

به نام خدا

میکروب شناسی

ویژه دانشجویان لیسانس به پزشکی

مؤلفین :

محمد حسینی ، سید مجتبی کشفی

فهرست

بخش اول: توصیه به دوستان	۵
فصل اول: مهمترین رویدادهای علم میکروبیولوژی	۵
فصل دوم: نام گذاری، طبقه بندی، شناسایی باکتری ها	۶
فصل سوم: میکروسکوپ، محیط کشت و رنگ آمیزی	۱۲
فصل چهارم: آناتومی باکتری ها (بسیار مهم)	۱۶
فصل ۵ و ۶: اصول کشت و متابولیسم	۳۱
فصل هفتم: مواد ضد عفونی کننده	۳۸
فصل هشتم: آنتی بیوتیک ها	۴۵
فصل نهم: ژنتیک پروکاریوت ها	۵۲
فصل دهم: فلور باکتریایی بدن	۵۷
فصل یازدهم: پاتوژن باکتریایی	۵۹
بخش دوم: سیستماتیک باکتری ها	۶۵
فصل اول: کوکسیهای گرم مثبت (استافیلوکوک ها)	۶۵
فصل دوم: کوکسیهای گرم مثبت (استرپتوکوک ها)	۷۱
فصل سوم: کوکسی های گرم منفی (نایسریا ها و...)	۷۹
فصل چهارم: کلیات خانواده انتروباکتریاسیه	۸۵
فصل پنجم: بررسی باکتری های خانواده انتروباکتریاسیه	۸۷
فصل ششم: ویبریوناسیه	۹۶
فصل هفتم: کمپیلوباکتر	۹۹
فصل هشتم: هلیکوباکتر	۱۰۱
فصل نهم: سودوموناداسه	۱۰۳
فصل دهم: هموفیلوس ها (خون دوست ها)	۱۰۶
فصل یازدهم: بروسلاها	۱۰۹
فصل دوازدهم: بوردتلا	۱۱۱
فصل سیزدهم: لژیونلا	۱۱۴

۱۱۵	فصل چهاردهم: باکتری‌های بی‌هوازی
۱۱۸	فصل پانزدهم: اسپيروكتاسيه‌ها
۱۲۴	فصل شانزدهم: مايكو باكتريوم
۱۳۰	فصل هفدهم: آكتينوميست‌ها
۱۳۲	فصل هجدهم: كورينه باكتريوم‌ها
۱۳۵	فصل نوزدهم: ليستريها
۱۳۷	فصل بيستم: باسيل‌های گرم مثبت اسپوردار (باسيلوس‌ها)
۱۴۰	فصل بيست و يكم: باسيل‌های گرم مثبت اسپوردار (كلستريديوم‌ها)
۱۴۵	فصل بيست و دوم: باكتري‌های درون سلولي اجباري (كلاميديا و ريكتزيا)
۱۴۸	فصل بيست و سوم: ريكتزياها
۱۵۱	فصل بيست و چهارم: باكتري‌های بدون ديواره (مايكوپلاسما)

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 ضدعفونی 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
۱۹۳۵	کشف اثر پرونتوزیل و سولفونامیدها توسط دوماگ
۱۹۴۳	کشف استرپتومایسین توسط واکسمن
۱۹۴۶	کشف کانژوگاسیون توسط لدربرگ و تاتوم
۱۹۴۶	جان اندرز ^{۱۰} برای اولین بار ویروس‌ها را کشت داد و راهی را جهت توسعه واکسن بنا نهاد.
۱۹۵۲	کشف ترانسداکشن توسط لدربرگ و زیندر
۱۹۷۷	تعیین توالی DNA (DNA sequencing) توسط گیلبرت و سانجر
۱۹۸۳	کشف PCR توسط کری مولیس

1 spontaneous generation یا Abiogenesis

2 helmont

3 Ingnaz Semmelweis

4 Oliver Wendell holmes

5 Ogsten

6 Roux

7 Roux and Yersin

8 Faber

9 Paul ehrlich

10 John Enders

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^۲ و طبقه بندی کرد.

✓ سیانوباکتری‌ها: قبلاً به آن‌ها جلبک‌های سبز آبی^۳ 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^۴ طبقه بندی می‌شوند.

✓ در منابع کنکور از باکتری‌هایی با ۷۵ میکرومتر قطر به نام **تیو مارگاریتا نامی بینسیس**^۵ (جاوتز) که قابل کشت است و باکتری بزرگ دیگری با قطر ۶۰۰ - ۸۰ میکرومتر با نام **آپولوپسیوم فیشل سونی**^۶ 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 بوریلیبورگدوفری (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 (اسپریمین و اسپرمیدین و پوتریسین) و یون‌های منیزیم خنثی می‌شود. جدول زیر برخی از این تفاوت‌ها بین پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها را نشان می‌دهد:

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 ویبریولکره، بروسلا، بورخولدیریا	بیش از یکی (پلی پلوئید)
نوع کروموزوم	معمولاً حلقوی و دورشته ای بجز بوریلیبورگدوفری و بوریلیا هرمتی و استرپتومایسس	معمولاً خطی و دورشته ای (بجز کلروپلاست و میتوکندری)
نوع تقسیم	دوتایی (Binary)	میتوز و میوز

1 Linnaeus

2 Nomenclature (naming)

3 blue-green algae

4 Kingdom Procaryote

5 Thiomargarita namibiensis

6 Epulopsicium fishelsoni

ویژگی‌ها	پروکاریوت‌ها	یوکاریوت‌ها
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 اسکلتی	از نوع دیواره سخت است	ندارند بجز در گیاهان
جریان (تموج) سیتوپلاسمی	ندارد	دارد
شبکه رتیکیلولپلاستیک (RE)	ندارد	دارد
واکئول	ندارد (بجز نوع گازی در باکتری‌ها)	دارد
فتوسنتز	در باکتری‌ها بدون تولید اکسیژن	با تولید اکسیژن
مزوزوم	دارد	ندارد
مواد اصلی دیواره	موکوپپتید	پکتین و سلولز
مواد تشکیل دهنده تاژک	فلاژلین	از ۱ + ۹ جفت میکروتوبول
استرول	ندارد (بجز در مایکوپلاسماها)	دارد
تقسیم جنسی	کانژوگاسیون	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)	اسکوتوباکتیریا
راسته (order)	یوباکتریال
خانواده (family)	انتروباکتریاسیه
جنس (genus)	اشرشیا
گونه (species)	کلی

دسته بندی باکتری‌ها

سیستم‌های نام گذاری و تاکسونومی^۱ و شناسایی

اولین بار طبقه بندی موجودات توسط کارلوس لینه^۲ انجام شد. وی را به عنوان پدر تاکسونومی نیز می‌شناسند.

1 Taxonomy
2 Carl Linnaeus

مفهوم گونه و سوش (Strain)

مفهوم گونه (species) که واحد زیر بنایی تکاملی یوکاریوتها می باشد در مورد باکتری ها معنای متفاوتی دارد. گونه را با SP (یک گونه) یا SPP (چند گونه) نشان می دهند. گونه ممکن است دارای زیر گونه یا subspecies باشد مانند بیوتا پ^۱، سروتا پ^۲ یا ژنوتا پ^۳. باکتری های موجود در یک گونه بسیار مشابه تر از یک خانواده یا کلاس هستند. سطوح تاکسونومی شامل موارد زیر است:

(۱) سطح نامگذاری^۴: برای نشان دادن شاخه، -es، برای کلاس، ia، برای راسته، -ales، برای خانواده، -aceae، و برای جنس و گونه همان نام های اختصاصی به کار می روند. 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 می شوند: *Escherichia coli* یا به صورت *E. coli*

(۲) طبقه بندی^۵ باکتری ها: اشکال مختلفی از طبقه بندی باکتری ها وجود دارد.

الف) طبقه بندی کلیدی: بر اساس خصوصیات قابل ارزیابی مانند بودن یا نبودن پیگمان قرمز برای مثال در سریشیامرسه سنس و باکتری های فتوسنتزی بنفش در یک گروه قرار می گیرند.

ب) طبقه بندی عددی (کامپیوتری، Phenetics و یا taxometrics) خصوصیات قابل شناسایی زیادی (حدود یکصد یا بیشتر) از باکتری ها به کامپیوتر می شود در صورتی که بیش از ۸۰ درصد این خصوصیات در باکتری ها شبیه هم باشد آن ها را در یک گروه قرار می دهند. مانند شاخص نمای تحلیلی (API^۶). معادلات نام گذاری با استفاده از اعداد مربوط به ویژگی بین باکتری ها به صورت ضریب تشابه جاکارد یا sj یا ضریب ساده مقایسه کننده SsM می باشد که عبارت است از: فقط فرمول ها 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 شاخص های مولکولی

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

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

د) طبقه بندی بر اساس سیستم برجی یا برجی^۷: 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 ^۸ (باکتری های فتوسنتتیک)		
فیرمی باکتری ها و تالوباکتری ها	باکتری های گرم مثبت	فیرمی کوتس (Firmicutes)
مایکوپلازما و مولیکوتس	باکتری های فاقد دیواره	تنری کوتس (Tenericutes)

1 biotype
2 serotype
3 genotype
4 Nomenclature
5 classification
6 Analytical profile index
7 Bergy
8 Photobacteria

و) سایر طبقه بندی‌ها

از نظر pH مطلوب برای رشد:

نوع باکتری	محدوده pH مطلوب	مثال
باکتری‌های اسیدوفیل	۵-۱	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، برخی آرکئوها،
باکتری‌های نوتروفیل	۵/۸-۵/۵	اکثر باکتری‌ها
باکتری‌های آلوکالوفیل	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 باکتری‌های 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 بی‌هوازی اجباری	اکسیژن سمی است. گیرنده‌های الکترون در این‌ها سولفات و بی‌کربنات است.
Aero tolerant بی‌هوازی تحمل کننده هوا	این باکتری‌ها در تماس با اکسیژن از بین نمی‌روند.
Facultative anaerobes بی‌هوازی اختیاری	که در شرایط هوازی و بی‌هوازی شرایط و توانایی رشد را دارا هستند.
Obligate aerobes هوازی اجباری	جهت رشد نیاز به اکسیژن دارند. مانند مایکوباکتریوم‌ها و سودوموناسها
Microaerophilic میکروآئروفیل	در فشارهای کم (۲ تا ۱۰ درصد) بهترین رشد را دارند مانند هلیکوباکتر، کمپیلوباکتر
capnophilic کپنوفیل	در شرایط حضور دی‌اکسید کربن ۵ تا ۱۰ درصد رشد می‌کنند مانند نایسریا، هموفیلوس، کاپنوسیتوفاگا.

طبقه بندی بر اساس منبع کربن و منبع انرژی:

طبقه بندی	منبع کربن	منبع انرژی	دهنده الکترون
فوتولیتوتروف ^۱ (فوتواتوتروف)	ترکیبات غیرآلی: CO ₂	نور	ترکیبات معدنی (H ₂ S, S)
فوتوآرگانوتروف ^۲ (فوتو هتروتروف)	ترکیبات آلی	نور	ترکیبات آلی (قند، لیپید پروتئین)
کمولیتوتروف ^۳ (کمو اتوتروف)	ترکیبات غیرآلی: CO ₂	ترکیبات شیمیایی (واکنش‌های اکسیداسیون - احیاء)	ترکیبات معدنی (NH ₃ , H ₂ , H ₂ S, Fe)
کموآرگانوتروف ^۴ (کمو هتروتروف)	ترکیبات آلی	ترکیبات شیمیایی (واکنش‌های اکسیداسیون - احیاء)	ترکیبات آلی (قند، لیپید پروتئین)

- 1 Photolithoheterotroph
- 2 Photoorganoheterotroph
- 3 Chemolithoheterotroph
- 4 Chemoorganoheterotroph

۳) شناسایی: ۱: مرحله سوم از تاکسونومی شناسایی باکتری مورد نظر با برخی از روش‌های ژنتیکی (ژنوتایپی) ۲ و فنوتایپی ۳ (بیوشیمیایی)، سرولوژی و... است. جدول زیر تفاوت روش‌های فنوتایپینگ، ژنوتایپینگ و بیوشیمیایی را نشان می‌دهد.

روش	مثال	توضیح
فنوتایپینگ	بررسی میکروسکوپی	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.
	سروتایپینگ	بررسی سرولوژیکی باکتری‌ها براساس آنتی‌ژن‌هایی که بر روی خود دارند و آنتی بادی برضد آن‌ها تولید می‌شود.
	بیوتایپینگ	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.
بیوشیمیایی	باکتریوسین تایپینگ	حساسیت به باکتریوسین باکتری‌ها که بر روی گونه‌های مشابه موثر نیستند.
	آنالیتیکی	آنالیز ترکیبات شیمیایی دیواره نظیر اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، LPS با کمک کروماتوگرافی (گاز - مایع یا GC) ۴.
	ژنوتایپینگ	بررسی و تعیین توالی بازهای DNA، آنالیز پلاسمیدی، بررسی درصد C+G و هیبریداسیون ژنومی (DNA-DNA، RNA-DNA و RNA-RNA)، ریبوتایپینگ و بررسی سیر تکاملی (فیلوژنی).

توضیح چند روش:

الف) روش گاز کروماتوگرافی GC، روشی بیوتیپی است که بیشتر برای افتراق بی هوازی‌ها مانند کوکسی‌های بی‌هوازی بکار می‌رود.

ب) روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز در میدان ضریان دار ۵ یا PFGE برای جداسازی قطعات بزرگ DNA استفاده می‌شود.

ج) روش الکتروفورز چندکانونه آنزیمی یا MLEE ۶ 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 ۷: 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 محدودالثر 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.

1 identification

2 Genotypic characteristics

3 Phenotypic characteristics

4 Gas chromatography (GC)

5 Pulsed field gel electrophoresis

6 Multilocus Enzyme Electrophoresis

7 Sodium Dodecyl Sulfate polyacrylamide Gel Electrophoresis یا SDS - PAGE