

طريقة عد الأحياء المجهرية بالتخفيف Plate count method

وهي من الطرائق غير المباشرة في عد البكتيريا والفطريات والأحياء المجهرية الأخرى وتتميز بأنها تحسب الخلايا الحية فقط وذلك من خلال تنميتها في وسط غذائي مناسب للكائن الحي المراد تقدير عدده في التربة أو أي وسط آخر كالأغذية و الحليب وغيرها.

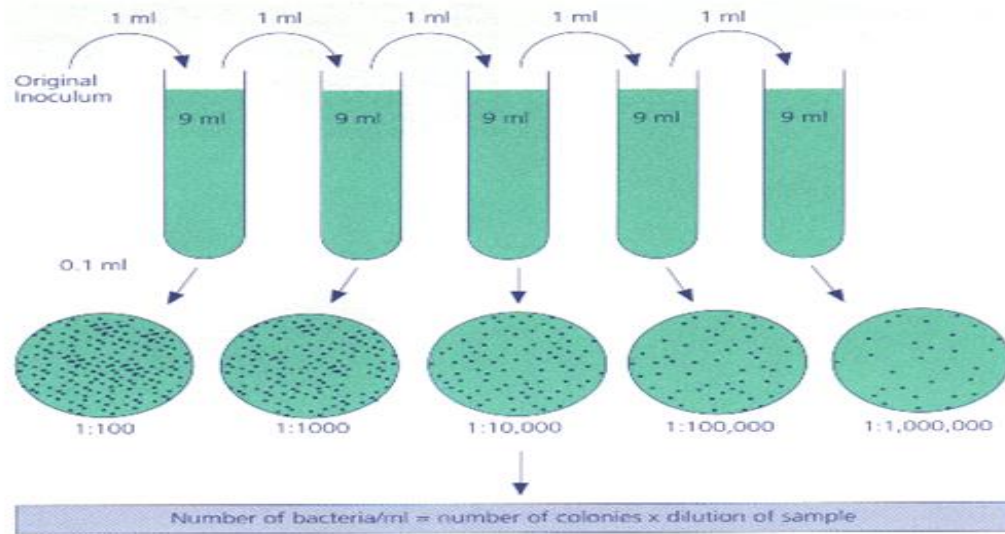
المواد والأدوات المستخدمة

- أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة
- ماصات زجاجية معقمة
- اوساط غذائية مختلفة
- أطباق بتري معقمة
- مصباح بنزن
- عينة تربة
- ماء مقطر

طريقة العمل

- 1- نأخذ 1 غم تربة ويضاف الى 9 مل ماء مقطر أو 10 غم الى 90 مل ماء مقطر، وترج الانبوبة جيداً فيصبح هذا التخفيف 10:1 اي 10⁻¹ فيصبح هذا التخفيف الأول.
- 2- ينقل 1مل من التخفيف السابق بواسطة ماصة معقمة الى 9 مل ماء مقطر فيصبح هذا التخفيف الثاني 100:1 اي 10⁻² , وترج الانبوبة.
- 3- ينقل 1مل من التخفيف السابق 100:1 بواسطة ماصة معقمة الى 9 مل ماء مقطر فيصبح هذا التخفيف الثالث 1000:1 اي 10⁻³ , وترج الانبوبة.
- 4- نكرر الخطوات السابقة الى ان نصل الى التخفيف 1000000:1 اي 10⁻⁶ مع مراعاة استبدال الماصة في كل خطوة بماصة جديدة و معقمة .
- 5- يؤخذ من كل تخفيف 1مل ويوضع في طبق بتري معقم وفارغ ثم يصب الوسط الغذائي المبرد لدرجة حرارة 45 °م 50 °م ثم يحرك الطبق دائرياً على الطاولة. أو يصب الوسط الغذائي في طبق البتري ثم يؤخذ 1 مل من كل تخفيف ثم ينشر باستخدام الناشر شكل حرف (L) (Spreader) ثم يحرك دائرياً، فنستخدم وسط Nutrient Agar لتنمية البكتيريا ووسط Potato dextrose Agar للفطريات.
- 6- تنقل الاطباق الى الحاضنة بدرجة حرارة 28م لمدة 24 ساعة للبكتيريا و ثلاثة ايام - اسبوع للفطريات.
- 7- نختار الاطباق الحاوية على نموات يمكن حسابها والتي تحوي على (30_300) مستعمرة , يتم الحساب بواسطة جهاز Colony Counter .
- 8- يحسب عدد الخلايا الحية في 1 غم من العينة الأصلية بضرب متوسط عدد المستعمرات في الطبق في مقلوب التخفيف المستعمل، اذا كان الحجم المأخوذ 1مل من التخفيف نتبع القانون

$$\text{عدد الخلايا في 1 غم تربة} = \frac{\text{عدد المستعمرات في الطبق}}{\text{حجم العينة المأخوذة}} \times \text{مقلوب التخفيف}$$



مثال: إذا كان عدد المستعمرات 5 من التخفيف الخامس 10^{-5} أي 1:100000

فان عدد الخلايا في 1 غم = 100000×5

9- اما اذا اخذنا 0,1 مل من التخفيف نطبق القانون الاتي:-

عدد المستعمرات في الطبق

عدد الخلايا في 1 غم تربة = $\frac{X \times \text{مقلوب التخفيف}}{\text{حجم العينة المأخوذة}}$

$$\text{عدد الخلايا في 1 غم تربة} = \frac{10^5 \times 5}{0.1}$$