

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 لا تستطيع 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 والتركيبية 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 :

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

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 لا تستطيع 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 ظهور النباتات. ويشكل البناء الضوئي من قبل الاحياء المجهرية (متضمنة 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 والتعفن decomposition حيث تتضمن عملية التحلل تكسر المواد الميتة والفضلات الى مركبات بسيطة والعودة بها الى دورة الحياة الطبيعية مما يجعلها مهمة للحفاظ على بيئة الهواء والترربة والماء ، تقوم الاحياء المجهرية بعملية تدوير المغذيات nutrient recycling . وتستخدم الاحياء المجهرية في

معالجة المشاكل البيئية والزراعية والطبية ومنها: في مجال التكنولوجيا 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 البيولوجية **Bioremediation** وهي استخدام المايكروبات للتخلص من الملوثات والفضلات في الطبيعة. وتؤثر المكروبات على صحة الانسان حيث يوجد ما يقارب 2000 مايكروب يسبب الامراض ، مما يساهم في نسبة المخاطر للكائنات الحية المتقدمة.

نشوء الاحياء المجهرية

يرجع نشوء البكتيريا 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).

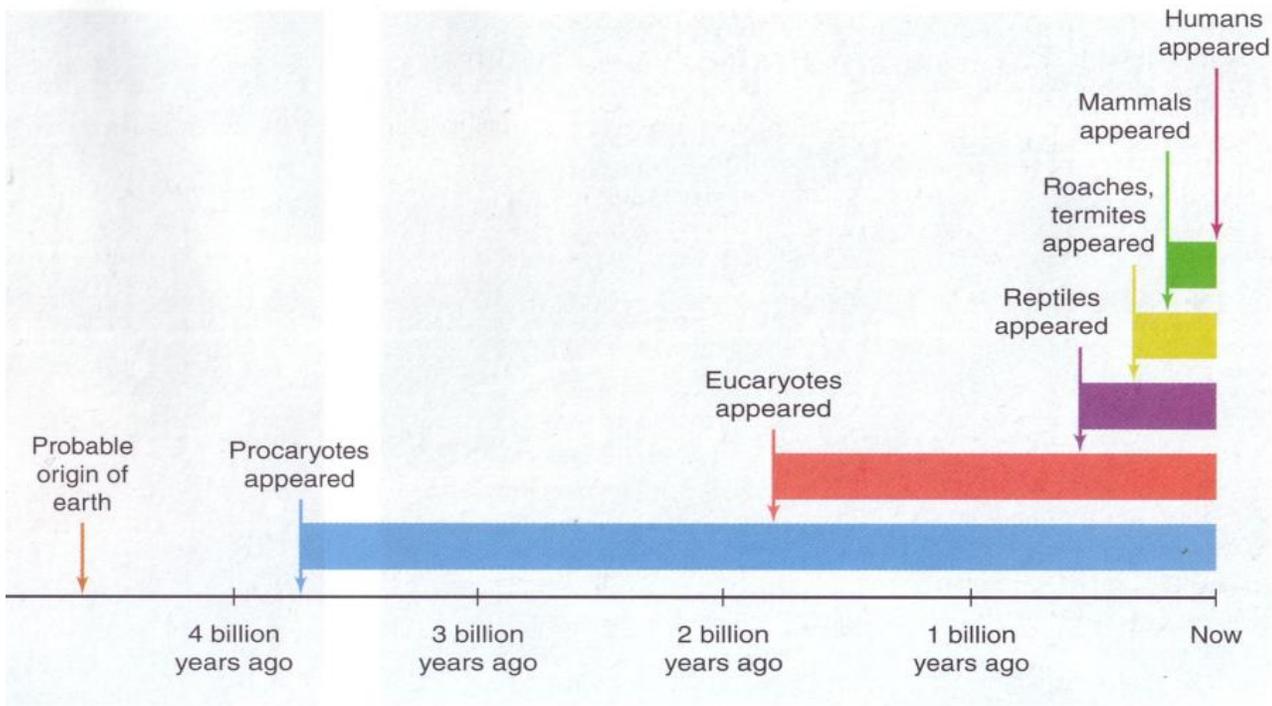
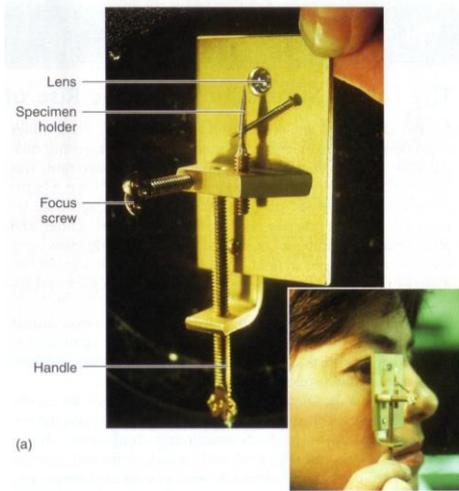


Fig. 1 Evolutionary timeline. The first bacteria appeared approximately 3.5 billion years ago. They were the only form of life for half of the earth's history

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 Galileo 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 1675 اذ 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 ليفينهوك بين الـ 50 الى 300 مرة لذلك يعتبر مجهر ليفينهوك اكثر تطورا مما سبقه الآخرون. يعتبر العالم الهولندي Anton van Leeuwenhoek المكتشف الاول لعالم الاحياء المجهرية وخاصة البكتريا لذا يعتبر الاب 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.



(a)



Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723)

Leeuwenhoek's Microscope

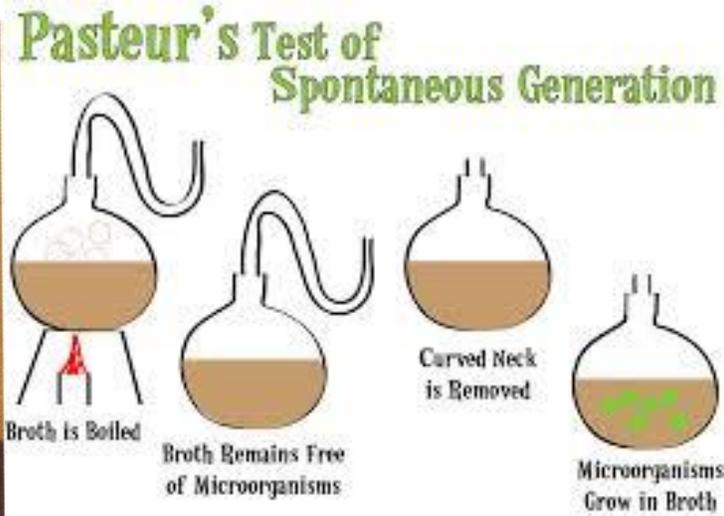
اصل الحياة والنظريات الخاصة باصل الحياة

لقد كان الاعتقاد السائد ان الكائنات الحية تنشأ من اصل غير حي وهذا ما يعرف بالنشوء الذاتي spontaneous generation وحسب هذا الاعتقاد تنشأ الضفادع والفران والنحل وغيرها من الحيوانات من الطين والجثث المتفسخة وماء المطر او الضباب. واعتقد فريق اخر من العلماء في تلك الحقبة من الزمن بان الاحياء الراقية من نبات او حيوان لاتتوالد الا من كائنات حية تشبه ابويها.

ساهم عدد من العلماء في دحض نظرية النشوء الذاتي، ومنها تجارب الغليان التي اجراها العالم لويس باستور، بغلي المرق المغذي في وعاء ذو عنق ضيق لقتل كل اشكال الحياة ثم اغلقه 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 مضرب بعد ان كان رانقا 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 بإمكان المزرعة البكتيرية المضغفة من ان تعمل كلقاح اي انها تمنح الانسان مناعة ضد اي اصابة لاحقة بالسلالات السامة لنفس النوع البكتيري.
- 5- طور علاج لفايروس داء الكلب **rabies**.

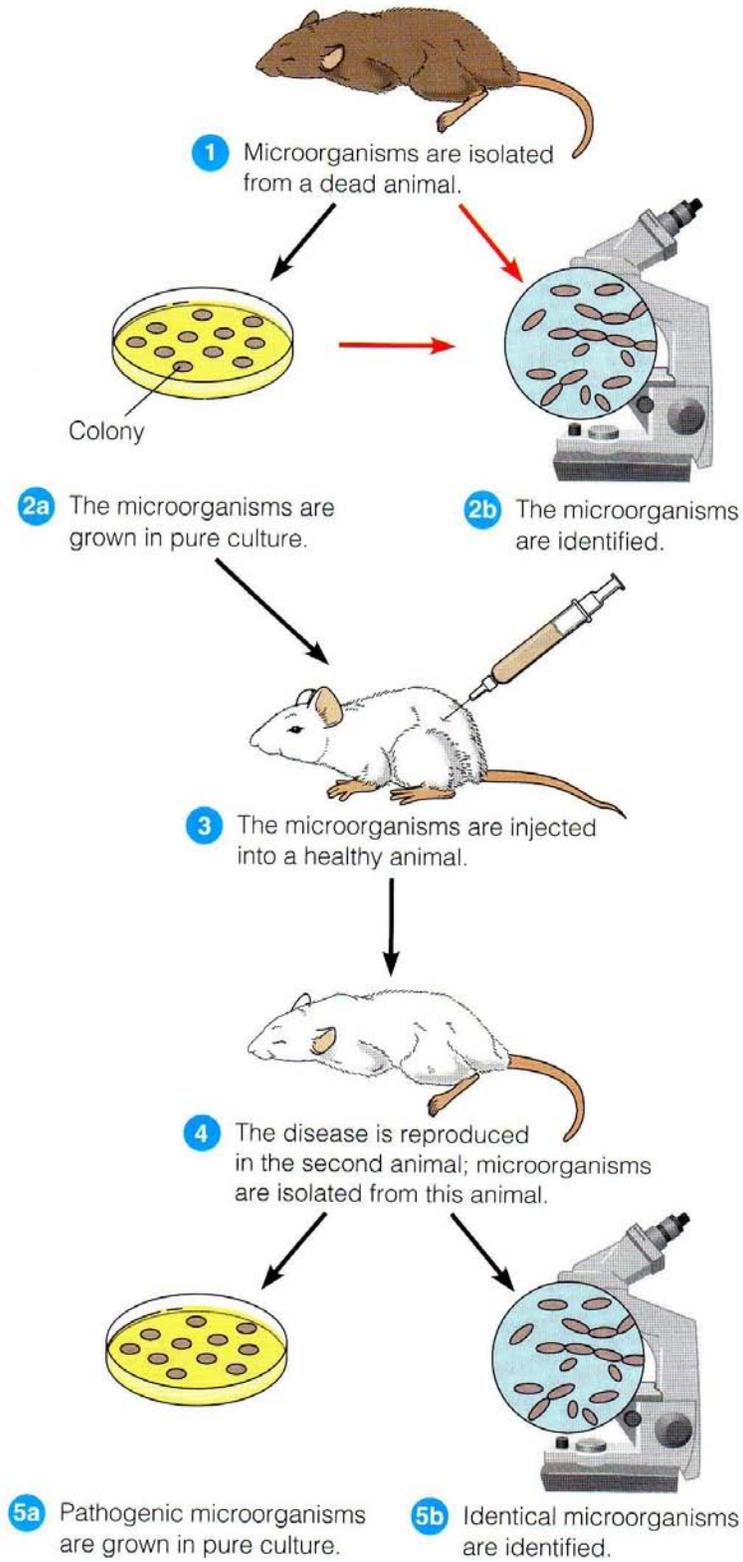
6- ان عمليات الغليان لمدة ساعة واحدة تكفي لقتل الاحياء المجهرية (الخضرية). الا ان هذا لم يكن صحيح اذ ان مؤيدي النظرية الذاتية طعنوا في دقة تجارب لويس (في الواقع ان الاشكال الخضرية للاحياء المجهرية تقتل خلال ساعة من الغليان الا ان السبورات لا تقتل).

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 الابواع 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 الالمانى **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 الحيوانية 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 اخر غير 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:

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

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

Superkingdom Procaryotes

Kindom Monera

Superkingdom Eucaryotes

Kindom Animalia

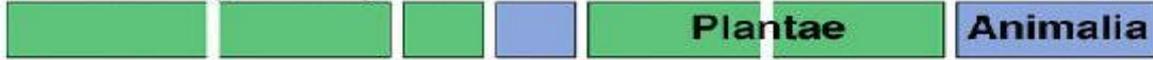
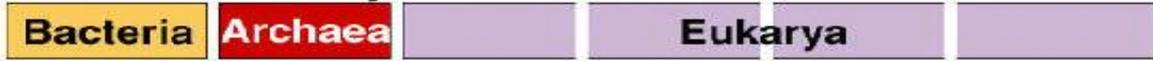
Kindom Plantae

Kindom Protista

Kindom Fungi

التصنيف الاخير المعتمد حالياً 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- Eucarya	كل انواع حقيقية النواة

A two-kingdom system—Linnaeus**A five-kingdom system—Whittaker****A six-kingdom system—Woese****A three-domain system—Woese**

شكل يوضح التصنيف للاحياء

الاسس المعتمدة في التصنيف:

1- **الفحص المجهرى 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 السيورات 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 الكيميوحيوية 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 ايسوية مختلفة منها انتاج Acetic acid و Butyric acid و Isopropanol و Butanol و Aceton من قبل الانواع التابعة لجنس *Clostridium* . انتاج حامض Propionic من قبل جنس *Propionibacterium* خلال عملية التخمر. انتاج انزيم 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 *Streptococcus pyogens*. (التحلل الكامل لكريات الدم الحمراء في الوسط الزرعى).

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

5 **عملية تحديد النمط المصلي Serotyping** اذ تساعد في تمييز نوع واحد عن الاخر اضافة الى تمييز السلالات ضمن النوع نفسه من خلال اعطاء صورة واضحة عن الفروقات بين التراكيب السطحية للعزلات البكتيرية وذلك من خلال وجود او غياب 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 والاسواط 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 لعلاقتها اذ كلما تباعد تتابع قاعدة DNA كلما تباعدت الكائنات بتطورها. ويعتمد هذا التصنيف على :

- **نسبة القاعدة الناتروجينية الكوانين والسايوسين G-C base composition** يتغير المقدار النسبي لزوج القواعد كل من G+C مقارنتا بالقاعدة A+T بصورة 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 subtilis* يحتوي على 40% GC وهذا يعني ان كلا الكائنين يحتوي على 50 و 60% من AT على التوالي. ان النسبة المئوية للـ G + C في البكتريا تتذبذب ما بين 21 – 75% .
- **DNA analysis using genetic probes** يتم تحديد النوع البكتيري species من خلال المواد الوراثية باستخدام قطع من الـ DNA و RNA بما يعرف بالـ probes وهو متمم لقطعة محددة من DNA لميكروب معين. عملية ارتباط probe في المادة الوراثية للبكتريا يحدد صفات التقارب على اساس المكون الوراثي. ويعتمد هذا النوع في تشخيص البكتريا في العينات السريرية والاسواط الزرعية.
- **Nucleic acid sequencing and rRNA analysis** احد علاقات التطور المعتمدة هي تسلسل القواعد الناتروجينية الـ RNA الرايبوسومي (rRNA). الرايبوسومات هي وحدة بناء البروتينات في جميع انواع الخلايا، ولذلك يبقى محتوى الاحماض النووية ثابت لفترة طويلة. ولهذا يعتمد تسلسل القواعد الناتروجينية في RNA الرايبوسومي مقياس لدرجة التشابه 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 Prokaryotes	البكتريا، الطحالب الخضراء المزرقه	منطقة نووية ، كروموسوم واحد ، جدار خلوي معقد ، سوط ، الرايبوسوم 70S الانقسام عن طريق الانتشار الثنائي ، التبرعم
-حقيقية النواة Eucaryotes	الطحالب، الابدائيات، الفطريات، النباتات، الحيوانات الراقية	تحاط النواة بغشاء ، تمتلك اكثر من كروموسوم ، البلاستيدات الخضراء ، المايوتكوندريا ، اسواط معقدة ، الجدار بسيط التركيب ، جهاز كولجي ، الرايبوسوم 80S في السايوتوبلازم، 70S في المايوتكوندريا ، lysosomes ، الشبكة الاندوبلازمية ، الانقسام اختزالي.

تسمية الكائنات الحية:

لقد اعطي لكل كائن حي اسم معين وقد وضعت هذه التسمية للاحياء في القرن الثامن عشر حيث قام العالم النباتي السويدي ليناوس linnaeus عام (1778 – 1707) بأعطاء اسمين لاتينيين اولهما الجنس Genus والآخر النوع Species ويطلق على هذه التسمية بالتسمية الثنائية Binomial System وقد اعطيت كافة الاحياء هذه التسمية وتمتاز بكتابة الحرف الاول من الجنس حرفاً كبيراً والحرف 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) لعام 1984 لمصنف Bergey's على صبغة كرام والتفاعلات الحيوية وهذا يعرف بطرق التصنيف المظهرية او الظاهرية phenotypic or phonetic ، ويتطور الطرق المعتمدة في التصنيف صدرت النسخة الثانية لمصنف بريكز (2nd edition) لعام 2004 باعتماده على المعلومات الوراثية للمجاميع البكتيرية ويسمى phylogenetic .

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****IA. 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

Domain Bacteria**Volume 2. The Proteobacteria**

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

IB. 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

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, Bacteroidetes, and Fusobacteria

Phylum Planctomycetes
Phylum Chlamydiae
Phylum Spirochaetes
Phylum Fibrobacteres
Phylum Acidobacteria
Phylum Bacteroidetes
Phylum Fusobacteria
Phylum Verrucomicrobia
Phylum Dictyoglomus

Domain Archaea
Domain Bacteria

الجزء الاول (volume 1) يشمل:

- Archaea تضم اقدم مجاميع الخلايا التي ظهرت على وجه الارض قبل 4 بليون سنة. تعيش في البيئات المتطرفة الحارة والمالحة والحمضية ، 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 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- الحلزونات 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

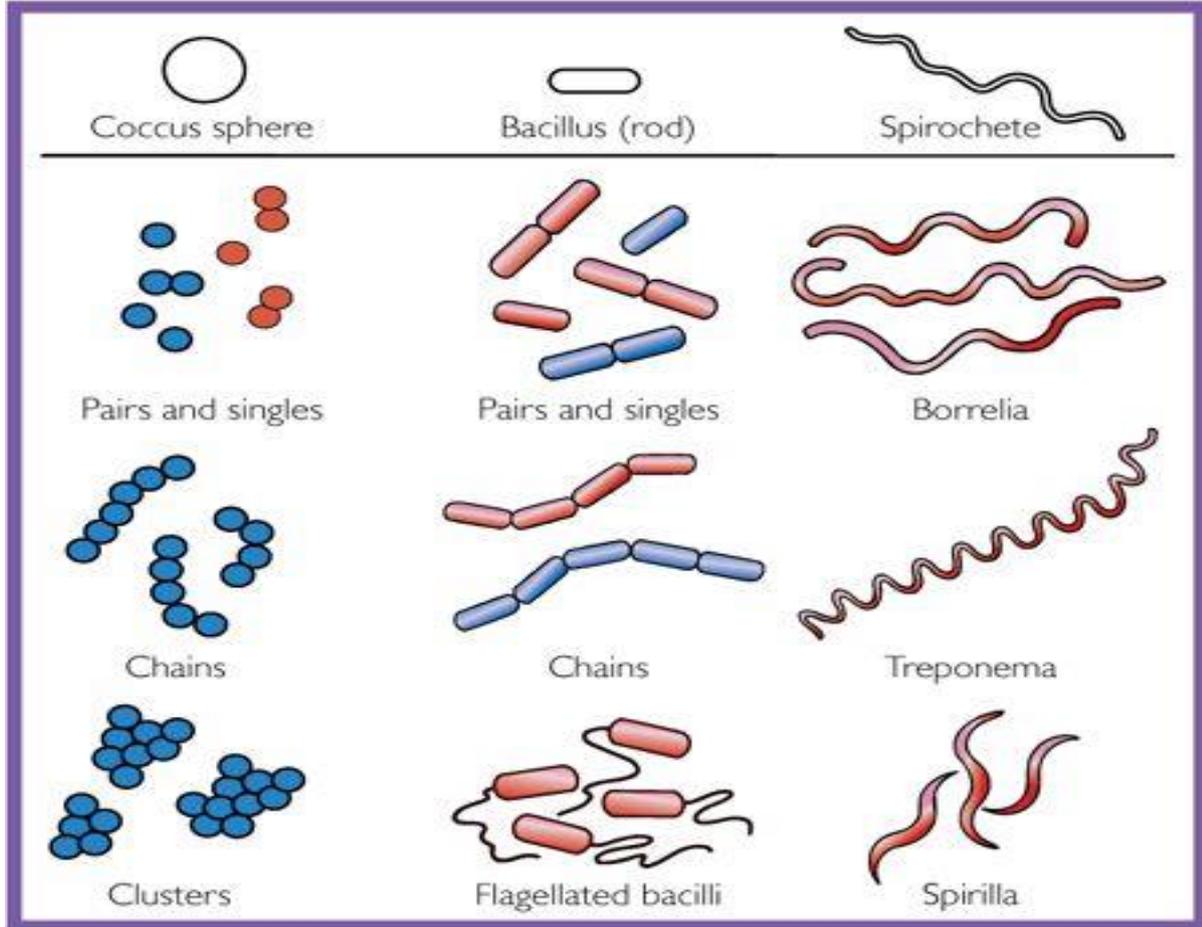
- 1- الخيطية المتفرعة مثل *Actinomycetes*
- 2- المنتجة للسبورات *Streptomycetes* (من المجاميع المنتجة للمضادات الحياتية)
- 3- الجنس *Micrococcus ,Mycobacterium , Corynebacterium* .

الجزء الخامس (volume5) يشمل:

9 عوائل متباينة فيما بينها، جميعها سالبة لصبغة كرام وتضم بكتريا مهمة من الناحية الطبية مثل: *Chlamydia* (طفيليات اجبارية)، الحلزونات *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 فعاليتها 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**, **Peptostreptococcus** (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) ، الغنغرينا ، الكزاز ، التسمم الغذائي ،

ج) عصيات غير مكونة للسبورات وتشمل :

Family Lactobacillaceae: **Lactobacillus**, **Listeria** (milk-borne disease), الأمراض 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

، السعال الديكي **Bordetella** (whooping cough) ، حمى مالطا الحمى المتوجه **Brucella** (undulant fever)

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) , **Klebsiella**, **Enterobacter**, **Serratia**, **Protus**, **Yersinia** (one species causes plague) الطاعون .

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

Miscellaneous genera: **Chromobacterium**, **Flavobacterium**, **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) الحلزونية والبكتريا المنحنية

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

obligate intracellular bacteria بكتريا متطفلة داخل خلوية اجبارية

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).

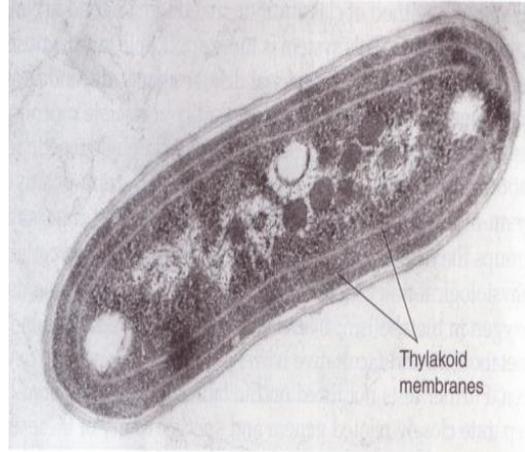
مجاميع البكتريا حرة المعيشة غير المرضية:

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)

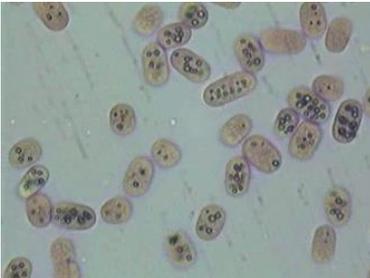
سابقا كانت تعرف بالطحالب الخضراء المزرققة ولعدة سنوات تصنف ضمن حقيقية النواة. لكن الدراسات اللاحقة اثبتت امتلاكها الى جدار خلوي وتصطبغ بالصبغة السالبة لصبغة كرام وتمتلك عضيات مشابه للبدائيات prokaryotic . من صفاتها:

- (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 المزرققة باحتوائها على انواع مختلفة من الكلوروفيل يدعى bacteriochlorophyll ولا تنتج اوكسجين.
- (ت) تعيش في العيون الكبريتية وبحيرات المياه العذبة.
- (ث) تتراوح الوانها بين البني ، الوردي ، البنفسجي ، الازرق والبرتقالي.
- (ج) تستهلك مركبات الكبريت (S, H₂S) اثناء فعاليتها الايضية.



4- البكتريا المتزحلقة والثرمية *Gliding , Fruiting Bacteria*

- أ) البكتريا المتزحلقة تشمل البكتريا السالبة لصبغة كرام التي تعيش في المياه والترية.
ب) جاءت التسمية من تزحلق عدد من الخلايا على السطوح الرطبة.
ت) تكون اجسام ثمرية عند انتاج السبور، مشابه لتكون السبوريات 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 ولا تسبب المرض وتدعى Normal flora ويطلق على البكتريا المسببة للأمراض بـ non-pathogenic ولكن قد تصبح ممرضات انتهازية Opportunistic pathogens عند انخفاض المناعة والجهاز الدفاعي للجسم.

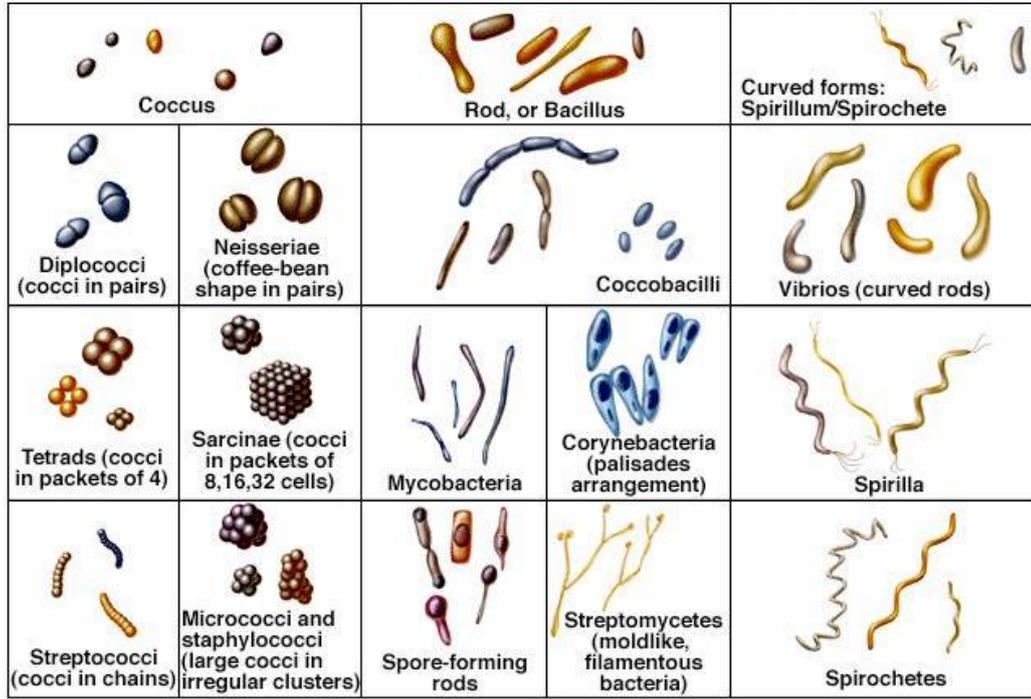
الحجم والشكل الخارجي Size and Morphology :- ان وحدة قياس الابعاد البكتيرية هي المايكروميتر الذي يعادل جزءاً واحداً من الف الف من المتر (10⁻⁶ متر). تتراوح ابعاد البكتريا من 1-6 مايكرون طولاً ومن 1.5 – 2 عرضاً وقد تصل في بعض انواع البكتريا الخيطية والحلزونية الى مئة مايكروميتر طولاً ، على هذا فهي اصغر من خلايا حقيقية النواة ، حيث ان الموجودات التركيبية في الخلية هي التي تحدد حجم هذه الكائنات ، والذي يجعل فعاليتها الحيوية كبيرة حيث تتناسب هذه عكسياً 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 تنصف 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 من الـ Flattened on one side.

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

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 او Comma.

التجمعات Arrangement :- 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 تنقسم 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).

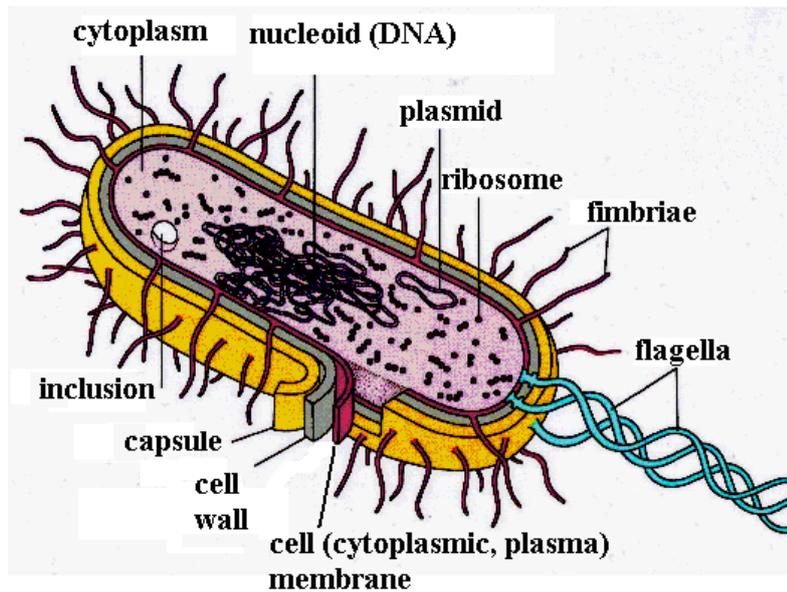


الشكل : رقم (1) يوضح شكل و تجمعات البكتريا

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.

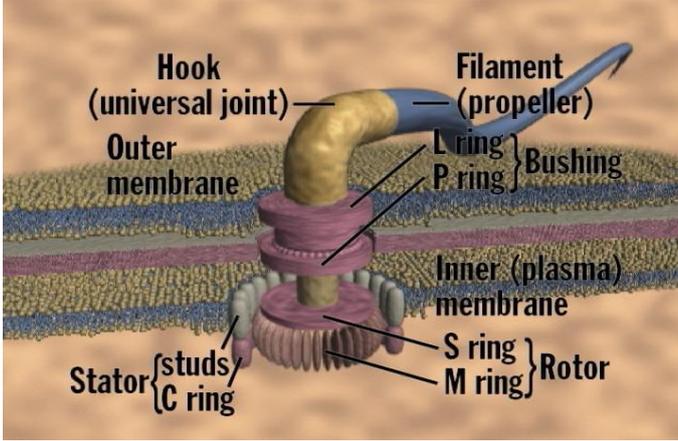
تركيب خلية البكتريا Structure of bacterial cell :-

تحتوي الخلايا البكتيرية على عدد من التراكيب والعضيات قسم منها يقع خارج الخلية والقسم الاخر محاطاً



بغلاف الخلية وهناك تراكيب اخرى تتواجد في انواع من البكتريا دون الاخرى لذا وجود وعدم وجود هذا العضيات يعتبر صفة تصنيفية وقد شخّصت الاجزاء التركيبية للخلية البكتيرية كما يأتي: (شكل رقم 2).

شكل رقم (2) يوضح تركيب الخلايا



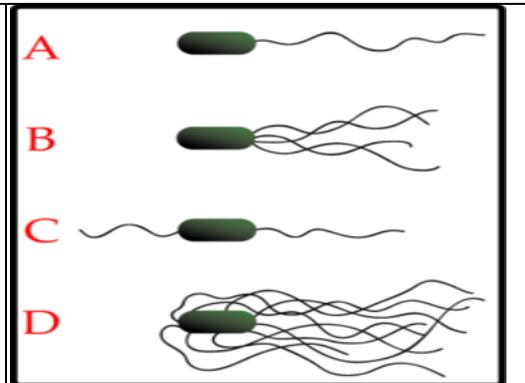
الاسواط Flagella:-

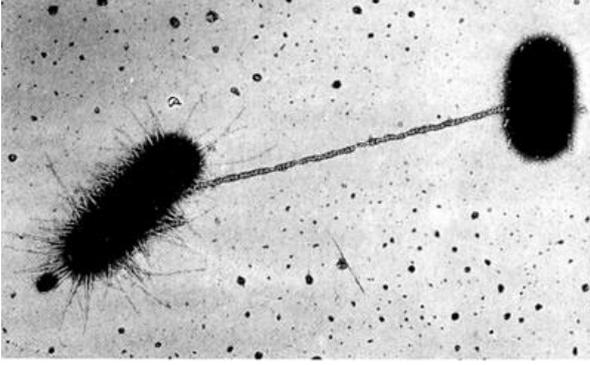
وهي لواحق بشكل خيط قطرها 12-30 نانومتر وتكون واسطة الحركة في البكتريا الحاوية عليها ويكون طولها احيانا اكثر من قطر الخلية ولا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي الا باستعمال طرق تصبيغ خاصة، حيث تعامل الخلايا المثبتة بمادة مثبتة للالوان وهي محلول غروي غير مستقر يترسب على شكل طبقة

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 جداً 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 نانومتر تقريبا والذي يرتبط بدوره بالجسم القاعدي Basal body الذي يوجد في غلاف الخلية. يتركب السوط من بروتينين فلاجيلين Flagellin الذي يكون ذا طبيعة مستضدية ويختلف من نوع لآخر، 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، احدهما تقول بان الوحدات البروتينية التي تكون الاسواط تتقلص وتنسبط منتجة ما يشبه 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 او الالهلاب Pili and Fimbriae :-

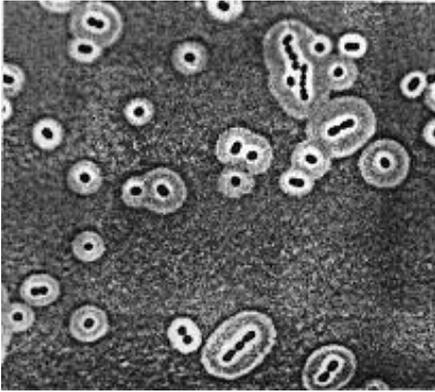
وهي لواحق خيطية مشابه للاسواط الا انها ارفع واقصر طولاً من الاسواط تنتشر على سطح الخلايا خصوصاً في البكتريا السلبية لصبغة كرام طولها 3--3 مايكروميتر وقطرها 5-10 نانوميتر وليس لها علاقة بالحركة، هنالك نوعان من الشعيرات النوع الاول الشعيرات العمومية Fimbriae التي

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 الاخر Specific 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 لعائيات البكتريا Bacteriophages.

تتكون الشعيرات من بروتين يدعى Pilin يصل وزنه الى 7000 دالتون ويتكون من وحدات ثانوية تترتب على شكل حلزوني لتكون خيطاً مفرداً قوياً ذات لب فارغ ، وما دام البروتين هو المادة الرئيسية لذا تعطي الخلية 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 العشاء الساييتوبلازمي وتفرز الى خارج الخلية من خلال ثقب الجدار الخلوي وبذلك تتكون طبقة اضافية خارج الجدار تسمى بالعلبة او المحفظة والتي تكون مسؤولة عن توفير الحماية لخلية البكتريا في كونها تشكل غطاءً واقياً للجفاف وتخزن المواد الغذائية وهي تزيد من



امراضية البكتريا الممرضة لمقاومتها الابتلاع Phagocytosis من قبل خلايا الدم البيضاء. تختلف المحفظة من ناحية التركيب الكيماوي فقد تتكون من الكربوهيدرات المعقدة مثال الدكستران Dextran وحامض هايالورونيك ومن البروتينات ، يتغير سمك المحفظة من جزء من المايكروميتر الى 10 مايكروميتر او اكثر ويكون تركيبها الكيماوي متميزاً لكل نوع من الانواع ، وهي غير مهمة لحياة

البكتريا ويمكن ازلتها بالانزيمات او بالغسل دون ان يؤثر ذلك في حيوية الخلية ، ويرتبط تكوينها ارتباطاً مباشراً بالظروف البيئية المتاحة لذا عندما يكون التركيب الكيماوي 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 الزراعي الصلب تعطي مستعمرات ناعمة لماعة (S-Colonies) في حين الطفرات الفاقدة للمحفظة تعطي مستعمرات خشنة

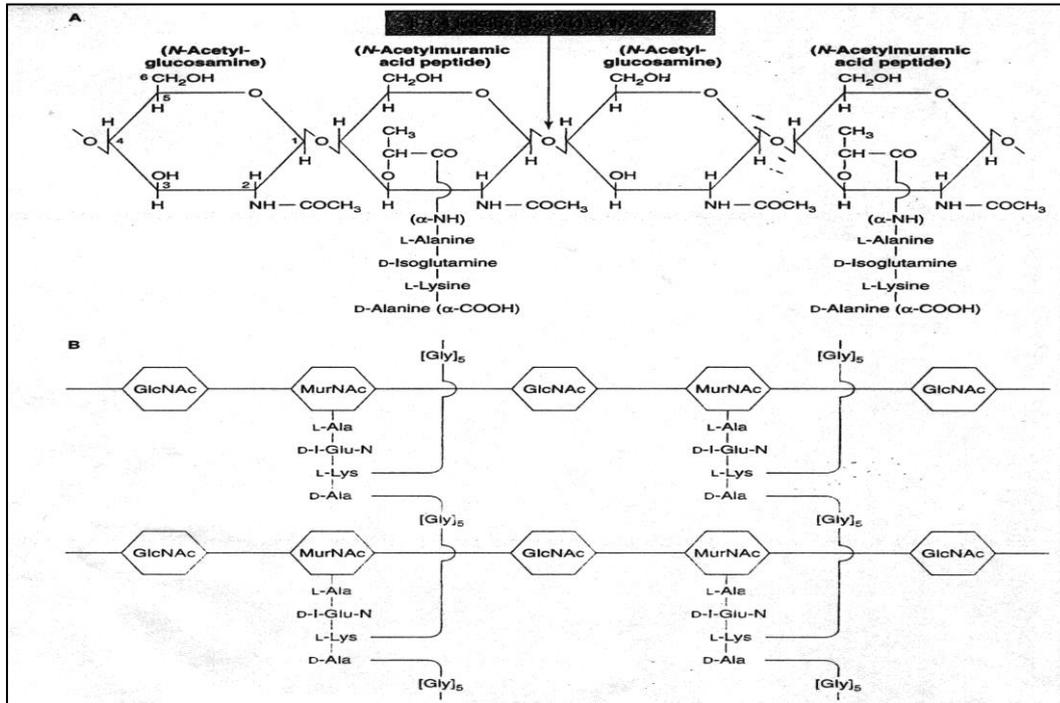
(R- Colonies) لذا فان حدوث هذه الطفرات في بكتريا ممرضة *Streptococcus pneumoniae* فانها تفقد قابليتها على اصابة المضيف. تمتلك البكتريا الحاوية على المحفظة تخصصاً منايعاً اعتماداً على التركيب الكيماوي للمحفظة ويساعد هذا على التفريق مصلياً بين الانواع المتشابهة.

الجدار الخلوي 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 Polymer تدعى الببتيدوكلايكان Peptidoglycan وتوفر هذه المادة الاسناد والشكل للخلية، ويحمي الجدار الخلوي 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، بالإضافة 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 السكريات الامينية هي (N-acetylmuramic acid (AMA و N-acetylglucosamine (AG مرتبطة بالاصرة 1-4 من النوع بيتا وسلاسل جانبية مكونة من مجموعة ببتيديات رباعية متصلة بحامض ن استيل ميوراميك ومجموعة من ببتيديات متشابهة مستعرضة. يكون الهيكل متشابهاً في جميع انواع البكتيريا اما السلاسل الجانبية والمستعرضة فتختلف باختلاف الانواع. تتكون الجسور المستعرضة من اصرة ببتيديية مباشرة مع الاحماض الامينية L-alanine و D-Isoglutamic و L-lysine او Diaminopimelic acid و D-alanine اذ ترتبط بأواصر مستعرضة ب AMA.

شكل(3).



شكل(3) يوضح الوحدات التركيبية لطبيعة الـ Peptidoglycan

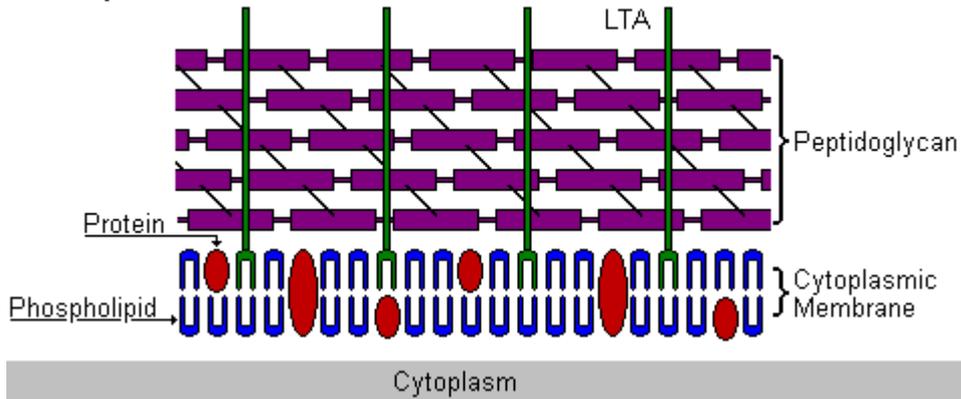
ان مادة الببتيدوكلايكان مجسمة ثلاثية الابعاد ومن هنا تأتي قوتها وهي بذلك لا تعترض دخول الماء والمواد الغذائية مثل المعادن والكلوكوز والاحماض الأمينية والمواد العضوية كذلك الجزيئات الكبيرة نسبياً وبفس الوقت تخرج المواد التالفة من خلال هذا المرمر. وصلابة طبقة الببتيدوكلايكان تعود الى الاواصر المستعرضة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

جدار البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام :-

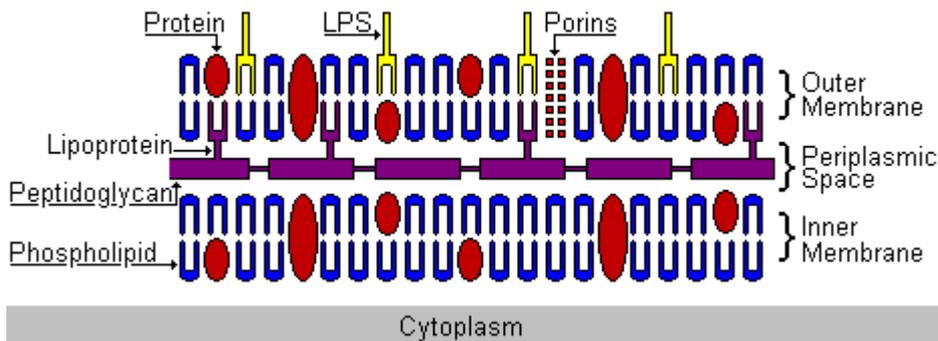
ان جدار الخلايا البكتيرية الموجبة لصبغة كرام يتألف من طبقات متتالية من الببتيدوكلايكان حيث تتصل كل طبقة منها بالتي فوقها والتي تحتها خلال جسور من الاحماض الامينية ويبلغ سمك جدار هذه البكتريا 35-25 nm اي حوالي 20-40% من وزن الخلية ويحتوي 20-80% من مادة peptidoglycon اضافة الى البروتينات والسكريات المتعددة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

اما جدار الخلايا البكتيرية 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 phospholipids 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).

Gram-positive Cell Wall



Gram-negative Cell Wall



شكل (4) يوضح الفرق بين تركيب الجدار والاعلفة 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 وتشبيته 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 لآخر 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 B₁₂ 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- ممتد O-antigen ويطلق عليه المنطقة الاولى ويتكون من سكريات قليلة التعدد oligosaccharide ويكون عدد هذه المستضدات في بكتريا *Salmonella* اكثر من 1000 نوع.

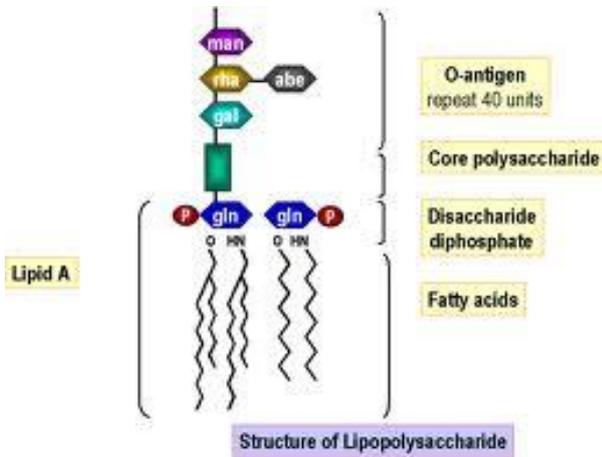
2- المنطقة المركزية Core region ويطلق عليها المنطقة الثانية وهي مكونة من سلاسل سكريات متعددة ترتبط بشكل تساهمي بالطبقة الثالثة وبالإضافة الى وجود السكريات يوجد ايضاً ethanolamine phosphate

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 .

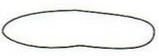
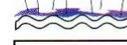
فائدته:

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

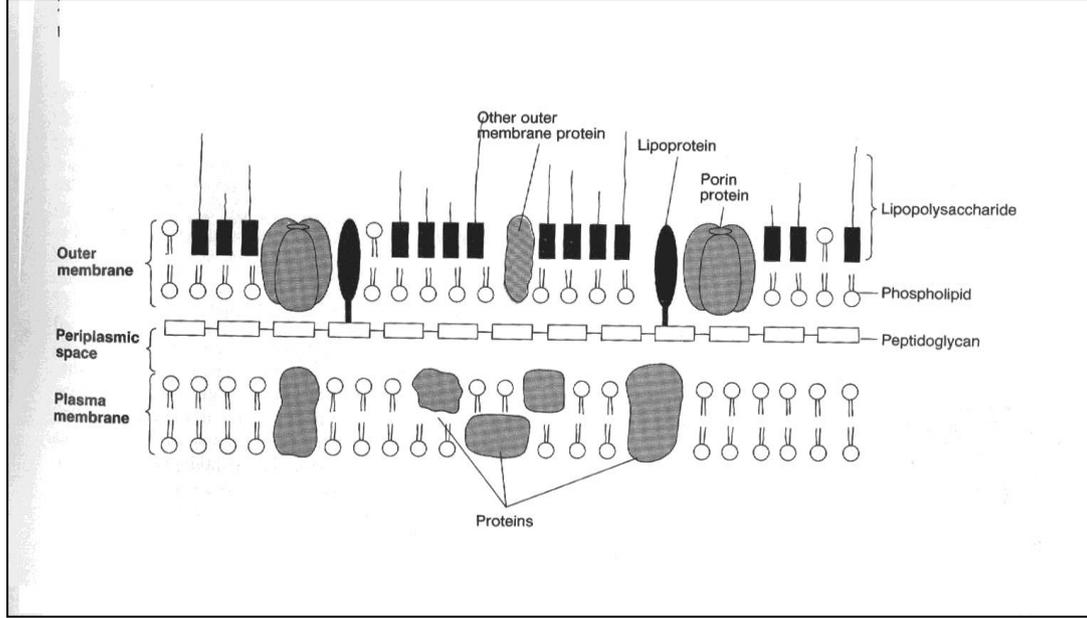


التصبغ: يتم التغلب على صعوبة ملاحظة الكائنات الشفافة والقادرة على الحركة وذلك بقتل الخلايا وتعامل بعدئذ مع صبغة او اكثر ذات الفة خاصة لو احد او اكثر من مكونات الخلوية ونتيجة لاختلاف الشحنات بين جسم الخلية والصبغة (فالخلية البكتيرية غنية بالحامض النووي الذي يحمل مجموعة الفوسفات السالبة الصبغة وهذا يساعد على الارتباط بالصبغات ذات الشحنات الموجبة (والمعروفة بالصبغات القاعدية) التي لها الفة قوية لو احد 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 كيميائي احد ايوناته موجب الاخر سالب مثل كلوريد المثل الازرق). وتعد صبغة كرام (1884) Gram stain التي انشأها الطبيب الدنماركي Dr. Hans Christian Gram قادرة فعلاً على تقسيم البكتريا الى مجموعتين كرام موجب G^+ و كرام سالب G^- حيث حاول تصبغ الانسجة المصابة ببكتريا التي تسبب ذات الرئة Pneumonia باستعمال صبغة البنفسج البلوري crystal violet ووتثبيتها بمحلول Iodine ثم تغسل بـ الكحول الايثيلي 95% او الالسيتون فيتم قصر البكتريا G^- وعدم قصر البكتريا G^+ لقدرتها على الاحتفاظ بالمعقد Crystal violet-iodin وتحفظ باللون Purple البنفسجي ، اما G^- تكون عديمة اللون وعند اضافة صبغة السفرائين الحمراء Safranin تصطبغ البكتريا G^- باللون الأحمر التي تضاف بعد الكحول.

Step	Microscopic Appearance of Cell		Chemical Reaction in Cell Wall (very magnified view)	
	Gram (+)	Gram (-)	Gram (+)	Gram (-)
1. Crystal violet				
2. Gram's iodine				
3. Alcohol				
4. Safranin (red dye)				

الغشاء الساييتوبلازمي Cytoplasmic membrane

ويسمى ايضا الغشاء الخلوي cell membrane. يحتوي الغشاء الساييتوبلازمي على حوالي 60% بروتين و 40% دهون معظمها بشكل دهون مفسفرة phospholipids ويقع تحت الجدار الخلوي مباشرة، وهو لا يحتوي على الستيرويدات 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 الساييتوبلازمي عن بقية التراكيب الخلوية فعند ازالة الجدار الخلوي بوساطة معاملته مع lysozyme سوف تتفجر الـ protoplast وعند وضعه في محلول واطئ الشد تندلع محتويات الغشاء البلازمي (الساييتوبلازمي) للخارج ويبقى الغشاء الساييتوبلازمي على شكل كيس رقيق فارغ ينظف بالماء ثم يعرض الى الطرد المركزي.

وظائف الغشاء البلازمي:

- 1- يحتوي على الانزيمات والجزيئات الحاملة carrier molecules التي تساهم في خلق DNA 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 تنافدياً لا يسمح بمرور المواد ذات وزن جزيئي يزيد عن جزيئة الكليسرين ولهذا فهو يسمح بتكوين ضغط تنافذي داخل الخلية ويحافظ عليها).
- 3- ينظم مرور المواد الغذائية والمنتجات الابضية بين الخلية والمحيط الخارجي.
- 4- السماح بمرور الجزيئات الابضية 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.

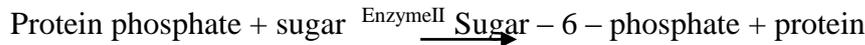
اليات انتقال المواد عبر الغشاء الساييتوبلازمي:

1- النقل المنفعل (السلبى) Passive transport

حيث تتدفق الجزيئات بصورة حرة من خارج الخلية الى داخلها دون انفاق طاقة من قبل الخلية وبمساعدة Specific protein system الموجود 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 الكربون Hexoses عبر الغشاء الساييتوبلازمي 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 بفسفرة السكر السداسي الموجود خارج الغشاء الساييتوبلازمي. (Fig,1, 2, 3)



3- الفراغ الساييتوبلازمي Periplasmic space

هي المنطقة المحصورة بين الجدار الخلوي والغشاء الخلوي وتختلف في طبيعة تركيبها الكيماوي 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 penicillinase و Alkaline phosphatase.
- 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 بـ Protoplast ويمكن ان تحافظ على حيويتها اذا ما حفظت في ضغط تنافذي مناسب. وتمتاز البروتوبلاست بشكلها المكسور دائماً مما 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 مصلى الدم 20% لكي تعادل الضغط التنافذي من داخل الغشاء الساييتوبلازمي. وتمتاز البروتوبلاست بكونها غير متحركة وغير قادرة على الانقسام (الا في حالات

معينة) ولا تكون جدار خلوي وغير معرضة للاصابة بالعائيات. ويمكن تحطيم الجدار الخلوي بمعاملة الخلية بأنزيم **Lysozyme** وهذا انزيم معين يكسر الاواصر الكيماوية (بيتا 1-4) بين الوحدتين الفرعيتين N-acetyl muramic acid و N-acetylglucosamine الموجودان ضمن تركيب طبقة peptidoglycan. تتأثر البكتريا G^+ اكثر من البكتريا G^- لاحتواء الاخيرة على طبقة رقيقة من الـ Peptidoglycan بالاضافة الى وجود طبقات جدارية اخرى مثل outer membrane و مواد دهنية معقدة (عملياً يمكن ازالة Outer membrane بمادة هيدروكسيد الصوديوم 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 بـ **pencilline** الذي يعمل على منع التأصر العرضي في مادة الببتيدوكلايكان في الخلايا النامية او المنقسمة لذلك فالخلايا G^+ اكثر حساسة للبنسلين من G^- .

الجسم الوسطى 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 الكربوهيدرات. وان هذه التراكيب تظهر بشكل واضح وشائع جدا في البكتريا الموجبة لصبغة كرام، اما السالبة للصبغة فتظهر صغيرة و اقل تعقيداً. ان الجسم الوسطي يختفي عند ازالة الجدار الخلوي وتحضير البروتوبلاست وهذا يشير الى ان الغشاء الساييتوبلازمي يتمدد ليحيط بالساييتوبلازم وياخذ معه الجسم الوسطي اثناء عملية التمدد.

وظائف الـ Mesosome :-

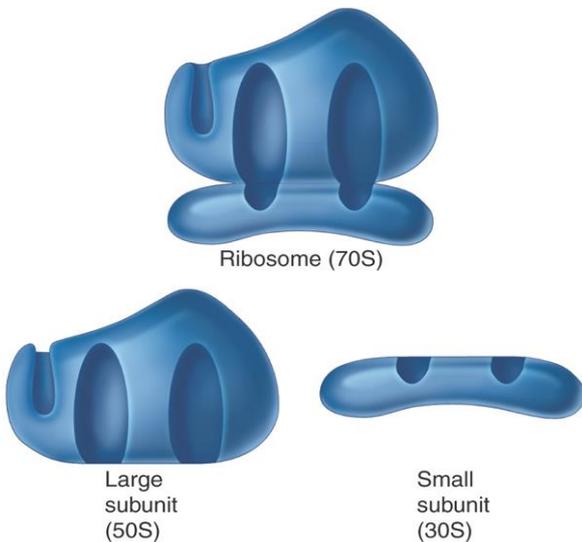
- 1- يزيد من المساحة السطحية للغشاء لذا فقد يزيد قابلية الخلايا على تركيز المواد المغذية.
- 2- يساهم في تكوين الجدار المستعرض في انقسام الخلية البكتيرية.
- 3- يعمل على توزيع المادة النووية على شطري الخلية المنقسمة.
- 4- له علاقة ببعض الفعاليات الحيوية الاخرى مثل تفاعلات الاكسدة والاختزال، تكوين السبورات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

الساييتوبلازم Cytoplasm :-

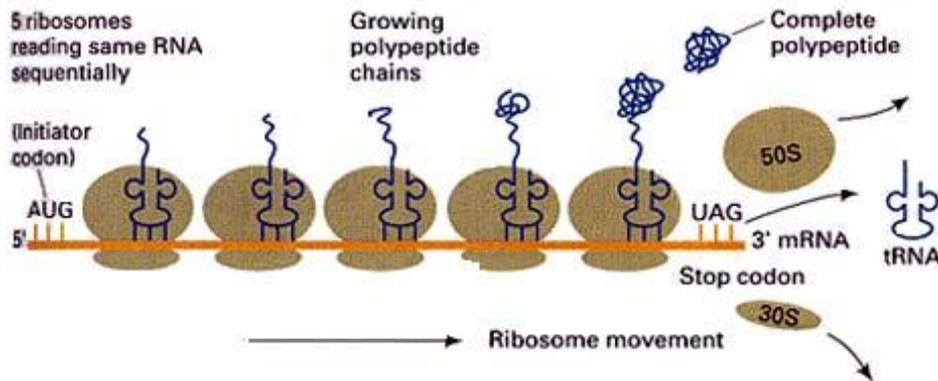
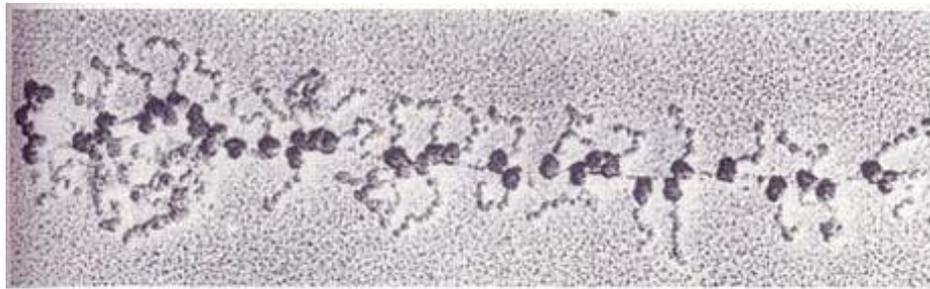
يحتوي الساييتوبلازم على جميع المواد والتراكيب المختلفة الموجودة ضمن الغشاء الساييتوبلازمي اذ يمكن ملاحظة منطقة ساييتوبلازمية حبيبية المظهر والتي تكون غنية بالحامض النووي RNA والمنطقة الثانية كروماتينية او صبغية وتكون غنية بالحامض النووي DNA ، وتكون جميع المواد الموجودة في الساييتوبلازم محاطة او عالقة 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 وبيبتيدات 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 الساييتوبلازمية الدقيقة Cytoplasmic ultra structure

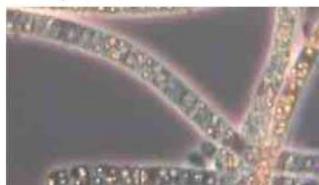
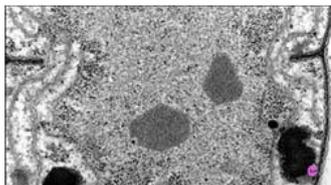
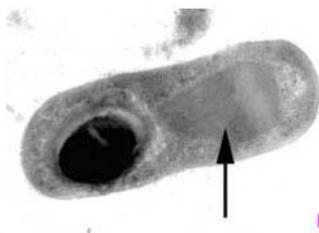
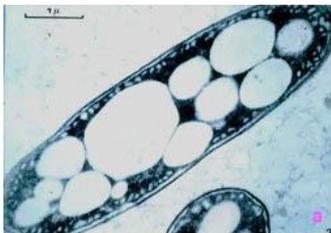
الرايبوسومات Ribosomes :- وهي تراكيب خلوية داخلية اساسية تقوم بتخليق البروتين تنتشر في كافة انحاء الساييتوبلازم وتتكون الرايبوسومات بصورة رئيسه من 35% من البروتينات و 65% من الحامض النووي الرايبوزومي Ribosomal -RNA ، اي انها بروتينات نووية Nucleoproteins وتثبت مكوناتها بواسطة الاواصر الكارهة للماء hydrophobic bonds والواصر الهيدروجينية ، كما انها تحتاج الى ايونات



المغنسيوم واليوتاسيوم 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 متجمعة على الحامض النووي المرسل mRNA 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 جزئين 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 دوراً مساعداً في نشوء جهاز الطرد المركزي عالي السرعة.



Ribosome Function



المواد الساييتوبلازمية الخاملة :- يحتوي الساييتوبلازم على حبيبات وكرات **globules** من مواد غذائية مخزونة وخاملة يعتمد تركيبها على نوع الخلية والظروف الغذائية ، تحاط المواد المخزونة باغشية تحدها عن بقية الساييتوبلازم ، 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 الكربونية على شكل مجموعتين مختلفتين تمثل الخزين من الكربون والطاقة داخل البكتريا:

1- السكريات المتعددة مثل النشا Starch والكلايوجين glycogen.

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

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 H₂S الى الكبريت الذري لكي تخزنه على شكل حبيبات داخل الساييتوبلازم.

2- الحبيبات المتكونة من تجمع الفوسفات غير العضوية وتعرف بمادة الميتافوسفات metaphosphate وتعدى بحبيبات الفوليوتين volutin ، تظهر هذه 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 المثلين تصطبغ الحبيبات باللون الاحمر تتواجد في بكتريا الخناق *Corynebacterium*.

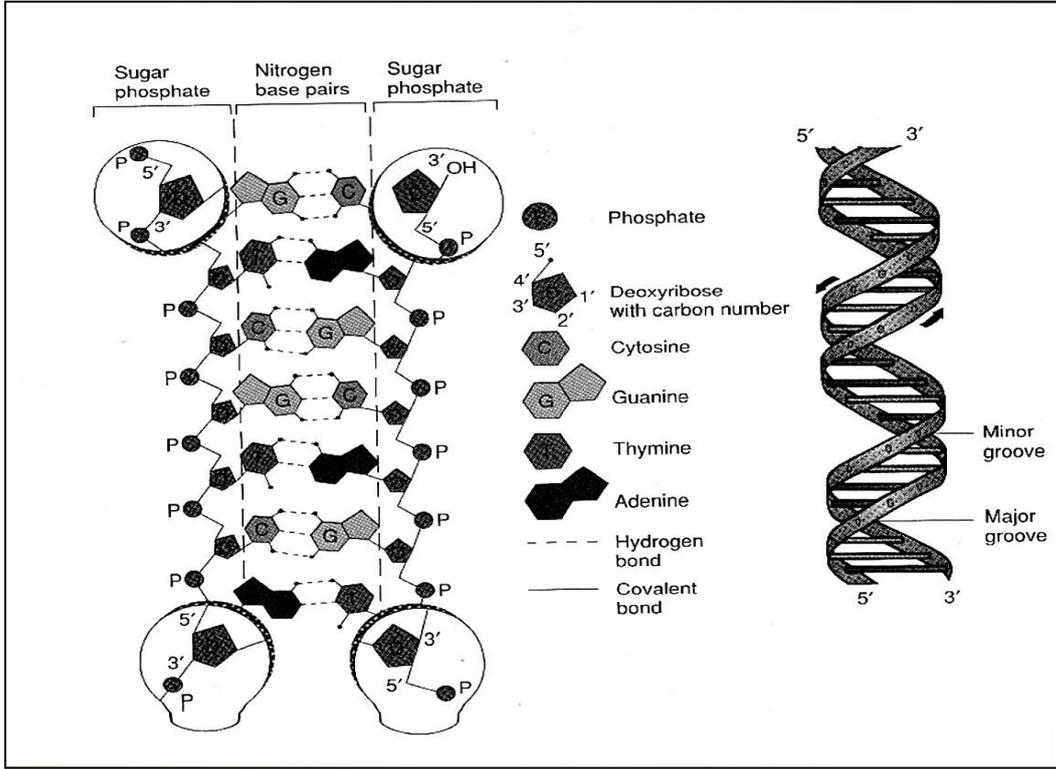
الفجوات الغازية -: Gas Vacuoles

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 التاؤت 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 Buoyancy 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 ايضاً نيوكلويد nucleoid او الجسم الكروماتيني وتفتقد الخلية البكتيرية الى وجود كروموسومات متميزة والنوية والغشاء النووي الموجودان في الخلايا حقيقية النواة ، وتحتل المادة النووية موقعاً قريباً 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 مداها الكامل حوالي 1 ملمتر وسمكها 25\AA ويحتوي كل 4 مليون قاعدة نتروجينية و 3000 جين ويعبر عن طول شريط الـ DNA بـ (Kilobase (kbp). وهذه الكروموسومات تحتل نصف حجم السايروبلازم، 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 .



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

- 1- سكر خماسي هو سكر الريبوز منقوص الاوكسجين Deoxyribose.
- 2- قواعد نتروجينية تشمل :- purines (adenine و guanine) و pyrimidines (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 بأصرة 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 ازلتها من البكتريا بمعاملة البكتريا بمواد كيميائية مثل Cobalt Ion و Ethidium Bromide . تحمل بعض البلازميدات المعلومات المسؤولة عن تصنيع الانزيمات المسببة لمقاومة البكتريا للمضادات الحياتية مثل البنسلين والكلوروفينكول والتتراسايكلين وايضاً تحمل معلومات مسؤولة عن تهينة البكتريا لعملية الاقتران. تكون البلازميدات ذات فائدة كبيرة في مجال الهندسة الوراثية لكونها تحمل العديد من 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.

الابواغ الداخلية (Endospores) :-

وهي تراكيب تظهر في بعض مراحل النمو للخلايا في بعض الاجناس البكتيرية خلال عملية تكوين البوغ او السبور 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 عبر سلسلة من الاحداث يتحول فيها البوغ مباشرة ثانية الى خلية خضرية تدعى بالانبات Germination وبما ان الخلية الخضرية تكون بوغاً داخلياً واحد لذلك لا يعد عملية تكاثر بل وسيلة لحفظ النوع فقط.

يتكون البوغ نتيجة لعدم توفر ظروف جيدة النمو. مثل قلة المواد الغذائية (نقص المصدر النايروجيني 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 والتكاثر عدة اجيال خلايا خضرية ثم يحدث في بعض مراحل النمو ان يتكون بروتوبلازم جديد يتحول فيما بعد الى بوغ ، تلخص الخطوات الرئيسية لهذه العملية كما يأتي:

1- تحول مادة DNA الى خيوط وحدوث انبعاث 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 البوغ Spore coat المكون من عدة طبقات.

3- تحلل الخلية الام وانطلاق البوغ بصورة حرة.

تطراً 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.subtilis* حوالي 7 ساعات في ظروف المختبر.

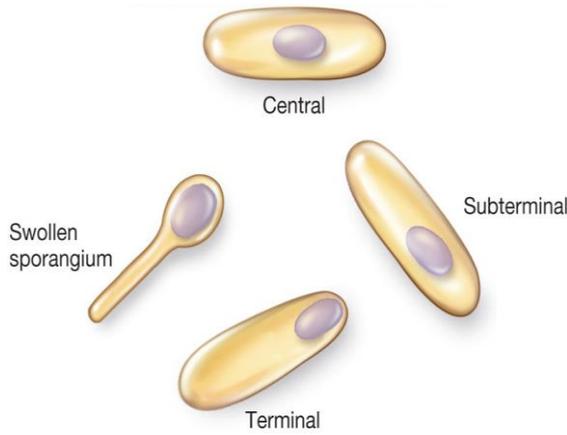
ان اكثر الصفات المميزة للبوغ الداخلي هو عدم امتلاك نشاط ايضياً فعلياً حيث ان البوغ يقاوم العوامل التي تقتل الخلية الخضرية مثل التسخين والتجفيف والتجميد والكيميائيات والاشعاع.

موقع السبور: لا يكون حجم الابواغ ومواقعها متشابهة 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 *Clostridium 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*.



تركيب السبور: الطبقات الخارجية للبوغ

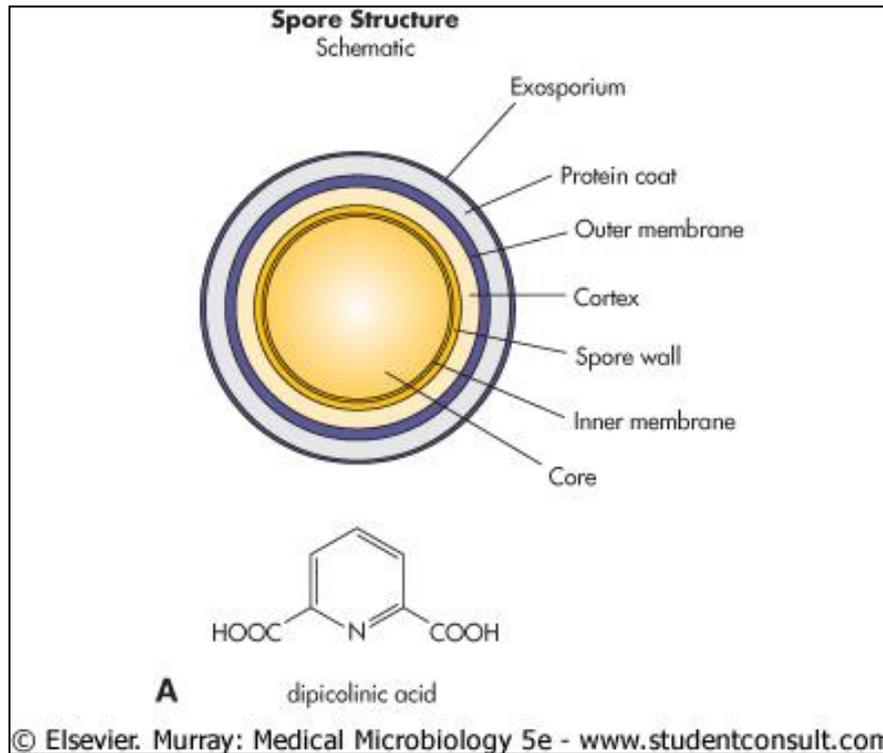
Exosporium : طبقة رقيقة خارجية تتكون من البروتينات والسكريات المتعددة والدهون.

1- اغطية البوغ **Spore coats** : توجد داخل الطبقات الخارجية كل طبقة بسماك 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.

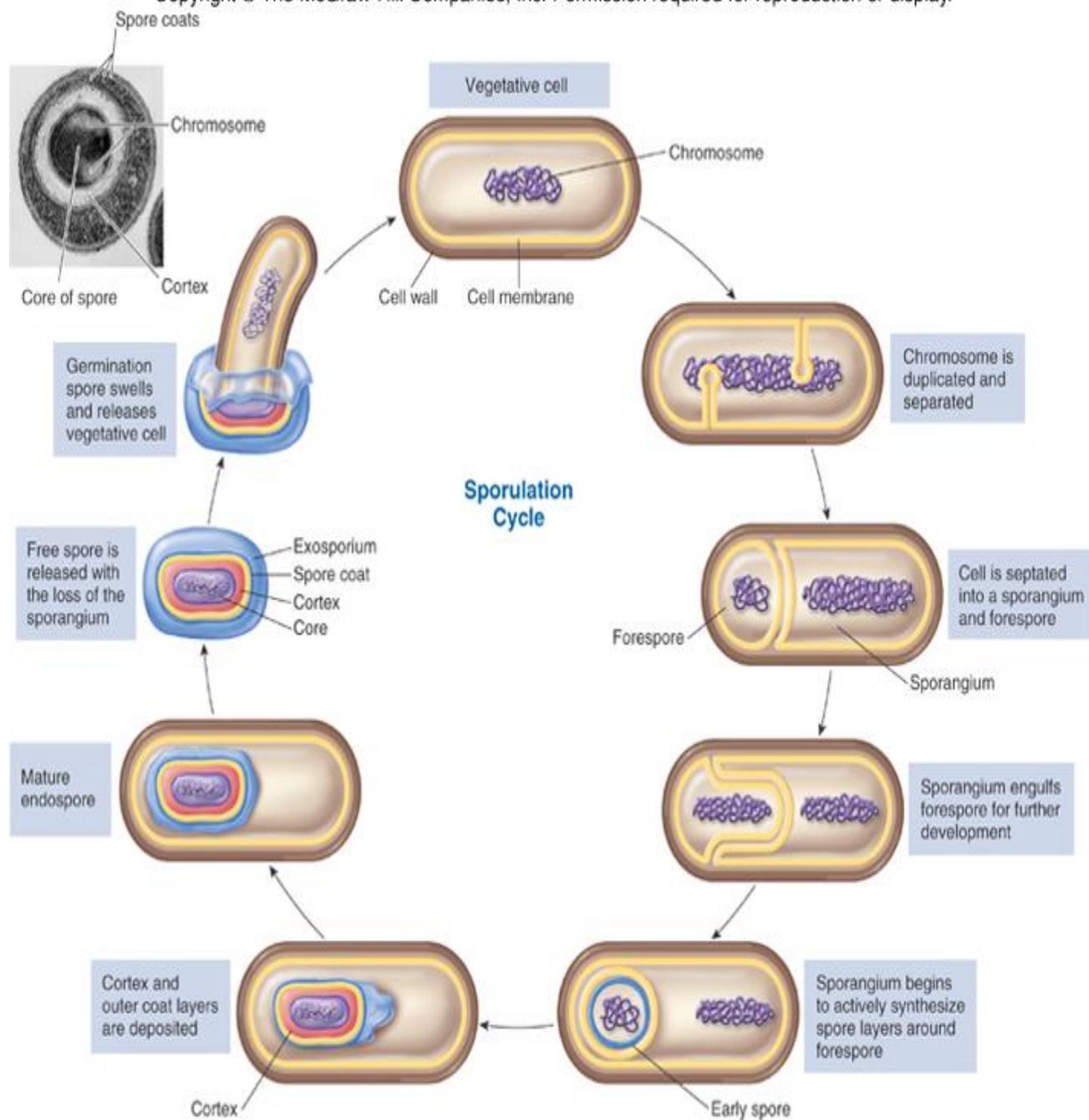
3- منطقة اللب **Core**: وهي تحتوي على المادة النووية **Nuclear material** وعلى عدد من الانزيمات. يتميز التركيب الكيماوي للبوغ على احتوانه على كميات كبيرة من حامض **Dipicolinic acid** وهي مادة غير موجودة في الخلايا الخضرية وتكون 5-10% من الوزن الجاف للبوغ بالاضافة الى كميات كبيرة من الكالسيوم Ca^{+2} 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 الكيماوية والمطهرات ناتجة عن قلة المحتوى المائي وتكون **Calcium dipicolinic acid** الموجودة في القشرة.

* يكشف عن الابواغ الداخلية بسهولة بالمجهر الضوئي لانها ذات انكسار عال ولا تتقبل الاصباغ خلال غطائها السميكة 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 استعمال 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

ضغط بخار المحلول P

$$aW = \frac{P}{P_0}$$

ضغط بخار الماء P₀

وقيمة aW مساوية لـ 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 Staphylococni 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 والكربون والالكترونات :-

أ. بالنسبة لمصدر الكربون : تصنف أحياء المجهرية بالنسبة لمصدر الكربون إلى:

1. أحياء ذاتية التغذية Lithotrophs or Autotrophs وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل غاز ثاني اوكسيد الكربون مصدراً للكربون.

2. أحياء المتباينة التغذية Heterotrophs وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل المركبات العضوية مصدراً للكربون.

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

1. أحياء ضوئية Phototrophs وهي الأحياء المجهرية التي يكون فيها الضوء مصدراً 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 الكربون والطاقة إلى أربعة أقسام هي:

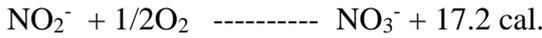
أ. أحياء ذاتية التغذية ضوئية **Photoautotrophs** وهي الأحياء المجهرية الشبيهة بالنباتات إذ تستعمل ثاني اوكسيد الكربون كمصدر للكربون والضوء مصدر للطاقة وهذه تضم جميع الطحالب وقسما من البكتريا مثل جنس *Rhodospirillum* وكذلك البكتريا الأرجوانية *Purple bacteria* والبكتريا الخضراء *Green bacteria*.

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

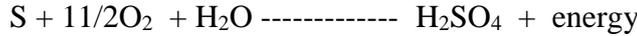
1. البكتريا التي تؤكسد ايونات الامونيوم إلى ايونات النتريت للحصول على الطاقة مثل جنس *Nitrosomonas* كما في المعادلة الآتية:



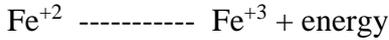
2. البكتريا التي تؤكسد ايونات النتريت إلى ايونات النترات للحصول على الطاقة مثل جنس *Nitrobacter* كما في المعادلة الآتية:



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



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



ج. أحياء المجهرية المتباينة التغذية كيميائيا **Chemoheterotrophs** وهي الأحياء المجهرية التي تستعمل المركبات العضوية مصدرا للكربون والطاقة وتشمل جميع الفطريات والابتدائيات ومعظم البكتريا وجميع الاكتينيومبايستانات ومن الأجناس البكتيرية 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 للسليولوز.

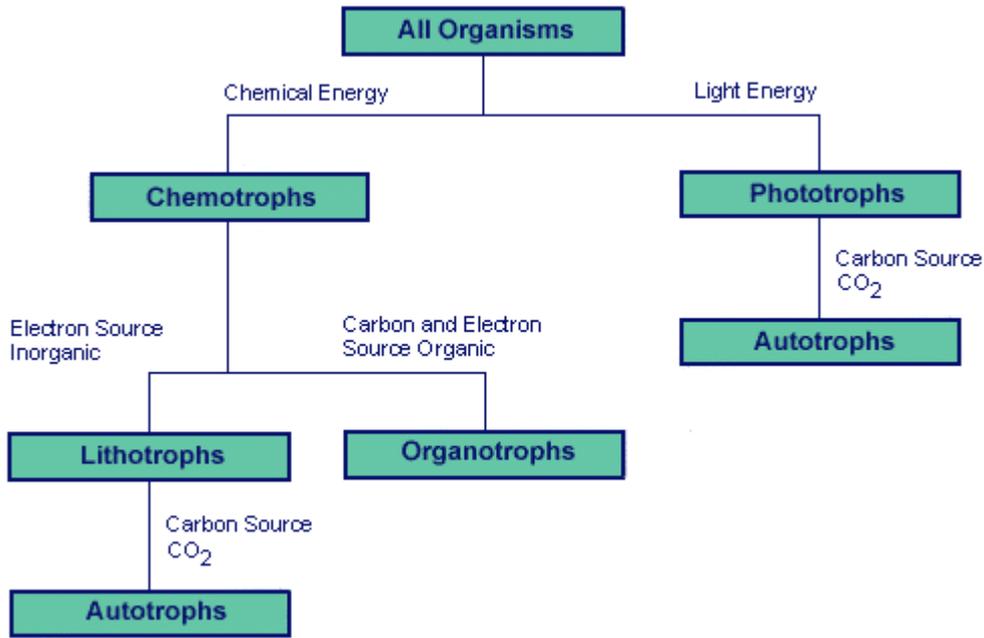
د. أحياء متباينة التغذية ضوئية **Photoheterotrophs**

1. وضعت هذه المجموعة لغرض أكمال التقسيم ولم يكتشف حتى الآن 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



النايتروجين: تحتاج الخلايا N لتخليق الحوامض الامينية والنوية. ويدخل في تركيب الانزيمات والعديد من المواد ويوجد باشكل متعددة منها NH_3 و N_2 و NO_3 وان الشكل الذي يحتاجه الكائن الحي يعتمد على القابلية الاختزالية الانزيمية التي يمتلكها الكائن الحي فعندما يكون مصدر النايتروجين على هيئة $R-NH_2$ فان البكتريا تقوم باستغلاله عن طريق ازالة مجموعة الامين (Deamination) ليكون الامونيا NH_3 ثم يستغل N الموجود فيها وقد تنقل الخلايا NH_2 (Transamination) الى مستلم اخر وقد تقوم البكتريا بكلتا العمليتين.

تحتاج عملية استغلال الامونيا الى صرف طاقة فعند وجود الامونيا بتراكيز عالية خارج الخلية سوف يعمل انزيم Glutamate dehydrogenase ويؤدي الى تكوين حامض 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 استغلال N من الاملاح الامونيوم وبعضها يقوم بتثبيت النيتروجين الجوي Biological Nitrogen Fixation بواسطة انزيم Nitrogenase لتخليق المواد النايتروجينية العضوية الخلوية.

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

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

الكبريت : يشغل عنصر الكبريت ومركباته مع الاوكسجين والهيدروجين دورين . الاول انه يستعمل لانتاج الطاقة حيث يستعمل كمستلم للالكترونات Electron acceptor والدور الثاني يستعمل لبناء المواد الخلية. يمكن للخلايا البكتيرية ان تستخدم S من مصادره وهو مؤكسده وضمن مركبات SO₄ غير العضوي وبهذا يتوجب على هذه الاحياء ان تختزله اولاً . هناك بعض الاحياء المجهرية لا تستطيع اختزال هذا العنصر، لذا يجب ان تحصل عليه وهو مختزل على شكل كبريتيد S- مثل H₂S او على شكل مركبات عضوية تحتوي على مجموعة SH مثل الحامض الاميني Cystein او مركبات اخرى اكثر تعقيداً مثل البروتينات حيث تقوم هذه المركبات بتزويد الخلية بعنصر S.N.C اضافة الى الطاقة.

المعادن : كل الكائنات الحية بما فيها البكتيريا تحتاج إلى كميات ضئيلة من الأيونات المعدنية مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم والمنغنيز والحديد والزنك والنحاس والفسفور 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 تكفي بما يحتويه مستخلص اللحم المضاف في بيئة المرق المغذي من عوامل النمو إلا أن هناك بعض البكتيريا الممرضة الصعبة التسمية Fastidious heterotrophs تحتاج إلى بيئات أغنى غذائياً enriched مثل أكار الدم للحصول على العديد من عوامل النمو التي يحتاجها ، وتحتاج الخلايا هذه المواد بتركيز ضئيلة جداً لذلك تدعى بالمغذيات الدقيقة. Micronutrient وهي تقسم الى:

1. **الحوامض الامينية**: تعد من اهم المواد العضوية ، اذ ان بعض البكتريات تحتاج الى بعض الحوامض الامينية الخاصة التي لا تستطيع تخليقها نظراً لنقص الانزيمات المشتركة في عملية التخليق فمثلا يعد الحامض الاميني Tryptophan عامل نمو مهم لانتسطيع الاحياء من النمو بدونه مثل بكتريا *Salmonella typhi* وبكتريا الكزاز *Clostridium tetani* وبكتريا الخناق *Corynebacterium diphtheria*.

2. **القواعد النتروجينية**: تتمثل القواعد النتروجينية بالبيورينات والبريميدينات التي يجب توفرها بنسبة ضئيلة في الوسط الزرعى ويوجد بـ 5 مركبات مختلفة من القواعد النتروجينية تدخل في تركيب الحوامض النووية وهي (C, G, U, A, T). ان عملية تخليق هذه القواعد تتضمن سلسلة معقدة من التفاعلات لذلك يكون الكائن معتمداً على البيئة (الوسط الزرعى) في تزويده بالقواعد النتروجينية.

3. **الفيتامينات** : هي مجموعة من المركبات العضوية التي تشكل الجزء المتمم لبعض الانزيمات ، ويكون الاحتياج للفيتامينات بكميات اقل من الحوامض الامينية والقواعد النتروجينية تختلف الاحياء المجهرية من حيث احتياجها بالنسبة لاشكال عوامل النمو فمثلاً الثيامين (B1) يتكون من جزئيتين من البريميدين والثيازول اذ تحتاج بعض الاحياء المجهرية للثيامين بشكله المتكامل في حين تستطيع الانواع الاخرى الاستفادة من احد شطري الفيتامين البريميدين او الثيازول وايضاً مثال اخر حامض البنثانثيك (Pantothenic acid) عامل مهم يدخل في تخليق الـ Coenzyme الذي يدخل في التفاعلات الايضية المنتجة للطاقة ويتكون هذا الحامض من جزئيتين هما Pantoic و B-alanine اذ ان الاحياء المجهرية التي تحتاج الى هذا الحامض يجب ان تكون قادرة على تخليق كلا الجزئين ثم ربط هذين الحامضين بوجود انزيم معين ينتج من خلاله pantothenic .

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

تقسيم أحياء المجهرية بالنسبة لحاجتها للأوكسجين

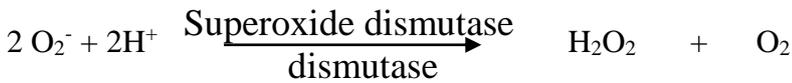
أن وجود الأوكسجين أو عدم وجوده يقسم أحياء المجهرية إلى ثلاثة مجاميع رئيسية والأساس في هذا التقسيم يعود بالدرجة الرئيسية إلى طبيعة نظم إنتاج الطاقة والمجاميع هي:

أ. **الأحياء الهوائية الإجبارية Obligate anaerobes** - وهي الأحياء المجهرية التي تحتاج إلى الأوكسجين كمستقبل نهائي للالكترولونات 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 البكتيرية *Thiobacillus* و *Nitrosomonas* 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 البكتيرية *Bacillus* و *Pseudomonas*.

ج. **الأحياء المجهرية اللاهوائية الإجبارية Obligate anaerobes** - وهي الأحياء المجهرية التي لها نظام إنتاج الطاقة الذي لا يحتاج إلى الأوكسجين وعلى الرغم من الأوكسجين يعد مستقبلا شائعا وكفوءا للالكترولونات فان بعض الكائنات ذات النواة البدائية لها القدرة على الاستفادة من بعض مستقبلات الإلكترون اللاعضوية (المعدنية) إذ تختزل النترات إلى امونيا وثاني اوكسيد النتروز وغاز النتروجين بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية *Pseudomonas denitrificans* حيث تعد النترات احد مصادر مستقبلات الالكترولونات لهذه البكتريا أو يمكن أن تكون الكبريتات (SO₄) مستقبل للالكترولونات إذ تختزل إلى كبريتيدات بواسطة البكتريا اللاهوائية الإجبارية *Desulfovibrio desulfuricans* أو يمكن أن يكون غاز ثاني اوكسيد الكربون مستقبل للالكترولونات 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 O₂⁻ الى H₂O₂.



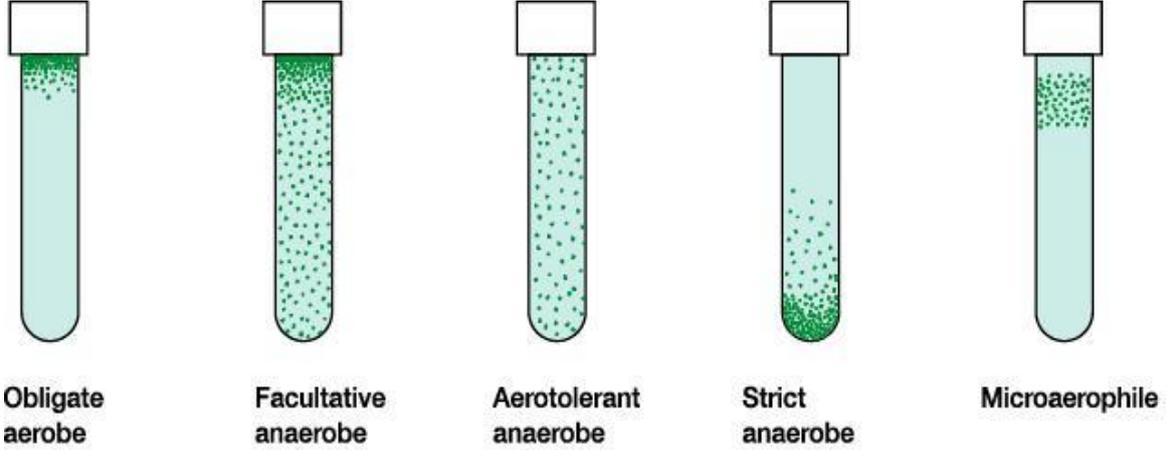
نمو البكتريا في وسط يحتوي على اوكسجين تتكون مادتين سامة وهي

Superoxide Ion O₂⁻ -1

Hydrogen peroxide H₂O₂ -2

ان بكتريا Lactic acid bacteria هي من نوع Aerotolerant anaerobes حيث لا تحتوي على انزيم الـ Catalase ولكن تحتوي على انزيم الـ peroxidases الذي يعمل على تحويل H₂O₂ الى 2H₂O بوجود مواد عضوية مؤكسدة. وقد اقترح العلماء ان موت الاحياء بوجود الاوكسجين يعود الى تكوين بيروكسيد الهيدروجين وتجمعه فيما بين الخلايا وان بيروكسيد الهيدروجين يعتبر مادة سامة جداً.

الاحياء الهوائية الدقيقة Microaerophilic organism: هي الاحياء التي يتوقف نموها او قد تقتل بوجود الاوكسجين بتركيزه الموجود في الهواء الا انها تنمو اذا توفر الاوكسجين بتركيز واطى اقل من 2- 10 % من الضغط 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 وسط خاص مثل وسط Thioglycollate.



شكل يوضح انواع البكتريا اعتمادا على حاجتها للاوكسجين

زراعة الاحياء المجهرية Cultivation of Microorganism

ان الغرض الرئيسي في تحضير أي وسط 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 مثبت او سام لان العديد من المواد المغذية تتحول الى مواد مانعة للنمو.
- 2- اذا حدث النمو في الوسط الزراعي عالي التركيز فان الطبيعة البيئية ستتغير نتيجة الفعاليات الايضية للاحياء المجهرية النامية فتصبح هذه البيئة غير مناسبة 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 و نتروجين ومصدر طاقة وعوامل نمو خاصة.
- 2- اضافة الفلزات المهمة التي تناسب أي كائن مجهري.

ان الحاجة الى مصادر الغذائية تختلف حسب الفعاليات الحيوية التي تقوم بها البكتريا لكن جميعها تحتاج الى الماء والذي يشكل نسبة 80 % من حجم و وزن البكتريا . ان الاوساط الزرعية قد تكون بسيطة المكونات او معقدة فمثلا الاوساط الزرعية التي تستعمل لتنمية الاحياء ذاتية التغذية تكون بسيطة عادة وذلك لقدرتها على بناء التراكيب المعقدة لخلاياها من مواد بسيطة (بعض الاملاح غير العضوية وماء ومصدر نتروجين و CO₂) في حين تكون بعض الاحياء نحسا **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 بمكوناته الكيمياوية نوعاً وكماً.
- 2- الوسط المعقد Complex Medium: وهو الوسط الزرعي الذي لاتعرف مكوناته الكيمياوية نوعاً وكماً وذلك بأضافة بعض المواد مثل خلاصة اللحم او خلاصة الخميرة لتزويد الوسط الزرعي بالمركبات الكيمياوية العضوية واللاعضوية المختلفة.

توجد هذه الاملاح في جميع الاوساط الزرعية (FeSO₄.7H₂O , Mn. Cu, CO, Zn , MgSO₄.7H₂O , Inorganic Salt)

تقسم الاوساط حسب مكوناتها الى :-

- 1- **الوسط الاول:** يحتوي على كلوريد الامونيوم NH₄Cl فقط ويخلو من المصدر الكاربوني. وهذا الوسط يلائم البكتريا ذاتية التغذية مثل بكتريا النايتروجين Nitrosomanas التي تحصل على الكاربون من CO₂ اما الطاقة من الاكسدة الهوائية للامونيا.
- 2- **الوسط الثاني:** يحتوي على سكر الكلوكوز و NH₄Cl ويصلح هذا الوسط للبكتريا والفطريات لان الكلوكوز يعد مصدر للكربون والطاقة اما البكتريا اللاهوائية فتحصل على طاقتها من عملية التخمر.
- 3- **الوسط الثالث:** يحتوي على فيتامين و هو 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 التغذيةيه الهوائية واللاهوائية. ان مستخلص الخميرة (Yeast extract) يزود الوسط الزرعى 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 الحضانة ، الضغط التنافذي ، تركيز ايون الهيدروجين.

العوامل التي يجب توفرها عند نمو الكائن المجهرى

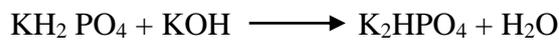
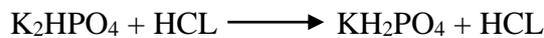
1- السيطرة على الرقم الهيدروجيني

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 الساييتوبلازمي عند رفع الاس الهيدروجيني فضلاً عن ذلك تاترها على الانزيمات النقل الموجودة في الغشاء الساييتوبلازمي 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 المجهرى او تتكون قواعد بدلاً من الحوامض نتيجة لعمليات الهدم التي تحصل من قبل الكائن المجهرى او استخدام 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 تغيير الرقم الهيدروجيني للوسط الا ان التغيير لا يكون 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 التغيير في الرقم الهيدروجيني للوسط الزرعى كبير بحيث تعجز قدرة الدارئ على كبحه لذلك يستعان ببعض المواد الدارئ مثل:

1- املاح الفوسفات:-

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



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.

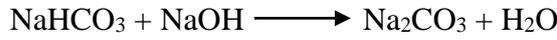
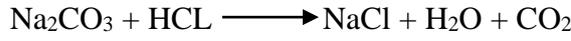
4- لاتعد سامة للاحياء المجهرية.

5- تعد مصدراً مهماً للفسفور تتزود منه الاحياء.

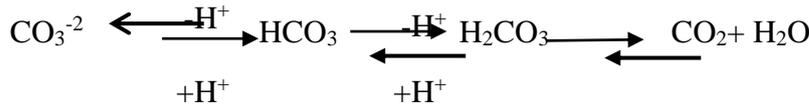
6- التراكيز العالية من الفوسفات تكون مانعة لنمو بعض الاحياء. وعموماً فان البكتريا والفطريات تستطيع ان تتحمل فوسفات البوتاسيوم بتركيز 5 غم/ لتر من الوسط الزراعي

2- املاح الكربونات والبيكاربونات:-

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



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



3- يعمل على منع تجمع ايونات الهيدروجين.

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

في ظروف اخرى لاتنفع دوايء الفوسفات والكربونات 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 ورق 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 التخمر.

• **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 CO₂.
4- زراعة البكتريا اللاهوائية المجررة بأضافة مواد مختزلة قوية للوسط الزراعي مثل Sodium thioglycolate و حامض Cysteine و Na₂S وغيرها .

3-السيطرة على CO₂

يتم السيطرة على كمية CO₂ من خلال ضخ هواء يحتوي على 5% من CO₂ (خاصة ان الهواء الجوي يحتوي على 0.3% من CO₂) الا انه سوف يولد تغيير في الوسط الزراعي لذا يتم استعمال دوائر لغرض زراعة الاحياء المجهرية الضوئية ذاتية التغذية والكيميائية 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 يؤثر سلبا في حين يلاحظ وجود بكتريا في امعاء اللاقريات 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 وتتحصر 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 بتركيز 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 الزراعي المعقم بعد ان يبرد او ادخال كمية قليلة من عامل الكلاي 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 للتمييز 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 α - haemolysis و β - haemolysis 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 للبقاء على حيوية الاحياء المجهرية عند خزنها لمدة معينة وهي مزروعة على هذه الاوساط دون ان تتغير الخصائص العضوية لهذه الاحياء.

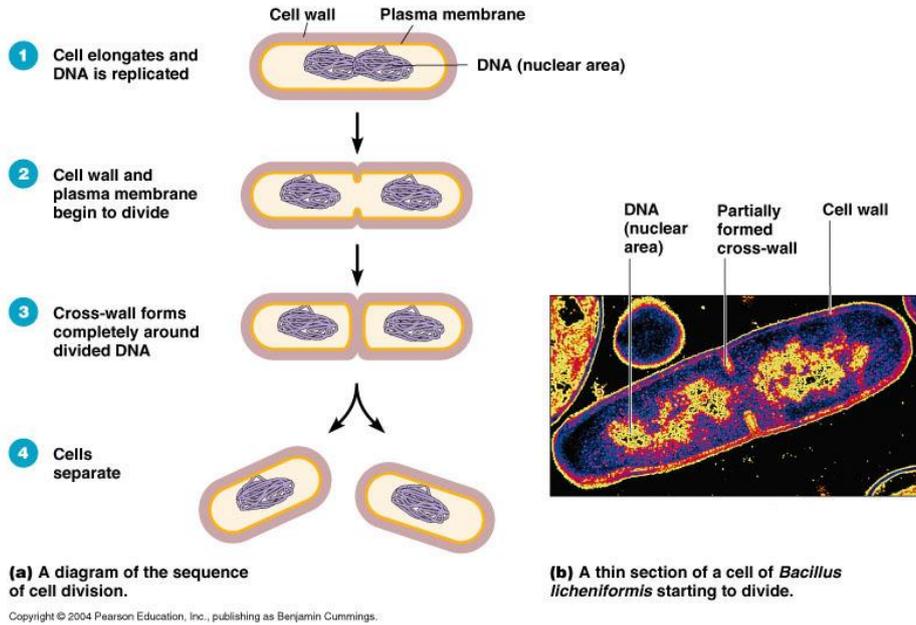
Bacterial Growth نمو البكتريا

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 الانشطار الثنائي 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 الترايب 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 الطبقات 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 الساييتوبلازمي والمحتويات الخلوية الا انها لا تنشط. وانما تطول وتنمو الى خيوط طويلة غير مجزئة.

بصورة عامة فان فترة تضاعف البكتريا يتراوح بين 30-60 دقيقة حيث يصل عدد البكتريا المتضاعفة 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 الانتشار الثاني:

- 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 لا تتكاثر بطريقة الانتشار 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.

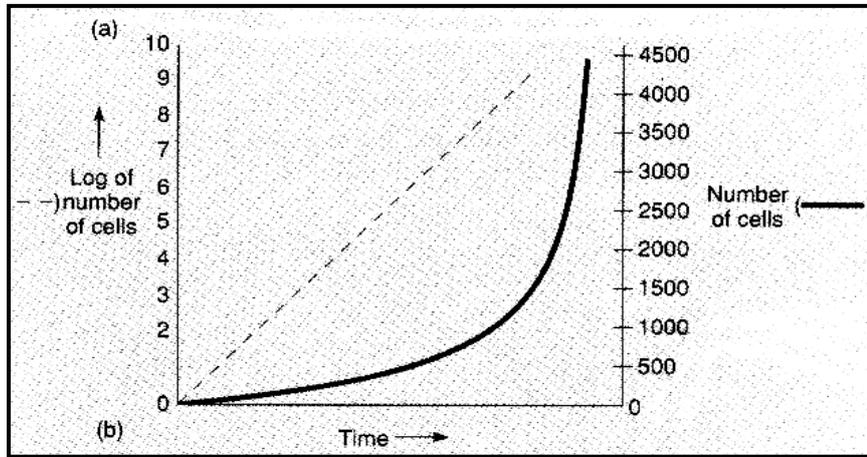
ملاحظة :- لا يعد تكون السبورات عملية تكاثرية اذ ان السبور الواحد يعطي خلية خضرية واحدة وبهذا لا يحصل زيادة في العدد الميكروبي.

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 Measurement of metabolites.
- 5- قياس الكتلة الخلوية Cell Mass

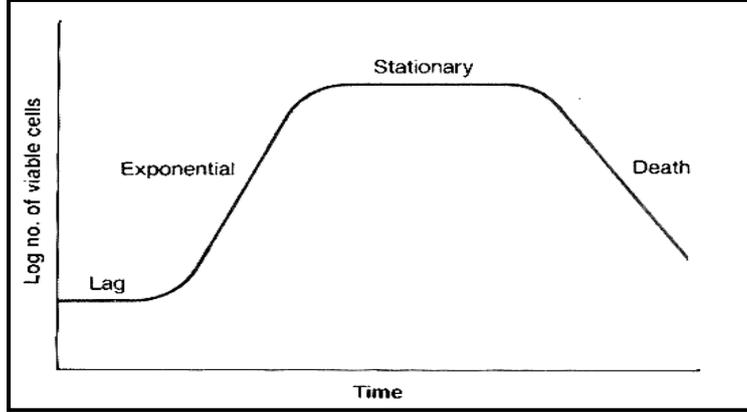
منحنى النمو البكتيري:

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 تتضاعف 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 واللوغار يتم العدد من الجهة الاخرى لحصلنا على (شكل رقم 2). ويمكن الاستمرار في الحساب 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 لا تشرع في النمو مباشرة وانما تمر بفترات للتطبع والتأقلم ثم يتبعه طور ثاني يتميز بنمو متوازن ومتزايد وهو الطور اللوغاريتمي وبعدها يبطل 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 لا تتغير ولا تنقسم والوقت الذي يستغرقه 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 الطور لذلك فهي تحتاج ان تهبط نفسها للظروف الجديدة . ان الخلايا في هذا الطور تكون في حالة نمو غير متوازن حيث تزداد كميات البروتينات المخلفة للانزيمات و RNA مقارنة بالمكونات الاخرى أي ان الخلايا لا تكون خاملة او ساكنة.

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

- 1- اصطبأها الشديد بالصبغات القاعدية Basic dyes.
 - 2- تزداد حساسيتها للعديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية.
 - 3- تكون جميع الخلايا تقريباً حية وفي حالة انقسام لذلك عدد الخلايا الحية يتساوى مع العدد الكلي وذلك لان نسبة الخلايا الميتة تكون واطئة جداً وان الخلايا جميعاً خلايا قتيبة نشطة
 - 4- تكون الخلايا في هذا الطور متساوية من ناحية مكوناتها وفعاليتها.
 - 5- الغشاء الساييتوبلازمي او الجدار يرق بشكل ملحوظ.
 - 6- حجم الخلايا في هذا الطور يكون في حده الأدنى.
- 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 بالنسبة للنوع البكتيري اذا ما ثبتت الظروف البيئية فاذا بدأنا بخلية واحدة فستضاعف خلال مدة معينة من الوقت الى خليتين ثم الى اربع خلايا لنفس المدة من الوقت وهكذا الى ثمانية الى ستة عشر وان المدة الفاصلة بين كل انشطارين تبقى ثابتة. جدول رقم (1) يوضح GT لبعض انواع البكتريا وتحت ظروف نمو مثلى .

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

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

3- طور الثبوت او الاستقرار (Stationary phase): يصل عدد البكتريا في هذا الطور الى حوالي 10^9 خلية اذا ان استمرار نمو الخلايا في الوسط الغذائي سوف يؤدي الى نفاذ المواد الغذائية والاكسجين اذا البكتريا الهوائية الموجودة تحت سطح 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 بطى النمو في البداية ثم توقفه اذ يصبح عدد الخلايا الحية مساوي لعدد الخلايا الميتة (اي ثبوت العدد البكتيري نتيجة لتوقف النام للانشاط الخلوي او نتيجة للتوازن بين معدل الانتشار ومعدل موت الخلية). يتم في هذا الطور حدوث العديد من التغيرات المورفولوجية ومنها تكوين السبورات وايضا صغر حجم الخلايا وانتاج العديد من البروتينات التي تجعل الخلايا مقاومة للظروف الصعبة. وايضا يزداد تكوين الروابط العرضية في طبقة الببتيدوكلايكان لمقاومة الظروف الصعبة .

4- **طور الموت 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 بشكل 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 ليست 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 الاساس حيث تبدأ بالمصدر الاسهل والاكثر توفراً ثم تبدأ باستخدام 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 وب نفس ظروف الحضانة لذلك فان الخلايا سوف تنشط الى خليتين متشابهتان تقريباً وبسبب هذا التشابه يكون انشطارها متزامناً الا ان التزامن لا يكون 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 المزرعة المستمر Continuous culture

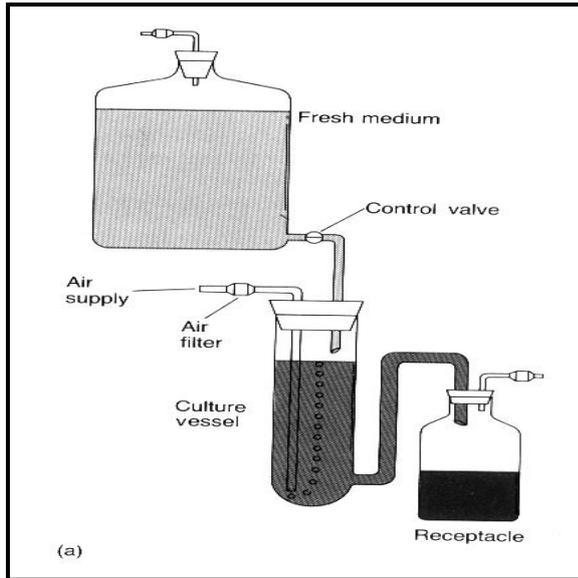
بما ان النمو لا يكون بشكل متزامن طول الوقت عند استعمال مزرعة ذات الدفعة الواحدة او المغلقة نتيجة للتغير المستمر للظروف، الا انه في بعض الاحيان من الافضل تنمية الخلايا تحت ظروف ثابتة ومسيطر عليها تسمى طريقة المزارع المستمرة وهي الطريقة الزراعية التي يتم بها السيطرة على توفر مواد غذائية بصورة مستمرة وازالة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

1- الناظم الكيماوي 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)

2- الناظم العكارة Turbid state

هو منظم بصري كهربائي كالمطياف الضوئي يثبت كثافة الخلايا حيث تسيطر الخلية الضوئية وملحقاتها على معدل دخول المواد الغذائية.



شكل رقم (4) يوضح المزارع المستمرة

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 الاخر وبذلك سوف يكون هناك عدد من الخلايا التي لا تحسب اما في حالة كون العدد البكتيري منخفض تتجمع الخلايا في بقعة معينة ولا يمكن في هذه الحالة من حسابها وخاصة وان الخطأ في هذه حالة سوف يتضخم ولا يكون 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 المساحة وتفحص بالمجهر وهنا يجب ان تعرف مساحة الحقل المجهر Microscopic field ثم تحسب عدد الخلايا فيه لكي تعرف العدد البكتيري في الملتر الواحد من النموذج كتقدير عدد الخلايا البكتيرية في الحليب.

سليبات الطريقة:

1- صعوبة توزيع النموذج على الشريحة المجهرية.

2- لا يمكن 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 ملم² وتغطي الشريحة بغطاء رقيق يستند اليها تاركاً مسافة 50/1 ملم بين الغطاء والشريحة وبذلك يكون لدينا حجم قدره 20000/1 ملم² فوق كل مربع من مربعات الشريحة ويتم حساب عدد الخلايا في الملتر 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، فتحبب البكتريا من عبور الغشاء، وتبقى محبوسة عليه حيث يمكن عدّها وهي على الغشاء باستخدام المجهر حيث تصبغ البكتريا باستخدام صبغة Acridine orange او صبغة DNA اذ تظهر البكتريا اما برتقالية او خضراء 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 الميكروبي واطى جداً مثلاً.

مساوئ الطريقة: لا يمكن التمييز 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 و RNA 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 وتغسل الخلايا جيداً قبل البدء بعملية الوزن ثم تجفف في الفرن وتوزن .

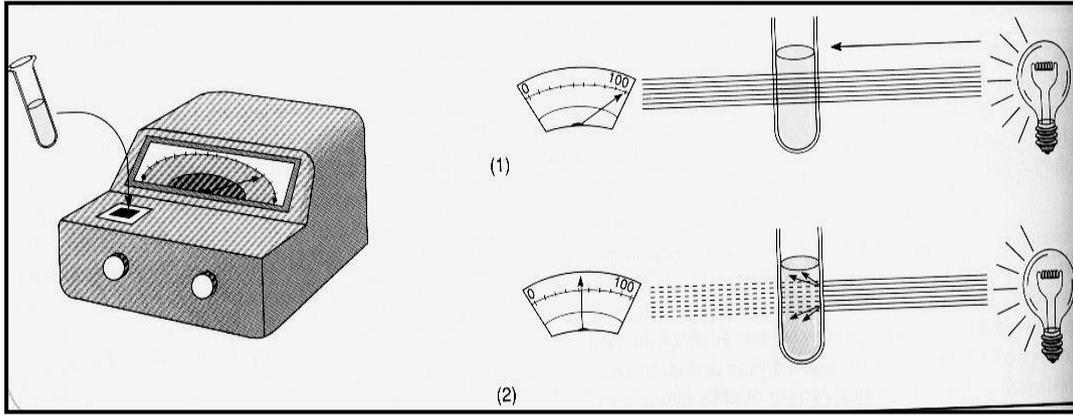
مميزاتها:

1- تعد غير تامة الدقة بسبب تركب بعض مواد الوسط الزرع مع الخلايا البكتيرية .

2- تستخدم في المجالات الصناعية والبحثية.

3- قياس العتمة Turbidity :

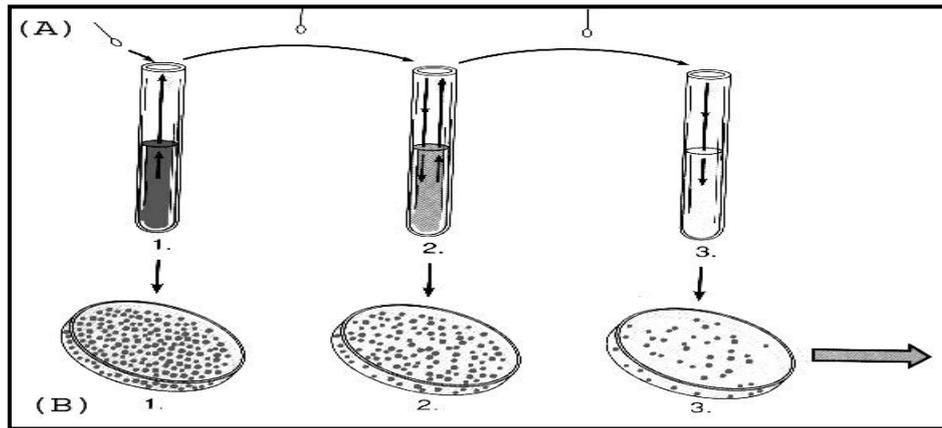
هي طريقة ضوئية اذ تحدد فيها كمية الضوء المنتشر في معلق من الخلايا. ان مبدء عمل هذه الطريقة تعتمد على حقيقة ان تعليق الاجسام الصغيرة جداً في سائل ما فان قدرة هذه الاجسام على امتصاص الضوء ونشره في السائل تتناسب مع تركيزها وضمن حدود معينة فعندما تمر حزمة ضوئية خلال احد هذه السوائل فان الاختزال الحاصل في 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 لالتزيد 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 وتقترب هذه التغيرات الوصفية بظاهرتين اساسيتين ترتبطان بمستوى الخلية الواحدة وهما :-

- **الخصائص الجينية Genotype :-** هي المميزات او الخصائص 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 تمكنا من تشخيص وتصنيف البكتريا فمثلاً بكتريا *Neisseria perflara* التي تعزل من التجويف الانفي تمتاز بكونها سالبة 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* ايضاً 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 *Modification* في المظهر او الفعاليات الايضية ومنها:-

- **التحويرات المظهرية Morphological modification :-** ويقصد بها التغير في الحجم والمظهر

الخارجي باختلاف مراحل النمو وتشمل :-

1- تأثير 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 الاستقرار او 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 او الكبسولة 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 ببيئة 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 الحضانة 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 الحضانة على انتاج الصبغات حيث نلاحظ ان بكتريا *Serratia marcescens* تنتج صبغة حمراء مميزة عند حضانها بدرحة 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) تتحفر 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 والكيميائية الحيوية**Modification in physiological and Biochemical characteristic**

- 1- مقاومة الاحياء المجهرية للتأثير القاتل او المثبط للنمو للعوامل الكيميائية او الفيزيائية (المطهرات والكحولات) يتغير مع عمر المزرعة فان البكتريا في الطور اللوغارتمي تكون اكثر حساسية للكيميائيات اذا ما قورنت مع الخلايا التي تكون في الاطوار الاخرى.
- 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-galactosidase 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 الكيميائي 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 التطوير هذه تدعى الطفرة **Mutation** والكائن الحي الذي تجري فيه الطفرة تدعى بالطافر **Mutant**.

قام العالمان ماكس ديلبريك وسلفادور لوريا (Max Delbruck & 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 للفاغ ظهرت نتيجة حدوث طفرة وراثية في بعض الجينات.

الطفرة في مستواها الجزيئي:-

وهي التغير في تعاقب او تسلسل النيوكليوتيدات Nucleotides ضمن جزيئة الحامض النووي الـ 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 Spontaneous 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.

طرق تكوين الطفرات من خلال تغير تعاقب في القواعد الـ Purine وPyrimidine :-

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

اشكال التطفير تختلف باختلاف 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 للمثبريم Methprim).

انواع الطفرات البكتيرية :-

- 1- بكتريا طافرة تظهر مقاومة عالية للعوامل الكيماوية 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 المنتج 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 الكيماوي 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.

الآلية التبادلية الوراثة (انتقال الجين Gene Transfer) :-

يمكن تقسيم الآلية 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 الوراثة :- اخذ الحامض النووي (Uptake of pieces of DNA (transformation)

3- التوصيل Transduction تنتقل الجينات البكتيرية بواسطة الفيروس البكتيري

.Infection by a Virus

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

1- لا تلتحم الخلايا في الآليات الثلاثة ولكن جزء فقط من الـ DNA ينقل من خلية واحدة (الخلية الواهبة

Donor cell) الى خلية اخرى (الخلية المستلمة Recipient cell).

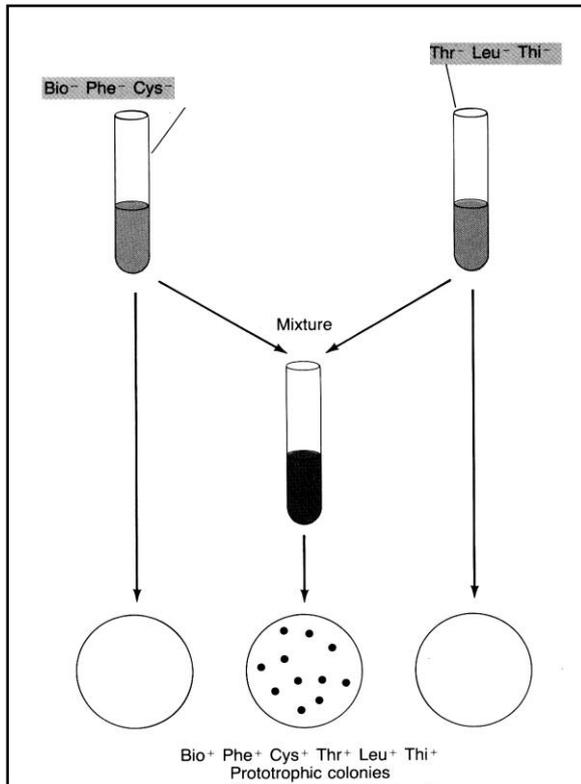
2- عند دخول الخلية المستلمة يترتب DNA الخلية الواهبة بجانب DNA الخلية المستلمة وعندها

تتجاوز الجينات 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 للبكتيريا 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.



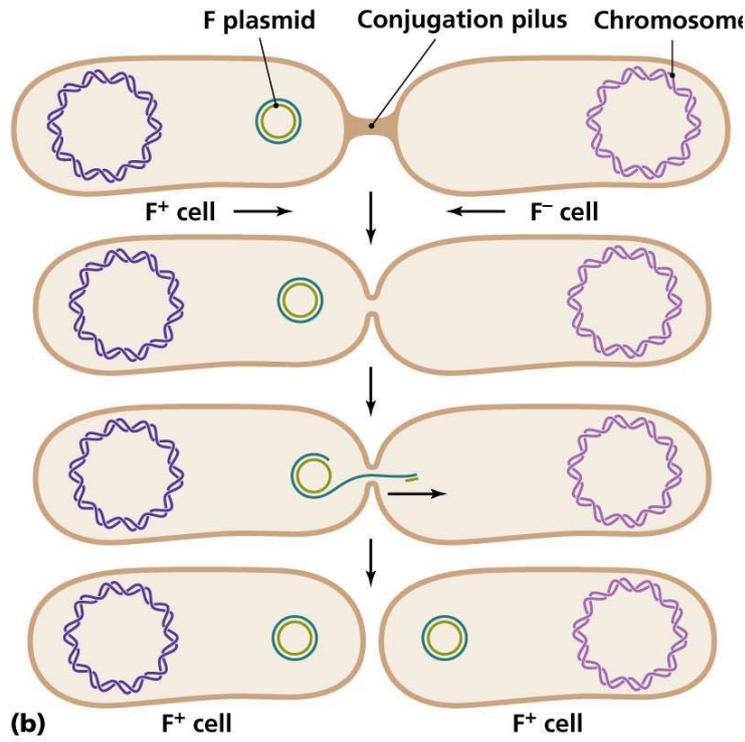
شكل رقم (1) يوضح عملية الاقتران البكتيري

تجربة الاقتران البكتيري Bacterial conjugation

اول من لاحظ عملية التزاوج بين البكتيريا من قبل العالمان Leder berg & Tatum عام 1946 وقد استعملت سلالات متعددة من البكتيريا القولون ذات عوز غذائي Auxotrophs يختلف بعضه عن البعض الاخر وبذلك اتاح فرصة التزاوج لهاتين السلالتين وبعد الزراعة على وسط (يحتوي على الحد الأدنى 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 الأدنى 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 او اجزاء من الحامض النووي الـ 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 الساييتوبلازمي 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 عبر الهلب اما الشريط الاخر فيصنع من قبل الخلية المستلمة.
- ان عملية الانتقال تتم باتجاه واحد من الخلية المرسل Donor الى الخلية المستلمة Recipient ولا يتم العكس في الحالة الواحدة .
 - هناك بعض البلازميدات تبقى داخل الخلية ولا تنتقل 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 الايسومات (Episomes) وقد تكون هذه الايسوم على شكل قطع من الحامض النووي الـ DNA المتصل بالغشاء الساييتوبلازمي كما في البلازميدات الاخرى وقد يلتحم الايسوم بالحامض النووي الـ DNA للخلية المضيفة وهو بهذا سوف يدخل في الهيكل الوراثي للخلية المضيفة وان الجين المتكون منه سيتشابه مع بقية جينات الخلية تمتلك الخلايا البكتيرية 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 لا تعطي الا الى F^- وبهذا تتحول الـ F^- الى F^+ .
 - 3- Hfr (High Frequency recombination) وتدعى بالخلايا التردد العالي اذا ما التحم عامل الاخصاب مع الحامض النووي الخلوي فالخلية تدعى بـ 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 باكملة تستغرق حوالي مئة دقيقة.
* ان عملية الاقتران تم ملاحظتها في اجناس بكتيرية مختلفة اضافة الى بكتريا القولون مثل *Salmonella* و *Pseudomonas* و *Serratia* و *Vibrio* وقد تحدث عملية الاقتران بين جنسين مختلفين مثل :-

والـ *Salmonella-Vibrio* والـ *Escherichia - Shigella*
والـ *Salmonella- Serratia* والـ *Escherichia- Serratia*
والـ *Salmonella- Shigella* والـ *Escherichia- Salmonella*

2- التحول الوراثي Genetic Transformation

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

تحضير الـ DNA المحول

- 1- ممكن تحضير الـ DNA المحول Transforming DNA عن طريق تحلل الخلايا ذات السلالة المانحة عن طريق استخدام انزيم خاص يدعى Lysozyme او استخدام المنظفات Detergents.
- 2- اضافة الكحول ما يؤدي الى تجميع الـ DNA بين الطبقتين المائية والكحولية.
- 3- يدخل قضيب الى ما بين الطبقة بحدز 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.

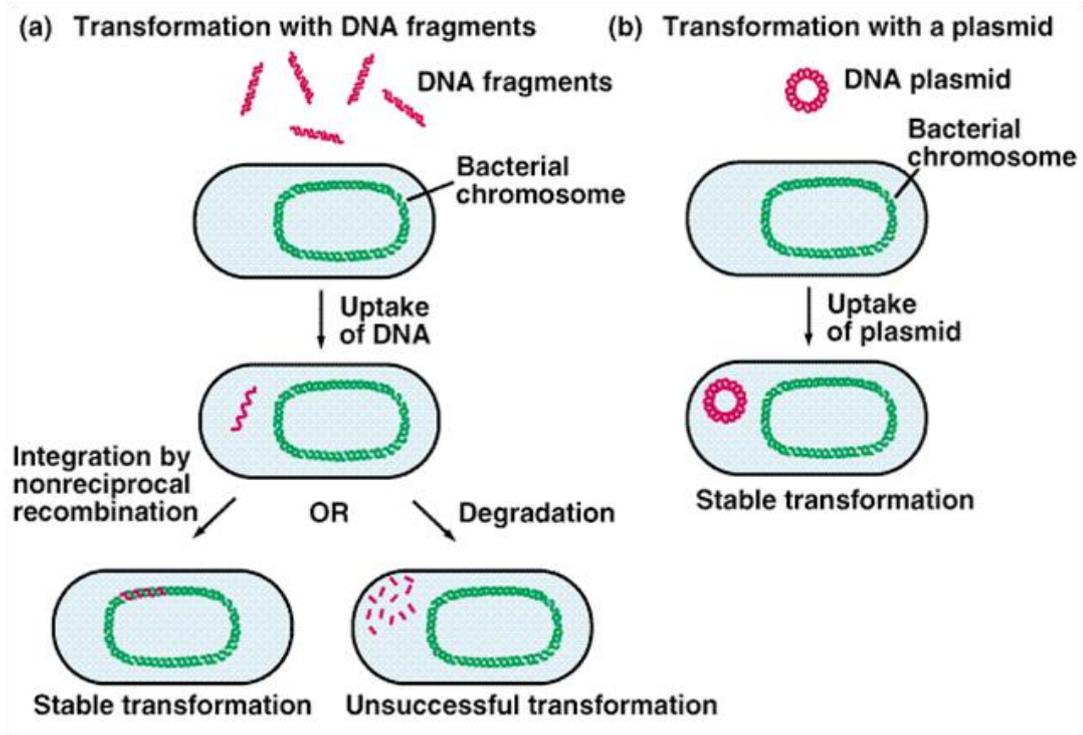
- **التنافس Competence** :- وهي الخلية التي لها القابلية على اخذ جزيئة من الـ DNA وتدعى بالخلية المتنافسة وهناك سلالات معينة فقط تكون متنافسة.

- **اخذ الحامض النووي الـ DNA (Uptake of DNA)** :- وهي ارتباط الـ DNA بالخلية المتنافسة ارتباطاً لارجوع فيه Irreversible

مميزات التحول:

- 1- ان الخلية المتنافسة لا تميز بين الـ DNA العائد لنفس نوعها والتصنيفي 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 اللوغاريتمي المتأخر وبعدها تهبط هذه النسبة (خلال هذه المدة القصيرة التي يرتفع فيها التنافس يتغير سطح الخلايا بحيث يستطيع الـ 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

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

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

2- العلامات الغذائية Nutritional Markes مثل احتياجات الحوامض الامينية Amino acid requiring واستغلال الكربوهيدرات Carbohydrate utilization مثل Maltose و Manitol.

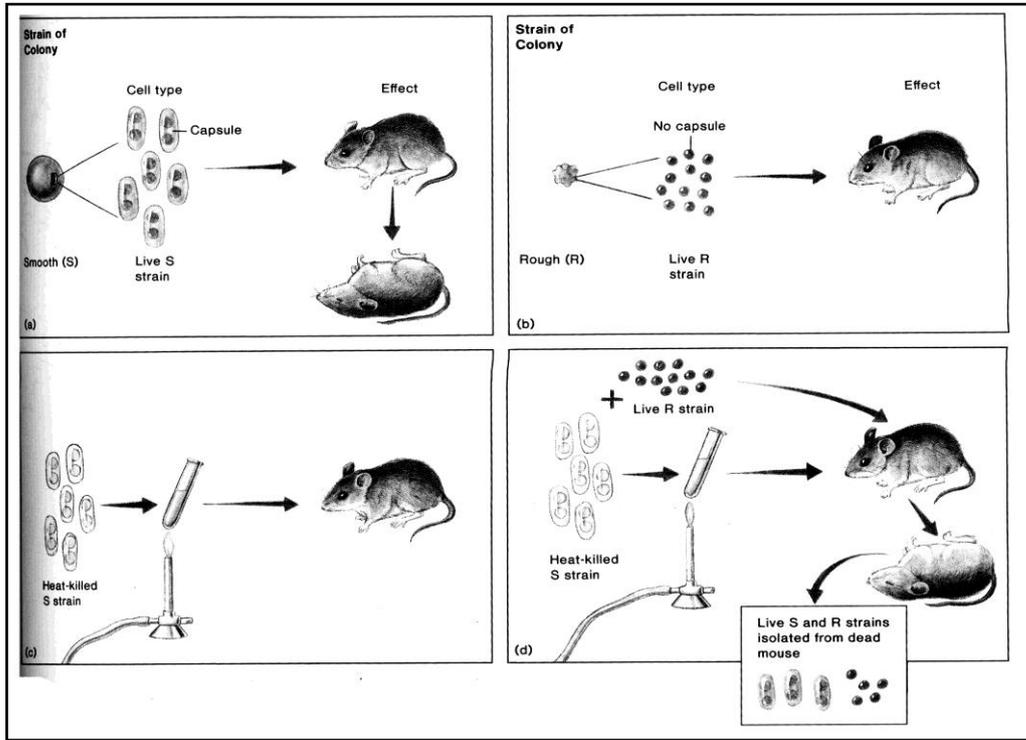
3- خصائص المحفظة Capsule characteristics (ويقصد بها المواد المتعددة السكاكر الموجودة في المحفظة).

حدوث التحول في الطبيعة The occurrence of Transformation in Nature

هذه الظاهرة قد اكتشفت اثناء تحليل العوامل التي تتضمنها قابلية *D. pneumonia* على احداث الاصابة Pathogenicity في الفئران. اذ ترتبط القابلية على الاصابة لخلايا *D. pneumonia* ارتباطاً مباشراً مع وجود المحفظة على سطوحها حيث تقوم المحفظة هذه بحماية الخلايا من البلعمة phagocytosis التي تقوم بها خلايا الدم البيضاء في الجسم فالسلالات المحتوية على المحفظة تكون ممرضة جداً Highly virulent بحيث ان بضعة خلايا تستطيع احداث الاصابة اذا ما حققت بالفأر وتؤدي الاصابة الى الموت بعد عدة ايام من الحقن. ونحن نستطيع احداث طفرات من نفس السلالات لكن لا تمتلك محفظة وهي لا تستطيع احداث الاصابة 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 الفأر 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 الـ DNA الحر الذي قام بدوره باحداث عملية التحول في الطفرات التي لاتملك 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 للستربتومييسين Streptomycine نستطيع عزل سلالات مقاومة لكلا المضادين.

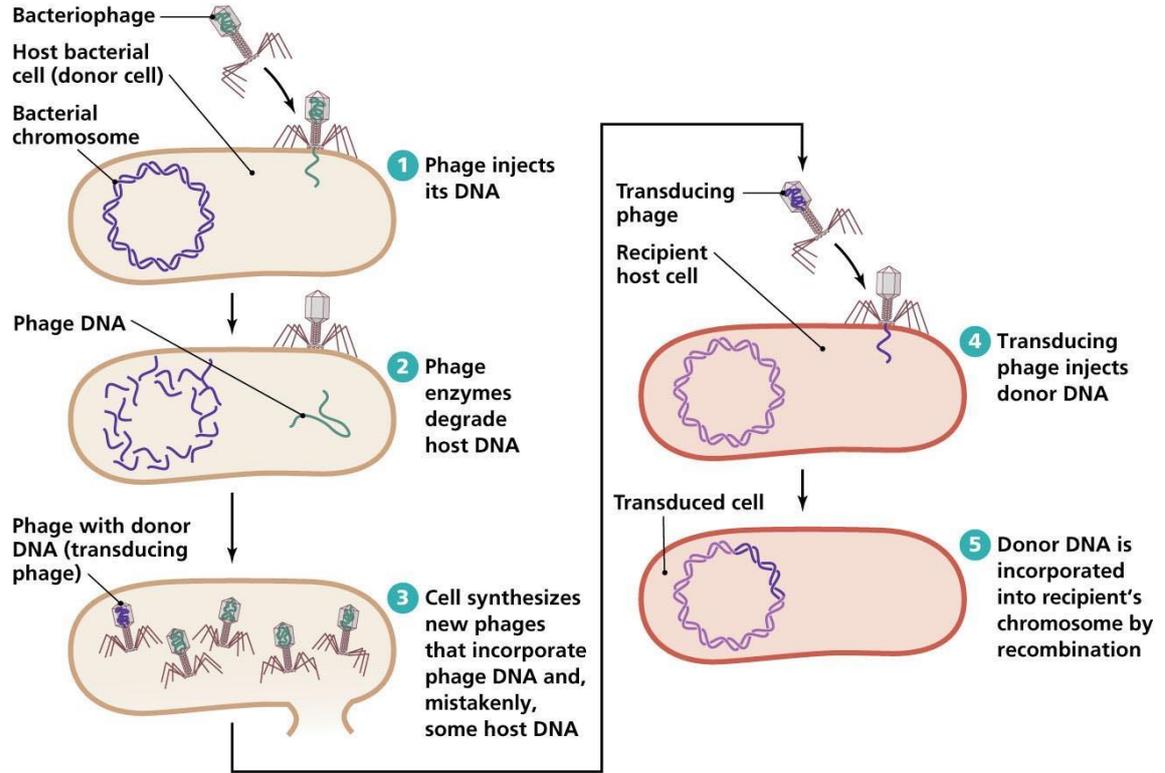


الشكل رقم (4) يوضح التحول الوراثي في الطبيعة

3- النقل بواسطة الفاج Transduction

يتم انتقال الحامض النووي الـ 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 العائثة كنسخة فايروسية وما ان تتحرر العائثة من الخلية المصابة حتى تصيب خلية اخرى وبتلك الوسيلة تنتقل الجينات البكتيرية (شكل رقم 5) وقد تحدث عملية Lysogenization حيث يلتحم DNA الفايروسي مع الجهاز الوراثي للخلية المضيفة وتعتبر هذه العملية تزاوج وراثي Genetic Recombination وان الخلية المصابة تختلف وراثياً ومظهرياً عن الخلية غير

المصابة 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

انواع النقل Transduction :-

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 للمضيف تندمج مع الفايروس وان هذه الجينات قد تحل محل الـ DNA الفايروس او تكون مضافة له ولكنها لا تلتحم معه مباشرة.

* ان الفايروس المحصل عليه بكلا الطريقتين Transducing virus particle يكون عادة ضعيفاً Defective ولا يستطيع ان يحل المضيف وقد يعود ذلك الى فقدان الفايروس لبعض جيناته.

ان الـ Transduction يحدث في انواع مختلفة من البكتريا وتشمل الـ *E. coli* وانواع من جنس *Salmonella* والـ *Shigella* و *Proteus* والـ *Pseudomonas* 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 أزلتها كلياً أو جزئياً وتتم هذه السيطرة باستخدام أساليب فيزيائية وعوامل كيميائية 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 الساييتوبلازمية للخلية 0
- 3- خلل في التركيب الفيزيائي والكيميائي 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 Bacteriostatic للبكتريا و Fungistatic للفطريات 0

العوامل التي تؤثر في فعالية أساليب السيطرة على الأحياء المجهرية :

- 1- طبيعة المادة المراد تعقيمها أو تطهيرها : تؤثر الخصائص الفيزيائية والكيميائية 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 الفيزيائية والكيميائية المختلفة فمثلاً سبورات البكتيريا 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 وإنما محصورة ضمن حدود معينة من التركيز 0

6- الماء : يعمل الماء على تخثير البروتينات بواسطة الحرارة وينطبق هذا على تخثر البروتين بواسطة العوامل الكيميائية ويعزى مقاومة السبورات البكتيرية للحرارة والعوامل الكيميائية إلى جفاف السبورات 0 عوامل السيطرة على الأحياء المجهرية بالوسائل الفيزيائية :

من أهم المعاملات الفيزيائية في السيطرة هي درجات الحرارة العالية والواطئة والتجفيف والضغط الأزموزي والأشعاع والترشيع 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 ودينا وعليا وأن ارتفاع درجة الحرارة أكثر من العليا تسبب هلاكها وانخفاض 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 الكيميائية للخلايا والحرارة الرطبة أكثر فعالية من الحارة الجافة فقد وجد أن درجة حرارة رطبة 120 م تقضي على سبورات البكتيريا بحدود (15-20) دقيقة في حين يتطلب القضاء على هذه السبورات ساعتين عند استخدام الحرارة الجافة ، كما أن سبورات البكتيريا مقاومة للحرارة أكثر من الخلايا الخضرية وذلك لقلّة النشاط المائي (AW) في السبورات 0
استخدام درجات الحرارة الرطبة :

1- درجات حرارة أقل من (100) م وتسمى هذه المعاملة بالبسترة تبعاً لباستور التي أستخدمتها ، وفيها تعرض بعض المواد الغذائية كالحليب والمشروبات الكحولية والبيرة والعصائر إلى درجة (63-65) م ولمدة نصف ساعة للقضاء على الأحياء المجهرية الخضرية وخاصة البكتيريا الممرضة ، لاتعد المواد المبيطرة معقمة لذا تحفظ في مكان بارد لتفادي تلفها 0

2- درجة حرارة غليان الماء 100م تستخدم درجة حرارة الغليان للتخلص من كافة خلايا البكتيريا الخضرية وسبورات الأعفان والخمائر والفايروسات والطفيليات ولكنها لاتقضي على بعض سبورات البكتيريا 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 تتدل التي أبتكرها حيث يستخدم بخار الماء بدرجة حرارة 100م لتعقيم بعض الاوساط الزرعية المايكروبية والمواد الكيماوية والبايولوجية والتي يتغير تركيبها عند تعريضها لدرجة حرارة أكثر من 100م ، وفيها تعرض المواد للبخار على درجة 100م لمدة معينة يومياً ولمدة ثلاثة أيام ويتخلل هذه المعاملات مدة حضان بواسطتها يسمح 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 ارتفاع الضغط يسبب ارتفاع درجة الحرارة وذلك باستخدام أجهزة الموصدة autoclave وتعد هذه المعاملة أفضل وسيلة وأكثر المعاملات الحرارية كفاءة للتعقيم وتستخدم المعاملة الحرارية بدرجة 121م وضغط 1 جو ولمدة 15-20 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 القضاء 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 سبوراتها تحت درجة حرارة معينة وظروف أخرى ثابتة وهذه لها أهمية تطبيقية في تعقيم الأغذية المعلبة والأوساط الزرعية المختبرية 0

(ثانياً) درجات الحرارة الواطئة :

تعمل درجات الحرارة دون درجات الحرارة المثلى للأحياء المجهرية على تثبيط الأعمال الأيضية في الخلايا لذا فإن درجات الحرارة الواطئة تستخدم في حفظ مزارع الأحياء المجهرية ، لذا لا يمكن اعتبار الحرارة الواطئة وسيلة تعقيم ولكنها وسيلة لوقف النشاط الأيضي للأحياء المجهرية وذلك بسبب الجفاف الذي ينتج عن طريق تجمد الماء الحر وعدم توفر الرطوبة الضرورية لحيوية الأحياء المجهرية في حين تستخدم درجات الحرارة العالية وسيلة على الأحياء المجهرية وكلا الوسيلتان تستخدمان في حفظ الأغذية

(ثالثاً) التجفيف : Drying

بما أن الفعاليات الحيوية التي تقوم بها خلايا الأحياء المجهرية لا يمكن أن تجري إلا بوجود الماء ، لذا فإن 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 للتجفيف 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 بسرعة مع البروتين والدنا DNA مؤدية بذلك الى موت الخلية وتعتبر السبورات

مقاومة للقتل بالأشعة مقارنة بالخلايا الخضرية وذلك لأحتوائها على كمية من الماء ، وتستعمل أشعة أكس في السيطرة على التلوث المايكروبي في الغذاء والمضادات الحيوية والأدوات البلاستيكية والأدوات الجراحية التي لا يمكن تعقيمها بالحرارة 0

2- الأشعة فوق 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 والبلاستيك 0

(خامساً) الصوت : Sound

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

(سادساً) الغضط الأزموزي : 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

(سابعاً) شدة التوتر السطحي : Surface tension

أن السطح البيئي 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 الساييتوبلازمية في الخلايا مم يسبب تحطيم للخلية 0

(ثامناً) الترشيح Fiteration

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

1- أقراص الأسبستوس التي تستعمل في مرشحات OSeiTze

2- الداياتوم 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 OSintered glass

5- مرشحات غشاء الترشيح OMembrane 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 الكيميائية

أهم المركبات الكيميائية 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 الساييتوبلازمي 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 بتركيز (2-5%) لتطهير بعض المواد مثل القشع والأدرار والغائط وبعض الآلات الطبية الملوثة ، ويستخدم بتركيز 1% لتطهير البشرة 0

2- الكحولات : تتصف هذه المواد بقابليتها على قتل المايكروبات وتزداد فعاليتها بزيادة الوزن الجزيئي كلما ارتفعت بالسلسلة أبتداء من الكحول المثيلي وحتى الوصول الى الكحول الأميلي الخماسي الكربون 0 يكون تأثير الكحول المضاد للمايكروبات عن طريق تغيير طبيعة البروتين الكيماوي 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 استعمال الكحولات بتركيز تتراوح بين (50-80) % ويصبح غير مؤثر عندما يستعمل بتركيز اقل من 50% وأكثر من 80% وذلك لفشله في دخوله للخلية 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 ، او كسيد 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 تصبغ البكتيريا منها صبغة البنفسج البلوري وهذه تضاف الى وسط الماكونكي لمن نمو البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وكذلك صبغة اخضر الملاكيت التي تمنع نمو بكتيريا والعنقوديات والسالمونيليا وبكتيريا القولون ، كما ان صبغة المثل البنفسجي تمنع نمو المسبقيات 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 ازلتها 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 المسببة 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 هابيو كلورات الصوديوم بتركيز (5-12%) المستخدمة في المنازل كمادة قاصرة وقاتلة للمايكروبات في معامل الالبان والاغذية ، اما الكلورامين فيمتاز بثبوتيه وطالة فترة انتاج الكلور مقارنة بالهيبوكلورات وهو مركب غير مחדش لذلك يستخدم في تطهير وتضميد الجروح 0

يعود الفعل القاتل للميكروبات للكلور ومركباته الى تكوين حامض الهيبوكلوروز عند اذابة هذه المواد في الماء كما في المعادلة



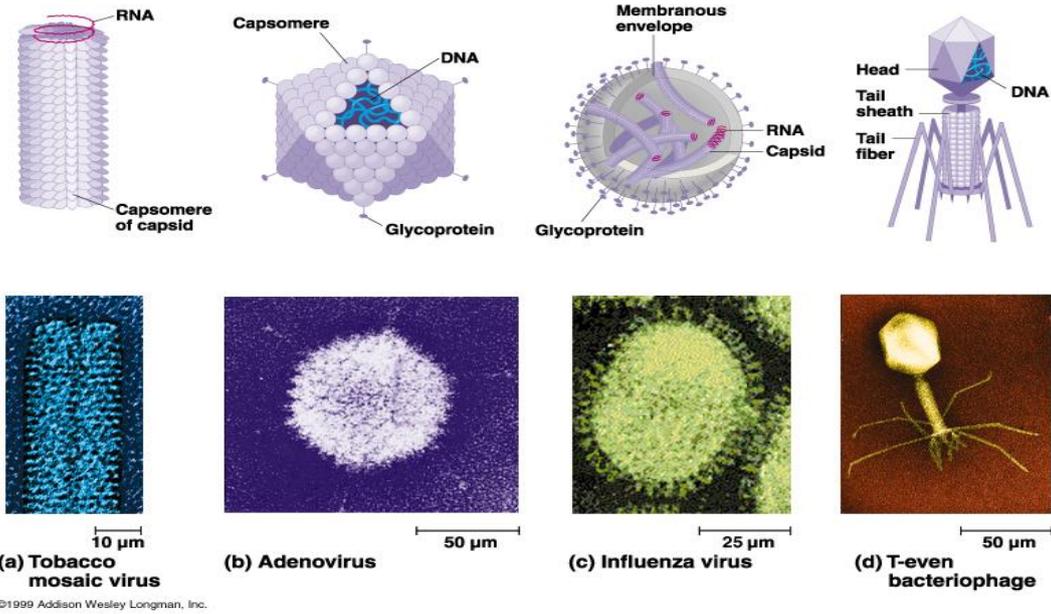
ويتحلل حامض الهيبوكلوروز هذا بسرعة بسبب عدم استقراره ليعطي الاوكسجين الذري O المؤكسد الشديد والذي يقوم

بأكسدة محتويات الخلية ويقضي عليها ، اما الكلور الحر فإنه 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 بروتينات الخلية 0

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

1- أكسيد الأثيلين : يكون هذا المركب سائلاً بدرجة حرارة 9، 10 ويصبح غاز فوق هذه الدرجة ، وهو قابل للأشتعال لذا يخلط مع 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 سائلاً تحت درجة الحرارة الاعتيادية ودرجة غليانه 163م وهو لا يشتعل 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 والبنائيات 0 من مساوئه بأنه يسبب السرطان 0



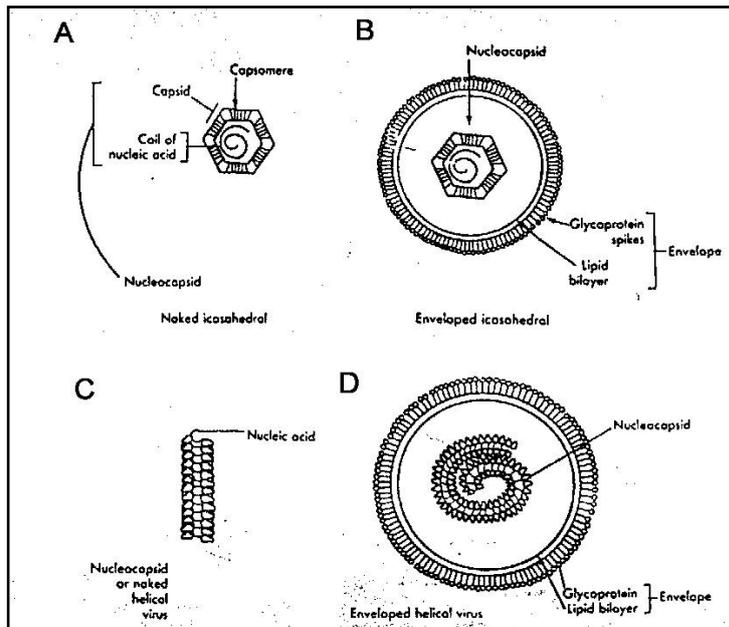
Viruses

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 تبغ Tabacco Mosaic وفي عام 1898 اعلن العالم بيجرنك Beijerink عن وجود عوامل تختلف عن البكتريا ووضح 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.

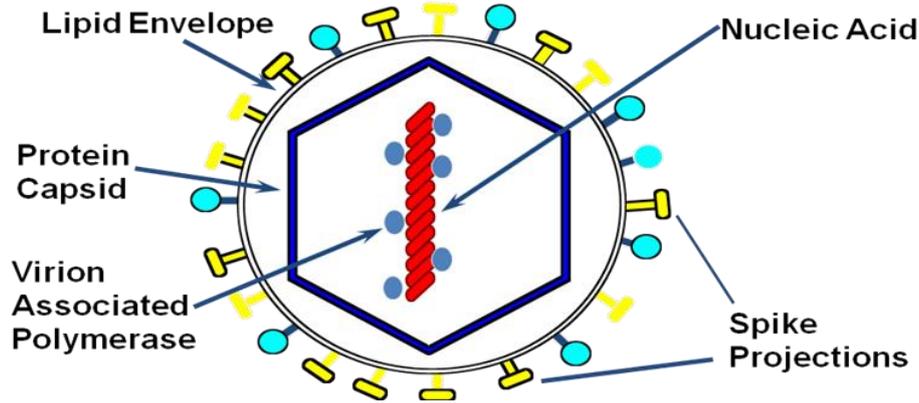
الصفات العامة للفايروسات

- 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 الحلزوني helical مثل tobacco mosaic virus
 - الغلاف متعدد السطوح polyhedral مثل adenovirus
 - الغلاف المعقد complex مثل الفاج البكتيري bacteriophage
- 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 الفيروسات لواحق spike مرتبطة بالغلاف الدهني مكونة من كلايكوبروتين مثل هبماكلوتينين (HA) hemagglutinin (HA) لفايروس الانفلونزا.
- 7- وجود نوع واحد من الاحماض النووية اما RNA او DNA، قد يتواجد احادي الشريط او مزدوج الشريط، من قطعة واحدة او عدة قطع، خطي linear او حلقي circular.
- 8- تستغل الفيروسات مكونات الخلية المصابة لاتمام عملية التكاثر، حيث انها لا تمتلك الانزيمات والرايبوسومات والية صنع البروتين.
- 9- لاتتكاثر الفيروسات بالانشطار بل تتكون الجسيمات الجديدة نتيجة لعمليات كيميائية حيوية (بايو كيميائية) 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 السايوبلازم او كلايهما ولا تمتلك أي فعالية حيوية خارج الخلية.
- 12- تسمى الجسيمة الكاملة بـ **الفيرون Virion** (وجمعها فيرونات) وتتالف من حامض نووي مغلف بسترية 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 المضيفة.
- 13- بعض الفيروسات تسبب امراض للانسان مثل: الجدري smallpox، الحصبة measles، الانفلونزا influenza، الايدز AIDS .



شكل (1) يوضح تراكيب الفيروسات 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 الفيرون 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 الفيرون 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 الى 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) فان الـ DNA فيه يكون خطياً ولكنه يتدور حالما يدخل الخلية المضيفة.
- يحتوي الحامض النووي للعائيات 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 العائية T-even التي تصيب القولون وكذلك (5Hydroxy methyl deoxy 5HMU uridylic acid) 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 ونتاج 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 Bacteriophage تعمل على تحلل جدار الخلية البكتيرية اثناء حقن الحامض النووي، او عملية صنع مكونات الفيرون 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 Phosphatidyl serine ، وتشير ادلة كثيرة الى ان الغلاف الخارجي للفايروس مستمد ولو جزئياً 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:

- تصنف معظم الفيروونات اعتماداً على شكل الكاسيد الى صنفين اما ان يكون لولبي Helical او يكون شكلاً متعدد السطوح Polyhedral او المعقد فقد تتحور هذه الاشكال مثلاً Bacteriophage نجده مكوناً من رأس متعدد السطوح ومرتبب 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 شكل لب او فراغاً ينظم فيه الحامض النووي ويعتمد حجمه على عدد الكاسوميرات المكونة له، اذ ان اكبر فيرون متعدد السطوح هو فايروس لبعض الحشرات حيث يحتوي على 812 كاسومير.

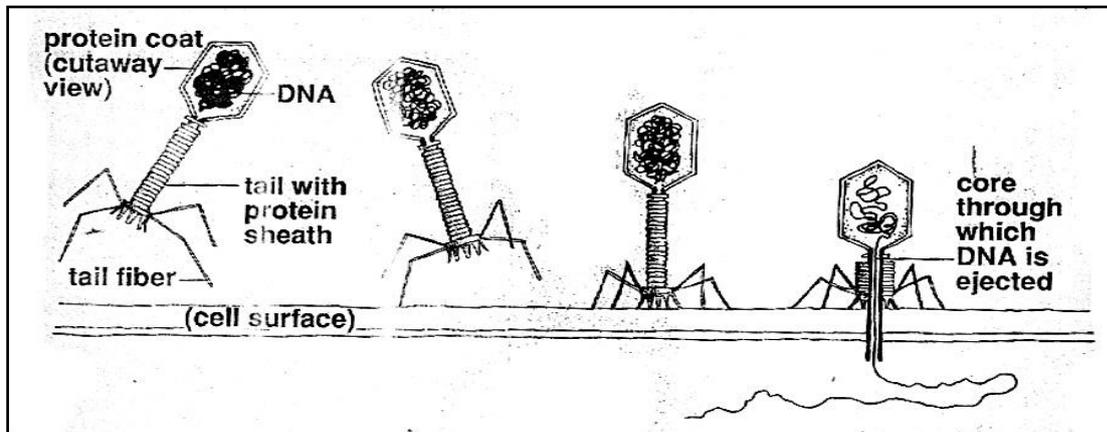
- اما الفيروونات اللولبية مثلاً فايروس تنقع التبغ فيوجد الـ RNA في الاخدود الحاصل من التركيب اللولبي للكاسيد ، ويكون مظهره الخارجي على شكل قضيب يحتوي على 2000 من الكاسوميرات .

طرق الاصابة الفايروسية:

تختلف طريقة الاصابة في الخلايا النباتية والحيوانية والبكتيرية 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 السليلوز لذا تدخل الفايروسات عن طريق وجود جروح او مسالك معينة.

■ والخلايا البكتيرية فجارها اقل صلابة والحامض النووي لراشح البكتريا DNA يدخل الساييتوبلازم عن طريق عملية الحقن.



تسمية وتصنيف الفايروسات

- تتباين انظمة التصنيف المعتمدة للفيروسات، لذا ندرج بعض من هذه الانظمة :
- اولا- التسمية على اساس الاعراض المرضية مثل فايروس موزائيك التبغ.
- ثانيا- طريقة الترقيم، بوضع رقم يدل على تسلسل اكتشاف الفيروس في ذلك النبات مثل فايروس التبغ 1 (Tobacco Virus 1).
- ثالثا- طريقة الحروف الهجائية والالفاء، مثال على ذلك: فايروس يصيب نبات البطاطا احدهما ينتقل بواسطة حشرة المن ويطلق عليه فايروس البطاطا واي Potato Virus Y والفايروس الثاني لا ينتقل بواسطة الحشرة يسمى اكس Potato Virus X.
- رابعا- تسمية مجموعات فايروسية ، باعتماد الصفات التركيبية للفايروس 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 ينتهي بمقطع- virus
 - 3- النوع الفيروسي-هي مجموعة فايروسات تشترك بصفات وراثية وبيئية (المضيف).
 - 4- الاسم الشائع هو اسم النوع.
 - 5- تحت النوع Subspecies يتم 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

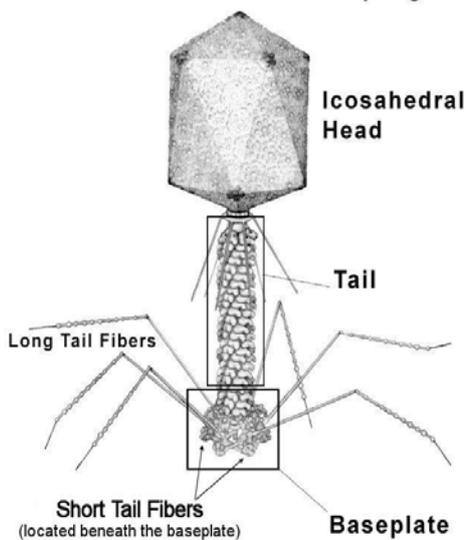
Herpes Virus

Bacteriophage الفايروسات البكتيرية

هي تلك الفايروسات التي تنطفل على البكتريا على وتدعى بالفاجات البكتيرية Bacteriophage واختصارا بـ phage وتدعى باللغة العربية بالعائيات لانها تعبت 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 العائيات 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 ويبني هذا الغلاف من وحدات فرعية متماثلة مرصوفة 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 MS₂ في حين نجد فاج T₄ يتألف من 20 نوع من البروتينات.

Schematic of T4 Bacteriophage



ان جزيئة الفاج تحتوي على رأس وذنب ويمثل الرأس لباً من الحامض النووي المحاط بـ Capsid في حين نجد الذنب يختلف في مدى تعقيده من فاج الى فاج اخر الا ان الذنب الاكثر تعقيداً نجده في الفاج T₂ 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 الفيوس والبكتريا المصابة في ان واحد ولعدة اجيال.

1- الامصاص (الامتزاز) Adsorption

اذا ما مزج معلق من دقائق العائية T-even مع سلالة حساسة من *E.coli* عندها ستتصادم العائية مع البكتريا الصدفية وان الالياف الموجودة عند نهاية ذيل العائية هي موقع ادمصاصها التي ترتبط بمستقبلات معينة على الجدار الخلوي البكتيري. ويتحتم على الفايروس ان يجري بعض التعديلات على سطحه قبل ان يستطيع الامصاص 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 T₃ و T₄ و T₇ ضمن طبقة السكريات الدهنية في حين نجد ان مستلمات الفاجات T₂ و T₆ تقع في الغشاء الخارجي ضمن الطبقة البروتينية الدهنية للجدار.

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

فقد وجد ان بعض الفاجات الخيطية لا تمتلك ذنباً ولكن تستطيع حقن حامضها 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 الساييتوبلازمي.

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 فإن DNA الخلية لا ينكسر وانما يستمر في تخليق بروتينات جديدة.

3- تخليق المكونات الفايروسية Synthesis of Viral components

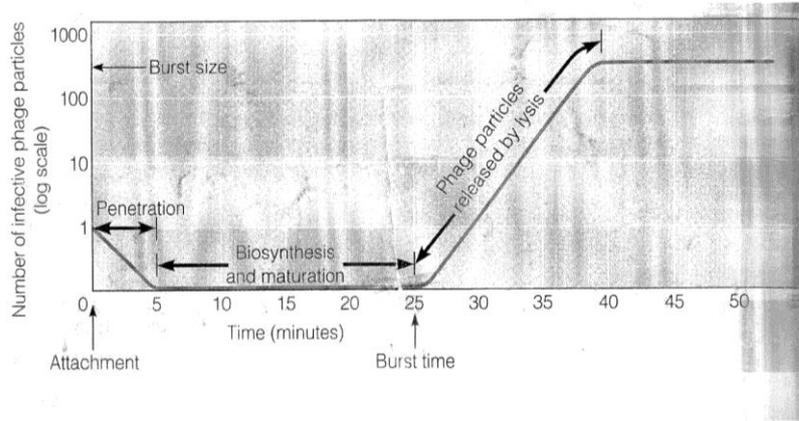
ان الفايروسات ذات الـ DNA المفرد الشريط في حالة حقتها الى داخل البكتريا يتحول الـ DNA الثنائي الشريط بواسطة انزيم DNA polymerase الخلوي. اما الشريط DNA الحلقي فانه يدخل على هيئة او شكل خيطي ولكن يحتوي نهايته على تعاقب قصير من القواعد النتروجينية المتمم بعضها للبعض الاخر وبأتحاد هذه القواعد في احد نهايتين مع متماتها 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 وذبول العائية بصورة مستقلة بواسطة عمليات تدريجية تتضمن تجميع الوحدات الفرعية للبروتين وحالما يتكون الرأس فانه يرزم مع DNA العائية ويتصل الذيل بعد ذلك به.

5- تحرير الفايروس Release

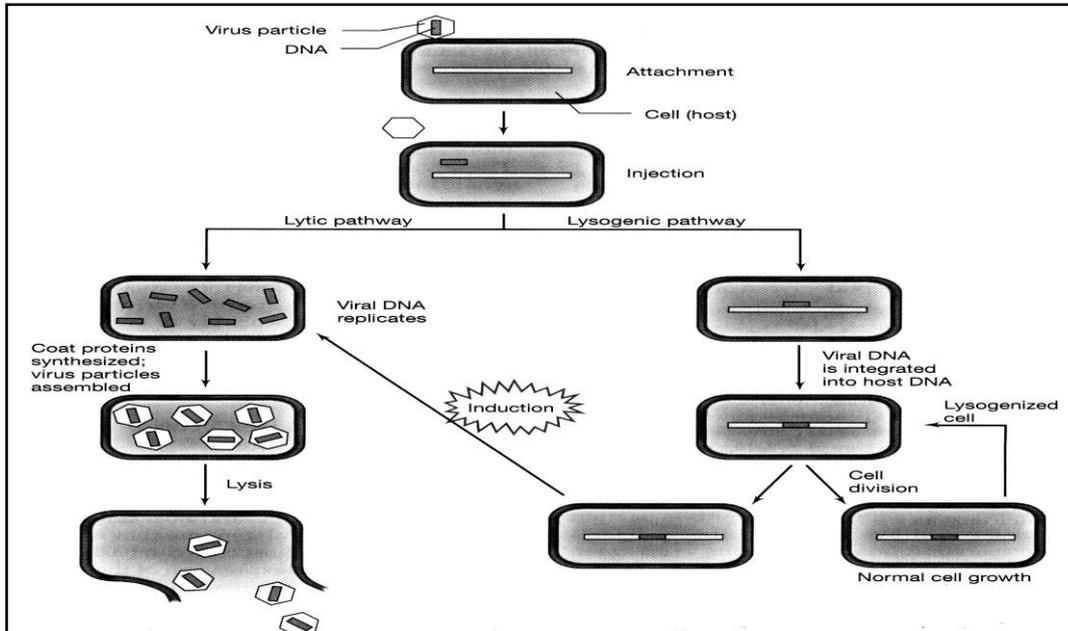
اثناء الادوار الاخيرة من فترة الاصابة هناك انزيم اخر مستحث بالعائية ومشفّر له بـ DNA العائية يبدأ بالظهور وهو Phage lysozyme الذي يقوم في مهاجمة طبقة الببتيدوكلايكان الخلوي محلل بذلك الاواصر الرابطة بين الجزيئات السكرية الموجودة في السلسلة الرئيسية للجدار الخلوي مما يؤدي ذلك الى انحلال الخلية وتحرر العديد من الفيروونات نتيجة للضغط التنافذي العالي الموجود داخل الخلية وبهذا تموت الخلية وتحرر 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 الفايروس الخفي (Viral Latency)

وهي قابلية الخلية المضيغة 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

العائيات ذات الحامض النووي الرايبوزي RNA

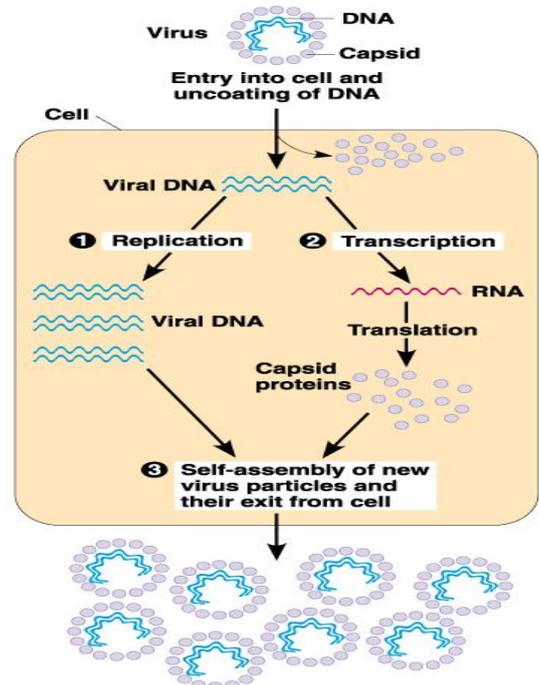
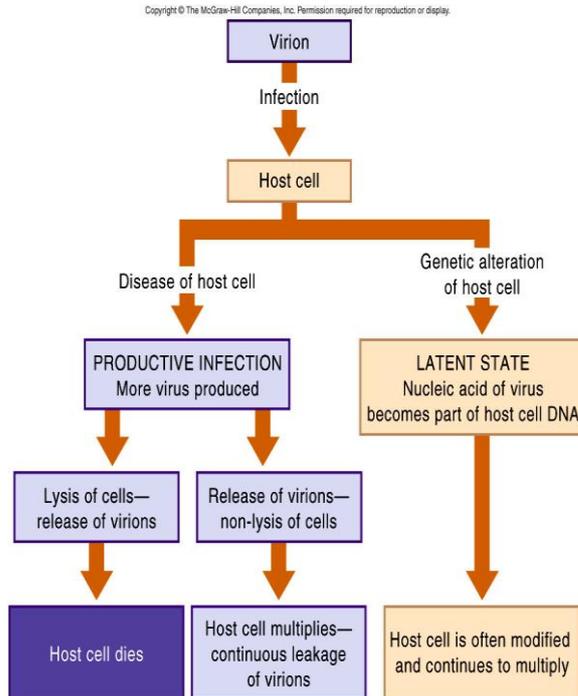
عندما يصل الـ RNA الفيروسي سايتوبلازم الخلية المضيفة تتعرف الخلية مباشرة على انه m-RNA فيتحد مع الرايبوسومات الخلوية وتبدأ عمليات الترجمة الى البروتينات الفيروسية. ومن البروتينات الرئيسية هو انزيم تخليق الحامض النووي الرايبوزي RNA Synthetase الذي يبدأ عملية استنساخ الـ RNA الفيروسي.

طرق تكاثر الفايروس في الخلايا الحيوانية

تمر الفايروسات عموماً بخمس مراحل خلال تكاثرها، وهي:

- 1- الالتصاق على سطح الخلية الحية Attachment to the cell
- 2- حقن الحامض النووي الفيروسي Penetration (injection) of viral DNA or RNA
- 3- التكاثر وبناء المواد الحيوية الفيروسية 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: اولاً- الجسيمات الفيروسية المحاطة بغلاف envelope ، عن طريق التبرعم من الغشاء الخلوي budding، ثانياً- 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 فايروس الايدز HIV و الهيربس Herpes viruses.

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 الدم Blood-borne transmission مثل الفيروس المسبب للاتهاب الكبد الوبائي Hepatitis B virus.
- 4- الفيروسات 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 الفيروسيّة :- 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		
				32	28-30	6.4-7.4	ss	Astroviridae		
					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	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			

^aDiameter, or diameter x length.

^bds, double-stranded; ss, single-stranded.

^cThe negative-sense strand has a constant length of 3.2 kb; the other varies in length, leaving a large single-stranded gap.

^dThe genus *Orthopoxvirus*, which includes the better-studied poxviruses (eg, vaccinia), is ether-resistant; some of the poxviruses belonging to other genera are ether-sensitive.

^eSize of monomer.

^fApproximate length of the filament.

- الفايروسات المهمة طبييا تضم مجموعتين رئيسية استنادا الى نوع الحامض النووي:
- 1- الفايروسات ذات الحامض النووي RNA والمسببة الامراض للانسان مثل: فايروس 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 B 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- الفايروسات 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، وتقسّم الى نوعين:
- أ. فايرس مقتول يدعى Salk
- ب. فايرس حي مضعف يدعى Sabin وهو اللقاح المستخدم للاطفال للتحصين ضد الاصابة بمرض شلل الاطفال.

2- الفايروسات 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 الفايروس Influenza A

▪ Hemagglutinin (HA)

-Receptor binding (sialic acid)

-Neutralizing antibody target

• Neuraminidase (NA)

-Remove sialic acid residues

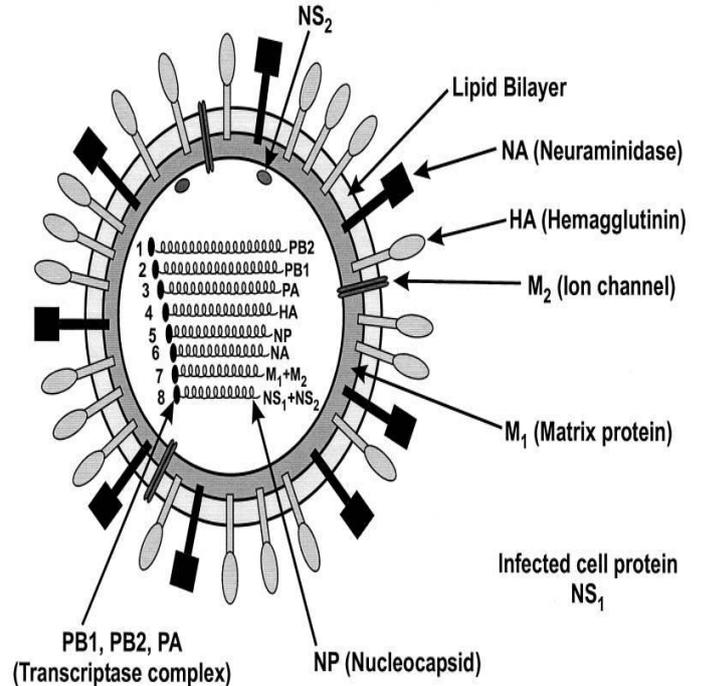
-Virion release

• 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 : عندماصيب الفيرس الخلية يحقن الحامض النووي RNA والانزيم الرجعي reverse transcriptase الى داخل السايئوبلازم. 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.

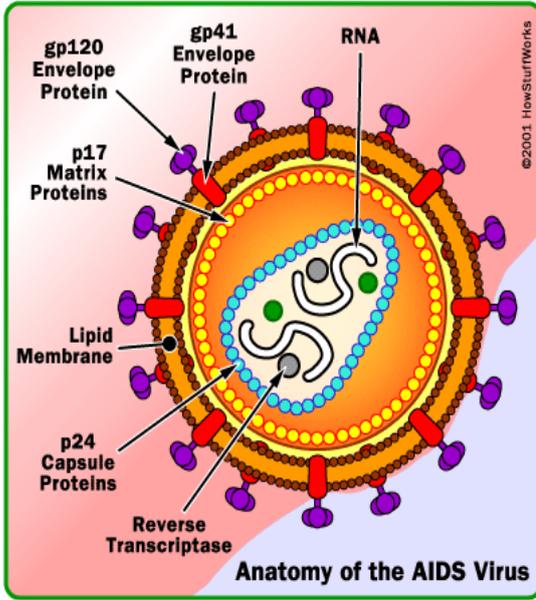
○ مسجل حاليا 30 مليون اصابة حول العالم.

○ 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 للمفوية 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 glycoprotein (gp) 120، gp14، stem، و p17(matrix)، بالاضافة الى مستضدات من بروتينات الغلاف الداخلي capsid (p24 viral protein).

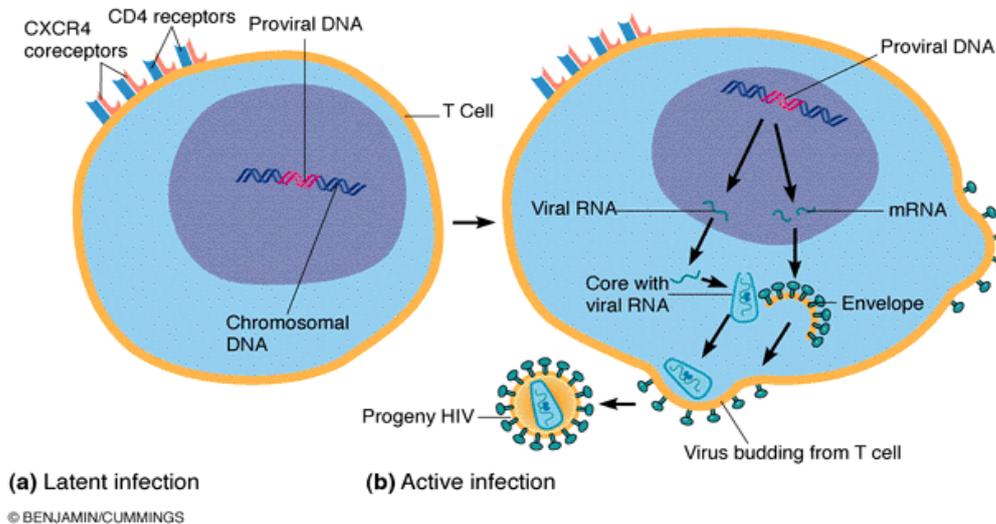


دورة حياة فايرس الايدز: كما موضح في الشكل

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 اللمفية، طفح جلدي) و تظهر الاجسام المضادة للفايرس خلال شهرين من حدوث الاصابة.

Life Cycle of HIV



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

- **فايرس الهريس Herpes simplex virus type 1**
 - ينتقل عن طريق الاتصال المباشر والرداذ والعباب من الجهاز التنفسي.
 - يسبب قرحة الفم cold sores، القرحة الناتجة عن الحرارة fever blisters والتهاب القرنية keratitis.....
 - 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 chronic active Hepatitis
- فترة حضانه المرض تتراوح بين 50-180 يوم

4- الفايروسات 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 الثآليل warts وانواع تسبب سرطان عنق الرحم.
- يوجد 60 نوع لهذا الفايروس
- ينتقل عن طريق التماس المباشر للجلد والاتصال الجنسي.
- تزداد الاصابة عند الاطفال وتقل عند البالغين
- تصيب الانسان والحيوان بانواع متباينة

السيطرة و علاج الامراض الفيروسيه

- 1- اللقاحات
- 2- الانترفيرون Interferon
- 3- الدواء الكيميائي، مثل (acyclovir)
- 4- انزيم Protease inhibitors مثبط لتكوين البروتين: يمنع تكون الكابسد capsid.

امراض ناتجة عن مسببات غير مألوفة:

البرايون Prions: البروتين المعدي المسبب لمرض جنون البقر mad 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 علاجه باستعمال محلل البروتينات proteases .

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

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 المستوطنة على جسم الانسان المكورات العنقودية البشرية Propionibacterium spp و Staphylococcus epidermis 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 الانتهازى 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 pneumoniae فالبكتريا الحاوية على المحفظة تكون كائنات ضارية وغالباً ما

تكون مرضية اما تلك التي تفقد هذه المحفظة فتكون كائنات غير ضارية وغالباً تكون قدرتها الامراضية طفيفة. او قد تكون ذات علاقة بتوليد الذيفانات Toxins كما في بكتريا الخناق *Corynebacterium 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 المفترزة من قبل الأحياء المجهرية المرضية:-

1- Collagenase: يحلل Collagen الموجود في العظام والغضاريف اذ يسهل من انتشار المسبب

المرضي الى الانسجة مثل بكتريا *Clostridium perfrenge*.

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

Staphylococcus aureus و *Streptococcus pyogens*.

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 او عامل 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 β -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 او محطم للكريات البيضاء ويفرز من قبل بعض انواع البكتريا مثل *S. aureus*.

9- القدرة على انتاج الذيفان (السموم): وتقسّم 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 ما يعرف بالاصابة تكون على نوعين:-

- 1- **موضعي Local:** الاصابة تكون في موقع معين من الجسم مثل الدامل *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 الميكروب 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 **Cerebral 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 gonorrhoea*.
- 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 (0.8-1M). 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 10 NaCl % . تعزل من الهواء و الجلد و الغذاء و الماء. تنمو بسرعة على اوساط زرعية اعتيادية مثل الـ Nutrient agar و Blood agar ووسط Mannitol salt agar ؛ مقاومة للجفاف والحرارة . يحتوي هذا الجنس على اكثر من 30 نوع Species واهم اربع انواع هي:

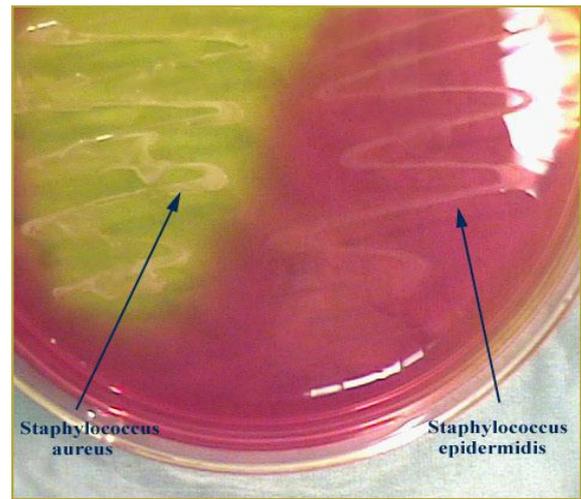
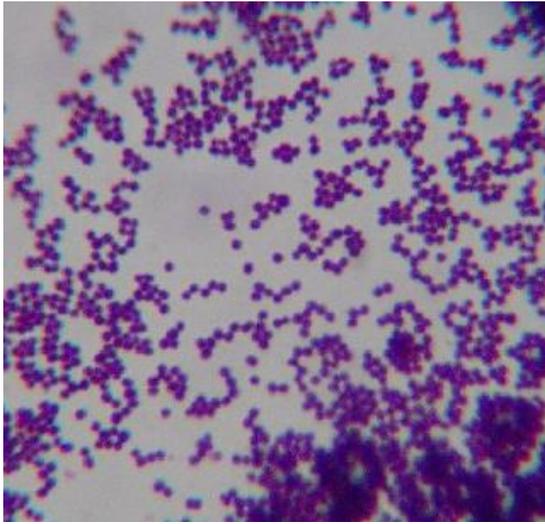
Staphylococcus aureus ممرضة ، *epidermidis Staphylococcus* وهي بكتريا انتهازية ؛ *Saphylococcus saprophyticus* وبكتريا *Staphylococcus haemolyticus* *S. aureus* ممرضة للانسان تسبب انواع مختلفة من الخمج القيحي Pyogenic infection ، تسبب العديد من الامراض والتي تكون واسعة الانتشار ومنها التسمم الغذائي Food 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 القنطرة المعوية و التهاب الجهاز البولي التناسلي 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- β - 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 توأجدها 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 وتجمع الخلايا بالمجهر الضوئي

شكل المستعمرات على وسط اكار المانتول

ثانياً: المسبقيات Streptococcus مكورات موجبة لصبغة كرام ؛ مرتبة بشكل سلاسل او مزدوجة ؛ غير متحركة ؛ غير مكونة للسيرورات ؛ هوائية او لاهوائية اختيارية ؛ قسم منها normal flora بالجسم وقسم ممرضة ؛ اختبار الـ Catalase سالب. تحلل الدم hemolysin وتكون نوعين اما تحلل كامل او جزئي α -hemolytic, β -hemolytic . تقسم المجاميع الحالة للدم الى مجاميع مصلية تعرف بـ Lancefield من (A-U). قطرهما من (1-2mm) تكون المحفظه capsule تنمو بصورة ضعيفة على الوسط الصلب او السائل وتحتاج الى مواد اغناثية 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 للـ DNA .
- 3- hyaluronidase
- 4- pyrogenic exotoxins رافع الحرارة.
- 5- hemolysin المحلل للدم .

immunoglobulin proteases -6

hyaluronidase -7

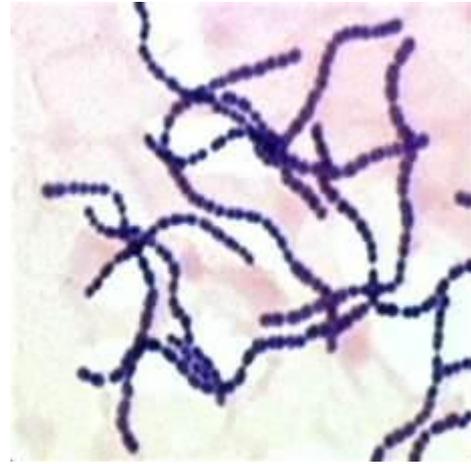
.collagenases -8

اهم الانواع:

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

2- Streptococcus agalactiae جزء من الـ normal flora في القناة التناسلية genital tract والمسبب الرئيسي للسحايا meningitis. محللة للدم من نوع β - hemolysis.

3- Streptococcus pneumonia مكورات مزدوجة diplococic ؛ تمتلك كبسولة مما يجعلها مقاومة لعملية البلعمة ؛ محللة للدم من نوع α - hemolysis ؛ حساسة لمضاد optochin ؛ تحتاج الى الدم في الوسط الزرعى ؛ 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 .

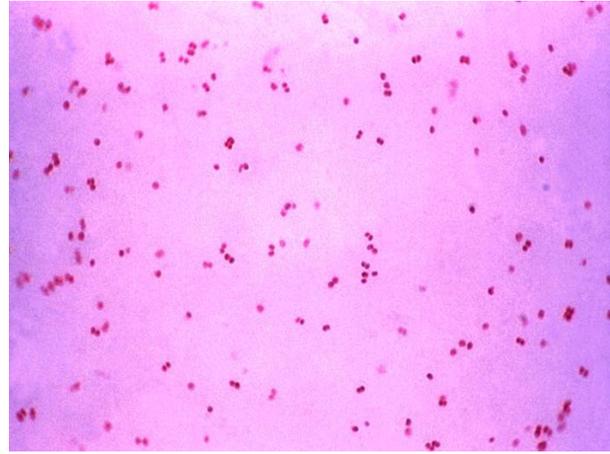
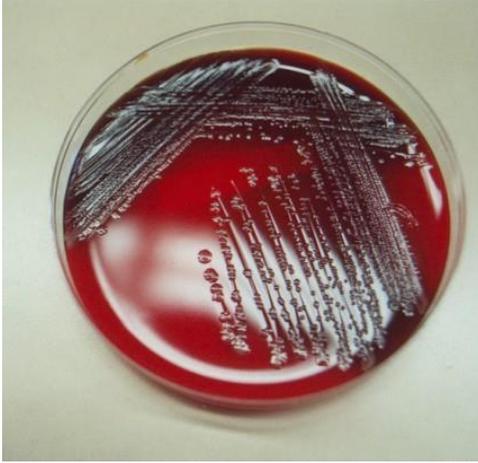


شكل المستعمرات Streptococcus على وسط اكار الدم

شكل الخلايا Streptococcus بالمجهر الضوئي

ثالثاً: مكورات سالبة لصبغة كرام Neisseriae كريات سالبة لصبغة كرام مزدوجة diplococci السطحان المتقابلان مسطحة ، القطر $0.8\mu\text{m}$ ؛ غير متحركة nonmotile ؛ هوائية ؛ تحتاج $5-10\% \text{CO}_2$ ؛ 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 القيجي purulent vaginitis ، وفي الذكور تسبب التهاب الاحليل القيجي purulent urethritis. التهاب المستقيم القيجي والتهاب الجلدي البثري .



شكل خلايا بكتريا *Neisseria* تحت المجهر الضوئي 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* 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:

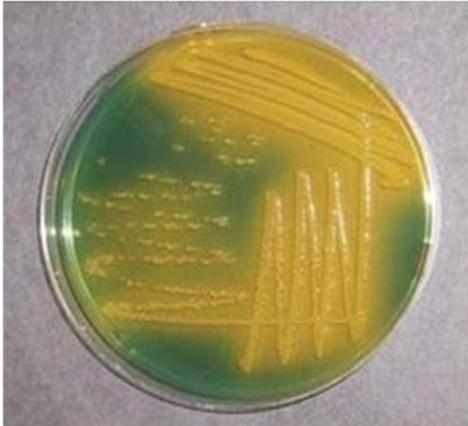
- 1- *E. coli* تسبب خمج المجاري البولية والجهاز التناسلي والجهاز العصبي وتسمم الدم.
- 2- *Klebsiella rhinoscleromatis* تسبب التهاب الغشاء المخاطي للاذن والحنجرة المزمن.
- 3- *Proteus* تتميز بأفراز انزيم urease ، ولها خاصية الانتشار Swarming وتشمل نوعين: *P. vulgaris*, *P. mirabilis* ؛ تتواجد كبكتريا طبيعية N.F في القناة الهضمية. ؛ تسبب خمج المجاري البولية ؛ تسبب سحايا الاطفال حديثي الولادة ؛ تسبب تسمم الدم.
- 4- *Salmonella* وتشمل عدة انواع مرضية للانسان. *S. typhi* المسببة للحمى التايفوئيدية. *S. paratyphi* A,B,C, والمسببة للحمى البار اتيفوئيدية.
- 5- *Shigella* تشمل *Sh. dysenteriae*, *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 ضمات 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 عبر المياه الملوثة والمواد الغذائية. عادة ما يتم العثور عليه في البلدان النامية حيث تكون امدادات المياه غير مأمونه وملوثة بمياه الصرف الصحي . وينتشر الوباء خلال الحروب والهجرة .المظاهر السريرية لمرض الكوليرا ما يلي:

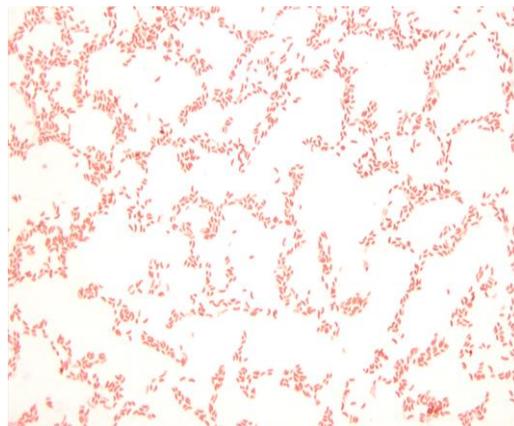
اسهال شديد غير مؤلم ؛ ما يصل إلى 20 مرة في اليوم الواحد ؛ تقيئ ؛ الجفاف الشديد. التشخيص يستند التشخيص السريري على وجود البكتريا الكوليرا في الإسهال (البراز) مع التشخيص المصلي السريع . يمكن زراعتها على الاوساط الزرع الخاصة مثل وسط TCBS. واجراء الفحوصات البايوكيميائية.

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 الدعمة الأساسية للوقاية . انتشار التعليم الجماعي والتوعية الصحية . انتاج لقاحات ضد المرض قيد التجارب.



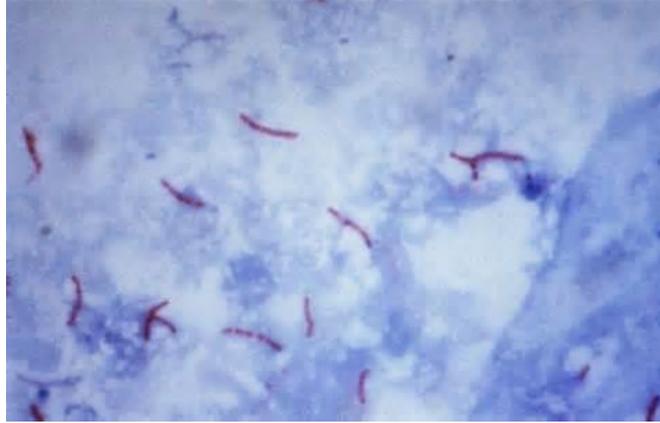
شكل المستعمرات على وسط زرع TCBS



شكل بكتريا الكوليرا تحت المجهر

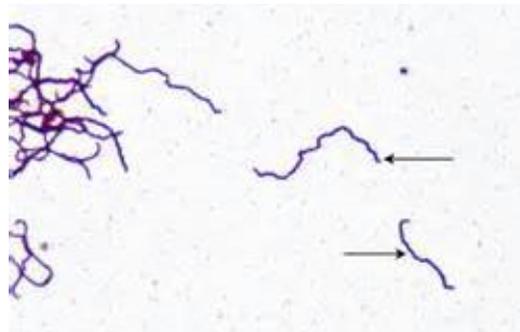
سادسا : بكتريا السل *Mycobacterium tuberculosis* ينتشر مرض السل من شخص الى اخر عن طريق الهواء ويصيب كل انحاء الجسم ويتطور المرض الى التهابات موضعية اخرى مثل التهاب السحايا والتهاب العظم والنقي . تتميز بكتريا السل بانها عصيات او بشكل قضبان مستقيمة رفيعة 0.4 – 3 ملم غير متحركة وغير مكونه للسبورات وتكون متغايرة من نوع الى اخر ولا يمكن ادارجها ضمن البكتريا السالبة لصبغة او الموجبة لصبغة كرام وذلك لاحتواء جدارها على طبقة 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 زرع 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 الكلى : الحمى و فقدان الوزن ومعقدة بالتليف الحالبى 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 تصبغها بصبغة زيل نلسن (تحت المجهر الضوئي)

سابعاً الحلزونيّات 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 الحلزونيّات 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 يؤدي الى التهابات في العقد اللمفاوية والمنتشر الذي ينتهي بتشوهات جهازية كثيرة و يسبب التهابات جهازية مثل التهاب الابهر وقد تؤدي للموت. تشخص هذه البكتريا خلال الفترة الاولي من الاصابة بالمجهر المظلم Dark field microscope اذ تظهر البكتريا براقعة في محيط مظلم او بالطرق المصلية مثل فحص VDRL و TPHA.



شكل خلايا بكتريا السفلس الحلزونية