M E D I C A L

MICROBIOLOGY

1

مقدمه و طبقه بندی باکتری ها

دکتر میرصالحیان

پیاده ساز:کوثر پاک سرشت

ویرایش:بابک اسعدپور، مریم آقاجانی

تایپ:مریم آقاجانی، نیلوفر اصفهانیان

iranpuyesh.ir

GROUP 89 A

گروه جزوه 89 الف - - - گروه جزوه 89 الف - - - گروه جزوه 89 الف - - - گروه جزوه 89 الف - - - گروه جزوه 89 الف - - - گروه جزوه 89 الف - - - گروه جزوه 89

نظر به اینکه استاد درنخستین جلسه،تاریخچه ای نسبتا مفصل(!) از علم میکروب شناسی بیان کردند،اهم این مباحث بطور خلاصه در این بخش گنجانده خواهد شد:

تاریخچه

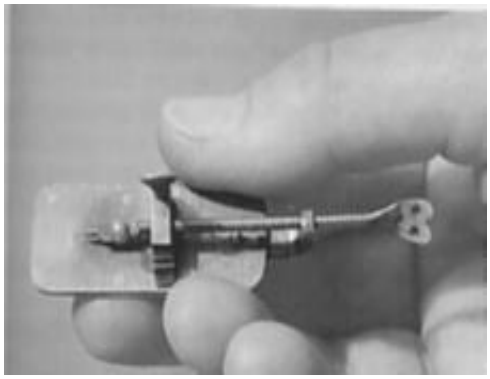
- **در دوره ای از تاریخ ،بشر بیماری ها را به گناهانی که فرد مبتلا،در زندگی خود انجام داده بود،نسبت می داد:**

جگر چون نافه ام خون گشت،کم زینم نمی باید

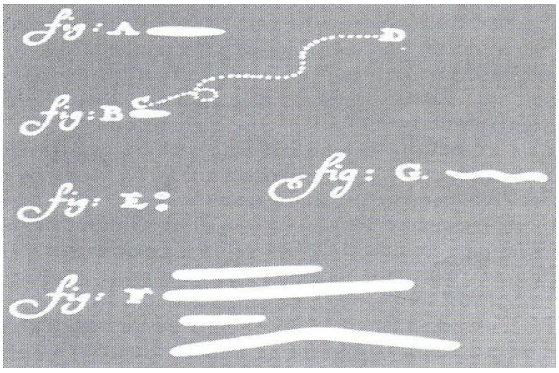
جزای آن که با زلفت سخن از چین خطا گفتم D:

- **در دوره های بعد،دانشمندان بیماری های واگیردار را مطرح کردند،اما نمی توانستند علل آن هارا بیان کنند.یکی از این دانشمندان،**varro **بود که اعتقاد داشت جذام بیماری واگیر است و از فردی به فرد دیگر منتقل می شود.بعدها فردی به نام** fracastorius **،بیماری واگیر دیگری را مطرح کرد و علی رغم عدم تشخیص میکروارگانیسم،عامل بیماری را** seminaria morbi **نامید.امروزه میدانیم** seminaria morbi **عامل بیماری "سفلیس" در انسان است.**
- **گمانه زنی ها راجع به بیماری ها و عوامل انتقال دهنده ی آن ها،تا قرن** 13**(عصر اپتیک یا ارشمیدس) ادامه داشت ؛دراین زمان افرادی مثل گالیله و روژه بیکن،توانستند اجرامی را از پشت لنزهای ساخته ی دست خود ببینند اما موفق به کشف میکروارگانیسم ها نشدند.**

در قرن 17**،**Antoni Van Leeuwenhoek **که تاجر پارچه بود،از روی علاقه به ساخت عدسی و مشاهده ی اجرام ریز پرداخت و توانست میکروارگانیسم ها را کشف کند.وی از مشاهداتش،برای انجمن سلطنتی انگلستان گزارشی تهیه کرد و اجرام مشاهده شده زیر میکروسکوپ را "**animalcule**"(حیوانک) نامید.**



میکروسکوپ ساخته شده توسط هوک



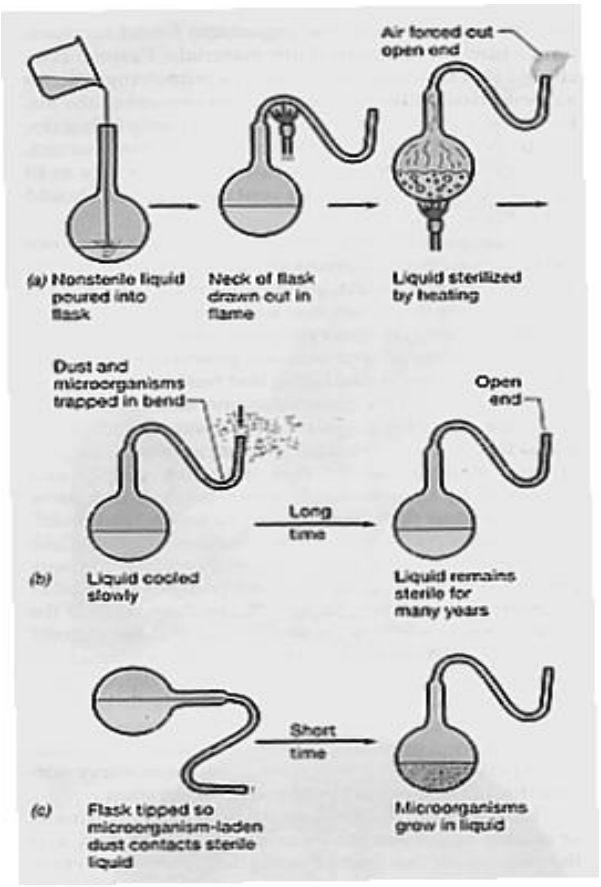
اشکال رسم شده از animaculeها توسط هوک

- **بعد از ساخت میکروسکوپ های اولیه که از یک عدسی تشکیل شده بودند،"رابرت هوک" توانست میکروسکوپ های مرکب را بسازد که شبیه میکروسکوپ های امروزی و دارای دوعدسی مجزای چشمی و شیئی بود.میکروسکوپ های مرکب بزرگنمایی بیشتری برای مشاهده ی اجرام ریز فراهم کردند.**

با وجود اختراع میکروسکوپ های مرکب،بشر دچار توهمی شده و همین موضوع باعث ایجاد رکود درسیر شناخت بیماری های واگیر می شود.این توهم،زاییده ی مکتب "abiogenesis" بود که نظریه ی "خلق الساعه" را مطرح کرد.افراد پیرو این مکتب اعتقاد داشتند که نیازی نیست به دنبال عوامل ایجاد بیماری گشت،زیرا این عوامل به طور خودبخودی و تصادفی در محیط به وجود می آیند.

این نظریه تا زمانی ادامه داشت که پاستور با انجام آزمایش معروف خود،موسوم به "آزمایش ظرف قویی شکل" ثابت کرد که اجسام خودبخود بوجود نمی آیند و خط بطلانی بر این نظریه کشید:

آزمایش ظرف قویی شکل



پاستور در داخل یک ارلن،مایع ریخت(به عنوان محیط کشت) و دهانه ی ظرف را به کمک حرارت خم کرد.سپس مایع درون ظرف را جوشاند تا استریل شود.بعد ازاینکه وی،مایع را به حال خود رها کرد،تغییری در آن حاصل نشد.(نشانه آلودگی مایعات تیرگی و کدورت آنهاست که پاستور مشاهده اش نکرد!)سپس دهانه ی ظرف را که خمیده(s-shape) بود،در معرض گردوغبار قرارداد.بازهم تغییری در رنگ مایع ایجاد نشد؛چون گردوغبار و میکروارگانیسم ها در خم لوله به دام می افتادند.در مرحله ی بعد،او ظرف را به حالت افقی قرارداد،به گونه ای که مایع درون ظرف با خم اول که آلوده به ذرات گردوغبار بود،تماس پیداکرد.سپس ظرف را به حالت عمودی قرار داد و پس از گذشت24-48 ساعت،مشاهده کرد که مایع درون ظرف کدر شده است(که نشانه حضور و رشد میکروارگانیسم ها بود.)

- رابرت کخ

از آن جایی که برخلاف پاستور،کخ یک پزشک بود،تحقیقات خود را برپایه ی یافتن عوامل بیماری های واگیر استوار ساخته بود.او آزمایش هایی انحام داد تا بفهمد چگونه می توان بین عامل بیماری و خود بیماری،ارتباطی اصولی برقرار کرد.وی فرضیاتی را ارائه داد که امروزه با نام "اصول کخ" معروفند.

❖ آن زمان بیماری "شاربن"یا "سیاه زخم" بین گوسفندان شایع شده بود که باعث قلع و قمع آن ها می شد.گوسفندان مبتلا به این بیماری،باد می کردند و از سوراخ های بدنشان خون غلیظ قیرمانند خارج می شد.

کخ،برای پاسخ به سوالات خود،میکروب را از ترشحات خونی خارج شده از حیوان مبتلا گرفت و آن را ،از طریق صفرا،به یک موجود آزمایشگاهی حساس- خوکچه هندی- تلقیح کرد.او مشاهده کرد که خوکچه بعد از گذشت یک روز تلف شد؛در حالیکه مورد کنترل(شاهد)سالم بود.وی از خون خوکچه هندی تلف شده اسمیر تهیه و زیر میکروسکوپ مشاهده کرد.او بین گلبولهای قرمز خون،اجسام باسیلی شکلی را دید.این درحالی بود که این میکروبها در نمونه خون حیوان شاهد وجود نداشتند.

این آزمایش،منجر به ارائه فرضیه یا *اصل اول* کخ شد.این اصل بیان می دارد:"زمانی می توانیم بین بیماری و عامل به وجود آورنده ی آن ارتباط برقرار کنیم که مشاهده ی مستقیم داشته باشیم.یعنی عامل بیماری زا را در نمونه اسمیر فردموردنظر(فردمبتلا)مشاهده کنیم."

این اصل هنوز هم در آزمایشگاه میکروب شناسی،اولین مرحله ی کار ما (ما؟) است. نمونه ی استثنای این اصل ویروس ها هستند که برای مشاهده شان،به میکروسکوپ الکترونی نیاز است.

- **<u>*اصل دوم*</u> بیان می دارد که پس از کشت نمونه ای که در مرحله ی قبل، از جاندار مبتلا بدست آوردیم،باید بتوانیم کلونی(پرگنه) هایی را باچشم غیر مسلح ببینیم.این کلونی ها در واقع توده هایی از میکروارگانیسم های درحال رشدند.**

  - **دروهله ی اول کشت ممکن است یک باکتری را کشت داده باشیم ولی بعد از 24-48 ساعت که در گرمخانه 37°c باقی بماند،تبدیل به میلیونها باکتری می شود و آن گاه می توانیم با چشم غیرمسلح آنها راببینیم.**
  - **محیط کشتی که کخ از آن برای کشت باکتری ها استفاده کرد،محیط جامد آگار(ژلوز) بود که امروزه هم در سطح وسیع مورد استفاده قرار می گیرد.**
  - **نکته ای که در این جا مطرح است،این است که برخی باکتری های پاتوژن قابل کشت نیستند.مثل عامل سفلیس(توپونما پالیدوم) و جذام(مایکوباکتریوم لپره).اینگونه موارد از نمونه های استثنای این اصل شمرده می شوند.**

- **کخ برای اثبات اینکه باکتری کشت داده شده،همان باکتری است که از حیوان مرده جدا کرده بود،باکتری را به حیوان دیگری تزریق کرد و مشاهده کرد که این حیوان نیز علایمی شبیه حیوان مبتلای اول بروز داد.در واقع <u>*اصل سوم کخ*</u> این است که زمانی می توان بین عامل پاتوژن و بیماری ارتباط برقرار کرد که اگر از باکتری ها ی کشت شده به حیوان آزمایشگاهی حساس تلقیح کنیم،علایم همان بیماری در آن ظاهر گردد.**

این اصل هم مثل سایر اصلها ی مذکور دارای موارد استثنا است:بیماری هایی مثل سفلیس و زخم دئودنوم و کارسینومای معده(عامل مولد:هلیکوباکتر پیلوری) فاقد میزبان حساس در بین سایر جانداران هستند و درصورت تلقیح،آنهارا بیمار نمی کنند.

- **تا چندی پیش تصور بر این بود که عامل جذام هم فاقد میزبان حساس بین جانوران است ولی بر اساس شواهد موجود، "آرمادیلو" علایم بیماری را شبیه انسان بروز می دهد(مهر86-ویراستار)**

- **<u>*اصل چهارم*</u>: زمانی میتوانیم ثابت کینم این باکتری همان باکتری مرحله اول است،که اگر از حیوان حساس (که در مرحله آخر تلقیح صورت داده بودیم) اسمیر تهیه کنیم،همان باکتری هایی را ببینیم که در اسمیر اول مورد مبتلا دیده بودیم.**

امروزه،به دلیل نواقص اصول چهارگانه ی کخ،موارد بیشتری به آن اضافه و برخی قسمتهایش تصحیح شده است.

- **امروزه در آزمایشگاه های میکروب شناسی،بیشتر از آزمایشهای بیوشیمیایی استفاده می شود تا آزمایش های** animal-based .

بنده از همین تریبون،پایان تاریخچه را اعلام میکنم :)

قبل از مشاهده و کشف میکروارگانیسم ها،بشر موجودات زنده را به دو گروه گیاهان و جانوران تقسیم می کرد.اما پس از آن سلسله ی جدیدی به نام "آغازیان protozoa **" شکل گرفت که شامل تمامی موجودات میکروسکوپی اعم از باکتری ها،قارچ ها،تک یاخته ها،جلبک ها ی تک سلولی و احتمالاً شلغم و آجر پاره (وا ...!! ☺!!!) بود.**

پس از اختراع میکروسکوپ الکترونی و مشاهده ی دقیق تر باکتری ها،انسان توانست بفهمد که باکتری ها بدور DNA خود غشا ندارند(درواقع داخل باکتری ها عاری از هرگونه غشا است).بنابراین باکتری ها را در یک سلسله ی جداگانه،به نام"پروکاریوت" و کل موجوداتی را که دارای غشای هسته بودند در سلسله ی "یوکاریوت " قرار داد.

تفاوت های بین سلولهای p.k و u.k

پروکاریوت ها دارای پیش هسته یا هسته ی اولیه اند،چون هسته شان غشا ندارد.ولی یوکاریوت ها دارای هسته ی حقیقی اند.بنابراین major group ، یوکاریوت ها هستند که شامل جلبک ها،قارچ ها،پروتوزوئاها(تک یاخته ها)،گیاهان و جانوران است.

- پس اختلاف کلیدی بین p.k و u.k همین غشا هسته است که این گروه ها را ازهم جدا میکند.
- اختلاف دیگر،اندازه ی آنهاست یوکاریوتها بیش از 5میکرون قطر دارند؛درحالیکه قطر پروکاریوتها حداکثر بین 0.5 تا 3 میکرون است.
- ساختار هسته: گفتیم که پروکاریوتها فاقد غشا هسته اند،درضمن باکتری ها عمدتا یک کروموزوم دارند.این کروموزوم درواقع از زنجیره ای متصل به هم تشکیل شده که به صورت حلقوی است،در حالیکه در یوکاریوتها تعداد کروموزوم ها خیلی بیشتر و خطی است.

ژنوم یوکاریوتها دیپلوییدی است اما برای باکتری ها هاپلوییدی وsingle است.البته برخی باکتری ها مثل borrelia burgdorderi (عامل بیماری lyme) حاوی کروموزوم خطی است.کروموزوم خطی در چندگونه از streptomyces هم یافت شده است.

طول کروموزوم در برخی گونه ها همانندE.coli به mm1.33 نیز می رسد که نمایانگر فشردگی بسیار زیاد کروموزوم است(؟)

DNA های خارجی کروموزومی هم در برخی از باکتری ها وجود داشته و "پلازمید" نام دارد.بیشتر پلازمیدها حاوی عامل مقاومت به آنتی بیوتیک است(!unfortunately)

- ساختار سیتوپلاسمی:اختلاف فاحشی بین سیتوپلاسم p.k و u.k وجود دارد.اصولا ما با تموج سیتوپلاسمی در سلولهای یوکاریوت مواجه هستیم:اینکه اندامک ها در سیتوپلاسم جابجا می شوند و سیتوپلاسم حالت پویا دارد.
- ارگانل های داخل سیتوپلاسمی:میتوکندری در یوکاریوتها مرکز واکنش های تنفسی(فسفریلاسیون اکسیداتیو) به شمار می رود اما در p.k ها وجود ندارد و وظیفه اش را غشای باکتری انجام می دهد. دستگاه گلژی و شبکه اندوپلاسمی هم در باکتری ها وجود ندارد.ولی ریبوزوم را نمی توانند نداشته باشند،چون مرکز سنتز pr است.ریبوزومهای باکتری ها از نوع70s است (تشکیل شده از زیرواحدهای 30s و 50s)،درحالیکه ریبوزومهای u.k ها از 60s و 40s بوجود آمده و 80s اند.

s ضریب سودبرگ بوده و مربوط به ته نشین شدن prهای ریبوزومی است و همین اختلاف است که باعث می شود ما به راحتی آنتی بیوتیک هایی را مصرف کنیم که روی ریبوزومهای باکتری ها تاثیر گذاشته و از ستزprهایشان جلوگیری کند ولی روی سلولهای بدن ما تاثیر نداشته باشد.

- غشای سیتوپلاسمی:وظایف آن در دو گروه متفاوت ولی ساختار آناتومیک بسیار مشابه است.یعنی همان دولایه فسفولیپیدی(ساندویچی شکل) است.در غشای سلولهای یوکاریوتی ترکیب استروئیدی وجود دارد(مانند کلسترول و ارگوسترول) ولی معمولا در p.kها فاقد استرول

است.البته استثنا همئ داریم:باکتری هایی به نام مایکوپلاسما؛در غشایشان استرول دارند.نکته ی بالینی مهم اینکه قارچ هایی که در انسان پاتوژن اند،حاوی ارگوسترول در غشا هستند.و ما که داروهای ضد قارچ مصرف می کنیم برای ازبین رفتن غشای سلولی قارچ ها است.اما همین داروها برای p.k ها بی تاثیرند.

- **دیواره سلولی(cell wall):سلولهای گیاهی و برخی از قارچ ها دارای جدارسلولی اند که این جدار در سلول های گیاهی ازجنس سلولز و در قارچ ها ازجنس کیتین است.سلولهای p.k حتما دارای دیواره سلولی هستند.البته استثنا هم وجود دارد:مایکوپلاسما فاقد این دیواره است.**
- **تولیدمثل:u.kها معمولا دارای هردونوع تقسیم جنسی و غیرجنسی هستند،اما در p.kها جنسیت مطرح نیست و همین که یک باکتری به رشد متعالی رسید،تبدیل به دو باکتری می شود و به همین ترتیب تقسیم دوتایی ادامه می یابد.به همین دلیل تکثیر ورشد باکتری ها قابل مقایسه با هیچ موجود زنده ای نیست؛چون به سرعت رشد می کنند.(در آزمایش های کخ دیدیم که باکتری ظرف 2-1 روز کلونی ای را می سازد که با چشم غیرمسلح قابل تشخیص است.)به طوری که برآورد می شود تعداد میکروارگانیسم های روی کره ی زمین (پنج در ده به توان سی)عدد است.{ازحضور دوستان عذر میخوام که تایپ ریاضی بلد نیستم ☹}و تعداد باکتری هایی که دربدن ما هستند،به مراتب بیشتر از تعداد سلولهای بدن ماست.**

پس نتیجه گرفتیم که تولیدمثل باکتری ها تقسیم دوتایی است و زمان کمی هم برای ین تقسیم موردنیاز است.مثلا تعداد E.coli در ده دقیقه دوبرابر می شود؛البته هستند باکتری هایی که همانند u.k ها بعد از ده ساعت دوبرابر می شوند.

- **حرکت:یوکاریوتها به کمک تاژک،مژه و پای کاذب حرکت می کنند.باکتری ها هم بعضی حرکت دارند و بعضی نه.این حرکت ربطی هم به gram +,- ندارد!**

به محل استقرار کروموزوم باکتری،نوکلوئید گفته می شود و معمولا کروموزوم در اشکال کشیده ی باکتری (باسیل ها) در طول قرار دارد،نه در عرض.

ضمائم داخل سیتوپلاسمی سلولهای p.k بسیار ساده و شامل پلازمید و ریبوزوم اند.درu.kها ضمائم بسیار زیادند اعم از گلژی و RER و....البته یک سری دانه های ذخیره ای درسیتوپلاسم p.k ها وجود دارد .مثلا دانه های حاوی چربی که از بتاهیدروکسی بوتیرات به وجود آمده است؛یا دانه های ذخیره ای گلیکوژن ویا ذراتی به نام پلی متافسفات که حاوی فسفر اند و نام های بسیاری هم دارند اعم از:دانه ای volutin,babes –ernst, دانه های قطبی یا دانه های متاکروماتیک .

فسفر باکتری ها از این دانه ها تامین می شود.این دانه ها در یک یا دوقطب باکتری ها هستند و وجودشان شکل باکتری را عوض می کند.وجود این دانه ها به تشخیص میکروسکوپی برخی باکتری ها کمک می کند.

- **مزوزوم:برجستگی ها و فرورفتگی هایی در سطح داخلی غشا که احتمالا در تقسیم سلولی نقش داشته و ممکن است به کروموزوم متصل باشند.**
- **گرانول های much ، گرانولهای گرم + غیراسیدی اند که در ترشحات توبرکلوز یافت می شوند و گمان می رود توسط tubercle bacillus تغییر می یابند.**

مایکوپلاسما که کوچکترین باکتری ها هستند،از فیلتر عبور می کنند.واکسن ها را برای استریل شدن از صافی عبور می دهند؛ولی مایکوپلاسماها به دلیل کوچک بودن از صافی عبور می کند و باعث آلودگی واکسن می شود.

بررسی روند طبقه بندی باکتری ها در طول سالیان

اساسا تمام موجودات زنده برای مطالعه نیاز به طبقه بندی دارند که مثلا اگر در آینده ،میکروب جدیدی از مریض جدا و کشف شد،بتوان آن را با نمونه های موجود تطبیق داد؛که به این علم ،طبقه بندی (taxonomy) گفته می شود.

Taxonomy شامل سه قسمت است:

1-Classificationیا طبقه بندی موجودات

2-Identification یا تعیین هویت: یعنی مثلا باکتری پاتوژن را قبلا شناخته ایم و هنگامی که از مریض میکروبی جدا می کنیم و بعد شناسایی میبینیم که همان میکروب شناسایی شده است.

3-(!?) Nomenclature: نامگذاری...بالاخره هر موجودی که یافت می شود باید به طریقی نام گذاری شود،دیمی که نیست (;

- طبقه بندی whittaker (برگ شبدری) :موجودات شامل 5 kingdom هستند:جانوران،گیاهان،قارچ ها،باکتری ها و پروتیستا(آغازیان)

پس از ویتاکر،woese به همراه همکارانش ادعا کرد که 2سلسله بیشتر نداریم:u.kها و p.k ها.وی تمام موجودات بجز باکتری ها را در سلسله یوکاریوتها قرار دارد.

امروزه یک طبقه بندی وجود دارد به نام: 3-kingdom classification که کل موجودات را در 3 domain قرار می دهد:

I. باکتری ها که به وفور در طبیعت یافت می شوند

II. آرکئا که قبلا به آن آرکئو باکتری ها می گفتند و جزو pk ها محسوب می شدند.ولی اخیرا آ ن ها را جدا کرده اند زیرا تفاوت فاحشی بین آنها هست:مثلا آرکئا ها جدارسلولی به آن معنا که در باکتری هست،ندارند و دیواره شان کاذب است./متانوژن هستند(متان تولید می کنند.)/هالوفیل اند(نمک دوست افراطی)/ترموفیل اند(دمای آب جوش را تحمل می کنند)و...

آرکئاها هیچ کدام پاتوژن نیستند و آنها را به سلولهای اولیه حیات نسبت می دهند.(archea = باستانی)

III. یوکاریوت ها

- Taxonomic rank:

Kingdom (domain) سلسله(phylum (division→ شاخهclass→ رده order→ راستهfamily→ خانوادهtribe→ دستهgenus→ جنس species→گونهsubspecies→ زیرگونه

←پسوند order در موجودات،از جمله باکتری ها "ales " است.مثلا می گوییم اسپیروکتالز

←برای family از پسوند "aceae" استفاده می کنیم:مثلا می گوییم اسپیروکتاسیه یا انتروکتاسیه

وقتی به مرحله ی جنس می رسیم،یعنی باکتری هویت پیدا می کند.پس وقتی ما نمونه ای از مریض جدا کردیم و دروهله ی اول به عنوان مثال خانواده یا راسته ی باکتری را تشخیص دادیم ،کافی نیست و باید در آزمایشگاه مرحله به مرحله جلو برویم تا به جنس برسیم.تشخیص جنس(سرده) باکتری مرحله ی خیلی حساسی است ولی بازهم کافی نیست.مثلا کافی نیست که بگوییم تشخیص ما اشرشیا است،بلکه باید گونه ی باکتری هم شناخته شود که این شناسایی براساس آزمونهای بیوشیمیایی است.بعنوان مثال ،درمورد اشرشیاکولای،اشرشیا نام جنس باکتری است و کل کلمه ،نام گونه ی باکتری

است.پس نام گونه دوقسمت دارد و درنوشتار انگلیسی آن باید دقت کرد که اولین حرف جنس،بزرگ باشد و بقیه کوچک:*Escherichia.coli* درضمن کل نام هم باید ایتالیک نوشته شود.

گاهی باید علاوه بر گونه،زیرگونه هم تعیین شود که در مطالعات اپیدمیولوژیک کاربرد دارد.مثلا میخواهیم بررسی کنیم ببینیم E.coli که از بیماری در مشهد جداشده،همان است که در تهران جدا شده!؟!

تعیین زیرگونه در عفونتهای بیمارستانی هم حائز اهمیت است که ببینیم عاملی که در بیمار بستری ایجاد بیماری کرده،منشا درون بیمارستانی دارد یا برون بیمارستانی (; و درواقع این کار ما،کنترل عفونت است.

روش های مختلف شناسایی زیرگونه ها

1)یک روش ساده،serotyping است که با روش های سرولوژی زیرگونه ها را شناسایی می کنند.2) genotyping که براساس روش های ژنتیکی است. 3) phagotyping استفاده از باکتریوفاژها(ویروسهایی که به باکتری حمله می کنند.) 4)pathotyping براساس اثرات پاتولوژیک که باکتری روی بیمار گذاشته 5) antibiotic typing استفاده از آنتی بیوتیک ها 6) biotyping روش های بیوشیمیایی یا بیولوژیک یا فیزیولوژیک

- دو واژه متداول در میکروب شناسی
  - ایزوله کردن
  - سویه
    - فرانسوی ← سوش
    - انگلیسی ← strain

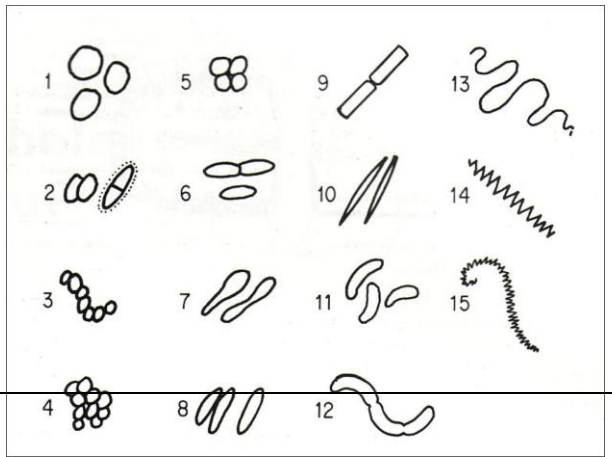
1-وقتی ما یک باکتری را از مریض می گیریم (مثلا در نمونه lumbar puncture)و کشت می دهیم کلنی های مختلفی ایجاد می شود که ما یک کلنی را می خواهیم و آن را از بقیه جدا می کنیم که به این کار ایزوله کردن می گویند .

2-سویه در واقع یک رده پایین تر از sub species است .یعنی یک تک کلنی از کشت خالص یک باکتری (همان طور که در تعریف ایزوله کردن گفتیم یک کلنی را از بقیه کلنی ها جدا می کنیم حال این تک کلنی سویه نام دارد)و مراکز علمی هستند که این سویه ها را می فروشند (سویه مرجع reference strain) که خیلی هم گرونه !(هر باکتری $ 300-400)به این دلیل سویه مرجع مهم است .

در هر مطالعه علمی نیاز به یک شاهد (control) داریم .بنابراین سویه مرجع باید در کنار کارهای ما باشد .حتی در آزمایشگاه های تشخیص طبی هم مهم است .(مثلا در آزمایشگاه میکروب ، آنتی سرم ها، رنگ ها و ...را باید اول روی سویه مرجع امتحان کنیم)

- ویروس ها موجوداتی هستند که نه پروکاریوت اند و نه یوکاریوت .چون از خود حیاتی ندارند و مرز بین حیات و ممات اند.

(بی عمر زنده ام من و این بس عجب مدار روزی فراق را که نهد در شمار عمر)



- شکل باکتری :در مورد پروکاریوت ها شکل خیلی ساده است و در حد همان چند شکل (باسیل و...)است که در اسلاید داریم و کاملا برعکس یوکاریوت ها بسیار متنوع اند .که هر کدام از

اشکال باکتری نامی دارد (اولین اقدام ما در آزمایشگاه تهیه اسمیر و مشاهده است سپس برایش نام انتخاب می کنیم)

- **اشکال :**

1. **اولین شکل که بسیاری از باکتری ها دارای آن هستند کروی است که به آن کوکوس می گویند .(کوکوس به زبان یونانی یعنی دانه و جمع آن کوکسی یا کوکسای است (پس می گوییم کوکوس ها یا کوکسی و نه کوکسی ها !)**
2. **وقتی دو کوکوس در مقابل هم قرار گیرند به آن دیپلوکوکوس یا دیپلوکوک گویند . مثلا یکی از بیماری های شایع در انسان را یک باکتری به نام پنموکوک ایجاد می کند که عامل ذات الریه در انسان است که معمولا در زیر میکروسکوپ به صورت دیپلوکوکسی دیده می شود .حال اگر چند دیپلوکوک را در زیر میکروسکوپ دیدیم دیپلوکوکسی می گوییم یا دیپلوکوک ها .**
3. **استرپتوکوکوس :کوکوسی که تقسیمات دوتایی اش در یک جهت انجام شده است .برخی از باکتری های پاتوژن اینگونه اند (چند رشته ← استرپتوکوکسی – استرپتوکوک ها)**
4. **اگر کوکوس تقسیماتش را در سه جهت انجام دهد چون فرم کلاستر یا خوشه ای دارد به آن استافیلوکوکوس می گویند که به زبان یونانی استافیل ←خوشه انگور کوکوس ← دانه یعنی دانه های شبیه خوشه انگور .**
5. **فرمی از کوکوس ها که 4 تا 4 تا دیده می شود تتراد نام دارد .که اگر به صورت بسته های مکعب مستطیل باشد به آن ها سارسین گویند**
6. **نه کاملا کشیده و نه گرد ←بیضی ←کوکوباسیل نام دارد .**

از این به بعد اشکال کشیده ی باکتری هاست (اول به همه شون می گفتیم باسیل اما الان اسم اختصاصی دارند)

7. **باکتری هایی که دارای دانه های قطبی از نوع پلی متا فسفات هستند معمولا یک قطبشان متورم می شود و شکل باکتری را عوض می کند بنابراین انها را اشکال کورینه فرم (چماقی شکل –گرزی شکل) مثل کورینه باکتریوم دیفتریا (عامل دیفتری انسانی)**
8. **اشکال کشیده باکتری بدون مشخصه ی خاص که فقط دو انتهای آن گرد است ← rod shape (میله ای شکل)که باکتری های گرم منفی روده ای که به وفور هم یافت می شوند اینگونه هستند .**
9. **باسیل تیپیک ← به یکی از آن (مفرد) باسیلوس می گویند .تفاوت آن با rod shape (میله ای شکل)این است که که دو انتهای آن صاف و زاویه دار است (گرد نیست)**

حال مثلا اگر دو تا باشند ← دیپلوباسیلوس چند تا باشد ←استرپتو باسیلوس

10. **فرم کشیده ای از باکتری ها که دو انتهای آن تیز است و دوکی شکل اند fussi form یا دوکی شکل نام دارد .مثلا باکتری های میکروو فلور(؟) در دهان انسان**
11. **فرم خمیده باکتری : ویبریو (خمیده) نام دارد که سابقا به آن کوموباسیل می گفتند (کامایی شکل).مثلا عامل وبا ویبریو کلره نام دارد (تقریبا به شکل بادام هندی)**

12. فرم خمیده ای که شبیه کلاه ~ است یا همان اشکال S شکل . مانند هلیکو باکتر پیلوری که عامل بیماری Deodona Alcer در انسان است .

- ✓ 13 و 14 و 15 جز باکتری هایی محسوب می شوند که در راسته ی اسپیرو کتالز قرار می گیرند که چندین خانواده در این راسته وجود دارد . یکی از این خانواده ها خانواده ی اسپیروکتاسیه است .

13. بورلیا که یک سرده از خانواده مزبور است و گونه های مختلفی دارند مثلا عامل بیماری تب راجعه یک نوع از همین بورلیا است .

14. اسپیروکت دیگری به نام ترپونما .(ترپنوم به معنای نخ است) در زیر میکروسکوپ نوری دیده نمی شود و نازک است مگر این که با رنگ اختصاصی ضخیمش کنیم مثلا اسید تانیک اضافه می کنند تا باسیل را ضخیم کنند . یکی از گونه های ان عامل سفلیس است به نام ترپونما پالیدوم (نخ رنگ پریده) که رنگ پریدگی اش به خاطر تاژک و غیر قابل دیدن ان است . طول آن البته خیلی زیاد است (μm 200–300)

15. لپتوسپیرا : که مورفولوژی آن ها این گونه است که پیچ های خیلی ریزی دارد و عامل بیماری لپتوسپیروز در انسان است

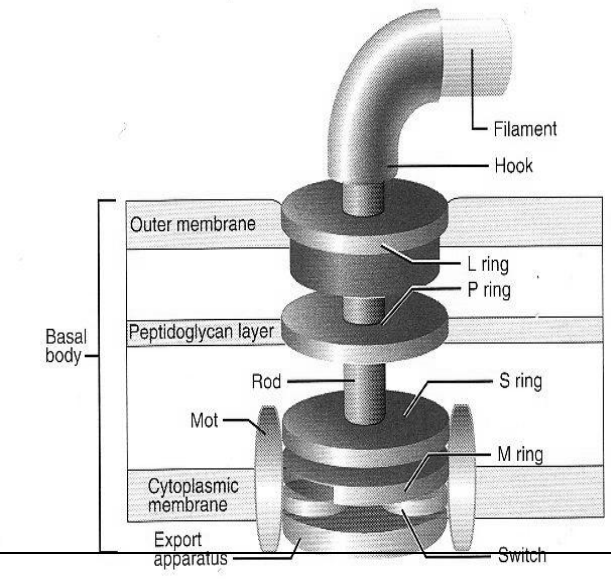
- ✓ *اگر باکتری ها رنگ نشوند و روی لام ثابت نشوند به خوبی دیده نمی شوند و وضوح ندارد. بنابراین از قدیم (زمان کخ)روش هایی برای رنگ آمیزی اسمیر باکتری ها به وجود آمد*

- ➢ ***2** نوع رنگ آمیزی بیش تر نداریم :*

1- رنگ آمیزی ساده که با یک رنگ انجام می شود.مثلا روی اسمیر (گسترش تهیه شده) متیلن بولو اضافه می کنند که به آن رنگ آمیزی متیلن بولو هم می گویند .

2-رنگ آمیزی مرکب که دو نوع رنگ استفاده می شود که یکی از معروف ترین آنها رنگ آمیزی گرم است (به افتخار خانم گرم که این روش را ابداع کرد)

برای رنگ آمیزی بعد از تهیه ی گسترش (که باید خیلی نازک باشد) می بایست گسترش را خشک کنیم و سپس براثر حرارت فیکس کنیم .در بافت شناسی معمولا با متانول اسمیر را فیکس می کنیم تا به سطح لام بچسبد .بعد از آن یک رنگ کریستال ویوله (ویوله دوژانتین) اضافه می کنیم (که بنفش است).بعد از حدود 1 دقیقه ، آن رنگ را خالی می کنیم و لوگل اضافه می کنیم (که به رنگ دانه زدن معروف است)و برای تثبیت رنگ کریستال ویوله استفاده می شود .سپس آن را دکالریزه یا رنگ زدایی می کنیم تا رنگ کریستال ویوله خارج شود . بعضی از باکتری ها با این روش رنگ کریستال ویوله را از دست می دهند و بعدا با سافرانین(؟) به رنگ صورتی در می آیند (گرم منفی)ولی برخی این رنگ را از دست نمی دهند و به رنگ بنفش باقی می مانند (گرم مثبت)[1]



- ➢ **از خارج به داخل باکتری را بررسی می کنیم :**

1 وقتی خانم گرم این روش را ابداع کرد نمی دانست چرا برخی از باکتری ها رنگشا
باکتری های گرم مثبت و منفی است .

iranpuyesh.ir

Flagellum (تاژک – شلاقک – تار لرزان – موی لرزان !) رشته های بلندی هستند و از غشای سیتوپلاسمی باکتری منشا گرفته اند (چه در گرم + و چه در گرم -)

تاژک 3 قسمت دارد :

I. **قسمت حرکتی (فیلامنت یا رشته) ← خارجی ترین قسمت که از ساختاری پروتئینی تشکیل شده به نام فلاژلین ،که فلاژلین ها کنار هم قرار می گیرند و فیلامنت را ایجاد می کنند ،که این پروتئین (فلاژلین) آنتی ژن H باکتری را تشکیل می دهد (پس گروه خونی هم دارن!) پس باکتری ها یی دارای آنتی ژن H هستند که متحرک اند (تاژک دارند)**

II. **Hook یا قلاب : قسمت خمیده تاژک است .**

III. **قسمتی که در داخل Envelope سلولی قرار دارد ، Basal Body(جسم پایه) نام دارد که از یک محور و چندین حلقه که از اطراف آن قرار دارند تشکیل شده است .**

حلقه ها از داخل به خارج : 1) M Ring ← **مجاور غشا** (membrane)

2) S Ring ← supra membrane

3) P Ring ← **مجاور پپتیدوگلیکان**

4) L Ring ← **مجاور** LPS

حلقه ها به صورت دو زوج حلقه هستند . باکتری های گرم منفی 4 حلقه دارند ولی گرم مثبت ها 2 حلقه بیرونی(L & P) وجود ندارند.

- ✓ ***بنابراین اولین اختلاف بین گرم + و - ها در جسم پایه ی تاژک آن هاست***

- ➢ **چگونه باکتری شروع به حرکت می کنند ؟**

بسته به اینکه در محیط ماده جاذب (chemotactic) در محیط وجود داشته یا نداشته باشد ، حرکت باکتری شکل می گیرد.اولا باکتری ها انرژی خود را برای حرکت از Basal Body می گیرند که به غشا متصل است

- ✓ ***گفتیم که تامین ATP در باکتری از غشای سلولی است***

سپس تاژک باکتری در جهت عکس عقربه های ساعت (شبیه به ملخ هواپیما) شروع به حرکت می کند و این شروع حرکت هم بر اساس دریافت یک سری سیگنال هاست .تا چند سال پیش فکر نمی کردند که باکتری ها هم احساس دارند !!

ولی الان مشخص شده سیگنال ها یی از محیط دریافت می کنند که می توانند به سمت مواد جاذب (chemotactic) شروع به حرکت کنند

- ✓ ***برآیند حرکت باکتری ها به سمت مواد جاذب است .***

اما اگر عامل کموتاکتیک در محیط نباشد چی ؟ حرکات Random اتفاق می افتد[1S یا 0/1 S زمان هایست که صرف می شوند تا باکتری جابجا شود]

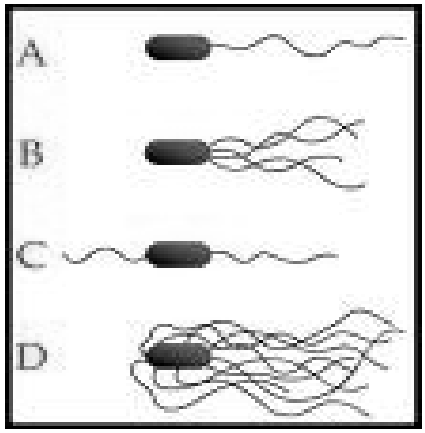
- **تاژک باکتری ها از نظر تعداد متنوع است :**

I. **مونوترایکوس(Monotrichous): باکتری هایی که یک تاژک دارد (به این نوع تاژک ،تاژک قطبی گویند)**

II. **لوفو ترایکوس(lophotrichous) : باکتری هایی که چند تاژک در یک قطب دارند.**

III. **آمفی ترایکوس(Amphitrichous):باکتری هایی که یک یا چند تاژک در دو قطب دارند .**

IV. **پری ترایکوس (Peritrichous): اگر تاژک دور تادور باکتری را فرا گیرد .**



در باکتری هایی که در راسته اسپیروکتال قرار دارند ، تاژک وجود ندارد اما حرکت آن ها بسیار سریع است و حتی سریع تر از باکتری های تاژک دار هستند .

این باکتری ها چگونه حرکت می کنند ؟این ها دارای رشته هایی به نام Axial filament (رشته های محوری) که در دو ردیف در فضای پری پلاسمی باکتری قرار دارد و به باکتری ها حرکات انعطافی ، نوسانی و جابه جا شونده می دهد.مثل یک کرم یا مار .در واقع انتخاب نام اسپیروکت به این خاطر بوده که فکر کرده اند این موجودات مار هستند.در حالی که این ها تک سلولی اند.این حرکات بسیار سریع و دارت مانند است طوری که به سرعت از میدان دید میکروسکوپی ما خارج می شوند

- ✓ *Axial filament را به رشته های میوزین تشبیه می کنند.*

گاهی ما برای مطالعات سرولوژیک در باکتریها ، به آنتی ژن H آن ها نیاز داریم ، چون باکتری را نمی توانیم از مریض جدا کنیم.بنابر این باید آنتی ژن آن ها را قبلا داشته باشیم که آن را با سرم بیمار مجاورکنیم.یعنی به جای دنبال کردن باکتری ، روش های سرولوژیک را جایگزین کنیم.حال یک راه برای به دست آوردن آنتی ژن H [که در این مواقع به کارما بیاید] جدا کردن تاژک از باکتری متحرَک است.فلاژل در رنگ آمیزی های معمولی (و زیر میکروسکوپ نوری) دیده نمی شود مگر این که رنگ آمیزی اختصاص می کنیم تا ضخیم شود.

جدا کردن تاژک از باکتری به روش های فیزیکی انجام می شود،مثل اولترا سونیک ، که باکتری ها را تکان شدید (agitation) می دهند تا تاژک جدا شود و آنتی ژن H ازآن به دست بیاید.

- **در تشخیص آزمایشگاهی (تعیین هویَت) باکتری های پاتوژنی که حرکت دارند، حرکت یا motility یکی از راه های تشخیص است .**

چند روش برای این کار وجود دارد : یک روش ساده این است که یک سوسپانسیون از باکتری خالص شده تهیه کنیم و بعد از تهیه لام و گذاشتن لامل روی آن ، زیر میکروسکوپ مشاهده کنیم.(بدون رنگ آمیزی و کشته شدن باکتری!)؛بزرگنمایی در این روش باید 10 یا 40 باشد

- ✓ *برای دیدن باکتری از بزرگنمایی 100 استفاده میکنیم امَا حرکت آنها را نه .*

البته چون رنگ نشده است ، کنتراست خوبی ندارد ولی باکتری های متحرَک از غیر متحرَک قابل تشخیص اند چون باکتری های متحرَک به سرعت از میدان دید ما خارج میشوند.

- راه های دیگر:

تلقیح در محیط های کشت نیمه جامد.امروزه محیط های نیمه جامدی ساخته اند که اگر باکتری را مستقیما داخل لوله کشت دهیم،اگر باکتری حرکت داشته باشد ، تمام لوله را کدر می کند.حال اگر باکتری حرکت نداشته باشد کدر نمی شود

- ✓ از روش تلقیح در محیط کشت نیمه جامد در حال حاضر برای تعیین تحرک باکتری استفاده می شود.

« خیلی ساده است...

فقط یه انتخاب داری؛ با هر چی که داری و از جایی که هستی، بیشترین تلاشت رو بکن....

هیچ چیز دیگه ای مهم نیست »

- ✓ با سپاس فراوان از دوست عزیز، الهام بزاز پریخانی