البكتريا : هي احياء أحادية الخلية تمتلك المواد البروتوبلازمية الأساسية اللازمة للنمو والتكاثر . تستهلك المواد الذائبة بالسوائل وتطرح الفضلات الناتجة عن العمليات الأيضية بالانتشار diffusion وتنتشر بصورة واسعة بالطبيعة ولها القابلية على التكيف في مختلف الظروف تتواجد على سطوح الاجسام وفي داخلها وفي الغذاء والماء والهواء الذي نستنشقه.

(توجد بوفرة في الطبقات العليا للتربة وفي كل مناطق الأرض عدا القمم الجبلية الثلجية ، وتوجد أيضا في طبقات الجو العليا stratosphere وفي أعماق المحيطات ocean ويصل عدد البكتريا في gm1 من التربة الى 2.5 billion bacteria

وتعرف لحد الان عدة الاف من الأنواع البكتيرية ، وحوالي مئة نوع تسبب الأمراض للإنسان وبنسبة 1 الى ٣٠٠٠٠ من البكتريا المسببة للأمراض ، قسم من البكتريا تسبب الأمراض للإنسان وأخرى للحيوانات المواطنة والنباتات والبعض الاخر لايصيب أي من الكائنات الحية ولكنه يعيش بصورة تعايشية Commensally وقد تعيش في جسم الانسان ولاتسبب المرض normal flora النبيت الطبيعي.

تسمى البكتيريا المسببة للأمراض بال Pathogenic والبكتريا غير المسببة للامراض non pathogenic وتحت ظروف معينة مثل انخفاض المناعة وضعف الجهاز الدفاعي للجسم حيث تصبح ممرضات انتهازية opportunistic pathogen.

الشكل forms : تعرف للبكتريا ثلاثة اشكال رئيسية :

1- Spherical – coccus

ولكن يوجد اختلاف ضمن الشكل الواحد ، فليس من الضروري أن تكون كروية كاملة الشكل ولكن تكون بيضوية ellipsoidal او متطاولة elongated او مسطحة من احد الوجهين flattened on one side .

2- Rod shaped – Bacillus

العصيات تتراوح بين طويل اسطواني (نحيف – رقيق) slender او قصير short وسميك Plump وعندما تكون العصيات قصيرة وسميكة او عصيات بيضوية مشابهة لل cocci تعرف بال coccobacilli نهاية العصيات تكون عادة دائرية rounded او منبسطة square او مقعرة concave .

3- spirilum

وهي عصيات منحنية تشبه الضمة COMMA كخلايا الكوليرا VIBRIO .

الحجوم والاشكال SIZE

يتراوح قطر المكورات coCCI بين 0.4-2 µ يعني مايكرون .

. اصغر العصيات smallest bacilli بين 0.5 µ طولا – وقطرها 0.2 µ .

ويصل طول اكبر العصيات المرضية largest pathogenic bacilli الى 1 µ قطرا و 3 µ طولا وبمعدل 0.5µ قطرا و2 µ.

عصيات البكتريا غير المرضية non- pathogenic bacilli تكون اكثر طولا وتصل الى 20 µ و 4 µ قطرا.

-. الحلزونيات spirilla تكون عصيات ضيقة تصل طولا من 1-14 µ .

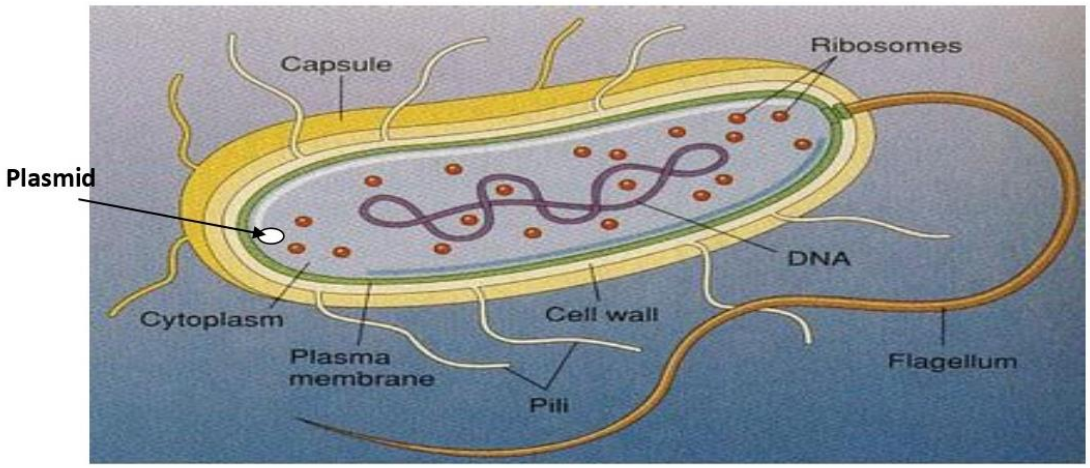
التجمعات cluster : تتكاثر البكتريا عن طريق الانقسام المباشر binary fission وان الخلايا المتولدة ينفصل بعضها عن البعض الآخر بعد أن يتم الانقسام مباشرة الا انه في بعض الأنواع تبقي الخلايا المتولدة بعضها ملتصقا بالبعض الآخر بعد عملية الانقسام بحيث تكون لدينا العديد من التجمعات الخلوية فتتكون سلاسل من الخلايا كانواع البكتريا العصوية التابعة للجنس Bacillus والجنس Lactobacillus وهي تختلف عن الاحياء الخيطية المتعددة الخلايا مثل Beggiatoa التي تشترك فيها الخلايا بعضها مع البعض الاخر بصورة دائمة في جدار خلوي مشترك يغطي جميع الخلايا بحيث لا يمكن فصل هذه الخلايا بعضها عن البعض الآخر دون أن تموت ، في حين أن سلاسل البكتريا يكون فيها الاتصال غير مستقر او ثابت حيث يمكن فصل الخلايا بواسطة الرج مثلا دون أن تموت هذه الخلايا وان كل خلية تمثل كائنا حيا مستقلا بذاته.

في حالة تجمع الخلايا الكروية الشكل وعندما يكون الانقسام بمستوى واحد نحصل على مكورات بكتيرية متسلسلة كما في

streptococci ولايتعدى عدد خلاياها الستة او ينفصل بشكل خلايا مزدوجة مثل Diplococci او تحدث انقسامات متعاقبة في مستويات متعامدة بعضها مع البعض الاخر لتشكل مربعا بأربع خلايا فتسمى مكورات رباعية tetrads او تجمعات غير منتظمة مثل Staphylococci (عنقودية).

التراكيب الخلوية Structure

تضم الخلايا البكتيرية عدد من التراكيب والعصيات يقع قسم منها خارج الخلية والقسم الاخر محاط بغلاف الخلية وقسم من هذه التراكيب تتواجد في أنواع معينة من البكتيريا دون الأنواع الأخرى لذا يعتبر صفة تصنيفية كوجود الاسواط او عدم وجودها او وجود الصبغات .....الخ.



شكل يوضح التراكيب الخلوية

١ – الجدار الخلوي Cell Wall

هو الجدار الذي يحيط بالبكتريا وقد عرفت وظيفته لأول مرة من قبل بحوث Weilball سنة 1953 حيث أجرى بحوثه على بكتريا Mogaterium Bacillus عندما عامل هذه البكتريا بال Lysozyme وتمكن من إزالة الجدار الخلوي ودراسة صفت الخلية البكتيرية الناتجة بعد إزالة الجدار كتحول الشكل العصوي الى كروي ... الخ

وظائف الجدار الخلوى :

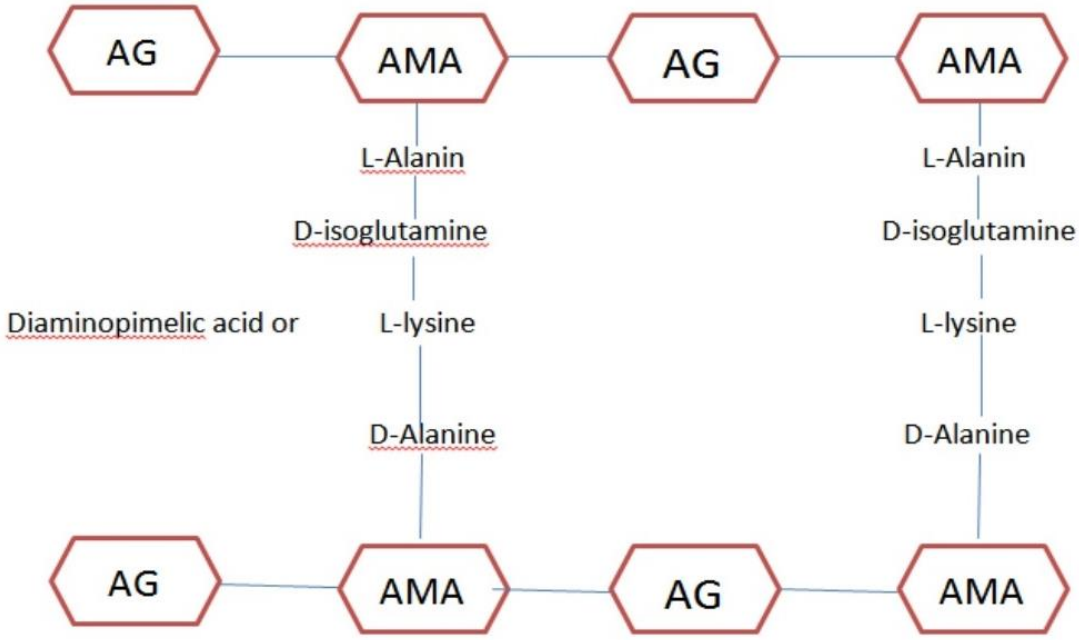
1:– يحدد شكل الخلية البكتيرية ويعطيها الصلابة.

٢. محيطا بالغشاء البلازمي وباقي محتويات الخلية

٣. مقاوما لشدة ضغط البروتوبلاست Protoplast الذي يحتويه وبهذا فهو يمنع تحلل الخلية عند وضعها في بيئة واطنة الشدة (اقل من ٢٠.١٠ %).

يتكون الجدار الخلوي من نوع فريد من مادة عضوية متعددة Organic polymer تدعى الى Murein او Peptidoglycan وهذه المادة عبارة عن مكررات متباينة Heteropolymers وتتكون من عدة أنواع مختلفة من الوحدات الفرعية

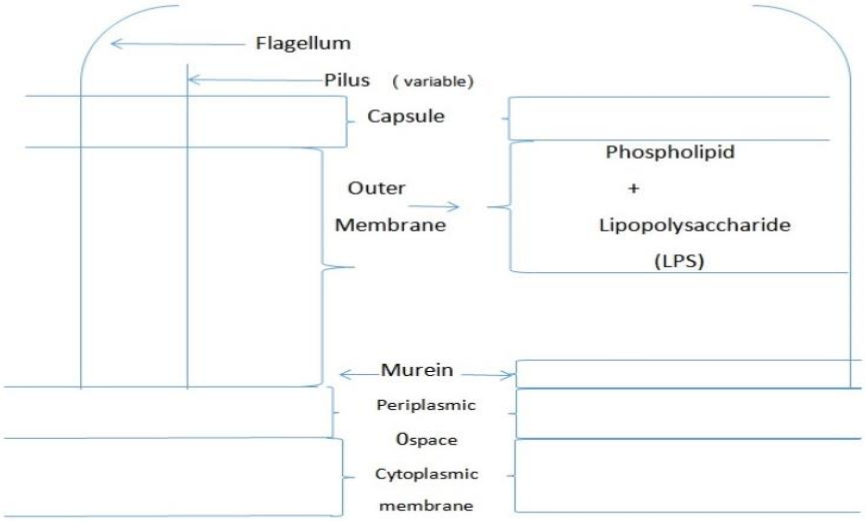
مثل الكاربوهيدرات وبعض الحوامض الأمينية :



وهي خلات الكلوكوز الأمينية (N– acetylglucos amine AG) و (N–acetylmuramic acid AMA) وترتبط باواصر مستعرضة من الحامض الاميني D–isoglutamine, L Alanine و L–Lysine و D–Alanine في كل أنواع البكتريا العمود الفقري (الأساسي) backbone هو Muramic و glucosamine ولكن الروابط الجانبية side chaine والروابط المستعرضة cross–bridg تختلف باختلاف أنواع البكتريا (والتي تمثل الأحماض الأمينية الأربعة المذكورة سابقا) . مادة البيبتيدوكلايكان مجسمة أي ثلاثية الأبعاد ومن هنا تاتي قوتها ، وهي بذلك لا تعترض دخول الماء والمواد الغذائية مثل المعادن والكلوكوز والحوامض الأمينية حتى المواد العضوية الأخرى ذات الجزيئات الكبيرة نسبيا ، هذا وان المواد التالفة تخرج من خلال هذا الممر . بالإضافة إلى أن صلابة تركيب Peptidoglycan تاتي من الأواصر المستعرضة التي تربط الPolymer وتكون اكثر عدد في جدران الخلايا الموجبة لصبغة كرام اكثر مما هي عليه في البكتريا السالبة لصبغة كرام .بالإضافة الى مادة Peptid فهنالك مواد معقدة أخرى تشكل معها مجمل هيكل هذه الجدران ففي البكتريا السالبة لصبغة كرام

يكون الجدار رقيقا جدا يبلغ سمكه (15–10 nm) وهو يشكل (١٠–٢٠%) من وزن الخلية الجاف ويتكون من 5–15 % من peptidoglycan .35% من الدهون الفوسفاتية Lipopolysaccharides .اما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فيكون جدارها اكثر سمكا مما هو عليه في البكتريا,15% من protein و 50% من Lipopolysacchrides . اما البكتيريا الموجبة لصبغة كرام فيكون جدارها اكثر سمكا مما هو عليه في البكتيريا السالبة لصبغة كرام حيث يبلغ سمكه 25–35 nm ويشكل 20–40 % من وزن الخلية الجاف ويحتوي على 20–8–% من مادة Peptidoglycan إضافة الى مواد أخرى مثل مثل البروتينات والسكريات المتعددة وحامض Teichoic acid.

مخطط يوضح الفرق بين تركيب الجدار والاغلفة الملحقة للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام :-



G^{-ve} CW

١-يتكون من عدد من الطبقات Multilayered

٢-طبقة رقيقة من Peptidoglycan

٣- ١-٢ sheets

G^{+ve} CW

١- يتكون من ٢-٣ طبقات فقط

٢- طبقة سميكة من Peptidoglycan

٣- تصل طبقاته الى ٤٠ sheets

التصبيغ

يعتمد أساس عملية التصبيغ على اختلاف الشحنات بين جسم الخلية والصبغة ، خلية البكتريا غنية بالحامض النووي وتحمل الشحنة السالبة في مجموعة Phosphate group وهذا يساعد على الارتباط بالصبغات ذات الشحنة الموجبة (والمعروفة بالصبغات القاعدية).

والأصباغ عموما عبارة عن املاح يكون أحد ايوناتها ملونا والملح عبارة عن مركب كيمياوي يكون أحد ايوناته موجبا والأخر سالبا مثل ملح كلوريد المثيل الأزرق .

مصمم صبغة الكرام هو عالم النسيج Histologist Christian Gram حيث حاول تصبيغ الانسجة المصابة ويتم التصبيغ باستعمال Crystal violet و iodine ثم تغسل بمادة Acetone او الكحول فيتم قصر البكتريا السالبة لصبغة كرام –G وعدم قصر البكتريا الموجبة لصبغة كرام +G لقدرتها على الاحتفاظ بالمعقد Crystal violet– iodine complex وتبقى بعد القصر بلون Purple ارجواني وتصيغ البكتريا السالبة باللون الأحمر

الهدف من صبغة غرام هو : ١. معرفة تفاعل البكتريا مع الصبغة . ٢. معرفة شكل الخلايا البكتيرية .

٣, معرفة ترتيب هذه الخلايا مع بعضها البعض .

بعض المكونات الخاصة ب –G بكتريا :

يحتوي جدار الخلية لل –G على ثلاث مكونات تقع خارج طبقة Peptidologycan وهي Outer membrane lipopolysaccharide

1:–Lipoprotein يتالف من ٥٧ حامض اميني على شكل مكرر ل 15 حامض اميني يرتبط باصرة ابتدائية للحامض الأميني Diaminopimelie الموجود في السلاسل الرباعية الجانبية لمادة الى Peptidologycan والدهن diglyceride thioether يرتبط ب cysteine اما وظيفة البروتينات الدهنية فهي موازنة الغشاء الخارجي وتثبيته مع طبقات Peptidoglycan .

2:–Outer membrane : وهي طبقة ثنائية من دهون فوسفاتية يتكون من أرضية سائلة تحتوي على بروتينات خاصة موجودة

في مادة بينية مكونه من دهون فوسفاتية . يعمل هذا الغشاء على منع تسرب البروتينات الموجودة في Periplasmic space ويحمي البكتريا المعوية من الأملاح والانزيمات المحللة الموجودة في بيئة المضيف.

تختلف نفائية الغشاء الخارجي من نوع لاخر ففي البكتريا Pseudomonas aeruginosa تكون نفائية هذا الغلاف اقل من ١٠٠٠ مرة من نفائية غلاف بكتريا E.coli ولهذا تكون البكتريا الأولى شديدة المقاومة للمضادات البكتيرية antibacterial agents يحتوي الغشاء الخارجي على مجموعة من البروتينات تسمى البروتينات الثانوية Minor protein لها علاقة بنقل الجزيئات الصغيرة مثل فيتامينB12, phospholipase, , penicillin binding protein proteases

٣-Lipopolysaccharid : تتكون من دهن معقد يسمى Lipid A يرتبط با سكريات متعددة يتكون Lipid A من سكريات ثانوية مكونة من كلوكوز امين مفسفر Phospho glucose amine مرتبطة مع الأحماض الشحمية ذات السلاسل الطويلة . تكون السكريات المتعددة ثابتة للانواع البكتيرية وتتغاير بقية الأحماض الشحمية .

فائدتها :

1. تعمل هذه الطبقة الدهنية على موازنة العشاء وتكون حاجزا يمنع دخول بعض الجينات المحبة للماء Hydrophilic molecules

٢. تكون هذه الطبقة سامة جدا للحيوانات تدعى endotoxin (الذيفان الداخلي) لانها توجد ضمن جسم خلية البكتريا وعندما تتحلل هذه الدهون الى Lipid A والسكريات المتعددة تكون جميع سمينها عائدة الى الجزء الأول في حين تمثل السكريات المتعددة المستضدات السطحية الرئيسية المسماة Antigen o ويكون عدد المستضدات هذه كثيرا فهناك اكثر من ١٠٠٠ نوع من المستضدات في بكتريا الله Salmonella لوحدها

٢ - الغشاء السايتوبلازمى Cytoplasmic membrane:

يتالف الغشاء السايتوبلازمي من شحوم فوسفاتية Phospholipids وبروتينات Proteins .

ويقع تحت الجدار الخلوي مباشرة ، يمثل الجزء البروتيني الطرف المحب للماء hydrophilic والشحوم الفوسفاتية تمثل الجزء غير المحب للماء hydrophobic وهي طبقة شبه سائلة semifluid تتحرك بين طبقتي بروتين دون أن تتزلق .الغشاء السايتوبلازمي ، تركيب يمكن عزله عن بقية التراكيب الخلوية فعند إزالة الجدار الخلوي عن طريق استخدام lysozyme. ثم انفجار ال Protoplast وعند وضعه في محلول واطىء الشد تندلع محتويات الغشاء البلازمي او مادة السايتوبلازم للخارج ويبقى الغشاء السايتوبلازمي على شكل كيس رقيق حيث ينظف بغسله بالماء ومن ثم طرده مركزيا

وظيفة الغشاء البلازمى :

1:- موقع مهم للانزيمات التنفسيةrespiratory enzyme system) التي تتواجد في(cytochrome enzyme) الخلايا حقيقة النواة ضمن عضيات المايتوكندريا mitochondria .

٢- ينظم مرور المواد الغذائية والمنتجات الأيضية بين الخلية والمحيط الخارجي .

٣- يعمل حاجزا تنافذيا osmotic barrier يعمل على مرور جزيئات معينة دون غيرها ، حيث لا يسمح بمرور المواد ذات حجم جزيئي يزيد على حجم الكليسيرين ، وبهذا فهو يسمح بتكوين ضغط تنافذي داخل الخلية ويحافظ عليه.

4- السماح بمرور الجزيئات الأيضية الكبيرة ضمن أنظمة النقل النشيط Active transport system وتدعى أيضا بانزيمات النضوح او Permeases حيث يتخصص كل نظام من هذه الأنظمة لمادة معينة او مجموعة مواد تتقارب بتركيبها الكيمياوي .

5:- يحمل المستقبلات receptors وبروتينات متخصصة تعمل كمحفزات مناعية .

6. يقوم بتكوين انزيمات خارجية extracellular enzyme .

البة انتقال المواد عبر الغشاء السايتوبلازمى :

1. النقل السلبي Passive transport : وهو نقل المواد من خارج الخلية الى داخلها بصورة بطيئة وبمساعدة Specific protein system والقوة المحركة للجزيئات المارة خلال الغشاء هي الفرق بين تركيز الجزينات او المادة على جانبي الغشاء البلازمي ، ويتم انتقال الماء وبعض المواد القابلة للذوبان في الدهون مثل الكليسيرول glycerol

٢ –النقل الفعال: active transport

تحتاج عملية النقل هذه الى طاقة ناتجة عن الأفعال الحيوية للبكتريا metabolic energy بالإضافة الى الوسيط البروتيني carrir proteinوبمعنى اخر تنتقل المواد الغذائية بغض النظر عن تركيزها ولكن يتم النقل بواسطة الطاقة. مثال على ذلك : انتقال السكريات سداسية الكاربون Hexoses عبر الغشاء السايتوبلازمي وتجهز الطاقة لهذا النقل عبر اصرة الفوسفات الغنية بالطاقة والموجودة ضمن جزيئة الى(Phosphoenol pyruvate) وبوجود البروتين الحامل للطاقة carrier protein وانزيم يحفز التفاعل ، ثم يقوم هذا البروتين الحامل للطاقة بفسفرة السكر السداسي الموجود خارج الغشاء السايتوبلازمي من خلال تفاعل اخر تنتقل فيه الفوسفات الى السكر بتوسط انزيم معين:

3: –الفراغ السايتوبلازمي: Periplasmic space

من خلال تقنية المجهر الإلكتروني تشير الى ان هنالك فراغا ضنية يتوسط الجدار الخلوي والغشاء السايتوبلازمي يتوسط هذا الفراغ عدد من الانزيمات المحللة حيث يتم تبسيط الجزيئات المعقدة التي تدخل الخلية عبر الجدار الخلوي وتحولها الى سكريات وحوامض امينية ، ثم يتم تحميل هذه المواد المبسطة الى داخل الخلية بتوسط الأنظمة النشيطة.

يحتوي الفراغ السايتوبلازمي على–:

أ. بروتينات ربط متخصصةBinding protein for specific substrate تعمل على نقل المواد التالية amino acid, ions, vitamins, sugars :

ب الانزيمات المحللة

مثال :B Lactamase, alkaline phosphatase ....,...الخ .

4:– البروتوبلاست Protoplast

يوجد الجدار الخلوي في الأحياء بدائية النواة وبعض الخلايا الحقيقة النواة مثل الخمائر والاعفان وبعض النباتات يمكن إزالة جدران هذه الخلايا دون أن تفقد حيويتها اذا ماحفظت في ضغط تنافذي مناسب ، فالخلية في هذه الحالة تدعى ال Protoplastوهي عبارة عن جسم مكور دائما مهما كان شكل الخلية المشتق منها وذلك بسبب غياب الجدار الخلوي ، ويبقى البروتوبلاست كما هو لبضعة ساعات في محلول ذات ضغط تنافذي عالي نسيا مثل كلوريد الصوديوم 5% او سكر الكلوكوز ٢٠% او مصل الدم ٢٠% لكي يعادل الضغط التنافذي الذي يسلط على الغشاء السايتوبلازمي من داخل السايتوبلازم يتميز هذا الشكل بكونه غير متحرك و غير قادر على الانقسام ولا على تكوين جدار خلوي و غير معرض للإصابة بالعاثيات

يتم الحصول على البروتوبلاست عن طريق تنمية الخلية في وسط غذائي يحتوي على البنسلين Penicillin او معاملتها بمادة Lysozyme .

مادة الLysozyme: انزيم موجود في زلال البيض وافرازات البشرة والأغشية المخاطية والسائل الدمعي . يهاجم الLysozyme الأواصر الكلايكوسيدية التي تربط السكريات المتعددة ضمن تركيب Peptidoglycan تتاثر البكتريا +G اكثر من البكتريا –G لاحتواء الأخير على طبقة رقيقة من ال peptidoglycan بالإضافة الى وجود طبقات جدارية أخرى مثل outer membrane ومواد دهنية معقدة (عمليا يتم إزالة الى outer membrane بمادة هيدروكسيد الصوديوم NaOH المذيبة للدهون ثم تعامل بالانزيم المحلل) . عند إزالة الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة لصبغة كرام تسمى الحالة protoplast أما إزالة طبقة ال peptidoglycan في البكتريا السالبة لصبغة كرام تسمى spheroplast مع بقاء الأغلفة الخارجية الأخرى (outer membrane) ويمكن أن تحدث هذه الظاهرة بصورة ذاتية نتيجة تأثير المضادات الحيوية وتبقى محافظة على الخلية وتتكاثر دون أن تتاثر بفعل المضاد الحيوي مرة ثانية .

المصادر :-

كتاب علم الاحياء المجهرية البيطرية, الدكتور فاروق خالد حسن والدكتور خليفة احمد خليفة والدكتور حامد حسن طنطاوي والدكتور جاسم محمد العبد الله 1982 ,جامعة بغداد

كتاب مبادئ الاحياء المجهرية ,الدكتور غازي موسى الخطيب والدكتور وهاب امين حسن 1990 ,جامعة بغداد

كتاب علم الاحياء المجهرية البيطرية,الدكتور جاسب جاسم حداد 1991 ,جامعة الموصل