

# علم البكتيريا

محاضرة ٦



## التقدير الكمي للنمو للبكتيريا

# Quantitative measurement of bacterial growth

يعتبر التقدير الكمي للنمو البكتيري مهم جدا في معظم الدراسات التطبيقية  
يعتبر أساسا في تقدير تأثير مختلف المعاملات الفيزيائية أو الكيميائية مثل درجة الحرارة و الرقم الهيدروجيني على نمو  
البكتيريا وتكاثرها .

وهناك العديد من الطرق لحسابه :

اولا: تقدير عدد الخلايا cell count مباشرة ( المجهر) او بطريق غير مباشر (عد المستعمرات)

ثانيا: تقدير الكتلة الخلوية مباشرة ( الوزن الرطب او الجاف) – (كمية النيتروجين) او بطريقة غير مباشرة (درجة العكارة)

ثالثا: تقدير النشاط الخلوي وهي طريقة غير مباشرة لتقدير النمو ( مقارنة النشاط الانزيمي)

# أولاً: تقدير عدد الخلايا (المباشر)

## ١- التقدير المباشر بالمجهر:

- عمل تحضيرات مصبوغة من المزرعة البكتيرية المراد قياس كمية نموها
- يمكن استعمال الشرائح الخاصة بتقدير عدد كريات الدم (petroff Hauser)

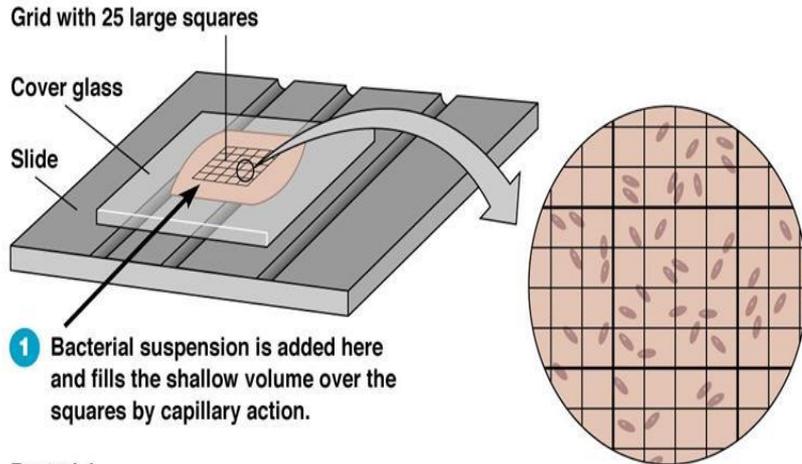
## • تتميز الطريقة بـ

- بسبب
- سرعة الحصول على النتائج
- إمكانية التعرف على الشكل المورفولوجي للخلايا أثناء عدّها

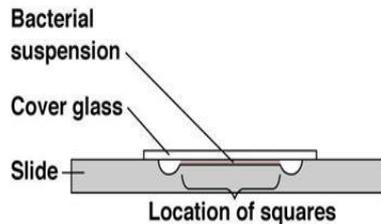
## • العيوب:

- عدم القدرة على التمييز بين الخلايا الحية والميتة
- ليست دقيقة
- إجهاد البصر

## The Petroff-Hauser Counting Chamber



- 1 Bacterial suspension is added here and fills the shallow volume over the squares by capillary action.

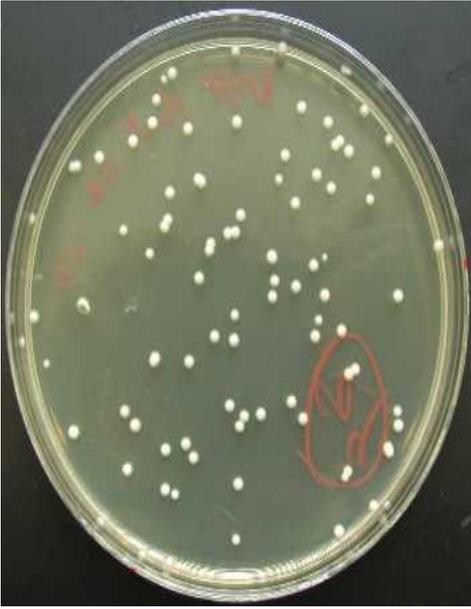


- 2 Cross section of a cell counter. The depth under the cover glass and the area of the squares are known, so the volume of the bacterial suspension over the squares can be calculated (depth  $\times$  area).

- 3 Microscopic count: All cells in several large squares are counted, and the numbers are averaged. The large square shown here has 14 bacterial cells.

- 4 The volume of fluid over the large square is  $1/1,250,000$  of a milliliter. If it contains 14 cells, as shown here, then there are  $14 \times 1,250,000$  (17,500,000) cells in a milliliter.

## تقدير عدد الخلايا ( الغير المباشر )



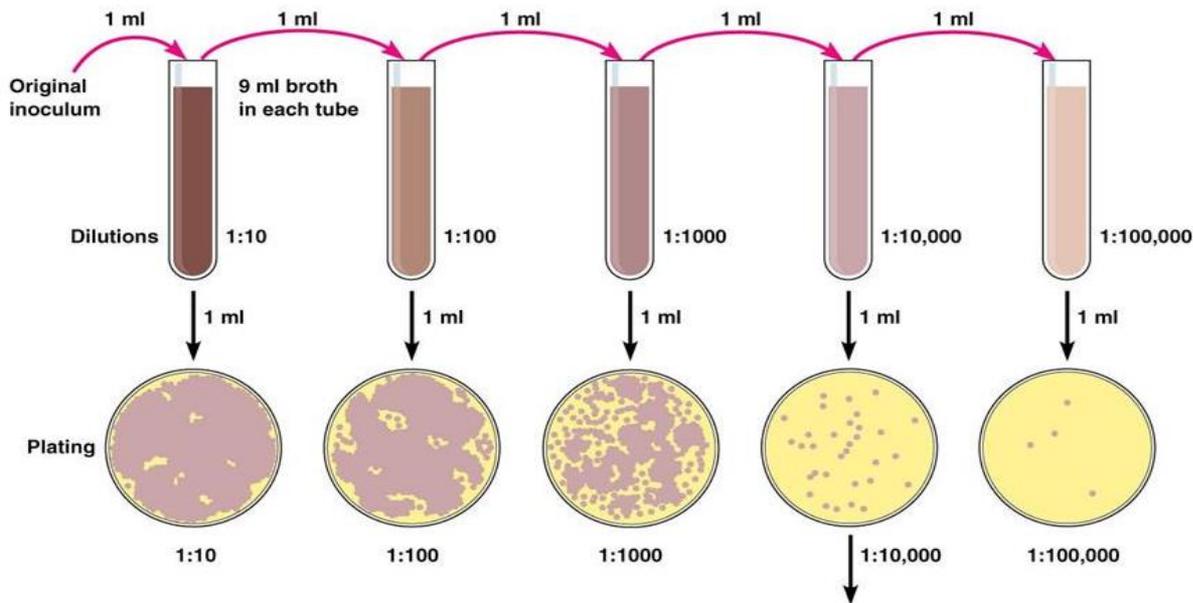
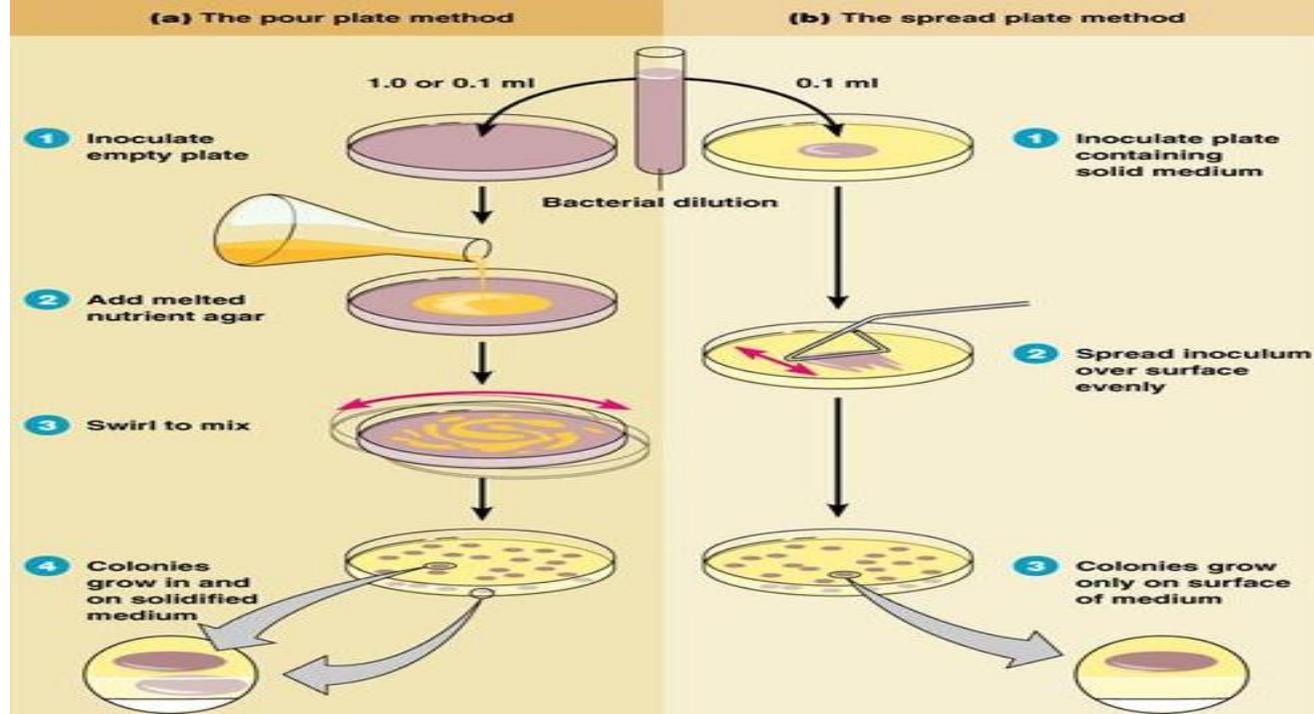
### ٢- التقدير الغير مباشر بواسطة عد المستعمرات colony count او طريقة عد الاطباق plate count

- يوضع كمية معلومة من اللقاح البكتيري في الطبق وتصب عليه البيئة
- كل خلية عند تكاثرها تعطي كتلة من الخلايا المتجمعة تعرف باسم المستعمرة
- تقدير عدد المستعمرات في الطبق يكون متلازما مع عدد الخلايا الحية
- يتم عد الاطباق التي تتراوح عدد المستعمرات فيها بين ٣٠-٣٠٠ مستعمرة (لتوفير الدقة - وتقليل تداخل المستعمرات)
- من اكثر الطرق المتبعة وبشكل مستمر في تقديرات عدد البكتيريا في العينات

**على الرغم من انها قد:**

لا تمثل الحقيقة نظرا لاختلاف الانواع البكتيرية في احتياجاتها- بعض الخلايا قد تتحد مع بعضها في تجمعات يصعب فصلها الى خلايا فردية فيقل عدد الخلايا عن العدد الفعلي لها





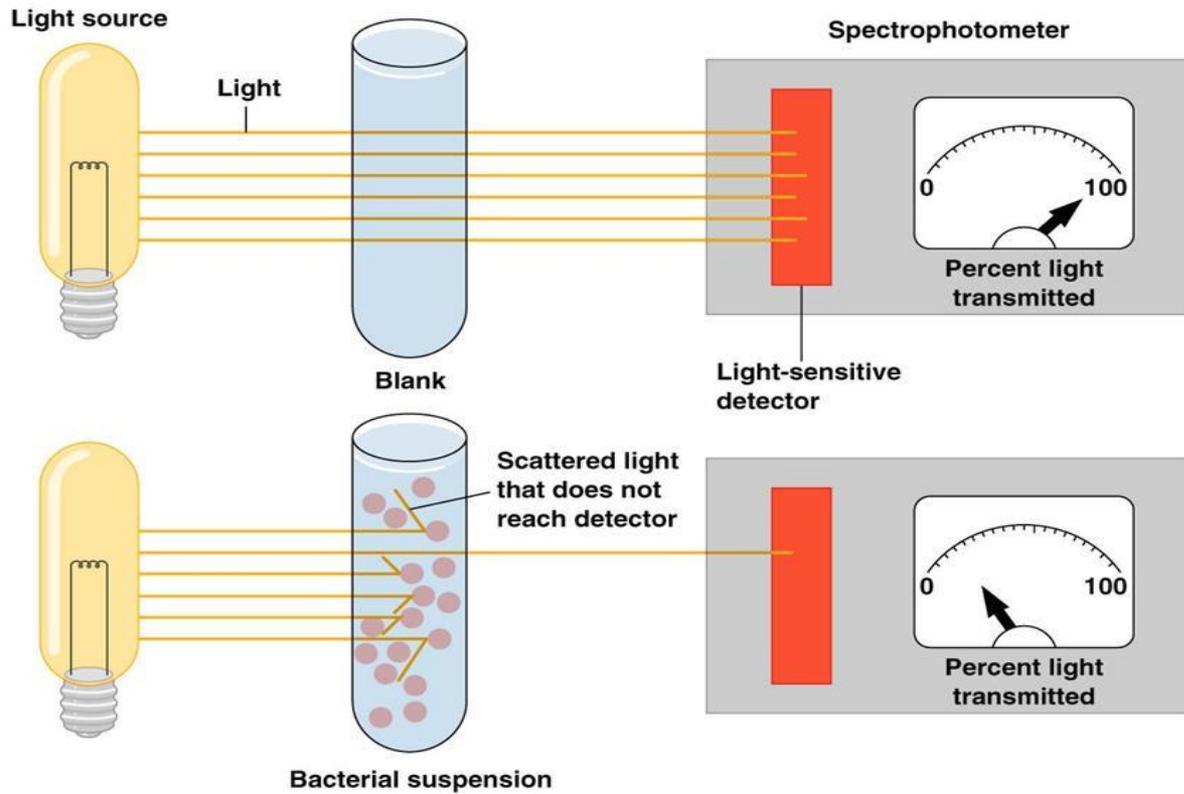
Calculation: Number of colonies on plate  $\times$  reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml  
 (For example, if 32 colonies are on a plate of  $1/10,000$  dilution, then the count is  $32 \times 10,000 = 320,000$  bacteria/ml in sample.)

## ثانياً: تقدير الكثافة الخلوية ( تقدير الكتلة الخلوية – طريقة غير مباشرة)

### ١- تقدير كثافة المعلق البكتيري بالقياسات البصرية ( طرق لونية colorimetric - سبكتروفوتوميتر spectrophotometer - تقدير درجة التعكير turbidimetric )

- يجرى التقدير بقياس درجة تعكير المزرعة البكتيرية اعتماداً على قياس الامتصاص , absorption وأساس هذه الطريقة أنه عند نمو خلايا بكتيرية في وسط غذائي سائل يزداد عددها زيادة ملحوظة مما ينشأ عنه تعكير في الوسط الغذائي ، وتتوقف درجة التعكير على نوع وعدد الخلايا البكتيرية التي تم تلقيحها في الوسط الغذائي
- في كل حالة يراعى اختيار الطول الموجي الضوئي wave length المناسب للبكتيريا وهو الطول الموجي الذي تكون فيه درجة امتصاص الخلايا أو المحلول أو المعلق المستعمل أكبر ما يمكن .
- كلما زاد تعكير البيئة بالخلايا كلما قلت القراءة بالجهاز





Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Figure 6.20 - Overview (1 of 3)

## ثانيا: تقدير الكثافة الخلوية (الطريقة المباشرة)

- ١- تقدير الوزن الجاف او الرطب للنمو البكتيري:  
تقدير حجم الخلايا عن طريق قوة الطرد المركزي عالية السرعة و يقدر حجم الراسب
- الوزن الرطب: فصل الخلايا من البيئة السائلة بعد ترسيبها بالطرد المركزي- تغسل الخلايا بالماء المقطر- وتكرر العملية
- الوزن الجاف: يجفف حجم معلوم من المعلق على درجة حرارة مرتفعة، ثم يوزن

- ٢- تقدير النمو البكتيري بقياس محتويات الخلايا من النيتروجين
- غالبية المحتويات الخلوية البكتيرية عبارة عن بروتينات، والنيتروجين من اهم مكونات البروتين
- كمية النيتروجين في الخلايا البكتيرية تكون متلازمة مع عددها وحجمها
- عيوبها: لا يمكن اجراؤها الا في العينات الخالية من أي مصدر نيتروجيني غير البكتيريا

## ثالثا: تقدير النشاط الخلوي

- طريقة تقدير غير مباشرة من خلال قياس التغيرات الكيميائية المعينة التي تحدث لاحد مكونات البيئة
- تستخدم تحت ظروف بحثية خاصة
- مثال: بكتيريا تخمر الجلوكوز المكونة للاحماض
- كمية الحمض المتكونة تتناسب مع المجموع البكتيري في المزرعة