كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : جراثيم وفيروسات

المحاضرة : الثالثة/نظري/ د.مرسال

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر(What's app-Telegram)على الرقم 0931497960

بيولوجيا الجراثيم والفيروسات
المحاضرة الثالثة
طرائق التعقيم
تصنيف البكتريا

التعقيم Sterilization :

- يقصد بالتعقيم إبادة كافة أنواع الأحياء الدقيقة الممرضة وغير الممرضة وأبواغها الموجودة على الأدوات أو في المواد المستخدمة .
- تختلف فوائد وأهداف التعقيم بحسب المجالات المستخدمة فيه ، فالتعقيم في الدراسات والاختبارات الميكروبية ضروري جداً لعزل وتنقية نوع محدد يُراد الحصول عليه نقياً ، أما في المجالات الطبية فهو ضروري لتطهير كافة الأدوات والتجهيزات والمواد منعاً للتلوث والإصابة بالعدوى.
- أما التعقيم في الصناعات الغذائية فيهدف إلى تخليص المواد الغذائية من الأحياء الدقيقة لإطالة فترة حفظها، بينما يتم عزل السلالات النقية في الصناعات الميكروبيولوجية ، وتخليص كافة الأدوات والمواد الأولية المستخدمة فيها من الأحياء الدقيقة حتى لا تشارك السلالات المطلوب إكثارها في حياتها الأمر الذي يؤدي إلى إضعاف السلالة والمردود وإنتاج مواد ثانوية قد تكون سامة أو تسيء لمواصفات المنتج.

طرق التعقيم Sterilization methods

- يمكن تقسيم طرائق التعقيم إلى :
- ١ – التعقيم الفيزيائي Physical sterilization .
- ٢ – التعقيم الكيميائي Chemical sterilization .
- ٣ – التعقيم الحيوي Biological sterilization .
- وتتوقف طريقة التعقيم المختارة على خواص المادة المراد دراستها .

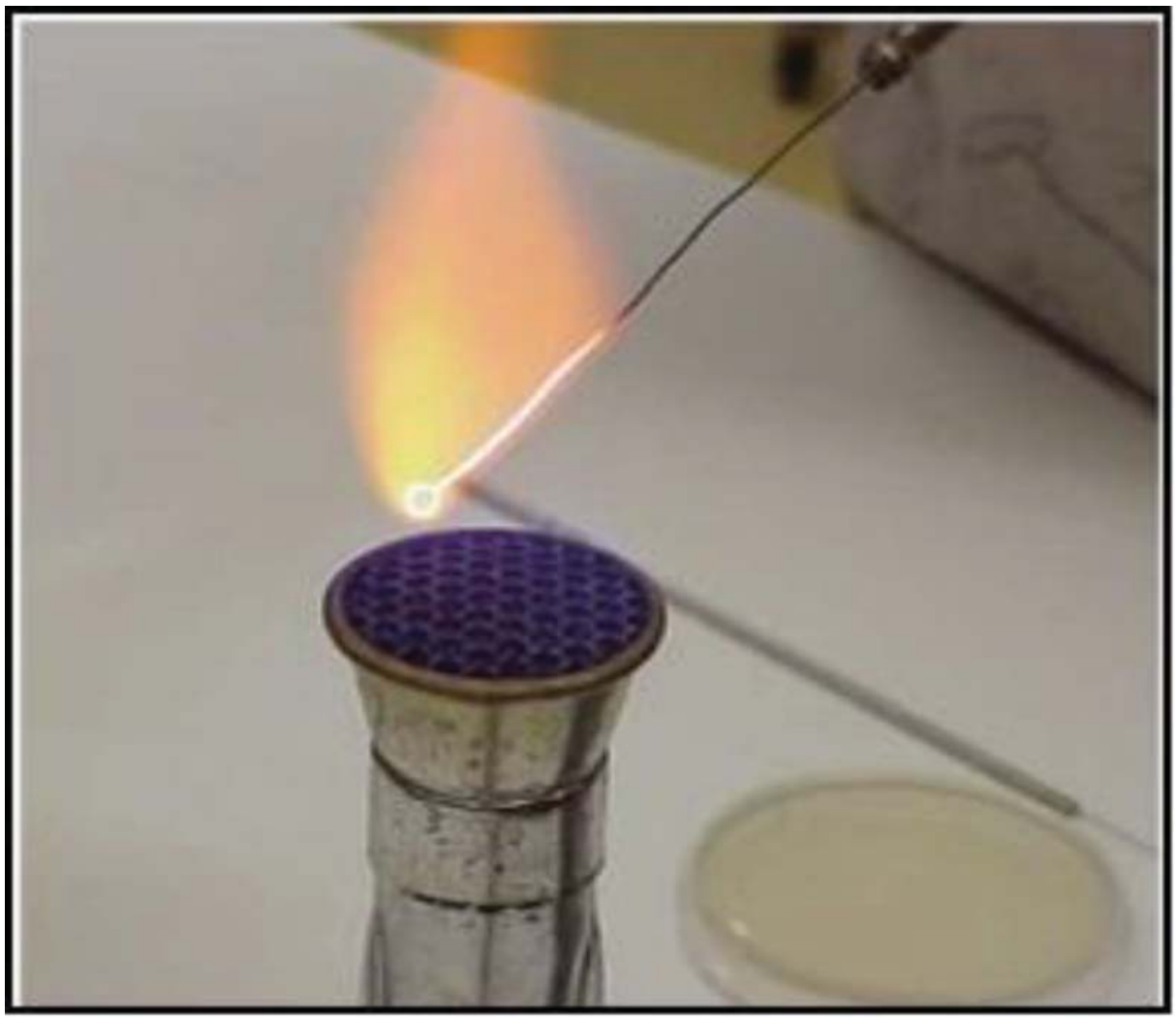
طرق التعقيم Sterilization methods

طرائق التعقيم								
الفيزيائية						الكيميائية	الحيوية	
الحرارة				الإشعاع	آلي (ميكانيكي)	الأمواج فوق الصوتية	استخدام مواد مطهرة	استخدام الصادات الحيوية
الجافة		الرطبة						
التلهيب	بالهواء الساخن	البسترة	بالبخار المنساب	بالبخار مع الضغط	الأشعة فوق البنفسجية	الترشيح خلال مرشحات بكتريولوجية		

التعقيم الفيزيائي Physical sterilization

– التعقيم بالحرارة sterilization by heat :

- تُعرف طريقتان للتعقيم بالحرارة :
  – التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat
  – التعقيم بالحرارة الرطبة Moist heat .
- **أولا ـ التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat**
- يتم التعقيم بالحرارة الجافة إما بالتلهيب أو بالهواء الساخن .
- **ـ التلهيب Flaming :**
- تجري عملية التلهيب بواسطة المصباح الغازي أو الكحولي بشكل مباشر لبعض الأدوات قبل استخدامها مثل : الإبر اللاقحة والأدوات المعدنية
(الملاقط ، المقصات ، السكاكين ، المشارط ...)، وكذلك بعض الزجاجيات مثل القضبان الزجاجية والشرائح والساترات.



الهواء الساخن Hot air

- وهي الطريقة الأساسية لتعقيم الأدوات الزجاجية كأطباق بتري والماصات الزجاجية والأدوات المعدنية وكافة المواد الجافة ، ويستخدم لذلك جهاز المعقم بالهواء الساخن أو فرن باستور، حيث توضع المواد المراد تعقيمها في الفرن لمدة ساعتين عند ١٦٥ °C – ١٦٠ ولا ينصح بأن ترتفع درجة حرارة الفرن عن ١٧٠ °C حتى لا تحترق حواف الأوراق المستخدمة في تغليف هذه الأدوات
- تجدر الإشارة عند اتباع هذه الطريقة إلى ما يلي :
- لا تستخدم هذه الطريقة في تعقيم السوائل والمحاليل الفيزيولوجية ، وكذلك المواد البلاستيكية .
- يجب عدم وضع المواد المراد تعقيمها في الفرن بشكل متزاحم ، إنما تترك فراغات فيما بينها بحيث تتغلغل الحرارة اللازمة إلى جميع المناطق .

- يجب أن تكون المواد المراد تعقيمها على بعد ٦ – ٨ سم من حواف الفرن ، منعاً لاحتراق حواف الورق المستخدمة في تغليف الأدوات المراد تعقيمها لأن الحرارة تكون عالية عند حواف الفرن .
- يبدأ حساب زمن التعقيم من لحظة وصول درجة حرارة الفرن إلى ١٦٠°C .
- لا يُنصح بفتح باب الفرن عند انتهاء فترة التعقيم اللازمة مباشرة ، إنما يُنتظر حتى تنخفض درجة حرارته لتصل إلى درجة حرارة الغرفة، لأن دخول الهواء البارد نسبياً يُؤدي إلى تصدع الزجاج نتيجة التفاوت في درجات الحرارة .
- تُعقم أطباق بتري بهذه الطريقة إما بوضعها ضمن علب معدنية أسطوانية الشكل ومزودة بغطاء ، أو يغلف كل طبقين بلفافة ورقية ، وكذلك الأمر بالنسبة للماصات إما بوضعها في علبها الخاصة أو تغليفها بالورق مع ضرورة وضع قطعة من القطن المفتول في النهاية العلوية المفتوحة للماصة قبل عملية التعقيم ، وكذلك الأمر يُفترض سد أنابيب الاختبار والحوجلات بسدادات قطنية قبل التعقيم مع الإشارة إلى أن الأدوات غير المزودة بسدادات قطنية أو غير الملفوفة بأوراق يمكن تعقيمها عند ١٨٠ °C لمدة ساعة واحدة فقط .

ثانيا ـ التعقيم بالحرارة الرطبة

- يتم التعقيم بهذه الطريقة ببخار الماء العادي أو المضغوط ، والتعقيم بالحرارة الرطبة أكثر كفاءة من التعقيم بالحرارة الجافة ، بسبب قدرة الحرارة الرطبة العالية على التغلغل داخل الخلية وتخثير البروتين الخلوي.
- من أهم طرائق التعقيم بالحرارة الرطبة : البسترة، التعقيم بالبخار المنساب، التعقيم بالبخار تحت الضغط.

– **البسترة Pasteurization** : وهي العملية التي يتم فيها تسخين المادة لمرة واحدة لدرجة حرارة أقل من ١٠٠°C ، اقترحت هذه الطريقة من قبل العالم باستور لقتل الكائنات الدقيقة غير المشكلة للأبواغ، وبذلك تعد البسترة عملية تعقيم جزئية غير مكتملة. يتم نظام البسترة وفق التالي :

- البسترة عند ٦٠ °C وتستمر لمدة ٣٠ دقيقة .
- البسترة عند ٧٠ °C وتستمر لمدة ١٥ دقيقة .
- البسترة عند ٨٠ °C وتستمر لمدة ١٠ دقائق .
- البسترة عند ٩٠ °C وتستمر لمدة ٥ دقائق .
- ويتم تبريد الوسط المعامل مباشرة بعد التسخين .

التعقيم بالبخار المنساب

- تُستخدم هذه الطريقة لتعقيم الأوساط التي تتغير نوعيتها عند تعرضها لدرجات حرارة أعلى من ١٠٠ °C مثل (الحليب ، الأوساط المحتوية على مواد طيارة أو مواد كربوهيدراتية أو وغيرها) .
- تتلخص الطريقة في رفع درجة حرارة الوسط حتى ١٠٠ °C عند الضغط الجوي العادي لمدة ٣٠ – ٤٠ دقيقة خلال ٣ أيام متوالية ووضع الوسط المعامل بهذه الطريقة في الفترة الواقعة بين كل معاملة حرارية وأخرى في حاضنة عند ٣٠ °C حتى يتسنى إنبات الأبواغ التي يتم قتلها عند معاملة الوسط ثانية وهكذا .
- لإجراء هذا النوع من التعقيم يُستخدم معقم أرنولد وهو جهاز مكعب الشكل أو اسطواني ، مزوداً بأرفف مثقوبة توضع عليها المواد المراد تعقيمها ومزودة أيضاً بمقياس درجة حرارة، وفي أسفل الجهاز مكان يُملأ بالماء الذي تُرتفع درجة حرارته أثناء تشغيل الجهاز إلى **١٠٠ °C** .

التعقيم بالبخار تحت الضغط

- وهي طريقة التعقيم الأكثر شيوعاً وضماناً وأماناً ، التي عند تطبيقها يتم قتل الخلايا الإعاشية (الخضرية) والمتبوغة على حد سواء . والجهاز المستخدم هو الصاد الموصد (الأوتوغلاف) ، ويتم التعقيم داخله ببخار الماء الساخن تحت ضغط أعلى من الضغط الجوي ، فعندما يرتفع ضغط البخار تزداد حرارته وفق القيم التالية

الضغط الجوي	٠	٠,٥	١	١,٥	٢
درجة الحرارة °C	١٠٠	١١٥	١٢٠	١٢٧	١٣٣

- يمكن بهذه الطريقة تعقيم البيئات الغذائية التي لا تتغير محتوياتها عند ارتفاع الحرارة إلى فوق ١٠٠ °C ويمكن كذلك تعقيم الزجاجيات والقطن والشاش وتُستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع في تعقيم الأغذية المعلبة وتعقيم الأدوية وأدوات الجراحة والأقماع التي تُستخدم لأكثر من مرة واحدة .

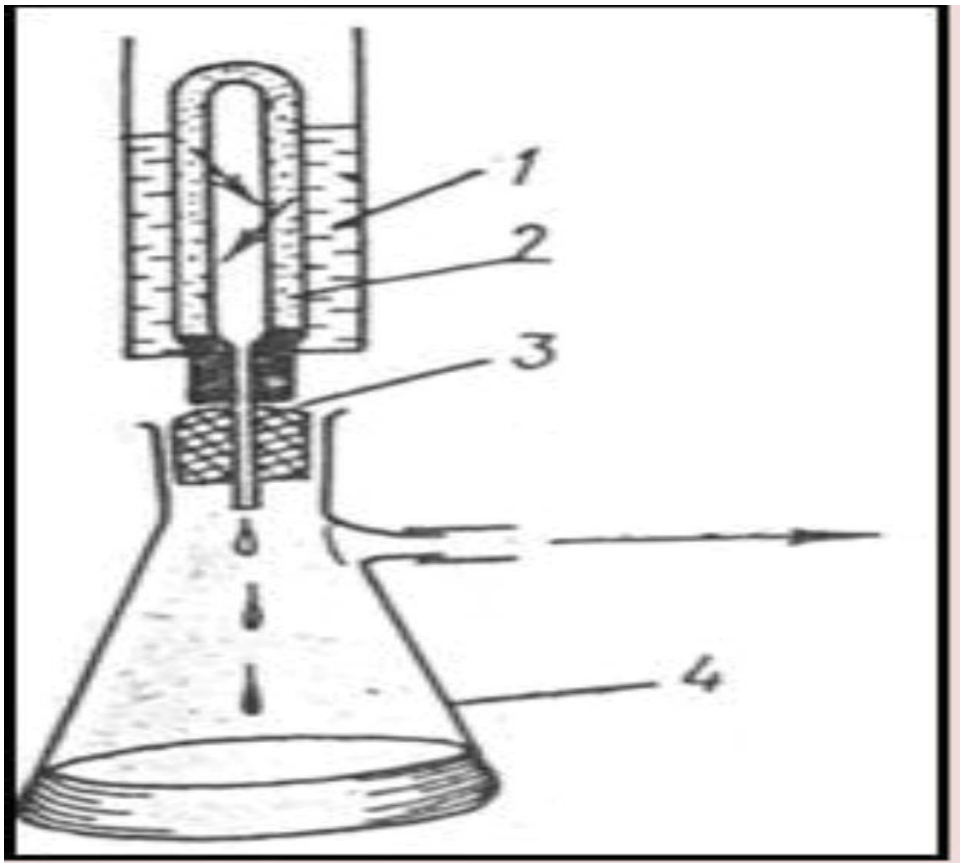
– – **التعقيم بالأشعة: Sterilization by radiation**

- تُستخدم عمليا الأشعة فوق البنفسجية UV، ولهذه الأشعة القدرة على قتل البكتريا الخضرية (الإعاشية) والمتبوغة ، وتُستخدم لتعقيم غرف الزرع وغرف العمليات ، ويجب الانتباه إلى ضرورة عدم التعرض لهذه الأشعة باعتبارها تُسبب أذى للعيون والجلد .
- أما بالنسبة للمعلبات الغذائية المصممة لأنواع خاصة من المرضى فيتم تعقيمها بأشعة غاما ذات قدرة الاختراق العالية.

التعقيم الآلي (الميكانيكي)

- لا يتم قتل الأحياء الدقيقة بهذه الطريقة إنما تجري عملية استبعاد أو إزاحة الأحياء الدقيقة من وسط ما باستخدام مرشحات تحمل شحنات كهربائية وقوى سطحية من شأنها ادمصاص البكتريا على سطحها، لذلك تُسمى هذه الطريقة :تعقيم بالترشيح Filtration .
- تُعقم بهذه الطريقة البيئات سهلة التحلل عند التعرض للحرارة العالية، وتُستخدم لذلك مرشحات بكتريولوجية لا تسمح بمرور البكتريا بينما تسمح بمرور السائل، ويُستخدم لهذا الغرض أنواع مختلفة من أجهزة الترشيح أشهرها:
- **١ – مرشحة زيتز Seitz filter :**
- هي عبارة عن قرصين معدنيين يتصل أحدهما بقمع والآخر بدورق يسمى دورق الاستقبال ، ويُوضع بين هذين القرصين مادة مصنوعة من الأسبستوس، و دورق الاستقبال مزوّد بفتحة جانبية تتصل بمضخة تفريغ تعمل على إحداث اختلاف في الضغط بين جانبي المرشح لتسريع عملية الترشيح.
- يُعقم دورق الاستقبال قبل استخدام المرشحة بالأوتوغلاف بعد وضع سدادة قطنية على فوهة الحوجلة وفي الفتحة الجانبية ، ويتم كذلك تعقيم الأقراص المعدنية إما بالأوتوغلاف بعد تغليفها بالورق، أو بطريقة التلهيب بعد مسحها بقطعة من القطن المشبعة بالكحول.

مرشحة زيتز Seitz filter



٤ – الترشيح خلال الأغشية الدقيقة

- الأغشية الدقيقة عبارة عن أغشية ذات مسامات بأقطار مختلفة تعمل على حجز الأحياء الدقيقة، وهي سهلة الاستخدام، يمكن استبدالها بسهولة و تعقيمها واستخدامها ثانية، وتستخدم هذه الأغشية أيضاً لمعرفة التعداد العام للكائنات الدقيقة في الأوساط السائلة (ماء ، شرابات ، .....) وذلك عن طريق وضعها على بيئات غذائية مناسبة موزعة في أطباق بتري ، وتحضين الأطباق عند درجات حرارة ملائمة فتنمو المستعمرات فوق الغشاء وعندها يمكن عدَّ هذه المستعمرات ، ومن عيوب التعقيم بالترشيح أنها طريقة بطيئة وتتطلب تغيير الغشاء أو تعقيمه بعد كل استخدام.

٤ – الترشيح خلال الأغشية الدقيقة

– التعقيم بالأمواج فوق الصوتية

- تُستخدم هذه الطريقة من التعقيم لتطهير الماء وتعقيم الحليب وبعض المنتجات المعلبة (الكونسروة) ، وذلك باستخدام أجهزة مصدرة للأمواج فوق الصوتية التي تعمل على تخريب الجدر الخلوية للخلايا .

• – التعقيم الكيميائي Chemical sterilization

- يُستخدم التعقيم الكيميائي لدرء إمكانية تلوث البيئات الغذائية بالأحياء الدقيقة، حيث يُضاف إلى البيئات مواد مثل الكلوروفورم أو التولوين أو الإيتر ، ويمكن التخلص من هذه المواد الحافظة عند الضرورة عن طريق تسخين الوسط في حمام مائي عند درجة حرارة ٥٦ °C حيث يتم تبخرها .
- يختلف تأثير المواد الكيميائية في الأحياء الدقيقة باختلاف طبيعة وتركيز هذه المواد ، ونوعية الأحياء الدقيقة ، فبعض الأحياء الدقيقة تعد مقاومة لتأثير المواد الكيميائية (البكتريا التي تتكاثر بالأبواغ).
- كما أن لبعض شوارد المعادن تأثير مثبط وسام في بروتوبلازما الخلية ، أما الحموض والمؤكسدات فتعمل على حلمهة البروتين وتخريبه.
- **التعقيم بالأوزون:** يستخدم لتعقيم مياه الشرب وأجواء الغرف والمختبرات في بعض البلدان

التعقيم الحيوي Biological sterilization

- يُستخدم في الصناعات الغذائية بشكل واسع مثل المضادات الحيوية المستخدمة في صناعة الكونسروة والتعليب، وعلى المستوى المخبري بشكل نوعي لتحديد نوعية الأحياء الدقيقة وخاصة الممرضة منها والكشف عن وجودها في المواد الغذائية المختلفة ، أو عند التخلص من مجموعة من الأحياء الدقيقة والإبقاء على أخرى وذلك عن طريق استخدام مضادات حيوية ذات تأثير تخصصي .

أسس تصنيف البكتريا

تعتبر عملية التصنيف صعبة للغاية نظراً للأبعاد المجهرية لمعظم خلايا البكتيريا والتغيرات التي تطرأ عليها تحت تأثير عوامل الوسط الخارجي، ومن أهم الأسس المعتمدة في تصنيف وتحديد الأحياء الدقيقة : **الصفات الشكلية (المورفولوجية) والوظيفية (الفيزيولوجية)، وتشكيلها للأضداد** ، وخواص أخرى .

١- الخواص المورفولوجية والتلون والحركة:

من أهم الصفات المورفولوجية المعتمدة كأساس في تصنيف البكتريا نذكر: حجم الخلية البكتيرية ، شكلها ، توضعها في الوسط ، وجود الكبسولة والأبواغ الداخلية ، السياط ، المواد الصباغية ، وخصائص تلونها بصبغة غرام ، حيث تقسم البكتيريا إلى مجموعتين كبيرتين سالبة صبغة غرام وموجبة صبغة غرام، وكذلك تستعمل خاصية المقاومة للحموضة في التمييز بين البكتريا ولكنها تقتصر على مجموعة محدودة من الجراثيم مثل الجنسين Mycobacterium و Nocardia

تعتبر قدرة البكتيريا على الحركة معياراً هاماً أيضا، وعلى أساسه يمكن تقسيم البكتيريا إلى بكتيريا سابحة تتحرك بواسطة السياط أو الأهداب، وبكتيريا منزلقة تتحرك بواسطة الحركة الأفعوية المتموجة لجسمها.

٢ – الخواص الفيزيولوجية :

للنشاط الفيزيولوجي أهمية تصنيفية كبيرة، إذ يمكن التمييز بين الأنواع المختلفة بخواصها التغذوية وطرق الحصول على الطاقة (تنفس ، تخمر ، تركيب ضوئي)، علاقتها بدرجة الـ pH، أما المعيار الأهم فهو علاقتها بالأوكسجين ، إذ تقسم بحسب هذا المعيار إلى ثلاث مجموعات رئيسة هي:

- البكتيريا الهوائية Aerobic bacteria.
- البكتيريا اللاهوائية Anaerobic bacteria.
- البكتيريا اللاهوائية الاختيارية Facultative Anaerobic bacteria.

٣ – الخواص البيوكيميائية :

يستخدم النشاط أو الفعالية الأنزيمية على نطاق واسع في التمييز بين البكتيريا وحتى شديدة الصلة ببعضها بحيث يمكننا اختبار قابلية الخلية البكتيرية لتخمير المواد الكربوهيدراتية أو غيرها من المركبات، وكذلك تشكيل المواد المختلفة " مثل كبريت الهيدروجين ، الإندول " أو تفكيك البروتينات ، واعتماداً على هذا يمكن استخدام الأوساط الانتقائية في التصنيف والتحديد البكتيري، فهذه الأوساط تحتوي على عناصر ومركبات توقف النمو البكتيري لنوع ما ، ولكنها – على العكس – تنشط نوعاً آخر مختلفاً نريد تحديده وعزله بشكل مستعمرة ذات صفات محددة .

٤ – الاختبارات المصلية وخاصية مولدات الأضداد *Antigenic*:

وتعني العلم الذي يستخدم مصل الدم أو تجارب الرد المناعي لتحديد الأنواع البكتيرية المختلفة، وتعتبر الأحياء الدقيقة مولدات للضد Antigenic تحرض على تشكيل الأضداد Antibodies عندما تدخل الجسم. ولمولدات الأضداد خاصة نوعية جداً مميزة للأنواع البكتيرية المختلفة وهي مرتبطة بالخواص البنيوية للخلية البكتيرية، فالبكتريا تترسب عندما تمزج مع الضد الموافق للنوع البكتيري، ويمكن تحديد النوع البكتيري بالاختبارات المصلية وكذلك تحديد السلالة البكتيرية .

٥ – حساسيتها لبالعات " ملتهمات " الجراثيم *أو Bbacteriophage* :

تشبه هذه الخاصية سابقتها " أي خاصية مولدات الضد " فالفاج Phage هي فيروسات ملتهمة للجراثيم وهي نوعية جداً، وتهاجم هذه الفيروسات نوعاً أو سلالة محددة خاصة بها دون غيرها ، لهذا تستخدم أحياناً في عمليات التصنيف والتحديد البكتيري.

٦ – التركيب الكيميائي :

مؤشر تصنيفي هام ويعتمد على إجمالي التركيب الكيميائي للخلية البكتيرية، وعادة ما يتم تحديد محتوى وتركيب السكريات، الليبيدات والحموض الأمينية في الجدار الخلوي .

٧ – القرابة الوراثية :

لتصنيف البكتيريا ذات القرابة الوراثية التاريخية، وهذا المؤشر يأخذ بالحسبان العوامل التالية :

خاصية تبادل المعلومات الوراثية " مثلاً خلال نقل القطع الصبغية أو خلال التزاوج " هذه الخاصية ممكنة فقط في المتعضيات من الجنس أو النوع الواحد.

محتوى الأسس الأزوتية في الـ DNA " نسبة " الغوانين – سيتوزين ، والأدنين ـ تيامين" .

تشابه الحموض النووية .

تحديد تتابع أو ترتيب الحموض الأمينية للبروتينات الناتج النهائي لترجمة المورثات ، فترتيب الحموض الأمينية في البروتين يعكس ترتيب "الأسس الآزوتية في المورثة " .

تصنيف بيرجي للبكتيريا

- صنف دليل بيرجي جميع البكتيريا المعروفة حتى يومنا هذا ، والمبدأ الأكثر انتشاراً الذي اعتمد في تقسيم البكتيريا إلى مجموعات مختلفة هو الاختلافات في بنية الجدار الخلوي وعلاقتها بالنسبة لصبغة غرام .
- يميز دليل بيرجي أربع مجموعات رئيسية للبكتيريا هي :
- ١- – Gracillicutesوتضم أنواعاً ذات جدار خلوي دقيق سالبة الغرام .
- ٢- – Firmicutes وتضم بكتيريا ذات جدار خلوي سميك موجبة الغرام .
- ٣- – Tenericutes تضم بكتيريا لا تملك جداراً خلوياً " مثل صف Mycoplasma وصف Mollicutes .
- ٤- – Mendosicutes وتضم مجموعة الأركيوباكتير Archiobacteria.

فيزيولوجيا الأحياء الدقيقة

٢ – ١ – التركيب الكيميائي لخلايا الأحياء الدقيقة :

تتكون خلايا الأحياء الدقيقة من أهم العناصر الكيميائية التي تدخل في تركيب خلايا الحيوانات المتطورة والنباتات، فإضافة إلى الماء الذي يشكل % 75-85 من تركيب خلايا الأحياء الدقيقة، فإن % 15-25من تركيب الخلايا عبارة عن مادة جافة تضم عناصر أساسية (مثل الكربون ، الآزوت ، الأكسجين والهدروجين) بنسبة % 97 – من المادة الجافة ، وتضم كذلك مركبات العناصر المعدنية المختلفة مثل الفوسفور ، الكبريت ، البوتاسيوم ، الكالسيوم ، المغنزيوم ، الحديد ، الكلور الصوديوم والمنغنيز وعناصر أخرى تشكل بمجموعها % 10 - 3 من المادة الجافة وهي ذات أهمية كبيرة في حياة الخلايا .

تتم عملية تنظيم الضغط الأسموزي داخل الخلايا بمساعدة المركبات المعدنية، وبنسبها تتعلق حالة البروتوبلازما واتجاه وسرعة التفاعلات البيوكيميائية. والأهمية الكبرى تخص البوتاسيوم والمغنزيوم والحديد وعناصر أخرى .

يكون التركيب الكيميائي لخلايا الأحياء الدقيقة ثابتا في حال ثبات شروط الوسط، ولكنه يرتبط إلى حد كبير بالتركيب الكيميائي للوسط المغذي، وآلية تبادل المواد مع الوسط الخارجي وشروط أخرى.

- الماء :

يوجد الماء في خلايا الأحياء الدقيقة بحالتين : الماء الحر والماء المرتبط ، الماء الحر يدخل في التفاعلات البيوكيميائية المختلفة في الخلية مثل تفاعلات إماهة البروتينات والسكريات، وفيه تنحل المواد المتبلورة، ويعتبر الماء وسطاً للتشتت الغروي، ومصدرا للشوارد H^+,OH^- ، ولا يتم تبادل المواد مع الوسط الخارجي (خروج أو دخول المواد من وإلى الخلية) إلا عبر الماء أو بواسطته، أما الماء المتحد فيدخل في تركيب البروتينات والدهون والكربوهيدرات ومواد التفكك.

لا يعتبر الماء المتحد في الخلايا محلا ودوره الفيزيولوجي مختلف تماماً عن الماء الحر، أما الماء الحر فيلعب دور المحل للمواد والمركبات العضوية واللاعضوية التي تتشكل من خلال تفاعلات التفكك التي تحدث في الخلية.

- البروتينات:

توجد البروتينات بشكل رئيسي في السيتوبلازما، النوكليوتيدات والغشاء السيتوبلازمي ، وتشكل النسبة العظمى من المادة الجافة (% 80-50) وهذه النسبة ليست ثابتة وتتعلق بعمر الخلية البكتيرية، وتركيب الوسط المغذي.

توجد في بروتينات الأحياء الدقيقة كافة الحموض الأمينية الموجودة في خلايا النباتات و الحيوانات إلا أن عددها يختلف من نوع لآخر.

يدخل في تركيب خلايا الميكروبات البروتين البسيط (الذي يعطي أثناء تفككه الحموض الأمينية فقط) ، والبروتين المعقد (البروتيدات = بروتينات بسيطة + مكونات أخرى من طبيعة غير بروتينية)، وتعتبر البروتيدات التي تدخل في مكوناتها الحموض النووية ذات أهمية خاصة لما لها من دور في النمو والانقسام وحمل الصفات الوراثية.

تسمى البروتينات التي تشارك في تشكيل البنى الخلوية بالبروتينات البنيوية، أما البروتينات التي تعتبر كاحتياطي بروتيني خلوي فنسميها بالبروتينات المدخرة، مثل الليبوبروتيدات ويمكن أن تكون على شكل مدخرات خلوية هلامية، وتتواجد على سطح السيتوبلازما وتدخل في تركيب الغشاء السيتوبلازمي الذي ينظم عمليات دخول أو خروج المواد إلى ومن الخلية البكتيرية، كما وتدخل البروتينات في تركيب الأنزيمات.

- الكربوهيدرات:

تشكل الكربوهيدرات ما نسبته % 20- 15 من المادة الجافة، وتدخل في تركيب خلايا الأحياء الدقيقة بشكل رئيسي بصيغة سكريات معقدة، وفي البروتوبلازما تصادف حبيبات الغليكوجين والديكسترين والغلوكوز ومواد سكرية أخرى .

تدخل الكربوهيدرات في تركيب المحفظة (الكبسولة)، والأغشية الخلوية والسيتوبلازما، وتعتبر مواد ادخارية احتياطية (الغليكوجين)، ومادة شبيهة بالنشاء هي الغرانوليز، إلا أن نسبة الكربوهيدرات بشكل عام تبقى منخفضة في خلايا البكتريا، وتصادف بنسبة أكبر في خلايا البكتريا التي تتكاثر بالأبواغ.

الدهون أو المواد الدسمة :

توجد الدهون أو المواد الدسمة في خلايا الأحياء الدقيقة بشكل رئيسي في غلاف الخلايا (الجدار الخلوي) والغشاء السيتوبلازمي والطبقة السطحية للبروتوبلازما وتلعب الدور الأساسي في نفوذية الغشاء السيتوبلازمي، وحماية الخلايا من عوامل الوسط الخارجي، ويمكن أن تتواجد المواد الدسمة بداخل الخلايا على شكل حبيبات(مواد غذائية احتياطية أو مدخرة).

- ترتبط معظم الدهون (الليبيدات) في الخلايا مع المواد أخرى مشكلة معقدات وتلعب دوراً أساسياً في العمليات الحياتية المختلفة، وتشكل نسبة % 10-3 من المادة الجافة للخلية ، مع الإشارة إلى أن خلايا بعض الأحياء الدقيقة تحوي نسباً عالية من الدهون كعصيات السل التي تصل فيها إلى % 40-20 مما يفسر ثبات ومقاومة هذه البكتريا غير المتبوغة للحرارة العالية.
- تتألف الليبيدات البكتيرية من حموض دسمة حرة % 28-26، ومن دهون معتدلة، والتي يدخل في تركيبها الحموض الدسمة الطيارة ، وكذلك الشموع والفوسفوليبيدات .
- **العناصر المعدنية:** تشكل العناصر المعدنية ما نسبته % 14-2 من الكتلة الجافة للخلية البكتيرية ، من أهمها والتي تتواجد بكميات كبيرة الفوسفور (% 50 من المحتوى المعدني) ، البوتاسيوم، المغنزيوم ، الكبريت والكالسيوم.

– ٢ – التغذية عند الأحياء الدقيقة :

إن عملية امتصاص المواد الغذائية من الوسط الخارجي، وطرح نواتج تمثيل هذه الأغذية والفضلات عند الأحياء الدقيقة تتم عبر السطح الكلي لجسمها، لهذا فإن عملية التبادل بين الخلية و الوسط الخارجي تتم بشدة وبسرعة.

لا توجد أعضاء خاصة لتناول وهضم المواد المغذية لدى خلايا الأحياء الدقيقة، وتتم عملية التغذية بطريقتي الانتشار Diffusion والامتزاز أو الادمصاص Adsorption وسرعة العملية تتعلق بعوامل كثيرة من أهمها :

- فرق تركيز المواد المغذية بين داخل الخلية والوسط الخارجي . - تركيب الخلية الميكروبية نفسها .
- نفوذية الغشاء الخلوي .

من المعروف أن تركيز العصارة الخلوية للبكتريا أعلى من تركيز الأوساط المائية التي تعيش فيها ، والضغط الاسموزي للعصارة الخلوية يتراوح في المجال ٣ – ٦ ضغط جوي، وهذا الفرق في الضغط هو القوة المحركة التي تسهل انتقال الماء مع المواد المنحلة فيه من الوسط الخارجي إلى داخل الخلية.

إن هذا التيار المستمر من الماء إلى داخل الخلية من الوسط الخارجي يعمل على انتفاخ السيتوبلازما ودفعها للالتصاق بالجدار الخلوي، وهذا الضغط الخلوي (الانتفاخ) هو أحد الشروط الأساسية لنمو الخلية.

و عند ارتفاع تركيز المواد المغذية في الوسط (إضافة السكر أو ملح الطعام إلى الوسط على سبيل المثال) تبدأ خلايا الأحياء الدقيقة بنزع الماء أو طرحه Dehydration واختصار السيتوبلازما فيها و طرحها خارجاً، وتدخل الخلية مرحلة الضعف والذبول وتسمى هذه الظاهرة بظاهرة انكماش السيتوبلازما Plasmolysis والتي يمكن أن تستمر وتؤدي بالنهاية إلى موت الخلية ، لهذا يستخدم الملح والسكر كمواد حافظة للمواد الغذائية (المخلل ، المربيات، الحليب السائل..).

توجد في الطبيعة أحياء دقيقة تعيش وتنمو في أوساط مرتفعة الضغط الأسموزي وتسمى Osmophilic ومنها يتحمل أوساطاً ملحية مرتفعة التركيز.

- تلعب الشحنات الكهربائية لشوارد المحلول المغذي دوراً مهما كذلك في مرور المواد الغذائية إلى داخل الخلايا، فعندما يكون الجدار الخلوي للخلية يحمل شحنات معاكسة لشحنات شوارد المواد المنحلة في الوسط الخارجي، فإن عملية مرور المواد المغذية تبدأ إلى داخل الخلية، وتلعب الشوارد HCO_3^-, H^+ (والتي تتشكل داخل الخلية كنتيجة لعملية التنفس) الدور الأساسي في شحن سطح الخلية.
- لا يتم عمليا مرور المواد المغذية المعاكسة إلى خارج الخلية، بسبب التفاعلات السريعة التي تحدث بمساعدة الأنزيمات داخل الخلية، والتي تتحول بنتيجتها المواد المغذية إلى مركبات عضوية معقدة ذات طبيعة غروية.

تمثيل الكربون

تقسم الأحياء الدقيقة حسب طريقة تمثيل الكربون إلى:

كائنات ذاتية التغذية : Autotrophic Organism :

وهي الكائنات الحية التي تستخدم كربون غاز CO_2 الموجود في الطبيعة بالاستفادة من الطاقة الشمسية أو الضوء العادي Photosynthesis أو بالاستفادة من الطاقة الناتجة عن تفاعلات أكسدة المواد العضوية

Chemosynthesis كالبكتريا التي تؤكسد النشادر إلى حمض الأزوتي ومن ثم إلى حمض الآزوت .

كائنات غير ذاتية التغذية : Heterotrophic Organism

وهي الكائنات الحية التي تستخدم كربون المركبات العضوية الجاهزة فقط، (أي أن الفرق بينها وبين الكائنات ذاتية التغذية، هو أنها لا تتمتع بإمكانية استخدام المواد اللاعضوية) كمصدر للطاقة لتمثيل الكربون من غاز ثاني أكسيد الكربون ، وتدخل ضمن مجموعة هذه الكائنات المتطفلات Parasitic والرميات Saprophilic .

تمثيل الآزوت

الآزوت عنصر أساسي لحياة الأحياء الدقيقة لتركيب البروتينات وبالتالي لتركيب بروتوبلازما الخلية الحية.

تتعدد مصادر الآزوت في الطبيعة وتتعدد طريقة تمثله ، لهذا نجد أن بعض الأحياء الدقيقة تقوم ببناء بروتيناتها من مصادر لاعضوية للآزوت كأملاح الأمونيوم وأملاح الآزوت، وبعضها الآخر من أبسط أشكال المركبات العضوية كاليوريا أو من الآزوت الحر المباشر .

تقوم الأحياء الدقيقة أولاً بتحويل الآزوت إلى نشادر، ومن ثم تستخدم النشادر في تركيب الحموض الأمينية.

إن بعض الأحياء الدقيقة تقوم بتمثيل الحموض الأمينية من الوسط المغذي فقط ، بسبب عدم قدرتها على تركيب هذه الحموض وبالتالي البروتينات استناداً إلى تمثيل الآزوت الحر، في حين أن الأحياء الدقيقة الممرضة تستخدم أزوت بروتين الجسم المضيف.

- تمثيل الأكسجين والهيدروجين :

تقوم الأحياء الدقيقة بتمثيل الأكسجين والهيدروجين حيث تتوفر ذراتهما في الوسط بالشكل الكافي في جزيئات المركبات العضوية أو في جزيئات الماء .

تمثيل العناصر المعدنية

تحتاج خلايا الأحياء الدقيقة إلى العناصر المعدنية بكميات ضئيلة ، إلا أن حياتها غير ممكنة دون هذه العناصر .

الكبريت S :

يدخل الكبريت في تركيب البروتينات على شكل الرابطة SH - أو S – S – تتمتع المجموعة - SH بخاصة إعادة التنشيط Reactivation وتدخل في تفاعلات نزع الهيدروجين Dehydrogenation وتتحول إلى الرابطة S – S - وتؤدي إلى تشكيل مواد أكثر تعقيداً قادرة على ضم الهيدروجين من جديد وتشكيل الرابطة SH -

ومعظم الأحياء الدقيقة تحصل على الكبريت من أملاح حمض الكبريت بإرجاعها واستخدامها في تركيب الحموض الأمينية الحاوية على الكبريت، وبعضها يقوم بتمثيل كبريت المركبات العضوية التي تحوي الرابطة SH - بشكلها الجاهز (البكتريا الطفيلية) .

الفوسفور P :

يدخل الفوسفور في تركيب المواد العضوية الرئيسية للبروتوبلازما كالحموض النووية والفوسفوليبيدات والأنزيمات ، و دون عنصر الفوسفور لا تنمو الخلايا.

الصوديوم Na :

ينظم الصوديوم الضغط الأسموزي ، ويساعد على النمو ، وينظم عملية التبادل .

البوتاسيوم K :

ينظم البوتاسيوم عملية التبادل ، ويعد منظماً خاصاً لدخول الفوسفور غير العضوي إلى داخل الخلايا ، ومنشطا لبعض الأنزيمات ويلعب دوراً في التخليق العضوي إلا أنه لا يدخل في تركيب البروتينات.

المغنزيوم Mg :

يدخل المغنزيوم في تركيب الكلوروفيل ويلعب دوراً منشطاً للأنزيمات مثل الكربوكسيلاز والببتيداز ويوجد المغنزيوم في الخلية بشكل شوارد أو يدخل في تركيب بعض المركبات العضوية.

الكالسيوم Ca :

يدخل الكالسيوم في تركيب ألفا أميلاز، وينشط كثيراً من التفاعلات الأنزيمية، أما دوره في نمو الأحياء الدقيقة فهو غير معروف بدقة حتى الآن، فهو ضروري لنمو بعض البكتريا ، إلا أن جرعات متزايدة منه تسمم الخلية.

الحديد Fe :

يدخل الحديد في تركيب العديد من الأنزيمات التي تشارك في تفاعلات الأكسدة والإرجاع ، إلا أن التراكيز العالية (أكثر من ٢٠ مغ / ليتر) تعتبر ذات تأثير سمي على الخلايا .

الليثيوم Li:

ينظم عملية تكاثر الخلايا في الجرعات المنخفضة (أقل من ٣ مغ / ليتر) .

البروم Br:

ينشط البروم أنزيمات الزيماز والفوسفاتاز القاعدية، ويثبط نشاط الفوسفاتاز الحامضية ولا يدخل بتركيب الأنزيمات.

الفلور F :

للفلور تأثير سمي قاتل في خلايا الأحياء الدقيقة.

الألمنيوم Al :

إن التراكيز المنخفضة للألمنيوم في الوسط المغذي ٠,١-٠,٠١ مغ / ليتر لا تؤثر في نشاط الخلايا ، إلا أن زيادة التركيز تؤثر سلبا في عملية النمو، فعند التركيز ٥٤ مغ / ليتر يبدأ التأثير السمي في الخلايا ، ويكون تأثيره قاتلا عند ٥٤٠ مغ / ليتر على شكل Al2SO3 .

اليود I:

يحرض الخلايا على التكاثر في التراكيز المنخفضة (أدنى من مغ / ليتر)، إلا أن التراكيز المرتفعة تثبط نشاط البكتريا.

الكوبالت Co :

يدخل في تركيب فيتامين B_{12} ، ويدخل في العديد من التفاعلات الأنزيمية .

الزنك Zn :

يدخل في تركيب العديد من الفيتامينات وينشط أنزيمات الزيماز والمالتاز ، ويلعب دوراً مهماً في تفاعلات التبادل .

إضافة إلى العناصر المشار إليها أعلاه تحتاج خلايا الأحياء الدقيقة إلى العديد من العناصر النادرة مثل : المنغنيز ، النيكل ، والموليبيديوم ...

إن حاجة الأحياء الدقيقة من العناصر المعدنية يتم تأمينها من الأملاح المعدنية المنحلة في الوسط المحيط أو من الماء.