عزل البكتيريا واختبارات تصنيفها

إعداد : م . نور البردويل

Purification of bacterial cultures تنقية المزارع البكتيرية

- - للحصول على مزارع نقية من البكتيريا لابد من الحصول على مستعمرات فردية Single Colonies منفصلة عن بعضها على بيئات صلبة
- - توجد طريقتان أساسيتان لتنقية المزارع البكتيرية

1. طريقة تخطيط الأطباق (بسيط- متعامد) Streak Plate Method
2. طريقة الأطباق المصبوبة Pour Plate Method

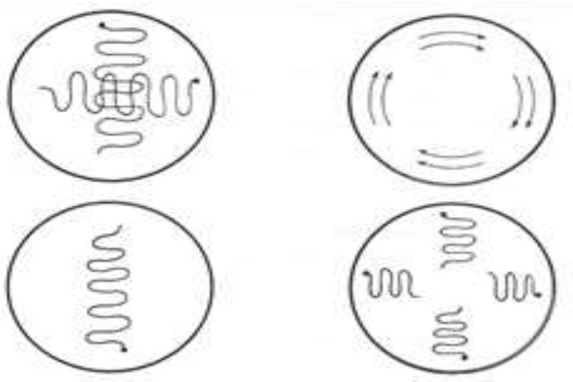
أولا : طريقة تخطيط الاطباق: Streak Plate Method

- - الهدف من التخطيط هو الحصول من معلق البكتيريا على مستعمرات منفصلة تماما
- - تخطط العينة على سطح بيئة الاجار المغذي بطريقة التخطيط البسيط أو التخطيط البسيط المتكرر أو التخطيط المتعامد

التخطيط البسيط

- طريقة العمل:

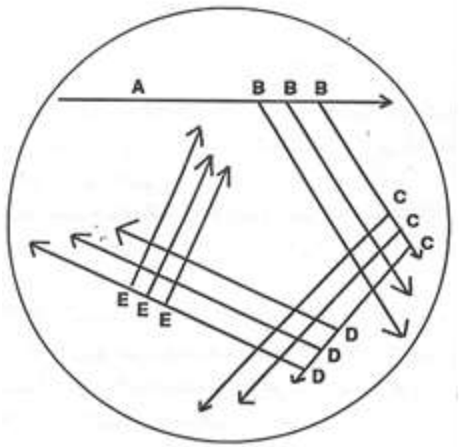
1. تحت ظروف التعقيم, تعقم ابرة التلقيح باللهب ثم تبرد بلمس حافة الاجار
2. تؤخذ ملء عقدة Loopfull من المزرعة المختلطة ويخطط على سطح البيئة الصلبة
3. تكتب البيانات اللازمة أسفل الطبق
4. تحضن الأطباق مقلوبة عند 37م لمدة 24 ساعة



التخطيط المتعامد

- طريقة العمل:

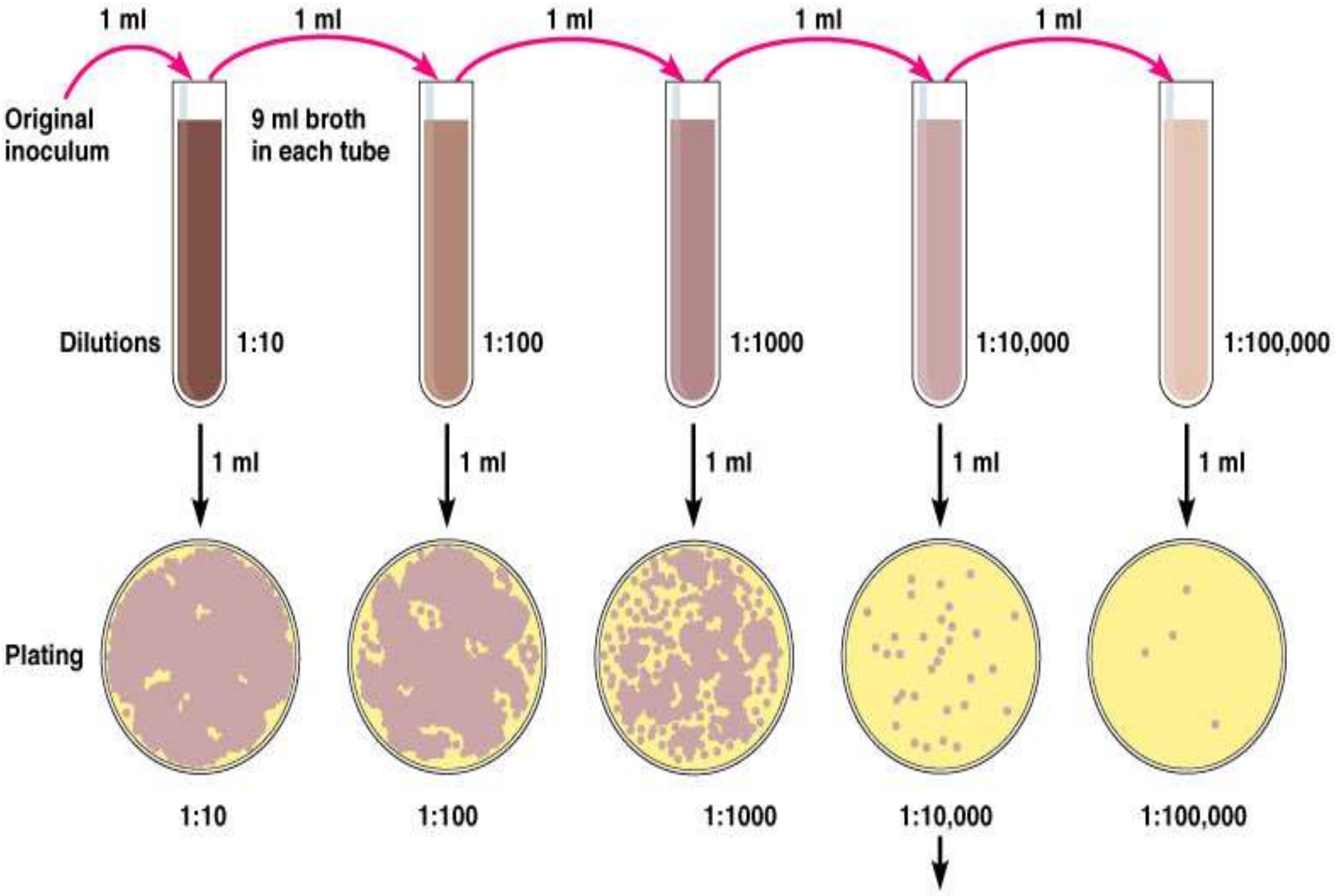
1. تحت ظروف التعقيم, تعقم ابرة التلقيح كما سبق
2. بملء العقدة من المزرعة المختلطة يخطط خطوط متعامدة على سطح البيئة الصلبة كما بالرسم
3. تكتب البيانات اسفل الطبق ثم تحضن الأطباق مقلوبة عند37م لمدة 24ساعة
4. لاحظي النمو الكثيف في منطقة الخطوط الاولى يقل تدريجياً حتى تظهر مستعمرات فردية في اخر التخطيط.



ثانيا: طريقة الأطباق المصبوبة Pour Plate Method

طريقة العمل:

1. تحت ظروف التعقيم,تؤخذ 6 أطباق بتري فارغة معقمة تدون عليها المعلومات.
2. لدينا مزرعة بكتيرية مختلطة وأنبوبة اختبار بها 9 مل ماء مقطر معقم
3. ينقل لكل طبق مقدار 4 قطرات من الماء المعقم باستخدام ماصة معقمة
4. باستخدام ابرة التلقيح المعقمة باللهب والمبردة ينقل للطبق الاول ملء 4 عقد من المعلق البكتيري ويتم خلط قطرات المعلق مع الماء بابرة التلقيح
5. ينقل من الطبق الاول الى الطبق الثاني ملء 4 عقد وتخلط مع الماء وهكذا......
6. لكل طبق يصب كمية مناسبة من بيئة الاجار المغذي السائلة والمبردة عند45م
7. تترك الاطباق في جو المخبر حتى تتصلب البيئة
8. تحضن الأطباق مقلوبة عند درجة حرارة مناسبة من 30-37م لمدة 24ساعة
9. نلاحظ الأطباق التي ظهر فيها مستعمرات فردية واضحة



Calculation: Number of colonies on plate × reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml
(For example, if 32 colonies are on a plate of $^{1}/_{10,000}$ dilution, then the count is 32 × 10,000 = 320,000/ml in sample.)

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

حفظ المزارع البكتيرية

بعد عزل البكتيريا في مزرعة نقية Pure Culture يمكن حفظها لفترة زمنية حسب نوع الميكروب المعزول والهدف من الحفظ

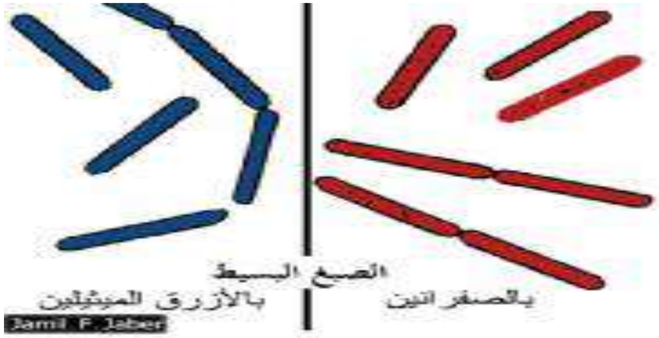
لاتوجد طريقة عامة لحفظ الميكروبات, لكن هناك عدة طرق للحفظ منها

الحفظ بالنقل الدوري Preservation by Periodic Transfer

- الحفظ في الزيت المعدني Preservation under Mineral Oil

1. الحفظ في الماء Preservation in Water
2. الحفظ في السيليكا جيل Preservation in Silica Gel
3. الحفظ بالتجميد Preservation by Deep Freezing
4. الحفظ بالتجفيد Preservation by Lypholyzation
5. الحفظ في النيتروجين السائل Preservation in Liquid Nitrogen

طرق تصنيف البكتيريا



1- الطرق التقليدية في التصنيف :

أولا : الفحص المجهري :

1-الصبغ البسيط:

الأدوات والمواد

أطباق بتري مزروعة مسبقاً + صبغة الصفرانين ١ أو صبغة أزرق الميثيلين ٢ + أحواض الصبغ + ابر تلقيح +لهب بنزن.

خطوات العمل

1 – تجهيز معلق بكتيري من مستعمرات بكتيرية مزروعة في أطباق بتري.

2 – يثبت المعلق البكتيري على الشريحة الزجاجية بعد نشر المعلق حتى تتكون عكارة خفيفة وذلك باستخدام اللهب (تجفيف غير مباشر)

3 – ضع الصبغة(الصفرانين أو أزرق الميثيلين) على الشريحة لمدة ٣٠ ثانية فقط ثم اغسلها في الماء

4 – جفف الشريحة ثم افحصها بالمجهر بوضع نقطة زيت سيدر على الغشاء .

2ـ صبغة جرام :

الأدوات والمواد : صبغة الصفرانين (الصبغة العكسية) + الكحول ٩٥ % + اليود + الكريستال البنفسجي + أحواض الصبغ +ابر التلقيح + حوامل الشرائح .

خطوات العمل

1 – عمل معلق بكتيري (من أطباق بتري مزروعة بالبكتيريا).

2 – يثبت المعلق البكتيري بتمريره على اللهب.

3– نضيف صبغة الكرستال البنفسجي لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

4 – نضيف اليود لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

5 - نضيف الكحول لمدة ٢٠ ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

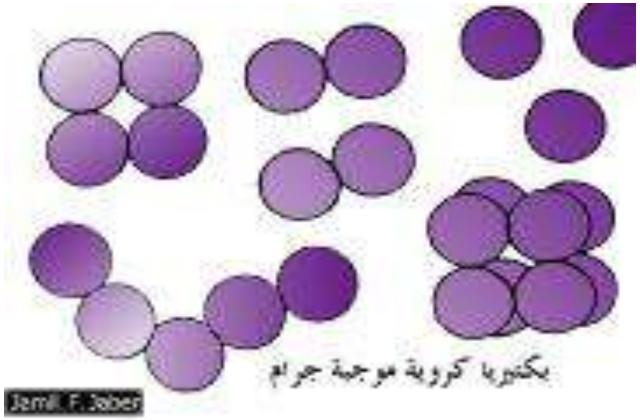
6 - نضيف الصفرانين لمدة ٣٠ ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)

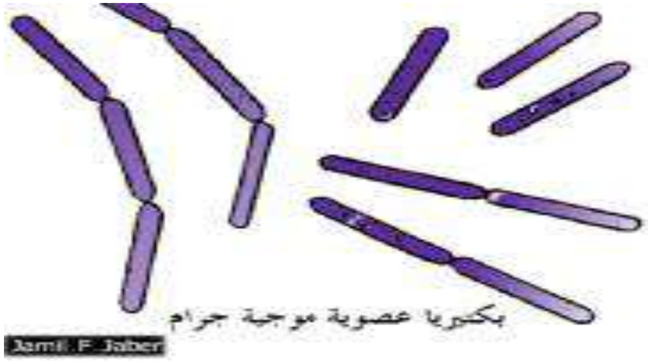
7 – تجفف الشريحة ثم تفحص .

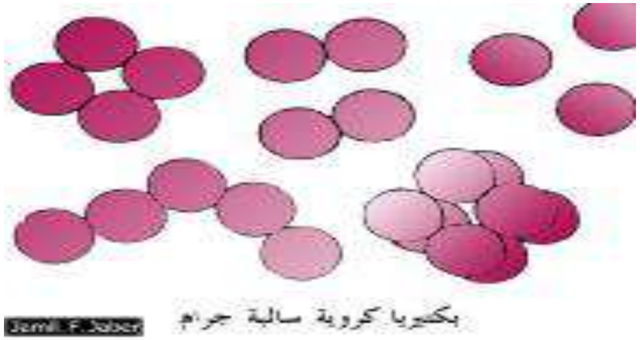
ملاحظة : يمكن التمييز بين مجموعتين من البكتيريا :

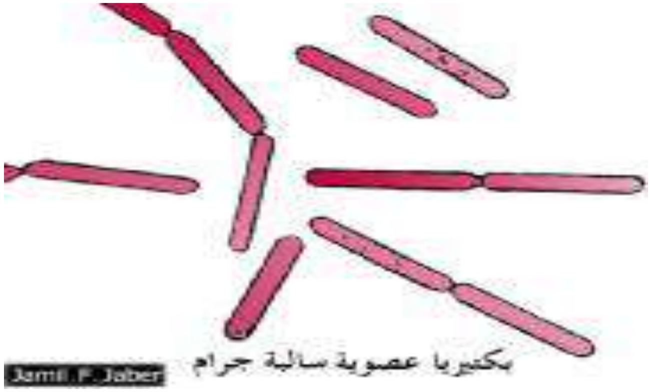
1– إذا كانت البكتيريا موجبة جرام تأخذ اللون البنفسجي

2– إذا كانت البكتيريا سالبة جرام تأخذ اللون الأحمر .









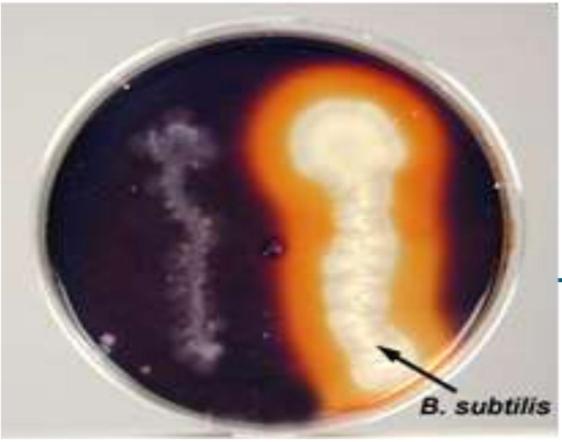
الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تعريف البكتيريا

Biochemical activity tests for bacterial identification

تقوم الكائنات الدقيقة (كالبكتيريا) بافراز انواع عديدة من الانزيمات لتحليل الكثير من المواد المعقدة الكربوهيدراتية والبروتينية والدهنية لتحوله الى جزيئات صغيرة الحجم يمكن امتصاصها

التحلل المائي للنشا Starch hydrolysis

- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على تحليل النشا
- **الهدف من التجربة**: التمييز بين الكائنات الدقيقة عن طريق قدرتها على تحليل النشا
- - من المعروف إن النشا مادة كربوهيدراتية عبارة عن نوعين من الوحدات:
- • **اميلوز** Amylose (سلاسل مستقيمة من الجلوكوز) **و اميلوبكتين** Amylopectin (سلاسل متفرعة من الجلوكوز)
- - لكي يتمكن الكائن من تحليل النشا لابد من إفراز الإنزيمات:
- ά-B amylase (يكسر سلاسل الاميلوز المستقيمة إلى وحدات الجلوكوز)
- 1-6 glucosidase amilo (يكسر سلاسل الاميلوبكتين المتفرعة الى وحدات الجلوكوز)



<u>طريقة العمل:</u>

تحت ظروف التعقيم

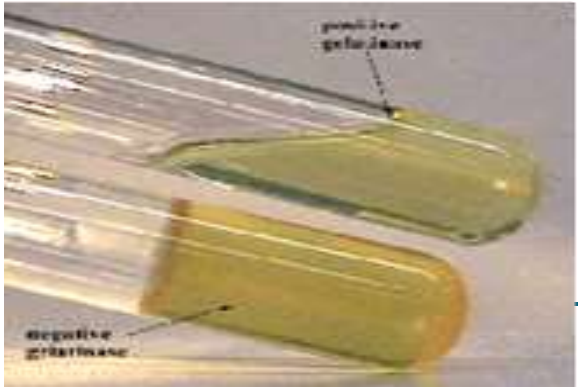
1. 2 طبق بتري يحتوي على بيئة اجار النشا

يلقح منتصف الطبق بمزرعة بكتيرية حديثة العمر بواسطة ابرة تلقيح ويترك الطبق الاخر كنترول للمقارنة

يحضن الطبق مقلوب عند 37م لمدة 24-48ساعة

يكشف عن قدرة البكتيريا على تحلل النشا باسخدام اليود, حيث يغمر سطح البيئة بكمية مناسبة من اليود. وجود هالة شفافة حول النمو البكتيري يدل على ان البكتيريا قادرة على تحلل المشا (نشا +يود ← لون أزرق) أي انها تفرز انزيم الأميليز للوسط الخارجي الذي يكسر النشا الى سكريات بسيطة (الجلوكوز) وبالتالي تظهر المنطقة الشفافة الخالية من النشا

اذا لم يوجد منطقة عديمة اللون حول النمو يعني عدم قدرة البكتيريا على تحليل النشاء



اسالة الجيلاتين Gelatin Liquefaction

- **اسم التجربة**: دراسة قدرة البكتيريا على تحلل الجيلاتين
- **الهدف من التجربة**: التعرف على البكتيريا القادرة على اسالة الجيلاتين
- الجيلاتين مادة بروتينية محضر من التحلل المائي للكولاجين
- بعض أنواع البكتيريا قادرة على انتاج انزيم خارجي Gelatinase الذي يحلل الجيلاتين
- **<u>طريقة العمل</u>**: تحت ظروف التعقيم

1. 2 انبوبة تحتوي على كمية مناسبة من بيئة الجيلاتين المغذي nutrient gelatin
2. تلقح الانبوبة بمزرعة بكتيرية حديثة العمر بطريقة الوخز (الانبوبة الثانية كنترول)
3. تحضن الانبوبة عند 30-37م لمدة من 48-72ساعة
4. يكشف عن قدرة البكتيريا على تحلل الجيلاتين بوضع الانابيب في وعاء يحتوي على ثلج ويترك لمدة 15 دقيقة, ثم تمسك الانبوبة ويتم امالتها, اذا وجدت ان البيئة مازالت متماسكة يعني ان الجيلاتين لم يتحلل بواسطة البكتيريا أما اذا لاحظت اسالة الجيلاتين فهذا يدل على ان البكتيريا افرزت انزيم Gelatinase الذي يحلل الجيلاتين

تحلل الكازين Casein hydrolysis

- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على تحليل الكازين
- **الهدف من التجربة**: تمييز الانواع البكتيرية المحللة للكازين
- الكازين هو البروتين السائد في الحليب(يعطي اللون الابيض)
- الكثير من البكتيريا تفرز الانزيم الخارجي Caseinase الذي يحلل الكازين الى مواد ذائبة شفافة
- **طريقة العمل**: تحت ظروف التعقيم

2 طبق يحوي وسط اجار الحليب

1. يلقح منتصف الطبق ببكتيريا حديثة العمر بابرة التلقيح (الطبق الاخر كنترول)
2. يحضن الطبق مقلوب عند 37م لمدة 24-48 ساعة
3. تسجل النتيجة بعد التحضين مباشرة, اذا لاحظت وجود هالة شفافة حول النمو البكتيري يدل على ان البكتيريا حللت الكازين بافراز نزيم الكازينيز, واذا لم يوجد منطقة رائقة حول النمو دليل على عدم قدرة البكتيريا على تحلل الكازين

تحلل الدهون Lipid hydrolysi

- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على تحلل الدهون
- **الهدف من التجربة**: التعرف على قدرة الانواع البكتيرية على تحليل الدهن
- قدرة البكتيريا على تحليل الدهون راجع الى افراز انزيم Lipase الذي يقسم جزيء الدهن الى جزيء جليسرول و3 جزيئات من 3 احماض دهنية

طريقة العمل: تحت ظروف التعقيم

- لديك 2 طبق يحتوي بيئة اجار الدهن, يلقح وسط الطبق بمزرعة حديثة العمر بإبرة التلقيح والطبق الثاني كنترول

2. يحضن الطبق عند 37م لمدة 96 ساعة
3. يكشف عن قدرة البكتيريا على تحلل الدهن بإضافة كمية من محلول كبريتات النحاس 10-20% لمدة 10 دقائق, ثم تخلصي من المحلول.
4. ظهور لون أزرق مخضر على النمو دليل على قدرة البكتيرياعلى تحليل الدهن بإفرازها للأنزيم المحلل.

تحلل الاحماض الامينية Amino Acids Hydrolysis

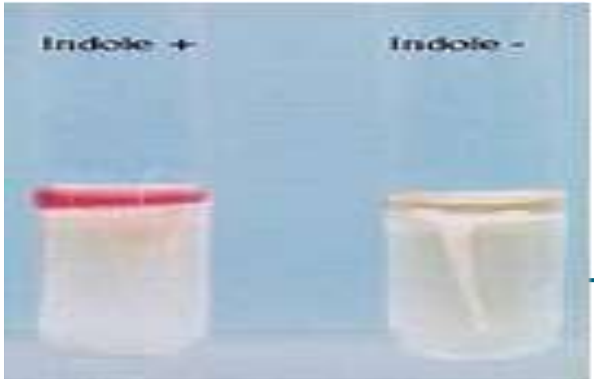
- الاحماض الامينية هي ناتج تحلل البروتينات يمكن لبعض البكتيريا ان تحلل بعض هذه الاحماض الامينية محولة اياها الى مواد ابسط تركيبا
- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على انتاج كبريتوز الايدروجين H_2S Production
- **الهدف من التجربة**: توضيح نشاط بعض البكتيريا في تحليل cyctine وانتاج H_2S
- بعض البكتيريا تنتج غاز كبريتوز الايدروجين عند تحللها للحمض الاميني Cysteine (حمض اميني يحتوي على الكبريت) بواسطة افرازها لانزيم Cysteine desulforase
- تستعمل بيئة كليجلر للكشف عن انتاج H_2S حيث تحتوي على كبريتات الحديدوز الذي يتفاعل مع H_2S مكونا راسب اسود من كبريتيد الحديدوز

طريقة العمل:

تحت ظروف التعقيم

1. 2 انبوبة تحتوي على بيئة كليجلر Kligler
2. تلقح الانبوبة بطريقة الوخز بمزرعة بكتيرية حديثة (*Proteus vulgaris*) ويحتفظ بالأنبوبة الثانية بدون تلقيح
3. تحضن الانبوبة عند 30-37م لمدة من 2-7 ايام

- تسجل النتيجة الموجبة على اساس وجود راسب اسود على طول خط الوخز في حالة تكون غاز H_2S, كما يلاحظ تغير لون البيئة الاحمر الى الاصفر نتيجة انخفاض قيمة PH بسبب تكون الاحماض



تحلل الاحماض الامينية الحلقية (التربتوفان)

- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على انتاج الاندول
- **الهدف**: تمييز وتشخيص بكتيريا *E.coli* عن بكتيريا القولون المشابهة لها
- بعض البكتيريا مثل *E.coli* تحلل جزيء التربتوفان الى جزيء الاندول وحمض البيروفيك بواسطة انزيم Tryptophanase
- **طريقة العمل**: تحت ظروف التعقيم

1. لديك انبوبتين لبيئة مرق التربتون الغنية بالحمض الاميني التربتوفان
2. تلقح الانبوبة ببكتيريا حديثة العمر وتترك الانبوبة الاخرى للمقارنة
3. تحضن الانابيب عند 30م لمدة 48ساعة
4. يكشف عن قدرة البكتيريا على انتاج الاندول باضافة 0.5 مل من الكاشف كوفاك Kovack's reagent(بارا داي ميثيل امينوبنزالدهيد) للأنبوبة, تكون حلقة وردية عند سطح البيئة دليل على ايجابية الاختبار

الاكسدة البيولوجية Biooxidations

- هي تلك التفاعلات الانزيمية المختصة بعمليات التنفس والتخمر
- **اسم التجربة**: اختبار انتاج انزيمات الاكسيديز
- **الهدف من التجربة**: تشخيص الاجناس المختلفة من البكتيريا السالبة لجرام
- الاوكسيديز انزيمات مؤكسدة ضمن سلسلة الانزيمات التنفسية المسؤولة عن تفاعلات الفسفرة التأكسدية
- البكتيريا التابعة لعائلة *Enterobacteriaceae* (سالبة) ومعظم انواع الجنس *Pseudomonas* (موجبة)
- **طريقة العمل**: تحت ظروف التعقيم

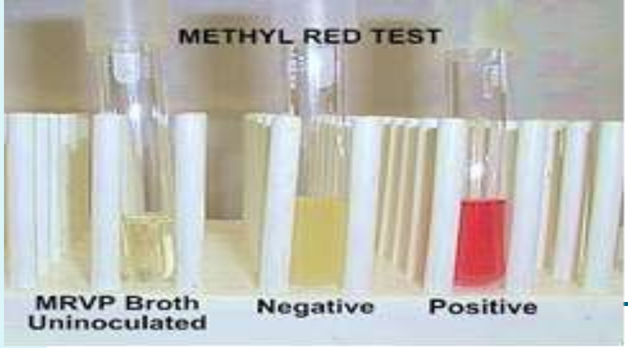
1. يلقح بواسطة التخطيط بيئة اجار الجلوكوز بالبكتيريا *Pseudomonas aeroginosa*
2. تحضن عند 30-37م لمدة 24 ساعة
3. يغمر سطح المزرعة بقليل من محلول الاكسيديز (1% داي ميثيل فينيلين داي امين هيدروكلورايد Dimethyl phenylenediamine hydrochloride), تظهر المستعمرات الموجبة وردية اللون ثم تتدرج لتصبح بنية ثم حمراء داكنة ثم سوداء

اختبار الكاتاليز Catalase production test

- **الهدف**: التعرف على البكتيريا المنتجة للكاتاليز (عادة يستخدم للتفرقة بين المكورات العنقودية والسبحية)
- معظم البكتيريا الهوائية اجبارا واختيارية التهوية (تستعمل O2) تنتج H_2O_2 (فوق اكسيد الهيدروجين) واستمرار نموها في وجود هذا الناتج السام يعود لاكتلاكها انزيم الكاتاليز الذي يحلل H_2O_2

- $H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O2$
- __طريقة العمل__: تحت ظروف التعقيم

1. لديك مزرعة حديثة العمر واخرى قديمة
2. يغمر سطح المزرعة بكمية من محلول 3%فوق اكسيد الهيدروجين
3. نلاحظ تصاعد فقاعات من المزرعة الحديثة نتيجة انطلاق غاز O2 بفعل انزيم الكاتاليز



التخمر الحمضي المختلط Mixed acid fermentation

- **اسم التجربة**: اختبار احمر المثيل Methyl Red (MR) Test
- **الهدف**: التمييز بين البكتيريا على اساس نواتج تخمرها للجلوكوز وانتاج كمية الاحماض بالبيئة
- الكثير من البكتيريا السالبة لجرام التي تعيش بامعاء الانسان يمكنها ان تخمر الجلوكوز مكونة كميات كبيرة من احماض اللاكتيك والخليك والسكسينيك والفورميك علاوة على Co_2 والكحول والهيدروجين
- تكدس هذه الاحماض بالبيئة سيخفض قيمة PH , فاذا اضيف للمزرعة دليل احمر الميثيل سيظهر لون احمر ممايدل على ان الميكروب Mixed acid fermenter
- **طريقة العمل**: تحت ظروف التعقيم

1. تلقح انبوبة محتوية على بيئة فوجس بروسكاور-احمر الميثيل MR-VPmedium بمزرعة حديثة، والانبوبة الاخرى كنترول
2. يتم التحضين عند 37م لمدة 48 ساعة
3. نختبر قدرة البكتيريا على انتاج الحمض بإضافة عدة نقاط من دليل احمر الميثيل للمزرعة (لونه احمر بالوسط الحمضي واصفر بالوسط القاعدي), اذا احتفظ الدليل بلونه الأحمر يعني ان الاختبار موجب

Voges Proskaur (VP) Test اختبار فوكس برسكاور

- **الهدف**: الكشف عن المركب المتعادل التاثير Acetyl Methyl Carbinol (a.m.c) اثناء عملية تخمر الجلوكوز
- عند نمو البكتيريا في البيئة تنتج للوسط الخارجي كمية من الاحماض وتراكمها يثبط البكتيريا نتيجة خفض قيمة PH، الا ان هناك بعض انواع البكتيريا تنتج مواد قاعدية وسطية تعادل فعل تلك الاحماض وبالتالي تنمو.
- يمكن التحقق من وجود (a.m.c) بواسطة كاشف باريت Barritt's reagent
- **طريقة العمل**: تحت ظروف التعقيم

1. كل مجموعة تلقح انبوبة بها بيئة MR-VP medium بمزرعة بكتيرية حديثة
2. تحضن الانابيب عند 37م لمدة 48 ساعة
3. يكشف عن قدرة البكتيريا على انتاج (a.m.c) باضافة بضع قطرات من كاشف **باريت** أ (يتكون من الفانفثول) ثم مقدار من كاشف **باريت ب** (عبارة عن محلول هيدروكسيد البوتاسيوم) , تترك الانابيب لمدة 5-15 دقيقة
4. تكون حلقة حمراء عند سطح البيئة دليل على ان الاختبار موجب

انزيم الكواجيوليز Coagulase Enzyme

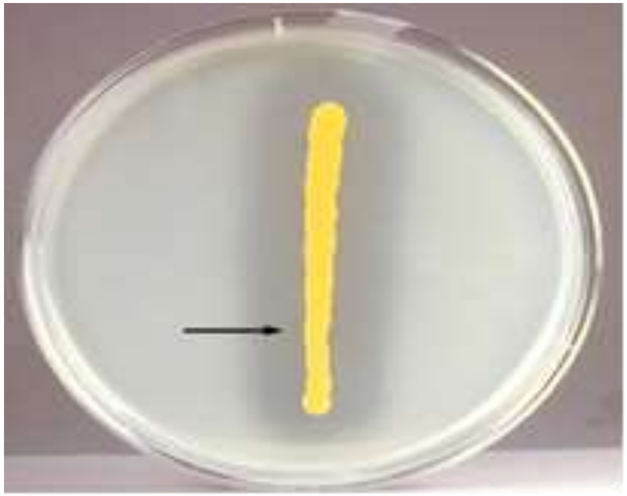
- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على انتاج انزيم الكواجيوليز
- **الهدف من التجربة**: التمييز بين المكورات العنقودية الممرضة Pathogenic والغير ممرضةNon pathogenic
- يؤدي هذا الانزيم الى تخثر Coagulation بلازما الدم حيث يحول مادة الفيبرينوجين Fibrinogen الموجودة في البلازما الى فيبرين Fibrin
- **طريقة العمل**: تحت ظروف التعقيم

1. ينقل 0.5 مل من البلازما الى انبوبة اختبار معقمة
2. يضاف كمية من المزرعة البكتيري الحديثة
3. تحضن عند 37م لمدة24 ساعة مع مراعاة فحص الانبوبة كل نصف ساعة حتى تظهر علامات التخثر.

انزيم تحلل الحمض النووي (DNase) Reoxyribonuclease Test

- **اسم التجربة**: اختبار قدرة البكتيريا على افراز انزيم DNase
- **الهدف**: التعرف على البكتيريا التي تفرز انزيم DNase
- **<u>طريقة العمل</u>**: تحت ظروف التعقيم

1. لديك طبق بتري يحتوي على بيئة الاجار المغذي المضاف اليها ال DNA
2. يلقح الطبق بمزرعة بكتيرية حديثة العمرويحضن عند 37م لمدة 24ساعة
3. يكشف عن تحلل الDNA باضافة (1N HCL) , تكون مناطق شفافة حول النمو البكتيري دليل على ان البكتيريا انتجت انزيم DNase للوسط الخارجي وحللت مادة DNA في البيئة.



التغيرات في بيئة الحديد الثلاثي السكر (TSI) triple sugar iron agar

تحتوي البيئة على ثلاثة مواد سكرية وهي الغلوكوز والسكروز واللاكتوز

تحضر البيئة في الأنابيب بشكل مائل

أهم التغيرات الحاصلة : 1- الجزء المائل أحمر اللون والجزء الغليظ أصفر اللون دليل على تخمر الغلوكوز فقط

2- الجزء المائل أصفر اللون والجزء الغليظ أصفر اللون يدل على تخمر اللاكتوز أو السكروز أو الاثنين معا ً اضافة الى تخمر الغلوكوز .

3-ظهور لون أسود في البيئة دليل على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين كذلك يستدل عليه من وجود فقاعات هوائية .

2-الطرق الحديثة المستخدمة في تصنيف البكتيريا :

أولا :التصنيف تبعاً للمسطرة البيولوجية **API** :

ال API عبارة عن نظام قياسي مصمم بحجم صغير مؤلف من حجر اختبار يحتوي على كواشف الاختبارات الحيوية للكشف عن بعض الوظائف البيوكيميائية للبكتيريا التي تختلف باختلاف نوع ال API .

API NH for niesseria & heamophilus
API 20 A for anaerobes
API staph for staphylococcus
API strept for streptococcus
API coryn for corynbacterium

نظام API 20E

اختبار (API 20E) : ما هو إلا اختصار لـ Analytical Profile Index 20 Enterobacteriaceae:

هو اختبار بيوكيميائي يستخدم في تعريف عائلة البكتيريا المعوية Enterobacteriacea وكذلك البكتيريا العصوية السالبة لجرام، الاختبار عبارة عن شريط يحتوي على 20 أنبوبة صغيرة (Micro tube)، كل أنبوبة تحتوي على مادة تفاعل منزوعة الماء وتحتوي على كاشف لوني معين وتعبر عن إختبار معين.

كيفية إعداد شريط الـ API:

1- يتم كتابة رقم العينة المراد اختبارها على حافة الشريط، ثم إضافة 5 مل من الماء المقطر المعقم (sterile distilled water) في قاعدة الشريط لتوفير الرطوبة اللازمة.

2- يتم إعداد معلق بكتيري من المزرعة المراد تعريفها بتركيز 0.5 McFarland.

3- تستخدم Plastic pastier pipette لسحب مقدار 1 مل من المعلق ومن ثم ملأ الأنابيب الصغيرة في شريط الـ API، ويتم الملء بوضع مائل مع الانتباه لعدم تكون فقاعات هوائية.

- لكل اختبار من الاختبارات العشرين رمز يرمز لمسمى هذا الاختبار، وطريقة خاصة لملأ الانبوبة التي تحمل اسم الاختبار بالمعلق البكتيري كالتالي:

*الأنابيب المكتوب تحتها اختبارات Gel, VP, CIT يتم ملأها إلى آخرها بالمعلق البكتيري

*الأنابيب المكتوب تحتها اختبارات ADH,LDC,ODC,URE يتم ملأها إلى تقعر الأنبوبة وإكمال ملأ باقي الأنبوبة بزيت معدني معقم (sterile mineral oil)

*باقي الاختبارات تملأ إلى قبل تقعر الأنبوبة بقليل بالمعلق البكتيري.

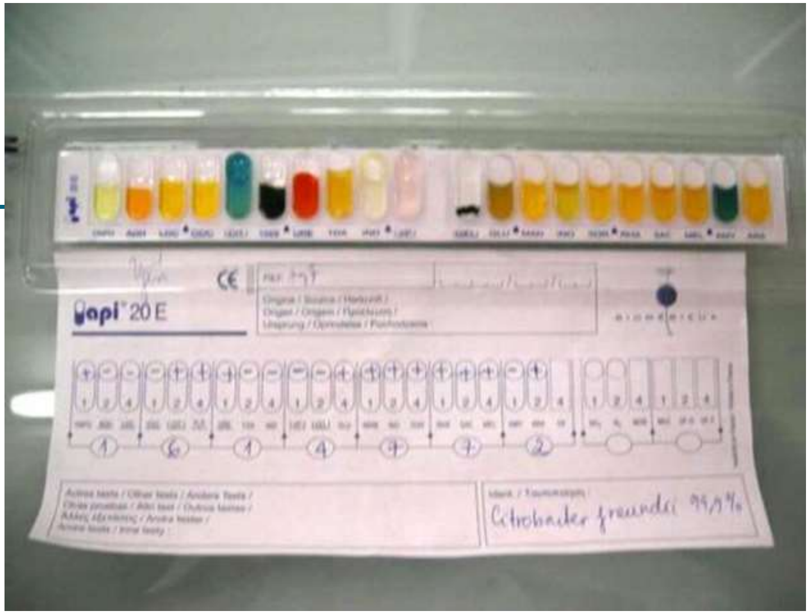
• بعض الاختبارات تحتاج إلى إضافة كواشف بعد فترة التحضين مثل:

-اختبار VP يضاف له كاشف VP1 (هيدروكسيد البوتاسيوم+ماء مقطر) و كاشف VP2(الفا نافثانول + ايثانول).

-اختبار IND(الاندول) يضاف له كاشف كوفاك وهو مكون من (Para di methyl amino benzaldehyde+ Isoamyl alcohol+HCL)

-يضاف لاختبار TDA كاشف TDA مكون من (Ferric chloride + distilled water).

api 20 E
Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Ident. / Ταυτοποίηση :


api 20 E
Ident. / Ταυτοποίηση :
Citrobacter freundii 99,9%

api 20 E
Ident. / Ταυτοποίηση :

API 50 CH

هو نظام موحد، يربط 50 من الاختبارات البيوكيميائية لدراسة التمثيل الغذائي للكربوهيدرات من الكائنات الحية الدقيقة. يستخدم API 50 CH مع وسط API 50 CHL لتحديد *Lactobacillus* والأجناس ذات الصلة، ومع وسط API 50 CHB/E لتحديد *Bacillus* وأجناس ذات الصلة، *Enterobacteriaceae* و *Vibrionaceae*.

ثانياً: الطريقة الجزيئية :

وتعتمد الطرائق الحديثة في تصنيف البكتريا على محتواها من المادة الوراثية والأحماض النووية DNA وتتمتع هذه الطرائق بدقة أكبر في تحديد الأنواع وتحت الأنواع التي تمتلك تنوعاً واختلافاً كبيراً في المادة الوراثية يساعدان في تمييزها عن بعضها . وتقوم هذه الطريقة على ترحيل المادة الوراثية للبكتيريا على هلامة موضوعة ضمن حقل كهربائي بعد القيام بعملية تضخيم مورثي لمورثة محافظة ضمن الجنس ويمكن تطبيق هذه الطريقة على أنواع مختلفة من البكتريا شريطة استخدام مرئسات مختلفة ومناسبة .

REFERENCES

1-Bailey, W.R. and E.G. Scott. 1966. Diagnostic Microbiology, Second Edition. Toppan Company Ltd., Japan, 342 pp.
Tonguthai, K., S. Chinabut, T. Somsiri, P. Chanratchakol and S. Kanchanakhan. 1999. Diagnostic Procedures for Finfish

2-Diseases. Aquatic Animal Health Research Institute, Bangkok, Thailand.

-3Isolation and identification of bacteria, R.KAVITHA, M.PHARM, ,LECTURER, DEPARTMENT OF PHARMACEUTIC,SRM COLLEGE OF PHARMACY