

## ثالثا /العوامل الحيوية (التضاد الطبيعي ، المضادات الحيوية )

اعداد / ريم الجويعي

تتم معظم الدراسات المعملية على الكائن الحي الدقيق باستخدام مزارع نقية ، تظهر من خلالها الصفات المميزة للأنزيم تحت الدراسة .

وبهذه الطريقة لا يتم الكشف عن الصفات والقدرات التي يتمتع بها هذا النوع اذا ما وجد بداخل عشيره مختلطة لان الظروف المعملية المصطنعة لا تماثل الظروف البيئية الطبيعية الحقيقية .

ومن النادر وجود نظام بيئي طبيعي يقتصر على نوع ميكروبي واحد ولكن تحتوي على العديد من الانواع المختلفة التي يتوقف وجود واستمرار كل منهما على نشاط باقي اعضاء العشيرة .

# العلاقات المتبادلة ما بين الكائنات الدقيقة تظهر في صور عديدة منها :

علاقات المحايدة

Neutralism

علاقات تعاونية

beneficial relations

علاقات التضاد

Antagonistic

## **A. علاقات المحايدة : NEUTRALISM**

أي ان النوعين ليس لهما علاقه ببعضهما ولا يتأثر احدهما بنمو الآخر .

## **B. علاقات تعاونية : MUTUAL OR BENEFICIAL RELATIONS**

### **1. المعايشة Commensalism**

احد النوعين يستفيد من وجود النوع الآخر بينما النوع الثاني لا يستفيد او المنفعة لطرف واحد .

### **2. التنشيط Synergism**

وهي قدرة النوعين مع بعضهما على القيام بعمل او تفاعل لم يكن أي منهما قادر على القيام به منفردا .

### 3. التعاون Protocooperation

ومنها العلاقة بين النوعين ذات فائدة كبيرة لكل منهما ولكن غياب هذه العلاقة لا يؤثر على وجودهما ، أي ان التعاون ليس اجباريا بينهما .

### 4. التكافل Symbiosis

وفيها كلا النوعين يعتمد على الآخر وكل منهما يستفيد من وجود الآخر معه .

## C. علاقات التضاد ANTAGONISTIC

### 1. التنافس Competition

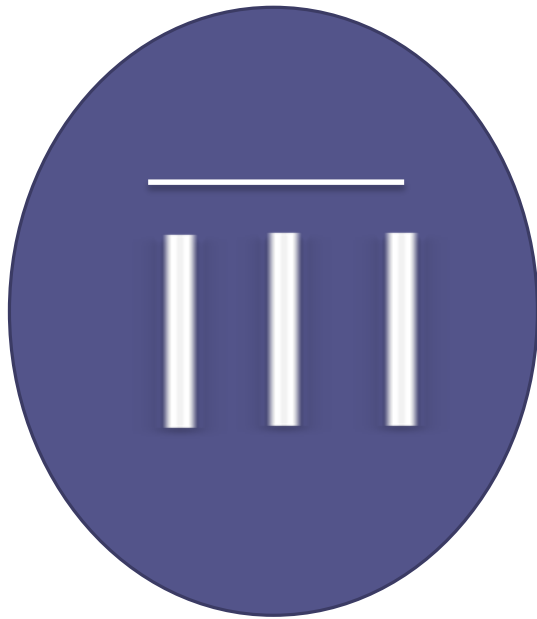
وفيها يتنازع النوعان على نوع محدود من الغذاء او الاكسجين او المكان او أي ضرورة من ضروريات البقاء مما يؤدي الى ان نمو احدهما يسود على نمو الآخر .

### 2. الاضرار Amensalism

وفيها احد النوعين يتضرر من وجود الآخر ولكن الآخر لا يتاثر وذلك نتيجة افراز النوع المؤثر لمادة سامة للنوع المتاثر او لقيامه بتغيير ظروف الوسط .

### 3. الافتراس والتطفل Predation & Parasitism

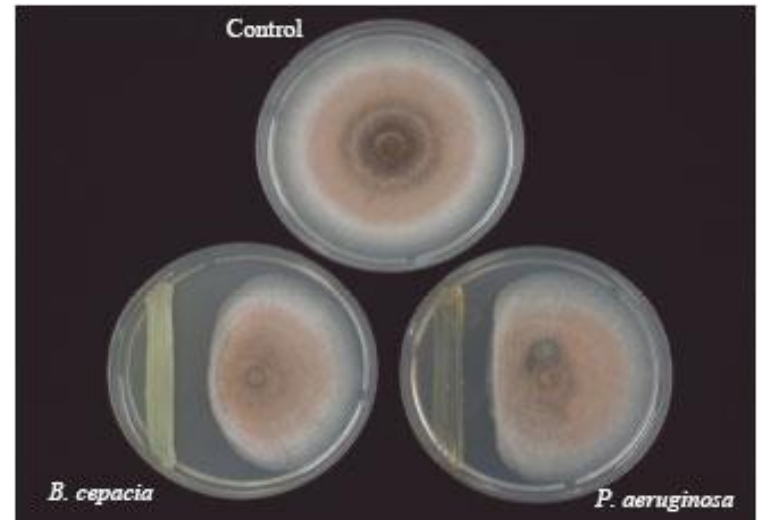
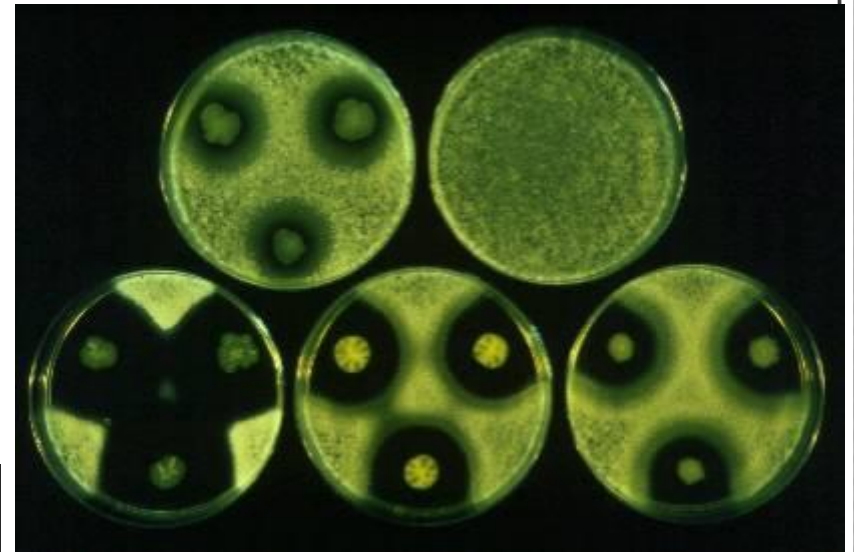
وفيه احد النوعين يهاجم مباشرة النوع الآخر.



Lauria Bertani Agar (LB)

نمو الكائن المضاد

نمو الكائن الاوّل



## ✓ كيف يقوم الكائن الحي بعملية التضاد ؟

غالبا ما يكون للكائن الدقيق طرقا مختلفة للمحافظة على بقاءه في مثل هذه البيئات

فهو اما **ان يخرج مواد ابيضيه تغير من ظروف البيئة** مثل تلك التي:

o تزيد من حموضتها

o تغير من الضغط الاسموزي

o التوتر السطحي للبيئة

وبالتالي تجعلها غير مناسبة لنمو الكائنات الاقل تحملا لهذه الظروف الغير طبيعيه

او ان يفرز **ماده سامه يمكنها ان تتدخل في العمليات الأيضية للكائنات** الاخرى بدرجة

تمنع نموها او تؤدي بها الى الموت وهذه الطريقة هي ما يطلق عليها اسم التضاد الحيوي.

# دراسة تأثير بعض المواد الطبيعية (بصل ، ثوم ) على فسيولوجيا البكتريا

## اولا/البصل ( Onion ) :

-لعل اول من وصف البصل كمضاد حيوي للبكتيريا هو العالم الشهير لويس باستير وكان ذلك في منتصف القرن الثامن عشر الميلادي وحينها شاع استخدام البصل لمحاربة العدوى وكذلك تأثير البصل في اذابة الافرازات الزائدة في الشعب الهوائية والذي استخدم منذ القدم في علاج نزلات البرد

## -أنواع البصل:

(1) البصل الأبيض White squill، يمتاز بلون قشرته الأصفر.

(2) البصل الأحمر Red squill، يمتاز بلون قشرته الأحمر، ويرجع لونه إلى وجود صبغة "الأنثوسيانين" في

العصير الخلوي للأوراق.

-نوعي البصل الأبيض والبصل الأحمر، لا فرق بينهما من الوجهة الطبية ولكنهما يختلفان في المذاق، حيث

أن الأبيض يفضل للأكل لأنه أقل حدة من الأحمر

في مذاقه.



- اهم ماده كيميائية تتواجد في البصل المواد الكبريتية وهذه المواد الكبريتية هي السبب في زيادة دموع العين عند تقطيع البصل، وهي المتسببة في الرائحة والطعم الخاص البصل.

- وهناك ثلاثة أنواع رئيسية منها، الأولى، مركبات أكاسيد الكبريت (سيلفأوكسايد) sulfoxides، مثل مركبات «الينين» alliins .

- الثانية، مركبات (ثيوسيلفانيت) thiosulfinates، مثل مركبات «اليسين» allicins .

- الثالثة، مركبات (ديثين) dithiins، مثل مركبات «أجوين» ajoenes .

-ويتيح تقطيع البصل لمركبات «سيلفأوكسايد» أن تتحول إلى «ثيوسيلفانيت» و«ديثين». حيث يحدث اثناء التقطيع تحطيم جدران الخلايا الحية في البصل ، وذلك يعطى فرصة للمواد الكيميائية الموجودة في داخل الخلايا وخارجها للتفاعل الكيميائي مع بعضها في وجود أكسجين الهواء. وتحتاج هذه

التفاعلات الكيميائية مدة عشر دقائق لتكتمل .(اغلب التأثير على البروتينات وتخليقها).

## ماسبب تساقط الدموع عند تقطيع البصل ؟



عند تقطع البصل، نقوم بتعطيم الخلايا، مما يتيح لمحتوياتها ان تتحرر .  
واهم مركب هو sulfenic acids . والانزيمات التي كانت محفوظة الآن  
اصبحت حرة لتختلط مع sulfenic acids لإنتاج S-propanethiol  
oxide ، وهو مركب كبريتي متطاير التي تنتقل مع الهواء في اتجاه  
تصاعدي لعينيك. هذا الغاز يتفاعل مع الماء في دموعك لتكوين حمض  
الكبريتيك sulfuric acid . ويمتاز حمض الكبريتيك بالذووعه او بالاحراق  
او التهيج ، وتحفيز عينيك لتحرر مزيد من الدموع لغسله بعيدا عن انسجة  
العين .





## ثانيا / الثوم (garlic) :

-يحتوي الثوم على مواد غذائية و طبية مهمة معظمها لها تأثير وقائي و علاجي واهم ماده في الثوم هي السلفات (الكبريت ) المسؤولة عن الرائحة و الطعم للثوم

و من المركبات الهامة في الثوم Allins وهو عباره عن Alkyl Cystine Sulfoxides وعند القطع او هرس فصوص الثوم يتحول هذا المركب إلى مركب آخر يعرف بإسم Allicine الذي يعزى له الدور الأساس في عملية التنشيط التي يتميز بها الثوم .(اغلب التأثير على البروتينات وتخليقها )

## المواد والادوات اللازمة :

- مزارع حديثة العمر لبكتريا *E.coli* , *Bacillus subtilis* نامية في بيئة مرق مغذي .
- دوارق محتوية على بيئة الاجار المغذي معقمة وسائبة ومبرده لدرجة 45 °م ، 100مل لكل دورق .
- عصير بصل او بصل مفروم طازج (اثناء اعداده لابد من استخدام ادوات معقمة وان تتم في ظروف التعقيم ويحفظ العصير في اوعية معقمة )
- عصير ثوم مركز او ثوم طازج مفروم .
- اطباق بتري فارغة ، ماصات معقمة سعة 1مل .
- كحول 75% للتعقيم الكحولي ، ملاقط .
- اقراص صيرة من اوراق الترشيح المعقم .

## طريقة العمل :

في ظروف تعقيم مثالية ، تتبع نفس خطوات تجربة الصبغات والكحول في حالة العصير ،  
ويستخدم النسيج المطحون من الثوم والبصل كلا على حده .  
تسجل النتائج في جدول تبعا لقياس القطر ونوع المادة والكائن .

المعاملة				النوع البكتيري
بصل		ثوم		
نسيج	عصير	نسيج	عصير	

# المضادات الحيوية / Antibiotics

-هي عبارة عن مواد كيميائية تنتجها كائنات دقيقة لها القدرة على قتل او تثبيط نمو الكائنات الدقيقة الاخرى .

-المضادات الحيوية لها اهمية في علاج الامراض الميكروبية المعدية Infectious diseases حيث تستعمل كنوع من المواد الكيماوية الطبيعية العلاجية .

يختلف تأثير الكائنات الدقيقة بالمضادات الحيوية ، بعضها يكون متخصص لحقيقيات الأنوية ، بعضها متخصص لبدائيات الأنوية ، بعضها يؤثر على البكتريا السالبة لجرام وبعضها متخصص للبكتريا الموجبة

لجرام وتعرف بالمضادات المتخصصة بمحدودة المدى narrow spectrum antibiotics

-والبعض يؤثر على البكتريا الموجبة والسالبة وتعرف بالمضادات واسعة المدى broad spectrum

antibiotics

جدول يوضح بعض انواع المضادات الحيوية ومدى تأثيرها على الكائنات الدقيقة .

	Mycobacteria	Gram-negative bacteria	Gram-positive bacteria	Chlamydiae	Rickettsiae
Penicillins		↔			
Sulfonamides, Cephalosporins, Quinolones, Carbapenems		↔			
Streptomycin	↔				
Tetracyclines		↔			
Isoniazid	↔				
Polymyxin		↔			
Vancomycin			↔		

تنوع المضادات الحيوية في وسيلة تحقيق القضاء على الكائنات الدقيقة الممرضة

وتكمن في النقاط الأساسية التالية :

الجدار الخلوي

الغشاء البلازمي

تكوين الأحماض النووية

تخليق البروتين

التفاعلات الأيضية المختلفة

## 1. التأثير على تخليق الجدار الخلوي: مثل Penicillin , Bacitracin , vancomycin .

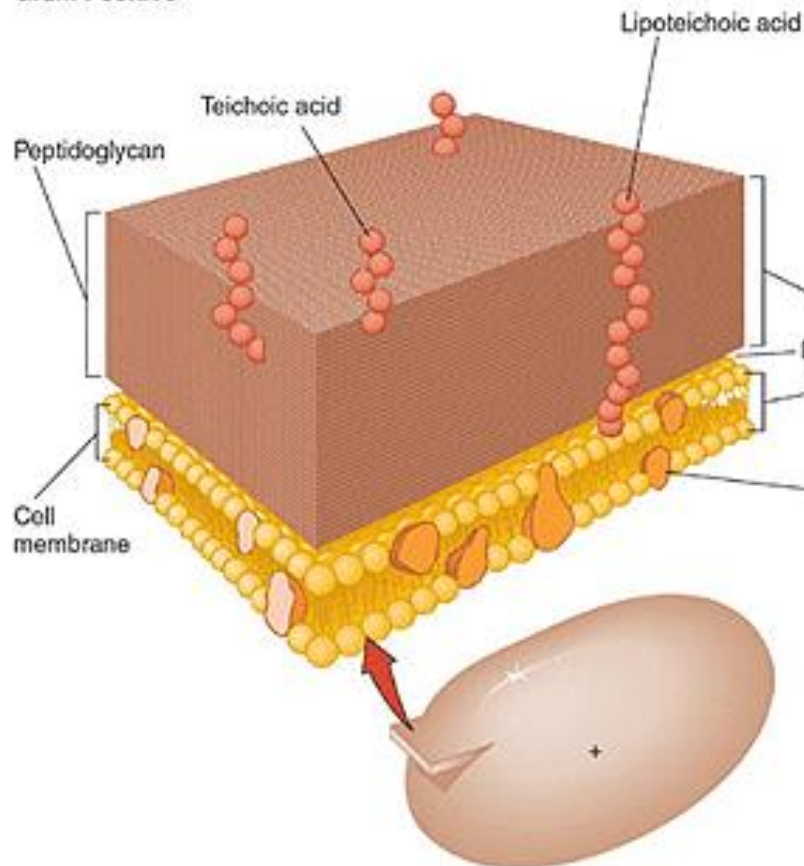
Penicillin يعتبر أول مضاد حيوي تم اكتشافه واستخدامه ، من المضادات الحيوية التي تقوم بتنشيط تخليق بناء الجدار الخلوي .

ومن المعروف ان الجدار الخلوي في البكتيريا يتألف من macromolecular network تسمى peptidoglycan . ولا يتواجد الا في الخلايا البكتيرية ، والعديد من المضادات الحيوية تقوم بتنشيط تخليق peptidoglycan intact وبالتالي فان جدار الخلية يصبح ضعيف لدرجه كبيرة ومن ثم يتحلل الجدار .

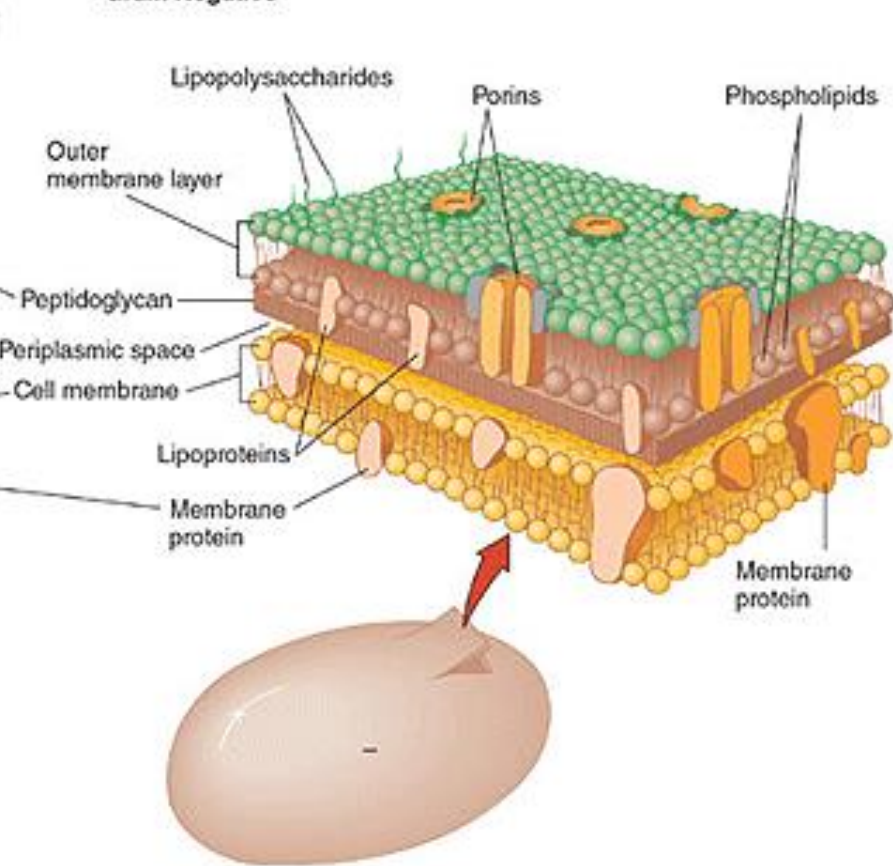
ولان penicillin يعتبر هدفه عملية التخليق فان الخلايا اثناء التكاثر actively growing cells فقط هي التي تتأثر بهذه المضادات ، ولان خلايا الانسان لا تحتوي على هذا المركب فان penicillin يعتبر قليل السمية لخلايا العائل.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

### Gram Positive



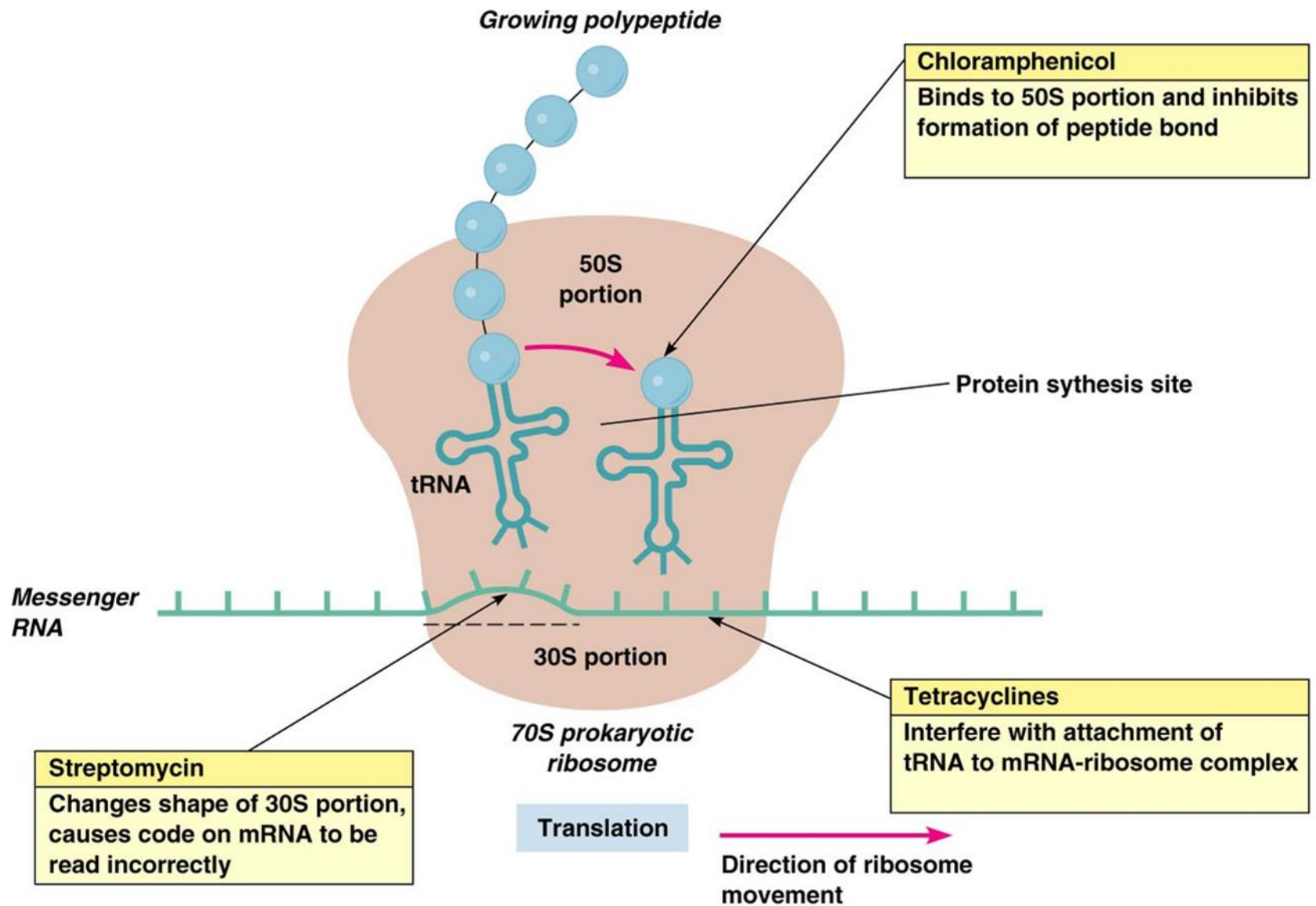
### Gram Negative



## 2. التأثير على تخليق البروتين :

عملية تخليق البروتين عملية شائعة في كل انواع الخلايا سواء كانت حقيقة او بدائية النواه ،فانه يعتبر هدفا غير مناسب للسمية الانتقائية .selective toxicity ومن اهم الاختلافات بين الخلايا بدائية النواه وحقيقية النواه هو تركيب الرايبوسوم ،فتمتلك حقيقيات الانوية 80 S ribosomes اما بدائيات الانوية فانها 70S ribosomes وتتكون من وحدتين 30S ; 50 S الاختلافات في تركيب الرايبوسومات يؤدي نوعا من selective toxicity للمضادات الحيوية التي تؤثر على تخليق البروتين .

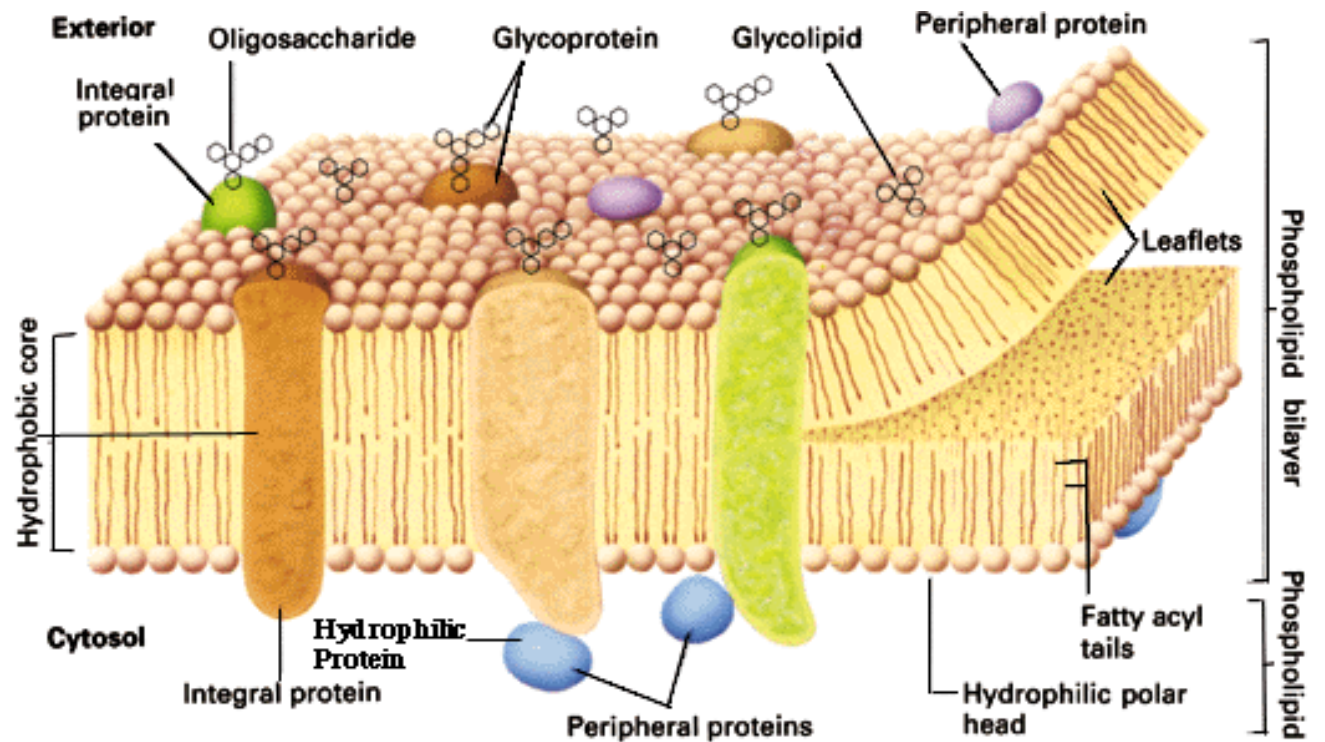
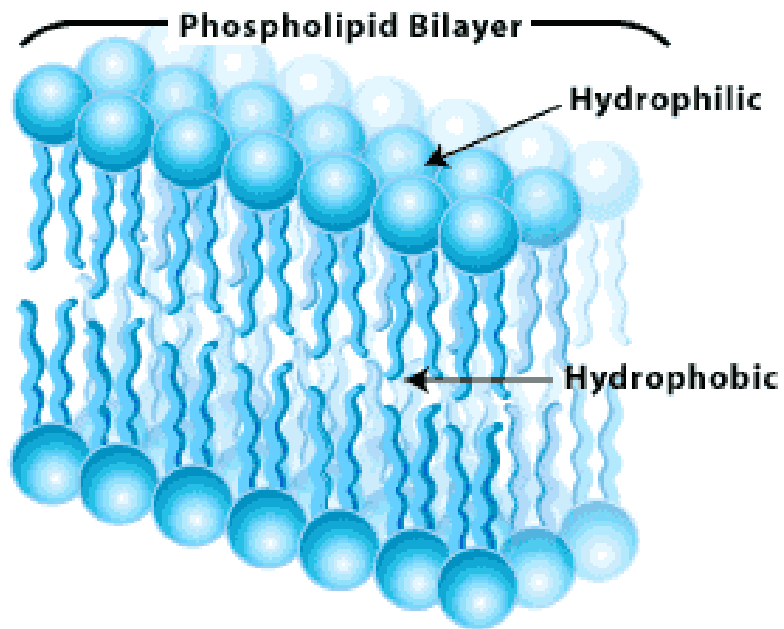
- المضادات الحيوية التي تتداخل مع تخليق البروتين erythromycin ،chloramphenicol ،streptomycin و tetracyclines.



**(b)** In the diagram the black arrows indicate the different points at which chloramphenicol, the tetracyclines, and streptomycin exert their activities.

### 3. التأثير على الغشاء الخلوي : تعمل على التداخل بعملية النفاذية الاختيارية للغشاء البلازمي

وهذه التغيرات في نفاذية الغشاء البلازمي تحدث فقد لـ metabolites المهمة جدا من داخل الخلية الميكروبية ( تسرب ) مثل . Polymyxin.



#### 4.التأثير على الاحماض النووية :

العديد المضادات الحيوية تتداخل مع عمليات DNA replication و transcription في

الكائنات الحية الدقيقة .بعض المضادات التي تمتلك هذه الالية ذات فائدة محدودة للغاية

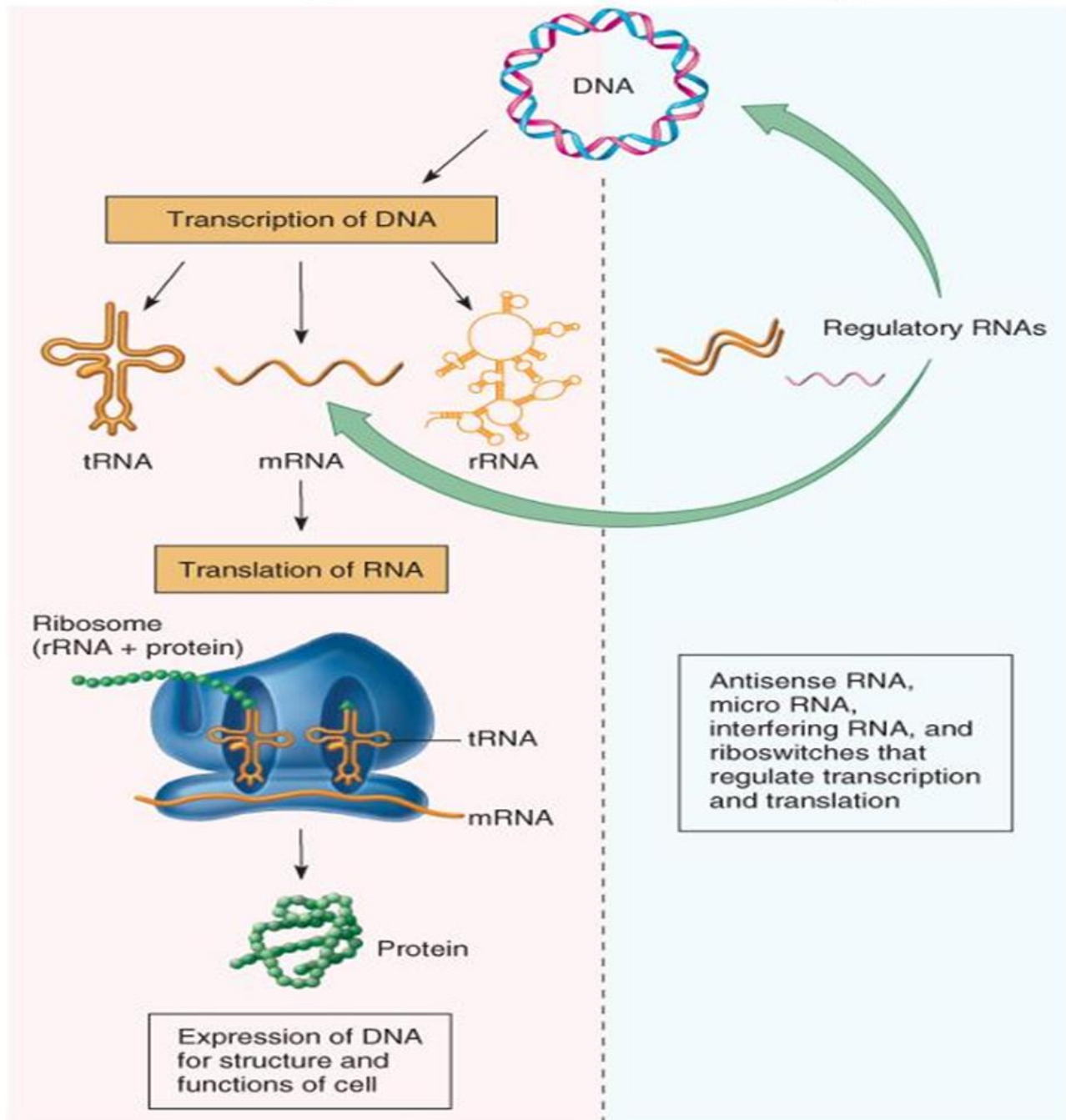
لأنها تتداخل مع mammalian DNA ,RNA كذلك

.مثال Rifampin الذي يثبط عملية نسخ m-RNA من DNA عن طريق الارتباط مع انزيم

m-RNA polymerase .

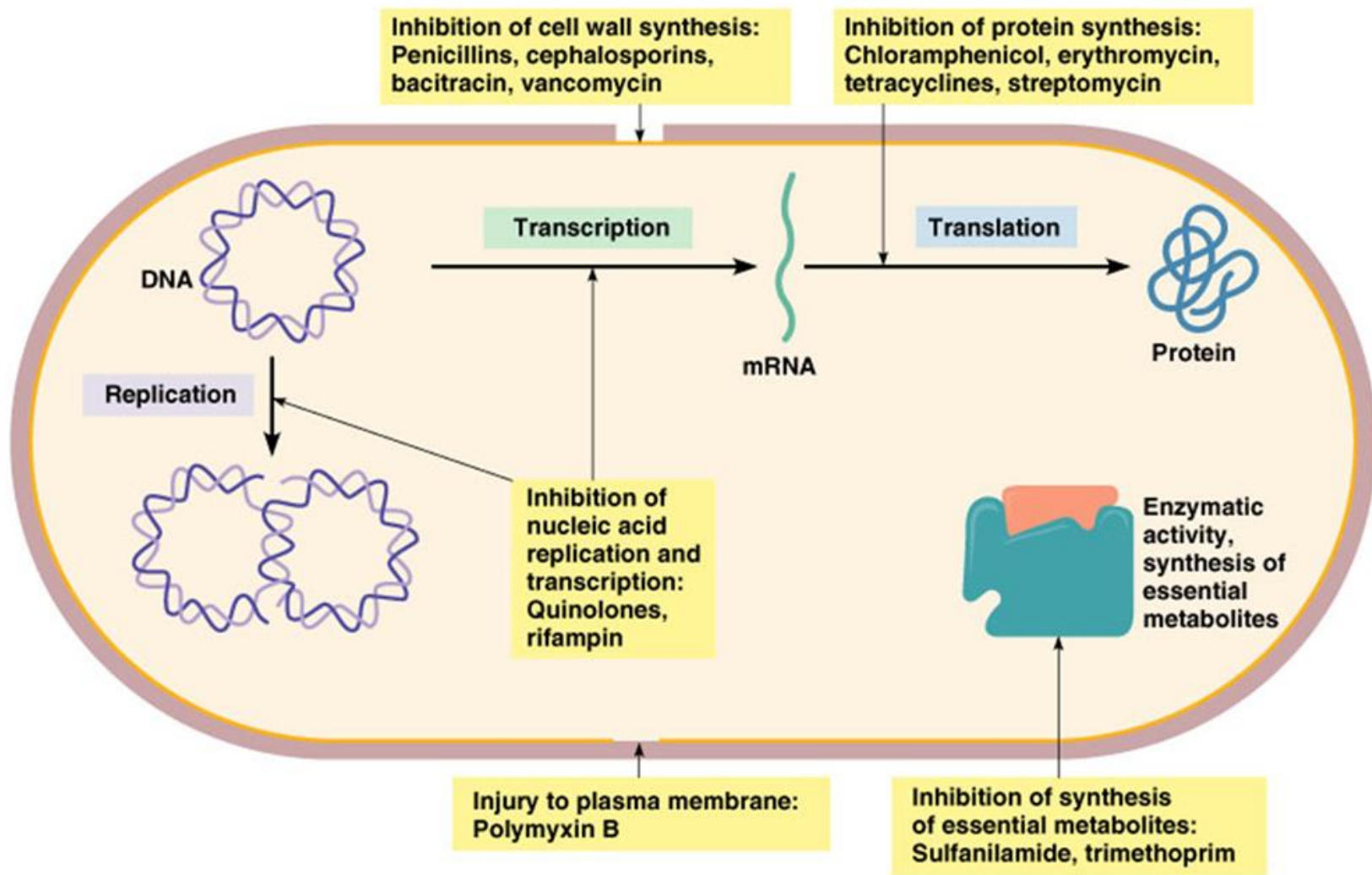
(a)

(b)



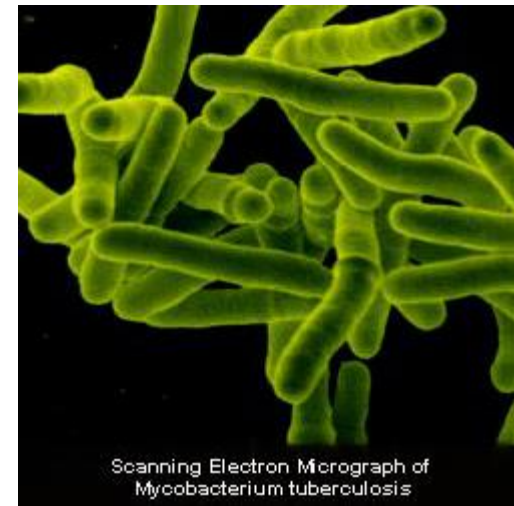
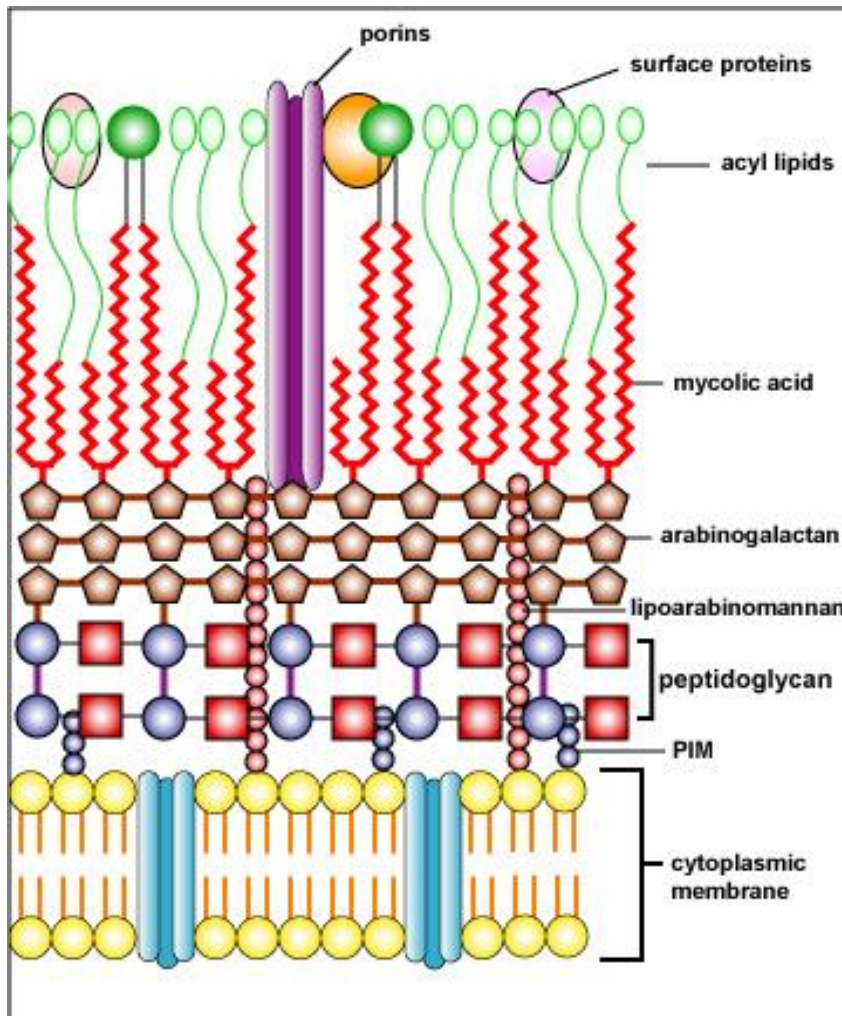
## 5.التاثير على التفاعلات الايضية المختلفة

مثل Sulfanilamide، فمن المعروف ان النشاط الانزيمي في الكائن الحي الدقيق من الممكن ان يثبط  
كلياً عن طريق تكوين مواد تماثل كلياً مادة التفاعل للانزيم



## Antimycobacterial Antibiotic □

- يختلف الجدار الخلوي في الانواع التي تنتمي الى جنس *Mycobacterium* عن الجدار الخلوي في اغلب انواع البكتريا .
- حيث يحتوي على mycolic acid يحتوي هذا الجنس على اهم المسببات المرضية كتلك التي تسبب leprosy (الجذام) و tuberculosis (السل )
- **Isoniazid** يعتبر مضاد حيوي صناعي فعال جدا ضد *Mycobacterium tuberculosis* والتأثير الاساسي له يكمن في تثبيط تكوين mycolic acid الذي يعتبر احد مكونات الجدار في هذا الجنس .وله تأثير قليل جدا على nonmycobacteria .



-اكثر من نصف المضادات الحيوية تنتج بواسطة انواع Streptomyces وهي عبارة عن

بكتيرية خيطية filamentous bacteria تتواجد عادة بالتربة .

-عدد قليل ينتج بواسطة endospore-forming bacteria مثل Bacillus وبعض منها

ينتج بواسطة الفطريات وغالبا ما تنتمي الى جنس Penicillium و Cephalosporium.

## من وسائل مقاومة البكتريا للمضادات :

1. بعض انواع البكتريا تنتج انزيمات تكسر المضاد وتوقف فعاليته مثل انزيم Penicillinase .
2. بعض البكتريا تفرز انزيمات تغير التركيب الكيميائي للمضاد .
3. تغير النفاذية الغشائية لخلايا البكتريا مما يعيق دخول المضاد .
4. تغير البكتريا طبيعة بعض مكوناتها التي يستهدفها المضاد

## □ اسس مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية :

✓ مقاومة طبيعية Intrinsic resistance

✓ مقاومة بواسطة الطفرات resistance by Mutations

✓ مقاومة بواسطة البلازميدات resistance by plasmid

# اسم التجربة / اختبار حساسية البكتيريا لمضادات الحياة. ANTIBIOTIC SENSITIVITY TEST.

الهدف من التجربة / لها عدة اهداف :

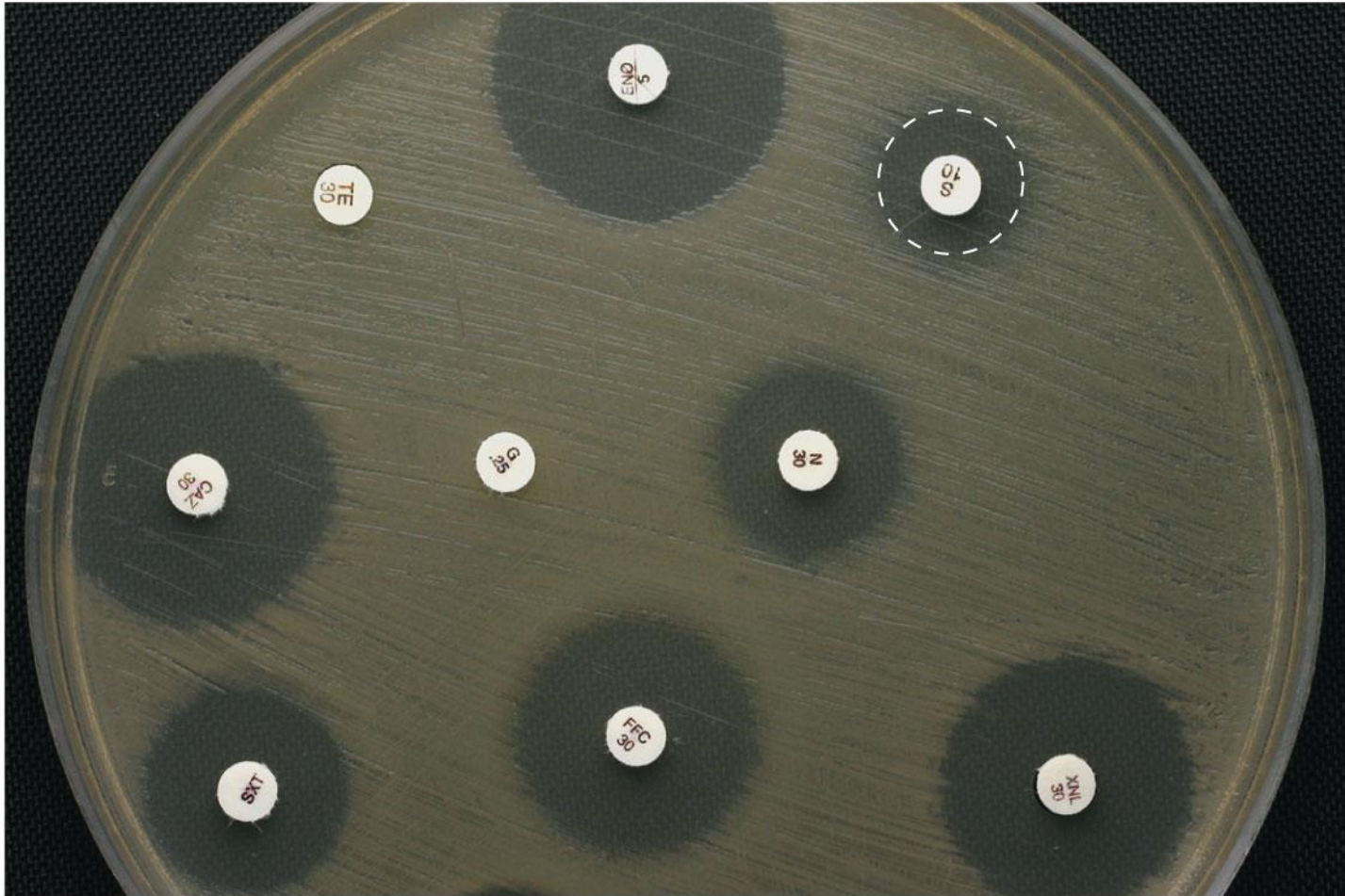
- ✓ يهدف إلى تحديد حساسية عزلة من البكتيريا لمدى من المواد العلاجية.
- ✓ قد تستخدم كوسيلة لدراسة ظهور طفرات مقاومة من البكتيريا لتركيزات محددة من المضاد الحيوي.
- ✓ له ارتباط وثيق مع تعريف الأنواع البكتيرية.
- ✓ تُقاس الحساسية بتحديد أقل تركيز من المضاد الحيوي مثبت (قادر على القيام بالفعل المضاد) لنمو السلالة البكتيرية بعد 24 ساعة من التحضين وهو ما يُسمى

**Minimum Inhibitory Concentration (MIC )**

## طريقة الدراسة /

هناك عدة طرق مستخدمة لغرض التجربة وهي :

- ☐ طريقة الأقراص Disk diffusion method وتُسمى Bauer - Kirby method
- ☐ طريقة التخفيف في وسط سائل Broth dilution method أوفي وسط صلب Agar dilution method .
- ☐ طريقة الطبق المتدرج Gradient Plate Method
- ☐ يستخدم حالياً طريقة متطورة عنها تسمى E-test (Epsilometer)
- ☐ الطرق الالكترونية الحديثة مثل MicroScan



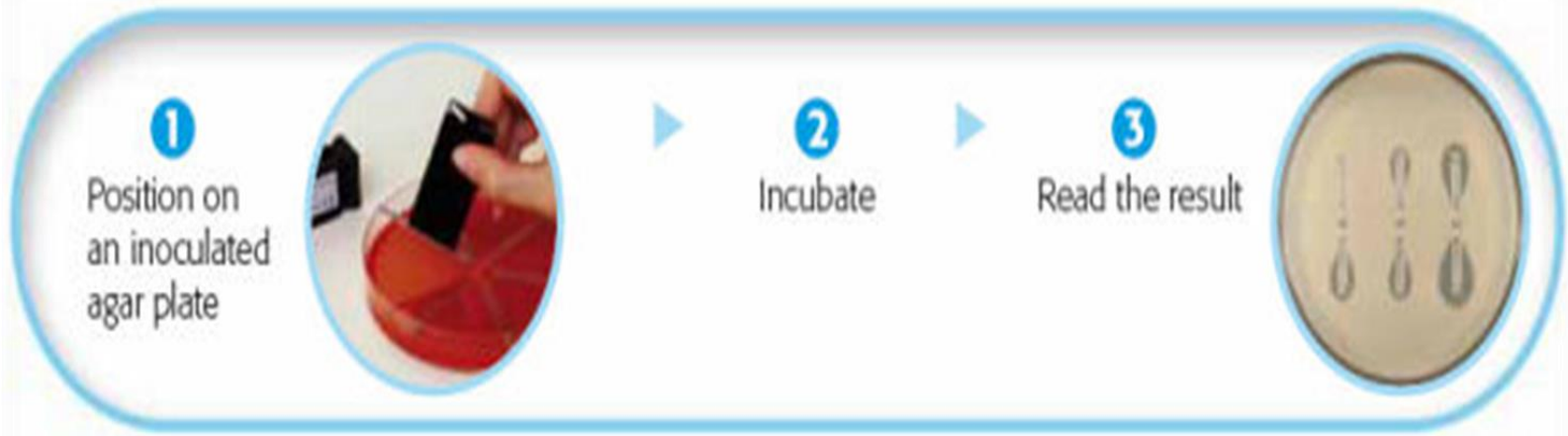


Increasing concentration of drug

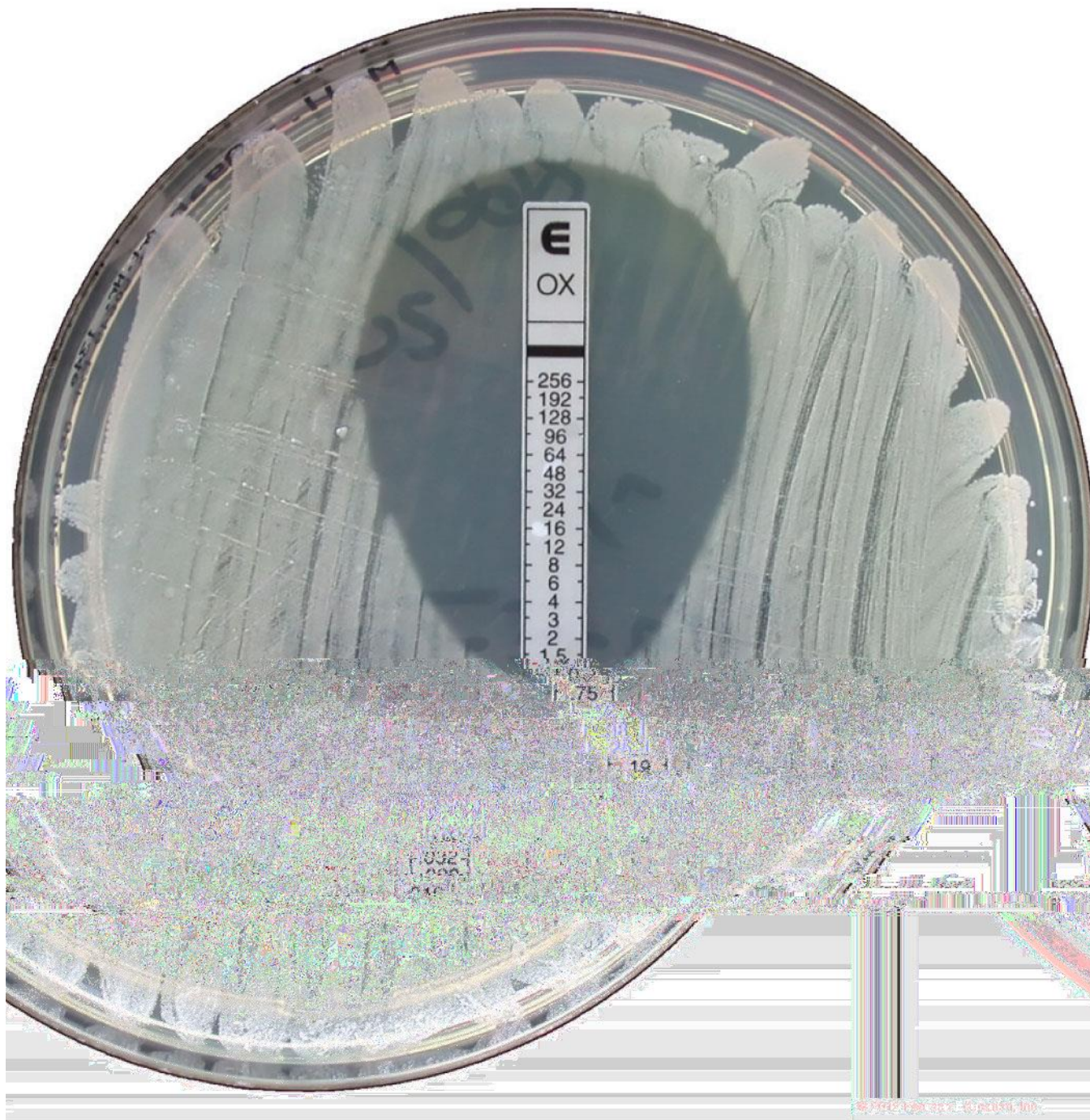
## 2 - طريقة: E-test (Epsilometer)

تعتمد على استخدام مجموعه معروفه من 15 تركيز مختلف من المضاد الحيوي المختار محمله على شريط من البلاستيك.

يستخدم هذا الشريط لتحديد نطاق التركيز الادنى المثبط لنمو البكتيريا من المضاد.



بعد مرور فترة التحضين يلاحظ ظهور شكل القطع الناقص حول الشريط بطريقة مرتبطة مع تركيز المضاد MIC (ميكروجرام /مل)، وهذه القيمة تتوافق مع تركيز المضاد MIC المساعد لاختيار العلاج الأمثل للمرضى



E  
OX

256  
192  
128  
96  
64  
48  
32  
24  
16  
12  
8  
6  
4  
3  
2  
1.5

□ سنقوم بتطبيق الطريقة الاولى /

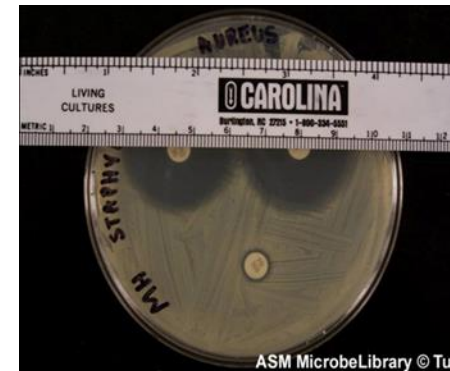
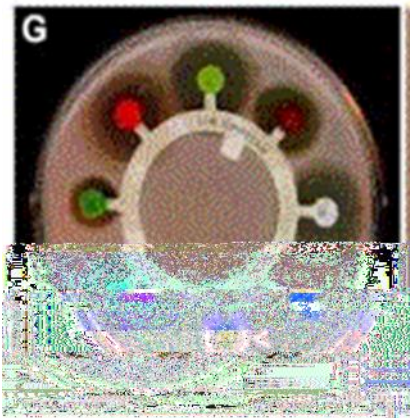
## طريقة الأقراص Disk diffusion method وتسمى Bauer - Kirby method

تعتمد على استخدام أقراص مجهزة من ورق الترشيح محملة بتركيزات معلومة من المضاد الحيوي،

وهناك نوعان منها: الأقراص المفردة Unidisk ، الأقراص المتعددة Multidisc.

✓ انعدام فعالية المضاد على البكتريا يعني ان البكتريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد وتعرف بـ

resistant وتكون البكتريا حساسة في حال تآثرها بالمضاد . sensitive



1-تحضر اطباق بتري تحتوي على بيئة . Mueller Hinton agar

2- يحضر معلق للمزرعة البكتيرية النقية حديثة العمر، و بواسطة ابرة تلقيح معقمة يؤخذ مقدار من

المزرعة ويوضع في انبوبة تحتوي على 5مل ماء معقم للحصول على تركيز مكافئ لمقياس 0.5

McFarland أي ما يعادل  $10^8$  CFU/ml وترج الانبوبة جيدا .

3-يلقح سطح الطبق من المعلق البكتيري السابق بواسطة . cotton swab

4-توضع اقراص المضادات الحيوية المختلفة المعلومة التركيز على سطح الطبق الملقح بواسطة ملقط

معقم بالتلبيب الكحولي .

5-تحضن الاطباق مقلوبة عند 37°م لمدة 24 ساعة .

6-تقاس اقطار inhibition zone حول الاقراص ، ويتم تعيين المضاد الاكثر حساسية ضد البكتريا

المستخدمة .

جدول قياسي لتقدير درجة حساسية susceptibility أو تأثير متوسط Intermediate أو مقاومة Resistant لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية

Zone Diameter (mm) Interpretation Chart

Antibiotic	Resistant	Intermediate	Susceptible
Tetracycline	= 14	15-18	= 19
Ciprofloxacin	= 15	16-20	= 21
Enoxacin	= 14	15-17	= 18
Erythromycin	= 13	14-22	= 23
Penicillin Staphylococci	= 28		= 29
Oxacillin Staphylococci	= 10	11-12	= 13
Tobramycin	= 12	13-14	= 15
Ceftriaxone	= 13	14-20	= 21
Kanamycin	= 13	14-17	= 18
Clindamycin	= 14	15-20	= 21
Piperacillin Gram negatives	= 17	18-20	= 21
Ampicillin Gram negative enterics Staphylococci	= 13 = 28	14-16	= 17 = 29