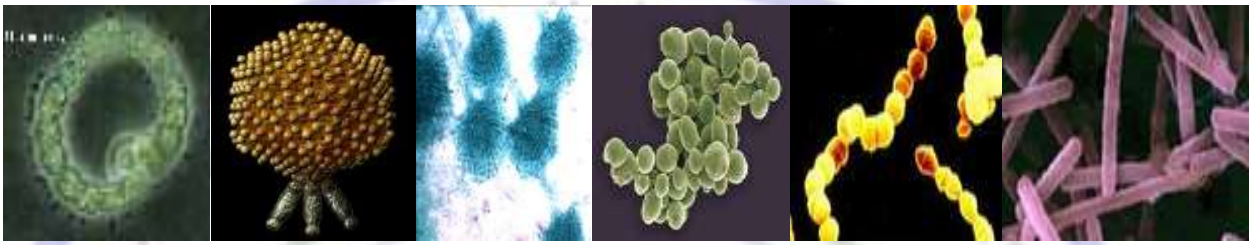
علم الاحياء المجهرية

وهو أحد فروع علوم الحياة Biology والذي يعنى بدراسة الكائنات الحية التي تتميز بصغر حجمها والتي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة. وتسمى بالمجهرية لاستخدام المجهر في رؤيتها. تشمل هذه الاحياء البكتريا Bacteria والفطريات Fungi (والتي تقسم الى خمائر Yeasts واعفان Molds او Moulds) والطحالب Algae والابتدائيات Protozoa والركتسيا Rickettsia والفايروسات Viruses.

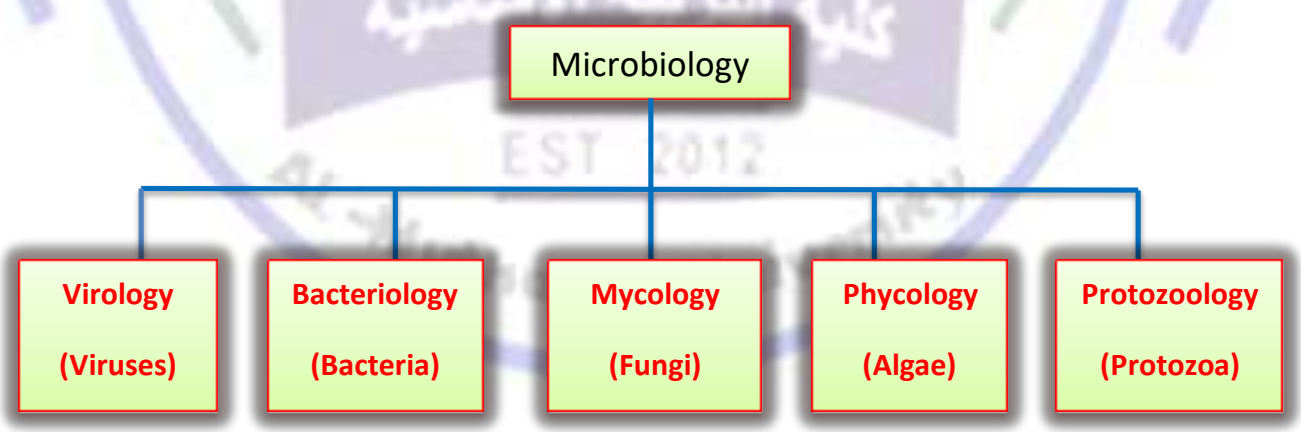


يدرس هذا العلم الكائنات من حيث الشكل، والتركيب والتكاثر والفسلجة والتصنيف والايض كما ويدرس توزيع الكائنات في الطبيعة وعلاقتها ببعض وعلاقتها مع الكائنات الاخرى وتأثيرها في الانسان والحيوان والنبات وامكانية الاستفادة منها وتوظيفها في انتاج العديد من المركبات الطبية والصناعية.

المجاميع الرئيسية للأحياء المجهرية: -

تشمل الأحياء المجهرية على مجموعة هائلة من الكائنات يمكن وضعها في مجاميع رئيسية هي :

- البكتريا Bacteria والعلم الذي يعنى بدراستها هو Bacteriology.
- الفطريات Fungi وتقسم الى قسمين الاعفان Molds والخمائر Yeasts والعلم الذي يعنى بدراستها هو Mycology
- الطحالب Algae والعلم الذي يعنى بدراستها هو Phycology
- الابتدائيات Protozoa والعلم الذي يعنى بدراستها هو Protozology
- الفايروسات Viruses والعلم الذي يعنى بدراستها هو Virology

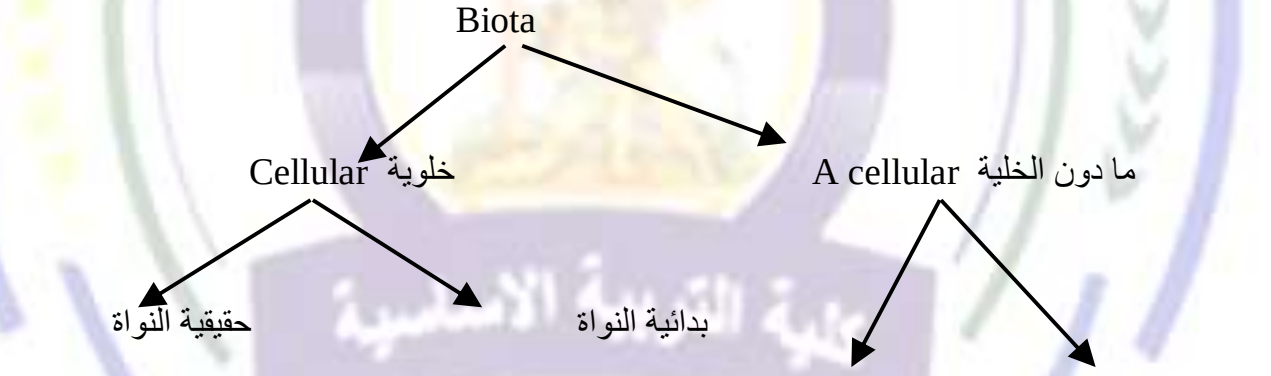


ونظرا لوجود أعداد هائلة من الكائنات المجهرية في الطبيعة وعلاقتها المباشرة وغير المباشرة بالإنسان من حيث المشاكل الصحية والاقتصادية التي تسببها له ولدورها في تفسخ وفساد الاغذية ومساهمة البعض منها في صناعة الكثير من المنتجات الغذائية و مساهمة البعض منها في الحصول على مركبات عضوية ذات استخدامات طبية وصناعية والدور المهم لهذه الكائنات في إكمال دورة العناصر المختلفة في الطبيعة مثل : Co2 , S , P , N ولأهمية البعض منها في تحسين خواص التربة وعلاقة الكثير منها بأمراض النبات فان علم الأحياء المجهرية تشعب الى علوم متخصصة اخرى مثل :

Water microbiology , Air microbiology , Food microbiology , Dairy microbiology , Medical microbiology وهكذا وان بعض فروع هذا العلم يهتم بدراسة جوانب معينة ومحددة من فعالية هذا الكائنات مثل :

Microbial physiology , Microbial genetics , Microbial technology , Microbial enzymes

تتألف هذه الكائنات اما من خلية مفردة واحدة كما في بعض انواع البكتريا والخمائر والطحالب والابتدائيات او تتكون من مجموعة من الخلايا(متعددة الخلايا) Multicellular كما هو الحال مع الأعفان وبعض الطحالب، لكن خلايا هذه الاحياء لا ترقى الى مستوى التمايز النسيجي اي لا توجد انسجة في هذه الكائنات، وهذه الخاصية من الخواص التي تتميز بها خلايا الكائنات الراقية. علما ان الخلية هي وحدة البناء الوظيفية في جميع الكائنات الحية. وان مجموعة من الخلايا المتشابهة في التركيب والوظيفة تشكل ما يعرف بالنسيج ، ويستثنى من ذلك الفايروسات والفايرودات Viroid's والتي هي كائنات استثنائية تتكون من مادتين كيمياويتين اما DNA او RNA والبروتين وهي بذلك لا ترتقى الى مستوى الخلية. ويمثل المخطط الاتي موقع الكائنات الحية المختلفة في عالم الكائنات الحية



* الحيوانات
* النباتات
***الاحياء المجهرية:**
* الفطريات
* الطحالب
*الابتدائيات

*جميع انواع البكتريا وهي:
*البكتريا الحقيقية Eubacteria
* المايكوبلازماMycoplasma
*الكلاميديا Chlamydia
*الركتسياRickettsiae
*سيانو بكتريياCyanobacteria

1. البكتريا الحقيقيةEubacteria : هي البكتريا الحاوية على الجدار الخلوي والتي تقوم بجميع فعالياتها بنفسها
2. Mycoplasma: بكتريا تخلو من الجدار الخلوي ، لذلك تتخذ اشكالا هلامية وهي أصغر الكائنات الحية حجماً وتختلف عن البكتيريا الأخرى في غياب الجدار الخلوي ، فهي بذلك لا تصبغ بصبغة كرام . ذات أشكال مختلفة .وخلايا ذات قطر يتراوح بين 150-300 nm تتكاثر بتكوين جزئيات أولية صغيرة تصعب قياسها ويمكنها أن تمر خلال المرشحات البكتيرية ذات الثقوب المجهرية (بقطر 150 nm) .
3. Rickettsiae (معظم الأنواع عصوية الشكل أو كروية أو متعددة الأشكال ، عديمة الأسواط ، سالبة لصبة كرام اجبارية التطفل على الفقاريات (تسبب العديد من أمراض الحمى) وتنقسم داخل خلايا العائل بواسطة الانقسام الثنائي . يمكن تثمينها على بيئات معملية مثل بيئات آجار الدم blood agar وتكون المفصليات أحد نواقل هذه الأمراض فهي العائل الأولي) و Chlamydia(طفيلية اجبارية لا تنمو على البيئات الصناعية و لا تنقلها اللافقاريات أي تكون العدوى بالاتصال المباشر تنقسم بالانقسام الثنائي . كروية الخلايا . غير متحركة . سالبة لصبة كرام) وهذان النوعان 2 و3 من البكتريا صغيرة الحجم جدا لا تعيش الا متطفلة لعدم قدرتها على انتاج حاجتها من الطاقة لافتقارها الى الانزيمات الضرورية لذلك.
4. Cyanobacteria: كانت تسمى بالطحالب الخضراء المزرقة، وتصنف الان مع البكتريا لأنها بدائية النواة. وتتميز عن بقية انواع البكتريا بقيامها بعملية البناء الضوئي لاحتوائها على بلاستيدات بكتيرية.

وكما يلاحظ من المخطط اعلاه ان الاحياء المجهرية تقسم الى مجموعتين اعتمادا على طبيعة وتركيب النواة فيها. فالأولى وهي الفطريات والطحالب والابتدائيات والتي تسمى بحقيقية النواة Eukaryons او Eukaryotic شأنها في ذلك شأن النباتات والحيوانات. اما الثانية وتشمل البكتريا بأنواعها المختلفة فتصنف ضمن الاحياء بدائية النواة Prokaryons او Prokaryotic . لا تحاط المادة النووية في المجموعة الثانية بغشاء نووي ، وتتكون المادة النووية فيها من جزيئة واحدة من الـ DNA (كروموسوم واحد) دائرية حلقية، والجدول الاتي يوضح اهم الفروقات بين الخلايا بدائية النواة وحقيقية النواة:

الخاصية	بدائية النواةProkaryote	حقيقية النواة Eukaryote
***النواة**		
الغشاء النووي	لا يوجد	يوجد
عدد الكروموسومات	واحد	اكثر من واحد
الهستونات	لا توجد	توجد
الانقسام الاختزالي	لا يحدث	يحدث
***الاجزاء الاخرى**		
المايتوكوندريا	لا توجد	توجد
البلاستيدات الخضراء	لا توجد	توجد(الخلايا النباتية)
الشبكة البلازمية الداخلية	لا توجد	توجد
الفجوات	لا توجد	توجد
اجسام كولجي	لا توجد	توجد
		توجد(الخلايا الحيوانية)
***التصنيع الجزيئي**		
حجم الرايبوسومات السايتوبلازمية	70S	80S
حجم الرايبوسومات في المايتوكوندريا والبلاستيدات	لا يوجد	70S

تواجد الأحياء المجهرية

توجد في كل مكان تقريبا في الطبيعة في عناصرها الرئيسية الثلاثة ماء , هواء , تربة . ولأنها موجودة بالهواء لذا فمن المتوقع وجودها في كل مكان يكون على تماس مع الهواء او ان الهواء يصل اليه وتختلف كثافة الأحياء المجهرية من مكان لأخر بما يوفره هذا المكان من متطلبات النمو ومستلزمات البقاء ولربما التكاثر . كما تتباين الأحياء المجهرية نوعا وكما من حيث الكثافة العددية باختلاف الأماكن والظروف البيئية المتوفرة من تلك الاماكن كالحرارة والرقم الهيدروجيني pH والمغذيات والضغط الازموزي وكمية الاوكسجين . ان الأحياء المجهرية تكون نسبة عالية جدا من المكونات الحية للطبيعة التي تتكون من مكونات حية وغير حية .

عدت الأحياء المجهرية من المكونات الحية وصنفت ضمن الانظمة الحيوية لتوفر شروط هذه الانظمة فيها وهي :

growth النمو , reproduction التكاثر , movment الحركة , respiration التنفس , nutrition التغذية

الموقع التصنيفي للأحياء المجهرية ضمن عالم الاحياء

وضعت جميع الكائنات الحية قبل اكتشاف الاحياء المجهرية في بداية القرن التاسع عشر ضمن مملكتين هما الحيوانية والنباتية . وكانت الاسس المعتمدة في هذا التصنيف هو قدرة الكائن على القيام بعملية البناء الضوئي. وقد حشرت الاحياء المجهرية ضمن هاتين المملكتين وعلى اساس الخاصية المذكورة. وقد عدت الطحالب من النباتات والفطريات عدت من النباتات لا نها تمتلك تراكيب شبيهة بالنباتات اما الابتدائيات فقد اعتبرت من الحيوانات. او مع زيادة عدد الاحياء المجهرية المكتشفة ولا سيما البكتريا فقد اقترح هيكل Haeckel عام 1866 م في وضعها في مملكة مستقلة اسماها مملكة الطليعيات Protista اعتمادا على خاصيتها التي ذكرت وهي خلو هذه الاحياء من التمايز النسيجي.

Haeckel

Whitaker(على اليسار)

وقد ضمت مجموعة الكائنات البدائية Procaryotic كلاً من البكتريا والبكتريا الزرقاء، بينما أدمج تحت الكائنات الراقية ذات الخلايا المتطورة كل من البروتوزوا، بعض أنواع الطحالب والفطريات. ونظرًا لأن الفيروسات ليست ذات تركيب خلوى، فإنها لم توضع ضمن أي من المجموعتين السابقتين.

النظم التقسيمية الحديثة للكائنات الحية

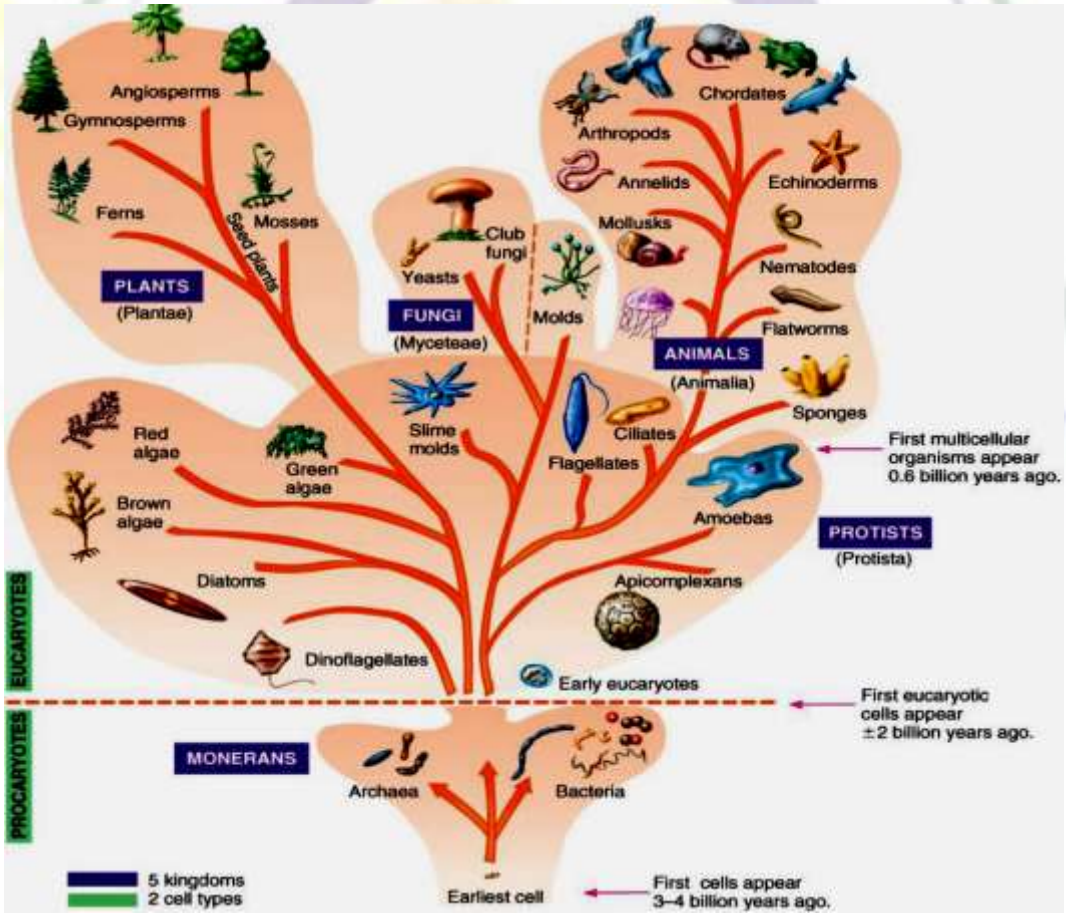
Modern Taxonomic Systems of Living Organisms

وبصفة عامة تقسم الكائنات الحية استنادًا إلى الصفات التالية:

1. الشكل العام (مثل الحجم، الشكل، اللون،...إلخ).
2. الصفات التشريحية (مثل الترتيب الخلوي، الجدار، التجرثم،...إلخ).
3. الصفات المجهرية (مثل صور المجهر الإلكتروني للتركيب الداخلي الدقيق للخلايا).
4. الخصائص البيوكيميائية.
5. الصفات الوراثية (مثل تركيب الحموض النووية rRNA).

ومن أشهر النظم التقسيمية المستخدمة - التي أستمر العلماء في الاعتماد عليها لفترات طويلة - التقسيم الذي وضعه العالم **Whittaker** عام 1969م والذي يتكون من خمس ممالك، استنادا إلى طبيعة التركيب الخلوي لها والذي يتكون من خمس ممالك.

1. مملكة المونيرا MONERA
وتضم Bacteria and Archaea وتتميز بخلايا بدائية وبعدم وجود نواة متميزة (Procaryotic).
2. مملكة البروتستا PROTISTA
والتي تشمل الفطريات اللزجة Slime mold، الأوليات (البروتوزوا Protozoa)
3. المملكة النباتية PLANTAE:
وهي عبارة عن كائنات عديدة الخلايا متميزة النواة تضم بعض أنواع الطحالب، الأشنات، Ferns, Conifers, mosses والنباتات المزهرة. وتعتمد هذه المجموعة في تغذيتها على عملية البناء الضوئي.
4. المملكة الحيوانية ANIMALIA:
وهي كائنات راقية النواة عديدة الخلايا تشمل الإسفنج، الديدان، الحشرات، الفقريات. وتحصل هذه المجموعة على غذائها بواسطة فم يلتهم المواد العضوية من الخارج
5. مملكة الفطريات FUNGI:
وتضم كائنات ذات نواة راقية متميزة بعضها وحيد الخلية مثل الخمائر، وبعضها عديد الخلايا مثل الأعفان Molds. ومنها ما هو كبير الحجم يمكن مشاهدته بالعين المجردة مثل الكمأ، وتحصل على غذائها بواسطة امتصاص العناصر الذائبة فى الوسط الذي تعيش فيه من خلال غشاء الخيوط الفطرية المسماة Hyphae.



نظام وتكر Whitaker التصنيفي ذي الخمس ممالك عام1969

مستوى الرقي	المملكة	الامثلة
الاول	مونيرا Monera	الكائنات الحية بدائية النواة(البكتريا بأنواعها).
الثاني	الطليعيات Protista	الكائنات احادية الخلية حقيقية النواة والابتدائيات وبعض الطحالب.
الثالث	المملكة الحيوانية Anemalia المملكة النباتية Plantae Fungi	الحيوانات الراقية جميع النباتات الفطريات

وفي مراحل لاحقة، وبمعرفة المزيد عن الصفات والخصائص الوراثية للكائنات الحية، بدأ تقسيم **Whittaker** يفقد القبول في أوساط بعض العاملين في مجال الميكروبيولوجي بسبب العوامل التالية:

1-عدم وجود حد فاصل واضح بين مجموعتي Eubacteria, and Archaeabacteria.

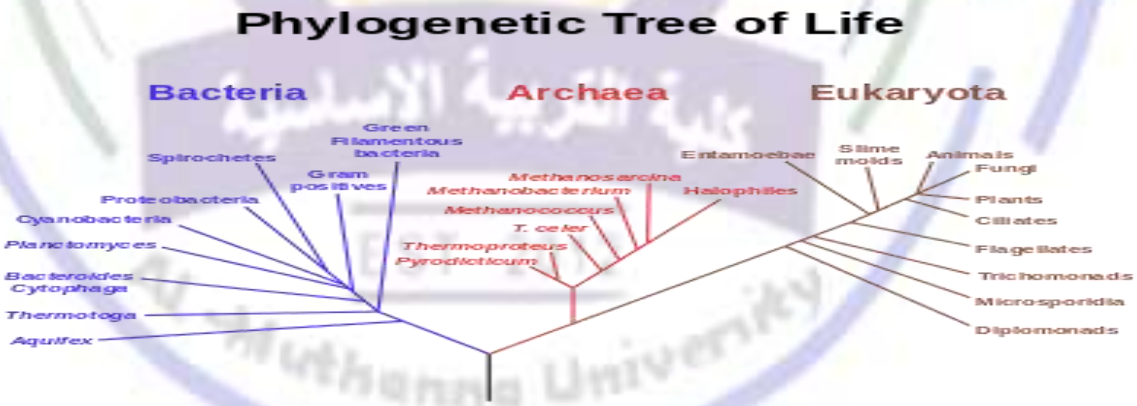
2-مملكة البروتستا Protista تعتبر شديدة التنوع والاختلاف، لدرجة لا يمكن اعتبارها مفيدة تقسيميًا.

3-حدود الممالك الثلاث (النباتية – الفطريات – البروتستا) غير واضحة المعالم،

أي أن هناك تداخلا في الوضع التقسيمي لبعض الكائنات.

نظام Woese ذي الثلاث ممالك 1990

وفي السبعينيات من القرن الماضي ومع تطور العلوم المختلفة ونشوء وتطور علم الحياة الجزيئي Molecular Biology توفرت لدى العلماء معلومات دقيقة عن الكائنات الحية المختلفة ساعدت على تصنيفها على نحو علمي دقيق لاسيما بالاعتماد على المكونات الوراثية لهذه الكائنات ودرجة التقارب الوراثي بينها ودرجة التشابه مع بعضها. وكان الباحث كارل ووز Carl woes سباقا في هذا الموضوع اذ وضع ما يسمى The three-domain system والتي شملت Archaea, Bacteria, and Eukaryote domains



This system proposes that a common ancestor cell gave rise to three different cell types, each representing a domain. The three domains are the *Archaea* (archaebacteria), the *Bacteria* (eubacteria), and the *Eukarya* (eukaryotes). The *Eukarya* are then divided into 4 kingdoms: Protists, Fungi, Anamalia, and Plantae.

وبشكل عام يمكن القول ان التصنيف الساري للأحياء المجهرية حسب احدث التصنيفات هو:

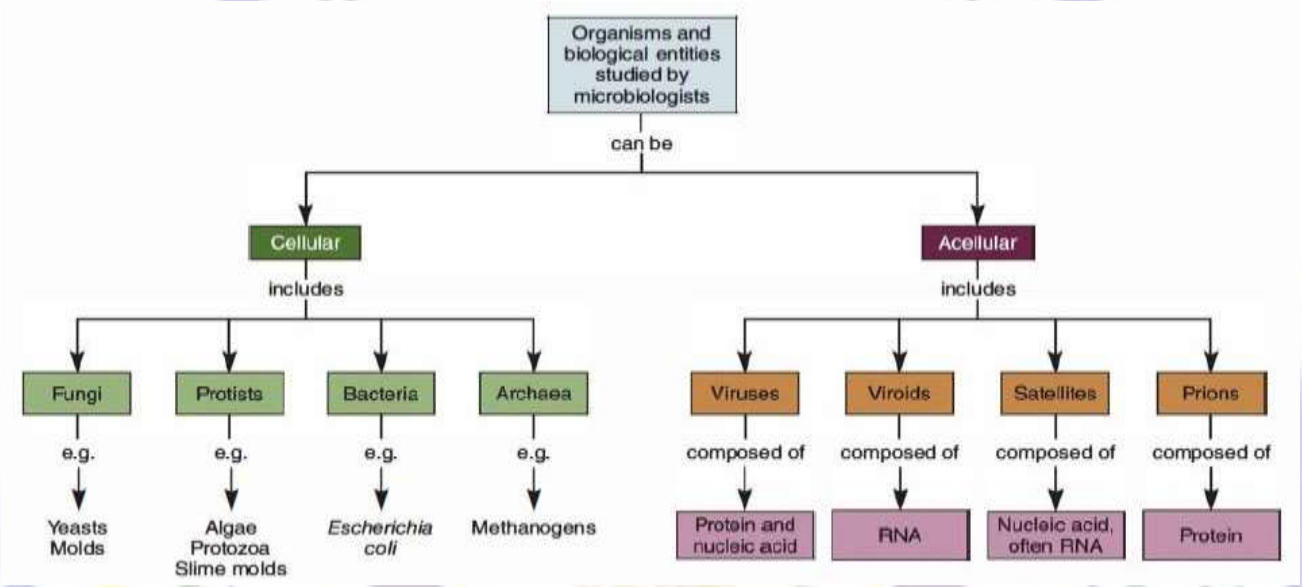
1- الاحياء المجهرية حقيقية النواة Eukaryotes

وتشمل Algea و Protoza و Fungi.

2- الاحياء المجهرية بدائية النواة Prokaryotes

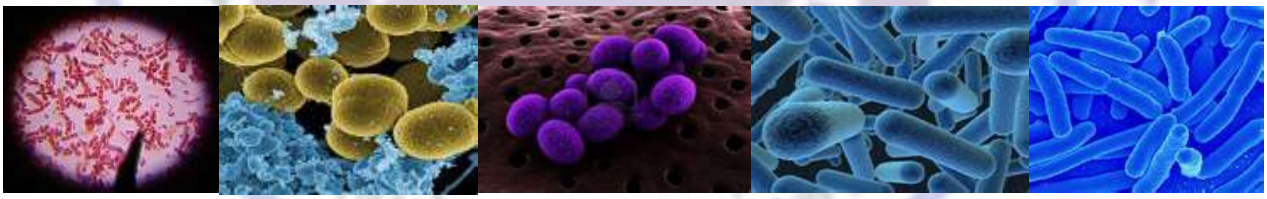
وتشمل Eubacteria و Archaebacteria و Cyanobacteria .

ويمكن تصنيف الاحياء والجزيئات البيولوجية التي يتعامل معها علم الاحياء المجهرية بحسب المخطط التالي:



Bacteria البكتريا

The word bacterium (Gk. Bakterion = little rod) originally applied by microscopists for rod shaped organism, belonging to the lowest order of the plant life or microscopic unicellular plants without chlorophyll that reproduce by fission.



البكتريا Bacteria ومفردها Bacterium كائنات حية بدائية النواة واسعة الانتشار في الطبيعة فهي موجود في الهواء والتربة والمياه العذبة منها والمالحة كما هو الحال في البحر الميت الذي يبلغ تركيز الاملاح فيه 28% وفي الينابيع الحارة وثلوج القطب الشمالي . ويقدر عدد البكتريا في الغرام الواحد من التربة بحوالي 300×10^6 بكتريا . ويحوي المليلتر الواحد من الحليب على حوالي 50 الف بكتريا ، ويحوي الماء الصالح للشرب مكروبيولوجيا ما يقارب 1-100 خلية بكتيرية لكل مليلتر. اما براز الحيوانات فأن اعدادها تقدر بالألاف . وتوجد البكتريا كذلك في الامعاء الغليظة للإنسان والحيوان وفي السطوح الخارجية للجسم.

والبكتريا على تنوع كبير مثلما هي على انتشار واسع. فقد دونت الطبعة الثانية من كتاب Bergey's manual of Determination Bacteriology ، وهو من اهم كتب تصنيف وتشخيص البكتريا اكثر من 1500 نوعا مختلفا من البكتريا ، تعود الى 245 جنسا مع الاشارة الى مئات الانواع منها في مواقع تصنيفية غير محددة. **ولعل من الاماكن التي تخلو من البكتريا هي**: *دم الانسان السليم *الانسجة الداخلية للحيوانات السليمة *فوهات البراكين *السوائل والمواد المعقمة ويعني التعقيم معاملة المادة بطريقة معينة كالحرارة بحيث تؤدي الى ابادة او إزالة كافة الاحياء المجهرية او غير المجهرية منها.

تسمية البكتريا:

أن التاريخ القديم يبين محاولة العلماء لتسمية الكائنات الحية فقد قام ارسطو 384-322 قبل الميلاد بجمع نباتات عديدة مختلفة محاولاً تسميتها وتقسيمها وتبعه بعد ذلك عدة محاولات إلى أن جاء العالم السويدي Carl Ven Linne 1753 بوضع نظام التسمية المزدوج Binomial System لتسمية النباتات . ثم اقتبس هذا النظام فيما بعد لتسمية الحيوانات والكائنات المجهرية . ولازال مستعملاً إلى الآن. ولما كانت البكتيريا تمتلك صفات كل من النباتات والحيوانات الأمر الذي أدى إلى ارتباك العلماء في اتباع الكود النباتي (القوانين واللوائح الخاصة بتسمية وتقسيم النباتات) أو اتباع الكود الحيواني لتسمية البكتريا وتقسيمها . وفي عام 1903 اصطلح على استخدام الكود النباتي لتسمية وتقسيم البكتيريا . وفي عام 1947 أنشئ أول كود بكتريولوجي International bacteriology Code اثناء انعقاد الجمعية المكروبيولوجية الدولية في كوبنهاجن بالدنمارك .

يعتبر نظام التسمية المزدوج Binomial System الذي وضعه لعالم السويدي Carl Ven Linne 1753م اول نظام تقسيمي تم تطبيقه في تسمية النباتات ثم اقتبس هذا النظام فيما بعد لتسمية الحيوانات والكائنات المجهرية واتفق علماء التقسيم باستخدام النظم المتبعة لتسمية النباتات في تسمية البكتيريا وذلك لوجود بعض الصفات المتشابهة بين النباتات والبكتيريا.

الأسماء العلميةScientific names

لكل كائن حي نوعان من الأسماء ، أسماء دارجة Common أو Vernical أو Trival وهذه الأسماء الدارجة تختلف من مكان إلى آخر فمثلاً البكتيريا التي تسبب مرض التيفويئد يشار إليها باللغة الإنجليزية Typhoid bacillus وبالألمانية Typhus bazilen وبالفرنسية Bacille typhique وتستعمل هذه الأسماء الدارجة وهي ذات طابع محلي عادة لغرض التبسيط بدلاً من استعمال الأسماء العلمية المعقدة والطويلة.

والنوع الآخر من التسمية هو التسمية العلمية Scientific names وهي الأسماء ذات الطابع الدولي يستعملها العلماء . جميعاً مهما اختلفت لغاتهم ، و يراعى فيه نظام معين متفق عليه دولياً طبقاً للمبادئ والقوانين التي جاءت في الكود البكتريولوجي المقترح عام 1947م ويشمل هذا الكود مجموعة من اللوائح والتوصيات والتي تشبه كثيراً تلك الخاصة بالكود النباتي إلا أنها تختلف في بعض التفاصيل.

ومن الأساسيات العامة في تسمية البكتيريا علمياً ما يلي :-

- البكتيريا المتشابهة والمتطابقة تماماً تكون ما يسمى بالنوع. Species
- تبعاً لنظام التسمية المزدوجة binomial فإن كل نوع بكتيري يطلق عليها اسم مكون من كلمتين كل منهما يجب أن تكون لاتينية أو يونانية الأصل وإن لم تكن كذلك يجب أن تعامل معاملة لاتينية أو يونانية.

يكتب عادة أول حرف من الكلمة الأولى وهي تشير إلى اسم الجنس Genus وقد يكون اسم الجنس المستعمل مذكراً أو مؤنثاً أو محايداً . فمثلاً الإسم *Lactobacillus* لاتيني الأصل (مذكرًا) الإسم Sarcina لاتيني الأصل مؤنثاً و *Micrococcus* يوناني الأصل مذكراً *Corynebacterium* يوناني الأصل محايداً *Clostridium* يوناني الأصل محايداً . وهكذا

وبعض الأسماء لأجناس معينة قد تكون أسماء لبعض الأشخاص تخليداً لذكراهم وفي هذه الحالة يجب أن يعامل الاسم معاملة لاتينية مثل *Pasteurella* تخليداً (لذكرى باستير) و *Neisseria* تخليداً لذكرى(A.neisser) والكلمة الثانية في الاسم العلمي تشير إلى النوع البكتيري وتعرف ب Species وهذه لا يكون حرفها الأول كبير إلا أنها عادة تكون-:

- صفة تتأثر بالإسم السابق لها بمعنى أنها تتبعه في الدرجة كما*Sarcina* alba
- صفة في صورة فعل مضارع مثل*Clostridium* dissolves
- أو تكون الكلمة الثانية المكونة للإسم العلمي عبارة عن اسم يعطي معنى التملك مثل*Streptococcus*/actis
- أن يكون اسماً للتوضيح بمعنى يوضح طبيعة الإسم السابق له *Actinomyces* Scabies

من الأساسيات العامة في تسمية البكتيريا علمياً تكون البكتيريا المتشابهة والمتطابقة تماماً تكون ما يسمى بالنوع Species .

تقسيم البكتيريا Classification of Bacteria

يعتمد تقسيم البكتيريا على العلاقة بينهما أو بمعنى آخر كثرة أو قلة التشابه بينهما وتوجد أساليب مختلفة لتحديد درجة التشابه بين البكتيريا المختلفة من الصفات الظاهرية (المورفولوجيه) والفسيولوجية والمزرعية والمصلية والمرضية والبيئية وغيرها.

النوعSpecies: وهو مجموعة تشمل كل البكتيريات المتشابهة في جميع صفاتها . ويترك للباحث تحديد الإختلاف التي تميز بين أي نوعين مختلفين حيث لا يوجد أي مباديء قياسية يمكن إتباعها في هذا الصدد ، والنوع هو اعتبار تقسيمي محض من الصعب تعريفه وتحديده ، هذا وقد أجمع العلماء على أن الصفات التي يمكن تقسيم النوع على أساسها يجب أن تكون صفات ثابتة وغير متغيرة.

الجنسGenus : هي مجموعة تشمل الأنواع التي تتميز بصفات ثابتة وغير متغيرة . بينها وبين بعضها علاقة وراثية بمعنى أن تجمع عدة أنواع تحت جنس واحد يجب أن يتم طبقاً للتشابه في الصفات الطبيعية الثابتة التي ترجع إلى تطابق التركيب الوراثي للأنواع.

وهناك عدة صعوبات لتصنيف الأنواع داخل الجنس الواحد أهمها أن معظم الأنواع ليست مدروسة دراسة وافية . بدرجة تسمح بالتفرقة بين صفاتها الثابتة الأخرى التأقلمية التي تتغير طبقاً للظروف البيئية علاوة على الصعوبة التي تتمثل في تعدد الأسماء الدارجة والمحلية للنوع البكتيري الواحد . وللتغلب على تلك الصعوبات في إدماج الأنواع في جنس واحد يتحتم على مكتشفي الأنواع الجديدة أن يبحثوا وينقبوا في المراجع البكتيريولوجية للتأكد من ان النوع الجديد المكتشف لم يوصف من قبل فإذا كان الأمر كذلك كان عليهم القيام بوصفه وصفاً دقيقاً . وقد يكون الجنس وحيد النوع بمعنى أنه يشمل نوعاً بكتيرياً واحد Monotypic أو أن يحتوي الجنس على عدة أنواع

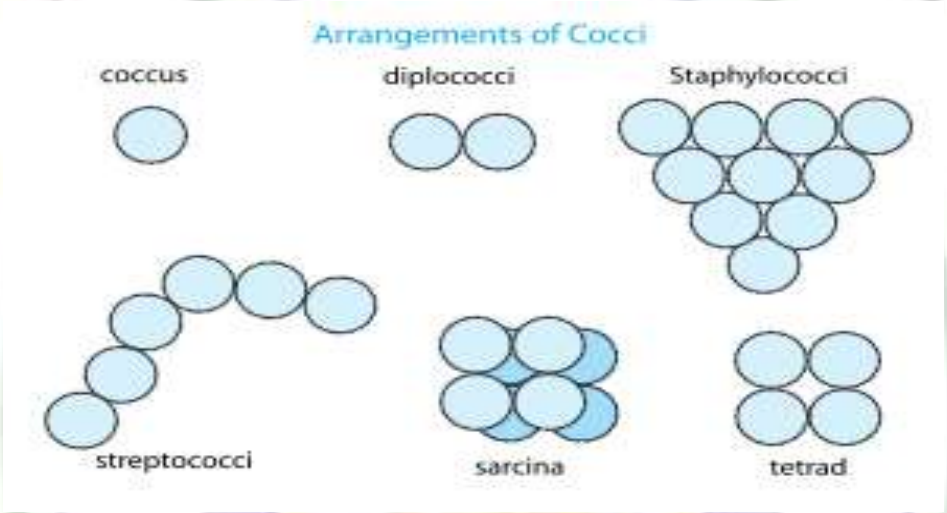
حجم وشكل البكتريا:

تتراوح ابعاد البكتريا ما بين 0.6 – 1 مايكرو ميتر طولا و 0.5 – 2 مايكرو ميتر عرضا . باستثناء بعض انواع البكتريا الحلزونية التي قد يصل طولها الى حوالي 500 ميكروميتر طولا (مثل بكتريا *Epulopiscium fishelsoni*, العصوية التي يصل ابعادها الى 80 مايكرون عرضا و200 -600 مايكرون طولا وبكتريا *Thiomargarita namibiensis* الحلزونية 100 و 750 مايكرون) . وعموما فان حجمها أصغر من الخلايا حقيقية النواة Eucaryotes ، ويذكر ان نسبة السطح الى الحجم تزداد كلما كان حجم الخلية صغيراً وتبلغ هذه النسبة 100000في البكتريا الكروية التي يكون قطرها 0.5 مايكرون في حين تبلغ قيمتها من 1 - 2 في بيضة الدجاجة التي يكون قطرها 1.5 انج تقريبا، ان هذه الزيادة في النسبة تزيد من فرصة تماس الخلية م بيئتها وتفاعلها مع المحيط الخارجي وامتصاص المغذيات Nutrientsوفي هذا المجال تتمكن بكتريا *Escherichia coli* الموجودة بصورة طبيعية في القناة الهضمية من تمثيل

كمية مدن الكلوكوز تقدر بحوالي اكثر من 1000 مرة من وزن البكتريا خلال ساعة واحدة عند درج حرارة 37 م ، في حين يحتاج الانسان الى مدة تقدر بنصف عمره اذا ما اراد تمثيل كمية من الكلوكوز مقدارها 1000 مرة أكثر من وزنه.
وللأنواع المختلفة من البكتريا اشكالا مختلفة منها:

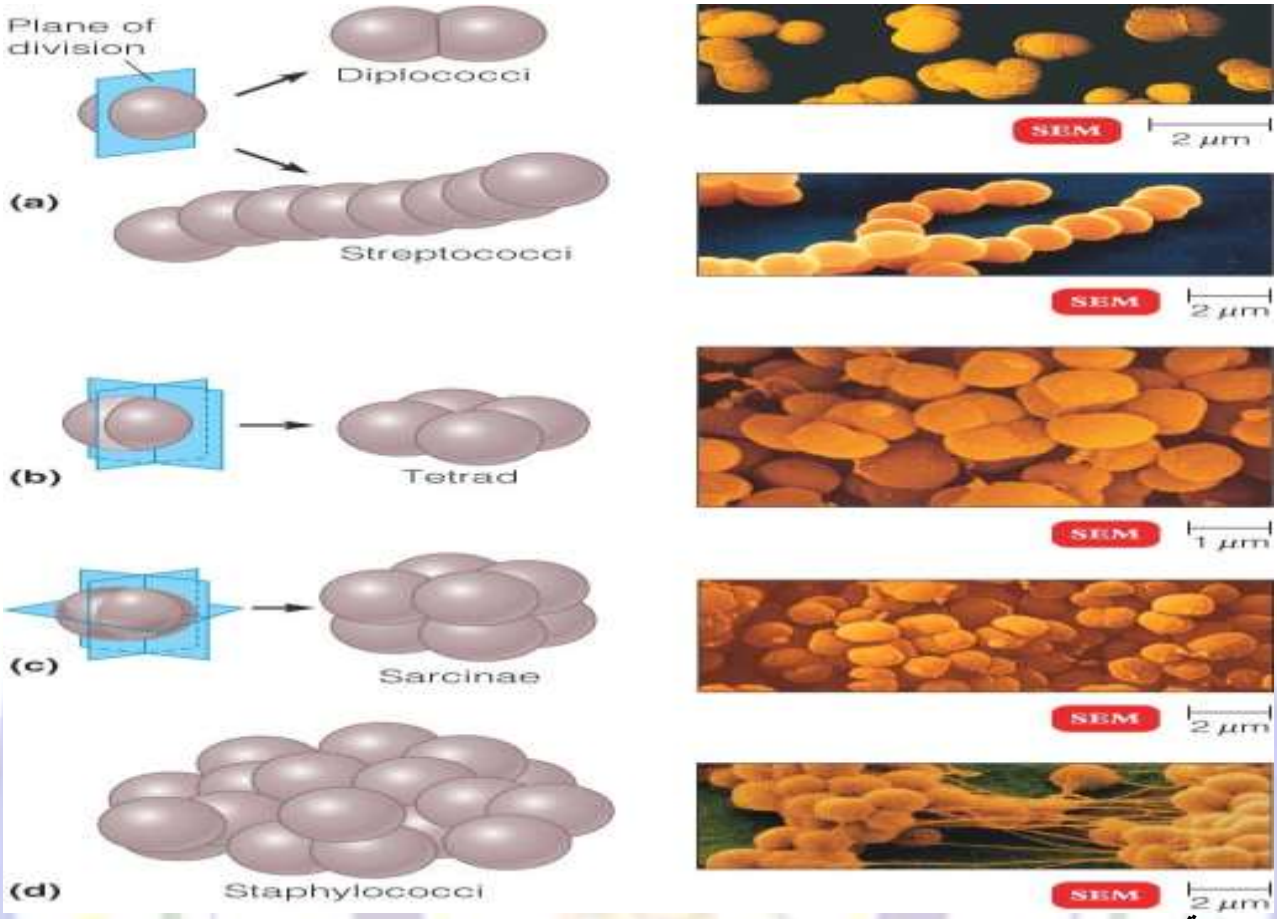
1- البكتريا الكروية: Spherical Bacteria

وهي كروية cocci ومفردها coccus تظهر تحت المجهر بتجمعات مختلفة اعتمادا على مستويات انقسامها فقد تكون زوجية (ثنائية) او رباعية او على شكل سلسلة او عنقودية التجمع . فاذا ما كان اقسام البكتريا على مستوى واحد تكونت تجمعات ثنائية او شكل سلسلة اما اذا كان انقسامها في مستويين كونت تجمعات رباعية . في حين تكون البكتريا التي تنقسم بثلاث مستويات انقسام تجمعات مكعبة. على ان الانقسام بمستويات متباينة او غير منتظمة تؤدي الى تجمعات عنقودية . وصفة الانقسام على مستوى محدد او مستويات متعددة وتكوين تجمعات معينة هي من الصفات الوراثية وبالتالي من الخواص التي تعتمد في تصنيف البكتريا.



امثلة عن البكتريا الكروية

اسم البكتريا	تجمع البكتريا	مستوى الانقسام	ملاحظات عن البكتريا
Streptococcus pneumonia	ثنائي	مستوى واحد	مسببة لذات الرئة
Streptococcus lactis	سلسلة	مستوى واحد	تستخدم في صناعة الالبان
Staphylococcus aureus	عناقيد	غير منتظمة	تسبب التسمم الغذائي
Sarcina ureue	مكعبة	ثلاث مستويات متعامدة	تسبب التسمم الغذائي
Micrococcus tetrade	رباعية	مستويين متعامدين	تسبب التسمم الغذائي
Streptococcus pyogenes	سلسلة	مستوى واحد	تسبب التهاب الجروح



قواعد عامة:

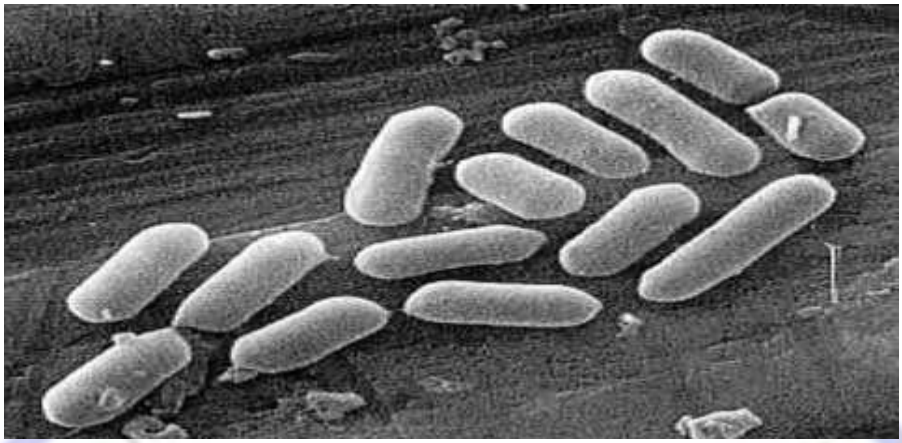
*تسمى الكائنات الحية بأسماء علمية تتألف من كلمتين الاولى تمثل اسم الجنس genus والثانية اسم النوع species .

*النوع: هو ادنى مستوى من مستويات التصنيف. والافراد الذين ينتمون الى نوع واحد لهم القدرة على التزاوج فيما بينهم لإنتاج افراد يتمتعون بالقدرة على الانجاب بالتزاوج فيما بينهم.

*جميع البكتريا الكروية غير مكونة للأبواغ موجبة لصبغة كرام Gram positive ويمكن الاستدلال على كون البكتريا كروية من تسميتها التي قد تنتهي بكلمة coccus كما في الامثلة اعلاه.

2-البكتريا العصوية Rod shaped Bacteria

وتسمى Bacilli ومفردها Bacillus وهي تسمية تطلق على مجموعة تصنيفية تعرف على مستوى الجنس بـ Bacillus كما في الجدول المذكور في ادناه. تختلف ابعاد البكتريا العصوية باختلاف الانواع، وقد يكون طولها مشابها او مقاربا لقطرها حتى يصعب تميزها عن البكتريا الكروية اما نهاياتها فقد تكون مسطحة او مدورة او تشبه السيكار او قد تكون متشعبة، وقد تنتج الخلايا العصوية خيوطا شبيهة بتلك التي تكونها الفطريات. من الأمثلة على البكتريا العصوية



اسم البكتريا	بعض الخواص المورفولوجية للبكتريا	ملاحظات عن البكتريا
Bacillus subtilis	عصوية، g^+ ، مكونة للابواغ، هوائية	تصيب درنات البطاطا
Bacillus anthracis	عصوية، g^+ ، مكونة للابواغ، هوائية	تسبب الجمرة الخبيثة (anthrax)
Clostridium botulinum	عصوية، g^+ ، مكونة للابواغ، لا هوائية	تسبب تسمم غذائي يعرف (botulism)
Clostridium tetani	عصوية، g^+ ، مكونة للابواغ، لاهوائية	تسبب مرض الكزاز (tetanus)
Salmonella typhi	عصوية، g^- ، غيرمكونة للابواغ، لاهوائية اختيارا.	تسبب مرض التيفوئيد
Shigella dysenteria	عصوية، g^- ، غيرمكونة للابواغ، لاهوائية اختيارا.	تسبب مرض الزحار البكتيري
Corynebacterium diphtheria	عصوية(هراوة) ، g^+ ،ير مكونة لغسواط	تسبب مرض الخناق

3- البكتريا الحلزونية : Spiral shaped Bacteria

وهي مجموعة من البكتريا التي تتخذ اشكالا حلزونية صلبة او مرنة وحسب النوع وهي بسبب اشكالها هذه تتميز بحركتها اللولبية التي تشبه حركة ثاقب الفلين ويوجد نوعان منها :

الاول : على شكل حرف (و) وتسمى بالواوية او الضمية comma shaped حيث تظهر في البكتريا انحناءة واحدة مثل البكتريا المسببة للهيضة (الكوليرا) *Vibrio cholera* والبكتريا المختزلة للكبريت الى كبريتيد التابعة للجنس *Desulfovibrio* .

الثاني: يحوي انحناءات متعددة لذلك يكون شكله حلزونيا او بريميا Spirillum واغلبها تعيش في الماء. والبكتريا الحلزونية ذات جدار صلب rigid cell wall ، لذلك فان خلاياها غير مرنة. وهي مفردة الخلية ، سالبة لصبغة كرام. وتتميز البكتريا ذات الانحناءة الواحدة (الواوية) عن البكتريا ذات الانحناءات المتعددة في ان الاولى تمتلك سوطا قطبيا واحدا بينما الاسواط في البريمية متددة ومتوزعة على قطبي الخلية.

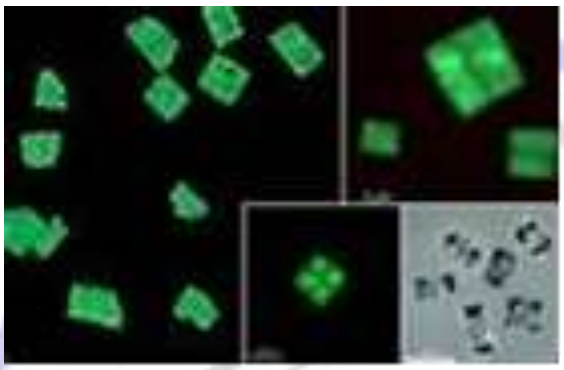
اما المجموعة المرنة من هذه البكتريا فذات جدار مرن تشبه البروتوزوا وتسمى spirochaetes تحتوي على عدة انحناءات ايضا ومن الامثلة عليها البكتريا المسببة للسيلان *Trepenema pallidum* .

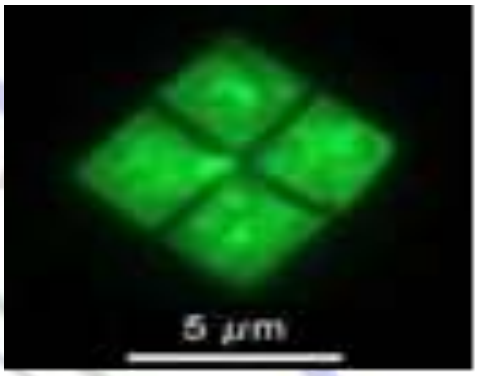
Vibrio cholera

Trepenema pallidum

4- البكتريا مربعة الشكل Square bacteria

وهي من الاشكال الغريبة في عالم علم الاحياء المجهرية اكتشفت عام 1981 على يد Walsby على سواحل البحر الاحمر . وهي من الكائنات المحبة للملوحة halophilic ويعتقد انها من مجموعة البكتريا القديمة Archaebacteria .





ظاهرة تعدد الاشكال Pleomorphism :

تتخذ بعض انواع البكتريا ولاسيما العصوية تحت ظروف بيئية وجراء ما يطرأ عليها من تغيرات على مستوى الايض وبناء الجدار ، اشكالا واحجاما استثنائية غير مألوفة ، اذ تستطيل بعض الخلايا ، او تنتفخ او تتحول الى خيوطا رفيعة. وتساعد بعض المثبطات في بيئة النمو او شحة بعض المغذيات على اتخاذ البكتريا العصوية مثل هذه الاشكال غير المألوفة. وهي ناتجة عن تحفيز او تكون بعض الانزيمات المحللة autolytic enzymes والتي تؤثر في شكل الخلية. وعليه عند الشروع بفحص البكتريا لغرض التعرف على شكلها تحت المجهر لابد ان تكون مأخوذة من مزارع حديثة العمر (18 – 20) ساعة ومن اوساط زرعية تتوفر فيها كل الاحتياجات الغذائية للبكتريا وان تكون قد حضنت بدرجة الحرارة المثلى لنمو البكتريا.

التشريح الوظيفي للبكتريا Functional Anatomy of Bacteria

مثلما يعود الفضل في اكتشاف الاحياء المجهرية الى انطوان فان ليفنهوك والى العدسات التي قام بصناعتها ومن ثم ابتكار المجاهر الضوئية المركبة ، فأن دراسة التراكيب الداخلية لخلايا الاحياء المجهرية وتشريحها الوظيفي تدين بالفضل الى المجاهر الالكترونية التي وفرت فرصة مشاهدة الاجزاء الداخلية لخلايا الاحياء المجهرية والى تطور طرق الفصل ودراسة الاجزاء المفصولة فسيولوجيا والتعرف على اكثر مكونات خلايا الاحياء المجهرية وحتى على المستوى الجزيئي.

انطوان فان ليفنهوك مكتشف الاحياء المجهرية

الخلية البكتيرية والمستعمرة البكتيرية Bacterial cell and Bacterial Colony

يمكن ملاحظة خلايا البكتريا تحت المجهر بعد تحضير شريحة منها وتصبيغها بأحدي طرق التصبيغ غير ان البكتريا في الاوساط او البيئات الزراعية Culture media الصلبة توجد على شكل مستعمرات والمستعمرة Colony هي تلك البقعة من النموات على السطح للأوساط الصلبة التي تتألف من اعداد هائلة من الخلايا البكتيرية تقدر بالملايين وكل مستعمرة تنشأ من الغالب من خلية خضرية Vegetitive cell واحدة او من نوع Spore واحد وقد تنشأ من أكثر من خلية او سبور .

ويكون كل نوع Species من البكتريا على الاوساط الصلبة مستعمرات لها خصائص مورفولوجية (ظاهرية) ثابتة الى حد كبير من حيث الشكل والحجم واللون والارتفاع ونهاية الحافة ويستفاد من شكل البكتريا تحت المجهر للغرض نفسه .

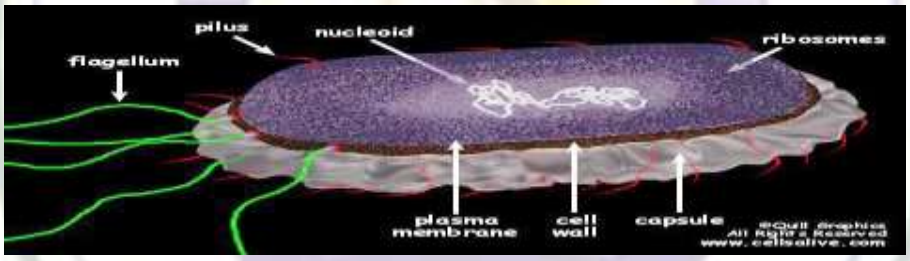
وزن البكتريا :- كل 500 بليون خلية بكتيرية تزن غرام واحد . تحتوي البكتريا على 70 – 85 % ماء.

مكونات الخلية البكتيرية

تقسم مكونات الخلية البكتيرية الى مكونات اساسية وغير اساسية:

1-تتضمن المكونات الاساسية الغشاء السايتوبلازمي ، و الرايبوسومات والمنطقة النووية الحاوية على مادة DNA المسؤولة عن حمل ونقل الصفات الوراثية . وسميت بالمكونات الاساسية لأنها موجودة في جميع الكائنات الحية بما في ذلك البكتريا . بمعنى انها صفة تجمع جميع الخلايا.

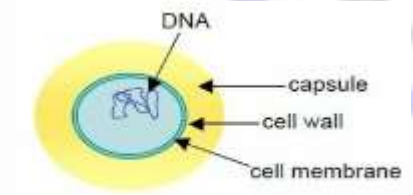
2-اما المكونات غير الاساسية في البكتريا فتتمثل بالجدار الخلوي والكبسولة والاسواط والابواغ والبلازميدات والشعيرات والمواد المخزنة وهذه موجودة في بعض و ليس جميع انواع البكتريا. عليه فهي ليست اساسية. ويمثل الشكل الاتي مكونات الخلية البكتيرية.



Bacterial Cell Structure

الكبسولة Capsule (المحفظة)

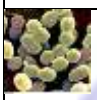
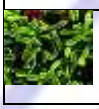
تركيب هلامي رخو يحيط ببعض انواع البكتريا ولا تتكون الا في بيئة معينة ، تمنح الكبسولة للبكتريا ، وبالتالي للمستعمرات Colonies البكتيرية في الاوساط المختبرية قواما لزجا رطبا . يتراوح سمك الكبسولة من 2 – 10 مايكروميتر او اكثر قليلا . وهي من المكونات غير الاساسية وغير المهمة للبكتريا . ويمكن ازالتها بالماء او الانزيمات المحللة لها . وقد تسمى بالطبقة المخاطية ولاسيما عندما تكون على شكل كتل منفصلة عن الخلية البكتيرية. وتتمثل اهميتها بالاتي:



Bacterial capsule

1- تشكل غطاءا واقيا للبكتريا تجاه المؤثرات الخارجية.
2- تزيد من امراضية البكتريا المرضية.
3- تعتبر مصدرا او مخزونا غذائيا تستعين به البكتريا عند نفاذ المواد الغذائية في محيطها. لذلك توصف الكبسولة احيانا انها مخزن غذائي خارجي.

تتكون الكبسولة في معظم البكتريا المكونة لها (عدا بكتريا *Bacillus anthracis*) من سكريات متعددة Polysaccharides مثل السيليلوز والدكستران والليفان وكما هو في الامثلة المذكورة في الجدول ادناه.

البكتريا	وحدات تركيب الكبسولة	تركيب الكبسولة
Bacillus anthracis	Glutamic acid	Polypeptide
Acetobacter xylinum	Glucose	Cellulose
 *Leuconostoc spp.*	Glucose + fructose	Dextrans
 *Pseudomonas spp.*	Glucose + fructose	Leavens

****عند الاشارة الى نوع ضمن جنس من البكتريا نستخدم المختصر .Sp وهي اختصار لكلمة Species اما عند الاشارة الى جميع الانواع ضمن ذلك الجنس فيشار الى ذلك بمختصر .Spp .**

أمثلة للبكتريا اتي تمتلك كبسولة:

*بكتريا *Streptococcus mutans* المسببة لنخر الاسنان : تتراكم بكتل كبيرة على سطوح الاسنان وتستغل البكتريا السكريات المتبقية بين الاسنان لتكوين الكبسولة.

*بكتريا *Acetobacter xylinum* : وهي من البكتريا المستخدمة في صناعة الخل الى جانب بكتريا *Acetobacter aceti* والتي تكون طبقة هلامية في سطوح السوائل المعدة لصناعة الخل. تسمى هذه الطبقة احيانا بأم الخل ويذكر ان البكتريا الحاوية على الكبسولة تمتلك تخصصا مناعيا اعتمادا على التركيب الكيميائي للكبسولة. وتستخدم هذه الخاصية في التفريق بين مجاميع النوع الواحد من البكتريا . فمثلا هناك ما يقارب 75 نمطا مناعيا من بكتريا *Streptococcus pneumonia* المسببة لذات الرئة.

الجدار الخلوي CELL WALL

أهميته:

1- يتألف الجدار الخلوي من مكونات فريدة من نوعها ليس لها مثيل في الطبيعة وله دور مهم في الحفاظ على الضغط الازموزي والسيطرة على نقل المواد الغذائية وحماية الخلية من الانفجار وله دور في الانقسام.
2- تسبب مكونات الجدار الخلوي سيما جدار البكتريا السالبة لصبغة كرام عند تحللها داخل الجسم اعراضا مرضية نتيجة احتواءه على مكونات سمية (Lipid A).
3- يمثل موقعا لعمل بعض المضادات الحيوية Antibiotic.
4- وجود اختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتريا هو الذي يميز البكتريا في الاستجابة لصبغة كرام .

يمثل الجدار الخلوي الطبقة المحصورة بين الغشاء البلازمي والمحفظة ويتكون من الببتيدوكلايكان Peptidoglycan واحماض التكويك Teichoic acid في البكتريا الموجبة لصبغة كرام , أما في البكتريا السالبة لصبغة كرام فانه يتكون من الببتيدوكلايكان وبروتينات دهنية وطبقة من السكريات المتعددة الدهنية.

5- يحافظ الجدار على الخلية البكتيرية من الانفجار نتيجة لزياد ة الضغط داخل الخلية وعند اختلاف الضغط في المحيط الخارجي وله دور مهم في عملية الانقسام واعطاء الشكل الخارجي للكائن المجهري .

من اهم المكونات الكيميائية لجدار الخلية في البكتريا هو احتوائه على peptidoglycan او الميورين murien او Mucopeptide وهي عبارة عن عن جزيئة كبيرة تتألف من وحدات متبادلة لنوعين من الكربوهيدرات الامينية والاحماض الامينية وهو متعدد سكري من ملامة اجزاء:

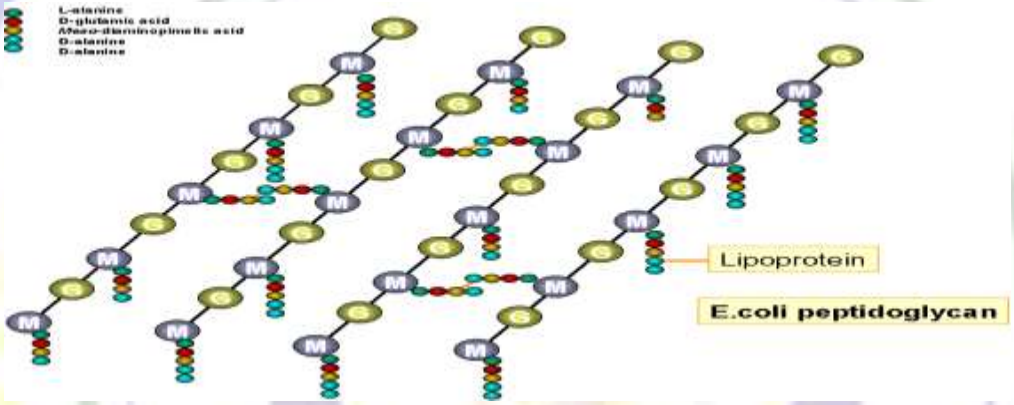
- العمود الفقريBackbone -

يتالف من نوعين من السكريات المرتبطة مع بعضها بشكل متبادل ونظامي وتدعى

1- N- acetylglucosamine (NAG)
2- N-acetylmuramic acid (NAM)

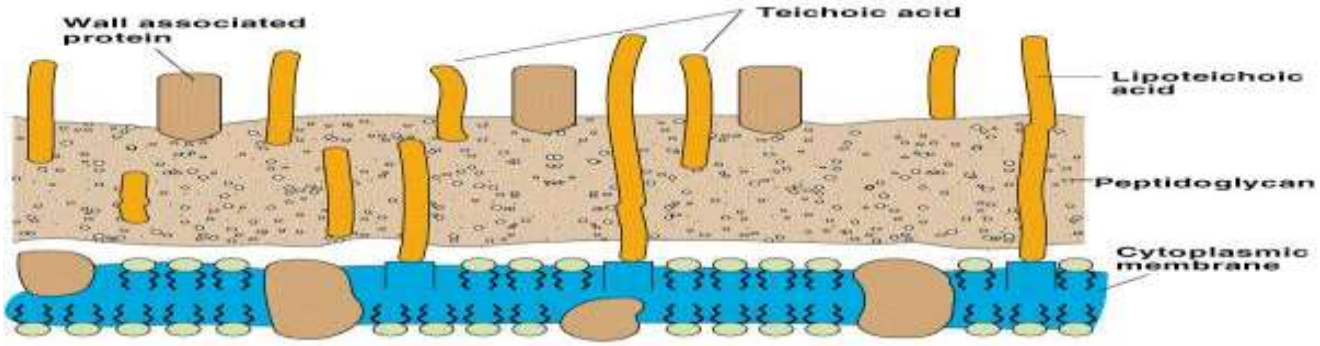
والتي تكون مشابه في التركيب لجزيئة سكر الكلكوز.

- سلسلة جانبية من رباعي الببتيد Tetrapeptide - ترتبط الىNAM
- جسور عرضية ببتيدية Peptide cross bridge - وهي عبارة عن سلاسل قصيرة من احماض امينية تعمل على ربط وحدات ال peptidoglycan مع بعضها.



This peptidoglycan is only found in prokaryotes. It is basically a polymer of N-acetyl glucosamine (**NAG**), N-acetylmuramic acid (**NAM**), and 4 amino acids (L-alanine, D-alanine, D-glutamate and a diamino acids).

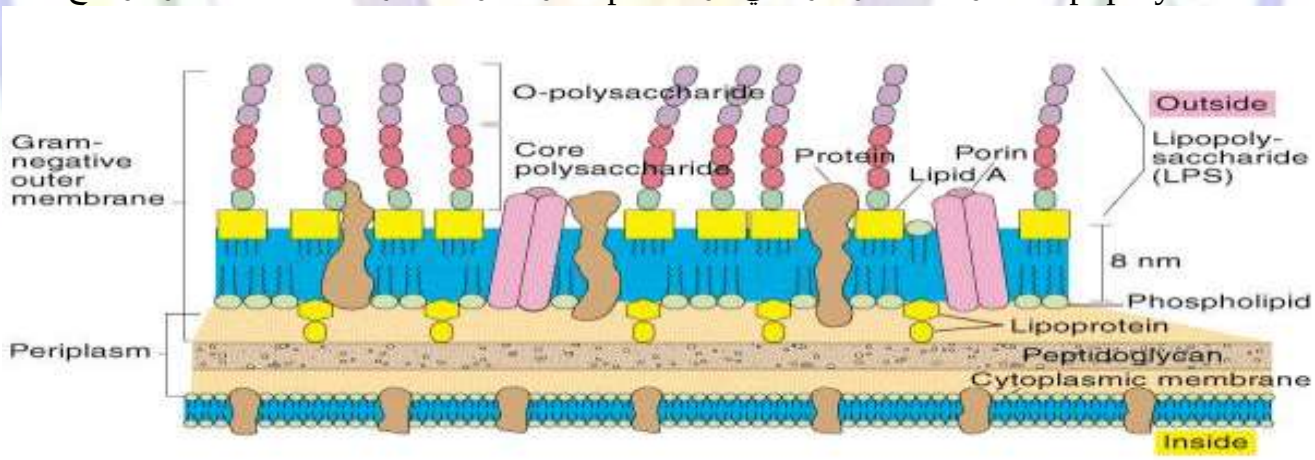
كما هو واضح ان الجدار الخلوي يتكون من طبقات متتالية من الببتيدو كلايكان وتتصل كل طبقة مع الاخرى بواسطة جسور من الاحماض الامينية . ويختلف الجدار الخلوي للبكتريا الموجبة لصبغة كرام عنه من البكتريا السالبة لصبغة كرام . فبالنسبة للبكتريا +g يتكون الجدار الخلوي من طبقة سميكة من الببتيدوكلايكان سمكها 25 نانوميتر . ويوجد ما يقارب 40 طبقة من هذه المادة وهي تكون 50 % من محتويات الجدار الخلوي ويحتوي الجدار الخلوي على مكونات اضافية وهي متعدد السكريات والذي يكون حامض teichoic acid and/or teichuronic acid ويكون هذا الحامض جزء رئيسي من المستضدات السطحية البكتيرية والتي ترتبط باواصرتساهمية مع peptidoglycan وتكون هذه الاحماض مشحونة بالشحنة السالبة والتي تشحن البكتريا بتلك الشحنة كما في الشكل الاتي :.



تعد هذه الاحماض بوليمرات ذئبة في الماء تتكون من الكليسيرول او الريبتول Glycerol or ribitol ترتبط عن طريق مجموعة الفوسفات هناك نوعان من الteichoic acid
احماض wall teichoic acid وهي التي ترتبطpeptidoglycan
احماض lipoteichoic acid وهي التي ترتبط الى الغشاء البلازمي.
اما بالنسبة الى g- فتكون طبقة الببتيدوكلايكان طبقة رقيقة او طبقتين يبلغ سمكها حوالي 3 نانوميتر وهي تكون ما يقارب (5 - 10) من محتويات الجدار الخلوي ولا يحتوي الجدار على حامض Teichoic وهذا يكون احد اسباب التي تبين عدم احتفاظ الخلايا البكتيرية بالمعقد الناتج من اتحاد صبغة الكريسال بنفسجية مع محلول اليود في حالة التصبيغ بصبغة كرام . ومن المكونات الاخرى للخدار الخلوي للخلايا g- احتوائها على متعدد السكريات الدهنية

1- معقد السكريات الدهني Lipopoly sacharid
2- دهون مفسفرة Phospho lipid
3- بروتين دهني Lipo protein

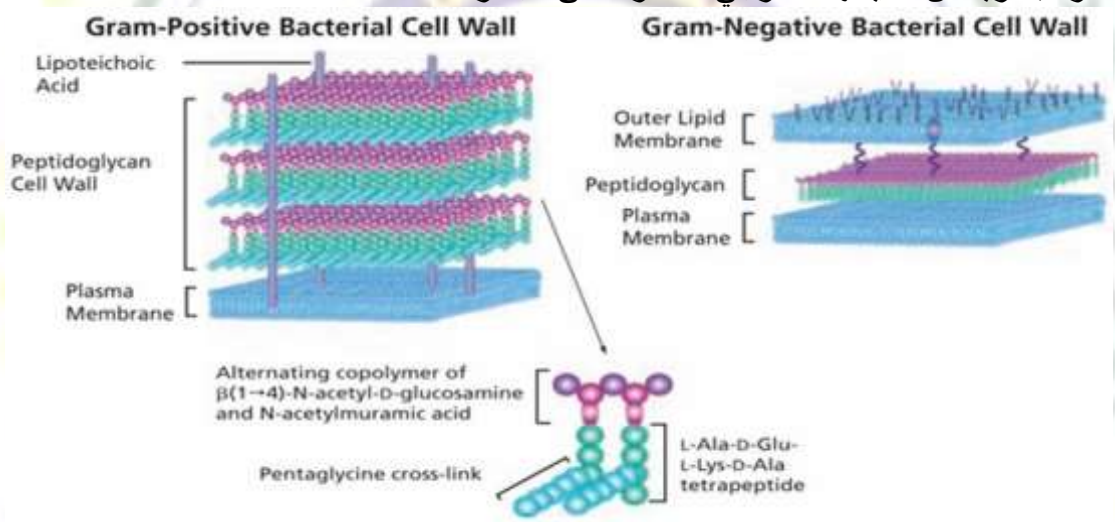
وتتلخص وظيفة البروتينات الدهنية Lipo protein في موازنة الغلاف او الغشاء الخارجي وتثبيتة على طبقة الببتيدوكلايكان . اما الدهون المفسفرة فانها تعمل على منع تسرب البروتينات الموجودة في الفسحة البينية ويحمي البكتريا (المعوية خاصة) من الاملاح والانزيمات المحللة الموجودة في الامعاء. اما طبقة السكريات المتعددة الدهنية Lipopoly sacharid تتكون من مكون رئيسي هو Lipid A ومجموعة سكريات متعددة كما هو موضح ادناه :



حيث تعمل هذه الطبقة على موازنة الغشاء ويكون حاجز يحول دون دخول الجزيئات الكارة للماء تتميز هذه الطبقة بسميتها العالية للحيوانات وتدعى عادة Endo toxins وقد وجد ان سمية هذه الطبقة تعود الى Lipid A . اما السكريات المتعددة في هذه الطبقة فتعمل كمستضدات سطحية O-Antigen يكون عددها كثير فهناك اكثر من 1000 نوع من المستضدات في بكتريا *Salmonella* لوحدها .
ملاحظة :- البكتريا g- تكون السموم الداخلية لهذا نرى ان اغلب البكتريا المرضية هي g- .

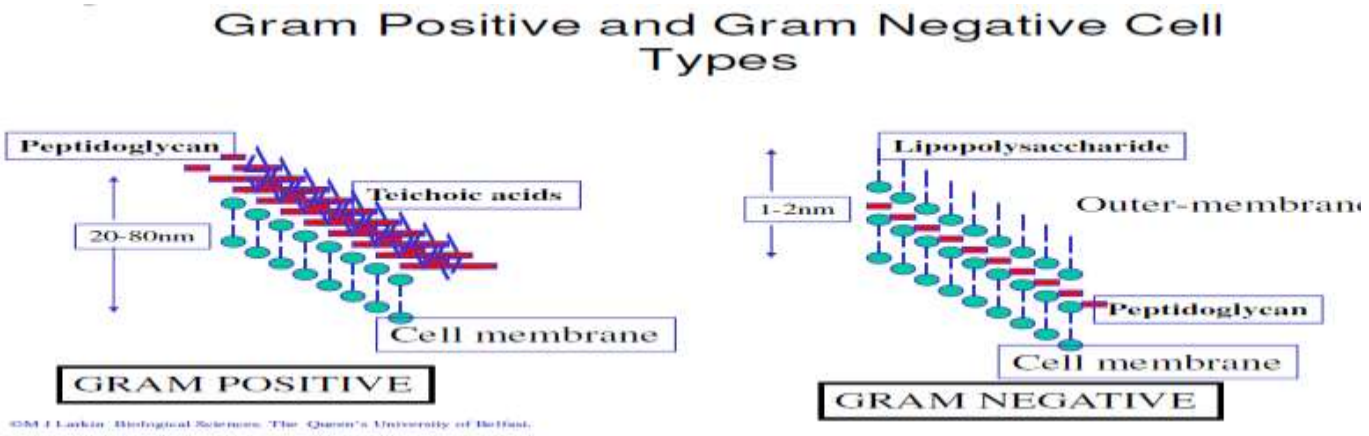
ان هذه الطبقات تكون ملتصقة او متداخلة مع بعضها اي غير منفصلة ان الجدار يقوم مقام سبيكة من العوارض الصلدة التي تحافظ على مكونات الخلية البكتيرية وتحول دون انفجارها . فالسيتوبلازم الخلوي عبارة عن محلول مركز جدا من الاملاح غير العضوية والسكريات والاحماض الامينية ومختلف الجزيئات الصغيرة ولان البكتريا غالبا ما تنمو في الطبيعة وفي المختبرات وفي البيئات مخففة (ذات تركيز واطئة مقارنة مع تركيز السيتوبلازم) لذلك فان الماء الموجود في محيط الخلية يتدفق الى الخلية لمعادلة الضغط الأسموزي على طرفي الغشاء السيتوبلازمي كقاعدة عامة . مالم تمتلك الخلية جدار صلبا غير قادر على التمدد فأنها تنتفخ حتى تنفجر والضغط الازموزي هو كامل الضغط المتولد على الغشاء السيتوبلازمي الذي يبلغ في بعض انواع البكتريا 25 مرة بقدر الضغط الجوي . غير ان الجدار الخلوي يصبح اقل اهمية عندما توجد البكتريا في بيئة ذات تركيز عالي في البحر الميت مثلا تركيز الأملاح فيه 30% NaCl وذلك لان ميل الماء للحركة من والى داخل الخلية تكون متساوية (كمية الماء الداخل تساوي كمية الماء الخارج) وبالتالي فان الخلية البكتيرية تكون بعيدة عن اي ضغط اضافي يحتمل ان يتولد على الغشاء السيتوبلازمي والجدار الخلوي .

فليس غريبا ان المجموعة الوحيدة من البكتريا الموجودة طبيعيا التي تمتاز بفقدان جدارها السطحي البيتيدوكلايكان الصلبة موجودة بالبحر الميت ولكن ما ان ينخفض تركيز الملح في البحر الى 15 % حتى تنفجر الخلية البكتيرية . والبكتريا (الخلية) خالية من الجدار الخلوي او عديمة الجدا ر تسمى Protopalast وتتخذ شكلا كرويا في محلول متعادل الضغط الأسموزي ويستطيع القيام بفعالياتها الايضية والحيوية بشكل طبيعي غير ان هناك انواع من البكتريا عديمة الجدار اصلا او انها تحتوي على مادة قليلة من الجدار الخلوي كما هوالحال في افراد جنس Mycoplasma تحتوي اغشيتها السايتوبلازمية على الستيرولات sterols التي تساعد في زيادة صلابة الغشاء السايتوبلازمي الذي يعد الحاجز المباشر للبكتريا عن محيطها الخارجي لافتقارها الى الجدار .



NOT:

- ***Mycoplasma*** have no cell walls. The cell membrane contains sterols (more like Eukaryotic cells). They don't have cell shape (pleomorphism) and are still subject to osmolarity changes.(Mycobacteria family include ***Mycobacterium tuberculosis***)
- **protoplasts**: have their cell wall entirely removed and are derived from gram + (gram-positive)
- **spheroplasts**: have their cell wall only partially removed and are gram - (gram-negative)
- ***L-Forms*** are wall-deficient bacteria (naturally or by chemical treatment). They can cause chronic or recurrent infection, if they rebuild their cell walls (they don't killed by antibiotics that affect cell wall. Examples of bacterial genera that can produce L-forms include Bacillus, Clostridium, Pseudomonas, Staphylococcus, and Vibrio



المواد المحطمة للجدار

1. اللايسوزايمlysozyme
2. المضادات الحياتية مثل الpenicillin
3. انزيمات التحلل الذاتي التي تنتجها بعض الانواع البكتيريةAutolysis enzymes

الغشاء السايتوبلازمي Cytoplasmic member

يحيط بالخلية البكتيرية من الداخل مباشرة بعد الجدار الخلوي ويكون غشاء شبه نافذSemi permeable يتكون من دهون مفسفره Phospholipids وبروتينات.

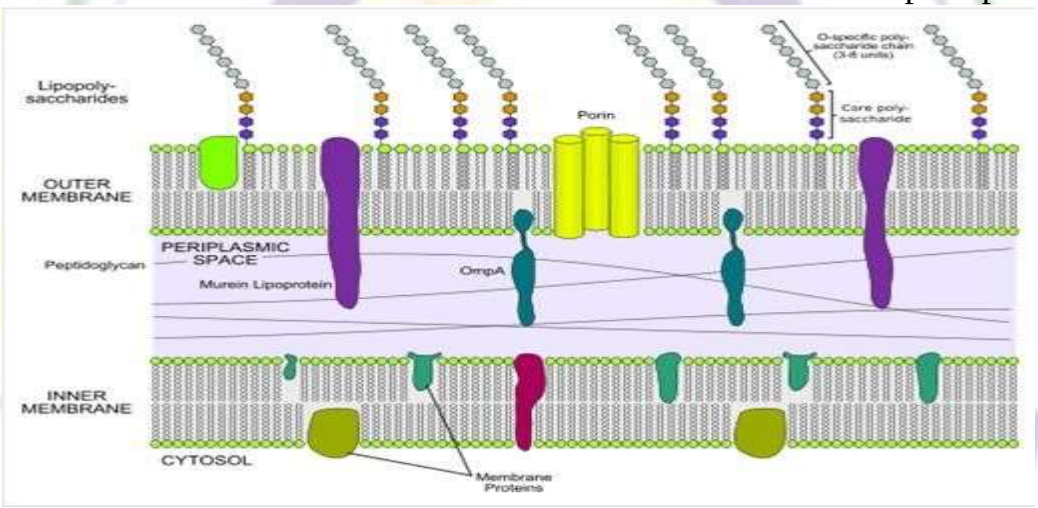


Diagram of a Cytoplasmic Membrane

من أهم وظائف الغشاء السايتوبلازمي:

1- النفاذية الاختيارية Selective Permeability وانتقال المواد الغذائية.
2- انتقال الالكترونات والفسفرة التأكسدية Electron Transport and Oxidation Phosphorylation
3- أفراز الانزيمات المحللة Extraction of hydrolytic Enzymes
4- الوظائف التخليقية Biosynthetic Function موقع لتصنيع مكونات الجدار الخلوي peptidoglycan, lipids and proteins
5- يحتوي على أجهزة الانجذاب الكيمياوي Chemotactic
6- موقع ارتباط الكروموسوم بسبب وجود الميزوسومات Mesosomes

التركيب الكيميائي :- يتألف الغشاء الخلوي من 60% بروتينات و40% دهون مفسفرة وتكون الاخيرة على هيئة طبقتين حيث النهايات المحبة للماء في الجهة الخارجية اما النهايات الكارهة للماء فتكون منضوية الى الداخل وبين هاتين الطبقتين توجد جزيئات البروتين اما مطمورة في الدهون المفسفرة ويطلق عليها بالبروتين المتداخل Integral protein والبعض منها يمتد من السطح الخارجي الى السطح الداخلي لغشاء الخلية ويدعى بالبروتين الطرفي Peripheral protein ويشكل نسبة قليلة على الاسطح الخارجية وبذلك يتم عبور المواد من خلال هذا الغشاء حيث تذوب المواد الدهنية في الدهون المفسفرة ويسهل اختراقها للغشاء . اما بالنسبة الى الحوامض الامينية والقواعد النيتروجينية التي لا تذوب في الدهون فأنها تمر من خلال جزيئات البروتين ان اي تلف لهذا الغشاء بسبب عوامل خارجية فيزيائية او كيميائية كالمعقمات والمنظفات او المضادات الحيوية يعمل على اذابة الدهون وتثبيط وظيفته كما يؤدي الى خروج مكونات السيتوبلازم الى خارج الخلية وموت البكتريا .

The cytoplasmic membrane also contains various enzymes involved in respiratory metabolism and in synthesis of capsular and cell wall components

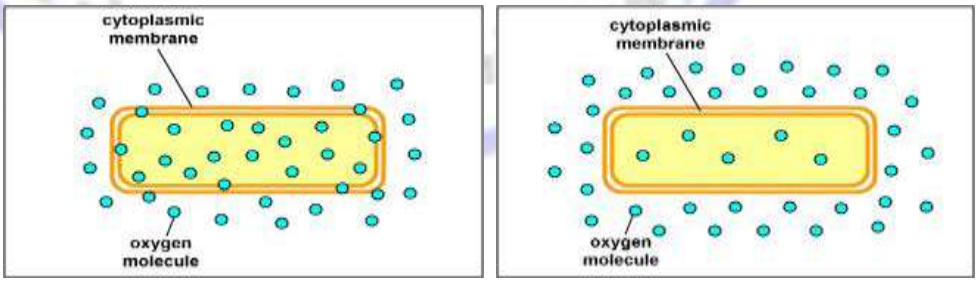
اليات انتقال المواد والعناصر الغذائية عبر الغشاء السايتوبلازمي

يتم انتقال المواد والعناصر الغذائية من ايونات ومعادن وسكريات واحماض امينية والكترونات وبقية المواد الناتجة من الايض عبر الغشاء السايتوبلازمي عبر العديد من الاليات وهي :

1-الانتشار البسيط او السلبي Simple or passive diffusion

هو الانتقال الحر للجزيئات داخل وخارج الخلية دون انفاق طاقة ويستمر الانتقال الى ان يصبح تركيز الجزيئة المعينة نفسه على جهتي الغشاء اي داخل وخارج الخلية . ويكون الانتقال من مناطق التركيز العالي الى الاوطأ حتى يتعادل التركيز على جانبي الغشاء. اذ تمر الجزيئات الذائبة من خلال الغشاء اعتمادا على الاختلاف في تركيز هذه المواد على جانبي الغشاء السايتوبلازمي ، اي تنتقل المواد من التركيز العالي الى التركيز الواطئ وبتساوي التركيزين داخل وخارج الخلية يتوقف نظام الانتشار. ولا يحتاج هذا النوع من النقل الى طاقة . ومن مميزاته :

- لا يحتاج الى طاقة .
- تعتمد هذه الطريقة على فرق التركيز بين طرفي الغشاء .
- من الامثلة على المواد التي تنتقل بهذه الطريقة الماء والغازات (co_2 وo_2) وبعض المواد الذائبة في الدهون (كحول اثيلي وكليسرول)



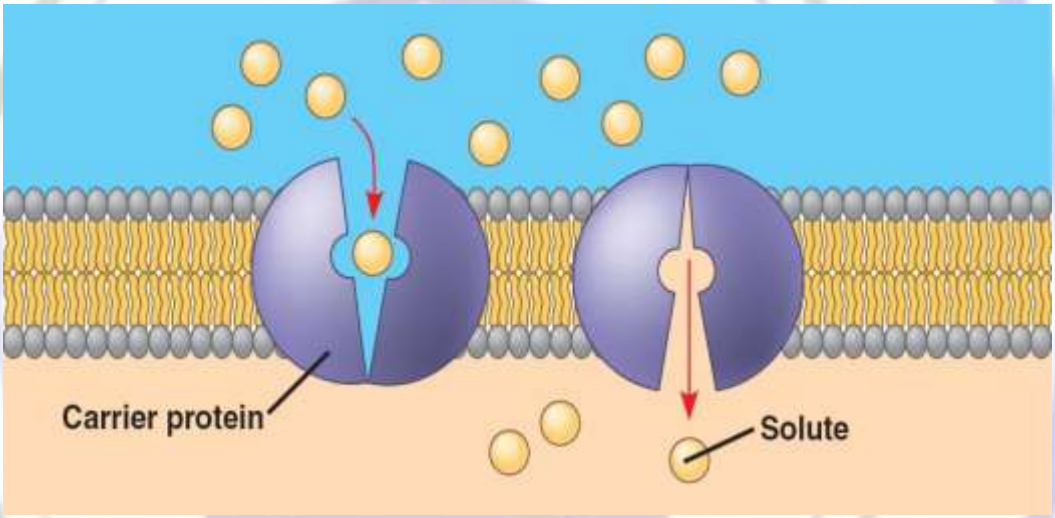
المرحلة الثانية المرحلة الاولى

2-الانتشار الميسر او المساعد Facilitated diffusion

مشابهة للطريقة السابقة من حيث الانتقال من التركيز العالي الى الواطئ ولكنه يختلف عنه لان الانتقال يشتمل على وجود حامل بروتيني خاص يسمى Permease يقع على الغشاء السايتوبلازمي يقوم الحامل بالاتحاد المؤقت بالجزيئات الذائبة ونقلها من السطح الخارجي الى السطح الداخلي للغشاء ويعود مرة اخرى الى السطح الخارجي وهكذا. ومن مميزاته :

- لا يحتاج الى طاقة .
- يعتمد على فرق التركيز .
- البروتينات الحاملة Carrier protein تساعد في الاسراع من عملية النقل .

النظامان السابقان كما ذكرنا لا يحتاجان الى طاقة حياتية لعبور الجزيئات ولا يحصل تراكم للجزيئات على طرفي الانتشار ولكن متى ما يحصل التوازن يقل تأثير الانتشار بهاتين الطريقتين.



3- النقل الفعال او النشط Active transport

تنتقل بهذا النظام جميع المغذيات من احماض امينية وسكريات وايونات .....الخ بالاتجاهين وباتجاه معاكس للتركيز في حالة حاجة الخلية لمثل هذه المغذيات التي تحتاجها بتراكيز عالية قد لا تتوفر خارج الخلية مما يتطلب من الخلية تحول طاقة على هيئة ATP للقيام بهذا العمل ويقوم بروتين الغشاء السايتوبلازمي بعمل الجزء الناقل وينقل المواد عبر الغشاء ويتضمن هذا النظام الخطوات التالية:

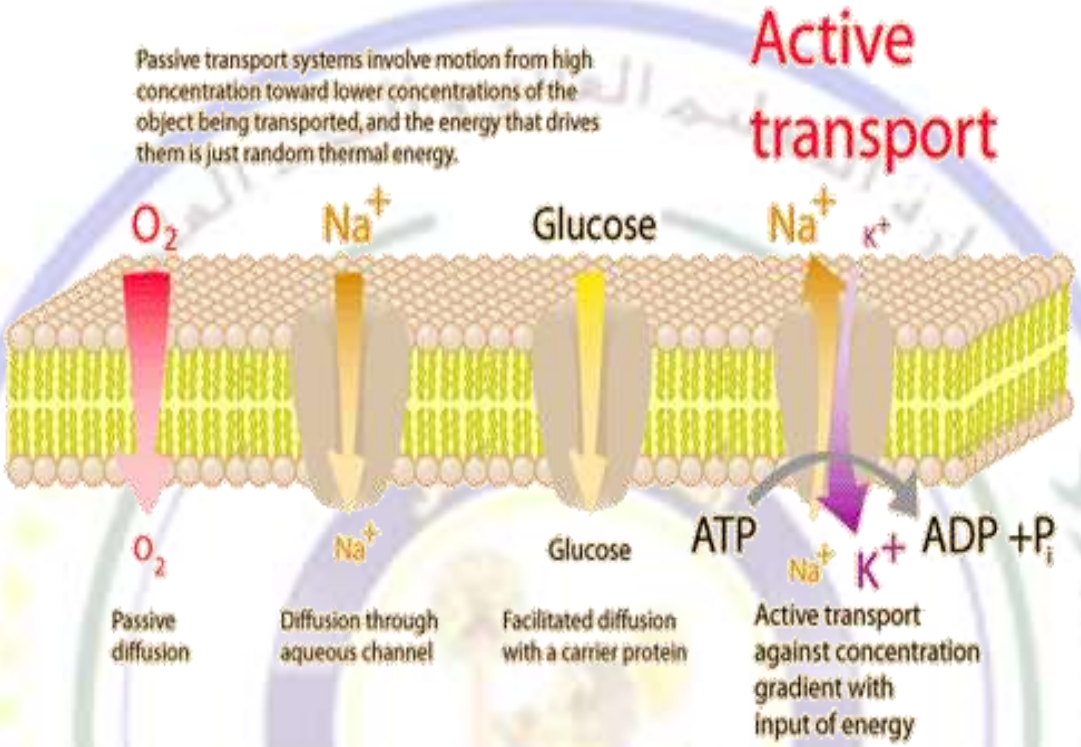
1-ارتباط المادة الغذائية بموقع الاتصال receptor site على البروتين الناقل.

2-انتقال خليط المادة المذابة والبروتين الناقل عبر الغشاء.

3-يحدث استهلاك للطاقة لأحداث تغيرات تركيبية بشكل البروتين الناقل كي يطلق المادة المذابة داخل الخلية ثم يرجع شكل الحامل البروتيني الى ما كان عليه. ومن مميزاته :

- يحتاج الى طاقة .

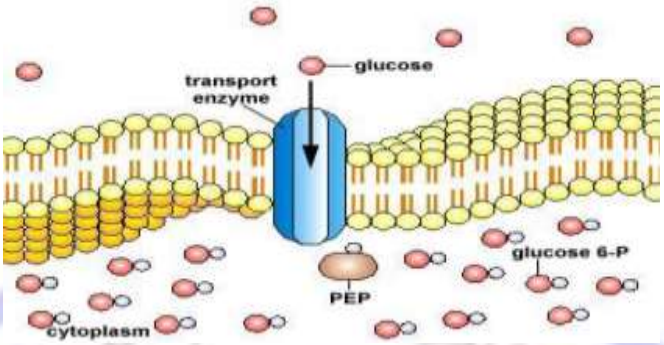
- بروتينات حاملة مسؤولة عن نقل المواد .
- لايحدث تحوير للمواد المنقولة .
- يكون نقل المواد بعكس التركيز .



4-نقل المجاميع الموضعي Group translocation

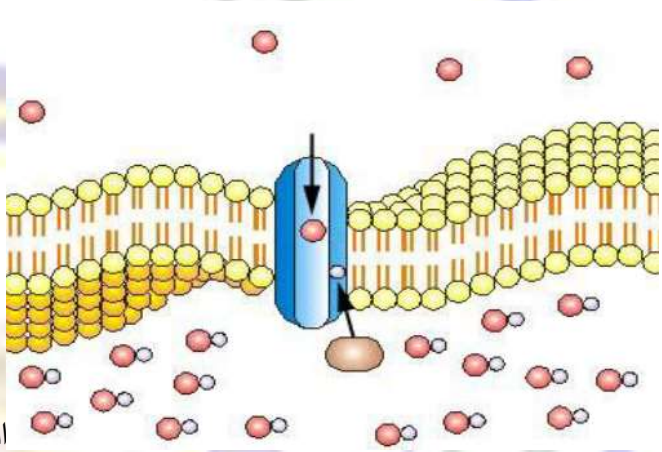
كما يتضح من الانظمة السابقة لا يحدث تغيرا في تركيب المواد المنقولة من الناحية الكيميائية الا انه في هذا النظام يلاحظ ان المواد المنقولة يحصل لها تغيير كيميائي في تركيبها، ولهذا يقتصر هذا النظام على الاحياء بدائية النواة حيث يمكن هذا النظام البكتريا من استغلال مصادر الطاقة من خلال ازدواجية النقل مع التفاعلات الايضية.

ينتقل المغذي بهذه الطريقة الى داخل الخلية من خلال تفاعل مزدوج ، حيث يحدث لهذا المغذي تغيرا كيميائيا اضافة لنقله الى داخل الخلية مستخدمين الطاقة نفسها، اذ يحدث في البداية داخل السايتوبلازم فسفرة للبروتين الناقل والذي يرتبط فيما بعد بالسكر الحر الموجود خارج الخلية وينقله كسكر مفسفر sugar phosphate الى داخلها ويتم هذا كله وفق نظام يطلق عليه phosphotransferase systems .اذن تحتاج هذه الطريقة الى بروتين ناقل وانزيمات وطاقة.



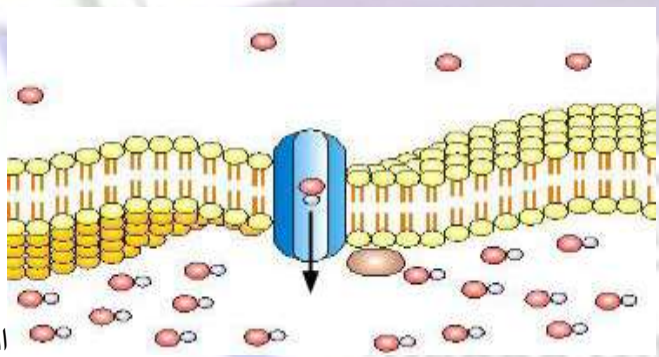
المرحلة الاولى

When bacteria use the process of group translocation to transport glucose across their membrane, a high-energy phosphatethe glucose molecule to form glucose-6-phosphate. group from phosphoenolpyruvate (PEP) is transferred to



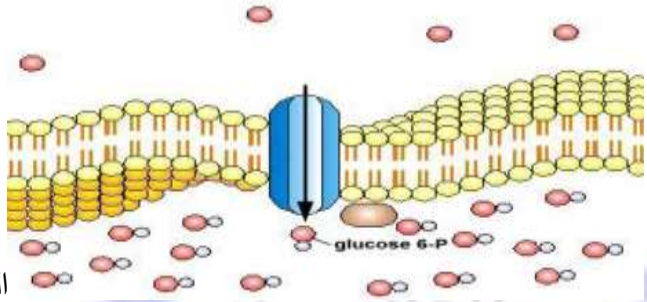
المرحلة الثانية

A high-energy phosphate group from PEP is transferred to the glucose molecule to form glucose-6-phosphate.



المرحلة الثالثة

The glucose-6-phosphate is transported across the membrane .



المرحلة الرابعة

converted to glucose-6- phosphate Once the glucose has been and transported across the membrane, it can no longer be transported back out

*انتقال الالكترونات والفسفرة التأكسدية

تدعى المسارات التي تتدفق منها الالكترونات اثناء التفاعلات الحيوية في التنفس والبناء الضوئي بسلسلة نقل الالكترونات وهي نوع من تفاعلات الاكسدة والاختزال التي تحدث في الخلايا تنتقل فيها الالكترونات من الواهب الاولي الى المستقبل النهائي من خلال مجموعة من ناقلات الالكترونات والانزيمات الناقلة للإلكترونات والمتواجدة في الغشاء السايتوبلازمي في بدائية النواة وفي اثناء تدفق الالكترونات يتم حفظ جزء كبير من الطاقة بشكل ATP . وتسمى هذه الطريقة لحفظ الطاقة بالفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorelation . في حين تتواجد ناقلات الالكترونات في اغشية المايتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء في حقيقية النواة.

*افراز الانزيمات المحللة

تفرز البكتريا الموجبة لصبغة كرام الانزيمات المحللة الى المحيط الخارجي وفي البكتريا السالبة لصبغة كرام تفرز في المسافة بين الببتيدوكلايكان والغشاء السايتوبلازمي والمسماة بالفسحة البينية Periplasmic space وتقوم هذه الانزيمات بحل الجزيئات الكبيرة ليسهل انتقالها عبر الغشاء.

*الوظائف الخلقية

يحتوي الغشاء السايتوبلازمي على الحاملات الدهنية التي يتم عندها ارتباط الوحدات المكونة للجدار الخلوي ، كما يحوي الغشاء السايتوبلازمي على الانزيمات المشاركة في خلق الجدار الخلوي . كما توجد فيه الانزيمات المسؤول عن تصنيع الدهون الفسفورية phospholipid كما يحوي الغشاء البلازمي على بعض البروتينات المسؤولة عن تضاعف DNA .

المواد المحطمة للغشاء السايتوبلازمي

1. المنظفات الحاوية على مواد محبة للدهون والماء تحطم الغشاء السايتوبلازمي- .
2. المضادات الحياتية مثلpolymyxin B and Gramicidin
3. المواد الكيمياوية مثل الكحول ومركبات الامونيوم الرباعية.

الميزوسومات Mesosomes

يحتوي الغشاء البلازمي في البكتريا الموجبة لصبغة كرام على واحدة او اكثر من الطيات او الانبعاجات غير المنتظمة والمتركزة في السايتوبلازم وتسمى بالميزوسوم وتكون هذه التراكيب غير واضحة او صغيرة في البكتريا السالبة لصبغة

كرام ولاتوجد في الخلايا حقيقية النواة . وظيفتها غير معروفة بشكل واضح ولكن يحتمل ان يكون لها دور في عمليات التكاثر والعمليات الايضية الاخرى وتحتوي على الانزيمات المؤكسدة للطاقة كذلك فهي تعمل على تكوين الجدار الخلوي اثناء انقسام الخلية البكتيرية .حيث يتكون جدار مستعرض يسمى الحاجز العرضي ويعتقد ان الميزوسوم يؤدي الى زيادة المساحة السطحية للغشاء البلازمي وهذا يؤدي الى زيادة تركيز المواد الغذائية داخل الخلية .

والميزوسوم نوعان :

1- الميزوسوم الحاجز :- وهذه تعمل على تكوين الحاجز اثناء انقسام الخلية ويتصل كروموسوم الخلية بها .

2- الميزوسومات الجانبية :- وظيفتها الاساسية نقل المواد الغذائية والمواد الناتجة من والى الخلية البكتيرية.

السايتوبلازم والتراكيب السايتوبلازمية:

تقسم المنطقة السايتوبلازمية المحاطة بالغشاء السايتوبلازمي الى :

- منطقة سايتوبلازمية حبيبية المظهر غنية بالحامض النووي RNA
- ومنطقة كروماتينية غنية بالحامض النووي DNA

السايتوبلازم Cytoplasim

يقع داخل الغشاء الخلوي وهو عبارة عن كتلة هلامية تتكون من البروتينات والكاربوهيدرات والاحماض الامينية والاملاح والايونات غير العضوية حيث يشكل الماء ما يقارب 80% ويعتبر السايتوبلازم المادة الاساس لبناء الخلية ومركز النمو والتفاعلات الكيميائية فيها ويكون سميك وشبه مرن .وهناك بعض الاجسام المختلفة في السايتوبلازم ومنها :

التراكيب السايتوبلازمية المجهرية Cytoplasmic Ultra Structures

الرايبوسومات Ribosomes

تراكيب منتشرة في السايتوبلازم بأعداد كبيرة يعود اليها المظهر الحبيبي للسيتوبلازم وهي اماكن تخليق البروتينات يبلغ عددها في البكتريا 1500 رايبوسوم ويزداد هذ العدد بزيادة نشاط البكتريا وتتألف وحدة الرايبوسوم من جزيئتين كبيرتين مختلفتين هما البروتين وRNA الرايبوسومي (rRNA).

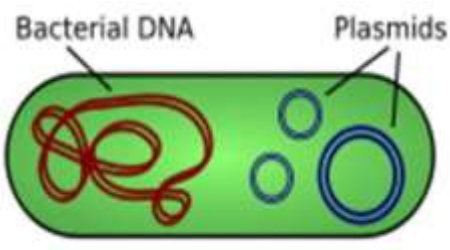
تمتاز الرايبوسومات بخواصها الترسيبة عند تعرضها للطرد المركزي الفائق فكلما كان حجم الرايبوسوم كبير كانت قابليته الترسيبة عالية (يترسب بسرعة) ويعبر عن حجم الرايبوسوم بوحدة الترسيب أو وحدة Svedberg نسبة للعالم السويدي **Theodor Svedberg** مصمم اجهزة الطرد المركزي الفائق ويرمز لها بوحدة (S) ويبلغ حجم الرايبوسومات البكتيرية 70S اما رايبوسومات خلايا حقيقية النواة فيبلغ (80S) اي اكبر حجما.

المادة النووية Nuclear material (Nucleoid)

تتألف المدة النووية في بدائية النواة من DNA وهي شريط مزدوج دائري حلقي وهي تمثل الكروموسوم البكتيري ويكون عددها في بدائية النواة مثل البكتريا كروموسوما واحدا.

تكون عادة خالية من الهستونات (Histones) وهي بروتينات قاعدية موجودة في حقيقية النواة تكون جزيئة DNA في البكتريا كبيرة الحجم ولكنها تحـــــــــشر نفسها بواسطة الالتفاف الفائق في منطقة تعرف بالمنطقة النـــــــووية وملتصقا بالغشاء السايتوبلازمي في موقع يـــــــــــطلق عليه المـــــــــيزوزوم (Mesosomes).والمادة النووية مسؤولة عن إظهار والتعبير عن الصفات الوراثية.

البلازميدات Plasmids



من الممكن ان تحتوي البكتريا اضافة للكروموسوم البكتيري على واحد او اكثر من جزيئات DNA دائرية حلقية صغيرة الحجم والوزن الجزيئي تحتوي على معلومات وراثية خاصة ومحددة مساعدة للمعلومات الوراثية الاساسية الموجودة على الكروموسوم البكتيري وتشمل هذه القابلية على التزاوج بين البكتريا ومقاومة بعض المضادات الحيوية وتحملها للمعادن السامة وتفقد البكتريا

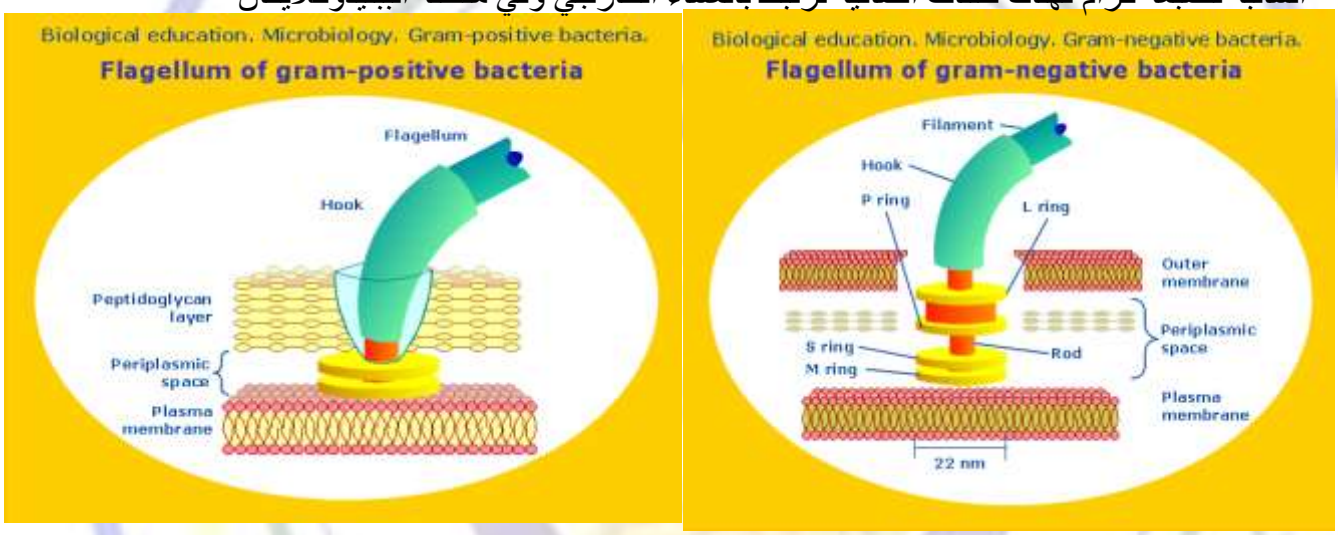
هذه الصفات بمجرد اقصاء البلازميد الخاص بصفة معينة من الخلية اي انها صفات غير ثابته كالتي في الكروموسوم البكتيري.

الاسواط Flagella

مفردها Flagellum وتعد من التراكيب الخارجية الظاهرية مكونة من خيوط بروتينية (بروتين الفلاجين Flagin وزنه الجزيئي 4000 دالتون) يبلغ طولها اضعاف طول البكتريا نفسها والاسواط هي واسطة الحركة للبكتريا التي تملكها ويمكن رؤية الاسواط تحت المجهر باستخدام صبغة الفوكسين القاعدي وحامض التانيك.

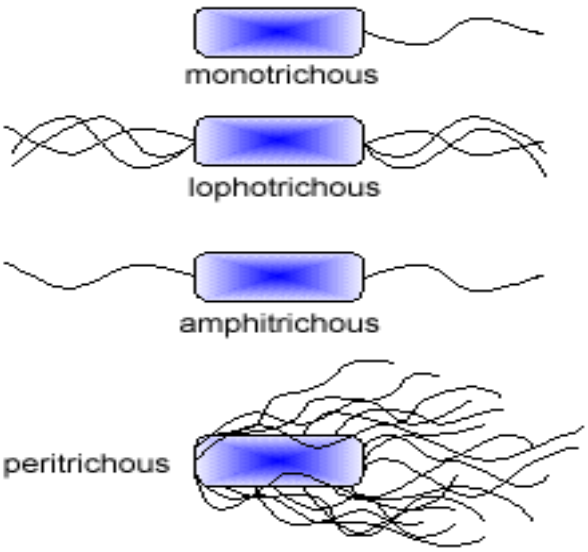
يتألف السوط البكتيري من ثلاثة أجزاء :

1- الخيط Filament هو الجزء الظاهري الممتد من الخلية خارجا ويكون اسطواني مجوف يتألف من ثلاثة خيوط رفيعة ملتفة مع بعضها البعض.
2- الخطاف Hook هو الجزء الذي يربط الخيط بالجسم القاعدي.
3- الجسم القاعديBasal body يثبت السوط بالغشاء البلازمي مارا بالجدار الخلوي ومكوناته المختلفة , يشمل الجسم القاعدي حلقتين يرتبطان بالغشاء السايتوبلازمي في البكتريا الموجبة لصبغة كرام , اما بالنسبة للبكتريا السالبة لصبغة كرام فهناك حلقات اضافية ترتبط بالغشاء الخارجي وفي منطقة الببتيدوكلايكان



Insertion of a bacterial flagellum

ان عدد وتوزيع الاسواط في الخلية البكتيرية ثابت لكل نوع وتختلف عن الانواع الاخرى ويعد صفة مميزه لذلك النوع وفي ادناه توزيع الاسواط :



1. عديمة الاسواط Atrichous مثالها *Lactobacillus* spp
2. ذات سوط واحد طرفي Monotrichous مثالها *Vibrio cholerae*
3. خصلة من الاسواط في طرف واحد من

الخلية Lophptichous مثالها *Alcaligenes faecalis*

4. خصلة من الاسواط على كل طرف من

الخلية Amphitrichous مثالها *Spirillum volutans*

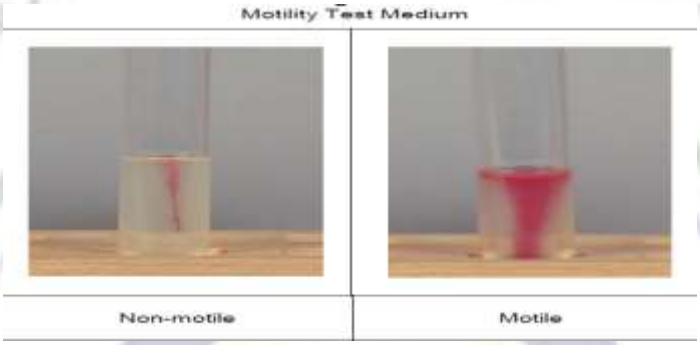
5. ذات اسواط موزعة بأنتظام على محيط

الخلية Peritichous مثالها *Escherichia* spp

قد تفقد البكتريا اسواطها نتيجة الرج الميكانيكي – الترشيح – الطرد المركزي – المعاملة بالمنظفات والمواد المطهرة كاليود والفينول . كما ان البكتريا قد تفقد قدرتها على تكوين السوط عند تنميتها في ظروف غير ملائمة . ورغم ان الاسواط من الصفات المميزة للنوع الا انها غير اساسية او ضرورية لحياة البكتريا بقدر فائدتها في الحركة والانتقال والدليل على ذلك عند ازالة الاسواط منها بالرج الميكانيكي مثلا فأن البكتريا تفقد قدرتها على الحركة لكنها تعود وتسترد هذه القابلية بصورة متزامنة مع استعادة اسواطها عند تنميتها في ظروف بيئية تساعدها على تكوين الاسواط .

حركة البكتريا Bacterial mobility

تختلف حركة البكتريا حسب نمط وتوزيع الاسواط وتعتمد حركة السوط على الذبذبة الدائرية في حلقات الجسم القاعدي والتي تولد طاقة لتحريك السوط فاذا كانت حركة السوط عكس عقرب الساعة يولد حركة الى الامام بشكل مستقيم في حين تكون الحركة عشوائية باتجاهات مختلفة عندما تكون الحركة باتجاه عقرب الساعة.



وهناك انواع اخرى من الحركة لا تشترك فيها الاسواط منها الحركة الانزلاقية والناتجة عن ذبذبات وتموجات جسم الخلية على السطوح الصلبة كما توجد حركة غير حقيقية لخلايا البكتريا ناتجة عن تصادم جزيئات الوسط السائل تدعى الحركة البراونية Brownian mobility.

الشعيرات Pili

وهي عبارة عن زوائد خيطية تنشأ من جدار الخلية وتمتد الى الخارج تختلف عن الاسواط بكونها قصيرة ومستقيمة وكذلك فهي ليس لها علاقة بالحركة ويكمن مشاهدتها باستعمال المجهر الالكتروني كما يمكن ان يستدل عليها بطريقة غير مباشرة عند معاملة البكتريا بالدم فأن الشعيرات تساعد على تخثر الدم وتمتلك العديد من البكتريا السالبة لصبغة كرام المئات منها (مكونة من بروتين البيلين Pillin وزنه الجزيئي (7000 دالتون)

ومن وظائف Pili :

تستخدم في نقل المادة الوراثية في عملية ا الاقتران شبه الجنسي Conjugation بين خليتين وعندها تدعى Fertility pili .

لها دور مهم في العدوى المرضية للانسان حيث تساعد البكتريا المرضية على الالتصاق بالاسطح الداخلية للخلايا الطلائية المبطنة للجهاز التنفسي والبطني .

تساعد على تثبيت الخلية والتصاقها بالوسط الغذائي وبذلك تستطيع الحصول على مواد غذائية كثيرة .

تستعمل ايضا مواقع اتصال لفاجات البكتريا عند مهاجمة هذه الفاجات لمضائفها البكتيرية حيث تلتصق الفاجات على الاهداب ومن ثم تنقل موادها الوراثية الى داخل خلية البكتريا . تقسم الى نوعين:

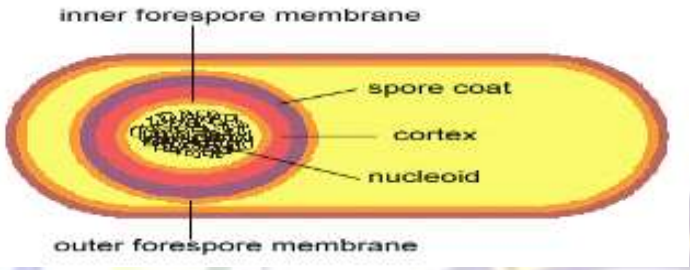
- الشعيرات العمومية Generalized pilli وهذه تزيد من امراضية البكتريا التي تمتلكها
- الشعيرات الجنسية Sex pilli تستخدمها البكتريا في الاقتران شبه الجنسي Conjugation .

الابواغ Spores

تراكيب تكونها انواع من البكتريا الموجبة لصبغة كرام والعصوية في الغالب . توصف السبورات على انها نمط خلوي استثنائي يتكون داخل الخلية البكتيرية عند نموها في ظروف دون الظروف المثلى وتدعى الابواغ الداخلية Endospore بخلاف الابواغ التي تكونها الاحياء المجهرية الاخرى كالفطريات Fungi والتي تكون خارج الخلايا الخضرية لذا تدعى الابواغ الخارجية Exospore ولا تعد الابواغ البكتيرية وسيلة للتكاثر لأنها تكون خلية خضرية واحده لكل سبور ولكنها تعد وسيلة لحفظ النوع .

تتميز السبورات البكتيرية بمقاومتها العالـية للحرارة والجفاف والاشعاع والكثير من المواد الكيميائية المسـتعملة في التطهير والتعقيم ويعزى ذلك الى عـدم نفاذية غطاء السبور Spore coat الحاوي على ايونات الكالسيوم وحامض Dipicolonic acid بشكل معقد

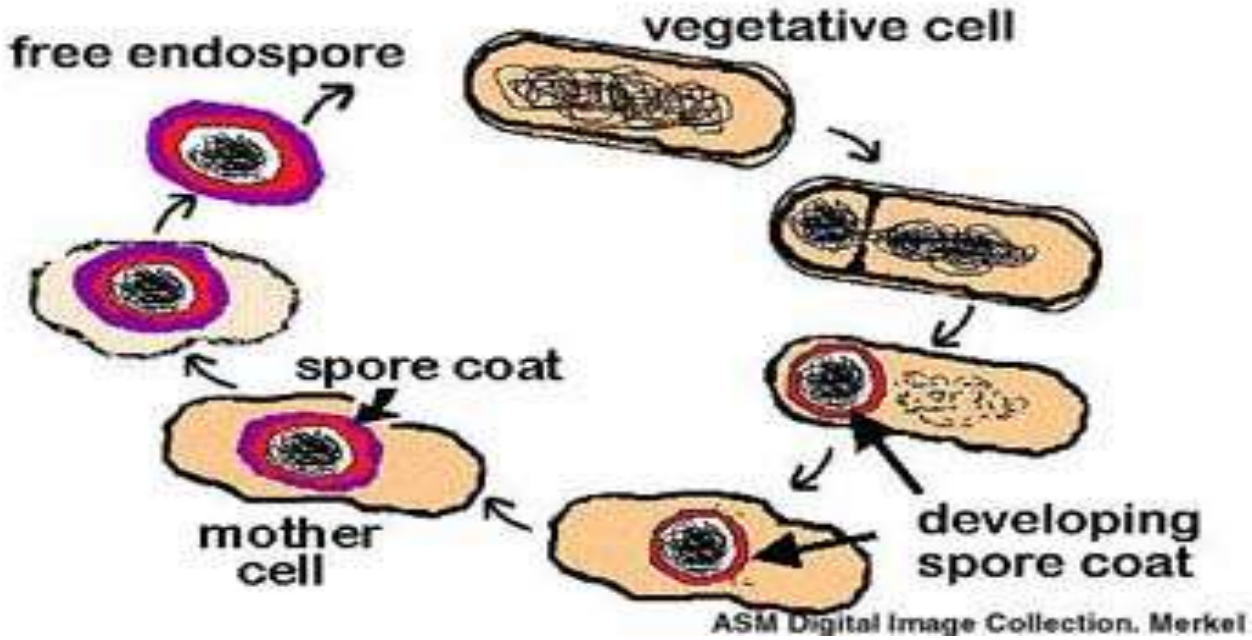
.(Peptidoglycan –Dipicolonic acid –Calcium)



Endospore formation within a vegetative bacterium

تدعى عملية تكوين الابواغ Sporogenesis وتتضمن مراحل تكوين البوغ الداخلي:

1- تحول DNA الى خيوط وحدوث انبعاج في الغشاء الخلوي لتكوين البوغ الاولي Fore spore
2- تكون طبقات تغطي البوغ الاولي تسمى قشرة البوغ Spore cortex تغطيها طبقات اخرى تدعى Spore coat وقد تضاف طبقة اخرى في بعض الانواع تدعى Exosporium .
3- تحلل الخلية الام وانطلاق البوغ الحرFree spore



ويختلف موقع البوغ داخل الخلية الخضرية باختلاف انواع البكتريا فقد يكون موقع البوغ مركزيا Central او قريبا من طرف الخلية ويدعى Sub terminal او يكون طرفي Terminal وفي بعض الانواع يكون قطر البوغ اكبر من قطر الخلية فتظهر الخلية منتفخة عند موضع وجود البوغ ويسمى عندئذ Swollen كما يأتي :

أ- Central spore كما في *Bacillus subtilis*

ب- Sub terminal spore كما في *Clostridium botulium*

ت- Terminal spore كما في *Clostridium tetani*

ث- Sowllen spore كما في *Bacillus stearothermophilis*

- Exospores :... هذه غالبا ما تشبه البراعم التي تتكون خارج الخلية الخضرية وفي نهاية احد طرفي الخلية . والابواغ الخارجية اقل مقاومة من الداخلية لكل من الحرارة والجفاف وغيرها لخلوها من حامض Dipicolinic Acid يوجد مثل هذا النوع من الابواغ في البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان والتابعة لجنس *Methylosinus* spp .

من الامثلة على البكتريا المكونة للابواغ ومن النوع الكروي:

♦ *Sporosarcina*

تتواجد في سايتوبلازم البكتريا الحقيقيةEubacteria تراكيب حبيبية تعمل كمخازن للغذاء والتي قد تكون نشا او كلايكوجين او دهون فضلا عن مركبات الكبريت والفوسفات المتعددة تدعى حبيبات الفولوتين Volutin من فوائدها:

1- موجودة في حيز ضيق وتشكل مصدر للطاقة
2- تتحول بسرعة من بوليمرات غير ذائبة ال ذائبة بالتحلل المائي.
3- لا تؤثر على الضغط الازموزي لكونها غير ذائبة.

تنمية البكتريا CULTURING OF BACTERIA

يمكن تنمية البكتريا ودراستها تحت الظروف المختبرية أذ طورت الكثير من الاوساط الزرعية لتنمية الانواع المختلفة من البكتريا، ولكون الاحتياجات الغذائية للبكتريا تكون مختلفة حسب الانواع البكتيرية فمن المتوقع ان تكون هناك اختلافات واسعة في تركيب الاوساط الزرعية Culture media كذلك تتأثر تنمية البكتريا بالظروف الفيزيائية المحيطة بالبكتريا من درجة حرارة وتركيز ايون الهيدروجين وتركيز الغازات وغيرها. لذا فمن الضروري ان تؤخذ كل العوامل المذكورة بنظر الاعتبار لإنجاح تنمية الاحياء المجهرية و بضمنها البكتريا. تقسم العوامل اللازمة لتنمية البكتريا الى:

1- احتياجات الغذائية
2- احتياجات الفيزيائية

الاحتياجات الغذائية

جميع الكائنات الحية تشترك في احتياجات غذائية ضرورية للنمو والفعاليات الحيوية ، ومن هذه الاحتياجات:

1- الماء WATER

يشكل الماء نسبة 80-90% من وزن الاحياء المجهرية وتحتاج جميع التفاعلات الكيميائية التي تحدث في الخلايا الى الماء ولكي يتمكن الكائن الحي من النمو يجب ان يكون الماء في حالته السائلة ويقتصر ذلك على درجات حرارة تقع ما بين (-2 الى 100) درجة مئوية ويسمى هذا المدى بمدى الحركية Biokinetic zone .

ويمكن التعبير عن حاجة الاحياء المجهرية للماء بصورة كمية بما يدعى الفعالية المائية او النشاط المائي Water Activity ويرمز لها aw وهي تساوي:

$\mathbf{aw} = P/P_O$

حيث : **aw** = الفعالية المائية ، P= ضغط بخار المحلول ، P_O= ضغط بخار الماء

وعلية فان قيمة **aw** للماء مساوية للرقم واحد وتقل هذه القيمة عندما تكون هناك مواد مذابة في الماء وتتمكن الاحياء المجهرية من النمو في بيئة تكون قيمة **aw** واقعة ما بين 0.99 و 0.63 اذ تحتاج البكتريا الى قيم اعلى من الخمائر والتي بدورها تحتاج الى قيم اعلى من الأعفان ويمكن تقسيمها كالاتي:

الكائن المجهري	الفعالية المائية **aw**	
Bacteria	99.0 – 0.93	(يلاحظ وجود حالات كثيرة
Yeasts	0.91 – 0.88	شاذه واستثنائية)
Molds	0.63 ~	

وتتحمل الفطريات الجفاف بصورة عامة اكثر من بقية الاحياء المجهرية فقد يصل مدى **aw** الى 0.60 لأفراد من عفن *Aspergillus glaucus* .

2 - مصدر الكربون Carbon source

يعد الكربون ضروري لجميع الاحياء لأنه مكون اساسي لمركبات الخلية ، بعض الاحياء المجهرية تمتلك القدرة على استخدام CO_2 مصدرا اساسيا للكربون وتدعى ذاتية التغذية Autotrophic والبعض الاخر يمكنه استخدام الكربون العضوي مصدرا اساسيا للكربون وتدعى غير ذاتية التغذية Heterotrophic ولا تستطيع استخدام CO_2 مصدرا وحيدا للطاقة.

وتستهلك الاحياء المجهرية عددا كبيرا من المركبات العضوية وبأنواع متغايرة ويبدو ان لكل مركب كربوني احياء متخصصة تعمل على تحليله وهذا يفسر الدور الذي تقوم به الاحياء المجهرية في دورة العناصر في الطبيعة .

ومن امثلة المواد العضوية التي تعد مصدرا للكربون هي المواد الكربوهيدراتية والتي تعد من اهم المصادر الكربونية المتوفرة مثل (السكريات الاحادية والثنائية والمتعددة و الاحماض الامينية والدهون وحتى المصادر الهيدروكربونية المشبعة منها والاروماتية).

3 – مصدر الطاقة Energy Source

تحتاج جميع الاحياء المجهرية الى مصدر للطاقة وتعتبر الشمس المصدر الرئيس للطاقة لكن هناك عدد محدود من الاحياء المجهرية القادرة عل استغلال هذا المصدر بشكل مباشر وتشمل بعض انواع البكتريا والطحالب Algae . و تسمى الاحياء التي تستخدم الضوء مصدرا للطاقة ضوئية التغذية Phototrophic في حين ان الاحياء التي تعتمد على المركبات الكيميائية مصدرا للطاقة تسمى كيمياوية التغذية Chemotrophic.

4 – مصدر النيتروجين Nitrogen source

النيتروجين مهم لبناء متطلبات الخلية لكن البكتريا تختلف عن الخلايا حقيقية النواة اذ يمكن لبعض انواع البكتريا استخدام النتروجين الجوي في حين يمكن للبعض الاخر استخدام النتروجين من المصادر العضوية كالأحماض الامينية او نواتج التحلل المائي للبروتين مثل الببتون و التربتون و الببتيدات ، وتحتاج الاحياء المجهرية النتروجين لتصنيع الاحماض الامينية والبروتينات والنيوكليوتيدات والحوامض النووية وبعض الفيتامينات.

وتشمل مصادر النتروجين : النتروجين الجوي ، والنتروجين غير العضوي مثل املاح , NO_3 NO_2 NH_4 والنتروجين العضوي مثل Peptone , Treptone , Peptides .

وعدة تكون نسبة N/C هي 1/10 وهذه النسبة ملائمة لنمو الفطريات في حين ان انخفاضها مناسب لتكوين السبورات ومن المهم التركيز على نوعية المصدرين الكربوني والنتروجيني اكثر من الاهتمام بالنسبة لهذين العنصرين اي الاهتمام بالتركيز الذي يستطيع الكائن الحي استهلاكه.

5 – عنصري الفسفور والكبريت

الكبريت ضروري لتصنيع الاحماض الامينية التي يدخل الكبريت في تكوينها مثل Cysteine , Cystine , Methionine وتحصل البكتريا على الكبريت اما من مصادر عضوية او مصادر لا عضوية وقد تستخدم بعض البكتريا الكبريت المعدني.

اما بالنسبة للفسفور فهو ضروري لتكوين الحوامض النووية DNA , RNA والنيوكليوتيدات والدهون المفسفرة Phospholipids وكذلك مهم في فسفرة السكريات .

وعادة ما يجهز الفسفور في الوسط الغذائي باستخدام بعض الاملاح مثل KH_2PO_4 ,K_2HPO_4 وهي بالإضافة الى تجهيزها لعنصر الفسفور تقوم هذه الاملاح بوظيفة المواد الدارئه او البفرية Buffering في حين يجهز عنصر الفوسفات في الاوساط التركيبية غير المعروفة مثل الببتونات ومستخلصات الخميرة Yeast extract من الاحماض النووية الداخلة في تركيب هذه المواد.

6- العناصر المعدنية

تعد ايونات العناصر المعدنية ضرورية لجميع الكائنات الحية ولكن بكميات قليلة ومتفاوتة وهي على مجموعتين:

أ- Macronutrient elements : عناصر يحتاجها الكائن المجهري بتراكيز عالية نسبيا وتجهز في الاوساط الكيمياوية معروفة التركيب على شكل املاح مثالها Ca^{+} Cl^{-}, Na^{+} ,Mn^{+} ,Fe^{+3} ,K^{+} ,Mg^{+} .

ب- Micronutrient elements :عناصر تحتاجها الكائنات الحية بتراكيز اقل من المجموعة (أ) ويكون من الصعوبة معرفة مقدار الحاجة اليها لا نها لا تضاف للوسط فهي موجودة كملوثات حتى في الاوساط ذات النقاوة العالية نظرا لضآلة كميتها مثالها الكوبلت والموليبيديوم والبورون وغيرها.

7- عوامل النمو Growth factors

لا تمتلك بعض الاحياء المجهرية القدرة على تصنيع كميات كافية من مركبات عضوية معينة مثل الاحماض الامينية والبيورينات والبريميدينات والفيتامينات وغيرها والتي تحتاجها لتصنيع مواد خلوية جديدة ولهذا يشترط توفر هذه العوامل في الوسط لكي يظهر النمو وهذه المواد تدعى عوامل النمو وعليه تصنف الاحياء المجهرية حسب احتياجها لعوامل النمو الى:

A- Auxotrophic : هو الكائن الذي يحتاج لاحد عوامل النمو ولا يستطيع النمو بدون توفر ذلك العامل وعندها يدعى مثلا Auxotrophic لفيتامين B1

B- Prototrophic: هو الكائن الذي يستطيع النمو حتى عند عدم توفر عوامل النمو.

لا تستطيع بعض أنواع البكتريا أن تعيش مستقلة حيث لا يمكنها الاعتماد على نفسها فى صنع وتكوين احتياجاتها ولذلك فهي تعتمد على غيرها من الكائنات الأخرى و تستمد منه المواد الكربوهيدراتية بصورة جاهزة .ومنها ما تعيش متطفلة Parasitic ومنها البكتريا التي تعيش مترممة Saprophytic ومنها ما تعيش متكافلة Symbiotic .والمتكافلة تكون على ثلاثة انواع هي :-

أولاً: معيشة النفع المتبادل :Symbiosis وتتم هذه باشتراك طرفين في معيشة واحدة ينتج عنها نفع متبادل بينهما كمعيشة بكتريا العقد الجذرية على جذور النباتات البقولية، بحيث تزود البكتريا النبات بحاجته من الآزوت الذي كانت تثبتته في جسمها من الآزوت الجوي بينما يمدها النبات بالمجهود اللازم لهامن الكربوهيدرات المخزنة في جسده.

ثانياً: معيشة النفع المنفرد : Metabiosis وتتم باشتراك نوعين من البكتريا في معيشة واحدة ويكون النفع لظرف واحد فقط كمعيشة بكتريا التأزت (بكتريا الآزوتات وبكتريا الآزوتيت) على بيئة واحدة. فبكتريا الآزوتيت تعمل على أكسدة النشادر كي نتج الآزوتيت فينتفع به بكتريا الآزوتات في تحويل الآزوتيت إلى آزوتات بالإضافة إلى المجهود الناتج.
ثالثاً: معيشة التضاد : Antibiosis كوجود نوعين من البكتريا في وسط لا يتوفر النفع لأحدهما بوجود الآخر كوجود بكتريا حامض اللكتيك والميكروبات التعفنية في الأمعاء إذ أن هذه الأخيرة لا تعيش في وسط حامضي ولايمكنها الاستفادة منه بشيء.

الاحتياجات الفيزيائية

اضافة الى الاحتياجات الغذائية للنمو هناك ظروف فيزيائية يجب ان تلائم الكائن المجهري ليتمكن من النمو على احسن وجه ،وهذا يعني ان عدم توفر احد هذه الاحتياجات سواء كانت غذائية او فيزيائية من الناحيتين الكمية والنوعية يتأثر نمو الكائن المجهري وقد لا يحدث النمو وهذا ما يطلق عليه بالعامل المحدد Limited factors .
تتشابه الاحتياجات الفيزيائية مع الغذائية في اختلافها الواسع ومدياتها لكل عامل من العوامل الفيزيائية نظرا لما يحتاجه كل كائن من ظروف فيزيائية معينة للنمو ومن هذه الاحتياجات:

1- درجة الحرارة Temperature : تعد عاملا مؤثرا عاما لمعظم الفعاليات الحيوية فهي تؤثر في مختلف النشاطات الانزيمية في الخلية ، وما النمو الا حصيلة لهذه النشاطات لذلك تعد درجة الحرارة عاملا مهما في حين تعد درجة الحرارة المثلى للنمو .Optimum growth temp من الاسس التصنيفية الهامة للأحياء المجهرية فبعض درجات الحرارة تعد مميتة لكائن معين ولكن يستطيع كائن اخر النمو فيها.
ان المدى الحراري Temperature growth rang لنمو الاحياء المجهرية واسع (حوالي 30 درجة مئوية) لكن المدى الافضل للنمو يمتد لبضع درجات حرارية وعند الابتعاد عن درجة الحرارة المثلى للنمو ارتفاعا او انخفاضا ينخفض سرعة النمو بشكل حاد.

Minimum temperature: هي اقل درجة حرارة تستطيع البكتريا النمو عندها بعدها تتوقف البكتريا عن النمو وتصبح في حالة سكون.

Optimum temperature: هي انسب درجة حرارة لنمو البكتريا وعندها يكون النمو سريع.

Maximum temperature: هي اعلى درجة حرارة تستطيع ان تنمو عندها البكتريا بعدها تتوقف عن النمو وإذا زاد الارتفاع فان البكتريا يموت.

تأثير درجة الحرارة المنخفضة

- يقل النشاط الايضي بسرعة عند انخفاض درجة الحرارة عن الدرجة المثلى للنمو وذلك بسبب: انخفاض معدل سرعة التفاعلات الكيمائية، زيادة لزوجة سوائل الجسم، تصلب ما بالخلية من ليبيدات،
- وبزيادة درجة الانخفاض عن الدرجة الصغرى يتوقف النشاط نهائيا.
- التجمد السريع: يقل النشاط الايضى سريعا ولكن لا يتوقف وذلك لاحتواء المادة المتجمدة على حبيبات سائلة يستطيع الكائن النمو فيها.
- التجميد البطيء: يميت البكتريا لأنه يجمدها تجمدا عميقا فلا تتكون الحبيبات السائلة .

ولذا يستخدم التجميد السريع لحفظ المزارع البكتيرية وذلك بإضافة :

- الكليسرول (10%) والداى مثيل سلفوكسيد (0.5 جزئ) (تتخلل الخلية وتقلل من التأثير التجمد).
- مواد ذات وزن جزيئي كبير مثل الألبومين والدكسترين (ترتبط هذه المواد بسطح الخلية فتحمى غشاءها من التأثير التجمد).

تأثير درجة الحرارة المرتفعة

يؤدى ارتفاع درجة الحرارة الى: سرعة العمليات الايضية وسرعة النمو حتى حد معين من الحرارة (درجة الحرارة المثلى). بعدها تبدأ سرعة العمليات الايضية في الانخفاض وذلك بسبب تكتل البروتين الخلوي (التخثر) Coagulation او بحدوث تغير في طبيعة الجزيء (الدنترة) Denaturation
ولكن يحدث توازن بين العمليات الحيوية التي تؤدى الى تعويض البروتين التالف بالخلية بمعدل يزيد عن سرعة دنترة البروتين نفسه نتيجة لارتفاع درجة الحرارة ولان الدنترة تحدث للبروتين الخلوي وليست للأنزيمات الخاصة بعملية التعويض والإصلاح لذا لو تمت اعادة الخلية للحرارة المثلى تنمو، حتى تصل للدرجة القصوى بعدها يتوقف النمو وتموت الخلية (وذلك لان عملية الاصلاح والتعويض لا تكفى لإصلاح وتعويض كل البروتينات التالفة).

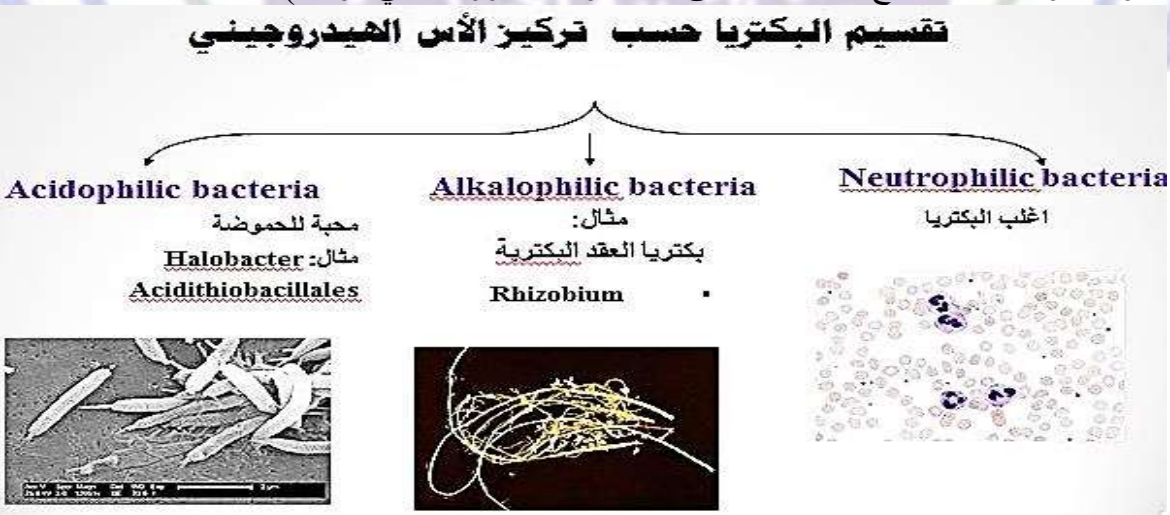
وتقسم الاحياء المجهرية وبضمنها البكتريا على اساس الدرجة المثلى للنمو الى:

A- البكتريا المحبة للبرودة Psychrophilic Bacteria هي مجموعة البكتريا التي لها القابلية على النمو في درجة حرارة الصفر المئوي أو اقل ولكن يمكن ان تنمو بشكل افضل في درجة حرارة اعلى ولها درجة حرارة مثلى هي 15 مº ، اما درجة الحرارة العظمى لهذه المجموعة فهي 20 مº.
توجد هذه المجموعة في المياه العميقة والتربة الباردة والاغذية المحفوظة بدرجات حرارة منخفضه وتؤدي دورا في التأكل الحياتي وتستطيع حماية نفسها من الحرارة المنخفضة بزيادة كمية الحوامض الهنية غير المشبعة في اغشيتها.
B- البكتريا المحبة للحرارة المعتدلة Mesophilic Bacteria الغالبية العظمى من الاحياء المجهرية تقع ضمن هذا التصنيف ومنها الاحياء المرضية للإنسان والحيوان ويقع المدى الحراري للنمو بين 25 – 40 مº اما الدرجات الدنيا والقصوى فهما 10 مº و 50 مº وعلى التوالي.
C- البكتريا المحبة للحرارة العالية Thermophilic Bacteria: وتشمل الانواع التي تكون الحرارة المثلى لنموها 45 مº وبمدى 40 -80 مº م .
وتستطيع مجموعة قليلة من البكتريا العيش في حرارة 60 -100 مº م تسمى Extreme Thermophilic .
ولابد من الاشارة الى ان البكتريا لا تظهر الصفات نفسها عند النمو بدرجات حرارة مختلفة فمثلا بكتريا *Serratia marcescens* تنتج بقع حمراء عندما تنمو في 25 مº م في حين لا تكون هذه الصبغات عند النمو في 37 مº م.

AS GENERAL : Most of pathogenic bacteria grow best in neutral or slightly alkaline. Strong acid or alkali solution ex : NaoH & Hcl is rapidly lethal to bacteria except Mycobacterium spp. can resist them.

مصطلحات مستخدمة للتعبير عن مقاومة البكتريا للحرارة:
درجة الحرارة القاتلة Thermal death point اقل درجة بعد العظمى يقتل عندها البكتريا اذا ما تعرض لها لمدة عشر دقائق على ان يكون البكتريا ناميا في مزرعة عمرها 24 ساعة
الموت Death time هو الوقت بالمجهرية اللازم لقتل كل البكتريا التابعة لنوع ما والموجود في حجم معين عند درجة حرارة معينة

2- تركيز ايون الهيدروجين pH : يمتد مدى تركيز ايون الهيدروجين الذي تتحمله البكتريا ما بين 3 -4 وحدات في حين يقع المدى للنمو الافضل في وحدة واحدة. وتجري معظم الفعاليات الحيوية في مدى يقع ما بين 4 - 8 .
يؤثر الاس الهيدروجيني للبيئة النامي بها الميكروب على العمليات الحيوية بالخلية لان لكل كائن مجال من ال pH يستطيع ان ينمو فيه ، مثلا البكتريا تفضل النمو في وسط متعادل (6-8)، والخمائر والفطريات تفضل النمو في الوسط الحامضي (3-5) .
البيئات شديدة الحموضة والقلوية توقف نمو الخلايا الميكروبيه لتخثر البروتين الأنزيم نتيجة لتجلطه Coagulation.
لذا يجب الاحتفاظ بالخلايا البكتيرية في محاليل منظمة لتركيز ايون الهيدروجين(حيث تنتج ايون الهيدروجين عندما يسحب من الوسط او تسحبه اذا انتج مما يساعد على ثبات ايون الهيدروجين في الوسط).



وللحفاظ على تركيز معين لأيون الهيدروجين تضاف عادة للأوساط الزرعية دوارئ Buffers مثل املاح الفوسفات K_2HPO_4 ,KH_2PO_4 لتنظيم حامضية الوسط الزرعي والحفاظ علية من نشاط البكتريا التي تنتج الحوامض فتغير **pH** الوسط وبالتالي تقل سرعة النمو.

وتختلف البكتريا في **pH** الامثل لنموها وعادة ما يقع المـــــــدى بين(6.5 – 7.5) ولكن المدى الاوســــــــــع بين(5 – 9) وهذا لا ينفي وجود احياء تقاوم مديات 1 – 13.

3- الغازات : يعد الاوكسجين وثاني اوكسيد الكربون من الغازات المهمة والمؤثرة في نمو الاحياء المجهرية وتصنف البكتريا حسب نموها اتجاه الاوكسجين الى:

A- البكتريا الهوائية Aerobic Bacteria :وهي التي تحتاج الاوكسجين في نموها ويمكنها النمو في النسبة الطبيعية للأوكسجين الجوي . وتقسم الى:

- ❖ **Obligate aerobic** لا تنمو ولا تتكاثر الا في وجود الاكسجين و لا تحتوى على انزيمات التنفس اللاهوائي ونواتج التنفس اللاهوائي سامة لها. مثال: الانواع الممرضة من بكتريا *Bacillus spp*.
- ❖ **Facultative aerobic** تنمو بوجود الاكسجين او عدمه مثال: *E.coli*

B- البكتريا اللاهوائية Anaerobic Bacteria :يعد الاوكسجين ساما لها ولا تستطيع النمو بوجود الاوكسجين وعادة ما يفرغ وسط النمو من الاوكسجين في الاوساط الصلبة اما في الاوساط السائلة فتضاف مادة مختزلة مثل L.Cystein او الصوديوم ثايوكلايكوليت كما يصب فوق الوسط السائل الاكار لمنع تماس الوسط مع الهواء. وتقسم الى:

- ❖ **Obligate anaerobic** لا تنمو ولا تتكاثر في وجود الاكسجين مثل . *Clostridium*
- ❖ **Facultative anaerobic** تنمو بدرجة افضل في وجود نسبة ضئيلة من الاكسجين مثال *Corynebacterium* ، *Lactobacillus*

المزارع الهوائية للبكتريا:

لغرض زراعة البكتريا الهوائية تستعمل Shaker incubator

المزارع اللاهوائية للبكتريا

باستخدام مادة تمتص الاكسجين (ايدروكسيد البوتاسيوم) او ازالته ميكانيكيا (احلال النيتروجين او ثانى اكسي الكربون مكان الاكسجين)

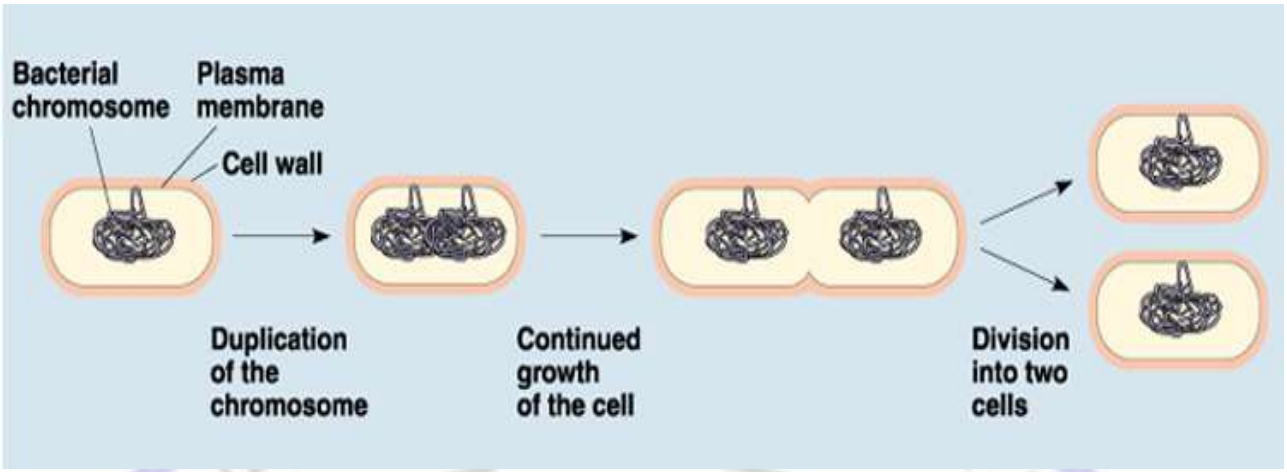
4- الضغط الازموزي Osmoses pressure: توجد الاحياء المجهرية في الغالب في بيئة تركيز المذاب فيها اوطأ من تركيزه في السايتوبلازم وهناك احياء معتادة على العيش في بيئات عالية الضغط الازموزي يطلق عليها الاليفة للازموزية Osmophilic فاذا كانت البيئة عالية الملوحة تدعى الاليفة للملوحة Halophilic اما اذا كانت عالية التركيز السكري فتدعى الاليفة للسكر Saccharophilic .

نمو وتكاثر البكتريا Bacterial growth & reproduction

يعرف النمو بصورة عامة على انه الزيادة في حجم افراد او عدد الافراد في المجموعة ، اما النمو في الخلية فيمثل مجموع الاحداث والتفاعلات التي تؤدي الى زيادة في جزيئاتها الكبيرة ((حجمها)) وبالتالي انقسامها (زيادة في اعدادها).

وعدة ما يشير النمو Growth الى الزيادة في عدد الخلايا الكلية وليس الزيادة في حجم الخلية لو كتلتها ، لذا فعند تلقيح وسط زرعي مناسب بمزرعة ميكروبية وحضنها تحت ظروف مناسبة فان الزيادة الهائلة في اعداد تلك البكتريا تسمى النمو.

وعادة تتكاثر البكتريا بوساطة الانشطار الثنائي Binary fission او الانقسام المباشر Amitosis والذي تنقسم فيه الخلية المفردة الى خليتين متماثلتين وهي طريقة تكاثر لا جنسي Asexual reproduction ومن اكثر الطرق شيوعا في البكتريا:



من طرق التكاثر الاخرى للبكتريا هي التبرعم Budding حيث يخرج برعم صغير من احد اطراف الخلية الام ويزداد حجمه حتى يصبح مماثل للام ثم ينفصـــــــل عنها ومن البكتريا المتبرعـــــمة *Hyphomicrobium vulgare* .

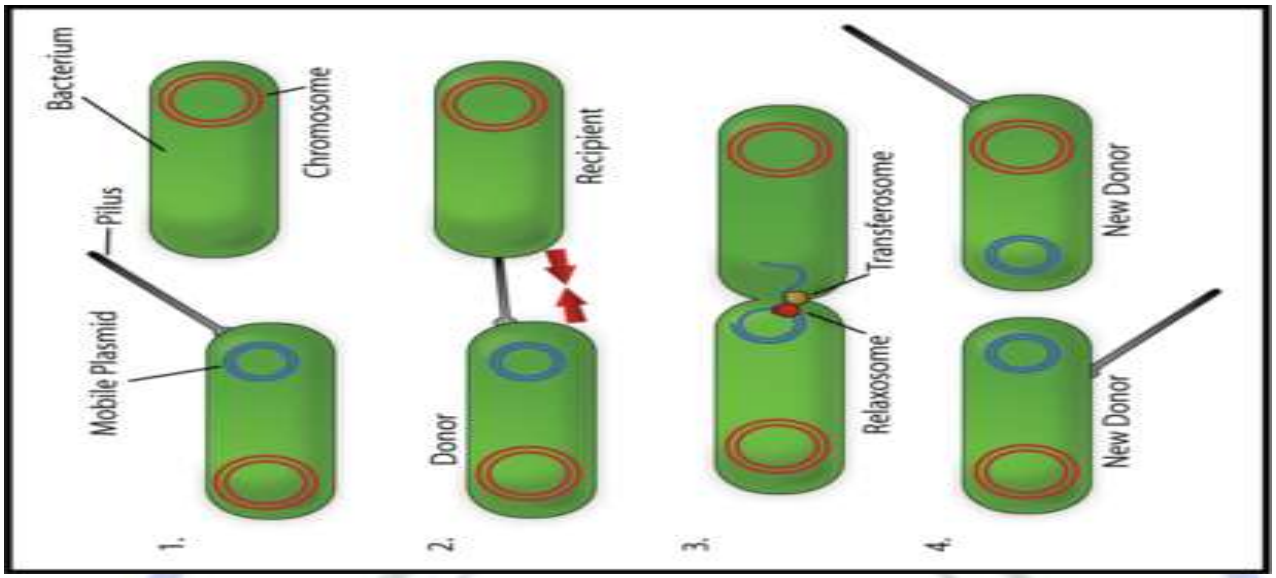
ويتكاثر عدد قليل من البكتريا بالكونديدات Condida اذا تكون الخلية جدار للخلية الجديدة من احد الاطراف ويكتمل النمو كما في بكتريا *streptomyces spp.* وقد يتكاثر بعض البكتريا بالتجزئة للخيوط Fragmentation كما في بكتريا *Nacardia spp.*

التهجين شبه الجنسي Parasexual Hybridization

انتقال العوامل الوراثية يمكن ان يحدث بوساطة الاتحاد شبه الجنسي **Para sexual** وتتضمن هذه العملية اتحاد غير اختزالي تستخدم فيه الخلايا اليات هي :

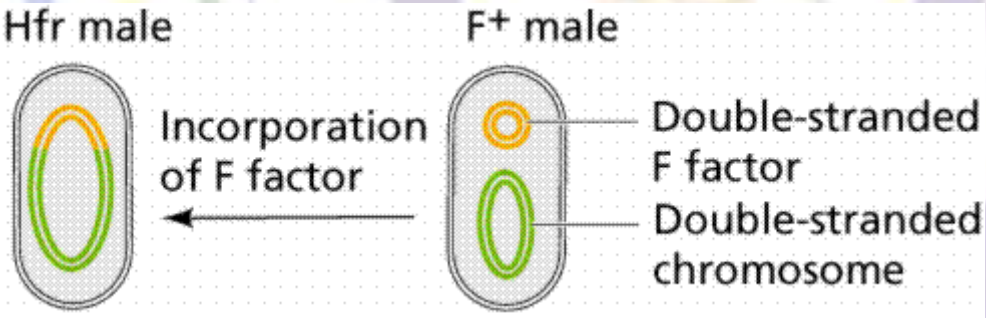
1- **الاقتران Conjugation** :

عملية انتقال جينات خلية حية الى خلية اخرى حية عن طريق التلامس المباشر هذه الجينات المسيطرة على هذه العملية محمولة على تراكيب تسمى البلازميدات Plasmids وهي قطع صغيرة دائرية من DNA غير مرتبطة بالكروموسوم البكتيري لها القابلية على التضاعف خارج اطار DNA وتحتوي عدد محدد من الجينات (40 جينا على الاقل) ، و البلازميد الذي يسيطر على صفة الاخصاب يسمى عامل الاخصاب Fertility factor وتكتب اختصارا F, تحدث عملية الاقتران عادة في البكتريا من نوع G^{-ve} وتسمى الخلايا الحاوية على عامل الاخصاب F^+ او الذكرية والتي تعمل كخلية واهبة للمادة الوراثية والخلايا التي ليس لها عامل اخصاب F^- او الانثوية التي تستقبل المادة الوراثية وعندما ينتقل عامل الاخصاب F تصبح F^+ ، تبتدأ المرحلة الاولى بتلامس الخليتين وتمتد الاهداب الجنسية Sex pili من جدار الخلية الذكرية لتكون انبوب بين الخليتين **conjugation tube** بعدها يبدأ البلازميد بالتضاعف ويبقى احد البلازميدين ملتصقا بالجدار الداخلي للخلية الذكرية F^+ في حين ينتقل الاخر عن طريق الانبوب الى الخلية المستلمة الانثوية F^- وبعدها تنفصل الخليتان وكل منهما حاملة للبلازميد وبذلك تنتقل صفات وراثية جديدة الى البكتريا لم تكن تحملها اصلاً مثل صفة السمية ومقاومة المضادات وغيرها ومن الجدير بالذكر ان نسبة الخلايا الذكرية F^+ تزداد في حالة وجود البكتريا بصورة مزدحمة وملامسة لبعضها البعض.



High frequency recombination or HFR transfer

When F^+ plasmid of donor reaches to the F^- plasmid of recipient cell in the newly formed F^+ cell (previously F^- recipient cell) this plasmid occur in two stages (i) either it lie independently in the cytoplasm of F^+ cell (ii) or it get combined with the bacterial chromosome. This later stage where the F^+ factor combines with the bacterial chromosome is known as **episome**. This type of bacterial cell convert into high, reproductive ability donor or male cell. This process is known as **high frequency recombination** or **Hfr** male. The reproductive ability of Hfr strain is 1000 times more than of F^+ strain.

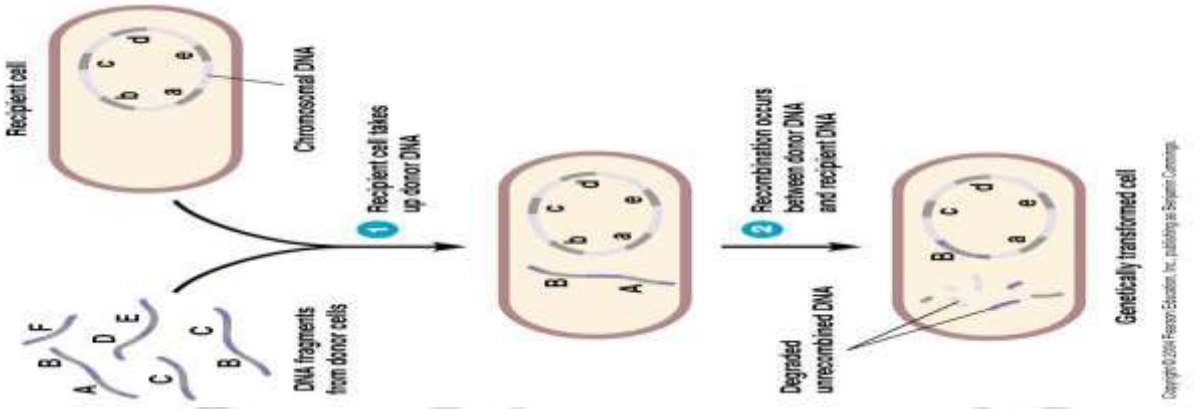


Conjugation in Hfr male: A conjugation tube is formed between the Hfr male and F^- recipient cell. After that the donor DNA opens near the F^+ factor and become single stranded. Now this single stranded DNA moves slowly from the donor cell to the recipient cell. This transfer process is continued until, both the Hfr and F- cells are separated

2- التحول Transformation: تحث هذه العملية عنما تقوم الخلية المستقبلة Recipient بأخذ قطعة من DNA من الوسط الذي تعيش فيه وعادة هذه القطعة تأتي من خلية ميته عند تحللها وتحللDNA وتحدث عملية التحول على مراحل ثلاث :

- تحيط قطعة كبيرة من DNA موقع الاستقبال المعين على سطح الخلية المستقبلة.

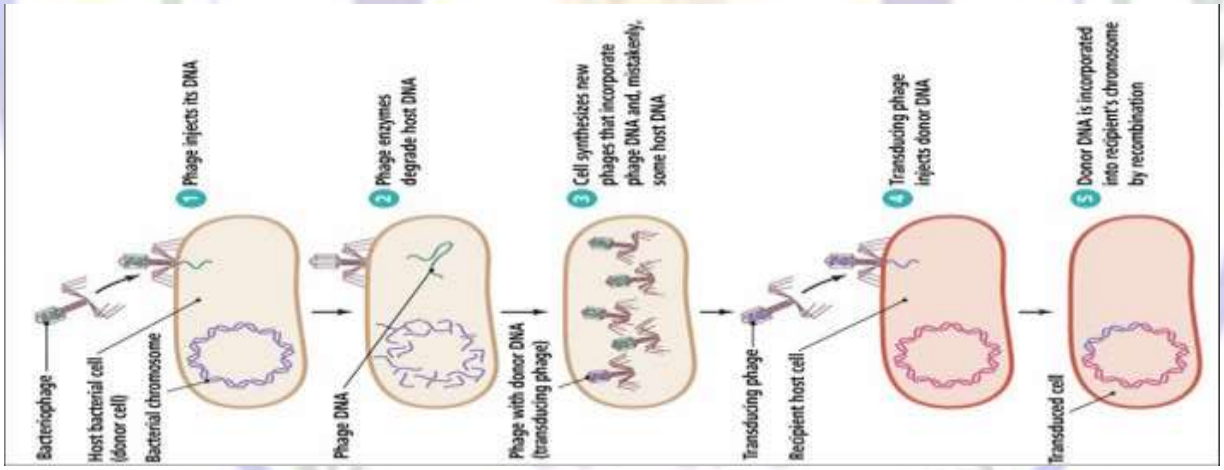
- تقطع هذه القطعة الى قطع صغيرة اكثر ملائمة بواسطة انزيم DNAase الذي تفرزه الخلية المستلمة.
- تتحرك احد قطع DNA الصغيرة الى داخل الخلية المستقبلة وتتحد مع مادتها الوراثية وبذلك تنتقل صفات الى الخلية المستقبلة .



الانتقال Transduction:

لمعظم الفيروسات البكتيرية Bacteriophage دورة نمو انحلالية في الخلايا البكتيرية في هذه الدورة يدمص الفايروس على سطح الخلية البكتيرية ويقوم بحقن حامضه النووي ليبدأ بالسيطرة على العمليات الايضية للبكتريا ويوجهها لتخليق جزيئات الفايروس.

بعدها تنفجر الخلية البكتيرية لينطلق الفايروس وخلال هذه الدورة يتكسر DNA الخلية البكتيرية الى قطع صغيرة بحجم DNA الفايروس وقد تدخل أحد هذه القطع الى الغلاف البروتيني للفايروس بدل من مادته الوراثية وعند اصابته لخلية جديدة من البكتريا ينقل لها DNA الخلية الاولى وبالتالي صفات وراثية جديدة لم تكن موجودة فيها.



زمن الجيل وعدد الاجيال

يزداد عدد البكتريا المتكاثرة بالانشطار البسيط تبعا لنظام اسي او لوغاريتمي ، فاذا ابتدأنا بخلية بكتيرية واحدة فان الزيادة تكون اسية بالشكل الاتي:

$$1 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^4 \rightarrow 2^5 \ldots\ldots 2^n$$

حيث n : تمثل عدد الاجيال المتكونة.

اما المدة الزمنية اللازمة لزيادة عدد البكتريا الى الضعف فتسمى زمن الجيل او وقت الجيل Generation GT time اي ان كل جيل يعني مضاعفة العدد الاصلي.

ويمكن تقدير عدد البكتريا بعد مدة زمنية محددة تبعا للمعادلة الاتية:

$$S = S_1 \times 2^n$$

حيث : S = العدد الكلي للبكتريا في نهاية الوقت ، S_1 = العدد البكتيري الابتدائي عند التلقيح ، n = عدد الاجيال

ولحساب عدد الاجيال n تحول المعادلة الرياضية الى معادلة لوغارتمية وكما يلي:

$$\text{Log } S = \text{Log } S_1 + n \text{ Log} 2$$

$$n = \frac{Log\ S - Log S1}{Log\ 2} = \frac{Log\ S - Log S1}{0.301}$$

حيث : Log 2= 0.301

وبذلك يمكننا معرفة عدد الاجيال لفترة زمنية محددة اذا علمنا العدد الابتدائي للبكتريا والعدد النهائي ويمكننا معرفة زمن الجيل الواحد وحسب المعادلة الاتية :

$$G = \frac{T}{n}$$

حيث : G = زمن الجيل ، T = الوقت الكلي ، n = عدد الاجيال

مثال: نميت بكتريا *E. coli* في وسط MacConKey agar بدرجة حرارة 37 ^{O} C ، وكان العدد البكتيري عند التلقيح 1 ×10^2 وبعد مرور 4 ساعات اصبح العدد النهائي 1× 10^6 خلية /مل ، ما هو عدد الاجيال وزمن الجيل ؟

(Log 10^2 =3 , Log 10^6 =7)

$$n = \frac{Log\ S - Log S1}{Log\ 2}$$

= Log 10^6 – Log 10^2 / 0.301

$= \frac{7-3}{0.301} =$ **13** عدد الاجيال

$$G = \frac{T}{n}$$

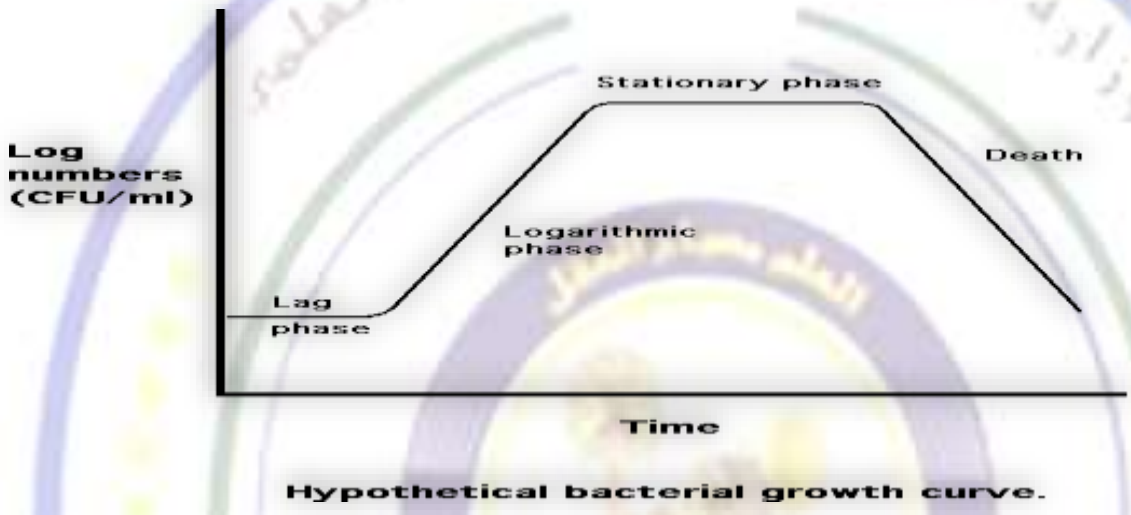
$= \frac{4 \times 60\ min}{13}$ = 240 /13 **=18 min** وقت الجيل

منحنى النمو الطبيعي Normal Growth curve

اذا لقحت البكتريا مفردة في وسط زرعي مناسب وحضنت تحت ظروف مناسبة فان الخلية تظهر نمو وفق منحنى النمو الطبيعي الذي يتألف من اربعة اطوار هي:

1- طور الركود(التأقلم) Lag phase

في هذا الطور لا تزداد اعداد البكتريا وانما تبقى ثابته وهذا لا يعني ان الخلايا في هذا الطور تكون في حالة سبات وانما تتهيأ للنمو وتخليق الاحماض النووية وتصنيع الانزيمات والمرافقات الانزيمية Coenzymes التي تستخدمها الخلية في عملية الانقسام وبمعنى اخر فانه الطور الذي تتأقلم فيه الخلية مع الوسط وتهيأ فيه نفسها للانقسام ولا يرافقه زيادة في عدد الخلايا (لاحظ منحنى النمو)



Hypothetical bacterial growth curve.

Factors affecting lag phase :

1-Number of inoculums (size), larger inoculum ⟶ shorter lag phase.

2-Age of inoculums, younger inoculum ⟶ shorter lag phase.

3-The medium, the more complete nutritive media ⟶ shorter lag phase.

4-Species, some have longer lag and may not produce visible growth for several days

ex : *M. tuberculosis* ⟶ slow lag phase ⟶ several weeks

ex : *Staph.* & *Streptococcus* ⟶ 1- 2 days.

5-Adaptation, When the inoculum is from strain which has been frequently sub cultivated in the same media ⟶ short lag.

ex ; *S.aureus* on blood agar : repeated subculture on blood agar several times gives short lag phase.

2- طور النمو اللوغاريتمي او الاسي Exponential or Log phase

يزداد في هذا الطور عدد الخلايا زيادة اسية وبمعدل عال ، تحدث هذه الزيادة تحت الظروف المثالية من درجة وتوفر المغذيات اخرى وتكون جميع الخلايا في هذا الطور متماثلة من حيث التركيب والفعالية الحيوية وعليه يمكن حساب زمن الجيل وعدد الاجيال.

3- طور النمو الثابت Stationary phase

يتباطأ فيه معدل التكاثر أذ لا تحصل زيادة في معدل النمو ويعزى ذلك للأسباب التالية:

- قرب نفاذ او استهلاك المغذيات في الوسط
- احتمال انتاج مواد ايضية سامة نتيجة للنمو كالمضادات الحيوية والحوامض العضوية وغيرها
- توقف عملية الانقسام نتيجة للسببين السابقين.
- يكون معدل النمو مساو لمعدل الهلاك (لاحظ الشكل).

4- طور الموت او الانحدار Decline or Death phase

في هذا الطور يكون معدل موت الخلايا اعلى من معدل النمو والانقسام ويعزى ذلك الى :

- نفاذ العناصر الغذائية الاساسية من الوسط
- تراكم النواتج الايضية السامة المثبطة للنمو بشكل كبير

يتناقص عدد الخلايا في هذا الطور بمعدل لوغاريتمي وهو عكس الطور الاسي وفي نهاية هذا الطور يقل معدل الخلايا نتيجة لما يلي :

- قلة اعداد الخلايا المتبقية مما يجعل المغذيات المتبقية في الوسط تكفي لاستمرار نموها.
- تصبح الخلايا الميتة في الوسط مصدرا غذائيا جديدا للخلايا الحية اذ ان بعض الاجناس تموت ببطيء بحيث يمكن للخلايا الحية ان تستمر لعدة اشهر او ربما سنوات.

يستفاد من دراسة اطوار النمو في :

- معرفة افضل الظروف الملائمة للتنمية وقياس زمن الجيل الاسرع وفقا لذلك.
- دراسة الخلايا المتشابهة من النواحي الفسلجية والتشريحية والتركيبية.
- معرفة الظروف لإنتاج المواد الايضية مثل الحوامض العضوية والمضادات الحياتية والسموم وغيرها وفي اي طور من الاطوار.
- محاولة فهم بقاء الاحياء المجهرية في طور الركود Log phase لأطول فترة باستخدام طرق الحفظ.

الفطريات Fungi

من الاحياء المجهرية وحيدة او متعددة الخلايا ، خلاياها حاوية على نواة وبذلك فهي من الكائنات حقيقية النواة ولا تحتوي على كلوروفيل.

مميزات الفطريات:

1- كائنات حقيقية النواة
2- لا تحتوي على كلوروفيل
3- تشمل الفطريات Fungi كلا من الخمائر Yeasts والأعفان Molds
4- اما متعددة الخلايا مثل الأعفان او وحيدة الخلية مثل الخمائر
5- الجدار الخلوي لأغلب الفطريات يتكون من الكايتين Chitin
6- لا تحتوي عل اعضاء متخصصة كالنباتات
7- للأعفان وربما لبعض انواع الخمائر تراكيب على هيئة خيوط تدعى الهايفات

بعض الفروق الفسلجية بين الفطريات والبكتريا

الخصائص	الفطريات	البكتريا
نوع الخلية	Eukaryote	Prokaryote
pH الامثل	3.8 ——— 5.6	6.5 ——— 7.5
درجة الحرارة المثلى	22 ——— 30 م الرمية 30 ——— 37 م المتطفلة	20 ——— 37 م
الحاجة الى الاوكسجين	الأعفان هوائية اجبارا الخمائر اختيارية	هوائية – لا هوائية – لا هوائية اختيارا – محبة للقليل من الاوكسجين
الحاجة للضوء	لا تحتاج	بعضها يحتاج
تركيز السكر في الوسط	4 ——— 5	0.5 ——— 1
الحاجة الى الكاربون	عضوية	عضوية – لا عضوية
تركيب جدار الخلية	كايتين – سيليلوز – اشباه السيليلوز	ببتيدو كلايكان

انواع الهايفات :

i. هايفات غير مقسمة non septated

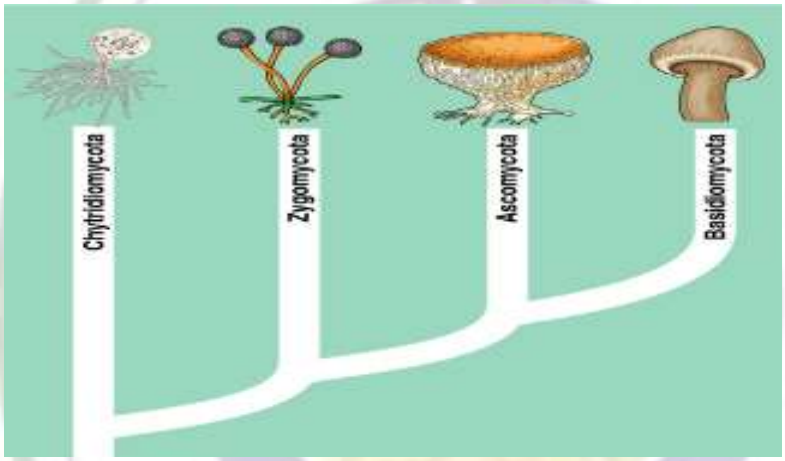
ii. هايفات مقسمة احادية النواة Septate mononucleus
iii. هايفات مقسمة متعددة النواة Septate coenocytic

تصنيف الفطريات تصنف الفطريات عادة الى :

أ- **الفطريات المخاطية Silme Fungi "Myxomyocta" :**
تتميز هذه الشعبة بانها لا تكون خيوط فطرية ، وطورها الخضري عديم الجدار وهي أقل انتشارا.

ب- **الفطريات الحقيقية Eumycetes** : وتقسم الى
اربعة صنوف Classes تبعا للسبورات الجنسية التي تنتجها وهي :

الفطريات المائية السوطية Zygomycota :
تشمل الأعفان المائية السوطية التي تعيش في محتوى مائي عالي ، الهايفات Hypha في هذا الصنف غير مقسمة بجدار عرضي لذلك محتويات الخلية تتحول من خلية لأخرى ، تتكاثر جنسيا بالسبورات الزيجية Zygospores والسبورات البيضية Oospores ومن اهم الأعفان التابعة لهذا الصنف *Rhizopus* و *Mucor* .



ت- **الفطريات الكيسية Ascomycota :**
الهايفات فيها مقسمة وتتكاثر جنسيا بالسبورات الكيسية Ascospores التي تتكون داخل كيس بيضوي Ascus أشهر الفطريات التابعة لهذا الصنف خميرة *Saccharomyces cerevisiae* .

ث- **الفطريات البازيدية Basidiomycota :**
هايفاتها مقسمة ايضا لكنها تتكاثر جنسيا بنوع اخر من السبورات هي السبورات البازيدية Basidiospores يتكون داخل كيس على شكل هراوة تسمى البازيدة Basidium ومن اصناف هذا الجنس العرهون Mashroom والكمأ .

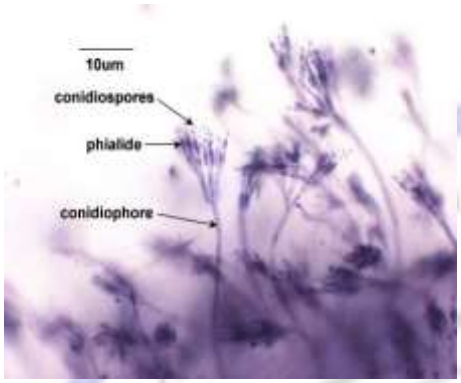
ج- **الفطريات الناقصة Fungi imperfecti (Chrytridiomycota)** :
يضم جميع الفطريات التي تكون طريقة تكاثرها غير معروفا .

بعض اجناس الأعفان :

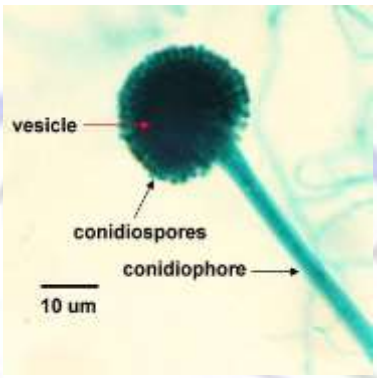
♦ ***Mucor***
يتواجد هذا الجنس في التربة والسماد العضوي والفواكه والخضر والاغذية النشوية وبعض انواعه مسؤولة عن تلف الاغذية وبعض انواعه تستعمل في صناعة الاجبان مثل *Mucor rouxi* سبوراته سوداء او بنية اللون.

♦ ***Rhizopus***

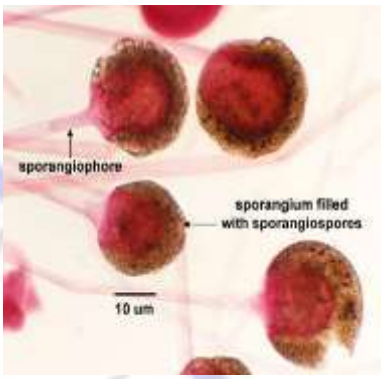
عفن الخبز الشائع يسبب فساد الاغذية الحافظة السبورية ذات لون اسود.



Pencilinum



Aspergillus



Rhizopus

♦ ***Aspergillus***

من الفطريات الناقصة واسع الانتشار يسبب تلف الفواكه والخضر وله اهمية اقتصادية فبعض انواعه تستخدم في التخمرات الصناعية مثل انتاج حامض الستريك والكلوكونيك وبعض الانواع تسبب السموم الفطرية مثل *Aspergillus flavus* الالوان الشائعة هي الاسود والبني والاخضر ويستطيع تحمل التراكيز الملحية العالية (Osmophilic).

♦ ***Pencilinum***

معظم أنواعه من الفطريات الناقصة ويتكاثر بالسبورات الكيسية يسبب فساد الاغذية ويستخدم في انضاج الاجبان وانتاج المضاد الحيوي البنسلين (ينتج من *Pencilinum chrysogemum*) .

♦ ***Trichoderma***

من الفطريات الناقصة ومن اعفان التربة يثبت الامونيا في التربة فيزيد الخصوبة وله القدرة على تحليل السيليلوز وهو ذو لون اخضر ويمتاز بسرعة نموه.

♦ ***Alternaria*** :

من الفطريات الناقصة مستعمراته في المختبر زيتونية او بنية وذو مظهر صوفي ،يتواجد في التربة ويسبب تلف الاغذية والامراض النباتية ، كونيداته متعددة الخلايا وذات شكل رمحي .

EST 2012 Al-Muthanna University

الفايروسات Viruses

دقائق جسيمية تحتوي على الحامض النووي DNA او RNA وليس كلاهما كما في بقية الاحياء المجهرية او الكائنات الاخرى وهي طفيليات اجبارية داخل الخلايا Parasites Obligate intercellular يتراوح حجمه بين 20 -200 نانوميتر.

اكتشفت بالصدفة من العالم ايفانوفسكي Iwanowaski عندما اجتاز المسبب المرضي لمرض تبقع التبغ المرشحات البكتيرية وامكن فيما بعد ترسيبه بالكحول دون التأثير على فعاليته كما هو الحال في البكتريا ، وعادة للفيروسات عائل واحد لذا فهي متخصصة اما نباتية او حيوانية او بكتيرية.

الفايرون Viron :

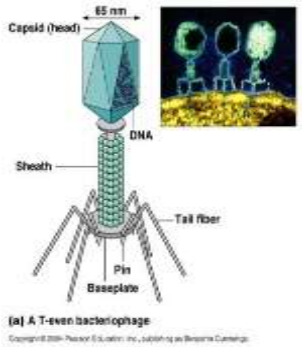
جسيمة خاملة لحامض نووي واحد اما ان يكون DNA او RNA محاطة بغلاف بروتيني يدعى الكابسد Capsid ولها القدرة على احداث الاصابة من خلال نقل المادة الوراثية لخلايا العائل وقد يحاط بغلاف لايبوبروتين او كلايكوبروتين .

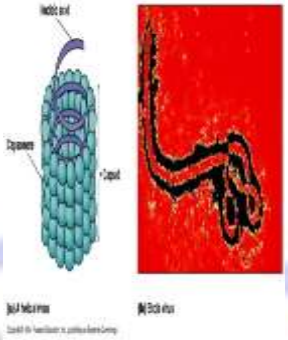
Prions: prions are the causal agent of scrapie disease (a degenerative disorder of central nervous system) of sheep and goat. These prions have no nucleic acid (DNA/ RNA) but they are made up of only 2- 3 molecules of protein only. Prions are 100 times shorter than viruses and are heterogenous in nature. A single prion rod is made up of about 1000 prion molecules. It is 100-200 nm long and 10-20 nm in diameter. Other disease caused by prions are Parkinson's disease, multiple sclerosis, Gerstmann Stransslar syndrome and Creutzfeldt-Jakob disease.

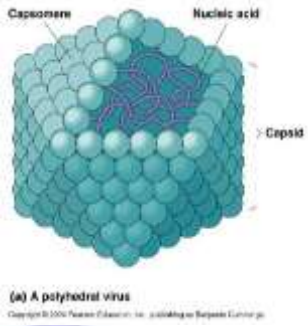
اشكال الفايروسات :

يكون الفايروس على شكلين رئيسين وتشتق بقية الاشكال من هذين الشكلين :

- متعدد الاسطح Polyhedral مثاله الفايروسات الحيوانية
- حلزوني Helical مثاله الفايروسات النباتية
- مزيج بين الشكلين اي يكون راس الفيروس متعدد الاسطح مرتبط بجسم حلزوني مثاله البكتريوفات Bacteriophage او Phage .







تصنيف الفايروسات Classification of viruses

تصنف الفايروسات استنادا الى الاسس التالية :

حسب نوع المضيف :

مضيف نباتي ـــــــــــــــــــــــــــ فايروسات نباتية

مضيف حيواني ـــــــــــــــــــــــــــ فايروسات حيوانية

مضيف بكتيري ـــــــــــــــــــــــــــ البكتريوفاجات

2- حسب تركيب الفايروس :

حسب غلاف الفايروس : مغلف وعاري

حسب شكل الفايروس : متعدد الاسطح ، حلزوني ، مزيج بين الشكلين

3- حسب حجم الفايروس : حجم اقطار الجسيمات وتقاس بالنانوميتر

4- حسب مكان تضاعف الفايروس : وهو اما يكون:

A – يكون في النواة للخلية المضيفة

B – يكون في السايتوبلازم للخلية المضيفة

5- حسب الطبيعة الكيمياوية للحامض النووي للفايروس :

A – RNA ويكون اما ان يكون بشكل شريط مزدوج او شريط مفرد

B – DNA ويكون اما ان يكون بشكل شريط مزدوج او شريط مفرد

تضاعف الفايروسات Viruses Replication

يحدث التضاعف داخل خلية العائل المتخصص لعدم امتلاكه تأثير حيوي والتضاعف يحصل عندما يدخل الحامض النووي للفايروس الى داخل الخلية فيستخدم الفعاليات الحيوية للعائل ويسخرها لغرض تضاعفه والخطوات الرئيسية لتضاعف اي فيروسات وهي ما يلي:

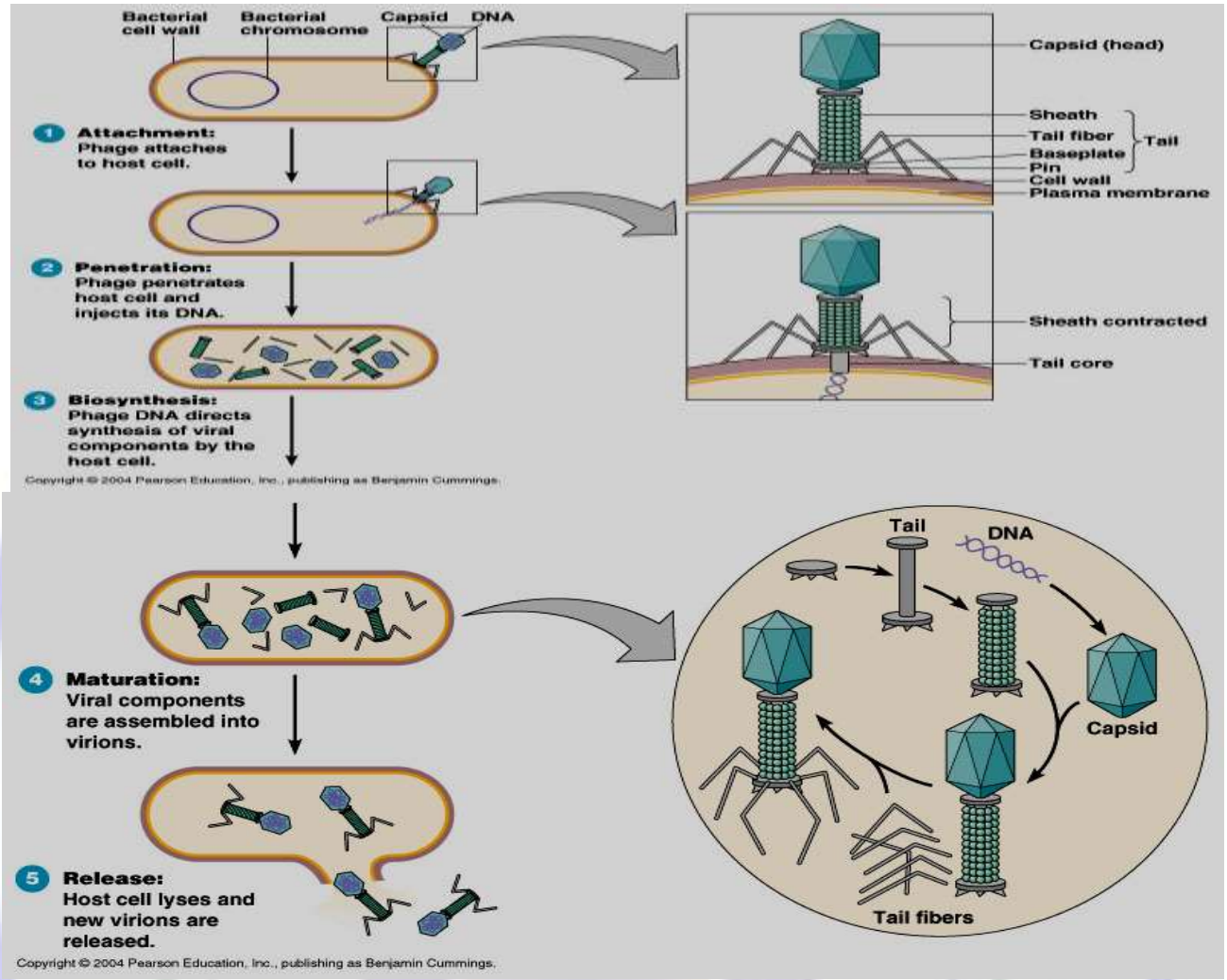
1- الادمصاص Adsorption : اتصال مبدئي بين جسيمة الفايروس وموقع الاتصال Receptor Site على الخلية المضيفة مع احداث بعض التغيرات وتحكيم الاتصال بين بروتين الفايروس وسطح الخلية .

2- الاختراق Penetration قد تفرز الفايروسات انزيمات اللايسوزايم وتدخل للخلايا البكتيرية او بعملية الالتهام في الخلايا الحيوانية او من خلال ثقوب موجودة على سطح الخلايا النباتية.

3- التضاعف Replication للحامض النووي داخل خلية العائل اما في النواة او داخل السايتوبلازم وحسب نوع الفايروس وتتضاعف المادة الوراثية بالاعتماد على اليات التضاعف للخلية المضيفة.

4- النضج Maturation في هذه المرحلة تتجمع الجسيمة الفايروسية اذ تحاط المادة الوراثية بالغلاف البروتيني.

5- التحرر Release بعد التجمع الفايروس يتكون بأعداد كبيرة فأنها تتحرر لخارج الخلية البكتيرية بإفراز انزيمات محللة وفي الخلايا الحيوانية تخرج الفايروسات بالتبرعم وتنفجر الخلية لاحقا لتبدأ الفيروسات دورة جديدة.

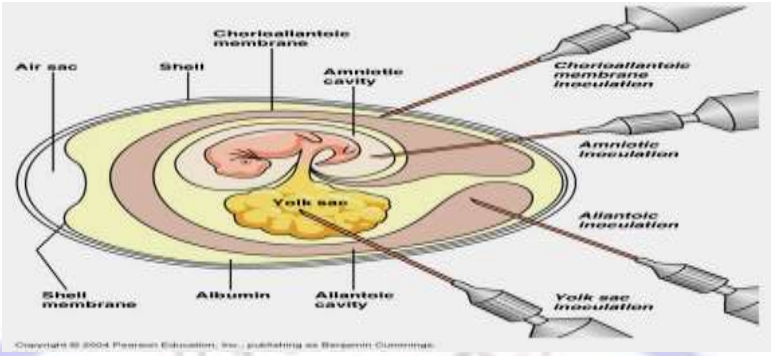


طرق زراعة الفايروسات Methods of Viruses Culturing

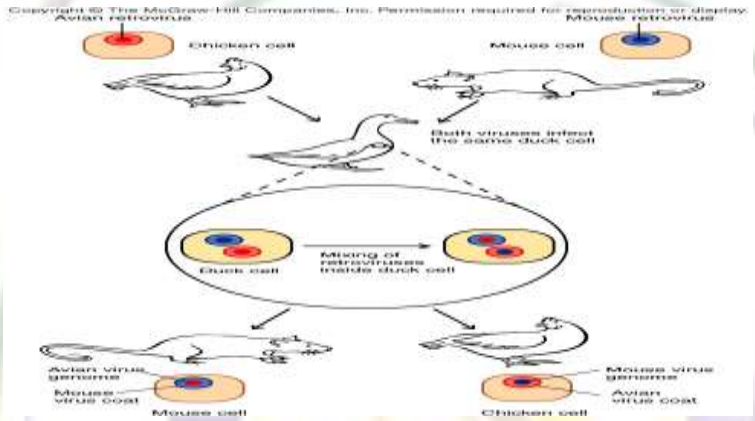
1- **زراعة اجنة الدواجن** : تتلخص هذه الطريقة بما يلي:

بيض مخصب ← حضن 5 – 15 يوم ← حقن الفايروس تحت ظروف معقمة اما في كيس المح او في الجنين نفسه

قفل فتحة حقن الفايروس ← اعادة الحضن بدرجة 36 م ← فتح البض المخصب والتشخيص



2- **حقن حيوانات التجارب** : يتم الحقن في الدورة الدموية او الجهاز التنفسي او القناة الهضمية او غيرها وهي طريقة مثالية لتكثير الفايروس واظهار اعراض الامراض الفايروسية.



3- **المزارع النسيجية** : وهي طرق سهلة واقتصادية ومباشرة لإظهار تأثير الفايروسات وتمتلك حساسية عالية وهي على انواع منها مزارع خلوية ابتدائية ومزدوجة ومستمرة وتتلخص بالأسلوب التالي:

حك اوراق النباتات ← تلويث المنطقة المتجرحة بعالق الفايروس ← ظهور بقع موضعية
تكاثر الفايروس ودراسة تأثيره على النبات ← (تضاعف الفايروس)

عزل الفايروسات البكتيرية (البكتريوفاج):

تنمية البكتريا ← ترشيح بمرشحات بكتيرية ← اضافة الكلوروفورم(يقتل البكتريا ولا يؤثر في الفايروس)
نحصل على الفايروس من الراشح

تنمية الفايروسات البكتيرية (البكتريوفاج):

1. **في البيئة السائلة Broth Media**

نمو بكتيري في وسط سائل ← نلاحظ التعكر نتيجة نمو البكتريا ← اضافة عالق الفايروس
تحول النمو من العكارة الى الصفاء لتضاعف الفاجات على البكتريا

2- **في البيئة الصلبة Agar Media**

وسط صلب ← تلقيح بالبكتريا ← نمو مستعمرات ← اضافة معلق الفيروس

تكون مناطق رائقة في النمو لبكتيري
دلالة على تضاعف الفايروس على البكتريا

الاحياء المجهرية الممرضة: Pathogenic microorganisms

تشكل الاحياء المجهرية الممرضة مجموعة صغيرة من الاحياء المجهرية ولكنها ذات أهمية بالغة لما لها من علاقة بصحة الانسان ومجتمعه واقتصاده ولايزال الملايين من البشر في كل عام عرضة للإصابة بأنواع مختلفة من الامراض infectious disease المتسببة عن الكائنات الممرضة كالبكتريا والفطريات fungi والفيروسات viruses والابتدائيات . protozoase على الرغم من تطور البحوث والدراسات المستمرة في المجالات المختلفة (فسلجه الاحياء المجهرية والوراثة وعلم المناعة ودراسة علاقة الطفيلي بالعائل) والتي أدت الى السيطرة على العديد من هذه الممرضات.

العلاقة بين الاحياء المجهرية والانسان

human being Microorganism relationship (Host parasite relationship)

لكل كائن مجهري متطلبات معيشية محددة لنموه وتكاثره يحصل عليها من البيئة المحيطة به ولا تنمو هذه الكائنات في عزلة عن بقية الكائنات الحية بل تشكل معها علاقات فسلجيه مختلفة نظرا لانتشارها الواسع في الطبيعة اذ تستوطن جسم الانسان مشكلة معه علاقات تعايشيه symbiotic relationship مفيدة للعائل او مضرة له . 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. أي خلل يصيب وظائف هذه الاليات يؤدي الى ضعف مقاومة الجسم للكائنات المجهرية مما يظهر تأثيرها السلبي الضار على الجسم ويجعله عرضة لأمراض مختلفة.

الكائنات المجهرية التي تعيش على جسم الانسان بصورة طبيعية دون احداث مرض تسمى الفلورا الطبيعية Normal floraومنها ما تستوطن لفترات متقطعة تدعى بالفلورا العابرة Transient flora ومن الأنواع الرئيسية المستوطنة : المكورات العنقودية البشروية *Propionibacterium sp, Staphylococcus epidermidis* الموجودة على الجلد *Streptococcus viridans*التي تجدها في الحنجرة في حين نجد في الأمعاء البكتريا المعوية *Enterobacter* والعصوية *Bacteroides fragilis* إضافة الى بعض أنواع الفطريات Fungi والفيروسات Viruses .

تخترق الكائنات المجهرية سطح جسم الانسان وتصل الى انسجته وتتكاثر فيها مما يؤدي الى(الإصابة infection) والعائل حينذاك يكون (مصاب infected) .

الكائنات المجهرية التي لها القدرة على احداث الامراضية تدعى الممرضات Pathogens فالممرض هو المسبب للمرض اما الامراضية Pathogenicity فهي القابلية على تكوين المرض اما الكائن الانتهازي Opportunist فهو الذي يستطيع تسبيب المرض في العائل Host الذي فيه خلل او ضعف في اليات الجسم الدفاعية والتي قد تحدث في الجروح او من جراء المعالجة بالعقاقير المثبطة للمناعة Immune suppressive drugs او بعد تعاطي المضادات الحيويةAntibiotics لفترات طويلة.

تتفاوت الكائنات المجهرية بدرجة امراضيتها للإنسان (ضراوة virulence) باختلاف أنواعها السلالات strains ضمن النوع الواحد. وهذه الخاصية قد تكون مرتبطة في بعض الأحيان بوجود المحفظة capsule كما في المكورات العقدية الرئوية *Stretococcus pneumonia* فالسلالات الحاوية على المحفظة تكون ضارية وغالبا ما تكون مرضية اما تلك التي تفقد هذه المحفظة فتكون كائنات غير ضارية وغالبا تكون قدرتها الامراضية طفيفة او قد تكون ذات علاقة بتوليد السموم Toxins كما في بكتريا*Corynebacterium diphtheria* .

Pathogenicity & virulence

Pathogenicity: it is the ability of the M.O to produce diseases under natural or experimental conditions.

pathogenic organism: any M.O inject or enter host, multiply and damage tissue cause disease under natural or experimental condition, ex: *staph*. is normal in skin when wound occur, cause abscess.

Virulence (degree of pathogenicity**)** : It is the ability of M.O to invade, multiply and produce its toxic effect and cause changes in the internal organs(which appear as symptom and death).

الانزيمات المفرزة من قبل الاحياء المجهرية المرضية:

- **Collagenase** : يحلل Collagen الموجود في العظام والغضاريف حيث يسهل من انتشار المسبب المرضي الى الانسجة مثل بكتريا. *Clostridium perfrengens*
- **Neuraminidase** : انزيم يفرز من قبل مختلف البكتريا والفايروسات يساعد على تحلل الميوكوبروتين (Mucoproteinالبروتين الموجود على سطح الخلايا) مما يجعل الخلايا اقل مقاومة لمجابهة الميكروب.
- **Deoxyribonuclease** : انزيم يؤثر على الحامض النووي DNA ويفرز من قبل بعض البكتريا مثل *Staphylococcus aureus* , *Streptococcus*
- **Coagulase** يفرز من البكتريا *S.aureus* ولها القابلية على تخثر البلازما وهذا يساعد على احاطة البكتريا بـ Fibrin مما يساعد على مقاومة الوسائل الدفاعية للجسم وغيرها.
- **Hyaluronidase** او عامل الانتشار : Spreading factor وهو انزيم يؤثر على حامض Hyaluronic او المادة الرابطة للخلايا وهذا يسهل انتشار الممرضات في الانسجة. *Staph.aureus* , *St.pyogenes*
- **Fibrinolysin** او streptokinase يحلل خثرة البلازما المتراكمة حول الانسجة المصابة وبهذا يساعد البكتريا على الانتشار مثل بكتريا *Streptococcus pyogens*
- Hemolysin : يحلل الهيموكلوبين تحللا كاملا يسمى بيتا β-hemolysis فيحدث منطقة شفافة حول المستعمرة البكتيرية او تحلل من نوع الفا α -hemolysis محدثة منطقة خضراء حول المستعمرة في الوسط الزراعي .
- Leucocidin محلل او محطم للكريات البيضاء ويفرز من قبل بعض أنواع البكتريا مثل *S.aureus* .

القدرة على انتاج السموم التي تقسم الى نوعين: –

- ❖ الخارجي Exotoxin : هو بروتين يفرز خارج جسم البكتريا وخلال نموها في الوسط الزرعي مثل بكتريا *Corynebacterium diphtheria , S. aureus*
- ❖ 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 غالبا ما يكون مرتبط بجدار الخلية البكتريا السالبة لصبغة كرام *Salmonella* و *Shigella*,

توجد سبع طرق تنتشر بها الاصابة:

1. القناة التنفسية : Respiratory infection تنتقل بهذه الطريقة ممرضات القناة التنفسية مثل المكورات الرئوية المسببة لذات الرئة او ممرضات تصيب الأجهزة عامة مثل الإصابة بالحصبة (عن طريق الرذاذ المتطاير , وعن طريق اللمس)
2. انتشار الاصابة عن طريق القناة الهضمية : Alimentary tract infection مثل الكوليرا والدزنتري وذلك بعد تناول الممرضات عن طريق الفم (تلوث الماء والغذاء).
3. انتشار الاصابة عن طريق القناة التناسلية Venereal infection مثل بكتريا. *Neisseria gonorrhoea*
4. انتشار الاصابة عن طريق الجلد والحروق والجروح : ينتج عن الملامسة بالأيدي الملوثة , الملابس , الأدوات او التعرض للرذاذ المتطاير الملوث من فم وانف المصابين مثل تلوث الجروح ببكتريا الكزاز.
5. انتشار الاصابة بواسطة بعض المفصليات : Arthopods borne blood infection وتشمل الحشرات الماصة للدم مثل مرض الملاريا (الناقل هو البعوض).
6. انتشار الاصابة عن طريق المختبرات : العاملين بالمختبرات معرضين للإصابة وخاصة عند استعمال الحيوانات المختبرية.
7. انتشار الاصابة عن طريق المشيمة : Congenital infection ويحدث نتيجة إصابة الام بالسفلس وانتقال بعض الفايروسات مثل الحصبة الألمانية عند اصابتها بالأشهر الثلاثة الأولى من الحمل.

بعض الاجناس البكتيرية المرضية:

Yersinia enterocolitica

Yersinia enterocolitica

- Yersiniosis, diarrhea and/or vomiting
- Raw meat and seafood, dairy, produce, untreated water
- 1-2 day incubation
- Related to the bacterium that causes plague

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes

- Can grow at refrigerator temperature
- Refrigerated, ready to eat foods, raw dairy products
- 48 – 72 hr incubation
- Fever, headache. Fatigue diarrhea.
- Can cause meningitis and miscarriages

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens

- Similar to *C. botulinum* but less severe.
- Meat and meat products
- 8-12 hour incubation
- Abdominal pain and diarrhea
- Also causes gas gangrene

Salmonella enteritidis

Salmonella enteritidis

- One of thousands of strains of *Salmonella*
- Raw and undercooked eggs, raw meat, poultry, seafood, raw milk, dairy and produce
- Get into eggs before the shell is formed.
- 12-72 hour incubation
- Diarrhea, fever and cramps.

Shigella

Shigella sp.

- Only carried by humans and easily spread via food.
- Salads, milk, dair, ground beef, poulty and unclean water
- 1-7 day incubation
- Diarrhea, fever, cramps, vomiting, bloody stools
- One species causes dysentery

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus

- Common skin bacterium
- Produces a fast acting toxin
- Dairy products, salads, cream filled pastries and deserts
- Incubation as little as 30 minutes
- Nausea, cramps, vomiting, diarrhea

Clostridium botulinum

Clostridium botulinum

- Soil bacterium that requires an oxygen free environment.
- Canned fruits and veggies, honey???
- Disease is due to a toxin – Botox
- 4 – 36 hr incubation
- Causes paralysis

Vibrio vulnificus

Vibrio vulnificus

- Similar to *V. cholera*
- Less severe illness and less common but underreported
- Raw fish and shellfish – raw oysters

Salmonella typhimurium

Salmonella typhimurium

- Similar to *S. enteritidis*
- "Emerging" pathogen
- Multidrug resistant strains are common – DT104
- Related to *S. typhi* – Typhoid Mary

Plague (طاعون) ، **fatigne** (الاعياء) ، **meningitis and miscarriages** (التهاب السحايا والاجهاض)

Cramps (تشنجات) ، **bloody** (دموي) ، **nausea** (الغثيان) ، **vomiting** (التقيء)

العوائل البكتيرية:

تقسم الكائنات الحية بصورة عامة لتسهيل مهمة دراستها من الناحية الاكاديمية ولتحديد وتعريف الانواع المختلفة ذات في المجالات التطبيقية ، علما ان تقسيم البكتريا بدا منذ حوالي 200 سنة مضت واختلفت وتعددت الاسس التي بني عليها هذا التقسيم وتطورت بتطور وسائل البحث العلمي وبالذات في المجال الوراثي والكيموحيوي ومن اكثر الانظمة شيوعا للتقسيم .

1- النظام التقليدي الاشمل والمعروف بنظام بيرجي Bergys manual of determinative bacteriology يتبع باستمرار مع التحديث منذ عام 1923

2- النظام المبني على مقارنة ترتيب القواعد النتروجينية للحامض النووي RNA .

3- النظام المبني على مقارنة الصفات المورفولوجية والفسيولوجية لتعريف العوائل البكتيرية

تنتمي البكتريا الى صنف Schizomycetes والذي يظم بدورة عشرة رتب:

Order 1: Pseudomonas
Order 2: Chlamydobacteria
Order3: Hyphomycrobia
Order4: Eubacteris
Order5:Caryophana
Order6: Actinomyceta
Order7: Biggiatoales
Order8: Myxobacteria
Order9: Spirocheta
Order10: Mycoblasmata

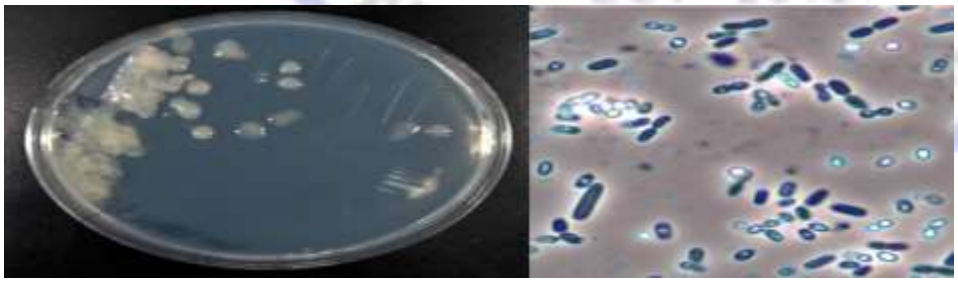
وتعود معظم البكتريا المهمة من الناحية التطبيقية في حياة الانسان الى رتبة Eubacteriales

بعض عوائل البكتريا المهمة

تضم عوائل البكتريا التي تعود الى رتبة البكتريا الحقيقية Eubacteriales اغلب انواع البكتريا الشائعة وتضم اعدادا كبيرة من اجناس البكتريا التي تهم الانسان والتي تمتد دراستها بصورة مستفيضة – وبعض هذه العائلات هي :

أ- **العائلات التي تضم البكتريا العصوية سالبة لصبغة كرام غير مكونة للسبورات . متحركة على وجه العموم .**

1- عائلة Azotobactraceae : الخلايا تتراوح من العصوية الى البيضوية الكبيرة وتقوم بتثبيت النتروجين الجوي بصورة ذاتية واهم الاجناس التابعة لها هو جنس *Azotobacter*.



2- عائلة Rhizobiaceae : الخلايا عصوية وقد تحتوي على اشكال مختلفة وتقوم بتثبيت النتروجين الجوي عندما تنمو في عقد نباتات العائلة البقولية واهم اجناسها هو *Rhizobium* .

3- عائلة Eraterobacteriaceae : تعد من اكثر عائلات البكتريا التي تمت دراستها . وتقوم عدد من افرادها بتخمير الكاربوهيدرات ومن اهم الصفات المميزة لافراد هذه العائلة التباين في قابليتها على تخمير اللاكتوز ويعيش بعض اجناسها في امعاء الانسان والحيوان وبعضها يسبب امراضا للانسان والحيوان والنبات واهم اجناسها هي :

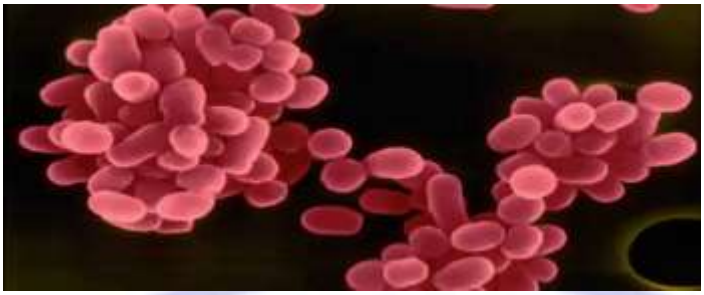
Escherichia , Enterobacte, Klebsiella , Erwinia, Serratia, Shigella, Salmonella , Proteus

4- عائلة Achromobacteraceae : بكتريا تعيش بصورة رمية saprophytic وتوجد في الاغذية والتربة والمياه . نادرا ما تحلل الكلوكوز واهم اجناسها

.Flavobacterium , Achromobacter,

5- عائلة Brucellaceae : عصيات صغيرة غير متحركة . تسبب الامراض وبعضها يحتاج الى بيئات مدعمة وظروف تحضين خاصة لكي يمكن تنميتها بنجاح في المختبر . اهم اجناسها هي

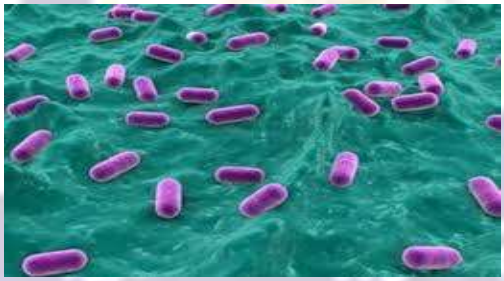
Brucella



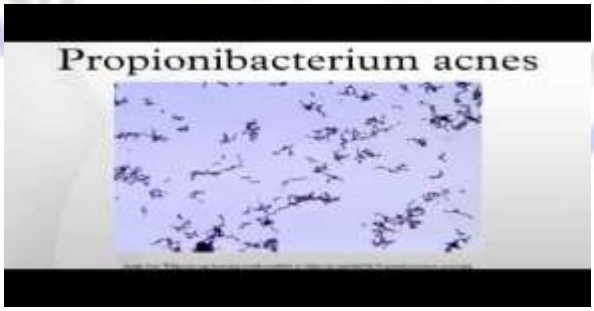
ب-العائلات التي تضم بكتريا عضوية . موجهة لصبغة كرام . غير مكونة للسبورات وعموما غير متحركة .

6- عائلة Brevibacteriaceae : عصيات صغيرة . هوائية او اختيارية . قد تحتوي على صبغات . وتعيش على مدى واسع من المواد الغذائية ، واهم اجناسها هي :*Brevibacterium*,

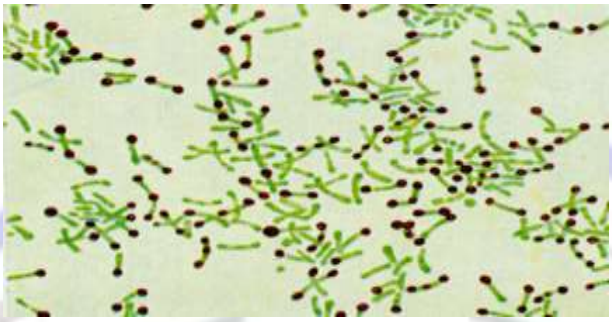
7- عائلة Lactobacillaceae : عصيات قصيرة او طويلة . تكون منفردة او في سلاسل . تحتاج الى كميات قليلة من الاوكسجين Microaerophilic او غير هوائية . عدد من اجناسها يتحمل الحرارة العالية . تخمر الكاربوهيدرات بكفاءة وتنتج حامض اللاكتيك او مزيج من الاحماض اهم اجناس هو *Lactobacillus*



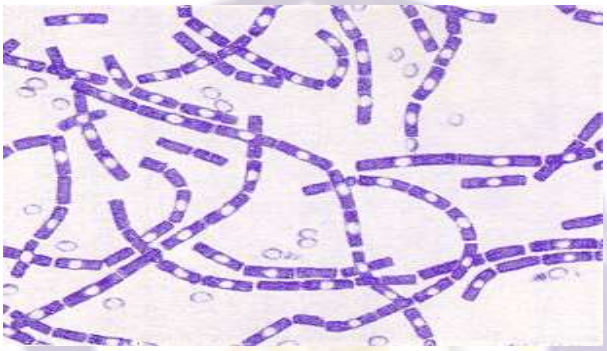
8- عائلة Propionibacteriaceae : الناتج الرئيسي عند تخمرها للكاربوهيدرات هو حامض البروبيونيك Propionic acid وتنتج بعض الاحماض الاخرى بالاضافة لثاني اوكسيد الكاربون . قليلة الحاجة للاوكسجين الى غير هوائية . اهم اجناسها *Proionibacterium , Butyribacterium* .



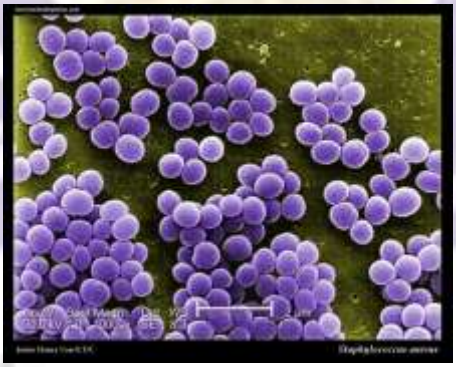
9- عائلة Corynebacteriaceae : الخلايا ذات شكل عصوي ولكنها غير منتظمة فمثلا قد تكون نهاياتها منتفخة او اسفينية (وتدية) . عموما يكون اتجاهها الايضي تنفسيا واهم اجناسها *Corynebacterium.Listeria,Microbacterium* .



10-عائلة Bacillacea : عصويات هوائية او لاهوائية . مكونة للسبورات . في بعض الانواع يكون جدار الخلية الخضرية منتفخا نتيجة لوجود السبور . موقع وحجم السبور يعدان من الصفات المميزة . توجد عادة في التربة . واهم اجناسها هو جنس *Bacillus* الذي يكون هوائيا ، وجنس *Clostridium* الذي يكون لا هوائيا ويحلل البروتينات والسكريات وينتج بعض انواع السموم .



11-عائلة Micrococcaceae : تكون هوائية او لاهوائية . تتجمع بعدة اشكال . اهم اجناسها هو : *Sarcina,Staphylococcus, Micrococcus* .



12-عائلة Streptococaceae : الخلايا تنتظم في ازواج او سلاسل طويلة او قصيرة . تخمر السكر وتنتج حامض اللاكتيك او مزيجا من الاحماض . تكون احتياجاتها للاوكسجين قليلة الى لا هوائية . اهم اجناسها هي : *Streptococcus ,Leuconostoc,Diplococcus*

ج- العائلات التي تضم بكتريا كروية . سالبة لصبغة كرام . غير مكونة للسبورات وغير متحركة .

13-عائلة Neisseriaceae : الخلايا تترتب بشكل ازواج . وفي بعض الاحيان تكون الجوانب المتقاربة مسطحة (شكل باقلاء) اهم اجناسها هو *Neisseria* الذي يكون هوائيا في حين يكون جنس *Veillonella* لا هوائيا .

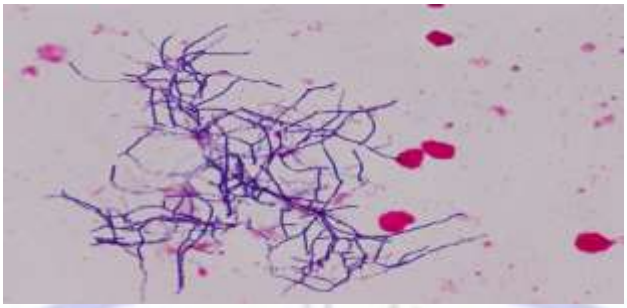
اما العائلات التي تتبع الى رتبة البكتريا الخيطية Actinomycetales فانها تتميز باحتوائها على خيوط متفرعة ولا تكون سبورات كالتي تكونها البكتريا الحقيقية ولكنها قد تنتج سبورات مشابهة للسبورات التي تنتجها الاعفان وتسمى الكونيديات Conidia

اما النمو الخيطي المتفرع (المايسليوم) بالاضافة للطريقة الخاصة في انتاج السبورات (الكونيديات) جعل هذه البكتريا ذات علاقة بالاعفان . لذلك تسمى بالبكتريا المشابهة للاعفان (البكتريا الخيطية) وتشابه البكتريا في كونها ذات علاقة بالبكتريا الموجبة لصبغة كرام وغير المكونة للسبورات وخاصة عائلة Corynebacteriaceae واهم هذه العائلات هي :

1- عائلة Mycobacteriaceae : افراد هذه العائلة تكون خلاياها متفرعة بصورة بدائية . واهم اجناسها هو Mycobacterium والذي يشابه البكتريا الحقيقية ذات الشكل العصوي . البكتريا التابعة لهذا الجنس تكون عصوية رفيعة وعلى هيئة خيوط ونادرا ما تكون متفرعة . موجبة لصبغة كرام وكذلك صامدة للاحماض Acid fast وتفاعلها مع الصبغة الاخيرة يعد من الصفات المميزة لهذا الجنس لا تنتج سبورات . ومسبب مرض السل يعود الى هذا الجنس وهو Mycobacterium ruberculosis هناك انواع اخرى تتبع لهذا الجنس تكون رمية وبعضها يميز بوجود الصبغات . ومن الصفات الاخرى لهذا الجنس احتواء الخلايا على كمية كبيرة من المواد الشمعية التي تكون مسؤولة عن صفة الصبغة الصامدة للاحماض Acid fast staining

2-عائلة Actinomycetaceae : من ميزات هذه العائلة تكوينها للمايسيليوم الحقيقي والذي قد يتجزأ خلال مراحل النمو المتاخرة الى اجزاء عصوية او كروية والاجناس التابعة لهذه العائلة تكون غالبا رمية وتعيش في التربة ولها القابلية على تحليل بعض المواد المعقدة وتضم هذه العائلة جنسين مهمين هما *Nocardia* , *Actinomyces* جنس Actinomyces يكون لا هوائيا او احتياجه قليلا للاوكسجين microaerophillic واحتياجاته الغذائية معقدة وغير صامدة للاحماض non-acid fast والانواع التابعة لهذا الجنس تسبب اصابة الانسان وبعض الحيوانات بمرض الحارش (Actinomycosis) الذي يحدث اوراما وقرحا في اللسان والفكين .

اما جنس *Nocardia* يكون هوائيا وبعض انواعه صامدة للاحماض –Acid fast وتسبب امراض للانسان والحيوانات . ولكن اغلب انواعه تعيش بصورة رمية في التربة .



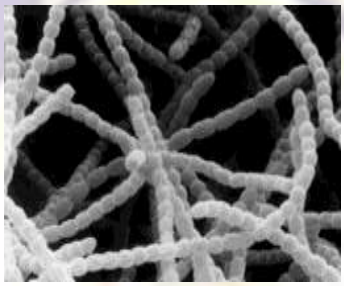
3- عائلة Streptomycetaceae : افراد هذه العائلة تكون مايسيليوما حقيقيا ايضا وتختلف عن العائلة السابقة في كون المايسليوم لا يتجزا الى اجزاء عصوية او كروية . وبدلا من ذلك تنشأ الكونيديات في نهايات الهايفات وطريقة التكاثر هذه تشابه بصورة كبيرة تلك التي تحدث في الاعفان تضم هذه العائلة ثلاثة اجناس يمكن تمييزها كالاتي :

Streptomyces: تتكون الكونيديات على شكل سلسلة في نهايات الهايفات .

Micromonospora : تحتوي على كونيديات منفردة تتكون على حاملة كونيديات قصيرة ولا ينمو على حرارة 55-65 م .

Thermoactinomyces: يشبه الجنس السابق ولكن يستطيع النمو على حرارة 55-56 م .

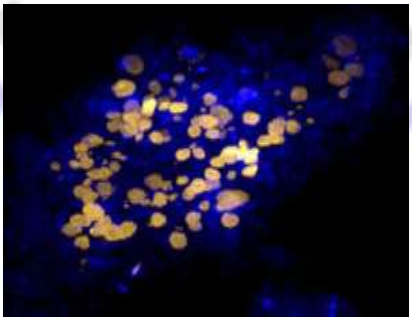
ترجع اهمية هذه العائلة الى كون بعض اجناسها ينتج المضادات الحيوية وخاصة الانواع التابعة لجنس Streptomyces .



4- عائلة : Nitrobacteraceae

تسمى افراد هذه العائلة بكتريا النترته Nitrifying bacteria وتضم انواعا ذات صفات مورفولوجية مختلفة كالعصوية او الكروية او الحلزونية . وتحتوي افرادها . على اسواط وغير مكونة للسبورات وسالبة لصبغة كرام . ومن الناحية الفسيولوجية تكون هوائية ومعظمها ذاتية التغذية . ويعد عدد من المركبات العضوية الموجودة في الاوساط الغذائية الشائعة سامة لهذه البكتريا . لذلك تحتاج الى اوساط غذائية خاصة لعزلها ونموها وخاصة على الاوساط الصلبة وتستعمل عادة اطباقا حاوية على هلام السليكا Silica gel بدلا من وسط الاكار . وتضم بكتريا النترته مجموعتين مختلفتين من الناحية الايضية والتي تقسم على اساس التفاعلات التي تجهز الطاقة وهي:

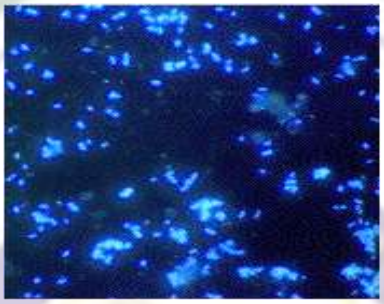
1/ الانواع التي تؤكسد الامونيا الى النتريت مثل بكتريا *Nitrosococcus curopaea*, *Nitrosococcus nitrosus*



2/ الانواع التي تؤكسد النتريت الى نترات مثل *Nitrobacter winogradskyi* وهذه الكائنات توجد عادة في التربة حيث تقوم بدور مهم في دورة النتروجين في الطبيعة .

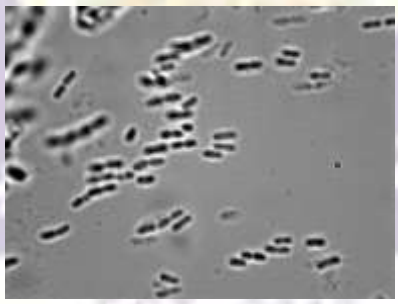
5- عائلة : Thiobacteriaceae

تضم هذه العائلة البكتريا المؤكسدة للكبريت . ومن الناحية المورفولوجية تشبه الانواع التابعة لجنس *pseudomonas* لافراد هذه العائلة قابلية اكسدة مركبات الكبريت المختزلة مثل كبريتيد لهيدروجين بالاضافة لعنصر الكبريت وتكون الكبريتات . وقد ترسب حبيبات الكبريت داخل الخلية او خارجها ومعظم افراد هذه العائلة هوائية وذاتية التغذية ما عدا بعض الانواع القليلة . من الانواع المعروفة جدا والتابعة لهذه العائلة هو *Thiobacillus* حيث يستطيع هذا النوع استعمال عنصر الكبريت مصدرا للطاقة (حيث يؤكسد عنصر الكبريت الى الكبريتات) ويعد ثاني اوكسيد الكاربون هو المصدر الوحيد للكاربون . ويستطيع هذا النوع من النمو في وسط ذي حموضة عالية جدا .



6- عائلة: Pseudomonadaceae

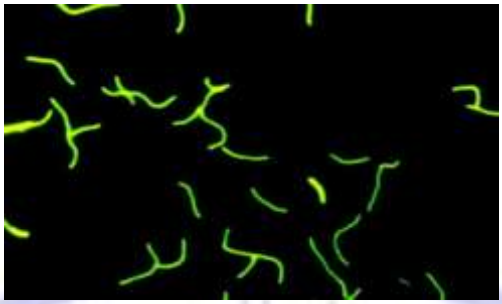
ان لافراد هذه العائلة شكلا عصويا قصيرا او متوسطا او طويلا والخلايا سالبة لصبغة كرام ومتحركة بوساطة اسواط قطبية حيث تحتوي على سوط منفردة او خصلة من الاسواط . ولا تنتج سبورات وتكون هوائية المعيشة وعضوية التغذية . وافراد هذه العائلة لها فعاليات كيموحيوية مختلفة . وتعيش في اماكن مختلفة وخاصة في التربة والمياه . وعدد من انواعها ينتج صبغات وبعض انواعها ينتج صبغات وبعض انواعها يسبب امراضا للنباتات واهم اجناسها هي *Acetobacter , Xanthomonas , Pseudomonas*



البكتريا البدائية Archaeobacteria

هناك مجموعة اخرى من عائلات البكتريا وتعد مهمة من ناحية التطور والنشوء وتسمى البكتريا البدائية Archaeobacteria وتختلف عن البكتريا الحقيقية في عدد من الصفات مثل البنية الوراثية وتركيب جدار الخلية واهم العائلات التي تعود الى هذه المجموعة هي :

1- عائلة Methanobacteriaceae : افراد هذه العائلة ذات شكل عصوي او كروي . بعضها موجب لصبغة كرام وبعضها الاخر سالب . تعيش بصورة لاهوائية وتنتج غاز الميثان واهم اجناسها هي , *Methanobacterium Methanococcus, Methanospirlllum*



2-عائلة Halobacteriaceae : تعيش في البيئات التي تحتوي على نسبة عالية من الاملاح (البحيرات الملحية . والمحاليل الملحية) . بعض اجناسها ذات شكل كروي وغير متحركة مثل جنس *halococcus* بينما الجنس *Halobacterium* يكون ذات شكل عصوي ومتحرك . الحد الادنى من تركيز كلوريد الصوديوم اللازم للنمو هو 2,5 مول والتركيز المثالي 4-5 مول . وكذلك تحتاج افراد هذه العائلة الى تركيز عال من المغنيسيوم (حوالي 25,0 مول)

بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus*

هي احد أجناس عائلة **Micrococcaceae**. و يمتاز جنس **Staphylococcus** عموما بكونها موجبة لصبغة غرام وغير متحركة ولا تكون سبورات. وسميت بالمكورات لان خلاياها تحت المجهر تبدو كروية **Cocci** وسميت بالعنقودية لأنها تتجمع بشكل عنقودي أو عشوائي وهاتين الصفتين مهمتين جدا في التشخيص **Diagnostic**. ويضم هذا الجنس ثلاثة أنواع هي:-

1-***Staphylococcus epidermidis***

2-***Staphylococcus saprophyticus***

وهذين النوعين غير مرضيين, ولكن قد تحدث إصابة أحيانا ببكتريا ***Staphylococcus epidermidis*** في حالة ضعف الجهاز المناعي أو الإصابة ببعض الالتهابات **Infection** .

3-*Staphylococcus aureus* المكورات العنقودية الذهبية

سميت هذه البكتريا بالمكورات وذلك لتجمعها بشكل عنقودي, وسميت بالذهبية لان مستعمراتها تظهر بلون ابيض مصفر على وسط **Blood Agar** .

الأوساط المستخدمة في زراعة هذه البكتريا

1-Nutrient Agar (N.A.)

ويستفاد منه لتنمية البكتريا لأجل تشخيصها وكذلك لملاحظة أشكال المستعمرات.

2-Blood Agar (B.A.)

ويستفاد منه في التعرف على ظاهرة تحلل الدم **Haemolysis** , إذ تعطي بكتريا ***Staphylococcus aureas*** تحلل كامل للدم **Haemolysis-** β فتبدو المناطق التي تحيط بالمستعمرات بشكل شفاف. ولكن لا يمكن الاعتماد بشكل كامل على هذه الصفة لاحتمال عدم صلاحية الدم المستخدم لعمل أنزيم **Haemolysin** أو لاختلاف في فصائل الدم, إذ إن البكتريا تحلل الدم الذي من فصيلة **AB** ولكنها لا تعطي تحلل للدم فصيلة **O** . ويجب ملاحظة إن البكتريا ***Staphylococcus epidermidis*** أيضا تعطي تحلل للدم على وسط **B.A.**

تبدو مستعمرات ***Staphylococcus aureus*** على وسط **Blood Agar** بلون اصفر عادة ,ولكن هذه الصفة لا نستفيد منها في التشخيص فقد توجد بكتريا بمستعمرات بيضاء وتكون مرضية وفي نفس الوقت قد توجد بكتريا

بمستعمرات صفراء مرضية. وتكون مستعمرات ***Staphylococcus aureus*** كبيرة **Large** ومحدبة **Convex** ومعتمة **Optic** ولماعة وذات حافات ملساء وتكون دائرية**Circular**.

Mannitol Salt Agar (M.S.A)-3

ويستفاد من هذا الوسط في التفريق بين الأنواع المرضية وغير المرضية لبكتريا ***Staphylococcus*** إذ إن الأنواع المرضية تكون مخمرة لسكر المانيتول وتحويل الوسط إلى اللون الأصفر ويستفاد من هذا الوسط في التفريق بين بكتريا ***Staphylococcus aureus*** وبكتريا ***Staphylococcus epidermidis*** إذ أن ***St. aureus*** تكون مخمرة لسكر المانيتول وتحويل الوسط إلى اللون الأصفر أما ***St. epidermidis*** فتكون غير مخمرة لهذا السكر فتحول الوسط إلى اللون الأحمر.

ملاحظة: بكتريا ***St. saprophyticus*** أيضا تحلل سكر المانيتول فهي تشابه في هذه الصفة مع ***St. aureus*** ولكن يمكن التمييز بينهما في بعض الصفات الأخرى مثل تحلل الدم والفحوصات البايوكيميائية **Biochemical Test**

MacConky Agar (M.A) -4

عموما لا تنمو بكتريا ***Staphylococcus*** بأنواعها على هذا الوسط.

Glucose Broth (G.B) -5

يحتوي هذا الوسط السائل على سكر الكلوكوز ويستخدم في الكشف عن البكتريا إذا كانت مؤكسدة ام مخمرة لهذا السكر ام كلاهما (أي من الممكن أن تكون مؤكسدة في حالة توفر الهواء أو أن تكون مخمرة في حالة الظروف اللاهوائية). حيث أن عملية التأكسد تتم في الظروف الهوائية أما التخمر فيحصل في الظروف اللاهوائية .يتم إجراء الكشف عن طريق زرع البكتريا في أنبوبين يحتويان على هذا الوسط, على أن يسد احدهما بشمع البرافين ويحضن الأنبوبان في الحاضنة. ففي حالة تغير لون الدليل **Phenol Red** الأحمر اللون (وهو لون الوسط) إلى اللون الأصفر في كلا الأنبوبين فهذا يعني إن البكتريا مؤكسدة ومخمرة في نفس الوقت, أما إذا تغير لون الوسط في الأنبوب الخالي من الشمع فقط فهذا يعني إن البكتريا مؤكسدة **Oxidation** فقط. أما أذا تغير لون الأنبوب الحاوي على الشمع وعدم تغير اللون في الأنبوب الثاني فقط فهذا يعني ان البكتريا مخمرة

Fermentation.

المكورات المسبحية ***Streptococcus***

كرويات موجبة لصبغة غرام تترتب على شكل سلاسل, غير متحركة و غير مكونة للسبورات , وتقسم المسبحيات إلى مجموعتين:-

أ- هوائية **Aerobic** : مثالها ***Streptococcus pyogenes*** و***Streptococcus viridans***

ب- لا هوائية **Anaerobic** : مثالها ***Streptococcus Pepto***

المكورات المسبحية الهوائية Aerobic Streptococcus

الخلايا تحت المجهر تظهر بلون ازرق لأنها موجبة لصبغة غرام وكروية تترتب على شكل سلاسل. أما مستعمراتها **Colonies** فتظهر على الوسط صغيرة **Small** ودائرية **Circular** ومحدبة **Convex** قليلا.

وتقسم المجموعة الهوائية إلى ثلاثة مجاميع :-

1- المجموعة التي لها القابلية على أنتاج أنزيم **Haemolysis** -β الذائب الذي يؤدي إلى حدوث تحلل كامل لكريات الدم الحمراء (تحلل دموي من نوع بيتا) مثل ***Streptococcus pyogenes***

2- المجموعة التي تعطي أنزيم **Haemolysis-** α الذائب التي يؤدي إلى حدوث تحلل جزئي لكريات الدم الحمر فيؤدي إلى ظهور منطقة خضراء حول المستعمرات على وسط **Blood Agar** (تحلل دموي من نوع الفا) مثل ***Streptococcus viridans***

3- المجموعة التي لا تظهر أي تغير في وسط **Blood Agar** عند نموها عليه **Haemolysis**-γ (تحلل دموي من نوع كاما) مثل ***Streptococcus faecalis***

عموما فان الفحوصات البايوكيميائية **Biochemical test** غير مهمة للتفريق بين الأنواع التابعة لجنس ***Streptococcus*** لذلك يتم إتباع التصنيف المصلي **Serotyping** لتحديد الضروب المصلية والشائع منها هو تصنيف العالم **Lancefild**.

Streptococcus faecalis

يعتبر هذا النوع غير خطير فهو غير محلل للدم (تحلل من نوع كاما) **Haemolysis**-γ , يتواجد بشكل طبيعي متعايش مع الأحياء الموجودة في الأمعاء و الفم و لكن في بعض الحالات تتحول إلى انتهازية وتسبب حالات التهاب المجاري البولية **U.T.I**, وكذلك تكون مسؤولة عن التهاب بطانة القلب البكتيري معتدل الحدة **SubAcute Bacterial Endocarditis** (**SABE**) وخاصة عند كبار السن. الغالبية العظمى لهذا النوع غير محلل للدم لكن أحيانا تحتوي على بعض السلالات المحللة للدم.

Streptococcus viridans

تعطي هذه البكتريا تحلل جزئي لكريات الدم الحمر (تحلل من نوع الفا) **Haemolysis-** α فتظهر منطقة خضراء حول المستعمرة , وهي تتواجد بصورة رئيسية في الفم وفي التجويف الفمي البلعومي بشكل طبيعي ولكن تسبب تلوث الأسنان وأحيانا تسبب التهاب اللثة و لاسيما عند قلع هذه الأسنان ثم تنتشر في الدم و تسبب إنتان دموي أي تجرثم دموي **Bacteremia**. ويضم هذا النوع 5 ضروب مصلية, إذ يتم تصنيفها اعتمادا على المستضدات الموجودة في الجدار الخلوي للبكتريا.

Streptococcus pyogenes

وتمتاز هذه البكتريا بأنها تحلل الدم بصورة كاملة (تحلل من نوع بيتا) **Haemolysis** β- وتسبب عدد من الإصابات للإنسان منها التهاب اللوزتين والتي ينصح بقلعها في حالة إصابتها للأطفال وكذلك الحمى القرمزية وذات السحايا والتهاب الأذن الوسطى والتهاب الجروح وهي كذلك مسؤولة عن حمى الروماتيزم وكذلك التهاب الكلى أو الحويصلات الكلوية. وهذه البكتريا مقاومة لصبغة **Crystal violet** بتراكيز عالية لذلك فالوسط المختار لعزل البكتريا هو وسط **MacConky Agar** الحاوي على هذه الصبغة بتركيز عالي .

لا يمكن عزل هذه البكتريا أحيانا من الدم لان إفرازاتها السمية هي التي تحدث المرض وفي هذه الحالة يؤخذ الدم ونستخلص منه المصل ويجرى عليه الفحص **Anti Streptolysin-O Test** (**ASOT**) وهو فحص مختبري **Serology** لتحديد عياريه **Streptolysin-O** وهو أنزيم موجود في المصل فإذا كانت العيارية اصغر أو يساوي 200 فهذا يعني انه لا توجد إصابة إما إذا كان أكثر من 200 فيعني وجود إصابة.

Streptococcus pneumoniae

يعتبر هذا النوع من أهم الأنواع الممرضة على الإطلاق اذ يسبب مرض الالتهاب الرئوي **pneumonia** , تظهر تحت المجهر ثنائية التجمع **Diplococci** كروية أو بيضوية الشكل في أزواج أو سلاسل قصيرة , غير متحركة وغير مكونة للسبورات, تحاط بكبسولة **Capsule** واضحة جدا وتكون إما هوائية أو لا هوائية اختيارية وتحتاج إلى وجود غاز **CO2** بنسبة**5-10%** في حالة العزل الأولي أي عند عزلها لأول مرة من المريض إما في الزرع الثانوي **Subculture** فإنها لا تحتاج إلى **CO2** وعندها تستطيع إن تنمو بوجود **O2** . أي أنها في البداية **Micro Aerophilic** ثم تتحول إلى **Aerophilic**. تنمى على وسط **Blood Agar** و**Chocolate Agar**.شكل المستعمرات يسمى **Draughtsman Colony** أي الحافات مرتفعة قليلا ومركزها منخفض. تتشابه مع بكتريا ***Streptococcus viridans*** في تحليلها الجزئي للدم.

فحص الذوبان في أملاح الصفراء **Bile Solubility Test**

هذا الفحص يبين قابلية البكتريا ***Streptococcus*** على الذوبان أو التحلل بوجود أملاح الصفراء **Bile salts** إذ نلاحظ إن بكتريا ***Streptococcus pneumoniae*** تتحلل بوجود الأملاح الصفراوية إذ أن الأملاح الصفراوية تشجع الإنزيمات أو المواد في الخلايا البكتيرية التي يحصل لها تحلل ذاتي **Auto Haemolysis**

ومن هذه الأملاح **Sodium tourocholate** , **Sodium deoxycholate** وهاتان المادتان تحظران على شكل سائل, إذ يضاف منها جزء واحد من الأملاح إلى تسعة أجزاء من**Broth** ثم توضع في الحاضنة لمدة نصف ساعة نلاحظ أن الوسط العكر **Turbid** يصبح رائق **Clear** . علما إن البكتريا ***Streptococcus viridans*** لا تذوب في هذه الأملاح.

ملاحظة: بكتريا ***Streptococcus*** يحصل لها تحلل ذاتي **Auto haemolysis** لأنها لا تنتج إنزيم **Catalase** الذي يحلل بيروكسيد الهدروجين **H2O2** فتتحلل إذا بقت فترة في الطبق. علما أن كل بكتريا تنتج **H2O2** في تفاعلاتها.

بكتريا النايسيريا *Neisseria*

ينتمي هذا الجنس لعائلة **Neisseriaceae** يتواجد بشكل تعايشي في الجهاز التنفسي, وهي بكتريا سالبة لصبغة غرام, كروية الشكل تتجمع بشكل ثنائي وهي تضم نوعين من الناحية الطبية هما:

1-*Neisseria gonorrhoeae* (Gonococcus).

2-*Neisseria meningitides* (Meningococcus).

Neisseria gonorrhoeae

يسمى اختصارا **Gonococcus** ويسبب مرض السيلان(كانريا) **Gonorrhoea** وهو مرض تناسلي بحت لا ينتقل إلا عن طريق الاتصال الجنسي ويصاب به كل من الذكور والإناث , وكذلك يصاب بها الأطفال حديثي الولادة و ذلك عن طريق مشيمة الأم الحامل أثناء فترة الحمل من الأم الحامل المصابة بهذه البكتريا , تصيب هذه البكتريا الأغشية المخاطية **Mucous Membranes** ولهذا نجد أنها تصيب :

1-**Urethra** مجرى البول الذكري والأنثوي

2-**Cervix** عنق الرحم في النساء.

بينما لا تصيب **Vagina** لان **PH** له منخفض فلا تساعد على بقاء البكتريا فسرعان ما تموت. ولهذا فان المسحات المأخوذة من النساء يجب أن تكون **Cervix Swap** وليس **Vaginal Swap**

3-**Rectum** منطقة المخرج وخصوصا عند الأطفال فيكون النموذج **Rectal Swap** .

4- **Ophthalmic Neonatal** إي إصابة الأغشية المخاطية للعين عند الأطفال حديثي الولادة.

وتجدر الإشارة إلى إن المصابين بمرض السيلان تظهر الإعراض عليهم بخروج كمية كبيرة من الخراج **Pus** من العضو التناسلي وتدعى هذه الحالة ب **Urethral Discharge** حيث تظهر الشريحة عند عمل مسحة حاوية على خلايا **WBG** من نوع **Neutrophil** إذ تكون حاوية على نواة مفصصة 5-3 فصوص ومع هذه الخلايا نشاهد بكتريا ***Neisseria*** التي تكون خلاياها ثنائية كلوية الشكل تشبه حبة الفاصوليا إذ تظهر باللون الأحمر لأنها سالبة الصبغة (صبغة غرام). فإما إن تكون موجودة داخل هذه الخلايا **WBG** وتسمى هذه الحالة **Intracellular Neisseria**. أو أن توجد خارج هذه الخلايا **WBG** وتسمى هذه الحالة **Extra cellular Neisseria** وتعتبر هذه المشاهدة تشخيص نهائي معتمد, ولكن أحيانا لا يكتفي الطبيب بهذا التشخيص المجهري بل يطلب إجراء زرع مختبري وخاصة في حالة

مرض السيلان حيث يكون الزرع لا بد منه والسبب في ذلك اوجود سلالات مختلفة لنفس البكتريا فلا بد للطبيب أن يتعرف على نوعية السلالة المسببة ليتسنى له بعد ذلك وصف العلاج الأمثل.

وتكون الإصابة في السيلان خطيرة في الدمامل وخاصة إذا تأزمت الإصابة و وصلت إلى غدة البروستات **Prostate Gland** إذ أنها سوف تدمر هذه الغدة وتسبب العقم وكذلك الحال عند النساء فان الإصابات تكون متكررة و مزمنة **Repeat & Chronic** وتسبب العقم أيضا كما إن الطبيب يعمد إلى إجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية **Antibiotic and Sensitive Test** ليتعرف على السلالة المسببة للمرض إن كانت محلية أو أجنبية من خارج القطر لذا فلا يوجد علاج ثابت ومحدد للسيلان اعتمادا على تعدد السلالات المسببة للمرض.

ومن العلاجات الشائعة المستخدمة هي :-

Neisseria maningitids

يسمى اختصارا **Meningococcus** أي المكورة السحائية لأنها تسبب مرض التهاب الأغشية الوعائية للسحايا أو ما يسمى بالحمى الشوكية وتصيب الأطفال والكبار, وتعزل البكتريا في هذه الحالة من السائل المخي الشوكي **C.S.F.** الذي يسحبه الطبيب ويطرد مركزيا لتركيز الخلايا ثم يزرع النموذج على وسط **Blood Agar** أو **Chocolate Agar** فإذا ظهرت مستعمرات تصطبغ بصبغة غرام فإذا ظهرت حمراء اللون وثنائية فهي بكتريا السحايا وهو تشخيص نهائي للمرض.

ويمكن إجراء الاختبارات التالية لتشخيص هذه البكتريا :

*** فحص الاوكسيديز Oxidase test**

ويكون كلا النوعان لبكتريا النيسيريا موجب لهذا الفحص. ويمكن إجراء الفحص بإضافة قطرة أو قطرتين من محلول **Tetra methyl paraphenylene diamine dihydrochloride** على سطح الطبق الحاوي على النمو البكتيري إذ يلاحظ تغير لون المستعمرات إلى اللون البنفسجي , ويمكن إجراء الفحص بوضع ورقة ترشيح في طبق زجاجي معقم ثم توضع عليه قطرات من المحلول السابق وبعدها ينقل جزء من المستعمرة البكتيرية وتوضع على مكان القطرات فنلاحظ تغير اللون إلى اللون البنفسجي الغامق والسبب في تكون اللون البنفسجي هو أن البكتريا الموجبة لهذا الكشف تعطي مادة **Indo phenol** التي يتم الكشف عنها.

فحص تخمير السكريات

Bacteria	Maltose	Lactose	Sucrose	Glucose
Ne. gonorrhoeae	–	–	–	+
Ne. meningitdis	+	–	–	+

ويلا حظ من الجدول إننا نستطيع تشخيص بكتريا السيلان عن باقي الأجناس إن كلا النوعين يكونان مخمرين لسكر الكلوكوز وغير مخمرين لسكر السكروز واللاكتوز بينما نشاهد إن بكتريا السحايا مخمرة لسكر المالتوز في حين لا تخمره بكتريا السيلان فيمكن الاعتماد على محض تخمير السكر الأخير للتفريق بين النوعين .

ملاحظة :- تكون بكتريا النايسيريا هوائية ولا هوائية اختيارية وتحتاج لغاز **CO_2** ولاسيما في العزل الأولي فتوضع عند الحض في وعاء شمعة **Candle Jar** إذ توضع شمعة في هذا الوعاء ويغلق إلى حين انطفاء الشمعة من اجل نفاذ **O_2** وتوفير **CO_2** . و تدعى بكتريا النيسيريا ب **Fastidious** لأنها تحتاج لمتطلبات غذائية معقدة .

البكتريا العصوية Bacillaceae

وتضم مجموعة من البكتريا العصوية **Bacilli** الموجبة لصبغة غرام والمكونة للسبورات وتضم جنسي ***Bacillus*** و***Clostridium*** . ويتم التفريق بين هذين الجنسين من حيث قابليتها على النمو بوجود أو انعدام وجود **O2** فمثلا أفراد جنس ***Clostridium*** تنمو في ظروف لاهوائية فقط بينما افراد جنس ***Bacillus*** فتنمو في ظروف لا هوائية وهوائية باستثناء نوع ***Bacillus Subtilis*** التي تنمو هوائيا فقط .

Bacillus

يضم بكتريا عصوية كبيرة الحجم مكونة للسبورات , تنمو في أوساط زراعية مختلفة وتكون بعضها معقدة للمتطلبات الغذائية وبعضها تكون بسيطة المتطلبات , تسبب بعض أنواعها أمراضا للإنسان و الحيوان وأهمها النوع ***Bacillus anthracis*** المسبب لمرض الجمرة الخبيثة , وبعض الأنواع الأخرى مثل ***Bacillus subtilis*** تفرز سموم لها القابلية على تحلل النشا الموجود على الرز مسببة إسهال وبعض أنواع البكتريا تفرز إنزيم **Lacithinase** الذي يعمل على تفكيك **Lecithin** الموجود في الأغشية السايتوبلازمية لخلايا المضيف.

Bacillus anthracis

وهي بكتريا مرضية تسبب الجمرة الخبيثة **Anthrax** , تحلل الجيلاتين وتكون موجبة لفحص **Catalase** وتحلل الكازائين (بروتين) وتكون سالبة لفحص ال **Oxidase** وغير متحركة .

Bacillus subtilis

هي بكتريا هوائية مجبرة وموجبة لتحلل الجيلاتين , متحركة , موجبة لفحص **Catalase** والكازائين وسالبة لفحص **Oxidase** ويتم اختبار جنس ***Bacillus*** على وسط غذائي يحتوي على صفار البيض **Egg yolk Media** حيث تتكون هالة معتمة (منطقة **Zone**) .

Clostridium perfringens

تعيش في أمعاء الحيوان وأحيانا أمعاء الإنسان ضمن المايكرو فلورا الطبيعية لذلك فهي تنتشر في التربة , وعند إصابتها للجروح فهي تسبب مرض الغرغرينا الغازية. تكون موجبة لصبغة غرام ذات عصيات كبيرة نسبيا , غير مكونة للسبورات وغير متحركة , محاطة بكبسولة , تفرز سموم من نوع الفا , لا هوائية اجبارية . تكون سالبة لاختبار الكاتليز والاوكسيديز , تخمر سكر اللاكتوز , ويمكن التحري عنها بالفحص المباشر لعينة الجرح بصبغة غرام ومشاهدة البكتريا مختلطة بأنواع أخرى من البكتريا المكونة للصديد , وتساعد هذه البكتريا بتهيئة وسط لا هوائي لنمو بكتريا

Clostridium perfringens

Clostridium tetani

عصيات كبيرة طويلة ومستقيمة موجبة لصبغة غرام , متحركة باسواط محيطية , غير محاطة بكبسولة , مكونة للسبورات , سبوراتها مقاومة للحرارة. تعيش في أمعاء الحيوان ضمن المايكروفلورا الطبيعية لذلك فهي تعيش في التربة. تسبب مرض الكزاز عن طريق دخول البكتريا إلى الجروح حيث تجد بيئة ملائمة لنموها ويتم تكاثرها وتقوم بإفراز السموم التي تصل إلى الخلايا العصبية مع مجرى الدم , ويعمل السم على الجهاز العصبي المركزي حيث يحدث تشنجات في العضلات وخاصة عضلات الرقبة والفكين , ويطلق على المرض (مرض الفك المغلق **Lock jaw**) لصعوبة فتح الفك , ويتم العلاج بإعطاء مصل مضاد للسموم المفرزة لمعادلة السم قبل وصوله للجهاز العصبي , وكذلك يتم تنظيف الجروح وتهويتها لعدم إعطاء فرصة لنمو البكتريا اللاهوائية. تكون موجبة لاختبار الاندول.

الأوساط الزراعية المستخدم لتنمية جنسي *Clostridium* و *Bacillus*

1-Thioglycolate Broth:

ينمو كلا الجنسين على هذا الوسط إذ يحتوي على مادة **(HS-CH2-COO)-Na** إذ أنها تتفاعل مع ال O_2 مكونة ظروف لاهوائية ملائمة لنمو بكتريا ***Clostridium*** ويمكن أن يستخدم شمع البرافين **Paravine Wax** لتهيئة الظروف اللاهوائية بصورة تامة أما في حالة ***Bacillus*** فلا يضاف الشمع .

2- Litmus Milk media

يتكون هذا الوسط من صبغة زهرة الشمس **Litmus** (التي تتحول إلى اللون الأحمر في الوسط الحامضي والى اللون الأزرق في الوسط القاعدي) والحليب الحاوي سكر اللاكتوز و بروتين الكازئين , كلا الجنسين ينمو على هذا الوسط و يعملان على تخثر الحليب باستثناء بكتريا ***Clostridium*** التي تنمو على هذا الوسط في ظروف لاهوائية بوجود شمع البرافين وتحدث تخمر يدعى بالتخمر الحامضي حيث عند حصول التفاعل فان مادة الشمع تتدافع إلى الأعلى دلالة على تحلل الحليب إما بالنسبة لبكتريا ***Bacillus*** فعندما تهاجم البكتريا سكر اللاكتوز تكون أحماض تخفض قيمة **PH** ويتغير لون الصبغة إلى الأحمر في حالة مهاجمة الكازائين سوف

تتكون آمونيا ويصبح الوسط قاعدي وال **PH** مرتفع مما يؤدي إلى تغير لون الصبغة إلى الأزرق أو تكون خثرة الحليب في قاع الأنبوبة نتيجة تحلل البروتين .

ملاحظة :- يمكن التميز بين ***Clostridium , Bacillus subtilis*** بواسطة وسط **Thioglycolate Broth** لأنه يوفر ظروف لاهوائية أما جنس ***Bacillus subtilis*** ينمو عند ظروف هوائية فقط

عائلة البكتريا المعوية Enterobacteriaceae

أهم جنسين ضمن هذه العائلة هما ***Klebsiella*** و ***Escherichia coli***

Escherichia coli

تكون سالبة لصبغة غرام متحركة بأسواط محيطية , غير مكونة للسبورات ولا تحتوي على كبسولة . تنمو على البيئات العادية بسهوله تحت درجة حرارة 37 وهي هوائية ولا هوائية اختيارية. تنمو على وسط اكار الدم على شكل مستعمرات صغيرة , بعض اجناسها تحلل الكريات الدموية , وتنمو على وسط **MacConkey agar** وتظهر مستعمراتها بلون وردي مع تخمير سكر اللاكتوز, موجبة لاختبار**Indol test** و ال **Catalase** وسالبة لفحص ال **Oxidase**, كذلك يتم الكشف عنها باستخدام أطقم فحص **API 20E** الخاصة بالتعرف على مجموعة **Enterobacteriaceae** , كما يتم تنميتها على بيئات اختيارية مثل بيئة **Eosin Methyle Blue (EMB)** مستعمراتها تكون بلون اخضر نحاسي لامع . تسبب بكتريا ***E. coli*** التهابات المجاري البولية والمثانة والكلى , تلوث الجروح بعد العمليات الجراحية للأمعاء , حالات تسمم دموي , وتكون احد مسببات الحمى الشوكية **Meningitis** .

Klebsiella pneumoniae

تكون سالبة لصبغة غرام , غير متحركة غير مكونة للسبورات , محاطة بكبسولة دائرية. تنمو على وسط اكار الدم بشكل مستعمرات مخاطية كبيرة ذات لون ابيض رمادي بينما على وسط الماكونكي فتخمر اللاكتوز وتكون مستعمراتها مخاطية ذات لون وردي , سالبة لاختبار الاندول و فحص **Oxidase** وموجبة لفحص ال **Catalase** , كما يتم تعريفها بواسطة اختبار**API 20 E** .

الأوساط المستخدمة لزراعة ***Klebsiella*** و ***Escherichia coli*** التالية :

***MacConky Agar**

وسط الحاوي على سكر **Lactose** . بالنسبة لبكتريا ***E. coli*** تكون مستعمراتها على هذا الوسط ذات لون وردي شفاف لأنها تخمر سكر اللاكتوز ومستعمراتها اصغر حجما من مستعمرات بكتريا ***Klebsiella*** التي تظهر مستعمراتها وردية أيضا لأنها تخمر سكر اللاكتوز ولكن تكون مستعمراتها كبيرة الحجم **Large Colony** (علما إن البكتريا التي لا تخمر هذا السكر من هذه العائلة تظهر شاحبة اللون) واهم صفة لتميزها أنها تكون لزجة **Mucoid** وذلك لامتلاكها كبسولة كبيرة وتظهر هذه الصفة بشكل واضح جدا لاسيما إذا حضنت لمدة 48 ساعة وتكون مرتفعة عن الوسط.

*** Eosin Methylene Blue (E.M.B.)**

لون الوسط مائل إلى الاحمرار, حيث تظهر مستعمرات ***E. coli*** على هذا الوسط بلون اخضر معدني **Green Metallic** ولماع . أما بكتريا ***Klebsiella*** فتكون مستعمراتها على هذا الوسط بلون اسود .

*** Tripe sugar Iron (T.S.I)**

وسط صلب يصب بشكل مائل **Slant** في أنابيب اختبار. ويحتوي على ثلاثة أنواع من السكريات :

1-Glucose 2-Lactose 3- Sucrose

وبالإضافة إلى هذه السكريات يحتوي الوسط على مركبات في حالة استهلاكها من قبل البكتريا تكون مركب **H2S** الذي يترسب بشكل راسب اسود اللون في القعر وكذلك قد تكون غاز وذلك اعتمادا على نوع البكتريا المزروعة.

وهنك وسط مشابه لهذا الوسط يدعى **Klegler Media** ولكنه لا يحتوي إلا على نوعين من السكريات فقط هما :-

1-Glucose 2- Lactose

ملاحظة : يدعى الجزء المائل **Slant** أما القعر **Butt** .

يتم زراعة البكتريا على ال **Slant** وكذلك بطريقة الطعن في ال **Butt** فإذا كانت البكتريا هوائية فسوف تنمو على ال **Slant** و إذا كانت لاهوائية اختيارية فسوف تنمو في ال **Butt** أيضا . أما إذا كانت لاهوائية فسوف تنمو في ال **Butt** فقط .

فتكون القراءة كالاتي :

Slant		**Butt**		**Gas**		**H2S**	
Acid	**Alkaline**	**Acid**	**Alkaline**			**H2S**	**NoH2S**
Yellow	Red	Yellow	Red	Gas	No Gas	Black	No Black

فإذا تحول ال **Slant or Butt** إلى اللون الأصفر أي أن النتيجة **Acid** والسبب هو استهلاك البكتريا للسكريات في هذا الجزء وتكوينها للحوامض وبالتالي انخفاض قيمة ال**PH** .

أما إذا تحول ال **Slant or Butt** إلى اللون الأحمر فان النتيجة **Alkaline** والسبب هو عدم استهلاك البكتريا للسكريات وتكوين مركبات قاعدية مؤدية إلى رفع قيمة ال **PH** .

أما إذا لم يتغير **Slant or Butt** أي لم يتغير لون البصلي فان النتيجة **No change** .

إما بالنسبة للغاز فإذا رأينا فقاعات فالنتيجة (+) **Gas** وبالعكس (-) **No Gas** .

وإذا وجدنا راسب اسود اللون في القعر فالنتيجة (+) H_2S والعكس **No H_2S(-)** .

Pseudomonas

تضم نوع واحد مهم من الناحية المرضية هو *Pseudomonas aeruginosa* وقد تسمى *Pseudomonas pyocyanine* لأنها تفرز صبغة البايوسيانين. وهو نوع خطير جدا يصيب الإنسان ويسبب له العديد من الأمراض وغالبا ما يلوث الجروح والحروق. بصورة عامة فان أفراد هذا النوع تكون سالبة لصبغة غرام متحركة وغير مكونة للسبورات والصفة المميزة لها أنها هوائية مجبرة لا تعيش عند قلة الأوكسجين أي إنها تهاجم السكريات فقط عن طريق الأكسدة ,

كما إنها غير مخمرة لسكر اللاكتوز وهي صفة مهمة لذا تكون مستعمراتها على وسط ال **MacConky** شاحبة اللون و تعتبر صفة تشخيصية مهمة فهي منتظمة الشكل وقليلة الارتفاع ووسط المستعمرة يكون أغمق من الحواف , ومن الصفات التشخيصية الأخرى رائحتها المميزة التي تشبه رائحة الفاكهة المتخمرة كالتفاح المتخمر , وكذلك توجد صفة تشخيصية في غاية الأهمية هي قابلية البكتريا على إنتاج صبغة ذائبة هي صبغة **Pyocyanin** وهذه الصبغة خضراء مزرقة فتكسب الوسط الزرعي لون مزرق وهذا اللون يعتبر صفة تشخيصية مهمة لهذه البكتريا , وكذلك تفرز صبغة أخرى تعرف ب **Flourescen** وهي صفراء مخضرة وغالبية العزلات تفرز النوعين من الصبغات. يعتبر هذا الجنس موجب لفحص **Oxidase test** , متحركة بواسطة سوط قطبي واحد.

Shigella

عصيات سالبة لصبغة غرام , غير متحركة وغير مكونة للسبورات لا تحتوي على كبسولة وتنمو هوائيا ولا هوائيا تحت درجة حرارة 37 درجة مئوية. تنمو البكتريا على الأوساط العادية مثل بيئة **blood agar** وتكون مستعمرات بيضاء , أما على وسط **MacConky agar** فلا تخمر سكر اللاكتوز وتظهر بشكل مستعمرات شفافة. يمكن التحري عنه باستخدام أطقم فحص **API 20** , وتكون سالبة لفحص الاندول ولا تخمر سكر اللاكتوز ولا تنتج **H2S**. تعتبر هذه البكتريا المسبب لمرض الدوزنتريا الباسلية , وتعيش في أمعاء الدجاج والطيور وفي أمعاء المرضى الحاملين.

Salmonella

عصيات سالبة لصبغة غرام متحركة باسواط محيطية طويلة , غير مكونة للسبورات لا تحتوي على كبسولة وتنمو هوائيا ولا هوائيا تحت درجة حرارة 37 درجة مئوية. تنمو على وسط **Blood agar** وتكون مستعمرات بيضاء رمادية , أما على وسط **MacConky agar** فلا تخمر سكر اللاكتوز وتظهر بشكل مستعمرات شفافة. يتم الكشف عنها باستخدام أطقم فحص **API 20** , وتكون سالبة لفحص الاندول ولا تخمر سكر اللاكتوز. تعتبر الحيوانات المصدر الرئيسي لها حيث تعيش في أمعاء الدواجن والطيور وبعض الزواحف كالثعابين, وتعيش في التربة والمياه لعدة أسابيع. تسبب حمى التيفويد للإنسان **Typhoid fever** حالة وصولها للأمعاء عن طريق الطعام الملوث.

- **S.S Agar** بيئة اختيارية لا تسمح بنمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وبعض البكتيريا السالبة لصبغة جرام ماعدا ***Salmonella*** و ***Shigella*** بسبب وجود **Na-citrate & bile salts**
- **Xylose lysine deoxycholate (XLD)**: بيئة تفريقية لـ ***Salmonella*** و ***Shigella*** حيث أن ***Salmonella*** تأخذ لون البيئة (شفاف) مع وجود لون أسود في المركز نتيجة تحلل مواد موجودة في البيئة ينتج عنها غاز H_2S و ***Shigella*** تأخذ مستعمراتها لون الوسط(شفاف).

Vibrio cholera

عصيات منحنية أو بشكل الضمة سالبة لصبغة غرام متحركة بأسواط طرفية وهي هوائية ولا هوائية اختيارية , تنمو في الأوساط القلوية وهي حساسة للحرارة والبرودة والجفاف والمطهرات. تنمو البكتريا بصورة جيدة على الأوساط الغذائية العادية ذات الطبيعة القاعدية لذلك يحفز نموها في بيئة ماء الببتون القاعدي **Alkaline peptone water** لمدة 6 ساعات كبيئة إثراء ثم تزرع على وسط **Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose**

agar كبيئة انتخابية لعزل البكتريا إذ تكون مستعمراتها صفراء مخمرة للسكروز, موجبة لاختبار ال **Oxidase**.
تعتبر المسبب لمرض الكوليرا الأسيوية حيث تفرز سموم معوية خارجية **Exotoxin** وهو المسبب للمرض.