مقدمة في علم الاحياء المجهرية :-

هو احد فروع علوم الحياة الذي يهتم بدراسة مجموعة من الكائنات التي تتميز بصغر حجمها والتي لا ترى بالعين المجردة لذلك يجب استعمال المجهر لرؤيتها (microscopic)، ومن هنا سميت هذه المجموعة من الكائنات بالاحياء المجهرية والتي يطلق عليها ايضا بالكائنات الدقيقة ، وتشمل كل من البكتريا Bacteria والفطريات Fungi والطفيليات Protozoa والفايروسات Viruses والطحالب Algae والديدان المتطفلة Parasitic worm ، ويذكر ان عين الانسان لاتستطيع تميز الاجسام التي تقل قطرها عن ملم واحد تقريبا ومن هنا يجب تكبير صور هذه الكائنات باستخدام المجهر حتى تصبح ظاهرة للعيان . يشمل دراسة علم الاحياء المجهرية من الناحية المظهرية والتركيبة وطريقة التكاثر والنواحي الفسلجية وتصنيفها ووراثتها وتوزيعها في الطبيعة وعلاقتها مع بعضها البعض ومع غيرها من الكائنات الاخرى الموجودة في الطبيعة وقابليتها على احداث التغيرات الفيزيائية والكيميائية في الطبيعة.

تتباين احجام وتراكيب هذه الكائنات المجهرية باختلاف مجاميعها وكما يلي :

10 mm	cm		0.01-0.2 µm	Viruses الفايروسات
10 decimeter	mm		0.2-5 µm	Bacteria البكتريا
100 µicron	decimeter		2-4 µm	Fungi الفطريات
10^3 µicron	1 mm		7-8 µm	RBC كريات الدم الحمراء
10^4 Angstrom	1 µ			
4 nm(nanometer)	40^o A			

اهمية الاحياء المجهرية

تتواجد الاحياء المجهرية في كل مكان ، على سطح الارض وفي القطب المنجمد والمحيطات والبحار وعلى اجسام النباتات والحيوانات. ولصغر حجمها تتواجد باعداد كبيرة وتعيش في اماكن لاتستطيع احياء اخرى العيش بها ، لذلك فانها تلعب دورا اساسيا في الحياة.

ترجع اهمية الاحياء المجهرية للنظام البيئي بكونها اول الكائنات الحية في مجال البناء الضوئي photosynthesis وقبل ظهورالنباتات. ويشكل البناء الضوئي من قبل الاحياء المجهرية (متظمنة الطحالب) اكثر من 50% من التركيب الضوئي على سطح الارض وبهذا تساهم في انتاج الجزء الاكبر من الاوكسجين للغلاف الجوي. من العمليات المهمة الاخرى التي تحافظ على الفعاليات الحيوية على سطح الارض هي التحلل اوالتعفن decomposition حيث تتظمن عملية التحلل تكسر المواد الميتة والفضلات الى مركبات بسيطة والعودة بها الى دورة الحياة الطبيعية مما يجعلها مهمة للحفاظ على بيئة الهواء والتربة والماء ، تقوم الاحياء المجهرية بعملية تدوير المغذيات nutrient recycling . وتستخدم الاحياء المجهرية في

معالجة المشاكل البيئية والزراعية والطبية ومنها: في مجال التكنلوجيا الحيوية biotechnology حيث تدخل في صناعة الغذاء والدواء، وفي مجال الهندسة الوراثية genetic engineering حيث تساهم في اعادة ارتباط الـ DNA لتغيير المنتجات ونمط الحياة، والمعالجة البايولوجية Bioremediation وهي استخدام المايكروبات للتخلص من الملوثات والفضلات في الطبيعة. وتوثر المكروبات على صحة الانسان حيث يوجد ما يقارب 2000 مايكروب يسبب الامراض ، مما يساهم في نسبة المخاطر للكائنات الحية المتقدمة.

<u>نشوء الاحياء المجهرية</u>

يرجع نشوء البكتريا استنادا الى الاحفوريات المسجلة الى 3.5 بليون سنة ويعود تاريخ حقيقية النواة الى 1.8 بليون سنة. النشوء الاول لحقيقية النواة في الخط التطوري شمل الفطريات والنباتات ومتعددة الخلايا وبعدها الانسان (الشكل 1).

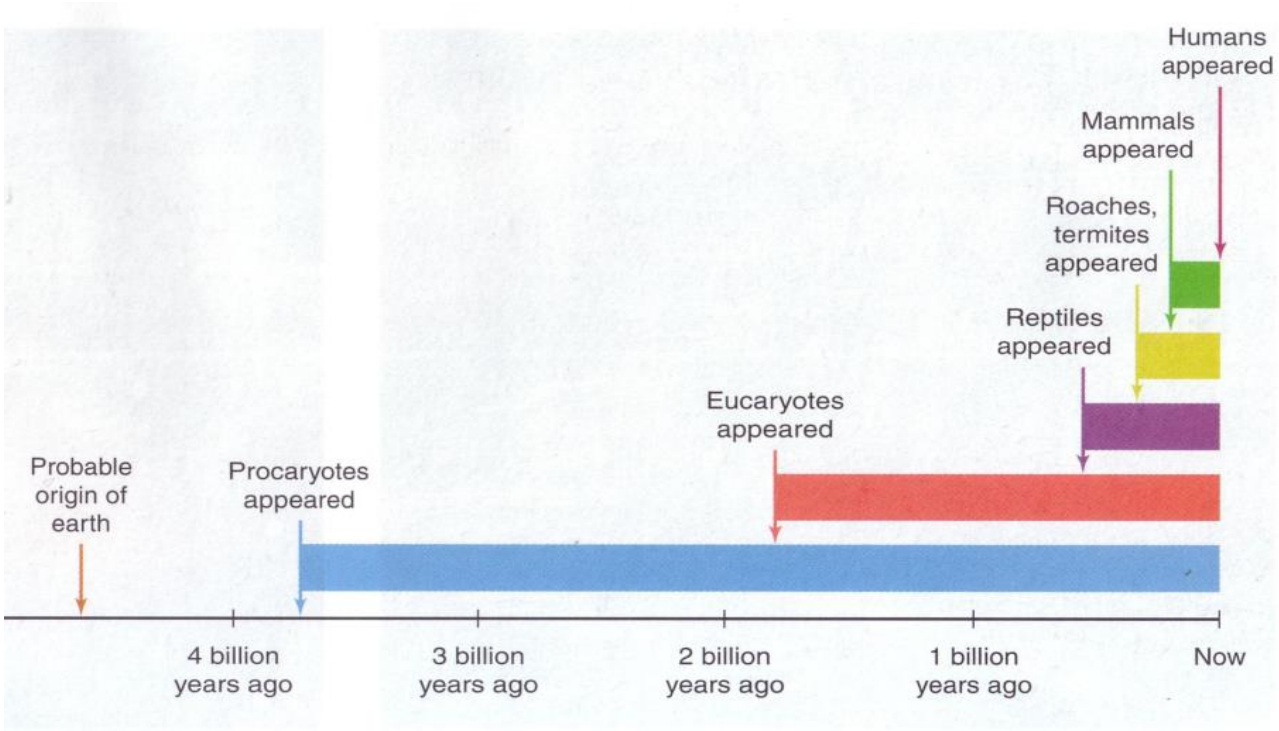
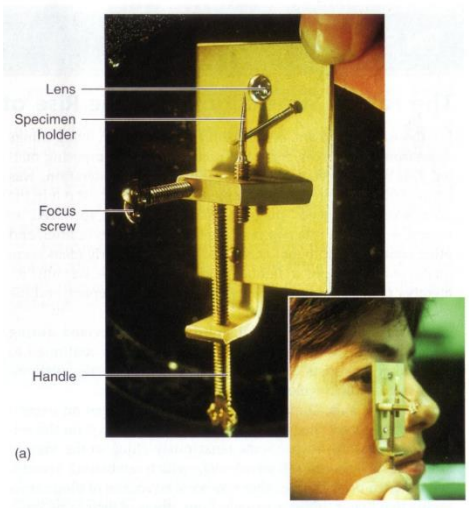


Fig. 1 Evolutionary timeline. The first bacteria appeared approximately 3.5 billion years ago. They were the only form of life for half of the earth's history

اكتشاف الاحياء المجهرية

يرتبط اكتشاف الاحياء المجهرية بتطور المجهر.اول من صمم نواة للمجهر المركب صانعوا النظارات في هولندا زكريا يانسون وجونز Johannes and Zacharias janssen في عام 1590 حيث وجدوا عند وضع عدستين محدبة في انبوب معدني نحصل على قوة تكبير للاشياء.وفي عام 1624 صنع العالم الايطالي Galielo بصورة علمية الـ Telescope و Microscope.

في عام 1658 صنع العالم Athanasius Kricher المجهر الطبي Medical Microscopy (يكبر 32 مرة). رغم وجود بعض الدلائل في التاريخ البشري من ان بعض المشاكل الصحية او الامراض التي يتعرض لها الانسان تعود الى كائنات غير مرئية الا ان لم يتمكن احد من رؤية هذه الكائنات الا في عام 1675اذ قام التاجر الهولندي Anton van leeuwenhoek بفحص قطرة ماء كبيرة باستعمال عدسة زجاجية صقلها بمهارة اذ كان مولع بصناعة العدسات. وقد بلغت قوة التكبير لمجهر لفينهوك بين الى 50 الى 300 مرة لذلك يعتبر مجهر ليفنهوك اكثر تطورا مما سبقه الاخرون . يعتبر العالم الهولندي Anton van leeuwenhoek المكتشف الاول لعالم الاحياء المجهرية وخاصة البكتريا لذا يعتبرالاب للاحياء المجهرية Father of bacteriology. وهو اول من وصف المايكروبات (البكتريا والابتدائيات) تحت المجهر ووصف الاشكال المختلفة للبكتريا (عصوية bacilli وكروية cocci) وتجمعاتها في الانسجة المصابة.



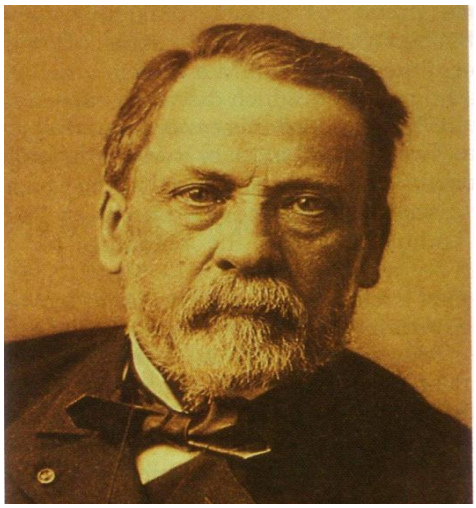
Leeuwenhoek's Microscope **Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723)**

اصل الحياة والنظريات الخاصة باصل الحياة

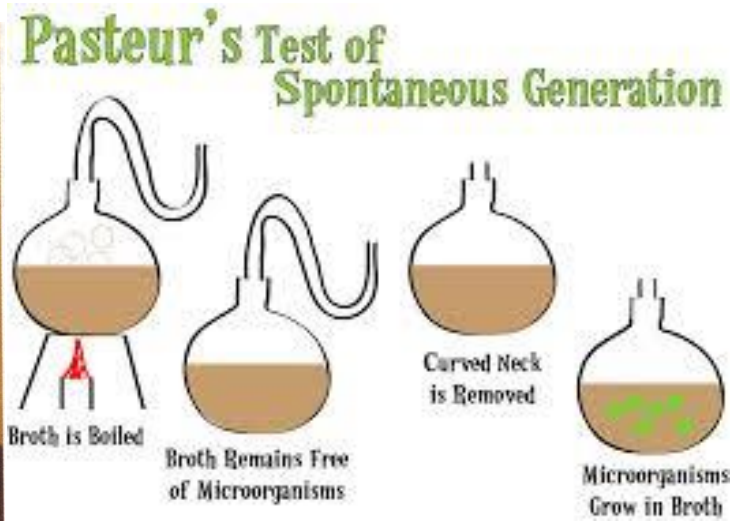
لقد كان الاعتقاد السائد ان الكائنات الحية تنشأ من اصل غير حي وهذا ما يعرف بالنشوء الذاتي spontaneous generation وحسب هذا الاعتقاد تنشأ الضفادع والفئران والنحل وغيرها من الحيوانات من الطين والجثث المتفسخة وماء

المطر اوالضباب. واعتقد فريق اخر من العلماء في تلك الحقبة من الزمن بان الاحياء الراقية من نبات او حيوان لاتتوالد الا من كائنات حية تشبة ابويها.

ساهم عدد من العلماء في دحض نظرية النشوء الذاتي، ومنها تجارب الغليان التي اجراها العالم لويس باستور، بغلي المرق المغذي في وعاء ذوعنق ضيق لقتل كل اشكال الحياة ثم اغلاقه باحكام بسداد قطني لمنع دخول الهواء الا انه اصبح عكراً بعد ازالة السداد بعد فترة زمنية محددة. ثم توغل باستور عمقا في هذه التجارب ، فاستعمل دورقا برقبة طويلة منحنية حيث يتيح هذا الدورق مرور الهواء بحرية من خلال رقبته ، وعند تسخين الدورق لمدة مناسبة ثم تركها لم يلاحظ باستور اي نمو الا بعد كسر رقبة الدورق حيث يتحول المرق الى شكل مضبب بعد ان كان رائقا وذلك خلال بضعة ايام ، وعند ذلك استنتج ان مصدر الكائنات ليست النماذج نفسها وانما جاءت اليها من الهواء.ولهذا يعتبر مؤسس علم البكتريا.



Louis Pasteur (1822-1895)



Pasteur's Experiment

من منجزات العالم Louis – Pasteur (1822-1895) :

1- **اقترح طريقة لحفظ الخمور والحليب تسمى البسترة Pasteurization .**
2- **قام بتجارب التخمير والذي اظهر ان هناك احياء مجهرية لا تستطيع العيش بوجود الهواء اطلق عليها الاحياء اللاهوائية Anaerobic .**
3- **وصف بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus* والبكتريا المسبحية *Streptococcus* والبكتريا المسببة للموت الغازي gas gangrene ، وبين ان الميكروبات موجودة في الهواء.**
4- **ادخال مبدأ السمية (Virulence) والاضعاف (Attenuation) حيث اوضح ان بامكان المزرعة البكتيرية المضعفة من ان تعمل كلقاح اي انها تمنح الانسان مناعة ضد اي اصابة لاحقة بالسلالات السامة لنفس النوع البكتيري.**
5- **طورعلاج لفايروس داء الكلب rabies.**

6- ان عمليات الغليان لمدة ساعة واحدة تكفي لقتل الاحياء المجهرية (الخضرية).الا ان هذا لم يكن صحيح اذ ان مؤيدي النظرية الذاتية طعنوا في دقة تجارب لويس (في الواقع ان الاشكال الخضرية للاحياء المجهرية تقتل خلال ساعة من الغليان الا ان السبورات لا تقتل).

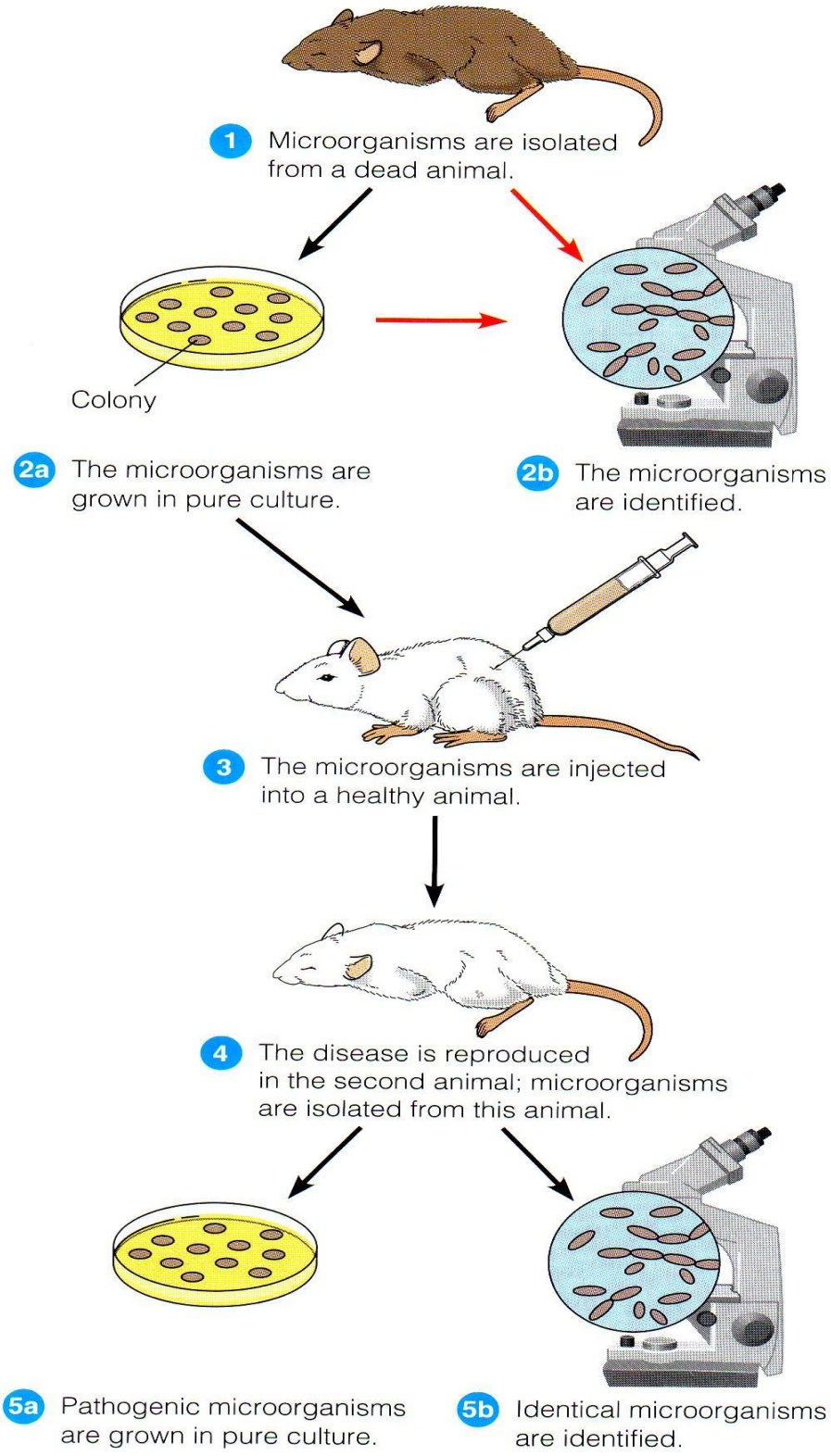
وخلال هذه المدة جاء العالم البريطاني John tyndal (1820- 1893) اول من وصف الاشكال الراكدة للبكتريا (السبورات) ،اذ انشأ طريقة لتحطيم اكثر اشكال البكتريا مقاومة (السبورات) حيث يتم غلي المادة العضوية بصورة متقطعة، وتنمو الابواغ الى خلايا خضرية تقتل بسهولة في الفترة التالية من الغليان وهذه التقنية تسمى Tyndalization.

ومن العلماء الذين خاضوا في بعض جوانب الامراض المعدية هو العالم البكتريولوجي الالماني Robert Koch (1843-1910) ومن انجازاته ما يلي:

1- وصف طريقة لتحضير المزارع البكتيرية على الاوساط الصلبة عام 1881 باستعمال مادة الـ gelatin
2- نشر مقالاً عن الاصابات الحيوانات المختبرية.
3- اول من صبغ المسحات البكتيرية.
4- نشر ابحاثه عن عصيات الجمرة الخبيثة Anthrax وشكلها وطبيعتها المرضية وطريقة الاصابة عام 1876.
5- نشر ابحاثه عن عصيات السل *Mycobacterium tuberculosis* عام 1882.
6- اكتشف ضمات الكوليرا عام 1883.

تجارب كوخ التقليدية لخصت على شكل فرضية اطلق عليها فرضية كوخ Kock's postulate والتي تعتبر لحد الان الاساس في تشخيص مسببات الامراض وهي تنص :

1- على الاحياء المجهرية ان تكون في جسم المريض.
2- يتحتم عزل الاحياء المجهرية من الحيوان المريض وتنميتها في مزرعة نقية.
3- الاحياء المجهرية المأخوذة من هذه المزرعة النقية يجب ان تحدث نفس المرض عندما تلقح بها حيوان اخرغير مريض.
4- يجب ان يحتوي الحيوان المختبري المصاب على الاحياء المجهرية قيد الدراسة .



Application of Koch's postulates

تصنيف للاحياء المجهرية:

صنفوا العلماء الاحياء الى مجاميع تشترك فيما بينها بصفات وخصائص معينة. قبل اكتشاف الاحياء المجهرية كانت الكائنات الحية تصنف في مملكتين هي الحيوانية والنباتية وكان العامل الاساسي في التصنيف هو عملية البناء الضوئي اذ الكائنات القادرة على القيام بالبناء الضوئي تصنف مع النباتات وماعدها تصنف مع الحيوانات. وبما ان البكتريا لم توضع في مكانها المناسب اذ ان البكتريا ليست من النباتات لان الكثير منها يتحرك حركة انتقالية وليست من الحيوانات لان بعض انواع البكتريا تستطيع استغلال الطاقة الشمسية شأنها شأن النبات لذا وضعت في موقع تصنيفي جديد. في عام 1969 وضع العالم H. R. Whittaker تصنيفا جديدا كان اكثر قبولاً وهو تصنيف يقوم على توزيع الكائنات الحية الى خمس ممالك:

عالم النبات	Kindom Plantae
عالم الحيوان	Kindom Animalia
عالم الكائنات الحية المجهرية حقيقية النواة	Kindom Protista
عالم الكائنات الحية المجهرية بدائية النواة	Kindom Monera
عالم الفطريات	Kindom Fungi

وتم تعديل التصنيف من قبل Whittaker and L. Margnlis في عام 1978 باضافة المجموعتين الرئيسية: حقيقية النواة Eucaryotes وبدائية النواة Procaryotes.

Superkingdom Procaryotes

Kindom Monera

Superkingdom Eucaryotes

Kindom Animalia

Kindom Plantae

Kindom Protista

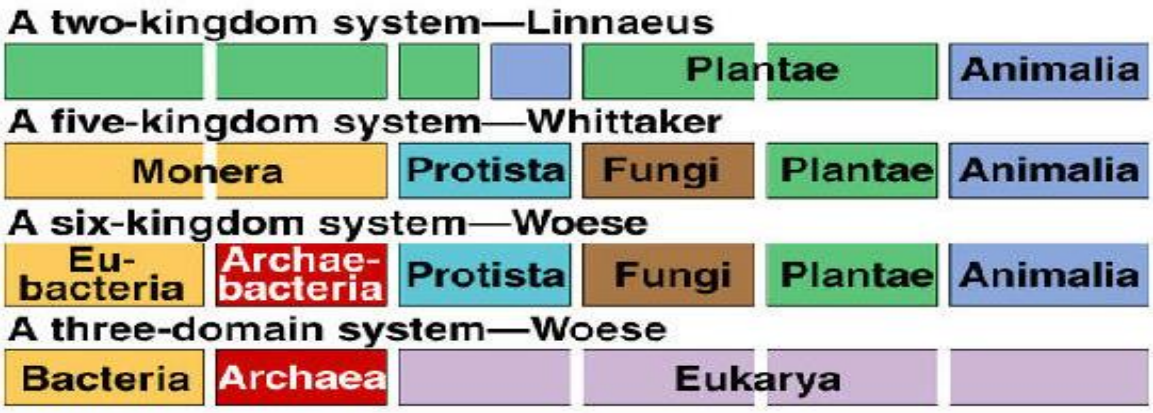
Kindom Fungi

التصنيف الاخير المعتمد حاليا والمنجز في عام 1990 من قبل العالمين كارل هوس Carl Woese وجورج فوكس George Fox اعتمد على التركيب الوراثي للرايبوسومات (16S rRNA genes) وعرف بنظام Woese- Fox system ، حيث يقسم الاحياء الى ثلاث مجاميع سائدة:

1-Archaea بدائية النواة البسيطة والمتواجدة في البيئات المتطرفة

2- Bacteria بدائية النواة النموذجية

3- Eucaryaكل انواع حقيقية النواة



شكل يوضح التصنيف للاحياء

الاسس المعتمدة في التصنيف:

1- **الفحص المجهري Microscopic Morphology** ويتم التشخيص باستخدام المجهر الضوئي المركب لملاحظة شكل وحجم الخلايا ، ترتيب الخلايا، تفاعل مع صبغة كرام، تفاعل الصبغة المقاومة للحامض، التراكيب الخاصة وتشمل السبورات والحبيبات الخازنة والكبسولة ويتم استخدام المجهر الالكتروني لدراسة الجدار الخلوي ، الاسواط ، الاهلاب بانواعها.

2- **الفحص المظهري Macroscopic Morphology ويشمل** مظهر المستعمرات ، قوام المستعمره ، الحجم ، الشكل ، اللون ، سرعة النمو في الوسط السائل ووسط الجيلاتين.

3- **Physiological/ Biochemical Characteristics الصفات الكيميوحيوية والفيزيائية**

- تتميز الانزيمات البكتيرية والصفات الكيموحيوية بالثبات للنوع البكتيري الواحد. لذا اعتمدت تلك الصفات ضمن انظمة التشخيص الحيوي وتحديد احتياجاتها الغذائية. مثال على ذلك تخمر السكريات، هضم البروتينات ، تحلل السكريات المعقدة ، قابلية انتاج انزيم الكتاليز catalase ، انزيم oxidase ، انزيم decarboxylases ، والحساسية للمضادات الحياتية.
- تنتج الخلايا البكتيرية اثناء نموها مواد ايضية مختلفة منها انتاج Butyric acid و Acetic acid و Isopropanol و Butanol و Aceton من قبل الانواع التابعة لجنس *Clostridium* . انتاج حامض Propionic من قبل جنس *Propionibacterium* خلال عملية التخمير. انتاج انزيم الـ Urease من قبل معظم انواع الجنس *Proteus* وانتاج انزيم Coagulase من قبل *Staphylococcus aureus* وانتاج انزيم التحلل لكريات الدم الحمراء β-haemolysin من قبل بكتريا المسببة للالتهاب اللوزتين *Strepotococcus pyogens*.(التحلل الكامل لكريات الدم الحمراء في الوسط الزرعي).

4 **التحليل الكيميائي Chemical Analysis ويشمل :** الدراسة الكيميائية للتراكيب البكتيرية مثل المركبات الببتيدية في الجدار الخلوي وتركيب الدهون في الغشاء الخلوي.

5 **عملية تحديد النمط المصلي** Serotyping اذ تساعد في تمييز نوع واحد عن الاخر اضافة الى تميز السلالات ضمن النوع نفسه من خلال اعطاء صورة واضحة عن الفروقات بين التراكيب السطحية للعزلات البكتيرية وذلك من خلال وجود اوغياب المستضد النوعي Specific antigen . مثال على ذلك يبلغ عدد الانماط المصلية الى اكثر من 2000 نمط مصلي لبكتريا السالمونيلا. ويعتمد التشخيص المصلي للبكتريا في العينات السريرية والاوساط الزرعية.

6 **التقنية الجزيئية والوراثية في التصنيف Genetic and Molecular Analysis** من الطرق الحديثة في طرق التصنيف هي محاولات المقارنة للمعلومات الوراثية بمختلف مجاميع الكائنات بصورة مستقلة. مثال على ذلك ان درجة التشابه في تسلسل او تعاقب القواعد النتروجينية للـ DNA لخليتين بكتيريتين تعد قياساً لعلاقاتها اذ كلما تباعد تتابع قاعدة DNA كلما تباعدت الكائنات بتطورها. ويعتمد هذا التصنيف على :

- **نسبة القاعدة الناتروجينية الكوانين والسايتوسين G-C base composition** يتغير المقدار النسبي لازواج القواعد كل من G+C مقارنتا بالقاعدة A+Tبصورة كبيرة في ما بين مختلف الكائنات وان هذا التغيرات في تركيب القواعد ذات قيمة هامة للتصنيف اذ يحتوي DNA بكتريا *E.coli* على 50% GC في حين ان DNA بكتريا *Bacillus subtillis* يحتوي على 40% GC وهذا يعني ان كلا الكائنين يحتوي على 50 و 60 % من AT على التوالي. ان النسبة المئوية لل G +C في البكتريا تتذبذب مابين 21 – 75 % .
- **DNA analysis using genetic probes يتم** تحديد النوع البكتيري species من خلال المواد الوراثية باستخدام قطع من ال DNAو RNA بما يعرف بالـ probes وهو متمم لقطعة محددة من DNA لمايكروب معين. عملية ارتباط probe في المادة الوراثية للبكتريا يحدد صفات التقارب على اساس المكون الوراثي. ويعتمد هذا النوع في تشخيص البكتريا في العينات السريرية والاوساط الزرعية.
- **Nucleic acid sequencing and rRNA analysis** احد علاقات التطور المعتمدة هي تسلسل القواعد الناتروجينية الـ RNAالرايبوسومي (rRNA). الرايبوسومات هي وحدة بناء البروتينات في جميع انواع الخلايا، ولذلك يبقى محتوى الاحماض النووية ثابت لفترة طويلة. ولهذا يعتمد تسلسل القواعد النانتروجينية في RNA الرايبوسومي مقياس لدرجة التشابة والاختلاف للمجاميع البكتيرية، وبذلك اعتمدت لتقسيم الاحياء الى ثلاث مجاميع فوق المملكة superkingdoms.

جدول يوضح الصفات العامة لبدائية وحقيقية النواة:

نوع الخلايا	مجموعة الكائنات الحية	الخصائص المميزة
-بدائية النواة Procaryotes	البكتريا، الطحالب الخضراء المزرقة	منطقة نووية ، كروموسوم واحد ، جدار خلوي معقد ، سوط ، الرايبوسوم 70S الانقسام عن طريق الانشطار الثنائي ، التبرعم
-حقيقية النواة Eucaryotes	الطحالب، الابتدائيات، الفطريات، النباتات، الحيوانات الراقية	تحاط النواة بغشاء ، تمتلك اكثر من كروموسوم ، البلاستيدات الخضر ، المايتوكوندريا ، اسواط معقدة ، الجدار بسيط التركيب ، جهاز كولجي ، الرايبوسوم 80S في السايتوبلازم،70S في المايتوكوندريا lysosomes ، الشبكة الاندوبلازمية ، الانقسام اختزالى.

تسمية الكائنات الحية:

لقد اعطي لكل كائن حي اسم معين وقد وضعت هذه التسمة للاحياء في القرن الثامن عشر حيث قام العالم النباتي السويدي ليناوس linnaeus عام (1778 – 1707) بأعطاء اسمين لاتينين اولهما الجنس Genus والاخر النوع Species ويطلق على هذه التسمية بالتسمية الثنائية Binomial System وقد اعطيت كافة الاحياء هذه التسمية وتمتاز بكتابة الحرف الاول من الجنس حرفاً كبيروالحرف الاول من النوع حرف صغير وان يكتب الاسم بصورة مائلة. ونتيجة لوجود بعض الاختلافات البسيطة ضمن افراد النوع الواحد ولهذا يقسم النوع الى سلالات Strains او ضروب Varieties مثل:

Escherichia coli Var. K12

Streptococcus lactis Var. maltigenes

Bacillus cereus Var. mycoides

تصنيف البكتريا:

اعتمد تصنيف البكتريا على مصدر رئيسي يعمل به في كل انحاء العالم وهو Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1957) ويراجع هذا الكتاب دورياً وعلى مر السنين لمتابعة ما يضاف من خصائص وصفات جديدة تكتشف وتضاف للنوع البكتيري المعين . تعتمد النسخة الاولى (1st edition) لعام1984 لمصنف Bergey's على صبغة كرام والتفاعلات الحيوية وهذا يعرف بطرق التصنيف المظهرية او الظاهرية phenotypic or phonetic ، وبتطور الطرق المعتمدة في التصنيف صدرت النسخة الثانية لمصنف بركيز (2nd edition) لعام 2004 باعتماده على المعلومات الوراثية للمجاميع البكتيرية ويسمى phylogenetic .

الجزء الاول (volume 1) يشمل:

112 CHAPTER 4 An Introduction to Cells and Procaryotic Cell Structure and Function

TABLE 4.4

The General Classification Scheme of *Bergey's Manual* (2nd Ed.)

Taxonomic Rank

Volume 1. The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria

1A. Domain Archaea
Phylum Crenarchaeota
Phylum Euryarchaeota
Class I. Methanobacteria
Class II. Methanococci
Class III. Halobacteria
Class IV. Thermoplasmata
Class V. Thermococci
Class VI. Archaeoglobi
Class VII. Methanopyri

1B. Domain Bacteria
Phylum Aquificae
Phylum Thermotogae
Phylum Thermodesulfobacteria
Phylum "Deinococcus-Thermus"
Phylum Chrysiogenetes
Phylum Chloroflexi
Phylum Thermomicrobia
Phylum Nitrospira
Phylum Deferribacteres
Phylum Cyanobacteria
Phylum Chlorobi

Domain Bacteria

Volume 2. The Proteobacteria
Phylum Proteobacteria
Class I. Alphaproteobacteria
Class II. Betaproteobacteria
Class III. Gammaproteobacteria
Class IV. Deltaproteobacteria
Class V. Epsilonproteobacteria

Volume 3. The Low G + C Gram-Positive Bacteria
Phylum Firmicutes
Class I. Clostridia
Class II. Mollicutes
Class III. Bacilli

Volume 4. The High G + C Gram-Positive Bacteria
Phylum Actinobacteria
Class Actinobacteria

Volume 5. The Planctomycetes, Spirochaetes, Fibrobacteres, Bacteriodetes, and Fusobacteria
Phylum Planctomycetes
Phylum Chlamydiae
Phylum Spirochaetes
Phylum Fibrobacteres
Phylum Acidobacteria
Phylum Bacteroidetes
Phylum Fusobacteria
Phylum Verrucomicrobia
Phylum Dictyoglomus

Domain Archaea
Domain Bacteria

- Archaea تضم اقدم مجاميع الخلايا التي ظهرت على وجه الارض قبل 4 بليون سنة. تعيش في البيئات المتطرفة الحارة والمالحة والحامضية ، مثل المجاميع المنتجة للميثان والمجاميع المحبة للحرارة العالية hyperthermophiles والمحبة للبرودة psychrophilic والمجاميع المحبة للملوحة extreme halophiles والمجاميع المختزلة للسلفة sulfur reducers . تعيش هذه الخلايا في قاع البرك والمحيطات والعيون الحارة وتمثل ايضا جزء من الفلورا الطبيعية للفم والامعاء للانسان.

- Bacteria تشمل البكتريا المتفرعة branching والبكتريا الضوئية phototropic. وتشمل السيانوبكتريا cyanobacteria و green sulfur bacteria .وتعيش في البيئات المختلفة مثل العيون الكبريتية و وبحيرات المياه العذبة.

الجزء الثاني (volume2) يشمل:

- Proteobacteria تشمل مجاميع مختلفة وهي

1- البكتريا السالبة لصبغة كرام، معظمها مهمة من الناحية الطبية، متطفله داخل خلوية اجبارية ، مثل الـ Rickettsias .

2- العصيات السالبة لصبغة كرام ، مثل *Escherichia coli*, *Salmonella* .

3- الحلزونيات spiral المرضية مثل *Helicobacter* , *Campylobacter* .

4- Photosynthetic bacteria مثل البكتريا المتزحلقة gliding .

الجزء الثالث (volume3) يشمل:

عائلة Firmicutes البكتريا الموجبة لصبغة كرام ،قليلة القاعدة الناتروجينية G+C (اقل من 50%) و مهمة من الناحية الطبية ومنها

1- البكتريا العصوية المكونة للسبورات مثل *Clostridium*, *Bacillus* .

2- المكورات مثل *Staphylococcus*, *Streptococcus* .

3- *Mycoplasma* تتميز بفقدانها للجدار الخلوي.

الجزء الرابع (volume4) يشمل:

عائلة Actinobacteria البكتريا الموجبة لصبغة كرام ، كثيرة القواعد الناتروجينية G+C (اكثر من 50%) و تضم عدة مجاميع منها

1- الخيطية المتفرعة مثل *Actinomycetes*

2- المنتجة للسبورات *Streptomycetes* (من المجاميع المنتجة للمضادات الحياتية)

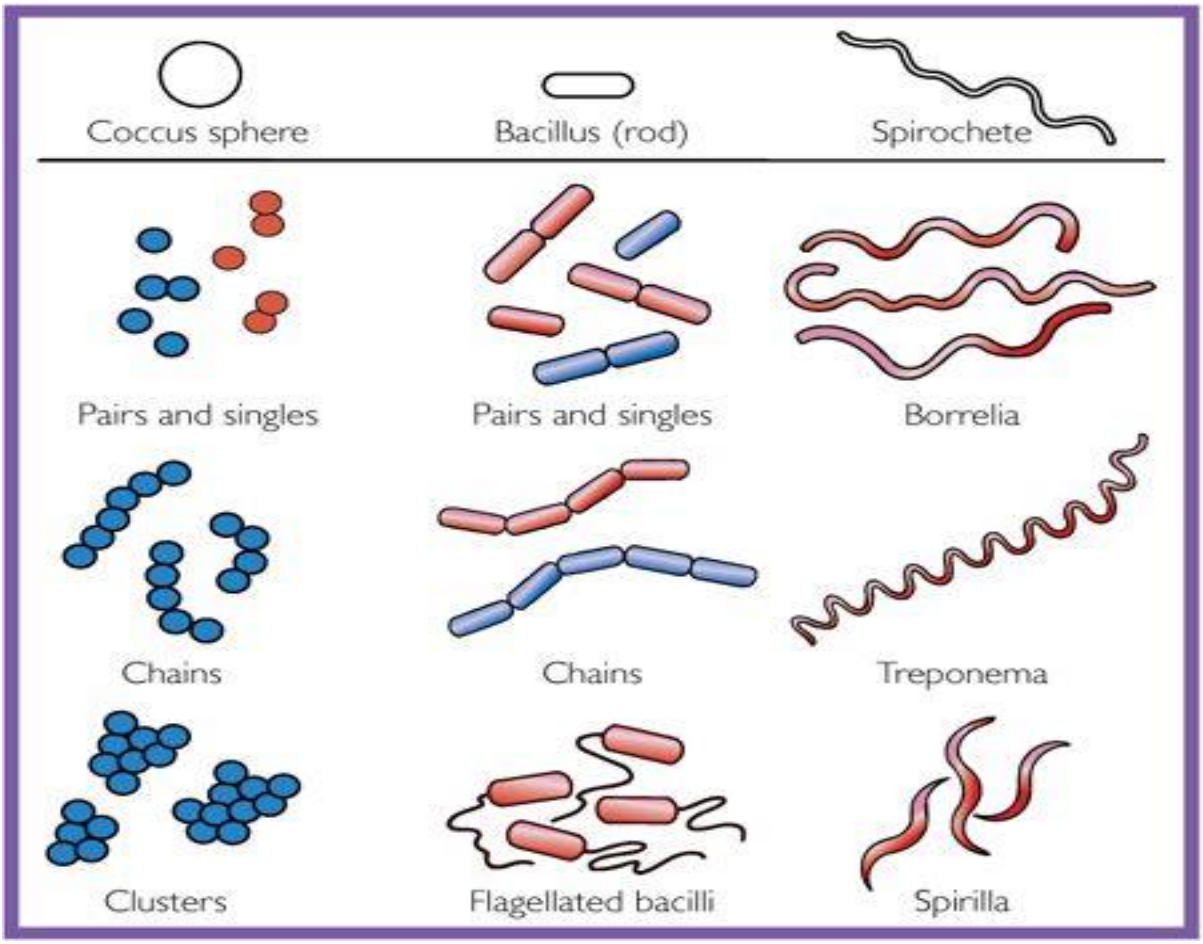
3- الجنس *Corynebacterium* ، *Mycobacterium*، *Micrococcus* .

الجزء الخامس (volume5) يشمل:

9 عوائل متباينة فيما بينها، جميعها سالبة لصبغة كرام وتضم بكتريا مهمة من الناحية الطبية مثل: *Chlamydia* (طفيليات اجبارية)، الحلزونيات *Treponema* المسبب للسفلس.

المجاميع التصنيفية للبكتريا

توجد عدة انظمة للتصنيف منها على اساس اهميتها الطبية ومنها على اساس اختلاف معيشتها البيئية ، بالاضافة الى ما ذكر سابقا اعتمادا على فعالياتها الايضية وتركيبها الوراثي.



المجاميع البكتيرية المهمة طبيا وتشمل:

1- البكتريا الموجبة لصبغة كرام Gram-Positive Bacteria (Firmicutes)

أ) مكورات تتجمع على شكل عناقيد او مجاميع ، هوائية ولاهوائية اختيارية مثل عائلة:

Family Micrococcaceae: **Staphylococcus** (members cause boil, skin infection)

تسبب الدمامل الجلدية ، التهابات الجلد

ب) مكورات تتجمع بشكل ازواج او سلاسل، ولاهوائية اختيارية مثل العائلة:

Family Streptococcaceae: **Streptococcus** (species cause strep throat, dental caries).

تسبب تسوس الاسنان ، التهاب البلعوم

ت) مكورات لاهوائية تتجمع بشكل ثنائي، رباعي، مجاميع غير منتظمة مثل العائلة:

Family Peptococcaceae: **Peptococcus**, **Peptopstreptococcus** (involved in wound infection).

تسبب عدوى الجروح

ث) عصيات مكونة للسبورات مثل عائلة:

Family Bacillaceae: **Bacillus** (anthrax) تسبب الجمرة الخبيثة

Clostridium (tetanus, gas gangrene, botulism) تسبب تسمم الغذائي ، الكزاز ، الغنغرينا

ج) عصيات غير مكونة للسبورات وتشمل :

Family Lactobacillaceae: **Lactobacillus**, **Listeria** (milk-borne disease), الامراض المنقولة بالحليب

Erysipelothrix (erysipeloid) الاحمرار .

Family Propionibacteriaceae: **Propionibacterium** (involved in acne) حب الشباب

Family Corynebacteriaceae: **Corynebacterium** (diphtheria) الخناق

Family Mycobacteriaceae: **Mycobacterium** (tuberculosis, leprosy). السل والجذام

Family Nocardiaceae: **Nocardia** (lung abscesses). خراجات الرئة

Family Actinomycetaceae: **Actinomyces** (lumpy jaw) , **Bifidobacterium**

Family Streptomycetaceae: **Streptomyces** (important source of antibiotics).

مصدر للمضادات الحيوية .

2- البكتريا السالبة لصبغة كرام Gram- Negative Bacteria (Gracilicutes)

أ) مكورات هوائية مثل جنس:

Neisseria (gonorrhea, meningitis) Branhamella , التهاب السحايا ،مرض السيلان

ب) عصيات مكورة Coccobacilli هوائية مثل الجنس:

Moraxella, **Acinetobacter**

ت) مكورات لاهوائية

Family Veillonellaceae: **Veillonella** (dental disease). امراض الاسنان

ث) عصيات متنوعة miscellaneous

Brucella (undulant fever) حمى مالطا الحمى المتموجه , **Bordetella** (whooping cough) السعال الديكي , **Francisella** (tularemia)

ج) عصيات هوائية

Family Pseudomonadaceae: **Pseudomonas** (pneumonia, burn infection) التهاب الحروق

Miscellaneous: **Legionella** (legionnaire's disease)

ح) الضمات والعصيات الهوائية او اللاهوائية اختيارية

Family Enterobacteriaceae: **Escherichia**, **Edwardsiella**, **Citrobacter**, **Salmonella** (typhoid fever) الحمى التايفوئيد, **Shigella** (dysentery) الديزنتري , **Klebsiella**, **Enterobacter**, **Serratia**, **Protus**, **Yersinia** (one species causes plague) الطاعون .

Family Vibronaceae: **Vibrio** (cholera, food infection) ، مرض الكوليرا , **Campylobacte**r, **Aeromonas**.

Miscellaneous genera: **Chromobacterium**, **Flavobacteriu**m, **Haemophilus** (meningitis) التهاب السحايا , **Pasteurella**, **Cardiobacterium**, **Streptobacillus**.

خ) عصيات لاهوائية

Family Bacteroidaceae: **Bacteroides**, **Fusobacterium** (anaerobic wound and dental infections) التهاب الاسنان والتهابات الجروح اللاهوائية.

د) الحلزونيات والبكتريا المنحنية

Family Spirochaetaceae: **Treponema** (syphilis) السفلس , **Borrelia** (Lyme disease) التهابات الرئه , **Leptospira** (kidney infection) التهابات الكلية .

ذ) بكتريا متطفلة داخل خلوية اجبارية obligate intracellular bacteria

Family Rickettsiaceae: **Rickettsia** (Rocky Mountain spotted fever), **Coxiella** (Q fever).

Family Bartonellaceae: **Bartonella** (trench fever, cat scratch disease) الخناق .

Family Chlamydiaceae: **Chlamydia** (sexually transmitted infection).

3) بكتريا فاقدة للجدار الخلوي (Tenericutes)

Family Mycoplasmataceae: **Mycoplasma** (pneumonia), **Ureaplasma** (urinary infection).

مجاميع البكتريا حرة المعيشة غيرالمرضية:

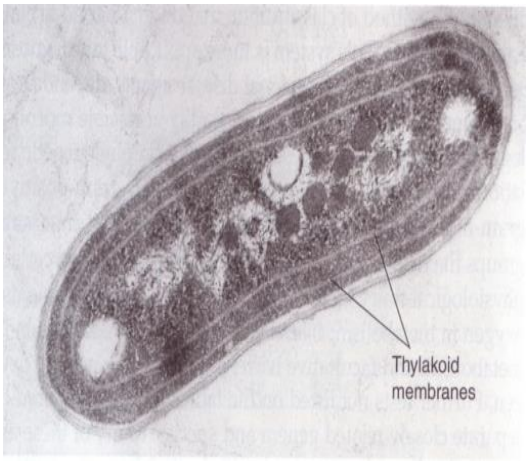
1- بكتريا التركيب الضوئي photosynthetic bacteria

غالبية البكتريا تغذيتها متباينة heterotrophic بمعنى انها تحصل على المواد الغذائية من كائنات اخرى. اما بكتريا التركيب الضوئي فتحتوي على حبيبات خاصة تستغل ضوء الشمس لانتاج الطاقة وبمشاركة المركبات اللاعضوية البسيطة. وتشمل المجموعة جنسين رئيسيين:

أ) البكتريا المنتجة للاوكسجين اثناء عملية التركيب الضوئي

ب) البكتريا المنتجة للكبريت او تحتوي sulfur granules.

2- البكتريا الزرقاء المخضرة Cynobacteria: blue- green bacteria



Electron micrograph of a cyanobacterial cell (80000x)

سابقا كانت تعرف بالطحالب الخضراء المزرقة ولعدة سنوات تصنف ضمن حقيقية النواة. لكن الدراسات اللاحقة اثبتت امتلاكها الى جدار خلوي وتصطبغ بالصبغة السالبة لصبغة كرام وتمتلك عضيات مشابه للبدائيات prokaryotic . من صفاتها:

أ) يتراوح حجمها بين 1µm الى 10µm

ب) تتواجد بشكل خلايا مفردة (احادية)او مستعمرات او مجاميع خيطية.

ت) تمتلك غشاء سايتوبلازمي مميز يسمى thylakoid ويحتوي على حبيبات الكلوروفيل a .

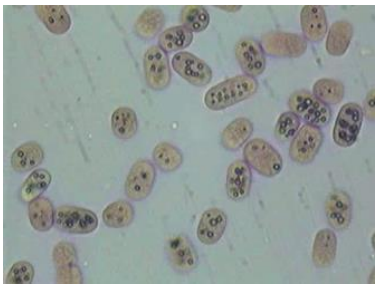
ث) تحتوي على اكياس غازية (gas inclusion) تسمح للخلايا بالطفو في البيئات المائية.

ج) تتواجد في البيئات العذبة والمالحة والعيون الحارة.

ح) تعيش في البيئات الملوثة، ولهذا تعتبر كدليل لتلوث المياه.

3- بكتريا الكبريت الخضراء والبنفسجية Green and Purple Sulfur Bacteria

أ) بكتريا ضوئية التغذية



ب) تختلف عن البكتريا الخضراء المزرقة باحتوائها على انواع مختلفة من الكلوروفيل يدعى bacteriochorophyll ولا تنتج اوكسجين.

ت) تعيش في العيون الكبريتية وبحيرات المياه العذبة.

ث) تتراوح الوانها بين البني ، الوردي ، البنفسجي ، الازرق والبرتقالي.

ج) تستهلك مركبات الكبريت (H_2S, S) اثناء فعالياتها الايضية.

4- البكتريا المتزحلقة والثمرية Gliding , Fruiting Bacteria

أ) البكتريا المتزحلقة تشمل البكتريا السالبة لصبغة كرام التي تعيش في المياه والتربة.

ب) جاءت التسمية من تزحلق عدد من الخلايا على السطوح الرطبة.

ت) تكون اجسام ثمرية عند انتاج السبور، مشابه لتكون السبورات في الفطريات.

Two species of Oscillatoria, a gliding, filamentous form(100x)

البكتريا Bacteria:- هي كائنات واسعة الانتشار توجد بشكل طبيعي على سطوح الاجسام وفي داخلها وفي الغذاء والماء والتربة والهواء. وتكون احادية الخلية تمتلك المواد البروتوبلازمية الاساسية للنمو والتكاثر تستهلك المواد الذائبة بالسوائل وتطرح الفضلات الناتجة عن العمليات الايضية بالانتشار Diffusion. وان قسم من البكتريا تسبب امراض للانسان واخرى للحيوانات الواطئة واخرى للنباتات وبعضها لا يصيب اي من الكائنات الحية ولكن يعيش بصورة تعايشية Commensally وقد تعيش في جسم الانسان ولاتسبب المرض وتدعى Normal flora ويطلق على البكتريا المسببة للامراض بـــ non-pathogenic ولكن قد تصبح ممرضات انتهازية Opportunistic pathogens عند انخفاض المناعة والجهاز الدفاعي للجسم.

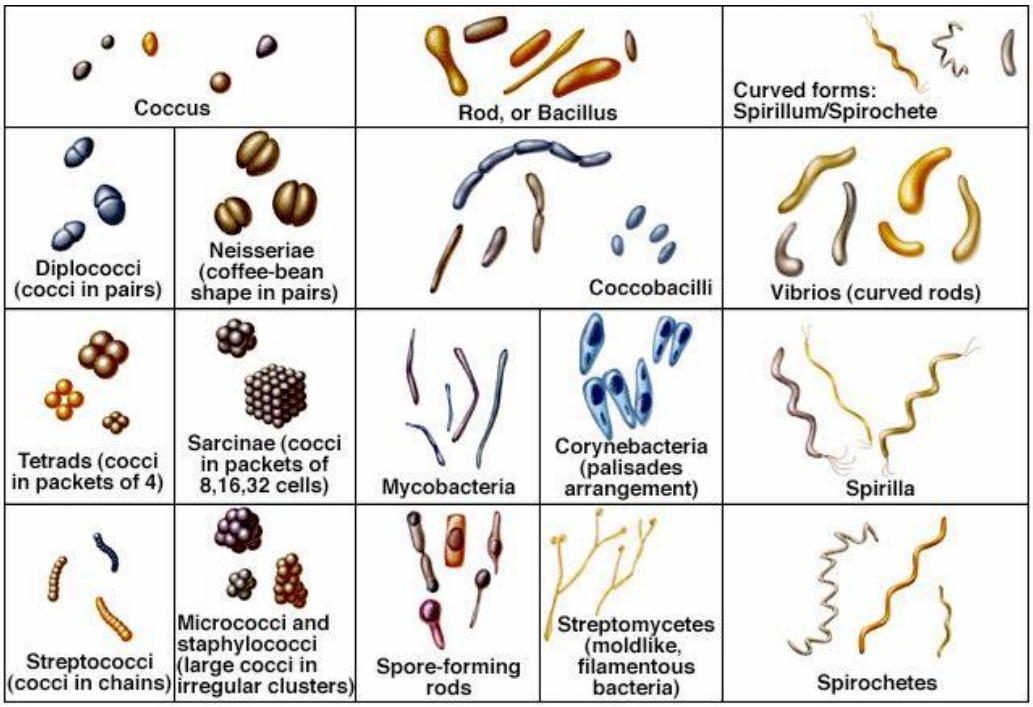
الحجم والشكل الخارجي Size and Morphology:- ان وحدة قياس الابعاد البكتيرية هي المايكروميتر الذي يعادل جزءآ واحدآ من الف الف من المتر(10^{-6} متر). تتراوح ابعاد البكتريا من 1-6 مايكرون طولا ومن 1.5 – 2 عرضآ وقد تصل في بعض انواع البكتريا الخيطية والحلزونية الى مئة مايكروميتر طولا ، على هذا فهي اصـــغر من خلايا حقيقية النواة ،حيث ان الموجودات التركيبية في الخلية هي التي تحدد حجم هذه الكائنات ، والذي يجعل فعالياتها الحيوية كبيرة حيث تتناسب هذه عكسيا مع حجم الكائن الحي أي انه كلما زاد حجم الكائن الحي تباطأ معدل التفاعلات الايضية التي تجري داخل جسمه. وبما ان معدل النمو يتحدد عموماً بمعدل سرعة التفاعلات الايضية لذا تتصف البكتريا بنموها السريع حيث تتضاعف اغلب انواع خلايا البكتريا بوقت اقل من ساعة واحدة تحت الظروف البيئية المناسبة. هنالك ثلاثة اشكال للخلية البكتيرية وهي الشكل الكروي Spherical – Coccus والشكل العصوي Rod Shaped- Bacillus و الشكل الحلزوني Spirillum.

المكورات Spherical bacteria :- وتسمى للجمع cocci ومفردها coccus توجد اختلافات ضمن الشكل الواحد فليس من الضروري ان تكون كروية كاملة الشكل ولكن تكون بيضوية Ellipsoidal او متطاولة Elongated او مسطحة من الوجهين Flattened on one side.

الشكل العصوي Rod Shaped bacteria :- وتسمى للجمع bacilli والمفرد bacillus تتغاير البكتريا العصوية في اطوالها ويكون طولها وقطرها متشابهان احيانا حتى يصعب معها تمييزها عن المكورات اما نهاياتها فقد تكون دائرية او منبسطة او مقعرة اومتشعبة.

البكتريا حلزونية الشكل Spiral shaped bacteria :- وتسمى Spirillum للمفرد وللجمع Spirilla تظهر بعض العصيات بشكل حلزوني وقد تكون صلبة او مرنة اعتماداً على النوع فقد تكون قصيرة على شكل نابض كثيف الدورات او على شكل حلزون غير كامل ويدعى هذا النوع ببكتريا الضمة Vibrio اوComma.

التجمعات Arrangment :- تنقسم معظم البكتريا بالانشطار الثنائي (الانشطار البسيط) binary fission لتكوين خليتين منفصلتين متميزتين وظيفياً مع انه قد لا تنفصل هذه الخلايا عن بعضها دائماً. ويؤدي التصاق الخلايا الى ترتيب مميز يعتمد على مستويات التي تنقسم فيها البكتريا فالخلايا التي تنقسم في مستوى واحد تكون تجمعات بشكل سلاسل في حين الخلايا التي تنظم في مستويات عديدة وبطريقة عشوائية تكون تجمعات على شكل عناقيد وعندما يحدث الانقسام بتتابع وبمستويات عمودية على بعضها البعض تنتج رزم صغيرة مكعبة الشكل. فبكتريا (*Streptococcus*) تميل الى تكوين سلاسل طويلة في حين بكتريا *Staphylococcus* تميل الى تكوين عناقيد (شكل 1).

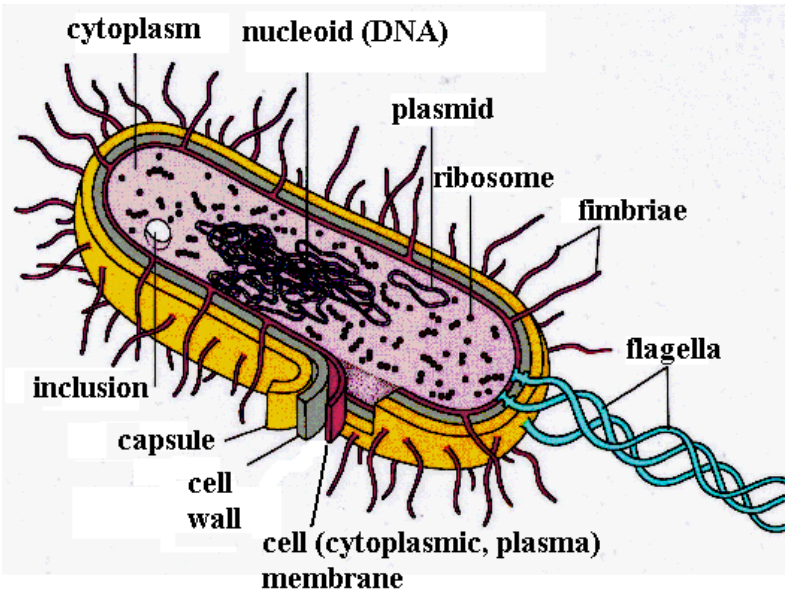


الشكل : رقم (1) يوضح شكل و تجمعات البكتريا

كما ان بعض الاحياء الخيطية المتعددة الخلايا مثل Beggiatoa التي تشترك فيها الخلايا مع البعض الاخر بصورة دائمة في جدار خلوي مشترك يغطي جميع الخلايا بحيث لا يمكن فصل هذه الخلايا بعضها عن البعض الاخر دون ان تموت. في حين ان سلاسل البكتريا يكون الاتصال فيها غير مستقر او ثابت حيث يمكن فصل الخلايا بواسطة الرج دون ان تموت اذا ان كل خلية يمثل كائن حي مستقلاً.

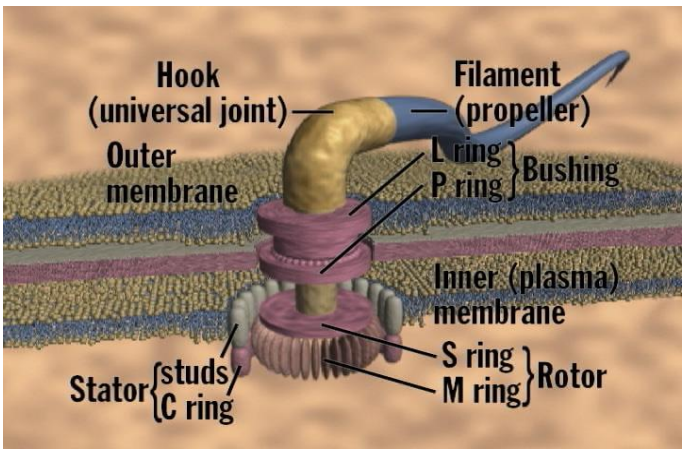
تركيب خلية البكتريا Structure of bacterial cell :-

تحتوي الخلايا البكترية على عدد من التراكيب والعضيات قسم منها يقع خارج الخلية والقسم الاخر محاطآ بغلاف الخلية وهناك تراكيب اخرى تتواجد في انواع من البكتريا دون الاخرى لذا وجود وعدم وجود هذا العضيات يعتبر صفة تصنيفية وقد شخصت الاجزاء التركيبية للخلية البكتيرية كما يأتي: (شكل رقم 2).



شكل رقم (2) يوضح تركيب الخلايا

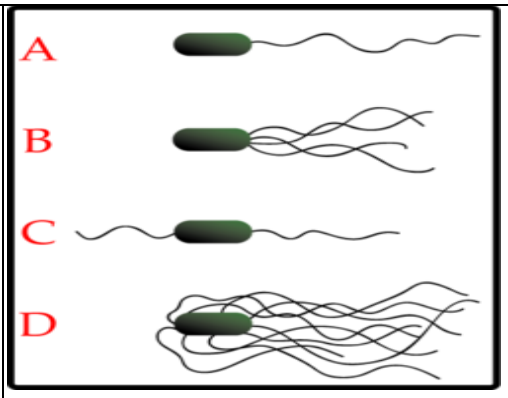
الاسواط Flagella:-



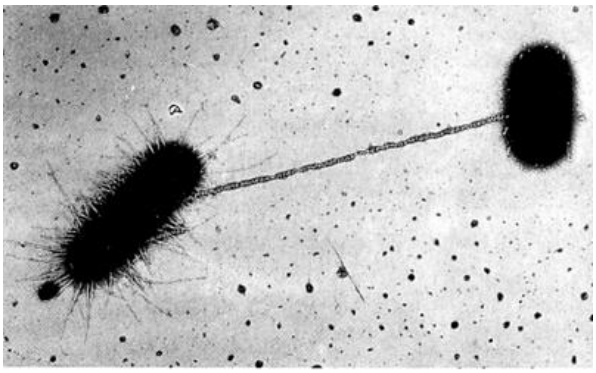
وهي لواحق بشكل خيط قطرها 12-30 نانوميتر وتكون واسطة الحركة في البكتريا الحاوية عليها ويكون طولها احيانا اكثر من قطر الخلية ولا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي الا باستعمال طرق تصبيغ خاصة،حيث تعامل الخلايا المثبتة بمادة مثبتة للالوان وهي محلول غروي غير مستقر يترسب على شكل طبقة سميكة من مادة قابلة للصبغ على سطح الخلية وعلى امتداد سطح السوط او الاسواط،وعند اضافة الصبغة نستطيع مشاهدة هذه المادة المترسبة بالمجهر الضوئي حيث يظهر السوط على شكل خيط رفيع جدآ.يعد عدد وتوزيع الاسواط على الخلية صفة وراثية ثابتة تقريبا وتستعمل في التصنيف.قد توجد الاسواط بشكل سوط قطبي واحد في احد قطبي الخلية التي تسمى في هذه الحالة Monotrichous او توجد بشكل حزمة من الاسواط عند

احد قطبي الخلية Lophotrichous ويسمى او قد يوجد سوط او حزمة من الاسواط في كل من قطبي الخلية ويسمى الترتيب Amphitrichous او قد تحيط الاسواط بكل جسم الخلية ويسمى الترتيب Peritrichous. يتكون السوط من الخيط Filament وهو الجزء الظاهر ويكون في حقيقته ثلاثة خيوط ملتفة على بعضها تتصل بجزء ثاني يكون اعرض منها ذو قطر ثابت يسمى الشص Hook طوله 45 نانوميتر تقريبا والذي يرتبط بدوره بالجسم القاعدي Basal body الذي يوجد في غلاف الخلية.يتركب السوط من بروتين فلاجيلين Flagellin الذي يكون ذا طبيعة مستضدية ويختلف من نوع لاخر، الا ان بروتينات الاسواط تشترك في صفة عامة هي احتواؤها على الحوامض الامينية مثل الكلوتاميك والاسبارتيك ويكون محتواها من الاحماض الامينية الحاوية على الكبريت كالسستين قليلاً.

هنالك فرضيتان للطريقة التي تحرك الاسواط بها البكتريا ،احداهما تقول بان الوحدات البروتينية التي تكون الاسواط تتقلص وتنبسط منتجة مايشبه التموجات،وبذلك قد تنسحب او قد تدفع الخلية،اما الفرضية الثانية فتقترح حركة دائرية يقوم بها السوط بما يشبه حركة المروحة مما يؤدي الى حركة البكتريا.

• A-Monotrichous • B- Lophotrichous • C- Amphitrichous • D- Peritrichous	

الشعيرات اوالاهلاب Pili and Fimbriae :-



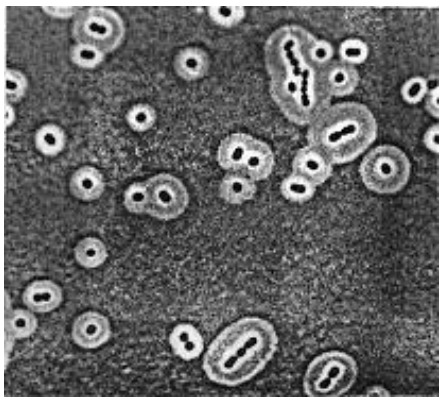
وهي لواحق خيطية مشابه للاسواط الا انها ارفع واقصر طولا من الاسواط تنتشر على سطح الخلايا خصوصاً في البكتريا السلبية لصبغة كرام طولها 3،.--3 مايكروميتر وقطرها 5-10 نانوميتر وليس لها علاقة بالحركة،هنالك نوعان من الشعيرات النوع الاول الشعيرات العمومية Fimbriae التي يصل عددها الى المئات والتي تستخدمها البكتريا للالتصاق بالخلايا الحيوانية والنباتية والسطوح الخاملة مثل الزجاج والسيليلوز وهذه وظيفة مهمة جداً تمكن البكتريا من تثبيت نفسها في بيئاتها الطبيعية ليتسنى لها توفير المواد المغذية،اما النوع الاخرSpecific pili يطلق عليها بالشعيرات الجنسية Sex pili والتي لها دورا

في عملية الاقتران Conjugation التي تحدث في بعض انواع البكتريا كما انها تكون مستقبلات Receptors لعاثيات البكتريا Bacteriophages.

تتكون الشعيرات من بروتين يدعى Pilin يصل وزنه الى7000 دالتون ويتكون من وحدات ثانوية تترتب على شكل حلزوني لتكون خيطا مفردا قويا ذات لب فارغ ، وما دام البروتين هو المادة الرئيسية لذا تعطي للخلية صفات مستضدية specific antigen خاصة للخلايا شأنها في ذلك شأن الاسواط.

المحفظة Capsule :-

تصنع العديد من البكتريا في بيئتها الطبيعية كميات كبيرة من مواد مخاطية صمغية بوساطة انزيمات في الغشاء السايتوبلازمي وتفرز الى خارج الخلية من خلال ثقوب الجدار الخلوي وبذلك تتكون طبقة اضافية خارج الجدار تسمى بالعلبة اوالمحفظة والتي تكون مسؤولة عن توفير الحماية لخلية البكتريا في كونها تشكل غطاءآ واقياً للجفاف وتخزن المواد الغذائية وهي تزيد من امراضية البكتريا الممرضة لمقاومتها الابتلاع Phagocytosis من قبل خلايا الدم البيضاء. تختلف المحفظة من ناحية التركيب الكيمياوي فقد تتكون من الكربوهيدرات المعقدة مثال الدكستران Dextran وحامض هايالبورونيك ومن البروتينات ، يتغير سمك المحفظة من جزء من المايكروميتر الى 10مايكروميتر او اكثر ويكون تركيبها الكيمياوي متميزآ لكل نوع من الانواع ، وهي غير مهمة لحياة البكتريا ويمكن ازالتها بالانزيمات او بالغسل دون ان يؤثر ذلك في حيوية الخلية ، ويرتبط تكوينها ارتباطاً مباشراً بالظروف البيئية المتاحة لذا عندما يكون التركيب الكيمياوي للمحفظة حاوي على الدكستران او الليفان فان تصنيع المحفظة يتم عند تنمية البكتريا بوسط حاوي على السكروز فقط وليس سكر آخر.

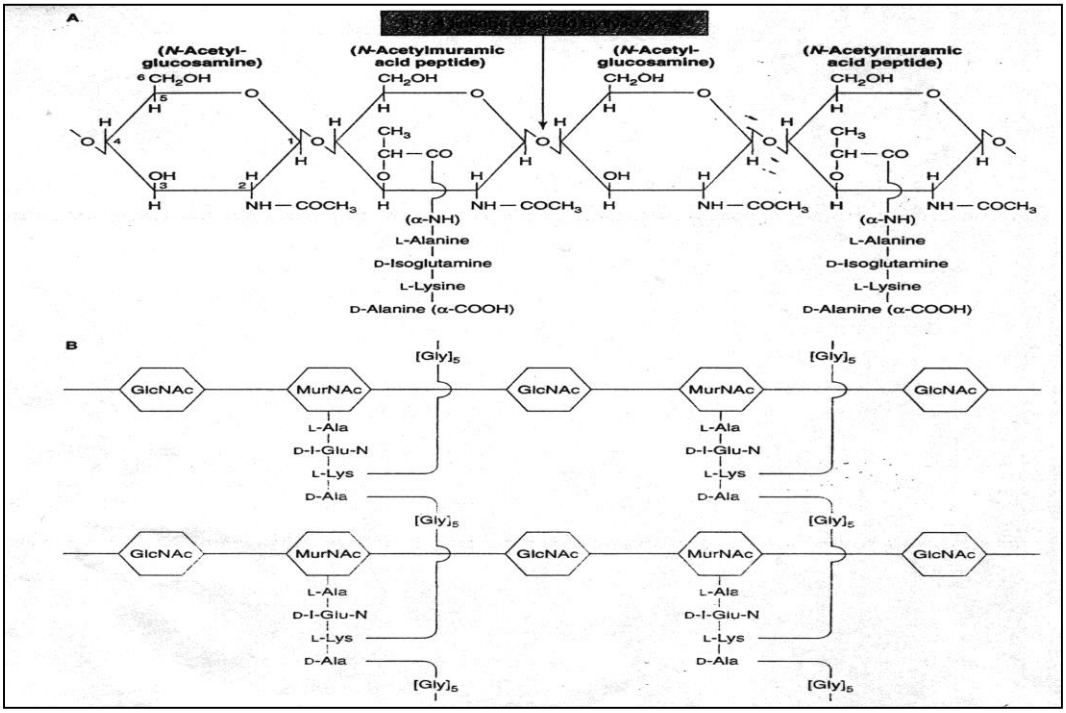


يعد قيام الخلية البكتيرية بتخليق المحفظة عملية وراثية يسيطر عليها جين معين فعند حصول طفرة وراثية لهذا الجين تفقد قدرتها لتكوين المحفظة.عند تنمية الخلية المكونة للمحفظة على الوسط الزرعي الصلب تعطي مستعمرات ناعمة لماعة (S-Colonies) في حين الطفرات الفاقدة للمحفظة تعطي مستعمرات خشنة (R- Colonies) لذا فان حدوث هذه الطفرات في بكتريا ممرضة *Streptococcus pneumoniae* فانها تفقدها قابليتها على اصابة المضيف.تمتلك البكتريا الحاوية على المحفظة تخصصاً مناعيا اعتماداً على التركيب الكيمياوى للمحفظة ويساعد هذا على التفريق مصلياً بين الانواع المتشابهة.

الجدار الخلوى Cell Well:-

تسمى طبقات الغلاف الخلوي المحصورة بين الغشاء البلازمي والمحفظة **الجدار الخلوي** ،تحتوي جدران معظم الخلايا البكتيرية على نوع فريد من مادة عضوية متعددة Organic Polymerتدعى الببتيدوكلايكان Peptidoglycanوتوفر هذه المادة الاسناد والشكل للخلية،ويحمي الجدارالخلية من تأثير الضغط الازموزي الداخلي الذي يكون بمدى يقع بين 5-20 جو نتيجة لتركيز المواد الذائبة والمنقولة بوساطة عملية النقل الفعال،وللجدار الخلوي دور مهم في عملية انقسام الخلية كما تكون طبقات الجدار مواقع لكثير من المحددات المستضدية،بالاضافة الى انه موقع عمل قسم من المضادات الحيوية.

تتكون مادة الببتيدوكلايكان Peptidoglycan او Murein من وحدتين هما السكريات الامينية Amino sugars و الاحماض الامينية.اذ ان السكـــريـــات الامينيـة هـي N-acetylmuramic acid (AMA) و N-acetylglucosamine (AG) مرتبطة بالاصرة 1-4 من النوع بيتا وســلاســل جانبية مكونة من مجموعة ببتيدات رباعية متصــلة بحامض ن اســتيل ميوراميك ومجموعة من ببتيدات متشــابهة مستعرضـة.يكون الهيكل متشـابها في جميع انواع البكتيريا اما السلاسل الجانبية والمستعرضـة فتختلف باختلاف الانواع.تتكون الجسور المستعرضة من آصرة ببتيدية مباشرة مع الاحماض الامينية L-alanine و D-lsoglutaminc و L-lysine او Diaminopimelic acidو D-alanine اذ ترتبط بأواصر متستعرضة بـ AMA. شكل(3).



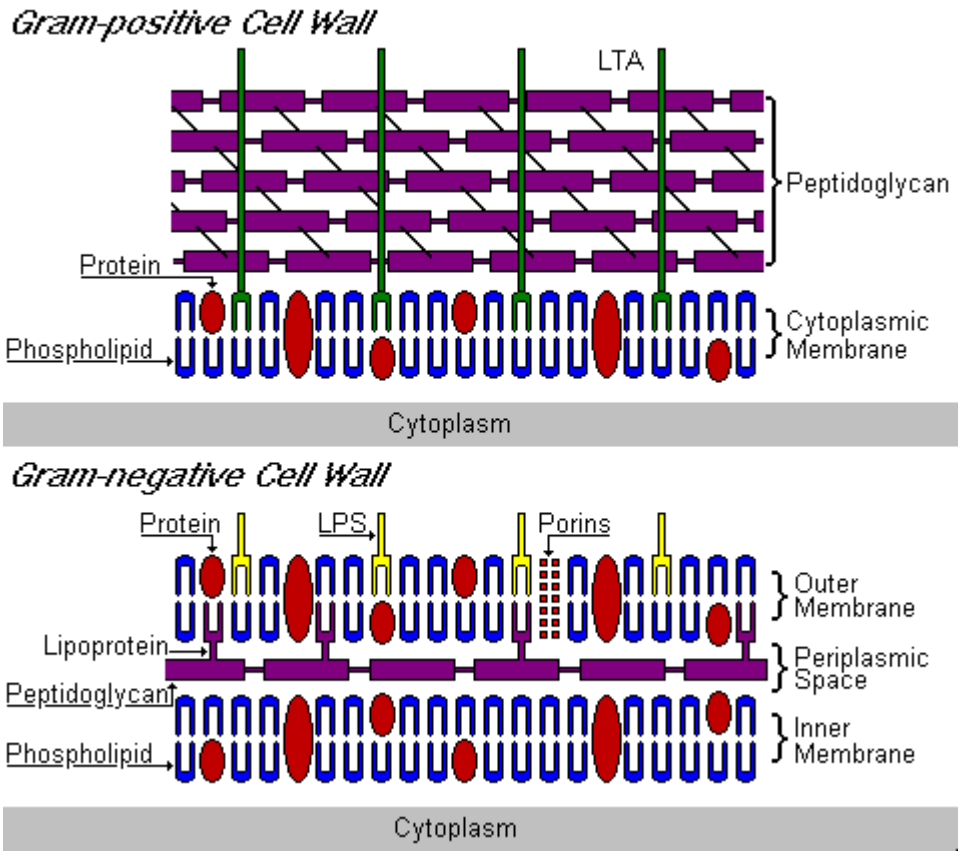
شكل (3)يوضح الوحدات التركيبية لطبيعة الـ Peptidoglycan

ان مادة الببتيدوكلايكان مجسمة ثلاثية الابعاد ومن هنا تأتي قوتها وهي بذلك لا تعترض دخول الماء والمواد الغذائية مثل المعادن والكلوكوز والاحماض الأمينية والمواد العضوية كذلك الجزيئات الكبيرة نسبياً وبنفس الوقت تخرج المواد التالفة من خلال هذا الممر.وصلابة طبيقة الببتيدوكلايكان تعود الى الاواصر المستعرضة التي تربط الـ Polymer وتكون هذه الاواصر اكثر في البكتريا الموجبة لصبغة كرام مما هو علية في البكتريا السالبة لصبغة كرام.

جدار البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام :-

ان جدار الخلايا البكترية الموجبة لصبغة كرام يتألف من طبقات متتالية من الببتدروكلايكان حيث تتصل كل طبقة منها بالتي فوقها والتي تحتها خلال جسور من الاحماض الامينية ويبلغ سمك جدار هذه البكتريا 25-35 nm اي حوالي 20-40% من وزن الخلية ويحتوي 20-80% من مادة peptidoglycon اضافة الى البروتينات والسكريات المتعددة وحامض teichoic (الذي يتألف من الكليسرولglycerol او ribitol كوحدة فرعية متكررة متأصرة الى الالنين والفوسفات ويوجد نوعان من حامض التكويك هما تكويك الجدار الخلوي wall teichoic او تكويك الغشاء membrane teichoics والذي يسمى lipoteicho. شكل(4)

اما جدار الخلايا البكتيريا السالبة لصبغة كرام يكون رقيقاً جداً يبلغ سمكه 10-15 nm وهو يشكل 10-20% من وزن الخلية الجافة ويتكون من 5-15% من peptidoglycan و 35% من الدهون الفوسفاتية phospholipipids و 15% من protein و 50% من lipopoly saccharides (وتعد هذه الطبقة ذات اهمية واسعة بسبب خواصها السمية وان الجزء الدهني هو المكون السمي لهذه الطبقة).



شكل (4)يوضح الفرق بين تركيب الجدار والاغلفة الملحقة لبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام

بعض المكونات الخاصة بالبكتيريا السالبة لصبغة كرام والتي تقع خارج peptidoglycan وهي :

-1 Lipoprotein وهي مواد قليلة الوزن الجزيئي تعمل كجسور لربط الطبقات الخارجية الى الجدار الخلوي اذ ترتبط بشكل تساهمي مع الحامض الاميني di-aminopimelic الموجود في طبقة peptoglycan ويتألف الجزء البروتيني من 57 حامض امين اما الجزء الدهني فهو diglyceride thioether الذي يرتبط بـ cystein

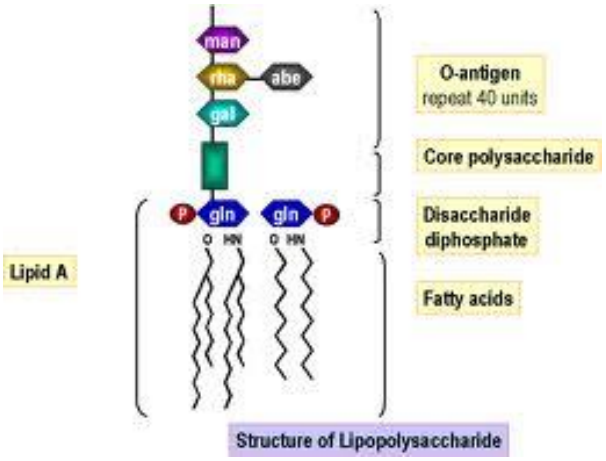
وظيفة lipoprotein هي موازنة الغشاء الخارجي وتثبيته مع طبقات peptoglycan .

-2 phospholipid (الفوسفوليبيدات) : وهي طبقة ثنائية من دهون فوسفاتية يتكون من ارضية سائلة تحتوي على بروتينات خاصة.

يعمل الغشاء على تسرب البروتينات في periplasmic space ويحمي البكتريا المعوية من الاملاح والانزيمات المحللة الموجودة في بيئة المضيف. تختلف نفاذية الغشاء الخارجي من نوع لاخر ففي بكتريا *psudomonase aeruginosa* تكون نفاذية هذا الغلاف اقل 1000 مرة من نفاذية غشاء بكتريا *E-coli* ولهذا فان البكتريا الأولى شديدة المقاومة للمضادات البكتيرية antimicrobial.

وان البروتينات الموجودة في الغشاء الخارجي يطلق عليها بالبروتينات الثانوية Minor protein والتي لها علاقة بنقل الجزيئات الصغيرة مثل الفيتامين B_{12} و Phospholipid و proteases و pencillin, binding protein.

-3 Lipopolysaccharide (LPS) وتعتبر المكون الرئيسي بين هذه الطبقات وتشكل 45% من السطح الخارجي للبكتريا وهي تتكون من ثلاثة مناطق:



1- ممتضد O-antigen ويطلق عليه المنطقة الاولى ويتكون من سكريات قليلة التعدد oligosaccharide ويكون عدد هذه المستضدات في بكتريا Salmonella اكثر من 1000 نوع.

2- المنطقة المركزية Core region ويطلق عليها المنطقة الثانية وهي مكونة من سلاسل سكريات متعددة ترتبط بشكل تساهمي بالطبقة الثالثة وبالاضافة الى وجود السكريات يوجد ايضاً ethanolamine phosphate

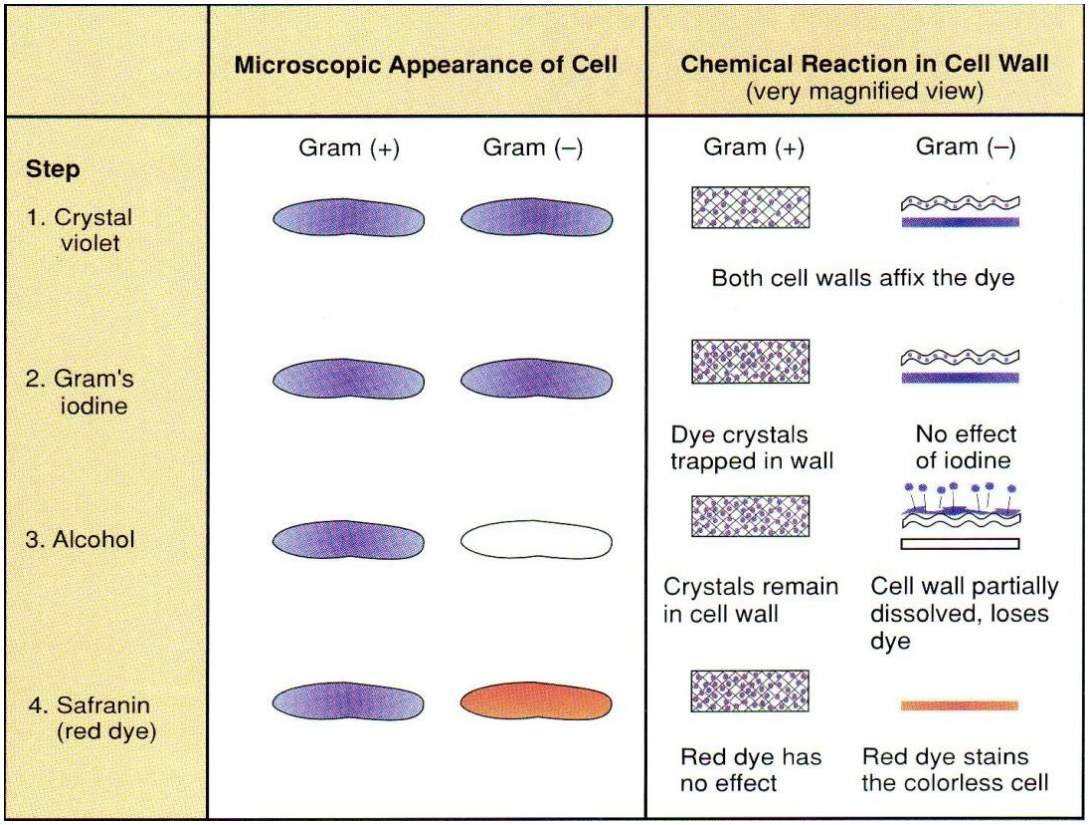
3- Lipid A يتكون من سكريات ثنائية من phospho glucose amine مرتبطة مع الاحماض الشحمية الطويلة السلسلة lauric acid و B-hydroxy myristic acid ويكون الجزء السكري ثابت لكل انواع البكتريا في حين تتغير الاحماض الشحمية .

فائدته:

1- تعمل الطبقة الدهنية على موازنة الغشاء وتكون حاجز يمنع دخول بعض الجزيئات المحبة للماء hydrophilic molecules.

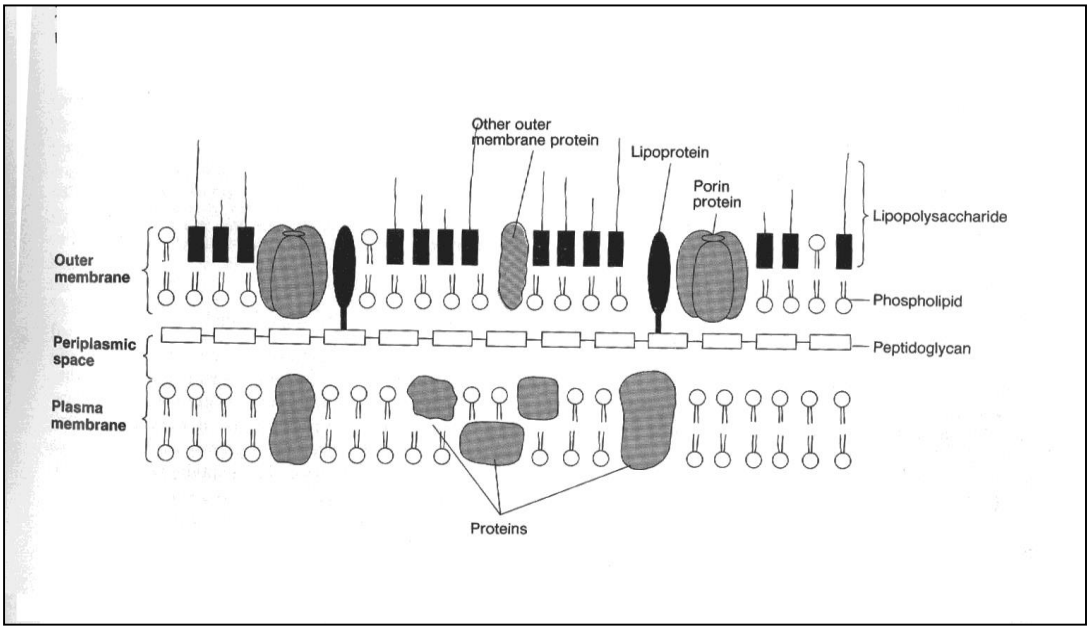
2- تكون هذه الطبقة سامة للحيوانات تدعى endotoxin لان عند تحللها الى Lipid A وسكريات متعددة تكون جميع سميتها عائدة الى lipid A

التصبيغ: يتم التغلب على صعوبة ملاحظة الكائنات الشفافة والقادرة على الحركة وذلك بقتل الخلايا وتعامل بعدئذ مع صبغة او اكثر ذات الفة خاصة لواحد او اكثر من مكونات الخلوية ونتيجة لاختلاف الشحنات بين جسم الخلية والصبغة (فالخلية البكتيرية غنية بالحامض النووي الذي يحمل مجموعة الفوسفات السالبة الصيغة وهذا يساعد على الارتباط بالصبغات ذات الشحنات الموجبة (والمعروفة بالصبغات القاعدية) التي لها الفة قوية لواحد او اكثر من مكونات الخلية وتلون هذه المكونات عند اضافتها للخلية. اما الصبغات السالبة الشحنة فلا تستطيع اختراق غلاف الخلية وبالتالي تجعل الخلية عديمة اللون والارضية بلون الصبغ. (وان الاصباغ املاح يكون احد ايوناتها ملونا والملح عبارة عن مركب كيمياوي احد ايوناته موجب الاخر سالب مثل كلوريد المثيل الازرق). وتعد صبغة كرام Gram stain (1884) التي انشأها الطبيب الدنيماركي Dr. Hans Christion Gram قادرة فعلاً على تقسيم البكتريا الى مجموعتين كرام موجب G^+ وكرام سالب G^- حيث حاول تصبيغ الانسجة المصابة ببكتريا التي تسبب ذات الرئة Pneumonia باستعمال صبغة البنفسج البلوري crystal violet ووتثبيتها بمحلول Iodine ثم تغسل بـــ الكحول الاثيلي 95% اوالاسيتون فيتم قصر البكتريا G^- وعدم قصر البكتريا G^+ لقدرتها على الاحتفاظ بالمعقد Crystal violet-iodin وتحتفظ باللون Purple البنفسجي ، اما G^- تكون عديمة اللون وعند اضافة صبغة السفرانين الحمراء Safranin تصطبغ البكتريا G^- باللون الأحمر التي تضاف بعد الكحول.



الغشاء السايتوبلازمي Cytoplasmie membrane

ويسمى ايضا الغشاء الخلوي cell membrane .يحتوي الغشاء السايتوبلازمي على حوالي 60% بروتين و 40 % دهون معظمها بشكل دهون مفسفرة phosphorlipids ويقع تحت الجدار الخلوي مباشرة،وهو لايحتوي على الستيرولات Sterols الموجودة في الاغشية الحيوانية.



شكل رقم (5) يوضح تركيب الغشاء البلازمي

ان لوجود الدهون المفسفرة خواص بايولوجية فريدة اذ تمثل الجزء غير المحب للماء hydrophobic وهي طبقة شبه سائلة semifluid ويمثل الجزء البروتيني الطرف المحب للماء hydrophilic وبأمكان عزل الغشاء السايتوبلازمي عن بقية التراكيب الخلوية فعند ازالة الجدار الخلوي بوساطة معاملته مع lysozyme سوف تنفجرالـ protoplast وعند وضع في محلول واطئ الشد تندلع محتويات الغشاء البلازمي (السايتوبلازمي) للخارج ويبقى الغشاء السايتوبلازمي على شكل كيس رقيق فارغ ينظف بالماء وثم يعرض الى الطرد المركزي.

وظائف الغشاء البلازمي:

1- يحتوي على الانزيمات والجزيئات الحاملة carrier moleculesالتي تساهم في خلقDNA وبوليمرات الجدار الخلوي ودهون الغشاء.

2- يكون الغشاء شبه منفذ Semipermeable اذ تستطيع المواد ذات الوزن الجزيئي الواطئ النفوذ الى الجزء الداخلي من الخلية (اي ان الغشاء يعمل حاجزاً تنافذياً لا يسمح بمرورالمواد ذات وزن جزيئي يزيد عن جزيئة الكليسرين ولهذا فهو يسمح بتكوين ضغط تنافذي داخل الخلية ويحافظ عليها.

3- ينظم مرور المواد الغذائية والمنتجات الايضية بين الخلية والمحيط الخارجي.

4- السماح بمرور الجزيئات الايضية الكبيرة ضمن انظمة النقل النشط Active transport وتدعى ايضاً بانزيمات النضوح (permeases) حيث يتخصص كل نظام من هذه الانظمة لمادة معينة او مجموعة مواد.

5- افراز الانزيمات الخارجية المحللة extracellular hydrolytic enzyme.

6- انتقال الالكترونات وعملية الفسفرة التأكسدية oxidative phosphorylation التي تتواجد في الخلايا حقيقية النواة في الانواع الهوائية.

اليات انتقال المواد عبر الغشاء السايتوبلازمي:

1- النقل المنفعل (السلبي) Passive transport

حيث تتدفق الجزيئات بصورة حرة من خارج الخلية الى داخلها دون انفاق طاقة من قبل الخلية وبمساعدة Specific protein systemالموجود في الغشاء ويستمر انتقال الجزيئات الى ان يصبح تركيز الجزيئة هو نفسه داخل وخارج الخلية (على جانبي الغشاء البلازمي). يتم انتقال الماء وبعض المواد القابلة للذوبان في الدهون مثل الكليسيرول Glycerol.

2- النقل الفعال Active transport

ان الخلية تستهلك طاقة لنقل الجزيئات من خارج الخلية الى داخلها وهذه الطاقة ناتجة من الافعال الحيوية للبكتريا Metabolic energy. وعادة ان ما تنقله الخلية داخلها اكثر مما تنقله خارجها وتكون النتيجة تراكم الجزيئات داخل الخلية. ومثال ذلك انتقال السكريات سداسية الكاربون Hexoses عبر الغشاء السايتوبلازمي ويتم تجهيز الطاقة من اصرة الفوسفات الموجودة ضمن جزيئة Phosphoenol pyruvate (PEP) بالاضافة الى وجود البروتين الحامل للطاقة Carrier protein وجود انزيم يحفز التفاعل. اذ يقوم البروتين الحامل للطاقة يفسفره السكر السداسي الموجود خارج الغشاء السايتوبلازمي.(Fig,1, 2, 3)

$$PEP + Protein \xrightarrow{Enzyme I} Pyruvate + Protein\ phosphate$$

$$Protein\ phosphate + sugar \xrightarrow{Enzyme II} Sugar - 6 - phosphate + protein$$

3- الفراغ السايتوبلازمي Periplasmic space

هي المنطقة المحصورة بين الجدار الخلوي والغشاء الخلوي وتختلف في طبيعة تركيبها الكيمياوي وتحتوي هذه المنطقة على العديد من الانزيمات الذائبة التي تقع الى خارج الغشاء الخلوي لذلك يطلق عليها بالانزيمات الخارجية Exoenzymes ومن هذه الانزيمات:

1- مجموعة من الانزيمات التي تقوم بعمليات تحليل المواد او هضمها منها Acid phosphatase و Alkalin phosphotase و penicillinase.

2- مجموعة من الانزيمات العائدة الى السلسلة التنفسية مثل Nitrite reductase.

3- مجموعة من البروتينات التي تعمل في انظمة النقل يطلق عليها Binding proteins والتي تعمل على نقل المواد التالية sugars و vitamins و Ions و amino acid.

البروتوبلاست Protoplast

يطلق على الخلايا التي تفقد جدارها الخلوي بـــ Protoplast ويمكن ان تحافظ على حيويتها اذا ما حفظت في ضـغط تنافذي مناسـب. وتمتاز البروتوبلاست بشكلها المكسور دائماً مها كان شكل الخلية المشتق منها وذلك بسبب غياب الجدار الخلوي.

ويمكن ان تبقى البروتوبلاست لساعات طويلة اذا ما حفظت في محلول ذو ضغط تنافذي عالي نسبياً مثل كلوريد الصوديوم 5% او سكر الكلوكوز 20 % او مصـل الدم 20% لكي تعادل الضـغط التنافذي من داخل الغشـاء السـايتوبلازمي. وتمتاز البروتوبلاسـت بكونها غير متحركة وغير قادرة على الانقسـام (الا في حالات معينة) ولاتكون جدار خلوي وغير معرضـة للاصـابة بالعاثيات. ويمكن تحطيم الجدار الخلوي بمعاملة الخلية بأنزيم **Lysozyme** وهذا انزيم معيـــن يكسر الاواصر الكيمياويـــة (بيتا 1-4)بيـــن الوحدتيـــن الفرعيتيـــن N-acetyl muramic acid و N-acetylglucosamine الموجودان ضمن تركيب طبقة peptidoglycan.

تتاثر البكتريا G^+ اكثر من البكتريا G^- لاحتواء الاخيرة على طبقة رقيقة من الـــ Peptidoglycan بالاضـافة الى وجود طبقات جدارية اخرى مثل outer membrane و مواد دهنية معقدة (عملياً يمكن ازالة Outer membrane بمادة هيدروكسـيد الصـوديوم المذيب للدهون تم تعامل بالانزيم الحال).

يطلق على البكتريا G^+ عند ازالة جدارها الخلوي بـ **protoplast** اما البكتريا G^- فيطلق عليها بـ **spheroplast** مع بقاء طبقة outer membraane) يمكن الحصول على البروتوبلاست من معاملة الخلايا بـــ **pencilline** الذي يعمل على منع التأصر العرضي في مادة الببتيدوكلايكان في الخلايا النامية او المنقسمة لذلك فالخلايا G^+ اكثر حساسة للبنسلين من G^-.

الجسم الوسطي Mesosome :- وهي تراكيب داخلية تقع مباشرة تحت الغشاء الخلوي في عدد من البكتريا وتظهر بعض الاحيان كطبقات من الغشاء الخلوي lamellar structure او تراكيب انبوبية Tubular او بشكل حويصلات Vesicles ويتكون تركيبها من 50—70% بروتين و 15-30 % دهون وكميات قليلة من الكاربوهيدرات. وان هذه التراكيب تظهر بشكل واضح وشائع جدا في البكتريا الموجبة لصبغة كرام، اما السالبة للصبغة فتظهر صغيرة واقل تعقيداً. ان الجسم الوسطي يختفي عند ازالة الجدار الخلوي وتحضير البروتوبلاست وهذا يشير الى ان الغشاء السايتوبلازمي يتمدد ليحيط بالسايتوبلازم وياخذ معه الجسم الوسطي اثناء عملية التمدد.

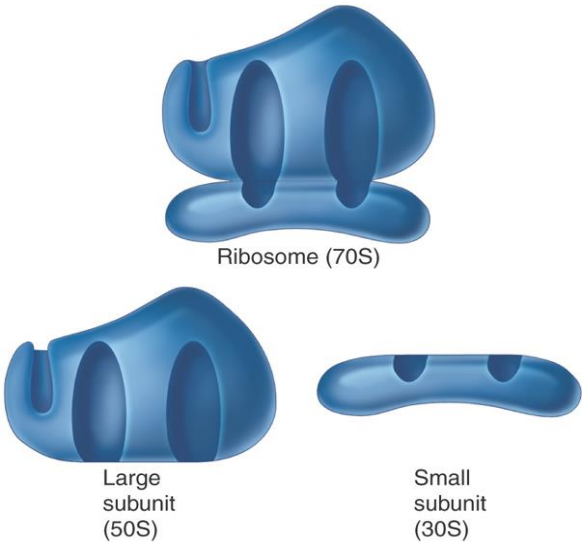
وظائف الـ Mesosome :-

1- يزيد من المساحة السطحية للغشاء لذا فقد يزيد قابلية الخلايا على تركيز المواد المغذية.
2- يساهم في تكوين الجدار المستعرض في انقسام الخلية البكتيرية.
3- يعمل على توزيع المادة النووية على شطري الخلية المنقسمة.
4- له علاقة ببعض الفعاليات الحيوية الاخرى مثل تفاعلات الاكسدة والاختزال، تكوين السبورات ، التركيب الضوئي ، تثبيت النتروجين ، افراز بعض الانزيمات ، تكوين بعض البروتينات ، التنفس الخلوي.

السايتوبلازم Cytoplasm :-

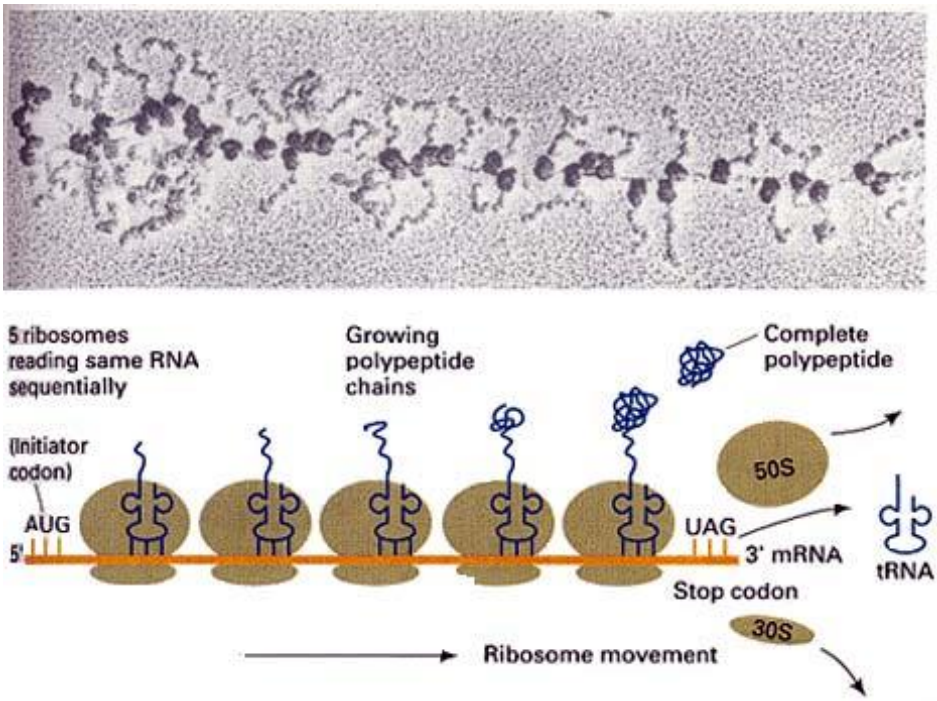
يحتوي السايتوبلازم على جميع المواد والتراكيب المختلفه الموجودة ضمن الغشاء السايتوبلازمي اذ يمكن ملاحظة منطقة سايتوبلازمية حبيبية المظهر والتي تكون غنية بالحامض النووي RNA والمنطقة الثانية كروماتينية او صبغية وتكون غنية بالحامض النووي DNA ، وتكون جميع المواد الموجودة في السايتوبلازم محاطة او عالقة في ارضية سائلة او شبه سائلة Matrix تحوي على ايونات ذائبة مثل ايون الهيدروجين وايون الصوديوم وايون الكلور وايون الفوسفات فضلا عن احتوائه على مواد اخرى مثل الاحماض الامينية وبعض البروتينات وبيتيدات وبعض القواعد النايتروجينية مثل البيورينات والبريميدينات واحتوائه على المعقدات الدهنية والفيتامينات وسكر الرايبوز والكلوكوز ونيوكليوتيدات وانزيمات مساعدة وغيرها وتكون هذه: (أ) البادئات وغيرها من المواد المستعملة في البناء الخلوي(ب) مصادر للطاقة كالكلوكوز(ج) فضلات ناتجة عن فعاليات الخلية تطرح الى الخارج. وتحتوي المادة البينية على الحامض النووي الرايبوزي الناقل tRNA.

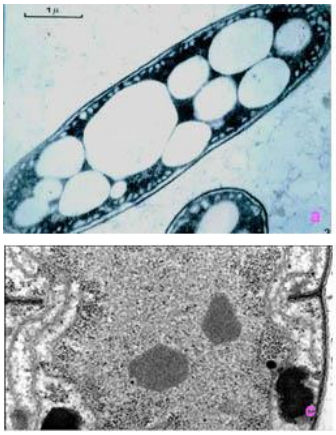
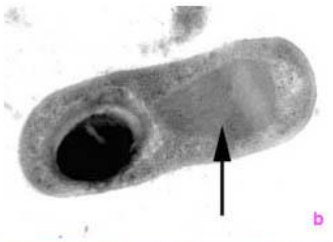
التراكيب السايتوبلازمية الدقيقة Cytoplasmic ultra structure

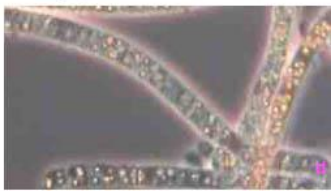


الرايبوسومات Ribosomes : - وهي تراكيب خلوية داخلية اساسية تقوم بتخليق البروتين تنتشر في كافة انحاء السايتوبلازم وتتكون الرايبوسومات بصورة رئيسه من 35% من البروتينات و 65% من الحامض النووي الرايبوزومي Ribosomal –RNA ، اي انها بروتينات نووية Nucleoproteins وتثبت مكوناتها بواسطة الاواصر الكارهة للماء hydrophobic bonds والاواصر الهيدروجينية ، كما انها تحتاج الى ايونات المغنسيوم والبوتاسيوم لتثبيت مكوناتها ، ويصل حجم الرايبوسومات الى 20 نانومتر ويتراوح عددها بين 5000-10000 في الخلية الواحدة ويختلف عددها اعتماداً على سرعة تخليق البروتين من قبل الخلية اذ كلما كان معدل تخليق البروتين اعلى كلما كان عدد الرايبوسومات اكثر وهي تظهر متجمعةعلى الحامض النووي المراسلmRNA وتسمى Polysome. تمتاز الرايبوسومات بخواصها الترسيبية عندما تنبذ (تطرد مركزياً) بسرعة عالية جداً في جهاز الطرد المركزي عالي السرعة Ultracentrifuge حيث كلما كان ترسيب الرايبوسومات اسرع كلما كانت كثافتها اكبر. وتتواجد الرايبوسومات على شكل جزيئين مختلفين وهي 30S و 50S اعتماداً على اوزانها الجزيئية وتتجمع مع بعضها مكونة الرايبوسومات ذات وزن 70S (في حقيقة النواة وزن الترسيب 80S من جزئين 60S و 40S) . حيث S (Svedberg) وهي وحدة قياس سرعة الترسيب باستعمال جهاز الطرد المركزي عالي السرعة وقد جاءت هذه التسمية نسبة الى اسم مكتشفها العالم السويدي Svedberg الذي لعب دورا مساعداً في نشوء جهاز الطرد المركزي عالي السرعة.

Ribosome Function





المواد السايتوبلازمية الخاملة :- يحتوي السايتوبلازم على حبيبات وكريات **globules** من مواد غذائية مخزونة وخاملة يعتمد تركيبها على نوع الخلية والظروف الغذائية ، تحاط المواد المخزونة باغشية تحددها عن بقية السايتوبلازم ، فغالباً ما تحول المادة الغذائية الى جزيئات كبيرة وتخزنها في وقت تكون مصدراً للطاقة ، غير ذائبة و لا تؤثر في الضغط الازموزي الخلوي داخل الخلية.

المواد العضوية المخزونة Stored organic materials :-

تخزن البكتريا وبقية الكائنات الحية بدائية النواة المواد العضوية الكاربونية على شكل مجموعتين مختلفتين تمثل الخزين من الكاربون والطاقة داخل البكتريا:

1- السكريات المتعددة مثل النشا Starch والكلايكوجين glycogen.

2- الدهون Lipids تخزن في البكتريا بشكل بوليمرات من الحامض الشحمي Poly-B-hydroxy butyric acid (BHA) ترتبط الجزيئات في الوحدة الواحدة بوساطة آصرة استر ester bond التي تربط مجموعة الكاربوكسيد لجزيئة مع مجموعة الكاربوكسيد لجزيئة اخرى بازاحة جزيئة من الماء.يتكون هذا المركب كوسيلة للتخلص من الاحماض الناتجة في الخلية وذلك عن طريق التخلص من الجزء الكاربوكسيلي الذي يتفاعل مع وحدات هذا الحامض عن طريق اصرة الاستر وبذلك نتخلص من الكاربوكسيل وتقلل الحموضة في السايتوبلازم .

المواد اللاعضوية المخزونة Stored inorganic materials :-

1- الحبيبات المتكونة من عنصر الكبريت ، بعض البكتريا المؤكسدة للبكتريا تقوم بأكسدة ما يفيض عن حاجتها من كبريتيد الهيدروجين H_2S الى الكبريت الذري لكي تخزنه على شكل حبيبات داخل السايتوبلازم.

2- الحبيبات المتكونة من تجمع الفوسفات غير العضوية وتعرف بمادة الميتافوسفات metaphosphate وتدعى بحبيبات الفوليوتين volutin ، تظهرهذه الحبيبات بوضوح عندما تكون ظروف التغذية للخلية جيدة ويكون الايض بطيئاً ، و تدعى احيانا بالحبيبات المختلفة اللون Metachromatic لانها تصطبغ بلون يختلف عن لون الصبغة المضافة عليها فعند اضافة صبغة ازرق المثيلين تصطبغ الحبيبات باللون الاحمر تتواجد في بكتريا الخناق ***Corynebacterium***.

الفجوات الغازية Gas Vacuoles :-

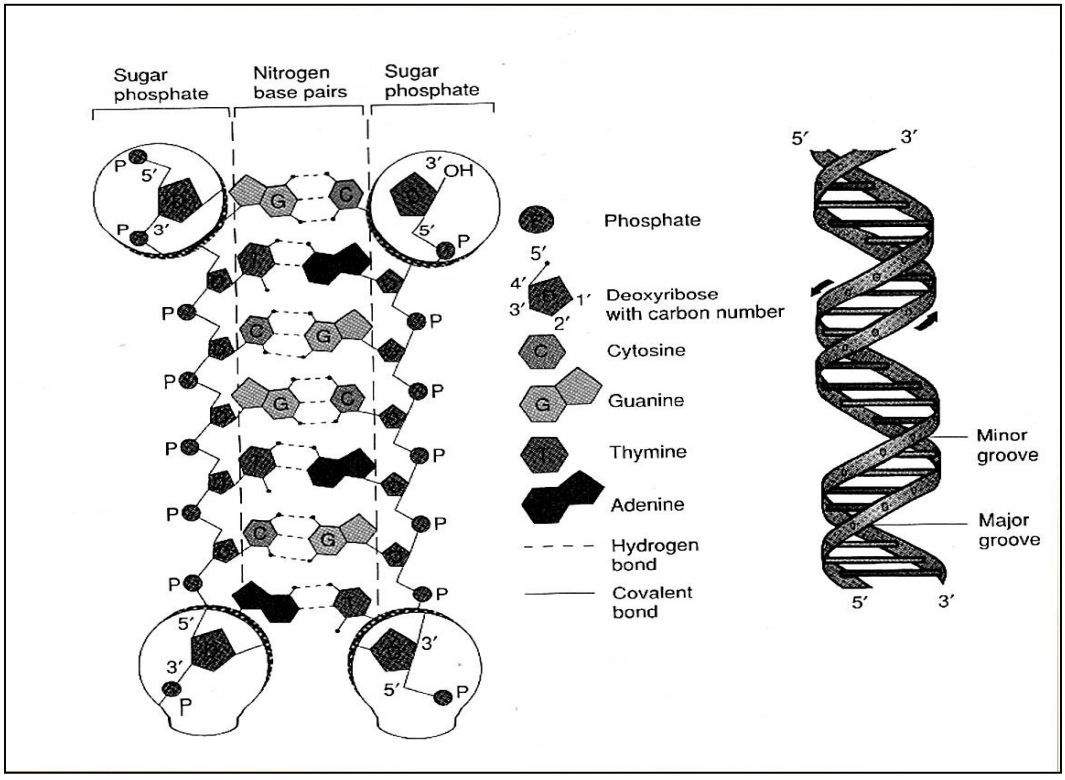
من المعروف ان الخلايا بدائية النواة تفتقد بصورة عامة الى وجود العضيات المحاطة باغشية الا ان هناك بعض المجاميع المتخصصة من البكتريا تحتوي فعلا على اغشية داخلية تشمل هذه بكتريا التأزت والبكتريا القادرة على القيام بعملية التركيب الضوئي ، ففي هذه المجاميع تبدو الخلية مليئة بالاغشية ، وهذه الاغشية هي ليست في الواقع اغشية حقيقية وانما تكون على شكل حويصلات اسطوانية مكونة من بروتين بصورة مطلقة ويكون سمك الطبقة مكافئا لجزيئة بروتين واحدة وتساعد هذه الفجوات في البكتريا المائية على تنظيم قابلية الطفو Buoyoancy عند الخلية البكتيرية وبذلك يحدد ارتفاعها في العمود المائي، وتقوم العديد من السيانوبكتريا المائية بالتحرك الى الاعلى والاسفل لغرض الحصول على الظروف المثلى للقيام بعملية التركيب الضوئي وهذا ما يسمى بالانتحاء

الضوئي Phototaxis. كما تحتوي بعض البكتريا على حبيبات معدن الحديد محاطة بغشاء تجعل البكتريا تتجه نحو المغناطيس وتكون هذه الحبيبات السبب في ابحار البكتريا حسب المجال الارضي المغناطيسي Magnetotaxis.

المادة النووية Nuclear Material :-

تسمى ايضآ نيوكلويد nucleoid او الجسم الكروماتيني وتفتقد الخلية البكتيرية الى وجود كروموسومات متميزة والنوية والغشاء النووي الموجودان في الخلايا حقيقية النواة ، وتحتل المادة النووية موقعآ قريبا من مركز الخلية وتكون متصلة بالميزوسوم والغشاء البلازمي ، ولاتعاني من الانقسامات الخيطية والاختزالية ، وهذا ما يميزها عن حقيقية النواة. تتألف المادة النووية من جزيئة من DNA يطلق عليها بالكروموسوم ويصل طول شريط الـ DNA الى حوالي 400 مرة اطول من المحور الطولي لبكتريا *E.coli* يبلغ طول جزيئة الـ DNA عند مدها الكامل حوالي 1 ملمتر وسمكها 25A° ويحتوي كل 4 مليون قاعدة نتروجينية و 3000 جين ويعبر عن طول شريط الـ DNA بـ (Kilobase (kbp).

وهذه الكروموسومات تحتل نصف حجم السايتوبلازم، وهي خالية من الهستونات histones التي توجد عادة في نواة الكائنات الحية الراقية (الهستون : بروتينات قاعدية التفاعل غنية بالحامض الاميني القاعدي lysine و arginine التي تعمل على معادلة المجاميع الفوسفاتية في شريط الـ DNA .



شكل رقم (8) يوضح تركيب الـ DNA

يتألف شريط الـ DNA من عدد من النيوكلوتايدات ويتألف كل Nucleotide من:

1- سكر خماسي هو سكر الرايبوز منقوص الاوكسجين Deoxyribose.

2- قواعد نتروجينية تشمل :- purines (guanine و adenine) و pyramidines (thymine و cytosine) .

3- مجاميع الفوسفات Phosphoric acid : ترتبط القواعد النتروجينية مع بعضها بواسطة اواصر هيدروجينية hydrogen bonds وذلك بأرتباط الادنين والثايمين بأصرة مزدوجة A=T والسايتوسين والكوانين بأ اصرة ثلاثية G_=C وان قسم من DNA يظهر خارج حلقة الكروموسوم extrachromosomal على شكل حلقات وهي تستنسخ ذاتياً بعيداً عن الكروموسوم وبمعزل عنه تدعى البلازميدات Plasmids ، وهذه البلازميدات غير ضرورية لحياة البكتريا ويمكن ازالتها من البكتريا بمعاملة البكتريا بمواد كيميائية مثل Cobalt Ion و Ethidum Bromide . تحمل بعض البلازميدات المعلومات المسؤولة عن تصنيع الانزيمات المسببة لمقاومة البكتريا للمضادات الحياتية مثل البنسلين والكلوروفينكول والتتراسايكلين وايضاً تحمل معلومات مسؤولة عن تهيئة البكتريا لعملية الاقتران.تكون البلازميدات ذات فائدة كبيرة في مجال الهندسة الوراثية لكونها تحمل العديدمن المعلومات الوراثية ويساعد صغر حجمها على عزلها وربطها بمعلومات وراثية مأخوذة من مصادر اخرى وزرعها في خلايا بكتيرية جديدة من اجل الحصول على الصفات المرغوبة.

<u>الابواغ الداخلية (Endospores)</u> :-

وهي تراكيب تظهر في بعض مراحل النمو للخلايا في بعض الاجناس البكتيرية خلال عملية تكوين البوغ اوالسبور Sporulation وبعد تحرره من داخل الخلايا الخضرية يدخل طور السبات حيث يمكن ان يبقى في هذه الحالة لسنوات طويلة (ثبت وجودها لغاية 150.000 سنة) ويمكن ان يمر البوغ تحت ظروف معينة عبرسلسلة من الاحداث يتحول فيها البوغ مباشرة ثانية الى خلية خضرية تدعى بالانبات Germination وبما ان الخلية الخضرية تكون بوغاً داخلياً واحد لذلك لايعد عملية تكاثربل وسيلة لحفظ النوع فقط.

يتكون البوغ نتيجة لعدم توفر ظروف جيدة النمو. مثل قلة المواد الغذائية (نقص المصدر النايتروجيني والمصدر الكربوني) ويظهر تكون البوغ بوضوح في نهاية الطور اللوغارتمي نتيجة لنقص الغذاء واختلاف الظروف الفيزيائية والكيميائية في المزرعة.

تكون السبورات الداخلية اجساما ذات جدار سميك عالية المقاومة تكونها كل انواع الاجناس *Bacillus* و*Clostridium* و*Sporosarcina* وقد تستمر البكتريا المنتجة للابواغ الداخلية على النمو والتكاثرعدة اجيال خلايا خضرية ثم يحدث في بعض مراحل النمو ان يتكون بروتوبلازم جديد يتحول فيما بعد الى بوغ ، <u>تلخص الخطوات الرئيسية لهذه العملية كما يأتي:</u>

1- تحول مادة DNA الى خيوط وحدوث انبعاج في الغشاء الخلوي قرب احد نهايتي الخلية وبهذا يتكون تركيب يسمى البوغ الاولي fore spire.

2- تكون طبقات تغطي البوغ الاولي Spore cortex تسمى قشرة البوغ تفقد بتكون غطاء البوغSpore coat المكون من عدة طبقات.

3- تحلل الخلية الام وانطلاق البوغ بصورة حرة.

تطرأ على الخلية عدة تغيرات اثناء تكون البوغ ومنها انتاج عدد من المواد الايضية الجديدة والانزيمات والتي تحددها عدد من الجينات في الخلية الخضرية حيث يتم تنشيط الجينات المسؤولة عن عملية تكوين الابواغ وتتوقف الجينات المسؤولة عن نشاط الخلية الخضرية وتختلف الفترة الزمنية التي تستقر فيها الخلية البكتيرية لتكوين السبور مثلاً تحتاج بكتريا *B.subtilus* حوالي 7 ساعات في ظروف المختبر.

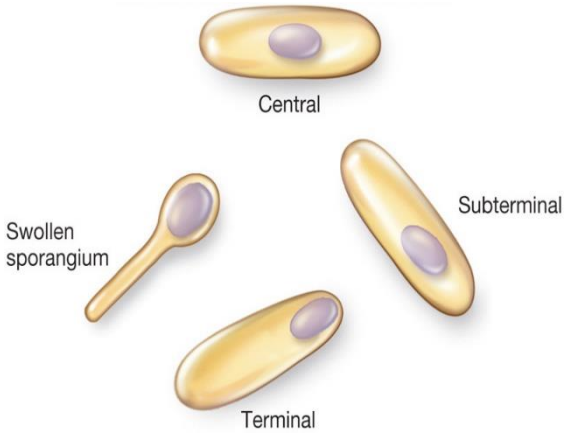
ان اكثر الصفات المميزة للبوغ الداخلي هو عدم امتلاك نشاط ايضياً فعلياً حيث ان البوغ يقاوم العوامل التي تقتل الخلية الخضرية مثل التسخين والتجفيف والتجميد والكيميائيات والاشعاع.

<u>موقع السبور</u>:لا يكون حجم الابواغ ومواقعها متشابها في الخلايا البكتيرية لذا تعد هذه الصفات مهمة في تشخيص البكتريا.هنالك ثلاث مواقع للسبور في الخلية بأختلاف الانواع:

1- terminal spores : يكون موقع السبور طرفي كما في بكتريا *Clostidium tetans*.

2- Central spores: يكون موقع السبور وسطياً كما في بكتريا *Bacillus anthracis* .

3- Subterminal: يكون موقع السبور شبه طرفي كما في بكتريا *Clostridium botulinum*.



<u>تركيب السبور</u> :الطبقات الخارجية للبوغ Exosporium : طبقة رقيقة خارجية تتكون من البروتينات والسكريات المتعددة والدهون.

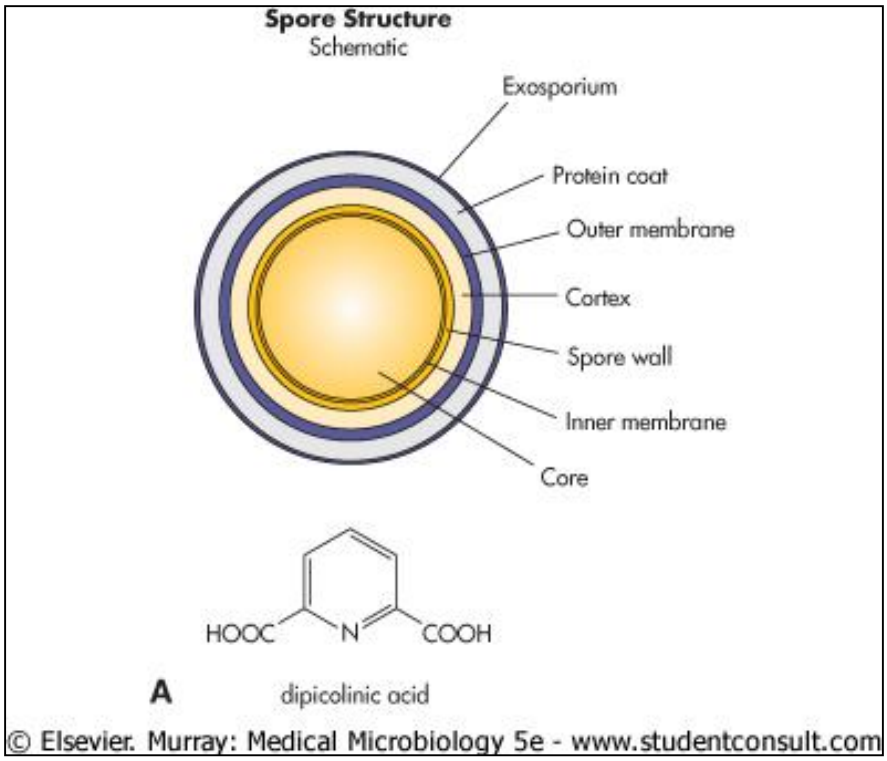
1- اغطية البوغ Spore coats : توجد داخل الطبقات الخارجية كل طبقة بسمك 2-2.5 نانومتر وهذه الطبقة تعزى اليها صعوبة تصبيغ البوغ بالطرق العادية وتتكون بصورة رئيسة من البروتينات (حوالي 90%).

2- طبقة القشرة Cortex: تشكل هذه الطبقة حوالي نصف حجم البوغ وتختفي اثناء عملية الانبات.

3- منطقة اللب Core: وهي تحتوي على المادة النووية Nuclear material وعلى عدد من الانزيمات.

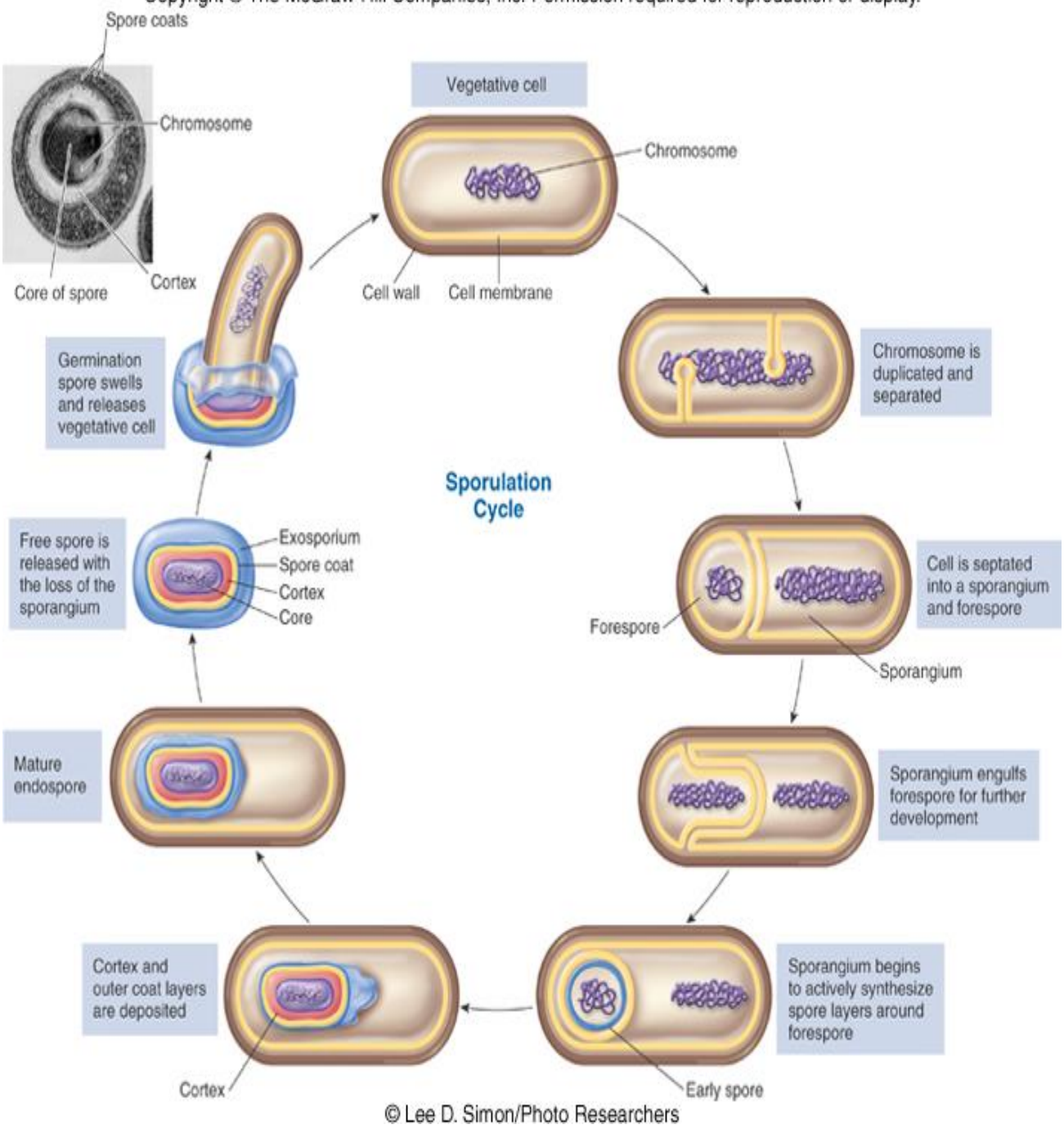
يتميز التركيب الكيمياوي للبوغ على احتوائه على كميات كبيرة من حامض Dipicolinic acid وهي مادة غير موجودة في الخلايا الخضرية وتكون 5-10% من الوزن الجاف للبوغ بالاضافة الى كميات كبيرة من الكالسيوم Ca^{+2} ويعتقد ان المعقد المتكون من Ca^{+2} + dipicolinic acid + peptidoglycan ، يكون طبقة القشرة وهذه الطبقة مسؤولة عن عدم نفاذية غطاء البوغ ويعتقد ان المقاومة للحرارة والجفاف والمواد الكيمياوية والمطهرات ناتجة عن قلة المحتوى المائي و تكون Calcium dipicolinice الموجودة في القشرة.

*** يكشف عن الابواغ الداخلية بسهولة بالمجهر الضوئي لانها ذات انكسار عال ولاتتقبل الاصباغ خلال غطائها السميك كما تتقبله بقية الخلية.**



تكوين وتركيب الـ Spore

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



© Lee D. Simon/Photo Researchers

تغذية الاحياء المجهرية Nutrition of Microbiology :

لكي تنمو الاحياء المجهرية عليها ان تحصل على جميع المواد الضرورية لتخليق المكونات الخلوية لتوليد الطاقة وهي تحصل على هذه المواد من البيئة وتسمى هذه بالمغذيات وتقسم الى:

1- المواد الغذائية الاساسية Essential nutrients وهي المواد التي لايمكن للخلايا ان تعيش بدونها.
2- المواد الغذائية غير الاساسية NON-Essential nutrients وهي مواد مساعدة تستعمل عند توفرها.

ويمكن تقسيم المواد الغذائية الى قسمين حسب الكميات التي تحتاجها الكائنات ومنها Macronutrient وهي المواد التي تحتاجها الخلايا بكميات كبيرة اما micronutrients فهي المواد التي تحتاجها بكميات قليلة.

عناصر التغذية :-

الماء : إن بروتوبلازم الخلية الحية يحتوي من 73-80% من الماء ، تحصل عليه من البيئة الطبيعية التي تعيش عليها . والماء يدخل من الخلية محملاً بكل الجزيئات الغذائية الذائبة بالبيئة الطبيعية ويخرج منها محملاً بما تريد أن تخرجه الخلية وكل العمليات الإنزيمية الكيميائية التي تتم بداخل الخلية يتم فقط في وجود كميات كافية من الماء. ونوعية الماء اللازم لتحضير بيئة لتنمية البكتيريا يعتبر من الأمور الهامة جداً. فمثلاً يجب عدم إستعمال ماء الحنفية العسر أو المحتوى على أيونات الكالسيوم أو المغنيسيوم . حيث أن وجود الفوسفات غير الذائبة وكذلك أيونات الكالسيوم أو المغنيسيوم قد يؤثر على مدى صلاحية البيتون أو خلاصة اللحم التي تضاف إلى البيئة . وأفضل المياه التي تستعمل في صناعة بيئات الزرع هو الماء المقطر . يمكن التعبير عن الوفرة للماء بالنشاط المائي Water activity

$$aW = \frac{\text{ضغط بخار المحلول P}}{\text{ضغط بخار الماء Po}}$$

وقيمة aW مساوية للـ 1 وتقل هذه القيمة عندما تكون هناك املاح مذابة في الماء.

تتمكن الكائنات المجهرية من النمو في بيئة تكون قيمة aW واقعة بين 0.63 و 0.99 ويبدو ان قيم aW ثابتة بالنسبة للنوع الواحد ولاتعتمد على طبيعة المواد المذابة وتحتاج البكتريا الى قيم لفاعلية الماء اكثر من القيم التي تحتاجها الخمائر والفطريات(الـ *Micrococci* و *Staphylococcni* تمتلك القيم الاقل لفاعلية الماء المثلى لنموها) ، والقيمة المثلى للنشاط المائي الذي تنمو فيه الاحياء المجهرية هي 0.90 -0.99 وعند هبوط قيمة النشاط المائي الى 0.86 فانه يعيق نمو العديد من البكتريا اما الفطريات فيمكن منع نموها بخفض القيمة الى 0.7.

تقسيم أحياء المجهرية بالنسبة لمصدر الطاقة والكاربون والالكترونات :-

أ. **بالنسبة لمصدر الكاربون :** تصنف أحياء المجهرية بالنسبة لمصدر الكاربون إلى:
1. أحياء ذاتية التغذية Lithotrophs or Autotrophs وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل غاز ثاني اوكسيد الكاربون مصدر للكاربون.

2. أحياء المتباينة التغذية Heterotrophs وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل المركبات العضوية مصدرا للكاربون.

ب. بالنسبة لمصدر الطاقة: تصنف أحياء المجهرية بالنسبة لمصدر الطاقة إلى :

1. أحياء ضوئية Phototrophs وهي الأحياء المجهرية التي يكون فيها الضوء مصدرا للطاقة
2. أحياء كيميائية Chemotrophs وهي الأحياء التي تؤكسد المركبات العضوية أو المعدنية لتحصل على الطاقة اللازمة للعمليات الحيوية المختلفة.

كذلك قسمت أحياء التربة المجهرية بالنسبة للتداخل بين مصدر الكاربون والطاقة إلى أربعة أقسام هي:

أ. **أحياء ذاتية التغذية ضوئية Photoautotrophs** وهي الأحياء المجهرية الشبيهة بالنباتات إذ تستعمل ثاني اوكسيد الكاربون كمصدر للكاربون والضوء مصدر للطاقة وهذه تضم جميع الطحالب وقسما من البكتريا مثل جنس *Rhodospirillium* وكذلك البكتريا الأرجوانية Purple bacteria والبكتريا الخضراء Green bacteria.

ب. **أحياء ذاتية التغذية كيميائية Chemoautotrophs** وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل ثاني اوكسيد الكاربون مصدرا للكاربون وأكسدة المركبات المعدنية مصدر للطاقة اللازمة لتحويل ثاني اوكسيد الكاربون إلى كلوكوز ثم تحويله إلى مركبات الخلية العضوية الأخرى. ويشمل هذا القسم عددا من الأجناس البكترية الاقتصادية والتي تقسم بدورها إلى مجاميع أخرى على أساس مركبات العناصر التي تقوم بأكسدتها للحصول على الطاقة وهي:

1. البكتريا التي تؤكســـد ايونات الامونيوم إلى ايونات النتريت للحصـــول على الطاقة مثل جنس *Nitrosomonas* كما في المعادلة الآتية:

$$NH_4 + 11/2O_2 \text{ --------- } NO_2 + 2H^+ + H_2O + 66 \text{ cal.}$$

2. البكتريا التي تؤكسد ايونات النتريت إلى ايونات النترات للحصول على الطاقة مثل جنس *Nitrobacter* كما في المعادلة الآتية:

$$NO_2^- + 1/2O_2 \text{ ---------- } NO_3^- + 17.2 \text{ cal.}$$

3.البكتريا التي تؤكسد مركبات الكبريت إلى ايونات الكبريتات للحصول على الطاقة مثل جنس *Thiobacillus* كما في المعادلة الآتية:

$$S + 11/2O_2 + H_2O \text{ ---------- } H_2SO_4 + \text{energy}$$

4. البكتريا التي تؤكسد ايونات الحديدوز المضافة إلى التربة بشكل كبريتات الحديدوز إلى رواسب من هيدروكسيد الحديديك للحصول على الطاقة مثل جنس *Ferrobacillus*.

$$Fe^{+2} \text{ ---------- } Fe^{+3} + \text{energy}$$

ج. أحياء المجهرية المتباينة التغذية كيميائيا Chemoheterotrophs وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل المركبات العضوية مصدرا للكاربون والطاقة وتشمل جميع الفطريات والابتدائيات ومعظم البكتريا وجميع الاكتنيومايستات ومن الأجناس البكترية لهذه المجموعة هي *Rhizobium* المثبت للنايتروجين تعايشيا والجنس *Azotobacter* المثبت للنايتروجين لاتعايشيا والجنس

Pseudomonas ومن أنواعه *P. denitrificans* الذي يختزل النترات إلى غاز النتروجين والجنس *Micrococcus* والذي من أنواعه *M. urea* المحللة لليوريا والجنس *Cytophage* المحللة للسليلوز.

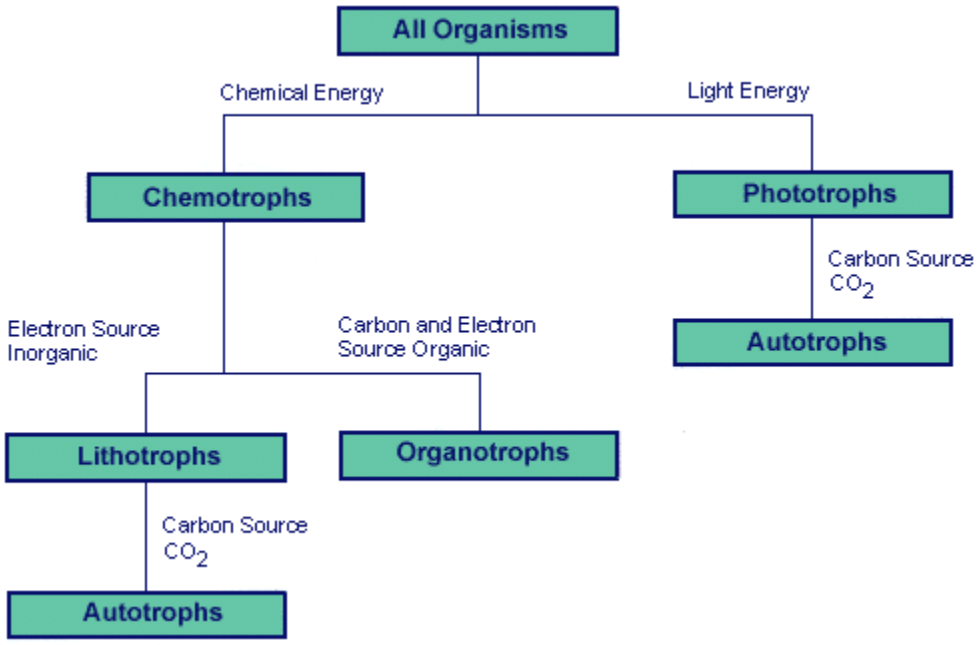
د. أحياء متباينة التغذية ضوئية Photohetrotrophs

1. وضعت هذه المجموعة لغرض أكمال التقسيم ولم يكتشف حتى ألان في أي كائن حي يقع ضمن هذا التقسيم.

هـ – بالنسبة لمصدر الالكترونات :

1- lithotrophs مصدر الالكترون هو الجزيئات غير العضوية

2- Organotrophs مصدر الالكترونات الجزيئات العضوية



النـايتروجين: تحتـاج الخلايـا N لتخليق الحوامض الامينية والنووية. ويدخل في تركيب الانزيمات والعديد من المواد ويوجد باشـــكال متعددة منها NH_3 و N_2 و NO_3 وان الشـــكل الذي يحتاجه الكائن الحي يعتمد على القابلية الاختزالية الانزيمية التي يمتلكها الكائن الحي فعندما يكون مصـــدر النايتروجين على هيئة $R\text{-}NH_2$ فان البكتريا تقوم باســـتغلاله عن طريق ازالة مجموعة الامين (Deamination) ليكون الامونيـا NH_3 ثم يســـتغل N الموجود فيها وقد تنقل الخلايا NH_2 (Transamination) الى مســـتلم اخر وقد تقوم البكتريا بكلا العمليتين.

تحتاج عملية اسـتغلال الامونيا الى صـرف طاقة فعند وجود الامونيا بتراكيز عالية خارج الخلية سـوف يعمل انزيم Glutamate dehgdrogenase ويؤدي الى تكوين حـامض Glutamic acid الذي يدخل الى داخل الخلية تقوم بعد ذلك بتوزيع هذا الحامض الى مختلف المواد الخلوية التي تحتاجها خلال تفاعل حذف جذر الامين.

وهناك بعض الاحياء تقوم على اسـتغلال N من الاملاح الامونيوم وبعضـها يقوم بتثبيت النتروجين الجوي Biological Nitrogen Fixation بوساطة انزيم Nitrogenase لتخليق المواد النايتروجينية العضوية الخلوية.

وبعض الاحياء تقوم بأختزال النترات بواســطة انزيم Nitrate reductase الى نتريت ويختزل الاخير بواســطة انزيم Nitrite reductase ويستمر الاختزال الى مراحل تكون الامونيا NH_3 لكي تستفيد منه الخلايا.

الفسـفور : يوجد الفسـفور في الاحماض النووية وفي الفوسـفولبيدات وفي ATP ، تقريبا اغلب الاحياء المجهرية تسـتخدم الفسـفور الغير عضوي كمصدر للفسفور والبكتريا تستطيع استخدام الفسفور العضوي وغير العضوي ،بعض الفسفور العضوي يمكن ان يدخل الى داخل الخلايا بواسـطة البروتينات الناقلة والبعض الاخر يتحلل بفعل الانزيمات الموجودة في الفراع السـايتوبلازمي Periplasm اما الفسـفور الغير غير العضــوي الموجود خارج الخلايا يدخل عن طريق ال Porin الموجودة في جدار البكتريا وفي حالة وجود الفسـفور بتراكيز قليلة تستخدم نواقل خاص للفسفور يطلق عليها phosphate – specific trancport

الكبريت : يشـغل عنصر الكبريت ومركباته مع الاوكسجين والهيدروجين دورين . الاول انه يستعمل لانتاج الطاقة حيث يستعمل كمستلم للالكترونات Electron acceptor والدور الثاني يسـتعمل لبناء المواد الخلوية. يمكن للخلايا البكتيرية ان تسـتخدم S من مصـادره وهو مؤكسده وضمن مركبات SO_4 غير العضـوي وبهذا يتوجب على هذه الاحياء ان تختزله اولاً . هناك بعض الاحياء المجهرية لا تستطيع اختزال هذا العنصر، لذا يجب ان تحصـل عليه وهو مختزل على شكل كبريتيد -S مثل H_2S او على شكل مركبات عضوية تحتوي على مجموعـة SH مثل الحـامض الاميني Cystein او مركبـات اخرى اكثر تعقيداً مثل البروتينـات حيث تقوم هذه المركبـات بتزويـد الخليـة بعنصر S.N.C اضافة الى الطاقة.

المعادن : كل الكائنات الحية بما فيها البكتيريا تحتاج إلى كميات ضـئيلة من الأيونات المعدنية مثل الصـوديوم والبوتاسـيوم والكالسـيوم والماغنيسـيوم والمنغنيز والحديد والزنك والنحاس والفوسـفور والكوبلت لكي تنمو طبيعياً ، وأن الكميات اللازمة منها قليلة جداً ، وهذه المعادن قد تدخل في عمليات البناء أو التنفس أو تعمل كمرافقات إنزيمية .

عوامل النمو العضوية Organic Growth Factors :

إن أي مادة حيوية وضرورية لبناء وحياة الخلية والتي لا تقدر الخلية على تخليقها بنفسها من المصادر الكربونية والنيتروجينية البسيطة التي تتناولها تعرف بعوامل النمو . وهذه تشمل فيتامينات وأحماض امينية معينة .والكثير من البكتيريا غير ذاتية التغذية تكتفي بما يحتويه مستخلص اللحم المضاف في بيئة المرق المغذي من عوامل النمو إلا أن هناك بعض البكتيريا الممرضة الصعبة التنمية Fastidious heterotrophs تحتاج إلى بيئات أغنى غذائياً enriched مثل آكار الدم للحصول على العديد من عوامل النمو التي يحتاجها ، وتحتاج الخلايا هذه المواد بتراكيز ظئيلة جداً لذلك تدعى بالمغذيات الدقيقة.Micronutrient وهي تقسم الى:

1. **الحوامض الامينية**: تعد من اهم المواد العضـوية ، اذ ان بعض البكتريات تحتاج الى بعض الحوامض الامينية الخاصـة التي لا تستطيع تخليقها نظراً لنقص الانزيمات المشتركة في عملية التخليق فمثلا يعد الحامض الاميني Tryptophan عامل نمو مهم لاتســتطيع الاحياء من النمو بدونـه مثل بكتريا *Salmonella typhi* وبكتريا الكزاز *Clostridium tetani* وبكتريا الخناق *Corynobacterium diphtheria*.
2. **القواعد النتروجينية**: تتمثل القواعد النتروجينية بالبيورينات والبريمدبنات التي يجب توفرها بنســبة ضــئيلة في الوســط الزرعي ويوجد بـــ 5 مركبات مختلفة من القواعد النتروجينية تدخل في تركيب الحوامض النووية وهي (C, G, U, A, T). ان عملية تخليق هذه القواعد تتضـمن سلسـلة معقدة من التفاعلات لذلك يكون الكائن معتمداً على البيئة (الوسط الزرعي) في تزويده بالقواعد النتروجينية.
3. **الفيتامينات** : هي مجموعة من المركبات العضـوية التي تشـكل الجزء المتمم لبعض الانزيمات ، ويكون الاحتياج للفيتامينات بكميات اقل من الحوامض الامينية والقواعد النتروجينية تختلف الاحياء المجهرية من حيث احتياجها بالنســبة لاشــكال عوامل النمو فمثلاً الثايمين (B1) يتكون من جزيئتين من البريميدين والتايازول اذ تحتاج بعض الاحياء المجهرية للثابمين بشــكله المتكامل في حين تستطيع الانواع الاخرى الاستفادة من احد شطري الفيتامين البريميدين او الثايازول وايضاً مثال اخر حامض البنتاثنيك (Pantothenic acid) عامل مهم يدخل في تخليق الـــــ Coenzyme الذي يدخل في التفاعلات الايضــية المنتجة للطاقة ويتكون هذا الحامض من جزيئتين هما Pantoic و B-alanine اذ ان الاحياء المجهرية التي تحتاج الى هذا الحامض يجب ان تكون قادرة على تخليق كلا الجزيئين ثم ربط هذين الحامضين بوجود انزيم معين ينتج من خلاله pantothenic.

(عوامل النمو هي مواد كيمياوية قد تكون عضوية مثل Co و Mg و Mn و Zn)

تقسيم أحياء المجهرية بالنسبة لحاجتها للأوكسجين

أن وجود الأوكسجين أو عدم وجوده يقسم أحياء المجهرية إلى ثلاثة مجاميع رئيسية والأساس في هذا التقسيم يعود بالدرجة الرئيسية إلى طبيعة نظم إنتاج الطاقة والمجاميع هي:

أ. الأحياء الهوائية الإجبارية Obligate anaerobes :- وهي الأحياء المجهرية التي تحتاج إلى الأوكسجين كمستقبل نهائي للالكترونات لغرض الأكسدة وعندما تكون هذه هي الوسيلة الوحيدة لإنتاج الطاقة فان هذا الكائن الحي يكون من النوع الهوائي الإجباري. أن اغلب أحياء المجهرية من هذا النوع ومن الأمثلة عليها الأجناس البكترية *Thiobacillus* و *Nitosomonas* و *Nitrobacter*.

ب. الأحياء المجهرية اللاهوائية الاختيارية Facultative anaerobes :- وهي الأحياء المجهرية التي تحصل على الطاقة بغياب الأوكسجين ويمكنها النمو أيضا في وجود الأوكسجين أي أنها تستطيع النمو بوجود الأوكسجين أم عدم وجوده مثل الاجناس البكترية *Bacillus* و *Pseudomonas*.

ج. **الأحياء المجهرية اللاهوائية الإجبارية Obligate anaerobes :-** وهي الأحياء المجهرية التي لها نظام أنتاج الطاقة الذي لايحتاج إلى الأوكسجين وعلى الرغم من الأوكسجين يعد مستقبلا شائعا وكفوءا للالكترونات فان بعض الكائنات ذات النواة البدائية لها القدرة على الاستفادة من بعض مستقبلات الإلكترون اللاعضوية (المعدنية) إذ تختزل النترات إلى امونيا وثاني اوكسيد النتروز وغازالنتروجين بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية *Pseudomonas dentrificans* حيث تعد النترات احد مصادر مستقبلات الالكترونات لهذه البكتريا أو يمكن أن تكون الكبريتات (SO_4) مستقبل للالكترونات إذ تختزل إلى كبريتيدات بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية Desulfovibrio desulfuricans أو يمكن أن يكون غاز ثاني اوكسيد الكاربون مستقبل للالكترونات إذ يختزل إلى غاز الميثان بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية جنس *Methanobacterium*

.

ويعد الاوكسجين من العناصر التي تؤدي الى قتل او توقف نمو للكائن الحي وان سمية هذا المادة تعد معقدة وغير مفهومة بشكل واضح ولكن يمكن ان تعود الى ان الاحياء من هذا النوع تحتوي على انزيمات في حالة اختزال لكي تعمل بحالة طبيعية لذلك وجود الاوكسجين سيعطل هذه الانزيمات وبالتالي يوقف نموها. فمثلاً عدم احتواء الاحياء من هذا النوع على انزيم catalase الذي يفلق بيروكسيد الهيدروجين الى ماء واوكسجين الا انها ايضاً لاتمتلك الانزيم الذي يحول O_2^- الى H_2O_2 .

$$2\,O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{Superoxide dismutase}} H_2O_2 + O_2$$

$$H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} O_2 + H_2O$$

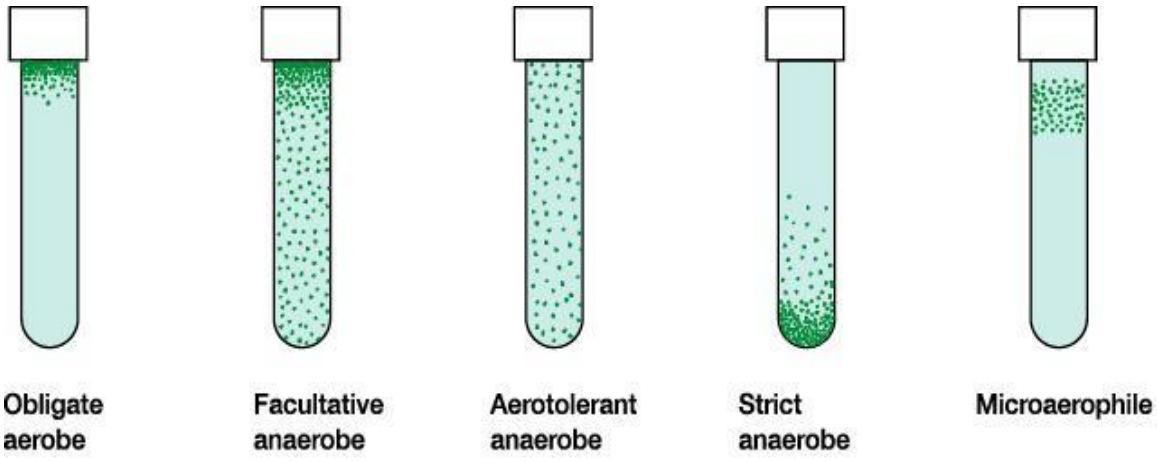
نمو البكتريا في وسط يحتوي على اوكسجين تتكون مادتين سامة وهي

1- Superoxide Ion O_2^-

2- Hydrogen peroxide H_2O_2

ان بكتريا Lactic acid bacteria هي من نوع Aerotolerant anaerobes حيث لا تحتوي على انزيم الـــ Catalase ولكن تحتوي على انزيم الـــ peroxidases الذي يعمل على تحويل H_2O_2 الى $2H_2O$ بوجود مواد عضـوية مؤكسـدة. وقد اقترح العلماء ان موت الاحياء بوجود الاوكسـجين يعود الى تكوين بيروكسـيد الهيدروجين وتجمعه فيما بين الخلايا وان بيروكسـيد الهيدروجين يعتبر مادة سـامة جداً.

الاحياء الهوائية الدقيقة Microaerophilic organism: هي الاحياء التي يتوقف نموها او قد تقتل بوجود الاوكســجين بتركيزه الموجود في الهواء الا انها تنمو اذا توفر الاوكسـجين بتركيز واطئ اقل من 2- 10 % من الضـغط الجوي وذلك يعود الى وجود انزيمات حساسة لوجود عامل مؤكسد ومن هذه الاحياء هي البكتريا التي تحصل على طاقتها من اكسدة الهيدروجين بوجود انزيم Hydrogenase الذي يتعطل بوجود الاوكسجين. ويمكن ان تنمى البكتريا في انابيب حاوية على على وسط خاص مثل وسط Thioglycollate.



شكل يوضح انواع البكتريا اعتمادا على حاجتها للاوكسجين

زراعة الاحياء المجهرية Cultivation of Microorganism

ان الغرض الرئيســي في تحضــير أي وســط زرعي للاحياء المجهرية هو تزويد الاحياء بخليط متوازن للمواد التي تحتاجها الخلايا وبتراكيز تسمح للنمو حيث ان زيادة تركيز أي مادة سيؤدي الى:

1- ان الوسط يصبح مثبط او سام لان العديد من المواد المغذية تتحول الى مواد مانعة للنمو.
2- اذا حدث النمو في الوسط الزرعي عالي التركيز فان الطبيعة البيئية ستتغير نتيجة الفعاليات الايضية للاحياء المجهرية النامية فتصبح هذه البيئة غيرمناسبة وتتغير الحالة الفسلجية لهذه الاحياء او قد تموت. وقد يكون هذا سبب التغير الشديد في تركيز ايون الهيدروجين او بتجمع المواد العضوية السامة او لنفاذ الاوكسجين في حالة الاحياء الهوائية الاجبارية.

تحضير الوسط الزرعي :- يعتمد تحضير الوسط الزرعي على:

1- اضافة مصدر كاربوني ونتروجين ومصدر طاقة وعوامل نمو خاصة.
2- اضافة الفلزات المهمة التي تناسب أي كائن مجهري.

ان الحاجة الى مصـادر الغذائية تختلف حسـب الفعاليات الحيوية التي تقوم بها البكتريا لكن جميعها تحتاج الى الماء والذي يشـكل نسـبة 80 % من حجم و وزن البكتريا . ان الاوسـاط الزرعية قد تكون بسيطة المكونات او معقدة فمثلا الاوسـاط الزرعية التي تسـتعمل لتنمية الاحياء ذاتية التغذية تكون بسيطة عادة وذلك لقدرتها على بناء التراكيب المعقدة لخلاياها من مواد بسيطة (بعض الاملاح غير العضـوية وماء ومصـدر نتروجين و CO_2) في حين تكون بعض الاحياء نحسـا **Fastidious** فتحتاج عادة الى اوساط معقدة التركيب لنموها وذلك لعدم قدرتها على تصنيع تراكيبها.

تقسم الاوساط الزرعية الى:

1- الوسط الصناعي Synthetic medium: وهو الوسط الزرعي المعروف مكوناته الكيمياوية نوعاً وكماً.
2- الوسط المعقد Complex Medium: وهو الوسط الزرعي الذي لاتعرف مكوناته الكيمياوية نوعاً وكماً وذلك بأضـافة بعض المواد مثل خلاصة اللحم او خلاصة الخميرة لتزويد الوسط الزرعي بالمركبات الكيمياوية العضوية واللاعضوية المختلفة.
توجد هذه الاملاح في جميع الاوســاط الزرعية (Mn. Cu, CO, Zn , FeSO4.7H2O , MgSO4.7H2O ، K2HPO4 ، Inorganic Salt)

تقسم الاوساط حسب مكوناتها الى :-

1- **الوسـط الاول**: يحتوي على كلوريد الامونيوم NH4Cl فقط ويخلو من المصـدر الكاربوني. وهذا الوسـط يلائم البكتريا ذاتية التغذية مثل بكتريا النايتروجين Nitrosomanas التي تحصل على الكاربون من CO_2 اما الطاقة من الاكسدة الهوائية للامونيا.
2- **الوسط الثاني:** يحتوي على سكر الكلوكوز و NH4Cl ويصلح هذا الوسط للبكتريا والفطريات لان الكلوكوز يعد مصدر للكاربون والطاقة اما البكتريا اللاهوائية فتحصل على طاقتها من عملية التخمر.

3- **الوسط الثالث:** يحتوي على فيتامين وهو Nicotinic acid اضافة الى سكر الكلوكوز و NH4Cl وينمو في هذا الوسط الاحياء التي تحتاج الى الفيتامينات مثل بكتريا *Proteus vulgaris* .

4- **الوسط الرابع:** وهو وسط معقد يحتوي على (Yeast extract) والسكر يستعمل لتنمية الاحياء الكيمياوية المتباينة التغذية الهوائية واللاهوائية. ان مستخلص الخميرة (Yeast extract) يزود الوسط الزرعي بالمواد النايتروجينية فضلاً عن معظم عوامل النمو العضوية.

- ان تحضير الاوساط الزرعية تحتاج الى الكثير من الدقة والجهد في وزن المواد واختيار المواد الكيمياوية المناسبة.
- تعد الاوساط الزرعية الثلاثة الاولى من الاوساط الصناعية والوسط الرابع وسط معقد لاحتوائه على خلاصة الخميرة بالاضافة الى الاحتياجات الغذائية الاخرى هناك عوامل اخرى يجب توفرها عند نمو كائن مجهري معين وهي درجة حرارة الحضن ، الضغط التنافذي ، تركيز ايون الهيدروجين.

<u>العوامل التي يجب توفرها عند نمو الكائن المجهري</u>

1- السيطرة على الرقم الهيدروجيني

ان البيئة الطبيعية للنمو اغلب الاحياء المجهرية هي بين 4-9 والعدد القليل الذي ينمو في اس هيدروجيني اقل من 4 واكثر من 9 ويطلق على الاحياء المحبة للرقم الهيدروجيني الواطئ **Acidophiles** والتي تتراوح بين (0 – 5.5) وتمتاز بتحلل غشائها السايتوبلازمي عند رفع الاس الهيدروجيني فضلا عن ذلك تاثرها على الانزيمات النقل الموجودة في الغشاء السايتوبلازمي وبعض البكتريا مثل *Salmonella typhimurium* و *E. coli* تقوم بتخليق بروتينات مسؤولة عن تحمل الحموضة اما الاحياء المحبة للوسط القاعدي يتراوح (8.5 – 11.5) يطلق عليها **Alkaliphiles** اما البكتريا التي تنمو في الاس الهيدروجيني المتعادل يطلق عليها **Neutrophiles** والذي يتراوح بين (5.5-8.5).

عند تنمية الاحياء المجهرية في الوسط الغذائي المناسب فانها تتأثر وبشكل ملحوظ في التغيرات الكيمياوية التي تطرأ على المزرعة نتيجة الفعاليات الايضية للاحياء النامية نفسها فمثلاً تكون الحوامض العضوية نتيجة الفعاليات التخمرية للسكر الموجود في الوسط مما يوقف نمو الكائن المجهري او تتكون قواعد بدلاً من الحوامض نتيجة لعمليات الهدم التي تحصل من قبل الكائن المجهري اواستخدام الايونات السالبة الموجودة في الوسط او التفاعلات الايضية التي تحصل في البروتينات والحوامض الامينية والتي تؤدي الى تكوين الامونيا.

ان تكون مثل هذه المواد تؤدي الى تغيرالرقم الهيدروجيني للوسط الا ان التغير لايكون بشكل حاد او مفاجئ بسبب احتواء الوسط على ما يسمى بالدارئ مثل الحوامض الامينية والبروتينات لاحتوائها على جذور الامين $-NH_2$ والكاربوكسيل -COOH في ان واحد مما تعمل على الاتحاد مع الحوامض والقواعد المتكونة. لذلك يطلق على هذه المواد بأنها امفوتيرية **amphoteric** الا انه في بعض الاحيان يكون التغير في الرقم الهيدروجيني للوسط الزرعي كبير بحيث تعجز قدرة الدارئ على كبحه لذلك يستعان ببعض المواد الدارئ مثل:

1- املاح الفوسفات:-

1- تتكون دوارئ الفوسفات phosphot buffers من خليط يحتوي على K_2HPO_4 (ملح ضعيف القاعدية)

$$K_2HPO_4 + HCL \longrightarrow KH_2PO_4 + HCL$$

$KH_2PO_4 + KOH \longrightarrow K_2HPO_4 + H_2O$

و KH_2PO_4 (ملح ضعيف الحامضية).

2- يستخدم في تحضير الاوساط الزرعية لانه يمنع التغيير الجذري في تركيز ايون الهيدروجين الناتج من نمو الاحياء المجهرية.

3- تعد من الاملاح اللاعضوية الوحيدة التي تعمل كداريء ضمن المدى المهم وهو التعادل النسبي.

4- لاتعد سامة للاحياء المجهرية.

5- تعد مصدراً مهماً للفسفور تتزود منه الاحياء.

6- التراكيز العالية من الفوسفات تكون مانعة لنمو بعض الاحياء. وعموماً فان البكتريا والفطريات تستطيع ان تتحمل فوسفات البوتاسيوم بتركيز 5 غم/ لتر من الوسط الزرعي

2- املاح الكاربونات والبيكاربونات:-

1- تستخدم عند تحرر الحوامض بكمية كبيرة في الوسط الزرعي فلا تنفع استخدام داريء الفوسفات.

$Na_2CO_3 + HCL \longrightarrow NaCl + H_2O + CO_2$

$NaHCO_3 + NaOH \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O$

2- وجود ايون الهيدروجين يحول الكاربونات الى بيكاربونات ثم تتحول الاخيرة الى حامض الكاربونيك الذي يتحلل الى CO_2 وماء.

$$CO_3^{-} \underset{-H^+}{\overset{+H^+}{\rightleftharpoons}} HCO_3 \underset{+H^+}{\overset{-H^+}{\rightleftharpoons}} H_2CO_3 \rightleftharpoons CO_2 + H_2O$$

3- يعمل على منع تجمع ايونات الهيدروجين.

4- لايفضل استخدام كاربونات الصوديوم الذائبة بل يفضل كاربونات الكالسيوم غير الذائبة لان الاولى قلوية حادة والقلوية العالية تكون غير ذائبة في الوسط.

في ظروف اخرى لاتنفع دواريء الفوسفات والكاربونات لذا يفضل ضبط الرقم الهيدروجيني دورياً وبأستمرار بأضافة قاعدة او حامض تحت ظروف معقمة.

2- السيطرة على كمية الاوكسجين

يعد الاوكسجين عامل تغذية مهماً بالنسبة للاحياء المجهرية الهوائية لانه يدخل في العديد من العمليات البنائية والهدمية.

- **زراعة الاحياء المجهرية الهوائية :-** تزرع عن طريق تخطيطها فوق سطح الاكار في اطباق بتري اما اذا كانت المزرعة سائلة فيمكن استخدام انابيب الاختبار الاعتيادية. او دورق صغير ثم تحضن تحت الظروف الجوية اما اذا كانت الكميات كبيرة فانها توضع في اوان كبيرة حتى تزيد من المساحة السطحية للمزرعة وتعريضها للاوكسجين ، وقد تستخدم اجهزة هزازة لهذا الغرض او قد يضخ الهواء الى داخل المزرعة باستخدام مضخات خاصة كما في الصناعة التي تعتمد على التخمير.
- **زراعة الاحياء المجهرية اللاهوائية** يتم استبعاد الاوكسجين عن طريق

1- تستخدم قناني محكمة الغلق وتملاء تماماً بالوسط السائل المفرغ من الهواء.

2- يتم غليان الوسط لغرض طرد O_2

3- في حالة تنمية الاحياء المجهرية في وسط صلب اذ تحضن الاطباق في اجواء غير هوائية باستخدام الجرار المعد لحضن المزارع الصلبة المزروعة في الاطباق وتستخدم مجففات مفرغة Vacuum desiccators وبعد ان تفرغ من الهواء تملأ بالناتروجين او الهيدروجين او بخليط من هذين الغازين مع CO_2.

4- زراعة البكتريا اللاهوائية المجبرة بأضافة مواد مختزلة قوية للوسط الزرعي مثل Sodium thioglycolate و حامض Cysteine و Na_2S وغيرها .

3-السيطرة على CO_2

يتم السيطرة على كمية CO_2 من خلال ضخ هواء يحتوي على 5% من CO_2 (خاصة ان الهواء الجوي يحتوي على 0.3% من CO_2) الا انه سوف يولد تغيير في الوسط الزرعي لذا يتم استعمال دوارئ لغرض زراعة الاحياء المجهرية الضوئية ذاتية التغذية والكيمياوية ذاتية التغذية.

5. الضغط

اغلب البكتريا تعيش على سطح الارض او على سطح المياه وبعضها تعيش في اعماق البحار والتي يتراوح الضغط فيه حوالي 600-1100 atm والتي يطلق عليها **Barotolerat** زيادة الضغط عن ذلك يوثر سلبا في حين يلاحظ وجود بكتريا في امعاء اللافقريات البحرية تتحمل الضغط عالي يطلق عليها **barophilic** .

6- توفر الضوء

يعد الضوء من المتطلبات الضرورية لتنمية الاحياء المجهرية الضوئية **photosynthesis** لذلك جميع البكتريا التي تحتوي على Chlorophy II او bacteriochlorophy II او cytochromes او Flavin تستطيع امتصاص الضوء كمصدر للطاقة لذا يتم السيطرة على توفر الضوء ودرجة الحرارة عن طريق استخدام حاضنات مزودة بوسيلة تثبت درجة الحرارة المطلوبة وبما ان الحاضنات لا تحتوي على اضاءة داخلية لذا يجب وضع الحاضنات قرب الشبابيك الجيدة الإضاءة لأوقات متقطعة متجنبين التعرض المباشر لضوء الشمس تجنباً من شدة الضوء الذي يرفع من درجة الحرارة الذي سيمنع نمو الأحياء المجهرية.

ان الاطوال الموجية التي تناسب عملية التخليق الضوئي التي تقوم بها الأحياء المجهرية الضوئية التغذية اقل من 700 نانومتر للطحالب ولحقيقية النواة وتنحصر ما بين 700-1000 نانو متر للبكتريا الخضراء والبنفسجية.

7. تجنب رواسب المعادن

عند تحضير الاوساط الصناعية يتكون راسب اثناء عملية التعقيم وخصوصاً اذا احتواء الوسط على ايونات الفوسفات بتراكيز عالية اذ يتكون راسب نتيجة تكوين مواد معقدة غير ذائبة من تفاعل الفوسفات وايونات بعض المواد الثقيلة مثل الحديد ويتم معالجة هذه المشكلة عن طريق تعقيم المحلول المركز لمركبات هذه المعادن بشكل مفرد ثم تضاف الى بقية المكونات في الوسط الزرعي المعقم بعد ان يبرد

او ادخال كمية قليلة من عامل الكلابي Chelating agent حيث يكون مادة معقدة ذائبة مع هذه المعادن وبذلك يمنع تفاعلها مع الفوسفات ومن هذه العوامل هو EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) بتركيز 0.01% تقريباً.

انواع الاوساط الزرعية :

1- الاوساط الزرعية الانتاجية Enriched Media هي الاوساط الزرعية التي تحتوي على مواد مغذية اضافية مثل الدم او المصل او خلاصات الانسجة النباتية او الحيوانية لتصبح صالحة لتنمية الاحياء التي تتطلب مواد غذائية معقدة.

2- الاوساط الزرعية الانتخابية Selective Media : هي الاوساط التي تسمح لنمو انواع معينة من الاحياء نتيجة لاضافة مثبطات خاصة التي تحد من نمو بعض الاحياء المجهرية مثل المضادات الحيوية او اضافة صبغة Crystal violet بتركيز معين يسمح بنمو الاحياء G^- ولا يسمح نمو الانواع الاخرى او اضافة Phenylethanol الذي يساعد على نمو بكتريا G^+ دون السالبة او ادخال مصدر كاربوني وحيد لا يستطيع استغلاله الا من قبل مجموعة معينة من الاحياء مثل اضافة النشا. ومثال على الاوساط الانتخابية وسط MacConkey agar.

3- الاوساط التفاضلية Differential Media: هي من الاوساط التي تميز الاحياء عند نموها حيث تظهر صفات خاصة تميزها عن غيرها فمثلاً استعمال الدم للتميز بين البكتريا المحللة للدم عن غير المحللة للدم فتظهر المستعمرات المحللة محاطة بهالة شفافة وغير المحللة لاتظهر حولها هالة شفافة (يوجد ثلاث انواع من انزيمات تحلل الدم haemolysis -∞ وhaemolysis -ß و γ-haemolysis)

.

4- الاوساط الزرعية التحليلية Assay media: هي اوساط صناعية تستخدم للتقويم الكمي لبعض المواد المراد مثل الفيتامينات والحوامض الامينية ، وهذه الاوساط مخصصة لتنمية نوع من الاحياء المتباينة التغذية التي تحتاج الى عامل نمو معين ، وتنتخب هذه الاحياء انتخاباً بحيث يكون عامل نموها هو نفس المادة المراد تقويمها ولهذا تحذف هذه المادة عادة من مكونات الوسط التحليلي. وبعد الزرع تضاف مقادير معلومة من المادة المراد تقويمها ثم تقارن كمية المادة المستخدمة مع النمو الحاصل نتيجة هذه الاضافة.

5- الاوساط الزرعية التشخيصية Characterization media: هي اوساط تستخدم لتشخيص الاحياء المجهرية من خلال النمو الحاصل عليها او من خلال التغيرات الكيمياوية التي تطرأ على هذه الاوساط نتيجة نمو احياء مجهرية معينة عليها .

6- الاوساط الزرعية الحفظية Maintenance media: تستخدم للابقاء على حيوية الاحياء المجهرية عند خزنها لمدة معينة وهي مزروعة على هذه الاوساط دون ان تتغير الخصائص العضوية لهذه الاحياء.

نمو البكتريا Bacterial Growth

النمو Growth: هو الزيادة المنتظمة لكل مكونات الخلية والذي يؤدي بعد ذلك الى كبر حجم الخلايا وانقسامها عن طريق الانشطار الثنائي binary fission الى خليتين متساوية في الحجم . والنمو ايضا يمكن ان يعرف على انه الزيادة في الحجم اذ ان الخلايا الواحدة تكبر حجما نتيجة لتجمع المواد المخزونة الذي لايرافقه تخليق المواد الحيوية الاساسية المتمثلة بالبروتينات والحوامض النووية اما الاحياء وحيدة الخلية فانه يؤدي الى زيادة عدد الافراد bacterial population عن طريق حساب كثافة الخلايا او كتلة الخلايا وهو نمو المجموعة البكتيرية

الانقسام الخلوي :

تتضاعف جميع الخلايا الخضرية Vegetative cell حيوانية كانت ام نباتية او التي تمثل كائناً حياً بذاتها عن طريق الانقسام غير الجنسي (وهذا لا يحدث في الفايروسات) اذ ينتج من الانشطار انقسام الخلايا الى خليتين او اكثر وتستمر الخلايا المتولدة بالانشطار او بالانقسام غير الجنسي الى ما لانهاية. وتتكاثر معظم البكتريا عن طريق الانشطارالثنائي العرضي transverse binary والذي يشمل عدة مراحل:

1- تحدث في البداية زيادة في طول الخلية الذي يشمل استطالة في الجدار والغشاء الخلوي نتيجة لتكون مواد جديدة تضاف الى التراكيب الموجودة داخل الخلية.
2- عند وصول الخلية الى حجم معين يبدأ الكروموسوم بالتضاعف لتكوين حلقتين متماثلتين.
3- تبدأ الخلية بالانقسام الى اثنين وذلك بعد تكوين حاجز Septum الذي يبدأ بتكوين الجدار الخلوي وبقية الطبات الجدارية الى الداخل في منتصف المسافة لطول الخلية البكتيرية وعند مكان انقسام الخلايا وبهذا سوف تنقسم الخلايا.
4- تنفصل الخلايا مباشرة او انها تبقى لفترة ربما الى بعد حدوث انقسامات اخرى بنفس المستوى او بمستويات اخرى.(شكل رقم 1)

شكل رقم (1) يوضح انقسام الخلايا

والوقت المستغرق الذي تحتاجه الخلية لتصبح اثنين يسمى بوقت التضاعف Generation time وطوله يعتمد على نوع البكتريا وعلى ظروف النمو اذ يستغرق حوالي عدة دقائق (10 دقائق الـ *E.coli*) وتصل الى ساعات وربما ايام. ان النمو في الاحياء المجهرية كما اسلفنا يحصل نتيجة الانقسام الخلوي الا انه في بعض الاحيان يحصل النمو دون الانشطار ، اذ هناك بعض البكتريا العصوية لاتستطيع القيام بعملية الانشطار بسبب تأثير عوامل خارجية لذلك فانها تعاني من استنساخ المادة النووية ونمو الجدار الخلوي والغشاء السايتوبلازمي والمحتويات الخلوية الا انها لا تنشطر. وانما تطول وتنمو الى خيوط طويلة غير مجزئة.

بصـــورة عامة فان فترة تضـــاعف البكتريا يتراوح بين 30-60 دقيقة حيث يصـــل عدد البكتريا المتضـــاعفة من خلية واحدة الى بليون (Billions) خلال 24 ساعة وهذا يفسر قدرة مشاهدة المزارع البكتيرية في الاوساط السائلة او الصلبة خلال فترة حضانة تتراوح بين 24-48 ساعة.

العوامل التي يؤدي الى منع الانشطار الثنائي:

1- الصابون.
2- املاح صفراء
3- الاشعة فوق البنفسجية.
4- المضادات الحيوية.
5- نقص المواد الغذائية.
6- حدوث الطفرات.

اذ ان هذه العوامل تمنع تخليق او تكوين الحاجز او الجدار العرضي في الخلية المنقسمة.

- هناك بعض الكائنات لاتتكاثر بطريقة الانشطار العرضي مثل.

1- الاكتينومايسيتات (Actinomycetales) تنمو بشكل خيوط يتبعه تجزؤ الخيوط الى وحدات اصغر.
2- Hyphomicrobiales تتكاثر عن طريق التبرعم حيث ينفصل البرعم من الخلية الام بعد ان يصل الى حجم معين.

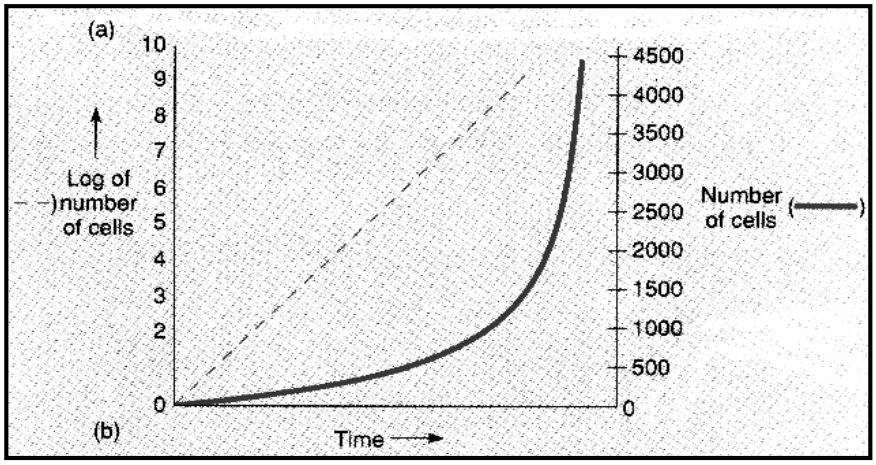
<u>ملاحظة</u> :- لايعد تكون الســبورات عملية تكاثرية اذ ان الســبور الواحد يعطي خلية خضــرية واحدة وبهذا لايحصــل زيادة في العدد الميكروبي.

طريقة قياس نمو المجموع البكتيري:

1- قياس عدد الخلايا الكلي Total count
2- طريقة قياس عدد الخلايا الحي Viable count
3- قياس عكارة المزروع البكتيري Turbidity.
4- قياس النواتج الايضية Measurment of metabolites.
5- قياس الكتلة الخلوية Cell Mass

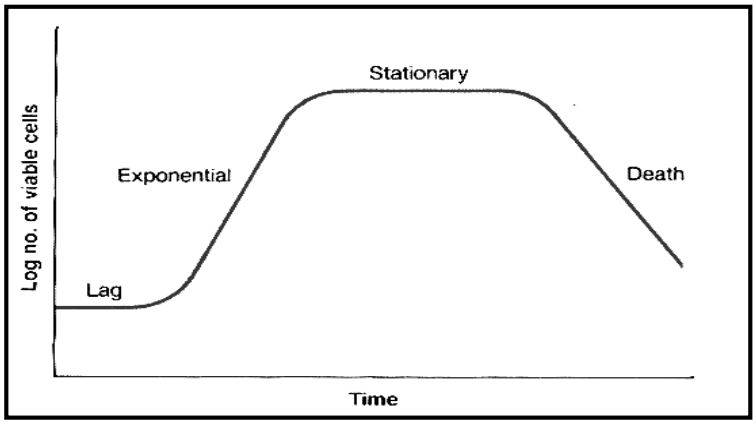
منحنى النمو البكتيري:

عند نقل عدد من الخلايا البكتيرية (مثل بكتريا *E. coli*) الى وسط غذائي سائل في وعاء مغلق فان الخلايا في هذه المزرعة سوف تنمو وتنقسم او تتضـاعف بمعدل ثابت ثم يتم حساب المستعمرات النامية التي تمثل عدد الخلايا الحية كل مدة من الوقت وعند رسم خط بياني للعلاقة بين العدد المطلق للخلايا واللوغاريتم العدد من الجهة الاخرى لحصـلنا على (شـكل رقم 2). ويمكن الاسـتمرار في الحسـاب لمدة ساعة. ان العدد الخلوي قد يصل الى عدة ملايين من الخلايا في الملتر الواحد (لهذا ترسم العلاقة على ورقة بيانية شبه لوغارتمي).



شكل رقم (2) يوضح العلاقة بين نمو البكتريا والوقت ولوغارتم العدد البكتيري والوقت

اطوار نمو المجموع البكتيري: ان المزرعة السائلة لبكتريا معينة تتوفر فيها جميع الاحتياجات الضرورية للنمو من درجة حرارة واس هيدروجيني ومغذيات فانها لاتشرع في النمو مباشرة وانما تمر بفترات للتطبع والتأقلم ثم يتبعه طور ثاني يتميز بنمو متوازن ومتزايد وهو الطور اللوغاريتمي وبعدها يبطئ النمو خلال طور يدعى طور الموت (شكل رقم 3)



شكل رقم (3) منحنى نموذجي لنمو البكتريا في مزرعة سائلة

1- **طور الركود Log phase او الطور الكامن Latent phase:** ان نقل الخلايا الى وسط غذائي جديد لا تشرع في النمو كما ذكرنا وانما تبقى مؤقتاً كما هي لاتتغيرولا تنقسم والوقت الذي يستغرقة هذا الطور يختلف اعتماداً على نوع البكتريا وايضا في حالة نقل البكتريا من وسط الى وسط اخر يختلف في التركيب في هذه الحالة تحتاج البكتريا الى تخليق انزيمات جديدة اعتمادا على نوع الوسط الجديد او قد تكون البكتريا قديمة يؤدي الى اطالة هذا الطورلذلك فهي تحتاج ان تهيئ نفسها للظروف الجديدة . ان الخلايا في هذا الطور تكون في حالة نمو غير متوازن حيث تزداد كميات البروتينات المخلقة للانزيمات و RNA مقارنة بالمكونات الاخرى أي ان الخلايا لاتكون خاملة او ساكنة.

2- **الطور اللوغاريتمي Logarithimic phase (log phase) او الطور الاسـي Exponential phase :** اذ يحدث في هذا الطور نمو وانقسـام الخلايا وان الخط البياني الذي يربط لوغاريتم العدد البكتيري والوقت هو خط مسـتقيم والعلاقة بينهما علاقة طردية مميزات هذا الطور:

1- اصطباغها الشديد بالصبغات القاعدية Basic dyes.
2- تزداد حساسيتها للعديد من العوامل الفيزياوية والكيمياوية.
3- تكون جميع الخلايا تقريباً حية وفي حالة انقسـام.لذلك عدد الخلايا الحية يتسـاوى مع العدد الكلي وذلك لان نسـبة الخلايا الميتة تكون واطئة جداً وان الخلايا جميعاً خلايا فتية نشطة
4- تكون الخلايا في هذا الطور متساوية من ناحية مكوناتها وفعاليتها.
5- الغشاء السايتوبلازمي او الجدار يرق بشكل ملحوظ.
6- حجم الخلايا في هذا الطور يكون في حده الادنى.

- يتم حساب عدد الخلايا الناتجة بعد فترة من حساب عمر الجيل Generation time وحسب المعادلة الاتية:

$$g = t/n$$

$$N_1 = N_0 \times 2^n$$

$$\log N_1 = \log N_0 + n\log 2$$

$$n = \frac{\log N_1 - \log N_0}{\log 2}$$

$$n = \frac{\log N_1 - \log N_0}{0.301}$$

$$n = 3.3 \log N_1 / N_0$$

$$G = t/n$$

$$G = \frac{t}{3.3 \log N_1 / N_0}$$

N_0 = هو عدد الخلايا المزروعة في وقت الصفر.

N_1= عدد الخلايا بعد مرور مدة معينة.

g = عمر الجيل. n = عدد الجيل t = زمن الجيل

وان عمر الجيل هو ثابت بالنسـبة للنوع البكتيري اذا ما ثبتت الظروف البيئية فاذا بدأنا بخلية واحدة فسـتتضـاعف خلال مدة معينة من الوقت الى خليتين ثم الى اربع خلايا لنفس المدة من الوقت وهكذا الى ثمانية الى سـتة عشـر وان المدة الفاصـلة بين كل انشـطارين تبقى ثابتة. جدول رقم (1) يوضح GT لبعض انواع البكتريا وتحت ظروف نمو مثلى .

. Generation times for some common bacteria under optimal conditions of growth.1Table

Bacterium	Medium	Generation Time (minutes)
Escherichia coli	Glucose-salts	17
Bacillus megaterium	Sucrose-salts	25
Streptococcus lactis	Milk	26
Streptococcus lactis	Lactose broth	48
Staphylococcus aureus	Heart infusion broth	27-30
Lactobacillus acidophilus	Milk	66-87
Rhizobium japonicum	Mannitol-salts-yeast extract	344-461
Mycobacterium tuberculosis	Synthetic	792-932
Treponema pallidum	Rabbit testes	1980

3- **طور الثبوت او الاستقرار (Stationary phase):** يصل عدد البكتريا في هذا الطور الى حـــــــــــوالي 10^9 خلية اذا ان اسـتمرار نمو الخلايا في الوسـط الغذائي سـوف يؤدي الى نفاذ المواد الغذائية والاوكسـجين اذا البكتريا الهوائية الموجودة تحت سـطح الوسط لاتستطيع ان تتحمل نفاذ الاوكسجين بدون تحريك الوسط .وفي نفس الوقت تزداد النواتج العرضية السامة مثل الحوامض وتزدحم الخلايا في الوحدة الحجمية كل هذا يؤدي الى بطئ النمو في البداية ثم توقفه اذ يصـبح عدد الخلايا الحية مسـاوي لعدد الخلايا الميتة (اي ثبوت العدد البكتيري نتيجة لتوقف التام للانشـطار الخلوي او نتيجة للتوازن بين معدل الانشـطار ومعدل موت الخلية). يتم في هذا الطور حدوث العديد من التغيرات المورفولوجية ومنها تكوين السـبورات وايضـا صـغر حجم الخلايا وانتاج العديد من البروتينات التي تجعل الخلايا مقاومة للظروف الصعبة .وايضا يزداد تكوين الروابط العرضية في طبقة الببتيدوكلايكان لمقاومة الظروف الصعبة .

4- **طورالموت Decline or death phase:** ان استمرار قلة المواد الغذائية يؤدي الى دخول المزرعة طور الموت اذ يبدأ عدد الخلايا الميتة يفوق عدد الخلايا الحية وان موت الخلايا لا يكون بشكل مفاجئ وانما يكون بشكل لوغارتمياً أي ان الخلايا تموت بمعدل ثابت.

ان معدل موت الخلايا يعتمد بشـكل كبير على الظروف المحيطة وكذلك على نوع البكتريا ففي البكتريا المعوية يكون بطيئاً اما في بكتريا Bacillus يكون موتها سريع.

5- **المراحل الانتقالية بين اطوار النمو:** ان انتقال المزرعة يكون تدريجي من طور الى اخر وهذا يعني ان الخلايا ليســت جميعها في حالة عضوية واحدة متماثلة عند اقتراب المزرعة في الطور التالي.

انواع النمو:

1- النمو الثنائي Diauxic growth

نوع من النمو يحدث للخلايا التي تنمو على خليط من مواد الاسـاس حيث تبدأ بالمصـدر الاسـهل والاكثر توفراً ثم تبدأ باسـتخدام المادة الاخرى.

2- النمو المتزامن Synchronous growth:

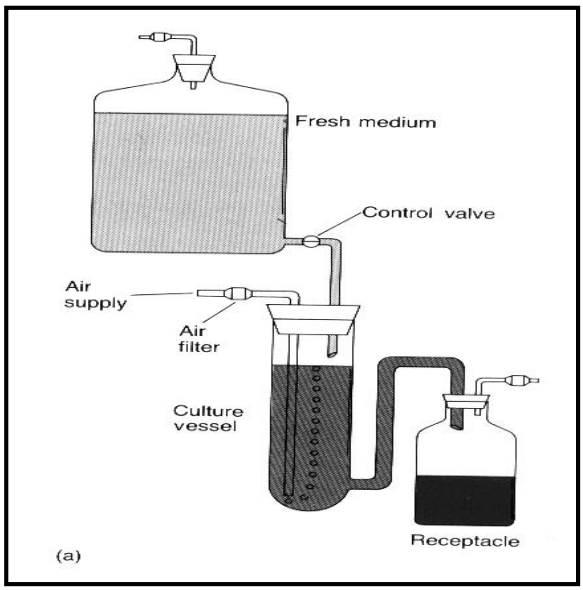
هي المزرعة التي تنقسم فيها جميع الخلايا في ان واحد وتستعمل هذه المزرعة في نواح بحثية اذ يتم نقل خلية بكتيرية واحدة من مزرعة لوغارتمية الى وسط غذائي طازج ولكن بنفس مكونات الوسط الغذائي المستخدم وبنفس ظروف الحضن لذلك فان الخلايا سوف تنشطر الى خليتين متشابهتان تقريباً وبسبب هذا التشابه يكون انشطارها متزاماً الا ان التزامن لايكون مطلق، اذ يستمر التزامن المطلق في النمو لبضعة اجيال وفيما بعد تدخل الخلايا طور الانقسام العشوائي بسبب تراكم الفروقات الفسلجية الطفيفة جداً بين الخلايا.

3- النمو او المزروع المستمر Continous culture :

بما ان النمو لايكون بشكل متزامن طول الوقت عند استعمال مزرعة ذات الدفعة الواحدة او المغلقة نتيجة للتغير المستمر للظروف، الا انه في بعض الاحيان من الافضل تنمية الخلايا تحت ظروف ثابتة ومسيطر عليها تسمى طريقة المزارع المستمرة وهي الطريقة الزرعية التي يتم بها السيطرة على توفر مواد غذائية بصورة مستمرة وازالة المواد الضارة المفرزة من قبل الاحياء المجهرية اثناء النمو وبذلك يتم المحافظة على الزرع في الطور اللوغاريتمي دون الدخول بطور الثبات وللتغلب على تراكم المواد السامة ونفاذ مستلزمات النمو تستخدم وسيلتان:

1- الناظم الكيمياوي Chemo state:

الذي يتألف من مستودع الزرع منظم لازالة جزء محدد من الخلايا النامية والمواد الضارة وينظم مرور الهواء بواسطة ناظم معين.(شكل رقم 4)



شكل رقم (4) يوضح المزارع المستمرة

2- الناظم االعكارة Turbid state:

هومنظم بصري كهربائي كالمطياف الضوئي يثبت كثافة الخلايا حيث تسيطرالخلية الضوئية وملحقاتها على معدل دخول المواد الغذائية.

مميزات الزرع المستمر:

1- ان الخلايا تزود دائما ببيئة جديدة وبذلك يكون تركيز المواد الغذائية والفضلات ثابتة.
2- يمكن السيطرة على معدل النمو وذلك بالسيطرة على معدل دخول المواد الغذائية.
3- تستخدم في لدراسات الفسلجية والوراثة وفي الصناعة.

القياس الكمي للنمو البكتيري:

1- الطرق المباشرة

ان دقة هذه الطريقة تقل كلما كان العدد البكتيري عالياً او منخفض ، ففي حالة كون العدد البكتيري عالي تتراكم الخلايا بعضها فوق البعض الاخروبذلك سوف يكون هناك عدد من الخلايا التي لاتحسب اما في حالة كون العدد البكتيري منخفض تتجمع الخلايا في بقعة معينة ولايمكن في هذه الحالة من حسابها وخاصة وان الخطأ في هذه حالة سوف يتضخم ولايكون مقبولاً احصائياً ومن هذه الطرق:

1- حساب عدد الخلايا باستخدام المجهر

1- طريقة بريد Breed

اذ يؤخذ حجماً معين من النموذج ويوزع على مساحة معروفة من شريحة مجهرية ومن ثم تصبغ هذه المسحة وتفحص بالمجهر وهنا يجب ان تعرف مساحة الحقل المجهري Microscopic field ثم تحسب عدد الخلايا فيه لكي تعرف العدد البكتيري في الملليتر الواحد من النموذج كتقدير عدد الخلايا البكتيرية في الحليب.

سلبيات الطريقة:

1- صعوبة توزيع النموذج على الشريحة المجهرية.
2- لايمكن الحصول على نتائج مضبوطة.

2-طريقة Petroff-Hausser counting chamber

تستخدم لقياس هذه الطريقة لقياس اعداد الخلايا البدائية النواة في حين استخدام مقياس الخلايا الحمراء Hemacytometer لقياس اعداد للخلايا البدائية والحقيقية النواه وهي عبارة عن شريحة خاصة مجزئة الى مربعات تبلغ مساحة المربع الواحد منها 1/400 ملم^2 وتغطى الشريحة بغطاء رقيق يستند اليها تاركاً مسافة 50/1 ملم بين الغطاء والشريحة وبذلك يكون لدينا حجم قدره 20000/1 ملم^2 فوق كل مربع من مربعات الشريحة ويتم حساب عدد الخلايا في الملليتر الواحد.

حسب القانون التالي :

$$\text{Bacteria /mm}^3 = (\text{bacteria / squares}) (25 \text{ squares})(50)$$

ويضرب في كمية التخفيف ان وجد

$$\text{Bacteria /cm}^3 = (\text{bacteria / squares}) (25 \text{ squares})(50)(10^3)$$

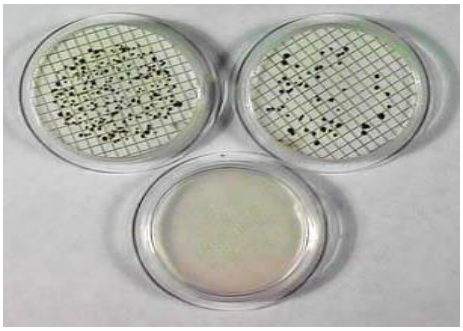
2- حساب عدد الخلايا بواسطة اغشية الترشيح

هي الطريقة التي تستخدم فيها اغشية خاصة بثقوب صغيرة جداً ومنتظمة بحيث تمنع مرور البكتريا اذا ما رشح النموذج السائل من خلالها، نمرر كمية معروفة من السائل المراد حساب عدد الخلايا فيه من خلال غشاء الترشيح، فتحجب البكتريا من عبور الغشاء، وتبقى محبوسة عليه حيث يمكن عدها وهي على الغشاء باستخدام المجهر حيث تصبغ البكتريا باستخدام صبغة Acridine orange او صبغة DNA اذ تضهر البكتريا اما برتقالية اوخضراء ساطعة باستخدام المجهر.

مميزات الطريقة:

1- طريقة مهمة جداً في تحديد عدد البكتريا في النموذج السائل عندما يكون حجم النموذج كبير.
2- تستخدم للنموذج الذي يكون عدد او محتواه الميكروي واطئ جداً مثلًا.

مساوئ الطريقة: لايمكن التميز بين الخلايا الحية والميتة.



شكل(5) يوضح اغشية الترشيح لعد الخلايا البكتيرية

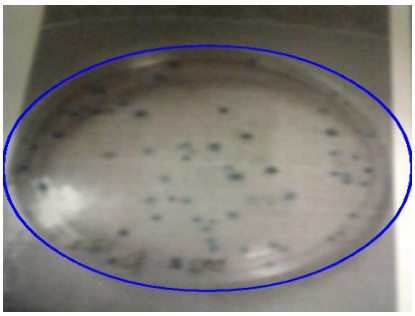
3- حساب الخلايا بواسطة العدادات الالكترونية:

تعتمد هذه الطريقة على استخدام اجهزة تعمل على مبدأ العين الالكترونية ، اذ هناك اشعة الكترونية تعبر من بين قطبين في هذه العين او الفتحة فاذا مرت الخلايا من خلال هذه الاقطاب اعترضت مرور الاشعة هذه وبذلك تقطع الدائرة الكهربائية ويترجم هذا القطع بواسطة اجهزة معينة الى ارقام تمثل عدد الخلايا البكتيرية التي مرت خلال هذا العداد.

مميزاتها:

1- تستطيع هذه الاجهزة عد او حساب الاف الخلايا الحية والميتة خلال مدة قصيرة جداً.

مساوئها: لاتميز بين الخلايا الحية والميتة.



شكل (6) جهاز العدادات الالكترونية

الطرق غير المباشرة:

1- الطرق الكيمياوية:

توجد بعض مكونات الخلية بكميات ثابتة فيمكن عند التقيس الكمي لهذه المواد ان تحدد تقريباً كمية او كتلة الخلايا التي تحتويها.

يعد النتروجين احد المواد المعتمدة ويوجد النايتروجين بحدود ثابتة بالبروتينات لذلك يتم قياس النتروجين عن طريق جمع الخلايا وتغسل جيداً اذ تتخلص مما علق بها من وسط غذائي ثم تنشف ويقاس النتروجين بواسطة التحليل الكيمياوي الكمي باستخدام طريقة كيلدال Kjeldal او يمكن قياس كمية البروتين في الخلية باستخدام كاشف فولن Folin Reagent اذ يعطي لون يتفاعل مع الحوامض الامينية (Tryptophan , Tyrosin) والتي توجد بكميات ثابتة في البروتين او يمكن استخدام عوامل اخر مثل تحديد المجاميع الامينية الحرة او الحوامض النووية الـ DNA وRNA او كمية الفسفور في هذه الحوامض.

2- تحديد وزن الخلايا الجاف:

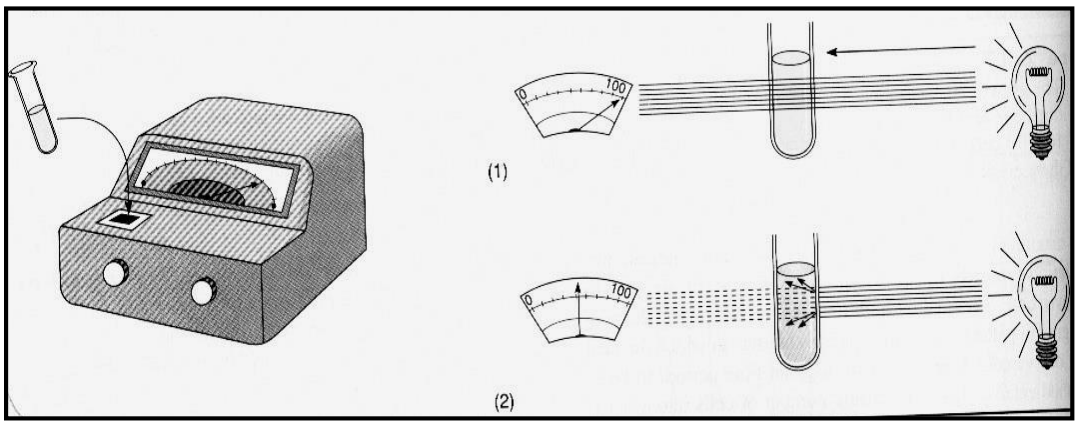
هي قياس وزن الجاف للخلايا البكتيرية بعد تنميتها في مزرعة ذات حجم معروف ثم يجرى لها طرد مركزي و تغسل الخلايا جيداً قبل البدء بعملية الوزن ثم تجفف في الفرن وتوزن .

مميزاتها:

1- تعد غير تامة الدقة بسبب تركز بعض مواد الوسط الزرعي مع الخلايا البكتيرية .
2- تستخدم في المجالات الصناعية والبحثية.

3- قياس العتمة Turbidity :

هي طريقة ضوئية اذ تتحدد فيها كمية الضوء المنتشر في معلق من الخلايا. ان مبدء عمل هذه الطريقة تعتمد على حقيقة ان تعليق الاجسام الصغيرة جداً في سائل ما فان قدرة هذه الاجسام على امتصاص الضوء ونشره في السائل تتناسب مع تركيزها وضمن حدود معينة فعندما تمر حزمة ضوئية خلال احد هذه السوائل فان الاختزال الحاصل في كمية الضوء الخارجة من السائل يؤخذ مؤشراً لكثافة الخلايا وتدعى كمية الضوء المختزل هذه بالكثافة الضوئية وهي تقاس باستخدام اجهزة قياس المطياف الضوئي (شكل رقم 7)

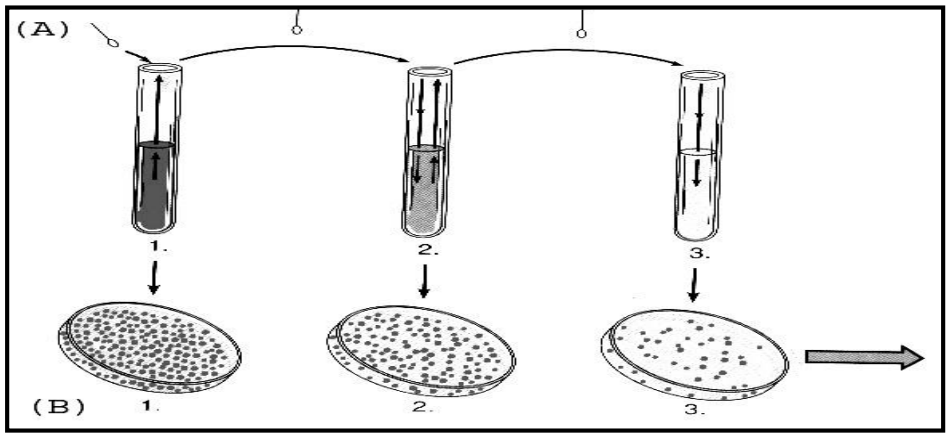


شكل رقم (7) يوضح جهاز المطياف الضوئي لقياس كثافة الخلايا Spectrophotometer

4- طريقة التخفيف المتسلسل Serial Dilution:

تتضمن هذه الطريقة تخفيف مللتر واحد من النموذج السائل عشرة اضعاف في كل تخفيف ولغاية اربعة تخفيفات او خمسة او حسب ما يناسب كثافة الخلايا في النموذج (ان عملية التخفيف تتم باستخدام المرق المغذي في انابيب اختبار مناسبة ثم تحضن الانابيب ثم يسجل ان كان هناك نمو او لا يوجد .(شكل رقم 8 A)

تستخدم هذه الطريقة لتقدير اعداد البكتريا الحية في السوائل مثل الحليب والماء.



شكل رقم (8) يوضح طريقة التخفيف المتسلسل

5- طريقة عد المستعمرات Colony count

يصب حجم معروف من المزرعة السائلة او النموذج السائل في طبق بتري ثم يضاف بعدها وسط الاكار المغذي السائل تحت درجة حرارة لاتزيد على 45 م° ثم يحرك الطبق ببطئ لمزج وتوزيع النموذج ضمن وسط الاكار ثم يترك ليتصلب ويحضن لمدة معينة ، اذ ان الخلايا الواحدة تنقسم الى خليتين وهكذا الى ان تصل كتلة الخلايا الى حد نستطيع معه رؤيتها بالعين المجردة وبهذا نقول ان الخلايا كونت مستعمرة مرئية. ان عدد المستعمرات التي تستطيع العين البشرية عدها بحيث تعطينا اقل خطأ تنحصر ما بين (50-200) مستعمرة لذا يجب ان يخفف النموذج حتى يعطينا عدد المستعمرات ضمن هذه الحدود (شكل رقم B8) .

علم الوراثة Genetics :- هو العلم الذي يهتم بدراسة التغيرات والخصائص المحددة التي يرثها الكائن الحي.

تعد البكتريا من الكائنات الجيدة للدراسات الوراثية وذلك لانها تتميز بصغر حجمها لذا تحتاج حيزاً مختبرياً صغيراً جداً للنمو. وانها تنمو وتنقسم بصورة سريعة حيث يسمح ذلك بأنجاز العديد من التجارب ضمن مدة زمنية قصيرة. فضلاً عن تماثل جميع ذرية الخلية المفردة بصورة اساسية ولهذه الاسباب فقد قدمت دراسة وراثة البكتريا الكثير من الاسهامات الاساسية لفهم الظواهر الميكروبيولوجية.

الخصائص المظهرية والخصائص الجينية :-

تمتلك الكائنات الحية عموماً ظاهرة ثبوت او استقرار الخصائص العامة للنوع الواحد من الناحية الوراثية حيث ينقل الاباء صفاتهم الى الابناء فهي اذن تشابه وراثي الا ان في بعض الاحيان يحدث تغير في صفات الفرد الواحد مقارنة مع الصفات التي ورثها عندما ينمو في ظروف تختلف عن ظروف بيئته وتقترن هذه التغيرات الوصفية بظاهرتين اساسيتين ترتبطان بمستوى الخلية الواحدة وهما :-

- **الخصائص الجينية Genotype:-** هي المميزات اوالخصائص العامة الوصفية والتركيبية للجينات التي يستدل عليها من خلال الصفات الخلوية.
- **الخصائص المظهرية Phenotype:-** هي مجموعة الصفات التي تظهرها الخلية في وقت معين.

التغيرات في الخصائص المظهرية (التحور) Change in phenotype (Modification):-

ان البكتريا تحت ظروف بيئية منتظمة تظهر ثبوتاً ملحوظاً في الخصائص العامة وهي التي تمكننا من تشخيص وتصنيف البكتريا فمثلاً بكتريا *Neisseria perflara* التي تعزل من التجويف الانفي تمتاز بكونها سالب لصبغة كرام وثنائية النمو Diplococcus وتخمر كل من سكر glucose و Fructose و Maltose و Sucrose .

اما بكتريا *Neiss. meningitids* المعزولة ايضاً من التجويف الانفي تمتاز بكونها سالبة لصبغة كرام G^- ثنائية الخلايا Diplococcuse ايضا ولكنها تخمر سكر Glucose و Maltose فقط.

ان خزن هذان النوعان في المختبر ولمدة طويلة نسبياً سوف تحتفظان بخصائصهما طول مدة الخزن ولوحظ هذا ايضاً في بكتريا *Lactobacillus lactis* اذ احتفظت بخصائصها لمدة 40 سنة مع هذا يمكن ان تحدث بعض التغيرات او التحورات Modificication في المظهر او الفعاليات الايضية ومنها:-

- **التحويرات المظهرية Morphological modification:-** ويقصد بها التغير في الحجم والمظهر الخارجي باختلاف مراحل النمو وتشمل :-

1- تاثير مكونات الوسط على الحجم وشكل الخلايا

تختلف البكتريا في حجمها وشكلها المورفولوجي خلال مرحلة نموها عند زراعتها في وسط غذائي اذ تكون كبيرة الحجم وبشكل غير مألوف في نهاية طور الركود Lag phase في حين تكون الخلايا صغيرة واكثر انتظاماً في طور الاستقراراو الثبوت Stationary phase اذ في هذه المرحلة من النمو نستطيع تشخيص الخلايا مورفولوجياً وتصنيفياً ، اما في المزارع القديمة

فان الخلايا تظهر بهيئة غير مألوفة بالنسبة للنوع كوجود اختلافات في الحجم والشكل وقد تحتوي على حبيبات خلوية وعند نقل تلك الخلايا الى وسط غذائي جديد يمكن ان تستعيد الخلايا نشاطها وميزاتها وخصائصها المعروفة.

2- تأثير مكونات الوسط على التراكيب الخلوية

- تكون المحفظة اوالكبسولة عند زراعة البكتريا في وسط يحتوي على الحليب (وسط غذائي) ولا تتكون المحفظة عند زراعة البكتريا في وسط Nutrient Agar.
- تتأثر عملية تكوين السبورات بتغير الوسط الغذائي من ناحية تركيبه او قوامه كان يكون الوسط سائلاً او صلباً اذ نلاحظ ان بكتريا *Bacillus sphaericus* تنمو بهيئة خلايا خضرية 100% عند تنميتها على وسط يحتوي على 2 % Peptone في حين تتحول افراد المزرعة جميعاً الى سبورات عند تنميتها على وسط يحتوي 0.1 % Peptone وذلك بعد يومين فقط.

3- تأثير درجة حرارة الحضن Incubation Temperature

- **التحويرات المزرعية Cultural Modification**

1- **انتاج الصبغات من قبل البكتريا** يعد من اهم التغيرات التي تطرأ على الخصائص المزرعية وتعتمد على تأثير مكونات الوسط الغذائي على انتاج الصبغات وتأثير درجة حرارة الحضن على انتاج الصبغات حيث نلاحظ ان بكتريا *Serratia marcescens* تنتج صبغة حمراء مميزة عند حضنها بدرجة حرارة 25م˚ الا انها تختفي عند رفع درجة حرارة الى 37م˚.

2- التغيرات في شكل المستعمرات لبعض انواع البكتريا ان التغير في قابلية البكتريا على انتاج الكبسولة يؤدي الى تغير شكل المستعمرات لبعض انواع البكتريا في الوسط الغذائي الذي يحتوي على سكروز (سكر ثنائي) تتحفز عملية تخليق المحفظة حيث يكون تركيبها متعدد السكر لذلك يكون شكل المستعمرة مخاطية كبيرة في حين يكون شكلها مختلف عن زراعتها على وسط اخر اذ لا تكون كبسولة.

- **التحويرات في الخصائص الفسلجية والكيمياوية الحيوية**

Modification in physiological and Biochemical characteristic

1- مقاومة الاحياء المجهرية للتأثير القاتل او المثبط للنمو للعوامل الكيمياوية او الفيزيائية (المطهرات والكحولات) يتغير مع عمر المزرعة فان البكتريا في الطور اللوغارتمي تكون اكثر حساسية للكيمياويات اذا ما قورنت مع الخلايا التي تكون في الاطوارالاخرى.

2- ان نمو البكتريا في بيئة لاتصنع جميع الانزيمات التي تستطع الخلايا من تصنيعها ولكن عند نقلها الى بيئة اخرى يتوجب على البكتريا نفسها ان تخلق انزيمات اخرى مختلفة او اضافية اذ ان عملية حث تكوين الانزيمات تنعني ان الانزيم المعين لا يصنع الا بوجود محفز في الوسط الغذائي عند ذلك فقط البكتريا تقوم بخلق ذلك الانزيم فمثلاً بكتريا *E.coli* تصنع انزيم B-glactosidase الذي يخلق سكر الكالكتوز من المركبات التي تحتويه وهو سكر اللاكتوز أي ان هذا الانزيم يخلق عند وجود السكريات التي تحتوي على الكالكتوز في الوسط الغذائي وهذا يعني ان بكتريا *E.coli* تورث الجين المسؤول عن هذا الانزيم ضمن حقيبة الخصائص الوراثية او الخصائص الجينية ويبقى ان الخلية تنتج او لا تنتج هذا لانزيم فهذا هو التغير المظهري لهذه الخاصية وهي عملية مرتبطة بالظروف البيئية النوعية وبالذات وجود المحفز الكيمياوي الذي يحث عملية تصنيع هذا الانزيم.

- **التغير في الخصائص الجينية Genotypic changes**

ان الكائن الحي يمتلك تركيباً يدعى بالجين، وهذه الجينات تحدد خصائص الكائن الحي بطريقة ما وان هذا الجين يستطيع ان يتغير او يطفر الى شكل اخر وبذلك تتغير الخصائص المرتبطة به ان عملية التطفير هذه تدعى الطفرة **Mutation** والكائن الحي الذي تجري فيه الطفرة تدعى بالطافر **Mutant**.

قام العالمان ماكس ديلبريك وسلفادور لوريا (Max Delbruk & Salvador Luria 1943) بتجربة تثبت ان البكتريا تمتلك تقنية وراثية مستقرة من خلال تجربة وهي اختبار بعض انواع Bacterophage التي تهاجم البكتريا وتؤدي الى قتلها مثل بقية العوامل الكيمياوية الا انه لوحظ ان قسماً من البكتريا سيقاوم البكتريوفاج وهذه المقاومة سوف تكون في الخلايا المتولدة من هذه البكتريا واعتقد العالمان ان سبب ذلك بان البكتريا المقاومة للفاج ظهرت نتيجة حدوث طفرة وراثية في بعض الجينات.

<u>الطفرة في مستواها الجزيئي:-</u>

وهي التغير في تعاقب او تسلسل النيوكليوتيدات Nucleotides ضمن جزيئة الحامض النووي الـــ DNA وهذا التغير يؤدي الى تحوير المعلومات التي يحتويها الحامض النووي وبذلك يسبب في تكوين تخليق بروتين مختلف من ناحية تسلسل الحوامض الامينية ونتيجة هذا التغير فان البروتين يكون ضعيف وظيفياً اذا كان انزيم مثلاً او قد يفقد وظيفته تماماً.

ان حدوث الطفرة تعد عملية نادرة وذلك بسبب ثبات واستقرار جزيئة الحامض النووي الـ DNA من الناحية الكيمياوية وفي ظروف طبيعية تحدث الطفرة التلقائية Spontanaous mutations بمعدلات تتراوح ما بين 10^{-6} – 10^{-10} أي بمعدل بكتريا لكل جيل أي خلية بكتيرية واحدة من مليون خلية الى خلية بكتيرية واحدة من عشرة بلايين خلية. وفي الظروف الطبيعية فان العدد الهائل للخلايا غير الطافرة يحجب العدد الضئيل من الخلايا الطافرة. ان انتخاب الخلايا الطافرة يكون من خلال تعريض المزرعة البكتيرية للفاجات فان الخلايا الحساسة تموت وتبقى الخلايا الطافرة حيث تكون مستعمرات.

<u>طرق تكوين الطفرات من خلال تغير تعاقب في القواعد الـ Purine وPyrimidine :-</u>

1- **استبدال Substitution:** هي استبدال النيوكلوتيدات بعضها مع البعض الاخر.
2- **الحذف او الفقدان Deletion:** وهي حذف واحد او اكثر من النيوكلوتيدات.
3- **الادخال Insertion :** هي اضافة جزيئة واحدة او اكثر من النيوكلوتيدات.

ان حدوث التغيرات قد يكون خلال او اثناء عملية استنساخ جزيئة الـ DNA مما يؤدي الى هذه التغيرات او بفعل الاشعة السينية **X-ray** او الاشعة فوق البنفسجية **Ultraviolet** ومن العوامل التي تساعد على حدوث الطفرات :-

- المطفرات **Mutagen** وهي مواد كيمياوية تتداخل او تؤثر في تركيب جزيئة الـ DNA.
- المطفرات المستحثة **Induced mutation** وهي الطفرة الناتجة بسبب فعل المطفر.

اشكال التطفير تختلف بأختلاف موقع التغير في الحامض النووي:

1- اما ان يكون التأثير على الاواصر الهيدروجينية بين القواعد النتروجينية.
2- او حذف جذر اميني من القاعدة النتروجينية او البرميدينية عند استعمال النتروز (وهو من المطفرات الفعالة).
3- او استعمال بدائل للقواعد النتروجينية وتسمى Base Analogs مثل 2-aminopurine و 5-bromouracil (كاستعمال علاج للـ Methprim).

انواع الطفرات البكتيرية :-

1- بكتريا طافرة تظهر مقاومة عالية للعوامل الكيمياوية الكابحة للنمو او القاتلة مثل المضادات الحيوية فهي اذن Antibiotic mutant or drug resistant.
2- بكتريا طافرة قد تغيرت قابليتها التخمرية حيث ان قدرتها على اعطاء او انتاج المنتوج النهائي قد تزيد او تنقص كما في انتاج البنسلين على مستوى تجاري حيث يزداد كمية الانتاج بشكل هائل من خلال انتخاب سلالات طافرة من الجنس *Penicillium*.
3- بكتريا طافرة فيها نقص او عوز غذائي أي انها تحتاج الى وسط غذائي اكثر تعقيداً مقارنة بالخلايا التي اشتقت منها هذه الطفرات.
4- بكتريا طافرة تكون مستعمراتها مختلفة او لها القابلية على انتاج صبغات معينة.
5- بكتريا طافرة يكون تكوينها الكيمياوي مختلف Antigenic mutants.
6- بكتريا طافرة تمتلك مقاومة عالية للفعل القاتل للبكتريوفاجات.
7- بكتريا طافرة تظهر بعض التغيرات في اشكالها الظاهرية او المورفولوجية مثل فقدانها القابلية على تكوين السبورات او المحفظة او الاسواط او انتاج صبغات معينة.

الية التبادل الوراثي (انتقال الجين Gene Transfer) :-

يمكن تقسيم الالية التي تنتقل فيها الجينات لثلاث فئات وهي :-

1- الاقتران Conjugation تنتقل الجينات بين الخلايا التي تكون بتماس مع بعضها البعض mating between cells in direct contact .

2- التحول الوراثي :- اخذ الحامض النووي Uptake of pieces of DNA (transformation)

3- التوصيل Transduction تنقل الجينات البكترية بواسطة الفايروس البكتيري Infection by a Virus.

قبل التطرق الى الطرق لابد من معرفة ان هناك تشابه بين الثلاث عمليات وهي :

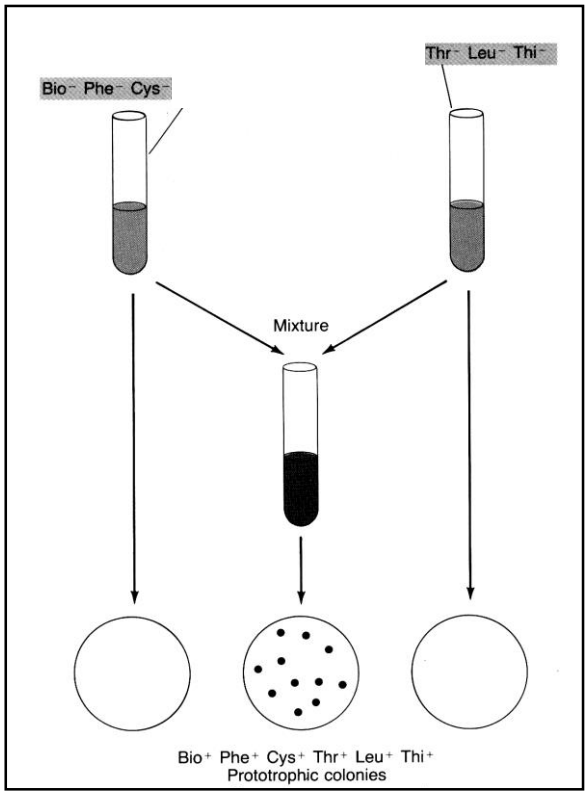
1- لا تلتحم الخلايا في الاليات الثلاثة ولكن جزء فقط من الـ DNA ينقل من خلية واحدة (الخلية الواهبة Donor cell) الى خلية اخرى (الخلية المستلمة Recipient cell).

2- عند دخول الخلية المستلمة يترتب DNA الخلية الواهبة بجانب DNA الخلية المستلمة وعندها تتجاورالجينات المتماثلة ثم يعمل انزيم او اكثر على DNA الخلية المستلمة مما يسبب ذلك تكسير وازالة قطع من DNA الخلية المستلمة.

3- ينغرز DNA الخلية الواهبة في كروموسوم الخلية المستلمة بدلاً من DNA المستاصل وذلك بعملية تدعى (اعادة توحيد Brakeage and reunion).

- يمكن للبكتريا ان تمتلك واحد او اثنين او ثلاثة من الطرق في انتقال المادة الوراثية.
- يتم انتقال الجين (الموروثة) بصورة واضحة بين افراد نفس النوع وتحدث احيانا بين الانواع المختلفة.

تجربة الاقتران البكتيري Bacterial conjugation



اول من لاحظ عملية التزاوج بين البكتريا من قبل العالمان Leder berg & Tatum عام 1946 وقد استعملت سلالات متعددة من البكتريا القولون ذات عوز غذائي Auxotrophs يختلف بعضه عن البعض الاخر وبذلك اتاح فرصة التزاوج لهاتين السلالتين وبعد الزراعة على وسط (يحتوي على الحد الادنى حيث لا تنمو الا السلالة البرية) ولكن عند رؤية ظهور مستعمرات نامية على هذا الوسط تأكيد على حدوث عملية التزاوج بين السلالتين المعوزتين غذائياً (شكل رقم 1) وذلك بدمج عزلتين احدهما تحتاج الى الـ Bio و Phe و cys والاخرى تحتاج الى Thr و Leu و Thi وبعد المزج والنمو على وسط الادنى ينتج عزلة تستطيع صناعة كل المواد.

لقد استعملت سلالات متعددة من بكتريا القولون في الدراسات الوراثية ومنها تم ايضاح الظواهر التالية:

1- انتقال المادة الوراثية من خلية الى اخرى يتطلب اتصالاً مباشراً بين الخليتين المتزاوجتين وتدعى بالاقتران.

2- وجود اعداد كبيرة من عناصر وراثية كروموسومية اضافية Extrachromosomal genetic element تدعى بالبلازميدات (Plasmids) وهي تمثل قطعاً اواجزاء من الحامض النووي الـــ DNA تعمل جينات اضافية ليس لها اهمية او ضرورة للبكتريا التي تحملها ولكنها في بعض الاحيان تمنح البكتريا بعض الفوائد منها :-

1- البكتريا التي تحمل بلازميد Col-factors التي تفرز مادة الكوليسين Colicin وهو مادة بروتينية تعمل على قتل انواع البكتريا الاخرى.

2- في حين البكتريا التي تحمل بلازميد R-Factors تكسب الخلايا مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية.

البلازميدات تستطيع الانتقال الى خلية اخرى عن طريق الاهلاب Pili حيث يتصل البلازميد في مكان ما على السطح الداخلي للغشاء السايتوبلازمي للخلية وعند اتصال الهلب بالخلية الاخرى يتحفز البلازميد ويبدأ بالاستنساخ نفسه حيث تنتقل النسخة عبر الهلب الى الخلية الاخرى. وفي الواقع فان مادة الـ DNA تنتقل بشريط واحد one strand عبرالهلب اما الشريط الاخر فيصنع من قبل الخلية المستلمة.

- ان عملية الانتقال تتم بأتجاه واحد من الخلية المرسلة Donor الى الخلية المستلمة Recipient ولايتم العكس في الحالة الواحدة .
- هناك بعض البلازميدات تبقى داخل الخلية ولاتنتقل الى خلية اخرى Nontransferable وقد تفقد بطريقة ما.

3- بعض البلازميدات تدعى بعوامل الاخصاب (Fertility Factors) ويرمز لها F وهي رتبة ثانوية من البلازميدات تدعى الايبسومات (Episomes) وقد تكون هذه الايبسوم على شكل قطع من الحامض النووي الـ DNA المتصل بالغشاء السايتوبلازمي كما في البلازميدات الاخرى وقد يلتحم الايبسوم بالحامض النووي للـــ DNA للخلية المضيفة وهو بهذا سوف يدخل في الهيكل الوراثي للخلية المضيفة وان الجين المتكون منه سيتشابه مع بقية جينات الخلية تمتلك الخلايا البكترية ثلاث انواع من عوامل الاخصاب (F-factors) وهي :-

1- F^- هي الخلايا التي لا تمتلك عوامل الاخصاب (تدعى خلايا الاناث) لذا تعد خلايا مستلمة فقط اثناء عملية التزاوج.

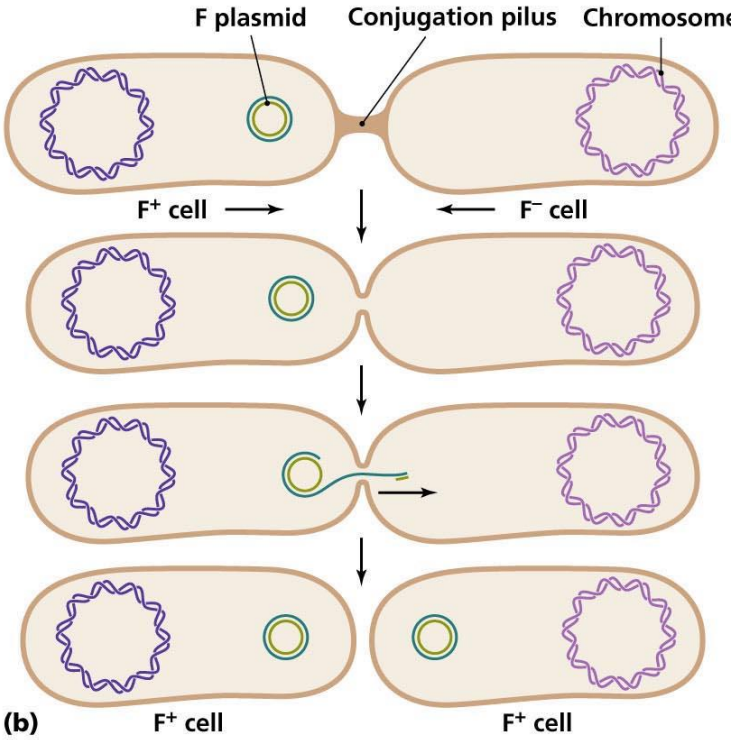
2- F^+ هي الخلايا التي تمتلك عوامل الاخصاب وتدعى خلايا الذكور لذا تعد خلايا مانحة او لاقحة اثناء التزاوج ولكنها لاتعطي الا الى F^- وبهذا تتحول الـ F^- الى F^+ .

3- Hfr (High Frequency recombination) وتدعى بالخلايا التردد العالي اذ ما التحم عامل الاخصاب مع الحامض النووي الخلوي فالخلية تدعى بـــ Hfr. تبدأ الخلايا ذات التردد العالي (HFr) اثناء عملية الاقتران بزرق نسخة من هيكلها الوراثي Genome مبتدئة بنهاية طرف واحد من هذا الهيكل وهذا يعني ان جينات الـ Hfr سوف تزرق الى خلايا الـ F^- حسب تسلسلها الطبيعي التي كانت عليه في الهيكل الوراثي للـ Hfr.

(ان عامل الاخصاب F في السلالات HFr المختلفة يتصل او يلتحم بأماكن مختلفة من الهيكل الوراثي للخلية).

ومن خلال الدراسات لتسلسل الجينات لبكتريا القولون *E. coli* استطاع الباحثون ان يلاحظوا بان تسلسل الجينات هذا هو تسلسل دائري وهذا يعني ان الهيكل الوراثي البكتيري هو هيكل دائري. قبل ان يزرق الهيكل الوراثي هذا تنفلق الدائرة في نقطة اتصال عامل الاخصاب بها حيث نحصل بهذا الانفلاق على هيكل وراثي طولي. وان الانفلاق يحدث ضمن عامل الاخصاب حيث ينقسم العامل الى قسمين

احدهما يكون في النهاية الرائدة التي تدخل اول ما تدخل في الخلية المظيفة ساحبة خلفها التسلسل الجيني وما يبقى من عامل الاخصاب المنشطر يبقى في نهاية السلسلة.



شكل رقم (2) الاقتران البكتيري Conjugation يوضح انتقال جسيم F من الخلية الواهبة الى المستلمة

*ان عملية زرق نسخة من الهيكل الوراثي لبكتريا القولون باكمله تستغرق حوالي مئة دقيقة.

* ان عملية الاقتران تم ملاحظتها في اجناس بكتيرية مختلفة اضافة الى بكتريا القولون مثل *Salmonella* و *Psudomonas* و *Serratia* و *Vibrio* وقد تحدث عملية الاقتران بين جنسين مختلفين مثل :-

Escherichia – Shigella و الـ *Salmonella-Vibrio* والـ

Escherichia- Serratia والـ *Salmonella- Serratia* والـ

Escherichia- Salmonella و الـ *Salmonella- Shigella*

2- التحول الوراثي Genetic Transformtion

وهو قيام الخلية البكتيرية المستلمة Recipient باخذ اجزاء حرة من الـــ DNA ذات حجم كبير نسبياً والتحام هذا الحامض مع الهيكل الوراثي لهذه الخلية (شـــكل رقم 3) وتم اكتشـــاف هذه الطافرة في اجناس بكتيرية معينة وليس جميع الاجناس وتشـــمل *Diplococcus pnueumonia* و *Hemophilus* و *Bacillus* و *Niesseria* و *Pseudomonas*.

تحضير الـ DNA المحول

1- ممكن تحضير الـــ DNA المحول Transforming DNA عن طريق تحلل الخلايا ذات السلالة المانحة عن طريق استخدام انزيم خاص يدعى Lysozyme اواستخدام المنظفات Detergents.

2- اضافة الكحول ما يؤدي الى تجميع الـ DNA بين الطبقتين المائية والكحولية.

3- يدخل قضيب الى ما بين الطبقة بحذر مع تحريك القضيب سوف يلتف الـ DNA حول القضيب وينشف من الكحول.

4- يذوب الـ DNA في المحلول المائي.

5- يعامل المحلول المائي بأنزيم او Ribonuclease لتجنب أي تلوث يحصل بالحامض النووي الـ RNA.

- **التنافس Competence :-** وهي الخلية التي لها القابلية على اخذ جزيئة من الـــ DNA وتدعى بالخلية المتنافسة وهناك سلالات معينة فقط تكون متنافسة.
- **اخذ الحامض النووي الـــــ DNA (Uptake of DNA):-** وهي ارتباط الـــــ DNA بالخلية المتنافســـة ارتباطاً لارجوع فيه Irreversible

مميزات التحول:

1- ان الخلية المنافسة لا تميز بين الـ DNA العائد لنفس نوعها التصنيفي او الـ DNA العائد لاي نوع اخر.

2- ترتبط مع اي DNA شرط ان يكون ثنائي الشريط.

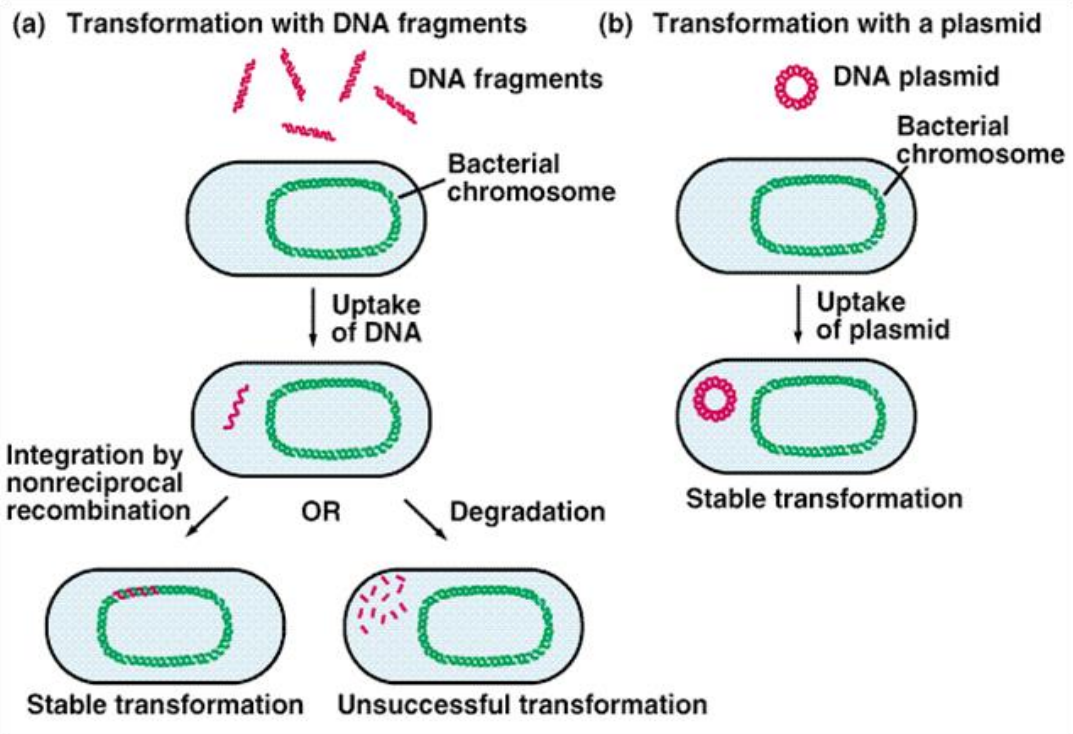
3- هذا الارتباط يأخذ طابع الثبات بحيث لايمكن عكسه اوفكه.

4- تزداد حالة التنافس (الخلية المتنافسة) في الطور أللوغاريتمي المتأخر وبعدها تهبط هذه النسبة (خلال هذه المدة القصيرة التي يرتفع فيها التنافس يتغير سطح الخلايا بحيث يستطيع الـــ DNA الالتحام بها ومن الممكن احداث هذا التغيير في السطوح بواسطة عامل يشبه الانزيم يفرز من قبل الخلايا نفسها ويظهر هذا العامل نفسه في الوسط الغذائي للمزرعة وقت ظهور التنافس تقريباً فلو اضفنا هذا العامل الى خلايا غير متنافسة لنفس السلالة يحفزها ويغيرها الى خلايا متنافسة) .

5- ان هذه الفعالية تكمن في الاحماض المأخوذة من انواع تتشابه فيما بينها من الناحية الوراثية.

6- التحام الـ DNA المرتبطة مع الهيكل الوراثي للخلية Integration of incorporated DNA.

بعد عملية الارتباط يتغير الـ DNA (القطعة المرتبطة) الى حامض احادي الشريط حيث ينكسر احد الشريطين اما الشريط الاخر فينصهر او يلتحم مع الهيكل الوراثي للخلية المستلمة وبعد استنساخ هذا الحامض النووي الهجين سنحصل على نوعين من الخلايا احدهما نفس صفات الخلية الام والثاني سيمثل الخلية المتحولة Transformed cell.



شكل رقم (3) يوضح الـ transformation في البكتريا

العلامات الوراثية الممكن ان تحصل بالتحول الوراثي Range of genetic makeris transformation مثل :-

1- مقاومة العقاقير (Drug resistance) مثل الـ Streptomycin والـ Novobiocin و الـ Erythromycin.

2-العلامات الغذائية Nutritional Markes مثل احتياجات الحوامض الامينية Amino acid requiring واســتغلال الكاربوهيدرات Carbohydate utilization مثل Manitol و Maltose.

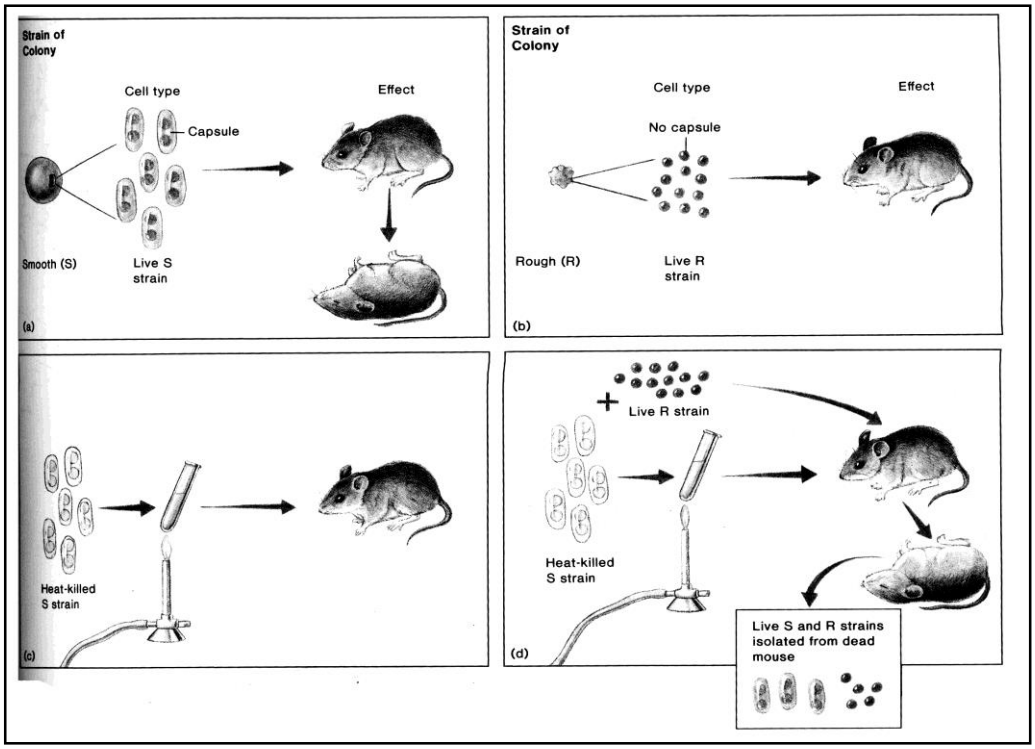
3- خصائص المحفظة Capsule characteristics (ويقصد بها المواد المتعددة السكاكر الموجودة في المحفظة).

حدوث التحول في الطبيعة The occurrence of Transformation in Nature

هذه الظاهرة قد اكتشفت اثناء تحليل العوامل التي تتضمنها قابلية *D. pneumania* على احداث الاصابة Pathogenicity في الفئران. اذ ترتبط القابلية على الاصابة لخلايا *D. pneumania* ارتباط مباشراً مع وجود المحفظة على سطوحها حيث تقوم المحفظة هذه بحماية الخلايا من البلعمة phayocgtosis التي تقوم بها خلايا الدم البيضــاء في الجسـم فالسـلالات المحتوية على المحفظة تكون ممرضــة جداً Highly virulent بحيث ان بضعة خلايا تستطيع احداث الاصابة اذا ما حقنت بالفأر وتؤدي الاصابة الى الموت بعد عدة ايام من الحقن. ونحن تســتطيع احداث طفرات من نفس الســلالات لكن لا تمتلك محفظة وهي لا تســتطيع احداث الاصــابة حتى لو لقحنا الفأر بجرعات كبيرة من هذه الطفرات.

التجربة تبين التحول الوراثي في الطبيعة.

لو لقحنا فأر بخلايا ذات محفظة مقتولة بالحرارة ولقحنا فأرة اخرى بخليط من خلايا حية غير مكونة للمحفظة وخلايا ذات محفظة مقتولة بالحرارة فأن الفأر في الحالة الاولى لاتصاب في حين لوحظ موت الفار في الحالة الثانية ولايعود هذا الاصابة الى ان الخلايا ذات المحفظة انعكست واسترجعت محفظتها ولايمكن ان تكون السلالة البرية استرجعت حياتها بل يعود السبب الى ان قسماً من الخلايا الميتة قد تحللت واطلقت الـــ DNA الحر الذي قام بدوره باحداث عملية التحول في الطفرات التي لاتمتلك محفظة وحولها الى خلايا تمتلك هذا التركيب ويمكن ملاحظة التحول ايضاً في سلالات مقاومة للمضادات الحيوية فقد حقن فأراً بسلالة مقاومة للبنسلين pencilline وسلالة مقاومة للستروبتومايسين Streptomycine نستطيع عزل سلالات مقاومة لكلا المضادين.

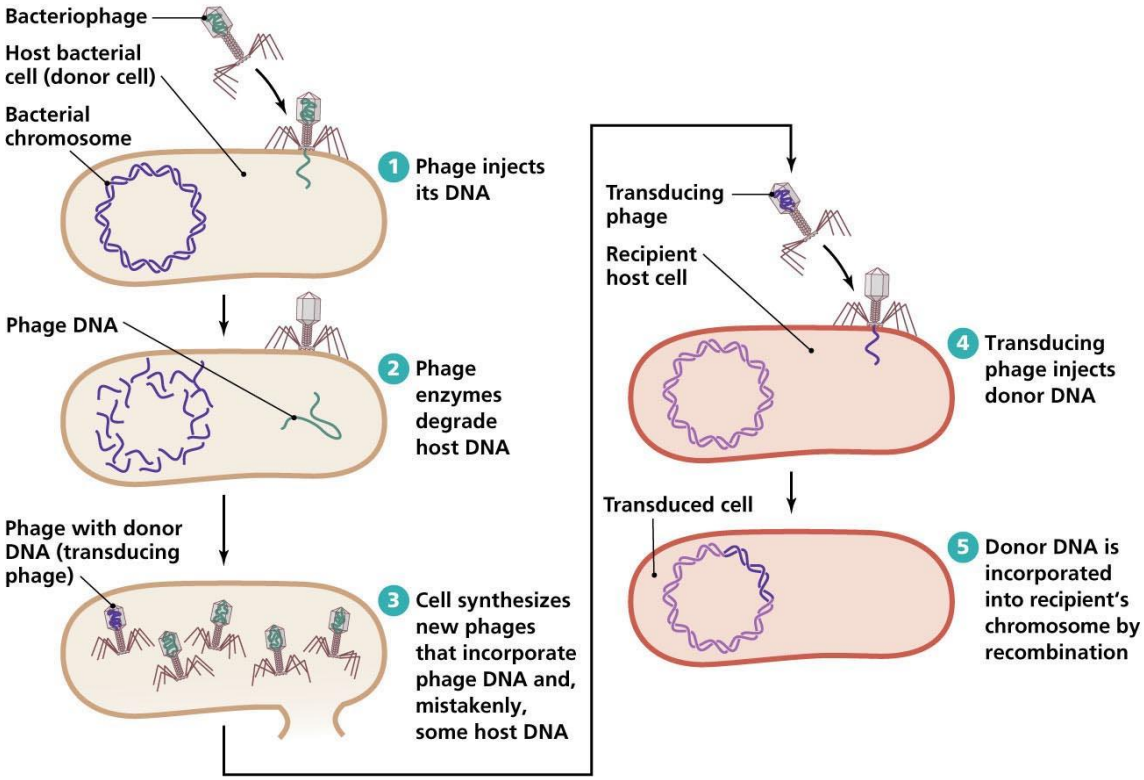


الشكل رقم (4) يوضح التحول الوراثي في الطبيعة

3- <u>النقل بواسطة الفاج Transduction</u>

يتم انتقال الحامض النووي الـــ DNA من خلية الى اخرى بواسطة الفايروس فعندما تصيب الفايروسات الخلية البكتيرية يعمل DNA الفايروسي الى تجزؤ الكروموسوم البكتيري الى حوالي 100 قطعة وان واحدة من هذه القطعة تعبأ بطريق الصدفة نحو العاثية كنسخة فايروسية وما ان تتحرر العاثية من الخلية المصابة حتى تصيب خلية اخرى وبتلك الوسيلة تنتقل الجينات البكتيرية (شكل رقم 5) وقد تحدث عملية Lysogenization حيث يلتحم DNA الفايروســـي مع الجهاز الوراثي للخلية المضـــيفة وتعتبر هذه العملية تزاوج وراثي

Genetic Recombination وان الخلية المصـابة تختلف وراثياً ومظهرياً عن الخلية غير المصـابة Non-lysogenization فتقوم الخلية بالتعبير عن بعض الجينات الفايروسية وبالذات تلك الجينات التي تمنع الخلية الحصانة او المناعة ضد اية اصابة جديدة.



شكل رقم (5) يوضح الـ Transduction

<u>انواع النقل Transduction:-</u>

1- Specialized trans وفيه تلتحم مجموعة محددة من الجينات المضيف بصورة مباشرة مع الهيكل الوراثي الفايروسي حيث تحل هذه الجينات عادة محل الجينات الفايروسية.(مثل جينات الكالكتوز لبكتريا القولون بواسطة الفاج λ.

2- .Generalized trans وهي ان الجينات من أي جزء من الهيكل الوراثي للمضـيف تندمج مع الفايروس وان هذه الجينات قد تحل محل الـ DNA الفايروس او تكون مضافة له ولكنها لاتلتحم معه مباشرة.

* ان الفايروس المحصـل عليه بكلا الطريقتين Tranducing virus particle يكون عادة ضـعيفاً Defective ولا يسـتطيع ان يحلل المضيف وقد يعود ذلك الى فقدان الفايروس لبعض جيناته.

ان الـــ Transduction يحدث في انواع مختلفة من البكتريا وتشمل الـــ *E. coli* وانواع من جنس *Salmonella* والـــ *Shigella* و *Proteus* والـ *Pseudomanas* والـ *Staphylococcus* والـ *Bacillus*.

السيطرة على الأحياء المجهرية

Control microorganisms by physical and chemical agents

تعني السيطرة على الأحياء المجهرية خفض أعدادها أو شل نشاطها ونموها ، ثم القضاء عليها أو أزالتها كلياً او جزئياً وتتم هذه السيطرة بأستخدام أساليب فيزياوية وعوامل كيمياوية متعددة 0 أن الأهداف الرئيسية للسيطرة هي :-

1- منع أنتشار الأمراض والعدوى 0
2- منع التلوث ونمو الأحياء المجهرية غير المرغوب فيها 0
3- منع تلف المواد بوساطة الأحياء المجهرية وغيرها

تهلك الأحياء المجهرية أو يمنع نموها بالتأثيرات التالية :-

1- ضرار لجدار الخلية أو منع تكوين الجدار الخلوي 0
2- خلل في نفاذية الأغشية السايتوبلازمية للخلية 0
3- خلل في التركيب الفيزياوي والكيمياوي للبروتين والحوامض النووية في الخلية 0
4- خلل في النشاط الأنزيمي الخلوي والتفاعلات الأيضية 0
5- منع تصنيع البروتينات والحوامض النووية 0

تعريف بعض المصطلحات المستخدمة في السيطرة 0

1- التعقيم Sterilisation وهي عمليات تخليص الجسم أو المادة المراد تعقيمها من كافة أشكال الحياة وهي عملية مطلقة 100% وليست نسبية 0
2- التطهير Disinfection وهي عملية قتل أو التخلص من الأحياء المجهرية القادرة على أحداث أصابة مرضية والمادة التي تحقق العملية تدعى Disinfection أما مصطلح Antiseptic فهي المادة المطهرة المستخدمة في تطهير الأجسام الحية بينما Disinfection تستخدم للمواد المطهرة المستخدمة لتطهير الأجسام غير الحية 0
3- أما مصطلح microbicidal أو Germicidal فهي المادة التي لها القدرة على قتل الأحياء المجهرية الحية عموماً وأنواعها Bactericidal للبكتريا و Fungicidal للفطريات و Viricidal للفايروسات 0
4- أما مصطلح Microbstatic فهو العامل الموقف لنمو الجراثيم عموماً دون قتلها ومنها Bacteriostayic للبكتريا و Fungistatic للفطريات 0

العوامل التي تؤثر في فعالية أساليب السيطرة على الأحياء المجهرية :

1- طبيعة المادة المراد تعقيمها أو تطهيرها : تؤثر الخصائص الفيزياوية والكيمياوية للمادة أو الجسم الذي يحتوي على الأحياء المجهرية على معدل وكفاءة عملية القتل ، ولقد وجد أن تأثير الحرارة العالية المميتة للأحياء المجهرية في الوسط الحامضي أكثر من الوسط القاعدي ، وكلما كان الوسط متجانس كانت نفاذية عوامل السيطرة أكثر وبالتالي يكون هلاكها أسرع ، كما أن تركيز المركبات الكربوهيدراتية أو البروتينية والدهنية في الوسط الزرعي يزيد من مقاومة الأحياء المجهرية وبذلك فأن وجود كميات كبيرة من المواد العضوية الملوثة في الجسم المراد تطهيره تقلل كثيراً من كفاءة العملية 0

2- نوع الأحياء المجهرية تتباين حساسية أنواع الأحياء المختلفة تبايناً كبيراً تجاه عوامل السيطرة الفيزياوية والكيمياوية المختلفة فمثلاً سبورات البكتريا أكثر مقاومة من الخلايا الخضرية كما تتباين مقاومة أنواع الخلايا الخضرية تجاه وسائل السيطرة المختلفة 0
3- الحالة الفسلجية للخلايا الميكروبية : أن الوضع الفسلجي لخلايا الأحياء المجهرية يؤثر في مقاومتها لعوامل السيطرة فالخلايا الفتية أكثر حساسية من الخلايا القديمة والخلايا في طور الركود أقل حساسية من الخلايا في المرحلة اللوغاريتمية وهذه أكثر حساسية من التي في طور الثبات 0
4- درجة الحرارة : تزداد فاعلية السيطرة كلما أزدادت درجة الحرارة وتكون العلاقة عكسية بين درجة الحرارة والوقت اللازم للقتل 0
5- التركيز : تتناسب فاعلية المواد المطهرة طردياً مع تركيزها وهذه العلاقة ليست مطلقة وأنما محصورة ضمن حدود معينة من التركيز 0
6- الماء : يعمل الماء على تخثير البروتينات بواسطة الحرارة وينطبق هذا على تخثر البروتين بواسطة العوامل الكيمياوية ويعزى مقاومة السبورات البكتيرية للحرارة والعوامل الكيمياوية الى جفاف السبورات 0

عوامل السيطرة على الأحياء المجهرية بالوسائل الفيزياوية :

من أهم المعاملات الفيزياوية في السيطرة هي درجات الحرارة العالية والواطئة والتجفيف والضغط الأزموزي والأشعاع والترشيح والصوت :

أولاً : درجات الحرارة العالية :

تقسم الأحياء المجهرية تبعاً لمدى درجات الحرارة التي تنمو فيها على ثلاث مجموعات :

1- المجموعة التي تنمو بدرجات حرارة واطئة (صفر – 15)م Psychrophiles 0
2- المجموعة التي تنمو بدرجات حرارة أعتيادية (20 – 40) م Mesophiles 0
3- المجموعة التي تنمو بدرجات حرارة عالية (45- 70) م Thermophiles 0

كل مجموعة من هذه المجموعات الثلاث لها درجة حرارة نمو مثلى ودنيا وعليا وأن أرتفاع درجة الحرارة أكثر من العليا تسبب هلاكها وأنخفاض درجة الحرارة أوطأ من الدنيا تسبب توقف نموها 0 تأثير الحارة الرطبة والجافة في هلاك الأحياء المجهرية 0

تؤثر نسبة الرطوبة تأثيراً كبيراً في مقاومة هلاك الأحياء المجهرية تحت درجات الحرارة المختلفة ، حيث تؤدي الحارة العالية الرطبة إلى تغيير طبيعة البروتين للخلايا ، أما تأثير الحارة الجافة فيكون عن طريق أكسدة المكونات الكيمياوية للخلايا والحرارة الرطبة أكثر فعالية من الحارة الجافة فقد وجد أن درجة حرارة رطبة 120 م تقضي على سبورات البكتريا بحدود (15-20) دقيقة في حين يتطلب القضاء على هذه السبورات ساعتين عند أستخدام الحرارة الجافة ، كما أن سبورات البكتريا مقاومة للحرارة أكثر من الخلايا الخضرية وذلك لقلة النشاط المائي (AW) في السبورات 0

أستخدام درجات الحرارة الرطبة :

1- درجات حرارة أقل من (100) م وتسمى هذه المعاملة بالبسترة تبعاً لباستور التي أستنبطها ، وفيها تعرض بعض المواد الغذائية كالحليب والمشروبات الكحولية والبيرة والعصائر الى درجة (63-65)م ولمدة نصف ساعة للقضاء على الأحياء المجهرية الخضرية وخاصة البكتريا الممرضة ، لاتعد المواد المبسترة معقمة لذا تحفظ في مكان بارد لتفادي تلفها 0
2- درجة حرارة غليان الماء 100م تستخدم درجة حرارة الغليان للتخلص من كافة خلايا البكتريا الخضرية وسبورات الأعفان والخمائر والفايروسات والطفيليات ولكنها لاتقضي على بعض سبورات البكتريا للحرارة 0 تستخدم هذه الطريقة في حفظ الأغذية ذات الحموضة العالية والحاوية على نسب عالية من الأملاح أو السكريات 0
3- درجة حرارة بخار الماء 100م تسمى هذه المعاملة بالتعقيم المجزأ أو التندلة تبعاً للعالم تندل التي أبتكرها حيث يستخدم بخار الماء بدرجة حرارة 100م لتعقيم بعض الاوساط الزرعية المايكروبية والمواد الكيمياوية والبايولوجية

والتي يتغير تركيبها عند تعريضـــها لدرجة حرارة أكثر من 100م ، وفيها تعرض المواد للبخار على درجة 100م لمدة معينة يومياً ولمدة ثلاثة أيام ويتخلل هذه المعاملات مدة حضن بواسطتها بسمح لنمو البكتيريا المقاومة للحرارة إلى خلايا خضرية حيث ما تلبث هذه الخلايا أن تهلك أثناء معاملة الحارة التالية وهكذا يتم التخلص من جميع أشكال الخلايا 0

4- درجة حرارة أعلى من 100م تستخدم هذه المعاملة الحرارية بوساطة بخار الماء المضغوط وأن أرتفاع الضغط يسبب أرتفاع درجة الحرارة وذلك بأستخدام أجهزة الموصدة autoclave وتعد هذه المعاملة أفضل وسيلة وأكثر المعاملات الحرارية كفاءة للتعقيم وتســتخدم المعاملة الحرارية بدرجة 121م وضـــغط 1 جو ولمدة15-20 دقيقة لضمان القضاء على سبورات البكتيريا المقاومة للحرارة 0

أستخدام الحرارة الجافة :

1- التعقيم بالهواء الساخن : يستخدم لهذا الغرض أجهزة وأفران كهربائية ويتطلب درجة حرارة ووقت أكثر في تعقيم المقارنة بالحرارة الرطبة حيث يتطلب درجة حرارة 160م ولمدة ساعتين لتعقيم الزجاجيات المختبرية الجراحية 0

2- الحرق باللهب : وفيها تعرض المواد مباشرة للهب ويتم تعقيم الناقل Loop أو الملقط والمشرط لغرض التعقيم 0

تأثير الحرارة في هلاك الأحياء المجهرية :

أن المعاملة الحرارية التي تعبر عن علاقة الوقت والحرارة والتي تستهدف القضـاء على عدد معين من الأحياء المجهرية تحت ظروف تجريبية معينة يعبر عنها ببيانات وقت الهلاك الحراري Thermal death time (TDT) أي الوقت اللازم لهلاك عدد معين من خلايا البكتيريا الحية أو سـبوراتها تحت درجة حرارة معينةوظروف أخرى ثابتة وهذه لها أهمية تطبيقية في تعقيم الأغذية المعلبة والأوساط الزرعية المختبرية 0

(ثانيا) درجات الحرارة الواطئة :

تعمل درجات الحرارة دون درجات الحرارة المثلى للأحياء المجهرية على تثبيط الأعمال الأيضـية في الخلايا لذا فأن درجات الحرارة الواطئة تستخدم في حفظ مزارع الأحياء المجهرية ، لذا لا يمكن أعتبار الحرارة الواطئة وسيلة تعقيم ولكنها وسيلو لوقف النشـاط الأيضـي للأحياء المجهرية وذلك بسـبب الجفاف الذي ينتج عن طريق تجمد الماء الحر وعدم توفر الرطوبة الضـرورية لحيوية الأحياء المجهرية في حين تستخدم درجات الحرارة العالية وسيلة على الأحياء المجهرية وكلا الوسيلتان تستخدمان في حفظ الأغذية

(ثالثاً) التجويف : Drying

بما أن الفعاليات الحيوية التي تقوم بها خلايا الأحياء المجهرية لا يمكن أن تجري إلا بوجود الماء ، لذا فأن التخلص من الماء بواسطة التجفيف يكون له الأثر الكبير في الحد من الفعاليات الحيوية ومن ثم موت الخلايا ، وقد وجد أن بعض أنواع البكتيريا السالبة لصبغة كرام مثل بكتيريا تكون حساسة جداً للتجفيق حيث تموت بعد تجفيفها بساعات بينما بكتيريا اسل تقاوم الجفاف لعدة أسابيع أما سبورات البكتيريا فتبقى حية إلى ما لانهاية بعد تجفيفها ، لذا فأنها تستخدم في حفظ الأغذية 0

(رابعاً) الأشعاع :

هنالك نوعان من الأشعة : Radiation

1- الأشعة ذات الموجات القصيرة مثل أشعة أكس وكاما وتدعى بالأشعة المؤينة وهذه الأشعة عندما تصطدم بالماء تتحرر الجذور H, OH وتتحد بســرعة مع البروتين والدنا DNA مؤدية بذلك الى موت الخلية وتعتبر الســبورات مقاومة للقتل بالأشــعة مقارنة بالخلايا الخضــرية وذلك لأحتوائها على كمية من الماء ، وتســتعمل أشــعة أكس في

السيطرة على التلوث المايكروبي في الغذاء والمضادات الحيوية والأدوات البلاستيكية والأدوات الجراحية التي لا يمكن تعقيمها بالحرارة 0

2- الأشعة الفوق البنفسجية Ultra violate وهذه تعتبر قاتلة أيضاً للمايكروبات حيث أنها تمتص من قبل البروتين والد أن أي DNA ويؤدي الى تحطيمها بسهولة ، تستخدم هذه الأشعة في تعقيم غرف العمليات والمختبرات والمايكروبايولوجية كما أنها لا تنفذ من الزجاج والبلاستك 0

(خامساً) الصوت : Sound

يمكن أستخدام الموجات الفوق صوتية والتي لا يمكن سماعها من قبل الأنسان لغرض القضاء على الأحياء المجهرية وذلك للتأثير المباشر في تخثير بوتينات الخلية أضافة إلى تحطيم الخلية نفسها وأستعملها الباحثون لغرض الحصول على المكونات الداخلية للخلايا بعد أن تعرض للموجات فوق الصوتية لغرض تحطيمها 0

(سادسا) الغضط الأزموزب : Osmotic Pressure

وهو عملية الأنتشار التي تجري خلال غشاء شبه ناضج يفصل بين محلولين على مذاب بتركيزين مختلفين حيث يحاول هذان المحلولان أن يتساويا بالتركيز على جهتي الغشاء الفاصل ، أن تغير الضغط الأزموزي داخل الخلية في حالة وضعها في وسط أقل تركيز حيث ينفذ الماء إليها وتمتلئ ويتكون ضغط أزموزي داخل الخلية ، وقد يحدث أنكماش وهو عكس الحالة الأولى نتيجة لخروج الماء من الخلية ، وهاتين الحالتين تؤدي الى تنشيط العمليات الأيضية ويمكن الأستفادة منها في حفظ الأغذية 0

(سابعا) شدة التوتر السطحي : Surface tension

أن السطح البيني أو الحدود الفاصلة بين سائل وغاز تتميز بتجاذب الجزيئات على سطح السائل وفوقها الهواء وتسحبها قوة إلى داخل السائل أسفلها ، في حين تتجاذب الجزيئات الأخرى في داخل السائل فيما بينها بقوة متساوية من كافة الأتجاهات ، تسمى هذه الظاهرة بالشد السطحي كما تحدث قوة شد سطحي بين المواد الصلبة والسائل أو بين سائلين لا يمتزجان ، أ، التغيرات التي تحدث في الشد السطحي تعمل على تغيير نفاذية الأغشية السايتوبلازمية في الخلايا مم يسبب تحطيم للخلية 0

(ثامنا) الترشيح Fiteration

استخدمت المرشحات لغرض ترشيح أنواع السوائل والغازات بهدف إزالة الأحياء المجهرية منها ووسيلة للتعقيم عندما لا يمكن أستخدام وسائل تعقيم أخرى وأن معدل قطر الثقوب للمرشحات البكتريولوجية مابين (1-45، 0) مايكرون ومن أنواعها :

1- أقراص الأسبستوس التي تستعمل في مرشحات 0SeiTze
2- الدياتوم المصنعة من الطحالب البحرية والتي تحتوي جدرانها على السليكا وتستعمل في مرشحات بريكفيلد 0
3- البورسلين وتستعمل في مرشحات جمبرلين 0
4- أقراص الزجاج الملبد 0Sintered glass
5- مرشحات غشاء الترشيح 0Membrane Filter
6- مرشحات الهواء ذات الكفاءة لغرض الحصول على هواء نقي خالي من الغبار والبكتيريا في المختبرات والعمليات الجراحية 0

السيطرة على الأحياء المجهرية بالوسائل الكيمياوية

أهم المركبات الكيمياوية المضادة للأحياء المجهرية (للمايكروبات)

1- الفينول والمركبات الفينولية : يعتمد تأثير الفينول على تركيزه في قتل خلايا الحياء المجهرية ، وفي التراكيز الواطئة يعمل من خلال تأثيره في زيادة نضوحية الغشاء السايتوبلازمي لخلية البكتيريا، وبذلك يتيح الفرصة لكثير من المكونات الخلوية للخروج من الخلية 0 أما في التراكيز العالية فأن الفينول يقتل الخلايا الميكروبية عن طريق تخثره للبروتينات الخلوية ، وتكون سبورات البكتيريا والفايروسات أكثر مقاومة من خلايا البكتيريا الخضرية ، تستخدم المحاليل المائية للفينول بتراكيز (2-5%) لتطهير بعض المواد مثل القشع والأدرار والغائط وبعض الآلات الطبية الملوثة ، ويستخدم بتركيز 1% لتطهير البشرة0

2- الكحولات : تتصف هذه المواد بقابليتها على قتل المايكروبات وتزداد فعاليتها بأزدياد الوزن الجزئي كلما أرتفعت بالسلسلة أبتداء من الكحول المثيلي وحتى الوصول الى الكحول الأميلي الخماسي الكربون 0 يكون تأثير الكحول المضاد للمايكروبات عن طريق تغيير طبيعة البروتين الكيمياوي لخلايا الأحياء المجهرية ، وكما أن الكحول مذيب الدهنيات وبذلك يكون جدار الخلايا المايكروبية من المركبات الدهنية وهذا يزيد نضوجيتها للمضادات الميكروبية المستعملة 0 أن أعلى فعالية للقتل يمكن الحصول عليها عند أستعمال الكحولات بتراكيز تتراوح بين (50-80) % ويصبح غير مؤثر عندما يستعمل بتركيز اقل من 50% وأكثر من 80% وذلك لفشله في دخوله للخليه المايكروبية لغرض تخثير البروتينات وقتل الخلية 0 تعد الكحول من المطهرات القاتلة لأنواع متعددة من البكتريا بضمنها بكتريا السل ، ولكنها لا يؤثر على سبورات البكتيريا وتأثيرها قليل على الفايروسات 0

3- المعادن الثقيلة : تعتبر الفضة من أكثر المعادن الثقيلة تأثير في قتل المايكروبات والبكتريا بالذات ، تعمل هذه المعادن على الأتحاد مع بروتينات الخلية مكونة أملاح ضعيفة الفصل والتفكيك والتي تؤثر على تثبيط الفعاليات الحيوية للخلية او تحطيمها 0 يستخدم الزئبق بصورة غير عضوية ويتمثل بمركب كلوريد الزئبق ، اوكسيد الزئبق او بصورة عضوية ، وتستخدم نترات الفضة بتركيز 1% في قطرات العين للحد من اصابة عيون المواليد الجدد ببكتريا مرض السيلان 0

4- الأصبغ : Dyes من الاصباغ المستعملة في تصبيغ البكتيريا منها صبغة البنفسج البلوري وهذه تضاف الى وسط الماكونكي لمن نمو البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وكذلك صبغة اخضر الملاكايت التي تمنع نمو بكتيريا والعنقوديات والسالمونيلا وبكتيريا القولون ، كما ان صبغة المثيل البنفسجي تمنع نمو المسبحيات وبكتيريا الخناق ، اما السبورات البكتيرية في مقاومة جداً للصبغات 0

5- الحوامض Acids : للأحياء المجهرية رقم هيدروجيني pH معين يعد الأمثل لنموها ، وهو يتراوح بحدود ال 7 بالنسبة للبكتيريا ، في حين ان الفطريات لا يناسبها الا الاوساط التي تميل الى الحموضة ، وعند تغير الرقم الهيدروجيني للبيئة فيؤدي الى توقف الفعاليات الايضية وبالتالي تموت الخلايا تستخدم الاحماض العضوية التي درجة تحللها اقل بكثير من درجة تحلل الحوامض اللا عضوية في معامل الأغذية والكثير من المستحضرات الصيدلانية ، كمادة حافظة تثبط نمو البكتيريا والفطريات ، واهمها حامض الخليك والبنزويك والسوربيك 0

6- الالدهايدات Aldehydes : في هذه المجموعة يستخدم الفورمالدهايد والكلوترالدهايد يستعمل الفورمالدهايد على شكل محلول مائي يدعى الفورمالين بتركيز يتراوح (3-8%) للقضاء على البكتيريا وسبوراتها والفطريات والفايروسات وذلك من خلال اتحاده وتفاعله مع البروتينات 0 والحوامض النووية ، ويستخدم في حفظ العينات التشريحية ، ويجب الحذر من استعماله لكونه مخدش للانسجة والعيون 0 اما الكلوترالدهايد فيستخدم محلوله المائي بتركيز 2% في تعقيم المواد غير المقاومة للحرارة 0

7- المنظفات والصابون : تعمل جميع انواعها على التقليل من شدة التوتر السطحي ، حيث انها مواد مستحلبة تعمل على اذابة الدهون وتحويلها الى قطرات صغيرة او على شكل رغوة وهذه تساعد على انجراف الاحياء المجهرية ضمن هذه القطيرات ثم ازالتها عند الغسل بالماء العادي ، كما ان تأثير الصابون قيد يمتد الى دهونات الخلية المايكروبية مما يؤدي الى زيادة نضوحية الخلايا وبالتالي موتها ، يقتل الصابون بكتريا مرض السفلس وذات الرئة وبعض البكتيريا المسبحية ومكورات السحايا والسيلان وعصيات الخناق وبكتيريا السل وتزداد هذه القابلية كلما زادت درجة الحرارة ، لذا فأن غسل اليدين بالصابون والماء الحار يقضي على الكثير من الاحياء المجهرية الممرضة 0

8- الهالوجينات ومشتقاتها : يعد الكلور واليود من اكثر مواد هذه المجموعة استعمالا 0 فالكلور مثلا يستعمل على شكل غاز في جميع محطات اسالة الماء لغرض تطهير المياه وجعلها صالحة للشرب بتركيز 1 بالمليون 0 ومن مشتقاته هايبو كلورات الصوديوم بتركيز (5-12%) المستخدمة في المنازل كمادة قاصرة وقاتلة للمايكروبات في معامل الالبان والاغذية ، اما الكلورامين فيمتاز بثبوتيه واطالة فترة انتاج الكلور مقارنة بالهايبوكلورات وهو مركب غير مخدش لذلك يستخدم في تطهير وتضميد الجروح 0

يعود الفعل القاتل للميكروبات للكلور ومركباته الى تكوين حامض الهايبوكلوروز عند اذابة هذه المواد في الماء كما في المعادلة الاتية : $3CL_2 + 3H_2O \rightarrow 5HCL + HCL_3$

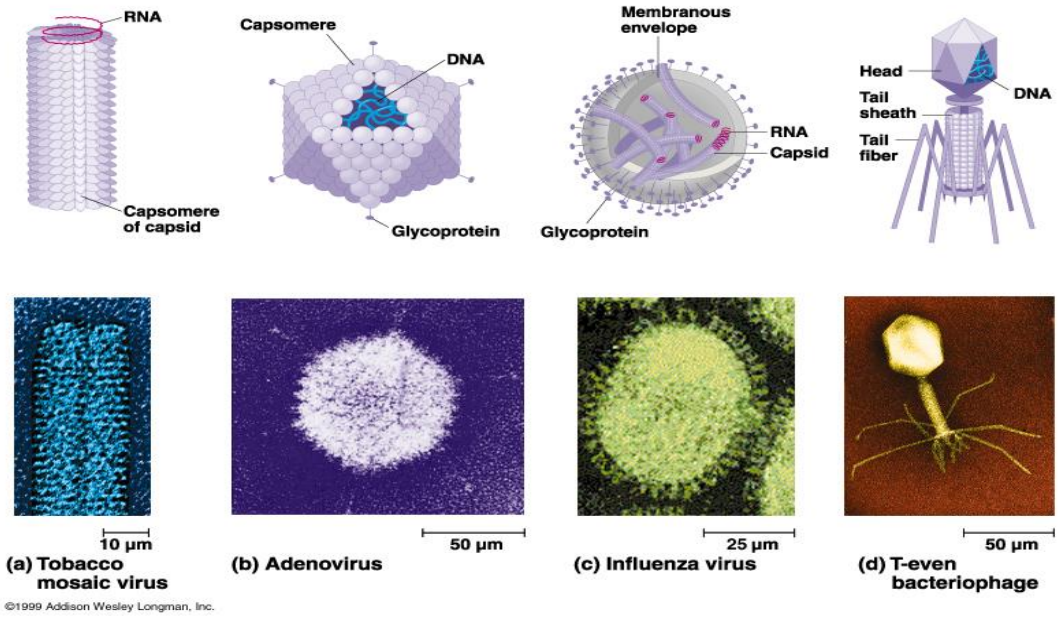
ويتحلل حامض الهايبوكلورز هذا بسرعة بسبب عدم استقراريته ليعطي الاوكسجين الذري O المؤكسد الشديد والذي يقوم بأكسدة محتويات الخلية ويقضي عليها ، اما الكلور الحر فأنه يتحد مع بروتينات الخلية الميكروبية وأنزيماتها ويبطل عملها 0

يعد اليود من اقدم المركبات الفعالة ضد الميكروبات وهو لا يذوب بالماء بل يذوب بسهولة بالكحول ، واليود مادة مؤكسدة تعمل على ابطال فعالية البروتينات التي تحمل مجاميع SH كما يتحد مع التايروسين الذي يدخل في تركيب الانزيمات وغيرها من يروتينات الخلية 0

9- الغازات : يتطلب احياناً القيام بتعقيم بعض المعدات التي تؤثر بالحرارة والرطوبة ، بالغازات مثل الأدوات البلاستيكية وأهم هذه الغازات 0

1- أوكسيد الأثيلين : يكون هذا المركب سائلاً بدرجة حرارة 9، 10 ويصبح غاز فوق هذه الدرجة ، وهو قابل للأشتعال لذا يخلط co2 معه للسيطره عند تسويقه تجارياً 0 ويعتبر مضاداً جداً للميكروبات بضمنها السبورات 0 يستخدم في تعقيم المعدات التي لايمكن تعقيمها بدرجات الحرارة العالية ، ويعمل هذا الغاز على أستبدال ذرة الهيدروجين بجذر الكيلي في المركبات العضوية في البروتوبلازم وبذلك تموت الخلية ، ومن مساوئ أستخداماته يكون تأثيره بطيئاً في الأحياء المجهرية 0

2- بيتا بروبيولاكتون : يكون هذا المركب سائلا تحت درجة الحرارة الاعتيادية ودرجة غليانه 163م وهو لايشتعل او ينفجر على عكس اوكسيد الاثيلين 0 وهو يقتل معظم الاحياء المجهرية بضمنها السبورات البكتيرية وبذلك يعد من المعقمات الجيدة ، إلا ان نفاذيته ليست جيدة داخل الانسجة ، لذا يستخدم في تعقيم الغرف الكبيرة والبنايات 0 من مساوئه بأنه يسبب السرطان 0



Viruses

ان كلمة virus كلمة لاتينية وتعني السم او اي عامل يستطيع ان يسبب مرضا. وان علم الفايروسات لم يبدأ الا في العقد الاخير من القرن التاسع عشر وعند اكتشاف المجهر الالكتروني، وبعد دراسات كثيرة اكتشف الباحثون بان الفايروس يتكون من جسم صغير جدا مؤلف من بروتين وحامض نووي، بسبب صغر حجمه فانه يعبر خلال المرشحات التي تمنع عبور الاحياء الدقيقة مثل البكتريا ولذلك سميت بالرواشح Filterable وهذه التسمية تشير ال ميزة واحدة فقط وهي القابلية على عبور المرشحات والتي لا تنفرد بها الفايروسات . ففي عام 1882 اكتشف العالم ايفانوسكي Ivanoski العامل المسبب لمرض تبقع التبغ Tabacco Mosaic وفي عام 1898 اعلن العالم بيجرنك Beijerink عن وجود عوامل تختلف عن البكتريا واوضح بعض صفاتها ، كما افترض انه يتوجب على هذا العامل ان يمتزج مع بروتوبلازم الخلية الحية لكي يستطيع الانتشار او التناسل، واستمرت البحوث في هذا المجال حتى تم تحديد الصفات العامة للفايروسات.

لذا تعرف **الفايروسات** بانها: جسيمات لا خلوية تمتلك مواد نووية وبروتينات وتستطيع اختراق الخلية الحية، وتكون غير فعالة او خاملة خارج الجسم الحي.

الصفات العامة للفايروسات

1- حجمها اصغر من الخلية (اصغر من الرايبوسومات)تتراوح اقطارها بين 20- 300 نانوميتر.
2- جسيمات تصيب الخلايا الحية مثل البكتريا والخلايا النباتية والخلايا الحيوانية.
3- جميع الفايروسات تمتلك غلاف بروتيني يسمى الكابسد capsid .يغلف الحامض النووي ويحميه من المؤثرات الخارجية وينقسم الى ثلاث انواع رئيسية:

- الغلاف الخلزوني helical مثل tobacco mosaic virus
- الغلاف متعدد السطوح polyhedral مثل adenovirus
- الغلاف المعقد complex مثل الفاج البكتيريbacteriophage

4- تدعى الوحدات الفرعية المكونة للكابسد بالكابسومير Capsomere

5- بعض الفيروسات تمتلك غلاف اضافي يسمى envelope يتالف ن مواد سكرية ودهون(مستمدة على جزئيا من جدار الخلية المضيفة).

6- تمتلك بعض الفايروسات لواحق spike مرتبطة بالغلاف الدهني مكونة من كلايكوبروتين مثل هيماكلوتينين hemagglutinin (HA) لفايروس الانفلونزا.

7- وجود نوع واحد من الاحماض النووية اما RNA او DNA، قد يتواجد احادي الشريط اومزدوج الشريط، من قطعة واحدة او عدة قطع، خطي linear او حلقي circular.

8- تستغل الفايروسات مكونات الخلية المصابة لاتمام عملية التكاثر، حيث انها لا تمتلك الانزيمات والرايبوسومات والية صنع البروتين.

9- لاتتكاثر الفايروسات بالانشطار بل تتكون الجسيمات الجديدة نتيجة لعمليات كيميائية حيوية (بايو كيمياوية) معقدة تبدأ بعد تحلل الجسيمة الفايروسية الى مكوناتها من البروتين والحامض النووي.

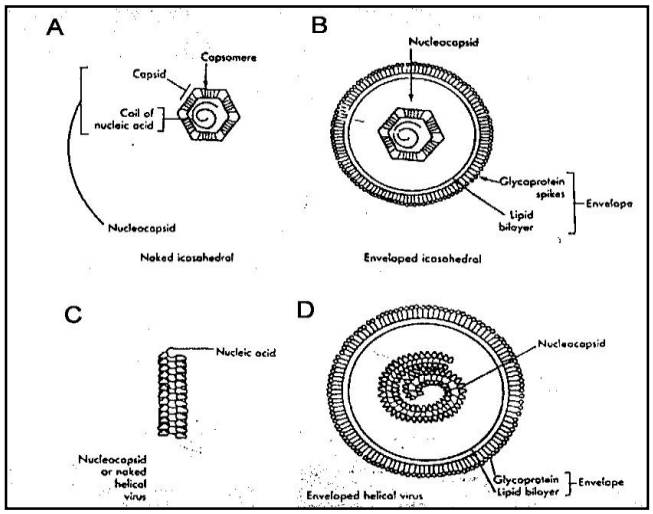
10- لاتمتلك المعلومات الوراثية الخاصة لصنع او تحرير الطاق

10- يسيطر الحامض النووي الفايروسي على الخلية ويوجهها لصنع حامض نووي جديد خاص بالفايروس ثم صنع بروتين او بروتينات خاصة بالفايروس.

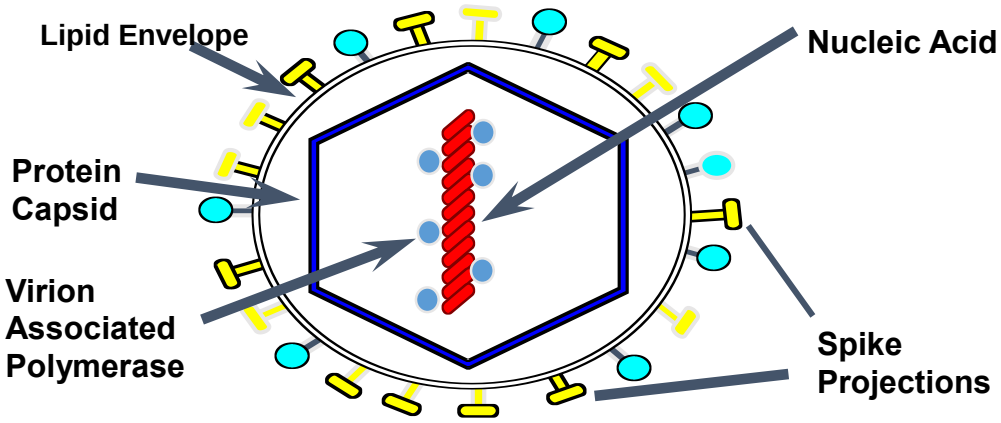
11- تتكاثر داخل خلايا حية في النواة او السايتوبلازم او كلايهما ولا تمتلك أي فعالية حيوية خارج الخلية.

12- تسمى الجسيمة الكاملة بـــ **الفريون** Virion (وجمعها فريونات) وتتالف من حامض نووي مغلف بسترة بروتينية Protein coat خاص تسمى الكابسيد Capsid وهو الذي يكون فيه **خارج الخلية** وله القابلية على احداث الاصابة اما **الطور الداخلي** فيكون **الفايروس** على شكل حامض نووي في حالة استنساخ فضلاً عن انه يقوم بمثابة رسالة وراثية لتخليق البروتينات الفايروسية بوساطة امكانات الخلية المضيف.

13- بعض الفايروسات تسبب امراض للانسان مثل: الجدري smallpox، الحصبة measles، الانفلونزاinfluenza، الايدز AIDS .



شكل (1) يوضح تراكيب الفايروسات المختلفة A فايروس عشرون وجه ، عادي/ B فايروس عشرون وجه ، مغلف/ C فايروس حلزوني ، عاري/ D فايروس حلزون مغلف



Virion Structure

تركيب الفايروس

اولاً: الحامض النووي

- يحتوي الفريون على نوع واحد من الحامض النووي وخاصة ان معظم الفايروسات تحتوي على DNA الثنائي الشريط او RNA الاحادي الشريط.
- المادة النووية هي الجزء الحيوي الفعال من الفيريون وتحمل كافة المعلومات الوراثية الخاصة بالفايروس وتستطيع المادة النووية من احداث الاصابة لوحدها في الخلية المضيفة.
- يشكل الحامض النووي 5-40% من وزن الفيرون (حسب نوع الفايروس)
- طول الحامض النووي ثابت في الانوع الفايروسي الا انه يختلف من فايروس الى اخر ويقع هذا الاختلاف في بعض الاف من الازواج النيوكليوتيدات حتى يصل طول الجزيئة في بعض الفايروسات الـ 520 الف زوج من النيوكليوتيدات واذا ما عرفنا ان الجين الواحد يحتوي على الف زوج من النيوكليوتيدات فان اصغر فيروس يحتوي على ما يقارب عشرة جينات في حين ان الفايروسات الكبيرة تحتوي على بضعة مئات من الجينات.
- ويتخذ الـ DNA في العديد من الفايروسات الحيوانية والبكتيرية شكلاً دائرياً او حلقياً اما بقية الـ DNA الفايروسي وجميع الـ RNA الفايروسي فتكون خطية Linear الا في حالة البكتريوفاج لامبدا (Lambda λ) فان الـ DNA فيه يكون خطياً ولكنه يتدور حالما يدخل الخلية المضيفة.
- يحتوي الحامض النووي للعاثيات على قواعد نتروجينية شاذة اضافة الى القواعد الاساسية (Thymine و Uracil و Cytosine و Guanine و Adenine) مثل (5-hydroxy methyl deoxy cytidilic acid) الموجود في العاثية T-even التي تصيب القولون وكذلك (5Hydroxy methyl deoxy uridylic acid) 5HMU الموجود في فايروس SP8 الذي يصيب بكتريا *Bacillus subtilis* .

ثانياً: البروتين

يتألف البروتين في الفايروسات من ارتباط الاحماض الامينية مع بعضها بأصرة ببتيدية peptide bond (ارتباط مجموعة الامين NH_2 في حامض اميني مع مجموعة كاربوكسيل COOH في حامض اميني اخر مع فقدان جزيئة ماء) لتكوين سلسلة من الاحماض الامينية التي تلتف حول نفسها بصورة متميزة لكل بروتين وحسب تسلسل الاحماض الامينية لتكوين الشكل والحجم والوظيفة المميزة لذلك البروتين وتوجد اربع مستويات من البناء البروتيني وهي: Primary structure و Secondary structure و Tertiary structure و Quaternary structure.

وظائف البروتين الفايروسي:

1- حماية الحامض النووي الفايروسي من التأثيرات الخارجية مثل الانزيمات والمواد الكيميائية والعوامل الفيزيائية الاخرى التي تؤدي الى تقطيع خيط الحامض النووي.

2- تخصص الفايروسات لاصابة خلايا معينة حيث يلعب البروتين الخارجي للفايروس دور مهم في تحديد نوع الخلية القابلة للاصابة عن طريق عملية الالتصاق والدخول.

3- الخاصية المصلية وانتاج الاجسام المضادة. ان دخول الفايروسات الى الخلايا الحيوانية يعمل على تحفيز الخلايا على تكوين الاضداد Ab وتعتمد شدة التحفيز على نوع البروتين (المستضد) فمثلاً بعض الاصابات الفايروسية مثل الجدري والحصبة تمنح مناعة دائمية، في حين بعض الفايروسات لاتحفز الجسم لتكوين الاضداد ولذلك يمكن ان تحدث الاصابة في نفس الشخص عدة مرات مثل فايروس الانفلونزا وهيريس (Herpes) لطمة الحمى.

ثالثاً: الانزيمات

تحتوي بعض الفايروسات على انزيمات خاصة اضافة الى الانزيمات التي تتكون اثناء عملية التكاثر (بتوجيه المعلومات الوراثية في الحامض النووي الفايروسي) ولهذه الانزيمات وظائف مهمة في عملية الاصابة مثل الانزيمات المحفزة من قبل Bacterophage تعمل على تحلل جدار الخلية البكتيرية اثناء حقن الحامض النووي، او عملية صنع مكونات الفيريون مثل انزيم الاستنساخ في Reo virus وانزيم الاستنساخ الرجعي Reverse transcriptase في HIV virus (AIDS).

رابعاً: الشحوم

تدخل الشحوم في تركيب بعض الفايروسات الحيوانية والنباتية مثل كولسترول Cholesterol وفوسفاتيديل كولين Phosphatidyl choline وفوسفاتيديل سيرين Phosphotidyl serine ، وتشير ادلة كثيرة الى ان الغلاف الخارجي للفايروس مستمد ولو جزئيا من اغشية المضيف.

خامساً: السكريات

السكريات الموجودة في المادة النووية هي سكر الرايبوزي وسكر الرايبوزي المنقوص الاوكسجين اما الفايروسات الحيوانية والنباتية تحتوي على بعض السكريات المقترنة بالبروتين Glycoprotein.

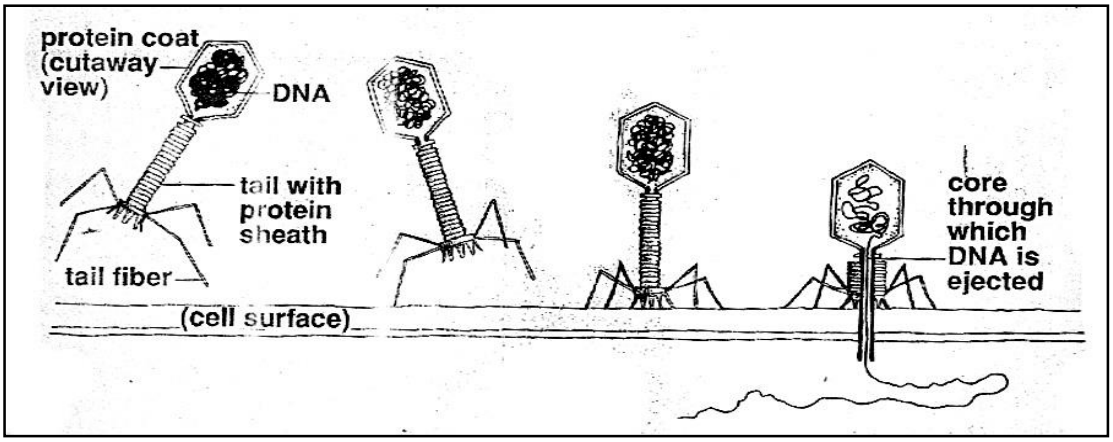
بناء الفيرون:

- تصـنف معظم الفيريونات اعتماداً على شـكل الكابسـيد الى صـنفين اما ان يكون لولبي Helical او يكون شـكلاً متعدد السـطوح Polyhedral او المعقد فقد تتحور هذه الاشـكال مثلاً Baterophage نجده مكونا من رأس متعدد السـطوح ومرتبط بذنب لولبي التركيب.
- اما الشكل المتعدد السطوح Icosahedral (عشروني الوجه) فهو شكل متناظر يتكون من عشرين مثلثاً واثني عشر زاوية وثلاثين حافة حيث يكون على شـكل لب او فراغاً ينطمر فيه الحامض النووي ويعتمد حجمه على عدد الكابسـومبرات المكونة له، اذ ان اكبر فريون متعدد السطوح هو فايروس لبعض الحشرات حيث يحتوي على 812 كابسومبر.
- اما الفيريونات اللولبية مثلاً فايروس تبقع التبغ فيوجد الـ RNA في الاخدود الحاصل من التركيب اللولبي للكابسد ، ويكون مظهره الخارجي على شكل قضيب يحتوي على 2000 من الكابسوميرات .

طرق الاصابة الفايروسية:

تختلف طريقة الاصابة في الخلايا النباتية والحيوانية والبكترية اعتماداً على طبيعة جدران هذه الخلايا.

- فالخلايا الحيوانية فليس له جدار صلب لذا فان العدوى بالفايروسات الحيوانية تتم عن طريق البلعمة.
- اما الخلايا النباتية فتمتاز بجدار صلب من السيليلوز لذا تدخل الفايروسات عن طريق وجود جروح او مسالك معينة.
- والخلايا البكتيرية فجدارها اقل صلابة والحامض النووي لراشح البكتريا DNA يدخل السايتوبلازم عن طريق عملية الحقن.



الشكل **يوضح اصابة بكتريا *E.coli* بالفاج T_4**

تسمية وتصنيف الفايروسات

تتباين انظمة التصنيف المعتمدة للفيروسات، لذا ندرج بعض من هذه الانظمة :

اولا- التسمية على اساس الاعراض المرضية مثل فايرس موزائيك التبغ.

ثانيا- طريقة الترقيم، بوضع رقم يدل على تسلسل اكتشاف الفيرس في ذلك النبات مثل فايرس التبغ 1 (Tobacco Virus 1).

ثالثا- طريقة الحروف الهجائية والالفباء، مثال على ذلك: فايرس يصيب نبات البطاطا احدهما ينتقل بواسطة حشرة المن ويطلق عليه فايرس البطاطا واي Potato Virus Y والفايرس الثاني لا ينتقل بواسطة الحشرة يسمى اكس Potato Virus X.

رابعا- تسمية مجموعات فايرسية ، باعتماد الصفات التركيبية للفايرس والخواص المصلية وليس نوع الحالة المرضية.

خامسا- التسمية اللاتينية العلمية، كما اعتمدت في تصنيف باقي الكائنات الحية:

1- اسم العائلة ينتهي بمقطع – viridae
2- اسم الجنس بنتهي بمقطع- virus
3- النوع الفيروسي-هي مجموعة فايروسات تشترك بصفات وراثية وبيئية (المضيف).
4- الاسم الشائع هو اسم النوع.
5- تحت النوع Subspeciesيتم باعتماد الارقام. و مثال على ذلك :

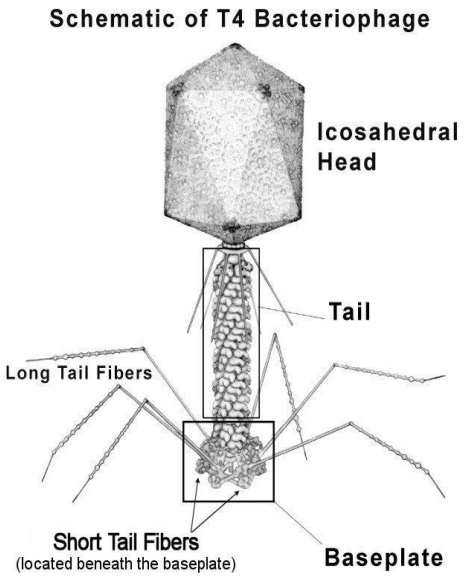
Ex.1 Family: Herpesviridae

- Genus: Herpesvirus
- Species: Human herpes virus 1, HHV 2, HHV 3

Ex. 2 Family: Retroviridae

- Genus: Lentivirus
- Species: Human Immunodeficiency Virus 1, HIV 2 **Herpes Virus**

الفايروسات البكتيرية Bacteriophage



هي تلك الفايروسات التي تتطفل على البكتريا على وتدعى بالفاجات البكتيرية Bacteriophage واختصارا بـ phage وتدعى باللغة العربية بالعاثيات لانها تعبث تدميراً بالخلايا البكتيرية التي تصيبها ويمكن تسميتها بالاقمات او الاكلات وقد وجد ان كل نوع بكتيري تقريباً يعمل مضيفاً لواحد او اكثر من البكتريوفاجات.

تتألف العاثيات شأنها شأن الفايروسات الاخرى – من حامض نووي اما يكون على صورة DNA او RNA وان معظم الفاجات تحتوي على DNA احادي الشريط ويغلف الحامض النووي ببروتين يدعى بالكابسد Capsid ويبنى هذا الغلاف من وحدات فرعية متماثلة مرصوصة بعضها مع البعض الاخر لتشكل بناء موشورياً يظهر عادة على شكل مسطح سداسي الاضلاع نجد ان رأس بعض الفاجات يتألف من بروتينين مختلفين فقط كما في فاج MS_2 في حين نجد فاج T_4 يتألف من 20 نوع من البروتينات.

ان جزيئة الفاج تحتوي على رأس وذنب ويمثل الرأس لباً من الحامض النووي المحاط بـ Capsidفي حين نجد الذنب يختلف في مدى تعقيده من فاج الى فاج اخر الا ان الذنب الاكثر تعقيداً نجده في الفاج T_2 وفاجات بكتريا *E.coli* وبكتريا *Salmonella typhi* حيث يحتوي الذنب على ثلاثة اجزاء ففي المركز نجد لباً فارغاً بعرض 6-10 نانومتر ويغلف هذا اللب الفارغ بصفيحة متقلصة يبلغ عرضها 15-25 نانومتر ثم تأتي قاعدة الطرفية وهي ذات شكل سداسي ايضاً وقد يتصل بهذه القاعدة اجسام مخروطية الشكل او الياف ذنبية او كلاهما هذين التركيبين. ويمثل الذنب عضو التصاق يستفيد منه الفايروس.

تكاثر الفايروسات البكتيرية Bacteriophage

تمر الفايروسات بخمس مراحل خلال تكاثرها، الا ان هناك بعض الخصوصية في كل مرحلة وذلك بسبب التباين الموجود في طبيعة كل من الطفيلي والعائل. فاننا نجد عند اصابة البكتريا بالفايروس نجد ان الفايروس اما يحلل البكتريا المصابة او لا يحللها وفي الحالة الاخيرة نلاحظ استمرار تكاثر الفيرس والبكتريا المصابة في ان واحد ولعدة اجيال.

1- الادمصاص (الامتزاز) Adsorption

اذا ما مزج معلق من دقائق العاثية T-even مع سلالة حساسة من *E.coli* عندها ستتصادم العاثية مع البكتريا الصدفة وان الالياف الموجودة عند نهاية ذيل العاثية هي موقع ادمصاصها التي ترتبط بمستقبلات معينة على الجدار الخلوي البكتيري. ويتحتم على الفايروس ان يجري بعض التعديلات على سطحه قبل ان يستطيع الادمصاص على سطح الخلية المضيفة وهذه التعديلات هي زيادة الايونات الموجبة الشحنة على سطحه وتختلف طبيعة هذه الايونات وعددها اعتماداً على نوع الفايروس وفي بعض الحالات يقوم الحامض الاميني الـ Tryptophan بهذا الدور كما ان هناك عوامل مساعدة اخرى مثل درجة الحرارة واعداد الجسيمات الفايروسية وحالتها وحالة الخلية الفسلجية . بسبب اختلاف تركيب جدار البكتريا G^+ و G^-، فنجد ان بكتريا G^- تتكون من ثلاث طبقات وهي الطبقة الغشائية الخارجية والتي تتمثل بالبروتينات الدهنية وطبقة وسطى وهي سكريات دهنية وطبقة داخلية وهي الببتيد وكلايكان فمثلاً تقع مستلمات الفاجات T_3 و T_4 و T_7 ضمن طبقة السكريات الدهنية في حين نجد ان مستلمات الفاجات T_2 و T_6 تقع في الغشاء الخارجي ضمن الطبقة البروتينية الدهنية للجدار.

يعقب عملية الادمصـــاص او الالتصـــاق مباشـــرة عملية الاختراق (penetration) اذ يقوم انزيم معين (انزيم حال عاث Phage lysozyme) مستقر في ذيل العاثية بتحليل جزء صغير من الجدار الخلوي البكتيري وبعد ذلك يتقلص غمد ذيل العاثية وعند ذلك يخترق محور الذيل الجدار الخلوي ميكانيكياً وعندما تفتح قمة ذيل العاثية بحيث يصبح الـ DNA الفايروسي الموجود في رأس العاثية حر الحركة ليمر عن طريق قناة ذيل العاثية ثم يدخل الـ DNA ببساطة خلال الجدار الخلوي ثم يخترق الغشاء السايتوبلازمي بألية غير معروفة بزرق الحامض النووي الـ DNA بأكمله الى داخل الخلية المضيف.

فقد وجد ان بعض الفاجات الخيطية لا تمتلك ذنباً ولكن تستطيع حقن حامضـها النووي عن طريق ادمصاص الفاج على قمة الاهلاب في البكتريا Sex pili ويتحرك الى ان تصل الى قاعدة الهلب ثم يخترق الجدار الخلوي وهو بهيأته الكاملة الا انه يترك معظم غلافه البروتيني على الغشاء السايتوبلازمي.

2- تخليق الانزيمات الضرورية لاستنساخ الحامض النووي الفايروسي

عندما يصل الـ DNA الفايروسي الى سايتوبلازم الخلية المضيفة نلاحظ يمر بطور ركود (eclipse period) لدقائق معدودة اذ يتم خلال هذه الدقائق تخليق العديد من الانزيمات الضرورية لاستنساخ الحامض النووي الفايروسي اذ يستنسخ جزء من DNA الفايروسي مباشرة بواسطة انزيم RNA polymerase الخلوي ليكون الـ mRNA ثم يقوم رايبوزوم الخلوي بترجمة الـ mRNA لتخليق انزيمات فايروسية جديدة مثل DNA-polymerase و Kinase الضروري لتخليق الـ ATP.

وتعتمد الفايروسات على DNA الخلية المضيفة في تزويدها ببعض الانزيمات الضرورية لذلك فأن DNA الخلية لا ينكسر وانما يستمر في تخليق بروتينات جديدة.

3- تخليق المكونات الفايروسية Synthesis of Viral components

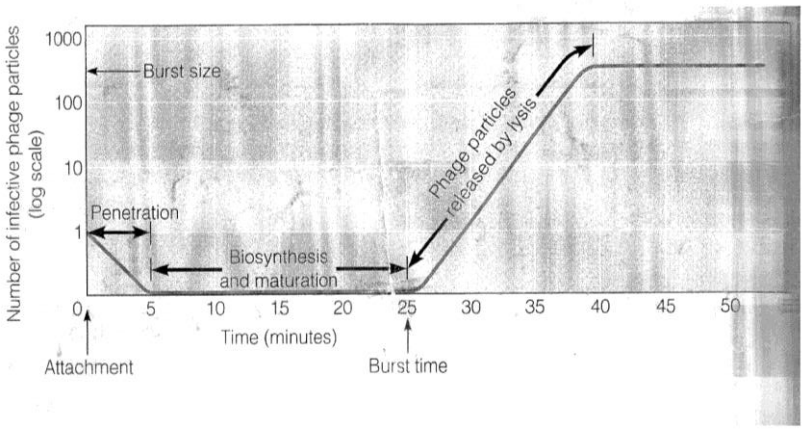
ان الفايروسات ذات الـــ DNA المفرد الشريط في حالة حقنها الى داخل البكتريا يتحول الـــ DNA الثنائي الشريط بواسطة انزيم DNA polymerase الخلوي. اما الشـــريط DNA الحلقي فانه يدخل على هيئة او شـــكل خيطي ولكن يحتوي نهايتيه على تعاقب قصـــير من القواعد النتروجينية المتمم بعضها للبعض الاخر وبأتحاد هذه القواعد في احد نهايتين مع متمماتها في النهاية الاخرى يتحول الحامض من خيطي الى حلقي وتكمل الحلقة في حالة وجود فراغات في شريط الـ DNA بمساعدة انزيم Ligase.

4- التجميع و البلوغ Assembly & Maturation

بعد توقف عملية الاستنساخ الـ DNA الفايروسي يقوم الـ DNA مقام القالب لتخليق الـ m-RNA الفايروسي الجديد والمسؤول عن تخليق المكونات الفايروسية المسؤولة عن انتاج الكابسد والذنب والالياف حيث يتم تجميع رؤوس وذيول العاثية بصورة مستقلة بواسطة عمليات تدريجية تتضمن تجميع الوحدات الفرعية للبروتين وحالما يتكون الرأس فانه يرزم مع DNA العاثية ويتصل الذيل بعد ذلك به.

5- تحرير الفايروس Release

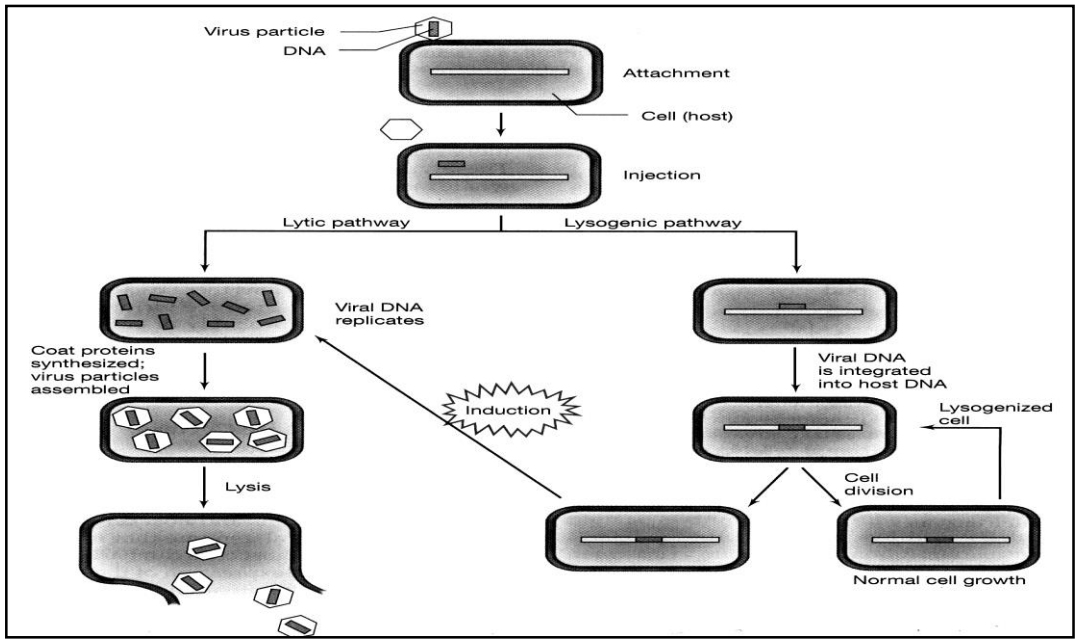
اثناء الادوار الاخيرة من فترة الاصـــابة هناك انزيم اخر مســـتحث بالعاثية ومشـــفر له بـــــ DNA العاثية يبدأ بالظهور وهو Phage lysozyme الذي يقوم في مهاجمة طبقة الببتيدوكلايكان الخلوي محلل بذلك الاواصـــر الرابطة بين الجزيئات الســـكرية الموجودة في السـلسـلة الرئيسـية للجدار الخلوي مما يؤدي ذلك الى انحلال الخلية وتحرر العديد من الفيرونات نتيجة للضـغط التنافذي العالي الموجود داخل الخلية وبهذا تموت الخلية وتتحرر الفاجات في البيئة المحيطة بالخلية.



A bacteriophage one- step growth curve. No new infective phage particles are found in a culture until after biosynthesis and maturation have taken place.

دورة توليد المواد الحالة Lysogeny او دورة الفايرس الخفي(Viral Latency)

وهي قابلية الخلية المضيفة على التكاثر بعد اصابتها بالفاج وفي هذه الحالة فان معظم الجينات الفايروسية تثبيط او تكبح Repressed وبهذا تتوقف عملية تخليق البروتينات التركيبية الفايروسية في معظم الخلايا البكتيرية المتولدة. الا ان هذا الكبح قد يزول تلقائياً بين وقت واخر ويعود الهيكل الوراثي الفايروسي ببدء دورة تحلل جديدة. والخلايا التي تعاني من هذه الحالة تتحلل وتنطلق منها الفايروسات البالغة.



الشكل يوضح عملية التحلل lytic وعملية lysogenic

العاثيات ذات الحامض النووي الرايبوزي RNA

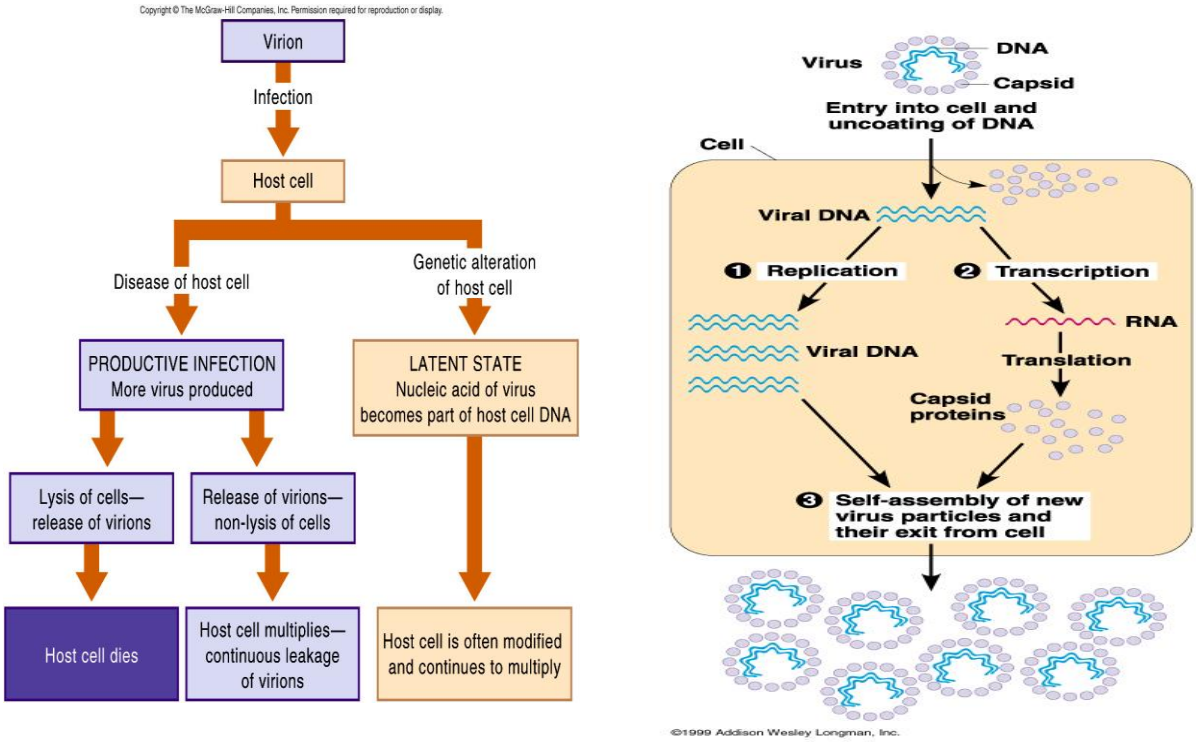
عندما يصل الـ RNA الفايروسي سايتوبلازم الخلية المضيفة تتعرف الخلية مباشرة على انه m-RNA فيتحد مع الرايبوسومات الخلوية وتبدأ عمليات الترجمة الى البروتينات الفايروسية. ومن البروتينات الرئيسية هو انزيم تخليق الحامض النووي الرايبوزي الرايبوزي Synthetase RNA الذي يبدا عملية استنساخ الـ RNA الفايروسي.

طرق تكاثر الفايرس في الخلايا الحيوانية

تمر الفايروسات عموما بخمس مراحل خلال تكاثرها، وهي:

1- الالتصاق على سطح الحلية الحيةAttachment to the cell
2- حقن الحامض النووي الفايروسي Penetration (injection) of viral DNA or RNA
3- التكاثر وبناء المواد الحيوية الفايروسية Replication (Biosynthesis) of new viral proteins and nucleic acids
4- التجمع والنضوج Assembly (Maturation) of the new viruses
5- تحرير الفايروس Release of the new viruses into the environment (cell lyses)

يتم تحرير الفايروسات بطريقتين: اولا- الجسيمات الفيروسية المحاطة بغلاف envelope ، عن طريق التبرعم من الغشاء الخلوي budding، ثانيا- الجسيمات الفيروسية العارية naked virus تتحرر من خلال اتلاف الغشاء الخلوي للخلية المصابة.



Modes of infection and replication of animal viruses

الفايروس الخفي Viral Latency

1- بعض الفيروسات تبقى خاملة داخل الخلية نتيجة اندماج الحامض النووي الفايروسي الدنا بالحامض النووي (DNA)للخلية المصابة، ولهذا تدعى بالطور الخفي latent viruses.
2- قد تبقى خاملة غير فعالة لفترة طويلة تمتد الى سنوات.
3- يمكن ان يحفز الدنا الفايروسي نتيجة عوامل خارجية ويعمل على انتاج مكونات فايروسية جديدة. مثل فايرس الايدز HIV و الهيربس Herpes viruses.
4-

طرق الاصابة بالامراض الفيروسية:

1- الانتقال بواسطة الرذاذ والافرازات التنفسية مثل فايروس الانفلونزا Influenza A virus
2- الانتقال الى الفم من الملوثات البرازية Faecal-oral transmission، مثل الفيروسات المعوية rota virus المسبب للاسهال عند الاطفال.
3- الفيروسات المنتقلة عن طريق الدمBlood-borne transmission مثل الفيروس المسبب للاتهاب الكبد الوبائي Hepatitis B virus.
4- الفايروسات المنتقلة جنسيا Sexual Transmission مثل فايروس الايدز acquired immunodeficiency syndrome(AIDS)او ما يسمى بمرض المناعة المكتسبة(HIV) human immunodeficiency virus.
5- الانتقال بواسطة الحيوانات والحشرات مثل الفيروس المسبب لداء الكلب Rabies virus.

المجاميع الفيروسية :- تقسم استنادا الى نوع الحامض النووي واحتوائها على غلاف envelope او عدم وجود الغلاف، كما في الجدول التالي:

TABLE 29–1 Families of Animal Viruses that Contain Members Able to Infect Humans

Nucleic Acid Core	Capsid Symmetry	Virion: Enveloped or Naked	Ether Sensitivity	Number of Capsomeres	Virus Particle Size (nm)[a]	Size of Nucleic Acid in Virion (kb/kbp)	Physical Type of Nucleic Acid[b]	Virus Family
DNA	Icosahedral	Naked	Resistant	32	18–26	5.6	ss	Parvoviridae
				72	45	5	ds circular	Polyomaviridae
				72	55	8	ds circular	Papillomaviridae
				252	70–90	26–45	ds	Adenoviridae
		Enveloped	Sensitive	180	40–48	3.2	ds circular[c]	Hepadnaviridae
				162	150–200	125–240	ds	Herpesviridae
	Complex	Complex coats	Resistant[d]		230 × 400	130–375	ds	Poxviridae
RNA	Icosahedral	Naked	Resistant	32	28–30	7.2–8.4	ss	Picornaviridae
					28–30	6.4–7.4	ss	Astroviridae
				32	27–40	7.4–8.3	ss	Caliciviridae
					27–34	7.2	ss	Hepeviridae
					60–80	16–27	ds segmented	Reoviridae
		Enveloped	Sensitive	42	50–70	9.7–11.8	ss	Togaviridae
	Unknown or complex	Enveloped	Sensitive		40–60	9.5–12.5	ss	Flaviviridae
					50–300	10–14	ss segmented	Arenaviridae
					120–160	27–32	ss	Coronaviridae
					80–110	7–11[e]	ss diploid	Retroviridae
	Helical	Enveloped	Sensitive		80–120	10–13.6	ss segmented	Orthomyxoviridae
					80–120	11–21	ss segmented	Bunyaviridae
					80–125	8.5–10.5	ss	Bornaviridae
					75×180	13–16	ss	Rhabdoviridae
					150–300	16–20	ss	Paramyxoviridae
					80×1000[f]	19.1	ss	Filoviridae

[a]Diameter, or diameter × length.
[b]ds, double-stranded; ss, single-stranded.
[c]The negative-sense strand has a constant length of 3.2 kb; the other varies in length, leaving a large single-stranded gap.
[d]The genus *Orthopoxvirus*, which includes the better-studied poxviruses (eg, vaccinia), is ether-resistant; some of the poxviruses belonging to other genera are ether-sensitive.
[e]Size of monomer.

الفايروسات المهمة طبيا تضم مجموعتين رئيسية استنادا الى نوع الحامض النووي:

1- **الفايروسات ذات الحامض النووي RNA والمسببة الامراض للانسان مثل: فايرس شلل الاطفال** poliomyelitis، **الحصبة** measles، **داء الكلب** rabies ، **الانفلونزا** influenza **و الايدز.**
2- **الفايروسات ذات الحامض النووي DNA والمسببة الامراض للانسان مثل:الثالول** warts، **الجدري المائي** chickenpox، **قرحة الفم** Herpes simplex، **التهاب الكبد hepatitis type B.**

خصوصية او تخصص الاصابة: تحدد الاصابة الفايروسية بنوع المضيف والخلية المستقبلة كما في الجدول التالي:

Cell surface receptor:

Virus	receptor	cell type
HIV	CD4	Th cells
EBV	CR2	B cells
Influenza	sialic acid	many cell types
Rhinovirus	ICAM-1	many cell types
Poliovirus	poliovirus receptor	neurons
Measles	CD46	many cell types
HHV6	CD46	many cell types

1- الـفايروسات ذات الحامض النووي RNA،ولا تمتلك غلاف خارجي envelope مثل:

- **الفايرس المسبب لشلل الاطفال Poliovirus**

- ينتقل عن طريق التلوث بالفضلات البرازية
- يسبب التهاب السحايا والشلل (بعد اختراقه بطانة الامعاء ينتقل بواسطة الدم الى الانسجة العصبية مما يسبب الشلل)

(Gut –*Viraemia*- Neuronal Tissues- Paralysis)

- السيطرة تتم باستخدام القاحات، وتقسم الى نوعين:

أ. فايرس مقتول يدعى Salk

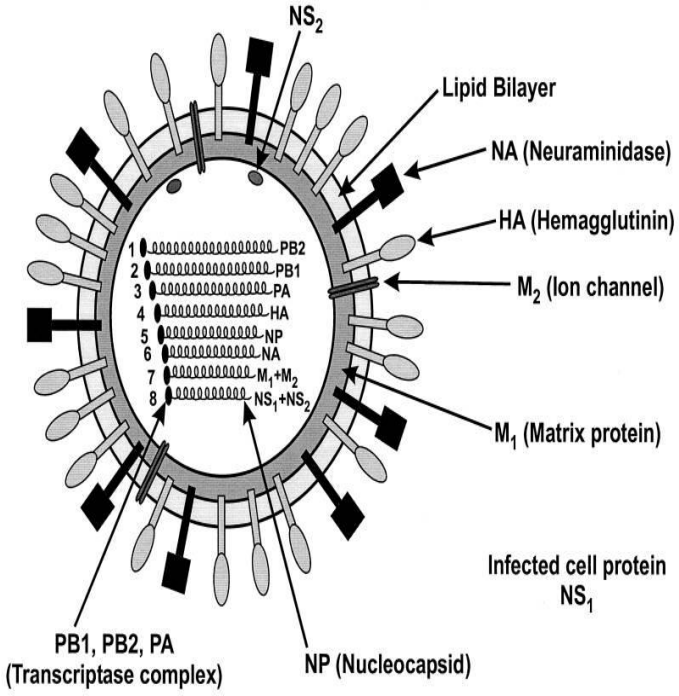
ب. فايرس حي مضعف يدعى Sabin وهو اللقاح المستخدم للاطفال للتحصين ضد الاصابة بمرض شلل الاطفال.

2- الـفايروسات ذات الحامض النووي RNA،وتمتلك غلاف خارجي envelope مثل:

- **الانفلونزا فايرس Influenza virus**

- توجد ثلاث انواع من فايرس الانفلونزا وهي A,B,C
- تمتلك envelope ، وعدد من قطع **RNA** (7 segments)
- تصيب مدى واسع من الحيوانات والانسان
- تحدث فيها تغيرات وراثية كبيرة antigenic variation
- تسبب امراض الجهاز التنفسي وتنتقل عن طريق الرذاذ والافرازات التنفسية.
- تصيب وتسبب تلف الخلايا الطلائية للجهاز التنفسي، مما يجعلها عرضة للاصابة الثانوية بالبكتريا Secondary bacterial infections.
- Influenza A المسبب الرئيسي للاوبئة نتيجة حدوث التغيرات الجينية وبما يعرف (**Antigenic shift**) .

- **تركيب الفايرس Influenza A**



- **Hemagglutinin (HA)**

-Receptor binding (sialic acid)

-Neutralizing antibody target

- **Neuraminidase (NA)**

-Remove sialic acid residues

-Virion release

- **Ion channel (M2)**

-H^+-dependent uncoating

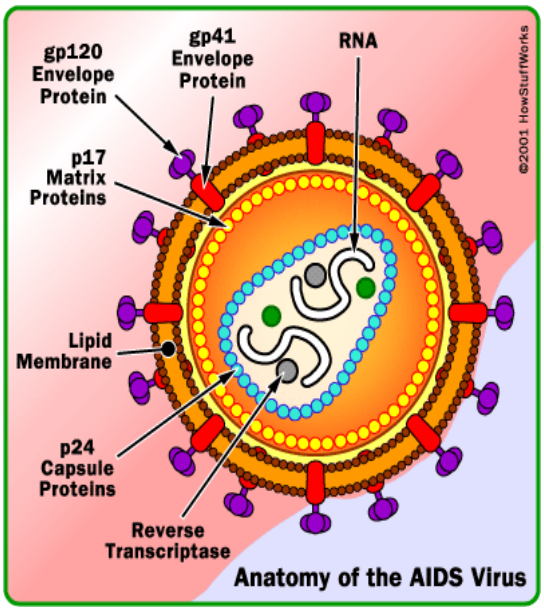
-Influenza A only

-Influenza A subtypes based on HA (16) and NA (9) ex. H1N1, H3N2.

- الفايروسات الراجعة **Retroviruses**

الصفات العامة

- تمتلك حامض نووي RNA
- عائلة Retroviridae
- تمتلك انزيم Reverse Transcriptase :عندما صيب الفيرس الخلية يحقن الحامض النوي RNA والانزيم الرجعي reverse transcriptase الى داخل السايتوبلازم. يعمل الانزيم الراجع الى بناء نسخة من الـDNA الحلقي باستخدام RNA الفيروسي.
- مثال على ذلك : **مرض الايدز AIDS** (acquired immunodeficiency Syndrome)او ما يعرف بفايرس ضعف المناعة المكتسبة **HIV (Human Immunodeficiency Virus)**



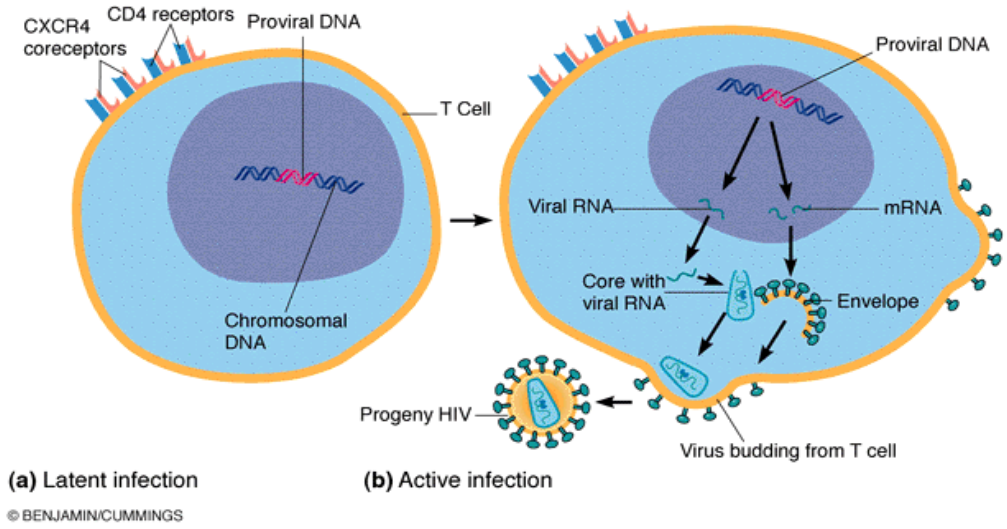
- اكتشف في عام 1986 في شرق افريقيا كمرض متوطن.
- مسجل حاليا 30 مليون اصابة حول العالم.
- ينتقل عن طريق الدم الملوث والاتصال الجنسي وعدد من الدراسات تشير الى احتمال انتقاله عن طريق السوائل الجسمية (اللعاب، البول، العرق، حليب الام).
- اول خطوة في الاصابة تعتمد التماس مع الخلايا المستقبلة في المضيف، مثل الخلايا اللمفوية المساعدة T (helper T cells)، الخلايا الملتهمة macrophages، monocytes، B cells، intestinal cells، microglial brain cells، التي تمتلك المستقبل CD4.
- الغلاف الخارجي envelope يحتوي على مادة دهنية وبروتينات كاربوهيراتية مسؤولة عن عملية الارتباط بالمستقبل للخلية المضيفة.
- يمتلك envelope معقدات بروتينية مهمة مثل 120 (gp) *glycoprotein*، و stem gp14، و (matrix)*p17*، بالاضافة الى مستضدات من بروتينات الغلاف الداخلي capsid (viral protein p24).

دورة حياة فايرس الايدز: كما موضح في الشكل

1- الاصابة الخفية latent infection (يستمر لعدة سنوات).

2- الاصابة النشطة active infection (تظهر الاعراض بعد 2-4 اسابيع من الاصابة: الحرارة، التهاب الحنجرة، التهاب العقد اللمفوية، طفح جلدي) و تظهر الاجسام المضادة للفايرس خلال شهرين من حدوث الاصابة.

Life Cycle of HIV



3- الـفايروسات ذات الحامض النووي DNA،وتمتلك غلاف خارجي envelope مثل:

- **فايرس الهربس Herpes simplex virus type 1**
  - ينتقل عن طريق الاتصال المباشر والرذاذ والعاب من الجهاز التنفسي.
  - يسبب قرحة الفم cold sores، القرحة الناتجة عن الحرارة fever blisters والتهاب القرنيةkeratitis .....
  - يتكاثر الفيرس في منطقة الاصابة، ثم يخترق نهاية الخلية العصبية local nerve endings وتبقا خاملة لفترة تطول او تقصر اعتمادا على حالة الجسم الفسلجية.
  - تزداد نسبة الاصابة بين الاطفال من عمر 6 اشهر الى عمر ثلاث سنوات ، وتظهر الاجسام المضادة في البالغين وبنسبة 70-90%.
  - تنشط في حالة ضعف المناعة.

- **الفيرس المسبب لالتهاب الكبد نوع بي Hepatitis type B**
  - يسبب التهاب الكبد الحاد والمزمن
  - ينتقل بواسطة الدم الملوث والمصل وللخديج اثناء الولادة
  - سجلت اكثر من 250 مليون اصابة في الولايات المتحدة
  - حوالى 25% من المصابين يتطور المرض من حاد الى مزمن Hepatitis chronic active
  - فترة حضانة المرض تتراوح بين 50-180 يوم

4- الـفايروسات ذات الحامض النووي DNA،ولا تمتلك غلاف خارجي envelope مثل:

- **Adenoviruses**
  - يسبب التهاب الجهاز التنفسي العلوي والسفلي،مثل: التهاب الحنجرة، التهاب الجفن، التهاب القرنية، النزف الخلوي،التهاب الامعاء.
  - تنتقل عن طريق الرذاذ المتطاير من الفم والانف وافرازات الجهاز الهضمي.

- **Papillomaviruses**
  - يسبب اورام حميدة على سطح الجلد تسمى الثألول warts وانواع تسبب سرطان عنق الرحم.
  - يوجد 60 نوع لهذا الفايرس
  - ينتقل عن طريق التماس المباشر للجلد والاتصال الجنسي.
  - تزداد الاصابة عند الاطفال وتقل عند البالغين
  - تصيب الانسان والحيوان بانواع متباينة

السيطرة وعلاج الامراض الفيروسية

1- اللقاحات
2- الانترفيرونInterferon
3- الدواء الكيميائي، مثل (acyclovir)
4- انزيم Protease inhibitors مثبط لتكوين البروتين: يمنع تكون الكابسدcapsid.

امراض ناتجة عن مسببات غير مألوفة:

البرايونPrions :البروتين المعدي المسبب لمرض جنون البقرmad cow disease . تم اكتشافه عام 1982 من قبل عالم الاعصاب Stanley Prusine في الاغنام المصابة،يزداد انتاج البروتين داخل الخلية محولة النسيج الى نسيج فجوي يشبه الاسفنج نتيجة تحفيز الجين (PrP^{sc}) لانتاج بروتين فعال غريب عن فسلجة الخلية وتم علاجة باستعمال محلل البروتينات proteases .

الفريود Viroids: حامض RNA العاري يتكون من 300-400 وحدة نيوكلوتايد وبدون غلاف بروتيني، له قابلية الاستنساخ الذاتي، ولا يشفرعن اي بروتين. يصيب النباتات (مثل نخر البطاطا) ومقاوم للانزيم المحلل للبروتينات والاحماض النووية، وينتقل عن طريق الحشرات.

فيروس الكورونا Coronavirus :-

Enveloped RNA viruses

فايروس الكورونا هو مرض فيروسي يصيب الجهازالتنفسي ويظهرالفيروس تحت المجهرعلى شكل تاج ، لذلك يسمى أيضاً بالفيروس التاجي أو الإكليل الشمسي ، نسبة إلى شكله. في عام 1960 تم اكتشاف هذا الفيروس فيروسات كورونا coronavirus هي عائلة كبيرة من الفيروسات التي يمكن أن تتسبب العديد من الأمراض منها :-

1. نزلة البرد الشائعة common colds وتُسبب عدوى الأنف، والجيوب الأنفية، والتهابات الحلق. وفي معظم الحالات لا تكون الإصابة به خطيرة باستثناء الإصابة بنوعَيه المعروفين

2. التهاب المعدة والأمعاء عند الرضع Gastroenteritis in infants

3. المتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة (سارس) severe acute respiratory syndrome (SARS).

4. متلازمة الشرق الأوسط التنفسية Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) .

5. كوفيد 2019 (Cov2019)

اعراض المرض:-

أعراض الإصابة بفيروس الكورونا يسبب فيروس الكورونا ظهور أعراض تشبه أعراض الزكام، وعادة ما تكون الأعراض خفيفة إلى معتدلة الشدة، وغالباً ما تتمثل بأعراض الجهاز التنفسيّ العلويّ مثل سيلان الأنف، وصداع الرأس، والسعال، والتهاب الحلق، والحمى، وتستمر هذه الأعراض في معظم الأحيان لفترة قصيرة من الزمن، وهذا لا يمنع احتمالية تسبّب فيروس الكورونا في بعض الأحيان بظهور أمراض الجهاز التنفسي السفلي، مثل الالتهاب الرئوي أو التهاب الشعب الهوائية وهذه الالتهابات أكثر شيوعاً في الأشخاص الذين يعانون من أمراض القلب والرئة، والناس الذين يعانون من ضعف جهاز المناعة والرضع ، وكبار السن.

طرق انتشار فيروس الكورونا يمكن أن ينتقل فيروس الكورونا من المصاب إلى الآخرين من خلال ما يلي:-

1. **الهواء عن طريق السعال والعطس.**
2. **الاتصال الشخصي مثل اللمس أو المصافحة .**
3. **لمس الأسطح الملوثة بالجراثيم ثم لمس الفم، أو الأنف، أو العيون قبل غسل اليدين.**
4. **التلوث بالبراز وهو أمر نادر .**

الوقاية:-

1. **غسل اليدين كثيراً بالماء والصابون.**
2. **تجنب لمس العينين، أو الأنف، أو الفم إذا كانت الأيدي غير مغسولة.**
3. **تجنب التواصل عن قرب مع الناس الذين يعانون من المرض.**
4. **بقاء الشخص المصاب في المنزل حتى لا ينشر العدوى للآخرين.**
5. **تغطية الفم والأنف بالمناديل الورقية عند السعال أو العطس، ثم رميها في سلة المهملات وغسل اليدين.**
6. **تنظيف وتعقيم الأسطح.**
7. **اتباع تدابير النظافة العامة، بما في ذلك غسل اليدين بانتظام قبل وبعد لمس الحيوانات، وتجنب التواصل مع الحيوانات المريضة .تجنب تناول المنتجات الحيوانية الخام أو غير المطبوخة.**

العلاج :-

علاج فيروس الكورونا لا توجد علاجات محددة للأمراض الناجمة عن فيروس الكورونا، كما أنّ معظم الناس الذين يعانون من العدوى بفيروس الكورونا يتعافون بشكل تلقائي. وقد تساعد العلاجات التالية في تخفيف الأعراض ، استخدام مرطب للغرفة أو الاستحمام بالماء الساخن للمساعدة على تخفيف التهاب الحلق والسعال .تناول أدوية تخفيف الألم والحمى .شرب الكثير من السوائل .البقاء في المنزل والراحة والتغذية الجيده. اخذ اللقاحات .

انواع لقاحات كورونا (كوفيد 2019)

ماهي اهم انواع لقاحات كورونا وكيف تعمل هذه اللقاحات المختلفة؟

1. **لقاح فايزر-بيونتك** :(Pfizer-BioNTech) "يتكون اللقاح من كبسولة دهنية تحتوي على أجزاء من الحمض النووي الريبوزي المرسال (Messenger RNA (mRNA، والتي تشفر بروتين "سبايك" لفيروس كورونا. يتم تعديل الرنا المرسال بشكل طفيف حتى لا يسبب الكثير من الالتهابات. وبعد الحقن يدخل mRNA الخلايا العضلية ويحفز إنتاج بروتينات السبايك، التي سيتعرف عليها الجهاز المناعي، وبالتالي يقوم بالدفاع عن نفسه ضد الفيروس.
2. **لقاح مودرنا** :(moderna) (مثل لقاح فايزر-بيونتك) يتكون من كبسولة دهنية تحتوي على أجزاء من الحمض النووي الريبوزي المرسال mRNA ، وتحتوي على شيفرة بروتين "سبايك" لفايروس

كورونا بعد الحقن، يدخل mRNA إلى خلايا العضلات، ويحفز إنتاج بروتينات "سبايك" ويساعد جهاز المناعة على التعرف إلى الفيروس ومكافحته.

3. **لقاح أسترازينيكا-أكسفورد** :(Oxford-AstraZeneca) يعمل بتقنية الناقل الفيروسي، وفي هذا اللقاح الناقل الفيروسي هو فيروس الشمبانزي الغداني (Adenovirus) قد تم تعديله وراثيا للحد من تكاثره. ويتم بعد ذلك إدخال جين بروتين "سبايك" لفيروس كورونا في جينوم هذا الناقل الفيروسي. وبمجرد حقنه ، يدخل الفيروس إلى خلايا العضلات. ثم ينتج بروتين "سبايك" الذي يسمح لجهاز المناعة بالتعرف على فيروس كورونا ومكافحته.
4. **لقاح سينوفاك** :(sinovac) يحتوي اللقاح على فيروس كورونا معطل بواسطة عمليات كيميائية مختلفة في المختبر. ويظل غلاف هذا الفيروس كما هو، وأثناء الحقن، يقوم الجهاز المناعي بالتعرف على الفايروس والدفاع عن نفسه ضد الفيروس.
5. **لقاح "سبوتنيك في** :(sputnik v) على غرار لقاح مختبر أسترازينيكا ، يستخدم اللقاح الروسي مبدأ الناقل الفيروسي، وهو يستعمل فيروسين غدانيين(Adenovirus) ، مسؤولين عن نزلات البرد الشائعة، وقد تم تعديلهما وراثيا حتى لا يتكاثرا، وتم دمج جين مشفر لبروتين سبايك بالجينوم الخاص بهما.
6. **لقاح كانسينو بيولوجيكس** :(CanSino Biologics) لقاح من جرعة واحدة، يعتمد على تقنية الناقل الفيروسي.
7. **لقاح سينوفارم** :sinopharm يحتوي اللقاح على فيروس كورونا معطل بواسطة عمليات كيميائية مختلفة في المختبر. يظل غلاف هذا الفيروس كما هو، وأثناء الحقن، يقوم الجهاز المناعي بالتعرف على الفايروس والدفاع عن نفسه ضد الفيروس.
8. **لقاح جونسون آند جونسون** :(Johnson & Johnson) لقاح من جرعة واحدة، يستخدم هذا اللقاح فيروسا غدانيا Adenovirus لنزلة البرد معدلا وراثيا للحد من تكاثره كناقل فيروسي. ويتم إدخال جين بروتين "سبايك" لفيروس كورونا في جينوم هذا الناقل الفيروسي. وبمجرد حقنه، يدخل الفيروس الخلايا البشرية. حينها، تنتج هذه الخلايا بروتين سبايك، وهو ما يسمح لجهاز المناعة بالتعرف على فايروس كورونا ومحاربته.

جدول يبين الاعراض الجانبية لكل نوع من لقاحات كورونا (كوفيد 2019)

	نوع اللقاح	الدولة المصنعة	الاعراض الجانبية لكل لقاح
1	لقاح فايزر-بيونتك (Pfizer-BioNTech)	الولايات المتحده الامريكية – المانيا	الم في موضع الحقن ، تعب ، صداع ، الم في العضلات ، قشعريرة ، الم في المفاصل ، حمى
2	مودرنا (Moderna)	الولايات المتحده الامريكية	الم في موضع الحقن ، تعب ، صداع ، الم في العضلات قشعريرة ، الم في المفاصل ، تورم الغدد اللمفاوية في نفس الذراع التي اعطى فيها اللقاح ،غثيان ، تقئ ، حمى
3	لقاح استرازينيكا اكسفورد (Oxford-AstraZeneca)	المملكة المتحده	الم في موضع الحقن ، تعب، صداع ، الم في العضلات ، توعك حمى، قشعريرة ، الم مفاصل ، الاثار الجانبية كان معدلها اقل عند كبار السن
4	لقاح سينوفاك (sinovac)	الصين	الم في موضع الحقن لاتوجد اثار خطيره او اعراض جانبية شائعه نسبتها اكثر من 25 % لدى من تلقوا اللقاح
5	لقاح سبوتنيك في (sputnik v)	روسيا	الم في موضع الحقن ، ارتفاع درجة الحرارة ، صداع ، وهن، الم في العضلات والمفاصل ، خفقان
6	لقاح كانسينو بيولوجيكس (CanSino Biologics)	الصين	الم في موضع الحقن، تعب ، حمى ، صداع
7	لقاح سينوفارم (sinopharm)	الصين	لم يتم الابلاغ عن اثار جانبية ولاتوجد اثار جانبية خطيره
8	لقاح جونسون آند جونسون (Johnson & Johnson)	الولايات المتحده الامريكية	الم في موضع الحقن، صداع ، اعياء ، الم في الجسم ، الم في العضلات ، غثيان ، حمى، الاثار الجانبية كان معدلها اقل عند كبار السن

الاحياء المجهرية المرضية Pathogenic microorganisms :-

تشكل احياء المجهرية المرضية مجموعة صغيرة من الاحياء المجهرية بشكل عام ؛ ولكنها ذات اهمية بالغة لما لها من علاقة بصحة الانسان ومجتمعه واقتصاده ولايزال الملايين من البشر في كل عام عرضة للاصابة بانواع مختلفة من الامراض الخامجة infectious disease المتسببة عن واحدة من الكائنات المرضية كالبكتريا Bacteria والفطريات Fungi والفايروسات Viruses والابتدائيات Protozoa . ان تطور البحوث والدراسات المستمرة في المجالات المختلفة مثل فسلجة الاحياء المجهرية Microbial physiology وعلم الوراثة Genetics وعلم المناعة Immunology ودراسة علاقة الطفيلي بالعائل Host parasite relationships ادت الى السيطرة على العديد من هذه الممرضات Pathogens .

العلاقة بين الاحياء المجهرية والانسان Human being Microorganism relationships :-

لكل كائن مجهري متطلبات معيشية محددة من اجل نموه وتكاثره ؛ ويحصل على هذه المتطلبات من البيئة المحيطة به ولاتنمو هذه الكائنات في عزلة عن بقية الكائنات الحية Organisms بل تشكل معها علاقات فيزيولوجية مختلفة. نظراً لانتشارها الواسع في الطبيعة تستوطن جسم الانسان مشكلة معه علاقات تعايشية Symbiotic relationships مفيدة للعائل او مضره له ومسببة الموت ، ولوجود اليات دفاع نوعية وغير نوعية Specific and non specific defense mechanisms في جسم الانسان استطاع الانسان تكوين علاقات سليمة مع الاحياء المجهرية المستوطنة والحد من العلاقات المسببة للمرض والموت. أي خلل يصيب وظائف هذه الاليات يؤدي الى ضعف مقاومة الجسم للكائنات المجهرية مما يظهر تأثيرها السلبي الضار على الجسم ويجعله عرضة لامراض مختلفة.

الكائنات المجهرية التي تعيش على جسم الانسان بشكل طبيعي :-

تسمى (الفلورا) الطبيعي Normal Flora ومنها ما تستوطنه لفترات متقطعة تدعى بالفلورا العابرة Transient flora ؛ ومن الانواع الرئيسية المستوطنه على جسم الانسان المكورات العنقودية البشروية *Staphylococcus epidermis* و *Propionibacterium spp* الموجودة على الجلد ؛ والعقدية المخضرة *Streptococcus viridians* التي تجدها في الحنجرة في حين نجد في الامعاء البكتريا المعوية *Enterobacter* والعصويات *Bacteroides fragillis* اضافة الى بعض انواع الفطريات Fungi والفايروسات Viruses. تخترق الكائنات المجهرية سطح جسم الانسان والوصول الى انسجته والتكاثر فيها يؤدي الى تكون الخمج او مايعرف بالاصابة Infection والعائل حينذاك يكون مخموج (مصاب) Infections والمرض المتكون يكون خامج Infectious. الكائنات المجهرية التي لها القدرة على توليد المرض تدعى بالممرضات Pathogens. فالممرض هو المسبب للمرض اما الامراضية Pathogenicity فهي القابلة على تكوين المرض. اما الكائن الانتهازي Opportunist فهو الذي يستطيع في تسبب المرض في العائل Host الذي فيه خلل او ضعف في آليات الجسم الدفاعية والتي قد تحدث في الجروح او من جراء المعالجة بالعقاقير المثبطة للمناعة Immune Suppressive drug او بعد تعاطي المضادات الحيوية Antibiotics لفترات طويلة. تتفاوت الكائنات المجهرية بدرجة امراضيتها للانسان باختلاف انواعها (ضراوة) Virulence والسلالات Strains ضمن النوع الواحد.

وهذه الخاصية قد تكون مرتبطة في بعض الاحيان بوجود المحفظة capsule كما في المكورات العقدية الرئوية *Streptococcus pneumonia* فالبكتريا الحاوية على المحفظة تكون كائنات ضارية وغالباً ما تكون مرضية اما تلك التي تفقد هذه المحفظة فتكون كائنات

غيرضارية وغالباً تكون قدرتها الامراضية طفيفة. او قد تكون ذات علاقة بتوليد الذيفانات Toxins كما في بكتريا الخناق *Corynebaterium diphtheria* .

امكانية أحداث المرض Pathogenesis:- تعتمد على:

أ- القدرة على الغزو والدخول والتكاثر في الانسجة Invasiveness.

ب- القدرة على إنتاج الذيفان (السموم) Toxigenicity.

حيث يقاوم الميكروب الوسائل الدفاعية في الجسم (مثل الانزيمات الحالة في الدم ، الدمع ، ...الخ) والخلايا البلعمية Neutrophil والاضداد وغيرها) وكذلك بامتلاك مكونات تركيبية او افراز مواد او انزيمات تساعد على الانتشار في الأنسجة.

المواد او الانزيمات المفرزة من قبل الأحياء المجهرية المرضية :-

1- Collagenase: يحلل Collagen الموجود في العظام والغضاريف اذ يسهل من انتشار المسبب المرضي الى الانسجة مثل بكتريا *Clostridium perfrenges*.

2- Neuraminidase:-انزيم يفرز من قبل مختلف البكتريا والفايروسات ويساعد على تحلل الميوكوبروتين Mucoprotein (البروتين الموجود على سطح الخلايا) مما يجعل الخلايا اقل مقاومة لمجابهة البكتريا.

3- Deoxyribonuclease:-انزيم يؤثر على الحامض النووي DNA ويفرز من قبل بعض البكتريا مثل *Streptococcus pyogens* و *Staphylococcus aureus*.

4- Coagulase يفرز من البكتريا *S. aureus* ولها القابلية على تخثير البلازما وهذا يساعد على احاطة البكتريا الـ Fibrin مما يساعد على مقاومة الوسائل الدفاعية للجسم من بلعها.

5- Hyaluronidase اوعامل الانتشار Spreading factor:-وهو انزيم يؤثر على حامض الـ Hyaluronic او المادة الرابطة للخلايا ، وهذا يسهل انتشار الممرضات في الانسجة ويفرزه كل من بكتريا *S. pyogens, S. aureus*.

6- Fibrinolysin او الـ Kinas: Streotokinase يحلل خثرة البلازما المتراكمة حول الانسجة المصابة وبهذا يساعد البكتريا على الانتشار مثل بكتريا *Streptococcus pyogens*.

7- Hemolysin:-يحلل الهيموكلوبين تحلل كامل يسمى بيتا ß-hemolysis فيحدث منطقة شفافة حول المستعمرة البكتيرية ، او تحلل من نوع الفا α-hemolysis محدثة منطقة خضراء حول المستعمرة (في الوسط الزرعي وهو وسط اكار الدم Blood agar).

8- Leucocidin: محلل اومحطم للكريات البيضاء ويفرز من قبل بعض انواع البكتريا مثل*S. aureus* .

9- القدرة على انتاج الذيفان (السموم): وتقسم الى نوعين الذيفان خارجي والذيفان داخلي.

الذيفان الخارجي Exotoxin: هو بروتين يفرز خارج جسم البكتريا وخلال نموها في الوسط الزرعي مثل بكتريا *Corynebacterium diphtheria, S. aureus*

الذيفان الداخلي Endotoxin: وهذا النوع من السموم مرتبط بجدار الخلية ويحرر بعد تكسر الخلية نفسها. وهو عبارة عن معقد مكون من شحم فسفوري متعدد السكريات وبروتين. غالباً ما يكون مرتبط بجدار البكتريا السالبة لصبغة كرام *Salmonella, Shigella*.

الخمج Infection او مايعرف بالاصابة تكون على نوعين:-

1- **موضعي Local:** الاصابة تكون في موقع معين من الجسم مثل الدمامل *S. aureus* الدزنتري البكتيري *Shigella* في الامعاء.

2- **عمومي Systematic:** بهذه الحالة المسبب المرضي ينتشر بالجسم وبطرق مختلفة:

1-**الطريقة المباشرة:** انتشار الخمج في الجلد او تحت الجلد مثل بكتريا *Streptococcus* او في الامعاء عن طريق النسيج المخاطي.

2- **عن طريق الدم:** المسبب يكون بلازما او بداخل كريات الدم البيضاء وهكذا الى مناطق الجسم المختلفة.

البكتريا في الدم Bacteremia (الانتقال عن طريق الدم).

وجود الميكروب وسمومه في الدم Septicemia (تكاثر المكروب في الدم).

الذيفان في الدم Toxemia (انتاج السم في موضع الاصابة فتسمح بانتشاره عن طريق مجرى الدم) .

3- **الانتشار عن طريق اللمف**: مثل بكتريا السل والطاعون.

4- **الانتشار عن طريق السائل المخي الشوكي Cere bral spinal Fluid CSF** :حيث تصل البكتريا الى السائل المخي الشوكي عن طريق الدم مثل بكتريا السحايا *Neisseria meningitides* .

توجد سبع طرق ينتشر بها الخمج :-

1- القناة التنفسية Respiratory Infection :- تنتقل بهذه الطريقة ممرضات القناة التنفسية مثل المكورات الرئوية المسببة لذات الرئة او ممرضات تصيب الاجهزة العامة مثل الاصابة بالحصبة (عن طريق الرذاذ المتطاير، وعن طريق اللمس).

2- انتشار الخمج عن طريق القناة الهضمية Alimentary tract Infection :- مثل الكوليرا ، الديزنتري وذلك بعد تناول الممرضات عن طريق الفم (تلوث الماء والغذاء).

3- انتشار الخمج عن طريق القناة التناسلية Venereal Infection :- مثل بكتريا *Treponema pallidum* و بكتريا *Neisseria gonorrhea* .

4- انتقال الخمج عن طريق الجلد ، الحروق ، والجروح :- ينتج عن الملامسة بالايدي الملوثة ، الملابس ، الادوات او التعرض للرذاذ المتطاير الملوث من فم وانف المصابين او تلوث الجروح ببكتريا الكزاز.

5- انتشار الخمج بواسطة بعض المفصليات Arthropods borne blood Infection:- وتشمل الحشرات الماصة للدم مثل مرض الملاريا (الناقل هو البعوض).

6- انتشار الخمج عن طريق المختبرات والعاملين بالمختبرات معرضين للاصابة وخاصة عند استعمال الحيوانات المختبرية.

7- انتشار الخمج عن طريق المشيمة Congenital Infection:- ويحدث نتيجة اصابة الام بالسفلس وانتقال بعض الفيروسات مثل الحصبة الالمانية عند اصابتها بالاشهر الثلاثة الاولى من الحمل.

البكتريا المرضية تقسم الى عدة مجاميع:

اولاً : العنقوديات *Staphylococcus*: تتواجد بنسبة 40 % في الاشخاص الاصحاء في الانف والجلد والابطين وتتميز بانها مكورات عنقودية الترتيب ، موجبة لصبغة كرام ؛ خلايا كروية الشكل .هوائية لاهوائية اختيارية Facultative anaerobes. موجبة في اختبار الـ catalase تكون موجبة في فحص Coagulase. تكون حامض من تخمر الكلوكوز بدون انتاج غاز Gas.غير متحركة وغير مكونة للسبورات. قسم منها تكون المحفظة capsule. قطرها من (1-0.8M). تنمو بشكل مستعرات دائرية قطرها (2-3 mm) ملساء الحافة، لماعة، غير شفافة، بيضاء او ملونة، وسطها املس ناعم. تنمو في اوساط حاوية على نسبة عالية من الملح تصل الى NaCl 10% . تعزل من الهواء و الجلد و الغذاء والماء. تنمو بسرعة على اوساط زرعية اعتيادية مثل الـ Nutirent agar و Blood agar ووسط Mannitol salt agar ؛ مقاومة للجفاف والحرارة . يحتوي هذا الجنس على اكثر من 30 نوع Species واهم اربع انواع هي:

Staphylococcus aureus ممرضة ، *Staphylococcus epidermidis* وهي بكتريا انتهازية ؛ *Saphylococcus saprophyticus* وبكتريا *Staphylococcus haemolyticus*

S. aureus ممرضة للانسان تسبب انواع مختلفة من الخمج القيحي Pyogenic infection ، تسبب العديد من الامراض والتي تكون واسعة الانتشار ومنها التسمم الغذائي Food poisoning والالتهابات الجلدية. والاكزيما والتهابات الجروح والحروق جروح العمليات ، التهاب الاغشية المخاطية. ؛ التهابات الرئوية التي تكون نادره وتعقب الاصابة بالانفلونزا ؛ والتهابات العظام والتهاب نخاع العظم والمفاصل والتهاب شغاف القلب endocarditis .التهاب في سائل النخاع الشوكي CNS ؛ Bacteremia ؛ التهاب القناة المعوية و التهاب الجهاز البولي التنفسي تكون موجبة في فحص Coagulase ؛ تتميز بقدرتها على النمو على وسط المانتول الملحي Mannitol salt agar وتظهر مستعمرات صفراء اللون .

السموم والانزيمات التي تفرزها *S. aureus*

1- ß- hemolysin, α- hemolysin,
2- Leucocidin
3- Enterotoxin السموم المعوية
4- Toxic shock toxin
5- Coagulase
6- Hyaluronidase
7- Deoxyribonlease
8- Staphylokinase
9- Lipase

10- Catalase

11- Protease

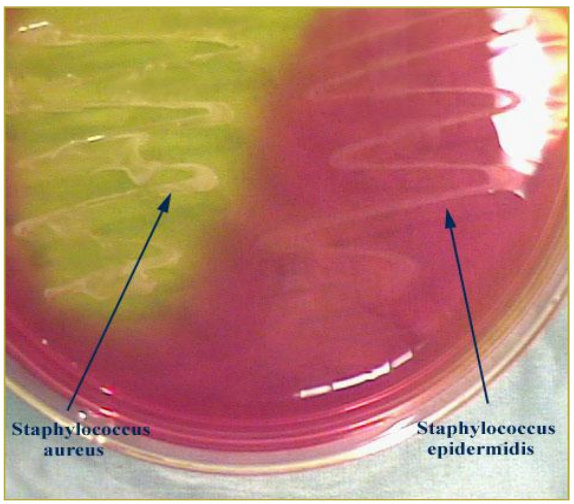
12- Penicillinase

S. epidermidis

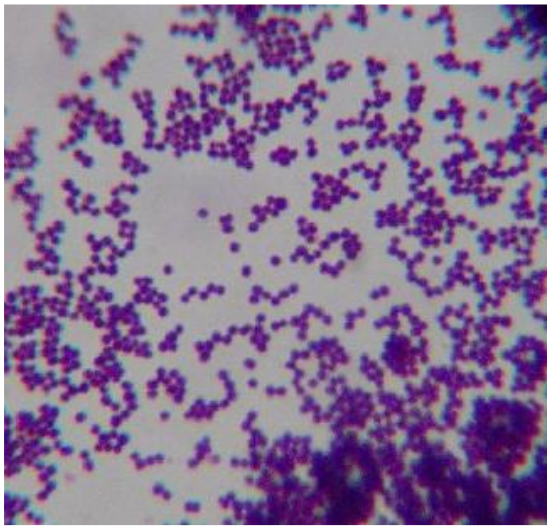
coagulase negative وتنمو على وسط المانتول الملحي بشكل مستعمرات وردية اللون. عادة تكون تواجدها طبيعي وغير ممرض Normal Flora وقد تكون ممرضة انتهازية في حالة انخفاض المناعة ، وعند كبار السن.

S. saprophyticus تسبب التهابات المجاري البولية عند النساء .

Staphylococcus haemolyticus :- اقل شيوعا من بكتريا *S.* epidermidis وتكون مسببة لنفس الامراض التي تسببها هذه البكتريا وتختلف عن *S. epidermidis* بانها تحلل الدم على وسط اكار الدم .



شكل المستعمرات على وسط اكار المانتول



شكل وتجمع الخلايا بالمجهر الضوئي

ثانياً: المسبحيات *Streptococcus* مكورات موجبة لصبغة كرام ؛ مرتبة بشكل سلاسل او مزدوجة ؛ غير متحركة ؛ غير مكونة للسبورات ؛ هوائية او لاهوائية اختيارية ؛ قسم منها normal flora بالجسم وقسم ممرضة ؛ اختبار الـــ Catalase سالب. تحلل الدم hemolysin وتكون نوعين اما تحلل كامل او جزئي ß-hemolytic, α- hemolytic .

تقسم المجاميع الحالة للدم الى مجاميع مصلية تعرف بـ Lancefieled من (A-U). قطرها من (1-2mm) تكون المحفظه capsule تنمو بصورة ضعيفة على الوسط الصلب او السائل وتحتاج الى مواد اغنائية مثل الدم blood, tissue fluids. تحتاج الى

CO_2 10% من اجل نموها. تسبب التهاب البلعوم ؛ تسمم الدم septicaemia ؛ التهاب الرئوي pneumonia ؛ التهابات العظم ونقي العظم osteomyelitis ؛ التهابات الجلد والجروح والاحمرار ؛ الانتنان النفاسي وسمية شديدة.

الانزيمات المفرزة:

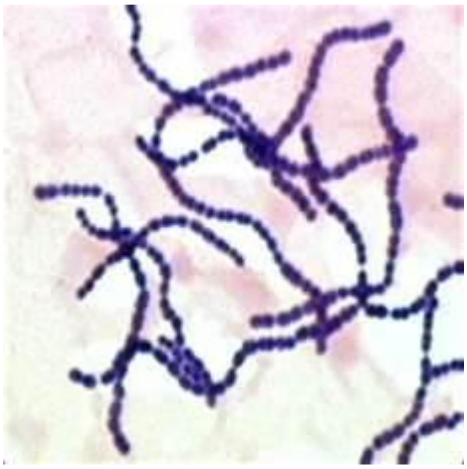
1- streptokinase
2- deoxyribonuclease المحلل لل DNA .
3- hyaluronidase
4- pyrogenic exotoxins رافع الحرارة.
5- hemolysin المحلل للدم .
6- immunoglobulin proteases
7- hyaluronidase
8- collagenases.

اهم الانواع:

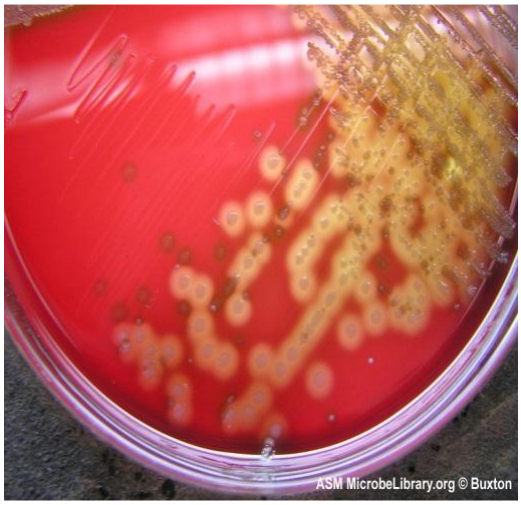
1- *Streptococcus pyogenes* محللة للدم من نوع ß-hemolysis تسبب اصابة موضعية وجهازية local or systemic infction واضطرابات مناعية immunologic disordes بعد الاصابة بالتهاب اللوزتين المزمن مثل حالة الـ rheumatic fever و glomerulonephritis واصابة الجهاز البولي.حساسة للـ bacitracin.

2- *Streptococcus agalactiae* جزء من الـــ normal flora في القناة التناسلية genital tract والمسبب الرئيسي للسحايا memingitis.محللة للدم من نوع ß- hemolysis.

3- *Streptococcus pneumonia* مكورات مزدوجة diplococcic ؛ تمتلك كبسولة مما يجعلها مقاومة لعملية البلعمة ؛ محللة للدم من نوع α- hemolysis ؛ حساسة لمضاد optochin ؛ تحتاج الى الدم في الوسط الزرعي ؛ تتحلل بأضافة املاح الصفراء (صفة تميزها عن باقي انواع الـ *Streptococcus*) ؛ تسبب الالتهابات الرئوية الحادة والتهابات الاذن الوسطى الحاد ؛ التهاب الجيوب الانفية ؛ تمتلك انزيم Pneumolysin .

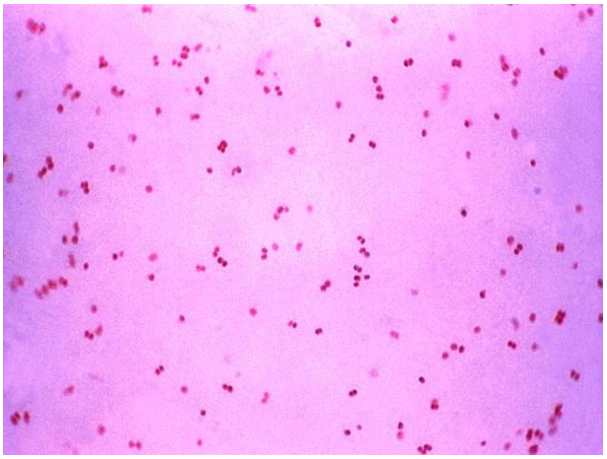


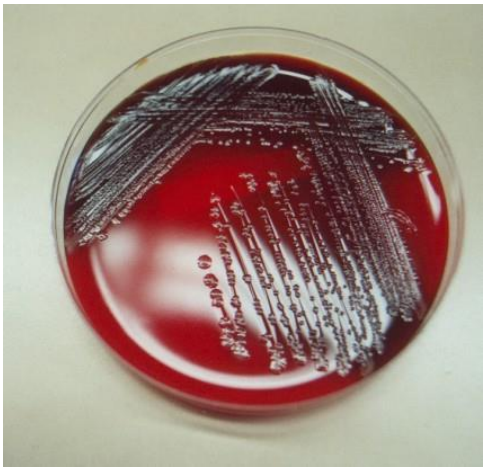
شكل الخلايا *Streptococcus* بالمجهرالضوئي



شكل المستعمرات *Streptococcus* على وسط اكار الدم

ثالثاً: مكورات سالبة لصبغة كرام *Neisseriae* كريات سالبة لصبغة كرام مزدوجة diplococci السطحان المتقابلان مسطحة ، القطر 0.8µm ؛ غير متحركة nonmotile ؛ هوائية ؛ تحتاج CO_2 5-10% ؛ تحتاج الى الرطوبة لانها حساسة جداً للجفاف ؛ تحتاج الى اوساط زرعية غنية مثل اكار الدم ؛ مستعمراتها دائرية قطرها من 1-2 ملم ، مزرقة اللون الى مزرقة لماعة، محدبة قليلاً. اختبار oxidase موجبة (tetramethyl paraphenyl – enediamine hydrochloride) قطرة من المحلول مع البكتريا على ورق النشاف filter paper تتحول البكتريا الى البنفسجي او الارجواني purple الغامق. تضم عدد من الانواع منها مرضية ومنها بكتريا طبيعية N.F انتهازية الانواع المرضية مثل *N. meningitides* المسببة لالتهاب السحايا ، تسبب تسمم الدم septicemia و *N.gonorrhoeae.* تصيب الاغشية المخاطية للجهاز التناسلي في الاناث تسبب التهاب المهبل القيحي purulent vaginitis ، وفي الذكور تسبب التهاب الاحليل القيحي purulent urethritis. التهاب المستقيم القيحي والتهاب الجلدي البثري .





شكل خلايا بكتريا *Neisseria* تحت المجهرالضوئي شكل مستعمرات البكتريا *Neisseria* على وسط اكار الدم

رابعاً: Enteric gram-negative rods (Enterobacteriaceae) : تشمل مجموعة كبيرة من العصيات السالبة لصبغة كرام ، واسعة المعيشة وتشكل بيئة طبيعية في امعاء الانسان والحيوانات. هذه العائلة تضم عدد من الاجناس مثل , *Escherichia , Shigella* *Salmonella*, *Enterobacter , Klebsiella , Serratia , Proteus* تكون ممرضة للانسان. هوائية ولا هوائية اختيارية ؛ مخمرة لمجموعة كبيرة من الكاربوهيدرات ؛ تمتلك صفات مستضدية مهمة في التشخيص المناعي ؛ تفرز سموم وانزيمات ؛ معظمها متحركة ؛ غير مكونة للسبورات ؛ قسم تكون المحفظة مثل *Klebsiella* ، وبعض *Enterobacter* ؛ سالبة في اختبار Oxidase .

الامراضية:

1- *E.coll* تسبب خمج المجاري البولية والجهاز التناسلي والجهاز العصبي وتسمم الدم.

2- *Klebsiella rhinoscleromatis* تسبب التهاب الغشاء المخاطي للاذن والحنجرة المزمن.

3- *Proteus* تتميز بأفراز انزيم urease ، ولها خاصية الانتشار Swarming وتشمل نوعين: *P. vulgaris, P. mirabilis* ؛ تتواجد كبكتريا طبيعية N.F في القناة الهضمية. ؛ تسبب خمج المجاري البولية ؛ تسبب سحايا الاطفال حديثي الولادة ؛ تسبب تسمم الدم.

4- *Salmonella* وتشمل عدة انواع ممرضة للانسان .*S. typhi* المسببة للحمى التايفوئيدية.

S. paratyphi A,B,C, والمسببة للحمى الباراتيفوئيدية.

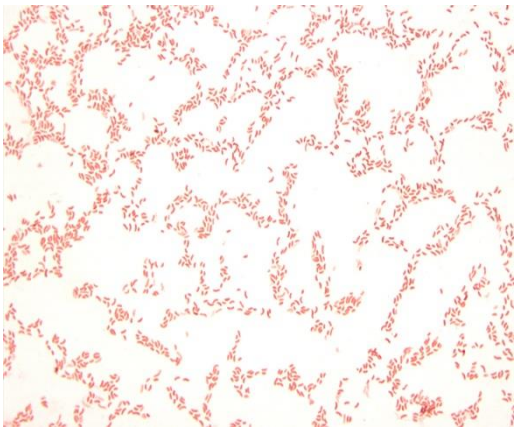
S. typhimurium, S. enteritidis المسببة للتسمم الغذائي.

5- *Shigella* تشمل *Sh. dysentariae, Sh. Flexneria, Sh. Poydii, Sh. Sonnei* المسببة للتسمم الغذائي للاطفال.

خامسا :- بكتريا سالبة لصبغة كرام ضمات الكوليرا *Vibrio cholerae* الضمات هي عصيات منحنية متحركة احادية السوط وسالبة لصبغة كرام ، هناك أكثر من ثمانية أنواع من ضمات الكوليرا و تعد من مسببات الأمراض البشرية الرئيسية. وينقسم ضنات الكوليرا على اساس مستضدات O جسدية الى O1 و O139 وتكون البكتريا قادرة على العيش بحموضة المعدة ، وتنتج سموم البروتين multimeric (توكسين الكوليرا) ، الذي يحفز داخل الخلايا المعوية ، مما أدى إلى إفراز الماء والشوارد في تجويف الأمعاء . الكوليرا هو مرض يصيب الإنسان حصرا فهو ينتقل عبرالمياه الملوثة والمواد الغذائية.عادة ما يتم العثور عليه في البلدان النامية حيث تكون امدادات المياة غير مامونه وملوثه بمياه الصرف الصحي .وينتشر الوباء خلال الحروب والهجرة .المظاهر السريرية لمرض الكوليرا ما يلي: اسهال شديد غيرمؤلم ؛ ما يصل إلى 20 مرة في اليوم الواحد ؛ تقئ ؛ الجفاف الشديد. التشخيص يستند التشخيص السريري على وجود البكتريا الكوليرا في الإسهال (البراز) مع التشخيص المصلي السريع .يمكن زراعتها على الاوساط الزرعية الخاصة مثل وسطTCBs. واجراء الفحوصات البايوكيميائية.

علاج اعطاء السوائل عن طريق الفم (الملح والسكر) .اعطاء السوائل عن طريق الوريد في الحالات الشديدة . اعطاء مضادات التتراسيكلين أو سيبروفلوكساسين يمكن تقصير مدة المرض و تقليل شدة.

الوقاية والمكافحة إمدادات المياه الصالحة للشرب هي الدعامة الأساسية للوقاية . انتشار التعليم الجماعي والتوعية الصحية . انتاج لقاحات ضد المرض قيد التجارب.



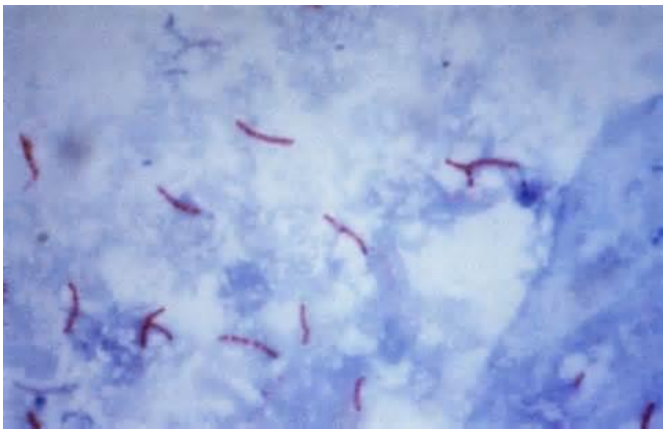
شكل بكتريا الكوليرا تحت المجهر

شكل المستعمرات على وسط زرعي TCBs

سادسا : بكتريا السل *Mycobacterium tuberculosis* ينتشر مرض السل من شخص الى اخر عن طريق الهواء ويصيب كل انحاء الجسم ويتطور المرض الى التهابات موضعية اخرى مثل التهاب السحايا والتهاب العظم والنقئ . تتميز بكتريا السل بانها عصيات او بشكل قضبان مستقيمة رفيعة 0.4 – 3 ملم غير متحركة وغير مكونه للسبورات وتكون متغايرة من نوع الى اخر ولايمكن ادارجها ضمن البكتريا السالبة لصبغة اوالموجبة لصبغة كرام وذلك لاحتواء جدارها على طبقه دهنية عالية ومواد شمعية waxy envelope والتي لايمكن تصبيغها بالصبغات الاعتيادية لذلك تستعمل صبغة زيل نلسن Ziehl-Neelsen technique

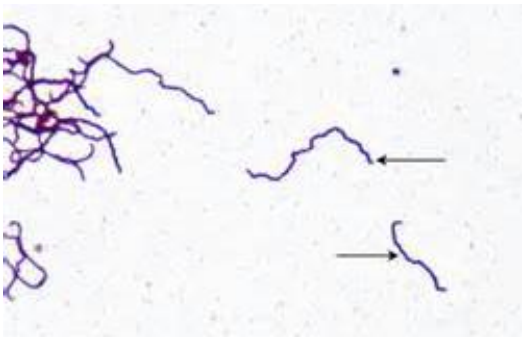
وبوجود الكحول الايثانولي 95 % المحمض بحامض الهيدروكلويك 3% من اجل تصبيغها ويتم ذلك عن طريق تصبيغ القشع او النسيج الماخوذ من موقع الاصابة بهذه الصبغة للتعرف على وجود البكتريا . ويمكن الاعتماد على اوساط زرعية خاصة لتنمية البكتريا مثل الاوساط الحاوية على البيض والغنية بالدهون. مثل وسط Lowenstein – Jensen الذي يحتاج الى وقت طويل لنموها.

العلامات السريرية للمرض الالتهاب الرئوي : السعال المزمن ، نفث الدم والحمى و فقدان الوزن ، و الالتهاب الرئوي الجرثومي المتكرر . إذا لم يعالج ، فإنه يلي التهاب مزمن . التهاب السحايا : الحمى وفقدان الوعي. التهاب الكلوى : الحمى و فقدان الوزن ومعقدة بالتليف الحالبي والكلية. التهاب العظام: العمود الفقري والفقرات القطنية والعجزية التهاب المفاصل والتهابات البطن : تضخم العقد اللمفية المزمنة.والحمى، و فقدان الوزن، و الاستسقاء و الأمعاء وسوء الامتصاص .العلاج يكون باعطاء المضادات الحيوية واعطاء اللقاح (BCG) ضد مرض السل.



تظهر بكتريا السل باللون الاحمر بعد تصبيغها بصبغة زيل نلسن (تحت المجهر الضوئي)

سابعا الحلزونيات Spirochetes ومنها بكتريا السفلس *Treponema pallidum* :- خلايا لولبية الشكل ، لا تصطبغ بالصبغات الاعتيادية ولا تنمو على الاوساط الزرعية الا انها من الممكن ان تصطبغ بصبغة كمزا Giemsa . من اهم الحلزونيات من الناحية الطبية هي الحلزونية الشاحبة *Treponema pallidum* المسببة لداء السفلس syphilis او الزهري وهو من الامراض المنتقلة جنسيا اذ تظهر الاصابة على شكل قرحة صلبة في مكان اختراق الجرثومة للجلد بعد مدة حضانة تتراوح من 2 – 4 اسابيع ، يمر المرض بعدها بثلاثة اطوار رئيسة هي السفلس الاولي الذي يكون التهاب بسيط والثانوي والذي يودي الى التهابات في العقد اللمفاوية والمنتشر الذي ينتهي بتشوهات جهازية كثيرة ويسبب التهابات جهازية مثل التهاب الابهر وقد تؤدي للموت. تشخص هذه البكتريا خلال الفترة الاولى من الاصابة بالمجهر المظلم Dark field microscope اذ تظهر البكتريا براقة في محيط مظلم او بالطرق المصلية مثل فحص VDRL و TPHA.



شكل خلايا بكتريا السفلس الحلزونية

التلف المايكروبى للاغذية

يتعرض الغذاء للتلف المكايكروبي في حالة عدم اتباع طرائق جيدة في انتاجه وحفظه وتسويقه والتلف يقصد به التغيرات المظهرية اوالكيميائية التي تظهر في الغذاء وتجعله غير صالح للاستهلاك فقد يتغير قوام الغذاء ومظهره ورائحته ولونه او يتغيرتركيبه الكيميائي وتكوين مركبات غير مرغوبة او خطره على الصحة.

تختلف المواد فيما بينها بالنسبة لسرعة التلف :-

اولا:- غذاء سريع التلف perishable foods مثل اللحوم والاسماك والبيض والحليب ومنتجاته والفواكة والخضر.

ثانيا:- غذاء غير قابل للتلف nonperishable foods حيث تبقى سنوات بدون تلف مثل السكر والحبوب المجففة والطحين.

ثالثا :- غذاء متوسط القابلية للتلف semi perishable foods حيث تتلف بفترة طويلة نسبيا تمتد اشهر مثل البصل والثوم والفواكة المجففة.

لكل غذاء صفاته وظروفه التي تجعله يتلف بسرعه اوببط شديد حيث توجد عده عوامل تتحكم بنوع ودرجة التلف المايكروبي للاغذية وهي:-

1. عدد المايكروبات ونوعها في الغذاء :- يختلف عدد الاحياء المجهرية وانواعها تبعا للشروط الصحية التي تستخدم في انتاج الغذاء وتسويقه وبالتالي تؤثر في سرعة ونوع التلف المايكروبي فكلما كان عدد البكتريا اكبر فان سرعه التلف اسرع وان من علامات التلف هو ظهور اللزوجة والرائحة وتغيراللون ولكن هذه العلاقه قد لاتكون صحيحة فقد يكون العدد كبير ولكن لاتوجد انواع تمكنه من اتلاف هذا الغذاء لذلك يكون نوع المايكروب عاملا محدد للتلف فالاغذية البروتينية لابد من وجود مايكروبات تنتج انزيمات ال protease وفي الاغذية التي تحتوي على المواد الدهنية لابد من وجود انزيمات Lipases وفي الاغذية النباتية لابد من وجود انزيمات Calluses و Pectinases.
2. التلف الكيميائي للغذاء :- تحدد المكونات الكيميائية للغذاء بالدرجة الاساس نوع التلف الذي سيحدث فيها ذلك لانها تحدد مجاميع المايكروبات التي ستنشط في الغذاء فالاغذية الغنية بمصادرالطاقة والكاربون والناتروجين مثل السكريات الاحادية والبروتينات تكون اسهل الاستهلاك فان مثل هذه الاغذية تنشط مجاميع عديده من المايكروبات في حين الاغذية معقدة التركيب الكيميائي لا تنشط فيها الا مجاميع قليلة وبطيئة النمو عاده .
   - يحدث في الاغذية ذات المحتوى السكري تلف حامضي لتكوين احماض عضوية تخمر كحولي لكن عندما يكون تركيز السكر عالي لاتتلف بسرعة لعدم تحمل المايكروبات الازموزية .
   - الاغذية البروتينية يحدث فيها تعفن نتيجة تحول البروتين اى احماض امينية وامينات ومركبات عفنة .

- الاغذية الدهنية تتزنخ نتيجة تحول الدهون الى كليسيرول واحماض دهنية وكيتونات والديهايدات ذات رائحة زنخة.

3. قيمة ال pH الغذائية :- ان غالبية الاغذية يكون فيها قيمة pH متعادل او حامضي ويندر وجود الاغذية القلوية وقيمة ال pH عامل مهم في تحديد النشاط المايكروبي في الاغذية وتقسم الى :-

- الاغذية القلوية Alkaline foods مثل بياض البيض وبعض الفواكة وتتلف بفعل بعض البكتريا المحبة للقلوية Alkaliphiles التابعة لجنس *Pseudomonas , Achromabacter*
- اغذية متعادلة Natural foods مثل اللحوم والحليب حيث قيمة pH مابين 6 و7 وتنشط فيها مجاميع متعدده من البكتريا.
- اغذية قليلة الحموضه Low acid foods وقيمة pH فيها بين 5.3- 6.5 مثل بعض اللحوم والاسماك والخضر.
- اغذية متوسطة الحموضة Medium acid foods وفيها قيمة pH مابين 4.5 الى 5.3 مثل الخضروااللحوم المعلبة حيث تقوم الاعفان والخمائر باحداث التلف.
- اغذية حامضية Acid foods وفيها قيمة pH مابين 3.7 الى 4.5 مثل الفواكة وعصائرها والاجبان التي تتلف بالاعفان والخمائر وبعض البكتريا المقاومة للحامض .
- الاغذية شديدة الحموضة High acid foods وفيها تقل قيمة pH عن 3.7 وهي نادرة التعفن بالمايكروبات .

4. المحتوي المائي للغذاء :- لابد من توفر كمية من الماء في الغذاء ملائمة للنشاط المايكروبي وتختلف متطلبات الماكروبات للماء اذ تحتاج البكتريا الماء اكثر من الاعفان والخمائر جدول (1) يعبر عن الماء الحر في الغذاء بالنشاط المائيwater activity (wa) ان الاغذية الطرية ذات المحتوى المائي العالي تنشط فيها البكتريا في حين الجافة تنشط فيها الخمائر والاعفان .

جدو ل(1) يوضح قيمة النشاط المائي لمجاميع المايكروبات المسببة لتلف الاغذية

المايكروبات المسببة للتلف	القيمة الدنيا لل wa
بكتريا Spoilage bacteria	0.91
خمائرSpoilage yeasts	0.88
اعفان Spoilage molds	0.80
بكتريا محبة للملوحة Halophilic bacteria	0.75

اعفان محبة للجفافXerophilic molds	0.65
خمائر ازموزية Osmophilic yeasts	0.60
بكتريا محبة للبرودة *Pseudomonas , Achrobacter*	0.96
بكتريا القولون *E. coli , A. aerogenes*	0.95
بكتريا ممرضة *S. typi*	0.92
بكتريا تسمم غذائي *S. aureus*	0.86
خمائر تتلف الاغذية السكرية *Sacch. Youxi*	0.62

التسمم الغذائي Food Poisoning:-

ان اسباب التسمم الغذائي يعود الى ان الاعتماد شبه التام على الاغذية الجاهزة والمسوقة لاماكن بعيدة مما يجعل السيطرة على الغذاء صعبة. والتسممات الغذائية تكون بسبب المواد الكيمياوية الملوثة للاغذية كالمبيدات والمعادن الثقيلة اوبسبب انسجة نباتية اوحيوانية سامة يحتويها الغذاء اويسبب الاحياء المجهرية. ان التسمم اما يكون بسبب البكتريا نفسها اي انه ضرورية تناول البكتريا مع الغذاء حيث تتحل داخل الامعاء ويتحرر سمها لذلك تطلق عليه Endotoxin والحالة تسمى Food infection كما في التسمم السالمونيلي . او يحدث التسمم بسبب السموم المفرزة في الغذاء وتسمى Exotoxin وليس بالضرورة تناول البكتريا مع الغذاء وتحلها داخل الامعاء والحالة تسمى Food intoxication كما في التسمم العنقودي.

1. التسمم العنقودي Staphylococcus food poisoning

تسبب هذا التسمم بكتريا *S. aureus* حيث تفرزسمومها في الغذاء Exotoxin وهي خمس انواع من A الى E اشدها خطورة A و B وان التركيب الكيميائي لكل السموم هو بروتين بسيط الا انه يختلف بسميتها وصفاتها السيرولوجية والوزن الجزيئي ونوع وتسلسل الاحماض الامينية خاصة الاحماض الامينية في طرف السلسلة والتسمم واسع الانتشار في ظروف 37 م و pH النتعادل والاغذية ذات المحتوى البروتيني وتنشراغلب السموم في قطرنا في المعجنات والسلطات والاجبان الطرية وحتى المالحة لكون البكتريا تتحمل ملوحة 17 % وتتحمل درجات الغليان لمدة نصف ساعة. ان اعراض التسمم هو تقيئ والم في المعدة واسهال والم في الراس وتستمر لمدة يوم الى يومين.

2. التسمم البوتيوليني Botulism

وهي تسبب بكتريا *Cl. btulinum* وهي تفرز في الغذاء ويوجد عدة انواع من A الى G و ان مصدر تلوث الغذاء هو التربة والفضلات الحيوانية وكذلك ترسبات المياه بالنسبة للاسماك ويعد من السموم غير المنتشره في العراق وانما في دول اوربا وتمتز بكونها غير مقاومة للحرارة اذ تتحطم بدرجة 80 م لمدة 15 دقيقة الا ان المشكلة في مقاومة

سبورات هذه البكتريا للمعاملات الحرارية وخاصة نمط A و B حيث لا تتحطم الا بعد 120 م لمدة 15 دقيقة يضاف النتريت .

اعراض التسمم تقيئ وغثيان والم في المعدة ثم تتطور الاعراض الى تشوش الرؤية وصعوبة في التنفس وصداع وشلل العضلات ثم الموت ونسبة الوفيات تصل الى 60 % اما في المناطق الموبؤة تصل الى 100 % تعطى مضادات السموم polyvalent antitoxin لايقاف مفعول السم .

3. التسمم السالمونيلي Salmonellosis

يسبب هذا التسمم انواع عديدة من جنس *Salmonella* اهمها *S. typhimurium* الذي يسبب اكثر من نصف التسممات يلية *S. newport* و *S. derby* و *S. enteritidis* وغيرها . ويمتاز هذا السم انه لا يفرز في الغذاء بل تلتهم البكتريا مع الغذاء وتتحل داخل الامعاء لتحرر سمومها الداخلية التي هي عبارة عن Lipopolysaccharide مع القليل من Lipoproteins .

تختلف انماط وانواع ال *Salmonella* في سميتها الا ان غالبية يتوجب وجود الملايين منها في الغذاء لكي تحدث المرض عند تحللها في الامعاء . الاعراض تظهر خلال 6 ساعات بمغص معوي مع اسهال شديد ونسبة الوفيات قليلة جدا تعطى للمريض بعض المضادات الحيوية مثل الكلورامفينيكول للقضاء على البكتريا داخل الامعاء . ان تسخين الاغذية يمنع حدوث التسمم فدرجة حرارة 75 م كافية لقتل كل البكتريا الا ان غالبية الاغذية في اسواقنا كالدجاج المشوي والكباب والهامبركر يبقى وسطا بلا معاملة حرارية كافية .

4. التسممات البكتيرية الاخرى

1. تسممات سببها البكتريا الممرضة *E.coli* فبعضها بسبب تسمم اعراضه كاعراض الزحار *E. coli* Enteroinvasive واخرى تكون سموما معوية تسبب اعراض كاعراض الكوليرا مثل Enterotoxigenic *E. coli* .
2. تسممات تسببها بكتريا *Yersinia enterocolitica*.
3. تسممات تسببها *Cl. Perifiringes* في اللحوم .
4. تسممات تسببها *B. cereus* في الاغذية النشوية والرز والبطاطا.

5 . السموم الفطرية Food mycotoxins

ان تسمم الديك الرومي في بريطانيا بسبب اعطائه علف فستق عبيد ملوث بسموم فطرية لفطر *Asp. flavus* الذي انتج مواد كيميائية سميت Aflatoxins وايضا لوحظ التسمم الذي حصل بسبب الحبوب والبقوليات المتروكة في الحقول تحت المطر بسبب هذا العفن ايضا وغيره وقد وجد ان السموم الفطرية منها ماتمتاز بالوهج الازوق تحت مصباح الاشعه فوق البنفسجية لهذا سميت B1 , B2 واخرى بالوهج الاخضر G1, G2 وقد اشيرت الدراسات الى ان هذه السموم تسبب السرطان الكبد وسرطانات اخرى وقد عزلت من فطريات اخرى منها سم Ochrotoxins الذي ينتجه فطر *Asp. ochraceus* وسم Citrinin و Citreovirdin و Patulins الذي ينتجهم ال *Penicillium* وسم Zeralenone الذي

ينتجه فطر *Fusarium* ولم يتقتصرعزل هذه السموم من الحبوب فقط وانما تم عزلها من الاجبان والحليب والدواجن واللحوم.

الاحياء المجهرية في الماء

يشكل الماء خطرا على صحه الانسان لكونه حاملا للاحياء مجهرية مرضية كثيره وهناك امراض كثيرة مصدرها الماء . ان الميكروبات المرضية التي تنتقل عن طريق الماء هي تلك الاحياء التي تسبب التهابات القناة الهضمية مثل التيفوئيد والباراتيفوئيد والزحار والكوليرا وتوجد هذه الاحياء المسببة لهذه الامراض في براز وبول الشخص المصاب وعندما تطرح قد تصل الى الماء الذي يستخدم مصدرا لاستعمالات المنزلية

Potable water:- هو الماء الخالي من الاحياء الدقيقة المسببة للامراض والمواد الكيميائية التي تضر بصحة البشر

Non potable water or polluted water :- هو الماء الملوث بالمخلفات المنزلية او الصناعية.

تجهيز ماء الاسالة :

1. **خزن الماء الخام (ترسيب) قد يضاف الشب (كبريتات الالمنيوم) للاسراع من ترسيب الجزيئات.**
2. **محطة الضخ.**
3. **خزان خلط كبريتات الالمنيوم.**
4. **خزن الرواكد.**
5. **اضافة الكلور بنسبة 0.2 – 1 ملغم / لتر.**
6. **احواض خزن.**

تتضمن تصفية الماء خطوات اخرى لازالة بعض المعادن وتنظيم الاس الهيدروجيني وازالة الالوان غير المرغوب بيها .

تحديد صلاحية الماء من الناحية الصحية determinants sanitary quality of water

قد يكون الماء صافيا وخالي من الرائحة او الطعم الا انه ملوث لذا تدعى عملية فحص الماء بالفحص الصحي Sanitary survey وتتضمن :

1. **الفحص البكتيرولوجي عن التلوث bacteriological evidence of polluted**

ان الهدف الرئيسي من الفحوصات اليومية للماء هو عزل الاحياء الدقيقة المرضيه الا ان هذا ليس بالهدف الرئيسي للاسباب الاتية :-

1. **تدخل الاحياء المجهرية المرضية الى الماء بصوره انفرادية وان هي دخلت فلا تستطيع العيش لمدة طويلة وبهذا فهي لاتظهر اثناء الفحص.**
2. **اذا وجدت هذه الاحياء باعداد قليلة فان الفحص المختبري لايستطيع الكشف عنها.**

3. **تستغرق الفحوص المختبرية مده 24 ساعه للحصول على نتيجة فاذا كان الماء ملوث بها فسيكون قد استهلك من قبل المواطنين اثناء الفحص .**

ان الاحياء الدقية المرضية تلوث الماء عن طريق ما يطرحه الحيوان والانسان من امعائه فضلا عن ان هنالك بعض انواع البكتريا تعد من المستوطنات الطبيعية لامعاء الانسان وبعض الحيوانات مثل *Escherichia coli* والاحياء المرتبطة بها والتي تدعى عموما بكتريا القولون (coliform) وكذلك بكتريا *Streptococcus faecals* و *Clostridium perfringens* وبهذا فان وجود اي من هذه الانواع البكتيرية في الماء يصبح دليلا حيدا على التلوث بغائط الانسان او الحيوان ووجود هذه الاحياء في الماء يعني وجود بكتريا المرضية لانها موجوده في الغائط ايضا .

<u>ان الكشف عن بكتريا القولون له مميزات وهي :-</u>

1. **تتواجد بكريا القولون وخصوصا *Escherichia coli* بصوره دائمية في امعاء الانسان وباعداد كبيره حيث يتضمن انها تطرح بمعدل الاف ملاييين في اليوم الواحد ضمن غائط الشخص الاعتيادي .**
2. **تعيش هذه الاحياء في الماء لمده اطول مقارنة مع الاحياء المرضية .**
3. **لا يطرح الشخص العادي احياء مرضية مثل بكتريا التيفوئيد الا انه يطرح هذه البكتريا في حالة اصابته بهذا المرض .**

<u>بكتريا القولون coliform bacteria</u>

1. **هوائية او غير هوائية اختيارية .**
2. **سالبة لصبغه كرام.**
3. **لا تكون سبورات .**
4. **تنتج حامضا و غاز نتيجة تخمر اللاكتوز.**
5. **انواع هذه المجموعه هي *Escherichia coli* و *Aerobacter aerogenes* تتواجد الاولى في امعاء الانسان في حين تتواجد الثانية في الحبوب والنباتات وقد تتواجد في غائط الانسان والحيوان يتشابهه النوعان من الناحية المظرية والزرعية الا انه <u>ممكن التمييز بينهما باتباع الطرق كيمياوية وهي :-</u>**

1. **القابلية على انتاج الاندول Indol لبكتريا *Escherichia coli* في حين لا ينتج من بكتريا *Aerobacter aerogenes*.**
2. **عندما تزرع النوعان على مرق special glucose broth media الحاوي على Methyl red فان كلا النوعين ينمو وينتج حامض نتيجة تخمر الكلوكوز الا ان *Escherichia coli* يكون اكثر لذلك تتلون باللون الاحمر في حين *Aerobacter aerogenes*لا تعطي هذا اللون .**
3. **القابلية على انتاج مادة ال Acetyl methyl carbinol عند النمو في وسط ال Glucose –peptone media ونفحص هذه الماده ضمن كشف Voges proskauer فان ال *Escherichia coli* لا تنتج هذه الماده في حين تنتجها بكتريا *Aerobacter aerogenes* .**
4. **استغلال سترات الصوديوم ان *Aerobacter aerogenes* تستطيع استغلال السترات مصدرا وحيد للكاربون عند تنميتها في وسط صناعي في حين بكتريا *Escherichia coli* لا تستطيع.**

ولتسهيل تسمية الفحص وهي مجتمعة اطلق عليها IMViC

Indol=I و Methyl =M و Voges proskaur=Vi و Citrate=C

<u>التقنية البكتريولوجية</u>

1. **يجب ان يؤخذ نموذج الماء في اوعية معقمة.**
2. **يجب ان يمثل النموذج المصدر المائي الذي اخذ منه.**
3. **يجب تجنب تلوث النموذج باسرع وقت ممكن جمعه.**
4. **اذا كان لابد ان يتأخر الفحص فيجب ان يحفظ النموذج تحت درجة صفر الى 10°م.**

<u>الطرق البكتريولوجية تشمل:-</u>

1. **العد الطبقي Plate count**

يؤخذ 1 مل او 0.1 مل من النموذج وتزرع في الاطباق على اوساط زرعية معينة ثم تحضن في 20°م لمدة 24 ساعة او 35° م لمده 24 ساعة حيث تحسب البكتريا في المليلتر الواحد من النموذج.

- **الماء الذي يحتوي على عدد قليل من البكتريا المرضية يكون اخطر من الماء الذي يحتوي على عدد كبير جدا من البكتريا المتعايشة غير المرضية .**
- **الماء الجيد هو الذي يحتوي على عدد بكتريا قليل (اقل من 100 / مل).**

<u>2-الكشف عن بكتريا القولون</u>

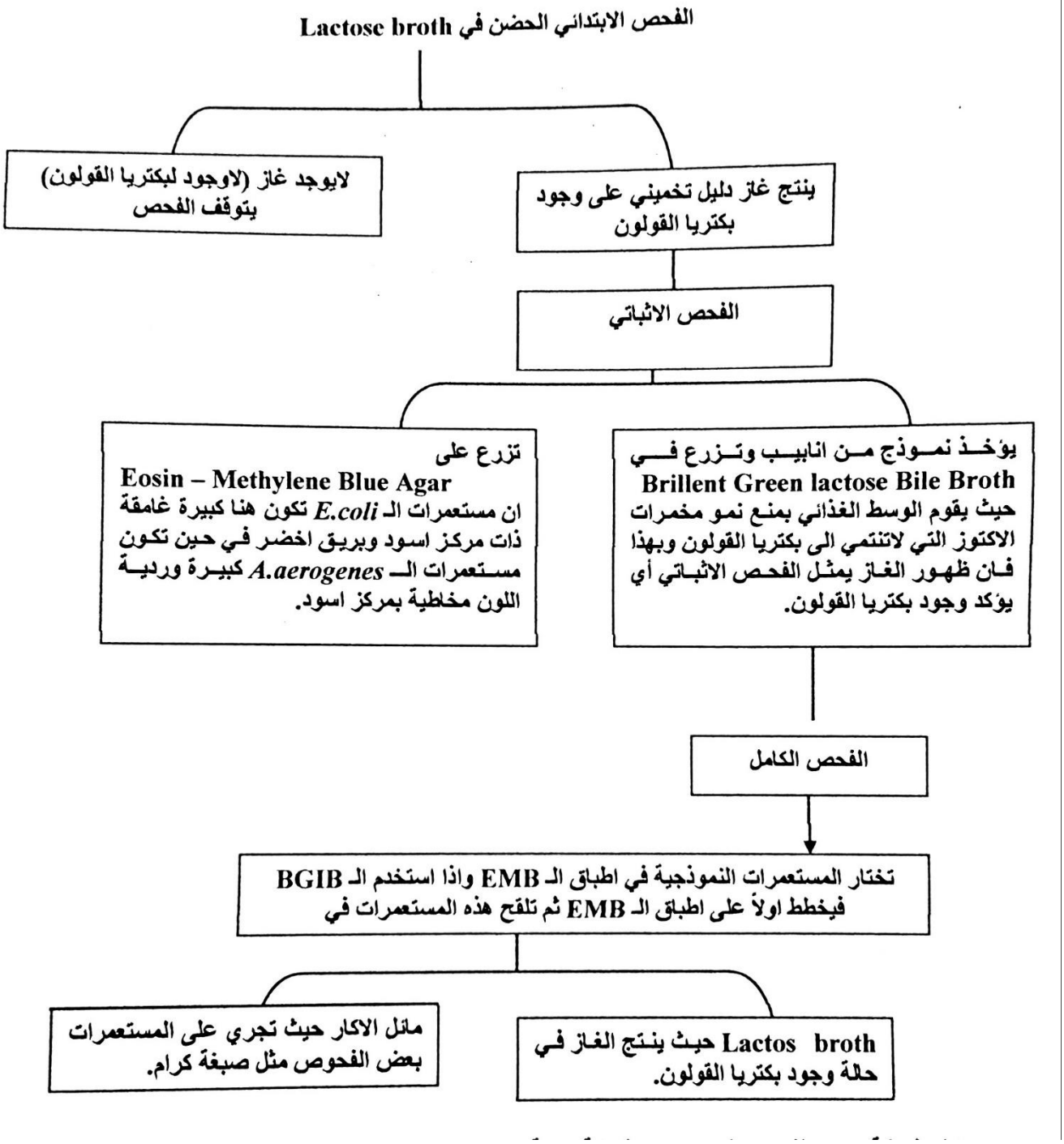
<u>يتضمن ثلاث خطوات :-</u>

1. **<u>الفحص الابتدائي Presumptive test :-</u>**

يتضمن تلقيح انابيب حاوية على Lactose broth ثم تحضن في 35 °م ويلاحظ ظهور الغاز خلال 24 ساعة او 48 ساعة.

- **ان عدم وجود غاز دليلا على عدم وجود بكتريا القولون.**
- **تعد هذه الخطوة تخمينية او اولية لان هناك انواع اخرى تستطيع تخمير اللاكتوز وتحرر الغاز لذلك لابد من اجراء فحوصات اخرى .**

2. **<u>الفحص الاثباتي Confirmed test</u> كما في الشكل رقم (1).**
3. **<u>الفحص الكامل Completed</u> كما في الشكل رقم (1).**


الفحص الابتدائي الحضن في Lactose broth
لايوجد غاز (لاوجود لبكتريا القولون) يتوقف الفحص
ينتج غاز دليل تخميني على وجود بكتريا القولون
الفحص الاثباتي
تزرع على Eosin – Methylene Blue Agar ان مستعمرات الـ E.coli تكون هنا كبيرة غامقة ذات مركز اسود وبريق اخضر في حين تكون مستعمرات الـ A.aerogenes كبيرة ورديـة اللون مخاطية بمركز اسود.
يؤخذ نموذج من انابيب وتزرع في Brillent Green lactose Bile Broth حيث يقوم الوسط الغذائي بمنع نمو مخمرات الاكتوز التي لاتنتمي الى بكتريا القولون وبهذا فان ظهور الغاز يمثل الفحص الاثباتي أي يؤكد وجود بكتريا القولون.
الفحص الكامل
تختار المستعمرات النموذجية في اطباق الـ EMB واذا استخدم الـ BGIB فيخطط اولاً على اطباق الـ EMB ثم تلقح هذه المستعمرات في
مائل الاكار حيث تجري على المستعمرات بعض الفحوص مثل صبغة كرام.
Lactos broth حيث ينتج الغاز في حالة وجود بكتريا القولون.

هنالك طريقة اخرى لفحص الماء وهي طريقة تقنية الترشيح الغشائي Membrane filter technique وتشمل ما يلي :-

1. **يوضع قرص ترشيح معقم في وحدة ترشيح المعدة لهذا الغرض.**
2. **يمرر حجم معين من الماء خلال قرص الترشيح فتحجز البكتريا.**
3. **يؤخذ قرص الترشيح ويوضع على ورق منشف ومشبع بوسط غذائي مناسب .**
4. **عند الحضن تتكون مستعمرات على قرص الترشيح.**

<u>مميزات الطريقة :-</u>

1. **تستطيع فحص حجوم كبيره.**
2. **تستطيع نقل غشاء الترشيح من وسط غذائي الى اخر بغية انتخاب سلالات البكتيرية وتفريقها .**
3. **نستطيع الحصول على نتيجة بوقت اقل بكثير.**
4. **نستطيع القيام بالتقدير الكمي لبعض الانواع البكتيرية مثل بكتريا القولون .**

<u>الاحياء الدقيقة الموجوده في الماء غير بكتريا القولون :-</u>

هناك انواع بكتيرية مختلفة توجد في انظمة المياة وتعد هذه البكتريا مزعجة Nuisance bacteria وقد تنتج بكتريا الحديد مواد مخاطية ايضا او تغير بالالوان وتسبب روائح غير مرغوب بها.

1. **مكونة للرائحة واللون والطعم.**
2. **ترسيب المواد غير الذائبة في انابيب توصيل الماء.**
3. **تقلل من كمية الماء الواصل الى البيوت وربما سدت مجرى الانابيب.**

- **البكتريا المخاطية Slim forming bacteria :- هنالك العديد من البكتريا التي تستطيع افراز مواد مخاطية.**
- **بكتريا الحديد:- وهي البكتريا التي تحول مركبات الحديد الذائبة الى مركبات غير ذائبة والتي بدورها تترسب على شكل صفائح تحيط بالبكتريا او على شكل اشرطة متصلة بالخلية البكتيرية.**
- **بكتريا الكبريت :- تستطيع بعض الانواع بكتريا الكبريت انتاج وتحمل الحموضه العالية فان بعض الانواع التابعة لجنس *Thiobacillus* تستطيع اكسدة عنصر الكبريت الى حامض الكبريتيك بحيث ان الاس الهيدروجيني يصل الى 1 وبهذا فان البكتريا تكون مسؤولة عن تاكل الانابيب توصيل المياة . في حين ان هنالك انواع *Desulfuricus* و *Desulforibrio* تستطيع اختزال الكبريتات وبقية الكبريت الى كبريتيد الهيدروجين H2S.**
- **الطحالب :- تسبب الطحالب عكرة في الماء وتغير اللون والرائحة والطعم . والطحالب تعد المسبب الاول في غلق المرشحات المستخدمة.**

الاحياء المجهرية الصناعية Industrial Microbiology

التقنية الحياتية Biotechnology

هي الاستثمار الصناعي للاحياء الذي يتم عن طريق تطبيق الاسس العلمية والهندسية في العمليات التي تستعمل فيها عوامل حيوية مساعدة لغرض توفير السلع والخدمات.

اسباب استخدام الاحياء المجهرية في العديد من الصناعات:

1- ارتفاع نسب المساحة السطحية الى الحجم مما يسهل الاستغلال السريع للمواد المغذية لدعم السرع العالية للافعال الايضية.
2- تمتلك الاحياء المجهرية المقدرة على القيام بأعداد هائلة من التفاعلات الكيمياوية.
3- للاحياء المجهرية المقدرة على التطبع للظروف البيئية المختلفة بسهولة مما يسهل نقلها من البيئة الطبيعية الى المختبرية وتنميتها على مصادر نتروجينية وكربونية رخيصة الثمن وانتاج مركبات ذات قيمة على مستوى الاقتصادي.
4- سهولة التعامل مع الاحياء المجهرية على صعيد التطفير الوراثي والهندسة الوراثية.

صناعة الخبز Bread Making

تعد عملية التخمر الكحولي التي تقوم بها الخميرة خطوة مهمة في انتاج الخبز اذ يخلط العجين مع الخميرة بتركه في مكان دافئ لعدة ساعات وبما ان الطحين يحتوي على كميات قليلة من السكر وكميات كافية من الانزيمات التي تعمل على تحلل النشا وانتاج السكر اثناء عملية التخمر. ويتخمر السكر بسرعة بواسطة الخميرة وينتج الكحول و CO_2 وهذا الغاز يسبب انتفاخ العجين ويتبخر الكحول اثناء عملية الخبز، وتعود كافة الخمائر المستخدمة في انواع الخبز الى *Sacharomyces cerevisiae* ويرجع اصل هذه الخميرة الى الخميرة المستعملة في انتاج البيرة وهي ذات صفات مرغوب ة وهي قابليتها الكبيرة على استهلاك السكريات الموجودة في الطحين بأنتاجها انزيمات مثل invertase و zymase و maltose والصفة المرغوب هي قابليتها على انتاج العجين Dough raising power ويجدر الاشارة الى ان كيلو غرام من الخميرة الجافة كافية لتخمير حوالي 60 كيلو غرام من العجين.

انتاج الكحول الاثيلي Industrial Alcohol

يعد الكحول الاثيلي من المواد الكيمياوية الصناعية المهمة اذ يبلغ الانتاج السنوي في الولايات المتحدة الامريكية الف مليون غالون.

يستعمل المولاس مادة اولية لانتاج هذا النوع من الكحول حيث يخفض الاس الهيدروجيني للمولاس الى 4.5 ويستعمل لهذا الغرض H_2SO_4 وهذا الاس الهيدروجيني ملائم لنمو الخميرة ولايسمح لنمو البكتريا مما يمنع حدوث التلوث بالاضافة الى ان المولاس يعد مصدراً غنياً للكاربوهيدرات وتضاف كبريتات او فوسفات الامونيوم مصدر للناتروجين ويلقح بسلالات كثيفة من *Saccharmyces cerevsiae* وتستعمل عمليات التخمر لمدة يومين تقريباً في خزانات ضخمة تتسع لـ 50.000 غالون او اكثر تحت درجة حرارة ثابتة قدرها 25م° الى ان يتوقف نمو الخميرة بسبب تراكيز الكحول العالي.

الفيتامينات Vitamins

تعد الخميرة مصـدراً لفيتامينات B اذ تقوم الخلايا بتركيب عدد من فيتامين B وفي حالات عديدة تضـاف خلايا الخميرة الجافة او المتحللة ذاتياً الى الغذاء المراد دعمه بالفيتامينات فمثلاً يمكن الحصـــول على الرايبوفلافين فتامين B_1 من خميرة *Eremothecium ashbyi* او من بكتريا *Clostridium acetobutylicum* اما فيتامين B_{12} ينتج من انواع عديدة من البكتريا.

انتاج الانزيمات Enzymes production

تستطيع فطريات معينة Molds بتخليق كميات كبيرة من الانزيمات وافرازها للوسط الموجودة فيه ويمكن صناعياً تركيز هذه الانزيمات وتنقيتها من مزارع الفطريـات مثل Aspergillus و Penicillium و Mucor و Rhizopus ومن هذه الانزيمـات هي Invertase و Protease و Amylase و Pectinase.

- Amylase يستخدم في هدم النشـا الى Dextrin وسكريات ويستخدم في تحضـير المواد اللاصقة وفي تنقية عصـارات الفواكه وفي المواد الصيدلانية .
- Invertase يسـتخدم في هدم سـكر القصـب Sucrose الى سـكر العنب وسـكر الفواكه ويسـتخدم في صـناعة الحلوى وانتاج الشيرة التي لا يتبلور فيها سكر القصب.
- Protease يستخدم في تحليل البروتينات وتستخدم في زيادة طراوة جلود الحيوانات وفي صناعة الفراء.
- Pectinase يستخدم في تعطين الكتان لصـناعة الانسـجة الكتانية وفي تصـفية عصـارات الفواكه حيث يقوم هذا الانزيم بالتحلل المائي للبكتينات.

انتاج البوتانول Production of Butanol

تسـتخدم انواع معينة من Clostridium في انتاج الاسـيتون والبيوتانول وهناك انواع متعددة من البكتريا تسـتطيع تخمر السـكريات الى CO_2 و H وحامض البيوتيريك وحامض الخليك الا انه قسـماً معيناً تسـتمر في التفاعل محولة حامض الخليك الى كحول الاثيلي وحامض البيوتريك الى الاسـيتون مثل بكتريا Cl. acetoblicum اضـافة الى انتاج مواد اخرى ذات فوائد واسـتعمالات في صـناعة الاصـباغ والادوية.

انتاج المضادات الحياتية

اكتشـف العالم فليمنج 1929 البنسـلين وهو اول مضـاد حيوي والذي فتح الابواب للبحث عن مضـادات حياتية اخرى حيث اكتشـف العالم Salmon Waxman المضاد الثاني الستربتومايسين.

تنتج الفطريات والاكتبومايسيتان حوالي 1000 مضاد حيوي ومنها 50 مضاد حيوي ينتج صناعياً يستخدم في الطب البشري.

ان المضادات الحيوية تختلف فيما بينها اختلافاً كبيرة ولكن معظمها تعتبر مركبات عضوية ذات اوزان جزيئية واطئة وبالرغم من انتاجها مختبرياً الا ان انتاجها بايولوجي يعتبر ارخص بكثير ما عدا الكلورامفينكول الذي يصنع الان كيمياوياً.

- تعد المضـادات الحياتية مواد ايضـية مكروبية وهي لاتمثل نواتج ايضـية نهائية بل هي نواتج ثانوية تظهر عندما تتوقف عملية التصـــنيع الحيوي وتوقف النمو. ويبدأ الميكروب بتصـــنيع هذه المواد عندما تصـــل المزرعة الميكروبية المرحلة المســـتقلة Stationary phase.

انتاج الخل

كثيراً ما يحدث تحمض في الشـراب والبيرة عند تعرضـها للهواء لفترة طويلة والسـبب الرئيس في هذا التحمض يعود الى اكسـدة الكحول الموجود في هذه المواد الى حامض الخليك بوجود البكتريا الهوائية الخاصـة بهذا النوع من التأكسـد. ان الطرق المتعارف عليها في معظم بلدان العالم تملأ برميل او خزانات خشبية بالشراب او النبيذ حيث تبدأ بكتريا الخل بالنمو على شكل غشاء جلاتيني رقيق على سطح السائل. ولكي يتأكسد جميع الكحول الاثيلي نحتاج الى عدة اسابيع لان الاكسدة تتحدد بمعدل انتشار الهواء داخل السائل.

- تمتاز هذه الطريقة بالبطئ وغير كفوءة الا نوعية الخل عالية النوعية.

تم تصـميم طرق تسـهل من عملية تعجيل الاكسدة وذلك بتحسين التهوية والسيطرة على درجة الحرارة وذلك بملئ خزانات بنشـارة الخشب يدور حولها النبيذ ويضخ في السائل من الاعلى اما الهواء فيضخ بالاتجاه المعاكس لتيار السائل وتنمو بكتريا الخل على شكل غشـاء رقيق على نشـارة الخشب وبذلك يتعرض السـائل الى مسـاحة واسـعة جداً من النشارة المزروعة بالبكتريا وحالما يتكون العدد الملائم من البكتريا على النشـارة فان وجبات الخل الاخرى تنتج بوقت قصير حيث ان المحاليل التي تحتوي على 10% من الكحول الاثيلي تتحول الى خل خلال اربعة او خمسة ايام ويمكن توضيح ذلك بالتفاعلات الكيمياوي

$$CH_3CH_2O + 1/2\ O_2 \longrightarrow CH_3C_H + H_2O$$

$$CH_3CHO + 1/2\ O_2 \longrightarrow CH_3COO\ H$$

- ان الاكسدة السريعة للكحول ترفع من درجة حرارة الخليط وبذلك فان وجو وسائل تبريد يعد من الضروريات.

انتاج حامض الستريك Citric Acid Production

يستخدم هذا الحامض في الأغذية المعلبة والاطعمة وصناعة الخبز والأصباغ ويحضر من تحويل السكر الى حامض الستريك باستخدام الفطريات ومنها Aspergillus niger (وهو اكثر الانواع استعمالاً) اذ يتم تحضـير المادة السـكرية مثل المولاس مع مواد ناتروجينية لا عظوية واملاح اخرى لا عضـوية لتشـكيل الوسـط الغذائي المناسـب لنمو الكائن المجهري ويعبأ هذا الوسـط في اواني مسـطحة بعد تعقيمه وتزرع فيه او يلقح بالسبورات المناسبة من الفطر وتحتاج هذه العملية الى تهوية لذا فان وجود الاواني سوف يوفر مساحة مسطحة كافية للاوكسجين.

العرهون Mushroom

ما زالت بعض المراجع العلمية يعد عملية انتاج العرهون ضمن الانتاج النباتي الا ان الفطريات تعد من ضمن الاحياء المجهرية وقد لاقت بعض الانواع اهتماماً تجارياً كبيراً وغذائياً خاصـة النوع Agaricus bisporus والذي يسـمى عش الغراب او العرهون ينتج هذا الفطر

بكميات هائلة لكونه مادة غذائية مرغوب فيها. هناك نوع منتشر في الدول الشرقية هو Shittake واسمه العلمي *Lentinus edodes* حيث ينمى على الاخشاب والتبن.

والنوع الثالث اقل انتشاراً هو Morel Muhroom واسمه *Morrhella hortensis* يحضر العرهون من تحضير اللقاح وذلك بتنمية السبورات في اطباق فيها وسط ملائم للنمو مثل Potato dextrose yeast extract حيث تحضن الاطباق عند درجة 25م الى ان تغطى المابسيليا ثم ينقل اللقاح الى وسط خاص ويحفظ كلقاح تجاري Commercial spawn اما الفرشة الزراعية Compost فتحضر من مواد عضوية غير تامة التحلل اساسها التبن وروث الخيل مع بعض المدعمات الغذائية تعبأ الفرشة في صناديق وتعرض لبخار درجة حرارته 45م حيث يستمر التحلل بفعل الميكروبات المحبة للحرارة ثم ترفع الحرارة الى 60م لمدة 12 ساعة لتعقيم الفرشة الزراعية وتحضن الصناديق في غرفة مظلمة مع تهوية جيدة ودرجة حرارة 30-40 م ورطوبة 90% مدة اسبوعين عند نمو اللقاح تغطى سطوح الصناديق بفرشة جديدة من التربة لكي تتكون الاجسام الثمرية التي تقطف بعد 5-6 اسابيع ان اهم شيء في عملية انتاج العرهون هو السيطرة الصحية الدقيقة لمنع نمو فطريات سامة معه.

صناعة الالبان

لتصنيع الالبان المتخمرة والاجبان والكريمات والزبدة نستخدم بادئات بكتيرية Dairy starters يختلف محتواها من المكروبات حسب نوع وصفات المادة المنتجة ففي انتاج الالبان المتخمرة Fermented milks يستخدم بادئ يحتوي على *Streptococcus thermephilus* و*lactobacillus* وحسب الاقطار ونوع اللبن المنتج من حيث خواصه وحموضته ولزوجته ونكهته اذ في بعض الاحيان تضاف *Saccharomyces lactis* لانتاج لبن ذو محتوى كحولي. اما صناعة القشطة تستخدم بكتريا تنتج مواد عطرية كمادة Diacetyl مثل بكتريا *Leuconostoc dextranicum* اضافة الى. *Strept thermophilus* اما في صناعة الاجبان فنستخدم الاحياء المجهرية على نطاق واسع وقد استخدمت المنفحة المايكروبية Microbial rennin بدلاً من المنفحة المنتجة من معدة العجول في تصنيع الاجبان . ونستخدم البكتريا والفطريات في تحلل الجزء البروتيني ودهون الجبن وتكوين مواد نكهة وتغير قوامه فمثلاً استخدام بكتريا Leuconostic و Pediococcus و Diacetilactis لانتاج الجبن الانكليزي Cheddar اما الجبن السويسري Swiss cheese تستخدم بكتريا Propionibacterium لانتاج ةحامض البروبيونيك لاعطاء نكهة ويعد مادة حافظة والجبن الفرنسي French cheese يستخدم عفن *Penisillium roqueforite* للتنضيج واعطاء لون ازرق والعفن *Pen. camember* للتنضيج واعطاء لون رصاصي.

الاحياء المجهرية في الغذاء Microbiology of Food

ان الانسـان في المجتمعات المتحضـرة يتضـمن مواد قابلة لتلف عن طريق نمو الاحياء الدقيقة مثل البكتريا والخمائر او التعفنات ان هذه الاحياء تمتلك خضـماً واسـعاً من الفعاليات الايضـية وبالتالي فهي تؤثر في الغذاء بطرق مختلفة. والاحياء التي تلوث الاطعمة قد تكون احياء متعايشـة فتغير الاطعمة كيمياوياً جاعلة اياها غير صـالحة للاسـتهلاك البشـري. او قد تكون الاحياء مرضـية تؤدي الى امراض خطيرةً عندما تؤكل الاطعمة الملوثة بها.

حفظ الاطعمة:

- يعود ابتكار الثلاجة وعمليات التعليب الى القرن التاسع عشر والعشرين.
- حفظ المصريون والرومانيون الاغذية بالتمليح والتجفيف والتدخين.
- استخدام اول مرة في حفظ الاغذية عن طريق دفن الاطعمة على ساحل البحر حيث الماء الغني بالاملاح.
- استخدام الهنود الامريكيون شرائح اللحم التي توضع في اعلى مواقد النار.

طرق التعقيم:

1- االتعامل المعقم مع الاطعمة.
2- الحرارة وتشمل الغليان والبخار تحت حفظ والبسترة.
3- درجات الحرارة الواطئة وتشمل التبريد والتجميد.
4- التجفيف.
5- الضغط التنافذي 1- بواسطة السكر المركز و 2- بواسطة الملح المركز.
6- المواد الكيمياوية وتشمل الحوامض العضوية ومواد تتكون اثناء التدخين والمضادات الحيوية.
7- التشعيع ويشمل الاشعة فوق البنفسجية والاشعة المؤينة.

الاسس المتعددة في جميع هذه الطرق No Fixiy:

1- منع وازالة التلوث.
2- منع نمو الاحياء الدقيقة وتفاعلاتها الايضية (Micro bistatic).
3- قتل الاحياء الدقيقة Microbicidal Action.

الحفظ بواسطة الحرارة Preservation heat

- تعد درجات الحرارة العالية اكثر الطرق اماناً.
- تستخدم الحرارة العالية لتتحطيم الاحياء الموجودة في المنتجات.
- يعد البخار المضغوط من اكثر الطرق فعالية حيث تقتل الاحياء الخضرية والاسبورية.
- حفظ الاغذية بالحرارة يتطلب معرفة مدى مقاومة الاسبورات ومعدل انتشار الحرارة في الاغذية مختلفة القوام والكثافة وحجم الاواني التي علبت.
- قتل الاحياء الدقيقة له علاقة بالوقت اللازم للقتل ودرجة الحرارة.

- من اهم الاحياء التي يجب تدميرها Clostridium botulinum التي تعد من اخطر البكتريا لانتاجها سـم قاتل يعد من اقوى السموم.
- تستخدم البسترة لحفظ الحليب وايضاً عصير الفواكه والبسترة لاتقتل جميع الاحياء الدقيقة لذا يجب حفظ الاغذية في درجات حرارة واطئة.
- درجات الحرارة العالية تقتل الخلايا الخضرية ولاتؤثر في السبورات.

حفظ الاغذية في درجات الحرارة الواطئة:Preservations by storage at low temperature

- درجات الحرارة الواطئة والتي تقترب من الصفر المئوي او اقل تعيق النمو والفعاليات الايضية في الاحياء المجهرية.
- تنوع اجهزة التبريد ادت الى تنوع الاطعمة.
- عملية التجميد السريع تحت درجة -32 م° اكثر الطرق كفاءة.
- مهما انخفظت درجات الحرارة فانها لاتؤدي الى قتل او تدمير الاحياء المجهرية.
- ان عدد ونوع الاحياء المجهرية دليل على مدى ودرجات تلوث الانتاج ونظافة مكان الانتاج.
- هناك احياء كثيرة ومن ضمنها انواع من الـ Salmonella ان تقاوم درجات الحرارة الواطئة حتى -17 م °

حفظ الاغذية بواسطة التجفيف Preservation by dehydration

- فعاليات التجفيف ترجع الى تثبيط نمو الاحياء الدقيقة وهذا يعني عدم موت الميكروبات.
- يتوقف نمو الكائنات الحية عندما تصل كمية الماء الموجود في بيئاتها الى حد حرج.
- قابلية الارتباط الماء بالمكونات الغذائية بحيث لا يتيسر وجود الماء بشكل حر للكائن الدقيق.
- المزرعة المجففة Lyophilized Culture تتيح للكائن الحي الدقيق العيش لمدة سنين عديدة.

الحفظ بواسطة الضغط التنافذي العالي Preservation by increased osmotic pressure

- يتسرب الماء من الاحياء الدقيقة اذا ماكانت عائمة في محاليل تحتوي على كميات كبيرة من المواد المذابة ويتصلب على الخلايا حينئذ بالخلايا Plasmolysed حيث يتوقف النشاط الايضي.
- الفاعلية المضادة للميكروبات التي تمتلكها الضغوط التنافذي العالي تعود الى حالة الجفاف.
- المرسـبات تحفظ بهذه الطريقة والحليب المكثف لاقحتوائه على تركيز اللاكتوز بتركيز عالي اضـافة الى السـكروز وكذلك المحللات.
- هذه الطريقة تمنع نمو الميكروبات الا انها لا تقتلها.

الحفظ باستخدام المواد الكيمياوية Preservation by chemicals

- اكثر المواد الكيمياوية المسـتخدمة لغرض حفظ الاغذية هي الحوامض Lactic و acetic و Sorbic و Benzoic و Propinic.
- حامض Sorbic و Propinic تمنع نمو العفنات في المعجنات .
- استخدام النترات (NO_3) والنتريت (NO_2^-) في حفظ اللحوم وتمنع هذه الايونات نمو بعض البكتريا اللاهوائية.
- عند استخدام التدخين كطريقة لحفظ اللحوم فان مادة Cresols تخترق مادة اللحم وهي المادة الحافظة.

الحفظ بواسطة الاشعاع Presorvtion by radiation

- تستخدم الاشعة فوق البنفسجية لتقليل من التلوث سطوح بعض الاطعمة.
- تزود مصانع اللحوم بأضوية مشعة قاتلة للميكروبات.
- من الممكن تعقيم الاطعمة المحلية بأعطائها جرعاً مناسبة من الاشعاع وتدعى بعملية التعقيم البارد Cold sterilizations لان درجة الحرارة لا ترتفع اكثر من بضع درجات اثناء عملية التشعيع.
- عملية البسترة الشعاعية Radiation Pasteurization تعني قتل اكثر من 98% وليس 100% وذلك بتسليط جرع شعاعي معين.
- يجب الاخذ بنظر الاعتبار طعم ورائحة ولون ونوع الاطعمة اضافة الى القيمة الغذائية للطعام.

تلف الاطعمة الميكروبي Microbial spoilage of food

ان جميع الاحياء الدقيقة تشـكل مصـدر تلوث الاطعمة اعتماداً على تنوع المواد المكونة للاطعمة وان التغيرات التي تحدثها الميكروبات تشمل تغيرات في مظهر ورائحة ومن الممكن وصف اتجاهات التهديم كما يأتي:

* Protein foods + proteolytic microorg anisms ⟶ Amino acids + amines + Ammonia +Hydrogen sulfide.

⟶ acids + alcohols + * Carbohydratc food + carbohydrate ⟶ Fermentin Microorganisms Gases.

Fatty foods + lipolytic microorganasme ⟶ Fatty acid + glycerol.

الفحص المايكروبايولوجي للاطعمة Microbiological examination of food

ان الفحص المايكروبايولوجي للاطعمة مهم جداً حيث يعكس لنا نوعية المواد الخام للمادة الغذائية والظروف الصـحية اضـافة الى طريقة الحفظ المستخدمة وتعتمد طريقة فحص الاطعمة مايكروبايولجيا على نقطتين مهمتين اولهما.

1- الفحص المجهري .

2- الطرق الزراعي وهنا نسـتخدم الاوسـاط الغذائية الانتخابية Selective media والاوسـاط التغريقية Differential media لعزل وعد انواع معينة من الاحياء الدقيقة ويعتمد الفحص على نوع البكتريا فاذا كان الفحص عن بكتريا *Clostiridium botulinum* فانه يختلف عن الفحص لبكتريا Coliform.

* تحدث بعض الكيكروات عدة تغيرات في الاغذية تشمل ازالة الوان الاطعمة نتيجة انتاج صبغات معينة وقد تتكون مواد مخاطية Slime او تصنع بعض الميكروبات مواد متعددة السكاكر Poly saccharide.

يوجد ثلاث انواع مهمة للفساد الميكروبي:

1- الفساد الحامضي Flat food spoilage.
2- الغشاء المتسبب عن الاحياء اللاهوائية المحبة للحرارة Thermopile anaerobe.
3- التعفن Putrifaction.