

المادة : فلسفة الأحياء المجهرية مرحلة : ثالثة -- علوم الحياة

الموضوع	الأسبوع
مقدمة وتعريف	الأول
تركيب الخلية البكتيرية ووظائفها الفسلجية	الثاني - الثالث
متطلبات التغذية	الرابع
العوامل المنظمة للنمو و الأوساط الزراعية	الخامس
النمو وأطوار النمو وطرق قياس النمو	السادس - السابع
امتحان	الثامن
أساليب السيطرة على الأحياء المجهرية	التاسع
أنتاج الطاقة في الكائنات الحية تفاعلات الأكسدة والاختزال والتخمر والتنفس الهوائية والتنفس اللاهوائي	العاشر-الثاني عشر
التخليق الحيوي والتخليق الضوئي	الثالث عشر
الأنزيمات	الرابع عشر
امتحان	الخامس عشر

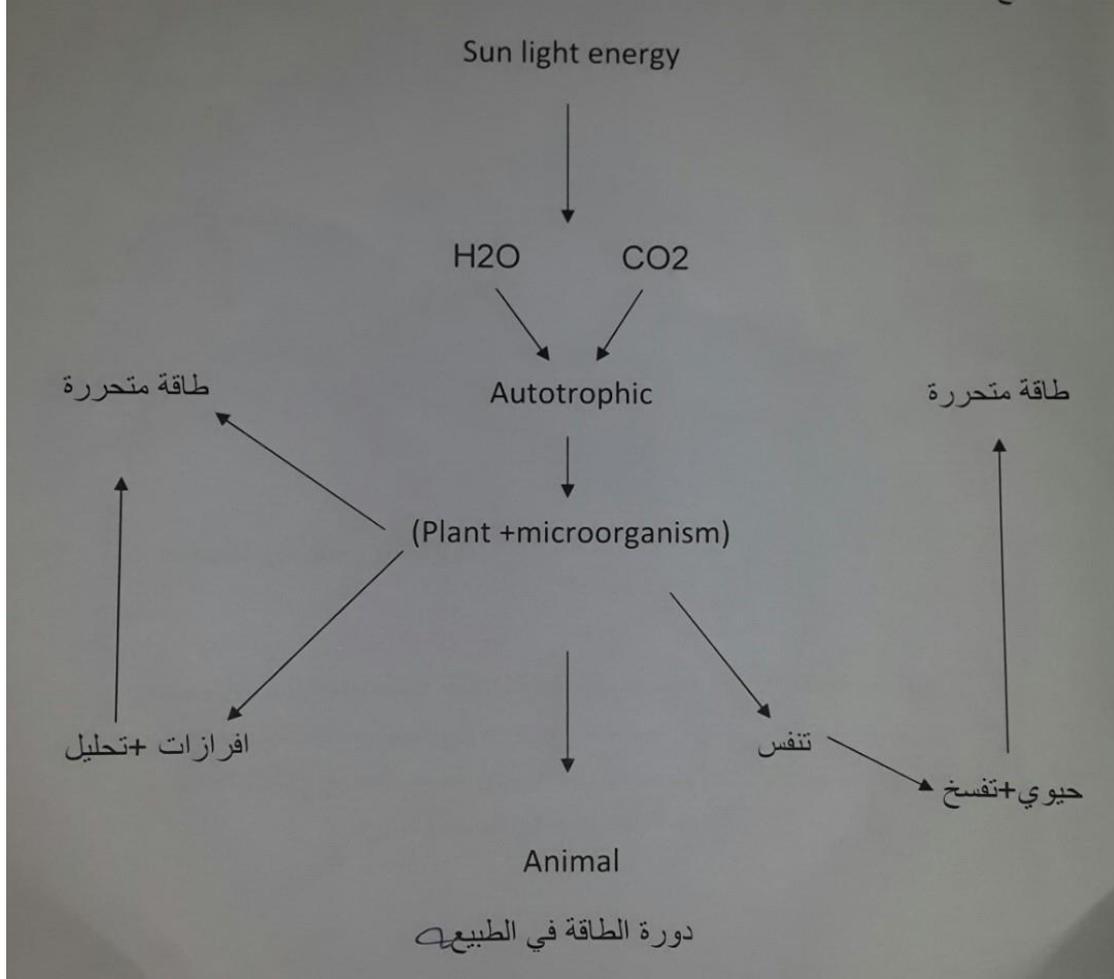
فلسفة الاحياء المجهرية --- المرحلة الثالثة --- علوم الحياة

## تعريف علم فسلجة البكتريا :-

هو العلم الذي يدرس وظائف مكونات البكتريا و لذلك فان هذا النوع من الدراسة يكون من اجل :-

- 1- التعرف على ميكانيكية عمل الأجزاء الدقيقة من الخلية .
  - 2- للمساعدة في السيطرة على الأمراض البكتيرية من خلال التعرف على ميكانيكية الامراضية و كيفية حصول الإصابة بها لتسهيل وضع خطوات المعالجة أو الوقاية منها.
  - 3 - الاستفادة من نشاط البكتيريا الحيوي في استغلاله للتكيف للاستخدامات المختلفة : تجاريا وصناعيا مثل تصنيع الأغذية والادوية وفي خصوبة التربة وفي التغيير وتسخير ذلك لخدمة وديمومة حياة الإنسان .
  - 4 - بعد ان ظهر التشابه الموجود بين العديد من جينات البكتريا وتلك الموجودة في خلايا النبات والحيوان من ضمنهم الانسان من الناحية البايوكيميائية . فقد فسر ذلك كثير من الغموض حول عمل التركيب للجينات النباتية والحيوانية .
- أن الأسس العامة التي تشترك بها العمليات الايضية ومنها البكتريا يمكن إيجازها بالاتي :-**
- 1- جميع هذه الفعاليات الايضية تستهلك طاقة والتي يجب توفيرها بالشكل المناسب وفي الموقع المناسب .
  - 2- معظم الطاقة المستخدمة تدخل في العمليات البنائية لتكوين نسخ جديد من الجينات التي من خلالها يتم حفظ الكائن مستقبلا والتي تتاثر بالعوامل البيئية المختلفة .
  - 3- العمليات الحيوية تجري وفق القواعد والقوانين الفيزيائية المعروفة .
  - 4- ان التعرف على مكونات العمل الحيوي البكتيري وتفاصيل اجراءه وكيفية تدخل تلك المكونات لإتمام ذلك العمل , هو الشرط المطلوب لفهم ميكانيكية العمليات الايضية المختلفة في الخلايا الحية .
- ان دراسة العمليات الايضية في البكتريا يقود إلى التوسع في دراسة الاختصاصات الاخرى مثل
- 1- بكتريا التربة وعلاقتها بخصوبة التربة .
  - 2- بكتريا مستخدمة في الصناعات الغذائية مثل الألبان والمضادات الحياتية وغيرها .
  - 3- بكتريا مرضية وتشخيصها والسيطرة عليها .
  - 4- بكتريا مستخدمة في الصناعات المختلفة مثل بكتريا النفط .
  - 6- بكتريا مستخدمة في معالجة مشاكل تلوث البيئة .

ان توفير الطاقة للخلية الحية هو الأهم والشرط الأساس لديمومة حيويتها والاستمرار للعمليات الايضية فيها . وتعتبر الطاقة الشمسية هي المصدر الأول والاهم في الكائنات الحية القادرة على تصنيع الغذاء .



أن جميع أو معظم العناصر الموجودة في الطبيعة تحتاجها الخلية في عملياتها الايضية ولكن في نسب متفاوتة لكل منها . فتكون تلك العناصر في حالات وصور متعددة حسب الحاجة إليها في الخلية الحية . بحيث تتغير حالته الأصلية فيطلق عليها بدورة العنصر في الطبيعة .

بالإضافة إلى مصدر الطاقة الضروري لحيوية الخلية , هنالك أيضا حاجة أساسية لمصدر الكربون الذي يدخل في تركيب جميع المركبات العضوية في الخلية لذلك فإنها تحتاج إلى مصدر الكربون ومصدر للطاقة بشكل مستمر . وبالإمكان تقسيم مجاميع وفئات الكائنات المجهرية إلى أربعة أنواع اعتمادا على مصدر الطاقة والكربون وكما موضح في الجدول ادناه .

Group	Sour carbon	Source of energy	Example
Photolithotrophic	CO <sub>2</sub>	Light	Algae +

			Cyanobacteria +sulfur
Photoorgano- trophic	Organic compound	Light	Sulfur bac +some of algae
Chemolithotrophic	CO <sub>2</sub>	Oxidation of un organic compound	Nitrosomonas Nitrobacter Thiobacillus
Chemoorgano- trophic	Organic compound	Oxidation of Organic compound	Pathogenic bac +soil bac +fung + protozoa

هنالك بعض الحالات القليلة جدا يتحكم فيها الكائن الحي المجهرى لاستخدام المصدر الكيميائي عند فقدان المصدر الضوئي ويطلق عليها Moxotrophic  
كما تستخدم تسميات متعددة أخرى حسب الأسلوب المستخدم في التعبير مثلا تقسيم الكائنات المجهرية إلى :-

ذاتية التغذية Autotrophic :- تستخدم كار بون معدني مثل CO<sub>2</sub> .

مختلفة التغذية Heterotrophic :- تستخدم كار بون عضوي مثل السكر .

**العمليات الايضية Metabolism تشمل العمليات البنائية Anabolism والعمليات الهدمية Catabolism .**

أن جوهر عملية البناء الحيوي هو ما تقوم به الكائنات ذاتية التغذية مع النباتات باستخدام الطاقة الشمسية لتحويل جزيئات الماء و CO<sub>2</sub> إلى جزيئات لأحد أنواع السكريات البسيطة هذه الجزيئات المتكونة (monomers) يتم تجميعها على شكل أزواج ثم سلاسل قصيرة وطويلة لتتكون منها جزيئات كبيرة لمركبات مثل النشاء و السليلوز والتي تستخدم في البناء تركيب خلوي جديد مثل الجدار الخلوي وغيرها .

علما أن جزء من جزيئات monomers يتم تأكسدها وتحليلها إلى ماء و CO<sub>2</sub> لتحرير الطاقة المخزونة فيها واستخدامها في تجميع وتكوين الجزيئات الكبيرة .

ان العمليات الهدمية على نقيض العمليات البنائية , فهي تتضمن تفكيك الدقائق الكبيرة الى دقائق صغيرة محررة جزءا من الطاقة المخزونة وتسمى بعملية تاكسد الغذاء او عملية التنفس والتي احيانا تؤدي الى تحلل جزئي للمركب المعقد او تحلل كامل مكوناته محررة المكونات الاولية لذلك المركب .

ان جميع الفعليات الايضية تتم في الخلية في نسق محكم لديمومة حياة الخلية , وان اي خلل فيها او توقف يعرض الخلية الى التلف وربما موت الخلية .

ان السيطرة الدقيقة على تفاصيل الفعاليات الايضية تتم من خلال العوامل الوراثية في الخلية التي تواجه كل فعالية ايضية لتكوين مركبات معينة او جزء محدد من الخلية الأغراض النمو والتكاثر مستخدمين مصادر الطاقة والغذاء المتوفرة في ذلك الوسط , يماثل ذلك في خلايا الكائنات الراقية المتخصصة الحاصل أثناء نمو الجنين والخلايا الجذعية لتكوين الأعضاء والأجهزة المختلفة في الجسم من تلك التراكيب المتكونة , كذلك المستقبلات التي نلاحظها على السطح الخارجي في الخلايا الحية لجميع أنواع الكائنات , والتي قد تكون لواحق أو زوائد أو تراكيب كيميائية محددة تسمى receptors (المستقبلات) . أو binding sites (مواقع ارتباط) أو Legends (أدوات ارتباط) وهي جميعها متخصصة لأجراء الالتصاق بالخلية المطلوبة...

تتنوع الخواص التي تميز مجاميع الكائنات المجهرية بعضها عن بعض والتي تعتمد لإغراض التشخيص والتصنيف وايضا في الجوانب المزرعية , والصناعية والزراعية وغيرها وهي :-

- 1- الخواص المظهرية : صفات المستعرة + صفات الخلية : من حيث الشكل والحجم والترتيب واللون والحركة وغيرها .
- 2- الخواص التركيبية :- اجزاء الخلية الواحدة مثل الكبسولة و السبور و الاسواط و الاهداب وغيرها وايضا مكونات هذه التراكيب مثل مكونات الجدار والانتجينات الموجودة وغيرها .
- 3- الخواص البيئية : علاقتها بالكائنات الحية والغير الحية المحيطة بها وعلاقتها مع بعضها .
- 4- الخواص المزرعية : انواع الاوساط الزراعية المستخدمة ومحفزات او مثبطات النمو .
- 5- الخواص الانتجينية : انواع الانتجينات التي تمتلكها الخلية وخاصة ما يميزها عن الانواع الاخرى .
- 6- الخواص الامراضية : من حيث احداث الاصابة للنبات والحيوان والانسان وعوامل الضراوة فيها .
- 7- الخواص الفسلجية : نمط التغذية والتنوع في استخدام مصادرها وحاجتها الى الاوكسجين , الانقسام الخلوي و DNA انتقال الجينات , العمليات الايضية , النواتج الايضية الثانوية منها السموم والصبغات والانزيمات .

### تشريح البكتيريا

عند فحص خلية البكتيريا نلاحظ ان الخلية تحوي الكثير من المكونات والتراكيب . وبعض هذه التراكيب يكون موقعه خارج الجدار الخلوي وبعضها الاخر يكون داخل الجدار الخلوي كما موضح في الشكل ادناه .

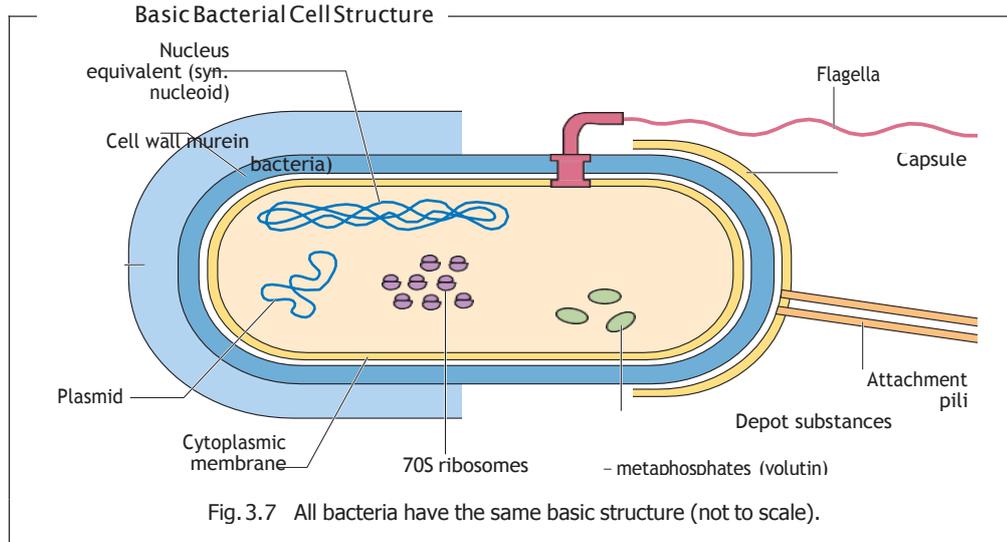


Fig. 3.7 All bacteria have the same basic structure (not to scale).

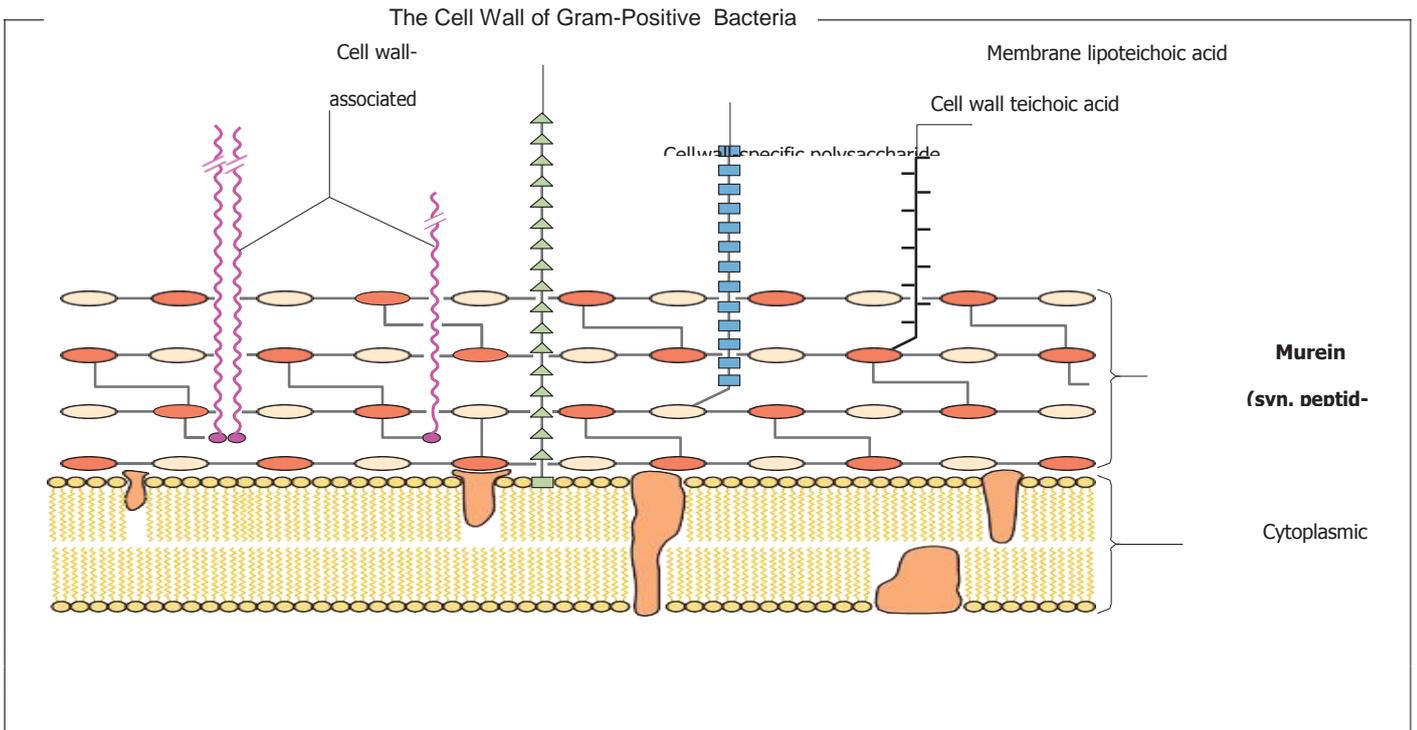
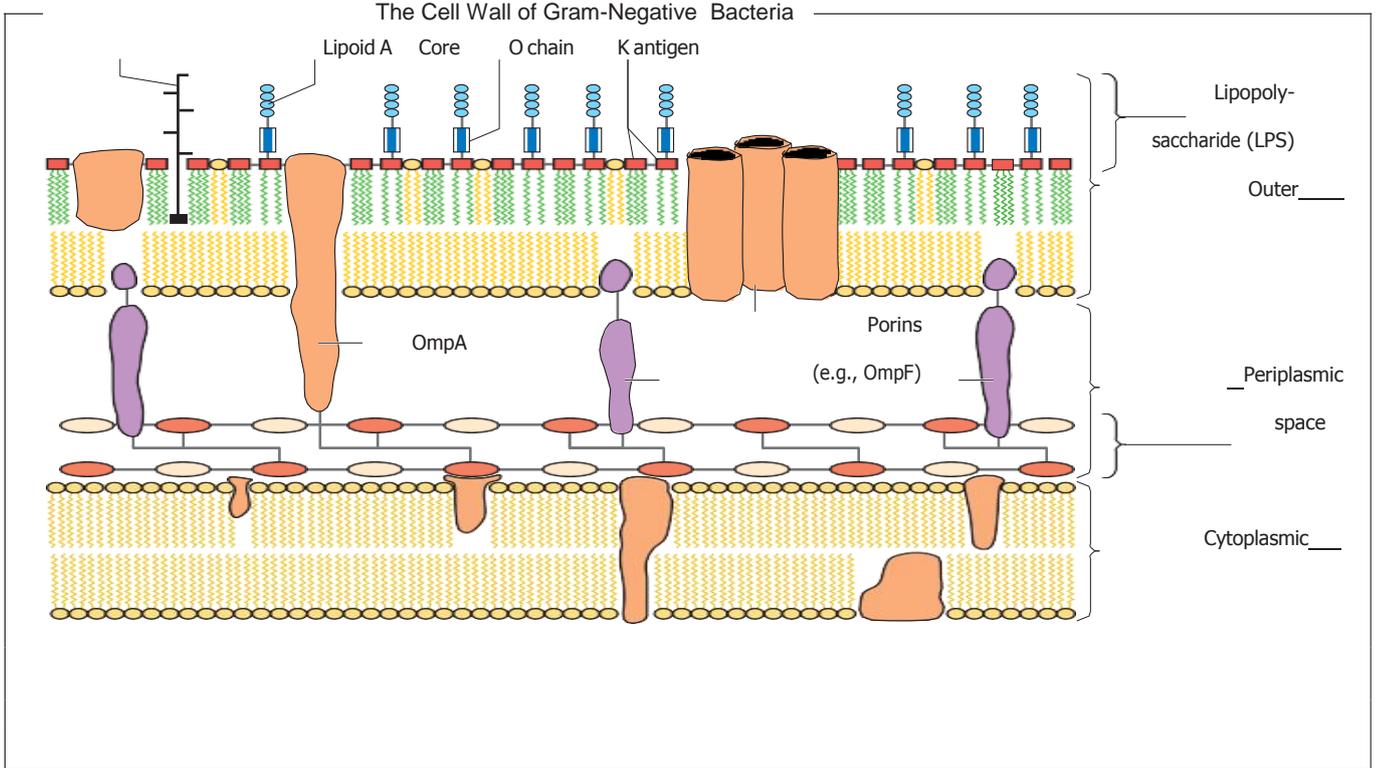
## التركيب التي تقع خارج الجدار الخلوي :-

### 1- جدار الخلية The cell wall :-

هو تركيب صلب يعطي للخلية شكلها المميز حسب النوع . اذن ان الوظيفة الرئيسية لهذه التركيب هو الحد من تمدد الخلية وانفجارها نتيجة دخول الماء اليها . عموما يكون سمك الجدار بحدود 20- 25 نانوميتر في الحالة البكتريا الموجبة لصبغة كرام اما في حالة البكتريا السالبة لصبغة كرام فيكون ارق (10 - 15 نانوميتر) ويشكل وزن جدار الخلية 10- 40 % من وزن الخلية وذلك حسب نوع البكتريا .

يتركب الجدار الخلوي من مادة تسمى ببتيد وكلايكان peptidoglycan و احيانا تسمى الميورين Murein . وهي مادة غير قابلة للذوبان مسامية . وهذه المادة توجد في مجموعة الاحياء بدائية النواة procaryote ولا توجد في مجموعة الاحياء حقيقية النواة Eucaryote .

مادة الببتيدوكلايكان تشكل 50 % من الوزن الجاف لجدار الخلايا الموجبة لصبغة كرام ,



في حين تشكل فقط 10 % من الوزن الجاف لجدار خلية البكتريا السالبة لصبغة كرام (الشكل اعلاه). تتركب هذه المادة من وحدات متكررة من N-Acetylmuramic acid و N-Acetylglucosamin واربعة احماض امينية هي لايسين . وكلوتامين وجزيئين من حامض الانين

وفضلا عن مادة الببتيد وكلايكان فان الجدار الخلوي يحوي على نسبة من الدهن التي تكون بحدود 11 - 12 % من الوزن الجاف لجدار خلية البكتريا السالبة لصبغة كرام في حين لا تتعدى هذه النسبة 4 % في حالة البكتريا الموجبة لصبغة كرام .

وفضلا عن ذلك فان الجدار الخلوي يحتوي على سكريات متعددة مرتبطة مع الببتيد وكلايكان كما تحتوي جدار بعض أنواع البكتريا على حامض التيكويك Teichoic acid الذي يرتبط مع ايونات المغنيسيوم ويعتقد ان هذا الحامض يعطي الخلية البكتيرية حماية ضد التأثيرات الحرارية .

**2- الكبسولة Capsule :** الكبسولة عبارة عن مادة لزجة تشكل طبقة او غلاف هلاميا حول الجدار الخلوي يحيط ببعض الخلايا البكتيرية . فاذا امكن مشاهدة هذه الطبقة اللزجة بالمجهر الضوئي باستعمال طرق صيغ خاصة فانها تسمى الكبسولة . اذا كانت هذه الطبقة رقيقة جدا بحيث لا ترى بالمجهر الضوئي فتسمى بالكبسولة الصغيرة microcapsules ولكن اذا كانت هذه الطبقة اللزجة سميكة جدا بحيث تلتصق عدة خلايا بعضها ببعض عندها تسمى هذه المادة بال Slime . وتظهر الكبسولة بواسطة المجهر الضوئي على شكل طبقة جيلاتينية تحيط بالخلية ويتحدد شكلها بشكل الخلية .

تتركب الكبسولة من مركبات مختلفة منها كاربوهيدرات معقدة (سكريات متعددة) مثل الدكسرانات dextran او من خليط من السكريات والاحماض العضوية وفي اغلب الانواع تكون مواد هذه الكبسولة غير قابلة للذوبان في الماء وفي انواع اخرى تكون قابليتها للذوبان في الماء عالية حتى انها غالبا ما تزيد من لزوجة البيئة السائلة التي تنمى فيها مثل هذه الانواع

**وتبعا لنوع البكتريا فان الكبسولة تبدي وضاف عدة بالنسبة للبكتريا ومنها :**

ا - يمكن ان تساعد البكتريا على الالتصاق في السطوح فمثلا البكتريا المسببة لتسوس الاسنان *Streptococcus mutant* تمتلك كبسولة تساعدها على الالتصاق بسطح الاسنان الاملس . حيث ان الكبسولة هذه البكتريا مكون من مادة غير ذائبة في الماء تسمى كلوكان glucon .

ب - يمكن ان تمنع كريات الدم البيضاء من التهام البكتريا المرضية وهذا يعني ان الكبسولة تزيد من القابلية البكتريا المرضية على احداث المرض .

ج - تعطي الحماية ضد الجفاف الموقت وذلك من خلال شد جزيئات الماء .

د- يمكن ان تكون حاجزا او مانعا لالتصاق لاقمات البكتريا .

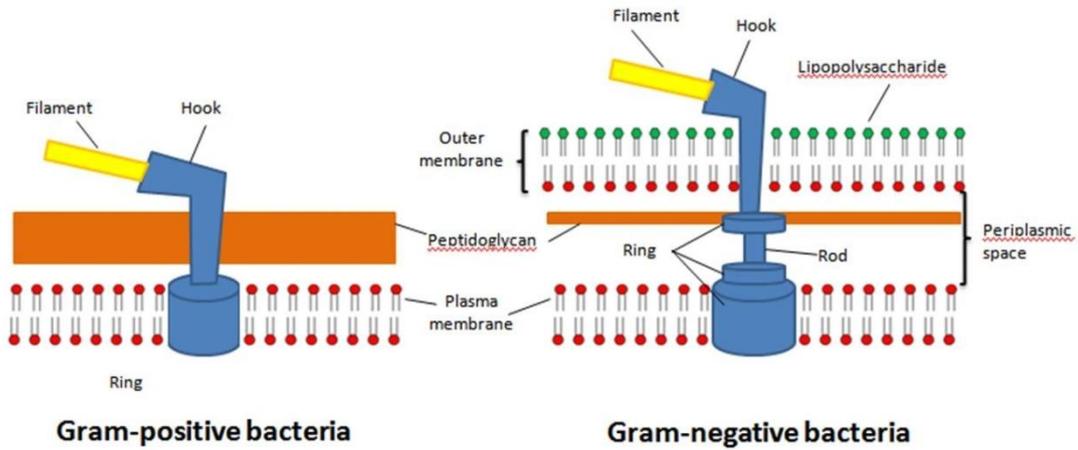
هـ - بعض الكبسولات تحوي مواد لها شحنات كهربائية مثل حامض الكلوكوبيورونيك gluco-uronic acid حيث تساعد على ثباتة الخلايا في المعلق بصورة متساوية وذلك لان تشابه شحنات الجزيئات يجعلها متنافرة بصورة دائمة فتبقى الخلايا منتشرة دون ان تجتمع او تترسب في القعر .

### -3- الاسواط Flagella - :

وهي تراكيب دقيقة جدا تشبه الشعيرات وتبرز من جدار الخلية إلى الخارج وتكون مسؤولة عن حركة البكتريا وتتراوح أطوارها من 0.01 إلى 0.02 نانومتر. وتكون اسواط البكتريا أدق بكثير وابطسط تركيبا من الاسواط للاحياء الحقيقية النواة Eucaryotes . وعموما تملك اغلب البكتريا العصوية اسواطا في حين نادرا ما تمتلك البكتريا الكروية اسواطا وعلى عكس الشعر في الحيوانات الراقية فان السوط ينمو ويستطيل من قمته وليس من قاعدته . حيث ان مواد السوط تصنع في الخلية ثم تمر في التجويف المركزي للسوط وتضاف الى نهاية السوط

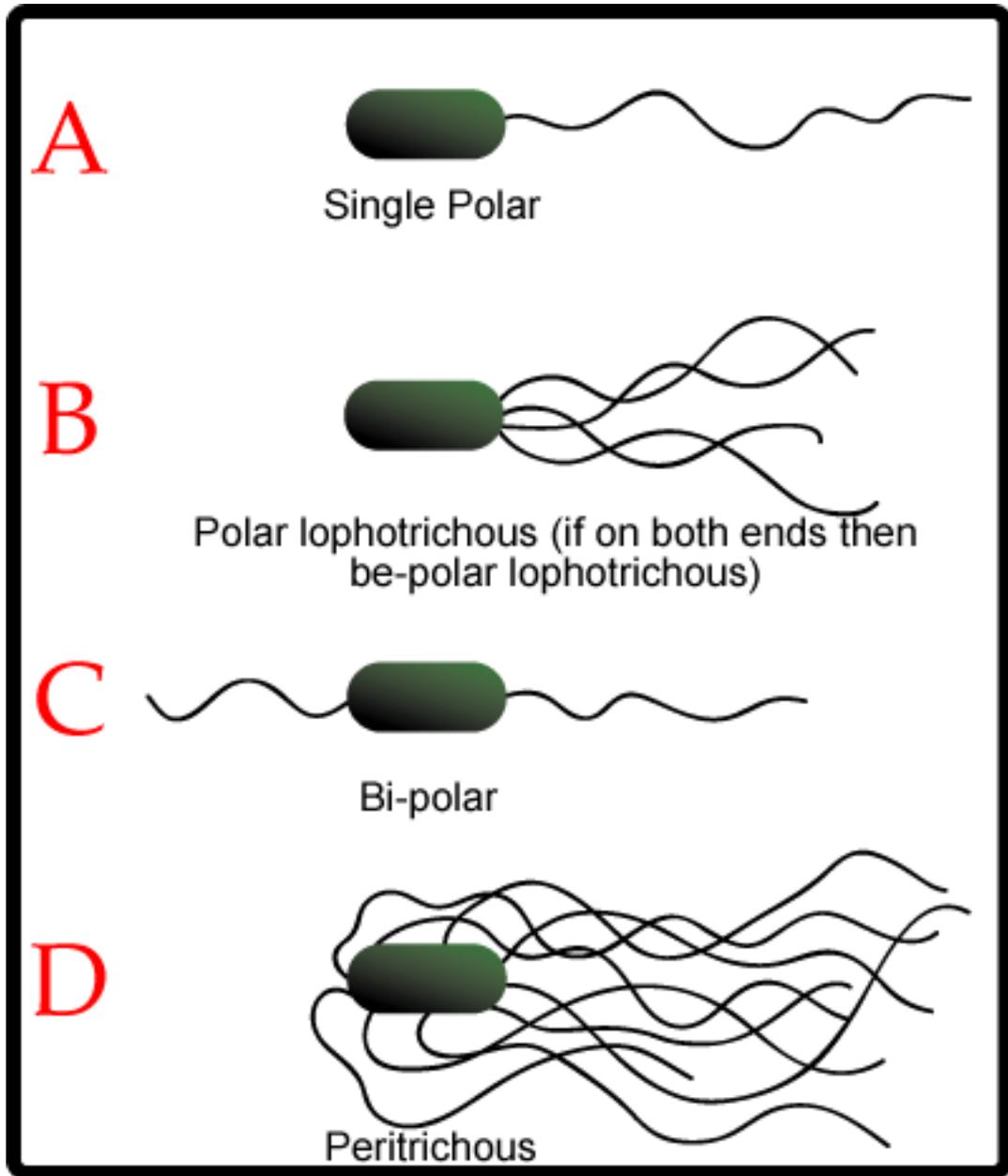
يتركب السوط من ثلاث اجزاء اولها جسم قاعدي (basal body) يلامس نهايته السايوبلازم من الجهة الداخلية ويمتد هذا الجسم حتى ينتهي بجدار الخلية , والجزء الثاني من السوط يعرف بالخطاف HOOK اما الجزء الثالث يعرف بالخيط الحلزوني Filament والذي يكون طوله عدة مرارة بطول الخلية . والجزءان الثاني والثالث تركيبهما من مادة بروتينية تسمى فلاجلين Flagellin اما الجسم القاعدي فتركيبه غير معروف ويتكون الجسم القاعدي من اربع حلقات كما في الشكل التالي وتكون مسؤولة عن حرية حركة السوط المختلفة . ان نوع حركة البكتريا السوطية يعتمد على عدد الاسواط وعلى ترتيب الاسواط على جسم الخلية

### Structure of bacterial flagella



fastbleep))

ويعتمد موقع الاسواط في الخلية على نوع البكتيريا . فقد يكون قطبيا (من طرف او من طرفين) او قد يكون جانبيا ( على جوانب الخلية البكتيرية ) وكما هو موضح في الشكل ادناه. فان الخلية البكتيرية التي تمتلك سوطا واحدا قطبيا يسمى Monotrichous ومثال على هذا البكتيريا هي *pseudomonas aeruginosa* . اما الخلية التي تحوي خصلة من الاسواط في طرف واحد فتسمى Lophotrichous ومثال عليها هو النوع *pseudomonas fluorescens* . في حين نجد ان الخلية تمتلك اما خصلة او سوط واحد في كلا قطبي الخلية فيطلق عليها Amphitrichous ومثال عليها نوع البكتيريا *Salmonellas typhi* . اما الخلايا التي لاتحوي اسواط فيطلق عليها اصطلاح A trichous ومثال عليها جميع البكتيريا الكروية حيث ان الاسواط هي صفة غالبا ملازمة للبكتيريا العصوية في حين تفتقر البكتيريا الكروية للاسواط.



الشكل يبين المواقع المختلفة للاسواط على خلية البكتيريا وهي :

أ- سوط قطبي واحد

ب- خصلة اسواط في قطب واحد

ج- خلصلتين في قطبين

د- اسواط من جميع الجهات

يمكن ملاحظة حركة البكتريا ومواقع الاسواط على جسم الخلية من خلال تحضير القطرة المعلقة **hanging drop** من مزرعة سائلة حديثة نشطة . وتتم ملاحظة الحركة بواسطة العدسة الكبرى . وكذلك يمكن ملاحظة حركة البكتريا من خلال البيئات المزروعة ويسمى هذا الاختبار **Motility agar test** حيث تغمس ابرة تلقيح ملوثة بنوع البكتريا المواد اختبار حركتها في انبوب اكار مغذي عميق ثم تحضن هذه الانبوبة على درجة حرارة مناسبة بعد فترة يلاحظ البكتريا ان البكتريا المتحركة تنمو منتشرة بعيدا من خط التلقيح في تبقى البكتريا غير المتحركة نامية على طول خط التلقيح .

وتبدي بعض انواع البكتريا الحلزونية مثل Spirochetes حركة سباحية وبخاصة في المحاليل ذات اللزوجة العالية على الرغم من انها لاتمتلك اسواط خارجية بل لها ما يشبه الاسواط . ولكن هذه الاسواط تكون تحت الجدار الخارجي للغلاف الخلوي . ومثل هذه الاسواط تسمى Periplasmic Flagella او احيانا تسمى Endo flagella وهي مسؤولة عن حركة هذه الانواع من البكتريا الحلزونية ولكن كيفية حصول هذه الحركة ليست واضحة تماما .

#### 4- الاهداب Pili :-

وهي بروزات شعيرية مجوفة وغير ملتوية وتكون ادق واقصر واكثر عددا من الاسواط البكتيريا . وهذه التراكيب لاتستخدم في الحركة وذلك لوجودها في البكتريا غير المتحركة والمتحركة على السواء ولكن لها وظائف منها :

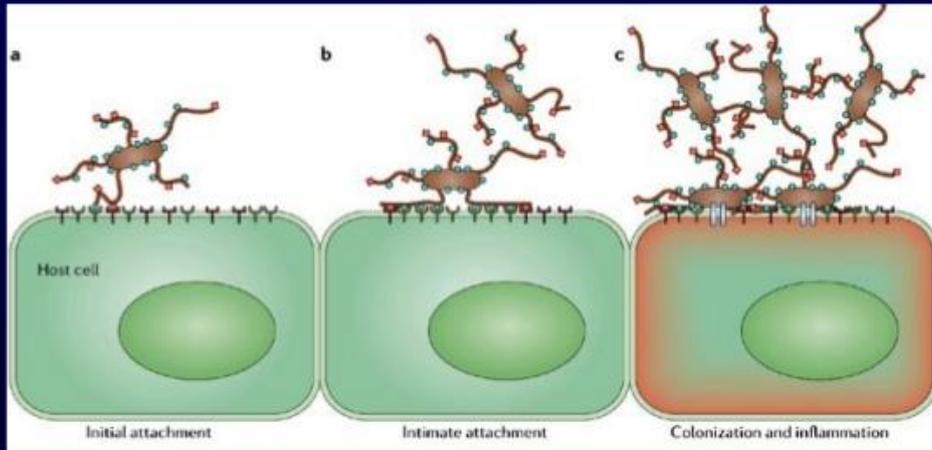
ا- تستخدم في نقل المادة الوائية في عملية التزاوج بين خليتين .

ب- لقسم من الاهداب دور مهم في العدوى المرضي للإنسان حيث تساعد البكتريا المرضية على الالتصاق attachment بالاسطح الداخلية للخلايا الطلانية المبطنة للجهاز التنفسي والجهاز الهضمي . وهذا الالتصاق بواسطة الاهداب يحد من ازاحة البكتريا وذلك بتيار حركة السوائل في القناة الهضمية منما يساعد على انتشار العدوى .

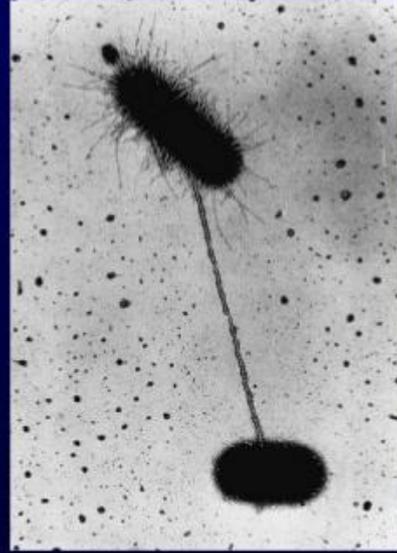
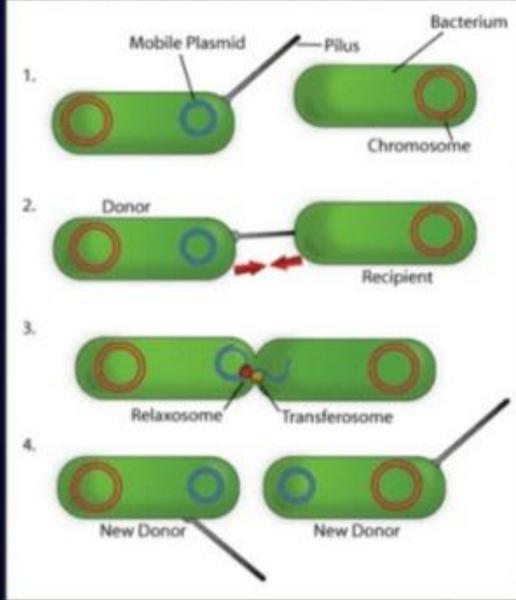
ج- تستعمل الاهداب ايضا مواقع اتصال لاقمات البكتريا عند مهاجمت هذه اللاقمات لمضائفها البكتيرية .

**1. Ordinary pili:** Playing a role in the adherence of symbiotic and pathogenic bacteria to host cells.

(Minor proteins termed **adhesins** are located at the tips of pili and are responsible for the attachment properties.)



## 2. Sex pili: Being responsible for the attachment of donor and recipient cells in bacterial conjugation.



التركيب الداخلية للبكتريا :-

وهي التركيب الموجودة داخل الجدار الخلوي وتشتمل :

### 1- الغشاء الساييتوبلازمي Cytoplasmic membrane :-

هو حاجز منفذ انتقائي . اي ان حركة حركة الجزيئات عبر الغشاء بالاتجاهين تكون محدودة باختيارية هذا الغشاء . ويقع هذا الغشاء مباشرة تحت الجدار الخلوي ويبلغ سمكه بحدود 7.5 نانوميتر . يتركب هذا الغشاء مباشرة من جزيئات الفوسفوليبيدات phospholipids وتشكل 20-30 % بينما يشكل البروتين حوالي 60 - 70 % من الغشاء . وتكون الليبيدات المفسفرة على هيئة طبقتين حيث تقع النهايات المحبة للماء في الجهة الخارجية . اما النهايات الكارهة للماء فتكون منضوية الى داخل الجزيئة .

بين هاتين الطبقتين توجد جزيئات البروتين المتداخلة Integral protein ويشكل اغلبية نسبة البروتين . اما البروتين الطرفي peripheral protein فيشكل نسبة قليلة ويوجد على الاسطح الخارجية لطبقتي الليبيدات المفسفرة .

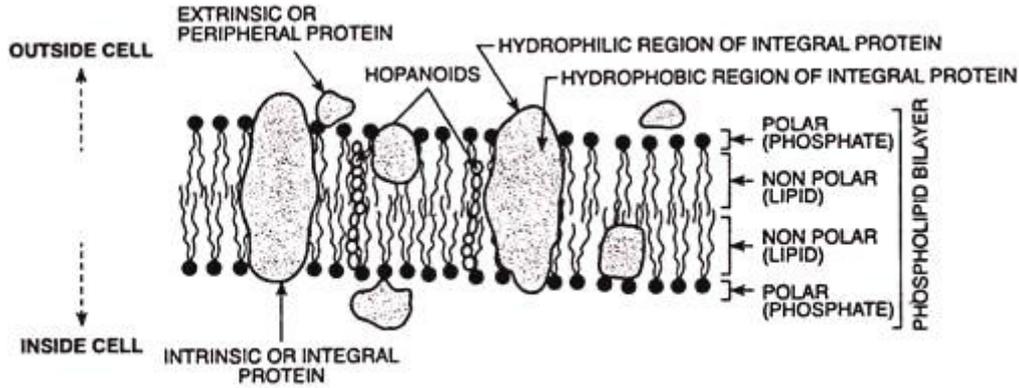


FIG. 5.15. Diagrammatic representation of the fluid mosaic model of plasma membrane.

### رسم توضيحي لتركيب الغشاء الساييتوبلازمي

ان الوظيفة الأساسية لهذا الغشاء الساييتوبلازمي هي تنظيم مرور الجزيئات بصورة انتقائية حيث يقوم بامرار الجزيئات الغذائية الى داخل الخلية والسماح لجزيئات فضلات الخلية بالخروج , ان اي تلف لهذا الغشاء بسبب عوامل خارجية فيزيائية او كيميائية او مضادات حيائية يؤدي الى تثبيط وظيفته ومن بعد قد يؤدي الى موت الخلية البكتيرية. كذلك يحتوي الغشاء الساييتوبلازمي على أنزيمات متعددة تشترك في تخليق بعض مكونات الجدار الخلوي . وايضا تمر من خلاله الجزيئات البروتين المصنعة في الخلية والمرسلة الى جدارها . كما يعد هذا الغشاء مصدرا لتوليد الطاقة المتمثلة في تخليق ATP المستخدمة في اجهزة نقل المغذيات وفي حركة الاسواط .

### 2- البروتوبلاست Protoplast:-

وهو الجزء المتكون من الغشاء الساييتوبلازمي وما يحتويه من مكونات خلية البكتريا الداخلية . ويمكن الحصول على البروتوبلاست عند معاملة خلية بكتريا موجبة لصبغة كرام بوساطة انزيم مثل اللايسوزايم الذي يعمل على اذابة الجدار الخلوي فقط وما يتبقى من الخلية هو البروتوبلاست . كذلك يمكن الحصول عليه عند تنمية البكتريا بوجود مضاد حياتي مثل البنسلين الذي يمنع تكوين الجدار الخلوي . وفي كلتا الحالتين يجب وضع البروتوبلاست الناتج في محيط يكون فيه الضغط الازموزي متعادلا مع ما هو موجود داخل الخلية .

ان عملية ازالة الجدار الخلوي لايؤثر على حيوية خلية البكتريا . فتقوم الخلية (البروتوبلاست ) بوظائف التكاثر والوظائف الفسيولوجية الاخرى ولكن بحذر تام من ناحية الضغط الازموزي .

في حالة البكتريا السالبة لصبغة كرام فان الخلية المعاملة بانزيم اللايسوزايم والمضادات الحيوية تسمى سفيروبلاست Spheroplast وليست بروتوبلاست . تمتلك السفيروبلاست غشاء خارجيا (خارج جدار الخلية السالبة لصبغة كرام ) لايتاثر بالمعاملة فضلا عن احتوائه على الغشاء الساييتوبلازمي الموجود في البروتوبلاست .

بعض انواع البكتريا ( المايكوبلازم ) لاتملك جدارا خلويا في طبيعتها تحيط نفسها بغشاء سايتوبلازمي . لهذا فهي تمتلك صفات مشابهة البروتوبلاست . ومع ذلك تستطيع ان تعيش . وتكون معظم المايكوبلازما متطفلة على الحيوانات والنباتات والحشرات . ولهذا تحتمي هذه المايكوبلازما تكون كروية ماعدا جنس واحد يسمى Spiro plasma حيث تكون خليته حلزونية ولم يعرف كيف يحافظ هذا الجنس على شكل خلية بغياب جدار الخلية .

### 3- يمكن ان تقسم مواد الخلية التي يحيط بها الغشاء السايكوبلازمي الى ثلاث مناطق هي :

ا- منطقة السايكوبلازم : وهي حبيبية المظهر غنية بالاجسام الكبيرة كالرايبوسومات Ribosomers التي يتم عندها التخليق الحياتي لبروتين الخلية . ان قطر هذه الجسيمات هو بحدود 20 نانوميتر ويشكل الحامض النووي RAN حوالي 60 % منها والبروتين 20% .

ب- المنطقة الكروماتينية وهي غنية بجزيئات ال DNA .

ج- الجزء السائل المحتوى على المواد الذائبة .

على العكس من خلايا النبات والحيوان فان خلايا الاحياء المجهرية لا تحتوي على endoplasmic reticulum ولهذا فان بعض الرايبوسومات تكون منتشرة بصورة طليقة في السايكوبلازم وبعضها الاخرى المسؤول عن تخليق البروتين يكون مرتبطا على السطح الداخلي للغشاء السايكوبلازمي . تكون منتشرة بصورة طليقة في السايكوبلازم وبعضها الاخر المسؤول عن تخليق البروتين يكون مرتبطا على السطح الداخلي للغشاء السايكوبلازمي .

### 4- المادة النووية Nuclear Material :-

ليس للبكتريا نواة حقيقية ولكنها تحتوي على اجسام نووية ليس لها غشاء نووي محدد ولا ادوات الانقسام الخيطي كما هو الحال في انوية خلايا الاحياء الحقيقية النواة ال Eucaryotic وهي بذلك نواة بدائية قد تتخذ اشكالا مختلفة ومتكونة اساسا من الحامض النووي DNA .

وبما ان هذه التراكيب لا تعد نواة بالمعنى الحقيقي لذا يطلق عليها اسماء مختلفة منها النواة Nucleoid او الجسم الكروماتيني Chromatin body او الكروموسوم البكتيري bacterial chromosom وذلك لان الحامض النووي DNA يتكون من شريط مفرد الذي يحمل كل الجينات الخاصة بالخلية . وحسب صور المجهر الالكتروني فان النواة البدائية تلاحظ بانها عبارة عن تراكيب ليفية دقيقة ذات لون ابيض . ويمكن ان تلاحظ بالمجهر من خلال صبغة تسمى feulgen وهي تكون متخصصة لصبغة الحامض النووي DNA .

### 5- الحبيبات المخزنة في السايكوبلازم :-

يمكن الكشف عن بعض الجسيمات في السايكوبلازم لبعض أنواع البكتريا . ومن ضمنها حبيبات فوليوئين Volutin granules المتكونة من الفوسفات المتعددة polyphosphate وتصطبغ بلون بنفسجي غامق عند صبغتها بصبغة ازرق المثلين المخففة وتعد هذه الحبيبات مخازن للفوسفات . ومن انواع البكتريا المحتوية على كمية واضحة ومن هذه الحبيبات

*Corynebacterium* . حيث تعد الفوسفات ضرورية في تكوين الحامض النووي DNA والمركبات الغنية الطاقة (ATP) .

والجسيمات الاخرى هي حبيبات السكريات المتعددة **Poly saccharide granules** والكلايوجين ويمكن اصطبغها باللون البني بعد معاملتها باليود . كما ان بعض انواع البكتريا التي تعيش في الاوساط المائية تحوي على فجوات هوائية **Gas Vacules** . فانتتها هي لمقاومة الضغط الناتج من اعماق المياه ولمنع تمزق الخلايا .

ومن الجسيمات الاخر التي توجد في الساييتوبلازم **Poly-hydroxy butyrate (PHB)** التي تعد مخزنا للكربون والطاقة ومثل هذه الجسيمات توجد في البكتريا الهوائية فقط . وتظهر بالمجهر الالكتروني كمناطق دائرية شفافة.

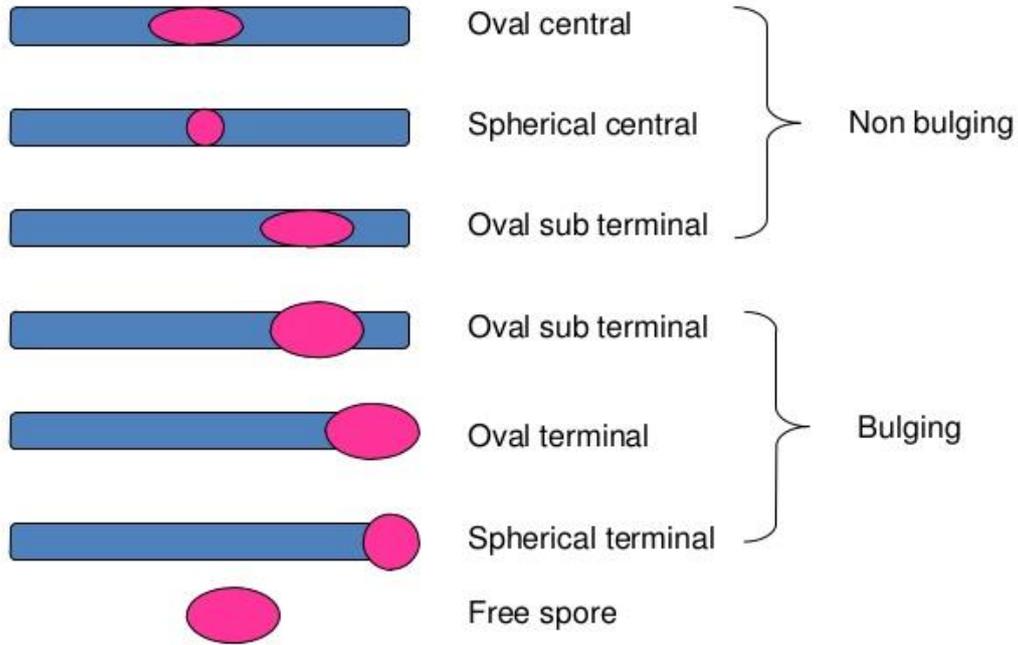
#### -6- سبورات البكتريا **Bacterial spores** :-

السبورات عبارة عن خلايا ساكنة حيويًا تمتلك عادة جدرانًا سميكة يمكنها ان تثبت وتنمو الى الخلايا خضرية عند توافر الظروف المناسبة . وعادة يتكون سبور واحد في كل خلية . وهذه السبورات تقسم الى مجموعتين السبورات الداخلية والسبورات الخارجية .

#### السبورات الداخلية **Endospores**

تتكون داخل الخلية حيث يختلف شكل السبور وموقعه حسب نوع البكتريا فمنها ما يكون في مركز الخلية كما في بكتريا **Bacillus cereus** او يكون طرفيا كما في بكتريا **Clostridium tetani** . اما الحالة الثالثة فيكون فيها السبور قريبا من الطرف كما في بكتريا **Clsubterminale** .

## Shape & position of bacterial spore



Dr.T.V.Rao MD

58

الشكل يوضح مواقع السبورات الداخلية لانواع مختلفة من البكتريا

تتكون السبورات الداخلية عندما تكون الخلايا في نهاية طور النمو النشط . والعوامل التي تتطلب لتحفيز السبورات الداخلية ذات مقاومة شديدة للجفاف والصيغ وللمواد المطهرة والاشعاع فضلا عن مقاومة الحرارة . فمثلا وجدت سبورات بكتريا *Cl.botulinum* نوع A انها تقاوم الغليان لعدة ساعات . ولو ان مقاومة السبورات للحرارة باختلاف الانواع ولكن عموما فان مختلفة السبورات تقاوم حرارة 80 درجة مئوية لمدة 10 دقائق . ويعتقد ان اهم العوامل المساعدة للسبور في مقاومة الحرارة هو قلة الرطوبة الموجودة في تركيب السبور كذلك احتواء جميع السبورات الداخلية على كمية كبيرة من حامض ثنائي بيكولينيك *Dipicolinic acid (DPA)* . وهذا الحامض غير موجود في جدار الخلايا الخضرية. ويوجد هذا الحامض متحدا مع عنصر الكالسيوم على شكل معقد *Ca-DPA* الذي يلعب دورا في مقام السبور للحرارة .

تكون السبورات قادرة على البقاء ساكنة لعدة سنين ولكن يمكنها ان تنبت الى خلايا خضرية عند توافر الظروف الملائمة للانبات وذلك خلال فترة قصيرة (دقائق) . وتتضمن عملية الانبات مرحلتين . **المرحلة الاولى** هي انتهاء السكون التي تتاثر بموثرات المحيط مثل الحرارة . اذ ان عدة دقائق من المعاملة الحرارية بدرجة حرارة 60 الى 70<sup>o</sup> م عادة تكفي لانتهاء مرحلة السكون . **والمرحلة الثانية** هي النمو . وبهذه المرحلة يبدأ السبور بالانتفاخ وينكسر الغلاف نتيجة الدفع الناتج من الخلية الخضرية الجديدة . وتحدث عملية تحطيم جدار وغلاف السبور نتيجة فعل الانزيمات المحللة .

**السبورات الخارجية Exospores :-**

وهي السبورات التي تتكون خارجيا . اي خارج الخلية الخضرية كما في التبرعم الذي حصل يحصل في نهاية احد اطراف الخلايا . وهذه السبورات تكون مقاومة للجفاف والحرارة ولكن مقاومتها لهذه الظروف اقل من السبورات الداخلية وذلك لعدم احتوائها على حامض Dipicolinic acid (DPA) يلاحظ هذا النوع من السبورات في خلايا البكتريا المؤكسدة لغاز الميثان والتابعة لجنس Methylosinus.

**الحويصلات Cysts :-**

وهي تراكيب ذات جدار سميكة نوما ما . تستخدم للسكون والسبات الحيوي وهو مقاوم للضروف الصعبة . وتتشابه الحويصلات مع السبور في بعض الواجه ولكنها لا تمتلك المقاومة العالية للحرارة كما هو الحال مع السبور الداخلية . كذلك تختلف الحويصلات في تركيبها الكيميائي عن السبورات الخلية ومثال على الحويصلات هو التركيب الذي ينتج من قبل جنس البكتريا Azotobacter .

## تنمية البكتريا The Cultivation of Bacteria

عادة يمكن تنمية البكتريا ودراستها تحت الظروف المختبرية حيث طورت العديد من الاوساط الغذائية لتنمية الانواع المختلفة من البكتريا . وبما ان الاحتياجات الغذائية للبكتريا تكون مختلفة حسب نوع البكتيرية . هذا فانه من المتوقع ان تكون هنالك اختلافات واسعة في تركيب هذه الاوساط الغذائية . كذلك فان تنمية البكتريا تتأثر بالظروف الفيزيائية المحيطة بالبكتريا من درجة حرارة وتركيز ايون الهيدروجين وتركيز الغازات . لذا فان نجاح تنمية البكتريا يتطلب اخذ العوامل المذكورة أنفا بنظر الاعتبار.

### العوامل اللازمة لتنمية البكتريا :

#### 1- الاحتياجات الغذائية :

ان جميع الكائنات الحية ابتداء من البكتريا وانتهاء بالانسان تشترك في احتياجات غذائية ضرورية للنمو والفعاليات الحيوية . ويمكن ان نبين الاحتياجات الغذائية الموجودة بين انواع البكتريا المختلفة ومدى اتساع الاختلاف في هذه الاحتياجات .

**1 - مصدر الكربون :** الكربون ضروري لجميع الاحياء وذلك لتصنيع وتكوين مركبات الخلية . فبعض الاحياء تستطيع ان تستخدم ثاني اوكسيد الكربون مصدرا أساسيا للكربون . وبهذه الحالة تسمى ذاتية التغذية autotrophs اما البعض الاخر تسمى غير ذاتية التغذية Heterotroph ولاستطع ان تستخدم CO2 مصدرا وحيدا للكربون .

**2 - مصدر الطاقة :** تحتاج جميع الاحياء المجهرية الى مصدر لطاقة . وبعض الاحياء المجهرية تعتمد على الضوء للحصول على الطاقة . وبهذه الحالة تسمى ضوئية التغذية phototrophs في حين نجد ان الاحياء المجهرية التي تعتمد على المركبات الكيميائية مصدرا للطاقة يطلق عليها اصطلاح كيميائية التغذية Chemotrophs.

**3- مصدر النايتروجين :-** كما هو الحال مع الكربون والطاقة فان جميع الاحياء المجهرية تحتاج الى النايتروجين بصورة مختلفة لبناء الخلية . وتختلف البكتريا في احتياجاتها للنتروجين عن الاحياء الحقيقية النواة Eucaryotes حيث يمكن لبعض البكتريا استخدام النتروجين الجوي . اما بعضها الاخر فيمكنه استخدام مركبات النتروجين غير العضوية مثل النتريت ( $NO_2$ ) والنترات ( $NO_3$ ) واملاح الامونيا ( $NH_4^+$ ) وبعضها الاخر يمكنه استخدام النايتروجين من مصادر عضوية كالاحماض الامينية او نواتج التحلل المائي للبروتين .

ان الاهمية النسبة بين الكربون / النتروجين تبدو متباينة . ويذكر ان زيادة هذه النسبة تكون مناسبة لنمو الفطريات في يكون انخفاض هذه النسبة مناسبة لعملية تكوين السبورات وهنالك كائنات حية اخرى لاتبدي تأثيرا لاختلاف هذه النسبة . ومن المحتمل ان نوعية مصدر الكربون والنايتروجين وتركيزهما الحقيقي يكون أكثر أهمية كم النسبة بين هذين العنصرين .

**4- عنصر الكبريت والفسفور :** تحتاج البكتريا الى عنصر الكبريت لتصنيع الاحماض الامينية التي يدخل الكبريت في تكوينها مثل احماض سستين Cystein وسميثايونين Methionin ان بعض انواع البكتريا تحصل على هذا العنصر من مصادر عضوية وبعضها الاخر يحصل عليه من مصادر لاعضوية في حين نجد بعضها الاخر يمكنه استخدام الكبريت المعدني .

اما عنصر الفوسفور فانه يجهز في صورة فوسفات . وهذا العنصر ضروري في عملية تخليق الاحماض النووية والنيوكليوتيدات . وكذلك يدخل في تركيب الليبيدات المفسرة phospholipids .

**5- العناصر المعدنية :** تعد ايونات العناصر المعدنية ضرورية لجميع الكائنات الحية . ومن هذه الايونات المعدنية والتي تحتاج اليها البكتريا بتركيز متوسطة هي الحديد  $Fe^{+2}$  والمغنسيوم  $Mg^{+2}$  والكالسيوم  $Ca^{+2}$  والبوتاسيوم  $K^{+}$  . اما العناصر النادرة والتي تحتاجها الكائنات الحية بتركيز واطنة فهي الخارصين  $Zn^{+2}$  والنحاس  $Cu^{+2}$  والمنغنيز  $Mn^{+2}$  والمولبدنيوم  $Mo^{+6}$  والنيكل  $Ni^{+2}$  والبرون  $B^{+2}$  والكوبلت  $Co^{+2}$  .

هذه العناصر عادة لا تحتاج لان تضاف الى الوسط الغذائي وانما تكون ملوثة لبقية المكونات وبتركيز تكفي لدعم النمو . وتعد عناصر الحديد والمغنسيوم والخارصين والنحاس والمنغنيز والمولبدنيوم عوامل مساعدة لمختلف الانزيمات . اذ ان معظم انواع البكتريا لا تحتاج الى عنصر الصوديوم  $Na^{+}$  ولكن البكتريا النامية في البحار والبكتريا التي تقوم بالتمثيل الضوئي تحتاج الى عنصر الصوديوم . والبكتريا المحلة للملوحة المفرطة Red extreme halophiles لها احتياجات كبيرة من كلوريد الصوديوم حيث لا يمكنها النمو الا بوجود ما لا يقل عن 12-15 % NaCl . وهذه الكمية العالية من الملح تحتاج اليها الخلية للحفاظ على بنية الجدار الخلوي وثبات فعالية بعض الانزيمات .

**6- الماء :-** الماء ضروري لجميع الاحياء المجهرية لغرض النمو . والبكتريا تحتاج الى الماء لان جميع المواد الغذائية التي تحتاج اليها للنمو يجب ان تكون مذابة في الماء لكي تتمكن من دخول الخلية . ويعد الماء المركب عالي القطبية له القابلية على اذابة وتفثيت المركبات المختلفة لتهيئة وسط مناسب لمختلف الفعاليات الحيوية . فضلا عن ذلك فان ارتفاع الحرارة النوعية للماء يتيح له القابلية على مقاومة التغيرات المفاجئة في درجة الحرارة المحيط البيئي في الخلايا . وكذلك يعد الماء العامل الكيميائي الذي يحتاج اليه في جميع تفاعلات التحلل التي تقوم بها الخلية .

**7- الفيتامينات Vitamins :-** تحتاج الكائنات الحية الى الفيتامينات اما كمرافقات إنزيمية Coenzymes او كوحدات بناء للانزيمات نفسها . ولبعض انواع البكتريا القدرة على تخليق جميع الفيتامينات التي تحتاج اليها من مكونات الوسط الغذائي ولكن البعض الاخر لا يمكنه تخليقها لذا يجب ان تجهز الاوساط الغذائية بهذه الفيتامينات . ان الدراسات الحياتية على البكتريا زادت من معلوماتنا عن كيفية تخليق هذه الفيتامينات و وظائفها .

**ب- الاحتياجات الفيزيائية للنمو :**

اضافة للاحتياجات الغذائية لنمو البكتريا فانه من الضروري ان تتوافر الظروف الفيزيائية الملائمة حتى يكون نمو البكتريا على احسن وجه . وكما ان الاحتياجات الغذائية للبكتريا مختلفة . فان البكتريا ايضا تبدي اختلافا واسعا تبعا لانواعها من حيث الظروف الفيزيائية السائدة في بيئة نموها من درجة حرارتها وتركيز ايون الهيدروجين (PH) في الوسط وتركيز الغازات .

**1- درجة الحرارة :** يتاثر نمو البكتريا كثيرا بدرجة الحرارة وذلك لان الحرارة تتحكم بمعدل التفاعلات الكيميائية التي تحدث داخل الخلية . وان درجة الحرارة التي يحصل فيها اسرع نمو خلال فترة قصيرة تعرف بدرجة حرارة النمو المثالية **Optimum growth temperature**

وفي ضوء درجة الحرارة يمكن تقسيم البكتريا الى المجاميع الاتية :

**ا- البكتريا المحبة للبرودة Psychrophiles :**

وهي مجموعة البكتريا التي لها القابلية على النمو في درجة حرارة صفر المئوي او اقل ولكنها يمكن ان تنمو بشكل افضل بدرجة حرارة اعلى ولها درجة حرارة نمو مثالية تقدر 15م<sup>0</sup>. اما درجة الحرارة العظمى لنموها هي 20 م<sup>0</sup>.

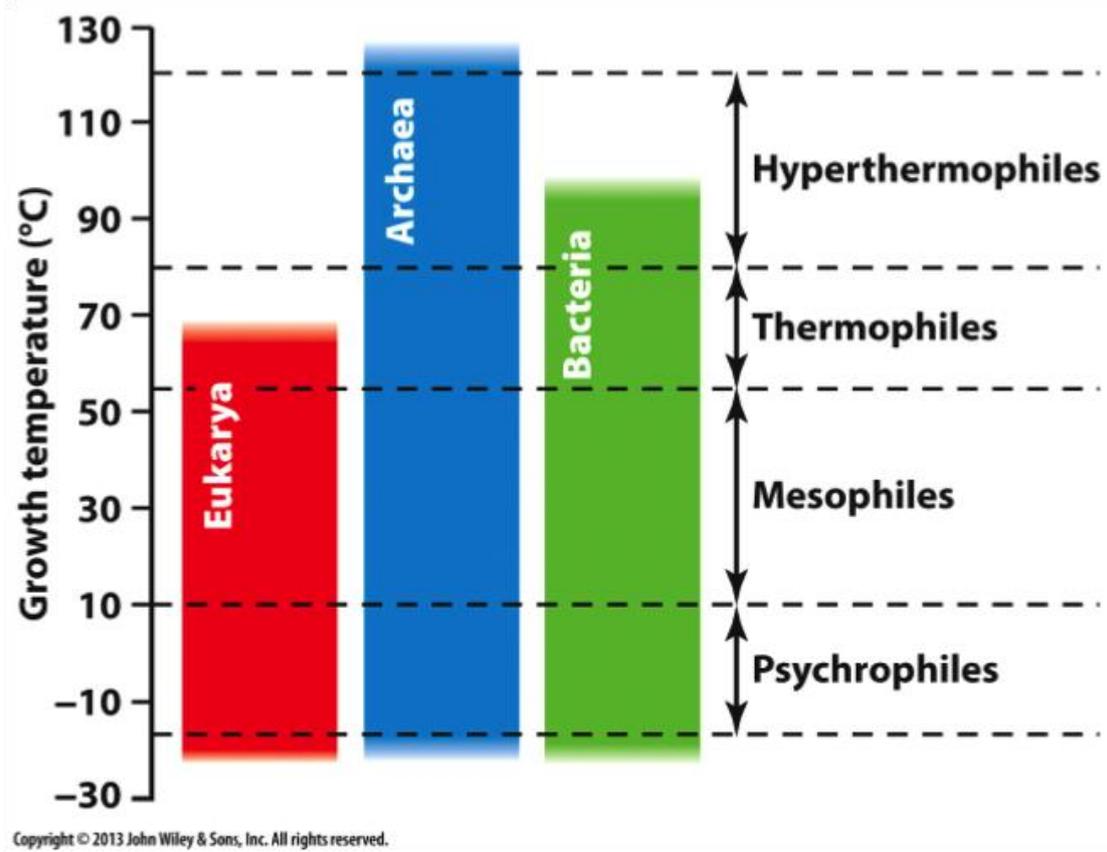
**ب- البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة Mesophiles :**

وهي مجموعة البكتريا التي تنمو في مدى بين 25- 40 م<sup>0</sup> وهذه المجموعة تضم العديد من الانواع والاجناس اكثر من مجموعة البكتريا المحبة للبرودة ومجموعة البكتريا المحبة للحرارة العالية . كذلك فان غالبية البكتريا المرضية للانسان والحيوان تقع ضمن هذه المجموعة . حيث انها تنمو نموا جيدا في درجة حرارة الجسم (37 م<sup>0</sup>) .

**ج- البكتريا المحبة لدرجة الحرارة العالية Thermophiles :**

وتضم هذه المجموعة الانواع البكتيرية التي يمكنها النمو في درجة حرارة مثالية هي 45 م<sup>0</sup> وبمدى حراري بين 40- 65 م<sup>0</sup>.

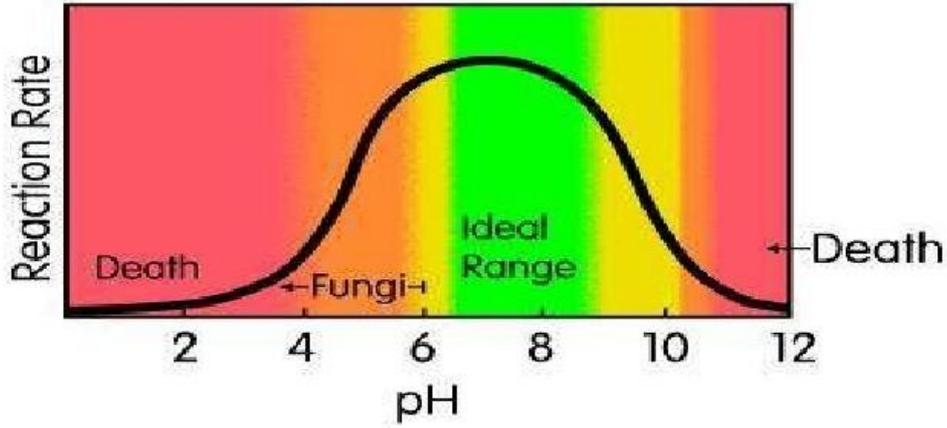
ومن الضروري ان نتذكر ان انواع البكتريا لاتبدي نفس الصفات الظاهرية عندما تنمو على درجات حرارة مختلفة . فمثلا البكتريا serratia marcescens تنتج بقعا حمراء الى برتقالية عندما تنمو على حرارة 25 م<sup>0</sup> في حين لاتكون مثل هذه الصبغات عندما تنمو على حرارة 37 م<sup>0</sup> .



## 2- تركيز ايون الهيدروجين (PH):

تنمو معظم انواع البكتريا عند ارقام هيدروجينية مثالية تتراوح بين 6.5- 7.5 ولكن عموما يكون المدى اوسع وذلك بحدود رقم هيدروجيني 5 الى 9 . ولكن قلبلا من البكتريا لها ارقام هيدروجينية مثالية تتراوح بين 2 الى 3.5 حتى يمكنها ان تنمو بمدى اوسع بين 0.5 الى 6 . ومثال ذلك *Thiobacillus thiooxidans* ومن جهة ثانية فانه تم عزل بكتريا من الينابيع القاعدية حيث وجد انها تنمو جيدا عند رقم هيدروجيني بين 9 الى 9.5 ويمكنها نمو بمدى اوسع بين 8 الى 11.4 .

## Effect of pH on Bacterial Growth



### 3- الغازات Gaseous :

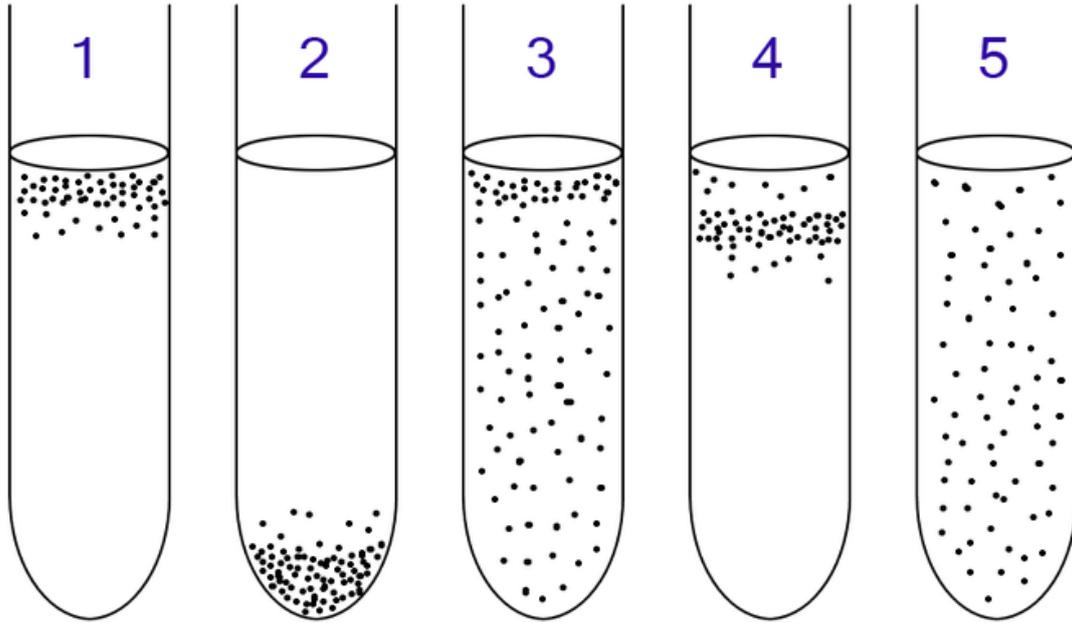
يعد الاوكسجين وثاني اوكسيد الكربون من الغازات المهمة التي لها تأثير كبير في نمو البكتريا . اذ تبدي البكتريا تجاوبا مختلفا تجاه الأوكسجين في أثناء نموها مما يتيح إمكانية تقسيمها إلى المجاميع الآتية .

ا- البكتريا الهوائية **Aerobic Bacteria** : وهي البكتريا التي تحتاج الى الأوكسجين في نموها ويمكنها النمو حتى في النسبة الطبيعية للأوكسجين الموجودة في الجو .

ب- البكتريا اللاهوائية : حيث يعد الاوكسجين ساما لهذه المجموعة ساما لهذه المجموعة من البكتريا ولا تستطيع النمو بوجود الاوكسجين .

ج- البكتريا الاهوائية الاختيارية. حيث تنمو افراد هذه المجموعة بعدم وجود الاوكسجين وكذلك بوجوده وهي لا تنبسط بوجود الاوكسجين .

د- البكتريا المحبة لقليل من الاوكسجين. حيث تحتاج افراد هذه المجموعة الى كميات قليلة من الاوكسجين للنمو ولكنها لا تستطيع ان تتحمل المستوى الطبيعي للأوكسجين في الهواء



### ج- الاوساط الغذائية للبكتريا bacterial media.

وهي البيئات الحاوية على العناصر الغذائية الضرورية للنمو والتكاثر فاذا كانت هذه الاوساط الغذائية معروفة التركيب اي يمكننا تركيبها مختبريا فانها تسمى بالاسواط الغذائية التركيبية Synthetic media اما اذا كانت المكونات الغذائية للوسط غير معروفة التركيب فتسمى حينئذ بالاسواط المعقدة Complex media . ان الاوساط الغذائية تكون على نوعين . اما وسط سائل او اوساط صلبة وعادة تصلب الاوساط الغذائية باضافة مادة الاكار بنسبة 1.5 الى 2% التي تعد مادة صلبة وليس مادة غذائية .

وتبعا للغرض الذي تستخدم لاجله الاوساط الغذائية يمكن تقسيمها الى الأنواع الآتية :

#### 1- الاوساط الانتقائية (الانتخابية) Selective media :

وهي الاوساط المجهزة بعناصر غذائية تشجع نمو وسيادة نوع معين من البكتريا . وتنشط الأنواع الأخرى . ومثال ذلك هو الوسط المستخدم لتنمية البكتريا . المحللة للسيليلوز حيث يضاف السيليلوز عنصرا اساسيا كمصدر للكربون ولهذا فان البكتريا التي يمكنها ان تحلل السيليلوز لاتنمو في هذا الوسط .

#### 2- الاوساط التفريقية Differential Media :

تحتوي هذه الاوساط الغذائية على مركبات يمكن بواسطتها التمييز بين الأنواع المختلفة من البكتريا ومثال عليها وسط اكار الدم Blood agar . حيث أن لأنواع محددة من البكتريا القدرة على تحليل كريات الدم . وبذلك تكون مناطق رائقة حول مستعمراتها في حين نجد البكتريا التي لا يمكنها تحليل الكريات الحمراء لاتكون مثل هذه المناطق الرائقة .

- 3- **اوساط لعد البكتريا** : وهي اوساط غذائية عامة تستخدم لعد جميع أنواع البكتريا . ويمكن لجميع الانواع النمو عليها ومثال عليها هي الاكار المغذي Nutrient agar .
- 4- **اوساط لتشخيص البكتريا** : حيث تستخدم للكشف عن خواص معينة في البكتريا . وتستخدم مثل هذه الاوساط لتحديد نوع النمو الناتج كان يكون غازا او تغير لون البيئة .
- 5- **اوساط للإدامة أو الحفظ Maintenance media** : حيث تستخدم مثل هذه الأوساط لإدامة وتنشيط حيوية البكتريا المخزونة . ومثال ذلك وسط المرق المغذي والاكار المغذي .
- 6- **الأوساط المدعمة Enriched media** : وهي نوع من الأوساط السائلة عادة المضاف إليها مركب معين لتنشيط نوع معين من الإحياء المجهرية وتنشيط بقية الأنواع . مثل البترول (الهيدروكاربون ) مصدرا وحيدا للكاربون إلى الوسط السائل لتنشيط البكتريا القادرة على تحلل مادة البترول وتنشيط بقية أنواع البكتريا .

## نمو وتكاثر البكتريا Bacterial Growth and Reproduction

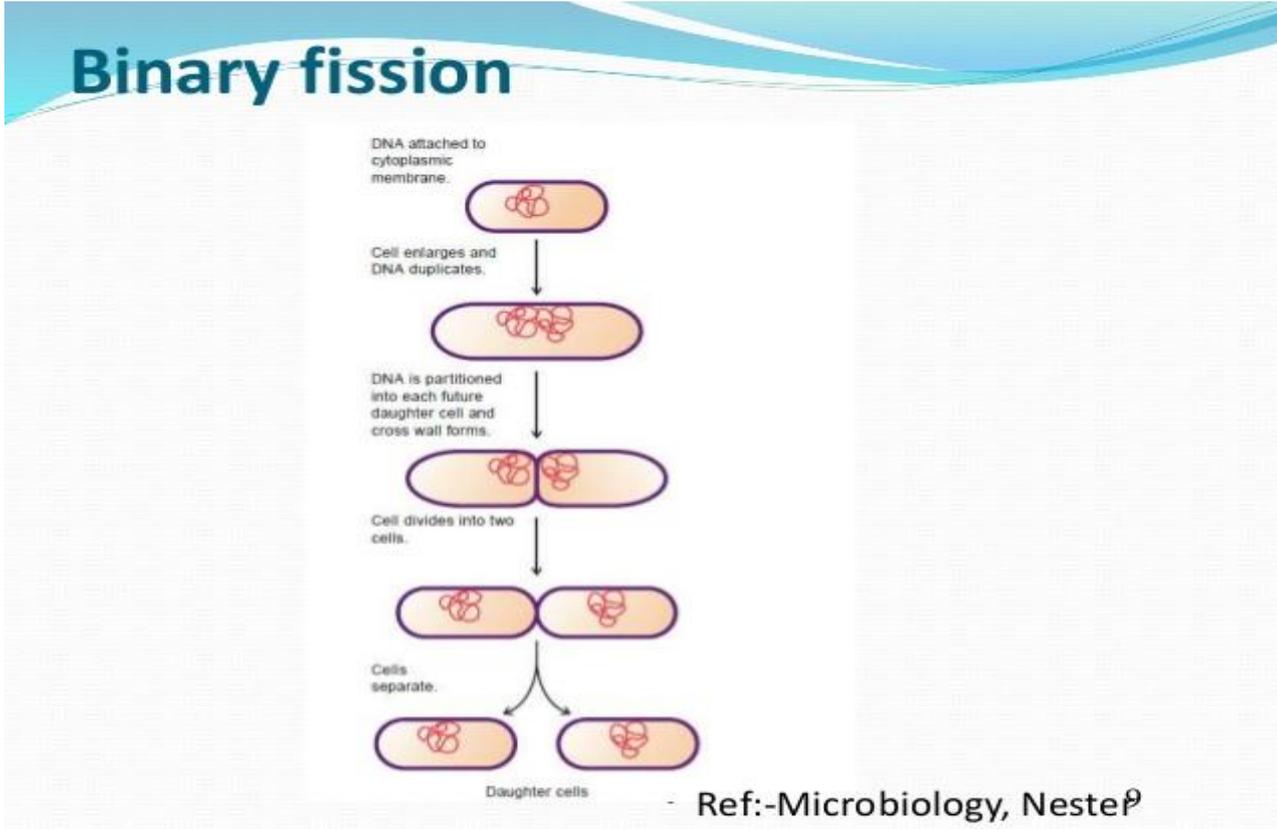
يعد نمو وتكاثر البكتريا ضروري لاستمرار بقائها . اعتمادا على تضاعف معلوماتها الوراثية وعلى قابليتها لتحويل مواد التفاعل الى المركبات التي تحتاجها في بناء جسمها وتجهيز الطاقة .

عادة يشير النمو (Growth) الى الزيادة في عدد الخلايا الكلي وليس الزيادة في حجم الخلية او كتلتها . لذا فانه عند تلقيح وسط غذائي مناسب بمزرعة بكتريا وتحضن تحت الظروف المناسبة فان زيادة هائلة تحصل في أعداد هذه البكتريا أي يحصل لها نمو .

عادة تتكاثر البكتريا بوساطة الانشطار الثنائي ( Binary fission ) والذي فيه تنقسم الخلية المفردة الى خليتين متماثلتين . والانشطار الثنائي هو طريقة تكاثر لاجنسي وتعد من اكثر طرق التكاثر شيوعا في البكتريا . ومن الطرق الاخرى التي تتكاثر بها البكتريا كذلك التبرعم Budding حيث انه يخرج برعم الصغير من احد اطراف الخلية الام ثم يبدا البرعم الصغير بزيادة حجمه حتى يصبح مماثلا للخلية الأم ثم ينفصل عنها . ومن أنواع البكتريا التي تتكاثر بهذه الطريقة Hyphomicrobium vulgar .

كذلك يتكاثر عدد قليل من البكتريا بوساطة تكوين الكونيديات . حيث تبدأ خلية البكتريا بتكوين جدار للخلية الجديدة في احد الاطراف ثم يكتمل تكوين هذه الخلايا بمرور الوقت . كما هو الحال في البكتريا Streptomyces spp . ويتكاثر البعض الاخر من انواع البكتريا الخيطية بتجزئة الخيط Fragmentation كما في البكتريا Nocardia spp . وفي حالات نادرة ومحدودة كان ومحددة كان الانشطار الثنائي يمكن ان ينتج منه اقتران خليتين . وهذا ما

يطلق عليه بالتكاثر الجنسي في البكتريا .



مراحل الانشطار الثنائي في نمو خلية البكتريا

يزداد عدد البكتريا المتكاثرة بطريقة الانشطار الثنائي تبعا لنظام اسي . فاذا بدانا بخلية بكتيرية واحدة فان الزيادة تكون اسية كما يأتي :

1-----2-----3-----4-----5.....ن<sup>2</sup>. لاحظ الشكل. حيث تمثل (ن) عدد الأجيال المتكونة كما أن الفترة اللازم لزيادة عدد البكتريا إلى الضعف تسمى وقت الجيل (G.T) Generation Time . أي ان كل جيل جديد يعني مضاعفة للعدد الأصلي . فيمكن تقدير عدد البكتريا بعد فترة زمنية محددة وذلك تبعا للمعادلة الآتية :  $س = س_1 \times 2^n$  . حيث أن (س) تمثل العدد الكلي للبكتريا في نهاية الوقت . وتمثل (س<sub>1</sub>) عدد البكتريا الأولي عند التفقيح . ولحساب عدد الأجيال (ن)

نحل المعادلة السابقة كما يأتي :

$$لو س = لو س_1 + لو 2^n$$

$$لو_{10} س = لو_{10} س_1 + ن لو_{10} 2$$

$$\text{لو } 10^1 \text{ س} - \text{لو } 10^2 \text{ س}^1$$

$$\text{ن} = \text{ــ} = \text{ــ}$$

$$\text{لو } 10^2 \text{ س} \quad \text{0.301}$$

وبهذا يمكننا معرفة عدد الأجيال لفترة محددة من الزمن إذا علمنا العدد الأولي للبكتريا والعدد الكلي النهائي .

ويمكننا معرفة امد وقت الجيل الواحد وذلك حسب المعادلة الآتية :

ت

$$\text{ج} = \text{ــــــــ} \text{حيث ان :}$$

ن

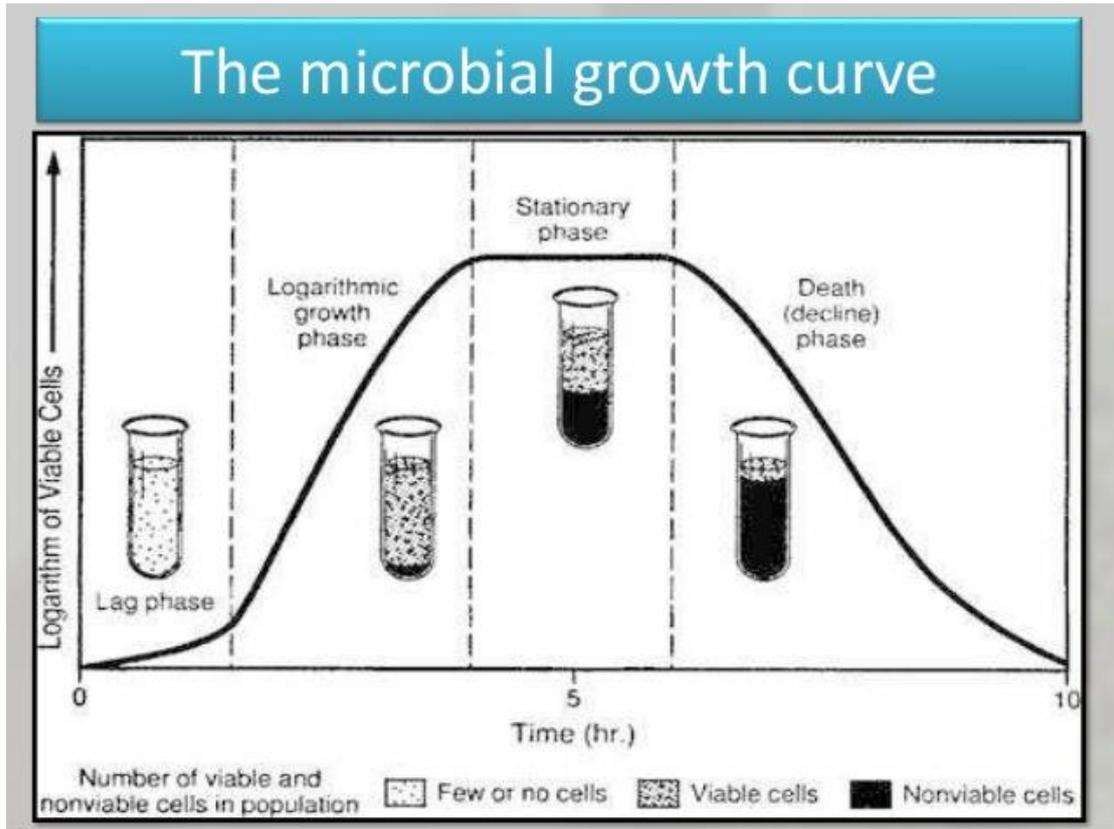
ج = وقت الجيل . ت = الوقت الكلي . ن = عدد الاجيال لذا يمكن معرفة وقت الجيل (ج) عند معرفة الوقت الكلي وعدد الاجيال . والجدول ادناه يبين وقت الجيل لبعض البكتريا .

البكتريا	الجيل (دقيقة)	الوسط الغذائي
<i>Escherichia coli</i> - 1	12.5	الحليب
<i>Bacillus thermophilus</i> -2	18.5	المرق المغذي
<i>Streptococcus lactis</i> -3	26	الحليب
<i>Staphylococcus aureus</i> -4	30 -27	المرق المغذي
<i>Lactobacillus acidophilus</i> - 5	87- 66	الحليب
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> - 6	932 - 792	وسط تركيبي
<i>Treponema pallidum</i> - 7	1.980	خصى الارنب

### منحني النمو الطبيعي : Normal growth curve

إذا لقت خلية بكتيرية واحدة في وسط غذائي وحضنت بدرجة الحرارة المناسبة فان الخلية البكتيرية تبدي خواص منحني النمو الذي يتألف من أربعة أطوار :

1- طور الركود **lag phase** :- في هذا الطور لا تزداد أعداد البكتريا وإنما تبقى ثابتة مؤقتا. وهذا لا يعني أن الخلايا في سبات ولكن الخلايا تنهياً للنمو وتخليق الأحماض النووية وتصنع الأنزيمات ومرفقاتها والتي تستخدمها الخلية في عملية الانقسام . لذا فان الوقت لازم للتهيئة للظروف الجديدة لا يرافقه زيادة في عدد الخلايا .



محنى النمو المثالي للبكتريا

## 2- طور النمو اللوغاريتمي Exponential or Logarithmic phase :-

سمى بهذا الاسم لان عدد الخلايا يزداد زيادة اسية وبمعدل عال تحت الظروف المثالية من درجة الحرارة وتوفر المواد الغذائية . واذ ان جميع الخلايا في هذا الطور تكون متماثلة . من حيث التركيب الكيميائي والفعالية الحيوية لذا فانها تستخدم في بعض الاختبارات الميكروبية في المختبر .

## 3- طور النمو الثابت Stationary phase :-

يتباطأ معدل تكاثر الخلايا في هذا الطور وعلى الرغم من ان خط النمو يبقى مستقيما الا انه ليس هنالك زيادة في معدل النمو ويرجع ذلك الى (1) قرب نفاذ او استهلاك المادة الغذائية في الوسط (2) احتمالية انتاج مواد اىضية سامة نتيجة النمو (3) توقف عملية الانقسام كمحصلة لما سبق (4) تساوي معدل النمو مع معدل الموت .

## 4- طور الموت : death phase

بعد طور النمو الثابت فان معدل موت الخلايا يكون اعلى من معدل انتاج خلايا جدد وهذه الحالة تعود الى (1) نفاذ العناصر الغذائية الاساسية من الوسط تماما (2) تراكم النواتج السامة

المثبطة للنمو بشكل كبير ويتناقص عدد الخلايا الحية في هذا الطور بمعدل اسي او لوغاريتمي وهو على عكس المعدل اللوغاريتمي للنمو المميز لطور النمو اللوغاريتمي .

في نهاية هذا الطور نلاحظ ان معدل الموت للخلايا يقل والسبب يعود الى (1) قلة اعداد الخلايا الحية المتبقية مما يجعل المادة الغذائية المتبقية في الوسط تكفي لاستمرار نمو الخلايا

(2) تصبح خلايا البكتريا الميتة في الوسط مصدرا غذائيا جديدا للخلايا الحية اذا ان بعض الاجناس تموت ببطء بحيث يمكن للخلايا الحية ان تستمر لعدة اشهر وحتى لعدة سنوات

ويستفاد من دراسة اطوار نمو الاحياء المجهرية في التحكم في عملية حفظ الاغذية وذلك بمحاولة ابقاء الاحياء المجهرية في طور الركود فترة ممكنة لاطول (lag phase) ممكنة وذلك باستخدام الحفظ بالتبريد .

### الطرق المستعملة في تنمية البكتريا

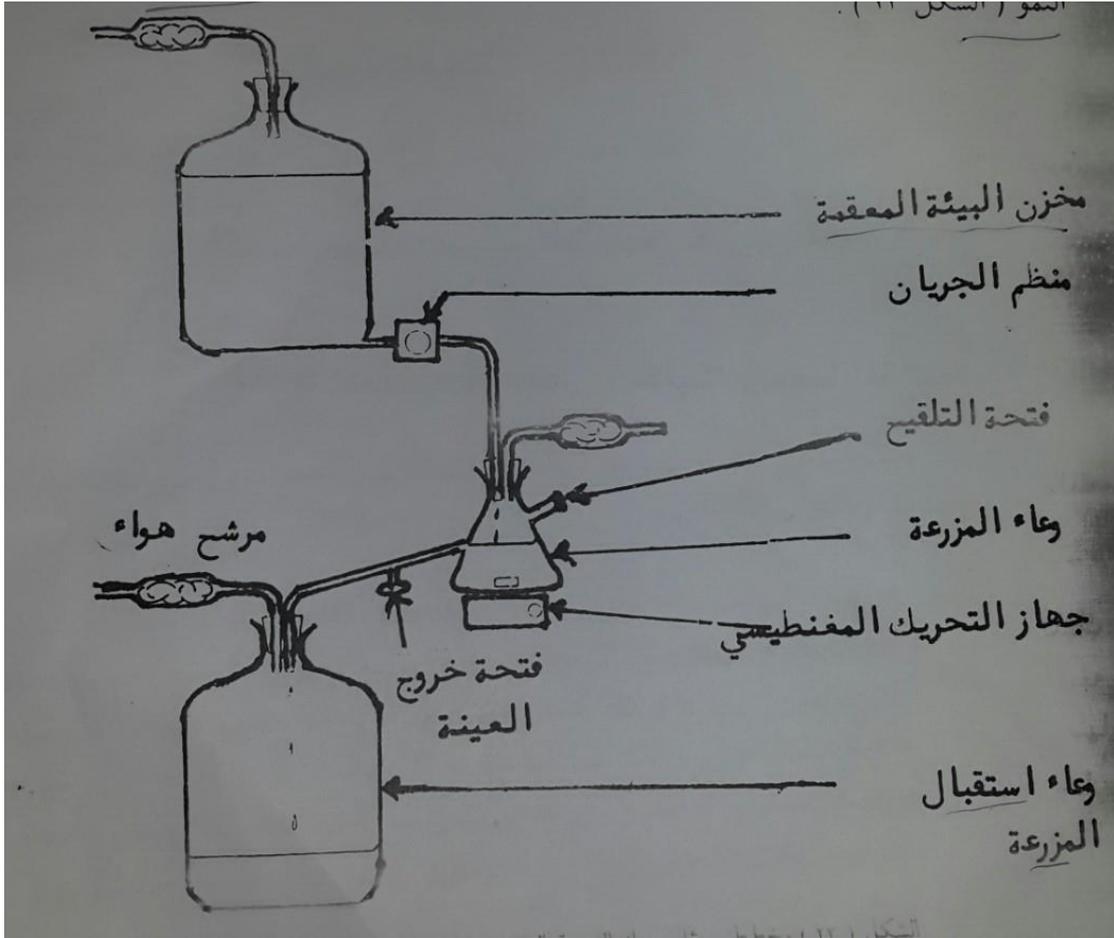
هناك عدة طرق مختبرية يمكن التحكم بها في تنمية البكتريا منها

#### 1- مزارع الوجدات Batch culture :

في هذه الطريقة يلحق بيئة طازجة سائلة بعدد من الخلايا البكتريا المواد تنميتها وتحضن تحت ظروف مناسبة للنمو وبهذه الطريقة تستهلك العناصر الغذائية في الوسط الغذائي في حين تتجمع النواتج الحيوية في المحيط المغلق ويمكن متابعة صفات منحنى النمو الطبيعي للبكتريا من خلال طريقة مزارع الوجدات وهذا الاسلوب من طرق التنمية يمكن الحصول في حالة التلوث على مادة غذائية بواسطة خلايا بكتيرية عموما في طريقة مزارع الوجدات ان البكتيريا النامية تبقى لاجيال قليلة بحيث ان الخلية الفتية تخرج في نهاية الطور اللوغاريتمي وقد تضاعف عددها ولكن بشكل محدود

#### 2-المزارع المستمرة Continuous culture :

يمكن تنمية البكتريا في مزارع مستمرة التي يتم فيها تجهيز الوسط بالعناصر الغذائية الجديدة باستمرار ويصاحبه لازالة المستمرة لنواتج التخليق الحيوي مع جزء من الوسط الغذائي في العمليات الصناعية الكبيرة يفضل المحافظة على نمو البكتريا بمعدل عال وثابت بحيث تبقى الخلايا باستمرار في طور النمو اللوغاريتمي log phase وابطاء وصول الخلايا البكتيرية الى طور النمو الثابت stationary phase وذلك من خلال تجهيز وسط النمو بالمواد المغذية الطازجة بمعدل يساوي معدل سحب الوسط الحاوي على الخلايا الناضجة ونواتج النمو .



مخطط يمثل جهاز التنمية المستمرة للبكتريا

ويبنى هذا النظام من المزارع المستمرة على احد الأساسين الآتيين :

1- الحالة الكيميائية **Chemostat** : ويتم فيها التحكم في التركيز العناصر الغذائية الأساسية في وعاء النمو . وعلى هذا الأساس يتحكم في معدلي إضافة المادة المغذية الطازجة ( معدل التخفيف ) و سحب الوسط المملوء بالخلايا الناضجة عند قيم ثابتة .

ب- الحالة العكرة **Turbidostat** : ويتم فيها المحافظة على المجموع الخلوي الكلي ثابتا باستخدام جهاز قياس العكارة في وعاء المزرعة Culture Vessel وفي ضوء ذلك يتم التحكم بمعدل إضافة المادة الطازجة وبمعدل خروج ناتج الخلايا .

## الايض في الاحياء المجهرية : Microbial Metabolism

يعتمد تكوين و إدامة النظم الحياتية للأحياء المجهرية على مجموعة تفاعلات كيميائية حيائية تعرف مجتمعة بتفاعلات الايض (Metabolism) . وبمعنى اخر ان الوظيفة الحياتية للكائن الحي تتمثل في مجموعتين من الأفعال . الأولى إنتاج الطاقة energy production من محيط الكائن الحي . والثانية هي استهلاك الطاقة energy utilization واستعمالها في تخليق الجزيئات الكبيرة المستخدمة في تركيب خلية الكائن المجهرية كذلك تستخدم لإدارة التفاعلات الحياتية في الخلية وللحركة . ولدعم هذه النشاطات الكثيرة يحب تجهيز كمية كبيرة من الطاقة . وكما هو معروف فان خلية الكائن المجهرية تحت الظروف المناسبة لها القدرة العالية على إنتاج الطاقة التي تحتاج إليها من المغذيات التي تحصل عليها . وفي هذا الفصل سنتطرق لبعض الاسس العامة للطاقة وكذلك للتفاعلات المولدة للطاقة . كما سنناقش بعض تفاعلات استخدامات الطاقة .

### الطاقة Energy

تستطيع اغلب الانظمة الحياتية الحصول على الطاقة بواسطة التفاعلات الكيميائية او الضوئية التي تقوم بها . وهذه التفاعلات تنتج طاقة يتمكن الكائن الحي الاستفادة منها في انجاز شغل للخلية . ويعد ضوء الشمس مصدرا مهما للطاقة بالنسبة للكائنات الحية . حيث ان اغلب الكائنات الحية لها القدرة على تحويل الطاقة الضوئية الى طاقة كيميائية ليستفيد منها الكائن الحي .

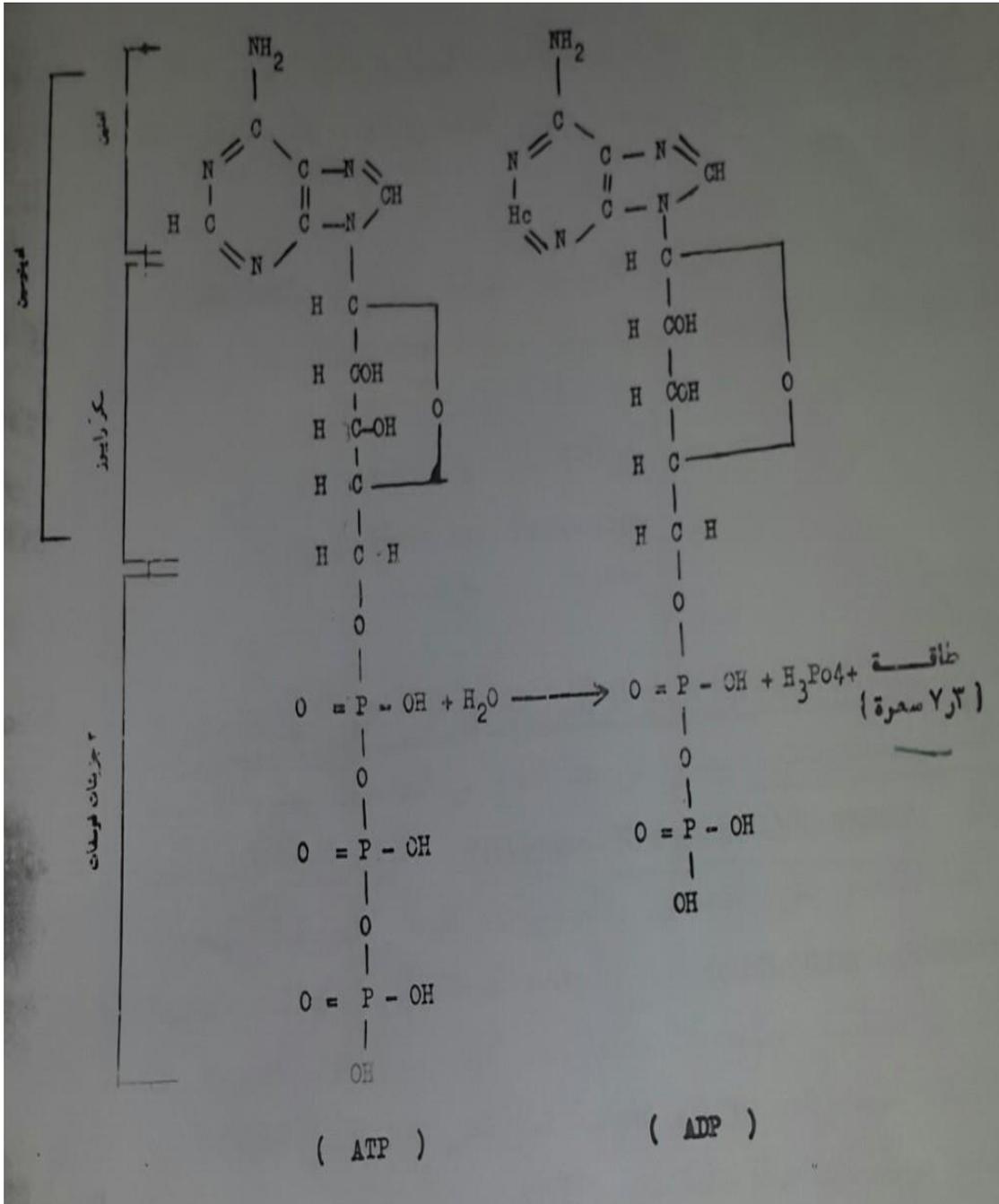
الطاقة الناتجة من اي تفاعل كيميائي لاداء شغل مفيد . اما ان تطرح او تمتص . لذا فان كمية الطاقة المتحررة او المأخوذة في اثناء فترة التفاعل تسمى بتغير الطاقة الحرة ( Free Energy change) ويرمز لها ب (  $\Delta G$  )

وتقاس الطاقة الكيميائية بوحدة تسمى (السعرة Calory ) اذا كان التغير في الطاقة الحرة له قيمة سالبة مثل (- 8000 سعرة) اي بمعنى ان التفاعل يحرر طاقة يسمى مثل هذا التفاعل بالتفاعل المحرر لطاقة ( Exergonic Reaction) , اما اذا كان التغير في الطاقة الحرة موجبا مثل (+ 3000 سعرة) فهذا يعني ان التفاعل يحتاج طاقة . و يسمى مثل هذا التفاعل بالتفاعل الممتص للطاقة ( Endergonic Reaction) .

الطاقة الحرة يطلق عليه التغير في الطاقة الحرة القياسي ويرمز له بالرمز  $\Delta G^0$  . وهي كمية الطاقة الحرة المتحررة او الممتصة من تحول مول واحد من مواد التفاعل الى مول واحد من المواد المنتجة على درجة حرارة 25 م<sup>0</sup> وضغط جوي واحد . ففي التفاعلات الكيميائية نجد ان التغير في الطاقة الحرة القياسية ( $\Delta G^0$ ) له علاقة مع ثابت التوازن (Keq) كما في المعادلة الآتية .

$$\Delta G^0 = - R T \ln Keq$$





عملية انتاج الطاقة من التحلل المائي للمركب ATP

كما ان فقدان جزيئة فوسفات اخرى من مركب ثنائي فوسفات الاديوسين (ATP) أيضا ينتج عنه تحرر طاقة مقدارها 7.3 كيلو سعرة . اما المركب أحادي فوسفات الاديوسين AMP فانه يحتوي على طاقة قليلة ولا يحرر سوى 2 كيلو سعرة من الطاقة عندما يتحلل مائيا ويفقد الجزيئة الأخيرة من الفوسفات .

يحصل تحرر الطاقة من خلال عدة تفاعلات كيميائية و لكن تبقى تفاعلات الاكسدة والاختزال هي اكثرها شيوعا في انتاج الطاقة وذلك بانتقال الالكترونات بين المركبات .

وتسمى المواد التي تستقبل الالكترونات بالعوامل المؤكسدة " Oxidant " اما المواد التي تفقد الالكترونات فتسمى عوامل مختزلة Reductant كما في المثال الاتي :

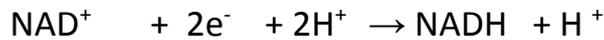


Ferric ion  
مؤكسدة

Ferrous ion  
مختزلة

كما ان عملية الاكسدة هي فقدان للالكترونات في حين تكون عملية الاختزال هي اكتساب للالكترونات . ويطلق على هذا النوع من التفاعلات بنظام الاكسدة والاختزال هي اكتساب للالكترونات . ويطلق على هذا النوع من التفاعلات بنظام الاكسدة و الاختزال - Oxidation Reduction (O/R) system ويعتبر عن قابلية احد طرفي هذا النظام على امتصاص الالكترونات القوة الكهربائية المحركة (EO) (electromotive potential) وهذه القوة تقاس كهربائية بالفولت تحت الظروف القياسية . وكلما كانت قيمة هذه القوة موجبة اكثر كانت قابلية النظام للاكسدة اعلى . وكلما كان فرق الفولتية كبيرا تحررت كمية من الطاقة الحرة تكفي لتصنيع جزيئة ذات طاقة عالية مثل (ATP).

وفضلا عما تقدم فهناك مركبات او مواد ايسية تستطيع نقل الطاقة على شكل الكترونات ايضا الا وهي نيكوتين اميد ادنين ثنائي النيوكليوتيد ( Nicotinamid Adenine Dinucleotide "NAD") وهذه الجزيئة توجد عادة كمرافقات لبعض الانزيمات مثل انزيم الديهايدروجيناز (Dehydrogenases) وتوجد بحالة مختزلة NADH+H او بحالة



مؤكسد

مختزل

وتستخدم الطاقة المخزونة في جزيئات NADH او ATP او غيرها في جميع التفاعلات الحياتية التخليقية .

انتاج الطاقة تحت الظروف اللاهوائية :

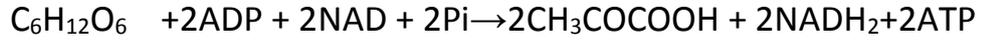
### Energy production by anaerobic processes

يمكن ان تستخدم المركبات العضوية مصادر للطاقة من قبل البكتريا المختلطة التغذيةية ( Heterotrophic bacteria ) . وذلك من خلال طرق حياتية مختلفة . وتعد الكربو هيدرات من اكثر المركبات العضوية تفضيلا من قبل الاحياء المجهرية . اما الاحماض الامينية والدهنية فلا تستخدمها الا عند نفاذ الكربوهيدرات . ومن اهم الطرق (pathways) التي تستخدمها الاحياء المجهرية لانتاج طاقة على هيئة (ATP) :

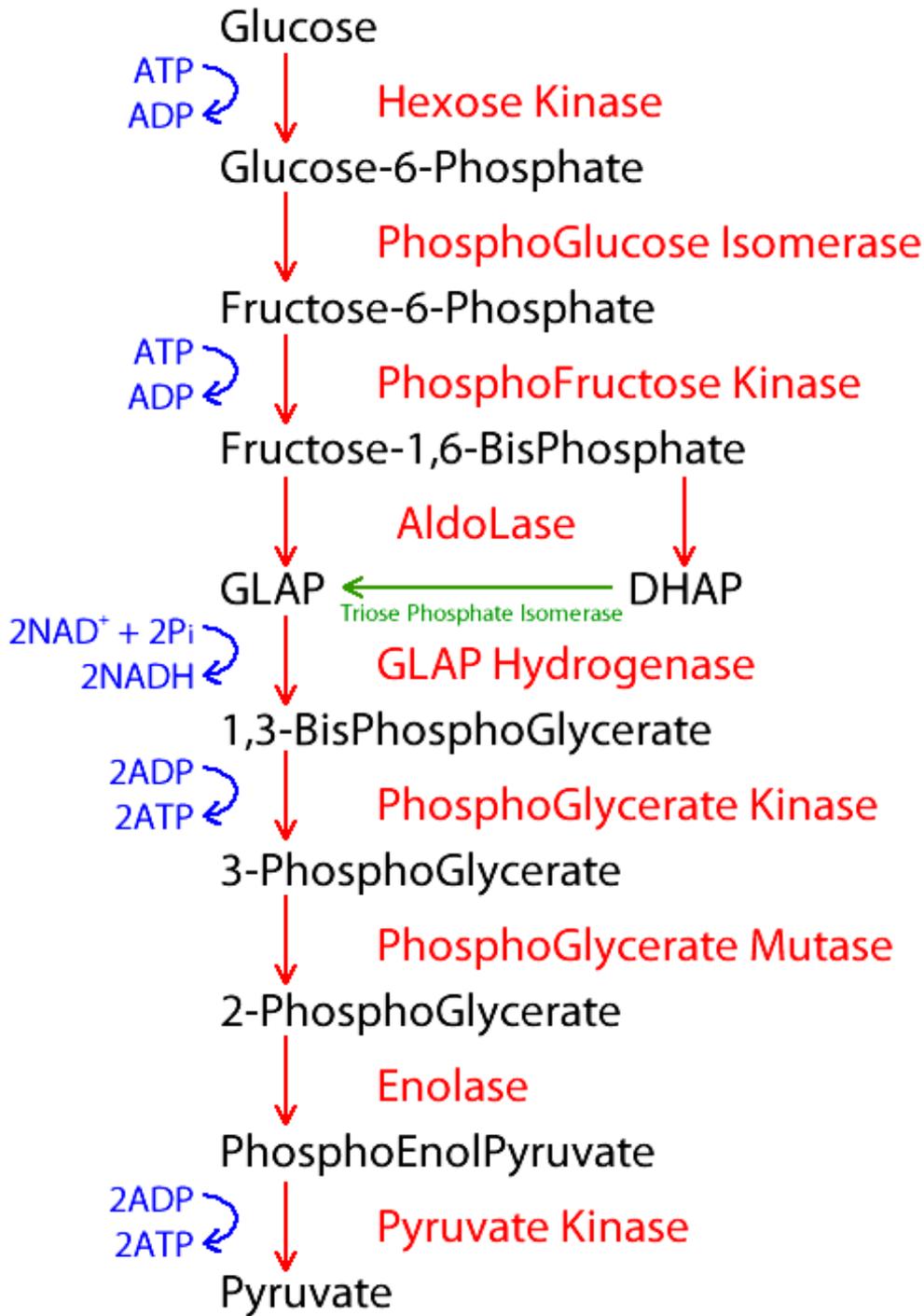
#### أ- تحلل السكر (Glycolysis) :

تحصل طريقة تحلل السكر الكلوكوز بصورة واسعة في الحيوانات والنبات فضلا عن الاحياء المجهرية وهذه الطريقة لاتحتاج اوكسجين ولهذا فانها تحصل في الخلايا الهوائية واللاهوائية اما عملية تحلل جزيئة سكر الكلوكوز كما هي موضحة في الشكل ادناه فينتج عنها جزيئتان من حامض البايروفيك (pyruvic acid) وجزيئتان من المركبات الغنية بالطاقة (ATP) فضلا عن زوج من الالكترونات متمثلة في جزيئتان من مركب ال (NADH+H<sup>+</sup>) وهذا الزوج من الالكترونات يستخدم لاختزال حامض البايروفيك الى حامض لاكتيك او كحول ايثيلي في حالة عدم توفر الاوكسجين اما في حالة وجود الاوكسجين فان هذا الزوج من الالكترونات يدخل الى سلسلة نقل الالكترونات (Electron-Transport chain) لانتاج المركبات الغنية بالطاقة (ATP) .

ان معظم التفاعلات تفاعلات تحلل الكلوكوز يمكن ان تكون عكسية لكي يمكن استخدام هذه الطريقة لتكوين سكر الكلوكوز عند الحاجة اليه وبصورة اجمالية يمكن توضيح مايجري في عمليات تحلل سكر الكلوكوز بالمعادلة ادناه .



حامض بايروفيك فسفور  
لاعضوي



Simplified Glycolysis diagram. Molecule names contain extra capitals to illustrate components. 21/02/2010 followchemistry.wordpress.com

ب- طريقة انتاج السكريات الخماسية المفسفرة : The Pentose Phosphate pathway

وهي من طرق هدم السكريات التي تحدث في كل من الخلايا الحقيقية والبدائية النواة وفيها يتأكسد الكلوكوز لينتج زوجا من الاكتروونات تدخل لاحقا في سلسلة نقل الالكتروونات وهذا الطريق لا يعد مصدرا مهما لانتاج الطاقة في الاحياء المجهرية ولكن يعد مجهزةا لقوة اختزال على هيئة  $NADH_2$  التي تحتاج اليها الخلية في عدة تفاعلات حياتية , كذلك يعد هذا الطريق مصدرا لتجهيز السكريات الخماسية المفسفرة التي تستخدم في عملية تخليق الأحماض النووية والنيوكلوتهيدات وبصورة اجمالية يمكن تلخيص التفاعل بهذا الطريقة كما يأتي :



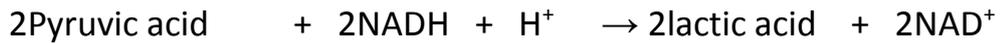
### ج\_ تحلل السكر بطريقة انتنز - دودروف Entner- Doudoroff pathway

وهي طريقة اخرى لهدم سكر الكلوكوز وتحصل لاهوائيا مع الكائنات البدائية النواة Procaryotes ولا تحصل مع الكائنات الحقة النواة eucaryotes . ووجد ان البكتريا السالبة لصبغة كرام تمتلك هذه الخاصية في تحلل السكر حيث ان سكر الكلوكوز يكتسب جزيئة فوسفور ثم يتأكسد لينتج 6-phosphogluconic Acid ويزال من هذا المركب المتأكسد جزيئة ماء لينتج مركبا يسمى 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconic acid وهو ينشطر الى حامض البايروفيك ومركب اخر يسمى 3-phosphate glyceraldehyde حيث يتحول الاخير الى حامض البايروفيت من خلال تحلل السكر ال glycolysis والطاقة النانجة من خلال تكوين زوج من الالكتروونات على هيئة  $NADH_2$ .

### د- التخمر Fermentation :

يمكن كذلك انتاج الطاقة لا هوائية من خلال تفاعل التخمر والذي تستعمل فيه مركبات عضوية كواهبات ومستقبلات للالكتروونات . ومن الأمثلة على التفاعل التخمر هو تخمر اللاكتيكي حيث ان البكتريا Streptococcus lactis تعمل على تكسير جزيئات سكر الكلوكوز الى حامض لاكتيك الذي يتجمع في البيئة ناتجا رئيسيا لعملية التخمر . وهذا يحصل كما في طريقة تحلل الكلوكوز Glycolysis لا هوائيا . حيث يتكون حامض البايروفيك . وهذا الاخير يتحول بالتخمر الى حامض لاكتيك بفضل وجود مركب ال  $NADH+H$  المتكون سابقا في عملية تحليل الكلوكوز .

وهذه الطريقة لانتج طاقة كافية ولكن ميزتها انها تولد مركب ال NAD الذي يستخدم عاملا مؤكسدا في تفاعلات اخرى .



### انتاج الطاقة تحت الظروف الهوائية :

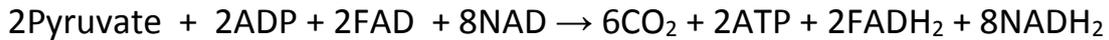
## Energy production by aerobic processes

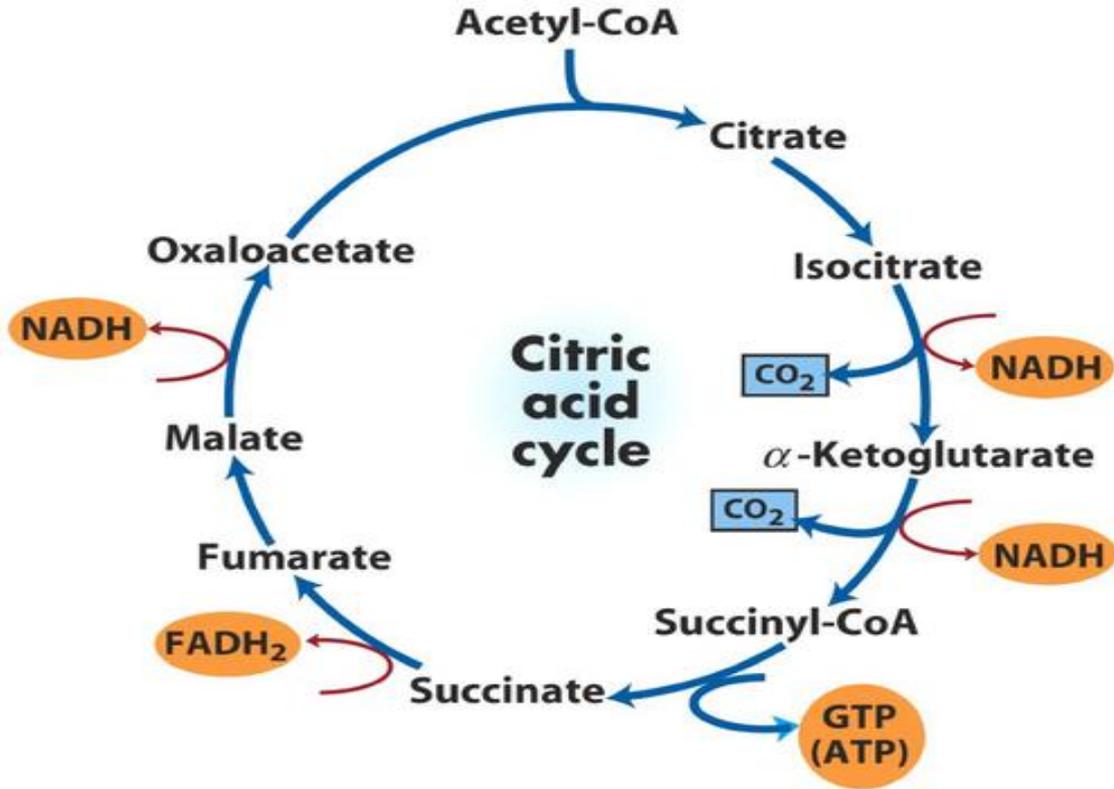
### Tricarboxylic Acid cycle : دورة حامض ثلاثي الكربوكسل :

سميت بهذا الاسم وذلك لامتلاك المركب الاول المتكون في هذه الدورة (حامض الستريك ( ثلاث مجاميع كربوكسيل (COOH-). احيانا اخرى تسمى بدورة حامض الستريك وتعرف ايضا باسم دورة كريب "Krebs cycle" نسبة الى العالم الالماني الذي كان له الفضل في اكتشافها .

وهذه الدورة هي عبارة عن مجموعة تفاعلات متعاقبة تحدث في جميع الخلايا التي تحتوي على الانزيمات الضرورية لاكمال هذه التفاعلات في وجود الاوكسجين (في الماييتوكونديريا) . وتحرر مجموعة هذه التفاعلات الطاقة على هيئة مركب ATP وجسيمات مرافقات الانزيمات المختزلة  $NADH_2$  و  $FADH_2$  . فضلا عن قيامها بوظائف أخرى و أنتاج مركبات وسطية عديدة تستخدم لتصنيع الأحماض الامينية . حيث ان حامض الاوكسالوخليك

(Oxaloacetic acid) وحامض الكيتوكلوتارات ketoglutarate هي مركبات اولية لتخليق الاحماض الامينية ( اللايسين . والميثيونين . والثريونين . والبرولين . والارجنين . والكلوتامين والاسبارتات) . لهذا فان دورة كريب لا تعد دورة هدم المركبات العضوية (catabolic) وانما تعد ايضا دورة لبناء المركبات العضوية (anabolic) . يلاحظ من الشكل ادناه ان دورة كريب تستقبلها خطوة تفاعل هي تحول حامض البايروفيك ( وهو انتاج من عملية تحلل الكلوكوز) الى مركب Acetyl-CoA . ليكون المركب الاخير المادة الاساسية في دورة كرايب . وكما يلاحظ من مجموعة تفاعلات الدورة الملخصة ادناه ان دخول جزيئين من حامض البايروفيت للدورة يحرر جزيئين من ATP وجزيئين من الغلافين انين ثنائي النيوكليوتيد المختزلة  $FADH_2$  وثمانية جزيئات مختزلة من  $NADH_2$  فضلا عن تحرر ست جزيئات من ثاني اوكسيد الكربون





دورة الحامض الثلاثي الكربوكسيل (دورة كريب)

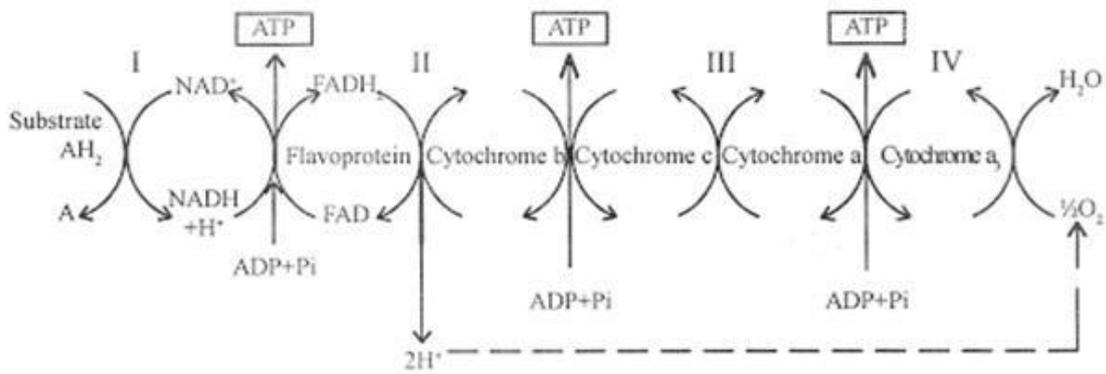
### ب- سلسلة نقل الالكترونات ( Electron - transport chain )

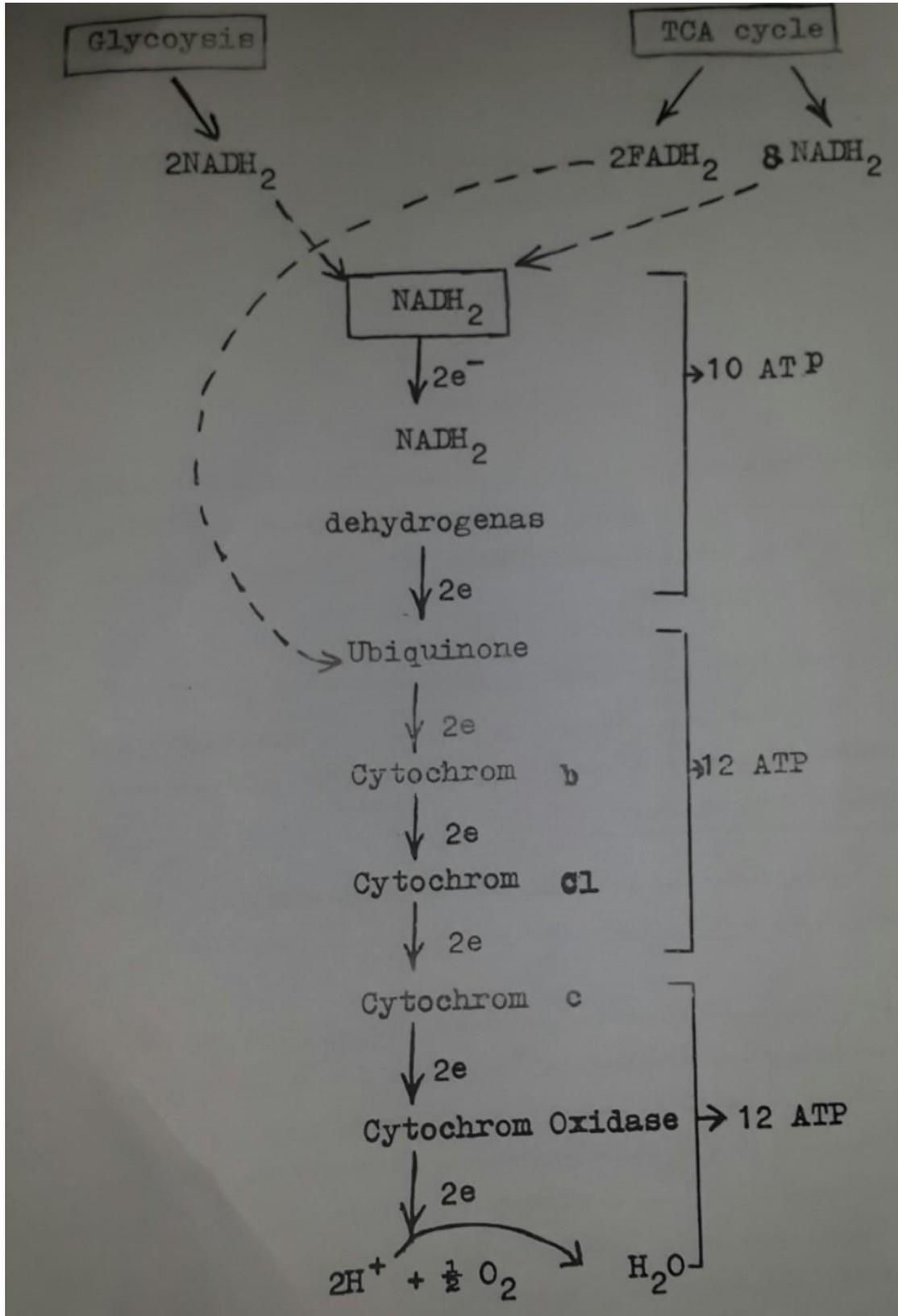
اذا نظرنا الى السلسلة نقل الالكترونات (التنفس الهوائي) من ناحية تصنيع جزيئات الطاقة ATP فان جميع جزيئات مرافقات الانزيمات المختزلة (  $NADH_2$ ,  $FADH_2$  ) المتحررة في اثناء تحلل الكلوكوز ( glycolysis ) وخلال دورة كريب سوف تتأكسد في سلسلة نقل الالكترونات محررة فريدا من جزيئات الطاقة ATP . وتتمثل الاهمية الاخرى لسلسلة نقل الالكترونات في ان كمية جزيئات ال DNA في الخلايا الحية تكون محدودة . لهذا فان تحول هذه الجزيئات (NAD) الى جزيئات مختزلة (  $NADH_2$  ) سوف يقلل محتوى الخلايا من جزيئات ال NAD مما يؤدي الى اختلاف الفعالية الحيوية في الخلايا . لهذا فان سلسلة نقل الالكترونات تعمل على اكسدة الجزيئات المختزلة لتعمل توازنا بين الجزيئات المؤكسدة (NAD) والمختزلة (  $NADH_2$  )

تحدث سلسلة نقل الالكترونات في الاغشية الخلوية الداخلة للميتوكوندريا في الخلايا الحقيقية النواة . اما في الخلايا الكثرية ( الهوائية ) فانها تحدث في الغشاء السائتوبلازمي . وتتألف السلسلة الالكترونية من عدد من ناقلات الالكترونات اهمها مركب السائتوكروم (Cytochrome) حيث ان له دورا رئيسيا في السلسلة فضلا عن مركبات ال  $NADH_2$  و مركبات الكينونات (Quinones) ويتناوب كل من هذه المركبات بالاختزال والتأكسد في اثناء استقبالها وطرحها للالكترونات ابتداء من ال  $NADH_2$  وانتهاء بالاوكسجين . حيث ان الاوكسجين يعد المستقبل النهائي للالكترونات لينتج جزيئة ماء كما في الشكل (61)

وتتحرر الطاقة على هيئة اواصر فوسفاتية غنية بالطاقة (ATP) نتيجة لمرور الالكترونات المتعاقبة من مرافقات الانزيمات المختزلة ( الاكثر طاقة ) وحتى الاوكسجين ( الاقل طاقة ) عن عملية تدعى بالفسفرة التاكسدية Oxidative phosphorylation عند حساب الطاقة المتحررة من التحلل الكامل لجزيئة كلوكوز فتكون كما يأتي .

يوجد 12 مرافقا انزيميا مختزلا (  $2 \text{ FADH}_2 + 10 \text{ NADH}_2$  ) تدخل عملية الفسفرة التاكسدية مصدرها دورة ال TCA وعملية تحلل الكلوکوز glycolysis . وكل جزيئة  $\text{NADH}_2$  تعطي ثلاث جزيئات ATP وكل جزيئة  $\text{FADH}_2$





سلسلة نقل الالكترونات مع مصدر مركبات مرفقات الانزيمات الاختزالية

تعطي جزيئين ATP فيكون مجموعة الطاقة المتكون في اثناء عملية الفسفرة التاكسدية يساوي 34 ATP . فضلا عن ذلك فان هناك 4 جزيئات ATP ( اثنتان من عملية تحلل الكلوكوز Glycolysis واثنتان من دورة ال TCA ) ليكون المجموع 38 جزيئة ATP ناتجة من تحلل جزيئة كلوكوز بالكامل لانتاج ماء وثنائي اوكسيد الكربون .

### مصادر اخرى للطاقة

أ- **تحلل الدهون** : على الرغم من ان الكلوكوز يعد المصدر الاكثر استخداما لانتاج الطاقة في الخلايا الحية . الا انه في عدة انواع من الاحياء الجهرية تستخدم مصادر بديلة للكلوكوز لانتاج الطاقة وهي الدهون والبروتينات وتتجه الخلايا لتحلل الدهون والبروتينات حالما ينتهي تحلل الكربوهيدرات .

يتم تحلل الدهون بوجود انزيم اللابيز Lipase مع اضافة الماء حيث ينتج احماض دهنية وكليسرولا فيتحمل الكليسرول وينتج مركب ال Dihydroxyacetone phosphate الذي يدخل مركبا وسطيا في دورة glycolysis حيث ينتج حامض البايروفيك ثم يدخل دورة كرايب .

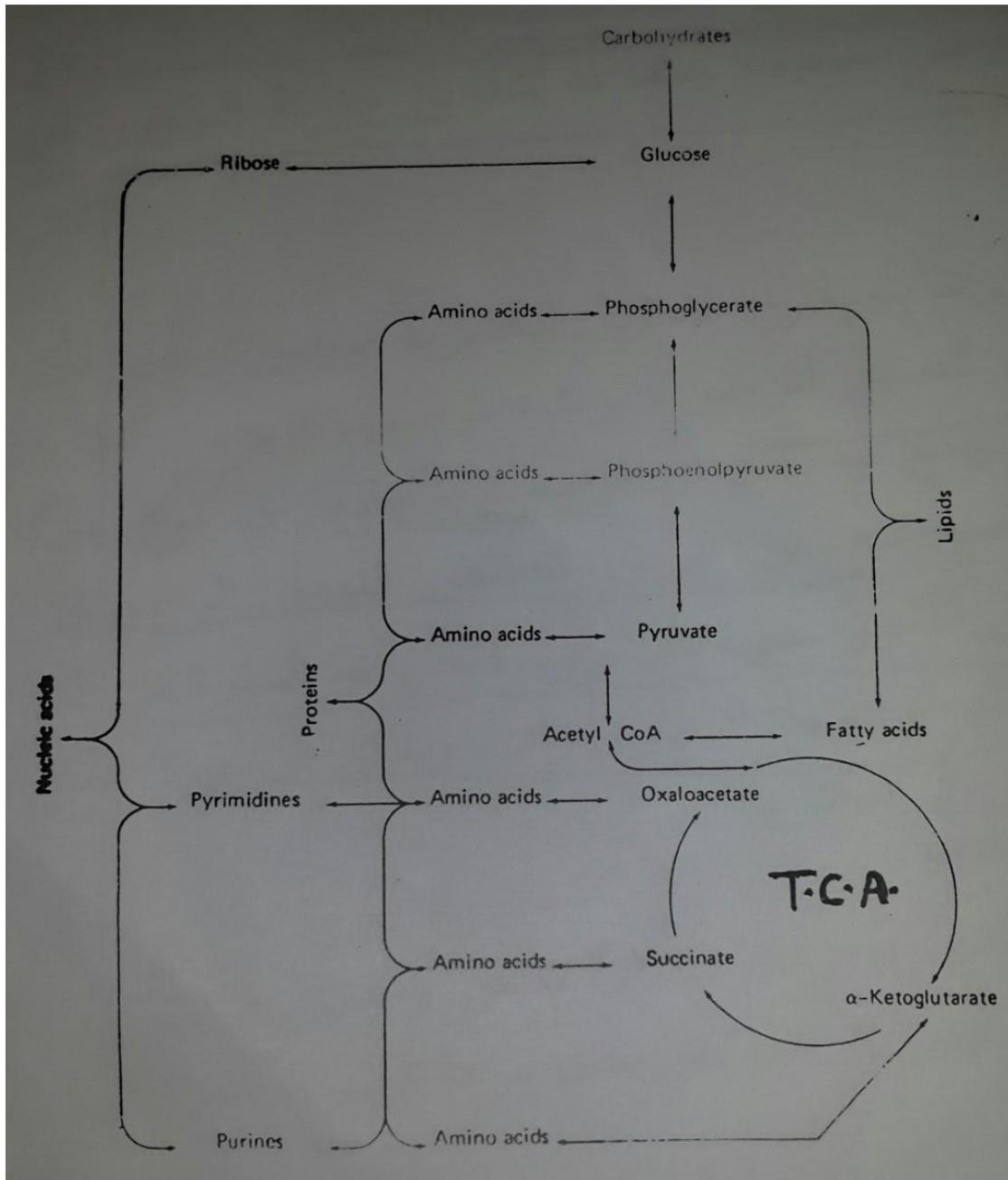
اما الاحماض الدهنية فانها تتأكسد بطريقة ال B-oxidation لينتج منها جزيئات عديدة من مركب ال Acetyl CoA . وهذا يدخل دورة كرايب لاتمام تحلله .

ب- **تحلل البروتينات** : تستخدم البروتينات مصادر للكربون والنايتروجين للعديد من الاحياء المجهرية المختلطة التغذية . ومن المعروف ان جزيئات البروتين تعد كبيرة فلا يمكن للخلية من امرارها الا بعد تكسيرها الى جسيمات صغرى . وتقوم خلايا البكتريا بتحليل البروتينات بافراز انزيمات خارجية محللة للبروتينات Proteases لينتج اجزاء صغيرة من البروتينات تسمى ببتيدات peptides . وهذه الاجزاء يمكنها العبور من خلال الغشاء الخلوي . وبعد دخولها الخلية تبدأ الخلايا البكتريا بافراز انزيمات تسمى peptidases . وهذه الاجزاء يمكنها العبور من خلال الغشاء الخلوي . وبعد دخولها الخلية تبدأ خلايا البكتريا بافراز انزيمات تسمى peptidases لتكمل تحلل هذه الاجزاء الى احماض . ويمكن لهذه الاحماض الامينية ان تدخل دورة كرايب على هيئة مركب وسطي مثل acetyl CoA او احماض  $\alpha$ -Ketoglutaric او الفيورماريك . لو السكسينيك لاكمال تحللها عبر سلسلة نقل الالكترونات .

### استخدامات الطاقة : Uses of Energy

ان الطاقة المنتجة (ATP) في الخلايا من تفاعلات انتاج الطاقة التي سبق ذكرها توظف في مسارات مختلفة لخدمة الخلية نفسها . ومنها العمليات الحيوية في تخليق الجزيئات الكبيرة كالاحماض النووية و البروتين . كذلك تستخدم هذه الطاقة في بناء مكونات الخلية كالانزيمات والدهون والكربو هيدرات فضلا عن استخدام هذه الطاقة في نقل المغذيات عبر غشاء السايوبلازمي وفي ادامة النشاط الفيزيائية للخلية .

في الحقيقة فان معظم المسارات الايضية التي تعد مسارات هدمية (Catabolism) للجزيئات الكبيرة وانتاج الطاقة هي في الوقت نفسه تعد مسارات بنائية (anabolism) اي انها ذات اغراض مزدوجة . اي ان المركبات الوسطية التي تنتج من المسارات الهدمية يعاد استخدامها بوجود جزيئات الطاقة (ATP) لتخليق مركبات بنائية مختلفة للحفاظ على ديمومة الخلايا وحيويتها . . وهكذا ففي الوقت الذي تجري فيه تفاعلات الهدم (تحرير الطاقة) في داخل الخلية تجري فيها ايضا تفاعلات البناء اللازمة للخلية .



## الطرق الحيوية المركزية التي تتداخل في مسارات عنصر الكربون داخل الخلية لترتبط مجميع المركبات الكبيرة

### 1- تخليق البروتين Protein synthesis :

البروتينات هي مكررات للاحماض الامينية . اي ان الاحماض الامينية تعد اللبنات الاساسية لبناء البروتين معين . وهنالك عشرين حامضا امينا يشترك في تركيب البروتينات المختلفة . كما ان تسلسل هذه الاحماض او تعاقبها في تركيب البروتين هو الذي يحدد خواص ذلك البروتين . وهذا التعاقب المنظم تتحكم فيه شفرة وراثية (الجين ) موجودة على الحامض النووي الخلوي DNA وهذه الشفرة هي التي تصنع الحامض الاميني المناسب في الترتيب الترتيب الصحيح بالنسبة للبروتين المعين المراد تخليقه . اذ ان تفاصيل المعلومات الوراثية (الجينات ) سنتناقش في فصل اخر لكن الذي يهمنا هنا هو ان كل حامض اميني مفرد مسؤول عنه شفرة تتالف من تتابع ثلاثة نيوكليوتيدات متجاورة (Nucleotide bases) . كما انه وجد اكثر من شفرة لحامض اميني واحد ماعدا حامضي التريوفان والمثيونين اذ لكل منهما شفرة واحدة فقط .

في الخلية البكتريا هنالك العديد من البروتينات المختلفة . وكل نوع من هذه البروتينات له تسلسله وعدده الخاص من الاحماض الامينية . اذ ترتبط الاحماض الامينية بعضها ببعض باواصر ببتيدية peptide bond لتكوين سلسلة من الاحماض الامينية المتعددة الاواصر تسمى (polypeptide chain) ثم ترتبط سلاسل الببتيدات المتعددة باواصر مستقيمة ومنقوعة لتكوين جزيئة البروتين في شكلها النهائي .

يحصل تخليق البروتين في سايتوبلازم الخلايا البكتيرية وبصورة ادق فان الرايبوسوم هو المكان المخصص لتصنيع البروتين . ويشبه الرايبوسوم بجهاز الفديو الذي يمكن ان ينتج اي صورة توضع فيه . اي ان الرايبوسوم يضع اي نوع من البروتين بناء على الاشارة الواصلة اليه عن طريق الحامض النووي الرايبوزي الرسولي mRNA . وهذا الحامض الاخير سمي بالرسولي لانه ياخذ الشفرة من ال DNA وينقلها للرايبوسومات فتتم ترجمتها الى بروتينات ويذكر ان حياة هذا الحامض الرسولي لاتتعدى الدقيقتين في البكتري.

يتكون الرايبوسوم البكتيري الذي يرمز له (rRNA) من وحدتين فرعيتين . الاولى صغيرة لها 30S (حيث ان الرمز S يدل على مدى سرعة ترسيب الجزيئات وتسمى وحدة سفيدبيرك) والثانية كبيرة لها 50S . وهاتان الوددتان تكونان حرتين في الخلية وعندما تتحدان تكونان جزيئة واحدة فعالة لها 70S فقط عندما تكون مركبا معقدا مع ال mRNA . والنوع الثالث للحامض الرايبوزي النووي هو الناقل ويرمز له بالرمز tRNA . وظيفة هذا النوع من الحامض الرايبوزي هو نقل الحامض الاميني الى الحامض الرسولي mRNA ويوجد على تركيب الحامض الناقل ثلاث قواعد ناتيروجينية متسلسلة بشكل معين . ويطلق على هذه القواعد الشفرة المضادة (anticodon) وهي مكملة للشفرة (condon) الموجودة على التركيب

الحامض الرسولي "mRNA" . اي انة الوظيفة الاخرى لل tRNA هي التعرف على ال Condon الموجودة على ال mRNA.

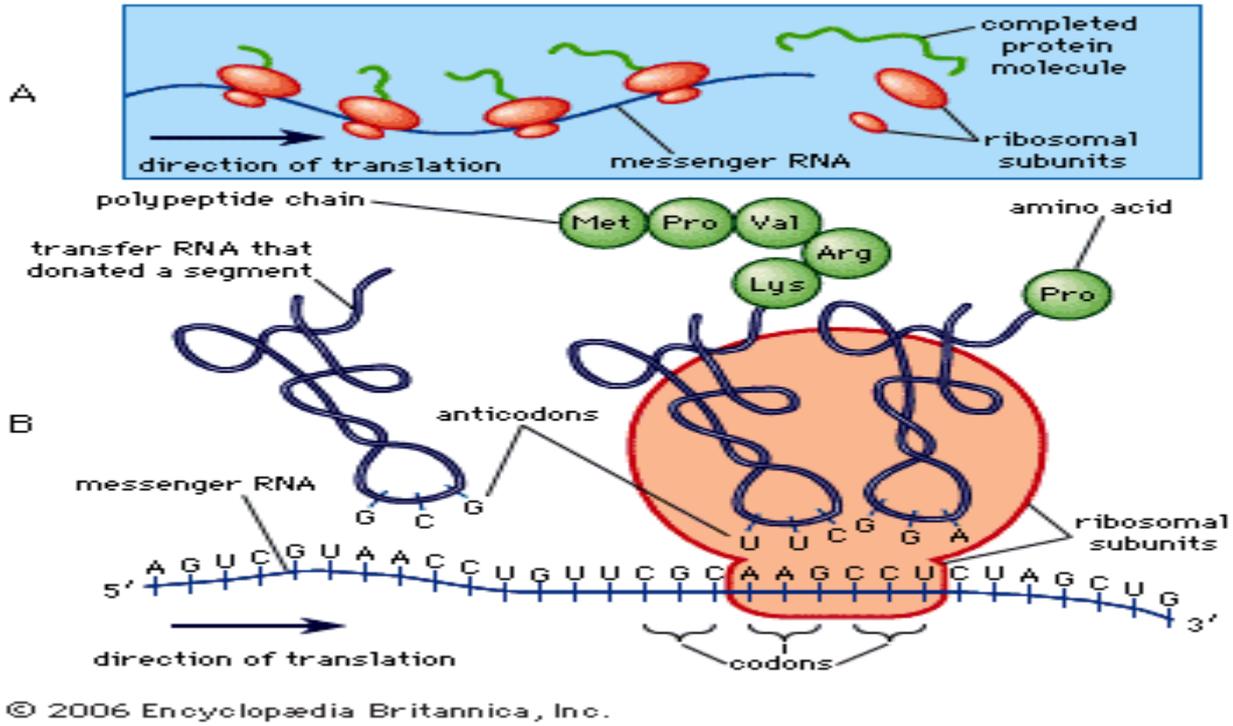
تبدا عملية تخليق البروتين بعملية تنشيط للحامض الامينية وذلك بواسطة انزيمات تدعى ammoacyl-tRNA Synthases . وتحتاج عملية التنشيط هذه الى طاقة على شكل ATP . وبعد ان ينشط الحامض الاميني يتحد مع الحامض الرايبوزي الناقل tRNA ليكون مركب ال Amino acid -tRNA . وهذا المركب المعقد جاهز لكي يتحد مع الحامض الرايبوزي الرسولي (mRNA) في الرايبوسوم ليكمل تصنيع البروتين لاحظ الشكل ( 63 ) كما في الخطوات الاتية .

**الخطوة الاولى :** تتحد وحدة الرايبوسوم 30S مع احد اطراف جزيئة ال mRNA في موقع محدد .

**الخطوة الثانية :** يرتبط المركب المتكون من الحامض الاميني مع الحامض الرايبوزي الناقل ( AA-tRNA ) مع سلسلة الشفرة Codon في الموقع x على (mRNA) من خلال وحدة الرايبوسوم الفرعية 50S .

**الخطوة الثالثة :** حامض رايبوزي ناقل اخر يحمل حامضا امينيا ثانيا يتحد على الشفرة الاخرى Y على ال mRNA .

الخطوة الرابعة ترتبط مجموعة الامين للحامض الاميني الثاني مع مجموعة الكاربوكسيل الطرفي للحامض الاميني الاول لتكوين بيتيد ثنائي (Dipeptide) الحامض الرايبوزي الناقل tRNA الذي اذا دخل في الخطوة الثانية يخرج خارج الرايبوزي الناقل ثم ينتقل ال mRNA على طول الرايبوسوم الى الموقع الاخر وهو Z



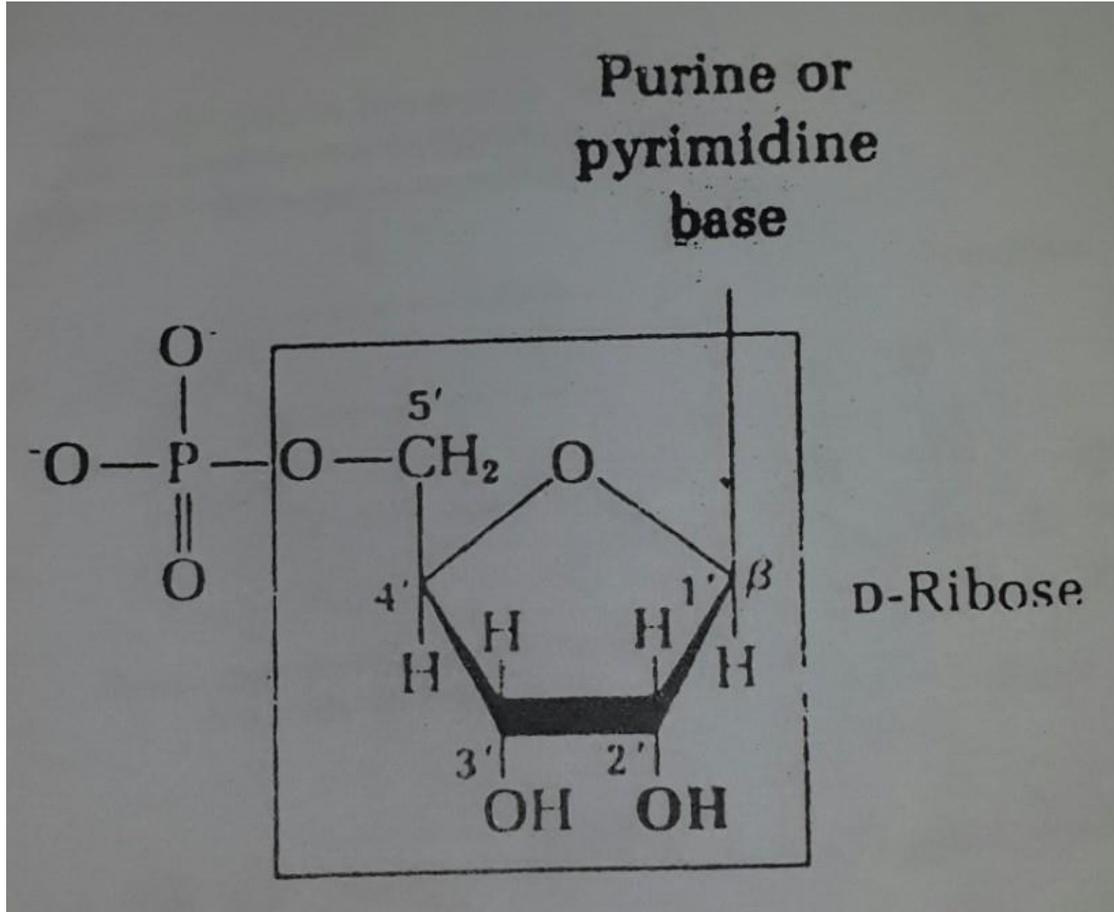
© 2006 Encyclopædia Britannica, Inc.

### خطوات تخليق البروتين على الرايبوسوم

لقراءة ال tRNA الناقل للحامض الاميني الثالث . وهكذا تستمر العملية حتى تكمل السلسلة الببتيدية . ويحصل التوقف عند احدى الشفرات الاتية UGA او UAG او UAA وعندها تتخلص السلسلة من اخرى جزيئة للحامض الرايبوزي الناقل tRNA.

### 2- تخليق الاحماض النووية Nucleic Acid Synthesis :

كما في البروتين نجد ان تصنيع الاحماض النووية يعتمد اساسا على الوحدات البنائية الاساسية لهذه الاحماض وهي النيوكليوتيدات (Nucleotides) . والنيوكليوتيد هذا عبارة عن مركب يتكون من مجموعة او اكثر من الفوسفات ( $PO_3$ ) مع قاعدة نايتروجين (ادنين او كوانين او سايتوسين او ثايمين او يوراسيل ) وسكر خماسي . متصلة بعضها ببعض باواصر معينة كما في الشكل (64) . اذا كان السكر الخماسي رايبوزا "Ribose" فيكون الحامض النووي رايبوزيا ( RNA ) وان كان السكر الخماسي من نوع دي اوكسي رايبوز ( رايبوز منوقص الاوكسجين ) " Deoxy ribose " اي ان الاوكسجين منزوع من مجموعة هيدروكسيل (OH) من موقع كربون الفا  $\alpha$  فالحامض النووي يسمى دنا (DNA) . وجميع القواعد النايتروجينية المذكورة انفا ماعدا الثايمين توجد في جزيئات الحامض النووي (RAN). في حين تتحلل قاعدة الثايمين محل قاعدة اليورسيل في الحامض النووي DNA.

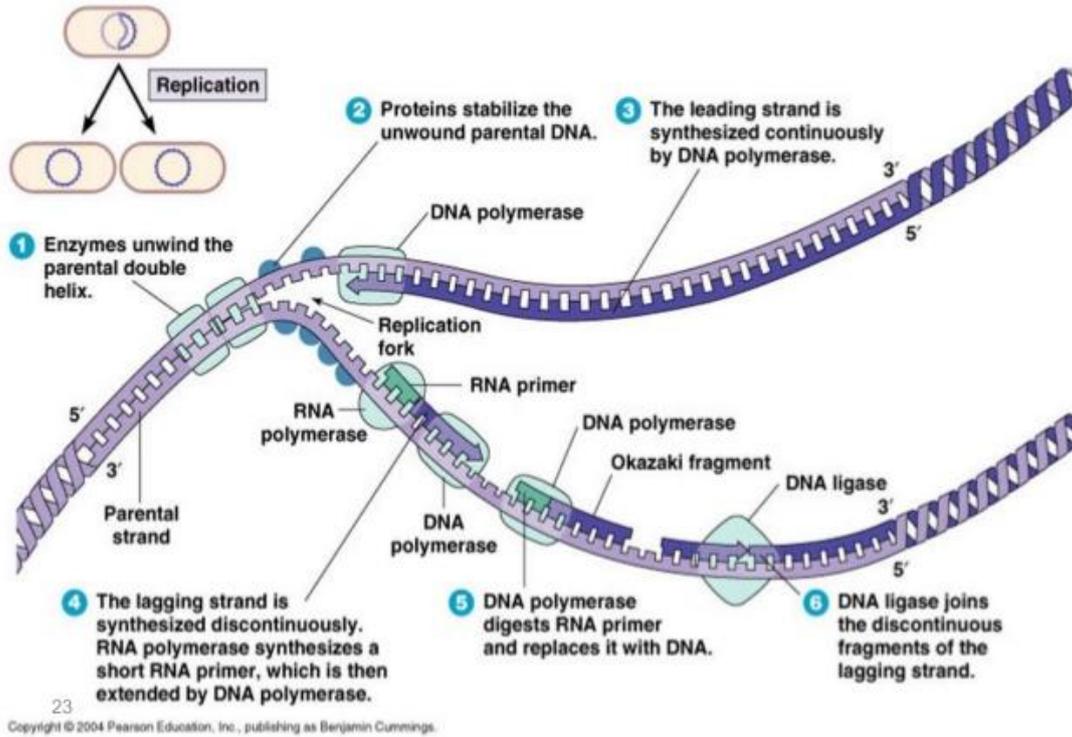


التركيب العام النيوكليوتايد (اللبنة الاساسية ) في الحامض النووي RNA في حالة استبدال ال (OH) في الموقع 2 بذرة H تصبح اللبنة الاساسية للحامض النووي DNA

يتكون شريط الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA عندما ترتبط جزيئات النيوكليوتيدات المتكررة مع بعضها ببعض باواصر تربط بين المجموعة الفوسفاتية وجزيئة سكر الـ دي اوكسي رايبوز في حين تبرز القاعدة الناتيروجينية جانبا الترتبط مع نظيراتها في الشريط الثاني باواصر هايدروجينية . حيث ان ال DNA عادة يتكون من شريطين مزدوجين (Double helix) على شكل حلزوني يتم احدهما الاخر (الشكل 65) على عكس جزيئة ال RNA حيث يتالف من شريط منفرد فقط .

ان تضاعف الحامض النووي DNA replication يحدث قبل اكتمال الانقسام في الخلية حيث يفصل شريطا ال DNA المزدوجين احدهما عن الآخر تدريجيا بحيث يتضاعف الجزء المنفصل من كل شريط في ان واحد مكونا نسخة جديدة مماثلة للشريط الذي انفصل عنه (الشكل 66) بعد ذلك يقوم انزيم يسمى

## Steps of Replication



خطوات تخليق شريط ال DNA      شريط مبطنى Lagging strand

شريط مسرع Leading strand      تفرعات التضاعف Replication fork

بروتين غير ملفوف Unwinding protein      بروتين غير مستمر Discontinuous strand

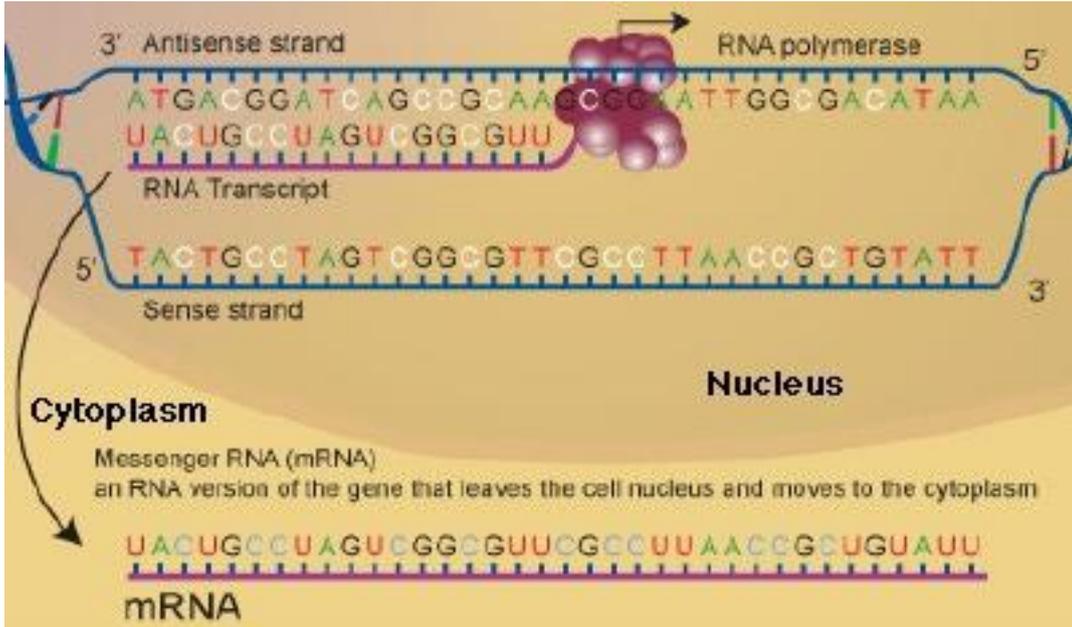
قطع اوكازاكي Okasaki fragment      شريط مستمر continous strand

الانزيمات اللاحقة Ligase enzmes      قطع مقفلة Seal fragments

بال DNA polymerase بتخليق قطع صغيرة من ال DNA تعرف بقطع Okasaki ويسير ذلك باتجاه معاكس لاتجاه الشريط الاصلي المنفرد وهذه القطع تتحدد معا بواسطة انزيم ال Ligase الذي يكون اواصر فوسفاتية ثنائية الاستر phosphodiester بين ال 3-OH و ال 5-OH الموجودة على اطراف جزيئات النيكوكلويتيدات . اما انزيم ال Ligase فلا يدخل في اطالة السلسلة وانما يعد انزيما مصلحا للثغرات . وبهذا فمن خلال الفعل المشترك لانزيمي ال DNA polymerase وال Ligase مع توافر كمية كبيرة من الطاقة يتكامل تصنيع الشريط المزدوج من الحامض النووي ال DNA.

وبالنسبة لتصنيع ال RNA فانه يختلف عن تصنيع ال DNA في الاتي :

- 1- يستخدم شريط واحد من شريط ال DNA ليستنسخ عليه بدلا من كلا الشريطين كما في تصنيع ال DNA.
- 2- تستنسخ قطع قصيرة معينة فقط من شريط ال DNA . اي ان سلسلة ال RNA تستنسخ من مقاطع قصيرة من شريط ال DNA.
- 3- تناظر القواعد النايتروجينية في حالة استنساخ ال RNA يتم بحيث عندما يوجد G على شريط ال DNA يدخل C في شريط ال RNA وعندما يوجد A على شريط ال DNA يدخل U في شريط ال RNA لاحظ الشكل (67) .



تصنيع الحامض النووي RNA (تكون خيط واحد وليس خيطين كما يحصل في تصنيع ال (DNA))

### 3- انتقال المعذيات : Transport of Nutrients

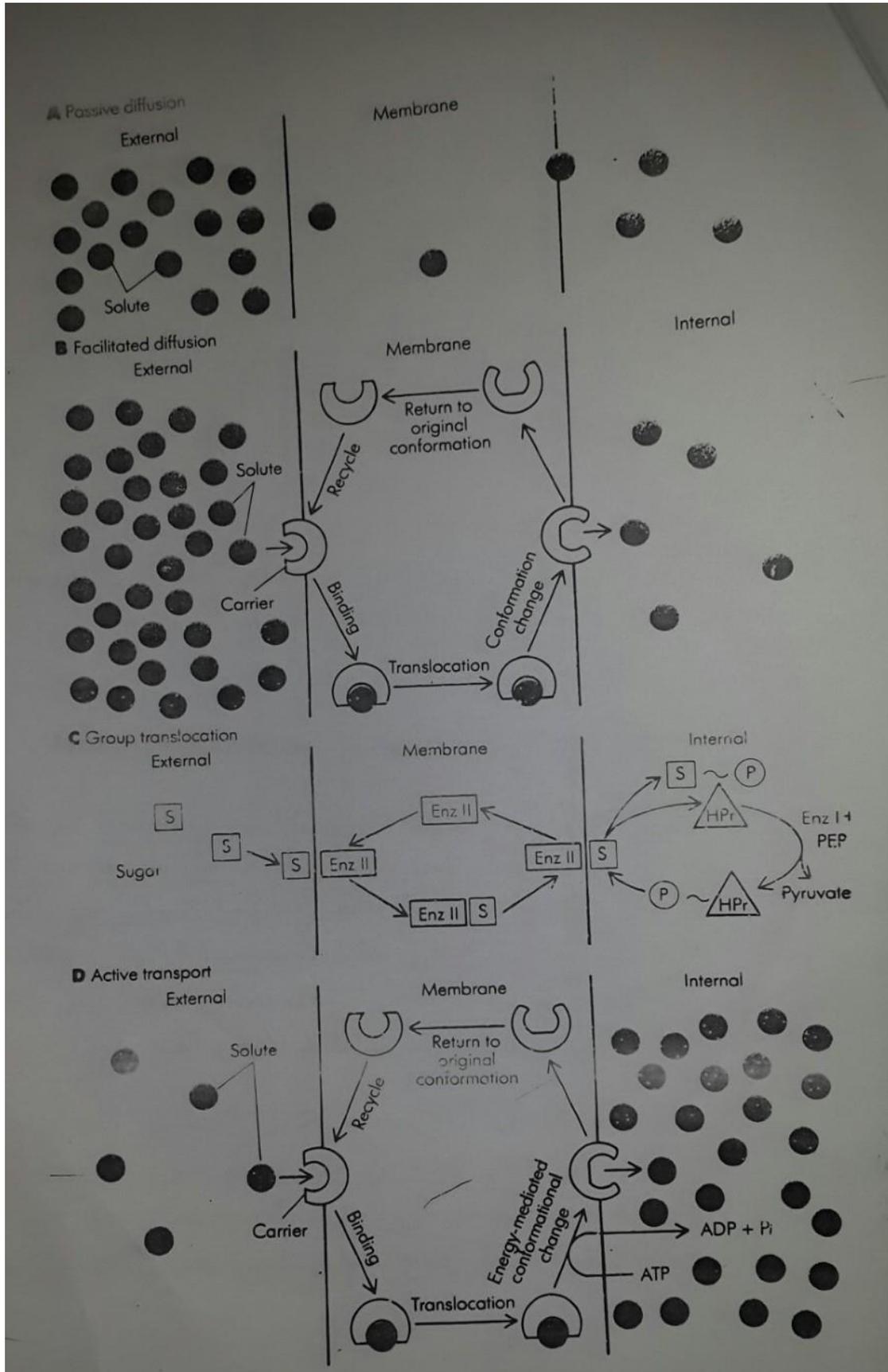
في خلايا الاحياء المجهرية كما هو الحال في خلايا الراقية فان الوظيفة الاساسية للغشاء الساييتوبلازمي هي تنظيم عبور المواد (المغذيات و الفضلات) من الخلية واليها . وللقيام بهذه المهمة فان هناك اربعة طرق مختلفه تستطيع الجزيئات بوساطتها ان تدخل الى الخلية او تتركها . وبعض من هذه الطرق يستهلك طاقه كيميائيه ع شكل ATP وبعضها الاخر يعتمد على الاختلاف في تركيز المواد الذائبه على جانبي الغشاء الساييتوبلازمي وفيما ياتي تذكر باختصار هذه الطرق

أ\_ الانتشار البسيط او السلبي: Simple or passive diffuion:

في هذه الطريقة تمر الجزيئات الذائبة من خلال الغشاء اعتمادا على اختلاف في تراكيز هذه المواد على جانبي الغشاء . اي ان زيادة تركيز للجزيئات الذائبة خارج الغشاء عن تركيز داخله يزيد من معدل عبور هذه الجزيئات من خارج للداخل ولكن بمعدل ابطال من معدل دخول الماء. وبمرور الوقت يصل تركيز المواد الذائبة الى التوازن على جانبي الغشاء بحيث يتوقف انتشار او عبور الجزيئات ومن خواص نظام الانتشار هذا انه لا يحصل تفاعل بين الغشاء الخلوي والجزيئات العابره (لاحظ الشكل 68 أ).

### ب\_ الانتشار المساعد: Facilitated diffusion

تعد هذه الطريقة مشابهة لطريق الانتشار البسيط المذكور انفا من ناحية انتقال المواد الذائبة من التركيز العالي الى التركيز الواطى ولكنه يختلف عن الانتشار البسيط الانه يشمل على وجود حامل بروتيني خاص يسمى (permease) وهذا الحامل البروتيني يقع في الغشاء السائتوبلازمي . ويقوم هذا الحامل بالاتحاد المؤقت مع الجزيئات الذائبة ونقلها من السطح الخارجي الى السطح الداخلي للغشاء السائتوبلازمي ثم يعود الحامل مره اخرى الى السطح الخارجي للغشاء لحل الجزيئات الذائبة اخرى تنتظر دورها في العبور . وهذا النظام ونظام انتشار البسيط لا يحتاجان الى الطاقه حياتية لعبور الجزيئات ولايحصل تراكم الجزيئات الذائبة في احد طرفي لانتشار ولكن متى يحصل التوازن يقل تاثير لانتشار بهاتين الطريقتين .



ميكانيكية انتقال المغذيات الى داخل الخلية

**ج - النقل النشط او الفعال Active transport :**

في نظام النقل هذا تنتقل تقريبا جميع المغذيات من احماض امينية وسكريات وايونات وغيرها باتجاه معاكس للتركيز في حالة حاجة الخلية لمثل هذا التركيز العالي مما يتطلب من الخلية ان تبذل جهدا (طاقة) على هيئة ATP للقيام بمثل هذا العمل . ويقوم بروتين الغشاء الساييتوبلازمي محل الجزء الناقل (Carrier) لنقل المواد ال عبر الغشاء . يتضمن هذا النظام على الخطوات الاتية .

1- ارتباط المادة الذائبة مع موقع اتصال (receptor site) على البروتين الناقل .

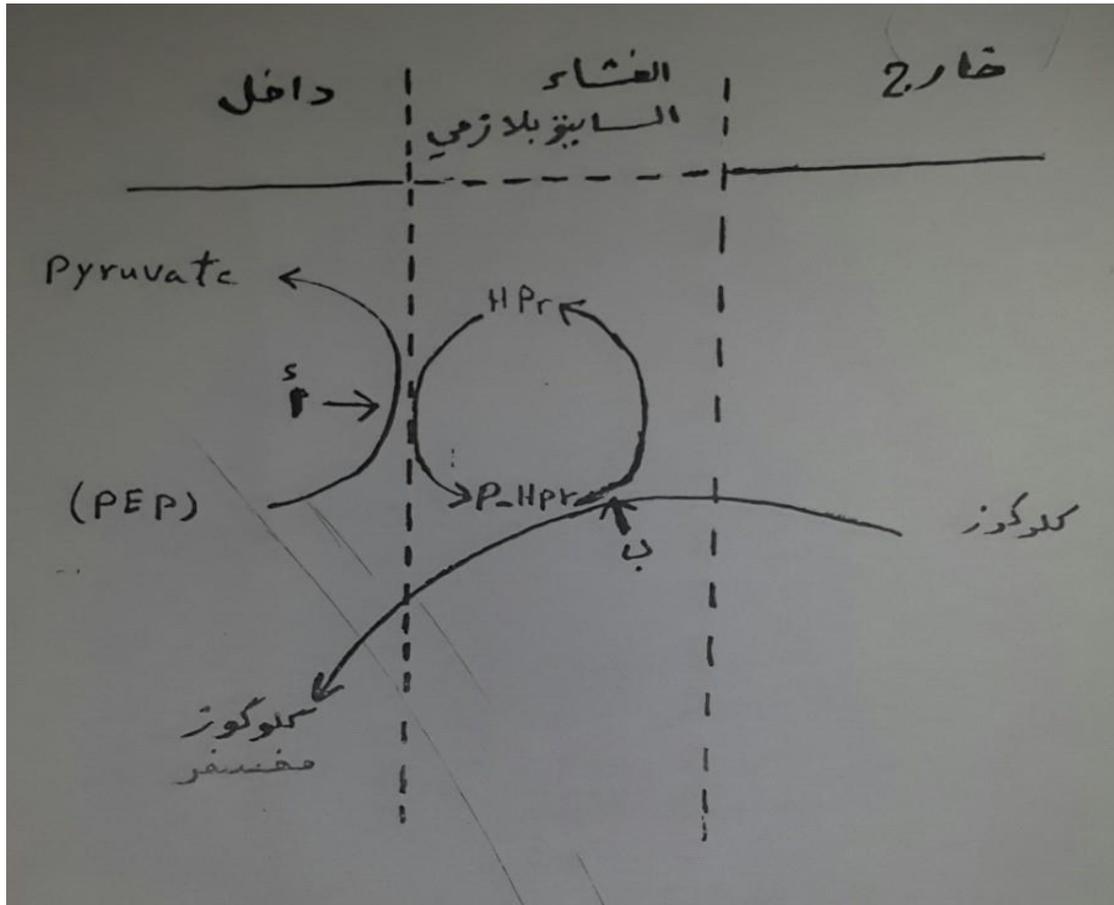
2- انتقال خليط المادة الذائبة والبروتين الناقل عبر الغشاء .

3- يحدث استهلاك للطاقة في مجال احداث تغيرات تركيبية في شكل البروتين الناقل لكي يطلق المادة الذائبة داخل الخلية ثم يرجع شكل الحامل البروتين الى ما كان عليه .

**د- النقل الموضعي الجماعي Group translocation :**

في انظمة النقل السابقة لا يحصل للجزيئات المنقولة عبر الغشاء الساييتوبلازمي اي تغير من ناحية تركيبها الكيميائي الا انه في نظام مجموعة النقل الموضعي نجد ان المواد المنقولة عبر الغشاء يحصل لها تغير كيميائي في تركيبها . ويبدو ان نظام النقل الموضعي يقتصر على خلايا الاحياء بدائية النواة prokaryotic . حيث ان هذا النظام يمكن البكتريا من استغلال مصادر الطاقة باعلى كفاءة وذلك من خلال ازدواجية نظام نقل المواد مع تفاعلات الايض الحيوي .

يوضح الشكل ادناه نظام النقل الموضعي الجماعي حيث ينتقل سكر الكلوكوز الى داخل الخلية من خلال تفاعل حيوي مزدوج . يكتسب السكر خلاله مجموعة فوسفور ليُدخل الى داخل الخلية . وبهذا يحصل تغير كيميائي في تركيب المادة المنقولة نتيجة ازواج تفاعلين تلعب مجموعة الفوسفور دورا مهما فيها .



مخطط يوضح نظام النقل الموضعي الجماعي

Hpr : Heat- stable protein

pHpr:phosphate Heat -stable protein

PEP: phosphoenol pyruvate

## السيطرة على الاحياء المجهرية

### اولا : مبادئ السيطرة

ان مصطلح ( السيطرة ) كما يستعمل هنا يشير الى خفض اعداد وفعالية الحمولة الميكروبية الكلية . ويعرف مصطلح ( الموت ) كما يستخدم في علم الاحياء المجهرية بانه فقدان القابلية على التكاثر . اذ ان عملية السيطرة على الاحياء المجهرية تتطلب معرفتنا بالطرق المهمة لقتل هذه الاحياء او ازاحتها او الحد من نموها وتباین هذه الطرق . تبعا لنوع المادة المراد تعقيمها من جهة ومن جهة ثانية فان الاحياء المجهرية تختلف فيما بينها من حيث مقاومتها لهذه الطرق . وعلى هذا الاساس تعددت الطرق المستخدمة في هذا المجال . وقبل الدخول في شرح معظم الطرق المستخدمة في السيطرة سنتناول بعض القواعد الاساسية التي من خلالها يمكن الالمام بمعرفة موت الكائن الحي او ازاحته او تثبيطه .

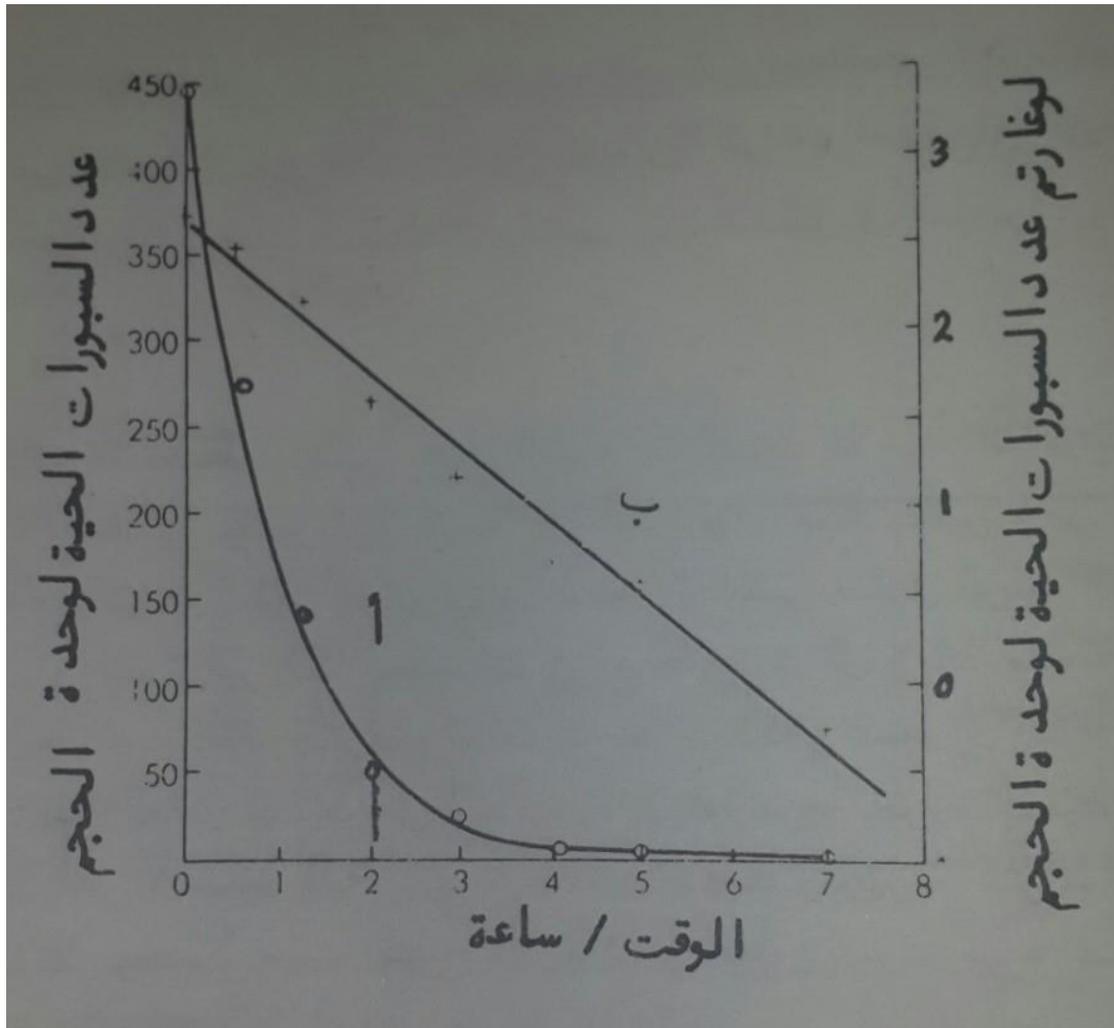
#### أ- معدل موت البكتريا :

ان دراسة معدل موت الخلايا البكتريا تكون من خلال تعويض معلق البكتريا لمعاملة فيزيائية او كيميائية متوسطة القوة ليتسنى لنا متابعة موت الخلايا التي تتبع معدل اسيا ثابتا وهو معاكس تماما لمعدل الزيادة الاسية في الاعداد . ويمكن فهم الموت الاسي للخلايا من خلال تصورنا بان كل خلية تعد هدفا لعدد كبير من وحدات عوامل القتل الفيزيائي او كيميائي المنتشرة بصورة عشوائية . ولذا فان احتمال ضرب الهدف ( الخلية ) يتناسب مع عدد الاهداف الموجودة في حيز معين اذا فرضنا وحدة الزمن ثابتة كل مرة . فلو اخذنا مثلا عدديا بسيطا هو مليون خلية بكتيرية حية هدفا لمعاملة فيزيائية كالحرارة لمدة دقيقة واحدة بحيث تضبط المعاملة الحرارية لقتل 90% من العدد الكلي . فالاعدد المتبقية الحية بعد الدقيقة الاولى للمعاملة هي 100.000 وبعد ذلك نكرر المعاملة دقيقة اخرى لقتل 90% مما تبقى حيا من المرة السابقة ليبقى فقط 10.000 خلية حية . وهكذا نكرر المعاملة حتى تنتهي الاهداف كما هو مبين في الجدول ادناه . ولكن نلاحظ ان صعوبة قتل الخلايا التسعة الاخيرة مماثلة لصعوبة قتل ال 900.000 خلية في الدقيقة الاولى وفي الواقع انه لا يمكننا التأكد من اننا قتلنا الخلية الاخيرة ولكن الذي يمكننا عمله هو زيادة وقت المعاملة بصورة كافية لضمان قتل الخلية الاخيرة .

نموذج لموت سبورات خلايا باسيلاس انثراس *Bacillus anthracis* المعرضة الى 5% فينول يمكن ملاحظتها في الشكل ادناه الممثلة بعدد الخلايا الحية مقابلة الوقت وفيه الخط البياني (أ) يمثل المنحني العددي لسبورات البكتريا والخط (ب) يمثل المنحني اللوغارتمي لسبورات البكتريا . وفي كلا المنحنيين يتضح ان جزءا من مجموع الخلايا يموت خلال اي وحدة وقت وما يوضحه المنحني اللوغارتمي هو ان موت الخلايا يكون ثابتا .

الجدول ادناه كنموذج نظري لتدرج موت الخلايا البكتريا عندما تتعرض الى عامل مميت .

الوقت (الدقيقة)	عدد الخلايا الحية	نسبة الموت لوحدة الزمن	العدد الكلي للخلايا الميتة
صفر	مليون	صفر	صفر
1	100.000	%90	900.000
2	10.000	%90	990.000
3	1000	%90	999.000
4	100	%90	999.900
5	10	%90	999.990
6	1	%90	999.999



- الشكل يوضح منحنى موت سبورت بكتريا Bacillus Anthracis المعرضة الى 5% فينول .
- أ- منحنى الاعداد الحية للسبورت معبر عنها نظريا .
- ب- منحنى لوغارتم الاعداد الحية للسبورت خلال وحدة الوقت .

وهذا منحى يمكن الحصول عليه فقط في حالة كون جميع الظروف متماثلة تماما بضمنها عمر او طور نمو الخلايا . اذا ان منحى معدل الموت للخلايا يختلف باختلاف انواع الاحياء المجهرية واعدادها وكذلك تركيز او شدة المعاملة المستخدمة . فاذا كانت المعاملة تتم بواسطة اشعة x فان معدل القتل يزداد بازدياد شدة الاشعة . اما اذا كانت المعاملة بمادة كيميائية فانه كلما زادت فترة تعرض الخلايا للمعاملة زادت فرصة قتل خلايا اكثر .

### ب- الظروف المؤثرة على تثبيط الاحياء المجهرية :

هنالك عدة ظروف يجب اخذها بعين الاعتبار عندما نريد ان نستخدم عوامل فيزيائية او كيميائية لتثبيط الاحياء المجهرية وذلك كون الكائن المجهرى ليس هدفا فيزيائيا سهلا . ولهذا ليس من السهل وصف معاملة واحدة تكون فعالة في السيطرة على الاحياء المجهرية تحت كل الظروف اذن فمن الضروري تقويم كل حالة على انفراد لكي نختار المعاملة التي تعطي نتيجة افضل في السيطرة . ومن هذه الظروف :

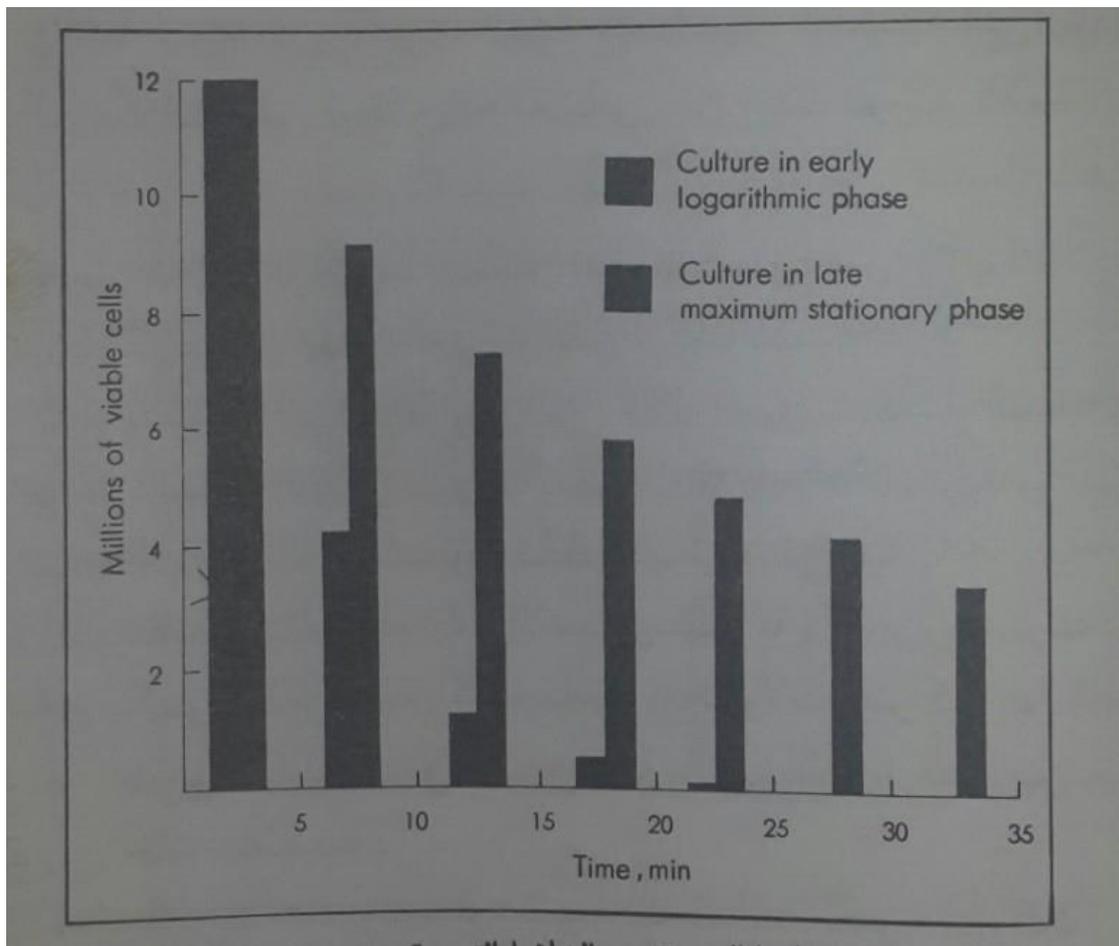
**1- ظروف المحيط :** يتاثر معدل التثبيط او الموت للاحياء المجهرية كثيرا بالخواص الكيميائية و الفيزيائية للوسط المحيط بها . فمثلا تاثير عامل الحرارة يكون اشد في تثبيط الكائن المجهرى في الوسط الحامضي مما في الوسط القاعدي . كذلك فان زيادة تركيز الكربوهيدرات في الوسط تؤدي الى زيادة مقاومة الكائن المجهرى للحرارة . كذلك فان قوام المادة المحيطة بالكائن المجهرى المراد تعقيمها يؤثر في قابلية العامل المثبط على النفاذ . اما زيادة درجة حرارة المحيط بوجود عامل مثبط اخر كالفينول فانه يسرع في تحطيم الاحياء المجهرية اكثر مما لوكان العامل المثبط وحده . حيث يتضح ان بكتيريا القولون تموت اسرع عند زيادة درجة الحرارة بوجود عامل الفينول بتركيز 4.62 % .

**2- نوع الكائن المجهرى :** ان الانواع المختلفة من الاحياء المجهرية تختلف في قابليتها من حيث حساسيتها تجاه العوامل الفيزيائية و الكيميائية . حيث تكون الخلايا الخضرية اكثر من الخلايا المكونة للسبورات والسبورات البكتيرية تكون اكثر مقاومة من بقية الاحياء المجهرية الاخرى للظروف الصعبة سواء اكانت فيزيائية ام كيميائية والجدول (9) يوضح المقاومة النسبية لسبورات البكتيريا مقارنة بالاحياء المجهرية الاخرى .

**3- حالة الخلايا الفسلجية :** تتاثر حساسية خلايا الاحياء المجهرية للعوامل المثبطة بحالتها الفسلجية الموجودة عليها . فالخلايا الحديثة العمر تنتشط بسهولة اكثر من الخلايا القديمة او السابقة في حالة تعرض كلتا المجموعتين الى عامل مثبط . وهذا التأثير يكون من خلال التداخل مع الفعاليات الحيوية للخلايا . ولهذا فان الخلايا السابقة او القديمة التي تقل فيها الفعاليات الحيوية تتاثر بدرجة اقل مقارنة بالخلايا الحديثة التي تكون نشطة حيويا . ففي الشكل (76) يتضح ان الخلايا الحديثة تموت كليا بعد 25 دقيقة من تعرضها للمعاملة مقارنة بالخلايا القديمة التي استمرت لفترة اطول .

الجدول يوضح المقاومة النسبية لسبورات البكتيريا والفطر وجسيمات الفايروس مقارنة مع مقاومة بكتيريا E.Coli كوحدة مقاومة واحدة .

العامل المعقم	E.coli	سبورات البكتريا	الفطر	جسيمات الفايروس
الفينول	1	100,000,000	2-1	30
الفورمالين	1	250	-	2
الحرارة الجافة	1	1000	10 -2	1±
الحرارة الرطبة	1	3,000,000	10-2	5-1
الاشعة فوق البنفسجية	1	5-2	100-5	10-5



الشكل يوضح مقارنة حساسية الخلايا الحديثة مع الخلايا القديمة عند تعرضها لعوامل قاتلة

خلايا في البداية culture in early logarithmic phase طور اللوغارتمي

خلايا في اواخر culture in late maximum طور الثبات Stationary phase

ج- الكيفية التي يعمل بها العامل المثبط :

ان العوامل المختلفة المضادة للاحياء المجهرية يكون تأثيرها التثبيطي عن طريق واحد او اكثر من الاتجاهات . ان فهمنا لكيفية تأثير مضاد معين يجعل من السهل علينا توقع الظروف المثلى التي يعمل بها هذا المضاد بكفاءة اكثر . وكذلك يوضح لنا اي نوع من الاحياء المجهرية يتاثر بهذا العامل او ذلك بصورة اشد . ان بحوثا عديدة عملت لتحديد المواقع المعينة لعمل المثبطات المختلفة . ومعرفة هذه المواقع يمكن ان تاتي من تذكر مكونات خلية الكائن المجهري التي يمكن ان تكون مواقع تستهدفها العوامل المضادة او المثبطة . فالخلية تحوي العديد من الانزيمات المسؤولة عن الفعالية الحيوية وكذلك على الغشاء الساييتوبلازمي شبه المنفذ والمسيطر على خروج المواد ودخولها من الخلية واليها فضلا عن ذلك فان من المكونات الاسيائية الاخرى . اذ ان تحطيم اي من هذا المكونات ربما يؤدي الى تغيرات ثانوية لاحقة تسبب موت الخلية وتحطيمها . والكيفية التي تؤدي فيها العامل المضاد فعله التثبيطي او قتله للخلية من خلال الوسائل الاتية :

1- تحطيم جدار الخلية او تثبيط عملية تخليقه . مثل فعل انزيم اللايسوزايم lysozym

الذي يحلل جدار الخلية ويبقى البروتوبلاست عاريا.

2- تثبيت نفاذية الغشاء الساييتوبلازمي خلال تخري الغشاء نفسه بوساطة مواد مغينة كالمضاد الحياتي البوليماكسين (polymyxin) وبعض المركبات الكيمائية كالفيينول والمنظمات ومركبات الالمنيوم الرباغية.

3- تغير في طبيعة بروتينات الخلية والاحماض النووية كالحرارة المرتفعة لاكثر من 80 م والمواد الكيمائية كالاحماض والكحولات بتركيز عالية نسبيا. وذلك عن طريق تكسير والاواصر المختلفة التي عادة تربط بين جزيئات البروتين في حالته الطبيعية.

4- تثبيت فعل الانزيمات يؤدي الى تثبيت الفعاليات الحيوية. وذلك بوساطة بعض المواد الكيمائية كالفيينول والمعادن كالزئبق والعوامل المؤكسدة كبيروكسيد الهيدروجين والهالينات . فضلا عن ذلك فهناك بعض المواد مثل مركبات السلفاتتنافس مع حامض البنزويك الذي يدخل في تركيب حامض الفوليك . ومن بعد يتوقف انتاج الحامض الاخير المهم جدا في حيوية الخلية البكتيرية مما يؤدي الى موتها.

5- تثبيت تخلق البروتين والاحماض النووية حيث تؤثر المضادات الحياتية في الخطوات الاساسية لتخليق البروتين وذلك كان ترتبط هذه العوامل مع جزيئات ال mrna h , trna ووحداث الرايبوسوم الاساسية لتمنعها من اكمال الخطوط الطبيعية لتخليق البروتين او الاحماض النووية.

### ثانيا: العوامل الفيزيائية:

من اهم العوامل الفيزيائية المستخدمة في السيطرة على الاحياء المجهرية درجة الحرارة العالية والواطنة . والتجفيف . والضغط التنافذي . والترشيح والاشعاع

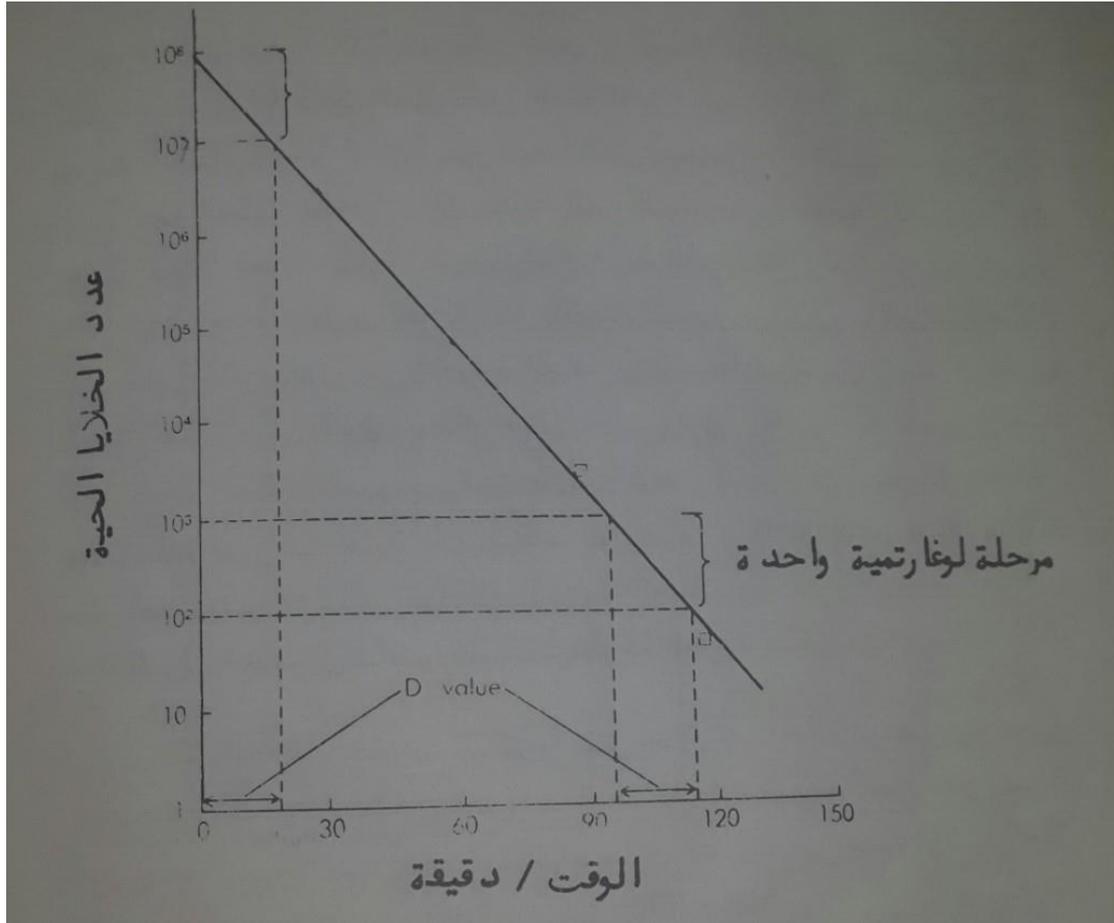
أ - درجة الحرارة العالية :

من المعروف ان لكل كائن حي مجهري درجة حرارة مثلي وصغرى وعظمى للنمو. وعند زيادة درجة الحرارة فوق الحد الاعلى يموت الكائن المجهري في حين انع عند انخفاض درجة الحرارة دون الحد الادنى يحصل عادة تثبيط حيوي واحيانا تسمى هذه العملية بالحفظ . ان لكمية الماء الموجودة في المحيط تائيرا فعلا في حيوية الكائن الحي . عندما يفتقر ارتفاع درجة الحرارة مع ارتفاع الرطوبة النسبية فانه يشكل احدهم الطرق الفالة لقتل الاحياء المجهرية . وهي ( الحرارة الرطوبة) التي تكون اكثر فاعلية من الحرارة الجافة في تائيرها المميت حيث ان الحرارة الرطوبة تقتل الكائن المجهري من خلال تخثر بروتين الخلايا. اما الحرارة الجافة فانها تقتل الكائن المجهري من خلال اكسدة المكونات الكيميائية للخلية ومثال ذلك سبورات بكتيريا كلوستريديم بوتيلانيم (clostridium botulinum) تقتل من 4-20 دقيقة بواسطة الحرارة الرطوبة على 120 م في حين تحتاج في حالة الحرارة الجافة الى ساعتين على فس درجة الحرارة.

ان اغلب الخلايا الخضرية للبكتيريا تقتل خلال 5-10 دقائق على درجة حرارة ردية 60-70 م وتكون سبورت البكتيريا اكثر مقاومة للحرارة من سلورت العفن والخمائر وبالنسبة لحساسية الفايروسات للحرارة فهي عموما تشابه الخلايا الخضرية للبكتيريا المتوسطة الالفة للحرارة .Mesophilic

#### وقت القتل الحراري ( Thermal Death time )

يقصد به اقصر فترة من الوقت لقتل مغلوق خلايا البكتيريا على درجة حرارة معينة وظروف محددة وهناك وحدة اخرى لقياس تحطيم الخلايا تسمى وقت الاختزال الجزئي Decimai Reduction time . وهو الوقت بالدقائق اللازمة لاختزال اعداد الخلايا بمقدار 90% او تعرف بانها الوقت بالدقائق اللازمة لنقل وقت القتل الحراري مرحلة لوغارتمية واحدة ويطلق على هذا القينة اصطلاح (D-Value) الشكل ادناه يبين العلاقة بين الوقت ودرجة الحرارة اللازمة لقتل الخلايا.



### منحني القتل الحراري ويوضح قيمة D

فتكون درجة الحرارة ثابتة في حين يكون الوقت مختلفا وقت الاختزال الجزائي الذي يقيس قتل 100% من اعداد الخلايا . لكل من وقت القتل الحراري والاختزال الجزائي تطبيقات مهمة في صناعة المعلبات التي تتطلب استخدام درجات حرارة عالية لعملية حفظ الاغذية .

ان عملية قتل الاحياء المجهرية بالحرارة وعلاقتها لها بعض التطبيقات التي تستخدم عادة اما الحرارة الرطبة او الحرارة الجافة ومن اهمها الاتي:

#### 1- التعقيم بالبخار تحت ضغط:

وهي ومن اكثر الطرق المعتمد في التعقيم . حيث ان البخار تحت الضغط يولد درجة حرارة اعلى من تلك المتحصلة في اثناء الغليان .

وفضلا عما تقدم فان للحرارة الرطبة ميزة تسخين اسرع ونفاذ عالية في الاجسام المعقمة . ويعد جهاز الاوتوكليف نموذجا للاجهزة المختبرية المصممة لتحميل ضغط البخار المتولد . ومن الامور المهمة والواجب مراعاتها في طريقة التعقيم هذه ان يحل البخار محل جميع الهواء الموجودة بصورة كاملة كاملة . وبخلافه يصعب الوصول الى درجة الحرارة المطلوبة داخل غرفة المعقم . يعتمد الوقت اللازم للتعقيم بجهاز الاوتوكليف على طبيعة المادة ونوع الوعاء

وحجم المادة المراد تعقيمها . فمثلا اذا كان عندنا 1000 انبوبة اختبار تحوي كل واحدة منها 10مل بيئية سائلة فانها تحتاج الى تقيم لمدة 10-15 دقيقة بدرجة حرارة 121 م وضغط 1,545 كغم/سم في حين ان 10 لتر من بيئة سائلة موضوع في وعاء واحد تحتاج الى ساعة او اكثر على نفس درجة الحرارة والضغط لاعطاء نفس النتيجة من التعقيم.

## 2- التعقيم بالحرارة الجافة:

يستخدم التعقيم بهذه الطريقة في الحالات التي يكون بها التعقيم بالبخار المضغوط غير مرغوب فيه . ويكون التعقيم هنا من خلال الملامسة المباشرة بين المادة المراد تعقيمها والحرارة كالأطباق والادوات الزجاجية والمعدنية الاخرى. والجهاز المستخدم عادة يستخدم التيار الكهربائي او فرن الغاز للحصول على درجة الحرارة المطلوبة وتتعرض الزجاجيات المختبرية عادة حرارة 160 م لمدة ساعتين لاتمام تعقيمها.

## 3- التعقيم بالحرارة:

تستخدم هذه الطريقة في تعقيم ابرة التلقيح من خلال تعريض الابرة الى لهب مصباح بنزن وتسخينها حتى الاحمرار . فضلا عن ذلك فان عملية الحرق تستخدم للتخلص من جثث الحيوانات التي قد تعد مصدرا للتلوث . وهنا يجب ان تحرق المواد المراد حرقها في اوعية تمنع تطاير الاحياء المجهرية الحية بواسطة تيارات الهواء

## 4- البسترة :

تعتمد درجة حرارة البسترة على اساس وقت القتل الحراري الممثل بنوع الكائن المجهرى المرضى الاكثر مقاومة لكي يتحطم بهذا المعاملة وهي بكتيريا من النوع Mycobactium tuberchlosis واعتبر قتل هذا النوع من البكتيريا هو المقياس لاتمام عملية البسترة. وهذا النوع من البكتيريا يقتل بدرجة حرارة 60 م<sup>0</sup> لمدة 10 دقيقة . لذا وضعت درجة حرارة البسترة على الاساس اعلاه فحددت ب 143<sup>0</sup> ف ( 61.66<sup>0</sup> م ) لمدة نصف ساعة ولكنه وجد مؤخرا ان نوع من الركتسيا المسمى كوسيليا بيورنتاي COXiella bumetii المسبب لحمى كوينلاند Q.fever التي تنتقل عن طريق الحليب تقاوم درجة حرارة البسترة ( 143<sup>0</sup> ف لمدة نصف ساعة ) . لذا اقترحت درجات حرارة جديدة للبسترة وهي 145<sup>0</sup> ف ( 62.8<sup>0</sup> م ) لمدة ساعة اذا تسمى بالبسترة البطيئة. اما البسترة السريعة او الخاطفة فتستخدم درجة حرارة 161<sup>0</sup> ف ( 71.7<sup>0</sup> م ) لمدة 15 ثانية .

## 5- التعقيم الجزئي بالبخار:

تستخدم هذه الطريقة في تعقيم بعض المواد الحيوانية والكيميائية التي تتحطم عند معاملتها بالحرارة فوق 100<sup>0</sup> م . ولكن في حالة مقاومة لدرجة حرارته البخار السائب ( 100<sup>0</sup> م ) فيمكن في هذه الحالة تعقيمها بهذه الطريقة التي احيانا تسمى باصطلاح (Tyndallization). والجهاز يسمى Steam Arnold . وبهذه الطريقة يمكن تعقيم المواد الحساسة للحرارة العالية على ثلاث ايام متعاقبة بدرجة حرارة البخار 100<sup>0</sup> م لمدة نصف ساعة كل يوم . تتخللها فترات

التحضير لانبات السبورات الباقية على قيد الحياة . ثم تقتل هذه السبورات الثابتة في خطوات التعقيم اللاحقة .

### ب- درجة الحرارة الواطئة : Low Temperature

يمكن تثبيط او خفض معدل التفاعلات الحياتية للاحياء المجهرية من خلال وضعها في درجة حرارة اقل من الحد الادنى لنموها . واذا كان هذا التخفيض في درجة حرارة كبيراً فينتج عنه توقف للنمو . وتحفظ بعض المزارع الميكروبية عادة بهذه الطريقة لفترة طويلة على الاكار المائل وخاصة بدرجة حرارة بين 4-7<sup>0</sup> م . ويمكن حفظ عدة انواع من البكتريا وجميع الفايروسات بالتجميد على -20 الى -70<sup>0</sup> م . وعادة يستخدم النايتروجين السائل (-196<sup>0</sup> م) لتجميد وحفظ الفايروسات وكذلك انسجة الخلايا المستخدمة في تنمية الفايروسات الحيوانية لعدة سنوات .

نستنتج من هذه المعلومات ان درجة الحرارة والواطئة جدا لا يمكن الاعتماد عليها في التطهير او تعقيم المواد . حيث ان الميكروبات الموجودة في المواد المجمدة تكون في دور السكون . لهذا فانه من الناحية التطبيقية تعد درجة الحرارة العالية قاتلة للاحياء المجهرية في حين تعد درجة الحرارة الواطئة مثبطة لها .

### ج- التجفيف Desiccation :

ان تجفيف الخلية الميكروبية وما يحيط بها يؤدي الى توقف في الفعاليات الحياتية ويتبع بانخفاض في اعداد الكائنات المجهرية الحية . وتختلف الاحياء المجهرية في مقاومتها للتجفيف وذلك تبعا للعوامل الاتية :

- 1- نوع الكائن الحي .
- 2- المواد التي يجفف فيها او عليها الكائن المجهري .
- 3- اكمال عملية التجفيف .
- 4- الظروف الفيزيائية التي يتعرض لها الكائن المجهري المجفف من درجة حرارة وضوء ورطوبة .

وتبعا لنوع الكائن المجهري فان بعض انواع الاحياء المجهرية تكون حساسة لعملية التجفيف بحيث تموت خلال ساعة وتشمل انواعا من البكتريا الكروية السالبة لصبغة كرام مثل gonococci & meningococci اما جنس البكتريا streptococci فتكون اكثر مقاومة بحيث ان بعضها يقاوم اسابيع بعد التجفيف . وتبقى بكتريا السل M.tuberculosis لفترة اطول مقاومة في البصاق الجاف . اما سبورات الاحياء المجهرية فالمعروف عنها انها تبقى حية لفترات غير محدودة .

في حالة عملية التجفيد Lyophilization التي تستخدم لحفظ المزارع الميكروبية فان الاحياء المجهرية تتعرض الى تجفيف كبير وهي في حالة المجمدة ثم تقفل الانبوبة تحت التفريغ

. والمزارع المجفدة تبقى تحت هذه الظروف محافظة على حيويتها لعدة سنين . والسبب هو ان التجفيف هنا يحصل بوساطة ظاهرة التسامي وليس بتأثير درجة الحرارة العالية لازالة الرطوبة.

#### د- الضغط الازموزي : Osmotic Pressure

هو الضغط المتكون المتكون داخل الخلية نتيجة دخول الماء اليها . وهذا يمكن تفسيره عند وضع محلولين مختلفي التركيز يفصل بينهما غشاء شبه منفذ فان الماء يمر من خلال هذا الغشاء باتجاه المحلول الذي يكون فيه تركيز المواد المذابة عاليا محاولا التوازن في التركيز. ويكون تركيز المواد المذابة في الخلية الميكروبية عادة بحدود 0.95% واعتمادا على ذلك اذا تعرضت الخلية لمحاليل فيها تركيز اعلى من المواد المذابة فان الماء الموجود في الخلية يسحب الى الخارج . وهذه العملية تسمى بالبلمزة plasmolysis واذا حصل العكس اي اذا وضعت الخلية في محلول فيه تركيز قليل للمواد المذابة (تركيز عال للماء ) . فان الخلية يدخل اليها الماء فيسبب ضغطا داخل الخلية يسمى بالضغط الازموزي . وتسمى العملية الاخيرة ب plasmolysis وهذه الظاهرة يمكن ملاحظتها بسهولة في الخلايا الحيوانية حيث انها لا تحتوي على جدار خلوي صلب .

وفي حالة البلمزة plasmolysis يحصل تجفيف للخلية ومن بعد فان الفعالية الحياتية تنتبط كليا او جزئيا . والذي يحصل هنا ليس من تحطيم الجدار الخلوية الميكروبي وانما نتيجة التغيرات التي تحدثها البلمزة على الغشاء الساييتوبلازمي او الانكماش الجزئي للبروتوبلاست عن دار الخلية .

#### ه- الترشيح Filtration :

تستخدم هذه الطريقة في تعقيم المواد التي تتلف بالحرارة العالية وبخاصة السوائل الحياتية كالانزيمات وبعض المضادات الحياتية . وتستخدم لهذا الغرض انواع مختلفة من المرشحات . وهذه المرشحات مصنوعة من مواد مختلفة كالاسبتوس التي تستخدم في المرشحات زائيس او من التراب الدياتومي كما في مرشحات بريكيلد . او من الخزف كما في مرشحات جامبرلاند - باستير . ومرشحات اخرى تستخدم فيها دقائق الزجاج .

تتراوح معدلات اقطار فتحات هذه المرشحات من واحد الى عدة مايكرومترات . ففي هذه المرشحات لا يعتمد فقط على مقدار اقطار الفتحات وانما يعتمد على عوامل اخرى كالشحنات الكهربائية للمرشحات او الشحنات الكهربائية للكائنات الحية و كذلك طبيعة السائل المراد ترشيحه . وكل هذه العوامل تؤثر في كفاءة الترشيح .

في السنوات الاخيرة دخلت انواع جديدة من المرشحات تسمى بالمرشحات الغشائية او الحزيبية (Membran or molecular filters) . وهذه المرشحات تتصف بان لها فتحات متماثلة جدا في الحجم وهي مكونة من مواد خاملة حياتيا مثل استرات السليلوز . وتتراوح اقطار فتحاتها من 0.01 الى 10 مايكرومتر . وتستخدم هذه المرشحات بكثرة في تعقيم

السوائل الصناعية والطبية وكذلك تستخدم في عد الاحياء المجهرية الملوثة لعينات المياه المختلفة .

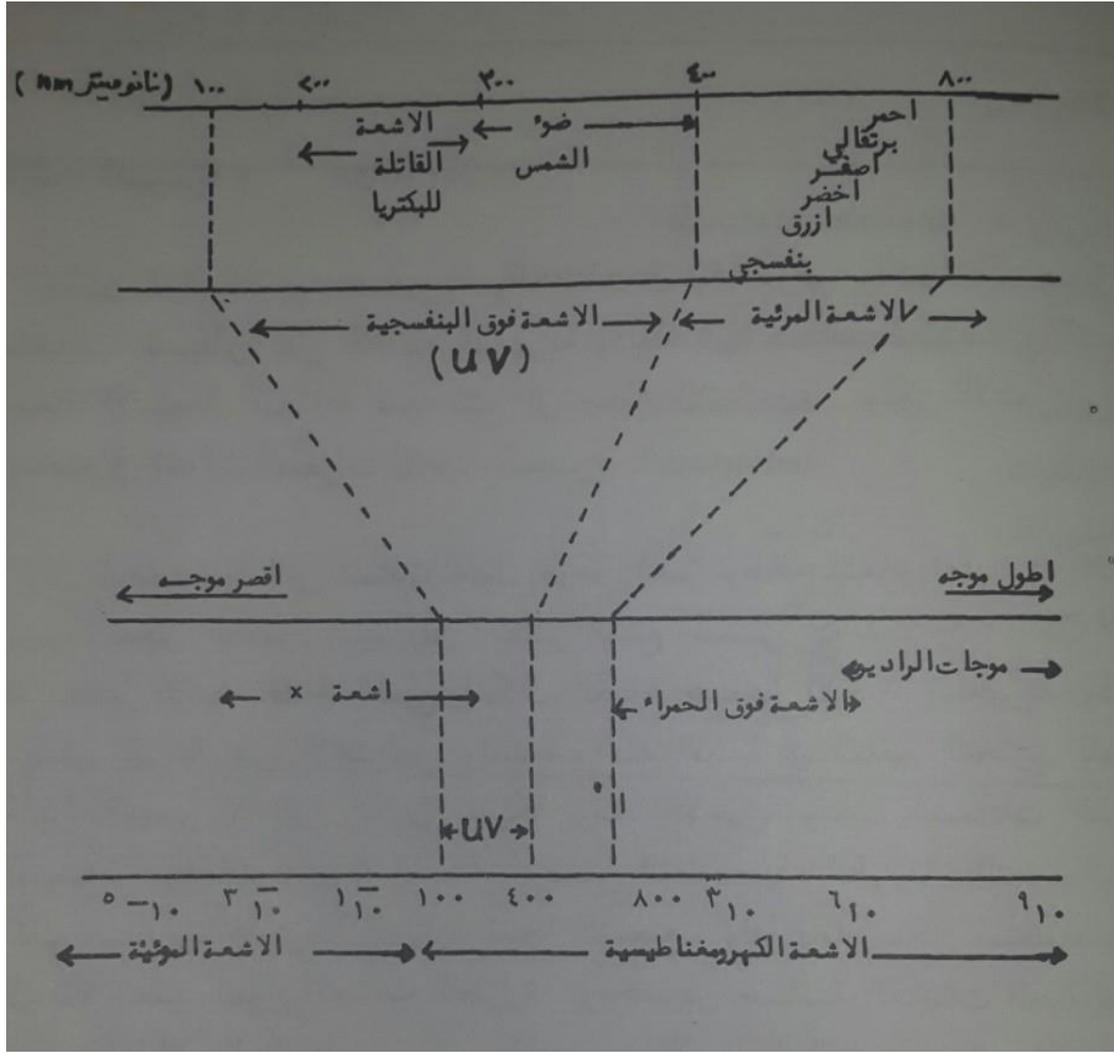
وعادة يستخدم اما قوة ضغط او التفريغ بواسطة مضخات خاصة للاسراع من مرور السوائل المراد ترشيحها عبر المرشحات .

### و- الاشعاع Radiation :

من الطرق الاخرى لقتل الاحياء المجهرية تعريضها الى انواع معينة من الاشعة . ويشير الاشعاع الى مصادر الطاقة التي تنتقل من مكان الى اخر خلال الهواء او الفضاء الخارجي . ومن اهم هذه الاشعة التي تهتمنا في هذا المجال الاشعة الكهرومغناطيسية وتحدد انواعها بطوال موجاتها , اما طاقتها فانها تتناسب طرديا مع ترددها . وتقاس اطوال موجاتها بالنانوميتر (nm) او بالانكستروم (A) حيث ان النانوميتر يساوي 10 انكستروم اما جرعة امتصاصها فتقاس بالرد (rd) وهي الوحدة التي توصل 100 ارج لكل غم من المادة المشعة وتساوي  $10 \times 6^{13}$  الكترون فولت (ev) . والاشعة الكهرومغناطيسية يمكن تقسيمها حسب تفاعلها مع المراد الى مجموعتين هما .

#### 1- الاشعة المؤينة :

مثل الاشعة السينية X-Rays واشعة كما Gamma Rays . سميت مؤينة لانها تمتلك طاقة كافية لسحب الالكترونات بعيدا عن الجزيئات وتعمل على تاين هذه الجزيئات . وهذه الاشعة عندما تمر من خلال الخلايا فانها تخلق جذورا حرة



مخطط يبين اطوال موجات الاشعة الكهرومغناطيسية ومكبيرة منها حزمة الاشعة فوق البنفسجية و المرئية .

للهيادروجين وجذور هايديروكسيل وكذلك البيروكسيدات التي بدورها تسبب انواعا مختلفة من التحطم للخلايا التي تمر بها وتأثيرها هذه الاشعة يكون غير محدد لان التحطيم يحصل في جميع المواد التي تمر بها .

### الاشعة السينية X-Rays :

تكون قاتلة للاحياء المجهرية والكائنات الحية الارقى ولكنها غير عملية في استخدامها للسيطرة على الاحياء المجهرية وذلك لانها باهظة التكاليف في انتاجها وصعبة الاستعمال بكفاءة لانها تشع الى جميع الاتجاهات . ولكن الاشعة السينية تستخدم في احداث الطفرات للاحياء المجهرية .

ان اشعة كاما التي تمتلك طول موجي اقصر وطاقة اشعاع اعلى من الاشعة السينية يمكن الحصول عليها من النظير المشع المسمى كوبلت 60 ( $^{60}\text{Co}$ ) وتعد هذه الاشعة قاتلة لجميع

اشكال الحياة بضمنها الاحياء المجهرية وذلك لقابليتها العالية على الاختراق . وتستخدم هذه الاشعة في التعقيم التجاري للمواد الكبيرة الحجم او التي تكون سميكة ومنها الاجهزة وعلب الضمادات الطبية والصدلانية وكذلك الاغذية المعلبة . ويسمى التعقيم بهذه الطريقة بالتعقيم البارد وذلك لعدم ارتفاع درجة الحرارة نتيجة التشعيع . ولذا فانه يمكن استخدام هذه الطريقة لتعقيم المواد الحساسة للحرارة . وبخصوص حساسية الكائنات الحية تجاه الاشعة فان الاحياء المجهرية اكثر مقاومة من الاحياء الراقية . حيث يتضح من الجدول ادناه ان الفروقات واضحة في الجرعة القاتلة من الاشعة بين الفعريات والاحياء المجهرية والبكتريا . وتختلف الاخيرة فيما بينها من حيث حساسيتها للاشعة المؤينة فبكتريا Pseudomonas تكون حساسة للاشعة في حين تعد بكتريا Micrococcus radiodurans من اكثر انواع البكتريا مقاومة للاشعة . كذلك فان وجود الرطوبة يزيد من حساسة خلايا البكتريا للاشعة المؤينة.

الجدول يبين معدل الجرعة القاتلة من الاشعة السينية لانواع مختلفة من الاحياء المجهرية .

الكائن الحي	النوع	متوسط الجرعة القاتلة (rd)
فايروس	Tobacomosaic virus	200.000
بكتريا	E.coli	5.000
	Bacillus mesentencus	130.000
طحالب	Mesotenum	8.500
ابتدائيات	Paramecium	300.000
الفعريات	الارنب	800
	الفار	600
	القرد	450
	الانسان	400

## 2- الاشعة غير المؤينة :

وهذه تمتلك طاقة اشعاع اقل بحيث لا يمكنها تايين المركبات المختلفة ولهذا فانها تمتص من قبل هذه المركبات لانها تنشط الالكترونات وترفع من مستوى طاقتها . ولهذا تنشأ انواع من المواد الكيميائية التي تدخل في تفاعلات كيميائية في الخلية . ومثال على هذه الاشعة فوق البنفسجية ( Ultraviolet light ) ولها اطوال موجية بين 150 و 390 نانوميتر . و اقوى طول موجة قاتلة للبكتريا يكون بحدود 260 نانوميتر .

من الامور التي يجب مراعاتها ان هذه الاشعة ليس لها القدرة على اختراق المواد ولهذا فانها تستخدم فقط لقتل الاحياء المجهرية الموجودة على الاسطح او التي في تماس مباشر مع الاشعة . فهي تستخدم لتعقيم غرف العمليات الجراحية وغرفة الجراحة وغرفة تعبئة الادوية وغرفة مصانع الالبان باستخدام مصابيح خاصة .

ان تاثير الاشعة فوق البنفسجية يكون من خلال امتصاص الخلايا لهذه الاشعة وبخاصة الحامض النووي DNA حيث يحصل فيه اغلب التحطيم و يظهر التأثير المميت لهذه الاشعة من خلال تكوين ما يسمى بثنائي الثايمين ( Thymine dimers ) في ال DNA.

تحدث هذه التغيرات في الحامض النووي من عملية استنساخه وتصنيع البروتين ومن بعد يمكن ان تحصل الطفرات للاحياء المجهرية المشعة الى الضوء المرئي ثانية فانه بإمكانها اصلاح هذا العطل وتستعيد حيويتها من خلال ظاهرة تسمى اعادة التنشيط الضوئي (Photoreactivation) وذلك لامتلاك الاحياء المجهرية انزيمات خاصة تقوم بالاصلاح . وهناك انزيمات اخرى تعمل في الظلام لاصلاح العطل بواسطة الاشعة وتسمى العملية (Dark-repair mechanism)

ان فعالية الاشعة فوق البنفسجية على الاحياء المجهرية تتاثر بعوامل منها طور النمو للكائن المجهري . وجفاف الخلايا او ترطيبها . ووجود السبورات من عددها . ووجود الاحماض في الوسط . كذلك ان وجود الصبغات يوفر حماية للخلايا من الاشعة فوق البنفسجية وذلك لامتصاص الصبغات لهذه الاشعة .

### ثالثا : العوامل الكيميائية Chemical Agents

ان السيطرة على الاحياء المجهرية بواسطة المواد الكيميائية يكون اكثر تعقيدا من التعقيم بواسطة العوامل الفيزيائية لان الاخيرة تعني القضاء التام على جميع على جميع الاحياء المجهرية في الوسط في حين قد يكون تكون عملية التطهير التي تتم بواسطة المواد الكيميائية قاتلة للاحياء المجهرية . وقد تكون مثبته للنمو وذلك تبعا لتركيز وطبيعة المادة الكيميائية المستخدمة . ولمعظم هذه المواد الكيميائية تاثير سمي عام اي انها لا تفرق بين الخلايا ولكن قسما منها وبخاصية المضادات الحياتية يكون لها خصائص السمية الانتخائية اي لا تؤثر في انسجة الحيوانات المريضة نفسها بل تقتل او تثبط خلايا الاحياء المجهرية المسببة للمراض فقط .

وكما هو معروف ليس هناك مادة كيميائية واحدة مثالية لها خواص متعددة الاغراض وذلك لتعدد انواع الاحياء المجهرية ولاختلاف وسائل قتل الاحياء المجهرية بهذا المواد الكيميائية . ومع ذلك فان للمادة الكيميائية المستخدمة في التطهير خواص يمكن ان تؤخذ في الاعتبار لتقويم فعاليتها في اثناء الاستخدام . ومن هذه الخواص

1- انها فعالة في قتل او تثبيط الاحياء المجهرية بتراكيز واطئة

2- لها القابلية على الذوبان في الماء او المذيبات اخرى .

3- يجب ان تكون غير سامة للانسان او الحيوان في حين يجب ان تكون سامة للاحياء المجهرية على درجة حرارة الجسم او الغرفة .

4- لها القابلية العالية على الاخرق من خلال الاغشية و الاسطح المختلفة .

- 5- لها قابلية على الثبات وعدم التغير في الوسط
- 6- فضلا عن قابليتها على التطهير يفضل ان تكون لها خاصية التنظيف .
- 7- لها القابلية على ازالة الرائحة في اثناء عملية التطهير.
- 8- ان تكون متوفرة بالاسواق وباسعار مناسبة .

**ولتحديد نوع المادة الكيميائية المستخدمة في التطهير تدخل عوامل مهمة لتحديد ذلك ومنها :**

**1- نوع الكائن المجهرية :** نظرا لان المواد الكيميائية لا تكون لها نفس التأثير على جميع انواع الاحياء المجهرية . فالسبورات تكون اكثر مقاومة من خلايا الخضرية . وكذلك تكون الفايروسات اكثر مقاومة للمطهرات من البكتريا . وهناك اختلافات ايضا بين البكتريا السابلة والموجبة لصبغة كرام تجاه مقاومتها للمطهرات . لذا فان اختيار العامل المطهر يجب ان يحدد لقتل نوع معين من الاحياء المجهرية .

**2- طبيعة المادة او الجسم المراد تطهيره .** فالمواد المستخدمة لتطهير الاواني غير مناسبة لتعقيم الجلد مثلا . حيث قد تؤثر في خلايا الأنسجة.

**3- ظروف المحيط :** وهي درجة الحرارة وتركيزايون الهيدروجين . ووقت التعرض والتركيز ووجود المواد العضوية الخارجية كلها عوامل لها تاثير في كفاءة الفعل المضاد للمادة الكيميائية . فالاستعمال الناتج للمادة الكيميائية يعتمد على الإلمام بعلاقة تأثيرها هذه الظروف في الكائن المجهرية المعني .

### **العوامل الكيميائية المستخدمة :**

هنالك العديد من المركبات الكيميائية التي تستعمل في التطهير او تثبيط الاحياء المجهرية وفيما ياتي المجاميع الرئيسية لهذه المواد اليميائية وسنقتصر على ذكر طبيعة الفعل الذي تحدثه كل مجموعة وبعض التطبيقات العملية لها دون الخوض في التفاصيل .

#### **1- المركبات الفينولية Phenolic Compounds :**

تعد المركبات عوامل مطهرة فعالة جدا بحيث ان محلول 5% فينول يقضي بسرعة على الخلايا الخضرية . ولكن السبورات تكون اكثر مقاومة . وتزداد فعالية الفينول ومشتقاته تجاه الاحياء المجهرية بزيادة احتلال المركبات الكيميائية لمواقع معينة في تركيب حلقة الفينول . ولذا وجدت العديد من مشتقات الفينول منها الكريزول Cresols . وهكسيل فينول Hexylphenol . وهكسيل ريسورسينول Hexylresorcinol وغيرها .

تستخدم المركبات الفينولية اما موقفة لنمو البكتريا (Bacteriostatic) او قاتلة (مبيدة) لها Bacteriocidal اعتمادا على التركيز المستخدم . فالفايروسات والسبورات البكتريا تكون اكثر مقاومة من الخلايا الخضرية . وتقل فعالية هذه المركبات المضادة للاحياء المجهرية في الوسط

القاعدي ومع المواد العضوية وبنخفاض درجة الحرارة وكذلك مع وجود الصابون . وعادة يستخدم المحلول المائي بتركيز 2-5% منها لتطهير الاسطح والوانى الملوثة .

ان طبيعة فعل هذه المركبات في الخلايا الميكروبية غير واضحة بدقة . ولكن يتجلى ذلك الفعل بتأثيرات مختلفة اعتمادا على تركيز هذه المركبات . فقد يكون التأثير من خلال ترسيب بروتين الخلية او انفجار الخلايا او تثبيط الانزيمات او تسريب الاحماض الامينية من الخلايا . ويعتقد ان التأثير القاتل يكون من خلال التحطيم الفيزيائي للغشاء الخلوي الذي يقود الى التأثيرات الأخرى .

## 2- الكحولات Alcohols :

ومنها الكحول الايثيلي . والمثيلي والبروبيلي والبيوتيلي والاميلي وغيرها . ويعد الكحول الايثيلي من اكثرها شيوعا في الاستخدام للتطهير . ويستخدم الاخير بعمامة بتركيز 70% ليعمل بكفاءة اكثر في التطهير على الرغم من انه لا يعتمد عليه في التعقيم الكامل . اما تراكيز الكحول الايثيلي المؤثر في الخلايا الخضرية فلا تؤثر في سبورات البكتريا . حيث ان سبورات بكتريا B. anthrax قاومت الكحول لمدة 20 سنة وسبورات B.subtilis لمدة 9 سنوات . ووجد ان تراكيز كحوليا يزيد عن 60% يكون مؤثرا ضد الفايروسات .

ان الكحول المثيلي اقل استخداما وذلك لكون ابخرته سامة وكذلك تأثيره اقل من الكحول الايثيلي . اما الكحولات العالية ( بروبيلي , بيوتيلي , اميلي ) تكون اكثر فاعلية من الكحولات الايثيلي ولكنها اقل استعمالا لكونها اقل تجانسا مع الماء عند خلطها به.

ان طبيعة تأثير هذه المركبات ضد الاحياء المجهرية تكون من خلال احداث التغيرات في الطبيعة بروتينات الخلية . كذلك تعمل الكحولات على اذابة الدهن في جدار الخلية . كما انها تعد عوامل سحب الماء من الخلايا . ومن هنا ندرك قلة تأثيرها الكحول المطلق في الخلايا الجافة وذلك لانعدام الرطوبة فيها من جهة ولعدم امكان الكحول ذي التركيز العالي على اختراق جدر الخلايا .

ان بعض تأثيرها الكحول يكون من خلال التأثير الغاسل للاسطح بفعل ميكانيكي لازالة الاحياء المجهرية من الاسطح .

## 3- الهالوجينات Halogens:

### أ- الكلور Cl :

يعد الكلور اكثر الهالوجينات استخداما . حيث يستخدم اما على شكل غاز او على شكل سائل ( غاز مضغوط) والاخير استخدامة اكثر شيوعا . وهناك عدة مركبات للكلور تعد اكثر سهولة للتداول من الكلور الحر . ومن هذه المركبات الهايبوكلورايت Hypochlorites حيث تستخدم على هيئة هايپوكلورايت الكالسيوم  $Ca(OCl)_2$  وهايپوكلورايت الصوديوم NaOCl . ومن مركبات الكلور الأخرى الكلورامين Chloramines واهما Chloramine . ومن اهم

مزايا الكلورامين كونها اكثر ثباتا من مجموعة الهايبيوكلورايت من حيث طول فترة فقدان الكلور منها.

من اكثر تطبيقاتها استعمال الكلور ان يكون في مجال تنقية مياه الشرب وفي مصانع الاعذية والمجالات الطبية وكذلك في معالجة مياه المجاري . ومعاملة مياه السباحة .

يع الكلور ومركباته من العوامل المؤكسدة القوية حيث يعد ايونه عاملا ساما لبروتوبلازم الخلايا . وكذلك يعد الكلور من العوامل القاتلة للاحياء المجهرية حيث ان فعله المضاد لها يفوق فعل مركبات الفينول بحوالي 200 مرة .

ان طبيعة فعل الكلور ومركباته المضادة للاحياء المجهرية تتمثل من خلال تكوين حامض الهايبيوكلوروز (HClO) عند اتحاد الكلور الحر مع الماء . وكذلك هو الحامض الذي يتكون نتيجة تحلل مركبات الهايبيوكلورات والكلورامين .



حامض الهايبيوكلوروز

يتحلل هذا الحامض المتكون بمرحلة لاحقة لينتج حامض الهيدروكلوريك وذرة اوكسجين حرة



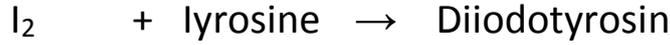
وتعد ذرة الاوكسجين الناتجة عاملا مؤكسدا قويا للمكونات الخلوية وكذلك عاملا قاتلا لخلايا الاحياء المجهرية . ويرجع الفعل القاتل للكلور ايضا الى اتحاده المباشر مع بروتين الخلية وانزيماتها.

#### ب- اليود I :

استخدام اليود منذ فترة طويلة تقارب من القرن . ويعد واحدا من اكثر العناصر فعالية في قتل الاحياء المجهرية . حيث يمتلك مدى واسعا من التأثير ضد مختلف انواع الاحياء المجهرية ويذوب اليود بسرعة في الكحول او في المحاليل المائية لليود مع الصوديوم واليوتاسيوم . ويستخدم اليود ايضا على هيئة مركب عضوية يسمى Iodophor حيث يدخل اليود في تركيبه مع عوامل اخرى تساعد على اذابته . ومن محاسن هذا المركب ببطء فقدان عنصر اليود من المركب . وانخفاض خاصيته للتخدش . وعدم قابليته على تكوين الصبغات .

ومن تطبيقاته العملية انه يستخدم مع مدى واسع من الاحياء المجهرية حيث يستخدم قاتلا لجميع انواع البكتريا وكذلك يعد قاتلا لسبوراتها تحت ظروف محددة . وكذلك يعد قاتلا للفطريات ولبعض الفايروسات . ويستخدم محلول اليود لتطهير الجلد بصورة رئيسة وهو افضل عامل مطهر لهذا الغرض . كما يستخدم لاغراض اخرى كتطهير الماء والهواء واواني الاطعمة .

ان طبيعة عمل اليود في التأثير المضاد للاحياء المجهرية غير معروفة على وجه الدقة ولكن اليود يعد ايضا من العوامل المؤكسدة القوية التي تؤكسد وبصورة غير رجعية مركبات الخلايا وبخاصة البروتين ومجاميع الكبريت المهدرجة sulfhydryl groups كما يعتقد انه يرتبط مع الحامض الاميني التايروسين tyrosin المهم في الانزيمات وبقية البروتينات الخلوية ليكون مركبا يدعى ثنائي اليود والتايروسين وبذلك يصبح التايروسين غير متيسر للخلية

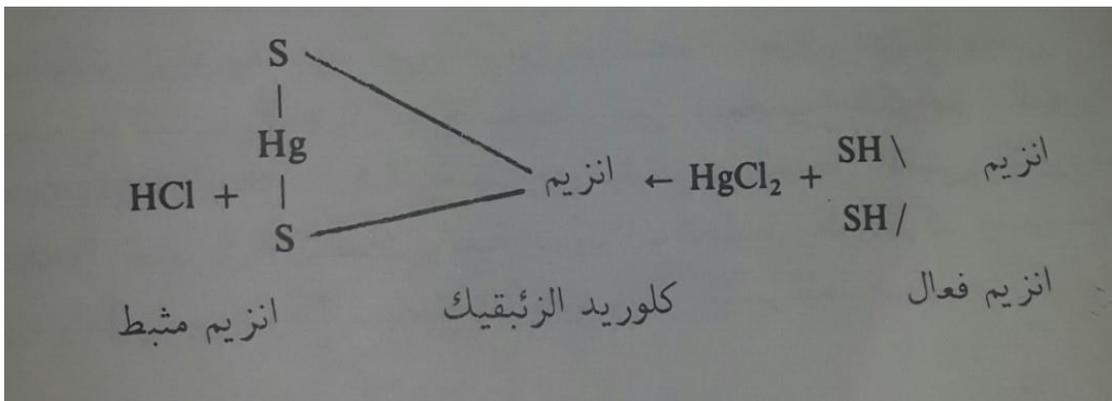


#### 4\_ المعادن الثقيلة :

لمعظم المعادن الثقيلة سواء على شكل ايونات او مركبات تأثير مثبط في الاحياء المجهرية . وهذا التأثير يعرف باصطلاح (oligodynamic action) اي التأثير الصغير الفعال ومن اكثر المعادن الثقيلة تأثير في الاحياء المجهرية الزئبق والفضة والنحاس . حيث تستخدم هذه المعادن على شكل املاح لا عضوية او مركبات عضوية .

يستخدم الزئبق بتركيز (1:1000) قاتلا للبكتريا في تطهير اسطح المناضد المختبرية او في تطهير الايدي قبل وبعد اجراء التجارب المحتوي على الاحياء المجهرية . اما الفضة فتستخدم عادة بتركيز 1:1000 قاتلا للبكتريا وبتركيز اقل بوصفها العامل المثبط للبكتريا . وتستخدم الفضة في تاكيد نقاوة المياه من خلال امرار المياه على طبقة رمل مغطاة بالفضة . ويعد الماء الحاوي على 40 مايكروغرام من الفضة قاتلا للبكتريا . اما النحاس فانه يكون اكثر تأثير في الطحالب من بقية الاحياء المجهرية حيث يستخدم بتركيز 2 جزء بالمليون لمنع نمو الطحالب في احواض المسابح وخزانات الماء المفتوحة .

ان طبيعة عمل المعادن الثقيلة تجاه الاحياء المجهرية تكون من خلال ارتباط هذه المعادن مع بروتينات الخلايا وبخاصة الانزيمات وتثبيطها . فمثلا كلوريد الزئبق يثبط الانزيمات الحاوية على مجموعة من ال(SH) كما يتضح فيما ياتي :



وعند التركيز العالية من املاح هذه المعادن الثقيلة فانها تعمل على تغير طبيعة بروتينات السايوتوبلازم . والذي يقود الى تحطيم الخلية كاملا .

## 5- المنظفات Detergents :

كلمة "deter" لاتينية وتعني ازالة او تنظيف . اما المقطع "gents" فيعني عوامل . اي عوامل التنظيف . ومثال على ذلك الصابون ولو ان الصابون له تاثير تظهيري ضعيف عند استعماله مع المياه العسرة . لهذا اتجه الاهتمام الى استحداث منظفات صناعية لها فعل تنظيف اعلى من الصابون . وهذه المنظفات الصناعية لا تكون رواسب مع المياه العسرة ولا مع المياه الحامضية او القاعدية . وهي بعامة تستخدم في الغسالات ومع الشامبو وبقية مستحضرات الغسيل . ويمكن الفعل التطهيري الحقيقي للصابون او المنظفات في عامل الازالة الميكانيكية اكثر من التاثير المثبط او القاتل للاحياء المجهرية من خلال تقليل الشد السطحي وزيادة قوة الاذابة للماء لازالة الاجسام الغريبة .

ومن الناحية الكيميائية تقسم المنظفات الى ثلاث اقسام :

1- منظفات لها شحنة سالبة وتسمى بالمنظفات الانيونية Anionic detergents كالصابون .  $(C_6H_{12}COO)^- Na^+$

2- منظفات لها شحنة موجبة وتسمى بالمنظفات الكاتيونية Cationic detergents ومثال ذلك مركبات الامونيوم الرباعي التي تكون اكثر تاثيرا من المجموعتين

3- منظفات غير متأينة Nonionic وهذا ليست لها تاثير معنوي من ناحية قتلها للاحياء المجهرية

ان مركبات الامونيوم الرباعية هي مثال على المنظفات ذات الشحنة الموجبة (Cationic) حيث لها تاثيرا فعالا في قتل البكتريا وبخاصة الموجية لصعبة كرام اكثر من البكتريا السالبة لصعبة كرام . ان الفرق بين التراكيز القاتل والتركيز المثبط للبكتريا يكون واسعا فمثلا التخفيف 1:30000 يكون قاتلا في حين يكون التركيز 1:20.000 مثبطا . لمركبات الامونيوم الرباعية تاثير قاتل في الفطريات وتقتل بعض انواع البروتوزوا المرضية ولكن الفايروسات تبدي مقاومة اكثر من البكتريا وتستخدم هذا المركبات مطهرا للجلد وفي تحضير مساحيق التجميل

وتستعمل على نطاق كبير في تطهير الارضيات وجدران المستشفيات ودور التمريض وكذلك لتنظيف اوعية المشروبات والاذنية في المطاعم والمصانع

ان طبيعة التأثير القاتل للمركبات الرباعية تتمثل في تحطيم الغشاء الساييتوبلازمي من خلال تعطيل نفاذية الغشاء الخلوي وكذلك تعمل هذا المركبات على تغيير طبيعة بروتينات الخلية كما توقف سلسلة التحلل الاهوائي للكلوكوز في الخلية (glycolysis)

## 6\_ الغازات : (gases) :

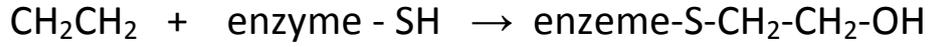
يتم استخدام الغازات في التعقيم في الحالات التي لا يمكن فيها استعمال الحرارة عامل تعقيم . فمثلا تعقيم الادوات الطبية كابر الزرق والكفوف اللدائنية وادوات نقل الدم والادوات المختبرية اللدائنية كالاطباق والماصات التي تستخدم لمرة واحدة . وكذلك تستخدم الغازات في تعقيم الاماكن المقفلة كغرف تحضير الادوية وكذلك استخدمت في تعقيم محتويات مركبات الفضاء .

وجد ان فعالية الغازات في التطهير والتعقيم تكافئ فعالية الحرارة والرطوبة . اذن كفاءة التطهير بالغازات تعتمد على التحكم في تركيز الغاز . ودرجة الحرارة ونسبة الرطوبة في حيز التعقيم . ومن الغازات المستخدمة في هذا المجال اوكسيد الاثيلين والفورمالدهايد والبيتابدوبيو لاكتون .

## اوكسيد الاثيلين Ethylen oxide :

له قوة فعالة في تطهير الادوات والاجهزة الحساسة للحرارة . واستخداماته كثيرة وواسعة . وله فعالية عالية في قتل خلايا الاحياء المجهرية الخضرية . اما سبورات البكتريا فتبدي مقاومة قليلة لهذا السبب يخلط تجاريا مع ثاني اوكسيد الكربون او مع الفريون للتغلب على خاصية اشتعاله . علما ان وجود ثاني اوكسيد الكربون او الفريون لا يؤثر في فعالية غاز اوكسيد الاثيلين ضد الاحياء المجهرية . ومن خواص هذا الغازات قابلية العالية على الاختراق الاجسام المراد تعقيمها به . اما الظروف اللازمة لاعطائه كفاءة تعقيمية عالية فهي تركيز بحدود 450 - 800 ملغم / لتر . ودرجة حرارة بين 55 - 60 م<sup>0</sup> والرطوبة النسبية بحدود 40% . ان طبيعة الفعل المضاد لاوكسيد الاثيلين تتمثل في التفاعل الالكيلي مع المركبات العضوية كالانزيمات والبروتينات . وهذا يعني احلال مجموعة الكيلية محل مجموعة ذرة هيدروجين الفعالة في مجاميع الكربوكسيل او الامين او

مجموعة الكبريت المهدرجة (SH) . ويمكن توضيح ذلك في المعادلات الاتية :



غير فعالة                      فعالة                      اوكسيد الاثيلين

### الفورمالديهايد (Formaldehyde (HCHO):

يسوق كمحلول مائي على هيئة فورمالين يحوي على 37-40% فورمالديهايد. والفورمالديهايد له رائحة حادة وخذشة للانسجة الملساء والعيون . ويتبخر بدرجة حرارة الغرفة (22<sup>o</sup> م) . وتستخدم هذه الدرجة مع رطوبة نسبية بين 60-80% عوامل مهمة لنجاح عملية التعقيم بالفورمالديهايد . ولهذا المركب تأثير قاتل للخلايا الخضرية وبدرجة اقل للسبورات . يستخدم الفورمالديهايد في تعقيم الاماكن المغلقة . ولكن يعاب عليه ان قابليته على الاختراق وتعقيم الاجزاء المغطاة تكون ضعيفة . اذ ان طبيعة فعل الفورمالديهايد المضادة للاحياء المجهرية تتمثل في اتحاده مع ذرات النايتروجين العضوية في البروتينات والاحماض النووية ومن بعد تعطلها عن العمل الطبيعي .

### البيتا بروبيولاكون B-propiolactone :

استخدام محدود جدا وذلك لقلته قابليته على الاختراق وكذلك ميله لتكوين النموات السرطانية . ولكنه غير قابلة للاشتعال . كما يعد قاتلا قويا للسبورات والفطريات والفايروسات بتراكيز قليلة . واذا استخدم فانه يستخدم لقتل الاحياء المجهرية على الاسطح بتراكيز 2-5 ملغم / لتر بدرجة حرارة 27<sup>o</sup> م ورطوبة نسبية 80% .

### رابعا : المضادات الحياتية والعوامل العلاجية الكيميائية :

ان علاج الامراض بالمواد الكيميائية دخل بشكل واسع في مجال الطب في اوائل الثلاثينات 1930 وذلك بعد اكتشاف مركبات السلفا والمضادات الحياتية لمعالجة الامراض التي تسببها الاحياء المجهرية . ولكن علاج الامراض بالمواد الكيميائية ( الطبيعية او الصناعية) كانت متبعة منذ قديم الزمان . فالاوربيون عالجوا مرض الملاريا بتناول الكينين الطبيعي من قلف شجرة السنجونا وذلك بحدود عام 1630 وقبل التاريخ استخدموا الهنود الحمر من خلال مضغ قلف شجرة

السنجونا للغرض نفسه . كما يستخدم الزئبق لعلاج مرض السفلس من عام 1495 حتى عام 1910 حين اكتشف العالم ايزلنج Ehrlich مركب السلفارسان Salvarsan بديلا عن الزئبق لعلاج السفلس . وفي عام 1935 سجل اكتشاف مهم اخر في مجال علاج الامراض بالمواد الكيميائية عندما اوضح دوماك Domagk في المانيا القيمة العلاجية لمركب السلفا ضد عدد واسع من الاحياء المجهرية المرضية وبخاصة ضد التريپونيما (Treponema) . وسبق ذلك بقليل (1929) لاحظ العالم الكسندر فليمك (A.Fleming) ان مزرعة من ال Staphylococcus aureus اصبحت ملوثة بعفن . ولاحظ انه حول مزرعة العفن منطقة رائقة تدل على تثبيط نمو البكتريا او هلاكها . وقادت هذه المشاهدة الباحث الى اكتشاف المضاد الحياتي الذي اسماه فليمك باسم البنسلين . وبعد هذا الاكتشاف توالى اكتشافات المضادات الحيائية العديدة والمستخدمه اغلبها في المجال العلاج الطبي .

### يطلق على المواد الكيميائية المستخدمة في علاج الامراض مصطلح

(Chemotherapeutic agent) اما طريقة علاج الامراض بهذه المواد فيطلق عليها اصطلاح العلاج الكيميائي Chemotherapy .

تقسم عموما هذه المواد العلاجية الى قسمين . اما مركبات كيميائية تصنع في المختبرية او مواد طبيعية تفرزها الاحياء المجهرية والاخيرة تسمى المضادات الحيائية Antibiotics . والفرق بين المواد الكيميائية العلاجية والمواد الكيميائية المطهرة ( التي سبق ذكرها ) هو ان الاولى تكون عالية التخصص في السمية عالية ضد الكائن المجهري الطفيلي وقليلة التأثير ضد الخلايا المضيف ( الانسان او الحيوان ) . اما المواد الكيميائية المطهرة فلا تمتلك هذه الصفة . والميزة الثانية للمواد الكيميائية العلاجية هي قابلية على ملامسة الكائن الحي المجهري الطفيلي وذلك بوساطة نفاذها من خلال انسجة وخلايا المضيف دون تقليل تركيزها المؤثر . وكما انها لا تتعارض مع النظام الدفاعي الطبيعي للجسم ( مثل انتاج مضادات الاجسام )

### خواص المضادات الحيائية :

لكي تكون المضادات الحيائية مواد علاجية ناجحة يجب ان تمتلك الخواص الاتية :

- 1- لها مجال واسع في هلاك الاحياء المجهرية وتثبيطها .
- 2- ليس لها مضر جانبية على المضيف ( الانسان او الحيوان ) .

3- لا تؤثر في الحمولة الميكروبية الطبيعية للمضيف .

4- لها القابلية على منع نمو الطفيليات المقاومة الحديثة العمر .

### طبيعة عمل المضادات الحياتية :

لكل مجموعة من المضادات الحياتية تأثير معين ضد الاحياء المجهرية . ولهذا قسمت المضادات الحياتية تبعاً للتأثير الذي تحدثه في الخلايا الاحياء المجهرية . لهذا يكون تأثير المضادات الحياتية ضد الاحياء المجهرية يتمثل في واحد او اكثر من الاتي:

**1- تثبيط تخليق الجدار الخلوي :** يتحدد هذا التثبيط في تثبيط تخليق المادة المهمة للجدار الخلوي وهي مادة الببتيدوكلايكان (Peptidoglycan) التي تشكل المادة الرئيسية في جدار خلية الكائن المجهرى . ومن هذه المضادات الحياتية التي لها هذا التأثير البنسلين (ينتجه فطر penicillium) . الامبسلين (بنسلين صناعي) . وسايكوسيرين وفانكوميسين (تنتجها بكتريا Streptomyces) . وباستراسين (تنتجها بكتريا Bacillus subtilis) واخيرا المضاد الحياتي المسمى سيفالوسبورين (الذي ينتجه اعفان بحرية مشابهة لفطر Penicillium)

**2- تحطيم الغشاء السائتوبلازمي :** يحصل هذا التأثير بواسطة العديد من المضادات الحياتية المتعددة السلاسل مثل البوليماكسين . وكرامسيدين . والتايروسيديين . وهي مضادات تنتجها انواع من بكتريا Bacillus. ينصب تأثيرها هذه المضادات الحيوية على تعطيل خاصية النفاذية الطبيعية للغشاء فالبوليماكسين يكون فعالاً ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام. اما النوعان الاخران فانهما فعالان ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام . وهناك مجموعة اخرى من المضادات الحياتية تسمى بوليمين تنتجها بكتريا streptomyces وتأثيره يكون ضد الاعفان والخمائر وليس ضد البكتريا وذلك من خلال زيادة نفاذية الغشاء الخلوي .

**3- تثبيط تخليق البروتين والاحماض النووية :** وهذا التأثير يحصل بواسطة عدد من المضادات الحياتية التي تنتجها انواع من بكتريا الستربتوتومايسيس . ومن هذه المضادات الحياتية التي تقوم بهذا التأثير الستربتوتومايسين والنتراسايكلين والكلورومفينكول والايروثرمايسين وجميعها لها مدى واسع (Broad spectrum) من التأثيرات ضد الاحياء المجهرية اذ ان تأثيرها الستربتوتومايسين والنتراسايكلين يكون خلال ارتباطهما مع المجموعة الثانوية الصغيرة 30s للرايبوسوم مما يعوق ارتباطها مع المجموعة الثانوية الاخرى 50s للرايبوسوم ومن بعد يتوقف تخليق

البروتين او الحامض النووي . اما الكلور وامينكول والايروثرومايسين فانهما يرتبطان مع المجموعة الثانوية 50s وتحصل النتيجة نفسها .

**4- تثبيط أنظمة انزيمات معينة :** ويحصل تثبيط فعل الانزيمات بواسطة مجموعة مركبات السلفنمايد . واذ ان مركبات السلفنمايد عديدة ولكنها جميعا تشترك في مركب اساسي يسمى (P-aminobenzene sulfonamide) وهذا المركب يشبه الى حد بعيد المركب PABA (P-aminobenzoic acid) الذي تحتاج اليه البكتريا لتخليق مساعد الانزيمات المهم والمسمى (tetrahydrofolic Acid) THFA وللتشابه الكبير بين مركب السلفنمايد الاساسي ومركب ال (PABA) فان مركب السلفنمايد يحل محل مركب (PABA) في عملية تخليق مساعد الانزيم THFA ومن بعد يجب تكوين مساعد الانزيم THFA. علما ان وظيفة الاخيرة تتمثل في المساعدة على تخليق الاحماض الامينية ومركب الثايمين وغيرها . لذا فان النقص في مساعدة الانزيم THFA يؤدي بوضوح الى اختلال في الفعالية الطبيعية لخلية البكتريا ثم الى تثبيطها

### الانزيمات البكتيرية

عند مزج غاز الاوكسجين مع غاز الهيدروجين تتصادم جزيئاتها مع بعضها البعض ومع جدران الوعاء المحيط بهما . بحيث ان لكل جزيئة مستوي معين من الطاقة الحركية ..... وهذه الطاقة غير كافية لتكسير الاواصر بين ذرات O=O وعند رفع درجة الحرارة الوسط تزداد سرعة حركة الجزيئات وبالتالي زيادة قوة التصادم تؤدي الى تكوين ايونات (H<sup>+</sup>) و(OH<sup>-</sup>) ان رفع مستوى الطاقة بهذه الطريقة يطلق عليها بطاقة التنشيط Activation energy , اما في الخلية الحية فقد تستعيز عن رفع درجة الحرارة بالعوامل المحفزة catalysts التي تعرف بانها عوامل يمكنها تقليل كمية طاقة التنشيط التي تحتاجها لاجراء التفاعلات الكيميائية دون ان تشترك فيها هذه العوامل ولا تتغير بعد التفاعل , وفي النظام الحيوي هذه المحفزات هي الانزيمات , وهي اكثر كفاءة من المحفزات العضوية وهي اكثر تخصصا .

لتوضيح عمل الانزيمات يمكن الاستعانة بمثال حالة التحلل المائي :



التحلل المائي لليورات يمكن ان يتم ببط في درجو حرارة 20 م بدون وجود الانزيم المتخصص بذلك . ولكن عند توفر الانزيم في وسط التفاعل فان سرعة التحلل المائي لليوريا تزداد (1000) ترليون مرة عن الحالة الاعتيادية , ان هذا المثال ليس استثناء فقد وجد ان توفر الانزيم المتخصص لمادة التفاعل يؤدي الى زيادة سرعة التفاعل من (1) مليون الى (1000) ترليون مرة مقارنة بالتفاعل الاعتيادي بدون مساعدة الانزيم .

ان دور الانزيمات في تقليل طاقة التنشيط لازالت غير واضحة تماما , بالامكان توضيح دورها بالقدر الممكن هو ان اتحاد الانزيم مع المادة تفاعلة من خلال الاواصر ضعيفة في الموضع الفعال او المحفز من الانزيم , فان ذلك يؤدي ضغطا على الاواصر الكيميائية في جزيئة مادة التفاعل Substrate والتي تتكسر بشكل يجعلها اواصر ضعيفة في المادة الاساس مما يؤدي الى تكسرها تماما واعادة تكوين اواصر جديدة يطلق عليها ناتج التفاعل product وتتخلف جزيئة الانزيم بدون اي تغير فيها .

**يعرف الانزيم :-** بانه عبارة عن مواد عضوية ذات طبيعة بروتينية تكونها الخلية وتعمل كعوامل مساعدة في التفاعلات الحيوية , تزيد من سرعة التفاعل دون تتغير طبيعتها او طبيعة ناتج التفاعل . وهي لا تزيد من قيمة الطاقة المتحررة من هذه التفاعلات .

من خلال عملية تنقية واستخلاص الانزيمات فقد تبين بانها عبارة عن بلورات ذات اشكال ملونة باحجام متعددة ولمعضمها تخصصا واضحا لمادة التفاعل substrate وعند وجود مركبات متشابهة Isomers فان تخصص الانزيم تجاه اي منها يبقى واضحا .

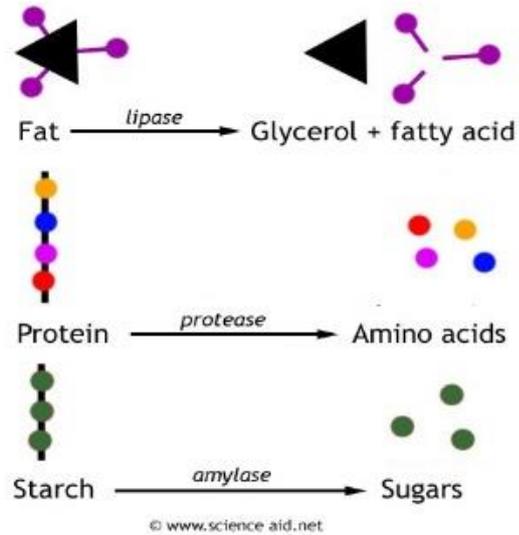
اعتمادا على ظاهرة التخصص في الانزيمات فان كائن المجهري يجب ان يكون قادر على تكوين انواع الانزيمات بقدر عشر او مئات التفاعلات الحيوية التي تجري داخل الخلية والتي تشكل مسار ايصي pathway لان اخفاء احد الانزيمات يؤدي الى توقف المسار الايصي مالم يتم اجراء تفاعل بديل تحويله لغرض استمرارية التفاعل اللاحقة وقد اتفق على ان الكائنات المجهرية القادرة على انتاج كامل الانزيمات الضرورية لفعاليتها الحيوية يطلق عليها ذاتية التغذية Autotrophic اما اذ كانت بحاجة الى مجموعة من الانزيمات الغير قادرة على تكوينها فتلجا الى كائنات حية اخرى تتوفر فيها احياجاتها ويطلق عليها مختلفة التغذية Heterotrophic او بالمتطفلة parasite اما اذ كانت الكائنات المجهرية

غير قادرة سوى على تكوين عدد ضئيل من الانزيمات فتسمى بمجبرة التطفل  
obligate parasite

ان خلايا End cellular enzy التي تشترك بالتفاعلات الحيوية الحاصلة داخل غلاف الخلية , وانزيمات خارج خلوي Ectocellular والتي تكونها الخلية وتفرزها خارج الخلية لتشارك في التحلل المائي Hydrolytic لمكونات الوسط العضوي وتحولها الى مركبات وسطية قابلة للذوبان لتسهيل نفاذيتها الى الخلية والي تكون مصدرها اما التحلل لتحرير الطاقة او المشاركة في عملية بنائية داخل الخلية .

## The main groups of digestive enzymes

- **Lipase** enzymes digest fatty substrates.
- **Protease** enzymes digest protein substrates.
- **Carbohydrase** enzymes digest carbohydrate substrates.

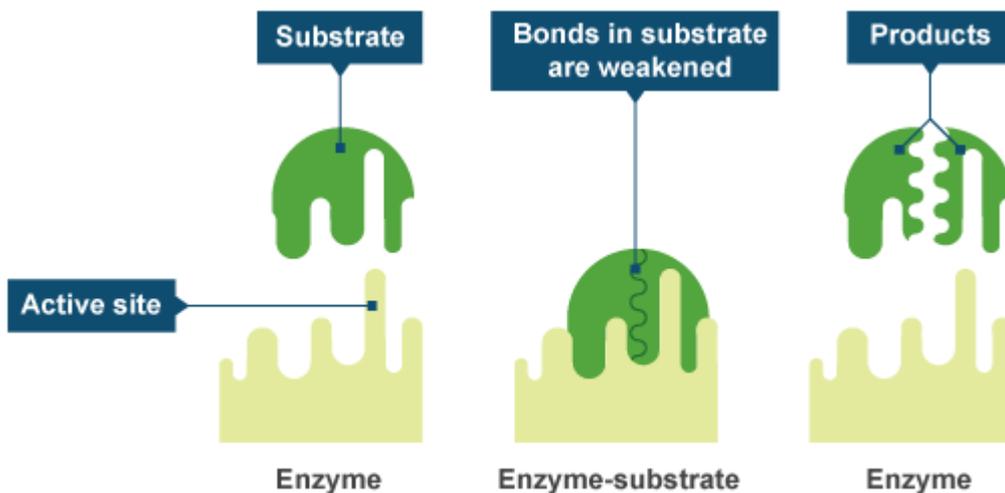
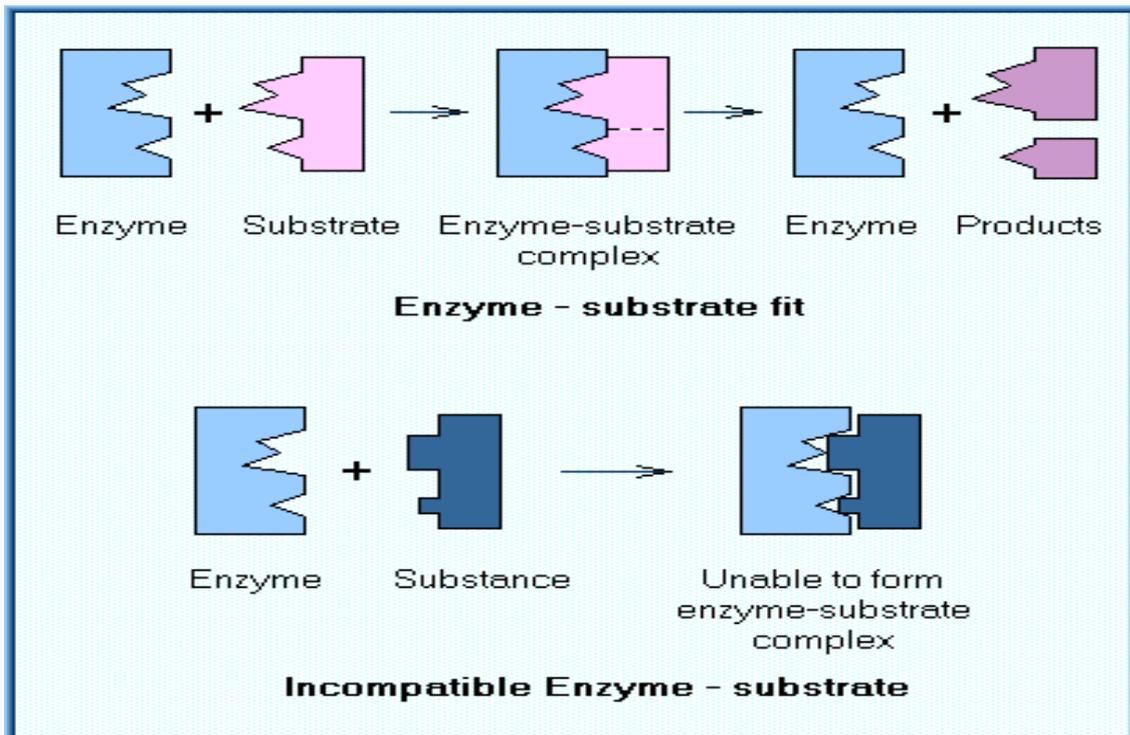


### تركيب الانزيمات :-

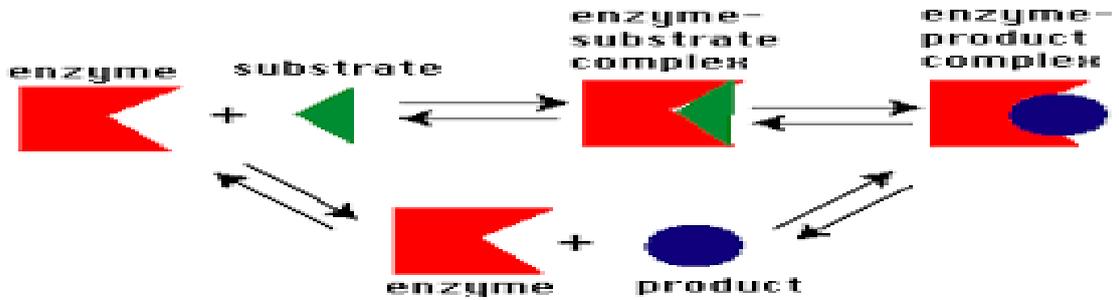
هي مركبات بروتينية , في الاساس متكونة من خواص امينية تتباين في تسلسلها على الجزيئات البولي بيتايد لذلك فان البروتينات والانزيمات لها طرق متشابهة في العزل والتنقية وتأثران بنفس العوامل وكلاهما لهم حياة قصيرة في الخلية حيث تتحلل الى مكوناتها ثم تتكون جزيئات جديدة بديلة عنها.

جزيئة الانزيم لها جزء رئيسي ذو طبيعة بروتينية هو Apo protein وتوجد على سطحها العديد من المجموع الكيميائية للحوامض الامينية ويتصل هذا الجزء ذو

طبيعة غير بروتينية يطلق عليه بالمرافق الانزيمي Co enzyme او المجاميع الاستبدالية Prosthetic group عند اتحاد الجزيئين البروتين وغير البروتينيين لتكوين جزيئة الانزيم الفعالة كيميائيا يطلق عليها Halo enzyme.



معظم المرافقات الانزيمية هي عبارة عن ايونات من مركبات لا عضوية مثل الكلور او غيره وعندها تكون الاواصر في جزيئة الانزيم ضعيفة اما في حالة وجود المجاميع الاستبدالية فيلاحظ وجود اواصر قوية في جزيئة الانزيم .



من اهم ما تقوم به المرافقات الانزيمية هو نقل الايونات داخل الخلية مثل (H<sup>+</sup>) ومجاميع كيميائية اخرى ومن امثلتها :

#### 1- Nicotinamide - Adenine - dinucleotide

NAD or DPN

ينتقل ايونات (H)

#### 2- Nicotinamide - Adenine - dinucleotide - phosphate

NADP or TPN

#### 3-Adenosine triphosphate

ATP

ينتقل مجاميع p لتحرير الطاقة

#### 4-Riboflavin phosphate

RFP Cyto chrome reductase (b) يعمل مع انزيمات H وينقل ايونات

#### 5-Pyridoxal phosphate

B<sub>6</sub> ينتقل مجاميع الامين وNH<sub>2</sub> والكاربوكسيل COO من الحوامض الامينية

#### 6- Coenzyme-A

مهم في عملية تكوين الخلات عند انتاج حامض الستريك لاحتواء على حامض Panthothenic acid الذي يعمل كمرفق انزيمي للانزيمات الناقلة لايون الخلات Acetylase .

### 7-Thiamin (B<sub>1</sub>)

Thiamin pyrophosphate

ناقلة الجذر الكربوكسيلي

### 8- Ions

بعض الانزيمات تحتوي في تركيبها الجزئي احيانا على ايونات لبعض المعادن, او هناك انزيمات تعمل فقط بوجود ايونات لمعادن مختلفة اذ تكون كمرفق انزيمي لها كما في حالة انزيمات phosphatase التي تعمل فقط عند وجود ايونات mg++ في الوسط

تسمية الانزيمات :

معظم اسماء الانزيمات تتضمن الجزء الاول من اسم مادة التفاعل المتخصص لها وتكون نهاية الاسم مرفق بها الحروف ase مثل protease " lipase "dnase وغيرها

طرق اخرى اتبعت في تسمية الانزيمات مثال موقع عمل الانزيم

ectocellular end cellular او لنوع نشاط الانزيم الاختزالي او التاكسدي reductase oxidase الا ان اكثر الانظمة شيوعا هي التي وزعت الانزيمات الى ست فئات على اساس نوع تفاعلها الكيميائي وهي :

### (1)oxido\_ reductases

تفاعلات الاكسدة والاختزال

### (2)trans ferases

hydrogenase, peroxidase, تفاعلات نقل الايونات او المخاميع الكيميائية مثل  
dehydrogenase

(3)hydrolyases

lipase,urease, amylase, phosphatase تفاعلات التحلل المائي للمركبات مثل  
وغيرها

(4)lyases

انزيمات التحلل

(5) Isomerase

تفاعلات التناظر

(6)ligase

تفاعلات الوسط وتكوين الاواصر من خلال كسر جزيئا ATP

العوامل المؤثرة على فعالية الانزيم :

تتأثر فعالية الانزيمات بالعوامل والظروف البيئية المختلفة لذلك عندما تكون درجة الحرارة و pH في حدود المثلى وكذلك تركيز الاملاح فان النشاط الانزيمي للخلية يكون في افضل حالاته وتتباين قدرة الخلايا على تحمل متغيرات هذه الظروف ولكن الى حدود معينة منها ارتفاع درجة حرارة تؤدي الى توقف فعالية الانزيم ثم تلفة protein denaturation وبالتالي موت الخلية .

اما المثبطات فان تأثيرها كبير على فعالية الانزيم فتسبب ايقاف فعاليتها ولكن زوال تأثيرها قد يفسح المجال الى اعادة نشاط الخلية وتستعمل عادة المثبطات للسيطرة على العديد من م.م الغير مرغوب فيها وذلك من خلال احد طرق التثبيط الاتية

(1)تثبيط تنافسي competitive inhibition

عندما لا ينفصل ناتج التفاعل عن جزيئة الانزيم عند الانتهاء التفاعل فيمنع استمرارية التفاعل وقد يكون تثبيط كامل او جزئي .

## 2) تثبيط غير تنافسي non competitive inhibition

عندما يكون تأثير المثبط على سرعة التفاعل من خلال اتحادة مع جزيئة الانزيم +مادة الاساس  $es+I \rightarrow els$

المركب الجديد قد يتحلل ببط او لا يتحلل فيؤدي الى تاخر التفاعل او ربما توقفة

## 3) تثبيط مختلط mixed \_ the inhibition

عندما يرتبط المثبط بالمواد الوسطية المتكونة في التفاعل وليس مع جزيئة الانزيم او مادة الاساس الى بط سرعة التفاعل او ربما وقفة حسب نوع المثبط .

4) تثبيط من خلال ايونات المعادن في جزيئة الانزيم مثل الحديد والنحاس .

وعند تواجد مواد معينة قابلة للاتحاد مة هذه الايونات تؤدي الى وقف نشاط الانزيم وهذه النوع يكون سريع التأثير وايضا قابل للرجوع الى الحالة الطبيعية عند زوال المواد الغريبة مثل الساييد cyanide الازيد azid واول اوكسيد co2 .

5) مثبطات تؤثر على مجاميع الكبريت والموثرة على البروتينات والمركبات الاخرى بطرق مختلفة او متعددة فقد تكون من مشتقات حامض الخليك المهدرجة او قد تكون مركبات عضوية للزئبق او الزرنيخ او قد تكون لعوامل موكسدة تحول مجاميع sh الى مجاميع كبريتية ثنائية .

6) مثبطات من المعادن الثقيلة عندما يتوفر احدها او عدد منها في الوسط مثل الفضة والنحاس والزرنيق او الرصاص بامكانها تعطيل نشاط الانزيم عندما تكون بتراكيز عالية نسبيا حيث تؤدي الى ترسيب البروتينات .

7) مثبطات من المركبات العضوية للفسفور والتي تعتبر متخصصة لبعض الانزيمات وتسبب تلفها

8) مضادات الانزيمات anti\_enzyme والتي تتكون في اجسام الحيوانات عند نقل كم مناسبة من الانزيم اليها حيث تسلك سلوك المستفيد antibodies .

**الضروف المؤثرة على انتاج الانزيمات في خلايا البكتريا**

تتأثر خلايا البكتريا بالمتغيرات البيئية المحيطة بها لذلك فان المحتوى الانزيمي للخلية غير ثابت نسبيا لان بعض الانزيمات موجودة بشكل دائمى (مثل انزيمات الاكسدة والاختزال وانزيمات التنفس) والبعض الاخر موجود بشكل مؤقت حسب حاجة الخلية اعتمادا على مكونات الوسط الزراعي . علما ان هذا التنوع في المحتوى الانزيمي نلاحظه بين خلايا الانواع المختلفة وكذلك في خلايا النوع الواحد عند اختلاف الوسط الزراعي , بعض الانزيمات الدائمة اعتبرت من الخواص المميزة لاعراض التشخيص والتصنيف بشرط توفر ظروف قياسية .

**من اهم العوامل البيئية المؤثرة على تكوين الانزيمات في خلايا البكتريا يمكن ايجازها بالاتي :**

1- التركيب الكيميائي للوسط الزراعي ... حيث ان التنوع في مكونات المصادر الغذائية في الوسط هي التي تحدد انتاج انواع الانزيمات الموقته التطبعية وكمية كل منها .

2- عمر المزرعة البكتيرية ... يلاحظ وجود مجموعتين من الانزيمات بشكل رئيسي ... مجموعة يزداد تراكيز انزيماتها خلال الاطوار الاول والثاني ( انزيمات العمليات البنائية) والتي تتناقص وتتحلل عند تباطي او توقف عملية البناء الخلوي , والمجموعة الثانية فهي ذات تركيز قليلة جدا تبدا بالازدياد عند توقف نمو الخلايا وبداية مرحلة الهلاك خلال الاطوار الثالث والرابع ( انزيمات العمليات الهدمية ) .

**3- العوامل الفيزيائية للوسط .... ويمكن ايجازها بالاتي**

## Factors Affecting Enzymes

Gr C: Explain how 2 factors affect the enzyme activity.

Gr B: Investigate each factor using a practical.

Gr A: Plot a graph to evidence how different factors affect enzymes.

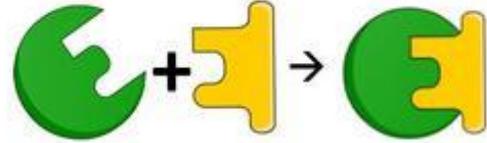
### Starter

Give a definition of what an enzyme is.  
Bonus point for people who give examples of different enzymes, and for people who produce an illustration.

### Key Factors

Temperature  
pH of solution  
Concentration of enzymes

An **enzyme** is a **biological catalyst** made of **proteins**, they are produced in living organisms and are used to speed up chemical reaction by breaking down **substrates**.



**Catalase, Amylase, Pepsin, lipase**

أ- التهوية ... تتأثر الخلية عند تناقص كميات غاز  $CO_2$  والذي تحتاجه بشكل مستمر لاغراض تحرير الطاقة .

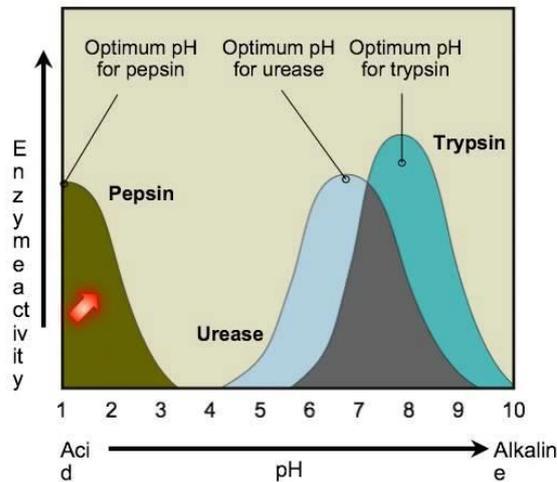
ب- الاس الهيدروجيني ... والذي يؤثر بشكل مباشر على نشاط وحيوية تراكيب الخلية اذ ان الحد الادنى والحد الاقصى يتم خلالها عملية صنع البروتين وتكوين

## Effects of pH on Enzymes

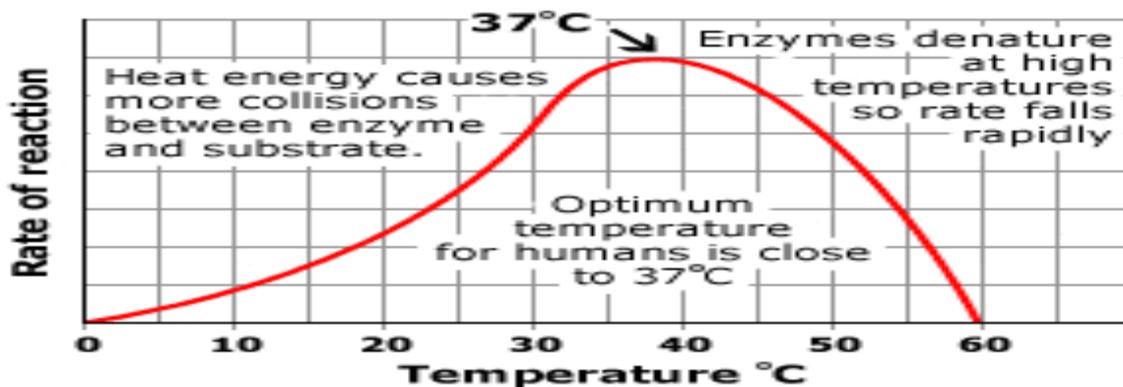
Like all proteins, enzymes are denatured (made non-functional) by extremes of pH (acid/alkaline).

Within these extremes most enzymes are still influenced by pH.

There is a



ج- درجة الحرارة ... تؤثر بشكل مباشر على النشاط الانزيمي في الخلية والعمليات الايضية المختلفة فيها , كذلك ضمن حدود المدى الادنى والاقصى يمكن لنشاط الانزيمات ان يشغل العمليات الايضية المختلفة .



حيث قام الباحثون بقياس معدلات انتاج الانزيمات في الخلية خلال مراحل مختلفة من نموها , وتم اتباع طريقة تعريض الخلية لموجات معينة من اشعة U.V وتحديد قدرة الحوامض الامينية في جزئية البروتين على امتصاص تلك الاشعة .

هذا الاختيار اضهر وجود تباين واضح في قدرة الحوامض الامينية على امتصاص اشعة U.V في مراحل متعددة من نمو الخلية والذي يشير الى تباين تركيز الانزيمات مع تقدم مراحل نمو خلايا البكتريا .

## Factors that Affect Enzyme Activity

