

التعرف على البكتيريا

Identification of Bacteria

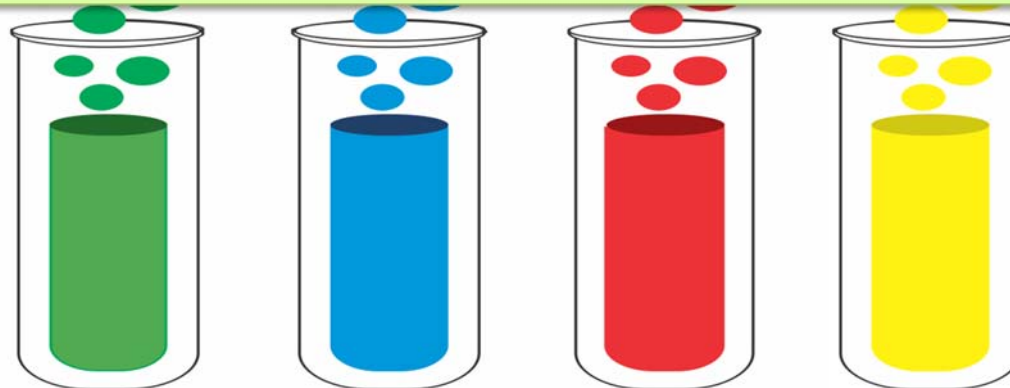
الاختبارات الكيموحيوية

Biochemical Tests

ميكروبيولوجي الأغذية

قسم علوم الأغذية والتغذية

كلية علوم الأغذية والزراعة – جامعة الملك سعود



مقدمة

تعريف

عبارة عن اختبارات للتعرف على الأنواع (species; Spp.) البكتيرية، وذلك بناءً على الاختلاف في الأنشطة الكيموحيوية بين هذه الأنواع المختلفة.

يقصد بالأنشطة الكيموحيوية: أيض الكربوهيدرات والبروتين، إنتاج إنزيمات معينة، استخدام مركبات معينة كمصدر للطاقة، و....

يتم التعرف بالاختبارات الكيموحيوية على البكتيريا إلى مستوى النوع.

ملاحظة: يسبق الاختبارات الكيموحيوية عزل البكتيريا على بيئة صلبة للحصول على مستعمرة نقية ويجرى لها صبغة جرام (أو أن تكون بيئة العزل الصلبة خاصة للبكتيريا السالبة).

أمثلة على الاختبارات الكيموحيوية:

- إنزيمات الأوكسيديز، الكاتليز، الإندول، اليوريز، ...
- تخمر السكريات، تحلل البروتين (deamination)، ...
- القدرة على النمو على مركبات فردية مثل السترات.

طاقم api20E

- شريط api20E عبارة مجموعة من الاختبارات الكيموحيوية تجرى في ٢٠ انبوب (عين) صغيرة الحجم، والحرف (E) يعني أن هذه الاختبارات خاصة بالعائلة المعوية (Enterobacteriaceae). و api تعني (analytical profile index) أي إجمالي القدرات التحليلية للميكروب.



- وهناك أطقم api للتفريق بين مجاميع ميكروبية أخرى، مثل مجموعة بكتيريا حمض اللاكتيك.
- وهناك شركات أخرى تنتج أطقم مشابهة لنفس الهدف (اختبارات كيموحيوية).



الأدوات والمحاليل اللازمة لإجراء api20E

- مزرعة بكتيرية نقيه (سالبة لجرام ، معوية) نشطة.
- شريط api20E ، مع المحاليل الإضافية والكواشف التالية:
 - محلول ملحي معقم (٥مل) ، زيت معدني معقم.
 - محاليل : Oxidase, VP1, VP2, JAMES (KOVAC's), TDA, NIT1, NIT2

خطوات العمل

- التأكد من أن الميكروب سالب لصبغة جرام.
- ملء عيون الوعاء البلاستيكي الحامل لشريط الاختبارات بماء معقم.
- تؤخذ ٢-٤ مستعمرة بكتيرية نقية ونشطة وتضاف إلى ٥ مل محلول ملحي معقم، وترج جيداً حتى تظهر عكارة خفيفة.
- باستخدام ماصة باستير المعقمة يتم إضافة قطرات من المعلق البكتيري (الخطوة السابقة) في عيون شريط الاختبارات حتى حافة العين السفلى، ثم يضاف قطرات من المعلق للاختبارات المحاطة بخط مستطيل من الأسفل حتى نهاية الأنبوبة، بينما تملأ الاختبارات التي تحتها خط بالزيت المعدني.
- يكتب على جانب الشريط بيانات خاصه بالميكروب المراد تعريفه ويوضع الشريط داخل الوعاء الخاص به ويحضن على درجة حرارة من ٣٥-٣٧م لمدة ١٨-٢٤ ساعة.

- بعد انقضاء فترة التحضين توضع الكواشف كما يلي: (تعد العيون من اليسار إلى اليمين)
- في العين (٨) تضاف قطره من محلول (TDA) وتؤخذ النتيجة مباشرة.
- في العين (٩) تضاف قطرة من محلول (JAMES) وتؤخذ النتيجة بعد دقيقتين.
- في العين (١٠) تضاف قطرة من (VP1) و قطرة من (VP2) وتؤخذ النتيجة بعد ١٠ دقائق.
- في العين (١٢) تضاف قطرة من (NIT1) و قطرة من (NIT2) وتؤخذ النتيجة بعد ٥ دقائق.
- تضاف قطره من محلول الـ OXIDASE للنتيجة السالبة في العين (١) أو العين (٦) وتؤخذ النتيجة بعد ٥-١٠ دقائق.

خطوات العمل

- تترجم الألوان الناتجة من الاختبارات إلى أرقامٍ على النحو التالي:
 - تقسم الاختبارات البالغ عددها ٢٠ مضافاً إليها اختبار أنزيم الأوكسيديز (ليصبح العدد ٢١) إلى ٧ مجموعات كل مجموعة تحتوي على ٣ اختبارات كما يظهر على ورقة التقرير المرفقة.
 - يعطى الرقم ١ للاختبار الأول الموجب لكل مجموعة، ويعطى الرقم ٢ للاختبار الثاني الموجب لكل مجموعة، و يعطى الرقم ٤ للاختبار الثالث الموجب لكل مجموعة.
 - يتم تجميع القيم الناتجة لكل مجموعة وبالتالي يتم الحصول على ٧ أرقام ، وهذه الأرقام السبعة تسمى القطاع الرقمي والخاصة بميكروب معين
 - بواسطة القطاع الرقمي يتم الرجوع إلى قاعدة البيانات الخاصة بالشركة ومن ثم التعرف على الميكروب المجهول.

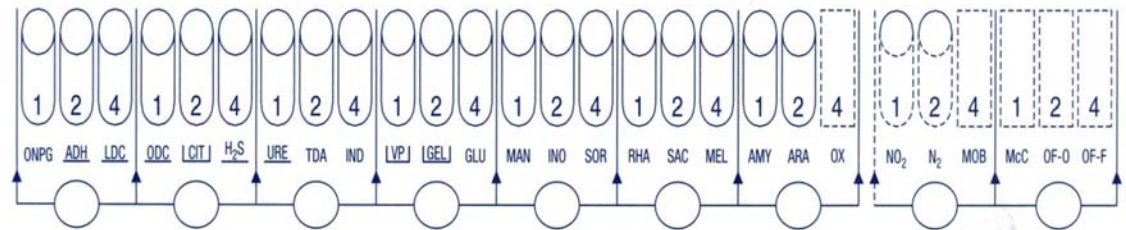
الشريط بعد إضافة المعلق وقبل التحضين (سالِب)



الشريط بعد التحضين وحدثت تغيرات (موجب)



القطاع الرقمي



متابعة إجراء الطريقة في مقطع الفيديو على الرابط التالي :

<https://www.youtube.com/watch?v=ekRPD-eojd4>

إذا لم يعمل الفيديو بالضغط المباشر على الرابط، فيتم نسخه ومن ثم لصقه في موقع اليوتيوب.