الفيزيولوجيا الجرثومية

علم الوراثة الجرثومية

يتضمن نمو الجراثيم زيادة في حجم الخلايا وعددها ويمكن رؤية النمو في المخبر بأحد الطرق التالية:

- تكوين المستعمرات: وهي ناتج عياني لـ 20-30 انقسام خلوي لجرثوم واحد على منبت صلب.

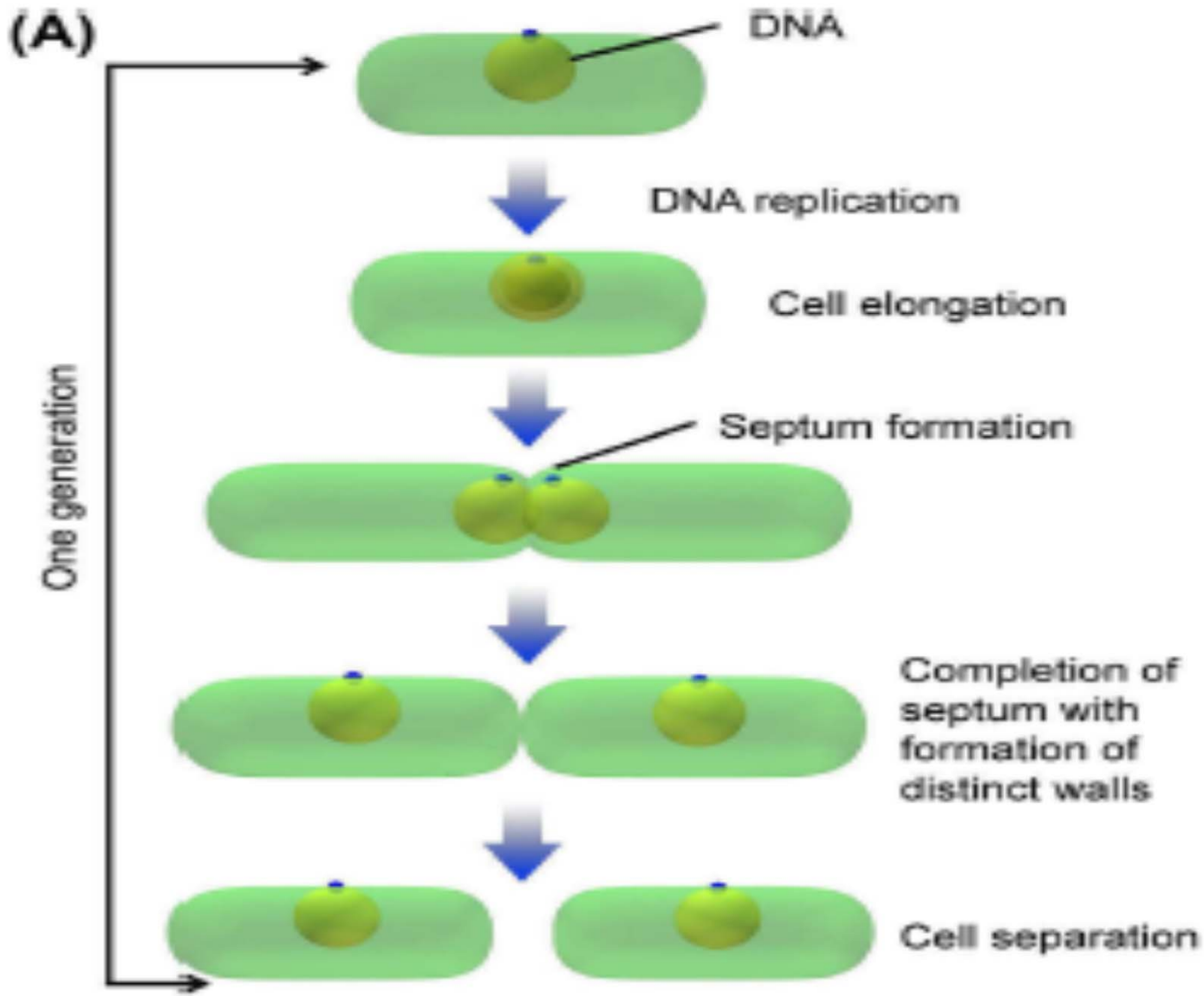
- تحول المنبت السائل الرائق إلى معلق عكر.

توالد الجراثيم: Bacerial Reproduction

تتوالد الجراثيم بطريقة لا جنسية تدعى الانشطار الثنائي Binary Fission أي تنشطر الخلية إلى خليتين ابنتين متساويتين ومن ثم 4, 8 , 16 , 32.....وهكذا, وتكون الخلايا الأبنة متساوية ومتماثلة وراثياً مع الخلية المنقسمة (الأم).

يمر الانقسام بالخطوات التالية:

- ازدياد حجم الجرثوم ويكون عادة بالتطاول.
- تبدأ عملية تضاعف الصبغي Replication .
- يرتكز الصبغيان الناتجان إلى الى الجسيم المتوسط ثم ينفصلان.
- تنقسم الهيولى إلى قسمين متساويين بتكون حاجز معترض من الغشاء الهيولي و الجدار الخلوي.
- حسب النوع الجرثومي إما تنفصل الخليتين بشكل كامل أو تبقى متصلة بشكل مؤقت (الانتظام الجرثومي) .


(A)
DNA
DNA replication
Cell elongation
Septum formation
Completion of septum with formation of distinct walls
Cell separation
One generation

زمن التضاعف (زمن الجيل): Doubling Time

هو الزمن الفاصل بين انقسامين متتاليين, فيمكن أن يكون قصيراً (20 دقيقة) عند الاشريكية القولونية أو طويلاً (24 ساعة) عند المتفطرة السلية أو أطول من ذلك عند المتفطرة الجذامية.

متطلبات النمو الجرثومي:

الاستقلاب Metabolism هو التفاعلات الكيميائية المنظمة ضمن الخلية بهدف انتاج الطاقة عن طريق تكسير وتجزيئ المركبات العضوية وللاعضوية (التقويض) Catabolism أو استعمال الطاقة واستهلاكها في بناء المركبات العضوية (الابتناء) Anabolism

ماهي متطلبات النمو والانقسام الجرثومي؟

1- **مصدر الطاقة:** تلزم الطاقة للفعاليات الاستقلابية كي تبقى الجراثيم حية وقادرة على التكاثر, لذلك لا بد من ـامين وسط غذائي وشوط فيزيائية وكيميائية مناسبة لتأمين الطاقة. ويعتبر الغلوكوز المصدر الرئيس للطاقة لأكثر الجراثيم الطبية.

2- **مصدر للتغذية** :تحتاج الجراثيم مثل جميع الخلايا الأخرى للمغذيات لتقوم بعمليات النمو والانقسام حيث يشكل الكربون والآزوت والهيدروجين والأوكسيجين وبعض العناصر (كبريت, فوسفور, شوارد, فيتامينات) متطلبات غذائية أساسية للجراثيم.

الجراثيم الممرضة تكون عادة غيرية التغذية Heterotrophs لأنها تحتاج إلى مواد عضوية معقدة مسبقة الصنع مثل السكاكر والبروتينات والفيتامينات والماء...

الجراثيم الرمامة فهي ذاتية التغذية Autotrophsكونها قادرة على استخدام غاز ثاني أوكسيد الكربون للحصول على الكربون

3- الاحتياجات الغازية للجراثيم: aerobic and anaerobic growth

تصنف الجراثيم وفقاً لاحتياجاتها للأوكسجين إلى أربع مجموعات:

- جراثيم هوائية مجبرة Obligate aerobes:

لا تنمو إلا بوجود الأوكسجين لأن جهاز انتاج الطاقة لديها يعتمد على الأوكسجين (المتفطرة الدرنية)

- جراثيم لاهوائية مخيرة Facultative anaerobes:

لها القدرة على النمو بوجود أو غياب الأوكسجين. تستعمل الأوكسجين حال وجوده لانتاج الطاقة بالتنفس الهوائي, وعند غيابه تستعمل التنفس اللاهوائي لانتاج الطاقة بعملية تدعى التخمر (الاشريكية القولونية، العقدية ميلليري والعقدية الطافرة)

- جراثيم لا هوائية مجبرة Obligate anaerobes:

لا تستطيع النمو بوجود الأوكسجين (المطثية الكزازية) لغياب الأنزيمات السابقة.

- جراثيم أليفة الهواء القليل Microaerophilic bacteria:

تتحمل وجود كمية قليلة من الأوكسجين الجوي مثل العطيفة الصائمية.

4- الحرارة المناسبة لنمو الجراثيم:

تقسم الجراثيم حسب درجة الحرارة الملائمة لنموها إلى:

أ- جراثيم أليفة البرودة (القرية) تنمو بدرجة حرارة البراد (بعض الأمعائيات و الفطور) وهي مسؤولة عن فساد الأغذية.

ب- جراثيم أليفة الاعتدال، الحرارة 37م° هي المثلى للنمو ويشمل معظم الجراثيم الممرضة للإنسان.

ج- جراثيم أليفة الحر، حرارة النمو المثلى 55م° ومعظمها غير ممرض تتلف معظم الجراثيم بدرجة حرارة أعلى من 80 م° , لذلك تعتبر الحرارة المرتفعة من أهم طرق التعقيم والتطهير.

5- درجة الحموضة (الباهاء) pH:

درجة الباهاء المثلى لنمو أغلب الجراثيم الممرضة تقع بين (7,2-7,4).

بعض أنواع الجراثيم مثل الملبنات تكيفت على النمو في درجة باهاء حامضية (pH=5), وجراثيم أخرى مثل ضمات الهيضة تكيفت على النمو في درجة باهاء قلوية(PH=8).

6- الرطوبة:

توافر الماء ضروري للجراثيم, وتختلف درجة الحساسية بحسب النوع الجرثومي:

- النيسيرية البنية تموت فور التعرض للجفاف.
- المتفطرات والعنقوديات تعيش وقت طويل نسبياً في الوسط الجاف.

7- الضغط الحلولي:

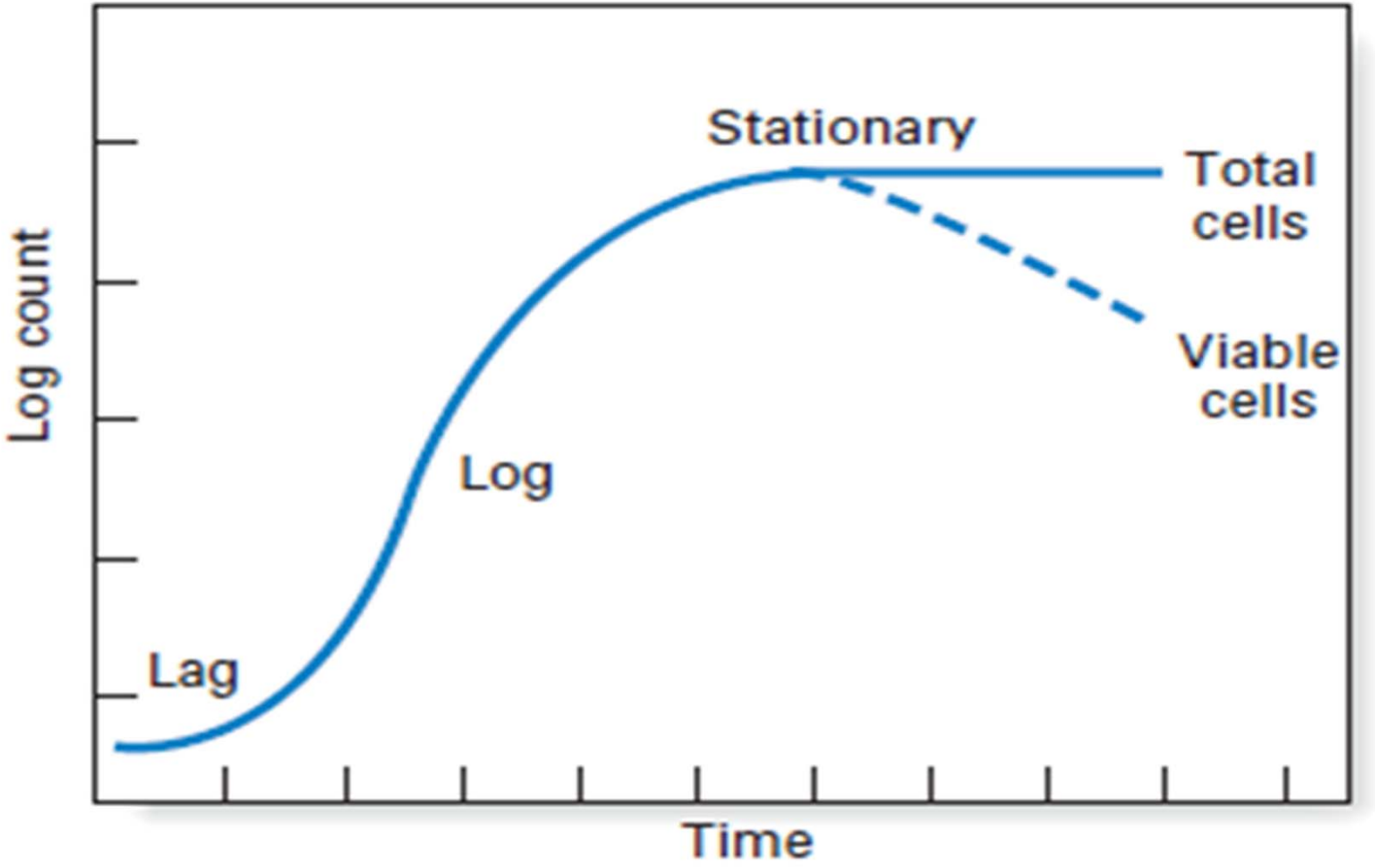
تفضل الجراثيم الضغط الحلولي المعتدل وإن إضافة 0.5% من كلوريد الصوديوم لوسط الزرع الجرثومي تجعله أسوي التوتر Isotonic (في حفظ الأطعمة من الفساد الجرثومي يضاف نسب عالية من السكر أو ملح الطعام).

8- الضوء:

تفضل الجراثيم الظلام , والتعرض المباشر للضوء يقصر حياتها لأنها حساسة للأشعة فوق البنفسجية وأنواع الأشعة الأخرى.

منحنى النمو الجرثومي Bacterial growth curve

عند زرع عدد قليل ومعلوم من نوع جرثومي في وسط سائل مغذ وحضنها بدرجة حرارة مثلى لفترة زمنية, فإذا أجرينا عد للجراثيم بفواصل زمنية, يمكن تمييز 4 أطوار رئيسة للنمو



1- طور التلكؤ :Lag phase

* لا ينقسم الجرثوم إنما يدخل في مرحلة التكيف والتلاؤم مع الوسط الجديد وفيه يزداد حجم الخلية ومعدل استقلابها وتكوين الأنزيمات الضرورية من أجل التكاثر..

* يستمر من عدة دقائق إلى عدة ساعات حسب نوع الجرثوم وحجم العينة وظروف الوسط.

2- الطور اللوغاريتمي :Log phase

* يحدث الانقسام بنظام ثابت وسريع (بطريقة لوغاريتمية أو أسية)
* تتحدد سرعة الانقسام بالظروف البيئية المتوفرة
* يزداد عدد الجراثيم ويقل حجمها وتصبح في أوج نشاطها الاستقلابي

3- طور الاستقرار-الثبات :Stationary phase

يتم مع مرور الوقت نفاذ المغذيات واستهلاكها, وتتراكم نواتج الاستقلاب السامة ويستهلك الأوكسجين ويتغير pH الوسط ويقل عدد الانقسامات ويصبح عدد الجراثيم الناتجة عن الانقسام مساوية لعدد الجراثيم التي تنحل وتموت.

4- طور الانحلال أو الموت -التناقص:Decline or death

مع استمرار نفاذ المغذيات وتراكم السموم وانطلاق الأنزيمات الحالة وخسارة مصدر الطاقة يصبح معدل موت الجراثيم أكبر من معدل الانقسام فيبدأ عدد الجراثيم الحية بالتناقص بشكل ثابت.

الوراثة الجرثومية
Baterial Genetics

إن تحديد هوية الجراثيم وتصنيفها والفيزيولوجيا المرضية للعدوى وعلاقتها بالفوعة وآلية مقاومة الجراثيم للصادات ووبائيات الامراض المعدية أصبحت بحاجة إلى تقنيات الوراثة الجرثومية.

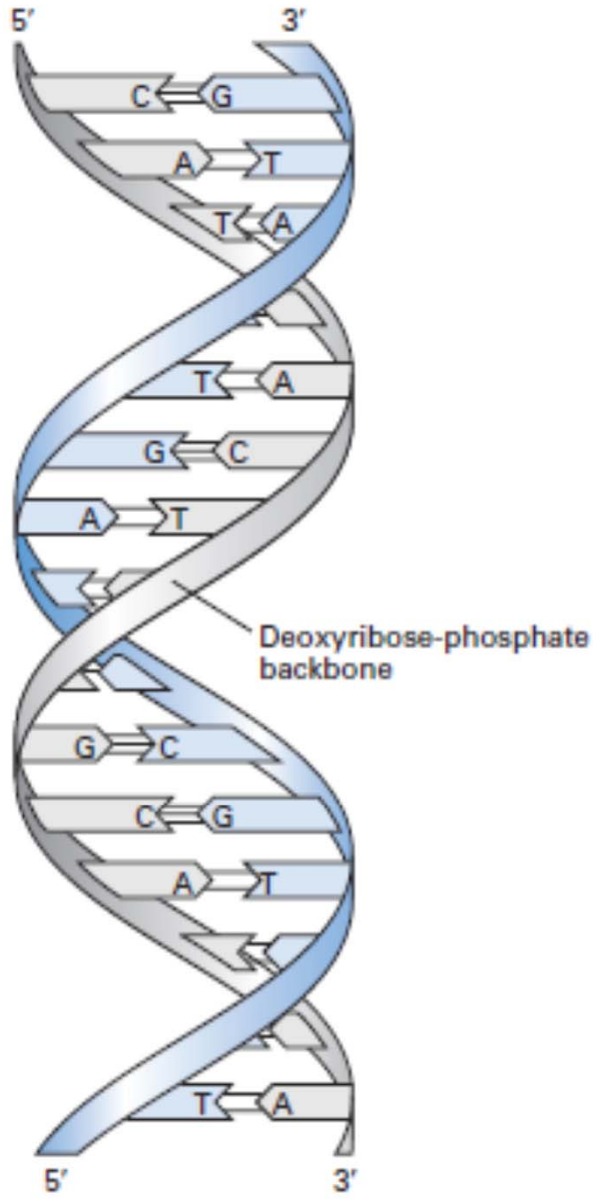
تعاريف هامة:

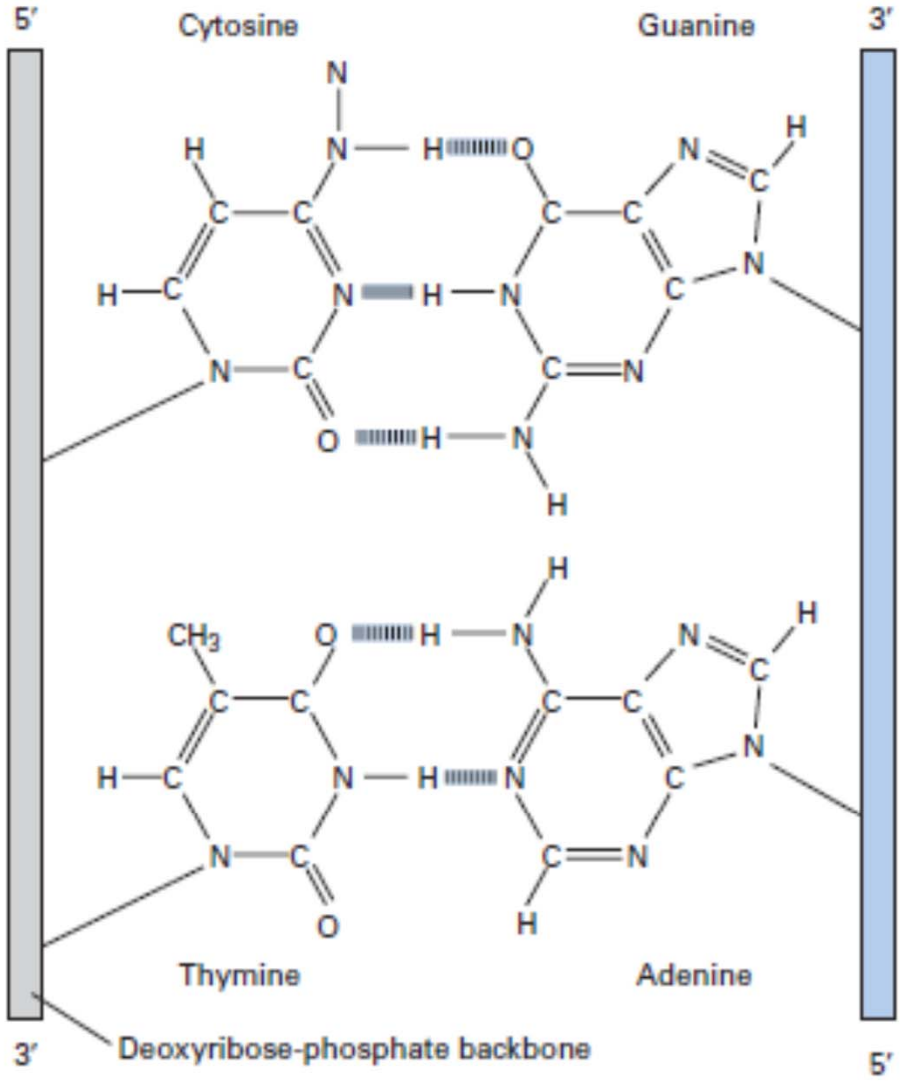
الجينات:Genesهي وحدة الوراثة وهي قطع من الدنا تحمل المعلومات الوراثية للصفات الوظيفية أو البنيوية النوعية.

المجين:Genom هو مجموع جينات الكائن الحي وهي تتوضع عند الجراثيم على كل من الصبغي والبلازميدات والينقولات والعاثيات.

النمط الظاهري :Phenotype هو الصفات الظاهرة للجراثيم وتنتج من النمط الوراثي مع مساعدة البيئة.

النمط الوراثي:Genotype هو التركيب الوراثي للجراثيم.





G, C, T, A = Bases

= Hydrogen bonds

الاختلاف أو التغايير الجرثومي Bacterial Variation

وهو تبدلات في صفات الخلية الجرثومية وله نمطان

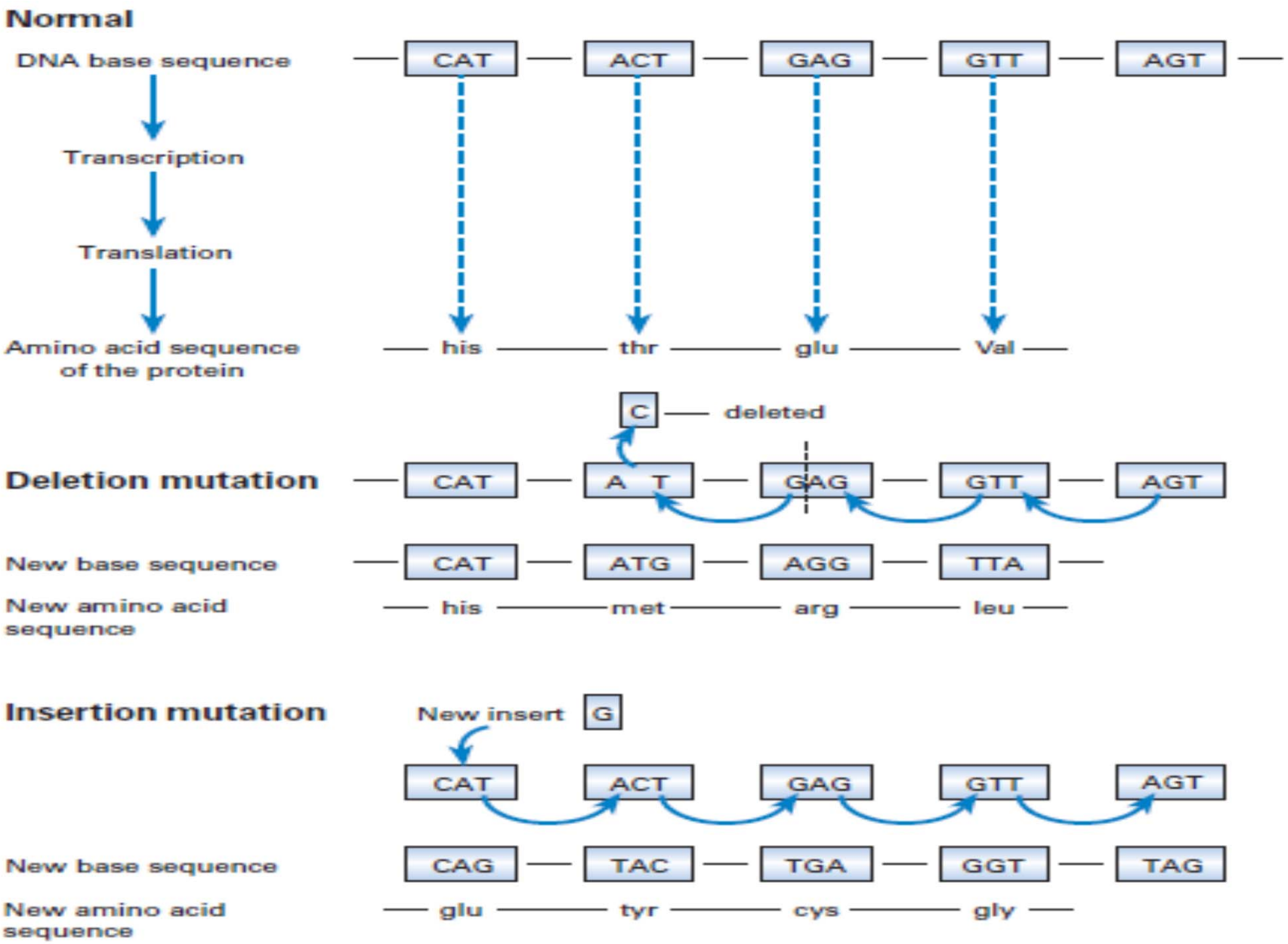
- الاختلاف الظاهري ويكون نتيجة تأثيرات البيئة دون أي تغير في المورثات وهي تبدلات عكوسة ولا تورث(تكيف أو ملائمة).
- الاختلاف الوراثي: تبدلات وراثية غير عكوسة سببها تغير في جينات الخلية الجرثومية.
- تحدث التغيرات الوراثية عند الجراثيم نتيجة أمرين هما:

1- الطفرات Mutation

2-انتقال المورثات Gene transfer

أولاً: الطفرات:

- هي تغير يحدث في تسلسل الأسس الآزوتية لجين معين ينجم عنه دخول أحماض أمينية مغايرة في تركيب البروتين مما يؤدي إلى حدوث تغيرات ظاهرية (تبدل يصيب المورث يؤدي بدوره إلى تبدل في نوعية البروتينات وبالتالي الإنزيمات المصنعة).
- تنشأ الطفرات نتيجة إما استبدال للأساس الآزوتي أو إضافة أو شطب زوج من الأسس الآزوتية أو أكثر أو نتيجة اقحام قطعة من الدنا (الترانسبوسون) في الدنا الجرثومي.
- تحدث الطفرات بشكل تلقائي أو نتيجة تأثير المواد الكيميائية أو الإشعاعات أو الفيروسات.
-هذا التغير يورث للخلايا الجديدة وهو غير عكوس وهي نادرة وتلقائية ونوعية وثابتة.


Normal
DNA base sequence
CAT
ACT
GAG
GTT
AGT
Transcription
Translation
Amino acid sequence of the protein
his
thr
glu
Val
C
deleted
Deletion mutation
CAT
A T
GAG
GTT
AGT
New base sequence
CAT
ATG
AGG
TTA
New amino acid sequence
his
met
arg
leu
Insertion mutation
New insert
G
CAT
ACT
GAG
GTT
AGT
New base sequence
CAG
TAC
TGA
GGT
TAG
New amino acid sequence
glu
tyr
cys
gly

ثانياً : نقل الجينات:

تنتقل الجينات من خلية جرثومية لأخرى مما يؤدي لاختلاف جرثومي وراثي ينتقل للأنسال عند الانقسام.

ويحدث ذلك بثلاث طرق:

1-الاقتران Conjugation

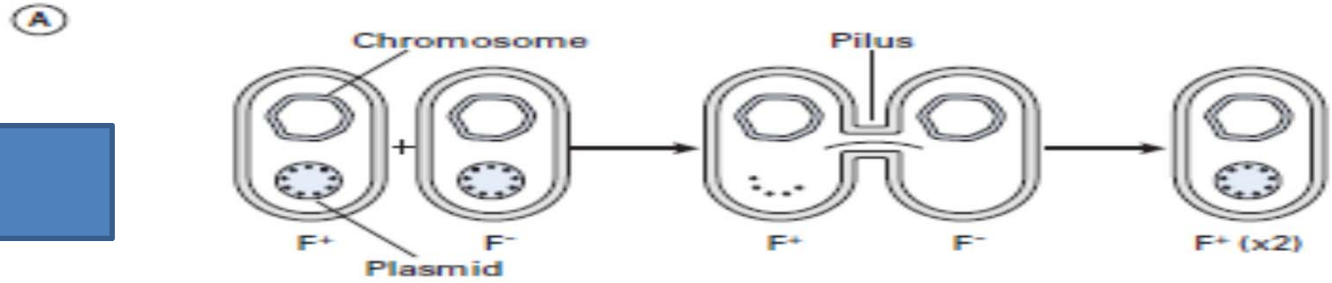
2-التنبيغ Transduction

3-التحول Transformation

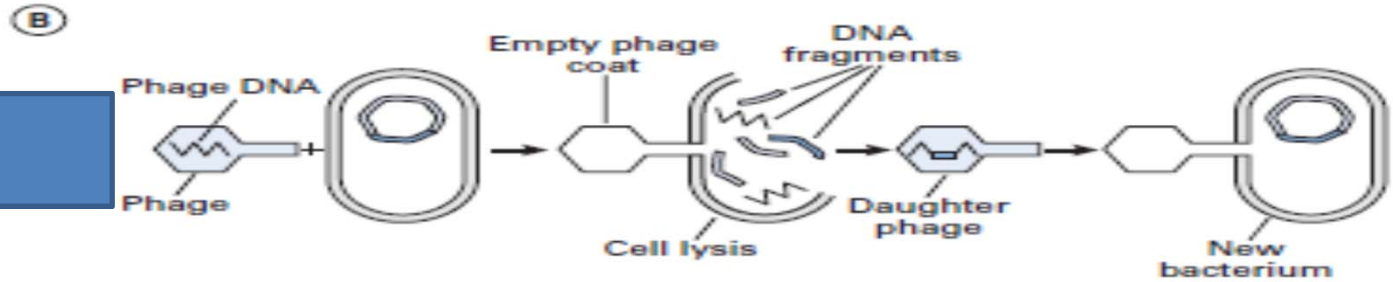
أهم نتيجة لانتقال المورثات هو انتقال المورثات المسؤولة عن مقاومة الصادات الحيوية

انتقال المورثات

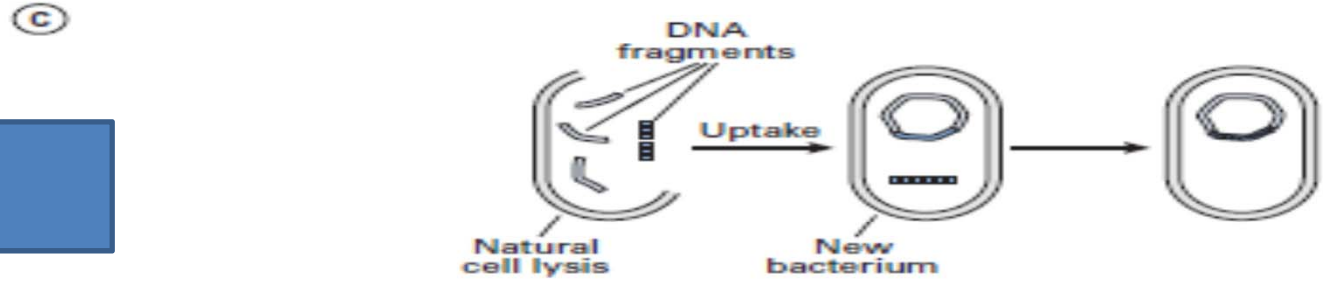
الأقتران

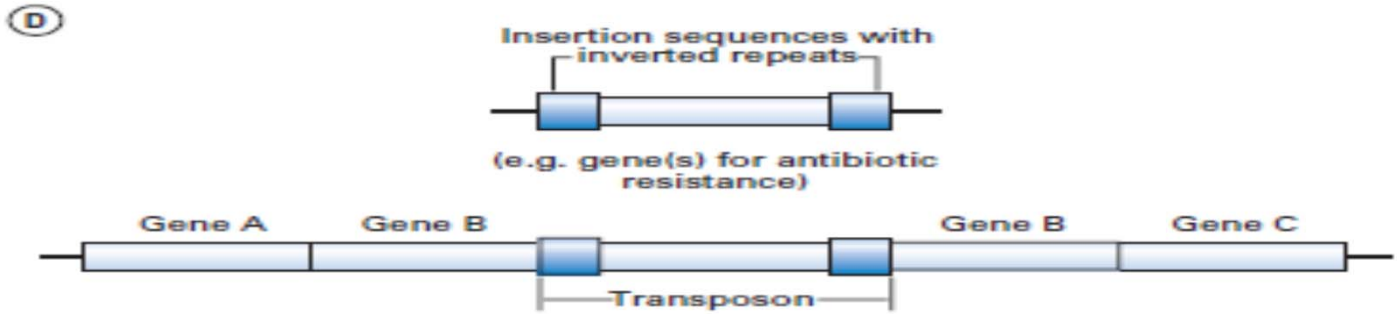


التنبيغ



التحول





1- الاقتران:

هو تزاوج خليتين جرثوميتين يتم خلالها نقل دنا من الخلية الجرثومية المانحة +Fإلى الخلية الجرثومية المستقبلة -F

يتم التحكم بها من قبل بلازميد الخصوبة Fertility plasmid Fالذي يحمل جينات مسؤولة عن تكوين أشعار جنسية في الجرثومة المانحة والتي تمتد كقناة بين الخليتين. عند تلاصق الخليتين فإن طاق واحد من البلازميد ينفصل ويمر من خلال انبوب الاقتران وتصبح الخليتين بعد ذلك +F. يمكن للدنا الصبغي أن ينتقل فقط في حال التصاقه مع البلازميدة +F.

2- التنبيغ:

نقل قطع من الدنا الصبغي بواسطة عاثيات الجراثيم (bacteriophages) إلى خلية جرثومية أخرى, حيث أنه أثناء تنسخ العاثية يمكن لقطعة من الدنا الجرثومي أن تدخل مصادفة إلى عاثية الجراثيم والتي تقوم بنقلها إلى خلية جرثومية متلقية أثناء الخمج.

3-التحول:

هو انتقال الدنا الجرثومي الموجود بشكل حر في الوسط المحيط إلى خلية جرثومية أخرى. ويتبع ذلك تأشب لشدفة الدنا الداخلة مع جينات الجرثوم الأصلية وتتكامل شدفة الدنا في صبغي الخلية فتؤدي إلى تحولها وظهور صفات جديدة. تلاحظ هذه الظاهرة في الطبيعة بعد موت الجراثيم وتحرر الدنا منها والذي يتم أخذه من قبل خلية جرثومية أخرى ليتحد مع دناها.

القدرة الممرضة للأحياء المجهرية المسببة للمرض

Pathogenesis of microbial disease

يوجد في الطبيعة أنواع كثيرة جداً من الجراثيم وبأعداد هائلة, إلا أن الجراثيم ذات الأهمية الطبية للإنسان قليلة نسبياً. يوجد أنواع جرثومية غير ممرضة للإنسان وأخرى ممرضة في ظروف خاصة وجراثيم تكون ممرضة دائماً. الكائن الحي المجهري الممرض (Pathogen)هو القادر على إحداث المرض. تصنف الجراثيم بحسب سلوكها في الطبيعة وعلاقتها مع الإنسان إلى:

أولاً : الجراثيم الرمية Saprophyte Bacteria

ثانياً: الجراثيم المتطفلة Parasite Bacteria(مرتبطة بالثوي) وتقسم إلى :

1- مطاعمة - متعايشة (Commensal) النبيت الطبيعي.

2- ممرضه (Pathogenic) قادرة على إحداث المرض يشكل إجباري أو مخير

3- انتهازية (opportunistic) تعيش على الجلد و الأغشية المخاطية للثوي وهي تسبب المرض تحت بعض الظروف مثل انخفاض القدرات الدفاعية لدى مثبطي المناعة ومرضى السكري.

***الإمراضية Pathogenecity:**

هي قدرة العامل الممرض على إحداث المرض.

***الفوعة :Virulence** :

وهي قدرة الكائن المجهري على التكاثر في أنسجة الجسم وإحداث تلف فيها وهي مقياس كمي للإمراضية وهي ترتبط بأمرين:

-القدرة على اصطناع الذيفان. -القدرة على الغزو والاكتساح.

يعبر عنها بـ: (LD50 (50% lethal dose وهي عدد الكائنات الحية التي نحتاجها لقتل نصف الأثوياء. أو ID50(50% infection dose) وهي عدد الكائنات الحية التي نحتاجها لإحداث الخمج عند نصف الأثوياء.

يمكن تحديدها خلال حقن العامل الممرض مخبريا في الحيوانات المخبرية.

***العدوى Infection:**

هو دخول العضويات الممرضة إلى الجسم وتكاثرها فيه وإحداثها لبعض التأثيرات التي قد تكون طفيفة ولا تسبب أعراضاً سريرية (خمج لا عرضي) أو تكون شديدة تسبب ظهور أعراض المرض وعلاماته (خمج عرضي) أو تسبب داء معين (الجمرة أو الجدري).

إمراضية الأمراض الجرثومية
Pathogenesis of bacterial disease:

تتضمن معينات (محددات أو عوامل) إمراضية الجراثيم على:

- ✓ الانتقال والسراية .(Transmission)
- ✓ الالتصاق على سطح الثوي(عوامل الالتصاق) Adherence to host surfaces).
- ✓ القدرة على الغزو .(Invasiveness)
- ✓ الذيفنه (انتاج الذيفان).(Toxigenicity)

1-الانتقال والسراية .(Transmission)

حسب طريق الانتقال نميز بين:

- أخماج خارجية المنشأ: يتم انتقال العامل الممرض من أوساط خارجية.
- أخماج داخلية المنشأ: يحدث الخمج بفعل الجراثيم الانتهازية التي تشكل جزء من النبيت الطبيعي للجسم.

يتم انتقال العوامل الممرضة عن طريق:

- الاستنشاق عن طريق الهواء
- الأكل والابتلاع عن طريق الغذاء والماء
- التلقيح عن طريق نقل الدم، لدغ الحشرات، الابر الملوثة، الاحتكاك الجنسي...

أما بوابات دخول العدوى فتشمل:

الجلد – الجهاز التنفسي – الجهاز المعدي المعوي – الجهاز البولي التناسلي.

2-الالتصاق على سطح الثوي (Adherence to host surfaces):

وهي الخطوة الأولى في عملية العدوى ويتم ذلك من خلال وجود تراكيب خاصة لدى الجراثيم أو انتاج مواد تسهل عملية الالتصاق على سطوح الخلايا للأجواف عند الإنسان أو على سطح البدلات السنية.

مثل:

- الأشعار أو الخمل عند الاشريكية القولونية والنيسيرية البنية.
- عديدات السكريد خارج الخلوية عند العقديات الطافرة.
- المحفظة

3-القدرة على الغزو والاكتساح :Invasiveness

وترتبط بقدرة الجرثوم على :

1- إفراز وانتاج العديد من الإنزيمات مثل:

الكولاجيناز والهيالرونيداز: يسهلان عملية انتشار الجرثوم داخل الأنسجة (العقدية المقيحة).

المخثراز: يحول الفبرينوجين إلى فبرين مما يؤدي إلى تشكيل طبقة فبرينية تغلف الجرثوم وتحمية من البلعمة (العنقودية الذهبية).

قاتل الكريات البيض.

2- عوامل آخرى تساعد الجرثوم في عملية الغزو

- المحفظة (عديدة السكريد),

- بروتينات الجدار الخلوي (البروتين M للعقدية المقيحة والبروتين A عند العنقودية الذهبية والتي تمنع عملية البلعمة).

*تؤدي العدوى الجرثومية إلى نوعين من الالتهاب:

- التهاب مقيح والتهاب حبيبومي.

4. اصطناع الذيفان :(Toxin production)

- **الذيفانات الداخلية Endotoxins :**

هي عديدات سكريد شحمية تتوضع في الجدار الخلوي للجراثيم سالبة الغرام وهي جزئ بنيوي فيه, لا تنتشر خارج الخلية الجرثومية إلا بعد موتها.

تسبب أعراضاً عامة مثل الحمى، الصدمة، تنشيط وتفعيل جهاز التخثر، تنشيط الطريق البديل لشلال المتممة...

قد تحصل تأثيرات تشبه الذيفان الداخلي في العدوى الناجمة عن الجراثيم موجبة الغرام ناتجة عن حمض التيكوئيك أو الببتيدات السكرية (تحرر الانترلوكين1 وعامل النخر الورمي من البلاعم).

-لا تتأثر الذيفانات الداخلية بالحرارة.

o الذيفانات الخارجية :Exotoxins

هي عديدات ببتيد تصطنعها بعض الجراثيم موجبة وسالبة الغرام.

تنتشر خارج الخلية الجرثومية.

تتألف عديدات الببتيد من وحيدتين: وحيدة مسؤولة عن الارتباط على غشاء الخلية ووحيدة تمتلك النشاط السمي. وهي شديدة السمية (أقل من 1 µg من ذيفان الكزاز قاتل للإنسان).

- تعد من المستضدات الجيدة فهي تحرض على إنتاج أضداد الذيفانات (antitoxins)

يمكن معادلة سمية الذيفانات الخارجية بالفورم ألدهيد أو الحمض أو الحرارة وتتحول إلى ذوفانات (toxoids) وحينها تستخدم في اللقاحات.

الذيفانات الخارجية نوعية للأنسجة وبناءً على النسيج المتأثر يمكن تقسيها إلى:

* ذيفانات عصبية: تؤثر عبر الطرق العصبية مثل ذيفان الكزاز والذيفان الوشيقي.

* ذيفانات معوية: تؤثر في مخاطية الأمعاء محدثة اضطرابات معدية معوية مثال ذيفان الاشريكية القولونية.

* ذيفانات متنوعة خارجية: مثال الذيفانات التي تفرزها المطثية الحاطمة منها: الذيفان ألفا، الكولاجيناز، البروتياز، الهيالرونيداز.... جميعها تخرب الخلايا والأنسجة الضامة

مقارنة بين أهم خواص الذيفانات الخارجية والداخلية		
الخاصية	الذيفان الخارجي	الذيفان الداخلي
المصدر	بعض أنواع الجراثيم موجبة وسالبة الغرام	جدار الخلية الجرثومية عند الجراثيم سالبة الغرام
المنشأ	إفرازات الخلية الجرثومية (ينتشر إلى الوسط الخارجي)	جزء من بنية جدار الخلية الجرثومية (لاينتشر إلى الوسط الخارجي)
التركيب الكيميائي	عديد ببتيد	عديد سكريد شحمي
السمية	عالية	منخفضة
التأثيرات السريرية	مختلفة	حمى، صدمة
الاستضداد	عالية الاستضداد (تحث على إنتاج أضداد تدعى بمضادات الذيفان)	منخفضة الاستضداد
اللقاحات	يستخدم الذوفان كلقاح	لا تتحول إلى ذوفان ولا تصنع اللقاحات منها
الثبات الحراري	معظمها عطوب بالحرارة (يتخرب بسرعة عند الدرجة 60مْ)	ثابت للحرارة (يقاوم درجة الحرارة 100مْ لمدة ساعة)
الأمراض النموذجية	الهيضة، الكزاز، الخناق	إنتانات العصيات سالبة الغرام، صدمة الذيفان الداخلي

مفروضات كوخ :Koch’s postulates

وهي معايير يعتمد عليها لاعتبار العامل الممرض هو مسبب المرض :

- ✓ يجب عزل العامل الممرض من جميع الأشخاص المصابين بالمرض.
- ✓ يجب عزل العامل الممرض وزرعه في المخبر بشكل نقي.
- ✓ يجب أن يسبب العامل الممرض النقي المرض في الحيوانات السليمة المستعدة للإصابة (حيوانات التجارب).
- ✓ يجب أن يعزل هذا العامل الممرض من جديد من الحيوانات التي حقنت به.
- ✓ يجب الكشف عن الأضداد النوعية للعامل الممرض في سبيل الشخص المريض.

(هذه الأفكار عملية ولكن يوجد حالات خاصة لا يمكن الأعتماد فيها على هذه المفروضات مثل مرض الجذام, حيث لايمكن عزل المتفطرة الجذامية على الأوساط.)