

ویژه داوطلبان آزمون های علوم پزشکی

آکادمی آریانا



میکروب شناسی Microbiology

مؤلف: سید مجتبی کشفی

پوشش کامل منابع آزمون

سری کتاب های علوم پزشکی سیناپس در آکادمی آریانا

به نام خدا

میکروپ شناسی

جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران

ویژه داوطلبان آزمون لیسانس به پزشکی

فهرست

بخش اول: توصیه به دوستان	۹
فصل اول: مهمترین رویدادهای علم میکروبیولوژی	۱۱
فصل دوم: نام گذاری، طبقه بندی، شناسایی باکتری ها	۱۳
فصل سوم: میکروسکوپ، محیط کشت و رنگ آمیزی	۱۹
فصل چهارم: آناتومی باکتری ها (بسیار مهم)	۲۳
فصل ۵ و ۶: اصول کشت و متابولیسم	۴۱
فصل هفتم: مواد ضد عفونی کننده	۵۱
فصل هشتم: آنتی بیوتیک ها	۵۹
فصل نهم: ژنتیک پروکاریوت ها	۶۷
فصل دهم: فلور باکتریایی بدن	۷۴
فصل یازدهم: پاتوژنز باکتریایی	۷۶
بخش دوم: سیستماتیک باکتری ها	۸۴
فصل اول: کوکسی های گرم مثبت (استافیلوکوک ها)	۸۶
فصل دوم: کوکسی های گرم مثبت (استرپتوکوک ها)	۹۲
فصل سوم: کوکسی های گرم منفی (نایسریا ها و ...)	۱۰۲
فصل چهارم: کلیات خانواده انتروباکتریاسیه	۱۰۹
فصل پنجم: بررسی باکتری های خانواده انتروباکتریاسیه	۱۱۱
فصل ششم: ویبریوناسیه	۱۲۲
فصل هفتم: کمپیلوباکتر	۱۲۶

فصل هشتم: هلیکوباکتر	۱۳۰
فصل نهم: سودوموناداسه	۱۳۲
فصل دهم: هموفیلوس ها (خون دوست ها)	۱۳۶
فصل یازدهم: پروسلاها	۱۴۰
فصل دوازدهم: بوردتلا	۱۴۳
فصل سیزدهم: لژیونلا	۱۴۷
فصل چهاردهم: باکتری های بی هوازی	۱۴۹
فصل پانزدهم: اسپیروکتاسیه ها	۱۵۴
فصل شانزدهم: مایکو باکتریوم	۱۶۰
فصل هفدهم: آکتینومیست ها	۱۶۸
فصل هجدهم: کورینه باکتریوم ها	۱۷۰
فصل نوزدهم: لیستریاها	۱۷۵
فصل بیستم: باسیل های گرم مثبت اسپوردار (باسیلوس ها)	۱۷۷
فصل بیست و یکم: باسیل های گرم مثبت اسپوردار (کلستریدیوم ها)	۱۸۱
فصل بیست و دوم: باکتری های درون سلولی اجباری	۱۸۷
(کلامیدیا و ریکتزیا)	۱۸۷
فصل بیست و سوم: ریکتزیاها	۱۹۱
فصل بیست و چهارم: باکتری های بدون دیواره (مایکوپلاسما)	۱۹۵

بخش اول: توصیه به دوستان

فصل اول: مهمترین رویدادهای علم میکروبیولوژی

سال	اتفاقات مهم
۱۶۰۰	طرح مسئله تولید خودبخودی ^۱ توسط هلمن ^۲
۱۶۸۴	مشاهده اولین موجودات زنده در زیر میکروسکوپ توسط ون لیون هوک
۱۷۰۰	اولین طبقه بندی موجودات توسط کار لینه لئوس
۱۷۷۰	اتومولر، طبقه بندی باکتری‌ها در جنس و گونه بر اساس روش طبقه بندی کارل وون لینه لئوس
۱۸۴۰	فردریش هنله برای اولین بار تئوری جرم را ارائه کرد.
۱۸۵۰	سمیلوایز ^۳ و اولیور هولمز ^۴ اولین بار ضد عفونی کردن دست‌ها برای پیشگیری از تب‌زایمان را مطرح کرد.
۱۸۵۷	کشف پدیده تخمیر توسط پاستور
۱۸۶۷	استفاده از اسپری فنل، کشف کشت خالص باکتری‌ها توسط لیستر
۱۸۸۴ - ۱۸۷۷	کشت باکتری‌ها روی آگار شناسایی عامل سل، وبا و سیاه زخم (آنتراکس)، توسط کخ، ارائه اصول کخ
۱۸۸۰	کشف استافیلوکوک‌ها در چرک توسط اوگستن ^۵
۱۸۸۱	کشف پنوموکک توسط پاستور و استنبرگ
۱۸۸۸	نشان دادن تولید اگزوتوکسین در دیفتری توسط روکس ^۶ و یرسین ^۷
۱۸۸۹	نشان دادن تولید اگزوتوکسین در کلستری‌دیوم تتانی توسط فابر ^۸
۱۸۹۰	نشان دادن خنثی شدن سم دیفتری و کزاز با آنتی توکسین توسط بهرینگ
۱۹۰۹	کولیس با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک برای نخستین بار سیفلیس را مشاهده کرد.
۱۹۱۰	پائول ارلیخ ^۹ (پدر علم شیمی)، استفاده از واژه توکسوئید، نظریه تولید زنجیره جانبی آنتی بادی، اسید فسف مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را نشان داد و سمیت انتخابی یا Selective toxicity را مطرح کرد.
۱۹۲۸	کشف پدیده ترانسفورماسیون توسط گریف
۱۹۲۹	کشف پنی سیلین توسط فلمینگ (و هم چنین کشف لیزوزیم در ۱۹۲۲)
۱۹۳۰	کشف عامل انتقال ژنتیکی در ترانسفورماسیون (DNA) توسط آوری و مک لئود و مک کارتی

^۱spontaneous generation یا Abiogenesis

^۲hilmont

^۳Ingna Semmelweis

^۴Oliver Wendell holmes

^۵Ogsten

^۶Roux

^۷Roux and Yersin

^۸Faber

^۹Paul ehrlich

کشف اثر پروتوزیل و سولفونامیدها توسط دوماگ	۱۹۳۵
کشف استرپتومایسین توسط واکسمن	۱۹۴۳
کشف کانژوگاسیون توسط لدربرگ و تاتوم	۱۹۴۶
جان اندرز برای اولین بار ویروس‌ها را کشت داد و راهی را جهت توسعه واکسن بنا نهاد.	۱۹۴۶
کشف ترانسداکشن توسط لدربرگ و زیندر	۱۹۵۲
تعیین توالی DNA (DNA sequencing) توسط گیلبرت و سانجر	۱۹۷۷
کشف PCR توسط کری مولیس	۱۹۸۳

فصل دوم: نام گذاری، طبقه بندی، شناسایی باکتری‌ها

تاریخچه طبقه بندی باکتری‌ها

کارول لینهوس^۱ یا کارول لینه بر اساس تئوری تقسیم استدلالی ارسطو، گیاهان و حیوانات را برای اولین بار با سیستم وراثتی نام گذاری و طبقه بندی کرد.

✓ سیانوباکتری‌ها: قبلاً به آن‌ها جلبک‌های سبز آبی^۲ می‌گفتند. دارای ساختارهای غشا دار به نام تیلاکوئید می‌باشند.

تقسیم بندی کلی میکروارگانیسم‌ها

- سلول‌های یوکاریوت (دارای هسته واقعی)، که شامل جلبک‌ها، قارچ‌ها، تک یاخته‌ها، گیاهان و حیوانات هستند.
 - پروکاریوت‌ها (هسته ابتدایی) شامل باکتری‌های واقعی (یوباکتری‌ها) و باکتری‌های قدیمی (آرکئوها) هستند که مجموعاً جزء پروکاریوت‌های اصلی^۳ طبقه بندی می‌شوند.
- ✓ در منابع کنکور از باکتری‌هایی با ۷۵ میکرومتر قطر به نام **تیو مارگاریتا نامی بینسیس**^۴ (جاوتز) که قابل کشت است و باکتری بزرگ دیگری با قطر ۶۰۰-۸۰ میکرومتر با نام **آپولوپسیوم فیشل سونی**^۵ نام دارد که قابل کشت دادن نیست یاد می‌کنند (مورای).

مقایسه‌ای بین سلول‌های یوکاریوت و پروکاریوت

سلول‌های یوکاریوتی دارای اندازه ای بیش از ۱۰ میکرومتر داشته حال آنکه اندازه متوسط پروکاریوت‌ها ۰/۵ تا ۳ میکرون است. هسته پروکاریوت‌ها فاقد غشاء است البته باکتری پلانکتومایسس استثنا است. بهترین صفت افتراق دهنده پروکاریوت‌ها، نداشتن دستگاه تقسیم میتوزی می‌باشد. کروموزوم حلقوی بوده و فاقد هیستون می‌باشند ولی پروتئین‌های شبه هیستون مانند Hu آن‌ها را احاطه کرده است. DNA خطی در باکتری‌هایی نظیر بورلیابورگدوفری (عامل لایم) و بعضی گونه‌های استرپتومایسس دیده می‌شود، DNA در یوکاریوت‌ها خطی بوده و به صورت مارپیچ دوتایی قرار گرفته است. بار منفی DNA حداقل تا حدودی توسط پلی آمین‌های کوچک (اسپرمین و اسپرمیدین و پوتریسین) و یون‌های منیزیم خنثی می‌شود. جدول زیر برخی از این تفاوت‌ها بین پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها را نشان می‌دهد:

^۱Linnaeus

^۲Nomenclature (naming)

^۳blue-green algae

^۴Kingdom Procaryote

^۵Thiomargarita namibiensis

^۶Epulopsicium fishelsoni

ویژگی‌ها	پروکاریوت‌ها	یوکاریوت‌ها
متوسط اندازه سلول	۱ تا ۱۰ میکرون	۱۰ تا ۱۰۰ میکرون
غشای هسته	ندارد	دارد
رونویسی از DNA	چند ژنی (پلی سیسترونی)	تک ژنی (مونوسیسترونی)
تعداد کروموزوم	یکی (هاپلوئید) بجز ویبریوکلره، بروسلا، بورخولدريا	بیش از یکی (پلی پلوئید)
نوع کروموزوم	معمولاً حلقوی و دورشته ای بجز بورلیابورگدوفری و بورلیا هرمتی و استرپتومایسس	معمولاً خطی و دورشته ای (بجز کلروپلاست و میتوکندری)
نوع تقسیم	دوتایی (Binary)	میتوز و میوز
ارگانل‌های غشادار داخل سلولی	ندارد	دارد
میتوکندری	ندارد	دارد
کلروپلاست	ندارد	دارد
نوع ریبوزوم	70S (50S – 30S)	80S (60S – 40S)
وجود هستک	ندارد	دارد
سانتروبول	ندارد	دارد (بجز در سلول‌های عالی)
دیواره اسکلتنی	از نوع دیواره سخت است	ندارند بجز در گیاهان
جریان (تموج) سیتوپلاسمی	ندارد	دارد
شبکه رتیکیلولوپلاستیک (RE)	ندارد	دارد
واکونل	ندارد (بجز نوع گازی در باکتری‌ها)	دارد
فتوستنز	در باکتری‌ها بدون تولید اکسیژن	با تولید اکسیژن
مزوزوم	دارد	ندارد
مواد اصلی دیواره	موکوپتید	پکتین و سلولز
مواد تشکیل دهنده تازک	فلاژلین	از ۱ + ۹ جفت میکروتوبول
استرول	ندارد (بجز در مایکوپلاسماها)	دارد
تقسیم جنسی	کانزوگاسیون	میوز
میتوز	ندارد	دارد
تماس مواد هسته ای با سیتوپلاسم	دارد	ندارد (به علت غشای هسته)
هیستون	ندارد (دارای شبه هیستون هستند)	دارد

Taxonomic Rank	
سلسله (kingdom) یا Domain	پروکاریوت
شاخه (division) یا Phylum	گراسیلی کوتس
رده (class)	اسکوتوباکتريا
راسته (order)	یوباکتريال
خانواده (family)	انتروباکتریاسیه
جنس (genus)	اشرشیا
گونه (species)	کلی

فصل دوم: نام گذاری، طبقه بندی، شناسایی باکتری‌ها

دسته بندی باکتری‌ها

سیستم‌های نام گذاری و تاکسونومی و شناسایی

اولین بار طبقه بندی موجودات توسط کارلوس لینه اُنجام شد. وی را به عنوان پدر تاکسونومی نیز می‌شناسند.

مفهوم گونه و سوش (Strain)

مفهوم گونه (species) که واحد زیر بنایی تکاملی یوکاریوتها می‌باشد در مورد باکتری‌ها معنای متفاوتی دارد. گونه را با SP (یک گونه) یا SPP (چند گونه) نشان می‌دهند. گونه ممکن است دارای زیر گونه یا subspecies باشد مانند بیوتایپ، سروتایپ یا ژنوتایپ. باکتری‌های موجود در یک گونه بسیار مشابه تر از یک خانواده یا کلاس هستند. سطوح تاکسونومی شامل موارد زیر است:

(۱) سطح نامگذاری: برای نشان دادن شاخه، -es، برای کلاس، -a، برای راسته، -ales، برای خانواده، -aceae، و برای جنس و گونه همان نام‌های اختصاصی به کار می‌روند. برای مثال در *Staphylococcus aureus*.
✓ در نحوه نگارش صحیح باید جنس و گونه به صورت ایتالیک باشند. نام جنس با حرف بزرگ لاتین و گونه با حرف کوچک لاتین نوشته می‌شوند: *Escherichia coli* یا به صورت *E. coli*

(۲) طبقه بندی باکتری‌ها: اشکال مختلفی از طبقه بندی باکتری‌ها وجود دارد.

الف) طبقه بندی کلیدی: بر اساس خصوصیات قابل ارزیابی مانند بودن یا نبودن پیگمان قرمز برای مثال در سراسیامر سه سنس و باکتری‌های فتوسنتزی بنفش در یک گروه قرار می‌گیرند.

ب) طبقه بندی عددی (کامپیوتری، Phenetics و یا taxometrics) خصوصیات قابل شناسایی زیادی (حدود یکصد یا بیشتر) از باکتری‌ها به کامپیوتر می‌شود در صورتی که بیش از ۸۰ درصد این خصوصیات در باکتری‌ها شبیه هم باشد آن‌ها را در یک گروه قرار می‌دهند. مانند شاخص نمای تحلیلی (API). معادلات نام گذاری با استفاده از اعداد مربوط به ویژگی بین باکتری‌ها به صورت ضریب تشابه جاکارد یا J یا ضریب ساده مقایسه کننده SsM می‌باشد که عبارت است از: فقط فرمول‌ها را یاد بگیرید.

$$SJ = \frac{a}{a+b+c} \text{ (ضریب تشابه جاکارد)}$$

$$SsM = \frac{a+d}{a+b+c+d} \text{ (ضریب ساده مقایسه کننده)}$$

ج) طبقه بندی بر اساس شاخص‌های مولکولی

A) فیلوژنیک (روابط تکاملی بین باکتری‌ها): از همخوانی rRNA انجام می‌شود. به عنوان روشی با ضریب اطمینان بالا و به عنوان بهترین روش طبقه بندی باکتری‌ها استفاده می‌شود.

B) طبقه بندی بر اساس محتوای C+G: برای هر ارگانیسم معین محتوای بازهای اسید نوکلئیک ثابت است که معمولاً به صورت درصد قسمت مولکول گوانین (G) به علاوه سیتوزین (C) بیان می‌شود.

1Taxonomy

2Carl Linnaeus

3biotype

4serotype

5genotype

6Nomenclature

7classification

8Analytical profile index

د) طبقه بندی بر اساس سیستم برجی یا برگری! برجی به ۴ گروه بزرگ طبقه بندی می شوند.

CLASS	TYPE	DIVISION
اسکوتوباکتری ها (باکتری های غیر فتوسنتتیک)	باکتری های گرم منفی	گراسیلی کوتس (Gracilicutes)
فتوباکتری ها ^۲ (باکتری های فتوسنتتیک)		
فیرمی باکتری ها و تالوباکتری ها	باکتری های گرم مثبت	(Firmicutes)
مایکوپلاسما و مولیکوتس	باکتری های فاقد دیواره	(Tenericutes)

و) سایر طبقه بندی ها

از نظر pH مطلوب برای رشد:

نوع باکتری	محدوده pH مطلوب	مثال
باکتری های اسیدوفیل	۵-۱	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، برخی آرکئوها،
باکتری های نوتروفیل	۵/۸-۵/۵	اکثر باکتری ها
باکتری های آلکالوفیل	۱۱-۹	ویبریوها

از نظر دمای مطلوب جهت رشد:

نوع باکتری	محدوده دمایی مناسب (Optimal Temperature)	مثال
سرما دوست Psychrophilic	پایین تر از ۲۰ درجه (۱۰-۲۰): op	<i>Listeria monocytogenes</i> ,
مزوفیلیک Mesophilic	۴۵-۱۰ (۲۰-۴۰): op	اکثر باکتری های پاتوژن
گرمادوست Thermophilic	بیشتر از ۵۰ درجه (۵۰-۶۰): op	آرکئوها،
هیپر ترموفیل	بیش از ۸۰ درجه و حتی ۱۱۳ درجه	برخی آرکئوها

از نظر مقدار اکسیژن مطلوب:

نوع باکتری	از نظر نیاز به اکسیژن
Obligate anaerobes بی هوازی اجباری	اکسیژن سمی است. گیرندها نهایی الکترون در اینها سولفات و بی کربنات است.
Aero tolerant بی هوازی تحمل کننده هوا	این باکتری ها در تماس با اکسیژن از بین نمی روند.
Facultative anaerobes بی هوازی اختیاری	که در شرایط هوازی و بی هوازی شرایط و توانایی رشد را دارا هستند.
Obligate aerobes هوازی اجباری	جهت رشد نیاز به اکسیژن دارند. مانند مایکوباکتریوم ها و سودوموناسها
Microaerophilic میکروآئروفیل	در فشارهای کم (۲ تا ۱۰ درصد) بهترین رشد را دارند مانند هلیکوباکتر، کمپیلوباکتر
capnophilic کپنوفیل	در شرایط حضور دی اکسید کربن ۵ تا ۱۰ درصد رشد می کنند مانند نایسریا، هموفیلوس، کاپنوسیتوفگا.

^۱Bergy

^۲Photobacteria

فصل دوم: نام گذاری، طبقه بندی، شناسایی باکتری‌ها

طبقه بندی بر اساس منبع کربن و منبع انرژی:

طبقه بندی	منبع کربن	منبع انرژی	دهنده الکترون
فوتولیتوتروف (فوتوتوتروف)	ترکیبات غیر آلی: CO_2	نور	ترکیبات معدنی ($\text{H}_2\text{S}, \text{S}$)
فوتوآرگانوتروف (فوتو هتروتروف)	ترکیبات آلی	نور	ترکیبات آلی (قند، لیپید پروتئین)
کمولیتوتروف (کمو اتوتروف)	ترکیبات غیر آلی: CO_2	ترکیبات شیمیایی (واکنش‌های اکسیداسیون - احیاء)	ترکیبات معدنی ($\text{NH}_3, \text{H}_2, \text{H}_2\text{S}, \text{Fe}$)
کموآرگانوتروف (کمو هتروتروف)	ترکیبات آلی	ترکیبات شیمیایی (واکنش‌های اکسیداسیون - احیاء)	ترکیبات آلی (قند، لیپید پروتئین)

۳) شناسایی^۵ مرحله سوم از تاکسونومی شناسایی باکتری مورد نظر با برخی از روش‌های ژنتیکی (ژنوتایپی)^۶ و فنوتایپی^۷ (بیوشیمیایی)، سرولوژی و... است.

جدول زیر تفاوت روش‌های فنوتایپینگ، ژنوتایپینگ و بیوشیمیایی را نشان می‌دهد.

روش	مثال	توضیح
فنوتایپیک	بررسی ماکروسکوپی	شکل ظاهری باکتری نظیر نوع کلونی، قوام، شکل.
	بررسی میکروسکوپی	و مورفولوژی باکتری در زیر لام (باسیل، کوکسی و اسپریل) و نوع رنگ آمیزی (مثل گرم، ذیل نلسون)
	بررسی حساسیت دارویی	این روش به آنتی بیوگرام معروف است.
	سروتاپینگ	بررسی سرولوژیکی باکتری‌ها براساس آنتی‌ژن‌هایی که بر روی خود دارند و آنتی بادی برضد آن‌ها تولید می‌شود.
	بیوتاپینگ	بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی باکتری و فیزیولوژیکی باکتری‌ها مانند رشد در PH خاص، نیاز به اکسیژن، داشتن آنزیم‌های گوناگون نظیر کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز، فسفاتاز و... و هم چنین تولید متابولیت‌های مختلف در محیط کشت.
	فاژتایپینگ	جهت بررسی حساسیت باکتری‌ها به فاژها استفاده می‌شود.
	باکتریوسین تایپینگ	حساسیت به باکتریوسین باکتری‌ها که بر روی گونه‌های مشابه موثر نیستند.
بیوشیمیایی	آنالیتیکی	آنالیز ترکیبات شیمیایی دیواره نظیر اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، LPS با کمک کروماتوگرافی (گاز - مایع یا GC) ^۸
ژنوتایپینگ		بررسی و تعیین توالی بازهای DNA، آنالیز پلاسمیدی، بررسی درصد C+G و هیبریداسیون ژنومی (DNA-DNA، RNA-DNA و RNA-RNA)، ریبوتاپینگ و بررسی سیر تکاملی (فیلوژنی).

توضیح چند روش:

الف) روش گاز کروماتوگرافی GC، روشی بیوتیپی است که بیشتر برای افتراق بی‌هوازی‌ها مانند کوکسی‌های بی‌هوازی

بکار می‌رود.

۱ Photolithoheterotroph

۲ Photoorganoheterotroph

۳ Chemolithoheterotroph

۴ Chemoorganoheterotroph

۵ Identification

۶ Genotypic characteristics

۷ Phenotypic characteristics

۸ Gas chromatography (GC)

ب) روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز در میدان ضربان دار^۱ یا PFGE برای جداسازی قطعات بزرگ DNA استفاده می‌شود.
ج) روش الکتروفورز چندکانونه آنزیمی^۲ یا MLEE که یک روش استاندارد در مطالعات ژنتیک یوکاریوت‌ها با استفاده از بررسی آنزیم است. این روش جهت بررسی تنوع ژنتیکی و ساختمان دودمانی میکروارگانیسم‌ها بکار گرفته شد.
ه) SDS – PAGE^۳: این روش جهت جداسازی و ردیابی پروتئین‌ها (برای مثال پروتئین‌های غشای خارجی باکتری) براساس وزن مولکولی استفاده می‌شود.

ن) روش هیبریداسیون DNA: براساس رابطه مکملی بین دو رشته است که چنانچه با یکدیگر مکمل باشند دو رشته به یکدیگر اتصال برقرار می‌کنند. در این روش می‌توان از پروب نشاندار به مواد فلورسانس یا رادیواکتیو برای نشان دادن این اتصال استفاده کرد. در این نوع روش بعد از اثر آنزیم‌های محدودالایر تنها قسمتی از ژنوم مورد استفاده قرار می‌گیرد و برخلاف PFGE که می‌توان کل ژنوم باکتری را بررسی کرد در هیبریداسیون DNA (مانند RFLP) تنها قسمتی از ژن مورد تحلیل قرار می‌گیرد.
ر) در روش ساترن بلات، پس از الکتروفورز بر روی ژل آگار، قطعات ایجاد شده از اثر آنزیم‌های آندونوکلاز محدودالایر به غشای نایلونی یا نیترو سلولز انتقال می‌یابند. سپس این قطعات DNA دو رشته ای به توالی تک رشته ای تبدیل می‌شوند و با استفاده از پروب DNA می‌توان قطعات را شناسایی کرد.

ز) روش ریبوتیپینگ جهت شناسایی پلی مورفیسم‌های ژن‌های rRNA

آرکئوها یا باکتری‌های باستانی

آرکئوها در خاک، محیط‌های آبی مانند غلظت زیاد نمک (هالوفیل‌ها)، درجه حرارت بالا (ترموفیل‌ها)، شرایط اسیدی (اسیدوفیل‌ها) رشد می‌کنند. در درون مجرای گوارشی انسان حیوانات، حشرات، مرداب‌ها و... زندگی می‌کنند. فاقد پپتیدوگلیکان (مورامیک اسید و D – آمینواسید) معمولی هستند. مقایسه خصوصیات آرکئوها و یوکاریوت‌ها با یوباکتری‌ها:

خصوصیات	باکتری‌ها	آرکئوها و یوکاریوت‌ها
فاکتورهای طولیل کننده EF-2 حاوی اسیدآمینه دیفتامید بوده و توسط توکسین دیفتری ADP ریبوزیله شده و مهار می‌شوند.	-	+
آغاز کننده متیونین – tRNA تشکیل نمی‌دهند	- (فرمیل متیونین tRNA دارد)	+
ژن‌های tRNA و rRNA حاوی اینترون اند.	-	+
مهار سنتز پروتئین توسط آنیزوماپسین	-	+
مهار توسط کلرامفنیکل	+	-
مقاومت به ریفامپین و استرپتولیدیگین	-	+
نوع اتصال دیواره	استر	استر (یوکاریوت) و اتر (آرکئوها)
اصلاح	خیر	بله
کلاهک (cap)	ندارند	دارند
ساختار DAP (دی آمینوپمیلیک اسید)	دارند	ندارند

^۱Pulsed field gel electrophoresis

^۲Multilocus Enzyme Electrophoresis

^۳Sodium Dodecyl Sulfate polyacrylamide Gel Electrophoresis یا SDS - PAGE

^۴Archaeobacteria

فصل سوم: میکروسکوپ، محیط کشت و رنگ آمیزی

میکروسکوپ نوری (Light Microscope)

میکروسکوپ زمینه روشن (Bright field microscopy):

جهت مطالعه باکتری‌هایی که اندازه ای حدود 0.5 تا 2 میکرون دارند از میکروسکوپ نوری استفاده می‌شود. میکروسکوپ‌هایی که در باکتریولوژی استفاده می‌شود. در قسمت فوقانی بازوی میکروسکوپ لنزهایی که به چشم نزدیک است با نام لنزهای چشمی قرار دارد. در قسمت تحتانی بازوی میکروسکوپ چهار لنز شیء قرار می‌گیرد. جهت کار با عدسی $100\times$ از روغن ایمرسیون استفاده می‌شود.

رزولوشن یا حد تفکیک (Resolution) فاصله بین دو نقطه است که به طور مجزا از هم قابل تشخیص باشد.

میکروسکوپ میدان تاریک (Darkfield microscope)

از این میکروسکوپ می‌توان باکتری‌های موجود در یک مایع که زنده هستند را مشاهده کرد. برای مثال اسپیروکت‌هایی مانند *Treponema pallidum*، به علت داشتن اندازه ای کمتر از 0.2 میکرون که با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده نیستند، استفاده می‌شود.

میکروسکوپ فاز کنتراست (Light microscope phase contrast) و میکروسکوپ تداخلی و افتراقی

(Differential – Interference – contrast)

اساس کار این میکروسکوپ بر اساس تغییر فاز عبوری نور از نمونه است که این اختلاف فاز به اختلاف در شدت نور تبدیل می‌شود. از این نوع میکروسکوپ جهت دیدن ساختمان‌های داخلی در سلول‌های زنده، کپسول، اندوسپور، اجزای سیتوپلاسمی، انکلوژیون‌ها (مانند گرانول‌های پلی بتا هیدروکسی بوتیریک)، فرایند فاگوسیتوز و جداریه سلول استفاده می‌شود.

میکروسکوپ فلورسنت (Fluorescent Microscopy)

هر میکروسکوپی که از رنگ‌های فلئورسانس برای ایجاد تصویر استفاده می‌کند را نوعی میکروسکوپ فلئورسانس در نظر می‌گیرند. مهم ترین نوع این میکروسکوپ‌ها، Epifluorescence microscopy است. این میکروسکوپ‌ها در واقع نوع اولیه از میکروسکوپ‌های هم کانونی و TIRF¹ هستند. در این میکروسکوپ (ها) از ترکیبات فلوروکروم و رنگ‌های فلئورسنت استفاده می‌شود. میکروسکوپ Light-emitting diodes (LEDs) نوعی جدیدی از میکروسکوپ‌های فلئورسنت است که برای دیدن باکتری‌ها استفاده می‌شود. (جاوتز ۲۰۱۹)

میکروسکوپ لیزری هم کانونی (Confocal laser scanning microscope) یا CLSM

در میکروسکوپ نوری، بافت مورد استفاده باید برش گیری و قطعه قطعه شود. نمونه‌ها ضخیم هستند و تصویر ۳ بعدی از یک اندامک یا ساختار درون سلولی با برش نوری خواهیم داشت. اغلب با رنگ‌های فلئورسنت جهت رزولوشن بهتر تیمار می‌شوند. نمونه زنده را می‌توان با آن مشاهده کرد. منبع نور در واقع لیزر است. این میکروسکوپ سهم بزرگی را در پیشرفت در حوزه بیولوژی داشته است.

میکروسکوپ الکترونی (Electron Microscope)

دو نوع میکروسکوپ الکترونی (EM) وجود دارد:

۱) میکروسکوپ الکترونی ترانس میسیون (TEM = (Transmission EM): در این نوع میکروسکوپ، پرتوی الکترون‌ها از عدسی‌های الکترومغناطیسی^۱ عبور می‌کند. قدرت تفکیک این میکروسکوپ $2-4 \text{ \AA}$ (آنگستروم) است. میکروسکوپ TEM زودتر از SEM ساخته شد.

۲) میکروسکوپ الکترونی مقطع نگار (SEM = (Scanning EM): الکترون‌ها پس از تابیده شدن به نمونه منعکس می‌شوند که بعد از جمع آوری الکترون‌ها، تصویر آن را روی صفحه تلویزیون می‌توان مشاهده کرد. قدرت تفکیک SEM کمتر از TEM بوده و حدود $10-30 \text{ \AA}$ می‌باشد.

تکنیک‌هایی جهت آماده سازی نمونه اعمال می‌شود که شامل: تثبیت نمونه^۲، آب گیری^۳، غوطه ور سازی^۴ پلیمریزاسیون، رنگ آمیزی^۵ عناصری سنگین با نمک‌های اورانیل (کاتیون) و اسید فسفوتنگستیک (آنیون) فسفوسیلیکات و یا آمونیوم مولبیدات، مقطع گیری^۶ و تکنیک سایه زدن با فلزات سنگین نظیر پلاتینیوم

میکروسکوپ شناساگر اسکنینگ (Scanning probe microscope)

در این نوع میکروسکوپ با عبور شناساگر از سطح نمونه ویژگی‌های سطحی آن بررسی می‌شود. Atomic force microscope و Tunneling scanning microscope نمونه‌هایی از این گروه میکروسکوپ‌ها هستند. این میکروسکوپ‌ها به دانشمندان این توانایی را می‌دهد که ذرات در حد اتم یا ملکول‌های سطح نمونه را مشاهده کنند مانند واکنش‌های بین پروتئین‌های سطحی باکتری مانند اشرشیاکلی با Atomic force microscope.

^۱Magnetic coils

^۲fixation

^۳Dehydration

^۴embedding

^۵Staining

^۶sectioning

فصل سوم: میکروسکوپ، محیط کشت و رنگ آمیزی

رنگ آمیزی اسید فست (acid fast): این رنگ آمیزی جهت برخی ارگانیسم‌ها مانند مایکوباکتریوم‌ها، اکتینومیسیت‌ها، نوکاردیا، رودوکوکوس و گونه‌های کریپتوسپوریديوم استفاده می‌کنند. ذیل نلسون^۱ (رنگ آمیزی گرم)، فلوروکروم^۲ (رنگ آمیزی سرد)، کاینیون^۳ اورامین رودامین و رنگ اسید فست اصلاح شده.

رنگ آمیزی اختصاصی (سایر اجزای باکتری) = بسیار مهم = هر سال سوال کنکور از این جدول آمده است به کتاب گنجینه مراجعه کنید تا به اهمیت این قسمت پی ببرید.

نوع رنگ	ساختمان باکتری
با استفاده از نمک‌های اسید تانیک ^۴ و رنگ آمیزی لایفسون ^۵	تاژک (فلاژل)
روش ولش (استفاده از کریستال ویوله و محلول سولفات مس و نمک آن) و روش هیس، India ink و روش نوفلد (تورم کپسولی)، مک فایدن (کپسول آنتراسیس)	کپسول
فولگن ^۶ (DNA)	نوکلئوئیدها
مالایشت گرین یا کربول فوشین	اسپور
آلبرت (تولوئیدن بلو) و نایسر (متیلن بلو)	گرانول‌های ولوتین

نکاتی در مورد محیط‌های کشت

محیط‌های کشت را به چند گروه عمده تقسیم می‌کنند:

۱) محیط کشت انتخابی (Selective media): محیط‌هایی وجود دارند که دارای یک ماده مهار کننده رشد می‌باشند این محیط‌ها جهت سرکوب باکتری‌های ناخواسته و حمایت از رشد باکتری مورد نظر به کار می‌رود.

۲) محیط کشت افتراقی (Differential media): جهت افتراق کلنی‌های ارگانیسم مورد نظر از سایر کلنی‌هایی که روی همان پلیت رشد می‌کند بکار می‌رود.

۳) محیط کشت اختصاصی: این محیط‌ها برای رشد باکتریهای خاصی مناسبند.

۴) محیط‌های غنی شده (enrichment culture): محیط مقوی بوده که دارای مواد تغذیه ای زیادی نظیر ویتامین‌ها، لیپیدها، اسیدهای آمینه برای رشد باکتری است. مانند آلکالین پپتون برات برای بهبود رشد ویبریوها از نمونه‌های مدفوع، محیط Lim broth برای جداسازی استرپتوکوک‌های گروه B. تایوگلیکولات برات هم نوعی محیط غنی شده برای جداسازی باکتری‌های بی‌هوازی، سلنیت F و تتراتیونات برات محیط غنی شده برای جداسازی سالمونلاها و گرم منفی برات نیز محیطی غنی شده و انتخابی برای جداسازی انتروباکتریاسیه‌های روده ای است.

۵) محیط کشت پایه: (Basic Media): این محیط کمترین مقدار مواد غذایی برای رشد باکتریها را دارد. مانند محیط نوترینت آگار، نوترینت برات. در جدول زیر بهتر است نوع محیط کشت (افتراقی، انتخابی و...) و مثال آن را بخاطر بسپارید.

^۱Ziel – Nelson

^۲Fluorochrome

^۳Kinyoun

^۴Tannic acid

^۵Leifson

^۶Feulgen

نوع محیط کشت	مثال ها	ارگانیزم مورد هدف	توضیحات
غیر انتخابی	بلاد آگار (BA)	جداسازی باکتری ها و قارچ ها	
	شکلات آگار	جداسازی هموفیلوس ها (مخصوصا دوکره ای) نایسریا گونوره آ	
	مولر هینتون آگار (MHA)	محیطی جهت انجام تست های آنتی بیوگرام	شامل ترکیباتی از قبیل عصاره گوشت گو ساله و کازئین، نمک ها، کاتیون های دوظرفیتی و نشاسته حل شدنی می باشد.
	تایوگلیکولات برات (TGB)	محیطی غنی شده جهت جدا سازی باکتری های بی هوازی	
	سابورو دکسترو آگار (SDA)	محیط پایه غنی شده جهت جداسازی قارچ ها	
محیط های انتخابی: جهت جداسازی باکتری های اختصاصی از مخلوط باکتریایی استفاده می شود. محیط افتراقی: اضافه کردن باکتری ها بر اساس شاخص هایی مانند تغییر pH اضافه کردن لاکتوز به محیط جهت جداسازی باکتری های لاکتوز مثبت			
انتخابی و افتراقی	مک کانکی آگار (MC)	انتخابی برای جداسازی باکتری های گرم منفی و افتراقی تخمیر کننده لاکتوز	حاوی پپتون، نمک های صفراوی (جلوگیری از رشد باکتری های گرم مثبت)، لاکتوز، نوترال رد (معرف)، و کریستال ویوله (جلوگیری از رشد باکتری های گرم مثبت)
	مانیتول سالت آگار (MSA)	افتراقی - انتخابی	برای استافیلوکوک اورئوس
	زیلوز لیزین داکسی کولات آگار (XLD)	افتراقی - انتخابی برای شینگلا و سالمونلا	
	لووین اشتاین - جانسون و میدل بروک	انتخابی برای میکوباکتریوم ها	
	کروم آگار EMB	افتراقی - انتخابی برای مخمرها	حاوی انوزین و متیلن بلو، لاکتوز، ساکارز، پپتون، دی پتاسیم، آگار و آب است. این محیط رشد باکتری های گرم مثبت را مهار می کند.
اختصاصی	BCYE	ایزوله لژیونلا و نوکاردیا	
	CTA	ایزوله کورینه باکتریوم دیفتریه	
	Lim Broth	ایزوله استرپتوکوک آگالاکتیه	این محیط حاوی کولیستین و نالیدیسیک اسید است.
	Mac Conkey Sorbitol Agar	جداسازی اشرشیاکلی O157	
	(Regan Lowe Agar)	ایزوله بوردتلا پرتوزیس	
	Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS)	ایزوله انواع گونه های ویبریو	
	Indole nitrate medium (INM)	باسیلوس ها	

فصل چهارم: آناتومی باکتری‌ها (بسیار مهم)

(۱) نوکلئوئید یا شبه هسته

مکانی خاصی در سیتوپلاسم که DNA سلول پروکاریوت در آنجا قرار دارد نوکلئوئید نام دارد. طول تقریبی DNA باکتری مانند اشرشیاکلی می‌تواند حدود یک میلیون متر است. اما به لحاظ تعداد باز می‌تواند از ۵۸۰ کیلو باز در مایکوپلاسما ژنیتالیوم تا ۹۴۵۵ در میکسوکوکوس زانتوس می‌تواند متغیر باشد. بار منفی DNA باکتری توسط پلی آمین‌های کوچک و یون‌های منیزیم تا حدودی خنثی می‌شود. DNA باکتری به صورت دو رشته ای حلقوی بوده که گاهی با RNA، RNA پلیمرز و پروتئین‌های دیگر همراه می‌باشد DNA باکتری‌ها البته می‌توانند خطی نیز باشند برای مثال در در بورلیا بورگدوفری (عامل لایم) و بورلیا هرمسی و استرپتومایسس خطی و دورشته ای است. هم چنین در *Agrobacterium tumefaciens* دارای یک کروموزوم خطی و یک کروموزوم حلقوی است. برخی باکتری‌ها دارای بیش از یک کروموزوم هستند مانند بورخولدريا سپاسیا، بروسلا ملی تنسیس، ویبریوکلره آ و داینوکوک. به فصل دوم مراجعه کنید.

(۲) غشاء سیتوپلاسمی یا غشای پلاسمایی یا غشاء داخلی (Cytoplasmic membrane)

این غشاء دارای ۶۰ تا ۷۰ درصد پروتئین، ۳۰-۴۰ درصد لیپید و مقادیر کمی کربوهیدرات دارند. بیشترین لیپیدها شامل فسفاتیدیل اتانول آمین (سفالین) (۷۵٪)، فسفاتیدیل گلیسرول (۲۰٪) و گلیکولیپیدها می‌باشند. در این غشا معمولاً کولین، اسفنگولیپید، اسیدهای چرب غیراشباع، اینوزیتیدها و استروئیدها وجود ندارد. ✓ ترکیباتی به نام هوپانوئید (Hopanoid) در غشای باکتری‌ها یافت شده اند که عملکردهای مشابه استرول (کلسترول) به عهده دارند. نقش آن‌ها سیالیت غشا و منبسط و منقبض کردن آن است. (جاوتز ۲۰۱۹)

باکتری‌پرنول یا آندوکاپرنول^۲

یک لیپید- الکل ۵۵ کربنه پلی ایزوپرنوئید (55 Isoprenoid)، هیدروفوب و ناقل با ساختار مشابه کمر بند می‌باشد که در مقادیر کم در غشاء سیتوپلاسمی باکتری موجود می‌باشد.

عملکرد اختصاصی غشاء سیتوپلاسمی

نفوذپذیری انتخابی و انتقال مواد محلول و ایجاد سد آسمزی، انتقال الکترون و عمل فسفوریلاسیون اکسیداتیو در باکتری‌های هوازی، ترشح آنزیم‌های هیدرولیز کننده، دارا بودن آنزیم‌های لازم جهت ساخت لیپیدهای کمپلکس و آنزیم‌های سازنده دیواره سلولی، دارا بودن گیرنده‌ها و سایر پروتئین‌های کموتاکسی و پاسخ به عوامل محیطی و انتقال حسی، ایجاد محلی برای اتصال کروموزوم

مکانیسم انتقال مواد از غشاء سیتوپلاسمی

نوع انتقال	مکانیسم	خصوصیات
غیرفعال یا Passive	انتشار ساده	نیاز به انرژی و گزینش مواد ندارد. مانند انتقال اکسیژن محلول، دی اکسید کربن و آب
	انتشار تسهیل شده	انتشار تسهیل شده (Facilitated) نیاز به انرژی ندارد ولی گزینش وجود دارد. انتقال ماده در جهت شیب غلظت انجام می‌شود. مانند انتقال گلیسرول
انتقال فعال اولیه	انتقال با واسطه پروتئین‌های اتصال	یا انتقال با پروتئین‌های متصل شونده (Binding protein-dependent transport) یا انتقال فعال مستقیم یا روش انتقال فعال اولیه یا روش انتقال با ABC (کاست‌های اتصال به ATP) یا انتقال حساس به شوک آیز می‌گویند. مانند انتقال کمپلکس آهن- سیدروفور
انتقال فعال ثانویه	انتقال کمواسموتیک (Chemiosmotic-driven transport)	این نوع انتقال به نام انتقال زوج شونده (coupled transport)، انتقال به صورت هم انتقالی (co-transport) نیز شناخته می‌شود. انواع انتقال دهنده‌ها شامل: انتقال یک ماده uniport: انتقال یک ماده به صورت مستقل از یون انتقال همزمان دو ماده (cotransport) به دو صورت است: 1- symport: انتقال همزمان دو ماده در یک جهت مانند انتقال یون H با قندهای ساده، اولیگوساکاریدها با واسطه‌های چرخه کربس، گلیسین و گالاکتوز. 2- antiport: انتقال دو ماده در خلاف جهت همدیگر مانند انتقال قندهای فسفاته به داخل سلول و خروج یون فسفات و هم‌چنین هیدروژن با سدیم
ترانس لوکاسیون یا جابجایی گروهی	انتقال گروهی (Group translocation) یا سیستم فسفو ترانسفراز (PTS)	در این نوع انتقال هیچ گونه تغییر ساختمانی ایجاد نمی‌شود و ماده در طی انتقال فسفریله می‌شود. پروتئین حامل با مصرف فسفوانول پیرووات (PEP)، فسفریله شده سپس حامل فسفریله شده به قند آزاد در غشاء خارجی اتصال می‌یابد و آن را به درون سیتوپلاسم رها می‌کند. ✓ این سیستم جهت انتقال قندها (گلوکز و مانوز)، حرکت باکتری به سمت منابع کربن (کمو تاکسی)، پاسخ کاتابولیک مانند واپس رانی کاتابولیک و انتقال پتاسیم به درون اشرشیاکلی استفاده می‌شود. ✓ به این سیستم، به خاطر فسفریله شدن مستقیم قند توسط ناقل، متابولیسم انتقالی یا وکتوری یا Vectoral metabolism نیز می‌گویند.

سیستم‌های ترشح پروتئین در باکتری‌ها

سیستم ترشحی عمومی^۴ (Sec system) دارای هر دو نوع وابسته به ترشح (sec Dependent) و مستقل از ترشح (sec independent) می‌باشد. اگر پروتئین‌ها دارای پپتید سیگنال در قسمت N ترمینال بوده و نیاز به برش داشته باشند از مسیر وابسته به ترشح انتقال می‌یابند. بعد از سنتز پروتئین و اتصال ناحیه پپتید سیگنال به آن، secB که نقش چاپرون، secA (نقش ATPase) به آن متصل می‌شوند.

^۱ATP – binding cassette transport

^۲Shock-sensitive

^۳Catabolic Repression

^۴General secretory system