

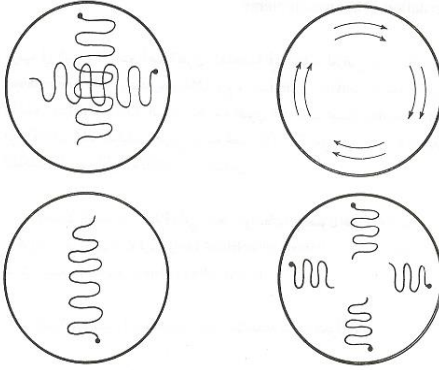
(سبحان الله وبحمده عدد خلقه ورضا نفسه وزنة عرشه ومداد كلماته)

تنقية المزارع البكتيرية Purification of bacterial cultures

- 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



أ) التخطيط البسيط

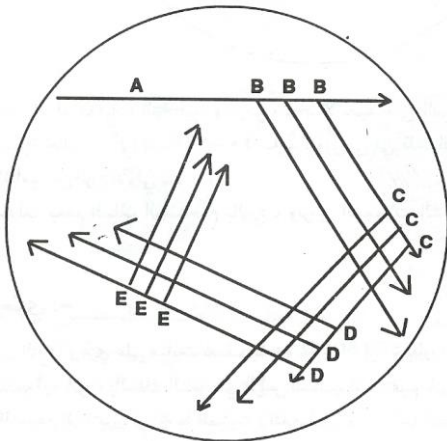
طريقة العمل:

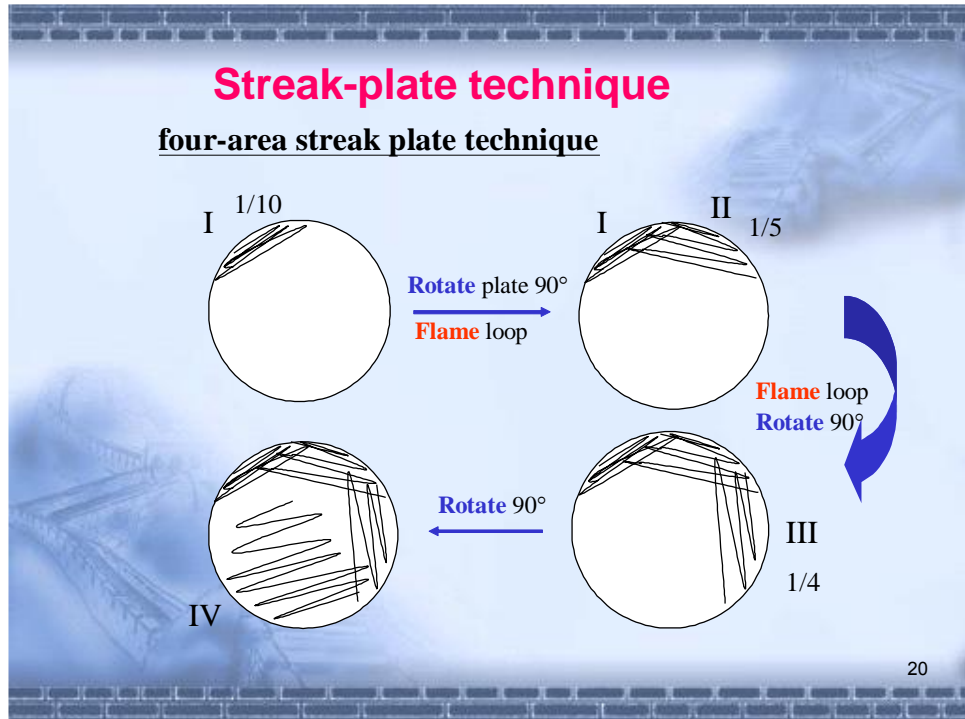
- 1- تحت ظروف التعقيم, تعقم ابرة التلقيح باللهب ثم تبرد بلمس حافة الاجار
- 2- تؤخذ ملء عقدة Loopfull من المزرعة المختلطة ويخطط على سطح البيئة الصلبة
- 3- تكتب البيانات اللازمة أسفل الطبق
- 4- تحضن الأطباق مقلوبة عند 37م لمدة 24 ساعة
- 5- لاحظي ظهور مستعمرات فردية في الجزء الأخير من التخطيط

ب) 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 أسفل الطبق ثم تحضن الأطباق مقلوبة عند 37م لمدة 24 ساعة
- 4- لاحظي النمو الكثيف في منطقة الخطوط الاولى يقل تدريجيا حتى تظهر مستعمرات فردية في اخر التخطيط.





Confluent growth at beginning of streak

Isolated colonies at end of streak



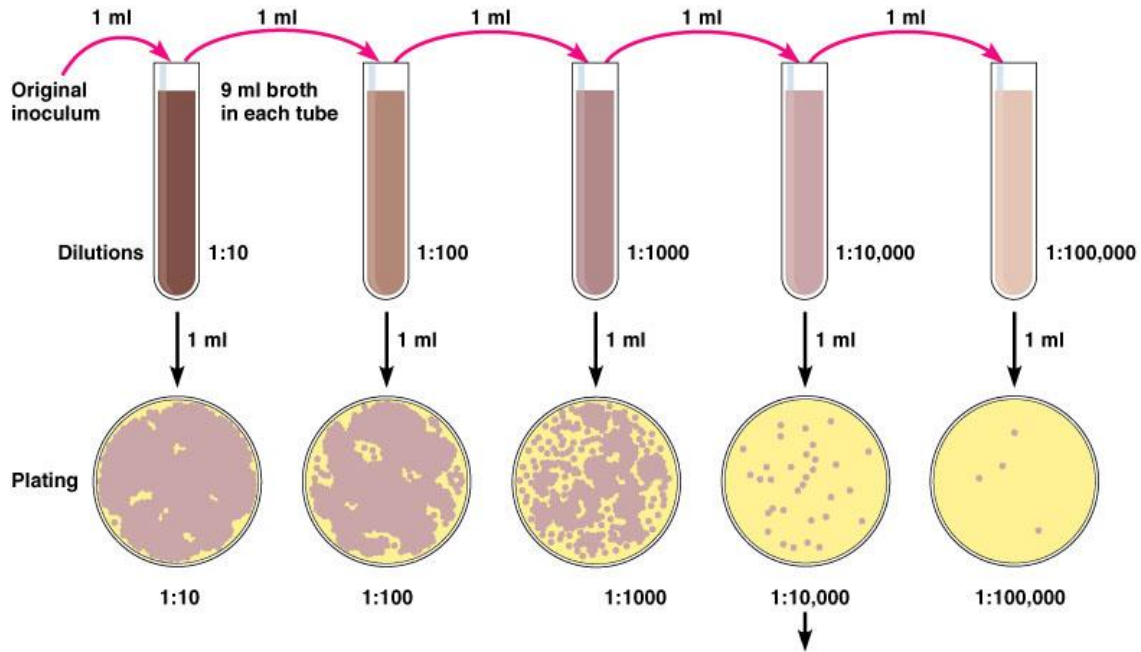
James A. Shapiro, University of Chicago

Figure 5-4c. Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

ثانيا: طريقة الأطباق المصبوبة Pour Plate Method

طريقة العمل:

- 1- تحت ظروف التعقيم, كل مجموعة لديها 6 أطباق بتري فارغة معقمة تدون عليها المعلومات.
- 2- كل مجموعة لديها 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 بآبرة التلقيح
- 5- ينقل من الطبقة الاول الى الطبقة الثاني ملء 4 عقد وتخلط مع الماء وهكذا.....
- 6- لكل طبق يصب كمية مناسبة من بيئة الاجار المغذي السائلة والمبردة عند 45م
- 7- تترك الاطباق في جو المعمل حتى تتصلب البيئة
- 8- تحضن الأطباق مقلوبة عند درجة حرارة مناسبة من 30-37م لمدة 24 ساعة
- 9- حددي الأطباق التي ظهر فيها مستعمرات فردية واضحة



Calculation: Number of colonies on plate \times 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 $32 \times 10,000 = 320,000/\text{ml}$ in sample.)

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

مالقصود من التنقية؟
هل يمكن تعريف الميكروب في بيئته الطبيعية؟
اقترحي طريقة معملية سهلة وسريعة لتنقية مزرعة بكتيرية؟
كيف تثبتين أن المزرعة المستقلة نقية؟

* ملاحظة: تدون نتائج المعمل السابق ويكتب التقرير

حفظ المزارع البكتيرية

بعد عزل البكتيريا في مزرعة نقية Pure Culture يمكن حفظها لفترة زمنية حسب نوع الميكروب المعزول والهدف من الحفظ
- لا توجد طريقة عامة لحفظ الميكروبات, لكن هناك عدة طرق للحفظ منها

- 1- الحفظ بالنقل الدوري Preservation by Periodic Transfer
- 2 الحفظ في الزيت المعدني Preservation under Mineral Oil
- 3- الحفظ في الماء Preservation in Water
- 4- الحفظ في السيليكا جيل Preservation in Silica Gel
- 5- الحفظ بالتجميد Preservation by Deep Freezing
- 6- الحفظ بالتجفيد Preservation by Lypholyzation
- 7- الحفظ في النيتروجين السائل Preservation in Liquid Nitrogen

Slant inoculation طريقة تخطيط انبوبة الاجار المائل (لحفظ البكتيريا)

