

طرق العزل واخذ العينات

هناك طريقتين لعزل البكتيريا وهما

الاولى: الطريقة المباشرة **Direct method**: وتشمل:-

1- عد الاطباق **Plate count** وتجرى بعدة طرق مثل الصب **pouring** او النشر
Spreading..

A. **Plate count method** : اكثر الطرق شيوعا في تعداد البكتيريا الهوائية والاختيارية اللاهوائية في الاغذية لإعطاء انطباع عن نوعية المحتوى المايكروبي للأغذية ومدى صلاحيته للاستهلاك البشري.

B. **Pouring method** : تعمل سلسلة من التخفيف العشرية ثم ينقل مقدار مناسب من التخفيف المناسب الى طبق بتري معقم ويصب فوقه الوسط الزرعي المناسب مثل **Plate count agar or Nutreint agar**.

C. **Spreading method**: يحضر الوسط الزرعي المناسب مسبقا ويصب في الاطباق ثم ينقل مقدار 0.1 مل من التخفيف الغذائي الملائم وينشر على سطح الوسط بواسطة الناشر **Spreader** من التخفيف الاعلى الى الاوطى.

2- **العد الاكثر احتمالا Most probable number** : تخفف عينة الغذاء الى تخفيف عشرية ثم ينقل (10 و 1 و 0.1 مل) من التخفيف الملائم الى 9 انابيب حاوية على وسط زرعي ملائم مقسمة الى ثلاث مجاميع وبعد الحضان يلاحظ النمو في كل انبوب من خلال وجود العكورة ثم تستخرج قيمة **MPN** من الجداول القياسية وتضرب بمعكوس التخفيف لاستخراج العدد الكلي من البكتيريا في 1 مل من عينة الغذاء.

3- **العد المجهري المباشر Direct microscopic count** : تعد البكتيريا الحية والميتة وتستعمل خاصة في العينات السائلة. ينقل 0.01 مل من العينة الى وسط الشريحة الزجاجية المحدد عليها 1 سم 2 مسبقا وتنتشر العينة وتترك لتجف في الهواء ثم يثبت الغشاء بالبخار لمدة

5 دقائق وتزال الحبيبات الدهنية بالزايول ثم الكحول ثم الماء بعدها تصبغ العينة وتفحص بعد ان تجف. ويطبق القانون التالي:

عدد البكتيريا (1 مل) = مجموع البكتيريا في كل الحقول / عدد الحقول \times مقلوب التخفيف \times حجم العينة

الثانية: الطرق غير المباشرة Indirect methods: وتشمل

1. Spectrophotometer method

2. Dry wight.

3. Turbidometric method

طرق اخذ العينات Sampling methods:

هناك عدة امور يجب مراعاتها عند اخذ العينة الغذائية منها ان تكون العينة عشوائية وان تمثل العينة الغذاء تمثيلا حقيقيا وتؤخذ في ظروف معقمة وبحجم مناسب وتحفظ في ظروف ملائمة لحين فحصها .

أنواع العينات:

1- العينات السائلة: تؤخذ بصورة عشوائية وترج 25 مرة مع المحلول المخفف. مثالها الحليب والعصائر.

2- العينات الصلبة: تؤخذ بواسطة مشرط او مغرفة او ثاقب حسب نوع الغذاء. فالمساحيق مثلا تؤخذ منها عدة غرامات من أماكن متفرقة وتخلط جيدا اما العينات غير القابلة للخلط فتؤخذ من اماكن مختلفة وتفحص كل منها على حدة مثل اللحوم.

3- العينات السطحية: تؤخذ شرائح سطحية من المادة الغذائية او تنقل الاحياء المجهرية من العينة الى الاوساط الزرعية دون نقل شي من العينة .

طرق اخذ العينات:-

- 1- الطبعة: تتم بضغط العينة الصلبة مباشرة على الوسط الزرعي .
- 2- نقل المادة الغذائية : مثل الفاكهه والخضر حيث يؤخذ جزء منها و يضاف الى 10 مل من المحلول المخفف بعد هرسها .
- 3- الشرائح السطحية: تقطع شرائح سطحية من السطح الخارجي للمادة الغذائية ثم توضع في محلول مخفف مناسب وتمزج بالخلاط للحصول على محلول متجانس.
- 4- تحضر اسطوانات من وسط الاكار المغذي المعقم في اسطوانات بلاستيكية ويتم ضغط الطرف الاعلى من الاسطوانة على المادة الغذائية ثم يقطع هذا الطرف وينقل الى طبق معقم بحيث يكون السطح الملاصق للمادة الغذائية الى الاعلى ثم يحضن في الحاضنة.
- 5- تضغط الشريحة الزجاجية علة العينة الغذائية الصلبة ثم تصبغ وتفحص .
- 6- تعمل مسحات على شكل عيدان ذات نهاية قطنية وتكون جافة للأسطح الرطبة وترطب للأسطح الجافة . تضاف المسحة الى محلول تخفيف ويرج لنقل الاحياء المجهرية العالقة اليه.