|  |  |
| --- | --- |
| EBLHMA.png | **ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ |

**(Β.ΚΥΡΑΝΑ)**

**ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ cfu/ml ή g αρχικού δείγματος**

Επιλέγονται τρυβλία με 30 – 300 αποικίες το καθένα, οι οποίες και μετρούνται. Ο αριθμός των αποικιών πολλαπλασιαζόμενος επι το αντίστροφο του συντελεστή αραίωσης(η ίδια δύναμη του 10 με θετικό όμως εκθέτη) δίνει τον αριθμό των μικροβίων σε 1ml δείγματος.

**1. Εάν έχω μόνο ένα τρυβλίο από μία αραίωση,** π.χ. από την αραίωση 10-4 έχω 150 αποικίες τότε το αποτέλεσμα θα είναι: 150x10.000=1.500.000=1,5x106 cfu/ml

**2. Εάν έχω δύο τρυβλία από την ίδια αραίωση,** π.χ. από την αραίωση 10-4 έχω 150 και 118 αποικίες αντίστοιχα τότε υπολογίζω τον Μ.Ο (μέσο όρο) και το αποτέλεσμα θα είναι:

150x10.000=1.500.000 - 118x10.000=1.180.000

1.500.000+1.180.000=2.680.000 Μ.Ο=2.680.000:2=1.340.000=1,3x106 cfu/ml

**3. Εάν έχω δύο τρυβλία από δύο διαδοχικές αραιώσεις**, π.χ. από την αραίωση 10-3 έχω 165 και από την αραίωση 10-4 έχω 65 αποικίες, τότε αφού υπολογιστεί ο αριθμός αποικιών που προκύπτει από κάθε αραίωση, εξάγεται ο μέσος όρος **ΕΚΤΟΣ** εάν ο λόγος που προκύπτει από τον αριθμό της μεγαλύτερης προς αυτό της μικρότερης αραίωσης είναι >2. Στην περίπτωση αυτή λαμβάνεται υπόψιν μόνο ο αριθμός που προκύπτει από την μικρότερη αραίωση:165x1.000=165.000 , 65x10.000=650.000 , 650.000:165.000=3,9 >2 άρα το αποτέλεσμα θα είναι 165.000=1,7x**105** cfu /ml (με τη στρογγυλοποίηση).

Όπου **χρειάζεται** γίνεται **στρογγυλοποίηση** των αποτελεσμάτων.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!** Όταν χρησιμοποιούμε τη μέθοδο της **επιφανειακής επίστρωσης**, οπότε το ενοφθάλμισμα του μ/ο στα τρυβλία αντί για 1ml είναι **0,1ml**, τότε το αποτέλεσμα πολλαπλασιάζεται με το **10.** Άρα το ανωτέρω αποτέλεσμα θα γινόταν 1,7x**106** cfu /ml.

**4. Όμως στην πράξη συνήθως χρησιμοποιούμε διπλή σειρά τρυβλίων για κάθε αραίωση, οπότε εάν όλα γίνουν σωστά, παίρνουμε μετρήσιμες αποικίες στα τρυβλία δύο διαδοχικών αραιώσεων, τότε ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων γίνεται με τη χρήση του ακόλουθου μαθηματικού τύπου:**

Ν = Σc / V (n1+0,1x n2)x d όπου:

Σc = το άθροισμα των αποικιών στα μετρούμενα τρυβλία

V = ο όγκος του ενοφθαλμίσματος εντός των τρυβλίων

n1 = o αριθμός των τρυβλίων της μικρότερης αραίωσης

n2 = o αριθμός των τρυβλίων της μεγαλύτερης αραίωσης

d = ο βαθμός της μικρότερης αραίωσης

π.χ. από την αραίωση 10-3 έχω 168 και 158 αποικίες, ενώ από την αραίωση 10-4 έχω 38 και 42 αποικίες. Άρα το αποτέλεσμα σύμφωνα με τον τύπο θα είναι:

Ν = Σc / V (n1+0,1x n2)xd = 168 + 158+38+42/1(2+0,1x2)x0,001=406/0,0022=184545 άρα το αποτέλεσμα θα είναι: Ν =184545=1,8x105 cfu/ml

**ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΞΑΣΚΗΣΗ**

1. Υποθέστε ότι πραγματοποιήσατε δύο δεκαδικές αραιώσεις σε ένα δείγμα (την 10 -5 και την 10 -6) και στα τρυβλία της 10-5 αραίωσης μετρήσατε με counter 320 και 300 αποικίες, ενώ στην 10 -6, 20 και 23 αποικίες. Πώς θα υπολογίσετε των αριθμό των cfu/mL του αρχικού δείγματος;
2. Σας δίνονται τα παρακάτω τρυβλία. Ποιά τρυβλία θα καταμετρήσετε και γιατί; Ποιό είναι το μικροβιακό φορτίο του μη αραιωμένου αρχικού δείγματος;

|  |
| --- |
|  |

1. Κατά την ανάλυση ενός τροφίμου προέκυψαν τα εξής νούμερα:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1)  2)  3)  4) | Αραίωση 10-1  Αραίωση 10-2  Αραίωση 10-3  Αραίωση 10-4 | >300 αποικίες  125 αποικίες  37 αποικίες  6 αποικίες |

Ποιό είναι το μικροβιακό φορτίο του αρχικού δείγματος;

1. Κατά την ανάλυση δείγματος σε διπλή σειρά τρυβλίων, στην αραίωση 10-3 μετρήθηκαν 218 και 210 αποικίες ενώ στην αραίωση 10-4 μετρήθηκαν 47 και 42. Ποιό είναι το μικροβιακό φορτίο του αρχικού δείγματος;