الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

المدرسة العليا للأساتذة ورقلة (الجزائر)

قسم العلوم الطبيعية

المستوى: سنة ثانية

التخصص: أستاذ تعليم متوسط وأستاذ تعليم ثانوي

مطبوعة بيداغوجية

إعداد الأستاذة

محسن زينب

2024/ 2023

قائمة المحتويات

الفصل الأول: عالم الميكروبات

I. عالم الميكروبات..... *1*

I.1.اكتشاف عالم الميكروبات..... *2*

I.2.نظرية التوالد الذاتي "Génération spontanée"..... 3

I.3.الموقع التصنيفي للكائنات الدقيقة في العالم الحي..... 5

I.4.الخصائص العامة للخلايا بدائية النواة وحقيقية النواة 6

I.5.التنظيم البيولوجي للخلايا..... 7

I.6.الاوليات بدائية النوى Protistes procaryotes..... 8

I.1.6.فوج البكتيريا Bactéries 8

I.2.6.فوج البكتيريا الأثرية Archaebactéries..... 11

الفصل الثاني: ماكرومرفولوجيا المستعمرات وبنية الخلية البكتيرية

II. ماكرومورفولوجيا المستعمرات وبنية البكتيريا..... 15

II.1. ماكرومورفولوجيا المستعمرات..... 15

II.1.1.أشكال المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب..... 15

II.1.2.أشكال المستعمرات البكتيرية على الوسط السائل 18

II.1.3. حجم الخلية البكتيرية..... 19

II.2.بنية الخلية البكتيرية 19

II.2.1.الجدار الخلوي..... 20

II.2.2. الغشاء البلازمي..... 31

II.2.3. السيتوبلازم..... 39

II.2.3. 1. الأحماض الريبية النووية ARN والأجسام الريبية..... 39

II.2.3. 2. المواد الادخارية..... 40

II.2.3.3. فجوات الغاز..... 41

II.2.4. الجهاز النووي..... 42

5.2.II. البلازميدات.....45
6.2.II. الكبسولة Capsule.....48
7.2.II الأسواط.....50
8.2.II . زوائد البيلي ***Pili*****.....*55***
9.2.II . الأبواغ الداخليةEndospores.....56

الفصل الثالث :الانماط الغذائية والانماط التنفسية عند البكتيريا

*III.الانماط الغذائية والانماط التنفسية عند البكتيريا **65***
1.III.التغذية البكتيرية والانماط الغذائية.....65
1.1.III.الاحتياجات الأساسية 65
2.1.III. مصدر الطاقة.....69
1.III .3. عوامل النمو.....72
2.III.التنفس وانماط التنفس.....74
1.2.IIIالية الانتقال الالكتروني اثناء التنفس الهوائي والتنفس اللاهوائي والتخمر.....75
3.III.العوامل البيئية.....79
1.3.III. درجة الحرارة.....79
2.3.III. الرقم الهيدروجيني pH.....81
3.3.III. الضغط الاسموزي.....82

الفصل الرابع: الأيض البكتيري

IV.الأيض البكتيري.....**85**
1.IV. هدم السكريات La glycolyse 86
1.1.IV. مسار Embden-Meyerhof (EM).....87
1.IV. 2. مسار Entner Doudoroff 89
3.1.IV. مسار فوسفات البنتوز.....90
2.IV. مصير بيروفات.....92
3.IV. هدم البروتينات والأحماض الأمينية.....105
4.IV. هدم الدهون.....108

الفصل الخامس: النمو البكتيري

V .النمو البكتيري ***91***

V.1.قياس النمو البكتيري.....91

V.1.1.القياس المباشرة.....91

V.1.2. القياسات الغير مباشرة 96

V.2. معلمات النمو.....98

V.2. 1. التعبير الرياضي عن النمو.....99

V.2. 2. النمو في الوسط غير المتجدد (منحنى النمو).....100

V.2.3. نمو ديوكسي diauxie.....102

الفصل السادس: مثبطات النمو البكتيري

VI . مثبطات النمو البكتيري ***127***

VI .1. العوامل الفيزيائية 128

VI .1.1. الحرارة.....128

VI .1.2. الإشعاعات.....129

VI .1.3. الضغط، التركيز الأيوني.....130

VI .1.4. الأس الهيدروجينيpH 130

VI .1.5. الإزالة الميكانيكية: الترشيح.....131

VI .2. الطرق الكيميائية.....131

VI .2. 1. العوامل المحددة للنمو.....131

VI .2. 2. المطهرات 131

VI .2. 3. مضادات الاستقلاب.....132

VI .2. 4. المضادات الحيوية.....135

قائمة الجداول

الجدول	العنوان	الصفحة
الجدول 1	مقارنة بين خلية بدائية النواة وخلية حقيقية النواة.	07
الجدول 2	*مجاميع فوج البكتيرية*	09
الجدول 3	أشكال وتجمعات المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب	16
الجدول 4	*العناصر المعدنية، مصادرها ووظائفها في الخلايا البكتيرية*	68
الجدول 5	الأنماط الغذائية عند البكتيريا	74
الجدول 6	مستقبلات الإلكترون المختلفة أثناء التنفس في البكتيريا	76
الجدول 7	درجات الحرارة الدنيا والقصوى والمثلى لبعض أنواع البكتيريا والبكتيريا الأثرية	80
الجدول 8	الحد الأدنى والأقصى والأمثل لدرجة الحموضة للبكتيريا	81
الجدول 09	طرق التعقيم باستخدام الحرارة	128
الجدول 10	معايير التفسير لأقطار مناطق التثبيط و CMI التقريبية المقابلة المستخدمة لتحديد الفئات	154
الجدول 11	أهم آليات المقاومة عند البكتيريا سالبة وموجبة الجرام	160

قائمة الأشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
الشكل 1	توزيع الكائنات الحية الدقيقة حسب حجمها	01
الشكل 2	العالم الهولندي "فان ليفنهوكVan Leeuwenhoek " ومجهره	03
الشكل 3	تجربة العالم جون نيدهام (John Needham) (A) والعالم لازارو سبالانزاني (Lazzaro Spallanzani) (B)حول نظرية التوليد الذاتي	04
الشكل 4	تجربة العالمان باستور Pasteurوتندال Tyndall حول نظرية التوليد الذاتي	05
الشكل 5	الموقع التصنيفي للكائنات الدقيقة في العالم الحي	06
الشكل 6	الطلائعيات المخففة	08
الشكل 7	أشكال وتجمعات المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب	16
الشكل 8	أشكال المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب من الأعلى ومن الجانب	17
الشكل 9	سطح المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب	17
الشكل 10	اشكال المستعمرات البكتيرية في وسط سائل	19
الشكل 11	المكونات الكيميائية الرئيسية لجدار الخلية (الببتيدوغليكان).	21
الشكل 12	جسور الببتيدوغليكان. (أ) الببتيدوغليكان مع ربط مباشر، وهو نموذجي لمعظم البكتيريا سالبة الجرام. (ب) الببتيدوغليكان مع جسر بين الببتيد، وهي بكتيريا إيجابية الجرام.	22
الشكل 13	رسم تخطيطي لإرتباط الببتيدوغليكان (الجدار).	22
الشكل 14	جدار البكتيريا موجبة الغرام	24
الشكل15	هيكل حمض التيكويك: فوسفات + جلسرين+R (ألانين ، جلوكوز...)	25
الشكل 16	جدار البكتيريا سالبة الغرام	25
الشكل 17	هيكل عديدات السكاريد الدهنية(LPS)	26
الشكل 18	التركيب الكيميائي pseudopeptidoglycan من البكتيريا الأثرية.	27
الشكل 19	عملية البناء الحيوي لجدار البكتيريا	30
الشكل 20	بنية الغشاء السيتوبلازم البكتيري	32
الشكل 21	رسم تخطيطي يلخص النقل السلبي	35
الشكل 22	رسم تخطيطي يلخص النقل النشط	38
الشكل 23	هيكل الريبوسوم البكتيري والبوليزومات.Polysomes	40
الشكل 24	تمثيل تخطيطي للحلزون المزدوج للحمض النووي	43
الشكل 25	الانقسام الخلوي عند البكتيريا	45

الشكل 26	بنية البلازميد	46
الشكل 27	تكاثر البلازميد النسخ المتماثل من نوع ثيتا.θ	47
الشكل 28	تكاثر البلازميد النسخ نوع "الدائرة المتداول. rolling cercle "	48
الشكل 29	حمض ألدوبيونيك	49
الشكل 30	إظهار الحركة عند البكتيريا عن طريق الزرع بالوخز المركزي داخل وسط غذائي نصف صلب	51
الشكل 31	توزيع الأسواط على مستوى الخلية البكتيرية	52
الشكل 32	بنية السوط	53
الشكل 33	كيفية اتصال السوط	54
الشكل 34	زوائد البيلي الاعتيادية وزوائد البيلي الجنسية	56
الشكل 35	شكل وتموضع الابواغ داخل البكتيريا	57
الشكل 36	بنية والتركيب الكيميائي للبوغة	57
الشكل 37	حمض الديبيكولينيك وديبيكولينات الكالسيوم	58
الشكل 38	بتيدوجليكان القشرة الشفافة للبوغة	58
الشكل 39	مراحل عملية التبوغ	60
الشكل 40	تمثيل تخطيطي لسلسلة الجهاز التنفسي في البكتيريا	70
الشكل 41	رسم تخطيطي يوضح اقتران تفاعلات التمثيل الضوئي	71
الشكل 42	ظاهرة التداخل الغذائي بين Haemophilus spp و Staphyloccoque	73
الشكل 43	ظاهرة التكافل او التعايش الغذائي	73
الشكل 44	السلسلة التنفسية لنقل الالكترونات عند البكتيريا الهوائية الصارمة	77
الشكل 45	السلسلة التنفسية لنقل الالكترونات عند البكتيريا اللاهوائية الصارمة	78
الشكل 46	معدل النمو البكتيري بدالة لدرجة الحرارة	80
الشكل 47	عملية تبسيط المغذيات الكبيرة	86
الشكل 48	تحلل الهوائي للسكر مسارEmbden-Meyerhof (EM)	88
الشكل 49	مسارEntner Doudoroff	90

الشكل 50	مراحل مسار فوسفات البنتوز	91
الشكل51	حلقة كربس	93
الشكل 52	دورة جليوكسيليكglyoxylique)	94
الشكل 53	مراحل التخمير الكحولي	96
الشكل 54	عملية التخمر اللبني المتجانس	98
الشكل 55	التخمر اللبني غير المتجانس	99
الشكل 56	تخمر الاحماض المختلطة	100
الشكل 57	تخمر البوتيلين جليكوليك	101
الشكل 58	مراحل انتاج حمض الزبد	102
الشكل 59	تخمير أسيتونو بوتيل	103
الشكل 60	التخمر البروبيوني	104
الشكل 61	طريقة تحليل سلسلة متعدد الببتيد عن طريق انزيمات الببتيداز	106
الشكل 62	هدم وأكسدة الأحماض الامينية	108
الشكل 63	تحلل الدهون الثلاثية	109
الشكل 64	طريقة تحضير التخفيفات المتسلسلة	112
الشكل 65	عملية زرع الخلية البكتيرية على سطح أو في عمق طبق بتري	113
الشكل 66	قياس إجمالي عدد الخلايا من خلال hématimètre de Mallassez	114
الشكل 67	طريقة الترشيح الغشائي لتعداد الخلايا البكتيرية	116
الشكل 68	قياس تعكر المعلق البكتيري باستخدام مقياس الطيف الضوئي	117
الشكل 69	قياس الكتلة الحيوية الجافة biomasse sèche	118
الشكل 70	منحنى النمو البكتيري في وسط غير متجدد	120
الشكل 71	منحنى النمو ديوكسي	122

الشكل 72	ناظم كيميائي chemostat	123
الشكل 73	تأثير الإشعاعات المؤينة وغير المؤينة على الحمض النووي البكتيري	130
الشكل 74	بنية السولفاميد و acide para aminobenzoique	133
الشكل 75	بنية fluorophénylalanine	134
الشكل 76	مماثلات القواعد البيورينية والبريميدية	134
الشكل 77	هيكل البيتا-لاكتام(أ) والتركيب الكيميائي لنواة بيتا-لاكتام(ب)	139
الشكل 78	فئات المضادات الحيوية من عائلة بيتا-لاكتام	140
الشكل 79	بنية البنسيلينات	140
الشكل 80	التركيب الكيميائي للسيفالوسبورينات	141
الشكل 81	التركيب البنيوي Aztreonam	141
الشكل 82	التركيب البنيوي للكاربابينام	142
الشكل 83	بنية جليكوببتيد	142
الشكل 84	التركيب الأساسي لبنية الامينوزيد	143
الشكل 85	بنية المضاد الحيوي erythromycin	144
الشكل 86	التركيب الكيميائي لبنة الكينولونات	144
الشكل 87	بنية بوليمكسين B وE	145
الشكل 88	تأثير المضادات الحيوية على الخلية البكتيرية	147
الشكل 89	آلية عمل بيتا-لاكتام	148
الشكل 90	آلية عمل الجليكوببتيد	149
الشكل 91	آلية عمل الماكروليد	150
الشكل 92	آلية عمل كينولون	151
الشكل 93	آلية عمل Polymyxin (Colisitin)	152

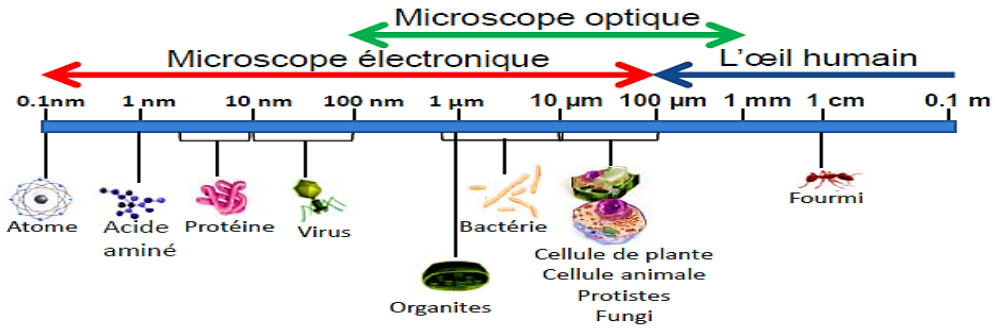
الشكل 94	طريقة قياس الفعالية المضادة للنمو البكتيري L’antibiogramme	153
الشكل 95	انتقال وتطور مقاومة المضادات الحيوية عن طريق الطفرة	157
الشكل 96	الانتقال الأفقي للمقاومة البكتيلاية للمضادات الحيوية عن طريق نقل المادة الوراثية	158

الفصل الأول: عالم الميكروبات

I. عالم الميكروبات

علم الأحياء الدقيقة هو العلم الذي يهدف إلى دراسة الميكروبات (من اليونانية: mikros = صغير؛ bios = الحياة). يشمل هذا المصطلح (الميكروب) جميع الكائنات الحية، صغيرة الأبعاد التي تحتاج إلى مجهر. يدرس علم الأحياء الدقيقة الكائنات الحية الدقيقة من جميع جوانبها: خصائصها وبيئات، والعلاقات القائمة بينها وبين الحيوانات والنباتات، وأهميتها لصحتنا والبيئة والصناعة.

الكائنات الحية الدقيقة، التي تسمى أيضًا الميكروبات والطلائعيات، موجودة في كل مكان (متنوعة جدًا)، وتوجد على جميع أنواع الأسطح: الهواء، التربة، الماء، إلخ. تتواجد الميكروبات أيضًا في ظواهر مختلفة في حياتنا اليومية: إنتاج الغذاء، والمغذيات، والأغشية الحيوية، ونمو النبات، والهضم الحيواني، وما إلى ذلك. بعضها مفيد وبعضها الآخر يعتبر ضارًا (أمراض). تشكل مجموعة من الكائنات الحية المجهرية غير المرئية بالعين المجردة. هذه هي النقطة المشتركة الوحيدة لديهم، لأنها تختلف وتتنوع في مورفولوجيا وعلم وظائف الأعضاء وطريقة التكاثر والبيئة. وتشمل الميكروبات ما يلي: الفطريات السفلى (5-10 ميكرومتر)، الطحالب وحيدة الخلية (2-200 ميكرومتر)، البروتوزوا (1-200 ميكرومتر)، البكتيريا (0.2-50 ميكرومتر) والفيروسات (0.03 -4 ميكرومتر). تعتبر الفيروسات كائنات دقيقة غير حية وخالية من الخلايا وتعتمد كليًا على الخلايا المضيفة (الشكل 1).

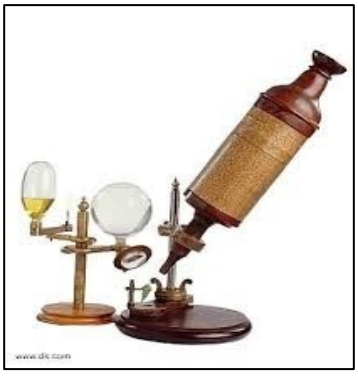


الشكل 1 : توزيع الكائنات الحية الدقيقة حسب حجمها

معظم الكائنات الدقيقة وحيدة الخلية (تتكون من خلية واحدة: البكتيريا، الخمائر، الطحالب أحادية الخلية)، ولكن إذا كانت متعددة الخلايا (عفنات، طحالب متعددة الخلايا)، فإن خلاياها متكافئة أو متطابقة (غير متمايزة)، دون أي اختلاف شكلي أو فسيولوجي أو وظيفي. يمكن أن تكون بعض الكائنات الحية الدقيقة لا خلوية، ليس لديها خلايا، حالة الفيروسات. يمكن أيضًا التمييز بين الكائنات الحية الدقيقة حسب طبيعة النواة: اما أن تكون acaryotes (بدون نواة: فيروسات)، procaryotes (نواة بدائية: بكتيريا) أو eucaryotes (نواة حقيقية: الأوليات، الطحالب المجهرية، الفطريات المجهرية).

1.I. اكتشاف عالم الميكروبات

أول من اكتشف عالم الميكروبات هو العالم الهولندي "فان ليفنهوك Van Leeuwenhoek" (1632-1723م)، وقد اكتشف هذا العالم الدقيق بفضل مجاهر بسيطة كان يصنعها (الشكل 2)، مكنته من ملاحظة صور يصل تكبيرها إلى أكثر من 300 مرة. معظم الكائنات الدقيقة وحيدة الخلية التي نعرفها اليوم (بكتيريا، أوليات حيوانية، طحالب، فطريات...) وصفها لأول مرة ليفنهوك بدقة بحيث كان من الممكن في بعض الحالات واستنادا لهذه الأوصاف، الوصول إلى تحديد الأجناس. بفضل اختراعه، لاحظ البكتيريا الأولى، ومن بينها وصف الشكل البيضوي والعصي والحلزوني، التي تتوافق مع الأنواع المورفولوجية الرئيسية للبكتيريا. وكان أيضًا قادرًا على مراقبة الأوليات والخمائر. وهو يجمع كل أشكال الحياة هذه تحت مصطلح "الحيوانات". كشف فان ليفينهوك للعالم أجمع عن وجود تنوع الكائنات الحية الدقيقة.



الشكل 2 : العالم الهولندي "فان ليفنهوكVan Leeuwenhoek " ومجهره

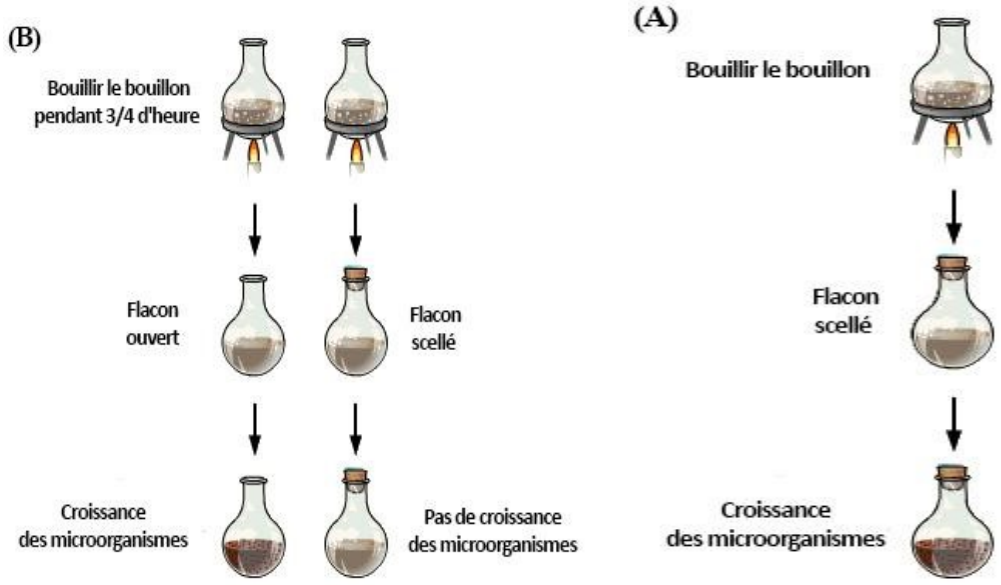
I.2.نظرية التوالد الذاتي "Génération spontanée"

فكرة أن الحياة يمكن أن تنشأ من العالم الخامل هي فكرة قديمة قدم الزمن. اعتقدت الحضارات القديمة أن المن يخرج من الخيزران، وأن الطين يمكن أن يولد الديدان أو الضفادع. نظرية التولد التلقائي هذه، التي ترجع إلى أرسطو (384-322 قبل الميلاد)، ستستمر خلال العصور الوسطى وستظل مذكورة خلال عصر النهضة. أدى اكتشاف فان ليفينهوك للكائنات الحية الدقيقة إلى تجديد الجدل العلمي بين مؤيدي التولد الحيوي ومؤيدي التولد التلقائي. بعد اكتشاف الميكروبات، تساءل العلماء عن أصلها ومصدرها وانقسم المهتمون بهذه الدراسة إلى مدرستين:

- **المدرسة الأولى**: تعتقد أن هذه الكائنات تتكون ذاتيا انطلاقا من المادة العضوية، فنشأت نظرية التوالد الذاتي.
- **المدرسة الثانية** (ومنها فان ليفنهوك): تؤكد أن الميكروبات لا تنشأ من المادة العضوية ولكن تستعملها للنمو فقط، وهذه الكائنات الدقيقة متواجدة في الهواء.

في عام 1748، قام جون نيدهام (John Needham) (1713-1781) بغلي مرق لحم الضأن وأغلق القوارير. وفي وقت لاحق، أصبحت العديد من الزجاجات غائمة وتحتوي على كائنات دقيقة. كان يعتقد أن المادة العضوية تمتلك قوة حياة يمكنها نقل خصائص الحياة إلى المادة غير الحية (الشكل A -3).

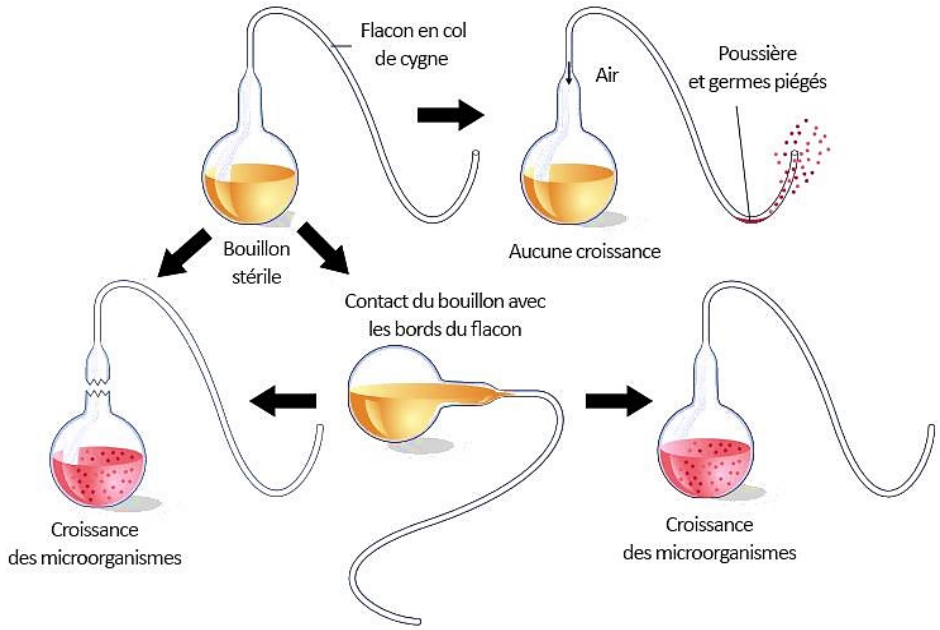
وبعد بضع سنوات، قام لازارو سبالانزاني (Lazzaro Spallanzani) (1729-1799) بتحسين تجارب نيدهام عن طريق إغلاق القوارير الزجاجية التي تحتوي على المرق والجراثيم أولاً. إذا تم وضع هذه القوارير في الماء المغلي لمدة 4/3 ساعة، فلن يكون هناك نمو طالما ظلت القوارير مغلقة (الشكل 3 -B). واقترح أن الهواء يحمل الجراثيم عن طريق عملية التسريب، ولكن أيضًا الهواء الخارجي ضروري لنمو "الحيوانات" الموجودة بالفعل في عملية التسريب. على الرغم من أن سبالانزاني أبطل نظرية التولد التلقائي، إلا أن الكثيرين لم يصدقوه، مجادلين بأن سبالانزاني قد سلق اللحم لفترة طويلة لدرجة أنه قتل "القوة الحيوية" التي يحتوي عليها.



الشكل 3 : تجربة العالم جون نيدهام (A) (John Needham) والعالم لازارو سبالانزاني (B) (Lazzaro Spallanzani)حول نظرية التوليد الذاتي

لأسباب تقنية، تعذر الحصول على دليل يثبت عدم صلاحية نظرية التوالد الذاتي وبقيت الفكرة مطروحة لمدة طويلة. فكان يجب انتظار أعمال باستورPasteur وتندال Tyndall، في القرن19، كي يعترف العلماء بعدم صلاحية نظرية التوالد الذاتي، وبينت تجاربهم العديدة أنه لا يمكن لأي كائن دقيق أن ينشأ من المادة العضوية المعقمة والمعزولة عن الهواء وأن الميكروبات في عام 1850، قدم لويس باستور (1822-1895) دليلاً قاطعًا على رفض التولد التلقائي.

قام أولاً بتصفية الهواء من خلال القطن ووجد أن الأشياء التي تشبه جراثيم النباتات محاصرة هناك. فإذا وضعت قطعة القطن في وسط معقم بعد ترشيح الهواء من خلاله، ظهر النمو الميكروبي. ثم قام باستور بغلي المحاليل المغذية في القوارير المنحنية لبضع دقائق ثم قام بتبريدها. ولم يظهر أي نمو على الرغم من تعرض محتويات القوارير للهواء؛ ولاحظ باستور أنه لم يكن هناك أي نمو لأن الغبار والجراثيم كان محصوراً في حواف الأعناق المنحنية. إذا كانت الأعناق مكسورة أو أعيد المرق المعقم إلى الجزء المقطوع من الرقبة، يبدأ النمو على الفور (الشكل 4).

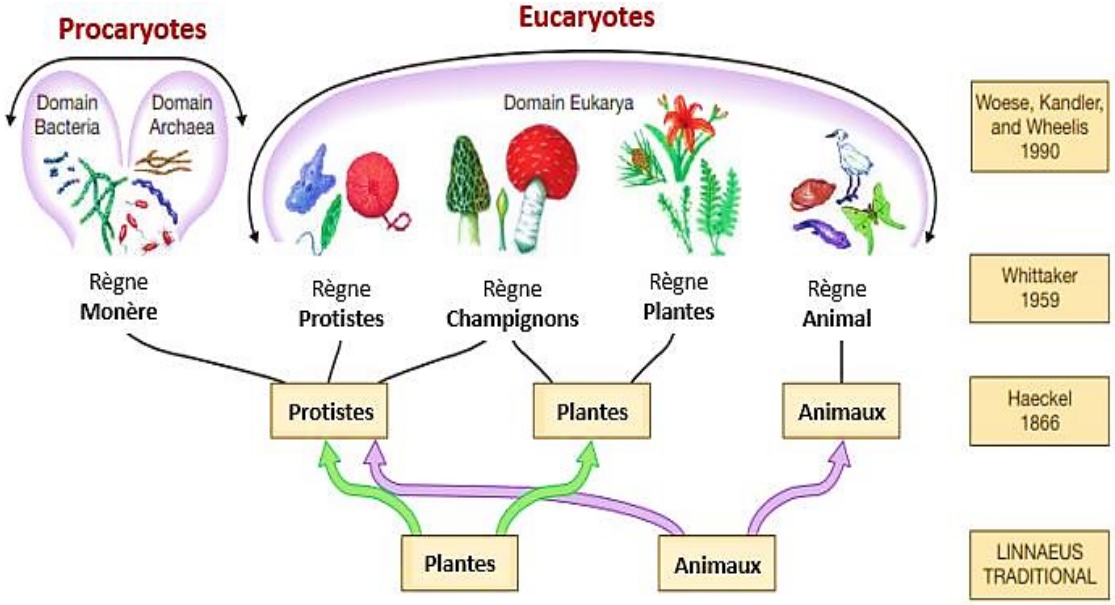


الشكل 4 : تجربة العالمان باستور Pasteurوتندال Tyndall حول نظرية التوليد الذاتي

I.3.الموقع التصنيفي للكائنات الدقيقة في العالم الحي

منذ اكتشافها من قبل أنتوني فان ليوينهوك، تغير مكان البكتيريا في العالم الحي كثيرًا. طور عالم النبات السويدي Carl van Linné (1735) أول تصنيف للكائنات الحية إلى مملكتين (مع الحيوان أو النبات) Plantae و Animalia. في عام 1857، اقترح كارل فان تصنيف البكتيريا والفطريات في مملكة النباتات.

أصبح تصنيف الكائنات المجهرية المكتشفة، مع الحيوان أو النبات، أمرا أكثر صعوبة بسبب خصائصها التي لا تتوافق مع أي من المملكتين. اقترح العالم الألماني هيكل Haeckelعام 1866م حلا منطقيا يطلب فيه وضع مملكة ثالثة سماها مملكة الأوليات ثم وضعت مملكة رابعة تضم الفيروسات (كائنات ذات تركيب لا خلوي) (الشكل 5).



الشكل 5 : الموقع التصنيفي للكائنات الدقيقة في العالم الحي

I.4. الخصائص العامة للخلايا بدائية النواة وحقيقية النواة

يمكن تقسيم الكائنات الحية إلى مجموعتين اعتمادًا على وجود أو عدم وجود نواة: كائنات حية بدائية النواة وكائنات حية حقيقية النواة. الأول لديه تنظيم خلوي بسيط، بدون نواة، الحمض النووي الذي يحمل المعلومات الوراثية يكون على اتصال مباشر مع السيتوبلازم (على سبيل المثال: البكتيريا). أما الكائنات الحية حقيقية النواة، من جانبها، لديها خلية تحتوي على نواة تشمل المعلومة الوراثية، يحملها الحمض النووي. وهي تختلف بشكل ملموس عن وجود أو عدم وجود غشاء نووي (الجدول 1).

الجدول 1: مقارنة بين خلية بدائية النواة وخلية حقيقية النواة.

		بدائيات النوى	حقيقيات النوى
	الحجم النموذجي	µm 10-1	µm 100-10
	نوع النواة	لا نواة حقيقية	نواة حقيقية مع غشاء مزدوج
جهاز نووي			
جهاز نووي	غشاء نووي، هيستونات	-	+
جهاز نووي	كروموزوم (صبغيات)	(Haploïde) 1	متعدد (Diploïde)
جهاز نووي	الانقسام	لا خيطي (بسيط)	خيطي (تكاثر الخلايا) الانقسام الاختزالي (مما يؤدي إلى تكوين الأمشاج)
	بلازميدات	+	-
	الميتوكندريا، الصانعات الخضراء، الشبكة الاندوبلازمية. جهاز كولجي، الأجسام الحالة، الفجوات.	-	+
	ARN وتخليق البروتين	إلى جانب السيتوبلازم	تخليق الحمض النووي الريبي في نواة تخليق البروتينات في السيتوبلازم
	الريبوزومات	70S	80S
التنفس	الميتوكندريا	-	+
التنفس	الغشاء البلازمي والميزوزوم	+	-
التركيب الضوئي	الصانعات الخضراء	-	+
التركيب الضوئي	حوامل الأصبغة	+	-
	التركيب الكيميائي للجدار	الميورين (عدى الميكوبلازما والبكتيريا الأثرية)	البكتين، السللوز، اللغنين (النباتات) الكيتين (الفطريات)
	الستيرول في الغشاء البلازمي (**Stérols**)	-	+
	البلعمة **Phagocytose**	-	+

5.I. التنظيم البيولوجي للخلايا

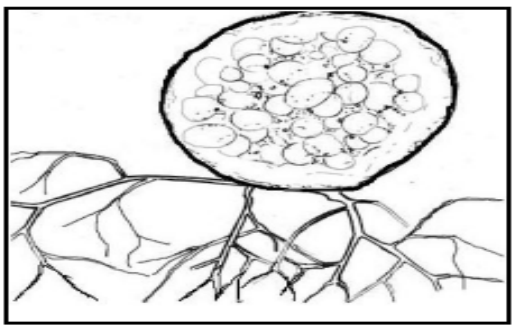
يتم تصنيف الخلايا في ثلاثة أنواع مختلفة من التنظيم البيولوجي:

- ✓ **وحيدات الخلية:** هذا هو الحال بالنسبة لمعظم الطلائعيات والبكتيريا والأوليات والخمائر والعديد من الطحالب.

حيث خلية واحدة تتمتع بالاكتفاء الذاتي وتشكل كائنًا كاملًا ومستقلًا، وبالتالي تتمتع بجميع وظائف الحياة: التغذية والنمو والتكاثر.

✓ **متعددات الخلايا:** تتكون بشكل رئيسي من الفطريات والطحالب المتكونة من عدة خلايا متطابقة، دون أي اختلاف بنيوي أو فسيولوجي.

✓ **الطلائعيات المخففة Protistes coenocytiques**: سيتوبلازم كبير بما في ذلك العديد من النوى دون تقسيم (حاجز) بينهما. وهي في الأساس مائية أو طفيلية أو رمية. هؤلاء هم الأعضاء الوحيدون في الفطريات الذين يمتلكون طابع الحركة (الشكل 6).



الشكل 6 : الطلائعيات المخففة

I.6.الاوليات بدائية النوى Protistes procaryotes

هي عبارة عن كائنات المادة الوراثية فيها موجود ضمن الخلية ولكنها غير محاطة بغشاء نووي. تنظيمها الخلوي بسيط جدا وتنقسم الى فوجين: فوج البكتيريا وفوج البكتيريا الاثرية.

I.6.1. فوج البكتيريا Bactéries

البكتيريا هي كائنات دقيقة يمكن العثور عليها في كل مكان تقريبًا. غالبًا ما يكون وجودهم واضحًا: تلتهب الجروح، ويصبح اللبن حامضًا، ويتلف اللحم، لكن لا يمكن رؤيتها إلا تحت المجهر. عادة ما تكون وحيدة الخلية وخلاياها تشبه خلايا بدائية النواة (الجدول 2).

الجدول 2 : مجاميع فوج البكتيرية

الفوج		خصائصه
البكتيريا الزرقاء Cyanobactéries		القدرة على التمثيل الضوئي مثل النباتات، وجود جدار خارجي متماسك متكون من الميورين، حركة إنزلاقية على الأسطح الصلبة، وجود صبغة زرقاء: الفيكوسيانين Phycocyanine، توجد البكتيريا الزرقاء في المحيطات، البحار، المياه العذبة، ا الساخنة والتربة ويمكن لها أن تثبت الازوت الجوي وأن تنتشر في الأتربة الأكثر جفافا وخيوطها رفيعة غير متفرعة وتتكاثر بواسطة تشكيلات قصيرة Hormogonies – أحادية الخلايا و تتكاثر بواسطة الانقسام الثنائي ، مثل الأجناس: Chroococcus، Merismopedia و Anacystis – متعددة الخلايا مثل الأجناس Oscillatoria ، Rivularia ، Anabaena و Noctoc .
البكتيريا الهلامية		حركات انزلاقية على الأسطح الصلبة، دقة ومرونة جدارها وحيدة الخلية وبعضها يكون أجساما مثمرة.
البكتيريا اللولبية Spirochètes		شكل لولبي وهي وحيدة الخلية، حركة بواسطة خيط محوري متواجد داخل الجدار، يلتف هذا الخيط حول البكتيريا وتتم الحركة بتقلص هذا، الخيط المحوري المثبت على طرفي البكتيريا، يمكن أن تصل إلى أحجام كبيرة (300 ميكرومتر) مقارنة بالبكتيريا الأخرى. لديهم غلاف خارجي متعدد الطبقات من الببتيدوغليكان الذي يغطي غشاء البلازما ومعظمها متطفلة ومسببة للأمراض مثل: حمى القمل أو القراد، السفلس، النزيف الدموي.
البكتيريا الحقيقية Eubactéries	البكتيريا الحقيقية الضوئية Eubactéries photosynthétiqu	صلابة جدارها، حركتها (إن وجدت) عن طريق الأسواط، التركيب الضوئي: استعمال الإشعاعات الخارقة للطيف الضوئي (الحمراء وتحت الحمراء)، تمتص CO_2 ولا تحرر O_2 (اختلاف مع النباتات)، وجود اليخضور البكتيريbactériochlorophylle في أجهزة خاصة: حوامل الأصبغة chromatophores ووحيدة الخلية، معظمها لا هوائية، منتشرة في أعماق المياه.
	البكتيريا الحقيقية غير الضوئية actéries non photosynthétiques	بعضها يشارك في التحولات الدورية للمادة العضوية: دورة الكربون، الازوت، الكبريت،...مثل: عائلة Azotobacteraceae او بكتيريا الازوت التي تثبت الآزوت، بعضها يتسبب في أمراض معدية: مثل عائلة Enterobacteriaceae او البكتيريا المعوية، بعضها يستعمل في الصناعة: إنتاج انزيمات، فيتامينات، مضادات حيوية....ووحيدة الخلية وهي أكثر البكتيريا عددا وأهمية في كل مجالات الميكروبيولوجيا.

	البكتيريا الحقيقية الخيطية Eubactéries filamenteuses	تشكل خيوط غير متفرعة وتوجد حواجز غير مرئية بين الخلايا. نميز فيها فوجين: 1- بكتيريا تشكل سلاسل مغلقة بغلاف تتحرك بواسطة أسواط قطبية. 2- بكتيريا تشكل خيوط قطرها عريض متحركة بواسطة أسواط محيطية.
	البكتيريا الحقيقية ذات الزوائد Eubactéries à pédoncules	مثال 1: كولوباكتر *Caulobacter* : خلية محدبة لها زائدة تسمح لها بالتثبت، أحيانا لها شكل إكليل. مثال 2: غاليونيلا *Gallionella* : خلية كلوية تنتج زائدة عن مواد إفرازية غير خلوية. - وحيدة الخلية، تشكل زوائد.
	البكتيريا الحقيقية الهيفية Actinomycètes	تقربها بعض الصفات من الفطريات، خاصة الميكروموفولوجية مثل البنية الهيفية ودورة النمو. يمكن ذكر الأمثلة التالية: 1) جنس ميكوباكتريوم *Mycobacterium* وهو الأقل تطورا، يكون على شكل عصيات، يحوي ميسيليوما مختزلا، توجد منه عدة أنواع ممرضة للإنسان مثل *Mycobacterium tuberculosis* التي تسبب مرض السل و *Mycobacterium* leprae التي تسبب البر (الجذام). 2) جنس نوكارديا *Nocardia* الذي يتميز بإنتاج ميسيليوم خضري يتفكك إلى مكونات كروية وعصوية (تفكك جزئي). بعض الأنواع تنتج ميسيليوما هوائيا مختزلا. 3) أجناس *Actinoplanes* و *Streptosporangium* التي تنتج ميسيليوما متفرعا، غير مفكك ويحمل أكياس بوغية. جنس أكتينوبلاناس *Actinoplanes* يحوي ميسيليوما خضريا وأكياسا بوغية، الأبواغ متحركة (تكييف للحياة المائية). جنس ستريبتوسبورانجيوم *Streptosporangium* لديه ميسيليوم خضري وميسيليوم هوائي يحمل أكياسا فيه أبواغا غير متحركة (في التربة). 4) جنس ستريبتوميساس *Streptomyces* الذي يتميز بما يلي: - ميسيليوم خضري غير مفكك، متفرع - أبواغ متسلسلة غير متحركة في الميسيليوم الهوائي. يمثل الجنس *Streptomyces* المجموعة الأكثر أهمية من بين الكائنات الدقيقة من حيث إنتاج المضادات الحيوية مثل: الستريبتوميسين Streptomycine

الريكتسيا Rickettsies	طفيليات إجبارية. تتطفل على مفصليات الأرجل الناقلة لأمراض خطيرة قد تصيب الحيوان والإنسان. شكلها عصوي 2- 0.8× 0.6 - 0.3 ميكرون. نميز فيها ثلاث مجموعات: - المجموعة المسببة للتيفوس. - المجموعة المسببة للحمى. - المجموعة التي تصيب كريات الدم الحمراء للفقريات.
الكلاميديا Chlamydies	شكلها كروي 1.5- 0.2 ميكرون (أو متعدد الأشكال). تقترب من الريكتسيا في خصائصها لكنها لا تتطفل إلا على الفقريات، يعتمد في تصنيفها على قدرتها الامراضية. نميز فيها مجموعتين: - مجموعة مسؤولة عن التهاب القصبات والرئة. - مجموعة مسؤولة عن التهاب الملتحمة والرماد الحبيبي (التراكوما).
الميكوبلازما Mycoplasmes	شكلها كروي (قطر يتراوح بين 0.3 و 0.8 ميكرون) أو خيطي. هي البكتيريا الوحيدة التي لا تملك جدارا ميورينيا، وهي متطفلة على الإنسان، الحيوانات والحشرات وتصيب المجاري التنفسية، لكنها ليست طفيليات إجبارية.

I.2.6. فوج البكتيريا الأثرية Archaebactéries

تعتبر البكتيريا الأثرية أولى الكائنات التي ظهرت على الأرض. تختلف عن البكتيريا في تركيب الجدار، في الغشاء البلازمي، في ARN الرسول وفي اصطناع البروتين. تتكيف البكتيريا الأثرية مع الحياة في ظل ظروف معيشية قاسية (ارتفاع الملوحة، ارتفاع درجة الحرارة، انخفاض درجة الحموضة، بدون أكسجين). الظروف التي تشبه تلك الموجودة على الأرض عندما تنشأ الحياة. إنها بكتيريا بدائية، ومن هنا جاء اسمها. تضم 3 مجموعات:

✓ **البكتيريا الأثرية المنتجة للميثان Productrices de méthane :** اللاهوائية، مثل الميثانوبكتيريوم، قادرة على إنتاج الميثان (CH_4) من ثاني أكسيد الكربون (CO_2). النباتات الرخامية في الجهاز الهضمي للحيوانات المجترة، قادرة على

إطلاق أكثر من 1 إلى 2 مليار طن من الميثان سنويًا. تساهم المجترات وميثانها في تأثير الدفيئة وارتفاع درجة حرارة الجو. توجد أيضًا في رواسب مياه الينابيع والينابيع الحرارية ومحطات معالجة مياه الصرف الصحي.

✓ **البكتيريا الأثرية المحبة للملوحة Halophiles :** تنمو بوجود تركيز 15 –35 بالمائة من كلوريد الصوديوم NaCl. يتحملون الأس الهيدروجيني الأساسي الذي يبلغ حوالي 11.5. توجد في البحيرات المالحة والمستنقعات المالحة والمياه المالحة (مياه مالحة جدًا). إنها البكتيريا القديمة الوحيدة القادرة على التمثيل الضوئي بفضل أصباغ الكاروتين التي تمنحها اللون الوردي. جنس Halobacterium هو مثال نموذجي.

✓ **البكتيريا الأثرية الحامضية المحبة للحرارة Thermo-acidophiles**: تنمو في 40 الى 100 درجة مئوية و pH من 1 إلى 4. درجة الحرارة المثلى للنمو حوالي 80 درجة مئوية وما فوق. لاهوائية ومقاومة لدرجة الحموضة الشديدة. هم محبة للحرارة. Pyridictium: 105 درجة مئوية ؛ *Sulfolobus sp*: 87 درجة مئوية إلى 90 درجة مئوية ودرجة الحموضة 1.

الفصل الثاني: ماكرومرفولوجيا المستعمرات وبنية الخلية البكتيرية

II.ماكرومورفولوجيا المستعمرات وبنية البكتيريا

II.1. ماكرومورفولوجيا المستعمرات

II.1.1. أشكال المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب

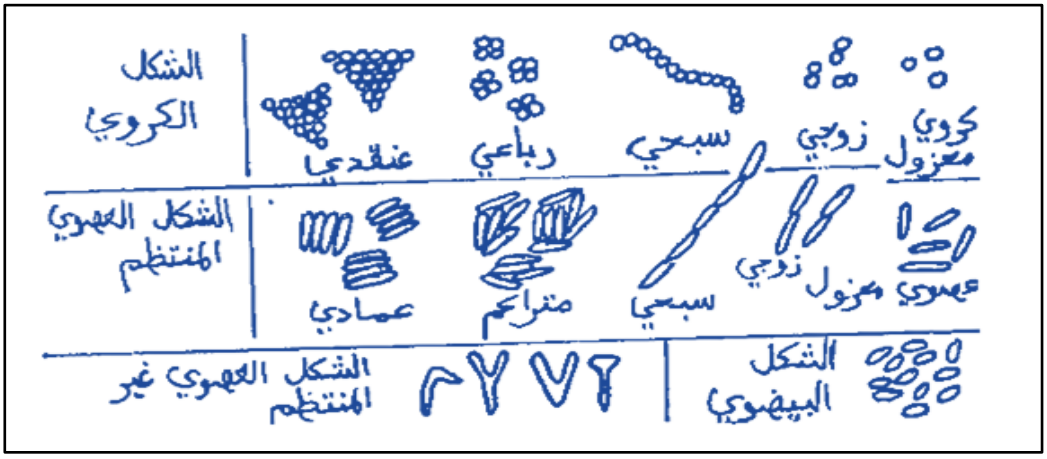
الدراسة المورفولوجية للمستعمرات البكتيرية: الفحص العياني للمزارع البكتيرية هو أول فحص يتم إجراؤه من العزلة بعد الحضانة. يعتمد ظهور المستعمرات على الوسط المستخدم ومدة الحضانة ودرجة الحرارة. لا يمكن وصفه بشكل صحيح إلا من المستعمرات المعزولة جيدًا. يمكن أن تظهر المستعمرة على سطح وسط استنبات الجراثيم الهوائية، أو تكون عميقة للجراثيم اللاهوائية. توجد عدة أشكال ومظاهر مختلفة وألوان متنوعة للمستعمرات البكتيرية على الاوساط الصلبة، فمنها التي تفرز أصبغة منتشرة على الوسط الغذائي، ....

أ. الشكل

يمكن أن تظهر الأنواع البكتيرية في شكل خلايا معزولة منفصلة أو في مجموعات مميزة تختلف وفقًا للأنواع: الارتباط في أزواج، في مجموعات منتظمة، في سلاسل، في أربع (رباعي) (الشكل 7 والجدول 3).

- البكتيريا ذات الشكل المستدير أو المكورات المعزولة، في سلسلة، في مجموعات (عدد متغير من الخلايا): المكورات العنقودية *Staphylocoques*، المكورات العقدية *Streptocoques*، إلخ.
- البكتيريا ذات الشكل الممدود أو العصيات المعزولة، في سلاسل أو عناقيد، متغيرة الطول والقطر: *E.coli*، *Salmonella*، *Bacillus*.
- البكتيريا الحلزونية: *spirilla*، *spirochetes* ، مثل *Treponema*.
- مجموعة معينة من البكتيريا ذات الشكل الخيطي تشبه العفن: الفطريات الشعاعية *Actinomycètes* .

اذا تأخذ الخلية البكتيرية شكل جد متغير: خلايا كروية، عصوية، بيضوية، مغزلية، واوية، لولبية، على شكل الحرف *V، T، Y ...*

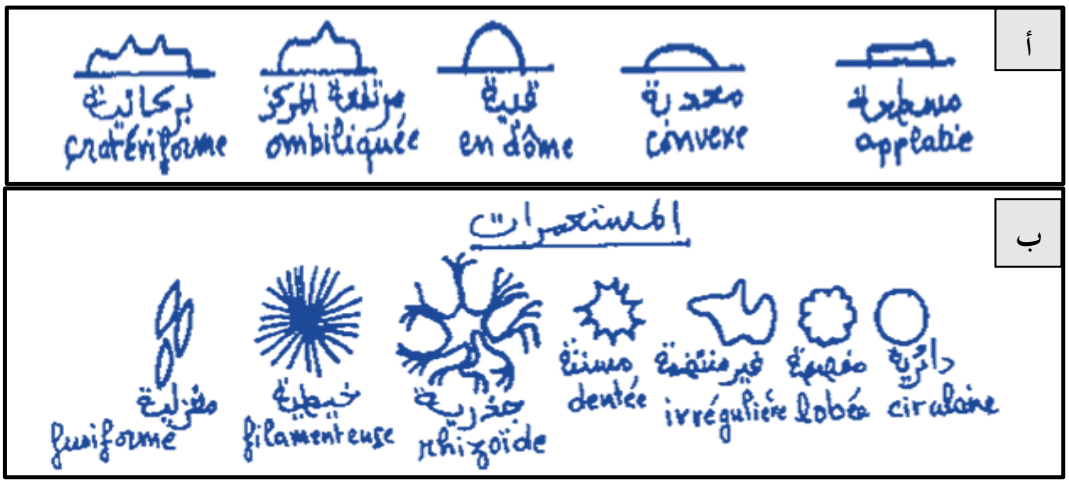


الشكل 7 : أشكال وتجمعات المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب

الجدول 3: أشكال وتجمعات المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب

Formes sphériques : coques	Formes allongées
✶Forme ronde : ● Ex. : *Staphylococcus* ✶Forme ovale (ovoïde) : ● Ex. : *Streptococcus*	✶ Formes droites : court ■ Long ▬ épais ■ fin ▬ Bouts ronds ▬ bouts carrés ■ Coccobaccile ● Fusiforme ◆ ✶ Formes particulières ➢ Forme incurvée ⌒) ex : *Vibrio* ➢ Forme spiralée ∿ ex : *Treponema*
✶Mode de groupement : ➢ isolé ● ● ➢ par deux (diplocoques) ●● ➢ En flamme de bougie ●● ex. : *Streptococcus pneumoniae* ➢ En grain de café ●● ex. : *Neisseria* ➢ Par quatre : tétrade ex : *Micrococcus* ➢ En amas ➢ En chaînette	✶ Modes de groupement : ➢ isolés ➢ diplobacille ➢ En amas ➢ En chaînette ➢ En palissade

خلال النظر من الأعلى والنظر من جانب الطبق بتري، مجموعة من التضاريس والاشكال يمكن للمستعمرات الظهور (الشكل 8).



الشكل 8: أشكال المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب من الجانب (أ) ومن الأعلى (ب)

ب. السطح

يمكن أن يكون سطح المستعمرة البكتيرية أملس او خشن كما موضح في الصورة (الشكل 9).

الشكل 9: سطح المستعمرات البكتيرية على الوسط الصلب

ت. التعتيم

يمكن أن تصنف المستعمرات البكتيرية المعزولة حسب درجة التعتيم الى:

- معتم: لا تدع الضوء يمر.
- شبه او نصف شفافة: تدع الضوء يمر ولكن لا يمكنك رؤية الأشكال من خلالها.
- شفافة: تدع الضوء يمر ويمكنك رؤية الأشكال من خلالها.

ث. التناسق consistance

في وقت أخذ العينات، من الممكن تقييم ما إذا كانت المستعمرات دهنية أو كريمية أو جافة أو حتى مخاطية.

ج. اللون والصباغ

لا تحتوي العديد من المستعمرات على لون محدد جيدًا (أبيض، رمادي). من ناحية أخرى، تنتج بعض البكتيريا صبغة غير قابلة للذوبان تعطي المستعمرة مظهرًا مميزًا للغاية (وردي، أصفر، أحمر)، بينما ينتج البعض الآخر صبغة قابلة للذوبان تنتشر وتلون الوسط. من خلال الجمع بين المعايير الموصوفة سابقًا، يمكن تمييز ثلاثة أنواع من المستعمرات:

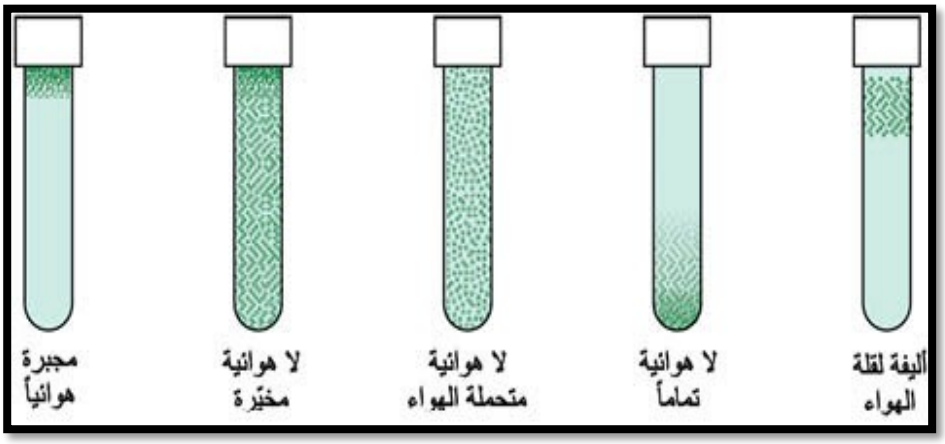
- مستعمرات S (أملس) (smooth-lisse): مستعمرات ذات سطح أملس وحواف منتظمة، مقببة، ذات قوام كريمي وتعطي معلقات متجانسة.

- مستعمرات R (خشنة) (rough- rugueux): مستعمرات ذات سطح خشن وحواف مسننة ومسطحة وذات قوام جاف وتعطي معلقات غير متجانسة.

- المستعمرات M (مخاطية) (muqueuse): مستعمرات ذات سطح أملس وحواف منتظمة، مقببة، وتعطي معلق غير متجانس.

II.2.1.أشكال المستعمرات البكتيرية على الوسط السائل

تستخدم مرق المغذيات أيضًا في زراعة البكتيريا. في المرق، ينتج عن النمو الميكروبي ظهور الغيوم أو البريق، لكن المظهر يختلف باختلاف الأنواع. تتميز بعض البكتيريا تعكر متجانس، غشاء على السطح أو راسب في قاع الوسط السائل (الشكل 10).



الشكل 10: اشكال المستعمرات البكتيرية في وسط سائل

II.1.3. حجم الخلية البكتيرية

لمعظم البكتيريا طول يتراوح ما بين 1 و 5 ميكرون و عرض يتراوح ما بين 0.5 إلى 2 ميكرون. لكنه توجد بعض الحالات الاستثنائية مثل:

- الميكروبلازما و الكلاميديا: 0.20 إلى 0.25 ميكرون.
- البكتيريا اللولبية: 15 إلى 30 أو أحيانا أكثر من 250 ميكرون (الجنس *Spirochaeta*).
- أكبر بكتيريا معروفة هي *Epulopiscum fishelsonii* أكثر من 600 ميكرون.

يمكن قياسه باستخدام مسطرة متدرجة للمستعمرات الكبيرة. من الممكن استخدام المجهر بأدنى نسبة تكبير لقياس حجم المستعمرات الصغيرة باستخدام ميكرومتر العدسة.

II.2. بنية الخلية البكتيرية

تتكون الخلية البكتيرية من عضيات أساسية وعضيات اختيارية. العضيات الأساسية هي الجدار، الغشاء البلازمي، السيتوبلازم، الكروموزوم والريبوزومات. أما العضيات الاختيارية فهي الكبسولة، الأهذاب، الأسواط، حوامل الأصبغة والمكتنفات السيتوبلازمية.

II.1.2. الجدار الخلوي

جميع الطلائعيات بدائية النواة لها جدار، باستثناء الميكوبلازمات و Thermoplasmatales. يمثل الجدار من 15 إلى 30 من الوزن البكتيري الجاف. له دور واقي ويعطي الشكل المميز للخلية. تسمح مقاومته بالحفاظ على ضغط أسموزي داخلي أعلى من الوسط الخارجي، وترجع متانته وتماسكه إلى تركيبته الكيماوية. جدران البكتيريا والبكتيريا الأثرية ذات تكوين مختلف:

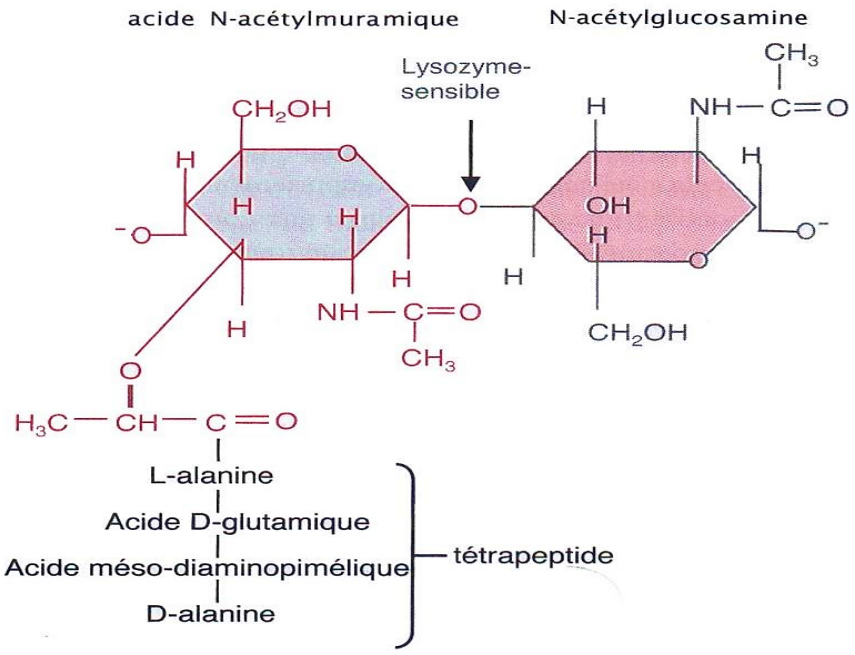
البكتيريا: العنصر الهيكلي الرئيسي لجدار البكتيريا هو مركب جزيئي ضخم يسمى "ببتيدوغليكان أو مورين أو ميوكوببتيد". بالإضافة إلى الببتيدوغليكان، يحتوي جدارها على مكونات أخرى تختلف باختلاف الأنواع. من بين هذه المكونات، نلاحظ: عديدات السكاريات الدهنية (LPS) وأحماض تيكويك وأحماض دهنية وهي مركبات حصرية للبكتيريا.

البكتيريا الأثرية: جدارها خالي من peptidoglycan، والذي تم استبداله ببنية معقدة تسمى "pseudopeptidoglycan". هذا الأخير خالي من حمض Nacetyl Muramic، تم استبداله بحمض N-acetyl talosaminuronic. بالإضافة إلى أنه لا يحتوي على الأحماض الأمينية من سلسلة D الخاصة بالبيبتيدوغليكان.

أ. المكونات الأساسية وبنية الببتيدوغليكان

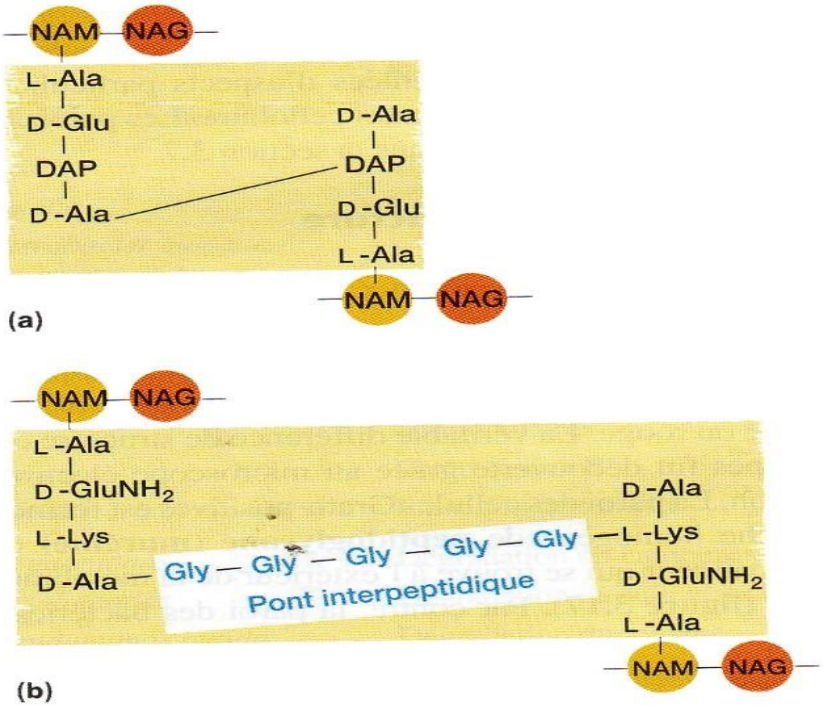
إنه مركب جزيئي ذو تركيبة كيميائية معقدة وبنية منتظمة ومتكررة. الببتيدوغليكان عبارة عن بوليمر غير متجانس، يتكون من سلاسل خطية متناوبة من مشتقين من الكربوهيدرات : N-acetyl glucosamine و N-acetyl muramic acid ، المرتبطين عند β (1-4) بواسطة جسور جليكوسيدية. ترتبط هذه السلاسل السكرية مع بعضها البعض بواسطة رباعي الببتيدات لمجموعة صغيرة من الأحماض الأمينية المكونة من: L- ألانين و D- ألانين ، m-diaminopimelic حمض ، D-glutamicحمض. من بين هذه الأحماض الأمينية، هناك ثلاثة أحماض خاصة بالببتيدوغليكان ولا تدخل

في تكوين أي بروتين: D-alanine، D-glutamic acid، m-diaminopimelic acid. حمض N-acetyl muramic هو مركب بكتيري على وجه التحديد (الشكل 11). يمكن للجدار أن يحتوي على مركبات أخرى مختلفة حسب الانواع (سكريات: غلوكوز، غلاكتوز، رامنوز، أرابينوز، كزيلوز، أحماض أمينية أخرى وبعض الدهنيات ....الخ).



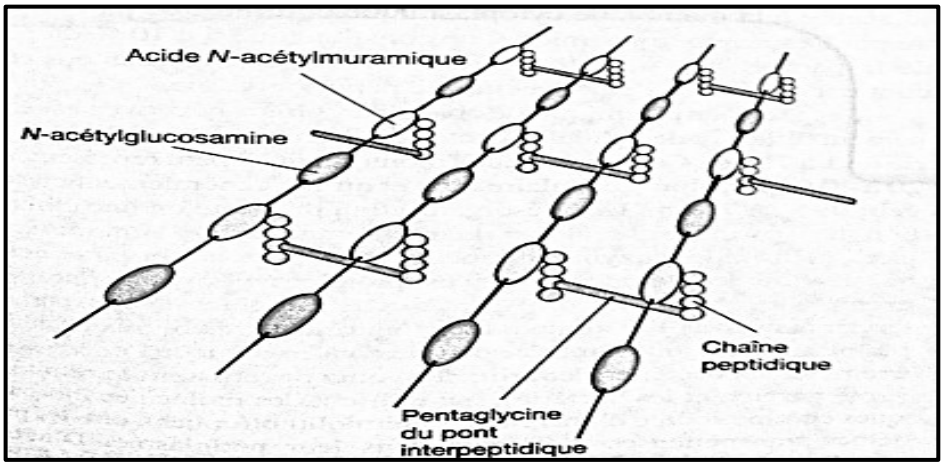
الشكل 11: المكونات الكيميائية الرئيسية لجدار الخلية (الببتيدوغليكان).

تتكون الوحدة الفرعية الببتيدوغليكان من NAG وNAM بالتناوب. يرتبط رباعي الببتيد الذي يتكون من الأحماض الأمينية L بالتناوب مع الأحماض الأمينية D بمجموعة الكربوكسيل في NAM. تحتوي العديد من البكتيريا على L-lysine في المركز الثالث بدلاً من حمض meso-diaminopimelic (الشكل). ترتبط سلاسل الببتيدوغليكان معًا بواسطة روابط بين الببتيد. غالبًا ما ترتبط مجموعة الكربوكسيل من D-alanine الطرفية ارتباطًا مباشرًا بالمجموعة الأمينية من حمض ثنائي الأمينوبيميلك؛ وفي بعض الحالات، يتم الاتصال عن طريق جسر بين الببتيد. يحتوي الببتيدوغليكان الموجود في معظم الخلايا سالبة الجرام على عدد أقل من الجسور الببتيدية (الشكل 12).



الشكل 12: جسور الببتيدوغليكان. (أ) الببتيدوغليكان مع ربط مباشر، وهو نموذجي لمعظم البكتيريا سالبة الجرام. (ب) الببتيدوغليكان مع جسر بين الببتيد، وهي بكتيريا إيجابية الجرام.

يظهر الببتيدوغليكان كشبكة حقيقية حيث يلعب حمض اللايسين وحمض الديامينوبيمليك دورًا هيكليًا مهمًا، وذلك بفضل قدرتها على التعاقد مع روابط الببتيد من خلال مجموعتي أمين. يوضح الهيكل المحدد للجدار البكتيري مقاومته الميكانيكية (الشكل 13).



الشكل13 : رسم تخطيطي لإرتباط الببتيدوغليكان (الجدار).

تتميز بنية الشبكة البوليمرية، التي تعطي الخلية صلابتها، بما يلي:

- B (1-4) بين NAG و NAM

- الترتيب الثابت للأحماض الأمينية التي تشكل رباعي الببتيد

- الجسر بين D- ألانين لرباعي ببتيد و L-lysine أو DAP لرباعي ببتيد مجاور

ب. بنية البكتيريا ذات الغرام الموجب وذات الغرام السالب

استنادا إلى الصبغة التي طورها كريستيان غرام في عام 1884، يبدو من الواضح أن البكتيريا تنقسم إلى مجموعتين رئيسيتين. تصبغ البكتيريا إيجابية الجرام باللون الأرجواني بينما تصبغ البكتيريا سالبة الجرام باللون الوردي أو الأحمر.

- صبغة غرام Coloration de Gram

في البداية يتم تحضير مسحة بكتيرية على شريحة ويتم تثبيتها بالحرارة فمعاملتها بالملونات التالية:

أولا: التلوين ببنفسجي جانسيان Violet de Gentiane أو البنفسجي البلوري Violet cristal (VG): هذا ملون ابتدائي قاعدي، كل البكتيريا تبدو بنفسجية.

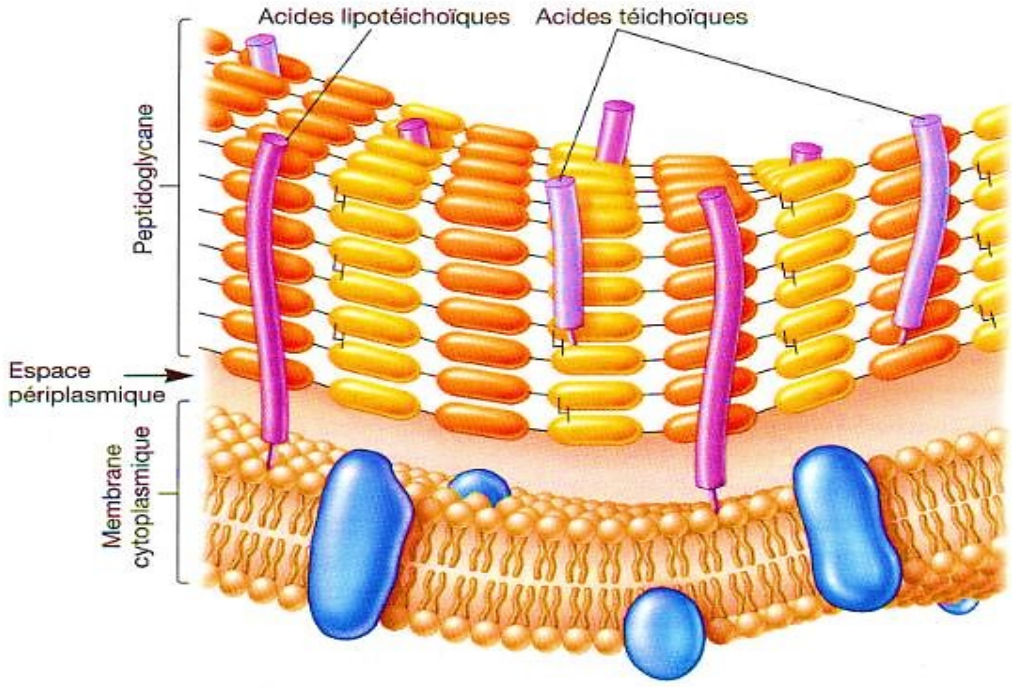
ثانيا: تعالج البكتيريا بمحلول لوغول Lugol (IK+I) "المثبت" يقوم بتثبيت (VG) داخل الخلية مشكلا بذلك معقد " اليود- VG".

ثالثا: يستعمل الكحول (أو الأستون) كمادة التمييز: ينفذ داخل الخلايا السالبة الغرام ويزيل اللون البنفسجي من هذه البكتيريا محللا بذلك معقد "اليود- VG". بينما يكون دخول الكحول في البكتيريا الموجبة الغرام أمرا صعبا، ولا يمكنه إزالة اللون فتبقى البكتيريا بنفسجية اللون.

رابعا: لإظهار الفرق بين النوعين من البكتيريا، يضاف ملون التضاد و هو ملون حامضي: الفوشين Fuschine أو السفرانين Safranine حيث يلون البكتيريا السالبة الغرام (غ –) باللون الوردي، بينما تبقى البكتيريا الموجبة الغرام (غ +) بنفسجية اللون.

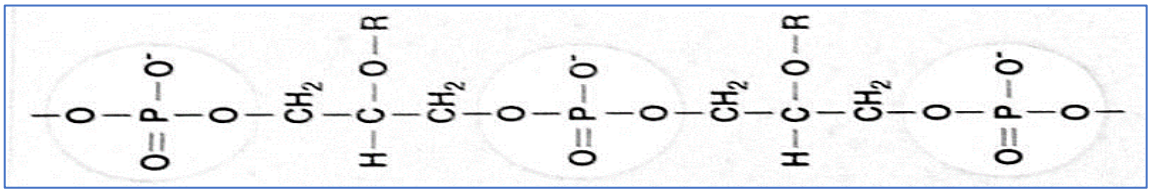
- **بنية جدار بكتيريا الموجبة الغرام.**

يتكون جدار الخلايا إيجابية الجرام من طبقة واحدة متجانسة من الببتيدوجليكان أو المورين بسمك 20 إلى و300 نانومتر مرتبة في حوالي عشرين طبقة متراكبة (30 إلى 70٪ من وزنها الجاف) والتي تقع خارج غشاء البلازما. بسبب هذا الببتيدوغليكان الأكثر سمكًا، تكون جدران البكتيريا إيجابية الجرام أقوى من جدران البكتيريا سالبة الجرام (الشكل 14).



الشكل14 : جدار البكتيريا موجبة الغرام.

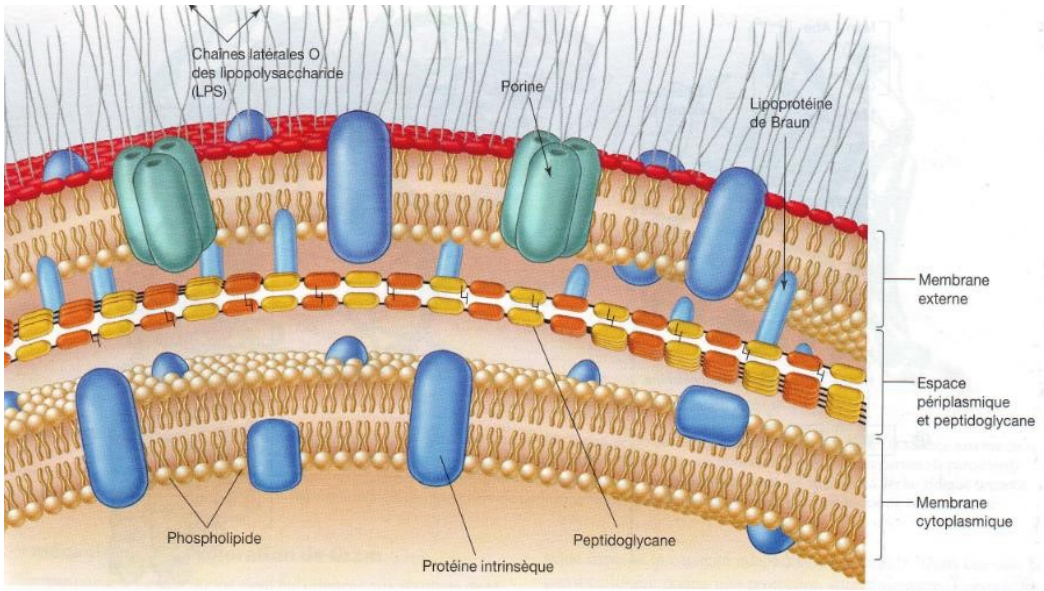
يحتوي الجدار على بروتينات، وهو فقير من الدهون ولكنه غني بالمكونات الثانوية: أحماض تيكويك acides teichoiques (الشكل 15) و أحماض تيكويك الدهنية acides lipoteïchuroniques تتمثل في: Polyribitol phosphate وPolyglycérol phosphate المرتبطة أحيانا بالغلوكوز، يرتبط بعضها تساهميًا بجليكوليبيدات الغشاء السيتوبلازمي. لا تمتلك البكتيريا إيجابية الجرام مساحة محيطية بين الجدار والغشاء واضحة، ولكن قد يكون لديها مساحة تحتوي على كمية قليلة نسبيًا من البروتين.



الشكل15 : هيكل حمض التيكويك: فوسفات + جلسرين + R (ألانين ، جلوكوز....)

- **بنية جدار بكتيريا السالبة الغرام**

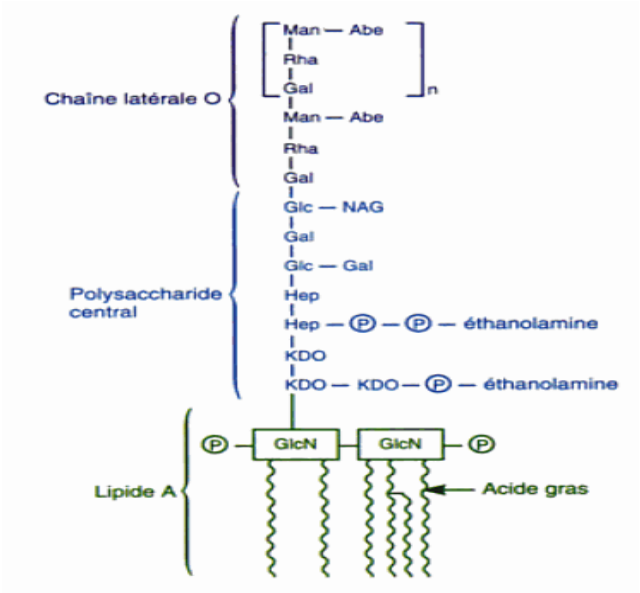
جدار البكتيريا سالبة الجرام معقد للغاية. يحتوي على طبقة من الببتيدوغليكان بسمك 2 إلى 7 نانومتر (أقل من 10٪ من الوزن الجاف للجدار) محاطة بغشاء خارجي سمكه 7 إلى 8 نانومتر (الشكل16). الطبقة الرقيقة من الببتيدوغليكان، تتموضع فوق الغشاء السيتوبلازمي ومحدودة من كلا الجانبين بالفضاء المحيط بالبلازمية. يحتوي هذا الفضاء على الإنزيمات المحللة، بروتينات النقل، وما إلى ذلك. يرتبط الغشاء الخارجي بالخلية بطريقتين. الأول هو البروتين الدهني الرئيسي (BRAUN). تتضمن آلية الارتباط الثانية العديد من مواقع الالتصاق التي توحد الغشاء الخارجي والغشاء السيتوبلازمي.



الشكل16 : جدار البكتيريا سالبة الغرام.

هناك عدة أنواع من البروتينات في الغشاء الخارجي، ولا سيما البورنات porine التي تنتج عن ارتباط 3 وحدات فرعية بقناة مركزية. تدور هذه الفتحات حول الغشاء الخارجي المنفذ على عكس الغشاء السيتوبلازمي. تتكون الطبقة الداخلية من الدهون الفسفورية المشابهة لتلك الموجودة في الغشاء السيتوبلازمي اما الطبقة الخارجية تتكون أساسا من العديدات السكاريد الدهنية.

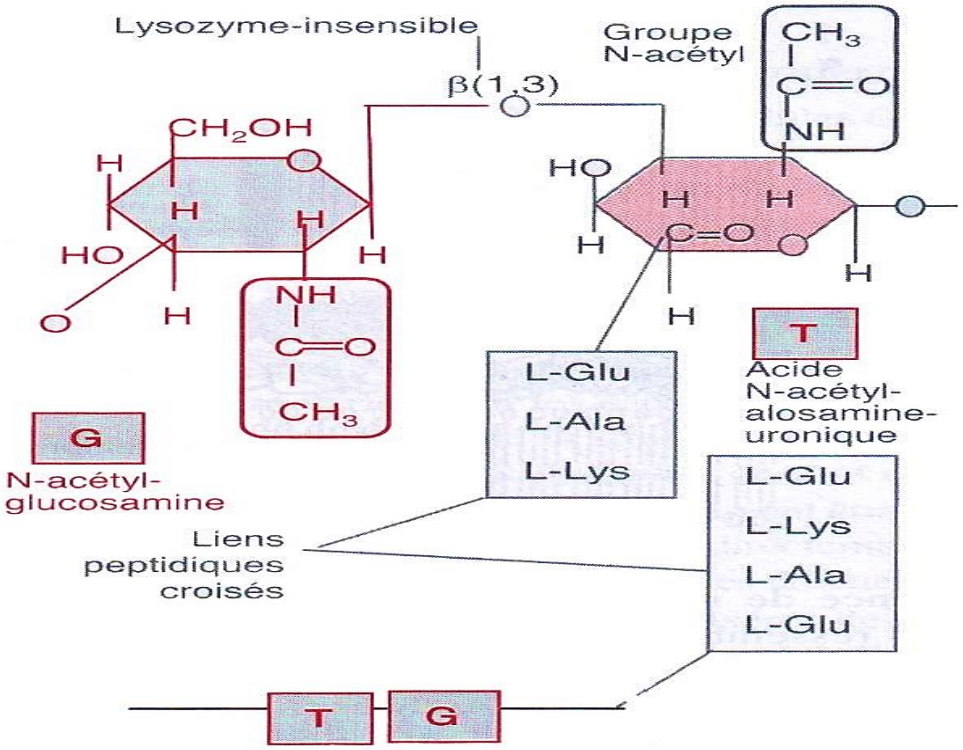
العناصر الأكثر تميزًا في الغشاء الخارجي هي عديدات السكاريد الدهنية (LPS)، والتي تتكون من ثلاثة أجزاء: الدهون A، والسكريات المركزية والسلسلة الجانبية O(الشكل 17). تتكون السلسلة الجانبية O أو المستضد O من عدد قليل من السكريات المحددة (مكونة من 4 إلى 6 كربوهيدرات) ويختلف تركيبها حسب السلالات البكتيرية يوهي مسؤولة عن القوة المناعية للبكتيريا سالبة الغرام. يتم التعرف بسهولة على السلاسل الجانبية O بواسطة الأجسام المضادة المضيفة. يساعد الدهن A على استقرار بنية الغشاء، ويتكون من عدة وحدات د-جلوكوزامين-فوسفات، مستبدلة بأحماض هيدروكسي الدهنية.. كما أنه سام، وبالتالي يمكن أن يكون بمثابة سم داخلي ويسبب بعض الأعراض التي تظهر في حالات العدوى بالبكتيريا سالبة الجرام.



الشكل 17: هيكل عديدات السكاريد الدهنية(LPS)

ت. حالة البكتيريا الأثرية

الجدار الخلوي للبكتيريا الأثرية يختلف عن جدار البكتيريا، لكن يمكنه أن يتلون بصبغة غرام ويظهر أيضا بكتيريا ذات غرام موجب وبكتيريا ذات غرام سالب، حيث المركب الأساسي للجدار هو pseudopeptidoglycan". (الشكل 18). تمتلك البكتيريا الأثرية الموجبة الغرام جدار سميك ومتجانس من pseudopeptidoglycan في حين يتكون فقط من الأحماض الأمينية L، تكرارات NAG وحمض N-acetyl-talosaminuramic (NAT) ترتبط بروابط سكرية B (1-3) وغياب NAM. البكتيريا الأثرية السالبة الغرام لاتحتوي على الغشاء الخارجي ولا على بيبتيدوغليكان، لكن تحتوي على طبقة سطحية متكونة من تحت وحدات بروتينية أو دهنية بروتينية. هذه الاختلافات في التركيب تجعل هذه العتائق مقاومة للمضادات الحيوية من عائلة البيتا لاكتام والليزوزيم.



الشكل 18: التركيب الكيميائي pseudopeptidoglycan من البكتيريا الأثرية.

ث. دور الجدار الخلوي

الدور الأول للجدار: الحفاظ على شكل البكتيريا

الدور الثاني للجدار: يضمن الجدار الحماية المادية للخلايا ضد العوامل الخارجية ويحافظ على الغشاء السيتوبلازمي غير المقاوم من الانفجار تحت تأثير الضغط الاسموزي (لأن التركيز العالي من المستقلبات داخل الخلية >> يدخل الماء). مما يؤدي الى عدم انفجار البكتيريا.

الدور الثالث للجدار: خصائص تحديد بنية المستضد antigéniques. عند البكتيريا غ +، تكون سكريات الميورين وأحماض التيكويك هي المسؤولة عن الخصائص المستضدية Caractères antigéniques. أما عند البكتيريا غ – فالجدار يملك "مستضدات جسمية 0" Antigènes somatiques 0 والتي هي أصلا LPS الموجودة في الغلاف الخارجي.

الدور الرابع للجدار: السماح بتثبيت العاثيات bactériophages . يتعرفون على المستقبلات الموجودة في الببتيدوغليكان الجرام (+) أو الغشاء الخارجي للجرام (–).

الدور الخامس للجدار: المشاركة في التنقل. في الواقع، يتم زرع الأسواط في الغشاء السيتوبلازمي ولكن لا يمكن أن تعمل في غياب الببتيدوغليكان.

الدور السادس للجدار: النفاذية. يسمح الجدار للجزيئات الصغيرة مثل الماء والأملاح المعدنية أو المستقلبات البسيطة بالمرور. من ناحية أخرى، يكون أكثر أو أقل نفاذاً لبعض المذيبات (مثل الكحول). تسمح هذه النفاذية لهياكل الغشاء الأساسية، شبه النفاذية، بلعب دورها في التحكم الانتقائي في تبادلات الركائز والمستقلبات مع البيئة المحيطة حسب الحجم.

ج. البناء الحيوي لجدار البكتيريا

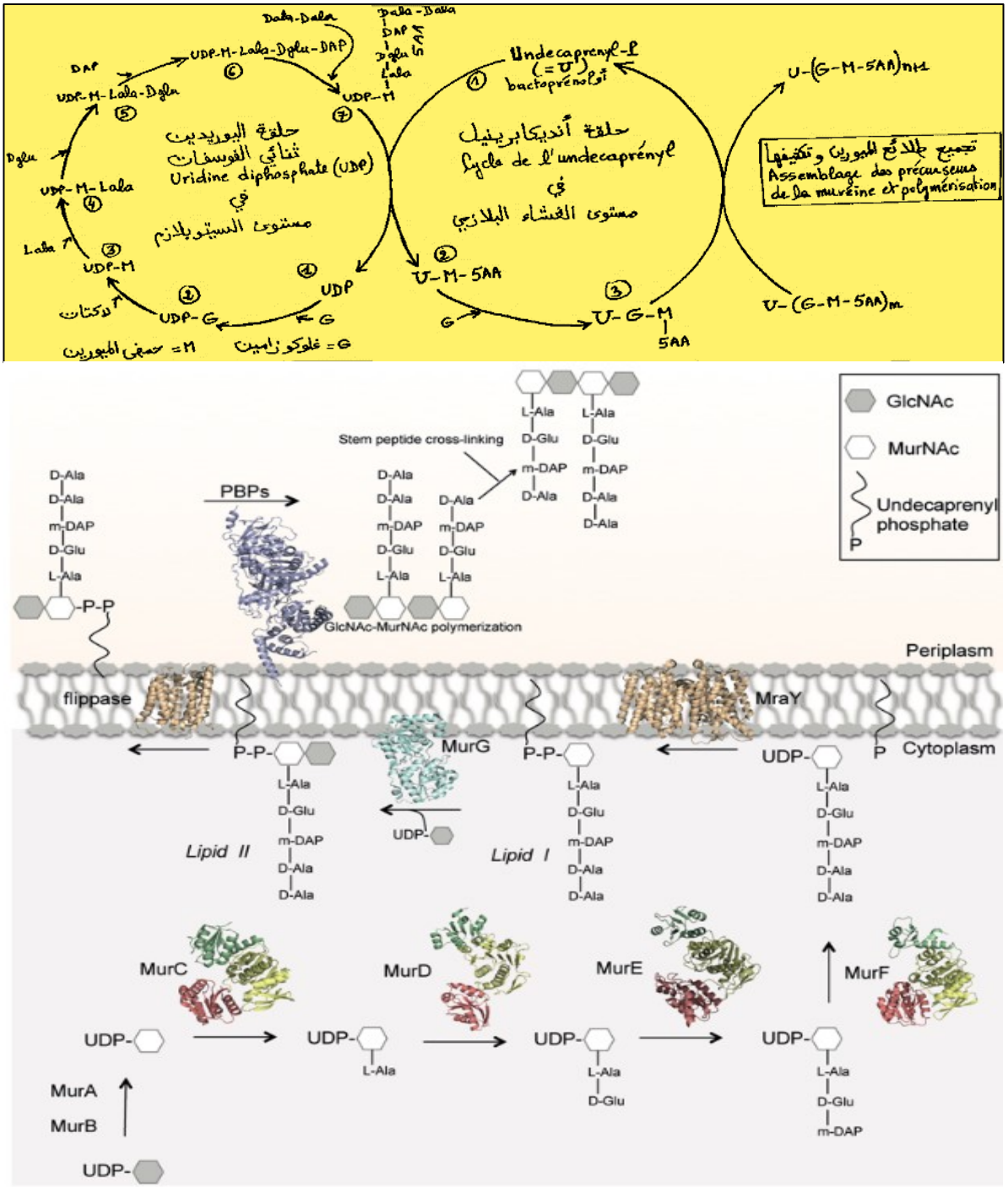
يتكون الجدار البكتيري بشكل أساسي من ببتيدوغليكان (أو مورين)، وهي شبكة ثلاثية الأبعاد تتكون من بلمرة سلاسل من السكريات الثنائية ((N-acetylglucosamine (NAG و N-acetylmuramic acid (NAM)) مرتبطة بوصلات احماض امينية. وتتمثل وظيفتها في إعطاء شكلها للخلية والحفاظ على الضغط الاسموزي الداخلي. يتم تصنيع عناصر تكوين الببتيدوغليكان في أقسام خلوية مختلفة: السيتوبلازم والغشاء. وجد البروتينات المشاركة في التخليق الحيوي للببتيدوغليكان في السيتوبلازم والغشاء وجدار الخلية البكتيرية. تتحد البروتينات المشاركة في التخليق الحيوي للببتودوغليكان (PG) في مجمعات متميزة متعددة البروتينات تنظم كل من انقسام الخلايا والاستطالة؛ يمكن أن يؤدي تثبيطها أو تحريرها إلى عيوب في شكل الخلية وغالبًا ما تؤدي إلى تحللها وموتها. تحدث عملية متعددة الخطوات التي تؤدي إلى تخليق PG في ثلاث حجرات خلوية مختلفة، تتضمن في الغالب إنزيمات تعمل بالتتابع (الشكل 19).

تحدث المرحلة الأولى من التخليق الحيوي PG في السيتوبلازم، وتتضمن تخليق UDP-N-acetylmuramyl-pentapeptide (UDP-MurNAc-pentapeptide)من UDPN-acetyl-glucosamine (UDP-GlcNAc) عبر عمل الإنزيمات MurA و MurB.

المرحلة الثانية، التي تحدث في الوجه الداخلي للغشاء السيتوبلازمي، تتضمن نشاط إنزيم MraY الذي يحفز نقل UDP-MurNAc إلى ناقل دهني، فوسفات أوندي كابرينيل phosphate d'undécaprényle، لتكوين ليبيد I

تتضمن الخطوة هيولي الأخيرة الربط بين الدهون الأول وجزيء GlcNAc بواسطة انزيم غشاء المرتبطة MurG، وتشكل الدهون II والذي يتم نقله في النهاية إلى الجانب المحيط بالخلية بواسطةflippases. أخيرًا، في محيط البلازما،

البروتينات الملزمة للبنسلين (PBPs) تدمج GlcNAc-MurNAc-pentapeptide في طبقة PG من خلال تفاعلات الارتباط بالجليكوزيل glycosylation وتفاعلات الببتيدات transpeptidation.



الشكل 19 : عملية البناء الحيوي لجدار البكتيريا

ترتبط البروتينات المشاركة في عملية التخليق الحيوي لـ PG ضمن مجمعات متعددة البروتينات التي تنظم انقسام الخلايا واستطالتها. يمكن أن يؤدي تثبيط أو خلل تنظيم هذه البروتينات إلى عيوب في شكل الخلية وغالبًا ما يؤدي إلى تحلل الخلايا وموتها:

- ✓ **MurA**و **MurB** مسؤول عن توليد السلائف الأولية UDP-N-acetyl muramic acid .
- ✓ **Mur ligases** (C و D و E و F) يحفز الإضافة التدريجية لخماسي الببتيد إلى (UDP-NAM).
- ✓ **MraY** يقوم بتثبيت وحدة UDP - NAM-pentapeptide على الغشاء الداخلي من خلال phosphate d'undécaprényle ومنه تشكيل الدهون I.
- ✓ **MurG** يشارك في تكوين الدهون II.
- ✓ **flippases** يقوم بقلب الدهون II إلى الجانب المحيط بالخلية.

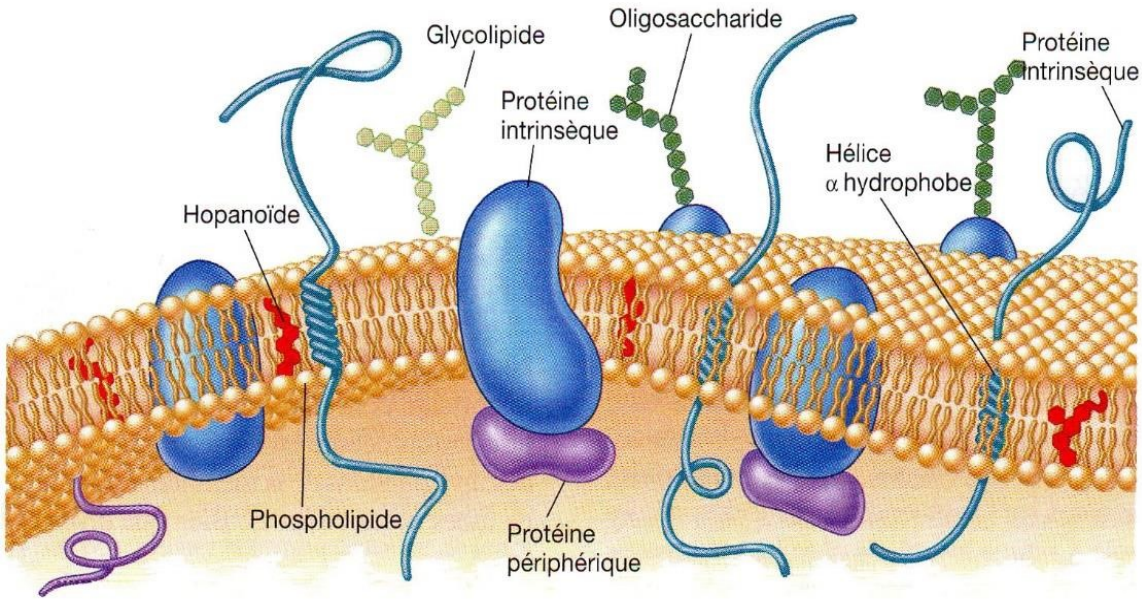
II.2.2. الغشاء البلازمي

الأغشية ضرورية للغاية لجميع الكائنات الحية، فهي تضمن تفاعل الخلايا مع بيئتها. تعتبر الأغشية السيتوبلازمية في بدائيات النوى ذات أهمية خاصة لأنها يجب أن تؤدي عددًا كبيرًا من الأدوار المختلفة. بالإضافة إلى احتوائه على السيتوبلازم، فهو أيضًا بمثابة حاجز نفاذ انتقائي ويعد موقع الوظائف الحيوية. وأخيرًا، تحتوي الأغشية على جزيئات مستقبلات خاصة تسمح للبكتيريا باكتشاف المواد الكيميائية الموجودة في بيئتها والاستجابة لها.

أ. بنية وتركيبة الغشاء البلازمي

الغشاء السيتوبلازمي هو عنصر هيكلي مائع يحيط بالسيتوبلازم ويقع تحت الجدار البكتيري، سمك 7.5 إلى 8 نانومتر ويتكون من 60 إلى 70٪ بروتين و 30 إلى 40٪ دهون. على عكس الكائنات الراقية، يحتوي الغشاء على كربوهيدرات أقل بكثير، بروتينات الغشاء أكثر وفرة في الأغشية البكتيرية و لا يحتوي أبدًا على ستيرولات (باستثناء

الميكوبلازما). يتميز بأنه هيكل منظم وغير متماثل ومرن وديناميكي. النموذج الأكثر قبولًا لبنية الغشاء هو نموذج "الفسيفساء السائلة" الذي وضعه سينجر ونيكلسون (الشكل20)، والذي يقترح أن الأغشية عبارة عن طبقات دهنية ثنائية تطفو فيها البروتينات. توجد مواد تدعى الأوبان Hopanes (تشبه الستيرولات) هي التي تعطي الصلابة للغشاء البلازمي.



الشكل20 : بنية الغشاء السيتوبلازم البكتيري.

معظم الدهون الغشائية لها بنية غير متماثلة ذات نهاية قطبية ونهاية غير قطبية، وتسمى amphipathic. تتفاعل أطرافها القطبية مع الماء وبالتالي فهي محبة للماء، ونهاياتها غير القطبية الكارهة للماء غير قابلة للذوبان في الماء وتميل إلى الارتباط مع بعضها البعض. الأسطح الخارجية للطبقة الدهنية الثنائية محبة للماء بينما يتم دفن الأطراف الكارهة للماء بالداخل، محمية من الماء. تشكل الدهون الغشائية الجزء الأكبر من الدهون الخلوية وتتكون أساسًا من الدهون الفوسفاتية: فوسفاتيديل-جلسرين و / أو فوسفاتيديل-إيثانولامين، مرتبة مع مجموعاتها المحبة للماء (رأسها القطبي

المكون من مجموعة فوسفاتية وغليسيرول) مكشوف على السطح، ومقاوم للماء سلاسل (سلاسل أحماض دهنية كارهة للماء: ذيل غير قطبي) موجهة إلى الداخل.

تنتشر البروتينات على كامل الغشاء السيتوبلازمي، ونميز، البروتينات الطرفية أو المحيطية (20-30%) الموجودة على السطح الداخلي أو على السطح الخارجي للغشاء، والتي يمكن أن تعمل كمحفزات إنزيمات للتفاعلات الكيميائية (إنزيمات السلسلة التنفسية، ونزعات الهيدروجين والإنزيمات المساعدة المرتبطة بها: + NAD، FAD ، السيتوكروم ، السيتوكروم أوكسيديز. توجد هناك إنزيمات أخرى تشارك في تخليق الدهون وتكرار الحمض النووي). النوع الآخر هو البروتينات الداخلية (70-80%) (المتكاملة) المزروعة في طبقة ثنائية الفوسفوليبيد. يمكن لهذه البروتينات عبور الغشاء وتشكل بعض هذه البروتينات قنوات لنقل المواد .

ب. دور الغشاء البلازمي

الغشاء السيتوبلازمي مسؤول عن تبادل المواد بين البكتيريا وبيئتها. يعمل كحاجز شبه نفوذ يمنع الخروج الحر للمكونات السيتوبلازمية وكذلك دخول المركبات خارج الخلية. يقوم الغشاء بثلاث وظائف رئيسية: النقل والتنفس والتركيب الحيوي للجزيئات الكبيرة.

- ✓ **في النقل** : يسمح بمرور الجزيئات المحبة للدهون ويمنع مرور الجزيئات المحبة للماء. يلعب الغشاء البلازمي دور حاجز مانع لتسرب المركبات الداخلية ومن ناحية أخرى يمنع الدخول الفوضوي للمكونات الخارجية إلى الخلية. الغشاء البلازمي غشاء نصف نفوذ، يسمح بدخول العديد من المواد الاستقلابية (أحماض أمينية، سكريات، ايونات...) بصفة انتقائية ونوعية.
- ✓ **في التنفس:** يعتبر الغشاء البلازمي بمثابة العضية المطابقة بنيويا ووظيفيا لميتوكوندريا خلايا حقيقيات النوى. يلعب الغشاء دورًا مهمًا في تكسير العناصر الغذائية وإنتاج الطاقة. إنه موقع توطين إنزيمات الجهاز التنفسي لسلسلة

الفسفرة أكسدة-ارجاع، السيتوكرومات وإنزيمات الدورة الكربوكسيلية. إنه أيضًا موقع لأنشطة التمثيل الضوئي، ويتكون من أصباغ التمثيل الضوئي ومراكز التفاعل.

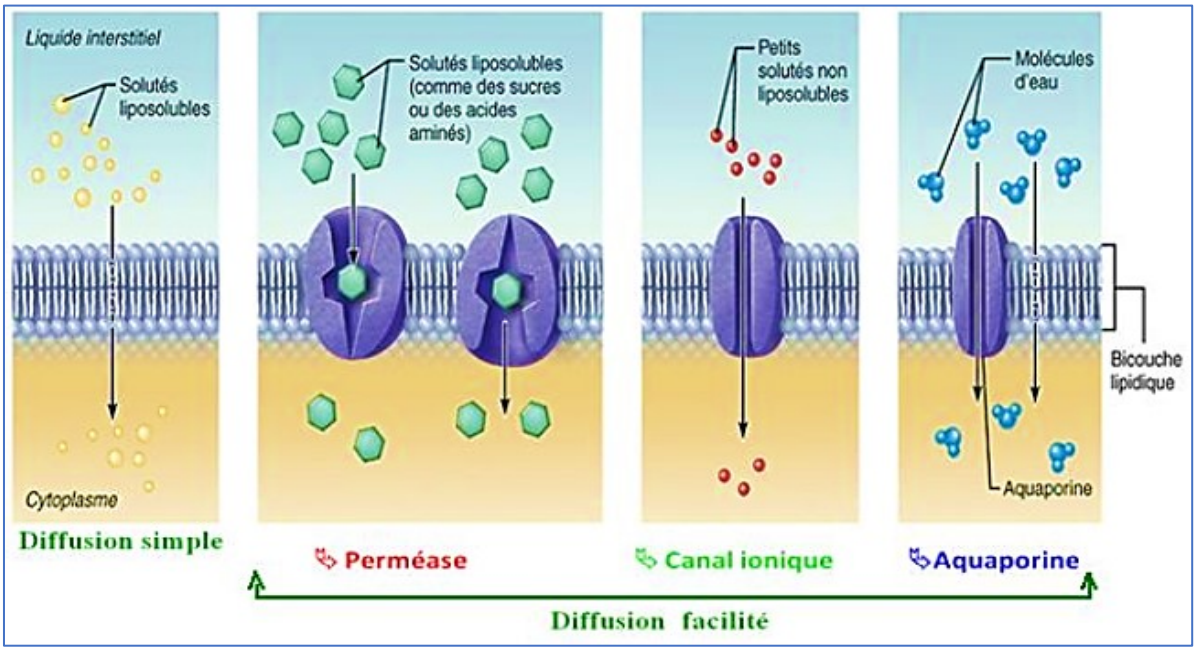
✓ **في الأيض البنائي:** يشكل الغشاء دعامة للعديد من الأنزيمات التي تتدخل في اصطناع البروتينات، الفوسفوليبيدات، الميورين وأحماض التيكويك. كما له دور في تضاعف الكروموزوم، أثناء الانقسام الخلوي، ينتج عن تطاول الغشاء البلازمي، انفصال الكروموزومين الجديدين المرتبطين بالغشاء.

ت. نقل الغشائي للمغذيات في الخلايا

يشكل الغشاء حاجزًا بنفاذية انتقائية أو تفاضلية، أي أنه يسمح فقط لمواد معينة بالمرور، مثل العناصر الغذائية، باستثناء العديد من العناصر غير المرغوب فيها ومرور الأيونات من أجل الحفاظ على التركيز الأيوني الأمثل. في نفس الوقت، فإنه يحتفظ بالبروتينات الخلوية القيمة والجزيئات الأخرى مع ترك الفضلات. يسمح الغشاء بنقل الجزيئات داخل وخارج الخلية. تمر بعض الجزيئات بسهولة (جزيئات كارهة للماء (دهون، هيدروكربونات، أحماض دهنية، فيتامينات تذوب في الدهون)، غازات (CO_2، O_2) وجزيئات صغيرة (ماء ، ببطء))، بصعوبة أو لا تمر على الإطلاق (الجزيئات المحبة للماء، الجزيئات الكبيرة (الكربوهيدرات، الأحماض الامينية) والأيونات (Na، K)). يعتمد دخول وخروج المواد على عدة عوامل: حجم وطبيعة الجزيئات المتبادلة وكذلك تركيزاتها داخل الخلايا وخارجها، ودرجة الحموضة والقوة الأيونية. تحتوي البكتيريا على عدة أنظمة (وسائل) لنقل الغشاء من الركائز، والتي هي في معظمها بروتينات نقل محددة تسمى بيرميز Perméases. يوجد نظامان رئيسيان لنقل المواد: سلبي ونشط.

1. **النقل السلبي (transport passif)**

تحدث بدون استهلاك للطاقة، وتحدث على طول تدرج التركيز. يسمح للمادة بالمرور عبر الغشاء من وسط عالي التركيز في هذه المادة إلى الوسط الأقل تركيزًا (الشكل21).



الشكل21 : رسم تخطيطي يلخص النقل السلبي

✓ **الانتشار البسيط:** المرور المباشر عبر الغشاء. تنتشر الجزيئات الصغيرة المحايدة مثل H_2O و CO_2 و O_2 والكحول والمواد العضوية منخفضة الجزيئية الكارهة للماء عبر الغشاء. سرعة الانتشار تعتمد على:

- **انخفاض الكتلة الجزيئية والحجم:** فكلما كانت أصغر، زادت سرعة انتشارها، يمكن فقط للجزيئات الصغيرة ذات الكتلة الجزيئية المنخفضة عبور الغشاء.

- **عدم وجود قطبية:** لذلك يجب أن يكون الجزيء كارهًا للماء (محب للدهون) مثل الغازات (الأكسجين وثاني أكسيد الكربون وأكسيد النيتروجين)، إذا كان محبًا للماء (قطبي)، يجب أن يكون صغيرًا بدرجة كافية (عمليًا: إيثانول، ميثانول إلخ).

– **غياب الشحنة:** الجزيء المشحون، حتى لو كان صغير الحجم للغاية، لا يخترق طبقة الدهون الثنائية.

- **تدرج التركيز:** تعتمد حركة الجزيء على الاختلاف في التركيز على جانبي الغشاء.

- **درجة الحرارة:** كلما ارتفعت درجة الحرارة، كان الانتشار أسرع.

ومع ذلك، يكون الانتشار السلبي للجزيء عبر غشاء البلازما ممكنًا إذا كان الجزيء قابل للذوبان في الدهون، وصغيرًا بما يكفي للمرور عبر مسام الغشاء. في حالة انتشار الماء دون مساعدة، نتحدث عن الاسموز.

الأسموز (osmose): انتشار المذيب، على سبيل المثال الماء، من خلال غشاء مع نفاذية انتقائية يسمى الأسموز. إذا هو ظاهرة فيزيائية سلبية تحدث فقط إذا تم فصل المحاليل بواسطة غشاء شبه منفذ. تعبر جزيئات الماء فقط الغشاء من المحلول منخفض التوتر (الأكثر تمييعًا) إلى المحلول مفرط التوتر (المحلول الأكثر تركيزًا) حتى تصبح المحاليل متساوية التوتر (بنفس التركيزات). نظرًا لأن الماء غير قابل للذوبان في الدهون، فمن المستحيل عمليًا أن يعبر مباشرة طبقة الفسفوليبيد من الغشاء السيتوبلازمي. يتم المرور الحر للمياه من خلال البروتينات المتكاملة التي تعبر تمامًا طبقة الدهون المزدوجة: نحن نتحدث عن "مسام الغشاء". تشبه هذه البروتينات أو المسام القنوات الصغيرة التي يوحي شكلها بنفق يتم وضعه عموديًا عبر الغشاء السيتوبلازمي، وبالتالي، بحيث تسمح الفتحة المركزية للماء، وفي بعض الأحيان، لبعض الجزيئات الصغيرة الذائبة في الماء بالانتشار بحرية على جانبي الغشاء السيتوبلازمي.

✓ **الانتشار الميسر (Diffusion facilitée)**: هو المرور عبر الغشاء للجزيئات الكبيرة المشحونة في اتجاه تدرج التركيز، دون إنفاق الطاقة، بفضل ناقلات الغشاء المحددة. ترتبط بروتينات النقل على وجه التحديد بنوع من الجزيء؛ يُظهر هذا الارتباط حركيات قابلة للتشبع (جميع مواقع ربط الركيزة على بروتين النقل مشبعة بتركيزات عالية من الركيزة).

- **التحويل بمشاركة القنوات الأيونية**: يحدث النقل عبر الغشاء للأيونات (الكالسيوم، الصوديوم، البوتاسيون والكلور) من خلال القنوات الأيونية (الهياكل البروتينية التي تخترق الغشاء). أنها تشكل قناة الغشاء المحبة للماء (مملوءة بالماء). يتم تحديد انتقائية القنوات تجاه الأيونات من خلال التواجد في بروتينات قناة مركز ارتباط الأيون. يمكن أن تكون القنوات مغلقة أو مفتوحة (ميكانيكية وكيميائية وكهربائية).

- **النقل باستخدام الأكوابورينات (aquaporines)**: وهي بروتينات نقل خاصة بالماء، والتي تنتشر وفقًا لتدرجها.

- **النقل باستخدام البروتينات الناقلة عبر الغشاء (perméases)**. لكل مادة أو مجموعة من المواد هناك ناقل. يخضع البروتين لتغييرات توافقية تسمح له بالالتفاف حول المادة المنقولة ثم إطلاق المادة على الجانب الآخر من الغشاء الذي يعزلها عن تأثير المناطق غير القطبية في غشاء.

Permeases : عبارة عن بروتينات نقل تنقل الجزيئات المشحونة أو القطبية: السكريات الأحادية ، الأحماض الأمينية أو الفيتامينات. تقوم Permeases بتغيير التشكل، فهي خاصة بالجزيئات المنقولة، وهي انتقائية للغاية، وقابلة للتشبع، ويمكنها فقط ضمان مرور عدد معين من الجزيئات في الثانية ويمكن تثبيتها. ينقلون الجزيئات في اتجاه واحد أو آخر اعتمادًا على تدرج التركيز. اعتمادًا على عدد واتجاه المادة المراد نقلها وأيضًا طريقة تشغيل الإذن، نميز:

- **وضع Uniport**: ينقل مادة واحدة على جانبي الغشاء (في اتجاه واحد).
- **وضع symport** : هذا هو الوضع الذي يتسبب في مرور مادتين من طبيعتين مختلفتين في نفس الاتجاه وفقًا لتدرجات تركيزهما.
- **الوضع المضاد antiport**: هذا هو عبور مادتين مختلفتين من خلال الغشاء في اتجاهين مختلفين.

2. النقل النشط Transport actif

يسمح النقل النشط بنقل الجزيئات مقابل تدرج تركيز ويتطلب طاقة. هذه هي أهم طريقة لامتصاص العناصر الغذائية، خاصة في البيئات التي قد تتواجد فيها ركائز بتركيزات منخفضة. الجزيئات قد:

- أكبر من أن تمر عبر المسام؛

- لا يمكن أن تذوب في طبقة ثنائية الدهون؛

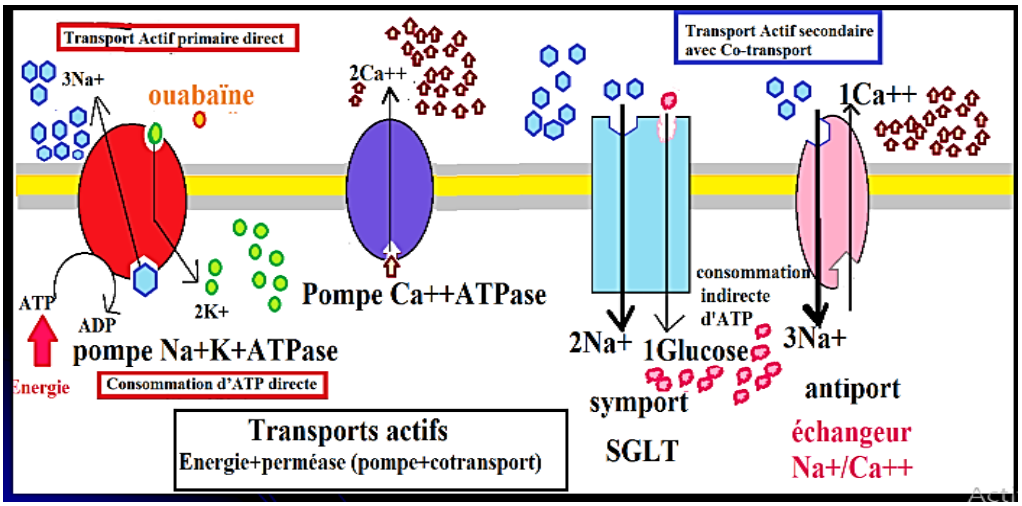
- يجب أن تكون حركتهم ضد تدرج تركيز.

العديد من المواد الضرورية لحياة الخلية (الأيونات، السكريات، والأحماض الأمينية، والنيوكليوتيدات، وما إلى ذلك) غير قادرة على اختراق الخلية بسرعة عن طريق الانتشار السلبي. يتطلب اختراقها داخل الخلايا ناقلات: بروتينات نقل الغشاء. كل بروتين ناقل خاص بفئة واحدة من الجزيء أو جزيء واحد: إن الكيمياء الفراغية لموقع ربط الركيزة على الناقل هي المسؤولة عن الخصوصية. على سبيل المثال، لا يمكن لناقل D الجلوكوز نقل L الجلوكوز.

تعمل هذه البروتينات كمضخات تقود الجزيء على وجه التحديد ضد التدرج الأيوني. تتطلب هذه العملية الطاقة التي يوفرها تفكك ATP إلى ADP و Pi. يتم تصنيفها إلى مجموعتين حسب مصدر الطاقة المستخدمة:

- **النشط الأولي المباشر**: الاستهلاك المباشر لـ ATP: في هذه الحالة يكون المرور عبارة عن إنزيم من نوع ATPase ، وغالبًا ما يسمى المضخة (الشكل 22).

- **نشط ثانوي**: مع النقل المشترك: اقتران النقل باستخدام تدرج التركيز الناتج عن النقل النشط (غالبًا ما يكون تدرج التركيز هو أيونات الصوديوم) (الشكل 22).



الشكل22 : رسم تخطيطي يلخص النقل النشط

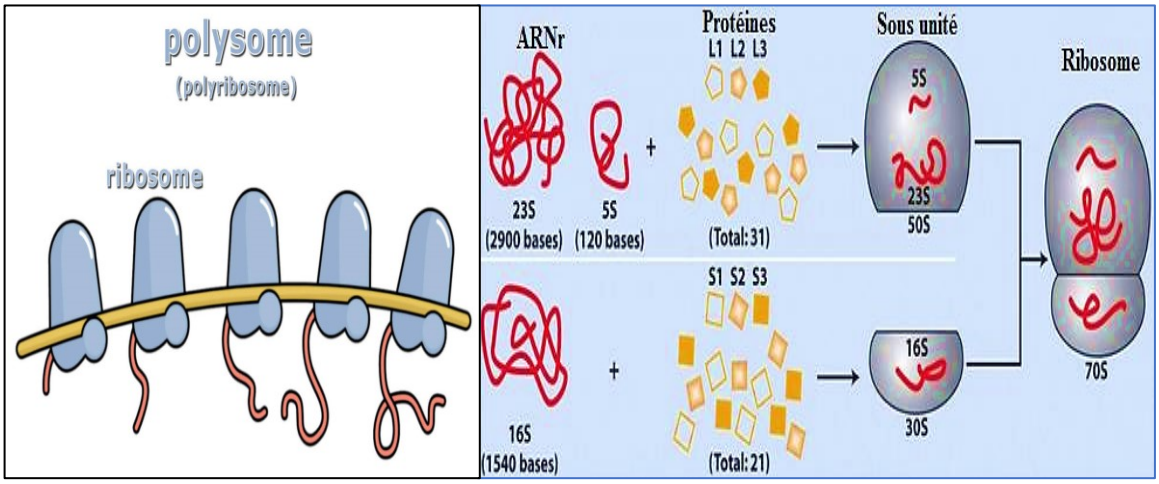
II.3.2. السيتوبلازم

يحدها الغشاء السيتوبلازمي. إنه نوع من هلام المائي الأس الهيدروجيني المحايد الذي يحتوي على الماء pH = 7 إلى 7.2. يحتوي على عدة عناصر، منها الأجسام الريبية، الأحماض النووية، الفجوات الغازية والمواد الادخارية، يفتقر إلى الميتوكوندريا والصانعات الخضراء. إنه موقع معظم التفاعلات الأيضية الخلوية، على وجه الخصوص: تحلل السكر ومسارات التخليق الحيوي للجزيئات الكبيرة وتدهورها.

II.3.2. 1. الأحماض الريبية النووية ARN والأجسام الريبية

يوجد ARN في ثلاثة أشكال: ARN رسول وARN ناقل (على شكل مذاب) وARN ريبي (الأجسام الريبية). يمثل ARN الريبي من 80 إلى 90 بالمائة من ARN الكلي للبكتيريا (الباقي ARN ناقل و رسول).

يمكن أن تحتوي الخلايا البكتيرية على 5000 إلى 50000 ريبوسوم، ويعتمد هذا الرقم على معدل نمو البكتيريا ومراحلها. وهي عبارة عن جسيمات كروية يبلغ قطرها 18 نانومتر. تشكل الريبوسومات التركيب الخلوي لتخليق البروتين. يمكن فصلها عن طريق التنبيذ الفائق وتتميز بمعامل ترسيب 70 S (وحدة SVEDBERG) مقابل معامل الخلايا حقيقية النواة التي تبلغ 80 S. ويمكن تقسيمها إلى وحدتين فرعيتين: وحدة فرعية صغيرة 30 ثانية وكبيرة 50 ثانية. الوحدة الفرعية، المكونة من 65٪ RNA (RNA الريبوسومي و mRNA) و 35٪ بروتين. يتم الحفاظ على الوحدتين الفرعيتين بواسطة أيونات Mg^{2+} (عند تركيز Mg2+ العالي ، ترتبط الوحدات الفرعية ، بتركيز منخفض Mg2 + ، تنفصل الوحدات الفرعية). تظل الريبوسومات مرتبطة ببعضها البعض على خيط ARNm وتشكل هياكل سلسلة تسمى polysomes (الشكل23).



الشكل23 : هيكل الريبوسوم البكتيري والبوليزومات.Polysomes

II.2.3.2. المواد الادخارية

دورها في الخلية البكتيرية هو تخزين بعض العناصر الغذائية (الاحتياطيات) في شكل حبيبات احتياطية والتي تشكل بالتالي مخزونًا متاحًا. هذه الحبيبات محدودة بغلاف دهني رقيق يمكن أن يكون من عدة أنواع: احتياطيات غير نيتروجينية (كربون، فوسفات، كبريت وحديد) واحتياطيات نيتروجينية.

أ. احتياطيات غير النيتروجين

كربون: كربوهيدرات في الطبيعة مثل الجليكوجين والنشاء، توجد في البكتيريا المعوية، ولكن غالبًا ما يتم تخزينها في شكل دهني مركب في حمض هيدروكسي بيوتيريك في أجناس بكتيريا Vibrio, Azotobacter et Pseudomonas. يمكن أن تكون هذه الاحتياطيات بمثابة مصدر للطاقة والكربون في غياب العناصر الغذائية في وسط النمو.

الفوسفات: في المنطقة النووية توجد شوائب او تجمعات وهو بوليمر من الفوسفات والأكسجين (orthophosphate). يمكن استخدامه في الفسفرة وهي خطوة مهمة لحياة الخلية البكتيرية. تم دمج الفوسفور في تكوين الأحماض النووية، الفوسفوليبيدات، أحماض تيكويك، والنيوكليوتيدات (ATP، NAD^+ ، إلخ).

الكبريت: بعض البكتيريا تؤكسد كبريتيد الهيدروجين (H_2S) وتخزن عنصر الكبريت في السيتوبلازم على شكل كريات. هذه هي بكتيريا التمثيل الضوئي الأرجواني (*Chromatium*) ، والبكتيريا المتحركة الانزلاقية الخيطية (*Beggiatoa*) والبكتيريا الكبريتية عديمة اللون (*Thiobacterium*). يستخدم الكبريت لتخليق الأحماض الأمينية الكبريتية (السيستين والميثيونين) والإنزيمات المساعدة.

الحديد: تحتوي البكتيريا المؤكسدة للحديد (bactéries ferro oxydantes) على شوائب هيولي من هيدروكسيد الحديديك $Fe(OH))_3$. الحديد موجود في بنية ناقلات الإلكترون (السيتوكرومات) وفي بعض البروتينات.

ب. احتياطيات النيتروجين

العديد من البكتيريا المائية الضوئية (البكتيريا الزرقاء) تخزن في السيتوبلازم cyanophicine. إنه بوليمر من الأرجينين والأسبارتات، ويشكل احتياطيًا مباشرًا للتخليق الحيوي للأحماض الأمينية الأخرى والأحماض العضوية لدورة KREBS.

II.3.3.2. فجوات الغاز

تحتوي البكتيريا المائية الضوئية (البكتيريا الزرقاء) والبكتيريا المحبة للملوحة على فجوات غازية داخل السيتوبلازم، ويتراوح عددها من بضع وحدات إلى عدة مئات، وهي أسطوانية الشكل، ومحاطة بغشاء بروتيني صلب يبلغ طوله 2 نانومتر، وغير منفذة للماء لكنها قابلة للاختراق للغازات. إنها أعضاء تسمح للبكتيريا بالبقاء في الماء بعمق مناسب لتلقي ما يكفي من الأكسجين والضوء والمغذيات.

II.4.2. الجهاز النووي

أ. بنية ADN البكتيري

مثل جميع الكائنات الأولية بدائية النواة، تمتلك البكتيريا جهازًا نوويًا مكونًا من حمض الديوكسي ريبونوكلييك (DNA) وهو الناقل للمعلومات الجينية (الوراثية) للخلية، ويسمى أيضًا الجينوم. يتكون الحمض النووي الكروموسومي من حلزون مزدوج دائري للحمض النووي. هذا اللولب المزدوج ملتف، ملفوف بشكل كبير في السيتوبلازم بفضل عمل الإيزوميراز العلوي topo isomérases (4 في البكتيريا). يبلغ طول الكروموسوم البكتيري غير المطوي 1 مم تقريبًا (1000 مرة طول البكتيريا) وعرضه من 3 إلى 5 نانومتر. كل سلسلة تضمن تكرار السلسلة التكميلية في وضع شبه محافظ. يشير التحليل الكيميائي للجهاز النووي إلى أنه يتكون من 60٪ DNA (الكروموسوم) و 30٪ حمض نووي الريبي أو RNA (دور هيكلي) و 10٪ بروتين.

يتم تمثيل هذه الأخيرة بشكل خاص بواسطة بوليميرات الحمض النووي التي تنسخ الخيوط المزدوجة من الحمض النووي، topo isomérases ، وخاصة ADN gyrases التي تشارك في طي جزيء الحمض النووي، التي تتفكك للسماح بعمل البوليميرات ، و ARN polymérases التي تضمن تخليق مختلف الحمض النووي الريبي. ومع ذلك، لا نجد الهستونات كما هو الحال في حقيقيات النوى. ومن ناحية أخرى نجد البوليامينات (polyamines) المشابهة للهستونات مثل البروتين II الغني بالأرجينين.

جزيء الحمض النووي غني جدًا بالشحنات الكهربائية السالبة (غني بمخلفات الفوسفات) ، ولكنه مركب مع كاتيونات Mg^{2+}و Ca^{2+}وبروتينات أساسية (بولي أمينات أو بروتينات P ، قريبة من هيستونات الحمض النووي حقيقية النواة) ، يوازن هذه الشحنات ويضمن الحياد الكهربائي واستقرار الحمض النووي.

ينتشر مباشرة في السيتوبلازم (بدون غشاء نووي ولا نوية)، يشكل كروموزوما بكتيريا واحدا في خيط ملتف (شكله المنتشر عبارة عن جزئية دائرية). يتصل الكروموزوم بالغشاء البلازمي في عدة نقاط ويتم الانقسام حسب نمط نصف محافظ (عموما). لكن ليس هنالك انقساما خيطيا.

ب. تركيبة ADN

الحمض النووي أو الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين عبارة عن بوليمر عالي الكتلة المولية (الشكل24)، يتكون من وحدات تسمى النيوكليوتيدات.

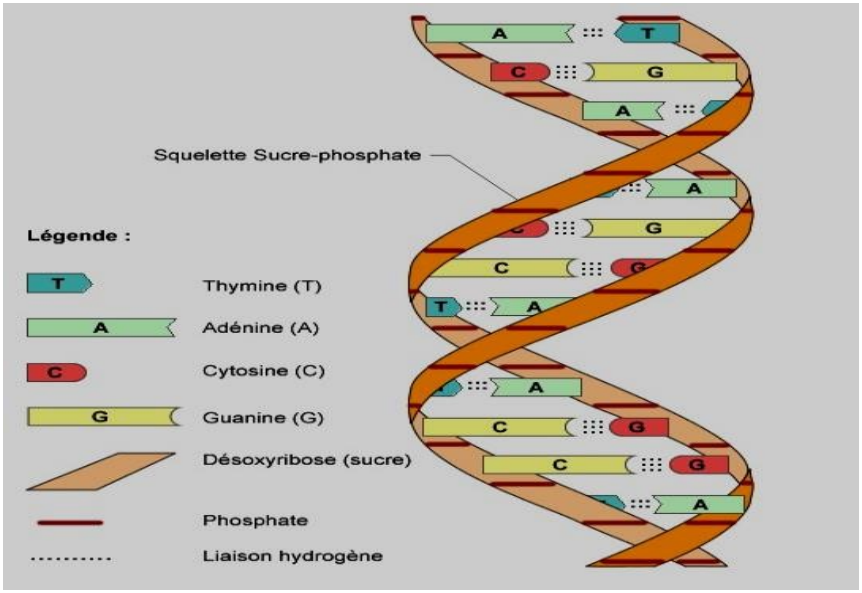
النوكليوتيدات: "مجموعة الفوسفور + سكر الديوكسيريبوز عند درجة 5 مئوية + قاعدة بيورين أو بيريميدين".

قواعد البيورين: Adenine A و Guanine G.

قواعد بيريميدين: Cytosine C و Thymine T.

السكر: ريبوز (خماسي) منقوص الاكسجين.

مجموعة الفسفور: عبارة عن ثنائي الاستر فوسفات عند 3 'و 5' من سكر الريبوز (خماسي) منقوص الاكسجين



الشكل24: تمثيل تخطيطي للحلزون المزدوج للحمض النووي.

يتم تثبيت خيوط الحمض النووي المتضادتين في حلزون مزدوج بواسطة روابط هيدروجينية بين القواعد النيتروجينية بطريقة محددة (التكامل الأساسي: A = T و C≡G). هذه البنية التكميلية للحمض النووي تجعل تكرار الحمض النووي الدقيق ممكنًا أثناء انقسام الخلية. تتكون الكروموسومات من جينات وهي أجزاء من الحمض النووي تحدد تركيب البروتين.

ت. الانقسام الخلوي عند البكتيريا

تنقسم البكتيريا عن طريق الانشطار الثنائي العرضي في مراحل متتالية (الشكل25) هي:

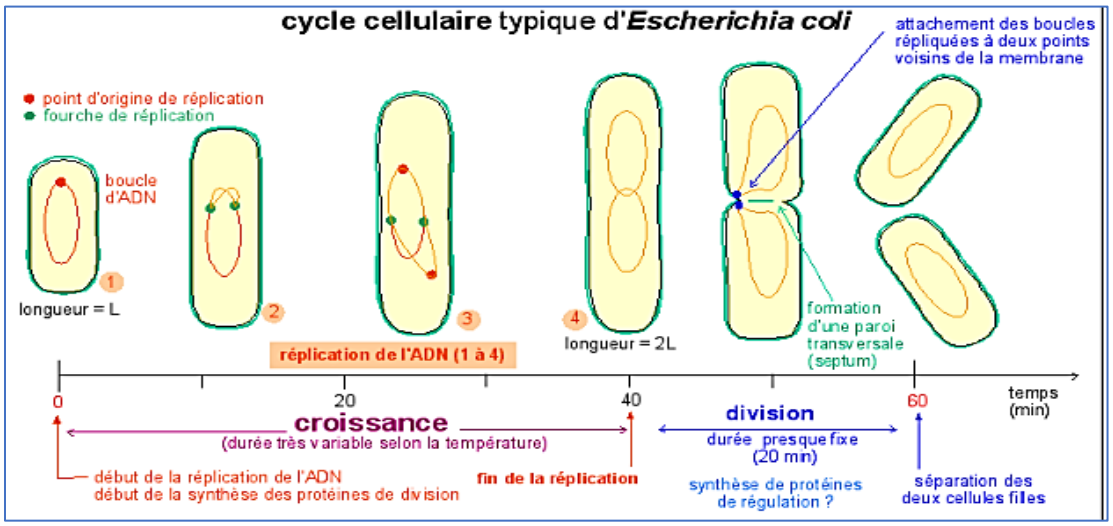
– اتصال الكروموزوم بالغشاء البلازمي. تقع الADN بوليميراز ADN polymérase في نقطة اتصال الكروموزوم بالغشاء.

– تتطاول البكتيريا بنمو الجدار والغشاء البلازمي. تؤدي هذه الاستطالة إلى انفصال خيطي الADN و انفصال الكروموزومات الأبناء.

– ظهور حاجز عرضي يفصل الخلية البكتيرية إلى قسمين اثنين ثم يتضاعف كل خيط تضاعف نصف محافظ.

– ينتج عن الانقسام خليتين متشابهتين تشبهان الخلية الأم.

على العموم، يدوم الانقسام الخلوي من 20 إلى 40 دقيقة، لكن في بعض الاحيان يمكن ان يدوم أقل أو أكثر حسب الأنواع والظروف الخارجية.



الشكل25 : الانقسام الخلوي عند البكتيريا

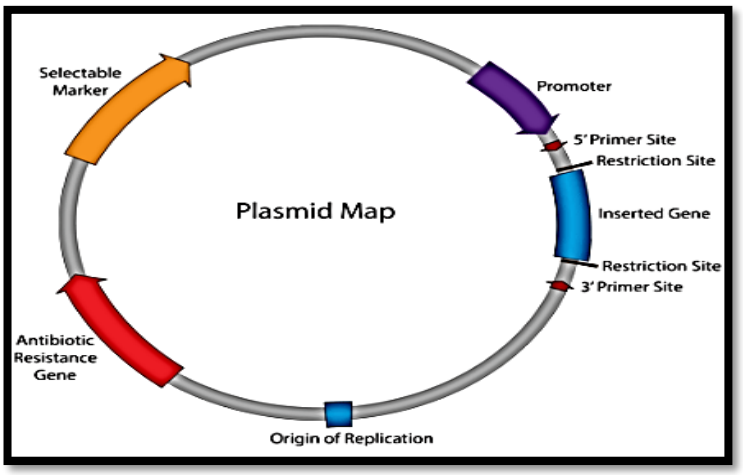
II.5.2. البلازميدات

قد تحتوي الخلية البكتيرية على عناصر وراثية كروموسومية إضافية قادرة على التكاثر الذاتي. يطلق عليهم اسم البلازميدات. تحتوي بعض البكتيريا على عدة أنواع مختلفة من البلازميدات. تسمح البلازميدات للبكتيريا بالتكيف بشكل أفضل مع بيئتها .هذه العناصر، التي تسمى البلازميدات، ليست ضرورية لحياة البكتيريا في ظل ظروف النمو المعتادة، ولكنها يمكن أن تضمن أداءً أفضل للخلية البكتيرية، لأنها تتمتع بوظائف إضافية. تتكاثر بشكل مستقل وعادة ما تكون أسرع من الكروموسوم البكتيري. يتم اكتشافها عندما تعطي الجينات التي تحملها البكتيريا خصائص جديدة.

أ. بنية البلازميدات

إنها جزيئات DNA مزدوجة الشريطة (الشكل26)، عادة ما تكون دائرية، ولكن هناك جزيئات خطية. في بعض الأحيان تندمج في الكروموسوم وتسمى الحلقات. تنتقل عبر الأجيال ولكن ليس بطريقة عادلة كما هو الحال مع الكروموسوم. يسمى فقدان البلازميد (conjugaison). تكون البلازميدات بشكل عام صغيرة (1 كيلو بايت

إلى 400 كيلو بايت). إنها تحمل عددًا قليلاً جدًا من الجينات، أقل من 30 جينات. تصنف البلازميدات وفقًا لوظيفتها وانتشارها.



الشكل26 : بنية البلازميد.

ب. خصائص البلازميدات

بعض البلازميدات تحمل العديد من الجينات مما يعطي العديد من الخصائص المظهرية للخلية المضيفة. الوظائف الرئيسية المشفرة بالبلازميدات هي:

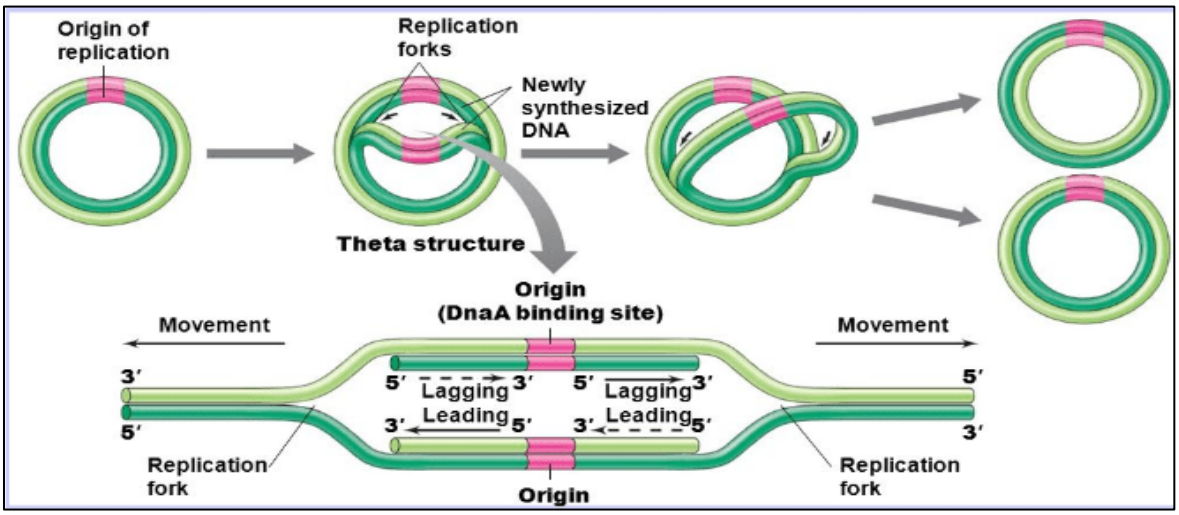
- إنتاج السموم وعوامل الإمراضية وعوامل الضراوة ... (plasmides de virulence)
- إنتاج المضادات الحيوية والبكتريوسينات (بروتينات مثل *E.coli* colicin. تمنح البكتريوسينات البكتيريا ميزة عن طريق قتل سلالات متشابهة جدًا، تتحدث باستمرار عن الإشريكية القولونية) (plasmides Col).
- مقاومة المضادات الحيوية والعوامل المضادة المختلفة، والمعادن الثقيلة (الزئبق والكادميوم وأملاح الرصاص والزرنيخ)، والإشعاع، والعاثيات، إلخ. (بلازميدات R)
- خصائص التمثيل الغذائي المختلفة: تحلل مركبات معينة، تخليق نواتج الأيض ذات الأهمية الاقتصادية، تثبيت النيتروجين في Rhizobium ... (Plasmides métaboliques)

- البلازميدات المقترنة plasmides conjugatifs ، التي تحمل الجين المسؤول عن تخليق البيلي الجنسية الضرورية للاقتران.

ت. تكاثر البلازميدات

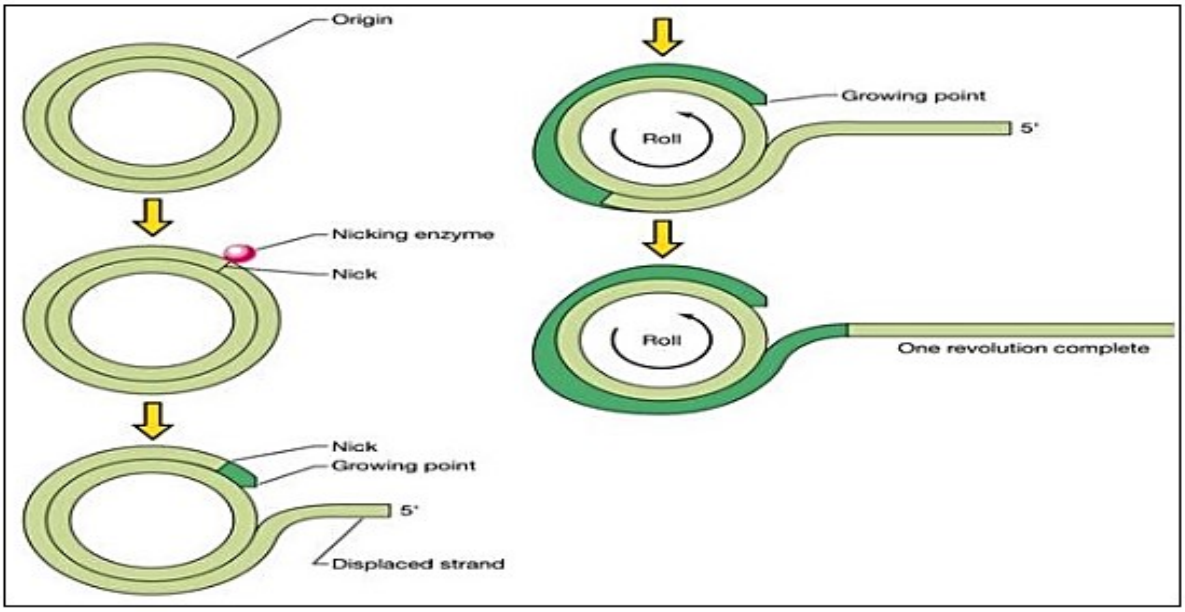
يمكن للبلازميد أن يتكاثر وفقًا لنموذجين:

✓ **النسخ المتماثل من نوع ثيتا θ** : أحادي أو ثنائي الاتجاه ، من أصل النسخ المتماثل باستخدام المعدات الأنزيمية للبكتيريا المضيفة (الشكل27).



الشكل 27 : تكاثر البلازميد النسخ المتماثل من نوع ثيتا θ

✓ **النسخ نوع "الدائرة المتداول"rolling cercle »**: يتم قطع خصلة واحدة بواسطة نوكلياز. سوف ينفصل هذا الخيط حول الخيط الآخر في اتجاه P'5 وستقوم البكتيريا بتركيب خصلة تكميلية في وقت واحد إلى الخيوط الأم (الشكل28).



الشكل 28 : تكاثر البلازميد النسخ نوع الدائرة المتداول"rolling cercle "

II.6.2. الكبسولة Capsule

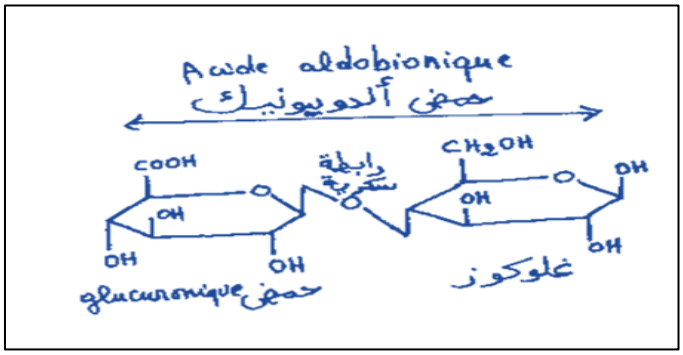
تقوم بكتيريا معينة بتجميع وإفراز بوليمرات عضوية تتراكم في طبقات لزجة وكثيفة نوعا ما يتراوح سمكها بين 200 و 500 نانومتر وغير متبلورة خارج جدارها، وهو نوع من الإفرازات المحيطية تسمى كبسولة، وهذا هو العنصر الأكثر سطحية لهذه البكتيريا.

البكتيريا التي تحتوي على الكبسولة، بعد التطور على وسط أجار، تعطي مستعمرات ناعمة (تسمى "S" لـ "Smooth") أو مستعمرات مخاطية، بينما البكتيريا عديمة الكبسولة تعطي مستعمرات خشنة (تسمى "R" لـ "Rough")؛ في الحالة الأخيرة، فقدت البكتيريا القدرة على تخليق الكبسولة بعد حدوث طفرة.

أ. التركيب الكيميائي للكبسولة

الكبسولة بشكل عام هي عديد السكريات في الطبيعة (على سبيل المثال في الإشريكية القولونية)، ونادرًا ما تكون متعددة الببتيد (على سبيل المثال في عصيات الجمرة الخبيثة) والبروتين السكري أو الجليكوببتيد (على سبيل المثال في يرسينيا).

تحتوي على كمية كبيرة من الماء ومواد عضوية. متعدد السكريات polysaccharides التي تدخل في تركيبها هي عموما سلاسل طويلة لأحماض الالدوبيونيك acides aldobioniques (الشكل 29). كل حمض ألدوبيونيك عبارة عن حمض مكون من حمض يورونيك acide uronique (glucuronique, galacturonique, ...) و من سكر (غلوكوز، غلاكتوز، رامنوز، سكريات أمينية) كما هو عند الانواع البكتيرية التالية: *Streptococcus pneumoniae* (أو Pneumocoque).



الشكل 29 : حمض ألدوبيونيك

أحيانا، يكون متعدد السكريات عبارة عن متعدد غلوكوز dextrane (الجنس *Leuconostoc*) أو متعدد فركتوز levanes (*Streptococcus salivarius*). يمكن تجميع الكبسولة والطبقات المخاطية معًا تحت مصطلح glycocalyx. Glycocalyx عبارة عن شبكة من السكريات.

ب. دور الكبسولة

لا تقوم الكبسولة بدور حيوي في الخلية مثل الجدار أو الجهاز النووي ولا توجد عند كل البكتيريا. في نفس السلالة، يتأثر إنتاجها كثيرا بمكونات الوسط خاصة السكريات منها. يمكن للبكتيريا أن تعيش بدون الكبسولة، لكن الكبسولة تمنحها مزايا بفضل أدوارها:

✓ **الالتصاق:** هو تثبيت (امتزاز، ارتباط) خاص بالدعامات المختلفة (خاملة أو حية)، يتم ضمانه بواسطة السكريات المتعددة في glycocalyx ويشكل المرحلة الأولى في استعمار النظام البيئي (الماء، التربة، الأنبوب الهضمي) الذي يسمح لهذه البكتيريا بالتطور في مستعمرات دقيقة تلتصق بالأسطح.

✓ **الإمراضية:** إن وجود الكبسولة يشجع على الإصابة بالعدوى البكتيرية، مما يجعل الخلايا البلعمية غير نشطة. يمكن استهداف التمثيل الغذائي لتخليق الكبسولة وتغييره بواسطة المضادات الحيوية. فمثلا يكون عامل الالتهاب الرئوي "Pneumocoque" أو *Streptococcus pneumoniae* ممرضا في حالة وجود الكبسولة وغير ممرض إذا فقدت الكبسولة لأن كريات الدم البيضاء للجسم العائل ستتمكن من التهامه.

✓ **المناعة:** تحمل مكونات الكبسولة الخصائص المستضدية (المستضد K). فإذا حقنت لحيوان، أجبرته على إنتاج أجسام مضادة. هذه المكونات مسؤولة عن النوعية المصلية بفضل طبيعة وتسلسل السكريات المتعددة المكونة للكبسولة والتي يمكن أن تتغير عند نفس النوع البكتيري.

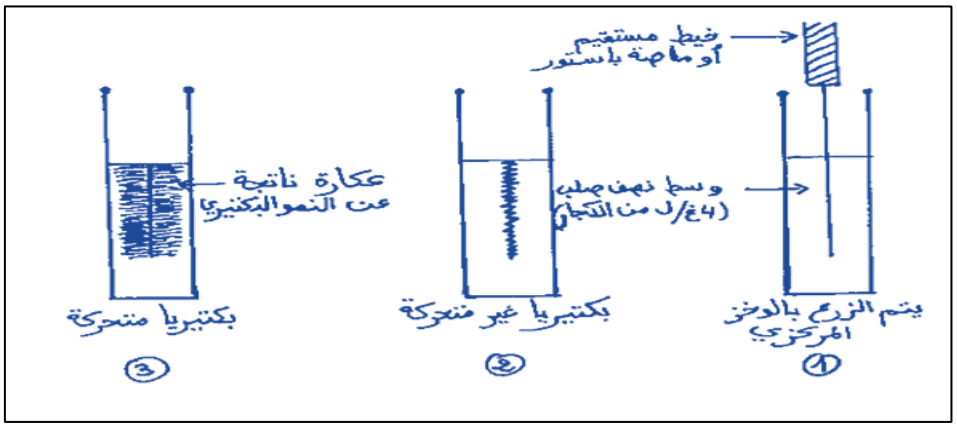
✓ **الحماية**: تحمي الكبسولة البكتيريا من العديد من الخواتل Prédateurs والحيوانات الأولية Protozoaires والكريات الدموية البيضاء وملتهمات البكتيريا Bactériophages والعوامل الفيزيو- كيميائية القصوى كالجفاف.

II.7.2 الأسواط

هي الأعضاء المسؤولة عن حركة البكتيريا. توجد طريقتان لإظهار الحركة عند البكتيريا:

- **الطريقة الأولى:** وهي طريقة مباشرة يتم من خلالها ملاحظة البكتيريا في حالتها الطبيعية حيث تشاهد بالمجهر الضوئي. لا يتلون السوط بالملونات العادية ولكي تتم رؤيته في المجهر الضوئي يجب استعمال محلول نترات الفضة النشادري. قصد ملاحظة التفاصيل الخاصة بشكل الأسواط وكيفية اتصالها بالخلية وحجمها يجب استعمال المجهر الالكتروني.

- **الطريقة الثانية:** وهي طريقة غير مباشرة (الشكل 30) يتم فيها زرع البكتيريا بالوخز المركزي داخل وسط غذائي نصف صلب (4 غ/ل من الأغار) في أنبوب اختبار باستعمال خيط مستقيم أو ماصة باستور. أذا حدث تعكر للوسط الغذائي فهذا دليل على حركة البكتيريا، أما إذا نمت فقط في مكان الزرع فهي عديمة او قليلة الحركة.



الشكل 30: إظهار الحركة عند البكتيريا عن طريق الزرع بالوخز المركزي داخل وسط غذائي نصف صلب

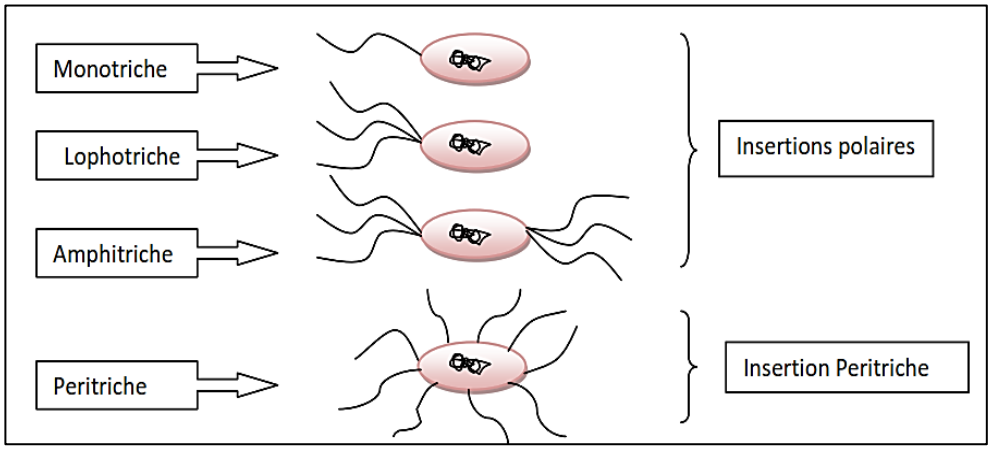
أ. توزيع الأسواط

نميز نمطين من توزيع الأسواط على سطح البكتيريا (الشكل31):

✓ **النمط القطبي Type polaire** : ويكون في عدة أشكال اما:

- سوط واحد متصل بقطب واحد للبكتيريا فهي بكتيريا وحيدة السوط Bactérie monotriche
- سوط واحد او اكثر لكل قطب من الخلية، بكتيريا متقابلة السواط Bactérie amphitriche
- مجموعة من الأسواط في قطب واحد، الخلية فهي بكتيريا متعددة أو مفرطة الأسواط Bactérie lophotriche

✓ **النمط المحيطي type péritriche** : أسواط عديدة على كامل سطح البكتيريا فهي بكتيريا محيطية الاسواط Bactérie péritriche

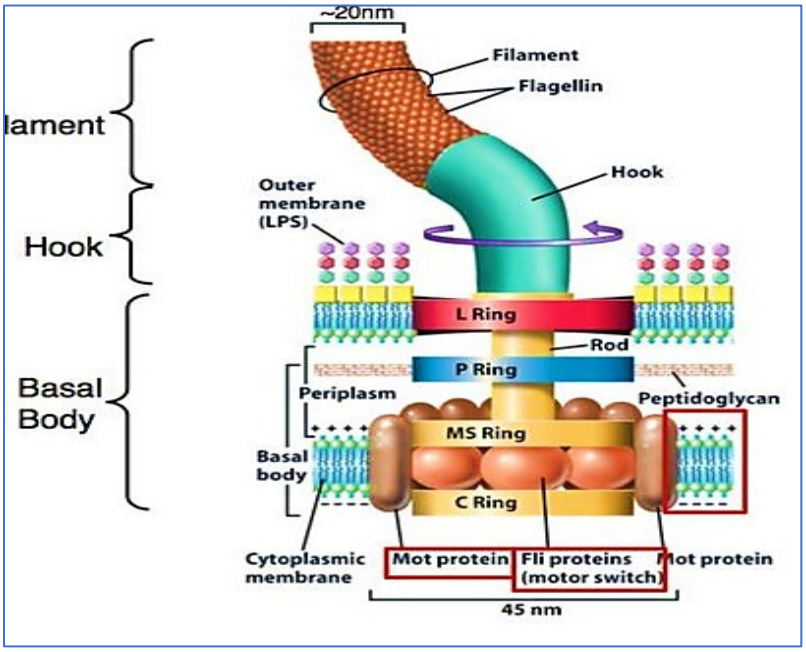


الشكل31 : توزيع الأسواط على مستوى الخلية البكتيرية

ب. البنية والتركيب الكيميائي للأسواط

الأسواط عبارة عن عضيات بسيطة، خيطية، صلبة، لولبية، متعددة الأطوال و هي اطول من البكتيريا نفسها من 5 إلى 20 ميكرون و قطرها من 0.01 الى 0.03 ميكرون (0.02 ميكرون عند *E coli*). تتميز الأسواط بشكلها أي بطول موجتها وسعتها اللتان تتغيران من نوع بكتيري الى آخر. وهي تتألف من وحدات فرعية بروتينية متكررة: فلاجيلين، مرتبة في وحدات فرعية حلزونية، بوزن جزيئي يتراوح من 15 إلى 70 كيلو دال. يختلف عددهم من 1 إلى 30 اعتمادًا على الأنواع البكتيرية. غالبًا ما تتواجد في العصيات ونادرًا ما تكون في cocci.

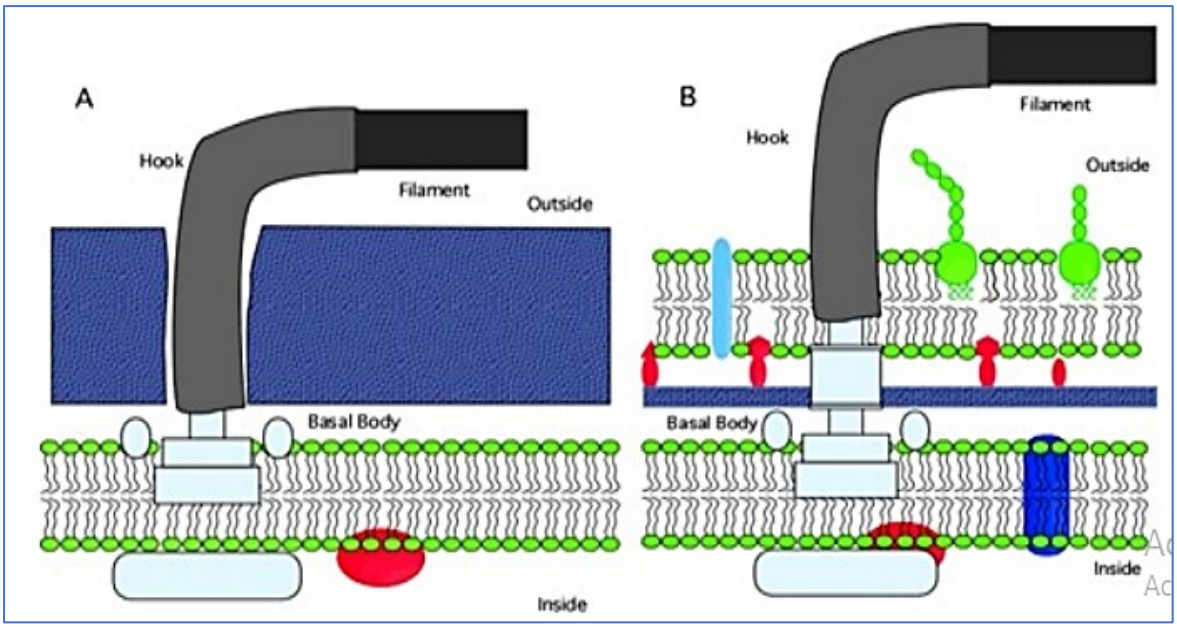
يتكون السوط من ثلاثة أجزاء (الشكل 32): خيط حلزوني خارجي (filament) وهو الجزء الظاهري الممتد من الخلية خارجا ويكون اسطواني مجوف يتألف من ثلاثة خيوط رفيعة ملتفة مع بعضها البعض، وخطاف (hook) يثبت الخيوط بالجسم القاعدي و الجسم قاعدي (basal body) يثبت السوط بالغشاء البلازمي وتنتهي بنظام من الحلقات.



الشكل32 : بنية السوط

ت. كيفية اتصال السوط

بينت الدراسات بالمجهر الالكتروني أن السوط يجتاز الجدار ويتصل بالغشاء البلازمي على مستوى الجسم القاعدي. يتم إرفاق السوط في السيتوبلازم البكتيري بهيكل معقد (الشكل33). في البكتيريا موجبة الجرام: زوج من الحلقات S و M يربط السوط بالغشاء السيتوبلازمي أما في البكتيريا السالبة الجرام: زوجان من الحلقات (L / P و S / M) يثبتان السوط: L في الغشاء الخارجي (على مستوى LPS) ، P في الببتيدوغليكان (PG)، S و M في الغشاء السيتوبلازم.



الشكل33 : كيفية اتصال السوط عند البكتيريا سالبة الغرام (B) والبكتيريا موجبة الغرام (A).

ث. دور الأسواط

الحركة: الأسواط عبارة عن بنى متماسكة (صلبة) لكنها تدور بفضل الجسم القاعدي الذي يعمل كمحرك. تنبثق القوة التي تحرك الجسم القاعدي (والسوط) عن القوة البروتونية المحركة (FPM= Force Proton Motrice) إذ بدخول البروتون (H^+) بقوة وبشدة (عبر البروتينات المحركة السوطية) يؤدي إلى إنتاج وتحرير الطاقة الضرورية لدوران الجسم القاعدي وبالتالي دوران السوط. فمثلا عند *Escherichia coli* يكون دخول 256 (H^+) ضروريا لدوران السوط دورة واحدة. إذا دار السوط في الاتجاه المعاكس لعقارب الساعة، فان البكتيريا تتحرك بطريقة مستقيمة إلى الأمام (حتى 70 ميكرومتر/ثانية وأحيانا أكثر). أما إذا دار في اتجاه عقارب الساعة، فان البكتيريا تنقلب (وهذا للرجوع إلى الخلف). العديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية في البيئة قادرة على تحفيز أو تثبيط اتجاهها، حيث يتم توجيه الأخيرة نحو المناطق الأكثر ملاءمة. في حالة عدم وجود محفز، تأخذ حركة البكتيريا مظهرًا عشوائيًا:

- **الانجذاب الكيميائي (Chimiotactisme)**: في وجود تدرج تركيز لركائز المغذيات، تتحرك البكتيريا بشكل انتقائي نحو المنطقة بتركيزات أكثر ملاءمة. يتم إجراء الانجذاب الكيميائي أيضًا عن طريق التنافر في وجود مواد سامة في البيئة.

- **النشاط الضوئي (Phototactisme)**: بعض البكتيريا الضوئية (التمثيل الضوئي) تضع نفسها بشكل انتقائي في المناطق الأكثر إضاءة في بيئتها لتحسين عملية التمثيل الضوئي الخاصة بها.

- **الانجذاب الجوي (Aérotactisme)**: تسبح البكتيريا الهوائية على السطح عند ملامسة الطبقات المؤكسجة، والبكتيريا الدقيقة في المناطق الأقل تعرضًا للأكسجين وفي العمق، في المناطق الخالية من الأكسجين للبكتيريا اللاهوائية.

دور المستضد: تحدد المستضدات السوطية (Ag H) أنماطًا مصلية مختلفة (مثال: التنميط المصلي للسالمونيلا). تعتمد خصوصية المستضد على عدد وتسلسل الأحماض الأمينية فلاجيلين.

تثبيت العاثيات: الأسواط هي موقع ارتباط بعض العاثيات.

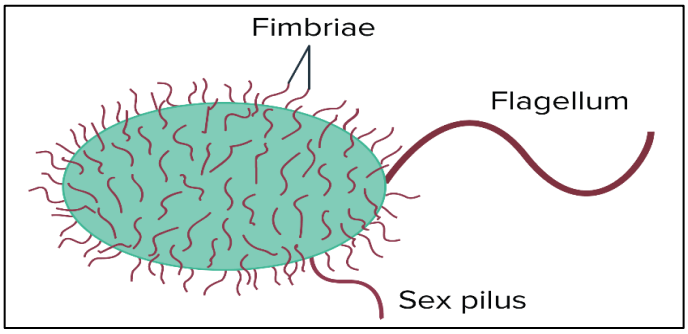
II.8.2 . زوائد البيلي Pili

بيلي Pili أوFimbriae هي عبارة عن زوائد خيطية الشكل، متماسكة، جوفاء داخليا ولا تفيد في الحركة. هذه الزوائد السطحية أدق من الأسواط، موجودة بشكل متكرر في البكتيريا سالبة الجرام ونادرًا في البكتيريا موجبة الجرام. تتكون زوائد البيلي من بروتين يدعى البيلين Piline (PM = 17000) والذي يمنحها الخصائص المستضدية. نميز فيها نوعين (الشكل34):

- **زوائد البيلي الاعتيادية:** قصير وهش، كثير جدًا (أحيانًا بضع مئات لكل بكتيريا)، بطول من 2 إلى 3 ميكرومتر، مرتبة بانتظام على سطح البكتيريا. يلعبون دورًا في تراص البكتيريا وتعلقها بالأغشية المخاطية للخلايا حقيقية النواة التي تستعمرها. أمثلة: الإشريكية القولونية، السالمونيلا في الغشاء المخاطي المعوي، الوتدية الخناقية

Corynebacterium diphteriae في الحلق. يلعب زوائد البيلي الاعتيادية دورًا في التصاق البكتيريا بمختلف الوسائط الحية وغير الحية.

- **زوائد البيلي الجنسية**: هي أقل عددا (من 1 الى 4) ولكن أكثر طولا من البيلي الاعتيادية (20– 25 ميكرون طولا). ينتهي طرفها بانتفاخ. يتم ترميزها بواسطة جينات البلازميد (العامل F). توجد فقط في بكتيريا الذكور (المتبرعون F+). يلعبون دورًا أساسيًا في ارتباط البكتيريا ببعضها البعض أثناء الاقتران لنقل نسخة من البلازميد المقترن أو جزء من الحمض النووي الصبغي إلى البكتيريا المتلقية (F–) من خلال الشعيرة F التي تلعب دور الوسيط وبمثابة قناة. يمكن أن تكون أيضًا بمثابة دعم مرفق لبعض العاثيات.



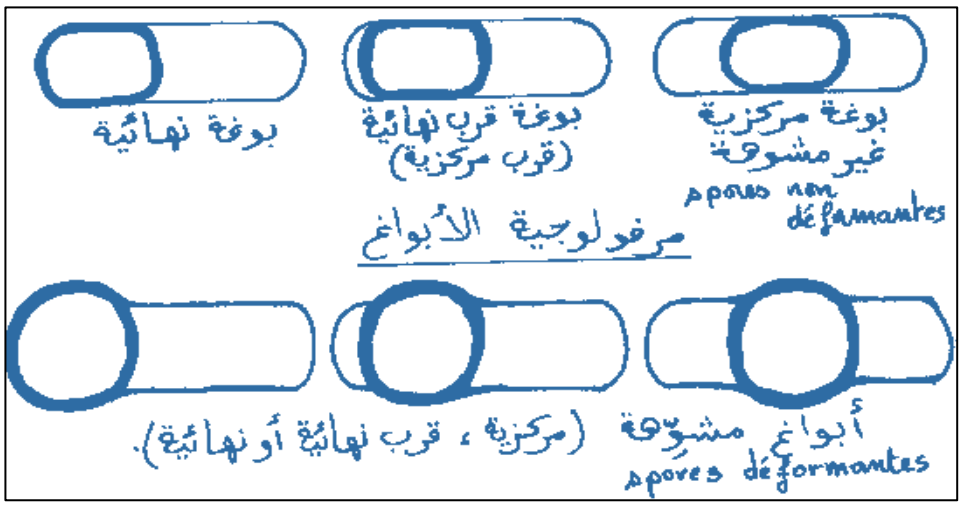
الشكل34 : زوائد البيلي الاعتيادية وزوائد البيلي الجنسية

9.2.II . الأبواغ الداخلية Endospores

البكتيريا التي تنتمي إلى أجناس معينة، ولا سيما الأجناس الموجبة لـ GRAM+ Bacillus (الهوائية) والمطثية *Clostridium* (اللاهوائية)، الموضوعة في ظروف غير مواتية للبقاء (استنفاد الوسط من المغذيات، على سبيل المثال)، تشكل الأبواغ الداخلية (Endospores)؛ هذا يسمى التبوغ sporulation. وبالتالي، فإن البوغة هو شكل من أشكال مقاومة الظروف المعيشية غير المواتية، مع الحفاظ على جميع الصفات المحددة وراثيا. عند استبدالها في ظروف مواتية، تنبت البوغة (الانتاش) وتعيد خلية خضرية مماثلة لتلك التي ولدتها.

أ. شكل وتموضع الأبواغ

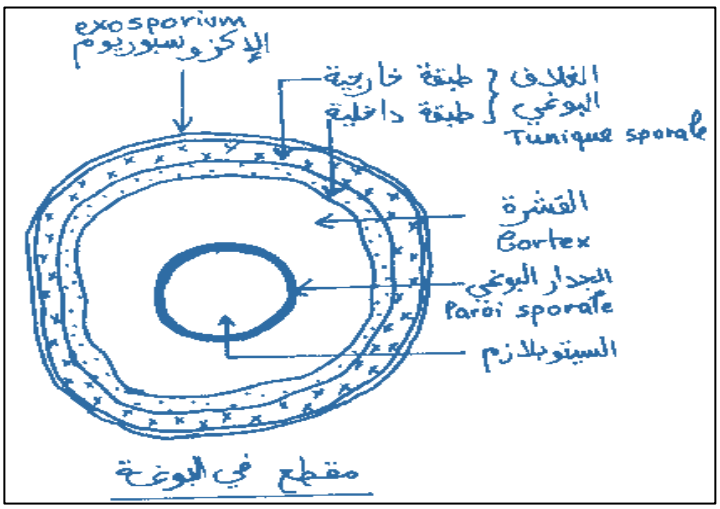
الأبواغ التي تتشكل داخل البكتيريا تكون ذات شكل بيضوي، كروي أو متطاول ويمكن أن تشوه شكل الخلية وهي جد عاكسة للضوء (قطر< قطر البكتيريا). ويكون موضعها في البكتيريا متغير: بوغة وسطية، قرب طرفية، طرفية (الشكل35). لا تتلون الأبواغ بالملونات الاعتيادية وتتلون بأخضر الملاكيت Vert de Malachite.



الشكل35 : شكل وتموضع الابواغ داخل البكتيريا

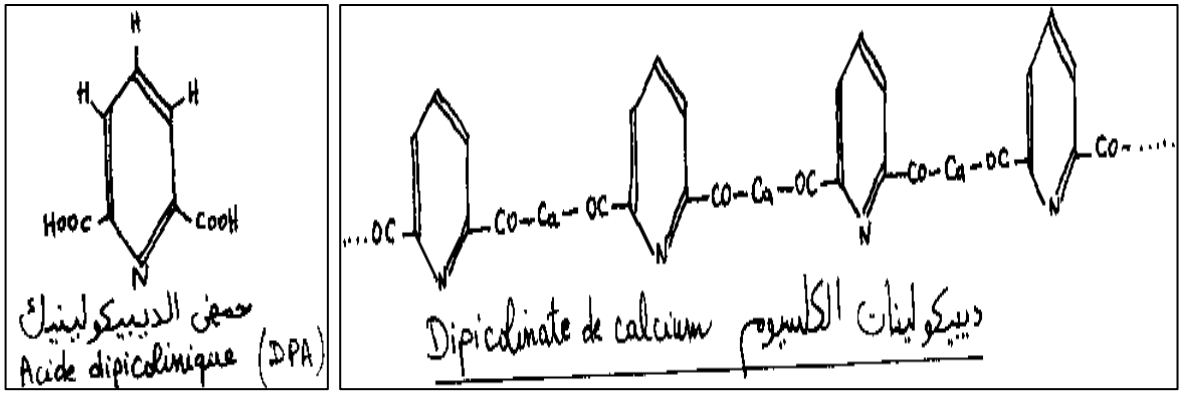
ب. بنية والتركيب الكيميائي للبوغة

يبين مقطع من البوغة تمت ملاحظته تحت المجهر الالكتروني من الداخل إلى الخارج ما يلي (الشكل36):



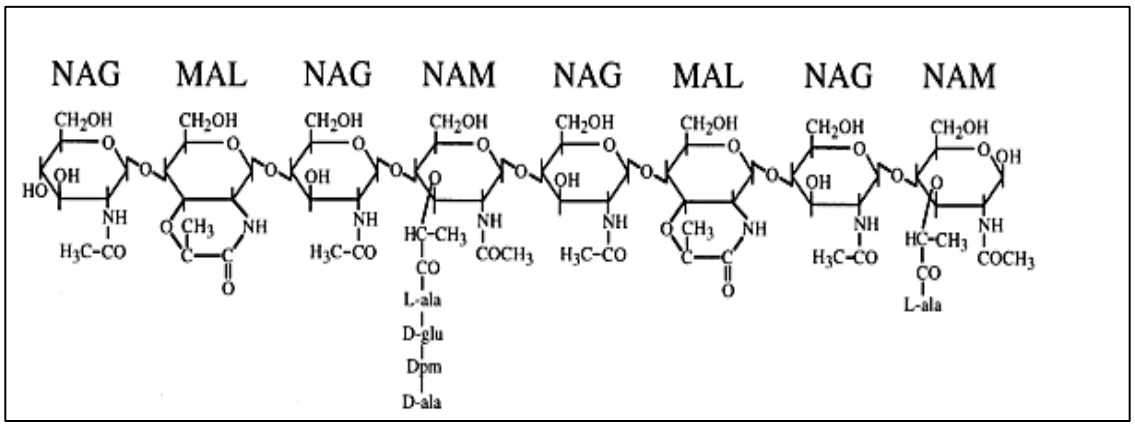
الشكل 36: بنية والتركيب الكيميائي للبوغة

- **كتلة سيتوبلازمية مختزلة محاطة بجدار رقيق (Paroi sporale)**: فقيرة من الماء (15 إلى 20 بالمائة)، ويحتوي على الريبوسومات، على إنزيمات خاملة وديبيكولينات الكالسيوم (Dipicolinate de calcium) التي يقال إنها تعمل على استقرار الحمض النووي الصبغي للبوغة (الشكل 37). كما أنه يحتوي على بروتينات حمضية أخرى ترتبط بالحمض النووي بتركيزات عالية لحمايته أيضًا. تم العثور على إنزيمات إصلاح الحمض النووي أيضًا أثناء الإنتاش.



الشكل37 : حمض الديبيكولينيك وديبيكولينات الكالسيوم

- **قشرة شفافة Cortex**. يتكون من بتيدوجليكان يختلف عن الجدار الذي يحتوي على جسور بتيد أقل لأنه يتم استبدال 50٪ من NAM (N-acetyl muramic acid) بـ MAL (muramique-résidus lactam) (الشكل 38).



الشكل38 : بتيدوجليكان القشرة الشفافة للبوغة

تتوضع على مستوى القشرة مادة خاص بالابواغ هي حمض الديبيكولينيك acide dipicolinique أو DPA، الذي يمثل 10 بالمائة من الوزن الجاف للبوغة. يكون هذا الحمض على شكل سلاسل مرتبطة بايونات الكلسيوم ' ديبيكوكولينات الكلسيوم Dipicolinate de calcium' .

- **غلاف بوغي Tunique sporale** مقسم الى طبقتين. هو بروتين في الطبيعة يشبه الكيراتين في *Bacillus cerus* أو الكولاجين في *Bacillus subtilus*. كما أنه يحتوي على الإنزيمات اللازمة للإنتاش. أيضا يحتوي على حمض أستيل ميورين وببتيد سداسي وجزئيات حمض التيكويك.

- **أحيانا غلاف خارجي رقيق: الاكزوسبوريوم** Exosporium. يتكون عند عصيات الجمرة الخبيثة، على سبيل المثال، من البروتينات، السكريات والسكريات الامينية. يحتوي على العديد من الإنزيمات الضرورية للإنتاش و/أو التفاعل مع الخلايا المضيفة مثل البلاعم.

ت. دوافع التبوغ وتشكل البوغة

ينطلق تشكل الابواغ عند البكتيريا في الظروف غير الملائمة الناتجة عن نفاذ العناصر المغذية (C,N,P...) من الوسط الذي تعيش فيه. و يشترط تشكل الابواغ وجود بعض الأيونات مثل المنغنيز Mn^{++} ، المغنيزيوم Mg^{++} ، النحاس Cu^{++} والبوتاسيوم K^{+}، التي تحفز عددا من التفاعلات الأنزيمية الضرورية لتشكيل البوغة (Ca^{++} أساسي لتشكيل القشرة). يكون التبوغ من الناحية الوراثية مرتبطا بالعشرات من المورثات المتوزعة عشوائيا على طول الكروموزوم. تكون هذه المورثات غير فعالة أثناء المرحلة الخضرية للبكتيريا وتتدخل أثناء التبوغ. يحدث التبوغ بعد توقف الانقسامات الخلوية، في نهاية مرحلة النمو الأسي أو في بداية المرحلة الثابتة. يستمر التبوغ من 7 إلى 10 ساعات، حيث تخضع الخلية لتغيرات أيضية ومورفولوجية عميقة تبلغ ذروتها في البوغ (الشكل39): ويتم في عدة مراحل:

- **المرحلة 1**: يتوضع الجهاز النووي في خيط محوري على طول البكتيريا.

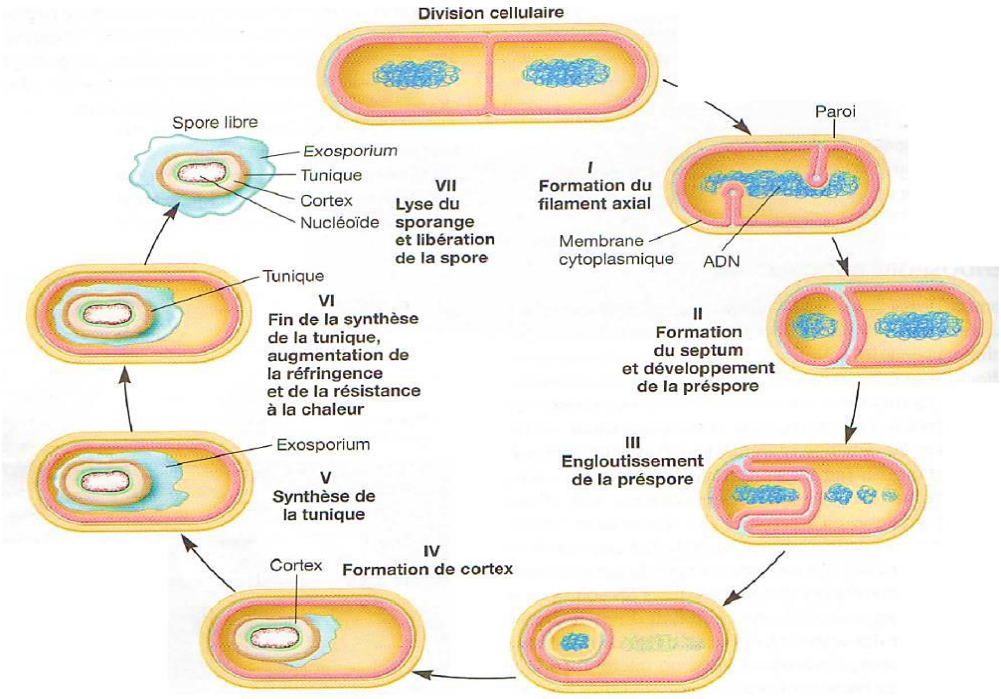
- **المرحلة 2**: ينقسم الجهاز النووي إلى قسمين مع ظهور حاجز عرضي فاصل ورقيق انطلاقا من الغشاء البلازمي والذي يقسم البكتيريا إلى قسمين غير متساويين، أصغرهما يعطي البوغة.

- **المرحلة 3**: يتواصل بناء الحاجز محددا منطقة مستقلة ذاتيا ومكونة من كروموزوم، سيتوبلازم وغشاء مزدوج، أحدهما سيتوبلازمي والآخر يمثل الجدار مستقبلا وهي مرحلة " ما قبل البوغة" Préspore او "طليعة البوغة".

- **المرحلة 4**: تتشكل القشرة إبتداءا من هذه المرحلة ويصبح التبوغ لا رجعة فيه. يبدأ تكون DPA وتراكم أيونات Ca^{++}.

- **المرحلة 5**: تكوين الأغلفة البوغية حيث تصبح القشرة أكثر نضجا وتظهر مقاومة للحرارة في هذه المرحلة.

- **المرحلة 6**: البوغة كاملة وناضجة ويتم تحريرها من الخلية. تحلل الخلية الأم وتطلق البوغة الناضج. لديها السيتوبلازم الخاص بها وDNA البوغة. في هذه المرحلة، تخلو البوغة من أي نشاط استقلابي، لكنه يتمتع بكل خصائص المقاومة الخاصة به.



الشكل 39 : مراحل عملية التبوغ

ث. خصائص البوغة

في الظروف الطبيعية، تساعد البوغة على مقاومة نقص الماء والمواد المغذية. تجريبيا، تم توضيح الخصائص التالية:

- **المقاومة الحرارية:** عادة ما تقاوم البوغة درجات الحرارة من 70-80 درجة مئوية لمدة 10 دقائق، وأحيانًا أطول. تنتج مقاومة الحرارة عن عدة عوامل: المحتوى المائي المنخفض للأبواغ (20٪ من المحتوى الأولي للخلية الخضرية)، والأحماض النووية والبروتينات "SASP" (بروتينات حمضية وقابلة للذوبان يمكن أن تلتصق بالحمض النووي. بعضها يقاوم الماء المغلى خلال عدة دقائق (مقاومة الحرارة) يصعب تغيير طبيعتها في حالة الجفاف. يعمل هذا الجفاف على تثبيط نشاط الإنزيمات داخل الجسم عن طريق الحد من إذابة المركبات النشطة القابلة للذوبان. أيضا، يلعب وجود المركب الذي ينشأ بين DPA وCa^{++} دورا في المقاومة، لأن استبداله بمركبات أخرى تجعل البوغة حساسًا للحرارة. تشارك القشرة في مقاومة الحرارة (تكون غير نفوذة). لا تتخرب الأبواغ إلا بعد تسخين لا تقل مدته عن 10 دقائق وفي 120°م في حرارة رطبة (المؤصدة).

- **مقاومة العوامل الفيزيائية والكيميائية:** البوغة مقاوم للأشعة فوق البنفسجية، الأشعة السينية(X) والضغط العالي وأشعة جاما (الكالسيوم و SASP). تكون أقل حساسية للمطهرات من الأشكال الخضرية. بعض المضادات الحيوية القاتلة للبكتيريا ليس لها أي مفعول على الأبواغ.

ج. إنتاش البوغة

لكي تنتش البوغة، يجب أن تكون في ظروف مواتية: الماء، المغذيات، الأس الهيدروجيني، القوة الأيونية، درجة الحرارة، لا يوجد عامل مضاد للميكروبات. في كل الحالات، يتم إنتاش في ثلاث مراحل:

- **.التنشيط:** يحدث في ظل ظروف بيئية مواتية، إما عن طريق الصدمات الفيزيائية (تآكل أو تلف المغلفات عن طريق الحرارة)، أو عن طريق الصدمات الكيميائية (وجود نواتج أيضية محددة: L- ألانين، بيروفات، كربوهيدرات مختلفة،

ليزوزوم أو احماض). ينتج التنشيط عن إصابة طبقات البوغة، أو التسخين لبضع دقائق في درجة حرارة عالية أو التخزين لعدة أسابيع في درجة حرارة الغرفة.

- **البدء:** يمكن أن تنبت الابواغ التي تم تنشيطها بالفعل في وجود مغذيات محددة وفي ظل ظروف ترطيب مواتية. تتضمن هذه المرحلة بالنسبة للجراثيم فقدان مقاومتها، وتحلل المركب Ca^{++} - DPA والتحلل الذاتي للقشرة واغلفة البوغية.

- **النتوء:** هو انتفاخ مرئي ناتج عن معالجة الجفاف عن طريق الميز للأبواغ وتخليق جزيئات جديدة من البروتينات والحمض النووي والحمض النووي الريبي وغيرها. يمكن للخلية الخضرية أن تشارك في عملية النمو، إذا كانت الظروف الغذائية والفيزيائية والكيميائية للبيئة مواتية.

الفصل الثالث :الانماط الغذائية والانماط التنفسية عند البكتيريا

III. الانماط الغذائية والانماط التنفسية عند البكتيريا

1.III. التغذية البكتيرية والانماط الغذائية

يمكن أن يكون للبكتيريا عملية أيض مكثفة تؤدي إلى زيادة في الحجم، ولكن بشكل خاص في عدد الخلايا. يقال أن هذه الحالة الخضرية. في ظل ظروف معينة، تبطئ البكتيريا عملية التمثيل الغذائي ولا تنقسم، هذه هي حالة الراحة. في كلتا الحالتين، تحتاج البكتيريا إلى عناصر غذائية لتقسيم نفسها أو لمجرد إبقاء نفسها على قيد الحياة. اعتمادًا على طبيعة هذه الاحتياجات، يتم تحديد البكتيريا الأولية prototrophes والبكتيريا العزوية auxotrophes.

للبكتيريا الأولية التغذية احتياجات أساسية (مصدر الماء للطاقة – مصدر الطاقة للكربون والنيتروجين – المغذيات الكبيرة والصغرى)، بينمت تتطلب البكتيريا العزوية عوامل النمو بالإضافة إلى الاحتياجات الأساسية.

العوامل البيئية مهمة جدًا أيضًا للنمو كدرجة الحموضة، درجة الحرارة، الضغط الأسموزي ووجود أو عدم وجود الأكسجين. تعتبر الاحتياجات الغذائية (العناصر الغذائية الموجودة في وسط الاستنبات) للبكتيريا ضرورية: لإنتاج طاقتها لبناء مكوناتها الخلوية. تشترك الكائنات الدقيقة في عدد معين من الاحتياجات: في الماء، في مصدر للكربون والنيتروجين وفي مصدر للمعادن.

1.1.III. الاحتياجات الأساسية

أ. الماء

يمثل الماء 80 إلى 90 ٪ من وزن الخلية. يلعب دورًا أساسيًا في إذابة العناصر الغذائية، وضمان نقلها وضمان تفاعلات التحلل المائي. يحدد مؤشر يسمى Aw (نشاط الماء) مدى توفر الماء. في مادة غذائية، يرتبط جزء من الماء إلى حد ما بالمكونات (الأملاح والبروتينات) ولا يتوفر للكائنات الدقيقة التي تحتاج إلى مياه حرة لتتطور. هذه

النسبة، أقل من أو تساوي 1، يمكن تشبيهها بالرطوبة النسبية للوسط. تتطلب البكتيريا حدًا معينًا من الرطوبة، وفي حالة انخفاض Aw، يتباطأ نموها.

تتطور بعض الجراثيم فقط في قيمة Aw أكبر من 0.97. في المقابل، فإن البكتيريا المحبة للملوحة التي تتطلب وجود ملح (كلوريد الصوديوم، 1-15٪) تتطور في حدود قيمة Awتساوي 0.75. يمكن أن تعيش الإندوسبورات (الابواغ) في بيئة خالية من الماء. يعتبر الهيدروجين عامل تفاعلات اختزال مختلفة وهو من مكونات أي جزيء عضوي، يتم الحصول عليه من H_2O، المواد العضوية، H2.

ب. مصدر الكربون

الكربون هو المكون الرئيسي للمادة العضوية والمواد الخلوية، ويشكل منها 50٪ من الوزن الجاف. تمتص البكتيريا الكربون من مصدرين اعتمادًا على نوعها الغذائي:

البكتيريا ذاتية التغذية autotrophes: استخدم ثاني أكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون، يتم تقليل ثاني أكسيد الكربون إلى مركبات عضوية مختلفة (تخليق الكربوهيدرات). يمكن استخدامه لتخليق بعض المستقلبات الأساسية التي قد تنطوي على تفاعل الكربوكسيل.

البكتيريا غير ذاتية التغذية hétérotrophes: استخدام المركبات العضوية (الكحول، حمض الخل، حمض اللاكتيك، السكريات) كمصدر رئيسي للكربون لتخليق مادتها الخلوية. يستعمل في عمليات استقلاب الطاقة (التنفس أو التخمير).

الاكسجين (H_2O، المواد العضوية، CO_2، O_2) مكون للمواد الخلوية والماء وهو أيضًا مستقبل للإلكترون لتفاعلات استقلاب الطاقة (التنفس الهوائي) في البكتيريا غيرية التغذية الهوائية و المنتج النهائي للتفاعلات الضوئية للبكتيريا ذاتية التغذية.

ت. مصدر النيتروجين (الازوت)

يتطلب تخليق البروتينات، الأحماض النووية والإنزيمات المساعدة مواد نيتروجينية. يمثل النيتروجين 12٪ من الوزن الجاف للبكتيريا. الأشكال الرئيسية للنيتروجين في الطبيعة غير عضوية: الأمونيا (NH_3)، النترات ($-NO_3$)، النيتروجين الجزيئي (N_2)، أملاح الأمونيوم (NH_4^+) أو عن طريق المصادر العضوية تتمثل في مجموعات أمين للمركبات العضوية. باستثناء جميع الكائنات الحية الأخرى، فقط عدد قليل من البكتيريا قادرة على تثبيت N_2الجوي. هذه بكتيريا مثبتة للنيتروجين تعيش إما في تعايش مع النباتات مثل البقوليات (مثل Rhizobium) أو الفطريات أو في حالة حرة (مثل Azotobacter) التي تلعب دورًا في تخصيب التربة.

ث. العناصر المعدنية

إضافة الى الكربون والنتروجين تحتاج البكتيريا إلى عناصر معدنية تتواجد في الوسط بكميات كبيرة Macronutriments (الجدول 4). الصوديوم مهم لنمو البكتيريا المحبة للملوحة (من الملح والفيلين).

المغذيات صغيرة المقدار oligoéléments ضرورية للتغذية البكتيرية وهي مطلوبة بتركيزات منخفضة جدًا. إنهم موجودون في الوسط على شكل أملاح، ويشاركون في الحفاظ على بنية البروتينات ويدخلون في تكوين الإنزيمات والعوامل المساعدة ويشاركون في نشاطهم التحفيزي. يمكننا الاستشهاد بالكوبالت والزنك والبورون والنحاس والمنغنيز والسيلينيوم .... مهم جدًا لعمل الإنزيمات. ليست كلها مطلوبة من قبل نفس النوع.

الجدول 4 : العناصر المعدنية، مصادرها ووظائفها في الخلايا البكتيرية

العناصر المعدنية	الوزن الجاف (٪)	المصدر	الدور الحيوي
الفوسفور	3	فوسفات عضوي وغير عضوي (PO_4)	تكوين الأحماض النووية، ATP، فسفوليبيدات، LPS، أحماض تيكويك
الكبريت	1	مادة عضوية تحتوي على الكبريت. غير عضوي (كبريتات SO4- ، كبريتيد المعادن: FeS، CuS، ZnS)	يدخل في بنية السيستين والميثيونين (دورًا في جسور ثاني كبريتيد) والعديد من الإنزيمات المساعدة. يشارك الكبريت في الهياكل المعقدة للبروتينات. يستخدم في تصنيع الفيتامينات (البيوتين، الإنزيم المساعد أ). مصدر طاقة: مستقبل الإلكترون في السلاسل التنفسية اللاهوائية.
البوتاسيوم	1	أملاح البوتاسيوم (فلوريد الكالسيوم، كربونات الكالسيوم، كلوريد البوتاسيوم، فوسفات الكالسيوم وأكسليت الكالسيوم)	يلعب دورًا كعامل مساعد إنزيمي، وظيفة استقرار الهياكل الخلوية، تلعب دورًا في التوازن الفيزيائي الكيميائي للخلية. ضروري للنشاط الأنزيمي والتخليق الحيوي للبروتين.
الكالسيوم	0,5	أملاح الكالسيوم	العامل المساعد لبعض الإنزيمات مرتبط بحمض الديبيكولينك، دورًا مهمًا في مقاومة الإندوسبورات للحرارة (الابواغ). كما أنه يعمل على استقرار جدار البكتيريا
الحديد	0,2	أملاح الحديد	يكون في السيتوكرومات وبعض البروتينات الحديدية (الترانسفيرين أو اللاكتوفيرين) والعامل المساعد لبعض التفاعلات الأنزيمية. ناقل الإلكترون في السيتوكرومات في السلسلة التنفسية الهوائية
المغنيسيوم (Mg)	0,5	أملاح المغنيسيوم	ضروري للنشاط الأنزيمي، ويشارك في تثبيت الريبوسومات والأحماض النووية وأغشية الخلايا

يمكن للعناصر المعدنية أن:

- تكون عوامل محددة للنمو مثل أيونات المغنسيوم التي يشترطها الجنس *Lactobacillus* كي ينمو جيدا.
- تدخل في انتاج المضادات لحيوية مثل الكبريت في حالة البنيسيلين والكلور في حالة Chlortétracycline.
- تكون ضرورية لإفراز الأصبغة كما هو الحال في افراز البروديجيوزين عند النوع *Serratia matcescens* التي تتطلب وجود الحديد والمغنسيوم في الوسط.

III.1.2. مصدر الطاقة

تحتاج البكتيريا إلى الطاقة لإجراء تفاعلات التخليق الحيوي والوظائف الخلوية الحيوية الأخرى. يتم تخزين هذه الطاقة في روابط كيميائية مثل ATP (Adenosine triphosphate). تنتج البكتيريا هذه الطاقة من مصدرين مختلفين:

المصدر الأول: ضوء الشمس: تستطيع بعض البكتيريا تحويل الطاقة الضوئية (الشمسية) إلى طاقة كيميائية قابلة للاستخدام بيولوجيًا (ATP) من خلال عملية التمثيل الضوئي. تسمى هذه البكتيريا: البكتيريا الضوئية phototrophes. لديهم في الغالب ثاني أكسيد الكربون كمصدر للكربون ويقال إنهم: photolithotrophes أو photoautotrophes. تحتوي البكتيريا الأخرى ذات التغذية الضوئية على مركبات عضوية كمصدر للكربون: وهي عبارة عن بكتيريا photoorganotrophes أو photohétérotrophes.

المصدر الثاني: أكسدة المركبات الكيميائية: غالبية البكتيريا الموجودة في الطبيعة خالية من أصباغ، لذلك فهي غير قادرة على التمثيل الضوئي. يستمدون طاقتهم من تفاعلات الأكسدة والارجاع الكيميائية: وهي حالة البكتيريا الكيميائية chimiotrophes. يمكن أن تكون المركبات الكيميائية: المركبات العضوية: الكربوهيدرات والأحماض العضوية والأحماض الأمينية والبروتينات يسمى بكتيريا chimioorganotrophes أو chimiohétérotrophes. المركبات غير العضوية: بعض البكتيريا قادرة على استخدام الركائز غير العضوية (CO, Fe^{+2},$-H2$, H_2S, S, S_2O_3 ,NO_2^- ,NH_4^+). إنها عملية حصرية لما يسمى بكتيريا chimiolithotrophes أو بكتيريا chimioautotrophes، ولا توجد في أي كائن حي آخر. غالبًا ما تعمل مصادر الكربون أيضًا كركائز للطاقة، وجزء مدمج في المادة الخلوية، ويتأكسد الباقي لتوفير الطاقة اللازمة.

أ. عملية اصطناع الطاقة ATP

يتكون ATP من ADP وفوسفات لا عضوي بواسطة تفاعل الفسفرة حسب ثلاث أنواع من اليات الفسفرة:

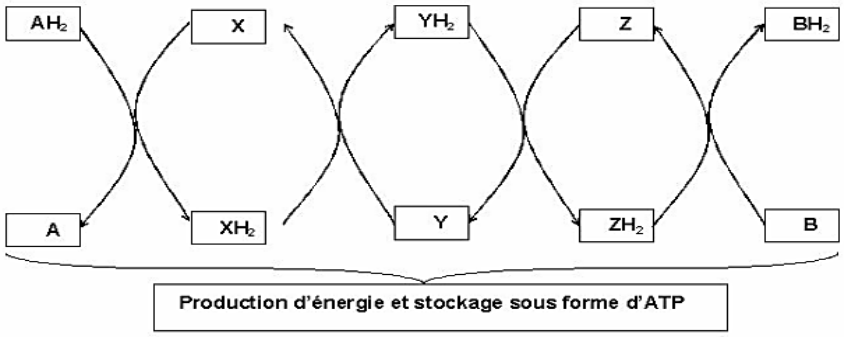
– **الفسفرة على مستوى الركيزة:** توجد هذه الكيفية لاصطناع ATP في glycolyse (تفاعل هدم الغلوكوز) وتتم الفسفرة بفضل الية انزيمية بإضافة الفوسفات اللاعضوي لمادة (الركيزة) قابلة للأكسدة مع انتاج رابطة فوسفاتسة غنية بالطاقة في المادة المؤكسدة. تنتقل المجاميع الفوسفاتية الغنية بالطاقة الى ADP مكونة بذلك ATP.

– **الفسفرة التأكسدية:** سلسلة نقل الإلكترون من الركيزة الى المستقبل النهائي الاكسجين، والتي تسمى أيضًا السلسلة التنفسية، والتي ترتبط بها الفسفرة المؤكسدة، لها بنية معقدة للغاية مماثلة لتلك الموجودة في الخلايا حقيقية النواة، ولكن هناك اختلافات ملحوظة من بكتيريا إلى أخرى.

إذا افترضنا، من أجل التبسيط، أن الناقل الإلكتروني الوحيد القابل للذوبان أثناء عملية التمثيل الغذائي التنفسي هو NAD، فإن الأكسدة الكاملة للجلوكوز عن طريق المسار الهوائي للدورة ثلاثية الكربوكسيل تتوافق مع التفاعل العام التالي: $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12NAD^+ \rightarrow 6CO_2 + 12NADH + 12\ H^+$

تتدخل السلسلة التنفسية لإعادة أكسدة الإنزيمات المختزلة (الشكل 40):

$12NADH + 12H^+ + 6O_2 \rightarrow 12NAD^+ + 12H_2O$



الشكل 40: تمثيل تخطيطي لسلسلة الجهاز التنفسي في البكتيريا

AH2 المتبرع الإلكتروني (الركيزة النشطة)، Aمانح مؤكسد، Bمتقبل الإلكترون النهائي

يمكن أن تكون الناقلات الوسيطة (X و Y و Z) عبارة عن إنزيمات مشتركة مثل NAD أو FAD أو FMN أو cytochromes.

- **الفسفرة الضوئية (التركيب الضوئي)**: في بكتيريا التمثيل الضوئي، لا توجد الصانعات الخضراء؛ يتم تشتيت الكلوروفيل البكتيري في السيتوبلازم ككروماتوفور. يمكن تلخيص عملية التمثيل الضوئي الخاصة بهم على النحو التالي:

$$CO_2 + 2RH_2 \xrightarrow{\text{Lumière}} (CH_2O) + 2R + H_2O$$

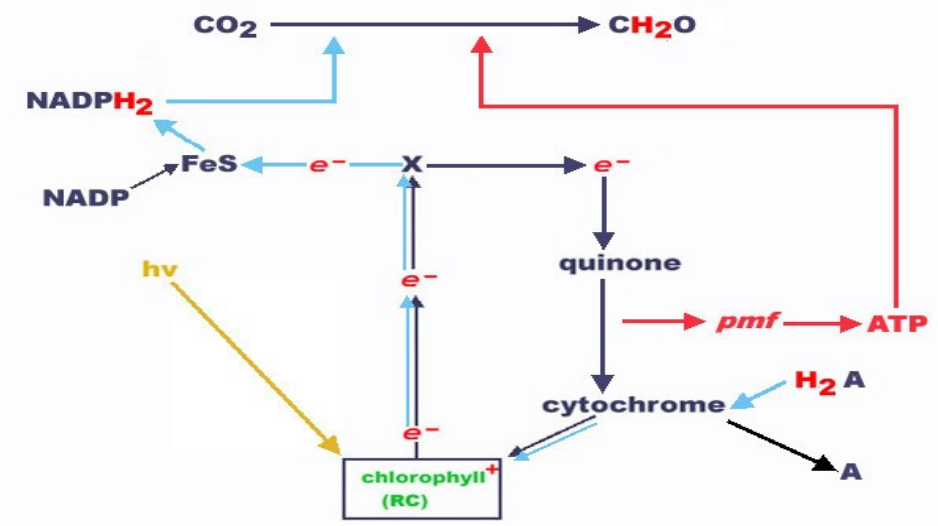
RH_2 est le donneur d'électrons.

في البكتيريا، لا يكون المتبرع بالإلكترون أبدًا H_2O باستثناء البكتيريا الزرقاء. أثناء عملية التمثيل الضوئي، يحدث نوعان من التفاعلات (الشكل 41):

- تمتص أصباغ الكلوروفيل الطاقة الضوئية، ثم تتحول إلى طاقة ربط (ATP) بفضل نظام نقل الإلكترون: تفاعل الضوء(light reaction).

- تفاعلات التخليق الحيوي (تفاعل مظلم) يتم خلالها استخدام الطاقة المخزنة في شكل ATP للتخليق الحيوي البكتيري من ثاني أكسيد الكربون (أو المركبات العضوية).

يمتص اليخضور البكتيري الطاقة ويحرر الالكترونات (أكسدة)، تنتقل الالكترونات عبر نواقلها التي تتمثل في الكينون، السيتوكرومات والفيروكسين. تعود الالكترونات بعد ذبك الى نقطة انطلاقها لارجاع اليخضور البكتيري.



الشكل 41: رسم تخطيطي يوضح اقتران تفاعلات التمثيل الضوئي

Pmf : القوة الدافعة للبروتون ؛ H2A: مانح خارجي للإلكترون ؛ X: فيروكسين

حالة Photolithotrophes: وهي عبارة عن كائنات لاهوائية صارمة وتستخدم الكبريتيدات أو H_2 كمانحين للإلكترون. تنتج أكسدة الكبريتيد حبيبات الكبريت الموجودة في السيتوبلازم البكتيري. هناك عائلتان: Chlorobacteriaceae (بكتيريا الكبريت الخضراء) و Thiorodaceae (بكتيريا الكبريت الأرجواني).

حالة Photoorganotrophes : يستخدمون، كما يوحي اسمهم، ركائز عضوية كمانحين للإلكترون. في معظم الحالات، لا يكون التمثيل الضوئي إلزاميًا؛ في الظلام، تصبح البكتيريا chimioorganotrophes. لدينا عائلة Athiorodaceae (بكتيريا أرجوانية غير كبريتية).

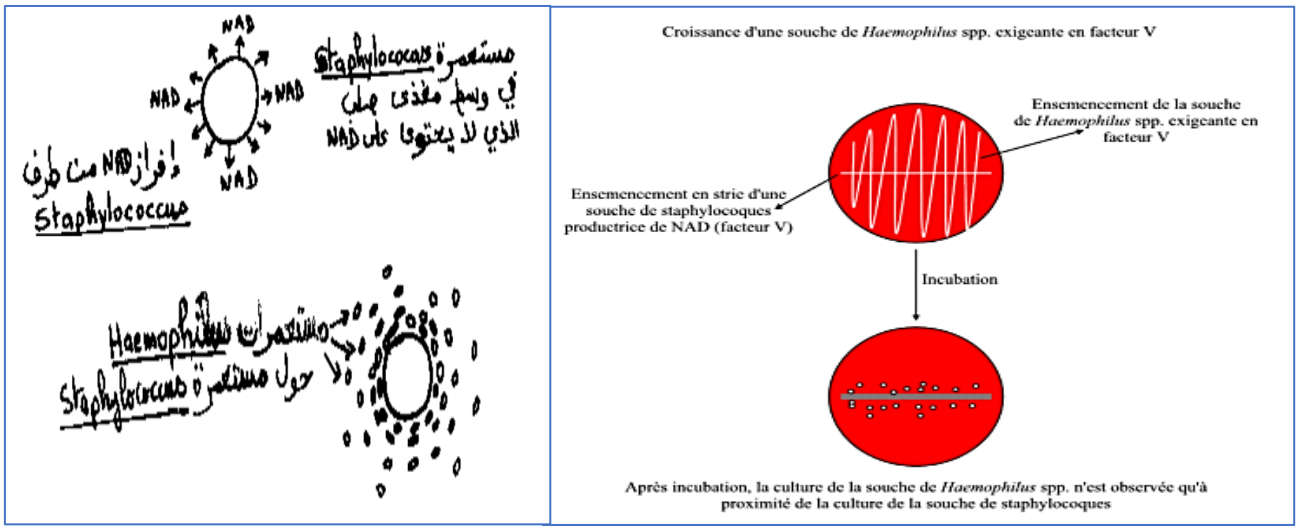
III.1 .3. عوامل النمو

هي مركبات عضوية ضرورية لتغذية ونمو بعض البكتيريا لأنها غير قادرة على تصنيعها. يُقال إن البكتيريا التي تتطلب وجود هذه المركبات في بيئتها هي auxotrophes. توجد ثلاث أصناف من عوامل النمو هي فيتامينات (1µg/ml) ب 1 ، ب 6 ، ب 12 ، حمض الفوليك التي تدخل في تركيب مرافقات الانزيم الضرورية في تفاعلات الاكسدة والارجاع (سلائف الإنزيمات المساعدة من NAD ، من الإنزيم المساعد A ، من FMN ، من FAD)، الاحماض الامينية (10µg/ml) الضرورية لاصطناع البروتينات وأخيرا القواعد الازوتية اللازمة لتكوين القواعد النووية. في وسط يحتوي على الجلوكوز، ومصدر للنيتروجين والأملاح المعدنية، يمكن لبكتيريا مثل *Escherichia coli* أن تتكاثر بينما لا ينطبق هذا على *Proteus vulgaris*. يتطلب نمو *Proteus vulgaris* إضافة نيكوتيناميد إضافية. يعد النيكوتيناميد ضروريًا لنموها، النيكوتيناميد هو مستقلب أساسي لهذين النوعين، ولكنه عامل نمو فقط لـ *Proteus vulgaris*. ترتبط فكرة عامل النمو بجنس أو نوع أو حتى سلالة.

أ. ظاهرة التداخل الغذائي Phénomène de satellitisme

في بعض الأحيان يمكن تلبية احتياجات عامل النمو للأنواع البكتيرية من خلال التواجد في وسط نوع آخر قادر على تكوين هذا العامل: هذه هي ظاهرة Syntrophy (الشكل 42). مثال: تنمو في نفس الطبق من:

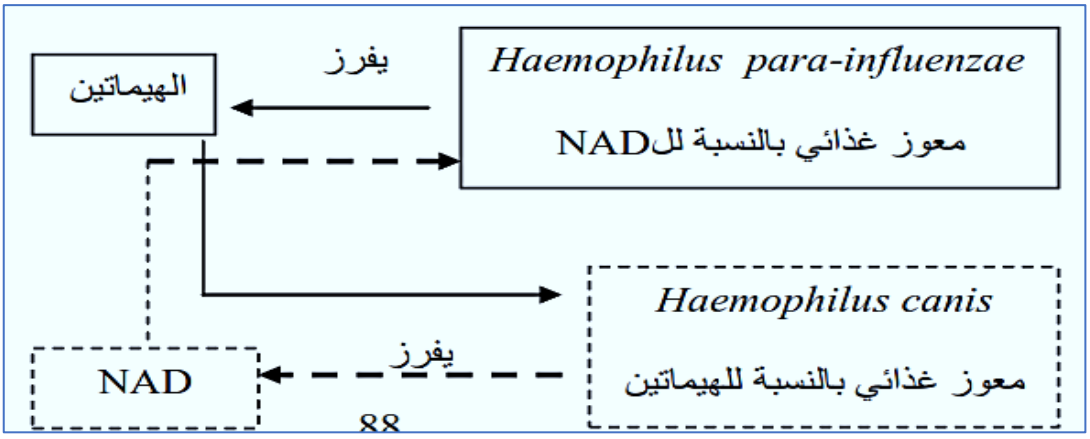
Haemophilus spp = البكتيريا فقيرة للعامل (NAD) V و *Staphyloccoque* = البكتيريا المنتجة لـ NAD.



الشكل 42: ظاهرة التداخل الغذائي بين *Haemophilus spp* و *Staphyloccoque*

ب. ظاهرة التكافل او التعايش الغذائي

هي صورة تختلف عن التداخل الغذائي. في حالة وجود كائنين دقيقين يحتجان لمادتين مختلفتين، فإن كل واحد منهما يفرز عامل النمو الضروري لنمو الأخر (الشكل 43).



الشكل 43: ظاهرة التكافل او التعايش الغذائي

الجدول 5: الأنماط الغذائية عند البكتيريا

Source d'énergie	Source de pouvoir réducteur	Source de carbone	Type trophique
Lumière *Photo-*	Composé organique *-organo-*	Organique *-hétérotrophe*	Photoorganohétérotrophe
		Minérale (dioxyde de carbone) *-autotrophe*	Photoorganoautotrophe
	Inorganique *-litho-*	Organique *-hétérotrophe*	Photolithohétérotrophe
		Minérale (dioxyde de carbone) *-autotrophe*	Photolithoautotrophe
Composé chimique organique ou non *Chimio-*	Composé organique *-organo-*	Organique *-hétérotrophe*	Chimioorganohétérotrophe
		Minérale (dioxyde de carbone) *-autotrophe*	Chimioorganoautotrophe
	Inorganique *-litho-*	Organique *-hétérotrophe*	Chimiolithohétérotrophe
		Minérale (dioxyde de carbone) *-autotrophe*	Chimiolithoautotrophe

III.2. التنفس وانماط التنفس

في جميع أنواع التغذية هناك فقدان للبروتون. تذهب هذه البروتونات بعد النقل عبر سلسلة الأكسدة والارجاع لارجاع المستقبل النهائي. أثناء هذا النقل الإلكتروني يحدث تكوين (تخليق) ATP . يختلف نظام النقل من كائن إلى آخر وهو أكثر أو أقل تعقيدًا اعتمادًا على طبيعة الركيزة المؤكسدة. تمتلك الكائنات الحية الدقيقة، وخاصة الكائنات الهوائية الاختيارية، العديد من سلاسل النقل وفي كل مرة تستخدم الأفضل من حيث الطاقة. تتموضع هذه الناقلات في الغشاء السيتوبلازمي للبكتيريا حيث في نهاية السلسلة، يتم استخدام é- و H^+ لإرجاع المستقبل النهائي معدني أو عضوي.

يمكن تمييز عدة مجموعات بكتيرية بناءً على احتياجاتها من الأكسجين وحسب المستقبل النهائي للإلكترونات:

- **الهوائية الصارمة Aérobies strictes**: تتطور فقط في وجود الأكسجين. المصدر الرئيسي للطاقة هو التنفس الهوائي حيث الأكسجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترون (*Pseudomonas, Acinetobacter, Neisseria*).

- **المحبة للقليل من أكسجين Microaérophiles**: يمكن أن تنمو عندما يكون الضغط الجزئي للأكسجين منخفضًا (*Campylobacter, Mycobacteriaceae*).

- **اللاهوائية الصارمة Anaérobies strictes**: غير قادرة على النمو بوجود الأكسجين. إنه سام بالنسبة لهم. من أجل التمثيل الغذائي، يستخدمون التخمر (المستقبل النهائي للإلكترون مركب عضوي) أو التنفس اللاهوائي (المستقبل النهائي للإلكترون مركب معدني) أو التمثيل الضوئي (*Clostridium*).

- **اللاهوائية الاختيارية Aéro-anaérobies facultatives**: يمكن أن تنمو في وجود الأكسجين باستخدام التنفس الهوائي وفي اللاهوائية التخمير أو التنفس اللاهوائي (*Escherichia, Salmonella), les streptocoques, les staphylocoques*.

- **اللاهوائية المتحملة للأكسجين Anaérobies aérotolérantes**: تنمو في وجود وغياب الأكسجين ولكن بدون استخدامه. يستخدمون مسارات التخمير حصريًا لعملية التمثيل الغذائي.

III.2.1 الية الانتقال الالكتروني اثناء التنفس الهوائي والتنفس اللاهوائي والتخمر

التنفس هو مجموعة تفاعلات الأكسدة البيوكيميائية التي تزود الجسم بالطاقة اللازمة لتكوينه الحيوي، وخاصة من خلال الفسفرة الغشائية المؤكسدة (سلسلة نقل الإلكترون). يتم تمييز نوعين من التفاعلات اعتمادًا على الطبيعة الكيميائية للمستقبل النهائي (الجدول 6):

- مستقبل O_2 ⟵ تنفس هوائي

- مستقبل معدنًا (نترات ، كبريتات ، ثاني أكسيد الكربون) أو عضوي (على سبيل المثال: فومارات) ⟵ التنفس اللاهوائي

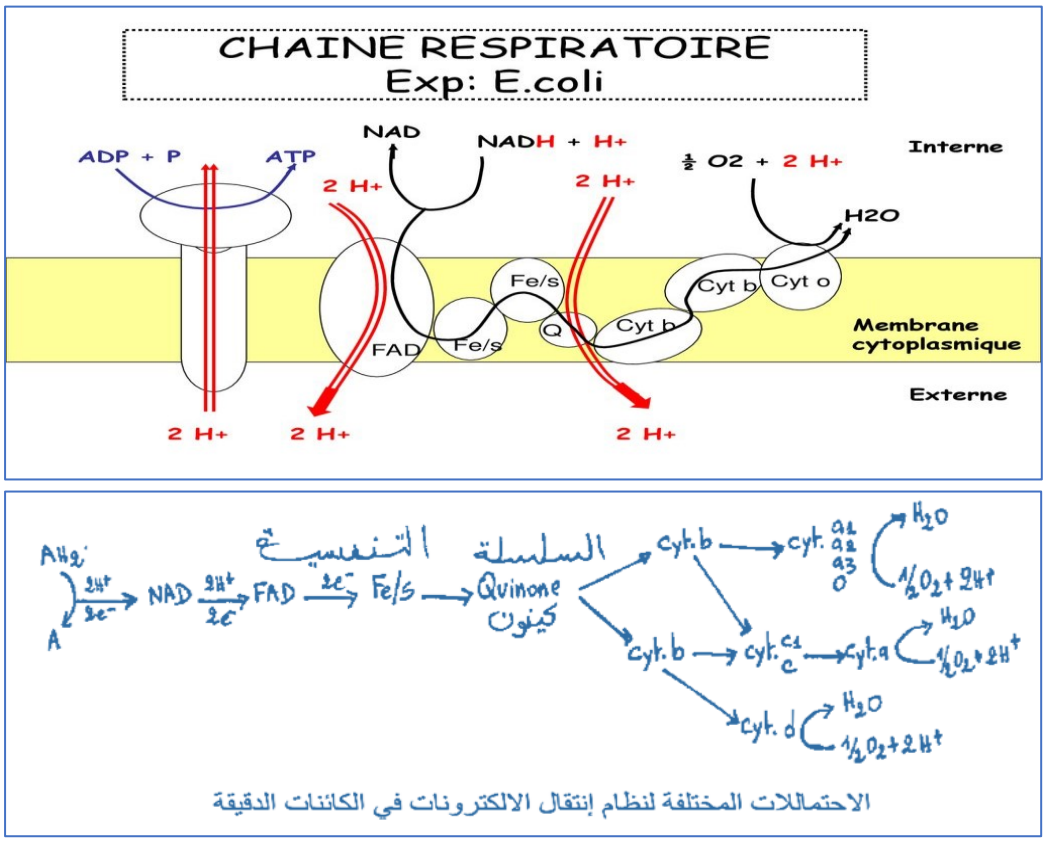
الجدول 6: مستقبلات الإلكترون المختلفة أثناء التنفس في البكتيريا

Accepteur d'électrons	Produit final réduit	Nom du processus	Exemples de microorganismes
O_2	H_2O	Respiration aérobie	*Escherichia coli*, *Streptomyces*
NO_3^-	NO_2^-, NH_3 or N_2	Respiration anaérobie (dénitrification)	*Bacillus*, *Pseudomonas*
SO_4^{--}	S or H_2S	Respiration anaérobie (réduction des sulfates)	*Desulfovibrio*
fumarate	Succinate	Respiration anaérobie utilisant un accepteur d'e^- organique	*Escherichia coli*
CO_2	CH_4	Méthanogenèse	*Methanococcus*

أ. التنفس الهوائي Respiration aérobie

تتطلب سلسلة نقل الإلكترون عبر السلسلة التنفسية، المرتبطة بالفوسفورات المؤكسدة وجود مرافقات انزيمية كمؤكسدات أولية وهي NAD و FAD وكذلك بروتين الحديد-الكبريت، والكينون والسيتوكرومات حيث المستقبل النهائي الأكسجين. يتم ترتيبها بالتسلسل وفقًا لإمكانية الأكسدة والاختزال (الشكل 44). حركة الإلكترونات أو البروتونات: تحدث من أكثر المكونات الكهربية إلى المكون الأكثر حساسية للكهرباء (O_2).

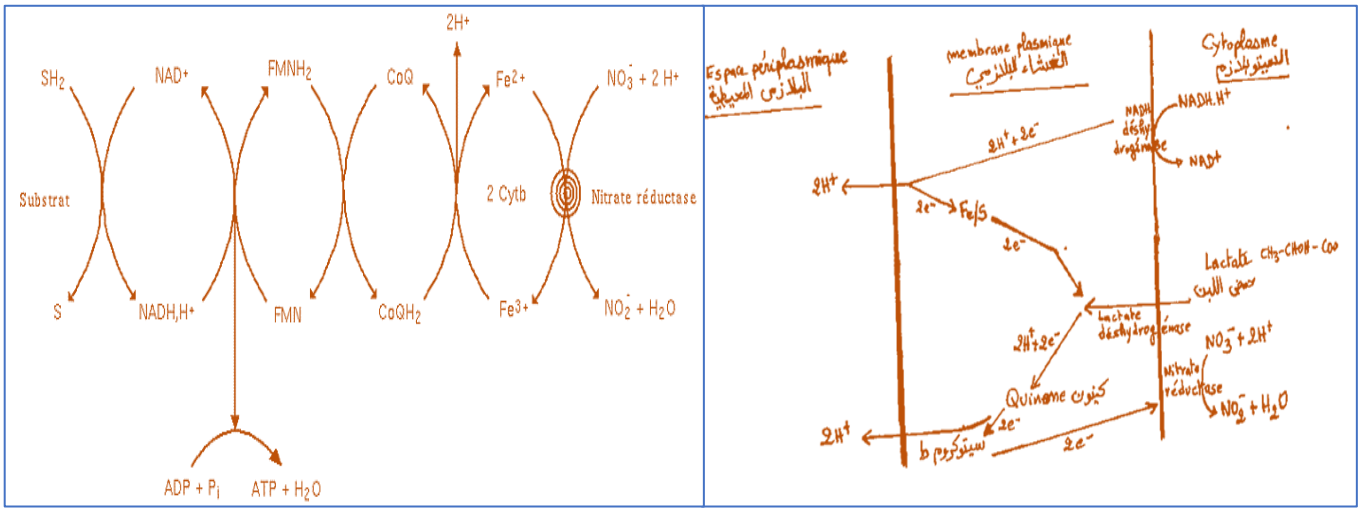
O_2 هو المستقبِل المفضل بسبب إمكاناته الإيجابية العالية E = 820mv. تتضمن سلسلة النقل الإلكتروني السيتوكروم أوكسيديز (ناقل طرفي يتفاعل مباشرة مع O_2 ويسبب تكوين الماء) السيتوكروم O (يستخدم في وجود تركيز عالٍ من O_2 وسيتوكروم D: أوكسيديز المستخدم في تركيز O_2 منخفض. تستخدم هذه السيتوكروم ذرات الحديد لنقل e-



الشكل 44: السلسلة التنفسية لنقل الالكترونات عند البكتيريا الهوائية الصارمة

ب. التنفس اللاهوائي Respiration anaérobie

يحدث التنفس اللاهوائي عندما تكون هناك معادن في البيئة تعمل كمستقبل لـ H^+ و e^- على سبيل المثال: نترات NO_3 مع إمكانية الأكسدة والاختزال = +420 mv أقل من O_2. تستخدم هذه الأكسدة أيضًا أوكسيديز كينوز quinose oxydase (يوبيكوينوز ubiquinoseمع إمكانية الأكسدة والاختزال = 100 مللي فولت). يتم إرسال الإلكتروني إلى ثاني أكسيد الكربون أو النترات حسب الاقتضاء. على سبيل المثال: *Pseudomonas denitrificans*: في اللاهوائية يوقف تخليق الأكسيدات الطرفية (cyt O، a، a3) التي تصبح غير صالحة للاستعمال وتقوم بتصنيع سلسلة جديدة من الاختزال الذي يسمح بالاختزال الكلي للنترات (الشكل 45).



الشكل 45: السلسلة التنفسية لنقل الالكترونات عند البكتيريا اللاهوائية الصارمة

ت. التخمر

هي مجموعة تفاعلات الأكسدة البيوكيميائية التي تزود بالطاقة من خلال الفسفرة غير المقترنة بعمليات الغشاء، ولكنها تحدث فقط في السيتوبلازم على مستوى الركيزة. لا يمكن إنتاج الطاقة عن طريق التخمير في البكتيريا الهوائية الصارمة. في اللاهوائية، يمكن للبكتيريا اللاهوائية الاختيارية فقط أن تنتج الطاقة من خلال التخمير. في البكتيريا اللاهوائية الصارمة واللاهوائية الاختيارية، يتم قمع مسارات التخمير هوائيًا (التأثير المثبط للأكسجين). مثال: يتم تخمير الجلوكوز على مرحلتين :

1-سلسلة أولى من التفاعلات تؤدي إلى أكسدة الجلوكوز إلى مركب وسيط: حمض البيروفيك.

2- سلسلة ثانية من التفاعلات تؤدي إلى منتج نهائي واحد أو أكثر (حمض اللاكتيك، حمض الأسيتيك، الإيثانول).

الطاقة الناتجة عن التخمير أقل بكثير من تلك الناتجة عن التنفس: ينتج عن الأكسدة الكاملة للجلوكوز عن طريق التنفس الهوائي 674 سعرة حرارية بينما ينتج تخمر الجلوكوز إلى حمض اللاكتيك 22.5 كيلو كالوري فقط. هذا ما يفسر انخفاض محصول النمو في اللاهوائية مقارنة بالهوائيات.

III.3.العوامل البيئية

يتأثر نمو البكتيريا إلى حد كبير بالمعايير الفيزيائية والكيميائية للبيئة مثل درجة الحرارة، ودرجة الحموضة، وتركيز المغذيات، وما إلى ذلك. يمكن لهذه المعلمات أن تثبط أو تعزز التغذية البكتيرية. كل بكتيريا لها قيم مثالية لكل عامل، وبالتالي، وفقًا للقيم المثلى، يتم تحديد فئات مختلفة من البكتيريا.

III.3.1. درجة الحرارة

تلعب دورًا أساسيًا في نمو البكتيريا (تحفز التفاعلات الأنزيمية). وفقًا لدرجة الحرارة المثلى للتطور، تنقسم البكتيريا إلى 5 مجموعات فزيولوجية (الشكل 46):

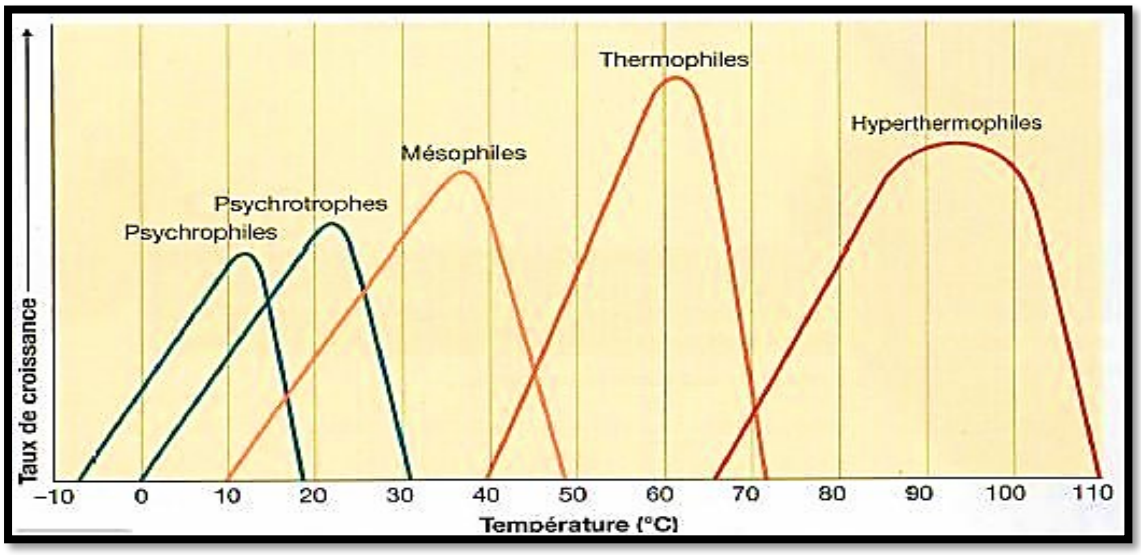
psychrotrophes: يمكن زراعته عند صفر درجة مئوية. درجة حرارة التكاثر المثلى بين 20 إلى 25 درجة مئوية.

psychrophiles: أقصى درجة حرارة 20 درجة مئوية. درجة حرارة النمو المثلى أقل من 15 درجة مئوية.

Mesophiles: النمو بين 25 و 40 درجة مئوية. أفضل عند 37 درجة مئوية. معظم البكتيريا المسببة للأمراض.

thermophiles: درجة الحرارة المثلى بين 50 و 60 درجة مئوية.

Hyperthermophiles : تتمتع عشبة الحرارة العالية بدرجة حرارة نمو مثالية تتراوح بين 70 درجة مئوية و 110 درجة مئوية.



الشكل 46: معدل النمو البكتيري بدالة لدرجة الحرارة

يمكن استخدام معامل درجة الحرارة لعدة أغراض؛ وهي: تصنيف البكتيريا، زراعة البكتيريا في درجات حرارة النمو المثلى، تخزين الطعام في الثلاجة. غالبية البكتيريا التي تلوث طعامنا تنمو قليلاً أو لا تنمو في درجات حرارة منخفضة (الجدول 7).

الجدول 7: درجات الحرارة الدنيا والقصوى والمثلى لبعض أنواع البكتيريا والبكتيريا الأثرية

Espèce bactérienne	Minimum	Optimum	Maximum
Listeria monocytogenes	1	30-37	45
Vibrio marinus	4	15	30
Pseudomonas maltophilia	4	35	41
Thiobacillus novellus	5	25-30	42
Staphylococcus aureus	10	30-37	45
Escherichia coli	10	37	45
Clostridium kluyveri	19	35	37
Streptococcus pyogenes	20	37	40
Streptococcus pneumoniae	25	37	42
Bacillus flavothermus	30	60	72
Thermus aquaticus	40	70-72	79
Methanococcus jannaschii	60	85	90
Sulfolobus acidocaldarius	70	75-85	90
Pyrobacterium brockii	80	102-105	115

III.2.3. الرقم الهيدروجيني pH

يعكس جهد الهيدروجين (pH) تركيز البروتونات (+ H) في وسط. هذا عامل مهم للغاية يؤثر بشكل كبير على نمو البكتيريا. مثل درجة الحرارة، يمكن للبكتيريا أن تنمو في نطاق أكثر أو أقل أهمية (حسب الأنواع) من الرقم الهيدروجيني. وهي مقيدة بحد أدنى للقيمة التي لا يوجد تحتها مزيد من التطوير وقيمة قصوى يتوقف النمو فوقها. يكون النمو أفضل عندما يكون الرقم الهيدروجيني هو الأمثل (الجدول 8). اعتمادًا على درجة الحموضة المثلى، يتم تمييز ثلاث مجموعات بكتيرية:

- **Acidophiles**: درجة الحموضة الحمضية المثلى. تنمو عند درجة الحموضة أقل من 5.5. مثال: العصيات اللبنية التي يكون الرقم الهيدروجيني الأمثل لها هو 6.*Thermoplasma acidophilum* : له درجة حموضة مثالية بين 0.8 و 3.
- **Neutrophiles**: درجة حموضة مثالية قريبة من الحياد. تتكاثر غالبية البكتيريا بشكل تفضيلي عند درجة حموضة قريبة من الحياد (6.5 إلى 7.5).
- **Basophiles** (**alkalophiles**): درجة الحموضة الأساسية الأمثل. تنمو عند الرقم الهيدروجيني أكبر من 8. مثال: *Bacillus* ، *Flavobacterium*. *Alkaliphilus transvaalensis* قادر على النمو عند درجة حموضة 12.5.

الجدول 8: الحد الأدنى والأقصى والأمثل لدرجة الحموضة للبكتيريا

Espèce bactérienne	pH minimum	pH optimum	pH maximum
Thiobacillus thiooxidans	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
Sulfolobus acidocaldarius	1.0	2.0-3.0	5.0
Bacillus acidocaldarius	2.0	4.0	6.0
Zymomonas lindneri	3.5	5.5-6.0	7.5
Lactobacillus acidophilus	4.0-4.6	5.8-6.6	6.8
Staphylococcus aureus	4.2	7.0-7.5	9.3
Escherichia coli	4.4	6.0-7.0	9.0
Clostridium sporogenes	5.0-5.8	6.0-7.6	8.5-9.0
Erwinia caratovora	5.6	7.1	9.3
Pseudomonas aeruginosa	5.6	6.6-7.0	8.0
Thiobacillus novellus	5.7	7.0	9.0
Streptococcus pneumoniae	6.5	7.8	8.3
Nitrobacter sp.	6.6	7.6-8.6	10.0

III.3.3. الضغط الاسموزي

يعكس الضغط الاسموزي لوسط ما التركيز الكلي للأيونات والجزيئات في المحلول في هذا الوسط. النشاط المائي (Aw: "نشاط الماء") يتناسب عكسيا مع الضغط الاسموزي للوسط. وبالتالي، فإنه يتأثر بتركيز أكبر أو أقل من الأملاح أو السكريات الذائبة في الماء. يمكن أن تنمو البكتيريا في الوسائط ذات Aw بين 1 و 0.7. Aw الماء الصافي تقدر ب 1 ؛ دم الإنسان ب 0.99؛ مياه البحر ب 0.98 والتربة بين 0.9 و 1.0. فيما يتعلق بتركيز الأملاح في الوسط، نميز:

البكتيريا المحبة للملوحة halophiles: تتطلب الملح (كلوريد الصوديوم) لنموها. كلوريد الصوديوم أكبر من 0.2 مول لقليلة الملوحة (*Cobetia marina*)، وأكبر من 5.2 M لمعظم المحبة كثيرا للملوحة (*Halobacterium salinarum*).

البكتيريا المتحملة للملوحة halotolérantes: تقبل تركيزات معتدلة من الأملاح ولكنها ليست إلزامية لنموها (*Staphylococcus aureus*، *Listeria*، *Lactobacillus*). إنها تتحمل 7.5 إلى 15٪ كلوريد الصوديوم.

البكتيريا غير الملحية non-halophiles : كلوريد الصوديوم أقل من 0.2 مول.

مقارنة بتركيز السكريات في الوسط نجد:

البكتيريا osmophiles : تتطلب السكريات لنموها.

البكتيرياosmotolérantes : تقبل التركيزات المعتدلة من السكريات ولكنها ليست إلزامية لنموها.

البكتيريا xérophiles: يمكن أن تتكاثر في حالة عدم وجود الماء في بيئتها.

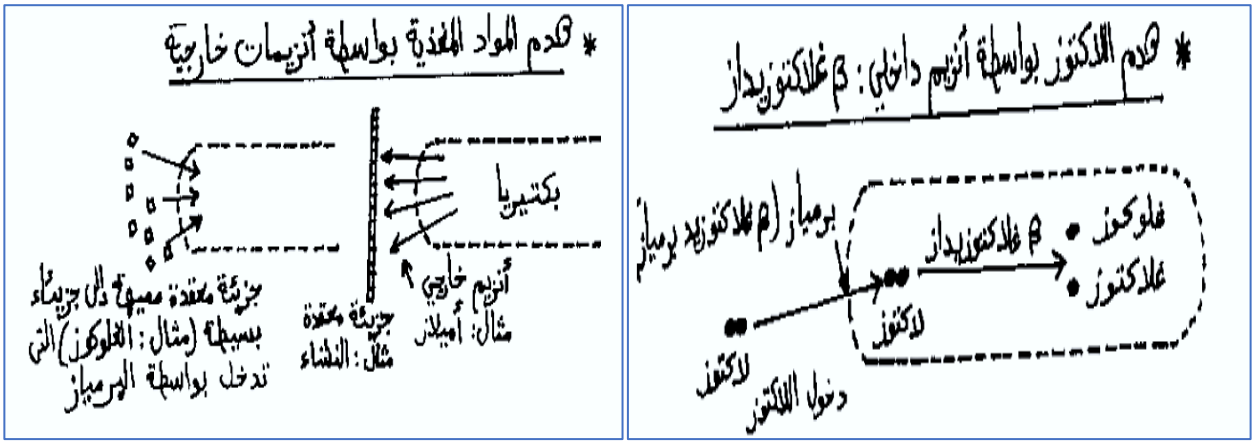
الفصل الرابع: الأيض البكتيري

IV. الأيض البكتيري

السمتان الأساسيتان للحياة، النمو والتكاثر، تعنيان للكائنات الحية استهلاكًا كبيرًا للطاقة. في الواقع، من أجل التمكن من النمو، إن تكاثر أو ببساطة الحفاظ على كائن حي هو، في كل لحظة، مقر عدد كبير من التفاعلات الكيميائية. ومع ذلك، فإن كلاً من تخليق جزيئات جديدة وتدهور الجزيئات الكبيرة الموجودة مسبقًا يتطلبان طاقة. لذلك فإن إنتاج الطاقة وتراكمها وتخزينها واستخدامها يشكلون أحد مفاتيح الحياة الأساسية. إنه يفرض على الكائنات الحية الالتزام بالقدرة لضمان سلسلة من الوظائف الأخرى المتعلقة بهذه الطاقة التي تحتاجها مثل: أكسدة أنواع مختلفة من المواد الغذائية أو المواد من أجل إنتاج طاقة بيولوجية أو "قابلة للاستخدام بيولوجيًا": التنفس.

تسمى عمليات التحويل المختلفة المرتبطة بالوظائف التي تم ذكرها أعلاه والتي تحدث في الكائن الحي التمثيل الغذائي (métabolisme): يمكن تقسيم عملية التمثيل الغذائي إلى قسمين: الهدم والبناء. الهدم هو تحلل الجزيئات العضوية المعقدة والكبيرة نسبيًا إلى جزيئات أبسط وأصغر من أجل توليد الطاقة على شكل ATP. البناء، وهو إنتاج جزيئات عضوية معقدة من جزيئات أبسط ويتطلب طاقة (ATP) ومصدرًا للإلكترونات.

لا يمكن أن تستهلك المواد المقدمة للبكتيريا إلا أذا دخلت الى مستوى السيتوبلازم، وبعد مرورها بالجدار والغشاء البلازمي. معظم هذه المواد ذات وزن جزئي وحجم كبيرين. ولكي تتمكن من الاستفادة منها، وجب على البكتيريا أن تفككها (تبسطها) الى أجزاء ذات وزن جزيئي خفيف باستعمال انزيمات التحليل المائي او الهيدرولاز الخارجية التي تفرزها البكتيريا في الوسط (أميلاز، بروتياز...) (الشكل47).



الشكل47 : عملية تبسيط المغذيات الكبيرة

IV.1. هدم السكريات La glycolyse

الكربوهيدرات المعرضة للتحلل من قبل الكائنات الحية الدقيقة كثيرة ومتنوعة. السكريات المتعددة مثل النشاء والسليلوز وأحيانًا الجزيئات الأصغر مثل السكروز، غير قادرة على دخول الخلية. يجب أولاً تقطيعها إلى جزيئات ذات وزن جزيئي منخفض بواسطة إنزيمات تحلل مائي تفرزها الكائنات الحية الدقيقة في الوسط. هذه الاخيرة تدخل الخلية من خلال الانتشار الميسر أو النقل النشط. في معظم الحالات، يؤدي تحول الجزيئات الكبيرة من الكربوهيدرات، بالإضافة إلى العديد من المواد العضوية الأخرى، إلى تكوين الجلوكوز بشكل أساسي. الجلوكوز هو نقطة البداية للمسارات الرئيسية لعمليات الهدم الخلوي.

تسلك معظم الكائنات الدقيقة المسلك الغليكولي (glycolyse) لهدم السكريات. ناتج هذا التفاعل هو البروفات الذي يستقلب بدوره في الشروط الهوائية إستقلاب تأكسدي وفي الشروط اللاهوائية إستقلاب تخمري. يمكن أن يتم أكسدة الجلوكوز من خلال مسارات مختلفة يمكن أن تعمل من خلال موازٍ: هذه هي طرق: تحلل السكر، مسار Embden-Meyerhof (EM) أو Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) أو مسار Entner Doudoroff المخصص لعالم الميكروبات.

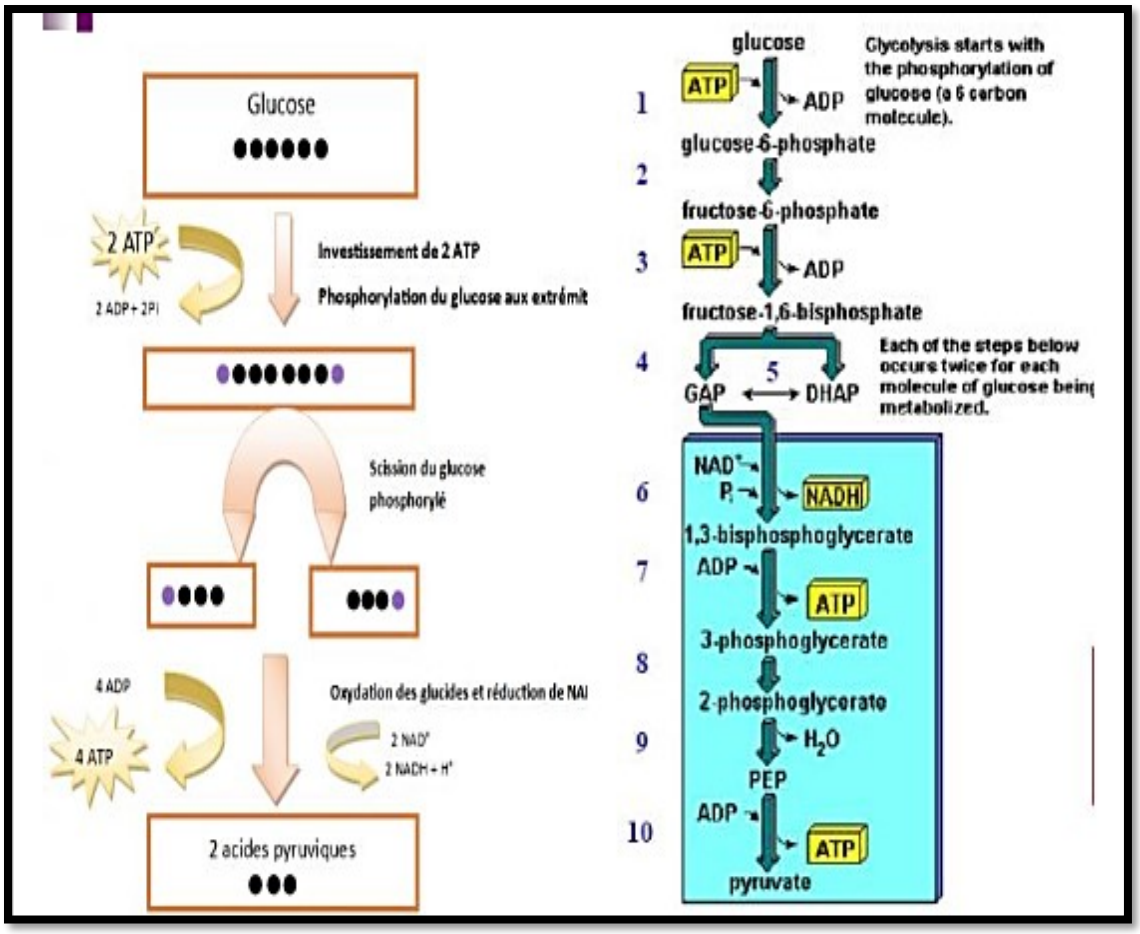
IV.1.1. مسار Embden-Meyerhof (EM)

تحلل الجلوكوز هو سلسلة من التفاعلات الأنزيمية التي تأكسد الجلوكوز إلى بيروفات في الجزء القابل للذوبان من السيتوبلازم بدائيات النوى (البكتريا الهوائية الاجبارية واللاهوائية الاختيارية والمحبة للقليل من الأكسجين). ينقسم تحلل السكر إلى مرحلتين رئيسيتين:

المرحلة الأولى هي حيث يتلاقى عدد كبير من الغلوكوز القابلة للتمثيل الغذائي بعد الفسفرة. ثم يتم تحويلها جميعًا إلى منتج شائع وهو glyceraldehyde-3P. وهذا ما يسمى أيضًا بمرحلة استهلاك ATP (التفاعلات 1-5 من الشكل 48).

المرحلة الثانية، المشتركة لجميع الغلوكوز، تتميز بسلسلة من التفاعلات التي تؤدي إلى تكوين البيروفات، مرحلة استرجاع الطاقة (التفاعلات 6-10 من الشكل 48). تتلخص مراحل التحلل السكري في النقاط التالية:

- تفعيل الجلوكوز على شكل جلوكوز P6 بواسطة ATP وتحرير ADP.
- الأزمرة والفسفرة الثانية التي تعطي الفركتوز P1.6 و ADP.
- انقسام الفركتوز P1.6 إلى جزيئين من ثلاثي الفوسفات.
- أكسدةP glyceraldehyde-3 مع ارجاع NAD. ويصاحب هذا التفاعل عملية فسفرة على مستوى الركيزة ويؤدي إلى تكوين مركب غني بالطاقة 1.3 ثنائي فوسفوجليسيرات.
- نقل رابطة إستر الفوسفات من 1.3 ثنائي فوسفوجليسيرات إلى ADP مع تشكل ATP.
- ازمرة 3-فوسفوينول جليسيرات متبوعة بنزع ماء لإعطاء phosphoenolpyruvate (PEP) (غني بالطاقة).
- نقل رابطة إستر الفوسفات من PEP إلى ADP وتكوين البيروفات و ATP.



الشكل 48 : تحلل الهوائي للسكر مسار(EM) Embden–Meyerhof

يمكن حساب الحصيلة الطاقة لتحلل السكر كما يلي: لكل مول من الجلوكوز المستهلك نجد:

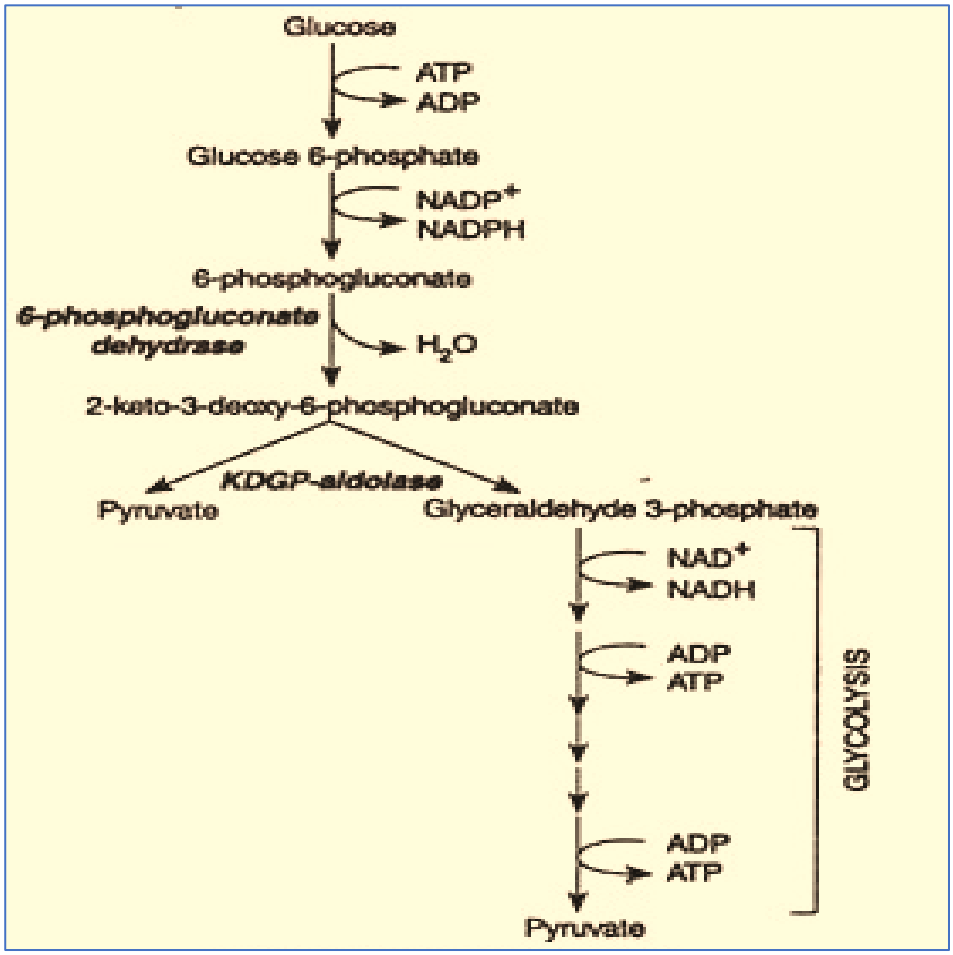
- استهلاك 2 ATP أثناء تكوين الجلوكوز P6 والفركتوز P1.6.
- ينتج كل جزيء من الجلوكوز 2 غليسرالدهيد -P3. يوجد على مستوى كل ثلاثي فوسفات تكوين NADH,H و 2 ATP وبيروفات.
- الرصيد النهائي يؤدي إلى تكوين 4 ATP واستهلاك 2 ATP.
- يؤدي تحلل جزيء الجلوكوز في تحلل السكر إلى تخليق 2 ATP وتشكيل 2 NADH,H و 2 بيروفات.

Glucose + 2 ADP + 2 Pi + 2 NAD^+ → 2 pyruvates + 2 ATP + 2 NADH, H^+

IV.1. 2. مسار Entner Doudoroff

يحتوي هذا المسار على خطوات مشتركة مع كل من مسار فوسفات البنتوز ومع مسار (EM). تمتلك معظم البكتيريا مسار (EM) ومسار فوسفات البنتوز، لكن بعضها يستخدم مسار Entner-Doudoroff بدلاً من تحلل السكر (بسبب نقص إنزيم تحلل السكر، فسفوغلوكوكيناز) تم العثور على مسار ED عند *Pseudomonas* و *Rhizobium* و *Azotobacter* و *Agrobacterium* وبعض البكتيريا الأخرى سالبة الجرام (البكتيريا الهوائية). الخطوات الأساسية في هذا المسار هي (الشكل 49):

- تنشيط الجلوكوز بواسطة ATP (فسفرة الجلوكوز).
- G6P تحت تأثير نازعة هيدروجين (G6P déshydrogénase) وفي وجود NADP يعطي gluconate-6P.
- يفقد Gluconate-6P جزيء من الماء ويؤدي إلى تكوين 2 من céto-3désoxygluconate-6P (CDPG).
- الانقسام بواسطة CDPG-aldolase لإعطاء glyceraldehyde-3P من ناحية والبيروفات من ناحية أخرى.
- تحويل glycéraldéhude-3P إلى بيروفات عن طريق تحلل السكر مع تكوين مولات من ATP و 1 مول من $NADH_2$ لكل مول من ثلاثي فوسفات.



الشكل 49 : مسار Entner Doudoroff

حصيلة الطاقة في تحلل السكر: يقوم هذا المسار بتقسيم الجلوكوز إلى بيروفات (لكل جزيء جلوكوز): 2 بيروفات، 1 ATP، 1 NADPH، NADH1 كما توضح المعادلة الموالية:

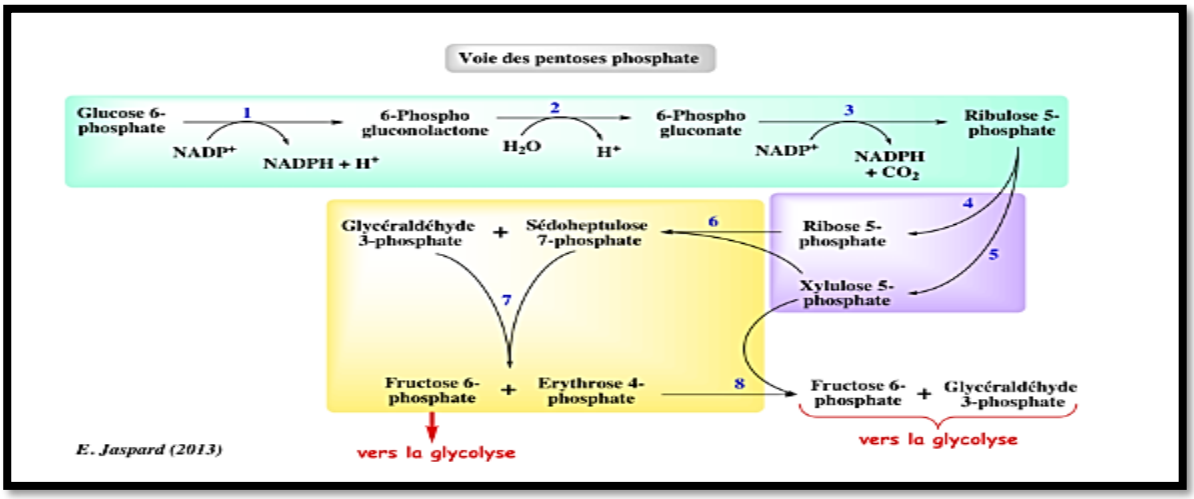
$$Glucose + NADP^+ + NAD^+ + ADP + Pi \rightarrow 2\ pyruvates + NADPH + NADH + 2\ H^+ + ATP + H_2O$$

IV.1.3. مسار فوسفات البنتوز

هذا المسار هو بديل لتحلل الجلوكوز ذي الغرض التخليق الحيوي أكثر من الغرض الهدم. يمكن استخدامه في نفس وقت تحلل السكر. موجود تقريباً في جميع البكتيريا. مستقل عن الأكسجين، يحدث عند البكتيريا الهوائية واللاهوائية

على مستوى السيتوبلازم. ويسمى أيضًا: تحويل أحادي الفوسفات الهكسوز أو المسار التأكسدي للفوسفوجلوكونات. يمكن تقسيم مسار فوسفات البنتوز إلى 3 أجزاء (الشكل 50):

- الجزء المؤكسد: سلسلة من التفاعلات التي تأكسد الجلوكوز P6 ، ويتم ارجاع NADP إلى NADPH وتؤدي إلى تكوين الريبولوز P5.
- جزء غير مؤكسد: تفاعلات مشابهات رجعية تعطي ريبوز P5 و epimerization يؤدي إلى xylulose-5P.
- جزء غير مؤكسد: تفاعلات trancétolisation و transaldolisation تعطي جزيئين من الفركتوز P6 وجزيء واحد من glyceraldehyde-3P.



الشكل 50 : مراحل مسار فوسفات البنتوز

النتيجة النهائية هي تحويل ثلاثة من glucose-6P إلى جزئين من fructose-6P، واحد جلسيرالديهيد وثلاثة جزيئات ثاني أكسيد الكربون كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$3\ \text{Glucoses-6P} + 6\ NADP^+ + 3\ H_2O \rightarrow 2\ \text{fructoses-6P} + \text{glycéraldéhyde-3P} + 3\ CO_2 + 6\ NADPH + 6H^+$$

الأدوار الأساسية لهذا المسار هي:

- إنتاج NADPH، الذي يستخدم في التخليق الحيوي للأحماض الدهنية والكوليسترول.
- إنتاج البنتوز، ولا سيما ريبوز P5 المستخدم في التخليق الحيوي للأنزيمات المساعدة للبيريميدين (NAD و NADP)، والإنزيمات المساعدة الفلافينية (FMN و FAD)، والإنزيم المساعد A والتخليق الحيوي للنيوكليوتيدات.
- إنتاج érythrose-4P، طليعة الأحماض الأمينية العطرية: فينيل ألانين، تيروسين وتريبتوفان.

2.IV. مصير بيروفات

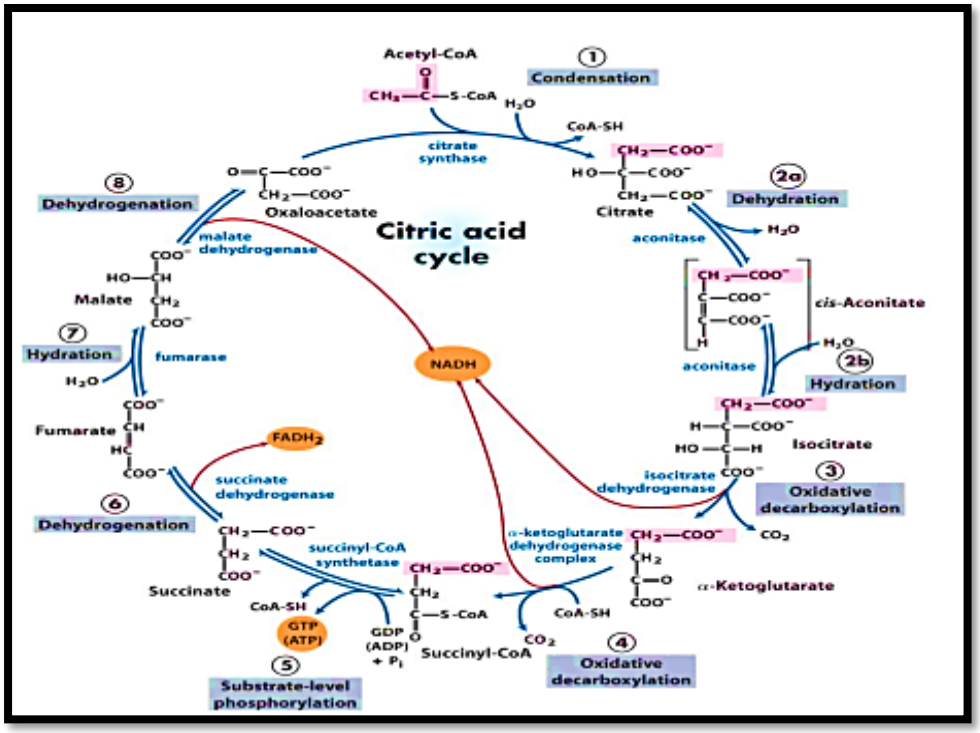
في الواقع، يمكن للبيروفات أن يدخل في دورة كريبس التي تحدث في سيتوبلازم البكتيريا الهوائية وإما أن يتم استقلابه عن طريق التخمر عند البكتيريا اللاهوائية لإنتاج، على سبيل المثال، اللاكتات أو الإيثانول.

1.2.IV. التمثيل الغذائي الهوائي للبيروفات

في وجود الهواء، تضمن الكائنات الحية الدقيقة الهوائية الاجبارية أو الاختيارية أكسدة الجلوكوز الكاملة. يتأكسد البيروفات المتكونة بدورة كريبس وتحويلة الجليوكسيلات shunt glyoxylate.

أ. حلقة كربس

تسمى أيضًا دورة حمض الستريك أو دورة حمض الكربوكسيل (الشكل 51). عبارة عن سلسلة من تفاعلات أكسدة أسيتيل CoA إلى CO_2. الأكسدة والتحلل الكامل للجلوكوز والجزيئات الأخرى. شائع في الكائنات الهوائية الاجبارية أو الاختيارية. إنها دورة تبدأ بتكثيف oxaloacetate مع acetylCoA وتنتهي بتجديد oxaloacetate. يحدث في سيتوبلازم بدائيات النوى. لا تعمل دورة كريبس فقط في اتجاه الهدم ولكن أيضًا في اتجاه الابناء نظرًا لأن العديد من المركبات الوسيطة للدورة (α- ketoglutarate، oxaloacetate، succinyl-CoA) تعمل كسلائف لتخليق مجموعة واسعة من المستقلبات الخلوية (الأحماض الأمينية،..).



الشكل 51: حلقة كربس

الحصيلة الطاقة في دورة كريبس: لكل جزيء من أسيتيل CoA المؤكسد، تنتج دورة كريبس: جزيئين من ثاني أكسيد الكربون، 3 جزيئات من NADH، جزيء واحد من FADH2، جزيء واحد من GTP. لكل جزيء من الجلوكوز: 2 جزيئات من البيروفات، وبالتالي تكون لدينا دورتين (دورة لكل بيروفات) (X 2). لذا فإن الحصيلة الطاقوية دورة كريبس هي كالتالي:

3 NADH,H+ -→	3 x 3 ATP
1 FADH,H+ -→	1 x 2 ATP
1 GTP -→	1 x 1 ATP

12 ATP لكل جزيء من البيروفات:

2 pyruvates -→ 2 Acétyl-CoA -→ 2 tours -→ 2 x 12 = **24 ATP**

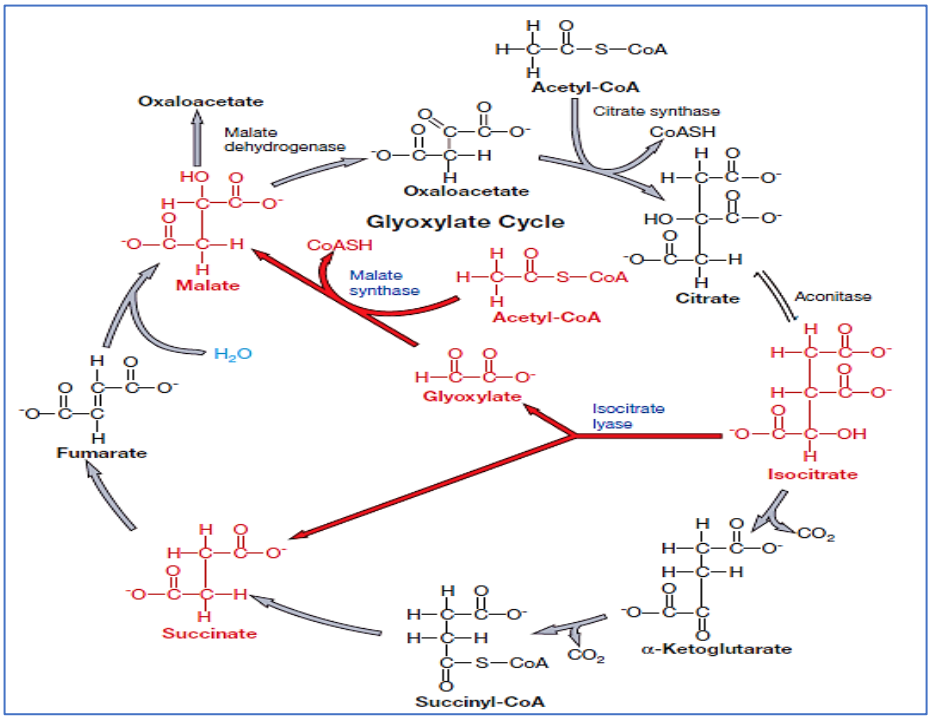
ب. تحويلة الجليوكسيلات shunt glyoxylate

يمكن لعدد من الكائنات الحية الدقيقة (*E. coli* والعديد من أنواع الفطريات و *Pseudomonas*) أن تنمو من الأسيتات كمصدر وحيد للكربون والطاقة. تحتوي هذه الكائنات الحية على جميع إنزيمات دورة كريبس ولكن لها إنزيمين إضافيين:

- isocitratase الذي يقسم isocitrate إلى سكسينات وglyoxylate

- إنزيم malate synthétase الذي يكثف glyoxylate مع أسيتيل CoA لتكوين مالات.

لا توفر تحويلة الجليوكسيلات أي طاقة قابلة للاستخدام بيولوجيًا. إنه يعمل فقط عندما تنمو الكائنات الحية الدقيقة على الأسيتات لأن الجلوكوز يقمع الإنزيمات المذكورة أعلاه. أثناء النمو على الأسيتات، تقوم الخلايا بإزالة الكربوكسيل من أوكسال أسيتات لتوفير فسفوينول بيروفات، نقطة البداية للتخليق الحيوي للسكريات السداسية والبنتوز (الشكل 52).



الشكل 52 : دورة جليوكسيليك(glyoxylique)

IV.2.2. التمثيل الغذائي اللاهوائي للبيروفات: التخمر

مختلف الكائنات الحية الدقيقة، ولا سيما البكتيريا اللاهوائية الاجبارية أو الاختيارية، قادرة على استقلاب البيروفات في اللاهوائية، يحدث هذا التمثيل الغذائي من خلال مسارات مختلفة تشكل استقلاب التخمير الخاص بالأنواع وتتميز بطبيعة المنتجات النهائية لكل تخمير طريق. في عملية التخمير، يتم إنتاج الطاقة عن طريق الفسفرة على مستوى الركيزة. التخمير هو تفاعل كيميائي حيوي يحدث في بيئات خالية من الأكسجين والذي يحول مادة عضوية تحت تأثير الإنزيمات. يتم إنتاج هذه الإنزيمات بواسطة الكائنات الحية الدقيقة مثل الخمائر والبكتيريا والفطريات والعفن.

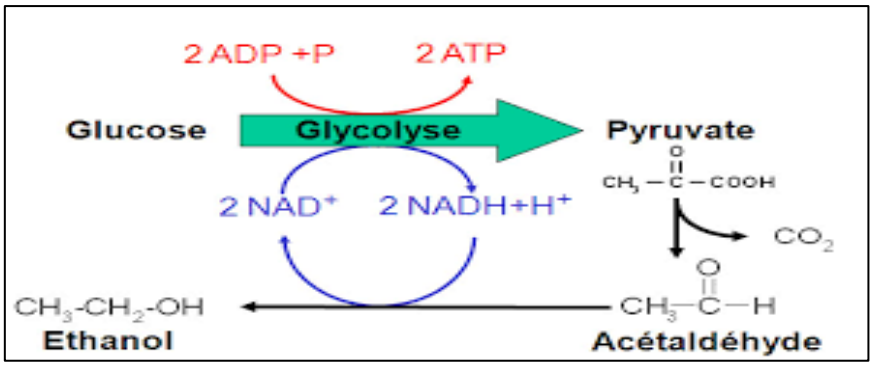
تتضمن الخطوة الأولى في تخمر الجلوكوز المسارات المختلفة لعملية التمثيل الغذائي الوسيطة التي تؤدي إلى تكوين البيروفات. ثم تأتي تفاعلات ارجاع البيروفات التي تميز البكتيريا المخمرة (اللاهوائية الصارمة أو الاختيارية) لأنها تؤدي إلى منتجات نهائية مختلفة، إما فريدة أو مختلطة في كثير من الأحيان اعتمادًا على طبيعة الكائن الحي .

أ. التخمر الكحولي fermentations alcoolique

هذا تخمير واسع الانتشار في الخمائر (*Saccharomyces*، *Kluyveromyces*، *Brettanomyces* ، ...). البكتيريا القادرة على إجراء التخمير الكحولي قليلة العدد (*Zymomonas mobilis*). يستخدم هذا التخمير مسار EM في حالة الغياب التام للأكسجين. في حالة *Zymomonas mobilis* ، يتحلل الجلوكوز عن طريق مسار ED. يستخدم السكريات مثل الجلوكوز والفركتوز والسكروز للحصول على الكحول كمنتجات نهائية، مثل الإيثانول وثاني أكسيد الكربون كغاز. يتم هذا التخمير على مرحلتين (الشكل 53):

- تحويل البيروفات إلى أسيتالديهيد بواسطة بيروفات ديكاربوكسيلاز باستخدام بيروفوسفات الثيامين (TPP) pyrophosphate thiamineباعتباره مساعد أنزيم.

- ارجاع الأسيتالديهيد إلى الإيثانول بواسطة نازعة هيدروجين (alcool déshydrogénase) باستخدام NADH كنزيم مساعد.



الشكل 53: مراحل التخمير الكحولي

يمكن إنتاج مواد أخرى بكميات صغيرة (الجلسرين وحمض الخل acide acétique على وجه الخصوص). في اللاهوائية، لا تقوم الخمائر بتحويل كل الجلوكوز إلى إيثانول وثاني أكسيد الكربون؛ تستخدم كميات صغيرة من البيروفات و$NADH_2$ لصيانة الخلايا. تعد إعادة أكسدة $NADH_2$ ضرورية لحدوث التخمير الكحولي. يتم ذلك من خلال ارجاع الأسيتالديهيد. في هذه الحالة، يلعب ثنائي هيدروكسي أسيتون فوسفات (PDHA) دور مستقبل الهيدروجين والذي بدوره يتحول إلى L-α-glycerol-phosphate الذي يتحول إلى جلسرين. تشكل هذه التفاعلات التخمير glycéropyruvique الذي يحدث دائمًا في بداية التخمير الكحولي. يمثل هذا التخمير 10٪ من السكريات المخمرة.

وتجدر الإشارة إلى أن العديد من السكريات يمكن تخميرها إلى إيثانول عن طريق الخميرة: سلالات مصانع الجعة (*saccharomyces cerevisiae*، *S. carlsbergensis* ، إلخ) تخمر السكروز ، الفركتوز ، الجلوكوز ، المالتوز ، المالتوز. تخمر *Saccharomyces diastaticas* ديكسترينات؛ *Saccharomyces Luarum* تخمر الميلبيوز؛ يخمر *Kluyveromyces* اللاكتوز والأنولين. *schwanniomyces* تخمر النشاء. *Candida wickerhamii*

و *C. molischiana* تخمر السيلوبيوز و السيلودكسترين. بالإضافة إلى ذلك، فإن أنواع معينة من *Pachysolen* و *Pichia* و *Candida* تخمر الزيلوز.

الحصيلة الطاقة لتخمر الجلوكوز إلى إيثانول : عندما تستمر تفاعلات تحلل السكر لتحويل البيروفات إلى إيثانول، فإننا نتحدث عن التخمير الكحولي. يتم كتابة التفاعل الكلي لتدهور جزيء الجلوكوز:

$$\text{Glucose} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{Pi} \longrightarrow 2\ \text{Ethanol} + 2\ CO_2 + 2\ \text{ATP}$$

نظرًا لأن حصيلة الطاقة في NAD / NADH يساوي صفرًا، فإن هذه الإنزيمات المساعدة لا تظهر في المعادلة الكلية لتحويل الجلوكوز إلى إيثانول. إذا، ينتج عن تحويل جزيء الجلوكوز إلى إيثانول بواسطة الخميرة تخليق جزيئين من ATP.

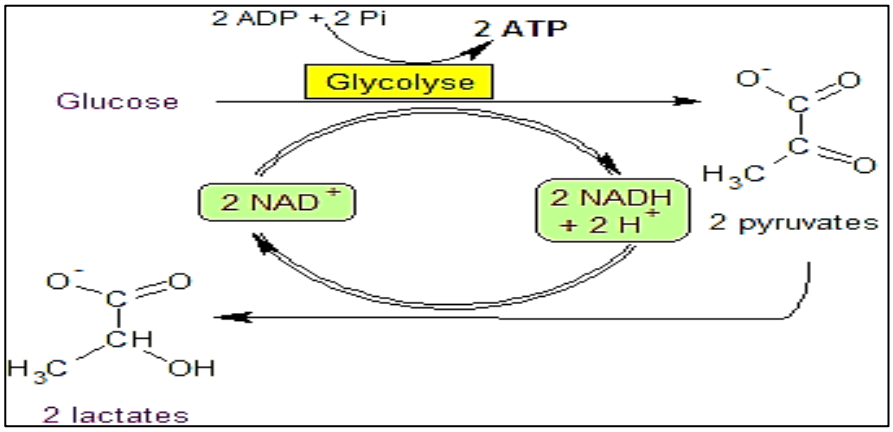
تطبيقات التخمر الكحولي: يسمح هذا التخمير الذي تمارسه العديد من الخمائر (بما في ذلك *Saccharomyces cerevisiae*) بإنتاج: الخبز وبعض المشروبات الكحولية وعصير التفاح وما إلى ذلك. في الوقت الحالي، من الممكن تصنيع الإيثانول الصناعي على نطاق واسع وعن طريق التخمير لاستخدامه كوقود حيوي.

ب. التخمر اللبني fermentations lactiques

نظرًا لأن بكتيريا اللبنية غير قادرة على الحصول على طاقتها من خلال التنفس، فإنها تلجأ إلى تخمير الكربوهيدرات إلى حمض اللاكتيك. يتم ارجاع البيروفات الناتج عن تحلل السكر إلى أسيتات بواسطة lactate déshydogenase الى NAD. مستقبل الإلكترون هنا هو البيروفات ولا يوجد إطلاق لثاني أكسيد الكربون. اعتمادًا على الأنواع البكتيرية، يتم تحويل السكريات بطريقتين مختلفتين:

- **التخمر اللبني المتجانس (بكتيريا متجانسة)**: يكون عمومًا بكتيريا جنس *Streptococcus* و *Lactococcus* و *Pediococcus* و *Lactobacillus* ، حيث يستخدم تحلل السكر بالكامل، من الجلوكوز

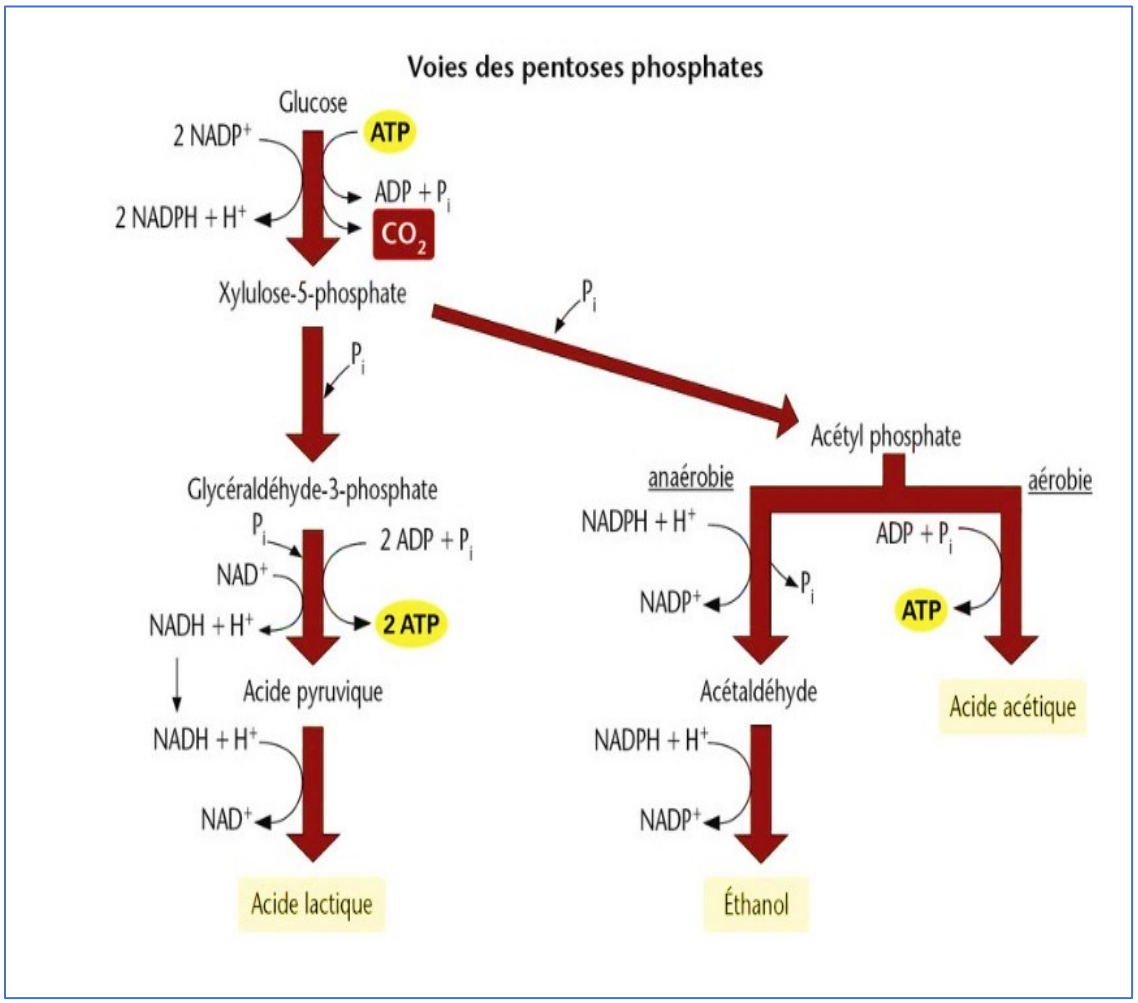
إلى البيروفات ثم اللاكتات (الشكل 54). يتم انتاج حمض اللاكتيك من ارجاع حمض البيروفيك المحفز بواسطة انزيم lactate déshydrogénase. في ظروف النمو المثلى، ينتج هذا المسار جزيئين من اللاكتات وجزيئين من ATP لكل جزيء من الجلوكوز المستهلك. لكي يتم تصنيف هذا المسار على أنه متجانس، يجب أن يحول 90٪ على الأقل من الجلوكوز المستهلك إلى لاكتات. في ظل ظروف النمو غير المثلى (وسط مستنفد، على بعض السكريات، مع سلالات متحولة) يمكن أن تظهر بكتيريا حمض اللاكتيك المتجانسة عملية التمثيل الغذائي المختلط التي تتميز بإنتاج حمض اللاكتيك، وحمض الخل، والإيثانول، وحمض الفورميك و / أو ثاني أكسيد الكربون.



الشكل 54 : عملية التخمر اللبني المتجانس

- **التخمر اللبني غير المتجانس (بكتيريا غير متجانسة)**: تنتمي البكتيريا غير المتجانسة إلى أجناس *Lactococcus* أو *Leuconostoc* التي تنفذ التخمر غير المتجانسة. يسمى أيضًا مسار transcétolases (مسار فوسفات البنتوز) لإنتاج xylose-5- phosphate، والذي سيتم تقسيمه إلى فوسفات 3جلسيرالديهيد (G3P) وأسيتيل فوسفات. يتم تحويل G3P إلى لاكتات وأسيتيل فوسفات إلى أسيتات أو إيثانول. هذا التخمير أقل فائدة من الآخرين من خلال تكوين ATP واحد فقط بدلاً من 2 أو 3.. بالإضافة إلى حمض اللاكتيك، فإن المنتجات النهائية لهذا التخمير هي أيضًا ثاني أكسيد الكربون والإيثانول وحمض الخل بنسبة صغيرة اعتمادًا على

الركيزة المؤكسدة (الشكل 55). يؤدي تحلل جزيء الجلوكوز إلى تكوين جزيء من اللاكتات وجزيء من الإيثانول وثاني أكسيد الكربون و ATP.



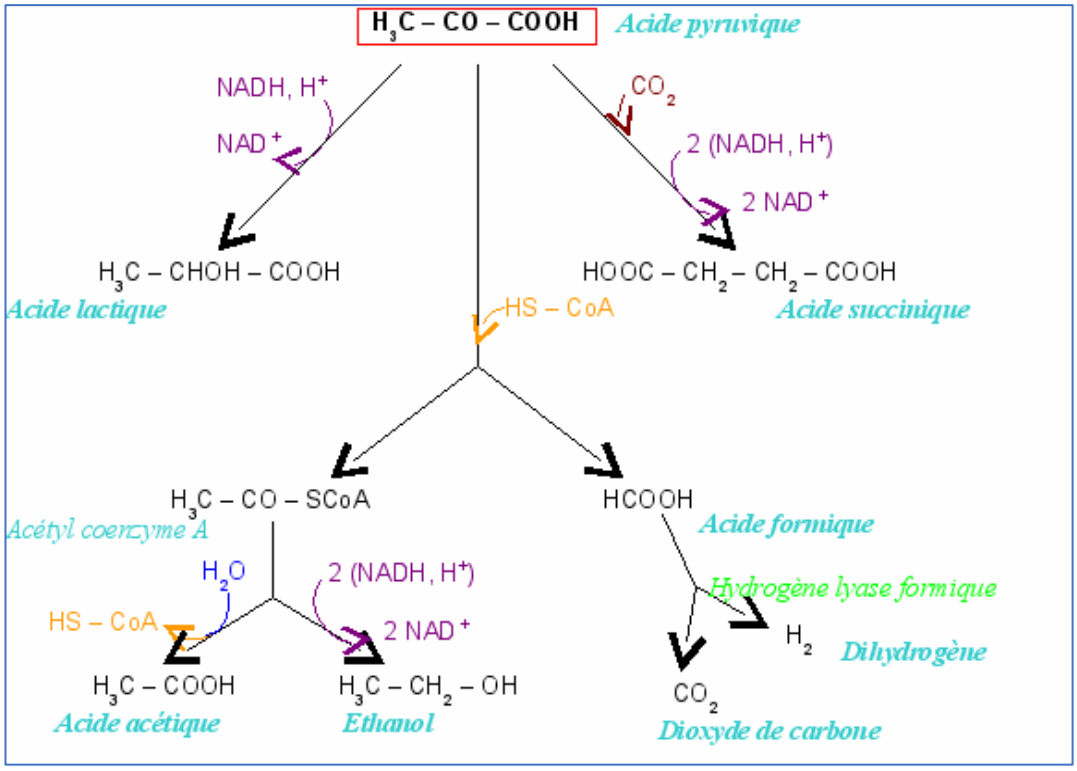
الشكل55 : التخمر اللبني غير المتجانس

تطبيقات التخمر اللبني: يستخدم حمض اللاكتيك كمادة حافظة للغذاء (الخضار المخمرة باللبن). ويشارك هذا التخمير أيضًا في تصنيع العديد من المنتجات الغذائية (الجبن، مخلل، اللحوم المقددة، إلخ). أيضا يستخدم Poly-Lactic-Acid (PLA) في صناعة الأغلفة الغذائية (البلاستيك القابل للتحلل الحيوي).

ت. **التخمر الحمضي المختلط Fermentation acide mixte والبوتيلين جليكوليك butylène-glycolique**

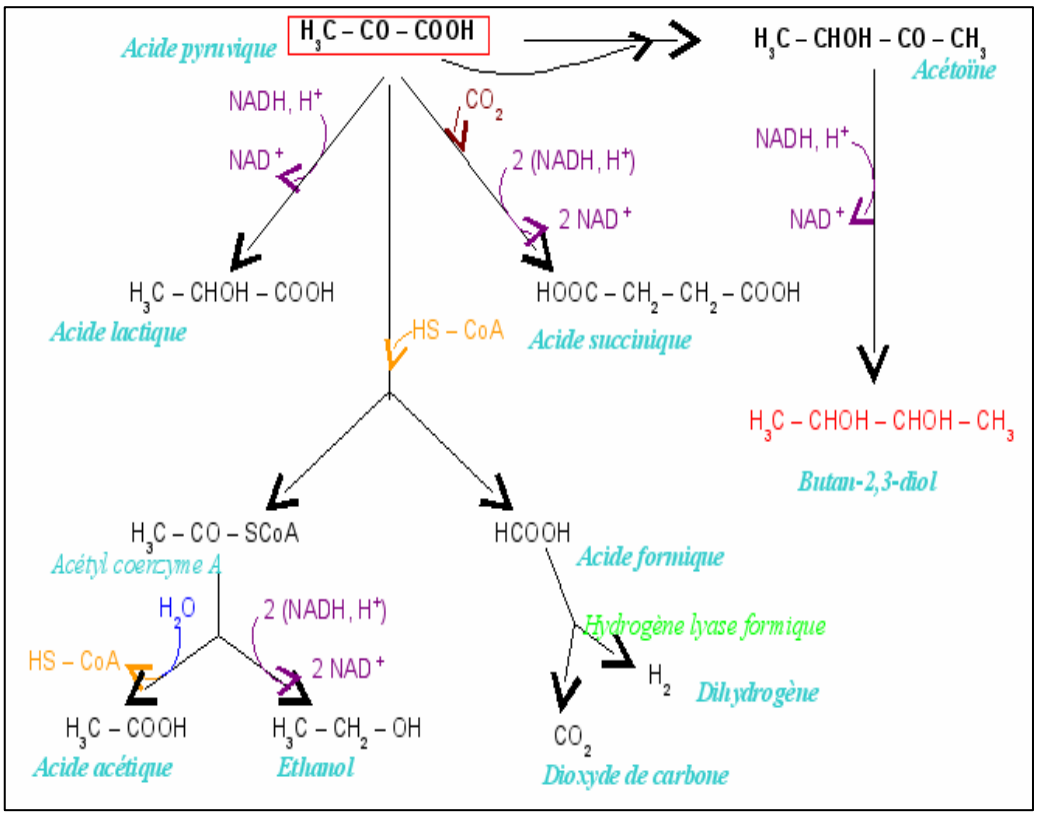
يسمى تخمر الحمضي المختلط بسبب التنوع الكبير في المركبات العضوية المنتجة من البيروفات. إنه تخمر لا هوائي. يتم إجراء هذا التخمير عن طريق البكتيريا المعوية Enterobacteriaceae. اعتمادًا على الكائنات الحية والظروف البيئية، تختلف نسب المركبات العضوية السائدة. نوعان من التخمير يتميزان بالمنتجات النهائية التي تفرز لاهوائية.

- **نوع الإشريكية القولونية *E. coli***: تقوم بتخمر الاحماض المختلطة في حين الأحماض العضوية هي السائدة ولا يتم انتاج البيوتانديول (الشكل 56). يؤدي هذا النوع إلى تكوين سلسلة من الأحماض العضوية (حمض اللاكتيك والأسيتيك والسكسينيك والفورميك). تحتوي بعض الأنواع (*Escherichia coli*، *Proteus* ، بعض السالمونيلا) على *hydrogène* lyase formique وتتحلل على الفور حمض الفورميك إلى H_2 و CO_2 عند درجة الحموضة المعتدلة أو الحمضية.



الشكل 56: تخمر الاحماض المختلطة

- نوع **Enterobacter**(***Klebsiella*** و***Serratia***) : تخمير بوتيلين غليكوليك أو تخمر بيوتانيديول. ينتج عنه منتجات التخمر الحمضي المختلط بالإضافة إلى ذلك، يتم تكوين 2،3-بيوتانيديول butanediol-2,3، والتي تعد مع الإيثانول أكثر المواد وفرة. أثناء هذا التخمير، يتم نزع الكربوكسيل من البيروفات إلى أسيتوين (3-هيدروكسي-بوتانون) الذي يتم اختزاله إلى بيوتانيديول وهو المركب الرئيسي (الشكل 57). يساهم الأسيتوين في طعم الزبدة.

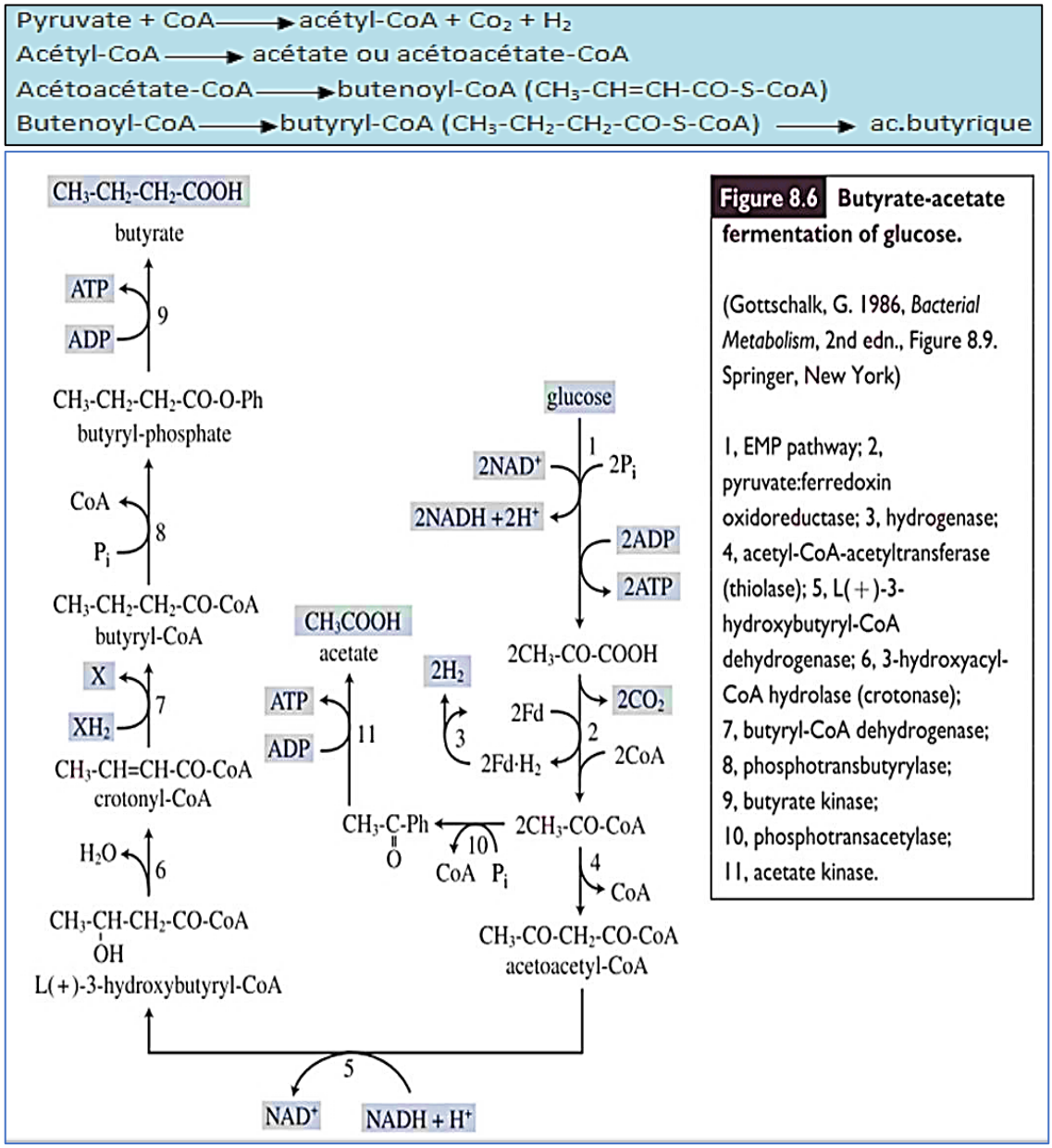


الشكل 57: تخمر البوتيلين جليكوليك

ث. تخمر الزبد Fermentations butyriques والأسيتونوبوتيل acétono-butylique

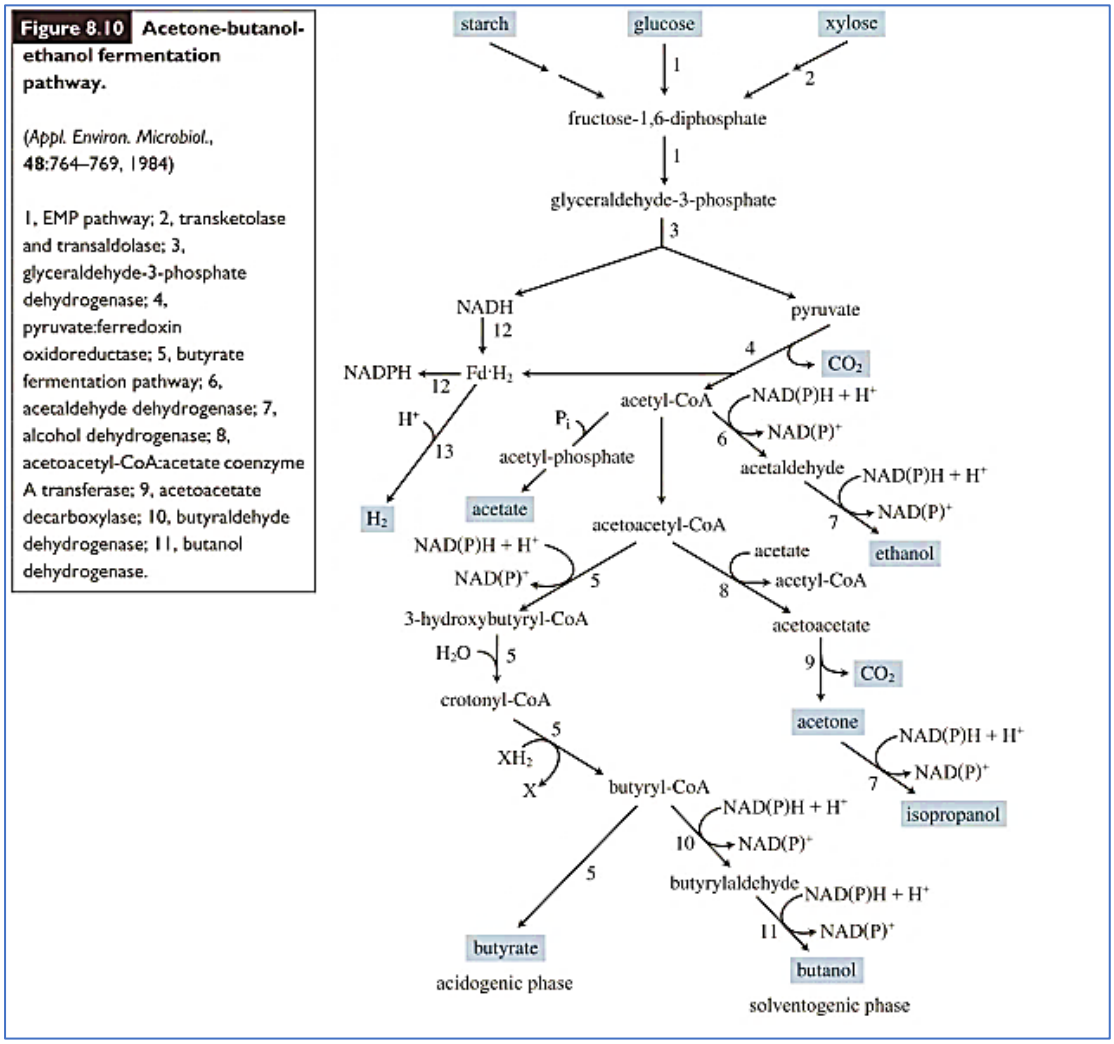
بعض المطثيات (*C.butyricum C.perfringens*)،، *Butyribacterium* ، بعض *Serratia* و *Zymosarcina* تنتج حمض الزبد، وكذلك حمض الأسيتيك وثاني أكسيد الكربون والهيدروجين. يتشكل حمض

الزبد عن طريق تكثيف جزيئين من أسيتيل CoA إلى أسيتو أسيتاتacétoacétate ، والذي يتم بعد ذلك ارجاعه إلى β-hydroxybutyrate ثم إلى butyrate. يؤدي جزء من أسيتيل CoA، المتكون من البيروفات، إلى تكوين ATP وحمض الأسيتيك (الشكل 58).



الشكل 58 : مراحل انتاج حمض الزبد

بالإضافة إلى منتجات التخمير الزبد، يمكن لبعض المطثيات *Clostridium* إنتاج الكحوليات (البيوتانول والإيثانول والأيزوبروبانول) والأسيتون أي تقوم بتخمر الأسيتونوبوتيل (الشكل 59). يعتبر إنتاج الأسيتون ذا أهمية صناعية، يتم استخدامه كمذيبات عضوية.



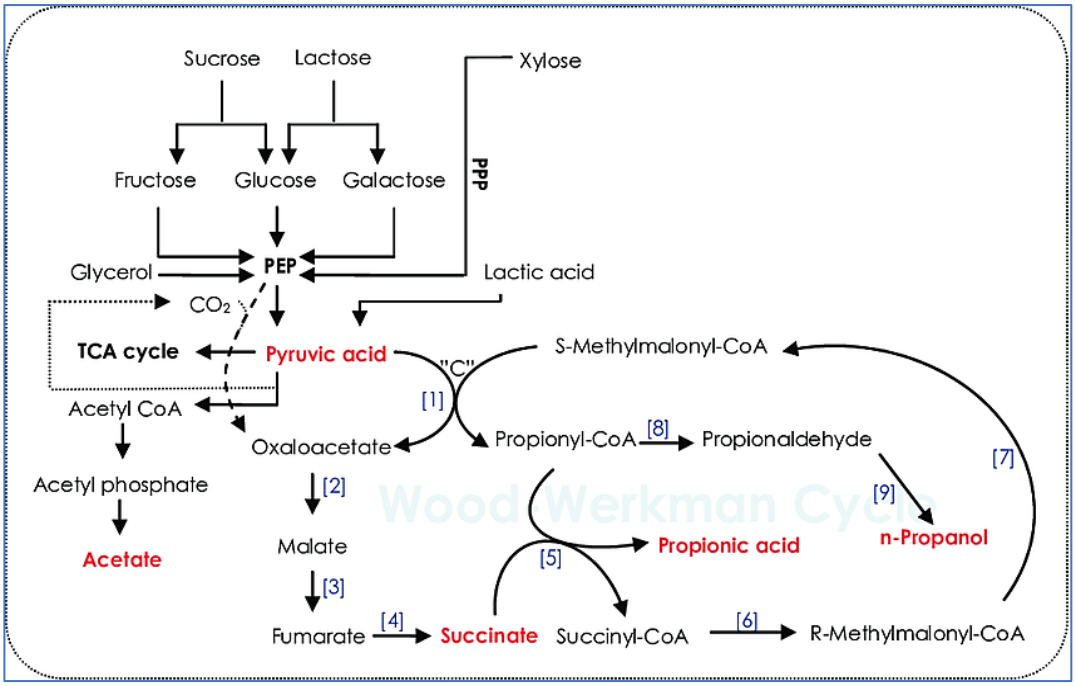
الشكل59: تخمير أسيتونو بوتيل

ج. التخمير البروبيوني Fermentations propioniques

التخمير البروبيوني هو شكل من أشكال التمثيل الغذائي اللاهوائي الذي يحدث في بكتيريا من جنس Propionibacterium. العديد من البكتيريا اللاهوائية الاجبارية أو الاختيارية (بعض *Clostridium*،

Corynebacterium، *Neisseria*، *Veillonella* ، إلخ) تنتج حمض البروبيونيك وحمض الخل وثاني أكسيد الكربون وحمض السكسينيك عن طريق هذا التخمر.

أولا، يتم إضافة الكربوكسيل للبيروفات للحصول على أوكسالو أسيتات، ثم يتم ارجاع أوكسالو أسيتات عن طريق مالات وفومارات إلى سكسينات. ثم يتم تنشيط هذا الأخير إلى succinyl-CoA والذي يتحول بدوره إلى CoA methylmolonyl. يتم إطلاق البروبونيل أخيرًا من بروبيونيل CoA بواسطة transferase CoA الذي ينقل CoA إلى سكسينات. يتكون حمض البروبيونيك اما عن طريق ارجاع البيروفات مع تدخل حمض اللبن كوسيط، أو عن طريق نزع الكربوكسيل من حمض السكسينيك (الشكل 60).



الشكل 60 : التخمر البروبيوني

[1] Methylmalonyl-CoA transcarboxylase (pyruvate carboxytransphosphorylase) [2] Malate dehydrogenase [3] Fumarase [4] Succinate dehydrogenase [5]Propionyl-CoA:Succinate CoA transferase [6] Methylmalonyl-CoA mutase (isomerase) [7] Methylmalonyl-CoA racemase [8] Propionaldehyde dehydrogense (Predicted) [9] Alcohol dehydrogenase (Predicted)

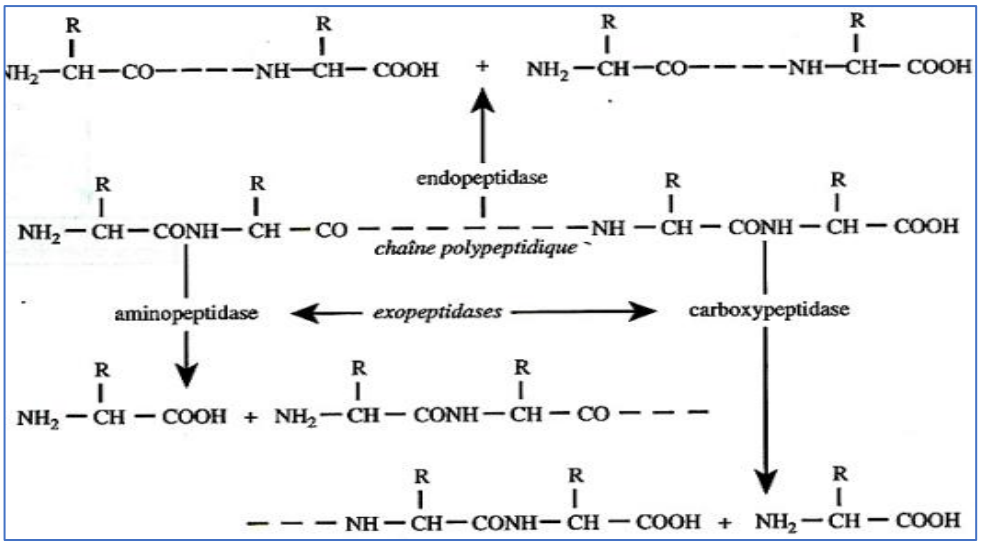
تنقسم البكتيريا البروبيونية إلى فئتين حسب بيئتها: الألبان، المعزولة في منتجات الألبان أو جلدية، متعايشة، فلورا الجلد والأغشية المخاطية. تشارك البكتيريا اللبنية في إنضاج الأجبان المطبوخة والمضغوطة مثل Gruyère. تأتي الثقوب في Gruyère من إطلاق ثاني أكسيد الكربون في العجين المضغوط والمصلب. الطعم الخاص لهذه الأجبان يرجع إلى تراكم حمض البروبيونيك. الأنواع المتعايشة الموجودة في المنتجات المرضية (حب الشباب). تعود رائحة الجسم جزئيًا إلى حمض البروبيونيك الذي هو نتاج تكسير الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية. تلعب بكتيريا *Propionibacterium* دورًا مهمًا في الجهاز الهضمي للحيوانات المجترة.

IV.3. هدم البروتينات والأحماض الأمينية

البروتينات هي مركبات عضوية ذات وزن جزيئي مرتفع، تتكون من أحماض أمينية مرتبطة ببعضها البعض بواسطة روابط ببتيدية. يتضمن تحللها الخطوات التالية: تحلل البروتين وهدم الأحماض الأمينية.

الإنزيمات المشاركة في هذه التفاعلات هي البروتياز والببتيداز. تعمل معظم البروتياز الميكروبية على كل من البروتينات وقليل الببتيدات، عن طريق تقسيم جزيء البروتين إلى شظايا متعددة الببتيد، تتكون من عدد قليل من الأحماض الأمينية ترتبط بواسطة روابط الببتيد. أشهر الأنواع المحللة للبروتين: *Cloctridium*، *Bacillus*، *Proteus*، *Streptomyces* و *Pseudomonas*.

تحلل انزيمات الببتيداز متعدد الببتيد وتحولها إلى أحماض أمينية. هناك نوعان: endopeptidases و exopeptidases اعتمادًا على كيفية مهاجمتهم لسلسلة متعدد الببتيد. تنقسم exopetidases نفسها إلى فئتين: aminopeptidases التي تهاجم من نهاية NH_2 الحرة من متعدد الببتيد، غالبًا ما يعتمد نشاطهم على وجود أيونات معدنية. Carboxypeptidases التي تهاجم من نهاية COOH الحرة متعدد الببتيد، يؤدي نشاط هذه الإنزيمات المختلفة إلى إطلاق الببتيدات الثنائية والثلاثية التي تتحلل بعد ذلك إلى أحماض أمينية (الشكل 61).



الشكل 61: طريقة تحليل سلسلة متعدد الببتيد عن طريق انزيمات الببتيداز

تتحلل الأحماض الأمينية من خلال مسارين رئيسيين: نزع الأمين (désamination) ونزع الكربوكسيل (décarboxylation) (الشكل 62). يتم التحكم في طريقة هدم الحمض الأميني جزئيًا بواسطة الرقم الهيدروجيني للوسط. يشجع الوسط الحمضي على عمل décarboxylases بينما يحفز الوسط القاعدي désaminases.

أ. نزع الأمين

يزيل المجموعة الأمينية من الأحماض الأمينية لإعطاء حامض والأمونيا. يمكن تحويل الحمض العضوي الناتج عن نزع الأمين إلى بيروفات أو أسيتيل COA أو وسيط دورة كريبس. يمكن أن تتأكسد لإطلاق الطاقة.

- يؤدي نزع الأمين تأكسديا (désamination oxydative) إلى تكوين حمض إيميني (جزيء يمتلك مجموعة وظيفية COOH (كربوكسيل) ومجموعة وظيفيةC = N - (إيمين)) والذي يتحلل بعد ذلك إلى أمونيا وحمض α-cétonique يتضمن أنزيمات المساعدة فلافينية (FAD).

- نزع الأمين غير تأكسديا. يمكن أن يكون من ثلاثة أنواع:

✓ نزع الأمين الغير المشبع، ينتج عنه الأمونيا وحمض غير مشبع (مثال: تحول الأسبارتات إلى فومارات).

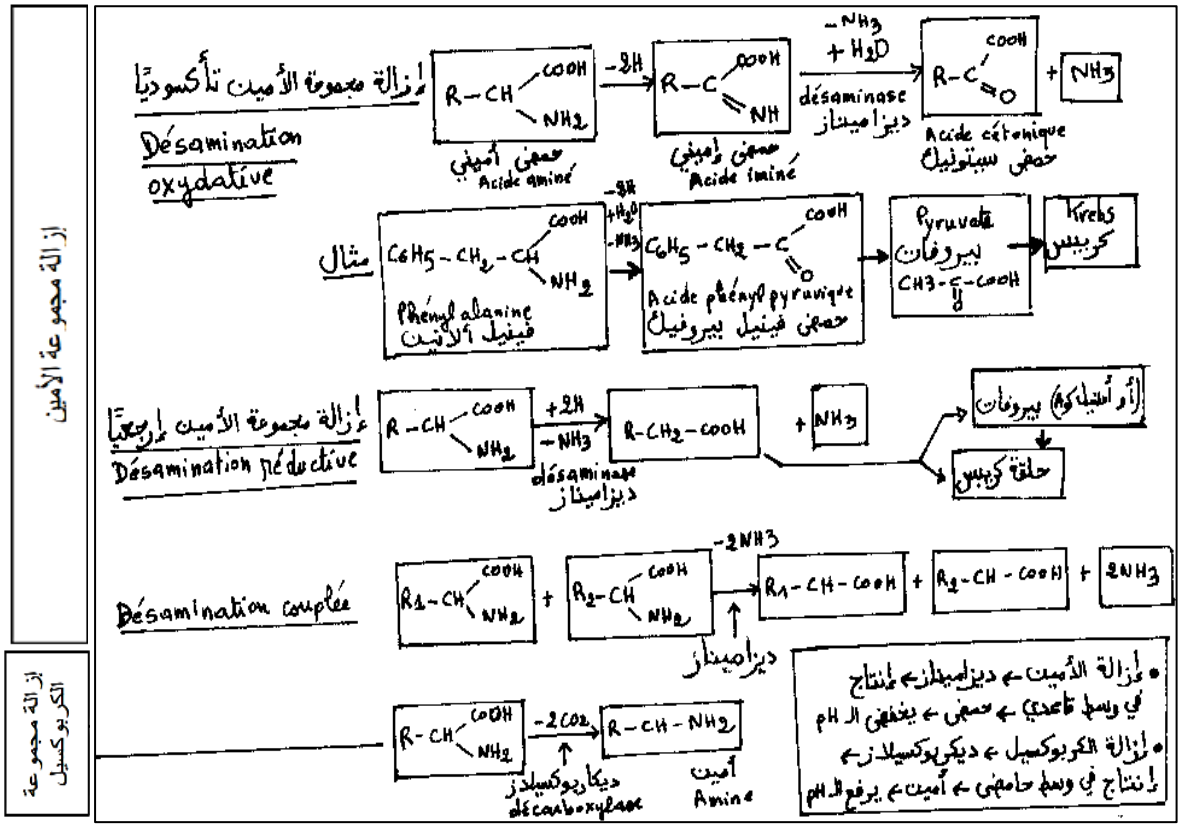
✓ نزع الأمين عن طريق نزع الماء (déshydratation) خاص بالأحماض الأمينية الهيدروكسيلية (سيرين)، فهو حصري ميكروبي. هناك تكوين الأمونيا وحمض cétonique. يتم تحلل السيستين عن طريق تفاعل مماثل ولكن يتم إطلاق SH_2 (cystéine sulfhydrase).

✓ نزع الأمين ارجاعيا يتكون من ارجاع الحمض الأميني إلى الحمض المشبع، مع تكوين الأمونيا.

- نزع الأمين المقترن (تفاعل Stickland). هذا هو تفاعل الأكسدة والارجاع بين اثنين من الأحماض الأمينية، أحدهما يعمل كمستقبل للهيدروجين، والآخر كمانح.

ب. نزع الكربوكسيل

تعمل Decarboxylases على الأحماض الأمينية لتشكيل ثاني أكسيد الكربون وأمين. الأمينات أحيانًا تكون سامة (الهيستامين).

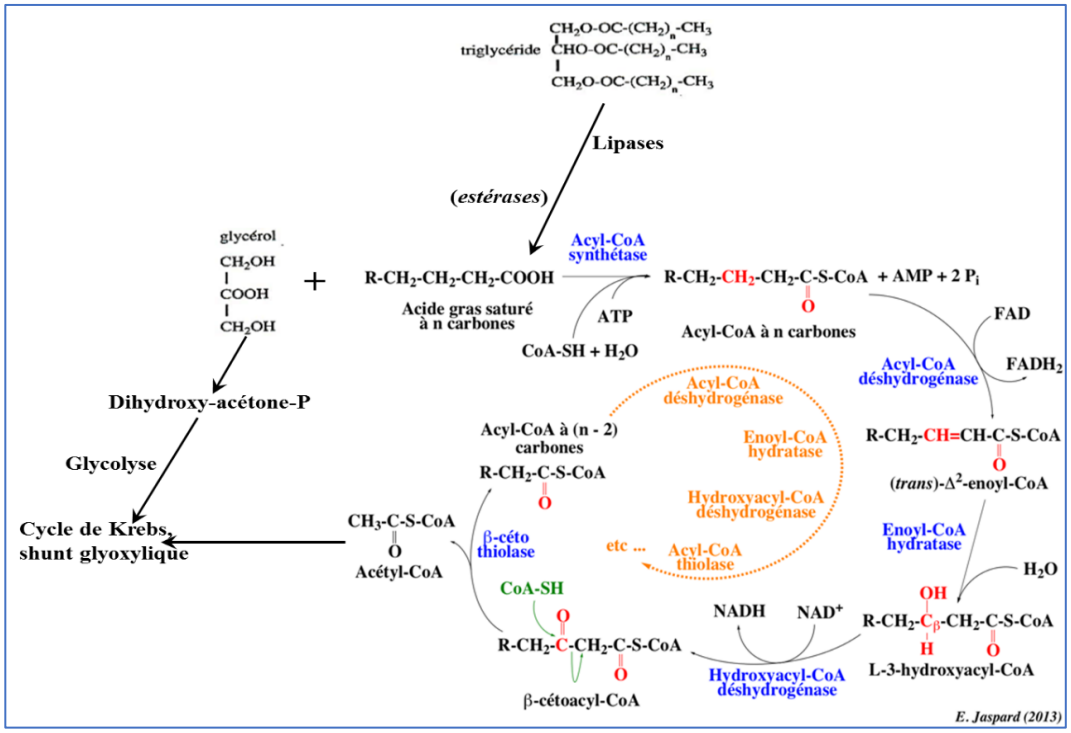


الشكل 62 : هدم وأكسدة الأحماض الامينية

4.IV. هدم الدهون

الدهون الثلاثية هي مصدر للطاقة. يتم تحللها الى الأحماض الدهنية والجلسرين عن طريق الليباز (الشكل63). توجد هذه الليباز عند الفطريات (*Aspergillus, Penicillium, Rhizopus*, ...)، الخمائر (*Candida, Saccharomyces*, ...) والبكتيريا (*Serratia, Pseudomonas, Xanthomonas*).

يتحلل الجلسرين إلى ثنائي هيدروكسي أسيتون، يسلك هذا الأخير مسلك تحلل السكر. من ناحية أخرى، يتم هدم الأحماض الدهنية من خلال عملية (دورة) تسمى الأكسدة β. يتم تنشيط الأحماض الدهنية أولاً بواسطة ATP في وجود الإنزيم المساعد A لتكوين acyl-CoA ، والذي يتأكسد إلى beta-keto-acyl-CoA. بعد التحلل المائي، يتم تكوين أسيتيل CoA. يمكن دمج أسيتيل CoA المتكون في دورة كريبس ويمكن أكسدة NADH و $FADH_2$ المنتجين على التوالي بواسطة سلسلة نقل الإلكترون لإنتاج ATP. تستمر تفاعلات الأكسدة طالما كان ذلك ضروريًا اعتمادًا على طول سلسلة الكربون. وبالتالي فإن هدم الأحماض الدهنية يمثل: مصدر طاقة غنيًا لنمو الكائنات الحية الدقيقة (الشكل 63).



الشكل 63 : تحلل الدهون الثلاثية

الفصل الخامس: النمو البكتيري

V. النمو البكتيري

يؤدي النمو البكتيري إلى زيادة عدد البكتيريا. هناك أيضًا إطالة وزيادة في الحجم، وأكثر وضوحًا في أشكال العصوية. هذه الأبعاد، عند الوصول إليها، تؤدي إلى انقسام الخلية. النمو البكتيري يعني مضاعفة الكتلة البكتيرية وعدد الخلايا في مزرعة بكتيرية على فترات منتظمة. تنتج البكتيريا خليتين بنتيين. توجد آليات تقسيم أخرى في بكتيريا معينة، مثل البراعم التي تظهر في البكتيريا الزرقاء والتفتت في البكتيريا الخيطية. تسمى نقطة الانقسام الحاجز الذي سيشكل القسم الذي سيفصل الخليتين البنتين septum. ستتلقى كل خلية نسخة من الكروموزوم ونصف المكونات الخلوية.

V.1.قياس النمو البكتيري

يتم استخدام العديد من التقنيات لتحليل ومراقبة وقياس النمو. لكل منها مزاياه وعيوبه. يتم التمييز بين الطرق المباشرة وغير المباشرة. يميز البعض الخلايا الحية عن الخلايا الميتة والبعض الآخر لا يستطيع ذلك.

V.1.1. القياس المباشرة

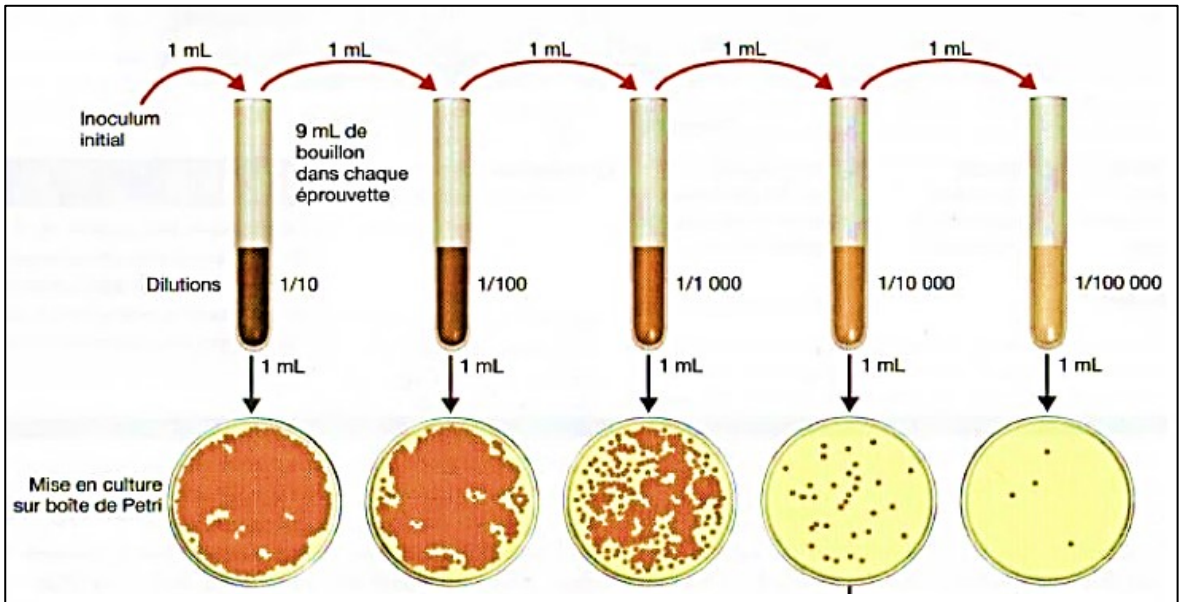
V.1.1.1. تعداد البكتريا بعد الزرع في وسط صلب Dénombrement

يتم الكشف عن النمو البكتيري من خلال: ظهور مستعمرة تسمى وحدة تشكيل المستعمرة (CFU) إذا كانت وسطًا صلبًا. أو بظهور عكر إذا كان وسطًا سائلًا. يتم التعبير عن النتيجة بعدد البكتيريا لكل مل.

أ. تحضير التخفيفات المتسلسلة

يمكنك البدء بأخذ 1 مل من المعلق البكتيري مع ماصة متدرجة، ونقله إلى أنبوب يحتوي على 9 مل من الماء الفسيولوجي فنتحصل على تخفيف 10/1. هذا يعني أنه إذا كان المعلق الخاص بك يحتوي على 10000 بكتيريا/مل، فإن الأنبوب الثاني الخاص بك يحتوي الآن على 1000/مل. تكرر العملية عن طريق تغيير الماصة

وسكب 1 مل أخرى في أنبوب جديد من الماء الفسيولوجي وما إلى ذلك حتى يصبح تركيز البكتيريا منخفضًا نسبيًا (الشكل 64).



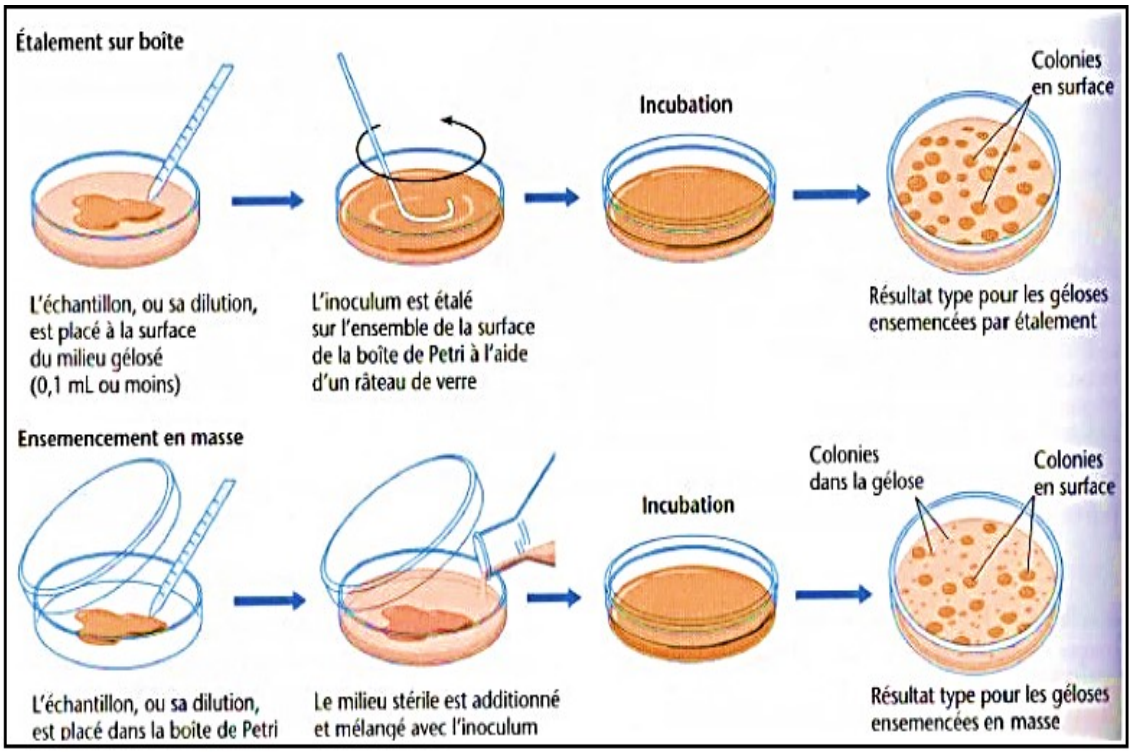
الشكل 64 : طريقة تحضير التخفيفات المتسلسلة

ب. عملية الزرع

بعد ذلك، يتم دهن 1 مل من كل تخفيف إما في العمق أو على السطح باستخدام وسائط صلبة في طبق بتري (الشكل 65).

الزرع في العمق: يأخذ 1 مل من التخفيف وتوزيعه في طبق بتري فارغ ثم يضاف 15 مل من وسط الغذائي الصلب فائق التبريد (حوالي 45 درجة مئوية) مع مزج العينة مع الوسط جيدا.

الزرع على السطح: بدون تغيير الماصة، ارجع إلى التخفيف الأعلى (10^{-5})، نأخذ 0.1 مل وتوزع على أجار في طبق بتري ثم يتم نشرها باستخدام مفرشة.



الشكل 65 : عملية زرع الخلية البكتيرية على سطح أو في عمق طبق بتري

ت. تعداد الخلايا البكتيريا

تؤخذ بعين الاعتبار العلب من 30 إلى 300 مستعمرة. أكثر من 300 مستعمرة غير معدودة، أقل من 30 تعتبر نادرة جدًا بحيث لا يمكن عدها.

يمكن استخدام الصيغة الرياضية التالية: **N = n x 1/V x 1/d** أو **UFC=N/(V*F)**

حيث:

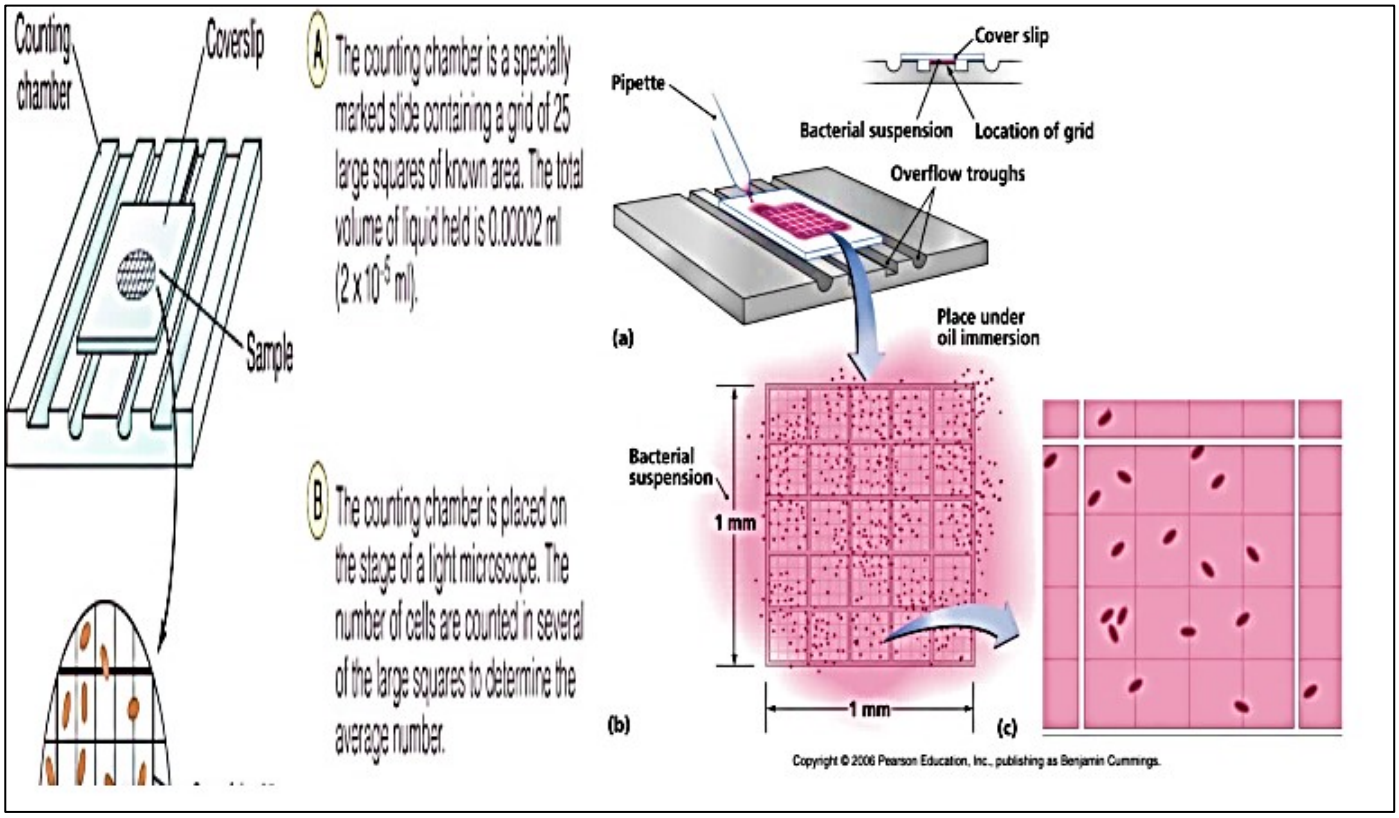
N : هو عدد وحدات تشكيل المستعمرة (CFU) لكل مل من المعلق النقي. n هو عدد المستعمرات التي تم عدها في أطباق بتري.

1 / V : هو معكوس حجم المعلق المستخدم (على سبيل المثال أثناء الزرع على السطح عن طريق الانتشار، تم استخدام 0.1 مل، لذلك 10 = 1 / 0.1 = V).

1 / d : معكوس التخفيف (على سبيل المثال أثناء الزرع بالانتشار، تم استخدام التخفيف 10^{-5}، لذلك $1 / V = 1 / 10^{-5} = 10^{5}$).

V.1.1.2. قياس إجمالي عدد الخلايا

من حجم معروف من المعلق البكتيري، يمكن إجراء تعداد إجمالي للخلايا تحت المجهر. يتم استخدام شريحة خاصة تسمى غرفة العد (Thoma, hématimètre de Mallassez) (الشكل 66).



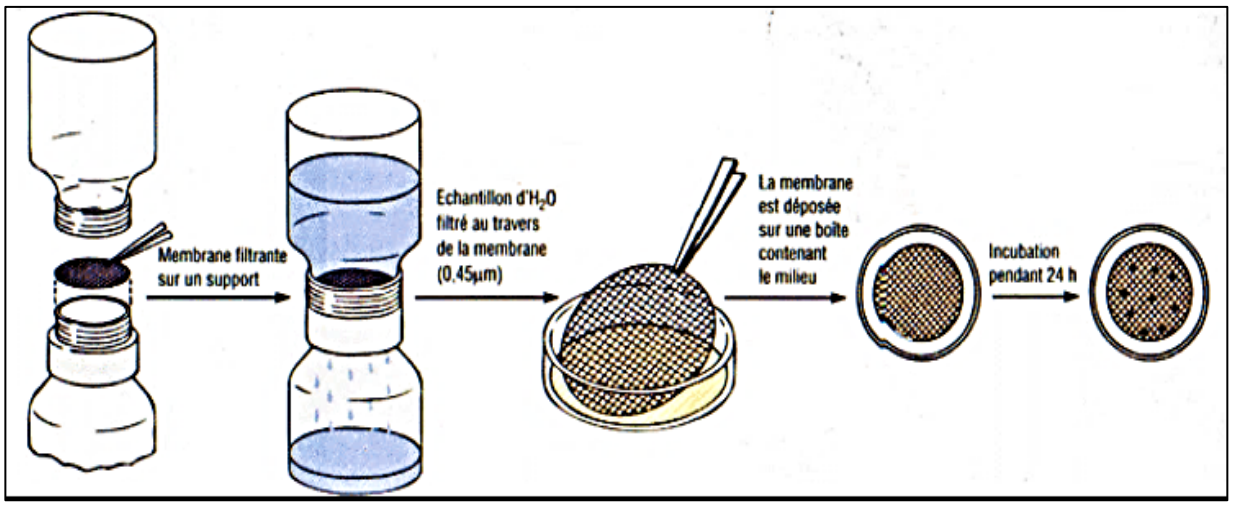
الشكل 66 : قياس إجمالي عدد الخلايا من خلال hématimètre de Mallassez

تحتوي الشريحة على تجويف ذي حجم خاص محدد يسع 2 من مية ملليلتر من العينة، وارضيه هذا التجويف مقسمة الى 25 مربعا كبيرا مساحتها 1 مللتر مربع وكل مربع كبير مقسم الى مربعات صغير. ولعد البكتيريا في معلق سائل:

- يتم وضع قطرة صغيرة من العينة البكتيرية سائلة، مخففة أم لا، في غرفة الشريحة ثم يوضع غطاء الشريحة بعناية حتى لا تتكون فقاعات.
- تفحص الشريحة تحت المجهر يجرى عد البكتيريا في عدة مربعات كبيرة ويؤخذ المتوسط لعدد البكتيريا في المربع الكبير الواحد وليكن 15 خلية ويضرب 15 في عدد المربعات الكبيرة 25 ينتج عدد الخلايا في المربعات وهو يساوي عدد الخلايا البكتيرية في 2 بالمية ملليتر.
- أرجع النتيجة التي تم الحصول عليها من الخلايا البكتيرية لكل لتر من المعلق البكتيري أو التخفيف. في حالة التخفيف لا تنسى مضاعفة الرقم الذي تم الحصول عليه بمعدل التخفيف

V.1.1.3. القياس عن طريق الترشيح الغشائي

مفيد جدًا عندما يكون عدد البكتيريا منخفضًا جدًا. تستخدم لاختبار القولونيات coliformes في الماء كدليل على التلوث البرازي. تتم العملية عن طريق الترشيح سكب 10 مل من التخفيف الأخير (على سبيل المثال 10^{-7}) في قمع جهاز الترشيح. قم بتشغيل الجهاز. ثم يتم زرع الفلتر (البكتيريا الموجودة على الجانب العلوي، والتي لا تلمس الوسط) على وسط أجار (الشكل 67).

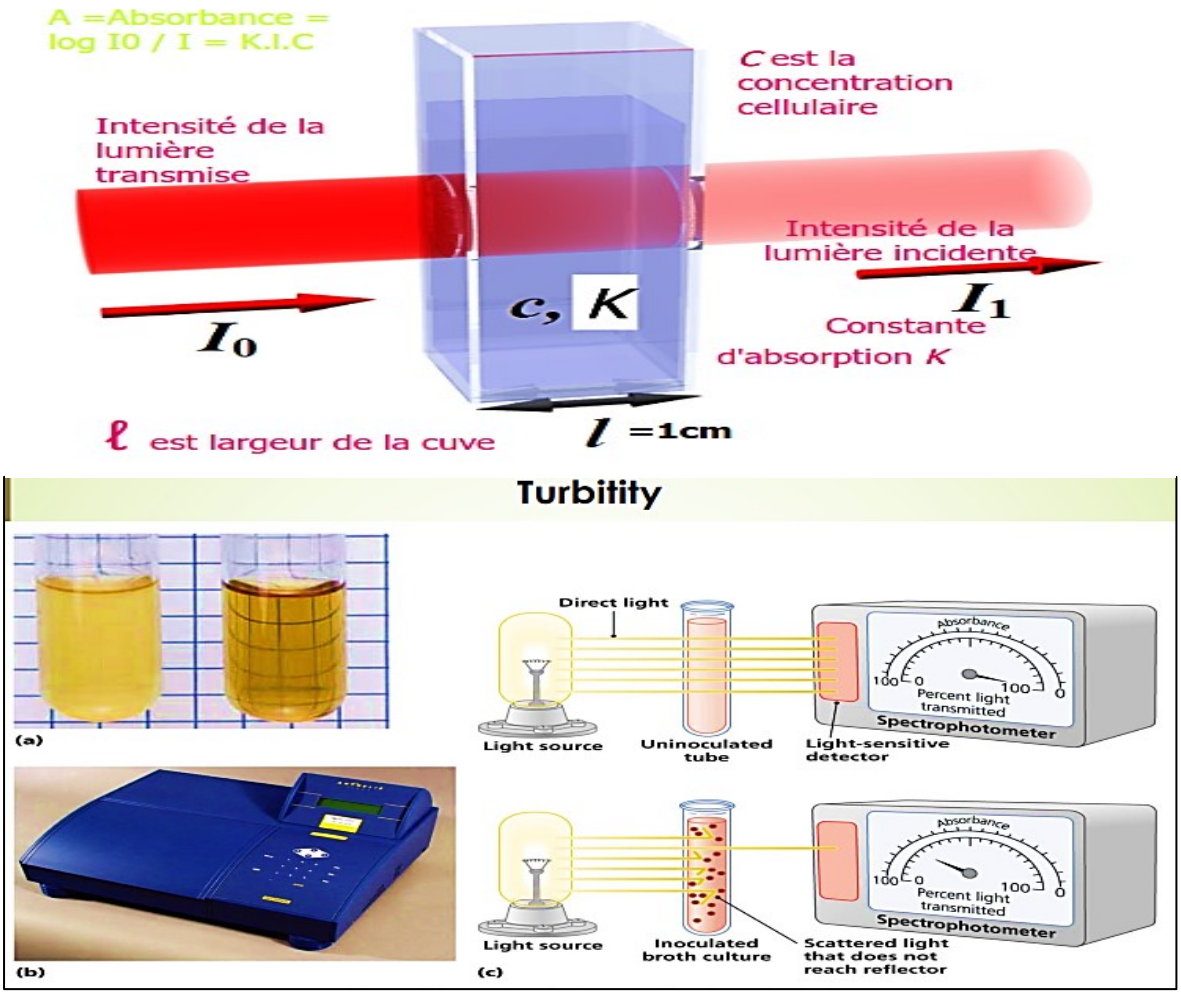


الشكل 67 : طريقة الترشيح الغشائي لتعداد الخلايا البكتيرية

V.2.1. القياسات الغير مباشرة

V.1.2.1. قياسات التعكر turbidimétrie

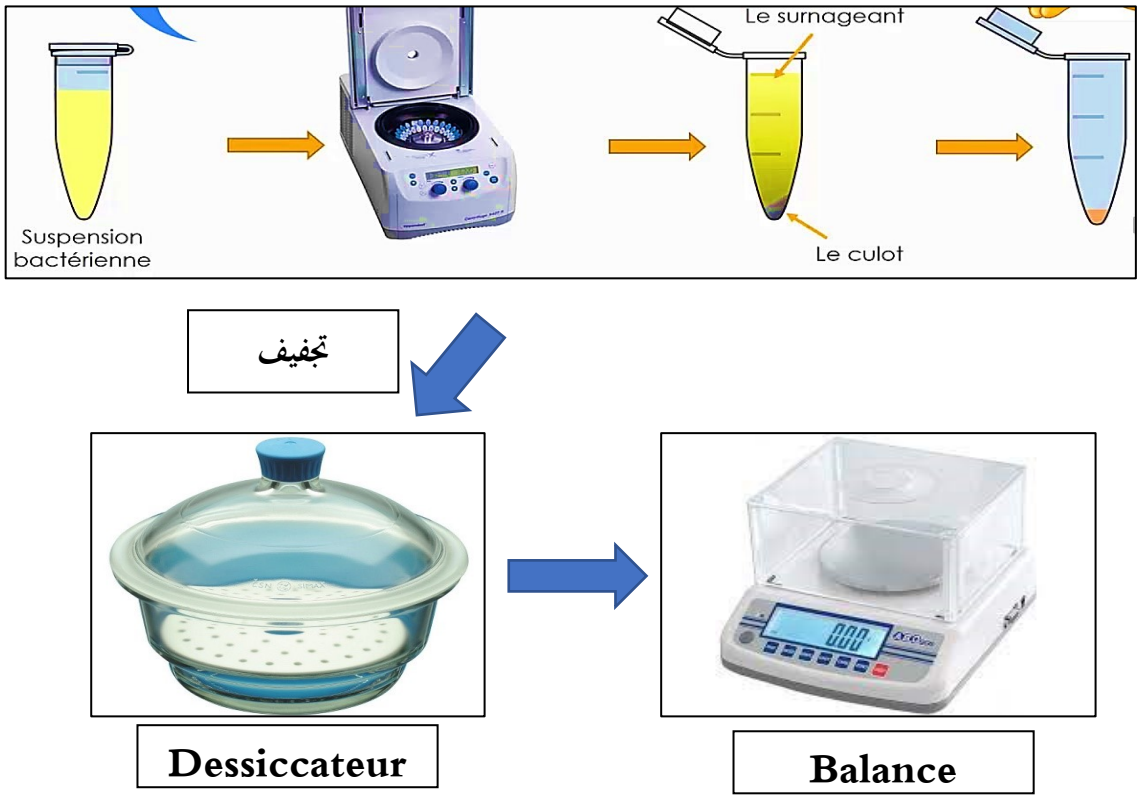
كلما زاد نمو البكتيريا في السائل، كلما أصبح عكرًا يجب أن يصل تركيز البكتيريا إلى 10^7/مل على الأقل حتى يبدأ الوسط في الظهور معكرًا. يُستخدم مقياس الطيف الضوئي spectrophotomètre لقياس مقياس التعكر هذا من خلال قياس يسمى الكثافة الضوئية densité optique (OD) أو الامتصاصية Absorbance (A) (الشكل 68). كمية الضوء التي تنتقل إلى خلية حساسة للضوء تتناسب عكسيا مع عدد البكتيريا. كلما زاد عدد البكتيريا، انخفض الامتصاص. يمكن رسم منحنيات الارتباط بين عدد البكتيريا والامتصاص. في المرحلة الأسية، يتم تمثيلها بخط مستقيم.



الشكل 68 : قياس تعكر المعلق البكتيري باستخدام مقياس الطيف الضوئي

V.2.2.1. قياس الكتلة الحيوية الجافةbiomasse sèche

الكائنات الدقيقة الخيطية لا تصلح بسهولة للتقنيات الموضحة أعلاه. يمكن طردها في وسط سائل أو ترشيحها، ثم تجفيفها في مجفف. كلما زادت الكتلة الحيوية، زاد عدد البكتيريا. لا تفرق هذه التقنية بين البكتيريا الحية والبكتيريا الميتة (الشكل 69).



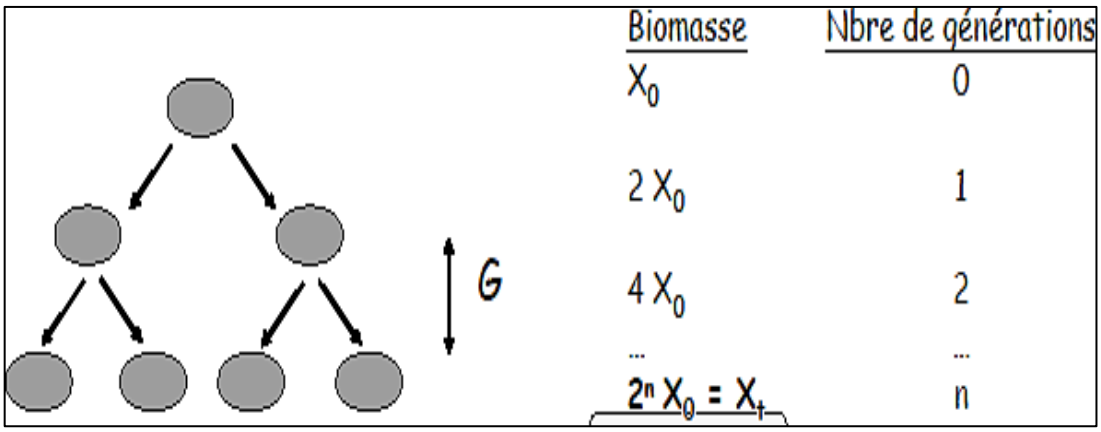
الشكل 69 : قياس الكتلة الحيوية الجافة biomasse sèche

2.V. معلمات النمو

يتم تحديد النمو من خلال ثابتين: زمن الجيل temps de génération ومعدل النمو taux de croissance.

زمن الجيل (G): يسمى الوقت المطلوب لمضاعفة عدد الخلايا. يستجيب انقسام الخلية للتقدم الأسي حيث تعطي الخلية 02 خلية ، والتي تعطي 04 خلية ، ثم 16 ، ثم 32 وهكذا. لكل نوع زمن الجيل خاص ويعتمد على الظروف البيئية. مثال (G) يساي 20دقيقة *Escherichia coli* و 1000 دقيقة *Mycobacterium tuberculosis*.

معدل النمو بالساعة "K" عدد الإنقسام في الساعة: يسمح بحساب عدد البكتيريا بعد عدد معين من الساعات، عندما يستمر النمو بنفس المعدل.



V.2. 1. التعبير الرياضي عن النمو

حساب عدد الأجيال n (المرحلة الأسية phase exponentielle)

N = عدد الخلايا المنقسمة في الوقت (t) و $\mathbf{N_0}$ العدد الأولي للبكتيريا

بعد قسم واحد: $N_0 . 2^1 = N1$ بعد قسمين: $N_0 . 2^2 = N2$ بعد nتقسيم: $Nn = N0 . 2^n$

إذا:

$$\mathbf{Log\ N = Log\ N0 . 2^n = n\ Log\ 2 + Log\ N0}$$

$$\mathbf{n = (Log\ N - Log\ N0) / Log\ 2}$$

زمن الجيل (G): G= tn – t0 /n

معدل النمو K: K = n/t

$$\mathbf{K = (Log\ N - Log\ N0) / (Log\ 2 . t)}$$

إذا نما عدد البكتيريا من 10^3 إلى 10^9 / مل في 10 ساعات. احسب **زمن الجيل ومعدل النمو K**.

$$n = (Log\ 10^9 - Log\ 10^3) / Log\ 2$$

$$n= 6/0.3$$

انقسام n= 20

G = 10/20 = 0.5h = 30 mn

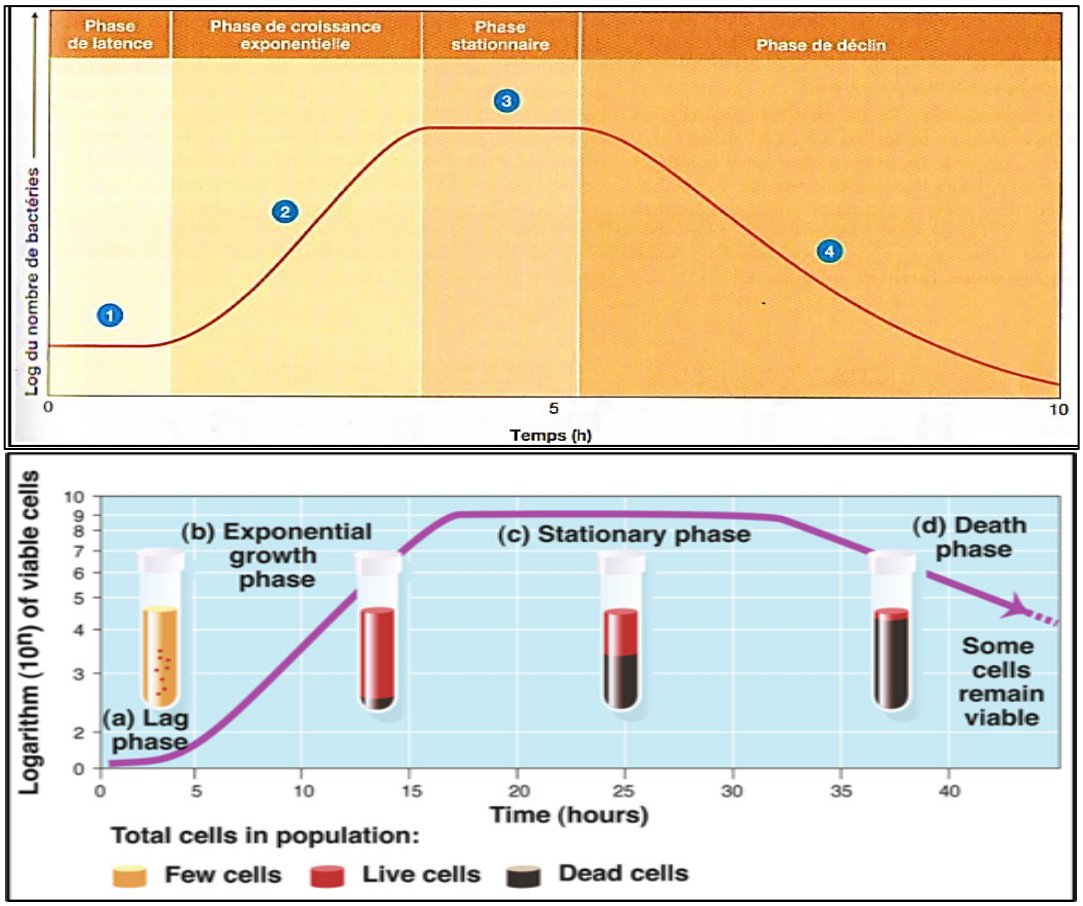
$$K= (Log\ 10^9 - Log\ 10^3) / (Log\ 2. 10)$$

$$K =(9-3)/3.01$$

K= 2 جيل/ h

V.2.2. النمو في الوسط غير المتجدد (منحنى النمو)

في الوسط غير المتجدد حيث النمو غير متزامن واستنفدت العناصر الغذائية بمرور الوقت، يتبع النمو منحنى رباعي الطور. مرحلة التأخر phase de latence ومرحلة النمو الأسي croissance exponentielle, ومرحلة الثبات phase stationnaire ومرحلة الانحدار phase de déclin (الشكل 70).



الشكل 70: منحنى النمو البكتيري في وسط غير متجدد

- **مرحلة التأخر**: معدل النمو (K) هو صفر. لا تنقسم البكتيريا، لكنها تتكيف مع ظروف بيئتها البيئية. يصنعون الإنزيمات الضرورية الخاصة بالركائز (المغذيات) الموجودة. إذا تم الزرع في نفس الوسط بالبكتيريا المأخوذة في المرحلة الأسية، فلن يكون هناك كمون. تعتمد مدة هذه المرحلة على عدة عوامل:

– أهمية المعلق: يجب على البكتيريا أولاً إزالة السموم من البيئة عن طريق تخليصها من آثار العناصر السامة التي تلوث بشكل عام وسط المزرعة (المعادن الثقيلة، على سبيل المثال).

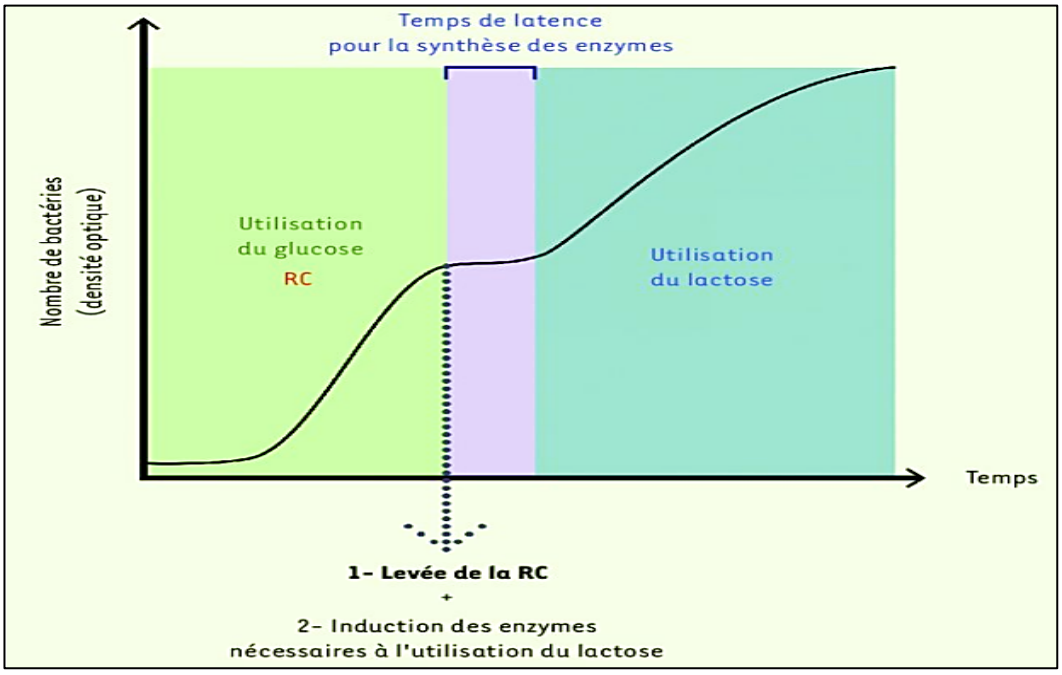
– عمر البكتيريا: يجب على البكتيريا "القديمة"، التي تم إدخالها إلى وسط جديد، إصلاح جميع الأضرار التي لحقت بها؛ لذلك يجب عليهم استعادة حالتهم الفسيولوجية الطبيعية قبل البدء في التكاثر. لذلك، كلما كان المعلق المستخدم كلقاح قديم، زادت مدة هذه المرحلة.

– مكونات الوسط: يجب على البكتيريا تصنيع الإنزيمات التي تتكيف مع الوسط المستنبت الجديد.

- **مرحلة النمو الأسي**: تنقسم الخلايا البكتيرية طوال الوقت، طالما أن العناصر الغذائية متوفرة والمواد السامة غائبة ودرجة الحموضة مثالية. يتم تمثيل كل كتلة الخلية تقريبًا بخلايا قابلة للحياة (معدل وفيات صفر)، تتميز هاته المرحلة:
  - معدل النمو (K) في الحد الأقصى.
  - سرعة االانقسام ثابتة وقصوى.
  - غالبية البكتيريا في حالة فسيولوجية جيدة وتنقسم أضعافا مضاعفة.
  - زمن الجيل خلال هذه المرحلة هو الأقصر.
- **مرحلة الثبات**: عندما يتم الاسترزاع في أنبوب، في مرحلة ما، يتم استنفاد العناصر الغذائية وتتراكم المواد السامة ويتغير الرقم الهيدروجيني. لم يعد عدد الخلايا يختلف حيث يوجد انقسام بقدر ما يوجد موت الخلية اي هناك توازن بين البكتيريا التي تموت بالتحلل الذاتي وتلك التي تستمر في التكاثر ومنه يكون معدل النمو (K) ثابت. هناك حديث عن نمو خفي cryptique، حيث تتغذى الخلايا على المحتويات التي تطلقها الخلايا الميتة.
- **مرحلة الانحدار :** لم تعد البكتيريا تنقسم حيث ينخفض عدد البكتيريا القابلة للحياة خلال هذه المرحلة. هذا بسبب تحلل الخلايا تحت تأثير الإنزيمات المحللة للبروتين (التحلل الذاتي) ومنه يكون معدل النمو (K) سلبي.

V.2.3. نمو ديوكسي diauxie

ظاهرة diauxia ، هو نمو ينتج عنه منحنى ثنائي الطور (الشكل 71). لوحظ هذا النمو عند استخدام وسط اصطناعي يحتوي على مصدرين من الكربون. في وسط يحتوي على الجلوكوز واللاكتوز ، ستستخدم البكتيريا الجلوكوز أولاً بفضل الإنزيمات المكونة. يعتمد تحلل اللاكتوز على الإنزيمات المحفزة التي يتم قمع تحريضها في وجود الجلوكوز. عندما يتم استهلاك الجلوكوز ، سوف تستهلك البكتيريا اللاكتوز وتبدأ مرحلة جديدة من النمو الأسي بعد فترة تأخر تكيفية.



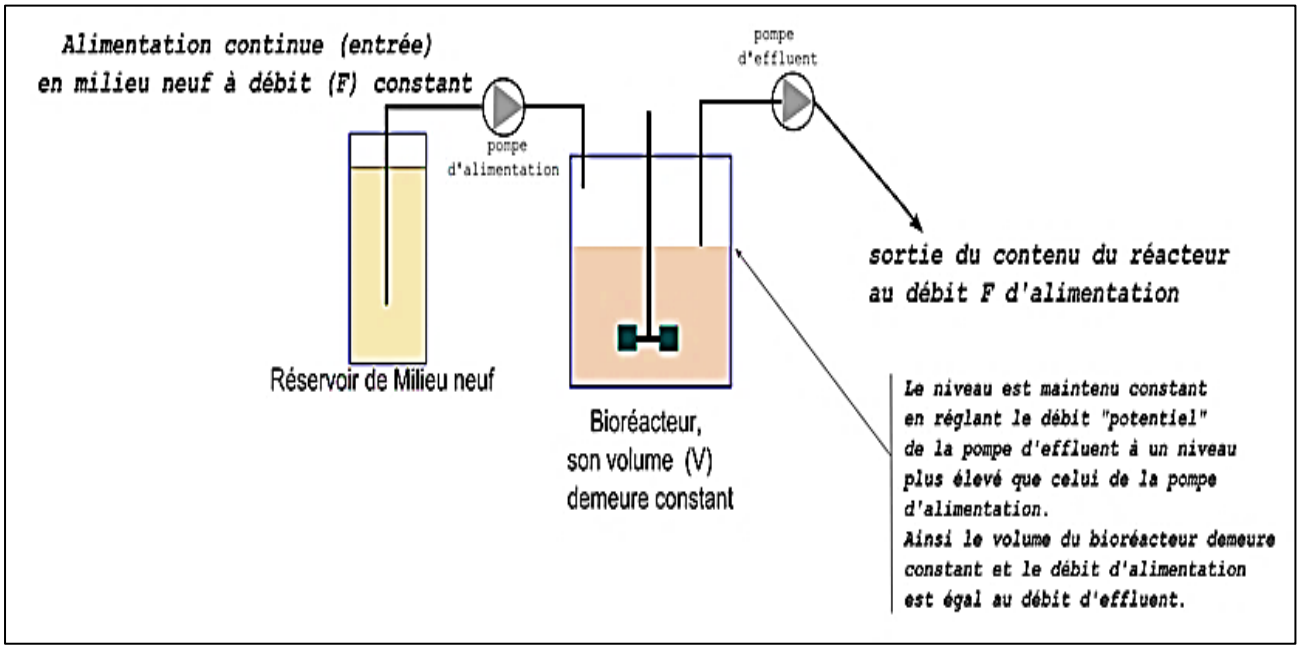
phénomène de répression catabolique ou RC

الشكل 71 : منحنى النمو ديوكسي

V.2.3. النمو في الوسط المتجدد: النمو المستمر

في بيئة غير متجددة، يتم الوصول إلى مرحلة الانحدار بسرعة. هذا يخلق مشاكل للصناعات الحيوية. من الناحية الاقتصادية، من المهم جدًا تمديد المرحلة الأسية لعدة أيام. الحل هو تجديد الوسط باستمرار واستعادة منتجات الأيض. يتم الحصول على النمو المستمر باستخدام ناظم كيميائي chemostat ومعدات أخرى أكثر تعقيدًا

(الشكل 72). يعتمد مبدأ الناظم الكيميائي على التحكم المستقل في معدل النمو وإنتاج الكتلة الحيوية. هذا ممكن عن طريق تعديل معدل التخفيف وتركيز المغذيات. يتم تحريك النظام باستمرار وتزويده بهواء معقم.



الشكل 72 : ناظم كيميائي chemostat

الفصل السادس: مثبطات النمو البكتيري

VI. مثبطات النمو البكتيري

خلال القرن العشرين، طور العلماء سلسلة من الأساليب الفيزيائية والكيميائية للتحكم في نمو الكائنات الحية الدقيقة. كل هذه الجهود كانت في إطار الممارسة الطبية لتقليل نسبة الوفيات بعد الجراحة أو بعد الولادة. كان تلف الأطعمة وتطوير مناهج فعالة للحفاظ عليها دافعًا صحيًا واقتصاديًا أيضًا. هناك 3 فئات: العوامل الكيميائية والعوامل الفيزيائية والعوامل البيوكيميائية.

التعقيمstérilisation : هو عملية قتل جميع أشكال الحياة الميكروبية الموجودة في المحلول على سبيل المثال أو الموجودة على سطح الجسم. يقال أن المادة المعالجة معقة عندما يتعذر إحياء الكائنات الحية الدقيقة. غالبًا ما يكون من الضروري لف الأشياء قبل تعقيمها وإغلاق المستحضرات جيدًا لتجنب التلوث اللاحق.

التطهيرdésinfection : إجراء يستخدم مادة كيميائية تسمى مطهرًا على منتجات خاملة او الانسجة الحية يهدف إلى القضاء على الميكروبات المسببة للأمراض ولكن يجب تكرار العملية في حالة التلوث اللاحق، عملية ذات نتيجة مؤقتة. غير فعال على الإندوسبورات.

إزالة التلوثdécontamination : مثل التطهير هو عمل بنتيجة غير دائمة. يثبط الكائنات الحية الدقيقة، دون أن يقتلهما بالضرورة.

اعتمادًا على تأثير العامل المضاد للميكروبات على نمو الكائنات الحية الدقيقة ، يتم تمييز ما يلي:

- **محلل لخلايا الجراثيم bactériolytique** . تنخفض أعداد البكتيريا الكلية والقابلة للحياة بشكل حاد
- **مبيد وقاتل للجراثيم bactéricide**، يرتبط العامل بالميكروب بإحكام حتى في حالة حدوث تخفيف، ويتناقص عدد الخلايا القابلة للحياة دون تحلل الخلية بشكل كبير بمرور الوقت.

- **مثبط لنمو الجراثيم bactériostatique**، يكون العدد الإجمالي للبكتيريا مستقرًا ويساوي عدد البكتيريا القابلة للحياة. إذا انخفض التركيز، يستأنف نمو البكتيريا.

VI .1. العوامل الفيزيائية

VI .1.1. الحرارة

يمكن استخدامه لحفظ الطعام إما بالبرودة (التبريد، التجميد) أو بالحرارة (البسترة). في كلتا الحالتين ، يتم استقرار عدد الكائنات الحية الدقيقة عن طريق إبطاء النمو. تتيح درجة الحرارة أيضًا تدمير الكائنات الحية الدقيقة (التعقيم والتعليب). يستخدم التدمير الحراري حرارة رطبة أو حرارة جافة (الجدول 09).

الجدول 09 : طرق التعقيم باستخدام الحرارة

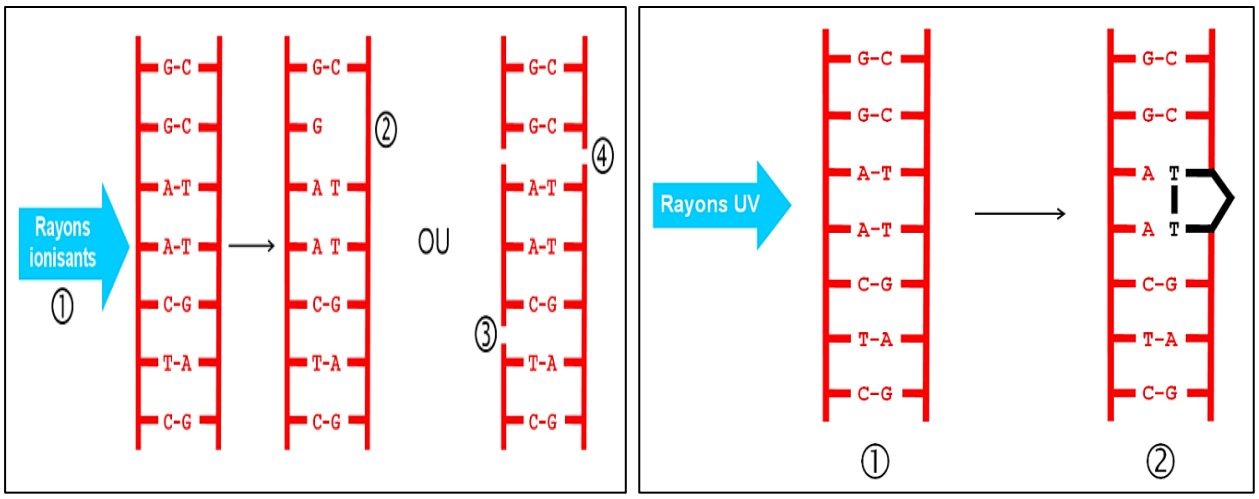
نوعية الحرارة	الطريقة	مبدأ العمل	
الحرارة الرطبة (التعقيم)	**Appertisation التعليب**	غمر الخضار في زجاجات في الماء المغلي. هذه العملية مفيدة جدًا في صناعة التعليب.	
	Autoclave الأوتوكلاف	عبارة عن حاوية معدنية محكمة الإغلاق يتم فيها تسخين الماء المضغوط (120 درجة مئوية عند 1 ضغط جوي) لعمل بخار ماء مضغوط لمدة 15 إلى 20 دقيقة. يتم الحصول على التعقيم عن طريق تغيير طبيعة البروتينات.	
	Tyndallisation	من الممكن تعقيم المواد الهشة، القابلة للتغيير بدرجة الحرارة العالية، من خلال تعريضها لسلسلة من التسخين عند درجة حرارة منخفضة (60 درجة مئوية) ، مفصولة بفترات راحة عند درجة حرارة عادية (لمدة 3 أيام). يتم استخدامه للقضاء على الأبواغ التي أعيد تنشيطها إلى خلايا خضرية، ويتم التخلص منها مع كل دورة تسخين.	
	Pasteurisation بسترة	الحرارة غير المرتفعة (60 درجة مئوية) تدمر الكائنات الممرضة (السالمونيلا، الليستيريا، الإشريكية ، إلخ) وتبطئ نمو جراثيم التلف. يحافظ على الصفات الغذائية للطعام (الحليب) والتوازن الكيميائي والفيتامينات. لا يمكن اعتبار البسترة تعقيمًا، فهي تطبق على المنتجات للحفاظ على الخصائص	**pasteurisation haute température** البسترة بدرجة حرارة عالية: يتم إحضار الحليب إلى 90 درجة مئوية لمدة 30 ثانية ثم تبريده إلى 10 درجة مئوية.
			pasteurisation basse température

		الحسية (الطعم واللون والرائحة والنكهة) والسماح بالحفاظ عليها لفترة.	البسترة بدرجة حرارة منخفضة: تسخين من 60 إلى 70 درجة مئوية لفترات أطول.
			pasteurisation Ultra Haute Température (UHT) البسترة ذات درجة الحرارة العالية (UHT): الأحدث، يتم تطبيقها على الحليب والعصير. درجة حرارة 140 درجة مئوية لبضع ثوان ثم تبرد فجأة.
حرارة جافة	**four Pasteur فرن باستير**	لا يمكن تعقيم الأشياء (الأواني الزجاجية، المعدات الجراحية) بالحرارة الرطبة. يجب استخدام فرن تدوير الهواء باستور من أجل توزيع جيد للحرارة. يتم الحصول على التعقيم عن طريق تغيير طبيعة البروتينات: 180 درجة مئوية (30 دقيقة) – 170 درجة مئوية (ساعة واحدة) – 160 درجة مئوية (ساعتان).	
البرد	**تبريد تجميد**	يكون نشاط الماء مرتفعًا أثناء التبريد (تطور الكائنات الحية)، ومن ناحية أخرى يقلل التجميد منه. القواعد الثلاث التي يجب اتباعها في تطبيق البرودة: يجب عليك تبريد الطعام الصحي، في أسرع وقت ممكن (سريعًا) ويجب أن يكون التبريد مستمرًا (لا يوجد انقطاع في سلسلة التبريد)	

VI .2.1. الإشعاعات

لدينا **إشعاع مؤين** مثل أشعة جاما والأشعة السينية وأشعة الإلكترون. لديهم طول موجي قصير جدًا ويحملون المزيد من الطاقة. تعمل الطاقة على الماء في الخلايا، والتي ستتأين بتكوين أيونات الهيدروكسيل التي تعمل على الحمض النووي عن طريق تعديله أو قطعه كيميائيًا (الشكل 73).

الإشعاع **غير المؤين** مثل الأشعة فوق البنفسجية، خاصة تلك التي يبلغ طولها الموجي 270 نانومتر. تتسبب في تكوين روابط غير طبيعية بين قواعد الثايمين القريبة في الحمض النووي. سيؤدي هذا إلى مشاكل في تكاثر الحمض النووي. تكون أشعة الشمس فوق البنفسجية أقل قوة وبعض البكتيريا تستخدم أصباغ لحماية نفسها منها (الشكل 73).



الشكل 73 : تأثير الإشعاعات المؤينة وغير المؤينة على الحمض النووي البكتيري

VI .3.1. الضغط، التركيز الأيوني

الضغط العالي يمكن أن يدمر الكائنات الحية الدقيقة، يتم استخدامها لتفجير الخلايا. في صناعة المواد الغذائية، يتم استخدام Pascalisation المرتبط بمعالجة درجة الحرارة. يتم معالجة المربى والعصير بالبسترة عند درجة حرارة منخفضة، قبل الخضوع للمعالجة لمدة 10 إلى 30 دقيقة تحت ضغط 3500 إلى 6000 بار. البكتيريا ليست حساسة للغاية للتغيرات في الضغط الأسموزي لأنها محمية بجدارها على عكس الميكوبلازما. يحافظ القدماء على الطعام عن طريق إضافة الملح أو السكر مما يؤدي إلى زيادة الضغط الاسموزي.

VI .4.1. الأس الهيدروجينيpH

تتكاثر غالبية البكتيريا بشكل تفضيلي عند درجة حموضة قريبة من متعادل (6.5 إلى 7.5) **neutrophiles** ، لكنها قادرة على النمو في نطاق واسع من الأس الهيدروجيني. نميز: البكتيريا الحمضية والبكتيريا القاعدية. في وسط الاستزراع، يولد التمثيل الغذائي البكتيري أحماض تمنع تكاثر البكتيريا. لتجنب ذلك، نضيف المحاليل العازلة التي تحافظ على الرقم الهيدروجيني الأمثل.

VI .5.1. الإزالة الميكانيكية: الترشيح

الترشيح هو أفضل طريقة لتعقيم المحاليل التي تحتوي على مواد تتحسس للحرارة، مثل البروتينات، والفيتامينات، والمصل، وما إلى ذلك. يسمى التعقيم بالترشيح بالتعقيم البارد. توجد أجهزة ترشيح مختلفة حسب الأحجام المعالجة.

VI .2. الطرق الكيميائية

VI .2. 1. العوامل المحددة للنمو

يعرف العامل المحدد بأنه ركيزة غذائية، يؤدي نفاذها الى توقف النمو البكتيري حتى وان وجدت كل المكونات الغذائية الأخرى في الوسط. تعتبر عوامل النمو عوامل محددة للنمو للبكتيريا عوزية التغذية.

VI .2. 2. المطهرات

أ. أنواع المطهرات

العوامل المؤكسدة: بيروكسيد الهيدروجين، مبيض، كحول معالج باليود.

الكحول: مخفف الإيثانول إلى 70٪ (كحول مخفف أكثر فعالية من الكحول النقي)

المعادن الثقيلة وأملاحها: أملاح الفضة في طب وجراحة العيون والأنف والحنجرة. أملاح الزئبق كمطهر للجلد والأغشية المخاطية (Mercurochrome، Mercryl، Merseptyl). كبريتات النحاس كمضاد للفطريات. يقتلون الخلية عن طريق ترسيب الإنزيمات أو عن طريق الاندماج مع مجموعات ثيول SH. إنها شديدة السمية للإنسان.

الفينول والألدهيدات: شديد السمية للإنسان ويحتوي على مبيدات الجراثيم ومبيدات الفطريات والفيروسات. أنها تفسد الغشاء والحمض النووي والبروتينات

الصابون: تأثيرها ميكانيكي. تزيد من قوة ترطيب الماء وتحبس الجراثيم في الرغوة وتطردها بالشطف، مبيد للجراثيم.

الملونات: مطهرات للاستخدام الموضعي وبعضها يستخدم في الجهاز الهضمي. الملكيت الأخضر والأخضر اللامع لعلاج الجروح السطحية، ميثيل البنفسجي كمطهر للبول، والجانسيات البنفسجي. يتم استخدامها في إعداد الأوساط الغذائية لأعمالهم الانتقائية.

التعقيم بالغاز: يتم استخدامه لتعقيم المنتجات الحرارية غير المستقرة أو تطهير المباني (المستشفيات) أو تعقيم الأشياء البلاستيكية مثل أطباق بتري وأنابيب.

ب. تأثير المطهرات

على مستوى السيتوبلازم: بيروكسيد الهيدروجين يؤكسد H_2S الحر في الإنزيمات، تتحد أملاح المعادن الثقيلة مع H_2S وتثبط البروتينات. يعمل الكحول مثل الحرارة ويثبط البروتينات. الملونات (ازرق المثلين، بنفسجي جانسيات) تتفاعل مع ال ARN وتبطل نشاطه.

تغيير الغشاء السيتوبلازمي: العوامل التي تذوب في الدهون (الفينولات والصابون والمنظفات بشكل خاص) تغير طبيعة وبنية الغشاء مما تؤدي الى تدمره حيث تسمح للسيتوبلازم ومكوناته بالهروب.

على مستوى الجدار: احداث اضرار مثل اماهة الجدار بالأحماض يودي الى ظهور خلايا بدون جدار مما يودي الى انفجار البكتيريا.

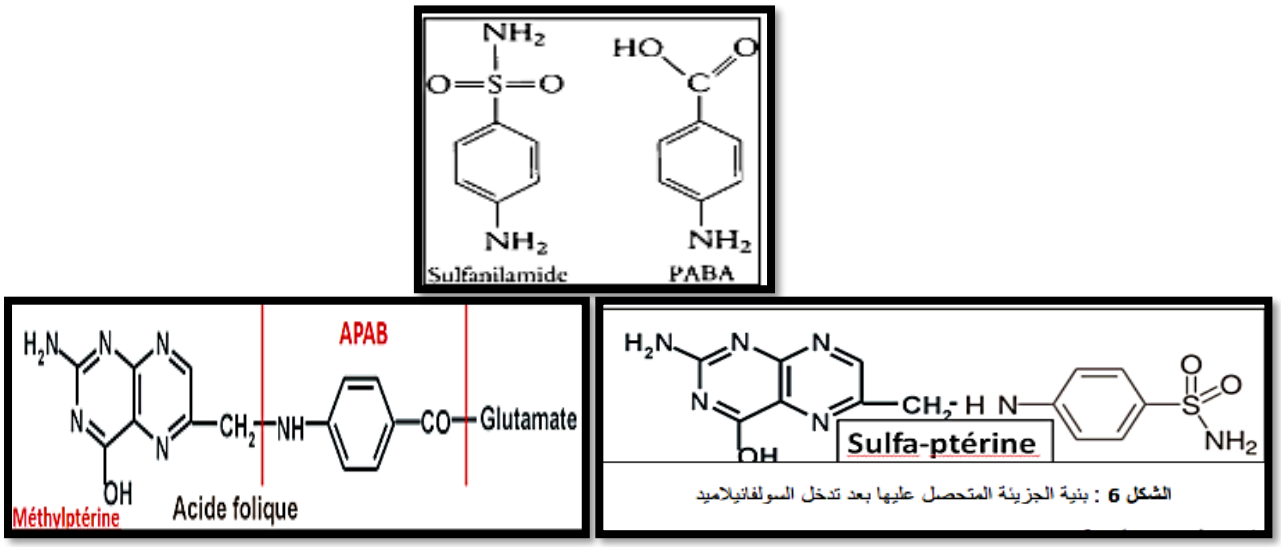
VI .2. 3. مضادات الاستقلاب

المضادات الاستقلابية هي مواد اصطناعية مضادة للنمو البكتيري وتملك بنى مقاربة ومشابهة لمختلف المواد الاستقلابية الأساسية او لمختلف عوامل النمو. مصطلح عام، يشير الى كل المواد التي تؤدي الى عرقلة العمليات

الأيضية عن طريق إيقاف أو عرقلة خطوة من خطوات المسارات الأيضية، سواءً بإيقافها تماماً أو إبطائها او التأثير في سرعتها الطبيعية. من هذه المركبات مواد مشابهة لنواتج الايض وهذه المواد تؤدي الى إيقاف التفاعل وعدم تكوين الناتج. ففي العمليات والتفاعلات الأنزيمية يطلق على المواد التي تؤدي الى إرباك التفاعل بالمثبطات. وإذا كانت العمليات الأيضية وإعاقتها بسبب الفيتامينات والمواد المنظمة ومنها المرافقات الأنزيمية فيطلق عليها اسم المواد المضادة وتكون هذه المواد مشابهة للفيتامين عادة مما يؤدي الى إحلال تلك المادة محل الفيتامين. وتظهر حالة مشابهة لما يحدث في حالات النقص الغذائي.

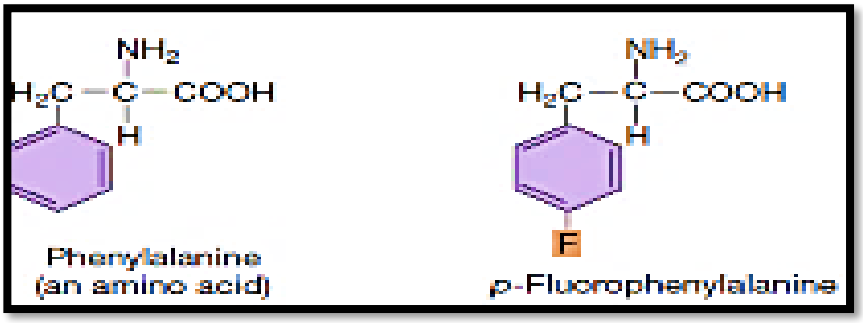
أ. أنواع مضادات الاستقلاب

- **المماثلات البنيوية للفيتامينات:** السولفاميد مماثل بنيوي لحمض بارا أمينوبنزويك acide para aminobenzoique (عامل نمو يدخل في تركيب حمض الفوليك). يعتبر حمض الفوليك فيتامين ومرافق انزيم له دور في اصطناع الأحماض النووية (القواعد البيورينية والبريميدية وبعض الاحماض الامينية: سيرين، ميثيونين). عندما يكون التركيز النسبي لل APAB كبيرا ينعدم تأثير السولفاميد (الشكل 74).



الشكل 74: بنية السولفاميد و acide para aminobenzoique

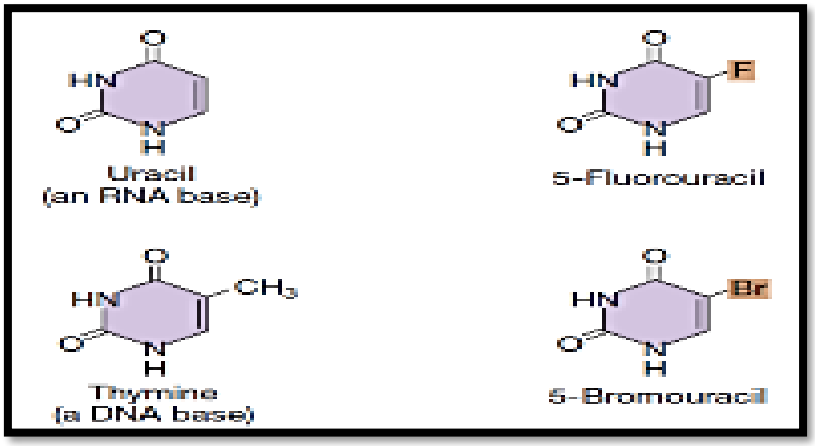
- **مماثلات الأحماض الأمينية** : تدخل في تركيب البروتينات وتأخذ مكان الأحماض الأمينية. مثال: fluorophénylalanine الذي يأخذ مكان phénylalanine و 5-méthyl-tryptophane في مكان ال tryptophane (الشكل 75).



الشكل 75 : بنية fluorophénylalanine

- **مماثلات القواعد البيورينية والبريميدية:** إنها تتداخل مع تخليق الأحماض النووية بواحد (أحيانًا 2) من الآليات:

-تثبيط النيوكليوتيدات والتخليق الحيوي للحمض النووي: تم تصنيع 5-فلوروبوراسيل 5-fluorouracile في عام 1957 من قبل هايدلبرغر Heidelberger . هذا المركب هو نظير لليوريدين حيث يتم استبدال الهيدروجين في 5 بذرة الفلور (الشكل 76).



الشكل 76 : مماثلات القواعد البيورينية والبريميدية

5-فلورويوراسيل « 5-FU » والفلوروبيريميدينات fluoropyrimidines الأخرى عبارة عن مثبطات مباشرة إنزيم « TS » thymidylate synthétase ، كما أنها قادرة على الاندماج في الحمض النووي وخاصة الحمض النووي الريبي. إنزيم Thymidylate synthetase هو إنزيم يشارك في مثيلة اليوراسيل ليؤدي إلى الثايمين. يؤدي 5-FU الى موت الخلايا عن طريق تثبيط إنزيم (TS) الذي سيؤدي إلى نقص الثايمين الضروري للغاية لتخليق الحمض النووي.

- الدمج في الأحماض النووية: في الحمض النووي الريبي: اضطراب في نضج الحمض النووي الريبي الريبوزومي ، والنسخ ، والتوزيع داخل الخلايا ، وترجمة ARNm تتأثر بدمج 5-FU . في الحمض النووي ADN: يحل 5-FU محل الثايمين في الحمض النووي ، ولا يزال التأثير البيولوجي بحاجة إلى توضيح.

VI .2. 4. المضادات الحيوية

المضادات الحيوية عبارة عن مركبات كيميائية طبيعية تصنع من طرف الكائنات الحية الدقيقة ولها تأثير على الكائنات الدقيقة الأخرى. تسمى بالمضادات الحيوية، أيضا، المواد الفعالة المنتجة من طرف النباتات والحيوانات وكل مادة كيميائية اصطناعية او نصف اصطناعية لها الخصائص التالية: لها نشاط مضاد للبكتيريا، لها نشاط في وسط عضوي، امتصاص وانتشار جيدين داخل الجسم العائل.

مبدأ السمية الانتقائية: العوامل الكيميائية المضادة للبكتيريا (المطهرات، المطهرات): تمارس تأثير مضاد للجراثيم غير محدد. لا يمكن استخدامها علاجيًا عن طريق الابتلاع أو الحقن، لأن تأثيرها يمارس على الكائنات الحية الدقيقة، ولكن أيضًا على الخلايا البشرية أو الحيوانية. عوامل العلاج الكيميائي (المضادات الحيوية، السلفوناميدات) لها تأثير ضار على الميكروبات ولكن ليس لها تأثير ضار على الخلايا البشرية والحيوانية.

VI .2. 1.3. نبذة تاريخية

بالنسبة للبعض لا يمكننا التحدث عن المضادات الحيوية دون ذكر السير ألكسندر فليمينج، ولكن بالنسبة للآخرين يجب أن نتذكر أصل الكلمة لأنها تأتي إلينا من عالم الفطريات في فرنسا– نانسي، جان بول فوليمين (Jean-Paul VUILLEMIN)، الذي قدم في عام 1889 مصطلح "antibiose" (باليونانية Anti: الضد /bios: الحياة)، فكرة أن التفاعل البيولوجي بين كائنين أو أكثر يضر بواحد منهم على الأقل في 1887 : لاحظ Psteur و Joubert علاقة التضاد الموجودة بين بعض الكائنات الدقيقة.

كانت المضادات الحيوية الأصلية موجودة منذ قرون في الطب الشعبي: لقد عالج الصينيون بعض أنواع العدوى السطحية لأكثر من 2500 عام بمعجون متعفن مصنوع من مستخلص الصويا، حيث يكون العفن هو العامل المضاد للعدوى، وفي كثير من الثقافات الأخرى القديمة بما في ذلك قدماء المصريين والإغريق والعرب في العصور الوسطى استخدموا فطر العفن.

ألكساندر فليمنج (Sir Alexander FLEMING)، عالم الأحياء الأسكتلندي اللامع، ترك طبق بتري به مزارع بكتيرية على طاولة عمله أثناء إجازته في عام 1928، عند عودته اكتشف أن مزارع المكورات العنقودية الخاصة به كانت ملوثًة أثناء غيابه بفطر *Penicillum notatum* الذي يدرسه جاره. ثم لاحظ أنه حول قوالب الفطر لم تتطور البكتيريا وقدم فرضية أن الأخير يفرز مادة تمنع نمو البكتيريا، والتي أطلق عليها البنسلين. إن اكتشاف البنسلين هو نتيجة لمجموعة من الأعمال العلمية التي قام بها العديد من الباحثين:

– قبل 50 عامًا من فليمينغ، لاحظ باستير وجوبر (PASTEUR and JOUBERT) أن حقن بكتيريا الجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis* في الحيوانات منع تطور الأمراض البكتيرية.

- في نهاية القرن التاسع عشر، لاحظ الطبيب الفرنسي إرنست دوشيسن (Ernest DUCHESNE) بالفعل أن بعض القوالب يمكن أن توقف تكاثر البكتيريا، لكن هذا الاكتشاف ظل غير مطبق حتى عمل فليمينغ.

- في عام 1910 طور الطبيب الألماني (Paul EHRLICH) جزيئًا مضادًا للعدوى Salvarsan، أحد مشتقات الزرنيخ، المستخدم في علاج مرض الزهري حتى وصول البنسلين.

- في عام 1930 بحث جيرهارد دوماج (Gerhard DOMAGK) الطبيب والكيميائي الألماني ومدير الأبحاث في صناعة النسيج عن النشاط المضاد للبكتيريا في الأصباغ المنتجة ووجد أن أحدهم قد شفى الفئران المصابة بالمكورات العنقودية. هذا هو sulfamydochrysoïtine (Rubiazol)، الجزيء الأول من عائلة السلفوناميد.

- خلال العام نفسه، اكتشف عالم الأحياء الفرنسي، رينيه دوبوس(René DUBOS) جزيئا تنتجه بكتيريا التربة قادرًا على تثبيط المكورات الرئوية. لكن الوصول المكثف لمركبات السلفونااميدات خلال نفس الفترة أدى إلى تأخير عمله ولم ينجح حتى عام 1939 في عزل الجراميسيدين، وهو أول مضاد حيوي طبيعي.

ظلت المشكلة الرئيسية للبنسلين هي استخراجه وتنقيته وفي عام 1930 تمت معالجته مع (Ernst Boris) CHAIN و (Howard Walter FLOREY). لقد طوروا شكلاً مستقرًا وقابل للاستخدام علاجيًا، استخدم لأول مرة على البشر في عام 1941

VI .2. 2.3. تصنيف المضادات الحيوية

المضادات الحيوية كثيرة جدًا ويمكن تصنيفها وفقًا لمعايير مختلفة.

أ. حسب أصلهم

المضادات الحيوية الطبيعية أو التي تنتجها الكائنات الحية الدقيقة: الفطر (البنسلين ، السيفالوسبورين). البكتيريا (الستربتومايسين ، الكلورامفينيكول ، عديد الببتيدات).

المضادات الحيوية الاصطناعية أو المنتجات التي يتم الحصول عليها بالكامل بوسائل كيميائية: السلفونواميدات Sulfamides. أحماض ناليديكسيك Acides nalidixiques.

المضادات الحيوية شبه الاصطناعية: يتم الحصول على هذه المضادات الحيوية من جزء جزيئي طبيعي تم تطعيمه بجذر كيميائي.

ب. اعتمادا على نشاطهم

نشاط واسع: فعال على غالبية البكتيريا موجبة أو سالبة الجرام.

نشاط محدود: فعال على موجبة الجرام وبعض البكتيريا سالبة الجرام.

نشاط ضيق: ينشط فقط على بعض الجراثيم موجبة الجرام أو على جنس معين أو سالب الجرام.

إن دراسة منحنى تثبيط نمو البكتيريا بواسطة المضاد الحيوي تجعل من الممكن تحديد مجالين من النشاط: مثبط لنمو البكتيريا bactériostatique أو قاتل للبكتيريا bactéricide

تسبب المضادات الحيوية التي لها تأثير قاتل الى موت البكتيريا وبالتالي انخفاض في حجم البكتيريا المصابة (betalactamines، aminoglycosides، quinolones ، مجموعة sulfonylurea–trimethoprim).

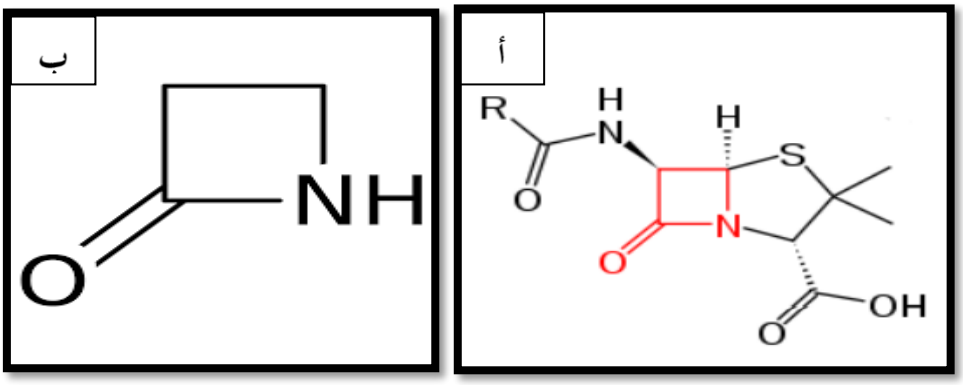
بينما تؤدي المضادات الحيوية ذات التأثير مثبط لنمو البكتيريا إلى إيقاف التكاثر البكتيري وبالتالي الحد من نمو وتثبيت التجمعات البكتيرية (الكلورامفينيكول ، الماكروليدات ، التتراسيكلين ، اللينكوزاميدات ، السلفونواميدات) ((chloramphénicol, macrolides, tétracyclines, lincosamides, sulfamides

ح. حسب البنية الكيميائية

تجعل البنية الأساسية الشائعة، الطبيعة الكيميائية للعديد من المضادات الحيوية من الممكن تجميع هذه المضادات الحيوية معًا في نفس العائلة. عادة ما يكون للمضادات الحيوية من نفس العائلة نفس آلية العمل.

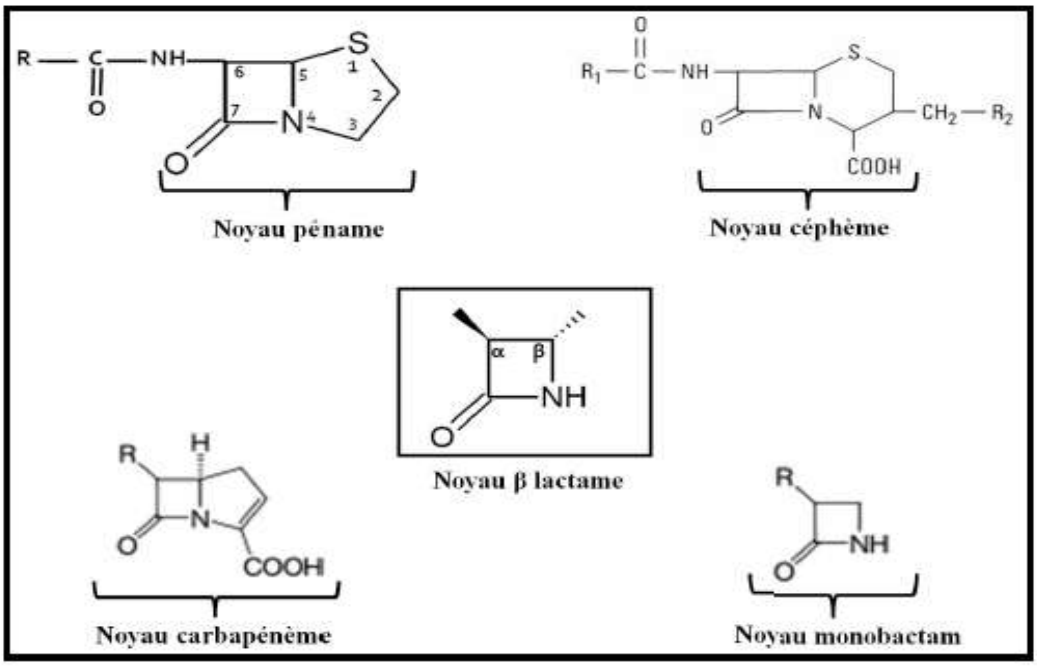
1. بيتا–لاكتام β-lactam

تعد من أقدم المضادات الحيوية، تحتوي بنية هذه العائلة من المضادات الحيوية على حلقة تفاعلية مميزة للغاية مكونة من 3 كربون و1 نيتروجين. يعتبر الهيكل المميز لجميع الفئات حيث القاعدة المشتركة هي حلقة β-lactam "carbonyl" الأساسية لنشاط هذه الجزيئات (الشكل 77).



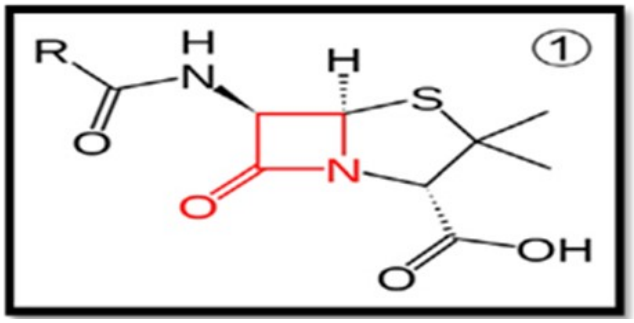
الشكل77 : هيكل البيتا–لاكتام(أ) والتركيب الكيميائي لنواة بيتا–لاكتام(ب)

تنقسم المضادات الحيوية من عائلة بيتا–لاكتام إلى أربع فئات فرعية بإضافة سلاسل جانبية: البنسلين (أو pénames) ، السيفالوسبورينات (أو cephems) ، monobactams و carbapenems. كل هذه الجزيئات لها خصائص مشتركة بالإضافة إلى خصائص خاصة بكل فئة ، لا سيما من حيث الطيف المضاد للبكتيريا (الشكل 78).



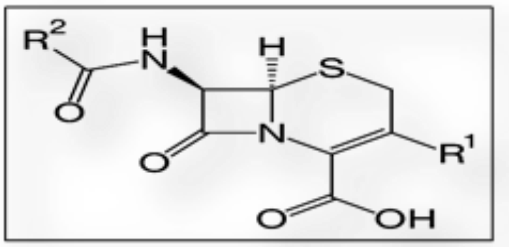
الشكل 78 : فئات المضادات الحيوية من عائلة بيتا–لاكتام

- **بنسيلينات Penicillins** : إنها مجموعة من الجزيئات، تشترك في نواة بينام "Penam" والتي تتميز بحلقة خماسية مشبعة حلقة (thiazolidine) مرتبطة بنواة بيتا–لاكتام ، اعتمادًا على طبيعة السلسلة الجانبية يتم تحديد عدة فئات فرعية (الشكل 79).



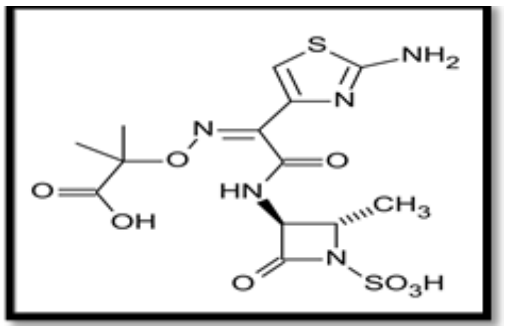
الشكل 79 : بنية البنسيلينات

- **سيفالوسبورين Cephalosporins** : تشبه أعضاء هذه المجموعة من المضادات الحيوية البنسلين من حيث التركيب وطريقة التأثير، تجمع نواتهم الأساسية بين حلقة بيتا–لاكتام وحلقة "dihydrothiazine" لتشكيل نواة "cephem" (الشكل 80).



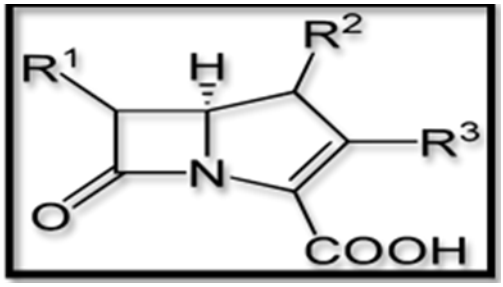
الشكل 80: التركيب الكيميائي للسيفالوسبورينات

– **مونوباكتام Monobactams** : هي جزء من مركبات بيتا لاكتام ولكن على عكس معظم بيتا لاكتام الأخرى، فإن حلقة بيتا لاكتام "monobactam" وحدها ولا يتم دمجها في حلقة أخرى (الشكل 81). "Aztreonam" هو المضاد الحيوي الوحيد المتوفر في المستشفيات، الذي له نشاط على العصيات سالبة الجرام، يضاهي نشاط الجيل الثالث من السيفالوسبورينات، ولكنه غير نشط على البكتيريا موجبة الجرام والبكتيريا اللاهوائية.



الشكل 81 : التركيب البنيوي Aztreonam .

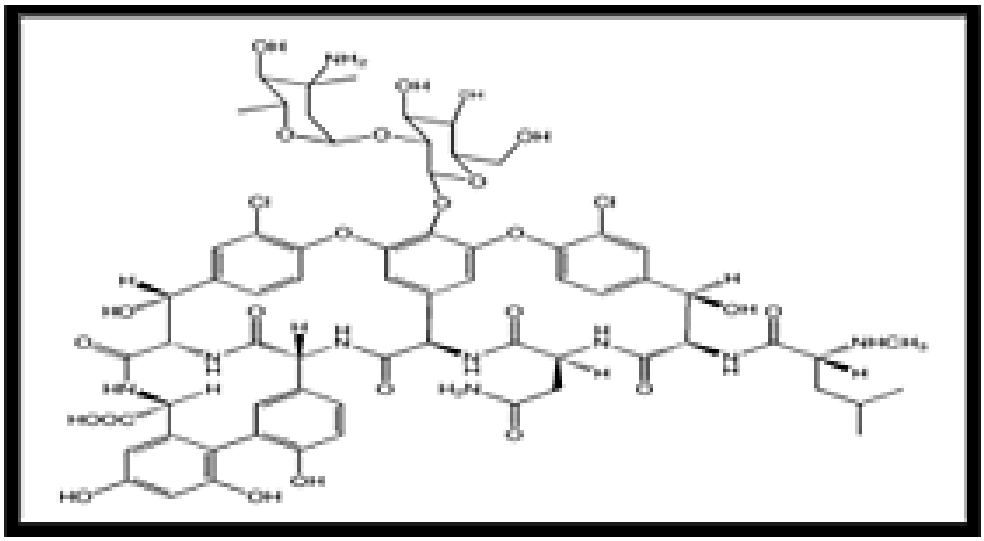
–كاربابينام Carbapenems : تتميز الكاربابينام (Imipenem ، Meropenem و Ertapenem) بوجود حلقة ذرية خماسية غير مشبعة مرتبطة بحلقة بيتا–لاكتام (الشكل 82). تمتلك هذه المضادات أوسع نطاق من النشاط وأكبر فعالية ضد البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام. ونتيجة لذلك يُشار إليها غالبًا باسم "المضادات الحيوية التي يتم اللجوء إليها كملاذ أخير" ويتم إعطاؤها للمرضى المصابين أو المشتبه في احتوائهم على بكتيريا مقاومة.



الشكل 82 : التركيب البنيوي للكاربابينام

2. جليكوببتيد Glycopeptides

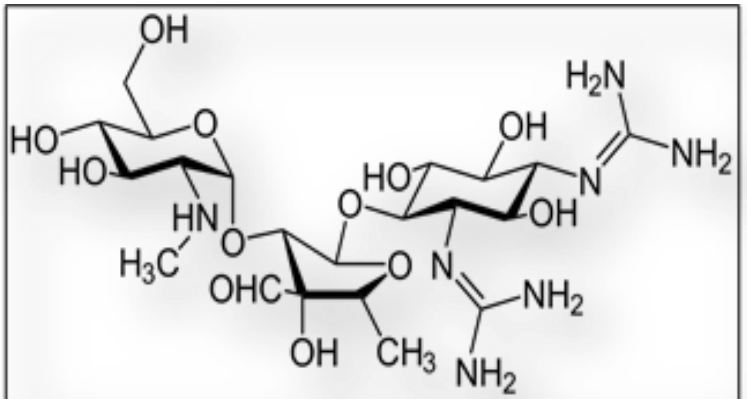
إنها ببتيدات تتكون من سبعة أحماض أمينية (الشكل 83). ينتجها فطر actinomycete. أطلق Vancomycin في المصحات عام 1958، و Teicoplanin سنة 1988 وهما يمثلان الجيل الأول . مع تطور آليات المقاومة لهذين المضادين، تم تركيب أدوية الجيل الثاني من عائلة الجليكوببتيدات. وهي عبارة عن مشتقاتها شبه الاصطناعية مثل: telavancin(3)، dalbavancin(4) و oritavancin(5) . كلها تمتلك نطاق تأثير واسع وخصائص دوائية محسنة.



الشكل 83 : بنية جليكوببتيد

3. أمينوزيد Aminoside

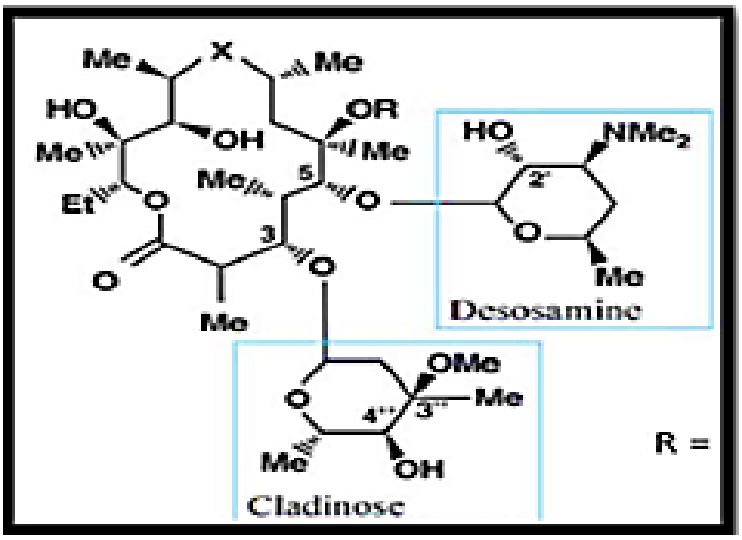
هي جزيئات طبيعية تنتجها الفطريات الشعاعية. إن طيف نشاطها الواسع وتأثيرها السريع المبيد للجراثيم من المميزات الرئيسية لها. يتكون الهيكل الأساسي(الشكل 84) من بنية مركزية من السكريات الأمينية (حلقة aminocyclitol مركزية مشبعة) مرتبطة بروابط سكرية إلى اثنين أو ثلاثة من السداسيات الجانبية.



الشكل 84 : التركيب الأساسي لبنية الامينوزيد

4. ماكروليد Macrolide

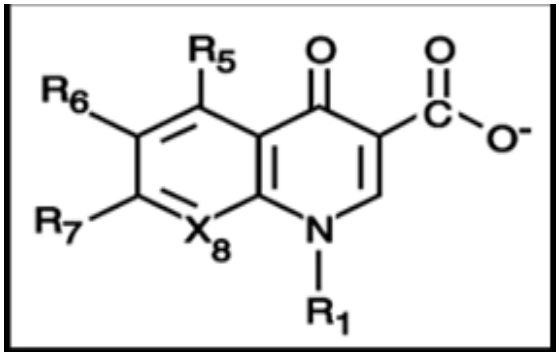
تتميز بطيف تأثير ضيق، تنشط بشكل مثالي ضد الميكروبات داخل الخلوية. تمتلك اختراقا ممتاز للأنسجة. نواة اللاكتون المركزية في بنيتها هي أساس تصنيفها على حسب عدد ذرات الكربون (الشكل85) ، وهي جزيئات محبة للدهون. المضاد الحيوي الأكثر شيوعا واستخداما هو erythromycin، ينتج من طرف *Streptomyces erythraeus* .



الشكل 85 : بنية المضاد الحيوي erythromycin

5. كينولونQuinolone

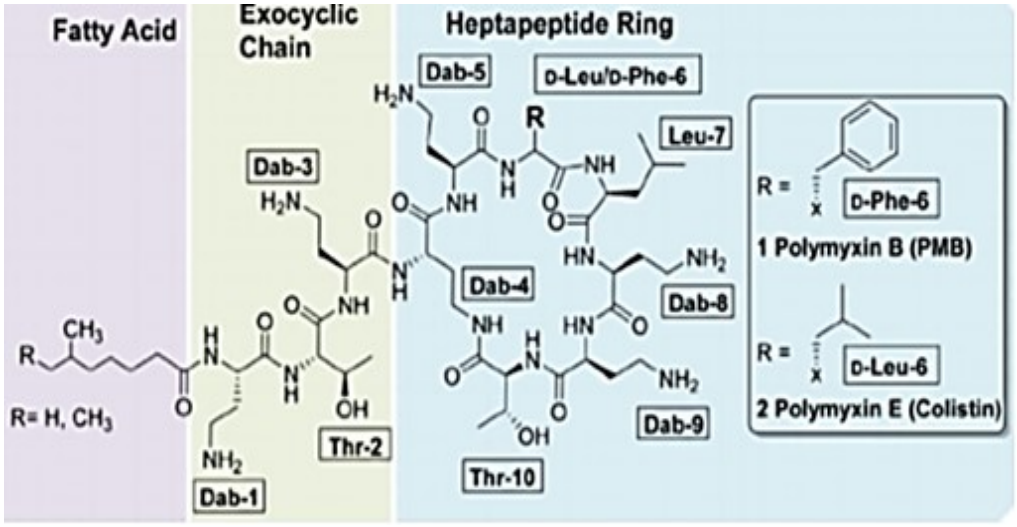
الكينولونات هي واحدة من العائلات الثلاث الرئيسية للمضادات الحيوية المستخدمة في العلاج البشري، هي مضادات الجراثيم الاصطناعية المشتقة من حمض " nalidixique ." الرائد في الكينولون الكلاسيكية، المستخدمة منذ فترة طويلة في علاج التهابات المسالك البولية. هذه الفئة من المضادات الحيوية لها تأثير مبيد للجراثيم. التركيب الكيميائي للكينولونات (الشكل 86) عبارة عن حمض pyridine-β-carboxylique مع نيتروجين في الموضع 1، وكربوكسيلات في الموضع 3 وكربونيل في الموضع 4.



الشكل 86 : التركيب الكيميائي لبنة الكينولونات

6. بوليميكسين Polymyxin

هي مضادات حيوية يتم إنتاجها بشكل طبيعي من قبل أنواع مختلفة من"Bacillus polymyxa subsp colistinus" يتم وصف خمس فئات كيميائية (A و B و C و D و E) ولكن يتم استخدام مركبين فقط في العلاج: polymyxin "B" و"polymyxin E" (الشكل 87)، هي مركبات تتكون من حلقة مكونة من سبعة أحماض أمينية، وسلسلة جانبية يرتبط بها حمض دهني.



الشكل 87 : بنية بوليمكسين B وE

خ. اعتمادا على موقع عملهم

اعتمادًا على طبيعتها الكيميائية، تعمل المضادات الحيوية على المستوى الجزيئي في خطوة أو أكثر من خطوات التمثيل الغذائي الضرورية لحياة البكتيريا. تعمل المضادات الحيوية على الأهداف أو المسارات الأساسية لفيزيولوجيا البكتيريا وتؤدي إلى تغيرات مورفولوجية أو هيكلية أو وظيفية في البكتيريا(الشكل 88). يتصرفون من خلال: السمية الانتقائية على مستوى:

- **تخليق الجدار البكتيري** : **fosfomycine** الذي يعمل عن طريق منع تخليق UDP-GlcNAc

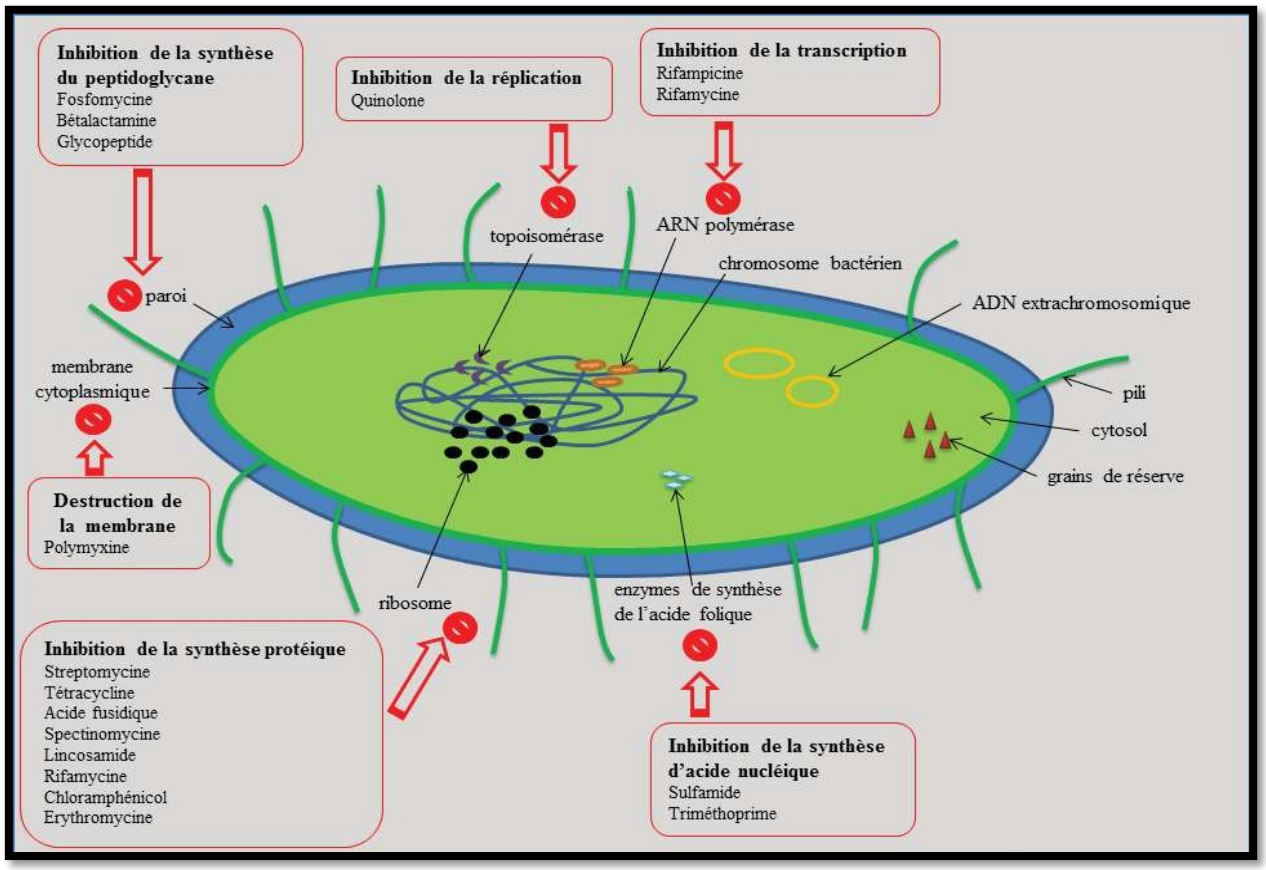
- **غشاء الخلية:** يتم تمثيلها في الغالب بواسطة **polypeptides** وهي مضادات حيوية ذات تأثير قاتل للجراثيم والتي تظهر سمية أثناء تناولها. إنها تلتصق بالأغشية البكتيرية وتعطل نفاذيتها، مما يؤدي إلى موت الخلايا. كوليستين **colistine** هو المضاد الحيوي الأكثر استخدامًا. يرتبط بغشاء الفسفوليبيد وبالتالي تعطيل نقل المغذيات عبر الغشاء، ويمنع الفسفرة المؤكسدة لاستقلاب الطاقة، والتي توجد إنزيماتها في الغشاء.

- **تخليق البروتين:** وهي تشمل التتراسيكلين **tétracycline** الذي يعمل عن طريق منع وصول نقل الحمض النووي الريبي إلى الريبوزوم؛ سبيكتينوميسين **spectinomycine** الذي يعمل عن طريق منع إزاحة الريبوزوم ؛ الكلورامفينيكول **chloramphénicol** الذي يعمل عن طريق منع رابطة الببتيد وإنهاء التخليق ؛ الاريثروميسين **érythromycine** الذي يعمل عن طريق منع خروج سلسلة الببتيد من الريبوزوم.

- **تخليق احماض نووية:** يعمل السلفوناميدات **sulfamides** وتريميثوبريم **triméthoprime** عن طريق التشابه الهيكلي أثناء تخليق حمض تتراهيدروفوليك acide tétrahydrofolique (مقدمة لقاعدتي البيورين والبيريميدين) من خلال الارتباط بمركب dihydroptéroate synthétase و dihydrofolate réductase على التوالي.

-مثبطات تكاثر الحمض النووي: ترتبط الكينولونات **quinolones** بمركب - Topoisomerase IV DNA Gyrase وتمنع ارتباط خيوط الحمض النووي بعد الانقسام.

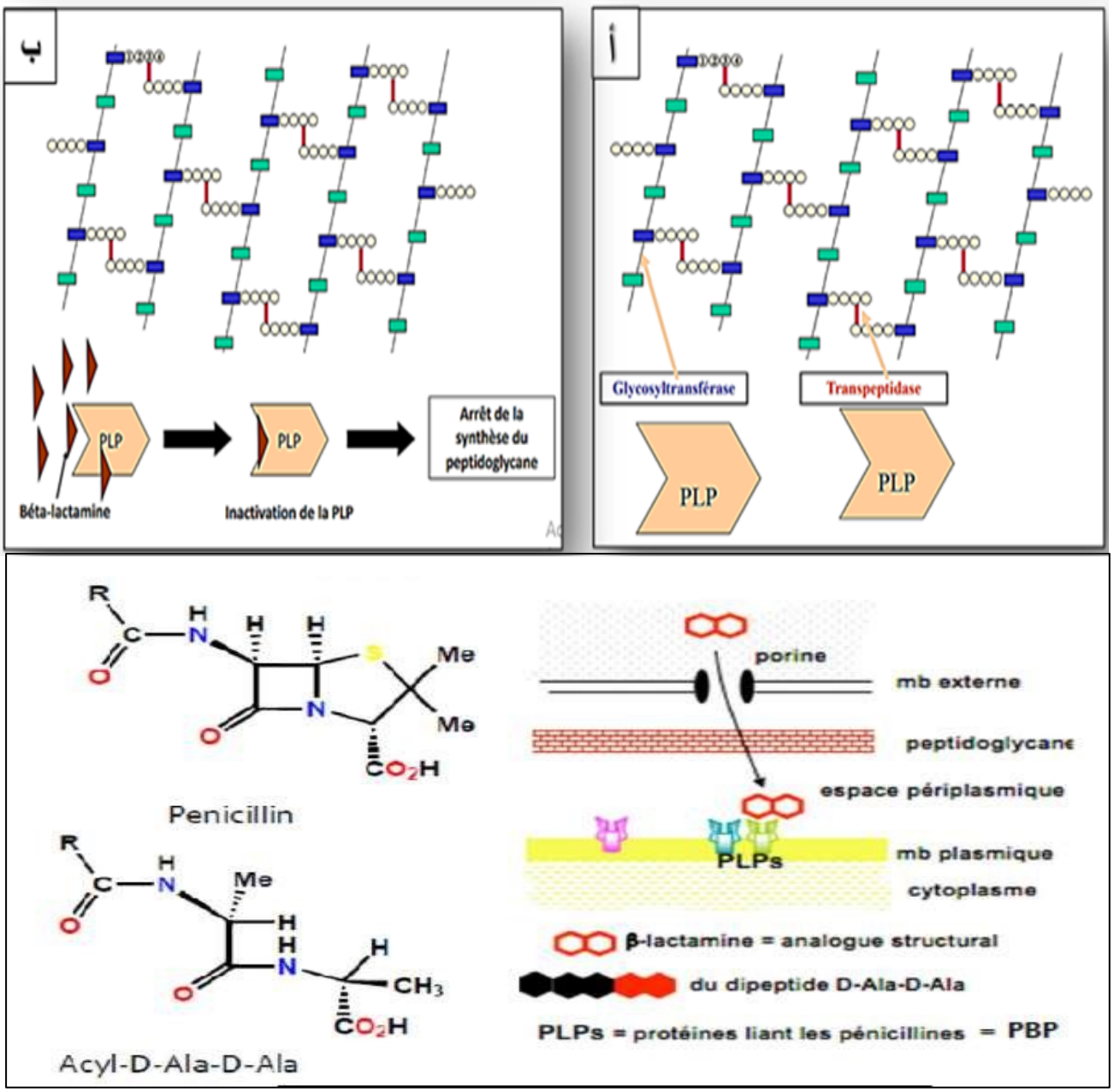
-مثبطات نسخ الحمض النووي إلى الحمض النووي الريبي: يمنع ريفاميسين**rifamycine** تخليق الحمض النووي الريبي الرسول عن طريق الانسداد الفاصل ARN polymérase.



الشكل 88 : تأثير المضادات الحيوية على الخلية البكتيرية

VI.3.3.2.آلية عمل بيتا-لاكتام

جميع بيتا-لاكتام لها نفس آلية العمل؛ فهي تمنع تخليق ببتيدوغليكان. يحدث ذلك عن طريق تثبيط بعض الإنزيمات المسؤولة عن الترسبات، وهي خطوة أساسية في تخليق الببتيدوغليكان. تتواجد هذه الإنزيمات التي تسمى مجتمعة بروتينات ربط البنسلين (PBPs) في الجزء الخارجي من الغشاء الهيولي البكتيري. لكي تكون نشطة سيتعين على β-lactams الوصول إلى هدفها عن طريق اختراق جدار البكتيريا وربط نفسها PBPs . ترجع هذه الرابطة إلى تشابه بنيوي بين الركيزة الطبيعية لهذه الإنزيمات المتمثلة في أسيل-د-ألانيل-د-ألانين وحلقة بيتا-لاكتام. يتم تثبيط النشاط الأنزيمي لـ PLPs عن طريق الارتباط بـ β-lactam. يؤدي تثبيط PBPs إلى تثبيط تكوين الجسور الخماسية الحلقية المسؤولة عن البنية الشبكية للجدار، وهكذا يتم الحصول على أشكال مستديرة أو خيطية ينتج عنها تحلل البكتيريا(الشكل 89) .

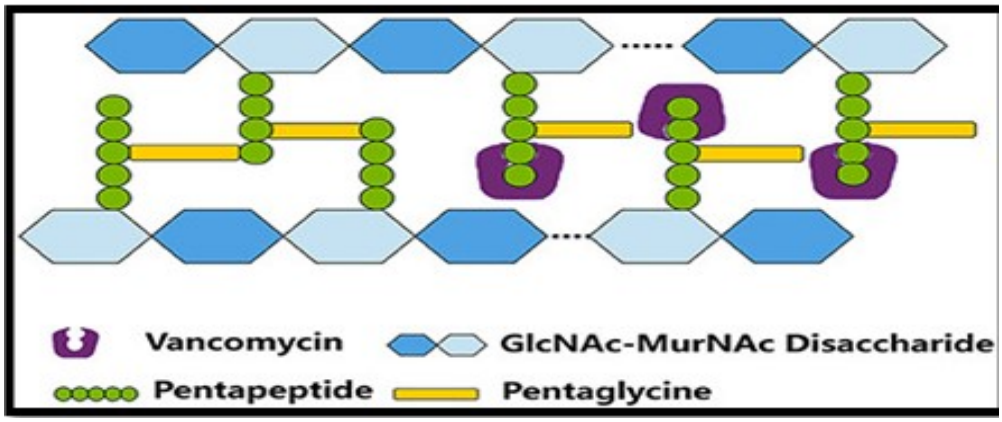


الشكل 89 : آلية عمل بيتا–لاكتام

VI .2. 4.3. آلية عمل الجليكوبتيد Glycopeptides

تثبط الجليكوبتيدات تركيب الببتيدوجليكان PG بالارتباط بالببتيد الثنائي النهائي D-Ala-D-Ala لطلائع PG (الشكل 90) هذه الرابطة تحجز ركيزة الانزيمين transpeptidase، transglycosylase مانعة إستطالة وبلمرة

PG. فيصبح هذا الأخير أرفع مما يؤدي إلى تلف الغشاء الهيولي، والخلية تصبح حساسة لحدوث عملية الحلول. مما يساهم في قتل البكتيريا.



الشكل 90 : آلية عمل الجليكوببتيد

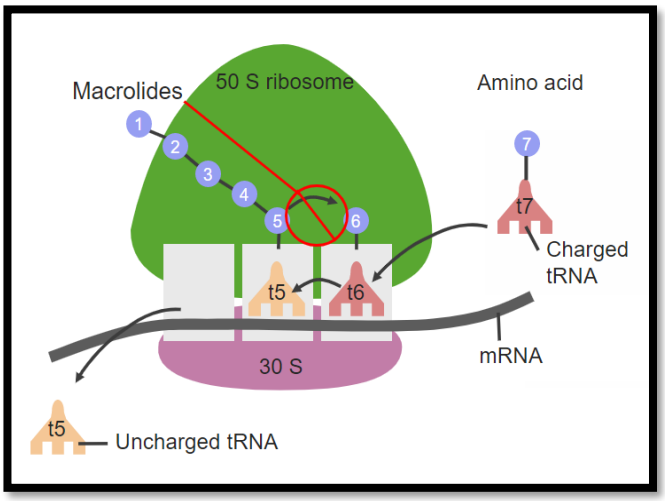
VI .2. 5.3. آلية عمل الأمينوزيد

أمينوزيدات نشطة ضد مختلف الكائنات الحية موجبة الجرام وسالبة الجرام. فعالة بشكل خاص ضد أفراد عائلة (Enterobacteriaceae) بما في ذلك "*Escherichia coli*" و "*Klebsiella pneumoniae*" و "*Klebsiella oxytoca*" و "*Enterobacter cloacae*" وأنواع أخرى. بعد الارتباط بالمواقع سالبة الشحنة على الجدار البكتيري، تنتشر في البكتيريا من خلال البورينات. تغلغلهم من خلال الغشاء السيتوبلازمي نشط ويتطلب إمدادًا بالطاقة ووجود الأكسجين. الأمينوزيدات هي مثبطات تخليق البروتين عن طريق الارتباط بالموقع A لل(rRNA) للريبوسوم S30. يسمح هذا الارتباط للمضاد الحيوي بما يلي:

- تثبيط خطوة الاستطالة (عن طريق منع نقل peptidyl-tRNA من الموقع A إلى الموقع P) مما يؤدي إلى توقف تخليق البروتين؛
- إدخال أخطاء في قراءة تشفيرة ARNm، مما يؤدي إلى إنتاج البروتينات الشاذة. إن تراكم البروتينات المركبة بشكل غير صحيح هو المسؤول عن الفتك الذي يسببه الأمينوغليكوزيدات.

VI .2. 6.3. آلية عمل الماكروليد Macrolide

تتثبت الماكروليدات على تحت الوحد 50S للريبوزوم البكتيري، على مستوى قناة خروج الببتيد المخلق حديثا (الشكل 91). تثبيط عملية تركيب البروتين تمنحه نشاط تثبيطي للبكتيريا.

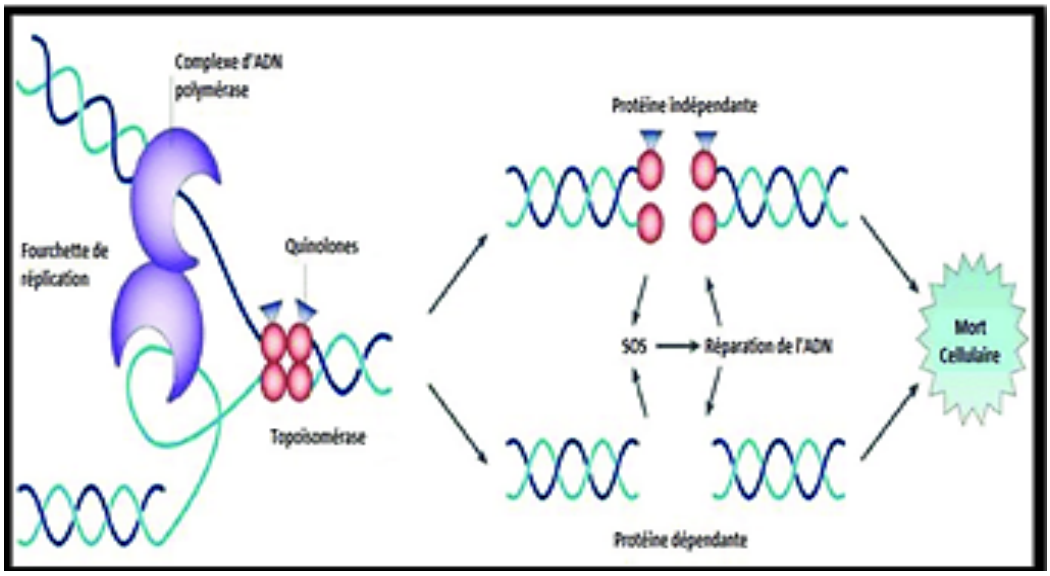


الشكل91: آلية عمل الماكروليد

VI .2. 7.3. آلية عمل كينولون

الكينولونات تمنع عمل النوع الثاني من topoisomérases العلوي: DNA gyrase و topoisomerase IV. هذه الإنزيمات ضرورية لنمو البكتيريا من خلال التحكم في طوبولوجيا الحمض النووي أثناء تكرار الحمض النووي (النسخ) وإعادة التركيب (الإصلاح). وتجدر الإشارة إلى: أن DNA gyrase هو الهدف المفضل بشكل عام في البكتيريا سالبة الجرام بينما topoisomerase IV موجود في البكتيريا موجبة الجرام.

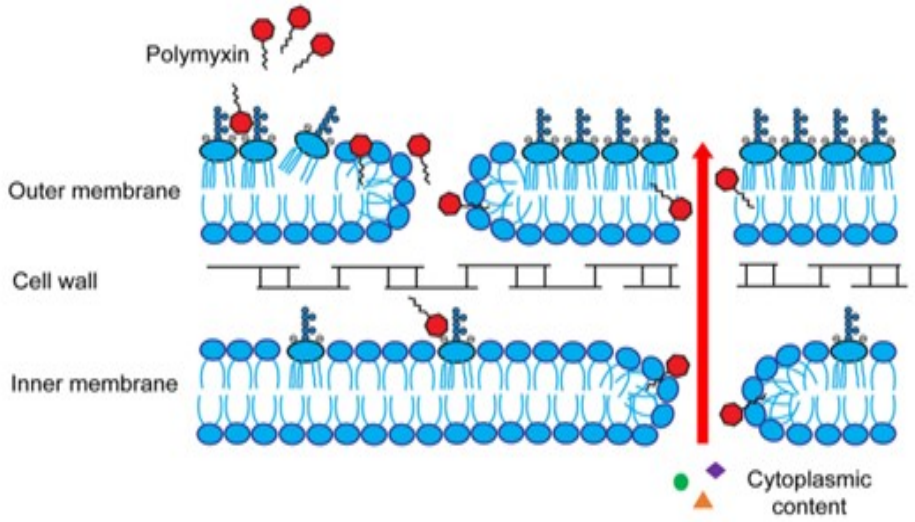
تتفاعل الكينولونات مع مركب إنزيم DNA (gyrase أو topoisomerase IV) ويسبب تغيرات في التركيب تؤدي إلى تعطيل الإنزيم (الشكل 92)، وهكذا فإن مركب إنزيم الكينولون والحمض النووي الذي تشكل على هذا النحو يعيق تقدم شوكة النسخ، مما يثبط تخليق الحمض النووي ويؤدي إلى وقف نمو البكتيريا.



الشكل 92 : آلية عمل كينولون

VI .2. 8.3. آلية عمل Polymyxin (Colisitin)

يتفاعل Polymyxin نظرًا لشحناته الموجبة (مجموعة أمينية NH2) مع الغشاء الخارجي للبكتيريا سالبة الجرام وبشكل أكثر تحديدًا عديدات السكاريد الدهنية (LPS) يؤدي التفاعل إلى ارتباط هذين الهيكلين(الشكل 93). يرتبط Colisitin بالدهون A من LPS مما يتسبب في حدوث اضطراب في وظيفة الحاجز للغشاء الخارجي سيكون هناك بعد ذلك تكوين مسام تسمح للمحتويات داخل الخلايا بالتسرب إلى خارج الخلية، مما يتسبب في موت البكتيريا.



الشكل 93: آلية عمل Polymyxin (Colisitin)

VI .2. 9.3. قياس الفعالية المضادة للنمو البكتيري L'antibiogramme

في حالات العدوى الخطيرة والمتكررة أو فشل العلاج، يُطلب من مختبر علم الأحياء الدقيقة إجراء مزرعة ومضاد حيوي. يستخدم المضاد الحيوي لاختبار تأثير جزيئات المضاد الحيوي على سلالة بكتيرية على وسط مستنبت عن طريق قياس الفاعلية المضادة للنمو البكتيري في وسط أجار (صلب): طريقة القرص méthode des disques.

لإجراء هذا القياس بطريقة القرص، يتم زرع المعلق البكتيري على سطح أجار مولر-هينتونMueller-Hinton . توضع أقراص مشربة بجرعة معروفة من المضاد الحيوي على سطح الآجار. ينتشر المضاد الحيوي من القرص مكونًا تدرج تركيز. يسمح تحديد قطر منطقة التثبيط بتقدير الحد الأدنى للتركيز المثبط. سيتم تحديد **حساسية** أو **مقاومة** السلالة البكتيرية (الشكل 94).

يتم إجراء الاختبار في وجود مضاد حيوي شاهد ومناطق التثبيط التي تم تحديدها لكل مضاد حيوي. **إذا كانت منطقة التثبيط مساوية للمضاد حيوي الشاهد أو أكبر منه، تعتبر البكتيريا حساسًا للمضاد الحيوي. إذا كانت**

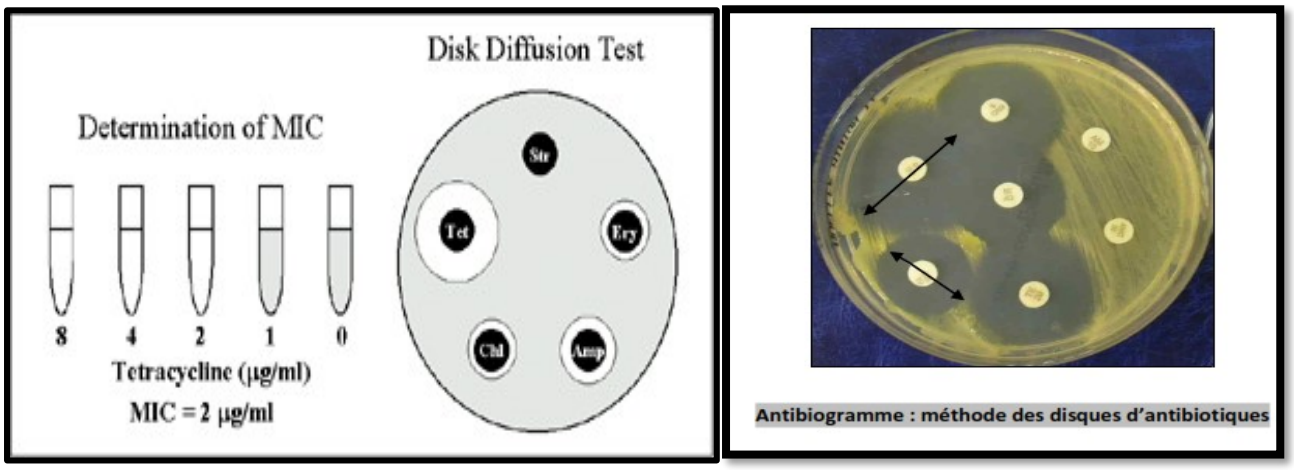
منطقة التثبيط أقل من المضاد حيوي الشاهد، يعتبر الكائن الحي مقاومًا. المقاييس الكمية الأساسية لنشاط المضادات الحيوية في المختبر هي:

CMI هو أقل تركيز للمضاد الحيوي مما يؤدي إلى تثبيط النمو المرئي (أي مراقبة المستعمرات على طبق أو التعكر في الوسط السائل للاستزراع) في ظل الظروف القياسية.

CMB هو أقل تركيز للمضاد الحيوي يقتل 99.9٪ من الخلايا البكتيريا الأولية خلال فترة زمنية معينة.

يعتمد حجم منطقة التثبيط على معدل انتشار المضاد الحيوي، ودرجة حساسية الكائن الدقيق ومعدل نمو البكتيريا. تتناسب منطقة التثبيط في اختبار المضاد الحيوي عكسًا مع CMI.

كانت إحدى الطرق الأولى لاختبار الحساسية لمضادات الميكروبات هي طريقة تخفيف في وسط سائل، حيث يتم اختبار المعلق البكتيري (بتركيز محدد مسبقًا) في وسط المزرعة السائلة مقابل تراكيز مختلفة من المضادات الحيوية (عادة ما تكون تخفيفات مضاعفة على سبيل المثال 1 ، 2 ، 4 ، 8 و 16 ميكروجرام / مل). بعد الحضان مدة 24 سا عند 37 درجة مئوية، يتم فحص تعكر المعلقات البكتيرية لتقييم النمو البكتيري المرئي. يمثل أقل تركيز للمضادات الحيوية (CMI) التي تمنع نمو البكتيريا.



الشكل 94 : طريقة قياس الفعالية المضادة للنمو البكتيري L'antibiogramme

لكي يكون المضاد الحيوي فعالاً، يجب أن يكون من الممكن **الوصول إلى CMI أو CMB في موقع الإصابة.**

سيؤثر الامتصاص الدوائي وتوزيع المضاد الحيوي على جرعة وطريق وتكرار إعطاء المضاد الحيوي من أجل تحقيق جرعة فعالة في موقع الإصابة.

الجدول 10: معايير التفسير لأقطار مناطق التثبيط و CMI التقريبية المقابلة المستخدمة لتحديد الفئات.

عامل مضاد للميكروبات (الكمية لكل قرص) والكائن الحي	قطر المنطقة (تقريب إلى المليمتر)				CMI (ميكرو جرام / مل)	
	مقاومة	متوسطة	حساسة نوعا ما	حساسة	مقاومة	حساسة
Ampicilline (10 micro gm)						
Enterobacteriaceae	≤11	12-13	/	≤14	≥32	≤8
Staphylococcus spp	≤28	/	/	≤29	/	≤0.25
Haemophilus spp.	≤19	/	/	≤20	≤4	≥2
Enterococci	≤16	/	≤17	/	≤16	/
Autres streptocoques	≤21	/	22-29	≤30	≤4	≥0.12
Chloramphénicole (30 micro gm)	≤12	13-17	/	≤18	≤25	≥12.5
Erythromycine (15 micro gm)	≤13	14-17	/	≤18	≤8	≥2
Acide nalidixique (30 micro gm)	≤13	14-18	/	≤19	≤32	≥12
Streptomycine (10 micro gm	≤11	12-14	/	≤15	/	/
Tétracycline (30 micro gm)	≤14	15-18	/	≤19	≤16	≥4
Trimethoprime (5 micro gm)	≤10	11-15	/	≤16	≤16	≥4

VI .2. 10.3. مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية Antibiorésistance bactérienne

مقاومة المضادات الحيوية هي قدرة الكائنات الحية الدقيقة البكتيرية على مقاومة التأثيرات القاتلة CMB أو المثبطة لنمو CMI.

طبيا، يُقال إن السلالة البكتيرية تكون مقاومة في حالة فشل العلاج بالمضاد الحيوي المستخدم.

بالنسبة لعلماء الصيدلة، يتم تصنيف السلالة على أنها مقاومة إذا كان التركيز الذي تصل إليه في موقع التأثير أقل من CMI.

في علم الأحياء الدقيقة، السلالة المقاومة هي سلالة لها آلية مقاومة تسمح لها بزيادة CMI.

في علم الأوبئة، تعتبر السلالة مقاومة إذا كان CMI الخاص بها أو قطر تثبيطها ليس ضمن توزيع CMI أو أقطار التجمعات البرية من نوعها.

أ. أصل وأنواع المقاومة للمضادات الحيوية

- **مقاومة طبيعية Résistance naturelle** : المقاومة الطبيعية، والتي تسمى أيضًا المقاومة الجوهرية أو الفطرية، هي خاصية موجودة في جميع السلالات التي تنتمي إلى نفس النوع البكتيري. إنه مبرمج على الجينوم البكتيري، وبالتالي فهو ثابت داخل الصنف وينتقل إلى الأحفاد. إنه يشكل معيارًا لتحديد البكتيريا ويحدد النمط الظاهري "البري"«sauvage» phénotype للبكتيريا، مثل المقاومة الطبيعية لبكتيريا Enterobacteriaceae و Pseudomonas للماكروليدات. قد تكون المقاومة بسبب بنية البكتيريا (الميكوبلازما بسبب عدم وجود جدار غير حساس bêtalactamines) أو عدم قدرة المضاد الحيوي على دخول الخلية (البكتيريا سالبة الجرام بفضل غشاءها الخارجي غير حساسة للفانكومايسين vancomycine).
- **المقاومة المكتسبة Résistance acquise** : يستخدم مصطلح المقاومة المكتسبة لتعيين العمليات التي تسمح للبكتيريا التي تنتمي إلى الأنواع الحساسة في الأصل أن تصبح مقاومة لواحد أو أكثر من المضادات الحيوية.

ترجع المقاومة المكتسبة إلى التعديلات الجينية، التي تحدث عن طريق طفرة (مباشرة على الكروموزوم البكتيري) أو في كثير من الأحيان عن طريق الحصول على مادة وراثية متحركة (بلازميد) عن طريق النقل الأفقي (مقاومة كروموزومية إضافية) مما يسمح في كلتا الحالتين بالتجاوز التأثير الضار للمضادات الحيوية. بشكل عام، تسمح الطفرات للبكتيريا بتطوير مقاومة لمضاد حيوي واحد أو عائلة من المضادات الحيوية، بينما يمكن للبكتيريا، عن طريق البلازميد، أن تكتسب في نفس الوقت مقاومة للعديد من المضادات الحيوية أو عدة عائلات من المضادات الحيوية.

- **المقاومة التكيفية Résistance adaptative** : في أي تجمع بكتيري، هناك نسبة صغيرة من الجراثيم (1٪) تحمل النمط الظاهري للمضادات الحيوية. ترجع المقاومة التكيفية إلى ظاهرة لاجينية حيث تزداد CMI بعد الاتصال الأول بالمضاد الحيوي. تسمى هذه الجراثيم المعينة "مثابرة" أو "نائمة". وقد ثبت أن هذه الخلايا تلعب دورًا في صعوبة علاج بعض الأمراض المزمنة مثل السل.

ب. آليات مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية

تم تحديد آليات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية في البكتيريا، ويمكن تصنيفها إلى 4 أنواع رئيسية:

- **عدم النفاذية:** عدم نفاذية الغشاء والفشل في الوصول إلى الهدف عن طريق تعديل البورين مما يؤدي إلى نقص اختراق ومرور المضاد الحيوي وبالتالي عدم وجود تركيز داخل الخلايا.

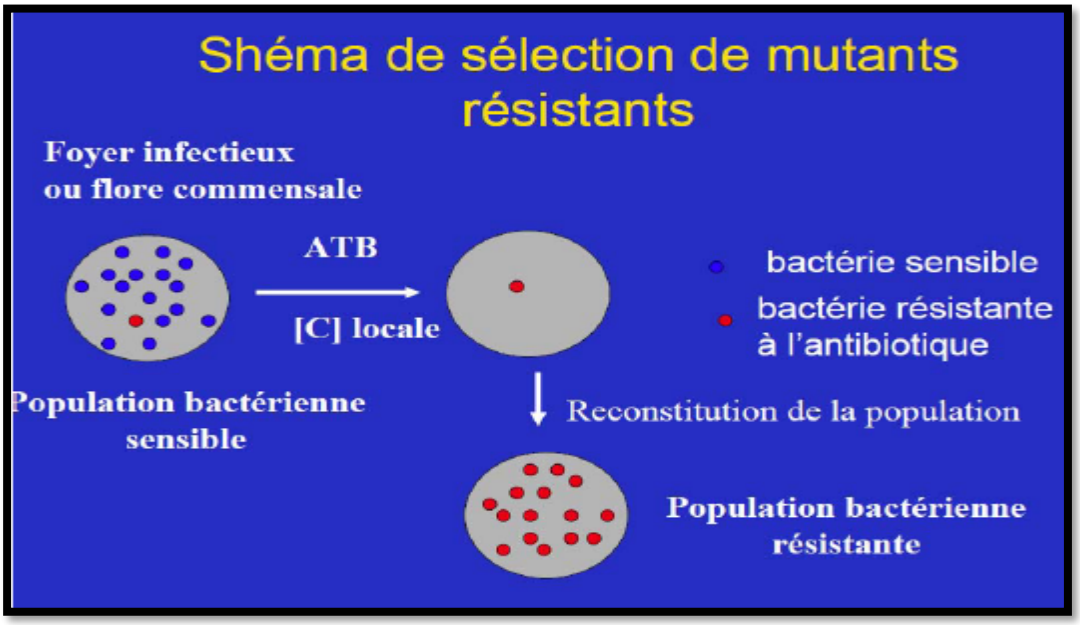
- **مضاد حيوي فعال بتركيزات غير كافية:** عن طريق التدفق النشط، بوساطة مضخات التدفق أو الناقلات النشطة، هو آلية كثيفة الطاقة تستخدمها البكتيريا لإخراج المضاد الحيوي في البيئة خارج الخلية. واما عن طريق التثبيط الأنزيمي (بيتا لاكتامازات β-lactamases، البنسلينازpénicillinases) أو تعديل هيكل المضاد الحيوي الذي سيمنعه من الالتصاق بالهدف.

- **الهدف غير معروف:** التعديل أو الاستبدال الهيكلي لهدف المضاد الحيوي، بحيث لا يعود هذا المضاد للبكتيريا قادرًا على الارتباط وممارسة نشاطه في البكتيريا.

ت. انتقال وتطور مقاومة المضادات الحيوية

– الانتقال عن طريق الطفرة : تحدث الطفرات بطريقة نادرة وتلقائية في جينوم البكتيريا. سيتم الكشف عن الطفرات التي تسمح باكتساب مقاومة للمضادات الحيوية عند ملامستها للضغط المضاد للبكتيريا. إذا كان ضغط الاختيار يسمح بنمو مستعمرة مقاومة (طفرة قابلة للحياة)، فإن المقاومة تنتقل إلى الخلايا الوليدة عن طريق التكاثر

البكتيري. عندئذٍ يكون الانتقال وراثيًا بشكل حصري ويتعلق عمومًا بمضاد حيوي واحد فقط. هذا هو الحال، على سبيل المثال ، مع الإشريكية القولونية*E.coli* ، حيث تمنحهم الطفرة في الجين الذي يشفر بروتين S12 للريبوزوم مقاومة للستربتومايسينstreptomycine (الشكل 95).



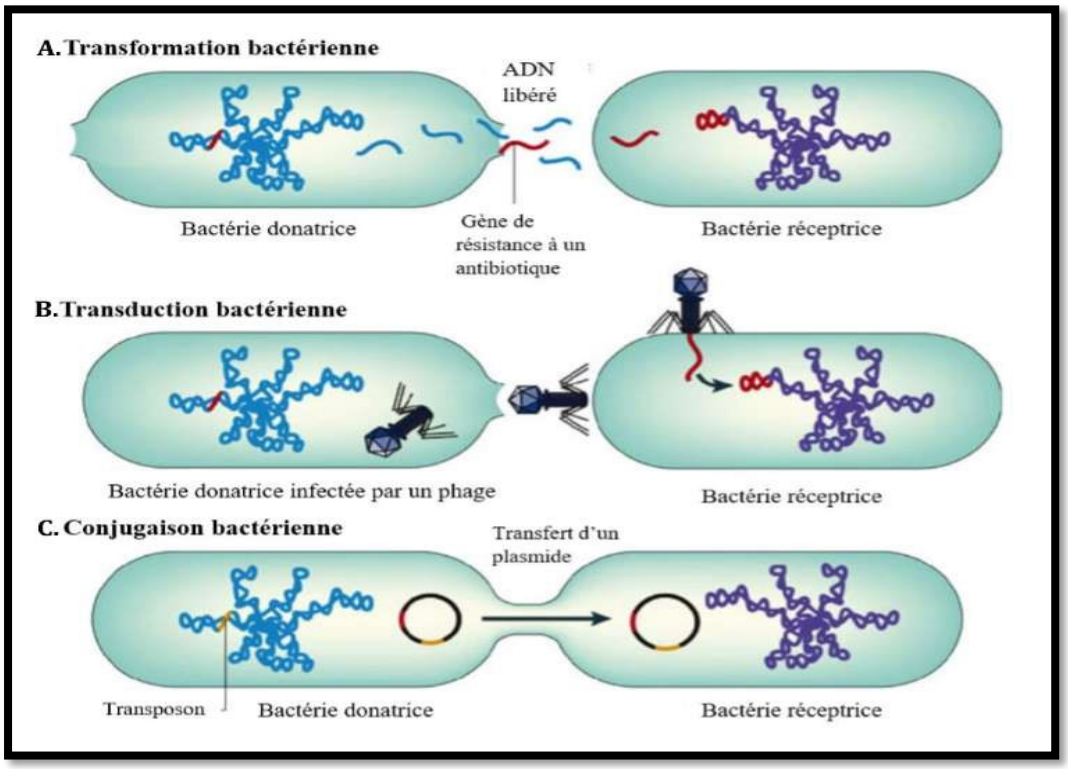
الشكل 95 : انتقال وتطور مقاومة المضادات الحيوية عن طريق الطفرة

- **الانتقال الأفقي عن طريق نقل المادة الوراثية:** تلعب البلازميدات دورًا أساسيًا في الانتشار الأفقي لمقاومة المضادات الحيوية. وبالتالي، يوفر دعم البلازميد هذا إمكانية وجود ديناميكية عرضية حقيقية للانتشار بين البكتيريا. توجد ثلاث آليات نقل أفقية في البكتيريا: التحول، الاقتران والتوصيل. يمكن أن تتم عمليات النقل هذه بين بكتيريا من نفس العائلة ولكن أيضًا بين بكتيريا تنتمي إلى عائلات مختلفة.

تحويل Transformation يسمح التحول للبكتيريا بالاندماج في الحمض النووي الخارجي للجينوم الموجود في البيئة الخارجية. غالبًا ما تكون هذه الشظايا ناتجة عن تحلل كائن حي بكتيري ويمكن أن تحمل جينات لمقاومة المضادات الحيوية (الشكل 96).

التوصيلTransduction هو نقل الحمض النووي البكتيري عبر العاثية. عندما تصيب الأخيرة بكتيريا (البكتيريا المانحة) ، يمكنها بعد ذلك دمج الجينوم البكتيري ونقله إلى بكتيريا أخرى تصيبه بعد ذلك (البكتيريا المتلقية) (الشكل 96).

الاقتران Conjugaison يحدث الاقتران عندما تتبادل بكتيريا (المتبرع والمتلقي) مادتهما الجينية مباشرة، بما في ذلك البلازميدات التي تحتوي على جينات تسمى العامل F. وهذه لديها القدرة على ترميز التخليق الحيوي للبيلي الجنسي مما يسمح للبكتيريا بالانضمام معًا. يندمج البلازميد المنقول في كروموزوم البكتيريا المتلقية عن طريق transposons. وإلا فإنه يظل حرا في السيتوبلازم ويمكن بدوره أن ينتقل إلى بكتيريا أخرى. "هي ظاهرة انتقال الحمض النووي الأكثر شيوعًا وفعالية وسرعة. إنها الآلية الأكثر مشاركة في نشر مقاومة المضادات الحيوية (الشكل 96).



الشكل 96 : الانتقال الأفقي للمقاومة البكتيلاية للمضادات الحيوية عن طريق نقل المادة الوراثية

ث. المقاومات المتعددة multi-résistances

بالمعنى الحرفي للمصطلح، فإن البكتيريا المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية هي بكتيريا مقاومة لأكثر من مضاد حيوي واحد ولكن لم يتم تحديد تعريف موحد من قبل المجتمع الطبي حتى الآن. التعريفات الأكثر شيوعًا البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية على النحو التالي:

- ✓ بكتيريا تقاوم 3 عائلات أو أكثر من المضادات الحيوية.
- ✓ بكتيريا مقاومة لعائلة واحدة أو أكثر من المضادات الحيوية الرئيسية. غالبًا ما يستخدم هذا التعريف للسلالات البكتيرية ذات الأهمية الكبيرة للصحة العامة.
- ✓ البكتيريا المقاومة لمضاد حيوي معين. يشمل هذا التعريف المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين méticilline (MRSA) والبكتيريا التي تمتلك bêta-lactamase ذات الطيف الموسع (ESBL) والمكورات المعوية entérocoques المقاومة للفانكومايسين vancomycine (VRE).

يتم تصنيف البكتيريا التي تطور مقاومات متعددة إلى ثلاث فئات:

- ✓ البكتيريا المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية MDR (multidrug-resistant bacteria) ؛
- ✓ البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية على نطاق واسع (XDR) (extensively drug-resistant bacteria) والتي تقاوم جميع المضادات الحيوية باستثناء واحد أو اثنين؛
- ✓ بكتيريا مقاومة عموم pan-résistantes PDR (pandrug-resistant bacteria)والتي تقاوم جميع المضادات الحيوية.

ج. ظواهر تعدد المقاومة

مقاومة مزدوجة Résistance croisée : يمكن للبكتيريا التي طورت مقاومة لجزيء ينتمي إلى فئة معينة من المضادات الحيوية أن تصبح أيضًا مقاومة لجميع المضادات الحيوية الأخرى من هذه العائلة، لذا فهي مسألة مقاومة متصالبة ومزدوجة. هذه المقاومة هي التي تسمح لبعض البكتيريا سالبة الجرام مثل الإشريكية القولونية *E. coli* أن تتمتع بمقاومة β-lactamines.

المقاومة المشتركة Corésistance : تحمل بعض البلازميدات أحيانًا عدة جينات مقاومة، مما يعطي البكتيريا التي تحملها ظاهرة المقاومة المشتركة أو المقاومة المتعددة. لذلك فإن هذه البكتيريا تقاوم العديد من المضادات الحيوية التي تنتمي إلى عائلات مختلفة من المضادات الحيوية. هذه هي حالة البلازميد المعروف بقدرته على تحفيز *E. coli* على مقاومة مشتركة للسيفالوسبورينات céphalosporines والبنسلين pénicillines والكلورامفينيكول chloramphénicol والتتراسيكلين tétracycline والفلوروكينولونات fluoroquinolones

الجدول 11 : أهم آليات المقاومة عند البكتيريا سالبة وموجبة الجرام

المضاد الحيوي	مثال عن البكتيريا	آلية المقاومة
β-lactams	*Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli* *Klebseila pneumoniae* *Acinetobacter baumannii*	عدم النفاذية، انتاج AmpC (Cephalosporinase) وESBLs (Extended-spectrum beta-lactamase) β-lactamase أخرى مثل انزيمات اماهة البنيسيلينات(penicillinase) و Carbapenemases صنف A ، B و D .
	Staphylococcus aureus *Enterococcus faecium*	انتاج انزيمات إماهة β-lactams، بروتينات PBPs منخفضة الانجذاب ل β-lactams كاستبدال PBP2 بPBP2a (باستثناء الجيل الخامس من السيفالوسبورينات)
Macrolides	*Esherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecium*	مضخات التدفق النشط
	Esherichia coli *Staphylococcus aureus*	انزيمات مثبطة macrolides ، تعديل الموقع المستهدف مثيلة الريبوزوم في موقع ارتباط المضاد الحيوي.

	Enterococcus faecium	انزيمات التثبيط مثل انزيم مثيلة erythromycin
Aminosides	*Pseudomonas aeruginosa* *Esherichia coli* *Klebseila pneumoniae* *Acinetobacter baumannii*	انزيمات اماهة امينوغليكوزيد
	Pseudomonas aeruginosa	مضخات التدفق النشط
	Klebseila pneumoniae	مثيلة نيوكليوتيد في موقع A من ARN (S16)
	Staphylococcus aureus *Enterococcus faecium*	انتاج انزيمات أسترة وفسفرة الأمينوغليكوزيدات
	Enterococcus faecium	جدارها منيع للأمينوغليكوزيدات
Fluoroquinolones	*Pseudomonas aeruginosa* *Esherichia coli* *Klebseila pneumoniae* *Acinetobacter baumannii Enterococcus faecium*	طفرة في مورثةDNA gyrase طفرة في مورثات topoisomerase مضخات التدفق النشط
	Acinetobacter baumannii	انزيمات تحليل الكينولونات.
	Staphylococcus aureus	بدائل الأحماض الأمينية الطافرة في مواقع ارتباط الفليوروكينولونات بانزيمات gyrase وtopoisomerase
Dabtomycin(colistin)	*Pseudomonas aeruginosa* *Esherichia coli* *Klebseila pneumoniae*	تقليل الشحنة السالبة للغشاء بإضافة N4–أمينورابينوز للبيد A ، تقليل شحنة سالبة للغشاء باضافة فوسفوإيثانولامين للبيد A.
	Acinetobacter baumannii	مضخات التدفق النشط تغيير بنية اللبيدA ، التقليل من انتاج LPS
	Enterococcus faecium Staphylococcus aureus	تقليص التعبير عن الفوسفوليبيدات الغشائية سالبة الشحنة وانتاج بروتين إضافة شحنة موجبة للببتيدوغليكان

قائمة المراجع

قائمة المراجع بالعربية

سابو نصر الدين. 2017 . مطبوعة ميكروبيولوجي. المدرسة العليا للأساتذة القبة.

عزام كردي، إبراهيم الرفاعي وأنور العمر. 2003 . كتاب في علم الأحياء الدقيقة العام. منشورات جامعة البحث، كلية الطب البيطري.

عويسي هاجر. 2020 . محاضرات لعنوان مثبطات النمو البكتيري. المدرسة العليا للأساتذة بالأغواط.

ناجح هبره ومحمد رامي المنصور. 2011 . كتاب علم الأحياء الدقيقة 1 . المعهد التقاني للطب والبيطري. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية.

نيكولاس بي موني. 2018 . كتاب في علم الأحياء الدقيقة. الناشر مؤسسة هنداوي.

وجدي عبد المنعم مشهور ومجدي إسماعيل مصطفى. 2009 . كتاب في ميكرويولوجيا الزراعية. مركو التعليم المفتوح. جامعة عين الشمس السابق.

قائمة المراجع باللغة الأجنبية

Prescott−Harley−Klein. 2002. Microbiology, Fifth Edition. ISBN: 0-07-282905-2.

YAGOUBAT Mounira. 2021. Recherche des principales souches bactériennes à l'origine des différentes infections et de leur antibiorésistance dans la région de Ouargla. Thèse de Doctorat. Université de Kasdi Merbah Ouargla.

S. Khallef. 2011. Polycopié de Microbiologie Générale. Université d'Ouargla.

Polycopié VIROLOGIE FONDAMENTALE. Université Farhet Abbes Sétif-1. 2015.

S. BECHKRI. 2021. Cours de Virologie. Université Frères Mentouri – Constantine 1.

Salah Eddine SAMRI. COURS DE MICROBIOLOGIE GENERALE. Université Mohammed Premier. Faculté Pluridisciplinaire. Nador.

Maho OKUDA. 2015. Mécanisme d'action d'une classe d'antibiotiques depuis leur entrée jusqu'à leur cible chez la bactérie : visualisation en temps réel. Thèse de Doctorat. UNIVERSITÉ PARIS-SUD.

HAICHOUR NORA. 2019. Coure de BIOCHIMIE MICROBIENNE. Université Ferhat Abbas –Sétif1-. http://cte.univ-setif.dz/moodle/ . http://cte.univ-setif.dz/moodle/course/view.php?id=74

Federica Laddomada, Mayara M. Miyachiro and Andréa Dessen. 2016. Structural Insights into Protein-Protein Interactions Involved in Bacterial Cell Wall Biogenesis. Review. Antibiotics MDPI.

Majdah Al-Tuwaijri. 2010. Polycopié sur: Bacterial Growth.

Stéphanie Coumes Florens. 2011. Les modules de « détéction/résistance » aux antibiotiques peptidiques chez les Firmicutes. THESE DE DOCTORAT. Université de la Méditerranée, Aix-Marseille II.