فصيلة الزوائف *Pseudomonadaceae*

مقدمة

تصنف فصيلة الزوائف مع الجراثيم العصوية سلبية الغرام، غير المخمّرة. وقد تمّ تصنيف هذه الفصيلة في خمس مجموعات أهمها كانت جنس الزائفة *Pseudomonas* التي هي بشكلٍ عام عصيات سلبية الغرام، هوائية مجبرة.

أهم أنواع جنس الزائفة هو الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* والتي تعرف باسم عصيات القيح الأزرق. اكتشفها العالم شرويدير Schroeder عام 1872، وقد تمّ عزلها لأول مرة من قبل العالم Gessard عام 1882 من قيح أزرق اللون.

1- توزعها وانتشارها

جراثيم واسعة الانتشار، تعيش في المياه والتربة وتلعب دوراً هاماً في تفكيك المواد العضوية.

تفضل الأماكن الدافئة والرطبة، بمعنى آخر، مغاسل ومصارف المياه، أرضيات الحمامات، الأنابيب المائية الساخنة في بعض الحالات. كما أنها تشكل جزءاً من الزمرة الجرثومية الطبيعية للجهاز الهضمي والأغشية المخاطية عند الإنسان وعلى سطح الجلد السليم. معظم أنواعها رمية Saprophytic إلا أنّ بعضاً منها يعد ممرضاً للنبات والحيوان، ومنها ما يعد من العوامل الإمراضية الانتهازية للبشر.

2- أشكال هذه الجراثيم

هي عصيات مستقيمة ورفيعة، طولها 1-4 مكرومتر وعرضها 0.5 مكرومتر، نهاياتها مستديرة، عديمة المحفظة إلا أنّ الذراري المعزولة من العينات المرضية تمتلك أحياناً طبقة رقيقة من عديدات السكاكر تشبه المحفظة، غير متبوغة، متحركة وشديدة الحركة بفضل سوط قطبي خلافاً عن المعويات المتحركة الحاوية على أهداب محيطية، سلبية الغرام، توجد عادةً بشكل منفرد أو مزدوج أو بشكل سلاسل

Dr.Hiba Ahamed Alduini

3 – العينات المرضية

القيح (ويكون لونه أزرق على الغالب)، السوائل المصلية ، البول، الدم، السائل الدماغي الشوكي، البراز، وحسب توضع الآفة.

4- التشخيص المخبري

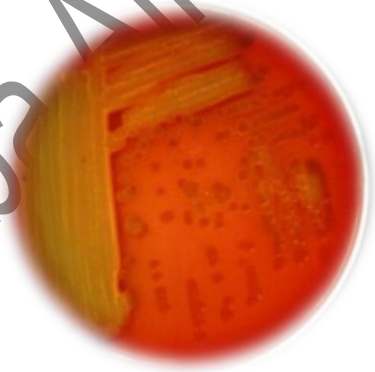
4-1- الفحص المباشر للعينة المرضية : تهيأ محضرات من العينات المرضية على شرائح زجاجية نظيفة ويدرس بعضها بدون تلوين ونشاهد فيها وجود عصيات متحركة، ويدرس البعض الآخر بعد التلوين بطريقة غرام فنشاهد عصيات رفيعة سالبة الغرام .

4-2 – زرع العناصر المرضية: هي جراثيم هوائية مجبرة تنمو بسهولة على الأوساط الزرعية العادية بدرجة 37 مئوية ودرجة حموضة PH=7.2. وتتميز بصفتين هامتين:

– قدرتها على إطلاق رائحة مميزة تشبه رائحة اللوز المر.

– تصطنع صباغاً ينتشر في الوسط الزرعي، إما صباغ أزرق اللون يعرف بصباغ البيوسيانين Pyocianin أو صباغ أخضر اللون هو صباغ البيوفيريدين Pyoveridin.

تزرع في وسط الآغار المغذي حيث تنمو عليه بسهولة خلال 24 ساعة بدرجة 30 مئوية وتعطي مستعمرات مدورة ذات أبعاد كبيرة 2-4 ملم شافة مركزها عاتم ومحيطها شفاف، وقد تكون المستعمرات ملساء (S) ملونة بشدة (زرقاء مخضرة)، أو تكون خشنة (R) غير منتظمة مسطحة ويمكن أن نلاحظ أحياناً وجود مستعمرات مخاطية (M) تظهر أحياناً على الآغار بالدم وتحلل كريات الدم الحمراء تحليلاً كاملاً أي تحلل من النمط بيتا.



تلون وسط الزرع بلون أزرق مخضر نتيجة لإفرازها مادة البيوسيانين Pyocyanine التي تنتشر في الوسط مع إطلاقها رائحة مميزة تشبه رائحة اللوز المر أو رائحة زهر المشمش

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

وإذا كانت العينات المرضية ملوثة فيفضل أن تزرع في أوساط عزل خاصة مثل ماكونكي، ووسط سيتريميد Citrimide، ووسط S.S. حيث تنمو عصيات القيح الأزرق وتكون غير مخمرة للاكتوز وذات رائحة مميزة. ويتم التعرف على هذه العصيات بدراسة حركتها (فهي ذات حركة شديدة بسبب وجود هدب قطبي) وبظهور أصبغة زرقاء أو صفراء مخضرة وعندما تهرم تعطي أصبغة بلون بني محمر أو كستنائي.

وهي جراثيم هوائية إجبارية غير متبوغة سالبة الغرام، ومن صفاتها الكيميائية الحيوية : إنها إيجابية الأوكسيداز وهذا ما يميزها عن الأمعائيات، ولا تحرر الأندول، ولا تطلق غاز H_2S، وهي موجبة الكاتلاز، وتنمو في وسط سيمون بالسيترات، وتنمو في الوسط الحاوي على سيانور البوتاسيوم، وترجع النترات إلى نتريت، وتميع الجيلاتين، لا تخمر السكاكر كسكر الغلوكوز أو اللاكتوز ولا تخمر المانيتول (ويجرى اختبار السكاكر على وسط Hugh-Leifson ولا يستخدم الماء الببتوني) وتخثر الحليب.

ويكون التعرف على هذه الجراثيم سهلاً في حال إفرازها للأصبغة، ولكن هذه العصيات أحياناً لا تصطنع الصباغ ففي مثل هذه الحالة يصعب تفريقها عن العصيات سالبة الغرام، ولذلك يفضل في مثل هذه الحالة تحريض العصيات على توليد الأصبغة وذلك بزرعها في وسط كينغ أ (King A) أو وسط كينغ ب (King B).

ولعزل هذه الجراثيم نستفيد من مقاومتها لعدد كبير من الصادات الحيوية وذلك بزراعة العينة التي سوف تُعزل منها على وسط الآغار الذي يحتوي على الصادات الحيوية التالية: النوفوبيوسين + بنسيلين + السايكلوهكساميد، لأن النوفوبيوسين يثبط نمو الجراثيم السالبة الغرام، والبنسيلين يثبط نمو الجراثيم الموجبة الغرام، السايكلوهكساميد يثبط نمو الفطريات.

تعتبر من أكثر الجراثيم مقاومة للمطهرات الكيميائية وللصادات الحيوية الشائعة الاستعمال لذلك تعتبر من أكثر الجراثيم معندة على المعالجة.

يمكن قتلها بالغليان أو بالتجفيف التام كما تعتبر مركبات الفينول ومركبات الغلوتارالدهيد من المطهرات الفعالة ضد هذه الجراثيم.

Dr.Hiba Ahamed Alduihi

فصيلة الضمات *Vibrionaceae*

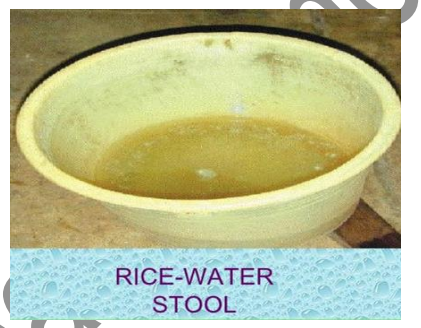
ضمات الهيضة (الكوليرا) *Vibrio Cholera*

تسبب هذه الجراثيم للإنسان مرض الهيضة (الكوليرا) أو ما يسمى بالهيضة الأسيوية، وتظهر على شكل وباء أو جائحة وتؤدي إلى غثيان وإقياء وإسهالات شديدة. توجد هذه الجراثيم في براز المصابين وحملة الجراثيم الأصحاء ومنهم تنتقل إلى المياه والأغذية وتلوثها وتنتشر في البيئة.

1- العينات المرضية

إن فحص البراز في فترة انتشار الوباء له أهمية كبيرة جداً إذ يبدو بشكل مخاطي مصلي لونه أبيض شبيه بماء الرز تسبح فيه حبيبات شبيهة بحبيبات الرز هي كتل من الخلايا البطانية والكريات البيضاء القيحية ومخاط مفعم بهذه الجراثيم.

فإذا كان مكان أخذ العينة بعيداً عن المخبر، تؤخذ مسحة من الشرج بواسطة ماسحة قطنية توضع في أنبوب اختبار يحوي على وسط من الماء الببتوني القلوي ثم يغلق الأنبوب ويرسل إلى المخبر خلال 24 ساعة.



2- التشخيص المخبري

2-1- الفحص المباشر للعينة المرضية: تظهر هذه الجراثيم بالفحص العبيط على شكل عصيات منحنية ذات حركة شديدة، وبتطبيق طريقة غرام في التلوين فإنها تبدو على شكل عصيات منحنية (شكل الضمة) سالبة الغرام

Dr.Hiba Mohamed Alduini

لا بد من زرع البراز للتأكد من هذه الجراثيم لاسيما في بداية الإصابة أو في فترة النقاهة كما يطبق زرع البراز للتحري عن الحملة الأصحاء.

2-2- زرع البراز: يزرع البراز على أوساط التكثير السائلة مثل الماء الببتوني القلوي والذي تركيبه كالتالي:

peptone	10.0 g
NaCl	10.0 g
Distilled Water	1000 ml

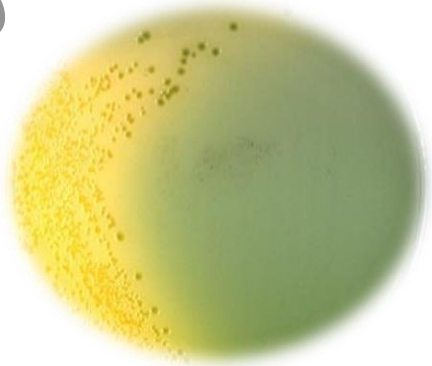
تضبط درجة الحموضة على pH= 9 ثم يوزع الوسط في أنابيب اختبار بمعدل 10 مل/أنبوب ويعقم بالصاد الموصد بدرجة 121 مئوية لمدة 15-20 دقيقة. وبعد زرع أنابيب التكثير بالبراز تحضن بدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة فيتشكل على السطح غشاوة مكونة من ضمات الهيضة (لأن هذه الجراثيم تفضل الوسط الهوائي)، وبعد ذلك نعيد زرعها على أوساط للعزل مثل:

- **الآغار المغذي القلوي** الذي يتركب من:

peptone	10.0 g
Beef Meat Extract	3.0 g
NaCl	5.0 g
Agar	15 g
Distilled Water	1000 ml

تحل هذه المواد وتضبط درجة الحموضة على pH= 8.4-8.6 بمحلول كربونات الصوديوم ويعقم بالصاد الموصد لمدة 15 دقيقة بدرجة 121 مئوية. على هذا الوسط تنمو ضمات الهيضة وتعطي مستعمرات مدورة ملساء صدفية الشكل.

- **وسط .T.C.B.S**: هذا الوسط يحوي على الآغار المضاف إليه التيوسلفات والسيترات والصفراء والسكروز وتظهر عليه مستعمرات الهيضة صفراء اللون وكبيرة



بعد أن ينمو الجرثوم على هذه الأوساط نجري فحصاً عبيطاً ونتأكد من أن الجرثوم متحرك بشدة، ثم نجري تلويناً بطريقة غرام ونتأكد من أن الجرثوم على شكل الفاصلة وسالب الغرام ثم ندرس خواصه الكيميائية الحيوية التالية:

- **تفكيك السكاكر:** ويجرى هذا الاختبار على الوسط التالي:

Dr.Hiba Alhamed Aldujhi

peptone	10.0 g
NaCl	5.0 g
Bromothymol-Blue	0.08 g
Distilled Water	1000 ml

تضبط درجة الـ pH = 7.4 – 7.5 ويعقم الوسط بالصاد الموصد لمدة 20 دقيقة بدرجة 121 مئوية، ثم يضاف إليه محلول السكاكر المعقمة (بطريقة الترشيح) بحيث نحصل على تركيز نهائي للسكر في الوسط 0.5 % بعدئذ تزرع بالجرثوم وتحضن بدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة. جراثيم ضمات الهيضة تفكك الغلوكوز، النشاء، الديكسترين، المالتوز، المانوز، السكروز لكنها لاتفكك الأرابينوز .

- **تمييع الجيلاتين:** تميع هذه الجراثيم الجيلاتين بسرعة.
- **تحرر الأندول وإرجاع النترات:** تحرر هذه الجراثيم الإندول وترجع النترات بوساطة تفاعل روث (Roth) في الماء الببتوني المحتوي على 0.1 % من نترات البوتاسيوم. يزرع هذا الوسط بالجرثوم المراد دراسته ثم يحضن بدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة ثم يضاف إليه قطرة من حمض الكبريت الكثيف، إن ظهور لون أحمر يدل على وجود الأندول وإرجاع النترات.
- **النمو على وسط سيمون بالسيترات:** تنمو الضمات الممرضة على هذا الوسط وتقلونه بينما معظم الضمات غير الممرضة لا تنمو عليه.
- **تفاعل فوغس – بروسكاوير Voges-Proskauer:** هذا التفاعل سلبي عند ضمات الهيضة بينما يكون إيجابياً عند ضمات الطور Vibrion Eltor.
- **انحلال الكريات الحمراء:** تحل ضمات الهيضة كريات دم الإنسان والأرنب ولا تحل كريات دم الخاروف والماعز، بينما ضمات الطور تحل كريات الخاروف والماعز. يجرى هذا الاختبار في الأوساط السائلة.
- **اختبار الأوكسيداز:** ضمات الهيضة موجبة الأوكسيداز بينما جراثيم الأمعائيات سالبة الأوكسيداز.
- **تفاعل التراص:** اعتماداً على مولدات الضد الجسمية تبين أن هناك ثلاثة أنواع مصلية من ضمات الهيضة هي: ضمات أوغاوا Ogawa، ضمات عنابا Inaba وضمات هيكوجيما Hikojima. أما ضمات الطور فقد اعتبرت كضمات الهيضة وتتخذ نفس الاحتياطات الصحية عند الإصابة بها.

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

فصيلة البروسيلات *Brucellaceae*

صنف جنس البروسيلا *Brucella* ضمن فصيلة العصيات الصغيرة Parvobacteriaceae، والبعض من المصنفين اعتمد على تصنيفها ضمن فصيلة تحمل اسمه هي Brucellaceae. هذه الجراثيم لا تختص بحيوان معين ويمكن أن تصيب الماعز والخراف والبقر والخنزير والأرانب وتعد هذه الحيوانات مستودعاً لهذه الجراثيم.

تسبب هذه الجراثيم داء البروسيلات Brocelloses والذي يعرف بأسماء مختلفة كالحمى المالطية أو حمى البحر الأبيض المتوسط أو الحمى المتموجة. وداء البروسيلات مرض يصيب الحيوانات ويمكن أن ينتقل إلى الإنسان وذلك عن طريق الحليب الملوث أو الأجبان غير المغلية أو اللحوم غير المطهوة جيداً. ونميز من البروسيلات ثلاثة أنواع هي:

- **البروسيلا المالطية** *Brucella melitensis* .
- **البروسيلا المجهضة** *Brucella abortus*.
- **البروسيلا الخنزيرية** *Brucella suis*.

1 – العينات المرضية

في معظم الحالات يؤخذ الدم للبحث عن الجرثوم، كما يمكن أخذ خزعة من العقد اللمفاوية أو خزعة من نقي العظام (من عظم القص). ففي بداية المرض (خلال الأسابيع الثلاثة الأولى من المرض) يتم التحري عن وجود الجرثوم في الدم ويكون زرع الدم إيجابياً، أما بعد فترة من بداية المرض (بدءاً من اليومين 15 أو 20 من الإصابة) فنبحث في مصل المريض عن أضداد خاصة وذلك بطريقة التشخيص المصلي (تفاعل رايت).

2 – التشخيص المخبري

لا قيمة للفحص المجهري المباشر بسبب ندرة هذه الجراثيم في هذه العينات.

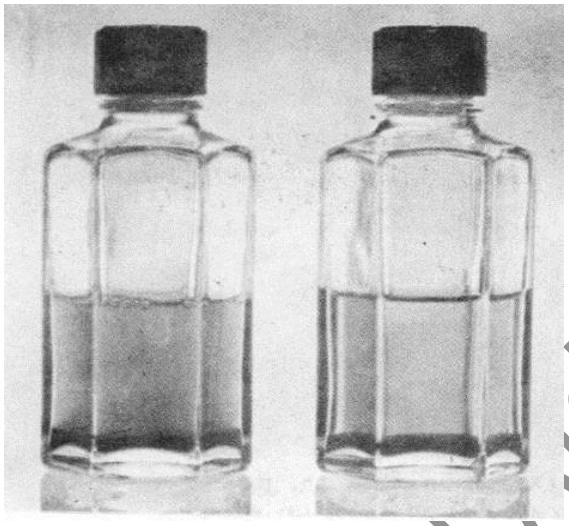
2–1– شكلها: عصيات ذات أبعاد صغيرة 0.5 – 1.5 مكم، وغالباً ما تبدو بشكل عصيات مكورة الشكل، غير متبوغة، غير متحركة، وقد أثبت المجهر الألكتروني وجود المحفظة عند معظمها، وهي سلبية الغرام.

2–2– زرعها: جراثيم البروسيلا هوائية مجبرة، تنمو بصعوبة على الأوساط العادية وتفضل الأوساط الغنية وبخاصة الآغار المضاف إليه 5% من دم الخاروف أو الآغار بالتريبتوز Tryptose Agar.

تحتاج البروسيلا المجهضة لنموها وسطاً يحتوي على CO_2 بنسبة 10%. تنمو البروسيلات عموما في درجة حرارة 37 مئوية، ودرجة pH=6.8 ويحتاج ظهور مستعمراتها من 40 – 48 ساعة على الأقل أو خمسة أيام أو ستة، وقد تمتد من أسبوعين إلى 3 أسابيع عند زرع العينات المرضية.

Dr.Hiba Ahamed Alduini

2-3- زرع الدم: يعد زرع الدم هو الأساس في تشخيص الإصابة بالبروسيلات حيث تستخدم طريقة كاستانودا Castanoda وذلك بزرع الدم في زجاجة مضلعة تحوي على 15-20 مل من الآغار بالتريبتوز المتصلب بشكل قائم على أحد أضلاع الزجاجة وعلى 10 مل من المرق بالتريبتوز أوالمرق بالكبد



وسط كاستانودا مزروع بالدم للتحري عن البروسيلات .

في اليسار زرع إيجابي ، وفي اليمين زرع سلبي.

يستخدم هذا الوسط لتكثير البروسيلات في المرق ثم زرعها دون أي تلوث خارجي على الآغار، وذلك بأن نضع زجاجة الزرع في الحاضنة بدرجة 37 مئوية بشكل قائم ثم نميل الزجاجة كل 4-5 أيام لزرع الوسط الوسط الصلب اعتباراً من الوسط السائل وفي حال وجود البروسيلات نحصل في الوسط الصلب على مستعمرات معزولة نقية. يفضل زرع نموذجين من الدم يوضع أحدهما في وسط يحوي على CO_2 بنسبة 10% وذلك من أجل نمو البروسيلا المجهضة. تنمو البروسيلات ببطء ويحتاج نموها إلى 4-15 يوم.

تركيب وسط المرق بالتريبتوز:

Treptose	20.0 g
NaCl	5.0 g
Glocose	1.0 g
Thiamine Chloride	0.005 g
Distilled Water	1000 ml

نضيف للمرق بالتريبتوز 18-20 غ/ليتر من الآغار لنحصل على الآغار بالتريبتوز، تضبط درجة الـ pH على 7.2 ويعقم الوسط بالصاد الموصد لمدة 15 دقيقة بدرجة 121 مئوية وبعد التبريد يضاف إليه 5 مل من المصل (المعقم بطريقة الترشيح) لكل 100 مل من هذا الوسط.

وللتعرف على هذه الجراثيم ندرس مستعمراتها التي تكون صغيرة، تؤخذ منها نماذج وتلون بطريقة غرام فنلاحظ شكل هذه العصيات صغيرة شبيهة بالمكورات وهي سالبة الغرام.

تزرع هذه الجراثيم على أوساط لدراسة **خواصها الكيميائية الحيوية وهي كما يلي:**

Dr. Hiba Ahamed Alduihi

لا تميع الجيلاتين، لا تحرر الإندول، تفكك الغلوكوز بالأكسدة دون إطلاق غاز أو تحرر الحموض (لا تخمر السكاكر) لا تخثر الحليب، تطلق غاز H_2S بكميات كبيرة أو قليلة بحسب النوع، تفكك البولة وبخاصة في وسط اليوريا–أندول ويتم ذلك خلال عدة دقائق بدرجة 37 مئوية وتلون الوسط بالأحمر، ترجع النترات إلى نتريت.

والجدول يبين أهم الفروق بين الأنواع الثلاثة للبروسيلات:

أهم الفروق بين الأنواع الثلاثة للبروسيلات.

البروسيلات	الحاجة إلى CO_2 10%	إطلاق H_2S بعد			النمو على وسط مضاف إليه الملونات	
		24 ساعة	48 ساعة	96 ساعة	الفوكسين 50000/1	التيونين 25000/1
البروسيلا المالطية	–	±	–	–	+	–
البروسيلا المجهضة	+	+	+	–	+	–
البروسيلا الخنزيرية	–	++	++	++	–	+

التشخيص المصلي (تفاعل رايت): وهي الطريقة المثالية للتشخيص، يتم فيها البحث عن الأضداد الراصة، فالجسم المصاب بالبروسيلات يكون أضداداً من نوع الراصات Agglutinines.

والغاية من هذا التفاعل هو إثبات وجود هذه الراصات ومعايرتها وبالتالي إثبات وجود الإصابة بالبروسيلات. ويكون هذا التفاعل إيجابيا اعتباراً من اليوم الخامس عشر أو العشرين من بدء الإصابة. يجرى هذا التفاعل عادة ضمن مجموعة من الأنابيب أو على صفيحة زجاجية بشكل مماثل لتطبيق تفاعل فيدال عند تشخيص الحمى التيفية.

يعد التفاعل إيجابياً إذا حصل تراص بالتمديد ≤ 80/1 ويكون المريض مصاباً بالبروسيلات. أما إذا حصل تراص بالتمديد ≥ 80/1 فهذا يعني أن الإصابة في بدايتها أو أن المريض في دور النقاهة أو حامل سليم للجرثوم، لذلك يفضل في مثل هذه الحالة اجراء الاختبار بعد أسبوع أو أسبوعين حيث أن ارتفاع عيار الأضداد يؤكد الإصابة، أما إذا بقي عيار الأضداد ثابتاً فهذا يعني أن المرض في طور التراجع أو أن المريض في طور النقاهة أو أن الشخص حامل سليم للبروسيلات. ويمكن أن نلاحظ بعض الأخطاء في هذا التفاعل:

- يمكن أن نحصل على نتائج إيجابية خفيفة عند المصابين بالفرانسيلا التولارية أو الملقحين حديثاً بلقاح الهيضة نتيجة لوجود تفاعلات مصلية متصالبة بين هذه الأمراض.

Dr.Hiba Ahmed Alduihi

● في بداية المرض يكون التفاعل سلبياً بين اليوم العاشر والخامس عشر وأحياناً تكون هذه المدة أطول وخاصة عند الأطفال. لذلك في حالة الشك بالإصابة بداء البروسيلات نبحث أيضاً عن حالة التحسس عند المريض بوساطة التفاعلات الجلدية.

2-5- تفاعل جلدي أدمي للكشف عن التحسس: يكون التفاعل الجلدي إيجابيا اعتباراً من اليوم العاشر للمرض ويبقى إيجابياً حتى الشفاء. ويجرى التفاعل بزرق 0.1 مل من الميليتين (رشاحة مزروع البروسيلات) تحت الأدمة، ويزرق في الساعد الآخر 0.1 مل من المرق المعقم كشاهد وتقرأ النتائج بعد 24-48 ساعة حيث يتصف التفاعل الإيجابي بتشكل وذمة موضعية يرافقها احمرار وارتفاع حرارة وألم في مكان الحقن.

تعطى عند الإصابة بداء البروسيلات الحاد الصادات الحيوية وخاصة التتراسكلين بمفرده أو بالمشاركة مع الستربتومايسين، كما يعطى التريميتوبريم مع السلفاميتاكسازول.

Dr.Hiba Alhamed Alduihi