទីប slant ចំនួន ១ ដែលមានបាក់តេរី *Lactobacillus casei* ដុះលូតលាស់ក្នុងចំណីបណ្តុះ Brain Heart Infusion (BHI) រយៈពេល ៧២ ម៉ោង
- ទីបចំនួន ៦ ដែលផ្ទុកនូវចំណីបណ្តុះប្រភេទ Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) សម្រាប់ធ្វើតេស្តបម្លាស់ទីរបស់បាក់តេរី (motilty test)
- ចានបណ្តុះចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក blood agar
- សូលុយស្យុង H_2O_2 សម្រាប់តេស្ត catalase

២៧.៣.២ ដំណើរការពិសោធ

១. អនុវត្តការធ្វើ Gram stain ទៅលើបាក់តេរីនីមួយៗ។

២. ចាក់ចម្លងបាក់តេរីនីមួយៗខាងលើទៅក្នុងទីប ២ ដែលផ្ទុក TTC ។

៣. ឆូតបាក់តេរីនីមួយៗទៅលើចានបណ្តុះ blood agar ដើម្បីឲ្យវាដុះដាច់ពីគ្នា។

៤. ធ្វើតេស្តសកម្មភាព catalase របស់បាក់តេរីនីមួយៗដោយប្រើ stock culture។

៥. ដាក់ពួកបាក់តេរីដែលបានឆូតទៅលើចាន blood agar ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាព ៣៧ °C តែពួកបាក់តេរីដែលមាននៅក្នុងទីប TTC ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពបន្ទប់។

៦. កត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកទៅក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍។

២៧.៣.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៧ ផ្នែក ២

បកស្រាយលទ្ធផលនៃការវិភាគទៅលើបាក់តេរីនីមួយៗ ក្នុងចំណោមបាក់តេរីទាំង ៣។ កត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងតារាងខាងក្រោម។

តារាង ២៧.២ បំពេញចរិតលក្ខណៈរបស់បាក់តេរី *B. cereus, C. sporogenes* និង *L. casei*

	បម្លាស់ទី		តេស្ត catalase	Hemolysis	រចនាសម្ព័ន្ធ និង ទម្រង់កូឡូនី	Gram stain
	៣៧°C	សីតុណ្ហភាពបន្ទប់				
B. cereus						
C. sporogenes						
L. casei						

លំហាត់ ២៨៖ ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមអវិជ្ជមានដែលអាចបម្លែងស្ករឲ្យទៅជាអាស៊ីត

២៨.១ សេចក្ដីផ្ដើម

ពួកបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមអវិជ្ជមាន ដែលអាចបម្លែងស្ករឲ្យទៅជាអាស៊ីតបានជាច្រើន ត្រូវបានគេចាត់ថ្នាក់ឲ្យនៅក្រោមគ្រួសារ *Enterobacteriaceae* ។ គ្រួសារនេះ ត្រូវបានគេបែងចែកបន្តឲ្យទៅជា ១៤ អម្បូរ រាប់បញ្ចូលទាំង *Erwinia, Serratia, Escherichia, Proteus* និង *Salmonella* ។ អម្បូរ *Erwinia* មានពួកបាក់តេរីបង្កជំងឺដល់រុក្ខជាតិ ខណៈដែល *Serratia* មានទាំងពួកបាក់តេរីមិនបង្ករោគ និងពួកបាក់តេរីបង្ករោគបែបឱកាសនិយម (non-pathogenic and opportunist pathogenic organisms)។ លក្ខណៈរបស់ពួកបាក់តេរីបង្ករោគបែបឱកាសមួយចំនួន ត្រូវបានគេកំណត់តាមរយៈការផលិតជាជាតិពណ៌ក្រហមភ្លឺ (production of bright red pigment) ដែលត្រូវបានគេហៅថា prodigiosin ។ ពួកមីក្រូសរីរាង្គដែលស្ថិតនៅក្នុងអម្បូរ *Escherichia, Proteus* និង *Salmonella* ជាញឹកញាប់ត្រូវបានគេប្រទះឃើញនៅក្នុងពោះវៀនមនុស្ស និងសត្វពាហនៈ។ ពួកមីក្រូសរីរាង្គទាំងនេះជានិច្ចកាលមាននៅពាសពេញប្រភពទឹក រុក្ខជាតិ និងចំណីអាហារ (ពិសេសសាច់ស្រស់ ស៊ុត និងផលិតផលពីទឹកដោះគោ ដោយសារតែមានប្រឡាក់ប្រឡូកជាមួយលាមក។ សមាជិកនៃអម្បូរ *Escherichia* បម្លែងស្ករឡាក់តូស។ លក្ខណៈនេះ ធ្វើឲ្យវាខុសប្លែកពីសមាជិកនៃអម្បូរ *Proteus* និង *Salmonella* ដែលមិនបម្លែងស្ករឡាក់តូស។ ការញែកអម្បូរ *Escherichia* ចេញពីអម្បូរ *Enterobacter* ត្រូវបានគេធ្វើឡើងជាបឋមដោយផ្អែកលើមូលដ្ឋាននៃតេស្ត indol, methyl red voges-proskauer និង citrate (ឬត្រូវបានគេហៅថាតេស្ត IMViC)។ អក្សរ I នៅក្នុងតេស្តនេះ សំដៅទៅលើលទ្ធភាពរបស់បាក់តេរីមួយចំនួនក្នុងការផលិត indol ចេញពីអាស៊ីតអាមីណេ tryptophan ។ អក្សរ M សម្ដៅទៅលើ methyl red ដែលត្រូវបានប្រើដើម្បីជាអ្នកកំណត់ថាតើអាស៊ីត ត្រូវបានផលិតចេញពីស្ករគ្លុយកូសដែរ ឬទេ នៅក្នុងកំឡុងពេលនៃការដុះលូតលាស់របស់កោសិកាបាក់តេរី ។ អក្សរ Vi សម្ដៅទៅលើពួកតេស្តទាំងឡាយណា ដែលកំណត់ថាតើសារជាតុ acetoin ដែលជាផលិតផលបានពីដំណើរការមេតាបូលីស ត្រូវបានផលិតចេញពីស្ករគ្លុយកូសដែរឬទេ។ អក្សរ C សម្ដៅទៅលើសារជាតុផ្សំដែលប្រើដើម្បីកំណត់ថាតើមីក្រុបមានលទ្ធភាពក្នុងការប្រើប្រាស់ citrate ក្នុងទម្រង់ជាប្រភពកាបូនដែរឬទេ។ (សូមមើលលំហាត់ ២៣ ផ្នែក ២ សម្រាប់ព័ត៌មានបន្ថែមតេស្តនេះ) ការញែកអម្បូរ *Proteus* ឲ្យចេញពីអម្បូរ *Salmonella* ត្រូវផ្អែកទៅលើគោលការណ៍ដែលសមាជិករបស់អម្បូរ *Proteus* បំបែកអ៊ុយរ៉េ (អ៊ុយរ៉េវិជ្ជមាន) ខណៈដែលសមាជិកនៃអម្បូរ *Salmonella* មិនបំបែកអ៊ុយរ៉េ។ តាមរយៈនេះ វាមានភាពច្បាស់ណាស់ថា លទ្ធភាពនៃការបម្លែងស្ករឡាក់តូស និងលទ្ធភាពនៃការបំបែកអ៊ុយរ៉េរបស់បាក់តេរី ត្រូវបានគេប្រើប្រាស់ដើម្បីញែកពួកបាក់តេរីបង្ករោគក្នុងអម្បូរ *Salmonella* ឲ្យចេញពីពួកមេរោគដែលមិនបង្ករោគ (សូម្បីតែបន្តិច) ក្នុងអម្បូរ *Esherichia* និង *Proteus* បាន។

អម្បូរ *Salmonella* និងអម្បូរ *Shigella* ត្រូវបានគេញែកចេញពីគ្នាបានយ៉ាងងាយដោយផ្អែកលើគោលការណ៍នៃលទ្ធភាពបម្លាស់ទី ការបង្កើតជាឧស្ម័ន និងការផលិតជាអ៊ីដ្រូសែនស៊ុលហ្វីតរបស់បាក់តេរី ។ ពួកសមជិកនៃអម្បូរ *Salmonella* បង្កជំងឺទៅលើមនុស្ស និងសត្វ ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងបក្សីផងដែរ ខណៈដែលពួកសមាជិកនៃអម្បូរ *Shigella* ជាធម្មតាបង្កជំងឺទៅលើពួកថនិកសត្វថ្នាក់ខ្ពស់ រួមមានមនុស្ស ស្វាជាដើម។ អម្បូរទាំង ២ នេះ ត្រូវបានគេបែកចែកទៅតាមក្រុមជាបឋមតាមរយៈតេស្តដែលបង្ហាញពីប្រតិកម្មរវាងអង់ទីស៊ែរ្យូន និងអង់ទីករ (serological tests)។

លំហាត់នេះ ត្រូវបានរៀបចំឡើង ក្នុងគោលបំណងឲ្យអ្នកស្គាល់ប្រភេទមួយចំនួនក្នុងចំណោមប្រភេទចំណីបណ្តុះបែបជ្រើសរើស (selective) បែបបង្អាក់ (inhibitory) បែបមានពណ៌ផ្សេងគ្នា (differential) បែបលក្ខណៈគីមីជីវៈ (biochemical) និងបែបល្បើង (fermentative) ដែលត្រូវបានប្រើដើម្បីកំណត់ភាពខុសគ្នា រវាងពួកសមាជិកក្នុងគ្រួសារ *Enterobacteriaceae* ។

២៨.២ សម្ភារៈ

សម្ភារៈសម្រាប់គុពិសោធន៍មួយះ

ទីប slant ផ្សេងៗគ្នាដែលមាន Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Shigella flexneri, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris និង Salmonella typhimurium បានដុះលូតលាស់រយៈពេល ២៤ ម៉ោងរួចហើយ។

- ចានបណ្តុះចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក brilliant green
- ចានបណ្តុះចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក MacConkey
- ចានបណ្តុះចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក eosin-methylene blue (EMB) agar
- ទីបតូច (ទំហំ ១៣ x ១០០)ចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក lactose broth និងមានដាក់ Durham ជាមួយផង
- ទីបតូច (ទំហំ ១៣ x ១០០)ចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក glucose broth និងមានដាក់ Durham ជាមួយផង
- ទីបចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក triphenyl tetrazolium chloride (TTC) សម្រាប់តេស្តបម្លាស់ទីរបស់បាក់តេរី
- ទីបចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក Lead acetate agar (Lead acetate agar deeps)
- ទីបចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក triple sugar iron (TSI) agar
- ទីបចំនួន ៣ ដែលផ្ទុក tryptone broth ចំនួន ១ mlក្នុង ១ ទីបៗ (សម្រាប់តេស្ត indole)
- ទីបចំនួន ៣ ដែលផ្ទុក Clark and Lubs broth (MR medium) ចំនួន ១ mlក្នុង ១ ទីបៗ។ តេស្តជាមួយ methyl red reagent
- ទីបចំនួន ៣ ដែលផ្ទុក Clark and Lubs broth (VP medium) ចំនួន ១ mlក្នុង ១ ទីបៗ។ តេស្តជាមួយ Barritt's A and Barritt's B reagents (VPA និង VPB)។
- ទីប slant ចំនួន ៣ ដែលផ្ទុក Simmons citrate agar

- ទីបចំនួន ៦ ដែលផ្ទុក urea broth ចំនួន ១ mlក្នុង ១ ទីបៗ

២៨.៣ ដំណើរការពិសោធ

១. Gram-stain ទៅលើបាក់តេរី១ ក្នុងចំនោមប្រភេទបាក់តេរីទាំងអស់ដែលមាន៖ **ចំណាំ៖** ដោយសារតែគ្រប់សមាជិកទាំងអស់នៃគ្រួសារ Enterobacteriaceae ជាប្រភេទបាក់តេរីរាងទ្រវែងក្រាមអវិជ្ជមាន ដូចនេះ រចនាសម្ព័ន្ធ និងទម្រង់ដែលបង្ហាញនៅក្នុងមីក្រូទស្សន៍មានប្រសិទ្ធិភាពតិចតួចណាស់ក្នុងការកំណត់ភាពខុសគ្នារវាងសមាជិកនៃគ្រួសារនេះ។

២. ឆូតប្រភេទបាក់តេរីនីមួយៗ (ដែលបានពីទីប slant) ទៅលើចានបណ្តុះផ្សេងៗគ្នា។ លទ្ធផល នឹងទទួលបានល្អបំផុត ប្រសិនបើអ្នកឆូតបាក់តេរីនីមួយៗឲ្យដុះជាកូឡូនីដាច់ៗពីគ្នា។

៣. ចាក់ចម្លងប្រភេទបាក់តេរីនីមួយៗទៅក្នុងទីប lactose broth ទីប glucose broth ទីប urea broth ទីប motility agar (ចាក់ចម្លងឲ្យដល់បាតទីបដោយប្រើលួបគ្មានចុងតែម្តងប៉ុណ្ណោះ [stab]) ទីប lead acetate deep (ចាក់ចម្លងឲ្យដល់បាតទីបដោយប្រើលួបគ្មានចុងតែម្តងប៉ុណ្ណោះ) និងទីប TSI slant (ចាក់ចម្លងឲ្យដល់បាតទីបដោយប្រើលួបគ្មានចុងតែម្តងប៉ុណ្ណោះ និងឆូតបាក់តេរីនេះទៅលើផ្នែក slant)។

៤. ក្នុងជំហាននេះ ប្រើតែបាក់តេរី *Escherichia, Enterobater* និង *Klebsiella* តែប៉ុណ្ណោះ។ ចាក់ចម្លងបាក់តេរីនីមួយៗទៅក្នុងទីប MR medium ទីប VP medium ទីប tryptone broth និងទីប Simmons citrate agar slant (ចំពោះទីប Simmons citrate agar slant ឆូតបាក់តេរីតែលើផ្នែក slant ប៉ុណ្ណោះ)។

៥. ដាក់បាក់តេរីទាំងអស់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C រយៈពេលចន្លោះពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង។

៦. អនុវត្តតេស្ត Indol តេស្ត Methyl red និងតេស្ត Voges-Proskauer ចំពោះបាក់តេរី *Escherichia, Enterobacter* និង *Klebsiella* ណាដែលដុះបានល្អ និងតាមដានផលិតកម្ម citrate នៅក្នុងទីប citrate slant និងតាមដានផលិតកម្ម H_2S នៅក្នុងទីប lead acetate deep

៧. កត់ត្រាលទ្ធផលទៅក្នុងតារាង ដែលមានក្នុងរបាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍របស់អ្នក ដោយរៀបចំដូចខាងក្រោម៖

ទីបដែលផ្ទុកស្ករឡាក់តូស និងទីបដែលផ្ទុកស្ករគ្លុយកូស៖

តេស្តវិជ្ជមាន មានពណ៌លឿង ដែលបញ្ជាក់ថាមានផលិតកម្មអាស៊ីតកើតឡើង។

តេស្តអវិជ្ជមាន នៅរក្សាពណ៌ក្រហម/ទឹកក្រូចដដែល ដែលបញ្ជាក់ថាប្រតិកម្មមានការចូលរួមពីបាសអាល់កាឡាំង។

តេស្តទាំង ២ អាចមានផលិតកម្មឧស្ម័នដូចគ្នា។

ទីបដែលដាក់អ៊ុយរ៉េ

តេស្តវិជ្ជមាន មានពណ៌ផ្កាឈូកភ្លឺ។

តេស្តអវិជ្ជមាន នៅរក្សាពណ៌ទឹកក្រូចដដែល។

ទីបសម្រាប់តេស្តបម្លាស់ទីរបស់បាក់តេរី

តេស្តវិជ្ជមាន មានស្នាមដុះលូតលាស់នៃបាក់តេរី រាលចេញក្រៅពីបន្ទាត់ត្រង់ដែលកើតដោយសារការយកលួបទៅចាក់ចម្លងបាក់តេរីបញ្ចូល (stab)។ តេស្តអវិជ្ជមាន មានការដុះលូតលាស់នៃបាក់តេរីនៅត្រង់បន្ទាត់ ដែលបានចាក់ចម្លងដោយមេរោគ ឬមានការដុះលូតលាស់នៃបាក់តេរីនៅផ្ទៃកខាងលើ។

ទីបសម្រាប់តេស្ត indole

បន្ថែម ៥ ដំណក់នៃសារធាតុ Kovac's reagent ទៅលើបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់នៅក្នុង tryptone-beef extract broth។ ប្រសិនបើ មាន indole វត្តមានកើតឡើង នោះពណ៌ស្រដៀងក្រហម នឹងលេចឡើងនៅលើផ្ទៃ broth ក្នុងរយៈពេលពីរបីនាទី ហើយពណ៌នោះប្រហែលបាត់ពណ៌ទៅវិញ កាលណារយៈពេលកើនឡើង។

គោលបំណង៖ ដើម្បីបកស្រាយពីលទ្ធភាពនៃការផលិតជា indole ចេញពីការបំបែកអាស៊ីតអាមីនេ tryptophane របស់ពួកបាក់តេរីជាក់ៗ។

លក្ខណៈគីមីជីវៈ៖ អាស៊ីតអាមីនេ tryptophane ត្រូវបានបម្លែងដោយបាក់តេរីមួយចំនួនឲ្យទៅជា indole, pyruvic acid និងអាម៉ូញាក់។ ល្បាយនៃ indole និងអាល់ដេអ៊ីត ដែលត្រូវបានគេប្រទះឃើញនៅក្នុងសារធាតុ Kovac's reagent ឲ្យផលជាពណ៌ក្រហម។ indole មានកម្រិតរលាយខ្ពស់ជាងកាលណានៅក្នុងអាល់កុល (សារធាតុ Kovac's reagent ក៏ផ្ទុកនូវជាតិអាល់កុលដែរ) ដូចនេះ ពណ៌លឿង នឹងលេចឡើងនៅក្នុងស្រទាប់អាល់កុល ហើយបន្ទាប់បណ្តែតទៅផ្ទៃកខាងលើ។

ចំណីបណ្តុះ៖ tryptone broth, peptone broth ឬចំណីបណ្តុះ broth ផ្សេងទៀត ដែលផ្ទុកនូវបរិមាណអាស៊ីតអាមីនេ tryptophane ខ្ពស់។ ចំណីបណ្តុះប្រភេទនេះ មិនគួរផ្ទុកស្ករគ្លុយកូសទេ ព្រោះអាស៊ីតដែលបានពីការបម្លែងស្ករគ្លុយកូសនេះ ជាអ្នកបង្អាក់ផលិតកម្ម indole។ ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពចន្លោះពី ៣៥ ទៅ ៣៧ °C រយៈពេលពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង។

ប្រតិកម្ម៖ ***វិជ្ជមាន៖*** ស្រទាប់អាល់កុលដែលនៅខាងលើ មានពណ៌ក្រហម។ គ្មានការប្រែប្រួលពណ៌របស់សារធាតុរាវដែលនៅស្រទាប់បាតនោះទេ។ ***វិជ្ជមាន៖*** ស្រទាប់អាល់កុល នៅតែរក្សាពណ៌សារធាតុ Kovac's reagent ដដែល (ពណ៌លឿង)។

MR:

បន្ថែមពីរបីដំណក់នៃសូលុយស្យុង methyl red ទៅក្នុងបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់នៅក្នុង Clark-Lubs broth។ ប្រសិនបើ អង្គធាតុចង្អុលពណ៌ប្រែជាក្រហម ក្រោយពីដាក់ methyl red reagent នោះមានន័យថា pH មានតម្លៃក្រោម ៤.៥ ហើយបាក់តេរីដែលដុះលូតលាស់នេះជា *E. coli* ហើយកាលណា pH មានតម្លៃធំជាង ៤.៥ នោះអង្គធាតុចង្អុលពណ៌ (methyl red) មិនប្តូរពណ៌ទេ។

គោលបំណង៖ ដើម្បីបកស្រាយពីផលិតកម្មអាស៊ីតដែលជាផលិតផលចុងក្រោយ ដែលកើតចេញពីមេតាបូលីសស្ករគ្លុយកូស តាមរយៈដំណើរការបម្លែងឲ្យទៅជាអាស៊ីតចម្រុះ (mixed acid fermenation pathway) ។

លក្ខណៈគីមីជី៖ នៅក្នុងការបម្លែងឲ្យទៅជាអាស៊ីតចម្រុះ ពួកបាក់តេរីបង្កើតបរិមាណដ៏ច្រើននៃអាស៊ីតផ្សេងៗគ្នាចេញពីការបម្លែងស្ករគ្លុយកូស ហើយកាលណាពួកអាស៊ីតនេះកើនឡើងនោះ pH នៃចំណីបណ្តុះនឹងធ្លាក់ចុះ ។

ចំណីបណ្តុះ៖ Simmon's citrate agar ដែលផ្ទុកនូវសូដ្យូមស៊ីត្រាត ពួកអំបិលអសរីរាង្គ និងសារធាតុប្រូមទីម៉ុលខៀវ (brom thymol blue)។ ឆ្កឹះបរិមាណបាក់តេរីតែបន្តិចប៉ុណ្ណោះទៅធូតនៅលើផ្ទៃ slant។ ដាក់ភ្ញាស់នៅសីតុណ្ហភាពពី ៣៥ ទៅ ៣៧ °C រយៈពេលពី ២៤ ទៅ ៤៨ ម៉ោង ។

ប្រតិកម្ម៖ ***វិជ្ជមាន៖*** ចំណីបណ្តុះ មានពណ៌ខៀវ។

អវិជ្ជមាន៖ ចំណីបណ្តុះ នៅតែមានពណ៌បៃតងដដែល។

ទីបដែលផ្ទុក lead acetate

តេស្តវិជ្ជមាន មានផលិតកម្ម H_2S កើតឡើង មានពណ៌ខ្មៅ (សារធាតុ lead acetate មានពណ៌ខ្មៅ)។ តេស្តអវិជ្ជមាន នៅតែរក្សាពណ៌ប្រផេះដដែល ហើយប្រហែលជាមានការដុះលូតលាស់ខ្លះរបស់បាក់តេរី នៅក្នុងធ្លូតបន្ទាត់ត្រង់ ដែលកើតពីការចាក់លូបគ្មានក្បាលចូល (stab)។

ទីប TSI ផ្នែក slant

A មានន័យថា ប្រតិកម្មអាស៊ីត ដែលធ្វើឲ្យចំណីបណ្តុះ មានពណ៌លឿង។

K មានន័យថា ប្រតិកម្មអាល់កាឡាំង ដែលធ្វើឲ្យចំណីបណ្តុះ មានពណ៌ក្រហម។

ទីប TSI ផ្នែក butt

A មានន័យថា ប្រតិកម្មអាស៊ីត ដែលធ្វើឲ្យ agar មានពណ៌លឿង។

K មានន័យថា ប្រតិកម្មអាល់កាឡាំង ដែលធ្វើឲ្យ agar មានពណ៌ក្រហម។

G មានន័យថា ផលិតកម្មឧស្ម័ន ដែលធ្វើឲ្យ agar នៅក្នុងទីបផ្លាស់ទីហើយយើងអាចមើលឃើញដោយភ្នែកទទេបាន។

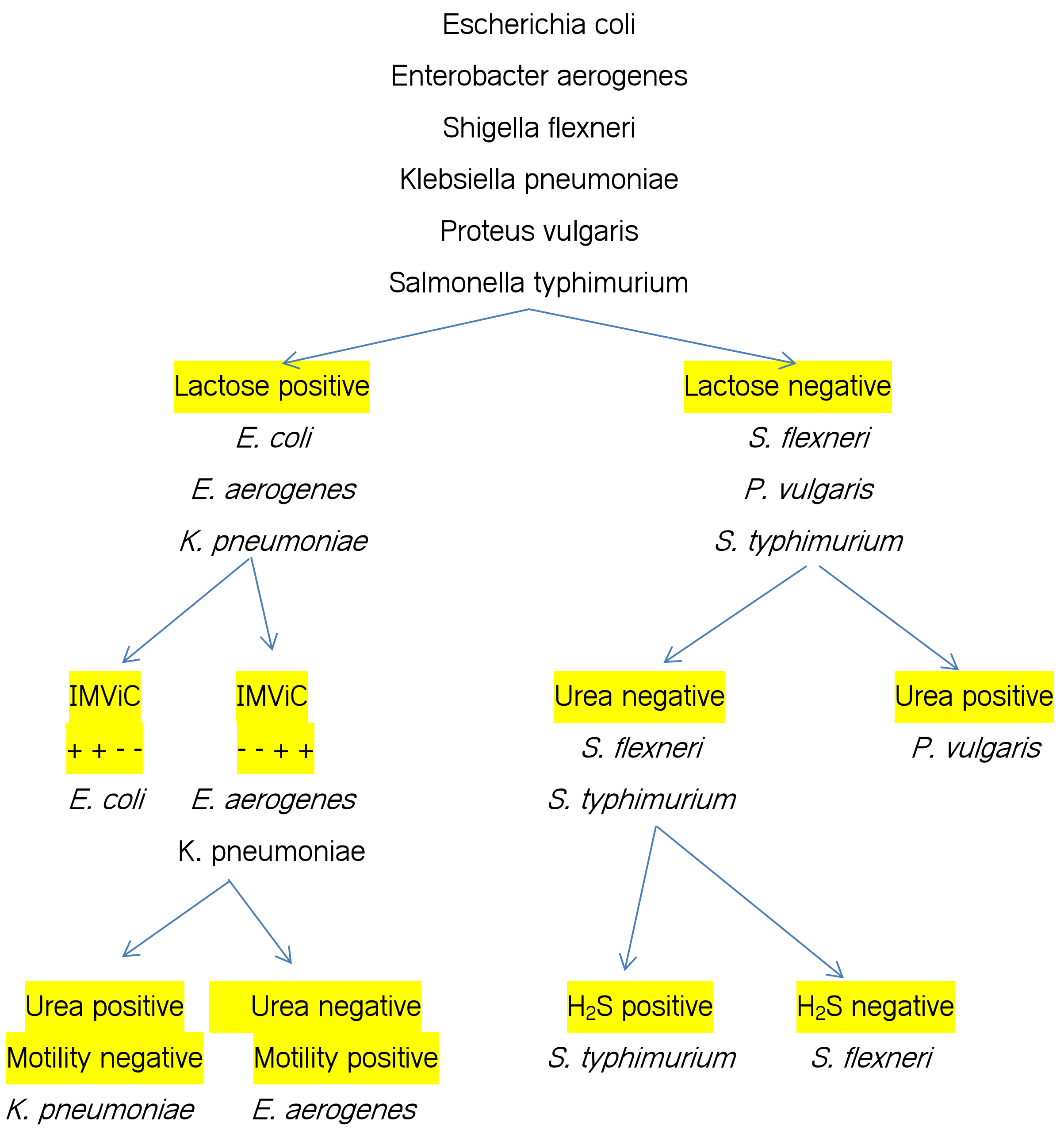
H_2S មានន័យថា ផលិតកម្មអ៊ីដ្រូសែនស៊ុលផួ ដែលធ្វើឲ្យ agar មានពណ៌ខ្មៅ។

ចានបណ្តុះដែលផ្ទុក Brilliant Green

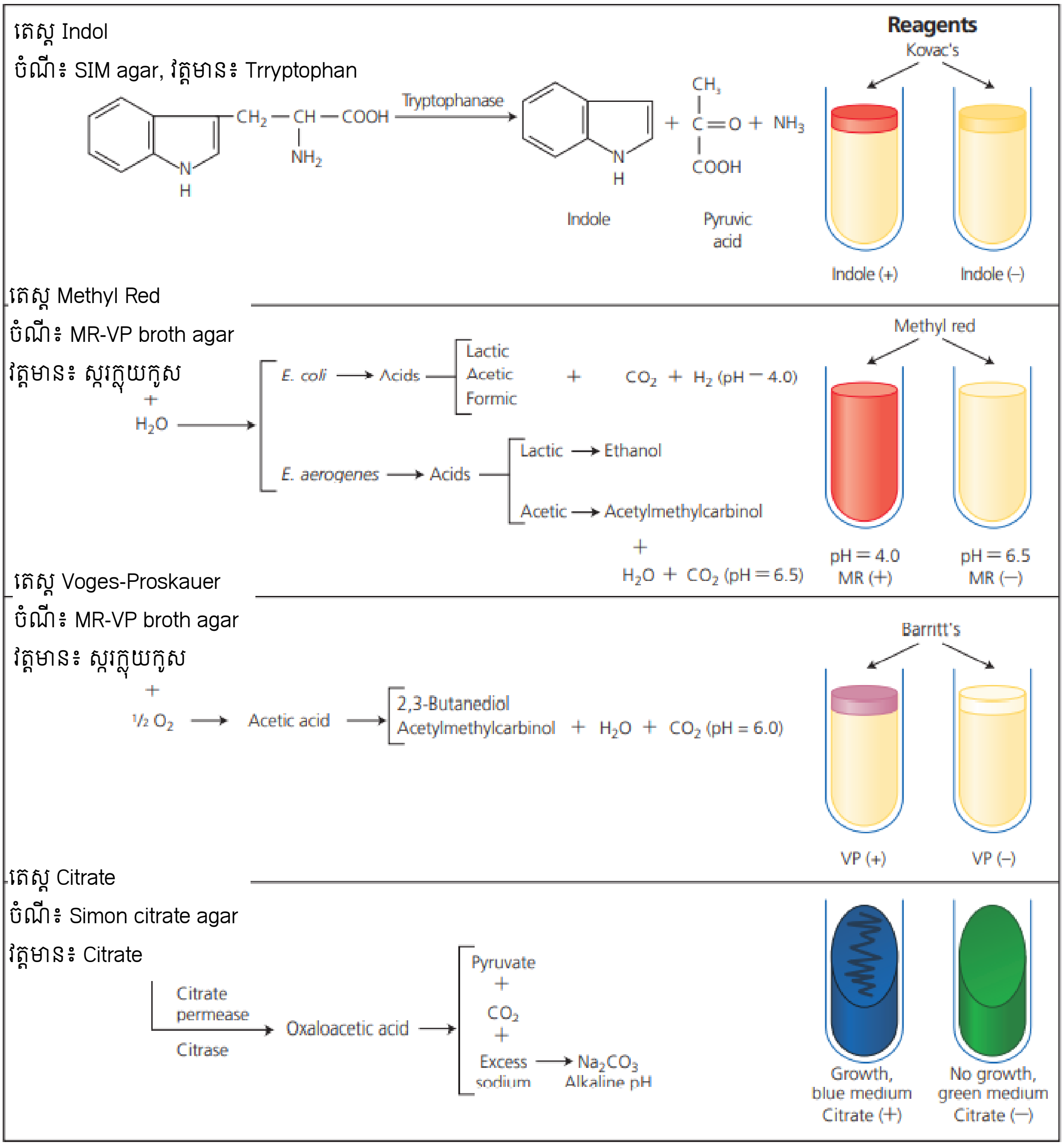
កូឡូនី ប្រែជាពណ៌លឿង/បៃតង ប្រសិនបើស្ករឡាក់តូស ត្រូវបានបម្លែង ដោយសារតែអាស៊ីតត្រូវបានបង្កើតឡើងដែរ។ កូឡូនី ប្រែជាពណ៌ផ្កាឈូក ប្រសិនបើបាក់តេរី មិនអាចបម្លែងស្ករឡាក់តូសបាន។

ចានបណ្តុះដែលផ្ទុក MacConkey

កូឡូនី ប្រែជាពណ៌ផ្កាឈូក ប្រសិនបើស្ករឡាក់តូស ត្រូវបានបម្លែង ដោយសារតែអាស៊ីតត្រូវបានបង្កើតឡើងដែរ។ កូឡូនី ប្រែជាស្លេក និងគ្មានពណ៌ ប្រសិនបើបាក់តេរីមិនអាចបម្លែងស្ករឡាក់តូសបាន ។



រូបភាព ២៨.១ មែកធាងរបស់បាក់តេរីក្រាមអវិជ្ជមាន



រូបភាព ២៨.២ សង្ខេបនៃការធ្វើតេស្ត IMViC

២៨.៤ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៨

១. តើតេស្តណាខ្លះ អាចត្រូវបានប្រើដើម្បីញែក Salmonella ឲ្យចេញពី Shigella?

____

____

____

២. តើចំណីប្រភេទណាខ្លះដែលប្រើខាងលើ គួរតែត្រូវបានចាត់ទុកថាជា selective media?

____

____

____

៣. តើចំណីបណ្តុះប្រភេទណាខ្លះដែលប្រើខាងលើ គួរតែត្រូវបានចាត់ទុកថាជា differential media ?

____

____

____

៤. តើបាក់តេរីប្រភេទណាខ្លះ អាចបម្លែងស្ករឡាក់តូសបាន ? តើពួកវាមានរូបរាងដូចម្តេចពេលដុះលូតលាស់នៅលើចានបណ្តុះផ្ទុក MacConkey និងចានបណ្តុះផ្ទុក brilliant green ?

____

____

____

៥. តើអ្នកបានកត់សម្គាល់ភាពខុសគ្នានៃរចនាសម្ព័ន្ធក៏ដូចជាទម្រង់កូឡូនីរបស់បាក់តេរី នៅពេលវិភាគដែរ ឬទេ ? តើអ្នកគិតថា អ្នកអាចប្រើវិធីសាស្ត្រ Gram stain ដើម្បីកំណត់ភាពខុសគ្នារវាងពួកបាក់តេរីដែលមាននៅក្នុងលំហាត់នេះបានដែរ ឬទេ ?

____

____

____

៦. តើចានបណ្តុះផ្ទុក EMB និងចានបណ្តុះផ្ទុក MacConkey មានមុខងារអ្វី ? តើអ្នកគិតថា អ្នកត្រូវតែប្រើចានបណ្តុះទាំង ២ ដែរ ឬទេ ?

____

____

____

លំហាត់ ២៩៖ ការកំណត់អត្តសញ្ញាណពួកបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់

២៩.១ សេចក្តីផ្តើម

អ្នកនឹងត្រូវបានគេផ្តល់ឲ្យនូវប្រភេទបាក់តេរី ២ ដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះ ដើម្បីឲ្យអ្នកកំណត់លក្ខណៈ និងធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មពួកវា។ តាមរយៈការចាប់សំណាកបែបកាត់បន្ថយ (deduction) ដោយប្រុងប្រយ័ត្ននិងតាមរយៈការកែសម្រួលនិងវិភាគទិន្នន័យជាប្រព័ន្ធ អ្នកគួរតែអាចធ្វើអត្តសញ្ញាណប្រភេទបាក់តេរីនីមួយៗបាន។

ដើម្បីចាប់ផ្តើមការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មទៅលើបាក់តេរីរបស់អ្នក អ្នកគួរតែត្រូវប្រាកដថាអ្នកមានប្រភេទបាក់តេរីដែលជាពូជសុទ្ធ។ រៀបចំបាក់តេរីប្រភេទ stock និង working (stock and working cultures)។ ចៀសវាងការចម្លងចូលនៃប្រភេទបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់។ ធ្វើការកត់សម្គាល់លក្ខណៈនៃការដុះលូតលាស់ និងលក្ខណៈពេលធ្វើ Gram stain ដើម្បីជាតម្រុយទៅរកភាពជោគជ័យ។ បន្ទាប់ពីបណ្តុះ និងបន្សុីពណ៌បាក់តេរីដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះរួចហើយ ក្រុមបាក់តេរីជាច្រើន អាចត្រូវបានគេដកចេញ។ ការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មចុងក្រោយទៅលើពួកបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះរបស់អ្នក នឹងអាស្រ័យទៅលើការជ្រើសរើសដោយប្រុងប្រយ័ត្នទៅលើតេស្តគីមីជីវៈពាក់ព័ន្ធ និងការថ្លឹងថ្លែងទៅលើតម្លៃតេស្តនីមួយៗផងដែរ។

២៩.២ ដំណើរការពិសោធ

១. ឆូតបាក់តរីដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះរបស់អ្នក ទៅលើចានបណ្តុះដែលមាន ដោយប្រើបច្ចេកទេសឆូតដើម្បីឲ្យកូឡូនីដុះដាច់ពីគ្នា។ ដាក់ចានបណ្តុះទាំងនេះភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C រយៈពេល ២៤ ម៉ោង។

២. ធ្វើះពួកកូឡូនីដែលដុះដាច់ពីគ្នានេះចេញ និងឆូតពួកវាម្តងទៀត ដើម្បីទទួលបានកូឡូនី ដែលជាពូជសុទ្ធ។ ដាក់ភ្ញាស់នៅ ៣៧ °C។

៣. ធ្វើកំណត់ចំណាំទៅលើការដុះលូតលាស់របស់បាក់តេរី។ ទុកបាក់តេរីក្នុងទីប slant មួយទៅក្នុងទូបង្កក -៨០°C ដើម្បីធ្វើជា stock culture និងប្រើចានបណ្តុះ (ផ្ទុកបាក់តេរី) មួយផ្សេងទៀតជា working culture។ យកបាក់តេរីក្នុងទីប slant មួយផ្សេងទៀត ចេញពី stock culture របស់អ្នក នៅពេលដែល working culture ត្រូវបានចម្លងចូលពីបាក់តេរីដទៃ ឬមិនអាចប្រើការបានតទៅទៀត។ (ត្រូវប្រាកដថា ឆូតកូឡូថ្មីនេះ ជាប្រភេទពូជសុទ្ធ ។)

៤. បន្ទាប់ពីធ្វើ Gram stain រួច ត្រូវកំណត់ថា តេស្តគីមីជីវៈណាខ្លះ ដែលអ្នកនឹងត្រូវការយកមកប្រើ។ កុំខ្ជះខ្ជាយ។ ត្រូវចាក់ចម្លងបាក់តេរីចូលក្នុងបរិមាណដែលត្រូវការប៉ុណ្ណោះ។ វាមិនចាំបាច់ឲ្យអ្នកអនុវត្តតេស្តមួយជាលើកទី ២ ទេ ត្រូវធ្វើវាតែម្តងឲ្យសុក្រឹត ! ត្រូវក្រឡេកទៅមើលលំហាត់នៃបាក់តេរីក្រាមវិជ្ជមាន និងក្រាមអវិជ្ជមានវិញ ដើម្បីជាការរំលឹក។

ចំណាំ៖ មិនត្រូវប្រើចំណីបណ្តុះផ្សេងៗគ្នាដោយគ្មានគម្រោងច្បាស់លាស់នោះទេ។ អ្នកនឹងច្រឡំ ហើយមានភាពរញ៉េរញ៉ៃពេលពិសោធន៍។

២៩.៣ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ២៩

១. តើអ្វីទៅជាប្រតិកម្ម Gram stain របស់ពួកបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះរបស់អ្នក? ដោយផ្អែកទៅលើប្រតិកម្មទាំងនេះ តើអ្នកគិតថា អ្នកអាចមានលទ្ធភាពធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មបាក់តេរីទាំងនេះដែរ ឬទេ? តើពួកកូឡូនីដែលមាននៅលើចានបណ្តុះទាំងអស់ មានលក្ខណៈបែបណាខ្លះ? តើពួកវាត្រូវបានញែកឲ្យដុះដាច់ពីគ្នាដែរ ឬទេ?

___

___

___

២. ហេតុអ្វីបានជាវាមានសារៈសំខាន់ ដែលអ្នកត្រូវមានពូជបាក់តេរីសុទ្ធមួយមុនពេលចាប់ផ្តើមតេស្ត វិនិច្ឆ័យ មួយចំនួនទៀត?

___

___

___

៣. តើអ្វីទៅជាហេតុផលដែលជម្រុញអ្នកឲ្យជ្រើសរើសយកពួកតេស្តគីមីជីវៈទាំងនេះមកប្រើ?

___

___

___

៤. រៀបចំតុមួយ និងកត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នកឲ្យបានសុក្រឹត ដោយសារតែព័ត៌មាននេះ នឹងមានសារៈសំខាន់ណាស់ចំពោះការធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មបាក់តេរី ដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះរបស់អ្នក។ បន្ទាប់ពីអ្នកបានកត់ត្រាលទ្ធផលរបស់អ្នករួច ត្រូវត្រឡប់ទៅកាន់លំហាត់ដែលនៅពេលដំបូងអ្នកបានអនុវត្តជាមួយបាក់តេរីនេះ។ ផ្ទៀងផ្ទាត់តេស្តទាំងអស់ឲ្យបានដឹតតាមតែអាចធ្វើទៅបាន មុនពេលធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មបាក់តេរីដែលមិនស្គាល់ឈ្មោះរបស់អ្នក។ ប្រសិនបើតេស្តមួយ មានបញ្ហា តើតេស្តផ្សេងទៀតដែលនៅសល់ អាចបង្ហាញអ្នកពីលក្ខណៈអ្វីខ្លះរបស់ពួកបាក់តេរី? នេះគួរតែជាតម្រុយមួយសម្រាប់អ្នក ដើម្បីធ្វើអត្តសញ្ញាណកម្មបាក់តេរីឲ្យបានត្រឹមត្រូវ។

___

___

___

លំហាត់ ៣០៖ គម្រោងតាមក្រុម

ចំពោះគម្រោងនេះ អ្នកគួរតែសួរខ្លួនឯងនូវសំណួរមួយ ដែលទាក់ទងនឹងអតិសុខុមប្រាណ ហើយគួរតែបង្កើតប្លង់ពិសោធន៍ធម្មតាមួយ ដោយប្រើនូវបណ្តាបច្ចេកទេសដែលអ្នកបានរៀន។

អ្នកត្រូវបានលើកទឹកចិត្តឲ្យរកព័ត៌មានខាងក្រៅបន្ថែមពីប្រភពដូចជាឯកសារវិទ្យាសាស្ត្រ ឯកសារព័ត៌មាន និងសៀវភៅដើម្បីបង្ហាញពីហេតុផលនៃពិសោធន៍របស់អ្នក។ ជាឧទាហរណ៍ ព័ត៌មានកាលពីយប់មិញ អ្នកបានឃើញហើយថា មានការផ្ទុះជំងឺដែលកើតពី *E. coli* មួយផ្សេងទៀតកើតឡើង ហើយអ្នកចង់វិភាគរកការចម្លងចូលនៃ*E. coli* នៅក្នុង hamburger ដែលមានក្នុងទូទឹកកករបស់អ្នក។ អ្នកថែមទាំងចង់រកឲ្យឃើញទៀតថាតើការចំអិន អាចកាត់បន្ថយចំនួនបាក់តេរីដែរ ឬទេ។ ប្រសិនបើលក្ខណៈនេះសមហេតុសមផល? តើ *E. coli* អាចត្រូវប្រទះឃើញនៅក្នុង hamburger ឬក៏អ្នកបានខ្ជះខ្ជាយពេលវេលារបស់អ្នក? តើអ្នកអាចដឹងដោយរបៀបណា? ត្រូវប្រាកដថា គម្រោងរបស់អ្នកមានលក្ខណៈពេញលេញ ប៉ុន្តែធ្វើឲ្យវាមានលក្ខណៈសាមញ្ញ។ នៅពេលដែល អ្នកកំពុងរៀបចំគោលគំនិតរបស់អ្នក ត្រូវផ្ទៀងផ្ទាត់ជាមួយគ្រូមន្ទីរពិសោធន៍ ឬជំនួយការគ្រូរបស់អ្នកដើម្បីឲ្យប្រាកដថា ពិសោធន៍របស់អ្នក អាចដំណើរការទៅបាន។

៣០.១ ការរៀបប្លង់គម្រោង៖

មាតិការបស់អ្នកគួរតែបញ្ចូល៖

១. សមាជិកក្រុម (ដែលធ្វើការជាមួយនៅតុពិសោធន៍)
២. លេខតុពិសោធន៍
៣. ចំណងជើងនៃគម្រោងរបស់អ្នក
៤. សំណួរបែបវិទ្យាសាស្ត្រ (សម្មតិកម្ម) ដែលអ្នកនឹងត្រូវឆ្លើយ
៥. ហេតុផលដែលជម្រុញឲ្យអ្នកជ្រើសយកគម្រោងនេះ
៦. សម្ភារៈដែលអ្នកនឹងត្រូវការដើម្បីអនុវត្តពិសោធន៍នេះ (រាប់បញ្ចូលទាំងចំនួន និងប្រភេទនៃចានបណ្តុះ ចំណីបណ្តុះ លក្ខ ពីប៉ែត ទូភ្ញាស់ ទូគ្មានខ្យល់ ជាដើម)
៧. បណ្តាតេស្ត ឬបច្ចេកទេសបន្សិពណ៌ ដែលអ្នកនឹងប្រើ
៨. លទ្ធផលរំពឹងទុក (អ្វីដែលអ្នករំពឹងថានឹងរកឃើញ)

របាយការណ៍បញ្ចប់៖

របាយការណ៍ ត្រូវមានផ្នែកដូចខាងក្រោម (មានប្រវែងប្រហែល ១ ទៅ ២ ទំព័រ)

១. សេចក្តីផ្តើម/សម្មតិកម្ម
២. សម្ភារៈ និងវិធីសាស្ត្រ
៣. ផ្នែកទិន្នន័យ ដែលរាប់បញ្ចូលទាំងតារាង
៤. ការពិភាក្សាឲ្យស៊ីជម្រៅ ដើម្បីរាប់បញ្ចូលនូវហេតុផលដែលអ្នកជ្រើសយកគម្រោងនេះ នូវអ្វីដែលអ្នកបានឃើញ នូវនិន្នាការ នូវអ្វីដែលគ្មានវត្តមាន និងនូវហេតុផលអ្វីដែលអ្នក

គិតថា កត្តាមួយចំនួនក្នុងចំណោមកត្តាខាងលើកើតមានឡើង។ ការពិភាក្សាដែលល្អនឹងបង្ហាញអ្នកនូវអ្វីដែលអ្នកបានរៀនពីពិសោធន៍នេះ។

៥. សរុបសេចក្តី

ការធ្វើបទបង្ហាញអំពីគម្រោង៖

១. វត្តមានសមាជិកម្នាក់ៗនៅក្នុងពេលពិសោធន៍ទាំងមូលពិតជាចាំបាច់ណាស់។

២. បទបង្ហាញនេះ មានលក្ខណៈបែបមិនផ្លូវការ ប៉ុន្តែក្រុមទាំងមូល គួរតែរៀបចំរួចជាស្រេច។ សមាជិកម្នាក់ៗ ត្រូវពិភាក្សាទៅលើលក្ខណៈពិសេសរបស់គម្រោង។ ក្រដាសមួយទំព័រត្រូវបានគេផ្តល់អនុសាសសន៍ឲ្យប្រើដើម្បីបង្ហាញពីទិន្នន័យរបស់អ្នក។

៣. បទបង្ហាញនេះ គួរចំណាយពេលប្រហែលពី ៥ ទៅ ១០ នាទី ដែលក្រោយមកជាពេលសម្រាប់ការសួរសំណួររបស់សិស្សក្នុងថ្នាក់ ឬជំនួយការគ្រូមន្ទីរពិសោធន៍។

៣០.២ របាយការណ៍មន្ទីរពិសោធន៍ លំហាត់ ៣០

១. ហេតុអ្វីបានជាវាមានសារៈសំខាន់ដើម្បីរៀបចំសម្មតិកម្ម មុនពេលចាប់ផ្តើមគម្រោង ?

____

____

____

____

____

____

____

២. តើអ្នកបានទទួលលទ្ធផលដែលអ្នកបានរំពឹងទុកដែរ ឬទេ? ប្រសិនបើមិនបានទទួល តើអ្វីជាមូលហេតុដែលធ្វើឲ្យអ្នកទទួលបានលទ្ធផលមួយផ្សេង ពីអ្វីដែលអ្នកបានរំពឹងទុក? ប្រសិនបើបានលទ្ធផល ចូរពន្យល់ពីលទ្ធផលអ្វីខ្លះ ដែលអ្នកប្រហែលជាបានទទួលជំនួសឲ្យអ្វីដែលអ្នកមិនបានរំពឹងទុក និងពន្យល់ថា ហេតុអ្វីបានជា លទ្ធផលទាំងនេះ មិនគាំទ្រសម្មតិកម្មរបស់អ្នក ។

____

____

____

____

____

បណ្ណាល័យសាស្ត្រ

Abbott, S., and Janda, J. M.(2008). The Family Enterobacteriaceae. *Practical Handbook of Microbiology, Second Edition*, CRC Press, pp. 217–19, http://dx.doi.org/10.1201/9781420009330.pt2.

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sheris, J.C., and M. Turck (1966). Kirby-Bauer Method. Tech. Bull. Reg. Med. Technol. 36:49-52.

Cappuccino, J.G. and Welsh, C. (2020). *Microbiology*: A laboratory manual 12th ed., Hoboken, NJ: Pearson.

Chaskes, S., and Rita A. (2021). Stains for Light Microscopy. Practical Handbook of Microbiology, CRC Press, pp. 41–50, http://dx.doi.org/10.1201/9781003099277-5.

Colaninno, P. M. (2021) Identification of Gram-Positive Organisms. *Practical Handbook of Microbiology*, CRC Press, pp. 51–58, http://dx.doi.org/10.1201/9781003099277-6.

Fischetti, V., and Patricia R. (2015). Streptococcus. Practical Handbook of Microbiology, Third Edition, CRC Press, pp. 411–28, http://dx.doi.org/10.1201/b17871-29.

Goldman, E., (2021). Plaque Assay for Bacteriophage. *Practical Handbook of Microbiology*, CRC Press, , pp. 71–74, http://dx.doi.org/10.1201/9781003099277-8.

Goldman, E. and Green, L.H., (2021). *Practical handbook of microbiology*, 3rd Revised edition, Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.

Kohlerschmidt, D. J., Mingle, L. A., Dumas, N. B., and Nattanmai, G. (2021). Identification of Aerobic Gram-Negative Bacteria. In *Practical Handbook of Microbiology* (pp. 59–70). CRC Press. http://dx.doi.org/10.1201/9781003099277-7.

Missiakas, D. and Schneewind, O. (2015). Staphylococcus Aureus and Related Staphylococci. Practical Handbook of Microbiology, Third Edition, CRC Press, pp. 383–410, http://dx.doi.org/10.1201/b17871-28.

Money, N. P. (2016). Fungi and Decomposition. Fungi: A Very Short Introduction. Oxford University Press, 84–97.

Lee, S. P. (2008). Quantitation of Microorganisms. Practical Handbook of Microbiology. CRC Press, 2008. 31–50.

Silva, N.da, Dender, P., Taniwaki, M., Amstalden, J., Arruda, S., Okazaki, M., and Romeiro, G. (2019). *Microbiological examination methods of food and water*: A laboratory manual 2nd ed., Boca Raton: CRC Press/Balkema.

Schmidt, G. M. (2008). Sterilization, Disinfection, and Antisepsis. Practical Handbook of Microbiology, CRC Press, pp. 23–30, http://dx.doi.org/10.1201/9781420009330-8.

Wanger, A. and Violeta, C. (2021). Antibiotic Susceptibility Testing. Practical Handbook of Microbiology. CRC Press, 2021. 119–128.