عائلة البكتريا المعوية (Enterobacteriaceae)

الصفات العامة:

- عصيات سلبية الغرام (Gram-negative bacilli)
- هوائية اختيارية (Facultative anaerobic)
- غير مكونة للأبواغ (Non-spore forming)
- تخمر اللاكتوز (Lactose fermenters)
- تُنتج حامضاً أو حامضاً مع غاز (Acid or acid and gas producers)
- تُوجد في أمعاء الإنسان والحيوان (Found in the intestines of humans and animals)

أهم الأمراض التي تسببها:

- التهابات الجهاز الهضمي:
  - التسمم الغذائي (Food poisoning)
  - التهاب الأمعاء المعدي (Gastroenteritis)
  - داء السالمونيلا (Salmonellosis)
  - داء الشيغلا (Shigellosis)
- التهابات الجهاز البولي:
  - التهاب المسالك البولية (Urinary tract infections)
- التهابات الجهاز التنفسي:
  - الالتهاب الرئوي (Pneumonia)
  - التهاب السحايا (Meningitis)
- التهابات الدم:
  - تعفن الدم (Sepsis)

أهم أنواع البكتريا المعوية:

- **Escherichia coli (E. coli)**
- **Klebsiella pneumoniae (K. pneumonia)**
- **Enterobacter spp.**
- **Salmonella spp.**
- **Shigella spp.**
- **Proteus spp.**
- **Serratia spp.**

بكتريا الإشريكية القولونية (Escherichia coli)

الصفات العامة:

- **عصيات سلبية الغرام** (Gram-negative bacilli)
- **هوائية اختيارية** (Facultative anaerobic)
- **غير مكونة للأبواغ** (Non-spore forming)
- **تخمر اللاكتوز** (Lactose fermenters)
- **تُنتج حامضاً أو حامضاً مع غاز** (Acid or acid and gas producers)
- **تُوجد في أمعاء الإنسان والحيوان** (Found in the intestines of humans and animals)

أهم الأمراض التي تسببها:

- **التهابات الجهاز الهضمي:**
  - **التسمم الغذائي** (Food poisoning)
  - **التهاب الأمعاء المعدي** (Gastroenteritis)
- **التهابات الجهاز البولي:**
  - **التهاب المسالك البولية** (Urinary tract infections)

وتسبب أمراضاً أخرى ....

الصفات المزرعية:

- **تنمو بسهولة على الاوساط الزرعية الصلبة والسائلة** (Grows easily on solid and liquid media)
- **تُنتج مستعمرات مستديرة، ناعمة، لامعة** (round، smooth، shiny colonies)
- **تُخمر اللاكتوز مع إنتاج غاز** (Ferments lactose with gas production)
- **تُنتج إندول** (Produces indole).

طرق عزل وتشخيص البكتريا من العينات المرضية:

- **الزراعة على أوساط زرعية صلبة انتقائية** (Selective agar media)
- **الاختبارات الكيموحيوية** (Biochemical tests)
- **اختبارات تفاعل البوليميريز المتسلسل** (Polymerase chain reaction (PCR) tests)

الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص بكتريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)

الصفات المختبرية المميزة:

- **اختبار تخمر اللاكتوز:**
  - **الهدف:** تقييم قدرة البكتيريا على تخمر اللاكتوز.
  - **الطريقة:**
    ١. تخطيط طبق يحتوي على وسط MacConkey agar.
    ٢. حضانة الطبق ٢٤-٤٨ ساعة عند ٣٧ درجة مئوية.
    ٣. مراقبة وجود مستعمرات وردية اللون (تُشير إلى تخمر اللاكتوز).

- **النتائج:**
  - **إيجابي:** وجود مستعمرات وردية اللون.
  - **سلبي:** عدم وجود مستعمرات وردية اللون.

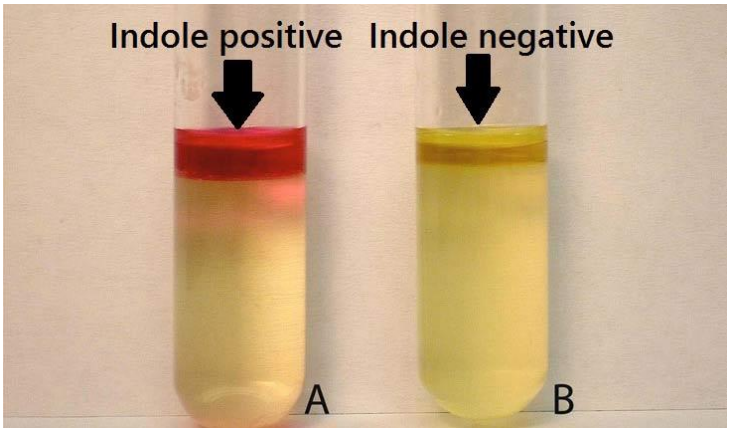
شكل (١) : مستعمرات بكتريا E.coli على وسط ماكونكي آكار

اختبار إندول:

- **الهدف:** تقييم قدرة البكتيريا على إنتاج حلقة إندول من تريبتوفان.
- **الطريقة:**

١. تلقيح أنبوب يحتوي على وسط Tryptone broth.
٢. حضانة الأنبوب لمدة ٢٤-٤٨ ساعة عند ٣٧ درجة مئوية.
٣. إضافة قطرات من كاشف Kovac's reagent إلى الأنبوب.
٤. مراقبة وجود حلقة حمراء على سطح السائل (تُشير إلى وجود إندول).

- **النتائج:**
  - **إيجابي:** وجود حلقة حمراء على سطح الوسط السائل .
  - **سلبي:** عدم وجود حلقة حمراء على سطح السائل.



شكل (٢) : نتائج اختبار الاندول

٣. اختبار اليورياز:(Urease test)

الهدف: تحديد قدرة البكتيريا على تحليل اليوريا إلى ثاني أكسيد الكربون والأمونيا.

الأدوات والمواد:

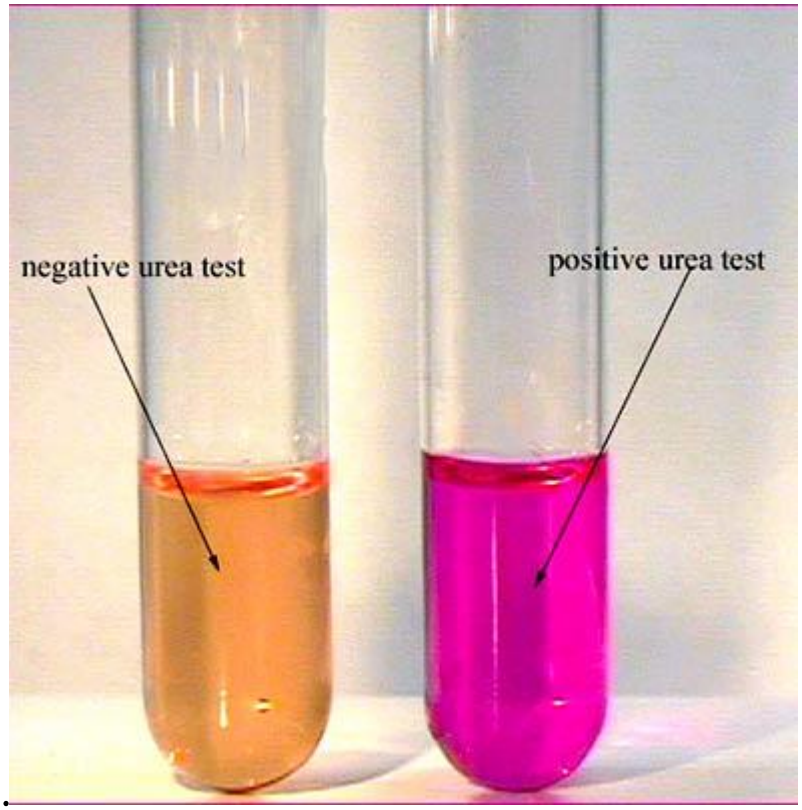
- وسط اليوريا(Urea broth)
- أنابيب اختبار
- زيت معدني

الطريقة:

١. تلقيح أنبوب اختبار واحد بوسط اليوريا باستخدام حلقة التلقيح (اللوب).
٢. تغطية سطح الوسط بطبقة من زيت معدني لمنع تبخر الأمونيا.
٣. حفظ الأنبوب في حاضنة بدرجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ٢٤ ساعة.
٤. ملاحظة تغير لون وسط الوسط بعد ٢٤ ساعة.

النتائج:

- إيجابي :تغير لون وسط الوسط إلى اللون الوردي أو الأحمر (قلوية) بسبب إنتاج الأمونيا.
- سلبي :عدم تغير لون وسط الوسط .



شكل (٣) : نتائج اختبار الكشف عن اليوريز

2.اختبار:TSI (Triple Sugar Iron Agar)

الهدف:

- تحديد قدرة البكتيريا على تكوين الغاز من الجلوكوز واللاكتوز والسكروز، وإنتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S .

الأدوات والمواد:

- وسطTSI (Triple Sugar Iron Agar)
- أنابيب اختبار

الطريقة:

١. تلقيح أنبوب اختبار واحد بوسط TSI باستخدام حلقة التلقيح.
٢. حفظ الأنبوب في حاضنة بدرجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ٢٤ ساعة.
٣. ملاحظة تغير لون وسط الوسط ووجود فقاعات غازية.

النتائج:

- إيجابي :
  - تغير لون وسط الوسط من اللون الأحمر إلى اللون الأصفر (تخمير الجلوكوز واللاكتوز).
  - وجود فقاعات غازية في عمود الوسط (تكوين الغاز من الجلوكوز واللاكتوز).

- تغير لون مؤشر الأس الهيدروجيني (pH indicator) من اللون الأرجواني إلى اللون الأسود (إنتاج كبريتيد الهيدروجين).

- سلبي :عدم تغير لون وسط الوسط أو وجود فقاعات غازية.

الصورة:

شكل (٤) : بكتريا الإشريكية القولونية (Escherichia coli) على TSI (Triple Sugar Iron Agar)

اختبار فوجز بروسكاور(Voges-Proskauer Test)

مبدأ عمل الاختبار:

يعتمد اختبار فوجز بروسكاور على تفاعل كيميائي بين الأسيتون (acetoin)و الهيدروكسيل امين (hydroxylamine)في وجود محلول الكاوي (NaOH) هيدروكسيد الصوديوم ينتج عن هذا التفاعل مركب (معقد) ذي لون أحمر يسمى مركب فوجز بروسكاور (Voges-Proskauer compound).

الهدف من الاختبار:

- الكشف عن قدرة البكتيريا على إنتاج الأسيتون (acetoin) من حامض البيروفيك (pyruvic acid)

خطوات عمل اختبار فوجس بروسكاور:

١. تلقيح أنبوب اختبار يحتوي على وسط فوجز بروسكاور بكمية من لقاح البكتيريا المراد اختبارها.
٢. حضانة الأنبوب عند ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة.
٣. إضافة ٠.٥ مل من محلول الهيدروكسيل امين (١%) إلى الأنبوب.
٤. خلط محتويات الأنبوب جيداً.
٥. إضافة ٠.٥ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) 40% إلى الأنبوب.
٦. خلط محتويات الأنبوب جيداً.
٧. ملاحظة لون الأنبوب بعد ٥-١٠ دقائق.

النتائج:

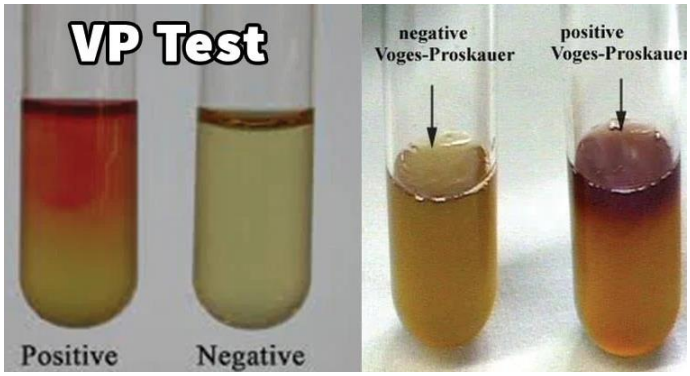
- إيجابية :ظهور لون أحمر في الأنبوب.
- سلبية :عدم ظهور لون أحمر في الأنبوب.

تفسير النتائج:

- **النتيجة الإيجابية :تدل على قدرة البكتيريا على إنتاج الأستوأسيتون (acetoin)من البيروفيك أسيد (pyruvic acid)**
- **النتيجة السلبية :تدل على عدم قدرة البكتيريا على إنتاج الأستوأسيتون (acetoin)من البيروفيك أسيد (pyruvic acid)**

ملاحظة:

- **قد تختلف مدة الحضانة وتركيز المحاليل المستخدمة في بعض المراجع.**
- **يجب اتباع تعليمات السلامة عند التعامل مع المواد الكيميائية.**



شكل (٥) : اختبار فوجز بروسكاور(Voges-Proskauer Test)

٢. اختبار المثيل الاحمر (Methyl Red Test):

الهدف:

- الكشف عن قدرة البكتيريا على إنتاج **الحامض** القوي من **الكربوهيدرات**.

المبدأ:

- يعتمد اختبار المثيل الاحمر على تغيير لون **كاشف المثيل الاحمر** (methyl red indicator) من **اللون الأصفر** إلى **اللون الأحمر** عند انخفاض **درجة الحموضة** (pH) إلى **٤.٤** أو أقل.

المواد والأدوات:

- وسط ماء الببتون (peptone water)
- أنابيب اختبار
- معقمات
- حقنة
- ماصة
- محلول الأحمر الميثيلي (٠.٠٤%)

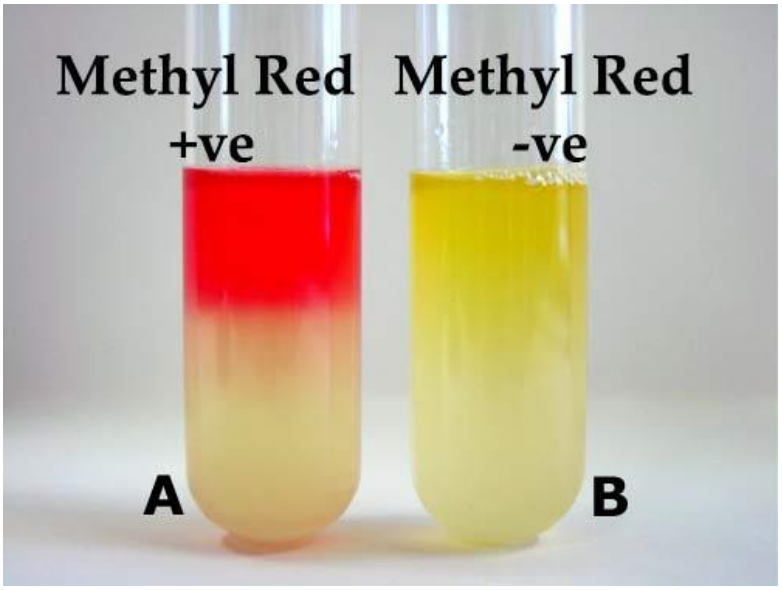
طريقة العمل:

١. **تلقيح أنبوب اختبار يحتوي على وسط ماء الببتون بكمية من بكتيريا الإشريكية القولونية.**
٢. **حضانة الأنبوب عند ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة.**
٣. **إضافة ٥ قطرات من محلول الأحمر الميثيلي (٠.٠٤%) إلى الأنبوب.**
٤. **خلط محتويات الأنبوب جيداً.**

٥. **ملاحظة لون الأنبوب.**

النتائج:

- **إيجابية:** ظهور لون أحمر في الأنبوب.
- **سلبية:** عدم ظهور لون أحمر في الأنبوب.



شكل (٦) : اختبار المثيل الاحمر (Methyl Red Test)

جدول يبين بعض نتائج الفحوصات المختبرية لبكتريا *E.coli*

Test	Result
Motility	Motile
Indole	Positive (+ve)
MR (Methyl Red)	Positive (+ve)
VP (Voges Proskauer)	Negative (-ve)
Citrate	Negative (-ve)
TSIA (Triple Sugar Iron Agar)	Acid/Acid, Gas +ve
Gram stain	Negative (-ve)
Capsule	Capsulated
Urease	Negative (-ve)

المصادر:

- Tortora, G. J., Funke, B. R & ،.Case, C. L. (2016). Microbiology: An introduction (12th ed.). Pearson.
- Jawetz, E., Melnick, J. L & ،.Adelberg, E. A. (2018). Medical microbiology (27th ed.). McGraw-Hill Education.
- Baron, S & ،.Miller, J. M. (2019). Baron's medical microbiology (5th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston.