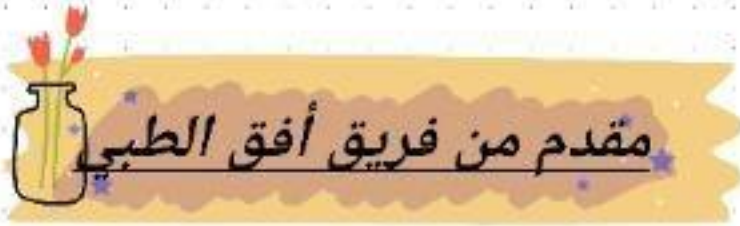

مقدم من فريق أفق الطبي

جامعة الأزهر - غزة
AL-AZHAR UNIVERSITY - GAZA
1412-1991
١٤١٢-١٩٩١

حركة الشبيبة الفتحاوية
الأزهر
جامعة
Fateh Youth Movement

TORTORA • FUNKE • CASE

Microbiology

AN INTRODUCTION

EIGHTH EDITION

Chapter 3

Microbial Growth

PowerPoint® Lecture Slide Presentation prepared by Christine L. Case

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Microbial Growth

- *Microbial growth = increase in number of cells, not cell size*

مثال / البكتيريا تتكاثر بـ (Binary fission) الانشطار الثنائي ، ويكون (exponential growth) نمو أسي N^2 .

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

The Requirements for Growth: Physical Requirements

- Tempreture
- pH
- osmotic pressure.

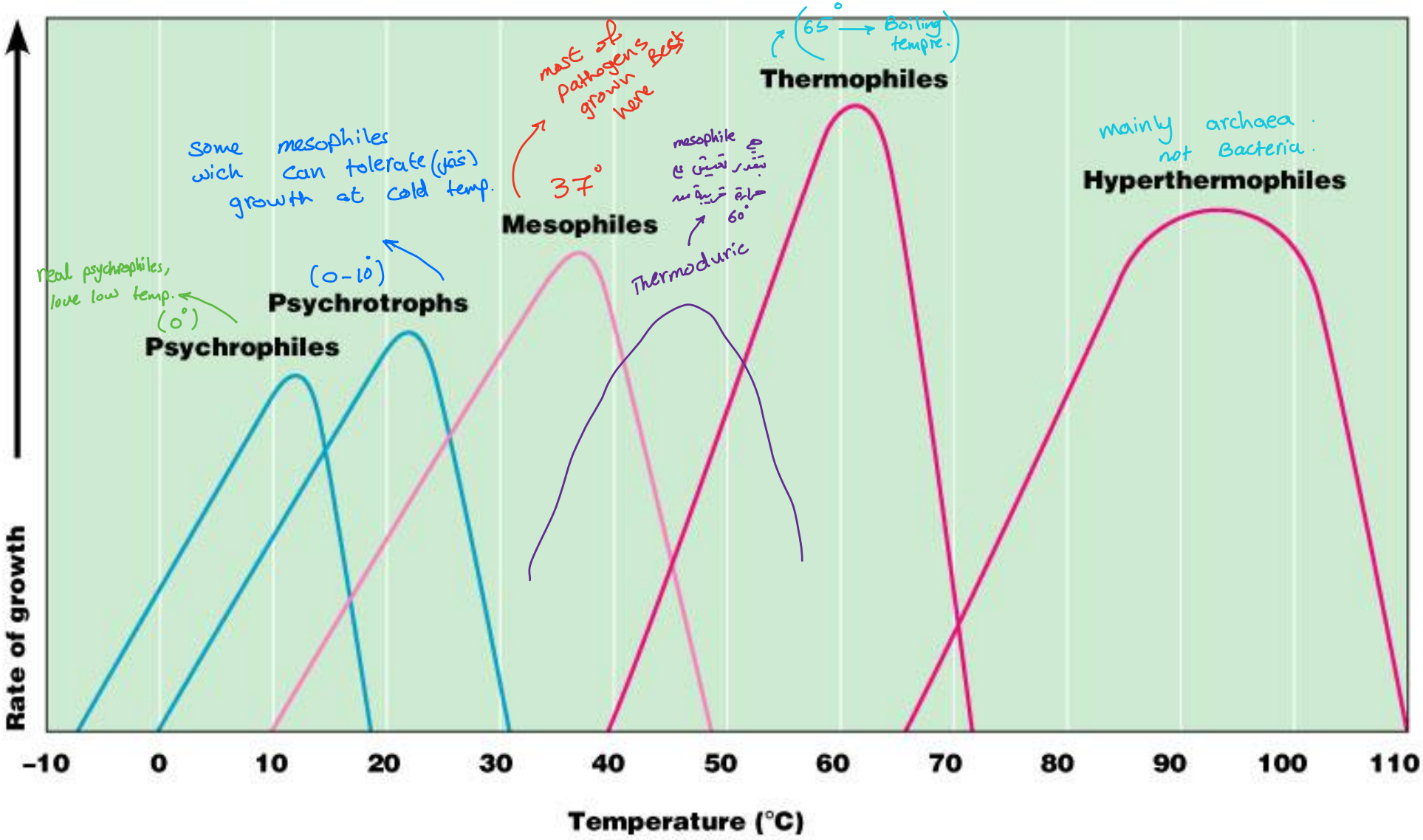
- *Temperature*
  - *Minimum growth temperature* (25°)
    - *Optimum growth temperature* → درجة الحرارة المثلى للنمو 37° → مثل في البكتيريا تحب متوسط mesophilic (معتدلة)
  - *Maximum growth temperature* (40°)

most of pathogens are grown best in 37°

note! e.coli → تنمو مابين 25° - 40°

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Temperature



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.1

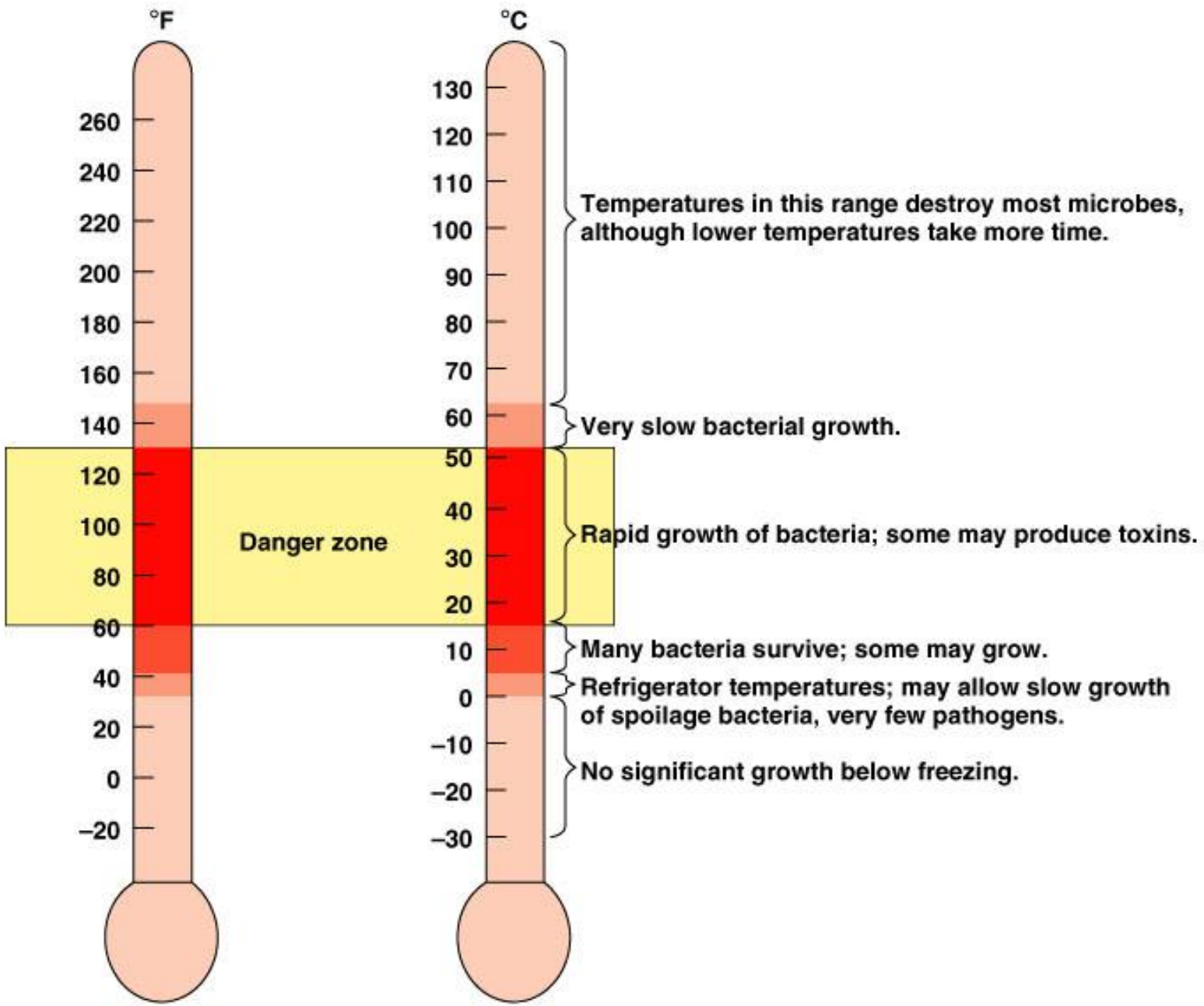
Psychrotrophs

- *Grow between 0°C and 20-30°C*
- *Cause food spoilage* → تلف المواد الغذائية

pseudomonas aeruginosa ← مثل
Listeria monocytogenes ← مثل
Bacteria.

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Psychrotrophs



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.2

The Requirements for Growth: Physical Requirements

note! PH of Blood 7,3

- pH
  - Most bacteria grow between pH 6.5 and 7.5 (weakly alkaline PH)
  - Molds and yeasts grow between pH 5 and 6
  - Acidophiles grow in acidic environments

وأيضًا عارفة ع استاعم مع salts
Halophiles تسمى
يعيش الاستاز في محيطات و بحار

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

The Requirements for Growth: Physical Requirements

- Osmotic Pressure → الضغط الاسموزي
  * external solution that has a high solute concentration and low water concentration compared to Body fluids.
  - Hypertonic environments, increase salt or sugar, cause plasmolysis → The process in which cells lose water in a hypertonic solution.
  - Extreme or obligate halophiles require high osmotic pressure
  - Facultative halophiles tolerate high osmotic pressure

تحمل

Exampels:-

- staphylococcus aureus → NaCl %6 يمكن تنمو في

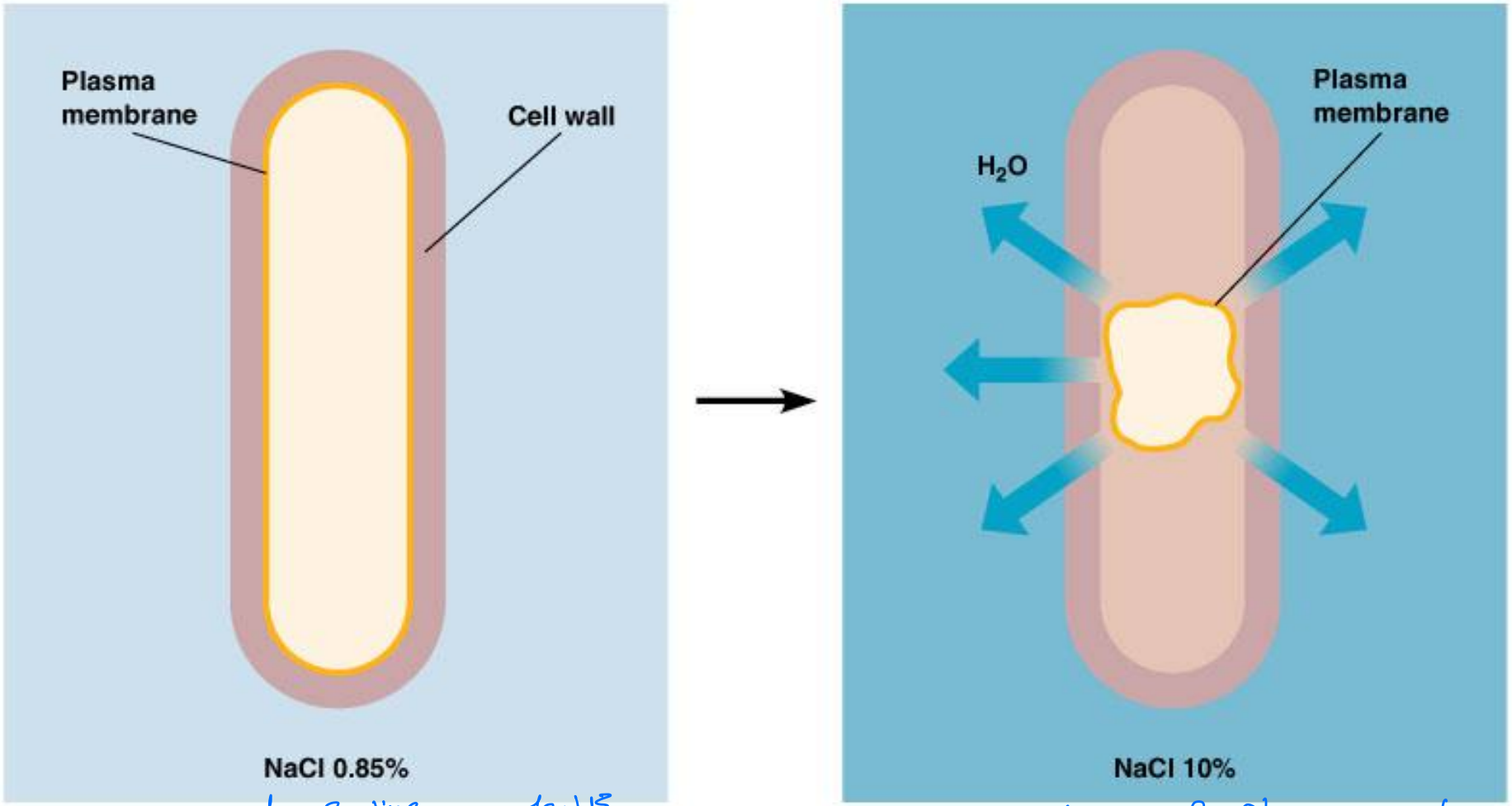
NaCl %10 لـ aureus تنمو -

أيضاً:

- enterococci (streptococcus) (enterococcus faecalis) ← موجودة في GIT في القولون ، ممكن تنقل عن الدم وتسبب endocarditis and Bacteremia.

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

The Requirements for Growth: Physical Requirements



normal saline محلول ملحي طبيعي

↳ effect on plasma membrane.

→ rupture of plasma membrane

→ leakage of cytoplas

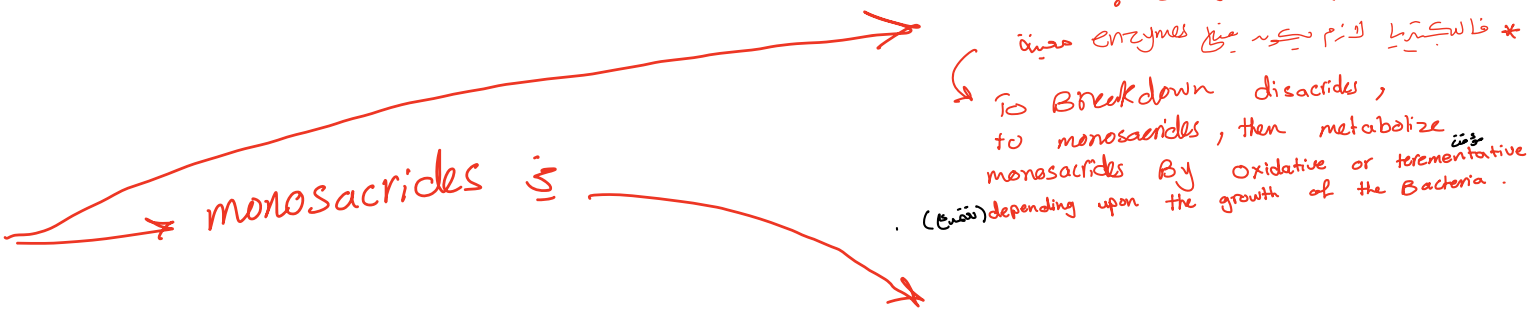
→ killing of Bacterial cell.

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.4

The Requirements for Growth: Chemical Requirements

- Carbon
  - Structural organic molecules, energy source
  - Chemoheterotrophs use organic carbon sources
  - Autotrophs use CO_2



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

The Requirements for Growth: Chemical Requirements

- Nitrogen
  - In amino acids, proteins
  - Most bacteria decompose proteins
  - Some bacteria use NH_4^+ or NO_3
  - A few bacteria use N_2 in nitrogen fixation
- Sulfur
  - In amino acids, thiamine, biotin
  - Most bacteria decompose proteins
  - Some bacteria use SO_4^{2} or H_2S
- Phosphorus
  - In DNA, RNA, ATP, and membranes
  - PO_4^{3} is a source of phosphorus

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

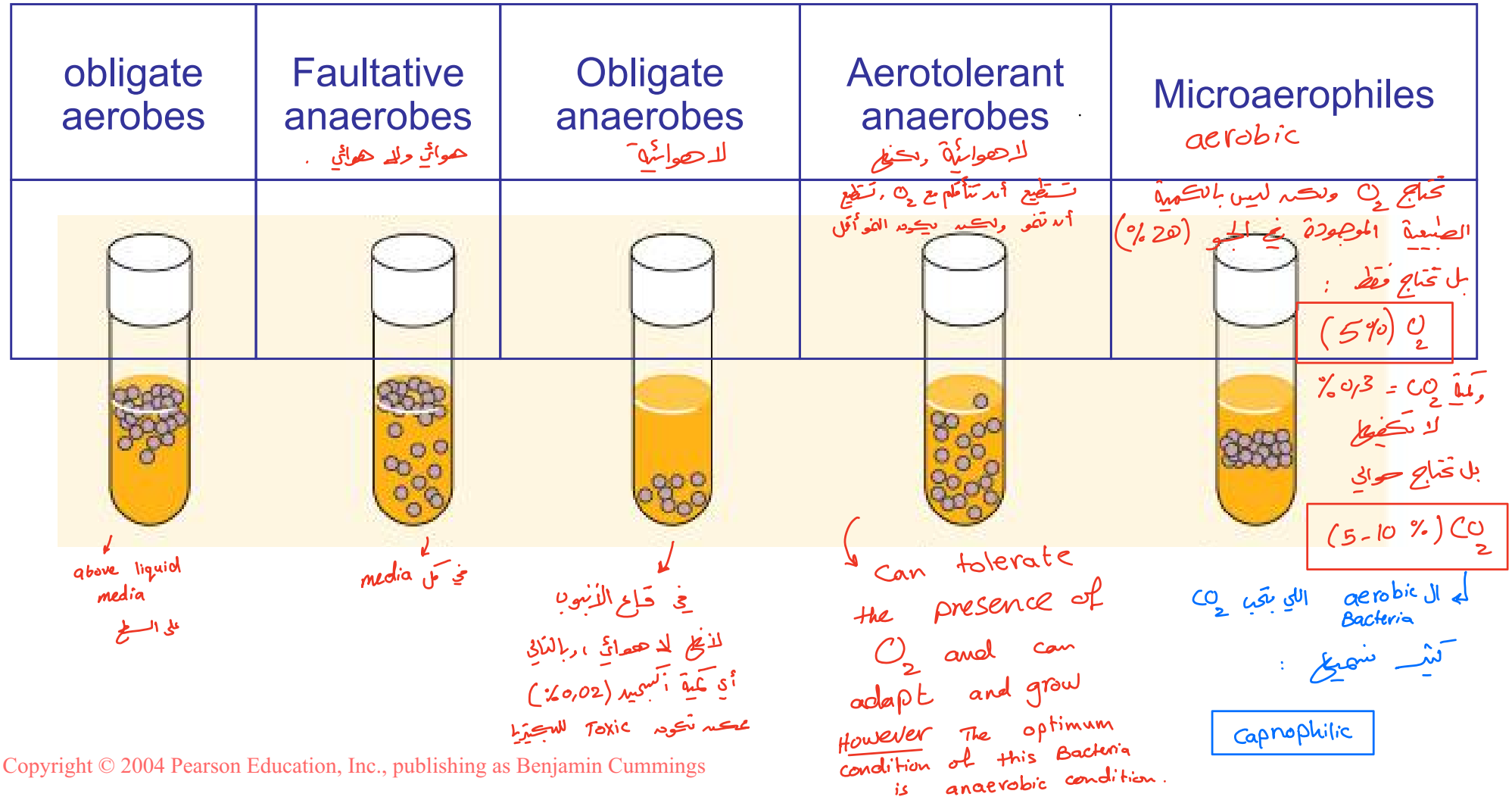
The Requirements for Growth: Chemical Requirements

- *Trace Elements*
  - *Inorganic elements required in small amounts*
  - *Usually as enzyme cofactors*

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

The Requirements for Growth: Chemical Requirements

- *Oxygen (O_2)*



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

aearobic Bacteria ← تحتاج لـ O_2 الذي يمثل لـ Hydrogen acceptor ← بحيث يدخل Krebs cycle وانتاج طاقة.

⇐ بينما في Fermentation (التخمر) ، لا يوجد O_2 ، وبدلاً من ذلك ، تحتاج البكتيريا عنصر غير الأكسجين ، وهو النيتروجين ، الذي يقوم بدور Hydrogen acceptor.
(anaerobic Bacteria)

في هذه الحالة يتكون Free radicals ، مثل (superoxide (O_2)) و (Hydrogen peroxide (H_2O_2)) ← وهي مواد Toxic للبكتيريا ، فإذا حدث accumulation لها في الخلية فهذا يؤدي إلى killing cell.

لذلك هناك enzymes تقوم بـ get rid toxic materials

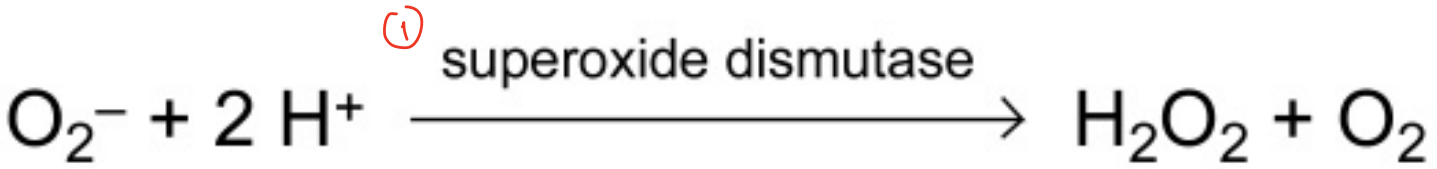
ملاحظة: بعض البكتيريا لا يوجد عندها peroxidase أبداً ، وبعضها أقل نشاطاً enough للتخلص منها

وبعض obligate anaerobic Bacteria ، تتواجد في هذه البيئات بكميات قليلة جداً جداً ، وبالتالي Free radical تتراكم في الخلية وتسبب موتها

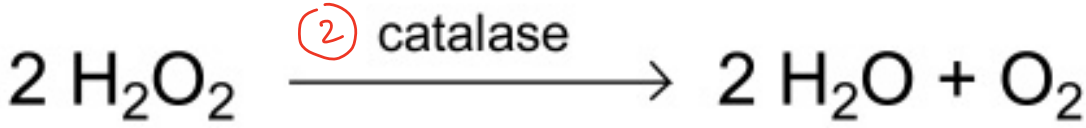
في هذه الحالة لو تواجد O_2 عادت الخلية بسبب تراكم Free radical.

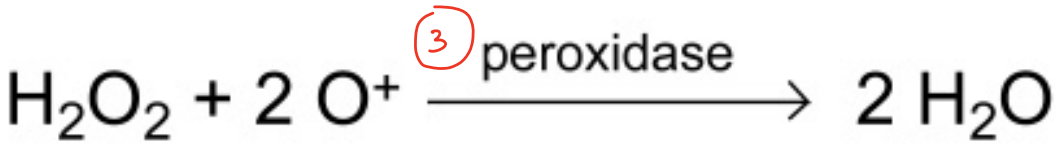
Toxic Forms of Oxygen

- *Singlet oxygen: O_2 boosted to a higher-energy state*
- *Superoxide free radicals: O_2*



- *Peroxide anion: O_2^{2}*





- *Hydroxyl radical (OH•)*

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

The Requirements for Growth: Chemical Requirements

ملاحظة في الـ media (بالمختبر) ، بتكون موجودة كل هذه المكونات :

- source of energy (sugers)
- source of organic growth factors (amino acids) → beef extracts (بالبداية)
- minerals (NaCl) المعادن
- Trace elements (iron)
- water

* لو عنا (liquid media) وبدنا إياها تصير solid ، نضيف مادة Agar Agar المستخرجة من بعض أنواع الطحالب أو sea algae (البحرية).

- *Organic Growth Factors*
  - *Organic compounds obtained from the environment*
  - *Vitamins, amino acids, purines, pyrimidines*

important to make DNA and RNA

(couldn't Be breaking down or digested by Bacteria) وبالتالي ← (very complecated polysacride materals) Agar لازم ال

عشان هيك بنضل ال (media solid) ، ولا تستطيع البكتيريا تكسيرها ، بالإضافة إلى أنها مادة معقدة ، ويوجد بدائل لها أسهل في التكسير مثل amino acids ، ولا تحتاج بدائل لها كبير من الطاقة .

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

ملاحظات /

- البكتيريا تختلف في doubling Time (وقت التضاعف) ، وأحد أسرع البكتيريا في التضاعف هي (coliform Bacteria) الموجودة في GIT وهي أشهرها (Escherichia coli) E. coli والـ doubling Time لها (18-20 min.)

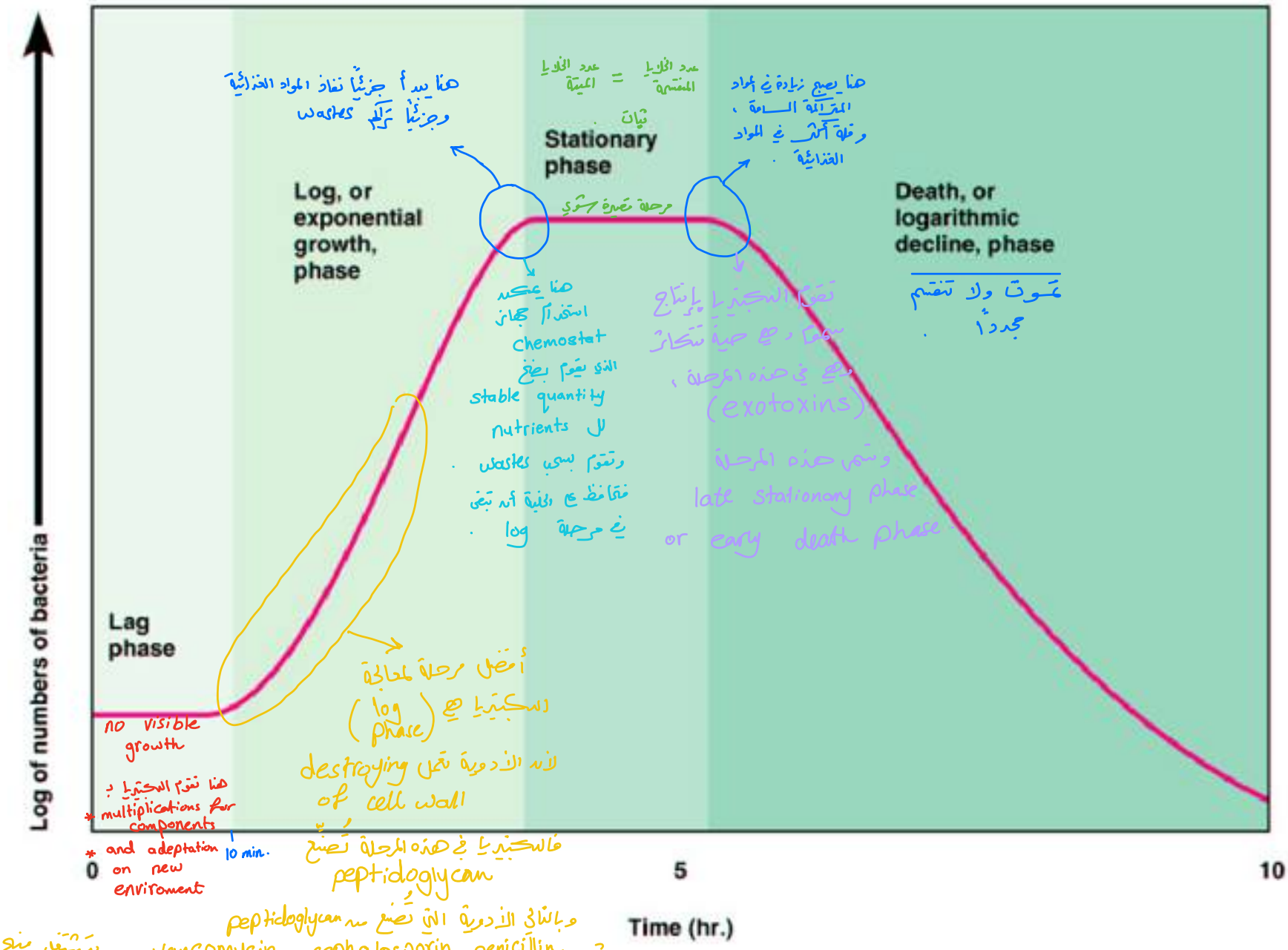
- وبعض البكتيريا كتابع (Mycobacterium Tuberculosis) مثل 24 h. وأيضاً lebrus التي تسبب مرض الجذام (lebrosy) عكس تأخذ 3 days حتى تنقسم الخلية الى خليتين .

— most of pathogens Bacteria that cause diseases in human have doubling time around (20-25 min.)

- ملاحظة عن log phase :- هنا يبدأ الانقسام 2n

لو عندي 25 doubling Time ، وعدد الخلايا التي تم زراعتها 100 ، فإن عدد الخلايا البكتيرية الناتجة = 100×2^{25} خلية .

Growth cycle



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Generation time

- *time for bacterial mass to double*

- *Example*

  100 bacteria present at time 0

  If generation time is 2 hr (doubling time) → كل خلية تنقسم مرة

  After 8 hr mass = 100 x 2^4 → في 8 ساعات تنقسم 4 مرات → يعني 4 generation cycles

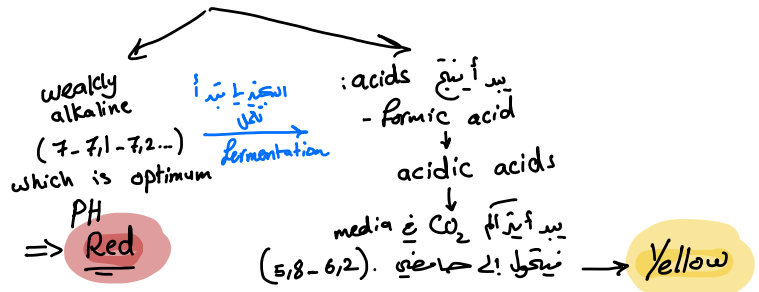
  يعني كم عدد الخلايا التي أنتجت

$$\text{mass} = \text{عدد الخلايا التي أدخلت} \times 2^{\text{doubling Time}}$$

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Fermentation of Sugars

- *Breakdown of sugars to pyruvic acid and then to lactic acid (glycolytic cycle)*
- *N. meningitidis vs. N. gonorrhoeae (glucose & maltose)*
- *L.F. as E. coli has beta-galctosidase*
- *If oxygen is present, pyruvate enters Krebs cycle and is metabolized to CO2 & H2O.*
- *Aerobes as P. aeruginosa produce metabolites that enter Krebs cycle by deamination of a.a.*
- *In clinical lab., pH indicators as phenol red are used.*



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Aerobic & Anaerobic Growth

L.F عشانه تخمّر سكر اللاكتوز الثنائي ، لازم يتكسر إلى glucose and glactose ، طالما بيتقدر تعمل البكتيريا سد فلازم يحتوي (Beta-galactosidase enzyme) ، عشان يحصل glycolysis عملية fermentation of lactose

E.coli مثل

* الخلايا اللي لا تحوي L.F تسمى (N.L.F) non. lactose. Fermenter.

- Obligate aerobes
- Facultative anaerobes
- Obligate anaerobes

strict/obligate aerobes هي (pseudomonas aeruginosa) ، وهي لا تستطيع العيش إلا بوجود O_2.

⇐ ولكنها ما بتعمل عطول أسرة باستخدام O_2 مباشرة ، إنه يكون final acceptor للهيدروجين (deamination) ↓ نزع مجموعة amin من amino acid.

يعني لا تستطيع أنه تقوم بـ fermentation للسكريات ، والأحماض الأمينية ، وإنما تقوم بـ Krebs cycle ، تدخل ، metabolites تنتج .

(O-/F Bacteria) = Oxidative Fermentative Bacteria

abscess مثل بعيد ← fixed anaerobic وهي موجودة في حالات infection ، وغالبًا العدم ، في 2 organisms

obligate anaerobe ← Facultative anaerobe ↓ بتعتمد البيئة على O_2

oxidative ← يبدأ Krebs cycle ↓ ينتج ATP ← later يعطي anaerobe ← يقول إلك يكون بطبقة تحت الأرض الميكروبات وحموضة

obligate ← Bacteriod infections ← مثال in GIT

internal absess ← لأنها تقل

e-coli ← عادة يكون

facultative

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Iron Metabolism

- *Iron in form of ferric ion is required for growth*

heavy metal

important for production of enzymes, growth factors, cytocromes family enzymes.

- *In body, iron mostly sequestered (transferrin)*

معزول

Binding ability (transferrin)

لذلك لو البكتيريا قدرت تقل Breaking down لل Transferrin و عملت chelating للحديد فهذا يعني انه البكتيريا ممرضة

- *Siderophores can capture iron (chelating agent) (e.g. enterobactin).*

عوامل إزالة الحديد من Transferrin

pathogenic تسبب e-coli

ملاحظة: المعلومات اخذناها وجاهزة: e-coli يوجد منها انواع ممرضة pathogenic

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Culture Media

- *Culture Medium: Nutrients prepared for microbial growth*
- *Sterile: No living microbes* → autoclaving
- *Inoculum: Introduction of microbes into medium*
- *Culture: Microbes growing in/on culture medium*

liquid

solid and semisolid

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Agar

- Complex polysaccharide
- Used as solidifying agent for culture media in Petri plates, slants, and deeps
- Generally not metabolized by microbes
- Liquefies at 100°C
- Solidifies ~40°C

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Culture Media

(CDM)

- *Chemically Defined Media: Exact chemical composition is known*
- *Complex Media: Extracts and digests of yeasts, meat, or plants*
  - *Nutrient broth* → Agar Agar
  - *Nutrient agar* → Agar Agar

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Culture Media

TABLE 6.2	**A Chemically Defined Medium for Growing a Typical Chemoheterotroph, Such as *E. coli***

Constituent	Amount
Glucose	5.0 g
Ammonium phosphate, monobasic ($NH_4H_2PO_4$)	1.0 g
Sodium chloride (NaCl)	5.0 g
Magnesium sulfate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2 g
Potassium phosphate, dibasic (K_2HPO_4)	1.0 g
Water	1 liter

TABLE 6.4	**Composition of Nutrient Agar, a Complex Medium for the Growth of Heterotrophic Bacteria**

Constituent	Amount
Peptone (partially digested protein)	5.0 g
Beef extract	3.0 g
Sodium chloride	8.0 g
Agar	15.0 g
Water	1 liter

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Table 6.2 & 6.4

Anaerobic Culture Methods

- *Reducing media* → عشان تقلل الأكسجين → عشان أوصل إلى anaerobic culture
- Reducing media are used for growing anaerobic bacteria in the laboratory. Since obligate anaerobes do not grow in the presence of oxygen, this type of media uses a chemical substance, such as thioglycolate, to remove molecular oxygen that is dissolved in the media
  - *Contain chemicals (thioglycollate or oxyrase) that combine O_2*
  - *Heated to drive off O_2* (تطلع)

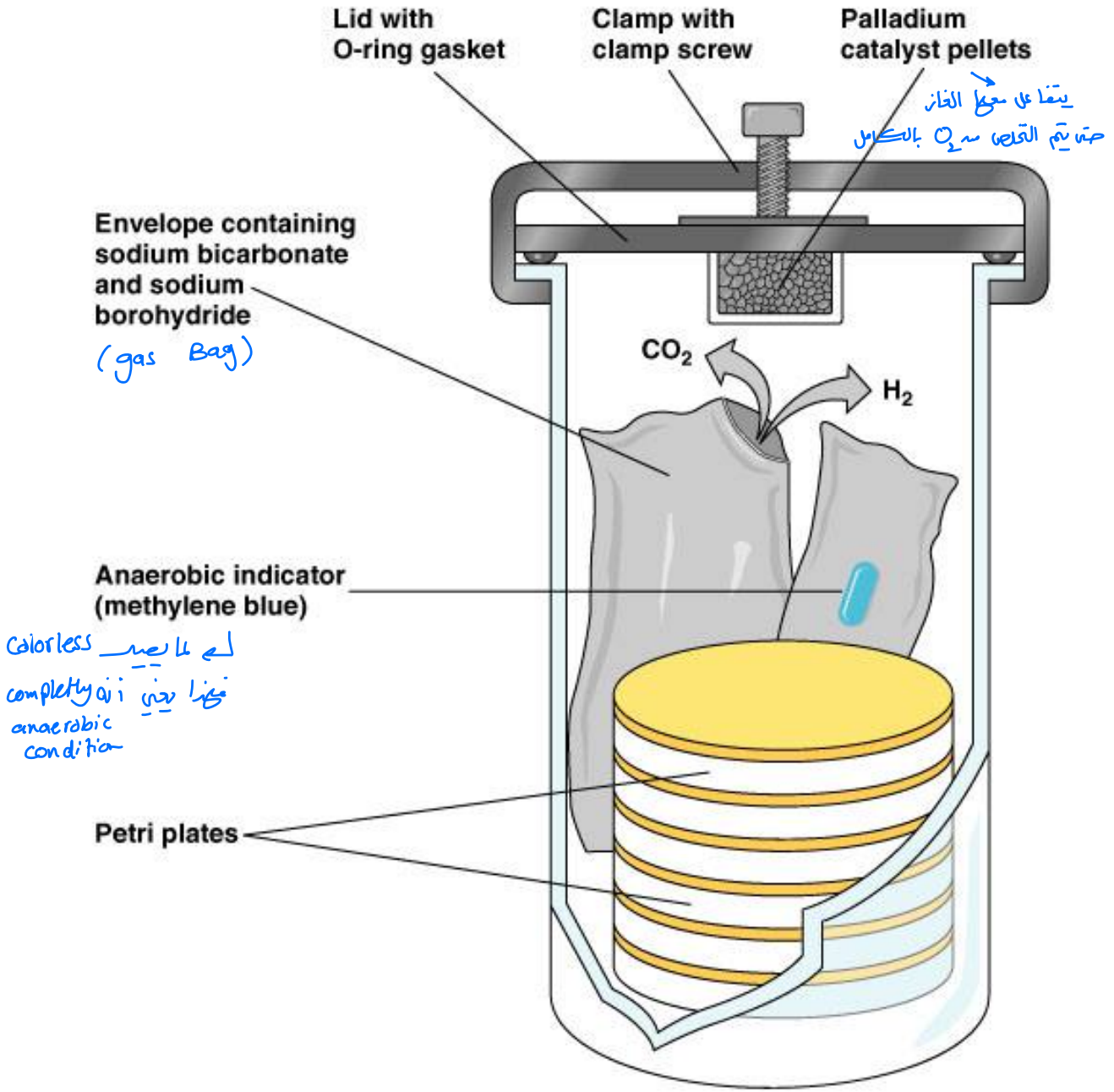
Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Anaerobic Culture Methods

- *Anaerobic jar*

* هذا يُستخدم لو كان عندي عينات قليلة .

* لكن لو عندي عينات كثيرة نستخدم anaerobic incubator



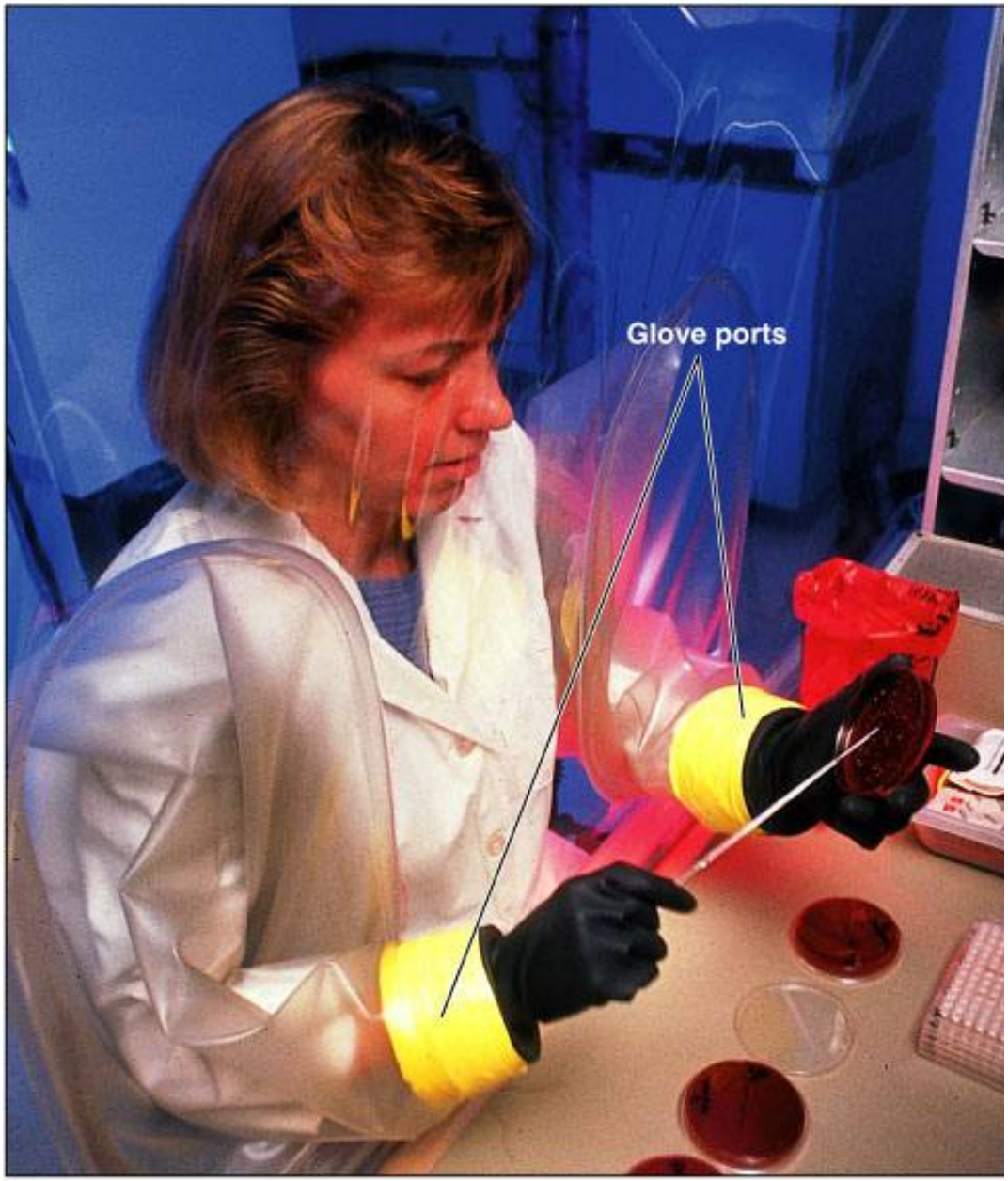
Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.5

Anaerobic Culture Methods

- *Anaerobic chamber* ⇒ نستخدم فيها البكتيريا

= anaerobic incubato

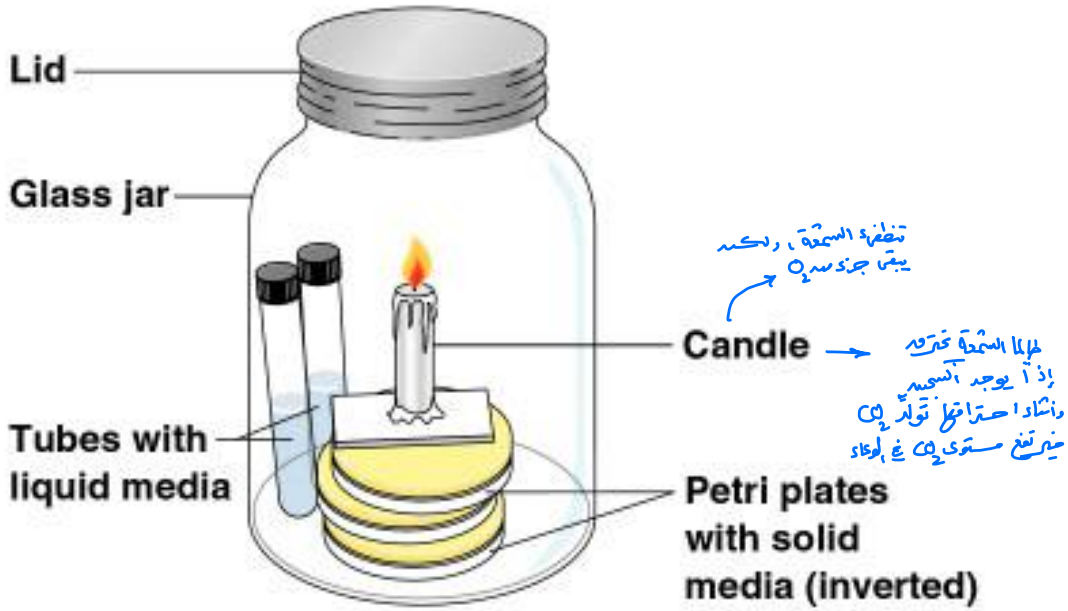


Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

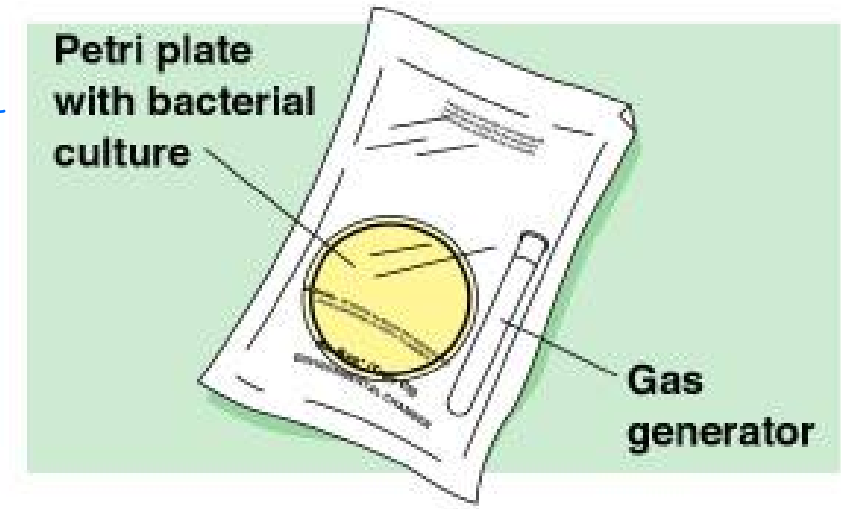
Figure 6.6

Capnophiles require high CO_2

- *Candle jar*



- *CO_2-packet*



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.7

Selective Media

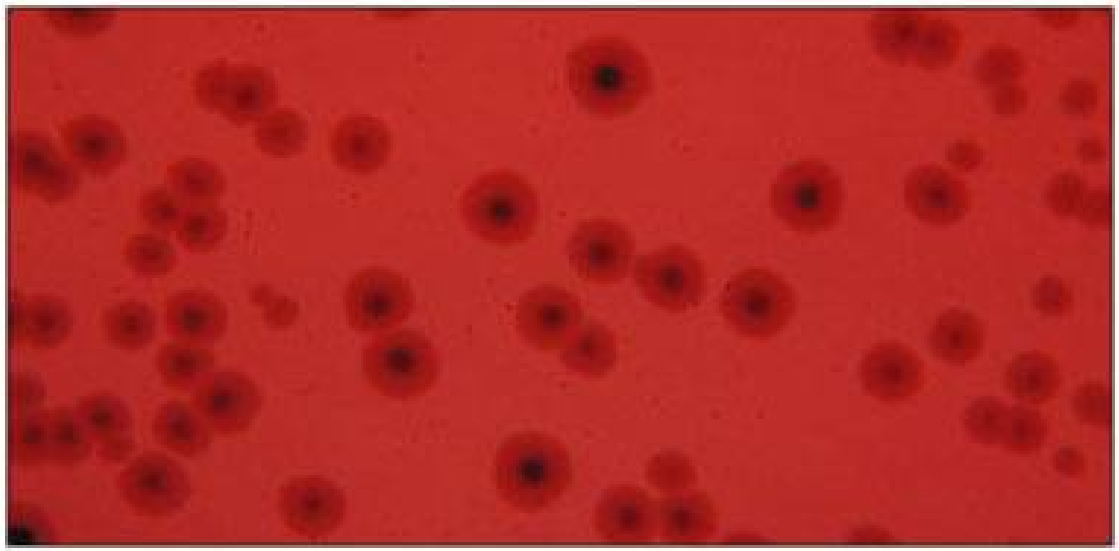
- *Suppress unwanted microbes and encourage desired microbes.*

هي وسط غذائي زرعي خاص ، فيه مواد قد تقتل البكتيريا

- Examples :-

* Macconkey agar .
* S.S. Agar . (يعمي نقط : Salmonella ، Shigella Agar) ويمنع أو يثبط ~90% من unwanted Bacteria .
* Bismuth sulfite agar . (لونه أسود)

sulfite agar (أسود)



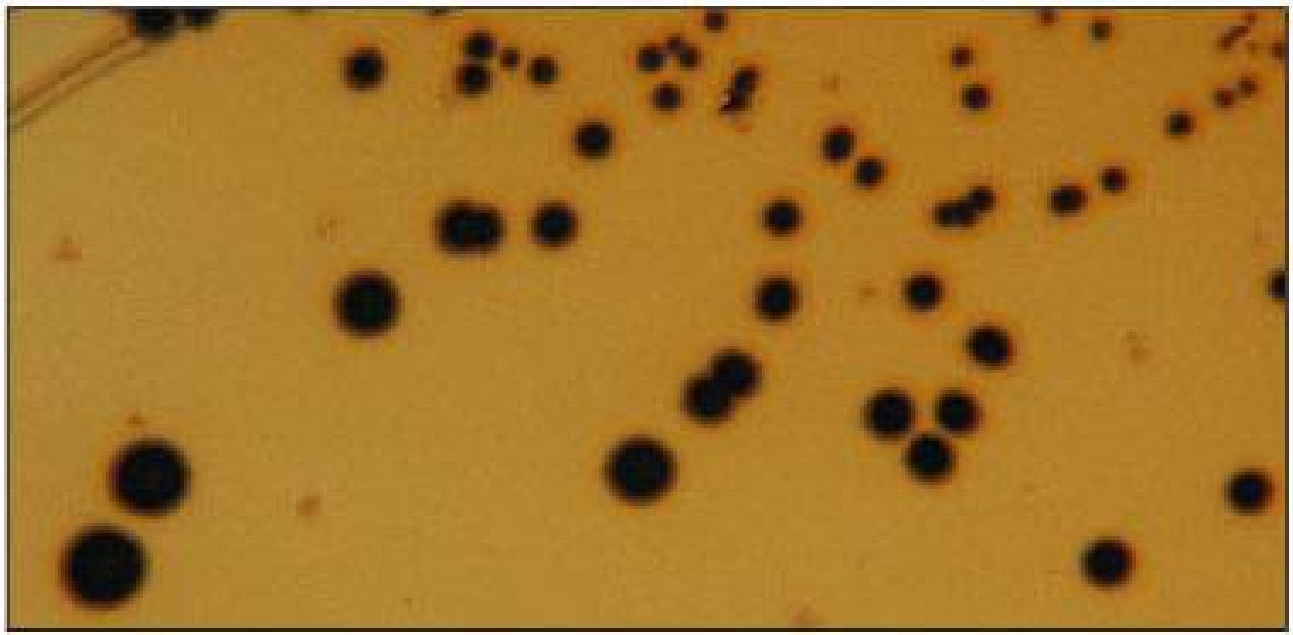
Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.9b, c

Differential Media

- *Make it easy to distinguish colonies of different microbes.*

- هو وسط غذائي يُفرّق 2 microbes أو أكثر ، وعند تحليله Test معين يتم التفريق بينهم .
- مثال - e-coli هي (lactose fermentar) تُنتج colonies (مستعمرات) لونها pink .
- بينما N.L.F مثل salmonella أو Shigella تُنتج مستعمرات colorless أو pale (شاحبة)



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.9a

Enrichment Media

- *Encourages growth of desired microbe*
- *Assume a soil sample contains a few phenol-degrading bacteria and thousands of other bacteria*
  - *Inoculate phenol-containing culture medium with the soil and incubate*
  - *Transfer 1 ml to another flask of the phenol medium and incubate*
  - *Transfer 1 ml to another flask of the phenol medium and incubate*
  - *Only phenol-metabolizing bacteria will be growing*

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

- *A pure culture contains only one species or strain*
- *A colony is a population of cells arising from a single cell or spore or from a group of attached cells*

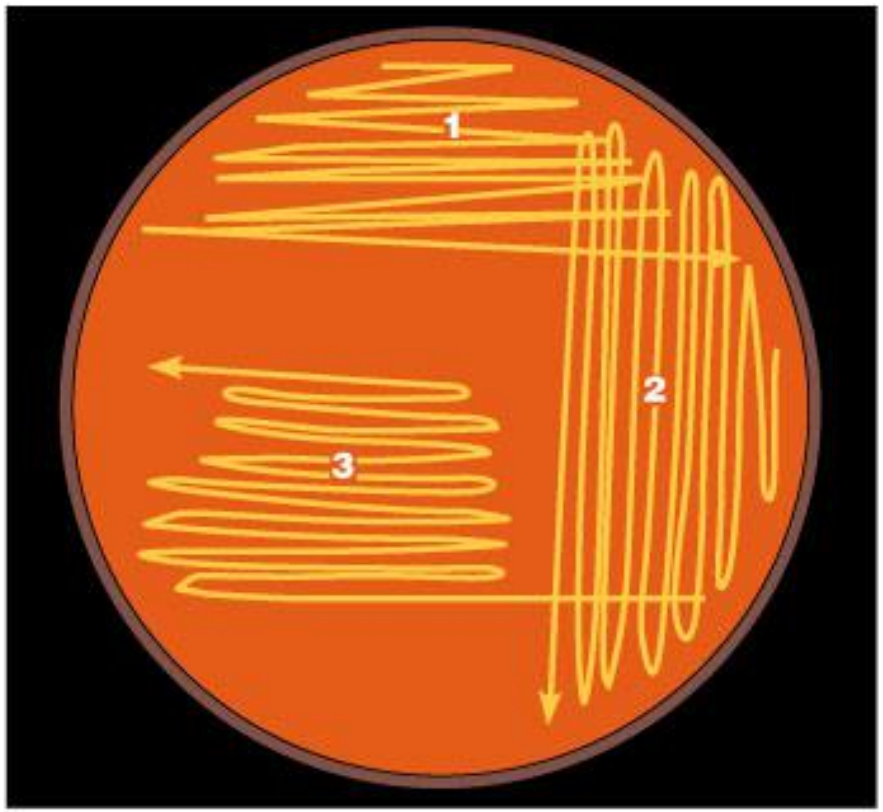
سميت كذلك لأنه ما بيوقف إذا colony نشأت عن خلية وحدة أو أكثر .

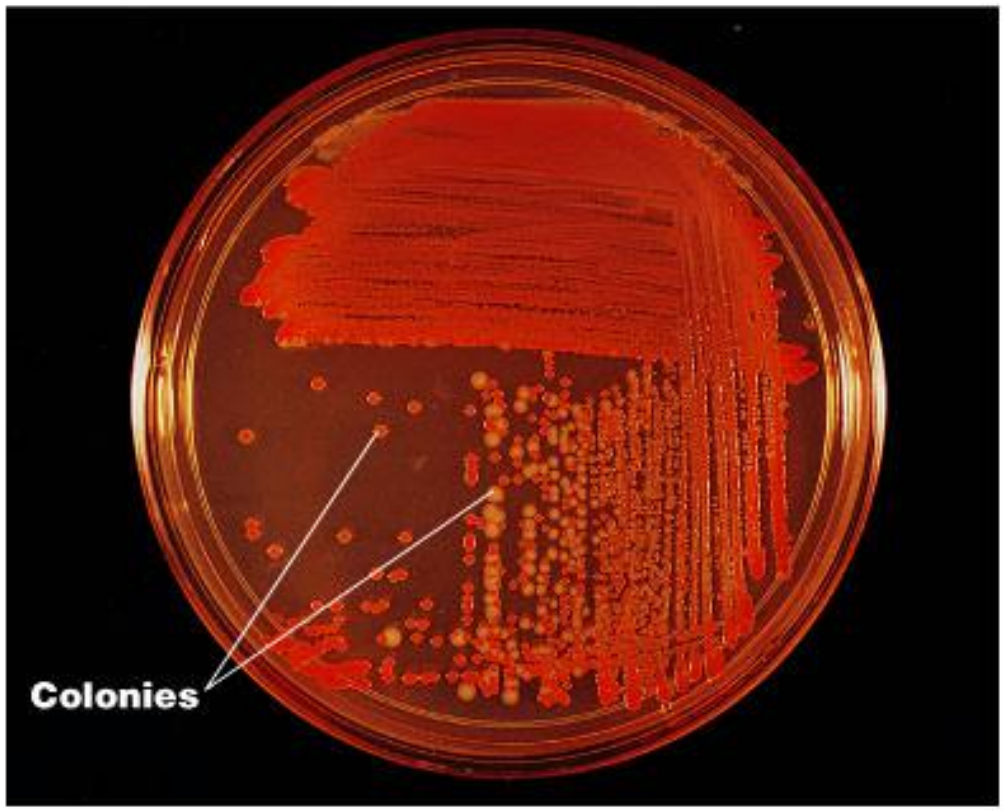
- *A colony is often called a colony-forming unit (CFU)*

مثال / مريض عنده (Typhoid fever) salmonella ، أخذنا منه عينة براز ، بتكون liquid لأنها diarrhea ، ونضعها في media اسمها Selenite F Broth ، هي عكس تثبط microbiota ، وتحفز نمو أجسام . بعدين التشخيص ، بحيث بعد ما حاكة ، بنعمل streaking growth على (solid plate media) فبقدر أعزل البكتيريا وأخليها (x1000) فالتخفيف ، فبزيد ال change عند لو زرعته direct Salmonella

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Streak Plate





Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Figure 6.10a, b