طرق عد الأحياء المجهرية في العينات الغذائية

1. العد المجهري Direct microscopic count

تمتاز هذه الطريقة بأنها سريعة وسهلة او بسيطة وغير مكلفة وتعد الخلايا الحية والميتة.

وتتم بأخذ 0.01 مل من التخفيف المراد فحصه وتوضع على شريحة زجاجية نظيفة وتنشر وتثبت بالحرارة بعد ذلك تصبغ بطريقة التصبيغ البسيط (صبغة واحدة) بأستخدام crystal violet or safranin بعد التصبيغ تفحص الشريحة تحت المجهر بأستخدام العدسة الزيتية ونحسب اعداد الجراثيم الظاهرة في الحقل المجهري.

تحسب اعداد الجراثيم في 5 حقول مختلفة وتسجل حتى نضمن توزيع بالتساوي في الحقول ثم يستخرج العدد الكلي وهو عدد الجراثيم على عدد الحقول.

عدد الجراثيم / مل = معدل عدد الجراثيم في الحقل المجهري × مقلوب التخفيف × 100

عادة ما تستخدم هذه الطريقة مع عينات الغذاء السائل مثل الماء والحليب

2. طريقة عد الأطباق Plate count

تمتاز هذه الطريقة بأنها معقدة نوعاً ومكلفة وتحتاج الى وقت كما تمتاز بأنها تعد الخلايا الحية فقط.

تقسم هذه الطريقة الى قسمين:

1. طريقة الصب Pour plate method

2. طريقة التخطيط Streaking method or technique

1. يؤخذ1 مل من التخفيف المراد زرعه ويوضع في طبق بتري معقم ويصب عليه 25 مل من الوسط الزرعي مثل nutrient agar بدرجة حرارة 45°م بعد ذلك يحرك الطبق بأتجاه وعكس عقارب الساعة حتى يتجانس بعد ذلك تترك الاطباق لكي تتصلب ثم تحضن بدرجة حرارة 30 °م لمدة 24-48 ساعة.

2. يؤخذ 0.1 مل من التخفيف المراد زرعه ويوضع في طبق بتري حاوي على الوسط الزرعي مثل N.A وينشر بطريقة التخطيط بعد ذلك تحضن الاطباق بدرجة 30°م لمدة 24-48 سا.

- نستخرج الاطباق وتسجل اعداد واشكال المستعمرات النامية عليه (بعد الحضن)

تحسب الاطباق التي تتراوح عدد المستعمرات فيها من 30-300 مستعمرة وذلك لان عدد المستعمرات اذا كان اكثر من 300 سوف تكون المستعمرات متزاحمة ومتداخلة ويكون من الصعب عدها او التميز بين اشكالها اما اذا كان العدد اقل من 30 فهذا قد لا يعني بالضرورة ان تكون هذه الجراثيم قد جاءت من العينة فقد يكون مصدرها من التلوث الموجود في المختبر بعد حساب اعداد المستعمرات نحسب اعداد الجراثيم لكل 1 غم من الغذاء بأستخدام القوانين التالية :

1. التخفيف الابتدائي = وزن العينة / وزن العينة + حجم الماء المستخدم في التخفيف

2. عدد الجراثيم لكل غم /غم= مقلوب التخفيف الأبتدائي × مقلوب التخفيف الثانوي × مقلوب العينة من التخفيف الثانوي

مثال (1) : في احدى حالات التسمم وزن 13 غم من اللحم واضيف له 65 مل من الماء المقطر وبعد تحويله الى مستحلب واجراء سلسلة التخافيف اخذ 0.1 مل من التخفيف 10^{-5} وزرع على وسط N.A وبعد الحضن كان عدد المستعمرات 99 مستعمرة

التخفيف الأبتدائي = 13/ 13+65 = 78/13

عدد الجراثيم / غم = 78/ 13 * 10^5 * 10 *99

مثال (2) : 21 غم من الجبن اضيف له 99 مل من الماء المقطر وبعد اجراء سلسلة من التخافيف وزراعة 0.2 مل من تخفيف 10^{-4} على وسط MSA كان عدد المستعمرات *Staph. aureus* هو 103 مستعمرة. ماهي عدد جراثيم *Staph. aureus* لكل غرام من العينة ؟

3. طريقة العدد الاكثر احتمالا Most Probable Number

تمتاز هذه الطريقة بأنها مكلفة ومعقدة وتحتاج الى وقت كما تمتاز بأنها تعد الخلايا الحية فقط. تلائم هذه الطريقة دراسة العينات السائلة كما تستخدم بكثرة في الدراسات الاحصائية. يتم في هذه الطريقة تحضير مجاميع من انابيب الاختبار كل انبوبة اختبار حاوية على 10 مل من وسط N.B تقسم هذه الانابيب الى مجاميع كل مجموعة تحوي اما 3 او 5 او 10 انابيب اختبار.