الجلسة العملية الرابعة

أحياء دقيقة

د.غيثاء منصور القائمة بالأعمال : لانا الجمعات

4/10/2018

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

التوجيهات النظرية :

- المكورات العقدية (صفاتها الشكلية و التلوينية و المزرعية و ذكر بعض الأمراض التي تسببها).
- المكورات العقدية الرئوية: (صفاتها الشكلية و التلوينية و المزرعية و ذكر بعض الأمراض التي تسببها).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

العمل بالمخبر:

- مزروع مكورات عقدية.
- محضر مرضي قيحي للمكورات العقدية ملون بطريقة غرام.
- محضر مرضي من قشع للمكورات العقدية الرئوية ملون بطريقة غرام.
- محضر من مزروع للمكورات العقدية ملون بطريقة غرام.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المكورات العقدية (من قيح ومن مزروع)

- المكورات العقدية جراثيم واسعة الانتشار في الطبيعة، توجد على سطح الجلد و الأغشية المخاطية عند الإنسان ومسؤولة عن قسم كبير من الأمراض التي تحدث عند الإنسان (بالدرجة الأولى).

- **الصفات الشكلية والتلونية:**

مكورات (0.7 -0.9 ميكرون)– إيجابية الغرام – غير متحركة – غير مبوغة - تصطف على شكل عقود (سلاسل)، بعض أنواعها له محفظة.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الصفات المزرعية:

تنمو المكورات العقدية على المنابت البسيطة (الأوساط العادية)، مدة الحضن 24 ساعة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية , وهي هوائية لا هوائية مخيرة (بعض أنواعها لا هوائية مجبرة).

صفات المستعمرات على الآغار المغذي (الغراء):

مستعمرات دائرية منتظمة قطرها 0.5 -1 ملم – ملساء , صغيرة (مقببة) لماعة قليلة الكثافة - رقيقة – شافة لونها أبيض مسمر ليس نتيجة لوجود صباغ يفرزه الجرثوم وإنما نتيجة لتراكم الجراثيم فوق بعضا البعض. حبيبية المظهر تشبه بحب السميد.

- **صفات المستعمرات على الغراء الدموي :** (آغار مضاف له الدم بدرجة حرارة أقل من 45-50 درجة مئوية للمحافظة على الكريات الحمر فيه دون تخريب).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الصفات المزرعية :

تدرس على الآغار بالدم صفة حل الدم وهي من الصفات المزرعية التي تميز بين الأنواع الجرثومية حيث تصنف الجراثيم حسب حلها للدم إلى ثلاثة أنماط :

1) **الجراثيم التي تحل الدم بشكل كامل (حالة للدم بيتا)** وذلك بسبب إنتاجها للذيفان الحال للكريات الحمر نسميه هيموليزين Hemolysin وتتميز مستعمرات الجراثيم الحالة للدم على منبت الغراء الدموي بوجود هالة نيرة حول المستعمرات خالية من الهيموغلوبين , مثال هذه الجراثيم العقديات المقيحة و المكورات العنقودية الذهبية .

2) **الجراثيم التي تحل الدم بشكل جزئي (حالة للدم ألفا)** : تحل الكريات الحمر بشكل جزئي وتسبب أكسدة الهيموغلوبين وتغير لونه إلى اللون الأخضر تتميز مستعمراتها على الغراء بالدم بوجود تبدل لوني مخضَّر على المنبت وحول المستعمرة مثالها العقديات المخضرة والعقديات الرئوية.

3) **الجراثيم التي لا تحل الدم (النمط غاما).**

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الصفات المزرعية :

الصفات الكيميائية الحيوية:

a) تدرس قدرة الجرثومة الأنزيمية التي تتجلى في تخميره أو حله لبعض المكونات أو تحويلها من شكل إلى آخر مثال ذلك اختبار الكاتلاز , المخثراز .....

b) المكورات االعقدية سلبية الكاتلاز فهي غير قادرة على تفكيك الماء الأوكسجيني.

c) بينما المكورات العنقودية إيجابية الكاتلاز فهي تفكك الماء الأوكسجيني إلى الماء وغاز الأوكسجين الذي ينطلق على شكل فقاعات أكسجين. H2O2----------H20 +1/2O2

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الإمراضية

أهم العقديات الممرضة هي العقديات المقيحة من الزمرة A (زمرة A) حسب تصنيف لانسفيلد الذي صنف العقديات التي تملك في جدارها الخلوي عديد الأوزيد (السكاريد) إلى حوالي 20 زمرة حسب نمط عديد الأوزيد ..... A,B,C وهي حالة للدم من النمط بيتا.

- **المكورات العقدية الحالة للدم بيتا زمرة A هي المثال المدروس** و تسبب للإنسان الأمراض التالية:

a) الأخماج القيحية اللانوعية : مثل التهاب البلعوم أو اللوزات أو الجيوب أو الأذن الوسطى أو القصبات أو التهاب اللثة أو التهاب النسج الداعمة للسن – أخماج جلدية مثل القوباء وأخماج الحروق والجروح – أخماج عميقة (حشوية) مثل التهاب السحايا والشغاف.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

b) الأخماج القيحية النوعية مثل الحمى القرمزية والحمرة .....
c) مضاعفات غير قيحية مناعية تالية لأخماج العقديات A : مثل الحمى الرثوية والتهاب الكبب الكلوية التي تظهر بعد 2 إلى 3 أسبوع من الخمج العقدي.
d) تفسر الإصابة في الحمى الرثوية (إصابة قلبية ومفصلية) والتهاب الكبب الكلوية بأن الأضداد التي يكونها الجسم تجاه مستضدات العقديات تهاجم بعض المكونات النسيج القلبي أو المفصلي أو الغشاء القاعدي الكبي و ذلك بسبب تشابه هذه المكونات مع مستضدات العقدية المقيحة.
e) من العقديات الأخرى المهمة (غير المصنفة) العقديات المخضرة (حالة للدم ألفا) موجودة في الفم بشكل طبيعي وتسبب نخر الأسنان (العقدية الطافرة) و يمكن أن تسبب التهاب الشغاف الجرثومي تحت الحاد بعد قلع الأسنان .

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الدراسة العملية:

محضر من قيح للمكورات العقدية

قيح العقديات سائل مائع قليل التماسك والسبب في ذلك أن الجرثوم ينتج أنزيمات و ذيفانات مخربة مثل الهيالورونيداز الذي يحل الحمض الهيالوروني في النسج الضام، ومثل Dnase الذي يخرب DNA الخلايا القيحية (وهذا الـ DNA مسؤول عن لزوجة القيح) والبروتيناز الذي يحل البروتين و الستروبتوكيناز الحال للخثرة، جميع هذه الأنزيمات تسمى عوامل انتشار الخمج لأنها تسبب انتشاره بسرعة (القوباء العقدية و الحمرة). بينما يتميز قيح العنقوديات بأنه سميك و كثيف ومتماسك ولزج وذلك لأن الجرثوم ينتج خميرة مخثرة لمولد الليفين هي المخثراز Coagulase فترسب الليفين حول الجرثوم وحول مكان الآفة مما يعطي القيح قواماً سميكا ومما يحدد انتشار الآفة العنقودية(القوباء العنقودية و التهاب الأجربة الشعرية مثلاً).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

القيح المدروس في هذه الجلسة مأخوذ من قوباء جلدية وملون بطريقة غرام.

يشاهد في المحضر ما يلي:

1) السائل القيحي الملون باللون الزهري.
2) الكريات البيض المفصصة النوى (غالباً مشوهة).
3) العامل الممرض المسبب للقيح (الجراثيم العقدية) التي تصطف على شكل سلاسل ويمكن أن نلاحظ وجود بعض المفردات و المزدوجات و الرباعيات و العناقيد (التي هي عبارة عن تجمع أكثر من سلسلة بجانب بعضها البعض).
4) الغالب على المحضر هو وجود العقود وذلك بفحص أكثر من ساحة مجهرية.
5) يفضل فحص المناطق الرقيقة من المحضر لسهولة التميز.

أحياناً توجد ترسبات حول الكريات البيض شكلها غير منتظم تأخذ شكل العقد .

يجب الانتباه إليها لئلا نخلط بينها وبين العقود.

المطلوب رسم مساحة مجهرية لقيح المكورات العقدية.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

محضر من مزروع للمكورات العقدية

تدرس الصفات المجهرية لمحضر من مزروع للعقديات ملون بطريقة غرام.

الشكل: مكورة (0.7- 0.9 ميكرون).

التلون: إيجابية الغرام.

الاصطفاف: مفردات مزدوجات، رباعيات، عقود، عناقيد.

محضر المزروع من العنقودية والعقدية له نفس الصفات المجهرية و يجب استخدام أنبوب الزرع للتعرف على النوع الجرثومي. (في مزروع العقدية على منبت سائل يكون الاصطفاف على شكل عقود هو السائد)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مزروع المكورات العقدية على الغراء (الآغار المغذي).

تدرس صفات المستعمرات عيانياً من أنبوب الزرع:

مستعمرات دائرية منتظمة قطرها 0.5 -1 ملم ملساء , مسطحة (مقببة) لماعة قليلة الكثافة – (رقيقة – شافة) لونها ابيض مسمر ليس نتيجة لوجود صباغ يفرزه الجرثوم وإنما نتيجة لتراكم الجراثيم فوق بعضها البعض. حبيبية المظهر تشبه بحب السميد.

a) يفحص المحضر وتحدد صفاته المجهرية.

b) تحدد صفات المستعمرات

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

ملاحظة هامة

14 إذا كان المحضر مكورات إيجابية الغرام من مزروع، فالمزروع يكون:

- مستعمرات كثيفة ذات لون (أبيض أو ذهبي أو ليموني فالنوع هو إما مكورات عنقودية بشروية (بيضاء) أو مكورات عنقودية ذهبية (ذهبية) أو مكورات عنقودية رمّية (ليمونية) على الترتيب.
- مستعمرات رقيقة قليلة الكثافة شفافة بلون أسمر فاتح أي مستعمرات المكورات العقدية.
- المطلوب التميز بين المكورات العنقودية والمكورات العقدية من خلال صفات المستعمرات على الآغار المغذي.
- مشاهدة صفة حل الدم من النمط β (الحل الكامل) على طبق بتري يحوي وسط الغراء الدموي ومزروع عليه كلاً من العنقودية الذهبية و العقدية المقيحة تظهر على شكل مستعمرات جراثيم حالة للدم من النمط β.
- اختبار الكاتالاز:

تؤخذ صفيحة ويوضع عليها قطرتان من الماء الأوكسجيني، يضاف للأولى منهما بعض مستعمرات المكورات العقدية بوساطة إبرة البلاتين، فنلاحظ عدم انطلاق فقاعات دليل عدم تفكك الماء الأوكسجيني (فالعقديات سلبية الكاتالاز). ويضاف للقطرة الثانية بعض مستعمرات المكورات العنقودية بوساطة إبرة البلاتين، فنلاحظ انطلاق فقاعات هي فقاعات غاز الأوكسجين دليل تفكك الماء الأكسجيني إلى الماء والأوكسجين (فالعنقوديات إيجابية الكاتالاز) نتيجة إفراز أنزيم الكاتالاز وبذلك نقول أن:

المكورات العقدية سلبية الكاتالاز.

المكورات العنقودية إيجابية الكاتالاز

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

نتيجة إفراز أنزيم الكاتالاز وبذلك نقول أن:

- المكورات العقدية سلبية الكاتالاز.
- المكورات العنقودية إيجابية الكاتالاز

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المكورات العقدية الرئوية (المزوجات الرئوية)

توجد بشكل طبيعي في النبيت الطبيعي الجرثومي عند حوالي 70% من البشر.

الصفات الشكلية و التلوينية:

المكورات الرئوية جراثيم بيضوية الشكل (مكورات متطاولة قليلاً لها شكل الرمح أو لهب الشمعة) قطرها حوالي 1 ميكرون، إيجابية غرام، محاطة بمحفظة من عديدات السكاريد , تصطف على شكل ثنائيات (مزدوجات). غير متحركة و لا تكون أبواغ.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الصفات المزرعية:

تتطلب لنموها أوساطاً غنية خاصة مثل الآغار الدموي. هي جراثيم هشة تتلف بالجفاف و الحرارة و المطهرات و لا قدرة لها على البقاء في الوسط الخارجي. هوائية مخيرة، تحضن بدرجة 37 درجة، مدة 24 ساعة. على منبت الغراء الدموي تعطي انحلال دموي جزئي (ألفا)، لذلك يجب تمييزها عن العقديات المخضّرة (التي تعطي أيضاً نفس نمط الانحلال).

يتم تمييز العقدية الرئوية عن العقديات المخضرة من خلال:

I. **الكشف عن حساسيتها لمادة الأبتوشين (العقديات المخضرة مقاومة).**
II. **انحلالها بوجود الصفراء (العقديات المخضرة لا تنحل).**
III. **بكونها محاطة بمحفظة سميكة واضحة (تفاعل كويلنغ إيجابي) بينما يكون تفاعل كويلنغ سلبي في العقديات المخضرة.**

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الآلية الإمراضية و أهم الأخماج

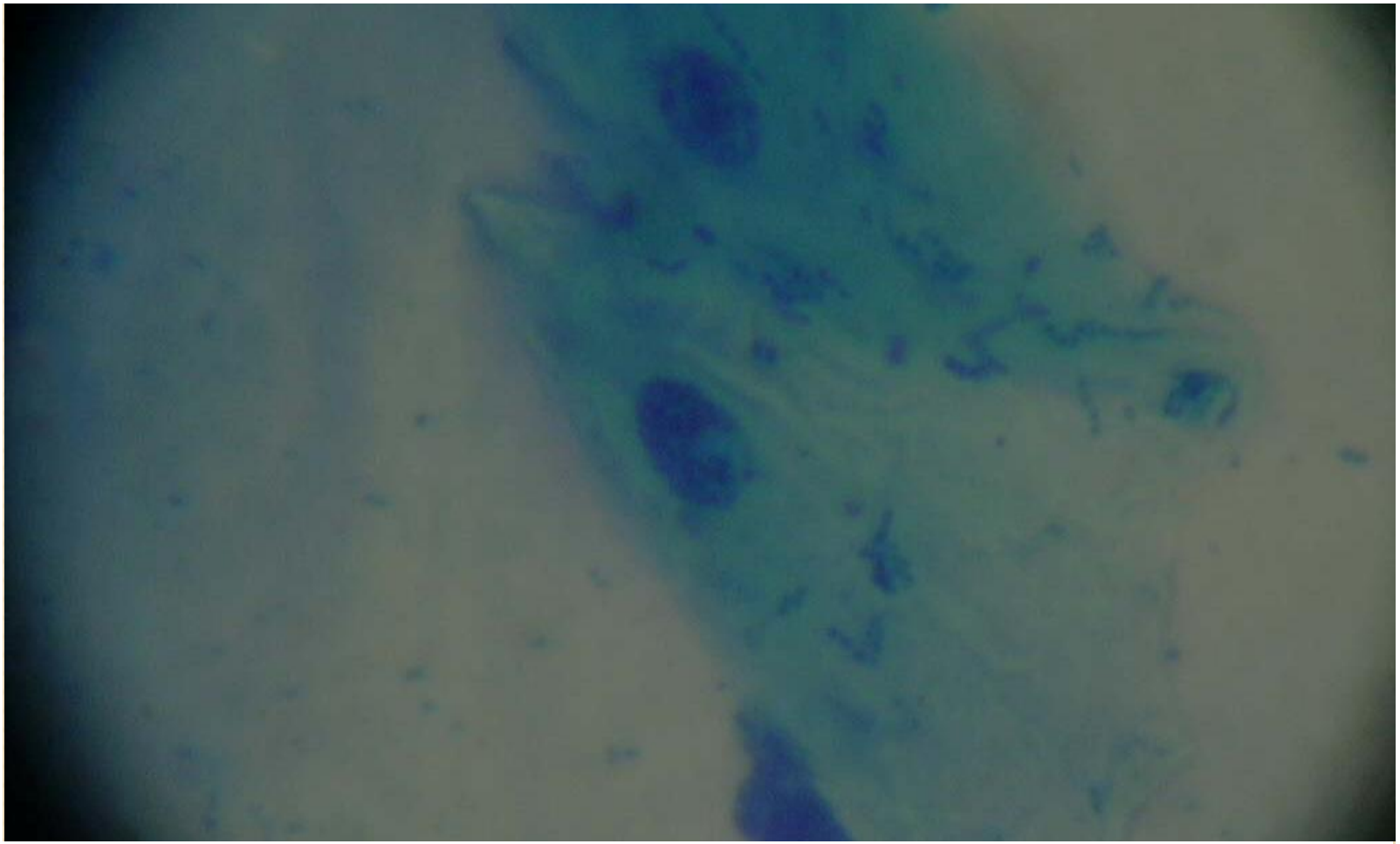
- تنتقل العقديات الرئوية عن طريق التنفس. إن المحفظة هي عامل الفوعة الأهم بالنسبة للمكورات الرئوية لأنها تقيها من البلعمة و تسمح لها بالانتشار و إحداث الأخماج. تصنف العقديات الرئوية بحسب نمط عديد سكاريد المحفظة في حوالي 90 نمط مصلي يتم الكشف عنها (تنميطها) عن طريق تفاعل انتفاخ المحفظة (تفاعل كويلنغ Quillung Reaction)، يجرى هذا الاختبار بإضافة المصل الضدي النوعي للمحفظة إلى معلق جرثومي للمكورات الرئوية و تحضر لطاخة من المعلق و تلون بأزرق الميثيلين فتظهر المحفظة منتفخة و كأنها مبتعدة عن حواف الجرثوم.
- أهم أخماج العقدية الرئوية: اخماج البلعوم و اللوزات و الأذن الوسطى، التهاب القصبات و ذات الرئة، التهاب السحايا (عند الأطفال دون الثلاث سنوات وعند كبار السن) ، ونادراً أخماج مفصلية و التهاب شغاف.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الدراسة العملية

- فحص محضر من قشع يحتوي المكورات الرئوية ملون بطريقة غرام. تظهر فيه مكونات القشع (خلايا ظهارية مضلعة، كريات بيض، ألياف مخاطية، الزمرة الجرثومية الطبيعية) إضافة إلى العامل الممرض و هو العقديات الرئوية على شكل مزدوجات إيجابية غرام محاطة بمحفظة منفصلة أو مصطفة على شكل سلاسل طويلة. يطغى العامل الممرض على الجراثيم الأخرى في المحضر.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



20

ملاحظة :

في الجلسة الأولى عند فحص محضر من قشع ملون بأزرق الميثيلين ظهر الكثير من المكورات الرئوية التي توجد بشكل طبيعي في القشع.

4/10/2018

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

21

مزروع عقدية

4/10/2018

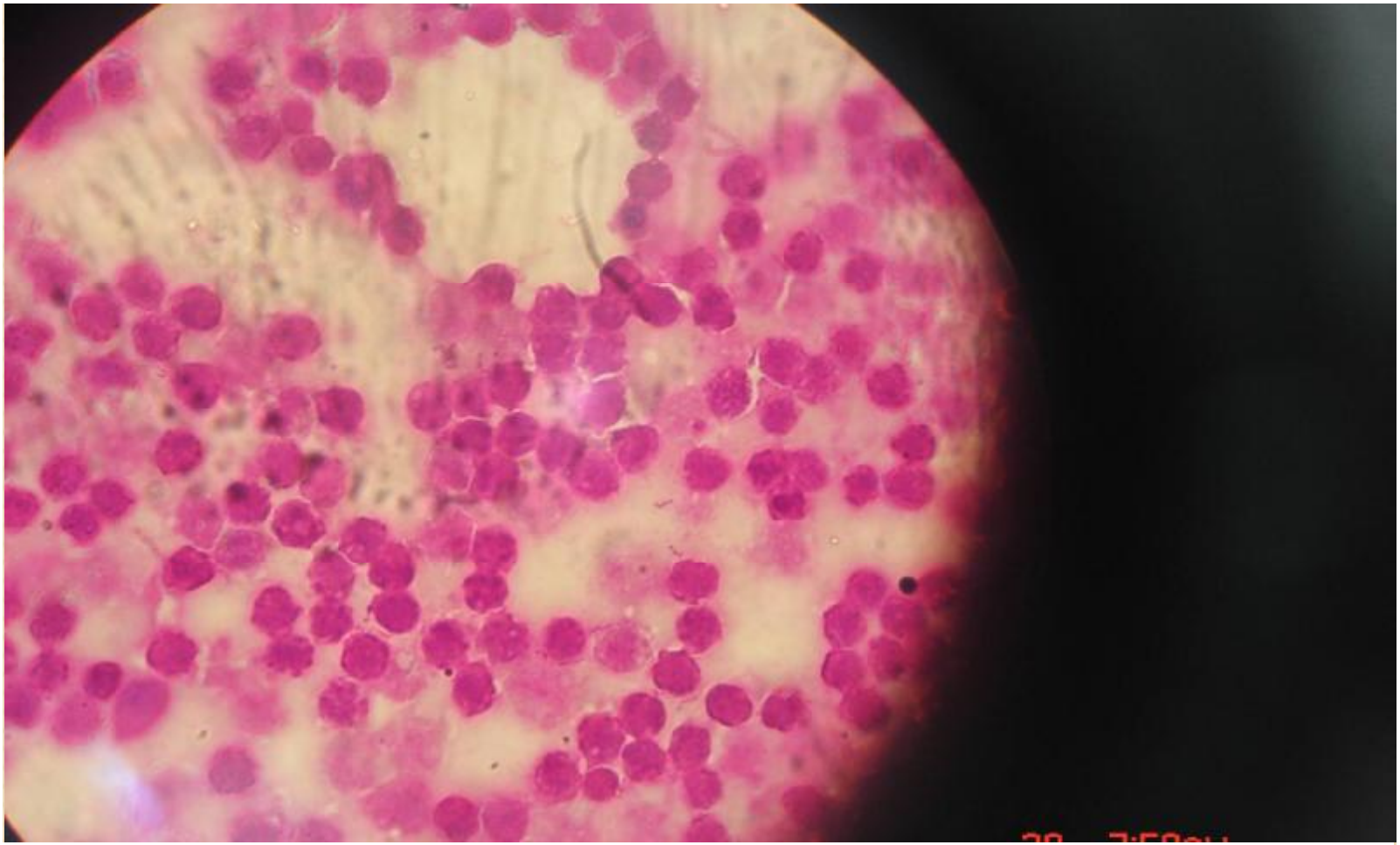
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

22

محضر قشع يحوي مزدوجات رئوية .

4/10/2018

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

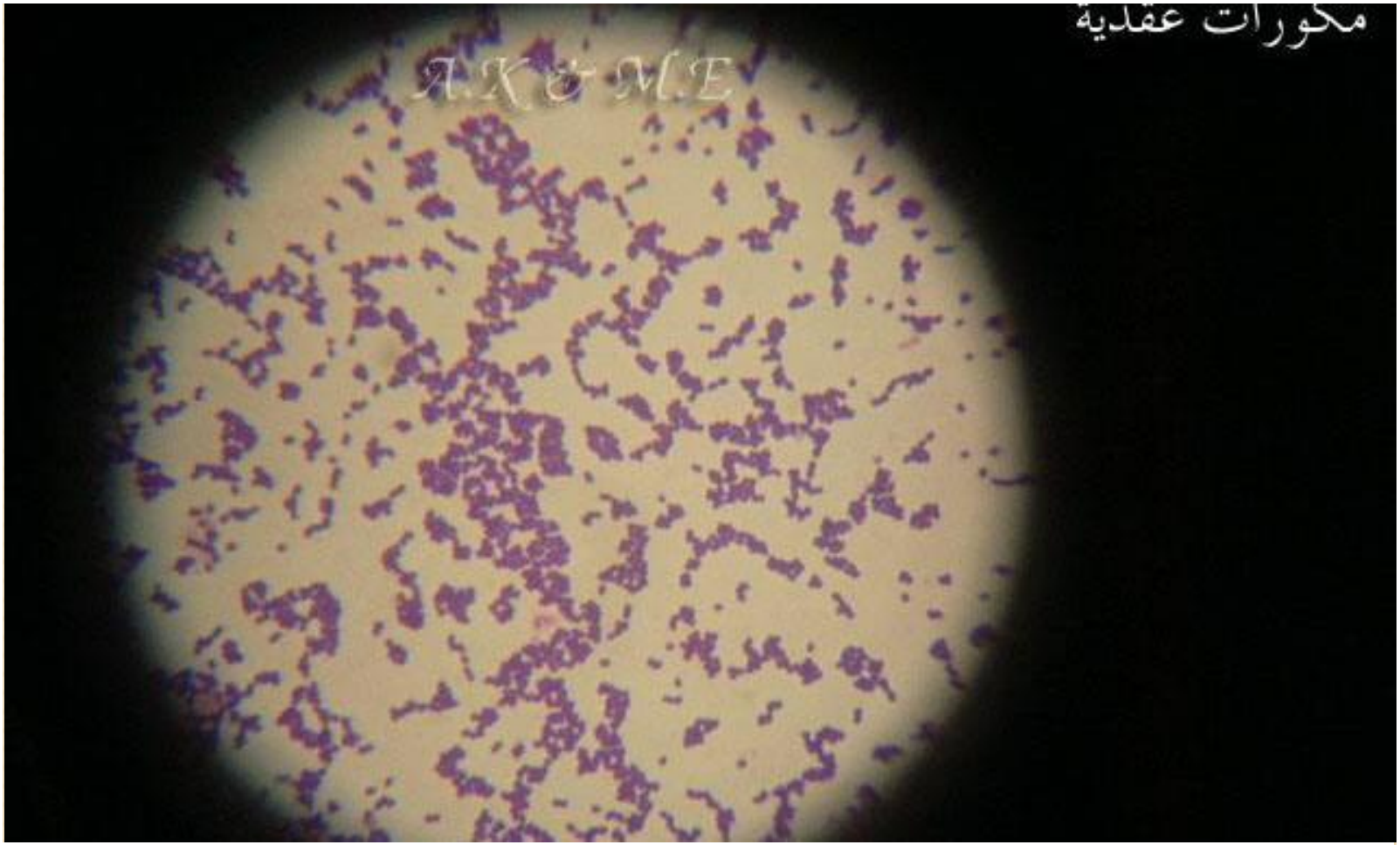


23

قيح عقدية

4/10/2018

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

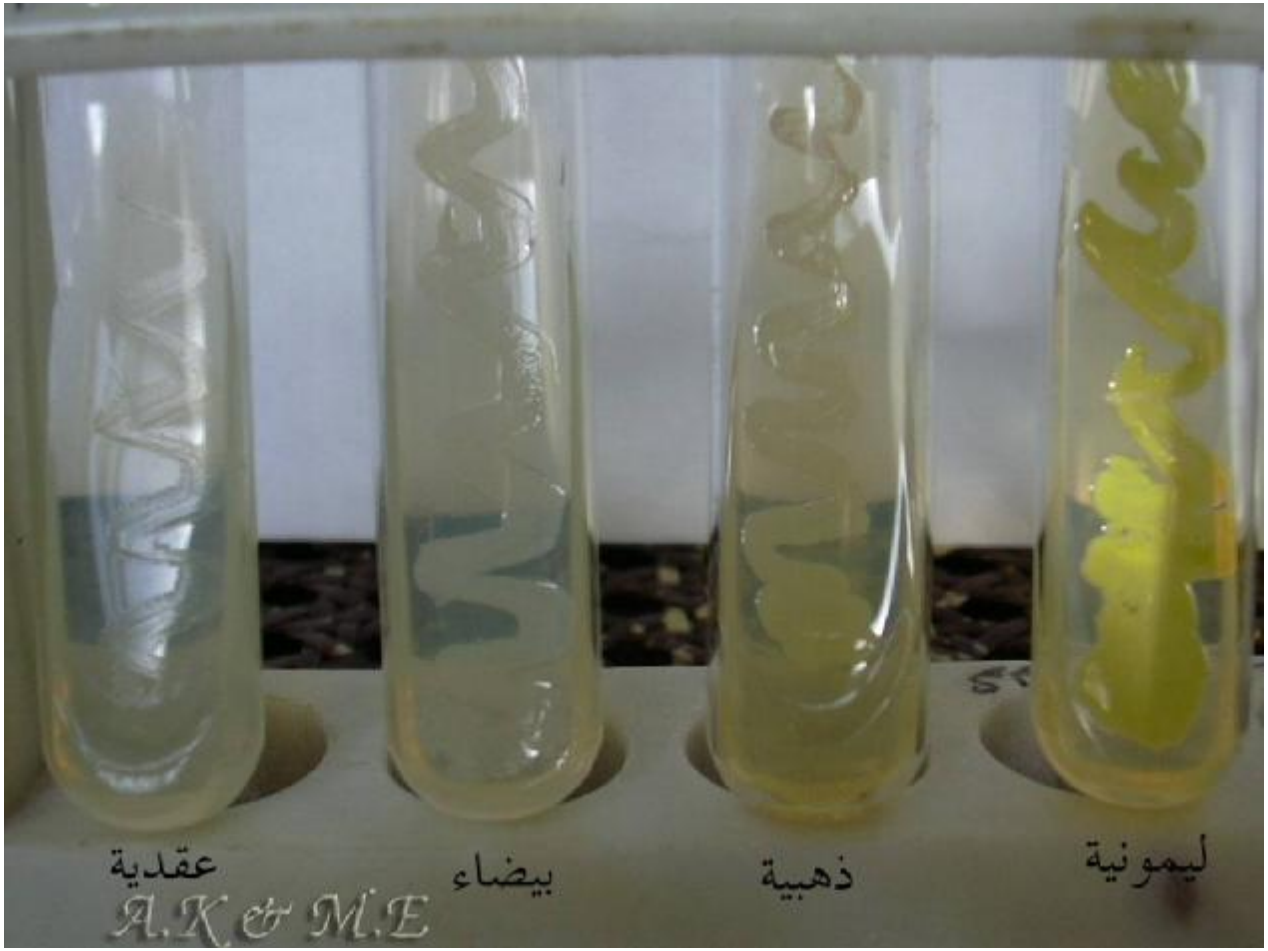


24

مكورات عقدية

4/10/2018

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com