



Microbiology

Subject :

Lec no : 4

Done By : Tabark Aldaboubi

وقار جازني علماً

Bacterial Growth and Nutrition

Faculty of Medicine

Hashemite University

Dr Mohammad Al-Tamimi, MD, PhD

Objectives

- Growth definition and classification
- Population growth - growth curve
- Population growth – Methods
- Physical parameters that affect growth
- Chemical parameters that affect growth
- Bacterial growth measurement



Introduction

(bacteria)

- Growth: Orderly increase in the sum of all the components of an organism, which reflects increase in number of cells → العدد بالبكتيريا بلعب دور

- Importance of understanding bacterial growth:

1 Bacterial survival and transmission

بجيب بكتيريا وبعطها على Agar

2 In vitro diagnostic (laboratory culture)

و يستن على لها لعدة زمنية اذا كونت مستعمرات معانها فيه Infection

3 Cessation of bacterial growth for treatment

اذا البكتيريا تنمو بسرعة شو بتوقع ال culture باللاب ؟ بتطلع بسرعة

growth (human) →

1- الطول بزيدي

2- زيادة بال Function (بصير يعيش احسن)

3- يتطور العقل

← واحد هبابه بكتيريا سريعة النمو اعراضها رح تكون chronic or acute له الاعراض لسرعة

← العلاج مع القضاء وقتل البكتيريا ، اوقف النمو فاع البكتيريا بتيجي

← البكتيريا الي سريعة بالنمو والي بتتعمل الاجواء سهل تنتقل بين الناس Transmission

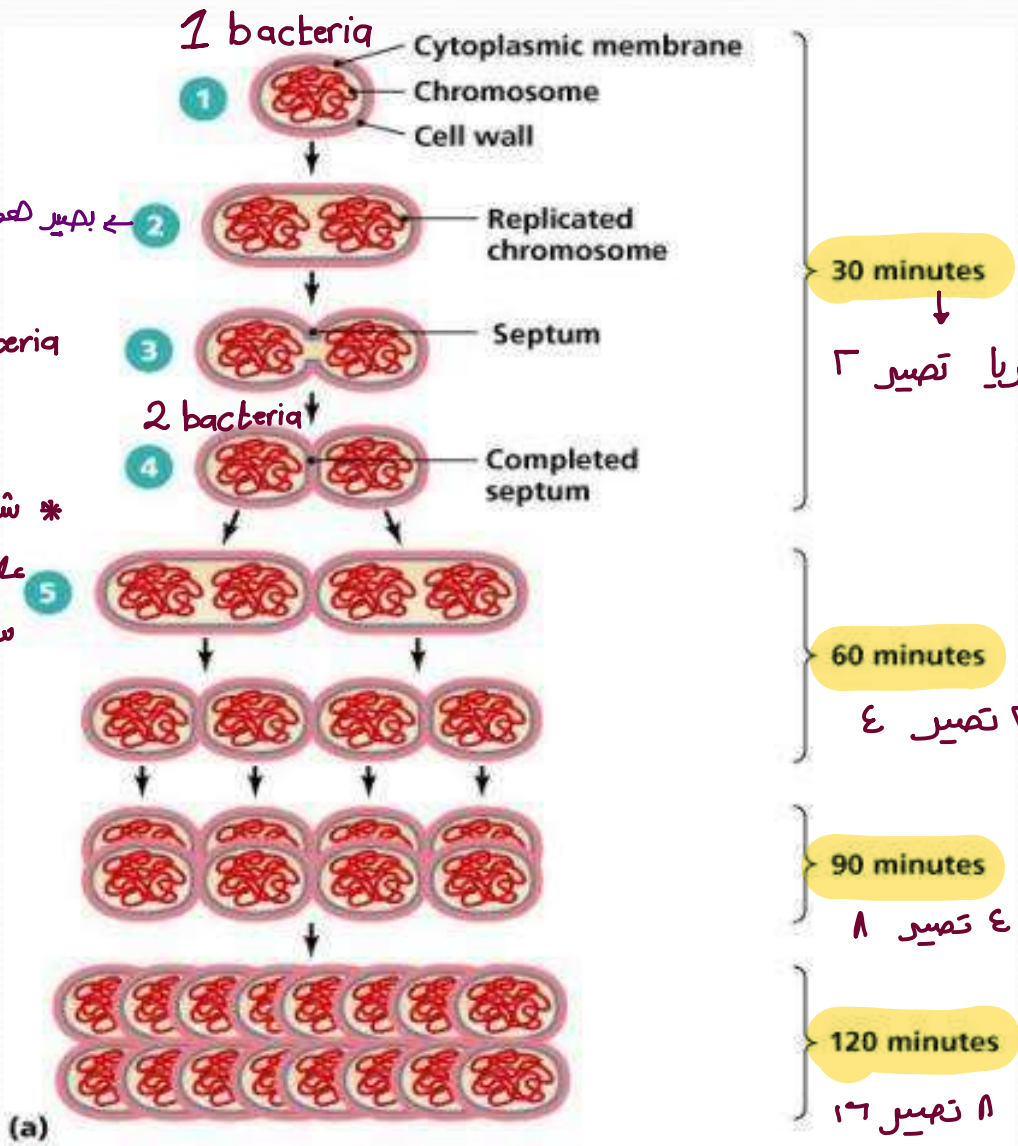
انقسامات يعني بزيادة عددها (مضاعفة العدد)

Microbial growth/Binary Fission


← بغير هون *replicated* للمادة الوراثية

1 bacteria → 2 bacteria
بدها نص ساعة حتى تنقسم

* شخصي صار وهو *Infection* دخل
على الرئة مليون بكتيريا بعد نص
ساعة رح تصير (2 مليون)



Rapid Growth of Bacteria

Arithmetic Numbers of Cells	Numbers Expressed as a Power of 2	Visual Representation of Numbers
1 2 4 8 16 32 <i>التضاعف</i>	2^0 2^1 2^2 2^3 2^4 2^5	

Generation time under optimal conditions

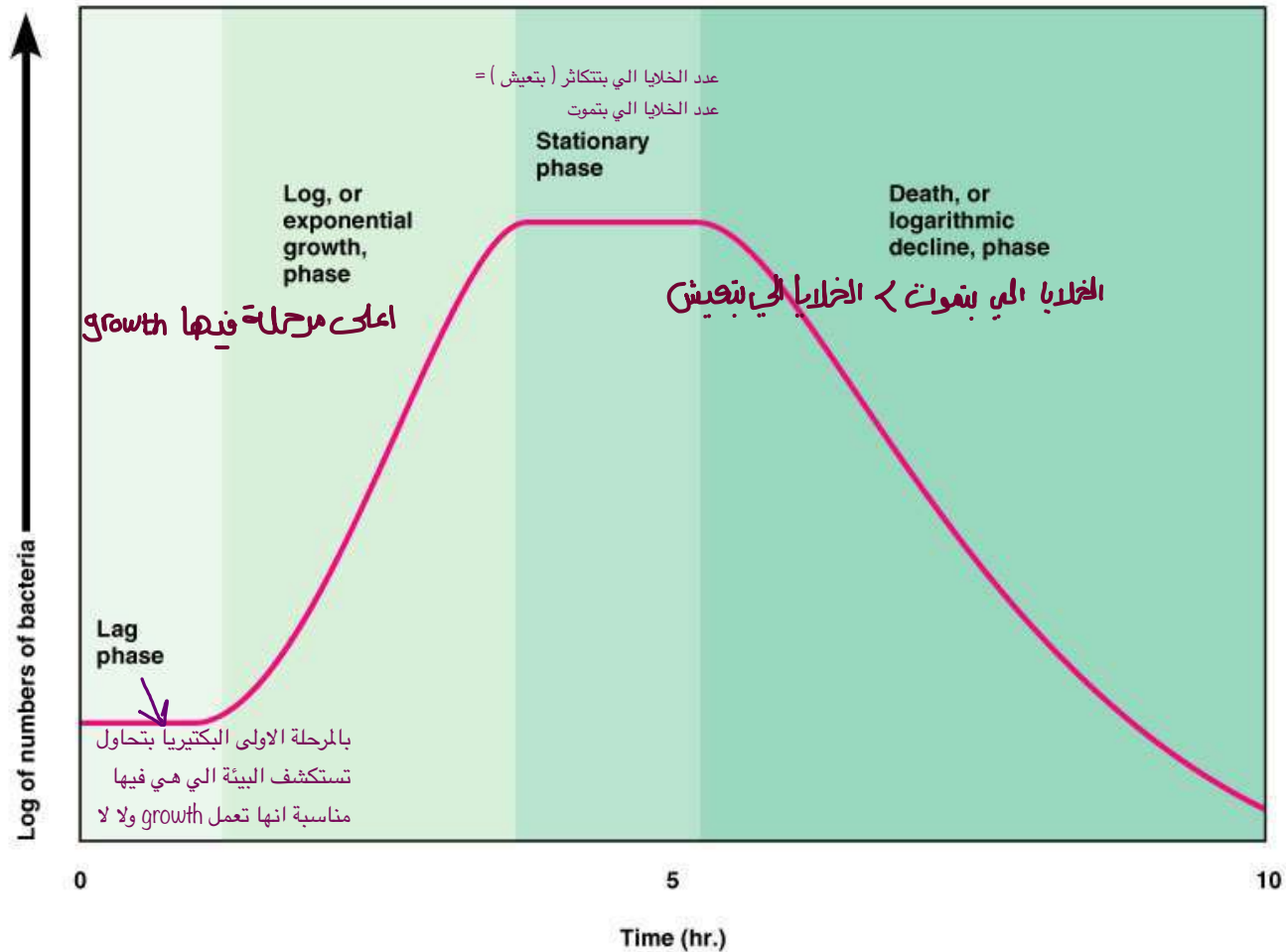
البكتيريا الوحدة حتى تصير اثنين الوقت الذي يستغرقه اسمه
→ **Generation** time is the time it takes for a single cell to grow and divide
وضيحاً كل بكتيريا مختلف الـ generation Time ناعها

<u>Organism</u>	<u>Generation Time</u>
Escherichia coli ← الاسرع بالعلاج → الاسرع بالنفوس	12.5 min
Staphylococcus aureus	27-30 min
Mycobacterium tuberculosis (agent of Tuberculosis)	18 – 24 hrs
Treponema pallidum (agent of Syphilis) الابطأ ↓ مرضى الزهري	30 hrs

غالباً ما نقدر نمنعها باللاب
لأنها كثير بطيئة.

آخر مرضين كثير بطول علاجهم وبحطوهم بقسم عزل وبحط اكثر من مضاد حيوي مع بعض طبعا السبب لانو البكتيريا بتقعد بالجسم فترات طويلة لحد ما تبلس تظهر الاعراض ع الشخص بالتالي البكتيريا بتكون تطورت ونمت بشكل

The Growth Curve



- During lag phase, cells are recovering from a period of no growth and are making macromolecules in preparation for growth
- During **log phase cultures** are growing maximally
اعلى درجة من درجات النمو بهاي المرحلة
- Stationary phase occurs when nutrients are depleted and wastes accumulate (Growth rate = death rate)
مرحلة الثبات
- During death phase death rate is greater than growth rate

Factors Affecting Bacterial Growth

- Temperature
- pH
- Osmotic pressure
- Oxygen
- Nutrition

البكتيريا جوا الجسم بتضلها تعمل growth الكيرف الي حكينا عنه فوق هو لما يكون في عوامل ورح تأثر وهيك اما جوا الجسم بنوكل باستمرار ففي تغذية وفي اكسجين وفي كل اشئ بتحتاجه فبتضل تنمو لهيك احنا بنتدخل طبيا بالادوية عشان نقضي عليها وفي انواع بكتيريا هي بتكون اما سريعة النمو او بطيئة النمو ويرضو في عوامل ممكن تأثر:

Temperature

إذا زدنا الحرارة رح تموت البكتيريا زي المثال الي ذكرناه عن البسترة

- Hydrogen bonds will break at high temperatures leads to protein denaturation البروتين رح يتحطم مع ارتفاع درجة الحرارة
- Lipids will be more liquid الدهون تاعت الخلية (cell membrane) رح تذوب مع الحرارة
- Outside membrane cannot preserve the integrity of the cell and it will disintegrate

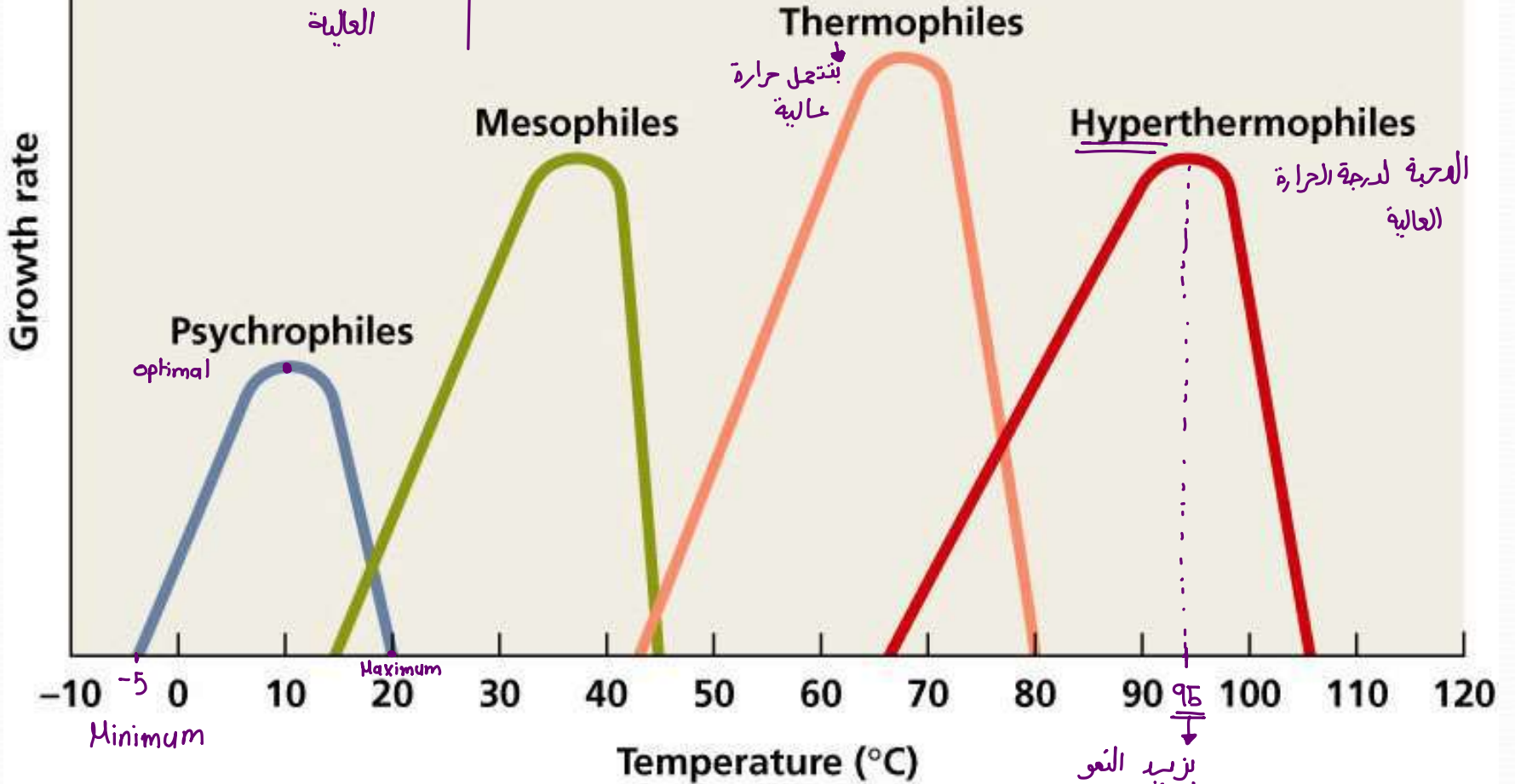
إذا تحطم ال cell wall وال cell membrane بتموت الخلية

- **Minimum Temperature:** Temperature below which growth ceases, or **lowest temperature** at which microbes will grow
- **Optimum Temperature:** Temperature at which its **growth rate is the fastest**
- **Maximum Temperature:** Temperature above which growth ceases, or **highest temperature** at which microbes will grow

Classification of Microorganisms by Temperature

اللي بدنا نعرفه ونميزه من الرسمه انه مش كل البكتيريا بتموت عند درجات الحرارة العاليه او المنخفضه هالاشي بختلف حسب نوع البكتيريا وهاي ال 4 انواع من البكتيريا بتبين هالاشي احد وسائل حفظ اللحوم الي هي احطها بالفریزر او عند درجات حرارة منخفضة

يعني احنا بنستخدم الغليان كتعقيم
هالحيه بقتل 90% من البكتيريا لكن
فنا بكتيريا بتزيد النمو بدرجات الحرارة
العاليه



Temperature Classes of Organisms

- **Psychrophiles (0-20°C)**
Minimum Maximum
هناك البكتيريا تنمو فيها بالثلج
بالقطب الشمالي
 - Cold temperature optima
 - Most extreme representatives inhabit permanently cold environments
- **Mesophiles (20 - 45°C)**
هناك اكثر مجموعة تتعمل للانسان infection
لونها ال optimum نالحنها بتقس درجة
حرارة الجسم فيتقدر تنمو فيه بسهولة
 - Midrange temperature optima
 - Found in warm-blooded animals and in aquatic environments in temperate and tropical latitudes
- **Thermophiles (50- 80°C)**
 - Growth temperature optima between 50°C and 80°C
- **Hyperthermophiles**
هناك يتكون بالينابيع الحارة
 - Optima greater than 80°C
 - These organisms inhabit hot environments including boiling hot springs

تطبيقات الحرارة ع الجسم بتكون عن طريق تعقيم الاكل وهاي الشغللات اما انه اغير
درجة حرارة الجسم هاي مش واردة

اذا بدي اعقم اشئ يا بحطو بدرجة حرارة عالية غليان او منخفضة ثلاجة
البسترة طريقة فعالة لانو برفع درجة الحرارة عاليا ل ٨٠ مثلا مدة معينة وبعدين
بنزل الحرارة ل -١٠ هيك بضمن انه البكتيريا ماتت

مكان الحرق غالبا ما بكون فيه بكتيريا لانو كونه حرارة عالية وهاي بتكون ماتت البكتيريا
الا اذا حط ع مكان الحرق مواد غير سحيحة زي معجون اسنان ،قهوة هيك ممكن تراكم
البكتيريا وبتسبب infection

pH and Microbial Growth

- Each organism has a pH range and a pH optimum
 - Acidophiles: Grow optimally between ~pH 0 and 5.5
 - Neutrophiles: Grow optimally between pH 5.5 and 8
 - Alkalophiles: Grow optimally between pH 8 – 11.5

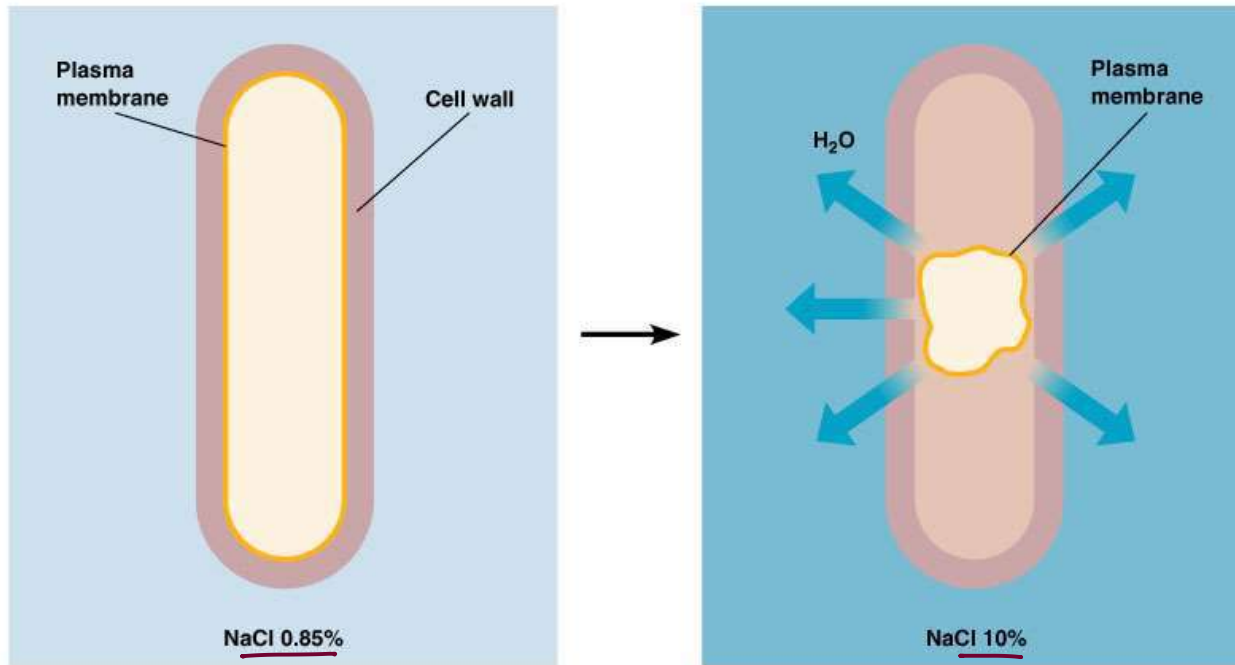
ال blood مثلًا ال pH = 7 عيًّا لونيًا infection بال blood يكون Neutrophiles

- Most bacteria grow between pH 6.5 and 7.5
- Molds and yeasts grow between pH 5 and 6

- Human blood and tissues has pH 7.2 ± 0.2

ما بقدر اعطي المريض حمض او قلعة عشان اقل البكتيريا لكن ممكن استخدمها بالتطبيقات الخارجية اذا بي اعقم طاوله بالمخبر

Osmotic Effects on Microbial Growth



- Osmotic pressure depends on the surrounding solute concentration and water availability
- Hypertonic environments, increase salt or sugar, cause plasmolysis
بتسبب موت (تسطيم الخلية)

Classification

مثل مياه البحر الميت البكتيريا التي فيها بتحب الملح

- Osmophiles: organisms which thrive in high solute
- Osmotolerant: organisms which tolerate high solute

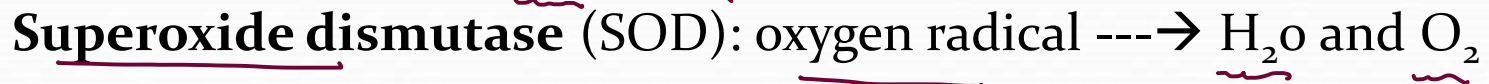
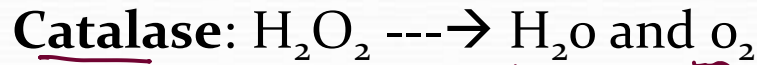
اثناء خلع الاسنان الدكتور بحركنا نتمضمض بمبي وملح للقضاء
على البكتيريا

Oxygen and Microbial Growth

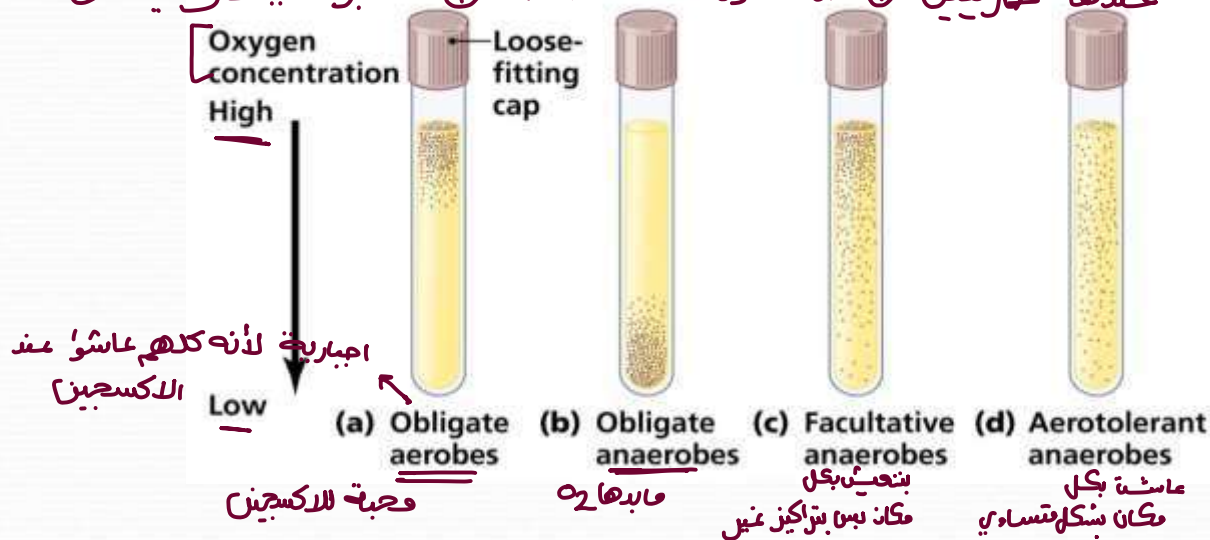
استخدام O_2 ينتج عنه مواد سامة

Using oxygen (O_2) in metabolism creates toxic waste

Microbes that are able to use aerobic respiration produce enzymes to detoxify oxygen. المحب للـ O_2 يكون يعرف انه رح ينتج مواد سامة فيكون جرحهز كين يتخلص منها.



Microbes that don't make these enzymes cannot exist in the presence of oxygen. البكتيريا الي ما عندها الاثرميات الي تخلصها الحريم من السموم يكون عندها طريقتين 1 انه تتحول لـ anaerobic 2 تدبرها ي الاثرميات



Classification of Organisms Based on O₂ Utilization

- **Aerobes :**

- **Obligate:** require oxygen to grow
- **Facultative:** can live with or without oxygen but grow better with oxygen
- **Microaerphiles:** require reduced level of oxygen

ممنوع تتعرض لـ O₂

- **Anaerobes :**

في بكتريا (anaerobic) رخ يستغل انه ما في O₂ وتبلس تنفر وتوكل باللحم // العلاج : تعريضها للاكسجين حتى تموت البكتيريا .

غرغربيا ← الشرايين مسكرة فما بوصول الدم

معناها القدم رخ تحفنا كونه ما في O₂ اودم بوصول

- **Obligate:** do not require oxygen. Obligate anaerobes are killed by oxygen
- **Aerotolerant anaerobes:** can tolerate oxygen but grow better without oxygen.

Microbial Nutrition

- Organisms use a variety of **nutrients** for:
 - their energy needs
 - to build organic molecules & cellular structures

- Energy Source

- ضوء Phototroph: Uses light as an energy source

- طاقة كيميائية Chemotroph: Uses energy from the oxidation of reduced chemical compounds

Required nutrients:

- Macronutrients دها ابلها بكميات كبيرة
- Micronutrients دها اياها بكميات صغيرة
- Special requirements

Macronutrients

Elements required in fairly large amounts:

- Carbon
- Nitrogen
- Sulfur
- Phosphorus

Micronutrients

Metals and organic compounds needed in very small amounts, usually as enzyme and cofactors:

Calcium, Copper, Iron, Magnesium, Manganese, and
Iron

Special requirements

- Amino acids
- Nucleotide bases
- Enzymatic cofactors or “vitamins”

Methods Used to Measure Microbial Growth

كيفية قياس كمية الـ growth للبكتيريا

- Count colonies on plate or filter (counts live cells)
- Microscopic counts
- Mass determination
- Turbidity
- Measurement of enzymatic activity or other cell components

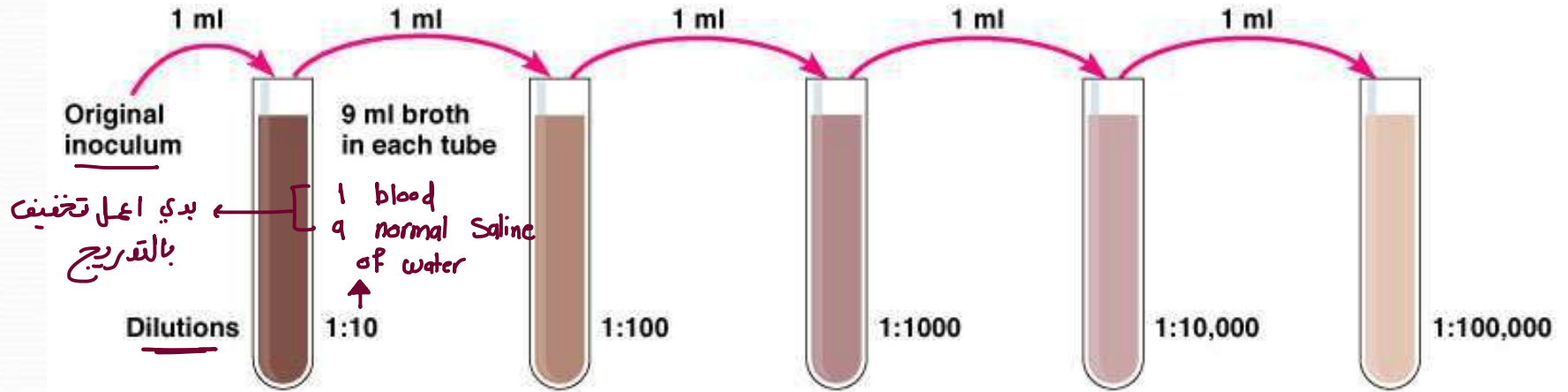
افضل طريقة



Viable Count

← اخذت من المريض عينة واعطيتا مضاد حيوي وحكيتنا يرجع بعد اسبوع لحتى للموانع العلاج تمام ولا لا ، طبعاً كيف بدي اعرفا ؟
بدي اشوف ال growth زاد ، نقص ، وهكذا

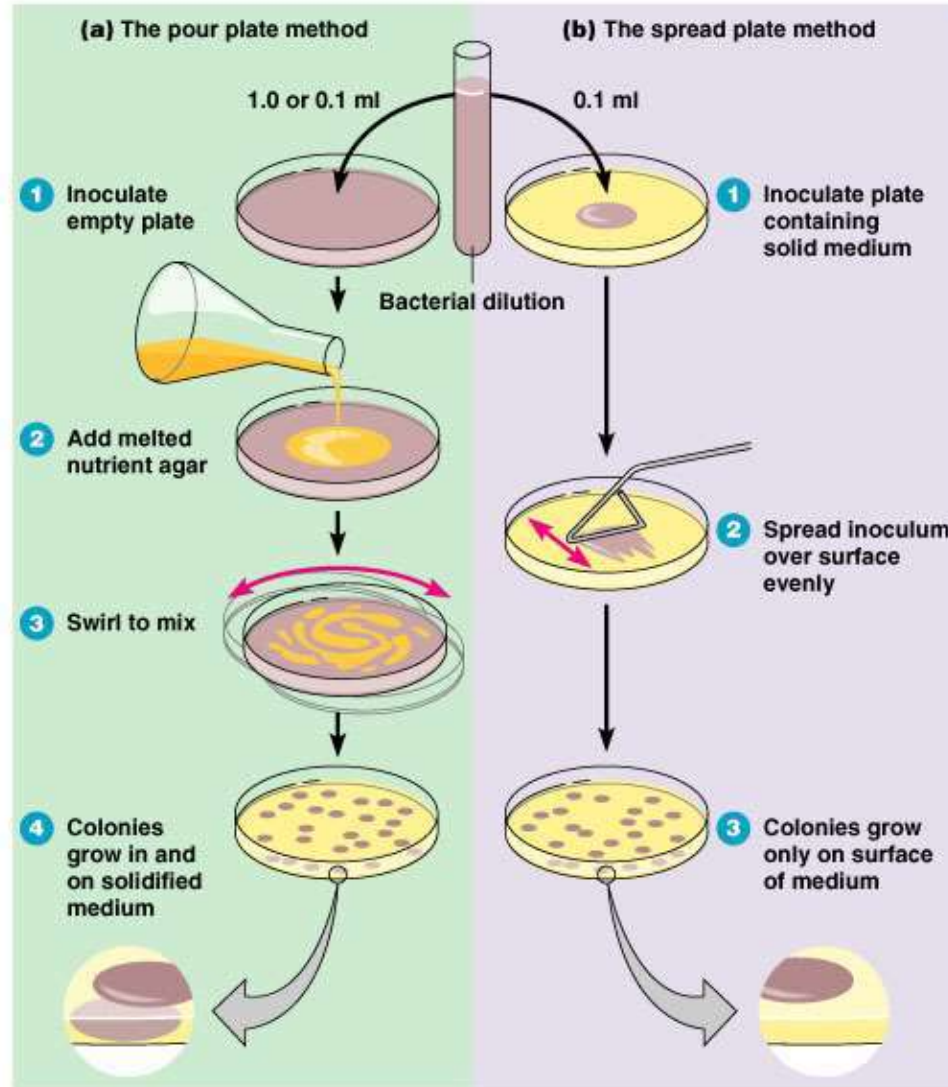
1. Perform serial dilution of original sample (1:10 dilution)



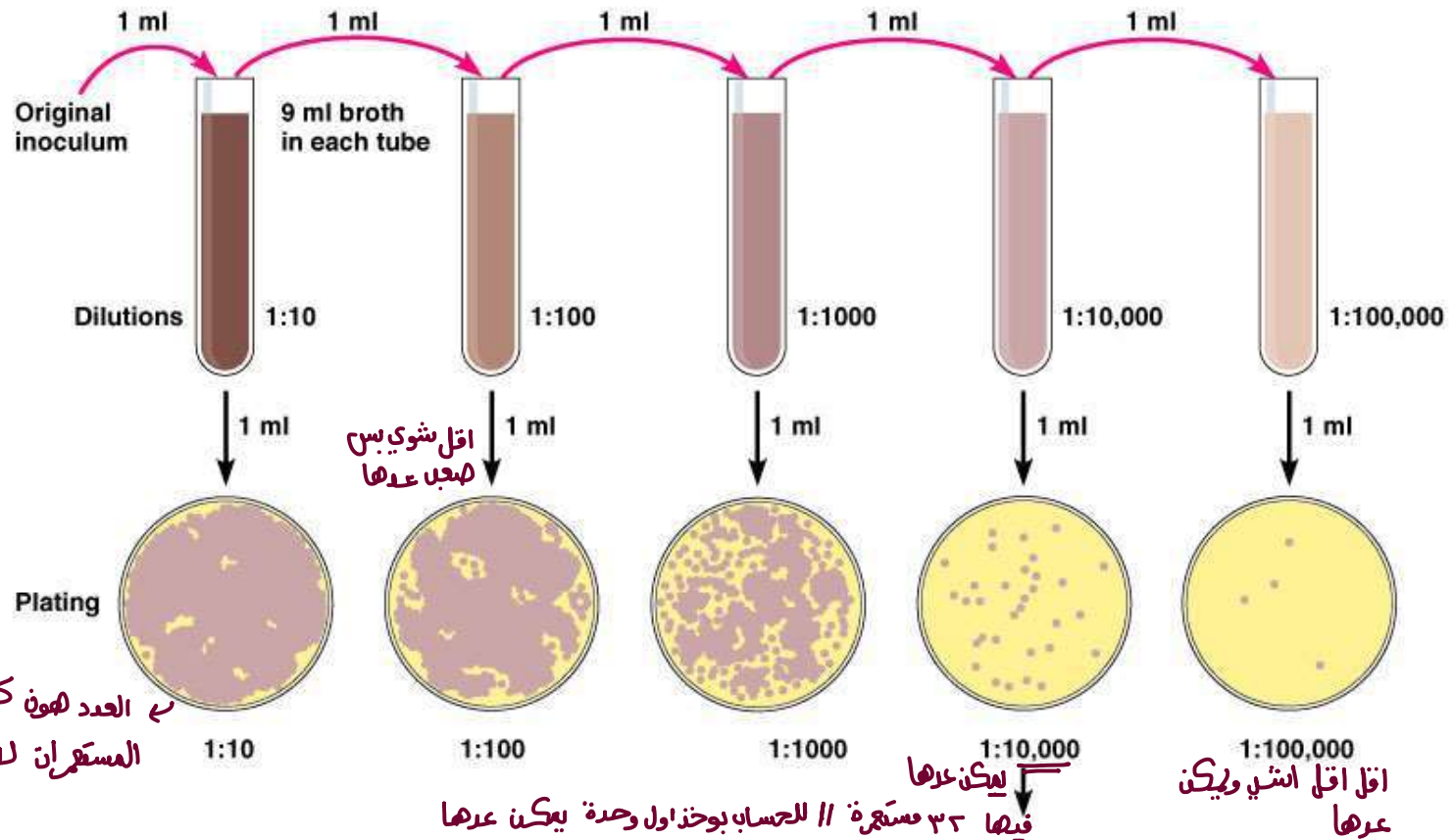
بدي ازرع كل عينة ↓↓↓

2. Incubate plates with samples from each serial dilution

فكرة الزرعات انه
احول من شيء لايرا بالعين
المجردة الى مستعمرات يمكن
عدها.



3. Count plates that have 25-250 colonies and correct The dilution factor



ب العدد لهن كبير
المستمران لا يمكن عدها

افضل شوي بس
بعد عدها

فيها ٣٢ مستعمرة //
للحساب بوخذ اول وحدة يكن عدها

افضل اقل اشوي ويكن
عدها

Calculation: Number of colonies on plate \times reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml
(For example, if 32 colonies are on a plate of $1/10,000$ dilution, then the count is $32 \times 10,000 = 320,000$ /ml in sample.)

اذا مريضه ثاني كانت (١٥)
 $15 \times 10000 = 150000$

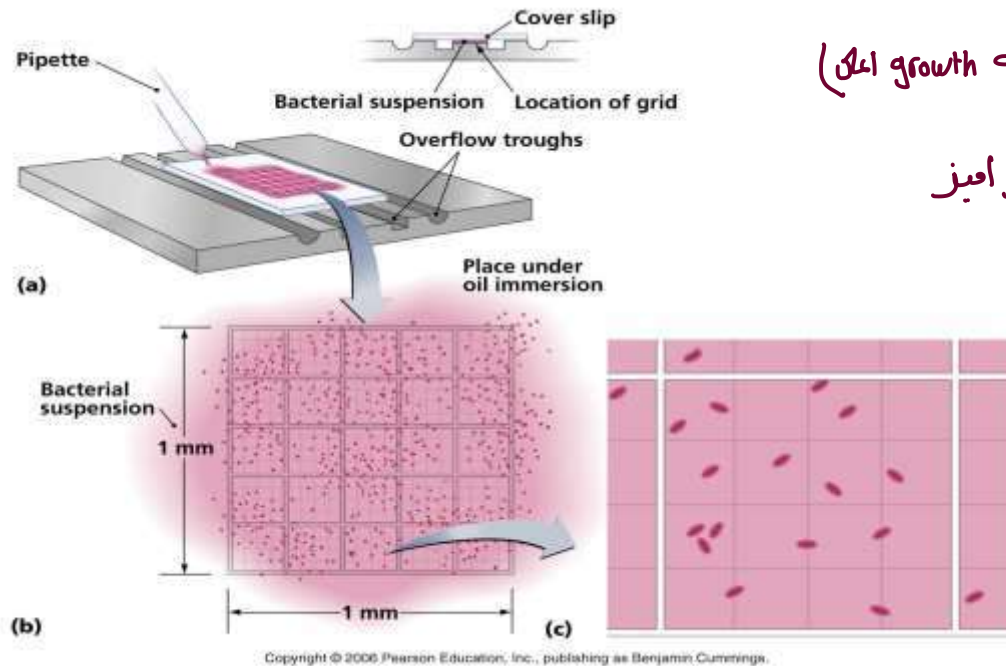
كم انا خفتها؟ (بضرب فيها)

شو فرق عن المريضه الجيه قبل ٩ انه المريضه البكتيريا عنده اقل

Microscopic counts

اسط استي اخذ عينة
من المريض واحطها تحت الميكروسكوب
واعد البكتيريا
(كل ما كان العدد اكبر يتوقع انه growth اعلى)

* فيها مشكلة انه ما بقدر اعيز
البكتيريا عايشة ولا ميتة



- Need a microscope, special slides, high power objective lens
- Typically only counting total microbe numbers, but differential counts can also be done

العكورة Turbidity

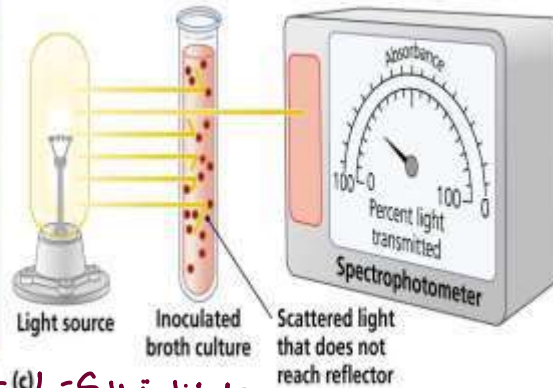
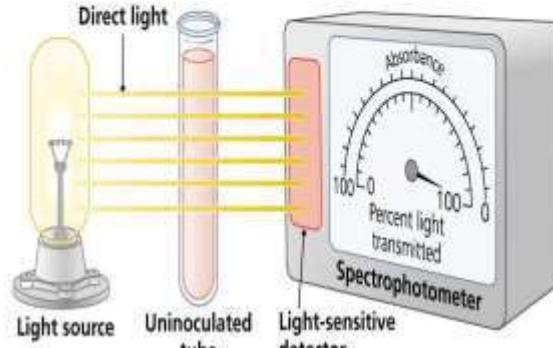
كونه الطرية فوق بتوخذ وقت و خاصية انه ينزرع اكثر

من Tube فلاقوا طرية اخوي اسهل لقياس ال growth

سائل وفيه بكتيريا كل ما زادت البكتيريا
زادت العكورة



(a)



لو كل الضوء مرقا حناها السائل شفاف وما في بكتيريا



(b)

كل ما زادت البكتيريا (c) بتقل كمية الضوء العاري

Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

- Cells act like large particles that scatter visible light
- A spectrophotometer sends a beam of visible light through a culture and measures how much light is scattered
- Scales read in either absorbance or % transmission
- Measures both live and dead cells

لهون المشكلة انه الضوء مش رح يعبزهاي دهون او بروتين
فممكن نقل كمية الضوء لسبب وجود دهون مش بكتيريا

Mass Determination

استخدم الوزن لتحديد كمية
البكتيريا (هذه طريقة غير فعالة)

- Cells are removed from a broth culture by centrifugation and weighed to determine the “wet mass.”
- The cells can be dried out and weighed to determine the “dry mass”

Thank you...

