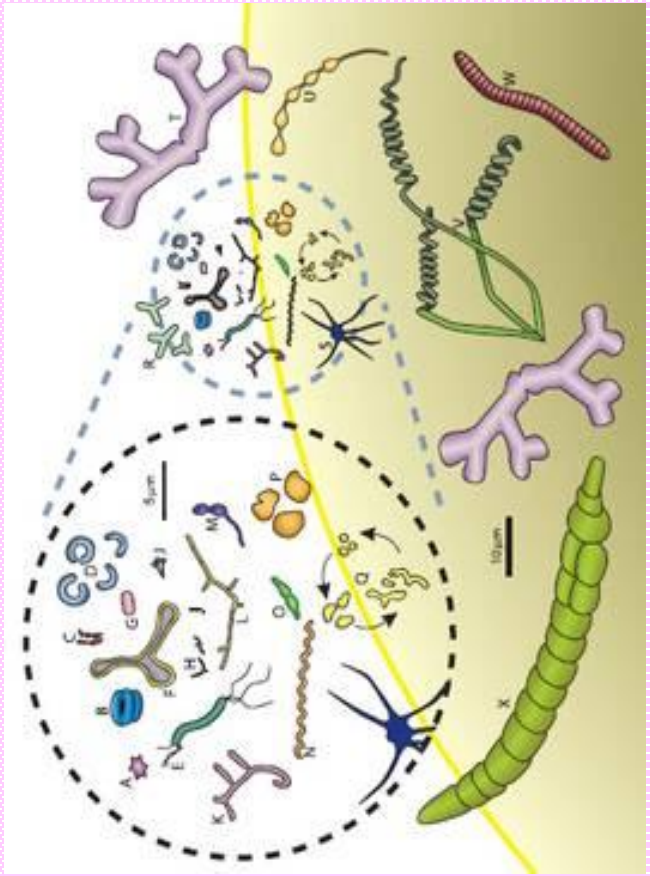

Microbiology
میکروبیولوژی

What is Microbiology?

میکروبیولوژی

علم مطالعه موجودات میکروسکوپی است

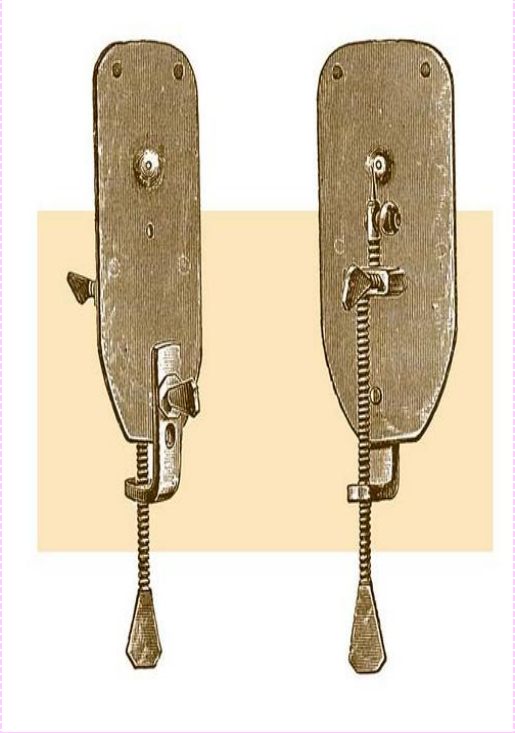
شامل باکتری ها، قارچها، ویروسها، انگل ها و....

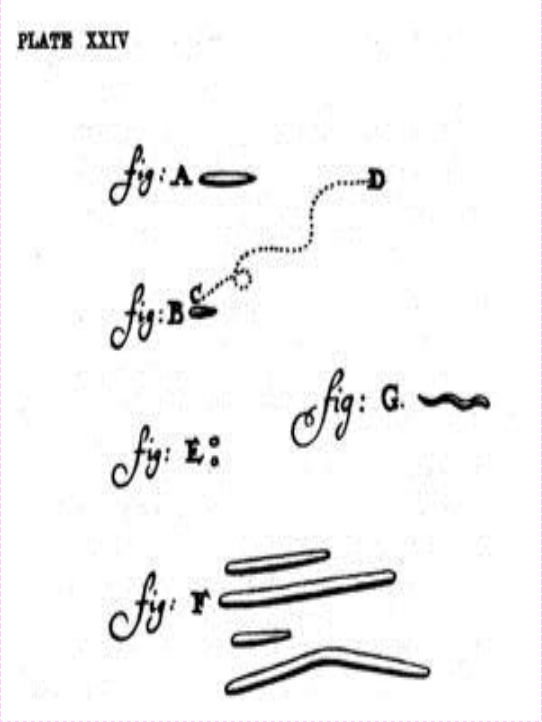


تاریخچه :

- ✓ آنتوان لیون هوک تاجر هلندی (۱۶۳۲-۱۷۲۳) با ذره بین موجوداتی را در قطره آب دید.



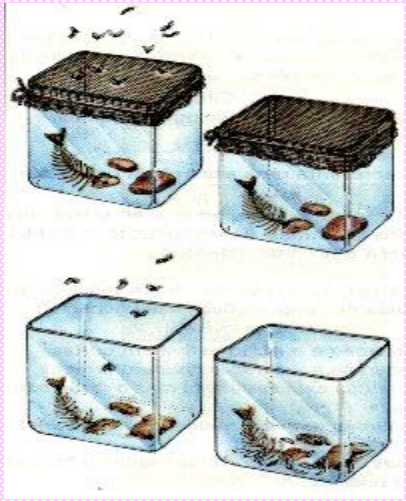


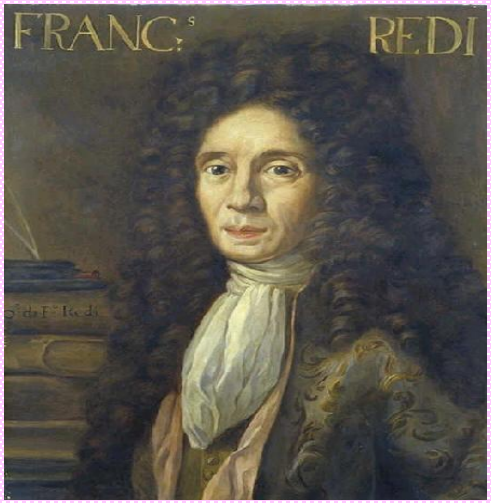


- ✓ رابرت هوک با ساخت میکروسکوپ های ترکیبی همه نوشته های لیون هوک را تایید کرد

- **ظهور نظریه تولید خوربخود در قرن ۱۷**

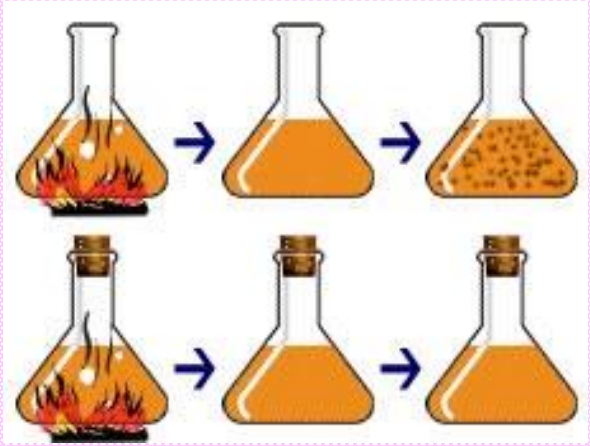
”موجودات قابل رؤیت با چشم برهنه قادرند بطور خودبخود از مواد بی جان پدید آیند.“



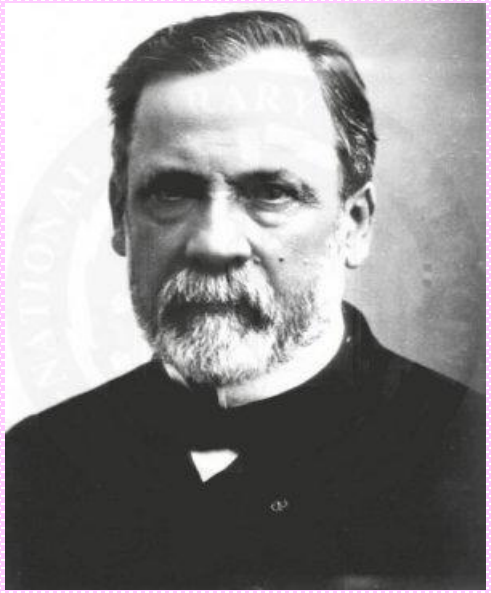


- **فرانسیسکو ردی**

- **نیدهام (۱۷۴۹)**

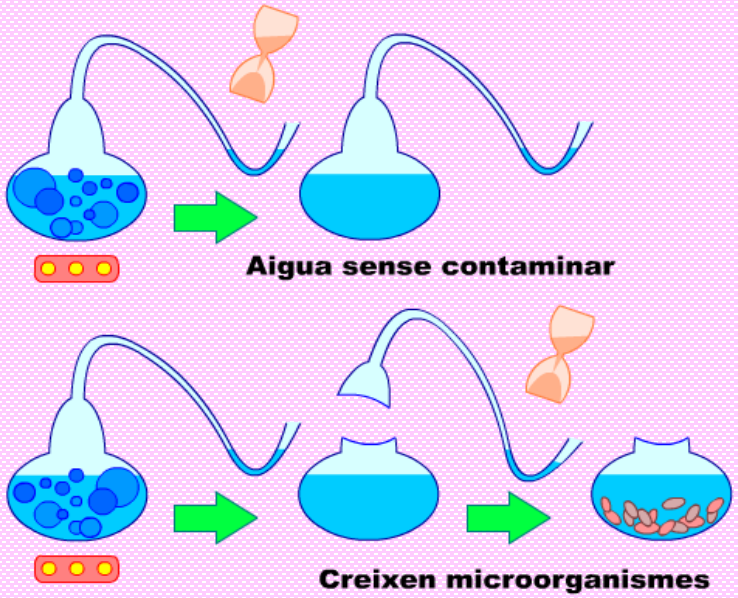


- **اسپالانزانی**



- **پاستور(پدر علم میکروبشناسی)**
- **جان تیندال**
- رد نظریه تولید خودبخود در سال ۱۸۶۱





- آگوستینو باسی بیماری موسکاردین در کرمهای ابریشم
- ایگناز سملوایز علت ، چگونگی و پروفیلاکسی تب نوزادن
- ژوزف لیستر استفاده از اسپری فنل در اطاقهای جراحی
  تهیه کشت خالص از میکروب ها
- ارلیش ابداع روش هایی برای رنگ آمیزی باکتری ها

- رابرت کخ تهیه محیط کشت جامد ابتدا با ژلاتین و سپس آگار

اثبات اتیولوژی عوامل عفونی با معیارهای چهارگانه کخ

۱- ارگانیسم باید در حیوان بیمار پیدا شود ولی در حیوان سالم نباشد.

۲- ارگانیسمی که از حیوان سالم جداشده را باید بتوان در محیط کشت در خارج از بدن کشت داد و خالص نمود.

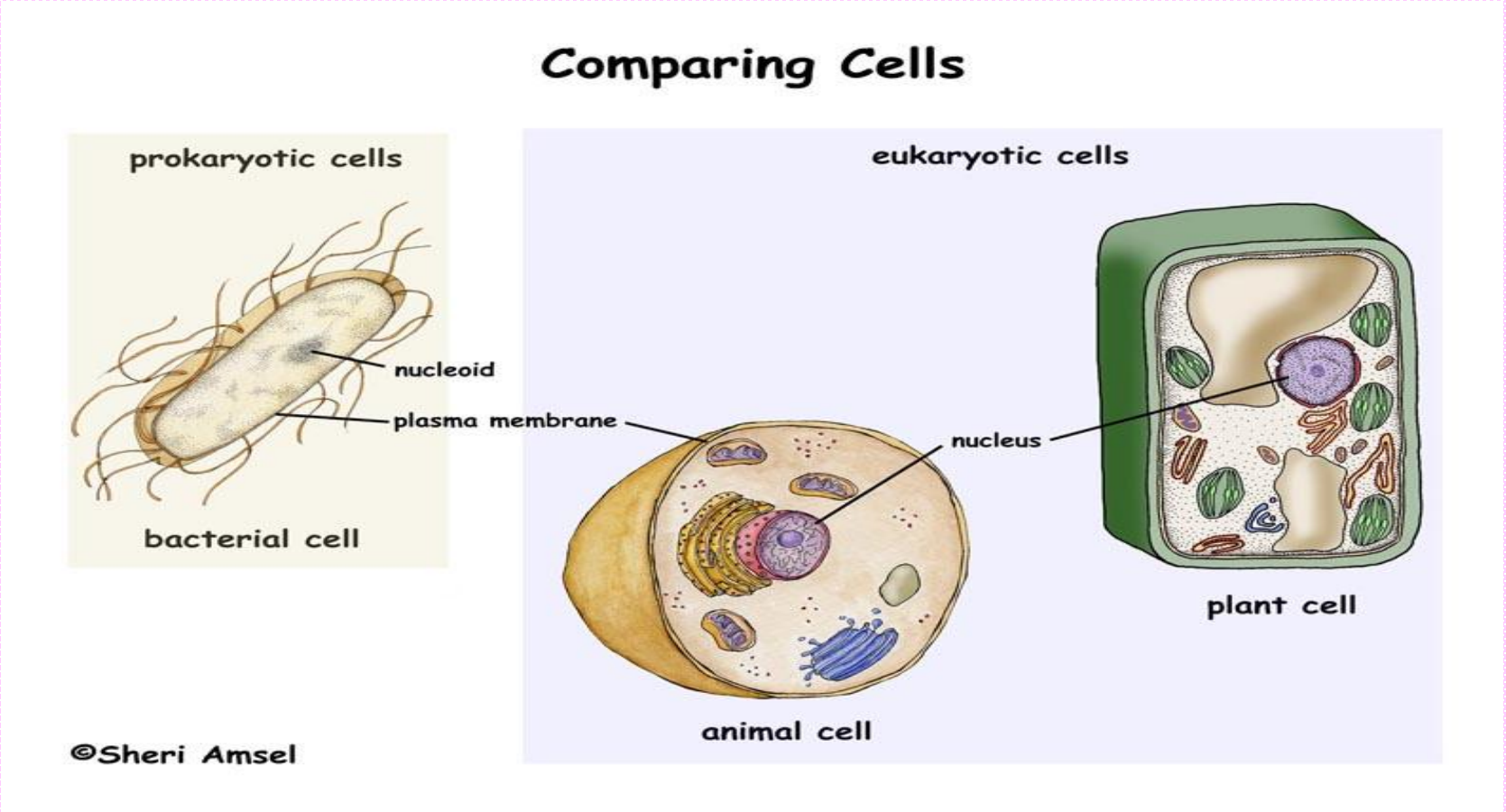
۳- اگر ارگانیسمی که در کشت خالص بدست آمده است را به حیوان حساس بزنیم همان بیماری اول در آن ایجاد شود.

۴- باید بتوان ارگانیسم اولیه را از حیوانی که بطور تجربی آلوده شده بدست آورد.

۲۰ سال بعد از تحقیقات کخ را Golden age of bacteriology می شناسند.

انواع سلولها از نظر ساختار

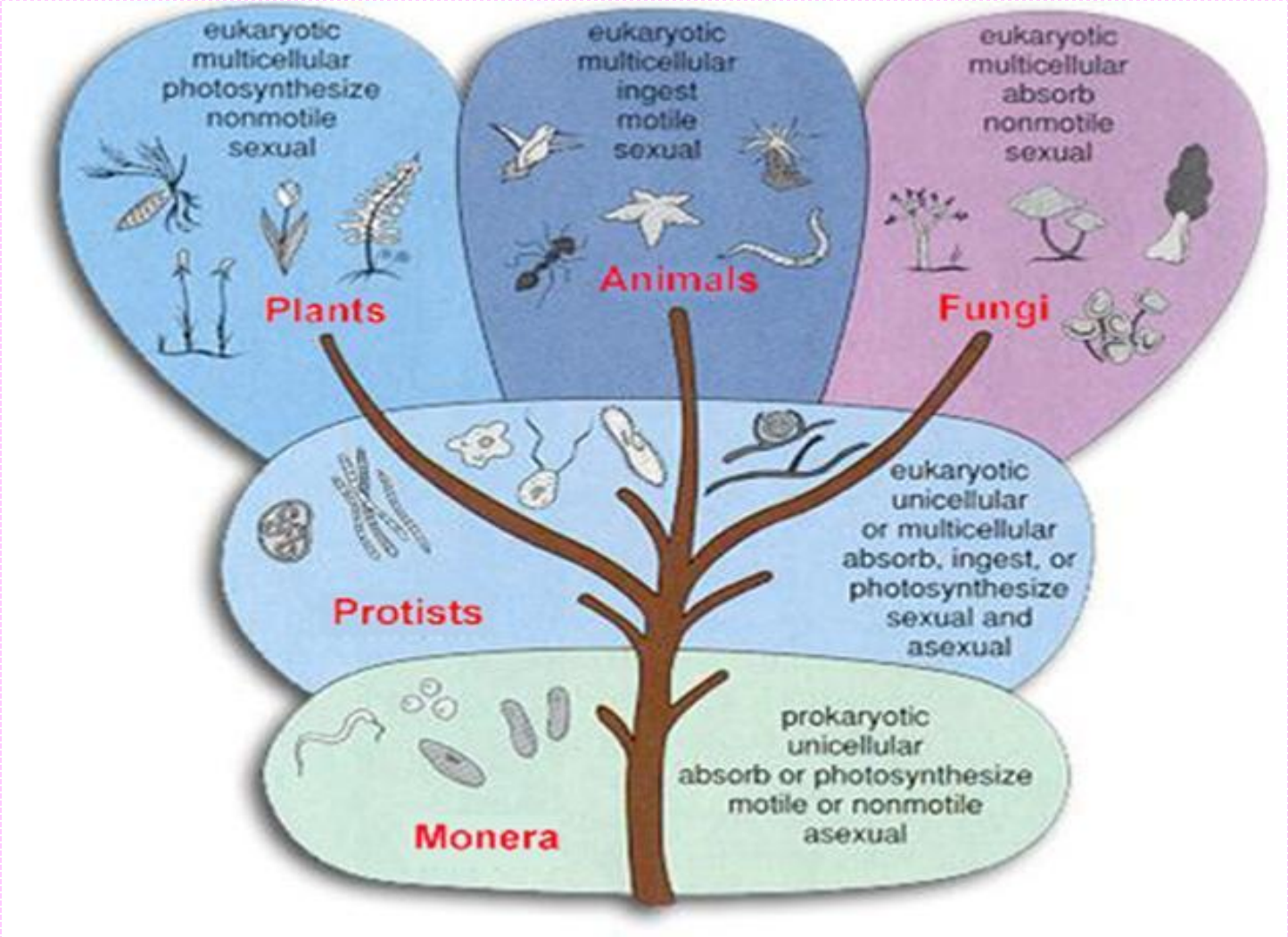
- Prokaryotic cell Eukaryotic Cells



اختلافات سلول های پروکاریوتی و یوکاریوتی

	پروکاریوت	یوکاریوت
اندازه	۱ تا ۱۰ میکرون	۱۰ میکرون و بزرگتر
غشاء هسته	ندارند	دارند
کروموزوم	۱ عدد به شکل DNA دورشته ای حلقوی بدون نوکلئوزوم	بیش از یک عدد به شکل DNA دو رشته ای خطی واجد نوکلئوزوم
اجسام گلژی	ندارند	دارند
شبکه اندوپلاسمی نرم و خشن	ندارند	دارند
میتوکندری	ندارند	دارند
کلروپلاست	ندارند	دارند
میکروتوبول و میکروفیلامنت	ندارند	دارند

The Kingdoms of Life



خصوصیات شاخه گیاهان

- ✓ یوکاریوت هستند
- ✓ چندسلولی هستند.
- ✓ فتوسنتز می کنند.
- ✓ غیر متحرک اند.
- ✓ تولید مثل جنسی دارند.

خصوصیات شاخه جانوران

- یوکاریوت هستند.
- چند سلولی هستند.
- قدرت هضم مواد غذایی را دارند.
- متحرک اند.
- تولید مثل جنسی دارند.

خصوصیات شاخه قارچها

- یوکاریوت هستند.
- چند سلولی هستند.
- مواد غذایی را جذب می کنند.
- غیرمتحرک اند.
- بعضی از آنها تولید مثل جنسی دارند.

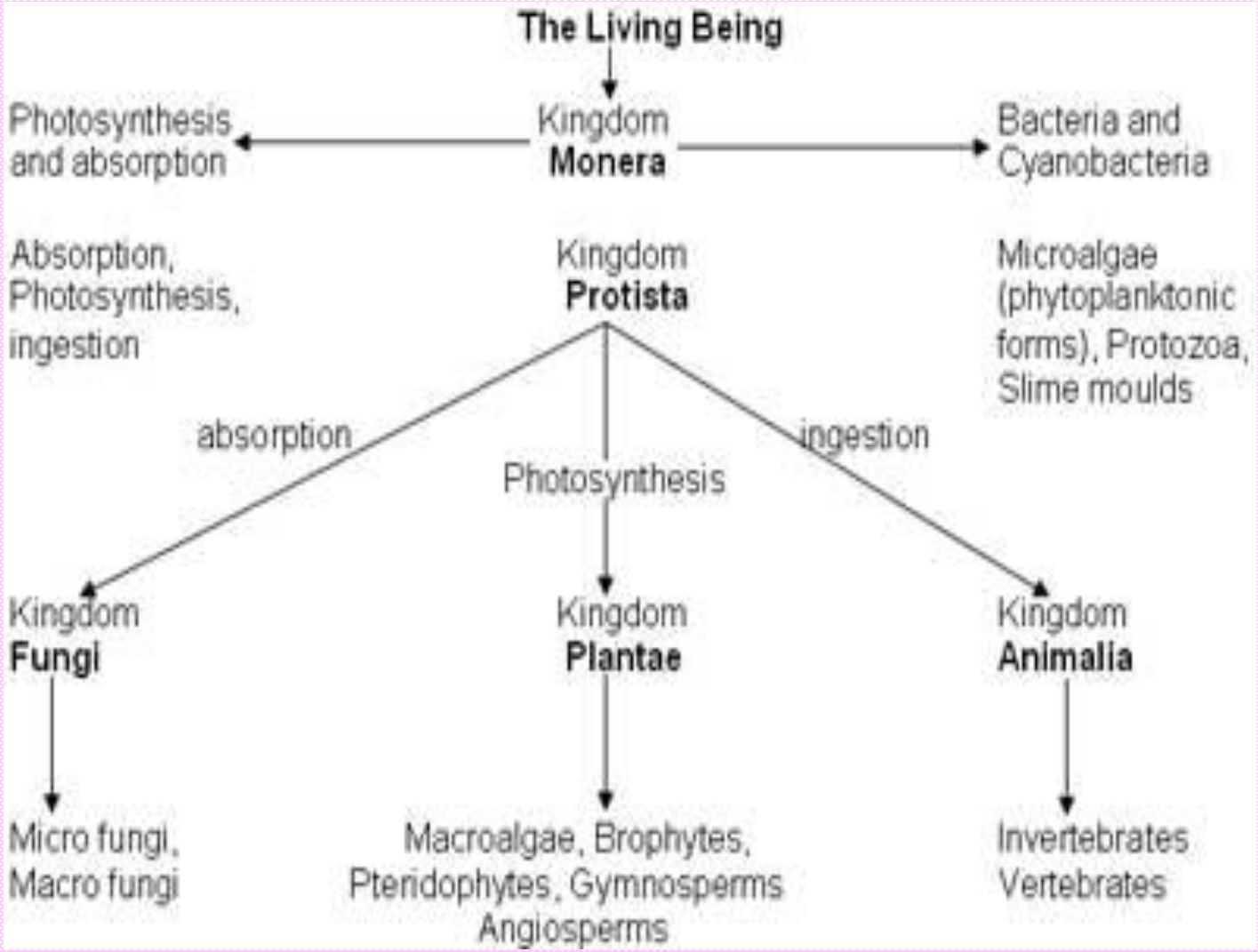
خصوصیات شاخهProtists

- یوکاریوت هستند.
- بعضی تک سلولی و بعضی پرسلولی هستند.
- بعضی از آنها فتوسنتز میکنند بعضی مواد غذایی را هضم و گروهی نیز جذب می کنند.
- بعضی متحرک و بعضی غیر متحرک اند
- تولید مثل جنسی یا غیر جنسی دارند.

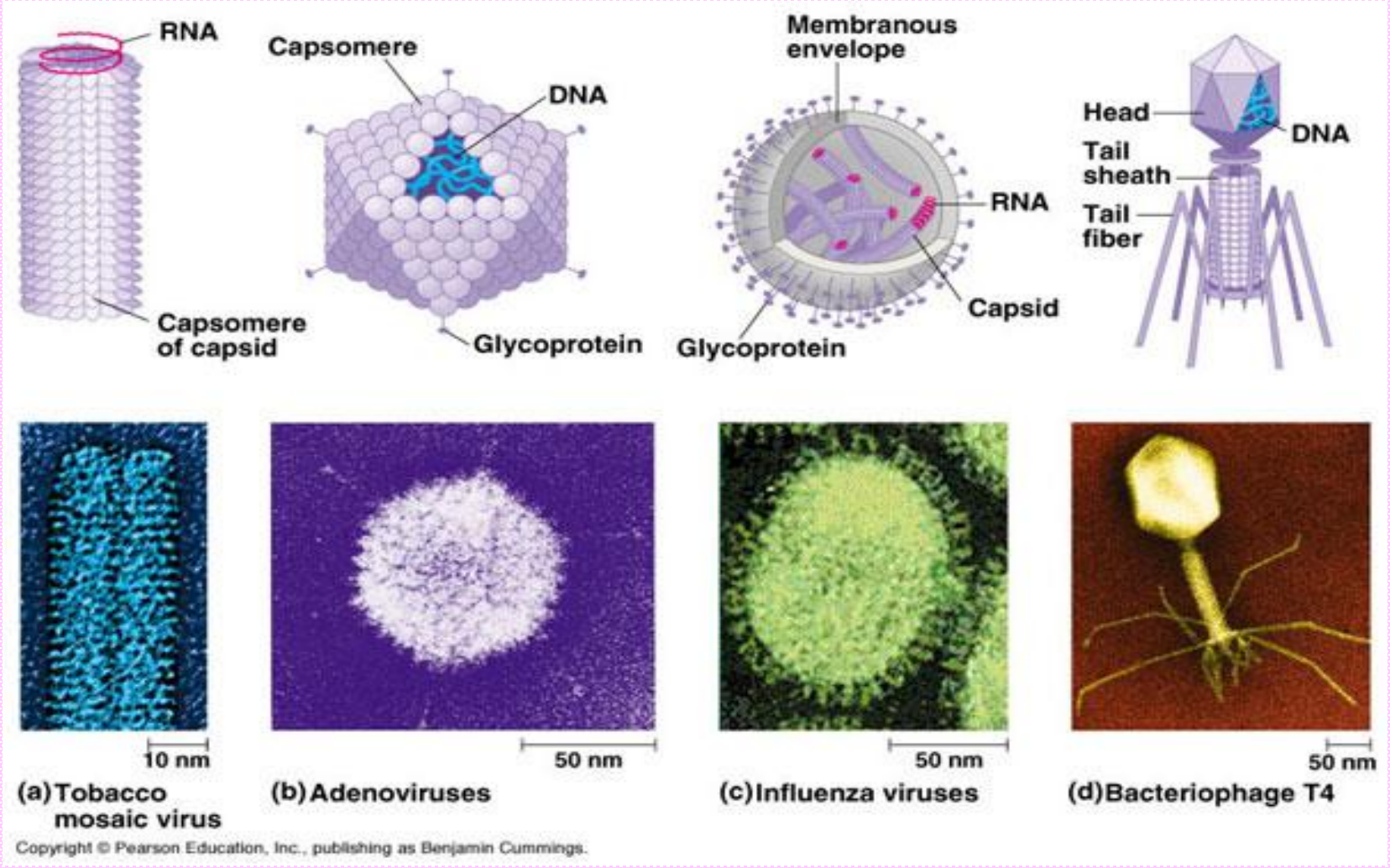
خصوصیات شاخه Monerae

- پروکاریوت هستند.
- تک سلولی هستند.
- توانایی جذب یا فتوسنتز موادغذایی را دارند.
- بعضی متحرک و بعضی غیرمتحرک اند.
- تولیدمثل غیرجنسی دارند.

انواع پروکاریوتها

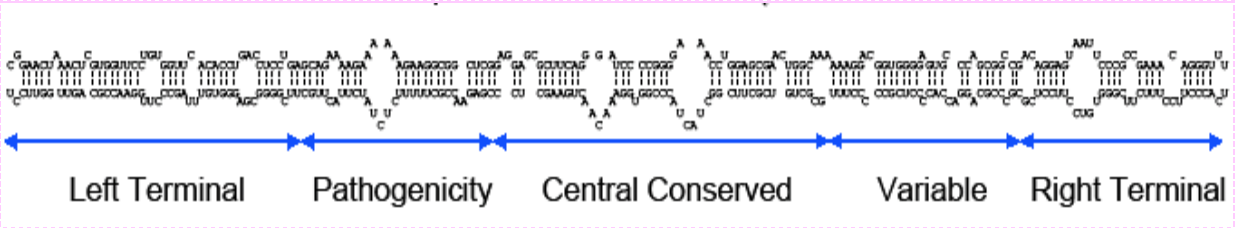


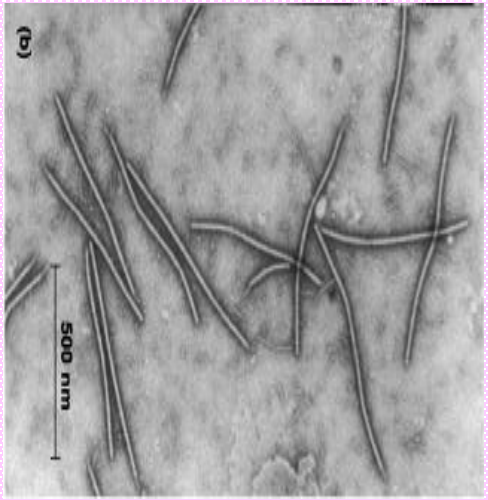
Virus



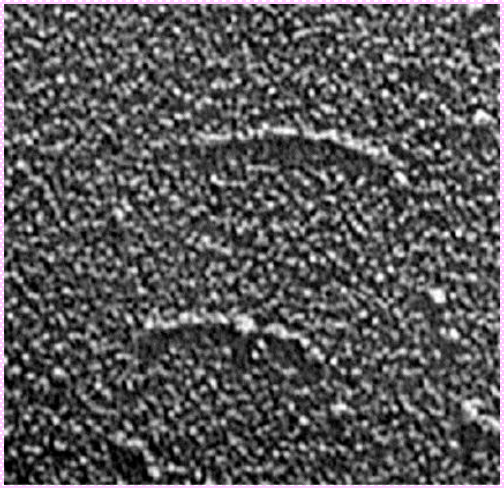
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

viroid

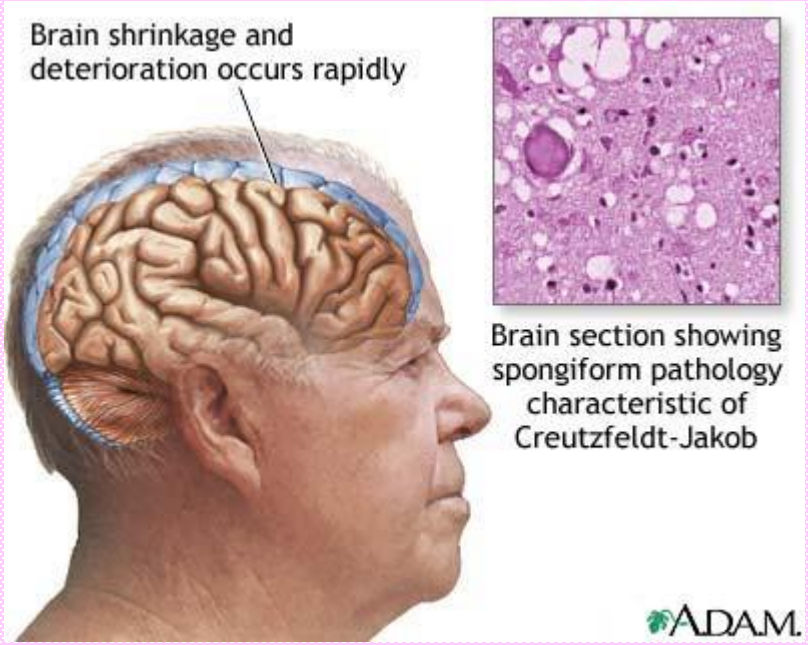

Left Terminal
Pathogenicity
Central Conserved
Variable
Right Terminal

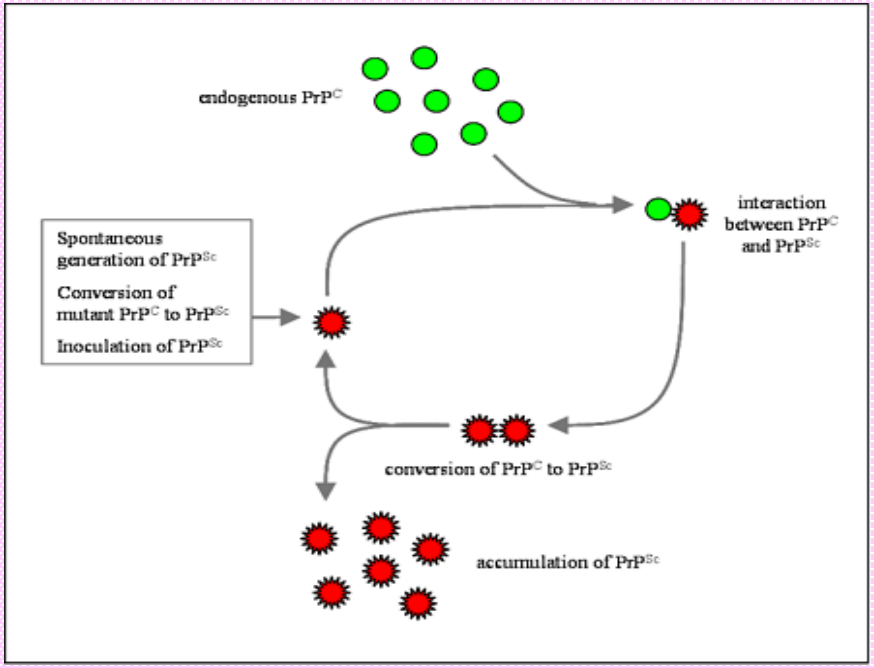

(a)
500 nm

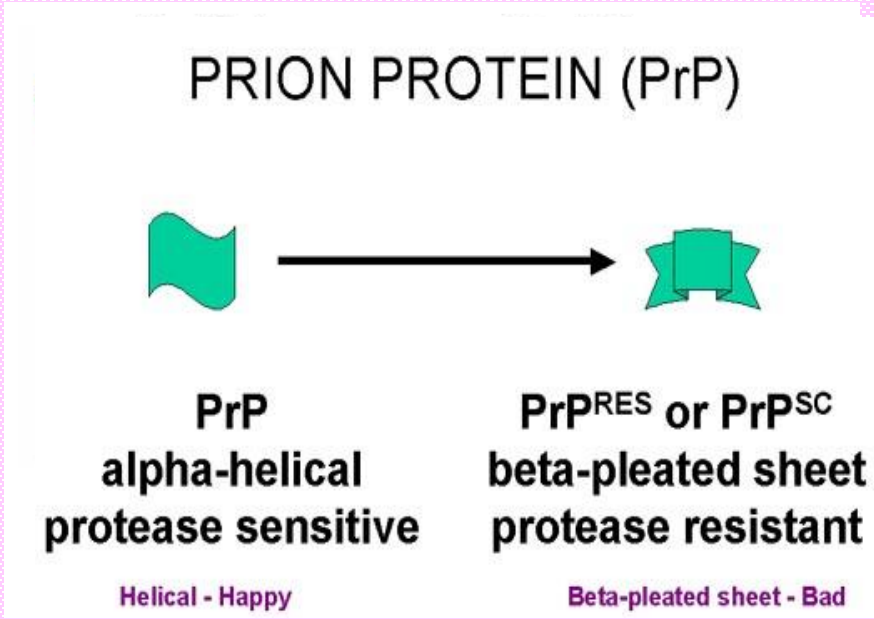

A
B
C
©J. Ladipo



prion


Brain shrinkage and deterioration occurs rapidly
Brain section showing spongiform pathology characteristic of Creutzfeldt-Jakob
A.D.A.M.


endogenous PrP^C
interaction between PrP^C and PrP^Sc
Spontaneous generation of PrP^Sc
Conversion of mutant PrP^C to PrP^Sc
Inoculation of PrP^Sc
conversion of PrP^C to PrP^Sc
accumulation of PrP^Sc


PRION PROTEIN (PrP)
PrP
alpha-helical
protease sensitive
Helical - Happy
PrP^RES or PrP^SC
beta-pleated sheet
protease resistant
Beta-pleated sheet - Bad

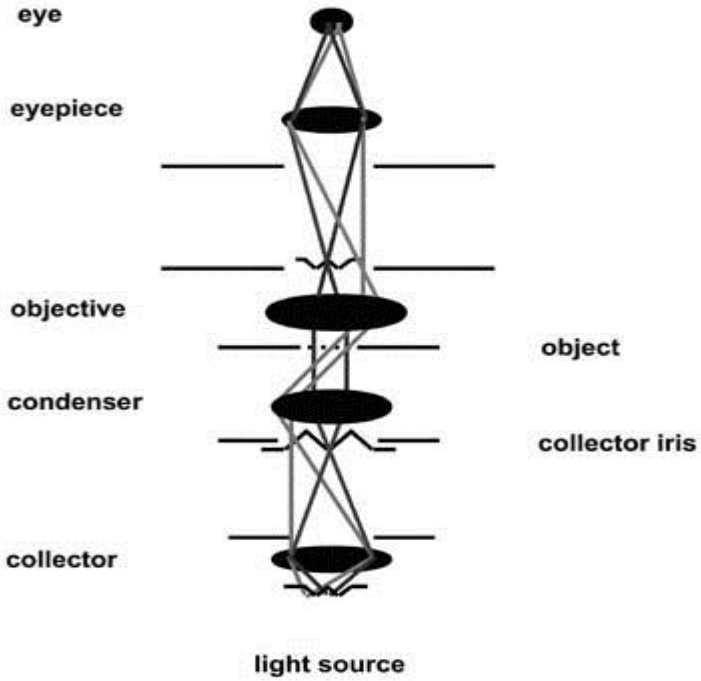
مطالعه سلول میکروبی

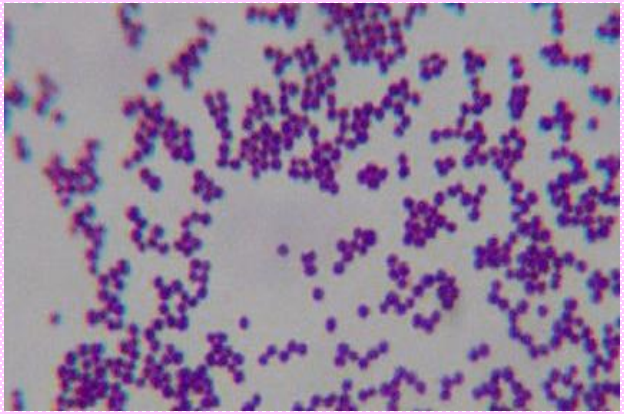
با استفاده ازمیکرسکوپ

- ✓ میکرسکوپ نوری
- ✓ میکرسکوپ زمینه تاریک
- ✓ میکرسکوپ فازکنتراست
- ✓ میکرسکوپ فلورسنت
- ✓میکروسکوپ کانفوکال
- ✓ میکرسکوپ الکترونی

Light Microscopy

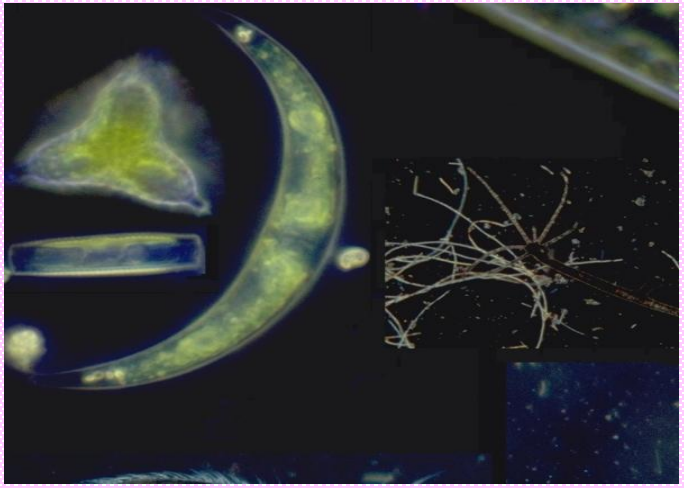


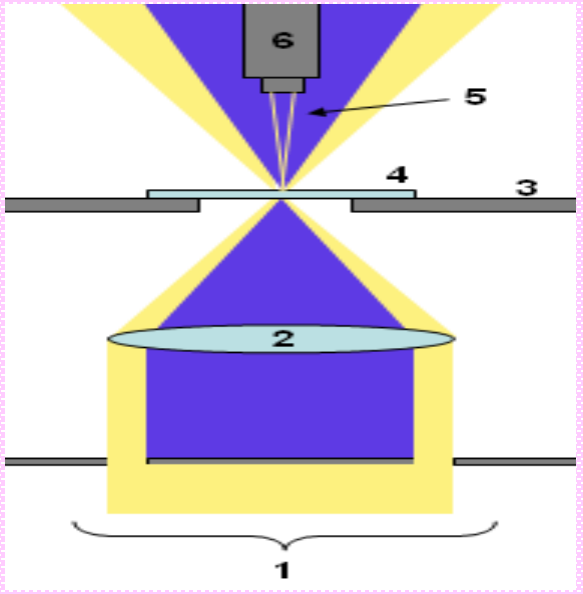


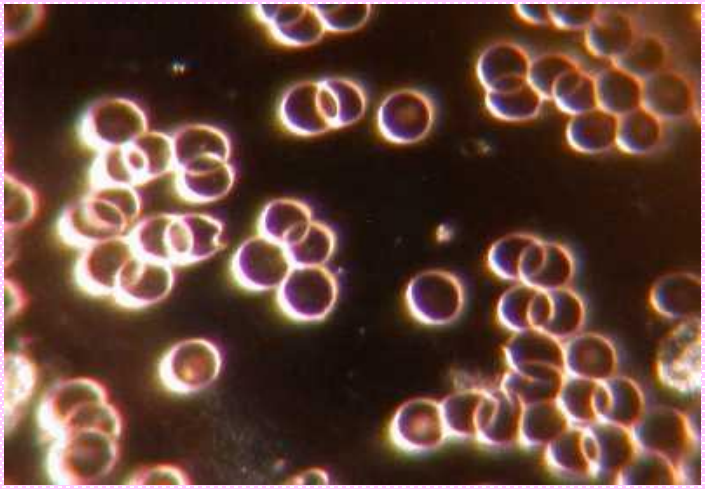


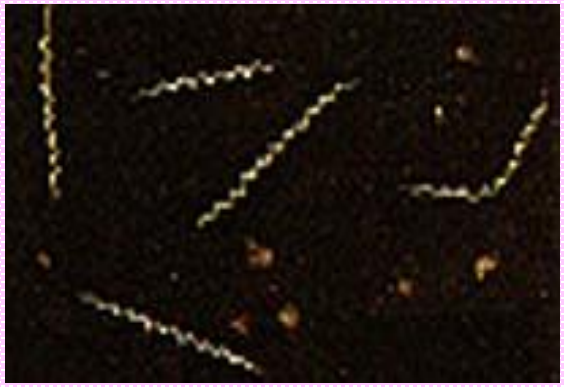


Dark Field Microscopy





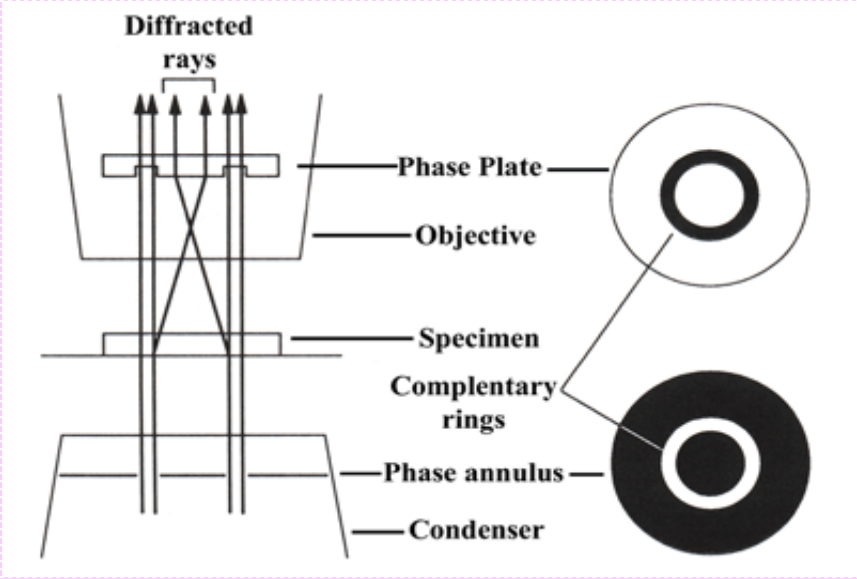




Phase Contrast Microscopy

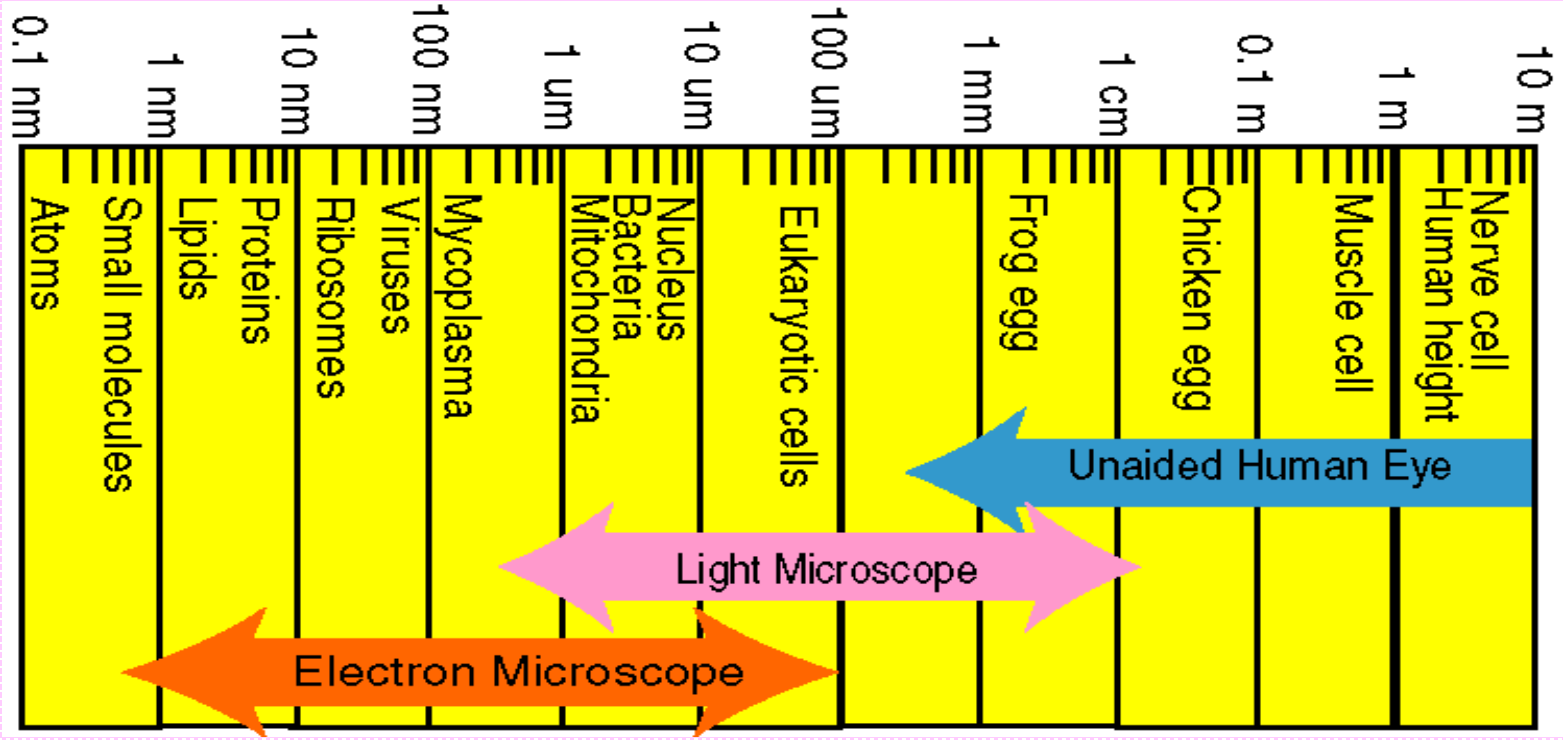






محدودیت های میکروسکوپهای نوری

- کم بودن میزان بزرگنمایی
- کم بودن میزان قدرت تفکیک



RESOLUTION

(Resolution) d_o - minimum distance at which two points are resolvable (e.i. appear as two distinct points)

$$d_o = \frac{0.61\,\lambda}{\eta\,(\sin\alpha)}$$



0.61 - constant of light refraction

λ -wavelength of illuminating light

η -refractive index (ratio of the speed of light in the medium between the specimen and the first lens and the speed of light in air)

α -half angle subtended by the aperture of the first lens

$\eta\,(\sin\alpha)$ -numerical aperture

(> 1000 x NA - empty magnification)

Manipulatable Parameters:

λ (white light) - 550 nm

λ (Ultraviolet Light) < 400 nm

λ (electrons) < 0.005 nm

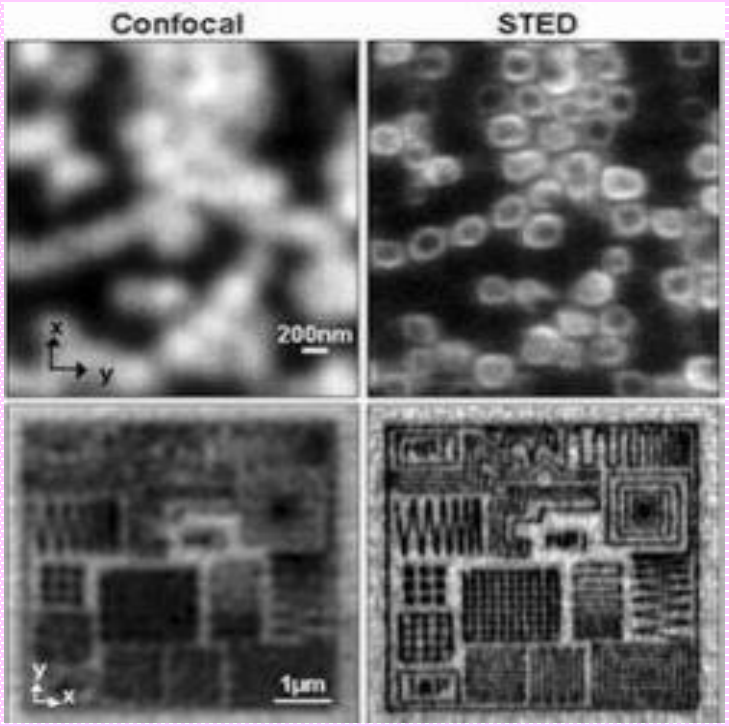
$\eta_{(air)}$ -1.0

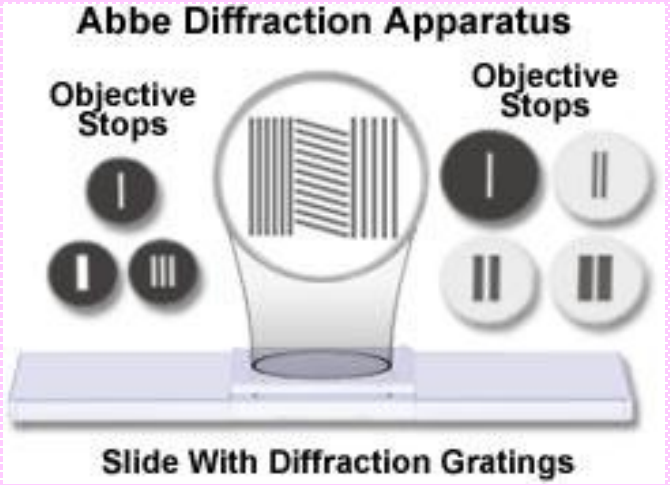
$\eta_{(water)}$ -1.33

$\eta_{(oil)}$ -1.50

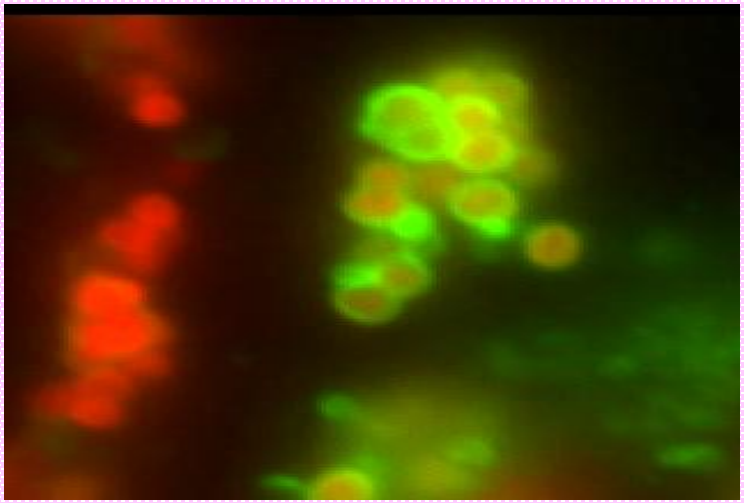
$d_{o\,(light)}$ - 0.17 um (1000 x human eye)

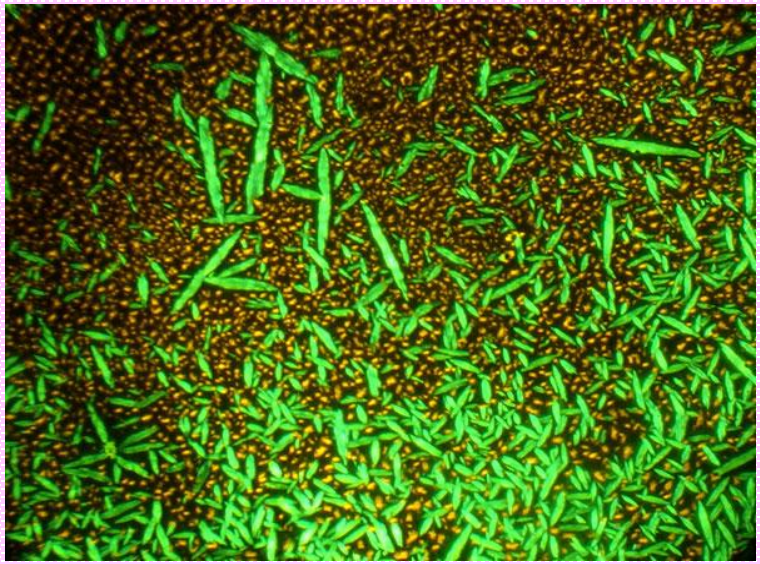
$d_{o\,(electron)}$ - 0.2 A (1,000,000 x human eye)

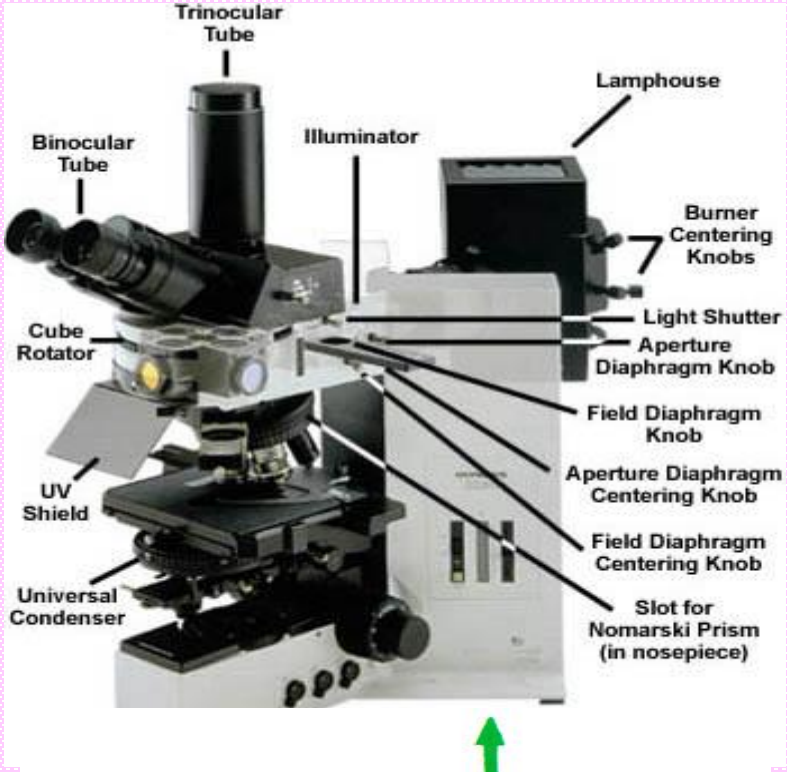


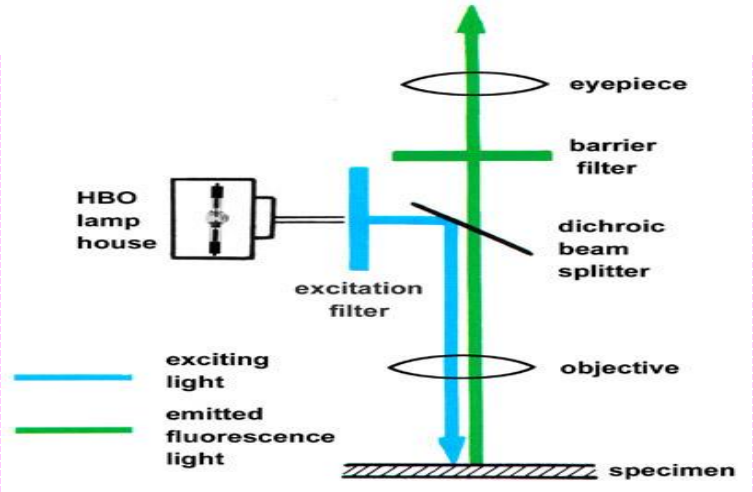


Fluorescence Microscopy

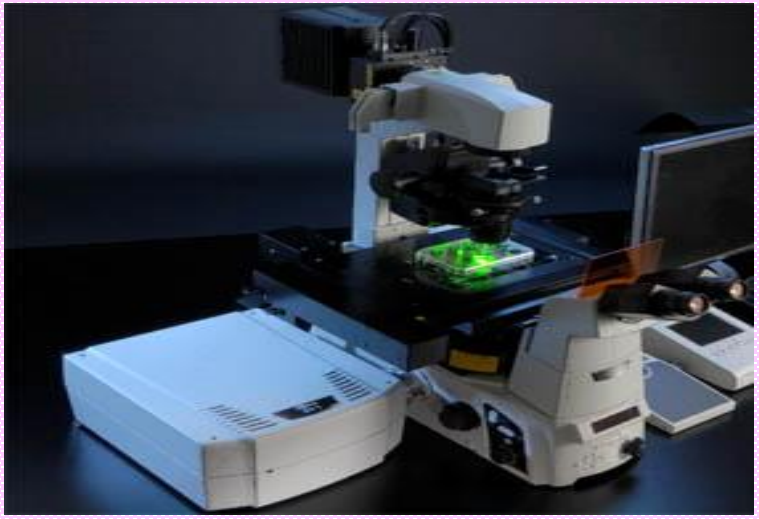


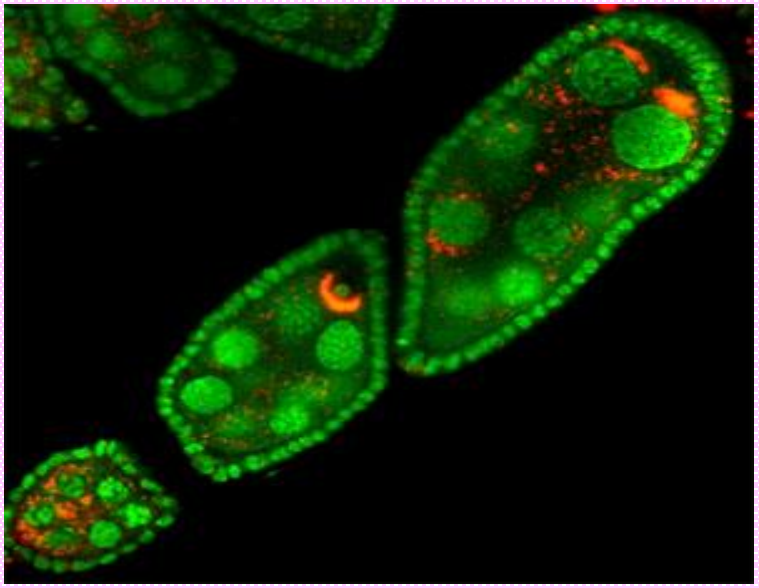


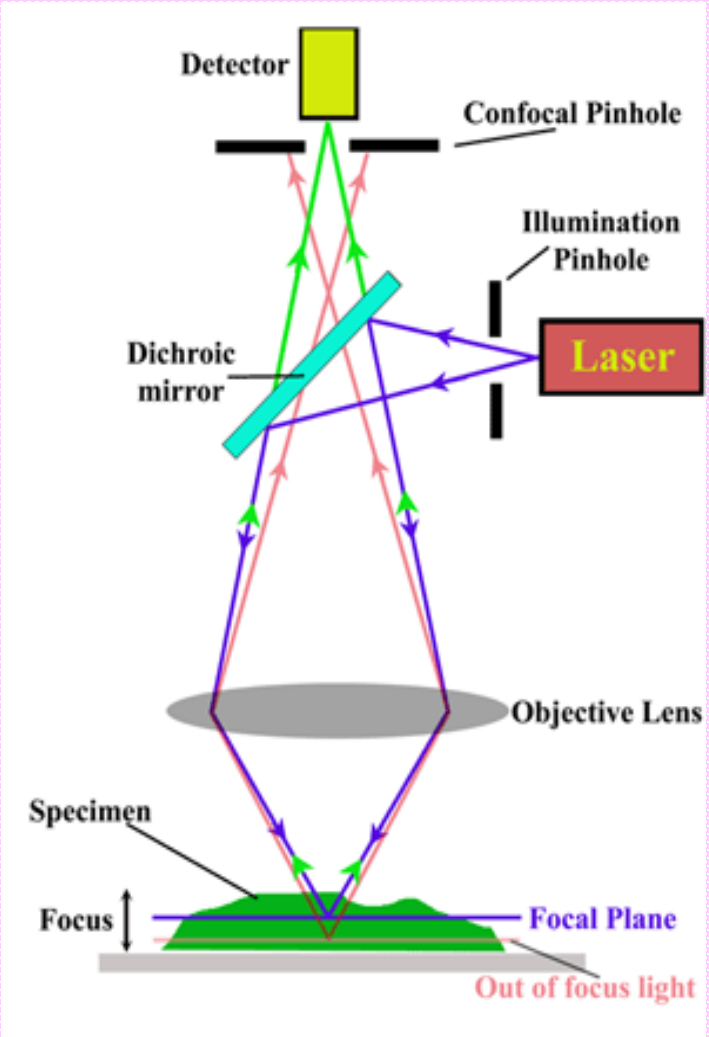




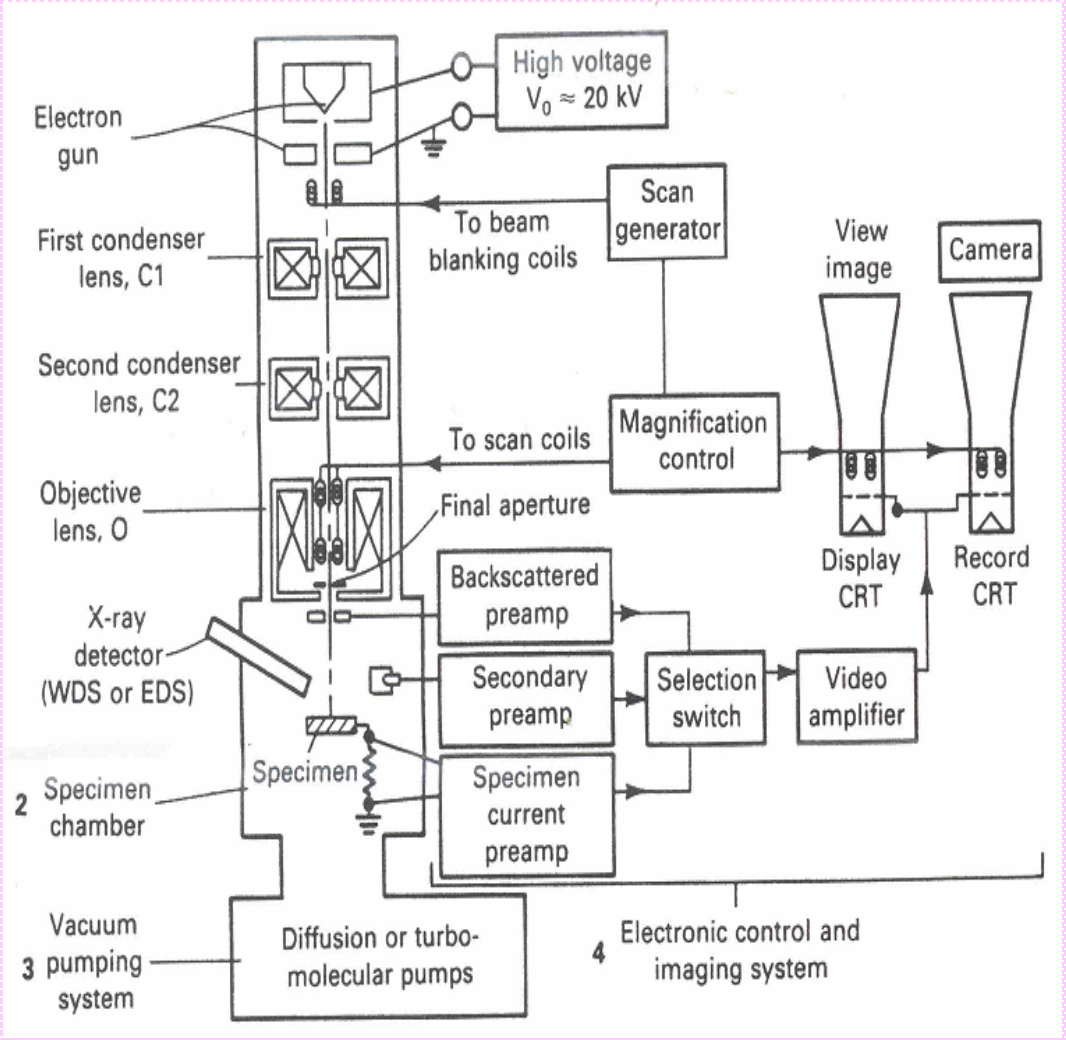
Confocal Microscopy





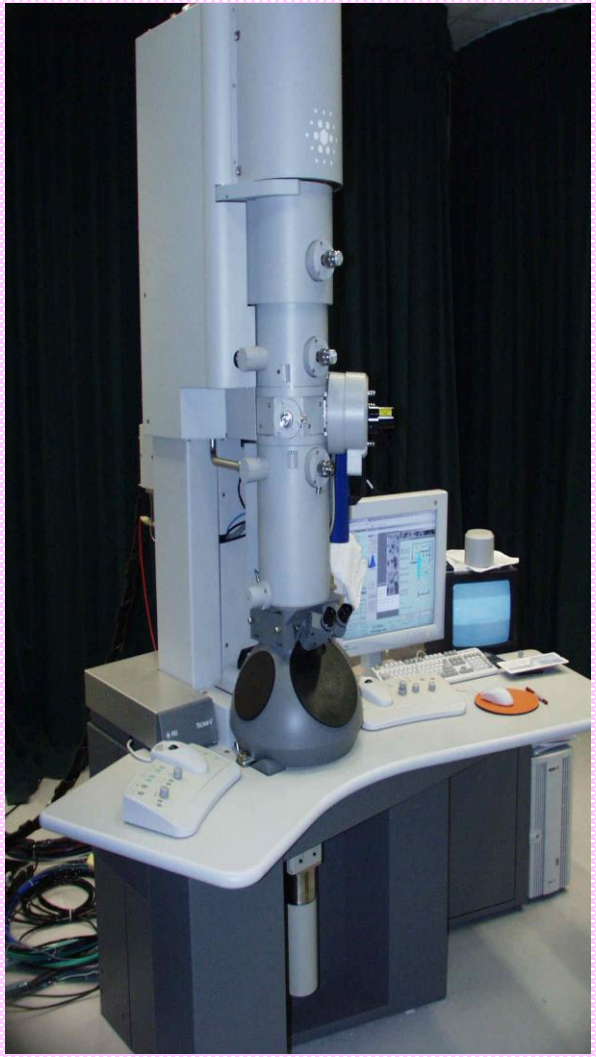


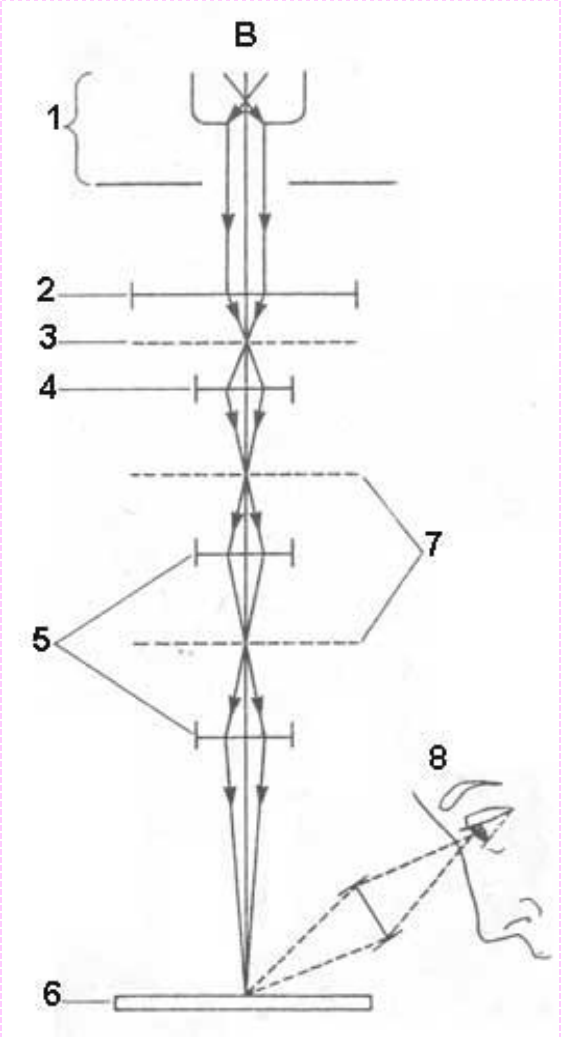
Electron Microscopy

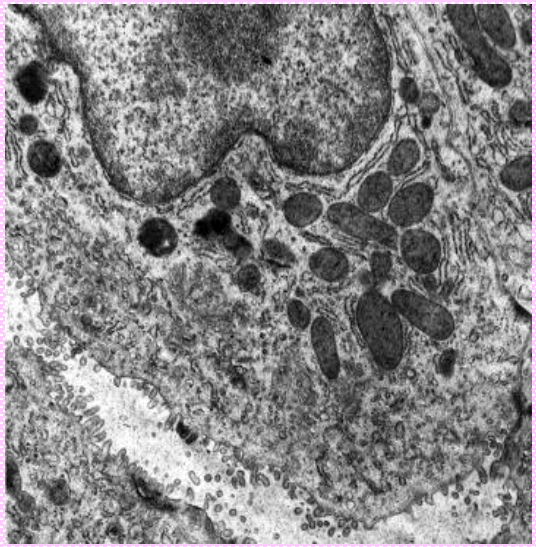


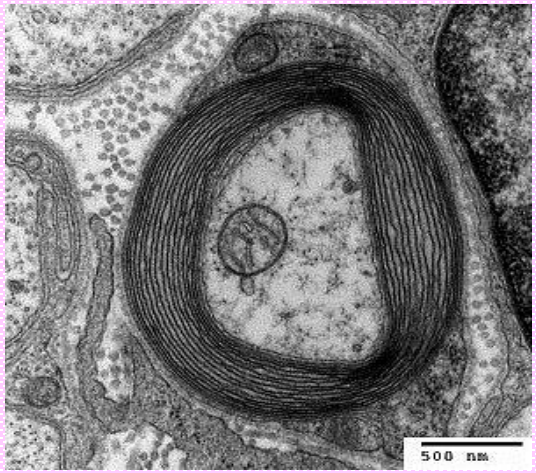


Transmission Electron Microscope (TEM)

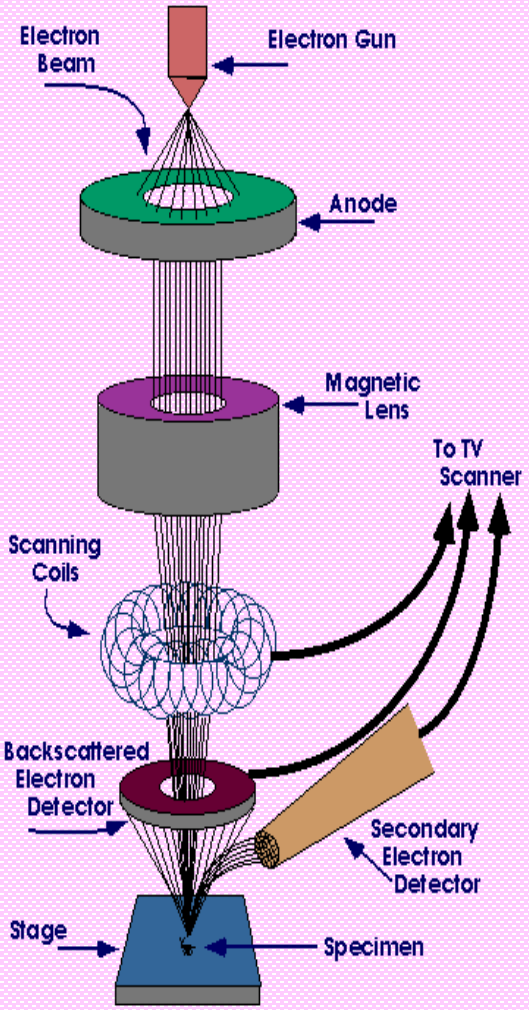


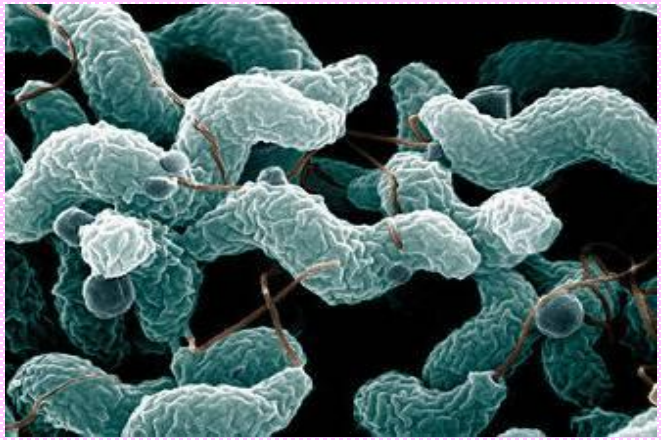


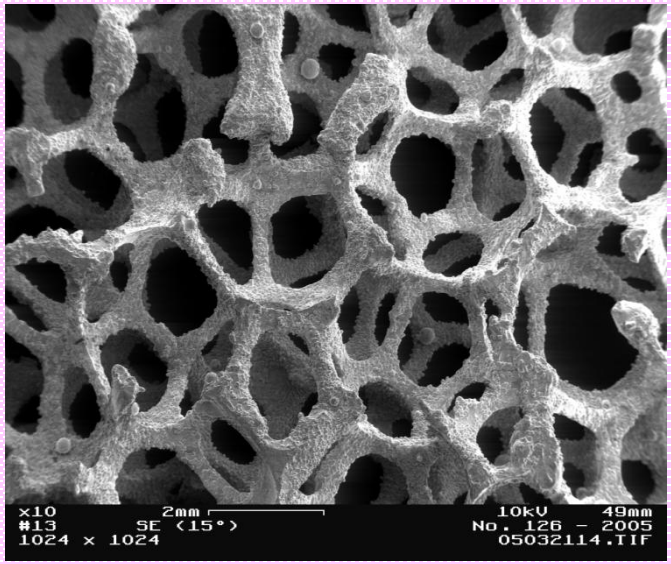




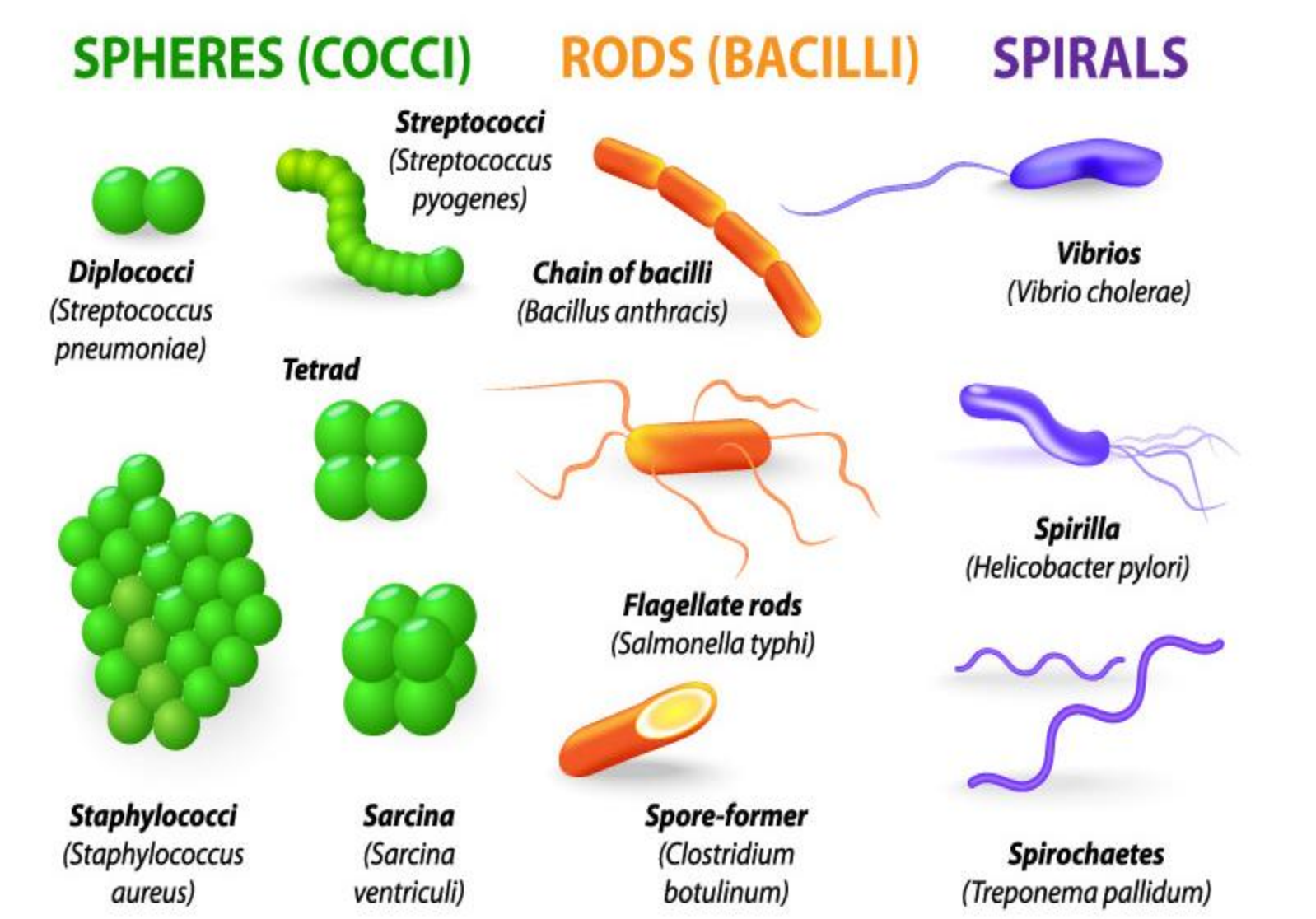
Scanning Electron Microscope (SEM)



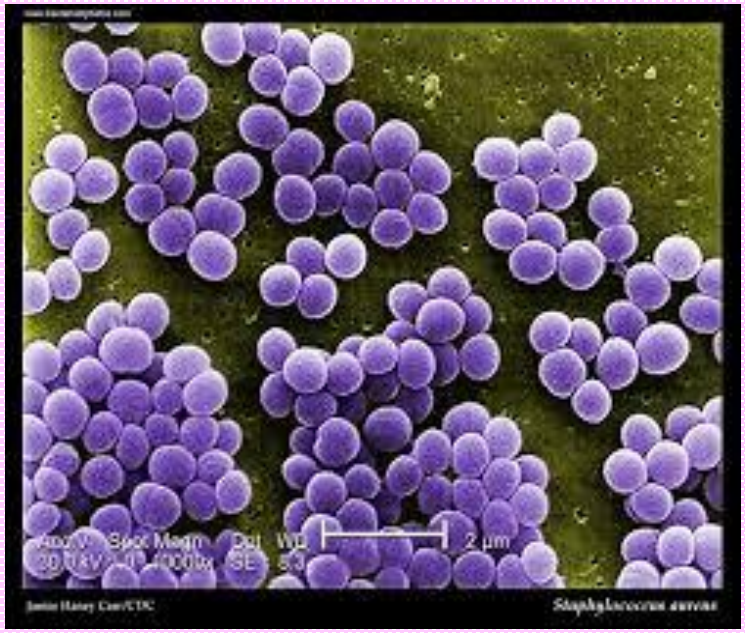


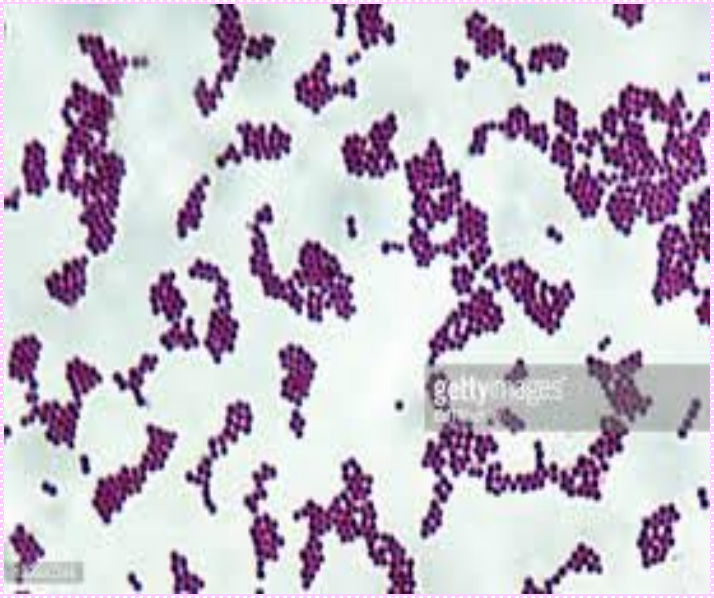


- اشکال مختلف باکتریها

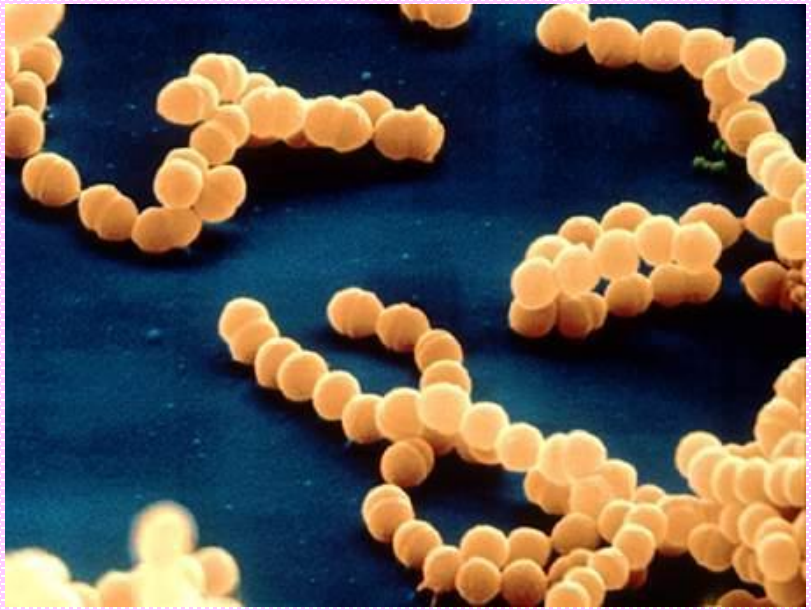


Staphylococcus aureus



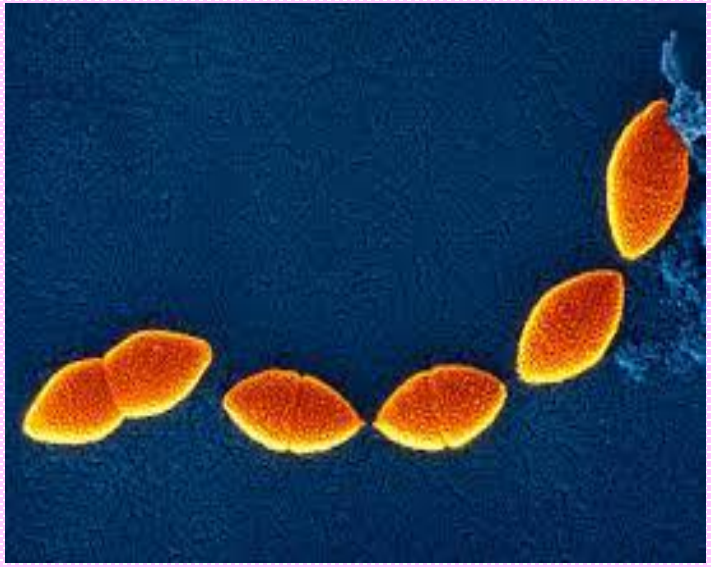


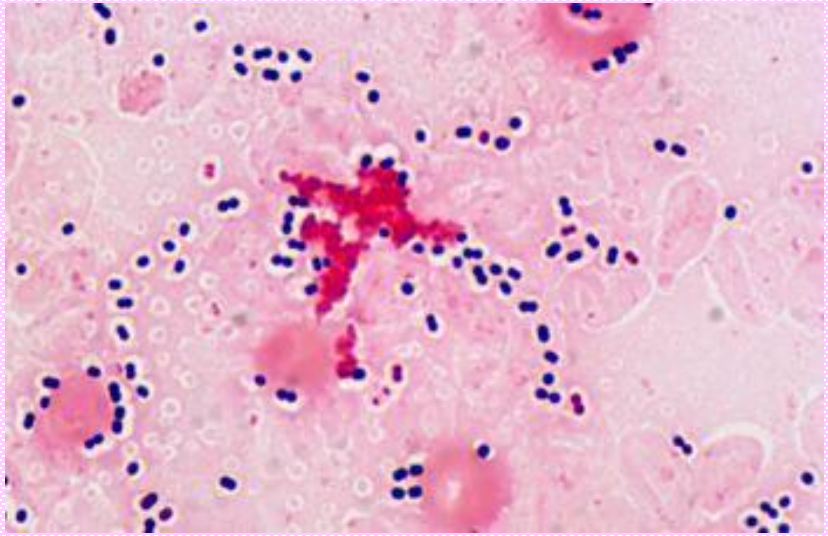
Streptococcus pyogenes





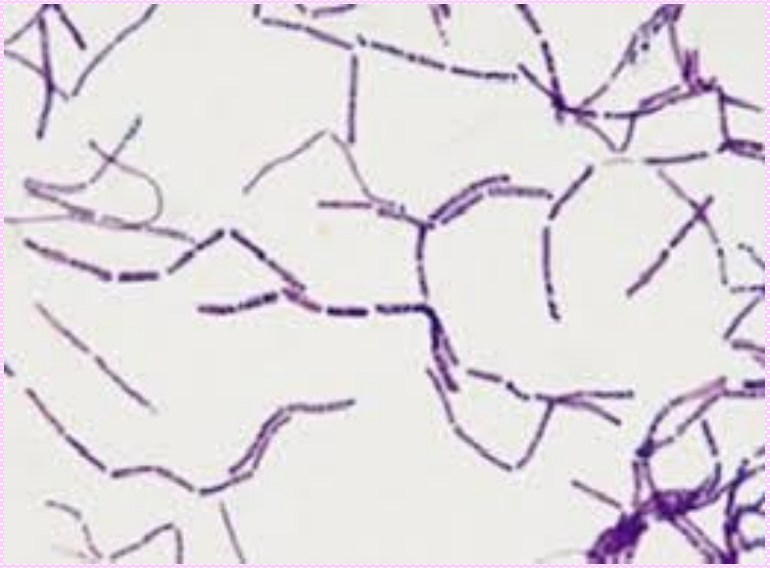
Streptococcus pneumoniae





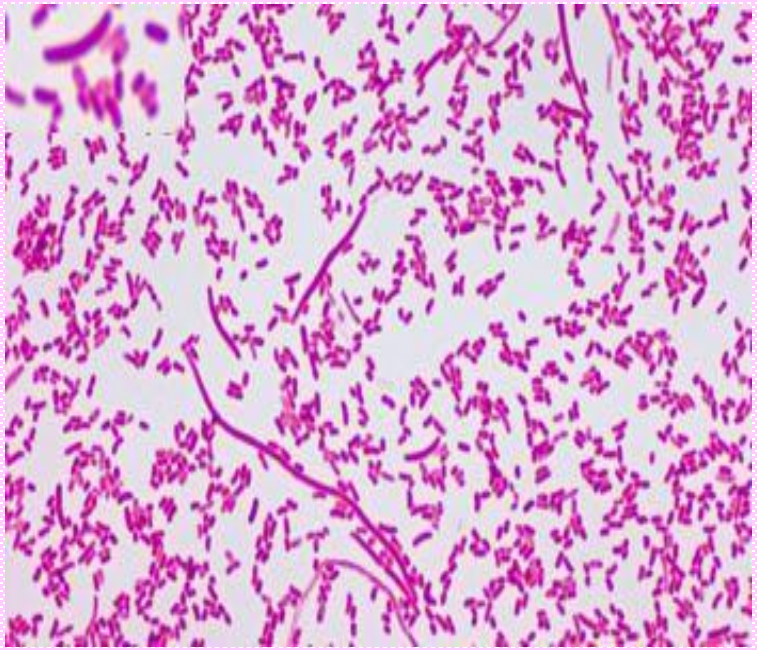
Bacillus antrasis



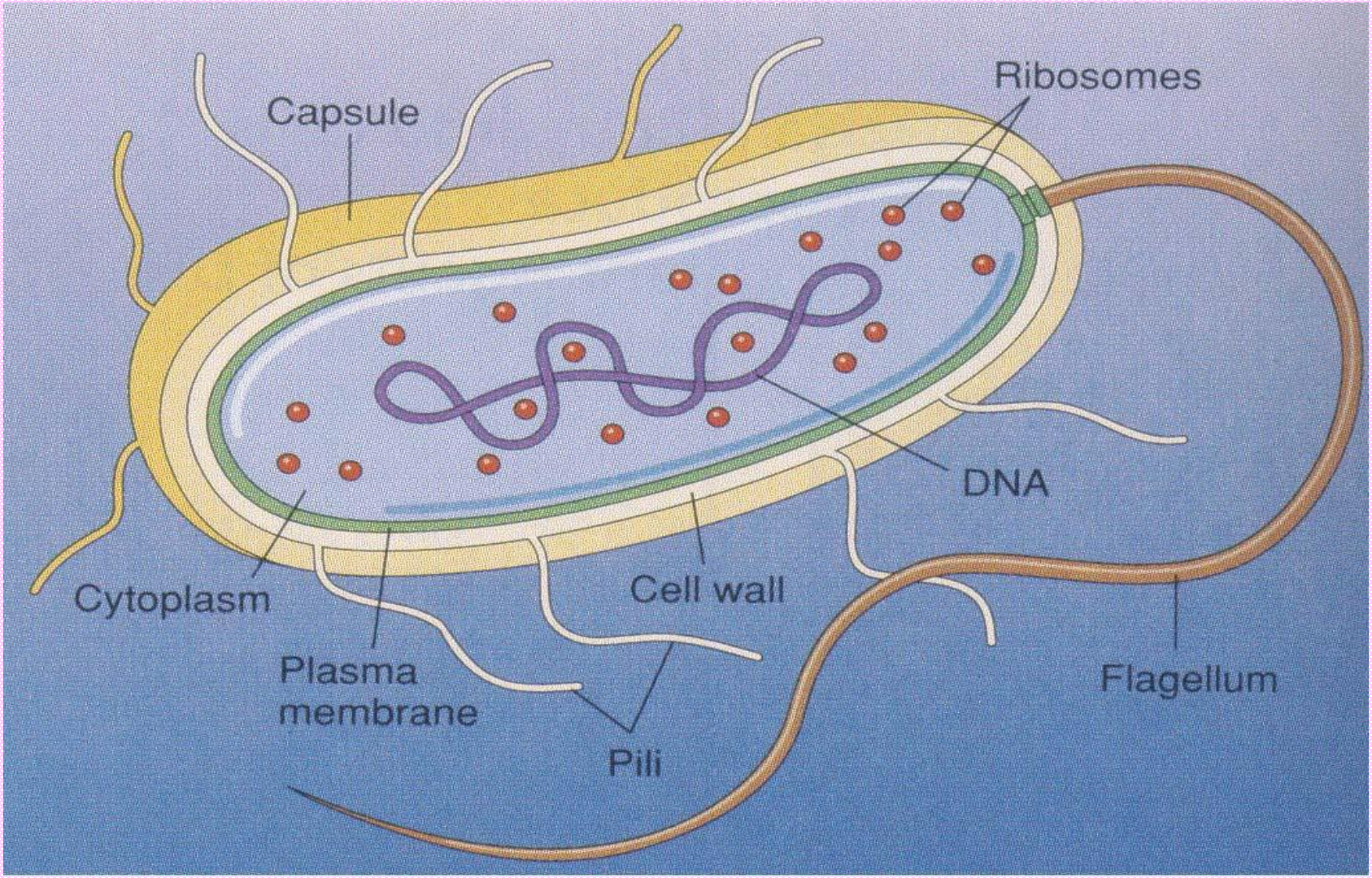


vibrio cholerae



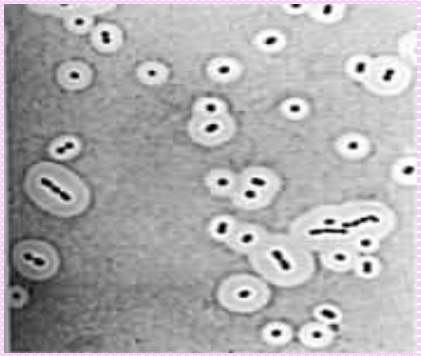


ساختمان سلول باکتری



- **پوشش سلولی**

۱) کپسول





مورفولوژی کپسول

کلنی باکتری های کپسول دار

ماهیت شیمیایی کپسول:

پلی ساکارید

Streptococcus pneumonia

Klebsiella pneumonia

Clostridium perfringens

پروتئینی

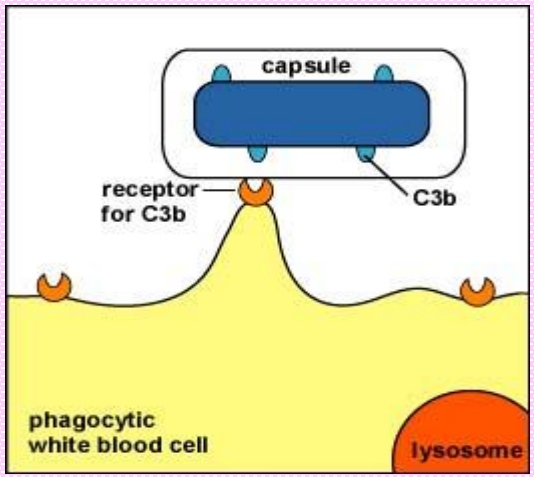
Bacillus antrasis

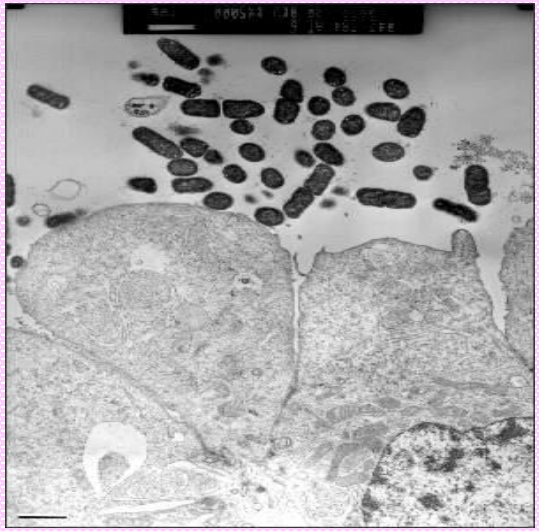
لیپیدی

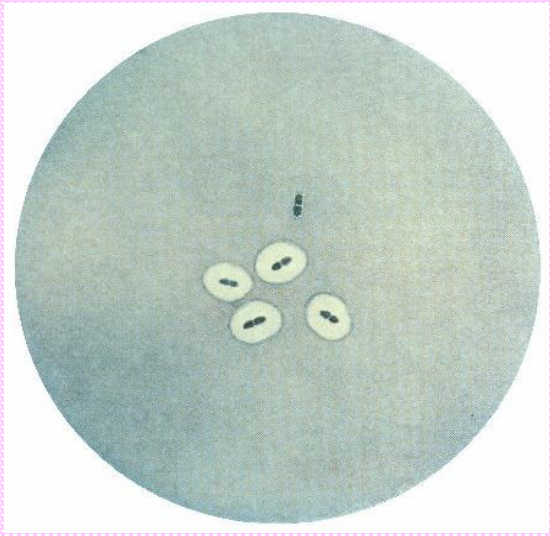
Brucella spp.

نقش کپسول

- خاصیت ضدفاگوسیتوزی
- خاصیت چسبندگی
- خاصیت آنتی ژنی (Quellung test)







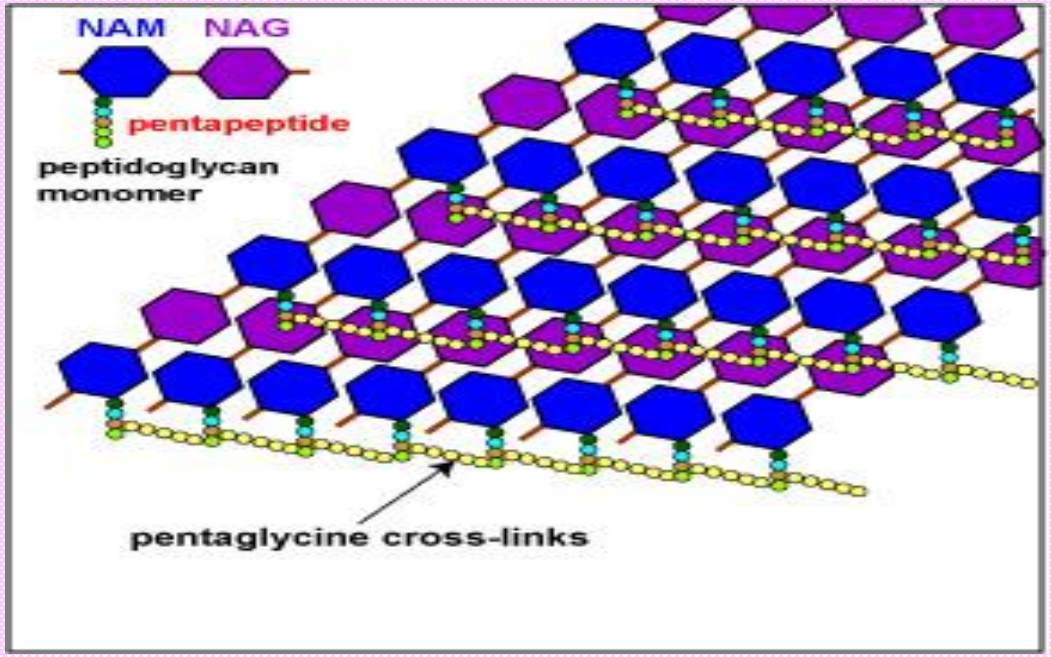
۲) دیواره سلولی

وظایف دیواره: الف) محافظت از سلول

ب) تعیین شکل سلول

ماهیت شیمیایی دیواره:

پلی مری به نام پپتیدوگلایکان یا مورئین یا موکوپپتید



ساختار پپتید.گلایکان

۱- ستون فقرات (back bone)

N استیل گاوکز آمین + N استیل مورامیک اسید با پیوند بتا ۱ به ۴ گلیکوزیدی

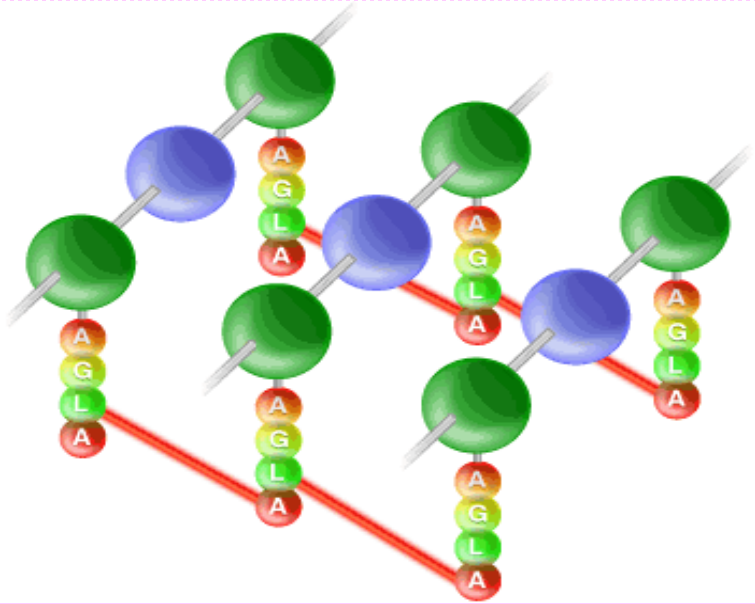
۲- زنجیره جانبی تتراپپتیدی

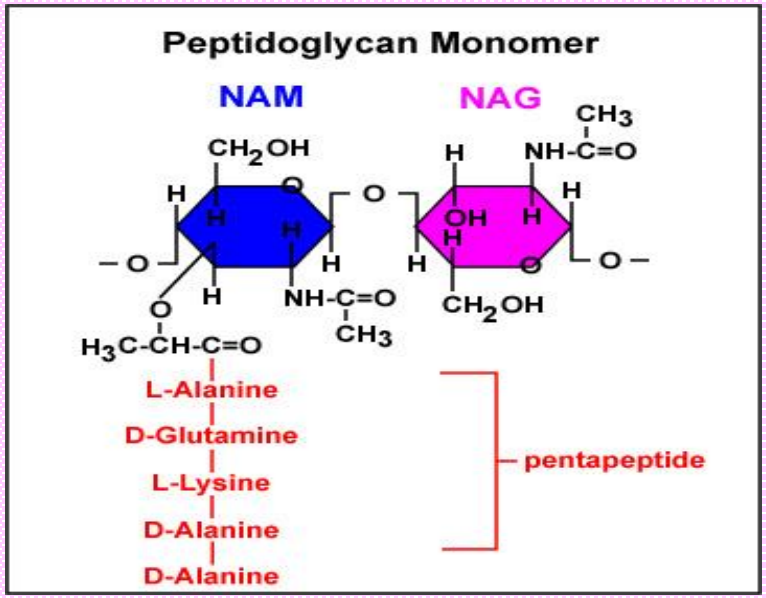
L آلانین ، D گلوتامات ، L ..... ، D آلانین

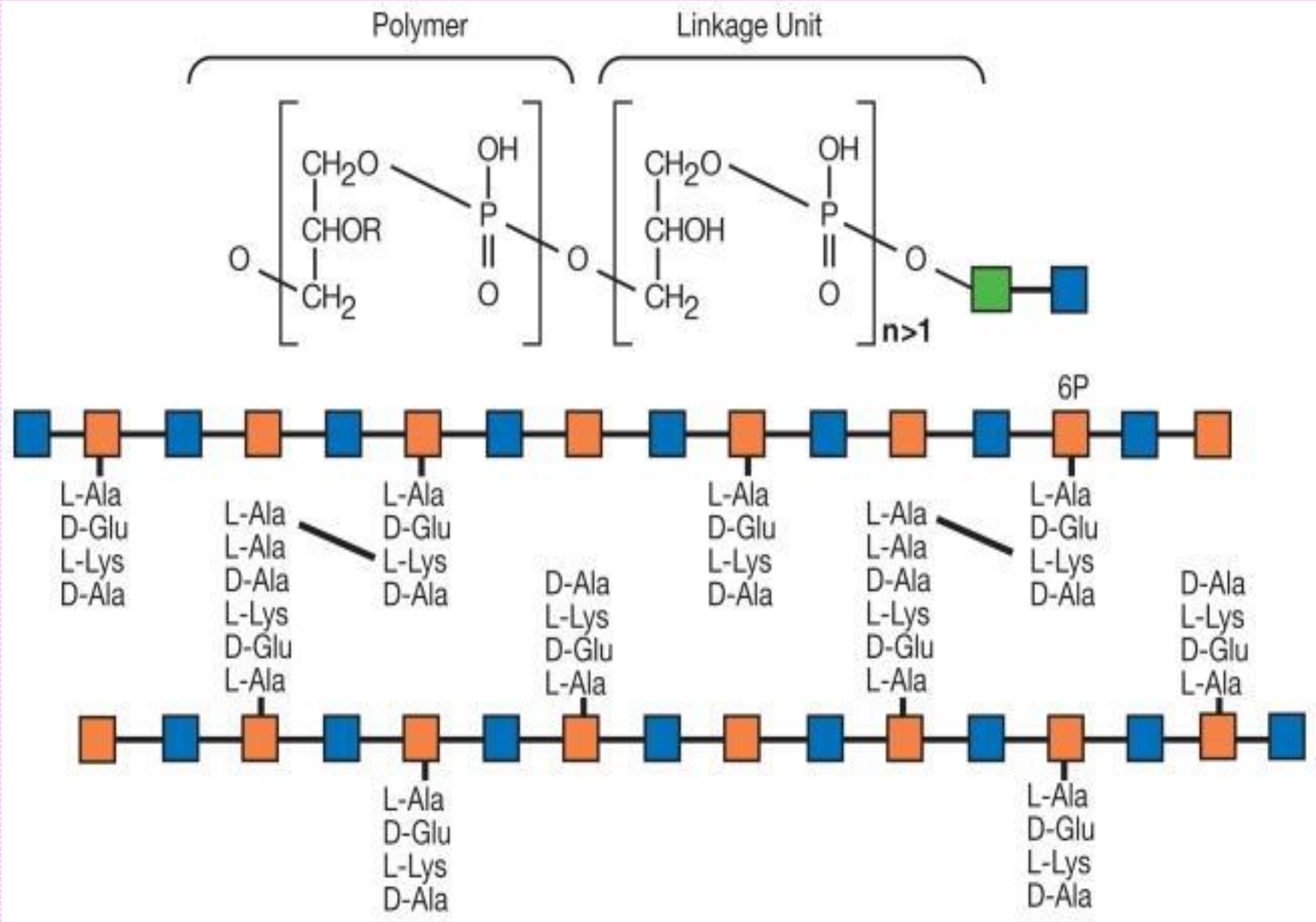
جایگاه سوم در باکتری های گرم مثبت L لیزین یا فرم L بزخی دیگر از اسیدهای آمینه

جایگاه سوم در باکتری های گرم منفی DAP (دی آمینوپایمیلیک اسید) و گاهی اسیدهای آمینه دیگر

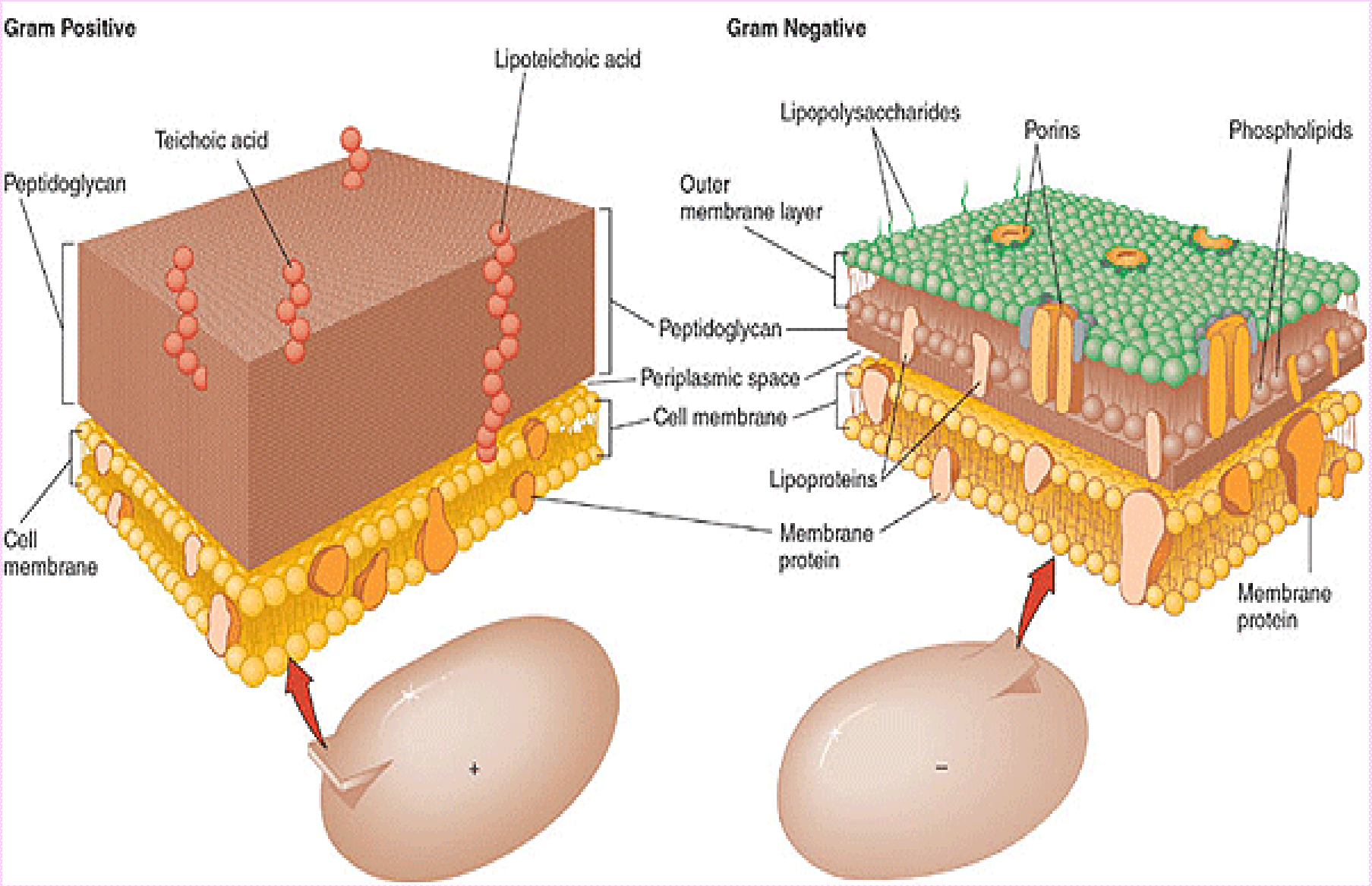
۳- پل عرضی (cross link) : بین اسیدهای آمینه سوم یک رشته و چهارم از رشته دیگر



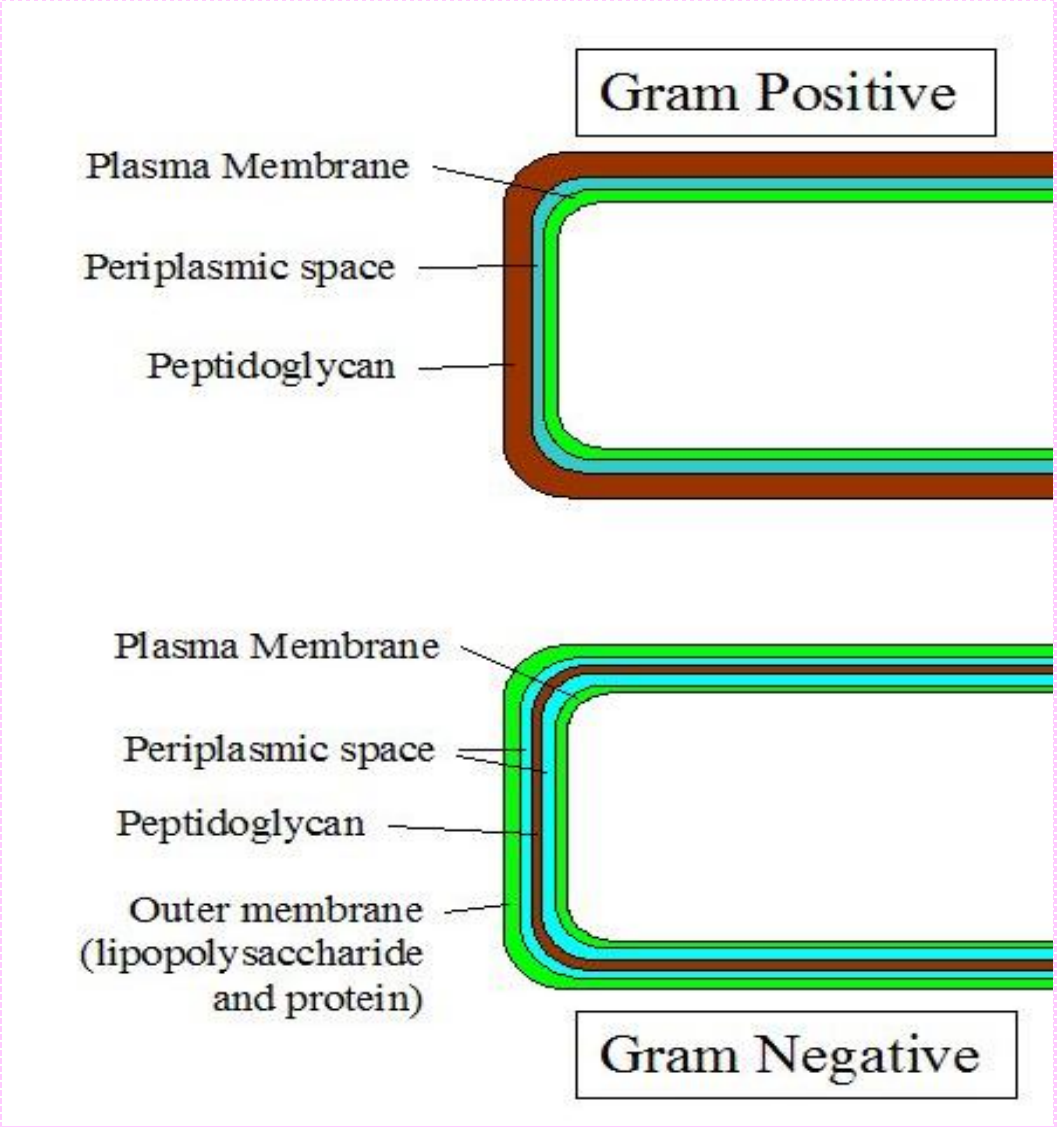



Polymer
Linkage Unit
CH2O
CHOR
CH2
OH
P
O
O
CH2O
CHOH
CH2
OH
P
O
O
n>1
6P
L-Ala
D-Glu
L-Lys
D-Ala
L-Ala
L-Ala
D-Ala
L-Lys
D-Glu
L-Ala
L-Ala
D-Glu
L-Lys
D-Ala
D-Ala
L-Lys
D-Glu
L-Ala
L-Ala
D-Glu
L-Lys
D-Ala
L-Ala
L-Ala
D-Ala
L-Lys
D-Glu
L-Ala
L-Ala
D-Glu
L-Lys
D-Ala
D-Ala
L-Lys
D-Glu
L-Ala
L-Ala
D-Glu
L-Lys
D-Ala

مقایسه دیواره سلولی باکتر یهای گرم مثبت و گرم منفی



مقایسه دیواره سلولی باکتر یهای گرم مثبت و گرم منفی



درگرم مثبت ها

غشاء سیتوپلاسمی

پپتیدوگلایکان

در گرم منفی ها:

غشاء سیتوپلاسمی

پپتیدوگلایکان

لیپوپروتئین

غشاء خارجی

لیپوپلی ساکارید

رنگ آمیزی نمونه ها

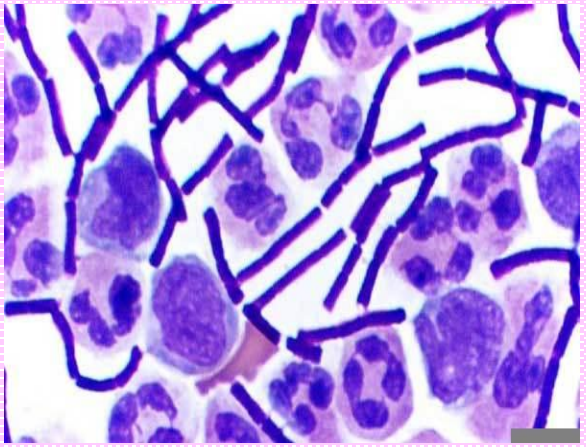
- انواع رنگ آمیزی

رنگ آمیزی مثبت: اندام یا باکتری مورد نظر رنگ آمیزی می شود.

رنگ آمیزی منفی: محیط اطراف باکتری یا اندامک مورد نظر رنگ می شود

رنگ آمیزی ساده : یک رنگ و فقط برای یک بار مورد استفاده قرار می گیرد.

رنگ آمیزی افتراقی: از چند رنگ و رنگ بر استفاده می شود.





- انواع رنگ آمیزی افتراقی

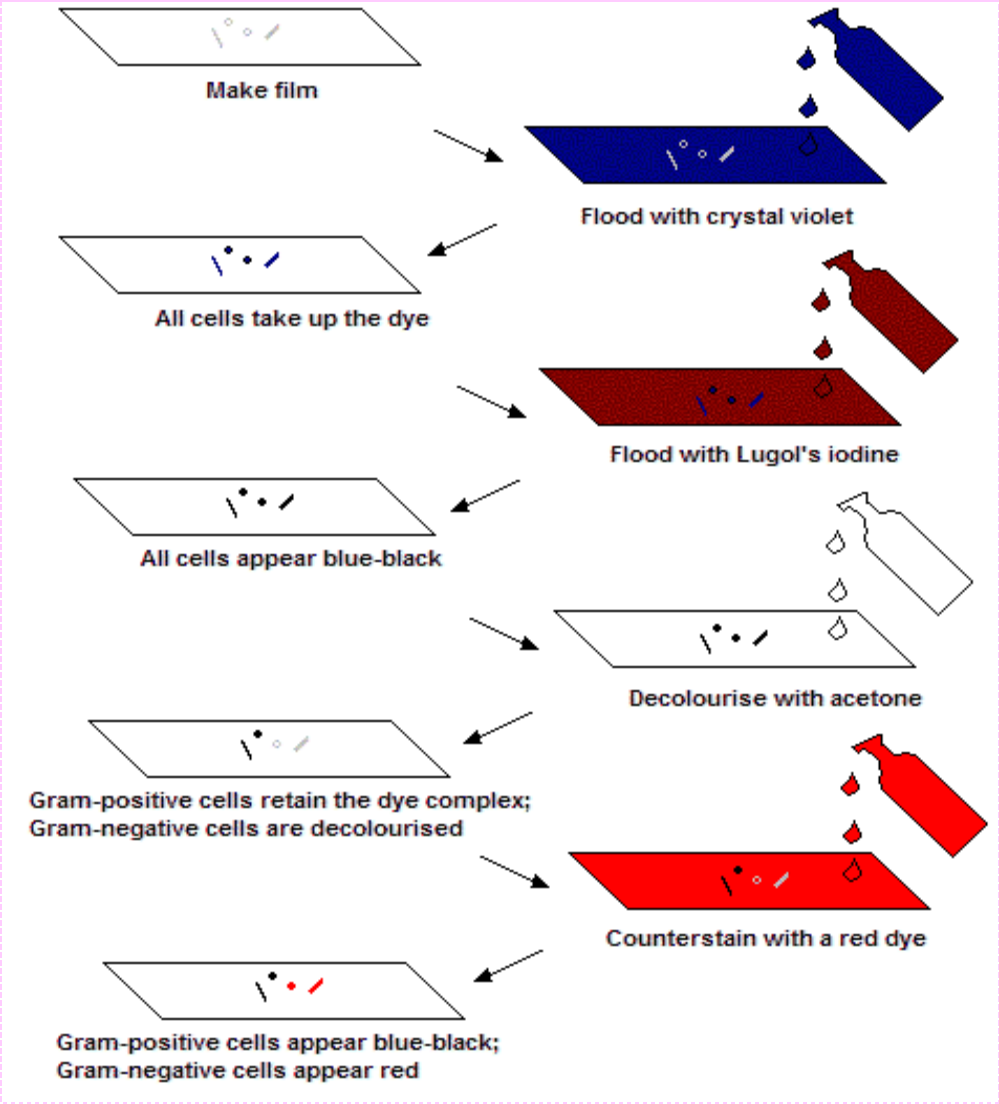
رنگ آمیزی گرم

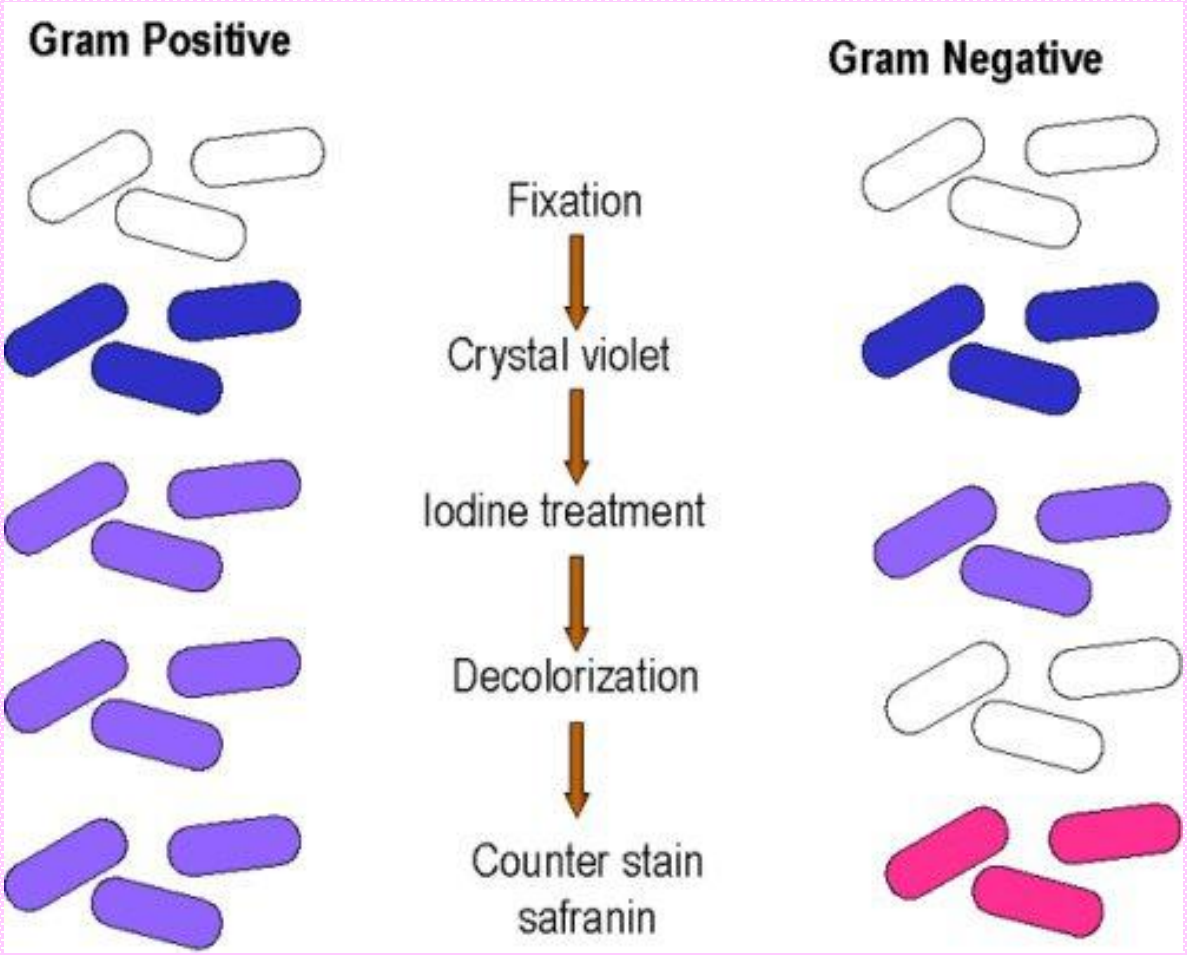
رنگ اولیه: کریستال ویوله

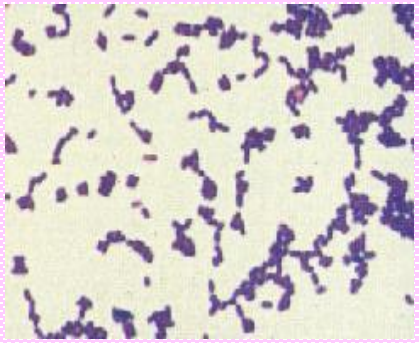
لوگل

رنگ بر: الکل-استون

رنگ ثانویه: سافرانین



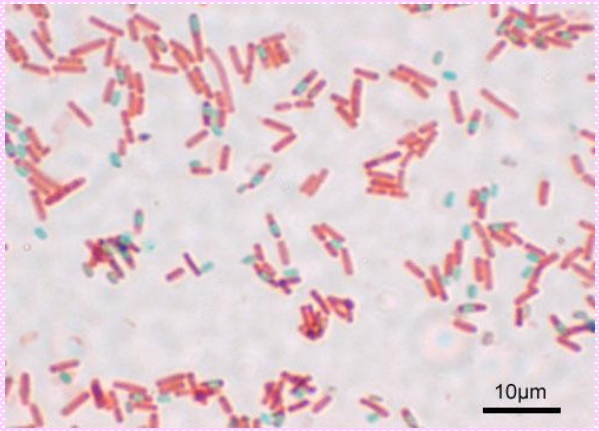

Gram Positive
Gram Negative
Fixation
Crystal violet
Iodine treatment
Decolorization
Counter stain
safranin



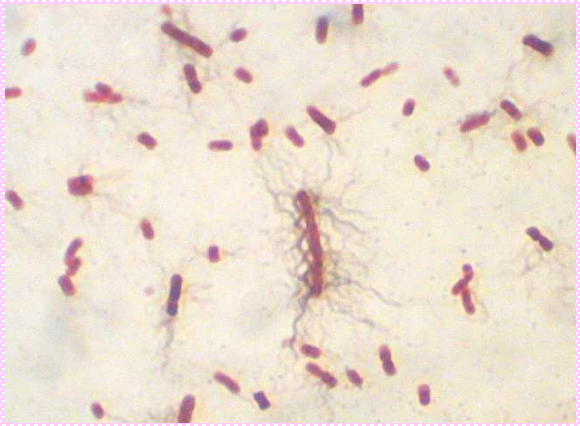


- **رنگ آمیزی اندامک های باکتری**

رنگ آمیزی اسپور

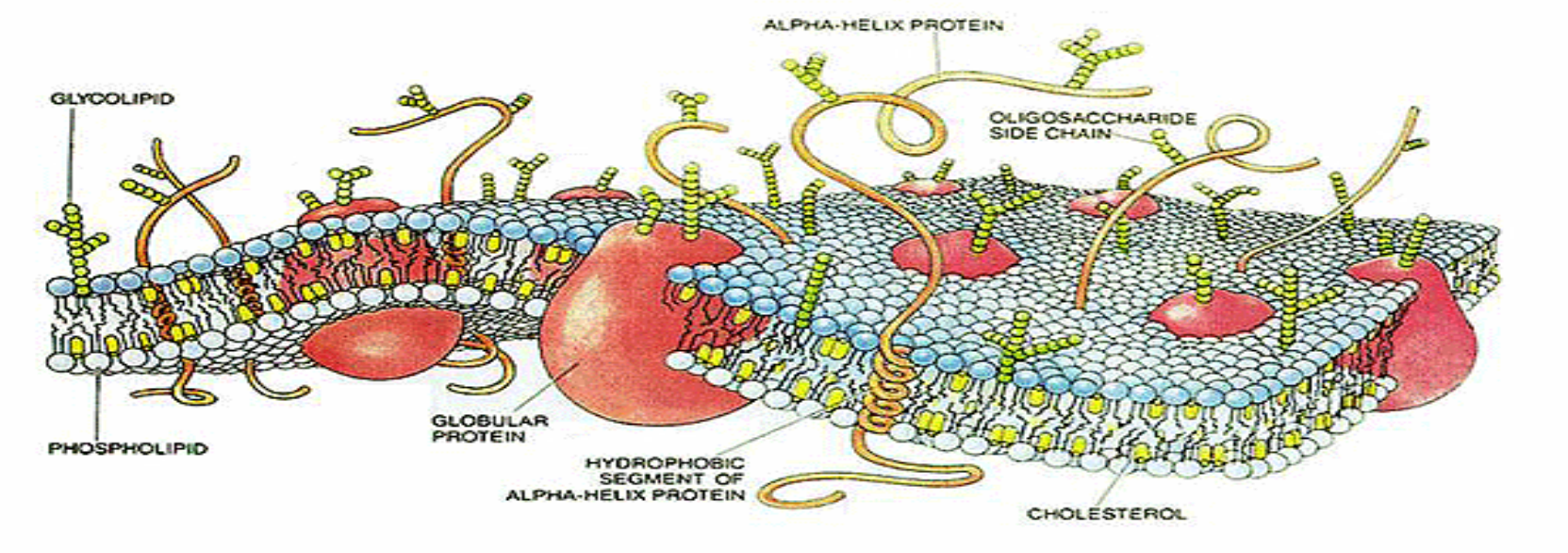


رنگ آمیزی فلاژل



۳) غشاء سیتوپلاسمی

غشاء واحد = دولایه فسفولیپید + پروتئین



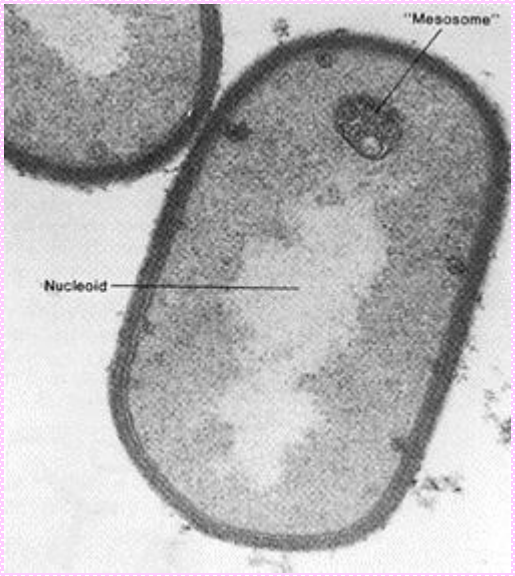
وظایف غشاء سیتوپلاسمی

۱- انتقال مواد (انتقال فعال و انتقال غیر فعال)

۲- تولید ATP = تنفس

۳- ترشح آنزیم های هیدرولیتیک

- **مزوزوم = نواحی چین خورده غشاء**



انواع مزوزوم:

الف) مزوزوم کناری (lateral mesosome)

ب) مزوزوم سپتال (septal mesosome)

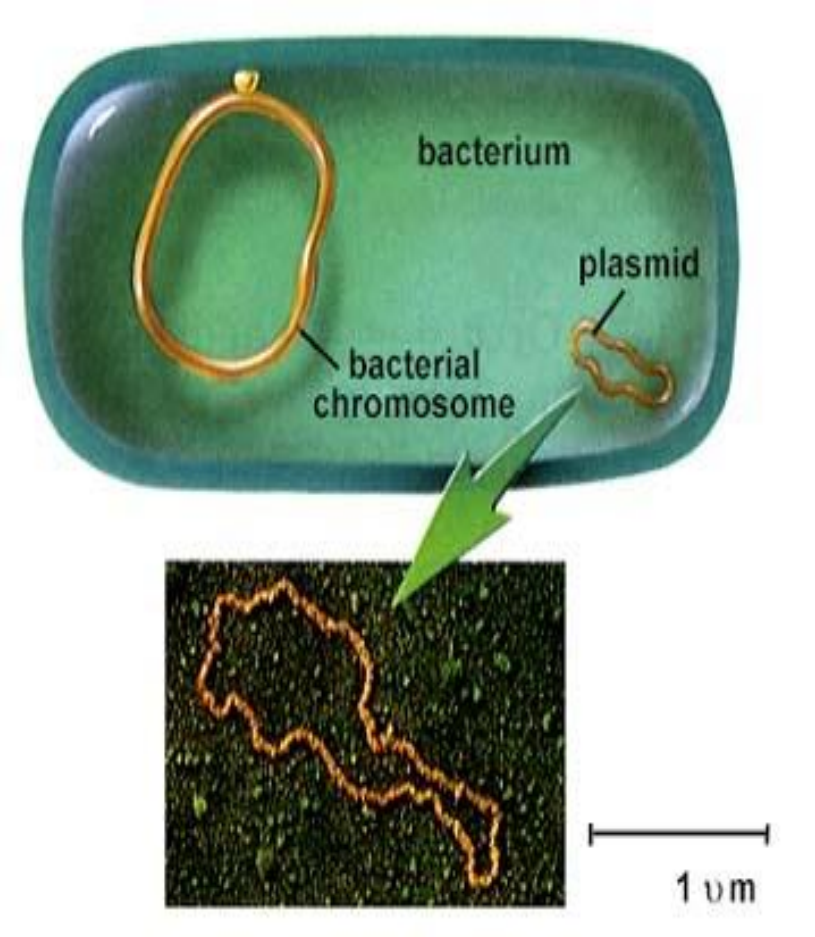
نقش مزوزوم

۱- افزایش سطح غشاء به منظور تولید انرژی بیشتر

۲- اتصال به کروموزوم باکتری و دخالت در جداشدن و مهاجرت منظم کروموزوم های همانندسازی شده به دو سلول در حال تقسیم

مواد ژنتیکی باکتری

۱- کروموزوم: به شکل DNA دو رشته ای حلقوی

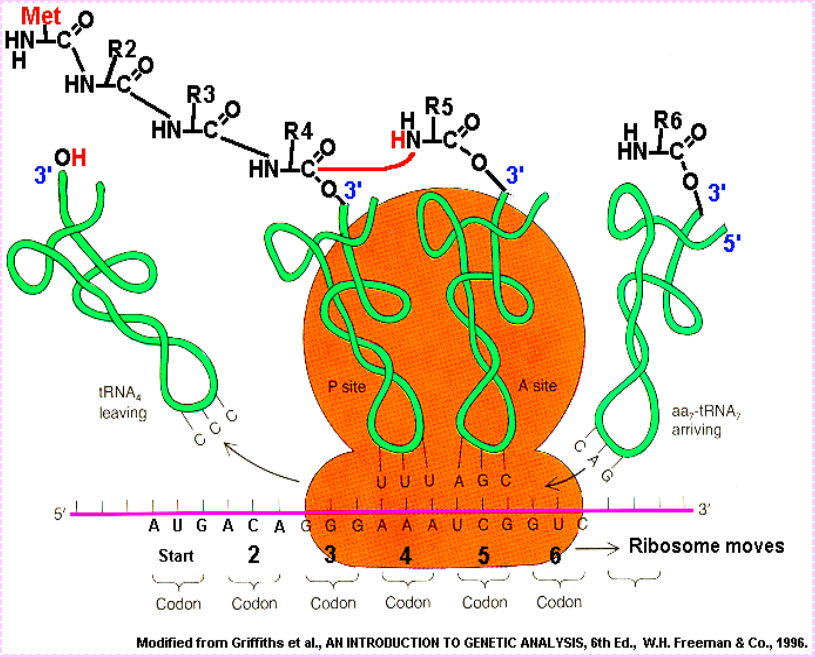


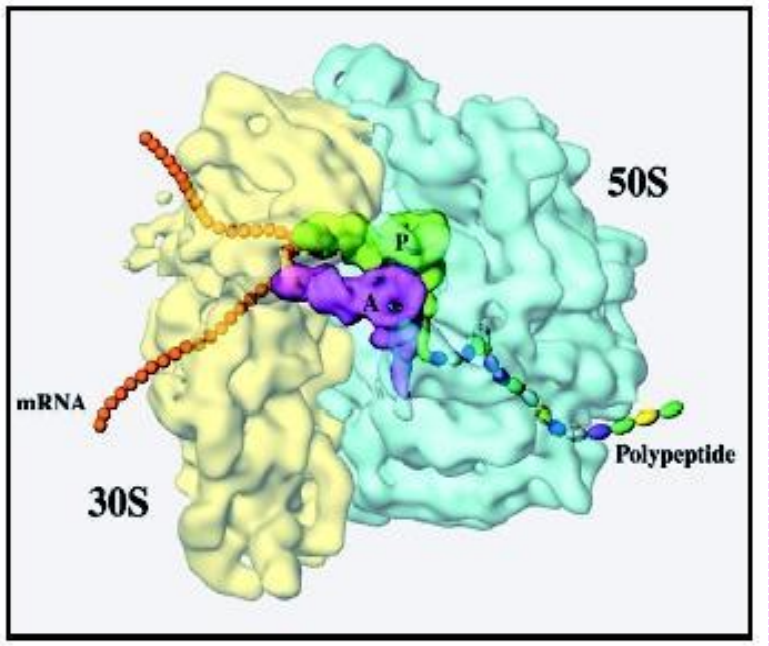
۲- پلاسمید

۳- ترانسپوزون

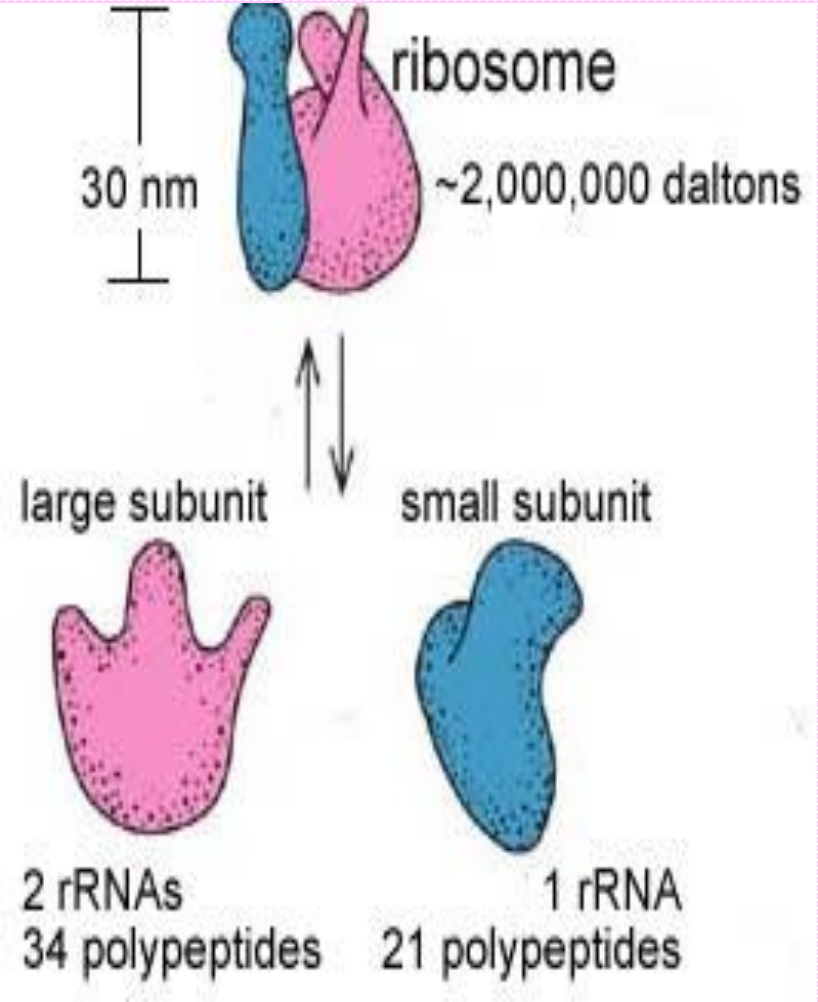
ریبوزوم

- ریبوزوم دستگاه سنتز پروتئین در سلول ها است.
- درون سلول باکتری حدود ۱۵۰۰۰ عدد ریبوزوم وجود دارد که تعداد دقیق آن به سرعت سنتز پروتئین در سلول بستگی دارد.
- هر ریبوزوم از دو بخش و هر بخش از RNA ریبوزومی و پروتئین تشکیل شده است.





- ریبوزوم سلول باکتری ۷۰s است که از دو بخش کوچکتر ۵۰s و ۳۰s تشکیل شده است.



- **اجزاء بخش ۳۰s :**

rRNA 16s

۲۰ نوع پروتئین

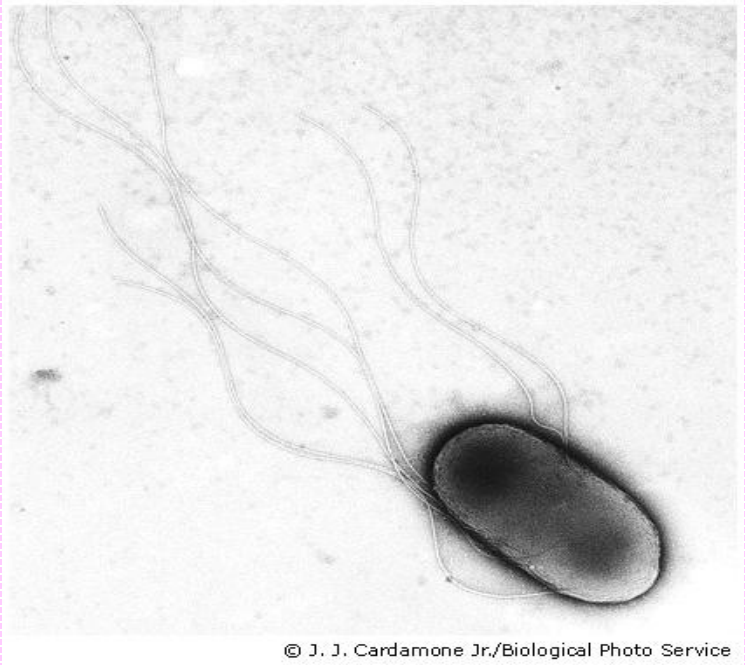
- **اجزاء بخش ۵۰s :**

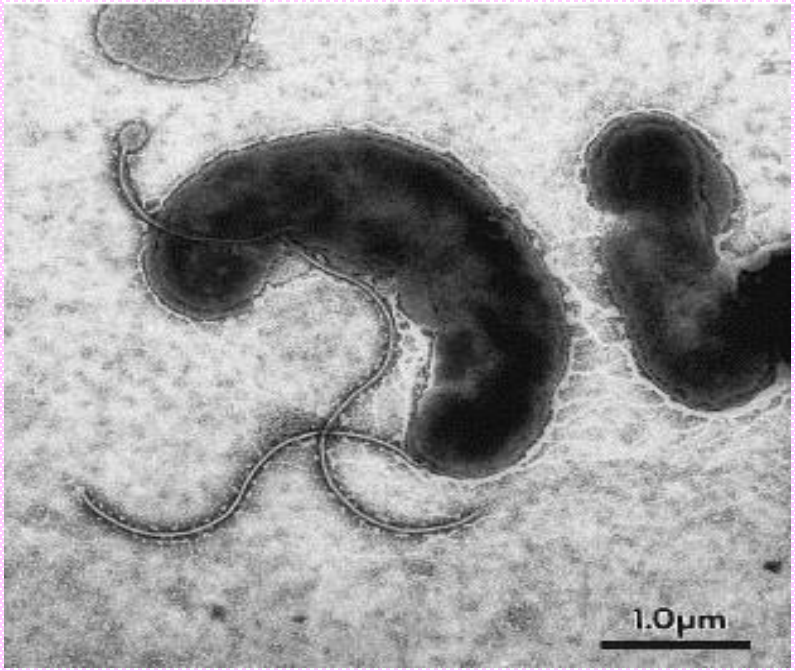
rRNA 23s و rRNA 5s

۳۵ نوع پروتئین

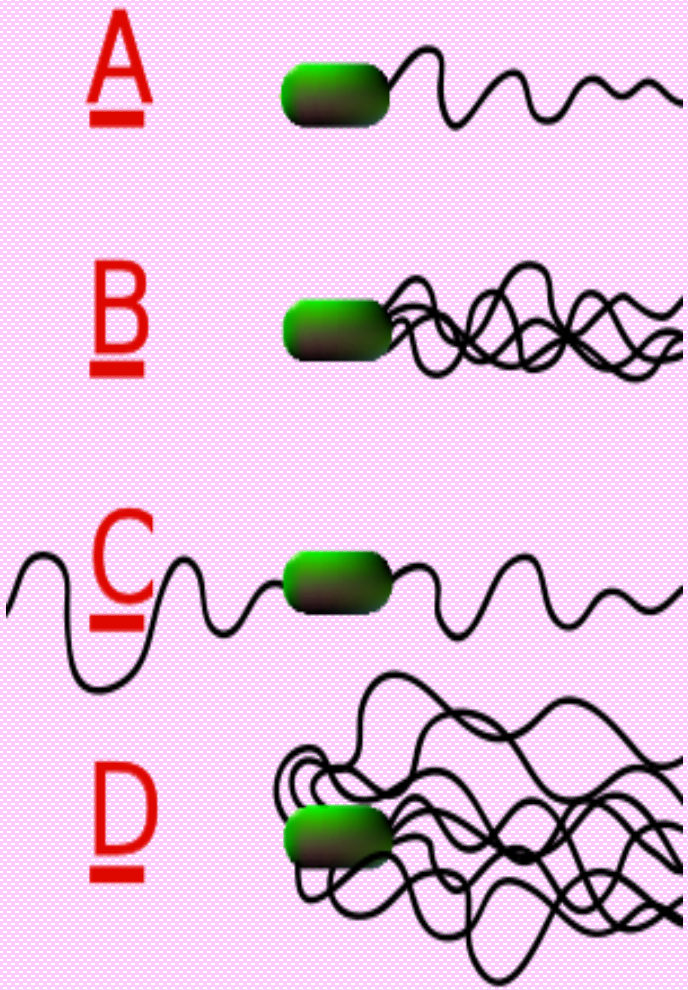
فلاژل (تاژک)

- فلاژل وسیله حرکتی باکتری ها محسوب می شود.
- فلاژل به شکل زائده ای ظریف ، بلند ، قابل انعطاف در خارج جسم سلولی باکتری مشاهده می شود.
- فلاژل ها بسیار شکننده اند اما پس از بلافاصله ساخته می شوند.





- آرایش و تعداد فلاژل ها بر روی باکتری های مختلف متفاوت است.



آرایش منوتریش

مانند *Vibrio chlorea*

آرایش لوفوتریش

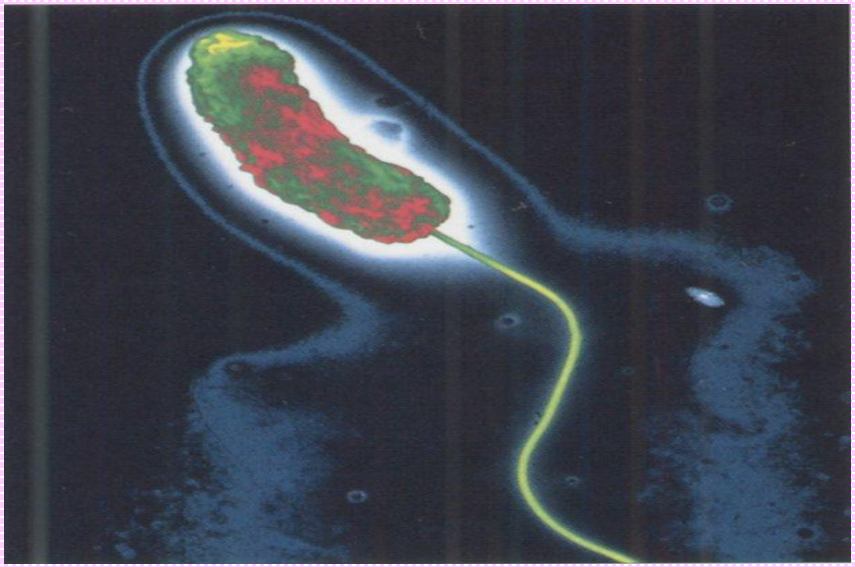
مانند *Pseudomonas aeroginosa*

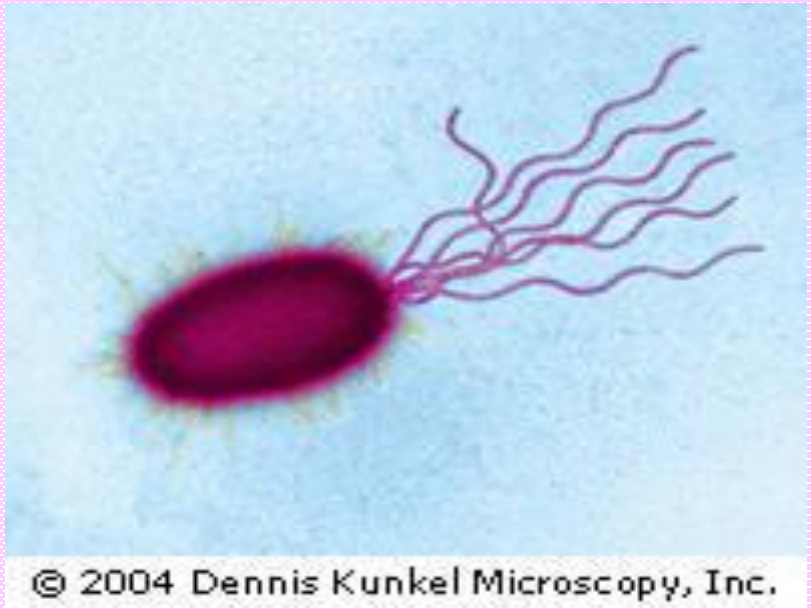
آرایش آمفی تریش

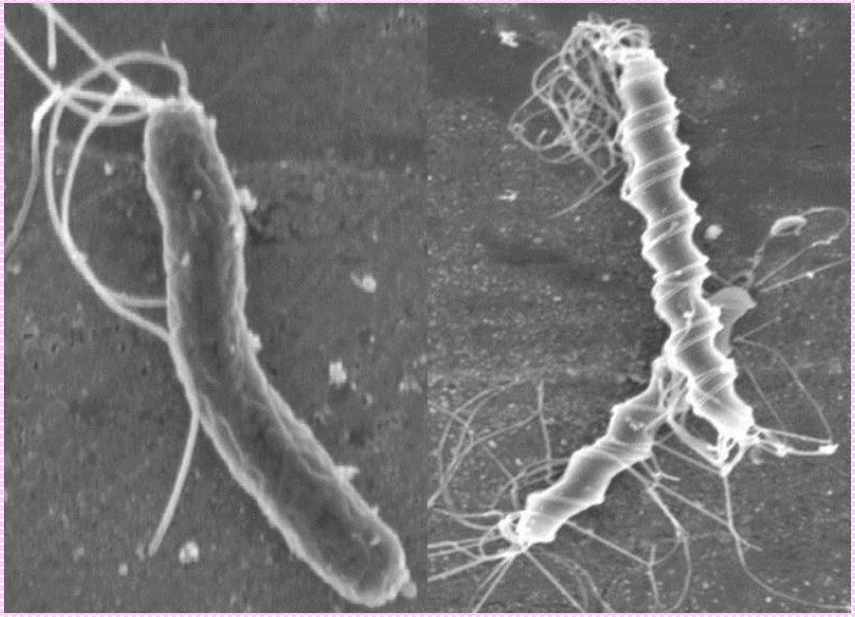
مانند *Helicobacter pylori*

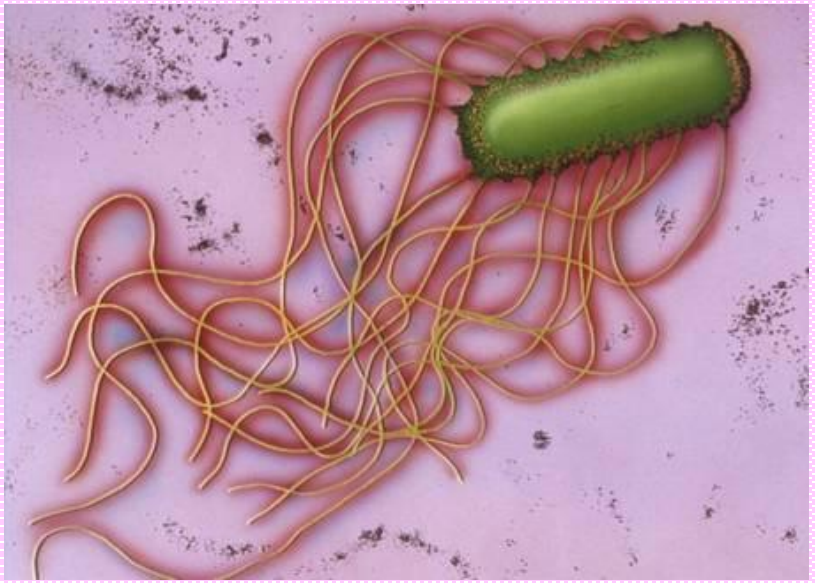
آرایش پری تریش

مانند *E.coli*

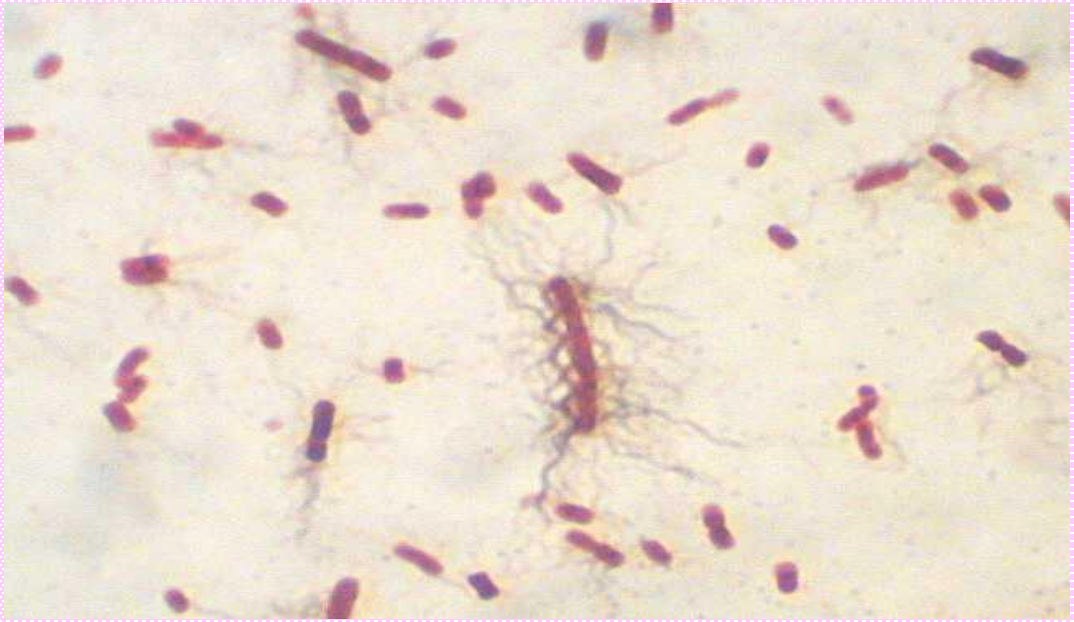



© 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.





- به دلیل ظریف بودن فلاژل با روش های معمول رنگ آمیزی نمی توان آنها را با میکروسکوپ نوری مشاهده نمود. برای رنگ آمیزی فلاژل از ترکیبات موردانت مانند اسید تانیک استفاده می کنند.

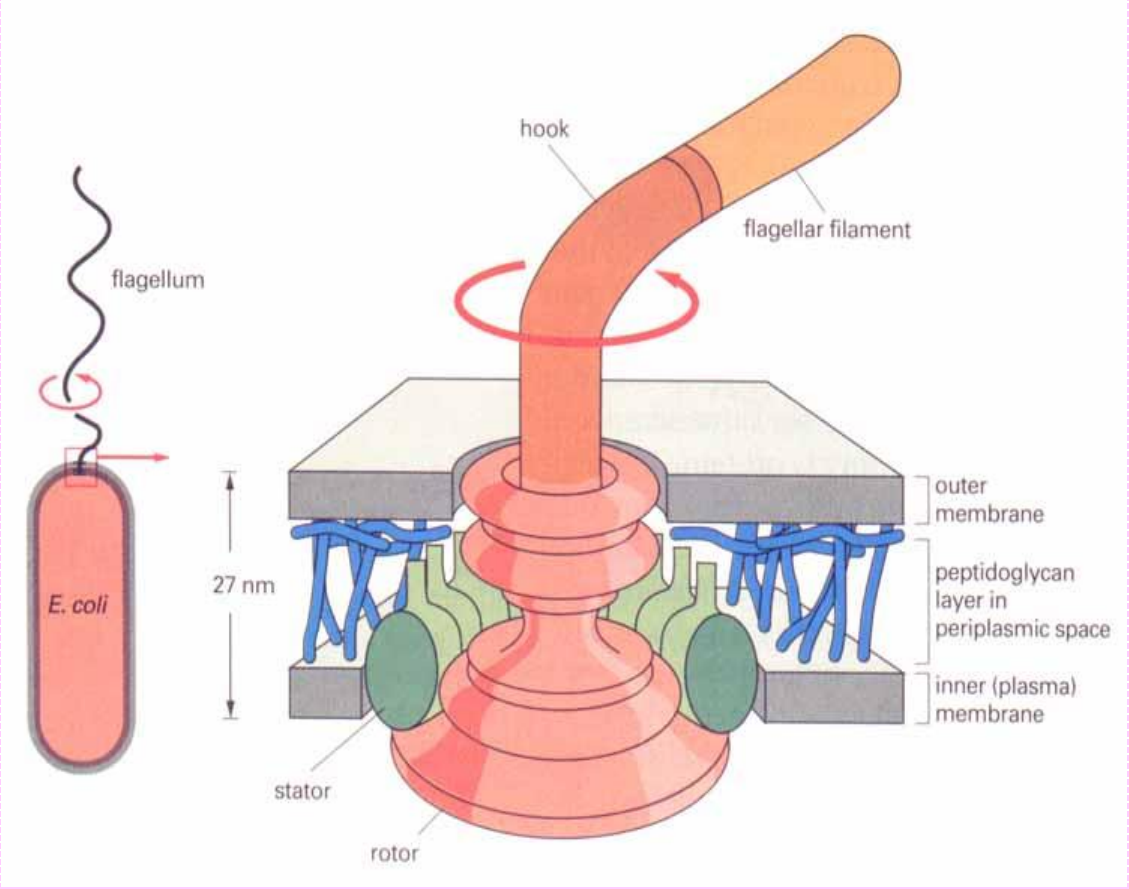


- ساختار هر فلاژل از سه بخش تشکیل شده است:

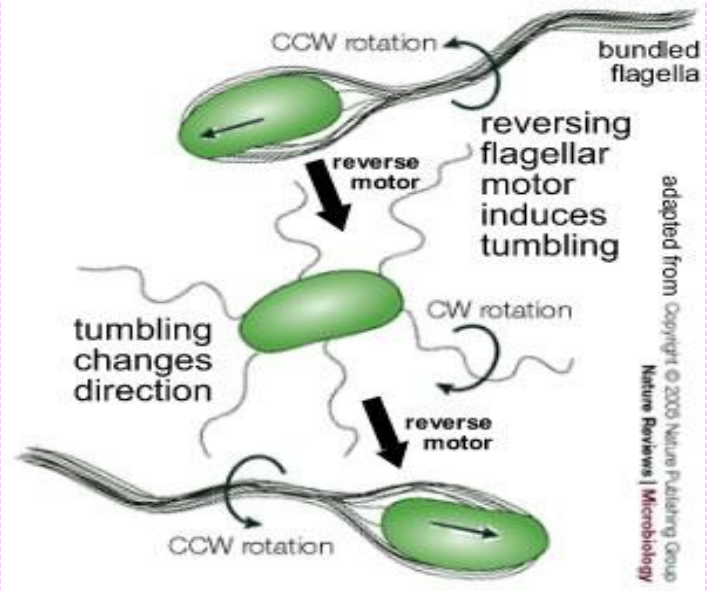
۱- رشته

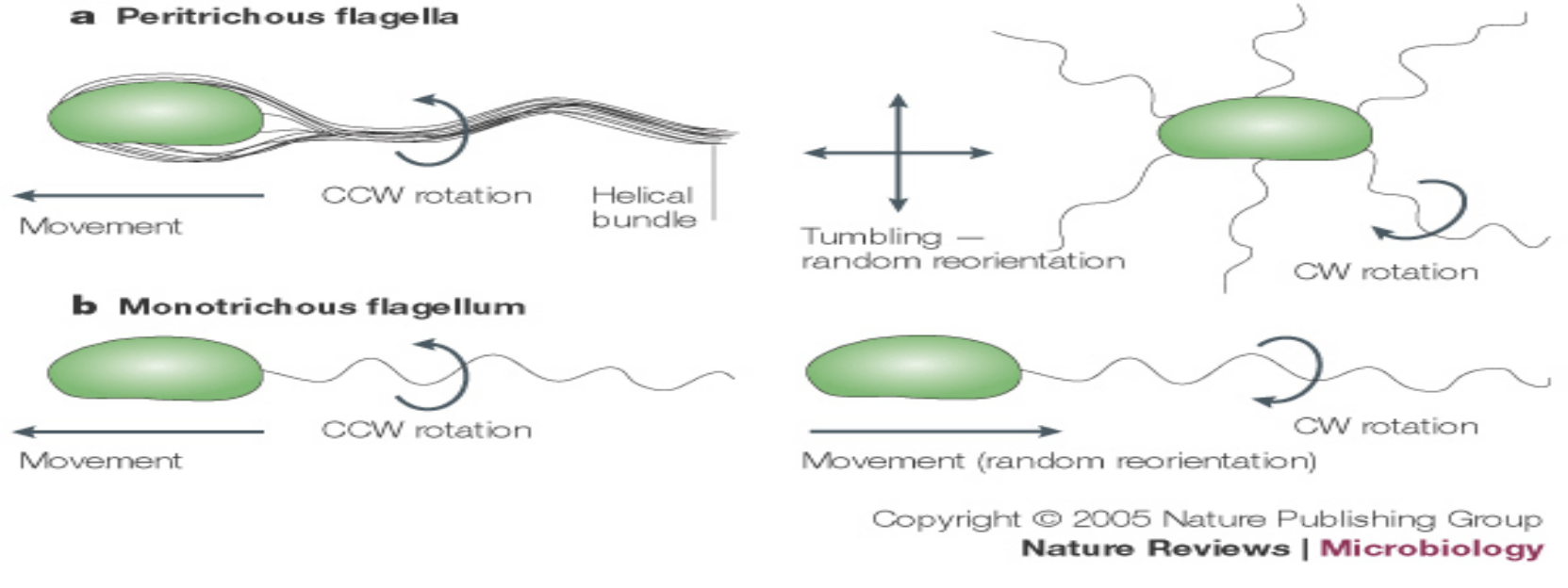
۲- قلاب

۳- جسم پایه

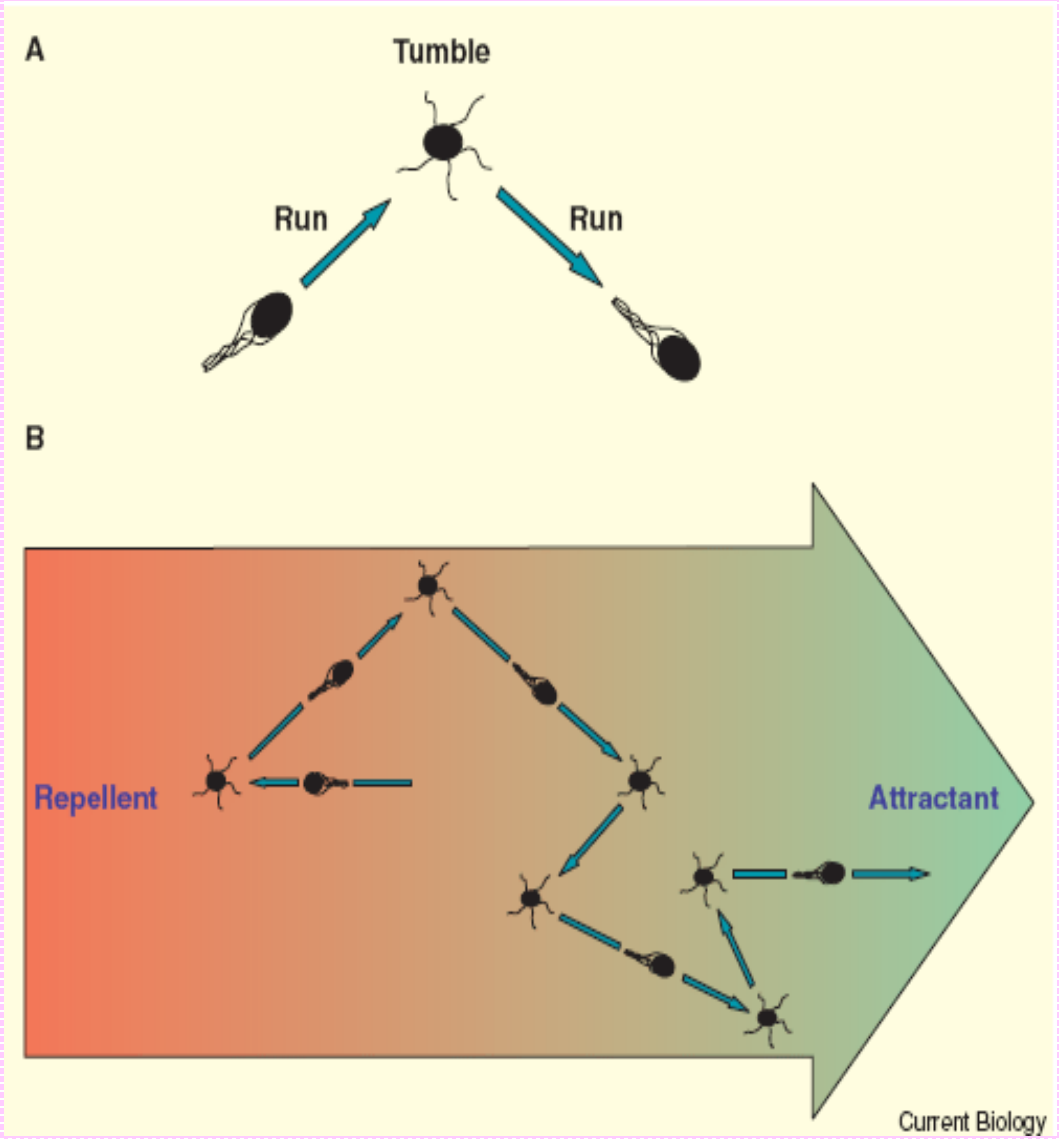


- شنا کردن و هماهنگی حرکت فلاژل ها

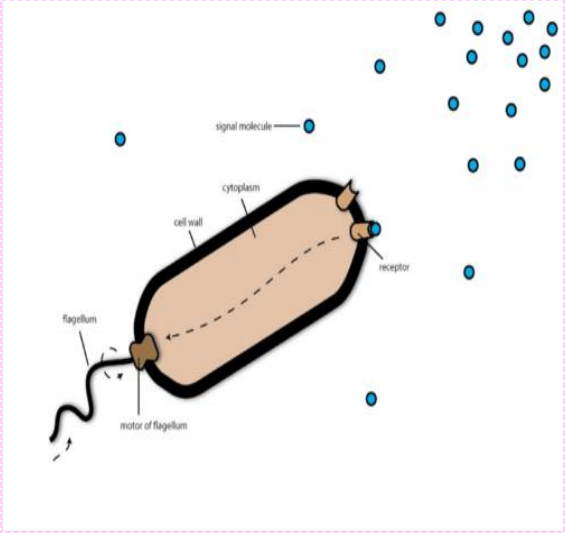


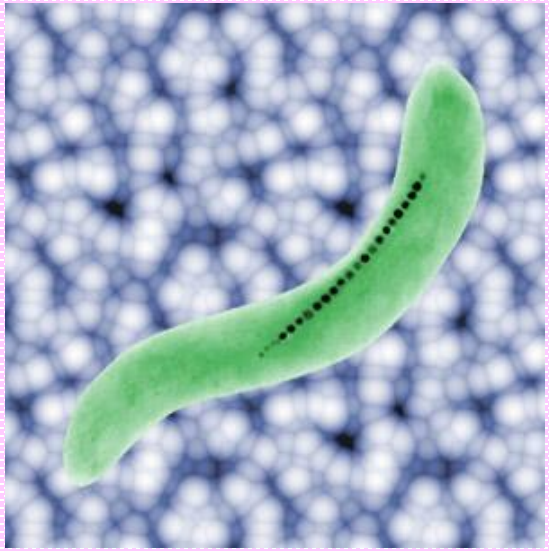


- مکانیسم حرکت باکتری



- تاکسیسم در باکتری ها

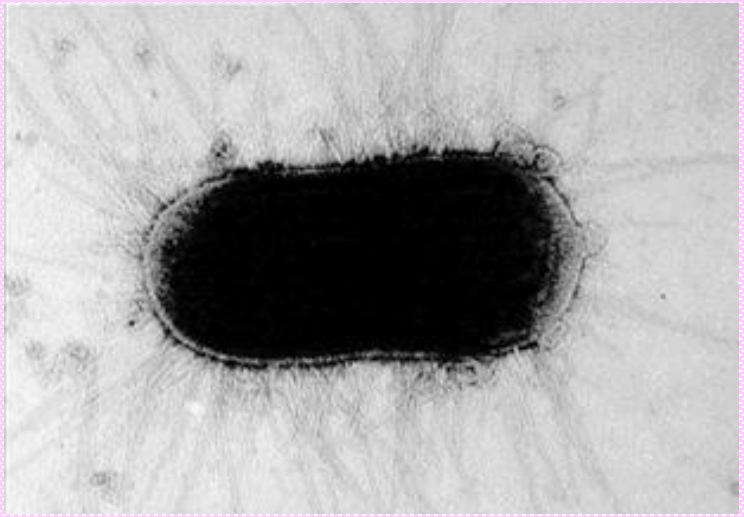


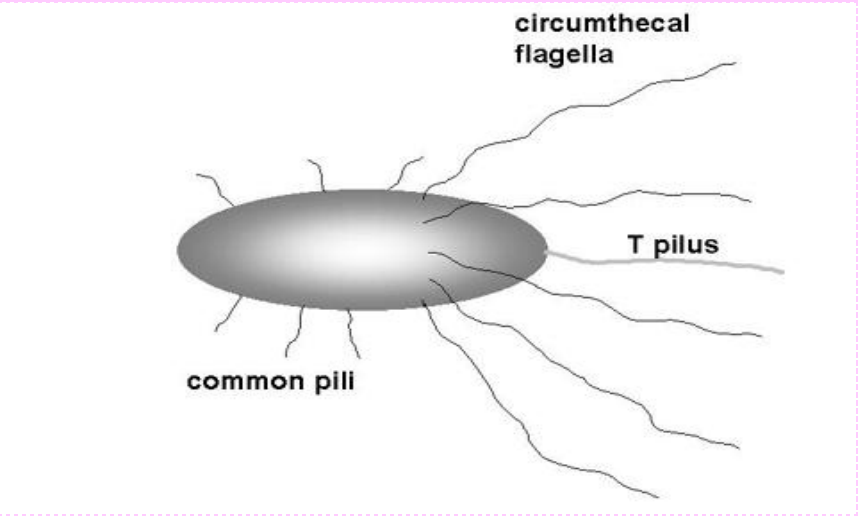


- Chemotaxis
- Aerotaxis
- Phototaxis
- Magnetotaxis

تار (پیلی)

- ✓ تار زائده ای است کوتاه ، باریک و غیرقابل انعطاف که دور تا دور سلول باکتری مشاهده می شود.



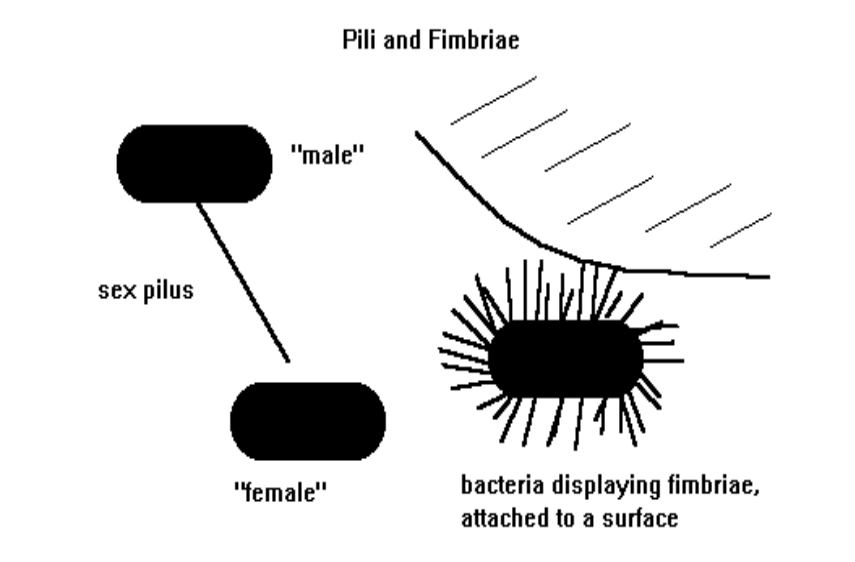


- ✓ پیلی از واحدهای پروتئینی کروی به نام پیلین تشکیل شده است که دور همدیگر تابیده و رشته ای توخالی را ایجاد می کنند.
- ✓ پیلی نیز مانند فلاژل بسیار شکننده است و در اثر لرزش از باکتری جدا می شود.

انواع پیلی

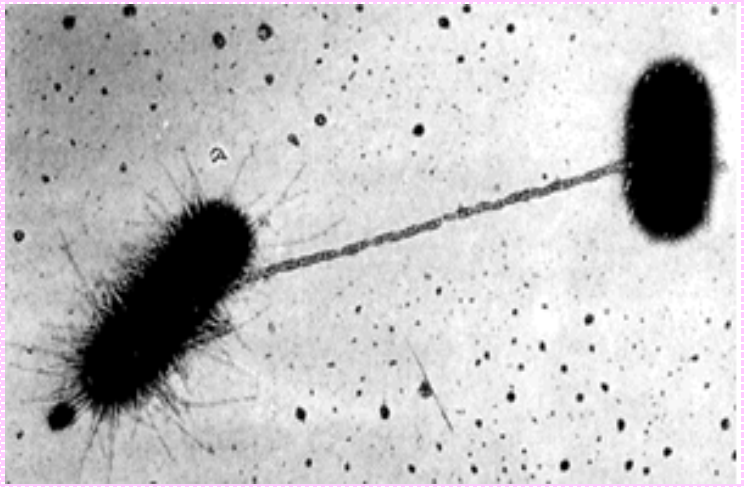
1. پیلی معمولی

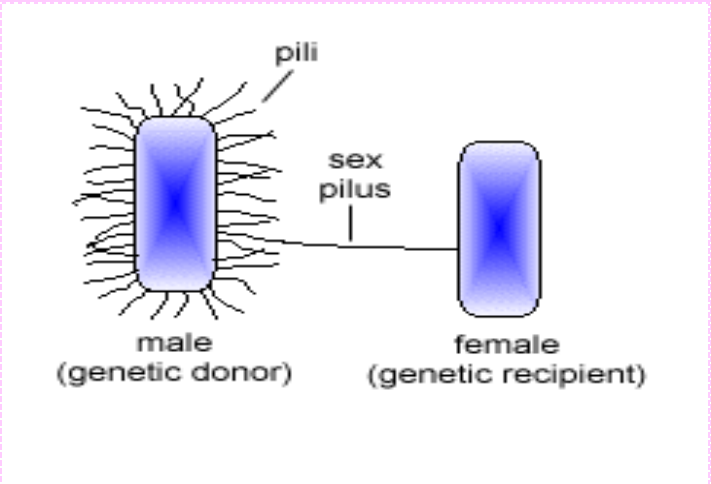
- ✓ به تعداد زیاد در دور تا دور سلول باکتری دیده می شوند.
- ✓ این پیلی ها در اتصال باکتری به سطوح مختلف در محیط و به سلولهای سلول میزبان نقش دارند
- ✓ پیلی معمولی خاصیت ضدفاگوسیتوزی دارد.



2. پیلی جنسی

- ✓ پیلی های جنسی در مقایسه با پیلی های معمولی طول بلندتری داشته و به تعداد کمتر در روی سطح باکتری مشاهده می شوند.
- ✓ پیلی جنسی عامل اتصال دو سلول باکتری به همدیگر بوده و باعث انتقال DNA از یک سلول به دیگری می شود.



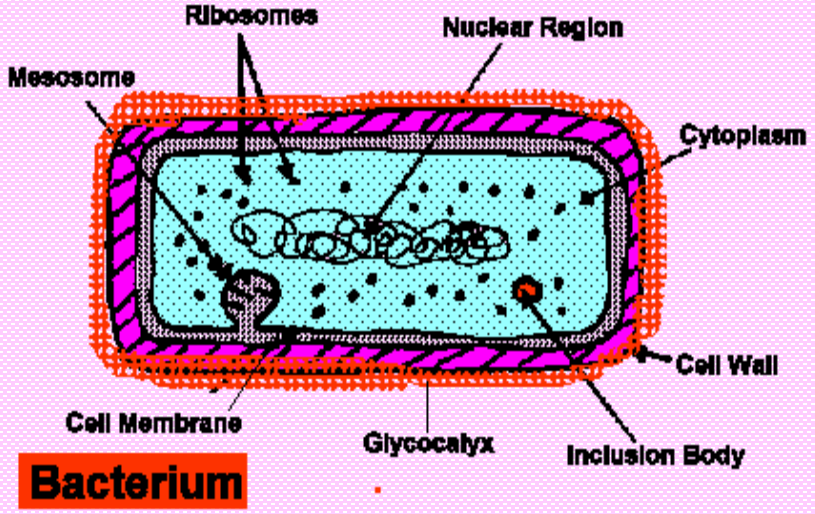


مواد ذخیره ای

- ✓ باکتری ها نیز مانند سلولهای یوکاریوتی مواد غذایی مازاد برمصرفشان را به صورت پلیمرهای نامحلول در سیتوپلاسم شان ذخیره می کنند. بسیاری از این مواد ذخیره غذایی می باشند که در صورت نیاز مصرف می گردند.
- ✓ سنتز دانه های ذخیره ای به نوع میکروب و شرایط محیط بستگی دارد.
- ✓ انواع دانه های ذخیره ای در باکتری ها عبارتند از:

➢ دانه گلیکوژن :

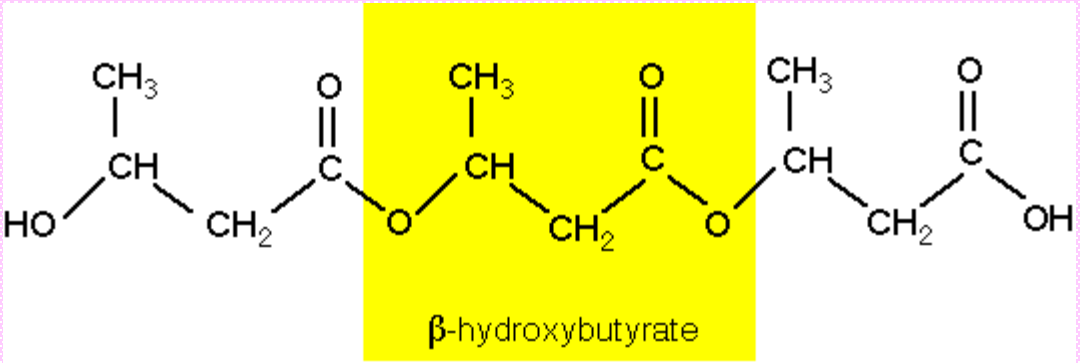
این ماده ذخیره کربن و انرژی سلول است.



➢دانه پلی بتا هیدروکسی بوتیرات

این ماده ذخیره کربن و انرژی سلول است.

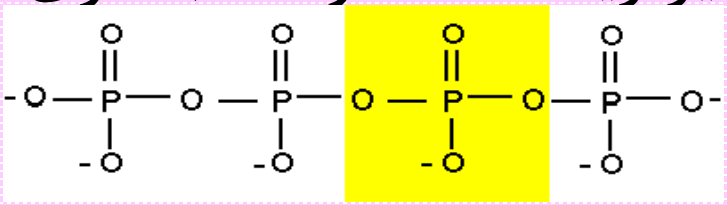
دانه های PHB درصورت وجود بوتیرات و استات در محیط و کاهش pH محیط تولید می شود.



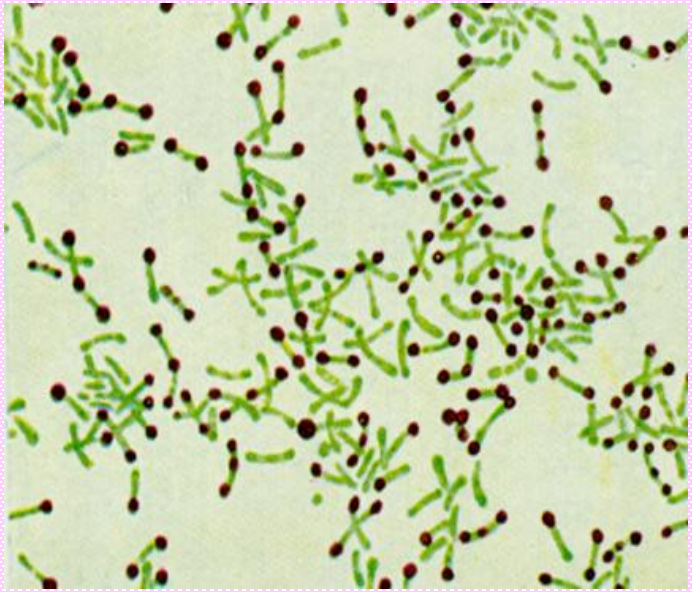
- دانه متاکروماتیک = دانه ولوتین = دانه ارنست-بابز= پلیمر ارتوفسفات

ذخیره فسفات باکتری است

دانه های ولوتین درصورت تولید مقادیر زیاد ATP توسط باکتری تولید می شود.



ش‌ش



اسپور

برخی از باکتری ها تحت شرایط سخت محیطی تبدیل به شکل مقاومی میشوند که اسپور نام دارد.

اسپور شکلی از باکتری است که در برابر گرما ، سرما ، اشعه ، مواد شیمیایی و ... مقاوم است.

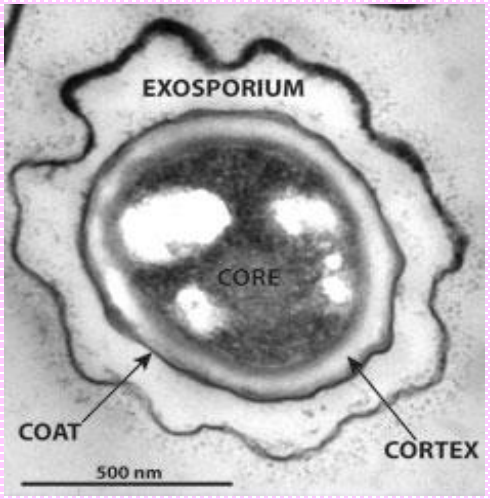
انواع خاصی از باکتری ها اسپور تولید می کنند مانند:

1- *Bacillus*

2- Clostridium

3- Sporosarcina

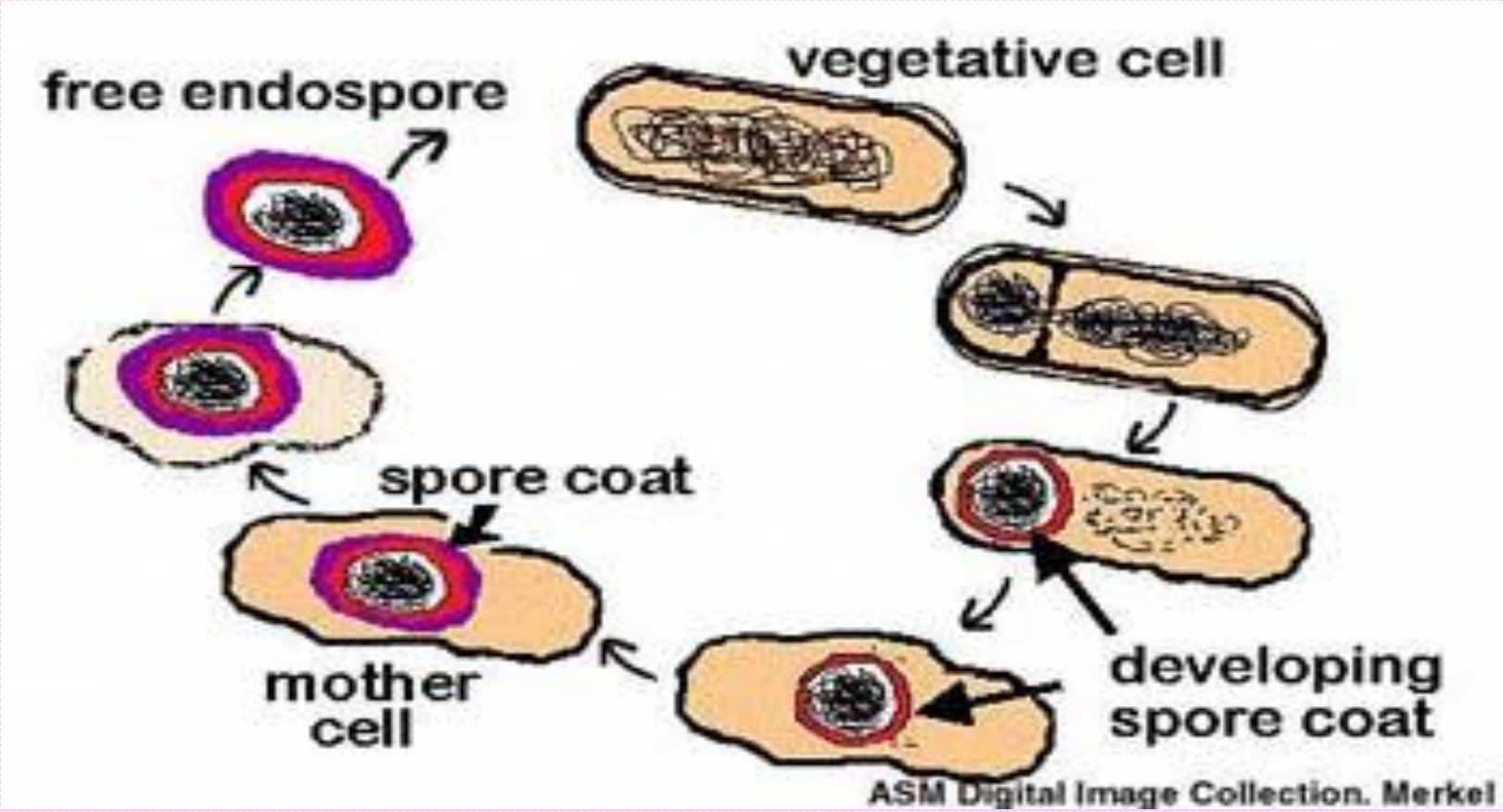
4- Sporolactobacillus



- **اسپورزایی (sporolation)** :

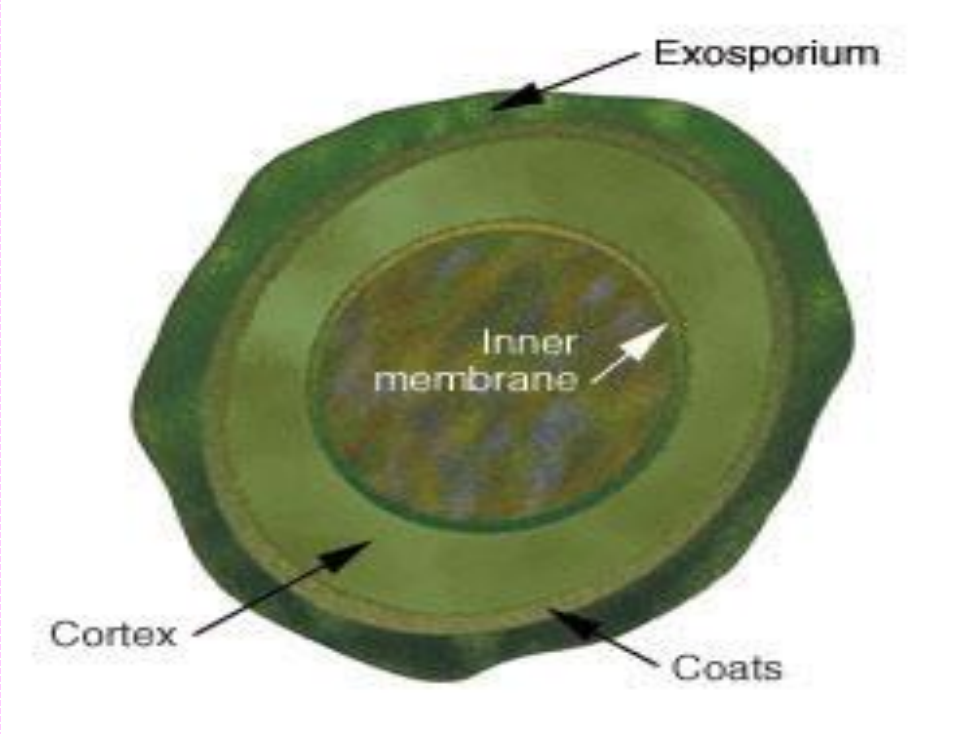
مراحل تبدیل سلول رویشی به اسپور را اسپورزایی گویند.

اسپورزایی مراحل پیچیده ای دارد که با تغییرات متابولیکی ، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی همراه می باشد.



- لایه های مختلف اسپور عبارتند از:

- Exin
- Cortex
- Coat
- Exosporium



- علل مقاومت اسپور:

۱- لایه های مقاوم آن

۲- تولید دیپیکولینات کلسیم

۳- از دست دادن مقادیر زیاد آب

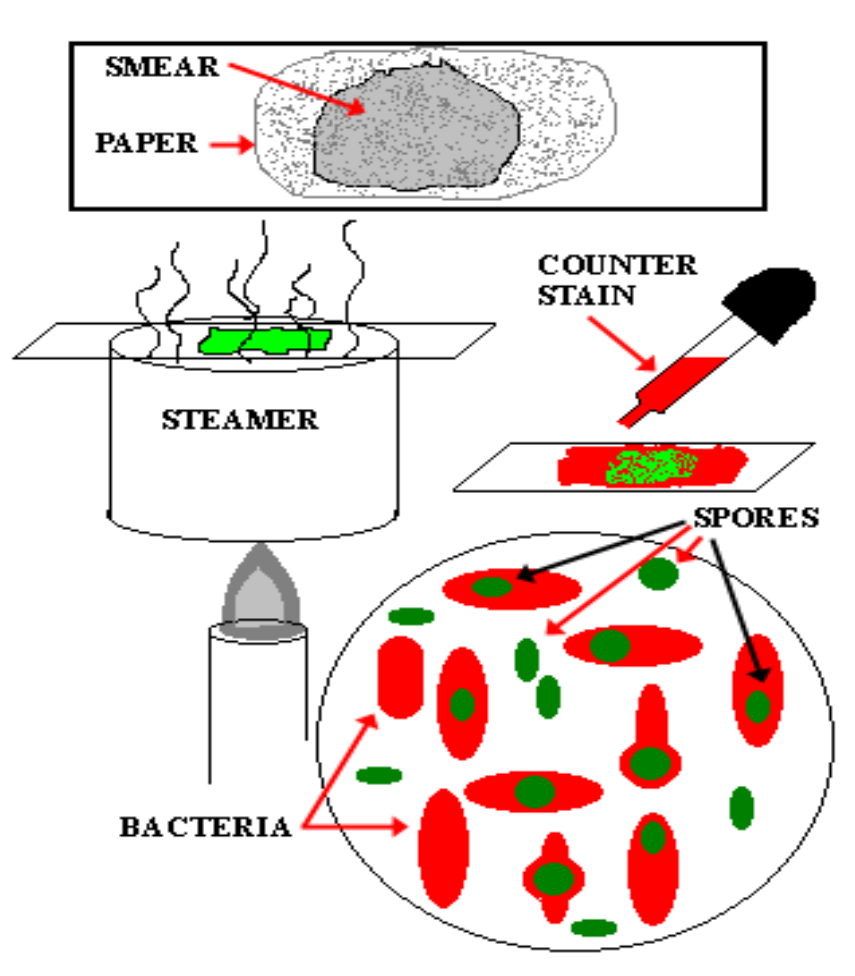
- **رنگ آمیزی اسپور**

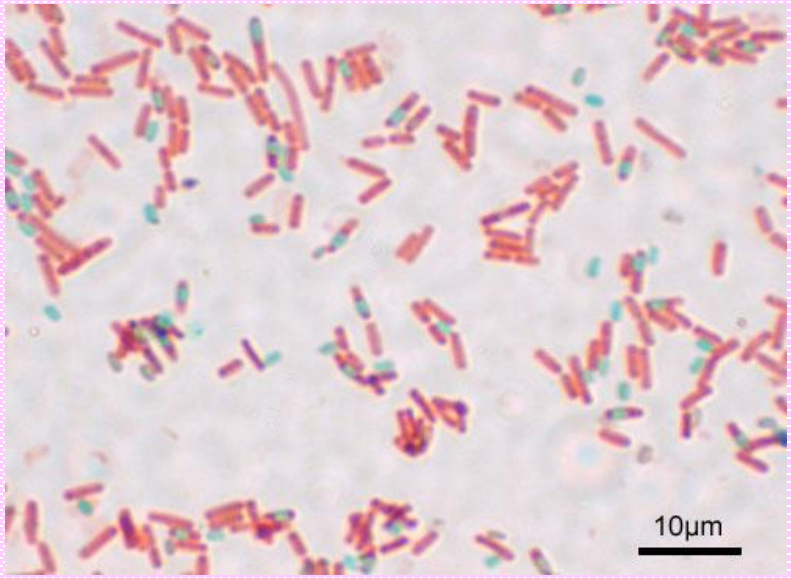
بدلیل لایه های متعدد و مقاوم اسپور رنگ آمیزی آن باید همراه با حرارت انجام شود.

رنگ اولیه : مالاشیت سبز

رنگ بر : آب

رنگ ثانویه : سافرانین





- **جوانه زنی (germination)**

مراحل تبدیل اسپور به سلول رویشی را جوانه زنی می گویند.

