علم الأحياء الدقيقة/١/

منشورات وزارة التعليم العالي
جامعة البعث
المعهد التقاني للطب البيطري

علم الأحياء الدقيقة/١/

- Microbiology-1

تأليف

الدكتور
نـــــا جح هبـــــــــره
أستاذ مساعد في قسم الأحياء الدقيقة

الدكتور
محمد رامـــــي المنصـــــور
مدرس في المعهد التقاني للطب البيطري

لطلاب السنة الأولى
في المعهد التقاني للطب البيطري

مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية
١٤٢٣هـ - ٢٠١١م

الفهـــــــــــــــرس

الجزء النظري

المواضيع	الصفحة
الفصل الأول: الأحياء الدقيقة	**١٣**
– تعريف علم الأحياء الدقيقة	١٣
– علاقة علم الأحياء الدقيقة بالعلوم الطبية الأخرى	١٣
– تصنيف الأحياء الدقيقة	١٤
الفصل الثاني: الجراثيم	**١٧**
– الخواص العامة للجراثيم	١٧
– حجم الجراثيم وأبعاده	١٧
– أشكال الخلايا الجرثومية	١٧
– بنية الخلية الجرثومية	٢١
– التركيب الكيميائي للخلية الجرثومية	٢٩
– تنفس الجراثيم	٣٥
– عوامل النمو	٣٦
– الصفات الوراثية عند الجراثيم	٣٩
– تكاثر الجراثيم	٤٥
الفصل الثالث: الخمج الجرثومي	**٤٩**
– تعريف الخمج الجرثومي	٤٩
– فوعة الجراثيم	٥٥
– آلية تاثير الجراثيم	٥٩
الفصل الرابع: الصادات الحيوية	**٦٣**
– تعريف الصادة الحيوية	٦٣
– آلية التأثيرات المختلفة للصادات الحيوية في الجراثيم	٦٣

– أنواع تأثير الصادة الحيوية على الجراثيم	٦٦
– اختبار تحسس الجراثيم بالصادات الحيوية	٦٧
الفصل الخامس : المناعة	**٦٩**
– الآلية الدفاعية الطبيعية غير النوعية	٧١
– الآلية الدفاعية المناعية النوعية	٧٥
– أنواع المناعة	٧٧
– المستضدات	٧٩
– الأضداد	٨٣
– اللقاحات والمصول	٨٩
الفصل السادس: الحمّات	**٩٣**
– الصفات العامة للحمّات	٩٣
– التركيب الكيمائي للحمّات	٩٥
– بنية الحمّات	٩٧
– تكاثر الحمّات	٩٩
– طرائق استنبات الحمّات	١٠٩
– تأثير العوامل الفيزيائية والكيميائية على الحمّات	١١٥
– المعاجة الكيميائية المضادة للحمّات	١١٩
–الطرق المستخدمة في دراسة الحمّات	١٢٠
الفصل السابع: الفطور	**١٢٥**
– الصفات العامة للفطور	١٢٥
– الخلية الفطرية	١٢٧
– فيزيولوجيا الفطور	١٢٧
– تكاثر الفطور	١٢٢
– أنماط الفطور	١٣١
– قواعد التشخيص المخبري للفطور	١٣٤
– معالجة الفطور	١٣٤

الجزء العملي

المواضيع | الصفحة

المواضيع	الصفحة
الجلسة الأولى	١٣٩
- مخبر الجراثيم	
الجلسة الثانية:	١٤٥
- قواعد العمل في مخبر الأحياء الدقيقة	
-الإسعافات الأولية في مخبر الأحياء الدقيقة	
الجلسة الثالثة:	١٤٩
- التعقيم والتطهير	
الجلسة الرابعة:	١٦١
- العينات الجرثومية	
الجلسة الخامسة:	١٦٧
- تحضير الاوساط الجرثومية	
الجلسة السادسة:	١٧٩
- طرائق زرع الجراثيم وعزلها	
الجلسة السابعة :	١٨٩
- اختبار تحسس الجراثيم للصادات الحيوية	
الجلسة الثامنة:	١٩٣
- المجهر	
- الفحص المجهري للجراثيم غير المصبوغة	
الجلسة التاسعة:	١٩٧
- الصبغات الجرثومية	
- الفحص المجهري للجراثيم المصبوغة	
الجلسة العاشرة:	٢٠٩

- الاختبارات الكيمياحيوية
الجلسة الحادية عشر: ٢٢٣
- الاختبارات المصلية
الجلسة الثانية عشر: ٢٣١
- الاختبارات الحيوية (حقن حيوانات التجارب)
الجلسة الثالثة عشر: ٢٣٥
- مبادئ تشخيص الحمّات
الجلسة الرابعة عشر: ٢٤٥
- مبادئ تشخيص الفطور

مقدمـــــــــــــة

الأحياء الدقيقة كانت ومازالت مصدراً يهددحياة الإنسان والحيوان والنبــات الأمر الذي دفع الباحثين عبرالعقود السابقة ومازالوا يحاولون إلى دراسة ماهيتها وتتبع خواصها وتفاصيل دقيقة تخص نموها وتكاثرها، آملين التوصل إلى حلول علمية وعملية للتغلب على آثارها المؤذية للأحياء على وجه الأرض والاكتشافات العلمية تــبين أن الأحياء الدقيقة في حالة تطور مستمر إما على شكل عترات جديدة، أو على شـــكل أنواع و أنماط جديدة، تترك الآثار المؤذية والضارة نفسها أو ربما أشد من ســـابقاتها لذلك فإن البحث في مجال الأحياء الدقيقة هو بحث مستمر واكتشافات يومية جديدة وقد بدأ نشوء علم الأحياء الدقيقة عملياً مع تطور صناعة العدسات المكبرة مع تطور علم الفيزياء خلال القرن السابع عشر عندما صنع العالم أنطوني هوك المجهر، حيــث لاحظ بواسطة مجهره مجموعة من الأحياء المجهرية ذات أشكال متعددة، إلى أن جـــاء العالم باستور في القرن التاسع عشر باكتشاف جديد في علم الأحياء الدقيقة، ابتداءً من حوادث التخمر بسبب الأحياء الدقيقة التي تفرز بعض الخمائر، ووضــع نظريتـــه في التخمر الكحولي، وأتبعها بالنظرية الجرثومية في الخمج، وقدم الكثير عن اللقاحـــات الجرثومية، إلى ان جاء بعده العالم روبرت كوخ في النصف الثاني من القرن التاســـع عشر واكتشف العامل المسبب لمرض الكوليرا (الهيضة) عند الإنسان ووضع نظريـــة الجراثيم الممرضة، وحضر خلاصة السلين من العترات النقية لجراثيم الســـل في العـــام ١٨٩٠ ، والمستخدمة حتى وقتنا الحاضر في تشخيص مرض السل في الإنسان والحيوان، وكان علم الأحياء الدقيقة قد تطور بشكل ملحوظ عندما اكتشف العـــالم الروســـي (غاما ليجا)١٨٨٦ الحمّات. وفي عام ١٩٢٩ اكتشف العالم فليمنج الصادات الحيوية التي تفرزها بعض أنواع الجراثيم لتقضي على الجراثيم المصاحبة، واستخرج فليمـــنج البنسلين من فطر العفن الأبيض. وتوالت بعدها الاكتشافات المتعلقة بالصادات الحيوية وتحضيرها واستعمالها في معالجة الأمراض الجرثومية على يدالعالم دوماك.

المؤلـــــــــــــفان

الجزء النظري

Theoretical part

الفصل الأول

علم الأحياء الدقيقة Microbiology

أولاً: تعريف علم الأحياء الدقيقة

هو العلم الذي يدرس الأحياء المجهرية التي لاترى بالعين المجردة ولا يمكن دراستها إلا تحت المجهر، ومنها الأوالي والفطور والجراثيم والحمّات.

ثانياً: علاقة علم الأحياء الدقيقة بالعلوم الطبية الآخرى

علم الأحياء الدقيقة وما يتضمنه من التعرف على تفاصيل مهمة عن المسببات المرضية، أنواعها، أشكالها، بنيتها، تغذيتها، تكاثرها، وبيئاتها يفيدنا في الكثير من العلوم الأخرى مثل: علم الوبائيات وكيفية السيطرة والتحكم بالأمراض، وخاصة الأمراض الجرثومية والحموية شديدة الانتشار،كما أن علم الأحياء الدقيقة يرتبط ارتباطاً وثيقاً بعلوم الأدوية والصيدلة من خلال التعرف على الأدوية والصادات المستخدمة في مجال معالجة الأمراض الجرثومية أو في تحضير اللقاحات والمصول للوقاية من الأمراض الجرثومية والحموية.

كذلك فإن علم التشريح المرضي يدلنا على طرق الحصول على العينات المرضية وكيفية التعامل معها للحصول على أدق النتائج التشخيصية للعوامل الممرضة من الأحياء الدقيقة، إذ إن التشريح المرضي يعطينا فكرة مبدئية عن التغيرات التي تحدث في الأنسجة بسبب عامل ممرض معين، وعلم الأحياء الدقيقة يؤكد هذا العامل الممرض أو ينفيه من خلال الاختبارات التشخيصية في المخبر.

ثالثاً: تصنيف الأحياء الدقيقة

قسمت الأحياء الدقيقة إلى مجموعتين:

المجموعة الأولى: وتضم الأحياء الدقيقة **حقيقية النواة** : Eucaryotes

وتضم الطحالب والفطريات المخاطية والأوليات.

المجموعة الثانية: مجموعة الأحياء الدقيقة **بدائية النواة**: procarytes

وتضم الجراثيم والفطور والريكتسيا والحمّات.

بعد ذلك ظهرت تقسيمات جديدة، وعدت المجموعة الثانية مملكة الخلايا بدائية النواة الوحيدة وهي تتميز بما يلي:

خلايا وحيدة أو خلايا وحيدة متصلة مع بعضها بروابط بسيطة، النواة البدائية غير مفصولة عن الهيولى بغشاء نووي، وغير متصلة مع البروتينات القاعدية، ولا تعطي أشكالاً مغزلية، يمكن لهذه الخلايا أن تكون متحركة بواسطة سياط، أو متحركة بحركة حلزونية، أوغير متحركة، وقادرة على نقل العوامل الوراثية والتأشيب، وتنتمي إلى هذه المملكة (الخلايا بدائية النواة الوحيدة) أربع مجموعات:

١ – جراثيم وحيدة الخلية: بدائية النواة ذات جدار خارجي واحد معقد، سلبية الغرام، غير متبوغة، تنمو بظروف لاهوائية مخيرة، بعضها يعتمد في تغذيته على غيره، وبعضها الآخر على التربة أو على الضوء.

٢- جراثيم ذات جدار خلوي بسيط: يتكون من ثلاث طبقات، وهي إيجابية الغرام يمكنها أن تشكل أبواغ وتنمو في ظروف هوائية مخير، ة أو لاهوائية مجبرة أو مخيرة ،وتعتمد في تغذيتها على الآخر.

٣- جراثيم لا تمتلك جدار خلية جرثومية: وإنما تحاط فقط بغشاء هيولي لذلك تكون أبعادها متغيرة، وليس لها أشكال ثابتة، وتحتاج لنموها إلى منابت غذائية معقدة وتظهر مقاومة شديدة للصادات، مثل الميكوبلازما.

٤- مجموعة الأحياء الدقيقة ذات التطور السلالي المتقدم، بعضها يملك جدار خليــــة، ولكنها تفتقد إلى حمض المورامين والببتيدوغليكان وبعضها إيجابي الغرام، بعضــــها الأخر سلبي الغرام، تنتظم بأشكال مختلفة وهي لاهوائية مجبرة محكمـــة، بعضــــها متحرك ولاتشكل أبواغاً.

وبشكل عام صنفت الجراثيم الى ثلاثة وثلاثين مجموعة حسب تقسيمات العالم برجي Bergey; 1986، ومازالت تتبع حتى وقتنا الحالي، وسوف تتم دراســـة كـــل مجموعة على حدة في مقرر علم الأحياءالدقيقة (٢) .

الفصل الثاني

الجراثيـــــــم Bacteria

أولاً: تعريف الجراثيم:

عبارة عن أحياء مجهرية بدائية النواة تعيش في المياه والتربة والفجوات الطبيعيـــة وعلى سطح الجلد والأغشية المخاطية. وهي كائنات حية وحيدة الخلية لها نواة بدائية لايحيط بها غلاف نووي ولا تحتوي على شبكة هيولية ولا متقدارات، تتحرك بواسطة أهداب أو سياط أو غير متحركة تتكاثر بالانقسام أو التبرعم.

ثانياً : حجم الخلية الجرثومية وأبعادها

تقاس الجراثيم بوحدة قياس تسمى الميكرون وهو مايعادل ١/١٠٠٠ ملمتر ويستخدم المجهر الضوئي لتوضيحها بقوة تكبير لاتقل عن مئة مرة بواسطة العدسة الزيتيةالغاطسة وتختلف أبعاد الجراثيم حسب شكلها :

فالشكل المكور له بعد واحد (القطر) يتراوح مابين ٠.٣-١ ميكرون.

أما الشكل العصوي فله بعدين، العرض عند أصغرها ٠.١ ميكرون وفي أقصاه يبلغ ٢ ميكرون، والطول يتراوح بين ٠.٥-١٠ ميكرون.

ثالثاً: أشكال الخلايا الجرثومية

تقسم الجراثيم إلى ثلاثة أشكال:

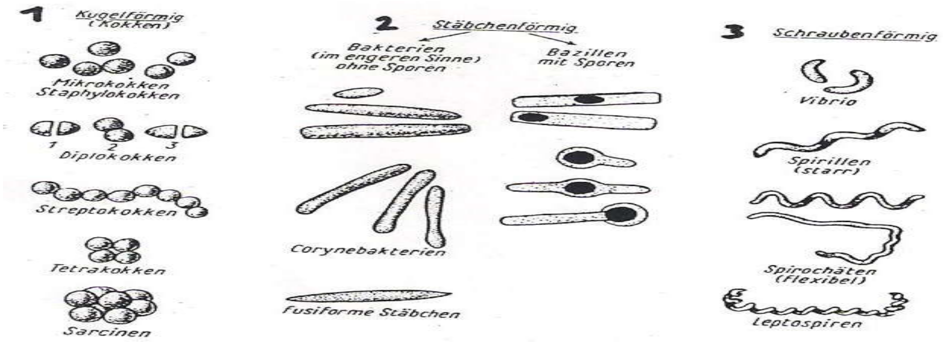
١- الشكل المكور أو المكورات: **Cocci**

٢- الشكل العصواني أو العصيات: Bacilli

٣- الملتويات: Spirali

١ً – **المكورات** : Cocci

ذات أشكال مدور أو بيضوي، ينتظم في تجمعات مختلفة وتسمى المكورات حسب انتظامها، فمنها المكورات العنقودية التي تنتظم على شكل عنقود العنب مثل المكورات العنقودية الذهبية، والعقديات التي تنتظم على شكل العقد أو السبحة مثل المكورات العقدية أو السبحية ويتألف كل عقد من ١٥–٥٠ مكورة مثل العقدية الأجلكتية، وبعضها الأخر منها ينتظم على شكل ثنائيات تشبه حبة البن مثل المكورات الرئوية المزدوجة، أو رباعيات تأخذ شكل رباعي مثل مكورات جافيكا. والمكورات الرزمية حيث تجتمع على شكل رزمة مربعة الشكل مثل الرزمية الصفراء.



شكل رقم (١) الأشكال المختلفة للجراثي

١- مكورات ٢- عصيات ٣- ملتويات

٢ً – **العصيات** : Bacilli

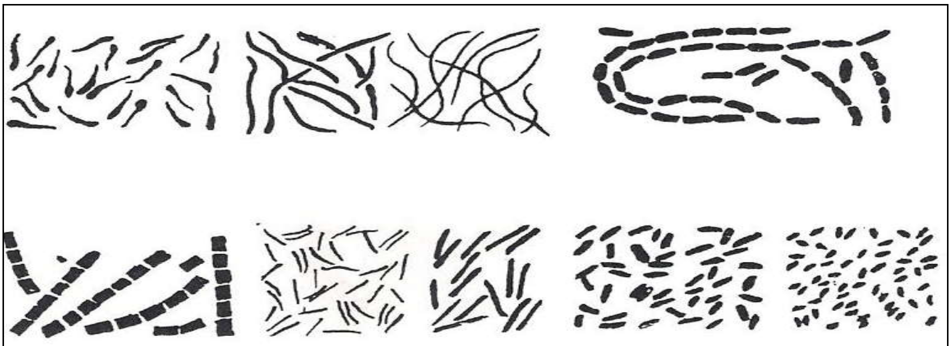
تبدو على شكل عصوي مستقيم، بعضها ذات نهايات مقطوعة مثل العصوية الجمرية وبعضها الآخر ذو نهايات مستديرة كما هو الحال عند عصيات القولون والباستوريلا أو أن تكون مدببة من طرف واحد مثل العصيات الوتدية، أو مدببة من الطرفين مثل العصيات المغزلية. تنتظم العصيات بعدة أشكال الشكل المفرد مثل العصيات القولونية، أو مزدوج مثل الكبيسيلا، أو بشكل خيطي كالعصوية الجمرية، أو أنها تتجمع على شكل الأحرف الصينية مثل الوتديات، أو بشكل الريشة مثل جراثيم السل، أو تتجمع كالدبابيس مثل المطثية الكزازية.

٣ً - **الملتويات** :Spiral

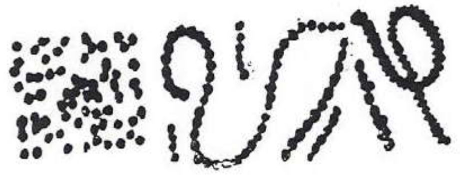
منها مايأخذ شكل الفاصلة أو حرف واو مثل الضمات (الهيضة)، أو شكل مقوس كعصيات المقوسة الجنينية) ومنها الحلزونيات غير الممرضة s، و الحلزونيات التي تأخذ شكل الحرف، واللوبيات التي تأخذ شكل النابض، أو اللولب بلفات حلزونية ثابتة وقاسية مثل لولبيات الطيور، أو لفات حلزونية لينة مثل البريميات.

ومن الجدير بالذكر أن الاشكال السابقة قابلة للتغيير عند بعض الجراثيم تبعاً للظروف البيئية المحيطة بالجراثيم من حرارة وحموضة ونقص المواد الغذائية وعمر المستعمرات الجرثومية مثل:

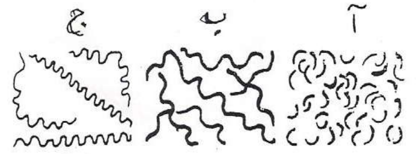
الزائفة الزنجارية التي تبدو على شكل خيطي طويل في المستعمرات القديمة.



شكل وانتظام العصيات .



أشكال المكورات وانتظامها .



شكل وانتظام الملتويات .

شكل رقم (٢) انتظام الجراثيم

رابعاً: بنية الخلية الجرثومية

تتألف الخلية الجرثومية من الخارج إلى الداخل ممايلي:

١-المحفظة (عند الجراثيم المتمحفظة)	Caqsule
٢-الجدار الخلوي الجرثومي	Bacterial wall
٣-الغشاء الهيولي	Cytoplsmic membrane
٤- السياط	Flagella
٥- الخمل	Fimbrae
٦- الهيولي	Cytoplasm
٧- المادة النووية	Nuclear bodies
٨- الأبواغ :	Spores

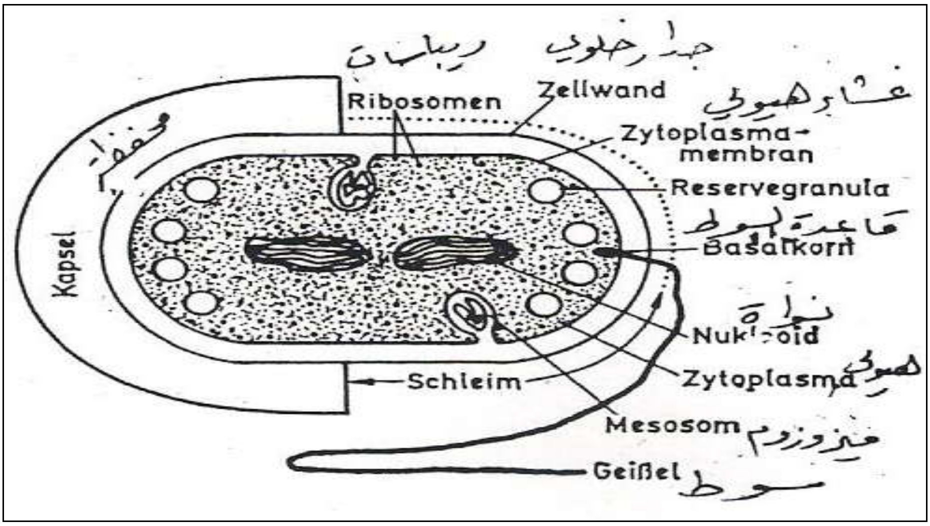
وتعد المحفظة والجدار الخلوي الجرثومي والغلاف الهيولي والسياط هي أقسام الجزء الخارجي للخلية الجرثومية، والهيولي والمادة النووية المحتوى الداخلي للخلية الجرثومية.

١ً - المحفظة:

وهي موجودة عند بعض أنواع الجراثيم، وهي طبقة هلامية رقيقة أو سميكة تتكون من عديدات السكريد، ماعدا العصوية الجمرية التي تتكون عندها من حمض الجلوتامين. وهي ملاصقة للجدار الخلوي الجرثومي، وتلعب دوراً هاماً في حياة الخلية الجرثومية فهي ذات خواص مستضدية ولها دور هام في حماية الجرثوم من عمليات البلعمة ،التي تقوم بها الخلايا البالعة وكذلك فهي تحمي الجراثيم من تأثير المواد الضارة والقاتلة ومن تأثير الصادات الحيوية داخل جسم الثوي فالمحفظة تزيد من فوعة الجرثوم. تنصبغ المحفظة بملونات خاصة مثل صبغة أزرق المتيلين المتعدد.

٢ً - جدار الخلية الجرثومية:

يتوضع الجدار الخلوي الجرثومي بين المحفظة والغشاء الهيولي وهو سميك نسبياً /١٠-٢٠/ميلي ميكرون،نصف نفوذ يتميز ببعض الصلابة فهو يعطي الخلية الجرثومية شكلها المميز ويختلف تركيبه فهو معقد عند الجراثيم سلبية الغرام ومؤلف من ثلاث طبقات هي طبقة ببتيدية مخاطية، وطبقة شحمية سكرية، وطبقة شحمية بروتينية خارجية. أما عند الجراثيم إيجابية الغرام فمؤلف من طبقة واحدة هي طبقة الشحوم المخاطية. وهذا ما يفسر تقبل صبغة غرام عند معاملة المسحة الجرثومية بالكحول.



شكل رقم (٣) بنية الخلية الجرثومية

أما وظائف الجدار الخلوي الجرثومي فهي:

١- يحدد الشكل الخارجي للجرثوم ويميزها بين مكورات وعصيات وضمات ولولبيات....الخ

٢- يلعب دوراً في تصنيف الجراثيم حسب قابليتها لصبغة غرام إلى مجموعتين إيجابية وسلبية الغرام.

٣- يلعب دوراً في المناعة فهو مسؤول عن التركيب المستضدي لكل نوع من الأنماط الجرثومية.

٤- له دور في تثبيت عاثيات الجراثيم التي تتكاثر داخل الخلية الجرثومية.

٥- عند بعض الجراثيم يكون سبباً لحركة الجراثيم من خلال انقباضاته.

٣ً - الغشاء الهيولي:

يتوضع تحت الجدار الخلوي الجرثومي، وهو مرتبط ارتباطاً وثيقاً مع الهيولى الجرثومية، ويمكن أن يمتد إلى داخل الهيولى على شكل استطالات مستديرة تدعى بالميزوزوم لها وظائف أنزيمية.

وظائف الغشاء الهيولي:

١- يحافظ على الضغط الأوزموزي داخل الخلية الجرثومية فهو غشاء نفوذ اصطفائي.

٢- إفراز العديد من الأنظيمات الضرورية لعمليات الاستقلاب الأساسية.

٣- يمتلك خواص مستضدية متعددة.

٤ً - السياط:

عبارة عن استطالات خيطية رفيعة وطويلة يتراوح طولها من ٣-١٢ ميكروناً تنشأ من هيولى الخلية وتبدأ من قاعدة السوط في محيط الهيولى الجرثومية وهي مسؤولة عن حركة الجراثيم فهي أعضاء الحركة عند الجراثيم المتحركة بهذه الطريقة.

تتركب كيميائياً من بروتين الميوسين "الفلاجلين" المميز لتركيب السوط عن باقي أجزاء الخلية الجرثومية مما يعطي خصوصية للمستضد الخاص به.

وحسب توضع السياط على محيط الخلية الجرثومية تصنف الجراثيم على خمسة أنواع:

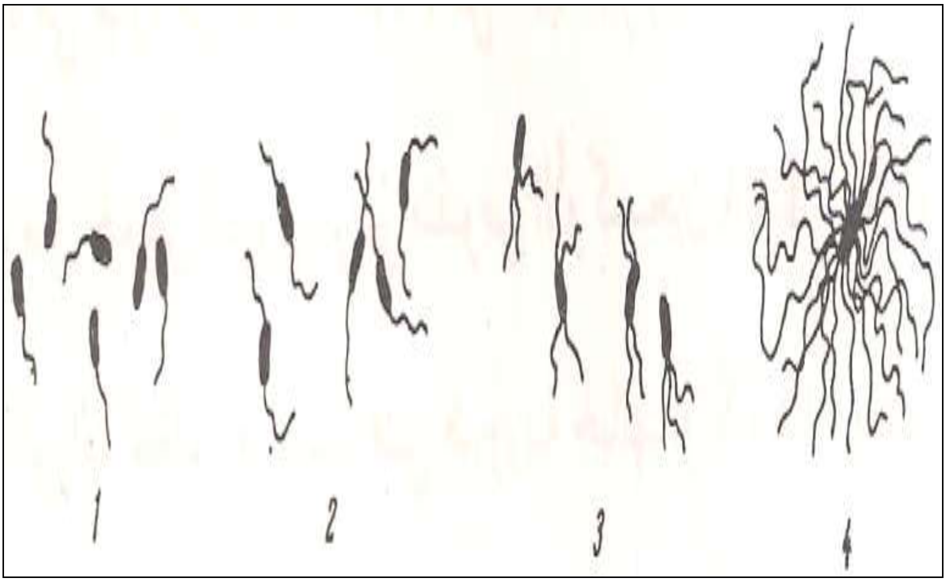
١- وحيدة السوط: وهي جراثيم تمتاز بوجود سوط واحد فقط ويتوضع في أحد أقطاب الجرثوم مثل ضمات الهيضة.

٢- متقابلة السياط: تمتاز بوجود سوط أو أكثر في كل من القطبين .

٣- عفرية السياط: تمتاز بوجود عدة أسياط في أحد أقطاب الخلية الجرثومية مثل الزائفة الزنجارية.

٤- محيطية السياط: حيث تحيط السياط بكامل جسم الخلية الجرثومية مثل الايشريكية القولونية والسالمونيلا المتحركة.

٥- عديمة السياط: وهي خلايا جرثومية ليس لها أي سوط مثل المكورات والشجيلا.



شكل رقم (٤) أشكال وانظام السياط

٥ً- الخمل أو الأشعار:

وهي أصغر من السياط، ولا يمكن رؤيتها إلا بالمجهر الإلكتروني، وليس لها أي دور في حركة الجراثيم، وتتواجد في الجراثيم سلبية الغرام، وبعض الجراثيم إيجابية الغرام، وتتوزع على كامل سطح الخلية الجرثومية وتلعب دوراً هاماً في التزاوج الجنسي عند بعض الجراثيم، وتشارك في عملية تثبيت الجراثيم في تفاعلات التراص الدموي.

٦ً - الهيولى:

تحاط الهيولى بالغشاء الهيولي، وتتكون من مواد بروتينية غير متبلورة، وتتركب بشكل أساسي من الحمض النووي الريبي، ويلاحظ فيهـــا وجـــود فجـــوات تعـــد مستودعات الخلية الجرثومية بالإضافة إلى أنماط من الحبيات مثل الريباسات والحبيبات الصبغية والحبيبات القاعدية والميتاكروم في قطبي الخلية الجرثوميةالتي تتلون بالملونـــات الميتاكروماتية مثل أزرق الميتلين والتي لها دور هام في الاستقلاب عند الجراثيم الهوائية. كما تحتوي على حبيبات ميتاكوندرية عند الجراثيم المقاومة للأحماض، ولها خـــواص إرجاعية ومؤكسدة مشابهة وظيفياً للحبيبات الميتاكوندرية في الخلايا النباتية والحيوانية.

٧ً - المادة النووية "النواة البدائية" :

وهي عبارة عن ألياف أسطوانية ملتوية مزدوجة، تتجمع على شكل شبه نواة، تتركب أساساً من الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجينDNA وهي تقوم بوظـــائف النواة الحقيقية وخاصة الوظائف الوراثية وانتقال الصفات الوراثية أثناء عملية الانقسام والتكاثر.

٨ً - الأبواغ:

تتشكل الأبواغ الداخلية عند بعض الجراثيم كرد فعل على التغيرات البيئيـــة المحيطـــة بالجراثيم حيث تكون ظروف الاستمرار بالنمو والتكاثر صعبة لذلك تعـــد مرحلـــة التبوغ ونشوء الأبواغ الداخلية هي مرحلة سكون للجراثيم حيث تتميـــز الأبـــواغ .بمقاومتها للظروف البيئية غير الملائمة للنمو ويمكن لها أن تبقى في حالة السكون هذه لعدة سنوات، في أسوأ الظروف الحياتية فهي مقاومة للحرارة والجفـــاف والأشـــعة والعوامل الفيزيائية والكيميائية كما أنها تحتوي على خلاصة جميع العناصـــر الوراثيـــة لتلك الجراثيم التي تشكلت منها، فهي قادرة على الإنتاش في الظروف المناسبة وإعطاء جرثوم مطابق للأصل.

أنماط الحركة الجرثومية:

تختلف حركة الجراثيم من نوع لآخر وتقسم إلى ثلاثة أنماط:

١- الحركة بواسطة السياط:

وتحدث نتيجة تذبذب السياط في حركة متموجة وسريعة تدفع بالجراثيم إلى الأمام مع إمكانية تغيير الاتجاه في هذه الحركة مثل (ضمات الهيضة، السالمونيلا).

٢- الحركة بانقباض جدار الخلية الجرثومية:

حيث تتحرك الجراثيم نتيجة انقباضات سريعة في جدار الخلية الجرثومية يؤدي إلى حركة سريعة وشديدة لولبية وباتجاه الأمام.

٣- الحركة البروانية:

وهي حركة تذبذبية بندولية، وليس فيها أي تغير لمكان الجرثوم فهي حركة كاذبة وتتم على شكل اهتزازات في الأوساط السائلة (المكورات).

عوامل التبوغ الداخلي:

بعض الجراثيم تلجأ إلى التبوغ الداخلي بسبب الكثير من العوامل الخارجية البيئية نذكر منها:

١- النقص في المواد الغذائية الأساسية، أو استهلاك هذه المواد في البيئات الجرثومية بعد وقت طويل على الزرع.

٢- شدة الجفاف في البيئة والوسط التي تعيش فيه الجراثيم.

٣- التغير الشديد في درجة الحموضة في البيئات السائلة نتيجة زيادة تركيب الأحماض الناتجة عن عمليات الاستقلاب.

٤- زيادة كمية الأوكسجين عند الجراثيم اللاهوائية مثل المطثيات أو انعدام الأوكسجين عند الجراثيم الهوائية.

٥- وجود مؤثرات فيزيائية أو كيميائية ضارة أو قاتلة مثل ارتفاع أو انخفاض الحرارة، أو وجودة الصادات الحيوية، أو المطهرات في الوسط المحيط.

بنية الأبواغ الداخلية (آلية شكل البوغ) :

الأبواغ هي هيولى الخلية الجرثومية مكثفة فقدت كمية كبيرة من الماء متجمعة في مكان معين في داخل الخلية الجرثومية تحتوي على المادة النووية محاطة بغشاء سميك وكثيف شديد المقاومة للظروف البيئية الخارجية المحيطة وبعد مرور الوقت يتلاشى ماتبقى من جسم الخلية الجرثومية ولايبقى إلا البوغ.

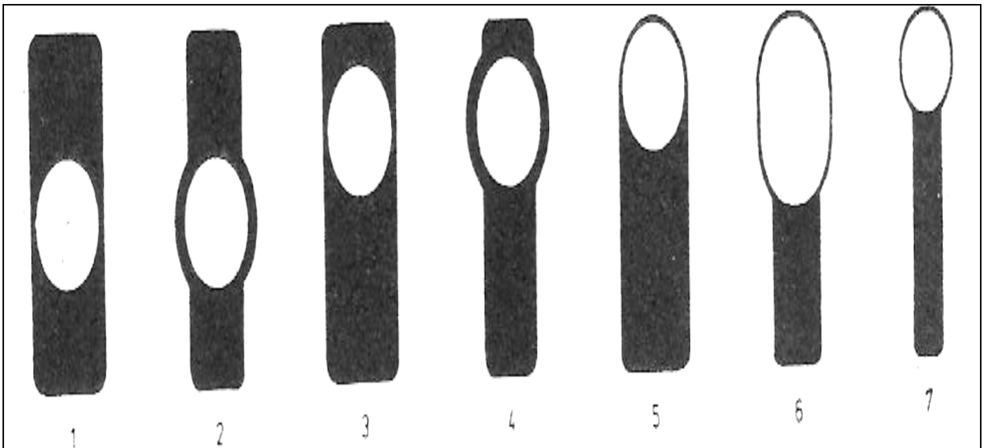
تستخدم صبغات خاصة لتلوين الأبواغ وإظهارها مثل صبغة راكت حيث تتلون الأبواغ باللون الأخضر وتأخذ باقي العصية اللون الأحمر.

وحسب توضع الأبواغ الداخلية داخل الخلية الجرثومية نميز ثلاثة أنواع هي:

١- أبواغ ذات توضع مركزي: حيث يتوضع البوغ وسط العصية كما هو الحال في العصوية الجمرية.

٢- أبواغ ذات توضع جانبي أو تحت نهائي: مثل مطثية التسمم الوشيقي.

٣- أبواغ ذات توضع نهائي: وتلاحظ عند المطثية الكزازية.



شكل رقم (٥) أشكال وتوضع الأبواغ داخل الخلية الجرثومية:

١- توضع مركزي بدون تشوه في شكل الخلية الجرثومية٢- توضع مركزي مع تشوه في شكل الخلية الجرثومية

٣- توضع تحت نهائي بدون تشوه في شكل الخلية الجرثومية٤- توضع تحت نهائي مع تشوه في شكل الخلية الجرثومية

٥- توضع نهائي بدون تشوه في شكل الخلية الجرثومية٦-٧- توضع نهائي مع تشوه في شكل الخلية الجرثومية

وعلى حسب نوع الجرثوم يختلف قطر البوغ الداخلي إلى نوعين:

١-أبواغ متماثلة القطر: وفي هذه الحالة يكون قطر البوغ مماثلاً لقطر الجرثومة الأم، ويغير من شكل الجرثومة مثل العصية الجمرية.

٢- أبواغ متزايدة القطر: حيث يكون قطر البوغ أكبر من عرض العصية لذلك فهو يشوه شكل العصية وحسب مكان توضعه فإذا كان في الوسط ظهرت العصية على شكل الليمونة مثل المطثية الحاطمة.

خامساً: التركيب الكيميائي للخلية الجرثومية

تشبه الخلية الجرثومية في تركيبها الكيميائي بقية خلايا الكائنات الحية الأخرى فهي تحوي على:

١-الماء.

٢- المواد المعدنية.

٣- المواد العضوية:

آ- مواد تكوينية :(البروتينات- الأحماض النووية- السكاكر- الشحميات).

ب- مواد وظيفية : (الصباغ- الفيتامينات- الأنظيمات).

١- الماء :

يتواجد في الهيولى عند معظم أنواع الجراثيم ويشكل ٧٥ – ٨٥ % من وزن الخلية الجرثومية، ويعد الماء العنصر الأساسي في الخلية الجرثومية ويوجد بشكل حر من جهة وبشكل مرتبط مع عناصر أخرى من جهة ثانية، ويشكل الماء المرتبط الأساس البنيوي للهيولى وهو غير قابل للانحلال. أما الماء الحر فيخدم في تفتيت الغروانيات كما يخدم كمادة حالة للعناصر البلورية، كما يعد مصدراً لشوارد الهيدروجين والهيدروكسيل إضافة إلى مشاركته في العديد من التفاعلات الكيميائية الجارية في الخلية الجرثومية (تفاعلات هدم البروتين والسكاكر والشحوم)، كما يلعب دوراً هاماً في عملية التنفس الجرثومي.

٢- المواد المعدنية :

تحوي الخلية الجرثومية على مواد لاعضوية مثل الفوسفور، الكبريت، الصوديم، المغنزيوم، البوتاسيوم، الكالسيوم، الحديد، السيليسيوم، الكلور، غيرها وعلى عناصر نادرة مثل (المولبدين، الكوبالت، البور، المنغنيز، الزنك، النحاس.... وغيرها)

وتشكل هذه المواد المعدنية حوالي (٢ – ١٤%) من الوزن الجاف للخلية الجرثومية.

٣ – **المواد العضوية** : وتتضمن :

آ – مواد تكوينية: وتشمل البروتينات، والسكاكر، والشحميات، والأحماض النووية.

ب – مواد وظيفية : وتضم الصباغ، والفيتامينات، والإنظيمات.

آ – المواد التكوينية :

١ – **البروتينات :**

تشكل هذه البروتينات أكثر من (٥٠ – ٨٠ %) من الوزن الجاف للخلية الجرثومية، وتتوضع في الهيولى والغشاء الهيولي وغيرها من بنى الخلية الجرثومية وتوجد هذه البروتينات على شكل أحماض أمينية وعديدات ببتيدية أو على شكل بروتينات متجانسة أو غير متجانسة (بروتينات سكرية، بروتينات شحمية، بروتينات شحمية سكرية) حيث تلعب هذه البروتينات غير المتجانسة دوراً هاماً في المناعة لأنها قادرة على توليد الأضداد.

٢– **الأحماض النووية :**

تختلف كمية الأحماض النووية في الخلية الجرثومية من نوع جرثومي إلى آخر وهي تشكل بشكل عام (١٠ – ٣٠ %) من الوزن الجاف للخلية الجرثومية وهي توجد بشكل حر في الخلية الجرثومية أو بشكل مرتبط مع البروتينات (بروتينات نووية)، و يلعب الحمض النووي الريبي RNA دوراً هاماًفي عملية اصطناع البروتين.

أما الحمض النووي الريبي منزوع الأوكسيجين DNA فهو المسؤول عن تحديد الخواص والصفات الوراثية الجرثومية.

٣ – **السكاكر :**

تشكل السكاكر حوالي (١٢ – ١٨ %) من الوزن الجاف للخلية الجرثومية وهي توجد في الخلية الجرثومية بشكل بسيط أو مركب، ويعد مركب عديد السكريد الذي يتواجد إما بشكل حر أو مرتبط مع البروتينات والشحميات والذي يتوضع في جدار

الخلية الجرثومية وعلى الطبقة الهلامية من سطح الجرثوم من أهم أنواع السكاكر التي تحويها الخلية الجرثومية.

٤- **الشحميات :**

تشكل المواد الشحمية حوالي (١٠ – ٤٠ %) من الوزن الجاف للخلية الجرثومية وتوجد على شكل أحماض دهنية ودهون متعادلة ودهون شمعية شحوم فوسفورية وتتوضع معظم المواد الشحمية على جدار الخلية الجرثومية وغشائها.

ب – **المواد الوظيفية :**

١ – **الصباغ :**

تتميز العديد من الجراثيم بقدرتها على إفراز مواد صبغية يختلف لونها من نوع جرثومي إلى آخر، وهذه المواد الصباغية قد تبقى في الخلية الجرثومية أو تنتشر في الوسط الخارجي المحيط. فالمكورات العنقودية تفرز مواد صباغية صفراء تبقى داخل الخلية الجرثومية، وعصيات القيح الأزرق (الزائفة الزنجارية) تفرزمادة صباغية خضراء أو زرقاء أو بنية اللون.

ويختلف التركيب الكيميائي لهذه المواد الصباغية من نوع جرثومي لآخر، فمنها ماهو مركب من مواد تنحل في المحاليل العضوية ومنها ماهو مركب من مواد بروتينية.

وتؤدي هذه المواد الصباغية وظائف عديدة للخلية الجرثومية، فمنها مايمتلك وظيفة تنفسية حيث يقوم الصباغ بتحويل القدرة الضوئية إلى قدرة كيميائية، ومنها مايلعب دوراً في عمليات الأكسدة والإرجاع الجارية في الخلية الجرثومية، ومن المواد الصباغية هذه ما يلعب دوراً في الدفاع عن الجرثوم ضد الصادات الحيوية والإشعاعات، ومنها ما يلعب دور الفيتامينات أو دور الصادة الحيوية أو دور الأنظيمات.

وتجدر الإشارة إلى أن الخلية الجرثومية الواحدة يمكن أن تفرز أنواع متعددة من المواد الصباغية مثل عصيات القيح الأزرق، كما يمكن لمادة صباغية واحدة

أن تلعب وظائف عدة، كما يمكن للجرثوم أن يفقد القدرة على توليد المواد الصباغية وذلك حسب الشروط المحيطة به وحسب تركيب البيئة الجرثومية.

٢ – الفيتامينات :

تعد الفيتامينات من عوامل النمو الضرورية للخلية الجرثومية وذلك عند الأنواع الجرثومية التي لاتستطيع اصطناع الفيتامينات، بيد أن هناك عديداً من الجراثيم لها القدرة على تصنيع الفيتامينات سواء في الزجاج أو داخل جسم الكائن الحي. فالمادة الصباغية المدعوة (فيتوكول) والتي تفرزها جراثيم السل لها نشاط مماثل للفيتامين K كما أن الجراثيم المتعايشة في الأمعاء مثل العصيات القولونية لها القدرة على اصطناع فيتامين B12.

٣ – الإنظيمات :

تعتمد الأعمال الاستقلابية الجارية في الخلية على فعالية الإنظيمات والتي تسمح بتفكيك واستعمال المواد الغذائية.

والإنظيمات الجرثومية ذات تركيب محدد من الناحية الكيميائية فمنها ماهو عبارة عن بروتينات متجانسة تتألف بشكل خاص من الأحماض الأمينية ومنها ما هو عبارة عن بروتينات غيرمتجانسة ويمكن التمييز بين نوعين من الإنظيمات الجرثومية حسب توضعها:

- **إنظيمات خارجية :**

وهي عبارة عن إنظيمات تطرحها الخلية الجرثومية إلى الوسط الخارجي حيث تلعب دوراً مهماً في أماهة البروتينات و الشحميات وعديدات السكريد.

- **إنظيمات داخلية :**

وهي تبقى داخل الخلية الجرثومية ولاتخرج من الخلية الجرثومية إلا بعد موتها و تحللها وتلعب دوراً مهماً في بناء الخلية الجرثومية وتأمين الطاقة.

التغذية الجرثومية:

تحتاج الجراثيم لبقائها على قيد الحياة إلى مواد غذائية أساسية مثل البروتينات والأملاح والسكاكر المتعددة وذلك من أجل القيام بوظائفها الحيوية ولكي تحافظ على نموها وتكاثرها. كما أن بعض الجراثيم لاتنمو إلا بوجود مواد غذائية معقدة تحصل عليها من داخل جسم الثوي مثل الدم والمصل.

وتعد عملية الاستقلاب من العمليات الضرورية، فمن خلالها تحقق الخلية الجرثومية هدم المواد الغذائية الموجودة في البيئة، وتحرر الطاقة اللازمة لها من أجل الاستفادة من الجزيئات الصغيرة الناتجة عن عمليات الهدم لتركيب البروتينات والسكريات والدهون اللازمة لبناء الخلية الجرثومية واستمرار حياتها ونموها وتكاثرها.

وتقسم الجراثيم حسب احتياجاتها الغذائية إلى قسمين:

١. **جراثيم ذاتية التغذية:**

وهي الجراثيم القادرة على استخدام ثاني أوكسيد الكربون الموجود في البيئة المحيطة بها كمصدر للفحم الضروري لعمليات الاستقلاب، أو تمثيل الآزوت الجوي وتحويله إلى بروتينات أو سكريات متعددة لازمة لنموها وتكاثرها ومنها الجراثيم العاطلة.

٢. **جراثيم غيرية التغذية:**

وهي جراثيم غير قادرة على استخدام الفحم والآزوت، لذلك فهي تلجأ إلى إمدادها بالمواد الغذائية الجاهزة مثل الأحماض الأمينية والسكريات مثل السل والبروسيلا لذلك فهي بحاجة إلى بيئات غذائية عند استنباتها في المخبر(وتنتمي إلى هذه المجموعة الجراثيم الممرضة كلها).

ويمكن القول إن معظم الجراثيم وكذلك الفطور من الكائنات الحية كيميائية التغذية العضوية، أي أنها تحصل على الطاقة اللازمة لها من أكسدة المواد العضوية كالحموض الأمينية والسكاكروتنتمي إلى هذه المجموعة جميع الجراثيم الممرضة.

أما الحمّات فهي أحياء ناقصة التغذية، لأنها تسخر عمليات الاســـتقلاب الجاريـــة في الخلية الحية المضيفة لضمان تكاثرها وبقائها ويعود سبب ذلك أن الحمّات كائنات حية دقيقة مجبرة على التطفل داخل الخلية الحية.

سادساً: تنفس الجراثيم

تحتاج الجراثيم إلى الأوكسجين لاستخدامه في عمليات الاستقلاب والحصول على الطاقة اللازمة لنموها وتكاثرها، وعلى هذا الأساس تم تقسيم الجراثيم حسب احتياجها للأوكسجين إلى أربعة أنواع:

١- جراثيم هوائية مجبرة:

وهي جراثيم لاتستطيع النمو إلا بوجود الأوكسجين الحر الموجود في الهواء من أجل عملياتها التنفسية ،وإلى هذا النوع تنتمي جراثيم العصوية الجمرية والتولاريميا

٢- جراثيم لاهوائية مجبرة:

وهي جراثيم لاتستطيع النمو بوجود الأوكسجين الحر الموجود في الهواء فهي تستفيد من الأوكسجين المركب الموجود في المواد العضوية الموجودة في الوسط المحيط بها ويعود سبب ذلك أنها لاتستطيع التخلص من نواتج تمثيل الأوكسجين الحر ومنها المطثية الكزازية.

٣- جراثيم هوائية أو لا هوائية مخيرة:

وهي جراثيم قادرة على العيش بوجود الأوكسجين الحر أو الأوكسجين المركب لأنها قادرة على استخدام النوعين وتمثيلهما مع الأخذ بعين الاعتبار أن بعض جراثيم هذا النوع تفضل النمو في ظروف لاهوائية وبعضها الآخر في ظروف هوائية وإلى هذه المجموعة تنتمي تقريبا معظم الجراثيم الممرضة مثل المكورات العنقودية والعقدية والأمعائيات.

٤- دقية الهواء "أليفة الهواء القليل":

وهي جراثيم تحتاج أثناء نموها إلى الأوكسجين الحر ونسبة قليلة (٥-١٠%) من ثاني أوكسيد الكربون مثل البروسيلا.

سابعاً: عوامل النمو

تحتاج الجراثيم إلى جانب المضمونات(البروتينات) والسكريات والأحماض الدهنية والمواد اللاعضوية وإلى مواد خاصة تلعب دوراً محفزاً للعمليات البيوكيميائية الجارية في الخلية الجرثومية أو التي يمكن أن تشكل وحدات بنيوية من أجل تركيب بعض الإنظيمات، والجرثوم غير قادر على اصطناعها ومنها الحموض الأمينية والهيماتين وبعض الفيتامينات مثل K, PP, B12, B, H ،والأملاح المعدنية اضافةً لذلك يحتاج الجرثوم إلى مقادير ضئيلة جداً لاتتجاوز عدة ميكروغرامات من عوامل النمو هذه، لذلك غالباً ماتضاف هذه المواد إلى البيئات الاصطناعية لضمان حسن نمو الجراثيم، التي تحتاج إلى مثل هذه العوامل، وبناء على ذلك يمكن تقسيم عوامل النمو إلى :

١- عوامل نمو حقيقية : وهي العوامل التي لايستطيع الجرثوم اصطناعها.

٢- عوامل نمو محرضة : وهي العوامل التي يصطنعها الجرثوم ولكن ببطء شديد، لذلك فإن إضافتها تزيد من نمو الجرثوم وتسرعه.

٣- عوامل نمو لازمة للتلاؤم : وهي عوامل نمو تساعد الجرثوم على التلاؤم على النمو في البيئات الجديدة بعد خروجه من الجسم(في البيئات الاصطناعية).

٤- عوامل نمو شرطية: وتضاف في بعض شروط الاستنبات(هوائي،لاهوائي).

٥- عوامل نمو محرضة شرطية : و هي تساعد على نمو الجرثوم وتكاثره في غياب عوامل نمو معينة أخرى.

العوامل التي تؤثر على نمو الجراثيم :

١- الحرارة:

تعد الحرارة عاملاً أساسياً لنمو الجراثيم وتكاثرها وإن ارتفاع الحرارة إلى درجات أعلى من المثلى يؤدي إلى إتلاف الجراثيم، وتقسم الجراثيم حسب حاجتها من الحرارة الى:

آ- جراثيم تنمو في درجات حرارة منخفضة تتراوح بين ٠ — ٢٥ م وسطياً ١٥ درجة مئوية كالجراثيم الرمية التي تنمو في البرادات وعلى اللحوم المثلجة وبعض أنواع الفطور.

ب- جراثيم تنمو في درجات حرارة تتراوح بين ١٥- ٤٠ م والمثلى تتراوح ٣٧ درجة مئوية، وإليها تنتمي أغلب الجراثيم الممرضة للإنسان والحيوان.

جـ- جراثيم تنمو في درجات حرارة تتراوح ٤٥-٨٠ م وسطياً ٥٠ درجة مئوية كالجراثيم المخمرة للسيلاج والعصيات اللبنية.

٢- درجة الحموضة :

تؤثر درجة الحموضة على نمو الجراثيم التي تقسم إلى ثلاثة أنواع حسب قابليتها للنمو في الأوساط الحامضية:

آ- جراثيم تنمو في حموضة مرتفعة حوالي ٤ — ٥,٥ مثل العصيات اللبنية والفطور.

ب-جراثيم تنمو في حموضة معتدلة حوالي ٦.٩-٧,٣ واليها ينتمي معظم الجراثيم الممرضة.

ج-جراثيم أليفة للأوساط القلوية ٨,٥-٩ مثل ضمات الهيضة.

٣- الضغط الأوزموزي:

إن ارتفاع الضغط الأوزموزي في البيئة المحيطة بالخلية الجرثومية يؤدي إلى فقدان ماء الخلية الجرثومية وانكماشها مما يؤثر سلباً على نموها وتكاثرها.أما انخفاض الضغط

الأوزموزي في البيئة يؤدي إلى انتباج الخلية الجرثومية وتدفق الماء إلى داخلها مما يؤدي إلى انفجارها وموتها، بينما معظم الجراثيم الرمية تحتاج إلى ضغط أوزموزي معتدل ولهذا السبب يضاف كلور الصوديوم إلى المنابت المغذية بنسبة ٠,٥ % مع العلم أن بعض الجراثيم تنمو في البيئات الملحية عالية التركيز يصل فيها تركيز الملح إلى ١٥% مثل المكورات الدقيقة.

٤- الرطوبة:

يختلف تأثير الرطوبة حسب نوع الجرثوم، فبعض الجراثيم لايمكنها مقاومة الجفاف فهي تموت فوراً مثل اللولبيات،في حين أن أنواعاً أخرى يمكنها مقاومة الجفاف مثل العنقوديات، أما الأبواغ فهي تقاوم الجفاف لسنوات عديدة.

٥- أشعة الشمس:

إن أشعة الشمس تحتوي على عديد من الإشعاعات من بينها الأشعة فوق البنفسجية التي تؤثر بشكل مباشر على الجراثيم وخصوصاً على الحمض النووي الريبي منزوع الأوكسجين DNA وتؤثر على عديد من المركبات داخل الخلية الجرثومية.

٦- تأثير المواد الكيميائية في حياة الجراثيم:

تقسم المواد الكيميائية الطبيعية والاصطناعية حسب تأثيرها في الخلية الجرثومية إلى قسمين:

١. **مواد مفيدة للخلية الجرثومية:** وهذه الفائدة غير مطلقة، إذ ان بعض المواد مفيدة لنوع جرثومي معين وضارة لنوع آخر مثل، الغليسرين، فهو ضروري لحياة جراثيم السل، ومتلف لبعض الجراثيم الأخرى.

٢. **مواد ضارة (مضادة) للخلية الجرثومية:**

وتقسم حسب تأثيرها على الخلايا الجرثومية إلى قسمين:

آ – مواد قاتلة للجراثيم

ب- مواد مثبطة لنمواالجراثيم وتكاثرها

وتقسم المواد المضادة حسب تركيبها إلى نوعين:

آ-غير نوعية (المعقمات والمطهرات): وهي ضارة للخلايا الجرثومية والخلايا الحية لذلك انحصر استخدامها في مجال التعقيم والتطهير(استخدام خارجي).

ب-نوعية (الصادات): وهي مركبات كيماوية اصطناعية، أونصف مصنعة أو حيوية لها خواص موقفة لعمليات استقلاب الخلايا الجرثومية، ولا تؤثر في خلايا النسج عندالانسان والحيوان مما يفيد في استخدامها في مجال معالجة الأمراض الجرثومي.

ثامناً: الصفات الوراثية عند الجراثيم Bacterial Genetics

تعد الخلايا الجرثومية خلايا ثابتة في خواصها الشكلية ووظائفها الحيوية وفوعتها ولكن هذا الثبات في الخواص قابل للتغيير تبعاً لتأثيرالبيئة المحيطة بالخلايا الجرثومية مما يؤدي إلى تغيير في الصفات الشلية والوظائف الحيوية والفوعه وهذا التغيير يؤدي إلى نشوء أجيال مغايرة في صفاقما للخلايا الجرثومية الأم.

تحتوي النواة على الصبغيات الجرثومية (الكروموزومات)والكروموزوم أو الصبغي يتألف من عدة نيوكلوتيدات، والنيكوتيد DNA من الحمض النووي المتروع الأوكسجين يتألف من حمض فوسفور وجزيء سكر الريبوز المتروع الأوكسجين وقاعدة آزونية تتشكل من"أدنين، جوانين، سيتوزين، تيامين". ويشكل كل (١٠٠- ١٠٠٠) زوج من النيوكلوتيدات "نوويدات" المضاعف السلسلة DNA الموجودة على الحمض النووي الريبي المتروع الأوكسجين ماندعوه بالمورث فالمورث هو سلسلة من النيوكلوتيدات التي تحتوي على المعلومات الوراثية الخاصة. ويوجد على الصبغي الواحد العديد من الألائل "المورثات" التي تختلف في تتابع سلسلة النيوكلوتيدات التي يقع على عاتقها وظيفة البرمجة والسيطرة على عملية تصنيع المواد البنيوية الضرورية لحياة الجرثوم وتصنيع الأنظيمات..... الخ، إضافة إلى انتقال الصفات الوراثية عند الجراثيم أثناء الأنقسام الخلوي الجرثومي. ومن الجدير ذكره هنا أنه يوجد في الخلية الجرثومية مستودعات وراثية احتياطية يطلق عليها DNA اسم البلاسميد

وهي عناصر مكونة من الحمض النووي الريبي المنقوص الأوكسجين موجودة خـــارج الصبغيات وتتوزع داخل هيولى الخلية الجرثومية بشكل حر وقادر على التكاثر الذاتي داخل الهيولى، ويمكن أن ينتقل من جرثوم لآخر لذلك يطلق عليه اسم العامل الجنسي.

ومن أنماطه :

آ- البلاسميد المسؤول عن مقاومة الخلية للصادات الحيوية.

ب- البلاسميد المشترك في فوعة الجراثيم مثل البلاسميد المولد للبنسلنياز عند المكورات العنقودية الذهبية.

من كل ماتقدم نستنتج ان جميع العمليات الجارية في الخلية الجرثومية تهدف إلى المحافظة على بقاء النوع والصفات الوراثية إلا أن امكانيات حدوث أخطــاء في العمليـــات الاستقلابية الجارية داخل الجرثومة أمر ممكن نظراً لسرعة تكاثر الجراثيم وينتج عنـــه حدوث تغيرات ونشوء أحياء مجهرية بصفات وراثية جديدة وهنا يمكن التمييز بـــين نمطين من هذه التغيرات:

١- **تغيرات لاوراثية:** وتظهر هذه التغيرات بأحد الشكلين الآتيين :

١. تغيرات تعديلية:

وهي عبارة عن تبدلات في الصفات ناجمة عن تأثير بعض العوامل الخارجية ولاعلاقة للعوامل الوراثية بها وهي تبدلات قابلة للتراجع بزوال العامل المســبب الــذي أدى لحدوثها.

٢. تغيرات تعديلية طويلة الأمد:

وهي عبارة عن تبدلات في الصفات ناجمة عن تغيرات في الظروف المحيطـــة أيضـــاً ولاعلاقة للعوامل الوراثية بها، إلا أنها قابلة للانتقال إلى عديد من الأجيال اللاحقة عن طريق انتقال كامل المحتوى الخلوي الذي كان يخضع لهذه التغيرات إلى الأجيال الجديدة وذلك أثناء عملية الانقسام الخلوي الجرثومي.

٢- تغيرات وراثية "الطفرات" :Mutation

وهي عبارة عن تبدلات تصيب النمط الوراثي تلقائياً أو تحـــت تـــأثير عامـــل محرض" فيزيائي أو كيميائي أو إشعاعات" وهذه التبدلات غير قابلة للتراجـــع إلا في حال حدوث طفرة عكسية تعيد الصفة الوراثية الطافرة إلى ماكانت عليه أصلا وهي نادرة الحدوث. ويمكن للطفرات أن تصيب صفة وراثية واحدة أو أكثر التي يتميز بها نوع معين من الجراثيم. وحسب شدة التغيرات الحاصلة في المورثات نميز نوعين مـــن الطفرات :

١- طفرات نقطية: حيث يكون التغير في نيكلوتيد واحد أو عدة نيكلوتيدات.

٢- طفرات قطعية: ويكون التغير فيها في عدد كبير من النيكلوتيدات.

أما التغيرات الظاهرة التي تحدث نتيجة حدوث الطفرة فتكون على شـــكل فقـــدان الجرثوم القدرة على اصطناع الأحماض الأمينية، أو تشكل مقاومة للظروف الخارجية كالعوامل الفيزيائية، أو نشوء مقاومة للصادات الحيوية أو لعاثيات الجراثيم، بالإضافة إلى امكانية حدوث تغير في بنية الجدار الخلوي الجرثومي أو إضعاف فوعة الجرثوم أو حدوث تغير في الصفات الشكلية.

انتقال الصفات الوراثية بين الجراثيم:

تنتقل الصفات الوراثية بين الجراثيم من جرثوم معطٍ إلى جرثوم آخذ مما يؤدي إلى ظهور جراثيم بصفات وراثية جديدة تسمى هذه الحادثة الوراثية بالتأشيب الـــتي تعني إعادة توزيع وتنظيم جديد للمورثات ولحدوثها لابد من اجتماع العديـــد مـــن الصفات الوراثية المختلفة في خلية جرثومية حيث يتم انتقال هذه الصفات عند الجراثيم بأربع طرق:

١-التحول: Transformation

يتم انتقال الصفات الوراثية هنا بواسطة الـــ DNA حيث يتشكل بين الخلية الجرثومية المستقبلة و الـــ DNA الداخل معقد، ثم لا يلبث أن ينفذ الـــ DNA إلى

داخل الخلية الجرثومية بواسطة فعل البلعمة،وعند الانقسام الخلوي يتثبت قسم من الـــ DNA الداخل على صبغي الخلية والقسم الآخر على الــ DNA الخاص بالخليـــة المستقبلة.

وتجدر الاشارة إلى أن انتقال الصفات الوراثية بواسطة الــ DNAلا يـــتم إلا بـــين الجراثيم من نوع واحد أومن نوع متشابه، وأن هذا الانتقال لا يحدث إلا لصفة واحدة على الأغلب اصطناع الحموض الأمينية، تخمر السكاكر،اصطناع بغض الخمائر.

٢- التنبيغ: Transducation

وهو انتقال المورثات بواسطة الملتهمات "عاثيات الجـــراثيم" ويعـــني انتقـــال المورثات من خلية جرثومية مانحة إلى خلية جرثومية مستقبلة بواسطة عاثيات الجراثيم التي تغزو الجراثيم وتحرضها على صنع DNA الخاص بالملتهم مما يؤدي إلى زيادة عدد الملتهمات وازدياد حجمها، وفي النهاية يسبب انفجار الخلية وخـــروج الملتـــهمات الجديدة "الحمّات" من الخلية الجرثومية عندها يرتبط جزء من DNA الخلية الجرثومية بـــ DNA الحمة "الملتهمة"، وعندما تدخل الحمة خلية جرثومية جديدة مســـتقبلة، فانه ينقل إليها كل من DNA الخاص بالحمه وDNA الخاص بالخلية الجرثومية، وهذا مايؤدي إلى ظهور صفات وراثية جديدة في الخلايا الجرثومية المستقبلة، ومثال علـــى ذلك " السالمونيا، الزائفة الزنجارية، العصيات القولونية".

ونميز ثلاثة أنواع من انتقال الصفات الوراثية بواسطة التنبيغ:

١-انتقال نوعي: حيث تقوم عاثيات الجراثيم بنقل الصفات الوراثيـــة المتوضـــعة في المناطق القريبة والمجاورة لمكان تركيب أحماضها النووية في الصبغي الجرثومي. الجرثوم بشكل عشوائي.

٢- انتقال غير نوعي: حيث تقوم عاثيات الجراثيم بنقل قطع من DNA .

٣- انتقال عام: وفيه تنتقل عاثيات الجراثيم صبغي كامل من الخلية المعطية إلى الخلية المستقبلة.

٣-الاقتران "التزاوج عند الجراثيم" : Conjugatin :

يعني انتقال المورثات عن طريق التزاوج بين خليتين جرثوميتين عن طريق حدوث تقارب بين خلية جرثومية مذكرة وخلية أخرى تمثل خلية جرثومية مؤنثة وبعد الالتصاق تنتقل المورثات من الخلية "البلاسميد" Fالمذكرة إلى المؤنثة عبر حدوث اتصال بواسطة قناة بين الخليتين أو انتقال عامل الإخصاب من الخلية المذكرة إلى المؤنثة عن طريق الخمائل الجنسية البروتينية "الأشواك الجنسية".

٤- التأشيب: Recombination

هو انتقال DNA الخلية المعطية "المذكرة" إلى الخلية المستقبلة "المؤنثة" وارتباطه بها وهناك نوعان من التأشيب:

١-التأشيب المتجانس: ويحدث عندما تكون الخليتان الجرثوميتان المذكرة والمؤنثة من النوع نفسه أو متشابهتان.

٢- التأشيب غير المتجانس: وهذا يحدث عندما يكون ارتباط الـ DNA لخليتين غير متشابهتين ويساعد على اتمام هذا الارتباط عدة أنزيمات.

تاسعاً: تكاثر الجراثيم

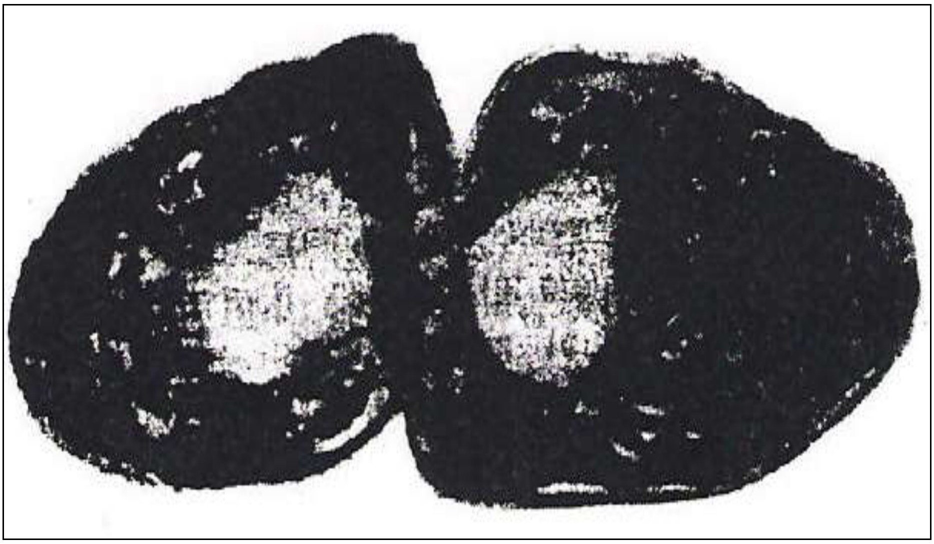
تمتاز الجراثيم بسرعة تكاثرها دون تزاوج خلال ساعات وبشكل عام يتم تكاثر الجراثيم بطريقتين هما:

١- التكاثر عن طريق الانقسام البسيط.

٢- التبرعم.

١ً- التكاثر عن طريق الانقسام البسيط :

في هذه الطريقة تحصل على خليتين جرثومتين بنتين تشبهان الخلية الجرثومية الأم خلال ٢٠ -٣٠ دقيقة عند توفر الظروف الملائمة من حرارة وغذاء وعوامل نمو، حيث يزداد حجم الهيولى للخلية الجرثومية ثم ينشأ غشاء قاعدي رقيق يقسم الهيولى إلى قسمين وسط الخلية الجرثومية الأم وخلال ذلك تنقسم المادة النووية إلى قسمين متكافئين وفي النهاية ينتج خليتين جرثوميتين أصغر حجماً من الخلية الجرثومية الأم ثم يزداد حجمها وتنضجان ثم تبدآن بعملية انقسام مشابهه وهكذا تتشكل المستعمرات الجرثومية.



شكل رقم (٦) صورة بالمجهر الإلكتروني توضح انقسام الخلية الجرثومية
لاحظ الإنقسام المتكافىء للنواة واختناق الخلية الجرثومية

ومن الملاحظ أن بعض أنواع الجراثيم بعد انقسامها تبقى متلاصقة ببعضها بأشكال مختلفة كما هو الحال عند العنقوديات والمكورات السبحية والعصوية الجمرية،أو أنها تنفصل عن بعضها، وتصبح عبارة عن خلايا مفردة بعد الانقسام كما هو الحال عند العصيات القولونية.

ويمر التكاثر بهذه الطريقة بعدة مراحل هي:

١ – طور الكمون :

يتميز بعدم تكاثر الجرثوم، حيث يقوم الجرثوم في هذا الطور بالتأقلم في البيئة المغذية الموجود فيه، وترتبط المدة الزمنية لاستمرارية هذا الطور بعمر الجرثوم وكمية وبنوع البيئة المغذية التي سوف ينمو فيها الجرثوم.

فكلما كانت المستعمرة الجرثومية حديثة وكمية الجرثوم كبيرة والبيئة المغذية ملائمةً للنمو كلما قصرت الفترة الزمنية لطور الكمون.

٢ – طور التسارع :

في هذه المرحلة يلاحظ ازدياد الخلية الجرثومية في حجمها وبدئها في عملية الانقسام بشكل بطيء واختصاراً يمكن أن ندعو كلتا المرحلتين السابقتين بـ طور التكيف والذي يتميز بالتالي :

أ – بطء انقسام الخلية الجرثومية. ب – كبر حجم الخلية الجرثومية.

جـ - زيادة النشاط الاستقلابي والذي يتميز باستهلاك كميات كبيرة من الأوكسجين وطرح كبير للحرارة وغاز ثاني أوكسيد الكربو ن والأمونيا.

د – حساسية الخلية الجرثومية للحرارة والبرودة والتراكيز العالية من الملح.

٣ – طور التكاثر الأساسي (أو اللوغاريتمي) :

هنا تبدأ الخلايا الجرثومية بالتكاثر بسرعة وبشكل لوغاريتمي ١، ٢، ٤، ٨، ١٦.، حيث يؤدي هذا التكاثر إلى تشكل مواد استقلابية سامة وإلى تغييرات في درجة الباهاء

ونقص في المواد الغذائية الضرورية، الأمر الذي يؤدي إلى الانتقال إلى طـــور التكـــاثر التالي.

٤ – طور التكاثر المتباطئ :

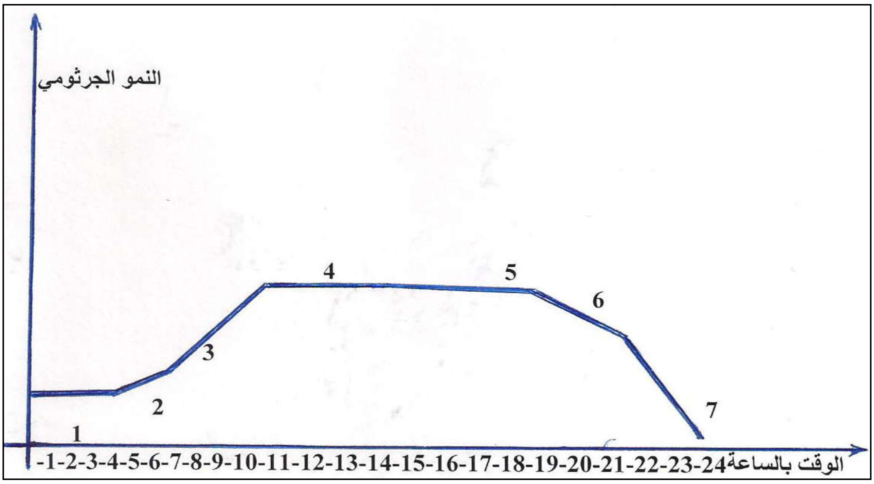
حيث يلاحظ في هذا الطور حدوث تناقص في سرعة تكاثر الخلايا الجرثوميـــة نظـــراً لنقص المواد الغذائية أو تراكم المواد الاستقلابية السامة.

٥- طور الثبات :

في هذه المرحلة يكون الجرثوم قد بلغ ذروة تكاثره حيث يلاحظ في هذا الطور أن عدد الجراثيم الناجمة عند عملية التكاثر مساوٍ لعدد الجراثيم التي تتحلل وتفـــنى، و بهـــذا الشكل تحافظ الخلايا الجرثومية على عددها الثابت.

٦ – طور الفناء المتسارع:

ويتميز بأن عدد الخلايا الجرثومية التي تفنى أكبر من عدد الخلايا الجرثومية النامية وهذا يعني أن عدد الخلايا الحية الجرثومية بدأ بالتناقص.



شكل رقم (٧) مخطط بياني يوضح التكاثر والنمو الجرثومي خلال ٢٤ ساعة

١- طور الكمون   ٢ – طور التسارع   ٣- طور التكاثر اللوغاريتمي

٤- طور التكاثر المتباطىء ٥- طور الثبات ٦- الفناء المتسارع ٧- الفناء اللوغاريتمي

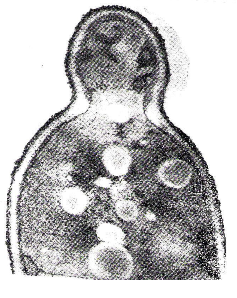
٧ – طور الفناء اللوغاريتمي :

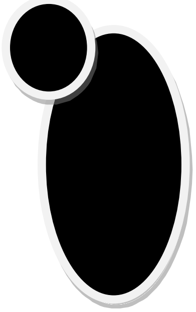
ويتميزبحدوث تسارع في فناء الخلايا الجرثومية وبوجود أعداد قليلة فقط من الخلايــا الجرثومية القادرة على الانقسام. الأطوار السابقة التي يمر بها الجرثوم أثناء تكاثره تتطلب العديد من الشروط مثل الغذاء، الرطوبة، درجة الحرارة المثلى للنمو والتي تختلف مــن نوع جرثومي لآخر، تراكيز معينة من الملح، درجة باهاء مناسبة. ويمكن القول بشكل عام أن تكاثر الجراثيم ونموها يتم خلال فترة زمنية قصيرة تقدر بالساعات أو غضون يوم أو يومين عند الجراثيم البطيئة النمو (جراثيم السل مثلاً) إذا ماتوفرت لها الشروط المناسبة للنمو.

وتجدر الإشارة أخيراً إلى أن هذا التكاثر والنمو السريع للجــراثيم في غضــون أيــام معدودة كان سوف يؤدي إلى استحالة استمرارية حياة الكائنات الأخرى على وجــه الأرض لولا مشيئة القدرة الإلهية التي أوجدت عديدمن العوامل المثبطة لنمــو هــذه الجراثيم والتي ذكرناها سابقاً مثل (نقص المواد الغذائية الضرورية للنمو وتشكل المواد الاستقلابية السامة) وكذلك عديد من العوامل المبيدة لها كاشعة الشمس، الحــرارة، والمواد الكيماوية، وعاثيات الجراثيم.

٢ً – التبرعم :

يخص هذا النوع من التكاثر بعض الأنواع مثل الخمائر حيث يظهر برعم صغير من أحد أطراف الخلية ثم يزداد حجمه وينفصل وينمو ويلاحظ بشكل خاص عنــد عصيات السل الطيري.





شكل رقم (٨) التكاثر عن طريق التبرعم و الشكل رقم (٩) انفصال البرعم عن الخلية

الفصل الثالث

الخمج الجرثومي Microbial Infaction

أولاً: **تعريف الخمج الجرثومي**

هو دخول الجراثيم إلى الجسم"الثوي" ونموها وتكاثرها فيه فإما أن يؤدي ذلك إلى عدم حدوث أعراض سريرية "خمج غير عرضي"أو ظهور أعراض سريرية مرضية"خمج عرضي"أي حدوث مرض خمجي.

تصنيف الأمراض :

١-أمراض غير خمجية : مثل أمراض نقص الفيتامينات.

٢-أمراض خمجية : كالحمى التيفية والمالطية والسل.

تصنيف الأمراض الخمجية :

١- أمراض غير سارية "غير وبائية" : الكزاز،التسمم الغذائي الجرثومي.

٢- أمراض سارية "وبائية" : الهيضة، الجدري.

تصنيف الأمراض السارية أو الوبائية :

١- سريعة الانتشار : الأمراض الحموية.

٢- متوسطة الانتشار: كالحمى التيفية.

٣- قليلة الانتشار : "السل".

طرق انتقال الخمج :

١- عن طريق الجلد والأغشية المخاطية: وخاصة عند حدوث أذية أو ضرر في الجلد والأغشية المخاطية (المكورات العنقودية،المكورات العقدية، الزوائف) أو عند

الاحتكاك المباشر مع الحيوانات المريضة (البروسيلا، والعصوية الحجرية المتدثرة البغائية).

٢- عن طريق الجهاز التنفسي :استنشاق رزاز المرضى وعطاسهم المحمل بالمسببات الممرضة كالسل.

٣- عن طريق الجهاز الهضمي :تناول وشرب مياه ملوثة بالعوامل الممرضة كالعصيات القولونية،السالمونيلا،الهيضة، المطثيات.

٤- عن طريق الجهاز التناسلي : انتقال بعض المسببات الممرضة عن طريق الاتصال الجنسي عند الإنسان كالنيسيريات البنية.

٥- عن طريق الحشرات : تلعب الحشرات دوراً مهماً في نقل الأخماج مثل القراد الذي ينقل عدوى البابيزيا والثايريا والبعوض الناقل لعدوى الليشمانيا عند الإنسان.

٦- الخمج ذو المنشأ الداخلي : قد تتحول بعض الجراثيم المتطاعمه إلى جراثيم ممرضة عند تغير الحالة المناعية للثوي كالعصيات القولونية والمكورات الرئوية.

تصنيف الأخماج حسب مكان توضعها :

١-خمج موضعي :

يتحدد مكان الخمج في عضو محدد من جسم الثوي مثل الأمراض الجلدية والخراريج والتهاب الضرع وإصابات الجهاز التناسلي.

٢- خمج عام :

ويحدث عندما يصل العامل المسبب إلى الدم ويؤدي إلى التجرثم الدموي إذا كان عدد الجراثيم قليلاً أما إذا كان عدد الجراثيم كبيراً جداً فإنه يؤدي إلى إنتان الدم وفي هذه الحالة من السهل عزل هذه الجراثيم ومشاهدتها تحت المجهر.أما تقيح الدم فهو الإصابة بجراثيم مقيحة مثل المكورات العنقودية الذهبية والعقديات التي تؤدي إلى حدوث خراريج في الأعضاء الداخلية وفي حالات الإصابة بجراثيم مفرزة للسموم تؤدي إلى تسمم الدم ثم انتقال السم إلى الأنسجة النوعية له "ذيفان الكزاز".

٣- خمج ذو منشأ داخلي :

وهو تحول الجراثيم المتطاعمه إلى جراثيم ممرضة بالإضافة إلى الخمج المتكرر."انتقال العصيات القولونية من القناة الهضمية إلى الجهاز البولي محدثة اضطرابات فيه.

٤- خمج ذو منشأ خارجي :

وهو دخول مسببات الأخماج من الوسط الخارجي بإحدى طرق انتقال الأخماج.

مراحل تطور الخمج النموذجية :

١- فترة الحضانة :

هي الفترة الواقعة مابين وقت اختراق الخمج للجلد أو الأغشية المخاطية والأنسجة حتى ظهور الأعراض السريرية.

٢-فترة ظهور الأعراض السريرية :

وهي الفترة ما بين ظهور الأعراض السريرية وحتى زوال هذه الأعراض ويختلف طول هذه الفترة تبعاً لفوعة الجراثيم وحالة الثوي الصحية. وغالبا ما يرافق هذه الفترة، ارتفاع حرارة، وفقدان شهية واضطرابات في التنفس، والنبض.

٣- نهاية الخمج :

ينتهي الخمج باحتمالين :

الأول : الموت أو النفوق

الثاني : الشفاء

حيث تبدأ فترة النقاهة بعد زوال هذه الأعراض السريرية، حيث يحاول الجسم التخلص من العامل المسبب، ولكن بعض العوامل الممرضة تبقى داخل الجسم كالنيسيريات واللولبيات والسالمونيلا، حيث يبقى الثوي حاملاً للمرض، ومسبباً لتلوث البيئة وانتشار الخمج.إن فترة ظهور الأعراض السريرية قد تكون ساعات أو

قد تستمر إلى عدة أشهر وذلك تبعاً لفوعة العامل الممرض وحالة الثـــوي الصـــحية والمناعية مما يؤدي إلى ظهور أشكال خمجية غير نموذجية تقسم حسب تطورها إلى :

١- الخمج فوق الحاد : ويتميز بأعراض شديدة وسريعة.

٢- الخمج الحاد : ويتميز بأعراض متوسطة الشدة ومدة أطول من الخمـــج فـــوق الحاد.

٣- الخمج تحت الحاد : يتميز بأعراض ضعيفة ومدة أطول من الحاد.

٤- الخمج المزمن : يتميز بأعراض ضعيفة جداً مع فترة زمنية طويلة جداً.

٥ – خمج ذو أعراض تحت سريرية :لا تظهر أية أعراض سريرية، ولا يمكن الكشف عنه إلا بإجراء الزرع والتشخيص المخبري.

تصنيف الأخماج حسب العامل المسبب للخمج :

١-الخمج الجرثومي.

٢-الخمج الريكتيسي.

٣-الخمج الحموي.

٤-الخمج الفطري.

٥-الخمج الطفيلي.

أنواع الخمج :

١- خمج رئيسي : كالإصابة بالسل أو الأنفلونزا.

٢- خمج مختلط : كالإصابة بعدة أنواع من الجراثيم.

٣- خمج ثانوي : ويحدث عادة بعد الإصابة بالخمج الرئيسي سواء كان حمـــوي أم جرثومي.

أشكال الأمراض الخمجية :

تختلف أشكال الأمراض الخمجية باختلاف العامل المسبب للخمج وهي ثلاثة أنماط :

١-أخماج فوعية :

تنتشر الجراثيم الممرضة في الأنسجة والدم مسببة بؤر التهابية عديدة في كامل العضوية كما يحدث عند الإصابة بالجراثيم القيحية.

٢ – أخماج سمية :

تبقى الجراثيم الممرضة في مكان دخولها، وتنتشر سمومها مع الدم في كامل العضوية كما يحدث عند الإصابة بجراثيم الكزاز والخناقية.

٣– أخماج فوعية سمية :

تنتشر الجراثيم في كامل العضوية، وتفرز سمومها مع الدم، كالمطيثات الحالة للنسج، والمطيثات الحاطمة، والمطيثة العفنة.

تحديد العامل المسبب للخمج :

وجد العالم الألماني روبرت كوخ بعد عزل الجراثيم من الحيوانات النافقة عدداً كبيراً من الجراثيم المعزولة الممرضة وغير الممرضة من النبيت الطبيعي ولتحديد العامل المسبب لجأ العالم روبرت كوخ إلى وضع فرضيته التي سميت بـ فرضية كوخ التي .بموجبها يتم تحديد العامل المسبب للأوبئة الخمجية إذا توفرت فيها الشروط التالية :

١ – يجب عزل المتعضية الممرضة من جميع الحيوانات التي تبدي الأعراض السريرية والتشريحية المرضية نفسها.

٢ – يجب زرع المتعضية الممرضة نفسها وعزلها من جميع الحيوانات ذات الأعراض السريرية والتشريحية المرضية المتشابهة.

٣ – يجب أن تسبب المتعضيات المعزولة نفس الأعراض السريرية والتشريحية المرضية نفسها عند حقنها في حيوان التجربة

ويضاف إلى هذه الفرضية أنه يمكن كشف المتعضيات المرضية والمسببة للخمج عن طريق إجراء الاختبارات التشخيصية مثل الاختبارات المصلية والكيمياحيوية وكذلك يمكن تحضير لقاح لهذه المتعضيات الممرضة.

تصنيف الجراثيم حسب علاقتها بالثوي :

١-جراثيم رمية "عاطلة" :غير ممرضة توجد بشكل حر في الطبيعة تعيش على الفضلات وتؤمن ما يلزمها من الطاقة والغذاء من تفكيك البقايا والاستفادة منها لاستمرار حياتها وتكاثرها.

٢- جراثيم متطفلة : وهي لاتستطيع العيش إلا مرتبطة بأنسجة الأثوياء (الإنسان والحيوان والنبات) وحسب تطفلها وإمراضيتها تقسم إلى :

أ- جراثيم متعايشة :

وهي جراثيم تفيد وتستفيد ومنها الأمعائيات التي تقدم للمضيف مجموعة فيتامين B وفيتامين K ، وتحلل السيللوز الموجود في الجهاز الهضمي وتؤمن ما يلزمها من طاقة.

ب-جراثيم متطاعمة :

تعيش على الأغشية المخاطية دون إحداث أي أذى ولكنها تتحول إلى جراثيم انتهازية مثل المكورات الرئوية والعصيات القولونية.

جـ - جراثيم ممرضة :

وهي جراثيم تدخل جسم الثوي وتتكاثر على أنسجته النوعية وتسبب اضطرابات مرضية واضحة.

ويحدث المرض بآلتين :

١-اختراق الجراثيم لأنسجة المضيف والتكاثر فيه "الفوعة ".

٢-اختراق الجراثيم لأنسجة المضيف وتكاثرها وإنتاج الذيفانات.

وقد تشترك الآليتان السابقتان في إحداث المرض فتسمى أمراض فوعية سمية.

ثانياً: الفوعة الجرثومية Bacterial Virulenc

تعريف الفوعة الجرثومية :

هي قدرة الجرثوم على الغزو والتكاثر والانتشار في جسم الثوي المضيف وإحداث المرض، وهي تفاعل بين خواص العامل المسبب من جهة ووسائل الجسم الدفاعية من جهة أخرى، الطرف الأول من هذا التفاعل يتعلق بالجراثيم حيث نلاحظ اختلافاً واضحاً في الفوعة بين أنواع الجراثيم المختلفة وأحياناً ضمن النوع الواحد هناك اختلاف بين عترات النوع الواحد، مثل عترات الباستوريلا والبروسيلا التي تتفاوت بين شديدة ومتوسطة وضعيفة، والطرف الثاني يتعلق بحالة الثوي الصحية والمناعية.

العوامل المرتبطة بفوعة الجراثيم :

١-عوامل مرتبطة بالجرثوم :

آ-خواص جدار الخلية الجرثومية :

الأشعار تثبت الجرثوم على جدار الخلايا المضيفة والمحفظة تعيق عملية البلعمة مما يزيد من فوعة الجراثيم، وجدار الخلية الجرثومية يحميها من المؤثرات الفيزيائية والكيميائية، كما أن لجدار الخلية الجرثومية وظائف إفرازية تزيد من الفوعة.

ب- إفراز الأنزيمات :

كالكولاجيناز القادر على تفكيك الألياف العضلية، والهيالونيداز الذي يفكك الأنسجة الضامة ويساعد على انتشار الجرثوم أما الخميرة المخثرة فهي تحول مولد الليفين إلى ليفين يحيط بالعنقوديات ويحميها من الوسائل الدفاعية والصادات في جسم الثوي، إضافة إلى الكيناز الحال لليفين الذي يساعد على انتشار الجرثوم في الأنسجة، وقد ينتج عنه تشكل صمامات في الأوردة الدموية مما يؤدي إلى مضاعفات خطيرة.

جـ - نواتج الاستقلاب الجرثومي :

تزيد هذه النواتج من فوعة الجراثيم مثل الغاز المنطلق من استقلاب سكر الغلوكوز هذا الغاز قادر على تفكيك الخلايا العضلية وتفكيك الحموض الأمينية وتحولها إلى ذيفانات أمينية، كما أن الانحلال الذاتي للجراثيم يحرر بروتينات نووية في الجسم يزيد من فوعتها.

٢- عوامل مرتبطة بالثوي :

هذه العوامل متعلقة بالنوع الحيواني، فالخيول تصاب بالكزاز والأبقار مقاومة، والعرق الأسود أكثر حساسية لمرض السل، والعمر الصغير والكبير أكثر استعداداً للإصابة بالأمراض من الأعمار المتوسطة، كما أن الحالة الفيزيولوجية والمناعية للثوي لها تأثير في مقاومة الإصابة أيضاً فإن طريقة دخول العوامل الممرضة إلى الجسم تحدد فوعة الجراثيم فالسالمونيلا ليس لها تأثير مرضي إلا إذا دخلت عن طريق القناة الهضمية.

زيادة الفوعة الجرثومية :

قد يتم الاحتفاظ بالجراثيم في المخابر بغرض الدراسة لفترات طويلة ولإعادة فوعتها نلجأ إلى :

١- زرع الجراثيم على بيئات نوعية غنية بالدم والمصل.

٢- بإمرار الجراثيم المتكرر في حيوانات التجارب النوعية والحساسة للجرثوم.

طرق إضعاف الفوعة الجرثومية :

تستخدم هذه الطرق لتحضير اللقاحات والمصول لتأمين مناعة قوية ضد مسببات الأمراض وأهم هذه الطرق :

١- استنبات الجراثيم في منابت فقيرة بالمواد الغذائية.

٢- استنبات الجراثيم في بيئات فقيرة وحاوية على مواد مانعة لنموها.

٣- استنبات الجراثيم في درجة حرارة أعلى من الدرجة المثالية لنموها.

٤- تسخين العترات الجرثومية لفترات محدودة في درجة حرارة أقل من الدرجة المميتة.

٥- حقن الجراثيم أوالحمّات المتكرر في حيوانات غير حساسة لها حتى تفقد ضراوتها.

حفظ الفوعة الجرثومية :

١- حفظ الفوعة الجرثومية المتبوغة : ويتم ذلك بزرع تلك الجراثيم على أوساط نوعية مضاف إليها مواد النمو، مثل الدم أو المصل في حرارة المخبر دون تعريضها للأشعة أو الضوء، مما يساعد على تبوغها حيث تستطيع الاحتفاظ بفوعتها عن طريق حفظها بالشكل المتبوغ.

٢- حفظ فوعة الجراثيم غير المتبوغة : حيث تحفظ الجراثيم المتبوغة بالدرجة (-٧٠ م) على فوعتها، كما يمكن اللجوء إلى عملية التجفيد(التجفيف والتبريد)حيث يتم تعريض المزارع الجرثومية إلى درجة حرارة منخفضة جداً مع تجفيفها بالإخلاء على شكل حبابات توضع في أمبولات زجاجية محكمة الإغلاق إلى حين استخدامها.

ثالثاً: آلية تأثير الجراثيم وصفاتها المحددة للإمراضية

تمتاز صفات الجراثيم الممرضة بالسمية والهجومية، أي قدرة الجـراثيم علـى الانتشار في عضوية االثوي والتكاثر في. وإن وجود المحيفظات يزيد مـن الإمراضـية للجراثيم (محيفظات عصيات الجمرة الخبيئـة، وعصـيات الطـاعون وعصـيات الكليبسيلة..) كما أن وجود مستضد سطحي يدل على شدة الإمراضية (Vi) عند السلمونيلا التيفية تحدد درجة فوعة الجراثيم بـLD50 أي عدد الجراثيم الواجـب إدخالها إلى عضوية الحيوانات المخبرية كي تؤدي إلى قتل ٥٠ % من هذه الحيوانات .

إن آلية تأثير أي نوع من الجراثيم متعلق بعدة عوامل متلازمة مع بعضها أثناء التـأثير على العضوية المصابة. فمثلاً نلاحظ أثناء الإصابة بالعقدية المقيحة تعاضد المركبـات والمواد التالية مع بعضها :

أ – مكونة الضد البروتينيةM. ذات التأثير الكبير على حادثة البلعمة.

ب – الذيفان المحمر (المسبب للحمى القرمزية).

جـ- الهيموليزين وخاصة (o).

د – ستربتو كيناز، ستربتودورناز، هيا لرونيداز، البوكسيدين... الخ.

تختلف آلية تأثير الحمّات على عضوية الانسان أو الحيوان عن تأثير الجراثيم فالحمة مؤلفة من غلاف بروتيني هوالقفيصة (الكابسيد) ومن المادة الوراثية الجينوم (المجين) على شكل حمض DNA أو RNA.

ويلعب الغلاف البروتيني دوره في المرحلة الأولى من عدوى الخلية، حيـث يسـبب DNA أو ادمصاص الحمة على سطح خلية الإنسان، وهكذا تدخل الحموض النووية إلى داخل الخلية بمساعدة المواد الإنظيمية للحمى، فمثلاً نجد عند حمه الكريب أنظيماً يسهل دخول الحموض يدعى بالنيورأميندأز، تتنقل هذه الحموض الحموية المعلومـات الوراثية للخلية الثوية، حيث تجند هذه الخلية من أجل انطباع الحمه داخل هذه الخلية، بعد أن تكون قد انتجت الحموض النووية الحموية والكابسيد الحموي. ومن المعلوم أن

اشتداد التغيرات في الأنسجة عبارة عن نتيجة لازدياد تكاثر هذه الحمّات بالانطبـــاع.
وبهذه الطريقة يمكننا تقدير سمية (ضراوة) الحمه.

تأثر الجراثيم على العضوية بصورة مباشرة عن طريق السموم أو الذيفانات الجرثومية على هذه العضوية الثوية.

الذيفانات الجرثومية : Bacterial Toxins

تعد الذيفانات الجرثومية الآلية الثانية التي تسبب المرض عند الثوي وهي مواد كيميائية سمية لها تأثير المستضد وتأثير نوعي على أنسجة الثوي وقد صنفت إلى :

١- ذيفانات خارجية تفرزها الجراثيم إلى الوسط الخارجي.

٢- ذيفانات داخلية تبقى داخل الخلية الجرثومية ولا يمكن الحصول عليها إلا بعـــد موت الجراثيم.

١ – الذيفانات الخارجية :Exotoxins

سموم نوعية، عبارة عن مركبات بروتينية مفرزة، غير مقاومة للحرارة، شديدة الفوعة و نميزمنها سموماً تحلل الكريات الحمر (ع. ذهبية) وأخرى تقتل كريـــات البيض مع تكوين القيح (المكورات العنقودية الذهبية ،المكورات العقديـــة مقيحـــة) وسموماً تؤثر على الجهاز العصبي (سم مطثيات الكزاز وســـم المطثيـــات الوشـــيقية).وسموماً تؤثر على الأمعاء ،تحث الذيفانات الخارجية الثوي على تشـــكيل أضـــداد مناعية نوعية لها، وبصورة عامة تفرزها الجراثيم الإيجابية الغرام (٢٠٠ غرام من السم النقانقي النقي تكفي لقتل البشرية بأكملها).

٢ – الذيفانات الداخلية : Endotoxins

تؤدي إلى تأثرات مرضية خفيفة، ذيفانات ضعيفة السمية، غير نوعية لا تسبب أعراضاً مميزة (تحدث كل الأنواع ترفعاً حرارياً مع إسهال) ثابتة تقاوم الحرارة. كما تشكل جزءاً تكوينياً من الخلية الجرثومية، وهي مركبـــات معقـــدة مـــن شـــحوم

فوسفورية مع البروتينات. موجودة بصـــورة خاصـــة عنـــدالجراثيم ســـلبية الغـــرام (السلمونيلة،ضمات الهيضة).

الذيفان اللا سمي"الذوفان" :Toxoid

هو ذيفان خارجي معطل بالفورمالين ٠.٣% دون أن يفقد قدرته على توليـــد الأجسام المضادة في الجسم، يؤدي حقنه في الجسم إلى تعطيل فعل المتعضيات ويسبب مناعة قوية تستمر لفترات طويلة، مثل ذيفان الكزاز اللا سمي، وذيفان الخناق اللا سمي لتمنيع الأطفال.

الترياق : Antitoxim

هو مصل غني بأضداد الذيفان الخارجي يتم الحصول عليه بتمنيـــع الحيوانـــات الخيول والأبقار بجرعات صغيرة تولد أضداداً للذيفان بكميات هائلة، يعطى للعضوية مناعة آنية سريعة لفترة قصيرة تستغرق أربعة أسابيع إلى شهرين تســـتخدم في حالـــة الكزاز والتسمم الوشيقي وتستخدم علاجياً.

الفصل الرابع

الصادات الحيويـــــــــة Antibiotic

أولاً: تعريف الصادات الحيوية

مركبات كيميائية علاجية تفرزها الأحياء الدقيقة غالباً، كما يمكن الحصـــول على بعضها عن طريق تركيبها في المخابر والمعامل الصيدلانية تركيباً كاملاً أو جزئياً.

تكون الصادات عبارة عن أساس عضوي مثل الستربتومايسين أو حمض عضوي مثل البنسلين، أو عديدات الببتيد أو كيتونات مثل الأكتينومايسين وعلى الرغم من أن الأحياء تنتج مركبات لها خواص الصادات غير أن أغلبها سام.

يكون للصادة الحيوية تأثيراً نسبياً ونوعياً، فالبنسلين يؤثر على الجراثيم إيجابية الغـــرام والستربتومايسين يؤثر في المرتبة الأولى على الجراثيم سلبية الغرام وعلى المتفطرات.

يعتمد تأثير الصادات الحيوية على نقاط تشريحية في بنية الخلية الجرثومية مثـــل جدار الخلية الجرثومية، أو على الهيولى وفي أماكن استقلاب البروتينات في النواة.

ثانياً: آلية التأثيرات المختلفة للصادات الحيوية في الجراثيم

١ – الصادات التي تؤثر في مستوى جدار الخلية الجرثومية :

تضم هذه الصادات البنسلين والسيفالوسبورين والأمبيسلين والأموكسي سلين فهـــي تهاجم عملية بناء الخلية الجرثومية وتعرقلها، كما أنها تملك القدرة على تحريض عملية تحلل الجراثيم ذاتياً. كما أن الباستراسين يشكل مع الســـكريات الشـــحمية معقـــداً كيميائياً يؤدي إلى منع تشكل جدار الخلية الجرثومية بشكل غير مباشر.

– ويتميزالسيفوتاكسيم"الجيل الثالث من السيفالوسبورين" بمقاومة للسيفالوسبوريناز الذي تفرزه العصيات سلبية الغرام.

٢- الصادات المؤثرة على أماكن استقلاب وتشكل بروتينات الخلية الجرثومية:

تعد الصادات : الكلورام فينيكول و الارثرومايسين و الأولياندومايسين و اللينكومايسين و الكاربومايسين رغم اختلاف تركيبها الكيميائي من الصادات التي تهاجم أماكن تركيب البروتين في الخلية الجرثومية فهي تؤثر على المورث المسؤول عن تركيب البروتين.

أما الستربتومايسن والجنتامايسين والكانامايسين والنيومايسين والتراسيكلين فهي تهاجم الحبيبات وبالتالي اضطراب RNAm الريبية وإن أي اضطراب في عمل الريباسات يؤدي إلى اضطراب في عمل تشكل الأحماض الأمينية وتوقف انتاج البروتينات الضرورية لحياة الخلية الجرثومية.

٣- الصادات المؤثرة على وظائف الغشاء الهيولي الجرثومي :

تقوم الصادات مثل البوليمكسين والكولستين بإحداث خلل في وظيفة الغشاء الهيولي للجراثيم مما يؤدي إلى نزوح قواعد البورين والبريميدين من الخلية ونزوح البروتينات إلى خارج الخلية.

٤- الصادات المثبطة لتركيب الفولات :

تقوم الفولات "حمض الفوليك" بدور أساسي في التفاعلات الاستقلابية للحموض الأمينية والبورينات والبيرميدينات، لذا فهي تدخل بصورة غير مباشرة في تركيب الحموض النووية والبروتينات ومن الصادات التي تقوم بتثبيط عمل الفولات السلفاميدات، كمضادات تحل محل حمض الفوليك وتمنع إتمام التفاعلات الاستقلابية وكذلك الأمر بالنسبة للترايميثيوبريم.

الشروط الواجب توفرها في الصادات الحيوية :

١- أن يكون لها تأثير قوي على الجراثيم.

٢- أن يكون لها تأثير نوعي مميز.

٣- ألا تكون سامة لخلايا الأنسجة الحية.

٤- ألا تتأثر بخمائر أنسجة العضوية.

٥- أن تحتفظ بخواصها الثابتة لفترة طويلة.

٦- ألا تنطرح بسهولة من العضوية.

٧- ألا ينتج عنها أي تفاعلات تحسسية في العضوية.

٨- أن تنحل بسهولة في سوائل الجسم.

مقاومة الجراثيم للصادات :

تظهر سلالات جرثومية مقاومة للصادات لأحد الأسباب التالية :

١- نوع الصادة الحيوية: عند استخدام البنسلين أو الستربتومايسين أو التتراسيكلين أو السيفالوسبورين تتشكل ذراري جرثومية مقاومة بسهولة بعد استخدام تلك الصادات، لذلك ينصح بتغير الصاد الحيوي في المعالجات المتكررة للحيوان الواحد أو في القطيع.

٢- نوع الجرثوم: عند معالجة العنقودية الذهبية بصاد حيوي معين تنشأ ذراري مقاومة لتلك الصادات.

٣- تأثير جرعة الصادة الحيوية وفترتها: حيث تظهر ذراري مقاومة عند المعالجة بجرعة صغيرة وغير كافية للمعالجة أو لفترة زمنية قصيرة.

ثالثاً: أنواع تأثير الصادات الحيوية على الجراثيم :

ينقسم تأثير الصادات على الجراثيم إلى أربع مجموعات :

١- صادات قاتلة للجراثيم : مثل الباستراسين، الكانامايسين، الكوليمايسين نيومايسين، بوليمكسين، ستربتومايسين، ومركبات النتروفيوران.

٢-صادات مبيدة للجراثيم : خلال تكاثرها مثل البنسلين، نوفوبيوسين، فانكومايسين.

٣-صادات مثبطة لنمو الجراثيم في الجرعات الصغيرة : كلورام فينكيول، تتراسيكلين، أرثرومايسين، أوليانادومايسين، سبيرامايسين، كاربومايسين،وقاتلة للجراثيم بالجرعات الكبيرة.

٤-صادات مثبطة فقط لنمو الجراثيم : السلفا والسيلكوسترين.

الإجراءات الواجب القيام بها عند استخدام الصادات الحيوية للحصول على نتائج علاجية جيدة :

١- مراقبة حساسية الجراثيم للصادات الحيوية.

٢- استعمال الصادات الحيوية بجرعات كافية وخلال مدة علاجية مناسبة.

٣- في حال استعمال صادتين معاً فإنه يجب أن تكون جرعة كل منهما كافية للتأثير على الجراثيم بمفردها.

٤- أن تكون الصادات الحيوية المعطاة غير متنافرة التأثير (لايعطى البنسلين مع السلفا).

٥- يجب إجراء اختبار عدم حدوث تحسس العضوية بالصاد الحيوي عند الاستخدام الأول.

٦- يجب إعطاء الفيتامينات وخاصة مجموعة فيتامين B أثناء إعطاء المريض صادات حيوية تؤثر على النبيت الجرثومي المعوي الطبيعي وأيضاً إعطاء المريض جراثيم حية نافعة عن طريق الفم من نوع الملبنات المحبة للحموض والمقاومة للصادات الحيوية كما يجب إعطاء مركب النستاتين المانع لنمو الفطور عند المعالجات الطويلة بالصادات الحيوية.

رابعاً: اختبار تحسس الجراثيم بالصادات الحيوية

يفيد هذا الاختبار في تحديد الصاد الحيوي الأفضل لمعالجة حالة مرضية معينة توفيراً للوقت والجهد والمال وتجنباً لإعطاء صاد حيوي قد لايعطي أي نتيجة علاجية لتلك الحالة المرضية، ويوجد أكثر من طريق لاختبار تحسس الجراثيم بالصادات الحيوية نذكر منها :

١- طريقة التخفيف المتدرج للصادات داخل الأنابيب :

يتم تحضير كمية صغيرة محدودة من الصاد الحيوي في أنبوب اختبار ثم يتم تمدد هذه الكمية تباعاً في عدة أنابيب اختبار، ثم يوضع في كل أنبوب كمية معينة وثابتة من المعلق الجرثومي ثم تحضن هذه الأنابيب بالدرجة ٣٧ مئوية لمدة ١٨ ساعة ثم تقرأ النتيجة مع ملاحظة النمو الجرثومي(تعكرالبيئة داخل الأنبوب) حيث نراقب التراكيز التي أدت إلى وقف النمو الجرثومي وخاصة التركيز الأدنى الذي أدى إلى منع نمو الجراثيم (محتوى الأنبوب يبقى رائقاً).

٢- طريقة استخدام طريقة الانتشار داخل البيئات المزروعة :

نصنع بواسطة أنبوب معدني حويضاً داخل البيئة الصلبة المزروعة ثم نفرغ هذا الحويض ونملؤه بمقدار محدد التركيز من الصاد الحيوي، وهكذا جميع الحويضات التي تم تفريغها ثم يتم التحضين بالدرجة ٣٧ مئوية لمدة ٢٤ ساعة ثم نقرأ النتيجة. سينتشر الصاد الحيوي من الحويض إلى البيئة الصلبة(طبق بتري مصبوب فيه غراء مغذي). ويمنع نمو الجراثيم وتعد أكير دائرة منع نمو هي الصادة الحيوية الأفضل(أو التركيز الأمثل للصادة الحيوية) في المعالجة.

٣- طريقة استخدام الأقراص المشبعة بتراكيز وأنواع مختلفة من الصادات الحيوية:

تقوم على زرع البيئات الصلبة بالجراثيم المفحوصة والمعزولة والمزروعة في بيئة سائلة، ثم يتم توزيع الأقراص المشبعة بتراكيز وأنواع مختلفة من الصادات الحيوية على سطح المنبت بمسافات متساوية ثم يتم التحضين بالدرجة ٣٧ مئوية ولمدة ٢٤ ساعة ثم تقرأ

النتيجة : فالصاد الحيوي الأمثل هو الذي يمنع نمو الجراثيم في أكبر قطر لـــدائرة منـــع النمو(قطر التثبيط) ويتعلق قياس قطر التثبيط بنوع الصاد الحيوي المستخدم (حيث إن لكل صاد حيوي قطر تثبيط خاص به) ونوع الجرثوم المراد تطبيق العلاج عليه.

الفصل الخامس

المنـــــــــاعة Immunity

تعريف المناعة :

المناعة هي الحالة التي لا يصاب بها كائن حي بإنتان عندما يغزو جسمه أحيـــاء دقيقة ممرضة "جراثيم- حمات- فطور- ذيفانات " بينما يصاب كل كائن حـــي من النوع نفسه يخضع لشروط الخمج نفسها.

وقد عرفت أيضاً بأنها مجموعة من الآليات الحيويـــة التي تؤمن للجســـم حماية نفسه وذلك بالتخلص من العوامل الممرضة التي قد يتعرض لها.

أما من الناحية الطبية فتعرف المناعة بأنها مقاومة الجســـم للحمّـــات والجراثيـــــــم والذيفانات وغيرها من المواد الغريبة عنه.

يهتم علم المناعة بدراســـــة رد فعل الثوي على نفاذالمواد الغريبة إلى أنسجته وكذلك الوسائل الـــتي يلجـــأ إليهاالجســــم في محاولتــه للـــتخلص مـــن تلـــك الموادوتأثيراتهاوحماية نفسه من التعرض للإصابة بها مرة ثانية.

تقاوم العضوية الأخماج بآليتين دفاعيتين هما :

١- الآلية الدفاعية الطبيعية غير النوعية : وتعرف بالمقاومة غير النوعيـــــة

٢- الآلية الدفاعية المناعية النوعية.

أولاً : الآلية الدفاعية الطبيعية غير النوعية

وهي ما تعرف بالمقاومة غير النوعية : وهي تتلخص بأن الجسم يدافع عن نفسه أمام الخمج بواسطة آليات فيزيولوجية دفاعية هي :

١ – الموانع الطبيعية للجسم :

يمتلك الجسم موانع طبيعية متعددة أهمها :

أ – الجلـــد :

يعد الجلد السليم الخالي من الجـــروح عائقاً يمنع نفوذ الكثير من الجراثيــــــم إلى الجسم، ويتميز بقدرته على حمايـــة الجسم وتحمله لكافةالظروف الخارجيـــــــــة، ويرجع الفضل في ذلك لأســـباب عدة منها وجود طبقة البشرة العليـــا المتقرنـــة للجلــد وفي الوقت نفسه لإفرازات الغـــــدد العرقية بما تحتويه من مواد قاتـــــلة للجـــراثيم ومن افرازات حامضية تؤمن للجلـــد درجة حموضة ٥ – ٦، كل هذه العوامـــــل تساعد على قتل الجـــراثيم والقضاء عليها ومنـــع دخولها إلى الجســـم عبر الجلـــــد، فمثلاً تموت الجـــــراثيم سلبيـــة الغرام مثل القولونية والســـالمونيلا على سطح الجلد عند الإنسان خلال ١ – ١٥ دقيقة كمـــا تموت الجـــــــراثيم الإيجابية الغرام الممرضة مثل العنقودية والســـبحية غير أن فترة مقاومتها أطول إلا أن تلك العوامل لاتمنع جـــراثيم النبيت الطبيعي غيـــر الممرض من العيش على الجلد.

ب – الأغشية المخاطية :

من المعروف أن الأغشية المخاطية والتي تبطن أحهزة الجسم المختلفة مثـــل الجهـــاز الهضمي والبولي والتناسلي وظيفتها الأساسية حماية تلك الأجهزة من جميـــع المـــواد المؤذية لها.

إن خلايا الغشاء المخاطي تفرز مخاطاً لزج القوام يعد بحد ذاته مصـــيدةً للجـــراثيم والمواد الغريبة التي تلتصق بالمخاط، ثم يطردها ثانية بواسطة الخلايا المبطنة المســـوطة ومن ثم يتم التخلص من الأجسام الغريبة.

جـ – الجهاز الهضمي :

يوجد على طول الجهاز الهضمي موانع متعددة إضافةً إلى الأغشية المخاطية التي سبق ذكرها والتي لكل منها وظيفتها ودورها الخاص في حماية الجسم ونذكر منها :

١ – اللعاب :

يرجع تأثير اللعاب في حماية الجسم إلى درجة قلوتية ووجود العديد من الأنظيمات والمواد القاتلة للجراثيم وأهمها الخميرة المحللة والتي تعرف بالليزوزيم وهي توجد بكميات كبيرة في اللعاب وفي بعض السوائل الأخرى للجسم إذ إنها تؤدي دوراً في تحلل الجراثيم وإذابة جدار خليتها ويعد تأثيرها أشد على الحراثيم الإيجابية الغرام منها على الجراثيم سلبية الغرام.

٢ – العصارات المعدية المعوية :

نتيجةً لارتفاع درجة الحموضة في المعدة بسبب وجود حمض كلور الماء المعروف بتأثيره المميت لكل أنماط الجراثيم فإن درجة الحموضة تعطي حمايةً للمعدة من المسببات الممرضة، أما العصارة المعوية والمرارة فهي تحمي الأمعاء من بعض الجراثيم الممرضة وخصوصاً تلك التي تتأثر بأملاح الصفراء " المرارة ".

د – الجهاز التنفسي :

إن التركيب التشريحي للأنف والحنجرة ونوعية الخلايا الظهارية المسوطة التي تغطي الجهاز التنفسي العلوي تساعد في منع المواد الغريبة والجراثيم من الدخول إلى هذا الجهاز أثناء عملية الشهيق من الجو المحيط وبذلك يمكن التخلص من معظم الجراثيم الممرضةالتي يمكن أن تدخل عن طريقه .

٢- الوظائف الدفاعية للجراثيم الطبيعية :

يوجد عديد من أنماط الجراثيم عند الإنسان أو الحيوان السليم تسمى بالنبيت الطبيعي في تجاويف الجسم وعلى الجلد والأغشية المخاطية.

ففي أمعاء الحيوان السليم يوجد العصيات القولونية والمتقلبة والمطثيات والعقديات وأنماط مختلفة من الفطور، وعلى الجلد توجد المكورات العنقودية، وفي البلعوم والأنف توجد أنماط من المكورات والفطور، وفي المهبل توجد وبشكل طبيعي الملبنات. هذه الجراثيم المتعايشة تقوم بوظائف دفاعية تتعلق بصورة رئيسية بخصائصها التضادية مع الجراثيم الممرضة وإفرازها للصادات الحيوية التي تؤثر بها على الجراثيم الممرضة الأخرى مثلاً تفرز الايشريكية القولونية حمض اللبن المثبط لنمو الجراثيم التعفنية والسالمونيلا التيفية والسبحيات والعنقوديات وفطور المبيضات،وقد يؤدي استخدام الصادات الحيوية لفترة طويلة إلى تثبيط نمو وتكاثر الايشريكية في الأمعاء مما يؤدي إلى تكاثر فطور المبيضات ويؤدي للإصابة بداء المبيضات، كما تصاب النساء بالتهابات مهبلية عند اختفاء جرثومة دوديرلين المتعايشة بصورة طبيعة في المهبل والمكورات العقدية االلعابية المتواجدة في تجويف الفم تنتج الماء الأوكسجيني.الذي يؤثر على الجراثيم اللاهوائية.

٣ – المناعة الخلطية غير النوعية :

تتعلق هذه المناعة بوجود مواد لاتدخل ضمن المركبات المشكلة للأضداد المناعية النوعية الناجمة عن اعطاء اللقاحات أوالخمج المرضي، وإنما كمركبات مؤثرة قاتلة للجراثيم أو مثبطة لبعض الحمّات أو مفتتة لبعض الأوالي الحيوانية، ويقوم بالوظائف السابقة جهاز البروبردين المؤلف من بروتين ينتمي إلى الغلوبينات المناعية ومن المتممة، كما ان أنزيم الليزوزيم المعروف بخميرة الموراميداز الذي يؤثر على جدار الجرثوم كما أنه يعطل نشاط بعض الحمّات، إن هذا الأنزيم أي الليزوزيم يلعب دوراً مهماً في منع حدوث الإنتان كما أنه موجود في الدم وسوائل النسجة وأيضاً في الدموع واللعاب.

أضف إلى ماسبق أن الأضداد النوعية المتشكلة بصورة طبيعية نتيجة التماس الدائم للجراثيم مع عضوية الإنسان السليم تؤدي لتشكيل مناعة طبيعية خلطية واقية.

٤– البلعمة :

إن عملية البلعمة عبارة عن ظاهرة معقدة، يحدث خلالها التهام للجراثيم أو الأجسام الغريبة عن الجسم، والجدير بالذكر أن معظم الأحياء المجهرية تتلاشى بعد بلعمتها، غير أنه يوجد بعض الجراثيم القادرة على التكاثر داخل الخلايا البالعة مثل عصيات السل وأيضاً عصيات البروسيلا. إن هذا التكاثر داخل الخلايا البالعة يحمي هذه الجراثيم من الآليات المناعية الخلطية، وأيضاً من تأثير المركبات العلاجية عليها وخاصة الصادات الحيوية، التي لاتستطيع النفوذ إلى داخل الخلايا.

تلعب عملية البلعمة دوراً مهماً أثناء حدوث الالتهاب الحاد، كما أنها تلعب دورها في بداية مراحل الاستجابة المناعية.

٥ – الحالة العامة للجسم :

إن الحالة الصحية العامة الجيدة للجسم تلعب دوراً مهماً في منع حدوث الإنتان. هذا وإن النشاط الصحيح لأجهزة الجسم وأعضاء المختلفة متعلق بتغذيته، إذ إن النقص الغذائي الكمي، وخاصة الكيفي، وبصورة رئيسية الفيتامينات والبروتينات، يؤدي إلى نمو النتانات المختلفة، فمثلاً نشاهد أن بعض الأشخاص الذين يتناولون الأطعمة بصورة جيدة هم أقل الناس عرضةً للأمراض الخمجية المختلفة، كما أن الممارسة الرياضية بصورة منتظمة ومستمرة تساعد على التغلب على الأمراض ومقاومة شتى الحالات المرضية الناجمة عن البرد.

ثانياً : الآلية الدفاعية المناعية النوعية

تعريف المناعة: لقد تبين لنا أن المناعة هي الحالة التي لايصاب بها كائن حي بإنتـــان، حينما يغزو جسمه أحياء دقيقة ممرضة (كالجراثيم – حمات – فطريات...) بينمـــا يصاب بالإنتان كل كائن حي من النوع نفسه، حينما يخضع لشروط الخمج نفسها.

تعتمد الآليات الدفاعية النوعية على حدوث مناعة ضد مواد معينـــة تـــدعى بالمستضدات المكونة لهذه الأحياء المجهرية أو المتشكلة عنها، وبهذا تختلف هذه الآلية النوعية أساساً عن الآليات الفيزيولوجية غير النوعية المذكورة سابقاً

تكون المناعة النوعية منفعلة حينما تدخل أضداداً نوعية (أجسام مضـــادة) جـــاهزة لعضوية الإنسان. وتحدث المناعة الخلطية الطبيعية نتيجة دخول الأجسام المضـــادة إلى الجنين عبر المشيمة من الأم (كالأضداد المناعية المضادة لمرض الحصبة) أو أن تتشكل نتيجة حقن هذه الاضداد النوعية اثناء المعالجة (مثل المصل المناعي ضد مرض خناق الخيل، أو جاما غلوبين بشري يحتوي على أحسام مضادة جاهزة ضد حمات التـــهاب الكبد الحمّوي).

أما المناعة الفاعلة فتحدث نتيجة إنتان طبيعي أو لقاح وقـــائي، حيـــث تشـــكل في الحالتين أضاداً نوعية نتيجة وجود مستضدات. وأيضاً تتشكل مناعة خلويـــة والـــتي تلعب دوراً كبيراً في الشفاء من المرض، هناك طرائق متعددة لقياس الأضداد النوعيـــة باستعمال عياراتها المختلفة في المصل مثل اختبار التراص واختبار الترسيب واختبـــار تثبيت المتممة، واختبار التعادل. ولقد أظهر الباحثون حتى فترة قريبة أن ارتفاع عيار الأضداد النوعية يلعب دوره الاساسي في عملية الاستشفاء.أما اليوم فإننا نعرف أنـــه بمساعدة الاختبارات المصلية نستطيع قياس الاستجابة المناعية فقـــط، ولايجـــوز أن نستنتج درجة المناعة الحاصلة بالاعتماد على عيار هذه الأجسام المضادة في الجسم، لذا فإن الاختبارات المصلية قد احتلت أهميتها في التشخيص المصلي وخاصـــة في اثبـــات ازدياد عيار الأجسام المضادة.

لقد ازداد الاهتمام أخيراً بالدور الأساسي للخلايا اللمفاوية والبلعميات الكبرية في إحداث المناعة، حسب نظرية بورنيت (Burnett) التي تفسر مواضيع شتى في المناعة، كالتحمل المناعي وحدوث فرط الحساسية من النموذج المتأخر وغيرها من المواضيع النظرية.

نميزحالياً عدة أنواع من الغلوبولينات المناعية وخاصة IgA و IgG وIgM وكماهو معلوم فإن IgM يظهر في بداية الاستجابة مناعية ولكنها لاتوجد لفترة طويلة في الدم، أما IgG فيظهر عكس ذالك، وذلك في الفترات المتأخرة من المرض ولكن يظل لفترة طويلة، وأما IgA فيأخذ مركزاً وسطاً بين الاثنتين السابقتين والذي يوجد في افرازات الأغشية المخاطية حيث يلعب دوراً مهماً في النشاطات الدفاعية للجسم.

بنية الغلوبولينات المناعية :

تتألف الغلوبولينات المناعية من (٨٥ %) من البروتينات الموجودة في سلسلتين ثقيلتين ومن (١٥ %) من البروتينات الموجودة في سلسلتين خفيفتين إن هذه السلاسل عديدة الببتيد تتحد مع بعضها بعضاً بمجموعات (S – S)، فالأجنة والمولودون حديثاً غير قادرين على إنتاج هذه الغلوبلينات ولكنهم يحصلون عليها من الأم عن طريق الحبل السري أو بداية الرضاعة (حليب السرسوب)، وحين يبلغ الطفل سن (٣ – ٦ أشهر) فإن عضويته تبدأ بإنتاج الغلوبلينات المناعية.

مما يجدر ذكره حدوث أضداد ذاتية ضد أنسجة الجسم كما هو الحال أثناء بعض الأمراض الإنتانية شبيه بحدوث الأجسام المضادة النوعية. فمثلاً في حال الالتهاب الحموي الحاد للكبد فإنه كثيراً ماتوجد أجسام مضادة للكبد في مصل الدم، والذي لايدل على دور المناعة الذاتية في سير المرض.

والجدير بالذكر أيضاً أنه تتشكل أضداد نوعية أيضاً أثناء الأمراض الحموية ولكنها تلعب دوراً أقل أهمية في الشفاء من الدور الذي تلعبه الأضداد النوعية للجراثيم، فقد

تثبت أن أهم دور في وقاية المريض والدفاع عنه من الإصابة الحموية تلعبه مادة بروتينية تنشأ في الخلايا المصابة الخمج الحموي والتي تدعى **بالإنترفرون** (Interferon)، إن هذا الإنترفرون يختلف عن الأجسام المضادة بكونه غير نوعي، أي يظهر تحت تأثير كل حمه ولايؤثر عليه فقط وإنما على غيره أيضاً من الحمّات. غير أن الجسم لايستطيع أن ينتجه في الأشهر الثلاثة الأولى الجنينية. هذا ويعتقد بأن الإنترفرون يعطل نشاطات الأكسدة والإرجاع في الخلايا ممايؤدي إلى إيقاف انطباع الحمّات.

خلاصة القول إن التفاعلات المصلية المتنوعة تساعد على معرفة الخمج بنوع معين من الجراثيم أو حتى بأحد الأنواع (النماذج) المصلية(العترات) لنوع معروف كما تساعد هذه التفاعلات في معرفة مدى تشكيل الجسم لهذه الأضداد التي تساعدنا في تشخيص بعض الأمراض أيضاً فالخلايا المسؤولة عن الاستجابة المناعية من النوع الخلوي تعرف بالخلايا المتعلقة بالتوتة T Cells أو باختصار الخلايا التائية T ، أما الخلايا المسؤولة عن الاستجابة المناعية من النوع الإفرازي للأضداد النوعية، أي الغلولينات المناعية، فتعرف بالخلايا اللمفاوية البائية B cells .

ثالثاً: أنواع المناعة

١– المناعة الطبيعية :

هي المناعة التي يتمتع بها كائن حي منذ ولادته بشكل طبيعي، قد تكون هذه المناعة مختصة بالنوع (مثل الطاعون البقري) لايصيب الإنسان، أو تختص بالعرق (العرق الأبيض أكثر حساسية لشلل الأطفال من الزنوج)، أو تكون مناعة فردية (بعض أفراد العائلة أكثر مقاومة للإصابة بالأمراض).

وأخيراً قد تكون مناعة نسيجية (الغشاء المخاطي للمعدة لايتأثر بذيفان الكزاز) والانسجة العصبية لا تتأثر بالجدري.

٢– المناعة الفاعلة :

هي المناعة المتشكلة في الجسم نتيجة إصابته بمرض إنتاني ناجم عن جرثوم أو ذيفـــان وقد تكون هذه المناعة حاصلة بشكل صنعي وذلك باستعمال اللقاحات الوقائيـــة.إن هذه المناعة لاتظهرإلا بعد مرور فترة زمنية في العضوية، وتستمر لفترة طويلـــة كمـــا يمكن نقلها إلى جسم لآخرعن طريق نقل مصل الأول للثاني، مما تقدم نجد أن هـــذه المناعة يمكن أن تكون طبيعية أو مصطنعة.

٣ – المناعة المنفعلة (المكتسبة) :

تحدث عن طريق نقل مصل إنسان أو حيوان محصن يحتوي على أجسام مضـــادة إلى عضوية إنسان أو حيوان لآخر وذلك لمساعدة هذا الثاني على الشفاء السريع او لحمايته من خطر العدوى. إن هذه المناعة تحصل سريعاً ولايمكن نقلها إلى أي إنسان أو حيوان آخر. ويمكن أن تحدث المناعة المكتسبة بشكل آخر حيث ينتقل هذا النوع من المناعة من الأم إلى الجنين عن طريق المشيمة فتسمى مناعة طبيعية خلطية مكتسبة.

رابعاً: المستضدات (Antigens) :

المستضد أو مكونة الضد هو كل مادة تدخل لعضوية جسم الإنسان أو الحيوان وتؤدي إلى تشكيل أجسام مضادة (أضداد) في أخلاطه. فالمستضد عبارة عن جسم غريب معطى عن طريق غير الأنبوب الهضمي للعضوية (عادة) والمؤدي إلى إحداث استجابة مناعية على شكل أضداد (غلوبلينات مناعية) أو على هيئة خلايا قادرة على التفاعل المناعي. هذا وقد تكون المستضدات كل من الجراثيم والحمّات والكريات والحيوانات المنوية والخمائر والذيفانات الجرثومية، وإن طريق الزرق غير الهضمي ضروري لبعض المستضدات وذلك كيلا تتفكك أثناء إعطائها عن طريق الفم.

قد تكون المستضدات كاملة، أي تمتاز بخاصية مناعية حيث تكون لها القدرة على تنبيه العضوية لإنتاج الغلوبلينات المناعية. وقادرة في الوقت نفسه على الاتحاد مع هذه الأضداد في الزجاج وقد تكون الانتيجينات غير متميزة بصفات مناعية غير أنها قادرة على الاتحاد في الزجاج مع الأضداد المتشكلة في البدن بوساطة المستضدات الكاملة. فالمستضدات غير الكاملة (الهابتينات المعقدة) مثل مستضد (Vi) عند السلومنية التيفية وعديد السكر المركب من نوع واحد من السكاكر، والتي تصبح مستضدات كاملة، في حال اتحادها مع البروتينات وإن كانت تابعة لبروتينات العضوية التي دخلتها.

أما الهابتينات البسيطة فإنها غيرمناعية (غير قادرة على تشكيل الأضداد) كما أنها غير قادرة على الاتحاد مع الاضداد في الزجاج. لكنها تثبط أثناء وجودها لتفاعل الترسيب بين االمستضد الكامل وبين الجسم المضاد المتشكل نتيجة هذا المستضد. وقد تكون بعض المواد مستضدات لعضوية معينة دون أخرى، مثل عديدات السكاكر عند المزدوجات الرئوية المنبهة لتشكيل أضداد عند الإنسان والفئران ولاتؤدي إلى تشكيل أضداد نوعية لها عند الأرانب وخنازير غينيا.إذن فالمستضد الكامل مؤلف من جزء أساسي بروتيني مسؤول عن تنبيه العضوية وتكوين الأضداد وإحداث التفاعلات المناعية في الجسم ومن مكونة ضد ناقصة (هابتين مركب) مسؤولة عن تحديد النوعية

للأجسام المضادة المتشكلة وليس لها القدرة على تكوين أضداد في الجسم إلا إذا كانت متحدة مع الجزء الأساسي. هذا وتتركب الهابتينات من مركبات شحمية وسكرية.

تركيب المستضدات وأنواعها :

تتكون المستضدات كيميائياً من بروتينات أو عديدات السكر، أو من مركبات سكرية شحمية، أو من مركبات سكرية شحمية بروتينية. هناك مكونات ضد جسمية (O) وهدبي (H) ومحفظية (K) أو سطحية (S) وضارية (Vi) وبوغية. إن هذه المستضدات المذكورة سابقاً إن هي إلا مستضدات بنيوية، إذ إنه قد توجد مستضدات منحلة مثل الذيفانات الخارجية والهيموليزين والفيبرينوليزين وتكون من طبيعة بروتينية.

ولقد تبين أن أصغر جزيء للمستضد الكامل يبلغ (١٠٠٠٠ دالتون)لجزيء الأصغر من خمسة آلاف لايكون مناعياً. وبما أن الجزئيات الكبيرة تنطرح ببطء من الكليتين لذلك لاتنفذ من خلال الأوعية ولذلك تمتاز بتأثيرها الطويل، كما أن تشابه بنية المستضد مع بنية نسيج العضوية يجعل تأثيره أصغر وبالتالي يؤدي إلى تشكيل أضداد بكمات المستضد مع بنية نسيج العضوية يجعل تأثيره أصغر، وبالتالي يؤدي إلى تشكيل أضداد بكميات قليلة.

نوعية المستضد :

تعتمد نوعية المستضد بقدرته على التفاعل مع الغلوبلينات المناعية أو الخلايا المناعية المتشكلة نتيجة نفوذه للعضوية وعلى المجموعات المحددة المعينة، أي على المجموعات المحتوية في جزئيها على الحاملات المستضدية والتي هي عبارة عن مجموعات نشيطة صغيرة الجزيء والموجودة على سطح المستضد التي تقوم بمهمة تحديد أماكن الاتحاد بين المستضد والجسم المضاد له.

قد تكون هذه المجموعات مؤلفة من حموض أمينية أو سلاسل عديدة الببتيدات ولقد تبين أن التوضع الفراغي لمختلف المجموعات وأيضاً توزعها الكيميائي يحددان نوعية

المستضد. لذلك فإن أي تغيير فراغي في هذه المجموعات المحددة يؤدي إلى تغيير في الاستجابة المناعية.

لكي نزيد من إظهار هذه المجموعات، فإننا نقوم بامتصاص هذا المستضد على بعض جزئيات الفحم غير الفعالة وعلى الكوارتز أو الكولوديوم أو ماءات الألمنيوم.إن هذه النوعية الفائقة للمستضدات قد استخدمت من أجل تصنيف الجراثيم وغيرها من الأحياء الدقيقة. وعلى الرغم من النوعية الفائقة للأضداد المتشكلة من جراء تنبيه سلاسل جرثومية محددة، غير أنه تحدث تفاعلات تصالبية ناجمة عن تقارب البنية الكيميائية بين بعض الأنواع.

إذن فالمستضدات تحتوي على بنية معقدة جداً، إذ تحتوي على العديد من المجموعات المحددة (المعينة) على الجزيء الواحد، ولهذا فإنها تستطيع أن تتحد مع عدة أضداد، أي أن المستضدات عديدات القيم الإتحادية، بخلاف الأضداد وحيدة أو ثنائية القيم الإتحادية.

طرق إدخال المستضد للعضوية :

يمكننا إدخاله بزرقه بالوريد أو تحت الجلد أو في العضل أو في الادمة وفي بعض الحالات نتيجة لإعطائه عن طريق الفم.

- المواد المساعدة :

وهي عبارة عن مواد تعطى مع المستضد، وذلك من أجل زيادة الاستجابة المناعية للعضوية. حيث تقوم بإبقاء المستضد في مكان الحقن وبالتالي إطالة فترة تأثيره. كما أنها تنظم آلية إنتاج الأضداد المناعية والخلايا المناعية وتنظم المناعة غير النوعية للعضوية، عن طريق زيادة عملية البلعمة للكريات البيضاء والماكروفاج. وإن من أهم المواد المستخدمة هي ماءات الألمنيوم ومزيج الزيت مع الماء وغيرها.

_ المستضدات مختلفة المنشأ :

وهي عبارة عن مجموعة من المستضدات الموجودة في سوائل او خلايا كائنات حية مختلفة من الحيوان والأحياء الدقيقة. فهي متشابهة مناعياً، حيث إنها تعطي تفاعلات تصالبية مع الاضداد المتشكلة، ضد كل واحدة منها على حدة، وتتألف هذه المستضدات من مركبات مخاطية عديدة السكر المتحدة مع الليبيدات وسنذكر مثالاً على ذلك مستضد فورسمان الموجود عند كريات حمراء حيوانات مختلفة وعند بعض الجراثيم مثل الشغيلة الزحارية والعقديات المخضرة وبوردتيلة الشاهوقية، كما أن المادة الزمرية للكريات الحمراء البشرية (B) توجد أيضاً عند بعض سلالات العصيات القولونية.

الذيفانات الجرثومية (Bacterial Toxins) :

الذيفانات الجرثومية عبارة عن سموم تفرزها الجراثيم مؤلفة من جزأين أساسيين، أحدهما مسؤول عن السمية والجزء الآخر يكون مسؤولاً عن نوعية مولد الضد السمي. هذا ونميز نوعين من الذيفانات :

آ - **الذيفانات الخارجية (Exotoxins)** : وهي تفرز خارج جسم الجرثوم وتمتاز بقوة فاعليتها ونوعيتها للأنسجة المختلفة، وتأثرها بالحرارة. وأن الفورمالين يؤثر على الشق السمي ويحوله الى ذيفان لاسمي(Toxoid). هذه الذيفانات تكون الاضداد النوعية أثناء تحصين الإنسان بها، وتعطي مناعة نوعية وقائية مثل (تلقيح الطفل بذيفان الوتدية الخناقية المعطل، والذيفان الكزازي المعطل).

ب – **الذيفانات الداخلية (Endotoxins)** : وهي سموم كامنة داخل الجرثوم يكون تأثيرها أقل حدة ونوعية من الذيفانات الخارجية. تسبب هذه الذيفانات أعراضاً غير مميزة (مثل الحمى والإسهال) كما لاتتأثر هذه السموم بالحرارة (لاتتأثر بالتسخين إلى درجة ٦٠°م) كما أنها لاتكون أجساماً مضادة نوعية إذا حقنت في الجسم. تتواجد هذه الذيفانات عند معظم الجراثيم سلبية الغرام.

وتقسم حسب تأثيرها على الأنسجة المختلفة وأيضاً حسب نوع الجراثيم المفرزة لها إلى :

١ – ذيفانات محللة للكريات الحمر: والتي تفرزها كل من العنقودية الذهبية والعقدية المقيحة.

٢ – ذيفانات محمرة للجسم : مثل ذيفانات العقدية المقيحة.

٣ – ذيفانات مميتة : تفرزها عصيات الدفتيريا، والمكورات العنقودية الذهبية.

٤ – ذيفانات عصبية :مثل ذيفانات العنقودية الذهبية.

٥ – ذيفانات قاتلة للكريات البيضاء: مثل ذيفانات العنقودية الذهبية.

٦ – ذيفانات تؤثر على عضلات القلب وعلى أنسجة وأعضاء أخرى من الجسم.

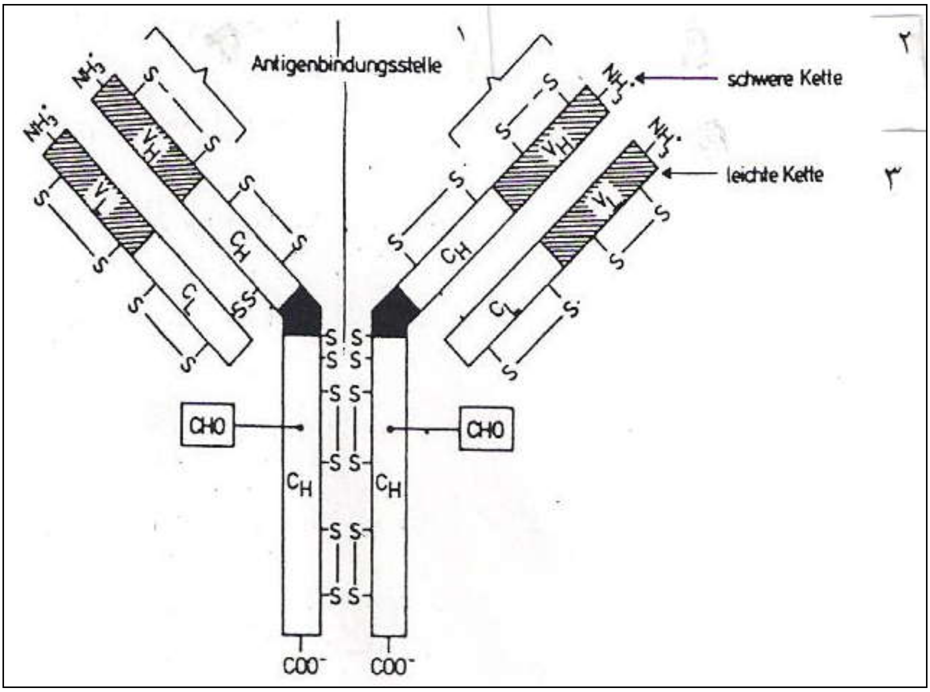
ثانياً: الأضداد النوعية (Antibodies)

وهي عبارة عن غلوبلينات مناعية تظهر في أخلاط جسم الإنسان أو الحيوان، بعد تحريض مستضد معين له، والتي تشكلها خلايا خاصة من الجهاز اللمفاوي تظهر هذا الأضداد بعد فترة من دخول أو حقن هذه المستضدات.

لاتشكل العضوية في الحالة الطبيعية للأضداد المناعية ضد مستضدات جسمها والمكونة له. نكشف عن وجود الأضداد في البلاسما والمصل والسوائل العضوية (مثل السائل الدماغي الشوكي) وفي الإفرازات (كاللعاب والدموع والسوائل الالتهابية). أما أعلى مؤشر لها فيوجد في المصل وقد يتشكل في بعض الحالات أضداد ذاتية فاعلة ضد المستضدات التي تدخل في تركيب عضوية الإنسان وذلك في أثناء بعض الحالات المرضية.

الخواص الفيزيائية والكيميائية للأضداد :

تتركب الأضداد من بروتينات غلوبلينية لاتختلف عن غوبلينات المصل سوى بقدرتها على الاتحاد مع المستضد الذي حرض على تشكيلها. فلو فحصنا مصلاً محتوياً على الأضداد بواسطة الرحلان الكهربائي لوجدنا زيادة في جزء الجاما غلوبلينات وأحياناً بيتا ونادراً ألفا ،ولكننا لانشاهد مطلقاً زيادة في الآحينات (الالبومينات).



شكل رقم (١٠) بنية الغلوبينات المناعية

١- مكان الإرتباط بالمستضد ٢- سلسلة ثقافية ٣- سلسلة خفيفة

تمتاز الغلوبلينات بخواص فيزيائية وكيميائية متشابهة وذات شكل كروي أو بيضوي متطاول. وبنتيجة الرحلان الكهربائي استطاع الباحثون تقسيم الأضداد المناعية إلى خمسة أنواع رئيسية.

بنية الغلوبولينات المناعية :

تتألف الغلوبلينات من أربع سلاسل متصلة مع بعضها بروابط ثنائية الكبر يت (S-S) اثنتان من هذه السلاسل خفيفة (كابا أو لامبدا) واثنتان ثقيلتان.

تتألف كل سلسلة ثقيلة من جزأين : جزء ثابت (C) تتوضع عليه المجموعات المحددة لأحد أنواع الغلوبلينات المناعية، ومن جزء متغير (N) يوجد في القسم (Fab) من المستقبلات للمستضدات، ويتميز هذا الجزء لمتغير (N) بتوضعات فراغية عديدة للحموض الأمينية، مما يسمح بإمكانيات عديدة لتشكيل أضداد نوعية لمستضدات مختلفة. أم القسم (Fc) من الجزء الثابت فيتشابه كثيراً فراغياً في توضع الحموض الامينية عند مختلف الاضداد النوعية وتوجد على هذا القسم مستقبلات للمتممة وللخلايا.

فالغلوبلينات المناعية (IgG) تتشكل بكميات كبيرة وخاصة أثناء تكرار الاستجابة المناعية. فبفضل هذه الأضداد الآتية للطفل الوليد عبر المشيمة، تستطيع هذه الأضداد المتأخرة وقاية الطفل من خطر الإنتان خلال أشهر الولادة الأولى.يضم هذا النوع كل الأضداد النوعية للبكتريا أو سمومها وللحمّات. كما يعد المسؤول عن إيقاف نمو الجراثيم و انحلالها وعن تثبيت المتممة (لأنه يعد من الأجسام المضادة المتأخرة). تبلغ نسبته حوالي (٧٥ %) من الغلوبلينات المناعية (١٢٤٠ ± ٢٧٠ ملغ / ١٠٠ سم^2 من المصل) كما يبلغ وزنه الجزيئي بحدود (١٥٠) ألف دالتون.

أما الغلوبلينات المناعة المبكرة (IgM) فتتألف من جزئيات كبيرة مؤلفة من عشر سلاسل (H) ثقيلة وعشر سلاسل (L) خفيفة على هيئة نجمة. ولو قارنا هذه الاضداد المتأخرة (IgG) لوجدنا أن الأولى ضئيلة الرغبة بالاتحاد مع المستضدات، ولهذا تعد (IgM) كأضداد قليلة التأثير في محاربة الإنتان. يتألف جزيء الاضداد (IgM) من خمس وحدات يكون الوزن الجزيئي لكل منها حوالي (١٨٥) ألف دالتون وتتألف كل منها من سلسلتين ثقيلتين (H) ومن سلسلتين خفيفتين (L) تتراوح كمية هذه الاضداد في مصل الإنسان بحدود (٢٨٠ ± ٧٠ ملغ / ١٠٠ سم^2

من المصل) كما أن الوزن الجزيئي العام لهذه الأضداد (IgM) يقدر بحدود (واحد مليون دالتون). تعد هذه الاضداد من الغلوبلينات مبكرة الظهور إذ تظهر بعد حقن المستضد. وتعد هذه الاضداد(IgM) مسؤولة عن حماية جهاز الدوران.

تمتاز الأضداد المناعية (IgA) عن الاضداد (IgG) بكون الأولى سريعة التحـــرك أثناء الرحلان الكهربائي وبالميل إلى البلمرة.

توجد هذه الأضداد كانتخابية في اخلاط الجسم وفي المفرزات المخاطيـــة والمصـــلية للطرق التنفسية وللأنبوب الهضمي وفي الدموع واللعاب والعرق والسرسوب. تحتوي هذه الغلوبلينات على بروتين إضافي مركب يحمي هذه الأضداد من التفكـــك يبلـــغ الوزن الجزيئي لها حوالي (١٦٠ – ١٧٠) ألف دالتون وفي الشكل المبلمر حـــوالي (٤٠٠) ألف دالتون.

كما توجد في المصل الطبيعي بحدود (١٢٠ – ١٨٠ ملغ / سم^2 من المصل) تؤثر هذه الأضداد على الجراثيم التي لاتدخل الدم.

ولقد اعتبرت الاضداد المناعية (IgD) من الاضداد التي لاتقوم بوظيفتها كغلوبلينات مناعية تحمي عضوية الإنسان المخموج. غير أنه تبين أخيراً وجودهـــا في دم الحبـــل السري، مما دعا إلى الافتراض بأن هذه الاضداد هي أبكر الغلوبلينات المناعية المنتجـــة من قبل الجنين، والتي تترك دمها فيما بعد للأضداد (IgM). يبلغ الـــوزن الجزيئـــي بحدود (١٧٠) ألف دالتون وتتراوح كميتها في المصل الطبيعي بـــين (٠,٣ – ٣٠ ملغ / ١٠٠ سم^2 من المصل) لذا فإن زيادتها تدل على حساسية العضوية. ولقد وجد تزايد في كمية هذه الاضداد في بعض الأمراض (كالأمراض الطفيفلية وخاصة المتسببة عن الديدان).

كما وجد أن أعلى نسبة لها في الدم تلاحظ أثناء داء الربو المتسبب عن التحسس ذي المصدر الخارجي، وأيضاً في حالة الطفح التحسسي الجلدي. يبلغ الوزن الجزيئي لهذه الأضداد حوالي (٢٠٠) ألف دالتون والجدير بالذكر أنه قد تبين وجود أربعة أنواع من الأضداد المناعية المتأخرة (IgG) وهي :

$IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4$، كما أن كلاً من الأضداد (IgA) و (IgM) يحتوي على نوعين من الأضداد.

آلية اتحاد المستضد مع الضد النوعي له :

يعد هذا الاتحاد في العضوية كأساس للمناعة الخلطية. يحتوي الجسم المضـــاد علـــى موضعين في جزيئاته يتحدان مع المستضد النوعي له.

يتألف كل موضع في الضد النوعي من (١٠ – ٢٠ حمض أميني) والمطـــابق بدقـــة للمستضد المتحد معه، مستفيداً في ذلك الاتحاد من الشحنات الكهربائية المتعاكســـة ومن قوى فان ديرولز الجاذبة وخاصة في الظروف الفيزيولوجية لدرجة التأين. ورغم كون هذه القوى الرابطة بين المستضدات والأضداد ضعيفة غير أن الاتحاد يكون نوعياً وكل تغيير في ذرات الهابتين أو المستضد يؤدي إلى إضعاف هذا الاتحاد أو حتى إلغـــاء احتمالاته.

وقد يلاحظ في بعض الحالات المرضية وجود أضـــداد نوعيـــة وحيـــدة الارتبـــاط (أضداد غير كاملـــة) أو مايـــدعى بالأضـــداد المثبطـــة.تتعلـــق قـــوة الارتبـــاط (الاتحاد) بين المستضد والجسم المضاد له بالمجموعات المحددة للمستضد وبالمجموعات المتحدة للأضداد النوعية، وأيضاً متعلقة بحجم هذه الجزيئات المتحدة. هذا وتعد نظرية باولنغ Pauoling من أحدث النظريات المفسرة لهذا الارتباط بـــين المستضـــدات والأضداد النوعية لها. تفرض هذه النظرية بأن المستضد عبارة عن مركب عديد القيم الاتحادية، بخلاف الضد النوعي الذي يكون ثنائي الارتباط أو أحادي القيم الاتحادية. فإذا كانت جميع القيم الاتحادية بين المستضد والجسم المضاد له مشبعة، فإن ذلك يقود إلى تشكيل مركب بروتيني متعادل. أما في حال وجود زيادة في كمية الضد النـــوعي أوالمستضد فإن ذلك الوجود للجزيئات بصورة حرة يؤدي لتشكيل مركبات منحلـــة دوارة لفترة طويلة في الدم (المرض المصلي).

ينتهي دور الضد النوعي في حال اتحاد مستقبله النـــوعي مـــع المجموعـــات المحـــددة المستضدية.

استجابة العضوية للمؤثر المستضدي الأول والمتكرر :

لكي نفهم هذه الاستجابة عند الإنسان، نقوم بحقن مستضد في حيوان مخبري سليم، حيث نشاهد عدم ظهور الأضداد في جسمه مباشرة بعد الحقن (الفترة الخفية)، حيث تبدأ بالظهور اعتباراً من اليوم السادس أو أبكر من ذلك لتصل إلى أعلى تركيز لها بعد مرور أسبوعين من الحقن.

يتناقص هذا التركيز بعد ذلك تدريجياً غير أنه قد يستمر طويلاً وذلك أثناء الإصابة بالأمراض الحموية.

أما في حال حقن الحيوان ثانية بالمستضد الأول نفسه، فإن استجابة العضوية تكون أسرع منها في الحقن الأول كما يكون عيار هذه الأضداد النوعية المتشكلة مرتفعاً والتي توجد لفترة أطول في جهاز دوران الدم. هذا ونلاحظ تناقص عيار الأضداد في بداية كل حقن نتيجة لاتحاد هذا المستضد مع الأضداد الدوارة في الدم، و تدعى بالمرحلة السلبية، ثم لايلبث هذا العيار أن يزداد وبسرعة عما هو عليه سابقاً. لذا فإنه في حال تنبيه العضوية ولو لمرة واحدة بجرعة مبدئية أي منبهة وتشكيل أضداد نوعية تبعاً لذلك، فإن أي حقن آخر والذي يدعى بالجرعة المعززة (Booster Dose) سوف يؤدي إلى تشكل سريع لهذه الأضداد، كما يكون عيارها مرتفعاً وهذا مايدعى بالتفاعل المنشط أو المعزز.

الذاكرة المناعية :

تنشأ الذاكرة المناعية أثناء تطور الاستجابة المناعية حيث يتحسس قسم من الخلايا البائية والتائية بتأثير المستضد، ولاتطرأ عليه تحولات تميز نهائي ويمكن أن تظل في النسيج اللمفاوي فترة طويلة، خازنة ذاكرة عن نوعية المستضد الذي احتكت به وعندما تصادف هذه الخلايا المستضدنفسه ثانيةً حتى بعد سنوات فإنها تسبب حدوث استجابة مناعية ثانوية، تتصف بإنتاج غزير للأضداد من الخلايا البلازمية ومن قبل الخلايا البلازمي .

سادساً: اللقاحات والمصول الضدية : Vaccines and Anti bodies

اللقاحات هي مواد حيوية محضرة من الحمّات أو الجراثيم أو مستضداها المختلفة أو ذيفاناها، تستخدم لخلق مناعة فعالة في الإنسان والحيوان.

العوامل التي تؤثر على الاستجابة المناعية :

على الرغم من تحضير الكثير من اللقاحات للكثير من الأمراض البشرية والحيوانية إلا أن نتائج هذه اللقاحات مرهونة للعديد من العوامل التي تؤثر على الاستجابة المناعية نذكر منها :

١ – الأضداد المناعية الأمومية :

تظهر الغلوبولينات المناعية في الدم منذ الولادة وتتكون من الغلوبولين المناعي IgG المتأخر ذو الأصل الأمومي. هذه الأضداد تؤمن حماية المولود خلال الأشهر الأولى من حياته، لذلك يجب الأخذ بعين الاعتبار اختفاء الأضداد المناعية الأمومية عند إعطاء المولود اللقاحات وخاصةً الحية المضعفة لأن وجود الأضداد الأمومية في دم المولود يؤدي إلى فشل في عملية التحصين للمولود، وهذا ينطبق أيضاً على الحيوانات والدواجن، ولهذا من الضروري تحديد العمر المفضل لاعطاء اللقاح وهو غالباً مايكون مدوناً على عبوة اللقاح.

٢ – جرعة المستضد وطبيعتها :

إن الجرعة الأولى من اللقاح ذي النوعية الجيدة تتمتع بإحداث فعل مناعي قوي نتيجة اختيار عترات جيدة، فضلاً عن كمية المستضد ونوعه، سواءً لقاحاً حياً أم مضعفاً أم ميتاً. وتلعب طريقة تحضير اللقاح دوراً في الاستجابة المناعية.

٣ – طريقة إعطاء اللقاح :

يجب التقييد بطريقة الإعطاء المدونة على عبوة اللقاح حسب الشركة المصنعة فالطريقة المحددة تكون أفضل من أي طريقة أخرى.

٤- المادة الحاملة للقاح :

تستخدم بعض المواد الحاملة التي تعمل على تحرير المستضد ببطء (مثـــل مركبـــات الألمنيوم) مما يؤدي إلى رفع مستوى المناعة والاستجابة المناعية في الجسم.

٥ – سوء التغذية :

إن سوء التغذية يؤدي إلى نقص في البروتينات والطاقة اللازمة لعمل الجهاز المنـــاعي وخاصة تشكل اللمفاويات، وبالتالي نقص مستوى المناعة الخلوية ولاتوجد دراسات تؤكد تأثر المناعة الخلطية نتيجة سوء التغذية.

أنماط اللقاحات

١ – اللقاحات الحية:

تحضر من الجراثيم والحمّات المضعفة بإحدى طرق إضعاف الفوعة مع المحافظة على خواصها المستضدية. وتستطيع التكاثر لفترة قصيرة داخل العضوية قبل أن تتغلـــب عليها الآليات الدفاعية للعضوية، وتتشكل عنها كمية من الاضداد تزيد عن كمية الأضداد الناتجة عن جرعة واحدة من لقاح ميت ومن ميزاها :

١ – تشكل مناعة أشد وأطول من اللقاحات الميتة.

٢ - تشكل مناعة مبكرة غير نوعية لأنها تحرض الأنترفيرون خلال يوم أو يومين من الحقن.

ويجب التنويه إلى أن اللقاحات الحية قد تؤثر بشدة على حيوانات القطيع وقد تـــؤدي الفوعة المتبقية بعد الإضعاف في اللقاح إلى نفوق بعض الحيوانات .

٢- اللقاحات الميتة :

تحضر من معلقات الجراثيم الميتة مع ذيفاناها الداخلية وهي ذات استخدام آمن، قد تتلف بعض المستضدات المهمة أثناء تحضيرها لذلك يفضل إعطاء اللقاح أكثر من مرة

للحصول على المناعة المطلوبة مع الأخذ بعين الاعتبار أن تكرار حقن الجرعات الداعمة من اللقاح قد يؤدي إلى حدوث حالات فرط التحسس.

٣ – اللقاحات الكيميائية :

تحتوي الخلية الجرثومية على مجموعة من المستضدات النوعية الفعالة تسبب عند اعطائها استجابة مناعية ضد الجرثوم مثال : المستضد O للسالمونيلا التيفية التي يتم استخلاصه بعد إتلاف الجرثوم بالطرق الكيميائية.

٤– لقاح الذيفان المعطل :

التأثير يتعلق المرضي لبعض الجراثيم مثل(الكزاز، الدفتريا....) بالذيفانات التي تفرزها هذه الجراثيم، ويمكن الوقاية من هذه التأثيرات المرضية عن طريق حقن لقاحات محضرة من الذيفانات المعطلة " اللاسمية " التي تحرض العضوية
على إنتاج أضداد نوعية للذيفان فيها.

المصول الضدية :

تظهر الأضداد النوعية في مصل دم العضوية خلال سير المرض الخمجي وخاصة في مرحلة الشفاء، ولكن مستوى الأضداد يرتفع بعد عدة أسابيع من الإصابة والجسم لايكون قادراً على تصنيع الأضداد خلال الأيام الأولى من المرض (مرحلة الحضانة، ظهور الأعراض السريرية) لذلك فإن إعطاء المصول الضدية في المراحل الأولى من المرض على شكل أضداد جاهزة (المعالجة بالمصول) أو إعطاء المصول الضدية قبل حدوث المرض (الوقاية بالمصول) يحول دون ظهور المرض وتأثيراته السلبية على العضوية. وتقسم المصول الضدية إلى :

١ – مصول مضادة للجراثيم والحمّات : وهي قليلة الاستخدام.

٢ – مصول ضد الذيفانات (الترياق) وتستخدم ضد الذيفانات التي تنتجها بعض الجراثيم مثل : الكزاز، الدفتريا.....الخ

وتحضر المصول الضدية في جسم الخيول غالباً بتطبيق عملية فرط التمنيع بحقنه بجرعات متزايدة من الذيفان المعطل، وبعد الوصول إلى عيار مرتفع من الأضداد يؤخذ كمية من دم الحصان ويترك ليتخثر ويفصل المصل ليستخدم كمصدر للمصل الضدي، حيث يضاف له مواد حافظة ويعقم ويحقن المصل الضدي تحت الجلد أو في العضل أو في الوريد أحياناً.

مضاعفات استخدام المصول الضدية :

١ – يمكن أن تسبب الجرعات الكبيرة مضاعفات مثل المرض المصلي.

٢ – قد تحدث تفاعلات فرط تحسس بعد حقن جرعة ثانية من المصل الغيري ولو بعد أشهر وإن كانت الجرعة الثانية صغيرة وتكون الأعراض على شكل (سيلان لعاب، ازدياد سرعة التنفس والنبض، اضطراب) في مثل هذه الحالات يجب إعطاء الأدرنالين ومضادات الهستامين.

٣ – يمكن أن يعيق استخدام المصول الضدية اعطاء اللقاحات لذلك يجب مرور فترة زمنية كافية ليتخلص الجسم من الأضداد الناتجة عن استخدام المصول الضدية وبعدها يمكن اجراء التحصين باللقاحات .

الفصل السادس

الحمّـــــــات Viruses

تعريف الحمّات:

جسيمات خمجية متناهية في الصغر أبعادها ٢٠-٣٠٠ نانومتر عند الحمّات الكروية و١٠٠-٢٠٠٠ نانومتر طولاً و١٠-٢٠ نانومتر عرضاً عند الحمّات ذات الأشكال الخيطية. تستطيع هذه الجسيمات المرور عبر المرشحات التي تعيق مرور الجراثيم لذلك سميت بالحمّات الراشحة. بالإضافة إلى ذلك لا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي العادي إنما تحتاج إلى استخدام المجهر الالكتروني لتوضيحها.

أولاً: الصفات العامة للحمّات

١- تحوي الحمّات على عكس الكائنات الحية الأخرى إما على الحمض النووي الريبي RNA أو الحمض النووي الريبي منزوع الأوكسجين DNA ولايمكن أن تحتوي على كليهما إطلاقاً.

٢- الحمض النووي الحموي سواء كان DNA أو RNA هوالأساس في عملية تكاثر الحمّات، فهو يحمل جميع الصفات والمعلومات الوراثية الضرورية لعملية التكاثر.

٣- الحمّات غير قادرة على التكاثر الذاتي لافتقارها للأنزيمات الضرورية لعمليات الاستقلاب لذلك فهي مجبرة على التطفل داخل الخلية، فهي طفيليات خليوية مجبرة.

٤- لاتتكاثر الحمّات بطريقة الانقسام، بل يتم تركيب مكوناتها في الخلية المصابة كل على حده ثم لاتلبث هذه المكونات أن تتجمع مع بعضها بعضاً لتشكل الجسيمات الحموية الجديدة.

٥- لاتملك الحمّات ريباسات، لذلك تقوم الحمّات باستغلال الحبيبات الريبية الخلوية من أجل تصنيع البروتينات الحموية الخاصة بها.

٦- لاتنموالحمّات في البيئات المغذية الاصطناعية المستخدمة في تنمية الجراثيم وإنمـــا تحتاج إلى بيئات تحتوي على خلايا نسيجية حية.

٧- الحمّات غير متحركة وليس لها القدرة على القيام بأي رد فعل تجـــاه المـــؤثرات الخارجية.

٨- لاتتأثر الحمّات بالصادات الحيوية التي تؤثر عادة على الجراثيم.

٩- تملك بعض الحمّات القدرة على دمج عواملها الوراثية في محتوى الخلية المصـــابة، وبهذا الشكل تقود إلى حدوث استحالات وتغيرات في صفات الخلية المصابة.

ثانياً: التركيب الكيميائي للحمّات

تتركب الحمّات من الناحية الكيميائية من الحمض النووي، البروتينـــات، الـــدهون، السكريات.

آ- **الحمض النووي**: Nucleic Acid

من أهم مكونات الحمة وهومسؤول عن عملية التكاثر نظراً لاحتوائه على المعلومات الوراثية الضرورية، كما يعد الجزء الخمجي من الحمه. ويوجد في الطبيعة نوعين مـــن الحموض النووية: الحمض النووي (DNA) والحمض النـــووي الـــريبي منقـــوص الأوكسجين (RNA)، والحمة تحوي على أحد هذين الحمضين، ويتركب الحمض النووي الريبي بشكل عام من ثلاثة مكونات:

١- سكر خماسي (بنتوز)

٢- قاعدة عضوية

٣- حمض فوسفور

يتكون الحمض النووي الريبي RNA من سكر خماسي يدعى د-ريبوزوأربع قواعـــد عضوية آزوتية هي : أدينين، غوانين، سيتوزين، أوراسيل، وحمض فوســـفور. أمـــا الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA فيتركب من سكر خماسي منزوع الأوكسجين يدعى ديس أوكسي د- ريبوز، وأربع قواعد عضوية آزوتية هي أدنين، غوانين، سيتوزين، ثيامين، وحمض فوسفور. وكما تبين فإن الاختلاف بين الحمضين لايكمن فقط في محتواهما المختلف من السكر وإنما في محتواهما من القواعد الآزوتيـــة، حيث يحل محل الأوراسيل في الحمض النووي الريبي، قاعدة الثيامين في الحمض النووي الريبي منزوع الأوكسجين. أما أوجه التشابه فتكمن في احتواء كل من الحمضين على حمض الفوسفور وعلى القواعد الآزوتية أدنين، جوانين، سيتوزين.

إن ارتباط القاعدة الآزوتية مع جزيء السكر يطلق عليه اسم النيوكليوزيـــد وعنـــد ارتباط حمض الفوسفور مع النيوكليوزيد فيشكل مايدعى بالنيوكليوتيد، حيث ترتبط

القواعد الآزوتية وفق نظام ثابت، فالسيتوزين يرتبط مع الجـــوانين والأدنـــين مـــع اليوراسيل أو مع الثيامين وبنسبة ثابتة هي ١:١.

أخيرا تجدر الإشارة إلى أن عديدات النيوكليوتيد تختلف من حمه لأخرى فكلما كـــان حجم المعلومات الوراثية المتوضعة في الحمض النووي أكـــبر كلمـــا كـــان عـــدد النيوكليتيدات أكثر.

ب- البروتينات: Proteins

تعد المركب المهم الثاني بعد الحمض النووي، ويتم تصنيع البروتينات الحموية في الخلية المصابة بالحمة بعد برمجة عمليات الاستقلاب الجارية فيها من قبل

الحموض النووية الحموية لصالح تكاثر الحمة، وتؤدي هذه البروتينات وظائف عديـــة نذكر منها:

١-المساهمة في تكوين الغلاف عند الحمّات المغلفة.

٢- يمكن أن تقوم بعمل بعض الخمائر مثل البوليميراز و النيورأميناز.

٣- حماية الحمض النووي الحموي من التأثيرات الخلوية المحيطية.

٤-الارتباط على المستقبلات النوعية لها الموجودة على سطح الخلية مساهمة بذلك في حدوث ادمصاص الحمة على سطح الخلية.

٥- ذات خواص مستضدية وذلك على عكس تحوي العديد من الحمّات على دهون وسكريات تظهر على شكل بروتينات دهنية أو بروتينات سكرية أو دهون سكرية، وتعد هذه المركبات الأساس الذي يتشكل منه الغلاف عند الحمّات المغلفة.

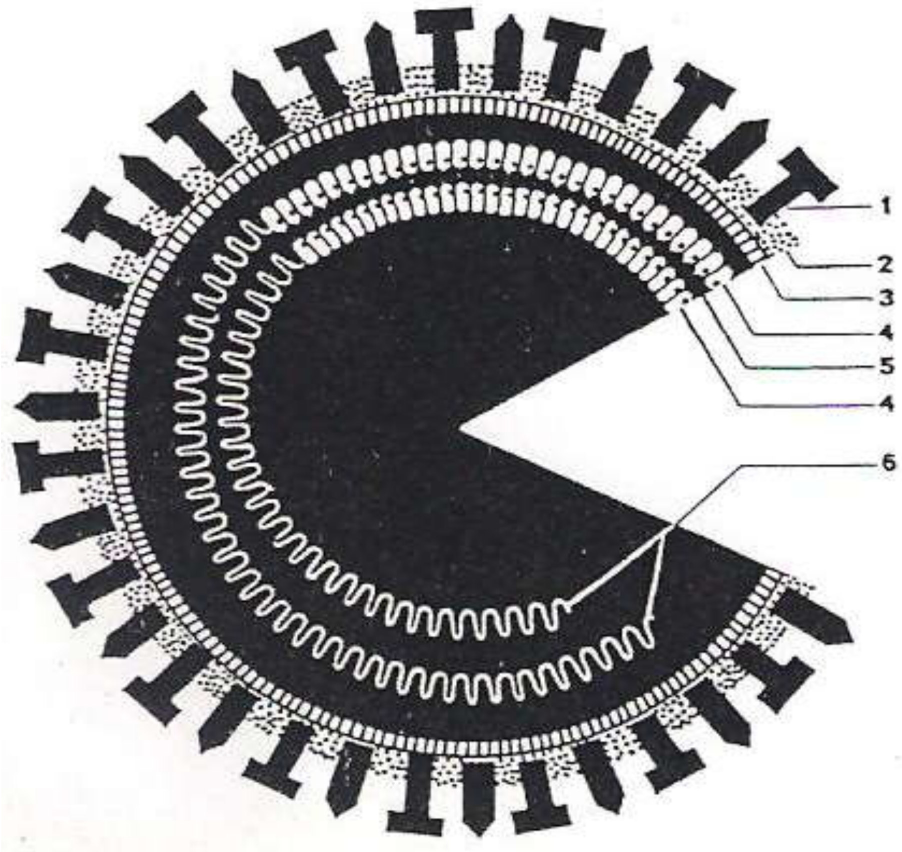
ج _ الدهون والسكريات: Lipids, Carbohydrates

تحوي عديد من الحمّات على دهون وسكريات تظهر على شكل بروتينات دهنية أو بروتينات سكرية أو دهون سكرية وتعد هذه المركبات الأساس الذي يتشـــكل منـــه الغلاف في الحمّات المغلفة.

ثالثاً: بنية الحمّات

يمكن تقسيم الحمّات انطلاقاً من حجمها إلى فيروسات صغيرة الحجم تتراوح بين(٢٠- ٥٠) نانومتر، متوسطة الحجم تتراوح بين(٥٠- ١٥٠) نانومتر، حمات كبيرة الحجم تقيس أكثر من (١٥٠) نانومتر، حيث أمكن التوصل إلى هذه الأرقـــام باستخدام عديد من الطرق مثل الترشيح الفائق أو التثفيل الفائق أو المجهر الالكتروني. ومن خلال استخدام المجهر الالكتروني أمكن دراسة الخواص الشكلية للحمة، حيـــث تظهر الحمّات بأشكال مختلفة كروية أو عصوية أو تأخذ شكل الرصاصة أو شـــكل القالب أو الشرنقة.

ولقد تبين للباحثين بأن الحمّات تتركب بشكل عام من الحمض النووي والذي يتألف من سلسلة واحدة عند معظم الحمّات الحاوية على الحمض الريبي منقوص الأوكسجين ويحيط بهذا الحمض طبقة من البروتينات تدعى القفيصة، وتتألف مـــن العديـــد مـــن الوحدات البروتينية تدعى الكابسوميرات ،التي تتألف بدورها من وحدات أولية تدعى بروتوميرات وتشكل القفيصة مع الحمض النووي مايدعى بالقفصية النوويـــة، هـــذه القفيصة النووية يمكن أن تحاط عند بعض الحمّات بطبقة أخرى تدعى الغلاف والذي يمكن أن يحمل على سطحه الخارجي ارتسامات أو زوائد تاخذ اشكالاً مختلفة .



شكل رقم (١٠) يوضح بنية الفيروس (الحمة)

١-الإرتسامات أو الزوائد

٢- طبقة دهون

٣- طبقة بروتين

٤- كابسوميرات

٥-الارتباط بين الكابسوميرات

٦- الحمض النووي

رابعاً: تكاثر الحمّات

تسلك الحمّات على اختلاف أنواعها أثناء تكاثرها طرقا خاصة تميزهـــا عـــن بعضها بعضاً ويرتبط ذلك بعدد من العوامل كنوع الحمض النووي الحموي (DNA أو RNA) نوع سلسلة الحمض النووي (مفردة أم مضاعفة)، مكان التكاثر (في النواة أم الهيولى). بيد أنها تتشابه بأن تكاثرها مرتبط بوجود وسط خلـــوي حـــي (داخل الخلية) يمدها بجميع ماتحتاجه من أجل تكاثرها، حيث يتم تسخير كل عمليات الاستقلاب الجارية في الخلية أم معظمها لصالح الحمة التي تقوم أثناء تكثرها باستغلال كامل التراكيب والوظائف الخلوية العادية تقريبـــاً (الغشـــاء الهيـــولي، النـــواة، الجسيمات الريبية، جهاز غولجي).

ويمكن تلخيص المراحل التي تمربها الحمّات أثناء تكاثرها بست مراحل رئيسية هي :

١- مرحلة امتزاز الحمة على سطح الخلية :

في هذه المرحلة يتم التصاق الحمة على سطح الخلية تحت تـــأثير القـــوى الكهربائيـــة الساكنة، وكشرط أساسي لحدوث هذا الادمصاص هو وجود تجانس نوعي محدد بين سطح الخلية والفيروس، بمعنى آخر بين المستقبلات الحموية الموجودة على سطح الخلية والمستقبلات الخلوية الموجودة على سطح الحمة.

٢- مرحلة نفاذ الحمة إلى الخلية :

إن دخول الحمة إلى الخلية لابد أن يكون قد سبقه ادمصاص لهذا الحمة على سطحها، فأهمية الادمصاص تكمن من خلال ارتباط قفيصة الحمة بالمستقبلات الموجودة علـــى سطح الخلية والذي يؤدي إلى تغيير في ترتيب جزيئات القفيصة وتخريبها وبالتالي تحرر الحمض النووي الحموي الضروري من أجل المراحل التالية.

وتحتاج الحمة أثناء دخولها إلى الخلية إلى كميات كبيرة من الطاقة على عكس مرحلة الادمصاص وتعد درجة الحرارة ٣٧ م هي درجة الحرارة المثلى لعملية الدخول.

ويمكن التمييز بين شكلين من أشكال الدخول إلى الخلية، فإما أن يدخل الحمة كاملا (الحمض النووي والقفيصة عند الحمّات العارية،الحمض النووي والقفيصة والغــلاف عند الحمّات المغلفة)حيث تدعى عملية الدخول هذه بالانغلاف وهي تشبه في مجراها عملية البلعمة، وإما أن يدخل الحمة بعد أن يندمج غلافها مع غلاف الهيولى حيــث ينفذ نتيجة لذلك الحمض النووي محاطا بالقفيصة فقط إلى داخل الخلية وتدعى هــذه الطريقة من الدخول بالاندماج.

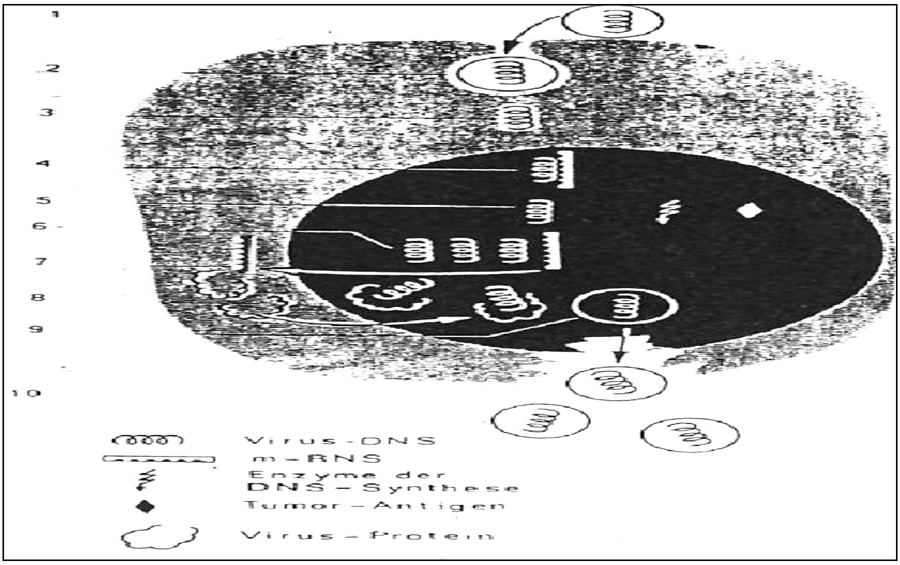
طرق دخول الحمة إلى الخلية حيث :

١- **طريقة الانغلاف** أو التثبت وبهذه الطريقة تدخل الحمه بالكامل إلى الخلية(حمات الجدري،الحمّات الغدية،حمات بابوفا).

٢- **طريقة الاندماج** حيث يتم انصهار غلاف الحمه مع غشاء الخلية وينفذ الحمــض النووي الحموي محاطاً بالقفيصة فقط (الحمّات المخاطية ونظيرة المخاطية).

٣- مرحلة تعرية الحمة :

في هذه المرحلة يتحررالحمض النووي من القفيصة (حمات عارية) والغلاف (حمات مغلفة)، وتتم هذه العملية تحت تأثير الخمائر الخلوية المحللة للبروتينات، كما يمكن أن تشارك في عملية التعرية هذه إنظيمات حموية خاصة كما هو الحــال عنــد حمــات الجدري، أما المكان الذي تتم فيه عملية التعرية وتحرر الحمض النووي فيختلف من حمة لأخرى في الهيولى قرب النواة، في النواة، أثناء عملية الدخول.



شكل رقم (١٢)

١ -إدمصاص الحمة على سطح الخلية ٢- دخول الحمة إلى الخلية ٣- تعرية الحمة

٤- ٥-٦-٧-٨- المرحلة الكامنة ٩-نضوج الحمة١٠- انحلال الخلية وخروج الحمة

٤-المرحلة الكامنة:

تتميز هذه المرحلة بغياب الحمة، أي لايمكن في هذه المرحلة اكتشاف حمات ناضجة داخل الخلية، والفترة التي تستغرقها هذه المرحلة تبلغ بضع دقائق وحتى عدة ساعات فهي تختلف من حمة لأخرى، وتطول عند الحمّات ذات الحمض النووي الحموي مضاعف السلسلة، أكثر مما هي عليه عند الحمّات ذات الحمض النووي مفرد السلسلة.

وخلال هذه المرحلة تجري العمليات التالية :

آ-تكوين الحمض النووي الرسول المبكر (RNA-m):

والذي يخدم كحامل للمعلومات الوراثية ومن أجل تكوين البروتينات المبكرة.

ب- تكوين البروتينات المبكرة :

وتشمل خمائر وبروتينات وظيفية من أجل إخماد عمليات الاستقلاب الخلوية الجارية في الخلية وتحويلها لخدمة الحمة، وتحرير الجسيمات الريبية الخلوية من

الحمض النووي الرسول الخلوي ووضعها تحت تصرف الحمض النووي الرسول الحموي، وتكوين الخمائر المبلمرة (بولميراز) الضرورية لانطباع الحموض النووية.

ج- انطباع الحمض النووي الفيروسي :

وتهدف إلى تكوين نسخ جديدة من الحمض النووي الحموي وذلك عن طريق انشطار سلاسل الحمض النووي تحت تأثير الخمائر الحالة للحمض النووي (نوكلياز) وتشكل السلاسل المتممة بمساعدة الخمائر المبلمرة للحمض النووي.

د- تكوين الحمض النووي الريبي الرسول المتأخر : والذي يخدم كحامل للمعلومات الوراثية من أجل تكوين البروتينات النهائية التي سوف تدخل في تركيب القفيصة ومن أجل تكوين الأنظيمات الحموية الخاصة.

هـ- تكوين البروتينات النهائية:

ويتم تصنيع هذه البروتينات في الجسيمات الريبية الخلوية تحت سيطرة وبرمجة الحمض النووي الريبي الرسول الحامل للمعلومات الوراثية والحمض النووي الريبي الناقل (t-RNA) الذي يقوم بنقل الأحماض الأمينية.

٥- مرحلة نضج الحمة :

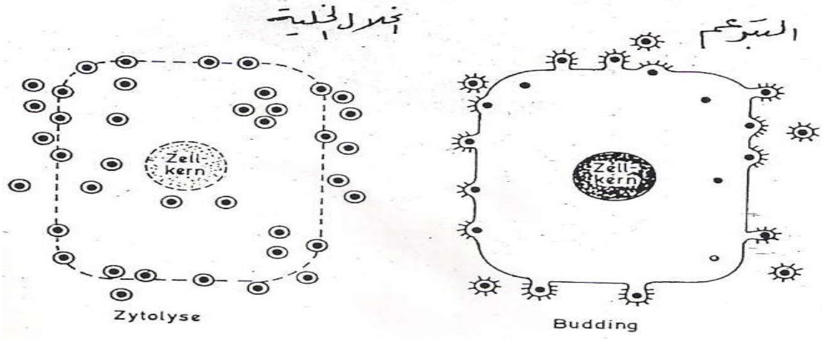
تتم هذه المرحلة في الهيولى وفيها يتم اتحاد واندماج الأحماض النووية التي يتم انطباعهامع البروتينات النهائية لتشكيل الجزء الحموي الناضج.

٦- مرحلة خروج الحمة:

تخرج الحمّات الناضجة من الخلية بإحدى طريقتين :

آ- **بشكل فجائي** بعد تخريب الخلية وتحليلها وتشاهد هذه الطريقة عند الحمّات العارية وبعض الحمّات المغلفة (حمات الجدري، الحمّات الحلئية).

ب- **بشكل تدريجي** عن طريق تشكل براعم تحوي على الحمه ومتوضعة على الغشاء الخلوي والتي لاتلبث أن تنفصل، وتشاهد هذه الطريقة من الخروج عند الحمّات المغلفة وغالباً ماتحاط القفيصة أثناء عملية التبرعم بالغلاف.



شكل رقم (١١) طرق خروج الحمة من الخلية

الصفات الوراثية وتغيراها في الحمّات :

تمتلك الحمّات القدرة على تغيير المادة الوراثية عن طريق حدوث تغيير في تسلسل القواعد في جزء من أجزاء الحمض النووي الحموي مما ينتج عنه حدوث تغيرات في عمليات تركيب البروتينات، وظهور أنماط ظاهرية حموية جديدة.

١- الطفرات :

ويمكن أن تحدث الطفرات الحموية بشكل تلقائي دون أسباب واضحة أو تحدث نتيجة مؤثرات ذات طبيعة كيميائية أو فيزيائية ويمكن تصنيف الطفرات الحموية على الشكل التالي:

١- طفرات مجينية :

عبارة عن تغيرات تصيب المجين الحموي وتتميز بظهور أجيال حموية ذات أعداد مجينية متغيرة (حمات عديدة الصيغة الصبغية) كما يحدث عند الحمّات نظيرة المخاطية.

٢- طفرات صبغية :

تظهر على شكل تضاعف في الصبغات الحموية، أو أن يكون على شـــكل غيـــاب مقطع كبير أو صغير من الصبغيات، وهذا مايسمى الخبن، الذي يؤدي إلى ظهـــور حمات مختلفة وراثياً، يؤدي إلى إضعاف خمجيتها، أو تكاثرها بشكل ضعيف.

٣- الطفرات النقطية:

تظهر على شكل حدوث تبادل للقواعد الآزوتي

٤-الطفرات المميتة:

تتميز بأنها تؤدي إلى عدم تركيب البروتينات الحيوية الوظيفية وبالتالي عدم تكـــاثر الحمّات وقد تكون الطفرات المميتة مشروطة بحيث تكون الحمّات قادرة على التكاثر ولكن بوجود شروط معينة.

٢-التأشب:

هذه الظاهرة تتجلى بحدوث تبادل للمادة الوراثية بين نوعين من الحمّـــات أو أكثـــر والذي ينتج عنه ظهور أجيال جديدة ذات صفات مغايرة لصـــفات الحمّـــات قبـــل التبادل.

٣-التتام:

هي نوع من التعاون الوظيفي وليس الوراثي بين نوعين أو أكثر من الحمّات مثلاً تقوم الحمّات الكاملة بوضع أنزيم البوليميراز تحت تصرف الحمة المختلة وغير قادرة على إفراز هذا الأنزيم وبالتالي يتسنى للحمه المختلة اتمام تكاثرها.

٤- تمازج الأنماط الظاهرية:

عندما ينجز نوعان مختلفان من الحمّات تكاثرهما داخل الخلية الواحدة فإن الأجيـــال الناتجة تكون متطابقة في الحموض النووية، وأحياناً يمكن أن تبدي حموضاًنووية مطابقة تماماًللحمض النووي الوالد، بينما تكون بروتيناتها البنيوية مخالفة.

٥- تمازج الأنماط الجينية:

هو كل عملية يتم فيها إحاطة قفيصتين نوويتين أو أكثر أثناء عملية التبرعم عند الحمّات نظيرة المخاطية والحمّات المخاطية وغيرها بالغلاف نفسه.

٦- التداخل:

هي ردة فعل وقائية تقوم بها الخلية الحية تجاه الأخماج الحموية، تتجلى بقدرة الخلية الخموجة بحمة ما أن تمنع حدوث خمج آخر بحمة أخرى عن طريق تثبيط تكاثر الحمه الثانية، وهذه الظاهرة تتعلق بالعوامل التالية:

١- الحمة المتداخلة : وهي الحمة الأولى التي تغزو الخلية وتتكاثر فيها وتؤدي إلى حدوث التداخل

٢- الجهاز الخليوي : الذي يقوم بمقاومة الخمج الحموي الثاني.

٣- حمة التحدي : وهي الحمة الثانية التي تمنع من التكاثر داخل الخلية.

من المعروف أن مرض الحمى الصفراء مرض ينتهي عادة بالنفوق ولكن عندما تم حقن الحمة المسببة للحمى الصفراء وحمى وادي الرفت في القرود كانت النتائج أعراض مرضية حفيفة والسبب يعود إلى التداخل.

أنماط التداخل الحموي :

١ -التداخل الحموي المتماثل:ويحدث بين حمتين من النوع نفسه.

٢-التداخل الحموي غير المتماثل: ويحدث بين حمتين من أنواع مختلفة.

٣-التداخل الحموي المرتبط بالأنترفرون.

٤-التداخل الحموي غير المرتبط بالأنترفرون : يحدث تحت تأثير الفعل التنافسي بين الحمّات المتداخلة.

الأنترفرون :

هو مادة بروتينية المنشأ يختلف عن الأجسام المضادة بأنه غير نوعي ويظهر تحت تـــأثير أي حمة، ويؤثر على جميع الحمّات، ولايستطيع الجسم إنتاجه خلال الأشهر الثلاثـــة الأولى بعد الولادة.

الخواص التي يتميز بها الأنترفرون:

١- الأنترفرون بروتين غير نوعي للحمة، ولايؤثر عليها ويكسب الخلية مناعة ضـــد أنماط حموية مختلفة.

٢- لايؤثر الأنترفرون كأي مستضد (له خواص مستضدية) فالأنترفرون الضد يثبط وظائف الأنترفرون.

٣- الأنترفرون يحرض الخلية السليمة على إنتاج بروتين آخر يدعى البروتين المضـــاد للحمة، الذي يعمل على حدوث تغيرات في الريباسات الخاصة بالخلية المخموجـــة، وبالتالي تعطيل عميات الترجمة الهادفة إلى تكوين بروتينات الحمه.

٧-التآزر الحموي:

تشكل ظاهرة التآزر الحموي شكلاًمختلفاً تماماً عن ظاهرة التداخل.

ويحدث نتيجة التنافس الحمتين الداخلتين إلى الخلية فتزداد قدرة إحـــدى الحمـــتين أو كلتاهما على التكاثر داخل الخلية في حالات الخمج المختلط.

طرق انتقال الأخماج الحموية:

١- طرق الانتقال المباشرة.

٢- طرق الانتقال غير المباشرة

<u>أولاً:- طرق الانتقال المباشرة : وتتم في :</u>

١-الجهاز التنفسي : الحمّات الأنفية- النزلة الوافدة- الغدية- التاجية والجدري.

٢-الجهاز الهضمي : الحمّات المعوية.

٣-الجلد والاغشية المخاطية : حمة الكلب، الحلئية البسيطة.

٤-الجهاز التناسلي : حمه مائيدي فيسنا.

٥-المشيمة : أثناء الحمل- حمه اللسان الأزرق- الإسهال الحموي- المرض المخاطي.

٦-البيض : حمه ابيضاض الدم عند الطيور-حمه مرض الجامبور.

ثانياً: - طرق الانتقال غير المباشر:

١-النواقل غير الحية :

أرضية الحظائر - معالف - مشارب - أعلاف - مياه قذرة – وسائل نقل- مراكز حلابة – مخلفات - الأدوات الجراحية.

٢-النواقل الحية :

مفصليات الأرجل- القوارض- الأشخاص القائمين على تربية ورعاية الحيوان ويمكن أن يكون الانتقال بواسطة مفصليات الأرجل ميكانيكياً حيث تلتصق الحمّات على جسم الناقل دون حدوث تكاثر داخل الجسم الناقل، أو انتقالاً حيوياً يترافق بتكاثر الحمه داخل العائل الناقل دون إحداث أبه أضرار به (القوارض ،الخفاش) ، أو انتقال علاجي المنشأ كما يحدث عند العاملين في مجال الرعاية البيطرية.

وبناءً على طرق الانتقال السابقة الذكر يمكن تمييز الأنماط التالية من الأخماج الحموية:

١- خمج الجهاز التنفسي

٢- خمج الجهاز الهضمي

٣- خمج الجلد

٤- خمج الأعصاب

٥- خمج الجهاز التناسلي

واعتماداً على فوعة الحمة وحالة العضوية الحية المناعية تم تصنيف الأخمـــاج علـــى الشكل التالي:

١- الأخماج الحموية تحت السريرية : وهي حدوث خمج غير متوافق مع ظهور أعراض سريرية بسبب تمكن العضوية من القضاء على الحمة مكونة مناعة مؤقتة أو دائمة.

٢- الأخماج الحموية الدائمة : يترافق بعدم ظهور أعراض سريرية نتيجة التوازن بـــين الحمه والثوي، وعندما يحدث خلل في هذا التوازن يؤدي إلى ظهور الأعـــراض السريرية.

٣- الأخماج الحموية البطيئة : يتميز بفترة حضانة طويلة وغالباً ماينتـــهي بـــالنفوق (سكريبي، جنون البقر).

٤- أخماج التحمل الحموي : عبارة عن خمج يتجلى بتكاثر الحمه داخل العضوية دون أي رد فعل مناعي، وغالباً مايحدث أثناء الولادة أو بعدها مباشـــرة (الاســـهال الحموي ،المرض المخاطي)

٥- الأخماج الحموية الكامنة : حيث تبقى الحمّات كامنة داخل خلايا معينة تحميهـــا من المناعة الخلطية والخلوية ولهذا النوع أهمية وبائية كبيرة كون الحيوانات المصابة تشكل خازناً ومصدراً دائماً للخمج.

٦- الأخماج الحموية الموضعية : يتميز هذا النوع بتكاثر الحمة في منطقـــة الـــدخول وانتشارها إلى الأعضاء المجاورة القريبة(الحمّات نظيرة المخاطية-الغدية).

٧- الأخماج الحموية المتعممة : تنتشر الحمة في شتى أنسجة العضوية حتى تســـتقر في مكان تكاثرها المفضل (حمة الحصبة، حمة التهاب الكبد).

خامساً: طرق استنبات الحمّات

ليس باستطاعة الحمّات النمو والتكاثر خارج الخلايا الحية، لذلك فإن زرع وتنمية الحمّات يتم فقط إما في حيوانات التجربة أو في جنين البيض المخصب أو في المزارع الخلوية.

١- حيوانات التجربة :

تعد هذه الطريقة من أقدم الطرق المستخدمة في تنمية الحمّات ، بيد أنها فقدت أهميتها في الوقت الحاضر كطريقة لإنتاج اللقاحات الحموية وذلك نتيجة تنمية الحمّات الأفضل في جنين البيض أو في المزارع الخلوية، بيد أنها مازالت تخدم في وقتنا الحاضر في الإجابة عن عديد من التساؤلات في مجال التشخيص الحموي ومن أجل تطوير واختبار فعالية اللقاحات، إضافة إلى ذلك العديد من مسببات الأمراض التي لم يتم تنميتها بنجاح إلا في حيوانات التجارب مثل العامل المسبب لمرض سكريي عند الأغنام (أغنام، فئران، جرذان) وكحيوانات تجارب يمكن استخدام الفئران، الجرذان، الأرانب، القبيعات، القداد، الدجاج، والتي يجب كشرط أساسي أن تكون خالية من مسببات الأمراض لزرع الحمّات دون أن يصاحبها نمو لأنواع ممرضة أخرى غير مرغوب بها.

٢- جنين البيض :

تقدم الخلايا الجنينية غير المتمايزة إمكانيات أفضل من أجل زرع الحمّات وتنميتها وذلك مقارنة مع الخلايا البالغة المتخصصة. ويستخدم لهذا الغرض على الغالب جنين بيض الدجاج المخصب، كذلك فإن استخدام أجنة بيوض الطيور الأخرى مثل (بط، رومي، إوز، فري) هو أمر ممكن ولكن لايخلو من بعض المساوىء مقارنة مع جنين بيض الدجاج المخصب (الأمراض الموجودة عند تلك الطيور لم تدرس جميعها بشكل كاف، حجم البيوض ودرجة نفاذيتها للضوء المسلط عليها من أجل توضيح المحتويات الداخلية غير مناسب مقارنة مع بيوض الدجاج...).

ولعل أهم فوائد الحقن في جنين بيض الدجاج المخصب تتجلى في النقاط التالية :

١- كثرة عدد الخلايا الجنينية التي توضع تحت تصرف الحمة، حيث تبلغ مساحة سطح الغشاء السقائي عند جنين الدجاج بعمر(١١) يوم على سبيل المثال (١١٠ سم^2)والذي يحوي على(٣,٢ × ١٠^5)خلية سقائية في كل (١ سم^2) وبالتالي فإن تكاثرالحمة المتوقع يكون بأعداد كبيرة جداً.

٢- يعد التكاثر في جنين بيض الدجاج تكاثرا مغلقاً (البيضة أشبه ماتكون بوعاء مغلق) ولاتحتاج إلى إضافة أية أوساط غذائية من الخارج، وبالتالي فإن تكاثر الحمة يتم دون مخافة حدوث أية عدوى أو تلوث جرثومي.

٣- يتم تكاثر الحمة في جنين بيض الدجاج بشكل عام بمعزل عن ردود فعل الجنين المناعية،و في بعض الحالات الخاصة يوجد أضداد أمية (مكتسبة) والتي تتركز بشكل أساسي في كيس المح تثبط تكاثر الحمة النوعي لها، لهذا السبب يجب اختيار أجنة البيض التي لاتحوي على مثل هذه الأضداد النوعية والتي يتم الحصول عليها من قطعان الدجاج الخالية بشكل أكيد من مسببات الأمراض،ويستخدم الحقن في جنين بيض الدجاج في وقتنا الراهن بشكل رئيسي من أجل إنتاج اللقاحات (لقاحات الأنفلونزا، لقاح مرض التهاب الدماغ والنخاع الشوكي عند الدجاج.....) ومن أجل تنمية الحمّات بهدف إنتاج الأمصال التشخيصية، كما تمتلك هذه الطريقة أهمية خاصة من أجل تشخيص الإصابة بحمات الأنفلونزا والجدري.

وتعد الأماكن التالية من أهم الأماكن التي يجري فيها زرع الحمّات :

١-الغشاء السقائي المشيمائي. ٢-التجويف السقائي.

٣- التجويف السلوي. ٤- كيس المح.

ونتيجة لتكاثر ونمو الحمة يمكن تمييز التغيرات الرئيسية التالية التي تتفاوت حسب مكان الحقن ونوع الحمة المحقونة :

١- بثرات على الأغشية السقائية المشيمائية (حمات الجدري).

٢- إدماءات واستسقاءات في الجلد وتنكرزات وتغـيرات عضـوية (حمـات الانفلونزا، النيوكاسل).

٣- اضطراب نمو الجنين والذي يظهر على شكل ضمور في العضلات وتقزم الجنين (حمة التهاب الدماغ والنخاع الشوكي عند الدجاج).

طبعا لابد من الإشارة إلى أن هناك بعض أنواع الحمّات التي تتكـاثر في جـنين بيض الدجاج دون أن تؤدي إلى ظهور تغيرات مرضية ملحوظة (حمـة فبرومـا الأرانب، ابيضاض الدم الطيور).

٣- المزارع الخلوية :

إن الفائدة الأساسية في تنمية وزرع الحمّات في المزارع الخلوية تكمن بغيـاب ردود فعل الجسم المناعية ومن ثم تجد الحمة وسطاً مثالياً لنموها دون أية عوائق وتقسـم المزارع الخلوية حسب قدرة الخلايا على الانقسام إلى :

آ- مزارع خلوية أولية :

وهي عبارة عن خلايا أخذت من خلايا وأعضاء الجسم وعوملـت بالتربسـين (خلايا خصية العجول، كلية الأغنام)، يتميز هذا النوع من المزارع بقدرة الخلايـا المحدودة على الانقسام خارج الجسم (٤- ٦ انقسامات) ومن محاسن هذا النوع من لمزارع هو سرعة الحصول عليها وثباتها أثناء تنمية الحمة وبزيادة عدد الخلايـا الذي يمكن أن يبلغ (٢- ٢٠) ضعف عدد الخلايا الأولي.

ب- خطوط الزرع النسيجي الضعفانية : وهي عبارة عن خلايا من نوع واحد يتم الحصول عليها من المزارع الخلوية الأولية، وتستطيع الانقسام خارج الجسم حـتى (٥٠- ٦٠) مرة محافظة خلال هذا الانقسام على طاقمها من الصبغبات الثنائية.

ج- خطوط الزرع النسيجي الدائمة : يتميز هذا النوع من المزارع الخلوية بقدرته الدائمة وغير المحدودة على الانقسام، ويختلف هذا النوع من المزارع عـــن النـــوع السابق بوجود تعدد للصبغيات عند أكثر من (٢٥ %) من هذه الخلايا.

إن النجاح في تنمية الحمة ضمن هذه المزارع الخلوية يرتبط بشكل أساسي بالأوساط المغذية المضافة على الخلايا والتي تتركب بشكل أساسي من محاليل ملحية، جلوكوز، أحماض أمينية، فيتامينت، بروتينات، مصل الدم، هنايجب التمييز بين نـــوعين مـــن **الأوساط المغذية :**

١-الأوساط المغذية المنمَية :

وهي تضاف بشكل أساسي لضمان النمو السريع للخلايا.

٢-الأوساط المغذية الحافظة :

هي أفقر بمحتواها الغذائي من سابقتها وتضاف بشكل أساسي ليس مـــن أجـــل تكاثرالخلايا وإنما من أجل المحافظة على عمليات استقلاب الخلايا المخموجة بالحمة لأطول فترة ممكنة والذي يعد ضرورياً للحصول على كميات كبيرة من الحمة.

آلية حقن الحمة في المزارع الخلوية :

يجري حقن المزرعة الخلوية بالحمة عند التأكد من نمو (٧٠- ٩٠ %) من الخلايـــا ويتم على الشكل التالي :

يسكب الوسط المغذي المنمي الذي استهلكته الخلايا أثناء نموها ثم تغسل هذه الخلايا بأحد المحاليل الملحية البوفيرية مرة أو مرتين، ثم يحقن المعلق الحموي وتترك المـــزارع الخلوية المحقونة بالحمة لمدة (١- ٢) ساعة بدرجة حرارة الغرفة أو عنـــد الدرجـــة (٣٧° م) ليتم ادمصاص الحمة على سطح الخلايا،بعد هذه الفترة يتم امتصاص المعلق الحموي وتعادعملية الغسل السابقة الذكر ثم يضاف الوسط المغذي المحافظ إلى المزارع الخلوية وتحضن عند الدرجة (٣٧° م).

التغيرات الناجمة عن تكاثر الحمّات في المزارع الخلوية :

يؤدي تكاثر الحمة في المزارع الخلوية إلى ظهور تغيرات خلوية شكلية يمكن رؤيتها مجهرياً في الخلايا الحساسة المخموجة بالحمة والتي يطلق عليها مصطلح التغيرات الخلوية المرضية، هذه التغيرات تتراوح في شدتها بين تخريب كامل للخلايا المصابة وبين تغيرات خلوية مرضية تتجلى بحدوث تكور للخلايا، ظهور انتكاسات خلوية مختلفة، تشكل مشتملات داخل نووية أو داخل هيولية... الخ، هذا ويمكن تقسيم الأنواع الحموية التي تتكاثر في المزارع الخلوية حسب التغيرات التي تحدثها إلى :

١- حمات يؤدي تكاثرها في المزارع الخلوية إلى ظهور تغيرات خلوية مرضية كالتي سبق ذكرها.

٢- حمات يؤدي تكاثرها في المزارع الخلوية إلى ظهور تغيرات من نوع خاص تتجلى بحدوث تكاثر خلوي كثيف وعشوائي وغير منتظم والذي يؤدي إلى تشكل مايشبه البؤر في مكان التكاثر الخلوي الكثيف، هذا النوع من التغيرات الخلوية يشاهد عندالحمّات التي تتمتع بخواص مسرطنة (حمة راوس ساركوم، حمات بابوفا).

١- حمات لايؤدي تكاثرها في المزارع الخلوية إلى ظهور تغيرات خلوية مرضية (حمة ليكوزيس الطيور، حمة التهاب الدماغ والنخاع الشوكي، بعض عترات حمة المرض المخاطي / الإسهال الحموي عند الأبقار).

سادساً: تأثير العوامل الفيزيائية والكيميائية على الحمّات

ترجع أهمية تحديد مدى تأثير الحمّات على اختلاف أنواعها بالعوامل الفيزيائية والكيميائية المختلفة إلى مايلي :

١- تحضير اللقاحات الميتة.

٢- تحديد طرق التطهير والتعقيم المناسبة لمكافحة الحمّات.

٣- دراسة صفات الحمة وخواصها من أجل تصنيفها.

٤- معرفة كيفية التعامل مع العينات المستخدمة في الفحوص الحموية وذلك من أجل المحافظة على الحمة وحمايته من المؤثرات المختلفة.

آ – العوامل الفيزيائية :

١ – الحرارة :

تؤثر الحرارة على بروتينات الحمة متلفة إياها عند الدرجة (٦٠- ٦٥ م) بسرعة، حيث تفقد الحمة قدرتها على العدوى خلال (٢٠-٣٠) دقيقة ،على العكس من ذلك وجد بأن الحمض النووي الحموي أكثر مقاومة لتأثيرات الحرارة، والذي يمكن أن يحافظ على قدرته على العدوى حتى بعد التسخين على درجة (١٠٠ ° م). بشكل عام تتحمل الحمّات درجات الحرارة المنخفضة أكثر من تحملها لدرجات الحرارة المرتفعة، وتعد درجة الحرارة (-٦٠° حتى-٧٠ °) الوسط الأكثر ملائمة من أجل حفظ الحمّات لفترات طويلة

٢- الإشعاع :

إن تعرض الحمّات لموجات ذات ذبذبات عالية من الأشعة فوق الصوتية تقود إلى حدوث تخريب في بنية الحمة وفقدانها الدائم لقدرتها على الخمج، ودرجة هذا التغير والتخريب تتعلق بمدى تعرض الحمة لهذه الأشعة وبكثافة ومقدار الذبذبات.

-كذلك تؤثر الأشعة فوق البنفسجية على الحمض النووي الحموي ضمن موجات بطول (٢٠٠-٣٠٠) نانومتر مؤدية إلى فقدان الحمة لقدرتها على الخمج، وإن تعريض بعض الحمّات (الحمّات البيكورناوية، المخاطية، الربدية) لموجات من الأشعة فوق البنفسجية ضمن الحدود اللازمة لفقدان القدرة على الخمج لايؤدي إلى فقدانها لخواصها المستضدية، الأمر الذي يستفاد منه في تحضير اللقاحات ضد هذه الحمّات.

- كما تؤثر الأشعة المؤينة (ألفا، بيتا، جاما) حسب شدتها على روابط الحمض النووي مؤدية إلى حدوث أضرار فيها وبشكل خاص عند الحمّات الحاوية على الحمض النووي مفرد السلسلة، لذلك يمكن أن تستخدم هذه الطريقة من أجل تحضير اللقاحات الميتة (لقاح الأنفلونزا).

ب- **العوامل الكيميائية** :

١ – **درجة الباهاء** (PH)

تبقى الحمّات الحيوانية ثابتة بين درجات باهاء (٥- ٨) وتغير الدرجات هذه بشكل كبير يقود بسرعة إلى فقدان هذه الحمّات لقدرتها على الخمج، وتختلف الحمّات في مدى حساسيتها لزيادة الحموضة أو القلوية.

٢- **تغيرات المحتوى الملحي وتركيز الشوارد** :

تؤدي التغيرات في المحتوى الملحي للوسط الذي تتواجد فيه الحمة إلى حدوث ضعف وانخفاض في قدرة الحمة على الخمج، كما أن تغيرات تركيز وتركيب الشوارد يقلل من قابلية الحمة للذوبان في المعلق المتواجدة فيه مما يؤدي إلى التصاق الجزيئات الحموية وتجمعها مع بعضها بعضاً والذي من شأنه التقليل من قدرة هذه الحمّات على الادمصاص على سطح الخلية.

٣- **الفورمالين** : يعد أحد أهم المواد الكيميائية التي تملك القدرة على التأثير لدى جميع الأنواع الحموية وإفقادها قدرتها على الخمج ودون أن يؤثر ذلك على خواص

الحمة المستضدية، مما يكسب هذه المادة أهمية خاصة من أجل تحضـــير اللقاحـــات الحموية.

المجموعة	المادة المؤثرة	التأثير يشمل
ألدهيدات	فورمالدهيد (٣-٥ %)	تقريباً جميع الحمّات
المؤكسدات	فوق حمض النمل (٠,٥- ٢ %)	تقريباً جميع الحمّات
	فوق حمض الخل (٠,٥- ٢ %)	تقريباً جميع الحمّات
	بيروكسيد الهيدروجين(٠,٥-٣ %)	تقريباً جميع الحمّات
الأغوال	إيتانول (٧٠- ٨٠ %)	التأثير يرتبط بدرجة الحرارة
	ن – بروبونال (٤٠- ٥٠ %)	التأثير يرتبط بدرجة الحرارة
	أيزوبربونال (٦٠- ٧٠ %)	التأثير يرتبط بدرجة الحرارة
مذيبات الشحوم	إيتر (٢٠ %)	الحمّات المغلفة
	كلوروفوم (١٠ %)	الحمّات المغلفة
القلويات	ماءات الصوديوم (٢ %)	العديد من الحمّات
الأحماض العضوية	حمض اللبن (١- ٣ %) حمض النمل (١- ٣ %)	العديد من الحمّات العديد من الحمّات

جدول يوضح بعض المركبات الكيميائية المستخدمة في تعطيل الحمّات وفي عمليات التطهير التجويف السقائي

٤ –الجليسرين :

تمتاز معظم الحمّات بمحافظتها على حيويتها في محاليل الجليسرين بتركيز (٥٠-٦٠%) ذلك يستخدم الجليسرين الممدد بالملح الفيزيولوجي بتركيز (٥٠ %) من أجل حفظ الحمّات، وتختلف مدة بقاء الحمة محافظاً على حيويته في هذا المحلول من نوع حموي لآخر.

٥- الكحول :

تتميز معظم الأنواع الحموية بحساسيتها لتأثير الكحول ضمن درجات معينة ويزداد التأثير القاتل للكحول مع زيادة تركيزه و مع ا رتفاع درجة الحرارة، أما في الظروف العادية فإن سرعة تأثيرها القاتل تعد قليلة مما يحد من استعمالها كمادة مطهرة.

٦- الإيتر:

تختلف الحمّات في حساسيتها للإيتر حيث يمكن تقسيم الحمّات إلى مجموعتين :

آ – **حمات حساسة للإيتر** : وتضم معظم الحمّات المغلفة الحاوية على نسبة عاليـــة من الدهون (الحمّات المخاطية، نظيرة المخاطية...) أما حمات الجدري المغلفة فتتميز بمقاومتها النسبية لتأثيرات الإيتر.

ب– **حمات مقاومة للإيتر** : وتضم جميع الحمّات العارية .

سابعاً: المعالجة الكيميائية المضادة للحمّات

لقد باءت محاولات المعالجة الكيميائية بمضادات الحمّات سابقاً بالفشل والسبب هو تكاثر الحمّات داخل الخلية. ومؤخراً تم التوصل إلى استخدام مواد كيميائية تؤثر على مراحل مختلفة من تكاثر الحمّات بالإضافة إلى تأثيرها على عديد من أنظيمات الحمة ومنع تشكلها، وكذلك على عديد من البروتينات التي تدخل في تركيب الحمة وعلى الحمض النووي الحموي.

وحالياً تقسم الصادات الحموية الكيميائية حسب آلية تأثيرها إلى :

١ – كابحات مستقبلات الحمة :

لمنع امتزاز الحمة على سطح الخلية بواسطة المستقبلات الموجودة على سطح الخلية.

٢- كابحات دخول الحمة إلى الخلية :

مثل الأمانتادين – ريمانتادين – ترومانتيدين وهي تؤثر على الخلية المستقبلة لمنع دخول الحمة وليس لها أية فائدة بعد دخول الحمة إلى الخلية.

٣-كابحات أنزيم الدنا بوليميراز الحموي :

وهي الأكثر شيوعاً بين كابحات الحمّات ومنها :

- إيدوفيران : صادات الحمّات الحلئية

- أسيكلوفير : صادات الحمّات الحلئية البسيطة

- ريبافيرين : فعالة مخبرياً ضد الحمّات الغدية والحلئية والنزلة الوافد.

- فوسكارنيه : مشتقة من البيروفوسفات وهي صادات الحمّات الحلئية.

٤- كابحات نضوج الحمّات :

وهي مواد ببتيدية معدلة كيميائياً مقاومة للانفصال بواسطة أنزيم البروتياز.

٥- كابحات تحرر الحمّات :

وهي صادات تمنع خروج الحمة من الخلية المصابة حيث تعطل الجزيئـــات الحمويـــة وتحول دون تشكل مجينا لحمة في الخلية ومنها : الهيبريسين.

ثامناً: الطرق المستخدمة في دراسة الحمّات

١-الفحص المجهري :

آ-بالمجهر الضوئي العادي:

تظهر في الخلايا أثناء تكاثر بعض الحمّات تراكيب مميزة تدعى المشتملات وهي عبارة عن أشكال بنيوية يتراوح حجمها بين (٢-٢٥) ميكرون يمكن تلوينها ورؤيتها بالمجهر الضوئي العادي (صبغة هيماتو كسيلين أيوزين، جيمسا، سيللر). وهذه المشتملات إما أن تكون داخل نووية، أو داخل هيولية (حسب مكان وجودها)، وإما حامضية أو قاعدية (حسب تقبلها للصبغة) وهي تدل على تجمعـــات الحمـــوض النوويـــة والبروتينات الحموية المتشكلة من تكاثر الحمه أو تدل على تجمعات الجزئيات الحموية ومازال البرهان على هذه المشتملات يحتل مكاناً مهماً في التشخيص الحموي خاصـــة عند تشخيص الإصابة بحمات الجدري، الحمّات الغدية، الحمّات الحلئية، حمه مـــرض الكلب.

بـــ- بالمجهر الالكتروني :

تعد دراسة شكل الحمّات وبنيتها بواسطة المجهر الإلكتروني من أهم الطرق الفيزيائيـــة المستخدمة في مجال علم الحمّات، فأهمية هذه الطريقة لاتكمن فقط في إمكانية رؤيـــة أصغر أنواع الحمّات، (١٨ ن.م) التي لاترى بالمجهر الضوئي العادي وإنما في إمكانيـــة التكبير النهائي الكبيرة جداً.

وتتطلب عملية الفحص بالمجهر الإلكتروني تواجد الحمه بشكل نقي وبتراكز لاتقل عن (١٠^{٦} جزئيةحموية / مل)، فكلما ازدادت درجة نقاوة وتركيز العينة الحموية كلمـــا كانت فرص النجاح في دراسة شكل الحمه وبنيتها أكبر.

أما أهم الطرق المستخدمة في فحص العينات الحموية بالمجهرالإلكتروني فهي :

آ-**طريقة الصبغة السلبية :**

وتعتمد على معاملة العينة الحموية بمحلول موليبدات الأمونيوم أو حمض الفوسفور التنغستي أو سترات الرصاص، حيث يتغلغل هذا المحلول خلال تراكيب الحمه الداخلية مشكلاً عند جفافة منطقة غير نفوذة للإلكترونيات، وعند مرور الأشعة الإلكترونية تظهر المناطق التي امتصت المحلول على شكل مناطق قاتمة.

ب-**طريقة الظل :**

وتعتمد على تعريض العينة الحموية لبخار أحد المعادن الثقيلة (بلاتين، ذهب، كروم، بالاديوم) وذلك تحت الضغط والتفريغ، وبزاوية خاصة لتغطية جانب واحد من الحمه، حيث تظهر نتيجة لذلك المناطق غير المغطاة بالمعدن على شكل مناطق مظللة للأجزاء المغطاة وبهذه الطريقة يتم توضيح شكل وأبعاد الفيروس بدقة.

وفي السنوات الأخيرة طورت عديد من الطرق لدراسة العينة الحموية، أهمها تلك التي تهدف إلى البرهان السريع على الجزئيات الحموية باستخدام(مقاطع فائقة الرقة، سوائل الجسم المختلفة، البراز) ومعاملتها بأضداد موسومة بمادة الفلوريسين إيزوثيوسيانات أو بمادة الفريتين وفحصها بالمجهر الإلكتروني.

٢-**الترشيح الفائق :**

إن التخلص من الشوائب الجرثومية في المحاليل المشتبه باحتوائها على الحمّات بطريقة الترشيح تعد من أقدم الطرق الفيزيائية، وفي وقتنا الحاضر تستخدم سلسلة من المرشحات الغشائية ذات مسامات معروفة (على الغالب ٣- ٥٠٠ن.م) من أجل تحديد أحجام الحمّات التي تتراوح أقطارها بين (١٨-٤٥٠ ن.م)، ونظراً لوجود طرق أدق لتحديد أحجام الحمّات فإن استخدام هذه الطريقة يقتصر في الوقت الراهن فقط على التخلص من الشوائب الجرثومية غير المرغوب فيها في السائل الحموي ومن أجل الحصول على الحمّات بشكل نقي ومركزي في الوقت نفسه.

٣-التثفيل الفائق :

بمساعدة هذه الطريقة يمكن تحديد كمية الحمّات وحجمها ونقاوتها وكتلتها، وتعتمد أيضاً على مبدأ اختلاف ترسيب الجزئيات المختلفة ضمن سائل ما تحت تأثير قوى الجاذبية العالية حيث يستخدم لهذا الغرض أنواع معينة من المثفلات ذات السرعة الفائقة (٥٠-٦٠ ألف دورة في الدقيقة) والتبريد في الوقت نفسه.

٤-الرحلان الكهربائي :

تستخدم هذه الطريقة لعزل الحمة ومكوناتها وذلك بالاعتماد على صفات الشحنة الكهربائية التي يحملها عند إمرار تيار كهربائي في السائل المحتوي عليه حيث يمكن من خلال ذلك دراسة وتحليل بنية ومكونات الحمة الرئيسية .

٤- الاستشراب :

تستخدم هذه الطريقة بشكل أساسي من أجل تنقية الحمّات وتركيزها للحصول على الحموض النووية الحموية والبروتينات بشكل نقي ومن أجل تنقية الأمصال المناعية الموسومة بالصبغات. وتعتمد على إمرار المحلول الحاوي على الحمة والشوائب (الطور السائل) في طور آخر يدعى الطور الصلب (سيفاديكس، سيفاروزة، فوسفات الكالسيوم) حيث يجري أثناء هذا المرور تأثير متبادل بين الجزيئات الموجودة في الطور السائل والطور الصلب وذلك على شكل تبادل للشوارد.

٦- امتصاص الأشعة فوق البنفسجية :

تستخدم هذه الطريقة لتحديد درجة تركيز الحمة ولتحديد النسبة المئوية للحموض النووية والبروتينات الموجودة في الجزيئات الحموية هذه، وتعتمد على مبدأ أن كل جزيء يتعرض للأشعة فوق البنفسجية يقوم بامتصاص كمية معينة من الإشعاع، طيف الامتصاص هذا يحدد محتوى الحمض النووي من قاعدتي البيورين والبيريميدين التي تقوم بامتصاص الأشعة فوق البنفسجية.

٧- **الطرق المناعية :**

تساهم الطرق المناعية المستخدمة في مجال علم الحمّات إلى حـــد كـــبير في الدراســـة والكشف عن الحمّات (اختبار التعادل، تثبيت المتممة، منع التراص الدموي) هـــذا وإن نجاح هذه الطرق في الوصول إلى هدفها يرتبط بشكل مباشر بمدى نوعية الأضداد المستخدمة في هذه الاختبارات.

الفصل السابع

الفطـــــــــــور Fungi

موقع الفطور من المملكة النباتية :

تنتسب الفطور إلى قبيلة النباتات الدنيا أي المشريات والتي تحوي على :

أ – الطحالب algae : تتميز باحتوائها على اليخضور.

ب – الفطور fungi : تتميز بعدم احتوائها على اليخضور.

تعريف الفطور :

الفطور كائنات حية حقيقة النواة، لاتحتوي على اليخضور، ولا تستطيع تركيب مواد عضوية من الكربون، وتستمد الطاقة اللازمة لها من أكسدة المواد العضوية.

أولاً: الصفات العامة للفطور

تأخذ شكلاً خيطيا، يبدأ من البوغة التي تنتش في الظروف المناسـبة مشـكلة استطالة هيولية تمتد باستمرار لتشكل خيطاً دقيقاً قطره (٢–٥ ميكرون) يحوي على الهيولى التي تمتد معه وعدة نويات مبعثرة فيها.

يتألف جسم الفطر من خيوط فطرية كثيرة التفرع والتي تشكل بمجموعها الأفطورة، والخيـوط الفطريـة عنـد الفطـور الـدنيا غـير مقسـمة بجـديرات عرضـية (حواجز مستعرضة) على عكس الفطور الراقية التي تتألف من خلايا فطرية عديـدة تفصل بينها جديرات عرضية تحوي على فتحات مسامية مركزية تتصـل بوسـاطتها الخلايا الفطرية عن طريق البلاسما مع بعضها بعضاً.

وتقسم الأفطورة فيما بعد إلى قسمين، قسم باطني يمتد داخل الوسط الغذائي ليؤمن المواد الغذائية للفطر ويسمى الأفطورة المغذية، وقد ينشأ لهذا القسم مايشبه الجذور ليزيد من تثبيت الفطر في الوسط الغذائي وليؤمن له المزيد من امتصاص المواد الغذائية، وقسم هوائي ينتصب إلى الأعلى في الهواء يسمى بالأفطورة الهوائية يحوي أعضاء التكاثر والأبواغ.

وتنتشر الفطور في كل مكان من الطبيعة في التربة والهواء والماء وعلى السطح الخارجي للحيوانات والنباتات، ويمكن تقسيم الفطور حسب طراز تغذيتها إلى :

١ — فطور رمية : وتشكل المجموعة الأكبر من الفطور، وتعيش على الغالب في التربة والسماد والماء وفي داخل البقايا النباتية والحيوانية الميتة.

٢ — فطور طفيلية : وتعيش متطفلة على النباتات والحيوانات الحية.

٣ — فطور متعايشة : وتضم معظم الفطورالراقية، فبعضها يوجد متعايشاً مع النبات، وبعضها في الحيوان، مقدماً له خدمات غذائية كثيرة.

وتعدالأمراض التي تسببها الفطورفي الإنسان والحيوان قليلة إذا ماقورنت بالأمراض التي تسببها الفطور في النباتات فثلثي أمراض النباتات ذات منشأ فطري. ولقد استطاع الإنسان أن يستفيد من خواص الفطور العديدة مسخراً إياها لمنفعته، حيث استغل الإنسان الفطور في العديد من الصناعات الغذائية والكيميائية، وفي عمليات إنتاج الصادات الحيوية وغيرها من العقاقير الدوائية وفي صناعة المشروبات الكحولية، وعديد من المحاليل العضوية، إضافة إلى استخدامه لعدد كبير من الفطور الراقية المنتشرة في الغابات كمصدر من مصادر غذائه.

ثانياً: الخلية الفطرية

يشابه بناء الخلية الفطرية بناء الخلايا في النباتات والحيوان، فالخلية الفطرية لهـــا جدارها ونواتها وهيولاها، إضافة إلى عديد من الفجوات والقطرات الدهنية إلا أن هذا البناء يختلف نوعاً ما عن الخلايا الأخرى.

فالجدار الخلوي الفطري قاسٍ مركب على الأغلب من الكيتين وأحيانا من السيللوز أو عديدات السكريد، ويفرز خميرة البكتيناز التي تحلل النسج الجلدية حتى تنفذ الخلايـــا الفطرية إلى داخل الأنسجة وتحصل على غذائها، أما الهيولى فتحوي على متقـــدرات وريباسات ومريكزات وجسيمات مركزية وفجوات وغيرها من العناصر الغذائيـــة، والنواة أحادية أو ثنائية أو متعددة وتأخذ أشكالاً مختلفة وهي صغيرة جداً، وغشـــائها النووي يحوي ثغرة واضحة تصل مع الهيولى، ويحيط بالنواة والهيولى غلاف يمتد نحـــو الداخل مشكلاً ما يدعى بالشبكة الهيولية، والتي تخدم في عمليات نقل المواد الغذائية إلى داخل الخلايا. أما جهاز غولجي فيتكون من صفائح متقاربة لاتلعب دورها الكامـــل كما في الخلايا الحية الأخرى. وأكثر مايميز الخلايا الفطرية وجود فجوات بين الغلاف والغشاء الخلوي لم تعرف وظيفتها بعد.

ثالثاً: فيزيولوجيا الفطور

بالرغم من أن الخلية الفطرية بدائية التغذية عديمة اليخضور إلا أنها خلية نشطة تؤمن موادها الغذائية من الوسط الموجودة فيه بواسطة الحلول وهي تحتاج إلى الكربون الذي تحصل عليه من السكريات والدهون والبروتينات،وإلى الآزوت وتحصل عليه من أملاح الأمونيوم، كما يلزم لحياتها الأحماض الأمينية والفيتامينات وعديد من الأملاح المعدنية مثل الفوسفور والبوتاسيوم والمنغنيز والكبريت والكالسيوم.

كما تحوي بعض الأصبغة مثل صباغ الكاروتين، أو الصباغ الأحمر أو صباغ بنفسجي. والفطور تنمو بسهولة على عديد من الأوساط الصنعية، وتتغير مستعمراتها لوناً وشكلاً حسب الوسط الصنعي المستخدم، ولنمو الفطور يجب تأمين :

١ – درجة باهاء بين (٤.٥ – ٦) وذلك لأن الفطور تنمو في الوسط الحامضي بشكل أفضل.

٢ – درجة حرارة مثالية فالفطور الجلدية لاتحتاج إلى ناظم للحرارة وتكفيها حرارة الغرفة لتأمين نموها في حين تحتاج الفطور العميقة إلى درجة حرارة (٣٧ درجة مئوية).

وتنمو الفطور الجلدية في غضون أسبوع إلى عدة أسابيع بينما تنمو الفطور العميقة خلال ٤٨ ساعة.

رابعاً: تكاثر الفطور

تتكاثر الفطور بشكل عام إما بطريقة لاجنسية أو بطريقة جنسية.

أ – **التكاثر اللاجنسي** : ويتم عن طريق إما :

١ – انقسام الخيطان الفطرية إلى خلايا مفردة (أويديات، أبواغ مفصلية).

٢– تضخم أجزاء مختلفة من الخيوط الفطرية مع تكثف الجدار (أبواغ متدثرة)

٣– التبرعم.

٤ – تكوين الغبيرات.

تدعى الفطور التي تتكاثر لاجنسياً بالفطور غير الكاملة حيث تتشكل الأبواغ على طول الخيط الفطري وتدعى بالأبواغ الخيطية أو تتشكل في نهاية الخيط الفطري فتدعى بالأبواغ الغبيرية.

١ – الأبواغ الخيطية :

تتشكل داخل الخيط الفطري وعلى طوله ونميز منها :

أ – الأبواغ المفصلية :

الخيط الفطري ينقسم إلى سلسلة من الخلايا المكعبة في البدء لاتلبث أن تستدير حوافها لتأخذ شكلاً كروياً مساوياً لخلايا الخيط الأصلي ويتشكل فيما بعد جدار سميك بحيث تأخذ الخلايا شكل سبحي أو عقدي كما في المبوغة الشعرية.

ب – الأبواغ المتدثرة :

تتشكل هذه الأبواغ من تجمع هيولى الخيط في موقع على طول مسيره أو في نهايته، هذا التجمع ينتفخ ويكبر ليشكل بوغة قطرها أكبر من قطر الخيط، يختلف قياسها من بوغة لأخرى، ثم تزداد سماكة جدارها خصوصاً في الظروف المناسبة كما في الفطور الشعرية الشونلاينية.

ج – الأبواغ البرعمية :

تتشكل الأبواغ على طول الخيط الفطري أو عند نهايته بشكل نتوء صغير بيضوي الشكل، يبقى متصلاً بالخيط بقاعدة مذنبة الشكل، كما في المبيضات، أو بقاعدة عريضة، وقد يتشكل على هذا النتوء نتوء ثاني و ثالث ورابع، حتى تتشكل سلسلة متواصلة من الأبواغ البرعمية، والتي يمكن أن ينشأ منها نتوء جانبي بشكل بوغة برعمية، كما في المكورات الخفية.

٢ – الأبواغ الغبيرية :

أبواغ تنشأ في نهاية الخيط الفطري أو جانبه، ويدعى الخيط بحامل الأبواغ الانتهائية، وتختلف هذه الأبواغ عن بعضها بالحجم والشكل والعدد ونميز منها:

أ – الأبواغ الغبيرية الصغيرة : غالبا ذات شكل كمثري أو بيضوي، مفردة وقد تكون متجاورة، أو عقدية، أو عنقودية، وقد تأخذ شكلاً مكنسياً، كما في فطر البنسيليوم(المكنسية)، أو شكلاً رشاشياً كما في فطر الرشاشيات (الأسبرجيلوس)

ب – **الأبواغ الغبيرية الكبيرة :**

لها شكل كمثري، كبيرة الحجم، وذات غلاف سميك مقسمة داخلياً إلى عدة أبواغ تدعى بالمبارز، وتعد هذه المبارز ذات أهمية تشخيصية، لأن قياسها وشكلها له علاقة مميزة لكل فطر.

أما التكاثر عن طريق التبرعم فهو خاصية مميزة لتكاثر الخمائر، حيث تنشأ في جزء أو عدة أجزاء من الخلية الأم خلايا ابنة صغيرة تأخذ بالنمو المستمر ويلاحظ عند بعض الأنواع بقاء الارتباط بين الخلايا الإبنة مع بعضها بعضاً مؤدية إلى تشكل رباط مؤلف من خلايا مختلفة كبيرة (الأفطورة الكاذبة).

ب – **التكاثر الجنسي :**

تظهر هذه الطريقة من التكاثر عند الفطور في ظروف معينة، وفي هذه الطريقة يبقى العدد المتكون من الفطور الجديدة أقل بكثير مما هو عليه في الطريقة اللاجنسية.

ويمر التكاثر في هذه الطريقة بثلاث مراحل :

١ – مرحلة اندماج الخلايا.

٢ – مرحلة اندماج الأنوية.

٣ – مرحلة الانقسام الاختزالي.

ففي المرحلة الأولى من هذا التكاثر يحدث اندماج بين الخليتين الفطريتين وترتبط الأنوية المذكرة والمؤنثة مع بعضها بعضاً مشكلة زوجاً من الأنوية، حيث تندمج النواة المذكرة والمؤنثة مع بعضها بعضاً في المرحلة التالية، وإن كان هذا الأمر ليس دائماً، فعند الفطور الراقية لا يتم اندماج الأنوية مباشرة بعد اندماج الخلايا، وهذا يعني بأن الفطور الراقية تحوي على زوج من الأنوية، واحدة مذكرة والأخرى مؤنثة والتي تنقسم دوماً وفي الوقت نفسه مع كل انقسام خلوي.

ونتيجة لاندماج الأنوية في المرحلة الثانية من هذه التكاثر يتشكل الزيجوت ذو العدد المضاعف من الصبغيات، وتبدأ المرحلة الثالثة، والتي يتم فيها اختزال العدد الصبغي إلى

ماكان عليه في الأصل (الانقسام الاختزالي)، والذي ينتج عنه مايدعى بالأبواغ الاختزالية. هذه الأبواغ الاختزالية المتشكلة بعد مراحل التكاثر الجنسية السابقة تأخذ تسميات متعددة حسب نوع الفطر مثل : الأبواغ الفطرية الطحلبية، الأبواغ الزيجية، الأبواغ الزقية، الأبواغ الدعامية.

فعلى سبيل المثال تتشكل الأبواغ الزقية في مباغ أنبوبي الشكل وذلك بعد اندماج النواتين وحدوث الانقسام الاختزالي، حيث يحوي كل مباغ زقي على ثمانية أبواغ (الفطور الزقية).

أما الأبواغ الدعامية فتتشكل بعد اندماج الأنوية على دعامة هراوية الشكل وكل دعامة تحوي على أربع أبواغ (الفطور الدعامية).

خامساً : أنماط الفطور

١ – الفطور الغذائية :

وهي الفطور التي يمكن اعتبارها مصدراً غذائياً هاماً للإنسان، لأنها تحتوي على مواد غذائية قيمة، مثل السكريات والدهون والبروتينات والأملاح المعدنية والفيتامينات والأحماض.

٢ – الفطور السامة :

وهي الفطور التي يؤدي تناولها إلى تحرر الأسس الآزوتية السامة وهذه السموم نوعية، تؤثر على الجهاز الهضمي أو العصبي.

٣ – التسمم الفطري :

وهو تناول مواد غذائية ملوثة بالسموم الفطرية والتي تعرف بسموم الأفلا الذي يفرزه فطر الرشاشيات الذي يؤدي إلى التهاب الكبد عند الإنسان.

٤ – الارتكاسات الفطرية :

تظهر هذه الحالات عند بعض الأشخاص نتيجة الإصابة السابقة بخمج فطري.

٥ – **الفطور الدوائية :**

وهي الفطور المنتجة لبعض الصادات الحيوية التي يستخدمها الإنسان في معالجة بعض الأمراض الجرثومية، مثل البنسلين المستخرج من فطر البنسيلينيوم (العفن الأبيض) والستربتومايسين، وكذلك فطر خميرة الجعة الغني بالفيتامينات وأهمها فيتامين ب.

٦ – **الفطور الممرضة :**

وهي مجموعة الفطور التي تسبب الأمراض الفطرية عند الإنسان والحيوان الناتجة عن غزو الفطور الجلدية لجلد الإنسان الحيوان.

٧ – **الفطور الانتهازية :**

وهي فطور تعيش حالة طبيعية، رمية، غير ممرضة، على الأغشية المخاطية وعند تغير الحالة الدفاعية للجسم، نتيجة تناول جرعات علاجية كبيرة من الصادات الحيوية واسعة الطيف، أو الأدوية المستخدمة في معالجة السرطانات، أوانحطاط جسم المريض، تتحول هذه الفطور إلى فطور ممرضة مثل داء المبيضات (الفطر الرشاشي).

مصادر الخمج الفطري :

١ – **خمج بشري :**

ويلاحظ هذا النوع عند انتقال الخمج من إنسان مصاب إلى إنسان سليم أي يحدث انتقال الخمج بين البشر فقط، مثل الإصابة بالبويغاء والفطور الشعروية.

٢ – **خمج حيواني :**

حيث ينتقل الخمج من حيوان مصاب إلى إنسان سليم أو حيوان سليم مثل الإصابة بالفطر الثألولي، الذقني، البويغاء الكلبية.

٣ – **خمج التربة :**

ينتقل الخمج من التربة إلى الإنسان أو الحيوان مثل الفطر كوكي، البويغاء الجبسية.

طرق الخمج الفطري:

١ – عن طريق الجلد: وخاصة الفطور الجلدية مثل الفطر الثألولي والـذقني وتلعب الحشرات المترلية دوراً كبيراً في نقل الخمج.

٢– عن طريق الأغشية المخاطية: بعض الفطور تستغل هتك الأغشية المخاطية لتتحول إلى فطور مرضية مثل المبيضات البيض والفطر الرشاشي أو نتيجة تلوث الأغشية المخاطية كتلوث الأغشية المخاطية للعين بفطرالرشاشيات.

٣– عن طريق الجهاز التنفسي ويحدث الخمج هنا بواسطة استنشاق أبواغ الفطور مثل المكورات الخفية، الرشاشيات،الفطر البرعمي.

٤ – عن طريق الجهاز الهضمي : كثير من الفطور تدخل عن طريق الجهاز الهضمي مثل خمائر المبيضات البيض مع الحليب غير المغلي الناتج عن ضرع مصاب.

٥ – عن طريق الدم : وهي الفطور التي تنتقل عن طريق الأدوات الجراحية الملوثة.

العوامل المهيئة لحدوث الخمج الفطري :

١ – التغيرات الفيزيولوجية كالحمل عند الإناث.

٢ – التغيرات المرضية مثل : مرض السكر، الحروق، الإنتانات الدموية.

٣ – مرض السل يساعد على الخمج بالفطر الرشاشي.

٤ – استخدام الصادات الحيوية بجرعات كبيرة ولفترة زمنية طويلة لـذلك ينصح بإعطاء مضادات الفطور في مثل هذه الحالات.

٥ – المعالجة بمركبات الكورتيزون – والتعرض لأشعة الشمس لفترات طويلة – المعالجات الكيميائية للسرطانات.

٦ – الأطفال معرضون للإصابة بفطور الرأس أكثر من البالغين، بسبب وجود إفرازات دهنية قاتلة للفطور عند البالغين.

٧ – الجنس : فالذكور لديهم قابلية للإصابة أكثر ثلاث مرات من الإناث.

٨ – المهنة تلعب دوراً في حدوث الخمج الفطري، وخاصة القائمين على رعاية الحيوان، فهم على احتكاك دائم مع الحيوان.

سادساً : قواعد التشخيص المخبري للفطور

سنذكر باختصار الخطوات المتبعة في تشخيص الفطور هذه الخطوات سيتم دراستها بشكل مفصل في الجزء العملي وهي :

١ – تحضير العينات.

٢ – الفحص المجهري المباشر للعينات.

٣ – زرع العينات الفطرية.

٤ – دراسة الخواص الشكلية للمستعمرات الفطرية.

٥ – الفحص المجهري للمستعمرات الفطرية .

سابعاً : معالجة الفطور

تتطلب معالجة الفطور فترة طويلة حتى يحصل الشفاء، ويتوقف ذلك على نوع الفطر وانتشاره على سطح الجلد أو في داخل العضوية، وقد قسمت مضادات الفطور إلى :

١ – مركبات كيميائية كالأحماض والفينول والفورمالين وأشباه المعادن مثل الفلور والكلور والبروم واليود.

٢ – مركبات كيميائية عضوية مشتقة من عائلة الإيميدازول التي تؤثر على الخلايا الفطرية دون أي تأثيرات جانبية. مثل كيتوكونازول، كلوتريمازول ميكوكونازول، إيكونازول.

بالإضافة إلى الأدوية المستخلصة من الفطور العقدية، مثل الجريزوفولفين والأمفوتريسين، النستاتين.

ويفضل مع المعالجة الفطرية استخدام الصادات الحيوية وقائياً لمعالجة الحالات الجرثومية المشاركة.

وحديثاً تجري دراسات لتطوير إنتاج اللقاحات الفطرية وخاصة الجلدية وحـــتى الآن يبدو أنها أعطت نتائج إيجابية جداً في أوروبا .

الجزء العملي

Practical part

الجلسة الأولى

مخبرالجراثيـــــــم

عند تصميم مثل هذه المخابر يجب الانتباه بشكل رئيسي على نقطتين أساسيتين وهما :

١- الإضاءة الجيدة في المخبر : فالإضاءة تلعب دوراً هاماً في عمليات الفحص المجهري والأعمال الحيوية الأخرى الجارية في المخبر ويمكن التحكم بالإضاءة من خـــلال اتجاه المخبر أثناء تصميمه من ناحية ومن ناحية أخرى مـــن خـــلال الإضـــاءة الاصطناعية.

٢- الحد من مشكلة التلوث : فالغبار يعد عدو المخابر الأول بما يحمله من جـــراثيم ويمكن التغلب على هذه المشكلة من خلال اختيار الموقع بالإضـــافة إلى العنايـــة بحجم الغرف والأبواب والنوافذ واختيار الأرضية المناسبة للتقليل ما أمكن مـــن تسرب الغبار والتخلص منه خلال عمليات التنظيف اليومية.

ومخبر الجراثيم هو الوحدة المتخصصة بالقيام بكافة الأعمال الجرثومية كعمليات الزرع الجرثومي وتلوين المحضرات الجرثومية والفحص المجهري للمحضرات الجرثومية لذلك يراعى ضمن هذه الوحدة بأن تكون المساحة المخصصة لها مناسبة لاستيعاب مثل هذه الأعمال والأشخاص القائمين عليها والتقنيون العاملون في هذه المخابر يقضون معظم وقتهم في تحضير المواد اللازمة٢٧ للعمل وستتم دراسة مخبر الجراثيم من النوع التعليمي (مخابر التعليم) التي توجد عادة في الكليات والمعاهد الطبية(الشكل رقـــم ١) الـــتي تكون مصممة عادة لتحقق الغاية التعليمية والتي يجب أن يتوفر فيها ما يلي :

١ً – التجهيزات الثابتة : (المخبر)

بقدر ماتكون هذه الأبنية مريحة بقدر ماتكون نتائج العمل أفضل لذلك يجب أن يتوفر في هذا المخبر مواصفات نموذجية لجميع أجزاء بناء المخبر ويجـــب أن تتـــوفر في المخبر بمكوناته كلها الشروط التالية :

الجدران :

يجب أن تبنى الجدران من أمتن مواد البناء المتوفرة كالاسمنت المسلح وأن تكون السطوح الداخلية لجدران المخبر ناعمة وكتيمة ومقاومة لأعمال التنظيف. ويفضل ان تكون كسوة الجدران الداخلية من أنواع البلاط الناعم" السيراميك"، وذلك على ارتفاع من ٣٠ – ٤٥ سم فوق مستوى طاولات العمل إذا كانت الطاولات جدارية. أو أن تكون مطلية بطلاء مقاوم للماء إذا كانت الطاولات متوضعة بشكل متوازي في وسط غرفة المخبر.

الأرضية :

يجب أن تكون الأرضيات كتومة للماء، سهلة الشطف، والتنظيف، قوية التحمل، وأن تحقق نسبة ميل باتجاه المصرف، حتى لاتتجمع المياه على شكل برك مؤدية إلى التلوث في المخبر.

النوافذ :

يجب أن تحقق النوافذ الأغراض التي صممت من أجلها وهي السماح للضوء بالدخول والتهوية ولمنع دخول الغبار والحشرات إلى المخبر ويفضل أن يتوفر عدة نوافذ صغيرة أفضل من نافذة واحدة كبيرة.

الأبواب :

يجب أن يكون لكل وحدة مخبرية بابان يفتحان للداخل للتمكن من إخلاء المخبر بأمان في حالات الحوادث "كالحريق مثلا"، وتكون مصنعة عادة من مادة الخشب والباب المؤلف من مصراع ونصف هو الأفضل، وذلك لإمكانية إدخال الأجهزة المخبرية الضخمة بسهولة، ويفضل ان يكون عرض المصراع ٨٠ سم والنصف مصراع ٤٠ سم ويستخدم الحجم القياسي للاستعمالات العادية بينما النصف الآخر عند الحاجة. ويفضل أن يكون لكل باب نافذة حتى يرى من خلالها أي شخص من الجانب الآخر قبل فتح الباب، وعادة تكون مساحة هذه النافذة ٩٠٠ سم^{٢} (١٥سم × ٦٠ سم).

طاولات العمل :

عندما يتم تجهيز طاولات العمل من الاسمنت والسيراميك تصبح هذه الطاولات من الأثاث الثابت ويكون ارتفاعها للعمل وقوفاً ٩٠ سم وعرضها ٦٠ سم.

الخزائن :

تستخدم الخزائن عادة لوضع المواد وبعض الأجهزة، وعادة تكون هذه الخزائن مبنية تحت طاولات العمل السابقة الذكر.

الإمداد بالماء :

الماء النظيف يعد من الأمور الأساسية التي يجب أن تتوفر في المخبر ويكون مصدرها الإمداد الرئيسي للمدينة وبالإضافة إلى ذلك يجب أن يتم إمداد المخبر بالماء من خزان احتياطي ضخم يوضع على سطح البناء ولهذا الخزان غطاء يمنع دخول الغبار والضوء إليه، لأن الضوء يسبب نمو الإشنيات، ويجب تنظيف الخزان وصيانته كل ستة أشهر.

الإمداد بالكهرباء :

يعد تأمين الطاقة الكهربائية من مصدر موثوق من الأمور الأساسية في المخابر الحديثة، ويتم تأمينها من الإمدادات الكهربائية الرئيسية مع مولدة احتياطية تزود المخبر بالكهرباء في حال انقطاع التيار الكهربائي.

الإضاءة :

يجب أن تكون دارة الإضاءة منفصلة عن دارة الطاقة الكهربائية الخاصة بالعمل وتعد الإضاءة بقوة كهربائية ١٠ واط/م^{٢} كافية ضمن المخبر.

الغاز :

يتم توفير الغاز السائل والمعبأ في إسطوانات حيث تحفظ داخل المخبر ويفضل تخزينها خارج المخبر في المستودعات.

٢ً – الأثاث المتحرك :

هو مجموعة الأثاث الذي يوفر بعض الخدمات في المخبر، وهو مؤلف من طـــاولات متحركة لها أدراج تفيد في وضع الأدوات، مثل المشارط والملاقط والمقصات والشرائح المستخدمة أثناء العمل الجرثومي، أما الطاولات الموزعة في المخبر على شكل صفوف "وحدات مخبرية" فهي عبارة عن طاولات معدنية غالباً، يفضل أن تكون ســـطوحها مصنوعة من مادة الستيل، وسطحها مصقول لسهولة تنظيفها وتعقيمها

الشكل رقم (١)

لها رفوف مرتفعة لوضع الصبغات والمحاليل اللازمة للعمل بالإضافة إلى أدراج لوضـــع الأدوات وتزود هذه الطاولات بمآخذ كهربائية ومآخذ للغاز وفي وسطها حوض مزود بصنابير مياه، يستعمل في عمليات تلوين المحضرات.

ارتفاع هذه الطاولات مناسب للعمل وقوفاً (٩٠ سم) ويزود المخبر أيضا بمجموعة من الأثاث الثابت الذي يسهل العمل في المخبر (طاولة مكتبية، مجموعة من الكراسي

مختلفة الأشكال، خزان معلقة تفيد في وضع وتخزين بعض المواد الأولية اللازمة للعمل المخبري، هاتف،.... الخ).

٣ً – الأجهزة المخبرية :

من الضروري توفر عديد من الأجهزة التي تؤمن نجاح العمل المخبري نذكرمنها :

– براد عادي : يفضل وجود أكثر من براد في المخـبر لحفـظ المـزارع الجرثوميـة والأوساط المزرعية .

– جهاز تجفيف : لتجفيف الأدوات بعد غسيلها.

– حاضنة كهربائية : وتستخدم من أجل تحضين وتنمية المنابت الجرثومية المزروعـة حديثاً.

– جهاز الموصدة : لتعقيم بعض الأوساط و المحاليل الملحية وغيرها.

– جهاز تقطير : لتحضير الماء المقطر.

– حمامات مائية : لمعاملة الأمصال عند إجراء بعض الفحوصات المصلية.

– جهاز لقياس درجة الحموضة.

– موازين دقيقة لوزن المواد الكيميائية اللازمة لتحضير الأوساط والمحاليل.

– أجهزة ترشيح : لتعقيم السوائل والمحاليل.

– مجمدة : لحفظ الأمصال والمستضدات.

– مثفلات مختلفة السرعة.

– أجهزة تعقيم بالأشعة فوق البنفسجية لتعقيم الأوساط.

– مجاهر ضوئية : لفحص الشرائح المحضرة وملاحظة الخواص الشكلية للجراثيم.

– مصباح غاز : من أجل تعقيم اللاقحة الجرثومية بالإحمـاء وفوهـات الأنابيـب والأواني بالتلهيب.

–أجهزة متطورة جهاز الأليزا، جهاز التنميط الجرثومي الآلي، جهاز PCR....الخ .

٤ً – **الأدوات المخبرية** : وتضم :

– لواقح جرثومية "عروات الزرع الجرثومي" برأس دائري ورأس مدبب.

– مجموعة من أدوات التشريح (ملاقط، مقصات، مشارط).

– أوعية زجاجية : أنابيب اختبار مدرجة وغير مدرجة – أنبوب درهم – شرائح .

– ساترات – حوجلات ماصات أوعية زجاجية كبيرة ذات غطاء محكم .

– زجاجات مختلفة الأحجام– أقماع زجاجية – قضبان زجاجية.

– أطباق بتري مختلفة القياسات .

– حاملات أنابيب اختبار.

– ماسحات قطنية : تستخدم لأخذ العينات من الأغشية المخاطية.

–المواد الطبية والكيميائية :

– قطن طبي – شاش – ورق ترشيح.

–صادات حيوية_أقراص صادات حيوية _مواد مطهرة (فورمالين _كحول.. الخ)

– منظفات مختلفة.

– سكاكر مختلفة - كواشف - أملاح - معادن - أحماض.

٥ً ـــ الغرف الملحقة بوحدة الجراثيم :

١ – غرفة تحضير الأوساط الجرثومية :

وهي غرفة مجهزة بالأدوات كالزجاجيات، وميزان دقيق والموادالأساسية لتحضير البيئات،ويتبع لها جزءخاص بعملية تعقيم الأوساط والبيئات بالأشعة فوق البنفسجية.

٢ – غرفة الغسيل والتعقيم :

وهي غرفة خاصة بعملية غسيل الأدوات المستخدمة تحتوي على أحـــواض غســـيل وأجهزة تجفيف، و تعقيم مختلفة، كالموصدة وفرن التعقيم بالحرارة الجافة.

٣ – مكاتب خاصة بالموارد البشرية: أساتذة وقائمين بالأعمال وتقنيين مخبريين.

الجلسة الثانية

أولاً: قواعد العمل في مخابر الأحياء الدقيقة

يتطلب التعامل مع الأحياء الدقيقة الكثير من الحرص والدقة أثناء العمل وذلك منعاً لحدوث أي خمج بأي نوع من أنواع الجراثيم الممرضة أو غيرها من مسببات الأمراض. من أجل ذلك لابد من الانتباه إلى التوصيات التالية أثناء العمل.

١- الاهتمام بنظافة المخبر بشكل عام ونظافة وعقامة مكان العمل بشكل خاص

٢- ارتداء المعاطف الطبية البيضاء النظيفة أثناء العمل بهدف حماية الملابس من التلوث.

٣- تنظيف اليدين جيداً بالماء والصابون وتعقيمهما بأحد المحاليل المطهرة قبل بدء العمل وبعد الانتهاء منه.

٤- عدم تناول الطعام والشراب وعدم التدخين في المخبر بشكل عام وأثناء العمل بشكل خاص.

٥- ارتداء القناع القماشي بهدف تغطية الرأس والأنف والفم خاصة عند التعامل مع الحمّات أو عند حقن حيوانات التجربة المخبرية بأحد مسببات الأمراض.

٦- عدم العمل في المخبر عند وجود جروح أو إصابات في الأيدي أو الوجه حتى تلتئم تماماً ويفضل ارتداء القفازات الطبية لحماية اليدين.

٧- منع دخول أي شخص ليس له علاقة بالعمل داخل المخبر.

٨- وضع جميع الأدوات المستخدمة (ممصات – شرائح – أنابيب – ملاقط – مشارط...) في وعاء يحوي محلول مطهر ريثما يتم تنظيفها وتعقيمها أو التخلص منها بشكل صحي.

٩- التخلص الصحي من المستنبتات الجرثومية والمزارع الحموية بعد انتهاء الحاجة إليها وذلك منعاً لتلوث الوسط الخارجي بها.

١٠- التأكد من إغلاق جميع مصادر المياه والغاز والكهرباء قبل مغادرة المخبر.

ثانياً: الإسعافات الأولية في مخابر الأحياء الدقيقة

على الرغم من إجراءات الحيطة والحذر المتبعة أثناء العمل، فقد تحدث بعض الإصابات للعاملين في المخبر عند تعاملهم مع المواد الخمجية، وسوف نذكر الإجراءات الواجب اتباعها في حال وقوع مثل هذه الإصابات :

١- عند دخول المادة المعدية إلى الفم :

آ- يجب عدم ابتلاع المادة ولفظها مباشرة في وعاء يحوي سائل مطهر.

ب - المضمضة بمحلول برمنغنات البوتاسيوم (٠.٠١%) أو محلول الماء الأوكسجيني (١ %) أو محلول حمض كلور الماء (٠.٠٢%)

ج - مضغ قطعة من الخبز ولفظها مع دوام المضمضة لعدة ساعات.

د - ينصح بشرب كأس من حمض كلور الماء بتركيز (٠.٠٢%).

٢- عند ابتلاع المادة المعدية

أ- يجب التمضمض بمحلول برمنغنات البوتاسيوم (٠.٠١%).

ب- تحريض إفراز حمض كلور الماء من المعدة عن طريق تناول خلاصة اللحم.

ج- بعد ذلك ينصح بتناول كأس من حمض كلور الماء (٠.٠٢%).

٣- عند دخول المادة المعدية إلى العين :

آ- يجب عدم فرك العين .

ب- تغسل عن طريق التقطير في الملتحمة بأحد المحاليل الحاوية على الصادات الحيوية، ثم تدهن بأحد المراهم العينية.

ج- تطبّق الإجراءات نفسها المتبعة في حال دخول المادة المعدية إلى الفم.

٤- دخول المادة المعدية إلى الأنف :

آ - يجب التمخط عدة مرات في مناديل ورقية قابلة للحرق أو الإتلاف.

ب- محاولة عدم استنشاق الهواء إلى الداخل.

ج- بعدها ينقط في الأنف محلول أكسيد الزنك (١ %) أو يمسح الأنف بمرهم أكسيد الزنك

د- تُتخذ الإجراءات المتبعة عند دخول المادة المعدية إلى الفم.

٥- في حالات الجروح :

والتي يمكن أن تنجم عن تكسر بعض الأدوات الملوثة بالمادة المعدية أو عن طريق عضة حيوان مصاب أو تلوث جرح قديم بالمادة المعدية، يجب عدم امتصاص الجرح وإنما تغسل المنطقة المحيطة بالجرح وتجفف، يدهن مكان الجرح بصبغة اليود (١-٢%) أو حمض الآزوت (٢ %) ثم يربط مكان الجرح جيداً.

أما حالات الجروح العميقة فيجب ترك الدم يترف ومن ثم تنظيفة بأحد المحاليل المطهرة، وبعدها يوضع أحد المساحيق المطهرة (بودرة مطهرة) ثم يربط على الجرح برباط معقم.

٦- في حالات العدوى الخاصة :

قد تتلوث الجروح بأحد مسببات الأمراض الخطيرة مثل العصوية الجمرية،

الكزاز، حمة الكلب، الرعام، البروسيلا....الخ، في مثل هذه الحالات يجب العمل على قتل العامل الممرض مباشرة وذلك عن طريق معاملة الجرح فوراً بحمض الآزوت الدخني، ثم ينقل المصاب فوراً إلى أقرب مشفى لتلقي العلاج المناسب.

٧- إصابات التيار الكهربائي :

يجب فصل التيار الكهربائي، وفي حالات تعذر الوصول إلى مكان فصل التيار الكهربائي يجب على الأشخاص الموجودين عدم لمس الشخص المصاب قبل تأمين العزل الكهربائي، وذلك بالوقوف على قطعة خشب جافة أو على الزجاج وفي حالات فقدان الوعي يجب القيام بعملية التنفس الاصطناعي للشخص المصاب وإحضار الطبيب فوراً.

الجلسة الثالثة

التعقيم والتطهير:

التعقيم هو من الأساسيات التي يرتكز عليها العمل في مخابر الأحياء الدقيقة

و يعرف **التعقيم**: بأنه إتلاف جميع الأحياء الدقيقة الممرضة وغير الممرضة(الجراثيم وأبواغها والفطور والحمّات...) والتي يمكن أن توجد في المواد وعلى الأدوات المستخدمة.

أما التطهير: فيعني القضاء على الجراثيم في طورها الانباتي فقط.

وللتعقيم عدة طرق أهمها :

١- التعقيم بالطرائق الفيزيائية

٢- التعقيم بالطرائق الآلية.

٣- التعقيم بالطرائق الكيميائية.

أولاً : **التعقيم بالطرائق الفيزيائية** :

١- التعقيم بالحرارة الجافة :

أ – **الإحماء والتلهيب** :

يعتمد **الإحماء** على مبدأ حرق الأحياء الدقيقة الموجودة على السطح المراد تعقيمه بوساطة اللهب وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم إبرة الزرع والإبر وبعض الآلات المعدنية التي لا تتغير إذا سخنت حتى الاحمرار، ولا تستخدم الآلة المعقمة إلا بعد أن تبرد، ويجب إعادة تعقيمها لدى كل استعمال.

أما **التلهيب** :

فيعتمد على مبدأ تعريض الأشياء الملساء كأطراف الممص والقضبان الزجاجية وفوهات الأنابيب والقوارير والشرائح الزجاجية على اللهب وذلك بإمرارها (٣ – ٤ مرات) بحركة ليست بالسريعة أو البطيئة.

ب – **التعقيم في الهواء الساخن :**

يستخدم لهذا الغرض فرن الهواء الساخن (الشكل رقم ٢) وهو عبارة عن خزانة معدنية ذات جدار مضاعف مع ميزان حرارة(الشكل رقم٢)، ويكفي رفع درجة حرارة الهواء داخل الجهاز إلى الدرجة (١٦٠- ١٨٠) م مدة كافية لقتل كافة الأحياء الدقيقة، حيث يحسب زمن التعقيم عند بلوغ مؤشر ميزان الحرارة الدرجة المطلوبة. هذا ونستخدم عادة درجة حرارة (١٤٠م) في التعقيم الجاف لمدة ساعتين أودرجة حرارة(١٦٠م) لمدة ساعة واحدة أودرجة حرارة (١٨٠م) لمدة نصف ساعة. لتعقيم جميع الأدوات المعدنية والزجاجية المتحملة للحرارة بعد لفها بورق السيلوفان قبل التعقيم .

لشكل رقم (٢)

٢-التعقيم بالحرارة الرطبة :

أ – **الغلي :**

تعقم بهذه الطريقة المحاقن والإبر والمشارط والملاقط والسدادات المطاطية والأنابيب الزجاجية، حيث توضع هذه الأدوات في وعاء يحوي على الماء وتُغلى حتى الدرجة (١٠٠ م) لمدة (١٥ – ٣٠ دقيقة)، وبهذه الطريقة يتم القضاء على الجراثيم كافة، بينما لا تتأثر الأبواغ بهذه الطريقة من التعقيم، ويمكن إضافة محلول بيكربونات الصوديوم بتركيز (١ – ٢ %) إلى الماء بغية زيادة فعالية التعقيم من جهة وحماية الأدوات المعدنية من الصدأ من جهة أخرى.

ب – **التعقيم في البخار تحت الضغط** : **(الصاد الموصد)**

تعتمد هذه الطريقة على مبدأ التعقيم ببخار الماء والضغط في جهاز **الموصدة** (الشكل رقم ٣)ومن المعروف بأنه عندما يزداد الضغط فوق سطح الماء فإن درجة غليان الماء ترتفع لتصل إلى الدرجة (١١٥,٥ م) عندما يزداد الضغط نصف ضغط عن الضغط الجوي، وإلى الدرجة (١٢١ م) بزيادة ضغط واحد، وإلى الدرجة (١٣٥ م) بزيادة ضغطين. وجهاز الموصدة عبارة عن وعاء أسطواني الشكل مضاعف الجدار، مؤلف من معدن مقاوم، يتصل به مقياس ضغط وميزان حرارة (الشكل رقم ٣)، كما يوجد أنبوب زجاجي يتصل بجدار الجهاز يمكن من خلاله معرفة مستوى الماء في الجهاز، كما يوجد في القسم الأسفل من الجهاز صنبور لخروج الهواء والبخار، وفي داخل الجهاز توجد سلة معدنية توضع فيها المواد المُراد تعقيمها، ويعمل الجهاز على الكهرباء أو الغاز. وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم المنابت المغذية الجرثومية والمحاليل التي لا تتأثر بالحرارة العالية ولتعقيم المواد الزجاجية والمعدنية وأطباق بتري الحاوية على مزارع جرثومية قديمة.

طريقة استخدام الموصدة :

توضع كمية كافية من الماء حتى يصل مستواها إلى الإشارة العليا لأنبوب قياس مستوى الماء، بعد ذلك توضع المواد المراد تعقيمها بالسلة المعدنية ثم يغلق غطاء الجهاز بإحكام ويفتح منفذ البخار، يوصل الجهاز بالتيار الكهربائي فيسخن الماء ويخرج الهواء متقطعاً ثم ممزوجاً مع البخارثم البخار صافياً، عندها يغلق صنبور البخار، حيث يلاحظ تحرك

الشكل رقم(٣)

إبرة مقياس الضغط. وعند وصول مؤشر مقياس الضغط والحرارة إلى الدرجة المطلوبة تبدأ عملية التعقيم والتي تستمر (١٥ – ٢٠ دقيقة).

بعد الانتهاء من التعقيم نطفئ الجهاز، ويتم الانتظار حتى رجوع إبرة مقياس الضغط والحرارة إلى الدرجات الطبيعية،بعدها يفتح الغطاء وتخرج منه المواد.

جـ- التعقيم بالبخار المتقطع على الدرجة (١٠٠ م) (طريقة تندال) :

تستخدم هذه الطريقة من أجل القضاء على الجراثيم وأبواغها والتي تتلف إذا تكرر تسخينها عدة مرات بفواصل كبيرة. فدرجة (١٠٠ م) قادرة على قتل الجراثيم ولكنها غير كافية لإتلاف الأبواغ فإذا عُرِضَت المادة المراد تعقيمها إلى الدرجة (١٠٠م) تتلف جميع الجراثيم دون الأبواغ، وعند تركها بعد ذلك مدة (٢٤ ساعة) بدرجة حرارة الغرفة فإن هذه الأبواغ سوف تنتش وتعطي جراثيم جديدة، فإذا ما عرضت مرة ثانية لدرجة (١٠٠ م) فسوف يتلف الجرثوم الذي نتش حديثاً. وهكذا في المرة الثالثة سوف يتلف كل ما تبقى من الجراثيم وأبواغها.وإن مدة التعقيم في كل مرة هي نصف ساعة والفاصل بين العمليتين هو (٢٤ ساعة) ويكرر العمل ثلاث مرات في أيام متتالية.

ولذلك تستخدم هذه الطريقة من أجل تعقيم البيئات الحاوية على السكريات والجيلاتين والتي يمكن أن تتحلل أو تتفحم بدرجات الحرارة العالية والضغط وهذه الطريقة من التعقيم تتم في جهاز الموصدة أيضاً مع إبقاء صنبور البخار مفتوحاً فيه.

د- التعقيم بالتسخين المتقطع عند الدرجة (٥٦ م) :

تستخدم هذه الطريقة لتعقيم المواد التي تتأثر بدرجة الحرارة المرتفعة كالمصل الدموي الذي يتخثر في الدرجة(٥٥ م) حيث تغمر الزجاجات المحكمة الإغلاق الحاوية على المصل في الماء الساخن في الدرجة(٥٦ م)، حيث يعلو مستوى الماء الساخن مستوى السائل الموجود في الزجاجة، تعاد هذه العملية على مدار سبعة أيام متتالية لمدة ساعة في كل مرة، أما المواد الغذائية (لبن – حليب) فتعقم عند الدرجة (٧٢م) بإمرارها مدة نصف دقيقة ضمن أجهزة خاصة.

ثانياً : التعقيم بالطرائق الآلية :

١-التعقيم بالترشيح :

وهي طريقة من طرائق تعقيم السوائل التي لا يمكن تعقيمها بالتسخين، وتعتمد هذه الطريقة على مبدأ إمرار السوائل خلال مرشحة ذات مسامات دقيقة تسمح بمرور السائل، ولكنها تعيق مرور الجراثيم الموجودة ضمن السائل. وتجدر الإشارة إلى أن هذه الطريقة لاتؤدي إلى قتل الجراثيم وإنما إزالتها فقط. ومن المرشحات المستخدمة لهذا الغرض نذكر : شمعة شامبيرلان المكونة من البورسلين، شمعة بيركفيلد المصنوعة من تربة النقاعيات، مرشحة زايتس التي هي عبارة عن قرص ترشيح من الأزبيست (أميانت) يثبت في قمع معدني وينفذ أنبوب القمع من خلال سدادة مطاطية في حوجلة، يصب السائل من الأعلى ويمر إلى الأسفل بشكل عقيم حيث تبقى الجراثيم معلقة على القرص وفي جميع الأحوال يجب أن تكون الشمعات أو المرشحات معقمة قبل الاستعمال وغالباً ما توصل الفوهة الجانبية لوعاء الاستقبال بمفرغة هواء بغية تسريع عملية الترشيح.

٢-التعقيم بالأشعة :

تعد الأشعة فوق البنفسجية الأكثر استخداماً في هذا المجال، وتستخدم لهذا الغرض مصابيح زئبقية تُشع أشعة فوق بنفسجية بموجات يتراوح طولها بين (٢٤٠ - ٢٨٠ ن. م) ولقد وجد أن الأشعة فوق البنفسجية التي طول موجتها(٢٦٠ ن. م) هي الأكثر فعالية وتأثيراً على الجراثيم، وتجدر الإشارة إلى أن الجراثيم تتأثر بشكل سريع، أما الأبواغ والفطور فهي أقل حساسية تستخدم هذه الطريقة من أجل تعقيم المخابر وحجرات الزرع الجرثومي وغرف العمليات الجراحية في المشافي، حيث تضاء لفترات تتراوح بين ساعة إلى عدة ساعات(الأمر الذي يرتبط باستطاعة المصابيح المستخدمة، وبعدها عن المكان المراد تعقيمه، والوسط الذي يتواجد فيه الجرثوم، فالدم والقيح يعيق عملية القتل). هذا ويمنع دخول حجرات الزرع أثناء تعقيمها بهذه الأشعة

نظراً لتأثيراتها الضارة على الجلد وقرنية العين، وإذا استدعى الأمر ذلك فلابد من ارتداء نظارات واقية.

ثالثاً : التعقيم بالطرائق الكيميائية (التطهير) :

تتأثر الجراثيم بالعديد من المواد الكيميائية والتي يكون تأثيرها إما قاتلاً لها أو موقفاً لتكاثرها. ويمكن لهذه المواد الكيميائية أن تؤثر على الجرثوم بطرائق مختلفة كما أن هناك عديداً من العوامل التي تؤثر على فعالية هذه المواد الكيميائية مثل : درجة تركيز المادة الكيميائية في الوسط ودرجة الحرارة ونوع الجرثوم وغيرها من العوامل وسوف نستعرض أهم المواد الكيميائية (المطهرات) المستخدمة في هذا المجال:

١ - أملاح المعادن الثقيلة :

مثل ملح الزئبق ونترات الفضة وكبريتات النحاس ولها تأثير قاتل للجراثيم وخاصة سلبية الغرام، وتأثير مخثر للبروتينات الخلوية الجرثومية.

٢ - القلويات :

مثل ماءات الكالسيوم وماءات الصوديوم وكربونات الصوديوم، ويرتبط تأثيرها القاتل للجراثيم بتركيز شاردة الهيدروكسيل (OH) وتعد من المطهرات رخيصة الثمن، وتستخدم القلويات بشكل عام في تعقيم أدوات وأوعية الحليب والحلابة وفي تطهير الحظائر ولبعضها تأثير فعال على الحمّات .

٣ - الحموض :

يرتبط تأثيرها على الجراثيم بتركيز شاردة الهيدروجين (H) ومن أهم الحموض المستعملة نذكر : حمض الكبريت، حمض البوريك، الذي يستخدم كقطرة لغسيل العيون بتركيز (١ – ٢ %)، حمض الخل، حمض اللبن، حمض البتروئيك والتي تستخدم في حفظ المواد الغذائية نظراً لتأثيرها الموقف لنمو الجراثيم.

٤ - **الهالوجينات** : وأهمها :

أ- **الفلور** : قاتل جيد للجراثيم ولكن لا يستخدم بسبب سمِّيَّته إلا بتراكيز خفيفة في تعقيم المياه كما هو الحال في أوربا.

ب - **الكلور** :

ذو تأثير قاتل للجراثيم، يستخدم في تعقيم المياه في كثير من بلدان العالم.

ج - **اليود** :

يؤثر في معظم الجراثيم ويعد من المطهرات الجيدة، حيث يستخدم على شكل صبغة اليود أو محلول لوغول أو بشكل يودوفورم.

٥ - **الكحولات** :

مثل الكحول الإيتيلي الذي يستخدم بتركيز (٧٠ %) لتعقيم الأيدي وبعض الأدوات أما الكحول المطلق فليس له أي قدرة قاتلة للجراثيم.

٦ - **الألدهيدات** :

مثل الفورم ألدهيد، حيث يستخدم محلوله في الماء بنسبة (٤٠ %) (الفورمالين) الذي يعد من المطهرات الممتازة ذات الاستخدمات الواسعة.

٧ - **الفينول ومشتقاته** :

يعد الفينول من المطهرات الجيدة والفعالة وتستخدم محاليله بنسبة (٢ %)، إلا أن سميته ورائحته أدت إلى إهمال استخدامه حيث اتجهت الأنظار إلى استخدام مشتقاته مثل الكريزول، الليزول،الكرويولين.. حيث تستخدم في تطهير الطاولات والأجهزة الملوثة.

٨- **المؤكسدات** :

مثل الأوزون الذي يستخدم في تعقيم المياه والهواء وفوق يرمنغنات البوتاسيوم الذي يستخدم في تطهير الأيدي والخضار والفواكه.

٩- المنظفات :

تعد من المطهرات الجيدة لأنها عديمة السميَّة غير مخرشة وتستخدم بعد إضافتها للماء وعند غسيل المواد الملوثة بالجراثيم.

١٠- الجليسرين :

يستخدم لحفظ العينات بتركيز(٥ – ١٠ %) أما المحاليل المركزة منه(٥٠%) فتبيد الجراثيم دون أن تؤثر على الحمّات لذلك يستخدم بهذا التركيز من أجل حفظ الحمّات.

١١- الملونات :

بعض الملونات مثل بنفسجية الجنشيان، أخضر المالاشيت ذات تأثير قاتل أو موقف لتكاثرالجراثيم حسب تركيزها في الوسط وحسب نوع الجرثوم، وتستخدم على الغالب في المخابر عند تحضير البيئات المغذية الانتخابية أو الانتقائية .

تعقيم الأدوات الزجاجية والمعدنية وأماكن العمل في المخبر :

أ- الزجاجيات الجديدة :

وتضم زجاجات، حوجلات، أنابيب اختبار، أطباق بتري، ماصات، أقماع،.. الخ

١ – تغسل بالماء الجاري.

٢ – تغمر في محلول حمض كلور الماء (١%) لمدة ساعة.

٣ – تغسل بالماء الفاتر.

٤ – تنظف بالفرشاة والصابون.

٥ – تغسل بالماء الجاري عدة مرات ثم بالماء المقطر خمس مرات على الأقل.

٦ – تجفف في جهاز التجفيف بدرجة حرارة (١٠٠ – ١٣٠ م).

٧ – تغلق الفوهات وتلف بورق القصدير (السلوفان).

٨ – تعقم في فرن الهواء الساخن لمدة ساعتين عند الدرجة (١٨٠ م).

ب – **الزجاجيات الملوثة بمواد معدية :**

يوجد طريقتان لتعقيم الزجاجيات الملوثة بمواد معدية :

١ – تغمر الزجاجيات الملوثة بمواد معدية في محلول فوق حمض الخل(١ %) لمدة ٢ ساعة على الأقل ثم تتبع الخطوات نفسها الواردة في تعقيم الزجاجيات الجديدة.

٢ – تعقم الزجاجيات بما تحتويه من مواد معدية بالموصدة بالدرجة (١٢ م) لمدة ٢٠ دقيقة، ثم تغسل لإزالة محتوى الزجاجيات كاملاً، ثم تعامل معاملة الزجاجيات الجديدة.

٣- بالنسبة للماصات تعقم بفرن الهواء الساخن على الدرجة (١٨٠ م) لمدة ساعة أو لمدة ساعتين على الدرجة (١٦٠ م).

ج – السدادات المطاطية الجديدة :

١ – تغمر في محلول كربونات الصوديوم (٥%) لمدة ٢٠ دقيقة.

٢ – تغسل عدة مرات بالماء الجاري ثم بالماء المقطر.

٣ – تجفف في هواء الغرفة أو في جهاز التجفيف بالدرجة (٣٧ م).

٤- تعقم بالموصدة أو بالغلي لمدة ساعة واحدة.

د – السادات المطاطية المستعملة :

١ – تعقم بالموصدة بالدرجة (١٢١ م لمدة ٣٠ دقيقة) أو بالغلي ٢٠ دقيقة.

٢ – تنظف بالفرشاة والصابون تحت الماء الجاري.

٣ – تغسل بالماء الجاري عدة مرات ثم بالماء المقطر.

٤ – تجفف في هواء الغرفة أو في جهاز التجفيف بالدرجة (٣٧ م).

٥ – تعقم بالموصدة ٢٠ دقيقة بالدرجة (١٢١ م).

هـ– الإبر والملاقط والمقصات والمشارط :

١ – توضع في الكحول (٧٠ %) لمدة ساعتين.

٢ – تنظف بالفرشاة والصابون تحت الماء الجاري.

٣ – تغسل بالماء الجاري عدة مرات ثم بالماء المقطر.

٤ – تجفف ثم تعقم بالموصدة أو في فرن الهواء الجاف.

و – **مكان العمل** :

يمكن المحافظة على نظـــافة مكان العمل باستخدام أحد المطهـــرات المعروفـــة مثـــل الفورمالين أما الطاولات والأرضيات فيمكن تنظيفها من وقت لآخر بإحدى ســـوائل التنظيف المضاف إليها أحد المطهرات المعروفة.

الجلسة الرابعة

العينات الجرثومية

تتوقف نتائج التشخيص المخبري الجرثومي على عدة أمور منها :

طريقة أخذ العينة، نوع العينة، إرسال العينة، سجل المعلومات المرفق مع العينة والذي من شأنه أن يحدد وجهة سير التشخيص والطرق المخبرية المستخدمة، لذلك ومن أجل نجاح التشخيص والتوصل إلى نتائج دقيقة وصحيحة يجب أن تؤخذ هذه الأمور جميعها بعين الاعتبار عند القيام بالتشخيص المخبري الجرثومي.

١ – جمع العينات :

إن أخذ العينات للفحوص المخبرية يجب أن يتم بعد تخطيط سليم وأن يتم ذلك من قبل الطبيب البيطري نفسه أو أحد العاملين في المخبر، ويرتبط نوع العينات المأخوذة بنوع المرض المشتبه به من جهة وبطبيعة الفحوصات المخبرية المراد إجراؤها. أما وقت أخذ العينة فيفضل أن يتم في الأيام الأولى من المرض أو في مراحل المرض الحادة، كذلك يجب التأكيد على أن أخذ العينة يجب أن يتم قبل البدء بالمعالجة بمضادات الجراثيم، أماإذا كان الهدف من الفحوص هو التأكد من فعالية ونجاح المعالجة فيمكن أخذ العينات بعد انتهاء المعالجة بحوالي ثلاثة أيام ومن الضروري جداً الانتباه إلى عدم معاملة أو تماس العينات أثناء أخذ العينة أو بعدها مع مضادات الجراثيم أو المطهرات بأنواعها، كذلك يجب مراعاة عدم تلوث العينات أثناء أخذها بالمسببات الجرثومية الثانوية، لذلك يجب أخذ العينة بشكل عقيم ماأمكن. ويجب على الطبيب البيطري أو المخبري أن يأخذ بعين الاعتبار دوماً أن سطح العينة يمكن أن يكون حاوياً على أعداد هائلة ومختلفة من الجراثيم التي تشكل الفلورا الطبيعية، كما تجدر الإشارة إلى أن الأدوات غير المعقمة، أيدي الطبيب أو المخبري، هواء الحظيرة وغيرها يمكن أن تشكل مصدراً من مصادر تلوث العينات.

٢- الأدوات المستخدمة في أخذ العينات :

يجب أن تتوفر في المختبر الذي سوف يقوم بإجراء الفحوص الجرثومية جميع الأدوات اللازمة لأخذ العينة والتي تشمل :

١- ماسحات وهي على نوعين ماسحة عادية وماسحة مهبلية

٢- جامع البصاق

٣- المهبل الاصطناعي

٤- انابيب مفرغة من الهواء

٥- زجاجات مكارتني

٦- محاقن باحجام مختلفة انابيب وزرمان لاختبارات التراص

٧- شرائح زجاجية

٨- أدوات جراحية

٩- أكياس نايلون لجمع العينات

١٠- أنابيب اختبار لجمع عينات الدم

ولضمان عدم تلوث هذه العينات يجب أن تكون الأنابيب مجهزة بغطاء محكم من المطاط أو الفلين، ويجب عدم استخدام القطن أو الشاش كغطاء، كما يجب تجنب تلوث السطح الخارجي لهذه الأدوات.

٣ً- أنواع العينات :

١ - **المسحات** : حيث يوجد نوعين من المسحات:

آ- **المسحة العادية**

عبارة عن انبوب اختبار له سدادة متصل بها عود من الخشب أو من المعدن في نهاية قطعة ملفوفة من القطن. يؤخذ بها عينات من الأغشيه المخاطية وتشمل المسحات الأنفية والعينية والشرجية والمهبلية وغيرها، بعد أخذ العينة توضع الماسحة القطنية

مباشرة في أنبوب زجاجي معقم يحوي على محلول ملحي فسيولوجي أو على بيئة جرثومية مغذية (مرق مغذي مثلاً).

ب- **المسحة المهبلية**

عبارة عن أنبوبة مفتوحة الطرفين في أحد أطرافها مثبت مقبض ومصدر ضوئي والطرف الاخر يدخل من خلال فتحة الفرج الى المهبل (أجراء عمليات الغسيل والتطهير لهذة المنطقة) ومن ثم تؤخذ العينة المهبلية بواسطة المسحة العادية.

٢ – **الروث** :

يؤخذ الروث بطريقتين اما أن تؤخذ قطعة بحجم حبة البازلاء بواسطة اليد من الحيوانات الكبيرة وتوضع مباشرة في أنبوب زجاجي جاف ومعقم وفي حالات الإسهالات يكفي أخذ حوالي (١) مل من الروث، أو باستخدام الماسحات العادية من الحيوانات الصغيرة ويراعى أن يؤخذ مع الروث قليل من المخاط أو القيح إذا كان موجوداً.

٣ – **القيح**:

ويؤخذ بطريقتين وعلى حسب وضع الخراج فاذا كان الخراج مفتوحاً فتؤخد عينة القيح من محيط الخراج باستخدام الماسحات العادية وفي حال كان الخراج مغلقاً فيؤخذ خزعة من طرف الخراج باستخدام محقن لسحب العينة .

٤ – **الدم** : وتؤخذ عينات الدم بأربعة أشكال:

آ- فيلم دموي على شريحة زجاجية : لتشخيص الجراثيم والأوالي التي تصيب الدم.

ب – دم كامل مختر للحصول على المصل لاجراء اختبارات التراص ومعايرة الأضداد.

ح – دم كامل غير مختر من أجل قياس مكونات عناصر الدم.

د- مسحات دموية للزرع الجرثومي.

٥-البول :

يؤخذ من الحيوانات الصغيرة بطريقة بذل المثانة وعند الحيوانات الكبيرة بطريقة القثطرة، ونظراً لعدم إمكانية تجنب تلوث البول أثناء عملية الحصول عليه وخاصة أن الجراثيم يمكن أن تكون هي نفسها التي أ دت إلى حدوث الالتــهابات في المجــاري البولية، لذلك فإن فحص البول يجب أن يعتمد على العد الجرثومي.

٦ – عينات الأعضاء :

تؤخذ مثل هذه العينات من الحيوانات النافقة، ويراعى أخذ العضو المناســب حسب الحالة المرضية، ويمكن أخذ كامل العضو (طحال – رئة – قلب) أو يكتفــى بأخذ قطعة صغيرة من العضو، هنا يجب اختيار أماكن من العضو التي تظهــر عليهــا تغيرات مرضية، بعد ذلك يوضع العضو مباشرة في وعاء زجاجي نظيف ومعقم أو في أكياس نظيفة من النايلون.

٧ – الحليب :

تؤخذ عينات الحليب من أجل تشخيص حالات التهاب الضرع، ويراعى قبــل أخذ العينة تنظيف الضرع والحلمات وتطهيرها، وأن تؤخذ عينة الحليب المراد فحصها في زجاجات مكارتني نظيفة ومعقمة ومحكمة الإغلاق

٨ – **المواد الغذائية والأعلاف:** وتشمل المواد العلفية التي يتناولها الحيوان أو المنتجات الحيوانية الغذائية (جبن – قشدة – لحوم -....)، توضع هذه العينات إما في عبواتها الأصلية أو الأفضل في أوعية معقمة وترسل إلى المخبر لإجراء الفحوصات اللازمة.

٩ – ماء الشرب :

قبل أخذ ماء الشرب المراد فحصه يجب تلهيب الفوهة التي سوف يتسرب منها الماء، يترك بعدها الماء ليسيل فترة من الوقت، ثم تؤخذ كمية كافية من المـــاء (١٠٠ مل) وتوضع في حوجلة معقمة ومحكمة الإغلاق.

٤- سجل المعلومات الواجب إرساله مع العينات المراد فحصها :

يجب أن يرفق مع العينات المطلوب إجراء الفحوصات الجرثومية عليها سجل معلومات يتضمن عديداً من المعلومات حول الحالة المرضية، ويمكن أن تختلف المعلومات الواجب إرسالها من مخبر إلى آخر، بيد أنها تتضمن بشكل عام مايلي :

١ – نوع الحيوان وعمره وجنسه.

٢ – اسم صاحب الحيوان وعنوانه.

٣ – نوع العينة المرسلة.

٤ – وقت أخذ العينة.

٥ – تاريخ ظهور المرض.

٦ - نوع المرض المشتبه به.

٧ – المعالجات المطبقة حتى تاريخ أخذ العينة واللقاحات المعطاة.

٨ – حجم القطيع وعدد الحيوانات المصابة.

٩ – نتائج الفحوصات السابقة إن وجدت.

١٠ – معلومات حول ظروف التربية والتغذية.

١١ – الفحوصات المرغوب إجراؤها.

٥- إرسال العينات الجرثومية المراد فحصها :

قبل إرسال العينات يجب أن يكتب على كل أنبوب رقم الحيوان ونوعه أو رقم العينة وذلك لتجنب اختلاط العينات مع بعضها، ثم توضع هذه الأنابيب بعد إحكام إغلاقها في حافظة من الكرتون المضغوط مع ملء الفراغات إن وجدت بمواد قابلة للامتصاص، وبعدها تغلق الحافظة بإحكام. وعند إرسال عينات فردية عن طريق البريد فيمكن وضع العينة في عبوات خاصة ويكتب عليها (احذر – مادة معدية).

وإذا كانت العينة تتعلق بجثة حيوان كاملة أو أجزاء من الحيوان، هنا تغلف بقطعة قماش مبللة بأحد المحاليل المطهرة ثم تُغلف وتربط بغطاء كتيم للماء ومن ثم بغلاف آخر من القماش ثم توضع في عبوة مناسبة تحوي على مواد قابلة لامتصاص الرطوبة.

وقد تتطلب الحاجة إرسال بيئات تحتوي على مزارع جرثومية حية، هنا يجب أن تكون موضوعة في أنابيب مغلقة بالبارافين ومن ثم بسدادات مطاطية، وعند إرسال بيئات تحتوي على مزارع جرثومية حية تحوي على مسببات مرضية خطيرة (كزاز، جمرة خبيثة، سل) فيجب أن يتم ذلك بعد التنسيق المسبق مع الجهات المسؤولة والمختصة.

من الناحية العملية يجب الأخذ بعين الاعتبار ضرورة وصول العينات في غضون عدة ساعات إلى المخبر مع مراعاة إبقاء هذه العينات مبرّدة ضمن الفترة الواقعة بين أخذها ووصولها إلى المخبر، وبهذا الشكل نضمن عدم موت المسببات ضعيفة المقاومة، وعدم حدوث تغيرات في العينة المرسلة والذي من شأنه أن ينعكس في النهاية على نتائج الفحص، ولكن في ظروف خاصة عندما لا تتوفر هذه الشروط السابقة لعملية النقل لذا يلجأ إلى استخدام مواد حافظة بهدف المحافظة على العينة لأطول فترة ممكنة.

الجلسة الخامسة

تحضير البيئات(الأوساط) الجرثومية

يعتمد تحديد نوع الجرثوم على التشخيص المخبري المبني أساساً على دراسة خواص الجرثوم الأساسية مثل الخواص الشكلية والتلوينية ثم الخواص المزرعية فالخواص البيوكيميائية تليها دراسة عن الاختبارات المصلية والحيوية وذلك للوصول إلى معرفة دقيقة ومؤكدة للعامل المسبب للخمج.

البيئات المغذية الجرثومية :

لا يكفي الفحص المباشر أو بعد التلوين للعينات المشتبهة لتحديد هوية الجرثوم لذلك كان لابد من إيجاد وسيلة لزرع الجرثوم في بيئات تمكنه من العيش فيها حتى يتم بعد ذلك عزله بشكل نقي وتحديد هويته بدقة. وهذه البيئات الزرعية المغذية التي تمكن الجرثوم من النمو فيها واستمرار حياته وتكاثره نظراً لما توفره للجرثوم من ظروف مشابهة لظروف النمو في العضوية تدعى بالبيئات الجرثومية الشكل رقم(٤).

تقسم البيئات الجرثومية حسب المعايير التالية إلى :

١- **حسب القوام الفيزيائي** : بيئات سائلة (المرق المغذي)، بيئات صلبة (الآجار المغذي)، نصف صلبة أو نصف سائلة (الآجار نصف الصلب).

٢- **حسب المواد الداخلة في تركيب البيئة** : بيئات طبيعية (حليب، دم)، بيئات اصطناعية، بيئات نصف اصطناعية. وإلى هذه تنتمي معظم البيئات الجرثومية.

٣- **حسب الغرض من استخدامها** : بيئات عادية (ماء الببتون)، بيئات إكثارأو مانعة انتقائية (مرق السيلانيت) بيئات انتخابية (منبت س س آجار)، بيئات غنية (الآجار الدموي)، بيئات تمييزية (منبت ماكونكي)

وفيما يلي نجمل أهم المواد الأساسية التي تدخل في تركيب البيئات الجرثومية بشكل عام :

الشكل رقم (٤)

آ- ماء مقطر.

بـ - لحم، خلاصة اللحم، خلاصة الخميرة، طحين فول الصوديا.

ج - ببتون .

د- أملاح : ملح الطعام، فوسفات الصوديوم.

هـ- سكريات : وتشمل عديداً من الأنواع : أحادية، ثنائية، ثلاثية، سداسية

و- بروتينات طبيعية : حليب، بيض، دم، مصل.

ز- مواد مثبطة للنمو : وتضاف على الغالب إلى البيئات الانتخابية، وذلك بهدف منع نمو وتكاثر الجراثيم المصاحبة غير المرغوب فيها مثل أخضر الملاشيت، الخضرة اللامعة.

ح - مشعرات : وتضاف إلى البيئات التمييزية عند البرهان، مثلاً على تخمر السكريات مثل أزرق بروم الثيمول، أحمر الفينول، الأحمر المتعادل، البروم كريزول الأرجواني....

ط – آغار – آغار: ويضاف إلى المنابت بنسبة (١ – ٣ %) لإعطائها الصلابة المطلوبة.

الشكل رقم (٥)

طريقة تحضير البيئات الجرثومية :

لابد من التنويه في البداية إلا أن جميع الحوجلات والأنابيب وأطباق بتري التي سوف تستخدم عند تحضيرالبيئات السائلة أو الصلبة يجب أن تكون نظيفة ومعقمة. هذا وتوجد معظم البيئات المستخدمة في مجال التشخيص الجرثومي على شكل مساحيق جاهزة في الأسواق ومعبأة في عبوات ومزودة بالتعليمات الخاصة حول المواد الداخلة في تركيب البيئة ومجالات استخدامها وكيفية تحضيرها في المخبر، وبشكل عام عند تحضير البيئة الجرثومية، يتم وزن الكمية اللازمة من المسحوق، ثم توضع في حوجلة زجاجية مناسبة ويضاف لها الكمية المناسبة من الماء المقطر الساخن والطازج،

ثم ترج الحوجلة بلطف حتى الانحلال التام، ويمكن ضمان عملية الانحلال التـــام عـــن طريق تسخين المحلول حتى الغليان ،ثم يترك المحلول حتى يبردوتضبط درجـــة الباهـــاء بعدها تعقم البيئة بالموصدة بالدرجة ١٢١ م لمدة ١٥ دقيقة.

(**يجب قراءة التعليمات الخاصة بكل بيئة لمعرفة شروط التعقيم**).

بعد الانتهاء من التعقيم يترك المحلول ليبرد حتى الدرجة (٥٠ – ٦٠ م) ثم يصب في ظروف عقيمة إما في أنابيب أو في أطباق بتري (١٥مل / طبق بتري بقطر ٩ سم)،و ٦ – ١٠ مل / أنبوب).تترك بعد ذلك لفترة من الوقت حتى تبرد، ثم تحفظ بعيداً عن الضوء في البراد عند الدرجة (٤ م) ريثما يتم استخدامها.ويفضل تعقيمها أيضاً تحت الأشعة فوق البنفسجية.

وسنستعرض بعض البيئات الجرثومية الشائعة الاستعمال في مجال العزل الجرثومي :

أ – **البيئات السائلة** :

١– **المرق المغذي** :

(١٠ غ) ببتون، (٣ غ) خلاصة اللحم، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، ليتر مـــاء مقطر. تستخدم كأساس يضاف إلى معظم البيئات المغذية، كما ينمو فيها عدد كـــبير من أنواع الجراثيم.(الشكل رقم ٥)

٢ – **الماء الببتونية** :

(١٠ غ) ببتون، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، ليتر ماء مقطر. تستعمل غالباً لدراسة تخمر السكاكر، وفي اختبار الكشف عن انطلاق الإندول.

٣ – **المرق المغذي مع المصل** :

مرق مغذي يضاف له المصل المعقم بنسبة (١٠ %).

٤ – **المرق المغذي مع الغلوكوز**:

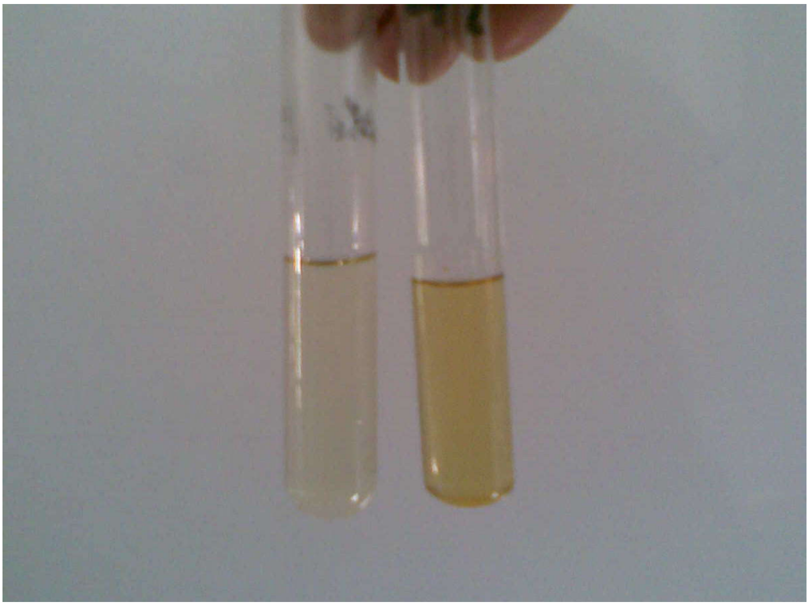
مرق مغذي يضاف له الغلوكوز بنسبة (١- ٢ %).

٥ – **مرق الكبد لتاروزي :**

(٨ – ١٠ مل) مرق مغذي يضاف له (٣ – ٤ غ) كبد الأرانب أو القبيعات المطبوخ، وتستخدم في تنمية الجراثيم اللاهوائية.

٦– **مرق السيلينيت :**

(٥ غ) ببتون، (٤ غ) لاكتوز، (٤ غ) سيلينيت الصوديوم، (١٠ غ) فوسفات الصوديوم الثنائية، ليتر ماء مقطر. تستخدم للإكثار الانتقائي لجراثيم السلمونيلة.



الشكل رقم (٦)

٧– **مرق الثيوغليكولات :**

(١٥ غ) ببتون، (٥ غ) خلاصة الخميرة، (٥.٥ غ) غلوكوز،

(٠.٥ غ) سيستين، (٢.٥ غ) كلوريد الصوديوم، (٠.٥) ثيوغليكولات الصوديوم، ليتر ماء مقطر. تستخدم لعزل وتنمية اللا هوائيات.

ب – **البيئات الصلبة :**

١ – **بيئة الآجار المغذي :**

مرق مغذي يضاف إليه الآجار – آجار بنسبة (١-٢ %)، تستخدم لتنمية العديد من الجراثيم التي لاتتطلب منابت (بيئات)غنية : مكورات عنقودية مثلاً

٢ – **بيئة الآجار الدموي :**

آجار مغذي يضاف له دم الأغنام أو الأبقار أو الخيول منزوع الفيبرين بنسبة (٥ – ١٠ %). يعد من البيئات الغنية، وتستخدم لتنمية الجراثيم التي تتطلب مواد غذائية إضافية مثل المكورات العقدية، الليستيرية، كما تستخدم لدراسة خاصية التحليل الدموي عند الجراثيم.

٣ – **بيئة الآجار الدموي مع الغلوكوز :**

آجار دموي يضاف له الغلوكوز بنسبة (٢%)، تعد من البيئات الغنية، وتستخدم على سبيل المثال في تنمية المطثيات.

٤– **بيئة الآجار المغذي المصلي** : آجار مغذي يضاف له مصل الدم المعقم لتركيز (١٠ %).

٥- **بيئة شابمان :**

(١ غ) خلاصة لحم، (١٠ غ) ببتون، (١٠ غ) مانيتول، (٧٥ غ) كلوريد الصوديوم، (٠.٠٢٥ غ) أحمر الفينول، (١٥ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر. تستخدم كبيئة انتخابية لعزل العنقوديات.

٦- **بيئة إدوارد :**

(١٠ غ) خلاصة لحم، (١٠ غ) ببتون، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، (١ غ) أسكولين، (٠.٠٠١٣ غ) بنفسجية الكريستال، (٠.٣٣ غ) كبريتات الثاليوم،

(١٥ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر. (٦٠ مل) دم أغنام أو أبقـــار مـــتروع الفبرين.

تستخدم كبيئة انتخابية لعزل المكورات العقدية الأجلكتية.

٧- بيئة ماكونكي :

(٢٠ غ) ببتـــون، (٥ غ) كلوريـــد الصـــوديوم، (١٠ غ) لاكتـــوز، (١.٥ غ) أمـــلاح مـــرارة، (٠.٠٠٣ غ) كاشـــف الأحمـــر المتعـــادل، (٠.٠٠٠١ غ) بنفسجية الكريستال (١٣.٥ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر.

وتستخدم كبيئة تمييزية للتفريق بين الأمعائيات التي تخمر ســكر اللاكتــوز عــن الأمعائيات التي لا تخمر سكر اللاكتوز، فالأمعائيات التي تخمــر اللاكتــوز مثــل الإشريكية القولونية تنمو معطية مستعمرات حمراء اللون، والتي لاتخمر اللاكتوز مثل السالمونيلة تنمو معطية مستعمرات عديمة اللون شفافة أو صفراء باهتة.

٨– بيئةآجار s-s (سالمونيلة – شيجلا) :

(١٠ غ) ببتون، (١٠ غ) لاكتوز (٨.٥ غ) أملاح المرارة، (١٠ غ) سترات الصوديوم، (٨.٥ غ) ثيوسلفات الصوديوم، (١ غ) سترات الحديد (٠.٠٠٠٣ غ) الخضرة اللماعة، (٠.٠٢٥ غ) الأحمر المتعادل، (١٢ غ) آجار – آجـــار، ليتر ماء مقطر.

تستخدم كبيئةإنتخابية لعزل السالمونيلة والشيجلا التي تنموعليها معطية مســتعرات شفافة عديمة اللون.

٩- بيئة آجار التريبتوز :

(٢٠ غ) تريبتوز، (١ غ) غلوكوز، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، (٠.٠٠٥ غ) كلوريد الثيامين، (١٣ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر.تستخدم لإكثارعديد من الجراثيم وعزلها وعلى رأسها البروسيلا، اللستريا، البســتوريلا. حيــث تنمــو البروسيلا على هذه البيئة معطية مستعمرات شفافة ذات حواف ملساء بلون زهري.

جـ- **البيئات نصف الصلبة :**

١- **بيئة الآجار المغذي نصف الصلب :**

آجار مغذي نسبة الآجار – آجار فيه تتراوح بين (٠.٢٥ – ٠.٥ %)، تستخدم للكشف عن الحركة عندالجراثيم.

٢- **بيئة الجلاتين :**

مرق مغذي يضاف له الجلاتين بمعدل (١٢٠ غ / ليتر)، تستخدم في اختبار الكشف عن الجراثيم التي تميع الجيلاتين (الكشف عن خميرة الجيلاتيناز).

د- **البيئات الصلبة المائلة :**

١- **بيئة آجار السيترات لسيمون :**

(١ غ) فوسفات أحادي الأمونيوم ،(١ غ) فوسفات ثنائي البوتاسيوم، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، (٢ غ) سترات الصوديوم، (٠.٢ غ) سلفات المغتريوم، (٠.٠٨ غ) أزرق بروم الثيمول، (١٣ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر.

تستخدم للكشف عن أنواع الجراثيم التي تستخدم السترات كمصدر وحيد للكربون (كمصدر وحيد للكربوهيدرات).

٢-بيئة كليجلر :

(٢٠ غ) ببتون، (٣ غ) خلاصة اللحم، (٣ غ) خلاصة خميرة، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، (١٠ غ) لاكتوز، (١ غ) غلوكوز، (٠.٥ غ) سترات الحديد، (٠.٥ غ) ثيوسلفات الصوديوم، (٠.٠٢٤ غ) أحمر الفينول، (١٢ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر.

تستخدم في الاختبارات الكيميائية للكشف عن تخمر السكريات وانطلاق غاز ثاني كبريد الهيدروجين (H_2S).

٣- بيئة ليفن شتاين– جنسن :

يتركب من المواد التالية (غ / ١.٦ ليتر)(٢.٥ غ) فوسفات أحادي البوتاسيوم، (٠.٢٤ غ) سلفات المغنزيوم، (٠.٦ غ) سترات المغنزيوم، (٣.٦ غ) إسباراجين (٣٠ غ) دقيق البطاطا ،(٠.٤ غ) أخضر المالاشيت.

لتحضير البيئة تحل كمية (٣٧.٥ غ) من المسحوق الجاهز في (٦٠٠ مل) ماء مقطر ويضاف (١٢ مل) جليسرين.(في حال زرع عصيات السل البقري لا يضاف الجليسرين) ثم تعقم بالموصدة، وتبرد حتى الدرجة (٥٠ م) ثم يضاف لها ليتر من البيض الكامل المخفوق في ظروف عقيمة بدون تشكل فقاعات هوائية ويمزج الخليط جيداً وبلطف،ثم تترك البيئة لتتخثر في أنابيب وبوضعية مائلة حيث توضع الأنابيب بشكل مائل في معقمة بخارية عند الدرجة (٨٥ -٩٠ م) لمدة (٤٥) دقيقة حتى يتم التخثر وتستخدم هذه البيئة لزرع عصيات السل وعزلها.

تدريب على الطرق العملية لتحضير بعض البيئات الجرثومية المهمة :

من الضروري جداً معرفة كيفية تحضير الأوساط المغذية الجرثومية وخاصة من قبل التقنيين المخبريين الذين هم المعنيين بهذه الأعمال، وبناءً عليه سنتعرض لكيفية تحضير بعض الأوساط والبيئات الجرثومية المختلفة :

أ – تحضير البيئات الصلبة :

١ – الآجار المغذي :

– نأخذ (٢٨ غ) من مسحوق منبت الآجار المغذي، ونضيف إليها ١ ليتر من الماء المقطر، ثم نضع المحلول في محم كهربائي في درجة الغليان لمدة (١٠) دقائق حتى تمام ذوبان المسحوق.

- يتم نقل المحلول إلى جهاز الموصدة ليتم طبخه وتعقيمه بالدرجة (١٢١° م) لمدة ١٥ دقيقة مع إحكام إغلاق فوهة الزجاجة (ايرلنماير).

- بعد إخراج الوعاء الزجاجي يتم الانتظار حتى تنخفض درجة حرارة المنبت إلى (٥٠° م).

- يتم الصب في أطباق بتري المعقمة ويتم تلهيب سطح المنبت لإزالة أي فقاعة على سطح المنبت ولتعقيم سطح المنبت بعد صبه مباشرةً.

- تعقم المنابت المصبوبة بالأشعة فوق البنفسجية وتترك تحت تأثير الأشعة حتى تبرد تماماً وتتصلب.

- تحفظ في البراد مغلقة وضمن أكياس من النايلون المغلقة أيضاً.

٢ – الآجار المدمم :

- نأخذ (٤٠ غ) من مسحوق منبت أساس الآجار المدمى، وتوضع في ١ ليتر ماء مقطر ثم نضع المحلول في محم كهربائي في درجة الغليان لمدة (١٠) دقائق حتى تمام ذوبان المسحوق.

- يتم نقل المحلول إلى جهاز الموصدة ليتم طبخه وتعقيمه بالدرجة (١٢١ م) لمدة ١٥ دقيقة مع إحكام إغلاق فوهة الزجاجة ايرلنماير

- بعد إخراج الوعاء الزجاجي يتم الانتظار حتى تنخفض درجة حرارة المنبت إلى (٥٠ م)

- يضاف الدم إلى البيئة تدريجياً بنسبة ١٠- ١٥ مل /١٠٠ مل مع التحريك بشكل دائري وبلطف حتى التجانس.

- يتم الصب في أطباق بتري المعقمة ويتم تلهيب سطح المنبت لإزالة أي فقاعة على سطح المنبت. ولتعقيم سطح المنبت بعد صبه مباشرةً تعقم المنابت المصبوبة بالأشعة فوق البنفسجية، وتترك تحت تأثير الأشعة حتى تبرد وتتصلب

تحفظ في البراد مغلقة وضمن أكياس من النايلون المغلقة أيضاً.

ب – **تحضير البيئات السائلة :**

١- **الشوربة المغذية :**

نأخذ (٨ غ) من مسحوق أساس الشوربة المغذية ويتم حلها في ١ ليتر ماء مقطر حتى تمام الذوبان ثم نضعها في الموصدة لمدة (١٥ دقيقة) تحت الدرجة(١٢١ م)، وبعد الانتهاء من التعقيم تخرج وتترك حتى تبرد تماماً، ثم تصب في أنابيب اختبار زجاجية معقمة وتحفظ في البراد لحين استخدامها.

٢- **ماء الببتون :**

- نأخذ (١٠ غ) ببتون "مسحوق" يضاف إليه (٥ غ) كلوريد الصوديوم "ملح الطعام" وتحل في ١ ليتر ماء مقطر.
- تعقم بالموصدة بالدرجة (١٢١ م) لمدة (١٥) دقيقة.
- تصب في أنابيب اختبار معقمة وتوضع في البراد لحين استخدامها.

ج- تحضير البيئات الصلبة المائلة :

تحضر بطريقة البيئات الصلبة نفسها ولكنها تصب في أنابيب زجاجية معقمة وتترك بوضع مائل حتى تبرد تماماً وتتصلب.

د- **تحضير البيئات الحاوية على السكاكر :**

- نأخذ (١٠ غ) من مسحوق الببتون يضاف إليه (٥ غ) كلوريد الصوديوم و(١٠ غ) من أي نوع من أنواع السكاكر المستخدمة في الاختبار المرغوب فيه مع إضافة كاشف أو مشعر لوني.
- نحل المزيج في ١ ليتر ماء مقطر.
- تعقم البيئات الحاوية على السكاكر وتطبخ بطريقة تندال حيث توضع بدرجة الغليان لمدة(١٠) دقائق ثم تبرد وتترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة (٢٤) ساعة وتتكرر هذه العملية ثلاث مرات وتحفظ في البراد.

الجلسة السادسة

طرائق زرع الجراثيم وعزلها

يهدف زرع الجراثيم إلى إكثارها من جهة حيث يمكن أن تتواجد في العينات بكميات قليلة، وإلى تحقيق الشرط الثاني من فرضية العالم كوخ والذي يتضمن ضرورة عزل العامل المسبب للمرض على البيئات الاصطناعية بصورة نقية من جهة أخرى، وعبارة زرع الجرثوم تعني بشكل عام : تنميته على البيئات الطبيعية أو الصنعية الملائمة لنموه، ولضمان هذا النمو لابد من توفير عدة شروط والتي نجملها بالتالي :

– المواد الغذائية.درجةPH – الأوكسجين – ثاني أوكسيد الكربون – الحرارة – درجة الباهاء هذا وتتم عملية زرع الجرثوم على مرحلتين :

المرحلة الأولى :تؤخذ الجراثيم النامية بوساطة إبرة الزرع أو ممص باستور من البيئات السائلة أو الصلبة أو أن يتم زرع المادة المفحوصة المأخوذة من العينات مثل الحليب، الروث، الأعضاء.

المرحلة الثانية : يتم زرع الجرثوم على البيئة الملائمة السائلة أو الصلبة أو نصف الصلبة ثم تحضن البيئات في جهاز م) ولمدة زمنية معينة (٢٤-٤٨ ساعة) في ناظم الحرارة (الحاضنة)عند درجة الحرارة الملائمة للنمو (٣٧ م).

المرحلة الأولى :

١ – أخذ الجرثوم من البيئة السائلة : تخض المزرعة الجرثومية السائلة عدة مرات، يمسك مقبض إبرة الزرع باليد اليمنى وتلهب عروة الزرع حتى الاحمرار ثم ننتظر حتى تبرد، يمسك أنبوب المزرعة الجرثومية باليد اليسرى في وضع مائل قليلاً وترفع السدادة بالأصبعين الأخيرين لليد اليمنى الممسكة بمقبض إبرة الزرع في المرحلة الجرثومية السائلة ثم تُخرج خارج الأنبوب، تلهب فوهة الأنبوب من جديد وتغلق بالسدادة، ثم يوضع الأنبوب على الحامل الخاص.

٢ – **أخذ الجرثوم من البيئة الصلبة :**

تُختار مستعمرة منعزلة على سطح البيئة، يمسك مقبض إبرة الزرع باليد اليمنى وتلهب العروة حتى الاحمرار وتبرد، يمسك الطبق الحاوي على المزرعة الجرثومية باليد اليسرى ويفتح غطاء الطبق قليلاً بوساطة سبابة وإبهام اليد اليسرى، تدخل العروة في الطبق، وتؤخذ المستعمرة المختارة أو جزء منها.

٣ – **أخذ الجرثوم من البيئة الصلبة المائلة :**

يمسك الأنبوب الحاوي على البيئة الصلبة المائلة باليد اليسرى بوضعية مائلة نحو الأعلى، تدخل عروة الزرع المعقمة، ويؤخذ جزء من المستعمرة الموجودة على السطح المائل للأنبوب، تُخرج العروة، وتلهب فوهة الأنبوب وتسد من جديد.

المرحلة الثانية :

١ – **زرع الجرثوم في البيئة السائلة :**

يمسك أنبوب البيئة السائلة المعقم المراد الزرع فيه في اليد اليسرى وبوضعية مائلة قليلاً، ترفع السدادة باليد اليمنى التي تمسك بمقبض إبرة الزرع الحاوي على الجرثوم، تلهب فوهة الأنبوب وتدخل العروة في الأنبوب حتى يلامس السطح السائل ثم تحرك فيه عدة مرات، تسحب بعدها العروة خارج الأنبوب، تلهب فوهة الأنبوب وتسد، ثم تعقم عروة الزرع على اللهب .

٢ - **زرع الجرثوم في البيئة الصلبة المائلة :**

يمسك أنبوب البيئة الصلبة المائلة باليد اليسرى وبوضعية أفقية تقريباً، ترفع السدادة باليد اليمنى القابضة على مقبض إبرة الزرع الحاوية على الجرثوم، تلهب فوهة الأنبوب، تدخل إبرة الزرع دون ملامسة جدران الأنبوب حتى تمس قاعدة أسفل السطح المائل، ثم تمسح على السطح المائل بحركة لولبية، تسحب العروة إلى الخارج، تلهب فوهة الأنبوب وتعاد السدادة، ثم تعقم العروة على اللهب.

٣ – زرع الجرثوم في البيئة نصف الصلبة :

تُؤخذ المستعمرة المراد زرعها بوساطة إبرة الزرع عديمة العروة (مدببة)، يمسك أنبوب البيئة نصف الصلبة باليد اليسرى وبوضعية عمودية تماماً، تلهب فوهة الأنبوب بعد نزع السدادة باليد اليمنى، تدخل إبرة الزرع بشكل عمودي وتغرز تقريباً عند نهاية قعر البيئة ثم تسحب إلى الخارج، تلهب فوهة الأنبوب وتغلق بالسدادة، ثم تعقم إبرة الزرع على اللهب حتى الاحمرار.

٤– زرع الجرثوم على البيئة الصلبة :

يمسك الوسط الصلب المراد الزرع فيه باليد اليسرى ويرفع غطاء الطبق قليلاً، تدخل عروة الزرع الحاملة للجرثوم، وتوضع المستعمرة الجرثومية على الطرف العلوي من الوسط الصلب، ثم تمسح بحركات لولبية على طول الوسط، يغلق الطبق ثم تعقم عروة الزرع.

للحصول على مزارع جرثومية نقية تتبع طريقة الزرع التالية :

يمسك الطبق باليد اليسرى ويرفع غطاء الطبق قليلاً، تدخل العروة الحاملة للمستعمرة في الطبق، وتمسح على شكل خطوط متوازية (٣ –٤) خطوط على منطقة في محيط البيئة الصلبة، تسحب العروة وتعقم، يدَور الطبق قليلاً وتدخل العروة ثانية في الطبق وتمسح في منطقة محيطية مجاورة بخطوط متوازية ومتقاطعة مع خطوط المنطقة الأولى ثم تسحب العروة وتعقم وتبرد، تكرر هذه العملية في مناطق مجاورة أخرى كما سبق شرحه حتى يتم مسح الأجزاء المحيطية كافة مع بقاء منطقة صغيرة غير مزروعة بين المنطقة الأولى والأخيرة، بعد الانتهاء من الزرع في المنطقة الأخيرة تمسح العروة على الساحة المركزية للطبق بشكل لولبي، تسحب العروة وتعقم، ويحضن الوسط بشكل مقلوب في ناظم الحرارة، بعد التحضين وعند الفحص غالباً ما يلاحظ وجود مستعمرات منعزلة في المنطقة المحيطية الأخيرة وفي الساحة المركزية الشكل رقم (٦).

الشكل رقم (٦)

طرائق زرع الجراثيم اللاهوائية :

تقسم الجراثيم حسب احتياجاتها من الأوكسجين الحر إلى :

آ – جراثيم هوائية مجبرة : لاتنمو إلا بوجود الأوكسجين الحر.

ب – جراثيم لا هوائية مخيرة : تنمو بوجود الأوكسجين الحر أو دونه.

جـ - جراثيم دقية الهواء : تحتاج في نموها إلى تراكيز معينة من غاز ثاني أوكسيد الكربون.

د – جراثيم لاهوائية مجبرة : لاتنمو إلا في جو خال من الأوكسجين.

وعندما تنمو الجراثيم بشكل عام في جو من الأوكسجين الحر فإنها تنتج أثناء نموها الماء الأوكسجيني الذي يعد ضاراً للخلية الجرثومية، ونظراً لامتلاك الجراثيم الهوائية للخميرة

المساعدة فإنها تقوم بتحليل هذه المادة الضارة إلى ماء وذرة أوكسجين، وبالتالي فإنها لاتتأثر بالماء الأوكسجيني. أما الجراثيم اللاهوائية فلا تملك مثل هذه الخميرة، فعند تنميتها في ظروف هوائية سوف يتشكل الماء الأوكسجيني الضار فيها والذي لاتستطيع التخلص منه أوتحليله نظراً لافتقارها إلى الخميرة، لذلك تستخدم طرق عديدة في استنبات الجراثيم اللاهوائية والتي تعتمد جميعها على امتصاص الأوكسجين الحر من الوسط المغذي.

وفيمايلي نذكر بعض الطرق المستخدمة في تنمية اللاهوائيات :

١ – طريقة فورتنر :

يصب وسط الآجار الدموي مع الغلوكوز (دم بنسبة ١٠ %) في طبق بتري ويترك حتى يبرد ويتصلب، بوساطة سكين معقم يقص شريط من الآجار

(بعرض ٣ – ٥ مم) على طول قطر الطبق، وبهذا الشكل تتشكل طبقتان من الآجار الدموي منفصلتان عن بعضهما ضمن الطبق.

تزرع المنطقة الأولى بأحد الجراثيم الهوائية (إيشريكية قولونية) وتزرع المنطقة الثانية بالجرثوم اللاهوائي المرا د تنميته، يغلق الطبق بالغطاء المناسب وتغلق المسافة بين الطبق والغطاء بالبارافين، يحضن الطبق في ناظم للحرارة

النتيجة : سوف ينمو الجرثوم الهوائي مستهلكاً الأوكسجين الموجود في الطبق، حيث يؤمن في الوقت نفسه الظروف المناسبة لنمو الجرثوم اللاهوائي.

ويمكن إجراء هذه الطريقة بشكل آخر كما يلي :

يصب طبقان من أطباق بتري لهما الحجم نفسة بالآجار الدموي مع الغلوكوز، يزرع الطبق الأول بأحد الجراثيم الهوائية، ويزرع الطبق الثاني بالجرثوم اللاهوائي، توضع فوهتا الطبقين على بعضهما بعضاً، وتغلق المسافة الفاصلة بينهما بالبارافين، تعد هذه الطريقة أفضل من سابقتها بسبب توفر مساحة أكبر من الوسط المغذي لنمو الجرثوم.

٢ – طريقة هيرمان :

يزرع طبق بتري الحاوي على المنبت المغذي بالجرثوم اللاهوائي المراد تنميته، ثم يؤخذ غطاء ساعة معقم بقطر حوالي (٥ سم) ويصب على سطحه المقعر قليلاً من المنبت المغذي (١ – ٢ مل) وتزرع فيه إحدى الجراثيم الهوائية، ويوضع غطـــاء الســـاعة بلطف على طبق بتري المزروع بالجرثوم اللاهوائي، ثم يغلق الطبق كالمعتـــاد وتســـد المسافة بين الغطاء والطبق بالبارافين، ثم يحضن الطبق في ناظم للحرارة.

٣- طريقة المنبت المصبوب في أعمدة مرتفعة :

يصب الوسط المغذي الصلب في أنابيـــب حيـــث يكـــون عمـــق المنبـــت حـــوالي (٨ – ١٠ سم) ويترك حتى يبرد ويتصلب، ثم يزرع الجرثوم بطريقة الغرز أو الوخز، ثم يحضن في ناظم الحرارة. تسمح هذه الطريقة بمعرفة مدى حاجة الجرثوم عند نموه إلى الأوكسجين، والجراثيم اللاهوائية تنمو في قعر قناة الزرع بعيداً عن سطح المنبت بحوالي (٠,٥ – ١ سم) على الأقل، ويمكن منعاً لدخول الأوكسجين من الوسط الخارجي يغطية سطح المنبت بأحد الزيوت المعدنية المعقمة.

٤- طريقة الزرع في مرق الكبد الكبدي :

تعتمد هذه الطريقة على إضافة قطع من الأعضاء الحيوية (كبد، مخ) إلى المرق حيث تقوم هذه القطع العضوية بامتصاص الأوكسجين الموجود في الوســـط، وقبـــل زرع الجرثوم اللاهوائي ينصح بتسخين المرق حتى الغليان لمدة عشر دقائق وذلك للـــتخلص من بقايا الأوكسجين في الوسط.

٥- طريقة الشمعة :

في هذه الطريقة توضع الأطباق المزروعة بالجرثوم اللاهوائي ضمن نـــاقوس زجـــاجي يحوي بداخله على شمعة مشتعلة، ويغلق الناموس بإحكام، هنا سوف تقوم الشـــمعة بامتصاص الأوكسجين الموجود في الوسط (تنطفئ الشمعة عندما يصبح تركيز ثـــاني أوكسيد الكربون ٥ %).

٦- **طريقة بوخنر :**

يزرع الجرثوم اللاهوائي في أنبوب يحوي على الوسط المغذي الملائم ويغلق بسدادة قطنية، يوضع الأنبوب في قعر أنبوبة بوخنر والذي يحوي على (١ غ) من البيروجالول ثم يضاف له (١ مل) من محلول الصودا، تسد فوهة أنبوب بوخنر بسدادة مطاطية وتوضع في ناظم الحرارة.

ملاحظة : للتخلص من الأوكسجين في (١٠٠ مل) هواء يكفي (١ غ) بيروجالول و (١٠ مل) ماءات الصوديوم (٢,٥) نظامي، حيث يتغير اللون من الأبيض إلى البني ثم الأسود حسب كمية الأوكسجين الممتصة

٧- **طريقة ماك لويد :**

يستخدم في هذه الطريقة طبق مؤلف من قاعدة خزفية مقسمة بجدار إلى نصف دائرة ومن غطاء زجاجي يصب الوسط المغذي فيه، يزرع الجرثوم اللاهوائي في غطاء الطبق، ويسكب في النصف الأول من القاعدة محلول كربونات الصوديوم بتركيز (٢٥ %) وفي النصف الثاني حمض البيروجاليك بتركيز (٥ %)، يركب الغطاء الزجاجي على القاعدة ثم يثبت بالبارافين، يحرك قليلاً ليختلط المحلولان، ثم يحضن الطبق في ناظم الحرارة.

٨- **جرة اللاهوائيات :**

هناك عدة أنواع من جرات اللاهوائيات مثل جرة ماكنتوش وفيلد، جرة بروير جرة اللاهوائيات عبارة عن جهاز أسطواني الشكل يغلق يإحكام بوساطة غطاء تنفذ فيه فتحتان مجهزتان بصمام، الفتحة الأولى لتفريغ الهواء من الجرة والفتحة الثانية لإدخال غاز بديل (مزيج من غاز الهيدروجين وثاني اوكسيد الكربون أو غاز الهيدروجين وثاني اوكسيد الكربون أو الآزوت) ويوجد داخل الجرة كبسولة تتوضع على السطح السفلي أو الداخلي للغطاء وتحوي على حبيبات من البالاديوم، وكذلك يتصل بجدار الجرة من الخارج أنبوب يحوي على كاشف أزرق الميتلين، الذي يكون

عديم اللون في غياب الأوكسجين ويعود إلى لونه الأزرق في وجود أي أثر للأوكسجين.

طريقة الاستخدام : توضع الأوساط المغذية الصلبة أو السائلة المزروعة بالجرثوم اللاهوائي في جرة اللاهوائيات ثم تغلق الجرة بإحكام. يغلق صمام دخول الغاز ويوصل صمام تغريغ الهواء بمضخة هواء لسحب الهواء الموجود داخل الجرة وذلك حتى تظهر فقاعات هوائية في محلول كاشف أزرق الميتلين (حوالي ربع ساعة)، يغلق صمام تفريغ الهواء وتوصل فتحة الغاز البديل بالخزان الحاوي على الغاز البديل، ثم تغلق بعد أن تملأ الجرة بالغاز (حوالي خمس دقائق)، تحضن جرة اللاهوائيات في ناظم الحرارة.

١٠-الأكياس الغازية الجاهزة :

وهي من أحدث الطرق حيث يوضع هذا الكيس في جرة الزرع قبل اغلاقها ليؤمن البيئة اللاهوائية اللازمة.

تقييم المزرعة الجرثومية النامية :

آ - **البيئات السائلة** : نقوم بعد زرع الجرثوم في البيئة السائلة والإنتهاء من التحضين بفحص البيئة السائلة المزروعة، لمعرفة شكل النمو الذي يمكن أن يظهر بأحد الأشكال التالية :

١ – لايوجد تعكير ويبقى السائل رائقاً.

٢ – تعكير كثيف للوسط.

٣ – تكوين راسب (ندفي، حبيبي، جديلة تتصاعدمن قعرالأنبوب عند رجّه)

٤ – تكوين طبقة حرشفية على سطح الوسط.

٥ – انطلاق غازات.

٦ – تكوين صباغ.

ب – **البيئات الصلبة** : يتم فحص المزروع الجرثومي على البيئات الصلبة بالعين المجردة أو باستخدام عدسة مكبرة وتقيم النتائج وفق المعايير التالية :

١ – كثافة النمو : وهي تعتمد على كمية وكثافة الجراثيم المزروعة في البيئة وعموماً تحدد كثافة النمو على الشكل التالي :

- = لايوجد نمو.

+ = نمو ضعيف (حتى ٣٠ مستعمرة).

++ = نمو متوسط (حتى ١٠٠ مستعمرة).

+++ = نمو شديد (أكثر من ١٠٠ مستعمرة).

٢– نقاوة المزرعة : مستعمرات من نوع واحد أم عدة أنواع مختلفة من المستعمرات.

٣ – شكل المستعمرات : مستديرة مثلاً.

٤ - حجم المستعمرات : صغيرة جداً، صغيرة، متوسطة الحجم، كبيرة.

٥ – أشكال وأنواع المستعمرات : ناعمة، خشنة، مخاطية.

٦ – حواف المستعمرات : ملساء ناعمة، متعرجة، محرشفة.

٧ - قوام المستعمرة : مخاطي، حبيي.

٨ - التركيب الداخلي للمستعمرة : شفافة، معتمة، محببة، مجعدة، لماعة.

٩ - تكوين الصباغ.

١٠ – الرائحة : برازية، عطرية.

١١ – شكل المستعمرة في المقطع العرضي : مسطحة، مرتفعة، محدبة، على شكل الزر.

١٢ – خاصية التحليل الدموي في البيئات الحاوية على الدم.

الجلسة السابعة

اختبار تحسس الجراثيم للصادات الحيوية

الصادات مواد ذات منشأ كيميائي (السلفاميدات) أو فطري (البنسلين) أو جرثومي (الستربتو مايسين) لها القدرة على قتل الجراثيم أو منع تكاثرها.

آلية تأثير الصادات:

تؤثرالصادات المختلفة على الجرثوم بآليات مختلفة و يمكن تلخيصها بالتالي:

آ –أن تحل الصادات محل بعض العناصر الاستقلابية الهامة للخلية الجرثومية وذلك بسبب تشابه تركيبها مع تركيب هذه العناصر مثل السلفاميدات التي تحل محل حمض البارا أمينو بتروئيك، الأمر الذي يقود في النهاية إلى منع اصطناع البروتينات الضرورية لنمو الخلية الجرثومية وتكاثرها.

ب – بعض الصادات تؤثر على الجدار الخلوي للجرثوم مثل البنسلين الذي يمنع تشكل هذا الجدار وبالتالي انحلال الخلية الجرثومية.

ج - بعض الصادات مثل الكلورام فينيكول تمنع اصطناع البروتينات الهيولية د – بعض الصادات مثل البوليمكسين والكوليستين تؤثر على النفوذية الخلوية للغشاء الهيولي كما يمكن أن تؤثر على الضغط الحلولي مما يؤدي إلى خروج عديد من العناصر الضرورية لحياة الخلية الجرثومية.

هـ - بعض الصادات مثل الستربتو مايسين يمكن أن تخرب خمائر السيتوكروم التي تلعب دوراً هاماً في عملية التنفس الجرثومي.

دواعي إجراء اختبار التحسس :

يمكن تلخيص دواعي إجراء اختبار تحسس الجراثيم للصادات الحيوية بالنقاط التالية :

١ - عند فشل معالجة بعض الأمراض وخاصة المزمنة منها.

٢ – اختبار الصادات الحيوية الأكثر فعالية في معالجة المرض.

٣ – الكشف عن ظاهرة المقاومة للصادات الحيوية عند العترات المعزولة.

٤ – عند بعض مسببات الأمراض التي تتمتع بقدرتها على تشكيل المقاومة للصادات الحيوية مثل المكورات العنقودية، السلمونيلات، الإشيريكية القولونية الزوائف ولإجراء اختبار التحسس للصادات الحيوية هناك طريقتان :

١– **طريقة التمديد**

٢– **طريقة الانتشار**

وسوف نكتفي بشرح **طريقة الانتشار** وتطبيقها :

مبدأ الاختبار : يعتمد الاختبار على وضع أقراص مشبعة بتراكيز معينة من الصادات الحيوية على سطح البيئة المغذية للجرثوم والمزروعة مسبقاً بالجرثوم المراد دراستها (الشكل رقم ٧)،

الشكل رقم (٧)

إن رطوبة البيئة سوف تؤدي إلى انتشار متتابع للصادات في البيئــة والــذي يترافــق بتناقص في تركيز الصادات كلما ابتعدناعن القرص .

وبعد التحضين عند الدرجة (٣٧م)ولمدة ٢٤ ساعة وتبعاً لحساسية الجرثوم للصادة أو عدم حساسيته لها سوف نلاحظ وجود أو عدم وجود هالة محيطية حول القرص خالية من كل نمو جرثومي ويكون قطر هالة منع النمو أو التثبيط مرتبطاً بنوع الصاد الحيوي المستخدم ونوع الجراثيم المختبرة.

– طريقة إجراء الاختبار :

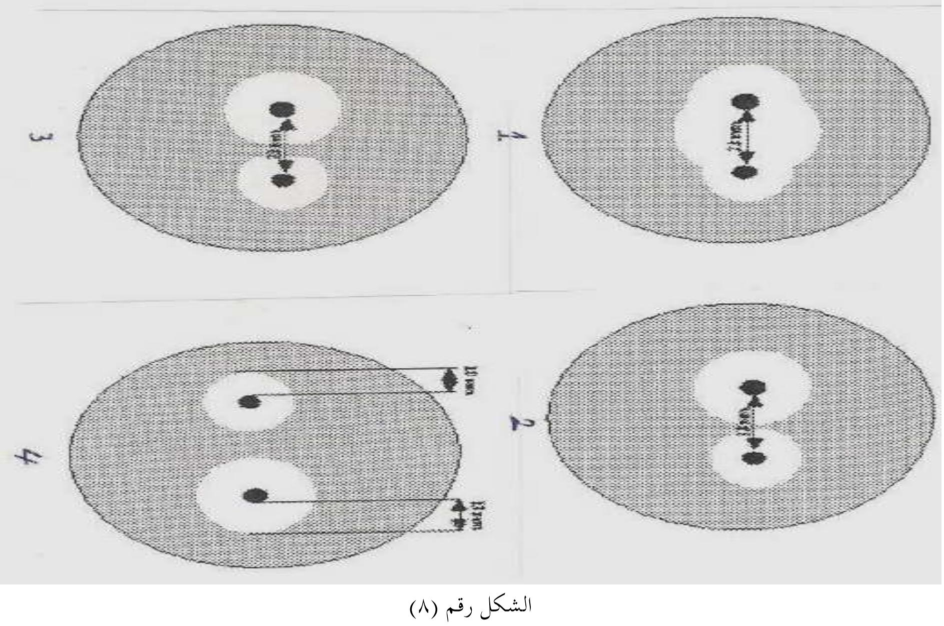
يؤخذ من مزروع الجرثوم النقي على المنابت الصلبة عدة مستعمرات من نوع واحد، ثم تزرع في أحد المنابت السائلة الملائمة (مرق مغذي مثلاً) وتحضن عنــد الدرجــة ٣٧م) لعدة ساعات، من هذا المنبت السائل تنقط عدة نقاط على ســطح المنبــت الصلب المناسب (٣٧ م) الذي سوف يجرى عليه اختبار التحســس (آجار مغذي، موللر هينتون آجار)، ثم تفرش هذه النقاط على كامل سطح المنبت بوساطة قضــيب زجاجي معقوف ومعقم، ثم يترك لفترة من الوقت بدرجة حرارة الغرفة (عدة دقائق)، بعد ذلك توزع أقراص الصادات الحيوية على سطح المنبت بوساطة ملقط معقم أو آلة خاصة ويترك مدة نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم يحضن عند الدرجة(٣٧ م) لمدة ١٨-٢٤ سا

– قراءة النتيجة : بعد الانتهاء من التحضين، يعمد إلى قياس أقطار مع النمو مع الأخذ بعين الاعتبار نوع الصاد الحيوي وتركيزه حسب الجدول رقم (٨):

التآزر:يظهرفي المناطق المتجاورة لمنع نموتوسع منطقة منع النمو باتجاه يوازي الأقــراص المتشاركة وعلى شكل قوسين هذه الحالة تدل على تآزر بين الصادتين

التضاد : أما في حال وجود منطقة نموجرثومي محصورة بين هالتي منع نمو لصــادتين متجاورتين فهذا يدل على وجود تضاد بين تلك الصادتين كما هو موضح بالشــكل رقم(٨) .

اسم الصادة	تر كيز الصادة (ملغ)	قطر التثبيط (ملم)
الأمبيسلين ضد الجراثيم سلبية الغرام	١٠	١٤
الأمبيسلين ضد الجراثيم ايجابية الغرام	١٠	٢٩
الارثرومايسين	١٥	١٨
الجنتامايسين	١٠	١٣
الكانامايسين	٣٠	١٨
البنسلين ج	١٠	٢٢
الستربتومايسين	١٠	١٥
التتراسيكلين	٣٠	١٩
الفانكومايسين	١٠	١٧
السلـــــــــفا	٢٥٠-٣٠٠	١٧
الكلورامفينيكول	٣٠	١٨



الشكل رقم (٨)

١-تآزر، ٢- تضاد، ٣و٤- نصف قطر دائرة منع النمو(التثبيط)

الجلسة الثامنة

المجهر والفحص المجهري للجراثيم غير المصبوغة

أولاً– **المجهر** : يتألف المجهر من قسم آلي وقسم بصري:

آ – القسم الآلي : ويتألف من :

١ – القاعدة.

٢ – الذراع : وهو يحمل الأنبوب البصري ومجهز بلولبين، لولب كبير يحرك الأنبوب البصري وحركته واسعة، ولولب صغير يحرك الأنبوب البصري حركة دقيقة.

٣ – الأنبوب البصري : تدخل في فوهته العليا العدسة العينية وفي أسفله توجد القطعة الأنفية التي تحتوي على فتحات لتركيب العدسات الشيئية الشكل (٩).

٤ - الرف : وهو متحرك بوسط لولب وتوضع عليه الشرائح المراد فحصها.

بـــ – القسم البصري : ويتألف من :

١ – جهاز الإنارة :

هو عبارة عن المرآة ومجموعة المكثفة، حيث تقع المرآة عند قاعدة المجهر وتقع مجموعة فوق المرآة، ويمكن خفض مجموعة المكثفة أو رفعها بواسطة لولب وفي بعض المجاهر عن طريق إزاحتها عن المركز.

٢– العدسة الشيئية :

هي من أهم أجزاء المجهر، وتقسم إلى عدسة شيئية جافة وذلك عندما يفصل الهواء بينها وبين المُحضر وإلى عدسة زيتية وذلك عندما تغطس العدسة في نقطة زيت الأرز التي توضع على الشريحة، وتتميز العدسة الزيتية في المجاهر بوجود حلقة سوداء على إطارها أو بالرمزHI ، ومن المعلوم أن قطرة زيت الأرز تمنع انكسار الضوء المار عبر الشريحة وبالتالي يزداد وضوح الفيلم المفحوص .

٣– العدسة العينية :

تتألف هذه العدسة من عدستين لكل منهما وجه محدب وآخر مسطح وتوجدان في الفتحتين العلويتين للأنبوب البصري.

الشكل رقم (٩)

طريقة الفحص المجهري باستخدام العدسة الزيتية :

١ – يوضع المحضر "الشريحة " على رف المجهر ويثبت بالقوابض الخاصة.

٢ – تضاء الساحة المجهرية وتنظم الاضاءة باستخدام عدسة شيئية جافة.

٣ – توضع على المحضر نقطة من زيت الأرز وتبدل العدسة الجافة بالعدسة الزيتية.

٤ – ترفع اللوحة الحاملة للشريحة(رف المجهر) عن طريق تدوير اللولب الكبير مع المراقبة حتى تغطس العدسة في نقطة الزيت.

٥ – تخفض اللوحة الحاملة للشريحة بشكل بسيط بواسطة اللولب الكبير مع التحديق في العدسة العينية وذلك حتى تتضح معالم المحضر.

٦ – يدار اللولب الصغير إلى الأمام والخلف حتى تظهر معالم المحضر جلية " تماماً "

٧ – بعد الانتهاء من الفحص تخفض اللوحة الحاملة للشريحة إلى الأسفل بعيداً عن العدسات الشيئية ويرفع المحضر.

٨ – تمسح العدسة الزيتية بقطعة من نسيج ناعم خاص بتنظيف العدسات بالزايلول ثم بالكحول بشكل جيد لإزالة آثار الزايلول.

٩ – يغطى المجهر بكيس من القماش أو النايلون لحمايته من الغبار.

ثانياً – **الفحص المجهري للجراثيم غير المصبوغة :**

إن الغاية من فحص الجراثيم غير المصبوغة هي رؤية الجراثيم وخاصة المتحركة منها ونوع حركتها، ويتم ذلك بطريقتين :

آ – **طريقة القطرة المضغوطة :**

تستخدم لهذا الغرض شرائح زجاجية نظيفة، نضع في منتصفها قطرة صغيرة من المعلق الجرثومي وذلك بواسطة إبرة الزرع أو ممص باستور ثم نضع فوق القطرة ساترة زجاجية نظيفة، ونفحص المحضر مجهرياً بالعدسة ذات التكبير ٤٠ – ٦٠ بعد ازاحة المكثفة إلى الأسفل، ويلاحظ شكل الجرثوم وحركته ونوع هذه الحركة (إما حركة في المكان وتدعى بالحركة البراونية أو حركة سريعة يجتاز بها الجرثوم الساحة المجهرية).

ب – **طريقة القطرة المعلقة :**

لهذا الغرض يستخدم شريحة زجاجية خاصة ذات تقعر دائري في مركزها وساترة زجاجية، توضع قطرة من المعلق الجرثومي في منتصف الساترة الزجاجية، ثم نضع قطرات الفازلين حول التقعر المركزي الموجود على الشريحة الزجاجية، ترفع الشريحة بعد ذلك وتلصق بالساترة حيث يبقى المعلق الجرثومي في مركز التقعر الدائري المركزي، ثم تقلب الشريحة بسرعة وتفحص مجهرياً بالتكبير الضعيف أولاً (١٠) ثم بالعدسة الجافة الأكبر (٤٠ – ٦٠) مع إزاحة المكثفة نحو الأسفل، ويلاحظ شكل الجرثوم وحجمة وحركته.

الجلسة التاسعة

الصبغات الجرثومية والفحص المجهري للجراثيم المصبوغة

الأصبغة الجرثومية وطرائق التلوين :

ذكرنا في الفصل السابق أن دراسة الخواص الشكلية للجرثوم لا تتم إلا بعد تلوينه، ولجعل ذلك واضحاً فلا بد من تحضير اللطاخة الجرثومية على شريحة زجاجية وتلوينها باللون الملائم.

- طريقة تحضير اللطاخة الجرثومية :

تعقم إبرة الزرع على اللهب حتى الاحمرار، ثم نتركها لتبرد جانب اللهب، ثم نأخذ بوساطة العروة الموجودة في نهاية إبرة الزرع قطرة من السائل المفحوص أو قطرة من المعلق الجرثومي المحضر من النمو الجرثومي الموجود على منبت صلب، ويفرش على الشريحة النظيفة بحركة دائرية أو إهليجية نحو الخارج، ثم تترك الشريحة حتى يجف الفيلم (المحضر) بالهواء، ثم تمرر الشريحة على اللهب مرات عدة بحركة بطيئة وذلك بهدف قتل الجرثوم من جهة ولصقه على الشريحة من جهة أخرى وهذا مايدعى بعملية تثبيت الفيلم (المحضر، اللطاخة....) الجرثومي.

ويمكن أن تجري عملية التثبيت في الكحول (٩٦) عوضاً عن الحرارة أو في مزيج من الكحول والإيتر أو في الفورمالين، وذلك عن طريق غمر اللطاخة في السائل المثبت لمدة تختلف باختلاف المادة المستعملة، بعد عملية التثبيت لايمكن رؤية الجرثوم مجهرياً إلا إذا قمنا بصبغه، لذلك نلجأ إلى عملية الصبغ (التلوين).

أولاً: **الأصبغة الجرثومية**

وهي عبارة عن مواد تلوين الجرثوم، منها ماهو طبيعي كالحبر الصيني والهيماتوكسيلين، ومنها ماهو اصطناعي. والأصبغة الصنعية الأنيلية منها ماهي أساسية (كالفو كسين

القاعدي، أزرق الميثيلين، بنفسجية الجنشيان) ومنها ماهي حامضية (كـالإيوزين، الفوكسين الحامضي...)

وبصورة عامة : تلون الملونات الأساسية النواة مثل أزرق الميتيلين،الفوكسين أما الملونات الحامضية فتلون الهيولي الجرثومية مثل الايوزين.

أما **طرائق التلوين** (**الصبغ الجرثومي**) فتقسم إإلى :

١ – **طرائق تلوين سلبية** :

مثل طريقة التلوين بالحبر الصيني، هنا لاتلون الجراثيم بل الساحة المحيطة بها، حيث يظهر الجرثوم أو محفظة الجرثوم كجسم شفاف واضح في ساحة عاتمة.

٢ – **طرائق تلوين بسيطة** :

في هذه الطريقة يستخدم في تلوين الجرثوم ملون واحد، مثل طريقة التلوين بـأزرق الميثيلين .

٣ – **طرائق تلوين تمييزية** :

ويستخدم فيها أكثر من ملون واحد مثل طريقة غرام وطريقة زيل – نيلسن.

٤ – **طرائق تلوين نوعية** :

وتستخدم فيها ملونات نوعية لتلوين أنواع معينة من الجراثيم أو لتلوين أجزاء معينة من الجرثوم كالأبواغ أو المحفظة أو السياط.

وفيما يلي سوف نستعرض أهم طرائق الصبغ الجرثومي المستخدمة في المخابر:

١ – **الصبغ بطريقة أزرق الميثيلين المتعدد الألوان** :

يتركب الملون من (٢ غ أزرق الميثيلين و ٥ غ بيكربونات الصوديوم – ١٠٠ مل ماء مقطر) يسخن المزيج ثم يترك يبرد ثم يرشح.

تحضر لطاخة جرثومية على شريحة، تجفف، تثبت على اللهب.

تغمر بملون أزرق الميثيلين متعدد الألوان (٤ – ٥) دقائق.

تغسل بالماء، تجفف، وتفحص بالعدسة الزيتية.

تستخدم هذه الطريقة لتلوين عصيات الجمرة الخبيثة حيث تتلون العصـيات بـالـلون الأزرق، والحفظة باللون الوردي الشاحب.

٢ – الصبغ بطريقة غرام :

تعتمد هذه الطريقة تقسيم الجراثيم بناءًعلى تركيب جدارها الجرثومي إلى مجموعتين:

١-مجموعة تتلون بلون أزرق بنفسجي وهي جراثيم ايجابية الغرام الشكل رقم(١٠) .

٢- مجموعة تتلون بلون أحمروهي جراثيم سلبية الغرام الشكل رقم(١١) .

وتتكون صبغة غرام من المحاليل التالية :

آ – محلول بنفسجية الجنشيان أو الكريستال (١٠ غ بنفسجية كريستال + ١٠٠ مل كحول إيتلي (٩٥%)).

ب – محلول الأكسلات : (١ غ أكسلات الأمنيوم + ١٠٠ مل ماء مقطر)

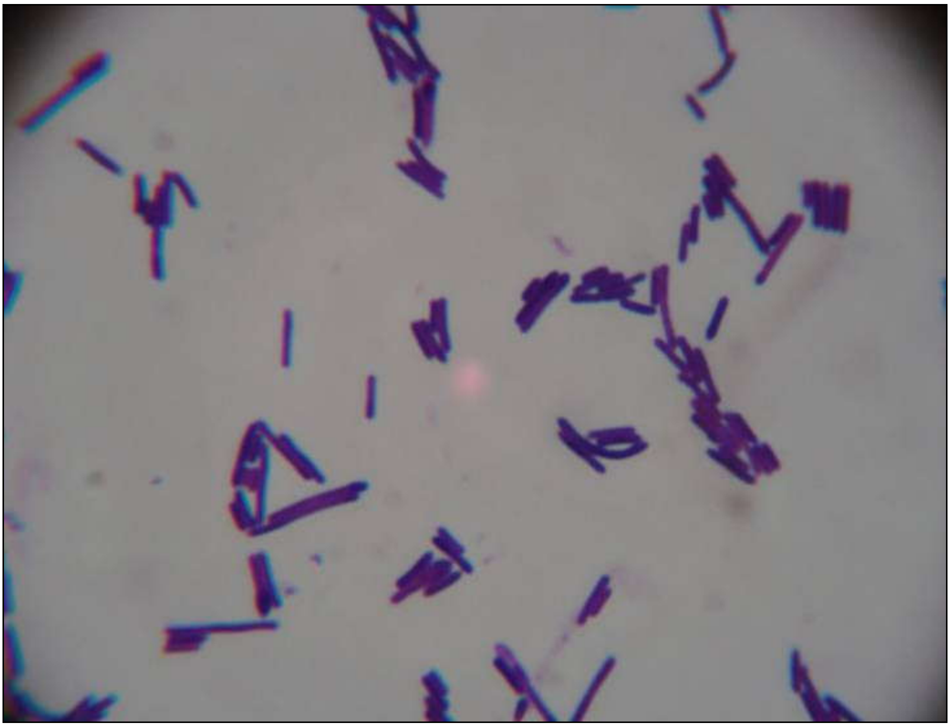
ولتحضير محلو ل بنفسجة الكريستال المستخدم أثناء التلوين بهذه الطريقة :

يمزج ٢٠ مل من المحلول (آ) مع ٨٠ مل من المحلول (ب) ويرشح في اليوم الثاني.

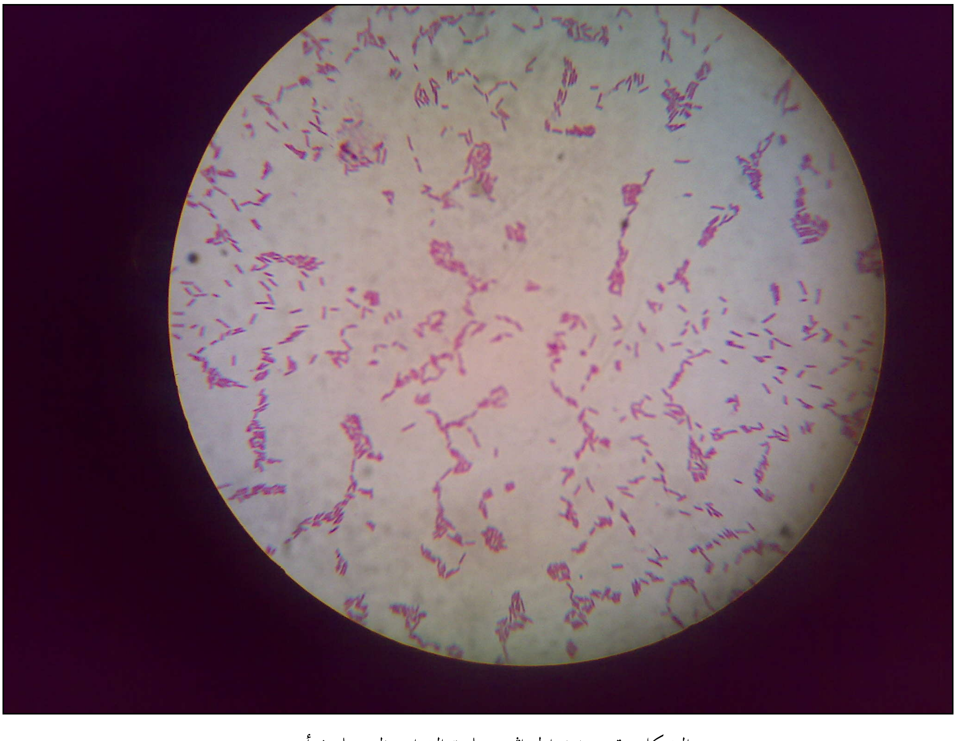
ج – محلول الإيودين : تحل بلـورات الإيـودين (١ غ) أو إيوديـد البوتاسـيوم (٢ غ) في ١٠ مل ماء مقطر حتى الذوبان التام، ثم تضاف كمية أخرى من المـاء المقطر حتى يصبح حجم المحلول ٢٠٠ مل، وبعدها يرشح.

د – الكحول (مزيل اللون) : كحول إيتيلي (٩٥ %).

هـ – محلول السفرانين : (٢.٥ غ) سافرانين تحل في ١٠٠ مـل مـن الكحـول الإيتيلي (٩٥ %) ثم يرشح، ولتحضير محلول العمل يؤخذ ١٠ مل من هذا المحلول ويضاف له ٩٠ مل ماء مقطر ويمكن استخدام الفوكسين الكاربولي لزيل نيلسن بعد تخفيفه بالماء المقطر ١ : ١٠ أو ١ : ٢٠ بدلاً من محلول السافرانين.



الشكل رقم (١٠)- جراثيم إيجابية الغرام تظهر بلون بنفسجي



الشكل رقم (١١)الجراثيم سلبية الغرام تظهر بلون أحمر.

أما طريقة التلوين فهي كالتالي :

- يثبت الفيلم الجرثومي على اللهب.
- يصب عليه محلول بنفسجة الكريستال لمدة دقيقة واحدة.
- يغسل بالماء، ويصب عليه محلول الإيودين ويترك لمدة دقيقة واحدة.
- يغسل بالماء، ويزال اللون بسكب الكحول حتى ينساب السائل على الشريحة دون لون وتستمر هذه العملية من (٢٠ – ٣٠) ثانية، أو الأسيتون ويترك لمدة(٥) ثوان.
- يغسل بالماء، ويصب عليه محلول السافرانين أو الفوكسين المخفف ويترك لمدة دقيقة واحدة.
- يغسل بالماء، ويجفف، ويفحص بالعدسة الزيتية.

بهذه الطريقة تتلون الجراثيم إما بلون بنفسجي (إيجابية الغرام) مثل المكورات العنقودية والعقدية، أو بلون أحمر وردي (سلبية الغرام) مثل السامونيلة، البستوريلا،البروسيلا.

ويعود ظهورالألوان السابقة إلى الفرق في تركيب الجدار الجرثومي بين الخلاياالجرثومية الايجابية الغرام التي يحتوي جدارها على طبقة كثيفة من البروتينات السكرية والتي تشكل معقداً مع بنفسجبة الكريستال والايودين لا تتأثر بالكحول فتظهر بلون بنفسجي، أما الخلايا الجرثومية السلبية الغرام فيستطيع الكحول أن يحلل الطبقة الخارجية المؤلفة من عديدات السكاكر الشحمية وبالتالي يزول اللون البنفسجي عند غسلها بالكحول فتبقى دون تلوين وعند صبغها بالفوكسين أوالسفرانين تأخذ اللون الأحر الوردي بسهولة.

٣ – **الصبغ بطريقة زيل – نلسون :**

هذه الطريقة تستخدم لتلوين بعض الجراثيم التي تحتوي على نسبة عالية من المواد الدهنية والشحوم المعقدة في جدران خلاياها ومقاومة للحموض والكحول مثل المتطفرة السلية ونظيرة السلية.

أما المحاليل المستعملة فهي :

١ – محلول الفوكسبن الكاربولي : ويتركب من محلولين :

آ – (٣ غ) فوكسين قاعدي يحل في (١٠٠) مل كحول إيتيلي (٩٥ %).

ب – (٥ غ) بللورات الفينول تذاب بالتسخين بلطف ثم يضاف لها (١٠٠) مل ماء مقطر.

ولتحضير محلول الفوكسين الكاربولي يمزج (١٠ مل) من المحلول (آ) مع (٩٠ مل) من المحلول (ب).

٢ – محلول الكحول الحامضي :

(٣ مل) حمض كلور الماء + (١٠ مل) كحول إيتيلي (٩٥ %).

٣ – محلول أزرق الميثيلين القاعدي للوفلر :

يتركب هذا المحلول من (٣٠ مل) محلول كحولي مشبع لأزرق الميثيلين ومن (١ مل) محلول مائي لماءات البوتاسيوم KOH (١ %) و (١٠٠ مل) ماء مقطر، ثم يرشح في اليوم التالي .

ولتحضير المحلول الكحولي المشبع لأزرق الميثيلين يحل (٢ غ) أزرق الميثيلين في (١٠٠ مل) كحول إيتيلي (٩٥ %) ويترك لليوم التالي، يرج قليلاً ثم يرشح.

وعند استخدام محلول ازرق الميثيلين القاعدي للوفلر في طريقة زيل – نيسلن يتم تمديد هذا المحلول في الماء المقطر بنسبة (١ : ١٠).

أما طريقة التلوين فهي كالتالي :

– بعد تثبيت المحضر على اللهب، يلون المحضر بمحلول الفوكسين الكاربولي المركز، ثم تسخن الشريحة على اللهب إلى ان تنطلق الأبخرة (يجب تجنب الغليان) ثم تترك (٥ دقائق) بدون تسخين.

- تغسل الشريحة بالماء، ويصب الكحول الحامضي عدة مرات حتى تزول الصبغة، حيث تستغرق هذه العملية من (٢٠ ثا و حتى ٢ د).

- تغسل الشريحة بالماء، ثم تصب الصبغة المعاكسة وهي أزرق الميثيلين للوفلر وتترك حوالي (١ د).

- تغسل الشريحة بالماء ويجفف وتفحص مجهرياً.

- تنصبغ الجراثيم المقاومة للأحماض والكحول باللون الأحمروذلك لعدم قدرة الكحول الحامضي على إزالة الفوكسين الأحمر اللون من الطبقة الخارجية السميكة للمتفطرة السلية و المؤلفة من مواد شمعية، والجراثيم غير المقاومة باللون الأزرق نظراً لزوال لون الفوكسين عند غسلها بالكحول الحامضي وتلونها بأزرق الميتيلين.

٤ – طريقة جيمسا :

يحضر الملون على الشكل التالي :

(٢٥ مل) جليسرين + (٢٥ مل) كحول ميتيلي + (٣.٠ غ) مسحوق جيمسا يسخن كل من الكحول والجليسرين على حدة في حمام مائي حتى الدرجة (٦٠)م ثم يحل مسحوق جيمسا في الكحول ثم يضاف الجليسرين ببطء ويمزج جيداً. ثم يترك المحلول ليركد حتى اليوم التالي ثم يرشح، ولتحضير محلول جمسا الجاهز للاستعمال : يخفف المحلول الأساسي في الماء المقطر بنسبة (١ : ١٠).

أما طريقة التلوين فهي كالتالي :

- يثبت الفيلم في الكحول الميتيلي لمدة (٣ – ٤ د)، ثم يجفف بالهواء
- يغمر الفيلم في محلول جيمسا مدة (٢٠ – ٣٠ د) أو أكثر.
- يغسل بالماء المقطر ويجفف، ويفحص مجهرياً بالعدسة الزيتية.

- تستخدم هذه الطريقة للتحري عن الأوالي في الدم وعن بعض الجراثيم في الدم، وعند استخدامها في تلوين عصيات الجمرة الخبيثة فإن المحفظة تتلون بلون زهري مُحمر.

٥ – طريقة راكت :

تستخدم هذه الطريقة لتلوين وإظهار الأبــواغ ذات الجــدار الســميك والصــلب والمتماسك عند بعض الجراثيم مثل المطثيات والعصوية الجمرية والكزاز، والتي مــن الصعب تلوينها بالطرق العادية، فهي بحاجة إلى صبغة نوعية تظهرها بوضوح، ومنها صبغة راكت .

المحاليل اللازمة :

١– محلول أخضر الميلاشيت(٥ غ في ١٠٠مل ماء مقطر).

٢–محلول السفرانين(٠.٥ غ في ١٠٠مل ماء مقطر).

طريقة الصبغة :

- تثبت اللطاخة الجرثومية وتجفف في الهواء.
- تغمر بمحلول أخضر المالاشيت لمدة ٥ دقائق ثم تبخر على لهب خفيف.
- تغسل بالماء المقطربعد التبريد وتجفف.
- تغمر بمحلول السافرانين المائي بتركيز لمدة دقيقة واحدة.
- تغسل بالماء، وتجفف، وتفحص مجهرياً بالعدسة الزيتية.

نلاحظ أن الأبواغ تأخذ اللون الأخضر أما باقي عناصر الخلية الجرثومية فتأخذ اللون الأحمر.

٦–صبغة رايت:يتم تحضير ملون رايت بإذابة ١ غ من مسحوق ملون رايت في ليتــر كحول ميتيلي، ويترك لمدة ٥أيام بعدها يمرر في ورق الترشيح ويستخدم.

طريقة الصبغة :

١– تحضر اللطاخة على شريحة زجاجية.

٢– تغمر بملون رايت لمدة ٢دقيقة.

٣– يغمر ملون رايت بالماء المقطر لمدة ٥ دقائق.

٤– تغسل بالماء المقطر وتجفف بالهواء وتفحص بالعدسة الزيتية.

تستخدم هذه الطريقة في دراسة اللطخات الدموية لتشخيص البوريليا في الدم ولتشخيص المبيضات البيض والفطر الرشاشي.

٧- **صبغة ستامب :**

تستخدم لتلوين وإظهار المتدثرات (الكلاميديا) وعصيات البروسيلة وتتم على الشكل التالي :

- تثبت اللطاخة الجرثومية على اللهب ثم تغمر بمحلول الفوكسين الكاربولي الممدد بالماء المقطر بنسبة (١ : ٥) ويترك لمدة خمس دقائق.
- تغسل بالماء، ثم تغمر مدة (٣٠ ثا) في حمض الخل بتركيز (٠.٥ %) حتى يزول اللون.
- تغسل بالماء، ثم تغمر لمدة (٢٠ ثا) بمحلول أزرق الميثيلين المائي.
- تغسل بالماء وتجفف وتفحص مجهرياً بالعدسة الزيتية.
- تتلون عصيات البروسيلية والمتدثرات باللون الأحمر.

٨ – **الصبغ بطريقة لايفسون :**

تستخدم هذه الطريقة لتلوين السياط ويتركب المحلول الملون من :

ملون الأهداب لديفكو	١.٩ غ
كحول إيتيلي ٩٥ %	٣٣ مل
ماء مقطر	٦٧ مل

يخض المزيج لمدة ١٠ دقائق لانحلال كامل الملون، أما التلوين فيتم على النحو التالي :

-يؤخذ الجرثوم من مزرعة جرثومية حديثة بعمر ١٨ – ٢٤ ساعة ويعلق بلطف بالمحلول الفيزيولوجي المعقم.

- توضع القطرة من المعلق على شريحة زجاجية وتترك لتجف.
- يضاف (١) مل من الملون فوق اللطاخة ويترك لمدة ١٠ – ٨ دقائق

-تغسل اللطاخة بالماء وتجفف بالهواء وتفحص تحت المجهر، فـنلاحظ أن الجـراثيم والسياط ملونة باللون الأحمر.

٩- الصبغ بطريقة أولت :

تستخدم هذه الطريقة لصبغ العصوية الجمرية وإظهار محفظتها حتى تتكـون العصـية باللون الأزرق والمحفظة باللون الأحمر.

ويحضر المحلول الملون والذي هو عبارة عن محلول السفرانين المائي ٣ % على الشكل التالي :

٣ غ سفرانين تحل في ١٠٠ مل ماء مقطرمغليٍ، بعد التبريد يرشح المحلول.

طريقة الصبغ :

- تحضر اللطاخة وتثبت على اللهب.
- تغمر بمحلول السفرانين الماي وتسخن حتى الغليان
- يترك المحول لمدة دقيقتين
- تغسل بالماء وتجفف وتفحص بالعدسة الزيتية.

١٠-لصبغ بطريقة ماكيو فيللي :

تتكون من :

١- محلول الفوكسين الفينولي الممدد بالماء المقطر١: ١٠.

٢-حمض الخل٥.٠% .

٣-أزرق الميتيلين القاعدي للوفلر.

طريقة التلوين :

١- تحضر اللطاخة وتجفف وتثبت باللهب.

٢- تغمر اللطاخة بالفوكسين الفينولي الممدد وتترك لمدة ١٥ دقيقة.

٣- تغسل الشريحة بالماء.

٤- تغمر اللطاخة بحمض الخل لمدة ١٠ ثوان لازالة اللون وتغسل بالماء.

٥- تغمر اللطاخة بأزرق الميتيلين للوفلر لمدة ٢ دقيقة.

٦- تغسل بالماء وتجفف وتفحص بالعدسة الزيتية.

تستخدم هذه الطريقة لتلوين البروسيلا حيث تظهر بلون وردي والجراثيم المصاحبة بلون أزرق

وأيضاً لتلوين الريكتيسيا والمتدثرات التي تتلون بلون أحمر وان ازدادت المدة الزمنية لحمض الخل تتلون باللون الأزرق.

الجلسة العاشرة

الاختبارات الكيمياحيوية

لاتكفي الفحوص المجهرية أو المزرعية للجراثيم إلى التوصل إلى ماهيتها بدقـــة، لذلك غالباً مايُلجأ إلى إجراء عديد من الاختبارات الكيمياحيويـــة بهـــدف دراســـة فعاليات وظيفية متعددة التي يمكن أن تختلف من جرثوم إلى آخر.

وفيما يلي نذكر بعضاً من هذه الاختبارات :

١- اختبار تخمر السكاكر:

يجري اختبار تخمر السكاكر للتعرف على مدى مقدرة الجرثوم علـــى تخمـــير السكاكر وفيما إذا كان ذلك يترافق مع انطلاق غاز أو دونه(معظم الجراثيم قـــادرة على تخمير الكثير من أنواع السكاكر مع انطلاق غازات أو دونها وتعد المطثية الكزازية من الجراثيم التي لاتخمر السكاكر). لهذا الغرض تستخدم بيئات سائلة مثل الماء الببتونية والتي يضاف لهذا السكر المراد اختباره (غلوكوز، مالتوز، سكروز، لاكتوز ،....) بنسبة (٠.٥ – ١) وللبرهان على انطلاق الغاز يوضع في الأنبوب الحاوي على البيئة السائلة أنبوب صغير

(بطول ٢٠ – ٣٠مم وحتى ٥٠ مم وعرض ٧ – ١٠ مم) يغمس فيـــه بشـــكل مقلوب يدعى بأنبوب درهم، وبعد الزرع والتحصين يتم الكشف عن تكون الحمض وتخمر السكر بوساطة الكاشف الموجود في البيئة السائلة والي ينقلب لونه حسب نوعه نتيجة تغير تفاعل الوسط من القلوي إلى الحامضي، وعند انطلاق الغاز فإنه يتجمع في أنبوب درهم فيطفو الأنبوب إلى الأعلى (العصيات القولونية تخمر سكر الغلوكوز مع انطلاق غاز).

والجدول(٢) يوضح أنواع الكواشف المستخدمة في البيئات الجرثومية.

نوع الكاشف	درجة الباهاء PH	اللون	درجة الباهاء PH	اللون
التيمول الأزرق	١.٢	أحمر	٢.٨	أصفر
الميتيل البرتقالي	٣	برتقالي	٤.٤	أصفر
أحمر الميتيل	٤.٢	أحمر	٦.٣	أصفر
بروم الكريزول الأرجواني	٥.٤	أصفر	٨	أرجواني
عباد الشمس	٦	أحمر	٨	أزرق
بروم الثيمول الأزرق	٦.١	أصفر	٧.٧	أزرق
الأحمر المتعادل	٦.٨	أحمر	٨	أصفر
أحمر الفينول	٦.٩	أصفر	٨.٥	أحمر

الجدول(٢) أنواع الكواشف في البيئات الجرثومية

وفيما يلي نذكر طريقة تحضير بعض هذه الكواشف :

آ – كاشف بروم الكريزول الأرجواني :

تحل كمية ٠.١ غ من دي بروم كريزول سلفو فتالين نظامي في (٩.٢ مل) من محلول ماءات الصوديوم (٢.،. نظامي)ثم يمدد المحلول بالماء المقطر حتى (٢٥٠ مل).

ب – بروم التيمول الأزرق :

تحل كمية (٠.١ غ) دي بروم تيمول سلفوفتالين في (٨ مل) من محلول ماءات الصوديوم (٠,٠٢) نظامي ومن ثم يمدد المحلول بالماء المقطر حتى حجم (٢٥٠ مل).

ج - أحمر المثيل :

يحل (١، ٠ غ) من ٤-دي ميتيل أمينـو آزو بـنزول-٤سـلفونات في (٣٠٠ مل) كحول إيتيلي (٩٦ %) ثم يضاف إليه (٢٠٠ مل) من الماء المقطر.

د – أحمر الفينول :

في(١٤.١مل) من محلول ماءات الصوديوم فينول سلفو فتالين يحل (٠.١ غ) من ثم يمدد المحلول بالماء المقطر حتى حجم (٢٥٠ مل) ٠.٢،.نظامي .

٢– إختبار أحمر الميتيل :

يستخدم هذا الاختبار للبرهان فيما إذا كان الجرثوم قادراً على تخمير سكر الغلوكوز في البيئة الحاوية عليه حيث يؤدي أيضاً إلى انخفاض درجة الباهاء إلى مادون (٤.٤) فيتغير لون الكاشف إلى الأحمر في الحالة الايجابية .

طريقة الإختبار : يزرع الجراثيم في (٤ مل) من وسط كلارك ولوبس أو في (٥ مل) من مرق لمدة (٢ – ٥ أيام)، أحمر الميتيل – فوجس بروسـكاور – ثم يحضـن بدرجة الحرارة (٣٧ م) بعدها يضاف عدة نقاط (٤ – ٥ نقاط) من كاشف أحمر الميتيل، يدل تلوين المنبت (البيئة) باللون الأحمر على تفاعـل إيجـابي (المكـورات العنقودية الذهبية)، أما بقاء اللون أصفراً فيدل على تفاعل سلبي.

- طريقة تحضير وسط كلارك – لوبس :

يتركب الوسط من (٧ غ) بيتون و (٥ غ) غلوكوز و (٥ غ) ثنائي فوسـفات البوتاسيوم وليتر ماء مقطر.

تحل هذه الكميات في الماء المقطر ثم تُعبأ في أنابيب (٤ مل / أنبـوب) ثم تعقـم في الموصدة مدة (١٠) دقائق عند الدرجة (١٢١).

- طريقة تحضير كاشف أحمر الميتيل :

يحل (٠.١ غ) من مسحوق أحمر الميتيل في (٣٠٠ مل) كحول إيتيلي (٩٦ %) ثم يمدد بالماء المقطر حتى يصبح الحجم (٥٠٠ مل).

٣ – اختبار فوجس – بروسكار :

تشكل بعض الجراثيم أثناء تخميرها لسكر الغلوكوز مادة تدعى أسيتيل ميتيل كاربينول والتي يتشكل منها نتيجة عمليات الأكسدة مادة أخرى تدعى دي أسيتيل هذه المـادة الأخيرة تؤدي بوجود آثار من الكرياتين إلى تشكل مركب أحمر اللون، وهذا التفاعل اللوني يمكن إظهاره في الأوساط القلوية بشكل جيد عند إضافة الكرياتين أو الفانافتول.

طريقة الاختبار : يجري الاختبار في الوسط نفسه المستخدم لاختبار الميتيل حيث يزرع الجرثوم في (٢ – ٣ مل) من البيئة، ثم يحضن عند الدرجة (٣٧ م) مدة (٤٨ ساعة)ثم يضاف له كاشف باريت الذي يتألف من المحلولين التاليين :

١ – محلول ألفانافتول (٦ %) في الكحول الإيتيلي المطلق

٢ – محلول ماءات البوتاسيوم بتركيز (٤٠ %).

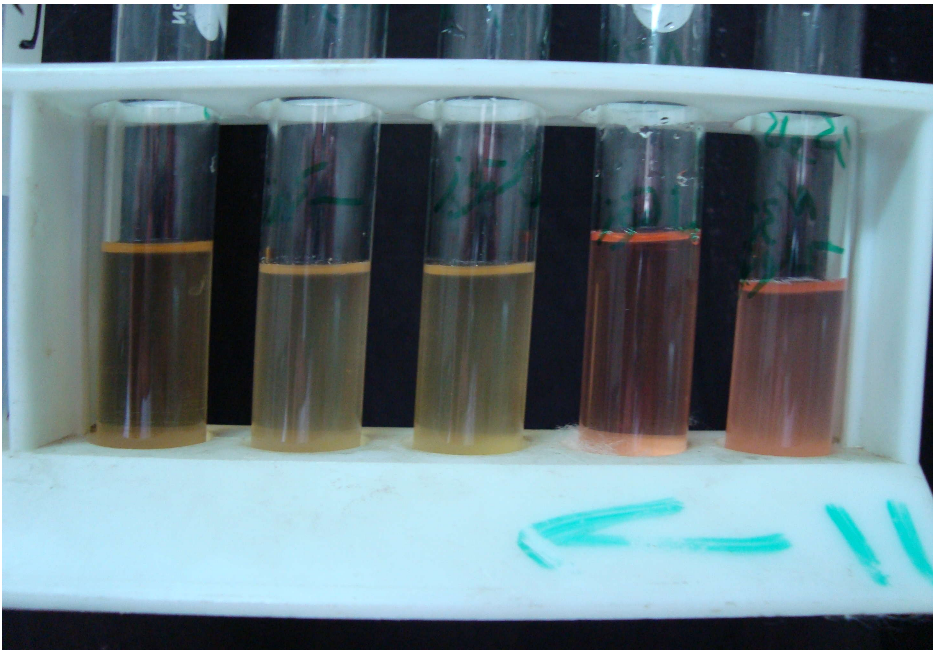
حيث يضاف إلى كل (٣ مل)من الوسط (١مل) من المحلول الأول و(٠.٤ مل) من المحلول الثاني.

النتيجة :

في الحالة الإيجابية يلاحظ تلون الوسط باللون الأحمر الأيوزيني بعد مرور (٥ – ١٠ دقائق)، وهناك من ينصح باستخدام كاشف (أوميرا) الذي يضاف بمعدل (٢مل)كاشف إلى(٢مل) من البيئة، ويتم تحضير الكاشف على الشكل التالي :

يحل (٤٠ غ) من ماءات البوتاسيوم و (٠.٣ غ) كرياتين في (١٠٠ مل) ماء مقطر. بعد إضافة الكاشف إلى البيئة المزروعة والمحضنة، يرج الأنبوب لمدة دقيقة وتقرأ النتيجة.

في الحالة الإيجابية يلاحظ تلون الوسط باللون الأحمر الزهري (الشكل رقم ١١) أما إذا لم يتغير اللون فيترك الوسط لمدة (١٥ دقيقة) ثم يرج لمدة دقيقة أخرى وتقرأ النتيجة.



الشكل رقم (١٢)

تكرر هذه العملية حتى انقضاء أربع ساعات من الزمن، فإذا لم يتغير اللون بعد مرور هذا الزمن عندها تعد النتيجة سلبية.

مثال: المطثية الكزازية والعصوية الجمرية والكليبسيلا ايجابية،السالمونيلا والعصية القولونية سلبية.

٤ - اختبار حلمهة اليوريا :

تمتلك بعض الجراثيم خميرة اليورياز والتي تستطيع من خلالها تفكيك اليوريا (البولة) الموجودة في الوسط مشكلة كربونات الأمونيوم التي تزيد من قلوية الوسط فيتغير لون لكاشف (أحمر الفينول) الموجود في الوسط من الأصفر إلى الأحمر.لإجراء هذا الاختبار يستخدم منبت آجار اليوريا للعالم كريستنزن، والذي يتركب من :

(١ غ) بيتون، (١ غ) ديسكتروز، (٥ غ) كلوريد الصوديوم، (٢ غ) فوسفات البوتسيوم الأحادي، (٦ مل) محلول احمر الفينول (٠.٢ % أحمر الفينول يحل في كحول إيتلي ٥٠%)، (٢٠ غ) آجار – آجار، ليتر ماء مقطر.) تضبط درجة الباهاء(PH) على (٦.٨) ثم يعقم الوسط مدة (١٥ دقيقة) عند الدرجة(١٢١ م) ويترك ليبرد حتى الدرجة (٥٠ – ٥٥ م) ثم يضاف له محلول اليوريا المركز والمعقم بالترشيح، حيث تكون نسبة تركيز اليوريا في الوسط (٢%) يصب الوسط في أنابيب وبشكل مائل ويترك حتى يتصلب يزرع الجرثوم بشكل كثيف على السطح المائل، ثم يحضن الوسط في ناظم الحرارة عند الدرجة (٣٧ م) مدة (٢٤– ٤٨ ساعة) ثم تقرأ النتيجة:

التفاعل إيجابي : لون المنبت يصبح أحمر (المتفطرة السلية،الزائفة الزنجارية،البروسيلا،المتقلبة).

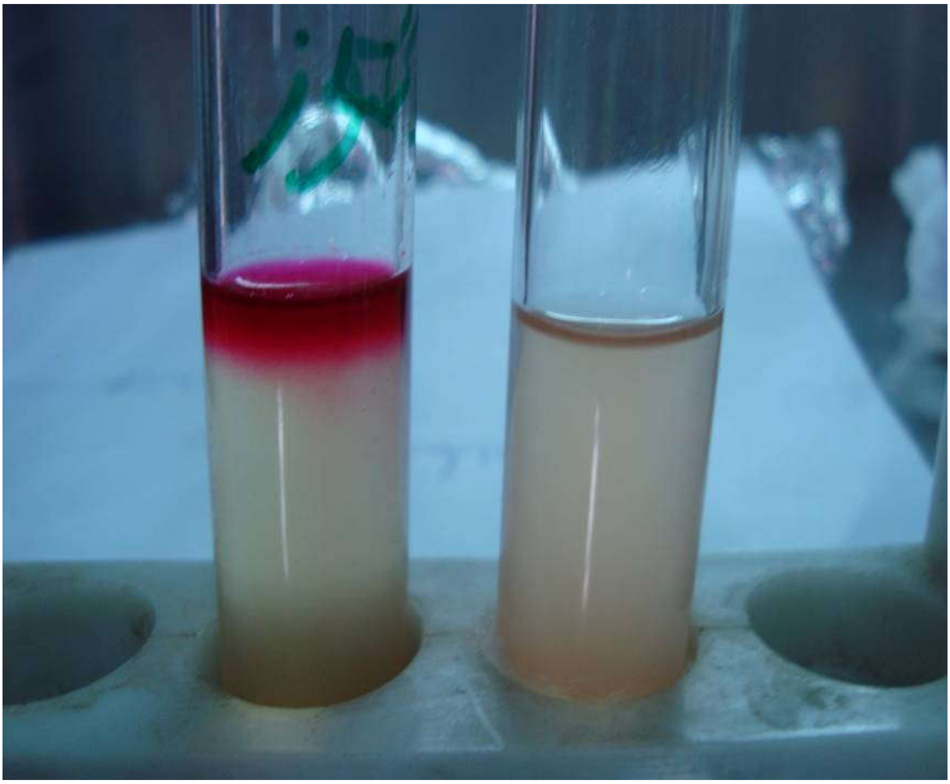
التفاعل سلبي : لون المنبت يبقى أصفر(العصوية الجمرية،السامونيلا،العصية القولونية).

٥ – اختبار انطلاق الإندول :

تشكل العديد من الجراثيم عند تمثيلها للحمض الأميني تريبتوفان الإندول وللبرهان على انطلاق الإندول تستخدم عادة الماء الببتونية، حيث يزرع

الجرثوم فيها ثم يحضن عند الدرجة (٣٧ م) مدة (٢٤ – ٤٨ ساعة)، بعدها يضاف(٠.٥ مل) من كاشف كوفاك وتلاحظ النتيجة.التفاعل إيجابي وتشكل الإندول : إذا ظهرت حلقة حمراء على سطح الماء الببتونية (الشكل رقم ١٣) (البروسيلا،العصية القولونية)

التفاعل سلبي والإندول لم يتشكل : عند ظهور حلقة صفراء بلون الكاشف على السطح(العصوية الجمرية، السالمونيلا،الليستيريا،الزائفة الزنجارية).



الشكل رقم (١٣)

طريقة تحضير كاشف كوفاك :

(١٥٠ مل) كحول أميلي ،(١٠ غ) بارا دي ميتيل أمينو بنزألدهيد، (٥٠ مل) حمض كلور الماء المركز النقي. يحل الألدهيد في الكحول ثم يضاف الحمض ببطء.

٦ – اختبار تمييع الجيلاتين :

تستطيع العديد من الجراثيم تمييع الجيلاتين نظراً لاحتوائها على خميرة الجيلاتيناز، وللبرهان هذه الخميرة تستخدم بيئة الجيلاتين التي تتركب من :

(٣ غ) خميرة لحم، (٥ غ) بيتون، (١٢٠ غ) جيلاتين، ليتر ماء مقطر

ثم تعبأ هذه البيئة في أنابيب بكمية (٤ مل / أنبوب)، ثم يعقم لمدة / ١٢ دقيقة / يزرع الجرثوم في البيئة بطريقة الغرز، وتحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة أقصاها (٣٠ يوماً) وتقرأ النتيجة بعد عدة فترات (٢٤ ساعة – ٤٨ ساعة – أسبوع...)،

حيث يوضع الأنبوب قبل القراءة بدرجة حرارة البراد مدة (٣٠ دقيقة وحتى ٤ ساعات).

النتيجة إيجابية : عدم تجمد الجيلاتين بعد تبريده مما يدل على تميعه(المطثية الحاطمة،الزائفة الزنجارية).

النتيجة سلبية : تجمد الجيلاتين بعد وضعه في البراد (العصيات القولونية،السالمونيلا).

٧ – اختبار الخميرة المؤكسدة (الأكسيداز) :

يعد من الإختبارات ذات القيمة التشخيصية الكبيرة عند القيام بعمليات التصنيف الجرثومي، يجرى هذا الاختبار بطرق عدة وسوف نكتفي بشرح واحدة منها. يزرع الجرثوم المراد اختباره على البيئة الصلبة المائلة الملائمة ويحضن لمدة (١٨ ساعة) يخلط حجمان من المحلول الأول مع (٣) أحجام من المحلول الكاشف الثاني من هذا المزيج تنقط عدة قطرات على المستعمرات النامية على السطح المائل للبيئة.

النتيجة : التفاعل إيجابي : ظهور لون أزرق خلال ثوان معدودة (الباستوريلا،الزائفة الزنجارية).

التفاعل سلبي : عدم ظهور لون(الليستيريا).

- المحايل المستخدمة في الإختبار :

المحلول الأول:(١ غ) ألفانافتول يحل في (١٠٠مل) كحول إيتيلي (٩٦ %)

المحلول الثاني : (١ غ) دي ميتيل – بارافينيلين ديأمين هيدرو كلوريد، يحل في (١٠٠ مل) ماء مقطر.

٨ – اختبار الخميرة المساعدة (الكاتالاز) :

يهدف هذا الاختبار إلى الكشف عن وجود هذه الخميرة عند الجرثوم التي تقوم بتفكيك الماء الأكسجيني إلى ماء و أوكسجين آ – على الشريحة الزجاجية : تنقل مستعمرة جرثومية من البيئة وتوضع على شريحة زجاجية ثم ينقط عليها قطرة من محلول الماء الأوكسجيني بتركيز ٣٠% محضر بشكل طازج ثم تمزج. في الحالة الإيجابية

تتشكل رغوة مباشرة عند المزج أو انطلاق فقاعات الأوكسجين (المتفطرة السلية،العصيات الوتدية الغنمية،الليستيريا، الباستوريلا،المكورات العنقودية)

ب – على الطبق : هنا يصب (١ مل) من محلول الماء الأوكسجيني بتركيز (٣ %) على المستعمرات النامية على سطح البيئة، في الحالة الإيجابية يلاحظ تشكل شديد للفقاعات الهوائية، أما في الحالة السلبية فلا يلاحظ ذلك أو يلاحظ تشكل فقاعات منفردة(العصيات الوتدية القيحية،المكورات العقدية).

٩ – اختبار النمو على منبت السترات لسيمون :

تتمتع بعض الجرائيم بمقدرتها على تفكيك السترات واستخلاص الكربون منهما وبالتالي النمو في البيئة الحاوية على السترات (الشكل رقم ١٤).

الشكل رقم (١٤)

يستخدم لإجراء الاختبار بيئة السترات الصلبة المائلة، حيث يزرع الجرثوم على السطح المائل ثم يحضن عند الدرجة (٣٧ م) لمدة (٢٤ ساعة).

النتيجة: الجراثيم التي تفكك السترات تنمو محولة تفاعل الوسط إلى قلوي فيتحول لون الكاشف (بروم الثيمول الأزرق) من الأخضر إلى الأزرق (العصوية الجمرية،السالمونيلا). أما الجراثيم التي لا تفكك السترات فإنها لاتنمو، فيبقى لون المنبت أخضر(العصيات القولونية،الشجيلا).

١٠ – اختبار إرجاع النترات :

يستطيع عديد من الجراثيم من خلال الإنظيمات التي تمتلكها إرجاع النترات إلى نتريت ، وللكشف عن هذه الخاصية يستخدم مرق النترات الذي يتركب من :

(٠.٢ غ) نترات البوتاسيوم (خالي من النتريت)، (٥ غ) ببتون، ليتر ماء مقطر.

يعبأ المحلول في أنابيب (٥ مل / أنبوب) ويعقم لمدة ١٥دقيقة بالدرجة١٢١م

حيث يزرع الجرثوم في مرق النترات، ويحضن عند الدرجة(٣٧م) لمدة (٢٤ ساعة). ثم يضاف لكل أنبوب (٠.١ مل) من ممزوج المحلول (١ و ٢)، في الحالة الإيجابية تتلون البيئة باللون الأحمر خلال عدة دقائق (المطثية الحاطمة،البروسيلا،الزائفة الزنجارية) في الحالة السلبية لايتشكل لون، هنا يعاد تحضين الأنبوب حتى مدة أقصاها أربعة أيام، إذا لم يتشكل اللون خلال هذه الفترة فتعد النتيجة سلبية حتماً(المطثية الكزازية).

المحلول الأول :(٨ غ) حمض السلفانيل يحل في ليتر حمض الخل (٥ نظامي). حمض الخل (٥ نظامي) = حجم خل ثلجي + (٢.٥)حجم ماء مقطر.

المحلول الثاني:(٥ غ) ألفا نافتيل أمين يُحل في ليتر حمض الخل (٥ نظامي).

١١ – اختبار الكشف عن إنتاج كبريد الهيدروجين : (H_2S)

توجد عدة طرق للكشف عن انطلاق غاز كبريد الهيدروجين ،والذي يتشكل من تفكك المركبات الكبريتية ،إذ يتفاعل الغاز مع المعدن الموجود في البيئة فيتشكل

كبريدالمعدن ذواللون الأسود، وتوجد طرق عدة للكشف عن إنتاج غـــاز كبريـــت الهيدروجين منها :

الطريقة الأولى :يوضع شريط من ورق ترشيح مشبع بتحت خلات الرصاص في أعلى أنبوب اختبار يحتوي على بيئة المرق المغذي أوماء الببتون المزروع بالجرثوم،ثم يحضـــن الأنبوب في الدرجة ٣٧ مئوية ولمدة ٢٤ ساعة وتقرأ النتيجة ففي حال إطلاق الجرثوم لغاز كبريت الهيدروجين، سوف يتلون الشريط باللون الأسود نتيجة تشكل كبريتات الرصاص، وفي حال عدم إطلاق هذا الغاز يبقى لون الشريط على حاله.

الطريقة الثانية : تعتمد على استخدام بيئة كليجلر والتي تسمح لنا من خلالها أيضاً بدراسة تخمرسكرالغلوكوز وسكراللاكتوز وانطلاق غاز بصورة عامة وانطلاق غاز كبريد الهيدروجين بوقت واحد. وتجدر الإشارة إلى أن لون البيئة الطبيعي يكون أحمر. الشكل رقم (١٥).

الشكل رقم (١٥)

ولإجراء الاختبار : يزرع الجرثوم المراد دراسته في القسم القائم من البيئة بطريقة الوخز وعلى السطح المائل بطريقة المسح بشكل لولبي، ثم تحضن في ناظم الحرارة عند الدرجة (٣٧ م) مدة (٢٤ ساعة) ثم تقرأ النتائج على الشكل التالي :

آ – إذا بقي اللون في أسفل الأنبوب أحمر، فمعنى ذلك أن الغلوكوز لم يتخمر أما إذا أصبح أصفر فمعنى ذلك تخمر الغلوكوز، وإذا كان الجرثوم يُطلق غازاً فسوف يلاحظ وجود فقاعات غاز أو هواء في أسفل الأنبوب، وإذا كانت كمية الغاز المنطلقة كبيرة فيلاحظ اندفاع الآجار بكامله نحو الأعلى.

ب – إذا بقي اللون في الأعلى أحمر فمعنى ذلك أن اللاكتوز لم يتخمر(السالمونيلا)، ويمكن أن يتخمر الغلوكوز واللاكتوز معاً، هنا يصبح لون الأنبوب بكامله أصفر. وإذا تخمر اللاكتوز فقط فيكون لون الأنبوب من الأعلى أصفر ومن الأسفل أحمر، أما إذا تخمر الغلوكوز فقط، فيكون لون الأنبوب من الأعلى أحمر ومن الأسفل أصفر.(الشكل رقم١٦).

الشكل رقم (١٦)

ج - إن انطلاق كبريد الهيدروجين يترافق بتلون المنبت بلون أسود وذلك في المنطقة الواقعة في منتصف الأنبوب (البروسيلا)، وإذا كان الجرثوم من النوع الذي يُطلق كميات كبيرة من هذا الغاز، فيمكن أن يتلون الأنبوب بكامله باللون الأسود.

١٢ – اختبار سيانيد البوتاسيوم (اختبار براون) :

من الاختبارات المهمة التي تستخدم بشكل خاص للتفريق بين الجراثيم المعوية (الأمعائيات) وتعتمد على مبدأ قدرة الجرثوم على النمو أو تثبيط هذا النمو بوجود مادة سيانيد البوتاسيوم.

يستخدم لإجراء هذا الاختبار بيئة كوستين الذي يتركب من :

(٠.٣ غ) بتون، (٠.٥ غ) كلوريد الصوديوم، (٠.٢٣ غ) فوسفات البوتاسيوم الأحادية، (٠.٥٦ غ) فوسفات الصوديوم الثنائية، (١٠٠مل) ماء مقطر.

تحل المواد السابقة وتضبط درجة الباهاء(PH)على (٧.٦) وتعقم بالموصدة (١٥ دقيقةبالدرجة ١٢١ مئوية ويترك ليبردحتى درجة حرارة الغرفة ثم يضاف له(١.٥ مل) من محلول سيانيد البوتاسيوم ويمزج جيداً.

(محلول سيانيد البوتاسيوم = ٠.٥ غ سيانيد بوتاسيوم تحل في ١٠٠ مل ماء مقطر معقم) تعبأ البيئةفي أنابيب بسعة (١ مل) وتغلق بإحكام شديد.

<u>طريقة إجراء الاختبار</u> : يزرع الجرثوم المراد اختباره أولاً في أحد البيئات السائلة الملائمة أو الصلبة ويحضن على الدرجة ٣٧ ^{o}م مدة (١٨ ساعة)، ثم يؤخذ ملء عروة إبرة من هذا المزروع أنفاً ويزرع في الأنابيب الحاوية على بيئة كوستين مع محلول سيانيد البوتاسيوم، يحضن عند الدرجة (٣٧ ^{o}م) مدة (٢٤ – ٤٨ ساعة). وتحضن عند درجة الحرارة (٣٧ ^{o}م)

النتيجة : تفاعل إيجابي : يلاحظ تعكر البيئة المزروعة (المتقلبة).

تفاعل سلبي : تبقى البيئة المزروعة رائقةً(السالمونيلا،العصيات القولونية،الشيجيلا).

١٣ – اختبار الخميرة المخثرة :

تستطيع أنواع معينة من الجراثيم وعلى رأسها المكورات العنقودية الذهبيـــة أن تخثـــر بلازما الدم (المصورة) البشرية أو الأرنبية.

يجري هذا الاختبار إما في الأنابيب أو على الشريحة الزجاجية:

آ – في الأنابيب : يوضع (٠.٥ مل) من بلاسما أرنب أو إنسان ممـــددة في الملـــح الفسيولوجي بنسبة (١: ١٠) أو دون تمديد في أنبوب اختبار، ثم يضاف له ملء عروة إبرة الزرع من مزروع الجرثوم م) يفضل في حمام مائي لمـــدة ٢٤ ســـاعة المـــراد اختباره، يحضن الأنبوب عند الدرجة (٣٧ °م) وتقرأ النتيجة كل ساعة :

في الحالة الإيجابية يلاحظ تخثر البلازما والتي تظهر على شكل كتلة هلامية صلبة بعد أن كانت سائلة.

ب – على الشريحة : توضع قطرة من البلازما على شريحة زجاجية، ثم يؤخذ مـــلء عروة إبرة الزرع من مزروع الجرثوم، يخلط المزيج جيداً.

في الحالة الإيجابية: يلاحظ ظهورخثرات ثوان معدودة (المكورات العنقودية الذهبية).

في الحالة السلبية : يبقى المزروع متجانساً ويظهر على شكل تعكير متجانس حليبي المظهر(المكورات العنقودية الرمية والجلدية).

الجلسة الحادية عشرة

الاختبارات المصليــــــــــة

تستخدم الاختبارات التشخيصية المصلية إما من أجل البرهان المباشــر علــى العامل المسبب للمرض (جرثوم، حمة...) أو من أجل البرهان غير المباشــر عليــه وذلك من خلال الكشف عن الأضداد النوعية التي تتشكل في المصل نتيجة الإصــابة بهذا العامل المسبب، ولإجراء الاختبارات المصلية لابد من أن يكون أحــد عنصــري التفاعل معروفاً لدينا مسبقاً (المستضد أو الضد).

وسوف نتعرض بالبحث لبعض الاختبارات المصلية.

١ – اختبارات الترسيب :

تستخدم هذه الاختبارات للكشف عن المستضدات وتحديد هويتــها في العينــات أو المزارع الجرثومية، أولتحديد كمية الأضداد الموجودة في المصل.

مبدأ الاختبار : في هذا الاختبار تكون المستضدات والأضداد بحالة ذوابــة في وســط التفاعل، وعند اتحادهما يتشكل معقد مناعي يمكن رؤيته بالعين المجردة ولهذا الاختبار العديد من الطرق نذكر منها :

١- اختبار الترسيب في الأنبوب.

٢- اختبار الانتشار في الهلام.

٣- اختبار الرحلان الكهربائي المناعي.

آ –اختبار الترسيب في الأنبوب- اختبارالترسيب الحراري (اختبــار أســكولي) : يستخدم هذا الاختبار للبرهان على مستضدات العصوية الجمرية سواءً في الأعضاء و الانسجة أو في الجثث النافقة والأصواف والأشعار والجلود.

– طريقة تحضير الرشاحة الحاوية على المستضد من أجل الاختبار : تحضر الرشاحة من الأعضاء والأنسجة أو من الجلد والشعر والصوف عند الحيوان النافق، حيث يؤخذ (

١٠ – ٢٠)غرام من العينة المراد اختبارها ثم تفتت إلى قطع صغيرة ثم يضاف لها (٥ – ١٠) أضعاف حجمها ملح فسيولوجي وتغلى مـــدة (١٠ – ٢٠ د)، ثم تـــبرد وترشح عبر ورق ترشيح وتؤخذ الرشاحة، أما عينات الجلود والصوف فيؤخذ منـــها حوالي (١٠ غ) ثم تقص بوساطة المقص إلى قطع صغيرة ويضاف لها (٥ – ١٠) أضعاف حجمها ملح فسيولوجي فينولي بتركيز (٠,٥ %) ثم توضع في البراد لمدة (١٨ – ٢٤ ساعة) وبعدها ترشح وتؤخذ الرشاحة.

– طريقة إجراء الاختبار : يوضع في أنبوب ترسيب صغير ثلاث نقاط مـــن المصـــل النوعي للعصوية الجمرية ثم يضاف له الكمية نفسها من الرشاحة المراد اختبارها،وتترك لمدة عشر دقائق بدرجة حرارة الغرفة.

في الحالةالإيجابية يلاحظ تكون حلقة ترسيب بين المصل والرشاحة.

ب – اختبار الترسيب في الآجار الهلامي (اختبار أخترلوني) : يستخدم هذا الاختبار بشكل واسع في مجال التشخيص الجرثومي، والحموي وذلك للبرهان على المستضدات أو الأضداد.

– طريقة إجراء الاختبار : يصب الآجار بسماكة (٣ مل) تقريباً في أطباق بتـــري (تركيز الآجار يتراوح بين ٠,٧ – ١٠ %)، بعدها وبواسطة آلة خاصة يتم تثقيـــب الآجار، حيث يكون البعد بين الثقب والآخر حوالي (٤ مم) وقطر الثقب الواحـــد يتراوح بين (٥ –٧ مم)، ثم يتم تفريغ هذه الثقوب من الاجار، يوضع في الثقـــب المركزي في معظم الأحيان عنصر التفاعل المعلوم أما في الثقوب المحيطية فيوضع عنصر التفاعل المراد البرهان عليه (أضداد أو مستضدات) وكذلك شواهد الاختبار الإيجابية والسلبية.

في الحالة الإيجابية يتشكل خط ترسيب واضح للعين المجردة في نقطة التقاء المستضد مع الضد النوعي له، وهذه الخطوط الترسيبية تظهربعد تحضين الأطباق لمدة (٨ ساعات) أو بدرجة حرارة الغرفة. (٣ أيام) عند الدرجة (٣٧ ^{o}م).

ملاحظة : يمكن إجراء الإختبار بالطريقة نفسها على الشريحة الزجاجية.

٢ – اختبار التراص :

مبدأ الاختبار : يعتمد هذا الاختبار على مبدأ تجمع والتصاق المستضدات ذات البنية الجسمية (جراثيم، كريات دم حمراء.) عند تفاعلها مع الأضداد(الراصات) النوعية لها.

ولحدوث التراص يجب أن يتواجد المستضد بكميات معينة، لذلك عند إجراء الاختبار تمدد دوماً الأضداد بينما تضاف المستضدات بكميات ثابتة. يجري اختبار التراص إما على الشريحة الزجاجية أو في الأنابيب:

آ – اختبار التراص على الشريحة الزجاجية:

١-**الاختبار المباشر**: توضع على الشريحة الزجاجية نقطة من المصل المعروف مسبقاً ثم تضاف له نقطة من المستضد المراد معرفة هويته ،ثم يمزج بشكل جيد، في الحالة الإيجابية يلاحظ ظهور كتل ندفية أوحبيبية (تراص المستضد) هذه الطريقة السريعة من اختبار التراص والتي تهدف إلى الكشف عن المستضدات مجهولة الهوية باستخدام أضداد معروفة تستخدم على نطاق واسع في مجال التشخيص الجرثومي للسلمونيلات.

٢- **الاختبار غير المباشر** :ويسمى أيضاً التراص المشارك أو المتعاون ويستخدم في الكشف عن العوامل الممرضة بشكل نوعي وفعال مثل الكشف عن المستضد vi للسالمونيلا والكشف عن المكورات السبحية القيحية والمكورات الرئوية،حيث يتم لصق الأضداد النوعيةأو المستضدات المعلومة إلى جزيئات حاملة أو خلايا تساعدعلى إظهار التراص وليس لها أي دورفي عمليةالتراص،فعندما ترتبط الأضداد المعلومة مع المستضدات الموافقة لها تتشكل كتلة تراص مرئية

وواضحة. ومن المواد الحاملة :

آ-جزيئات **اللاتكس** وهي مصنوعة من مادة البولي ستيرين على شكل حبيبات صغيرة.

ب-جزيئات الكربون.

ج- سلالات العنقوديات المثبتة :حيث تنتج العنقوديـــــات مادة بروتينية تـــدعى البروتين آ التي يمكن أن ترتبط بالأضداد وذلك بعد قتل المكورات العنقوديـــة.

بـــ – **اختبار التراص في الأنابيب** : يستخدم هذا الاختبارللبرهان على الأضــــداد النوعية في الدم والحليب والنطاف وذلك عند تشخيص الإصـــــابة بالعديد مـــن الأمراض (بروسيلة مثلاً).

– طريقة إجراء الاختبار:

آ – تحضير الأمصال :

-عينة الدم : تثفل عينة الدم لمدة (١٥ د) على سرعة دوران (٢٠٠٠ د / د) ثم يؤخذ المصل ويحفظ ريثما يتم استخدامه عند الدرجة (- ٢٠ م).

– عينة الحليب : تثفل عينة الحليب، ثم تزال القشدة، يعامل الحليب بأحد محضرات المنفحة حيث يلاحظ تخثر الحليب وترسبه، ويبقى مصل الحليب طافياً. (٤٥ – ٦٠ دقيقة عند الدرجة ٣٧ م).

ب – تنفيذ الاختبار : تحضر تمديدات متناقصة من المصل في أنابيب اختبار مثلاً (١ : ١٠، ١ : ٢٠، ١ : ٤٠، ١ : ٨٠)، وذلك بوساطة الملح الفسيولوجي مـــثلاً ثم يضاف إلى هذه التمديدات كميات ثابتة من المستضد المعروف، وتحضن الأنابيـــب مدة (١٨ – ٢٤ ساعة) عند الدرجة (٣٧ م) ثم تقرأ النتائج على الشكل التالي :

+ + + + = السائل رائق بنسبة ١٠٠ % وجزيئات المستضد تتوضـــع في القعـــر بشكل غير منتظم. + + + = السائل رائق بنسبة ٧٥ % وجزيئـــات المستضـــد تتوضع في القعر بشكل غير منتظم. + + = السائل رائق بنسبة ٥٠ % وجزيئات المستضد تتوضع في القعر بشكل غير منتظم. + = السائل رائـــق بنســـبة ٢٥ % وجزيئات المستضد تتوضع في القعر بشكل غير منتظم. - = السائل عكـــر تمامـــاً والمستضد يتوضع في قعر الأنبوب على شكل الزر، في هذا الاختبـــار يلاحـــظ أن

درجة التراص تتناقص كلما ازداد معدل تمديد المصل وذلك حتى تنعدم نهائياً (أي لايوجد تراص)، لذلك فإن المعيار النهائي للمصل (الأضداد) هو آخر تمديد (آخر أنبوب) أعطى تراصاً واضحاً، أي أقل كمية من الأضداد (أعلى تمديد للمصل) أدت إلى حدوث تراص واضح للمستضد.

٣ – اختبار تثبيت المتممة :

يستخدم هذا الاختبار لتشخيص العديد من الأمراض الجرثومية والحموية بروسيلة، حمى قلاعية... ويعتمد هذا الاختبار على وجود جهازين للتفاعل وهما :

آ – الجهاز الجرثومي ويتركب من : المستضدات، الأضداد الموجودة في المصل المُختبر.

ب – جهاز التحليل الدموي (المشعر) ويتركب من : كريات دم + مصل مضاد لهذه الكريات (يحضر بحقن كريات الدم الحمراء الغنمية في الأرانب) ويدعى الهيموليزين. إن الأضداد الموجودة في كلا الجهازين لايمكنها أن تتفاعل مع المستضدات إلا بوجود المتممة، والتي يتم الحصول عليها من مصل دم خترير غينيا (القبيعات).

طريقة إجراء الاختبار : يجري الاختبار على مرحلتين :

المرحلة الأولى : يعامل المصل المراد اختباره بالتسخين عند الدرجة (٥٦م)

لمدة (٣٠ دقيقة) لاتلاف المتممة ثم تحضر تمديدات منه مثلاً (١ : ٤، ١ : ٨، ١ : ١٦) أو (١ :٥، ١ : ١٠، ١ : ٢٠) وهكذا، ثم يضاف له محلول المستضد والمتممة بتمديد العمل الثابت والمعروف مُسبقاً، ثم تحضن الأنابيب عند الدرجة (٣٧ م) في حمام مائي (مدة التحضين تختلف حسب نوع المرض المشتبه به) و بعد الانتهاء من التحضين ونظراً لأن نتيجة التفاعل غير مرئية بالعين المجردة لذلك يستخدم جهاز التحلل الدموي ككاشف لحدوث التفاعل أو عدمه (المرحلة الثانية)

المرحلة الثانية : يضاف جهاز التحلل الدموي إلى الجهاز الأول ثم تحضن الأنابيب ثانية عند الدرجة (٣٧ م)، وتقرأ النتيجة بعد ذلك على النحو التالي.

- تفاعل إيجابي : لايوجد تحلل دموي، وهذا يعني أن الأضداد في الجهاز الجرثـومي كانت نوعية وارتبطت مع المستضدات بمساعدة المتممة لذلك فإن الهيموليزين لم يحلل كريات الدم الحمراء لحاجته إلى المتممة، التي استهلكت في التفاعل الأول، هنا يلاحظ بأن السائل العلوي في الأنبوب يبقى رائقاً وتترسب الكريات الحمراء في قعر الأنبوب.

– تفاعل سلبي : يوجد تحلل دموي، وهذا يعني أن الأضداد في الجهاز الجرثـومي لم تكن نوعية للمستضدات وبالتالي بقيت المتممة حرة، وعند إضافة جهـاز التحليـل الدموي استطاع الهيموليزين بمساعدة هذه المتممة تحليل كريات الدم الحمراء الغنيـة، هناك يلاحظ أن السائل في الأنبوب يتلون بلون أحمر متجانس .

٤ – اختبار التعادل :

يستخدم هذا الاختبار للبرهان إما على المستضدات أو للبرهان على الأضداد النوعية، وذلـك مـن أجـل تشـخيص عديـد مـن الأمـراض الحمويـة والجرثوميـة (الحمى القلاعية، الكلب، الكزاز...)، ويعتمد هذا الاختبار في مبدئه على معادلـة الخواص الممرضة للعديد من مسببات الأمراض أو منتجاتها (ذيفانات مثلاً) بوساطة الأضداد النوعية لها، ويتم الاختبار على مرحلتين :

في المرحلة الأولى والتي تتم في الأنبوب تضـاف المستضـدات (حمـات،جـراثيم، ذيفانات..) إلى الأضداد (مصل الدم) حتى يتم التفاعل بينها.وتترك لفترة من الزمن بدرجة حرارة الغرفة أو عند الدرجة (٣٧ م).

ونظراً لأن التفاعل لايرى بالعين المجردة يتم اللجوء إلى المرحلة الثانية من الاختبار والتي تتضمن حقن هذا المزيج في مجموعة حيوية حساسة للمستضدات الداخلة في التفاعل (مزارع خلوية، جنين بيض الدجاج، حيوانات مخبرية)، ففي الحالة الإيجابية أي عنـد وجود أضداد معادلة نوعية عادلت المستضد الممرض، لن تشاهد أي تغيرات مرضـية

في المجموعة الحيوية الحساسة (مثلاً لاتوجد تغيرات مرضية خلوية في المزارع الخلوية المحقونةأوفي جنين بيض الدجاج، عدم إصابة أو نفوق حيوان التجربة).

٥ – اختبار التألق المناعي :

يعتمد هذا الاختبار على استخدام بعض الملونات المتألقة التي تتحد مع الأضداد دون أن تؤثر على نوعيتها وعلى قدرتها المناعية، وهذه الملونات مشتقة من الفلوريسين، مثل : الفلوريسين إيزوثيوسيانات التي تعطي تألقاً أخضر، فاتحاً ، لماعاً بالأشعة فوق البنفسجية، أو مشتقة من الرودامين (ب) الذي يعطي تألقاً برتقالياً بالأشعة فوق البنفسجية.

ويجري هذا الاختبار بشكل مباشر أو غير مباشر.

آ – الاختبار المباشر : يهدف هذا الاختبار إلى البرهان على المستضدات في العينات والأنسجة المصابة، حيث يتم تحضير مسحات من هذه العينات على شرائح زجاجية ثم تثبت بالأسيتون بعد ذلك تُغسل بمحلول الفوسفات الملحي وتجفف ثم يغطى المحضربالأضداد الموسومة مدة (٣٠ – ٤٥ دقيقة)، بعدها يُغسل المحضر جيداً° بالمادة المتألقة ويحضن عند الدرجة (٣٧ م) بالمحلول الفوسفاتي الملحي ثم بالماء المقطر ويُترك ليجف، نغطي المحضر بساترة زجاجية بعد أن نضع عليه قطرة من محلول الجليسرين والملح الفوسفاتي ثم نفحص المحضر بالمجهر المتألق المُجهز بالأشعة فوق البنفسجية، فإذا حصل اتحاد بين الأضداد والمستضدات فإن المركب الناتج سيعطي تألقاً عند فحصه بالمجهر المتألق.

ب – الاختبار غير المباشر : ويستخدم للكشف عن الأضداد المجهولة الهوية في مصل الدم، هنا يضاف مصل الدم المراد اختباره إلى محضر المستضد المعروف والمُثبت مسبقاً على شريحة زجاجية، م) مدة (٣٠ – ٤٥ دقيقة)، بعدها يُغسل المحضر كما سبق شرحه ثم يُحضن المزيج عند الدرجة (٣٧ م، ويُضاف إليه بعد ذلك مصل مضاد

للمصل المراد اختباره وموسوم بالمادة المتألقة، ثم يُحضن المحضر من جديد، وتُطبق المراحل نفسها كما في الاختبار السابق.

النتيجة : إذا كان هناك توافق بين المستضدات والأضداد المجهولة الموجودة في المصل فسوف يحصل اتحاد بينهما في المرحلة الأولى من التفاعل وعند إضافة المصل المضاد الموسوم فإن هذه الأضداد الأخيرة سوف تتحد مع الأضداد المجهولة وسوف تؤدي إلى ظهور تألق عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية، وبهذه الطريقة فإن الغلوبيولين المناعي المكون للأضداد المجهولة في المرحلة الأولى يلعب دور الأضداد، وفي المرحلة الثانية دور المستضدات.

٦-اختبار الأنزيم المرتبط (الأليزا) :

وهو يعمل على تحديد المسبب الجرثومي والحموي بشكل دقيق عن طريق استعمال أضداد موسومة بالأنظيمات حيث إنه عندما يتفاعل هذا الأنظيم مع الركيزة الخاصة به يتغير لون وسط التفاعل حيث إن مقدار تغير اللون يتناسب (طرداً أوعكساً) مع تركيز المادة المختبرة.

٧- اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد (PCR) :

ويعمل على كشف الجينات المشفرة لكل نوع جرثومي أو حمّوي من خلال تحديد تسلسل الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب الـ RNA الرسول بواسطة أنزيم البوليميراز عن طريق الشيفرة الوراثية للـ DNA التي توجد في كل خلية، وبواسطتها نستطيع أن نفرق بين خلية وأخرى أو عترة وأخرى ، ويستخدم في مجال التصنيف الجرثومي والحموي وتصنيف العترات بشكل دقيق،إضافةً الى استخدامه في مجالات علمية واسعة، مثل اختبار تطابق الحمض النووي لخلايا مجهولة الهوية مع أخرى معلومة.

الجلسة الثانية عشرة

الاختبارات الحيوية (حقن حيوانات التجارب)

إلى جانب الفحوص المجهرية والمزرعية الجرثومية التي تهدف إلى البرهان على العامل المسبب للمرض، فإن الحقن في حيوانات التجارب يُقدم إمكانية ثالثة لتحقيق هذه الغاية وبشكلٍ خاص عندما تفشل الفحوص المجهرية والمزرعية في الوصول إلى هذا الهدف.

١ – أهداف الحقن في حيوانات التجارب :

يمكن تلخيص هذه الأهداف بالنقاط التالية :

آ – تحقيق الشرط الثالث من فرضية العالم كوخ التي تنص على أنه يمكن اعتبار كائن حي دقيق ما عاملاً مسبباً لخمج معين إذا حُقن في حيوانات التجارب الحساسة وأدى إلى حدوث حالة مرضية مشابهة لحالة الخمج الطبيعي بـ – البرهان على مسببات الأمراض التي لاتنمو أو يصعب عزلها على البيئات المغذية الاصطناعية مثل (المتدثرات، الريكتيسات، الفيروسات).

ج – إكثار العامل المسبب للمرض والذي يوجد بكميات قليلة في العينات المرضية (عصيات السل مثلاً).

د – البرهان على الأخماج الحمويةمن خلال الفحوص النسيجية للبرهان على المشتملات.

هـ – العزل الانتقائي للجراثيم (للحصول على الجراثيم الممرضة بشكل نقي).

و – البرهان على الذيفانات الجرثومية (ذيفانات المكورات العنقودية، الوتديات، المطثيات، الذيفانات الداخلية للعديد من الجراثيم

ز – زيادة فوعة مسببات الأمراض.

ح – تحضير المصول المناعية والتشخيصية واللقاحات.

ط – اختبار مدى فعالية الصادات الحيوية والعقاقير الدوائية.

ي – اختبار المصول واللقاحات وتحديد الجرعة المميتة (٥٠) LD50.

ك – البرهان على تشكل الأضداد النوعية .

ل – البرهان على ردود الفعل التحسسية.

م– معايرة الحمّات وتحديد الجرعة الخمجية (٥٠) ID 50.

ن – البرهان على الأعراض السريرية والتغيرات المرضية مثل (داء الكلب، الكلب الكاذب، الجدري...).

٢- اختيار حيوان التجربة :

إن اختيار حيوان التجربة يرتبط بنوع العامل المسبب للمرض المستخدم أو المشتبه به، وتعد الحيوانات التالية الأكثر استخداماً في مجال التشخيص الجرثومي والحموي.

- الفئران : الوزن المناسب (١٦ – ٢٠)، وتُستخدم بشكل واسع عند البرهان على المكورات الرئوية، البستوريلات، العصوية الجمرية، اللاهوائيات، المُتدثرات، الحمّات، الذيفانات وتحديد الفوعة.

– القبيعات : الوزن المناسب (٢٥٠) وتستخدم بشكل خاص من أجل تشخيص الإصابة بالسل والبروسيلا والبريميات واللاهوائيات والعصوية الجمرية وأخماج الكوكسيله ومن أجل الحصول على المتممة.

– الأرانب : الوزن المناسب أكثر من (٣ كغ) وتستخدم لتشخيص الإصابة بالسل، الباستوريلا، الكلب الكاذب، مرض بورنا، الجدري، الحمى القلاعية، وللحصول على الأمصال التشخيصية. إضافةً إلى حيوانات التجربة السابقة يمكن استخدام الجرذان، القداد، الحمام، الدجاج، القطط وغيرها كحيوانات تجربة لأغراض متعددة. هذا وتُستخدم الأغنام والأرانب والدجاج بشكل رئيسي كمصدر للدم عند تحضير البيئات المغذية الدموية أو عند إجراء الاختبارات المصلية. وتجدر الإشارة إلى أن هناك بعض

مسببات الأمراض شديدة التخصص تجاه الثوي، وبالتالي لا يمكن استخدام سوى الثوي الأساسي كحيوان تجربة مثل (الأبقار عند تشخيص مرض طاعون الأبقار – الخيول عند تشخيص مرض فقر الدم المُعدي).

٣- رعاية حيوان التجربة :

يجب الإهتمام بأمور عديدة عند تربية حيوان التجربة ورعايته، هذه الأمور يمكن أن نلخصها بالنقاط التالية :

آ – يجب شراء الحيوانات المعدة للتجربة من قطعان معروفة حالتها المرضية، أي بمعنى آخر يجب أن تكون سليمة من الأمراض (نشيطة، ردود الفعل الحركية والحسية طبيعية، الحرارة والتنفس والشهية طبيعية....).

ب – يجب أن تُعزل هذه الحيوانت في أقفاص أو أوعية زجاجية خاصة، أو حظائر، وأن يكون هناك عزل جيد بين الحيوانات المخموجة وغير المخموجة جـ - يجب مراعاة عملية التخلص الصحي من الجثث النافقة والمفرزات الحيوانية (بول، براز) وأن تتم عمليات التطهير بشكلها الأمثل.

د – يجب الاهتمام بنظافة أقفاص حيوانات التجربة وتهويتها بشكل جيد، والمبادرة إلى تعقيمها وتطهيرها وحرق الفراشة بمجرد خلوها من الحيوان

هـ - الحيوانات المشتراة حديثاً يجب أن تُحجز لمدة (٨ – ١٠ أيام) قبل إدخالها، والتي يظهر عليها المرض تُقتل وتُحرق.

و – يجب مكافحة الحشرات الضارة وعلى رأسها الذباب والصراصير.

ز – الحيوان الذي تُجرى عليه التجربة يجب أن يُعزل في قفص منفرد وأن يزود هذا القفص بلائحة معلومات (نوع العينة المحقونة، كمية العينة المحقونة مكان الحقن، تاريخ الحقن...).

ح - عمليات الحقن يجب ألا تتم في مكان التربية نفسه وإنما في غرفة خاصة ونظيفة مخصصة لمثل هذه الأعمال.

٤ – أماكن الحقن في حيوان التجربة :

اختيار مكان الحقن يرتبط كما هو الحال عند اختيار الحيوان بنوع العامـل المسـبب للمرض المستخدم أو المشتبه به ، وكذلك حسب الغرض من التجربة وفيمايلي نذكر أهم أماكن الحقن :

١ – تحت الجلد : ويتم الحقن في منطقة الظهر أعلى الذنب (فئـران) أو في طيـة الركبة (قبيعات) أو في منطقة الكتف (أرانب، قبيعات) أو في بطن القدم (أرانب، قبيعات) أو في الرقبة (دجاج).

٢- داخل العضلة : ويتم الحقن في عضلة الفخذ عند معظم الحيوانـات وفي عضـلة الصدر عند الدجاج

٣ – داخل الوريد : ويتم الحقن في أوردة مختلفة حسب نوع الحيـوان : في الوريـد الوداجي عند الحيوانات الكبيرة، في وريد القائمة الخلفية عند القبيعـات، وفي وريـد الجناح عند الدجاج، وفي وريد الساق عند الصيصان.

٤ - داخل الصفاق : ويتم في النصف الخلفي من البطن عند معظم الحيوانـات، وفي مُنتصف المسافة بين قمة عظم القص وفتحة المجمع عند الدجاج.

إضافةً إلى هذه الأماكن يتم الحقن في العديد من الأمكنة الأخرى مثل : داخل المـخ، داخل القرنية، داخل الشرج، بالاستنشاق عن طريق الأنف، عن طريق الفم، داخـل القلب، داخل الضرع، داخل النخاع الشوكي وغيرها من الأماكن.

الجلسة الثالثة عشر

مبادئ تشخيص الحمّات

لايختلف التشخيص المخبري للأمراض الحموية في أسسه العامة عما هو عليه في الأمراض الأخرى الناتجة عن عوامل ممرضة جرثومية أو غيرها من مسببات الأمراض، فهو يعتمد على البرهان المباشر للعامل المسبب أو البرهان غير المباشر (البرهان على الأضداد النوعية).

وللتوصل إلى تشخيص مخبري سليم وموثوق لابد من الانتباه إلى عديد من الأمورالمهمة التي نجملها بالفقرات التالية :

آ – **نظافة وتعقيم الأدوات والمحاليل المستخدمة :**

وتشمل الممصات الزجاجية، وأنابيب التثفيل وجمع الدم، المشارط، الملاقط، المقصات، الإبر الجراحية، قوارير المزارع الخلوية، حوجلات المحاليل المستخدمة في العمل، المحاليل الملحية، والأوساط الحافظة.

ب – **جمع العينات وإرسالها :**

يجب أن تُجمع العينات المُراد اختبارها في ظروف عقيمة، ونظراً لأن الحمّات تتأثر بالجفاف ودرجات الحرارة والضوء وتغيرات درجات التأين الهيدروجيني فيجب العمل على حمايتها من هذه التغيرات في الفترة الواقعة بين عملية الجمع والفحص، لذلك فإن أفضل مايمكن عمله في هذا المجال هو وضع هذه العينات في أوساط خاصة حافظة للحمّات، يتم الحصول عليها من وحدة الحمّات المتخصصة وتوضع في الثلج ضمن حافظة، وتُحضر إلى المخبر شخصياً دون تأخير، أما إذا كان ذلك متعذراً فيمكن إرسال العينات بواسطة البريد أو أي وسيلة أخرى، هنا يجب أن تُغلق العينات بشكل جيد ، ثم توضع في علب من البولسترين ، وتُحاط بمواد كافية لامتصاص ماقد يتسرب منها، ويوضع مع العينات أكياس من الهلام المُجمد (لايجوز استخدام الثلج العادي

أبداً)، وذلك لتوفير درجات الحرارة المنخفضة، ويُرفق معها سجل يتضمن جمع المعلومات المتعلقة بهذه العينات، ويمكن الحصول عليه من وحدة الحمّات التي سوف تقوم بعملية التشخيص (اسم صاحب الحالة، العنوان، حجم القطيع، عدد الحيوانات المريضة نوع الحيوان، نوع العينة، تاريخ أخذ العينة، معلومات حول ظروف التربية والتغذية، الأعراض السريرية المشاهدة، الحالة المخبرية التي أجريت سابقاً ونتائجها، الفحوص المخبرية المرغوب إجراؤها...)

وعند وصول العينات الى المخبر توضع مباشرةً في البراد عند الدرجة (- ٢٠ م) إذا كان الفحص سوف يتم في غضون يوم أو يومين، أما إذا كان اختبار هذه العينات سوف يتاخر بعض الشيىء فيجب وضع هذه العينات في المجمدة عند الدرجة (- ٧٠ م) ريثما يتم اختبارها.

ج - **أنواع العينات** :

يرتبط انتقاء العينة التي سوف تجرى عليها الفحوص الحموية بعدة عوامل مثل نوع المرض المشاهد، نوع الحمه المشتبه بها، حالة الحيوان (حي – نافق)، وفيما يلي نذكر بعضاً من العينات التي تُستخدم في مجال التشخيص الحموي.

١ – **الدم المخثر** (**مصل الدم**) : ويُلجأ إليه من اجل الكشف عن الأضداد النوعية، يؤخذ من الحيوان في أنابيب جمع الدم النظيفة والمعقمة بسعة(١٠مل) وترسل منه عينة مزدوجة إلى المخبر، الأولى في بداية المرض(الحالة الحادة) والثانية بعد ١٠ – ١٤يوم من بداية المرض (مرحلة النقاهة) وفي المخبر يتم تثفيل الدم للحصول على المصل، حيث يُحفظ المصل عند الدرجة (- ٢٠ م) بعد أن يُعبأ في أمبولات سعة (١ مل)، وذلك ريثما تتم الاختبارات اللازمة عليها.

٢ – **الدم غير المخثر** : ويلجأ إليه من أجل عمليات عزل الحمّات، وُيجمع كسابقه في أنابيب سعة (١٠ مل) حاوية على أحد موانع التخثر (ستـرات الصـوديوم، هيبارين....).

٣ – **المسحات** (أنفية، عينية، شرجية) : تُستخدم في حالات الامراض التنفسـية الحادة والأمراض الهضمية، وتؤخذ بوساطة ماسحات قطنية معقمة وتوضع مباشرة في أنبوب يحوي (٥ مل) من الوسط الحافظ (محلول هانكس (مثلاً) وفي المخبر يُضاف لها (٠.٥ مل) من محلول الصادات الحيوية بنسلين، ستربتومايسين، نستاتين) لمنع التلوث الجرثومي والفطري وتُترك لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفـة، ثم يمكن الاستفادة من السائل الطافي أو من الراسب حسب نوع الاختبار المُزمع القيام به.

٤ – **محتويات الحويصلات** : يُلجأ إليها في حالات الأمراض التي تتميـز بحـدوث إصابات جلدية (حمى قلاعية، جدري، التهاب الفم الحويصلي.....) حيث يؤخذ محتوى عدة حويصلات بوساطة ماسحة قطنية بعد فتح الحويصل، ثم توضع في أنبوب يحوي على السائل الحافظ، وفي المخبر يُضاف لها قليل مـن الصـادات الحيويـة ثم تستخدم في الاختبارات اللاحقة.

٥ – **عينات الأعضاء** : تؤخذ من الحيوانات النافقة وتشمل عدة أعضاء مصـابة (كبد – طحال – رئة، عقد لمفية..) وفي المخبر تؤخذ قطع بحجم حبـة البـازلاء الكبيرة من الطبقات العميقة، ما أمكن، ثم تُطحن في هاون بعد إضافة الرمل البحري وقليل من الوسط الحافظ، ثم يضاف قليل من محلول الصادات الحيوية، وتترك لمـدة نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفة، ثم تثفل مدة عشر دقائق عنـد سـرعة دوران (٦٠٠٠ د / د) ويؤخذ السائل الطافي لإجراء الاختبارات اللازمة.

تقانات تشخيص الحمّات :

أولاً : **البرهان المباشر على الحمه** : ويتم من خلال :

١ – **الفحص المجهري** :

-المجهر الالكتروني : ويستخدم لدراسة الخواص الشكلية للحمّات، انتظام القفصية، عدد الكابسوميرات، وجود الغلاف أو انعدامه، وجود الارتسامات أو انعدامها على السطح الخارجي للغلاف، وهو يؤمن إمكانية سريعة للكشف عن الحمّات بشرط أن توجد الحمة بتراكيز عالية في العينة المفحوصة كما هو الحال عند تشخيص الإصابة بحمات الجدري، الحمّات التاجية، حمات روتا

– المجهر الضوئي العادي : هذه الطريقة ليست حساسة جداً، ويلجأ إليها من أجل الكشف عن المشتملات داخل الهيولية (حمات الجدري، الحمّات الريوية، الحمّات الربدية..) أو داخل النووية(الحمّات الغدية، حمات بارفو..) التي تتشكل في الخلية المصابة عند تكاثر هذه الحمّات، وذلك بعد تلوين المحضرات بصبغات خاصة (سيللر، هيماتو كسلين، أيوزين) أو من أجل الكشف عن التغيرات المرضية الخلوية التي تظهر في المزارع الخلوية نتيجة تكاثر بعض الحمّات (تكور الخلايا، تكثف الأنوية، انتكاسات فجوية..)

٢ – **الاختبارات المصلية للكشف عن المستضدات الحموية** : وتستخدم لهذا الغرض عديد من الاختبارات المصلية مثل اختبار الترسيب في الآجار الهلامي (ليكوزيس الأبقر، مرض الجومبور) اختبار التألق المناعي (مرض الكلب، المرض المخاطي..) اختبار تثبيت المتممة (الحمى القلاعية، التهاب الفم الحويصلي)، اختبار منع التراص الدموي (الإصابة بفيروسات الإنفلونزا) اختبار المقايسة المناعية الإنظيمية (مرض الكلب، الحمى القلاعي، طاعون الأبقار، طاعون المجترات الصغيرة..)، اختبار المقايسة المناعية الإشعاعية (الإصابة بحمات الروتا، ليكوزيس الأبقار.)

وعديد من الاختبارات المصلية الأخرى.

٣ – **الزرع في المزارع الخلوية** : تعد هذه الطريقة من الطرق الحساسة جداً والمستخدمة بشكل واسع للكشف عن عديد من الحمّات، وتجدر الإشارة إلى أن هناك بعض الحمّات قد تحتاج إلى وقت طويل للنمو بحيث يتطلب إجراء مثل هذا الزرع والعزل والتصنيف إلى عدة أسابيع مما يُقلل من أهمية هذه الطريقة بالنسبة للأطباء الحقليين، وتعد المزارع الخلوية المُحضرة من الغدة الدرقية عند الخنازير ومن خصية العجول ومن كلية العجول والخنازير والأغنام ومن جنين بيض الدجاج من أكثر المزارع الخلوية استخداماً في الفحوص الحموية الروتينية في مجال الطب البيطري.

آلية تحضير المزرعة الخلوية:

لضمان النجاح في تحضير المزرعة الخلوية يجب أن تُجرى العمليات كافة في ظروف عقيمة تماماً ويمر تحضير المزرعة الخلوية بالعديد من المراحل نلخصها بما يلي :

١- يؤخذ العضو المُراد تحضير المزرعة الخلوية منه بشكل عقيم ويوضع في وعاء زجاجي نظيف ومعقم .

٢- يُقطع العضو بواسطة المقص والملقط إلى قطع صغيرة ثم يُغسل بمحلول الفوسفات الملحي الحاوي على الصادات الحيوية عدة مرات.

٣- توضع القطع في وعاء زجاجي يحوي على محلول التربسين بتركيز (٠.٢٥ – ٠.٥ %) وتجري عملية التربسنة على خلاطة مغناطيسية بدرجة حرارة الغرفة لمدة (٥ – ١٥ د) وحتى نصف ساعة وذلك بهدف فصل الخلايا عن بعضها بعضاً.

٤- يتم التخلص من السائل نظراً لمحتواه العالي من كريات الدم والخلايا الميتة

٥- يُضاف محلول التربسين من جديد، وتجرى عملية التربسنة لمدة عدة ساعات (تختلف حسب نوع العضو).

٦- يُرشح السائل (مُعلق الخلايا مع التربسين) عبر شاش مُعقم (بسماكة ٣ – ٦ قطع شاش).

٧- يُثفل الراشح بسرعة دوران (١٠٠٠ – ١٥٠٠ د / د) لمدة (٥ – ١٠ دقائق) وذلك للتخلص من بقايا الكريات الدموية الحمراء والتربسين.

٨- يُغسل الراسب الناتج عن التثفيل (الخلايا) عدة مرات بمحلول الفوسفات الملحي ويُثفل، تكرر هذه العملية (٢ – ٣ مرات).

٩- يُمدد الراسب الناتج من عملية التثفيل الأخيرة في حوالي (٢٠ مل) من الوسط المغذي للخلايا.

١٠- يتم حساب عدد الخلايا الموجودة في كل (١ مل) من هذا المحلول.

١١- يُمدد هذا المحلول من جديد وذلك حسب عدد الخلايا الواجب وجودها في كل (١ مل) من المحلول.

١٢- يُعبأ المحلول إما في أنابيب (١ – ٢ مل في كل أنبوب) أو في زجاجات (تختلف الكمية حسب حجم الزجاجة) ثم تُحضن عند الدرجة (٣٧ م)

١٣- بعد (٢٤ – ٤٨) ساعة أو عدة أيام (يختلف حسب نوع المزرعة) يلاحظ نمو الخلايا وحيدة الطبقة والتصاقها على سطح الأنبوب أو الزجاجة

- كيفية عد الخلايا :

يُحضر (١ مل) من مُعلق الخلايا بتراكيز(١:١٠ أو١: ١٠٠) يُؤخذ (٠.١ مل) من محلول الخلايا ويضاف له (٠.٩ مل) من محلول الفوسفات الملحي فيكون التركيز (١:١٠) ثم يضاف له نقطة من محلول التريبان الأزرق (١ %) وذلك بهدف التمييز بين الخلايا الحية والميته، حيث تتلون الخلايا الميته باللون الأزرق، ثم تُعد الخلايا باستخدام عداد نيوباور المُحسن، ويجب أن تتم عملية العد بسرعة بسبب التأثير السمي لمادة التريبان الأزرق على الخلايا السليمة. بعد الانتهاء من العد يتم تحديد الكمية الواجب أن يمدد بها المحلول الخلوي ثانيةً وذلك وفق المعادلة التالية :

$$\frac{\text{١٠٠٠٠} \times \text{التمديد} \times \text{متوسط عدد الخلايا المعدودة}}{\text{عدد الخلايا المرغوب الحصول عليها}}$$

لنفرض أن الخلايا المُحضرة قد تم حلها في (٢٠ مل) من الوسط المغذي، وبأننا نريد أن يكون عدد الخلايا في كل (١ مل) من هذا المحلول (٥٠٠ ألف خلية / مـــل) وبأننا عندما قمنا بعد الخلايا استخدمنا التمديد (١ : ١٠٠) وبأننـــا توصـــلنا إلى متوسط حسابي للخلايا المعدودة في المربعات الأربعة المعدودة = ٢٠ خليـــة فيكـــون حسب المعادلة السابقة :

$$\frac{٢٠ \times ١٠٠ \times ١٠٠٠٠}{٥٠٠٠٠٠} = ٤٠$$

وهذا يعني أن كل (١ مل) من المحلول الأساسي للخلايا يجب أن يُمدد ثانيـــةً في (٣٩ مل) وسط مغذٍ، وبذلك يكون محتوى كل (١ مل) من الوسط المغذي عبـــارة عن (٥٠٠ ألف خلية).

٤ – الحقن في جنين بيض الدجاج المُخصب :

تستخدم هذه الطريقة من أجل عزل الحمّات من العينات المشتبهة والبرهان عليها من خلال التغيرات المرضية التي تحدثها في جنين البيض، وتحديد هوية هذه الحمّـــات بدقة، من خلال إجراء الاختبارات المصلية، أو بالزرع في المزارع الخلوية، وملاحظـــة التغيرات المرضية الخلوية للحمة المعزولة. كما تستخدم هذه الطريقة من أجل تحضـــير اللقاحات ومعايرة الحمّات.

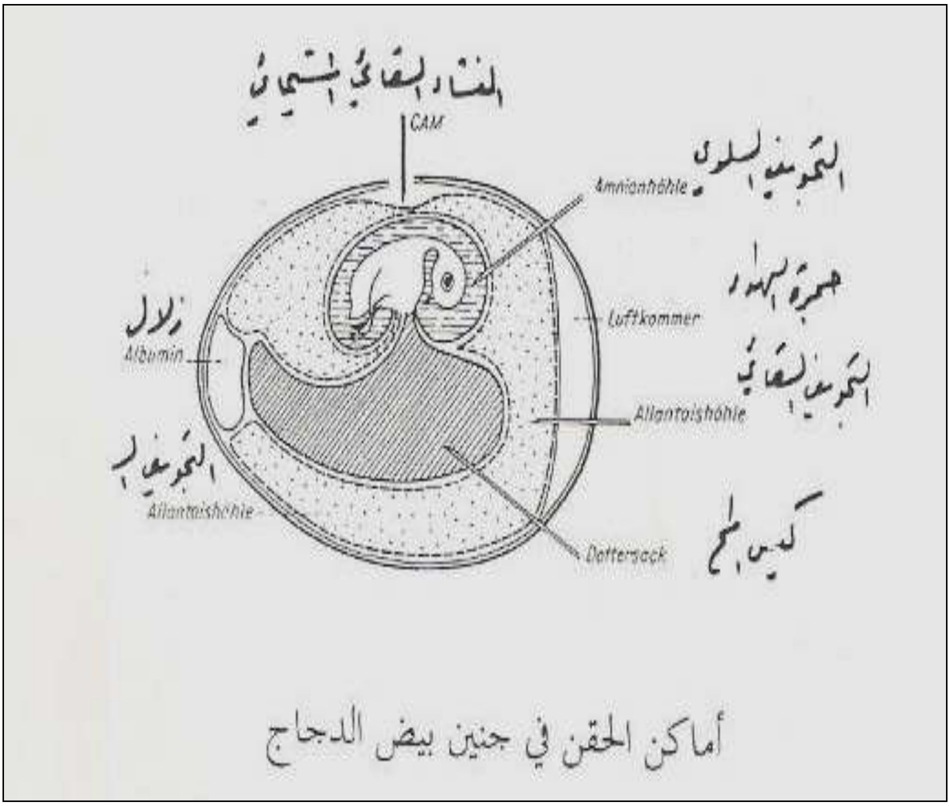
ولهذا الغرض تستخدم بيوض الدجاج على الغالب ويجب أن تتوفر فيها بعض الشروط كأن تكون مخصبة، وخالية من مسببات الأمراض أو الأضداد النوعية، وبيضاء اللـــون رقيقة القشرة، ويختلف مكان الحقن في هذه البيوض ومدة التحضين الأولي للبيـــوض، فاختبار مكان الحقن أو طريقة الحقن ترتبط بنوع الحمة، أما مـــدة التحصـــين الأولي للبيوض فتتعلق بالطريقة التي سوف تُستخدم في الحقن، كما تختلف تقنية الحقن حسب الطريقة المُستخدمة وتعد الأماكن التالية (الشكل رقم١٧) أكثر الأماكن استخداماً في الحقن :

١ – كيس الملح (مدة التحضين الأولي ٥ – ٧ أيام)

٢ – الغشاء السقائي المشيمائي (مدة التحضين الأولي ١٠ – ١٣ يوماً)

٣ – التجيو السلوي (مدة التحضين الأولي ٩ – ١٢ يوماً)

٤ – التحويف السقائي (مدة التحضين الأولي ٩ – ١١ يوماً)



الشكل رقم (١٧)

٥ – الحقن في حيوانات التجربة :

تستخدم حيوانات التجربة لأغراض متعددة منها دراسة الخواص العصبية الإمراضية لبعض الحمّات (الكلب، الكلب الكاذب، بورنا) وللبرهان على ردود الفعل الجلدية الغشائية المخاطية (الجدري، الحمى القلاعية) وللبرهان على الخواص

المسرطنة لبعض الحمّات (الحمّات الغدية) ولمعايرة الحمّات وتحديد الجرعة الخمجية ٥٠، ولعزل وتنمية بعض الحمّات التي لاتنمو في المزارع الخلوية (العامـــل المســـبب لمرض سكريي).

ثانياً : البرهان غير المباشر على الحمه :

ويهدف إلى البرهان على الاضداد النوعية التي تتشكل في الجسم نتيجة الخمـــج الحموي، وللتعرف فيما اذا كانت الحمة المعزولة هي المسؤولة عن حدوث المـــرض أم لا، ولهذا الغرض يستخدم عديد من الاختبارات المصلية التي سبق وتحثنا عنها.

الجلسة الرابعة عشر

مبادئ تشخيص الفطور

إن الفطور عبارة عن كائنات حية حقيقية النواة لاتحتوي علــى اليخضــور، وتتركب من جدار وهيولى ونواة ويحيط بالهيولى والنواة غلاف. تشكل بمجموعهــا الأفطورة. يتألف جسم الفطر النباتي من خيوط فطرية

تتكاثر الفطور بطريقة لاجنسية (تُكون أبواغ مُتدثرة، براعم، أبــواغ غبيريــة) وفي بعض الظروف الخاصة بطريقة جنسية. وتقسم إلى فطور رمية، فطور طفيلية، فطــور مُتعايشة، وتنتشر بشكل واسع في الطبيعة، وتسبب عدداً من الأمراض عند الإنســان والحيوان والنبات.

تشخيص الأمراض الفطرية:

لابد من الاختيار السليم للعينة المراد فحصها وذلك للوصول إلى تشــخيص أكيــد للمرض الفطري، ويتم ذلك كالتالي :

آ – **عند الاشتباه بأمراض فطرية جلدية** : تُمسح المنطقة المصابة من الجلد بالكحول (٧٠ %)، ثم تؤخذ كشطات من محيط الآفة الجلدية ومن الأشعار مع جــذورها وذلك بوساطة المشرط والملقط، ثمُ توضع في طبق بتري أو في أنبوب زجاجي.

ب – عند الاشتباه بأمراض فطرية عضوية : تُؤخذ في هذه الحالة عينات من الأعضاء المصابة أو المتغيرة من القيح، وتوضع في وعاء زجاجي أو في كيس من النايلون كما يمكن أخذ عينات من الحليب النهائية في حالات التهاب الضرع الناتج عن الإصــابة بالفطور.

ج - في حالات التسممات الفطرية : يجب أخذ عينات مــن الأعــلاف والمــواد الغذائية، وتوضع في أوعية زجاجية أو في أكياس النايلون.

ولإجراء التشخيص المخبري يمكن اللجوء إلى الخطوات التالية :

١– **الفحص المجهري :**

توضع العينة المراد فحصها على شريحة زجاجية وتُغمر بمحلول ماءات البوتاسيوم (١٠ – ١٥ %) ثم تُغطى بساترة زجاجية، يُسخن طرف الشريحة الزجاجية حتى حدوث فقاعات على محيط الساترة الزجاجية ثم تُفحص مجهرياً بالعدسة الجافة، وتلاحظ الأشكال المميزة للفطور كما يمكن صباغة المحضر بصبغة غرام أو جيمسا أو الحبر الصيني أوصبغة اللاكتوفينول، ثم تفحص مجهرياً بالعدسة الزيتية حيث تلاحظ الخيوط الفطرية. وعلى العموم يجب ألا يُعطى للفحص المجهري أهمية تشخيصية كبيرة، نظراً لأن معظم العينات يمكن أن تحتوي على عديد من الفطور الرمية.

٢ – **الزرع والعزل على البيئات الفطرية الصنعية :**

تنمو الفطور عادة على البيئات المغذية العادية إلا أنه من أجل عزلها غالباً ماتستخدم بيئات انتخابية كبيئة سابوروود، ويفضل أن تكون درجة حموضة البيئة المغذية مرتفعة قليلاً (٥,٥ – ٦,٥) بهدف منع نمو الجراثيم المصاحبة، كما يمكن أن يضاف لهذه البيئات الصادات الحيوية (بنسلين، ستربتومايسين للغرض نفسه، ولمنع نمو الفطورغالباً مايضاف الأكتيديون(٣٠٠ – ٥٠٠) مل) إلى هذه البيئات.

ويجري الزرع على هذه البيئات مباشرةً من العينة المرضية باستخدام إبرة الزرع، أما عينات الأعلاف فتُحل في البداية في محلول الملح الفسيولوجي، ثم يُزرع من معلق الأعلاف في البيئات.

– تنمو الفطور عادةً بشكل بطيء، وتختلف مدة التحضين ودرحة الحرارة اللازمة للنمو من فطر في غضون عدة لآخر، وبشكل عام تنمو الفطور عند درجات حرارة تتراوح بين (٢٠ – ٣٠ م)أيام أو عدة أسابيع (فطر العفن ٢ – ٥ أيام) (الفطور الجلدية ٧ – ٢١ يوم)، ويراقب النمو يومياً أو كل يومين وتسجل الملاحظات والتي يمكن أن تفيد في تحديد نوع الفطر (مدة النمو، لون المزرعة، شكل الفطر في مراحل النمو المختلفة). وتتميز الفطور عند تنميتها على البيئات الصلبة بأشكالها القطنية، أو بمستعمراتها الجافة المغّبرة، وبألوانها المختلفة، أما في البيئات السائلة فيكون النمو على

الغالب سطحياً مع تشكل طبقة ناعمة وسميكة. وهذا يمكن تحضير مسحات رقيقة من الفطور النامية تخلط بنقطة من الكحول (٩٠ %) أو ماءات البوتاسيوم (١٠ – ١٥ %) وتُغطى بساترة زجاجية وتُفحص مجهرياً. وفي الفحوص الروتينية غالياً مايلجأ إلى الزرع المباشر على الشرائح الزجاجية، حيث يُصب الوسط المغذي على الشـــريحة، ثم تُزرع عليه العينة المراد فحصها، ثم توضع في غطاء مرطب (طبق بتري مرطب بقطعة من الشاش المبللة بالماء) وتُحضن، حيث يمكن استخدام هذه الشرائح بعد تغطيتـــها بساترة زجاجية في الفحوص المجهرية.

٣ – **الحقن في حيوان التجربة** : لاتلعب عملية الحقن في حيوان التجربة دوراً مهماً في تشخيص الإصابة الفطرية، وتجدر الإشارة إلى أن حقن الفطور الجلدية في الأرانـــب والقبيعات قد أعطى بعض الإيضاحات لعديد من التساؤلات المناعية.

فهرس المصطلحات العلمية

عربي	انكليزي
أضداد	Anti bodies
مستضدات	Antigen
ترياق	Antitoxin
عصيات	Bacilli
الوراثة الجرثومية	Bacterial ce netics
الذيفانات الجرثومية	Bacterial to xins
جدار جرثومي	Bacterial wall
الجرعة المميتة	Bosste dose
محفظة	Capsule
مكورات	Cocci
هيولى	Cytoplasm
الغشاء الهيولى	Cytopla membrane
دنا – الحمض النووي الريبي منزوع الأوكسجين	DNA
ذيفان داخلي	Endo toxin
ذيفان خارجي	Exo toxin
حقيقة النواة	Eucaryotes
سوط	Flagealla
فطر	Fungi
مناعة	Immunity
خمج جرثومي	Microbial infaction
علم الأحياء الدقيقة	Microbiology

Mutation	طفرة
Nuclear bodies	أجسام نووية
Nuclear acid	حمض نووي
Pro caryotes	بدائية النواة
Recombination	تأشيب
RNA	رنا- الحمض النووي الريبي
Spirali	ملتويات
Spores	أبواغ
Sub clinical	تحت سريري
Trans ducation	تنبيغ
Trans formation	تحول
Toxid	ذيفان لا سمي
Vaccines	لقاحات
Virulence	فوعة

المراجع العربية

١- **بلاش عمر**: علم الجراثيم – القسم النظري - منشورات جامعة حلب- كلية الطب .٢٠٠٩.

٢- **بلاش عمر**: علم الجراثيم - القسم العملي - منشورات جامعة حلب – كلية الطب .٢٠٠٩.

٣- **بلاش عمر**: علم الجراثيم - الجزء النظري - منشورات جامعة حلب – كلية الطب.٢٠٠٥.

٤_ **كردي عزام و الرفاعي ابراهيم و العمر أنور**: علم الأحياء الدقيقة العام - منشورات جامعة البعث - كلية الطب البيطري ٢٠٠٢-.٢٠٠٣.

٥_**كردي عزام و الرفاعي إبراهيم و العمر أنور** : علم الأحياء الدقيقة العام "القسم العملي" - منشورات جامعة البعث - كلية الطب البيطري ٢٠٠٤ -.٢٠٠٥.

٦- **كردي عزام و المنصور محمد رامي** : مخابر وأجهزة بيطرية - منشورات جامعة البعث – المعهد المتوسط للطب البيطري ١٩٩٦- .١٩٩٧.

٧- **بصمه جي خالد**: علم الجراثيم والطفيليات - منشورات جامعة حلب-كلية الطب .١٩٩٥.

٨_**عبيد ميخائيل** : علم الجراثيم "الجزء النظري" منشورات جامعة دمشق-كلية الصيدلة ١٩٩١ -.١٩٩٢.

٩_**سمعان سهيل** : علم المناعة - منشورات جامعة دمشق-كلية الطب ١٩٩١

١٠- اسماعيل محمد طاهر ويانس تيسير : علم الجراثيم والفطورالطبية- منشورات جامعة تشرين ١٩٩١.

المراجع الأجنبية

1- **Ajjar,N**. " La vaccination" edite par institut meriux lyon 39 eaition. (1987).

2-**Janwiec,M**. Mikobiologia. serologia P.Z.W.L.,poland. (1988).

3- **Lindner, k. e**. Veterinaer mikrobiologischer kurs. (1986).

" Immunologie" edition. 4**- Revillard J – p**. 2e
1995). (

5- **Searcam.** La sensibilite aux Amtibiogrames.

المدقّق العلمي

الأستاذ الدكتور **عمر بلاش**
رئيس قسم الطب المخبري ــ جامعة حلب ــ كلية الطب

المدقّق اللغوي

الدكتورة **منى طعمة**
كلية الآداب قسم اللغة العربية – جامعة دمشق

« حقوق الطبع والترجمة والنشر
محفوظة لمديرية الكتب والمطبوعات »