طرق العد البكتيري:

هناك طريقتين رئيستين لعد البكتيريا

الأولى: الطريقة المباشرة Direct method: وتشمل: -

1- عد الأطباق Plate count

2- العد الأكثر احتمالا Most probable number

3- العد المجهري المباشر Direct microscopic count

1. **طريقة عد الأطباق Plate count method:**

- **طريقة صب الأطباق Pouring method:** تعمل سلسلة من التخافيف العشرية ثم ينقل مقدار مناسب من التخفيف المناسب إلى طبق بتري معقم ويصب فوقه الوسط الزرعي المناسب مثل Nutrient agar.
- **طريقة النشر Spreading method:** يحضر الوسط الزرعي المناسب مسبقا ويصب في الأطباق ثم ينقل مقدار 0.1 مل من التخفيف الغذائي الملائم وينشر على سطح الوسط بواسطة الناشر.

2. **طريقة العد الأكثر احتمالا Most probable number:** تخفف عينة الغذاء الى تخافيف عشرية، ثم ينقل (1 مل) من ثلاثة تخافيف متسلسلة الى 9 او 15 انبوب حاوية على وسط زرعي ملائم، مقسمة الى ثلاث مجاميع، وبعد الحضن يلاحظ النمو في كل انبوب من خلال وجود العكارة، ثم تستخرج قيمة MPN من الجداول القياسية وتضرب بمقلوب اعلى تخفيف، لاستخراج العدد الكلي من البكتيريا في 1 مل من عينة الغذاء.

3. **Direct microscopic count:** تعد البكتيريا الحية والميتة، وتستعمل خاصة في العينات السائلة. ينقل 0.01 مل (10 مايكرو لتر) من العينة الى وسط الشريحة الزجاجية المحدد عليها 1 سم^2 مسبقا وتنشر العينة وتترك لتجف في الهواء ثم يثبت الغشاء بالبخار لمدة 5 دقائق وتزال الحبيبات الدهنية بالزايلول ثم الكحول ثم الماء بعدها تصبغ العينة وتفحص بعد أن تجف. ويطبق القانون التالي:

$$\text{عدد البكتيريا (1 مل)} = \frac{\text{مجموع البكتيريا في كل الحقول} \times \text{مقلوب التخفيف}}{\text{عدد الحقول} \times \text{حجم العينة}}$$

الثانية: الطرق غير المباشرة Indirect methods: وتشمل

- Spectrophotometer method
- Turbidometeric method
- Dry weight

طرائق تشخيص البكتيريا

تقسم طرائق التشخيص إلى 4 أقسام:

أولاً: الفحص المجهري: لتحديد شكل الخلايا وطريقة تجمعها وغيرها ويشمل:

1- الفحص المباشر للعينة: مثل تقنية القطرة المعلقة.

2- التصبيغ: مثل صبغة جرام وصبغة زيل نيلسن وصبغة فحص السبور (الملاكايت الخضراء)

3- فحوصات الحقل المظلم:

4- الفحوصات التألقية المناعية المباشرة:

ثانيا: زراعة وعزل الكائنات الدقيقة:

1- الزراعة على أوساط انتخابية: مثل وسط Staph No.110 لعزل بكتريا Staphylococcus

2- أشكال ومواصفات المستعمرات النامية على الأوساط الزرعية.

3- قابلية النمو في ظروف هوائية أو لاهوائية.

4- الفحوصات الكيموحيوية: مثل اختبار الكاتليز و الاوكسيديز وفحوص IMViC وغيرها.

ثالثا: الكشف عن جزيئات خاصة بالكائن المسبب للمرض:

1- الكشف عن انتيجينات البكتريا

آ- طريقة الفحص المناعي الأنزيمي

ب- طريقة التخثر

2- الكشف عن تسلسل الحامض النووي

آ- فحص الاستدلال على الحامض النووي للكائن الدقيق

ب- فحص PCR

رابعا: الفحوصات المصلية:

1- فحوصات التخثر: لتشخيص الحمى المالطية والتيفوئيد وغيرها.

2- فحص تثبيت المكمل: لتشخيص الاصابات الفطرية والفيروسية وحمى Q.

3- الفحوصات التألقية المناعية غير المباشرة: للكشف عن البكتريا المسببة لمرض الزهري Treponema وبكتريا Borrelia والركتسيا.