الكلية	كلية التربية للعلوم الصرفة
القسم	علوم الحياة
المادة باللغة الانجليزية	Practical Microbiology
المادة باللغة العربية	الاحياء المجهرية – العملي
المرحلة الدراسية	الثالثة
اسم التدريسي	م. عمر ضياء الدين صلاح الدين
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Bacterial count
عنوان المحاضرة باللغة العربية	حساب اعداد البكتريا
رقم المحاضرة	٦
المصادر والمراجع	
	"Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"، "microbiology"

محتوى المحاضرة

حساب العدد الكلي للبكتريا

1- العد المجهري المباشر Direct microscopic count (D.M.C.)

يتم تقدير عدد البكتريا مباشرة بواسطة المجهر وذلك بنثر حجم معين من المحلول المحتوي على الاحياء المجهرية على مساحة او حجم محدد موجود في سلايد خاص خاص معد لهذا الغرض ويقدر عدد الحقول المجهرية من المساحة المحددة ثم يحسب معدل عدد البكتريا في الحقل الواحد ويضرب الرقم في عدد الحقول لاستخراج عدد البكتريا في النموذج المأخوذ وهناك طريقتان رئيسيتان للعد المجهري المباشر :

A- طريقة Breed

ينشر 0.01 سم^3 على مساحة 1 سم^2 من الشريحة ثم يثبت ويصبغ بالمثلين الازرق ويفحص تحت المجهر وبما انه ليس من العملي حساب عدد الخلايا في المساحة جمعياً لذا تنتخب عدة حقول مجهرية بصورة عشوائية ومن ثم تحسب بالمعادلة التالية:

عدد البكتريا /1مل = معدل عدد البكتريا في الحقل الواحد × عدد الحقول المجهرية في المساحة المحددة × 100

من عيوب هذه الطريقة عد كافة الخلايا الحية والميتة وكذلك صعوبة نشر العينة بصورة متجانسة تماماً .

B - طريقة Petroff –Hausser chamber

عبارة عن سلايد خاص مقسم بصورة دقيقة ومضبوطة الى مربعات مساحة كل منها تساوي 400/1 ملم^2 ومغطاة بغطاء زجاجي يرتفع عن الشريحة بمقدار 50/1 ملم اذ ان الحجم في المكعب الواحد يساوي 20000/1 ملم ^{3} يوضع المعلق البكتيري غير المصبغ بحجم معلوم ومن ثم يفحص بالمجهر وهي طريقة سهلة وسريعة وتحتاج القليل من الادوات ويمكن ملاحظة الشكل الخارجي للخلايا اثناء عملية العد كما يجب تخفيف المعلق الكثيف جدا اذ يحسب العدد بالمعادلة التالية:

عدد البكتريا /1مل= عدد البكتريا المحسوبة في الحقول × 20000 ×مقلوب التخفيف

عدد الحقول المجهرية

2- الطريقة غير المباشرة

طريقة العد القياسي للاطباق Standard plate method :

يتم في هذه الطريقة حساب عدد الخلايا الحية فقط الموجودة في العينة الاصلية تفترض هذه الطريقة ان كل مستعمرة نامية في الطبق ناتجة من خلية واحدة وبهذا يكون عدد المستعمرات ممثلا لعدد البكتريا او الاحياء المجهرية الاخرى . يتم تخفيف النموذج المراد حساب العدد فيه الى الدرجة التي يمكن الحصول فيها على عدد من المستعمرات يتراوح بين 30-300 مستعمرة نامية في الطبق الواحد ونظرا لصعوبة التنبؤ بالتخفيف الذي يعطي مثل هذا العدد يجب عمل سلسلة من التخافيف للمحلول البكتيري في انابيب اختبار ثم يسكب محتوى كل انبوبة في طبق بتري حاوي على وسط N.A. ، تحضن الاطباق تحت درجة حرارة 30-35 °م لمدة 24 او 48 ساعة ثم يتم اختيار الطبق الحاوي على التخفيف الملائم وتحسب اعداد البكتريا كالآتي :

عدد البكتريا /1مل = عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف

في هذه الطريقة نلاحظ تناقص اعداد المستعمرات الناتجة بسبب عملية التخفيف والذي يساعد في الحصول على مستعمرات معزولة بصورة جيدة ويمكن بواسطة هذه الطريقة الحصول على معلومات جيدة عن كمية ونوعية البكتريا الموجودة في العينة الاصلية .

جامعة الانبار
1987 1428
UNIVERSITY OF ANBAR