

التجربة الثانية: تنقية الكائنات الحية الدقيقة المعزولة من التربة

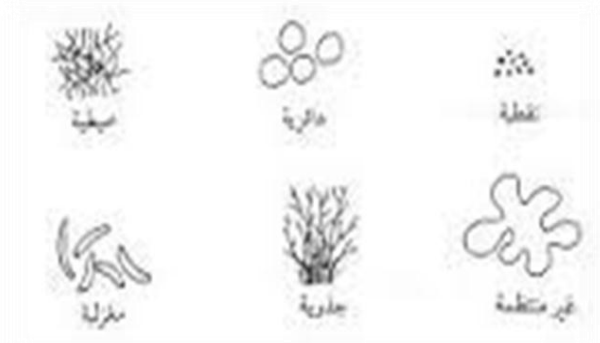
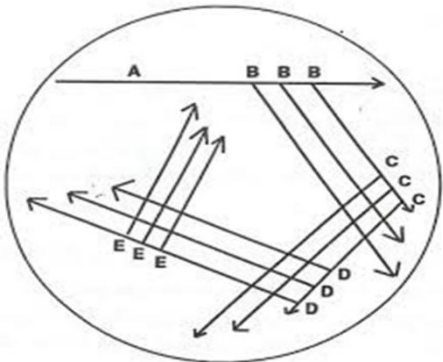
بعد عزل الكائنات الحية الدقيقة المراد اختبار قدرتها على انتاج المضادات الحيوية، يتم التحقق من أن هذه الكائنات المعزولة متواجدة بصورة نقية، حيث يتم تنقية كل منها على حدة.

❖ فما هي المزارع النقية ؟

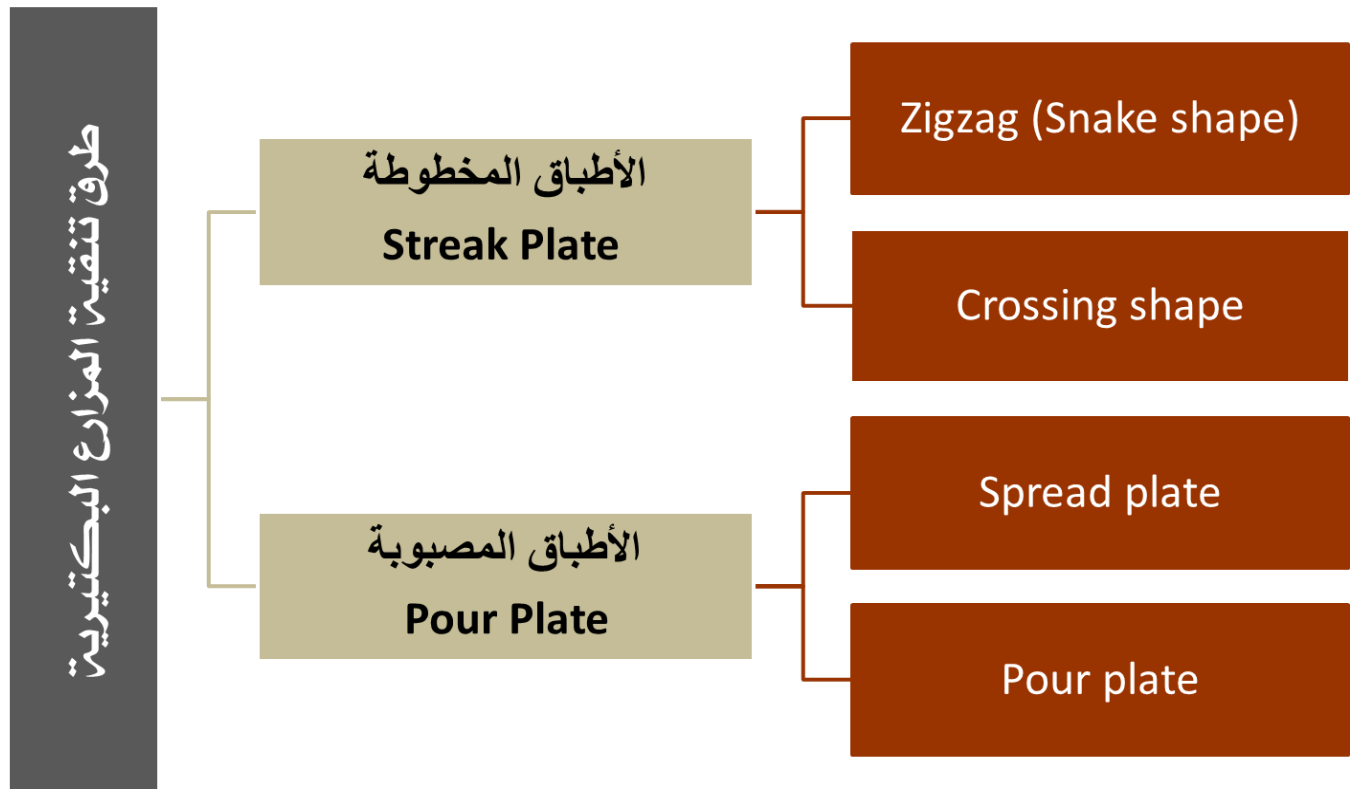
هي التي تحتوي على نوع واحد فقط من الأحياء الدقيقة. فالمزارع المختلطة هي التي تحتوي على أكثر من نوع من الأحياء الدقيقة.

* كيفية الحصول على مزارع نقية معملياً

- للحصول على مزارع نقية من أي نوع للبكتيريا، لابد أولاً من الحصول على مستعمرات فردية منفصلة عن بعضها البعض و على بيئات صلبة.
- يفترض أن تكون المستعمرة الفردية خلية واحدة من البكتيريا نمت و تكاثرت حتى كونت كومة من ملايين الخلايا البكتيرية واضحة المعالم و لها صفات الخلية الأم نفسها.

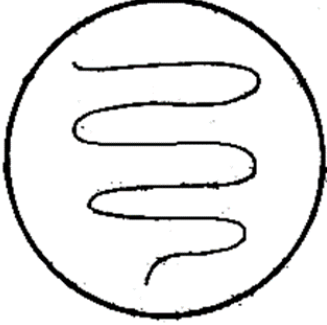
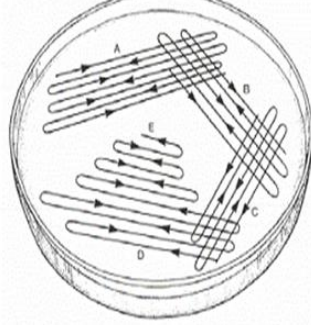


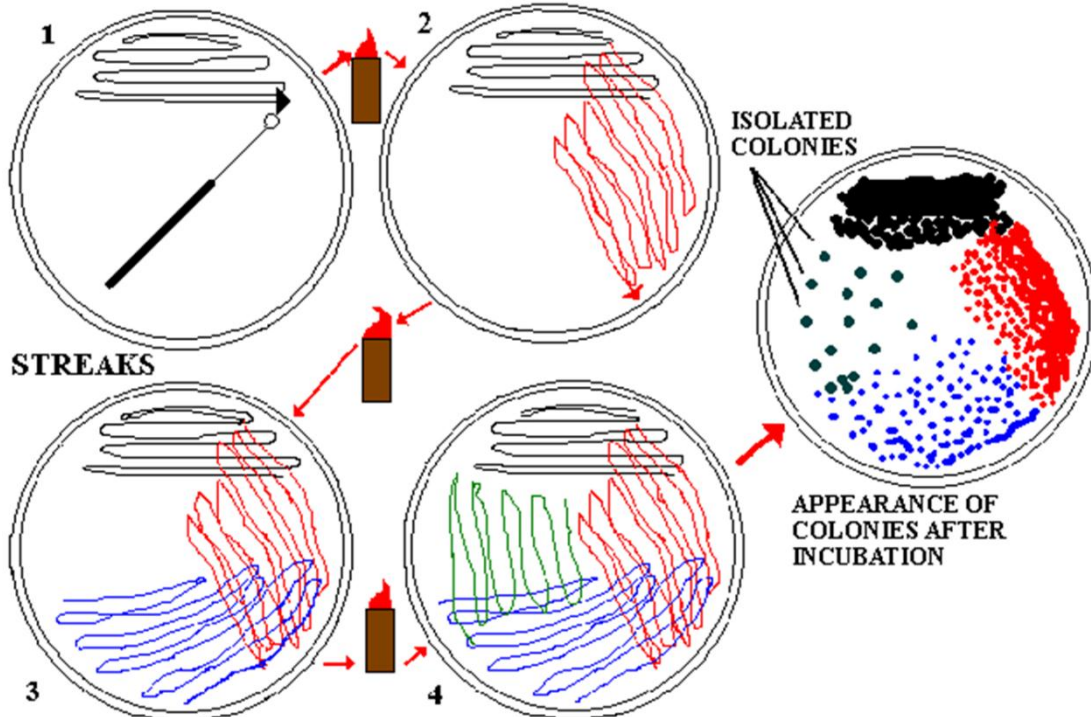
❖ طرق تنقية المزارع البكتيرية



أولاً : طريقة الأطباق المخطوطة Streak Plate

عند وضع المزارع الميكروبية على سطح الآجار و نشرها بواسطة الإبرة ذات عقدة، فإن هذا يسمى تخطيط Streaking، و يسمى الطبق المعد بهذه الطريقة طبقاً مخطوطاً Streaking Plate. يمكن عمل الأطباق المخطوطة بأكثر من طريقة، لكن هناك طريقتان هم الأكثر شهرة وتعطي نتائج ممتازة إن تم إجراؤها بدقة، هي :

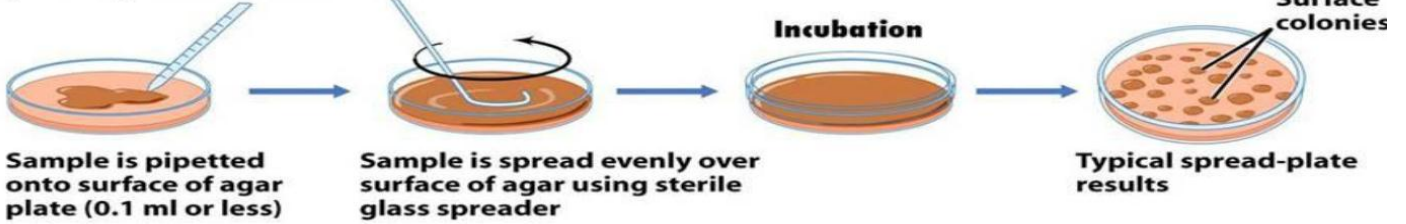
1. Snake shape (Zigzag)	2. Crossing shape
<ul style="list-style-type: none"> • تعقم إبرة التلقيح ذات عقدة باللهب ثم تبرد بلمس حافة الآجار، ثم تغمس الإبرة في المزرعة لتبريدها. • بطرف العقدة يتم التخطيط على سطح الآجار بشكل خط متعرج يشبه الثعبان. 	<ul style="list-style-type: none"> • يتم عمل عدة خطوط متوازية قرب أحد حواف الطبق. • تخطط عدد من الخطوط العمودية على الخطوط الأولى. • تخطط عدد من الخطوط العمودية على الخطوط الثانية. • تخطط عدد من الخطوط العمودية على الخطوط الثالثة. • (قد يتم تعقيم الإبرة باللهب بعد كل خطوة أحياناً)
	



ثانياً: طريقة الأطباق المصبوبة Pour – Plate Method

يتم في هذه الطريقة تلقح البيئة وهي مازالت في حالة سائلة. حيث ينجم عن ذلك تراكم الميكروبات مع بعضها عند النمو ويمكن فصل خليط من البكتيريا وإبعاد الخلايا عن بعضها بالتخفيف، وتثبيتها في مكانها بواسطة البيئة الصلبة، وتركها لتنمو وتكون مستعمرات تعزل بعد ذلك في أنابيب مستقلة. وعلى ذلك فإن المستعمرات تتكون في البيئة وليس على السطح فقط ويعتبر هذا ميزة في بعض الحالات، مثل دراسة تأثير مستعمرة Streptococci على كرات الدم الحمراء. بالإضافة إلى ذلك فإن طريقة الأطباق المصبوبة المنفذة بإتقان تمكننا من الحصول على توزيع منتظم للمستعمرات ومن سهولة عمليات العزل. هناك طريقتين للتلقح السائل هي :

Spread-plate method



Pour-plate method

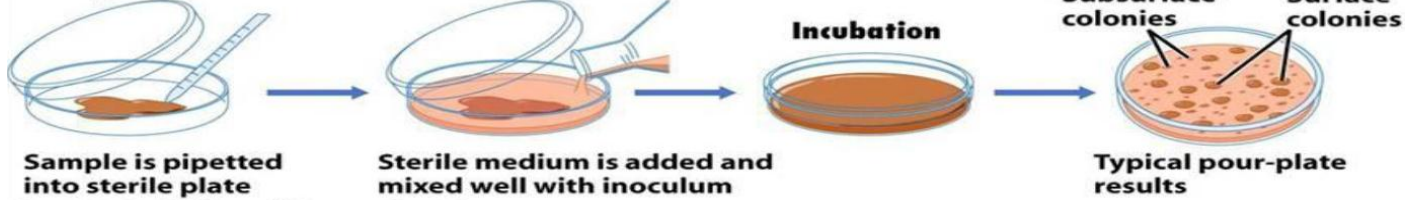


Figure 6-10 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

❖ ظاهرة التضاد بين الكائنات الحية الدقيقة Antagonistic Relationships Among

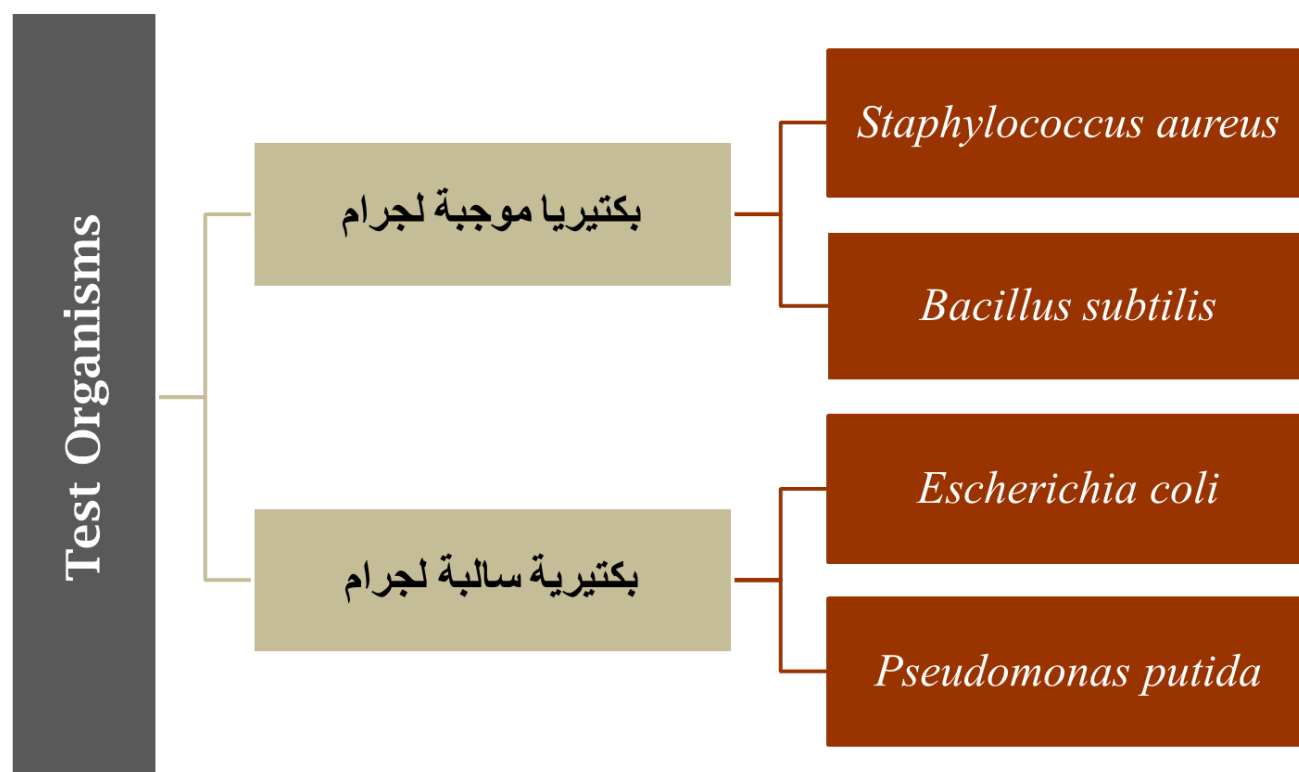
Organisms

هناك صور لتأثر الكائن المختبر للكائن المفرز للمضادات الحيوية Antagonistic Organism، فقد يكون :

1. Intermediate، أي أنه يتأثر بشكل محدود.

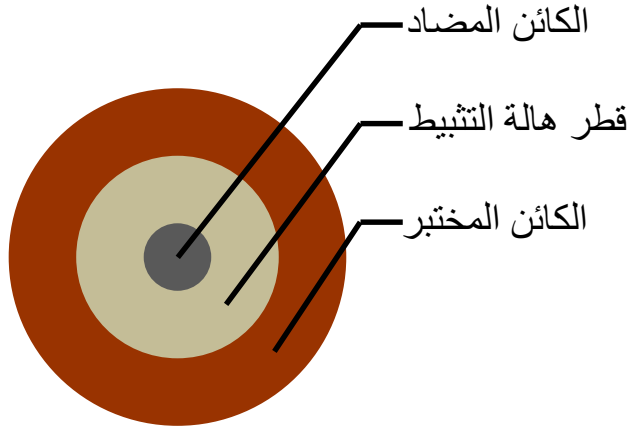
2. Susceptible، حساس أي أنه يتأثر بشكل كبير.

3. Resistant، أي أنه مقاوم لا يتأثر بالمضاد.



❖ هالة التثبيط Inhibition Zone

يثبط يثبط نمو الكائن المختبر المتأثر سواء أكان بدرجة عالية أو محدودة، و ذلك نتيجة لوجود المضادات الحيوية المنتجة من الكائن المضاد، فتظهر منطقة خالية من النمو حول مستعمرة هذا الكائن المضاد تعرف ب هالة التثبيط Inhibition zone، و يزداد حجمها مع ازدياد التأثير بالمضاد المنتج ودرجة تركيزه.



* كيف تحدد قدرة المضاد الحيوي المنتج على تثبيط الكائن المختبر؟

لتحديد درجة نشاط المضاد الحيوي وفعاليته ضد الكائن المختبر، يتم قياس المسافة (بالملم) بين حدود المستعمرة للكائن المنتج للمضاد الحيوي و حدود المنطقة الراقية.

