فصيلة الأمعائيات *Enterobacteriaceae*

مقدمة

تضم فصيلة الأمعائيات عدداً كبيراً من الجراثيم وتتميز بأنها من أكبر الفصائل الجرثومية انتشاراً في الطبيعة، وقد بلغت أنواعها أعداداً كبيرة جداً. لذلك عكف عليها العلماء والباحثون بالدراسة حتى أصبح تمييزها والتعرف على أنواعها المختلفة سهلاً بفضل الطرق والوسائل العلمية الحديثة المستعملة في التشخيص.

ونظراً لضخامة عدد الأنواع التي تنتمي إلى فصيلة الأمعائيات هذه فإنه من الصعب علينا أن نضع صفات مشتركة تتميز بها جميعاً ولكنه من الممكن أن نجد الكثير من الصفات المشتركة بينها ومن أهم هذه الصفات:

- عصيات سلبية الغرام، غير متبوغة، متحركة بفضل سياط محيطية أو عديمة الحركة، ذات محفظة أو عديمة المحفظة.
- هوائية لا هوائية مخيرة، تنمو بوجود أكسجين الهواء أو بدونه.
- تنمو على المستنبتات العادية لعدم حاجتها إلى عوامل نمو خاصة .
- تخمر الغلوكوز وبعض السكاكر مع انطلاق غاز أو بدون انطلاق غاز.
- تفاعل الأوكسيداز سلبي لأنها لا تصنع أنزيم السيتوكروم أوكسيداز.
- ترجع النترات إلى نتريت.

سميت هذه الأحياء الدقيقة المجهرية التابعة لهذه الفصيلة بالأمعائيات لأنها بصورة عامة تعيش في أمعاء الإنسان والحيوان بصورة طبيعية أو ممرضة، وينجم وجود بعض أنواع الأمعائيات في الوسط الخارجي عن تلوث بالبراز، ولهذا شأن كبير في مجال الصحة العامة والصحة الغذائية.

1- تصنيف الأمعائيات

هناك عدة تصانيف مقترحة أساسها الصفات الكيميائية الحيوية والبنية المستضدية ومن هذه التصانيف، تصنيف الباحث بريفو Prevot عام 1948 وتصنيف الباحث بيرجي Bergy عام 1948 وتصنيف الباحث كوفمان Kauffman عام 1951 وتصنيف الباحث موللر Muller عام 1954 وتصنيف الباحثين إدوارد وإيوينغ Edward & Ewing عام 1963 اللذين صنفا هذه الفصيلة إلى قبائل Tribes وأجناس Genus وهذا التصنيف الأخير هو الأكثر اتباعاً واستخداماً في التصنيف الحديث لأفراد هذه الفصيلة، وتضم هذه الفصيلة :

Dr.Hiba Ahmed Alduhni

الإشريكيات	*Escherichieae*	المتقلبات	*Proteae*
الإدوارزييلات	*Edwarsielleae*	اليرسينيات	*Yersineae*
السلمونيلات	*Salmonelleae*	الأروينيات	*Erwiniaeae*
الكليبسيلات	*Klebsielleae*		

2- البنية المستضدية:

يوجد عند الأمعائيات ثلاثة أنواع رئيسية من المستضدات، يمكن استخدامها في تصنيف أنواع الأمعائيات إلى أنماط مصلية Serotype هي:

- المستضدات الجسدية (Ag:O) Somatic Antigenes.
- المستضدات السطحية Surface Antigenes.
- المستضدات السوطية (Ag:H) Flagellaires Antigenes.

3- التشخيص المخبري للأمعائيات

نستخدم أوساطاً زرعية صلبة لعزل الأمعائيات بشكل عام عن بقية الجراثيم المشاركة أو لعزل أنواع معينة من الأمعائيات، ومن هذه الأوساط نذكر:

- **وسط (.E.M.B) Eosin Methylene-Blue Agar** : يحوي على اللاكتوز والسكروز ومشعر لوني، تنمو عليه جميع الأمعائيات.
- **وسط ماكونكيMac Conkey Agar**: يحوي على اللاكتوز وتبدو عليه المستعمرات المخمرة للاكتوز بلون أحمر، بينما المستعمرات التي لا تخمر اللاكتوز تبدو شفافة .
- **وسط هكتون Hektoen Enteric Agar**: يحتوي على ثلاثة سكاكر هي اللاكتوز والسكروز والساليسين مع مشعر لوني هو أزرق البروموتيمول، ويستعمل هذا الوسط لعزل كافة الأمعائيات، فالمستعمرات المخمرة لأحد السكاكر تظهر بلون أصفر تحيط بها هالة حمراء، وإذا أطلق الجرثوم غاز كبريت الهيدروجين فيظهر مركز المستعمرة بلون أسود. أما المستعمرات غير المخمرة للسكاكر فتبدو بلون أخضر أو أزرق أو عديمة اللون.
- **وسط (.S.S) *Salmonella-Shigella* Agar**: يحوي على اللاكتوز وسيترات الحديد ويستخدم هذا الوسط بشكل خاص لعزل السلمونيلا والشيجيلا. فالجراثيم المخمرة للاكتوز تظهر مستعمراتها بلون أحمر بينما غير المخمرة للاكتوز تكون مستعمراتها شفافة. وإذا كان الجرثوم يطلق غاز H_2S فيظهر مركز المستعمرة بلون أسود.
- **وسط ويلسون . بلير Wilson-Blair**: يحتوي على الغلوكوز وسلفيت البزموت وكبريتات الحديد والخضرة اللامعة، ويستعمل هذا الوسط بشكل خاص لعزل السلمونيلا لأنه يثبط نمو معظم الأمعائيات الأخرى وتظهر السلمونيلا عليه بلون أخضر مسود.

Dr.Hiba Alhamed Aldujhi

- ، كما يبين الجدول كيفية تفريق أجناس الأمعائيات اعتماداً على خصائصها أشكال وألوان مستعمراتها على الأوساط الزرعية التفريقية .

جدول يبين أشكال مستعمرات بعض العصيات المعوية على مستنبتات العزل الصلبة .

الجرثوم	S.S	هكتون	ماكونكي	E.M.B.	ويلسون–بلير
الاشريكية القولونية *E.Coli*	مستعمرات حمراء تتثبط نسبياً	مستعمرات صفراء محاطة بهالة حمراء	مستعمرات حمراء قرنفلية	مستعمرات بنفسجية ذات بريق معدني	مستعمرات خضراء تتثبط غالباً
الشيجيلا *Shigella*	مستعمرات شفافة	مستعمرات خضراء مائلة للأزرق قليلاً	مستعمرات عديمة اللون	مستعمرات عديمة اللون أو زرقاء قليلاً	مستعمرات خضراء تتثبط غالباً
السلمونيلا *Salmonella*	مستعمرات شفافة مركزها أسود أو شفافة فقط	مستعمرات خضراء إلى زرقاء مركزها أسود، أو خضراء	مستعمرات صفراء إلى شفافة	مستعمرات عديمة اللون أو زرقاء قليلاً	السلمونيلا التيفية سوداء مخضرة بينما السلمونيلات الأخرى خضراء أو سوداء
الكلبسيلا *Klebsiella*	مستعمرات حمراء مخاطية لكنها تتثبط نسبياً	مستعمرات كبيرة صفراء محاطة بهالة حمراء	مستعمرات مخاطية حمراء قرنفلية	مستعمرات مخاطية وردية	مستعمرات خضراء إلى سوداء تتثبط غالباً
المتقلبات *Proteus*	مستعمرات صفراء ذات مركز أسود	مستعمرات صفراء ذات مركز أسود محيطها أحمر قليلاً	مستعمرات شاحبة قد تنتشر قليلاً	مستعمرات بنفسجية قد تنتشر قليلاً	مستعمرات خضراء مسودة تتثبط نسبياً
اليرسينيا *Yersinia*	مستعمرات شفافة عديمة اللون	مستعمرات عديمة اللون	مستعمرات شاحبة وحمراء	مستعمرات شاحبة زرقاء قليلاً	تتثبط غالباً

Dr Hiba Ahamed Aduihi

أما الصفات الكيميائية الحيوية التي تدرس من أجل تمييز الأمعائيات:

1. الحركة	2. تخمر السكاكر
3. إطلاق غاز كبريت الهيدروجين	4. إطلاق غاز بصورة عامة
5. تحرر الأندول	6. تخمر البولة
7. النمو على وسط (سيمون بالسيترات)	8. البحث عن أنزيم الليزين دي كاربوكيلاز
9. دراسة استخدام المالونات	10. دراسة تحويل الفينيل آلانين إلى حمض الفينيل بيروفيك
11. اختبار النمو على وسط يحوي سيانور البوتاسيوم	

جدول يبين الصفات الكيميائية الحيوية التي تساعد على تمييز الإمعائيات .

الجنس والنوع الجرثومي / الصفات الكيميائية الحيوية		الإشريكية القولونية	الشيجيلا	السلمونيلات	الكلبسيلا الرئوية	المتقلبة الشائعة	اليرسينيا الطاعونية
الأندول		+	+/−	−	−	+	−
حمرة الميتيل		+	+	+	−	+	+
فوغس−بروسكاوير		−	−	−	+	−	−
النمو على وسط سيمون		−	−	d	+	d	−
إطلاق H_2S		−	−	+	−	+	−
اليورياز		−	−	−	+	+	−
النمو على وسط KCN		−	−	−	+	+	
الحركة		−/+	−	+	−	+	−
تمييع الجيلاتين بدرجة ° 22		−	−	−	−	+	−
الليزين ديكاربوكسيلاز		d	−	+	+	−	−
أرجنين ديهيدروجيناز		d	d	+/(+)	−	−	−
أورنيثين ديكاربوكسيلاز		d	d	+	−	−	−
فينيل ألانين دي أميناز		−	−	−	−	+	−
المالونات		−	−	−	+	−	
O.N.P.G.		+	d	−	+	−	+
تخمر السكاكر	**انطلاق غاز من تخمر الغلوكوز**	+	−	+	+	−/+	−
	اللاكتوز	+	−	−	+	−	−

Dr.Hiba Alhamed Aldujhi

الجنس والنوع الجرثومي / الصفات الكيميائية الحيوية		الإشريكية القولونية	الشيجيلا	السلمونيلات	الكلبسيلا الرئوية	المتقلبة الشائعة	اليرسينيا الطاعونية
	السكروز	d	−	−	+	+	−
	المانيتول	+	−/+	+	+	−	+
	الساليسين	d	−	−	+	d	+
	الأدونيتول	−	−	−	−/+	−	−
	الإينوزيتول	−	−	d	+	−	
	السوربيتول	d	d	+	+	−	+/−
	الأرابينوز	+	d	+	+	−	+
	الرافينوز	d	d	−	+	−	−
	الرمنوز	d	d	+	+	−	−

المصطلحات :

+ : تعني 90% من الذراري أو أكثر إيجابية التفاعل .

d : تختلف باختلاف النمط الحيوي، قد تكون سلبية أو إيجابية، أو إيجابية متأخرة .

− : تعني 90% من الذراري أو أكثرسلبية التفاعل .

+/− : تعني معظم الذراري إيجابية .

−/+ : تعني معظم الذراري سلبية .

(+) : تعني إيجابية متأخرة

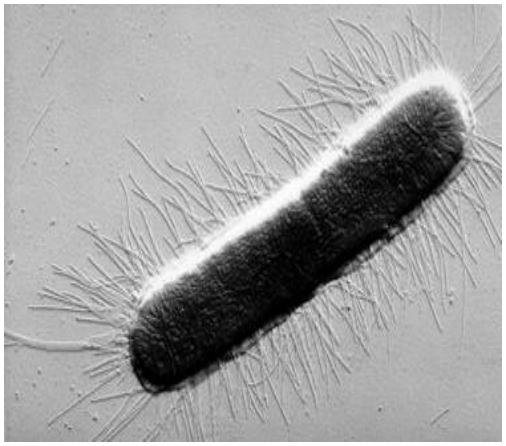
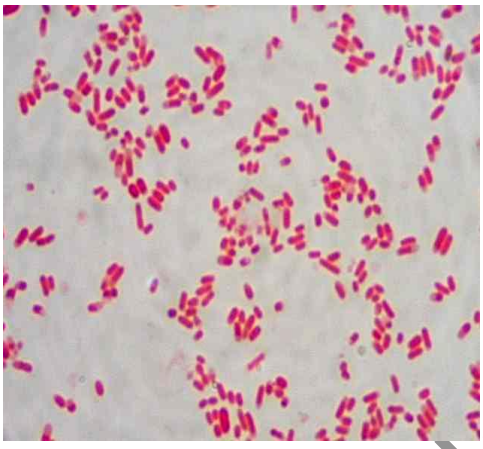
جنس الإشريكية القولونية *E. Coli*

اكتشفها العالم Escheriche عام 1885، تعيش هذه الجراثيم بصورة طبيعية في الأمعاء وتشكل 80% من الزمر، ويمكن أن تنتشر عن طريق البراز وتلوث التربة والمياه والأغذية وإن عدد هذه الجراثيم يدل على مدى تلوث المياه بالبراز. وهذه الجراثيم مسؤولة عن الإنتانات البولية والهضمية (خاصة عند الأطفال) والتهابات الطرق الصفراوية والتناسلية كما يمكن أن تكون مسؤولة عن التهاب الصفاق والتهاب السحايا (خاصة عند الأطفال). وهي جراثيم عصوية الشكل محدبة النهايتين، سالبة الغرام غالباً قطبية التلون، نادراً ما يكون لها محفظة، تحوي على أهداب لهذا تكون متحركة (75 % من الذراري).

1- خصائصها الجرثومية:

1-1- شكلها: هي عصيات بطول 1-3 مكم وعرض 0.5 مكم غير متبوغة ونادراً ما يكون لها محفظة وتكون بصورة عامة متحركة بفضل وجود سياط محيطية. تبدو هذه العصيات بشكل منفرد أو مزدوج أو سلاسل قصيرة في العينات المرضية، وبأشكال طويلة ومختلفة في المزارع الهرمة، وهي تتلون سلبية الغرام وغالباً ما تكون قطبية التلون

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

1-2- صفاتها الكيميائية الحيوية:

- تخمر الغلوكوز مع انطلاق غاز.
- تخمر اللاكتوز والمانيتول.
- تحرر الإندول.
- تفاعل حمرة الميثيل إيجابي.
- لا تميع الهلام.
- لا تطلق غاز كبريت الهيدروجين.
- لا تفكك اليوريا.
- تفاعل فوغس – بروسكاير Voges-Proskauer سلبي.

1-3- بنيتها المستضدية:

تم تمييز أكثر من 700 نمط مصلي من جراثيم العصيات القولونية *E. Coli*، بالاعتماد على مولدات الضد المميزة لهذه الجراثيم حيث يوجد ثلاثة أنواع من المستضدات هي:

- المستضدات الجدارية أو الجسدية Antigen O: وتوجد فقط في الجراثيم التي تعطي مستعمرات ملساء من نمط S.

- المستضدات السطحية Antigen K: توجد فقط في الجراثيم التي تعطي مستعمرات مخاطية من نمط M.

- المستضدات السوطية Antigen H: وتوجد في الجراثيم المتحركة.

2 – العوامل الإمراضية

هناك عدة عوامل تسهم في القدرة الممرضة لهذه الجراثيم:

- الأشعار Pili.
- المستضدات السطحية Antigen K.
- الذيفانات المعوية Enterotoxines.

Dr.Hiba Alhamed Alduini

- عوامل أخرى كالحالات الدموية Hemolysine.

3 – الأمراض التي تسببها الإشيريكية القولونية

أ- **إنتانات الجهاز البولي Urinary Tract Infections:** حيث تعد مسؤولة عن معظم الأخماج التي تصيب الجهاز البولي والحويصل الصفراوي، وتنتقل العدوى في أغلب الأحيان إلى الجهاز البولي بالطريق الصاعد وبخاصة عند الفتيات، كما يمكن أن تنتقل العدوى بالطريق اللمفي، الذي يشكل صلة الوصل بين الأمعاء والجهاز البولي، ويساعد على ذلك الإمساك حيث يدفع إلى انتقال الجراثيم من الأمعاء إلى الكليتين.

ب – **التهاب السحايا وإنتان الدم Meningitis & Septicemia:** حيث تصادف غالباً عند الرضع وبخاصةً الذراري الحاوية على المستضدات K، وإن نسبة الوفيات الناجمة عن التهاب السحايا تتراوح ما بين40 – 85 % عند الولدان.

جـ – **أخماج معوية Intestinal Infections:** يمكن تقسيم جراثيم الإشريكية القولونية إلى أربعة أنماط مرضية، ذات أهمية طبية، بالاعتماد على نوع إصابة الأمعاء:

- **الإشريكية القولونية المرضية Enteropathogenic *E. coli* (EPEC):** حيث تسبب التهاب الأمعاء عند الرضع وأهم الأنماط المسببة هي التي تملك المستضد من النوع O. هذه الأنماط تتثبت على الخلايا الظهارية للأمعاء الدقيقة دون أن تخترقها، وتؤدي إلى تخريب الزغيبات المعوية وهي تطرح ذيفاناً ساماً للخلايا Cytotoxic .
- **الإشريكية القولونية الغازية Enteroinvasive *E. coli* (EIEC):** عصيات قولونية تغزو الأمعاء وهي تشبه الشيغلا حيث تكتسح الخلايا الظهارية للأمعاء وتتكاثر فيها وتؤدي إلى تفاعل التهابي موضعي.
- **الإشريكية القولونية السامة Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC):** وهي تسبب إنسماماً معوياً وهي غالباً ما تكون مسؤولة عن إسهالات الأطفال في المناطق الحارة ذات المستوى الصحي المتدني كما أنها مسؤولة عن إسهال المسافرين (السياح) القادمين من الدول الصناعية لزيارة المناطق الحارة، وتعود آلية إمراضيتها إلى وجود الأشعار التي تلتصق بوساطتها على خلايا الأمعاء الدقيقة.
- **الإشريكية القولونية النازفة Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC):** وهي تسبب نزفاً دموياً معوياً، والنمط المسؤول عن ذلك هو النمط *E. coli* O157 H7، حيث تسبب إسهالا نزفياً قد يؤدي إلى متلازمة نزفية.

د – **أخماج كبدية صفراوية** : يمكن أن تسبب التهاب المرارة الحاد أو المزمن، ويمكن أحياناً أن تسبب يرقاناً خمجياً.

هـ – **أخماج تناسلية:** قد تسبب عند الرجال التهاب الإحليل، التهاب الموثة، التهاب الخصية والبربخ، وتسبب عند النساء التهاب المهبل والتهاب البوقين.

Dr.Hiba Alhamed Alduini

4 – العينات المرضية

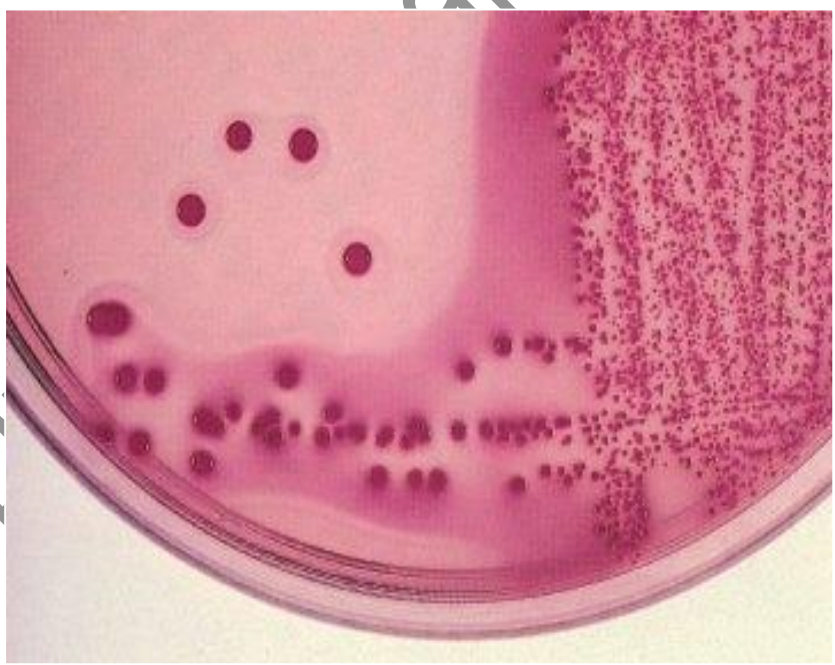
البول، البراز أو الدم في حالة خمج الدم أو السائل الدماغي الشوكي في حالة التهاب السحايا. ففي حالة البول يجمع في وعاء نظيف معقم بعد تنظيف الأعضاء التناسلية بالماء والصابون وإلقاء الدفعة الأولى من البول وجمع الدفعة الثانية.

– التشخيص المخبري

1– الفحص المباشر للعينة المرضية: في حالة الالتهابات البولية يبدو البول عكراً متقيحاً ومدمى أحياناً. يثفل البول ويؤخذ جزء من الراسب ويفحص بين صفيحة وساترة ويمكن أن يصادف فيه كريات حمراء، خلايا بطانية للمجاري البولية، كريات بيضاء متقيحة، اسطوانات حبيبية، بلورات من الفوسفات أو البولات أو الحماضات أو الكولسترول. تعمل لطاخة من الراسب وتلون بطريقة غرام فيظهر فيها في حالة تجرثم البول عصيات سالبة الغرام متلونة بشكل متجانس وأحياناً ذات تلون قطبي.

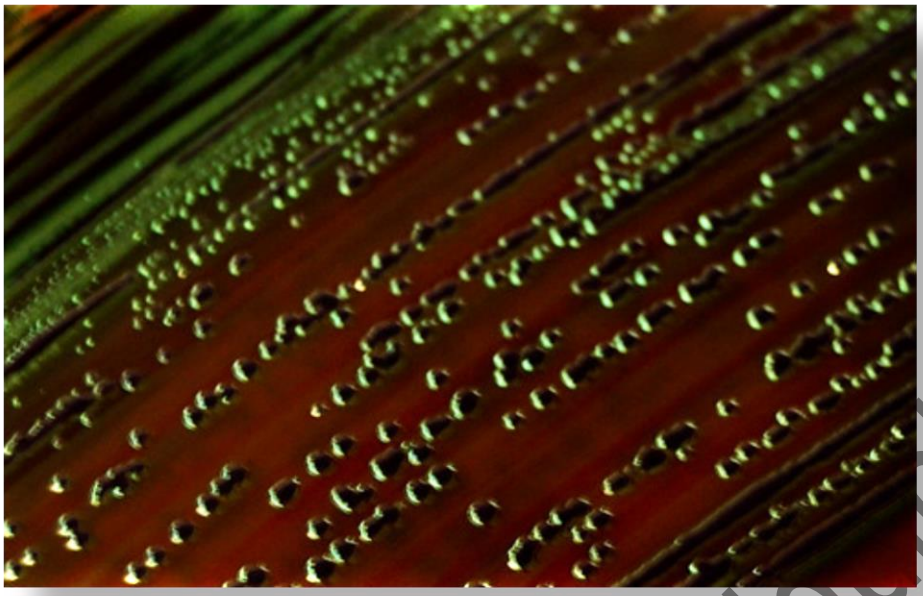
2– زرع العينات: تنمو هذه الجراثيم بسهولة على المستنبتات العادية بدرجة حرارة 37 مئوية ودرجة pH 7.5 ، أما عزلها فيتم على الأوساط والتي لا تسمح إلا بنمو الجراثيم سلبية الغرام.

- **وسط ماكونكي آغار Mac Conkey Agar:** تبدو عليه مستعمرات النوع *E. coli* على شكل مستعمرات كبيرة ذات لون أحمر تعمل على تشكيل مناطق عكرة حول مستعمراتها أو أحياناً تحل الوسط.



- **وسط E.M.B.Agar (Levine):** تظهرعليه مستعمرات الـ *E. coli* على شكل مستعمرات صغيرة وذات لون أخضر ومركز أسود وبريق معدني لماع.

Dr. Mohammed Aldurihi



وسط S.S Agar: تظهرعليه مستعمرات الـ *E. coli* حمراء آجرية لماعة مخمرة للاكتوز.

على الأوســاط العادية كالآغار المغذي Nutrient Agar: تشــكل عليه الـــــ *E. coli* مســتعمرات بيضــاء مدورة بقطر 2مم شــفافة تنمو بســرعة مع إعطاء رائحة برازية مميزة وتكون مستعمراتها إما مساء S أو خشنة R وأحياناً مخاطية M.

3- التعرف على الإشريكية القولونية: اعتباراً من المستعمرات المعزولة على الأوساط السابقة يمكن أن نزرع هذه الجراثيم على الأوساط العادية و من أهم الأوساط المستخدمة للتعرف على هذه الجراثيم أيضاً وسط هاجنا Hajna Broth ووسط كليغر ووسط البولة – اندول ووسط السيترات.... الخ.

كذلك يوجد مجموعة من التفاعلات الكيميائية الحيوية التي تميز هذه الجراثيم والتي ذكرت في بداية الحديث عن النوع يمكن إجروؤها للتعرف على هذه الجراثيم مثل اختبار IMVIC (Indole Methyl Red & Voges-Proskauer & Citrate) أو باستخدام API 20E System (راجع فصل الاختبارات الكيميائية الحيوية للتعرف على الجراثيم). وبما أن صفة تخمر اللاكتوز هي من أهم الصفات التي تتميز بها الإشريكية القولونية فإننا نبحث دائماً عن صفة التخمر عند هذه الجراثيم ولكن وجد أن بعض هذه العصيات لا تخمر اللاكتوز. ويقوم الأنزيم β-Galactosidase بتخمير هذا السكر.

4- التشخيص المصلي الإشريكية القولونية *E. coli*: لقد مكنت طريقة التشخيص المصلي من تصنيف 700 نوع من العصيات القولونية بعضها مسؤول عن الإنتانات الهضمية والاسهالات عند الأطفال وقد أمكن معرفة هذه الأنواع وتشخيصها اعتماداً على تفاعل التراص الذي يحدث إذا وضعت هذه العصيات مع المصول الممنعة الموافقة. فبعد نمو مستعمرات هذا الجرثوم على وسط ماكونكي أو وسط E.M.B. تؤخذ بعض المستعمرات المعزولة ونعمل منها مستحلباً على صفيحة زجاجية مع المصول المضادة كلاً على حدة ونمزج جيداً فنلاحظ أن أحد هذه المصول قد تحوصب دالاً على نوعية هذه العصيات القولونية.

Dr.Hiba Ahamed Alduni

ويفضل قبل البدء بالمعالجة إجراء اختبار تحسس للجرثوم المعزول للصادات الحيوية وذلك بسبب مقاومة هذه الجراثيم أحياناً للصادات الشائعة.

جنس السلمونيلات *Salmonella*

السلمونيلا التيفية ونظيرة التيفية *Salmonella typhi* and *S. paratyphi*

تشكل السلمونيلا قسماً هاماً ورئيسياً من الأمعائيات، وهي العامل المسبب للحمى التيفية ونظيرة التيفية والإنتانات المعوية والتهاب الطرق الصفراوية والتسممات الغذائية.

1- العينات المرضية : الدم. البراز في حالة التسمم الغذائي الجرثومي.

2- التشخيص المخبري

لتشخيص السلمونيلا نتبع الخطوات التالية:

أ- في المرحلة الأولى من المرض نبحث عن هذه الجراثيم عن طريق زرع الدم.

ب- في المرحلة الثانية من المرض نفتش عن الأضداد الراصة بوساطة التشخيص المصلي.

يمكن أن نفتش عن الجرثوم عن طريق زرع البراز والنتيجة تكون إيجابية في كافة المراحل باستثناء كون المريض يعالج بالصادات. وزرع البراز له فوائد في التحري عن الحملة الأصحاء.

2-1- زرع الدم:

إن نتيجة زرع الدم لا تكون إيجابية إلا في الأسبوع الأول من المرض أما في الأسبوع الثاني فتكون نسبة الإيجابية حوالي 75% وفي الأسبوع الثالث 40% وفي الأسبوع الرابع 10% وهذه النتائج تعتمد على المعالجة بالصادات. يؤخذ الدم بعد تعقيم مكان الأخذ جيداً بالكحول وصبغة اليود ويسحب 15 مل من الدم، وإذا كان مكان أخذ الدم بعيداً عن المخبر يفضل أخذ الدم في أنبوب يحوي على السيترات المعقمة لمنع تخثر الدم أو يزرع مباشرة على:

- المرق المغذي المضاف إليه السيترات أو الصفراء ونزرع عادة 10 مل من الدم في حوجلة تحوي 150 مل من الوسط السائل.
- وسط ماكونكي السائل.

تحضن الأوساط السابقة بعد زرعها بدرجة 37 مئوية مدة 24-48 ساعة. أما إذا كان المريض يعالج بالبنسلين أو السلفاميدات فيجب إضافة 5 قطرات من محلول حمض بارا أمينو بنزوئيك 1% أو 1مل من البنسيليناز وذلك من أجل تخفيف فعل الصادات. بعد نمو الجرثوم على الأوساط السابقة نقوم بفحص مزروع المرق فنلاحظ ترسب الكريات الحمراء في الأسفل وفي حال كون الزرع ايجابياً نلاحظ تعكر الوسط بشكل متجانس، وبخض هذا الوسط بلطف فإنه يبدي لمعة حريرية وصفية.

Dr.Hiba Ahamed Alrjihi

أما في حال محضرات هذا المزروع تحت المجهر فسنجد في الفحص العبيط وجود جراثيم متحركة بشكل نشيط، وبعد التلوين بطريقة غرام نجد جراثيم سالبة الغرام عصوية أحياناً طويلة وأحياناً قصيرة وأحياناً تكون قطبية التلون، عندئذ نعيد الزراعة اعتباراً من المرق المغذي على وسط ماكونكي صلب وبعد الحضن بدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة تظهر مستعمرات عديمة اللون أو صفراء قليلاً غير مخمرة للاكتوز.

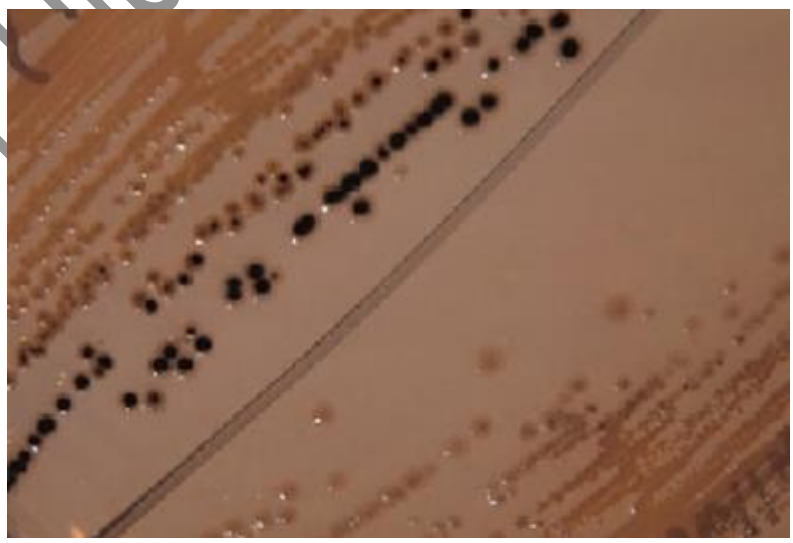
يجري التعرف على السلمونيلات بدراسة خواصها الكيميائية الحيوية وهي: تخمر الغلوكوز، لا تخمر اللاكتوز، لاتحرر الأندول، لا تفكك البولة، تخمر المانيتول. وبصورة عامة فإن جميع السلمونيلات متحركة بواسطة أهداب محيطية باستثناء البعض منها وهي التي لا تملك أهداباً وتطلق السلمونيلات الغازات بصورة عامة باستثناء عصيات ايبرت Eberth bacilli، وبالواقع هناك أكثر من 1000 نوع مصلي من السلمونيلات، ويتم التفريق بين هذه الأنواع اعتماداً على تفاعلات التراص المصلية.

2-2- زرع البراز:

بالواقع ان زرع البراز للتحري عن السلمونيلات ليس بالأمر السهل وذلك لوجود عدد كبير من الجراثيم المعوية المتعايشة الموجودة في البراز وخاصة المتقلبات والتي يمكن أن تجتاح كامل الوسط الزرعي، لذلك نستعمل لزرع البراز أوساطاً خاصة لها دور في تثبيط الجراثيم المتعايشة الموجودة في البراز وخاصة المتقلباتProteus ولا تسمح بنمو الجراثيم موجبة الغرام والسماح فقط لبعض الجراثيم سالبة الغرام الممرضة بالنمو كالسلمونيلات والشيجيلات، وهذه الأوساط تقسم إلى قسمين هي:

♦ **أوساط العزل Isolation Media :**

– وسط S.S. (*Salmonella- Shigella*)**:** وهو من أهم الأوساط المستخدمة في عزل السلمونيلات. تنمو على هذا الوسط الجراثيم المخمرة للاكتوز بشكل مستعمرات حمراء، أما الجراثيم غير المخمرة للاكتوز فتبدو عديمة اللون والجراثيم التي تطلق غاز كبريت الهيدروجين فتظهر في مستعمراتها نقطة سوداء في مركز المستعمرة. وتظهر على هذا الوسط مستعمرات السلمونيلا شفافة مركزها أسود أو شفافة فقط.



Dr Liba Ahamed Aldujhi

♦ **أوساط التكثير Enrichment media:**

– **وسط المرق الحاوي على سيلينيت الصوديوم Selinate Broth**: ويستخدم لتكثير جراثيم السلمونيلا وتثبيط الجراثيم المعوية كما لا تسمح بنمو الجراثيم موجبة الغرام كالمكورات العنقودية والمكورات المعوية. ويتركب هذا الوسط من:

peptone	5.0 g
Lactose	4.0 g
Glucose	1.0 g
Disodium Phosphate	10.0 g
Acidic Sodium Selinate	4.0 g
Distilled Water	1000 ml

تضبط درجة pH = 7 ويوزع الوسط في أنابيب، لا يعقم الوسط إنما يوضع لمدة نصف ساعة على البخار.

طريقة زرع البراز للتحري عن السلمونيلات:

يزرع 2–3 مل من مستحلب البراز (في المصل الفيزيولوجي) في أنبوب يحوي على 10 مل من وسط التكثير وبنفس الوقت يزرع البراز على وسط .S.S أو وسط ماكونكي أو وسط هيكتون ثم تحضن هذه الأوساط بدرجة 37 مئوية، وبعد 24 ساعة يؤخذ نموذجٌ بقضيب البلاتين من وسط التكثير ويزرع من جديد على أوساط العزل الصلبة وتحضن بدرجة 37 مئوية وبالوقت ذاته تفحص المستعمرات النامية على أوساط الزرع الصلبة المزروعة في المرة الأولى. وبعد 24 ساعة نعيد من جديد دراسة المستعمرات النامية على أوساط العزل الصلبة المزروعة في المرة الثانية.

تبدو مستعمرات السلمونيلات مشابهة تماماً لمستعمرات المتقلبات، فهي لا تخمر اللاكتوز ولا تطلق غاز كبريت الهيدروجين. ولمعرفة نوع هذه المستعمرات نجري اختبار تفكك البولة فإذا كان إيجابياً كانت الجراثيم من المتقلبات أما إذا كان سلبياً فتكون الجراثيم من السلمونيلات، وعندها نطبق التفاعلات الكيميائية الحيوية والتفاعلات المصلية للتأكد من هذه السلمونيلات. كما يمكن زرع الصفراء والبول والقيح باتباع الطرق ذاتها التي ذكرناها أعلاه في حالة الشك بالإصابة بالسلمونيلات.

2–3– التشخيص المصلي Serodiagnosis: يمكن تشخيص الحمى التيفية اعتماداً على ظهور أضداد خاصة (راصات) في مصل المريض وذلك بدءاً من اليوم الثامن من المرض، ويتم ذلك بواسطة تفاعل فيدال Widal Test حيث يتم فيه معايرة مصل دم المريض مع مستضدات اختبارية جاهزة هي A,B,O,H، ويجرى التفاعل كما يلي:

يطبق التفاعل على صفيحة زجاجية مقسمة إلى أربع حجرات ونستخدم لذلك أربعة أنواع من المستضدات هي:

– المستضدات الجسمية للسلمونيلا التيفية (T.O)

– المستضدات السوطية للسلمونيلا التيفية (T.H)

– المستضدات السوطية للسلمونيلا نظيرة التيفية A (A.H)

Dr.Hiba Alhamed Alduihi

– المستضدات السوطية للسلمونيلا نظيرة التيفية B (B.H)

يوضع في كل حجرة على الصفيحة الزجاجية قطرة من أحد هذه المستضدات، ويضاف إليها 0.01 مل من مصل المريض غير الممدد ونمزجهما معاً فيكون تمديد المصل في هذه الحالة بنسبة 160/1، تحرك الصفيحة ثم ننتظر خمس دقائق ونلاحظ التراص فإذا حدث تراص في إحدى الحجرات فمعنى ذلك أن حدوث التراص إيجابي بنسبة1 /160. أما إذا لم يحصل تراص فيضاف مرة أخرى 0.01 مل من مصل المريض إلى كل حجرة فيصبح التمديد 80/1 فإذا حدث تراص في إحدى الحجرات فمعنى ذلك أن التراص إيجابي بنسبة 80/1. وإذا لم يحصل تراص يضاف مرة ثالثة 0.01 مل من مصل المريض فيصبح التمديد 60/1 فإذا حدث تراص في إحدى الحجر فمعنى ذلك أن التراص إيجابي بنسبة 60/1. وإذا لم يحصل تراص يضاف مرة رابعة 0.01 مل من مصل المريض فيصبح التمديد 40/1 فإذا حدث تراص في إحدى الحجر فمعنى ذلك أن التراص إيجابي بنسبة 40/1. تعتبر النتائج إيجابية وذات مدلول إذا حصل تراص بالتمديد ≤160/1، أما النتائج الإيجابية في التمديد ≥ 80/1 فتدل على أن الشخص إما ناقه من المرض أو ملقح أو حامل سليم للجرثوم أو أن المرض في بدايته لذلك يجب إعادة التفاعل بعد أسبوع وأن ارتفاع عيار الأضداد يؤكد حدوث الإصابة.

يجب أن لا يطبق تفاعل فيدال قبل 7 أيام من ظهور الأعراض السريرية. هذا وتظهر الراصات الجسمية بعد 8 أيام من المرض بينما الراصات السوطية تحتاج من 10–12 يوماً. وعند الشفاء يهبط عيار الراصات الجسمية بينما تبقى الراصات السوطية لفترة طويلة.

يعتمد في معالجة السلمونيلات بصورة رئيسية على استخدام الكلورامفينيكول الذي يعتبر دواء نوعياً لهذه الجراثيم.

Dr.Hiba Alhamed Alduhi

جنس الشيجيلات *Shigella*

يعد جنس الشيجيلات العامل المسبب لإسهالات حادة تصيب الإنسان تعرف بالزحار العصوي Bacillary Dysentery، ولا تشاهد هذه الجراثيم في الطبيعة على شكل جراثيم عاطلة لكنها ذات تطفل إجباري على الإنسان وتحتاج إلى عوامل نمو خاصة.

1- العينات المرضية

في حالة الإسهال الحاد تؤخذ عينة من البراز الذي يكون مائعاً مخاطياً ومدمى.

2- التشخيص المخبري

2-1- الفحص المباشر للعينة المرضية: تؤخذ عينة من البراز وتفحص فحصاً عبيطاً فيشاهد في العينة وجود عدد كبير من الكريات البيضاء، عدد كبير من الكريات الحمراء، خلايا بطانية، عناصر مخاطية عديمة الشكل وبقايا خلايا، عناصر جرثومية عصوية الشكل بعضها يشاهد داخل الخلايا إضافة للجراثيم العاطلة الموجودة في البراز. ثم تلون عينة من البراز بطريقة غرام تمكن من ملاحظة وجود عصيات سالبة الغرام لكن كل هذه الصفات غير كافية لتشخيص الجرثوم الموجود في البراز.

2-2- زرع البراز: نستخدم عادة الأوساط الزرعية التالية :

- وسط **E.M.B.:** تظهر عليه مستعمرات الشيجيلا عديمة اللون أو زرقاء قليلاً.
- **وسط ماكونكي**: تظهر عليه مستعمرات الشيجيلا عديمة اللون وغير مخمرة للاكتوز.
- وسط **S.S.**: تظهر عليه مستعمرات الشيجيلا عديمة اللون وشفافة.
- **وسط هيكتون:** تظهر عليه مستعمرات الشيجيلا خضراء مائلة للأزرق قليلاً.

تحضن الأوساط المزروعة بدرجة 37 مئوية وبعد 24 ساعة من الحضن تدرس المستعمرات النامية على هذه الأوساط ويجرى عليها التلوين بطريقة غرام ثم تدرس الخصائص الكيميائية الحيوية ويجرى التشخيص المصلي للجرثوم. أما الخصائص الكيميائية الحيوية للشيجيلا فهي:

- ♥ جراثيم الشيجيلا غير متحركة.
- ♥ لا تخمر اللاكتوز لكنها تخمر الغلوكوز.
- ♥ لا تطلق غاز كبريت الهيدروجين.
- ♥ لا تفكك البولة.
- ♥ لا تنمو على وسط سيمون بالسيترات.

المعالجة بالصادات الحيوية هي الطريقة المثالية للقضاء على الشيجيلات، ومعظم هذه الجراثيم حساسة للأمبيسيلين، والكلورأمفينيكول والتتراسكلين والسلفاميد.

Dr.Hiba Ahamed Alduhi

جنس الكلبسيلات *Klebsiella*

الكلبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae*

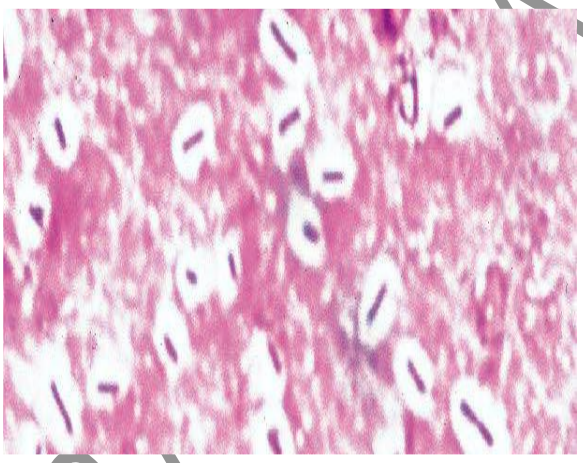
تنتشر هذه الجراثيم في الطبيعة وتوجد بصورة طبيعية في الأمعاء والطرق التنفسية، وتسبب هذه الجراثيم التهاب الرئة الحاد والتهاب القصبات والتهاب الأذن وبعض أنواع الخناقات.

1- العينات المرضية

القشع، مسحة من الأنف والبلعوم، القيح، الدم، السائل الدماغي الشوكي، البراز.

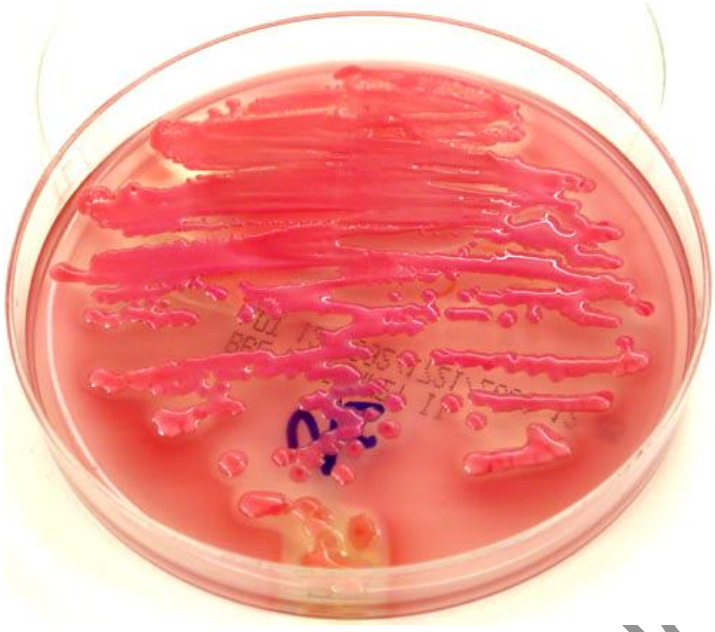
2- التشخيص المخبري

2-1- الفحص المباشر للعينة المرضية: تهيأ محضرات من العينات المرضية على صفائح زجاجية وتلون بطريقة غرام (خاصة بالنسبة للقشع)، إن وجود جراثيم عصوية سالبة الغرام محاطة بمحفظة منفردة أو مزدوجة يوجهنا نحو الكلبسيلا



2-2- زرع العينات المرضية: يزرع عادة البراز على وسط E.M.B أو S.S أو ماكونكي. أما زرع الدم فيتم في المرق المغذي المضاف إليه الغلوكوز. أما باقي العينات المرضية فتزرع على الآغار المغذي وعلى E.M.B أو ماكونكي أو وسط هيكتون. فعلى وسط ماكونكي تكون مستعمراتها مخاطية لزجة ضخمة حمراء قرنفلية مخمرة للاكتوز. وعلى وسط E.M.B تكون مستعمراتها مخاطية وردية، أما على وسط S.S فتكون مستعمراتها حمراء مخاطية. تحضن الأوساط المزروعة بدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة ثم تدرس المستعمرات التي نمت عليها ويجرى عليها تلوين بطريقة غرام وتدرس خواصها الكيميائية الحيوية. وتتميز الكلبسيلا الرئوية بما يلي: عصيات سالبة الغرام، ذات محفظة، غير متحركة، لاتخمر المانيتول، تخمر الغلوكوز مع إطلاق كمية كبيرة من الغاز، تخمر اللاكتوز، لا تطلق غاز H_2S، لاتحرر الأندول، تنمو على وسط سيمون بالسيترات، تفكك البولة ببطء. وتتميز الكلبسيلات بأن تفاعل حمرة الميتيل عندها يكون سلبياً أما تفاعل فوغس-بروسكاوير فهو إيجابي أي بشكل معاكس للعصيات المعوية الأخرى.

Dr.Hiba Aldumi



وبتطبيق التفاعلات المصلية كتفاعل التراص وتفاعل انتفاخ المحفظة (نيوفليد) يمكن التأكد من هذه الكلبسيلات.

إن معظم ذراري الكلبسيلا الرئوية مقاومة للأمبيسيلين لكنها حساسة للسيفالوسبورينات والكوليستين وحمض الناليديكسيك، وفي كل الأحوال يجب إجراء اختبار تحسس الجرثوم المعزول للصادات.

جنس المتقلبات *Proteus*

توجد هذه الجراثيم في الماء والتربة والهواء، كما أنها توجد بشكل طبيعي في أمعاء الإنسان. تسبب هذه الجراثيم تقيحات مختلفة والتهابات في المجاري البولية والتناسلية، كما أنها تسبب التهاب الأذن والسحايا وأحياناً خمج الدم. كذلك تسبب بعض التسممات الغذائية وأحياناً تسبب بعض الإسهالات الصيفية والحادة عند الأطفال. وسميت بالمتقلبات بسبب تبدل اشكالها وصفاتها.

يضم جنس المتقلبات أربعة أنواع هي: المتقلبة الاعتيادية (الشائعة) *P.vulgaris*، *P.mirabilis*، *P. myxofaciens*، *P. pennerie*.

1- **شكلها** : هذه الجراثيم سلبية الغرام ، متعددة الأشكال، تبدو أحياناً قصيرة أو طويلة خيطية وأحياناً أخرى بشكل عصوي نموذجي، وهي متحركة وخاصة المتقلبة الاعتيادية فهي شديدة الحركة.

2- **صفاتها الزرعية:** تنمو بسهولة في المرق المغذي وتعطي عكراً متجانساً وتطلق رائحة كريهة (رائحة تفسخ) وتشكل غشاوة رقيقة على السطح. أما في الآغار المغذي فإن مستعمراتها (وخاصة المتقلبة الأعتيادية) تجتاح كامل سطح الوسط الزرعي بشكل غطاء متموج بسبب الحركة النشيطة لهذه الجراثيم وذلك في أقل من 24 ساعة .

3- **صفاتها الحيوية الكيميائية**

يبين الجدول بعض الصفات الكيميائية الحيوية لهذه الجراثيم والتي تسمح بتمييز أنواع هذا الجنس من بعضها البعض.

Dr.Hiba Alhamed Alwihi

جدول بعض الصفات الكيميائية الحيوية للمتقلبات.

الاختبار	*P.vulgaris*	*P.mirabilis*	*P. myxofaciens*	*P. pennerie*
الحركة	+++	+++	+	متغيرة
فينيل الانين دي أميناز	+	+	+	+
اليورياز	+	+	+	+
اللاكتوز	–	–	–	–
الغلوكوز	+	+	+	+
المانيتول	–	–	–	–
المالتوز	+	–	+	+
الأندول	+	–	–	–
النمو على وسط سيمون	متغير	متغير	+	متغير
انطلاق H_2S	+++	+++	+	–
تمييع الآغار بالدرجة 22°	+	+	+	متغير

Dr.Hiba Alhamed Alduihi