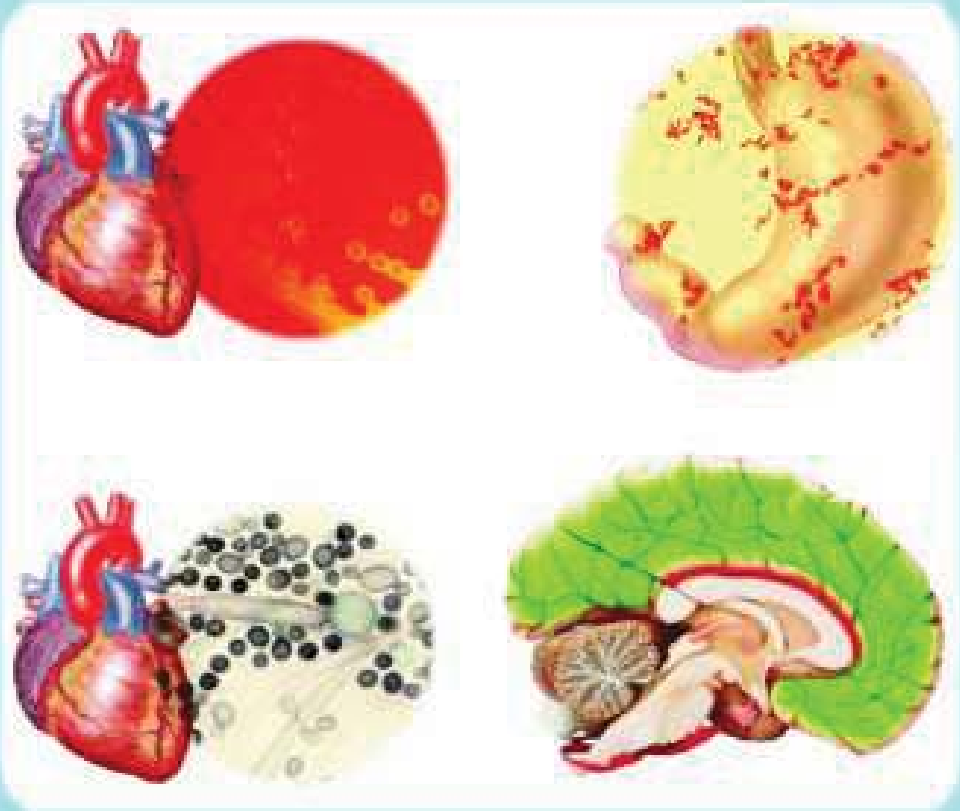
پوهنتون طبی کابل

مایکروبیولوژی طبی

جلد اول



پوهاند دوکتور عبیدالله عبید

۱۳۹۱

© AAZEM PUBLICATIONS

© AAZEM PUBLICATIONS

وزارت تحصیلات عالی
پوهنتون طبی کابل
معاونیت علمی
دیپارتمنت مایکروبیولوژی

مایکروبیولوژی طبی
جلد اول

© AAZEM PUBLICATIONS

تألیف:
پوهاند دوکتور عبیدالله عبید

۱۳۹۱

نام کتاب مایکروبیولوژی طبی جلد اول
مؤلف پوهاند دوکتور عبیدالله عبید
ناشر پوهنتون طبی کابل
ویب سایت www.kmu.edu.af
چاپ مطبعهٔ عازم، کابل، افغانستان / ۰۷۹۹۵۷۲۸۱۷
تعداد ۲۰۰۰ جلد
سال ۱۳۹۱
داونلود www.ecampus-afghanistan.org

کتاب هذا توسط انجمن همکاریهای اکادمیک آلمان (DAAD) از بودیجه وزارت خارجه فدرالی آلمان تمویل شده است.

امور اداری و تخنیکی کتاب توسط مؤسسه افغانیک انجام یافته است.

مسؤولیت محتوا و نوشتن کتاب مربوط نویسنده و پوهنتون مربوطه می باشد، ارگان های کمک کننده و تطبیق کننده مسؤول نمی باشند.

© AAZEM PUBLICATIONS

اگر می خواهید که کتابهای درسی شما چاپ گردد، با ما به تماس شوید:
داکتر یحیی وردک، وزارت تحصیلات عالی، کابل
دفتر: ۰۷۵۶۰۱۴۶۴۰
ایمیل: wardak@afghanic.org

چاپ این کتاب به تعداد ۲۰۰۰ جلد به موافقه مؤلف و انتشارات عازم صورت گرفته است.
تمام حقوق نشر و پخش این کتاب نزد **انتشارات عازم** محفوظ است.

بسم الله الرحمن الرحيم

©

© AAZEM PUBLICATIONS

پیـــام
وزارت تحصیلات عالی

در جریان تاریخ بشریت کتاب برای کسب علم و دانش نقش عمده را بازی کرده و جز اساسی پروسه درسی بوده که در ارتقای کیفیت تحصیلات دارای ارزش خاص می‌باشد. از اینرو باید با در نظرداشت ستندردها و معیارهای شناخته شده جهانی و ضروریات جوامع کتب و مواد درسی جدید برای محصلین آماده و چاپ گردد.

از اساتید محترم مؤسسات تحصیلات عالی کشور قلباً اظهار سپاس و قدردانی می‌نمایم که با تقبل زحمات در جریان سال‌های متمادی با تألیف و ترجمه کتب درسی دین ملی خود را ادا نموده اند. از سایر اساتید و دانشمندان گرانقدر نیز صمیمانه تقاضا می‌نمایم که در رشته‌های مربوطه خود کتب و سایر مواد درسی را تهیه نمایند، تا بعد از چاپ در دسترس محصلین گرامی قرار داده شوند.

وزارت تحصیلات عالی وظیفه خود می‌داند تا جهت ارتقای سطح دانش محصلین عزیز کتب و مواد درسی جدید و معیاری را آماده نماید.

در اخیر از وزارت خارجه کشور آلمان، مؤسسه DAAD، سایر ادارات و اشخاصی که زمینه چاپ کتب طبی اساتید محترم پوهنځی‌های طب کشور را مهیا ساخته اند، صمیمانه تشکر می‌نمایم.

امیدوارم که این کار سودمند ادامه یافته و به سایر بخش‌ها نیز گسترش یابد.

با احترام
پوهاند دوکتور عبیدالله عبید
وزیر تحصیلات عالی
کابل، ۱۳۹۱

© AZEM PUBLICATIONS

© AAZEM PUBLICATIONS

چاپ کتب درسی پوهنځی‌های طب

استادان گرامی و محصلین عزیز!

کمبود و نبود کتب درسی در پوهنتون‌های افغانستان از مشکلات عمده به شمار می‌رود. محصلین و استادان با مشکلات زیاد روبرو می‌باشند. آنها اکثراً به معلومات جدید دسترسی نداشته و از کتاب‌ها و چپترهای استفاده می‌نمایند که کهنه بوده و در بازار به کیفیت پایین فوتوکاپی می‌گردد.

برای رفع این مشکلات در دو سال گذشته ما چاپ کتب درسی پوهنځی‌های طب پوهنتون‌های کشور را آغاز نمودیم و تا اکنون ۶۰ عنوان کتب درسی را چاپ نموده و به تمام پوهنځی‌های طب افغانستان ارسال نموده ایم.

این در حالی است که پلان ستراتیژیک وزارت تحصیلات عالی (۲۰۱۰ – ۲۰۱۴) کشور بیان می‌دارد:

«برای ارتقای سطح تدریس، آموزش و آماده‌سازی معلومات جدید، دقیق و علمی برای محصلان، باید برای نوشتن و نشر کتب علمی به زبان‌های دری و پشتو زمینه مساعد گردد. برای ریفورم در نصاب تعلیمی ترجمه از کتب و مجلات انگلیسی به دری و پشتو حتمی و لازمی می‌باشد. بدون امکانات فوق ناممکن است تا محصلان و استادان در تمامی بخش‌ها به پیشرفت‌های مدرن و معلومات جدید زودتر دسترسی بیابند.»

استادان و محصلین پوهنځی‌های طب با مشکلات زیاد مواجه اند. تدریس به میتود کهنه، عدم دسترسی به معلومات و مواد جدید درسی و استفاده از کتب و چپترهای که به کیفیت بسیار پایین در بازار دریافت می‌گردد از جمله مشکلات عمده در این راستا می‌باشد. باید آن عده از کتاب‌هایی که توسط استادان تحریر گردیده اند، جمع‌آوری و چاپ گردند. با درنظرداشت حالت بحرانی کشور جنگ زده، ما به دوکتوران ماهر و ورزیده نیاز داریم تا بتوانند در بهبود و ارتقای تحصیلات طبی و صحت عامه در کشور سهم فعال بگیرند. از اینرو باید توجه زیادتر برای پوهنځی‌های طب جلب گردد.

تا به حال ما به تعداد ۶۰ عنوان کتب مختلف طبی برای پوهنځی‌های طب ننگرهار، خوست،

© AZEM PUBLICATIONS

هرات، کندهار، بلخ، هرات و کابل را چاپ نموده ایم و پروسه چاپ ۵۰ عنوان دیگر جریـان دارد که یک نمونه آن همین کتابی است که فعلاً در دسترس شما قرار دارد. قابل یادآوری است کـه تمام کتب چاپ شده مذکور بصورت مجانی برای پوهنځی‌های طب کشور توزیع گردیده اند.

به اثر درخواست وزارت محترم تحصیلات عالی، پوهنتون‌هـا، اسـتادان محتـرم و محـصلین عزیز در آینده می‌خواهیم این پروگرام را به بخش‌های غیر طبی (ساینس، انجنیـری، زراعـت و سایر بخش‌هـا) و پـوهنځی‌هـای دیگـر هـم توسـعه دهـیم و کتـب مـورد نیـاز پوهنتـون‌هـا و پوهنځی‌های مختلف را چاپ نماییم.

از آنجاییکه چاپ نمودن کتب درسی یک پروژه پروگرام ما بوده، بخش‌های کاری دیگـر مـا بطور خلاصه قرار ذیل اند:

۱- چاپ کتب درسی طبی

کتابی که در اختیار شما است، نمونه از فعالیت‌های ما می‌باشد. ما می‌خواهیم که این روند را ادامه دهیم تا بتوانیم در زمینه تهیه کتب درسی با پوهنتون‌های کشور همکاری نمـاییم و دوران چپتر و لکچرنوت را خاتمه دهیم و نیاز است تا برای مؤسسات تحصیلات عالی کشور سالانه به تعداد ۱۰۰ عنوان کتاب درسی چاپ گردد.

۲- تدریس با میتود جدید و وسایل پیشرفته

در جریان سال ۲۰۱۰ توانستیم در تمام صـنوف درسـی پـوهنځی‌هـای طـب بلـخ، هـرات، ننگرهار، خوست و کندهار پروجکتورها را نصب نماییم. برای ایجاد محیط مناسـب درسـی بایـد تلاش گردد که تمام اطاق‌های درسی و کنفرانس و لابراتوارها مجهز به مولتی‌میدیا، پروجکتـور و سایر وسایل سمعی و بصری گردند.

۳- ارزیابی ضروریات

وضعیت فعلی (مشکلات موجوده و چلنج‌های آینده) پوهنځی‌های طب باید بررسـی گـردد و به اساس آن به شکل منظم پروژه‌های اداری، اکادمیک و انکشافی به راه انداخته شوند.

۴- کتابخانه‌های مسلکی

باید در تمام مضامین مهم و مسلکی کتب به معیارهای بین‌المللی به زبان انگلیسی خریداری و به دسترس کتابخانه‌های پوهنځی‌های طب قرار داده شود.

© AZEM PUBLICATIONS

۵- لابراتوارها

در پوهنځی‌های طب کشور باید در بخش‌های مختلف لابراتوارهای فعال وجود داشته باشد.

۶- شفاخانه‌های کدری

هر پوهنځی طب کشور باید دارای شفاخانه کدری باشد و یا در یک شفاخانه شرایط برای ترینگ عملی محصلین طب آماده گردد.

۷- پلان ستراتیژیک

بسیار مفید خواهد بود که هر پوهنځی طب در چوکات پلان ستراتیژیک پوهنتون مربوطه خود دارای یک پلان ستراتیژیک پوهنځی باشد.

از تمام استادان محترم خواهشمندیم که در بخش‌های مسلکی خویش کتب جدید تحریر، ترجمه و یا هم لکچرنوت‌ها و چپترهای خود را ایدیت و آماده چاپ نمایند. بعداً در اختیار ما قرار دهند، تا به کیفیت عالی چاپ و به شکل مجانی به دسترس پوهنځی‌های مربوطه، استادان و محصلین قرار داده شود.

همچنان در مورد نکات ذکر شده پیشنهادات و نظریات خود را به آدرس ما شریک ساخته تا بتوانیم مشترکاً در این راستا قدم‌های مؤثرتر را برداریم.

از محصلین عزیز نیز خواهشمندیم که در امور ذکر شده با ما و استادان محترم همکاری نمایند.

از وزارت محترم خارجه آلمان و مؤسسه DAAD (همکاری‌های اکادمیک آلمان) اظهار سپاس و امتنان می‌نماییم که تا اکنون چاپ 90 عنوان کتب طبی درسی را به عهده گرفته که از آن جمله پروسه چاپ ۵۰ عنوان آن جریان دارد. از پوهنځی طب پوهنتون ماینز آلمان (Mainz/Germany) و استاد پوهنځی مذکور دوکتور زلمی توریال، Dieter Hampel و مؤسسه افغانیک نیز تشکر می‌کنیم که در امور اداری و تخنیکی چاپ کتب با ما همکاری نمودند.

© AZEM PUBLICATIONS

بطـور خـاص از دفـاتر جـی آی زیـت (GIZ) و CIM (Center for International Migration and Development) یا مرکز برای پناهنده‌گی بین‌المللی و انکـشاف کـه بـرای من امکانات کاری را طی دو سال گذشته در افغانستان مهیا ساخته است، اظهار سپاس و امتنـان می‌نمایم.

از دانشمند محترم پوهاند دوکتور عبیدالله عبید وزیر تحصیلات عالی، محترم پوهنوال محمد عثمان بابری معیین علمی وزارت، محترم پوهندوی دوکتور گـل حـسن ولیـزی معیـین اداری و مالی، رؤسای محترم پوهنتون‌ها، پوهنځی‌های طب و استادان گرامی تشکر می‌نماییم که پروسه چاپ کتب درسی را تشویق و حمایت نمودند.

همچنان از همکاران محترم دفتر هرکدام دوکتور محمد یوسف مبارک، عبدالمنیر رحمـانزی، احمد فهیم حبیبی، سبحان‌الله و همت‌الله نیز تشکر می‌نمایم که در قسمت چـاپ نمـودن کتـب همکاری نمودند.

داکتر یحیی وردک، وزارت تحصیلات عالی
کابل، نومبر سال ۲۰۱۲ م
نمبر تیلیفون دفتر: ۰۷۵۶۰۱۴۶۴۰
ایمیل آدرس: wardak@afghanic.org
textbooks@afghanic.org

© AAZEM PUBLICATIONS

فهرست مطالب

موضوع	صفحه
مقدمه	
تاریخچه	۳
بخش اول: اساسات مایکروبیولوژی	
فصل اول: مورفولوژی مایکرواورگانیزم‌ها	۱۳
تعریف مایکروبیولوژی	۱۳
پروکاریوت‌ها	۱۷
اسکال اساسی مایکروب‌ها	۲۱
میتود بصری	۲۴
ساختمان حجرات ایوکاریوت‌ها	۲۸
ساختمان حجرات پروکاریوت‌ها	۳۰
پروتوپلاست‌ها و سفیر و پلاست‌ها	۵۲
اشکال L باکتری‌ها	۵۳
اندوسپورها	۵۹
تلوین	۶۳
تصنیف باکتری‌ها	۷۴
تصنیف پنج کنگدم	۸۱

© AAZEM PUBLICATIONS

فصل دوم: فزیولوژی مایکرواورگانیزم‌ها ۸۳
ترکیب بیوشیمیک حجره باکتری ۸۳
وسط غذایی ۸۷
تکثر و نموی مایکرواورگانیزم‌ها ۹۴
اوصاف کشت باکتری ۱۰۳
تنفس مایکرواورگانیزم‌ها ۱۱۳
تجرید مایکرواورگانیزم‌ها در کلچر خالص ۱۱۸
انزایم‌های مایکرواورگانیزم‌ها ۱۲۰
انتی بیوگرام ۱۲۵

فصل سوم: مایکروبیل فلورانارمل وجود انسان ۱۴۱
رول فلورای ثابت ۱۴۱
فلورای نارمل جلد ۱۴۲
فلورای نارمل دهن و طرق تنفسی علوی ۱۴۳
فلورای نارمل امعأ ۱۴۳
فلورای نارمل احلیل ۱۴۴
فلورای نارمل مهبل ۱۴۴
فلورای نارمل چشم ۱۴۵

فصل چهارم: انتانات ۱۴۷
توکسین‌های مایکروبی ۱۴۹
اندوتوکسین ۱۵۱
اکزوتوکسین ۱۵۱
سیر یک مرض انتانی ۱۵۲
اشکال کلینیکی انتانات ۱۵۶
شدت انتشار امراض انتانی ۱۵۸

© AAZEM PUBLICATIONS

فصل پنجم: علم معافیت ۱۵۹
میکانیزم عکس‌العمل‌های غیر وصفی ۱۶۳
میکانیزم عکس‌العمل‌های وصفی ۱۷۱
نقش جنتیک در معافیت ۱۷۷
واکسنیشن ۱۷۸
انتی‌جن ۱۸۲
انتی‌بادی ۱۹۱
معافیت حجروی ۲۰۳
تعاملات معافیتی و اهمیت عملی آن ۲۰۹
انتی توکسین‌ها و تست نیوترولایزیشن ۲۱۰

فصل ششم: حساسیت ۲۳۱
تظاهرات موضعی انافلکسی ۲۳۲
فرط حساسیت ۲۳۳
عکس‌العمل ناکافی معافیتی بر علیه عوامل انتانی ۲۳۸

فصل هفتم: جنیتیک مایکروب‌ها ۲۳۹
ساختمان DNA ۲۴۰
ساختمان RNA ۲۴۱
وظایف کروموزوم ۲۴۲
تغییرات فینوتایپیک و جینوتایپیک ۲۴۴
انجنیری جینیتیک مایکروب‌ها ۲۴۹

فصل هشتم: تداوی ضد مایکروبی ۲۵۱
استعمال لابراتواری انتی‌بیوتیک‌ها ۲۵۲
تست حساسیت انتی بیوتیک‌ها ۲۵۳
تعیین اندازه انتی‌بیوتیک‌ها در مایعات عضویت ۲۵۴
وقایه امراض انتانی توسط مواد کیمیاوی ۲۵۶

© AAZEM PUBLICATIONS

فصل نهم: انتانات مرضی سیستم‌های مختلف عضویت انسان: ۲۶۱
انتانات سیستم عصبی مرکزی ۲۶۱
انتانات سیستم لمف و خون ۲۶۳
انتانات سیستم معدی معایی ۲۶۵
انتانات سیستم بولی تناسلی ۲۶۷
انتانات جلد و اقسام رخوه ۲۶۸
انتانات سیستم تنفسی ۲۷۰
مآخذ

© AAZEM PUBLICATIONS

مقدمه

خداوند عزوجل را سپاس بی‌پایان که بنده را توفیق عنایت فرمود تا تألیف کتاب درسی دست داشته را که از طرف دیپارتمنت مایکروبیولوژی با تائید شورای علمی منحیث یک اشد ضرورت دیپارتمنت برای تدریس محصلان صنوف دوم پوهنحی‌های طب معالجی، اطفال و منحیث اثر اصلی این جانب برای ترفیع رتبه علمی ام از رتبه پوهنوال به رتبه پوهاند برایم وظیفه سپرده شده بود، به پایان برسانم. از آنجائیکه موجودیت کتاب درسی در شرایط فعلی که دسترسی به مأخذ معتبر و وارد بودن به یکی از لسان‌های خارجی برای هر محصل مقدور نیست، ضروری پنداشته می‌شود تا دیپارتمنت جهت رفع این معضله کتاب درسی داشته باشد، تا استاد و محصل بتواند از آن جهت حل معضلات شان منحیث یک کتاب درسی استفاده نمایند. تاکنون دیپارتمنت مایکروبیولوژی کتاب مکملی که در هر دو سمستر تدریس شود نداشت، که از لکچر نوت‌ها استفاده می‌گردید. خوشبختانه به یاری ایزد متعال اینک کتاب مکمل درسی مضمون مایکروبیولوژی تهیه و به دسترس محصلان عزیز قرار داده می‌شود.

ما در جهان مملو از مایکرواورگانیزم‌ها مختلفه زیست می‌نمائیم که بعضی از این مایکروب‌ها برای انسان‌ها ایجاد بیماری می‌نمایند، که حتی حوادث ناگوار را که حیات مریضان را تهدید می‌نمایند، در قبال دارد. بناً دانستن مایکروبیولوژی طبی برای اهل طب از ضرورت‌های مهم به شمار می‌رود.

هویداست که انکشاف مایکروبیولوژی ارتباط ناگستنی با دیگر شعبات طبابت دارد و کشفیات در بخش‌های مختلفه علوم طب با تحولات و پیشرفت‌های در عرصه مایکروبیولوژی توأم می‌باشد. براساس این دست آورد، کتاب جدید مایکروبیولوژی مطابق به آخرین تحولات علم طب تحریر و تغییرات معاصر مدنظر گرفته شده است.

مطالب این کتاب مطابق مفردات جدید درسی محصلین پوهنتون طب کابل بوده و از طرف دیگر تجارب نشاندهنده آنست که امراض مختلف مایکروبی نظر به شرایط محیطی و یا سایر معیارات در مناطق مختلف شیوع متفاوت داشته و ایجاب می‌نماید که در تحریر این کتاب به پتالوژی مملکت توجه خاص مبذول گردد، که این موضوع نیز در تحریر این کتاب در نظر گرفته شده است.

© AZEM PUBLICATIONS

این کتاب حاوی چهار بخش که عبارت از، اساسات مایکروبیولوژی، باکتریولوژی، وایرولوژی و مایکولوژی در سی و چهار فصل با داشتن تصاویر رنگه که خوبتر ذهن‌نشین محصلان عزیز می‌گردد، با استفاده از مأخذ جدید منجمله انترنیت به رشته تحریر در آمده و کوشش به عمل آمده تا در موارد عوامل مرضی، خصوصیات مایکروبیولوژیکی، پتوجنیزس، لوحه‌کلینیکی، تشخیص لابراتواری، تداوی و وقایه معلومات همه جانبه ارائه گردد.

مأخذ در متن به شکل تحریر گردیده، که صرف به داخل قوس نمبر مأخذ ذکر گردیده درحالیکه اشکال با مخفف ریفرینس (R) و نمبر ماخذ به داخل قوس نگاشته شده است.

از خوانندگان محترم این کتاب صمیمانه تقاضا می‌گردد تا کمبودی‌ها و کاستی‌های کتاب را به دیده اغماض نگریسته و نظریات اصلاحی خویش را به مؤلف ارسال دارند.

امیدوارم آرزوی را که بنده از زحمات و تلاش‌های شباروزی خود دارم و آن جز تربیه سالم اولاد وطن و اعتلای میهن عزیزم افغانستان نیست، بر آورده شده بتواند.

در خاتمه از رهنمائی‌های استادان محترم هر یک پوهاند دوکتور سید الف شاه "غضنفر"، پوهاند دوکتور محمد افضل "انور"، پوهاند دوکتور سید عبدالله "هاشمی" و پوهاند دوکتور حیات الله "حیات" ابراز سپاس و امتنان نموده و نیز از محترم داکتر اجمل "عازم" به پاس زحمات و اهتمام شان در ویرایش و طبع آن اظهار سپاس نمایم.

با احترام

پوهاند دوکتور عبیدالله "عبید"

© AAZEM PUBLICATIONS

تاریخچه مختصر علم مایکروبیولوژی

مایکرواورگانیزم‌ها پیشتر از سه قرن قبل کشف گردیده بودند اما الی اواسط قرن نـزدهم کـه مایکروبیولوژی در آن به علم تجربوی مبدل گردید، معلومات کمی در مورد مایکروب‌ها در دست بود. بعد از اواسط قرن نزدهم، الی‌الحال، پیشرفت‌های فزاینده‌یی درین عرصه صورت گرفته کـه همچنان ادامه دارد.

حیوانات کوچک لیون هوک

انتونی لیون هوک، تجار هالندی، نخستین شخصی بود کـه مایکرواورگـانیزم‌هـا را مـشاهده نمود. وی بصورت تفریحی مایکروسکوپ‌های کوچک را می‌ساخت. بعد ازینکه از طریق عدسـیه مایکروسکوپ دستی خود مشاهدات انجام داد، وی عالم مخلوقات غیر مرئی را مشاهده نمود که نام آنها را حیوانات کوچک گذاشت. این حیوانات کوچک در هر جا موجود بودند، در قطرات آبی، در خاک و در نمونه های حاصله از خراشیدن دندان ها. وی در سـال ۱۶۷۴مـیلادی رسـم‌هـای مفصلی را در مورد کشفیات خود بـه جمعیـت شـاهی لنـدن فرسـتاد. همـه رسـم هـا و ۹ پایـه مایکروسکوپ از جمله ۵۰۰ مایکروسکوپ های دست ساخته وی هنـوز هـم موجـود انـد. قـوی ترین مایکروسکوپی که توسط وی ساخته شده بود، دارای بزرگ نمایی به انـدازه ۲۶۶ بـود کـه می‌توانست باکتری‌های نسبتاً کوچک را به اندازه نقطه معمول در کلمات، نشان دهـد. امـا بـا در نظرداشت تفصیلات موجود در رسم‌های وی، می‌توان گفـت کـه وی بایـد مایکروسـکوپ‌هـای قوی‌تری را ساخته باشد که مفقود گردیده اند.

البته وی اولین شخصی نبود که مایکروسکوپ ها را بسازد اما وی مایکروسکوپ‌های دسـتی بهتری ساخت و با مهارت بیشتر از آن استفاده به عمـل آورد. وی بـا حـسادت از مایکروسـکوپ خود که دارای عدسیه واحد بود، استفاده به عمل می آورد و مایکروسکوپ‌هـای مرکـب همـان زمان را استعمال نکرد. وی از فروش مایکروسکوپ‌های خود امتناع بعمل آورده و نیز دیگـران را در مورد آن آموزش نداد. در نتیجه الی ۲۰۰ سال دیگرهم کـسی نتوانـست مایکروسـکوپ‌هـای قوی مانند وی تهیه نماید.

© AZEM PUBLICATIONS

هوک و نظریه حجروی

زمانیکه لیون‌هوک رسم های خود را به جمعیت شاهی لندن فرستاد، رابرت هـوک متـصدی سـامان آلات جمعیت بوده و با مایکروسکوپ مرکب تجارب خود را انجـام میـداد. آلات هـوک می‌توانست ۳۰۰ الی ۵۰۰ مرتبه بزرگنمایی داشته باشد، اما تصاویر آن توسط حلقات ملونـه نـور تحت پوشش قرار می‌گرفت. بناءً نمی‌توانست موجودات کوچک چون باکتری ها را ببیند. اما وی کاغذ کارک را تحت مایکروسکوپ قرار داده و آنرا به نام حجرات مسمی نمـود کـه ماننـد خانـه زنبور به مشاهده می رسید. این کشف باعث به میان آمدن نظریه حجروی گردید که بـه اسـاس آن حجرات واحد اساسی و وظیفوی همه موجودات حیه دانسته شد.

تخلیق بنفسه (خودی)

در زمانی که لیون‌هوک مایکرواورگانیزم‌ها را در هالند مشاهده مـی نمـود عـالم دیگـری در ایتالیا حادثه مهم دیگری را کشف نمود: در سال ۱۶۶۵ میلادی، فرانسسکو ریدی اثبات نمود که تخلیق خودی موجودات ماکروسکوپیک ممکن نمی‌باشد. به عباره دیگر، موجودات زنـده از مـواد غیر حیه بوجود نمی آیند. وی تجربه خود را با جارهای مستور و غیر مـستور گوشـت انجـام داد که کرم های گوشت صرف در بوتلی به میان آمد که سر آن باز بود و قابل تمـاس مگـس قـرار داشت. یعنی مگس ها با گوشت تماس حاصل نموده و در آن تخم گذاری می کردند. وی ثابـت نمودکه موجودات حیه صـرف از موجـودات حیـه موجـود قبلـی، بـه میـان مـی آینـد. بـا آنهـم مایکرواورگانیزم‌ها بحیث استثنا این قانون تلقی می گردید. مایکروب‌ها به سرعت و به تعداد زیاد بعد از مرگ نباتات یا حیوانات تظاهر می نمودند. آیا مایکروب‌ها باعث تجزیه decomposition می گردند و یا اینکه decomposition باعث به میان آمدن مایکروب‌ها می‌گردد؟ سـوالی بـود که هنوز به حل نیاز داشت.

نیدهام و سپالانزانی

مسئله تخلیق خودی برای هشتاد سال بصورت متنازع باقی مانده بود اما بعد از آن طرفداران نظریه تخلیق خودی غالب به نظر رسیدند. در سـال ۱۷۴۵ میـلادی، روحـانی انگلیسی بـه نـام جان نیدهام تجربه یی را جهت حل این منازعه پیشنهاد نمود. هر کس میدانست که جوش دادن

© AAAEM PUBLICATIONS

سبب مرگ مایکروب‌ها می‌گردد. بناءً وی broth مرغ را جوش داده و آنرا در فلاسک انداخته، و سرپوش فلاسک را مسدود می نمود. اگر مایکروب‌ها نمو میکردند، یگانه سبب آن تخلیق خودی بود. عملاً طی این تجربه مایکروب‌ها رشد نمودند. اما عالم ایتالوی به نام لازارو سپالانزانی به این تجربه اکتفا ننمود. وی معتقد بود که شاید مایکروب‌ها بعد از جوش دادن اما قبل از مسدود نمودن فلاسک مداخله نموده باشند. بناءً وی broth را در فلاسک انداخته، آنرا مسدود ساخت و هوای فلاسک را تخلیه نمود. بعداً آنرا جوش داد که مایکروب‌ها نمو نکردند. کسانی که برین دریافت انتقاد داشتند، معتقد بودند که این تجربه صرف اثبات نمود که در عدم موجودیت هوا تخلیق خودی صورت گرفته نمی‌تواند.

تجربه تاریخی پاستور

تنازع فوق الی صد سال دوام نمود. بالاخره اکادمی ساینس فرانسه در سال ۱۸۵۹ میزبانی مسابقه یی را به عهده گرفت که طی آن تیوری تخلیق خودی یا رد آن، باید اثبات می گردید. لویی پاستور که کیمیادان فرانسوی بود، وارد صحنه گردیده و از فلتر های باید استفاده می نمود که هوا را اجازه عبور داده اما مایکروب‌ها را اجازه عبور ندهد تا تیوری مبنی بر لزومیت هوا برای تخلیق خودی را فیصله نماید.

موصوف در معروفترین تجربه خود، broth گوشت را در فلاسک جوش داده و بعداً عنق فلاسک را تحت شعله آتش طویل و منحنی ساخت (که مانند عنق قاز ها شکل داشت). و بدین ترتیب محتوی فلاسک به هوا ارتباط داشت. زمانیکه وی تجربه خود را انجام داد، مایکروب‌ها رشد ننمودند، اما وقتیکه موصوف فلاسک را طوری تغیر موقعیت داد که یک اندازه از محتوی آن با قسمت عنق در تماس گردید، بعد ازینکه فلاسک را بحالت اصلی خود گذاشت، broth دوباره به قسمت قاعده فلاسک برگشت نمود. بزودی دیده شد که محتوی فلاسک ابرآلود و مملو از مایکروب‌ها گردید. علت عدم تداخل مایکروب‌ها در حالت اولی به broth این بود که قوه جاذبه زمین باعث ته نشین شدن مایکروب‌های وارده از هوا در سطح سفلی قسمت عنق گردیده بود و زمانیکه با حرکت فلاسک محتوی آن به تماس این ناحیه در آمد باعث انتقال مایکروب‌ها از ین ناحیه به قسمت تحتانی فلاسک گردیده که سبب رشد مایکروب‌ها گردید. بناءً وی اثبات نمودکه تخلیق خودی مایکروب‌ها حتی در موجودیت هوا نیز صورت گرفته

© AAZEM PUBLICATIONS

نمی‌تواند و اینکه رشد مایکروب‌ها سبب تفسخ غذا و نیز نباتات و حیوانات مرده می‌گردد.

مؤفقیت پاستور قسماً به خوشبختی وی عطف شده می‌تواند چه علمای عدیده قبل از آن نتوانستند تخلیق خودی را رد نمایند، زیرا نمونه های آنان دارای اندوسپور های مقاوم حرارت بودند که در مقابل حرارت مقاوم و توسط جوش دادن تخریب نمی شوند. مخصوصاً در تجاربی که از broth نباتی استفاده میشد، بیشتر به ناکامی مواجه می گردید، زیرا نباتات بیشتر دارای انواع باکتری های می باشند که سپور های مقاوم حرارت را تولید می نمایند. Broth گوشت مانند تجربه پاستور به ندرت توسط اندوسپورها ملوث می‌گردد.

تجربه ساده اما مهم و تاریخی پاستور حقایق ساینسی را در مایکروبیولوژی بر ملا ساخت:

- هیچ موجود زنده به شمول مایکرواورگانیزم‌ها توسط تخلیق خودی بمیان آمده نمی‌تواند.
- مایکرواورگانیزم‌ها در همه جا موجود می‌باشد به شمول هوا، گرد و خاک.
- رشد مایکروب‌ها سبب تجزیه نباتات و حیوانات مرده و تخریب مواد غذایی می‌گردد.

© AZEM PUBLICATIONS

تیوری مایکروبی امراض

بعد از اینکه تخلیق خودی مایکروب‌ها رد گردید، انقلابی در علم مایکروبیولوژی رخ داد. یعنی مایکروبیولوژی از یک علم مشاهدوی به علم تجربوی تبدیل گردید. ساینسدانان می‌توانستند مسایل مغلقی را مورد توجه قرار دهند. بدین ترتیب تیوری مایکروبی امراض به میان آمد. رابرت کوخ، طبیب آلمانی با استفاده از کار های پاستور، اثبات نمود که نه تنها مایکروب‌ها سبب امراض می شوند، بلکه امراض بخصوص توسط مایکروب‌های معین به میان می آیند.

فرضیه کوخ

رابرت کوخ در سال ۱۸۷۶ مرض انتراکس را مطالعه می نمود. این مرض حیوانات و نیز انسانها را مصاب می سازد. وی دریافت که عامل سببی مرض در خون همه حیوانات مصاب به مرض قابل دریافت است. وی عامل سببی را کشت نموده (امروز به نام bacillus anthracis یاد می‌گردد.) که بصورت خالص خارج از عضویت منتن بدست آمد. وی بعداً حیوانات سالم را با

همان کلچر مرضی تزریق نموده که آن حیوانات نیز مانند حیوانات قبلی مصاب مرض گردیده و در خون آنها قابل دریافت بود. این چهار مرحله تیوری کوخ را تشکیل می دهد که حتی امروز هم قابل استفاده می باشند. به اساس این نظریه، مایکروب معینی عامل سببی مرض مشخصی می‌باشد. در ضمن مطالعه مرض انتراکس، رابرت کوخ تکنیک حصول و اجرای کشت خالص مایکروب‌ها را نیز به میان آورد. در کلچر خالص صرف نوع واحد باکتری موجود می‌باشد. کلچر های مختلط عبارت از کشت های اند که دارای انواع متعدد مایکروبی می باشند که نمونه های آن در طبیعت دیده می شود. اجرای تجارب بالای کشت های مختلط مشکل بوده و سبب اشتباهات می‌گردد اصلاً در گذشته ها همین کشت های مختلط بود که سبب به میان آمدن نظریه های خیالی در مورد دوران حیات مایکروب‌ها گردیده بود. ساینسدانان به همین اساس توضیحات ارائه نمودند که چگونه باکتری با مرور زمان شکل و اوصاف خود را در کشت تغییر می‌دهد مثلاً از اشکال مدور به اشکال طویل و حتی فنر مانند شکل خود را تغییر می دهد. در حقیقت این اشکال، نمایانگر انواع مختلف باکتری ها بود که در اوقات مختلف در وسط متبارز می بود و ناشی از کلچر های مختلط بود نه تغییر شکل یکنوع باکتری. فرضیه کوخ، حصول کلچر خالص و نیز معرفی ماده اگر توسط وی بحیث وسط کشت، تغییرات فوق‌العاده‌یی را در عرصه مایکروبیولوژی به میان آورد. از سال ۱۳۸۲ الی ۱۹۰۰ میلادی، تقریباً عوامل سببی همه امراضی که در آن زمان در اروپا معمول بود، کشف گردید مانند عامل سببی تایفس، دیزانتری، سفلیس، گونوریا، نومونیا و توبرکلوز که اخیرالذکر توسط شخص رابرت کوخ کشف گردید.

© AZEM PUBLICATIONS

معافیت

در صورتیکه مایکروب‌های معینی سبب امراض مشخص گردد، باید ممکن باشد تا امراض مایکروبی یا انتانی را کنترول نمود. برای این مأمول کافی بود تا عامل سببی مرض کنترول گردد بناءً مایکروبیولوژی در دو عرصه عمده پیشرفت نمود: اول، معافیت یا تحریک قابلیت خود عضویت تا با انتانات مقابله نماید و دوم، حفظ الصحه عامه تا پاکی و صفایی توسعه یافته و معروضیت به انتانات کاهش یابد.

از ازمنه های قدیم هویدا بود که آنانی که یکبار به عده از امراض مصاب می شدند، برای بار دوم در مقابل همان امراض مقاوم می بودند. بعضی از تغییرات محافظوی در بدن رشد می نمود

یا به عباره دیگر مایکروب‌ها باعث تولید معافیت شده می‌توانست. تولید معافیت توسط مایکروب‌های باید صورت گیرد که میزبان را در مقابل همان مایکروب معروض می سازد، اما شکل مایکروب تغییر یافته باشد و سبب تولید مرض نگردد.

شربت سازی هیس

رابرت کوخ اهمیت اجرای کلچر خالص را درک نمود، اما تطبیق آن مشکل بود. وی در تیوری می دانست که اگر حجره واحد باکتری تجرید و در سطح جامد کشت گردد، سبب تولید مجتمع متشکل از همان مایکروب خواهد شد (کالونی ها). این کشت، خالص خواهد بود زیرا از نوع واحد حجره منشأ گرفته اند. همچنان وی می دانست که برای نموی مایکروبی برای مواد مغذی نیاز موجود است. بدین منظور وی از مواد مختلفه مانند توته کچالو یا جلاتین را به کار برد. جلاتین خوب نتیجه داد اما در درجه حرارت پائینتر از ۳۷ درجه سانتی گراد ذوب گردیده و نمی‌توانست درین درجه که برای کشت اکثریت مایکروب‌های مرضی مساعد است، جامد بماند. همسایه کوخ، خانم فرا هیسی از این مشکل وی آگاه گردیده و از دستگاه شربت سازی ماده اگر را که محصول خزه های آبی می‌باشد، برای وی فراهم نمود. زمانیکه این ماده با مواد مغذی مانند broth گوشت ترکیب شود، بسیار برای کشت مناسب است زیرا در حرارت پائین تر از صد درجه سانتی گراد جامد می ماند. بدین وسیله کوخ توانست که کشت های خالص را به دست آرد و تحول عمده در مایکروبیولوژی به وقوع پیوندد.

© AAZEM PUBLICATIONS

جنر و مرض چیچک

ادوارد جنر که طبیب انگلیسی بود، دریافت که شیردوشانی که بصورت طبیعی انتان نسبتاً خفیف به نام cowpox را کسب نموده بودند، در مقابل مرض مهلک و سؤشکل دهنده به نام small pox مصؤون بودند. وی در سال ۱۷۹۶ از آبله های موجود در دست سارا نیلمز مصاب به cowpox مایعی را اخذ و در بدن طفل هشت ساله یی تلقیح نمود طفل به مرض اخیر الذکر مصاب گردید بعداً جنر مواد منتن با small pox را در بدن عین طفل تلقیح نمودکه سبب به میان آمدن هیچگونه عکس‌العملی نگردید. یعنی طفل در مقابل مرض چیچک معاف شده بود. کلمه واکسیاناسیون نیز مشتقی از کلمه واکا (لاتین) یا گاو می‌باشد. بدین ترتیب مرض چیچک تحت کنترول در آمد. اما جنر معلومات کافی نداشت تا واکسیناسیون در مقابل سایر امراض انتانی نیز تهیه نماید.

واکسین‌های نخست

پاستور به اساس کارهای انجام یافته توسط کوخ و جنر، اصول عمومی را ترتیب نمود که چگونه واکسین ها (عواملی که سبب تولید معافیت می شوند اما نه مرض) ساخته شده می‌تواند. پاستور نیز مانند کوخ بالای انترکس کار می کرد. در اوایل دهه ۱۸۸۰ وی در مورد کولرای پرنده گان تجاربی را اجرا می نمود و دریافت که تزریق مایکروب ضعیف شده کولرا در مرغهای سالم سبب محافظت آنها در مقابل کولرای پرنده گان می شد. وی ازین اصل برای ترتیب واکسین انترکس و نیز در سال ۱۸۸۵ برای سگ دیوانه استفاده به عمل آورد. تقریباً در عین زمان دو شخص امریکایی به نام های دانیل سلمان و تیوبالد سمیت بصورت تجربوی وانمود ساختند که برعلاوه مایکروب‌های ضعیف شده می‌توان از مایکروب‌های کشته شده نیز استفاده بعمل آورد که این کشفیات سبب تولید واکسین عده زیادی از امراض انتانی گردید.

حفظ الصحه عمومی

با کشف واکسین ها حیات هزاران انسان نجات یافت اما با بهبود حفظ الصحه عمومی، هرچه بیشتر در حفظ حیات انسان ها کمک کرد. قبل از نظریه مایکروبی امراض، آب های کثیف معمولاً با آبهای آشامیدنی مخلوط می گردید که با بهبود شیوه ها و میتود های دفع کثافات و تأمین آب پاک آشامیدنی از اپیدیمی های خطرناک کولرا وتب محرقه جلوگیری بعمل آمد. همچنان در عرصه تهیه و نگهداری مواد غذایی پیشرفت های به میان آمد که بالاخره پاستورایزیشن مثال آن است که با معروض نمودن کوتاه مدت مواد به حرارت، اکثریت مایکروب‌های مرضی از بین می روند، پاستور برای بار نخست این عملیه را جهت محافظت شراب از خراب شدن، اساس گذاشت. همچنان تیوری مایکروبی، سایر اقدامات محافظتی مانند شستن دست ها را تنبه نمود. حفظ الصحه عمومی بهتر، نه تنها سبب جلوگیری ازمایکروب‌های مرضی می‌گردد، بلکه سبب تقویه مدافعه عضویت درمقابل امراض نیز می‌گردد.

مایکروبیولوژی امروزی

اواخر قرن نزدهم عصر طلائی مایکروبیولوژی محسوب می‌گردد زیرا تغییرات و کشفیات چنان به سرعت واقع شدند که در نتیجه حیات را بصورت دراماتیک تغییر داد. در قرن بیستم چنین تغییرات کمتر بود. بدین منظور به عرصه های کیموتراپی، ایمیونولوژی، وایرولوژی و جنیتیک انجنیرنگ بازنگری می نماییم:

© AAZEM PUBLICATIONS

کیموتراپی

عمده ترین پیشرفت قرن بیستم عبارت از کیموتراپی یا تداوی انتانات با مواد کیمیاوی بود. در قرن نزدهم نیز علما شیوه های برای جلوگیری انتانات بوجود آوردند اما نمی‌توانستند آنرا تداوی نمایند. طبیب آلمانی پاول ایهرلیچ به نام پدر کیموتراپی یاد می‌گردد، زیرا وی برای اولین بار نظریه سمیت انتخابی selective toxicity را به میان آورد. یعنی ادویه باید به مقابل انتانات توکسیک ولی در مقابل عضویت انسان نسبتاً غیر مضر باشد. وی گفت که ادویه عبارت از مرمی‌های جادویی هستند که می‌توانند مایکروب‌ها را از بین ببرد. موصوف در سال ۱۹۰۸ میلادی اولین ادویه ضد مایکروبی را بر علیه عامل سببی سفلیس به میان آورد و نام آنرا salvarsan یا نجات دهنده گذاشت. الی بیست سال دیگر این یگانه دوای ضد مایکروبی کشف شده بود. بعد از این اولین فامیل عمده ادویه جات به نام sulfas کشف گردید که ابتداً صرف به منظور رنگ آمیزی استعمال میشد و بعداً بالاثر تحقیقات کمپنی Farben آلمانی در دهه ۱۳۹۰ بحیث مواد کیموتراپی نیز استفاده گردیدند.

انتی بیوتیک ها مواد کیموتراپی طبیعی اند که نخستین آن به نام پنیسلین در سال ۱۹۲۹ توسط عالم سکاتلندی به نام الکساندر فلیمینگ کشف گردید. اما بنابر مشکلات تخنیکی در تصفیه آن الی یک دهه دیگر نیز استعمال کلینیکی نداشت. در دهه ۱۹۴۰ درجریان جنگ دوم جهانی وجوه مالی تولید پنیسلین بدست آمد که این ادویه استعمال و به نام ادویه حیرت انگیز یاد شد.

© AAZEM PUBLICATIONS

تب زایمانی

در اواسط قرن نزدهم، دخول به شفاخانه جهت ولادت خطرناک بود. تعداد زیادی از زنان اطفال صحتمندی به دنیا آورده اما خود به زودی به بیماری خطر ناکی دچار می شدند که بالاخره از بین رفته و آرزوی بردن اطفال به خانه را بجا آورده نمی‌توانستند. امروز ما می دانیم که بیماری متذکره از باعث streptococcus pyogenes به میان آمده که نخست رحم را مبتلا و بعداً به تمام عضویت سرایت می نماید. اعراض آن تب، لرزه، هزیانات و بالاخره مرگ می‌باشد.

ایگناز سیمیل ویس در سال ۱۸۴۷ میلادی، طبیب شفاخانه ولادی ویانا بود. تعداد وفیات در زمان تصدی وی زیاد و نیز عجیب بود زیرا شفاخانه دو کلینیک ولادی داشت. در کلینیک اول محصلین مسؤول ولادت بوده و در دوم آن قابله ها موظف بودند. وفیات بصورت حیرت انگیز در

کلینیک اول زیاد بود. همه زنان ساعت ها در دهلیز انتظار می کشیدند و می خواستند به کلینیک دوم داخل گردند. موصوف ازین واقعه در تحیر افتاد و دریافت که انگشت یکتن از محصلین بریده شده و با عین اعراض تب زایمانی وفات نمود. وی دریافت که چون محصلین به تطبیقات اناتومی رفته بر اجساد کار می نمایند، ممکن عامل سببی تب زایمانی از اجساد توسط انگشت های محصلین انتقال یابد. وی همه محصلین را امر نمود تا بصورت منظم دستان خود را قبل از ورود به ولادت خانه با کلورین خوب بشویند. چون کلورین بوی اجساد را از بین می برد، وی فکر کرد که شاید مؤثر باشد، همینطور شد، کلورین عامل مرضی را از بین برده و فیصدی وفیات کلینیک اول مانند کلینیک دوم پائین آمد. اما همه وی را به استهزا گرفتند و تقریباً سه دهه بعدتر کوخ و پاستور دریافت های او را بصورت علمی توضیح داده اما افسوس که او تا آنوقت زنده مانده نتوانست و بصورت غیر معمول، از انتان سترپتوکوکال در سال ۱۸۶۴ فوت نمود.

ایمیونولوژی

در ایام پاستور و کوخ، این علم جز از مایکروبیولوژی بوده که نقش آن صرف تهیه واکسین‌ها برعلیه امراض انتانی بود، درحالیکه این علم در قرن اخیر بسیار تکامل نموده است.

وایرولوژی

این علم در سال ۱۸۹۲ با کشف وایرس tobacco mosaic توسط عالم روسی به نام دیمیتری ایوانوسکی آغاز گردید. وی این عامل مرضی را با مطالعه مرض موزایک تنباکو دریافت نمود. وی جهت تشخیص خود، جوس حاصله از نباتات مبتلا به مرض را از فلتری عبور داد که حتی کوچکترین باکتری را اجازه دخول نمی داد. محصول فلتر شده بازهم سبب تولید مرض گردید که وی عامل آنرا به نام وایرس های قابل فلتر نامید. این عوامل در سالهای ۱۹۳۰ با کشف الکترون مایکروسکوپ، قابل رویت گردید.

انجنیری جنیتیک

دو حقیقت عمده در مورد مایکروب‌ها در نیمه دوم قرن بیستم کشف گردیده که اول آن مشابهت نزدیک میتابولیزم و مشخصات جنیتیک مایکرواورگانیزم‌ها با حیوانات و نباتات بوده و دوم آن، مساعد بودن مایکرواورگانیزم‌ها برای تحقیقا ت تجربوی می‌باشد. مساعد بودن

© AZEM PUBLICATIONS

باکتری‌ها برای تحقیقات در سهولت کشت و سرعت انقسام آن نهفته است. یعنی عده از باکتری‌ها به سرعت یعنی هر ۲۰ دقیقه بعد یکبار انقسام می نمایند که در مدت کوتاهی تعداد باکتری‌های موجود در یک ملی لیتر مایع بیشتر از تعداد انسانان موجود درکره زمین می‌گردد.

Genetic engineering یا Recombinant DNA technology عبارت از تخینکی است که طی آن مواد جنیتیک یا DNA از یک موجود بیرون کشیده شده، در آن تغییرات وارد می‌گردد و دوباره به اورگانیزم دیگری داخل می‌گردد تا اثرات خویش را وارد کند. DNA از هر اورگانیزم حاصل شده می‌تواند و DNA موجودات مختلف باهم ترکیب شده می‌تواند. اورگانیزمی که بیشتر به حیث میزبان به این منظور استفاده می شود، عبارت از E. Coli می‌باشد که حتی برای سنتیز انسولین انسانی بکار می رود. این ساحه بسیار وسیع و تا حال تحقیقات در آن جریان دارد.

زمان آینده

مایکروبیولوژی بحیث علم تجربوی کمتر از صد سال عمر دارد. عرصه های باکتریولوژی و وایرولوژی آن هنوز هم ضرورت به انکشاف دارد. مثلاً مشکلات عایده از مقاومت در مقابل انتی‌بیوتیک ها و یا ظهور انواع جدید وایرس ها در اثر تغییرات تدریجی، حالاتی اند که باید مورد توجه قرار گیرد. همچنان کنترول امراض انتانی مشکلی است که هنوز در راستا این علم قرار دارد عده از علما به سنتیز انتی بیوتیک های جدید و عده هم به تقویه سیستم معافیتی اصرار دارند؛ باید تحقیقات بیشتری صورت گیرد و آنهم با استفاده از Recombinant DNA technology.

عرصه دیگری که مستلزم توسعه است عبارت از مایکروبیولوژی محیطی می‌باشد. ما عمدتاً بر bioremediation یا تصفیه مواد کیمیاوی توکسیک توسط مایکرواورگانیزم‌ها تأکید داریم.

بالاخره تعداد زیادی از مایکروب‌ها هنوز کشف، نامگذاری یا طبقه بندی نشده اند، که تحقیقات در آن جریان دارد، شما هم می‌توانید به مثابه دوکتوران و محققین مایکروبیولوژی در حدود توان تان سهم خود را درین عرصه ایفا نمایید.

© AAZEM PUBLICATIONS

فصل اول

مورفولوژی مایکرواورگانیزم‌ها

© AAZEM PUBLICATIONS

تعریف مایکروبیولوژی

مایکروبیولوژی از سه کلمه Micro به معنی کوچک و ذره بینی Bio حیه و Logous علم مشتق شده است و عبارت از علمیست که کلیه خصوصیات و مشخصات مایکروب‌ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد.

شعبات مایکروبیولوژی

۱- مایکروبیولوژی طبی
۲- مایکروبیولوژی صنعتی
۳- مایکروبیولوژی غذایی
۴- مایکروبیولوژی خاک
۵- مایکروبیولوژی آب
۶- مایکروبیولوژی نباتات

I- مایکروبیولوژی طبی

عبارت از مطالعه عامل (کلیه خصوصیات و مشخصات) امراض انتانی (هم از باکتریایی، فنگسی وایرسی و پرازیتی) می‌باشد. مایکروبیولوژی طبی از شعبات ذیل تشکیل گردیده است:

۱- باکتریالوژی: علمیست که خصوصیات و قابلیت مؤلدالمرضی باکتری‌ها را مطالعه می‌نماید.

۲- مایکولوژی: علم مطالعه فنگس‌ها را گویند.

۳- وایرولوژی: علمیست که تمام خصوصیات Virus ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد.

۴- پرازیتولوژی: علمیست که پرازیت های را که نزد انسانها ایجاد بیماری می‌نماید مورد مطالعه قرار می‌دهد.

۵- ایمینولوژی: علم مطالعه معافیت و مقاومت عضویت در مقابل مایکروب‌ها را گویند.

۶- جنیتیک: علمیست که خصوصیات ارثی و اختلاف میان نسلهای مایکروب‌ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد.

اساسات بیولوژیک که در مایکروبیولوژی توضیح می‌گردند

بیشترین تنوع بیولوژیک در مایکرواورگانیزم‌ها موجود می‌باشد. این‌ها موجوداتی اند که با چشم مستقیماً قابل رویت نمی‌باشند. تحلیل مایکرواورگانیزم‌ها از نگاه شکل و فعالیت مثلاً مشخصات بیوشمیک و یا میکانیزم‌های جنیتیک می‌تواند در مورد حیات معلومات فراهم نماید. فرضیه ساینسی مفید باید اساسی را برای (generalization) یا تعمیم تشکیل دهد و تنوع مایکروبی عرصه‌یی را تشکیل می‌دهد که این چالش دوامدار در آن موجود می‌باشد.

پیشگویی که نتیجه عملی ساینس را تشکیل می‌دهد، عبارت از دستآورد حاصله از یکجا نمودن تخنیک و تیوری می‌باشد. بیوشیمی و جنتیک وسایل تحلیل مایکرواورگانیزم‌ها را تشکیل می‌دهند.

مایکروبیولوژی به نوبه خود حدود اصول ساینسی فوق را توسعه می‌بخشد. بیولوژیست‌ها ممکن رابطه متقابل را که طی آن همه جوانب مستفید می‌گردد، Mutualism بگویند. اصطلاح بیولوژیک mutualism عبارت از symbiosis می‌باشد که وابسته گی مداومی را میان اورگانیزم‌های مختلف تشکیل می‌دهد. در صورتی‌که اصلاً یک جانب از رابطه منتفع گردد، چنین رابطه به نام parasitism یاد می‌گردد. Parasitism رابطه است که در آن نفع اصلی توسط میزبان برای پرازیت مهیا می‌گردد. مثلاً باکتریها و وایرس‌های پتوجنیک، که اکثراً ضرورت می‌باشد تا شرایط نمویی وجود میزبان را جهت کشت آن در لابراتوار مهیا نماید. این ضرورت بعضاً مشکل بزرگی را برای محققین ایجاد می‌نماید.

اصطلاحات اخیرالذکر (Mutualism-symbiosis- parasitism) مربوط به علم Ecology

© AAZEM PUBLICATIONS

می‌باشد و اساسات بیولوژی محیطی در مایکروبیولوژی توضیح گردیده است.

مایکرواورگانیزم‌ها تابع تکامل تدریجی بوده اند. پروسه تکامل تدریجی (Evolution) در نتیجه انتخاب طبیعی یک عده اورگانیزم‌های متنوع به‌میان آمده و نیز مهم می‌باشد تا مغلق بودن تاریخ طبیعی مایکرواورگانیزم‌ها را قبل از تصنیف مایکرواورگانیزم‌ها در نظر گرفت. مایکرواورگانیزم‌ها غیر متجانس ترین گروه مخلوقات زنده می‌باشند.

در تصنیفات بیالوژیک، Eukaryotes که دارنده هسته غشا دار می‌باشد و Prokaryotes که DNA آن به‌صورت فزیکی از سایتوپلازم تفکیک نمی‌گردد، مشتمل می‌باشد. بعداً در متن توضیح خواهد شد که تفاوت های دیگری نیز میان Eukaryotes و Prokaryotes موجود می‌باشد. مثلاً Eukaryotes دارای جسامت نسبتاً بزرگتر بوده و حاوی اورگانیل های غشا دار مانند مایتوکاندریا می‌باشند.

مایکروب‌های Eukaryote به نام پروتستها یاد می‌گردد و پروتستها مشتمل بر Algae، Protozoa، Fungi و Slime Molds می‌باشند.

Eukaryotes و Prokaryotes اورگانیزم‌ها اند؛ زیرا که همه انزایمهای لازم برای تکثر را دارا بوده و وسایل بیولوژیک لازم برای تولید انرژی میتابولیک را حایز می‌باشند؛ اما وایرس‌ها چنین نمی‌باشند؛ زیرا که جهت اجرای فعالیت‌های لازمی فوق به حجره میزبان متکی اند.

© AAZEM PUBLICATIONS

وایرس‌ها

خواص جداگانه وایرس‌ها آن‌ها را از سایر موجودات زنده مجزا می‌سازد. وایرس‌ها گروپ‌های غیر متجانسی می‌باشند که جهت تکثر خود به حجره میزبان متکی می‌باشند. می‌توان وایرس‌ها را استطاله‌های جنتیک میزبان دانست. تعاملات میان میزبان و وایرس بسیار وصفی می‌باشد و حدود بیولوژیک وایرس‌ها نشاندهنده ازدیاد در انواع حجرات ممکنه میزبان می‌باشند. وایرس‌ها با داشتن ستراتیژی‌های زیاد در عرصه تکثر و حیات، تنوع بیشتر را به خود کسب می‌نمایند.

وایرس متشکل از یک مالیکول نوکلیک اسید (DNA یا RNA) بوده که در محفظه پروتینی یا کپسید قرار دارد. پروتین‌های کپسید دار که اکثراً گلایکوپروتین‌ها بوده وصفی بودن تعامل میان وایرس و حجره میزبان را معین می‌سازد. کپسید نوکلیک اسید را محافظه نموده و

اتصال و دخول وایرس را به حجره میزبان مساعد می‌سازد. بعد از دخول وایرس به حجرات، نوکلیک اسید وایرس‌ها دستگاه انزایماتیک حجره میزبان را طوری تغییر می‌دهد تا فعالیت‌های مربوط به تکثر وایرس را انجام دهند. در بعضی حالات معلومات جنیتیک ناشی از وایرس به حیث DNA در کروموزوم حجره میزبان جا گرفته و در حالات دیگر معلومات جنیتیک وایرس به حیث اساس تولید حجروی عمل نموده و منجر به تولید کاپی‌های از وایرس می‌گردد. در این پروسه DNA وایرس کاپی شده و پروتین‌های مخصوص وایرس ساخته می‌شود. جهت اکمال رشد وایرس‌ها لازم است تا یونت‌های کوچک پروتینی و نوکلیک اسید با هم ترتیب گردیده و وایرس‌های کامل را به بار آورند. وایرس‌های متذکره بعداً وارد محیط خارج حجروی می‌گردند.

وایرس‌های مختلفه سبب منتن شدن عده زیادی از حیوانات و نباتات گردیده و نیز پروکریوت ها و اقلاً یک نوع از الجی‌ها را مصاب می‌سازد. اجسام مشابه وایرس‌ها که معلوم می‌شود در خارج حجره انسانی نمی‌باشد، در داخل فنجی ها و نیز در چندین نوع الجی‌ها دریافت شده اند.

عده ای از امراض ساری نباتی توسط موجوداتی به نام Viroids به‌وجود می‌آید. این‌ها از مالیکول‌های Single Stranded RNA ساخته شده و به‌شکل ساختمان‌های میله مانند به‌نظر می‌رسند. Viroid کپسید نداشته و وزن مالیکولی آن میان ۷۵۰۰۰ الی ۱۰۰۰۰۰ می‌باشد. معلوم نشده که آیا موجودات اخیرالذکر در داخل حجرات باعث تشکل پروتین می‌گردد. تکثیر حجرات VIROID از طریق RNA Polymerase متعلق به DNA صورت گرفته و تأثیر آن بالای همین انزایم ممکن باعث پتوجنیسیتی Viroids گردد.

RNA وایرویدها در نهایت خود دارای Inverted Repeated Base Sequences می‌باشد که یک مشخصه Transposable Elements و Retrovirus ها می‌باشد. بناً ممکن وایرویدها از Transposable Elements با حذف Sequence های داخلی به‌میان آمده باشد.

Scrapie که یک بیماری استحالوی سیستم عصب مرکزی گوسفندان می‌باشد، توسط عاملی به‌میان می‌آید که کمتر از ۵۰nm جسامت دارد و در مقابل نوکلیر ها و سایر مواد غیر فعال کننده نوکلیک اسیدها مقاوم بوده؛ اما توسط پروتین‌ها و سایر مواد تعامل کننده با پروتین‌ها غیر فعال می‌گردد. عامل انتانی آن به نام Prion یاد شده و با یک پروتین مشخصی به‌صورت مشترک خالص Purify می‌گردد؛ اما موجودیت نوکلیک اسید در داخل این موجود رد نگردیده است. جین کود دهنده برای تشکل Prion ها با استفاده از تخنیک‌های Recombinant DNA از دماغ موش لابراتواری به‌دست آمده است. جین متذکره و m RNA مربوطه آن در هردو حجرات سالم و حجرات منتن به Scrapie دیده می‌شود. سه نظریه در این مورد موجود است:

© AAZEM PUBLICATIONS

الف: Scrapie یک وایرس معمولی بوده که نوکلیک اسید آن بسیار کوچک بوده و بناً کشف نشده است.

ب: عامل مرضی RNA کوچک بوده که با تمایل زیاد با پروتین Prion یکجا شده و شکل پروتین اخیرالذکر را به‌شکل مرضی تبدیل می‌نماید.

ج: پروتین Prion به‌صورت خودی مرضی بوده و باعث تولید انزایم‌های می‌گردد که سبب تغییرات Post Translational می‌گردد که منتج به تبدیل شدن پروتین نورمال به‌شکل مرضی Prion می‌گردد این نظریات در مورد عامل سببی امراض Creutzfeld Jakob و Kuru که امراض مشابه را در انسان‌ها تولید می‌نماید نیز تطبیق گردیده می‌تواند.

پروکاریوت‌ها

عمده ترین معیار تشخیص پروکاریوت‌ها سایز کوچک آنها می‌باشد یعنی در حدود یک مایکرومتر جسامت دارند. همچنان غشای هستوی دیده نمی‌شود. DNA تقریباً همه باکتری‌ها حلقوی و در حدود یک ملی متر می‌باشد، همین مالیکول حلقوی عبارت از کروموزوم باکتری بوده و باید بیشتر از ۱۰۰۰ مرتبه قات گردد تا در داخل حجره پروکاریوت جاگزین گردیده بتواند. شواهد حاکی است که پیچیده شدن آن به‌صورت منظم بوده و بخش‌های معینه DNA باهم نزدیک می‌گردند. حصه به‌خصوص حجره که حاوی DNA است به نام Nucleoid یاد گردیده و توسط الکترون مایکروسکوپ قابل ملاحظه می‌باشند. بناً منطقی نخواهد بود تا حکم صورت گیرد که تعیین سرحدات داخل حجروی که در Eukaryotes ذریعه غشأها صورت می‌گیرد، در پروکاریوت‌ها موجود نمی‌باشد. اصلاً در بعضی پروکاریوت‌ها ساختمان‌های احاطه شده با غشاها موجود می‌باشد، مانند: Chromotaphor ها در باکتری فوتوسنتیتیک. تفاوت میان چنین ساختمان‌های احاطه شده در غشاهای پروکاریوت‌ها با ساختمان‌های معادل در ایوکاریوت‌ها در این است که غشاهای احاطه کننده بخش‌های مشخص حجره پروکاریوت‌ها عبارت از تمادی غشای حجروی آن می‌باشد.

© AZEM PUBLICATIONS

تنوع پروکاریوت‌ها

سایز کوچک کروموزوم پروکاریوت‌ها باعث محدود شدن اندازه معلومات جنتیک موجود در آن می‌شود. اندازه تخمینی جین‌های پروکاریوت‌ها ۳۰۰۰ بوده که اکثراً فعالیت‌های اساسی را به‌پیش می‌برند. مانند، تولید انرژی، سنتیز مایکرومالیکول‌ها و تکثر حجروی. پروکاریوت‌ها جین‌های کمی را دارا می‌باشد که تطابق فزیولوژیک این اورگانیزم را با محیط آن ممکن می‌سازد. پهنای محیط زیست

پروکاریوت‌ها بسیار وسیع می‌باشد و بناً گروه پروکاریوت‌ها یک عده موجودات غیر متجانس از نظر محیط زیست اند که هر کدام با محیط زیست تخصصی خود عادت نموده و بناً محیط زیست انفرادی آن بسیار محدود است.

ازدیاد تعداد محیط‌های زیست پروکاریوت‌ها با در نظرداشت ستراتیژی‌های تولید انرژی میتابولیک آنها توضیح گردیده می‌تواند. نور آفتاب منبع اساسی حیات می‌باشد. بعضی پروکاریوت‌ها مثل باکتری‌های Purple بنفش که بدون تولید آکسیجن انرژی آفتاب را به‌انرژی میتابولیک تبدیل می‌نماید. باکتری سبز آبی Cyanobacteria اکسیجن تولید می‌نماید که در عدم موجودیت نور باعث تولید انرژی می‌گردد. اورگانیزم‌های ایروبیک مجبور اند جهت تولید انرژی از عملیه تنفس با اکسیجن استفاده نمایند. عده از اورگانیزم‌های غیر ایروبیک Electron Acceptor های غیر از اکسیجن را در تنفس به کار می‌برند. عده ای دیگر غیر ایروبیک‌ها عملیه‌های تخمری را اجرا می‌نمایند. (۱)

تفاوت میان حجرات پروکاریوت و ایوکاریوت

مشخصات	حجرات پروکاریوت	حجرات ایوکاریوت
I- هسته		دارد
غشای هستوی	ندارد	دارد
هسته چه	ندارد	دارد
کروموزوم	یک عدد	زیاد
تقسیم مایتوتیک	ندارد	دارد
II- سایتوپلازم	ندارد	دارد
Pinocytosis	ندارد	دارد
مایتوکاندریا	ندارد	دارد
رایبوزوم	ندارد	دارد
اجسام گلجی	ندارد	دارد
اندوپلازمیک ریتیکولم	ندارد	دارد
III- ترکیب کیمیاوی	ندارد	دارد
Steriol	ندارد	دارد
Muramic Acid	دارد	ندارد

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف پروکاریوت‌ها

آموزش هر گروپ از اورگانیزم‌ها مستلزم تصنیف آن می‌باشد. تصنیف مناسب طوری می‌باشد تا اورگانیزم‌های جدید سریعاً و دقیقاً در کتگوری مربوط خود قرار گرفته بتوانند تعیین کتگوری اورگانیزم باعث کمک در پیشگویی مشخصات می‌گردد که اورگانیزم آنرا با سایر موجودات مشتمل در همان کتگوری تشریک می‌نماید. در شفاخانه ها تصنیف مؤفقانه انتان ممکن بهترین شیوه امحا آن باشد. تصنیف همچنان باعث دانستن روابط خوب میان اورگانیزم‌های مختلف گردد. مثلاً امحای انتان برای مدت زیادتر دوام خواهد نمود مشروط بر اینکه محل زیست آن توسط شکل غیر انتانی همان اورگانیزم اشغال گردد.

مثلاً داشتن DNA در تصنیف پروکاریوت‌ها رول ندارد؛ زیرا همه آنها DNA را دارا می‌باشد و نیز موجودیت یک پلازمید یا محدوده وسیع از میزبان ها در تصنیف مهم نمی‌باشد؛ زیرا در اورگانیزم‌های زیاد دیده شده و نیز ممکن بعضاً هیچ موجود نباشد. معیارات مفید ممکن ساختمانی، فزیولوژیک، بیوشمیک و یا جنتیک باشند. سپورها (ساختمان‌های به‌خصوص که حیات را در شرایط مشکل ممکن می‌سازد) برای تصنیف مهم اند. عده از باکتری‌ها با در نظرداشت قابلیت تخمر قندی آنها تصنیف می‌گردد. تلوین گرام برای تصنیف باکتری‌ها به دو گروپ عمده مهم می‌باشد. از معیارات جنتیک به‌شکل روز افزون در تصنیف استفاده می‌گردد. عده زیادی از آزمایشات جنتیک توسط تکنالوژی DNA Recombinant به‌میان آمده و امروز ممکن است تا پروب های DNA ساخته شده و اورگانیزم‌های مختلفه را کشف نمود. مقایسه DNA جین‌ها منتج به توضیح ارتباط Phylogenetic میان پروکاریوت‌ها گردیده که بدین وسیله می‌توان حجرات مادری اورگانیزم‌ها را پیدا نمود.

© NAZIM PUBLICATIONS

باکتری‌ها و آرکیوباکتری‌ها (اشکال عمده پروکاریوت‌ها)

پروکاریوت‌ها مشتمل بر دو گروپ می‌باشند که توجه زیاد به آن معطوف گردیده است؛ زیرا که آرکیوباکتریها در لابراتوار به مشکل مطالعه گردیده می‌تواند. مثلاً عده از ارکیوباکتریها در صورت تماس با آکسیجن از بین رفته و عده دیگر در درجه حرارت معادل با غلیان آب زنده‌گی می‌نمایند. با استفاده از بیولوژی مالیکولی می‌توان اریکوباکتریها را تصنیف نمود، میتانوجن‌ها با اجرای تنفس غیر هوازی سبب تولید میتان می‌گردد. هلوفیل ها به غلظت های بلند نمک برای زیست خود محتاج اند، ترمواسید و فیل‌ها ها نیازمند درجه حرارت و یا اسیدیتی زیاد اند. این موجودات زنده با همدیگر خود بعضی اوصاف مشترک داشته که آنها را از سایر موجودات زنده

متمایز می‌سازد. موضوع پیچیده عبارت از موجودیت Introns در جین‌های پروکاریوت‌ها به مانند Eukaryotes می‌باشد. تأثیر قسمت های اخیرالذکر در جینها معلوم نمی‌باشد.

پروتستها

ایوکاریوت‌های یا هسته داران واقعی: عبارت از موجوداتی اند که اورگانیل‌های غشا دار، مایکروتوبول‌ها و مایکروفیلامینت‌ها داشته و ساختمان داخل حجروی آن نظر به پروکاریوت‌ها مغلقتر است.

ایوکاریوت‌ها مایکروبی به نام پروتست‌ها یاد شده و دارای چهار گروپ اند: الجی‌ها، پروتوزوا، فنجی ها و Slime Molds.

الجی‌ها

موجوداتی اند که اکسیجن را در اثر فوتوسنتیز تولید می‌نمایند. یک گروپ عمده آنها که باکتری‌های سبز آبی (Cyanobacteria) بوده، متعلق به پروکاریوت‌ها گردیده و بیشتر از این مربوط به این کلاس نمی‌گردند. یعنی الجی‌ها صرف اورگانیزم‌های ایوکاریوتیک فوتوسنتیتیک را تشکیل می‌دهد. همه الجی‌ها در غشا فوتوسنتیتیک کلوروپلاست حجروی خود دارای کلوروفیل می‌باشند. اکثریت الجی‌ها مایکرواورگانیزم‌های وحیدالحجروی بوده؛ اما سایرین آن ساختمان‌های بزرگ چندین حجروی اند. کلپ های ناشی از الجی‌های نصواری چندین متر طویل بوده می‌تواند.

© AAZEM PUBLICATIONS

پروتوزوا

عبارت از پروتست‌های وحیدالحجروی غیر فوتوسنتیتیک بوده و شکل ابتدیی آن فلاجیل دار بوده که در اکثریت وجوهات مشابه الجی‌ها می‌باشد. ممکن اجداد آن الجی‌ها بوده که بعداً به هیتروتروف تبدیل گردیده اند. نیازمندیهای میتابولیک از طریق مواد عضوی بر آورده شده چنانچه در چندین حالات دیده شده که در لابراتوار در اثر میوتیشن یا در اثر تطابق با تغییرات محیطی اشکال بدون رنگ الجی‌ها به‌میان آمده است.

اشکال دیگر آن عبارت از سیلیا داران و اشکال آمیبایی بوده و بالاخره اشکال مغلق و غیر متحرک آن به نام سپورزون‌ها یاد می‌گردد که دارای مرحله استراحت بوده یا سپوردار می‌باشند.

فنگس‌ها

فنگس‌ها گروپ پروتست های غیر فوتوسنتیتیک بوده که به‌شکل فیلامنتهای تشعبی و شبکوی (هایفا) رشد می‌نمایند که به نام مایسیلیم شناخته می‌شود. گرچه هایفا دارای جدار می‌باشند؛ اما جدارهای آنان متثقب بوده و حرکت آزادانه هسته ها و سایتوپلازم ممکن می‌باشد. کتله فنگسی به‌صورت مجموعی Coenocyte (کتله چندین حجروی و دارنده سایتوپلازم متمادی) بوده که توسط یک سلسله تیوب های منشعب احاطه گردیده است. این تیوب ها که از پولی سکراید (مانند شیتین) ساخته شده مترادف دیوار حجروی می‌باشد. اشکال مایسیل دار به نام Mold یاد شده و تعداد کمی سبب تولید مایسیل نشده و به نام Yeast یاد می‌شود؛ اما آنها را می‌توان فنگس نامید؛ زیرا به‌شکل زوجی تکثر نموده و دارای اشکال انتقالی می‌باشد. فنگس‌ها با اکتینومایست ها (باکتری‌های مایسیلی که به‌صورت سطحی مشابه فنگس‌ها می‌باشد) هیچ ربطی ندارد. فنگس‌ها ذیلاً تصنیف می‌گردند:

Ascomycotina (Ascomycetes)، Zygomycotina (Phycomycetes)، Basidiomycotina (Basidiomycetes)، Deutromycotina (Imperfect Fungi)

Slime Molds

این اورگانیزم‌ها در یک مرحلهٔ از دوران حیات خویش با داشتن یک کتله چندین حجروی بزرگ که به نام پلازمودیم Plasmodium یاد می‌گردد، متصف می‌باشند. پلازمودیم این موجودات معادل مایسیلیم فنگس واقعی می‌باشد. هردو Coenocytes اند. با این تفاوت که در فنگس‌های واقعی جریان نمودن سایتوپلازم محدود به شبکه منشعب تیوب‌های شیتینی بوده؛ اما در اورگانیزم‌های فوق الذکر سایتوپلازم در همه جهات جریان نموده می‌تواند. این عمل باعث می‌گردد تا پلازمودیم در جهات مواد غذایی که معمولاً باکتری است، در حرکت شود.

اشکال اساسی مایکروب‌ها

مایکروب‌ها اورگانیزم‌های کوچک وحیدالحجروی اند که اکثراً فاقد کلوروفیل می‌باشند و نظر به‌خواص بیولوژیک و تولید مثل توسط انقسام دوگانه این‌ها به‌حجرات Prokaryotic ارتباط می‌گیرند. جسامت مایکروب‌ها توسط مایکرومتر اندازه می‌گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS

۱ Micron (μ) = $۱۰^{-۳}$ mm = $۱۰^{-۴}$ cm = $۱۰^{-۶}$ m

۱ Milli Micron (mμ) Or Nanometer (nm) = $۱۰^{-۶}$ mm = $۱۰^{-۷}$ cm= $۱۰^{-۹}$ m

۱ Angstrom units (۱ A°) = $۱۰^{-۷}$ mm = $۱۰^{-۸}$ cm = $۱۰^{-۱۰}$ m

این جسامت در مایکروب‌ها متفاوت می‌باشد مثلاً کوکسای‌ها یک مایکرون قطر دارند و Bacill ها از ۱۰ - ۲ مایکرون طول و از ۰.۵ – ۰,۲ مایکرون عرض دارند.

باید متذکر شد که شکل و جسامت باکتری‌ها به صورت مطلق ثابت نبوده و اختلاف شکل در بسیاری انواع مایکروب‌ها در اثر عوامل مختلف محیطی مانند اوساط ذریعه، مواد ضد مایکروب، مواد مرضی، پیر و جوان بودن مایکروب‌ها به‌وجود می‌آید لاکن خواص خصوصی خود را که ارثی می‌باشد در جریان عملیه تکامل محافظه می کند. (۱)

از نظر مورفولوژی باکتری‌ها به اشکال ذیل دیده می‌شود:

I– باکتری‌های دارای شکل مدور یا Spherie مانند Cocci.

Cocci از Kakkos که معنی مدور را می‌دهد گرفته شده است و به اساس موقعیت، پلان انقسام حجروی و اوصاف بیولوژیک به ۶ گروپ ذیل تقسیم می‌شوند:

۱– Micrococcus: این کوکس ها به‌صورت منفرد یا غیر منظم قرار می‌گیرند این‌ها Saprophyte بوده در آب و هوا زنده‌گی می کنند مانند: Micro Coccus Agilis

۲– Diplo Coccus: این کوکس ها به‌صورت حجره ای به تماس هم قرار گرفته و انقسام شان به یک پلان صورت می‌گیرد مانند Meningo Cocci، Gonococci و Pneumococci.

۳– هرگاه انقسام Coccus ها به یک پلان صورت گیرد و Cocci شکل دانه تسبیح و یا زنجیر را به طولهای مختلف اختیار کند به نام Streptococcus یاد می‌گردد.

۴– اگر Cocci به دو پلان افقی و عمودی انقسام نماید و گروپ های چهارگانه را بسازد به نام Tetracoccus یاد می‌گردد که این Cocci برای انسان ها کمتر Pathogen اند.

۵– اگر Coccus ها به چندین پلان (غیر منظم) انقسام نمایند شکل خوشه انگور را به خود گرفته به نام Staphylococcus یاد می‌گردد.

۶– هرگاه انقسام Coccus ها به سه پلان صورت گیرد و شکل پاکت های ۱۶–۸ حجره ای و یا بیشتر را به خود بگیرد به نام Sarcina یاد می‌شود که یک Coccus غیر مرضی

© NAZEM PUBLICATIONS

بوده و در ادرار موجود می‌باشد.

II- باکتری‌های شکل چوبک (Rodshape) که شامل Bacill ها و Clostridia می‌باشد.

باکتری‌های چوبک مانند دارای اشکال مختلف اند بعضی از آنها دارای شکل کوتاه بوده مانند Francisella Tularencis در حالیکه انواع دیگر آن شکل طولانی دارد مانند Bacillus Anthracis و بعضی از انواع دیگر آنها دارای نهایت باریک می‌باشد مانند Fusobacter بعضی Bacill ها به شک جوره ای قرار می‌گیرد که آنرا به نام Diplobacill یاد می کنند مانند Bacteria Of Pneumonia.

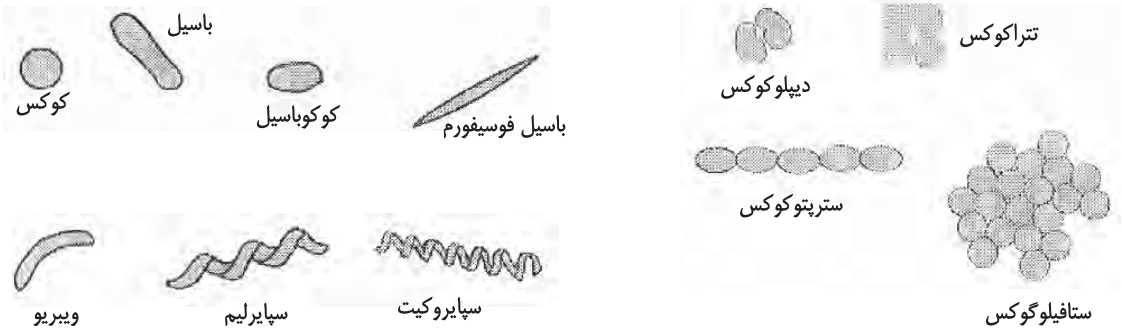
بعضی از Bacteria ها شکل زنجیر مانند را می‌گیرد که به نام Strepto-bacill و یا Streptobacteria یاد می‌شود مانند Bacillus Anthracis بعضی از باکتری‌ها در یک نهایت خود تبارز می دشته باشند مانند Corynebacterium Diphtheriae و بعضی دیگر دارای شاخه های جانبی می‌باشد مانند Mycobacterium Tuberclosis و غیره.

III- شکل فنر مانند باکتری‌ها (Spiral Shape): اشکال فنر مانند به دو گروپ Vibrio و Spirillium تقسیم می‌شوند.

۱- Vibrio ها، Bacteria های اند که تنها یک حلقه فنر مانند داشته و به‌شکل کامه و یا ویرگول به مشاهده می رسد مانند Vibrio Cholera.

۲- Spirillium ها باکتری‌های اند که دارای تعداد زیاد حلقه ها می‌باشند مانند Borella، Treporema و Liptospira.

© AAZEM PUBLICATIONS

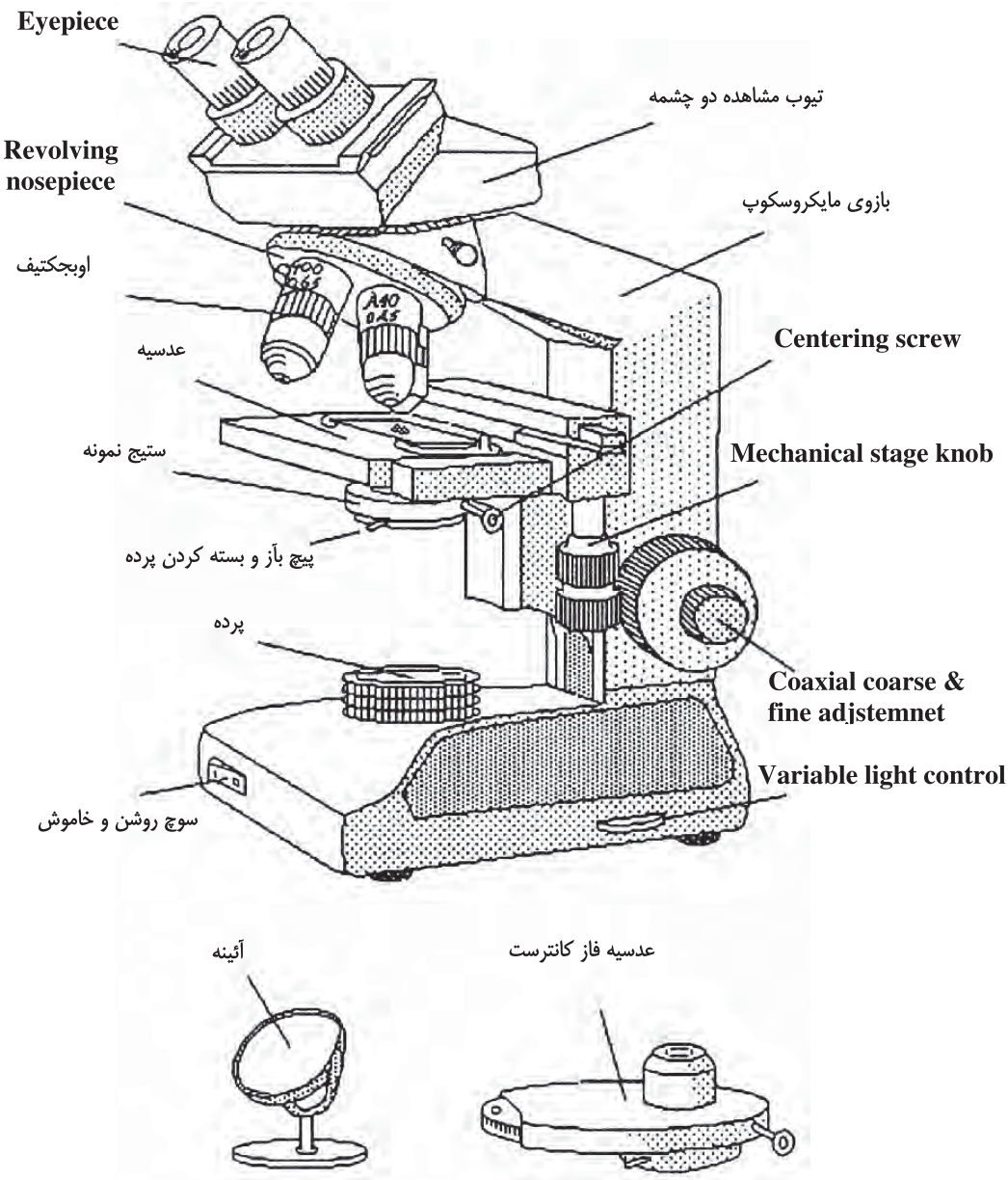


شکل ۱-۱ اشکال مختلف مایکروب‌ها

ساختمان حجروی

میتودهای بصری

مایکروسکوپ نوری (لایت مایکروسکوپ): قدرت تشخیصیه مایکروسکوپ نوری تحت شرایط (مطلوب) تقریباً نصف طول موج نور مورد استفاده می‌باشد.



شکل ۱ – ۲ مایکروسکوپ دو چشمه (R۸)

(قدرت تشخیصیه عبارت از فاصله ایست که در آن دو منبع نوری نقطوی که باید به‌شکل دو تصویر جداگانه مشاهده گردند از هم مجزا دیده شوند.) بناً در صورت استفاده از نور زرد که دارای طول موج ۰٫۴ مایکرومتر باشد، کوچکترین قطر شی قابل تفکیک ۰٫۲ مایکرومتر خواهد بود. بزرگنمایی مطلوب یک مایکروسکوپ عبارت از آن بزرگنمایی است که کوچکترین اجزای قابل تشخیص را مورد رویت قرار دهد. مایکروسکوپ هایی که در باکتریولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرند عموماً دارای عدسیه‌های اوبجکتیف به توان ۹۰ و عدسیه‌های عینی به توان ۱۰ می‌باشند، بناً نمونه مورد مطالعه را ۹۰۰ برابر بزرگتر نشان می‌دهد. به این ترتیب ذراتی که دارای قطر ۰٫۲ مایکرومتر باشند به اندازه ۰٫۲ ملی متر بزرگتر معلوم گردیده واضحاً قابل دید می‌گردند. بزرگنمایی بیشتر از آن قدرت تشخیصیه بهتر را در قسمت رویت جزئیات به‌میان نیاورده و حتی ساحه دید را کاهش می‌دهد.

تزئید بیشتر قدرت تشخیصیه فقط با استفاده از نور دارای طول موج کمتر از ۰٫۲ مایکرومتر ممکن گردیده می‌تواند و در نتیجه اجزای که دارای قطر ۰٫۱ مایکرومتر باشند قابل رویت می‌گردند. قیمت چنین مایکروسکوپ ها به نسبت استفاده از عدسیه‌های کوارتز و سیستم‌های فوتوگرافیک، فوق‌العاده بلند بوده و برای استفاده عمومی دارای مشکلات می‌باشد.

© AZEM PUBLICATIONS

الکترون مایکروسکوپ

الکترون مایکروسکوپ با داشتن قدرت تشخیصیه عالی دانشمندان را قادر نموده تا ساختمان‌های حجرات Prokaryotic و Eukaryotic را با تفصیلات بیشتر مطالعه نمایند. این قدرت تشخیصیه عالی الکترون مایکروسکوپ در نتیجه این امر است که الکترون‌ها دارای طول موج کوتاه تر نظر به فوتون‌های نور سفید می‌باشند.

عموماً دو شکل الکترون مایکروسکوپ بیشتر معمول می‌باشند: Transmission Electron Microscope یا (TEM) که شباهت‌های زیادی با مایکروسکوپ نوری دارد و Scanning Electron Microscope یا (SEM).

TEM اولین نوع الکترون مایکروسکوپ بود و در آن از یک اشعه الکترونی استفاده به‌عمل می‌آید که از پستول (منبع) الکترون خارج گردیده و بعد از تعیین جهت آن توسط عدسیه‌های الکترومقناطیسی تراکم دهنده بالای یک مقطع نازک نمونه مورد نظر، فوکس می‌گردد. الکترون‌ها پس از الکترون مقناطیسی تراکم دهنده بالای یک مقطع نازک نمونه مورد نظر، فوکس می‌گردد. الکترون‌ها پس از

برخورد بالای نمونه مورد آزمایش نظر به‌تعداد و کتله اتوم‌ها به‌صورت نامساوی پراگنده می‌گردند. تعدادی از الکترون‌ها از نمونه عبور نموده و توسط عدسیه‌های اوبجکتیف الکترومقناطیسی یکجا و متمرکز می‌گردند و تصویر نمونه مورد معاینه به سیستم عدسیه‌های پروجکتور که باعث بزرگنمایی بیشتر می‌گردد ارائه می‌گردد. تصویر حاصله بالای یک صفحه‌یی که در اثر اصابت الکترون‌ها روشن می‌شود، دیده می‌شود. این تصویر توسط فلم های فوتوگرافیک نیز ثبت گردیده می‌تواند. TEM اجزای را که از هم به اندازه ۰,۰۰۱ مایکرومتر جدا باشند تشخیص نموده می‌تواند. وایرس‌ها با داشتن قطر (۰,۰۰۱) الی (۰,۲) مایکرومتر به ساده‌گی تشخیص گردیده می‌توانند.

SEM نظر به TEM قدرت تشخیصیه کمتر داشته؛ با آنهم باالخصوص برای دریافت تصویر های سه بُعدی از موجودات مایکروسکوپیک می‌باشد. الکترون‌ها توسط عدسیه‌ها بالای یک نقطه کوچک متمرکز می‌گردند. در نتیجه عمل متقابل میان الکترون‌ها و نمونه مورد معاینه اشکال مختلفه تشعشعات از سطح نمونه آزاد می‌گردند (طور مثال الکترون‌های ثانوی). تشعشعات متذکره ذریعه آلات کشف کننده اختصاصی آن دریافت گردیده و پس از تقویه در بالای صفحه تلویزیونی قابل رویت می‌باشد.

یک تخنیک عمده در معاینه الکترون مایکروسکوپ استفاده از "سایه افگنی" می‌باشد. در اینصورت یک صفحه نازک فلزات ثقیله (مانند پلاتین) بالای نمونه مورد معاینه گذاشته شده طوری که نمونه در مسیر اشعه آیون های فلزی در خلاء، قرار گیرد. اشعه به یک زاویه کوچک بالای نمونه هدایت داده شده بناً یک "سایه" ساحه غیر پوشیده بالای طرف مقابل به‌میان می‌آید. هر زمانی که یک اشعه الکترونی از ساحه عبور نماید، تصویر فلم به دست می‌آید و در نتیجه یک تصویر سه بُعدی حاصل می‌گردد.

تخنیک‌های عمده دیگری که در معاینات الکترون مایکروسکوپ استفاده می‌گردند عبارت از به کار برد مقطع های نهایت نازک مواد مغطوس شده، میتود منجمد نمودن نمونه ها که به کمک آن از انحراف نتایج که در استفاده از سایر طرزالعمل های خشک نمودن به‌میان می‌آید جلوگیری صورت گرفته می‌تواند و استفاده از تلوین منفی با استفاده از مواد متکاثف الکترونی از قبیل Phosphotungstic Acid و نمک های Uranyl می‌باشد. در صورت عدم استفاده از این نمک های فلزات، تباین لازم برای مطالعه جزئیات نمونه مورد معاینه به دست نخواهد آمد.

مایکروسکوپ ساحهٔ تاریک

در مایکروسکوپی ساحه تاریک غالباً از عین مایکروسکوپ ساحه روشن استفاه صورت می‌گیرد. روشنایی مایکروسکوپ ساحه تاریک با به کاربرد کاندنسر های خاصی به‌دست

© AAZEM PUBLICATIONS

شکل ۱ – ۳ معاینه ساحه تاریک (R۷)

می‌آید که شعاع نور مستقیم را مانع گردیده و هم اشعه آئینه کنار خازن را به زاویه مایل منحرف می‌سازد. در نتیجه یک ساحه تاریک ایجاد گردیده که در آن کنارهای روشن نمونه مورد معاینه قابل ویت گردیده و زمانی به دست می‌آید که اشعه مایل از کنار نمونه به طرف اوبجکتیف های مایکروسکوپ منعکس می‌گردند. این تخنیک بالاخص برای مطالعه اورگانیزم‌های از قبیل Treponema Pallidum نهایت مؤثر می‌باشد این اورگانیزم یک Spirochete بوده و دارای قطر کمتر از ۰,۲ مایکرومتر می‌باشد، بنابراین توسط نور مستقیم قابل رویت نمی‌باشد.

مایکروسکوپ فازی (Phase Microscope)

فاز مایکروسکوپ با استفاده از این حقیقت به‌میان آمده است که امواج نوری عبور کننده از اشیای شفاف مانند حجرات، نور به مشخصات موادی که از آن عبور می‌نمایند به فازهای متفاوت خارج می‌گردند. یک سیستم خاص بصری تفاوت های فاز را به تفاوت در کثافت تبدیل می‌نماید. در نتیجه بعضی ساختمان ها نظر به سایر ساختمان ها تاریک تر به‌نظر می رسند. خصوصیت عمده دیگر اینست که ساختمان‌های داخلی را در حجرات زنده قابل تشخیص می‌سازد. درحالیکه در مایکروسکوپ های عادی مستحضرات باید به‌شکل کشته شده و یا تلوین شده مورد استفاده قرار گیرند.

اوتورادیوگرافی (Autoradiography)

اگر حجرات که در آنها اتوم های رادیو اکتیف به کار رفته باشند بالای یک سلاید تثبیت گردیده، با محلول فوتوگرافیک پوشانیده شده و در تاریکی برای مدت زمان مناسب نگهداری شوند، تشعشع که از محلات تجزیه رادیو اکتیف منتشر می‌گردند در بالای فلم ظهور شده، ظاهر می‌گردند. در صورتی که حجرات با تشعشع کننده ضعیف مانند Tritium نشانی گردند، تشعشع

© AZIZI PUBLICATIONS

قبل الذکر به اندازه کافی کوتاه گردیده و موقعیت مواد رادیو اکتیف را در حجره آشکار می‌سازد. پروسیجر Autoradiography بالخصوص برای تعقیب تضاعف DNA، با استفاده از Tritium-Labeled Thymidine مؤثر می‌باشد. یکی از اشکال دیگر این میتود که در آن از Probe های نشانی شده با Nucleic Acid استفاده می‌گردد به نام In Situ Hybridization یاد می‌گردد که برای دریافت نوکلیک اسیدهای وایرسی، باکتریایی و فنگسی در حجرات و انساج مستعمل می‌باشد.

ساختمان حجرات ایوکاریوتیک Eukaryotic

هسته *(Nucleus)*

هسته توسط یک غشایی محدود گردیده که با Endoplasmic Reticulum تمادی دارد. غشای هستوی دارای قابلیت نفوذیه انتخابی می‌باشد و این قابلیت نفوذیه انتخابی به نسبت موجودیت منفذاتی است که تبادله مالیکول ها را میان هسته و سایتوپلازم اجازه می‌دهند. کروموزوم های حجرات Eukaryotic مشتمل بر Macromolecule های طویل DNA به‌شکل Helix مضاعف می‌باشند و توسط مایکروسکوپ نوری فقط زمانی قابل مشاهده می‌باشند که حجره در حالت تقسیم حجروی بوده و DNA به حد اعظم متراکم باشد، در سایر حالات کروموزوم ها متراکم نبوده و طوری مشاهده می‌گردند.

Macromolecule های DNA در حجرات Eukaryotic یا (Eukaryotic DNA Macromolecule) حاوی پروتین اساسی به نام Histone بوده که توسط رابطه های آیونیک با DNA وصل می‌گردند.

ساختمان‌های سایتوپلازمیک

سایتوپلازم حجرات Eukaryotic متصف به موجودیت Endoplasmic Reticulum، واکیولها (Vacuoles)، Plastid های دارنده قابلیت تکثر خودی و Elaborate Cytoskeleton می‌باشند که اخیرالذکر مرکب از Microtubule ها، Microfilament ها و Intermediate Filament ها می‌باشد.

Endoplasmic Reticulum عبارت از یک شبکه Membrano-Bound Channels می‌باشد. در بعضی قسمت های اندوپلازمیک ریتیکولوم این غشاها توسط رایبوزوم ها پوش می‌گردند، پروتین‌هایی که در این رایبوزوم ها سنتیز می‌گردند از طریق این غشأ داخل کانال های اندوپلازمیک ریتیکولوم شده

© AZEM PUBLICATIONS

و از طریق آن به دیگر قسمت های حجره منتقل می‌گردند. یک ساختمان مربوطه دیگر به نام جهاز گلجی یا Golgi Apparatus ویزیکول هایی را آزاد می کند که به غشای حجروی وصل گردیده و پروتین‌های داخل کیسه را به محیط اطراف رها می‌سازد.

پلاستیدها مشتمل بر مایتوکاندریا ها که دارای سیستم تنفسی ترانسپورت الکترون (Respiratory Electron Transport System) می‌باشد و نیز Chloroplast (در اورگانیزم‌های فوتوسنتیتیک) می‌باشد. پلاستیدها حاوی DNA مربوط خود می‌باشند که بعضی پروتین‌های متشکله آنها (نه تمام پروتین‌های مشتمل در آنها) را کود نموده و همچنان دارای T-RNA می‌باشد.

Cytoskeleton مشتمل بر رشته های Microtubule ها بوده که در وظایف غشای سایتوپلازمیک و شکل حجره به همین گونه در Spindle های Mitotic و اجزای فلاجیل نقش دارند، همچنان دارای رشته های اکتین و میوزین حاوی Microfilament ها می‌باشند و میکانیزم حرکات امیبوئید را فراهم می‌نمایند و بالاخره دارای Intermediate Filament ها می‌باشند که وظایف آن تا کنون دانسته نشده است.

طبقات سطحی (Surface Layers)

سایتوپلازم توسط Plasma Membrane احاطه گردیده که مرکب از پروتین و فوسفولیپید می‌باشد و شباهت با غشای حجروی پروکاریوتیک دارد. بسیاری حجرات حیوانی طبقه سطحی دیگری ندارند؛ ولی حجرات نباتی دارای یک دیوار خارجی حجروی می‌باشند که مرکب از سلولوز می‌باشد. بسیاری مایکرواورگانیزم‌های Eukaryotic نیز دارای دیوار خارج حجروی می‌باشند که امکان دارد مرکب از پولی سکراید باشد مانند سلولوز و یا Chitin و یا ممکن مواد غیر عضوی باشد مانند سیلیکا در دیاتوم‌ها.

اورگانیل های حرکی (Motility Organelles)

بسیاری مایکرواورگانیزم‌های Eukaryotic داری اورگانیل هایی می‌باشند که به نام فلاجیل (Flagella) و یا سیلیا (Cilia) یاد می‌گردند به وسیله حرکات موج مانند این اورگانیل ها حجره را قادر به حرکت در آب می‌سازد.

فلاجیل های Eukaryotic از ناحیه قطبی حجره منشه گرفته حالانکه سیلیا که نظر به فاجیل کوتاه تر می‌باشند دورادور حجره را احاطه می‌نمایند. فلاجیل و سیلیا هردو عین ساختمان اساسی و ترکیب کیمیاوی را در حجرات Eukaryotic دارا می‌باشند. هردو متشکل از مایکروتوبول ها (Microtubules) می‌باشند که عبارت از استوانه های میان خالی پروتینی بوده که از پروتین به نام

© AZEEM PUBLICATIONS

Tubulin تشکیل می‌گردند این مایکروتوبول ها توسط یک غشأ احاطه می‌گردند. مایکروتوبول ها طوری ترتیب می‌گردند که به نام سیستم (۹ + ۲) یاد می‌گردد، یعنی طوری ترتیب می یابند که ۹ جوره مایکروتوبول محیطی توسط دو مایکروتوبول مرکزی احاطه می‌گردند.

ساختمان حجرات پروکاریوتیک Prokaryotic

حجره پروکاریوتیک از هر لحاظ نظر به حجره ایوکاریوتیک ساده تر می‌باشد یگانه استثنأ این می‌باشد که لفاف حجروی آن نظر به حجره ایوکاریوتیک مغلق تر می‌باشد.

نوکلوئید (Nucleiod)

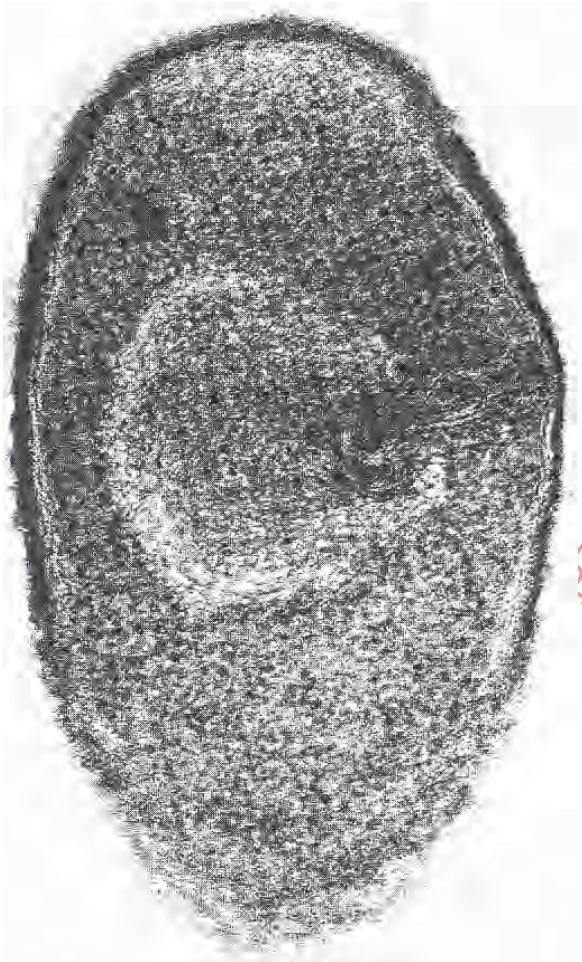
نوکلوئید (ساختمان مشابه هسته) در حجرات پروکاریوتیک معادل هسته حجرات ایوکاریوتیک بوده و توسط مایکروسکوپ نوری در مواد ملونه قابل رویت می‌باشد. این ساختمان Feulgen-Positive بوده و نشاندهنده موجودیت DNA در آن می‌باشد. DNA که چارچ منفی دارد، حد اقل طور قسمی توسط Polyamine های کوچک و ایون های مگنیزیم خنثی گردیده؛ ولی پروتین‌های هستون در باکتری‌ها موجود اند و احتمالاً نقش مشابه به هستون موجود در کروماتین های حجرات ایوکاریوتیک را بازی می‌نمایند.

شکل ۱ – ۴ هسته های باسیل سیریس **(R۱)**

تصاویری که از الکترون مایکروسکوپ به دست آمده اند (شکل ۱ – ۴) عدم موجودیت غشای هستوی و یک سیستم مایتوتیک را نشان می‌دهد. نواحی هستوی مملو از فیبریل های DNA می‌باشند.

از مدت طولانی بدینسو چنین دانسته شده که نوکلوئید حجرات باکتریایی متشکل از یک مالیکول واحد طویل مدور با وزن مالیکولی تقریباً (۱۰۹ x ۳) می‌باشد و بنابر این چنین پنداشته شده می‌تواند که یک کروموزوم واحد Haploid به‌شکل باز و دارای طول تقریباً ۱mm باشد. تعداد کاپی‌های کروموزوم

در حجره نظر به اینکه حجره در کدام مرحله سیکل حجروی قرار دارد متفاوت می‌باشد با آنهم در صورت موجودیت چندین کاپی تمام آنان دارای عین شکل می‌باشند. اخیراً با استفاده از مطالعات جدید و با استفاده از میتود Pulsed-Field Gel Electrophoresis) که برای جدا کردن مالیکول‌های بزرگ DNA و تشخیص انواع مدور و طویل مورد استفاده قرار می‌گیرد، اصطلاحاتی در این منظره کلاسیک کروموزوم حجروی به‌میان آمده اند. نتایج این مطالعات آشکار ساخت که بعضی پروکاریوت‌ها (مانند Borrelia burgdorferi عامل مرض Lyme) دارای کروموزوم خطی می‌باشد. کروموزوم های linear یا خطی همچنان در انواع مختلفه streptomyces نیز دریافت گردیده است.



شکل ۱ – ۵ الکترون مایکروگراف مقطع نازک B.subtilis که نشان دهنده تماس DNA با میزوزوم می باشد. **(R1)**

نوکلوئید بسیاری از حجرات باکتریایی در نتیجه لیز آهسته (gentle lyses) بعد از centrifugation جدا گردیده می‌تواند. ساختمان‌های جدا شده مشتمل بر DNA همراه با مقادیر کوچکتر RNA، RNA Polymerase و ممکن بعضی پروتین‌های دیگر باشد. DNA باکتریایی که مستقیماً به کمک فلم حفاظتی الکترون مایکروسکوپ توسط لیز حجره در محلول نمکی فزیولوژیک تجرید گردیده اند، به‌شکل ساختمان تسبیح مانند شبیه کروماتین حجرات ایوکاریوتیک مشاهده می‌گردند.

معاینه یک سلسله مقطع های باریک در حجرات باکتریایی توسط الکترون مایکروسکوپ نشان

3LICATIONS

می‌دهد که DNA در یک نقطه با تغلف invagination غشای سایتوپلازمیک که به نام mesosome یاد می‌شود وصل می‌گردد (شکل 1-5) گمان می رود که این اتصال در جدا شدن دو کروموزوم خواهری که متعاقب تضاعف کروموزومی به‌میان می‌آید، نقش دارد.

ساختمان‌های سایتوپلازمیک

حجرات پروکاریوتیک فاقد پلاستید های مستقل از قبیل مایتوکاندریا و کلوروپلاست می‌باشند و انزایم‌هایی electron transport در غشای سایتوپلازمیک قرار گرفته اند که به‌شکل ویزیکول های کروی و یا طبقات هموار صفحه مانند در تحت غشای حجروی مشاهده گردیده می‌توانند. در بعضی cyanobacteria ها (در سابق به نام الجی‌های سبز، آبی یاد می شدند) غشاهای فوتوسنتیتیک اکثراً ساختمان‌های چند طبقوی را می سازند که به نام thylakoid ها یاد می‌گردد.

باکتری‌ها اکثراً مواد ذخیروی را به‌شکل گرانول های غیر منحل نگهداری می‌نمایند که به‌شکل پولیمیرهای خنثی و از نظر اوسموتیک غیر فعال می‌باشند. زمانی که منبع نایتروجن، سلفر و یا فاسفورس محدود گردند و یا زمانی که PH پائین باشد، کاربن اضافی موجود در وسط توسط بعضی باکتری‌ها به پولیمیر Poly-B. hydroxybutyric acid و توسط باکتری‌های دیگر به پولیمیرهای مختلفه گلوکوز مانند نشایسته و گلایکوجن تبدیل می‌گردند. گرانول های فوق به حیث منابع کاربن برای سنتیز پروتین و نوکلئیک اسید به کار می‌روند. به همین ترتیب، تعدادی از باکتری‌های فوتوسنتیتیک sulfide را از H_2S اوکسیدایز نموده و در نتیجه گرانول های داخل حجروی دارنده عنصر سلفر را تولید می‌نمایند و بالاخره بسیاری باکتری‌ها گرانول های polyphosphate را در خود جمع نموده و ذخایر فاسفیت های غیر عضوی را می سازند که اخیرالذکر در سنتیز ATP مورد استفاده قرار گرفته می‌تواند. گرانول های فوق بعضاً به نام گرانول های volutin و یا گرانول های metachromatic یاد می‌گردند؛ زیرا با مواد ملونه آبی، به رنگ سرخ تلوین می‌گردند. این وصف، مشخصه عمده برای corynebacteria ها می‌باشد.

© NAZEM PUBLICATIONS

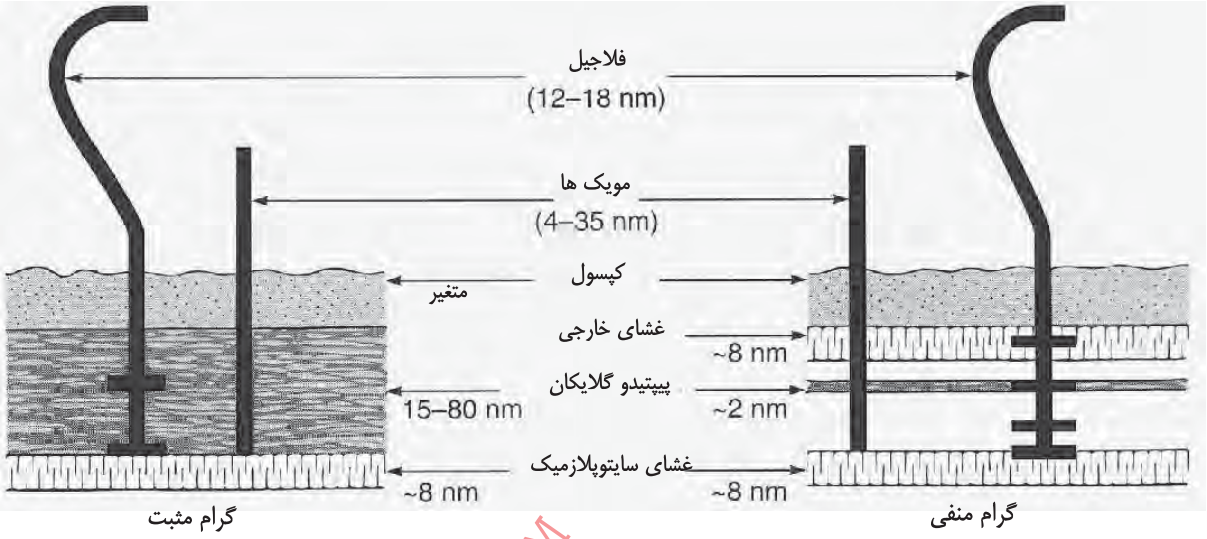
مـایکروتوبول هـا کـه مشخـصه حجـرات ایوکاریوتیـک مـی‌باشـد، بـالعموم در حجـرات پروکاریوتیک موجود نمی‌باشند بـا وجـود آن در بعـضی مـوارد توسـط الکتـرون مایکروسـکوپ سـاختمانهای در بـاکتری‌هـا مـشاهده می‌گردند که شـباهت بـا مایکروتوبول ها دارد.

شکل ۱ – ۶ دیوار حجروی و ساحه هسته **(R1)**

گروپ های خـاص و معین از باکتری‌هـا دارای ویزیکـول هـای احاطـه شـده توسـط پـروتین protein-bound در سـایتوپلازم خـود می‌باشند. که مشتمل اند بر واکیول های گازی که در بـاکتری‌هـای آبـزی، شناوری آنهـا را کنتـرول مـی‌نماینـد، carboxysome هـا (دارای انـزایم ribulosebiphosphat e carboxylase بـوده کـه انـزایم عمـده بـرای تثبیـت CO_2 مـی‌باشـد.) در بعـضی بـاکتری‌هـای اوتوتروفیـک و magnetosome هـا (گرانول هـای membrane-bound iron) اند که باکتری را قادر به magnetotaxis می‌سازد (به معنی مهاجرت و یا تمایل حجره در رابطه با سـاحه مقناطیـسی زمین می‌باشد.)

لفاف حجروی (Cell Envelope)

طبقاتی که حجره پروکاریوتیک را احاطه می‌نمایند، مجموعاً به نام لفاف حجروی یاد می‌گردد. ساختمان و تشکیل لفاف حجروی در باکتری‌های گرام مثبت و گرام منفی متفاوت می‌باشد، در حقیقت همین تفاوت است که این دو اجتماع بزرگ باکتری‌ها را توصیف می‌نماید. دیاگرام های ساده شدهٔ دو نوع لفاف حجروی در (شکل ۱ – ۷) نشان داده شده است.



شکل ۱–۷ ترکیب لفاف حجروی مایکروب های گرام مثبت و گرام منفی (R1)

© AAZEM

بسیاری باکتری‌ها در هردو گروپ گرام مثبت و گرام منفی Eubacteria و Archeobacteria دارای شبکه پروتینی و یا گلایکوپروتین Paracrystalline دو بُعدی (S-layer) را به حیث خارجی ترین بخش لفاف حجروی دارا می‌باشند. طبقات S-layer عمدتاً مرکب از یک نوع واحد مالیکولر می‌باشند. وظیفه این طبقات طور یقینی معلوم نیست، با آنهم در بعضی موارد چنین معلوم می‌گردد که حجره را از انزایم‌های تخریب کننده جدار حجروی، تهاجم bacteriovirus Bdellovibrio (یک باکتری مهاجم) و از bacteriophage ها محافظه می‌نمایند. همچنان در بعضی انواع Archaeobacteria ها شکل حجره را محافظه می‌نماید و نیز در التصاق حجره به طبقه اپیدرم میزبان رول دارد.

الف: The Gram-Positive Cell Envelope لفاف حجروی گرام مثبت: لفاف حجروی

در حجرات گرام مثبت نسبتاً ساده تر بوده و متشکل از دو یا سه طبقه می‌باشد که عبارت از: غشای سایتوپلازمیک، طبقه ضخیم peptidoglycan و در بعضی باکتری‌ها یک طبقه خارجی که به نام capsule می‌باشد. ساختمان و وظیفه این طبقات ذیلاً تشریح می‌گردند.

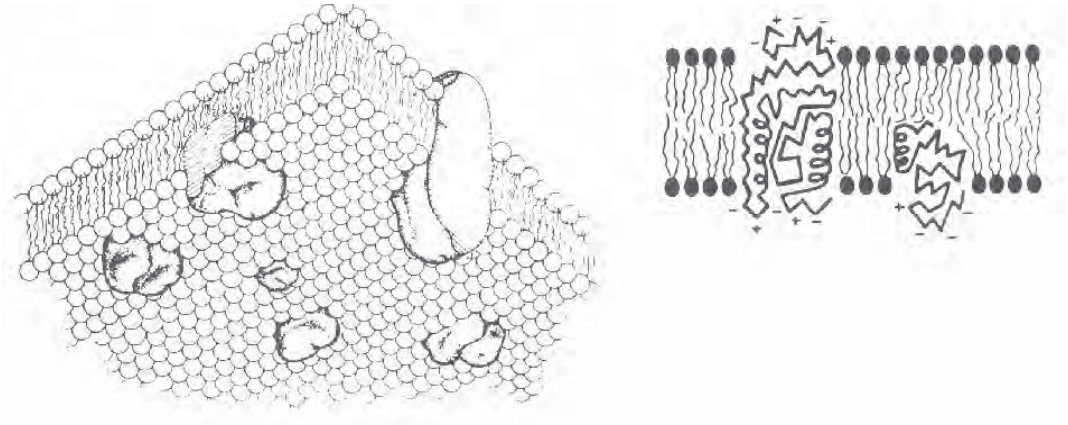
ب: The Gram-Negative Cell Envelope لفاف حجروی گرام منفی: دارای چندین طبقه و ساختمان نهایت مغلق می‌باشد. غشای سایتوپلازمیک که (در باکتری‌های گرام منفی به نام غشای داخلی یاد می‌گردد) توسط یک ورقه نازک peptidoglycan احاطه گردیده که اخیرالذکر توسط یک طبقه مغلق که به نام outer membrane یا غشای خارجی یاد می‌گردد تقویه می‌گردد. ممکن در خارجی ترین طبقه کپسول موجود باشد. فضای میان غشای داخلی و خارجی به نام periplasmic space یاد می‌گردد.

غشای سایتوپلازمیک (The Cytoplasmic Membrane)

الف: ساختمان: غشای سایتوپلازمیک در باکتری‌ها به نام غشای حجروی نیز یاد گردیده و توسط مایکروسکوپ الکترونیک در مقطع های نازک قابل رویت بوده این غشأ عبارت از غشای واحد مرکب از فوسفولیپید ها و پروتین‌ها می‌باشد. شکل (۱—۸) نمونه تشکل غشأ را تشریح می‌نماید. غشای حجرات پروکاریوتیک از حجرات ایوکاریوتیک بنابر عدم موجودیت sterol ها تفریق می‌گردد.

تغلفات پیچیده convoluted invaginations در غشای سایتوپلازمیک ساختمان‌های خاصی را به‌میان می آورد که به نام میزوزم ها یاد می‌شوند. میزوزوم ها به دو نوع می‌باشند: میزوزوم های جداری، که در تشکل دیوارهای حجروی در اثنای تقسیمات حجروی وظیفه دارد و نوع دیگر آن میزوزوم های جانبی می‌باشد. کروموزوم های باکتری‌ها (DNA) به میزوزوم های جداری وصل می‌باشند. تغلفات بیشتر غشای سایتوپلازمیک به طرف سایتوپلازم در باکتری‌هایی یافت می‌گردد که دارای سیستم های نهایت فعال ترانسپورت الکترونی باشند (طور مثال باکتری‌های فوتوسنتیتیک و باکتری‌های تثبیت کننده نایتروجن)

© AAZEM PUBLICATIONS



شکل ۱ – ۸ مودل ساختمانی غشای حجروی (R1)

ب: وظیفه: وظایف عمده غشای سایتوپلازمیک عبارتند از:

۱– قابلیت نفوذ انتخابی و ترانسپورت مواد منحله.

۲– ترانسپورت الکترونی و oxidative phosphorylation در ایروب ها.

۳– افراغ انزایم‌های هایدرولایتیک.

۴– در بر داشتن انزایم ها و مالیکول‌های ناقل (Carrier) که در بیوسنتیز DNA، پولیمیرهای دیوار حجروی و لیپیدهای غشایی وظیفه دارد.

۵– در برداشتن رسپتورها و سایر پروتین‌های chemotactic و سایر انواع سیستم های transduction.

حد اقل 50 فیصد غشای سایتوپلازمیک باید به منظور نشونمای حجره به حالت نیمه مایع باشد. این هدف در حالات پائین بودن درجه حرارت پائین، با سنتیز و ترکیب اسیدهای شحمی غیر مشبوع به دست می‌آید.

۱– ***قابلیت نفوذ و انتقال:*** *غشای سایتوپلازمیک به حیث مانعه قابلیت نفوذ (مواد منحل lipophobic به‌شکل غیر فعال از آن عبور نموده نمی‌تواند) و همچنان به حیث رابطه قابلیت نفوذیه وظیفه اجرای می‌نماید که در اخیرالذکر سیستم های خاص پروتینی (permeases) انتشار غیر فعال مواد منحل خاص را تسهیل و یا (energy-dependent active transport) را بر علیه میلان غلظت catalyze می‌نمایند.*

دو شکل سیستم انتقال فعال (ابتدایی و تالی) موجود است. در سیستم های ابتدایی یا سیستم پمپ‌ها (Pumps) انرژی میتابولیک به منظور انتقال مواد منحل از طریق غشأ بر علیه میلان غلظت آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. در باکتری‌های ایروبیک پمپ عمده عبارت از Electron transport system می‌باشد که در آن انرژی حاصله از substrate oxidation جهت خارج

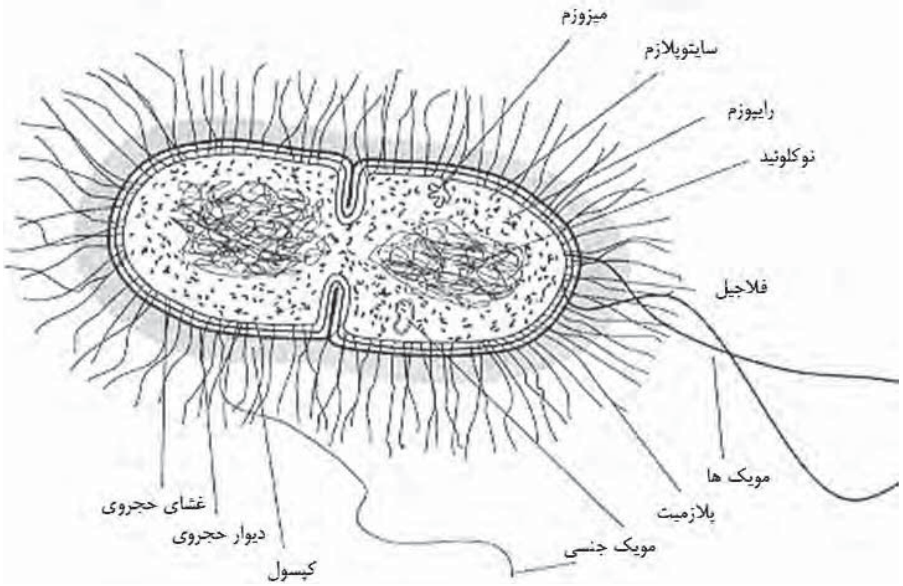
© AAZEM PUBLICATIONS

نمودن پروتون ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. پروتون های خارج شونده دوباره از طریق ATPase غشأ، داخل حجره می‌گردند، انرژی حاصله از این جریان آیونی توسط ATPase به منظور سنتیز ATP از ADP و فاسفیت های غیر عضوی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در باکتری‌های anaerobic که فاقد سیستم انتقال الکترون‌ها یا (Electron transport system) می‌باشند، عکس سیستم فوق صورت می‌گیرد، خروج پروتون ها توسط ATPase صورت می‌گیرد که در آن از انرژی حاصله از شکستن ATP به مصرف می رسد.

در سیستم های ثانوی، انرژی ذخیره شده در گرادیانت های کاتیون و انرژی پوتانشیل غشأ که در نتیجه پمپ ها به‌میان می‌آید برای انتقال فعال مواد منحله از قبیل امینو اسیدها و مواد قندی به داخل حجره مورد استفاده قرار می‌گیرد. این انتقال توسط سیستم co-transport انجام می پذیرد که در آن: انتقال دهنده به کتیون ها و مواد منحله وصل گردیده و هر دو را همزمان انتقال می‌دهد. از آنجائیکه گرادیانت کاتیون ها قویاً به طرف داخل متوجه می‌باشد، گرادیانت مختلط الکتروکیمیاوی مواد منحله را برعکس گرادیانت غلظت مربوط آن به طرف داخل حجره می کشاند.

همچنان حجره حاوی ناقلین پروتینی مخصوص در غشای خود می‌باشد که انتشار بعضی مواد منحله را به طرف داخل و یا به خارج از حجره مساعدت می‌نماید. بنابر این، اگر حجره در وسطی قرار داده شود که در آن غلظت بلند گلیسیرول موجود باشد، می‌تواند گلیسیرول را ذریعه انتشار سهل (Facilitated diffusion) و بدون استفاده از منبع مزدوجه انرژی، به حالت تعادل نگهدارد.

EM PUBLICATIONS



شکل ۱ – ۹ ساختمان شیماتیک باکتری در حال انقسام

در باکتری‌های گرام منفی، انتقال بسیاری مواد مغذی ذریعه پروتین‌های اتصالی خاص (binding proteins) که در فضای Periplasmic قرار دارند تسهیل می‌گردد. مواد مغذی ابتداء به پروتین‌های خاص چسپیده که ضریب dissociation آن به (10-7–10-6mol/lit) می رسد و بعداً توسط پروتین انتقال دهنده در غشای داخلی اخذ می‌گردد. این سیستم به نام shock sensitve یاد می‌گردد، به نسبت اینکه تغییرات غیر مترقبه اسموتیک (رقیق شدن ناگهانی محیط تعلیقی حجرات) باعث تخریب غشای خارجی گردیده و زمینه خروج پروتین‌ها اتصالی (binding proteins) را مساعد می‌سازد.

علاوه بر انتقال حقیقی که در آن مواد منحله بدون تغییر شکبل از طریق غشأ عبور می‌نمایند، باکتری‌ها از عملیه استفاده می‌نمایند که به نام (group translocation) یا (vectorial metabolism) یاد می‌گردند، که بالای اخذ انواع معین مواد قندی مانند گلوکوز و مانوز مؤثر می‌باشد. در این عملیه مرکبات فوق در اثنای عملیه انتقال phosphorylate می‌گردند. این عملیه به باکتری‌ها اجازه می‌دهد تا منابع انرژیکی خود را ترویج، انتقال و میتابولیزم را طور مؤثر مورد استفاده قرار دهند. در این عملیه ابتداء یک پروتین انتقال دهنده غشایی در سایتوپلازم phosphorylate می‌گردد که در آن phosphoenolpyruvate به مصرف می رسد. این پروتین phospholyrate شده بعداً به مواد قندی آزاد در غشای خارجی وصل گردیده و آنرا به سایتوپلازم داخل می‌نماید و بعداً به حیث قند فوسفیتدار آنرا آزاد می‌نماید. این سیستم های انتقال دهنده مواد قندی به نام سیستم‌های phosphotransferase یاد می‌گردد.

در Escherichia coli، انتقال آیون پتاسیم به منظور تنظیم فشار داخلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ازدیاد در فشار اوسموتیک خارجی در غلظت ثابت K^+ باعث فعال شدن gene های کود کننده برای پروتین‌های انتقال دهنده K^+ می‌گردند و علاوتاً فعالیت پروتین‌های متذکره را ازدیاد می‌بخشد.

۲- **انتقال الکترونی و Oxidative phosphorylation**: سایتوکروم‌ها و سایر انزایم‌ها و مرکبات مربوط به زنجیر تنفسی به شمول عده از dehydrogenase ها در غشای سایتوپلازمیک قرار دارند. بنابر این غشای سایتوپلازمیک باکتری‌ها شباهت وظیفوی به غشای مایتوکاندریا داشته که همین ارتباط توسط بسیاری بیولوجست ها برای تقویه این تیوری به کار رفته است که مایتوکاندریا از باکتری‌های symbiotic منشأ گرفته اند.

۳- **اطراح اکزو انزایم‌های هایدرولایتیک (Hydrolytic exoenzymes)**: تمام اورگانیزم‌ها که

© AAZEM PUBLICATIONS

مواد مغذی خود را از پولیمیرهای عضوی مکرواورگانیک مانند (پروتین‌ها، پولی سکرایدها، لیپیدها) به دست می آورند انزایم‌های هایدرولا یتیک را اطراح می‌نمایند که پولیمیرهای فوق را به واحدات کوچکتر تبدیل نموده و باعث عبور آنها از غشای سایتوپلازمیک می‌گردد. حیوانات بزرگتر چنین انزایم ها را مستقیماً در لومن قنات هضمی اطراح می‌نمایند و باکتری‌ها گرام مثبت آنرا مستقیماً در وسط خارجی و باکتری‌های گرام منفی در فضای periplasmic آنرا افراغ می‌نمایند. بعضی باکتری‌های گرام منفی مانند Pseudomonas، Erwinia و Serratia مقادیر زیادی از Protease ها، Amylase ها و Pectinase ها را به محیط خارج حجروی اطراح می‌نمایند. پروتین‌های اطراح شده در رایبوزوم های سایتوپلازمیک به‌شکل Preprotein ها ترکیب گردیده که یک سلسله اضافی 15-40 امینواسید (معمولاً تقریباً 20 امینواسید) در نهایت امینو آن وصل می‌باشند. این سلسله رهنما و یا سگنال دهنده leader seuquence در هماهنگی با پروتین‌های بالخاصه سایتوپلازم و یا غشأ عمل نموده و در مراحل اولی پروسه سنتیز پولی پپتاید ها، رایبوزوم ها را به سطح داخلی غشای حجروی وصل می‌نماید. بعداً translocation در غشأ که توسط سلسله "رهنما" آغاز گردیده صورت می‌گیرد، این مسأله روشن نیست که این عملیه همزمان با ازدیاد در طول زنجیر صورت می‌گیرد و یا اینکه در مراحل اخیر پروسه سنتیز به وقوع می پیوندد. سلسله رهنما به تعقیب translocation توسط (membrane-bound leader peptidase) شکسته و پروتین تکمیل شده در مرحله اخیر از غشأ آزاد می‌گردد.

بسیاری باکتری‌های پتوجن انزایم ها (مانند Ig Al protease) و توکسین‌هایی را (مانند توکسین کولرا) به یک میکانیزم مشابه فوق اطراح می‌نمایند که فکتورهای مهم virulence می‌باشند.

۴- **وظایف بیوسنتیتیک:** غشای سایتوپلازمیک ناحیه انتقال دهنده لیپیدها می‌باشد که بالای آن واحدات دیوار حجروی تراکم نموده به همین ترتیب انزایم‌های بیوسنتیز دیوار حجروی را دارا می‌باشند. انزایم‌های سنتیز phospholipid ها نیز در غشای سایتوپلازمیک قرار دارند. بالاخره، بعضی پروتین‌های (DNA replicating complex) در بالای غشأ موجود می‌باشند، که احتمالاً در میزوزوم های جداری که DNA متصل آن بوده، قرار داشته باشد.

۵- **سیستم های Chemotactic:** جذب کننده ها و دفع کننده ها بالای آخذه های خاص در غشای سایتوپلازمیک وصل می‌گردند. حد اقل 20 آخذه مختلفه شیمورسپتور ها در غشای E.coli قرار دارند، که بعضی از آنها در مراحل اول پروسه انتقال وظیفه دارند.

© AAZEM PUBLICATIONS

ج: مواد ضد باکتریایی که بالای دیوار حجروی اثر دارند: *مواد ضد عفونی که دارای گروپ های lipophilic و hydrophilic می‌باشند، باعث پاره نمودن غشاهای سایتوپلازمیک و در نتیجه مرگ حجره می‌گردد. یک گروپ انتی بیوتیک ها، یعنی polymyxin ها متشکل از پیپتایدهای سکلیک ضد عفونی می‌باشند که غشاهایی دارنده phosphotidyl ethanolamine را طور انتخابی تخریب می‌نمایند. ماده اخیرالذکر یک جزء عمده غشای باکتریایی می‌باشد. تعدادی از انتی بیوتیک ها طور بالخاصه وظایف بیوسنتتیک غشای سایتوپلازمیک را مختل می سازند طور مثال nalidixic acid و novobiocin سنتیز DNA را نهی نموده، علاوتاً novobiocin سنتیز teichoic acid را نهی می‌نماید.*

گروپ سوم مواد membrane-active عبارت از ionophore ها می‌باشند، مرکبات فوق زمینه انتشار سریع کتیون های معین را از طریق غشأ مساعد می‌سازد. طور مثال Valinomycin طور مشخص انتقال آیون های پوتاسیم را مساعدت می‌نماید. بعضی مرکبات ionophore ذریعه تشکل منفذهای hydrophilic در غشأ عمل می‌نمایند و تعداد دیگر به حیث انتقال دهنده گان آیون‌های منحل در شحم عمل نموده و از غشأ داخل و خارج می‌گردند. آیونوفورها می‌توانند حجره را از بین ببرند و علت آن از بین بردن پتانسیل غشأ می‌باشد که برای عملیه oxidative phosphorylation و سایر پروسه های مربوط به غشأ لازم می‌باشند. مرکبات فوق تأثیر انتخابی بالای باکتری‌ها نداشته و بالای غشای تمام انواع حجرات عمل نموده می‌توانند.

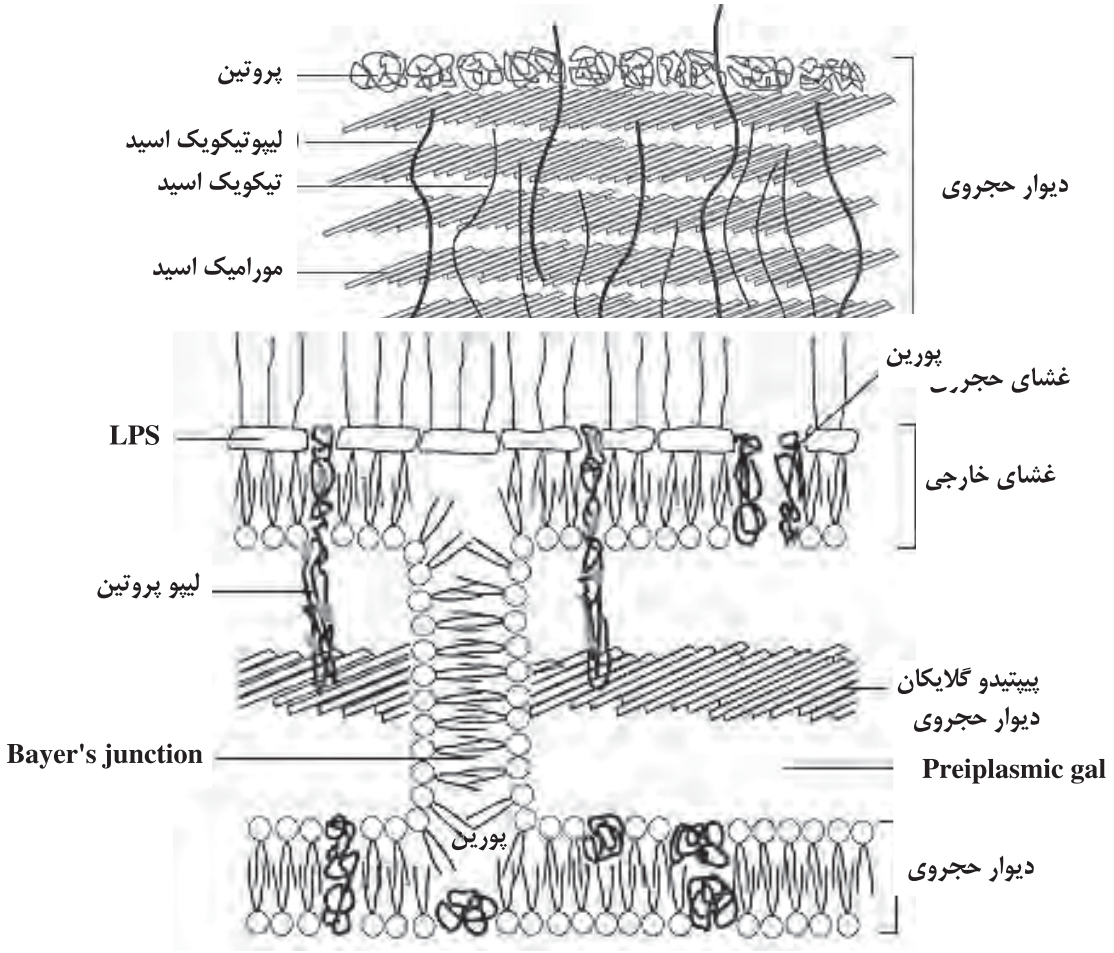
© AAZEM PUBLICATIONS

دیوار حجروی

طبقات لفاف حجروی میان غشای سایتوپلازمیک و کپسول مجموعاً به نام "دیوار حجروی" یاد می‌گردند. در باکتری‌های گرام مثبت، دیوار حجروی عمدتاً متشکل از peptidoglycan و teichoic acid ها بوده؛ ولی در باکتری‌های گرام منفی، دیوار حجروی مشتمل بر peptidoglycan و غشای خارجی می‌باشد.

فشار اسموتیک داخلی در بسیاری باکتری‌ها در نتیجه تراکم مواد منحل توسط انتقال فعال آن، (بین 5 الی 20 اتموسفیر) تفاوت می‌نماید. در بسیاری محیط ها، این فشار برای انفجار حجره کفایت می‌نماید، ولی بنابر موجودیت قوت و استحکام فوق‌العاده دیوار حجروی این عمل صورت گرفته نمی‌تواند. دیوار حجروی باکتری‌ها قدرت فوق را از یک طبقه ای حاصل می‌نماید که متشکل از مواد به نام murein، mucopeptide و یا peptidoglycan (تمام اسامی مترادف هم اند) می‌باشند. ساختمان peptidoglycan ذیلاً تشریح می‌گردد.

باکتری‌ها نظر به عکس‌العمل شان در مقابل تلوین گرام، به دو گروپ گرام مثبت و گرام منفی تقسیم می‌شوند. تلوین فوق به نام هستولوجست Christian Gram مسمی گردیده است، نامبرده پروسیجر تلوین تشخیصی فوق را حین معاینه باکتری‌ها در انساج منتن کشف نمود. در این تلوین ابتدأ حجرات توسط crystal violet و iodine تلوین گردیده و بعداً با اسیتون یا الکول شسته می‌شود. در مرحله اخیرالذکر باکتری‌های گرام منفی بیرنگ گردیده؛ ولی باکتری‌های گرام مثبت رنگ خود را حفظ می‌نمایند.



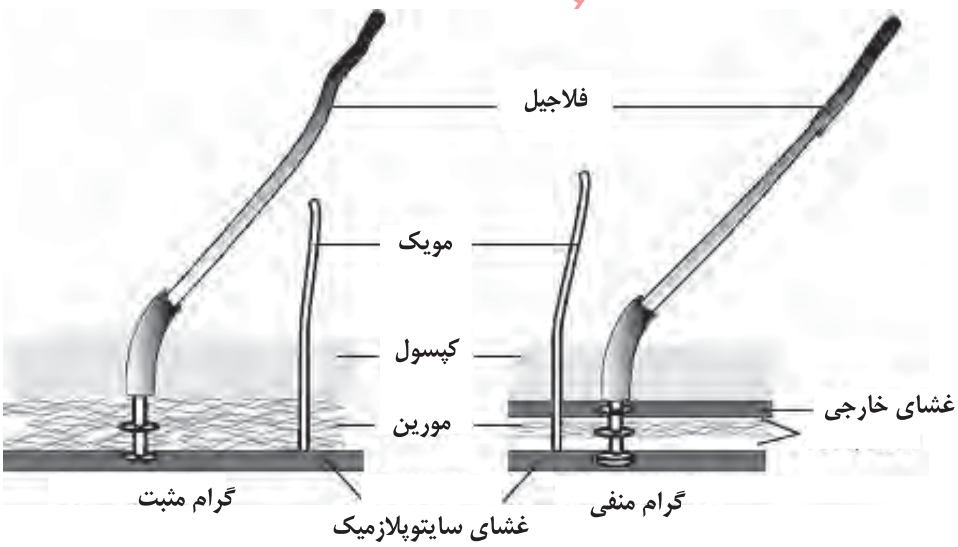
شکل ۱ – ۱۰

اختلاف میان باکتری‌های گرام مثبت و گرام منفی نشان داده است که این اختلاف در دیوار حجروی وجود دارد: حجرات گرام مثبت نیز توسط اسیتون یا الکول بیرنگ گردیده

می‌توانند، مشروط بر اینکه دیوار حجروی آنها پس از مرحله تلوین و قبل از مرحله شستشو بر طرف گردیده باشد. باوجود اینکه ترکیب کیمیاوی دیوار های گرام مثبت و گرام منفی حال به خوبی دانسته شده است؛ ولی با آنهم علت اینکه دیوار گرام مثبت چگونه خروج رنگ را مانع می‌گردد، فهمیده نشده است.

دیوار حجروی علاوه بر اینکه باعث حفاظت فشار اوسموتیک حجره می‌گردد، نقش اساسی را در تقسیمات حجروی بازی می‌نماید و به همین ترتیب به حیث اساس بیوسنتیز حجره فعالیت می کند. شاخص های عمده انتیجنیک سطح حجره در طبقات مختلفه دیوار آن قرار داشته و یک مرکب به نام lipopolysaccharide در حجرات گرام منفی مسؤول فعالیت endotoxin های غیر وصفی باکتری‌های گرام منفی می‌باشد. طور عموم دیوار حجروی قابلیت نفوذیه غیر انتخابی داشته با آنهم یک طبقه دیوار گرام منفی یعنی غشای خارجی آن عبور مالیکول‌های بزرگ را مانع می‌گردد.

ICATIONS



شکل ۱ – ۱۱

وظایف دیوار حجروی

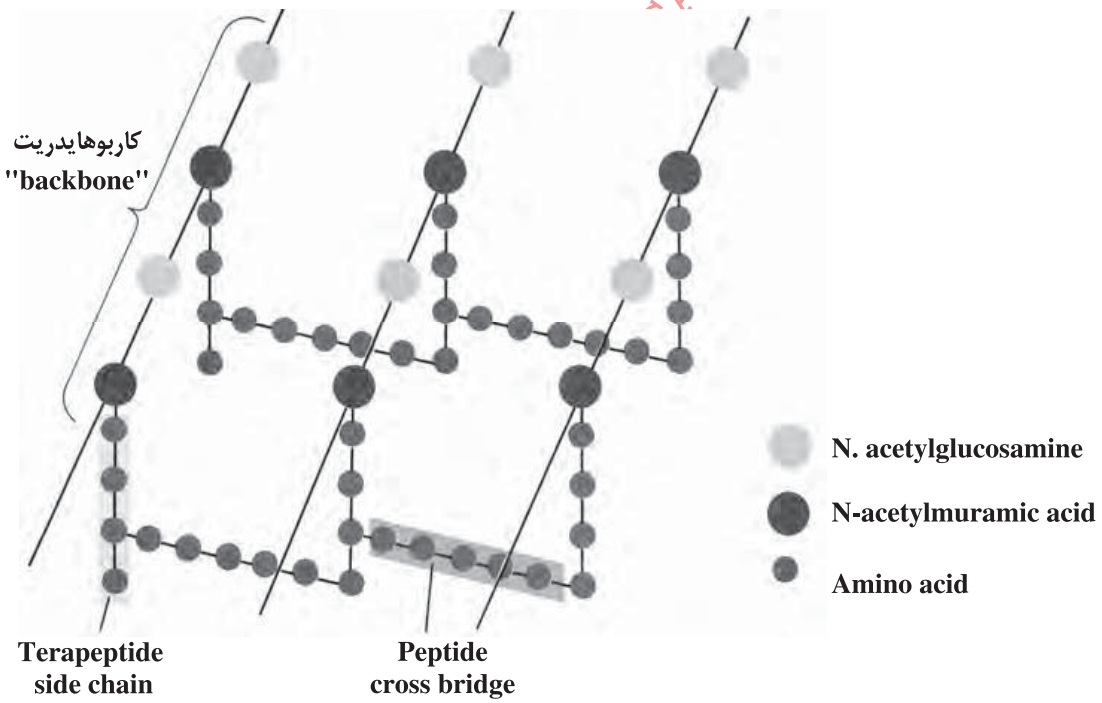
۱– به باکتری‌ها شکل می‌دهد و یا شکل ظاهری حجره باکتری را تعیین می‌نماید.

۲– ساختمان‌های داخل حجره باکتری را محافظه می‌نماید.

۳- در انقسام حجروی نقش دارد.

۴- مقاومت را به مقابل عوامل محیطی که متوجه حجره باکتری است به‌وجود می آورد.

الف: طبقه پپتیدوگلایکان Peptidoglycan layer: پپتیدوگلایکان یک پولیمیر مغلق بوده که از نظر تشریحی متشکل از سه قسمت می‌باشد: اساس (ستون فقرات) که مرکب از N-acetylglucosamine و N-acetylmuramic acid به‌شکل متبادل می‌باشد، یک ست زنجیرهای جانبی یکسان tetrapeptide ها که به N-acetylmuramic acid وصل می‌باشند و یک ست پل های اتصالی Peptide های یکسان می‌باشد. (شکل ۱ – ۱۲) در بسیاری دیوارهای حجروی گرام منفی، پل های اتصالی مشتمل بر یک رابطه مستقیم پپتاید میان diaminopimelic acid (DAP) و گروپ carboxyl در D-alanine نهایت دومی زنجیر می‌باشد.



شکل ۱-۱۲ ساختمان کیمیاوی پپتیدوگلایکان

با آنهم، زنجیرهای جانبی tetrapeptide تمام انواع دارای تظاهرات عمده مشابه می‌باشند. بسیاری دارای L-alanine در موقعیت 1 (متصل به diaminopimelic acid) D-glutamate و یا

D-glutamate تعویضی در موقعیت 2 و D-alanine در موقعیت 4 می‌باشد. موقعیت 3 بیش از همه متغیر می‌باشد. طوریکه بسیاری باکتری‌های گرام منفی دارای diaminopimelic acid در این موقعیت بوده که به آن مرکبات لا یپوپروتین دیوار حجروی وصل می‌باشد که ذیلاً توضیح می‌گردد. باکتری‌های گرام مثبت دارای diaminopimelic acid، L-lysine و یا سایر L-aminoacid ها در موقعیت 3 بوده می‌توانند.

diaminopimelic acid یک عنصر مختص برای دیوار حجروی پروکاریوتیک بوده و پیشقدم Lysine در بیوسنتیز باکتری برای امینو اسید فوق می‌باشد. Mutant های باکتری‌ها که قبل از diaminopimelic acid در پروسه biosynthetic pathway نهی می‌گردند، در صورت فراهم نمودن diaminopimelic acid در محیط دوباره به نموی نورمال خود دوام می‌دهند؛ اما اگر تنها L-lysine فراهم گردد، لیز صورت می‌گیرد و با وجود نموی نارمل قادر به تشکل peptidoglycan جدید در دیوار حجروی نمی‌باشند.

این مسأله که زنجیرهای peptidoglycan طور متقابل وصل می‌باشند به این مفهوم است که هر طبقه peptidoglycan یک مالیکول بزرگ واحد می‌باشد.در باکتری‌های گرام مثبت، به تعداد 40 ورق پپتیدوگلایکان می‌باشند که تقریباً 50 فیصد مواد دیوار حجروی را تشکیل می‌دهند. در باکتری‌های گرام منفی طوری معلوم می‌گردد که فقط 1-2 ورق وجود داشته باشند که 5-10 فیصد مواد دیوار حجروی را تشکیل می‌دهند. باکتری‌ها نظر به ساختمان دیوار حجروی شکل می‌گیرند که این موضوع در خصوص انواع خاص باکتری‌ها مشخص می‌باشد.

چندین گروپ پروکاریوتیک ها، که مجموعاً به نام archaeobacteria یاد می‌گردند، فاقد طبقه peptidoglycan می‌باشند. در بعضی انواع این گروپ یک پولیمیر مشابه موجود می‌باشد که مشتمل بر قندهای N-acetyl و سه L-minoacid می‌باشند. این گروپ فاقد muramic acid و D-amino acid ها می‌باشند. در سایر آرکیوباکتری‌ها در عوض یک طبقه غیر پروتینی موجود است. این اورگانیزم‌ها در قسمت لیپیدها و RNA نیز تفاوت هایی را نشان می‌دهند.

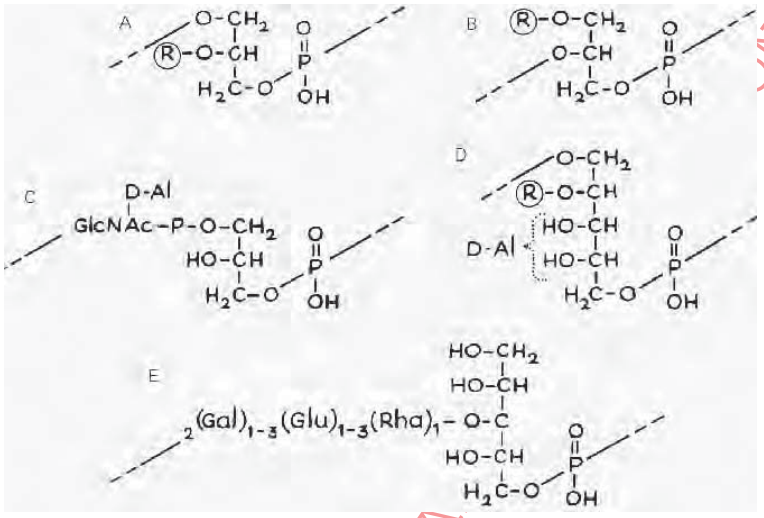
ب: اجزای خاص دیوار حجروی گرام مثبت: اکثر دیوارهای گرام مثبت، مقادیر قابل ملاحظه اسیدهای teichoic و teichuronic را دارا می‌باشند که تقریباً ۵۰ فیصد وزن خشک دیوار حجروی و 10 فیصد وزن خشک تمام حجره را احتوا می‌نماید. بر علاوه بعضی دیوارهای گرام مثبت مالیکول‌های پولی سکراید را دارا بوده می‌توانند.

۱- teichoic acid و teichuronic acid: عبارت از پولیمیر های منحل در آب بوده که حاوی ribitol و glycerol می‌باشند و توسط رابطه های phosphodiester وصل می‌گردند و

© AZEM PUBLICATIONS

یک یا بیشتر امینو اسید و یا قند را دارا می‌باشند (شکل 1-13) دو نوع teichoic acid موجود اند: teichoic acid دیواری که توسط روابط کوولانت با peptidoglycan وصل می‌باشند و teichoic acid غشایی (lipoteichoic acid) که توسط روابط کوولانت به گلایکولیپید های غشا وصل بوده و در میزوزوم ها تراکم می‌نمایند. بعضی انواع teichoic acid غشایی می‌باشند.

اسیدهای teichoic انتیجن های مهم سطحی باکتری‌های گرام مثبت دارنده آنرا تشکیل می‌دهد و اثرات انتی بادی ها بالای آنان حاکی بر این است که اسیدهای فوق در سطح خارجی طبقه peptidoglycan قرار دارند؛ ولی فعالیت اسیدهای فوق با هضم قسمی پپتیدوگلایکان ازدیاد می‌یابد، بناً نتیجه گیری می‌گردد که قسمت اعظم teichoic acid ممکن بین غشای سایتوپلازمیک و طبقه پپتیدوگلایکان موجود بوده و از طریق منفذها در طبقه اخیرالذکر، در جهت خارج حجره امتداد یابد. در pneumococcus ها (streptococcus pneumoniae) اسیدهای teichoic شاخص های انتیجنیک را حمل می‌نمایند که به نام Forssman antigen یاد می‌گردند. در streptococcus pyogenes، اسید lipoteichoic با M-protein مرتبط می‌باشند که از غشای حجروی از طریق طبقه پپتیدوگلایکان تبارز می‌نماید. مالیکول طویل M-protein همراه با lipoteichoic acid مایکروفیبریل های را می سازند که اتصال S. Pyogene را به حجرات حیوانی مساعدت می‌نماید.



شکل ۱ – ۱۳ واحد های تکراری تیکوییک اسید

واحدات متکرر ممکن گلیسیرول باشند که به واسطه رابط های 1/3 و یا 1/2 وصل می‌باشند و یا واحدات مغلقتر دیگری باشند که در آن گلیسیرول و یا ribitol با بقایای قندی

مانند گلوکوز، گلکتوز و یا N-acetylglucosamine یکجا می‌باشند. این زنجیرها ممکن 30 و یا بیشتر واحد متکرر را به‌شکل طولانی در خود داشته باشند، گرچه زنجیرهای دارای 10 و یا کمتر واحد نیز معمول می‌باشند.

بسیاری teichoic acid ها دارای مقادیر زیاد D-alanine می‌باشند که اکثراً در موقعیت های 2 و 2 و 3 گلیسیرول و یا موقعیت 3 و یا 4 ribitol وصل می‌باشند؛ اما D-alanine در بعضی از اشکال مغلق تر teichoic acid ها به یکی از بقایای قندی وصل می‌باشد. علاوه بر D-alanine مرکباتی دیگری از قبیل گلوکوز، گلکتوز، N-acetylglucosamine، N-acetylegalactose amine و یا succinate ها نیز ممکن به گروپ های آزاد هایدروکسیل glycerol و ribitol وصل باشند. ممکن بیشتر از یکنوع مرکب قندی علاوه بر D-alanine در نوع واحد مایکروبی موجود باشد در صورت فوق این مسأله ثابت نگردیده که آیا قندهای مختلفه در عین مالیکول teichoic acid قرار دارند و یا در مالیکول‌های دیگر. ترکیب teichoic acid که توسط یک نوع معین باکتری ساخته می‌شود نظر به ترکیب وسط نشونمایی متفاوت بوده می‌تواند. وظیفه teichoic acid ها تا هنوز هم مورد مباحثه می‌باشد. Teichoic acid ها آیون مگنیزیم را با خود وصل نموده که ممکن نقشی را در رسانیدن آیون فوق به حجره داشته باشد. همچنان نقشی را در وظایف نورمال پاکت حجروی دارا می‌باشند، بنابر این تعویض choline با ethanolamine در تیکوئیک اسید Pneumococcus ها باعث مقاومت حجره در مقابل autolysis و عدم توانمندی آن برای اخذ DNA transformation، می‌گردد. تیکوئیک اسیدهای غشایی ممکن به حیث یک اتصال دیوار به غشای حجروی مربوطه وظیفه اجرا نماید.

اسیدهای tichuronic عبارت از پولیمیر های مشابه بوده؛ ولی واحدات متکرر اسیدهای قندی مانند (N-acetylmanosuronic و یا D-glucosuronic acid) را به عوض فوسفوریک اسید در خود دارند. مرکبات فوق در صورت محدود بودن فوسفات به عوض تیکوئیک اسید سنتیز می‌گردند.

۲- پولی سکرایدها: هایدرولیز دیوار در انواع معین باکتری‌های گرام مثبت باعث حصول قندهای خنثی مانند mannose، arabinose، galactose، rhamnose، glucosamine و قندهای اسیدی مانند glucuronic acid و mannuronic acid می‌گردد. ممکن این قندها در واحدات فرعی پولی سکرایدها در دیوار حجروی وجود داشته باشند با وجود آنهم کشف این مسأله که اسیدهای تیکوئیک و تیکورونیک ممکن دارای انواع مختلفه قندها باشند باعث گردیده که منشه این قندها نامعلوم باقی بمانند.

© AAZEM PUBLICATIONS

ج: مرکبات خاص دیوارهای حجروی گرام منفی: دیوار حجروی گرام منفی دارای سه مرکب می‌باشد که خارج از طبقه پپتیدوگلایکان قرار داشته و عبارتند از: لاپیوپروتین، غشای خارجی و لیپوپولی سکراید می‌باشد.

۱- lipoprotein: مالیکول‌های لاپیوپروتین غیر معمول سبب اتصال غشای خارجی و طبقات پپتیدوگلایکان می‌باشند. لاپیوپروتین دارای 57مینو اسید می‌باشند، که نمایانگر تکرار یک سلسله مرکب از 15 امینو اسید می‌باشد و توسط روابط پپتایدی به diaminopimelic acid موجود در زنجیر های جانبی tetrapeptide peptidoglycan وصل می‌باشد. مرکبات شحمی، مشتمل بر diglyceride thioether می‌باشند که به cysteine نهایی آن وصل می‌باشد و به‌صورت غیرکوولانت به غشای خارجی تثبیت می‌گردد. لاپیوپروتین از نظر تعداد زیادترین پروتین در حجرات گرام منفی می‌باشد (معادل به 700000 مالیکول در یک حجره.) وظیفه آن (با در نظرداشت میوتانت ها که فاقد آن می‌باشند) عبارت از تثبیت غشای خارجی و اتصال آن بالای طبقه پپتیدوگلایکان می‌باشد.

۲- غشای خارجی: غشای خارجی یک ساختمان دو طبقه یی می‌باشد: ورقه داخلی آن از نظر ترکیب شباهت به غشای سایتوپلازمیک دارد حالانکه فوسفولیپیدهای ورقه خارجی با مالیکول‌های لیپوپولی سکراید (LPS) تعویض گردیده اند. در نتیجه ورقه های این غشأ غیر متناظر گردیده و خواص این دو طبقه به طور قابل ملاحظه از غشاهای بیولوژیک مشابه آن مانند غشای سایتوپلازمیک، متمایز می‌گردد.

توانایی غشای خارجی در رابطه با عدم اجازه دخول به مالیکول‌های هایدروفوبیک از جمله خواص غیر معمول غشاهای بیولوژیکی بوده و حجره را (در صورت enteric bacteria ها) از نمک های صفراوی محافظه می‌نماید. نظر به ماهیت شحمی آن غشای خارجی مالیکول‌های هایدروفیلیک را نیز اجازه دخول به حجره نمی‌دهند. با وجود آنهم، غشای خارجی دارای کانال های باالخاصه می‌باشند که مشتمل بر مالیکول‌های پروتینی به نام porin ها می‌باشند که دیفوجن غیر فعال مرکبات هایدروفیلیک با وزن مالیکولی پائین را اجازه می‌دهد این مرکبات مشتمل بر قندها، امینو اسیدها و آیون های معین می‌باشد. مالیکول‌های بزرگ انتی بیوتیک غشای خارجی را نسبتاً به آهسته گی می شگافند که این موضوع حاکی بر مقاومت نسبتاً بیشتر باکتری‌های گرام مثبت در مقابل انتی بیوتیک ها می‌باشد. قابلیت نفوذیه غشای خارجی نظر به یک نوع گرام منفی به نوع دیگر آن وسیعاً متفاوت می‌باشد. به گونه مثال: Pseudomonas aeruginosa در برابر مرکبات antibacterial شدیداً مقاوم می‌باشد و غشای خارجی آن

© AZEM PUBLICATIONS

نسبت به E. coli تقریباً 100 مراتبه قابلیت نفوذیه کمتر دارد.

پروتین‌های عمده غشای خارجی که به اساس gene های کود کننده آن نامگذاری شده اند، نظر به عدم موجودیت آن در میوتانت ها و نظر به تجاربی که در آن پروتین‌های خالص به‌شکل غشاهای مصنوعی دوباره ترکیب می‌گردند، به چندین کتگوری تقسیم می‌گردند. به گونه مثال پورین ها که مثال آن OmpC، D و F و PhoE در E.coli و Salmonella typhimurium است از جمله پروتین‌های trimeric بوده که هردو طرف غشای خارجی را تثقب می‌نمایند. این‌ها منفذهای نسبتاً غیر وصفی را تشکیل داده که انتشار آزاد مواد منحله هایدروفیلیک کوچک را از طریق غشأ اجازه می‌دهند. پورین ها در انواع مختلف دارای حدود دفع سازی متفاوت می‌باشند که از وزن مالیکولی 600 در Ecoli الی بیشتر از 300 در P.aeruginosa تفاوت می‌نماید.

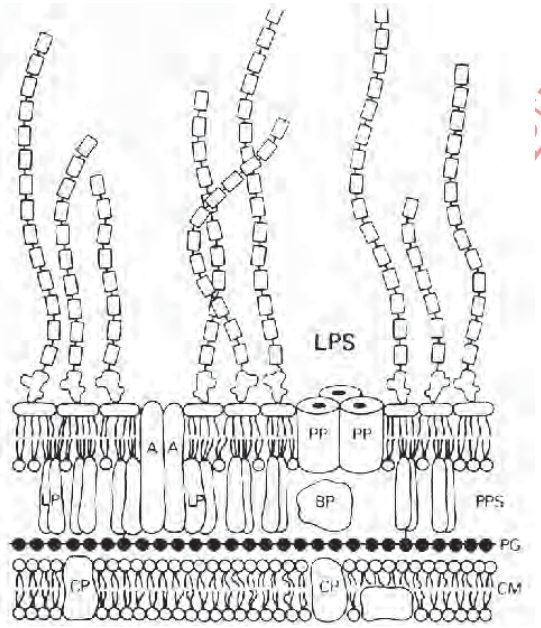
اجزای گروپ دوم از پروتین‌های غشای خارجی که در بسیاری موارد به پورین ها شباهت دارند نمونه آن LamB و Tsx می‌باشد. LamB یک پورین قابل تحریک بوده و رسپتور برای باکتریوفاژ lambda می‌باشد و مسؤول انتشار مالتوز و maltodextrin ها از غشأ می‌باشد. Tsx رسپتور برای باکتریوفاژ T6 بوده و مسؤول انتشار nucleoside ها و بعضی امینواسیدها می‌باشد. برعلاوه LamB عبور مواد منحله دیگر را نیز اجازه می‌دهد و نشاندهنده عمل متقابل مواد منحله با نواحی مخصوصه در channel می‌باشد.

پروتین OmpA در غشای خارجی بسیار وافر می‌باشد. پروتین فوق به حیث رسپتور برای چندین باکتریوفاژ فعالیت نموده و نیز در تثبیت غشای خارجی بالای طبقه peptidoglycan سهیم می‌باشد. علاوتاً مویک pilus جنسی در F-mediated bacterial conjugation می‌باشد.

غشای خارجی همچنان دارای یک ست پروتین‌های کمتر وافر بوده که در انتقال مالیکول‌های خاص، مانند Vit B12 و منعلق ironsiderophore سهیم می‌باشند. اینان وابستگی زیادی به مرکبات (مورد انتقال) شان نشان داده و احتمالاً مانند سیستم های کلاسیک انتقال در غشای داخلی (سایتوپلازمیک) فعالیت دارند. جهت اجرای وظیفه مناسب این پروتین‌ها، ایجاب می‌نماید تا انرژی را با پروتینی به نام TonB بدست آورد. سایر پروتین‌های اضافی کوچک مشتمل بر تعداد محدودی از انزایم ها به شمول فوسفولیپازها و پروتیازها می‌باشد به همینگونه بعضی پروتین‌های penicillin-binding در آن مشتمل می‌باشند.

© AZEEM PUBLICATIONS

توپولوژی پروتین‌های عمده غشای خارجی، به اساس مطالعه و تحلیلات روابط متقابل و ارتباط وظیفوی در (شکل 1-14) نشان داده شده است. غشای خارجی به هردو یعنی طبقه murein و غشای سایتوپلازمیک وصل می‌باشد. ارتباط با طبقه میورین اساساً توسط لا یپوپروتین غشای خارجی تأمین می‌گردد. تقریباً یک برسه مالیکول های لا یپوپروتین توسط روابط کوولانت با میورین وصل بوده و در نگهداری این دو ساختمان با همدیگر مساعدت می‌نمایند. یک اتحاد غیرکوولانت بعضی پورین ها با طبقه میورین نقش کمتری در ارتباط دادن طبقه خارجی با این ساختمانها دارد. پروتین‌های غشای خارجی در رایبوزوم های متصل با سطح سایتوپلازمیک غشای داخلی سنتیز می‌یابد و اینکه چگونه پروتین‌های متذکره به غشای خارجی می رسند تا اکنون فهمیده نشده است، ولی درینمورد چنین پیشنهاد می‌گردد که انتقال در نواحی چسپیدگی میان غشای سایتوپلازمیک و غشای خارجی صورت می‌گیرد، که این مسأله توسط الکترون مایکروسکوب بخوبی مشاهده گردیده می‌تواند. نواحی یا زون های متذکره به اساس اسم کاشف آن به نام "Bayer junctions" نیز یاد می‌گردند در حجره E. coli تقریباً 200junction متذکره وجود دارد.



شکل ۱- ۱۴ ساختمان مالیکولی غشای خارجی باکتری گرام منفی

۳- lipopolysaccharide (LPS): لیپوپولی سکراید در دیوار حجروی گرام منفی مشتمل بر لیپید مغلقی به نام لیپید A می‌باشد که به آن یک پولی سکراید که متشکل از یک هسته و یک سلسله نهایی یونتهای متکرر اند وصل می‌باشد. لیپید A متشکل از واحدات phosphrylated glucosamine disaccharide بوده که به آن یکتعداد زنجیرهای طویل اسیدهای شحمی وصل می‌باشند. β-ydroxymyristic acid که یک اسید شحمی C14 می‌باشد دایماً درین شحم موجود بوده و مشخصه آن می‌باشد، سایر

PUBLICATIONS

اسیدهای شحمی همراه با گروپ های تعویضی در فوسفیت آنها، نظر به نـوع بـاکتری متفـاوت می‌باشند.

هسته پولی سکراید در تمام انواع باکتری گرام منفی که دارای LPS باشند باهم مشابه انـد. بـا آنهم هرنوع دارای یک واحد اختصاصی متکرر می‌باشند. یونتهای متکرر اکثـراً trisaccharide های خطی و یا tetra or pentasaccharide های منشعب می‌باشند.

مالیکول های LPS منفی به‌صورت غیرکوولانت توسط کتیون های دو ولانسه اتـصال متقابـل می یابند؛ این مسئله باعث ثبات دادن به غشأ گردیده و مانعه یـی را در مقابـل مـالیکول هـای هایدروفوبیک به‌میان می آورند. برطرف نمودن کتیون های دو ولانسه توسط chelat هـا و یـا بیجانمودن توسط انتی بیوتیک های پولی کتیونیک، غشای خارجی را برای مالیکول های بزرگ هایدروفوبیک قابل نفوذ می‌سازد.

LPS که برای حیوانـات نهایـت توکـسیک مـی‌باشـد، در بـاکتری هـای گـرام منفـی بـه نـام endotoxin یاد می‌گردد زیرا به سطح حجره قویاً چسپیده و فقط در صورتی آزاد می‌گردند کـه حجره lyse گردد. هرگاه LPS به لیپید A و پـولی سـکراید تجزیـه گـردد، تمـام toxicity آن مربوط به اول الذکر می‌باشد. به عبارت دیگـر پـولی سـکراید ممثـل انتیجنیـک عمـده سـطح حجروی می‌باشد و به نام O antigen یاد می‌گردد. خصوصیت انتیجنیک بـه یونتهـای متکـرر نهایات نسبت داده می‌شود که با ساختن یک طبقه هایدروفیلیک پولی سکرایدها دورادور حجره را احاطه می‌نمایند. تعداد ممکنه انواع انتیجنیک نهایت زیاد بـوده؛ تنهـا در Salmonella ایـن تعداد بیش از 1000 تثبیت گردیده است.

LPS توسـط روابـط هایـدروفوبیک بـه غـشای خـارجی وصـل مـی‌گردنـد. LPS در غـشای سایتوپلازمیک سنتیز گردیده و به موقعیت نهایی آن انتقال داده می‌شود. موجودیت LPS بـرای فعالیت بسیاری پروتین‌های غشایی لازم می‌باشند.

تمام باکتری های گرام منفی دارای LPS غشای خارجی مرکب از تعداد متفاوت واحدات متکرر Oligosaccharide نمی‌باشند؛ گلایکولیپیدهای غشای خارجی باکتری ها که در سطح مخاط جا می‌گیرند (طـور مثـال Neisseria meningitides، N. gonorrhoeae، Haemophilus Influenza، Haemophilus Ducreyi) دارای گلایکان های نسبتاً کوتاه و منشعب می‌باشند. این گلایکولیپیدهای کوچکتر با ساختمانهـــای " R-type" LPS فـــاقد O antigen قابـل مقایسه بوده که توسط میوتانت های باکتری های انتریک مانند E. Coli تولیـد مـی‌گـردد. بـا وجود آن ساختمان‌های آن بیشتر به glycosphinolipid های غشای حجـــــروی پستانداران

© AAZEM PUBLICATIONS

شباهت داشته، که بهتر است به نام lipooligosaccharide ها (LOS) مسمی‌گردند. این مالیکول ها ساختمان انتیجنیک خیلی متفاوت داشته و حتی در عین strain واحد تفاوت های ساختمانی را نشان می‌دهند.

LOS یک فکتور مهم ویرولانس می‌باشد. Epitop هایی در LOS تشخیص گردیده اند که ساختمان حجره میزبان را تقلید نموده و در نتیجه قادر می‌گردند که از عکس العمل معافیتی در میزبان فرار نمایند. بعضی LOS (طور مثال در N. Gonorrhoeae، N. Meningitides و H. Ducreyi) در نهایت خود دارای N-acetyllactosamine (Galβ1-4-GlcNAc) می‌باشند که از نظر immunochemical شباهت به‌پیشقدم antigen کریوات سرخ انسانها دارد. در موجودیت انزایم باکتریایی به نام sialyltransferase و مرکبات مربوط به میزبان و یا باکتریا (Monophospho N-acetylneuraminic acid, CMP-NANA)، بقایای N-acetyl-lactosamine سیالا یل دار (sialylated) می‌گردد. این sialylation که به‌صورت invivo صورت می‌گیرد، زمینه تقلید مالیکولی انتیجن میزبان را به اورگانیزم مهیا و ماسک بیولوژیکی را تهیه می دارد که فکر می‌گردد sialic acid آنرا فراهم می‌نماید.

۱- فضای periplasmic: فضا میان غشای داخلی و خارجی به نام periplasmic space یاد می‌گردد که مشتمل بر طبقه murein و یک محلول پروتینی gel مانند می‌باشد. فضای پیریپلازمیک تقریباً 20-40 فیصد حجم حجره را احتوا می‌نماید که قابل ملاحظه می‌باشد. پروتین‌های پیریپلازمیک مشتمل اند بر protein های اتصالی با مرکبات خاص (طور مثال، امینواسیدها، قند، ویتامین ها و آیون ها)، انزایم‌های هایدرولا یتیک (طور مثال، alkaline phosphotase و 5'-nucleotidase) می‌باشند که مرکبات غیرقابل انتقال را به مرکبات قابل انتقال می شکنند، و نیز دارای انزایم‌های detoxifying مانند β-lactamase و aminoglycoside-phosphorylase می‌باشند که انتی بیوتیک های معین را غیرفعال می سازند. پیریپلازم همچنان دارای پولیمیر های منشعب و متکاثف D-glucose می‌باشند، که از 8 الی 10 یونت طویل می‌باشد و طور متفاوت با گلیسیرول فوسفات و phosphatidylethanolamine تعویض می‌گردند. بعضی از آنها حاوی ایستر های O-succinyl می‌باشند. این اولیگوسکرایدهای غشایی نقش مهمی را در osmoregulation بازی می‌نمایند، زیرا حجرات کشت شده در اوساط با osmolarity پائین، سنتیز مرکبات فوق را 16 مرتبه ازدیاد می‌بخشد.

© AZZEMI PUBLICATIONS

د: انزایم‌هاییکه بالای دیوار حجروی حمله می‌نمایند: رابطه β 1-4 در ستون فقرات پپتیدوگلایکان توسط انزایم lysozyme هایدرولیز می‌گردد. انزایم متذکره در افرازات حیوانات (اشک، لعاب دهن، افرازات انفی) و به همینگونه در سفیدی تخم مرغ موجود است. باکتری های گرام مثبت که توسط lysozyme در محیط با فشار اسموتیک پائین مواجه گردد، لیز می‌شود؛ اما در صورتیکه فشار اسموتیک وسط بلند برده شود تا با فشار اسموتیک داخل حجره در حالت تعادل قرار گیرند، proplast های آزاد رها می‌گردند. غشای خارجی حجرات گرام منفی را در مقابل lysozyme محافظه نموده مگر اینکه توسط مرکبات مانند ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) که یک chelating agent می‌باشد از هم گسیخته شود؛ در وسط متعادل آزموتیک حجراتیکه با EDTA-lysozyme مواجه می‌گردند spheroplast ها را تشکیل می‌دهند که هنوز هم بقایای دیوار گرام منفی مغلق را به شمول غشای خارجی دارا می‌باشند.

باکتری ها خود دارای یکتعداد autolysin می‌باشد که عبارت اند از انزایم‌های هایدرولایتیک که بالای پپتیدوگلایکان ها حمله می‌نمایند، به شمول گلایکوسیدها، امیدازها، و پپتیدازها. انزایم‌های متذکره احتمالاً وظیفه اساسی را در نمو و انقسام حجره بازی می‌نماید؛ ولی این فعالیت ها در زمان انحلال حجرات مرده یا اوتولیز بیشتر ظاهر می‌گردد.

علاوتاً انزایم‌هاییکه باعث تخریب دیوار حجروی می‌گردند در حجراتی دریافت می‌شوند که تمام باکتری را بلع می‌نمایند مانند پروتوزوا و حجرات فگوسیت حیوانات تکامل یافته تر.

هـ: نشونمای دیوار حجروی: با ازدیاد کتله پروتوبلاست ها، دیوار حجروی با اتصال واحدات جدیدالتشکیل در طبقات مختلفه دیوار حجروی، طویلتر می‌گردد. در streptococc ها، اتصال به طبقه اساسی دارنده انتیجن در ناحیه استوایی دیوار حجروی اخذ موقع می‌نماید؛ در بعضی باکتری های گرام منفی چنین گمان می رود که پروسه اتصال طور تصادفی پیش می رود، گرچه اتصال موضعی که توسط بیجا شدن سریع و یا تغییر و تبدیل عین منظر به‌میان آمده می‌تواند. در E.coli، نشونمای چوکات غشای خارجی منحصراً در قطب های حجره صورت می‌گیرند، که اجزای بالخاصه مانند فگورسپتورها و permease ها به‌صورت تصادفی در این چوکات داخل می‌گردند. چنین گمان می رود که طبقه پپتیدوگلایکان E.coli توسط اتصالات موضعی تصادفی نشونما می‌نماید. در Bacillus subtilis، تجارب pulse-chase نشان داده اند که پپتیدوگلایکان و اسیدهای تیکوئیک به شکل بلاک های موجود می‌باشند، و کمتر از 12 ناحیه در یک حجره واحد برای دخول مواد جدیدالتشکیل موجود اند.

و: پروتوپلاست ها، سفیروپلاست ها و L-form ها: اگر در اثر فکتورهای خارجی دیوار حجروی باکتری‌های گرام مثبت کاملاً تخریب گردد (تخریب murein توسط lysozyme و نهی سنتیز آن

© AAZAM PUBLICATIONS

توسط پنسلین) و همچنان باکتری‌ها در وسطی گذاشته شود که فشار آسموتیک آن پایینتر از فشار آسموتیک داخل حجره باکتری‌ها باشد. در اینصورت باکتری‌ها به lysis معروض خواهد شد. اگر باکتری در محیطی گذاشته شود که فشار آسموتیک آن مساوی به فشار آسموتیک داخل حجره باکتری باشد در اینصورت باکتری به lysis مواجه نشده و حجره به‌وجود می‌آید که به نام protoplast یاد می‌گردد.

اگر دیوار حجروی باکتری‌های گرام منفی در اثر فکتورهای خارجی قسماً تخریب گردد و باکتری در وسطی گذاشته شود که فشار آسموتیک آن پایینتر از فشار آسموتیک داخل حجره باکتری باشد در اینصورت باکتری به lysis مواجه می‌شود درحالیکه اگر باکتری در وسطی قرار داده شود که فشار آسموتیک آن معادل (Isotonic) باشد در اینصورت حجره به lysis معروض نشده از شکل بیضوی و چوبک مانند به‌شکل مدور در می‌آید که به نام spheroplast یاد می‌گردد.

اگر چنین حجرات قادر به نشونما و انقسام باشند، درینصورت به نام L. form یاد می‌گردند. نام L از انستیتوت lister در لندن گرفته شده است. کلچر L. form ها مشکل بوده و اکثراً وسطی را ایجاب می‌نمایند که توسط agar جامد گردیده و دارای فشار اسموتیک مناسب باشند. L. form ها توسط پنسلین نظر به lysozyme به سهولت تولید گردیده که این موضوع عطف به ضرورت بر بقایای پپتیدوگلایکان می‌نماید.

بعضی اشکال L. form ها با برطرف نمودن محرک به شکل نورمال باسیلی اعاده گردیده می‌توانند. بنابرین قادر به این می‌گردند تا سنتیز نورمال دیوار حجروی را از سر بگیرند. با وجود آن سایر انواع ثبات داشته و هرگز اعاده نمی‌گردند. فکتوریکه ظرفیت اعاده باکتری را تعیین می‌نماید ممکن موجودیت بقایای پپتیدوگلایکان باشند، که بطور نورمال در بیوسنتیز خود بحیث پیشقدم عمل می‌نماید.

بعضی انواع باکتری ها به‌صورت خودبخودی باعث تولید L. form می‌گردند. تشکل L. form با وساطت دوایی و یا بشکل خودبه خودی باعث ایجاد انتانات مزمن در میزبان می‌گردند و اورگانیزم‌ها با نشان دادن مقاومت در اعضای دفاعی وجود جاگزین می‌گردند. از آنجاییکه انتانات L form در برابر تداوی انتی بیوتیک نسبتاً مقاوم می‌باشند، مشکلات خاصی را در مقابل شیموتراپی به‌میان می آورند. اعاده حالت شان به شکل باسیلی باعث عود انتان گردیده می‌تواند.

کپسول و Glycocalyx

کپسول قسمت خارجی دیوار حجروی مایکرواورگانیزم‌ها را احاطه می‌نماید. تمام باکتری‌ها دارای مواد کپسولی می‌باشند؛ ولی در نزد بعضی انواع آنها مواد کپسولی زیاد متراکم بوده و یک قشر ضخیم را می‌سازد که به سهولت و به طور واضح به مشاهده می رسد. مثلاً Klebsiella

© AZIM PUBLICATIONS

اما در بعضی باکتری‌ها کپسول عبارت از یک قشر نازک بوده که توسط الکترون مایکرسکوپ دیده می‌شود مثلاً Streptococci.

بسیاری باکتری ها حین نمو در محیط طبیعی مقادیر بزرگ پولیمیر های خارج حجروی را سنتیز می‌نمایند. (به استثنای کپسول poly-D-glutamic acid در Bacillus anthracis)، مواد خارج حجروی پولی سکراید می‌باشند. زمانیکه پولیمیرها یک طبقه متکاثف و واضح را دورادور حجره می سازند، به نام کپسول یاد می‌گردد و زمانیکه یک شبکه سست فیبریل ها را تشکیل دهد که به خارج از حجره تمدید یافته باشند، به نام glycocalyx یاد می‌گردد. در برخی موارد کتلات پولیمیر طوری تشکیل می‌گردد که به‌نظر می رسد کاملاً از حجره جدا گردیده ولی حجره در آن محبوس گردیده است، در چنین موارد پولیمیرهای خارج حجروی به حیث یک طبقه ساده (slime layer) عطف می‌گردند. پولیمیرهای خارج الحجروی توسط انزایم‌هایی سنتیز می‌گردند که بالای سطح حجره باکتریایی قرار دارند. طور مثال Sterptococcus mutans از دو انزایم glucosyl transferase و fructosyl transferase برای سنتیز زنجیرهای طویل دکستران (poly-D-glucose) و لیوان ها (poly-D-fructose) استفاده می‌نمایند (یعنی homopolymer ها).

پولیمیر های که حاوی بیشتر از یکنوع مونوسکراید باشند به نام heteropolymer ها یاد می‌گردند.

کپسول در متهاجم بودن باکتری های پتوجن کمک نموده، حجرات encapsulated از هایدرولیز مصؤون می‌باشند مگر اینکه انتی بادی های کپسولی آنرا احاطه نماید. گلایکوکالکس در چسپیدن باکتری به سطوح محیطی به شمول حجرات نباتی و میزبان حیوانی نقش بازی می‌نماید. طور مثال ظرفیت چسپندگی شدید S. Mutans به مینای دندان، به گلایکوکلکس نسبت داده می‌شود. حجرات باکتریایی عین نوع و یا سایر انواع بداخل گلایکوکلکس محبوس می‌گردد، که طبقه یی به نام پلک را بالای سطح دندان تشکیل می‌دهند، تولیدات اسیدی که توسط این باکتری ها افراز می‌گردد باعث caries دندان می‌گردد.

وظایف کپسول

۱- محافظه باکتری‌ها از علیه Phagocytosis.

۲- محافظه باکتری‌ها از تأثیرات انتی بادی ها.

© AZEM PUBLICATIONS

۳- محافظه باکتری‌ها از تأثیرات Bactcriophage.
۴- باکتری‌ها را از خشک شدن محافظه می کند.
۵- در تعیین type باکتری‌ها کمک می کند.
۶- قدرت Virullence دارد.

فلاجیل Flagella

الف: ساختمان: فلاجیل باکتریایی ساختمان‌های رشته مانند اند که مرکب از پروتین بوده و دارای قطر 30-12µm می‌باشند. ساختمان‌های فوق ارگانهای تحرکی برای اورگانیزم‌های دارنده آن می‌باشد. فلاجیل دارای نهایت و قاعده می‌باشد. فلاجیل منشأ خود را از اجسام مدور (Basal Granul) که در داخل دیوار حجروی موقعیت دارند می‌گیرد.

به اساس تعداد و موقعیت فلاجیل در حجره باکتری، باکتری‌های فلاجیل دار را به چهار گروپ ذیل تقسیم می‌نمایند:

۱- باکتری‌های Monotrichus: باکتری‌های که در یک نهایت خود صرف یک عدد فلاجیل دارند مانند Vibrio cholera.
۲- باکتری‌های Lophotrichus: عبارت از باکتری‌های اند که در یک نهایت خود چند عدد فلاجیل دارند مانند Pseudomonase.
۳- باکتری‌های Peritrichus: عبارت از باکتری‌های اند که در تمام سطح خود دارای فلاجیل اند. مانند Salmonella typhi.
۴- باکتری‌های Amphotrichus: عبارت از آن نوع باکتری‌های اند که در هردو نهایت خود یک یا چندین عدد فلاجیل دارند مانند Spirillum Volutance.

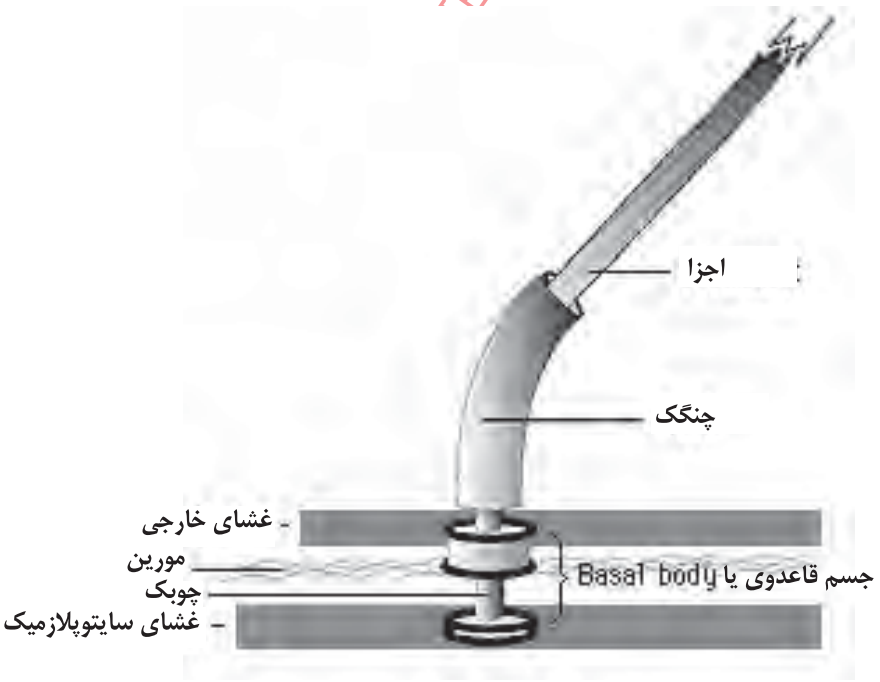
فلاجیل باکتریایی متشکل از چندین هزار مالیکول های پروتین متشکله می‌باشند که به نام flagellin یاد می‌گردد. در بعضی انواع (مثلاً Compylobacter)، فلاجیل مرکب از دو نوع فلاجیلین می‌باشند؛ ولی در اکثر انواع نوع واحد دریافت شده است. فلاجیل در نتیجه تراکم واحدات آن به شکل فنر مانند یا helical به‌میان می‌آید. اگر فلاجیل بوسیله تکان میخانیکی برداشته شوند، به زودی در نتیجه سنتیز، تراکم، و بیرون آوردن واحدات فلاجیلین، فلاجیل جدید تشکل نموده و در ظرف 3-6 دقیقه تحرکیت دوباره اعاده می‌گردد. ساختمان اساسی فلاجیلین

© AAZEM PUBLICATIONS

احتمالاً در انواع مختلفه باکتری ها از هم متفاوت می‌باشند. پروتین‌های فوق شدیداً انتیجنیک بوده (H.antigens) و بعضی عکس العمل های معافیتی بر علیه انتانات به این پروتین‌ها مربوط می‌باشد.

فلاجیل توسط یک ساختمان مغلق که متشکل از یک چنگک و یا یک قاعده می‌باشد به حجره باکتریایی التصاق می‌نماید. چنگک ساختمان کوتاه منحنی مانند بوده و طوری معلوم می‌گردد که بحیث یک مفصل عمومی میان motor که در قاعده موجود است و خود فلاجیل عمل می‌نماید. Basal body یا قاعده یک ست حلقه ها را دارا می‌باشد که یک جوره در باکتری های گرام مثبت و دو جوره در باکتری گرام منفی می‌باشند. ساختمان الکترون مایکروسکوب و دیاگرام های تشریحی در ساختمان‌های گرام منفی نشان داده شده است. حلقه های L و P در حجرات گرام مثبت موجود نمی‌باشند. طی مطالعات جنیتیک ساختمان مغلق فلاجیل آشکار گردیده که بیش از 40 جین مؤلد در قسمت تجمع و وظایف آن دخیل می‌باشند.

BLICATIONS



شکل ۱ – ۱۵ ساختمان فلاجیل

ب: وظیفه: فلاجیل های باکتریایی چرخنده های نیمه جامد فنری بوده که حجره به آن به‌صورت حرکی چرخش می‌دهد. این چرخش ذریعه جریان یافتن پروتون ها بطرف حجره به اساس میلان (گرادیانت) تولید شده توسط پروتون پمپ های اساسی به‌میان می‌آید؛ در عدم موجودیت منبع انرژی میتابولیک این قدرت توسط قوه محرکه پروتونی که توسط آیونوفورها تولید می‌گردد به دست می‌آید.. باکتری هایی که در محیط الکالین زندگی می‌نمایند (alkalophile ها) این انرژی را بیشتر از گرادیانت آیون سودیم برای تأمین تحرکیت فلاجیل، بدست می آورد تا از گرادیانت پروتون.

تمام اجزای مربوط به موتور فلاجیل در لفاف حجروی موجود اند. فلاجیل هایی که به لفاف حجروی مجزا و سربسته وصل باشند، تا زمانی فعالیت می‌نمایند که مرکبات تنفسی در وسط موجود و یا گرادیانت پروتون به طور تصنعی ایجاد گردیده باشد.

هر زمانیکه یک باکتری peritrichous شنا می‌نماید، فلاجیل آن طوری باهم یکجا می‌گردند که یک بندل خلفی را تشکیل داده و با دورهای مخالف عقربه ساعت، حجره را به طرف مقابل به یک خط مستقیم می راند. در خلال وقفه ها، فلاجیل سمت حرکت را تغییر داده و بطور آنی از هم جدا می‌گردند و در نتیجه باعث توقف حجره گردیده و به طرف یک سمت جدید که به‌صورت اتفاقی تعیین می‌گردد، شنا را از سر می‌گیرد. این خاصیت باعث می‌گردد که chemotaxis به‌میان آید یعنی حرکت مایکروب به طرف مواد کیمیاوی یا حرکت خالص حجره بطرف منبع می‌باشد. موجودیت جاذب کیمیاوی (مانند قند و یا یک امینواسید) به کمک آخذه هایی محسوس می‌گردد که در غشای حجروی موقعیت دارند (در بسیاری انواع، عین آخذه در انتقال مالیکول ها از طریق غشأ سهیم اند). حجره باکتریایی برای تشخیص گرادیانت های کیمیاوی ساحوی ناقادر تلقی می‌گردد (یعنی گردیانت های موجود میان دو قطب را نمی‌توانند کشف نمایند)، ولی تجارب نشان داده که حجره می‌تواند قادر به تشخیص گرادیانت های زمانی باشد، یعنی غلظت های را که زمان دور شدن حجره از منبع جاذب کاهش می‌یابد و زمان نزدیک شدن حجره به جاذب ازدیاد می‌یابد، تشخیص نموده می‌تواند. بعضی مرکبات به عوض جاذب بودن بحیث دافع فعالیت می‌نمایند. یکی از میخانیکیت هاییکه ذریعه آن حجرات به مواد جاذب و یا دافع عکس العمل نشان می‌دهند عبارت عملیه‌های cGMP-mediated methylation و demethylation پروتین‌های خاص در غشأ می‌باشد. مواد جاذب باعث

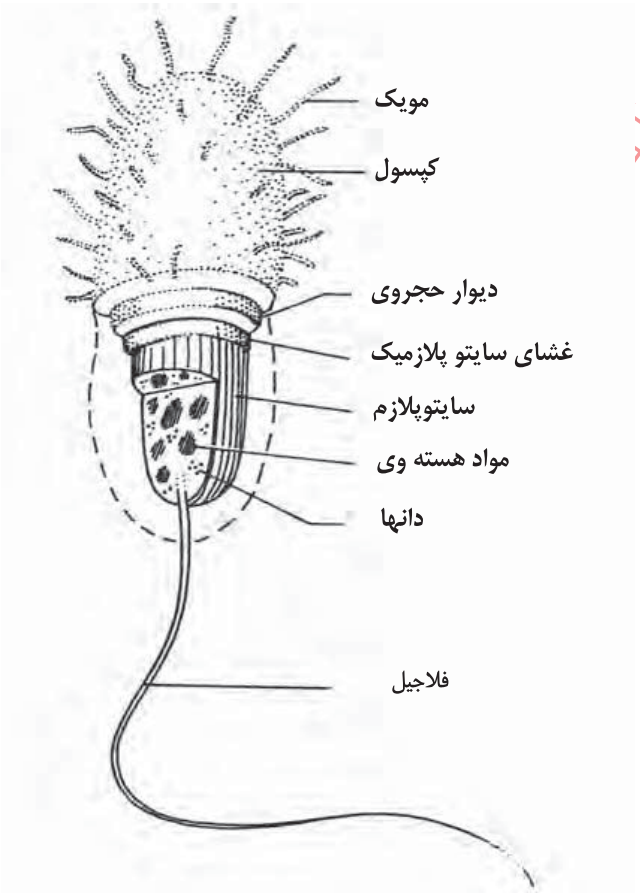
© AAZEM PUBLICATIONS

نهی مؤقتی demethylation این پروتین‌ها گردیده در حالیکه مواد دافع باعث تحریک demethylation پروتین‌های متذکره می‌گردد.

میخانیکیت که بواسطه آن تغییری در خاصیت حجره در عکس العمل با یک تغییر در محیط به‌میان می‌آید به نام sensory transduction یاد می‌گردد. Sensory transduction نه تنها مسؤول chemotaxis می‌باشد؛ بلکه همچنان مسؤول aerotaxis نیز می‌باشد (حرکت بسوی غلظت مطلوب اکسیجن)، phototaxis (حرکت باکتری فوتوسنتیتیک بطرف نور) و electron acceptor taxis (حرکت باکتریای تنفسی بطرف اکسپتورهای الکترونی بدیل از قبیل nitrate و fumerate) می‌باشد. درین سه نوع رسپتورها، مانند chemotaxis حرکت خالص توسط تنظیم عکس العمل حرکی صورت می‌گیرد.

(Fimbriae) Pili

بسیاری باکتری های گرام منفی دارای ضمایم سطحی سخت می‌باشند که به نام pili (کلمه لاتین به نام موی) و یا fimbriae ("fringes" L) می‌باشند. ساختمان‌های متذکره نظر به فلاجیل کوتاه تر و باریکتر بوده؛ و همانند فلاجیل متشکل از واحدات فرعی پروتینی به نام pilinها می‌باشند. بعضی pili دارای یک نوع واحد pilin بوده و در سایرین بیشتر از یک نوع pilin موجود می‌باشند. پروتین‌های کوچک که در بالای سطح pili قرار دارند، مسؤول اتصال آن اند. دو نوع pili موجود اند: pili معمولی که در چسپیدن باکتری های همزی symbiont به حجره میزبان نقش دارد؛ و pili جنسی که



شکل ۱ – ۱۶ دیاگرام مقطعی باکتریا

مسؤول یکجا نمودن حجرات donor و recipient در پروسه conjugation باکتریایی می‌باشد. Pili در (شکل ۱ – ۱۶) ارائه گردیده که در آن pili جنسی توسط ذرات فاژ پوشیده شده که برای آن منحیث رسپتورهای خاص فعالیت می‌نمایند. مالیکول های pilin به شکل فنرمانند ترتیب یافته و یک سلندر مستقیم را تشکیل می‌دهند که قادر به چرخش نبوده و فاقد قاعده کامل می‌باشد.

Virulence باکتری های معین پتوجن نه تنها مربوط تولید توکسین می‌باشد؛ بلکه "colonization antigens" نیز در آن رول دارد. و چنین دریافت گردیده که انتیجن های متذکره عبارت از pili های معمولی و مسؤول تامین خاصیت چسپندگی می‌باشند. در اشکال enteropathogenic E.coli، هردو خاصیت یعنی تولید توکسین و انتیجن های colonization (pili) از نقطه نظر جنیتیک توسط پلازمیدهای قابل انتقال تعیین می‌گردند.

در یک گروپ coccus های گرام مثبت یعنی streptococc ها، fimbriae محل انتیجن عمده سطحی یعنی M protein می‌باشد. Lipoteichoic acid مترافق با این fimbria ها مسؤول چسپیدن گروپ streptococc A ها به حجرات اپیتیل میزبان می‌باشد.

Pili در باکتریای مختلفه از نقطه نظر انتیجنیک از همدیگر متمایز بوده که باعث تشکل انتی بادی در میزبان می‌گردند. انتی بادی ها در مقابل pili یک نوع باکتری باعث جلوگیری از اتصال نوع دیگر نخواهد گردید. بعضی باکتریها مثلاً N. gonorrhoeae، قادر اند تا pili با انتیجنهای متفاوت را تولید نماید (دگرگونی انتیجنیک) و بنابرین در موجودیت انتی بادی ها در مقابل انواع قبلی pili، نیز می‌توانند به حجرات اتصال یابند.

© AZEM PUBLICATIONS

اندوسپور ها (Endospores)

باکتری های چندین جینس قادر به تشکل endospore می‌باشند. دو نوع بسیار معمول آن قرار ذیل اند: rod های گرام مثبت، که شامل باسیل های جینس ایروبیک اجباری و clostridium جینس انیروبیک اجباری می‌باشند و coccus های گرام مثبت sporosarcina و احتمالاً عامل ریکیتسیایی Q-fever، Coxiella burnetii می‌باشند. اورگانیزم‌های فوق در عکس العمل با شرایط محیطی یک سلسله تغییراتی را از خود نشان می‌دهند طوریکه: در شرایط فقدان غذایی هر حجره یک سپور واحد داخلی را می‌سازد که در صورت اوتولیز حجره مادری،

آزاد می‌گردد. سپور یک حجره در حال استراحت بوده که در مقابل خشکی، حرارت و مواد کیمیاوی شدیداً مقاوم می‌باشد، در صورت مساعد شدن شرایط غذایی دوباره فعال گردیده و سپور یک حجره واحد نباتیvegetative را تولید می‌نماید و یا به عباره دیگر سپور ها عبارت از اجسام مدور یا بیضوی اند که در داخل حجره باکتری تشکیل گردیده که از جمله خصوصیت ارثی بعضی از مایکرواورگانیزم‌ها محسوب شده که در مرحله معین از تکامل حیاتی مایکرواورگانیزم‌ها صورت گرفته باعث مقاومت و قدرت حیاتیت بیشتر شان به مقابل حوادث خارجی می‌گردد.

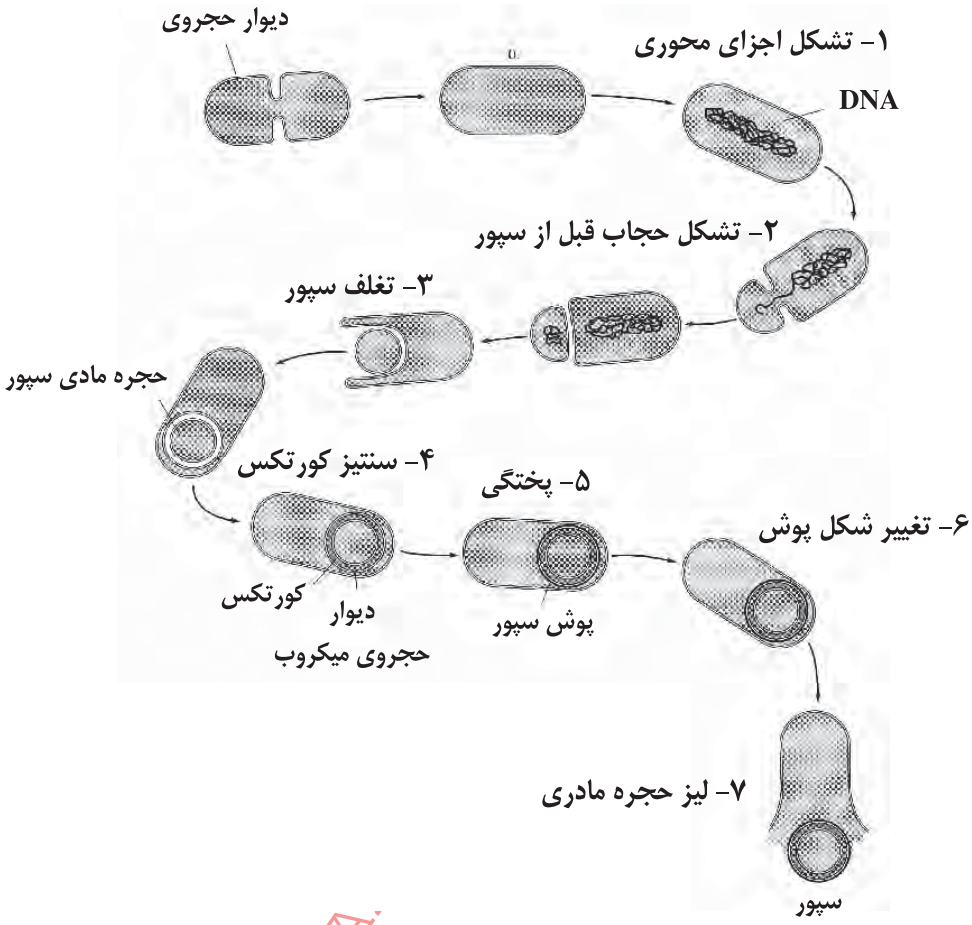
الف: تولید سپور (Sporulation):

پروسه تولید سپور زمانی آغاز می‌گردد که شرایط غذایی نامساعد گردد، فقدان منابع نایتروجن یا کاربن (و یا هردو) عامل عمده شمرده می‌شود. تولید سپور به‌صورت کتلوی در کلچرهای واقع می‌گردد که مرحله نشوئما را به نسبت این فقدان پایان داده اند.

تولید سپور در بر گیرنده تولید تعداد زیادی ساختمان ها، انزایم ها و میتابولیت های جدید و از بین رفتن بسیاری اجزای نباتی حجره می‌باشد. این تغییرات یک پروسه واقعی تفریق پذیری را نشان می‌دهد: یک سلسله جین‌هایی که تولیدات آنها تشکل و ترکیب نهایی سپور را تعیین می‌نمایند فعال گردیده و در عین حال سلسله دیگر جین‌ها که مسؤول وظایف نباتی حجره می‌باشند غیرفعال می‌گردد. این تغییرات باعث دگرگون نمودن خصوصیت ترانسکریپشن RNA polymerase گردیده، که بواسطه یکجاشدن پروتین اساسی پولیمیر با یکی از پروتینهای promoter- specific که به نام فکتور سگما یاد می‌شود صورت می‌گیرد. فکتورهای مختلفه سگما در جریان نشونمای نباتی و تولید سپور تولید می‌گردند.

سلسله تولید سپور بسیار مغلق می‌باشد: تفریق پذیری حجره نباتی B subtilis به یک endospore تقریباً 7 ساعت را در شرایط لابراتوار در بر می‌گیرد. درین پروسه وقایع مختلفه مورفولوژیک و کیمیاوی طی مراحل متوالی صورت می‌گیرند. هفت مرحله مختلفه تشخیص گردیده اند. در جریان پروسه بعضی باکتری ها انتی بیوتیک های پپتایدی را آزاد می سازند که ممکن در تنظیم sporogenesis نقش داشته باشند.

© AAZIM PUBLICATIONS

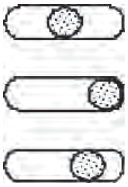


شکل ۱ – ۱۷ مراحل تشکل سپور

از نظر مورفولوژی تولید سپور با تولید یک filament قاعدوی آغاز می‌گردد (شکل ۱ – ۱۷) این پروسه با قات شدن غشأ بطرف داخل آغاز شده و یک ساختمان مضاعف غشایی را به‌میان می آورد که سطوح آن شباهت به سطح سنتیز کننده دیوار حجروی لفاف حجروی دارد. نقاط نموکننده طور پیشرونده بطرف قطب حجره پیش رفته و سپور د رحال انکشاف را احاطه می‌نماید.

این دو غشای سپور بعداً در سنتیز فعال طبقات خاص حصه می‌گیرند که لفاف حجروی را تشکیل می‌دهند. دیوار سپور و کورتکس میان غشاها مقابل هم قرار دارند. coat و exosporium در خارج از غشاها مقابل قرار دارند. در سایتوپلازم جدید التشکیل و یا core بسیاری انزایم‌های نباتی حجرات کاهش یافته و توسط یک سیت از اجزای تشکیل دهنده خاص سپور تعویض می‌گردند.

سپور ها از نظر موقعیت خود در حجره bacill به اشکال ذیل تصدف می‌گردد:



۱- سپورهایی که موقعیت مرکزی دارند مانند baullus anthracis.

۲- سپور هایی که موقعیت نهایتی دارند مانند clastridium tetani

۳- سپورهایی که موقعیت تحت نهایی دارند مانند clostridium botulinum.

ب: خصوصیات اندوسپور

۱- کور (Core): عبارت از پروتوبلاست سپور می‌باشد. که دارای یک هسته کامل (کروموزومها)، تمام اجزای مربوط به جهاز سنتیز پروتین و سیستم تولید انرژی ذریعه عملیه glycolysis می‌باشد. سایتوکروم ها حتی در انواع ایروبیک کمبود می‌باشند، که سپورهای این انواع متکی به Electron transport pathway مختصر حاوی flavoprotein ها می‌باشد. یکعده انزایم‌های حجرات نباتی طور مقداری ازدیاد می‌یابد (مثلاً alanine recemase) و یک عده انزایم‌های بالخاصه (مثلاً dipicolinic acid synthetase) تشکل می یابند. انرژی لازم برای نشونما به عوض ATP به شکل 3-phosphoglycerate ذخیره می‌گردد.

مقاومت سپورها در مقابل حرارت قسماً به نسبت حالت dehydrate آنها و قسماً به نسبت موجودیت مقادیر زیاد calcium dipicolinate (5-15% وزن خشک سپور) می‌باشد، که اخیرالذکر در lysine biosynthetic pathway از یک میانجی به‌میان می‌آید. به طرق که تا هنوز بخوبی دانسته نشده اند، خصوصیات متذکره باعث ثبات به انزایم‌های سپور می‌گردند، که اکثریت آنها زمانیکه از حجره به شکل محلول تجرید گردند در مقابل حرارت به‌صورت نورمال غیر مقاوم می‌باشد.

۲- دیوار سپور: داخلی ترین طبقه ایکه غشای داخلی سپور را احاطه می‌نماید به نام دیوار سپور یاد می‌گردد. که دارای پپتیدوگلایکان نورمال بوده و به دیوار حجروی حجرات نباتی نشونما کننده تبدیل می‌شود.

۳- کورتکس cortex: ضخیم ترین طبقه لفاف سپور می‌باشد. که دارای یک شکل غیرمعمول پپتیدوگلایکان می‌باشد و حاوی رابطه های متقابل کمتر نظر به پپتیدوگلایکان دیوار حجروی می‌باشد. پپتیدوگلایکان کورتکس در مقابل lysozyme نهایت حساس بوده، که اوتولیز آن در نشونمای سپور نقش دارد.

۴- پوش یا coat: coat از یکنوع پروتین کراتین مانند ترکیب گردیده که دارای تعداد زیاد رابطه‌های disulfide داخل مالیکولی می‌باشند. خاصیت غیرقابل نفوذیه این طبقه باعث می‌گردد که سپور در مقابل مواد کیمیاوی ضد باکتریایی مقاومت نسبی نشان دهد.

© AAZEM PUBLICATIONS

۵- *Exosporium: اگزوسپوریوم عبارت از یک غشای لیپوپروتینی دارای یک اندازه کاربوهایدریت می‌باشد.*

- *فعالیت: بسیاری اندوسپورها قادر نیستند تا بعد از تشکل به‌صورت فوری به فعالیت آغاز نمایند، ولی پس از استراحت چند روزه و یا فعال شدن برای بار اول در یک وسط غنی مغذی پس از تخریب پوش سپور توسط یکی از عوامل می‌توانند به شکل فعال در آیند. از جمله عاملین که بالای سپور به‌صورت دراماتیک غلبه حاصل می‌نمایند یکی حرارت، تخریش، اسیدی بودن و مرکبات دارنده گروپ های آزاد sulfhydryl می‌باشند.*
- *Initiation: پس از فعال شدن در صورت مساعد بودن شرایط محیطی سپور germination را آغاز می‌نماید. انواع مختلفه آخذه هایی را دارند که قادر به تفکیک سگنال های وسط مغذی می‌باشند، بنابرین، در یکنوع آغاز فعالیت توسط L-alanine و در نوع دیگر توسط adenosine تحریک می‌گردند. اتصال به effetcor باعث فعال شدن یک نوع autolysin گردیده که به سرعت پپتیدوگلایکان کورتکس را می شکند. آب گرفته شده و calcium dipicolinate آزاد ساخته می‌شود، و یکتعداد دیگر مواد متشکله سپور توسط انزایم‌های هایدرولا یتیک شکستانده می‌شوند.*
- *Outgrowth: تجزیه کورتکس و طبقات خارجی باعث به‌میان آمدن یک حجره جدید نباتی می‌گردد که مشتمل بر پروتوپلاست سپور با دیوار احاطه کننده آن می‌باشد. یک دوره بیوسنتیز فعال طی می‌گردد که با انقسام حجروی خاتمه می‌یابد این دوره به نام outgrowth یاد می‌گردد. Outgrowth موجودیت تمام مواد مغذی اساسی برای نشونمای حجره را ایجاب می‌نماید.*

© AZEM PUBLICATIONS

تلوین Staining

مواد ملونه با پروتوپلازم باکتریایی طور کیمیاوی ترکیب می‌گردند، در صورتیکه قبلاً زنده باشد، پروسه تلوین باعث مرگ آن می‌گردد. ازینرو این پروسه دارای اثر بوده و ممکن تغییرات مصنوعی artifact را سبب شود.

مواد ملونه ایکه بیشتر معمول اند عبارت از نمک ها می‌باشند. مواد ملونه قلوی متشکل از یک کتیون رنگه و یک انیون بیرنگ می‌باشد (طور مثال methylene blue+ chloride-)؛ مواد ملونه اسیدی برعکس آن می‌باشند (طور مثال sodium+ eosinate-). حجرات باکتریایی از نقطه نظرداشتن اسیدهای هستوی غنی می‌باشند این نوکلییک اسیدها حامل چارج منفی به

شکل گروپ های فوسفات می‌باشند که با چارج های مثبت رنگهای قلوی ترکیب می‌گردند. رنگهای اسیدی حجرات باکتریایی را تلوین نمی کنند و بنابرین برای تلوین مواد محیطی یا اطراف باکتری به کار می‌روند که باعث تولید یک رنگ متباین می‌گردد.

رنگهای قلوی حجرات باکتریایی را طور همسان تلوین می‌نمایند مگر اینکه RNA سایتوپلازمیک قبلاً به تخریب مواجه گردیده باشد. تخنیک های خاص تلوین به کار می‌روند تا بوسیله آن فلاجیل، کپسول، دیوار حجروی، غشای حجروی، گرانول ها، هسته و سپور متمایز گردند.

تلوین گرام Gram stain

تلوین گرام در سال 1884 میلادی توسط Hans cristian Gram مایکروبیولوژیست دنمارکی به‌میان آمد و به اساس این تلوین تمام مایکرواورگانیزم‌ها به دو گروپ Gram positive و Gram negative تقسیم می‌شوند علت این واکنش ارتباط به ساختمان کیمیاوی دیوار حجروی دارد. دیوار حجروی باکتری‌های گرام منفی مقدار بیشتر لیپید را احتوا نموده و مقدار کمپلکس murien آن کم می‌باشد و همچنان ضخامت آن از دیوار حجروی باکتری‌های گرام مثبت کمتر است (ضخامت دیوار حجروی باکتری‌های گرام مثبت A° 100-500، درحالیکه این دیوار در باکتری‌های گرام منفی A°100-150 می‌باشد) الکول غلیظ دیوار حجروی باکتری‌های گرام منفی را حل نموده یا تغییر ساختمان می‌دهد در نتیجه فرار Complex کرستال Gension Violet را از حجره میسر ساخته در نتیجه باکتری‌های گرام منفی رنگ Carbol fuchsin را به خود گرفته و به رنگ سرخ دیده می‌شود.

تلوین Acid-Fast

باکتری های acid-fast عبارت از آن نوع باکتری می‌باشند که رنگ carbol fuchsin (fuchsin قلوی در محلول فینول – الکول – آب منحل می‌گردد) را حتی بعد از مواجه شدن با مادهٔ بیرنگ کننده هایدروکلوریک اسید الکول حفظ می کنند. ابتداء سمیر حجرات یک سلاید در محلول carbol fuchsin مغطوس شده و بعداً با بخار حرارت مواجه ساخته می‌شود. به تعقیب آن عملیه بیرنگ سازی توسط acid-alcohol بالای آن تطبیق می‌گردد و بالاخره یک رنگ مخالف (آبی یا سبز) به آن علاوه می‌گردد. باکتری‌های acid-fast (مایکوباکتری‌ها و بعضی

© AAZEM PUBLICATIONS

انواع actinomycete های مربوطه) رنگ سرخ را به خود اختیار می کنند و بقیه رنگ مخالف را به خود می‌گیرند.

تهیه، تثبیت و تلوین سمیر

توسط یک قلم الماس بالای یک سلاید مایکروسکوپ یک دایره به قطر ۱,۲ تا ۱,۵ سانتیمتر رسم کشیده و نمره ای لابراتوار را در قسمت تباشیری آن می نویسیم، سلاید را پاک نموده بالای شعلهٔ آتش قرار می دهیم. نمونه را به‌صورت متجانس در دایره هموار نموده، احتیاط می نماییم که دست را به شدت شور ندهیم که می‌تواند سبب تولید ایروسول (aerosol) گردد.

مایعات مخاطی مانند مایع بین پلورا، حبن و غیره را سانتریفیوژ نموده مایع بالائی آن دور می‌شود. رسوب آن با یک قطره ای آخری آن مخلوط می‌گردد، یک لوپ ازین مخلوط در بین دایره هموار می‌گردد.

مواد قیحی توسط یک لوپ معقم بسیار نازک در دایره هموار می‌گردد یا در داخل دایره با یک لوپ آب مقطر به‌شکل Emulsion آورده شده در آن هموار می‌شود.

سواب ها به بسیار ملایمت در قسمت وسط سلاید لول داده می‌شود، سلایدی که با غوطه کردن در الکول و شعله قبلاً ضد عفونی شده باشد. انسان باید محتاط باشد و سواب را بالای سلاید کش نکند، زیرا این کار حجرات را تخریب می کند. بگذارید سلاید در هوا خشک شود یا برای زود خشک شدن زیر چراغ آنرا بگذارید.

وقتیکه سلاید به‌صورت مکمل خشک گردید با دو یا سه مرتبه به سرعت گذشتاندن از داخل شعله ای چراغ Bunsen آنرا با حرارت تثبیت کنید. از حرارت دادن زیاد خودداری کنید، زیرا این کار باعث نتیجه ای غلط تلوین Gram و تغییر شکل حجرات می‌گردد. بگذارید که سلاید سرد شود.

طریقهٔ تلوین با میتیلین بلو (Methylene Blue Staining Method)

۱- بعد از تثبیت بالای سلاید مقدار کافی محلول رنگ میتیلین بلو (D113) باندازید.

۲- بگذارید که رنگ برای ۱ تا 3 دقیقه عمل نماید.

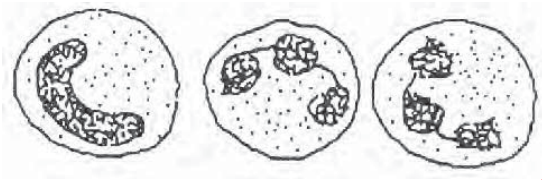
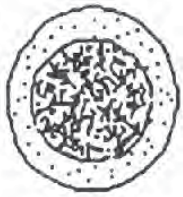
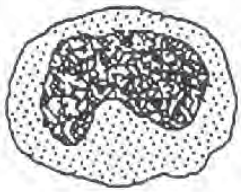
۳- رنگ را از بالای سلاید دور ساخته سلاید را به ملایمت طوری در آب بشوئید که عقب سلاید به طرف جریان ملایم آب باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

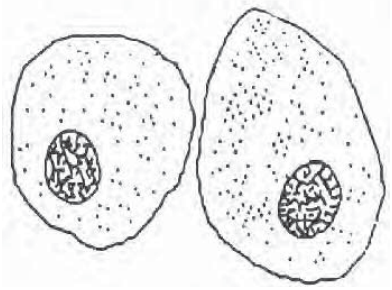
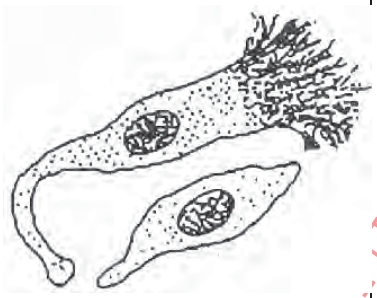
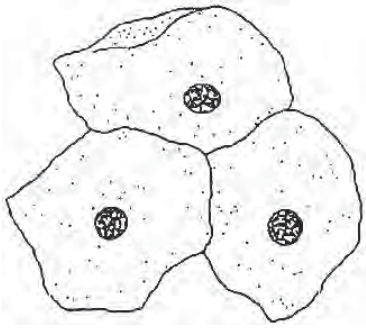
۴- عقب سلاید را با کاغذ جاذب پاک نموده در Rack آنرا بگذارید تا آب آن جریـان نمـوده در هوا خشک شود.

۵- توسط اوبجکتیف Oil Immersion سلاید را معاینه کنید.

۶- در راپور موجودیت و تعداد حجرات قیحی را و باکتری‌ها را که آیا نادر اند یا به تعداد کـم و یا بسیار زیاد یا متوسط موجود اند ذکر نمائید. همچنان شکل آنها را که به‌شکل Rods یا Cocci اند راپور بدهید.

خواص ساختمانی Morphological Characteristics	نوع حجره Cell type
جسامت: 12-16 مایکرومتر هسته: در شکل جوان بـه‌شـکل U و در شـکل پخته پارچه- پارچه می‌باشد. تعداد پارچه ها از 2 تا 5 بوده کـه بـا تـار هـای نازک باهم وصل می‌باشند.	گرانولوسیت ها The granulocyte 
نوع بزرگ: جسامت: 12-16 مایکرومتر سایتوپلازم. هسته: مدور با کمی فرو رفتگی نوع کوچک: جسامت 9-12 مایکرومتر سایتوپلازم هسته مدور	لمفوسیت ها The lymphocyte 
جسامت: 15-18 مایکرومتر سایتوپلازم هسته	مونوسیت یا مکروفاژ The monocyte or macrophage 

© ZEM PUBLICATION

جسامت: 18-45 مایکرومتر شکل: ناک مانند یا دوک چوب مانند. می‌تواند مدور دم دار باشد. سایتوپلازم: هسته: نسبتاً کوچک، بیضوی یا مدور	حجرات اپیتل انتقالی Transitional epithelial cells 
جسامت: 18-32 مایکرومتر شکل: طویل دوک مانند چوب مانند یا مکعبی بعضی اوقات Ciliated یا with brush border سایتوپلازم هسته: بیضوی	حجرات اپیتل تیوبولر Tubular epithelial cells 
جسامت: 22-45 مایکرومتر شکل: بزرگ، هموار، زاویه دار، می‌تواند قات شود، حتی به‌شکل سیگار شود. سایتوپلازم: فراوان هسته کوچک و مدور	حجرات اپیتل هموار Squamous epithelial cells 

ZEM PUBLICATIONS

طریقهٔ تلوین گرام (Gram Staining Method)

۱- بعد از تثبیت توسط حرارت بالای سلاید مقدار کافی گرام کریستال ویولیت Gram's crystal Violet (D109) برای یک دقیقه بریزید.

۲- سلاید را توسط آب بشوئید طوریکه پشت سلاید را به مقابل یک جریان آب ملایم بگیرید.

۳- تمام آب را چپه کنید و سلاید را با گرام آیـودین (Logul) (D110) بـرای یـک دقیقـه بپوشانید.
۴- محلول آئودین را با آب بشوئید طوریکه عقب سلاید را بمقابـل یـک جریـان ملایـم آب بگیرید.
۵- رنگ سلاید را توسط الکول به (مدت 20 تا 30 ثانیه ببریدیا توسط چند قطره اسیتون به مدت 2 تا 3 ثانیه) و فوراً توسط یک جریان ملایم آب سلاید را بشوئید.
۶- سلاید را با محلول رقیق Carbol fuchsin stain (D107) بپوشانید. بعد از یک دقیقه سلاید را توسط آب بشوئید طوریکه عقب سـلاید را بـه مقابـل یـک جریـان ملایـم آب بگیرید.
۷- عقب سلاید را توسط کاغذ جاذب خشک کنید و بالای Rack آنـرا بگذاریـد تـا در هـوا خشک شود.
۸- توسط اوبجکتیف قوه ای ضعیف تمام سلاید را معاینه کنید و مناسبترین جای سـلاید را برای معاینه توسط اوبجکتیف ایل ایمرشن انتخاب کنید.

بنفش تیره ..... باکتری‌های گرام مثبت Gram Positive bacteria
سرخ ..... باکتری‌های گرام منفی Gram Negative bacteria
سایتوپلازم سرخ خفیف، هسته سرخ تیره .....حجرات قیحی Pus Cells
سایتوپلازم سرخ خفیف، هسته سرخ تیره .....حجرات اپیتل Epithelial Cells
بنفش تیره ..... حجرات خمیر مایه Yeasts

طریقه تلوین البرتس (Albert's Staining Method)

۱- بعد از تثبیت با حرارت مقدار کافی Albert's stain (D104) برای ۳ تا ۵ دقیقه بـالای سلاید باندازید.
۲- سلاید را با آب بشوئید طوریکه پشت سلاید به طرف یک جریان ملایم آب قـرار داشـته باشد.
۳- آب را دور نموده بالای سلاید مقدار کافی (Gram's iodine 110) باندازیـد و بگذاریـد برای یک دقیقه تعامل نماید.
۴- سلاید را با آب بشوئید طوریکه پشت سلاید به طرف یک جریان ملایم آب باشد. پـشت سلاید را همرای کاغذ جاذب پاک نموده بگذارید در هوا خشک شود.
۵- سلاید را توسط اوبجکتیف آیل ایمرشن معاینه کنید.

© AAZEM PUBLICATIONS

نتیجه

حجرات باکتری‌ها	سبز
خط های عرضانی حجرات باکتری	آبی- سبز
گرانول های میتاکروماتیک	نصواری سیاه تیره

تلوین Acid - Fast

باکتری‌های acid-fast عبارت از آن نوع باکتری می‌باشند که رنگ carbolfuchsin (fuchsin قلوی در محلول فینول- الکول- آب منحل می‌گردد) راحتی بعد از مواجه شدن با ماده بیرنگ کنند.

هایدروکلوریک اسید الکول را حفظ می کنند. ابتدا سمیر حجرات یک سلاید در محلول carbolfuchisn مغطوس شده و بعداً با بخار حرارت مواجه ساخته می‌شود. به تعقیب آن عملیهٔ بیرنگ سازی توسط acid-alcohol بالای آن تطبیق می‌گردد، و بالاخره یک رنگ مخالف (آبی یا سبز) به آن علاوه می‌گردد.

باکتری‌های acid-fast (مایکوباکتری‌ها و بعضی انواع actinomycete های مربوطه) رنگ سرخ را به خود اختیار می کنند و بقیه رنگ مخالف را به خود می‌گیرند.

طریقه تلوین سرد زیل نیلسن (Cold Ziehl- Neelsen Staining Method)

۱- بعد از تثبیت با حرارت یک کاغذ فلتر را که کمی خوردتر از سلاید باشد بالای سلاید بگذارید که smear را بپوشاند.

۲- بالای سلاید به اندازهٔ کافی Cold Ziehl- Neelsen Stain (D115) برای سه دقیقه باندازید.

۳- کاغذ فلتر را برداشته سلاید را با آب طوری بشوئید که عقب سلاید به طرف جریان ملایم آب باشد.

۴- رنگ سلاید را تا رنگ گلابی خفیف توسط acid alcohol (D 48) زایل نمائید. از یک طرف سلاید گرفته آنرا بالا و پائین نمائید تا بیشتر رنگ از آن جدا نه شود. این کار برای یک smear ضخیم به طور اوسط تقریباً سه دقیقه را در بر می‌گیرد. زایل نمودن رنگ به‌صورت مکمل ضروری است تا نتیجه مثبت کاذب نیاید.

۵- اسید الکول را طوری بشوئید که عقب سلاید به طرف جریان ملایم آب باشد.

۶- برای یک دقیقه سلاید را با Malachite-green (D 112) تلوین نمائید.

۷- سلاید را آبکش نموده عقب سلاید را توسط کاغذ جاذب پاک کرده در هوا خشک کنید.

© AAZEM PUBLICATIONS

نتیجه

باسیل های اسید فاست	سرخ روشن
باسیل های غیر اسید فاست	سبز تاریک

طریقه تلوین گیمزا (Giemsa Staining Method)

۱. سمیر (Smear) خشک شده را برای 2 تا 3 دقیقه با methanol پوشانیده و بعد آنرا بگذارید تا در هوا خشک شود. به این صورت سمیر تثبیت می‌گردد.

۲. محلول Giemsa stain (D 108) را با buffered water, pH 7.2 (D 58) ذیلاً رقیق نمائید:

برای C. trachomatis 40:1 یعنی یک ملی لیتر رنگ گیمزا 40 ملی لیتر بفر.

برای پرازیت های خون 10:4 یعنی 4 ملی لیتر رنگ گیمزا 40 ملی لیتر بفر.

۳. محلول رقیق شده ای گیمزا را بالای سلاید در یک staining جار باندازید تا سمیر را بپوشاند.

۳. سمیر را در داخل رنگ قرار ذیل بگذارید:

C.trachomatis را برای 1.5 تا 2 ساعت و پرازیت های خون را برای 25 تا 30 دقیقه.

۴. ستینینگ جار را در لگن دستشوئی گذاشته و آب نل را بالای آن جاری سازید تا کف آن از جار سر ریزه کند. این کار باعث می‌شود تا گرانول های رنگ در بالای سمیر رسوب نکند.

۵. سلاید را در جار "jar" در آب نل بشوئید، پشت آنرا با کاغذ جاذب پاک کرده در Rack آنرا بگذارید تا در هوا خشک شود.

۶. تلوین را با استفاده از اوبجکتیف قوه ای ضعیف مایکروسکوپ چک نموده بعد با اوبجکتیف آیل ایمرشن معاینه کنید.

© AAZEM PUBLICATIONS

Genus جنس	Morphology ساختمان	Gram reaction تعامل گرام	Bacteria shape شکل باکتری ها
Staphylococci	Cocci in clusters کوکس های خوشه ای	Gram + گرام مثبت	
Streptococci	Cocci in chains کوکس های زنجیری	Gram + گرام مثبت	
Pneumococci	Oval diplocci with or without capsules دیپلوکوک های بیضوی	Gram + گرام مثبت	
Neisseria	Diplococci	Gram – گرام منفی	
Corynebacterium	Diphtheroids (like Chinese letters) دیفتروید مانند حروف چینائی	Gram + گرام مثبت	
Lactobacillus	Branching chains زنجیر های شاخه دار	Gram + گرام مثبت	
Bacillus	Rods with spores چوبک باسپور	Gram + گرام مثبت	
Clostridium	Rods with terminal or sub terminal spores چوبکها با سپورهای نهـائی یـا در وسط	Gram + گرام مثبت	
Actinomyces	True branching rods چوبک های شاخه دار حقیقی	Gram + گرام مثبت	
Enterobacteria ceae & other genus	Uniform rods of various length & thickness	Gram – گرام منفی	
Fusobacterium	Spindle-shaped rods چوبک های دوک مانند	Gram – گرام منفی	

©AAZEM PUBLICATIONS

Vibrio	Comma-shaped rods چوبک های به شکل کامه	Gram – گرام منفی	
Candida & other yeasts	Budding yeasts خمیر مایهٔ جوانه زده	Gram + گرام مثبت	

تلوین منفی (Negative Staining)

این عملیه مشتمل بر تلوین محیط یا اطراف توسط یک رنگ اسیدی می‌باشد که حجرات را به شکل بیرنگ نمایان می‌سازد. معمولاً رنگ سیاه nitrosin مورد استفاده قرار می‌گیرد. ازین میتود برای تلوین حجرات و یا ساختمانهایی مورد استفاده قرار می‌گیرد که طور مستقیم تلوین آنها مشکل باشد.

تلوین فلاجیل

فلاجیل ها ساختمانهای بسیار باریک اند (دارای قطر 30-12µm) و بوسیله مایکروسکوپ نوری قابل رویت نمی‌باشند. با وجود آن، موجودیت و ترتیب آنها با مواجه ساختن حجرات با سسپنشن کلوئیدی بی ثبات نمک های tanic acid واضح می‌گردد. با بکار برد عملیه متذکره رسوب زیاد بالای دیوار حجروی و فلاجیل به‌میان می‌آید. بدین ترتیب قطر ظاهری فلاجیل به اندازه یی ازدیاد می‌یابد که با تطبیق تلوین fuchsin قلوی در تحت مایکروسکوب نوری قابل مشاهده می‌گردد.

در باکتری های peritrichous، فلاجیلها حین حرکت به شکل بندل ها در می آیند، این بندل ها به اندازه کافی ضخامت داشته و مشاهده آن تحت مایکروسکوب ساحه تاریک و phase contrast صورت گرفته می‌تواند.

تلوین کپسول

توسط عملیه تلوین منفی و یا معادل آن به مشاهده می رسد. یکی از میتودهای تلوین کپسول عبارت از (Welch Method) می‌باشد که در آن از محلول crystal violet استفاده شده و به تعقیب آن با محلول copper sulfate شستشو می‌گردد. محلول اخیرالذکر برای از بین بردن رنگ اضافی بکار می رود زیرا شستن با آب باعث منحل کردن کپسول خواهد شد. علاوتاً نمک مس به اطراف نیز رنگ می‌دهد که بالنتیجه حجره و محیط اطراف آن رنگ آبی تیره را به خود اختیار نموده در حالیکه کپسول دارای رنگ آبی خفیف تر خواهد بود.

© KAZEM PUBLICATIONS

تلوین هسته

هسته ها توسط رنگ feulgen که مختص به DNA می‌باشد قابل تلوین می‌باشند.

تلوین سپور

سپورها اکثر اوقات در حجره تلوین ناشده به شکل اجسام روشن داخل حجروی و در حجره تلوین شده به شکل یک ساحه بیرنگ به مشاهده می رسند. دیوار سپور نسبتاً طور نسبی غیرقابل نفوذیه می‌باشد؛ ولی رنگ هایی موجود اند که با حرارت دادن مستحضر، قادر به نفوذ در آن می‌گردند. عین قابلیت غیرقابل نفوذیه بعداً در قسمت جلوگیری از بیرنگ ساختن سپور حین مواجه کردن آن با الکول نقش دارد در حالیکه با عین میتود حجرات نباتی بیرنگ ساخته شده و بالاخره با رنگ مخالف تلوین گردیده می‌تواند. سپورها معمولاً با رنگ های malachite green و یا carbolfuchsin تلوین می‌گردند.

تغییرات مورفولوژیک حین نشونما

انقسام حجروی

به‌صورت عموم، باکتری ها ذریعه عملیه انقسام دوگانه تکثر می‌نمایند. متعاقب طویل شدن حجره، یک غشای مستعرض حجروی تشکل و بعداً دیوار جدید حجروی را به‌میان می آورد. در باکتری ها، غشای مستعرض و دیوار جدیدالتشکیل از طبقات خارجی به طرف داخل نشونما نموده درین پروسه میزوزوم های جداری طور صمیمی اشتراک دارند. هسته که قبل از انقسام دوچند گردیده است، به‌صورت مساویانه به دو حجره دختری تقسیم می‌گردد.

اگرچه باکتری ها فاقد دوک میتوتیک یا (mitotic spindle) اند، ولی غشای مستعرض به نحوه‌یی تشکل می‌یابد که کروموزوم‌ای تشکیل شده در اثر chromosomal replication را از همدیگر جدا می‌سازد. این پروسه با التصاق کروموزوم ها به غشای حجروی تکمیل می‌گردد. مطابق به یک مودل، اتمام یک سیکل DNA replication سنتیز فعال غشا را در بین نواحی التصاق دو کروموزوم دختری به‌میان می آورد که بوسیله نموی غشای مستعرض به طرف داخل از هم جدا می‌گردند. ذخیره مواد در دیوار حجروی جدید التشکیل ادامه یافته و منتج به طویل شدن و بالاخره تضاعف لفاف حجروی می‌گردد.

© AAZAM PUBLICATIONS

دسته بندی حجره

اگر حجرات بعد از انقسام موقتاً باهم چسپیده باقی بمانند، دسته بندی ها با مشخصات معین به‌میان می آیند. مطابق به پلان انقسام و دفعات انقسام که در آن حجرات باهم چسپیده باقی می مانند، اشکال ذیل در coccus ها حاصل می‌گردند: زنجیری (ستریپتوکوکس)، جوره یی (نوموکوکس)، بندل های مکعبی (sarcinae) و یا پلک های هموار. Rod ها ممکن جوره ها و یا زنجیرها را تشکیل دهند.

متعاقب انشقاق در بعضی باکتری ها حرکات خاص پس از انشقاق صورت می‌گیرند. طور مثال حرکت شلاق مانند یا whipping حجرات را به موقعیت های موازی در می آورند؛ انقسام مکرر و حرکات شلاق مانند منتج به‌خصوصیت ترکیب pallisading در باسیل های دیفتری می‌گردد.

تغییرات در سیکل حیاتی

در جریان انکشاف باکتری از شکل ساکن به شکل محرک، یکتعداد تغییرات معین قابل رویت به‌میان می آیند. حجرات تمایل به بزرگ شدن داشته، گرانول ها را از دست داده و پروتوپلازم با مواد ملونه قلوی رنگ تاریک تر را به خود می‌گیرد. زمانیکه نشونما دوباره آهسته گردد، تغییرات مخالف به‌صورت تدریجی به‌میان می آیند. بالاخره، در کلچرهای کهنه حجراتی دریافت می‌گردند که دارای مورفولوژی غیرمعمول می‌باشند این اشکال به نام involution forms یاد می‌گردند. چنین حجرات دارای فلامنت ها، جوانه ها، حجرات شاخوی بوده که اکثر شان زنده نمی‌باشند.

© AZEM PUBLICATIONS

تصنیف باکتری ها

تعریفات: تصنیف، نامگذاری و تشخیص عبارت از سه عرصه مجزا، ولی باهم مرتبط در علم تکسانومی می‌باشند. تصنیف عبارت از تنظیم اورگانیزم‌ها به اساس شباهت ها و روابط به داخل گروپ های توکسانومیک می‌باشد. تصنیف اورگانیزم‌های پروکاریوتیک مانند باکتریها مستلزم معلوماتی می‌باشد که به‌صورت تجربوی و نیز بشکل نظری به دست آید، زیرا مشخصات بیوشمیک، فزیولوژیک، جنتیک و مورفولوژیک اکثراً برای توضیح کافی گروپ های توکسانومیک لازم می‌باشند. نامگذاری عبارت از تعیین نام اورگانیزم‌ها به اساس قواعد بین

المللی و در مطابقت با مشخصات همان اورگانیزم می‌باشد. تشخیص عبارت از استفاده عملی از تصنیف جهت نیل به اهداف ذیل می‌باشد:

۱- تجرید و تفکیک اورگانیزم‌های مطلوب از غیر مطلوب

۲- تصدیق و تائید خواص اورگانیزم در کشت و یا در حالات کلینیکی

۳- تجرید و تشخیص عوامل سببی امراض. هدف اخیر الذکر ممکن تعیین تداوی انتخابی را جهت محو اورگانیزم مساعد سازد. عملیه تشخیص صرف بعد از تصنیف مناسب یک گروپ ممکن می‌باشد.

معیارات تصنیف باکتری

معیارات مناسب برای تصنیف باکتری مشتمل بر عده زیادی از مشخصات ذکر شده در فوق می‌باشد. معلومات مفیدی را می‌توان ذریعه معاینه مایکروسکوپیک و مشاهده شکل حجره و موجودیت و یا عدم موجودیت ساختمانهای بخصوص مانند سپور و فلاجیل فراهم نمود. پروسیجر های تلوین مانند تلوین گرام در مورد ماهیت حجره معلوماتی مفیدی ارایه نموده می‌تواند. عده از باکتریها سبب تولید صباغات وصفی گردیده و عده دیگر به اساس انزایم‌های خارج الحجروی خود تشخیص می‌گردد. فعالیت این پروتین‌ها را اکثراً می‌توان به شکل ساحات شفاف در اطراف کالونیهای که درموجودیت مواد غیر قابل حل روئیده باشد، دریافت نمود. (مثلاً هیمولیز در وسط اگر که حاوی حجرات سرخ خون باشد). تعاملات متصالبه ایمونولوژیک می‌تواند در مورد ساختمان‌های سطحی مشابه در باکتریهای متفاوت معلومات دهد. تست های مانند تست اوکسیداز که در آن از electron acceptor مصنوعی استفاده به عمل می‌آید، جهت تفکیک اورگانیزم‌ها به اساس موجودیت انزایم تنفسی (cytochrome C) استعمال می‌گردد. تست های ساده بیوشمیک می‌تواند در مورد موجودیت فعالیت های مشخص میتابولیک معلومات موثق دهد. معیارات تعیین موفقانه گروپ باکتریهای مرتبط با هم، مشتمل بر اندازه گیری حساسیت آنها در مقابل انتی بیوتیکها می‌باشد.

همه مشخصات قبل الذکر توسط جین‌های اورگانیزم‌های مورد معاینه به‌صورت مستقیم ویا غیر مستقیم تعیین می‌گردد. انکشافات و پیشرفت های در عرصه بیولوژی مالیکولی ممکن می‌سازد تا مرتبط بودن جین‌های انواع مختلفه باکتری ها را مورد تحقیق قرار دهیم.

اهمیت معیارات توکسانومیک بستگی به گروپ مورد معاینه دارد. مشخصاتی که در اعضای یک گروپ به‌صورت مشترک موجود باشد، برای تفکیک اعضای آن مفید نمی‌باشد، اما می‌توان گروپ را توسط آن تعریف نمود، (مثلاً همه ستافیلوکوک ها انزایم کتلاز را تولید می‌نمایند.) علاوتاً بی ثباتی

© AZEM PUBLICATIONS

جنیتیک می‌تواند سبب تغییرپذیری زیادی در عده ای از اورگانیزم‌ها گردد، مثلاً جین‌های مقاومت در مقابل انتی بیوتیک ها و یا جین‌های کودکننده انزایم ها توسط پلازمید ها انتقال یافته می‌تواند. (پلازمید عبارت از عناصر جنتیک خارج از کروموزم بوده که میان باکتریهای غیر مرتبط تبادله گردیده می‌تواند). اکثریت معیارات تصنیف به اساس نموی مایکروازگانیزم ها در لابراتوار استوار می‌باشد. بعضاً اورگانیزم‌های پتوجن مانند treponema در لابراتوار نمی رویند و در چنین حالات معاینات نوکلیک اسیدها ممکن مفید باشد.

سیستم های تشخیص و تصنیف

کلید ها

کلید ها باکتریها را به شیوه یی تنظیم می‌نماید که تشخیص مؤثر اورگانیزم‌ها را ممکن می‌سازد. یک سیستم تشخیصیه آیدیال باید کمترین مشخصات لازم برای تشخیص درست را در بر داشته باشد. گروپ ها به اساس موجودیت (+) و یا عدم موجودیت (−) مشخصات تشخیصیه به گروپ های فرعی تقسیم می‌گردد. ادامه پروسه با استفاده از مشخصات مختلفه محققین را قادر می‌سازد تا کوچکترین گروپ فرعی مشتمل بر اورگانیزم مورد مطالعه را دریافت نماید. در مراحل ابتدایی ممکن گروپ های فرعی تشکیل گرددکه از نظر جنیتیک با هم مرتبط نباشد. مثلاً باکتریهای که صباغ سرخ را تولید می‌نماید، گروپی را تشکیل می‌نمایند که باکتریهای بسیار متفاوت مانند Serratia marcescens و باکتری فوتوسنتیتیک بنفش در آن شامل می‌باشد. دو نوع متذکره باکتری ها اشکال متفاوت داشته و به دو شکل کاملاً متفاوت میتابولیزم انرژی متکی می‌باشند. با آنهم تعیین مقدماتی گروپ های باکتری مفید می‌باشد زیرا محققین را کمک می‌نماید تا با شناسایی کلچرهای دارنده صباغ سرخ جستجو خود را به چند نوع معین مایکروبی محدود سازد.

توکسانومی عددی

توکسانومی عددی یا کمپیوتری در دهه ۱۹۶۰ مروج گردید. از تشخیص کمپیوتری برای ساختن تست های تشخیصیه که در آن انواع کلینیکی مایکروب‌ها از طریق کود های عددی و یا سیستم های probabilistic تشخیص می‌گردد، استفاده به عمل می‌آید.

تصنیف فایلوجنیک (Phylogentic classification)

Phylogentic classification عبارت از اندازه گیری genetic divergence در فایلم های مختلفه می‌باشد. ارتباط نزدیک phylogentic میان دو اورگانیزم وانمود کننده موجودیت اجداد مشترک

© AZEM PUBLICATIONS

میان شان می‌باشد و معلومات حاصله از فوسیل ها چنین نظریات را در خصوص اکثریت نباتات و حیوانات آسان ساخته است. اما چنین معلومات در مورد باکتریها موجود نمی‌باشد.

خواص جنیتیک باکتریها تبادله بعضی از جین‌ها را میان اورگانیزم‌های دارنده پیوند ضعیف، ممکن ساخته است. علاوتاً تکثر باکتریها تقریباً در همه موارد بشکل vegetative بوده و میکانیزم های تبادله جنتیک آنها نادراً زمینه تبادله حصص بزرگ از جینوم آنها را مساعد می‌سازد. بناً مفهوم نوع species در پروکاریوت ها و ایوکاریوت ها کاملاً متفاوت است. نوع باکتریایی عبارت از گروپی از باکتریها است که مشخصات معینی میان آنها مشترک بوده و عموماً مشابهت نزدیک باهم دیگر دارند. توکسانومیست ها می‌توانند نوع باکتریایی را به biotypes تصنیف نمایند و می‌توانند species شامل در genera را کلستر نمایند. جدول ذیل طبقات معمول توکسانومیک را نشان می‌دهد؛ اما عمدتاً صرف از نوع، جینس و خانواده استفاده به عمل می‌آید.

تفاوت قابل ملاحظه جنتیک میان باکتری ها موجود می‌باشد و DNA باکتریها تفاوت کسب می‌نماید؛ اما جین‌های سازنده رایبوزوم ها نسبتاً ثابت تر بوده و به سرعت کمتری تفاوت کسب نموده اندکه در مطالعه و کشف باکتریها مفید می‌باشد.

توضیح کتگوریها و گروپ های عمده باکتری ها

دو گر وپ عمده باکتریها موجود می‌باشد: eubacteria و archeobacteria. eubacteria شکل معمولتر باکتری را تشکیل می‌دهد در حالیکه archeobacteria باعث تولید پپتیدوگلایکان نمی‌گردد که یک تفاوت عمده را میان این دو نشان می‌دهد. همچنان archeobacteria در شرایط غیر معمول زنده‌گی می‌نمایند مانند درجه حرارت بسیار بلند، نمک زیاد و یا PH بسیار پائین. علاوتاً این‌ها تعاملات غیر معمول میتابولیک را اجرا می‌نمایند مانند تشکل میتان.

ایوباکتری های گرام منفی که دیوار حجروی دارند

این گروپ غیر متجانس بوده که دارای لفاف حجروی مغلق بوده و شکل حجروی آن مدور، بیضوی، راد های مستقیم و تاب خورده، فنری و یا میله مانند می‌باشد. بعضی اشکال دارای کپسول بوده و تکثر بشکل انقسام دوگانه می‌باشد اما بعضاً با جوانه زدن هم صورت گرفته می‌تواند. Myxobacteria می‌تواند myxospore و fruiting bodies را به‌میان آرد. در صورتیکه حرکت موجود باشد، ذریعه فلاجیل و یا لغزیدن صورت می‌گیرد. اعضا این گروپ ممکن فوتوتروپیک ویا غیر فوتوتروپیک بوده و مشتمل بر اشکال هوازی، غیر هوازی، غیر هوازی اختیاری و microaerphilic می‌باشد. بعضی از اعضای آن پرازیت های مطلق داخل حجروی می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

ایوباکتری های گرام مثبت که دیوار حجروی دارند

اکثراً دیوار حجروی این اورگانیزم‌ها به‌صورت گرام مثبت تلوین می‌گردد. حجرات ممکن مدور، میله مانند و یا چوبک ها باشد. چوبک ها و میله ها ممکن غیر منشعب و یا هم منشعب باشند. تکثر عموماً توسط انقسام دوگانه بوده و بعضی اشکال سپور تولید می‌نمایند (endospores). این اورگانیزم‌ها عموماً chemosynthetic heterotrophs بوده و مشتمل بر انواع هوازی، غیر هوازی و غیر هوازی اختیاری می‌باشد. این گروپ شامل بر باکتریهای ساده دارای سپور و بدون سپور بوده و نیز انواع پیچیده و مغلق که عبارت از اکتینومایسیت ها و انواع مشابه آن می‌باشد، در آن شامل است.

Eubacteria های فاقد دیوار حجروی

این اورگانیزم‌ها به‌صورت معمول mycoplasma نامیده شده و مشتمل بر کلاس mollicutes می‌باشد. این‌ها مواد پیشقدم peptidoglycan را نساخته و توسط غشا پلازمایی احاطه گردیده اند.

اورگانیزم‌های متذکره مشابه اشکال L بوده اما مایکوپلازما نمی‌توانند مانند اشکال L دوباره به شکل غشا دار تبدیل گردد. علاوتاً هیچ تشابه جنیتیک میان مایکوپلازما و اشکال L وجود ندارد.

شش genera در مایکوپلازما موجود بوده که صرف دو آن برای انسانها پتوجن می‌باشد. این اورگانیزم‌ها بسیار pleomorophic بوده و اندازه آن متفاوت بوده که بعضی آن حتی قابل فلتر می‌باشد (0.2 مایکرومتر). تکثر ذریعه جوانه زدن، fragmentation انقسام دوگانه و یا به‌صورت ترکیب از میتود های فوق می‌باشد. اکثراً مستلزم اوساط مغلق بوده که کالونی های وصفی fried egg را تشکیل می‌دهد. یکی از مشخصات ویژه آن نیاز به کولسترول برای نمو می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

Archeobacteria ها

این اورگانیزم‌ها اغلباً در شرایط غیر معمول زیست نموده بعضاً بشکل همزیستی در طرق هضمی حیوانات موجود می‌باشد. این‌ها مشتمل بر اورگانیزم‌های ایروبیک، غیر ایروبیک و غیرایروبیک اختیاری بوده و به شکل heterotroph، chemolithotroph و یا facultative heterotroph می‌باشد. بعضی از انواع آن mesophiles بوده درحالیکه انواع دیگر در درجه حرارت بلندتر از ۱۰۰درجه سانتی گراد نمو می‌نماید. انواع اخیرالذکر عادت به زیست نمودن در درجه های حرارت بسیار زیاد را کسب نموده که به نام hyperthermophilic یاد می‌شود و انزایم‌های موجود در حجرات شان نسبت به انزایم‌های حجرات میزوفیلیک باثبات تر می‌باشد. بعضی ازین انزایم‌های باثبات مانند DNA polymerase از Thermus aquaticus بخش عمده از میتود هایی amplification را تشکیل می‌دهد، مانند عملیه PCR. تفاوت میان archeobacteria و Eubacteria را می‌توان توسط عدم

موجودیت دیوار حجروی peptidoglycan، موجودیت شحمیات isoprenoid diether و یا diglycerol tetra ether و موجودیت RNA بخصوص، نشان داد. همچنان archeobacteria ها عده ای از تشابهات مالیکولی با eukaryotes دارند. حجرات آن ممکن مختلف الشکل باشند و اشکال مدور، فنری، هموار یا میله مانند، دیده شده می‌تواند. شکل وحیدالحجروی و چندین حجروی در میله ها و یا به شکل تجمعات نیز دیده شده می‌تواند. تکثر به‌صورت انقسام دوگانه، جوانه زدن، constriction، fragmentation و یا میکانیزم های نامعلوم صورت گرفته می‌تواند.

Subtyping و استفاده از آن

در بعضی حالات مثلاً در اپیدیمی ها لازم است تا strains یک نوع را از هم تفکیک نمود و یا اینکه یک سترین معین را تشخیص نمود. این عملیه به نام تعیین تایپ های فرعی (subtyping) یاد می‌گردد. درین عملیه از مشخصات باکتریایی استفاده بعمل می‌آید که تشخیص مفصلتر از نوع را ممکن سازد. جهت مثمر بودن کار در همه عملیه‌های subtyping لازم است تا مایکروب‌های مشتمل در واقعات را از مایکروب‌های غیر مشتمل تفکیک نمود. حسب معمول subtyping ذریعه biotyping, serotyping، تست های حساسیت مقابل انتی بیوتیک ها، bacteriophage typing، و bacteriocine typing صورت می‌گیرد. مثلاً به اساس تفاوت های انتیجنیک در انتیجن LPS O بیشتر از 130 سیروگروپ ویبریوکولرا کشف گردیده اند، اما صرف اشکال O1 و O139 در کولرای اپیدیمیک و پاندیمیک نقش دارد. در اشکال اخیر صرف سترین های که سبب تولید توکسین می‌گردد، virulent می‌باشد، مثلاً شکل O1.

nontoxigenic V. cholera با کولرای اپیدیمیک ارتباط نداشته و از specimen های محیطی، مواد غذایی و از مریضان مصاب به اسهالات sporadic، تجرید گردیده است.

مواجه شدن با عامل سببی که از یک منبع واحد انتانی منشأ می‌گیرد، در تعداد زیادی از وقوعات انتانات نقش دارد. عموماً می‌توان گفت که این عوامل سببی یا مایکرواورگانیزم‌های مرضی clonal می‌باشد یعنی از یک حجره واحد مادری منشأ گرفته و زاده همان حجره می‌باشد و بدینصورت در همه موارد از نظر جنیتیک یکسان اند. بنابران می‌توان گفت که subtyping نقشی مهمی در تشخیص مایکرواورگانیزم‌ها دارد. پیشرفت های اخیر در عرصه بیوتکنالوژی توانمندی ما را در subtype نمودن مایکرواورگانیزمها بسیار زیاد ساخته است. تکنالوژی hybridoma منتج به ساختار انتی بادیهای monoclonal در مقابل انتیجنهای سطح حجرات گردیده است. میتودهای molecular typing قدرت تشخیصیه سیستم های subtyping را ازدیاد بخشیده و اثرات قابل ملاحظه بر اپیدیمولوژی انتانات

© AAZEM PUBLICATIONS

داشته است. این شیوه در مقابل مواد معین حساس می‌باشد مثلاً میتود های برای تشخیص lipopolysaccharide، میتودهای تشخیص پروتینها و میتود های تشخیصیه نوکلییک اسید. تحلیل و مطالعه LPS ذریعه Sodium Dedecyl Sulfate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) در باکتریهای گرام منفی به ساده‌گی اجرا شده می‌تواند.

Multi Locus Enzyme Electrophoresis(MLEE) نیز برای مایکرواورگانیزم‌های پتوجن مورد استفاده قرار گرفته است. با استفاده ازین میتود علما در مرکز کنترول امراض CDC توانسته اند تا دریافت نمایند که سیروتایپ E. Coli O157:H7 را که در وقوعات hemorrhagic colitis و Hemolytic uremic syndrome نقش دارد، از یک clone که در امریکایی شمالی به‌صورت گسترده موجود است، تولد گردیده اند.

انکشافات و پیشرفتهایی حاصله که در عرصه تجرید، تسلسل و amplification نوکلییک اسیدها به‌میان آمده، منتج به‌میان آمدن سیستم های subtyping به اساس نوکلیک اسیدها می‌گردد که مشتمل اند بر plasma profile analysis، ribotyping، pulse field gel electrophoresis، PCR amplification و nucleic acid sequence analysis.

شیوه های تشخیص مایکرواورگانیزمها بدون زرع آن

تعداد تخمینی مایکروب‌های کشت ناشده واضح نمی‌باشد؛ اما معلومات اخیر نشان می‌دهد که بسیار زیاد است. تشخیص مایکروب‌ها تا این اواخر مستلزم کشت و حصول کلچر خالص و بعداً اجرا معاینات فزیولوژیک و بیوشمیک می‌باشد. علما از مدت زیادی در مورد مایکروب‌های غیر قابل زرع معلومات داشتند و فعلاً از شیوهٔ کار می‌گیرند که با کمک PCR و با استفاده از rRNA می‌توان مایکروب‌ها را تشخیص نمود. از ین شیوه برای کشف و تشخیص یک نوع از اکتینومایسیت ها استفاده شده که whipple disease rod shape bacterium است و پیشنهاد گردیده تا به نام Tropheryma whippelli مسمی‌شود. عامل سببی bacillary angiomatosis تشخیص گردیده و نام آن Bartonella henselae می‌باشد و نیز به اثبات رسیده که pneumocystis carinii از جمله فنگس‌ها می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف سیستم پنج Kingdome

تا به قرن نزدهم همه اورگانیزم‌ها به دو کِنگدَم نباتات و حیوانات تقسیم شده بودند. در سال 1866 کِنگدَم سومی (protista) توسط Haeckel پیشنهاد شده که همه مایکرواورگانیزم‌ها را در بردراد.

تصنیف پنج کِنگدَم که در 1969 توسط Whittaker پیشنهاد گردیده قرار ذیل است:

Monera (Prokaryote، Uni cellular)
Protista (Eukarote، Uni cellular)
Fungi (Eukaryote، Uni or Multi cellular)
Plantae (Eukaryote، Multi cellular)
Animalia (Eukaryote، Multi cellular)

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف پروکاریوتها با استفاده از سیستم Bergeys در طبابت این امکان را میسر می‌سازد تا اورگانیزم‌های مؤلدالمرضی را تشخیص و در قسمت تطبیق ادویه فارمکولوژیک خیلی کمک می رساند، همچنان زمینه را مساعد می‌سازد تا Strain های جدید کشف گردند و در لست مایکرواورگانیزم‌ها گنجانیده شوند.

Bergey's Mannual بار اول در 1932 چاپ شده و در 1984 بار دوم به چاپ رسیده بود. در Juanuary 1980 کمیته بین المللی باکتریولوژی یک لست نامگذاری باکتری هایی را تهیه نمود که در آن 2500 نوع باکتری و 10000 نام جا داده شده بود همچنان نام های حذف شده دوباره در آن شامل گردیده. Prokaryote ها به‌صورت عموم در دو کتگوری Archeubacteria و Eubacteria تقسیم گردیده است که باکتری های مؤلدالمرض برای انسان در گروپ Eubacteria تصنیف گردیده است.

اصطلاحاتیکه در نامگذاری بین المللی استعمال می‌شوند، قرار ذیل اند:

۱- Kingdom: به نام عالم یاد گردیده که قبلاً ۵ کِنگدَم تشریح گردیده.

۲- Class: گروپ مایکرواورگانیزم است که آخر نام کلاس به cetes ختم می‌شود مانند Actinomycetes.

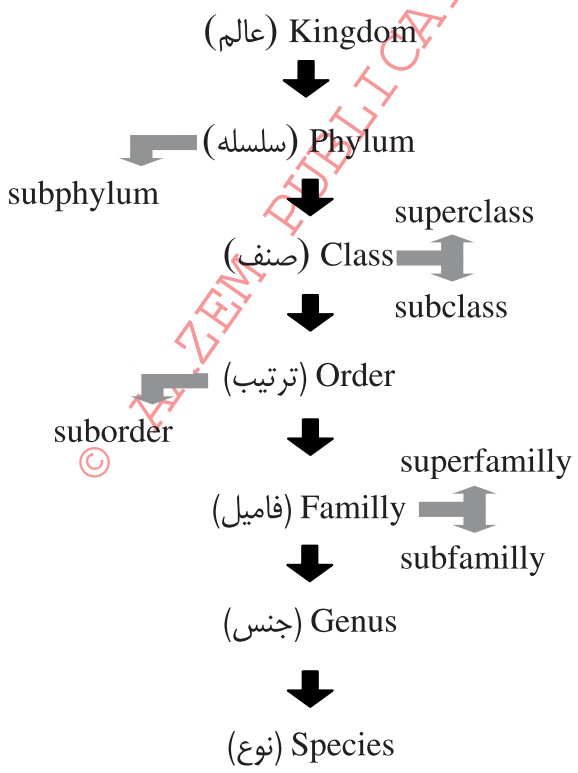
۳- ORDER: کوچکتر از کلاس بوده و در آخر کلمه آن در نگارش ales نوشته می‌شود مانند Actinomycetales.

۴- Family: کوچکتر از ORDER بوده و آخر آن به حروف aceae ختم می‌شود مانند Actinomycetaceae.

۵- Genus: نشاندهنده یک بخش از یک فامیل است و معمولاً نام کاشف آن با کلمهٔ لاتین نوشته می‌شود مانند Nocardia.

۶- Species: عبارت از یکنوع از genus است که به شکل لقب و یا وصف نوشته می‌شود مانند: Albus, Aureus, Asteroides.

۷- Strain: عین نوع است مگر با بعضی خصوصیات خاص.



© AZ ZEM PUBLICATIONS

فصل دوم

فزیولوژی مایکرواورگانیزم‌ها

© AAZEM PUBLICATIONS

I- ترکیب بیوشیمیک حجرهٔ باکتری

اساس ترکیب کیمیاوی حجرهٔ باکتری‌ها را عناصر عمدهٔ کیمیاوی از قبیل نایتروجن، کاربن، هایدروجن و اکسیجن که دارای منشأ عضوی اند تشکیل می‌دهد، مثلاً ۸ – ۱۵٪ وزن خشک باکتری‌ها را نایتروجن و ۴۵ – ۵۵٪ آنرا کاربن می‌سازد.

بطور کل و بخاطر سهولت مطالعهٔ مواد سازندهٔ حجرهٔ باکتری را بدو قسمت مایع و جامد تقسیم می‌نمایند:

۱- **قسمت مایع (آب):** آب قسمت عمدهٔ حجره باکتری را تشکیل داده که در سایتوپلازم انواع مختلفهٔ باکتری‌ها یک حجم متغیر از 75-85% را احتوا می‌کند، مثلاً در Escherichia coli 75% و در کورینهٔ باکتریم دیفتری و ویبریو کولرا 85% حجم شانرا آب می‌سازد و در باکتری‌های کپسول دار این فیصدی به نود می‌رسد.

آب در حجرهٔ باکتری بصورت آزاد و یا در ترکیب با دیگر اجزای ساختمانی باکتری یافت می‌شود، آب ترکیبی جزء ساختمانی سایتوپلازم بوده و نه می‌تواند محلل باشد در حالیکه آب آزاد در حجرهٔ باکتری پراگنده بوده و یک حالت کلوئیدل را بوجود می آورد و مانند منبع یون های هایدروجن و هایدروکسیل عمل می‌کند همچنین آب آزاد رول عمده‌یی در پروسهٔ هایدرولیز مواد دارد که طور مثال می‌توان از تجزیهٔ پروتین ها، لپید ها که بخاطر یکجا شدن آنها با آب آزاد صورت می‌گیرد، نام برد.

۲- **قسمت جامد یا Dry Matter عضوی، غیر عضوی:** قسمت جامد مواد سازندهٔ حجره باکتری‌ها شامل مواد عضوی و غیر عضوی است.

أ- مواد غیر عضوی (مواد معدنی): فاسفور، سلفر، سودیم، مگنیزیوم پوتاشیم، کلسیوم، سلیکان، آهن، کلورین و عناصر کمیاب کیمیاوی از قبیل مولبدنیم، کوبالت، برون، منگانیز، Zinc و مس از جمله مواد معدنی موجود در ساختمان حجره باکتری‌ها بوده که 2-14% وزن خشک کتلهٔ مایکروبی کشت شده در اوساط غذائی ستاندرد را می‌سازد.

ب- مواد عضوی: قسمت عضوی ماده خشک باکتری‌ها شامل پروتین ها، کاربوهایدریت‌ها، لپید ها، نوکلییک اسید ها و دیگر ترکیبات می‌باشد.

- پروتین ها: پروتین ها قسمت عمدهٔ مادهٔ خشک باکتری‌ها را می‌سازد، این ماده در سایتوپلازم، هسته، غشای سایتوپلازمیک و در دیگر ساختمان های حجره باکتری موجود است، پروتین در حجرهٔ باکتری معمولاً به اشکال نکلیوپروتین و لیپوپروتین موجود است.
- کاربوهایدریت‌ها: کاربوهایدریت‌ها و الکول‌های پولی التمیک ۱۰ – ۲۸٪ وزن خشک باکتری‌ها را می‌سازد که شکل عمدهٔ موجودیت کاربوهایدریت‌ها در حجرهٔ باکتری ترکیب پولی سکراید یک آنست که بطور آزاد و یا به حالت ترکیب با پروتین‌ها و لپید در دیوار حجروی و در کپسول باکتری‌ها وجود دارد. قابل یاد آوری است که در سایتوپلازم بسیاری از باکتری‌ها مقادیر نسبتاً زیادی Inclusion های کیمیاوی مشابه گلیکوجن و یا نشایسته وجود دارد.
- لپید ها: باکتری‌های که از خود ذخیره شحمی دارند و گرانول های شحمی را تولید می‌کند 40% وزن خشک شانرا لپید ها می‌سازد ولی آنعده باکتری‌های که ذخیرهٔ شحمی ندارند و نمی‌توانند گرانول های شحمی را تولید نمایند 10% وزن خشک شان را لپید ها می‌سازند. شحم در حجرهٔ باکتری به اشکال آزاد، خنثی و ترکیبی موجود می‌باشد که 26-28% شحم موجود در حجرهٔ باکتری را شحم آزاد تشکیل می‌دهد، در حالیکه مقدار شحم ترکیبی زیاد بوده و در جدار باکتری موقعیت دارد که با تأمین قابلیت نفوذیه جدار باکتری مقابل مواد غذائی در تغذی باکتری سهم می‌گیرد.
- نوکلییک اسید: مقدار نوکلییک اسید در حجرهٔ باکتری مربوط به نوع باکتری و چگونگی ترکیب وسط غذائی می‌باشد که 10-13% ماده خشک باکتری‌ها را می‌سازد مقدار R.N.A معمولاً در حدود 10% و از D.N.A 3-4% می‌باشد.

© AZEH PUBLICATIONS

II- میکانیزم تغذی باکتری‌ها و تصنیف آنها مطابق به تایپ تغذی شان

تبادله دائمی مواد و ترکیبات با محیط ماحول یک خاصیت ذاتی تمام موجودات زنـده اسـت، منجمله باکتری‌ها در جریان فعالیت های حیاتی باکتری شرایط معین لازمست که مهمتر از همه موجودیت مواد غذائی است که با استفاده از آن ها انرژی مورد نیاز خود را حاصل نموده و اجزای ساختمانی خود را سنتیز می‌نمایند.

نفوذ مواد غذائی به داخل حجرۀ باکتری به سه طریقه صورت می‌گیرد:

۱- **انتشار ساده یا Simple diffusion:** عبارت از نفـوذ غیـر اختـصاص مـواد بـه حجـرۀ باکتری است. درین پروسه حجم مالیکولی مواد اهمیت زیاد داشته و سـرعت آن نهایـت ضعیف است، در جریان این عملیه محصولات Lipophilic موجود در کپـسول و Cell wall باکتری رول ارزنده دارد.

۲- **انتشار سهل یا Easeing Diffusion:** جهت اجرای این پروسه موجودیت انتقال دهنده های مخصوص (Massengers) در سایتوپلازم حجرۀ باکتری که خواص مـواد محـیط حجره باکتری را به سایتوپلازم می رساند ضروری است. درین طریقه مصرف انرژی کـم بوده و سرعت آن مربوط به غلظت و تجمع مواد محیط باکتری است.

۳- **انتقال فعال یا Active transportation:** آوانیکه غلظت مواد غذائی در داخـل حجـره باکتری نسبت به محیط آن بلند برود، باکتری‌ها با استفاده ازین میکانیزم تغذی بقیه مواد غذائی موجود در محیط را اخذ می‌نمایند که درینحالت غلظت مواد غذائی در داخل حجرۀ باکتری صد ها مرتبه بلندتر از غلظت آن در محیط مـی‌باشـد و در پیـشبرد ایـن پروسـه انتقال دهنده های مخصوص که ماهیتاً انزایم بوده و به نـام Permease یـاد مـی‌شـود سهم می‌گیرند در Active transportation مصرف انرژی زیاد است.

تصنیف باکتری‌ها نظر به تایپ تغذی شان

باکتری‌ها مطابق به تایـپ تغـذی شـان بـه دو گـروپ Autotrophic و Heterotrophic تقسیم می‌شوند.

۱- **باکتری‌های Autotroph:** آن دسته از باکتری‌های اند که عمل فوتوسنتیز و شیموسنتیز را انجام می‌دهند و قادر اند که از مرکبات غیر عضوی مواد عـضوی را تهیـه کننـد، ایـن

© AZEM PUBLICATIONS

باکتری‌ها به مرکبات عضوی کاربن ضرورت نداشته و نمی‌توانند آنها را جذب کنند، بلکه اجزای ساختمانی خود را بوسیلهٔ جذب آب و مرکبات ساده نایتروجن دار) امونیاک و نمکها آن و نمک Nitric Acid) تشکیل می‌نمایند.

۲- **باکتری‌های Heterotroph:** باکتری‌های اند که جهت تغذی خود را به کاربن عضوی مانند قندها و اسیتون، به امینواسیدها، اسید های شحمی، مرکبات مختلفه نایتروجن (نیترات ها و امونیاک) و به مواد غیرعضوی مانند Mg، K، Fe، Ca و حتی به ویتامین‌ها ضرورت دارند.

باکتری‌های هیتروتروف به نوبهٔ خود به دو گروپ Parasite ها و Sprophyte ها تقسیم می‌شوند:

أ- سپروفایت ها: باکتری‌های اند که با استفاده از مواد عضوی محیط ماحول خود زندگی می‌کنند که اکثریت باکتری‌های موجود در کرهٔ ارض مربوط به سپروفایت ها است، باکتری‌های Non – Pathogen شامل این گروپ می‌باشند.

ب- پرازیت ها: درین گروپ تعداد کمی از باکتری‌ها شامل بوده که در جریان رشد و تکامل تدریجی خود به حیات طفیلی عادت می‌گیرند و برای تغذیه و تأمین حیات خود به مواد عضوی به خصوص به پروتین حیوانی نیاز دارند. باکتری‌های مؤلدالمرض یا Pathogen شامل این گروپ می‌باشند.

© AAZEM PUBLICATIONS

گرچه نمی‌توان هتروتروف را به دو گروپ دیگر یعنی پرازیت ها وسپروفایت ها تقسیم نمود اما با آنهم تا کنون کدام نوع دیگری در بین این دو گروپ حایل نشده است به دلایل ذیل نمی‌توان مرز تفریقی را بین پرازیت ها و سپروفایت ها مشخص کرد:

۱) پرازیت ها بعد از خارج شدن از اورگانیزم زنده می‌تواند، در اوساط غذائی که حاوی مواد غذائی عضوی باشند حیات به سر برند.

۲) بعضی از مایکروب‌ها Pathogen برای انسان، می‌توانند در محیط سپروفایت باشند.

۳) بعضی از مایکروب‌های سپروفایت در شرایط نامساعد می‌توانند بیماری های مختلف را برای انسان و حیوان تولید کنند.

۴) همچنانیکه اشاره شد، نایتروجن و مرکبات آن نقش عمده ای در تغذی باکتری‌ها ایفا

می‌نماید که اینک بر حسب تایپ استفاده باکتری‌ها از نایتروجن، تصنیف آنها بیان می‌گردد:

- مایکروبهای که نایتروجن را از هوا می‌گیرند.
- مایکروبهای که از ترکیبات معدنی نایتروجن استفاده می‌نمایند.
- مایکروبهای که در مجاورت یک امینواسید و یا مخلوطی از آنها رشد و نمو میکنند.
- مایکروبهای که در اوساط غذائی پروتین دار کشت می‌شوند.

برعلاوه، تصنیف عمدهٔ دیگری بر حسب قدرت باکتری‌ها در سنتیز مرکبات مغلق و پیچیده موجود است که ذیلاً ارائه می‌گردد:

۱- باکتری‌های که کاربن را از CO_2 و نایتروجن را از مرکبات غیر عضوی فراهم می‌کنند، اینها شامل اتوتروف های اند که قابلیت فوتوسنتیز را دارند و بوسیلهٔ اوکسیدیشن ساده مرکبات غیر عضوی انرژی مورد نیاز خود را تهیه می‌کنند.

۲- باکتری‌های که کاربن را از مرکبات عضوی و نایتروجن را از مرکبات غیر عضوی گرفته و انرژی تهیه می‌کنند که اغلب سپروفایت ها درین زمره اند.

۳- باکتری‌های که کاربن و انرژی را از مواد عضوی و نایتروجن را از امینو اسید تهیه می‌کند.

۴- باکتری‌های که کاربن را از مرکبات عضوی و نایتروجن را از کمپلکس امینواسیدها جذب کرده و انرژی تهیه می‌کنند که در ضمن به یک یا چند ویتامین هم ضرورت دارند.

© AAZEM PUBLICATIONS

اوساط غذائی و تهیهٔ آن ها

هدف از استعمال اوساط غذائی تهیهٔ کلچر خالص باکتری‌ها از مواد و محصولات مختلفهٔ است که در ضمن تجرید و تکثیر ژرم مطالعه خصوصیات مایکروب و معرفت با محصولات خود مایکروب را امکان پذیر می‌سازد.

پایه و اساس کار مایکروبیولوژی مربوط به اوساط غذائی بوده و اکثر اوقات کیفیت و چگونگی این اوساط نتیجهٔ امور تحقیقاتی را معین می‌سازد. در ترکیب اوساط غذائی مواد اورگانوجنیزس که جهت ساختن سایتوپلازم لازمی است وجود دارد که معمولاً شامل Peptone یا (عصاره گوشت یا Meat Extract، محصولات بیولوژیکی یا مواد صنعتی مشابه آنها که مواد

متذکـــره حاوی مواد Organogenes که در قالب مالیکول های بزرگ است، می‌باشد.

اوساط غذائی ماهیتاً مواد و عناصر چون کاربن، نایتروجن، هایـدروجن، اوکـسیجن، مرکبـات غیر عضوی که دارای پتاسیم، سودیم، کلـسیم، کلـورین، آهـن، مگنیـزیم و همچنـین یکتعـداد مایکروالیمنت ها از قبیل کوبالت، آیودین، منتریم، برون، مولبدینوم و مس را دارا می‌باشند.

همچنین باکتری‌ها برعلاوه مواد فوق به عوامل رشد دهنده نیازمند انـد کـه رول ایـن مـواد معادل نقش ویتامین ها در حیوانات می‌باشد. این مواد که دارای منشۀ حیوانی یا نبـاتی انـد و در ترکیب خود نوکلئیک اسید، Panthotin و ویتامین های مختلفۀ A، B و C را دارند. قسمی باید در ساختار اوساط غذائی ترکیب شوند که بتوانند از طرف باکتری‌ها مورد استفاده قرار گیرند.

مواد غذائی توسط باکتری‌ها تنها در نتیجۀ تعامل اوساط اخذ می‌گردد، زیرا حساسیت غـشای حجروی باکتری‌ها مقابل تغییرات PH وسط نهایت حساس بوده و حساسیت غشا نظـر بـه PH وسط تغییر می یابد نظر به اینکه مایکروب‌های مختلفه جهت رشد، نمو و تکثر خـود بـه اوسـاط غذائی مختلفه ضرورت دارند لذا وسط Universal یا یکسان برای تمام باکتری‌ها وجود ندارد.

در تهیۀ یک وسط غذائی باید نکات ذیل مراعات شود:

۱- اوساط غذائی باید حاوی تمام مواد باشد که برای مایکروب ضروری است.

۲- تعامل PH وسط باید مطابق به حساسیت غشای حجروی هر مایکروب عیار گردد.

۳- وسط غذائی باید مرطوب باشد، زیرا میدانیم که مایکرواورگـانیزم‌هـا مطـابق بـه قـوانین آسموزس و دیفیوجن تغذیه می‌کند.

۴- وسط غذائی باید ایزوتونیک Isotonic باشد.

۵- وسط غذائی باید معقم باشد تا بتوان کلچر خالص مایکروب را حاصل نمود.

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف اوساط غذائی

اوساط غذایی نظر به حالت فزیکی ترکیب، چگونگی طبیعی و مصنوعی پیـدایش و بـالاخره نظر به مفهوم و کارآیی باکتریولوژیک آنها تصنیف می‌شوند.

۱- نظر به حالت: از این لحاظ سه نوع وسط غـذائی وجـود دارد: مـایع، جامـد خـشک و یـا پودری. در پراتیک روزانه اوساط غذائی جامـد را از Agar و یـا ژلاتـین تهیـه مـی‌کننـد (Agar از یکنوع نبات بحری بدست می‌آید) زیرا Agar در آب به ۸۰ - ۸۶ درجۀ سانتی

گراد ذوب شده و در حرارت ۳۷ – ۴۰ درجهٔ سانتی گراد دوباره شکل جامد را به خود می‌گیرد. با استفاده از اوساط اگردار می‌توان تمام باکتری‌های پتوجن را پرورش داد، زیرا حرارت اعظمی Optimum برای این نوع مایکروب‌ها معادل درجهٔ حرارت طبیعی عضویت انسان است. امروز در بخش صنایع طبیعی اوساط غذائی خشک (پودری) کانسرو شده را می‌سازند که در ترکیب آنها تمام مواد ضرورت جهت رشد و تکثر باکتری‌ها شامل است، طرز استفاده از این اوساط چنین است که اولاً آنرا در آب حل نموده و جوش می‌دهند و بعداً آنرا در تیوپ ها و پطری دیش ها جا می‌دهند. این نوع اوساط غذائی برای مدت دو سال قابل استفاده می‌باشد، تهیهٔ این اوساط با این سهولت و ترکیب غنی آن، امکان آنرا به محققین می‌دهد تا ازین اوساط در لابراتوار های مایکروبیولوژی در محلات مختلف استفاده نمایند (زمین– بحر– فضا).

۲– نظر به ترکیب: با در نظرداشت ترکیب اوساط غذائی دو نوع آنرا می‌توان معین کرد، دو نوع ساده و مغلق موجود بوده در جمله اوساط غذائی ساده می‌توان از Meat broth، Peptone water و Meat Water نام برد. اوساط که شامل دو یا چندین نوع وسط غذائی ساده باشد در جملهٔ اوساط غذائی مغلق کتگوری می‌شوند.

۳– نظر به چگونگی پیدایش و موجودیت شان: دو گروپ طبیعی و مصنوعی از هم تفریق می‌شوند. Blood Agar، سیروم حیوانی، شیر، پارچه های کچالو، جزء اوساط غذائی طبیعی و اوساط که چگونگی ترکیب آنها معلوم است جزء اوساط غذائی مصنوعی بشمار می‌روند.

۴– نظر به مفهوم و کارآئی باکتریولوژیک: اوساط غذایی نظر به مفهوم و کارآیی باکتریولوژیک در لابراتوار به اوساط غذائی عمومی و خصوصی تقسیم می‌گردند. Meat broth، Meat peptone broth و اوساط غذائی که در اساس خود از آنها تهیه گردیده اند. در کتگوری اوساط غذائی عمومی تصنیف می‌شوند (به شمول اشکال جامد آنها)، اوساط غذائی عمومی، به نوبهٔ خود به اوساط غذائی Elective و تشخیص تفریقی (Differential Diagnostic) تقسیم می‌شوند.

الف: اوساط غذائی Selective: این اوساط با چنین ترکیبی تهیه می‌گردند که زمینهٔ رشد یک یا چند باکتری را با مهیا ساختن شرایط Optimum برای آنها تأمین می‌کند. درین نوع

© AZEM PUBLICATIONS

اوساط باکتری‌های مختلفه را می‌توان کشت کرد ولی قبل از همه آن باکتری رشد می‌کند که وسط برای آنها انتخابی Selective باشد و سایر باکتری‌ها یا اینکه اصلاً نمو ننموده و یا اینکه خیلی ضعیف نمو می‌کنند. این نوع اوساط برای انواع مایکروب‌های که مورد توجه طبیبان قرار دارد، استعمال می‌شوند که البته خیلی شدید و سریع نسبت به سایر مایکروب‌های همراه خود می رویند.

ب: اوساط Differential Diagnostic تشخیص تفریقی: با در نظرداشت مفهوم این اوساط بازهم انواع ذیل آنها قابل تفریق است:

- اوساط پروتین دار: عبارت از اوساط اند که جهت معلوم نمودن فعالیت Proteolytic باکتری‌ها به کار می‌روند که حاوی مواد پروتینی در ترکیب خود اند مانند شیر، جلاتین و Meat peptone.
- سیروم خون: اوساط که برای تشخیص فعالیت هیمولایتیکی باکتری‌ها به کار می‌روند مثلاً Blood Agar.
- مواد کیمیاوی: اوساط که در ترکیب خود دارای چنان مواد کیمیاوی اند که برای عده ای از باکتری‌ها منحیث مواد غذائی بوده درحالیکه باکتری‌های دیگر نمی‌توانند از آن استفاده نمایند.
- ارجاعی: اوساط که فعالیت Reductive یا ارجاعی باکتری‌ها در آن معین می‌گردد.
- عمل تخمری انزایم ها: اوساط که جهت تحقیق و پیدا نمودن انزایم های متعلقه هر باکتری و مشخص نمودن عمل تخمری آنها به کار می‌روند.

© AZEM PUBLICATIONS

میتود های تعقیم اوساط غذائی

تعقیم اوساط غذائی به میتود ها و روش های مختلفه صورت می‌گیرد ولی در تعقیم هر وسط غذائی بایست اجزای ترکیب دهنده آن جدا در نظر گرفته شود که ذیلاً چگونگی تعقیم اوساط غذائی توضیح می‌گردد:

۱- اوساط Agar دار و Synthetic اگر در ترکیب خود پروتین طبیعی نداشته باشند به حرارت ۱۱۵ - ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ - ۲۰ دقیقه در Autoclave تعقیم می‌شوند.

۲- اوساط که در ترکیب خود کاربن و شیر دارند (Lactose) به حرارت 100°c در موجودیت رطوبت (بخار) به مدت ۳۰ دقیقه برای دو مرتبه و یا به حرارت ۱۱۲ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه در اوتوکلاو برای دو مرتبه تعقیم می‌شوند.

۳- اوساط که در ترکیب خود مواد پروتینی از قبیل سیروم خون، Ascites و مواد پروتینی اند به میتود Filtration و یا Tendalization تعقیم می‌شوند. طرز العمل در میتود اخیرالذکر چنان است که وسط به حرارت 70 – 80 °c برای یکساعت در سه روز متوالی تعقیم می‌شوند.

۴- اوساط که در ترکیب خود مواد پروتین طبیعی دارند به میتود Filtration تعقیم می‌شوند.

اوساط غذائی تعقیم شده بعد از تعقیم بایست کنترول شوندکه به این منظور آنها را ترموستات به حرارت 37 °c می گذارند طوریکه اوساط غذائی تعقیم شده در اتوکلاو را مدت 24h و اوساط غذائی تعقیم شده توسط بخار را مدت 72h در ترموستات محفوظ نگهمیدارند.

تخنیک کشت باکتری‌ها در اوساط غذائی

مواد که در اوساط غذائی کشت می‌شوند متعدد اند، کلچر باکتریائی، آب، مواد زمینی افرازات و محصولات مختلفهٔ انسان ها (ادرار، مواد غایطه، قی آبسی ها، بلغم) محصولات حیوانی، پارچه های اجساد... و غیره می‌توانند به حیث مواد کشت شونده استعمال شوند. در پراتیک روزانه جهت کشت باکتری‌ها اکثراً از لوپ باکتریایی استفاده می‌شود. کشت باکتری‌ها مستلزم یکسلسله حرکات و مانور های ماهرانه است که توسط انگشتان دست اجرا می‌شود (Manupolation) که البته تمام این حرکات و مانور ها باید در مجاورت منبع حرارت (شعله چراغ الکلولی) صورت گیرد.

جهت کشت باکتری‌ها در لابراتوار چنین عمل می کنیم:

۱- قبل از اخذ مواد لوپ عمودً داخل شعله چراغ قرار داده می‌شود تا تعقیم گردد.

۲- دو تیوب که در یکی از آنها کلچر کهنه باکتریایی وجود دارد و دیگر آن که هنوز بکلی معقم و تازه است طوری با دست چپ اخذ می‌شوند که نهایت مطلوبه آنها آزاد، باشد.

۳- لوپ معقم مانند قلم با دست راست اخذ شده و نهایت آزاد تیوب ها با دور نمودن پنبه از آن در مجاورت شعله چراغ باز می‌گردد.

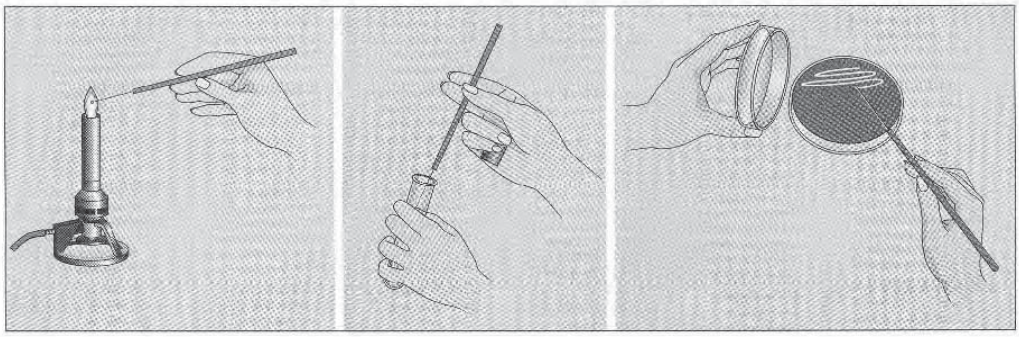
© AZIZI PUBLICATIONS

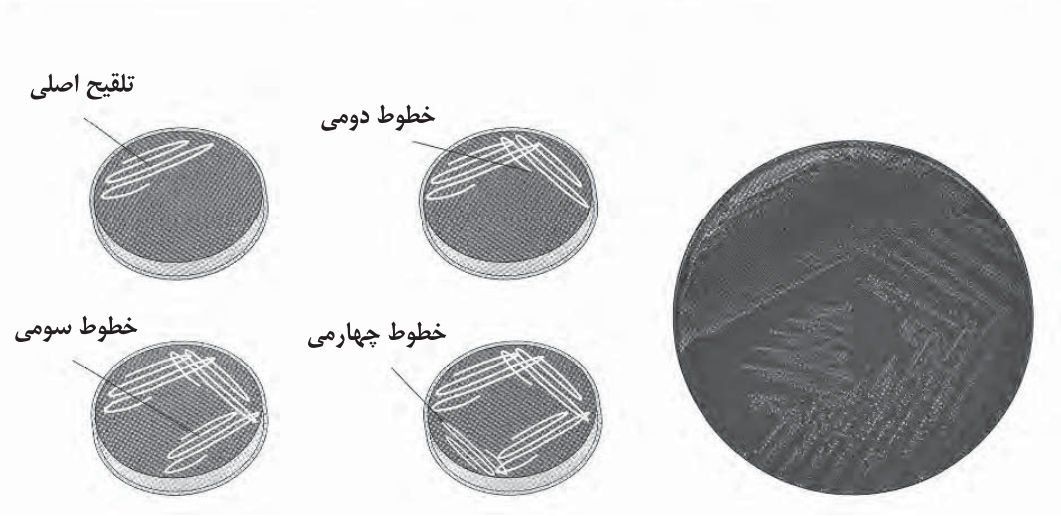
۴- به وسیلهٔ لوپ از تیوب که حاوی کلچر کهنه باکتریایی است طوری مواد اخذ می‌گردد که در جدار تیوب تماس نه نماید و این مواد در تیوب دیگر که حاوی وسط (معقم striel) غذائی تازه است و به کلی معقم می‌باشد، جا داده می‌شود.

۵- نهایت باز تیوب ها در مجاورت آتش به وسیلهٔ پنبه مسدود می‌گردد.

۶- لوپ مجدداً تعقیم می‌گردد.

۷- در تیوب که جدیداً مواد کشت شده، تاریخ اجرای کلچر،نام کلچر کهنه و اسم اجرا کننده با قلم رنگه نوشته شده و تیوب در ترموستات اقلاً برای ۲۴ ساعت نگهداری می‌شود.





شکل ۲ – ۱ کشت مایکروب ها به میتود خطوط

ترموستات Thermostat

جهت رشد و تکثر باکتری‌ها شرایط مساعد حرارتی لازم است که برای انواع مختلفهٔ باکتری‌ها مختلف است، جدول ذیل تقسیمات باکتری‌ها را نظر به حرارت Optimum شان نشان می‌دهد:

	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophilic	0 °c	15-20 °c	30-35 °c
Mesophilic	10 °c	30-37 °c	40-45 °c
Thermophilic	35 °c	50-60 °c	70-75 °c

باکتری‌های Pathogen تماماً مربوط به گروپ Mesophilic می‌باشد که حرارت مساعد جهت رشد و تکثر شان معادل به حرارت نارمل وجود انسان یعنی 37°c است. بخاطر تأمین حرارت مساعد جهت رشد و تکثر باکتری‌ها از ترموستات استفاده می‌شود. که حرارت اعظمی Optimum را برای هر باکتری بصورت دایمی آماده نموده می‌تواند.

جدار ترموستات از دو لایه یا طبقه ساخته شده است که آب یا هوا در بین آن موجود بوده و توسط یک منبع حرارت (گاز یا برق) گرم می‌شوند، دروازه ترموستات بایست که بطور محکم بسته شود در سرپوش ترموستات Thermameter ترمامیتر و سوراخ های تهویه موجود است. در لابراتوار های بزرگ از ترموستات های بزرگ که مانند یک اطاق اند و تماماً مجهز می‌باشند. استفاده می‌گردد کلچر باکتری‌ها را مدت 24h در ترموستات جا می‌دهند که این مدت ازدیاد اعظمی باکتری‌های Pathogen را تأمین می‌نماید.

© AZEEM PUBLICATIONS

نمو، ابقأ، حیات و مرگ مایکرواورگانیزم‌ها

زنده ماندن مایکرواورگانیزم‌ها در محیط طبیعی

تعداد مایکرواورگانیزم‌ها در بیوسفیر تقریباً ثابت می‌باشد یعنی نمو و تکثر مایکروب ها در موازنه با مرگ مایکروب ها قرار دارد. زنده ماندن یک گروپ از مایکروب ها در محیط قسماً به رقابت موفقانه برای دریافت مواد غذایی و نگهداشت ذخیروی یک عده از حجرات زنده حین مواجه شدن به قلت مواد غذایی، مربوط می‌باشد. اکثریت معلومات در مورد فزیولوژی مایکروب‌ها از مطالعه حجرات تجرید شده در لابراتوار که تحت شرایط آیدیال نمو می‌کنند، بدست آمده است. اما باید خاطر نشان ساخت که

اکثریت مایکروب‌ها در محیط طبیعی ممکن به قلت مواد غذایی دچار گردیده و بناً وادار به رقابت برای دریافت مواد غذایی گردد که این حادثه باعث تفاوت مشخصات فزیولوژیک مایکروب در شرایط طبیعی از شرایط لابراتوار گردیده می‌تواند. همچنان باید دانسته شود که محل زیست مایکروبی خالی به زودی توسط مایکروب های دیگری مملو می‌گردد و بدین لحاظ برنامه های که در آن مایکروب های پتوجن صرف از محل زیست آنها تصفیه می‌گردد، نظر به میتود های که در آن در محل زیست مایکروب پتوجن مایکروب های غیرپتوجن به‌صورت تعویضی جاگزین می‌گردد، کمتر موفق دانسته می‌شود.

نمو

نمو عبارت از تزاید منظم در مجموعه اجزای متشکله یک اورگانیزم می‌باشد. بناً ازدیاد در سایز و اندازه که به تعقیب داخل شدن آب و یا ذخیره شدن شحمیات و یا پولی سکراید ها به وقوع می پیوندد، نموی واقعی دانسته نمی‌شود. تکثر حجروی پدیده است که در نتیجه نموی حجره به وقوع می پیوندد.

اندازه غلظت مایکروبی Microbial concentrations

غلظت مایکروبی به اساس غلظت حجرات (تعداد حجرات زنده فی واحد حجم کلچر) ویا به اساس غلظت کتله زنده biomass (وزن خشک حجرات فی واحد حجم کلچر) تعیین می‌گردد. این دو پارامتر همیشه معادل نمی‌باشند. در مطالعه جنتیک حجرات غلظت حجرات مهم است تا اندازه گردد اما در مطالعه بیوشیمی و یا تغذی حجرات غلظت بایومس مهم می‌باشد. غلظت حجرات از شمارش حجرات زنده بدست می‌آید اما در بسیاری موارد جهت سهولت کار از مکدریت کلچر که با شیوه های فوتوالکتریک اندازه می‌گردد، به حیث معیار غلظت حجرات استفاده به عمل می‌آید. همچنان اندازه گیری سهل غلظت بایومس توسط اندازه گیری مقدار یکی از اجزای متشکله حجره مانند پروتین ویا اندازه گیری حجم حجراتی که از suspension ته نشین گردیده اند، صورت می‌گیرد.

تکثر و نموی مایکرواورگانیزم‌ها

نمو و تکثر باکتری‌ها در اوساط غذائی جامد:

نموی باکتری‌ها عبارت از ازدیاد حجم سایتوپلازم آنها است که متعاقب سنتیز مواد حجروی صورت می‌گیرد. باکتری‌ها با سپری نمودن مراحل مختلف انکشاف می یابد که معمولاً حجره جدید باکتریایی (حجرهٔ دختری) نسبت به حجره مادری خود کوچکتر می‌باشد،

© KAZEM PUBLICATIONS

حجرات دختری به نوبهٔ خود نمو می‌کنند و بزرگ می‌شوند که اینحالت را Physiological Gigantisme می‌نامند. افزایش تعداد باکتری‌ها که در نتیجه فعالیت خود آنها صورت می‌گیرد عبارت از تکثر یا تولید مثل باکتری‌ها می‌باشد، تکثر باکتری‌ها بوسیلهٔ تقسیم ساده عرضی یا Simple Transvers Divission و تکثر اولیه یا تکثر نباتی Vegetative Reproduction در سطوح مختلف صورت می‌گیرد و در نتیجه اشکال مختلفه از حجرات مانند خوشه ئی، زنجیری و جوره ئی... بوجود می‌آید همچنان مایکرواورگانیزم‌ها بوسیلهٔ جوانه زدن، ایجاد شگاف در رشته های سیگمانته، تشکیل حجرات مشابه سپور به وسیلهٔ Conidia های متحرک و بالاخره بوسیلهٔ Conjugation تولید مثل می‌نماید که حادثه اخیرالذکر تولید مثل جنسی نزد باکتری‌ها قبول شده است.

تقسیم عرضی باکتری‌ها تنها یک پروسهٔ ساده انقسام یک حجرهٔ مادری به دو حجره مشابه دختری نبوده بلکه تقسیم عوامل مستقل و جداگانه یک حجره مادری است به حجرات دختری یا به عبارهٔ دیگر تجرید مداوم حجرات کوچک دختری است از یک حجره بزرگ مادری چنانچه نگاشته شد این حجرات دختری به نوبهٔ خود بزرگ می‌شوند و بعد از رشد و انکشاف همچنان انقسام می‌یابند که البته بعد از چند بار Generation از بین می‌روند.

سرعت تقسیمات حجروی در باکتری‌ها مختلف بوده و مربوط به نوع باکتری، سن شرایط کشت اوساط غذائی، درجهٔ حرارت و غیره می‌باشد که در صورت موجودیت شرایط مساعد بعضی از باکتری‌ها می‌توانند بعد از هر ۲۰ – ۳۰ دقیقه تکثر کنند.

افزایش تعداد حجرات جدید باکتری‌ها مطابق به دفعات Yeneve یا مدت انقسام قرار ذیل محاسبه می‌گردد:

تعداد حجرات	1	2	4	8	16	32	---------- N
مدت انقسام	0	1	2	3	4	5	---------- n

بعد از n مرتبهٔ تکثر تعداد مجموعی حجرات مساوی به N خواهد بود یعنی N = 2n (البته بعد از ختم Generation اول) به این معنی که اگر در یک وسط غذائی صرف یک باکتری موجود باشد و Generatime 30 دقیقه باشد (هر 30 دقیقه بعد، نسل جدید به میان می‌آید). تعداد مجموعی باکتری‌ها بعد از 24 ساعت مساوی است به: N = 248 زیرا n = 48 است در صورتیکه تقسیمات حجره باکتری در هر 20 دقیقه صورت گیرد.

© AAZEM PUBLICATIONS

تکثر باکتری‌ها توسط بعضی از عوامل مانند تجمع مواد Toxic، تغییرات PH وسط، اتمام مواد غذائی و غیره محدود می‌گردد.

در اوساط غذائی جامد باکتری‌ها به اثر تکثر ایجاد کالونی می‌نماید و کالونی عبارت از مجتمع مایکروبی است که متعاقب تکثر مایکروب در سطح اوساط غذائی بعد از کشت بوجود می‌آید. از لحاظ شکل و حجم این کالونی ها از هم فرق داشته و توسط رشته های Cytoplasmic به هم مرتبط اند، اشکال کالونی ها مختلف بوده می‌تواند به شکل کروی، درختی، ستاره یی و یا Rosette – Shaped باشد، همچنین اشکال مستقیم و دانه دار آنها نیز دیده می‌شود، حاشیهٔ کالونی ها می‌شود که منظم و یا اینکه غیر منظم و دندانه دار باشد، کالونی ها ممکن است مطح، محدب، گنبدی، و یا حفره دار بوده و سطح آنها لشم (S. Form) و یا اینکه درشت (R. Form) باشد. کالونی ها از لحاظ سایز خود به چهار گروپ تقسیم می‌شوند: کالونیهای بزرگ به قطر 4 – 5mm ، کالونیهای متوسط به قطر 2 – 4mm، کالونی های کوچک به قطر 1 – 2mm و بالاخره کالونی های کوچکتر یا رشد نکرده به قطر کمتر از 1mm. همچنن کالونی ها از نظر رنگ کثافت و قوام خود از هم فرق دارند که انواع مختلفه آنها از قبیل کالونی های مکدر شفاف، خشک، مرطوب، رنگه و بی رنگ موجود است.

نمو و تکثر باکتری‌ها در اوساط غذایی مایع

مراحل نمویی مایکروب‌ها که در وسط کلچر مایع مطالعه می‌گردد، شش مرحله می‌باشد. این مراحل ذیلاً توضیح می‌گردد:

A– مرحله نموی بطی Lag phase: این مرحله عبارت از زمانی است که حجرات در آن به محیط زیست جدید خود را عیار می‌سازند. انزایم ها و سایر مواد استقلابی سنتیز گردیده و تا حدی که برای آغاز نمو لازم باشند، ذخیره می‌گردد. در صورتیکه حجرات از یک وسط به وسط دیگر کاملاً متفاوت و غیر قابل زیست انتقال یابند، ممکن که مرحله نموی بطی برای مدت زیادی دوام نماید تا اشکال mutant مایکروب به میان آید و زمینه را برای ازدیاد تعداد خود مساعد سازد.

B– عبارت از یک مرحلهٔ کوتاه بین مرحلهٔ A و C می‌باشد.

C– Exponential phase: در جریان این مرحله باکتری ها به شکل ثابت ازدیاد می‌یابند. مواد حجروی جدید به یک نسبت ثابت سنتیز گردیده و کتله حجرات به شکل

© AAZEM PUBLICATIONS

exponential ازدیاد می یابد. این مرحله الی وقوع یکی از دو حوادث ادامه دارد: یا اینکه یک یا بیشتر مواد مغذی در وسط به اتمام رسیده و یا اینکه تولیدات میتابولیک توکسیک تجمع یافته و مانع نمو می‌گردد. برای اورگانیزم‌های ایروبیک مواد غذایی که معمولاً محدود می‌گردد، عبارت از اوکسیجن می‌باشد. زمانیکه غلظت حجرات به 107 حجره فی ملی لیتر می‌رسد، نمو حجرات از سبب قلت اوکسیجن بطی می‌گردد مگر اینکه اوکسیجن به میتود های agitation و یا bubbling در وسط داخل ساخته شود اما زمانیکه تعداد حجرات باکتریایی به 109 x 5 – 4 حجره فی ملی لیتر برسد، دیفوژن اوکسیجن نمی‌تواند تقاضا وسط را در هیچگونه شرایط تکافو نماید و بناً نمو بطی می‌گردد.

D– عبارت از یک مرحلهٔ گذار به مرحلهٔ E می‌باشد.

E– مرحله ساکن اعظمی maximum stationary phase: اختتام مواد غذایی و یا تجمع مواد توکسیک بالاخره باعث می‌گردد تا نمو کاملاً توقف یابد اما اکثراً یک عده کم از حجرات درین مرحله از بین رفته و در مقابل حجرات جدید از طریق نمو و انقسام آنرا تعویض می‌نمایند. در صورتیکه چنین واقع گردد، تعداد مجموعی حجرات ازدیاد یافته در حالیکه تعداد حجرات زنده ثابت می ماند.

F– مرحله مرگ ویا مرحله تنقیص: بعد از اختتام مرحله ساکن اعظمی که طول آن نظر به اورگانیزم و نظر به شرایط کشت متفاوت می‌باشد، میزان مرگ حجرات ازدیاد یافته تا اینکه به یک سرعت ثابت برسد. اکثراً بعد از اینکه اکثریت حجرات از بین بروند، میزان مرگ کاهش یافته که بدینگونه یک عده از حجرات زنده برای ماه ها و یا حتی سالها می‌توانند زنده بمانند. چنین زنده ماندن در بعضی حالات وانمود کننده تعویض حجرات می‌باشد یعنی یک عده از حجرات با استفاده از مواد غذایی حاصله از حجرات مرده و لیز شده، نمو می‌نمایند.

نگهداشت حجرات در مرحله exponential

حجرات را می‌توان با انتقال مکرر به اوساط مشابه تازه در مرحله نمو exponential نگهداری نمود. برای این هدف دو آله اوتومات ساخته شده است که عبارتند از: chemostat & turbidostat

© FAZEL PUBLICATIONS

تعریف و اندازه مرگ حجرات

مفهوم مرگ حجرات:

مرگ حجرات مایکروبی به معنی از دست دادن دایمی قابلیت تکثر (نمو و انقسام) می‌باشد. از نظر پرکتیک مرگ حجرات با کشت حجرات دروسط جامد تثبیت می‌شود. در صورتیکه یک حجره قابلیت تشکیل کالونی را در همه اوساط از دست داده باشد، حجره مرده پنداشته می‌شود. واضح است که اعتماد بالای این تست به انتخاب وسط و شرایط بستگی دارد. مثلاً کشتِ که در یک وسط 99 در صد حجرات را مرده وانمود سازد، ممکن در وسط دیگری 100 فیصد حجرات را زنده نشان دهد. علاوتاً نمی‌توان عده محدود از حجرات زنده یک سمپل بزرگ کلینیکی را در کشت مستقیم دریافت نمود زیرا مایع موجود در همان سمپل ممکن خود سبب نهی نموی مایکروبی گردد. در چنین حالات باید که نخست سمپل مورد نظر در وسط مایع رقیق گردد تا به نموی حجرات زنده زمینه را مساعد سازد.

تعیین اندازه نموی مایکروبی

طرق مختلفی برای اندازه گیری نموی مایکروبی موجود است. در عده از میتود ها تعداد حجرات مایکروبی اندازه می‌گردد، حالانکه در میتود های دیگر کتله مجموعی تجمع مایکروبی محاسبه می‌گردد. کتله مجموعی مایکروب‌ها نیز مستقیماً متناسب به تعداد حجرات آن می‌باشد. تعداد حجرات مایکروبی در یک تجمع باکتری طوری حساب می‌گردد که تعداد حجرات موجود در فی ملی لیتر مایع یا فی گرام مواد جامد اندازه می‌گردد. از آنجائیکه تجمعات مایکروبی معمولاً بسیار بزرگ هستند، اکثریت میتود های شمارش تعداد حجرات بر اساس شمارش مستقیم یا غیر مستقیم نمونه های کوچک استوار می‌باشد که بدین ترتیب در مرحله بعدی می‌توان اندازه تمام تجمع مایکروبی را محاسبه نمود. فرض کنید که در یک بر میلیونم حصه شیر ترش شده هفتاد حجره باکتری را دریافت گردید، پس در فی ملی لیتر آن باید هفتاد میلیون حجره موجود باشد.

مشکل میتود اخیرالذکر این است که نمی‌توانیم یک بر میلیونم حصه یک ملی لیتر مایع یا گرام غذا را تعیین نمائیم. بناً باید از میتود غیر مستقیم استفاده بعمل آید، یعنی از رقیق سازی مسلسل استفاده بعمل می آوریم. مثلاً اگر یک ملی لیتر شیر متذکره را به نودو نو ملی لیتر آب خلط نمائیم، تعداد باکتری در محلول حاصله صد مراتبه نظر به محلول اصلی کمتر خواهد بود، هرقدر این عملیه رقیق سازی را ادامه دهیم، به همان اندازه تعداد باکتری متناسباً کمتر می‌شوند که بالاخره می‌توان تعداد حجرات موجود را نیز محاسبه نمود. در مواد جامد مانند غذا می‌توان یک حصه آنرا با ۹ حصه آب مخلوط نمود و بعداً توسط pipette می‌توان عملیه رقیق سازی را بیشتر ادامه داد و بالاخره تعداد حجرات آنرا محاسبه نمود.

© AAZEM PUBLICATIONS

شمارش حجرات در plates

معروفترین شیوه اندازه گیری تعداد حجرات باکتری عبارت از میتود شمارش در پلیت یا Plate count می‌باشد. مفاد مهم این شیوه عبارت از شمارش حجرات زنده می‌باشد اما این شیوه حد اقل ۲۴ ساعت را در بر می‌گیرد، زیرا طی این زمان کالونی های قابل رویت باکتری ها تشکیل گردد. مثلاً در شمارش حجرات باکتری که به منظور کنترول کیفیت شیر اجرا می‌گردد، نباید نمونه مورد نظر در مدت طویل معاینه گردد.

Plate count به این فرضیه استوار می‌باشد که هر حجره باکتری در نتیجه انقسام باعث بروز یک کالونی می‌گردد. همچنان فرض می‌گردد که نمونه مورد کشت متجانس بوده و حجرات به شکل باهم چسپیده یا پاغنده ها موجود نمی‌باشند.

زمانیکه plate count اجرا می‌گردد، مهم است تا تعداد محدودی از کالونی ها در پلیت بوجود آیند، زیرا در صورت وجود کالونی های بسیار زیاد، عده از کالونی ها باهم بسیار نزدیک روئیده و حتی عده از کالونی ها هیچ نمی رویند و ممکن نیست تا شمارش آن صورت گیرد. عموماً پلیت های حاوی ۲۵ الی ۲۵۰ کالونی قابل شمارش می‌باشند. جهت حصول اطمینان ازینکه تعداد کالونی های پلیت در همین حدود خواهد بود، نمونه باید چندین بار رقیق ساخته شود که به نام رقیق سازی مسلسل serial dilution یاد می‌گردد.

رقیق سازی مسلسل

اگر فرض گردد که یک نمونه مایکروبی دارای ده هزار حجره فی ملی لیتر می‌باشد. اگر یک ملی لیتر ازین نمونه کشت گردد، به اساس تیوری در پطری دیش متوسط ده هزار کالونی بوجود می‌آیند. این تعداد قابل شمارش نمی‌باشد. اگر یک ملی لیتر نمونه متذکره با ۹ ملی لیتر آب مقطر یکجا ساخته شود، در هر ملی لیتر آن یکهزار حجره وجود خواهد داشت که در صورت کشت در پلیت هنوز هم یکهزار کالونی بوجود خواهد آمد که غیر قابل شمارش می‌باشد. اما اگر یک بار دیگر هم یک ملی لیتر محلول حاصله با ۹ ملی لیتر آب مقطر مخلوط گردد، سبب به میان آمدن محلولی می‌گردد که هر ملی لیتر آن صد حجره می‌باشد. چنین محلول اگر به اندازه یک ملی لیتر در وسط کشت گردد، سبب به میان آمدن ۱۰۰ کالونی ممکنه در پلیت می‌گردد که قابل شمارش می‌باشد.

میتود ریخت در پلیت و هموار نمودن در پلیت

شمارش در پلیت به یکی ازین دو میتود صورت می‌گیرد. در میتود ریخت، باید نخست نمونه مورد نظر را که حسب دلخواه رقیق شده باشد، به اندازه یک ملی لیتر یا حتی ۰,۱ ملی لیتر در

© AZEM PUBLICATIONS

داخل دیش یا پلیت جاگزین می‌گردد. بعداً ماده اگر مایع شده را که درجه حرارت آن ۵۰ درجه سانتی گراد می‌باشد، بالای آن علاوه می‌گردد. پلیت را آهسته تکان داده تا محتوی مایکروبی به خوبی داخل ماده اگر پراگنده گردد. اما دراین میتود بعضی باکتری های حساس در مقابل حرارت تلف می‌شوند و درصورتیکه وسط برای مایکروب انتخابی باشد، برای تشخیص مایکروب دیدن اوصاف کالونی مانند رنگ آن نیز مهم می‌باشد. چون درینصورت باکتری ها عمدتاً در قسمت متوسط وسط قرار دارند، بناً تشخیص آن ممکن مشکل باشد. جهت جلوگیری ازین مشکلات، از میتود دوم یعنی از میتود هموار نمودن استفاده بعمل می‌آید. درین میتود نخست اگر مایع شده در وسط ریخته می‌شود. بعد از سرد شدن، نمونه مایکروبی به اندازه یک ملی لیتر یا ۰,۱ ملی لیتر توسط میله مخصوص و معقم شیشه‌یی بالای سطح ماده اگر هموار می‌گردد. درین میتود کالونی ها در سطح وسط قرار گرفته و از تماس آن با اعماق ماده اگر که حرارت آن بلند است، جلوگیری بعمل می آید.

فلتریشن

در صورتیکه تعداد باکتری ها بسیار کم باشد، مانند جهیل ها و دریا های نسبتاً معقم، می‌توان تعداد باکتری ها موجود در آن را با میتود فلتریشن تعیین نمود. صد ملی لیتر یا بیشتر آب را از غشای فلتری که منافذ آن برای عبور باکتری کافی نباشد، عبور داده می‌شود. بدین ترتیب، باکتری ها از فلتر عبور نتوانسته و بالای سطح فلتر نگهداری می‌گردد. این فلتر منبعد به پلیت حاوی اگر مغذی منتقل که در آن کالونی های ناشی از باکتری های موجود در سطح فلتر می رویند. این میتود عمدتاً در خصوص باکتری های coli form اجرا می‌گردد. باکتری های متذکره در آب نشان دهنده ملوثیت آب یا غذا با مواد غایطه می‌باشد. کالونی های این مایکروب زمانی وصفی می‌باشند که در اوساط مغذی تفریقی کشت گردد.

میتود MPN یا Most Probable Number Method

این میتود دیگر برای تعیین تعداد باکتری می‌باشد که یک میتود احصائیوی می‌باشد. درین میتود چنان پنداشته می‌شود که اگر یک نمونه برای چندین مراتبه بصورت متواتر رقیق ساخته شود، بالاخره تعداد آن به حدی کم می‌گردد که قابل کشت در وسط نمی‌باشد. پس هرقدر مراتب رقیق سازی الی سرحد عدم قابلیت کشت زیاد باشد، به همان اندازه غلظت مایکروبی در نمونه اصلی زیاد می‌باشد. این یک میتود تخمینی می‌باشد که ۹۵٪ قابل اطمینان است.

AZZEM PUBLICATIONS ©

میتود رویت مستقیم تحت مایکروسکوپ

درین شیوه اندازه معین از نمونه مورد نظر بالای یک قسمت مشخص از ساحه سلاید مایکروسکوپ قرار داده شده، تلوین گردیده و بعداً مشاهده می‌شود. مثلاً برای تعیین تعداد باکتری شیر، ۰,۰۱ ملی لیتر از نمونه اخذ و در یک سانتی مربع ساحه سلایدکه قبلاً نشانی گردیده، هموار می‌گردد. بعداً ذریعه مایکروسکوپ دیده شده، تعداد حجرات درهر ساحه دید محاسبه و اوسط آن تعیین می‌گردد. چون وسعت ساحه دید هر آئینه اوبجکتیف مایکروسکوپ قابل تعیین است، بناً گفته می‌توانیم که ساحه دید به چه اندازه وسعت دارد. در صورتی که وسعت ساحه دید معلوم باشد، اوسط تعداد حجرات فی ساحه دید را بر همین ساحه تقسیم می‌نمایند. عدد حاصله مساوی است به تعداد حجرات باکتری موجود در سلاید فی ملی متر مربع ساحه سلاید می‌باشد. اگر به شیوه فوق تعداد حجرات فی ملی متر مربع محاسبه گردد، به آسانی می‌توان تعداد حجرات را در سانتی مربع نشانی شده سلاید نیز تعیین کنیم که به این صورت گفته می‌توانیم که ۰,۰۱ ملی لیتر نمونه به چه اندازه حجرات را احتوا می‌کند. در میتود رویت مستقیم مایکروسکوپیک از سلاید های مخصوص به نام Petroff Hausser counter نیز استفاده می‌شود که در سلاید های آن فرو رفته گی های کم عمق موجود می‌باشد حجم معین از محلول باکتری بالای آن انداخته می‌شود. بعداً کورسلاید که دارای مربعات با وسعت معین می‌باشد، پوشیده شده که بعد از تعیین تعداد حجرات فی مربع، می‌توان آنرا به ضریب معینه ضرب نموده تعداد مجموعی حجرات را بدست آورد. همچنان آلات برقی تعیین کننده تعداد حجرات در محلول ها موجود می‌باشد. مفیدیت این میتود (رویت مستقیم یا محاسبه آلات برقی) عبارت از محاسبه سریع بوده که مانند طرق دیگر مستلزم مدت زمان زیاد نمی‌باشد، اما درین میتود حجرات زنده و حجرات غیر زنده تفریق شده نمی‌تواند و نیز در میتود رویت مستقیم، حجرات متحرک بخوبی اندازه شده نمی‌تواند.

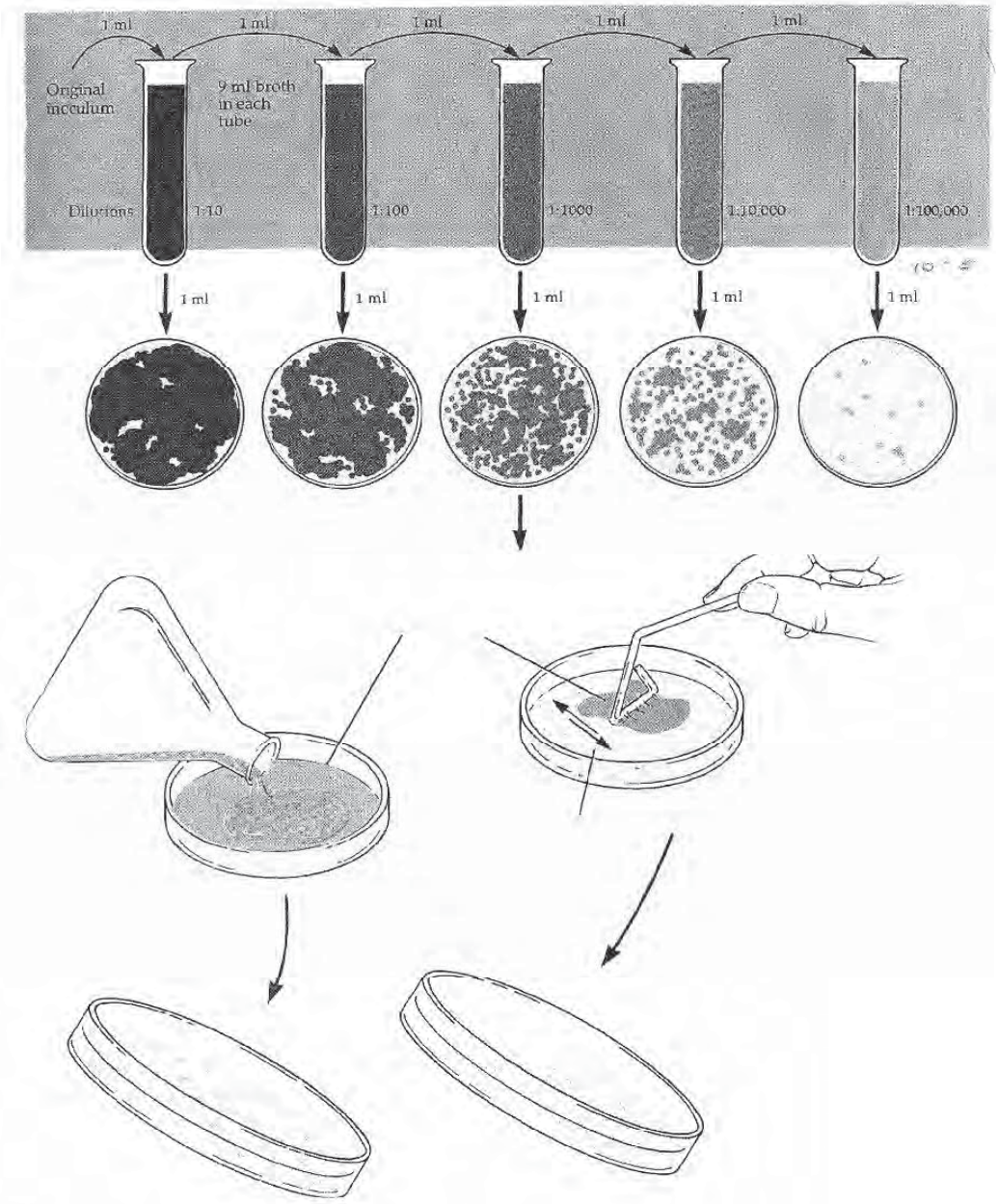
© AZEEM PUBLICATIONS

میتود های غیر مستقیم برای تعیین تعداد حجرات مایکروبی

همیشه لازم نیست تا تعداد حجرات بصورت مستقیم محاسبه گردد، بلکه در ساینس و صنعت، از میتود های آتی غیر مستقیم نیز استفاده بعمل می‌آید:

Turbidity (مکدریت): در عده از تجارب اندازه نمودن مکدریت محلول جهت تخمین تعداد حجرات کافی می‌باشد. یعنی هر قدر تعداد حجرات زیاد باشد، به همان اندازه محلول بیشتر مکدر یا ابر مانند می‌گردد. درین شیوه از آله به نام کالوریمتر یا سپکتوفوتومتر استفاده می‌گردد. آله متذکره دارای آخذه یی برای روشنی می‌باشد. ابتداً سمپل مورد نظر در بین منبع نور و آله قرار داده شده هرقدر که مکدریت محلول زیاد باشد، به همان اندازه نور جذب گردیده و مانع مواصلت نور به آخذه کالوری متر

می‌گردد. که بدین صورت تعداد حجرات را می‌توان اندازه نمود. این میتود برای اندازه گیری ملوثیت مایعات با مواد مفید نیست زیرا تعداد مایکروب‌ها درینصورت معمولاً بسیار کم بوده که قابل کشف توسط این میتود نمی‌باشند، یعنی حد اقل ده الی صد میلیون حجره باید فی ملی لیتر محلول موجود باشد، تاتوسط کالوری متر کشف گردد.



شکل ۲ – ۲

فعالیت میتابولیک: *این میتود با اندازه نمودن محصولات استقلابی مایکروب‌ها تطبیق می‌گردد. مثلاً اسید ها یا کاربن دای اکساید با ازدیاد تعداد باکتری ها، بیشتر تولید گردیده و بناً افزایش در اندازه آن نشان دهنده ازدیاد در تعداد باکتری ها می‌باشد. بگونه مثال می‌توان گفت که باکتری شیر اکسیجن مصرف می‌نماید. ماده methylene blue به محلول آن علاوه و بعداً محلول در تیوب دارای سرپوش محکم قرار داده می‌شود. چون ماده متذکره درموجودیت اوکسیجن رنگ آبی داشته و در عدم آن، فاقد رنگ است، بناً هر قدر تعداد باکتری زیاد گردد، به همان اندازه رنگ تیوب کمتر می‌گردد. این میتود غیر دقیق بوده در لابراتوار های تجربوی مورد استفاده قرار گرفته اما برای مقاصد تجارتی عمدتاً استعمال ندارد.*

وزن خشک: *نموی بعضی از ارگان های میله مانند molds را به مشکل می‌توان با میتود های قبل الذکر اندازه نمود. در فنگس ها میتود plate count نمی‌تواند ازدیاد در biomass را اندازه نماید و درعوض اندازه سپور های غیر زوجی را نشان می‌دهد که مورد قناعت نمی‌باشد، بناً با استفاده از میتود اندازه گیری وزن خشک، فنگس ها ابتداً از سایر مواد توسط فلتر مخصوص جدا، در بوتل توزین قرار داده می‌شود. بعداً توسط آله خشک کننده، آب آن خارج می‌گردد که وزن خشک آن بدست می‌آید. عین میتود را می‌توان در خصوص باکتری ها نیز به کار برد، که در ین صورت باکتری ها توسط centrifugation از سایر مواد جدا ساخته می‌شوند.*

AZEM PUBLICATIONS ©

اوصاف کشت باکتری‌ها

تعریف: خصوصیات و چگونگی رشد باکتری‌ها در اوساط غذایی، اوصاف کشت باکتری‌ها نامیده می‌شود.

در اوساط غذایی جامد حجم کالونی ها (بزرگ، متوسط، کوچک و کوچکتر)، شکل (کروی، مستقیم و غیره)، رنگ (بنفش، سفید، لیمویی، طلایی، سیاه و غیره)، کثافت و بالاخره مشخصات کنار و سطح کالونی (S-Form & R-Form) در نظر گرفته می‌شود، در حالیکه در اوساط غذایی مایع موجودیت مکدریت و تجانس آن در نظر گرفته می‌شود.

اوصاف کلچری باکتری‌ها در اوساط غذایی مربوط است به نوع هر باکتری، درجهٔ حرارت، شرایط کشت، PH وسط غذایی مخصوصاً مربوط است به درجه رشد باکتری در وسط غذایی.

شکل ۲ – ۳ اوصاف کشت مایکروب ها

© AZHM PUB

میتود حصول کلچر خالص باکتری‌های Aerobic یا هوازی

حصول کلچر خالص و تجرید نوع معین از باکتری اساس امور بـاکتریولوژی اسـت، زیـرا در پراکتیک روزانه بیش از همه به موادی برمیخوریم که باکتری‌های مختلفه را در خود دارند و این مأمول که نوع باکتری بصورت مشخص تعیین شود و مشخصات آن مطالعه شود صـرف زمـانی میسر است که باکتری مورد نظر بطور خالص تجرید شده حصول گردد.

اولین و عمده ترین گام در مطالعه مواد که حاوی باکتری‌های مختلف النوع اند این است که کالونی های جداگانه هر باکتری بطور خالص بدست آید تا بعـداً آزمایـشات بیوشـیمیک و دیگـر تست های لابراتواری نزد هر باکتری بطور جداگانه صورت گیرد.

که در نتیجه با در نظرداشت مایکروب که با سیروم خون مخلوط باشد و اجرای تـست هـای سیرولوژیک، بیولوژیک و الرژیک نوع باکتری بطور یقینی تشخیص مـی‌گـردد کـه در لابراتـوار جهت حصول کالونی های جداگانه هـر بـاکتری از اوسـاط Agar دار در Pettri – Dish هـا و Tube ها استفاده می‌گردد.

میتود Drigalsky

جهت بدست آوردن کلچر خالص باکتری‌ها از کشت باکتری‌ها در اوساط غذائی جامد استفاده می‌گردد طوریکه مواد تحت مطالعه در اوساط غذائی بصورت خطوط کوچک کشت شده بعداً ۱۸۰ درجه پطری دیش دور داده شده و مجدداً در قسمت دیگری از ظرف به عین میتود کشت صورت می‌گیرد، درین میتود که به میتود Drigalsky معروف است مواد به تدریج به مصرف رسیده و باکتری‌ها در خطوط مختلف و به گروپ های مختلف می‌روند. (شکل ۲ – ۱)

میتود Shukewitch

ازین میتود جهت حصول کلچر خالص باکتری‌های متحرک مثلاً Clostridium. Tetani و Proteus Vulgaris استفاده می‌شود طوریکه مواد در قسمت تحتانی تیوب جا داده شده که بعد از گذشت ۱۲ – ۱۸ ساعت باکتری‌های مذکور در سطح تیوب (Slant) می رویند که به سهولت می‌توان کلچر خالص آنرا بدست آورد. در حالیکه دیگر باکتری‌ها نمی‌توانند به سطح تیوب برسند.

© AZIZI PUBLICATIONS

کشت مایکرواورگانیزم‌ها

کشت یا Cultivation عبارت از پروسه تکثیر اورگانیزم‌ها ذریعه فراهم نمودن شرایط مساعد محیطی می‌باشد. مایکرواورگانیزم‌های تکثرکننده باعث بوجود آوردن مایکرواورگانیزم‌های همانند خود شده و نیازمند به عناصر لازم برای ترکیب کیمیاوی آنها می‌باشد. مواد مغذی باید عناصر فوق را به اشکال قابل دسترس میتابولیکی در خود داشته باشند. علاوتا اورگانیزم‌ها برای سنتیز ماکرومالیکولها و نگهداشت غلظت های کیمیاوی لازم در غشأ، به انرژی میتابولیکی ضرورت دارند. فکتورهایی که باید حین نشونما در وسط زرعیه کنترول گردند شامل مواد مغذی، pH، درجه حرارت، تهویه، غلظت مواد نمکی و قوه ایونیک محیط می‌باشند.

ایجابات نشونما

بیشترین وزن خشک مایکرواورگانیزم‌ها را مواد عضوی از قبیل کاربن، هایدروجن، نایتروجن، اکسیجن، فاسفورس و سلفر تشکیل می‌دهد. علاوه برآن آیون های غیرعضوی مانند پتاسیم،

سودیم، آهن، مگنیزیم، کلسیم، و کلورایـد بـرای ایجـاد سـهولت در کتـالایز انزایماتیـک (Enzymatic catalysis) و حفظ میلان غلظت کیمیاوی در امتداد غشای حجروی لازم اند.

اکثراً مواد عضوی از ماکرومالیکول هایی متشکل اند که توسط (anhydride bonds) با هم وصل اند. سنتیز انهایدارید باند ضرورت به انـرژی کیمیـاوی دارد. انـرژی متـذکره از دو رابطـه phosphodiester در ATP حاصل می‌گردد. انـرژی اضـافی کـه بـرای حفـظ ترکیـب ثابـت سایتوپلازمیک حین نشـونما در محیط کیمیـاوی متغیر خارج حجروی ضرور است از proton motive force یا نیروی محرک پروتون حاصل می‌گردد. Proton motive force عبـارت از انرژی پتانـسیل اسـت کـه در نتیجـه انتقـال پروتـون هـا از بـین غـشا حاصـل مـی‌گـردد. در eukaryote ها غشا قسمتی از مایتوکاندریا و یا کلوروپلاست بوده می‌تواند. در prokaryote ها غشا عبارت از غشای سایتوپلازمیک حجره می‌باشد.

نیروی محرک پروتون یک تفاوت میلان الکتروکیمیاوی بوده و متشکل از دو جز مـی‌باشـد: تفاوت در pH (غلظت آیون هایدروجن) و تفاوت در چارج آیونیک. چارج قسمت خـارجی غـشأ نظر به قسمت داخلی غشأ آن بیشتر مثبت می‌باشد. تفاوت بین چارج باعث می‌گـردد کـه حـین دخول پروتون به سایتوپلازم از طریق غشأ انرژی آزاد گردد. انرژی آزاد شده در قـسمت حرکـت حجره، حفظ میلانهای مالیکولی و آیونیک در بین غشأ و سنتیز روابط انهایدرایـد در ATP و یـا همه این اهداف مورد استفاده قرار می‌گیرد. برعکس حجراتی که دارای یک منبـع ATP باشـد، امکان دارد از انرژی روابط انهایدراید برای ایجاد نیروی محرک پروتون استفاده نماید که این به نوبه خود در قسمت تحرکیت حجره و حفظ میلانهای کیمیاوی آن مـورد اسـتفاده قـرار گرفتـه می‌تواند.

یک اورگانیزم برای نشونما به عناصر عضوی و تمام آیون های لازم برای انـرژی و کتـالایز ضرورت دارد. علاوتاً بایـد یـک منبـع انـرژی بـرای ایجـاد نیـروی محـرک پروتـون و سـنتیز ماکرومالیکول ها موجود باشد. مایکرواورگانیزم‌ها نظـر بـه ضـروریات تغـذیوی و منـابع انـرژی میتابولیک باهم تفاوت های زیادی دارند.

منابع انرژی میتابولیک

سه میکانیزم عمده ایکه برای تولید انرژی میتابولیک استفاده می‌گردنـد عبـارت از fermentation، respiration و photosynthesis می‌باشند. حد اقل یکی از میکانیزم های فوق باید بـرای نـشونمای

© AYZHM PUBLICATIONS

یک اورگانیزم به کار برده شوند.

تخمر (Fermentation)

تشکل ATP در تخمر توأم با انتقال الکترون ها نمی‌باشد. تخمر متصف است با substrate phosphorylation که عبارت از یک پروسه انزایماتیک بوده و در آن رابطه pyrophosphate بواسطه یک میانجی میتابولیک phosphorylate شده مستقیماً به ADP انتقال می یابد. این میانجی های phosphorylate شده توسط ترتیب دوباره مواد fermentable مانند گلوکوز، لکتوز و یا arginine تشکیل می‌گردند. از آنجائیکه تخمر با تغییر در حالت اوکسیدشن یا ریدکشن مواد قابل تخمر توأم نمی‌باشد، ترکیب عناصر در تولیدات تخمر باید با مواد فوق یکسان باشند. طور مثال تخمر یک مالیکول گلوکوز $C_6H_{12}O_6$ در عملیه Embden Meyerhof pathway منتج به حصول دو رابطه پایروفاسفیت در ATP و تولید دو مالیکول لکتیک اسید $C_3H_6O_3$ می‌گردد.

تنفس (Respiration)

تنفس مشابه به یکجا شدن یک پروسه وابسته به انرژی با خروج چارج از یک battery می‌باشد. ارجاع کیمیاوی یک اوکسیدانت (electron acceptor) از طریق یک سلسلهٔ خاص ناقلین الکترونها در غشأ باعث ایجاد نیروی محرک پروتون در غشای باکتری می‌گردد. ارجاع کننده (electron donor) امکان دارد عضوی و یا غیرعضوی باشد: طور مثال لکتیک اسید منحیث ارجاع کننده برای بعضی اورگانیزم‌ها و گاز هایدروجن منحیث ارجاع کننده برای سایر اورگانیزم‌ها فعالیت می‌نماید. اوکسیجن گازی (O_2) غالباً بحیث اوکسیدانت فعالیت نموده ولی اوکسیدانت های بدیل که توسط بعضی اورگانیزم‌ها استفاده می‌گردند شامل CO_2، SO_4 و NO_3 می‌باشند.

فوتوسنتیز (Photosynthesis)

فوتوسنتیز مشابه به تنفس بوده که در آن ارجاع یک اوکسیدانت از طریق سلسله خاص ناقلین الکترونها باعث ایجاد نیروی محرک الکترون می‌گردد. تفاوت میان دو پروسه فوق در این است که در فوتوسنتیز ارجاع کننده و اوکسیدانت در نتیجه عملیه photochemical از انرژی نوری که توسط پگمنت های غشا جذب می‌گردند به میان می‌آید؛ بنابرین، فوتوسنتیز فقط تا زمانی ادامه می یابد که یک منبع انرژی نوری موجود باشد. نباتات و بعضی باکتری ها با استفاده از آب بحیث ارجاع کننده کاربن دای اکساید، قادر به ذخیره مقادیر قابل ملاحظه انرژی نوری می‌باشد. درین پروسه اوکسیجن آزاد و مواد عضوی تولید می‌گردند. تنفس که در نتیجه آن اوکسیدشن انرژیتیک مواد عضوی توسط یک آخذه الکترونی مانند اوکسیجن صورت می‌گیرد، به اورگانیزم‌های دارای فوتوسنتیز در عدم

© AZEM PUBLICATIONS

موجودیت نور انرژی تهیه می‌نماید.

تغذی

مواد مغذی اوساط زرعیه باید حاوی تمام مواد ضروری برای سنتیز بیولوژیک اورگانیزم‌های جدید باشد. درین مبحث مواد مغذی نظر به عناصری که تهیه می‌نمایند تصنیف بندی گردیده اند.

منبع کاربن

طوریکه فوقاً تذکر یافت، نباتات و بعضی باکتری ها قادر اند تا از انرژی فوتوسنتیتیک برای ارجاع کاربن دای اکساید در موجودیت آب استفاده نمایند. این اورگانیزم‌ها به گروپ Autotroph تعلق می‌گیرند و عبارت از موجوداتی اند که برای نشونما به مواد عضوی ضرورت ندارند. نوع دیگر Autotroph ها عبارت از chemolittroph می‌باشد و شامل اورگانیزم‌هایی اند که از مواد غیرعضوی مانند هایدروجن و یا thiosulfate بحیث ارجاع کننده و از کاربن دای اکساید بحیث منبع کاربن استفاده می‌نمایند.

Heterotroph ها برای نشونما به کاربن عضوی ضرورت دارند و کاربن عضوی باید به شکل قابل جذب آن در دسترس باشد. طور مثال نفتالین می‌تواند که کاربن و تمام انرژی لازم را برای نشونمای herotroph های تنفس کننده مهیا نماید، ولی تعداد کمی از اورگانیزم‌ها مراحل لازم میتابولیک برای استفاده از نفتالین را دارا می‌باشند. از جانب دیگر گلوکوز می‌تواند در نشونمای فرمنتی و تنفسی بسیاری اورگانیزم‌ها مساعدت نماید. مسئله عمده اینست که وسط زرعیه دارای مقادیر مناسب مواد برای مایکروبهای نشونما کننده باشد: وسط که برای نشونمای یک اورگانیزم مساعد است امکان دارد نشونمای اورگانیزم دیگری را نهی نماید.

کاربن دای اکساید برای یک تعداد تعاملات بیوسنتیز لازم شمرده می‌شود. بسیاری اورگانیزم‌های تنفسی کاربن دای اکساید را بیش از حد مورد نیاز تولید می‌نمایند، در حالیکه تعداد دیگری در وسط زرعیه شان به یک منبع کاربن دای اکساید ضرورت دارند.

منبع نایتروجن

نایتروجن جزء عمده در ترکیب پروتین و نوکلئیک اسید ها بوده و تقریباً ۱۰ ٪ وزن خشک حجرات باکتریایی را تشکیل می‌دهد. نایتروجن امکان دارد از منابع مختلفه بدست آید و مایکرواورگانیزم‌ها نظر به توانمندی شان برای جذب نایتروجن از همدیگر متفاوت می‌باشند. حاصل نهایی تمام تعاملات برای استفاده از نایتروجن عبارت از شکل ارجاع شده عنصر نایتروجن یعنی آیون امونیم (NH_4^+) می‌باشد.

© AZIM PUBLICATIONS

بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها قادر به ترکیب نایتریت (NO_3^-) و نایترایت (NO_2^-) با ارجاع آیون‌های فوق به امونیا (NH_3) می‌باشند. این تعاملات assimilation نظر به تعاملات که برای dissimilation نایتریت و نایترایت به کار می‌روند متفاوت می‌باشند. تعاملات dissimilatory pathway توسط اورگانیزم‌های که آیون های متذکره را به حیث آخذه های نهایی الکترونی در عملیه تنفس به کار می‌برند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پروسه به نام denitrification یاد شده و محصول آن عبارت از گاز نایتروجن N2 است که به فضای خارجی آزاد می‌گردد.

قابلیت جذب نایتروجن با ارجاع NH_3 که به نام Nitrogen fixation یاد می‌گردد وصف بالخاصه حجرات پروکاریوتیک بوده و تعداد نسبتاً کم باکتری ها این ظرفیت میتابولیک را دارا می‌باشند. این پروسه به مقادیر زیاد انرژی میتابولیکی ضرورت داشته به سهولت توسط اوکسیجن خنثی می‌گردد. ظرفیت تثبیت نایتروجن یا Nitrogen fixation در باکتری های مختلف النوع موجود بوده که چنین باکتری ها ستراتیژی های مختلفه بیوشیمیکی را برای حفظ انزایم های Nitrogen fixing از اوکسیجن، به کار می‌برند.

بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها می‌توانند از NH4 یا امونیم بحیث یگانه منبع نایتروجن استفاده نمایند و عده دیگر اورگانیزم‌ها قابلیت تولید امونیم را از امین های ($R\text{-}NH_2$) و یا امینواسیدها دارا می‌باشند. تولید امونیا در نتیجه deamination امینواسیدها به نام ammonification یاد می‌گردد. امونیا در نتیجه تعاملات بیوشیمیکی که glutamate و glutamine را در بر می‌گیرند در ترکیب مواد عضوی شامل می‌گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS

منبع سلفر

همانند نایتروجن سلفر نیز در ترکیب بسیاری مواد عضوی حجرات شامل است. سلفر در ساختمان انواع کوانزایم ها شامل بوده و در زنجیرهای جانبی cysteinyl و methionyl پروتین ها نیز دریافت می‌شود. سلفر به شکل عنصر آن توسط نباتات و حیوانات استفاده شده نمی‌تواند. با آنهم بعضی باکتری های اوتوتروف می‌توانند آنرا به شکل سلفات $(SO_4)^{2}$ اوکسیدایز نمایند. اکثر مایکرواورگانیزم‌ها می‌توانند از سلفات بحیث یک منبع سلفر استفاده نمایند یعنی سلفات را به شکل هایدروجن سلفاید (H_2S) ارجاع نمایند. بعضی مایکرواورگانیزم‌ها می‌توانند هایدروجن سلفات را مستقیماً از وسط زرعیه جذب نمایند ولی این مرکب می‌تواند برای بسیاری اورگانیزم‌ها توکسیک باشد.

منبع فاسفورس

فاسفیت $(PO_4)^{-3}$ در ترکیب ATP، نوکلئیک اسید، و کوانزایم های مانند NAD، NADP و

flavin ها لازم شمرده می‌شود. علاوتاً بسیاری میتابولیت ها، شحمیات (phospholipid و lipid A)، اجزای تشکیل دهنده دیوار حجروی (teichoic acid)، بعضی پولی سکراید های کپسول و بعضی پروتین ها دارای فاسفور می‌باشند. فاسفیت همیشه به شکل فاسفیت آزاد غیرعضوی جذب می‌گردد.

منابع منرال ها

برای پیشبرد فعالیت انزایم ها به منرال های متعددی ضرورت است. آیون مگنیزیم $(Mg)^{++}$ و آیون آهن $(Fe)^{++}$ در مشتقات porphyrin نیز دریافت می‌گردند. مگنیزیم در مالیکول chlorophyll و آهن بحیث قسمتی از کوانزایم cytochrome ها و peroxidase ها موجود اند. مگنیزیم و آهن برای فعالیت نورمال و ثبات رایبوزوم ها ضروری شمرده می‌شود. آیون کلسیم به حیث جز متشکله دیوار حجروی باکتری های گرام مثبت لازم شمرده می‌شود، گرچه باکتری های گرام منفی به آن ضرورت ندارند. بسیاری اورگانیزم‌های آبی جهت نشونما به ایون سودیم ضرورت دارند. برای ایجاد یک وسط زرعیه برای کشت بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها لازم است تا منابع پتاسیم، مگنیزیم، کلسیم، و آهن به شکل آیونیک آن یعنی (K^{+}، Mg^{++}، Ca^{++} و Fe^{++}) موجود باشند. بسیاری منرال های دیگر (مانند Mn^{++}، Mo^{++}، Co^{++}، Cu^{++} و Zn^{++}) نیز لازم دانسته می‌شوند. منرال های متذکره در آب نل و یا به شکل ناخالص در سایر مرکبات موجود بوده می‌توانند.

فکتورهای نشونما (Growth factors)

فکتور نشونما عبارت از یک مرکب عضوی بوده که برای نشونمای حجره لازم دانسته شده ولی خود حجره قادر به سنتیز آن نمی‌باشد. بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها در صورت موجودیت مواد مغذی که قبلاً ذکر شد قادر اند تا تمام ساختمانهای تشکیل دهنده ماکرومالیکول ها را سنتیز نمایند که عبارتند از: امینواسیدها؛ purine، pyrimidine و pentose ها (پیشقدم میتابولیکی نوکلئیک اسیدها)، کاربوهایدریت های اضافی (پیشقدم پولی سکرایدها) و اسیدهای شحمی و مرکبات isoprenoid. علاوتاً اورگانیزم‌های دارای حیات آزاد باید قادر به سنتیز مغلق ویتامین ها که بحیث پیشقدم کوانزایم ها فعالیت می‌نمایند، نیز باشد.

هر یک از مرکبات اساسی فوق در نتیجه سلسله های جداگانه تعاملات انزایماتیک سنتیز می‌گردند. هر انزایم تحت کنترول یک gene خاص تولید می‌شود. زمانیکه یک اورگانیزم به gene mutation مواجه گردد که در نتیجه آن یکی از این انزایم ها قادر به فعالیت نگردد زنجیر مربوطه شکسته و محصول نهایی بدست نمی‌آید. درینصورت اورگانیزم باید مغلق مربوطه را از محیط بدست آورد. این مغلق فکتور نشونما یا growth factor را برای اورگانیزم تشکیل می‌دهد. این نوع میوتیشن امکان دارد به سهولت در لابراتوار صورت گیرد.

© AAZEM PUBLICATIONS

انواع مختلفه مایکروبها نظر به ضرورت شان به فکتور نشونما از همدیگر متفاوت می‌باشند. مغلق های مربوط به فکتور نشونما در تمام اورگانیزم‌ها دریافت شده و جزء اساسی شان را تشکیل می‌دهد. تفاوت در ضرورت مایکروبها اختلاف در قابلیت سنتیز شان را منعکس می‌سازد. بعضی انواع ضرورت به فکتور نشونما ندارند، در حالیکه تعداد دیگری مانند بعضی لکتوباسیل ها در جریان تکامل تدریجی شان قابلیت سنتیز 30-40 مرکب اساسی را از دست داده اند و بنابرین ضرورت دارند تا آنرا از محیط به دست آرند.

فکتورهای محیطی که بالای نشونما اثر دارند

یک وسط زرعیه مناسب باید حاوی تمام مواد مغذی لازم برای کشت مایکرواورگانیزمها باشد و نیز فکتورهای از قبیل pH، حرارت و تهویه باید محتاطانه کنترول گردند. در یک وسط که بشکل مایع استعمال می‌شود؛ امکان دارد برای اهداف خاص با علاوه نمودن agar و یا silica gel به شکل gel در آورده شود. Agar عبارت از عصاره پولی سکراید الجی بحری بوده و طور بی نظیر برای کشت مایکروبها مناسب می‌باشد، زیرا در برابر فعالیت مایکروبی مقاوم بوده و در حرارت 100 درجه سانتی گرید منحل می‌گردد ولی تا زمانیکه در حرارت پائین تر از 45 درجه سانتی گرید قرار نگیرد به حالت gel در نمی‌آید. حجرات در وسط به حرارت 45 درجه سانتی گرید معلق گردیده و بزودی با سردی مواجه می‌گردد تا به شکل gel درآید، بدون آنکه به حجرات آسیبی برسد.

مواد مغذی

در صفحات قبلی وظیفه هر یک از مواد مغذی توضیح گردید و یک لست مواد مناسب ارائه گردید. بصورت عموم، مواد ذیل باید موجود باشند:

۱- *دونر و رسپتور هایدروجن: 2g/lit*

۲- *منبع کاربن: 1g/lit*

۳- *منبع نایتروجن: تقریباً 1g/lit*

۴- *منرالها: سلفر و فاسفورس هر یک در حدود 50mg/lit و Trace elements در حدود 0.1-1 mg/lit*

۵- *فکتور نشونما (growth factor): امینواسیدها، purine، pyrimidine هریک در حدود 50 mg/lit*

۶- *ویتامین ها: 0.1- 1 mg/lit*

© AAZEM PUBLICATIONS

برای مطالعه میتابولیزم مایکروبها اکثراً لازم است تا یک وسط کاملاً مصنوعی آماده گردد که خواص اصلی و غلظت هر یک از اجزای ترکیبی بصورت واضح معلوم می‌باشد. در غیراینصورت استفاده از مواد طبیعی مانند عصاره خمیرمایه، پروتین هضم شده و یا مواد مشابه آن نهایت ارزان و ساده خواهد بود. بسیاری مایکروبهای که بصورت آزاد زندگی می‌کنند در وسط حاوی عصاره خمیرمایه به بسیار خوبی نشونما خواهد نمود. انواع پرازیتیک امکان دارد مواد خاصی را ضرورت داشته باشند که فقط در خون و یا عصاره انساج حیوانی دریافت می‌شوند. اما مایکروبهای پرازیتیک (مانند Treponema pallidum) وجود دارند که در خارج از عضویت نشونما کرده نمی‌توانند و یا فقط در داخل حجرات eukaryotic نشونما می‌نمایند (مانند Chlamydia trachomatis).

برای بسیاری اورگانیزم‌ها یک مرکب ساده (مثلاً یک امینواسید) بحیث منبع انرژی، منبع کاربن، و منبع نایتروجن مورد استفاده قرار گرفته می‌تواند. تعداد دیگری ضرورت به یک مرکب جداگانه برای هر منبع فوق دارند. اگر مواد طبیعی در یک وسط غیرمصنوعی مواد مغذی را به مقادیر ناکافی داشته باشد، باید مواد فوق به وسط علاوه گردند.

© AAZEM PUBLICATIONS

غلظت آیون هایدروجن (pH)

بسیاری اورگانیزم‌ها دارای محدوده کوچکی برای pH مطلوب می‌باشند. pH مطلوب باید بصورت تجربوی برای هر نوع مایکرواورگانیزم‌ها تعیین گردد. بسیاری اورگانیزم‌ها در 6.0-8.0 pH به خوبی نشونما می‌کنند. با آنهم بعضی انواع (acidophil ها) به طرف pH 3.0 و سایرین یعنی (alkalophil ها) به pH 10,5 شدیداً متمایل می‌باشند.

مایکرواورگانیزم‌ها pH داخلی شانرا به اساس اندازه pH خارجی تنظیم می‌نمایند. اسیدوفیل ها pH داخلی شانرا در حدود 6.5 با موجودیت pH خارجی 5.0 - 1.0 حفظ می‌نمایند. نوتروفیل ها pH داخلی شانرا حدود 7.5 در موجودیت pH خارجی 5.5-8.5 و الکلوفیل ها pH داخلی شانرا در حدود 9.5 در موجودیت pH خارجی 9.0-11.0 حفظ می‌نمایند. pH داخلی بواسطه proton transport system تنظیم می‌گردد. این سیستم در غشای سایتوپلازمیک قرار داشته و مشتمل است بر ATP-driven proton pump ابتدایی و Na+/H+ exchanger. یک سیستم تبادله K+/H+ نیز درین پروسه تنظیم pH در نترالوفیل ها مساعدت می‌نماید.

حرارت

انواع مختلفه مایکروب‌ها نظر به درجه حرارت مطلوب شان برای نشونما از همدیگر متفاوت می‌باشند: انواع psychrophilic در درجه حرارت پائین یعنی (15-20°c)؛ انواع mesophilic در درجه

حرارت (30-37°c) و بسیاری انواع thermophilic در درجه حرارت (50-60°c) بخوبی نشونما می‌نمایند. بسیاری اورگانیزم‌ها mesophilic اند، درجه حرارت 30°c برای بسیاری مایکروبهای آزاد درجه حرارت مطلوب بوده و درجه حرارت عضویت میزبان برای حیوانات همزی خونگرم مطلوب شمرده می‌شود.

بلندترین درجه حرارت که توسط یک نوع خاص قابل تحمل می‌باشد، ارتباط نزدیک به ثبات عمومی حرارتی پروتین هایی دارد که از عصاره حجرات متذکره بدست می‌آید. مایکرواورگانیزم‌ها همانند نباتات و حیوانات عکس العمل حرارتی (heat-shock) را دارند، که عکس العمل متذکره عبارت از سنتیز گذری پروتین های (heat-shock) در صورت مواجه شدن آنی به حرارت بلندتر از حرارت مطلوب می‌باشد. این پروتین ها بصورت فوق العاده در مقابل حرارت مقاوم بوده و پروتین های حجره را که در مقابل حرارت حساس اند ثبات می بخشد. (1)

ارتباط میان سرعت نشونما و حرارت در طرح Arrhenius نشان داده شده است. Arrhenius نشان داد که لوگاریتم سرعت تعامل کیمیاوی که به (log k) نشانداده شده است تابع خطی معکوس درجه حرارت (1/T) می‌باشد. فراتر از اثرات حرارت بالای نشونما، حرارت خیلی زیاد باعث کشتن مایکرواورگانیزم‌ها می‌گردد. درجه حرارت نهایت زیاد برای تعقیم مستحضرات مورد استفاده قرار می‌گیرد. درجه حرارت نهایت پائین نیز باعث مرگ حجرات مایکروبی می‌گردد، گرچه طور قابل اطمینان برای تعقیم مورد استفاده قرار گرفته نمی‌تواند. باکتری ها پدیده دیگری را از خود ظاهر می‌سازند به نام cold shock یاد می‌گردد و عبارت از کشتن حجرات با مواجه نمودن آنی به حرارت پائین می‌باشد. طور مثال با پائین آوردن درجه حرارت از 37°c به 5°c تقریباً ۹۰ فیصد حجرات Escherichia coli از بین می‌روند. یک تعداد مرکبات حجرات را از تبرد و یا cold shock حفاظت می‌نماید که از جمله glycerol و dimethyl sulfoxide بیشتر مورد استفاده دارند.

© AL-ZEIM PUBLICATIONS

تنفس مایکرواورگانیزم‌ها

تنفس در باکتری‌ها یک پروسهٔ مغلق است که با آزاد ساختن انرژی مورد نیاز جهت سنتیز مرکبات عضوی همراه است که آزاد شدن انرژی در نتیجهٔ اوکسیدیشن مواد عضوی صورت می‌گیرد Oxidation مواد به طرق مختلف صورت می‌گیرد: به شکل مستقیم، غیر مستقیم و طریقهٔ انتقال الکترون‌ها.

- به شکل مستقیم یعنی مواجه شدن با گاز اوکسیجن (Hydrogenation)
- به شکل غیر مستقیم Dehydrogenation که در این نوع اوکسیدیشن مواد عضوی به

اشکال مختلف هایدروجن را آزاد می‌نمایند کـه البته این عملیـه در اثـر اشتـــراک آب صورت می‌گیرد، طوریکه مالیکول های آب به مواد اوکسیداز شونده وصل گردیده و بعـداً هایدروجن آزاد می‌گردد. بنابرین گفته می‌توانیم که درین طریقه اوکسیدیشن مواد به اثـر نصب اوکسیجن آب به آنها صورت می‌گیرد. هایدروجن کـه بـه اثـر اوکسیدیـشن مـواد عضوی آزاد می‌گردد با محصولات دیگر که درین پروسه پدید می‌آیند یکجا می‌گردد.

اغلب باکتری‌ها مانند فقاریه ها و نباتات جهت تنفس از اوکـسیجن مـالیکولی هـوا اسـتفاده کرده که در جریان تنفس مواد عضوی را به H_2O و CO_2 اوکسیداز می‌کنند.

- طریقهٔ انتقال الکترون ها: این طریقه طوری است مادهٔ که الکترون را می‌دهـد اوکـسیده شده و آنکه می‌گیرد، ارجاع می‌شود. انتقـــال هـــایدروجن از مـواد بـــه طـرق مختلـف صورت می‌گیرد، گیرندهٔ هایدروجن می‌تواند اوکسیجن هوا باشد یـا مـوادی کـه قابلیـت ارجاع را دارند.

تعامل Oxido – Reduction می‌تواند به شکل ذیل صورت گیرد:

طرز تولید انرژی در باکتری‌ها مختلف است، مثلاً عده ای از باکتری‌ها به مثل اورگانیزم‌های عالی جهت تـنفس از اوکـسیجن مـــالیکولی استفاده کـــرده و مـواد عـضـــوی را اوکـسیداز می‌نمایند که این نوع مایکروب‌ها را مایکروب‌های هوازی یا Aerobic می‌نامند، در حالیکه عدهٔ دیگری از مایکروب‌ها در عدم موجودیت اوکسیجن مواد عضوی را اوکسیداز کـرده کـه بـه نـام Anaerobic یاد می‌شوند. البته در بین انواع ذکر شده مایکروب‌های حد وسط (از نظـر تنفـسی) نیز وجود دارند که ذیلاً تصنیف مکمل مایکروب‌ها نظر به تایپ تنفسی شـــان ذکر می‌گردد:

۱- **مایکروب‌های هوازی مطلق یـا Obligatory Aerobic:** ایـن مـایکروب‌هـا در یـک اتموسفیر شامل 20% اوکسیجن به خوبی رشد و نمو مـی‌کننـد و از ایـن جهـت سـطح اوساط زرعیه مایع و جامد محل مناسب بـرای کـشت و رشـد بعـدی آنهـا اسـت ماننـد: Mycobacterium Tuberculois، Vibrio cholera و Sarcina. ایـــن نـــوع مایکروب‌ها دارای انزایم های اند که توسط آن از مواد اوکسیده شده هایدروجن را گرفته و به اوکسیجن هوا انتقال می‌دهند.

۲- **مایکروب‌های هوازی جزیی یا Microerophilic Microbes:** این نوع مایکروب‌هـا به مقدار خیلی کم اوکسیجن ضرورت دارند (تقریبـاً 1%) غلظـت بلنـد اوکـسیجن ایـن

© AZEEM PUBLICATIONS

مـایکروب‌هـا را محـو نـه نمـوده بلکـه نـشونمای آن هـا را توقـف مـی‌دهنـد ماننـد Actinomycetes ها و Leptospirae.

۳- **مایکروب‌های غیر هوازی اختیاری Facultative Anaerobic:** این نوع مایکروب‌هـا می‌توانند در موجودیت و یا عدم موجودیت اوکسیجن مالیکولی رشـد و تکثـر کننـد کـه اغلب مایکروب‌های Pathogen و Saprophyte مربوط این دسته می‌باشند.

Capnophilic Microbes: این گروپ از مایکروب‌ها جهت رشد و نـشونمای خـود بـه غلظت کم اوکسیجن و مقادیر زیاد از CO2 نیاز دارند مانند Brucella suis.

۴- **مایکروب‌های غیر هوازی مطلق Obligatory Anaerobic Microbes:** بـرای ایـن گروپ از مایکروب‌ها اوکسیجن یکی از عوامـل توقف دهنده رشد و نمـو بوده و مـضر می‌باشد مانند: Cl. Tetani، Cl. Perferingens و Cl. Botulinum.

فعالیت مایکروب‌ها تقریباً همیشه مربوط است به درجهٔ هوازی بودن مواد غذائی.

ارتباط غذائی: *اوساط غذائی ممکن است به طور اعظمی با هایدروجن اشباع شده باشند، یا اینکـه با اوکسیجن، M. Clarck پیشنهاد کرد که درجهٔ هـوازی بـودن وسـط بـا لگـاریتم فـشار قـسمی گـاز هایدروجن ارائه شود که آنرا پتانسیل Oxido – reduction می‌نامنـد و معمـولاً بـه RH_2 نـشان داده می‌شود. (هایدروجن ارجاع شده) حدود این Potential از صفر الی 42.6 می‌باشد که این تمام درجـات اشباع یک مایع را با O_2 و یا H_2 معین می‌سازد که ذیلاً مطالب فـوق بـه ارتبـاط تـنفس مـایکروب‌هـا توضیح می‌گردد:*

اگر RH_2 معادل صفر باشد به این معنی است که اشباع محیط توسط اوکسیجن به حد اقل بـوده در حالیکه توسط هایدروجن اعظمی می‌باشد و RH_2 معادل 42.6 اشباع اعظمی محیط را توسط اوکسیجن ارائه می‌کند که درینصورت اشباع محیط توسط هایدروجن در سطح اصغری قرار دارد رشد باکتری‌هـای هوازی از RH_2 معادل 20 – 14 و اضافه تر از آن و از مایکروب‌های Facultative Anaerob از 0 – 20 و اضافه تر از آن مایکروب‌های Anaerobic از 12 – 0 صورت می‌گیرد.

مایکرواورگانیزم‌های هوازی (Aerobic Microorganisms)

مایکرواورگانیزم‌های هوازی آنهایی اند که جهت تهیهٔ انرژی برای خود از کاربوهایدریت‌ها و دیگر مواد عضوی استفاده می‌کنند مانند Fungus ها Yeast و بعضی باکتری‌های دیگر. تعـداد زیادی از باکتری‌های هوازی مواد عضوی را به طور کامل اوکسیدیشن نموده و گاز CO_2 را بـه حیث محصول نهایی استقلاب مواد مذکور تولید می‌نمایند.

© AAZEM PUBLICATIONS

قوه ایونیک و فشار اسموتیک

فکتورهای دیگر از قبیل فشار اسموتیک و غلظت نمک نیز ممکن تا حدود کمتری کنترول گردند. برای بسیاری اورگانیزم‌ها اوصاف اوساط عادی قناعت بخش اند ولی برای اشکال آبی و اورگانیزم‌هایی که به نشونما در محلول های قندی غلیظ تطابق یافته اند فکتورهای متذکره باید در نظر گرفته شوند. اورگانیزم‌هایی که به غلظت های بلند نمک ضرورت دارند به نام halophilic و آنهایی که به فشار بلند اسموتیک ضرورت دارند به نام osmophilic یاد می‌شوند.

اکثریت باکتری ها می‌توانند فشار اسموتیک و قدرت ایونیک خارجی زیادی را تحمل نمایند، زیرا چنین باکتری های قادر اند تا فشار اسموتیک و غلظت آیونیک داخلی شان را خود تنظیم نمایند: Osmolarity ذریعه ترانسپورت فعال ایون های K^+ بداخل حجره تنظیم می‌گردد؛ قوه ایونیک داخلی ذریعه اخراج پولی امین عضوی به نام putrescine که دارای چارج مثبت اند تنظیم می‌گردد. از آنجائیکه putrescine چارج های مثبت متعدد را در یک مالیکول انتقال می‌دهند، یک کاهش بزرگ در قوه ایونیک فقط مقادیر کمی از قوه اسموتیک را به مصرف می رساند.

میتودهای کشت (Cultivation Methods)

دو پرابلم مورد ملاحظه قرار خواهد گرفت: انتخاب یک وسط مناسب و تجرید یک اورگانیزم باکتریایی به صورت کلچر خالص.

تخنیک مورد استفاده و وسط انتخاب شده نظر به نوعیت تحقیق فرق می‌نماید. طور عموم ممکن سه حالت ذیل موجود باشند:

۱- امکان دارد هدف از کلچر کشت حجرات یک نوع خاص باشد.

۲- امکان دارد هدف تعیین تعداد و انواع اورگانیزم‌های موجود در مواد مورد مطالعه باشد.

۳- ممکن هدف، تجرید یک نوع خاص مایکرواورگانیزم از یک منبع طبیعی باشد.

الف: کشت حجرات با یک نوع خاص: مایکرواورگانیزم‌های که از نظر میکروسکوپیک در یک محیط طبیعی نشونما می‌نمایند امکان دارد نموی شان بصورت کلچر خالص در وسط مصنوعی نهایت مشکل باشد. طور مثال کلچر انواع معین پرازیت ها هیچگاهی خارج از وجود میزبان بدست آمده نمی‌تواند. با وجود آنهم طور عموم اگر شرایط طبیعی که اورگانیزم در آن نشونما می‌نماید با دقت کامل فراهم گردند یک وسط مناسب بدست آمده می‌تواند. فکتورهای از قبیل PH، درجه حرارت و تهویه به سهولت و تنظیم گردیده می‌تواند، ولی تهیه مواد مغذی یک مشکل عمده شمرده می‌شود. نقش محیط حیه دارای اهمیت بوده و تحلیل آن مشکل می‌باشد. یک پرازیت ممکن به عصاره انساج میزبان

© AAZEM PUBLICATIONS

ضرورت داشته باشد و یک اورگانیزم آزاد ممکن به موادی ضرورت داشته باشد که توسط مایکرواورگانیزم دیگری که با آن زندگی اشتراکی دارد افراز می‌گردد. تجارب قابل ملاحظه یی ممکن برای تعیین نیازمندی های اورگانیزم لازم باشند و موفقیت در آن مربوط می‌باشدبه تهیه منبع مناسب هر کتگوری از مواد مغذی که در آغاز این فصل تذکر داده شد.

ب. معاینه مایکروبیولوژیک مواد طبیعی: مواد طبیعی مورد معاینه امکان دارد حاوی microenvironment و یا محیط های کوچک دیگری باشد که هرکدام آن یک محیط زیست مناسب را برای انواع مختلفه اورگانیزم‌ها مهیا می‌سازد. قرار دادن یک نمونه مواد تحت شرایط معین باعث خواهد شد تا یک گروپ خاص اورگانیزم‌ها تولید کالونی نموده و بسیاری انواع دیگر از نظر دور بمانند. به این دلیل معمولاً سمپل یا نمونه مواد تا حد ممکن با استفاده از اوساط و شرایط متنوع مورد نشونما قرار داده می‌شوند. اگر هدف این باشد تا اکثریت انواع اورگانیزم‌ها در مواد باید شناخته شوند غیرمعقول نخواهد بود که تحت ۶ الی ۸ نوع شرایط کلچری قرار داده شوند.

برای اینکه به هر نوع اورگانیزم موجود چانس نشونما داده شود، از وسط جامد استفاده به عمل می‌آید تا از ازدحام کالونی ها جلوگیری بعمل آید. درغیراینصورت، رقابت میان اورگانیزم‌ها باعث خواهد شد تا بعضی انواع از تشکل کالونی محروم گردند.

ج. تجرید یک نوع خاص مایکرواورگانیزم: اگر یک نمونه کوچک خاک با عملیه های مناسب مواجه گردد، در هر microenvironment یا محیط کوچک آن انواع مختلفه اورگانیزم‌ها نشونما خواهند نمود. از خاک بارور یا حاصلخیز (مرطوب، تهویه شده، غنی از منرالها و مواد عضوی) صدها و حتی هزاران نوع تجرید شده می‌تواند. این عملیه با انتخاب نوع معین صورت می‌گیرد. طور مثال یک گرام خاک در داخل یک فلاسک و یا وسط مایع که برای نوع مورد نظر اورگانیزم تهیه شده باشد قرار داده می‌شود، مثلاً aerobic nitrogen fixer برای (azotobacter). درینصورت وسط فاقد نایتروجن مرکب بوده و تهویه آن به درستی صورت می‌گیرد. اگر حجرات azotobacter در خاک موجود باشند، در چنین وسط بخوبی نشونما خواهند نمود. انواع که قادر به تثبیت نایتروجن نباشند فقط تا حدی نشونما خواهند نمود که خاک با نایتروجن تثبیت شده آغشته باشد. زمانیکه نشونمای کلچر بیشتر می‌گردد فیصدی azotobacter نیز طور قابل ملاحظه یی ازدیاد می یابد. بنابرین میتود فوق به نام enrichment culture یا وسط غنی شده یاد می‌گردد. انتقال یک نمونه از چنین کلچر به یک وسط تازه باعث غنای بیشتر azotobacter شده و پس از چندین دوره انتقال، کلچر در وسط غنی شده جامد در ظروف هموار (پلیت) قرار داده شده و کالونی های azotobacter تجرید می‌گردند.

وسط مایع به منظور رقابت و انتخاب انواع دلخواه استفاده می‌گردند حتی اگر تنها چند حجره واحد

© AYZEN PUBLICATIONS

نوع مورد نظر در بین ملیونها حجره در خاک موجود باشند. مفاد بیشتر از natural enrichment یا غنای طبیعی گرفته شده می‌تواند. طور مثال به منظور دریافت oxidizer kerosene خاک oil-laden یا چرب انتخاب می‌گردد، زیرا چنین وسط یک محیط غنی شده برای نوع متذکره می‌باشد.

کلچر غنی شده عبارت از عملیه ایست که طی آن وسط عیناً مانند محیط زیست طبیعی برای مایکرواورگانیزم مورد نظر آماده می‌گردد. یک اصل عمده در تهیه چنین محیط قرار ذیل می‌باشد: اورگانیزم انتخاب شده از نوعی خواهد بود که تمام ایجابات تغذی آن برآورده گردیده بتوانند. طور مثال azotobacter در وسطی که حاوی نایتروجن عضوی باشد بهتر نشونما می‌نماید، ولی ایجابات حداقل نشونمایی آنرا موجودیت N_2 تشکیل می‌دهد. بنابرین اورگانیزم متذکره برای وسطی انتخاب می‌گردد که حاوی N_2 به حیث یگانه منبع نایتروجن باشد. اگر نایتروجن عضوی به وسط علاوه گردد، azotobacter برای آن انتخاب نگردیده بلکه اورگانیزم دیگری که حداقل نیازمندی آن نایتروجن عضوی باشد، انتخاب می‌گردد.

اگر یک اورگانیزم خاصی را در مواد طبیعی جستجو می نماییم بهتر خواهد بود که اورگانیزم دریافت شده در یک وسط تشخیص دهنده differential medium قرار داده شود. وسط تشخیص دهنده عبارت از وسطی است که در آن کالونی های یک نوع خاص مایکرواورگانیزم طور مشخص ظاهر می‌گردند. طور مثال کالونی های E. coli در وسط agar که حاوی رنگهای eosin و methylene blue باشند (EMB agar) به شکل درخشندگی قوس قزح ظاهر می‌گردند. در وسط EMB agar که دارای غلظت زیاد قند یک قیمته باشد اورگانیزم‌های فرمنت کننده قند نیز باعث تولید کالونی ها به رنگ سرخ خواهد شد. وسط تشخیص دهنده برای اهدافی از قبیل تشخیص موجودیت enteric bacteria در آب و یا شیر و موجودیت پتوجن های معین در نمونه های کلینیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

© AZZEM PUBLICATIONS

تجرید مایکرواورگانیزم‌ها در کلچر خالص

به منظور مطالعه اوصاف اورگانیزم‌های مورد نظر لازم است تا کلچرآن بصورت خالص بدون موجودیت سایر انواع اورگانیزم‌ها بدست آید. برای این هدف باید یک حجره واحد را از سایر حجرات جدا نموده و به شکلی کلچر گردد که حجرات حاصله از آن نیز از هم مجزا قرار گیرند. به این منظور میتودهای مختلفه موجود اند:

الف. Plating یا قراردادن در پلیت ها: برعکس حجرات وسط مایع، حجرات در وسط جلاتینی به شکل غیرمتحرک قرار می‌گیرند. بنابرین اگر چند حجره در یک وسط جلاتینی قرار

گیرند، هر یک آن به داخل یک کالونی جداگانه نشونما خواهند نمود. ماده جلاتینی ایدآل که اکثراً برای اوساط مایکروبیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد عبارت از agar می‌باشد. Agar یک پولی سکراید اسیدی بوده از عصاره یک نوع خاص الجی های سرخ بدست می‌آید. یک suspension 1.5-2% آن در آب، به حرارت 100°c منحل گردیده و یک محلول شفاف را بدست می‌دهد که در حرارت 45°c دوباره شکل gel را بخود می‌گیرد. بنابرین یک محلول معقم agar در حرارت 50°c سرد ساخته شده، باکتری و یا سایر حجرات مایکروبی به آن علاوه شده و بعداً در حرارت 45 °c سرد ساخته می‌شود تا شکل gel را اختیار نماید. (گرچه بسیاری حجرات مایکروبی در حرارت 50 °c از بین می‌روند، سرعت کشته شدن مایکروبها درین درجه حرارت از نظر زمانی بسیار کم است). پس ازینکه شکل gel را به خود اختیار نمود agar برای بار دیگر مایع نمی‌گردد تا اینکه به حرارت بلندتر از 80°c مواجه نگردد. بدین ترتیب متعاقباً از یک درجه حرارت مساعد برای نموی کلچر مایکروبی استفاده صورت گرفته می‌تواند. در میتود افشاندن روی پلیت یک suspension حجرات با agar ذوب شده در حرارت 50°c یکجا گردیده و بداخل یک پطری دیش پاشیده می‌شود. زمانیکه agar دوباره جامد می‌گردد، حجرات در آن غیرمتحرک گردیده و بداخل کالونی ها نشونما می‌نمایند. اگر suspension حجرات بخوبی رقیق گردیده باشد، کالونی ها بخوبی از همدیگر جدا می‌گردند، به این ترتیب احتمال زیاد می رود که هر کالونی از یک حجره واحد مشتق گردیده باشد. باوجود آن برای تائید این موضوع لازم است تا یک کالونی نوع مورد نظر با آب مواجه ساخته شده و بعداً در پلیت قرار داده شود. با تکرار این عمل برای چندین مرتبه کلچر خالص بدست خواهد آمد.

Suspension اولی به نوبه خود در یک پلیت agar ذریعه یک لوپ بصورت خطوط مستقیم کشیده می‌شود. با کشیدن خطوط بیشتر تعداد کمتر حجرات در لوپ باقی خواهند ماند. و بالاخره لوپ حجرات واحد را بالای agar جابجا خواهد نمود. بعداً پلیت در incubation قرار داده شده و کالونی هایی که بهتر جدا گردیده می‌توانند از آن گرفته می‌شوند. این کالونی ها با آب مواجه ساخته شده و دوباره بالای agar بشکل خطوط قرار داده می‌شوند. اگر یک suspension (نه فقط تعدادی از حجرات نشونما کننده از یک کالونی و یا یک خط) به شکل رگه یا خط تولید شوند، درینصورت این میتود به اندازه میتود pour-plate قابل اعتماد بوده و نیز سریعتر از آن می‌باشد.

© AZEM PUBLICATIONS

ب. رقیق کردن: یک میتود کمتر قابل اطمینان می‌باشد. درین میتود suspension بصورت مسلسل رقیق می‌گردد و سمپل های از هر دوره رقاقت در بالای پلیت قرار داده می‌شود. اگر فقط چند نمونه یک رقاقت معین به نشونما آغاز نمایند احتمال می رود که این کلچرها از یک حجره واحد نشئت نموده باشند. این میتود مورد استعمال زیادی نداشته به استثنای حالاتیکه در آن میتود plating امکانپذیر نباشد. یکی از اوصاف نامطلوب این میتود آنست که فقط برای تجرید انواع غالب اورگانیزم‌ها در بین انواع مختلط مورد استفاده گرفته می‌تواند.

انزایم های مایکرواورگانیزم‌ها

تمام تعاملات بیوشیمیک که در یک اورگانیزم زنده بخاطر استقلاب مواد، نمو و انکشاف بعمل می‌آید با شرکت انزایم ها صورت می‌گیرد. انزایم ها موادی هستند که بحیث catalisor ها در فعل و انفعالات کیمیاوی وارد عمل می‌شوند و در حجرات برای کمک و انجام اعمال حیاتی بوجود می‌آیند یا بعبارۀ دیگر انزایم ها کاتالیستهای بیولوژیک اند که توسط حجرات زنده تولید شده و ماهیتاً پروتینی اند، انزایم ها دارای وزن مالیکولی بلند هستند، انزایم ها از لحاظ ترکیب و نظر به ساختمان خود به دو گروپ تقسیم می‌شوند:

۱- انزایم های یک جزئی که فقط از پروتین ساخته شده اند.

۲- انزایم های دو جزئی یا Protoid که از یک جزء یا قسمت پروتینی و یک جزء غیر پروتینی ساخته شده اند، که قسمت غیر پروتینی آنرا به نام گروپ Prosthetic یاد می‌کنند.

دوام ارتباط قسمت پروستیتیک با قسمت پروتینی در انزایم های دو جزئی مختلف بوده می‌تواند که گروپ پروستیتیک از قسمت پروتینی خود جدا شده و در ارتباط مؤقتی یک پروتین دیگر قرار گیرد که این گروپ پروستیتیک را به نام Co–Enzyme یاد می‌کنند. در انزایم های یک جزئی رول گروپ پروستتیک را گروپ های کیمیاوی معین که در ترکیب انزایم ها وجود دارد بازی می‌کند که این گروپ ها به نام مراکز فعال انزایم ها یاد می‌شوند مثلاً گروپ SH و گروپ OH حلقۀ امیدوول و غیره، انزایم ها دارای فعالیت بلند بوده که بمقایسۀ کاتالیزور های غیر عضوی بی اندازه قوی و فعال اند مثلاً یک مالیکول یک انزایم در ظرف یک دقیقه می‌تواند ده ها هزار مالیکول Substrate سبسترات را به مواد مختلف تبدیل نماید.

© AAZEM PUBLICATIONS

خصوصیت عمدهٔ انزایم ها اینست که هر انزایم بالای مواد مختص به خود عمل کرده و در حضور مواد مخصوص به خود تحریک شده و فعالیت می‌کند و بقیه مواد را تماس نمی‌گیرد مثلاً انزایم Lactase سبب تجزیهٔ لکتوز به گلوکوز و گلکتوز شده و بالای دیگر مواد (کاربوهایدریت‌ها) اثر ندارد.

فعالیت یک انزایم مربوط است به درجهٔ حرارت محیط PH وسط، غلظت سبسترات و غلظت خود انزایم، همچنین موجودیت بعضی مواد کیمیاوی در وسط بالای فعالیت انزایم ها تاثیر دارد که بعضی از این مواد فعالیت انزایم ها را بالا برده که به نام مواد Activator یاد می‌شوند. در جملهٔ می‌توان از کاتیون های دو و لانسهٔ از قبیل Mg, Ni, Mn, Ca نام برد برعکس بعضی مواد کیمیاوی دیگر سبب نهی فعالیت انزایم ها شده یا اینکه فعالیت انزایم ها را کاهش می‌دهند که به نام مواد Inhibitor یاد می‌شوند مانند نمک های فلزات ثقیله، انتی بیوتیک ها SH_2 و غیره... مواد Inhibitor مراکز فعال انزایم ها یا اتم فلزات را که در ترکیب آنها وجود دارد تماس کرده و در نتیجه فعالیت انزایم ها را فلج می‌کند، می دانیم که سیر بیوشیمیک استقلاب مواد در حجرات مایکرواورگانیزم توسط انزایم ها تنظیم می‌شود از اینرو هر عاملی که بر فعالیت انزایم ها اثر کند نتیجتاً بر فعالیت مایکرواورگانیزم‌ها تاثیر خواهد کرد.

هر مایکرواورگانیزم دارای کامپلکس از انزایم های مختلفه می‌باشد که همین انزایم ها فعالیت بیوشیمیک آنها را معین ساخته و هم نقش آنها را در سیکل مواد در طبیعت و در سیر فاسد شدن مواد غذائی تعیین می‌کند. با در نظرداشت چگونگی پیدایش انزایم ها گروپ Constitutive و Adaptive آنها وجود دارد انزایم های Constitutive عبارت از انزایم های اساسی اند که به مسوولیت جن های مخصوص در داخل حجره مایکرواورگانیزم تولید می‌گردد در حالیکه انزایم های سازگار یا Adaptive تنها در صورت موجودیت سبسترات معین و مخصوص در محیط تولید می‌شود یا بعبارهٔ دیگر ترکیب اینوع انزایم توسط سبسترات معین تحریک می‌شود، مثلاً اگر یک مایکرواورگانیزم در وط که حاوی قند مالتوز است کشت شود تحت این شرایط انزایم را که مالتوز را تجزیه می‌کند ترکیب کرد، که متعاقب جذب و تحلیل آن بحیث منبع کاربن از آن استفاده می‌کند که البته همین مایکرواورگانیزم قبل از مواجه شدن به قند مالتوز این خصوصیت را نداشته است.

در حجرات باکتری‌ها تاثیر و نحوهٔ عملکرد انزایم موافقتاً بوجود می‌آیند به این معنی که اگر در یک حجره باکتری چند نوع انزایم در عین زمان موجود باشد هر یک ازین انزایم‌ها مطابق به کیفیت و چگونگی مواد موجود در محیط یکی بعد دیگری وارد صحنه می‌گردند در عمل Fermentation در موقع لزوم سهم می‌گیرند.

© AAZEM PUBLICATIONS

انزایم که در قسمت های مختلف حجرهٔ باکتری موجود اند در Mesosomes در میتوکاندریون و در غشای سایتوپلازمیک.

بعضی از انزایم ها توسط حجرهٔ باکتری در وسط افراز می‌شوند که به نام Exoenzymes یاد می‌گردند که این انزایم ها رول عمده ئی در تهیهٔ مواد غذائی، دخول آنها در حجرهٔ باکتری دارند زیرا این نوع انزایم ها تجزیه مواد پیچیده و مغلق مانند نشایسته و پروتین را به مالیکول های ساده به عهده داشته که متعاقب پارچه شدن این مواد می‌توانند داخل حجره باکتری شوند. همچنین نوع دیگری از انزایم وجود دارد که توسط باکتری در وسط افراز نشده بلکه توسط ساختمان های داخل حجروی Adsorbed یا تثبیت شده که به نام Endoenzyme یاد می‌شوند و در استقلاب داخل حجروی مواد سهم می‌گیرند.

بعضی باکتری‌های مخصوص دارای مواد (انزایم خارج الحجروی) از قبیل Ureas، Coagulase، Hemolysins، Lecithinase، Hyalurenidase، Collagenase و Leukocidins می‌باشد.

به طور مثال Clostridium perfringens اگزوتوکسین (Lecthinase) تولید می‌نماید آنانیکه قابلیت تبدیل نمودن لیسیتین به فاسفوریل کولین و دای گلیسراید دارد نکروز عضلی از اثر عمل مشترک Collagenase، Lecithinase و (Hyaluronidase) Mucinase به میان می‌آید. Collagenase و Mucinase نسج استنادی عضلات را تجزیه نموده و Lecithinase لستین غشا و رشته های عضلاتی را منحل می‌نماید. Hemolysis در سیر انتانات Anaerobic از سبب انحلال Lecitin ستروماى کریوات سرخ خون واقع می‌شود.

تظاهرات نکروتیک توکسین ها اهمیت زیاد برای توافق عامل مرضی دارد اولاً توکسین نسج فعال و زنده را برای مایکروب مرضی به یک سبسترات بی خطر تبدیل نموده ثانیاً نسج نکروتیک پرازیت را از تأثیرات عکس العمل های دفاعی عضویت نگه می دارد.

چرا ما توکسین ها را مطالعه می کنیم از آن جائیکه لوحه کلینیکی امراض انتانی ارتباط مستقیم به موجودیت کمپلکس توکسین ها و تأثیرات آن دارند بناً وقتیکه ما این کمپلکس توکسین را بشناسیم لوحه کلینیکی و تشخیص مرض را تعیین تداوی سببی مرض را اجرا نموده و بالاخره وخامت و اندازه مرض را پیشبینی کرده می‌توانیم.

میتود کشت باکتری‌های غیر هوازی

جهت کشت انایروب ها غلظت اوکسیجن در محیطی که باکتری در آن قرار دارد باید کاهش داده شود که به این منظور میتود های مختلف وجود دارد و ذیلاً توضیح می‌گردد:

© AZEM PUBLICATIONS

۱- کشت توسط وخذه: این ساده ترین میتود جهت کشت انایروب ها است که مایکروب مورد نظر را بطور عمود در اوساط قندی اگر دار (Suger Agar) توسط وخذه به عمق وسط کشت می‌کنند.

۲- علاوه نمودن مواد ارجاع کننده در وسط: به این منظور اکثراً از وسط Kitt – Tarocci استفاده می‌شود که در ترکیب آن گلوکوز پنج فیصد با بویون، پارچه های گوشت و پارچه های تازهٔ مواد عضوی گوشت کوفته شده وجود دارد که از جمله گلوکوز و یک قسمت از مواد عضوی قابلیت ارجاعی را دارند. طرز تهیهٔ این وسط چنین است که قبل از استفاده بخاطر خارج ساختن اوکسیجن آنرا جوش می‌دهند و بعداً برای اینکه از تماس اوکسیجن اتمسفیر محفوظ باشد سطح آنرا با واسلین و یا پارافین می پوشانند.

۳- محو هوا از محیط: با اخراج هوا از محیط، غلظت اوکسیجن نیز کاهش می یابد که با استفاده از میتود های میکانیکی (بوسیلهٔ Anaerostate یا مخراج الهوا) می‌توان به این هدف نایل شد.

۴- تعویض هوای محیط با دیگر گازات: به این منظور معمولاً از گاز هایدروجن استفاده می‌شود.

۵- محفاظه میخانیکی وسط از اوکسیجن هوا: به این منظور موج ترین میتود (میتود Venial – Vion است. درین میتود از تیوپ های شیشه ای که دارای 30cm طول و 3 – 6mm قطر است کار می‌گیرند. طوریکه یک نهایت آنرا در تیوپ های مخصوص دیگر که Capillair tube نام دارد وصل نموده و نهایت دیگر آنرا با پنبه مسدود می‌نمایند، بعداً مواد تحت مطالعه را که قبلاً در Agar مذاب کشت مخلوط شده است در تیوب شیشه ئی بالا می کشند و انجام باز تیوب را به وسیلهٔ آتش مسدود می‌نمایند تیوپ را در ترموستات به حرارت 37°c گذاشته که با ظاهر شدن کالونی‌های سیاه رنگ در داخل تیوپ، از قسمت دلخواه شکستانده شده و بدینسان کلچر خالص باکتری‌های غیر هوازی بدست می‌آید.

۶- جذب اوکسیجن محیط بطرق کیمیاوی: به این منظور معمولاً از محلول قلوی پیروگالول (ده فیصده قلوی و بقیه Pyrogallol) استفاده می‌شود.

۷- میتود بیولوژیک جهت مهیا ساختن شرایط غیر هوازی: به این منظور ساده ترین روش،

© AZEM PUBLICATIONS

میتود Fortner می‌باشد بدین ترتیب که نصف پیتری دیش را بوسیلهٔ یک مایکروب هوازی معلوم و نصف دیگر آنرا با مواد مورد آزمایش (تحت مطالعه) که گمان می‌شود دارای مایکروب‌های غیر هوازی است کشت می‌نمایند، البته وسط مورد نظر قبلاً توسط یک کارد معقم به دو حصه از هم جدا می‌شود بعد از کشت اطراف پیتری دیش را بوسیلهٔ موم مخصوص یا پارافین مستور می‌نمایند و در ترموستات می گذارند، در ابتدا مایکروب‌های هوازی شروع به تکثر نموده و تمام اوکسیجن محیط را مصرف می‌نمایند که در نتیجه شرایط رشد انایروب ها مساعد می‌گردد.

اوساط زرعیه برای کشت غیر هوازی ها

برای کشت غیر هوازی ها اغلباً از اوساط ذیل استفاده می‌شود:

۱- وسط Kitt – Tarocci: برای تهیهٔ این وسط غذائی کبد گاو نر و گوشت گاو و یا قطعات از پلاسنتا را خورد، خورد پارچه نموده به مقدار سه چند آن بویون مغذی را که دارای PH 7.0 – 7.4 می‌باشد با آن یکجا نموده و برای 30 دقیقه جوش می‌دهند، بویون را فلتر نموده و پارچه های گوشت را (کبد و یا پلاسنتا) در یک ظرف جالی می شویند و با کاغذ فلتر خشک می‌نمایند، بعداً به هر تیوب به مقدار 3-4 گرام از گوشت و یا کبد متذکره را علاوه نموده و به مقدار 7.8ml از بویون فلتر شده را به آن اضافه می‌کنند، تیوب را برای 30 دقیقه تحت فشار یک اتموسفیر تعقیم می‌نمایند که درینحالت حرارت اتوکلاو 121°c می‌باشد.

۲- Agar for Venial – Vion tube: در بویون مارتین گلوکوز یک یا دو فیصد را حل نموده و Agar را در آن علاوه می‌نمایند وسط غذائی متذکره به تیوب های مخصوص جا داده می‌شود (Capillairy tube) وسط زرعیه دارای PH 7.4 می‌باشد که در حرارت مرطوب برای سه روز متوالی تعقیم می‌شود.

۳- Ferum sulfat agar یا Weelsenbleer agar: بالای 100ml از وسط Meat peptone agar 3% گلوکوز یک فیصد را در PH = 7.4 یکجا می‌کنند و آنرا حرارت می‌دهند در اثنای حرارت 10ml/60°c از محلول $Na_2 SO_3$ 32% از محلول $FeC1_3$ 28% را که با آب مقطر تهیه شده به آن علاوه می‌نمایند (محلول $NaSO_3$ به

© AZEM PUBLICATIONS

حرارت مرطوب در ظرف یک ساعت تعقیم می‌کنند) وسط را تعقیم نـه نمـوده و آنـرا در ترموستات می گذارند. باکتری‌های غیر هوازی کالونی های سیاه رنگ را تولید می‌نمایند. (بخاطر تشکل FeS در وسط)

در صورت موجودیت Clostredium Perferingenes وسط بعد از 1-2 ساعت تغییر رنـگ می‌دهد در حالیکه در انواع دیگر انایروب ها تشکل کالونی های سیاه رنگ سـبز مایـل بعـــد از 6-8 ساعت نمایان می‌شود.

انتی بیوگرام یا حساسیت مایکروب ها به مقابل انتی بیوتیک ها

مقدمه

برای دلایل عمده ذیل حساسیت مایکروب‌ها به مقابل انتی بیوتیک تعیین می‌شود:

- برای رهنمائی نمودن دوکتور معالج تا مناسب تـرین انتـی بیوتیـک را بـرای هـر فـرد از مریضان خود انتخاب نماید.
- نگهداشت ثبت حساسیت مایکروب‌های یک جامعه و انتانـات شـفاخانه بـه مقابـل انتـی بیوتیک ها و تغییراتی که به مرور زمان در آن رخ می‌دهد.
- رهنمائی نمودن مسوؤلین پروگرام ملی تداوی کتگوری امراض بخصوص ماننـد انتانـات حـــاد طرق تنفسی، اسهالات و امراضیکـــه توسط مقاربت جنسی انتقال می‌نمایند.
- کشف تغییراتیکه در نوع و توزیع مقاومت به مقابل انتی بیوتیک ها در امراض کـه غیـراز شفاخانه رخ می‌دهد.

© AAZEM PUBLICATIONS

این عملیه بالای تمام مایکروب‌هایی که قبلاً حساسیت آنهـــا معلوم نشده و سبب انتانـــاتی می‌گردند که ایجاب کیموتراپی را می‌نمایند، باید اجرأ شود.

تست حساسیت مایکروب‌ها قدرت انتی بیوتیک را نشان می‌دهد که در لابراتوار تحت شرایط معیاری مانع نشونمای مایکروب می‌گردد. این نهی نشونما به دو طریقه ای رقیق سازی و انتشار تخمین می‌گردد.

در تست رقیق سازی، فعالیت انتی بیوتیک طوری تخمین می‌گردد کـه غلظـت هـا مختلـف انتی بیوتیک را در وسط زرعیه ای مایع یا جامد می‌سازند و بعد مایکروب مورد نظر را در آن زرع

می کند. پایان ترین غلظت انتی بیوتیک که مانع نشونمای قابل دید مایکروب بعد از گذشت یک شب گردد به نام Minimal inhibitory Concentration (MIC) مایکروب یاد می‌گردد.

در تست انتشار اصول کیربی باور (Kirby Bauer) یک دیسک کاغذی را گرفته با یک مقدار انتی بیوتیک آنرا مغطوس (Impregnate) می‌سازند و بالای یک وسط Agar دار که در آن مایکروب مورد نظر بصورت متجانس زرع شده باشد می گذارند.

انتی بیوتیک از کاغذ بداخل وسط زرعیهٔ انتشار می‌نماید. هرقدر که از مرکز دیسک دور شویم غلظت انتی بیوتیک کمتر شده می رود. بعد از گذاشتن به درجه ای حرارت 35°c برای 18 تا 24 ساعت دیده می‌شود که نشونمای مایکروب به شکل دایروی به دور دیسک نهی گردیده است. قطر این دایره، در بین دیگر عوامل، تابع حساسیت مایکروب به انتی بیوتیک دیسک می‌باشد. منطقه ای بزرگ نهی مترافق است یا حساسیت زیاد مایکروب به مقابل انتی بیوتیک منطقه ای متوسط نهی مترافق است با حساسیت متوسط آن و عدم منطقه ای نهی مترافق است به مقاومت مایکروب به مقابل انتی بیوتیک داخل دیسک کاغذی یک ارتباط تقریباً خطی بین لوگارتم غلظت اصغری نهی (MIC) و قطر زون نهی شده که به این دو طریقه ای مختلف تعیین می‌گردد وجود دارد. اگر حساسیت مایکروب‌های مختلف به این دو طریق تعیین گردد، می‌توان یک Regression Line را بدست آورد.

انتخاب وسط زرعیه برای تست انتشار (Diffusion Test) بسیار مهم می‌باشد، زیرا انتی بیوتیک در اوساط زرعیه ای مختلف بصورت متفاوت انتشار می کند. بعضی اوساط زرعیه می‌تواند موادی داشته باشد که فعالیت انتی بیوتیک را نهی کند مانند Sulfonamide و Trimethoprim. غلظت Agar، ضخامت وسط زرعیه و PH آن نیز عوامل مهم می‌باشند. اگر ضخامت وسط زرعیه کم باشد منطقه ای نهی بصورت کاذب بزرگ می‌باشد و اگر زیاد باشد منطقه ای نهی بصورت کاذب کوچک می‌باشد.

اعتماد بر تست حساسیت به مقابل انتی بیوتیک به انجام دادن تست به اصول ستاندرد و کنترول کیفیت مناسب و درست آن تعلق دارد.

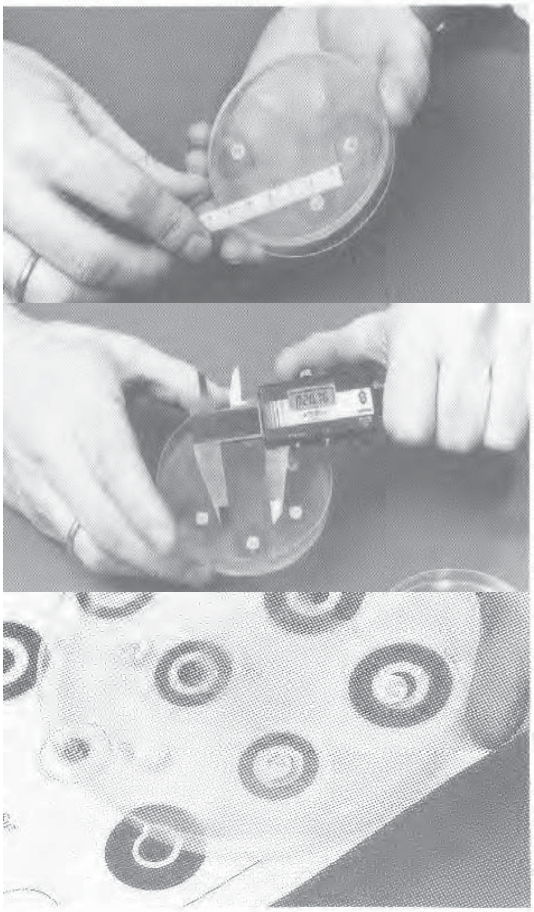
تعبیر تست حساسیت عادتاً به سه درجه داده می‌شود:

- حساس (S) اگر انتان توسط مایکروبی به وجود آمده باشد که احتمال دارد انتان با دادن

© AZEM PUBLICATIONS

مقدار یا Dosage عادی آن انتی بیوتیک شفا یاب گردد.

- متوسط Intermediate (I) که احتمال دارد انتان با مقدار بلند آن انتی بیوتیک جواب بدهد. یا وقتیکه انتان در جائی رخ داده باشد که غلظت انتی بیوتیک در آنجا زیاد گردد مانند طرق بولی.
- مقاوم Resistant (R) که مایکروب به دادن انتی بیوتیک، صرف نظر از مقدار دادن انتی بیوتیک و محل انتان، جواب شاید ندهد.



شکل ۲ – ۴ تست انتی بیوگرام و اندازه گیری قطر نواحی نهی شده مایکروب به مقابل انتی بیوتیک ها

نامگذاری حساس و مقاوم باکتری ها عموماً به سویه ای غلظت انتی بیوتیک ارتباط دارد که در سیرم بدست آمده بتواند. انتی بیوتیک هائیکه از طریق گرده اطراح می‌شوند در ادرار غلظت آنها به کرات بیشتر از سیرم می‌گردد. مایکروب‌هائیکه از انتان طرق بولی تجرید می‌شوند و حساسیت آنها به اصول انتشار در "اگر" متوسط یا حتی مقاوم باشد می‌تواند در طرق بولی به همان انتی بیوتیک حساس باشد.

به همین دلیل برای انتی بیوتیک که تنها برای تداوی انتان طرق بولی استعمال می‌گردند مانند Nitrofurantoin, Trimethoprim, Sulfonamide و Nalidixic Acid اندازه ای زون نهی شده ای آنها مطابق به غلظت آنها در ارار تعیین شده است.

تست حساسیت فعالیت انتی بیوتیک را به مقابل مایکروب‌ها در تحت شرایط لابراتوار اندازه می‌نمایند، اما کنترول انتان را نزد هر مریض تضمین نمی‌تواند. جذب، انتشار در نسج، میتابولیزم، اطراح و سمیت انتی بیوتیک های مختلف متفاوت می‌باشد که قبل از توصیه ای انتی

PUBLICATIONS

بیوتیک باید مد نظر گرفته شود.

برای بعضی انتی بیوتیک ها فاصله بین غلظت مؤثر و غلظت سمی آن در خون بسیار کم است. در خون مریضانیکه این انتی بیوتیک ها را می‌گیرند غلظت آنها باید شدیداً زیر نظارت گرفته شود، مخصوصاً اگر انتان شان شدید باشد و خود شان Dehydrated باشند و وظایف جگر یا گرده ای شان مختلف باشد.

دو سویه ای غلظت انتی بیوتیک اندازه می‌شود یکی غلظت اعظمی در سیرم که بعد از زرق بعدی از یک مدت کوتاه حاصل می‌شود و دیگر غلظت اصغری در سیرم که فقط پیش از زرق بعدی به آن می‌رسد.

اکثراً انتانات طرق بولی سفلی سلیم بوده حتی بدون تداوی می‌تواند خوب شود لذا انتی بیوتیک بسیار قیمتی یا سمی به ندرت ضروری می‌باشد و نباید یومیه راپور داده شود.

عبور انتی بیوتیک به داخل مایع نخاع شوکی (C.S.F) برای انتی بیوتیک های مختلف متفاوت می‌باشد. تنها انتی بیوتیک هاییکه تا رسیدن به غلظت مؤثر در تداوی در داخل مایع نخاع شوکی عبور نموده بتواند باید راپور داده شود. (8)

© AAN PUBLICATIONS

Penetration of antibiotics into the CSF		
Good	Intermediate	Poor or none
Chloramphenicol	Pencillin G	Clindamycin
Sulphamide	Ampicillin	Vancomycin
Trimethoprim	Ceftriaxone	Tetracycline
Metronidazole	Cefuroxime	Erythromycin
Isoniazid	Cefotaxime	Flucytosine
Rifampicin	Methicillin	Cephalothin
Pyrazinamide	Ethambutol	
Ethionamide		
Amphotericin B		

زرع برای انتی بیوگرام می‌تواند از نمونه ای که از مریض گرفته می‌شود صورت گیرد که به نام تست حساسیت مستقیم یا direct susceptibility test یاد می‌شود. یا از زرع خالص مایکروب صورت می‌گیرد که به نام تست حساسیت غیر مستقیم یا indirect susceptibility test یاد می‌شود.

تست حساسیت مستقیم دارای مزایای ذیل می‌باشد:

- راپور دادن را سرعت می بخشد.
- تجرید نمودن باکتری ها را در یک زرع مخلوط آسان می‌سازد.
- تعداد کم از انواع مقاوم را شناسائی می کند.

مشکل عمده درین است که بدست آوردن زرع ستاندرد برای تست حساسیت از نمونه ای مریض آسان نیست. اگر نموی مایکروب در زرع برای حساسیت مستقیم بسیار کم یا بسیار زیاد باشد، باید تست حساسیت تکرار شود و تخنیک ستاندرد برای هر یک از انواع مایکروب‌ها استعمال گردد.

دیسک های تجارتی برای تعیین انتی بیوگرام

هر دیسک تجارتیکه قطر و مقدار انتی بیوتیک مناسب داشته باشد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. دیسک ها به $-20^{o}c$ نگهداری شوند. دیسک هایی که مورد استفاده قرار می‌گیرند باید به 4 تا 8 درجه سانتی گراد گذاشته شوند. اما برای اینکه رطوبت بالای آن بصورت اصغری تشکیل گردد قبل از باز کردن گذاشته شود تا درجه ای حرارت اتاق را بگیرد.

تهیه ای دیسک انتی بیوگرام در لابراتوار

۱- از کاغذ فلتر یا کاغذ جاذب خوب دیسک ها به قطر 5 تا 6 ملی متر قطع می‌شود.

۲- بالای هر دیسک حرفی را بنویسید که محتویات انتی بیوتیک های مختلف را نشان بدهد.

۳- دیسک ها را برای یک ساعت به حرارت خشک به 160 درجه ای سانتی گراد تعقیم نمائید.

۴- طبق جدول ذیل محلولات رقیق انتی بیوتیک های مختلف را در محلل انتی بیوتیک بسازید:

© AAZEM PUBLICATIONS

Antibiotics	Dry substance per vial	Disk content	Dilution & added antibiotic solvent	Concentration in final dilution
Ampicillin	250 mg	10 µg	250 mg/10 ml,	
			25 mg/ml + 9 ml	
			2.5 mg /ml + 4 ml	500 µg/ml
Penicillin G	100.000 IU	10 µg	60 mg/10 ml	

	60 mg		6 mg/ml + 1 ml	
			3 mg/ml + 5 ml	500 µg/ml
Ceftriaxone,	250 mg	30 µg	250 mg/10 ml	
Cephalothin			6x25 mg/ml + 9 ml	
			15 mg/ml + 9 ml	1500 µg/ml
Cefuroxime	750 mg	30 µg	750mg/10 ml	
			75 mg/ml + 4 ml	
			15 mg/ml + 9 ml	1500 µg/ml
Chloramphenicol	1g	30 µg	1g/10 ml	
			3x100mg/ml+7ml	
			30 mg/ml+ 9 ml	
			3mg/ml+1 ml	1500 µg/ml
Ciprofloxacin	40 mg	5 µg	400mg/10 ml	
			400mg/ml+9ml	
			4 mg/ml+ 3 ml	
			1mg/ml+3 ml	250 µg/ml
Clindamycin	300 mg	2 µg	300mg/3 ml	
			100mg/10ml	
			10 mg/10 ml	
			1 mg/10 ml	100 µg/ml
Erythromycin	100 mg	15 µg	100 mg/4 ml	

© AAZEM PUBLICATIONS

			3x25 mg/ml+ 7 ml	
			7.5 mg/ml+ 9 ml	750 µg/ml
Gentamyein	20 mg	10 µg	20 mg/10 ml	
			2 mg/ml+ 3 ml	500 µg/ml
Oxacillin	250 mg	7 µg	250 mg/10 ml	
			25 mg/ml+ 9 ml	
			2.5 mg/ml+ 9 ml	
	100.000 IU	10 µg	0.25 mg/ml+4ml	50 µg/ml
piperacillin	1 g	100 µg	1 g/10 ml,	
			100 mg/ml+ 1 ml	5 mg/ml
			50 mg /ml+ 9 ml	
Streptomycin	500 mg	10 µg	500 mg/10 ml	
			50 mg/ml+ 9 ml	
			5 mg/ml+ 9 ml	500 µg/ml
Sulfisoxazole	1 mg	300 µg	1 g/10 ml	
			3x100 mg/ml+ 7 ml	
			30 mg/ml+ 1 ml	15 µg/ml
Tetracycline	500 mg	30 µg	500mg/10 ml	
			3x50 mg/ml+ 7 ml	
			15 mg/ml+ 9 ml	1500 µg/ml

© AAZEM PUBLICATIONS

۵- بالای هر دیسک 20 مایکرولیتر از محلول رقیق شده ای آخری هر انتی بیوتیک را باندازید.

۶- دیسک ها را در یک قطی پتری انداخته در داخل انکیوبتور تا فردا آن ها را خشک کنید. سرپوش پطری دیش را قدری بلند بگذارید.

۷- دیسک ها را در یک بوتل انداخته لیبل و تاریخ بزنید. سر بوتل باید خوب بسته باشد که هوا در آن داخل شده نتواند. برای نگهداری دراز مدت که از یک سال بیشتر نباشد به $-20^{o}c$ در فریزر آنرا نگهداری کنید.

۸- دیسکهاییکه از آن کار گرفته می‌شود تا یک هفته در یخچال نگهداری شده می‌تواند.

۹- بوتل دیسک ها را از فریزر یا یخچال یک تا دو ساعت پیشتر از استعمال بیرون بکشید تا درجه ای حرارت اتاق را قبل از باز کردن بگیرد. این کار مقدار رطوبت را که در بالای دیسک تراکم می‌کند به حد اصغری کاهش می‌دهد.

کنترول کیفیت: هر Batch دیسک را بالای مایکروب‌های کنترول امتحان کنید که‌کار می‌دهد یانه. پتوجن های هوازی که بالای Mueller-Hinton agar می رویند:

تخنیک که در ذیل شرح داده شده اشاره ای است به Kirby-Bauer method که در هرجا میسر است و خوب به ثبوت رسیده است.

© AAZEM PUBLICATIONS

Mueller-Hinton agar

۱. از یک Mueller-Hinton agar کنترول کیفیت شده طبق توصیه ای کمپنی تولید کننده یک وسط زرعیه بسازید.

۲. در قطی پطری دیش به عمق 3-4 ملی متر آنرا بریزید. یک قطی پطری دیش 9 سانتی متره تقریباً 20 تا 25 ملی لیتر وسط زرعیه به کار دارد، در حالیکه یک قطی پطری دیش 14 سانتی متره به 60 ملی لیتر ضرورت دارد. پطری دیش را در یک سطح هموار گذاشته معطل شوید تا منجمد شود.

۳. پطری دیش را خشک نموده به 2-4 درجه ای سانتی گراد نگهداری کنید PH وسط به درجه ای حرارت اتاق باید 7.2 تا 7.4 باشد.

ستاندرد مکدریت (Turbidity standard)

برای اینکه معلق مایکروب را که زرع می نمایید عیار سازید، یک ستاندرد barium sulphate turbidity standard را باید بسازید.

اول محلولات ذیل را بسازید:

0.048 M $BaCl_2$ solution	
$BaCl_2, 2H_2O$	1.175 g
Distilled water	100 ml
0.36 N H_2SO_4 solution	
H_2SO_4, conc	1 ml
Distilled water	100ml

بعد محلولات ذیل را به هم یکجا بسازید.

0.048 M $BaCl_2$	0.5 ml
0.36 N H_2SO_4	99.5 ml

در تیوب ها در هر یک 5 ملی لیتر توزیع نموده سر آنها را با ستاپر رابری محکم کنید. قبل از استعمال تیوب را شدیداً شور بدهید.

این ستاندرد باید در تاریکی به درجه ای حرارت اتاق نگهداری شود و تا شش ماه نگهداری شده می‌تواند. (8)

© AZEM PUBLICATIONS

عملیه

۱) از یک زرع یک شبه 4 تا 5 کالونی خوب جداگانه ای هم شکل را انتخاب کنید. نوک سوزن زرع را در قسمت بالائی کالونی تماس بدهید. در داخل آن باید سوزن نرود. در تیوبیکه در آن 5 ملی لیتر محلول 0.9 فیصد سودیم کلورایدباشد انتقال بدهید.

۲) مکدریت آنرا با مکدریت ستاندرد مقایسه کنید با علاوه کردن مایکروب یا محلول نمک معقم مکدریت آنرا با مکدریت ستاندرد برابر نمائید. برای اینکه نموی مایکروب‌ها متجانس باشد و کولونی ها تقریباً به تماس یکدیگر بیایند باید مکدریت خوب عیار شود.

۳) مایکروب را در Meuller Hinton agar plate ذیلاً زرع کنید:

- دو قطره ای معلق مایکروب را در بالای Agar باندازید توسط Spreader شیشه ای آنرا طوری پخش کنید که تمام سطح Agar را بگیرد.
- یک سواب معقم پنبه ای را در معلق مایکروب غوطه کنید. مایع اضافگی را با فشار دادن شدید پنبه به جدار تیوب و دور دادن آن از پنبه دور کنید. سواب را در تمام سطح Agar بمالید.

۴) سرپوش قطی پتری را بالای آن گذاشته برای 3 الی 5 دقیقه آنرا بگذارید تا قبل از گذاشتن دیسک انتی بیوتیک مایع اضافگی سطح توسط Agar جذب گردد.

۵) توسط یک فورسپس یا سوزن دیسک های انتی بیوتیک را اقلاً 24 ملی متر دور از یکدیگر در بالای Agar زرع شده بگذارید. در قطی پتری های 9 سانتی متره بصورت اعظمی پنج دیسک (برای مایکروب‌های Fastidious چهار دیسک). اگر قطی پتری های 14 سانتی متر استعمال شده باشد بصورت اعظمی 12 دیسک (برای مایکروب‌های Fastidious نه (9)

دیسک استعمال می‌گردد. وقتیکه یک دیسک در یکجا گذاشته می‌شود باید شور داده نـه شـود، زیرا به مجرد گذاشتن دیسک انتشار انتی بیوتیک شروع می‌شود.

۶) قطی پتری ها را در انکیوبتور به 35 درجه ای سانتی گـراد بگذاریـد. طـول مـدت آن ذیـلاً بـه مایکروب‌های تحت امتحان تعلق دارد:

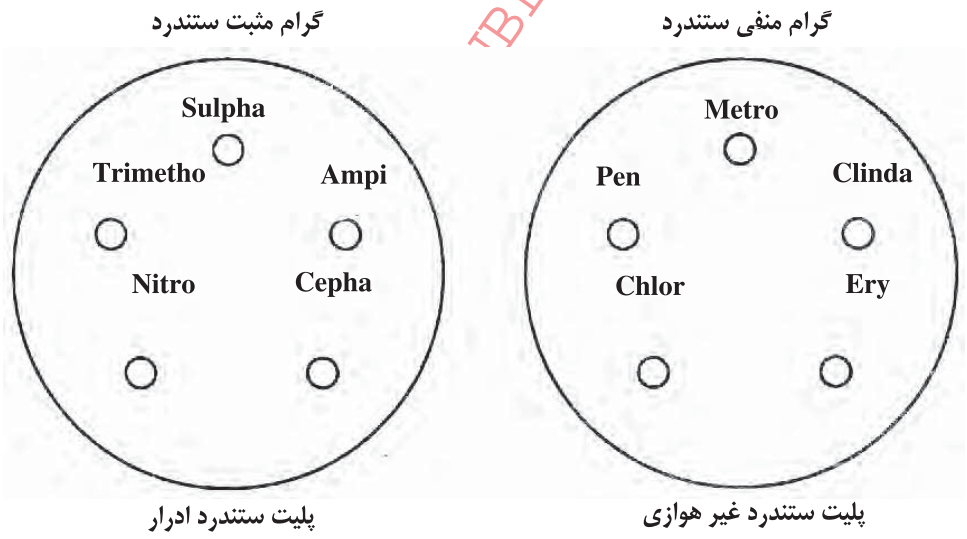
- *Staphylococci & Enterococci: 24 hours*
- *Haemophilus influenzae, Streptococcus, Pneumoniae & Neisseria gonorrhoeae: 20-24 hours in 5-7% carbon dioxide or in a candle jar*
- *All other species: 16-18 hours*

۷) اگر زرع درست صورت گرفته باشد بعد از 18 الی 24 ساعت کالونی هـا به اندازه ای مـی‌شـود که در بین آنهـا Agar محـض قابـل دیـد مـی‌باشـد و تمـام زون هـای نهـی شـده بـصورت متحدالشکل دایروی می‌باشد. اگر نموی مایکروب‌ها بسیار ضخیم یا بسیار نازک باشد معاینـه را تکرار کنید.

۸) قطر هر زون نهی شده (به شمول قطر دیسک) را به ملی متـر انـدازه نمائیـد و نتیجـه را طبـق جدول تعبیر نمائید.

۹) نتیجه را برای قطی پتری test و کنترول ثبت نمائید.

BLICATIONS



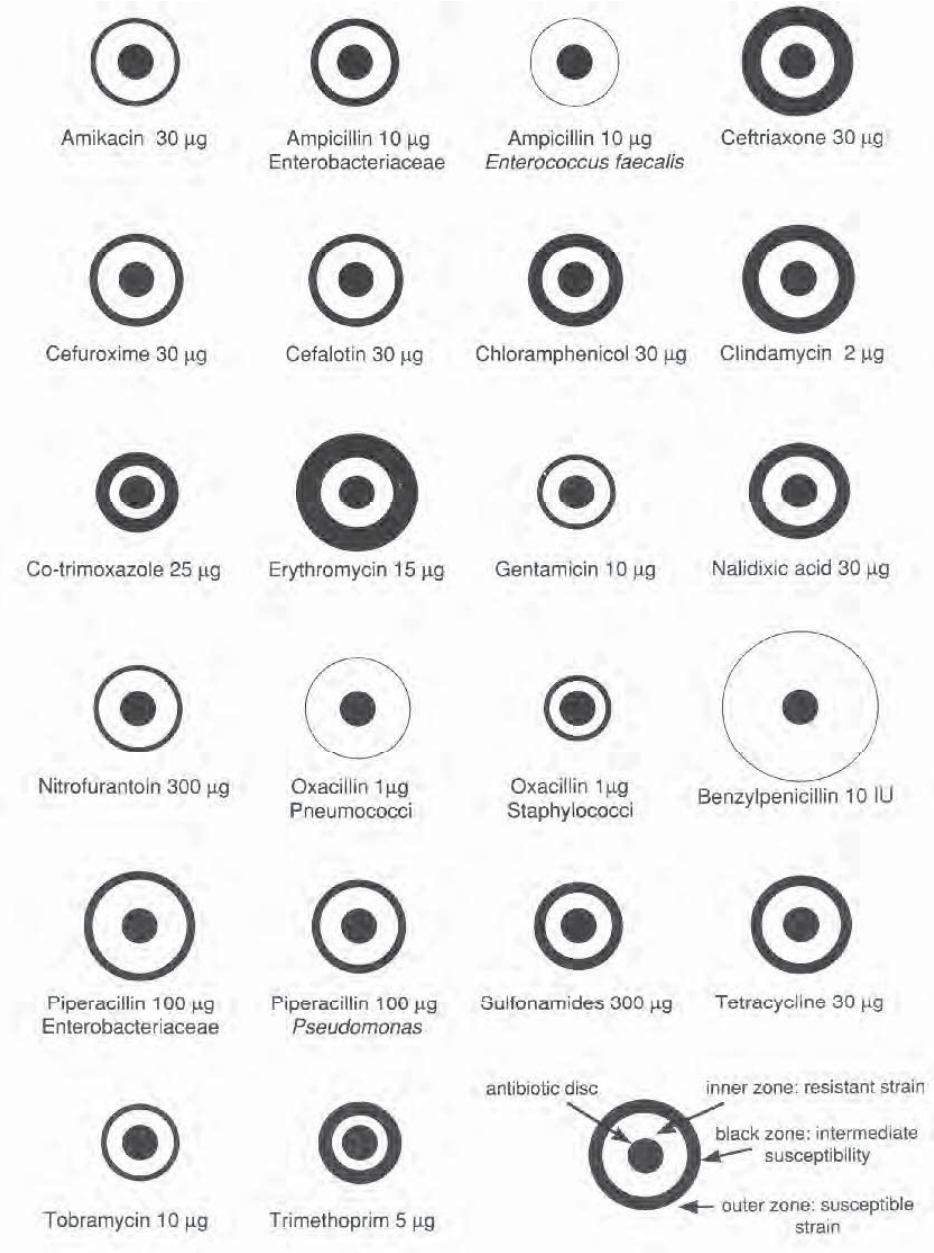
شکل ۲ – ۵

۱۰) بعداز گذاشتن در انکیوبتور با استفاده از یک خطکش قطر منطقه ای نهی شده را بـه ملـی متـر اندازه نمائید.

۱۱) بسیار کولونی های بزرگ که در داخل ناحیه ای نهی شده می‌روند باید دوبـاره زرع و شناسـائی گردند و انتی بیوگرام آن دوباره تعیـین شـود. بعـضی اوقـات انـواع مـایکروب‌هـای Protesu

mirabilis and P. vulgaris می‌تواند در منطقه ای نهی شده گردش نمایند لاکن هنوز هم حساس می‌باشند. با بعضی Batch های Mueller – Hinton Agar در منطقه ای نهی شده ای نادیده گرفته شود و تنها حاشیهٔ نموی ضخیم برای تعیین منطقه ای نهی شده گرفته شود.

۱۲)منطقه ای نهی شده را تعبیر نموده راپور مایکروب را حساس (S) متوسط (I) و مقاوم (R) بدهید.



شکل ۲ – ۶ اندازه نواحی ایکه توسط انتی بیوتیک ها نهی شده می‌توانند.

Antibiotic or chemotherapeutic agent	Disc potency	Diameter of zone of inhibition (mm) Resistant	Intermediate/ moderately susceptible	Susceptible
amikacin	30 µg	≤14	15–16	≥17
ampicillin when testing:				
– Enterobacteriaceae	10 µg	≤13	14–16	≥17
– *Enterococcus faecalis*	10 µg	≤16	—	≥17
benzylpenicillin when testing staphylococci	10 IU	≤28	—	≥29
ceftriaxone	30 µg	≤13	14–20	≥21
cefuroxime sodium	30 µg	≤14	15–17	≥18
cefalotin	30 µg	≤14	15–17	≥18
chloramphenicol	30 µg	≤12	13–17	≥18
clindamycin	2 µg	≤14	15–20	≥21
co-trimoxazole	25 µg	≤10	11–15	≥16
erythromycin	15 µg	≤13	14–22	≥23
gentamicin	10 µg	≤12	13–14	≥15
nalidixic acid	30 µg	≤13	14–18	≥19
nitrofurantoin	300 µg	≤14	15–16	≥17
oxacillin when testing:				
– staphylococci	1 µg	≤10	11–12	≥13
– pneumococci	1 µg	≤19	—	≥20
piperacillin when testing:				
– Enterobacteriaceae	100 µg	≤17	18–20	≥21
– *Pseudomonas*	100 µg	≤14	15–17	≥18
sulfonamides	300 µg	≤12	13–16	≥17
tetracycline	30 µg	≤14	15–18	≥19
tobramycin	10 µg	≤12	13–14	≥15
trimethoprim	5 µg	≤10	11–15	≥16

شکل ۲ – ۷ اندازه نهی انتی بیوتیک ها به ملی متر

باکتری‌های آنایروبیک (Anaerobic bacteria)

امتحان حساسیت باکتری‌های آن آیروبیک توسط disk diffusion method تنها وقتی امکان پذیر است اگر قطر منطقه ای نهی شده بعد از 24 ساعت در انگیوبتور اندازه شود. حتی درین صورت the agar and broth dilution method بیشتر قابل اعتماد است و در تمام واقعاتیکه انتان شان وخیم و بحرانی است باید استعمال شود.

عملیه

۱) آنایروبیک هایی که به سرعت می رویند مانند Bacteroids fragitis و Clostridium در وسط Mueller-Hinton و باکتری‌های ایروبیک در وسط Blood Agar کشت می‌شوند تا بعد از 24 ساعت به اندازهٔ کافی برویند.

۲) دیسک های کاغذی Penicillin، Metronidazole، Chloramphenicol و Clindamycine را بالای پطری دیش کشت شده بگذارید و آنرا در Aneorobic Jar به درجهٔ حرارت 35°c بگذارید.

۳) قطر منطقه ای نهی شده را توسط خط کش یا Calliper به ملی متر اندازه کنید.

۴) مایکروب‌های آن آیروبیک تنها حساس (S) و مقاوم (R) راپور داده می‌شود. حساسیت بین البینی یا intermediate استعمال نمی‌شود.

۵) به منظور تعبیر نتایج قطر منطقه های نهی شده ذیلاً داده شده است:

Zone diameter in mm	Resistant	Sensitive
Penicillin	<19	>20
Ampicillin	<24	>25
Cephalosporin	<24	>25
Piperacillin	<29	>30
Clindamycin	<19	>20
Chloramphenicol	<34	>35
Erythromycin	<24	>25
Tetracycline	<29	>30
Metronidazole	<19	>20

© AAZEM PUBLICATIONS

Extended Spectrum β–lactamases (ESBLs) عبارت از انزایم هائی اند که توسط باسیل های گرام منفی تولید می‌شوند که قدرت غیر فعال ساختن انتی بیوتیک های β- Lactam را که دارای گروپ Oxyimino باشند دارند، مانند Ceftizoxime، Ceftriaxone، Cefotaxime، Cefuroxime، Cefpodoxime، Cefpirome و Ceftazidime. اینها به نام Spectrum Extended یاد می‌شوند، زیرا یکتعداد زیاد انتی بیوتیک های β- Lactam را هایدرولیز می‌نمایند.

ESBLs توسط Plasmid از یک مایکروب بر مایکروب دیگر انتقال می‌نماید و عموماً در مایکروب‌هایی از قبیل Proteus Mirabilis، E. Coli، Klebsilla Pneumonia و سلمونیلا پیدا می‌شود.

توصیه می‌شود که تمام لابراتوار های مایکروبیولوژی سریری تمام باکتری‌های انتریک گرام منفی را برای مقاومت به مقابل Cefpodoxime امتحان نمایند. اگر حساسیت آن به مقابل Cefpodoxime کم شده باشد تست برای تولید انزایم ESBL باید انجام شود. تمام انواع تولید کنندهٔ ESBL باید راپور داده شود که به مقابل تمام Penicillin ها و Cephalosporin ها مقاوم است به استثناء Cephamycin.

لابراتوار مایکروبیولوژی وقتیکه یک نوع مایکروب ESBL-producing را می یابد بصورت واضح به دوکتور معالج راپور بدهد و اهتمامات لازمه گرفته شود تا جلو پخش آن به دیگر مریضان شفاخانه گرفته شود.

دو میتود تائید کننده برای تولید ESBL عادتاً استعمال می‌شود:

۱- معاینهٔ Synergy بین Cephalosporin و Clavulanic Acid یا (میتود Double Disc).

۲- مقایسه نمودن منطقه ای نهی شده ای Ceftazidime یا Cefpodoxime با یا بدون Clavulanic Acid (میتود Combined Disc).

© AAZEM PUBLICATIONS

میتود دیسک دو چند (Double Disc Method)

۱. از یک زرع خالص یک شبه بالای Mac Conkey agar چهار الی پنج کولونی را به یک تیوب دارای 0.9 فیصد سودیم کلورایـد باشد انتقال بدهید و مکدریت معلق به مکدریت 0.5 Mcfarland standard برابر ساخته شود که با علاوه کردن مایکروب یا محلول نمک صورت می‌گیرد.

۲. یک سواب را در معلق مایکروب غوطه نموده مایع اضافگی را با فشار دادن پنبه ای سواب جدار تیوب بالاتر از مایع بر طرف نمائید. سواب را به تمام سطح وسط زرعیه Mueller Hinton Agar– بمالید و بعد آنرا برای خشک شدن بگذارید اما نه بیشتر از 15 دقیقه.

۳. دسک که دارای Amoxicillin – Clavulanic Acid (20+10 Mg) باشد و دیسک Ceftazidime را به فاصله ای 25 تا 30 ملی متر بالای Agar بگذارید یک دیسکی که دارای

Cefotaxime یـــا Cefpodoxime باشـد مـی‌توانـد در مقـــابل دیـسک Amoxicilin + Clavulanic Acid گذاشته شود.

۴. پطری دیش تا فردا به 35 درجهٔ سانتی گراد گذاشته می‌شود.

۵. اگر منطقه ای نهی شده Cephalosporine با علاوه شدن Clavulanic Acid توسـعه یافتـه باشد از آن تولید ESBL استنباط می‌گردد.

۶. مایکروب‌هایی که REM و SHVESBLs تولیـد مـی‌نماینـد بـا دیـسک هـای ceftazidime cefotaxime و cefpodoxime نتیجه ای مثبت می‌دهند، در حالیکه آنهائیکه انـزایم CTX-M تولید نموده اند تنها با دیسک های cefotaxime و cefpodoxime نتیجه ای مثبت می‌دهنـد. تولید کننده ای AmpC و اکثر تولید کنندگان فوق العاده ای انزایم K1 همرای تمـام ایـن سـه دیسک نتیجه ای منفی می‌دهند.

Combined disc Method

۱. وسط Mueller – Hinton agar را مانند فوق کشت کنید. دو دیسک دارای cefpodoxime (10 µg) و cefpodoxime + clavulanic acid (10 +1 µg) را به فاصله ای 24 ملی متـر بالای آن بگذارید.

۲. پطری دیش را به 35 درجه ای سانتی گراد برای 16 الی 18 سـاعت بـرای نمـوی confluent آنرا معاینه کنید.

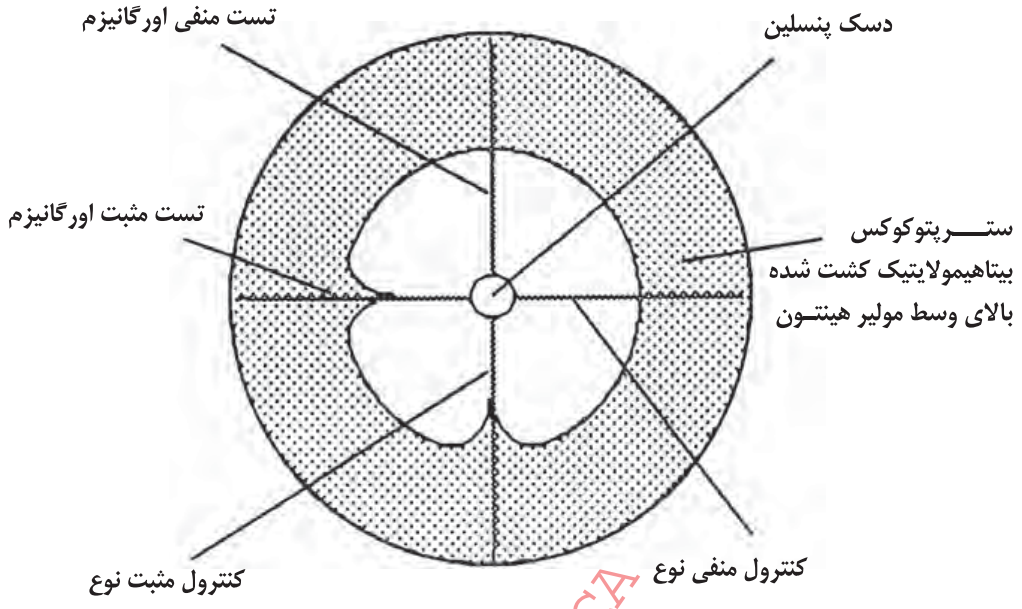
۳. قطر منطقه ای نهی شده را به ملی متر اندازه نمائید.

۴. اگر منطقه ای نهی شده ای cefpodoxime با Clavulanic Acid بـه انـدازه ای بیـشتر از 5 ملی متر از منطقه ای نهی شـده ای cefpodoxime بـدون clavulanic Acid بزرگتـر باشـد، مایکروب مذکور تولید کننده ای انزایم ESBL می‌باشد.

۵. این میتود با استفاده از ESBL – producing Klebsiella امتحان و تحقیق شـد نتیجـه داده sensitivity و specificity آن 100% بود.

۶. NCCLs توصیـــه می‌نماید کـــه منطقه ای نهـــی شده ای ceftazidime (30 µg) با منطقـه ای نهی شده Ceftazidime + Clavulanic Acid (30+10 µg) باید مقایسه گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS



شکل ۲-۸

© AAZEM PUBLICA

Book Name	Medical Microbiology I
Author	Prof. Dr. Obaidullah Obaid
Publisher	Kabul Medical University
Website	www.kmu.edu.af
Printing	Aazem Printing House, Kabul,Afghanistan / 0799572817
Number	2000
Published	2012
Download	www.ecampus-afghanistan.org

This publication was financed by the German Academic Exchange Service (DAAD) with funds from the German Federal Foreign Office.

Administrative and Technical support by Afghanic organization.

The contents and textual structure of this book have been developed by concerning author and relevant faculty and being responsible for it. Funding and supporting agencies are not holding any responsibilitis.

If you want to publish your text books please contact us:
Dr. Yahya Wardak, Ministry of Higher Education, Kabul
Office: 0756014640
Email: wardak@afghanic.org

© AAZEM PUBLICATIONS

ISBN:

This book has been published 2000 copies in full agreement with the **author** and **Aazem Publications**.

All copy rights reserved by **Aazem Publications**

© AAZEM PUBLICATIONS

Message from the Ministry of Higher Education

In the history, book has played a very important role in gaining knowledge and science and it is the fundamental unit of educational curriculum which can also play an effective role in improving the quality of Higher Education. Therefore, keeping in mind the needs of the society and based on educational standards, new learning materials and textbooks should be published for the students.

I appreciate the efforts of the lecturers of Higher Education Institutions and I am very thankful to them who have worked for many years and have written or translated textbooks.

I also warmly welcome more lecturers to prepare textbooks in their respective fields. So, that they should be published and distributed among the students to take full advantage of them.

The Ministry of Higher Education has the responsibility to make available new and updated learning materials in order to better educate our students.

At the end, I am very grateful to the German Federal Foreign Office, the German Academic Exchange Service (DAAD) and all those institutions and people who have provided opportunities for publishing medical textbooks.

I am hopeful that this project should be continued and publish textbooks in other subjects too.

Sincerely,

Prof. Dr. Obaidullah Obaid

Minister of Higher Education

Kabul, 2012

© AAZEM PUBLICATIONS

© AAZEM PUBLICATIONS

Publishing of textbooks & support of medical colleges in Afghanistan

Honorable lecturers and dear students,

The lack of quality text books in the universities of Afghanistan is a serious issue, which is repeatedly challenging the students and teachers alike. To tackle this issue we have initiated the process of providing textbooks to the students of medicine. In the past two years we have successfully published and delivered copies of 60 different books to the medical colleges across the country.

The Afghan National Higher Education Strategy (2010-1014) states:

"Funds will be made ensured to encourage the writing and publication of text books in Dari and Pashto, especially in priority areas, to improve the quality of teaching and learning and give students access to state-of- the-art information. In the meantime, translation of English language textbooks and journals into Dari and Pashto is a major challenge for curriculum reform. Without this, it would not be possible for university students and faculty to acquire updated and accurate knowledge"

© AZEM PUBLICATIONS

The medical colleges' students and lecturers in Afghanistan are facing multiple challenges. The out-dated method of lecture and no accessibility to update and new teaching materials are main problems. The students use low quality and cheap study materials (copied notes & papers), hence the Afghan students are deprived of modern knowledge and developments in their respective subjects. It is vital to compose and print the books that have been written by lecturers. Taking the critical situation of this war torn country into consideration, we need desperately capable and professional medical experts. Those, who can contribute in improving standard

of medical education and public health throughout Afghanistan, thus enough attention, should be given to the medical colleges.

For this reason, we have published 60 different medical textbooks from Nangarhar, Khost, Kandahar, Herat, Balkh & Kabul medical colleges. Currently we are working on to publish 60 more different medical textbooks, a sample of which is in your hand. It is to mention that all these books have been distributed among the medical colleges of the country free of cost.

As requested by the Ministry of Higher Education, the Afghan universities, lecturers & students they want to extend this project to non-medical subjects like (Science, Engineering, Agriculture, Economics & Literature) and it is reminded that we publish textbooks for different colleges of the country who are in need.

As stated that publishing medical textbooks is part of our program, we would like to focus on some other activities as following:

© AAZEM PUBLICATIONS

1. Publishing Medical Textbooks

This book in your hand is a sample of printed textbook. We would like to continue this project and to end the method of manual notes and papers. Based on the request of Higher Education Institutions, there is need to publish about 100 different textbooks each year.

2. Interactive and Multimedia Teaching

In the beginning of 2010, we were able to allocate multimedia projectors in the medical colleges of Balkh, Herat, Nangarhar, Khost & Kandahar. To improve learning environment the classrooms, conference rooms & laboratories should also be equipped with multimedia projectors.

3. Situational Analysis and Needs Assessment

A comprehensive need assessment and situation analysis is needed of the colleges to find out and evaluate the problems and future challenges. This would facilitate making a better academic environment and it would be a useful guide for administration and other developing projects.

4. College Libraries

New updated and standard textbooks in English language, journals and related materials for all important subjects based on international standards should be made available in the libraries of the colleges.

5. Laboratories

Each medical college should have well-equipped, well managed and fully functional laboratories for different fields.

6. Teaching Hospitals (University Hospitals)

Each medical college should have its own teaching hospital (University Hospital) or opportunities should be provided for medical students in other hospitals for practical sessions.

7. Strategic Plan

It would be very nice if each medical college has its own strategic plan according to the strategic plan of their related universities.

I would like to ask all the lecturers to write new textbooks, translate or revise their lecture notes or written books and share them with us to be published. We assure them quality composition, printing and free of cost distribution to the medical colleges.
I would like the students to encourage and assist their lecturers in this regard. We welcome any recommendations and suggestions for improvement.

© AAZEM PUBLICATIONS

We are very thankful to the German Federal Foreign Office & German Academic Exchange Service (DAAD) for providing funds for 90 different medical textbooks and the printing process for 50 of them are ongoing. I am also thankful to Dr. Salmaj Turial from J. Gutenberg University Mainz/Germany, Dieter Hampel member of Afghanic/Germany and Afghanic organization for their support in administrative & technical affairs.

I am especially grateful to GIZ (German Society for International Cooperation) and CIM (Centre for International Migration & Development) for providing working opportunities for me during the past two years in Afghanistan.

In Afghanistan, I would like cordially to thank His Excellency the Minister of Higher Education, Prof. Dr. Obaidullah Obaid, Academic Deputy Minister Prof. Mohammad Osman Babury and Deputy Minister for Administrative & Financial Affairs Associate Prof. Dr. Gul Hassan Walizai, the universities' chancellors and deans of the medical colleges for their cooperation and support for this project. I am also thankful to all those lecturers that encouraged us and gave all these books to be published.

At the end I appreciate the efforts of my colleagues Dr. M. Yousuf Mubarak, Abdul Munir Rahmanzai, Ahmad Fahim Habibi, Subhanullah and Hematullah in publishing books.

Dr Yahya Wardak
CIM-Expert at the Ministry of Higher Education, November, 2012
Karte 4, Kabul, Afghanistan
Office: 0756014640
Email: textbooks@afghanic.org
wardak@afghanic.org

© AZAM PUBLICATIONS

ABSTRACT

Medical Microbiology is a basic subject which deals with different microorganisms that has medical importance. It has been taught in the Medicine, Dentistry, Nursing, Public Health, Allied Health, Technology and Pharmacy colleges.

The first volume of Medical Microbiology is prepared according to the curriculum of Kabul Medical University and has four sections and 9 chapters (Morphology and Physiology of Microorganisms, Normal Microbial Flora, Infections, Immunology, Genetic of Microbes, Antimicrobial Therapy and Systemic infections).It contains essential information about those microorganisms which can cause diseases inside the human body. In addition it is designed with pictures and diagrams.

Since infectious diseases are very common in Afghanistan, I strongly recommend the studying of this book for medical students, young doctors and medical technologists.

All efforts have gone into equipping each section of this book with required pictures, collecting all information from a valid reference.

At the end, I am also thankful to German Ministry of foreign affairs and DAAD for publishing this book.

© AZEM PUBLICATIONS

Sincerely,

Prof. Dr Obaidullah Obaid
Minister of Higher Education and
Head of Microbiology Department,
Kabul Medical University

بیوگرافی مختصر پوهاند دوکتور عبیدالله عبید

پوهاند دوکتور عبیدالله عبید ولد عبدالوهاب خان در سال ۱۳۴۷ هجری شمسی در یک خانواده روشنفکر و مسلمان در شهر کابل تولد گردیده، پس از فراغت أز پوهنحی ستوماتولوژی پوهنتون طبی کابل در سال ۱۳۶۹ به سویه ماستر، بعد از امتحان مؤفقانه کادر علمی به صفت استاد در دیپارتمنت مایکروبیولوژی و پرازیتولوژی پوهنتون طبی کابل شامل که بعد از سال ۱۳۷۲ الی قوس ۱۳۸۹ به حیث شف این دیپارتمنت ایفای وظیفه کرده است.

از سال ۱۳۷۲ الی ۱۳۷۶ برعلاوه تدریس، به حیث مدیر عمومی تدریسی در پوهنتون طبی کابل، از سال ۱۳۸۱ الی ختم سال ۱۳۸۲ به حیث معاون امور محصلان پوهنتون طبی کابل، از سال ۱۳۸۳ الی سنبله سال ۱۳۸۴ به حیث مشاور رییس جمهور در امور اجتماعی و از سال ۱۳۸۴ الی سال ۱۳۸۹ به حیث رییس پوهنتون طبی کابل مصروف خدمت به اولاد وطن بود. در سال ۲۰۰۳ برای مدت چهار ماه جهت کسب آموزش میتودهای جدید درسی در پوهنتون لومالیندا ایالات متحده امریکا و در سال ۲۰۰۷ برای مدت سه ماه جهت کسب انکشاف مهارت‌های بین‌المللی در پوهنتون نبراسکا ایالات متحده امریکا به ادامه تحصیل پرداخته و از هردو پوهنتون سرتیفکیت‌های مساعد و مؤفق به دست آورد.

موصوف برای مدت یکسال به حیث رییس بورد توقف توبرکلوز افغانستان فعالیت نموده و مدت یکسال و سه ماه به حیث سفیر کبیر و نماینده فوق‌العاده رییس جمهور افغانستان در جمهوری اسلامی ایران ایفای وظیفه کرده است.

وی وکیل منتخب مردم شهر کابل در لویه جرگه اضطراری و وکیل منتخب مردم شهر کابل در لویه جرگه تصویب قانون اساسی نیز بودند.

محترم پوهاند دوکتور عبیدالله عبید بعد از معرفی از سوی رییس جمهور کشور به حیث وزیر تحصیلات عالی با کسب ۱۹۹ رأی اعتماد از سوی اعضای پارلمان به حیث وزیر تحصیلات عالی تقرر حاصل نمودند.

© AZEM PUBLICATIONS

مقدمه

خداوند عزوجل را سپاس بی‌پایان که بنده را توفیق عنایت فرمود تا تألیف کتاب درسی دست داشته را که از طرف دیپارتمنت مایکروبیولوژی با تائید شورای علمی منحیث یک اشد ضرورت دیپارتمنت برای تدریس محصلان صنوف دوم پوهنحی‌های طب معالجی، اطفال و منحیث اثر اصلی این جانب برای ترفیع رتبه علمی ام از رتبه پوهنوال به رتبه پوهاند برایم وظیفه سپرده شده بود، به پایان برسانم. از آنجائیکه موجودیت کتاب درسی در شرایط فعلی که دسترسی به مأخذ معتبر و وارد بودن به یکی از لسان‌های خارجی برای هر محصل مقدور نیست، ضروری پنداشته می‌شود تا دیپارتمنت جهت رفع این معضله کتاب درسی داشته باشد، تا استاد و محصل بتواند از آن جهت حل معضلات شان منحیث یک کتاب درسی استفاده نمایند. تاکنون دیپارتمنت مایکروبیولوژی کتاب مکملی که در هر دو سمستر تدریس شود نداشت، که از لکچر نوت‌ها استفاده می‌گردید. خوشبختانه به یاری ایزد متعال اینک کتاب مکمل درسی مضمون مایکروبیولوژی تهیه و به دسترس محصلان عزیز قرار داده می‌شود.

ما در جهان مملو از مایکرواورگانیزم‌ها مختلفه زیست می‌نمائیم که بعضی از این مایکروب‌ها برای انسان‌ها ایجاد بیماری می‌نمایند، که حتی حوادث ناگوار را که حیات مریضان را تهدید می‌نمایند، در قبال دارد. بناً دانستن مایکروبیولوژی طبی برای اهل طب از ضرورت‌های مهم به شمار می‌رود.

هویداست که انکشاف مایکروبیولوژی ارتباط ناگستنی با دیگر شعبات طبابت دارد و کشفیات در بخش‌های مختلفه علوم طب با تحولات و پیشرفت‌های در عرصه مایکروبیولوژی توأم می‌باشد. براساس این دست آورد، کتاب جدید مایکروبیولوژی مطابق به آخرین تحولات علم طب تحریر و تغییرات معاصر مدنظر گرفته شده است.

مطالب این کتاب مطابق مفردات جدید درسی محصلین پوهنتون طب کابل بوده و از طرف دیگر تجارب نشاندهنده آنست که امراض مختلف مایکروبی نظر به شرایط محیطی و یا سایر معیارات در مناطق مختلف شیوع متفاوت داشته و ایجاب می‌نماید که در تحریر این کتاب به پتالوژی مملکت توجه خاص مبذول گردد، که این موضوع نیز در تحریر این کتاب در نظر گرفته شده است.

© AZEM PUBLICATIONS

این کتاب حاوی چهار بخش که عبارت از، اساسات مایکروبیولوژی، باکتریولوژی، وایرولوژی و مایکولوژی در سی و چهار فصل با داشتن تصاویر رنگه که خوبتر ذهن‌نشین محصلان عزیز می‌گردد، با استفاده از مأخذ جدید منجمله انترنیت به رشته تحریر در آمده و کوشش به عمل آمده تا در موارد عوامل مرضی، خصوصیات مایکروبیولوژیکی، پتوجنیزس، لوحه‌کلینیکی، تشخیص لابراتواری، تداوی و وقایه معلومات همه جانبه ارائه گردد.

مأخذ در متن به شکل تحریر گردیده، که صرف به داخل قوس نمبر مأخذ ذکر گردیده درحالیکه اشکال با مخفف ریفرینس (R) و نمبر ماخذ به داخل قوس نگاشته شده است.

از خوانندگان محترم این کتاب صمیمانه تقاضا می‌گردد تا کمبودی‌ها و کاستی‌های کتاب را به دیده اغماض نگریسته و نظریات اصلاحی خویش را به مؤلف ارسال دارند.

امیدوارم آرزوی را که بنده از زحمات و تلاش‌های شباروزی خود دارم و آن جز تربیه سالم اولاد وطن و اعتلای میهن عزیزم افغانستان نیست، بر آورده شده بتواند.

در خاتمه از رهنمائی‌های استادان محترم هر یک پوهاند دوکتور سید الف شاه "غضنفر"، پوهاند دوکتور محمد افضل "انور"، پوهاند دوکتور سید عبدالله "هاشمی" و پوهاند دوکتور حیات الله "حیات" ابراز سپاس و امتنان نموده و نیز از محترم داکتر اجمل "عازم" به پاس زحمات و اهتمام شان در ویرایش و طبع آن اظهار سپاس نمایم.

با احترام

پوهاند دوکتور عبیدالله "عبید"

© AAZEM PUBLICATIONS

تاریخچه مختصر علم مایکروبیولوژی

مایکرواورگانیزم‌ها پیشتر از سه قرن قبل کشف گردیده بودند اما الی اواسط قرن نـزدهم کـه مایکروبیولوژی در آن به علم تجربوی مبدل گردید، معلومات کمی در مورد مایکروب‌ها در دست بود. بعد از اواسط قرن نزدهم، الی‌الحال، پیشرفت‌های فزاینده‌یی درین عرصه صورت گرفته کـه همچنان ادامه دارد.

حیوانات کوچک لیون هوک

انتونی لیون هوک، تجار هالندی، نخستین شخصی بود کـه مایکرواورگـانیزم‌هـا را مـشاهده نمود. وی بصورت تفریحی مایکروسکوپ‌های کوچک را می‌ساخت. بعد ازینکه از طریق عدسـیه مایکروسکوپ دستی خود مشاهدات انجام داد، وی عالم مخلوقات غیر مرئی را مشاهده نمود که نام آنها را حیوانات کوچک گذاشت. این حیوانات کوچک در هر جا موجود بودند، در قطرات آبی، در خاک و در نمونه های حاصله از خراشیدن دندان ها. وی در سـال ۱۶۷۴مـیلادی رسـم‌هـای مفصلی را در مورد کشفیات خود بـه جمعیـت شـاهی لنـدن فرسـتاد. همـه رسـم هـا و ۹ پایـه مایکروسکوپ از جمله ۵۰۰ مایکروسکوپ های دست ساخته وی هنـوز هـم موجـود انـد. قـوی ترین مایکروسکوپی که توسط وی ساخته شده بود، دارای بزرگ نمایی به انـدازه ۲۶۶ بـود کـه می‌توانست باکتری‌های نسبتاً کوچک را به اندازه نقطه معمول در کلمات، نشان دهـد. امـا بـا در نظرداشت تفصیلات موجود در رسم‌های وی، می‌توان گفـت کـه وی بایـد مایکروسـکوپ‌هـای قوی‌تری را ساخته باشد که مفقود گردیده اند.

البته وی اولین شخصی نبود که مایکروسکوپ ها را بسازد اما وی مایکروسکوپ‌های دسـتی بهتری ساخت و با مهارت بیشتر از آن استفاده به عمـل آورد. وی بـا حـسادت از مایکروسـکوپ خود که دارای عدسیه واحد بود، استفاده به عمل می آورد و مایکروسکوپ‌هـای مرکـب همـان زمان را استعمال نکرد. وی از فروش مایکروسکوپ‌های خود امتناع بعمل آورده و نیز دیگـران را در مورد آن آموزش نداد. در نتیجه الی ۲۰۰ سال دیگرهم کـسی نتوانـست مایکروسـکوپ‌هـای قوی مانند وی تهیه نماید.

© AZEM PUBLICATIONS

هوک و نظریه حجروی

زمانیکه لیون‌هوک رسم های خود را به جمعیت شاهی لندن فرستاد، رابرت هـوک متـصدی سـامان آلات جمعیت بوده و با مایکروسکوپ مرکب تجارب خود را انجـام میـداد. آلات هـوک می‌توانست ۳۰۰ الی ۵۰۰ مرتبه بزرگنمایی داشته باشد، اما تصاویر آن توسط حلقات ملونـه نـور تحت پوشش قرار می‌گرفت. بناءً نمی‌توانست موجودات کوچک چون باکتری ها را ببیند. اما وی کاغذ کارک را تحت مایکروسکوپ قرار داده و آنرا به نام حجرات مسمی نمـود کـه ماننـد خانـه زنبور به مشاهده می رسید. این کشف باعث به میان آمدن نظریه حجروی گردید که بـه اسـاس آن حجرات واحد اساسی و وظیفوی همه موجودات حیه دانسته شد.

تخلیق بنفسه (خودی)

در زمانی که لیون‌هوک مایکرواورگانیزم‌ها را در هالند مشاهده مـی نمـود عـالم دیگـری در ایتالیا حادثه مهم دیگری را کشف نمود: در سال ۱۶۶۵ میلادی، فرانسسکو ریدی اثبات نمود که تخلیق خودی موجودات ماکروسکوپیک ممکن نمی‌باشد. به عباره دیگر، موجودات زنـده از مـواد غیر حیه بوجود نمی آیند. وی تجربه خود را با جارهای مستور و غیر مـستور گوشـت انجـام داد که کرم های گوشت صرف در بوتلی به میان آمد که سر آن باز بود و قابل تمـاس مگـس قـرار داشت. یعنی مگس ها با گوشت تماس حاصل نموده و در آن تخم گذاری می کردند. وی ثابـت نمودکه موجودات حیه صـرف از موجـودات حیـه موجـود قبلـی، بـه میـان مـی آینـد. بـا آنهـم مایکرواورگانیزم‌ها بحیث استثنا این قانون تلقی می گردید. مایکروب‌ها به سرعت و به تعداد زیاد بعد از مرگ نباتات یا حیوانات تظاهر می نمودند. آیا مایکروب‌ها باعث تجزیه decomposition می گردند و یا اینکه decomposition باعث به میان آمدن مایکروب‌ها می‌گردد؟ سـوالی بـود که هنوز به حل نیاز داشت.

نیدهام و سپالانزانی

مسئله تخلیق خودی برای هشتاد سال بصورت متنازع باقی مانده بود اما بعد از آن طرفداران نظریه تخلیق خودی غالب به نظر رسیدند. در سـال ۱۷۴۵ میـلادی، روحـانی انگلیسی بـه نـام جان نیدهام تجربه یی را جهت حل این منازعه پیشنهاد نمود. هر کس میدانست که جوش دادن

© AAAEM PUBLICATIONS

سبب مرگ مایکروب‌ها می‌گردد. بناءً وی broth مرغ را جوش داده و آنرا در فلاسک انداخته، و سرپوش فلاسک را مسدود می نمود. اگر مایکروب‌ها نمو میکردند، یگانه سبب آن تخلیق خودی بود. عملاً طی این تجربه مایکروب‌ها رشد نمودند. اما عالم ایتالوی به نام لازارو سپالانزانی به این تجربه اکتفا ننمود. وی معتقد بود که شاید مایکروب‌ها بعد از جوش دادن اما قبل از مسدود نمودن فلاسک مداخله نموده باشند. بناءً وی broth را در فلاسک انداخته، آنرا مسدود ساخت و هوای فلاسک را تخلیه نمود. بعداً آنرا جوش داد که مایکروب‌ها نمو نکردند. کسانی که برین دریافت انتقاد داشتند، معتقد بودند که این تجربه صرف اثبات نمود که در عدم موجودیت هوا تخلیق خودی صورت گرفته نمی‌تواند.

تجربه تاریخی پاستور

تنازع فوق الی صد سال دوام نمود. بالاخره اکادمی ساینس فرانسه در سال ۱۸۵۹ میزبانی مسابقه یی را به عهده گرفت که طی آن تیوری تخلیق خودی یا رد آن، باید اثبات می گردید. لویی پاستور که کیمیادان فرانسوی بود، وارد صحنه گردیده و از فلتر های باید استفاده می نمود که هوا را اجازه عبور داده اما مایکروب‌ها را اجازه عبور ندهد تا تیوری مبنی بر لزومیت هوا برای تخلیق خودی را فیصله نماید.

موصوف در معروفترین تجربه خود، broth گوشت را در فلاسک جوش داده و بعداً عنق فلاسک را تحت شعله آتش طویل و منحنی ساخت (که مانند عنق قاز ها شکل داشت). و بدین ترتیب محتوی فلاسک به هوا ارتباط داشت. زمانیکه وی تجربه خود را انجام داد، مایکروب‌ها رشد ننمودند، اما وقتیکه موصوف فلاسک را طوری تغیر موقعیت داد که یک اندازه از محتوی آن با قسمت عنق در تماس گردید، بعد ازینکه فلاسک را بحالت اصلی خود گذاشت، broth دوباره به قسمت قاعده فلاسک برگشت نمود. بزودی دیده شد که محتوی فلاسک ابرآلود و مملو از مایکروب‌ها گردید. علت عدم تداخل مایکروب‌ها در حالت اولی به broth این بود که قوه جاذبه زمین باعث ته نشین شدن مایکروب‌های وارده از هوا در سطح سفلی قسمت عنق گردیده بود و زمانیکه با حرکت فلاسک محتوی آن به تماس این ناحیه در آمد باعث انتقال مایکروب‌ها از ین ناحیه به قسمت تحتانی فلاسک گردیده که سبب رشد مایکروب‌ها گردید. بناءً وی اثبات نمودکه تخلیق خودی مایکروب‌ها حتی در موجودیت هوا نیز صورت گرفته

© AAZEM PUBLICATIONS

نمی‌تواند و اینکه رشد مایکروب‌ها سبب تفسخ غذا و نیز نباتات و حیوانات مرده می‌گردد.

مؤفقیت پاستور قسماً به خوشبختی وی عطف شده می‌تواند چه علمای عدیده قبل از آن نتوانستند تخلیق خودی را رد نمایند، زیرا نمونه های آنان دارای اندوسپور های مقاوم حرارت بودند که در مقابل حرارت مقاوم و توسط جوش دادن تخریب نمی شوند. مخصوصاً در تجاربی که از broth نباتی استفاده میشد، بیشتر به ناکامی مواجه می گردید، زیرا نباتات بیشتر دارای انواع باکتری های می باشند که سپور های مقاوم حرارت را تولید می نمایند. Broth گوشت مانند تجربه پاستور به ندرت توسط اندوسپورها ملوث می‌گردد.

تجربه ساده اما مهم و تاریخی پاستور حقایق ساینسی را در مایکروبیولوژی بر ملا ساخت:

- هیچ موجود زنده به شمول مایکرواورگانیزم‌ها توسط تخلیق خودی بمیان آمده نمی‌تواند.
- مایکرواورگانیزم‌ها در همه جا موجود می‌باشد به شمول هوا، گرد و خاک.
- رشد مایکروب‌ها سبب تجزیه نباتات و حیوانات مرده و تخریب مواد غذایی می‌گردد.

© AZEM PUBLICATIONS

تیوری مایکروبی امراض

بعد از اینکه تخلیق خودی مایکروب‌ها رد گردید، انقلابی در علم مایکروبیولوژی رخ داد. یعنی مایکروبیولوژی از یک علم مشاهدوی به علم تجربوی تبدیل گردید. ساینسدانان می‌توانستند مسایل مغلقی را مورد توجه قرار دهند. بدین ترتیب تیوری مایکروبی امراض به میان آمد. رابرت کوخ، طبیب آلمانی با استفاده از کار های پاستور، اثبات نمود که نه تنها مایکروب‌ها سبب امراض می شوند، بلکه امراض بخصوص توسط مایکروب‌های معین به میان می آیند.

فرضیه کوخ

رابرت کوخ در سال ۱۸۷۶ مرض انتراکس را مطالعه می نمود. این مرض حیوانات و نیز انسانها را مصاب می سازد. وی دریافت که عامل سببی مرض در خون همه حیوانات مصاب به مرض قابل دریافت است. وی عامل سببی را کشت نموده (امروز به نام bacillus anthracis یاد می‌گردد.) که بصورت خالص خارج از عضویت منتن بدست آمد. وی بعداً حیوانات سالم را با

همان کلچر مرضی تزریق نموده که آن حیوانات نیز مانند حیوانات قبلی مصاب مرض گردیده و در خون آنها قابل دریافت بود. این چهار مرحله تیوری کوخ را تشکیل می دهد که حتی امروز هم قابل استفاده می باشند. به اساس این نظریه، مایکروب معینی عامل سببی مرض مشخصی می‌باشد. در ضمن مطالعه مرض انتراکس، رابرت کوخ تکنیک حصول و اجرای کشت خالص مایکروب‌ها را نیز به میان آورد. در کلچر خالص صرف نوع واحد باکتری موجود می‌باشد. کلچر های مختلط عبارت از کشت های اند که دارای انواع متعدد مایکروبی می باشند که نمونه های آن در طبیعت دیده می شود. اجرای تجارب بالای کشت های مختلط مشکل بوده و سبب اشتباهات می‌گردد اصلاً در گذشته ها همین کشت های مختلط بود که سبب به میان آمدن نظریه های خیالی در مورد دوران حیات مایکروب‌ها گردیده بود. ساینسدانان به همین اساس توضیحات ارائه نمودند که چگونه باکتری با مرور زمان شکل و اوصاف خود را در کشت تغییر می‌دهد مثلاً از اشکال مدور به اشکال طویل و حتی فنر مانند شکل خود را تغییر می دهد. در حقیقت این اشکال، نمایانگر انواع مختلف باکتری ها بود که در اوقات مختلف در وسط متبارز می بود و ناشی از کلچر های مختلط بود نه تغییر شکل یکنوع باکتری. فرضیه کوخ، حصول کلچر خالص و نیز معرفی ماده اگر توسط وی بحیث وسط کشت، تغییرات فوق‌العاده‌یی را در عرصه مایکروبیولوژی به میان آورد. از سال ۱۳۸۲ الی ۱۹۰۰ میلادی، تقریباً عوامل سببی همه امراضی که در آن زمان در اروپا معمول بود، کشف گردید مانند عامل سببی تایفس، دیزانتری، سفلیس، گونوریا، نومونیا و توبرکلوز که اخیرالذکر توسط شخص رابرت کوخ کشف گردید.

© AZEM PUBLICATIONS

معافیت

در صورتیکه مایکروب‌های معینی سبب امراض مشخص گردد، باید ممکن باشد تا امراض مایکروبی یا انتانی را کنترول نمود. برای این مأمول کافی بود تا عامل سببی مرض کنترول گردد بناءً مایکروبیولوژی در دو عرصه عمده پیشرفت نمود: اول، معافیت یا تحریک قابلیت خود عضویت تا با انتانات مقابله نماید و دوم، حفظ الصحه عامه تا پاکی و صفایی توسعه یافته و معروضیت به انتانات کاهش یابد.

از ازمنه های قدیم هویدا بود که آنانی که یکبار به عده از امراض مصاب می شدند، برای بار دوم در مقابل همان امراض مقاوم می بودند. بعضی از تغییرات محافظوی در بدن رشد می نمود

یا به عباره دیگر مایکروب‌ها باعث تولید معافیت شده می‌توانست. تولید معافیت توسط مایکروب‌های باید صورت گیرد که میزبان را در مقابل همان مایکروب معروض می سازد، اما شکل مایکروب تغییر یافته باشد و سبب تولید مرض نگردد.

شربت سازی هیس

رابرت کوخ اهمیت اجرای کلچر خالص را درک نمود، اما تطبیق آن مشکل بود. وی در تیوری می دانست که اگر حجره واحد باکتری تجرید و در سطح جامد کشت گردد، سبب تولید مجتمع متشکل از همان مایکروب خواهد شد (کالونی ها). این کشت، خالص خواهد بود زیرا از نوع واحد حجره منشأ گرفته اند. همچنان وی می دانست که برای نموی مایکروبی برای مواد مغذی نیاز موجود است. بدین منظور وی از مواد مختلفه مانند توته کچالو یا جلاتین را به کار برد. جلاتین خوب نتیجه داد اما در درجه حرارت پائینتر از ۳۷ درجه سانتی گراد ذوب گردیده و نمی‌توانست درین درجه که برای کشت اکثریت مایکروب‌های مرضی مساعد است، جامد بماند. همسایه کوخ، خانم فرا هیسی از این مشکل وی آگاه گردیده و از دستگاه شربت سازی ماده اگر را که محصول خزه های آبی می‌باشد، برای وی فراهم نمود. زمانیکه این ماده با مواد مغذی مانند broth گوشت ترکیب شود، بسیار برای کشت مناسب است زیرا در حرارت پائین تر از صد درجه سانتی گراد جامد می ماند. بدین وسیله کوخ توانست که کشت های خالص را به دست آرد و تحول عمده در مایکروبیولوژی به وقوع پیوندد.

© AAZEM PUBLICATIONS

جنر و مرض چیچک

ادوارد جنر که طبیب انگلیسی بود، دریافت که شیردوشانی که بصورت طبیعی انتان نسبتاً خفیف به نام cowpox را کسب نموده بودند، در مقابل مرض مهلک و سؤشکل دهنده به نام small pox مصؤون بودند. وی در سال ۱۷۹۶ از آبله های موجود در دست سارا نیلمز مصاب به cowpox مایعی را اخذ و در بدن طفل هشت ساله یی تلقیح نمود طفل به مرض اخیر الذکر مصاب گردید بعداً جنر مواد منتن با small pox را در بدن عین طفل تلقیح نمودکه سبب به میان آمدن هیچگونه عکس‌العملی نگردید. یعنی طفل در مقابل مرض چیچک معاف شده بود. کلمه واکسیاناسیون نیز مشتقی از کلمه واکا (لاتین) یا گاو می‌باشد. بدین ترتیب مرض چیچک تحت کنترول در آمد. اما جنر معلومات کافی نداشت تا واکسیناسیون در مقابل سایر امراض انتانی نیز تهیه نماید.

واکسین‌های نخست

پاستور به اساس کارهای انجام یافته توسط کوخ و جنر، اصول عمومی را ترتیب نمود که چگونه واکسین ها (عواملی که سبب تولید معافیت می شوند اما نه مرض) ساخته شده می‌تواند. پاستور نیز مانند کوخ بالای انترکس کار می کرد. در اوایل دهه ۱۸۸۰ وی در مورد کولرای پرنده گان تجاربی را اجرا می نمود و دریافت که تزریق مایکروب ضعیف شده کولرا در مرغهای سالم سبب محافظت آنها در مقابل کولرای پرنده گان می شد. وی ازین اصل برای ترتیب واکسین انترکس و نیز در سال ۱۸۸۵ برای سگ دیوانه استفاده به عمل آورد. تقریباً در عین زمان دو شخص امریکایی به نام های دانیل سلمان و تیوبالد سمیت بصورت تجربوی وانمود ساختند که برعلاوه مایکروب‌های ضعیف شده می‌توان از مایکروب‌های کشته شده نیز استفاده بعمل آورد که این کشفیات سبب تولید واکسین عده زیادی از امراض انتانی گردید.

حفظ الصحه عمومی

با کشف واکسین ها حیات هزاران انسان نجات یافت اما با بهبود حفظ الصحه عمومی، هرچه بیشتر در حفظ حیات انسان ها کمک کرد. قبل از نظریه مایکروبی امراض، آب های کثیف معمولاً با آبهای آشامیدنی مخلوط می گردید که با بهبود شیوه ها و میتود های دفع کثافات و تأمین آب پاک آشامیدنی از اپیدیمی های خطرناک کولرا وتب محرقه جلوگیری بعمل آمد. همچنان در عرصه تهیه و نگهداری مواد غذایی پیشرفت های به میان آمد که بالاخره پاستورایزیشن مثال آن است که با معروض نمودن کوتاه مدت مواد به حرارت، اکثریت مایکروب‌های مرضی از بین می روند، پاستور برای بار نخست این عملیه را جهت محافظت شراب از خراب شدن، اساس گذاشت. همچنان تیوری مایکروبی، سایر اقدامات محافظتی مانند شستن دست ها را تنبه نمود. حفظ الصحه عمومی بهتر، نه تنها سبب جلوگیری ازمایکروب‌های مرضی می‌گردد، بلکه سبب تقویه مدافعه عضویت درمقابل امراض نیز می‌گردد.

مایکروبیولوژی امروزی

اواخر قرن نزدهم عصر طلائی مایکروبیولوژی محسوب می‌گردد زیرا تغییرات و کشفیات چنان به سرعت واقع شدند که در نتیجه حیات را بصورت دراماتیک تغییر داد. در قرن بیستم چنین تغییرات کمتر بود. بدین منظور به عرصه های کیموتراپی، ایمیونولوژی، وایرولوژی و جنیتیک انجنیرنگ بازنگری می نماییم:

© AAZEM PUBLICATIONS

کیموتراپی

عمده ترین پیشرفت قرن بیستم عبارت از کیموتراپی یا تداوی انتانات با مواد کیمیاوی بود. در قرن نزدهم نیز علما شیوه های برای جلوگیری انتانات بوجود آوردند اما نمی‌توانستند آنرا تداوی نمایند. طبیب آلمانی پاول ایهرلیچ به نام پدر کیموتراپی یاد می‌گردد، زیرا وی برای اولین بار نظریه سمیت انتخابی selective toxicity را به میان آورد. یعنی ادویه باید به مقابل انتانات توکسیک ولی در مقابل عضویت انسان نسبتاً غیر مضر باشد. وی گفت که ادویه عبارت از مرمی‌های جادویی هستند که می‌توانند مایکروب‌ها را از بین ببرد. موصوف در سال ۱۹۰۸ میلادی اولین ادویه ضد مایکروبی را بر علیه عامل سببی سفلیس به میان آورد و نام آنرا salvarsan یا نجات دهنده گذاشت. الی بیست سال دیگر این یگانه دوای ضد مایکروبی کشف شده بود. بعد از این اولین فامیل عمده ادویه جات به نام sulfas کشف گردید که ابتداً صرف به منظور رنگ آمیزی استعمال میشد و بعداً بالاثر تحقیقات کمپنی Farben آلمانی در دهه ۱۳۹۰ بحیث مواد کیموتراپی نیز استفاده گردیدند.

انتی بیوتیک ها مواد کیموتراپی طبیعی اند که نخستین آن به نام پنیسلین در سال ۱۹۲۹ توسط عالم سکاتلندی به نام الکساندر فلیمینگ کشف گردید. اما بنابر مشکلات تخنیکی در تصفیه آن الی یک دهه دیگر نیز استعمال کلینیکی نداشت. در دهه ۱۹۴۰ درجریان جنگ دوم جهانی وجوه مالی تولید پنیسلین بدست آمد که این ادویه استعمال و به نام ادویه حیرت انگیز یاد شد.

© AAZEM PUBLICATIONS

تب زایمانی

در اواسط قرن نزدهم، دخول به شفاخانه جهت ولادت خطرناک بود. تعداد زیادی از زنان اطفال صحتمندی به دنیا آورده اما خود به زودی به بیماری خطر ناکی دچار می شدند که بالاخره از بین رفته و آرزوی بردن اطفال به خانه را بجا آورده نمی‌توانستند. امروز ما می دانیم که بیماری متذکره از باعث streptococcus pyogenes به میان آمده که نخست رحم را مبتلا و بعداً به تمام عضویت سرایت می نماید. اعراض آن تب، لرزه، هزیانات و بالاخره مرگ می‌باشد.

ایگناز سیمیل ویس در سال ۱۸۴۷ میلادی، طبیب شفاخانه ولادی ویانا بود. تعداد وفیات در زمان تصدی وی زیاد و نیز عجیب بود زیرا شفاخانه دو کلینیک ولادی داشت. در کلینیک اول محصلین مسؤول ولادت بوده و در دوم آن قابله ها موظف بودند. وفیات بصورت حیرت انگیز در

کلینیک اول زیاد بود. همه زنان ساعت ها در دهلیز انتظار می کشیدند و می خواستند به کلینیک دوم داخل گردند. موصوف ازین واقعه در تحیر افتاد و دریافت که انگشت یکتن از محصلین بریده شده و با عین اعراض تب زایمانی وفات نمود. وی دریافت که چون محصلین به تطبیقات اناتومی رفته بر اجساد کار می نمایند، ممکن عامل سببی تب زایمانی از اجساد توسط انگشت های محصلین انتقال یابد. وی همه محصلین را امر نمود تا بصورت منظم دستان خود را قبل از ورود به ولادت خانه با کلورین خوب بشویند. چون کلورین بوی اجساد را از بین می برد، وی فکر کرد که شاید مؤثر باشد، همینطور شد، کلورین عامل مرضی را از بین برده و فیصدی وفیات کلینیک اول مانند کلینیک دوم پائین آمد. اما همه وی را به استهزا گرفتند و تقریباً سه دهه بعدتر کوخ و پاستور دریافت های او را بصورت علمی توضیح داده اما افسوس که او تا آنوقت زنده مانده نتوانست و بصورت غیر معمول، از انتان سترپتوکوکال در سال ۱۸۶۴ فوت نمود.

ایمیونولوژی

در ایام پاستور و کوخ، این علم جز از مایکروبیولوژی بوده که نقش آن صرف تهیه واکسین‌ها برعلیه امراض انتانی بود، درحالیکه این علم در قرن اخیر بسیار تکامل نموده است.

وایرولوژی

این علم در سال ۱۸۹۲ با کشف وایرس tobacco mosaic توسط عالم روسی به نام دیمیتری ایوانوسکی آغاز گردید. وی این عامل مرضی را با مطالعه مرض موزایک تنباکو دریافت نمود. وی جهت تشخیص خود، جوس حاصله از نباتات مبتلا به مرض را از فلتری عبور داد که حتی کوچکترین باکتری را اجازه دخول نمی داد. محصول فلتر شده بازهم سبب تولید مرض گردید که وی عامل آنرا به نام وایرس های قابل فلتر نامید. این عوامل در سالهای ۱۹۳۰ با کشف الکترون مایکروسکوپ، قابل رویت گردید.

انجنیری جنیتیک

دو حقیقت عمده در مورد مایکروب‌ها در نیمه دوم قرن بیستم کشف گردیده که اول آن مشابهت نزدیک میتابولیزم و مشخصات جنیتیک مایکرواورگانیزم‌ها با حیوانات و نباتات بوده و دوم آن، مساعد بودن مایکرواورگانیزم‌ها برای تحقیقا ت تجربوی می‌باشد. مساعد بودن

© AZEM PUBLICATIONS

باکتری‌ها برای تحقیقات در سهولت کشت و سرعت انقسام آن نهفته است. یعنی عده از باکتری‌ها به سرعت یعنی هر ۲۰ دقیقه بعد یکبار انقسام می نمایند که در مدت کوتاهی تعداد باکتری‌های موجود در یک ملی لیتر مایع بیشتر از تعداد انسانان موجود درکره زمین می‌گردد.

Genetic engineering یا Recombinant DNA technology عبارت از تخینکی است که طی آن مواد جنیتیک یا DNA از یک موجود بیرون کشیده شده، در آن تغییرات وارد می‌گردد و دوباره به اورگانیزم دیگری داخل می‌گردد تا اثرات خویش را وارد کند. DNA از هر اورگانیزم حاصل شده می‌تواند و DNA موجودات مختلف باهم ترکیب شده می‌تواند. اورگانیزمی که بیشتر به حیث میزبان به این منظور استفاده می شود، عبارت از E. Coli می‌باشد که حتی برای سنتیز انسولین انسانی بکار می رود. این ساحه بسیار وسیع و تا حال تحقیقات در آن جریان دارد.

زمان آینده

مایکروبیولوژی بحیث علم تجربوی کمتر از صد سال عمر دارد. عرصه های باکتریولوژی و وایرولوژی آن هنوز هم ضرورت به انکشاف دارد. مثلاً مشکلات عایده از مقاومت در مقابل انتی‌بیوتیک ها و یا ظهور انواع جدید وایرس ها در اثر تغییرات تدریجی، حالاتی اند که باید مورد توجه قرار گیرد. همچنان کنترول امراض انتانی مشکلی است که هنوز در راستا این علم قرار دارد عده از علما به سنتیز انتی بیوتیک های جدید و عده هم به تقویه سیستم معافیتی اصرار دارند؛ باید تحقیقات بیشتری صورت گیرد و آنهم با استفاده از Recombinant DNA technology.

عرصه دیگری که مستلزم توسعه است عبارت از مایکروبیولوژی محیطی می‌باشد. ما عمدتاً بر bioremediation یا تصفیه مواد کیمیاوی توکسیک توسط مایکرواورگانیزم‌ها تأکید داریم.

بالاخره تعداد زیادی از مایکروب‌ها هنوز کشف، نامگذاری یا طبقه بندی نشده اند، که تحقیقات در آن جریان دارد، شما هم می‌توانید به مثابه دوکتوران و محققین مایکروبیولوژی در حدود توان تان سهم خود را درین عرصه ایفا نمایید.

© AAZEM PUBLICATIONS

فصل اول

مورفولوژی مایکرواورگانیزم‌ها

© AAZEM PUBLICATIONS

تعریف مایکروبیولوژی

مایکروبیولوژی از سه کلمه Micro به معنی کوچک و ذره بینی Bio حیه و Logous علم مشتق شده است و عبارت از علمیست که کلیه خصوصیات و مشخصات مایکروب‌ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد.

شعبات مایکروبیولوژی

۱- مایکروبیولوژی طبی
۲- مایکروبیولوژی صنعتی
۳- مایکروبیولوژی غذایی
۴- مایکروبیولوژی خاک
۵- مایکروبیولوژی آب
۶- مایکروبیولوژی نباتات

I- مایکروبیولوژی طبی

عبارت از مطالعه عامل (کلیه خصوصیات و مشخصات) امراض انتانی (هم از باکتریایی، فنگسی وایرسی و پرازیتی) می‌باشد. مایکروبیولوژی طبی از شعبات ذیل تشکیل گردیده است:

۱- باکتریالوژی: علمیست که خصوصیات و قابلیت مؤلدالمرضی باکتری‌ها را مطالعه می‌نماید.

۲- مایکولوژی: علم مطالعه فنگس‌ها را گویند.

۳- وایرولوژی: علمیست که تمام خصوصیات Virus ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد.

۴- پرازیتولوژی: علمیست که پرازیت های را که نزد انسانها ایجاد بیماری می‌نماید مورد مطالعه قرار می‌دهد.

۵- ایمینولوژی: علم مطالعه معافیت و مقاومت عضویت در مقابل مایکروب‌ها را گویند.

۶- جنیتیک: علمیست که خصوصیات ارثی و اختلاف میان نسلهای مایکروب‌ها را مورد مطالعه قرار می‌دهد.

اساسات بیولوژیک که در مایکروبیولوژی توضیح می‌گردند

بیشترین تنوع بیولوژیک در مایکرواورگانیزم‌ها موجود می‌باشد. این‌ها موجوداتی اند که با چشم مستقیماً قابل رویت نمی‌باشند. تحلیل مایکرواورگانیزم‌ها از نگاه شکل و فعالیت مثلاً مشخصات بیوشمیک و یا میکانیزم‌های جنیتیک می‌تواند در مورد حیات معلومات فراهم نماید. فرضیه ساینسی مفید باید اساسی را برای (generalization) یا تعمیم تشکیل دهد و تنوع مایکروبی عرصه‌یی را تشکیل می‌دهد که این چالش دوامدار در آن موجود می‌باشد.

پیشگویی که نتیجه عملی ساینس را تشکیل می‌دهد، عبارت از دستآورد حاصله از یکجا نمودن تخنیک و تیوری می‌باشد. بیوشیمی و جنتیک وسایل تحلیل مایکرواورگانیزم‌ها را تشکیل می‌دهند.

مایکروبیولوژی به نوبه خود حدود اصول ساینسی فوق را توسعه می‌بخشد. بیولوژیست‌ها ممکن رابطه متقابل را که طی آن همه جوانب مستفید می‌گردد، Mutualism بگویند. اصطلاح بیولوژیک mutualism عبارت از symbiosis می‌باشد که وابسته گی مداومی را میان اورگانیزم‌های مختلف تشکیل می‌دهد. در صورتی‌که اصلاً یک جانب از رابطه منتفع گردد، چنین رابطه به نام parasitism یاد می‌گردد. Parasitism رابطه است که در آن نفع اصلی توسط میزبان برای پرازیت مهیا می‌گردد. مثلاً باکتریها و وایرس‌های پتوجنیک، که اکثراً ضرورت می‌باشد تا شرایط نمویی وجود میزبان را جهت کشت آن در لابراتوار مهیا نماید. این ضرورت بعضاً مشکل بزرگی را برای محققین ایجاد می‌نماید.

اصطلاحات اخیرالذکر (Mutualism-symbiosis- parasitism) مربوط به علم Ecology

© AAZEM PUBLICATIONS

می‌باشد و اساسات بیولوژی محیطی در مایکروبیولوژی توضیح گردیده است.

مایکرواورگانیزم‌ها تابع تکامل تدریجی بوده اند. پروسه تکامل تدریجی (Evolution) در نتیجه انتخاب طبیعی یک عده اورگانیزم‌های متنوع به‌میان آمده و نیز مهم می‌باشد تا مغلق بودن تاریخ طبیعی مایکرواورگانیزم‌ها را قبل از تصنیف مایکرواورگانیزم‌ها در نظر گرفت. مایکرواورگانیزم‌ها غیر متجانس ترین گروه مخلوقات زنده می‌باشند.

در تصنیفات بیالوژیک، Eukaryotes که دارنده هسته غشا دار می‌باشد و Prokaryotes که DNA آن به‌صورت فزیکی از سایتوپلازم تفکیک نمی‌گردد، مشتمل می‌باشد. بعداً در متن توضیح خواهد شد که تفاوت های دیگری نیز میان Eukaryotes و Prokaryotes موجود می‌باشد. مثلاً Eukaryotes دارای جسامت نسبتاً بزرگتر بوده و حاوی اورگانیل های غشا دار مانند مایتوکاندریا می‌باشند.

مایکروب‌های Eukaryote به نام پروتستها یاد می‌گردد و پروتستها مشتمل بر Algae، Protozoa، Fungi و Slime Molds می‌باشند.

Eukaryotes و Prokaryotes اورگانیزم‌ها اند؛ زیرا که همه انزایمهای لازم برای تکثر را دارا بوده و وسایل بیولوژیک لازم برای تولید انرژی میتابولیک را حایز می‌باشند؛ اما وایرس‌ها چنین نمی‌باشند؛ زیرا که جهت اجرای فعالیت‌های لازمی فوق به حجره میزبان متکی اند.

© AAZEM PUBLICATIONS

وایرس‌ها

خواص جداگانه وایرس‌ها آن‌ها را از سایر موجودات زنده مجزا می‌سازد. وایرس‌ها گروپ‌های غیر متجانسی می‌باشند که جهت تکثر خود به حجره میزبان متکی می‌باشند. می‌توان وایرس‌ها را استطاله‌های جنتیک میزبان دانست. تعاملات میان میزبان و وایرس بسیار وصفی می‌باشد و حدود بیولوژیک وایرس‌ها نشاندهنده ازدیاد در انواع حجرات ممکنه میزبان می‌باشند. وایرس‌ها با داشتن ستراتیژی‌های زیاد در عرصه تکثر و حیات، تنوع بیشتر را به خود کسب می‌نمایند.

وایرس متشکل از یک مالیکول نوکلیک اسید (DNA یا RNA) بوده که در محفظه پروتینی یا کپسید قرار دارد. پروتین‌های کپسید دار که اکثراً گلایکوپروتین‌ها بوده وصفی بودن تعامل میان وایرس و حجره میزبان را معین می‌سازد. کپسید نوکلیک اسید را محافظه نموده و

اتصال و دخول وایرس را به حجره میزبان مساعد می‌سازد. بعد از دخول وایرس به حجرات، نوکلیک اسید وایرس‌ها دستگاه انزایماتیک حجره میزبان را طوری تغییر می‌دهد تا فعالیت‌های مربوط به تکثر وایرس را انجام دهند. در بعضی حالات معلومات جنیتیک ناشی از وایرس به حیث DNA در کروموزوم حجره میزبان جا گرفته و در حالات دیگر معلومات جنیتیک وایرس به حیث اساس تولید حجروی عمل نموده و منجر به تولید کاپی‌های از وایرس می‌گردد. در این پروسه DNA وایرس کاپی شده و پروتین‌های مخصوص وایرس ساخته می‌شود. جهت اکمال رشد وایرس‌ها لازم است تا یونت‌های کوچک پروتینی و نوکلیک اسید با هم ترتیب گردیده و وایرس‌های کامل را به بار آورند. وایرس‌های متذکره بعداً وارد محیط خارج حجروی می‌گردند.

وایرس‌های مختلفه سبب منتن شدن عده زیادی از حیوانات و نباتات گردیده و نیز پروکریوت ها و اقلاً یک نوع از الجی‌ها را مصاب می‌سازد. اجسام مشابه وایرس‌ها که معلوم می‌شود در خارج حجره انسانی نمی‌باشد، در داخل فنجی ها و نیز در چندین نوع الجی‌ها دریافت شده اند.

عده ای از امراض ساری نباتی توسط موجوداتی به نام Viroids به‌وجود می‌آید. این‌ها از مالیکول‌های Single Stranded RNA ساخته شده و به‌شکل ساختمان‌های میله مانند به‌نظر می‌رسند. Viroid کپسید نداشته و وزن مالیکولی آن میان ۷۵۰۰۰ الی ۱۰۰۰۰۰ می‌باشد. معلوم نشده که آیا موجودات اخیرالذکر در داخل حجرات باعث تشکل پروتین می‌گردد. تکثیر حجرات VIROID از طریق RNA Polymerase متعلق به DNA صورت گرفته و تأثیر آن بالای همین انزایم ممکن باعث پتوجنیسیتی Viroids گردد.

RNA وایرویدها در نهایت خود دارای Inverted Repeated Base Sequences می‌باشد که یک مشخصه Transposable Elements و Retrovirus ها می‌باشد. بناً ممکن وایرویدها از Transposable Elements با حذف Sequence های داخلی به‌میان آمده باشد.

Scrapie که یک بیماری استحالوی سیستم عصب مرکزی گوسفندان می‌باشد، توسط عاملی به‌میان می‌آید که کمتر از ۵۰nm جسامت دارد و در مقابل نوکلیر ها و سایر مواد غیر فعال کننده نوکلیک اسیدها مقاوم بوده؛ اما توسط پروتین‌ها و سایر مواد تعامل کننده با پروتین‌ها غیر فعال می‌گردد. عامل انتانی آن به نام Prion یاد شده و با یک پروتین مشخصی به‌صورت مشترک خالص Purify می‌گردد؛ اما موجودیت نوکلیک اسید در داخل این موجود رد نگردیده است. جین کود دهنده برای تشکل Prion ها با استفاده از تخنیک‌های Recombinant DNA از دماغ موش لابراتواری به‌دست آمده است. جین متذکره و m RNA مربوطه آن در هردو حجرات سالم و حجرات منتن به Scrapie دیده می‌شود. سه نظریه در این مورد موجود است:

© AAZEM PUBLICATIONS

الف: Scrapie یک وایرس معمولی بوده که نوکلیک اسید آن بسیار کوچک بوده و بناً کشف نشده است.

ب: عامل مرضی RNA کوچک بوده که با تمایل زیاد با پروتین Prion یکجا شده و شکل پروتین اخیرالذکر را به‌شکل مرضی تبدیل می‌نماید.

ج: پروتین Prion به‌صورت خودی مرضی بوده و باعث تولید انزایم‌های می‌گردد که سبب تغییرات Post Translational می‌گردد که منتج به تبدیل شدن پروتین نورمال به‌شکل مرضی Prion می‌گردد این نظریات در مورد عامل سببی امراض Creutzfeld Jakob و Kuru که امراض مشابه را در انسان‌ها تولید می‌نماید نیز تطبیق گردیده می‌تواند.

پروکاریوت‌ها

عمده ترین معیار تشخیص پروکاریوت‌ها سایز کوچک آنها می‌باشد یعنی در حدود یک مایکرومتر جسامت دارند. همچنان غشای هستوی دیده نمی‌شود. DNA تقریباً همه باکتری‌ها حلقوی و در حدود یک ملی متر می‌باشد، همین مالیکول حلقوی عبارت از کروموزوم باکتری بوده و باید بیشتر از ۱۰۰۰ مرتبه قات گردد تا در داخل حجره پروکاریوت جاگزین گردیده بتواند. شواهد حاکی است که پیچیده شدن آن به‌صورت منظم بوده و بخش‌های معینه DNA باهم نزدیک می‌گردند. حصه به‌خصوص حجره که حاوی DNA است به نام Nucleoid یاد گردیده و توسط الکترون مایکروسکوپ قابل ملاحظه می‌باشند. بناً منطقی نخواهد بود تا حکم صورت گیرد که تعیین سرحدات داخل حجروی که در Eukaryotes ذریعه غشأها صورت می‌گیرد، در پروکاریوت‌ها موجود نمی‌باشد. اصلاً در بعضی پروکاریوت‌ها ساختمان‌های احاطه شده با غشاها موجود می‌باشد، مانند: Chromotaphor ها در باکتری فوتوسنتیتیک. تفاوت میان چنین ساختمان‌های احاطه شده در غشاهای پروکاریوت‌ها با ساختمان‌های معادل در ایوکاریوت‌ها در این است که غشاهای احاطه کننده بخش‌های مشخص حجره پروکاریوت‌ها عبارت از تمادی غشای حجروی آن می‌باشد.

© AZEM PUBLICATIONS

تنوع پروکاریوت‌ها

سایز کوچک کروموزوم پروکاریوت‌ها باعث محدود شدن اندازه معلومات جنتیک موجود در آن می‌شود. اندازه تخمینی جین‌های پروکاریوت‌ها ۳۰۰۰ بوده که اکثراً فعالیت‌های اساسی را به‌پیش می‌برند. مانند، تولید انرژی، سنتیز مایکرومالیکول‌ها و تکثر حجروی. پروکاریوت‌ها جین‌های کمی را دارا می‌باشد که تطابق فزیولوژیک این اورگانیزم را با محیط آن ممکن می‌سازد. پهنای محیط زیست

پروکاریوت‌ها بسیار وسیع می‌باشد و بناً گروه پروکاریوت‌ها یک عده موجودات غیر متجانس از نظر محیط زیست اند که هر کدام با محیط زیست تخصصی خود عادت نموده و بناً محیط زیست انفرادی آن بسیار محدود است.

ازدیاد تعداد محیط‌های زیست پروکاریوت‌ها با در نظرداشت ستراتیژی‌های تولید انرژی میتابولیک آنها توضیح گردیده می‌تواند. نور آفتاب منبع اساسی حیات می‌باشد. بعضی پروکاریوت‌ها مثل باکتری‌های Purple بنفش که بدون تولید آکسیجن انرژی آفتاب را به‌انرژی میتابولیک تبدیل می‌نماید. باکتری سبز آبی Cyanobacteria اکسیجن تولید می‌نماید که در عدم موجودیت نور باعث تولید انرژی می‌گردد. اورگانیزم‌های ایروبیک مجبور اند جهت تولید انرژی از عملیه تنفس با اکسیجن استفاده نمایند. عده از اورگانیزم‌های غیر ایروبیک Electron Acceptor های غیر از اکسیجن را در تنفس به کار می‌برند. عده ای دیگر غیر ایروبیک‌ها عملیه‌های تخمری را اجرا می‌نمایند. (۱)

تفاوت میان حجرات پروکاریوت و ایوکاریوت

مشخصات	حجرات پروکاریوت	حجرات ایوکاریوت
I- هسته		دارد
غشای هستوی	ندارد	دارد
هسته چه	ندارد	دارد
کروموزوم	یک عدد	زیاد
تقسیم مایتوتیک	ندارد	دارد
II- سایتوپلازم	ندارد	دارد
Pinocytosis	ندارد	دارد
مایتوکاندریا	ندارد	دارد
رایبوزوم	ندارد	دارد
اجسام گلجی	ندارد	دارد
اندوپلازمیک ریتیکولم	ندارد	دارد
III- ترکیب کیمیاوی	ندارد	دارد
Steriol	ندارد	دارد
Muramic Acid	دارد	ندارد

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف پروکاریوت‌ها

آموزش هر گروپ از اورگانیزم‌ها مستلزم تصنیف آن می‌باشد. تصنیف مناسب طوری می‌باشد تا اورگانیزم‌های جدید سریعاً و دقیقاً در کتگوری مربوط خود قرار گرفته بتوانند تعیین کتگوری اورگانیزم باعث کمک در پیشگویی مشخصات می‌گردد که اورگانیزم آنرا با سایر موجودات مشتمل در همان کتگوری تشریک می‌نماید. در شفاخانه ها تصنیف مؤفقانه انتان ممکن بهترین شیوه امحا آن باشد. تصنیف همچنان باعث دانستن روابط خوب میان اورگانیزم‌های مختلف گردد. مثلاً امحای انتان برای مدت زیادتر دوام خواهد نمود مشروط بر اینکه محل زیست آن توسط شکل غیر انتانی همان اورگانیزم اشغال گردد.

مثلاً داشتن DNA در تصنیف پروکاریوت‌ها رول ندارد؛ زیرا همه آنها DNA را دارا می‌باشد و نیز موجودیت یک پلازمید یا محدوده وسیع از میزبان ها در تصنیف مهم نمی‌باشد؛ زیرا در اورگانیزم‌های زیاد دیده شده و نیز ممکن بعضاً هیچ موجود نباشد. معیارات مفید ممکن ساختمانی، فزیولوژیک، بیوشمیک و یا جنتیک باشند. سپورها (ساختمان‌های به‌خصوص که حیات را در شرایط مشکل ممکن می‌سازد) برای تصنیف مهم اند. عده از باکتری‌ها با در نظرداشت قابلیت تخمر قندی آنها تصنیف می‌گردد. تلوین گرام برای تصنیف باکتری‌ها به دو گروپ عمده مهم می‌باشد. از معیارات جنتیک به‌شکل روز افزون در تصنیف استفاده می‌گردد. عده زیادی از آزمایشات جنتیک توسط تکنالوژی DNA Recombinant به‌میان آمده و امروز ممکن است تا پروب های DNA ساخته شده و اورگانیزم‌های مختلفه را کشف نمود. مقایسه DNA جین‌ها منتج به توضیح ارتباط Phylogenetic میان پروکاریوت‌ها گردیده که بدین وسیله می‌توان حجرات مادری اورگانیزم‌ها را پیدا نمود.

© NAZIM PUBLICATIONS

باکتری‌ها و آرکیوباکتری‌ها (اشکال عمده پروکاریوت‌ها)

پروکاریوت‌ها مشتمل بر دو گروپ می‌باشند که توجه زیاد به آن معطوف گردیده است؛ زیرا که آرکیوباکتریها در لابراتوار به مشکل مطالعه گردیده می‌تواند. مثلاً عده از ارکیوباکتریها در صورت تماس با آکسیجن از بین رفته و عده دیگر در درجه حرارت معادل با غلیان آب زنده‌گی می‌نمایند. با استفاده از بیولوژی مالیکولی می‌توان اریکوباکتریها را تصنیف نمود، میتانوجن‌ها با اجرای تنفس غیر هوازی سبب تولید میتان می‌گردد. هلوفیل ها به غلظت های بلند نمک برای زیست خود محتاج اند، ترمواسید و فیل‌ها ها نیازمند درجه حرارت و یا اسیدیتی زیاد اند. این موجودات زنده با همدیگر خود بعضی اوصاف مشترک داشته که آنها را از سایر موجودات زنده

متمایز می‌سازد. موضوع پیچیده عبارت از موجودیت Introns در جین‌های پروکاریوت‌ها به مانند Eukaryotes می‌باشد. تأثیر قسمت های اخیرالذکر در جینها معلوم نمی‌باشد.

پروتستها

ایوکاریوت‌های یا هسته داران واقعی: عبارت از موجوداتی اند که اورگانیل‌های غشا دار، مایکروتوبول‌ها و مایکروفیلامینت‌ها داشته و ساختمان داخل حجروی آن نظر به پروکاریوت‌ها مغلقتر است.

ایوکاریوت‌ها مایکروبی به نام پروتست‌ها یاد شده و دارای چهار گروپ اند: الجی‌ها، پروتوزوا، فنجی ها و Slime Molds.

الجی‌ها

موجوداتی اند که اکسیجن را در اثر فوتوسنتیز تولید می‌نمایند. یک گروپ عمده آنها که باکتری‌های سبز آبی (Cyanobacteria) بوده، متعلق به پروکاریوت‌ها گردیده و بیشتر از این مربوط به این کلاس نمی‌گردند. یعنی الجی‌ها صرف اورگانیزم‌های ایوکاریوتیک فوتوسنتیتیک را تشکیل می‌دهد. همه الجی‌ها در غشا فوتوسنتیتیک کلوروپلاست حجروی خود دارای کلوروفیل می‌باشند. اکثریت الجی‌ها مایکرواورگانیزم‌های وحیدالحجروی بوده؛ اما سایرین آن ساختمان‌های بزرگ چندین حجروی اند. کلپ های ناشی از الجی‌های نصواری چندین متر طویل بوده می‌تواند.

© AAZEM PUBLICATIONS

پروتوزوا

عبارت از پروتست‌های وحیدالحجروی غیر فوتوسنتیتیک بوده و شکل ابتدیی آن فلاجیل دار بوده که در اکثریت وجوهات مشابه الجی‌ها می‌باشد. ممکن اجداد آن الجی‌ها بوده که بعداً به هیتروتروف تبدیل گردیده اند. نیازمندیهای میتابولیک از طریق مواد عضوی بر آورده شده چنانچه در چندین حالات دیده شده که در لابراتوار در اثر میوتیشن یا در اثر تطابق با تغییرات محیطی اشکال بدون رنگ الجی‌ها به‌میان آمده است.

اشکال دیگر آن عبارت از سیلیا داران و اشکال آمیبایی بوده و بالاخره اشکال مغلق و غیر متحرک آن به نام سپورزون‌ها یاد می‌گردد که دارای مرحله استراحت بوده یا سپوردار می‌باشند.

فنگس‌ها

فنگس‌ها گروپ پروتست های غیر فوتوسنتیتیک بوده که به‌شکل فیلامنتهای تشعبی و شبکوی (هایفا) رشد می‌نمایند که به نام مایسیلیم شناخته می‌شود. گرچه هایفا دارای جدار می‌باشند؛ اما جدارهای آنان متثقب بوده و حرکت آزادانه هسته ها و سایتوپلازم ممکن می‌باشد. کتله فنگسی به‌صورت مجموعی Coenocyte (کتله چندین حجروی و دارنده سایتوپلازم متمادی) بوده که توسط یک سلسله تیوب های منشعب احاطه گردیده است. این تیوب ها که از پولی سکراید (مانند شیتین) ساخته شده مترادف دیوار حجروی می‌باشد. اشکال مایسیل دار به نام Mold یاد شده و تعداد کمی سبب تولید مایسیل نشده و به نام Yeast یاد می‌شود؛ اما آنها را می‌توان فنگس نامید؛ زیرا به‌شکل زوجی تکثر نموده و دارای اشکال انتقالی می‌باشد. فنگس‌ها با اکتینومایست ها (باکتری‌های مایسیلی که به‌صورت سطحی مشابه فنگس‌ها می‌باشد) هیچ ربطی ندارد. فنگس‌ها ذیلاً تصنیف می‌گردند:

Ascomycotina (Ascomycetes)، Zygomycotina (Phycomycetes)، Basidiomycotina (Basidiomycetes)، Deutromycotina (Imperfect Fungi)

Slime Molds

این اورگانیزم‌ها در یک مرحلهٔ از دوران حیات خویش با داشتن یک کتله چندین حجروی بزرگ که به نام پلازمودیم Plasmodium یاد می‌گردد، متصف می‌باشند. پلازمودیم این موجودات معادل مایسیلیم فنگس واقعی می‌باشد. هردو Coenocytes اند. با این تفاوت که در فنگس‌های واقعی جریان نمودن سایتوپلازم محدود به شبکه منشعب تیوب‌های شیتینی بوده؛ اما در اورگانیزم‌های فوق الذکر سایتوپلازم در همه جهات جریان نموده می‌تواند. این عمل باعث می‌گردد تا پلازمودیم در جهات مواد غذایی که معمولاً باکتری است، در حرکت شود.

اشکال اساسی مایکروب‌ها

مایکروب‌ها اورگانیزم‌های کوچک وحیدالحجروی اند که اکثراً فاقد کلوروفیل می‌باشند و نظر به‌خواص بیولوژیک و تولید مثل توسط انقسام دوگانه این‌ها به‌حجرات Prokaryotic ارتباط می‌گیرند. جسامت مایکروب‌ها توسط مایکرومتر اندازه می‌گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS

۱ Micron (μ) = $۱۰^{-۳}$ mm = $۱۰^{-۴}$ cm = $۱۰^{-۶}$ m

۱ Milli Micron (mμ) Or Nanometer (nm) = $۱۰^{-۶}$ mm = $۱۰^{-۷}$ cm= $۱۰^{-۹}$ m

۱ Angstrom units (۱ A°) = $۱۰^{-۷}$ mm = $۱۰^{-۸}$ cm = $۱۰^{-۱۰}$ m

این جسامت در مایکروب‌ها متفاوت می‌باشد مثلاً کوکسای‌ها یک مایکرون قطر دارند و Bacill ها از ۱۰ - ۲ مایکرون طول و از ۰.۵ – ۰,۲ مایکرون عرض دارند.

باید متذکر شد که شکل و جسامت باکتری‌ها به صورت مطلق ثابت نبوده و اختلاف شکل در بسیاری انواع مایکروب‌ها در اثر عوامل مختلف محیطی مانند اوساط ذریعه، مواد ضد مایکروب، مواد مرضی، پیر و جوان بودن مایکروب‌ها به‌وجود می‌آید لاکن خواص خصوصی خود را که ارثی می‌باشد در جریان عملیه تکامل محافظه می کند. (۱)

از نظر مورفولوژی باکتری‌ها به اشکال ذیل دیده می‌شود:

I– باکتری‌های دارای شکل مدور یا Spherie مانند Cocci.

Cocci از Kakkos که معنی مدور را می‌دهد گرفته شده است و به اساس موقعیت، پلان انقسام حجروی و اوصاف بیولوژیک به ۶ گروپ ذیل تقسیم می‌شوند:

۱– Micrococcus: این کوکس ها به‌صورت منفرد یا غیر منظم قرار می‌گیرند این‌ها Saprophyte بوده در آب و هوا زنده‌گی می کنند مانند: Micro Coccus Agilis

۲– Diplo Coccus: این کوکس ها به‌صورت حجره ای به تماس هم قرار گرفته و انقسام شان به یک پلان صورت می‌گیرد مانند Meningo Cocci، Gonococci و Pneumococci.

۳– هرگاه انقسام Coccus ها به یک پلان صورت گیرد و Cocci شکل دانه تسبیح و یا زنجیر را به طولهای مختلف اختیار کند به نام Streptococcus یاد می‌گردد.

۴– اگر Cocci به دو پلان افقی و عمودی انقسام نماید و گروپ های چهارگانه را بسازد به نام Tetracoccus یاد می‌گردد که این Cocci برای انسان ها کمتر Pathogen اند.

۵– اگر Coccus ها به چندین پلان (غیر منظم) انقسام نمایند شکل خوشه انگور را به خود گرفته به نام Staphylococcus یاد می‌گردد.

۶– هرگاه انقسام Coccus ها به سه پلان صورت گیرد و شکل پاکت های ۱۶–۸ حجره ای و یا بیشتر را به خود بگیرد به نام Sarcina یاد می‌شود که یک Coccus غیر مرضی

© NAZEM PUBLICATIONS

بوده و در ادرار موجود می‌باشد.

II- باکتری‌های شکل چوبک (Rodshape) که شامل Bacill ها و Clostridia می‌باشد.

باکتری‌های چوبک مانند دارای اشکال مختلف اند بعضی از آنها دارای شکل کوتاه بوده مانند Francisella Tularencis در حالیکه انواع دیگر آن شکل طولانی دارد مانند Bacillus Anthracis و بعضی از انواع دیگر آنها دارای نهایت باریک می‌باشد مانند Fusobacter بعضی Bacill ها به شک جوره ای قرار می‌گیرد که آنرا به نام Diplobacill یاد می کنند مانند Bacteria Of Pneumonia.

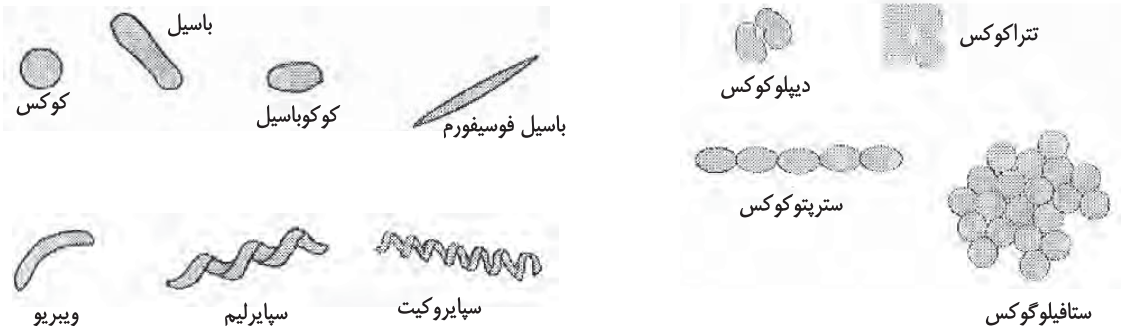
بعضی از Bacteria ها شکل زنجیر مانند را می‌گیرد که به نام Strepto-bacill و یا Streptobacteria یاد می‌شود مانند Bacillus Anthracis بعضی از باکتری‌ها در یک نهایت خود تبارز می دشته باشند مانند Corynebacterium Diphtheriae و بعضی دیگر دارای شاخه های جانبی می‌باشد مانند Mycobacterium Tuberclosis و غیره.

III- شکل فنر مانند باکتری‌ها (Spiral Shape): اشکال فنر مانند به دو گروپ Vibrio و Spirillium تقسیم می‌شوند.

۱- Vibrio ها، Bacteria های اند که تنها یک حلقه فنر مانند داشته و به‌شکل کامه و یا ویرگول به مشاهده می رسد مانند Vibrio Cholera.

۲- Spirillium ها باکتری‌های اند که دارای تعداد زیاد حلقه ها می‌باشند مانند Borella، Treporema و Liptospira.

© AAZEM PUBLICATIONS

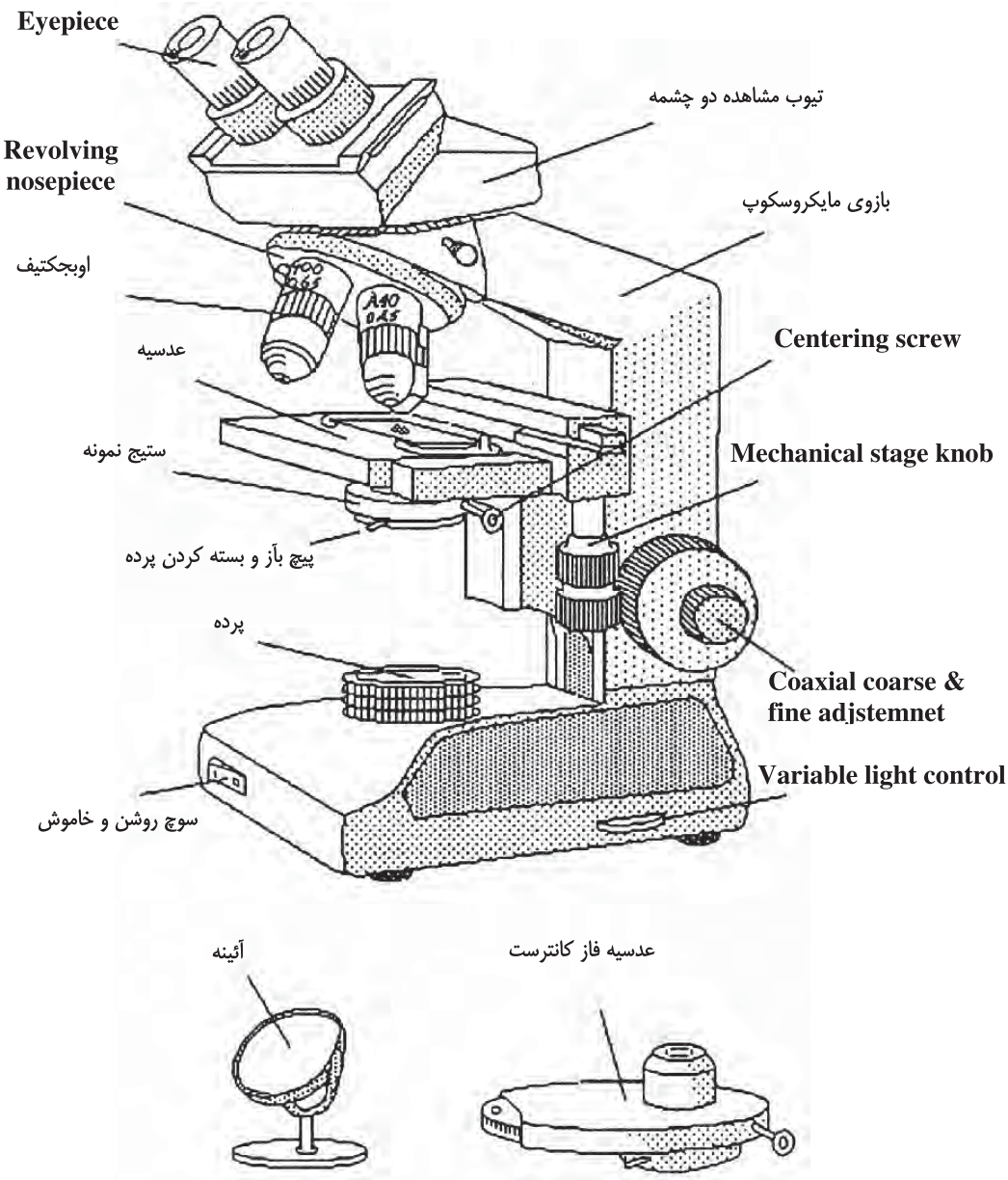


شکل ۱-۱ اشکال مختلف مایکروب‌ها

ساختمان حجروی

میتودهای بصری

مایکروسکوپ نوری (لایت مایکروسکوپ): قدرت تشخیصیه مایکروسکوپ نوری تحت شرایط (مطلوب) تقریباً نصف طول موج نور مورد استفاده می‌باشد.



شکل ۱ – ۲ مایکروسکوپ دو چشمه (R۸)

(قدرت تشخیصیه عبارت از فاصله ایست که در آن دو منبع نوری نقطوی که باید به‌شکل دو تصویر جداگانه مشاهده گردند از هم مجزا دیده شوند.) بناً در صورت استفاده از نور زرد که دارای طول موج ۰٫۴ مایکرومتر باشد، کوچکترین قطر شی قابل تفکیک ۰٫۲ مایکرومتر خواهد بود. بزرگنمایی مطلوب یک مایکروسکوپ عبارت از آن بزرگنمایی است که کوچکترین اجزای قابل تشخیص را مورد رویت قرار دهد. مایکروسکوپ هایی که در باکتریولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرند عموماً دارای عدسیه‌های اوبجکتیف به توان ۹۰ و عدسیه‌های عینی به توان ۱۰ می‌باشند، بناً نمونه مورد مطالعه را ۹۰۰ برابر بزرگتر نشان می‌دهد. به این ترتیب ذراتی که دارای قطر ۰٫۲ مایکرومتر باشند به اندازه ۰٫۲ ملی متر بزرگتر معلوم گردیده واضحاً قابل دید می‌گردند. بزرگنمایی بیشتر از آن قدرت تشخیصیه بهتر را در قسمت رویت جزئیات به‌میان نیاورده و حتی ساحه دید را کاهش می‌دهد.

تزئید بیشتر قدرت تشخیصیه فقط با استفاده از نور دارای طول موج کمتر از ۰٫۲ مایکرومتر ممکن گردیده می‌تواند و در نتیجه اجزای که دارای قطر ۰٫۱ مایکرومتر باشند قابل رویت می‌گردند. قیمت چنین مایکروسکوپ ها به نسبت استفاده از عدسیه‌های کوارتز و سیستم‌های فوتوگرافیک، فوق‌العاده بلند بوده و برای استفاده عمومی دارای مشکلات می‌باشد.

© AZEM PUBLICATIONS

الکترون مایکروسکوپ

الکترون مایکروسکوپ با داشتن قدرت تشخیصیه عالی دانشمندان را قادر نموده تا ساختمان‌های حجرات Prokaryotic و Eukaryotic را با تفصیلات بیشتر مطالعه نمایند. این قدرت تشخیصیه عالی الکترون مایکروسکوپ در نتیجه این امر است که الکترون‌ها دارای طول موج کوتاه تر نظر به فوتون‌های نور سفید می‌باشند.

عموماً دو شکل الکترون مایکروسکوپ بیشتر معمول می‌باشند: Transmission Electron Microscope یا (TEM) که شباهت‌های زیادی با مایکروسکوپ نوری دارد و Scanning Electron Microscope یا (SEM).

TEM اولین نوع الکترون مایکروسکوپ بود و در آن از یک اشعه الکترونی استفاده به‌عمل می‌آید که از پستول (منبع) الکترون خارج گردیده و بعد از تعیین جهت آن توسط عدسیه‌های الکترومقناطیسی تراکم دهنده بالای یک مقطع نازک نمونه مورد نظر، فوکس می‌گردد. الکترون‌ها پس از الکترون مقناطیسی تراکم دهنده بالای یک مقطع نازک نمونه مورد نظر، فوکس می‌گردد. الکترون‌ها پس از

برخورد بالای نمونه مورد آزمایش نظر به‌تعداد و کتله اتوم‌ها به‌صورت نامساوی پراگنده می‌گردند. تعدادی از الکترون‌ها از نمونه عبور نموده و توسط عدسیه‌های اوبجکتیف الکترومقناطیسی یکجا و متمرکز می‌گردند و تصویر نمونه مورد معاینه به سیستم عدسیه‌های پروجکتور که باعث بزرگنمایی بیشتر می‌گردد ارائه می‌گردد. تصویر حاصله بالای یک صفحه‌یی که در اثر اصابت الکترون‌ها روشن می‌شود، دیده می‌شود. این تصویر توسط فلم های فوتوگرافیک نیز ثبت گردیده می‌تواند. TEM اجزای را که از هم به اندازه ۰,۰۰۱ مایکرومتر جدا باشند تشخیص نموده می‌تواند. وایرس‌ها با داشتن قطر (۰,۰۰۱) الی (۰,۲) مایکرومتر به ساده‌گی تشخیص گردیده می‌توانند.

SEM نظر به TEM قدرت تشخیصیه کمتر داشته؛ با آنهم باالخصوص برای دریافت تصویر های سه بُعدی از موجودات مایکروسکوپیک می‌باشد. الکترون‌ها توسط عدسیه‌ها بالای یک نقطه کوچک متمرکز می‌گردند. در نتیجه عمل متقابل میان الکترون‌ها و نمونه مورد معاینه اشکال مختلفه تشعشعات از سطح نمونه آزاد می‌گردند (طور مثال الکترون‌های ثانوی). تشعشعات متذکره ذریعه آلات کشف کننده اختصاصی آن دریافت گردیده و پس از تقویه در بالای صفحه تلویزیونی قابل رویت می‌باشد.

یک تخنیک عمده در معاینه الکترون مایکروسکوپ استفاده از "سایه افگنی" می‌باشد. در اینصورت یک صفحه نازک فلزات ثقیله (مانند پلاتین) بالای نمونه مورد معاینه گذاشته شده طوری که نمونه در مسیر اشعه آیون های فلزی در خلاء، قرار گیرد. اشعه به یک زاویه کوچک بالای نمونه هدایت داده شده بناً یک "سایه" ساحه غیر پوشیده بالای طرف مقابل به‌میان می‌آید. هر زمانی که یک اشعه الکترونی از ساحه عبور نماید، تصویر فلم به دست می‌آید و در نتیجه یک تصویر سه بُعدی حاصل می‌گردد.

تخنیک‌های عمده دیگری که در معاینات الکترون مایکروسکوپ استفاده می‌گردند عبارت از به کار برد مقطع های نهایت نازک مواد مغطوس شده، میتود منجمد نمودن نمونه ها که به کمک آن از انحراف نتایج که در استفاده از سایر طرزالعمل های خشک نمودن به‌میان می‌آید جلوگیری صورت گرفته می‌تواند و استفاده از تلوین منفی با استفاده از مواد متکاثف الکترونی از قبیل Phosphotungstic Acid و نمک های Uranyl می‌باشد. در صورت عدم استفاده از این نمک های فلزات، تباین لازم برای مطالعه جزئیات نمونه مورد معاینه به دست نخواهد آمد.

مایکروسکوپ ساحهٔ تاریک

در مایکروسکوپی ساحه تاریک غالباً از عین مایکروسکوپ ساحه روشن استفاه صورت می‌گیرد. روشنایی مایکروسکوپ ساحه تاریک با به کاربرد کاندنسر های خاصی به‌دست

© AAZEM PUBLICATIONS

شکل ۱ – ۳ معاینه ساحه تاریک (R۷)

می‌آید که شعاع نور مستقیم را مانع گردیده و هم اشعه آئینه کنار خازن را به زاویه مایل منحرف می‌سازد. در نتیجه یک ساحه تاریک ایجاد گردیده که در آن کنارهای روشن نمونه مورد معاینه قابل ویت گردیده و زمانی به دست می‌آید که اشعه مایل از کنار نمونه به طرف اوبجکتیف های مایکروسکوپ منعکس می‌گردند. این تخنیک بالاخص برای مطالعه اورگانیزم‌های از قبیل Treponema Pallidum نهایت مؤثر می‌باشد این اورگانیزم یک Spirochete بوده و دارای قطر کمتر از ۰,۲ مایکرومتر می‌باشد، بنابراین توسط نور مستقیم قابل رویت نمی‌باشد.

مایکروسکوپ فازی (Phase Microscope)

فاز مایکروسکوپ با استفاده از این حقیقت به‌میان آمده است که امواج نوری عبور کننده از اشیای شفاف مانند حجرات، نور به مشخصات موادی که از آن عبور می‌نمایند به فازهای متفاوت خارج می‌گردند. یک سیستم خاص بصری تفاوت های فاز را به تفاوت در کثافت تبدیل می‌نماید. در نتیجه بعضی ساختمان ها نظر به سایر ساختمان ها تاریک تر به‌نظر می رسند. خصوصیت عمده دیگر اینست که ساختمان‌های داخلی را در حجرات زنده قابل تشخیص می‌سازد. درحالیکه در مایکروسکوپ های عادی مستحضرات باید به‌شکل کشته شده و یا تلوین شده مورد استفاده قرار گیرند.

اوتورادیوگرافی (Autoradiography)

اگر حجرات که در آنها اتوم های رادیو اکتیف به کار رفته باشند بالای یک سلاید تثبیت گردیده، با محلول فوتوگرافیک پوشانیده شده و در تاریکی برای مدت زمان مناسب نگهداری شوند، تشعشع که از محلات تجزیه رادیو اکتیف منتشر می‌گردند در بالای فلم ظهور شده، ظاهر می‌گردند. در صورتی که حجرات با تشعشع کننده ضعیف مانند Tritium نشانی گردند، تشعشع

© AZIZI PUBLICATIONS

قبل الذکر به اندازه کافی کوتاه گردیده و موقعیت مواد رادیو اکتیف را در حجره آشکار می‌سازد. پروسیجر Autoradiography بالخصوص برای تعقیب تضاعف DNA، با استفاده از Tritium-Labeled Thymidine مؤثر می‌باشد. یکی از اشکال دیگر این میتود که در آن از Probe های نشانی شده با Nucleic Acid استفاده می‌گردد به نام In Situ Hybridization یاد می‌گردد که برای دریافت نوکلیک اسیدهای وایرسی، باکتریایی و فنگسی در حجرات و انساج مستعمل می‌باشد.

ساختمان حجرات ایوکاریوتیک Eukaryotic

هسته *(Nucleus)*

هسته توسط یک غشایی محدود گردیده که با Endoplasmic Reticulum تمادی دارد. غشای هستوی دارای قابلیت نفوذیه انتخابی می‌باشد و این قابلیت نفوذیه انتخابی به نسبت موجودیت منفذاتی است که تبادله مالیکول ها را میان هسته و سایتوپلازم اجازه می‌دهند. کروموزوم های حجرات Eukaryotic مشتمل بر Macromolecule های طویل DNA به‌شکل Helix مضاعف می‌باشند و توسط مایکروسکوپ نوری فقط زمانی قابل مشاهده می‌باشند که حجره در حالت تقسیم حجروی بوده و DNA به حد اعظم متراکم باشد، در سایر حالات کروموزوم ها متراکم نبوده و طوری مشاهده می‌گردند.

Macromolecule های DNA در حجرات Eukaryotic یا (Eukaryotic DNA Macromolecule) حاوی پروتین اساسی به نام Histone بوده که توسط رابطه های آیونیک با DNA وصل می‌گردند.

ساختمان‌های سایتوپلازمیک

سایتوپلازم حجرات Eukaryotic متصف به موجودیت Endoplasmic Reticulum، واکیولها (Vacuoles)، Plastid های دارنده قابلیت تکثر خودی و Elaborate Cytoskeleton می‌باشند که اخیرالذکر مرکب از Microtubule ها، Microfilament ها و Intermediate Filament ها می‌باشد.

Endoplasmic Reticulum عبارت از یک شبکه Membrano-Bound Channels می‌باشد. در بعضی قسمت های اندوپلازمیک ریتیکولوم این غشاها توسط رایبوزوم ها پوش می‌گردند، پروتین‌هایی که در این رایبوزوم ها سنتیز می‌گردند از طریق این غشأ داخل کانال های اندوپلازمیک ریتیکولوم شده

© AZEM PUBLICATIONS

و از طریق آن به دیگر قسمت های حجره منتقل می‌گردند. یک ساختمان مربوطه دیگر به نام جهاز گلجی یا Golgi Apparatus ویزیکول هایی را آزاد می کند که به غشای حجروی وصل گردیده و پروتین‌های داخل کیسه را به محیط اطراف رها می‌سازد.

پلاستیدها مشتمل بر مایتوکاندریا ها که دارای سیستم تنفسی ترانسپورت الکترون (Respiratory Electron Transport System) می‌باشد و نیز Chloroplast (در اورگانیزم‌های فوتوسنتیتیک) می‌باشد. پلاستیدها حاوی DNA مربوط خود می‌باشند که بعضی پروتین‌های متشکله آنها (نه تمام پروتین‌های مشتمل در آنها) را کود نموده و همچنان دارای T-RNA می‌باشد.

Cytoskeleton مشتمل بر رشته های Microtubule ها بوده که در وظایف غشای سایتوپلازمیک و شکل حجره به همین گونه در Spindle های Mitotic و اجزای فلاجیل نقش دارند، همچنان دارای رشته های اکتین و میوزین حاوی Microfilament ها می‌باشند و میکانیزم حرکات امیبوئید را فراهم می‌نمایند و بالاخره دارای Intermediate Filament ها می‌باشند که وظایف آن تا کنون دانسته نشده است.

طبقات سطحی (Surface Layers)

سایتوپلازم توسط Plasma Membrane احاطه گردیده که مرکب از پروتین و فوسفولیپید می‌باشد و شباهت با غشای حجروی پروکاریوتیک دارد. بسیاری حجرات حیوانی طبقه سطحی دیگری ندارند؛ ولی حجرات نباتی دارای یک دیوار خارجی حجروی می‌باشند که مرکب از سلولوز می‌باشد. بسیاری مایکرواورگانیزم‌های Eukaryotic نیز دارای دیوار خارج حجروی می‌باشند که امکان دارد مرکب از پولی سکراید باشد مانند سلولوز و یا Chitin و یا ممکن مواد غیر عضوی باشد مانند سیلیکا در دیاتوم‌ها.

اورگانیل های حرکی (Motility Organelles)

بسیاری مایکرواورگانیزم‌های Eukaryotic داری اورگانیل هایی می‌باشند که به نام فلاجیل (Flagella) و یا سیلیا (Cilia) یاد می‌گردند به وسیله حرکات موج مانند این اورگانیل ها حجره را قادر به حرکت در آب می‌سازد.

فلاجیل های Eukaryotic از ناحیه قطبی حجره منشه گرفته حالانکه سیلیا که نظر به فاجیل کوتاه تر می‌باشند دورادور حجره را احاطه می‌نمایند. فلاجیل و سیلیا هردو عین ساختمان اساسی و ترکیب کیمیاوی را در حجرات Eukaryotic دارا می‌باشند. هردو متشکل از مایکروتوبول ها (Microtubules) می‌باشند که عبارت از استوانه های میان خالی پروتینی بوده که از پروتین به نام

© AZEEM PUBLICATIONS

Tubulin تشکیل می‌گردند این مایکروتوبول ها توسط یک غشأ احاطه می‌گردند. مایکروتوبول ها طوری ترتیب می‌گردند که به نام سیستم (۹ + ۲) یاد می‌گردد، یعنی طوری ترتیب می یابند که ۹ جوره مایکروتوبول محیطی توسط دو مایکروتوبول مرکزی احاطه می‌گردند.

ساختمان حجرات پروکاریوتیک Prokaryotic

حجره پروکاریوتیک از هر لحاظ نظر به حجره ایوکاریوتیک ساده تر می‌باشد یگانه استثنأ این می‌باشد که لفاف حجروی آن نظر به حجره ایوکاریوتیک مغلق تر می‌باشد.

نوکلوئید (Nucleiod)

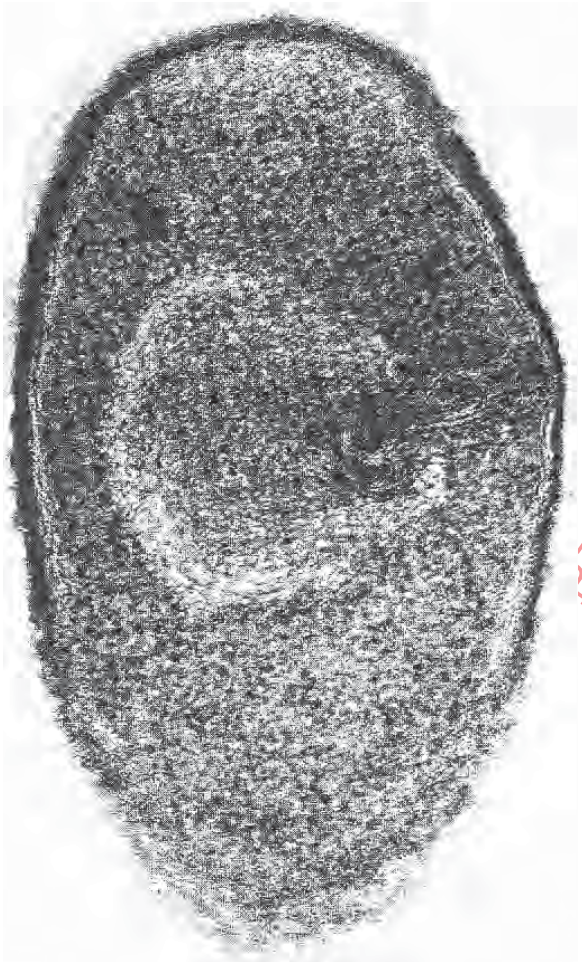
نوکلوئید (ساختمان مشابه هسته) در حجرات پروکاریوتیک معادل هسته حجرات ایوکاریوتیک بوده و توسط مایکروسکوپ نوری در مواد ملونه قابل رویت می‌باشد. این ساختمان Feulgen-Positive بوده و نشاندهنده موجودیت DNA در آن می‌باشد. DNA که چارچ منفی دارد، حد اقل طور قسمی توسط Polyamine های کوچک و ایون های مگنیزیم خنثی گردیده؛ ولی پروتین‌های هستون در باکتری‌ها موجود اند و احتمالاً نقش مشابه به هستون موجود در کروماتین های حجرات ایوکاریوتیک را بازی می‌نمایند.

شکل ۱ – ۴ هسته های باسیل سیریس **(R۱)**

تصاویری که از الکترون مایکروسکوپ به دست آمده اند (شکل ۱ – ۴) عدم موجودیت غشای هستوی و یک سیستم مایتوتیک را نشان می‌دهد. نواحی هستوی مملو از فیبریل های DNA می‌باشند.

از مدت طولانی بدینسو چنین دانسته شده که نوکلوئید حجرات باکتریایی متشکل از یک مالیکول واحد طویل مدور با وزن مالیکولی تقریباً (۱۰۹ x ۳) می‌باشد و بنابر این چنین پنداشته شده می‌تواند که یک کروموزوم واحد Haploid به‌شکل باز و دارای طول تقریباً ۱mm باشد. تعداد کاپی‌های کروموزوم

در حجره نظر به اینکه حجره در کدام مرحله سیکل حجروی قرار دارد متفاوت می‌باشد با آنهم در صورت موجودیت چندین کاپی تمام آنان دارای عین شکل می‌باشند. اخیراً با استفاده از مطالعات جدید و با استفاده از میتود Pulsed-Field Gel Electrophoresis) که برای جدا کردن مالیکول‌های بزرگ DNA و تشخیص انواع مدور و طویل مورد استفاده قرار می‌گیرد، اصطلاحاتی در این منظره کلاسیک کروموزوم حجروی به‌میان آمده اند. نتایج این مطالعات آشکار ساخت که بعضی پروکاریوت‌ها (مانند Borrelia burgdorferi عامل مرض Lyme) دارای کروموزوم خطی می‌باشد. کروموزوم های linear یا خطی همچنان در انواع مختلفه streptomyces نیز دریافت گردیده است.



شکل ۱ – ۵ الکترون مایکروگراف مقطع نازک B.subtilis که نشان دهنده تماس DNA با میزوزوم می باشد. **(R1)**

نوکلوئید بسیاری از حجرات باکتریایی در نتیجه لیز آهسته (gentle lyses) بعد از centrifugation جدا گردیده می‌تواند. ساختمان‌های جدا شده مشتمل بر DNA همراه با مقادیر کوچکتر RNA، RNA Polymerase و ممکن بعضی پروتین‌های دیگر باشد. DNA باکتریایی که مستقیماً به کمک فلم حفاظتی الکترون مایکروسکوپ توسط لیز حجره در محلول نمکی فزیولوژیک تجرید گردیده اند، به‌شکل ساختمان تسبیح مانند شبیه کروماتین حجرات ایوکاریوتیک مشاهده می‌گردند.

معاینه یک سلسله مقطع های باریک در حجرات باکتریایی توسط الکترون مایکروسکوپ نشان

3LICATIONS

می‌دهد که DNA در یک نقطه با تغلف invagination غشای سایتوپلازمیک که به نام mesosome یاد می‌شود وصل می‌گردد (شکل 1-5) گمان می رود که این اتصال در جدا شدن دو کروموزوم خواهری که متعاقب تضاعف کروموزومی به‌میان می‌آید، نقش دارد.

ساختمان‌های سایتوپلازمیک

حجرات پروکاریوتیک فاقد پلاستید های مستقل از قبیل مایتوکاندریا و کلوروپلاست می‌باشند و انزایم‌هایی electron transport در غشای سایتوپلازمیک قرار گرفته اند که به‌شکل ویزیکول های کروی و یا طبقات هموار صفحه مانند در تحت غشای حجروی مشاهده گردیده می‌توانند. در بعضی cyanobacteria ها (در سابق به نام الجی‌های سبز، آبی یاد می شدند) غشاهای فوتوسنتیتیک اکثراً ساختمان‌های چند طبقوی را می سازند که به نام thylakoid ها یاد می‌گردد.

باکتری‌ها اکثراً مواد ذخیروی را به‌شکل گرانول های غیر منحل نگهداری می‌نمایند که به‌شکل پولیمیرهای خنثی و از نظر اوسموتیک غیر فعال می‌باشند. زمانی که منبع نایتروجن، سلفر و یا فاسفورس محدود گردند و یا زمانی که PH پائین باشد، کاربن اضافی موجود در وسط توسط بعضی باکتری‌ها به پولیمیر Poly-B. hydroxybutyric acid و توسط باکتری‌های دیگر به پولیمیرهای مختلفه گلوکوز مانند نشایسته و گلایکوجن تبدیل می‌گردند. گرانول های فوق به حیث منابع کاربن برای سنتیز پروتین و نوکلئیک اسید به کار می‌روند. به همین ترتیب، تعدادی از باکتری‌های فوتوسنتیتیک sulfide را از H_2S اوکسیدایز نموده و در نتیجه گرانول های داخل حجروی دارنده عنصر سلفر را تولید می‌نمایند و بالاخره بسیاری باکتری‌ها گرانول های polyphosphate را در خود جمع نموده و ذخایر فاسفیت های غیر عضوی را می سازند که اخیرالذکر در سنتیز ATP مورد استفاده قرار گرفته می‌تواند. گرانول های فوق بعضاً به نام گرانول های volutin و یا گرانول های metachromatic یاد می‌گردند؛ زیرا با مواد ملونه آبی، به رنگ سرخ تلوین می‌گردند. این وصف، مشخصه عمده برای corynebacteria ها می‌باشد.

© NAZEM PUBLICATIONS

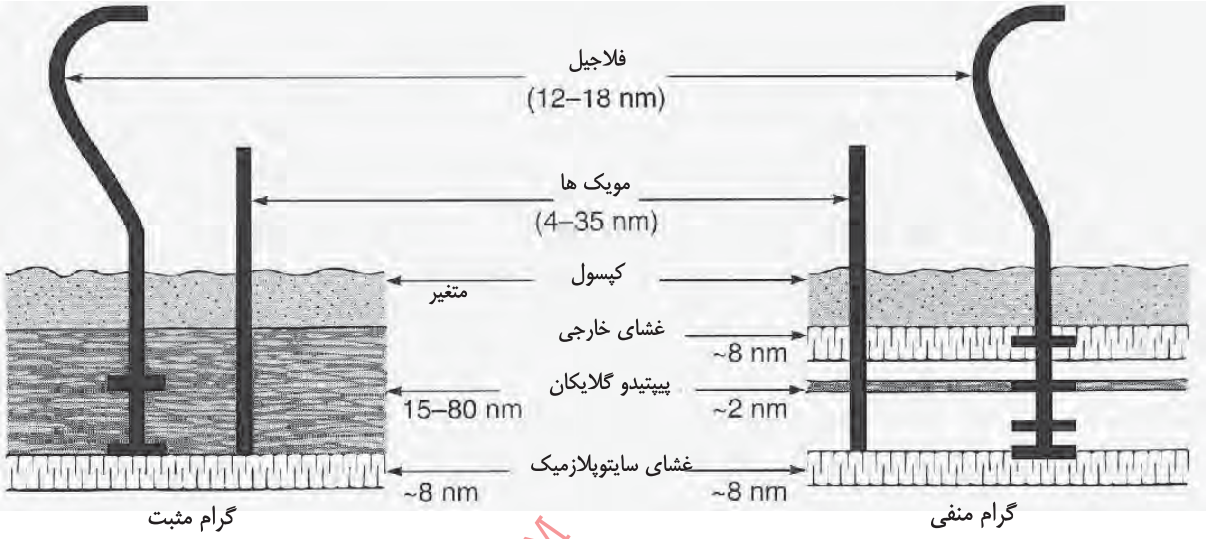
مـایکروتوبول هـا کـه مشخـصه حجـرات ایوکاریوتیـک مـی‌باشـد، بـالعموم در حجـرات پروکاریوتیک موجود نمی‌باشند بـا وجـود آن در بعـضی مـوارد توسـط الکتـرون مایکروسـکوپ سـاختمانهای در بـاکتری‌هـا مـشاهده می‌گردند که شـباهت بـا مایکروتوبول ها دارد.

شکل ۱ – ۶ دیوار حجروی و ساحه هسته **(R1)**

گروپ های خـاص و معین از باکتری‌هـا دارای ویزیکـول هـای احاطـه شـده توسـط پـروتین protein-bound در سـایتوپلازم خـود می‌باشند. که مشتمل اند بر واکیول های گازی که در بـاکتری‌هـای آبـزی، شناوری آنهـا را کنتـرول مـی‌نماینـد، carboxysome هـا (دارای انـزایم ribulosebiphosphat e carboxylase بـوده کـه انـزایم عمـده بـرای تثبیـت CO_2 مـی‌باشـد.) در بعـضی بـاکتری‌هـای اوتوتروفیـک و magnetosome هـا (گرانول هـای membrane-bound iron) اند که باکتری را قادر به magnetotaxis می‌سازد (به معنی مهاجرت و یا تمایل حجره در رابطه با سـاحه مقناطیـسی زمین می‌باشد.)

لفاف حجروی (Cell Envelope)

طبقاتی که حجره پروکاریوتیک را احاطه می‌نمایند، مجموعاً به نام لفاف حجروی یاد می‌گردد. ساختمان و تشکیل لفاف حجروی در باکتری‌های گرام مثبت و گرام منفی متفاوت می‌باشد، در حقیقت همین تفاوت است که این دو اجتماع بزرگ باکتری‌ها را توصیف می‌نماید. دیاگرام های ساده شدهٔ دو نوع لفاف حجروی در (شکل ۱ – ۷) نشان داده شده است.



شکل ۱–۷ ترکیب لفاف حجروی مایکروب های گرام مثبت و گرام منفی (R1)

© AAZEM

بسیاری باکتری‌ها در هردو گروپ گرام مثبت و گرام منفی Eubacteria و Archeobacteria دارای شبکه پروتینی و یا گلایکوپروتین Paracrystalline دو بُعدی (S-layer) را به حیث خارجی ترین بخش لفاف حجروی دارا می‌باشند. طبقات S-layer عمدتاً مرکب از یک نوع واحد مالیکولر می‌باشند. وظیفه این طبقات طور یقینی معلوم نیست، با آنهم در بعضی موارد چنین معلوم می‌گردد که حجره را از انزایم‌های تخریب کننده جدار حجروی، تهاجم bacteriovirus Bdellovibrio (یک باکتری مهاجم) و از bacteriophage ها محافظه می‌نمایند. همچنان در بعضی انواع Archaeobacteria ها شکل حجره را محافظه می‌نماید و نیز در التصاق حجره به طبقه اپیدرم میزبان رول دارد.

الف: The Gram-Positive Cell Envelope لفاف حجروی گرام مثبت: لفاف حجروی

در حجرات گرام مثبت نسبتاً ساده تر بوده و متشکل از دو یا سه طبقه می‌باشد که عبارت از: غشای سایتوپلازمیک، طبقه ضخیم peptidoglycan و در بعضی باکتری‌ها یک طبقه خارجی که به نام capsule می‌باشد. ساختمان و وظیفه این طبقات ذیلاً تشریح می‌گردند.

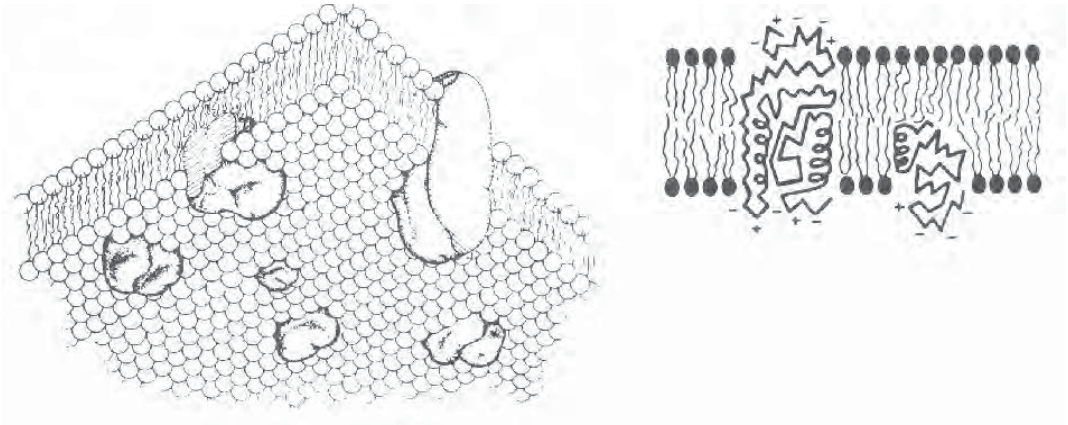
ب: The Gram-Negative Cell Envelope لفاف حجروی گرام منفی: دارای چندین طبقه و ساختمان نهایت مغلق می‌باشد. غشای سایتوپلازمیک که (در باکتری‌های گرام منفی به نام غشای داخلی یاد می‌گردد) توسط یک ورقه نازک peptidoglycan احاطه گردیده که اخیرالذکر توسط یک طبقه مغلق که به نام outer membrane یا غشای خارجی یاد می‌گردد تقویه می‌گردد. ممکن در خارجی ترین طبقه کپسول موجود باشد. فضای میان غشای داخلی و خارجی به نام periplasmic space یاد می‌گردد.

غشای سایتوپلازمیک (The Cytoplasmic Membrane)

الف: ساختمان: غشای سایتوپلازمیک در باکتری‌ها به نام غشای حجروی نیز یاد گردیده و توسط مایکروسکوپ الکترونیک در مقطع های نازک قابل رویت بوده این غشأ عبارت از غشای واحد مرکب از فوسفولیپید ها و پروتین‌ها می‌باشد. شکل (۱—۸) نمونه تشکل غشأ را تشریح می‌نماید. غشای حجرات پروکاریوتیک از حجرات ایوکاریوتیک بنابر عدم موجودیت sterol ها تفریق می‌گردد.

تغلفات پیچیده convoluted invaginations در غشای سایتوپلازمیک ساختمان‌های خاصی را به‌میان می آورد که به نام میزوزم ها یاد می‌شوند. میزوزوم ها به دو نوع می‌باشند: میزوزوم های جداری، که در تشکل دیوارهای حجروی در اثنای تقسیمات حجروی وظیفه دارد و نوع دیگر آن میزوزوم های جانبی می‌باشد. کروموزوم های باکتری‌ها (DNA) به میزوزوم های جداری وصل می‌باشند. تغلفات بیشتر غشای سایتوپلازمیک به طرف سایتوپلازم در باکتری‌هایی یافت می‌گردد که دارای سیستم های نهایت فعال ترانسپورت الکترونی باشند (طور مثال باکتری‌های فوتوسنتیتیک و باکتری‌های تثبیت کننده نایتروجن)

© AAZEM PUBLICATIONS



شکل ۱ – ۸ مودل ساختمانی غشای حجروی (R1)

ب: وظیفه: وظایف عمده غشای سایتوپلازمیک عبارتند از:

۱– قابلیت نفوذ انتخابی و ترانسپورت مواد منحله.

۲– ترانسپورت الکترونی و oxidative phosphorylation در ایروب ها.

۳– افراغ انزایم‌های هایدرولایتیک.

۴– در بر داشتن انزایم ها و مالیکول‌های ناقل (Carrier) که در بیوسنتیز DNA، پولیمیرهای دیوار حجروی و لیپیدهای غشایی وظیفه دارد.

۵– در برداشتن رسپتورها و سایر پروتین‌های chemotactic و سایر انواع سیستم های transduction.

حد اقل 50 فیصد غشای سایتوپلازمیک باید به منظور نشونمای حجره به حالت نیمه مایع باشد. این هدف در حالات پائین بودن درجه حرارت پائین، با سنتیز و ترکیب اسیدهای شحمی غیر مشبوع به دست می‌آید.

۱– ***قابلیت نفوذ و انتقال:*** *غشای سایتوپلازمیک به حیث مانعه قابلیت نفوذ (مواد منحل lipophobic به‌شکل غیر فعال از آن عبور نموده نمی‌تواند) و همچنان به حیث رابطه قابلیت نفوذیه وظیفه اجرای می‌نماید که در اخیرالذکر سیستم های خاص پروتینی (permeases) انتشار غیر فعال مواد منحل خاص را تسهیل و یا (energy-dependent active transport) را بر علیه میلان غلظت catalyze می‌نمایند.*

دو شکل سیستم انتقال فعال (ابتدایی و تالی) موجود است. در سیستم های ابتدایی یا سیستم پمپ‌ها (Pumps) انرژی میتابولیک به منظور انتقال مواد منحل از طریق غشأ بر علیه میلان غلظت آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. در باکتری‌های ایروبیک پمپ عمده عبارت از Electron transport system می‌باشد که در آن انرژی حاصله از substrate oxidation جهت خارج

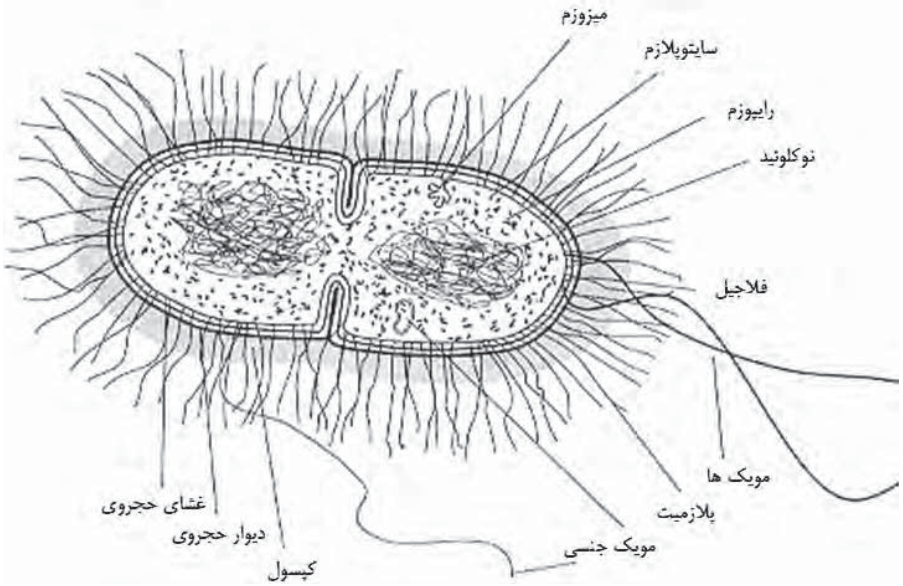
© AAZEM PUBLICATIONS

نمودن پروتون ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. پروتون های خارج شونده دوباره از طریق ATPase غشأ، داخل حجره می‌گردند، انرژی حاصله از این جریان آیونی توسط ATPase به منظور سنتیز ATP از ADP و فاسفیت های غیر عضوی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در باکتری‌های anaerobic که فاقد سیستم انتقال الکترون‌ها یا (Electron transport system) می‌باشند، عکس سیستم فوق صورت می‌گیرد، خروج پروتون ها توسط ATPase صورت می‌گیرد که در آن از انرژی حاصله از شکستن ATP به مصرف می رسد.

در سیستم های ثانوی، انرژی ذخیره شده در گرادیانت های کاتیون و انرژی پوتانشیل غشأ که در نتیجه پمپ ها به‌میان می‌آید برای انتقال فعال مواد منحله از قبیل امینو اسیدها و مواد قندی به داخل حجره مورد استفاده قرار می‌گیرد. این انتقال توسط سیستم co-transport انجام می پذیرد که در آن: انتقال دهنده به کتیون ها و مواد منحله وصل گردیده و هر دو را همزمان انتقال می‌دهد. از آنجائیکه گرادیانت کاتیون ها قویاً به طرف داخل متوجه می‌باشد، گرادیانت مختلط الکتروکیمیاوی مواد منحله را برعکس گرادیانت غلظت مربوط آن به طرف داخل حجره می کشاند.

همچنان حجره حاوی ناقلین پروتینی مخصوص در غشای خود می‌باشد که انتشار بعضی مواد منحله را به طرف داخل و یا به خارج از حجره مساعدت می‌نماید. بنابر این، اگر حجره در وسطی قرار داده شود که در آن غلظت بلند گلیسیرول موجود باشد، می‌تواند گلیسیرول را ذریعه انتشار سهل (Facilitated diffusion) و بدون استفاده از منبع مزدوجه انرژی، به حالت تعادل نگهدارد.

EM PUBLICATIONS



شکل ۱ – ۹ ساختمان شیماتیک باکتری در حال انقسام

در باکتری‌های گرام منفی، انتقال بسیاری مواد مغذی ذریعه پروتین‌های اتصالی خاص (binding proteins) که در فضای Periplasmic قرار دارند تسهیل می‌گردد. مواد مغذی ابتداء به پروتین‌های خاص چسپیده که ضریب dissociation آن به (10-7–10-6mol/lit) می رسد و بعداً توسط پروتین انتقال دهنده در غشای داخلی اخذ می‌گردد. این سیستم به نام shock sensitve یاد می‌گردد، به نسبت اینکه تغییرات غیر مترقبه اسموتیک (رقیق شدن ناگهانی محیط تعلیقی حجرات) باعث تخریب غشای خارجی گردیده و زمینه خروج پروتین‌ها اتصالی (binding proteins) را مساعد می‌سازد.

علاوه بر انتقال حقیقی که در آن مواد منحله بدون تغییر شکبل از طریق غشأ عبور می‌نمایند، باکتری‌ها از عملیه استفاده می‌نمایند که به نام (group translocation) یا (vectorial metabolism) یاد می‌گردند، که بالای اخذ انواع معین مواد قندی مانند گلوکوز و مانوز مؤثر می‌باشد. در این عملیه مرکبات فوق در اثنای عملیه انتقال phosphorylate می‌گردند. این عملیه به باکتری‌ها اجازه می‌دهد تا منابع انرژیکی خود را ترویج، انتقال و میتابولیزم را طور مؤثر مورد استفاده قرار دهند. در این عملیه ابتداء یک پروتین انتقال دهنده غشایی در سایتوپلازم phosphorylate می‌گردد که در آن phosphoenolpyruvate به مصرف می رسد. این پروتین phospholyrate شده بعداً به مواد قندی آزاد در غشای خارجی وصل گردیده و آنرا به سایتوپلازم داخل می‌نماید و بعداً به حیث قند فوسفیتدار آنرا آزاد می‌نماید. این سیستم های انتقال دهنده مواد قندی به نام سیستم‌های phosphotransferase یاد می‌گردد.

در Escherichia coli، انتقال آیون پتاسیم به منظور تنظیم فشار داخلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ازدیاد در فشار اوسموتیک خارجی در غلظت ثابت K^+ باعث فعال شدن gene های کود کننده برای پروتین‌های انتقال دهنده K^+ می‌گردند و علاوتاً فعالیت پروتین‌های متذکره را ازدیاد می‌بخشد.

۲- **انتقال الکترونی و Oxidative phosphorylation**: سایتوکروم‌ها و سایر انزایم‌ها و مرکبات مربوط به زنجیر تنفسی به شمول عده از dehydrogenase ها در غشای سایتوپلازمیک قرار دارند. بنابر این غشای سایتوپلازمیک باکتری‌ها شباهت وظیفوی به غشای مایتوکاندریا داشته که همین ارتباط توسط بسیاری بیولوجست ها برای تقویه این تیوری به کار رفته است که مایتوکاندریا از باکتری‌های symbiotic منشأ گرفته اند.

۳- **اطراح اکزو انزایم‌های هایدرولایتیک (Hydrolytic exoenzymes)**: تمام اورگانیزم‌ها که

© AAZEM PUBLICATIONS

مواد مغذی خود را از پولیمیرهای عضوی مکرواورگانیک مانند (پروتین‌ها، پولی سکرایدها، لیپیدها) به دست می آورند انزایم‌های هایدرولا یتیک را اطراح می‌نمایند که پولیمیرهای فوق را به واحدات کوچکتر تبدیل نموده و باعث عبور آنها از غشای سایتوپلازمیک می‌گردد. حیوانات بزرگتر چنین انزایم ها را مستقیماً در لومن قنات هضمی اطراح می‌نمایند و باکتری‌ها گرام مثبت آنرا مستقیماً در وسط خارجی و باکتری‌های گرام منفی در فضای periplasmic آنرا افراغ می‌نمایند. بعضی باکتری‌های گرام منفی مانند Pseudomonas، Erwinia و Serratia مقادیر زیادی از Protease ها، Amylase ها و Pectinase ها را به محیط خارج حجروی اطراح می‌نمایند. پروتین‌های اطراح شده در رایبوزوم های سایتوپلازمیک به‌شکل Preprotein ها ترکیب گردیده که یک سلسله اضافی 15-40 امینواسید (معمولاً تقریباً 20 امینواسید) در نهایت امینو آن وصل می‌باشند. این سلسله رهنما و یا سگنال دهنده leader seuquence در هماهنگی با پروتین‌های بالخاصه سایتوپلازم و یا غشأ عمل نموده و در مراحل اولی پروسه سنتیز پولی پپتاید ها، رایبوزوم ها را به سطح داخلی غشای حجروی وصل می‌نماید. بعداً translocation در غشأ که توسط سلسله "رهنما" آغاز گردیده صورت می‌گیرد، این مسأله روشن نیست که این عملیه همزمان با ازدیاد در طول زنجیر صورت می‌گیرد و یا اینکه در مراحل اخیر پروسه سنتیز به وقوع می پیوندد. سلسله رهنما به تعقیب translocation توسط (membrane-bound leader peptidase) شکسته و پروتین تکمیل شده در مرحله اخیر از غشأ آزاد می‌گردد.

بسیاری باکتری‌های پتوجن انزایم ها (مانند Ig Al protease) و توکسین‌هایی را (مانند توکسین کولرا) به یک میکانیزم مشابه فوق اطراح می‌نمایند که فکتورهای مهم virulence می‌باشند.

۴- **وظایف بیوسنتیتیک:** غشای سایتوپلازمیک ناحیه انتقال دهنده لیپیدها می‌باشد که بالای آن واحدات دیوار حجروی تراکم نموده به همین ترتیب انزایم‌های بیوسنتیز دیوار حجروی را دارا می‌باشند. انزایم‌های سنتیز phospholipid ها نیز در غشای سایتوپلازمیک قرار دارند. بالاخره، بعضی پروتین‌های (DNA replicating complex) در بالای غشأ موجود می‌باشند، که احتمالاً در میزوزوم های جداری که DNA متصل آن بوده، قرار داشته باشد.

۵- **سیستم های Chemotactic:** جذب کننده ها و دفع کننده ها بالای آخذه های خاص در غشای سایتوپلازمیک وصل می‌گردند. حد اقل 20 آخذه مختلفه شیمورسپتور ها در غشای E.coli قرار دارند، که بعضی از آنها در مراحل اول پروسه انتقال وظیفه دارند.

© AAZEM PUBLICATIONS

ج: مواد ضد باکتریایی که بالای دیوار حجروی اثر دارند: *مواد ضد عفونی که دارای گروپ های lipophilic و hydrophilic می‌باشند، باعث پاره نمودن غشاهای سایتوپلازمیک و در نتیجه مرگ حجره می‌گردد. یک گروپ انتی بیوتیک ها، یعنی polymyxin ها متشکل از پیپتایدهای سکلیک ضد عفونی می‌باشند که غشاهایی دارنده phosphotidyl ethanolamine را طور انتخابی تخریب می‌نمایند. ماده اخیرالذکر یک جزء عمده غشای باکتریایی می‌باشد. تعدادی از انتی بیوتیک ها طور بالخاصه وظایف بیوسنتتیک غشای سایتوپلازمیک را مختل می سازند طور مثال nalidixic acid و novobiocin سنتیز DNA را نهی نموده، علاوتاً novobiocin سنتیز teichoic acid را نهی می‌نماید.*

گروپ سوم مواد membrane-active عبارت از ionophore ها می‌باشند، مرکبات فوق زمینه انتشار سریع کتیون های معین را از طریق غشأ مساعد می‌سازد. طور مثال Valinomycin طور مشخص انتقال آیون های پوتاسیم را مساعدت می‌نماید. بعضی مرکبات ionophore ذریعه تشکل منفذهای hydrophilic در غشأ عمل می‌نمایند و تعداد دیگر به حیث انتقال دهنده گان آیون‌های منحل در شحم عمل نموده و از غشأ داخل و خارج می‌گردند. آیونوفورها می‌توانند حجره را از بین ببرند و علت آن از بین بردن پتانسیل غشأ می‌باشد که برای عملیه oxidative phosphorylation و سایر پروسه های مربوط به غشأ لازم می‌باشند. مرکبات فوق تأثیر انتخابی بالای باکتری‌ها نداشته و بالای غشای تمام انواع حجرات عمل نموده می‌توانند.

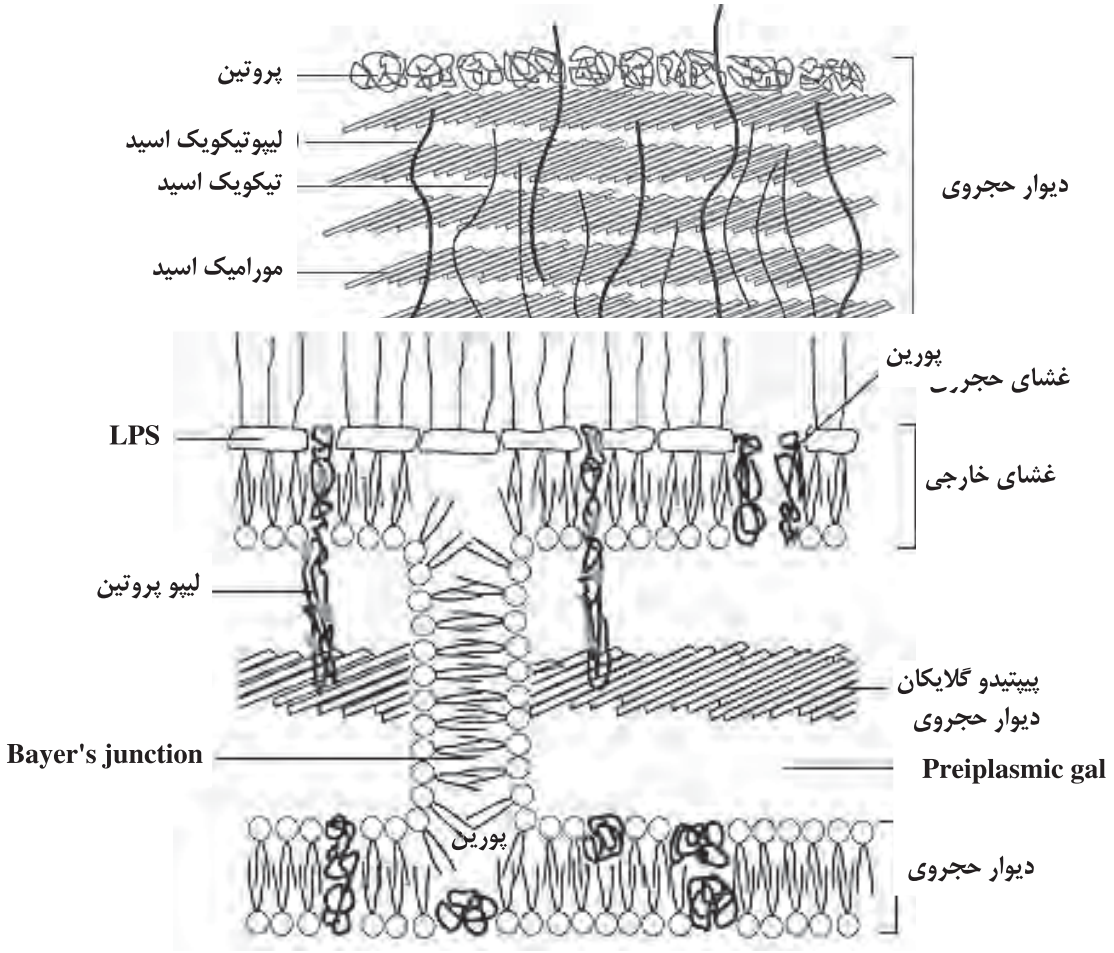
© AAZEM PUBLICATIONS

دیوار حجروی

طبقات لفاف حجروی میان غشای سایتوپلازمیک و کپسول مجموعاً به نام "دیوار حجروی" یاد می‌گردند. در باکتری‌های گرام مثبت، دیوار حجروی عمدتاً متشکل از peptidoglycan و teichoic acid ها بوده؛ ولی در باکتری‌های گرام منفی، دیوار حجروی مشتمل بر peptidoglycan و غشای خارجی می‌باشد.

فشار اسموتیک داخلی در بسیاری باکتری‌ها در نتیجه تراکم مواد منحل توسط انتقال فعال آن، (بین 5 الی 20 اتموسفیر) تفاوت می‌نماید. در بسیاری محیط ها، این فشار برای انفجار حجره کفایت می‌نماید، ولی بنابر موجودیت قوت و استحکام فوق‌العاده دیوار حجروی این عمل صورت گرفته نمی‌تواند. دیوار حجروی باکتری‌ها قدرت فوق را از یک طبقه ای حاصل می‌نماید که متشکل از مواد به نام murein، mucopeptide و یا peptidoglycan (تمام اسامی مترادف هم اند) می‌باشند. ساختمان peptidoglycan ذیلاً تشریح می‌گردد.

باکتری‌ها نظر به عکس‌العمل شان در مقابل تلوین گرام، به دو گروپ گرام مثبت و گرام منفی تقسیم می‌شوند. تلوین فوق به نام هستولوجست Christian Gram مسمی گردیده است، نامبرده پروسیجر تلوین تشخیصی فوق را حین معاینه باکتری‌ها در انساج منتن کشف نمود. در این تلوین ابتدأ حجرات توسط crystal violet و iodine تلوین گردیده و بعداً با اسیتون یا الکول شسته می‌شود. در مرحله اخیرالذکر باکتری‌های گرام منفی بیرنگ گردیده؛ ولی باکتری‌های گرام مثبت رنگ خود را حفظ می‌نمایند.



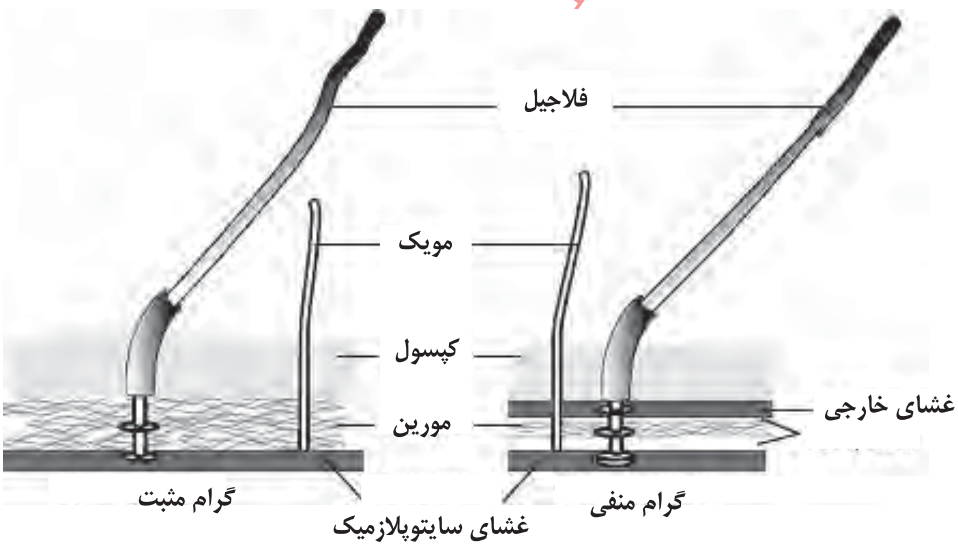
شکل ۱ – ۱۰

اختلاف میان باکتری‌های گرام مثبت و گرام منفی نشان داده است که این اختلاف در دیوار حجروی وجود دارد: حجرات گرام مثبت نیز توسط اسیتون یا الکول بیرنگ گردیده

می‌توانند، مشروط بر اینکه دیوار حجروی آنها پس از مرحله تلوین و قبل از مرحله شستشو بر طرف گردیده باشد. باوجود اینکه ترکیب کیمیاوی دیوار های گرام مثبت و گرام منفی حال به خوبی دانسته شده است؛ ولی با آنهم علت اینکه دیوار گرام مثبت چگونه خروج رنگ را مانع می‌گردد، فهمیده نشده است.

دیوار حجروی علاوه بر اینکه باعث حفاظت فشار اوسموتیک حجره می‌گردد، نقش اساسی را در تقسیمات حجروی بازی می‌نماید و به همین ترتیب به حیث اساس بیوسنتیز حجره فعالیت می کند. شاخص های عمده انتیجنیک سطح حجره در طبقات مختلفه دیوار آن قرار داشته و یک مرکب به نام lipopolysaccharide در حجرات گرام منفی مسؤول فعالیت endotoxin های غیر وصفی باکتری‌های گرام منفی می‌باشد. طور عموم دیوار حجروی قابلیت نفوذیه غیر انتخابی داشته با آنهم یک طبقه دیوار گرام منفی یعنی غشای خارجی آن عبور مالیکول‌های بزرگ را مانع می‌گردد.

ICATIONS



شکل ۱ – ۱۱

وظایف دیوار حجروی

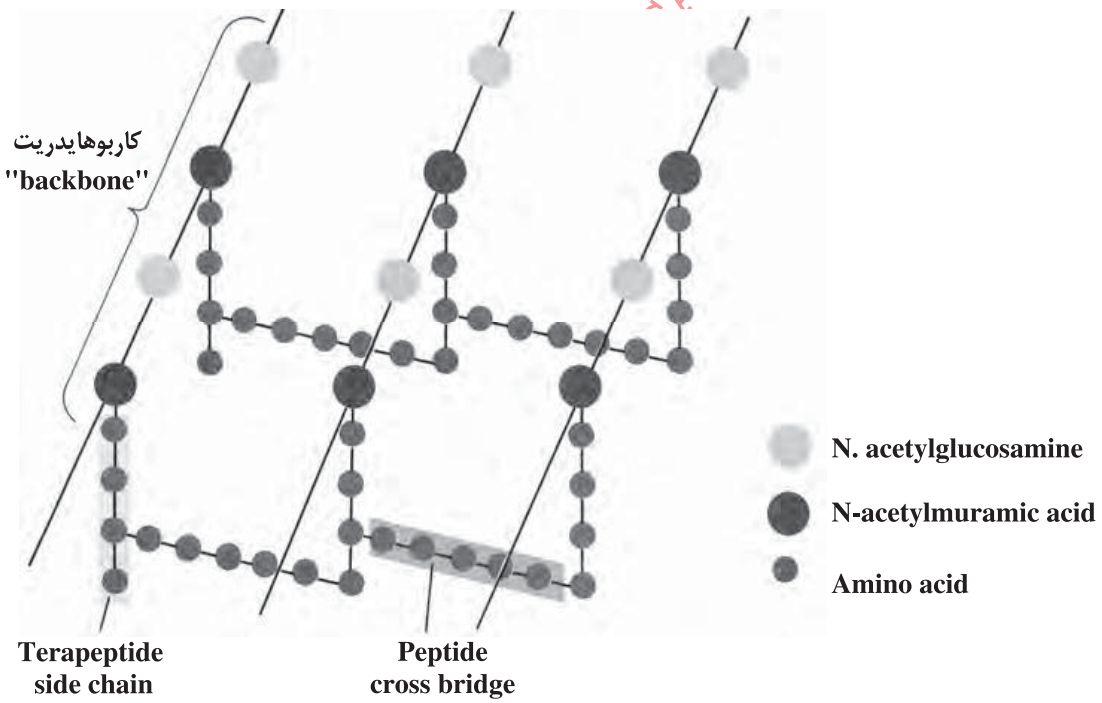
۱– به باکتری‌ها شکل می‌دهد و یا شکل ظاهری حجره باکتری را تعیین می‌نماید.

۲– ساختمان‌های داخل حجره باکتری را محافظه می‌نماید.

۳- در انقسام حجروی نقش دارد.

۴- مقاومت را به مقابل عوامل محیطی که متوجه حجره باکتری است به‌وجود می آورد.

الف: طبقه پپتیدوگلایکان Peptidoglycan layer: پپتیدوگلایکان یک پولیمیر مغلق بوده که از نظر تشریحی متشکل از سه قسمت می‌باشد: اساس (ستون فقرات) که مرکب از N-acetylglucosamine و N-acetylmuramic acid به‌شکل متبادل می‌باشد، یک ست زنجیرهای جانبی یکسان tetrapeptide ها که به N-acetylmuramic acid وصل می‌باشند و یک ست پل های اتصالی Peptide های یکسان می‌باشد. (شکل ۱ – ۱۲) در بسیاری دیوارهای حجروی گرام منفی، پل های اتصالی مشتمل بر یک رابطه مستقیم پپتاید میان diaminopimelic acid (DAP) و گروپ carboxyl در D-alanine نهایت دومی زنجیر می‌باشد.



شکل ۱-۱۲ ساختمان کیمیاوی پپتیدوگلایکان

با آنهم، زنجیرهای جانبی tetrapeptide تمام انواع دارای تظاهرات عمده مشابه می‌باشند. بسیاری دارای L-alanine در موقعیت 1 (متصل به diaminopimelic acid) D-glutamate و یا

D-glutamate تعویضی در موقعیت 2 و D-alanine در موقعیت 4 می‌باشد. موقعیت 3 بیش از همه متغیر می‌باشد. طوریکه بسیاری باکتری‌های گرام منفی دارای diaminopimelic acid در این موقعیت بوده که به آن مرکبات لا یپوپروتین دیوار حجروی وصل می‌باشد که ذیلاً توضیح می‌گردد. باکتری‌های گرام مثبت دارای diaminopimelic acid، L-lysine و یا سایر L-aminoacid ها در موقعیت 3 بوده می‌توانند.

diaminopimelic acid یک عنصر مختص برای دیوار حجروی پروکاریوتیک بوده و پیشقدم Lysine در بیوسنتیز باکتری برای امینو اسید فوق می‌باشد. Mutant های باکتری‌ها که قبل از diaminopimelic acid در پروسه biosynthetic pathway نهی می‌گردند، در صورت فراهم نمودن diaminopimelic acid در محیط دوباره به نموی نورمال خود دوام می‌دهند؛ اما اگر تنها L-lysine فراهم گردد، لیز صورت می‌گیرد و با وجود نموی نارمل قادر به تشکل peptidoglycan جدید در دیوار حجروی نمی‌باشند.

این مسأله که زنجیرهای peptidoglycan طور متقابل وصل می‌باشند به این مفهوم است که هر طبقه peptidoglycan یک مالیکول بزرگ واحد می‌باشد.در باکتری‌های گرام مثبت، به تعداد 40 ورق پپتیدوگلایکان می‌باشند که تقریباً 50 فیصد مواد دیوار حجروی را تشکیل می‌دهند. در باکتری‌های گرام منفی طوری معلوم می‌گردد که فقط 1-2 ورق وجود داشته باشند که 5-10 فیصد مواد دیوار حجروی را تشکیل می‌دهند. باکتری‌ها نظر به ساختمان دیوار حجروی شکل می‌گیرند که این موضوع در خصوص انواع خاص باکتری‌ها مشخص می‌باشد.

چندین گروپ پروکاریوتیک ها، که مجموعاً به نام archaeobacteria یاد می‌گردند، فاقد طبقه peptidoglycan می‌باشند. در بعضی انواع این گروپ یک پولیمیر مشابه موجود می‌باشد که مشتمل بر قندهای N-acetyl و سه L-minoacid می‌باشند. این گروپ فاقد muramic acid و D-amino acid ها می‌باشند. در سایر آرکیوباکتری‌ها در عوض یک طبقه غیر پروتینی موجود است. این اورگانیزم‌ها در قسمت لیپیدها و RNA نیز تفاوت هایی را نشان می‌دهند.

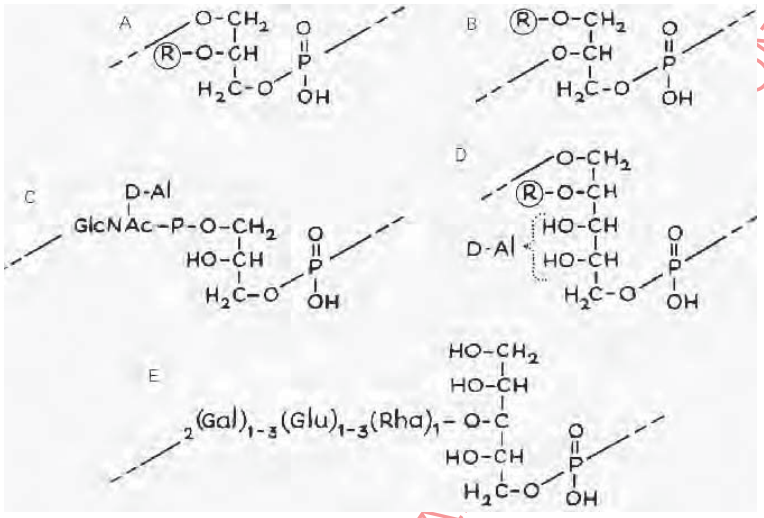
ب: اجزای خاص دیوار حجروی گرام مثبت: اکثر دیوارهای گرام مثبت، مقادیر قابل ملاحظه اسیدهای teichoic و teichuronic را دارا می‌باشند که تقریباً ۵۰ فیصد وزن خشک دیوار حجروی و 10 فیصد وزن خشک تمام حجره را احتوا می‌نماید. بر علاوه بعضی دیوارهای گرام مثبت مالیکول‌های پولی سکراید را دارا بوده می‌توانند.

۱- teichoic acid و teichuronic acid: عبارت از پولیمیر های منحل در آب بوده که حاوی ribitol و glycerol می‌باشند و توسط رابطه های phosphodiester وصل می‌گردند و

© AZEM PUBLICATIONS

یک یا بیشتر امینو اسید و یا قند را دارا می‌باشند (شکل 1-13) دو نوع teichoic acid موجود اند: teichoic acid دیواری که توسط روابط کوولانت با peptidoglycan وصل می‌باشند و teichoic acid غشایی (lipoteichoic acid) که توسط روابط کوولانت به گلایکولیپید های غشا وصل بوده و در میزوزوم ها تراکم می‌نمایند. بعضی انواع teichoic acid غشایی می‌باشند.

اسیدهای teichoic انتیجن های مهم سطحی باکتری‌های گرام مثبت دارنده آنرا تشکیل می‌دهد و اثرات انتی بادی ها بالای آنان حاکی بر این است که اسیدهای فوق در سطح خارجی طبقه peptidoglycan قرار دارند؛ ولی فعالیت اسیدهای فوق با هضم قسمی پپتیدوگلایکان ازدیاد می‌یابد، بناً نتیجه گیری می‌گردد که قسمت اعظم teichoic acid ممکن بین غشای سایتوپلازمیک و طبقه پپتیدوگلایکان موجود بوده و از طریق منفذها در طبقه اخیرالذکر، در جهت خارج حجره امتداد یابد. در pneumococcus ها (streptococcus pneumoniae) اسیدهای teichoic شاخص های انتیجنیک را حمل می‌نمایند که به نام Forssman antigen یاد می‌گردند. در streptococcus pyogenes، اسید lipoteichoic با M-protein مرتبط می‌باشند که از غشای حجروی از طریق طبقه پپتیدوگلایکان تبارز می‌نماید. مالیکول طویل M-protein همراه با lipoteichoic acid مایکروفیبریل های را می سازند که اتصال S. Pyogene را به حجرات حیوانی مساعدت می‌نماید.



شکل ۱ – ۱۳ واحد های تکراری تیکوییک اسید

واحدات متکرر ممکن گلیسیرول باشند که به واسطه رابط های 1/3 و یا 1/2 وصل می‌باشند و یا واحدات مغلقتر دیگری باشند که در آن گلیسیرول و یا ribitol با بقایای قندی

مانند گلوکوز، گلکتوز و یا N-acetylglucosamine یکجا می‌باشند. این زنجیرها ممکن 30 و یا بیشتر واحد متکرر را به‌شکل طولانی در خود داشته باشند، گرچه زنجیرهای دارای 10 و یا کمتر واحد نیز معمول می‌باشند.

بسیاری teichoic acid ها دارای مقادیر زیاد D-alanine می‌باشند که اکثراً در موقعیت های 2 و 2 و 3 گلیسیرول و یا موقعیت 3 و یا 4 ribitol وصل می‌باشند؛ اما D-alanine در بعضی از اشکال مغلق تر teichoic acid ها به یکی از بقایای قندی وصل می‌باشد. علاوه بر D-alanine مرکباتی دیگری از قبیل گلوکوز، گلکتوز، N-acetylglucosamine، N-acetylegalactose amine و یا succinate ها نیز ممکن به گروپ های آزاد هایدروکسیل glycerol و ribitol وصل باشند. ممکن بیشتر از یکنوع مرکب قندی علاوه بر D-alanine در نوع واحد مایکروبی موجود باشد در صورت فوق این مسأله ثابت نگردیده که آیا قندهای مختلفه در عین مالیکول teichoic acid قرار دارند و یا در مالیکول‌های دیگر. ترکیب teichoic acid که توسط یک نوع معین باکتری ساخته می‌شود نظر به ترکیب وسط نشونمایی متفاوت بوده می‌تواند. وظیفه teichoic acid ها تا هنوز هم مورد مباحثه می‌باشد. Teichoic acid ها آیون مگنیزیم را با خود وصل نموده که ممکن نقشی را در رسانیدن آیون فوق به حجره داشته باشد. همچنان نقشی را در وظایف نورمال پاکت حجروی دارا می‌باشند، بنابر این تعویض choline با ethanolamine در تیکوئیک اسید Pneumococcus ها باعث مقاومت حجره در مقابل autolysis و عدم توانمندی آن برای اخذ DNA transformation، می‌گردد. تیکوئیک اسیدهای غشایی ممکن به حیث یک اتصال دیوار به غشای حجروی مربوطه وظیفه اجرا نماید.

اسیدهای tichuronic عبارت از پولیمیر های مشابه بوده؛ ولی واحدات متکرر اسیدهای قندی مانند (N-acetylmanosuronic و یا D-glucosuronic acid) را به عوض فوسفوریک اسید در خود دارند. مرکبات فوق در صورت محدود بودن فوسفات به عوض تیکوئیک اسید سنتیز می‌گردند.

۲- پولی سکرایدها: هایدرولیز دیوار در انواع معین باکتری‌های گرام مثبت باعث حصول قندهای خنثی مانند mannose، arabinose، galactose، rhamnose، glucosamine و قندهای اسیدی مانند glucuronic acid و mannuronic acid می‌گردد. ممکن این قندها در واحدات فرعی پولی سکرایدها در دیوار حجروی وجود داشته باشند با وجود آنهم کشف این مسأله که اسیدهای تیکوئیک و تیکورونیک ممکن دارای انواع مختلفه قندها باشند باعث گردیده که منشه این قندها نامعلوم باقی بمانند.

© AAZEM PUBLICATIONS

ج: مرکبات خاص دیوارهای حجروی گرام منفی: دیوار حجروی گرام منفی دارای سه مرکب می‌باشد که خارج از طبقه پپتیدوگلایکان قرار داشته و عبارتند از: لاپیوپروتین، غشای خارجی و لیپوپولی سکراید می‌باشد.

۱- lipoprotein: مالیکول‌های لاپیوپروتین غیر معمول سبب اتصال غشای خارجی و طبقات پپتیدوگلایکان می‌باشند. لاپیوپروتین دارای 57مینو اسید می‌باشند، که نمایانگر تکرار یک سلسله مرکب از 15 امینو اسید می‌باشد و توسط روابط پپتایدی به diaminopimelic acid موجود در زنجیر های جانبی tetrapeptide peptidoglycan وصل می‌باشد. مرکبات شحمی، مشتمل بر diglyceride thioether می‌باشند که به cysteine نهایی آن وصل می‌باشد و به‌صورت غیرکوولانت به غشای خارجی تثبیت می‌گردد. لاپیوپروتین از نظر تعداد زیادترین پروتین در حجرات گرام منفی می‌باشد (معادل به 700000 مالیکول در یک حجره.) وظیفه آن (با در نظرداشت میوتانت ها که فاقد آن می‌باشند) عبارت از تثبیت غشای خارجی و اتصال آن بالای طبقه پپتیدوگلایکان می‌باشد.

۲- غشای خارجی: غشای خارجی یک ساختمان دو طبقه یی می‌باشد: ورقه داخلی آن از نظر ترکیب شباهت به غشای سایتوپلازمیک دارد حالانکه فوسفولیپیدهای ورقه خارجی با مالیکول‌های لیپوپولی سکراید (LPS) تعویض گردیده اند. در نتیجه ورقه های این غشأ غیر متناظر گردیده و خواص این دو طبقه به طور قابل ملاحظه از غشاهای بیولوژیک مشابه آن مانند غشای سایتوپلازمیک، متمایز می‌گردد.

توانایی غشای خارجی در رابطه با عدم اجازه دخول به مالیکول‌های هایدروفوبیک از جمله خواص غیر معمول غشاهای بیولوژیکی بوده و حجره را (در صورت enteric bacteria ها) از نمک های صفراوی محافظه می‌نماید. نظر به ماهیت شحمی آن غشای خارجی مالیکول‌های هایدروفیلیک را نیز اجازه دخول به حجره نمی‌دهند. با وجود آنهم، غشای خارجی دارای کانال های باالخاصه می‌باشند که مشتمل بر مالیکول‌های پروتینی به نام porin ها می‌باشند که دیفوجن غیر فعال مرکبات هایدروفیلیک با وزن مالیکولی پائین را اجازه می‌دهد این مرکبات مشتمل بر قندها، امینو اسیدها و آیون های معین می‌باشد. مالیکول‌های بزرگ انتی بیوتیک غشای خارجی را نسبتاً به آهسته گی می شگافند که این موضوع حاکی بر مقاومت نسبتاً بیشتر باکتری‌های گرام مثبت در مقابل انتی بیوتیک ها می‌باشد. قابلیت نفوذیه غشای خارجی نظر به یک نوع گرام منفی به نوع دیگر آن وسیعاً متفاوت می‌باشد. به گونه مثال: Pseudomonas aeruginosa در برابر مرکبات antibacterial شدیداً مقاوم می‌باشد و غشای خارجی آن

© AZEM PUBLICATIONS

نسبت به E. coli تقریباً 100 مراتبه قابلیت نفوذیه کمتر دارد.

پروتین‌های عمده غشای خارجی که به اساس gene های کود کننده آن نامگذاری شده اند، نظر به عدم موجودیت آن در میوتانت ها و نظر به تجاربی که در آن پروتین‌های خالص به‌شکل غشاهای مصنوعی دوباره ترکیب می‌گردند، به چندین کتگوری تقسیم می‌گردند. به گونه مثال پورین ها که مثال آن OmpC، D و F و PhoE در E.coli و Salmonella typhimurium است از جمله پروتین‌های trimeric بوده که هردو طرف غشای خارجی را تثقب می‌نمایند. این‌ها منفذهای نسبتاً غیر وصفی را تشکیل داده که انتشار آزاد مواد منحله هایدروفیلیک کوچک را از طریق غشأ اجازه می‌دهند. پورین ها در انواع مختلف دارای حدود دفع سازی متفاوت می‌باشند که از وزن مالیکولی 600 در Ecoli الی بیشتر از 300 در P.aeruginosa تفاوت می‌نماید.

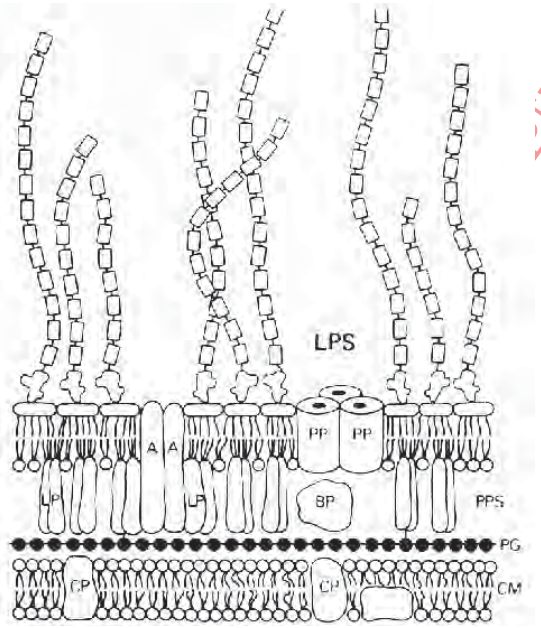
اجزای گروپ دوم از پروتین‌های غشای خارجی که در بسیاری موارد به پورین ها شباهت دارند نمونه آن LamB و Tsx می‌باشد. LamB یک پورین قابل تحریک بوده و رسپتور برای باکتریوفاژ lambda می‌باشد و مسؤول انتشار مالتوز و maltodextrin ها از غشأ می‌باشد. Tsx رسپتور برای باکتریوفاژ T6 بوده و مسؤول انتشار nucleoside ها و بعضی امینواسیدها می‌باشد. برعلاوه LamB عبور مواد منحله دیگر را نیز اجازه می‌دهد و نشاندهنده عمل متقابل مواد منحله با نواحی مخصوصه در channel می‌باشد.

پروتین OmpA در غشای خارجی بسیار وافر می‌باشد. پروتین فوق به حیث رسپتور برای چندین باکتریوفاژ فعالیت نموده و نیز در تثبیت غشای خارجی بالای طبقه peptidoglycan سهیم می‌باشد. علاوتاً مویک pilus جنسی در F-mediated bacterial conjugation می‌باشد.

غشای خارجی همچنان دارای یک ست پروتین‌های کمتر وافر بوده که در انتقال مالیکول‌های خاص، مانند Vit B12 و منعلق ironsiderophore سهیم می‌باشند. اینان وابستگی زیادی به مرکبات (مورد انتقال) شان نشان داده و احتمالاً مانند سیستم های کلاسیک انتقال در غشای داخلی (سایتوپلازمیک) فعالیت دارند. جهت اجرای وظیفه مناسب این پروتین‌ها، ایجاب می‌نماید تا انرژی را با پروتینی به نام TonB بدست آورد. سایر پروتین‌های اضافی کوچک مشتمل بر تعداد محدودی از انزایم ها به شمول فوسفولیپازها و پروتیازها می‌باشد به همینگونه بعضی پروتین‌های penicillin-binding در آن مشتمل می‌باشند.

© AZEEM PUBLICATIONS

توپولوژی پروتین‌های عمده غشای خارجی، به اساس مطالعه و تحلیلات روابط متقابل و ارتباط وظیفوی در (شکل 1-14) نشان داده شده است. غشای خارجی به هردو یعنی طبقه murein و غشای سایتوپلازمیک وصل می‌باشد. ارتباط با طبقه میورین اساساً توسط لا یپوپروتین غشای خارجی تأمین می‌گردد. تقریباً یک برسه مالیکول های لا یپوپروتین توسط روابط کوولانت با میورین وصل بوده و در نگهداری این دو ساختمان با همدیگر مساعدت می‌نمایند. یک اتحاد غیرکوولانت بعضی پورین ها با طبقه میورین نقش کمتری در ارتباط دادن طبقه خارجی با این ساختمانها دارد. پروتین‌های غشای خارجی در رایبوزوم های متصل با سطح سایتوپلازمیک غشای داخلی سنتیز می‌یابد و اینکه چگونه پروتین‌های متذکره به غشای خارجی می رسند تا اکنون فهمیده نشده است، ولی درینمورد چنین پیشنهاد می‌گردد که انتقال در نواحی چسپیدگی میان غشای سایتوپلازمیک و غشای خارجی صورت می‌گیرد، که این مسأله توسط الکترون مایکروسکوب بخوبی مشاهده گردیده می‌تواند. نواحی یا زون های متذکره به اساس اسم کاشف آن به نام "Bayer junctions" نیز یاد می‌گردند در حجره E. coli تقریباً 200junction متذکره وجود دارد.



شکل ۱- ۱۴ ساختمان مالیکولی غشای خارجی باکتری گرام منفی

۳- lipopolysaccharide (LPS): لیپوپولی سکراید در دیوار حجروی گرام منفی مشتمل بر لیپید مغلقی به نام لیپید A می‌باشد که به آن یک پولی سکراید که متشکل از یک هسته و یک سلسله نهایی یونتهای متکرر اند وصل می‌باشد. لیپید A متشکل از واحدات phosphrylated glucosamine disaccharide بوده که به آن یکتعداد زنجیرهای طویل اسیدهای شحمی وصل می‌باشند. β-ydroxymyristic acid که یک اسید شحمی C14 می‌باشد دایماً درین شحم موجود بوده و مشخصه آن می‌باشد، سایر

PUBLICATIONS

اسیدهای شحمی همراه با گروپ های تعویضی در فوسفیت آنها، نظر به نـوع بـاکتری متفـاوت می‌باشند.

هسته پولی سکراید در تمام انواع باکتری گرام منفی که دارای LPS باشند باهم مشابه انـد. بـا آنهم هرنوع دارای یک واحد اختصاصی متکرر می‌باشند. یونتهای متکرر اکثـراً trisaccharide های خطی و یا tetra or pentasaccharide های منشعب می‌باشند.

مالیکول های LPS منفی به‌صورت غیرکوولانت توسط کتیون های دو ولانسه اتـصال متقابـل می یابند؛ این مسئله باعث ثبات دادن به غشأ گردیده و مانعه یـی را در مقابـل مـالیکول هـای هایدروفوبیک به‌میان می آورند. برطرف نمودن کتیون های دو ولانسه توسط chelat هـا و یـا بیجانمودن توسط انتی بیوتیک های پولی کتیونیک، غشای خارجی را برای مالیکول های بزرگ هایدروفوبیک قابل نفوذ می‌سازد.

LPS که برای حیوانـات نهایـت توکـسیک مـی‌باشـد، در بـاکتری هـای گـرام منفـی بـه نـام endotoxin یاد می‌گردد زیرا به سطح حجره قویاً چسپیده و فقط در صورتی آزاد می‌گردند کـه حجره lyse گردد. هرگاه LPS به لیپید A و پـولی سـکراید تجزیـه گـردد، تمـام toxicity آن مربوط به اول الذکر می‌باشد. به عبارت دیگـر پـولی سـکراید ممثـل انتیجنیـک عمـده سـطح حجروی می‌باشد و به نام O antigen یاد می‌گردد. خصوصیت انتیجنیک بـه یونتهـای متکـرر نهایات نسبت داده می‌شود که با ساختن یک طبقه هایدروفیلیک پولی سکرایدها دورادور حجره را احاطه می‌نمایند. تعداد ممکنه انواع انتیجنیک نهایت زیاد بـوده؛ تنهـا در Salmonella ایـن تعداد بیش از 1000 تثبیت گردیده است.

LPS توسـط روابـط هایـدروفوبیک بـه غـشای خـارجی وصـل مـی‌گردنـد. LPS در غـشای سایتوپلازمیک سنتیز گردیده و به موقعیت نهایی آن انتقال داده می‌شود. موجودیت LPS بـرای فعالیت بسیاری پروتین‌های غشایی لازم می‌باشند.

تمام باکتری های گرام منفی دارای LPS غشای خارجی مرکب از تعداد متفاوت واحدات متکرر Oligosaccharide نمی‌باشند؛ گلایکولیپیدهای غشای خارجی باکتری ها که در سطح مخاط جا می‌گیرند (طـور مثـال Neisseria meningitides، N. gonorrhoeae، Haemophilus Influenza، Haemophilus Ducreyi) دارای گلایکان های نسبتاً کوتاه و منشعب می‌باشند. این گلایکولیپیدهای کوچکتر با ساختمانهـــای " R-type" LPS فـــاقد O antigen قابـل مقایسه بوده که توسط میوتانت های باکتری های انتریک مانند E. Coli تولیـد مـی‌گـردد. بـا وجود آن ساختمان‌های آن بیشتر به glycosphinolipid های غشای حجـــــروی پستانداران

© AAZEM PUBLICATIONS

شباهت داشته، که بهتر است به نام lipooligosaccharide ها (LOS) مسمی‌گردند. این مالیکول ها ساختمان انتیجنیک خیلی متفاوت داشته و حتی در عین strain واحد تفاوت های ساختمانی را نشان می‌دهند.

LOS یک فکتور مهم ویرولانس می‌باشد. Epitop هایی در LOS تشخیص گردیده اند که ساختمان حجره میزبان را تقلید نموده و در نتیجه قادر می‌گردند که از عکس العمل معافیتی در میزبان فرار نمایند. بعضی LOS (طور مثال در N. Gonorrhoeae، N. Meningitides و H. Ducreyi) در نهایت خود دارای N-acetyllactosamine (Galβ1-4-GlcNAc) می‌باشند که از نظر immunochemical شباهت به‌پیشقدم antigen کریوات سرخ انسانها دارد. در موجودیت انزایم باکتریایی به نام sialyltransferase و مرکبات مربوط به میزبان و یا باکتریا (Monophospho N-acetylneuraminic acid, CMP-NANA)، بقایای N-acetyl-lactosamine سیالا یل دار (sialylated) می‌گردد. این sialylation که به‌صورت invivo صورت می‌گیرد، زمینه تقلید مالیکولی انتیجن میزبان را به اورگانیزم مهیا و ماسک بیولوژیکی را تهیه می دارد که فکر می‌گردد sialic acid آنرا فراهم می‌نماید.

۱- فضای periplasmic: فضا میان غشای داخلی و خارجی به نام periplasmic space یاد می‌گردد که مشتمل بر طبقه murein و یک محلول پروتینی gel مانند می‌باشد. فضای پیریپلازمیک تقریباً 20-40 فیصد حجم حجره را احتوا می‌نماید که قابل ملاحظه می‌باشد. پروتین‌های پیریپلازمیک مشتمل اند بر protein های اتصالی با مرکبات خاص (طور مثال، امینواسیدها، قند، ویتامین ها و آیون ها)، انزایم‌های هایدرولا یتیک (طور مثال، alkaline phosphotase و 5'-nucleotidase) می‌باشند که مرکبات غیرقابل انتقال را به مرکبات قابل انتقال می شکنند، و نیز دارای انزایم‌های detoxifying مانند β-lactamase و aminoglycoside-phosphorylase می‌باشند که انتی بیوتیک های معین را غیرفعال می سازند. پیریپلازم همچنان دارای پولیمیر های منشعب و متکاثف D-glucose می‌باشند، که از 8 الی 10 یونت طویل می‌باشد و طور متفاوت با گلیسیرول فوسفات و phosphatidylethanolamine تعویض می‌گردند. بعضی از آنها حاوی ایستر های O-succinyl می‌باشند. این اولیگوسکرایدهای غشایی نقش مهمی را در osmoregulation بازی می‌نمایند، زیرا حجرات کشت شده در اوساط با osmolarity پائین، سنتیز مرکبات فوق را 16 مرتبه ازدیاد می‌بخشد.

© AZZEMI PUBLICATIONS

د: انزایم‌هاییکه بالای دیوار حجروی حمله می‌نمایند: رابطه β 1-4 در ستون فقرات پپتیدوگلایکان توسط انزایم lysozyme هایدرولیز می‌گردد. انزایم متذکره در افرازات حیوانات (اشک، لعاب دهن، افرازات انفی) و به همینگونه در سفیدی تخم مرغ موجود است. باکتری های گرام مثبت که توسط lysozyme در محیط با فشار اسموتیک پائین مواجه گردد، لیز می‌شود؛ اما در صورتیکه فشار اسموتیک وسط بلند برده شود تا با فشار اسموتیک داخل حجره در حالت تعادل قرار گیرند، proplast های آزاد رها می‌گردند. غشای خارجی حجرات گرام منفی را در مقابل lysozyme محافظه نموده مگر اینکه توسط مرکبات مانند ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) که یک chelating agent می‌باشد از هم گسیخته شود؛ در وسط متعادل آزموتیک حجراتیکه با EDTA-lysozyme مواجه می‌گردند spheroplast ها را تشکیل می‌دهند که هنوز هم بقایای دیوار گرام منفی مغلق را به شمول غشای خارجی دارا می‌باشند.

باکتری ها خود دارای یکتعداد autolysin می‌باشد که عبارت اند از انزایم‌های هایدرولایتیک که بالای پپتیدوگلایکان ها حمله می‌نمایند، به شمول گلایکوسیدها، امیدازها، و پپتیدازها. انزایم‌های متذکره احتمالاً وظیفه اساسی را در نمو و انقسام حجره بازی می‌نماید؛ ولی این فعالیت ها در زمان انحلال حجرات مرده یا اوتولیز بیشتر ظاهر می‌گردد.

علاوتاً انزایم‌هاییکه باعث تخریب دیوار حجروی می‌گردند در حجراتی دریافت می‌شوند که تمام باکتری را بلع می‌نمایند مانند پروتوزوا و حجرات فگوسیت حیوانات تکامل یافته تر.

هـ: نشونمای دیوار حجروی: با ازدیاد کتله پروتوبلاست ها، دیوار حجروی با اتصال واحدات جدیدالتشکیل در طبقات مختلفه دیوار حجروی، طویلتر می‌گردد. در streptococc ها، اتصال به طبقه اساسی دارنده انتیجن در ناحیه استوایی دیوار حجروی اخذ موقع می‌نماید؛ در بعضی باکتری های گرام منفی چنین گمان می رود که پروسه اتصال طور تصادفی پیش می رود، گرچه اتصال موضعی که توسط بیجا شدن سریع و یا تغییر و تبدیل عین منظر به‌میان آمده می‌تواند. در E.coli، نشونمای چوکات غشای خارجی منحصراً در قطب های حجره صورت می‌گیرند، که اجزای بالخاصه مانند فگورسپتورها و permease ها به‌صورت تصادفی در این چوکات داخل می‌گردند. چنین گمان می رود که طبقه پپتیدوگلایکان E.coli توسط اتصالات موضعی تصادفی نشونما می‌نماید. در Bacillus subtilis، تجارب pulse-chase نشان داده اند که پپتیدوگلایکان و اسیدهای تیکوئیک به شکل بلاک های موجود می‌باشند، و کمتر از 12 ناحیه در یک حجره واحد برای دخول مواد جدیدالتشکیل موجود اند.

و: پروتوپلاست ها، سفیروپلاست ها و L-form ها: اگر در اثر فکتورهای خارجی دیوار حجروی باکتری‌های گرام مثبت کاملاً تخریب گردد (تخریب murein توسط lysozyme و نهی سنتیز آن

© AAZAM PUBLICATIONS

توسط پنسلین) و همچنان باکتری‌ها در وسطی گذاشته شود که فشار آسموتیک آن پایینتر از فشار آسموتیک داخل حجره باکتری‌ها باشد. در اینصورت باکتری‌ها به lysis معروض خواهد شد. اگر باکتری در محیطی گذاشته شود که فشار آسموتیک آن مساوی به فشار آسموتیک داخل حجره باکتری باشد در اینصورت باکتری به lysis مواجه نشده و حجره به‌وجود می‌آید که به نام protoplast یاد می‌گردد.

اگر دیوار حجروی باکتری‌های گرام منفی در اثر فکتورهای خارجی قسماً تخریب گردد و باکتری در وسطی گذاشته شود که فشار آسموتیک آن پایینتر از فشار آسموتیک داخل حجره باکتری باشد در اینصورت باکتری به lysis مواجه می‌شود درحالیکه اگر باکتری در وسطی قرار داده شود که فشار آسموتیک آن معادل (Isotonic) باشد در اینصورت حجره به lysis معروض نشده از شکل بیضوی و چوبک مانند به‌شکل مدور در می‌آید که به نام spheroplast یاد می‌گردد.

اگر چنین حجرات قادر به نشونما و انقسام باشند، درینصورت به نام L. form یاد می‌گردند. نام L از انستیتوت lister در لندن گرفته شده است. کلچر L. form ها مشکل بوده و اکثراً وسطی را ایجاب می‌نمایند که توسط agar جامد گردیده و دارای فشار اسموتیک مناسب باشند. L. form ها توسط پنسلین نظر به lysozyme به سهولت تولید گردیده که این موضوع عطف به ضرورت بر بقایای پپتیدوگلایکان می‌نماید.

بعضی اشکال L. form ها با برطرف نمودن محرک به شکل نورمال باسیلی اعاده گردیده می‌توانند. بنابرین قادر به این می‌گردند تا سنتیز نورمال دیوار حجروی را از سر بگیرند. با وجود آن سایر انواع ثبات داشته و هرگز اعاده نمی‌گردند. فکتوریکه ظرفیت اعاده باکتری را تعیین می‌نماید ممکن موجودیت بقایای پپتیدوگلایکان باشند، که بطور نورمال در بیوسنتیز خود بحیث پیشقدم عمل می‌نماید.

بعضی انواع باکتری ها به‌صورت خودبخودی باعث تولید L. form می‌گردند. تشکل L. form با وساطت دوایی و یا بشکل خودبه خودی باعث ایجاد انتانات مزمن در میزبان می‌گردند و اورگانیزم‌ها با نشان دادن مقاومت در اعضای دفاعی وجود جاگزین می‌گردند. از آنجاییکه انتانات L form در برابر تداوی انتی بیوتیک نسبتاً مقاوم می‌باشند، مشکلات خاصی را در مقابل شیموتراپی به‌میان می آورند. اعاده حالت شان به شکل باسیلی باعث عود انتان گردیده می‌تواند.

کپسول و Glycocalyx

کپسول قسمت خارجی دیوار حجروی مایکرواورگانیزم‌ها را احاطه می‌نماید. تمام باکتری‌ها دارای مواد کپسولی می‌باشند؛ ولی در نزد بعضی انواع آنها مواد کپسولی زیاد متراکم بوده و یک قشر ضخیم را می‌سازد که به سهولت و به طور واضح به مشاهده می رسد. مثلاً Klebsiella

© AZIM PUBLICATIONS

اما در بعضی باکتری‌ها کپسول عبارت از یک قشر نازک بوده که توسط الکترون مایکرسکوپ دیده می‌شود مثلاً Streptococci.

بسیاری باکتری ها حین نمو در محیط طبیعی مقادیر بزرگ پولیمیر های خارج حجروی را سنتیز می‌نمایند. (به استثنای کپسول poly-D-glutamic acid در Bacillus anthracis)، مواد خارج حجروی پولی سکراید می‌باشند. زمانیکه پولیمیرها یک طبقه متکاثف و واضح را دورادور حجره می سازند، به نام کپسول یاد می‌گردد و زمانیکه یک شبکه سست فیبریل ها را تشکیل دهد که به خارج از حجره تمدید یافته باشند، به نام glycocalyx یاد می‌گردد. در برخی موارد کتلات پولیمیر طوری تشکیل می‌گردد که به‌نظر می رسد کاملاً از حجره جدا گردیده ولی حجره در آن محبوس گردیده است، در چنین موارد پولیمیرهای خارج حجروی به حیث یک طبقه ساده (slime layer) عطف می‌گردند. پولیمیرهای خارج الحجروی توسط انزایم‌هایی سنتیز می‌گردند که بالای سطح حجره باکتریایی قرار دارند. طور مثال Sterptococcus mutans از دو انزایم glucosyl transferase و fructosyl transferase برای سنتیز زنجیرهای طویل دکستران (poly-D-glucose) و لیوان ها (poly-D-fructose) استفاده می‌نمایند (یعنی homopolymer ها).

پولیمیر های که حاوی بیشتر از یکنوع مونوسکراید باشند به نام heteropolymer ها یاد می‌گردند.

کپسول در متهاجم بودن باکتری های پتوجن کمک نموده، حجرات encapsulated از هایدرولیز مصؤون می‌باشند مگر اینکه انتی بادی های کپسولی آنرا احاطه نماید. گلایکوکالکس در چسپیدن باکتری به سطوح محیطی به شمول حجرات نباتی و میزبان حیوانی نقش بازی می‌نماید. طور مثال ظرفیت چسپندگی شدید S. Mutans به مینای دندان، به گلایکوکلکس نسبت داده می‌شود. حجرات باکتریایی عین نوع و یا سایر انواع بداخل گلایکوکلکس محبوس می‌گردد، که طبقه یی به نام پلک را بالای سطح دندان تشکیل می‌دهند، تولیدات اسیدی که توسط این باکتری ها افراز می‌گردد باعث caries دندان می‌گردد.

وظایف کپسول

۱- محافظه باکتری‌ها از علیه Phagocytosis.

۲- محافظه باکتری‌ها از تأثیرات انتی بادی ها.

© AZEM PUBLICATIONS

۳- محافظه باکتری‌ها از تأثیرات Bactcriophage.
۴- باکتری‌ها را از خشک شدن محافظه می کند.
۵- در تعیین type باکتری‌ها کمک می کند.
۶- قدرت Virullence دارد.

فلاجیل Flagella

الف: ساختمان: فلاجیل باکتریایی ساختمان‌های رشته مانند اند که مرکب از پروتین بوده و دارای قطر 30-12µm می‌باشند. ساختمان‌های فوق ارگانهای تحرکی برای اورگانیزم‌های دارنده آن می‌باشد. فلاجیل دارای نهایت و قاعده می‌باشد. فلاجیل منشأ خود را از اجسام مدور (Basal Granul) که در داخل دیوار حجروی موقعیت دارند می‌گیرد.

به اساس تعداد و موقعیت فلاجیل در حجره باکتری، باکتری‌های فلاجیل دار را به چهار گروپ ذیل تقسیم می‌نمایند:

۱- باکتری‌های Monotrichus: باکتری‌های که در یک نهایت خود صرف یک عدد فلاجیل دارند مانند Vibrio cholera.
۲- باکتری‌های Lophotrichus: عبارت از باکتری‌های اند که در یک نهایت خود چند عدد فلاجیل دارند مانند Pseudomonase.
۳- باکتری‌های Peritrichus: عبارت از باکتری‌های اند که در تمام سطح خود دارای فلاجیل اند. مانند Salmonella typhi.
۴- باکتری‌های Amphotrichus: عبارت از آن نوع باکتری‌های اند که در هردو نهایت خود یک یا چندین عدد فلاجیل دارند مانند Spirillum Volutance.

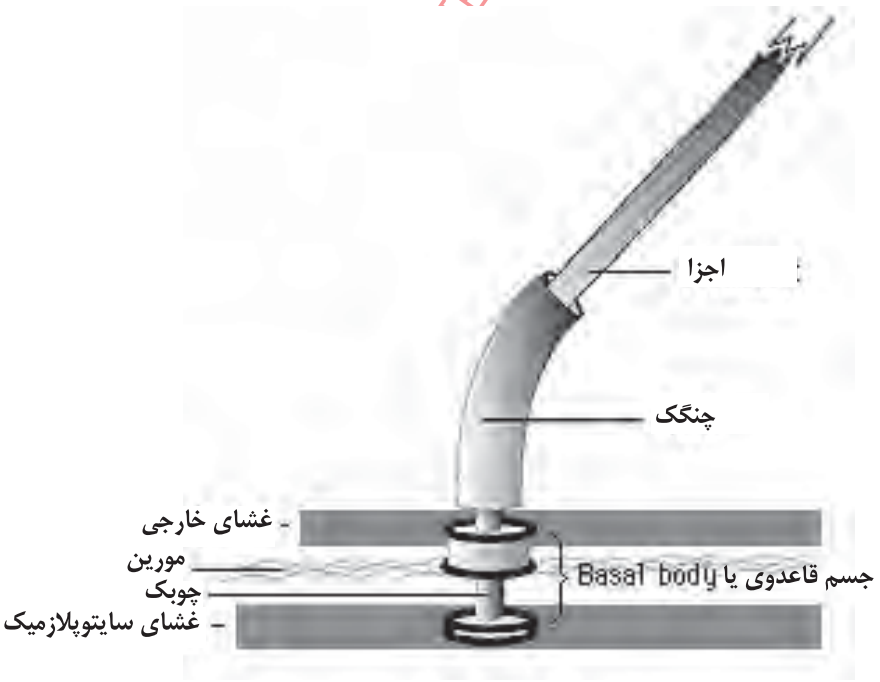
فلاجیل باکتریایی متشکل از چندین هزار مالیکول های پروتین متشکله می‌باشند که به نام flagellin یاد می‌گردد. در بعضی انواع (مثلاً Compylobacter)، فلاجیل مرکب از دو نوع فلاجیلین می‌باشند؛ ولی در اکثر انواع نوع واحد دریافت شده است. فلاجیل در نتیجه تراکم واحدات آن به شکل فنر مانند یا helical به‌میان می‌آید. اگر فلاجیل بوسیله تکان میخانیکی برداشته شوند، به زودی در نتیجه سنتیز، تراکم، و بیرون آوردن واحدات فلاجیلین، فلاجیل جدید تشکل نموده و در ظرف 3-6 دقیقه تحرکیت دوباره اعاده می‌گردد. ساختمان اساسی فلاجیلین

© AAZEM PUBLICATIONS

احتمالاً در انواع مختلفه باکتری ها از هم متفاوت می‌باشند. پروتین‌های فوق شدیداً انتیجنیک بوده (H.antigens) و بعضی عکس العمل های معافیتی بر علیه انتانات به این پروتین‌ها مربوط می‌باشد.

فلاجیل توسط یک ساختمان مغلق که متشکل از یک چنگک و یا یک قاعده می‌باشد به حجره باکتریایی التصاق می‌نماید. چنگک ساختمان کوتاه منحنی مانند بوده و طوری معلوم می‌گردد که بحیث یک مفصل عمومی میان motor که در قاعده موجود است و خود فلاجیل عمل می‌نماید. Basal body یا قاعده یک ست حلقه ها را دارا می‌باشد که یک جوره در باکتری های گرام مثبت و دو جوره در باکتری گرام منفی می‌باشند. ساختمان الکترون مایکروسکوب و دیاگرام های تشریحی در ساختمان‌های گرام منفی نشان داده شده است. حلقه های L و P در حجرات گرام مثبت موجود نمی‌باشند. طی مطالعات جنیتیک ساختمان مغلق فلاجیل آشکار گردیده که بیش از 40 جین مؤلد در قسمت تجمع و وظایف آن دخیل می‌باشند.

BLICATIONS



شکل ۱ – ۱۵ ساختمان فلاجیل

ب: وظیفه: فلاجیل های باکتریایی چرخنده های نیمه جامد فنری بوده که حجره به آن به‌صورت حرکی چرخش می‌دهد. این چرخش ذریعه جریان یافتن پروتون ها بطرف حجره به اساس میلان (گرادیانت) تولید شده توسط پروتون پمپ های اساسی به‌میان می‌آید؛ در عدم موجودیت منبع انرژی میتابولیک این قدرت توسط قوه محرکه پروتونی که توسط آیونوفورها تولید می‌گردد به دست می‌آید.. باکتری هایی که در محیط الکالین زندگی می‌نمایند (alkalophile ها) این انرژی را بیشتر از گرادیانت آیون سودیم برای تأمین تحرکیت فلاجیل، بدست می آورد تا از گرادیانت پروتون.

تمام اجزای مربوط به موتور فلاجیل در لفاف حجروی موجود اند. فلاجیل هایی که به لفاف حجروی مجزا و سربسته وصل باشند، تا زمانی فعالیت می‌نمایند که مرکبات تنفسی در وسط موجود و یا گرادیانت پروتون به طور تصنعی ایجاد گردیده باشد.

هر زمانیکه یک باکتری peritrichous شنا می‌نماید، فلاجیل آن طوری باهم یکجا می‌گردند که یک بندل خلفی را تشکیل داده و با دورهای مخالف عقربه ساعت، حجره را به طرف مقابل به یک خط مستقیم می راند. در خلال وقفه ها، فلاجیل سمت حرکت را تغییر داده و بطور آنی از هم جدا می‌گردند و در نتیجه باعث توقف حجره گردیده و به طرف یک سمت جدید که به‌صورت اتفاقی تعیین می‌گردد، شنا را از سر می‌گیرد. این خاصیت باعث می‌گردد که chemotaxis به‌میان آید یعنی حرکت مایکروب به طرف مواد کیمیاوی یا حرکت خالص حجره بطرف منبع می‌باشد. موجودیت جاذب کیمیاوی (مانند قند و یا یک امینواسید) به کمک آخذه هایی محسوس می‌گردد که در غشای حجروی موقعیت دارند (در بسیاری انواع، عین آخذه در انتقال مالیکول ها از طریق غشأ سهیم اند). حجره باکتریایی برای تشخیص گرادیانت های کیمیاوی ساحوی ناقادر تلقی می‌گردد (یعنی گردیانت های موجود میان دو قطب را نمی‌توانند کشف نمایند)، ولی تجارب نشان داده که حجره می‌تواند قادر به تشخیص گرادیانت های زمانی باشد، یعنی غلظت های را که زمان دور شدن حجره از منبع جاذب کاهش می‌یابد و زمان نزدیک شدن حجره به جاذب ازدیاد می‌یابد، تشخیص نموده می‌تواند. بعضی مرکبات به عوض جاذب بودن بحیث دافع فعالیت می‌نمایند. یکی از میخانیکیت هاییکه ذریعه آن حجرات به مواد جاذب و یا دافع عکس العمل نشان می‌دهند عبارت عملیه‌های cGMP-mediated methylation و demethylation پروتین‌های خاص در غشأ می‌باشد. مواد جاذب باعث

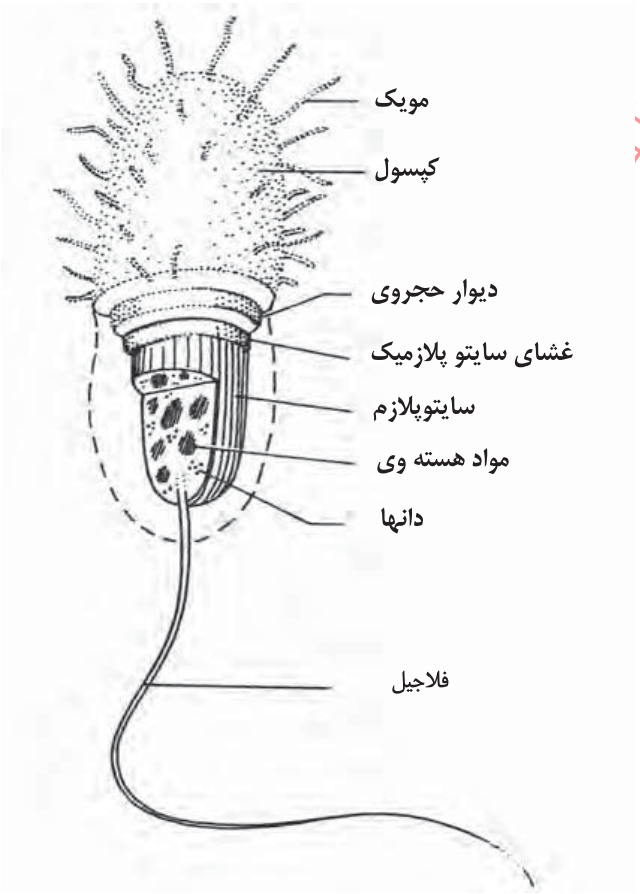
© AAZEM PUBLICATIONS

نهی مؤقتی demethylation این پروتین‌ها گردیده در حالیکه مواد دافع باعث تحریک demethylation پروتین‌های متذکره می‌گردد.

میخانیکیت که بواسطه آن تغییری در خاصیت حجره در عکس العمل با یک تغییر در محیط به‌میان می‌آید به نام sensory transduction یاد می‌گردد. Sensory transduction نه تنها مسؤول chemotaxis می‌باشد؛ بلکه همچنان مسؤول aerotaxis نیز می‌باشد (حرکت بسوی غلظت مطلوب اکسیجن)، phototaxis (حرکت باکتری فوتوسنتیتیک بطرف نور) و electron acceptor taxis (حرکت باکتریای تنفسی بطرف اکسپتورهای الکترونی بدیل از قبیل nitrate و fumerate) می‌باشد. درین سه نوع رسپتورها، مانند chemotaxis حرکت خالص توسط تنظیم عکس العمل حرکی صورت می‌گیرد.

(Fimbriae) Pili

بسیاری باکتری های گرام منفی دارای ضمایم سطحی سخت می‌باشند که به نام pili (کلمه لاتین به نام موی) و یا fimbriae ("fringes" L) می‌باشند. ساختمان‌های متذکره نظر به فلاجیل کوتاه تر و باریکتر بوده؛ و همانند فلاجیل متشکل از واحدات فرعی پروتینی به نام pilinها می‌باشند. بعضی pili دارای یک نوع واحد pilin بوده و در سایرین بیشتر از یک نوع pilin موجود می‌باشند. پروتین‌های کوچک که در بالای سطح pili قرار دارند، مسؤول اتصال آن اند. دو نوع pili موجود اند: pili معمولی که در چسپیدن باکتری های همزی symbiont به حجره میزبان نقش دارد؛ و pili جنسی که



شکل ۱ – ۱۶ دیاگرام مقطعی باکتریا

مسؤول یکجا نمودن حجرات donor و recipient در پروسه conjugation باکتریایی می‌باشد. Pili در (شکل ۱ – ۱۶) ارائه گردیده که در آن pili جنسی توسط ذرات فاژ پوشیده شده که برای آن منحیث رسپتورهای خاص فعالیت می‌نمایند. مالیکول های pilin به شکل فنرمانند ترتیب یافته و یک سلندر مستقیم را تشکیل می‌دهند که قادر به چرخش نبوده و فاقد قاعده کامل می‌باشد.

Virulence باکتری های معین پتوجن نه تنها مربوط تولید توکسین می‌باشد؛ بلکه "colonization antigens" نیز در آن رول دارد. و چنین دریافت گردیده که انتیجن های متذکره عبارت از pili های معمولی و مسؤول تامین خاصیت چسپندگی می‌باشند. در اشکال enteropathogenic E.coli، هردو خاصیت یعنی تولید توکسین و انتیجن های colonization (pili) از نقطه نظر جنیتیک توسط پلازمیدهای قابل انتقال تعیین می‌گردند.

در یک گروپ coccus های گرام مثبت یعنی streptococc ها، fimbriae محل انتیجن عمده سطحی یعنی M protein می‌باشد. Lipoteichoic acid مترافق با این fimbria ها مسؤول چسپیدن گروپ streptococc A ها به حجرات اپیتیل میزبان می‌باشد.

Pili در باکتریای مختلفه از نقطه نظر انتیجنیک از همدیگر متمایز بوده که باعث تشکل انتی بادی در میزبان می‌گردند. انتی بادی ها در مقابل pili یک نوع باکتری باعث جلوگیری از اتصال نوع دیگر نخواهد گردید. بعضی باکتریها مثلاً N. gonorrhoeae، قادر اند تا pili با انتیجنهای متفاوت را تولید نماید (دگرگونی انتیجنیک) و بنابرین در موجودیت انتی بادی ها در مقابل انواع قبلی pili، نیز می‌توانند به حجرات اتصال یابند.

© AZEM PUBLICATIONS

اندوسپور ها (Endospores)

باکتری های چندین جینس قادر به تشکل endospore می‌باشند. دو نوع بسیار معمول آن قرار ذیل اند: rod های گرام مثبت، که شامل باسیل های جینس ایروبیک اجباری و clostridium جینس انیروبیک اجباری می‌باشند و coccus های گرام مثبت sporosarcina و احتمالاً عامل ریکیتسیایی Q-fever، Coxiella burnetii می‌باشند. اورگانیزم‌های فوق در عکس العمل با شرایط محیطی یک سلسله تغییراتی را از خود نشان می‌دهند طوریکه: در شرایط فقدان غذایی هر حجره یک سپور واحد داخلی را می‌سازد که در صورت اوتولیز حجره مادری،

آزاد می‌گردد. سپور یک حجره در حال استراحت بوده که در مقابل خشکی، حرارت و مواد کیمیاوی شدیداً مقاوم می‌باشد، در صورت مساعد شدن شرایط غذایی دوباره فعال گردیده و سپور یک حجره واحد نباتیvegetative را تولید می‌نماید و یا به عباره دیگر سپور ها عبارت از اجسام مدور یا بیضوی اند که در داخل حجره باکتری تشکیل گردیده که از جمله خصوصیت ارثی بعضی از مایکرواورگانیزم‌ها محسوب شده که در مرحله معین از تکامل حیاتی مایکرواورگانیزم‌ها صورت گرفته باعث مقاومت و قدرت حیاتیت بیشتر شان به مقابل حوادث خارجی می‌گردد.

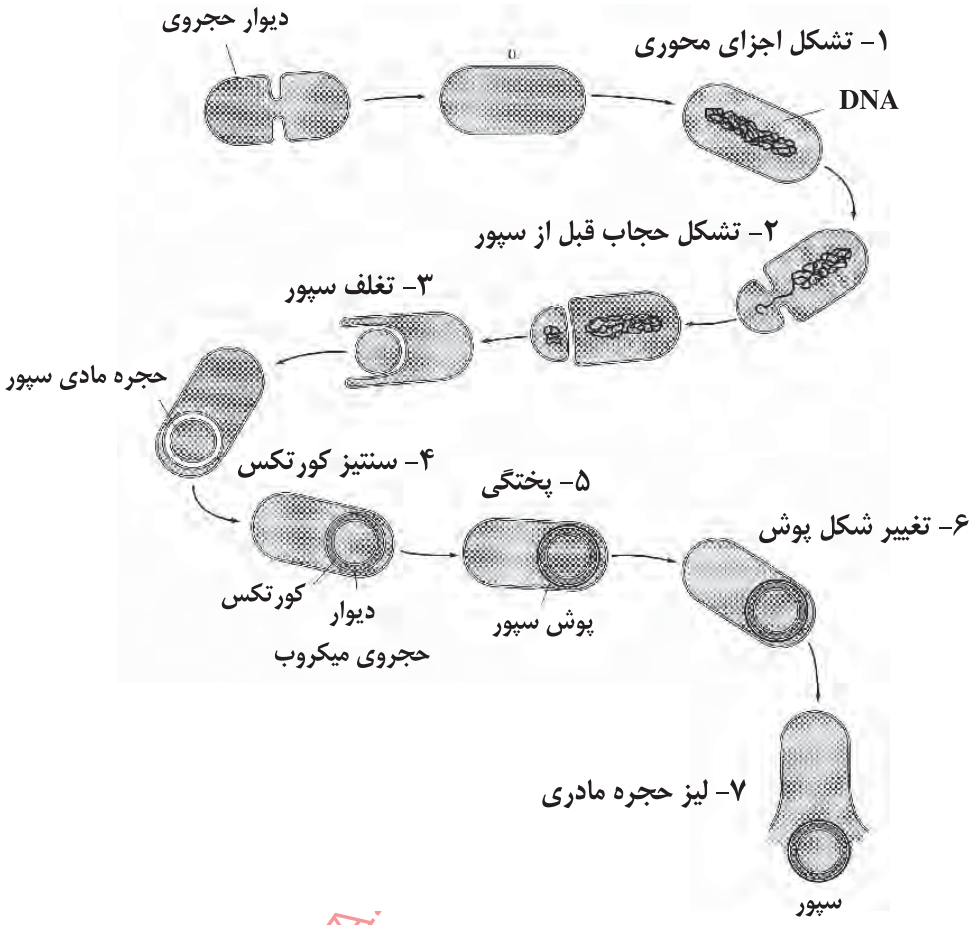
الف: تولید سپور (Sporulation):

پروسه تولید سپور زمانی آغاز می‌گردد که شرایط غذایی نامساعد گردد، فقدان منابع نایتروجن یا کاربن (و یا هردو) عامل عمده شمرده می‌شود. تولید سپور به‌صورت کتلوی در کلچرهای واقع می‌گردد که مرحله نشوئما را به نسبت این فقدان پایان داده اند.

تولید سپور در بر گیرنده تولید تعداد زیادی ساختمان ها، انزایم ها و میتابولیت های جدید و از بین رفتن بسیاری اجزای نباتی حجره می‌باشد. این تغییرات یک پروسه واقعی تفریق پذیری را نشان می‌دهد: یک سلسله جین‌هایی که تولیدات آنها تشکل و ترکیب نهایی سپور را تعیین می‌نمایند فعال گردیده و در عین حال سلسله دیگر جین‌ها که مسؤول وظایف نباتی حجره می‌باشند غیرفعال می‌گردد. این تغییرات باعث دگرگون نمودن خصوصیت ترانسکریپشن RNA polymerase گردیده، که بواسطه یکجاشدن پروتین اساسی پولیمیر با یکی از پروتینهای promoter- specific که به نام فکتور سگما یاد می‌شود صورت می‌گیرد. فکتورهای مختلفه سگما در جریان نشونمای نباتی و تولید سپور تولید می‌گردند.

سلسله تولید سپور بسیار مغلق می‌باشد: تفریق پذیری حجره نباتی B subtilis به یک endospore تقریباً 7 ساعت را در شرایط لابراتوار در بر می‌گیرد. درین پروسه وقایع مختلفه مورفولوژیک و کیمیاوی طی مراحل متوالی صورت می‌گیرند. هفت مرحله مختلفه تشخیص گردیده اند. در جریان پروسه بعضی باکتری ها انتی بیوتیک های پپتایدی را آزاد می سازند که ممکن در تنظیم sporogenesis نقش داشته باشند.

© AAZIM PUBLICATIONS

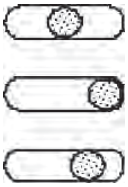


شکل ۱ – ۱۷ مراحل تشکل سپور

از نظر مورفولوژی تولید سپور با تولید یک filament قاعدوی آغاز می‌گردد (شکل ۱ – ۱۷) این پروسه با قات شدن غشأ بطرف داخل آغاز شده و یک ساختمان مضاعف غشایی را به‌میان می آورد که سطوح آن شباهت به سطح سنتیز کننده دیوار حجروی لفاف حجروی دارد. نقاط نموکننده طور پیشرونده بطرف قطب حجره پیش رفته و سپور د رحال انکشاف را احاطه می‌نماید.

این دو غشای سپور بعداً در سنتیز فعال طبقات خاص حصه می‌گیرند که لفاف حجروی را تشکیل می‌دهند. دیوار سپور و کورتکس میان غشاها مقابل هم قرار دارند. coat و exosporium در خارج از غشاها مقابل قرار دارند. در سایتوپلازم جدید التشکیل و یا core بسیاری انزایم‌های نباتی حجرات کاهش یافته و توسط یک سیت از اجزای تشکیل دهنده خاص سپور تعویض می‌گردند.

سپور ها از نظر موقعیت خود در حجره bacill به اشکال ذیل تصدف می‌گردد:



۱- سپورهایی که موقعیت مرکزی دارند مانند baullus anthracis.

۲- سپور هایی که موقعیت نهایتی دارند مانند clastridium tetani

۳- سپورهایی که موقعیت تحت نهایی دارند مانند clostridium botulinum.

ب: خصوصیات اندوسپور

۱- کور (Core): عبارت از پروتوبلاست سپور می‌باشد. که دارای یک هسته کامل (کروموزومها)، تمام اجزای مربوط به جهاز سنتیز پروتین و سیستم تولید انرژی ذریعه عملیه glycolysis می‌باشد. سایتوکروم ها حتی در انواع ایروبیک کمبود می‌باشند، که سپورهای این انواع متکی به Electron transport pathway مختصر حاوی flavoprotein ها می‌باشد. یکعده انزایم‌های حجرات نباتی طور مقداری ازدیاد می‌یابد (مثلاً alanine recemase) و یک عده انزایم‌های بالخاصه (مثلاً dipicolinic acid synthetase) تشکل می یابند. انرژی لازم برای نشونما به عوض ATP به شکل 3-phosphoglycerate ذخیره می‌گردد.

مقاومت سپورها در مقابل حرارت قسماً به نسبت حالت dehydrate آنها و قسماً به نسبت موجودیت مقادیر زیاد calcium dipicolinate (5-15% وزن خشک سپور) می‌باشد، که اخیرالذکر در lysine biosynthetic pathway از یک میانجی به‌میان می‌آید. به طرق که تا هنوز بخوبی دانسته نشده اند، خصوصیات متذکره باعث ثبات به انزایم‌های سپور می‌گردند، که اکثریت آنها زمانیکه از حجره به شکل محلول تجرید گردند در مقابل حرارت به‌صورت نورمال غیر مقاوم می‌باشد.

۲- دیوار سپور: داخلی ترین طبقه ایکه غشای داخلی سپور را احاطه می‌نماید به نام دیوار سپور یاد می‌گردد. که دارای پپتیدوگلایکان نورمال بوده و به دیوار حجروی حجرات نباتی نشونما کننده تبدیل می‌شود.

۳- کورتکس cortex: ضخیم ترین طبقه لفاف سپور می‌باشد. که دارای یک شکل غیرمعمول پپتیدوگلایکان می‌باشد و حاوی رابطه های متقابل کمتر نظر به پپتیدوگلایکان دیوار حجروی می‌باشد. پپتیدوگلایکان کورتکس در مقابل lysozyme نهایت حساس بوده، که اوتولیز آن در نشونمای سپور نقش دارد.

۴- پوش یا coat: coat از یکنوع پروتین کراتین مانند ترکیب گردیده که دارای تعداد زیاد رابطه‌های disulfide داخل مالیکولی می‌باشند. خاصیت غیرقابل نفوذیه این طبقه باعث می‌گردد که سپور در مقابل مواد کیمیاوی ضد باکتریایی مقاومت نسبی نشان دهد.

© AAZEM PUBLICATIONS

۵- *Exosporium: اگزوسپوریوم عبارت از یک غشای لیپوپروتینی دارای یک اندازه کاربوهایدریت می‌باشد.*

- *فعالیت: بسیاری اندوسپورها قادر نیستند تا بعد از تشکل به‌صورت فوری به فعالیت آغاز نمایند، ولی پس از استراحت چند روزه و یا فعال شدن برای بار اول در یک وسط غنی مغذی پس از تخریب پوش سپور توسط یکی از عوامل می‌توانند به شکل فعال در آیند. از جمله عاملین که بالای سپور به‌صورت دراماتیک غلبه حاصل می‌نمایند یکی حرارت، تخریش، اسیدی بودن و مرکبات دارنده گروپ های آزاد sulfhydryl می‌باشند.*
- *Initiation: پس از فعال شدن در صورت مساعد بودن شرایط محیطی سپور germination را آغاز می‌نماید. انواع مختلفه آخذه هایی را دارند که قادر به تفکیک سگنال های وسط مغذی می‌باشند، بنابرین، در یکنوع آغاز فعالیت توسط L-alanine و در نوع دیگر توسط adenosine تحریک می‌گردند. اتصال به effetcor باعث فعال شدن یک نوع autolysin گردیده که به سرعت پپتیدوگلایکان کورتکس را می شکند. آب گرفته شده و calcium dipicolinate آزاد ساخته می‌شود، و یکتعداد دیگر مواد متشکله سپور توسط انزایم‌های هایدرولا یتیک شکستانده می‌شوند.*
- *Outgrowth: تجزیه کورتکس و طبقات خارجی باعث به‌میان آمدن یک حجره جدید نباتی می‌گردد که مشتمل بر پروتوپلاست سپور با دیوار احاطه کننده آن می‌باشد. یک دوره بیوسنتیز فعال طی می‌گردد که با انقسام حجروی خاتمه می‌یابد این دوره به نام outgrowth یاد می‌گردد. Outgrowth موجودیت تمام مواد مغذی اساسی برای نشونمای حجره را ایجاب می‌نماید.*

© AZEM PUBLICATIONS

تلوین Staining

مواد ملونه با پروتوپلازم باکتریایی طور کیمیاوی ترکیب می‌گردند، در صورتیکه قبلاً زنده باشد، پروسه تلوین باعث مرگ آن می‌گردد. ازینرو این پروسه دارای اثر بوده و ممکن تغییرات مصنوعی artifact را سبب شود.

مواد ملونه ایکه بیشتر معمول اند عبارت از نمک ها می‌باشند. مواد ملونه قلوی متشکل از یک کتیون رنگه و یک انیون بیرنگ می‌باشد (طور مثال methylene blue+ chloride-)؛ مواد ملونه اسیدی برعکس آن می‌باشند (طور مثال sodium+ eosinate-). حجرات باکتریایی از نقطه نظرداشتن اسیدهای هستوی غنی می‌باشند این نوکلییک اسیدها حامل چارج منفی به

شکل گروپ های فوسفات می‌باشند که با چارج های مثبت رنگهای قلوی ترکیب می‌گردند. رنگهای اسیدی حجرات باکتریایی را تلوین نمی کنند و بنابرین برای تلوین مواد محیطی یا اطراف باکتری به کار می‌روند که باعث تولید یک رنگ متباین می‌گردد.

رنگهای قلوی حجرات باکتریایی را طور همسان تلوین می‌نمایند مگر اینکه RNA سایتوپلازمیک قبلاً به تخریب مواجه گردیده باشد. تخنیک های خاص تلوین به کار می‌روند تا بوسیله آن فلاجیل، کپسول، دیوار حجروی، غشای حجروی، گرانول ها، هسته و سپور متمایز گردند.

تلوین گرام Gram stain

تلوین گرام در سال 1884 میلادی توسط Hans cristian Gram مایکروبیولوژیست دنمارکی به‌میان آمد و به اساس این تلوین تمام مایکرواورگانیزم‌ها به دو گروپ Gram positive و Gram negative تقسیم می‌شوند علت این واکنش ارتباط به ساختمان کیمیاوی دیوار حجروی دارد. دیوار حجروی باکتری‌های گرام منفی مقدار بیشتر لیپید را احتوا نموده و مقدار کمپلکس murien آن کم می‌باشد و همچنان ضخامت آن از دیوار حجروی باکتری‌های گرام مثبت کمتر است (ضخامت دیوار حجروی باکتری‌های گرام مثبت A° 100-500، درحالیکه این دیوار در باکتری‌های گرام منفی A°100-150 می‌باشد) الکول غلیظ دیوار حجروی باکتری‌های گرام منفی را حل نموده یا تغییر ساختمان می‌دهد در نتیجه فرار Complex کرستال Gension Violet را از حجره میسر ساخته در نتیجه باکتری‌های گرام منفی رنگ Carbol fuchsin را به خود گرفته و به رنگ سرخ دیده می‌شود.

تلوین Acid-Fast

باکتری های acid-fast عبارت از آن نوع باکتری می‌باشند که رنگ carbol fuchsin (fuchsin قلوی در محلول فینول – الکول – آب منحل می‌گردد) را حتی بعد از مواجه شدن با مادهٔ بیرنگ کننده هایدروکلوریک اسید الکول حفظ می کنند. ابتداء سمیر حجرات یک سلاید در محلول carbol fuchsin مغطوس شده و بعداً با بخار حرارت مواجه ساخته می‌شود. به تعقیب آن عملیه بیرنگ سازی توسط acid-alcohol بالای آن تطبیق می‌گردد و بالاخره یک رنگ مخالف (آبی یا سبز) به آن علاوه می‌گردد. باکتری‌های acid-fast (مایکوباکتری‌ها و بعضی

© AAZEM PUBLICATIONS

انواع actinomycete های مربوطه) رنگ سرخ را به خود اختیار می کنند و بقیه رنگ مخالف را به خود می‌گیرند.

تهیه، تثبیت و تلوین سمیر

توسط یک قلم الماس بالای یک سلاید مایکروسکوپ یک دایره به قطر ۱,۲ تا ۱,۵ سانتیمتر رسم کشیده و نمره ای لابراتوار را در قسمت تباشیری آن می نویسیم، سلاید را پاک نموده بالای شعلهٔ آتش قرار می دهیم. نمونه را به‌صورت متجانس در دایره هموار نموده، احتیاط می نماییم که دست را به شدت شور ندهیم که می‌تواند سبب تولید ایروسول (aerosol) گردد.

مایعات مخاطی مانند مایع بین پلورا، حبن و غیره را سانتریفیوژ نموده مایع بالائی آن دور می‌شود. رسوب آن با یک قطره ای آخری آن مخلوط می‌گردد، یک لوپ ازین مخلوط در بین دایره هموار می‌گردد.

مواد قیحی توسط یک لوپ معقم بسیار نازک در دایره هموار می‌گردد یا در داخل دایره با یک لوپ آب مقطر به‌شکل Emulsion آورده شده در آن هموار می‌شود.

سواب ها به بسیار ملایمت در قسمت وسط سلاید لول داده می‌شود، سلایدی که با غوطه کردن در الکول و شعله قبلاً ضد عفونی شده باشد. انسان باید محتاط باشد و سواب را بالای سلاید کش نکند، زیرا این کار حجرات را تخریب می کند. بگذارید سلاید در هوا خشک شود یا برای زود خشک شدن زیر چراغ آنرا بگذارید.

وقتیکه سلاید به‌صورت مکمل خشک گردید با دو یا سه مرتبه به سرعت گذشتاندن از داخل شعله ای چراغ Bunsen آنرا با حرارت تثبیت کنید. از حرارت دادن زیاد خودداری کنید، زیرا این کار باعث نتیجه ای غلط تلوین Gram و تغییر شکل حجرات می‌گردد. بگذارید که سلاید سرد شود.

طریقهٔ تلوین با میتیلین بلو (Methylene Blue Staining Method)

۱- بعد از تثبیت بالای سلاید مقدار کافی محلول رنگ میتیلین بلو (D113) باندازید.

۲- بگذارید که رنگ برای ۱ تا 3 دقیقه عمل نماید.

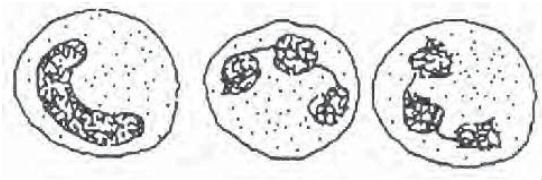
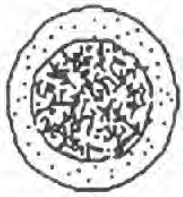
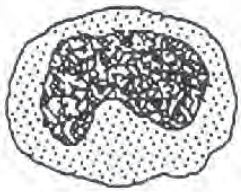
۳- رنگ را از بالای سلاید دور ساخته سلاید را به ملایمت طوری در آب بشوئید که عقب سلاید به طرف جریان ملایم آب باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

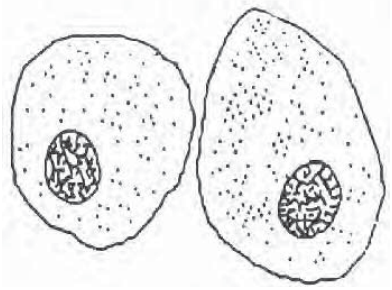
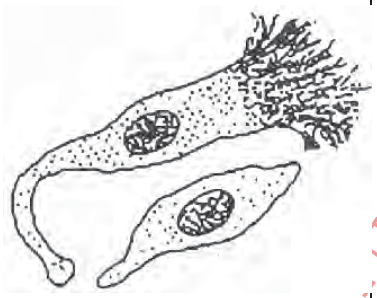
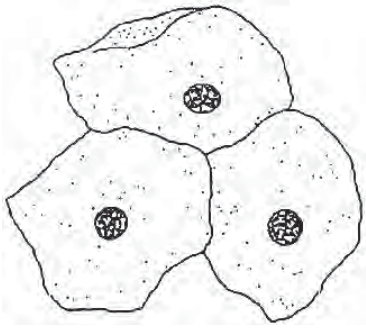
۴- عقب سلاید را با کاغذ جاذب پاک نموده در Rack آنرا بگذارید تا آب آن جریـان نمـوده در هوا خشک شود.

۵- توسط اوبجکتیف Oil Immersion سلاید را معاینه کنید.

۶- در راپور موجودیت و تعداد حجرات قیحی را و باکتری‌ها را که آیا نادر اند یا به تعداد کـم و یا بسیار زیاد یا متوسط موجود اند ذکر نمائید. همچنان شکل آنها را که به‌شکل Rods یا Cocci اند راپور بدهید.

خواص ساختمانی Morphological Characteristics	نوع حجره Cell type
جسامت: 12-16 مایکرومتر هسته: در شکل جوان بـه‌شـکل U و در شـکل پخته پارچه- پارچه می‌باشد. تعداد پارچه ها از 2 تا 5 بوده کـه بـا تـار هـای نازک باهم وصل می‌باشند.	گرانولوسیت ها The granulocyte 
نوع بزرگ: جسامت: 12-16 مایکرومتر سایتوپلازم. هسته: مدور با کمی فرو رفتگی نوع کوچک: جسامت 9-12 مایکرومتر سایتوپلازم هسته مدور	لمفوسیت ها The lymphocyte 
جسامت: 15-18 مایکرومتر سایتوپلازم هسته	مونوسیت یا مکروفاژ The monocyte or macrophage 

© ZEM PUBLICATION

جسامت: 18-45 مایکرومتر شکل: ناک مانند یا دوک چوب مانند. می‌تواند مدور دم دار باشد. سایتوپلازم: هسته: نسبتاً کوچک، بیضوی یا مدور	حجرات اپیتل انتقالی Transitional epithelial cells 
جسامت: 18-32 مایکرومتر شکل: طویل دوک مانند چوب مانند یا مکعبی بعضی اوقات Ciliated یا with brush border سایتوپلازم هسته: بیضوی	حجرات اپیتل تیوبولر Tubular epithelial cells 
جسامت: 22-45 مایکرومتر شکل: بزرگ، هموار، زاویه دار، می‌تواند قات شود، حتی به‌شکل سیگار شود. سایتوپلازم: فراوان هسته کوچک و مدور	حجرات اپیتل هموار Squamous epithelial cells 

ZEM PUBLICATIONS

طریقهٔ تلوین گرام (Gram Staining Method)

۱- بعد از تثبیت توسط حرارت بالای سلاید مقدار کافی گرام کریستال ویولیت Gram's crystal Violet (D109) برای یک دقیقه بریزید.

۲- سلاید را توسط آب بشوئید طوریکه پشت سلاید را به مقابل یک جریان آب ملایم بگیرید.

۳- تمام آب را چپه کنید و سلاید را با گرام آیـودین (Logul) (D110) بـرای یـک دقیقـه بپوشانید.
۴- محلول آئودین را با آب بشوئید طوریکه عقب سلاید را بمقابـل یـک جریـان ملایـم آب بگیرید.
۵- رنگ سلاید را توسط الکول به (مدت 20 تا 30 ثانیه ببریدیا توسط چند قطره اسیتون به مدت 2 تا 3 ثانیه) و فوراً توسط یک جریان ملایم آب سلاید را بشوئید.
۶- سلاید را با محلول رقیق Carbol fuchsin stain (D107) بپوشانید. بعد از یک دقیقه سلاید را توسط آب بشوئید طوریکه عقب سـلاید را بـه مقابـل یـک جریـان ملایـم آب بگیرید.
۷- عقب سلاید را توسط کاغذ جاذب خشک کنید و بالای Rack آنـرا بگذاریـد تـا در هـوا خشک شود.
۸- توسط اوبجکتیف قوه ای ضعیف تمام سلاید را معاینه کنید و مناسبترین جای سـلاید را برای معاینه توسط اوبجکتیف ایل ایمرشن انتخاب کنید.

بنفش تیره ..... باکتری‌های گرام مثبت Gram Positive bacteria
سرخ ..... باکتری‌های گرام منفی Gram Negative bacteria
سایتوپلازم سرخ خفیف، هسته سرخ تیره .....حجرات قیحی Pus Cells
سایتوپلازم سرخ خفیف، هسته سرخ تیره .....حجرات اپیتل Epithelial Cells
بنفش تیره ..... حجرات خمیر مایه Yeasts

طریقه تلوین البرتس (Albert's Staining Method)

۱- بعد از تثبیت با حرارت مقدار کافی Albert's stain (D104) برای ۳ تا ۵ دقیقه بـالای سلاید باندازید.
۲- سلاید را با آب بشوئید طوریکه پشت سلاید به طرف یک جریان ملایم آب قـرار داشـته باشد.
۳- آب را دور نموده بالای سلاید مقدار کافی (Gram's iodine 110) باندازیـد و بگذاریـد برای یک دقیقه تعامل نماید.
۴- سلاید را با آب بشوئید طوریکه پشت سلاید به طرف یک جریان ملایم آب باشد. پـشت سلاید را همرای کاغذ جاذب پاک نموده بگذارید در هوا خشک شود.
۵- سلاید را توسط اوبجکتیف آیل ایمرشن معاینه کنید.

© AAZEM PUBLICATIONS

نتیجه

حجرات باکتری‌ها	سبز
خط های عرضانی حجرات باکتری	آبی- سبز
گرانول های میتاکروماتیک	نصواری سیاه تیره

تلوین Acid - Fast

باکتری‌های acid-fast عبارت از آن نوع باکتری می‌باشند که رنگ carbolfuchsin (fuchsin قلوی در محلول فینول- الکول- آب منحل می‌گردد) راحتی بعد از مواجه شدن با ماده بیرنگ کنند.

هایدروکلوریک اسید الکول را حفظ می کنند. ابتدا سمیر حجرات یک سلاید در محلول carbolfuchisn مغطوس شده و بعداً با بخار حرارت مواجه ساخته می‌شود. به تعقیب آن عملیهٔ بیرنگ سازی توسط acid-alcohol بالای آن تطبیق می‌گردد، و بالاخره یک رنگ مخالف (آبی یا سبز) به آن علاوه می‌گردد.

باکتری‌های acid-fast (مایکوباکتری‌ها و بعضی انواع actinomycete های مربوطه) رنگ سرخ را به خود اختیار می کنند و بقیه رنگ مخالف را به خود می‌گیرند.

طریقه تلوین سرد زیل نیلسن (Cold Ziehl- Neelsen Staining Method)

۱- بعد از تثبیت با حرارت یک کاغذ فلتر را که کمی خوردتر از سلاید باشد بالای سلاید بگذارید که smear را بپوشاند.

۲- بالای سلاید به اندازهٔ کافی Cold Ziehl- Neelsen Stain (D115) برای سه دقیقه باندازید.

۳- کاغذ فلتر را برداشته سلاید را با آب طوری بشوئید که عقب سلاید به طرف جریان ملایم آب باشد.

۴- رنگ سلاید را تا رنگ گلابی خفیف توسط acid alcohol (D 48) زایل نمائید. از یک طرف سلاید گرفته آنرا بالا و پائین نمائید تا بیشتر رنگ از آن جدا نه شود. این کار برای یک smear ضخیم به طور اوسط تقریباً سه دقیقه را در بر می‌گیرد. زایل نمودن رنگ به‌صورت مکمل ضروری است تا نتیجه مثبت کاذب نیاید.

۵- اسید الکول را طوری بشوئید که عقب سلاید به طرف جریان ملایم آب باشد.

۶- برای یک دقیقه سلاید را با Malachite-green (D 112) تلوین نمائید.

۷- سلاید را آبکش نموده عقب سلاید را توسط کاغذ جاذب پاک کرده در هوا خشک کنید.

© AAZEM PUBLICATIONS

نتیجه

باسیل های اسید فاست	سرخ روشن
باسیل های غیر اسید فاست	سبز تاریک

طریقه تلوین گیمزا (Giemsa Staining Method)

۱. سمیر (Smear) خشک شده را برای 2 تا 3 دقیقه با methanol پوشانیده و بعد آنرا بگذارید تا در هوا خشک شود. به این صورت سمیر تثبیت می‌گردد.

۲. محلول Giemsa stain (D 108) را با buffered water, pH 7.2 (D 58) ذیلاً رقیق نمائید:

برای C. trachomatis 40:1 یعنی یک ملی لیتر رنگ گیمزا 40 ملی لیتر بفر.

برای پرازیت های خون 10:4 یعنی 4 ملی لیتر رنگ گیمزا 40 ملی لیتر بفر.

۳. محلول رقیق شده ای گیمزا را بالای سلاید در یک staining جار باندازید تا سمیر را بپوشاند.

۳. سمیر را در داخل رنگ قرار ذیل بگذارید:

C.trachomatis را برای 1.5 تا 2 ساعت و پرازیت های خون را برای 25 تا 30 دقیقه.

۴. ستینینگ جار را در لگن دستشوئی گذاشته و آب نل را بالای آن جاری سازید تا کف آن از جار سر ریزه کند. این کار باعث می‌شود تا گرانول های رنگ در بالای سمیر رسوب نکند.

۵. سلاید را در جار "jar" در آب نل بشوئید، پشت آنرا با کاغذ جاذب پاک کرده در Rack آنرا بگذارید تا در هوا خشک شود.

۶. تلوین را با استفاده از اوبجکتیف قوه ای ضعیف مایکروسکوپ چک نموده بعد با اوبجکتیف آیل ایمرشن معاینه کنید.

© AAZEM PUBLICATIONS

Genus جنس	Morphology ساختمان	Gram reaction تعامل گرام	Bacteria shape شکل باکتری ها
Staphylococci	Cocci in clusters کوکس های خوشه ای	Gram + گرام مثبت	
Streptococci	Cocci in chains کوکس های زنجیری	Gram + گرام مثبت	
Pneumococci	Oval diplocci with or without capsules دیپلوکوک های بیضوی	Gram + گرام مثبت	
Neisseria	Diplococci	Gram – گرام منفی	
Corynebacterium	Diphtheroids (like Chinese letters) دیفتروید مانند حروف چینائی	Gram + گرام مثبت	
Lactobacillus	Branching chains زنجیر های شاخه دار	Gram + گرام مثبت	
Bacillus	Rods with spores چوبک باسپور	Gram + گرام مثبت	
Clostridium	Rods with terminal or sub terminal spores چوبکها با سپورهای نهـائی یـا در وسط	Gram + گرام مثبت	
Actinomyces	True branching rods چوبک های شاخه دار حقیقی	Gram + گرام مثبت	
Enterobacteria ceae & other genus	Uniform rods of various length & thickness	Gram – گرام منفی	
Fusobacterium	Spindle-shaped rods چوبک های دوک مانند	Gram – گرام منفی	

©AAZEM PUBLICATIONS

Vibrio	Comma-shaped rods چوبک های به شکل کامه	Gram – گرام منفی	
Candida & other yeasts	Budding yeasts خمیر مایهٔ جوانه زده	Gram + گرام مثبت	

تلوین منفی (Negative Staining)

این عملیه مشتمل بر تلوین محیط یا اطراف توسط یک رنگ اسیدی می‌باشد که حجرات را به شکل بیرنگ نمایان می‌سازد. معمولاً رنگ سیاه nitrosin مورد استفاده قرار می‌گیرد. ازین میتود برای تلوین حجرات و یا ساختمانهایی مورد استفاده قرار می‌گیرد که طور مستقیم تلوین آنها مشکل باشد.

تلوین فلاجیل

فلاجیل ها ساختمانهای بسیار باریک اند (دارای قطر 30-12µm) و بوسیله مایکروسکوپ نوری قابل رویت نمی‌باشند. با وجود آن، موجودیت و ترتیب آنها با مواجه ساختن حجرات با سسپنشن کلوئیدی بی ثبات نمک های tanic acid واضح می‌گردد. با بکار برد عملیه متذکره رسوب زیاد بالای دیوار حجروی و فلاجیل به‌میان می‌آید. بدین ترتیب قطر ظاهری فلاجیل به اندازه یی ازدیاد می‌یابد که با تطبیق تلوین fuchsin قلوی در تحت مایکروسکوب نوری قابل مشاهده می‌گردد.

در باکتری های peritrichous، فلاجیلها حین حرکت به شکل بندل ها در می آیند، این بندل ها به اندازه کافی ضخامت داشته و مشاهده آن تحت مایکروسکوب ساحه تاریک و phase contrast صورت گرفته می‌تواند.

تلوین کپسول

توسط عملیه تلوین منفی و یا معادل آن به مشاهده می رسد. یکی از میتودهای تلوین کپسول عبارت از (Welch Method) می‌باشد که در آن از محلول crystal violet استفاده شده و به تعقیب آن با محلول copper sulfate شستشو می‌گردد. محلول اخیرالذکر برای از بین بردن رنگ اضافی بکار می رود زیرا شستن با آب باعث منحل کردن کپسول خواهد شد. علاوتاً نمک مس به اطراف نیز رنگ می‌دهد که بالنتیجه حجره و محیط اطراف آن رنگ آبی تیره را به خود اختیار نموده در حالیکه کپسول دارای رنگ آبی خفیف تر خواهد بود.

© KAZEM PUBLICATIONS

تلوین هسته

هسته ها توسط رنگ feulgen که مختص به DNA می‌باشد قابل تلوین می‌باشند.

تلوین سپور

سپورها اکثر اوقات در حجره تلوین ناشده به شکل اجسام روشن داخل حجروی و در حجره تلوین شده به شکل یک ساحه بیرنگ به مشاهده می رسند. دیوار سپور نسبتاً طور نسبی غیرقابل نفوذیه می‌باشد؛ ولی رنگ هایی موجود اند که با حرارت دادن مستحضر، قادر به نفوذ در آن می‌گردند. عین قابلیت غیرقابل نفوذیه بعداً در قسمت جلوگیری از بیرنگ ساختن سپور حین مواجه کردن آن با الکول نقش دارد در حالیکه با عین میتود حجرات نباتی بیرنگ ساخته شده و بالاخره با رنگ مخالف تلوین گردیده می‌تواند. سپورها معمولاً با رنگ های malachite green و یا carbolfuchsin تلوین می‌گردند.

تغییرات مورفولوژیک حین نشونما

انقسام حجروی

به‌صورت عموم، باکتری ها ذریعه عملیه انقسام دوگانه تکثر می‌نمایند. متعاقب طویل شدن حجره، یک غشای مستعرض حجروی تشکل و بعداً دیوار جدید حجروی را به‌میان می آورد. در باکتری ها، غشای مستعرض و دیوار جدیدالتشکیل از طبقات خارجی به طرف داخل نشونما نموده درین پروسه میزوزوم های جداری طور صمیمی اشتراک دارند. هسته که قبل از انقسام دوچند گردیده است، به‌صورت مساویانه به دو حجره دختری تقسیم می‌گردد.

اگرچه باکتری ها فاقد دوک میتوتیک یا (mitotic spindle) اند، ولی غشای مستعرض به نحوه‌یی تشکل می‌یابد که کروموزوم‌ای تشکیل شده در اثر chromosomal replication را از همدیگر جدا می‌سازد. این پروسه با التصاق کروموزوم ها به غشای حجروی تکمیل می‌گردد. مطابق به یک مودل، اتمام یک سیکل DNA replication سنتیز فعال غشا را در بین نواحی التصاق دو کروموزوم دختری به‌میان می آورد که بوسیله نموی غشای مستعرض به طرف داخل از هم جدا می‌گردند. ذخیره مواد در دیوار حجروی جدید التشکیل ادامه یافته و منتج به طویل شدن و بالاخره تضاعف لفاف حجروی می‌گردد.

© AAZAM PUBLICATIONS

دسته بندی حجره

اگر حجرات بعد از انقسام موقتاً باهم چسپیده باقی بمانند، دسته بندی ها با مشخصات معین به‌میان می آیند. مطابق به پلان انقسام و دفعات انقسام که در آن حجرات باهم چسپیده باقی می مانند، اشکال ذیل در coccus ها حاصل می‌گردند: زنجیری (ستریپتوکوکس)، جوره یی (نوموکوکس)، بندل های مکعبی (sarcinae) و یا پلک های هموار. Rod ها ممکن جوره ها و یا زنجیرها را تشکیل دهند.

متعاقب انشقاق در بعضی باکتری ها حرکات خاص پس از انشقاق صورت می‌گیرند. طور مثال حرکت شلاق مانند یا whipping حجرات را به موقعیت های موازی در می آورند؛ انقسام مکرر و حرکات شلاق مانند منتج به‌خصوصیت ترکیب pallisading در باسیل های دیفتری می‌گردد.

تغییرات در سیکل حیاتی

در جریان انکشاف باکتری از شکل ساکن به شکل محرک، یکتعداد تغییرات معین قابل رویت به‌میان می آیند. حجرات تمایل به بزرگ شدن داشته، گرانول ها را از دست داده و پروتوپلازم با مواد ملونه قلوی رنگ تاریک تر را به خود می‌گیرد. زمانیکه نشونما دوباره آهسته گردد، تغییرات مخالف به‌صورت تدریجی به‌میان می آیند. بالاخره، در کلچرهای کهنه حجراتی دریافت می‌گردند که دارای مورفولوژی غیرمعمول می‌باشند این اشکال به نام involution forms یاد می‌گردند. چنین حجرات دارای فلامنت ها، جوانه ها، حجرات شاخوی بوده که اکثر شان زنده نمی‌باشند.

© AZEM PUBLICATIONS

تصنیف باکتری ها

تعریفات: تصنیف، نامگذاری و تشخیص عبارت از سه عرصه مجزا، ولی باهم مرتبط در علم تکسانومی می‌باشند. تصنیف عبارت از تنظیم اورگانیزم‌ها به اساس شباهت ها و روابط به داخل گروپ های توکسانومیک می‌باشد. تصنیف اورگانیزم‌های پروکاریوتیک مانند باکتریها مستلزم معلوماتی می‌باشد که به‌صورت تجربوی و نیز بشکل نظری به دست آید، زیرا مشخصات بیوشمیک، فزیولوژیک، جنتیک و مورفولوژیک اکثراً برای توضیح کافی گروپ های توکسانومیک لازم می‌باشند. نامگذاری عبارت از تعیین نام اورگانیزم‌ها به اساس قواعد بین

المللی و در مطابقت با مشخصات همان اورگانیزم می‌باشد. تشخیص عبارت از استفاده عملی از تصنیف جهت نیل به اهداف ذیل می‌باشد:

۱- تجرید و تفکیک اورگانیزم‌های مطلوب از غیر مطلوب

۲- تصدیق و تائید خواص اورگانیزم در کشت و یا در حالات کلینیکی

۳- تجرید و تشخیص عوامل سببی امراض. هدف اخیر الذکر ممکن تعیین تداوی انتخابی را جهت محو اورگانیزم مساعد سازد. عملیه تشخیص صرف بعد از تصنیف مناسب یک گروپ ممکن می‌باشد.

معیارات تصنیف باکتری

معیارات مناسب برای تصنیف باکتری مشتمل بر عده زیادی از مشخصات ذکر شده در فوق می‌باشد. معلومات مفیدی را می‌توان ذریعه معاینه مایکروسکوپیک و مشاهده شکل حجره و موجودیت و یا عدم موجودیت ساختمانهای بخصوص مانند سپور و فلاجیل فراهم نمود. پروسیجر های تلوین مانند تلوین گرام در مورد ماهیت حجره معلوماتی مفیدی ارایه نموده می‌تواند. عده از باکتریها سبب تولید صباغات وصفی گردیده و عده دیگر به اساس انزایم‌های خارج الحجروی خود تشخیص می‌گردد. فعالیت این پروتین‌ها را اکثراً می‌توان به شکل ساحات شفاف در اطراف کالونیهای که درموجودیت مواد غیر قابل حل روئیده باشد، دریافت نمود. (مثلاً هیمولیز در وسط اگر که حاوی حجرات سرخ خون باشد). تعاملات متصالبه ایمونولوژیک می‌تواند در مورد ساختمان‌های سطحی مشابه در باکتریهای متفاوت معلومات دهد. تست های مانند تست اوکسیداز که در آن از electron acceptor مصنوعی استفاده به عمل می‌آید، جهت تفکیک اورگانیزم‌ها به اساس موجودیت انزایم تنفسی (cytochrome C) استعمال می‌گردد. تست های ساده بیوشمیک می‌تواند در مورد موجودیت فعالیت های مشخص میتابولیک معلومات موثق دهد. معیارات تعیین موفقانه گروپ باکتریهای مرتبط با هم، مشتمل بر اندازه گیری حساسیت آنها در مقابل انتی بیوتیکها می‌باشد.

همه مشخصات قبل الذکر توسط جین‌های اورگانیزم‌های مورد معاینه به‌صورت مستقیم ویا غیر مستقیم تعیین می‌گردد. انکشافات و پیشرفت های در عرصه بیولوژی مالیکولی ممکن می‌سازد تا مرتبط بودن جین‌های انواع مختلفه باکتری ها را مورد تحقیق قرار دهیم.

اهمیت معیارات توکسانومیک بستگی به گروپ مورد معاینه دارد. مشخصاتی که در اعضای یک گروپ به‌صورت مشترک موجود باشد، برای تفکیک اعضای آن مفید نمی‌باشد، اما می‌توان گروپ را توسط آن تعریف نمود، (مثلاً همه ستافیلوکوک ها انزایم کتلاز را تولید می‌نمایند.) علاوتاً بی ثباتی

© AZEM PUBLICATIONS

جنیتیک می‌تواند سبب تغییرپذیری زیادی در عده ای از اورگانیزم‌ها گردد، مثلاً جین‌های مقاومت در مقابل انتی بیوتیک ها و یا جین‌های کودکننده انزایم ها توسط پلازمید ها انتقال یافته می‌تواند. (پلازمید عبارت از عناصر جنتیک خارج از کروموزم بوده که میان باکتریهای غیر مرتبط تبادله گردیده می‌تواند). اکثریت معیارات تصنیف به اساس نموی مایکروازگانیزم ها در لابراتوار استوار می‌باشد. بعضاً اورگانیزم‌های پتوجن مانند treponema در لابراتوار نمی رویند و در چنین حالات معاینات نوکلیک اسیدها ممکن مفید باشد.

سیستم های تشخیص و تصنیف

کلید ها

کلید ها باکتریها را به شیوه یی تنظیم می‌نماید که تشخیص مؤثر اورگانیزم‌ها را ممکن می‌سازد. یک سیستم تشخیصیه آیدیال باید کمترین مشخصات لازم برای تشخیص درست را در بر داشته باشد. گروپ ها به اساس موجودیت (+) و یا عدم موجودیت (−) مشخصات تشخیصیه به گروپ های فرعی تقسیم می‌گردد. ادامه پروسه با استفاده از مشخصات مختلفه محققین را قادر می‌سازد تا کوچکترین گروپ فرعی مشتمل بر اورگانیزم مورد مطالعه را دریافت نماید. در مراحل ابتدایی ممکن گروپ های فرعی تشکیل گرددکه از نظر جنیتیک با هم مرتبط نباشد. مثلاً باکتریهای که صباغ سرخ را تولید می‌نماید، گروپی را تشکیل می‌نمایند که باکتریهای بسیار متفاوت مانند Serratia marcescens و باکتری فوتوسنتیتیک بنفش در آن شامل می‌باشد. دو نوع متذکره باکتری ها اشکال متفاوت داشته و به دو شکل کاملاً متفاوت میتابولیزم انرژی متکی می‌باشند. با آنهم تعیین مقدماتی گروپ های باکتری مفید می‌باشد زیرا محققین را کمک می‌نماید تا با شناسایی کلچرهای دارنده صباغ سرخ جستجو خود را به چند نوع معین مایکروبی محدود سازد.

توکسانومی عددی

توکسانومی عددی یا کمپیوتری در دهه ۱۹۶۰ مروج گردید. از تشخیص کمپیوتری برای ساختن تست های تشخیصیه که در آن انواع کلینیکی مایکروب‌ها از طریق کود های عددی و یا سیستم های probabilistic تشخیص می‌گردد، استفاده به عمل می‌آید.

تصنیف فایلوجنیک (Phylogentic classification)

Phylogentic classification عبارت از اندازه گیری genetic divergence در فایلم های مختلفه می‌باشد. ارتباط نزدیک phylogentic میان دو اورگانیزم وانمود کننده موجودیت اجداد مشترک

© AZEM PUBLICATIONS

میان شان می‌باشد و معلومات حاصله از فوسیل ها چنین نظریات را در خصوص اکثریت نباتات و حیوانات آسان ساخته است. اما چنین معلومات در مورد باکتریها موجود نمی‌باشد.

خواص جنیتیک باکتریها تبادله بعضی از جین‌ها را میان اورگانیزم‌های دارنده پیوند ضعیف، ممکن ساخته است. علاوتاً تکثر باکتریها تقریباً در همه موارد بشکل vegetative بوده و میکانیزم های تبادله جنتیک آنها نادراً زمینه تبادله حصص بزرگ از جینوم آنها را مساعد می‌سازد. بناً مفهوم نوع species در پروکاریوت ها و ایوکاریوت ها کاملاً متفاوت است. نوع باکتریایی عبارت از گروپی از باکتریها است که مشخصات معینی میان آنها مشترک بوده و عموماً مشابهت نزدیک باهم دیگر دارند. توکسانومیست ها می‌توانند نوع باکتریایی را به biotypes تصنیف نمایند و می‌توانند species شامل در genera را کلستر نمایند. جدول ذیل طبقات معمول توکسانومیک را نشان می‌دهد؛ اما عمدتاً صرف از نوع، جینس و خانواده استفاده به عمل می‌آید.

تفاوت قابل ملاحظه جنتیک میان باکتری ها موجود می‌باشد و DNA باکتریها تفاوت کسب می‌نماید؛ اما جین‌های سازنده رایبوزوم ها نسبتاً ثابت تر بوده و به سرعت کمتری تفاوت کسب نموده اندکه در مطالعه و کشف باکتریها مفید می‌باشد.

توضیح کتگوریها و گروپ های عمده باکتری ها

دو گر وپ عمده باکتریها موجود می‌باشد: eubacteria و archeobacteria. eubacteria شکل معمولتر باکتری را تشکیل می‌دهد در حالیکه archeobacteria باعث تولید پپتیدوگلایکان نمی‌گردد که یک تفاوت عمده را میان این دو نشان می‌دهد. همچنان archeobacteria در شرایط غیر معمول زنده‌گی می‌نمایند مانند درجه حرارت بسیار بلند، نمک زیاد و یا PH بسیار پائین. علاوتاً این‌ها تعاملات غیر معمول میتابولیک را اجرا می‌نمایند مانند تشکل میتان.

ایوباکتری های گرام منفی که دیوار حجروی دارند

این گروپ غیر متجانس بوده که دارای لفاف حجروی مغلق بوده و شکل حجروی آن مدور، بیضوی، راد های مستقیم و تاب خورده، فنری و یا میله مانند می‌باشد. بعضی اشکال دارای کپسول بوده و تکثر بشکل انقسام دوگانه می‌باشد اما بعضاً با جوانه زدن هم صورت گرفته می‌تواند. Myxobacteria می‌تواند myxospore و fruiting bodies را به‌میان آرد. در صورتیکه حرکت موجود باشد، ذریعه فلاجیل و یا لغزیدن صورت می‌گیرد. اعضا این گروپ ممکن فوتوتروپیک ویا غیر فوتوتروپیک بوده و مشتمل بر اشکال هوازی، غیر هوازی، غیر هوازی اختیاری و microaerphilic می‌باشد. بعضی از اعضای آن پرازیت های مطلق داخل حجروی می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

ایوباکتری های گرام مثبت که دیوار حجروی دارند

اکثراً دیوار حجروی این اورگانیزم‌ها به‌صورت گرام مثبت تلوین می‌گردد. حجرات ممکن مدور، میله مانند و یا چوبک ها باشد. چوبک ها و میله ها ممکن غیر منشعب و یا هم منشعب باشند. تکثر عموماً توسط انقسام دوگانه بوده و بعضی اشکال سپور تولید می‌نمایند (endospores). این اورگانیزم‌ها عموماً chemosynthetic heterotrophs بوده و مشتمل بر انواع هوازی، غیر هوازی و غیر هوازی اختیاری می‌باشد. این گروپ شامل بر باکتریهای ساده دارای سپور و بدون سپور بوده و نیز انواع پیچیده و مغلق که عبارت از اکتینومایسیت ها و انواع مشابه آن می‌باشد، در آن شامل است.

Eubacteria های فاقد دیوار حجروی

این اورگانیزم‌ها به‌صورت معمول mycoplasma نامیده شده و مشتمل بر کلاس mollicutes می‌باشد. این‌ها مواد پیشقدم peptidoglycan را نساخته و توسط غشا پلازمایی احاطه گردیده اند.

اورگانیزم‌های متذکره مشابه اشکال L بوده اما مایکوپلازما نمی‌توانند مانند اشکال L دوباره به شکل غشا دار تبدیل گردد. علاوتاً هیچ تشابه جنیتیک میان مایکوپلازما و اشکال L وجود ندارد.

شش genera در مایکوپلازما موجود بوده که صرف دو آن برای انسانها پتوجن می‌باشد. این اورگانیزم‌ها بسیار pleomorophic بوده و اندازه آن متفاوت بوده که بعضی آن حتی قابل فلتر می‌باشد (0.2 مایکرومتر). تکثر ذریعه جوانه زدن، fragmentation انقسام دوگانه و یا به‌صورت ترکیب از میتود های فوق می‌باشد. اکثراً مستلزم اوساط مغلق بوده که کالونی های وصفی fried egg را تشکیل می‌دهد. یکی از مشخصات ویژه آن نیاز به کولسترول برای نمو می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

Archeobacteria ها

این اورگانیزم‌ها اغلباً در شرایط غیر معمول زیست نموده بعضاً بشکل همزیستی در طرق هضمی حیوانات موجود می‌باشد. این‌ها مشتمل بر اورگانیزم‌های ایروبیک، غیر ایروبیک و غیرایروبیک اختیاری بوده و به شکل heterotroph، chemolithotroph و یا facultative heterotroph می‌باشد. بعضی از انواع آن mesophiles بوده درحالیکه انواع دیگر در درجه حرارت بلندتر از ۱۰۰درجه سانتی گراد نمو می‌نماید. انواع اخیرالذکر عادت به زیست نمودن در درجه های حرارت بسیار زیاد را کسب نموده که به نام hyperthermophilic یاد می‌شود و انزایم‌های موجود در حجرات شان نسبت به انزایم‌های حجرات میزوفیلیک باثبات تر می‌باشد. بعضی ازین انزایم‌های باثبات مانند DNA polymerase از Thermus aquaticus بخش عمده از میتود هایی amplification را تشکیل می‌دهد، مانند عملیه PCR. تفاوت میان archeobacteria و Eubacteria را می‌توان توسط عدم

موجودیت دیوار حجروی peptidoglycan، موجودیت شحمیات isoprenoid diether و یا diglycerol tetra ether و موجودیت RNA بخصوص، نشان داد. همچنان archeobacteria ها عده ای از تشابهات مالیکولی با eukaryotes دارند. حجرات آن ممکن مختلف الشکل باشند و اشکال مدور، فنری، هموار یا میله مانند، دیده شده می‌تواند. شکل وحیدالحجروی و چندین حجروی در میله ها و یا به شکل تجمعات نیز دیده شده می‌تواند. تکثر به‌صورت انقسام دوگانه، جوانه زدن، constriction، fragmentation و یا میکانیزم های نامعلوم صورت گرفته می‌تواند.

Subtyping و استفاده از آن

در بعضی حالات مثلاً در اپیدیمی ها لازم است تا strains یک نوع را از هم تفکیک نمود و یا اینکه یک سترین معین را تشخیص نمود. این عملیه به نام تعیین تایپ های فرعی (subtyping) یاد می‌گردد. درین عملیه از مشخصات باکتریایی استفاده بعمل می‌آید که تشخیص مفصلتر از نوع را ممکن سازد. جهت مثمر بودن کار در همه عملیه‌های subtyping لازم است تا مایکروب‌های مشتمل در واقعات را از مایکروب‌های غیر مشتمل تفکیک نمود. حسب معمول subtyping ذریعه biotyping, serotyping، تست های حساسیت مقابل انتی بیوتیک ها، bacteriophage typing، و bacteriocine typing صورت می‌گیرد. مثلاً به اساس تفاوت های انتیجنیک در انتیجن LPS O بیشتر از 130 سیروگروپ ویبریوکولرا کشف گردیده اند، اما صرف اشکال O1 و O139 در کولرای اپیدیمیک و پاندیمیک نقش دارد. در اشکال اخیر صرف سترین های که سبب تولید توکسین می‌گردد، virulent می‌باشد، مثلاً شکل O1.

nontoxigenic V. cholera با کولرای اپیدیمیک ارتباط نداشته و از specimen های محیطی، مواد غذایی و از مریضان مصاب به اسهالات sporadic، تجرید گردیده است.

مواجه شدن با عامل سببی که از یک منبع واحد انتانی منشأ می‌گیرد، در تعداد زیادی از وقوعات انتانات نقش دارد. عموماً می‌توان گفت که این عوامل سببی یا مایکرواورگانیزم‌های مرضی clonal می‌باشد یعنی از یک حجره واحد مادری منشأ گرفته و زاده همان حجره می‌باشد و بدینصورت در همه موارد از نظر جنیتیک یکسان اند. بنابران می‌توان گفت که subtyping نقشی مهمی در تشخیص مایکرواورگانیزم‌ها دارد. پیشرفت های اخیر در عرصه بیوتکنالوژی توانمندی ما را در subtype نمودن مایکرواورگانیزمها بسیار زیاد ساخته است. تکنالوژی hybridoma منتج به ساختار انتی بادیهای monoclonal در مقابل انتیجنهای سطح حجرات گردیده است. میتودهای molecular typing قدرت تشخیصیه سیستم های subtyping را ازدیاد بخشیده و اثرات قابل ملاحظه بر اپیدیمولوژی انتانات

© AAZEM PUBLICATIONS

داشته است. این شیوه در مقابل مواد معین حساس می‌باشد مثلاً میتود های برای تشخیص lipopolysaccharide، میتودهای تشخیص پروتینها و میتود های تشخیصیه نوکلییک اسید. تحلیل و مطالعه LPS ذریعه Sodium Dedecyl Sulfate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) در باکتریهای گرام منفی به ساده‌گی اجرا شده می‌تواند.

Multi Locus Enzyme Electrophoresis(MLEE) نیز برای مایکرواورگانیزم‌های پتوجن مورد استفاده قرار گرفته است. با استفاده ازین میتود علما در مرکز کنترول امراض CDC توانسته اند تا دریافت نمایند که سیروتایپ E. Coli O157:H7 را که در وقوعات hemorrhagic colitis و Hemolytic uremic syndrome نقش دارد، از یک clone که در امریکایی شمالی به‌صورت گسترده موجود است، تولد گردیده اند.

انکشافات و پیشرفتهایی حاصله که در عرصه تجرید، تسلسل و amplification نوکلییک اسیدها به‌میان آمده، منتج به‌میان آمدن سیستم های subtyping به اساس نوکلیک اسیدها می‌گردد که مشتمل اند بر plasma profile analysis، ribotyping، pulse field gel electrophoresis، PCR amplification و nucleic acid sequence analysis.

شیوه های تشخیص مایکرواورگانیزمها بدون زرع آن

تعداد تخمینی مایکروب‌های کشت ناشده واضح نمی‌باشد؛ اما معلومات اخیر نشان می‌دهد که بسیار زیاد است. تشخیص مایکروب‌ها تا این اواخر مستلزم کشت و حصول کلچر خالص و بعداً اجرا معاینات فزیولوژیک و بیوشمیک می‌باشد. علما از مدت زیادی در مورد مایکروب‌های غیر قابل زرع معلومات داشتند و فعلاً از شیوهٔ کار می‌گیرند که با کمک PCR و با استفاده از rRNA می‌توان مایکروب‌ها را تشخیص نمود. از ین شیوه برای کشف و تشخیص یک نوع از اکتینومایسیت ها استفاده شده که whipple disease rod shape bacterium است و پیشنهاد گردیده تا به نام Tropheryma whippelli مسمی‌شود. عامل سببی bacillary angiomatosis تشخیص گردیده و نام آن Bartonella henselae می‌باشد و نیز به اثبات رسیده که pneumocystis carinii از جمله فنگس‌ها می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف سیستم پنج Kingdome

تا به قرن نزدهم همه اورگانیزم‌ها به دو کِنگدَم نباتات و حیوانات تقسیم شده بودند. در سال 1866 کِنگدَم سومی (protista) توسط Haeckel پیشنهاد شده که همه مایکرواورگانیزم‌ها را در بردراد.

تصنیف پنج کِنگدَم که در 1969 توسط Whittaker پیشنهاد گردیده قرار ذیل است:

Monera (Prokaryote، Uni cellular)
Protista (Eukarote، Uni cellular)
Fungi (Eukaryote، Uni or Multi cellular)
Plantae (Eukaryote، Multi cellular)
Animalia (Eukaryote، Multi cellular)

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف پروکاریوتها با استفاده از سیستم Bergeys در طبابت این امکان را میسر می‌سازد تا اورگانیزم‌های مؤلدالمرضی را تشخیص و در قسمت تطبیق ادویه فارمکولوژیک خیلی کمک می رساند، همچنان زمینه را مساعد می‌سازد تا Strain های جدید کشف گردند و در لست مایکرواورگانیزم‌ها گنجانیده شوند.

Bergey's Mannual بار اول در 1932 چاپ شده و در 1984 بار دوم به چاپ رسیده بود. در Juanuary 1980 کمیته بین المللی باکتریولوژی یک لست نامگذاری باکتری هایی را تهیه نمود که در آن 2500 نوع باکتری و 10000 نام جا داده شده بود همچنان نام های حذف شده دوباره در آن شامل گردیده. Prokaryote ها به‌صورت عموم در دو کتگوری Archeubacteria و Eubacteria تقسیم گردیده است که باکتری های مؤلدالمرض برای انسان در گروپ Eubacteria تصنیف گردیده است.

اصطلاحاتیکه در نامگذاری بین المللی استعمال می‌شوند، قرار ذیل اند:

۱- Kingdom: به نام عالم یاد گردیده که قبلاً ۵ کِنگدَم تشریح گردیده.

۲- Class: گروپ مایکرواورگانیزم است که آخر نام کلاس به cetes ختم می‌شود مانند Actinomycetes.

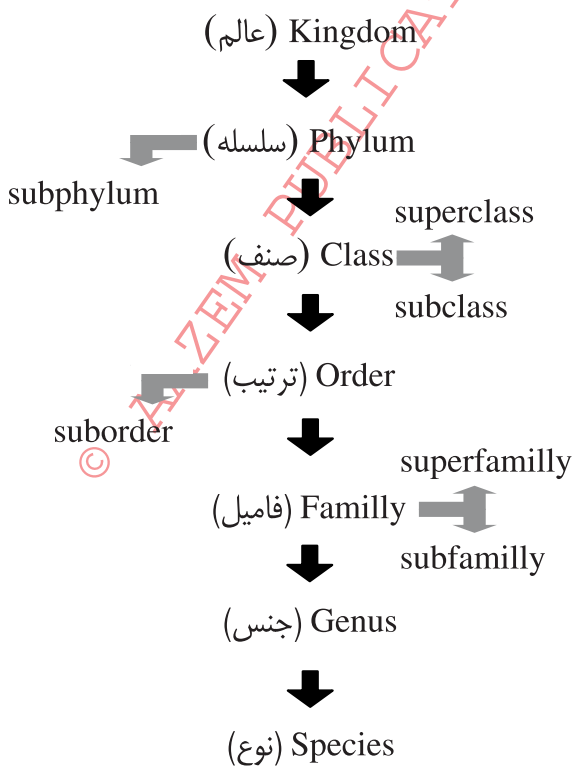
۳- ORDER: کوچکتر از کلاس بوده و در آخر کلمه آن در نگارش ales نوشته می‌شود مانند Actinomycetales.

۴- Family: کوچکتر از ORDER بوده و آخر آن به حروف aceae ختم می‌شود مانند Actinomycetaceae.

۵- Genus: نشاندهنده یک بخش از یک فامیل است و معمولاً نام کاشف آن با کلمهٔ لاتین نوشته می‌شود مانند Nocardia.

۶- Species: عبارت از یکنوع از genus است که به شکل لقب و یا وصف نوشته می‌شود مانند: Albus, Aureus, Asteroides.

۷- Strain: عین نوع است مگر با بعضی خصوصیات خاص.



© AZ ZEM PUBLICATIONS

فصل دوم

فزیولوژی مایکرواورگانیزم‌ها

© AAZEM PUBLICATIONS

I- ترکیب بیوشیمیک حجرهٔ باکتری

اساس ترکیب کیمیاوی حجرهٔ باکتری‌ها را عناصر عمدهٔ کیمیاوی از قبیل نایتروجن، کاربن، هایدروجن و اکسیجن که دارای منشأ عضوی اند تشکیل می‌دهد، مثلاً ۸ – ۱۵٪ وزن خشک باکتری‌ها را نایتروجن و ۴۵ – ۵۵٪ آنرا کاربن می‌سازد.

بطور کل و بخاطر سهولت مطالعهٔ مواد سازندهٔ حجرهٔ باکتری را بدو قسمت مایع و جامد تقسیم می‌نمایند:

۱- **قسمت مایع (آب):** آب قسمت عمدهٔ حجره باکتری را تشکیل داده که در سایتوپلازم انواع مختلفهٔ باکتری‌ها یک حجم متغیر از 75-85% را احتوا می‌کند، مثلاً در Escherichia coli 75% و در کورینهٔ باکتریم دیفتری و ویبریو کولرا 85% حجم شانرا آب می‌سازد و در باکتری‌های کپسول دار این فیصدی به نود می‌رسد.

آب در حجرهٔ باکتری بصورت آزاد و یا در ترکیب با دیگر اجزای ساختمانی باکتری یافت می‌شود، آب ترکیبی جزء ساختمانی سایتوپلازم بوده و نه می‌تواند محلل باشد در حالیکه آب آزاد در حجرهٔ باکتری پراگنده بوده و یک حالت کلوئیدل را بوجود می آورد و مانند منبع یون های هایدروجن و هایدروکسیل عمل می‌کند همچنین آب آزاد رول عمده‌یی در پروسهٔ هایدرولیز مواد دارد که طور مثال می‌توان از تجزیهٔ پروتین ها، لپید ها که بخاطر یکجا شدن آنها با آب آزاد صورت می‌گیرد، نام برد.

۲- **قسمت جامد یا Dry Matter عضوی، غیر عضوی:** قسمت جامد مواد سازندهٔ حجره باکتری‌ها شامل مواد عضوی و غیر عضوی است.

أ- مواد غیر عضوی (مواد معدنی): فاسفور، سلفر، سودیم، مگنیزیوم پوتاشیم، کلسیوم، سلیکان، آهن، کلورین و عناصر کمیاب کیمیاوی از قبیل مولبدنیم، کوبالت، برون، منگانیز، Zinc و مس از جمله مواد معدنی موجود در ساختمان حجره باکتری‌ها بوده که 2-14% وزن خشک کتلهٔ مایکروبی کشت شده در اوساط غذائی ستاندرد را می‌سازد.

ب- مواد عضوی: قسمت عضوی ماده خشک باکتری‌ها شامل پروتین ها، کاربوهایدریت‌ها، لپید ها، نوکلییک اسید ها و دیگر ترکیبات می‌باشد.

- پروتین ها: پروتین ها قسمت عمدهٔ مادهٔ خشک باکتری‌ها را می‌سازد، این ماده در سایتوپلازم، هسته، غشای سایتوپلازمیک و در دیگر ساختمان های حجره باکتری موجود است، پروتین در حجرهٔ باکتری معمولاً به اشکال نکلیوپروتین و لیپوپروتین موجود است.
- کاربوهایدریت‌ها: کاربوهایدریت‌ها و الکول‌های پولی التمیک ۱۰ – ۲۸٪ وزن خشک باکتری‌ها را می‌سازد که شکل عمدهٔ موجودیت کاربوهایدریت‌ها در حجرهٔ باکتری ترکیب پولی سکراید یک آنست که بطور آزاد و یا به حالت ترکیب با پروتین‌ها و لپید در دیوار حجروی و در کپسول باکتری‌ها وجود دارد. قابل یاد آوری است که در سایتوپلازم بسیاری از باکتری‌ها مقادیر نسبتاً زیادی Inclusion های کیمیاوی مشابه گلیکوجن و یا نشایسته وجود دارد.
- لپید ها: باکتری‌های که از خود ذخیره شحمی دارند و گرانول های شحمی را تولید می‌کند 40% وزن خشک شانرا لپید ها می‌سازد ولی آنعده باکتری‌های که ذخیرهٔ شحمی ندارند و نمی‌توانند گرانول های شحمی را تولید نمایند 10% وزن خشک شان را لپید ها می‌سازند. شحم در حجرهٔ باکتری به اشکال آزاد، خنثی و ترکیبی موجود می‌باشد که 26-28% شحم موجود در حجرهٔ باکتری را شحم آزاد تشکیل می‌دهد، در حالیکه مقدار شحم ترکیبی زیاد بوده و در جدار باکتری موقعیت دارد که با تأمین قابلیت نفوذیه جدار باکتری مقابل مواد غذائی در تغذی باکتری سهم می‌گیرد.
- نوکلییک اسید: مقدار نوکلییک اسید در حجرهٔ باکتری مربوط به نوع باکتری و چگونگی ترکیب وسط غذائی می‌باشد که 10-13% ماده خشک باکتری‌ها را می‌سازد مقدار R.N.A معمولاً در حدود 10% و از D.N.A 3-4% می‌باشد.

© AZEH PUBLICATIONS

II- میکانیزم تغذی باکتری‌ها و تصنیف آنها مطابق به تایپ تغذی شان

تبادله دائمی مواد و ترکیبات با محیط ماحول یک خاصیت ذاتی تمام موجودات زنـده اسـت، منجمله باکتری‌ها در جریان فعالیت های حیاتی باکتری شرایط معین لازمست که مهمتر از همه موجودیت مواد غذائی است که با استفاده از آن ها انرژی مورد نیاز خود را حاصل نموده و اجزای ساختمانی خود را سنتیز می‌نمایند.

نفوذ مواد غذائی به داخل حجرۀ باکتری به سه طریقه صورت می‌گیرد:

۱- **انتشار ساده یا Simple diffusion:** عبارت از نفـوذ غیـر اختـصاص مـواد بـه حجـرۀ باکتری است. درین پروسه حجم مالیکولی مواد اهمیت زیاد داشته و سـرعت آن نهایـت ضعیف است، در جریان این عملیه محصولات Lipophilic موجود در کپـسول و Cell wall باکتری رول ارزنده دارد.

۲- **انتشار سهل یا Easeing Diffusion:** جهت اجرای این پروسه موجودیت انتقال دهنده های مخصوص (Massengers) در سایتوپلازم حجرۀ باکتری که خواص مـواد محـیط حجره باکتری را به سایتوپلازم می رساند ضروری است. درین طریقه مصرف انرژی کـم بوده و سرعت آن مربوط به غلظت و تجمع مواد محیط باکتری است.

۳- **انتقال فعال یا Active transportation:** آوانیکه غلظت مواد غذائی در داخـل حجـره باکتری نسبت به محیط آن بلند برود، باکتری‌ها با استفاده ازین میکانیزم تغذی بقیه مواد غذائی موجود در محیط را اخذ می‌نمایند که درینحالت غلظت مواد غذائی در داخل حجرۀ باکتری صد ها مرتبه بلندتر از غلظت آن در محیط مـی‌باشـد و در پیـشبرد ایـن پروسـه انتقال دهنده های مخصوص که ماهیتاً انزایم بوده و به نـام Permease یـاد مـی‌شـود سهم می‌گیرند در Active transportation مصرف انرژی زیاد است.

تصنیف باکتری‌ها نظر به تایپ تغذی شان

باکتری‌ها مطابق به تایـپ تغـذی شـان بـه دو گـروپ Autotrophic و Heterotrophic تقسیم می‌شوند.

۱- **باکتری‌های Autotroph:** آن دسته از باکتری‌های اند که عمل فوتوسنتیز و شیموسنتیز را انجام می‌دهند و قادر اند که از مرکبات غیر عضوی مواد عـضوی را تهیـه کننـد، ایـن

© AZEM PUBLICATIONS

باکتری‌ها به مرکبات عضوی کاربن ضرورت نداشته و نمی‌توانند آنها را جذب کنند، بلکه اجزای ساختمانی خود را بوسیلهٔ جذب آب و مرکبات ساده نایتروجن دار) امونیاک و نمکها آن و نمک Nitric Acid) تشکیل می‌نمایند.

۲- **باکتری‌های Heterotroph:** باکتری‌های اند که جهت تغذی خود را به کاربن عضوی مانند قندها و اسیتون، به امینواسیدها، اسید های شحمی، مرکبات مختلفه نایتروجن (نیترات ها و امونیاک) و به مواد غیرعضوی مانند Mg، K، Fe، Ca و حتی به ویتامین‌ها ضرورت دارند.

باکتری‌های هیتروتروف به نوبهٔ خود به دو گروپ Parasite ها و Sprophyte ها تقسیم می‌شوند:

أ- سپروفایت ها: باکتری‌های اند که با استفاده از مواد عضوی محیط ماحول خود زندگی می‌کنند که اکثریت باکتری‌های موجود در کرهٔ ارض مربوط به سپروفایت ها است، باکتری‌های Non – Pathogen شامل این گروپ می‌باشند.

ب- پرازیت ها: درین گروپ تعداد کمی از باکتری‌ها شامل بوده که در جریان رشد و تکامل تدریجی خود به حیات طفیلی عادت می‌گیرند و برای تغذیه و تأمین حیات خود به مواد عضوی به خصوص به پروتین حیوانی نیاز دارند. باکتری‌های مؤلدالمرض یا Pathogen شامل این گروپ می‌باشند.

© AAZEM PUBLICATIONS

گرچه نمی‌توان هتروتروف را به دو گروپ دیگر یعنی پرازیت ها وسپروفایت ها تقسیم نمود اما با آنهم تا کنون کدام نوع دیگری در بین این دو گروپ حایل نشده است به دلایل ذیل نمی‌توان مرز تفریقی را بین پرازیت ها و سپروفایت ها مشخص کرد:

۱) پرازیت ها بعد از خارج شدن از اورگانیزم زنده می‌تواند، در اوساط غذائی که حاوی مواد غذائی عضوی باشند حیات به سر برند.

۲) بعضی از مایکروب‌ها Pathogen برای انسان، می‌توانند در محیط سپروفایت باشند.

۳) بعضی از مایکروب‌های سپروفایت در شرایط نامساعد می‌توانند بیماری های مختلف را برای انسان و حیوان تولید کنند.

۴) همچنانیکه اشاره شد، نایتروجن و مرکبات آن نقش عمده ای در تغذی باکتری‌ها ایفا

می‌نماید که اینک بر حسب تایپ استفاده باکتری‌ها از نایتروجن، تصنیف آنها بیان می‌گردد:

- مایکروبهای که نایتروجن را از هوا می‌گیرند.
- مایکروبهای که از ترکیبات معدنی نایتروجن استفاده می‌نمایند.
- مایکروبهای که در مجاورت یک امینواسید و یا مخلوطی از آنها رشد و نمو میکنند.
- مایکروبهای که در اوساط غذائی پروتین دار کشت می‌شوند.

برعلاوه، تصنیف عمدهٔ دیگری بر حسب قدرت باکتری‌ها در سنتیز مرکبات مغلق و پیچیده موجود است که ذیلاً ارائه می‌گردد:

۱- باکتری‌های که کاربن را از CO_2 و نایتروجن را از مرکبات غیر عضوی فراهم می‌کنند، اینها شامل اتوتروف های اند که قابلیت فوتوسنتیز را دارند و بوسیلهٔ اوکسیدیشن ساده مرکبات غیر عضوی انرژی مورد نیاز خود را تهیه می‌کنند.

۲- باکتری‌های که کاربن را از مرکبات عضوی و نایتروجن را از مرکبات غیر عضوی گرفته و انرژی تهیه می‌کنند که اغلب سپروفایت ها درین زمره اند.

۳- باکتری‌های که کاربن و انرژی را از مواد عضوی و نایتروجن را از امینو اسید تهیه می‌کند.

۴- باکتری‌های که کاربن را از مرکبات عضوی و نایتروجن را از کمپلکس امینواسیدها جذب کرده و انرژی تهیه می‌کنند که در ضمن به یک یا چند ویتامین هم ضرورت دارند.

© AAZEM PUBLICATIONS

اوساط غذائی و تهیهٔ آن ها

هدف از استعمال اوساط غذائی تهیهٔ کلچر خالص باکتری‌ها از مواد و محصولات مختلفهٔ است که در ضمن تجرید و تکثیر ژرم مطالعه خصوصیات مایکروب و معرفت با محصولات خود مایکروب را امکان پذیر می‌سازد.

پایه و اساس کار مایکروبیولوژی مربوط به اوساط غذائی بوده و اکثر اوقات کیفیت و چگونگی این اوساط نتیجهٔ امور تحقیقاتی را معین می‌سازد. در ترکیب اوساط غذائی مواد اورگانوجنیزس که جهت ساختن سایتوپلازم لازمی است وجود دارد که معمولاً شامل Peptone یا (عصاره گوشت یا Meat Extract، محصولات بیولوژیکی یا مواد صنعتی مشابه آنها که مواد

متذکـــره حاوی مواد Organogenes که در قالب مالیکول های بزرگ است، می‌باشد.

اوساط غذائی ماهیتاً مواد و عناصر چون کاربن، نایتروجن، هایـدروجن، اوکـسیجن، مرکبـات غیر عضوی که دارای پتاسیم، سودیم، کلـسیم، کلـورین، آهـن، مگنیـزیم و همچنـین یکتعـداد مایکروالیمنت ها از قبیل کوبالت، آیودین، منتریم، برون، مولبدینوم و مس را دارا می‌باشند.

همچنین باکتری‌ها برعلاوه مواد فوق به عوامل رشد دهنده نیازمند انـد کـه رول ایـن مـواد معادل نقش ویتامین ها در حیوانات می‌باشد. این مواد که دارای منشۀ حیوانی یا نبـاتی انـد و در ترکیب خود نوکلئیک اسید، Panthotin و ویتامین های مختلفۀ A، B و C را دارند. قسمی باید در ساختار اوساط غذائی ترکیب شوند که بتوانند از طرف باکتری‌ها مورد استفاده قرار گیرند.

مواد غذائی توسط باکتری‌ها تنها در نتیجۀ تعامل اوساط اخذ می‌گردد، زیرا حساسیت غـشای حجروی باکتری‌ها مقابل تغییرات PH وسط نهایت حساس بوده و حساسیت غشا نظـر بـه PH وسط تغییر می یابد نظر به اینکه مایکروب‌های مختلفه جهت رشد، نمو و تکثر خـود بـه اوسـاط غذائی مختلفه ضرورت دارند لذا وسط Universal یا یکسان برای تمام باکتری‌ها وجود ندارد.

در تهیۀ یک وسط غذائی باید نکات ذیل مراعات شود:

۱- اوساط غذائی باید حاوی تمام مواد باشد که برای مایکروب ضروری است.

۲- تعامل PH وسط باید مطابق به حساسیت غشای حجروی هر مایکروب عیار گردد.

۳- وسط غذائی باید مرطوب باشد، زیرا میدانیم که مایکرواورگـانیزم‌هـا مطـابق بـه قـوانین آسموزس و دیفیوجن تغذیه می‌کند.

۴- وسط غذائی باید ایزوتونیک Isotonic باشد.

۵- وسط غذائی باید معقم باشد تا بتوان کلچر خالص مایکروب را حاصل نمود.

© AAZEM PUBLICATIONS

تصنیف اوساط غذائی

اوساط غذایی نظر به حالت فزیکی ترکیب، چگونگی طبیعی و مصنوعی پیـدایش و بـالاخره نظر به مفهوم و کارآیی باکتریولوژیک آنها تصنیف می‌شوند.

۱- نظر به حالت: از این لحاظ سه نوع وسط غـذائی وجـود دارد: مـایع، جامـد خـشک و یـا پودری. در پراتیک روزانه اوساط غذائی جامـد را از Agar و یـا ژلاتـین تهیـه مـی‌کننـد (Agar از یکنوع نبات بحری بدست می‌آید) زیرا Agar در آب به ۸۰ - ۸۶ درجۀ سانتی

گراد ذوب شده و در حرارت ۳۷ – ۴۰ درجهٔ سانتی گراد دوباره شکل جامد را به خود می‌گیرد. با استفاده از اوساط اگردار می‌توان تمام باکتری‌های پتوجن را پرورش داد، زیرا حرارت اعظمی Optimum برای این نوع مایکروب‌ها معادل درجهٔ حرارت طبیعی عضویت انسان است. امروز در بخش صنایع طبیعی اوساط غذائی خشک (پودری) کانسرو شده را می‌سازند که در ترکیب آنها تمام مواد ضرورت جهت رشد و تکثر باکتری‌ها شامل است، طرز استفاده از این اوساط چنین است که اولاً آنرا در آب حل نموده و جوش می‌دهند و بعداً آنرا در تیوپ ها و پطری دیش ها جا می‌دهند. این نوع اوساط غذائی برای مدت دو سال قابل استفاده می‌باشد، تهیهٔ این اوساط با این سهولت و ترکیب غنی آن، امکان آنرا به محققین می‌دهد تا ازین اوساط در لابراتوار های مایکروبیولوژی در محلات مختلف استفاده نمایند (زمین– بحر– فضا).

۲– نظر به ترکیب: با در نظرداشت ترکیب اوساط غذائی دو نوع آنرا می‌توان معین کرد، دو نوع ساده و مغلق موجود بوده در جمله اوساط غذائی ساده می‌توان از Meat broth، Peptone water و Meat Water نام برد. اوساط که شامل دو یا چندین نوع وسط غذائی ساده باشد در جملهٔ اوساط غذائی مغلق کتگوری می‌شوند.

۳– نظر به چگونگی پیدایش و موجودیت شان: دو گروپ طبیعی و مصنوعی از هم تفریق می‌شوند. Blood Agar، سیروم حیوانی، شیر، پارچه های کچالو، جزء اوساط غذائی طبیعی و اوساط که چگونگی ترکیب آنها معلوم است جزء اوساط غذائی مصنوعی بشمار می‌روند.

۴– نظر به مفهوم و کارآئی باکتریولوژیک: اوساط غذایی نظر به مفهوم و کارآیی باکتریولوژیک در لابراتوار به اوساط غذائی عمومی و خصوصی تقسیم می‌گردند. Meat broth، Meat peptone broth و اوساط غذائی که در اساس خود از آنها تهیه گردیده اند. در کتگوری اوساط غذائی عمومی تصنیف می‌شوند (به شمول اشکال جامد آنها)، اوساط غذائی عمومی، به نوبهٔ خود به اوساط غذائی Elective و تشخیص تفریقی (Differential Diagnostic) تقسیم می‌شوند.

الف: اوساط غذائی Selective: این اوساط با چنین ترکیبی تهیه می‌گردند که زمینهٔ رشد یک یا چند باکتری را با مهیا ساختن شرایط Optimum برای آنها تأمین می‌کند. درین نوع

© AZEM PUBLICATIONS

اوساط باکتری‌های مختلفه را می‌توان کشت کرد ولی قبل از همه آن باکتری رشد می‌کند که وسط برای آنها انتخابی Selective باشد و سایر باکتری‌ها یا اینکه اصلاً نمو ننموده و یا اینکه خیلی ضعیف نمو می‌کنند. این نوع اوساط برای انواع مایکروب‌های که مورد توجه طبیبان قرار دارد، استعمال می‌شوند که البته خیلی شدید و سریع نسبت به سایر مایکروب‌های همراه خود می رویند.

ب: اوساط Differential Diagnostic تشخیص تفریقی: با در نظرداشت مفهوم این اوساط بازهم انواع ذیل آنها قابل تفریق است:

- اوساط پروتین دار: عبارت از اوساط اند که جهت معلوم نمودن فعالیت Proteolytic باکتری‌ها به کار می‌روند که حاوی مواد پروتینی در ترکیب خود اند مانند شیر، جلاتین و Meat peptone.
- سیروم خون: اوساط که برای تشخیص فعالیت هیمولایتیکی باکتری‌ها به کار می‌روند مثلاً Blood Agar.
- مواد کیمیاوی: اوساط که در ترکیب خود دارای چنان مواد کیمیاوی اند که برای عده ای از باکتری‌ها منحیث مواد غذائی بوده درحالیکه باکتری‌های دیگر نمی‌توانند از آن استفاده نمایند.
- ارجاعی: اوساط که فعالیت Reductive یا ارجاعی باکتری‌ها در آن معین می‌گردد.
- عمل تخمری انزایم ها: اوساط که جهت تحقیق و پیدا نمودن انزایم های متعلقه هر باکتری و مشخص نمودن عمل تخمری آنها به کار می‌روند.

© AZEM PUBLICATIONS

میتود های تعقیم اوساط غذائی

تعقیم اوساط غذائی به میتود ها و روش های مختلفه صورت می‌گیرد ولی در تعقیم هر وسط غذائی بایست اجزای ترکیب دهنده آن جدا در نظر گرفته شود که ذیلاً چگونگی تعقیم اوساط غذائی توضیح می‌گردد:

۱- اوساط Agar دار و Synthetic اگر در ترکیب خود پروتین طبیعی نداشته باشند به حرارت ۱۱۵ - ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ - ۲۰ دقیقه در Autoclave تعقیم می‌شوند.

۲- اوساط که در ترکیب خود کاربن و شیر دارند (Lactose) به حرارت 100°c در موجودیت رطوبت (بخار) به مدت ۳۰ دقیقه برای دو مرتبه و یا به حرارت ۱۱۲ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه در اوتوکلاو برای دو مرتبه تعقیم می‌شوند.

۳- اوساط که در ترکیب خود مواد پروتینی از قبیل سیروم خون، Ascites و مواد پروتینی اند به میتود Filtration و یا Tendalization تعقیم می‌شوند. طرز العمل در میتود اخیرالذکر چنان است که وسط به حرارت 70 – 80 °c برای یکساعت در سه روز متوالی تعقیم می‌شوند.

۴- اوساط که در ترکیب خود مواد پروتین طبیعی دارند به میتود Filtration تعقیم می‌شوند.

اوساط غذائی تعقیم شده بعد از تعقیم بایست کنترول شوندکه به این منظور آنها را ترموستات به حرارت 37 °c می گذارند طوریکه اوساط غذائی تعقیم شده در اتوکلاو را مدت 24h و اوساط غذائی تعقیم شده توسط بخار را مدت 72h در ترموستات محفوظ نگهمیدارند.

تخنیک کشت باکتری‌ها در اوساط غذائی

مواد که در اوساط غذائی کشت می‌شوند متعدد اند، کلچر باکتریائی، آب، مواد زمینی افرازات و محصولات مختلفهٔ انسان ها (ادرار، مواد غایطه، قی آبسی ها، بلغم) محصولات حیوانی، پارچه های اجساد... و غیره می‌توانند به حیث مواد کشت شونده استعمال شوند. در پراتیک روزانه جهت کشت باکتری‌ها اکثراً از لوپ باکتریایی استفاده می‌شود. کشت باکتری‌ها مستلزم یکسلسله حرکات و مانور های ماهرانه است که توسط انگشتان دست اجرا می‌شود (Manupolation) که البته تمام این حرکات و مانور ها باید در مجاورت منبع حرارت (شعله چراغ الکلولی) صورت گیرد.

جهت کشت باکتری‌ها در لابراتوار چنین عمل می کنیم:

۱- قبل از اخذ مواد لوپ عمودً داخل شعله چراغ قرار داده می‌شود تا تعقیم گردد.

۲- دو تیوب که در یکی از آنها کلچر کهنه باکتریایی وجود دارد و دیگر آن که هنوز بکلی معقم و تازه است طوری با دست چپ اخذ می‌شوند که نهایت مطلوبه آنها آزاد، باشد.

۳- لوپ معقم مانند قلم با دست راست اخذ شده و نهایت آزاد تیوب ها با دور نمودن پنبه از آن در مجاورت شعله چراغ باز می‌گردد.

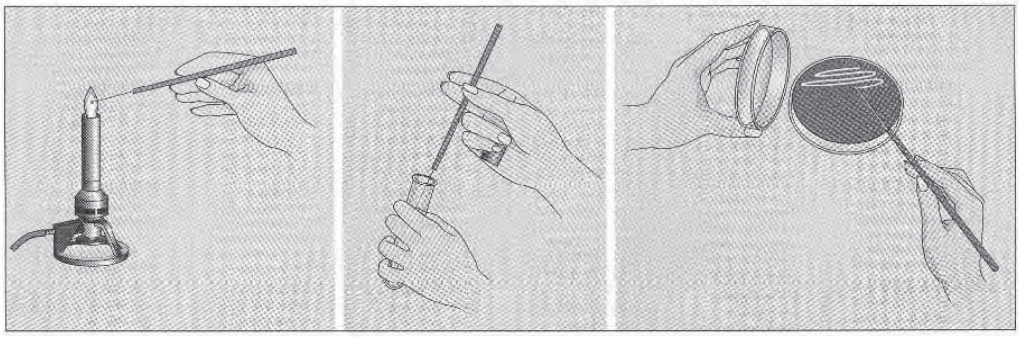
© AZIZI PUBLICATIONS

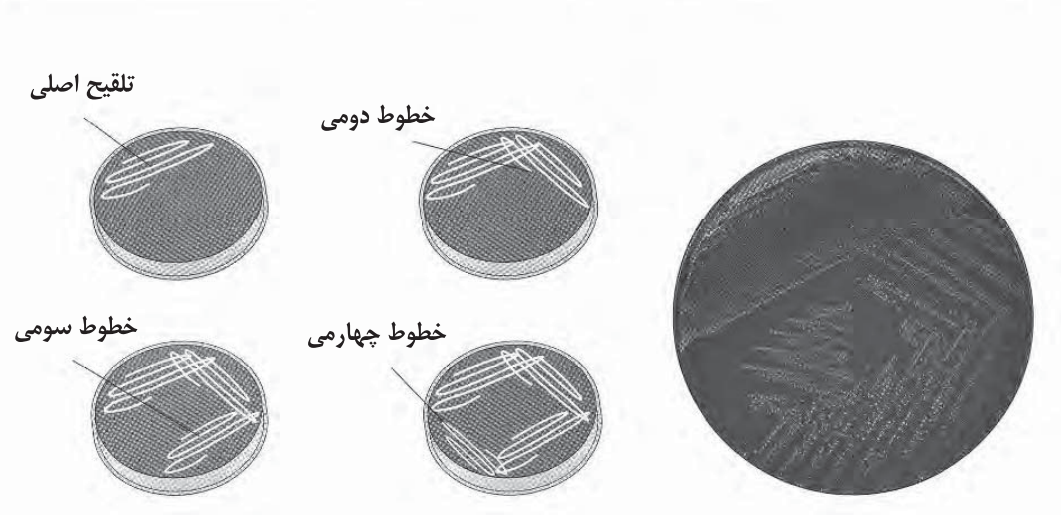
۴- به وسیلهٔ لوپ از تیوب که حاوی کلچر کهنه باکتریایی است طوری مواد اخذ می‌گردد که در جدار تیوب تماس نه نماید و این مواد در تیوب دیگر که حاوی وسط (معقم striel) غذائی تازه است و به کلی معقم می‌باشد، جا داده می‌شود.

۵- نهایت باز تیوب ها در مجاورت آتش به وسیلهٔ پنبه مسدود می‌گردد.

۶- لوپ مجدداً تعقیم می‌گردد.

۷- در تیوب که جدیداً مواد کشت شده، تاریخ اجرای کلچر،نام کلچر کهنه و اسم اجرا کننده با قلم رنگه نوشته شده و تیوب در ترموستات اقلاً برای ۲۴ ساعت نگهداری می‌شود.





شکل ۲ – ۱ کشت مایکروب ها به میتود خطوط

ترموستات Thermostat

جهت رشد و تکثر باکتری‌ها شرایط مساعد حرارتی لازم است که برای انواع مختلفهٔ باکتری‌ها مختلف است، جدول ذیل تقسیمات باکتری‌ها را نظر به حرارت Optimum شان نشان می‌دهد:

	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophilic	0 °c	15-20 °c	30-35 °c
Mesophilic	10 °c	30-37 °c	40-45 °c
Thermophilic	35 °c	50-60 °c	70-75 °c

باکتری‌های Pathogen تماماً مربوط به گروپ Mesophilic می‌باشد که حرارت مساعد جهت رشد و تکثر شان معادل به حرارت نارمل وجود انسان یعنی 37°c است. بخاطر تأمین حرارت مساعد جهت رشد و تکثر باکتری‌ها از ترموستات استفاده می‌شود. که حرارت اعظمی Optimum را برای هر باکتری بصورت دایمی آماده نموده می‌تواند.

جدار ترموستات از دو لایه یا طبقه ساخته شده است که آب یا هوا در بین آن موجود بوده و توسط یک منبع حرارت (گاز یا برق) گرم می‌شوند، دروازه ترموستات بایست که بطور محکم بسته شود در سرپوش ترموستات Thermameter ترمامیتر و سوراخ های تهویه موجود است. در لابراتوار های بزرگ از ترموستات های بزرگ که مانند یک اطاق اند و تماماً مجهز می‌باشند. استفاده می‌گردد کلچر باکتری‌ها را مدت 24h در ترموستات جا می‌دهند که این مدت ازدیاد اعظمی باکتری‌های Pathogen را تأمین می‌نماید.

© AZEEM PUBLICATIONS

نمو، ابقأ، حیات و مرگ مایکرواورگانیزم‌ها

زنده ماندن مایکرواورگانیزم‌ها در محیط طبیعی

تعداد مایکرواورگانیزم‌ها در بیوسفیر تقریباً ثابت می‌باشد یعنی نمو و تکثر مایکروب ها در موازنه با مرگ مایکروب ها قرار دارد. زنده ماندن یک گروپ از مایکروب ها در محیط قسماً به رقابت موفقانه برای دریافت مواد غذایی و نگهداشت ذخیروی یک عده از حجرات زنده حین مواجه شدن به قلت مواد غذایی، مربوط می‌باشد. اکثریت معلومات در مورد فزیولوژی مایکروب‌ها از مطالعه حجرات تجرید شده در لابراتوار که تحت شرایط آیدیال نمو می‌کنند، بدست آمده است. اما باید خاطر نشان ساخت که

اکثریت مایکروب‌ها در محیط طبیعی ممکن به قلت مواد غذایی دچار گردیده و بناً وادار به رقابت برای دریافت مواد غذایی گردد که این حادثه باعث تفاوت مشخصات فزیولوژیک مایکروب در شرایط طبیعی از شرایط لابراتوار گردیده می‌تواند. همچنان باید دانسته شود که محل زیست مایکروبی خالی به زودی توسط مایکروب های دیگری مملو می‌گردد و بدین لحاظ برنامه های که در آن مایکروب های پتوجن صرف از محل زیست آنها تصفیه می‌گردد، نظر به میتود های که در آن در محل زیست مایکروب پتوجن مایکروب های غیرپتوجن به‌صورت تعویضی جاگزین می‌گردد، کمتر موفق دانسته می‌شود.

نمو

نمو عبارت از تزاید منظم در مجموعه اجزای متشکله یک اورگانیزم می‌باشد. بناً ازدیاد در سایز و اندازه که به تعقیب داخل شدن آب و یا ذخیره شدن شحمیات و یا پولی سکراید ها به وقوع می پیوندد، نموی واقعی دانسته نمی‌شود. تکثر حجروی پدیده است که در نتیجه نموی حجره به وقوع می پیوندد.

اندازه غلظت مایکروبی Microbial concentrations

غلظت مایکروبی به اساس غلظت حجرات (تعداد حجرات زنده فی واحد حجم کلچر) ویا به اساس غلظت کتله زنده biomass (وزن خشک حجرات فی واحد حجم کلچر) تعیین می‌گردد. این دو پارامتر همیشه معادل نمی‌باشند. در مطالعه جنتیک حجرات غلظت حجرات مهم است تا اندازه گردد اما در مطالعه بیوشیمی و یا تغذی حجرات غلظت بایومس مهم می‌باشد. غلظت حجرات از شمارش حجرات زنده بدست می‌آید اما در بسیاری موارد جهت سهولت کار از مکدریت کلچر که با شیوه های فوتوالکتریک اندازه می‌گردد، به حیث معیار غلظت حجرات استفاده به عمل می‌آید. همچنان اندازه گیری سهل غلظت بایومس توسط اندازه گیری مقدار یکی از اجزای متشکله حجره مانند پروتین ویا اندازه گیری حجم حجراتی که از suspension ته نشین گردیده اند، صورت می‌گیرد.

تکثر و نموی مایکرواورگانیزم‌ها

نمو و تکثر باکتری‌ها در اوساط غذائی جامد:

نموی باکتری‌ها عبارت از ازدیاد حجم سایتوپلازم آنها است که متعاقب سنتیز مواد حجروی صورت می‌گیرد. باکتری‌ها با سپری نمودن مراحل مختلف انکشاف می یابد که معمولاً حجره جدید باکتریایی (حجرهٔ دختری) نسبت به حجره مادری خود کوچکتر می‌باشد،

© KAZEM PUBLICATIONS

حجرات دختری به نوبهٔ خود نمو می‌کنند و بزرگ می‌شوند که اینحالت را Physiological Gigantisme می‌نامند. افزایش تعداد باکتری‌ها که در نتیجه فعالیت خود آنها صورت می‌گیرد عبارت از تکثر یا تولید مثل باکتری‌ها می‌باشد، تکثر باکتری‌ها بوسیلهٔ تقسیم ساده عرضی یا Simple Transvers Divission و تکثر اولیه یا تکثر نباتی Vegetative Reproduction در سطوح مختلف صورت می‌گیرد و در نتیجه اشکال مختلفه از حجرات مانند خوشه ئی، زنجیری و جوره ئی... بوجود می‌آید همچنان مایکرواورگانیزم‌ها بوسیلهٔ جوانه زدن، ایجاد شگاف در رشته های سیگمانته، تشکیل حجرات مشابه سپور به وسیلهٔ Conidia های متحرک و بالاخره بوسیلهٔ Conjugation تولید مثل می‌نماید که حادثه اخیرالذکر تولید مثل جنسی نزد باکتری‌ها قبول شده است.

تقسیم عرضی باکتری‌ها تنها یک پروسهٔ ساده انقسام یک حجرهٔ مادری به دو حجره مشابه دختری نبوده بلکه تقسیم عوامل مستقل و جداگانه یک حجره مادری است به حجرات دختری یا به عبارهٔ دیگر تجرید مداوم حجرات کوچک دختری است از یک حجره بزرگ مادری چنانچه نگاشته شد این حجرات دختری به نوبهٔ خود بزرگ می‌شوند و بعد از رشد و انکشاف همچنان انقسام می‌یابند که البته بعد از چند بار Generation از بین می‌روند.

سرعت تقسیمات حجروی در باکتری‌ها مختلف بوده و مربوط به نوع باکتری، سن شرایط کشت اوساط غذائی، درجهٔ حرارت و غیره می‌باشد که در صورت موجودیت شرایط مساعد بعضی از باکتری‌ها می‌توانند بعد از هر ۲۰ – ۳۰ دقیقه تکثر کنند.

افزایش تعداد حجرات جدید باکتری‌ها مطابق به دفعات Yeneve یا مدت انقسام قرار ذیل محاسبه می‌گردد:

تعداد حجرات	1	2	4	8	16	32	---------- N
مدت انقسام	0	1	2	3	4	5	---------- n

بعد از n مرتبهٔ تکثر تعداد مجموعی حجرات مساوی به N خواهد بود یعنی N = 2n (البته بعد از ختم Generation اول) به این معنی که اگر در یک وسط غذائی صرف یک باکتری موجود باشد و Generatime 30 دقیقه باشد (هر 30 دقیقه بعد، نسل جدید به میان می‌آید). تعداد مجموعی باکتری‌ها بعد از 24 ساعت مساوی است به: N = 248 زیرا n = 48 است در صورتیکه تقسیمات حجره باکتری در هر 20 دقیقه صورت گیرد.

© AAZEM PUBLICATIONS

تکثر باکتری‌ها توسط بعضی از عوامل مانند تجمع مواد Toxic، تغییرات PH وسط، اتمام مواد غذائی و غیره محدود می‌گردد.

در اوساط غذائی جامد باکتری‌ها به اثر تکثر ایجاد کالونی می‌نماید و کالونی عبارت از مجتمع مایکروبی است که متعاقب تکثر مایکروب در سطح اوساط غذائی بعد از کشت بوجود می‌آید. از لحاظ شکل و حجم این کالونی ها از هم فرق داشته و توسط رشته های Cytoplasmic به هم مرتبط اند، اشکال کالونی ها مختلف بوده می‌تواند به شکل کروی، درختی، ستاره یی و یا Rosette – Shaped باشد، همچنین اشکال مستقیم و دانه دار آنها نیز دیده می‌شود، حاشیهٔ کالونی ها می‌شود که منظم و یا اینکه غیر منظم و دندانه دار باشد، کالونی ها ممکن است مطح، محدب، گنبدی، و یا حفره دار بوده و سطح آنها لشم (S. Form) و یا اینکه درشت (R. Form) باشد. کالونی ها از لحاظ سایز خود به چهار گروپ تقسیم می‌شوند: کالونیهای بزرگ به قطر 4 – 5mm ، کالونیهای متوسط به قطر 2 – 4mm، کالونی های کوچک به قطر 1 – 2mm و بالاخره کالونی های کوچکتر یا رشد نکرده به قطر کمتر از 1mm. همچنن کالونی ها از نظر رنگ کثافت و قوام خود از هم فرق دارند که انواع مختلفه آنها از قبیل کالونی های مکدر شفاف، خشک، مرطوب، رنگه و بی رنگ موجود است.

نمو و تکثر باکتری‌ها در اوساط غذایی مایع

مراحل نمویی مایکروب‌ها که در وسط کلچر مایع مطالعه می‌گردد، شش مرحله می‌باشد. این مراحل ذیلاً توضیح می‌گردد:

A– مرحله نموی بطی Lag phase: این مرحله عبارت از زمانی است که حجرات در آن به محیط زیست جدید خود را عیار می‌سازند. انزایم ها و سایر مواد استقلابی سنتیز گردیده و تا حدی که برای آغاز نمو لازم باشند، ذخیره می‌گردد. در صورتیکه حجرات از یک وسط به وسط دیگر کاملاً متفاوت و غیر قابل زیست انتقال یابند، ممکن که مرحله نموی بطی برای مدت زیادی دوام نماید تا اشکال mutant مایکروب به میان آید و زمینه را برای ازدیاد تعداد خود مساعد سازد.

B– عبارت از یک مرحلهٔ کوتاه بین مرحلهٔ A و C می‌باشد.

C– Exponential phase: در جریان این مرحله باکتری ها به شکل ثابت ازدیاد می‌یابند. مواد حجروی جدید به یک نسبت ثابت سنتیز گردیده و کتله حجرات به شکل

© AAZEM PUBLICATIONS

exponential ازدیاد می یابد. این مرحله الی وقوع یکی از دو حوادث ادامه دارد: یا اینکه یک یا بیشتر مواد مغذی در وسط به اتمام رسیده و یا اینکه تولیدات میتابولیک توکسیک تجمع یافته و مانع نمو می‌گردد. برای اورگانیزم‌های ایروبیک مواد غذایی که معمولاً محدود می‌گردد، عبارت از اوکسیجن می‌باشد. زمانیکه غلظت حجرات به 107 حجره فی ملی لیتر می‌رسد، نمو حجرات از سبب قلت اوکسیجن بطی می‌گردد مگر اینکه اوکسیجن به میتود های agitation و یا bubbling در وسط داخل ساخته شود اما زمانیکه تعداد حجرات باکتریایی به 109 x 5 – 4 حجره فی ملی لیتر برسد، دیفوژن اوکسیجن نمی‌تواند تقاضا وسط را در هیچگونه شرایط تکافو نماید و بناً نمو بطی می‌گردد.

D– عبارت از یک مرحلهٔ گذار به مرحلهٔ E می‌باشد.

E– مرحله ساکن اعظمی maximum stationary phase: اختتام مواد غذایی و یا تجمع مواد توکسیک بالاخره باعث می‌گردد تا نمو کاملاً توقف یابد اما اکثراً یک عده کم از حجرات درین مرحله از بین رفته و در مقابل حجرات جدید از طریق نمو و انقسام آنرا تعویض می‌نمایند. در صورتیکه چنین واقع گردد، تعداد مجموعی حجرات ازدیاد یافته در حالیکه تعداد حجرات زنده ثابت می ماند.

F– مرحله مرگ ویا مرحله تنقیص: بعد از اختتام مرحله ساکن اعظمی که طول آن نظر به اورگانیزم و نظر به شرایط کشت متفاوت می‌باشد، میزان مرگ حجرات ازدیاد یافته تا اینکه به یک سرعت ثابت برسد. اکثراً بعد از اینکه اکثریت حجرات از بین بروند، میزان مرگ کاهش یافته که بدینگونه یک عده از حجرات زنده برای ماه ها و یا حتی سالها می‌توانند زنده بمانند. چنین زنده ماندن در بعضی حالات وانمود کننده تعویض حجرات می‌باشد یعنی یک عده از حجرات با استفاده از مواد غذایی حاصله از حجرات مرده و لیز شده، نمو می‌نمایند.

نگهداشت حجرات در مرحله exponential

حجرات را می‌توان با انتقال مکرر به اوساط مشابه تازه در مرحله نمو exponential نگهداری نمود. برای این هدف دو آله اوتومات ساخته شده است که عبارتند از: chemostat & turbidostat

© FAZEL PUBLICATIONS

تعریف و اندازه مرگ حجرات

مفهوم مرگ حجرات:

مرگ حجرات مایکروبی به معنی از دست دادن دایمی قابلیت تکثر (نمو و انقسام) می‌باشد. از نظر پرکتیک مرگ حجرات با کشت حجرات دروسط جامد تثبیت می‌شود. در صورتیکه یک حجره قابلیت تشکیل کالونی را در همه اوساط از دست داده باشد، حجره مرده پنداشته می‌شود. واضح است که اعتماد بالای این تست به انتخاب وسط و شرایط بستگی دارد. مثلاً کشتِ که در یک وسط 99 در صد حجرات را مرده وانمود سازد، ممکن در وسط دیگری 100 فیصد حجرات را زنده نشان دهد. علاوتاً نمی‌توان عده محدود از حجرات زنده یک سمپل بزرگ کلینیکی را در کشت مستقیم دریافت نمود زیرا مایع موجود در همان سمپل ممکن خود سبب نهی نموی مایکروبی گردد. در چنین حالات باید که نخست سمپل مورد نظر در وسط مایع رقیق گردد تا به نموی حجرات زنده زمینه را مساعد سازد.

تعیین اندازه نموی مایکروبی

طرق مختلفی برای اندازه گیری نموی مایکروبی موجود است. در عده از میتود ها تعداد حجرات مایکروبی اندازه می‌گردد، حالانکه در میتود های دیگر کتله مجموعی تجمع مایکروبی محاسبه می‌گردد. کتله مجموعی مایکروب‌ها نیز مستقیماً متناسب به تعداد حجرات آن می‌باشد. تعداد حجرات مایکروبی در یک تجمع باکتری طوری حساب می‌گردد که تعداد حجرات موجود در فی ملی لیتر مایع یا فی گرام مواد جامد اندازه می‌گردد. از آنجائیکه تجمعات مایکروبی معمولاً بسیار بزرگ هستند، اکثریت میتود های شمارش تعداد حجرات بر اساس شمارش مستقیم یا غیر مستقیم نمونه های کوچک استوار می‌باشد که بدین ترتیب در مرحله بعدی می‌توان اندازه تمام تجمع مایکروبی را محاسبه نمود. فرض کنید که در یک بر میلیونم حصه شیر ترش شده هفتاد حجره باکتری را دریافت گردید، پس در فی ملی لیتر آن باید هفتاد میلیون حجره موجود باشد.

مشکل میتود اخیرالذکر این است که نمی‌توانیم یک بر میلیونم حصه یک ملی لیتر مایع یا گرام غذا را تعیین نمائیم. بناً باید از میتود غیر مستقیم استفاده بعمل آید، یعنی از رقیق سازی مسلسل استفاده بعمل می آوریم. مثلاً اگر یک ملی لیتر شیر متذکره را به نودو نو ملی لیتر آب خلط نمائیم، تعداد باکتری در محلول حاصله صد مراتبه نظر به محلول اصلی کمتر خواهد بود، هرقدر این عملیه رقیق سازی را ادامه دهیم، به همان اندازه تعداد باکتری متناسباً کمتر می‌شوند که بالاخره می‌توان تعداد حجرات موجود را نیز محاسبه نمود. در مواد جامد مانند غذا می‌توان یک حصه آنرا با ۹ حصه آب مخلوط نمود و بعداً توسط pipette می‌توان عملیه رقیق سازی را بیشتر ادامه داد و بالاخره تعداد حجرات آنرا محاسبه نمود.

© AAZEM PUBLICATIONS

شمارش حجرات در plates

معروفترین شیوه اندازه گیری تعداد حجرات باکتری عبارت از میتود شمارش در پلیت یا Plate count می‌باشد. مفاد مهم این شیوه عبارت از شمارش حجرات زنده می‌باشد اما این شیوه حد اقل ۲۴ ساعت را در بر می‌گیرد، زیرا طی این زمان کالونی های قابل رویت باکتری ها تشکیل گردد. مثلاً در شمارش حجرات باکتری که به منظور کنترول کیفیت شیر اجرا می‌گردد، نباید نمونه مورد نظر در مدت طویل معاینه گردد.

Plate count به این فرضیه استوار می‌باشد که هر حجره باکتری در نتیجه انقسام باعث بروز یک کالونی می‌گردد. همچنان فرض می‌گردد که نمونه مورد کشت متجانس بوده و حجرات به شکل باهم چسپیده یا پاغنده ها موجود نمی‌باشند.

زمانیکه plate count اجرا می‌گردد، مهم است تا تعداد محدودی از کالونی ها در پلیت بوجود آیند، زیرا در صورت وجود کالونی های بسیار زیاد، عده از کالونی ها باهم بسیار نزدیک روئیده و حتی عده از کالونی ها هیچ نمی رویند و ممکن نیست تا شمارش آن صورت گیرد. عموماً پلیت های حاوی ۲۵ الی ۲۵۰ کالونی قابل شمارش می‌باشند. جهت حصول اطمینان ازینکه تعداد کالونی های پلیت در همین حدود خواهد بود، نمونه باید چندین بار رقیق ساخته شود که به نام رقیق سازی مسلسل serial dilution یاد می‌گردد.

رقیق سازی مسلسل

اگر فرض گردد که یک نمونه مایکروبی دارای ده هزار حجره فی ملی لیتر می‌باشد. اگر یک ملی لیتر ازین نمونه کشت گردد، به اساس تیوری در پطری دیش متوسط ده هزار کالونی بوجود می‌آیند. این تعداد قابل شمارش نمی‌باشد. اگر یک ملی لیتر نمونه متذکره با ۹ ملی لیتر آب مقطر یکجا ساخته شود، در هر ملی لیتر آن یکهزار حجره وجود خواهد داشت که در صورت کشت در پلیت هنوز هم یکهزار کالونی بوجود خواهد آمد که غیر قابل شمارش می‌باشد. اما اگر یک بار دیگر هم یک ملی لیتر محلول حاصله با ۹ ملی لیتر آب مقطر مخلوط گردد، سبب به میان آمدن محلولی می‌گردد که هر ملی لیتر آن صد حجره می‌باشد. چنین محلول اگر به اندازه یک ملی لیتر در وسط کشت گردد، سبب به میان آمدن ۱۰۰ کالونی ممکنه در پلیت می‌گردد که قابل شمارش می‌باشد.

میتود ریخت در پلیت و هموار نمودن در پلیت

شمارش در پلیت به یکی ازین دو میتود صورت می‌گیرد. در میتود ریخت، باید نخست نمونه مورد نظر را که حسب دلخواه رقیق شده باشد، به اندازه یک ملی لیتر یا حتی ۰,۱ ملی لیتر در

© AZEM PUBLICATIONS

داخل دیش یا پلیت جاگزین می‌گردد. بعداً ماده اگر مایع شده را که درجه حرارت آن ۵۰ درجه سانتی گراد می‌باشد، بالای آن علاوه می‌گردد. پلیت را آهسته تکان داده تا محتوی مایکروبی به خوبی داخل ماده اگر پراگنده گردد. اما دراین میتود بعضی باکتری های حساس در مقابل حرارت تلف می‌شوند و درصورتیکه وسط برای مایکروب انتخابی باشد، برای تشخیص مایکروب دیدن اوصاف کالونی مانند رنگ آن نیز مهم می‌باشد. چون درینصورت باکتری ها عمدتاً در قسمت متوسط وسط قرار دارند، بناً تشخیص آن ممکن مشکل باشد. جهت جلوگیری ازین مشکلات، از میتود دوم یعنی از میتود هموار نمودن استفاده بعمل می‌آید. درین میتود نخست اگر مایع شده در وسط ریخته می‌شود. بعد از سرد شدن، نمونه مایکروبی به اندازه یک ملی لیتر یا ۰,۱ ملی لیتر توسط میله مخصوص و معقم شیشه‌یی بالای سطح ماده اگر هموار می‌گردد. درین میتود کالونی ها در سطح وسط قرار گرفته و از تماس آن با اعماق ماده اگر که حرارت آن بلند است، جلوگیری بعمل می آید.

فلتریشن

در صورتیکه تعداد باکتری ها بسیار کم باشد، مانند جهیل ها و دریا های نسبتاً معقم، می‌توان تعداد باکتری ها موجود در آن را با میتود فلتریشن تعیین نمود. صد ملی لیتر یا بیشتر آب را از غشای فلتری که منافذ آن برای عبور باکتری کافی نباشد، عبور داده می‌شود. بدین ترتیب، باکتری ها از فلتر عبور نتوانسته و بالای سطح فلتر نگهداری می‌گردد. این فلتر منبعد به پلیت حاوی اگر مغذی منتقل که در آن کالونی های ناشی از باکتری های موجود در سطح فلتر می رویند. این میتود عمدتاً در خصوص باکتری های coli form اجرا می‌گردد. باکتری های متذکره در آب نشان دهنده ملوثیت آب یا غذا با مواد غایطه می‌باشد. کالونی های این مایکروب زمانی وصفی می‌باشند که در اوساط مغذی تفریقی کشت گردد.

میتود MPN یا Most Probable Number Method

این میتود دیگر برای تعیین تعداد باکتری می‌باشد که یک میتود احصائیوی می‌باشد. درین میتود چنان پنداشته می‌شود که اگر یک نمونه برای چندین مراتبه بصورت متواتر رقیق ساخته شود، بالاخره تعداد آن به حدی کم می‌گردد که قابل کشت در وسط نمی‌باشد. پس هرقدر مراتب رقیق سازی الی سرحد عدم قابلیت کشت زیاد باشد، به همان اندازه غلظت مایکروبی در نمونه اصلی زیاد می‌باشد. این یک میتود تخمینی می‌باشد که ۹۵٪ قابل اطمینان است.

AZZEM PUBLICATIONS ©

میتود رویت مستقیم تحت مایکروسکوپ

درین شیوه اندازه معین از نمونه مورد نظر بالای یک قسمت مشخص از ساحه سلاید مایکروسکوپ قرار داده شده، تلوین گردیده و بعداً مشاهده می‌شود. مثلاً برای تعیین تعداد باکتری شیر، ۰,۰۱ ملی لیتر از نمونه اخذ و در یک سانتی مربع ساحه سلایدکه قبلاً نشانی گردیده، هموار می‌گردد. بعداً ذریعه مایکروسکوپ دیده شده، تعداد حجرات درهر ساحه دید محاسبه و اوسط آن تعیین می‌گردد. چون وسعت ساحه دید هر آئینه اوبجکتیف مایکروسکوپ قابل تعیین است، بناً گفته می‌توانیم که ساحه دید به چه اندازه وسعت دارد. در صورتی که وسعت ساحه دید معلوم باشد، اوسط تعداد حجرات فی ساحه دید را بر همین ساحه تقسیم می‌نمایند. عدد حاصله مساوی است به تعداد حجرات باکتری موجود در سلاید فی ملی متر مربع ساحه سلاید می‌باشد. اگر به شیوه فوق تعداد حجرات فی ملی متر مربع محاسبه گردد، به آسانی می‌توان تعداد حجرات را در سانتی مربع نشانی شده سلاید نیز تعیین کنیم که به این صورت گفته می‌توانیم که ۰,۰۱ ملی لیتر نمونه به چه اندازه حجرات را احتوا می‌کند. در میتود رویت مستقیم مایکروسکوپیک از سلاید های مخصوص به نام Petroff Hausser counter نیز استفاده می‌شود که در سلاید های آن فرو رفته گی های کم عمق موجود می‌باشد حجم معین از محلول باکتری بالای آن انداخته می‌شود. بعداً کورسلاید که دارای مربعات با وسعت معین می‌باشد، پوشیده شده که بعد از تعیین تعداد حجرات فی مربع، می‌توان آنرا به ضریب معینه ضرب نموده تعداد مجموعی حجرات را بدست آورد. همچنان آلات برقی تعیین کننده تعداد حجرات در محلول ها موجود می‌باشد. مفیدیت این میتود (رویت مستقیم یا محاسبه آلات برقی) عبارت از محاسبه سریع بوده که مانند طرق دیگر مستلزم مدت زمان زیاد نمی‌باشد، اما درین میتود حجرات زنده و حجرات غیر زنده تفریق شده نمی‌تواند و نیز در میتود رویت مستقیم، حجرات متحرک بخوبی اندازه شده نمی‌تواند.

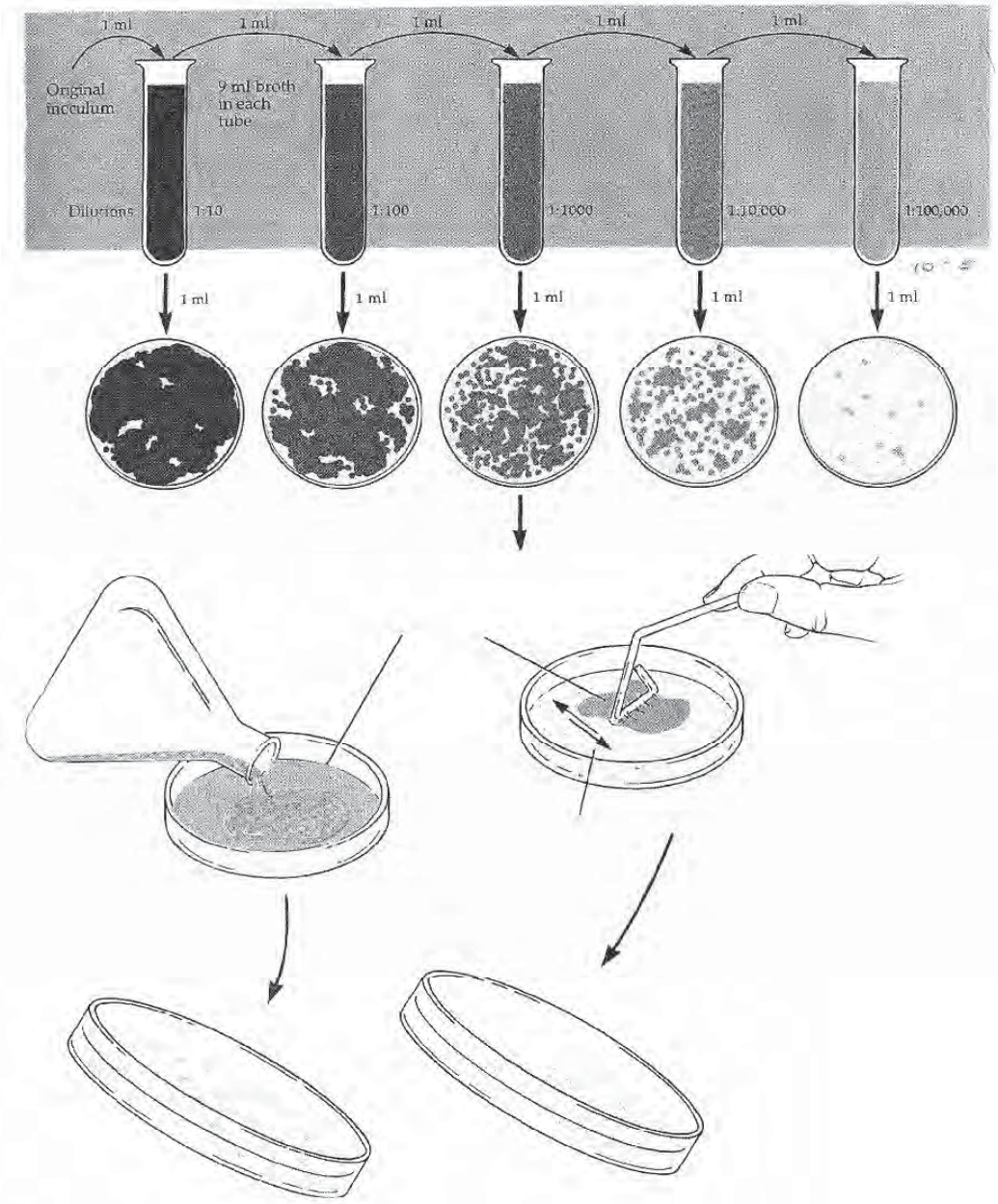
© AZEEM PUBLICATIONS

میتود های غیر مستقیم برای تعیین تعداد حجرات مایکروبی

همیشه لازم نیست تا تعداد حجرات بصورت مستقیم محاسبه گردد، بلکه در ساینس و صنعت، از میتود های آتی غیر مستقیم نیز استفاده بعمل می‌آید:

Turbidity (مکدریت): در عده از تجارب اندازه نمودن مکدریت محلول جهت تخمین تعداد حجرات کافی می‌باشد. یعنی هر قدر تعداد حجرات زیاد باشد، به همان اندازه محلول بیشتر مکدر یا ابر مانند می‌گردد. درین شیوه از آله به نام کالوریمتر یا سپکتوفوتومتر استفاده می‌گردد. آله متذکره دارای آخذه یی برای روشنی می‌باشد. ابتداً سمپل مورد نظر در بین منبع نور و آله قرار داده شده هرقدر که مکدریت محلول زیاد باشد، به همان اندازه نور جذب گردیده و مانع مواصلت نور به آخذه کالوری متر

می‌گردد. که بدین صورت تعداد حجرات را می‌توان اندازه نمود. این میتود برای اندازه گیری ملوثیت مایعات با مواد مفید نیست زیرا تعداد مایکروب‌ها درینصورت معمولاً بسیار کم بوده که قابل کشف توسط این میتود نمی‌باشند، یعنی حد اقل ده الی صد میلیون حجره باید فی ملی لیتر محلول موجود باشد، تاتوسط کالوری متر کشف گردد.



شکل ۲ – ۲

فعالیت میتابولیک: *این میتود با اندازه نمودن محصولات استقلابی مایکروب‌ها تطبیق می‌گردد. مثلاً اسید ها یا کاربن دای اکساید با ازدیاد تعداد باکتری ها، بیشتر تولید گردیده و بناً افزایش در اندازه آن نشان دهنده ازدیاد در تعداد باکتری ها می‌باشد. بگونه مثال می‌توان گفت که باکتری شیر اکسیجن مصرف می‌نماید. ماده methylene blue به محلول آن علاوه و بعداً محلول در تیوب دارای سرپوش محکم قرار داده می‌شود. چون ماده متذکره درموجودیت اوکسیجن رنگ آبی داشته و در عدم آن، فاقد رنگ است، بناً هر قدر تعداد باکتری زیاد گردد، به همان اندازه رنگ تیوب کمتر می‌گردد. این میتود غیر دقیق بوده در لابراتوار های تجربوی مورد استفاده قرار گرفته اما برای مقاصد تجارتی عمدتاً استعمال ندارد.*

وزن خشک: *نموی بعضی از ارگان های میله مانند molds را به مشکل می‌توان با میتود های قبل الذکر اندازه نمود. در فنگس ها میتود plate count نمی‌تواند ازدیاد در biomass را اندازه نماید و درعوض اندازه سپور های غیر زوجی را نشان می‌دهد که مورد قناعت نمی‌باشد، بناً با استفاده از میتود اندازه گیری وزن خشک، فنگس ها ابتداً از سایر مواد توسط فلتر مخصوص جدا، در بوتل توزین قرار داده می‌شود. بعداً توسط آله خشک کننده، آب آن خارج می‌گردد که وزن خشک آن بدست می‌آید. عین میتود را می‌توان در خصوص باکتری ها نیز به کار برد، که در ین صورت باکتری ها توسط centrifugation از سایر مواد جدا ساخته می‌شوند.*

AZEM PUBLICATIONS ©

اوصاف کشت باکتری‌ها

تعریف: خصوصیات و چگونگی رشد باکتری‌ها در اوساط غذایی، اوصاف کشت باکتری‌ها نامیده می‌شود.

در اوساط غذایی جامد حجم کالونی ها (بزرگ، متوسط، کوچک و کوچکتر)، شکل (کروی، مستقیم و غیره)، رنگ (بنفش، سفید، لیمویی، طلایی، سیاه و غیره)، کثافت و بالاخره مشخصات کنار و سطح کالونی (S-Form & R-Form) در نظر گرفته می‌شود، در حالیکه در اوساط غذایی مایع موجودیت مکدریت و تجانس آن در نظر گرفته می‌شود.

اوصاف کلچری باکتری‌ها در اوساط غذایی مربوط است به نوع هر باکتری، درجهٔ حرارت، شرایط کشت، PH وسط غذایی مخصوصاً مربوط است به درجه رشد باکتری در وسط غذایی.

شکل ۲ – ۳ اوصاف کشت مایکروب ها

© AZHM PUB

میتود حصول کلچر خالص باکتری‌های Aerobic یا هوازی

حصول کلچر خالص و تجرید نوع معین از باکتری اساس امور بـاکتریولوژی اسـت، زیـرا در پراکتیک روزانه بیش از همه به موادی برمیخوریم که باکتری‌های مختلفه را در خود دارند و این مأمول که نوع باکتری بصورت مشخص تعیین شود و مشخصات آن مطالعه شود صـرف زمـانی میسر است که باکتری مورد نظر بطور خالص تجرید شده حصول گردد.

اولین و عمده ترین گام در مطالعه مواد که حاوی باکتری‌های مختلف النوع اند این است که کالونی های جداگانه هر باکتری بطور خالص بدست آید تا بعـداً آزمایـشات بیوشـیمیک و دیگـر تست های لابراتواری نزد هر باکتری بطور جداگانه صورت گیرد.

که در نتیجه با در نظرداشت مایکروب که با سیروم خون مخلوط باشد و اجرای تـست هـای سیرولوژیک، بیولوژیک و الرژیک نوع باکتری بطور یقینی تشخیص مـی‌گـردد کـه در لابراتـوار جهت حصول کالونی های جداگانه هـر بـاکتری از اوسـاط Agar دار در Pettri – Dish هـا و Tube ها استفاده می‌گردد.

میتود Drigalsky

جهت بدست آوردن کلچر خالص باکتری‌ها از کشت باکتری‌ها در اوساط غذائی جامد استفاده می‌گردد طوریکه مواد تحت مطالعه در اوساط غذائی بصورت خطوط کوچک کشت شده بعداً ۱۸۰ درجه پطری دیش دور داده شده و مجدداً در قسمت دیگری از ظرف به عین میتود کشت صورت می‌گیرد، درین میتود که به میتود Drigalsky معروف است مواد به تدریج به مصرف رسیده و باکتری‌ها در خطوط مختلف و به گروپ های مختلف می‌روند. (شکل ۲ – ۱)

میتود Shukewitch

ازین میتود جهت حصول کلچر خالص باکتری‌های متحرک مثلاً Clostridium. Tetani و Proteus Vulgaris استفاده می‌شود طوریکه مواد در قسمت تحتانی تیوب جا داده شده که بعد از گذشت ۱۲ – ۱۸ ساعت باکتری‌های مذکور در سطح تیوب (Slant) می رویند که به سهولت می‌توان کلچر خالص آنرا بدست آورد. در حالیکه دیگر باکتری‌ها نمی‌توانند به سطح تیوب برسند.

© AZIZI PUBLICATIONS

کشت مایکرواورگانیزم‌ها

کشت یا Cultivation عبارت از پروسه تکثیر اورگانیزم‌ها ذریعه فراهم نمودن شرایط مساعد محیطی می‌باشد. مایکرواورگانیزم‌های تکثرکننده باعث بوجود آوردن مایکرواورگانیزم‌های همانند خود شده و نیازمند به عناصر لازم برای ترکیب کیمیاوی آنها می‌باشد. مواد مغذی باید عناصر فوق را به اشکال قابل دسترس میتابولیکی در خود داشته باشند. علاوتا اورگانیزم‌ها برای سنتیز ماکرومالیکولها و نگهداشت غلظت های کیمیاوی لازم در غشأ، به انرژی میتابولیکی ضرورت دارند. فکتورهایی که باید حین نشونما در وسط زرعیه کنترول گردند شامل مواد مغذی، pH، درجه حرارت، تهویه، غلظت مواد نمکی و قوه ایونیک محیط می‌باشند.

ایجابات نشونما

بیشترین وزن خشک مایکرواورگانیزم‌ها را مواد عضوی از قبیل کاربن، هایدروجن، نایتروجن، اکسیجن، فاسفورس و سلفر تشکیل می‌دهد. علاوه برآن آیون های غیرعضوی مانند پتاسیم،

سودیم، آهن، مگنیزیم، کلسیم، و کلورایـد بـرای ایجـاد سـهولت در کتـالایز انزایماتیـک (Enzymatic catalysis) و حفظ میلان غلظت کیمیاوی در امتداد غشای حجروی لازم اند.

اکثراً مواد عضوی از ماکرومالیکول هایی متشکل اند که توسط (anhydride bonds) با هم وصل اند. سنتیز انهایدارید باند ضرورت به انـرژی کیمیـاوی دارد. انـرژی متـذکره از دو رابطـه phosphodiester در ATP حاصل می‌گردد. انـرژی اضـافی کـه بـرای حفـظ ترکیـب ثابـت سایتوپلازمیک حین نشـونما در محیط کیمیـاوی متغیر خارج حجروی ضرور است از proton motive force یا نیروی محرک پروتون حاصل می‌گردد. Proton motive force عبـارت از انرژی پتانـسیل اسـت کـه در نتیجـه انتقـال پروتـون هـا از بـین غـشا حاصـل مـی‌گـردد. در eukaryote ها غشا قسمتی از مایتوکاندریا و یا کلوروپلاست بوده می‌تواند. در prokaryote ها غشا عبارت از غشای سایتوپلازمیک حجره می‌باشد.

نیروی محرک پروتون یک تفاوت میلان الکتروکیمیاوی بوده و متشکل از دو جز مـی‌باشـد: تفاوت در pH (غلظت آیون هایدروجن) و تفاوت در چارج آیونیک. چارج قسمت خـارجی غـشأ نظر به قسمت داخلی غشأ آن بیشتر مثبت می‌باشد. تفاوت بین چارج باعث می‌گـردد کـه حـین دخول پروتون به سایتوپلازم از طریق غشأ انرژی آزاد گردد. انرژی آزاد شده در قـسمت حرکـت حجره، حفظ میلانهای مالیکولی و آیونیک در بین غشأ و سنتیز روابط انهایدرایـد در ATP و یـا همه این اهداف مورد استفاده قرار می‌گیرد. برعکس حجراتی که دارای یک منبـع ATP باشـد، امکان دارد از انرژی روابط انهایدراید برای ایجاد نیروی محرک پروتون استفاده نماید که این به نوبه خود در قسمت تحرکیت حجره و حفظ میلانهای کیمیاوی آن مـورد اسـتفاده قـرار گرفتـه می‌تواند.

یک اورگانیزم برای نشونما به عناصر عضوی و تمام آیون های لازم برای انـرژی و کتـالایز ضرورت دارد. علاوتاً بایـد یـک منبـع انـرژی بـرای ایجـاد نیـروی محـرک پروتـون و سـنتیز ماکرومالیکول ها موجود باشد. مایکرواورگانیزم‌ها نظـر بـه ضـروریات تغـذیوی و منـابع انـرژی میتابولیک باهم تفاوت های زیادی دارند.

منابع انرژی میتابولیک

سه میکانیزم عمده ایکه برای تولید انرژی میتابولیک استفاده می‌گردنـد عبـارت از fermentation، respiration و photosynthesis می‌باشند. حد اقل یکی از میکانیزم های فوق باید بـرای نـشونمای

© AYZHM PUBLICATIONS

یک اورگانیزم به کار برده شوند.

تخمر (Fermentation)

تشکل ATP در تخمر توأم با انتقال الکترون ها نمی‌باشد. تخمر متصف است با substrate phosphorylation که عبارت از یک پروسه انزایماتیک بوده و در آن رابطه pyrophosphate بواسطه یک میانجی میتابولیک phosphorylate شده مستقیماً به ADP انتقال می یابد. این میانجی های phosphorylate شده توسط ترتیب دوباره مواد fermentable مانند گلوکوز، لکتوز و یا arginine تشکیل می‌گردند. از آنجائیکه تخمر با تغییر در حالت اوکسیدشن یا ریدکشن مواد قابل تخمر توأم نمی‌باشد، ترکیب عناصر در تولیدات تخمر باید با مواد فوق یکسان باشند. طور مثال تخمر یک مالیکول گلوکوز $C_6H_{12}O_6$ در عملیه Embden Meyerhof pathway منتج به حصول دو رابطه پایروفاسفیت در ATP و تولید دو مالیکول لکتیک اسید $C_3H_6O_3$ می‌گردد.

تنفس (Respiration)

تنفس مشابه به یکجا شدن یک پروسه وابسته به انرژی با خروج چارج از یک battery می‌باشد. ارجاع کیمیاوی یک اوکسیدانت (electron acceptor) از طریق یک سلسلهٔ خاص ناقلین الکترونها در غشأ باعث ایجاد نیروی محرک پروتون در غشای باکتری می‌گردد. ارجاع کننده (electron donor) امکان دارد عضوی و یا غیرعضوی باشد: طور مثال لکتیک اسید منحیث ارجاع کننده برای بعضی اورگانیزم‌ها و گاز هایدروجن منحیث ارجاع کننده برای سایر اورگانیزم‌ها فعالیت می‌نماید. اوکسیجن گازی (O_2) غالباً بحیث اوکسیدانت فعالیت نموده ولی اوکسیدانت های بدیل که توسط بعضی اورگانیزم‌ها استفاده می‌گردند شامل CO_2، SO_4 و NO_3 می‌باشند.

فوتوسنتیز (Photosynthesis)

فوتوسنتیز مشابه به تنفس بوده که در آن ارجاع یک اوکسیدانت از طریق سلسله خاص ناقلین الکترونها باعث ایجاد نیروی محرک الکترون می‌گردد. تفاوت میان دو پروسه فوق در این است که در فوتوسنتیز ارجاع کننده و اوکسیدانت در نتیجه عملیه photochemical از انرژی نوری که توسط پگمنت های غشا جذب می‌گردند به میان می‌آید؛ بنابرین، فوتوسنتیز فقط تا زمانی ادامه می یابد که یک منبع انرژی نوری موجود باشد. نباتات و بعضی باکتری ها با استفاده از آب بحیث ارجاع کننده کاربن دای اکساید، قادر به ذخیره مقادیر قابل ملاحظه انرژی نوری می‌باشد. درین پروسه اوکسیجن آزاد و مواد عضوی تولید می‌گردند. تنفس که در نتیجه آن اوکسیدشن انرژیتیک مواد عضوی توسط یک آخذه الکترونی مانند اوکسیجن صورت می‌گیرد، به اورگانیزم‌های دارای فوتوسنتیز در عدم

© AZEM PUBLICATIONS

موجودیت نور انرژی تهیه می‌نماید.

تغذی

مواد مغذی اوساط زرعیه باید حاوی تمام مواد ضروری برای سنتیز بیولوژیک اورگانیزم‌های جدید باشد. درین مبحث مواد مغذی نظر به عناصری که تهیه می‌نمایند تصنیف بندی گردیده اند.

منبع کاربن

طوریکه فوقاً تذکر یافت، نباتات و بعضی باکتری ها قادر اند تا از انرژی فوتوسنتیتیک برای ارجاع کاربن دای اکساید در موجودیت آب استفاده نمایند. این اورگانیزم‌ها به گروپ Autotroph تعلق می‌گیرند و عبارت از موجوداتی اند که برای نشونما به مواد عضوی ضرورت ندارند. نوع دیگر Autotroph ها عبارت از chemolittroph می‌باشد و شامل اورگانیزم‌هایی اند که از مواد غیرعضوی مانند هایدروجن و یا thiosulfate بحیث ارجاع کننده و از کاربن دای اکساید بحیث منبع کاربن استفاده می‌نمایند.

Heterotroph ها برای نشونما به کاربن عضوی ضرورت دارند و کاربن عضوی باید به شکل قابل جذب آن در دسترس باشد. طور مثال نفتالین می‌تواند که کاربن و تمام انرژی لازم را برای نشونمای herotroph های تنفس کننده مهیا نماید، ولی تعداد کمی از اورگانیزم‌ها مراحل لازم میتابولیک برای استفاده از نفتالین را دارا می‌باشند. از جانب دیگر گلوکوز می‌تواند در نشونمای فرمنتی و تنفسی بسیاری اورگانیزم‌ها مساعدت نماید. مسئله عمده اینست که وسط زرعیه دارای مقادیر مناسب مواد برای مایکروبهای نشونما کننده باشد: وسط که برای نشونمای یک اورگانیزم مساعد است امکان دارد نشونمای اورگانیزم دیگری را نهی نماید.

کاربن دای اکساید برای یک تعداد تعاملات بیوسنتیز لازم شمرده می‌شود. بسیاری اورگانیزم‌های تنفسی کاربن دای اکساید را بیش از حد مورد نیاز تولید می‌نمایند، در حالیکه تعداد دیگری در وسط زرعیه شان به یک منبع کاربن دای اکساید ضرورت دارند.

منبع نایتروجن

نایتروجن جزء عمده در ترکیب پروتین و نوکلئیک اسید ها بوده و تقریباً ۱۰ ٪ وزن خشک حجرات باکتریایی را تشکیل می‌دهد. نایتروجن امکان دارد از منابع مختلفه بدست آید و مایکرواورگانیزم‌ها نظر به توانمندی شان برای جذب نایتروجن از همدیگر متفاوت می‌باشند. حاصل نهایی تمام تعاملات برای استفاده از نایتروجن عبارت از شکل ارجاع شده عنصر نایتروجن یعنی آیون امونیم (NH_4^+) می‌باشد.

© AZIM PUBLICATIONS

بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها قادر به ترکیب نایتریت (NO_3^-) و نایترایت (NO_2^-) با ارجاع آیون‌های فوق به امونیا (NH_3) می‌باشند. این تعاملات assimilation نظر به تعاملات که برای dissimilation نایتریت و نایترایت به کار می‌روند متفاوت می‌باشند. تعاملات dissimilatory pathway توسط اورگانیزم‌های که آیون های متذکره را به حیث آخذه های نهایی الکترونی در عملیه تنفس به کار می‌برند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پروسه به نام denitrification یاد شده و محصول آن عبارت از گاز نایتروجن N2 است که به فضای خارجی آزاد می‌گردد.

قابلیت جذب نایتروجن با ارجاع NH_3 که به نام Nitrogen fixation یاد می‌گردد وصف بالخاصه حجرات پروکاریوتیک بوده و تعداد نسبتاً کم باکتری ها این ظرفیت میتابولیک را دارا می‌باشند. این پروسه به مقادیر زیاد انرژی میتابولیکی ضرورت داشته به سهولت توسط اوکسیجن خنثی می‌گردد. ظرفیت تثبیت نایتروجن یا Nitrogen fixation در باکتری های مختلف النوع موجود بوده که چنین باکتری ها ستراتیژی های مختلفه بیوشیمیکی را برای حفظ انزایم های Nitrogen fixing از اوکسیجن، به کار می‌برند.

بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها می‌توانند از NH4 یا امونیم بحیث یگانه منبع نایتروجن استفاده نمایند و عده دیگر اورگانیزم‌ها قابلیت تولید امونیم را از امین های ($R\text{-}NH_2$) و یا امینواسیدها دارا می‌باشند. تولید امونیا در نتیجه deamination امینواسیدها به نام ammonification یاد می‌گردد. امونیا در نتیجه تعاملات بیوشیمیکی که glutamate و glutamine را در بر می‌گیرند در ترکیب مواد عضوی شامل می‌گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS

منبع سلفر

همانند نایتروجن سلفر نیز در ترکیب بسیاری مواد عضوی حجرات شامل است. سلفر در ساختمان انواع کوانزایم ها شامل بوده و در زنجیرهای جانبی cysteinyl و methionyl پروتین ها نیز دریافت می‌شود. سلفر به شکل عنصر آن توسط نباتات و حیوانات استفاده شده نمی‌تواند. با آنهم بعضی باکتری های اوتوتروف می‌توانند آنرا به شکل سلفات $(SO_4)^{2}$ اوکسیدایز نمایند. اکثر مایکرواورگانیزم‌ها می‌توانند از سلفات بحیث یک منبع سلفر استفاده نمایند یعنی سلفات را به شکل هایدروجن سلفاید (H_2S) ارجاع نمایند. بعضی مایکرواورگانیزم‌ها می‌توانند هایدروجن سلفات را مستقیماً از وسط زرعیه جذب نمایند ولی این مرکب می‌تواند برای بسیاری اورگانیزم‌ها توکسیک باشد.

منبع فاسفورس

فاسفیت $(PO_4)^{-3}$ در ترکیب ATP، نوکلئیک اسید، و کوانزایم های مانند NAD، NADP و

flavin ها لازم شمرده می‌شود. علاوتاً بسیاری میتابولیت ها، شحمیات (phospholipid و lipid A)، اجزای تشکیل دهنده دیوار حجروی (teichoic acid)، بعضی پولی سکراید های کپسول و بعضی پروتین ها دارای فاسفور می‌باشند. فاسفیت همیشه به شکل فاسفیت آزاد غیرعضوی جذب می‌گردد.

منابع منرال ها

برای پیشبرد فعالیت انزایم ها به منرال های متعددی ضرورت است. آیون مگنیزیم $(Mg)^{++}$ و آیون آهن $(Fe)^{++}$ در مشتقات porphyrin نیز دریافت می‌گردند. مگنیزیم در مالیکول chlorophyll و آهن بحیث قسمتی از کوانزایم cytochrome ها و peroxidase ها موجود اند. مگنیزیم و آهن برای فعالیت نورمال و ثبات رایبوزوم ها ضروری شمرده می‌شود. آیون کلسیم به حیث جز متشکله دیوار حجروی باکتری های گرام مثبت لازم شمرده می‌شود، گرچه باکتری های گرام منفی به آن ضرورت ندارند. بسیاری اورگانیزم‌های آبی جهت نشونما به ایون سودیم ضرورت دارند. برای ایجاد یک وسط زرعیه برای کشت بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها لازم است تا منابع پتاسیم، مگنیزیم، کلسیم، و آهن به شکل آیونیک آن یعنی (K^{+}، Mg^{++}، Ca^{++} و Fe^{++}) موجود باشند. بسیاری منرال های دیگر (مانند Mn^{++}، Mo^{++}، Co^{++}، Cu^{++} و Zn^{++}) نیز لازم دانسته می‌شوند. منرال های متذکره در آب نل و یا به شکل ناخالص در سایر مرکبات موجود بوده می‌توانند.

فکتورهای نشونما (Growth factors)

فکتور نشونما عبارت از یک مرکب عضوی بوده که برای نشونمای حجره لازم دانسته شده ولی خود حجره قادر به سنتیز آن نمی‌باشد. بسیاری مایکرواورگانیزم‌ها در صورت موجودیت مواد مغذی که قبلاً ذکر شد قادر اند تا تمام ساختمانهای تشکیل دهنده ماکرومالیکول ها را سنتیز نمایند که عبارتند از: امینواسیدها؛ purine، pyrimidine و pentose ها (پیشقدم میتابولیکی نوکلئیک اسیدها)، کاربوهایدریت های اضافی (پیشقدم پولی سکرایدها) و اسیدهای شحمی و مرکبات isoprenoid. علاوتاً اورگانیزم‌های دارای حیات آزاد باید قادر به سنتیز مغلق ویتامین ها که بحیث پیشقدم کوانزایم ها فعالیت می‌نمایند، نیز باشد.

هر یک از مرکبات اساسی فوق در نتیجه سلسله های جداگانه تعاملات انزایماتیک سنتیز می‌گردند. هر انزایم تحت کنترول یک gene خاص تولید می‌شود. زمانیکه یک اورگانیزم به gene mutation مواجه گردد که در نتیجه آن یکی از این انزایم ها قادر به فعالیت نگردد زنجیر مربوطه شکسته و محصول نهایی بدست نمی‌آید. درینصورت اورگانیزم باید مغلق مربوطه را از محیط بدست آورد. این مغلق فکتور نشونما یا growth factor را برای اورگانیزم تشکیل می‌دهد. این نوع میوتیشن امکان دارد به سهولت در لابراتوار صورت گیرد.

© AAZEM PUBLICATIONS

انواع مختلفه مایکروبها نظر به ضرورت شان به فکتور نشونما از همدیگر متفاوت می‌باشند. مغلق های مربوط به فکتور نشونما در تمام اورگانیزم‌ها دریافت شده و جزء اساسی شان را تشکیل می‌دهد. تفاوت در ضرورت مایکروبها اختلاف در قابلیت سنتیز شان را منعکس می‌سازد. بعضی انواع ضرورت به فکتور نشونما ندارند، در حالیکه تعداد دیگری مانند بعضی لکتوباسیل ها در جریان تکامل تدریجی شان قابلیت سنتیز 30-40 مرکب اساسی را از دست داده اند و بنابرین ضرورت دارند تا آنرا از محیط به دست آرند.

فکتورهای محیطی که بالای نشونما اثر دارند

یک وسط زرعیه مناسب باید حاوی تمام مواد مغذی لازم برای کشت مایکرواورگانیزمها باشد و نیز فکتورهای از قبیل pH، حرارت و تهویه باید محتاطانه کنترول گردند. در یک وسط که بشکل مایع استعمال می‌شود؛ امکان دارد برای اهداف خاص با علاوه نمودن agar و یا silica gel به شکل gel در آورده شود. Agar عبارت از عصاره پولی سکراید الجی بحری بوده و طور بی نظیر برای کشت مایکروبها مناسب می‌باشد، زیرا در برابر فعالیت مایکروبی مقاوم بوده و در حرارت 100 درجه سانتی گرید منحل می‌گردد ولی تا زمانیکه در حرارت پائین تر از 45 درجه سانتی گرید قرار نگیرد به حالت gel در نمی‌آید. حجرات در وسط به حرارت 45 درجه سانتی گرید معلق گردیده و بزودی با سردی مواجه می‌گردد تا به شکل gel درآید، بدون آنکه به حجرات آسیبی برسد.

مواد مغذی

در صفحات قبلی وظیفه هر یک از مواد مغذی توضیح گردید و یک لست مواد مناسب ارائه گردید. بصورت عموم، مواد ذیل باید موجود باشند:

۱- *دونر و رسپتور هایدروجن: 2g/lit*

۲- *منبع کاربن: 1g/lit*

۳- *منبع نایتروجن: تقریباً 1g/lit*

۴- *منرالها: سلفر و فاسفورس هر یک در حدود 50mg/lit و Trace elements در حدود 0.1-1 mg/lit*

۵- *فکتور نشونما (growth factor): امینواسیدها، purine، pyrimidine هریک در حدود 50 mg/lit*

۶- *ویتامین ها: 0.1- 1 mg/lit*

© AAZEM PUBLICATIONS

برای مطالعه میتابولیزم مایکروبها اکثراً لازم است تا یک وسط کاملاً مصنوعی آماده گردد که خواص اصلی و غلظت هر یک از اجزای ترکیبی بصورت واضح معلوم می‌باشد. در غیراینصورت استفاده از مواد طبیعی مانند عصاره خمیرمایه، پروتین هضم شده و یا مواد مشابه آن نهایت ارزان و ساده خواهد بود. بسیاری مایکروبهای که بصورت آزاد زندگی می‌کنند در وسط حاوی عصاره خمیرمایه به بسیار خوبی نشونما خواهد نمود. انواع پرازیتیک امکان دارد مواد خاصی را ضرورت داشته باشند که فقط در خون و یا عصاره انساج حیوانی دریافت می‌شوند. اما مایکروبهای پرازیتیک (مانند Treponema pallidum) وجود دارند که در خارج از عضویت نشونما کرده نمی‌توانند و یا فقط در داخل حجرات eukaryotic نشونما می‌نمایند (مانند Chlamydia trachomatis).

برای بسیاری اورگانیزم‌ها یک مرکب ساده (مثلاً یک امینواسید) بحیث منبع انرژی، منبع کاربن، و منبع نایتروجن مورد استفاده قرار گرفته می‌تواند. تعداد دیگری ضرورت به یک مرکب جداگانه برای هر منبع فوق دارند. اگر مواد طبیعی در یک وسط غیرمصنوعی مواد مغذی را به مقادیر ناکافی داشته باشد، باید مواد فوق به وسط علاوه گردند.

© AAZEM PUBLICATIONS

غلظت آیون هایدروجن (pH)

بسیاری اورگانیزم‌ها دارای محدوده کوچکی برای pH مطلوب می‌باشند. pH مطلوب باید بصورت تجربوی برای هر نوع مایکرواورگانیزم‌ها تعیین گردد. بسیاری اورگانیزم‌ها در 6.0-8.0 pH به خوبی نشونما می‌کنند. با آنهم بعضی انواع (acidophil ها) به طرف pH 3.0 و سایرین یعنی (alkalophil ها) به pH 10,5 شدیداً متمایل می‌باشند.

مایکرواورگانیزم‌ها pH داخلی شانرا به اساس اندازه pH خارجی تنظیم می‌نمایند. اسیدوفیل ها pH داخلی شانرا در حدود 6.5 با موجودیت pH خارجی 5.0 - 1.0 حفظ می‌نمایند. نوتروفیل ها pH داخلی شانرا حدود 7.5 در موجودیت pH خارجی 5.5-8.5 و الکلوفیل ها pH داخلی شانرا در حدود 9.5 در موجودیت pH خارجی 9.0-11.0 حفظ می‌نمایند. pH داخلی بواسطه proton transport system تنظیم می‌گردد. این سیستم در غشای سایتوپلازمیک قرار داشته و مشتمل است بر ATP-driven proton pump ابتدایی و Na+/H+ exchanger. یک سیستم تبادله K+/H+ نیز درین پروسه تنظیم pH در نترالوفیل ها مساعدت می‌نماید.

حرارت

انواع مختلفه مایکروب‌ها نظر به درجه حرارت مطلوب شان برای نشونما از همدیگر متفاوت می‌باشند: انواع psychrophilic در درجه حرارت پائین یعنی (15-20°c)؛ انواع mesophilic در درجه

حرارت (30-37°c) و بسیاری انواع thermophilic در درجه حرارت (50-60°c) بخوبی نشونما می‌نمایند. بسیاری اورگانیزم‌ها mesophilic اند، درجه حرارت 30°c برای بسیاری مایکروبهای آزاد درجه حرارت مطلوب بوده و درجه حرارت عضویت میزبان برای حیوانات همزی خونگرم مطلوب شمرده می‌شود.

بلندترین درجه حرارت که توسط یک نوع خاص قابل تحمل می‌باشد، ارتباط نزدیک به ثبات عمومی حرارتی پروتین هایی دارد که از عصاره حجرات متذکره بدست می‌آید. مایکرواورگانیزم‌ها همانند نباتات و حیوانات عکس العمل حرارتی (heat-shock) را دارند، که عکس العمل متذکره عبارت از سنتیز گذری پروتین های (heat-shock) در صورت مواجه شدن آنی به حرارت بلندتر از حرارت مطلوب می‌باشد. این پروتین ها بصورت فوق العاده در مقابل حرارت مقاوم بوده و پروتین های حجره را که در مقابل حرارت حساس اند ثبات می بخشد. (1)

ارتباط میان سرعت نشونما و حرارت در طرح Arrhenius نشان داده شده است. Arrhenius نشان داد که لوگاریتم سرعت تعامل کیمیاوی که به (log k) نشانداده شده است تابع خطی معکوس درجه حرارت (1/T) می‌باشد. فراتر از اثرات حرارت بالای نشونما، حرارت خیلی زیاد باعث کشتن مایکرواورگانیزم‌ها می‌گردد. درجه حرارت نهایت زیاد برای تعقیم مستحضرات مورد استفاده قرار می‌گیرد. درجه حرارت نهایت پائین نیز باعث مرگ حجرات مایکروبی می‌گردد، گرچه طور قابل اطمینان برای تعقیم مورد استفاده قرار گرفته نمی‌تواند. باکتری ها پدیده دیگری را از خود ظاهر می‌سازند به نام cold shock یاد می‌گردد و عبارت از کشتن حجرات با مواجه نمودن آنی به حرارت پائین می‌باشد. طور مثال با پائین آوردن درجه حرارت از 37°c به 5°c تقریباً ۹۰ فیصد حجرات Escherichia coli از بین می‌روند. یک تعداد مرکبات حجرات را از تبرد و یا cold shock حفاظت می‌نماید که از جمله glycerol و dimethyl sulfoxide بیشتر مورد استفاده دارند.

© AL-ZEIM PUBLICATIONS

تنفس مایکرواورگانیزم‌ها

تنفس در باکتری‌ها یک پروسهٔ مغلق است که با آزاد ساختن انرژی مورد نیاز جهت سنتیز مرکبات عضوی همراه است که آزاد شدن انرژی در نتیجهٔ اوکسیدیشن مواد عضوی صورت می‌گیرد Oxidation مواد به طرق مختلف صورت می‌گیرد: به شکل مستقیم، غیر مستقیم و طریقهٔ انتقال الکترون‌ها.

- به شکل مستقیم یعنی مواجه شدن با گاز اوکسیجن (Hydrogenation)
- به شکل غیر مستقیم Dehydrogenation که در این نوع اوکسیدیشن مواد عضوی به

اشکال مختلف هایدروجن را آزاد می‌نمایند کـه البته این عملیـه در اثـر اشتـــراک آب صورت می‌گیرد، طوریکه مالیکول های آب به مواد اوکسیداز شونده وصل گردیده و بعـداً هایدروجن آزاد می‌گردد. بنابرین گفته می‌توانیم که درین طریقه اوکسیدیشن مواد به اثـر نصب اوکسیجن آب به آنها صورت می‌گیرد. هایدروجن کـه بـه اثـر اوکسیدیـشن مـواد عضوی آزاد می‌گردد با محصولات دیگر که درین پروسه پدید می‌آیند یکجا می‌گردد.

اغلب باکتری‌ها مانند فقاریه ها و نباتات جهت تنفس از اوکـسیجن مـالیکولی هـوا اسـتفاده کرده که در جریان تنفس مواد عضوی را به H_2O و CO_2 اوکسیداز می‌کنند.

- طریقهٔ انتقال الکترون ها: این طریقه طوری است مادهٔ که الکترون را می‌دهـد اوکـسیده شده و آنکه می‌گیرد، ارجاع می‌شود. انتقـــال هـــایدروجن از مـواد بـــه طـرق مختلـف صورت می‌گیرد، گیرندهٔ هایدروجن می‌تواند اوکسیجن هوا باشد یـا مـوادی کـه قابلیـت ارجاع را دارند.

تعامل Oxido – Reduction می‌تواند به شکل ذیل صورت گیرد:

طرز تولید انرژی در باکتری‌ها مختلف است، مثلاً عده ای از باکتری‌ها به مثل اورگانیزم‌های عالی جهت تـنفس از اوکـسیجن مـــالیکولی استفاده کـــرده و مـواد عـضـــوی را اوکـسیداز می‌نمایند که این نوع مایکروب‌ها را مایکروب‌های هوازی یا Aerobic می‌نامند، در حالیکه عدهٔ دیگری از مایکروب‌ها در عدم موجودیت اوکسیجن مواد عضوی را اوکسیداز کـرده کـه بـه نـام Anaerobic یاد می‌شوند. البته در بین انواع ذکر شده مایکروب‌های حد وسط (از نظـر تنفـسی) نیز وجود دارند که ذیلاً تصنیف مکمل مایکروب‌ها نظر به تایپ تنفسی شـــان ذکر می‌گردد:

۱- **مایکروب‌های هوازی مطلق یـا Obligatory Aerobic:** ایـن مـایکروب‌هـا در یـک اتموسفیر شامل 20% اوکسیجن به خوبی رشد و نمو مـی‌کننـد و از ایـن جهـت سـطح اوساط زرعیه مایع و جامد محل مناسب بـرای کـشت و رشـد بعـدی آنهـا اسـت ماننـد: Mycobacterium Tuberculois، Vibrio cholera و Sarcina. ایـــن نـــوع مایکروب‌ها دارای انزایم های اند که توسط آن از مواد اوکسیده شده هایدروجن را گرفته و به اوکسیجن هوا انتقال می‌دهند.

۲- **مایکروب‌های هوازی جزیی یا Microerophilic Microbes:** این نوع مایکروب‌هـا به مقدار خیلی کم اوکسیجن ضرورت دارند (تقریبـاً 1%) غلظـت بلنـد اوکـسیجن ایـن

© AZEEM PUBLICATIONS

مـایکروب‌هـا را محـو نـه نمـوده بلکـه نـشونمای آن هـا را توقـف مـی‌دهنـد ماننـد Actinomycetes ها و Leptospirae.

۳- **مایکروب‌های غیر هوازی اختیاری Facultative Anaerobic:** این نوع مایکروب‌هـا می‌توانند در موجودیت و یا عدم موجودیت اوکسیجن مالیکولی رشـد و تکثـر کننـد کـه اغلب مایکروب‌های Pathogen و Saprophyte مربوط این دسته می‌باشند.

Capnophilic Microbes: این گروپ از مایکروب‌ها جهت رشد و نـشونمای خـود بـه غلظت کم اوکسیجن و مقادیر زیاد از CO2 نیاز دارند مانند Brucella suis.

۴- **مایکروب‌های غیر هوازی مطلق Obligatory Anaerobic Microbes:** بـرای ایـن گروپ از مایکروب‌ها اوکسیجن یکی از عوامـل توقف دهنده رشد و نمـو بوده و مـضر می‌باشد مانند: Cl. Tetani، Cl. Perferingens و Cl. Botulinum.

فعالیت مایکروب‌ها تقریباً همیشه مربوط است به درجهٔ هوازی بودن مواد غذائی.

ارتباط غذائی: *اوساط غذائی ممکن است به طور اعظمی با هایدروجن اشباع شده باشند، یا اینکـه با اوکسیجن، M. Clarck پیشنهاد کرد که درجهٔ هـوازی بـودن وسـط بـا لگـاریتم فـشار قـسمی گـاز هایدروجن ارائه شود که آنرا پتانسیل Oxido – reduction می‌نامنـد و معمـولاً بـه RH_2 نـشان داده می‌شود. (هایدروجن ارجاع شده) حدود این Potential از صفر الی 42.6 می‌باشد که این تمام درجـات اشباع یک مایع را با O_2 و یا H_2 معین می‌سازد که ذیلاً مطالب فـوق بـه ارتبـاط تـنفس مـایکروب‌هـا توضیح می‌گردد:*

اگر RH_2 معادل صفر باشد به این معنی است که اشباع محیط توسط اوکسیجن به حد اقل بـوده در حالیکه توسط هایدروجن اعظمی می‌باشد و RH_2 معادل 42.6 اشباع اعظمی محیط را توسط اوکسیجن ارائه می‌کند که درینصورت اشباع محیط توسط هایدروجن در سطح اصغری قرار دارد رشد باکتری‌هـای هوازی از RH_2 معادل 20 – 14 و اضافه تر از آن و از مایکروب‌های Facultative Anaerob از 0 – 20 و اضافه تر از آن مایکروب‌های Anaerobic از 12 – 0 صورت می‌گیرد.

مایکرواورگانیزم‌های هوازی (Aerobic Microorganisms)

مایکرواورگانیزم‌های هوازی آنهایی اند که جهت تهیهٔ انرژی برای خود از کاربوهایدریت‌ها و دیگر مواد عضوی استفاده می‌کنند مانند Fungus ها Yeast و بعضی باکتری‌های دیگر. تعـداد زیادی از باکتری‌های هوازی مواد عضوی را به طور کامل اوکسیدیشن نموده و گاز CO_2 را بـه حیث محصول نهایی استقلاب مواد مذکور تولید می‌نمایند.

© AAZEM PUBLICATIONS

قوه ایونیک و فشار اسموتیک

فکتورهای دیگر از قبیل فشار اسموتیک و غلظت نمک نیز ممکن تا حدود کمتری کنترول گردند. برای بسیاری اورگانیزم‌ها اوصاف اوساط عادی قناعت بخش اند ولی برای اشکال آبی و اورگانیزم‌هایی که به نشونما در محلول های قندی غلیظ تطابق یافته اند فکتورهای متذکره باید در نظر گرفته شوند. اورگانیزم‌هایی که به غلظت های بلند نمک ضرورت دارند به نام halophilic و آنهایی که به فشار بلند اسموتیک ضرورت دارند به نام osmophilic یاد می‌شوند.

اکثریت باکتری ها می‌توانند فشار اسموتیک و قدرت ایونیک خارجی زیادی را تحمل نمایند، زیرا چنین باکتری های قادر اند تا فشار اسموتیک و غلظت آیونیک داخلی شان را خود تنظیم نمایند: Osmolarity ذریعه ترانسپورت فعال ایون های K^+ بداخل حجره تنظیم می‌گردد؛ قوه ایونیک داخلی ذریعه اخراج پولی امین عضوی به نام putrescine که دارای چارج مثبت اند تنظیم می‌گردد. از آنجائیکه putrescine چارج های مثبت متعدد را در یک مالیکول انتقال می‌دهند، یک کاهش بزرگ در قوه ایونیک فقط مقادیر کمی از قوه اسموتیک را به مصرف می رساند.

میتودهای کشت (Cultivation Methods)

دو پرابلم مورد ملاحظه قرار خواهد گرفت: انتخاب یک وسط مناسب و تجرید یک اورگانیزم باکتریایی به صورت کلچر خالص.

تخنیک مورد استفاده و وسط انتخاب شده نظر به نوعیت تحقیق فرق می‌نماید. طور عموم ممکن سه حالت ذیل موجود باشند:

۱- امکان دارد هدف از کلچر کشت حجرات یک نوع خاص باشد.

۲- امکان دارد هدف تعیین تعداد و انواع اورگانیزم‌های موجود در مواد مورد مطالعه باشد.

۳- ممکن هدف، تجرید یک نوع خاص مایکرواورگانیزم از یک منبع طبیعی باشد.

الف: کشت حجرات با یک نوع خاص: مایکرواورگانیزم‌های که از نظر میکروسکوپیک در یک محیط طبیعی نشونما می‌نمایند امکان دارد نموی شان بصورت کلچر خالص در وسط مصنوعی نهایت مشکل باشد. طور مثال کلچر انواع معین پرازیت ها هیچگاهی خارج از وجود میزبان بدست آمده نمی‌تواند. با وجود آنهم طور عموم اگر شرایط طبیعی که اورگانیزم در آن نشونما می‌نماید با دقت کامل فراهم گردند یک وسط مناسب بدست آمده می‌تواند. فکتورهای از قبیل PH، درجه حرارت و تهویه به سهولت و تنظیم گردیده می‌تواند، ولی تهیه مواد مغذی یک مشکل عمده شمرده می‌شود. نقش محیط حیه دارای اهمیت بوده و تحلیل آن مشکل می‌باشد. یک پرازیت ممکن به عصاره انساج میزبان

© AAZEM PUBLICATIONS

ضرورت داشته باشد و یک اورگانیزم آزاد ممکن به موادی ضرورت داشته باشد که توسط مایکرواورگانیزم دیگری که با آن زندگی اشتراکی دارد افراز می‌گردد. تجارب قابل ملاحظه یی ممکن برای تعیین نیازمندی های اورگانیزم لازم باشند و موفقیت در آن مربوط می‌باشدبه تهیه منبع مناسب هر کتگوری از مواد مغذی که در آغاز این فصل تذکر داده شد.

ب. معاینه مایکروبیولوژیک مواد طبیعی: مواد طبیعی مورد معاینه امکان دارد حاوی microenvironment و یا محیط های کوچک دیگری باشد که هرکدام آن یک محیط زیست مناسب را برای انواع مختلفه اورگانیزم‌ها مهیا می‌سازد. قرار دادن یک نمونه مواد تحت شرایط معین باعث خواهد شد تا یک گروپ خاص اورگانیزم‌ها تولید کالونی نموده و بسیاری انواع دیگر از نظر دور بمانند. به این دلیل معمولاً سمپل یا نمونه مواد تا حد ممکن با استفاده از اوساط و شرایط متنوع مورد نشونما قرار داده می‌شوند. اگر هدف این باشد تا اکثریت انواع اورگانیزم‌ها در مواد باید شناخته شوند غیرمعقول نخواهد بود که تحت ۶ الی ۸ نوع شرایط کلچری قرار داده شوند.

برای اینکه به هر نوع اورگانیزم موجود چانس نشونما داده شود، از وسط جامد استفاده به عمل می‌آید تا از ازدحام کالونی ها جلوگیری بعمل آید. درغیراینصورت، رقابت میان اورگانیزم‌ها باعث خواهد شد تا بعضی انواع از تشکل کالونی محروم گردند.

ج. تجرید یک نوع خاص مایکرواورگانیزم: اگر یک نمونه کوچک خاک با عملیه های مناسب مواجه گردد، در هر microenvironment یا محیط کوچک آن انواع مختلفه اورگانیزم‌ها نشونما خواهند نمود. از خاک بارور یا حاصلخیز (مرطوب، تهویه شده، غنی از منرالها و مواد عضوی) صدها و حتی هزاران نوع تجرید شده می‌تواند. این عملیه با انتخاب نوع معین صورت می‌گیرد. طور مثال یک گرام خاک در داخل یک فلاسک و یا وسط مایع که برای نوع مورد نظر اورگانیزم تهیه شده باشد قرار داده می‌شود، مثلاً aerobic nitrogen fixer برای (azotobacter). درینصورت وسط فاقد نایتروجن مرکب بوده و تهویه آن به درستی صورت می‌گیرد. اگر حجرات azotobacter در خاک موجود باشند، در چنین وسط بخوبی نشونما خواهند نمود. انواع که قادر به تثبیت نایتروجن نباشند فقط تا حدی نشونما خواهند نمود که خاک با نایتروجن تثبیت شده آغشته باشد. زمانیکه نشونمای کلچر بیشتر می‌گردد فیصدی azotobacter نیز طور قابل ملاحظه یی ازدیاد می یابد. بنابرین میتود فوق به نام enrichment culture یا وسط غنی شده یاد می‌گردد. انتقال یک نمونه از چنین کلچر به یک وسط تازه باعث غنای بیشتر azotobacter شده و پس از چندین دوره انتقال، کلچر در وسط غنی شده جامد در ظروف هموار (پلیت) قرار داده شده و کالونی های azotobacter تجرید می‌گردند.

وسط مایع به منظور رقابت و انتخاب انواع دلخواه استفاده می‌گردند حتی اگر تنها چند حجره واحد

© AYZEN PUBLICATIONS

نوع مورد نظر در بین ملیونها حجره در خاک موجود باشند. مفاد بیشتر از natural enrichment یا غنای طبیعی گرفته شده می‌تواند. طور مثال به منظور دریافت oxidizer kerosene خاک oil-laden یا چرب انتخاب می‌گردد، زیرا چنین وسط یک محیط غنی شده برای نوع متذکره می‌باشد.

کلچر غنی شده عبارت از عملیه ایست که طی آن وسط عیناً مانند محیط زیست طبیعی برای مایکرواورگانیزم مورد نظر آماده می‌گردد. یک اصل عمده در تهیه چنین محیط قرار ذیل می‌باشد: اورگانیزم انتخاب شده از نوعی خواهد بود که تمام ایجابات تغذی آن برآورده گردیده بتوانند. طور مثال azotobacter در وسطی که حاوی نایتروجن عضوی باشد بهتر نشونما می‌نماید، ولی ایجابات حداقل نشونمایی آنرا موجودیت N_2 تشکیل می‌دهد. بنابرین اورگانیزم متذکره برای وسطی انتخاب می‌گردد که حاوی N_2 به حیث یگانه منبع نایتروجن باشد. اگر نایتروجن عضوی به وسط علاوه گردد، azotobacter برای آن انتخاب نگردیده بلکه اورگانیزم دیگری که حداقل نیازمندی آن نایتروجن عضوی باشد، انتخاب می‌گردد.

اگر یک اورگانیزم خاصی را در مواد طبیعی جستجو می نماییم بهتر خواهد بود که اورگانیزم دریافت شده در یک وسط تشخیص دهنده differential medium قرار داده شود. وسط تشخیص دهنده عبارت از وسطی است که در آن کالونی های یک نوع خاص مایکرواورگانیزم طور مشخص ظاهر می‌گردند. طور مثال کالونی های E. coli در وسط agar که حاوی رنگهای eosin و methylene blue باشند (EMB agar) به شکل درخشندگی قوس قزح ظاهر می‌گردند. در وسط EMB agar که دارای غلظت زیاد قند یک قیمته باشد اورگانیزم‌های فرمنت کننده قند نیز باعث تولید کالونی ها به رنگ سرخ خواهد شد. وسط تشخیص دهنده برای اهدافی از قبیل تشخیص موجودیت enteric bacteria در آب و یا شیر و موجودیت پتوجن های معین در نمونه های کلینیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

© AZZEM PUBLICATIONS

تجرید مایکرواورگانیزم‌ها در کلچر خالص

به منظور مطالعه اوصاف اورگانیزم‌های مورد نظر لازم است تا کلچرآن بصورت خالص بدون موجودیت سایر انواع اورگانیزم‌ها بدست آید. برای این هدف باید یک حجره واحد را از سایر حجرات جدا نموده و به شکلی کلچر گردد که حجرات حاصله از آن نیز از هم مجزا قرار گیرند. به این منظور میتودهای مختلفه موجود اند:

الف. Plating یا قراردادن در پلیت ها: برعکس حجرات وسط مایع، حجرات در وسط جلاتینی به شکل غیرمتحرک قرار می‌گیرند. بنابرین اگر چند حجره در یک وسط جلاتینی قرار

گیرند، هر یک آن به داخل یک کالونی جداگانه نشونما خواهند نمود. ماده جلاتینی ایدآل که اکثراً برای اوساط مایکروبیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد عبارت از agar می‌باشد. Agar یک پولی سکراید اسیدی بوده از عصاره یک نوع خاص الجی های سرخ بدست می‌آید. یک suspension 1.5-2% آن در آب، به حرارت 100°c منحل گردیده و یک محلول شفاف را بدست می‌دهد که در حرارت 45°c دوباره شکل gel را بخود می‌گیرد. بنابرین یک محلول معقم agar در حرارت 50°c سرد ساخته شده، باکتری و یا سایر حجرات مایکروبی به آن علاوه شده و بعداً در حرارت 45 °c سرد ساخته می‌شود تا شکل gel را اختیار نماید. (گرچه بسیاری حجرات مایکروبی در حرارت 50 °c از بین می‌روند، سرعت کشته شدن مایکروبها درین درجه حرارت از نظر زمانی بسیار کم است). پس ازینکه شکل gel را به خود اختیار نمود agar برای بار دیگر مایع نمی‌گردد تا اینکه به حرارت بلندتر از 80°c مواجه نگردد. بدین ترتیب متعاقباً از یک درجه حرارت مساعد برای نموی کلچر مایکروبی استفاده صورت گرفته می‌تواند. در میتود افشاندن روی پلیت یک suspension حجرات با agar ذوب شده در حرارت 50°c یکجا گردیده و بداخل یک پطری دیش پاشیده می‌شود. زمانیکه agar دوباره جامد می‌گردد، حجرات در آن غیرمتحرک گردیده و بداخل کالونی ها نشونما می‌نمایند. اگر suspension حجرات بخوبی رقیق گردیده باشد، کالونی ها بخوبی از همدیگر جدا می‌گردند، به این ترتیب احتمال زیاد می رود که هر کالونی از یک حجره واحد مشتق گردیده باشد. باوجود آن برای تائید این موضوع لازم است تا یک کالونی نوع مورد نظر با آب مواجه ساخته شده و بعداً در پلیت قرار داده شود. با تکرار این عمل برای چندین مرتبه کلچر خالص بدست خواهد آمد.

Suspension اولی به نوبه خود در یک پلیت agar ذریعه یک لوپ بصورت خطوط مستقیم کشیده می‌شود. با کشیدن خطوط بیشتر تعداد کمتر حجرات در لوپ باقی خواهند ماند. و بالاخره لوپ حجرات واحد را بالای agar جابجا خواهد نمود. بعداً پلیت در incubation قرار داده شده و کالونی هایی که بهتر جدا گردیده می‌توانند از آن گرفته می‌شوند. این کالونی ها با آب مواجه ساخته شده و دوباره بالای agar بشکل خطوط قرار داده می‌شوند. اگر یک suspension (نه فقط تعدادی از حجرات نشونما کننده از یک کالونی و یا یک خط) به شکل رگه یا خط تولید شوند، درینصورت این میتود به اندازه میتود pour-plate قابل اعتماد بوده و نیز سریعتر از آن می‌باشد.

© AZEM PUBLICATIONS

ب. رقیق کردن: یک میتود کمتر قابل اطمینان می‌باشد. درین میتود suspension بصورت مسلسل رقیق می‌گردد و سمپل های از هر دوره رقاقت در بالای پلیت قرار داده می‌شود. اگر فقط چند نمونه یک رقاقت معین به نشونما آغاز نمایند احتمال می رود که این کلچرها از یک حجره واحد نشئت نموده باشند. این میتود مورد استعمال زیادی نداشته به استثنای حالاتیکه در آن میتود plating امکانپذیر نباشد. یکی از اوصاف نامطلوب این میتود آنست که فقط برای تجرید انواع غالب اورگانیزم‌ها در بین انواع مختلط مورد استفاده گرفته می‌تواند.

انزایم های مایکرواورگانیزم‌ها

تمام تعاملات بیوشیمیک که در یک اورگانیزم زنده بخاطر استقلاب مواد، نمو و انکشاف بعمل می‌آید با شرکت انزایم ها صورت می‌گیرد. انزایم ها موادی هستند که بحیث catalisor ها در فعل و انفعالات کیمیاوی وارد عمل می‌شوند و در حجرات برای کمک و انجام اعمال حیاتی بوجود می‌آیند یا بعبارۀ دیگر انزایم ها کاتالیستهای بیولوژیک اند که توسط حجرات زنده تولید شده و ماهیتاً پروتینی اند، انزایم ها دارای وزن مالیکولی بلند هستند، انزایم ها از لحاظ ترکیب و نظر به ساختمان خود به دو گروپ تقسیم می‌شوند:

۱- انزایم های یک جزئی که فقط از پروتین ساخته شده اند.

۲- انزایم های دو جزئی یا Protoid که از یک جزء یا قسمت پروتینی و یک جزء غیر پروتینی ساخته شده اند، که قسمت غیر پروتینی آنرا به نام گروپ Prosthetic یاد می‌کنند.

دوام ارتباط قسمت پروستیتیک با قسمت پروتینی در انزایم های دو جزئی مختلف بوده می‌تواند که گروپ پروستیتیک از قسمت پروتینی خود جدا شده و در ارتباط مؤقتی یک پروتین دیگر قرار گیرد که این گروپ پروستیتیک را به نام Co–Enzyme یاد می‌کنند. در انزایم های یک جزئی رول گروپ پروستتیک را گروپ های کیمیاوی معین که در ترکیب انزایم ها وجود دارد بازی می‌کند که این گروپ ها به نام مراکز فعال انزایم ها یاد می‌شوند مثلاً گروپ SH و گروپ OH حلقۀ امیدوول و غیره، انزایم ها دارای فعالیت بلند بوده که بمقایسۀ کاتالیزور های غیر عضوی بی اندازه قوی و فعال اند مثلاً یک مالیکول یک انزایم در ظرف یک دقیقه می‌تواند ده ها هزار مالیکول Substrate سبسترات را به مواد مختلف تبدیل نماید.

© AAZEM PUBLICATIONS

خصوصیت عمدهٔ انزایم ها اینست که هر انزایم بالای مواد مختص به خود عمل کرده و در حضور مواد مخصوص به خود تحریک شده و فعالیت می‌کند و بقیه مواد را تماس نمی‌گیرد مثلاً انزایم Lactase سبب تجزیهٔ لکتوز به گلوکوز و گلکتوز شده و بالای دیگر مواد (کاربوهایدریت‌ها) اثر ندارد.

فعالیت یک انزایم مربوط است به درجهٔ حرارت محیط PH وسط، غلظت سبسترات و غلظت خود انزایم، همچنین موجودیت بعضی مواد کیمیاوی در وسط بالای فعالیت انزایم ها تاثیر دارد که بعضی از این مواد فعالیت انزایم ها را بالا برده که به نام مواد Activator یاد می‌شوند. در جملهٔ می‌توان از کاتیون های دو و لانسهٔ از قبیل Mg, Ni, Mn, Ca نام برد برعکس بعضی مواد کیمیاوی دیگر سبب نهی فعالیت انزایم ها شده یا اینکه فعالیت انزایم ها را کاهش می‌دهند که به نام مواد Inhibitor یاد می‌شوند مانند نمک های فلزات ثقیله، انتی بیوتیک ها SH_2 و غیره... مواد Inhibitor مراکز فعال انزایم ها یا اتم فلزات را که در ترکیب آنها وجود دارد تماس کرده و در نتیجه فعالیت انزایم ها را فلج می‌کند، می دانیم که سیر بیوشیمیک استقلاب مواد در حجرات مایکرواورگانیزم توسط انزایم ها تنظیم می‌شود از اینرو هر عاملی که بر فعالیت انزایم ها اثر کند نتیجتاً بر فعالیت مایکرواورگانیزم‌ها تاثیر خواهد کرد.

هر مایکرواورگانیزم دارای کامپلکس از انزایم های مختلفه می‌باشد که همین انزایم ها فعالیت بیوشیمیک آنها را معین ساخته و هم نقش آنها را در سیکل مواد در طبیعت و در سیر فاسد شدن مواد غذائی تعیین می‌کند. با در نظرداشت چگونگی پیدایش انزایم ها گروپ Constitutive و Adaptive آنها وجود دارد انزایم های Constitutive عبارت از انزایم های اساسی اند که به مسوولیت جن های مخصوص در داخل حجره مایکرواورگانیزم تولید می‌گردد در حالیکه انزایم های سازگار یا Adaptive تنها در صورت موجودیت سبسترات معین و مخصوص در محیط تولید می‌شود یا بعبارهٔ دیگر ترکیب اینوع انزایم توسط سبسترات معین تحریک می‌شود، مثلاً اگر یک مایکرواورگانیزم در وط که حاوی قند مالتوز است کشت شود تحت این شرایط انزایم را که مالتوز را تجزیه می‌کند ترکیب کرد، که متعاقب جذب و تحلیل آن بحیث منبع کاربن از آن استفاده می‌کند که البته همین مایکرواورگانیزم قبل از مواجه شدن به قند مالتوز این خصوصیت را نداشته است.

در حجرات باکتری‌ها تاثیر و نحوهٔ عملکرد انزایم موافقتاً بوجود می‌آیند به این معنی که اگر در یک حجره باکتری چند نوع انزایم در عین زمان موجود باشد هر یک ازین انزایم‌ها مطابق به کیفیت و چگونگی مواد موجود در محیط یکی بعد دیگری وارد صحنه می‌گردند در عمل Fermentation در موقع لزوم سهم می‌گیرند.

© AAZEM PUBLICATIONS

انزایم که در قسمت های مختلف حجرهٔ باکتری موجود اند در Mesosomes در میتوکاندریون و در غشای سایتوپلازمیک.

بعضی از انزایم ها توسط حجرهٔ باکتری در وسط افراز می‌شوند که به نام Exoenzymes یاد می‌گردند که این انزایم ها رول عمده ئی در تهیهٔ مواد غذائی، دخول آنها در حجرهٔ باکتری دارند زیرا این نوع انزایم ها تجزیه مواد پیچیده و مغلق مانند نشایسته و پروتین را به مالیکول های ساده به عهده داشته که متعاقب پارچه شدن این مواد می‌توانند داخل حجره باکتری شوند. همچنین نوع دیگری از انزایم وجود دارد که توسط باکتری در وسط افراز نشده بلکه توسط ساختمان های داخل حجروی Adsorbed یا تثبیت شده که به نام Endoenzyme یاد می‌شوند و در استقلاب داخل حجروی مواد سهم می‌گیرند.

بعضی باکتری‌های مخصوص دارای مواد (انزایم خارج الحجروی) از قبیل Ureas، Coagulase، Hemolysins، Lecithinase، Hyalurenidase، Collagenase و Leukocidins می‌باشد.

به طور مثال Clostridium perfringens اگزوتوکسین (Lecthinase) تولید می‌نماید آنانیکه قابلیت تبدیل نمودن لیسیتین به فاسفوریل کولین و دای گلیسراید دارد نکروز عضلی از اثر عمل مشترک Collagenase، Lecithinase و (Hyaluronidase) Mucinase به میان می‌آید. Collagenase و Mucinase نسج استنادی عضلات را تجزیه نموده و Lecithinase لستین غشا و رشته های عضلاتی را منحل می‌نماید. Hemolysis در سیر انتانات Anaerobic از سبب انحلال Lecitin ستروماى کریوات سرخ خون واقع می‌شود.

تظاهرات نکروتیک توکسین ها اهمیت زیاد برای توافق عامل مرضی دارد اولاً توکسین نسج فعال و زنده را برای مایکروب مرضی به یک سبسترات بی خطر تبدیل نموده ثانیاً نسج نکروتیک پرازیت را از تأثیرات عکس العمل های دفاعی عضویت نگه می دارد.

چرا ما توکسین ها را مطالعه می کنیم از آن جائیکه لوحه کلینیکی امراض انتانی ارتباط مستقیم به موجودیت کمپلکس توکسین ها و تأثیرات آن دارند بناً وقتیکه ما این کمپلکس توکسین را بشناسیم لوحه کلینیکی و تشخیص مرض را تعیین تداوی سببی مرض را اجرا نموده و بالاخره وخامت و اندازه مرض را پیشبینی کرده می‌توانیم.

میتود کشت باکتری‌های غیر هوازی

جهت کشت انایروب ها غلظت اوکسیجن در محیطی که باکتری در آن قرار دارد باید کاهش داده شود که به این منظور میتود های مختلف وجود دارد و ذیلاً توضیح می‌گردد:

© AZEM PUBLICATIONS

۱- کشت توسط وخذه: این ساده ترین میتود جهت کشت انایروب ها است که مایکروب مورد نظر را بطور عمود در اوساط قندی اگر دار (Suger Agar) توسط وخذه به عمق وسط کشت می‌کنند.

۲- علاوه نمودن مواد ارجاع کننده در وسط: به این منظور اکثراً از وسط Kitt – Tarocci استفاده می‌شود که در ترکیب آن گلوکوز پنج فیصد با بویون، پارچه های گوشت و پارچه های تازهٔ مواد عضوی گوشت کوفته شده وجود دارد که از جمله گلوکوز و یک قسمت از مواد عضوی قابلیت ارجاعی را دارند. طرز تهیهٔ این وسط چنین است که قبل از استفاده بخاطر خارج ساختن اوکسیجن آنرا جوش می‌دهند و بعداً برای اینکه از تماس اوکسیجن اتمسفیر محفوظ باشد سطح آنرا با واسلین و یا پارافین می پوشانند.

۳- محو هوا از محیط: با اخراج هوا از محیط، غلظت اوکسیجن نیز کاهش می یابد که با استفاده از میتود های میکانیکی (بوسیلهٔ Anaerostate یا مخراج الهوا) می‌توان به این هدف نایل شد.

۴- تعویض هوای محیط با دیگر گازات: به این منظور معمولاً از گاز هایدروجن استفاده می‌شود.

۵- محفاظه میخانیکی وسط از اوکسیجن هوا: به این منظور موج ترین میتود (میتود Venial – Vion است. درین میتود از تیوپ های شیشه ای که دارای 30cm طول و 3 – 6mm قطر است کار می‌گیرند. طوریکه یک نهایت آنرا در تیوپ های مخصوص دیگر که Capillair tube نام دارد وصل نموده و نهایت دیگر آنرا با پنبه مسدود می‌نمایند، بعداً مواد تحت مطالعه را که قبلاً در Agar مذاب کشت مخلوط شده است در تیوب شیشه ئی بالا می کشند و انجام باز تیوب را به وسیلهٔ آتش مسدود می‌نمایند تیوپ را در ترموستات به حرارت 37°c گذاشته که با ظاهر شدن کالونی‌های سیاه رنگ در داخل تیوپ، از قسمت دلخواه شکستانده شده و بدینسان کلچر خالص باکتری‌های غیر هوازی بدست می‌آید.

۶- جذب اوکسیجن محیط بطرق کیمیاوی: به این منظور معمولاً از محلول قلوی پیروگالول (ده فیصده قلوی و بقیه Pyrogallol) استفاده می‌شود.

۷- میتود بیولوژیک جهت مهیا ساختن شرایط غیر هوازی: به این منظور ساده ترین روش،

© AZEM PUBLICATIONS

میتود Fortner می‌باشد بدین ترتیب که نصف پیتری دیش را بوسیلهٔ یک مایکروب هوازی معلوم و نصف دیگر آنرا با مواد مورد آزمایش (تحت مطالعه) که گمان می‌شود دارای مایکروب‌های غیر هوازی است کشت می‌نمایند، البته وسط مورد نظر قبلاً توسط یک کارد معقم به دو حصه از هم جدا می‌شود بعد از کشت اطراف پیتری دیش را بوسیلهٔ موم مخصوص یا پارافین مستور می‌نمایند و در ترموستات می گذارند، در ابتدا مایکروب‌های هوازی شروع به تکثر نموده و تمام اوکسیجن محیط را مصرف می‌نمایند که در نتیجه شرایط رشد انایروب ها مساعد می‌گردد.

اوساط زرعیه برای کشت غیر هوازی ها

برای کشت غیر هوازی ها اغلباً از اوساط ذیل استفاده می‌شود:

۱- وسط Kitt – Tarocci: برای تهیهٔ این وسط غذائی کبد گاو نر و گوشت گاو و یا قطعات از پلاسنتا را خورد، خورد پارچه نموده به مقدار سه چند آن بویون مغذی را که دارای PH 7.0 – 7.4 می‌باشد با آن یکجا نموده و برای 30 دقیقه جوش می‌دهند، بویون را فلتر نموده و پارچه های گوشت را (کبد و یا پلاسنتا) در یک ظرف جالی می شویند و با کاغذ فلتر خشک می‌نمایند، بعداً به هر تیوب به مقدار 3-4 گرام از گوشت و یا کبد متذکره را علاوه نموده و به مقدار 7.8ml از بویون فلتر شده را به آن اضافه می‌کنند، تیوب را برای 30 دقیقه تحت فشار یک اتموسفیر تعقیم می‌نمایند که درینحالت حرارت اتوکلاو 121°c می‌باشد.

۲- Agar for Venial – Vion tube: در بویون مارتین گلوکوز یک یا دو فیصد را حل نموده و Agar را در آن علاوه می‌نمایند وسط غذائی متذکره به تیوب های مخصوص جا داده می‌شود (Capillairy tube) وسط زرعیه دارای PH 7.4 می‌باشد که در حرارت مرطوب برای سه روز متوالی تعقیم می‌شود.

۳- Ferum sulfat agar یا Weelsenbleer agar: بالای 100ml از وسط Meat peptone agar 3% گلوکوز یک فیصد را در PH = 7.4 یکجا می‌کنند و آنرا حرارت می‌دهند در اثنای حرارت 10ml/60°c از محلول $Na_2 SO_3$ 32% از محلول $FeC1_3$ 28% را که با آب مقطر تهیه شده به آن علاوه می‌نمایند (محلول $NaSO_3$ به

© AZEM PUBLICATIONS

حرارت مرطوب در ظرف یک ساعت تعقیم می‌کنند) وسط را تعقیم نـه نمـوده و آنـرا در ترموستات می گذارند. باکتری‌های غیر هوازی کالونی های سیاه رنگ را تولید می‌نمایند. (بخاطر تشکل FeS در وسط)

در صورت موجودیت Clostredium Perferingenes وسط بعد از 1-2 ساعت تغییر رنـگ می‌دهد در حالیکه در انواع دیگر انایروب ها تشکل کالونی های سیاه رنگ سـبز مایـل بعـــد از 6-8 ساعت نمایان می‌شود.

انتی بیوگرام یا حساسیت مایکروب ها به مقابل انتی بیوتیک ها

مقدمه

برای دلایل عمده ذیل حساسیت مایکروب‌ها به مقابل انتی بیوتیک تعیین می‌شود:

- برای رهنمائی نمودن دوکتور معالج تا مناسب تـرین انتـی بیوتیـک را بـرای هـر فـرد از مریضان خود انتخاب نماید.
- نگهداشت ثبت حساسیت مایکروب‌های یک جامعه و انتانـات شـفاخانه بـه مقابـل انتـی بیوتیک ها و تغییراتی که به مرور زمان در آن رخ می‌دهد.
- رهنمائی نمودن مسوؤلین پروگرام ملی تداوی کتگوری امراض بخصوص ماننـد انتانـات حـــاد طرق تنفسی، اسهالات و امراضیکـــه توسط مقاربت جنسی انتقال می‌نمایند.
- کشف تغییراتیکه در نوع و توزیع مقاومت به مقابل انتی بیوتیک ها در امراض کـه غیـراز شفاخانه رخ می‌دهد.

© AAZEM PUBLICATIONS

این عملیه بالای تمام مایکروب‌هایی که قبلاً حساسیت آنهـــا معلوم نشده و سبب انتانـــاتی می‌گردند که ایجاب کیموتراپی را می‌نمایند، باید اجرأ شود.

تست حساسیت مایکروب‌ها قدرت انتی بیوتیک را نشان می‌دهد که در لابراتوار تحت شرایط معیاری مانع نشونمای مایکروب می‌گردد. این نهی نشونما به دو طریقه ای رقیق سازی و انتشار تخمین می‌گردد.

در تست رقیق سازی، فعالیت انتی بیوتیک طوری تخمین می‌گردد کـه غلظـت هـا مختلـف انتی بیوتیک را در وسط زرعیه ای مایع یا جامد می‌سازند و بعد مایکروب مورد نظر را در آن زرع

می کند. پایان ترین غلظت انتی بیوتیک که مانع نشونمای قابل دید مایکروب بعد از گذشت یک شب گردد به نام Minimal inhibitory Concentration (MIC) مایکروب یاد می‌گردد.

در تست انتشار اصول کیربی باور (Kirby Bauer) یک دیسک کاغذی را گرفته با یک مقدار انتی بیوتیک آنرا مغطوس (Impregnate) می‌سازند و بالای یک وسط Agar دار که در آن مایکروب مورد نظر بصورت متجانس زرع شده باشد می گذارند.

انتی بیوتیک از کاغذ بداخل وسط زرعیهٔ انتشار می‌نماید. هرقدر که از مرکز دیسک دور شویم غلظت انتی بیوتیک کمتر شده می رود. بعد از گذاشتن به درجه ای حرارت 35°c برای 18 تا 24 ساعت دیده می‌شود که نشونمای مایکروب به شکل دایروی به دور دیسک نهی گردیده است. قطر این دایره، در بین دیگر عوامل، تابع حساسیت مایکروب به انتی بیوتیک دیسک می‌باشد. منطقه ای بزرگ نهی مترافق است یا حساسیت زیاد مایکروب به مقابل انتی بیوتیک منطقه ای متوسط نهی مترافق است با حساسیت متوسط آن و عدم منطقه ای نهی مترافق است به مقاومت مایکروب به مقابل انتی بیوتیک داخل دیسک کاغذی یک ارتباط تقریباً خطی بین لوگارتم غلظت اصغری نهی (MIC) و قطر زون نهی شده که به این دو طریقه ای مختلف تعیین می‌گردد وجود دارد. اگر حساسیت مایکروب‌های مختلف به این دو طریق تعیین گردد، می‌توان یک Regression Line را بدست آورد.

انتخاب وسط زرعیه برای تست انتشار (Diffusion Test) بسیار مهم می‌باشد، زیرا انتی بیوتیک در اوساط زرعیه ای مختلف بصورت متفاوت انتشار می کند. بعضی اوساط زرعیه می‌تواند موادی داشته باشد که فعالیت انتی بیوتیک را نهی کند مانند Sulfonamide و Trimethoprim. غلظت Agar، ضخامت وسط زرعیه و PH آن نیز عوامل مهم می‌باشند. اگر ضخامت وسط زرعیه کم باشد منطقه ای نهی بصورت کاذب بزرگ می‌باشد و اگر زیاد باشد منطقه ای نهی بصورت کاذب کوچک می‌باشد.

اعتماد بر تست حساسیت به مقابل انتی بیوتیک به انجام دادن تست به اصول ستاندرد و کنترول کیفیت مناسب و درست آن تعلق دارد.

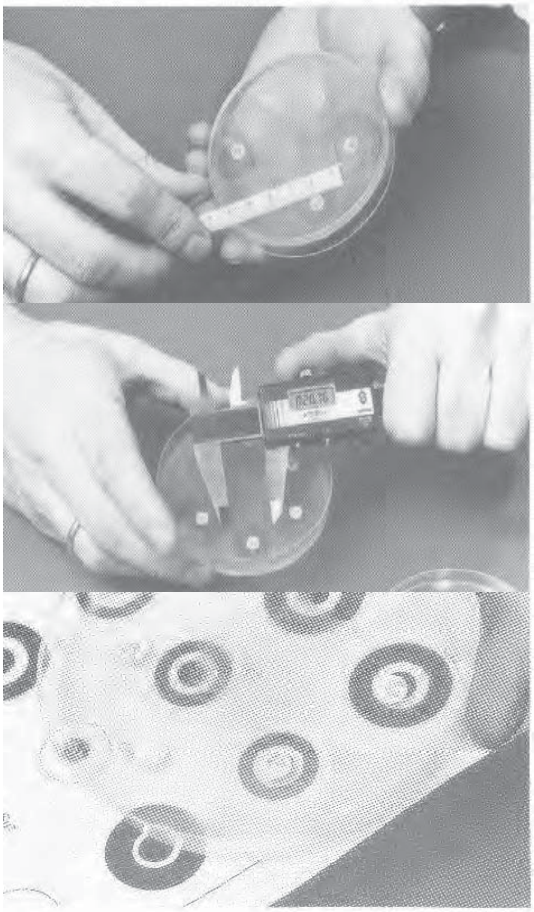
تعبیر تست حساسیت عادتاً به سه درجه داده می‌شود:

- حساس (S) اگر انتان توسط مایکروبی به وجود آمده باشد که احتمال دارد انتان با دادن

© AZEM PUBLICATIONS

مقدار یا Dosage عادی آن انتی بیوتیک شفا یاب گردد.

- متوسط Intermediate (I) که احتمال دارد انتان با مقدار بلند آن انتی بیوتیک جواب بدهد. یا وقتیکه انتان در جائی رخ داده باشد که غلظت انتی بیوتیک در آنجا زیاد گردد مانند طرق بولی.
- مقاوم Resistant (R) که مایکروب به دادن انتی بیوتیک، صرف نظر از مقدار دادن انتی بیوتیک و محل انتان، جواب شاید ندهد.



شکل ۲ – ۴ تست انتی بیوگرام و اندازه گیری قطر نواحی نهی شده مایکروب به مقابل انتی بیوتیک ها

نامگذاری حساس و مقاوم باکتری ها عموماً به سویه ای غلظت انتی بیوتیک ارتباط دارد که در سیرم بدست آمده بتواند. انتی بیوتیک هائیکه از طریق گرده اطراح می‌شوند در ادرار غلظت آنها به کرات بیشتر از سیرم می‌گردد. مایکروب‌هائیکه از انتان طرق بولی تجرید می‌شوند و حساسیت آنها به اصول انتشار در "اگر" متوسط یا حتی مقاوم باشد می‌تواند در طرق بولی به همان انتی بیوتیک حساس باشد.

به همین دلیل برای انتی بیوتیک که تنها برای تداوی انتان طرق بولی استعمال می‌گردند مانند Nitrofurantoin, Trimethoprim, Sulfonamide و Nalidixic Acid اندازه ای زون نهی شده ای آنها مطابق به غلظت آنها در ارار تعیین شده است.

تست حساسیت فعالیت انتی بیوتیک را به مقابل مایکروب‌ها در تحت شرایط لابراتوار اندازه می‌نمایند، اما کنترول انتان را نزد هر مریض تضمین نمی‌تواند. جذب، انتشار در نسج، میتابولیزم، اطراح و سمیت انتی بیوتیک های مختلف متفاوت می‌باشد که قبل از توصیه ای انتی

PUBLICATIONS

بیوتیک باید مد نظر گرفته شود.

برای بعضی انتی بیوتیک ها فاصله بین غلظت مؤثر و غلظت سمی آن در خون بسیار کم است. در خون مریضانیکه این انتی بیوتیک ها را می‌گیرند غلظت آنها باید شدیداً زیر نظارت گرفته شود، مخصوصاً اگر انتان شان شدید باشد و خود شان Dehydrated باشند و وظایف جگر یا گرده ای شان مختلف باشد.

دو سویه ای غلظت انتی بیوتیک اندازه می‌شود یکی غلظت اعظمی در سیرم که بعد از زرق بعدی از یک مدت کوتاه حاصل می‌شود و دیگر غلظت اصغری در سیرم که فقط پیش از زرق بعدی به آن می‌رسد.

اکثراً انتانات طرق بولی سفلی سلیم بوده حتی بدون تداوی می‌تواند خوب شود لذا انتی بیوتیک بسیار قیمتی یا سمی به ندرت ضروری می‌باشد و نباید یومیه راپور داده شود.

عبور انتی بیوتیک به داخل مایع نخاع شوکی (C.S.F) برای انتی بیوتیک های مختلف متفاوت می‌باشد. تنها انتی بیوتیک هاییکه تا رسیدن به غلظت مؤثر در تداوی در داخل مایع نخاع شوکی عبور نموده بتواند باید راپور داده شود. (8)

© AAN PUBLICATIONS

Penetration of antibiotics into the CSF		
Good	Intermediate	Poor or none
Chloramphenicol	Pencillin G	Clindamycin
Sulphamide	Ampicillin	Vancomycin
Trimethoprim	Ceftriaxone	Tetracycline
Metronidazole	Cefuroxime	Erythromycin
Isoniazid	Cefotaxime	Flucytosine
Rifampicin	Methicillin	Cephalothin
Pyrazinamide	Ethambutol	
Ethionamide		
Amphotericin B		

زرع برای انتی بیوگرام می‌تواند از نمونه ای که از مریض گرفته می‌شود صورت گیرد که به نام تست حساسیت مستقیم یا direct susceptibility test یاد می‌شود. یا از زرع خالص مایکروب صورت می‌گیرد که به نام تست حساسیت غیر مستقیم یا indirect susceptibility test یاد می‌شود.

تست حساسیت مستقیم دارای مزایای ذیل می‌باشد:

- راپور دادن را سرعت می بخشد.
- تجرید نمودن باکتری ها را در یک زرع مخلوط آسان می‌سازد.
- تعداد کم از انواع مقاوم را شناسائی می کند.

مشکل عمده درین است که بدست آوردن زرع ستاندرد برای تست حساسیت از نمونه ای مریض آسان نیست. اگر نموی مایکروب در زرع برای حساسیت مستقیم بسیار کم یا بسیار زیاد باشد، باید تست حساسیت تکرار شود و تخنیک ستاندرد برای هر یک از انواع مایکروب‌ها استعمال گردد.

دیسک های تجارتی برای تعیین انتی بیوگرام

هر دیسک تجارتیکه قطر و مقدار انتی بیوتیک مناسب داشته باشد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. دیسک ها به $-20^{o}c$ نگهداری شوند. دیسک هایی که مورد استفاده قرار می‌گیرند باید به 4 تا 8 درجه سانتی گراد گذاشته شوند. اما برای اینکه رطوبت بالای آن بصورت اصغری تشکیل گردد قبل از باز کردن گذاشته شود تا درجه ای حرارت اتاق را بگیرد.

تهیه ای دیسک انتی بیوگرام در لابراتوار

۱- از کاغذ فلتر یا کاغذ جاذب خوب دیسک ها به قطر 5 تا 6 ملی متر قطع می‌شود.

۲- بالای هر دیسک حرفی را بنویسید که محتویات انتی بیوتیک های مختلف را نشان بدهد.

۳- دیسک ها را برای یک ساعت به حرارت خشک به 160 درجه ای سانتی گراد تعقیم نمائید.

۴- طبق جدول ذیل محلولات رقیق انتی بیوتیک های مختلف را در محلل انتی بیوتیک بسازید:

© AAZEM PUBLICATIONS

Antibiotics	Dry substance per vial	Disk content	Dilution & added antibiotic solvent	Concentration in final dilution
Ampicillin	250 mg	10 µg	250 mg/10 ml,	
			25 mg/ml + 9 ml	
			2.5 mg /ml + 4 ml	500 µg/ml
Penicillin G	100.000 IU	10 µg	60 mg/10 ml	

	60 mg		6 mg/ml + 1 ml	
			3 mg/ml + 5 ml	500 µg/ml
Ceftriaxone,	250 mg	30 µg	250 mg/10 ml	
Cephalothin			6x25 mg/ml + 9 ml	
			15 mg/ml + 9 ml	1500 µg/ml
Cefuroxime	750 mg	30 µg	750mg/10 ml	
			75 mg/ml + 4 ml	
			15 mg/ml + 9 ml	1500 µg/ml
Chloramphenicol	1g	30 µg	1g/10 ml	
			3x100mg/ml+7ml	
			30 mg/ml+ 9 ml	
			3mg/ml+1 ml	1500 µg/ml
Ciprofloxacin	40 mg	5 µg	400mg/10 ml	
			400mg/ml+9ml	
			4 mg/ml+ 3 ml	
			1mg/ml+3 ml	250 µg/ml
Clindamycin	300 mg	2 µg	300mg/3 ml	
			100mg/10ml	
			10 mg/10 ml	
			1 mg/10 ml	100 µg/ml
Erythromycin	100 mg	15 µg	100 mg/4 ml	

© AAZEM PUBLICATIONS

			3x25 mg/ml+ 7 ml	
			7.5 mg/ml+ 9 ml	750 µg/ml
Gentamyein	20 mg	10 µg	20 mg/10 ml	
			2 mg/ml+ 3 ml	500 µg/ml
Oxacillin	250 mg	7 µg	250 mg/10 ml	
			25 mg/ml+ 9 ml	
			2.5 mg/ml+ 9 ml	
	100.000 IU	10 µg	0.25 mg/ml+4ml	50 µg/ml
piperacillin	1 g	100 µg	1 g/10 ml,	
			100 mg/ml+ 1 ml	5 mg/ml
			50 mg /ml+ 9 ml	
Streptomycin	500 mg	10 µg	500 mg/10 ml	
			50 mg/ml+ 9 ml	
			5 mg/ml+ 9 ml	500 µg/ml
Sulfisoxazole	1 mg	300 µg	1 g/10 ml	
			3x100 mg/ml+ 7 ml	
			30 mg/ml+ 1 ml	15 µg/ml
Tetracycline	500 mg	30 µg	500mg/10 ml	
			3x50 mg/ml+ 7 ml	
			15 mg/ml+ 9 ml	1500 µg/ml

© AAZEM PUBLICATIONS

۵- بالای هر دیسک 20 مایکرولیتر از محلول رقیق شده ای آخری هر انتی بیوتیک را باندازید.

۶- دیسک ها را در یک قطی پتری انداخته در داخل انکیوبتور تا فردا آن ها را خشک کنید. سرپوش پطری دیش را قدری بلند بگذارید.

۷- دیسک ها را در یک بوتل انداخته لیبل و تاریخ بزنید. سر بوتل باید خوب بسته باشد که هوا در آن داخل شده نتواند. برای نگهداری دراز مدت که از یک سال بیشتر نباشد به $-20^{o}c$ در فریزر آنرا نگهداری کنید.

۸- دیسکهاییکه از آن کار گرفته می‌شود تا یک هفته در یخچال نگهداری شده می‌تواند.

۹- بوتل دیسک ها را از فریزر یا یخچال یک تا دو ساعت پیشتر از استعمال بیرون بکشید تا درجه ای حرارت اتاق را قبل از باز کردن بگیرد. این کار مقدار رطوبت را که در بالای دیسک تراکم می‌کند به حد اصغری کاهش می‌دهد.

کنترول کیفیت: هر Batch دیسک را بالای مایکروب‌های کنترول امتحان کنید که‌کار می‌دهد یانه. پتوجن های هوازی که بالای Mueller-Hinton agar می رویند:

تخنیک که در ذیل شرح داده شده اشاره ای است به Kirby-Bauer method که در هرجا میسر است و خوب به ثبوت رسیده است.

© AAZEM PUBLICATIONS

Mueller-Hinton agar

۱. از یک Mueller-Hinton agar کنترول کیفیت شده طبق توصیه ای کمپنی تولید کننده یک وسط زرعیه بسازید.

۲. در قطی پطری دیش به عمق 3-4 ملی متر آنرا بریزید. یک قطی پطری دیش 9 سانتی متره تقریباً 20 تا 25 ملی لیتر وسط زرعیه به کار دارد، در حالیکه یک قطی پطری دیش 14 سانتی متره به 60 ملی لیتر ضرورت دارد. پطری دیش را در یک سطح هموار گذاشته معطل شوید تا منجمد شود.

۳. پطری دیش را خشک نموده به 2-4 درجه ای سانتی گراد نگهداری کنید PH وسط به درجه ای حرارت اتاق باید 7.2 تا 7.4 باشد.

ستاندرد مکدریت (Turbidity standard)

برای اینکه معلق مایکروب را که زرع می نمایید عیار سازید، یک ستاندرد barium sulphate turbidity standard را باید بسازید.

اول محلولات ذیل را بسازید:

0.048 M $BaCl_2$ solution	
$BaCl_2, 2H_2O$	1.175 g
Distilled water	100 ml
0.36 N H_2SO_4 solution	
H_2SO_4, conc	1 ml
Distilled water	100ml

بعد محلولات ذیل را به هم یکجا بسازید.

0.048 M $BaCl_2$	0.5 ml
0.36 N H_2SO_4	99.5 ml

در تیوب ها در هر یک 5 ملی لیتر توزیع نموده سر آنها را با ستاپر رابری محکم کنید. قبل از استعمال تیوب را شدیداً شور بدهید.

این ستاندرد باید در تاریکی به درجه ای حرارت اتاق نگهداری شود و تا شش ماه نگهداری شده می‌تواند. (8)

© AZEM PUBLICATIONS

عملیه

۱) از یک زرع یک شبه 4 تا 5 کالونی خوب جداگانه ای هم شکل را انتخاب کنید. نوک سوزن زرع را در قسمت بالائی کالونی تماس بدهید. در داخل آن باید سوزن نرود. در تیوبیکه در آن 5 ملی لیتر محلول 0.9 فیصد سودیم کلورایدباشد انتقال بدهید.

۲) مکدریت آنرا با مکدریت ستاندرد مقایسه کنید با علاوه کردن مایکروب یا محلول نمک معقم مکدریت آنرا با مکدریت ستاندرد برابر نمائید. برای اینکه نموی مایکروب‌ها متجانس باشد و کولونی ها تقریباً به تماس یکدیگر بیایند باید مکدریت خوب عیار شود.

۳) مایکروب را در Meuller Hinton agar plate ذیلاً زرع کنید:

- دو قطره ای معلق مایکروب را در بالای Agar باندازید توسط Spreader شیشه ای آنرا طوری پخش کنید که تمام سطح Agar را بگیرد.
- یک سواب معقم پنبه ای را در معلق مایکروب غوطه کنید. مایع اضافگی را با فشار دادن شدید پنبه به جدار تیوب و دور دادن آن از پنبه دور کنید. سواب را در تمام سطح Agar بمالید.

۴) سرپوش قطی پتری را بالای آن گذاشته برای 3 الی 5 دقیقه آنرا بگذارید تا قبل از گذاشتن دیسک انتی بیوتیک مایع اضافگی سطح توسط Agar جذب گردد.

۵) توسط یک فورسپس یا سوزن دیسک های انتی بیوتیک را اقلاً 24 ملی متر دور از یکدیگر در بالای Agar زرع شده بگذارید. در قطی پتری های 9 سانتی متره بصورت اعظمی پنج دیسک (برای مایکروب‌های Fastidious چهار دیسک). اگر قطی پتری های 14 سانتی متر استعمال شده باشد بصورت اعظمی 12 دیسک (برای مایکروب‌های Fastidious نه (9)

دیسک استعمال می‌گردد. وقتیکه یک دیسک در یکجا گذاشته می‌شود باید شور داده نـه شـود، زیرا به مجرد گذاشتن دیسک انتشار انتی بیوتیک شروع می‌شود.

۶) قطی پتری ها را در انکیوبتور به 35 درجه ای سانتی گـراد بگذاریـد. طـول مـدت آن ذیـلاً بـه مایکروب‌های تحت امتحان تعلق دارد:

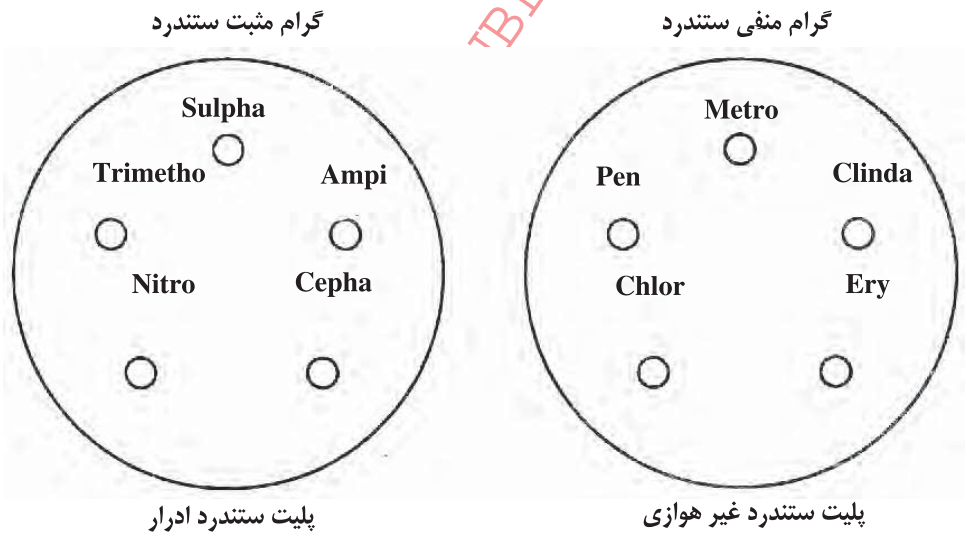
- *Staphylococci & Enterococci: 24 hours*
- *Haemophilus influenzae, Streptococcus, Pneumoniae & Neisseria gonorrhoeae: 20-24 hours in 5-7% carbon dioxide or in a candle jar*
- *All other species: 16-18 hours*

۷) اگر زرع درست صورت گرفته باشد بعد از 18 الی 24 ساعت کالونی هـا به اندازه ای مـی‌شـود که در بین آنهـا Agar محـض قابـل دیـد مـی‌باشـد و تمـام زون هـای نهـی شـده بـصورت متحدالشکل دایروی می‌باشد. اگر نموی مایکروب‌ها بسیار ضخیم یا بسیار نازک باشد معاینـه را تکرار کنید.

۸) قطر هر زون نهی شده (به شمول قطر دیسک) را به ملی متـر انـدازه نمائیـد و نتیجـه را طبـق جدول تعبیر نمائید.

۹) نتیجه را برای قطی پتری test و کنترول ثبت نمائید.

BLICATIONS



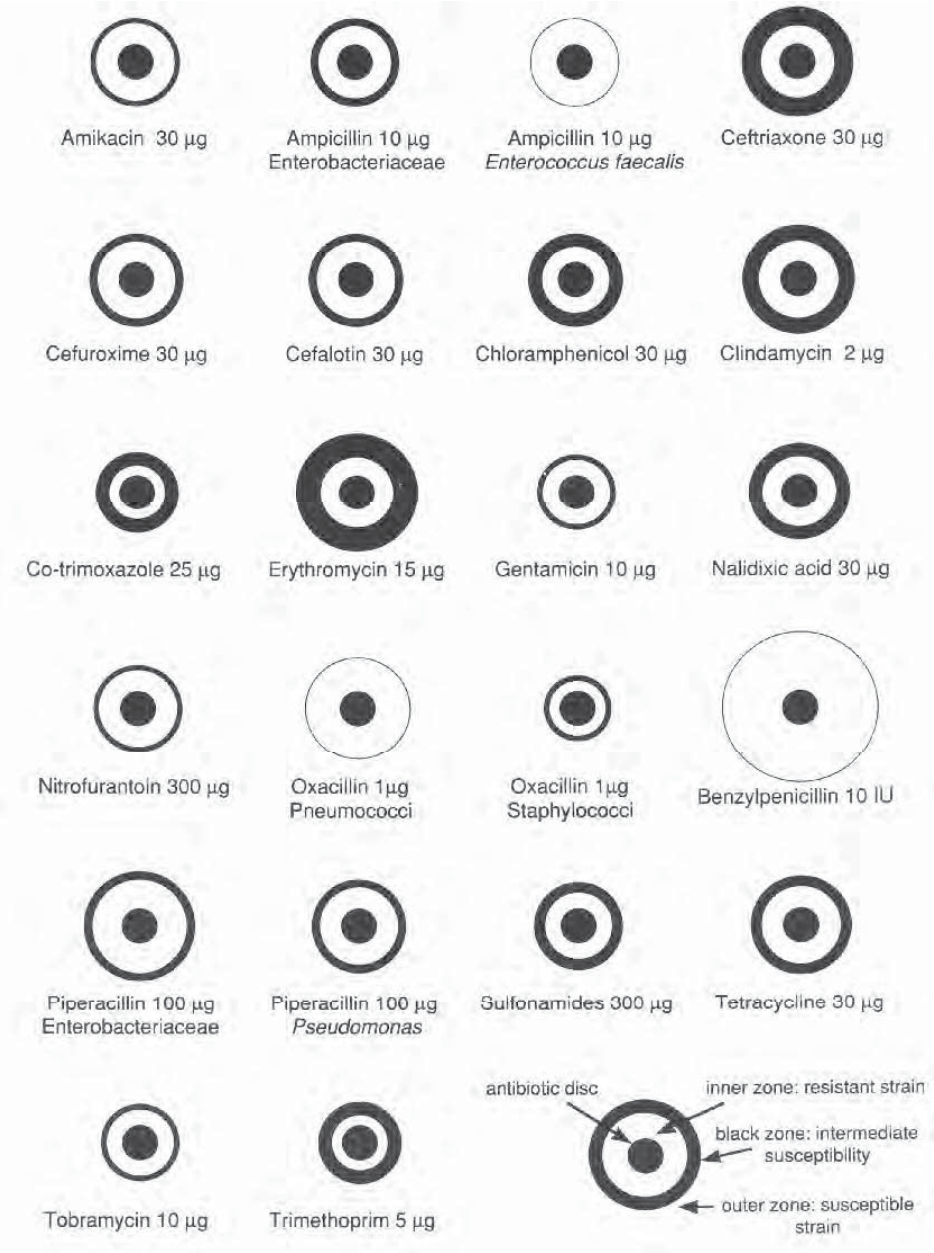
شکل ۲ – ۵

۱۰) بعداز گذاشتن در انکیوبتور با استفاده از یک خطکش قطر منطقه ای نهی شده را بـه ملـی متـر اندازه نمائید.

۱۱) بسیار کولونی های بزرگ که در داخل ناحیه ای نهی شده می‌روند باید دوبـاره زرع و شناسـائی گردند و انتی بیوگرام آن دوباره تعیـین شـود. بعـضی اوقـات انـواع مـایکروب‌هـای Protesu

mirabilis and P. vulgaris می‌تواند در منطقه ای نهی شده گردش نمایند لاکن هنوز هم حساس می‌باشند. با بعضی Batch های Mueller – Hinton Agar در منطقه ای نهی شده ای نادیده گرفته شود و تنها حاشیهٔ نموی ضخیم برای تعیین منطقه ای نهی شده گرفته شود.

۱۲)منطقه ای نهی شده را تعبیر نموده راپور مایکروب را حساس (S) متوسط (I) و مقاوم (R) بدهید.



شکل ۲ – ۶ اندازه نواحی ایکه توسط انتی بیوتیک ها نهی شده می‌توانند.

Antibiotic or chemotherapeutic agent	Disc potency	Diameter of zone of inhibition (mm) Resistant	Intermediate/ moderately susceptible	Susceptible
amikacin	30 µg	≤14	15–16	≥17
ampicillin when testing:				
– Enterobacteriaceae	10 µg	≤13	14–16	≥17
– *Enterococcus faecalis*	10 µg	≤16	—	≥17
benzylpenicillin when testing staphylococci	10 IU	≤28	—	≥29
ceftriaxone	30 µg	≤13	14–20	≥21
cefuroxime sodium	30 µg	≤14	15–17	≥18
cefalotin	30 µg	≤14	15–17	≥18
chloramphenicol	30 µg	≤12	13–17	≥18
clindamycin	2 µg	≤14	15–20	≥21
co-trimoxazole	25 µg	≤10	11–15	≥16
erythromycin	15 µg	≤13	14–22	≥23
gentamicin	10 µg	≤12	13–14	≥15
nalidixic acid	30 µg	≤13	14–18	≥19
nitrofurantoin	300 µg	≤14	15–16	≥17
oxacillin when testing:				
– staphylococci	1 µg	≤10	11–12	≥13
– pneumococci	1 µg	≤19	—	≥20
piperacillin when testing:				
– Enterobacteriaceae	100 µg	≤17	18–20	≥21
– *Pseudomonas*	100 µg	≤14	15–17	≥18
sulfonamides	300 µg	≤12	13–16	≥17
tetracycline	30 µg	≤14	15–18	≥19
tobramycin	10 µg	≤12	13–14	≥15
trimethoprim	5 µg	≤10	11–15	≥16

شکل ۲ – ۷ اندازه نهی انتی بیوتیک ها به ملی متر

باکتری‌های آنایروبیک (Anaerobic bacteria)

امتحان حساسیت باکتری‌های آن آیروبیک توسط disk diffusion method تنها وقتی امکان پذیر است اگر قطر منطقه ای نهی شده بعد از 24 ساعت در انگیوبتور اندازه شود. حتی درین صورت the agar and broth dilution method بیشتر قابل اعتماد است و در تمام واقعاتیکه انتان شان وخیم و بحرانی است باید استعمال شود.

عملیه

۱) آنایروبیک هایی که به سرعت می رویند مانند Bacteroids fragitis و Clostridium در وسط Mueller-Hinton و باکتری‌های ایروبیک در وسط Blood Agar کشت می‌شوند تا بعد از 24 ساعت به اندازهٔ کافی برویند.

۲) دیسک های کاغذی Penicillin، Metronidazole، Chloramphenicol و Clindamycine را بالای پطری دیش کشت شده بگذارید و آنرا در Aneorobic Jar به درجهٔ حرارت 35°c بگذارید.

۳) قطر منطقه ای نهی شده را توسط خط کش یا Calliper به ملی متر اندازه کنید.

۴) مایکروب‌های آن آیروبیک تنها حساس (S) و مقاوم (R) راپور داده می‌شود. حساسیت بین البینی یا intermediate استعمال نمی‌شود.

۵) به منظور تعبیر نتایج قطر منطقه های نهی شده ذیلاً داده شده است:

Zone diameter in mm	Resistant	Sensitive
Penicillin	<19	>20
Ampicillin	<24	>25
Cephalosporin	<24	>25
Piperacillin	<29	>30
Clindamycin	<19	>20
Chloramphenicol	<34	>35
Erythromycin	<24	>25
Tetracycline	<29	>30
Metronidazole	<19	>20

© AAZEM PUBLICATIONS

Extended Spectrum β–lactamases (ESBLs) عبارت از انزایم هائی اند که توسط باسیل های گرام منفی تولید می‌شوند که قدرت غیر فعال ساختن انتی بیوتیک های β- Lactam را که دارای گروپ Oxyimino باشند دارند، مانند Ceftizoxime، Ceftriaxone، Cefotaxime، Cefuroxime، Cefpodoxime، Cefpirome و Ceftazidime. اینها به نام Spectrum Extended یاد می‌شوند، زیرا یکتعداد زیاد انتی بیوتیک های β- Lactam را هایدرولیز می‌نمایند.

ESBLs توسط Plasmid از یک مایکروب بر مایکروب دیگر انتقال می‌نماید و عموماً در مایکروب‌هایی از قبیل Proteus Mirabilis، E. Coli، Klebsilla Pneumonia و سلمونیلا پیدا می‌شود.

توصیه می‌شود که تمام لابراتوار های مایکروبیولوژی سریری تمام باکتری‌های انتریک گرام منفی را برای مقاومت به مقابل Cefpodoxime امتحان نمایند. اگر حساسیت آن به مقابل Cefpodoxime کم شده باشد تست برای تولید انزایم ESBL باید انجام شود. تمام انواع تولید کنندهٔ ESBL باید راپور داده شود که به مقابل تمام Penicillin ها و Cephalosporin ها مقاوم است به استثناء Cephamycin.

لابراتوار مایکروبیولوژی وقتیکه یک نوع مایکروب ESBL-producing را می یابد بصورت واضح به دوکتور معالج راپور بدهد و اهتمامات لازمه گرفته شود تا جلو پخش آن به دیگر مریضان شفاخانه گرفته شود.

دو میتود تائید کننده برای تولید ESBL عادتاً استعمال می‌شود:

۱- معاینهٔ Synergy بین Cephalosporin و Clavulanic Acid یا (میتود Double Disc).

۲- مقایسه نمودن منطقه ای نهی شده ای Ceftazidime یا Cefpodoxime با یا بدون Clavulanic Acid (میتود Combined Disc).

© AAZEM PUBLICATIONS

میتود دیسک دو چند (Double Disc Method)

۱. از یک زرع خالص یک شبه بالای Mac Conkey agar چهار الی پنج کولونی را به یک تیوب دارای 0.9 فیصد سودیم کلورایـد باشد انتقال بدهید و مکدریت معلق به مکدریت 0.5 Mcfarland standard برابر ساخته شود که با علاوه کردن مایکروب یا محلول نمک صورت می‌گیرد.

۲. یک سواب را در معلق مایکروب غوطه نموده مایع اضافگی را با فشار دادن پنبه ای سواب جدار تیوب بالاتر از مایع بر طرف نمائید. سواب را به تمام سطح وسط زرعیه Mueller Hinton Agar– بمالید و بعد آنرا برای خشک شدن بگذارید اما نه بیشتر از 15 دقیقه.

۳. دسک که دارای Amoxicillin – Clavulanic Acid (20+10 Mg) باشد و دیسک Ceftazidime را به فاصله ای 25 تا 30 ملی متر بالای Agar بگذارید یک دیسکی که دارای

Cefotaxime یـــا Cefpodoxime باشـد مـی‌توانـد در مقـــابل دیـسک Amoxicilin + Clavulanic Acid گذاشته شود.

۴. پطری دیش تا فردا به 35 درجهٔ سانتی گراد گذاشته می‌شود.

۵. اگر منطقه ای نهی شده Cephalosporine با علاوه شدن Clavulanic Acid توسـعه یافتـه باشد از آن تولید ESBL استنباط می‌گردد.

۶. مایکروب‌هایی که REM و SHVESBLs تولیـد مـی‌نماینـد بـا دیـسک هـای ceftazidime cefotaxime و cefpodoxime نتیجه ای مثبت می‌دهند، در حالیکه آنهائیکه انـزایم CTX-M تولید نموده اند تنها با دیسک های cefotaxime و cefpodoxime نتیجه ای مثبت می‌دهنـد. تولید کننده ای AmpC و اکثر تولید کنندگان فوق العاده ای انزایم K1 همرای تمـام ایـن سـه دیسک نتیجه ای منفی می‌دهند.

Combined disc Method

۱. وسط Mueller – Hinton agar را مانند فوق کشت کنید. دو دیسک دارای cefpodoxime (10 µg) و cefpodoxime + clavulanic acid (10 +1 µg) را به فاصله ای 24 ملی متـر بالای آن بگذارید.

۲. پطری دیش را به 35 درجه ای سانتی گراد برای 16 الی 18 سـاعت بـرای نمـوی confluent آنرا معاینه کنید.

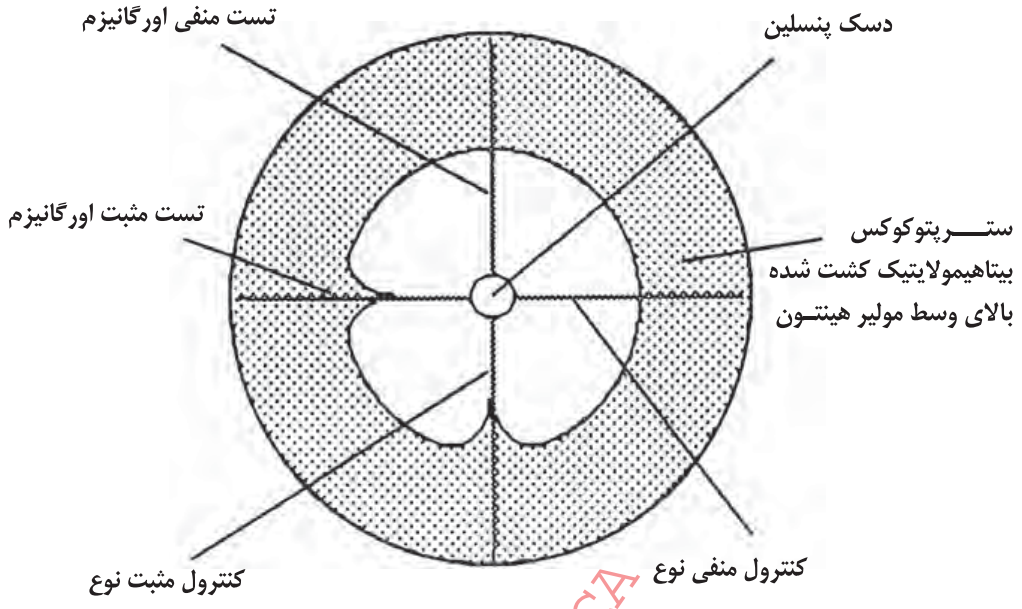
۳. قطر منطقه ای نهی شده را به ملی متر اندازه نمائید.

۴. اگر منطقه ای نهی شده ای cefpodoxime با Clavulanic Acid بـه انـدازه ای بیـشتر از 5 ملی متر از منطقه ای نهی شـده ای cefpodoxime بـدون clavulanic Acid بزرگتـر باشـد، مایکروب مذکور تولید کننده ای انزایم ESBL می‌باشد.

۵. این میتود با استفاده از ESBL – producing Klebsiella امتحان و تحقیق شـد نتیجـه داده sensitivity و specificity آن 100% بود.

۶. NCCLs توصیـــه می‌نماید کـــه منطقه ای نهـــی شده ای ceftazidime (30 µg) با منطقـه ای نهی شده Ceftazidime + Clavulanic Acid (30+10 µg) باید مقایسه گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS



شکل ۲-۸

© AAZEM PUBLICA

Book Name	Medical Microbiology I
Author	Prof. Dr. Obaidullah Obaid
Publisher	Kabul Medical University
Website	www.kmu.edu.af
Printing	Aazem Printing House, Kabul,Afghanistan / 0799572817
Number	2000
Published	2012
Download	www.ecampus-afghanistan.org

This publication was financed by the German Academic Exchange Service (DAAD) with funds from the German Federal Foreign Office.

Administrative and Technical support by Afghanic organization.

The contents and textual structure of this book have been developed by concerning author and relevant faculty and being responsible for it. Funding and supporting agencies are not holding any responsibilitis.

If you want to publish your text books please contact us:
Dr. Yahya Wardak, Ministry of Higher Education, Kabul
Office: 0756014640
Email: wardak@afghanic.org

© AAZEM PUBLICATIONS

ISBN:

This book has been published 2000 copies in full agreement with the **author** and **Aazem Publications**.

All copy rights reserved by **Aazem Publications**

© AAZEM PUBLICATIONS

Message from the Ministry of Higher Education

In the history, book has played a very important role in gaining knowledge and science and it is the fundamental unit of educational curriculum which can also play an effective role in improving the quality of Higher Education. Therefore, keeping in mind the needs of the society and based on educational standards, new learning materials and textbooks should be published for the students.

I appreciate the efforts of the lecturers of Higher Education Institutions and I am very thankful to them who have worked for many years and have written or translated textbooks.

I also warmly welcome more lecturers to prepare textbooks in their respective fields. So, that they should be published and distributed among the students to take full advantage of them.

The Ministry of Higher Education has the responsibility to make available new and updated learning materials in order to better educate our students.

At the end, I am very grateful to the German Federal Foreign Office, the German Academic Exchange Service (DAAD) and all those institutions and people who have provided opportunities for publishing medical textbooks.

I am hopeful that this project should be continued and publish textbooks in other subjects too.

Sincerely,

Prof. Dr. Obaidullah Obaid

Minister of Higher Education

Kabul, 2012

© AAZEM PUBLICATIONS

© AAZEM PUBLICATIONS

Publishing of textbooks & support of medical colleges in Afghanistan

Honorable lecturers and dear students,

The lack of quality text books in the universities of Afghanistan is a serious issue, which is repeatedly challenging the students and teachers alike. To tackle this issue we have initiated the process of providing textbooks to the students of medicine. In the past two years we have successfully published and delivered copies of 60 different books to the medical colleges across the country.

The Afghan National Higher Education Strategy (2010-1014) states:

"Funds will be made ensured to encourage the writing and publication of text books in Dari and Pashto, especially in priority areas, to improve the quality of teaching and learning and give students access to state-of- the-art information. In the meantime, translation of English language textbooks and journals into Dari and Pashto is a major challenge for curriculum reform. Without this, it would not be possible for university students and faculty to acquire updated and accurate knowledge"

© AZEM PUBLICATIONS

The medical colleges' students and lecturers in Afghanistan are facing multiple challenges. The out-dated method of lecture and no accessibility to update and new teaching materials are main problems. The students use low quality and cheap study materials (copied notes & papers), hence the Afghan students are deprived of modern knowledge and developments in their respective subjects. It is vital to compose and print the books that have been written by lecturers. Taking the critical situation of this war torn country into consideration, we need desperately capable and professional medical experts. Those, who can contribute in improving standard

of medical education and public health throughout Afghanistan, thus enough attention, should be given to the medical colleges.

For this reason, we have published 60 different medical textbooks from Nangarhar, Khost, Kandahar, Herat, Balkh & Kabul medical colleges. Currently we are working on to publish 60 more different medical textbooks, a sample of which is in your hand. It is to mention that all these books have been distributed among the medical colleges of the country free of cost.

As requested by the Ministry of Higher Education, the Afghan universities, lecturers & students they want to extend this project to non-medical subjects like (Science, Engineering, Agriculture, Economics & Literature) and it is reminded that we publish textbooks for different colleges of the country who are in need.

As stated that publishing medical textbooks is part of our program, we would like to focus on some other activities as following:

© AAZEM PUBLICATIONS

1. Publishing Medical Textbooks

This book in your hand is a sample of printed textbook. We would like to continue this project and to end the method of manual notes and papers. Based on the request of Higher Education Institutions, there is need to publish about 100 different textbooks each year.

2. Interactive and Multimedia Teaching

In the beginning of 2010, we were able to allocate multimedia projectors in the medical colleges of Balkh, Herat, Nangarhar, Khost & Kandahar. To improve learning environment the classrooms, conference rooms & laboratories should also be equipped with multimedia projectors.

3. Situational Analysis and Needs Assessment

A comprehensive need assessment and situation analysis is needed of the colleges to find out and evaluate the problems and future challenges. This would facilitate making a better academic environment and it would be a useful guide for administration and other developing projects.

4. College Libraries

New updated and standard textbooks in English language, journals and related materials for all important subjects based on international standards should be made available in the libraries of the colleges.

5. Laboratories

Each medical college should have well-equipped, well managed and fully functional laboratories for different fields.

6. Teaching Hospitals (University Hospitals)

Each medical college should have its own teaching hospital (University Hospital) or opportunities should be provided for medical students in other hospitals for practical sessions.

7. Strategic Plan

It would be very nice if each medical college has its own strategic plan according to the strategic plan of their related universities.

I would like to ask all the lecturers to write new textbooks, translate or revise their lecture notes or written books and share them with us to be published. We assure them quality composition, printing and free of cost distribution to the medical colleges.
I would like the students to encourage and assist their lecturers in this regard. We welcome any recommendations and suggestions for improvement.

© AAZEM PUBLICATIONS

We are very thankful to the German Federal Foreign Office & German Academic Exchange Service (DAAD) for providing funds for 90 different medical textbooks and the printing process for 50 of them are ongoing. I am also thankful to Dr. Salmaj Turial from J. Gutenberg University Mainz/Germany, Dieter Hampel member of Afghanic/Germany and Afghanic organization for their support in administrative & technical affairs.

I am especially grateful to GIZ (German Society for International Cooperation) and CIM (Centre for International Migration & Development) for providing working opportunities for me during the past two years in Afghanistan.

In Afghanistan, I would like cordially to thank His Excellency the Minister of Higher Education, Prof. Dr. Obaidullah Obaid, Academic Deputy Minister Prof. Mohammad Osman Babury and Deputy Minister for Administrative & Financial Affairs Associate Prof. Dr. Gul Hassan Walizai, the universities' chancellors and deans of the medical colleges for their cooperation and support for this project. I am also thankful to all those lecturers that encouraged us and gave all these books to be published.

At the end I appreciate the efforts of my colleagues Dr. M. Yousuf Mubarak, Abdul Munir Rahmanzai, Ahmad Fahim Habibi, Subhanullah and Hematullah in publishing books.

Dr Yahya Wardak
CIM-Expert at the Ministry of Higher Education, November, 2012
Karte 4, Kabul, Afghanistan
Office: 0756014640
Email: textbooks@afghanic.org
wardak@afghanic.org

© AZAM PUBLICATIONS

ABSTRACT

Medical Microbiology is a basic subject which deals with different microorganisms that has medical importance. It has been taught in the Medicine, Dentistry, Nursing, Public Health, Allied Health, Technology and Pharmacy colleges.

The first volume of Medical Microbiology is prepared according to the curriculum of Kabul Medical University and has four sections and 9 chapters (Morphology and Physiology of Microorganisms, Normal Microbial Flora, Infections, Immunology, Genetic of Microbes, Antimicrobial Therapy and Systemic infections).It contains essential information about those microorganisms which can cause diseases inside the human body. In addition it is designed with pictures and diagrams.

Since infectious diseases are very common in Afghanistan, I strongly recommend the studying of this book for medical students, young doctors and medical technologists.

All efforts have gone into equipping each section of this book with required pictures, collecting all information from a valid reference.

At the end, I am also thankful to German Ministry of foreign affairs and DAAD for publishing this book.

© AZEM PUBLICATIONS

Sincerely,

Prof. Dr Obaidullah Obaid
Minister of Higher Education and
Head of Microbiology Department,
Kabul Medical University

بیوگرافی مختصر پوهاند دوکتور عبیدالله عبید

پوهاند دوکتور عبیدالله عبید ولد عبدالوهاب خان در سال ۱۳۴۷ هجری شمسی در یک خانواده روشنفکر و مسلمان در شهر کابل تولد گردیده، پس از فراغت أز پوهنحی ستوماتولوژی پوهنتون طبی کابل در سال ۱۳۶۹ به سویه ماستر، بعد از امتحان مؤفقانه کادر علمی به صفت استاد در دیپارتمنت مایکروبیولوژی و پرازیتولوژی پوهنتون طبی کابل شامل که بعد از سال ۱۳۷۲ الی قوس ۱۳۸۹ به حیث شف این دیپارتمنت ایفای وظیفه کرده است.

از سال ۱۳۷۲ الی ۱۳۷۶ برعلاوه تدریس، به حیث مدیر عمومی تدریسی در پوهنتون طبی کابل، از سال ۱۳۸۱ الی ختم سال ۱۳۸۲ به حیث معاون امور محصلان پوهنتون طبی کابل، از سال ۱۳۸۳ الی سنبله سال ۱۳۸۴ به حیث مشاور رییس جمهور در امور اجتماعی و از سال ۱۳۸۴ الی سال ۱۳۸۹ به حیث رییس پوهنتون طبی کابل مصروف خدمت به اولاد وطن بود. در سال ۲۰۰۳ برای مدت چهار ماه جهت کسب آموزش میتودهای جدید درسی در پوهنتون لومالیندا ایالات متحده امریکا و در سال ۲۰۰۷ برای مدت سه ماه جهت کسب انکشاف مهارت‌های بین‌المللی در پوهنتون نبراسکا ایالات متحده امریکا به ادامه تحصیل پرداخته و از هردو پوهنتون سرتیفکیت‌های مساعد و مؤفق به دست آورد.

موصوف برای مدت یکسال به حیث رییس بورد توقف توبرکلوز افغانستان فعالیت نموده و مدت یکسال و سه ماه به حیث سفیر کبیر و نماینده فوق‌العاده رییس جمهور افغانستان در جمهوری اسلامی ایران ایفای وظیفه کرده است.

وی وکیل منتخب مردم شهر کابل در لویه جرگه اضطراری و وکیل منتخب مردم شهر کابل در لویه جرگه تصویب قانون اساسی نیز بودند.

محترم پوهاند دوکتور عبیدالله عبید بعد از معرفی از سوی رییس جمهور کشور به حیث وزیر تحصیلات عالی با کسب ۱۹۹ رأی اعتماد از سوی اعضای پارلمان به حیث وزیر تحصیلات عالی تقرر حاصل نمودند.

© AZEM PUBLICATIONS

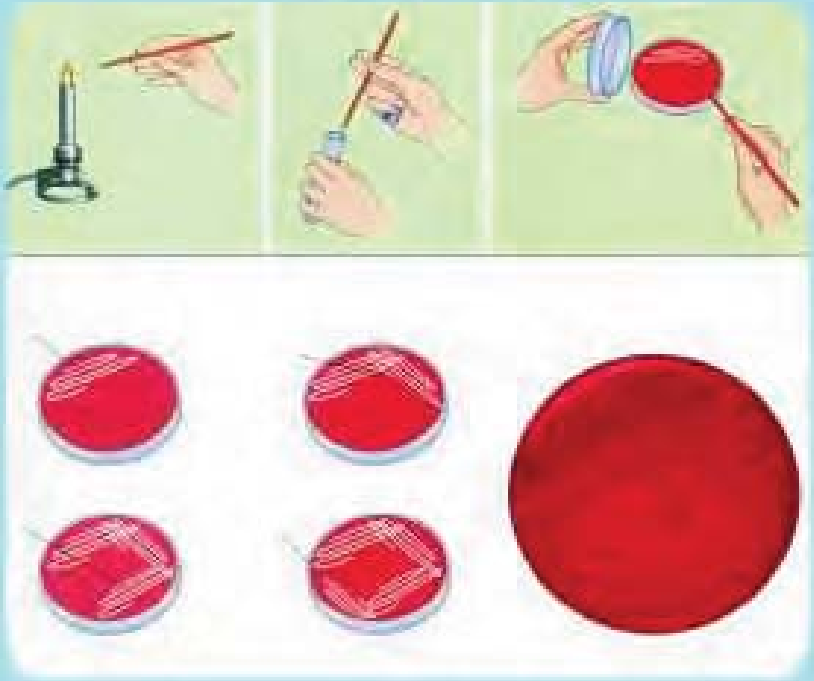
Kabul Medical University

AFGHANIC

Prof. Dr. Obaidullah Obaid

Medical Microbiology

Volume I



Funded by:
DAAD Deutscher Akademischer Austausch Dienst
German Academic Exchange Service

ISBN: 978-9936-400-67-2
9 789936 400672 >
Printed: Aazam Printing House
Kabul - Afghanistan

2012