

• تعريف علم الاحياء المجهرية **Microbiology** .

• اهم العلماء الذين ساهموا في تطور علم المايكروبيولوجي :-

1- **روبرت هوك (1635 - 1703).** صنع المجهر المركب سنة 1660 وتوصل لقوة تكبير $200 \times$. وصف ورسم بعض الاعفان التي شاهدها.

2- **فان ليفنهوك (1635 - 1723).** صنع المجهر المركب وتوصل لقوة تكبير $300 \times$ و يعود له الفضل في ولادة علم الاحياء المجهرية ووصف ورسم بعض اشكال البكتريا التي شاهدها في قطرة ماء عام 1674 (كروي - عصوي - حلزوني).

- - ايرن بيريك (1795 - 1876). قسم البكتريا الى **عصوي و حلزوني**.

نظرية النشوء الذاتي **Spontaneous generation Theory** مفادها (ان الكائنات الحية تتوالد ذاتيا من مواد غير حية)
ان الضفادع تتوالد من الطين والذباب من اللحم والفرنجان من الجثث.

4- فرانسيسكو ريدي (1629 - 1697) دحض نظرية التوالد الذاتي لكنها لم تكن مقبولة لاكثر من 150 سنة بعدها. اي ان الذباب لايتكون من اللحم بل نتيجة وضعه البيض على اللحم فيفقس وتظهر اليرقات ثم تتحول الى كاملات.

5- كوبلت 1710 . لم يقتنع بنظرية التوالد الذاتي فاجرى تجربة منقوع الشعير . فحص منقوع الشعير ولاحظ وجود الاحياء المجهرية فقسم المنقوع الى قسمين وسخنهما واغلق فوهة احدها وترك الاخر مفتوح فلاحظ نمو الاحياء في الوعاء المفتوح فاستنتج ان الاحياء لا تتوالد ذاتياً.

6- نيهام (1713 - 1781). اعاد تجربة كوبلت ولكنه حصل على نتائج مختلفة اذا لاحظ نمو الاحياء في الوعاءين وايد نظرية التوالد الذاتي.

8- شلز (1815 - 1873) مرر الهواء الساخن الى منقوع الشعير عبر حامض قوي فلم يظهر نمو.

9- شوان (1810 - 1882) سخن الانبوب الواصل الى منقوع الشعير فلم يظهر نمو في المنقوع المسخن.

10- شرويدر و دوش (1854) وضع قطن في الانبوب الواصل الى منقوع الشعير المسخن فلم يظهر نمو مكروبي في المنقوع.

- 11- لويس باستور (1822 - 1895) اعاد التجارب السابقة وتوصل الى ان منع وصول الهواء الى المنقوع الشعير المسخن سبب منع النمو المكروبي. استخدم الانابيب المعقوفة للأسفل التي تعمل على منع دخول الهواء الى منقوع الشعير. اكتشف عملية البسترة **pasteurization** (تسخين المحلول بدرجة 60 س لمدة نصف ساعة يؤدي الى قتل المكروبات او بدرجة 70 س لمدة دقيقة) وبذلك اثبت ان المكروبات تسبب تلف الاغذية وان التعقيم يقتل المكروبات او سبوراتها و بذلك انطلقت النظرية الجرثومية.

- 12- كرام (1881) اكتشف صبغة كرام لتصبغ الخلايا البكتيرية والتي قسم بموجبها البكتريا الى موجبة وسالبة لصبغة كرام.

- 13- جون تندرل (1820 - 1893) استطاع تفسير التناقض في التجارب السابقة على اساس ان للبكتريا طورين :-

- الاول غير مقاوم للحرارة ويطلق عليه **Thermo labile**

- و الثاني مقاوم للحرارة ويسمى **Thermo stable** او السبورات **spores** .

- اوضح ان اعطاء الطور المقاوم الوقت الكافي للتحويل الى الطور الخضري يسهل القضاء عليه واطلق على هذه العملية بالتندله **Tyndalization** نسبة اليه او التسخين المتقطع.

- 14- روبرت كوخ (1843 - 1910) هو طبيب الماني عمل على مرض الجمرة الخبيثة (الانثراكس) . عزل البكتريا من دم الحيوانات المصابة وحقنها في الحيوانات السليمة فحدثت اصابة ثم قام بعزل البكتريا في مزرعة نقية وقام بعمل عدوى للفرنجان فحدثت اصابة (موت الفرنجان) وفحص دم الحيوانات فلاحظ نفس البكتريا فاطلق على هذه العملية فرضيات كوخ

- - يجب ان يكون المسبب المرضي مرافق دائما لحالة مرضية معينة.

- 2- عزل المسبب المرضي في مزرعة نقية ودراسة خصائصها.

• 3- اجراء عدوى بالمسبب المرضي على نفس العوامل الذي عزلت منه في الحالة الاولى ودراسة الاعراض التي يجب ان تتابق مع الحالة في النقطة -1- اعلاه.

• 4- اعادة عزل المسبب المرضي في مزرعة نقية ودراسة خصائصها التي يجب ان تطابق النقطة 2

ويكون هناك حالات لا تنطبق عليها فرضيات كوخ تتمثل بما ياتي :

1- المتطفلات الاجبارية التي لا يمكن تنميتها على وسط زرع صناعي (وسط الأكر) (تعيش في الخلايا الحية فقط) .

2- عندما يكون المسبب المرضي من النوع الانتهازي (هو غير ممرض في الحالات العادية ولكن بمجرد ضعف العائل يصبح ممرضا)

3- امتلاك العائل التجريبي مناعة ضد المسبب المرضي .

4- عندما يتسبب المرض عن اكثر من مسبب واحد.

• 15- الكسندر فلمنك (1881 – 1955) اكتشف البنسلين الذي ينتجه الفطر *Penicillium notatum* .

• 16- أفري ومساعدته (1877 – 1953) اكتشف ان المادة الوراثية للبكتريا هي من نوع DNA .

• 17- ليستر (1878) اول من حصل على مزرعة نقية باعتماد طريقة التخفيف.

• Immunizatio التمنيع

• قام لويس باستور (1880) بعزل مسبب مرض كوليرا الدجاج وعمل منها مزرعة نقية وعمل لقاحا من تلك المزرعة النقية ولقح بها دجاج سليم الا انه فوجئ بان الدجاج لم يظهر عليه اي اصابة بالمرض . وعند دراسة الحالة وجد انه استعمل مزرعة قديمة عمرها عدة اسابيع . اعاد التجربة واستعمل هذه المرة مزرعة حديثة ولقح مجموعتين من الدجاج احدهما سبق ان لقحت بالمزرعة القديمة والاخرى لم تلحق مسبقا . فلاحظ ان المجموعة الاولى بقيت سليمة والمجموعة الثانية اصبحت بالمرض وماتت فسر الظاهرة بان المزرعة القديمة فقدت قدرتها على احداث المرض لكنها حفزت تكوين مواد منعت السلالة الجديدة من احداث المرض واطلق على هذه المواد اسم الاجسام المضادة *Antibodies* وعلى العملية اسم التلقيح *Vaccination* و اطلق اسم *Vaccine* على السلالة الضعيفة (اللقاح) و يمكن ايضا الحصول على اللقاح باستخلاص سموم المسبب المرضي وحقنه في الحيوانات لانتاج مصل مضاد ويسمى *Antitoxin* ويمكن استخدام مزارع مقتول بالحرارة وحقنها في الحيوانات لانتاج مصل مضاد للمسبب المرضي.

2 / م

موقع الاحياء المجهرية بين الكائنات الحية :

• لتحديد موقع الكائن الحي المجهرى يجب معرفة الاتي :

• 1- الخصائص الزرعية :-

يقصد بها جميع الصفات التي تظهر على الوسط *media* الذي ينمو عليه الكائن المجهرى وهذا الوسط يختلف في :-

*مكوناته الغذائية حسب نوع الكائن المراد تنميته.

*درجة الحرارة المناسبة للنمو .

*حاجته للاوكسجين (هوائيه – لا هوائية).

*ينمو على وسط صناعي او شبه صناعي اوفي الخلايا الحية.

• 2- الشكل الظاهري او الفحص المجهرى:-

ويقصد بها وصف شكل المستعمرات التي يكونها الكائن المجهرى من حيث اللون او حافة المستعمرة او تفرز لون معين في الوسط او قطرات مائية او سطح المستعمرة لماع او مخملي او مجعد و غيرها من الصفات. اما شكل الخلايا و ابعادها فهي لا ترى الا بواسطة المجهر وتحت قوة تكبير معينة. تقاس ابعاد البكتريا بالميكرون وهي تعادل جزء واحد من مليون جزء من المتر.

3- الخصائص الايضية

وهي التغيرات الكيميائية التي تحصل في الوسط الزراعي الذي ينمو عليه الكائن مثل انتاج صبغة معينة او غازات او انتاج حوامض او قواعد او انتاج انزيمات معينة خاصة عند تشابه البكتريا من الناحية الشكلية.

نظام API 20

- 1- يتم كتابة رقم العينة المراد اختبارها على حافة الشريط، ثم إضافة 5 مل من الماء المقطر المعقم (sterile distilled water) في قاعدة الشريط لتوفير الرطوبة اللازمة.
- 2- يتم إعداد معلق بكتيري من المزرعة المراد تعريفها بتركيز معلوم .
- 3- تستخدم Plastic pastier pipette لسحب مقدار 1 مل من المعلق ومن ثم ملأ الأنابيب الصغيرة في شريط ال-API، ويتم الملء بوضع مائل مع الانتباه لعدم تكون فقاعات هوائية.
- 4- التركيب الكيميائي لمكونات الخلية.
- 5- الخصائص الوراثية.

مكونات خلايا الاحياء المجهرية حقيقة النواة

وتشمل البروتوزوا و الاشنات و معظم الفطريات اذ تتكون خلاياها من :-

- 1- نواة حقيقية محاطة بغشاء نووي وتحتوي الـ DNA و البروتين وهو الكروموسوم.
 - 2- تحتوي مايتوكوندريا (لها دور في عملية التنفس و انتاج الطاقة).
 - 3- الرايبوسومات فيها نوعين كبيرة و صغيرة (مسؤلة عن تصنيع البروتين).
 - 4- تحتوي البلاستيدات الخضراء (تقوم بعملية التركيب الضوئي).
 - 5- جدار الخلية يتكون اساساً من السليلوز او الكايتين.
- مكونات الاحياء بدائية النواة:-

- 1- المادة الوراثية وتكون غير محاطة بغشاء نووي وتوجد حرة بالسايوبلازم (افتقارها الى النواة الحقيقية).
- 2- خالية من المايتوكوندريا
- 3- خالية من البلاستيدات الخضراء
- 4- الرايبوسومات من النوع الصغير في السايوبلازم
- 5- يحتوي الجدار الخلوي على المركب بيتيدوكلايكان

البكتريا التي تقوم بعملية التركيب الضوئي تحتوي صبغة الفايكوسيانين Cyanobacteria

- البكتريا وهي خلية بدائية النواة لا تحتوي كلوروفيل ما عدا البكتريا سابقة الذكر ابعادها 1 – 6 مايكرون طولاً و 0.2 - 1.5 مايكرون عرضاً

تقسم البكتريا حسب الشكل الخارجي الى :

- 1- البكتريا الكروية Coccus او spherical

وتكون بعدة اشكال منها؛

- مفردة Micrococcus

- ثنائية Dplococcus .

- سلاسل streptococcus .

- رباعية tetracoccus .

- ثمانية sarcina .

- عنقودية staphylococcus .

• 2- عصوية Bacillus او Rhodshaped وتكون اما:

• ثنائية Diplobacillus

• سلاسل streptobacillus

• 3- الشكل الحلزوني Spiralshaped

• تكون صلدة او مرنة تتحرك حركة لولبية بعضها واوية الشكل.

4- البكتريا متعددة الاشكال Pleomorphic:

نتيجة عن تحلل جدار الخلية نتيجة افراز الانزيمات او نتيجة نمو البكتريا في وسط يحوي البنسلين فينتج خلايا عديمة الجدار يطلق عليها اسم protoplast في حالة الخلايا من نوع G+ او Spheroplast في حالة الخلايا G-.

تركيب البكتريا

• اولاً - تراكيب خارجية وتشمل الاسواط والاهداب والعلبة.

• ثانياً - تراكيب داخلية وتشمل الجدار والغشاء الساييتوبلازمي و البلازميد و الابواغ و المادة الوراثيةالخ.

• اولاً - التراكيب الخارجية

• 1- الاسواط flagella وهي تراكيب خيطية تخرج من الجدار الخلوي و تنشئ من جسم حبيبي في الساييتوبلازم هو مسؤل عن الحركة يمكن رؤيته باستعمال صبغات خاصة يتكون من بروتين الفلاجلين flagellin. تفحص حركة البكتريا بطريقة القطرة المعلقة وهو صفة تصنيفية مهمة وثابتة .

تقسم البكتريا حسب عدد وتوزيع الاسواط الى 4 اقسام :-

1- سوط واحد من طرف الخلية monotrichous

2- مجموعة اسواط في طرف واحد للخلية lophotrichous

3- مجموعة اسواط او سوط واحد في كلا الطرفين Amphitrichous

4- اسواط موزعة حول جسم الخلية البكتيرية peritrichous

• ويتكون السوط من ثلاثة اجزاء هي :

• 1- الخيط filament

• 2- الكلاب Hook

• 3- الجزء القاعدي Basal body

الحركة في البكتريا

• - حركة مغزلية سريعة في البكتريا طرفية الاسواط .

• 2- حركة ذات نمط ثابت في البكتريا محيطية الاسواط .

• 3- انتحاء كيميائي Chemotaxic

- 4- حركة انزلاقية تظهر عند نمو البكتريا على وسط صلب.
- 5- حركة ارتعاشية نتيجة وجود الاهداب.

Pili الاهداب:-

- 1- شعيرات عامة generalized pili
 - 2- اهداب او شعيرات خاصة specific pili تفيد في عملية الاقتران.
- تتركب اساساً من بروتين البلين pillin

- فوائدها 1- تساعد في التصاق الخلية البكتيرية على خلية العائل .
- 2- تلعب دوراً في عملية الاقتران.
- 3- تعمل مستقبلات receptors للفيروسات البكتيرية.
- 4- تساعد في التصاق البكتريا الممرضة التي تصيب الامعاء بجدار الامعاء.
- 4- بواسطتها تحدث عملية التصاق البكتريا بكريات الدم الحمراء .

العلبة Capsule

هي مواد لزجة تكون طبقة حافظة او غلاف حول الخلية وتوجد في بعض الخلايا ويعتقد ان لها علاقة بالامراضية . تتكون عادة من مواد سكرية متعددة (الدكستران Dextran).

- اهمية العلبة Capsule
 - 1- تزيد من امراضية البكتريا (مقاومة عملية البلعمة phagocytosis)
 - 2- تساعد في التصاق البكتريا على سطح الخلايا العائلة .
- تحوي بعض انواع البكتريا طبقة بروتينية اسفل العلبة يطلق عليها S_Layer وتكمن اهميتها في :
- 1- المحافظة على شكل الخلية البكتيرية.
 - 2- حماية الخلية البكتيرية من فعل الانزيمات الحالة او الفيروسات البكتيرية .
 - 3- تساعد في الالتصاق على سطح العائل.

3/م

التراكيب الداخلية للبكتريا:-

- الجدار الخلوي cell wall: وهي الطبقة المحصورة بين العلبة capsule والغشاء البلازمي سمكه يتراوح بين 10-25 نانومتر ويمثل الجدار الخلوي جزءاً مهماً من الوزن الجاف للخلية البكتيرية قد يصل الى 10-40% . ويعد الجدار الخلوي مهماً للنمو والانقسام اذ لوحظ ان الخلية الفاقدة للجدار او متزوعة الجدار تفقد قدرتها على النمو والانقسام .

لوحظ وجود مركبات غير اعتيادية في تركيب الجدار الخلوي مثل :-

1- حامض داي امينو بميليك Diamino pimelic acid

2- حامض مورامك Muramic acid

3- حامض تيكويك Teichoic acid

4- بعض الاحماض الامينية وتكون اكثر من البكتريا من نوع G- مقارنة بالبكتريا من نوع G+

5- مركب Peptidoglycan ببتييدوكلايكان (سكريات و بروتين)وهي مركب غير ذائب الذي يمثل الجزء الكبير والاساسي في البكتريا من نوع G+ وبكمية اقل بكثير في جدار البكتريا من نوع G-

6- مركب Lipopolysaccharides لليبويولي سكريايد (دهون وسكريات متعددة) وهي المكون الاساسي لجدار خلايا البكتريا من نوع G- وهي الذي يحدد السمية والحساسية للاصابة بالفيرسات البكتيرية وهو الذي يحدد الانتيجينية ويطلق عليه endotoxin

الغشاء السايٲوبلازمي

يتكون اساسا من فوسفوليبيد Phospholipids وبروتينات سمكه حوالي 7.5 نانومتر ويكون شبه نفاذ ينظم مرور المواد والعناصر الغذائية من والى السايٲوبلازم ويؤدي تحطيم الغشاء البلازمي الى موت الخلية ، اذ تفقد الخلية صفة السيطرة على دخول وخروج المواد الغذائية وبذلك تفقد الخلية المواد الحية الى الخارج . يلاحظ ايضا وجود انبعاجات ملتوية في الغشاء البلازمي وهي تراكيب متخصصة يطلق عليها ميزوسوم Mesosome واضحة في بكتريا G+ وغير واضحة في G- وتكمن اهميتها في زيادة المساحة السطحية للغشاء البلازمي ويعتقد انها تلعب دورا في الانقسام الخلوي .

وظائف الغشاء البلازمي:-

1- النفاذية الاختيارية.

2- افراز انزيمات محللة .

3- انتقال الالكترونات في عملية الفسفرة التاكسدية .

4- يحوي على المستقبلات والبروتينات .

5- يحوي الانزيمات والجزينات التي تساهم في تخليق DNA والجدار الخلوي والمواد الدهنية للغشاء.

3- البلازميد Plasmid

تحتوي الخلية البكتيرية واحد او اكثر من جزيئات DNA دائرية تقع خارج الكروموسوم تحوي معلومات خاصة محددة مثل انتاج مضادات حيوية مقاومة للسموم والتزاوج او تحمل صفة معينة مثل تخمر الحليب

4- الابواغ spores

تمتلك بعض الانواع البكتيرية المقدرة على تحويل نفسها الى خلايا ساكنة تقاوم الظروف الغير ملائمة وتكوين ذات اشكال كروية او بيضوية ولها القابلية على الانبات والتحول الى خلية خضرية عند توفر الظروف الملائمة. والابواغ على نوعين :-

1- ابواغ داخلية Endo spores

2- ابواغ خارجية Exospore

ولتحول البوغ الى خلية خضرية يجب

1- حدوث عملية تنشيط Activation وتحدث عادة بالحرارة

2- حدوث انبات germination للبوغ المنشط ويتحول الى خلية خضرية

خطوات تكوين البوغ الداخلي :

1- تتجمع خيوط الـ DNA في الخلية ثم يحدث انبعاج في واحد طرفي الخلية فيتكون مايسمى بالبوغ الاولي .

2- تتكون طبقة تحيط بالبوغ الاولي تسمى قشرة البوغ Spore cortex.

3- تتكون طبقة حول القشرة تسمى غطاء البوغ spore coat.

4- تتحلل الخلية الام ويتحرر البوغ.

مواقع البوغ الداخلي في الخلية البكتيرية : قد يكون البوغ في

1- مركز الخلية central

2- طرفي terminal

3- شبه طرفي sub terminal

قطر البوغ قد يماثل قطر الخلية او قد يكون اكبر مسببا انتفاخ الخلية . الابواغ عادة مقاومة للجفاف و المطهرات الكيماوية والحرارة .

تركيبه الكيمايائي

- يحتوي البوغ الداخلي على كميات كبيرة من حامض ديبيكولنك (DPA) dipicolinic acid في حين ان هذا المركب غير موجود في الخلية الخضرية ويمثل 10%-5من الوزن الجاف للبوغ .

2- يحوي البوغ على كمية عالية من ايونات الكالسيوم Ca^{+2} ويعتقد انه يرتبط بالحامض DPA وكلاهما يرتبطان مع المركب Peptidoglycan مكونا معقد وهو:

• Ca^{+2} _ dipicolonic acid _ Peptidoglycan

• مكونا غلاف البوغ ويعزى لهذا المعقد قابلية مقاومة البوغ للظروف القاسية.

-الجسم الوسطي Mesosome

• يظهر بشكل انبعاثات متصلة بالغشاء الساييتوبلازمي ويختفي عند ازالة الجدار الخلوي . ومن وظائفه:-

• 1 مركز لتنفس الخلية .

• 2- يشترك في تكوين الجدار العرضي اثناء الانشطار.

• 3- توزيع المادة النووية على شطري الخلية المنقسمة .

بعض البكتريا لا تمتلك هذا التركيب .

الساييتوبلازم

يحتوي على التراكيب الاتية:-

1- الرايبوسومات مراكز لتصنيع البروتين

2- حبيبات خازنة للمواد الغذائية

3- محلول الساييتوبلازم ويتكون من مواد عديدة ومعقدة مثل بعض الايونات مثل H_2 , Cl , Na والفوسفات وحوامض امينية وبيروتينات وقواعد نتروجينية وفيتامينات ودهون وسكريات

المادة الوراثية

• لا تحاط بغشاء وهي كتلة ليفية غير منتظمة تحنل حوالي نصف الى ثلثي حجم الساييتوبلازم خالية من الهستونات ، وتظهر تحت المجهر الالكتروني بشكل خيط طويل يصل 1400 مايكرومتر مرن حلقي او دائري من مادة DNA ويدعى بالكروموسوم البكتيري.