تاریخچه

کاشف	اقدامات
آنتوان لیون هوک	کشف دنیای میکروب‌ها
رابرت هوک	کاشف میکروسکوپ
فردریش (فردریچ) هنله	ارائه تئوری جرم
گریفیث و آوری	توصیف ترانسفورماسیون (اولین بار در پنوموکوک)
آوری و مک‌لود	نشان دادند که عامل وراثتی در پدیده ترانسفورماسیونDNA است
Joshuaو Tatum	کاشف کونژوگاسیون
Cavalla-sfoza	تشریح پدیده HFr
Zinder و Lederberg	کاشف ترانس داکسیون
کری مولیس	کاشف PCR
پاول اریش (ارلیخ)	پدر علم شیمی درمانی- ارائه نظریه زنجیره جانبی- تئوری سمیت انتخابی ارائه تئوری ماژیک بالت – ابداع رنگ آمیزی اسید - فست استفاده از عامل ضد درمانی ارسفنامین در درمان سفلیس
هرلینگ(بهرینگ)	کاشف مکانیسم ایمنی هومورال. ساخت آنتی‌توکسین ضد کزاز و دیفتری
شنیکف یامچینکوف	کاشف مکانیسم فاگوسیتوز و ایمنی سلولهای
ادوارد جنر	کاشف اولین واکسیناسیون ضد آبله
فردریک مولر	انتشار اولین کتاب در زمینه میکرو ارگانیسم‌ها
الکساندر فلمینگ	کاشف: - پنی‌سیلین (در جریان کارباپنی‌سیلیوم نوتاتوم) - لیزوزیم
فرناند کهن	کاشف اسپور و فرآیند اتوکلاو و پلاسمید ارائه اولین طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌ها
ویدال	معرفی سرودیاگنوستیک در تشخیص عفونت
Kass و همکاران	تکنیک شمارش تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های ادراری
جوزف لیستر	- کاربرد مواد میکروب‌کش (فنل) برای اولین بار در اتاق عمل - تعریف ضریب فنلی - وجه تسمیه باکتری‌های L فرم به خاطر کشف در مؤسسهٔ لیستر
Carl-woese	ارائه طبقه‌بندی فیلوژنی (با استفاده از سکانس 16srRNA) + مطرح نمودن آرکی باکتری‌ها
اریستول	ارائه نظریه خودبخودی (Abiogenesis)
جوزف ردی	رد نظریه تولیدمثل خودبخودی
پاستور	ـ رد نظریه تولیدمثل خود به خودی به واسطه لوله گردن قویی ـ بنیان‌گذار نظریه‌ی عامل مولد (Biogensis) ـ پدر علم میکروب‌شناسی مدرن (جدید) ـ به همراه چمبرلند اولین فیلترهای میکروب‌شناسی ـ تأیید کننده‌ی تئوری جرم ـ کاشف واکسن‌های هاری، سیاه زخم و وبای مرغی

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران– ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس– طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

کخ	ـ پدر علم میکروب شناسی تشخیصی ـ اولین بار استفاده از اشک چشم گاو برای کشت ـ استفاده از ژلاتین برای کشت ارگانیسمها ـ کاشف رنگ آمیزی آنیلین
ونتور	اولین بار ژنوم هموفیلوس آنفولانزا را توالی یابی نمود
دوماگ	کاشف سولفانامیدها
واکسمن	کاشف استرپتومایسین
بورین	کاشف LPS
گایسن	کاشف P.G (پپتید و گلیکان)
یرسین و روکس	معرفی اگزوتوکسین

کشف بیماری‌های مهم باکتریایی

بیماری	عامل	کاشف
سیاه‌زخم سل وبا	باسیلوس آنتراسیس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ویبریوکلره	ربرت کخ
تیفوئید(حصبه)	سالمونلاتیفی	ابرت
گنورا (سوزاک)	نایسریا گنوره	نیسر
دیفتری	کورینه باکتریوم دیفتریه	کلبس
کزاز	کلستریدیوم تتانی	کیتازاتو
اسهال	اشرشیاکلی	اشریش
پنومونی	استرپتوکوک پنومونیه	فرانکل
مننژیت	نایسر یا مننژیتیدیس	ویشلبوم
مسمومیت غذائی	سالمونلا اینترتیدیس	کارتنر
گانگرن گازی	کلستریدیوم پرفنجنس	ولش
طاعون	یرسینیاپستیس	کیتازاتو/یرسین
بوتولیسم	کلستریدیوم بوتولینوم	وان ارمنگم
دیسانتری	شیگلا دیسانتریه	شیگا
سفلیس	ترپونماپالیدوم	شودین و هوفمن
سیاه سرفه	بوردتلا پرتوسیس	بوردت و ژانگو
تب راجعه	بورلیا رکورانتیس	اتوابرمایر
جذام	مایکوباکتریوم لپره	هانسن
مننژیت	هموفیلوس آنفولانزا	فیفر

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران– ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس– طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

اصول کخ:

۱- میکروارگانیسم می‌باید در هر مورد از بیماری حضور داشته و الگوی جداسازی میکروارگانیسم از الگوی بیماری تبعیت نماید و میکرو ارگانیسم در میزبان سالم حضور نداشته باشد.

۲- میکروارگانیسم می‌باید از میزبان جدا شده و در محیط کشت سنتیتک رشد کند.

۳- هنگامی که کشت خالص میکروارگانیسم به میزبان حساس سالم تلقیح شود بیماری موردنظر دوباره ظاهر شود.

۴- از میزانی که به طور تجربی آلوده شده است می‌باید دوباره میکروارگانیسم جدا شود.

معیارهای ایمنی:
- ۵ـ در سرم بیمار **آنتی بادی** علیه ارگانیسم تولید شود.
- ٦ـ فرد علیه بیماری **مصونیت** کسب نماید.
- ۷ـ وجود **آلرژی** نسبت به فرآورده‌های ارگانیسم بعد از بهبودی

معیارهای مولکولی:
- ۸ـ ژن یا فرآورده‌های آن از ارگانیسم پاتوژن ایزوله شود.
- ۹ـ ژن در ارگانیسم غیر پاتوژن خاموش باشد.
- ۱۰ـ موتاسیون منجر به خاموش شدن ژن پاتوژن شود.
- ۱۱–کلون نمودن ژن در ارگانیسم غیرپاتوژن منجر به بیماری شده

اشکالات اصول کخ:

۱- بعضی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در محیط کشت سنتیتک قادر به رشد و تکثیر نمی‌باشند. مانند: مایکوباکتریوم لپره (عامل جذام)، ترپونماپالیدوم (عامل سیفلیس) و تروفریما ویپلی (عامل ویپل) + اسپریلیوم مینوس، کلبسیلا گرانولوما تیس باکتری‌های درون سلولی اجباری (کوکسیلا، ریکتزیا، کلامیدیا و ...)

۲- میکروارگانیسم‌هایی که برای حیوانات آزمایشگاهی بیماری‌زایی ندارند و منحصراً برای انسان بیماری‌زا هستند مانند آئروموناس، گاردنلا واژینالیس، نایسریاگونوره، اکتینومیست و نوکاردیا ، تروفریما ویپلی

۳- فلور طبیعی در جایگاه خود، در حفظ سلامت نقش داشته ولی اگر به نقاط استریل وارد شوند بیماری ایجاد می‌نمایند. فلورطبیعی در افراد سالم وجود دارد.

۴- ارگانیسم‌هایی که قابل کشت از بدن بیمار نمی‌باشند. مثل: بیماری‌های ناشی از توکسین (بوتولیسم)، در بیماری‌های مخلوط (بی‌هوازی)

طبقه‌بندی:

طبقه‌بندی برجی (براساس دیواره سلولی)

۱- گراسیلی کوتس (باکتری‌های گرم منفی)

۲- فرمی کوتس (باکتری‌های گرم مثبت)

۳- مولی کوتس یا تنری کوتس (باکتری‌های درون دیواره مانند مایکوپلاسما)

۴- مندوزی کوتس (باکتری‌های دارای پپتید و گلیکان کاذب مانند آرکی باکتری‌ها)

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

طبقه‌بندی موجودات زنده

سلول	پروکاریوت	یوباکتری‌ها (باکتری‌های حقیقی)	باکتری‌های گرم مثبت
			باکتری‌های گرم منفی
			باکتری‌های فاقد دیواره
		آرکئه باکتری‌ها(باکتری‌های باستانی)	
	یوکاریوت‌های میکروبی (پروتیست‌ها یا آغازیان)	الگ (جلبک)	
		کپک	
		قارچ	
		پروتوزوئی (تک یاخته)	
	یوکاریوت‌ها	گیاهان و حیوانات	

پریون‌ها:

۱ـ گلیکو prها یا prهای فاقد ژنوم می‌باشند، کوچکترین ذرات عفونی و منجر به درگیری سیستم عصبی مرکزی

۲- دارای دو شکل
- $Pr\,P^{c}$: فقط مارپیچ α ، حساس به پروتئاز و دترجنت. دارای آسپارتات
- $Pr\,P^{sc}$: مارپیچ α و صفات β ، مقاوم به پروتئاز و دترجنت. دارای آسپارژرین

۳ـ صفحات β منجر به ایجاد پلاک‌های آمیلوئیدی می‌شود که به واسطه **قرمز کنگو** شناسایی می‌شود.

۴ـ الگوی حساسیت و مقاومت
- حساس به ← فنل ۹۰ درصد سفیدکننده‌ها، استون، مواد یددار، اتوکلاو، گوانیدین تیوسولفات
- مقاوم به ← فرمالدئید، β پروپیولاکتون، پرتوهای یونیزان، املاح صفراوی
- دمای بالای 80° ، پروتئاز و دترجنت

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران- ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس- طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

مقایسه صفات افتراقی عمده بین پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها

بخش‌های سلولی	ویژگی‌ها	پروکاریوت	یوکاریوت
هسته	غشای هسته و نوکئوپلاسم جداشده از سیتوپلاسم (توسط غشاء)	(-) پلانکتومیست‌ها تنها پروکاریوت‌های دارای غشای دولایه اطراف هسته می‌باشد	+
	پروتئین‌های بازی هیستون	(-) در باکتری‌ها شبیه هیستون وجود دارد	+
	نوکلئوزوم	-	+
	هستک	-	+
	اینترون	(-) (آرکئی باکتری ۴ دارند)	+
	فرم ماده ژنتیکی	حلقوی(Circular) (بورلیابورگدوفری و استرپتوما یسس واجد کروموزوم خطی)	خطی
	تعداد کروموزوم	۱ (بروسلا ملی تنسیس و ویبریوکلره واجد ۲کروموزوم)	>۱
سیتوپلاسم	پلاسمید	متفاوت	-
	میکروتوبول و میکروفیلامنت(اسکلت سلولی)	(-) (سیانو باکتری‌ها، اسپیروپلاسما، اشکالL و برخی اسپیروکت‌ها واجد آن)	+
	اندامک‌های سیتوپلاسمی دارای غشا (مانند میتوکندری، لیزوزوم، گلژی رتیکولوم اندوپلاسمیک، واکوئل و غیره)	-	+
	ریبوزوم سیتوپلاسمی	۷۰S پایداری به واسطه‌ی (منیزیم) Mg و (پتاسیم) K	۸۰S
	ریبوزوم ارگانلی	-	۷۰S
	مواد ذخیره‌ای در سیتوپلاسم	گرانول	واکوئل
	حرکت و جریان سیتوپلاسمی	-	+
غشاء سیتوپلاسمی	وجود استرول	(-) (غشاء مایکوپلاسماها واجد آن)	+
	مزوزوم	+	-
دیواره سلولی	وجود دیواره سلولی	+ (مایکوپلاسماها فاقد دیواره‌اند)	مختلف در میان گونه‌ها
	اسیدهای آمینه غیرطبیعی (نوع D)	+	-
	ان- استیل مورامیک اسید	+ (به جز کلامیدیا)	-
	دی آمینو پایمیلیک اسید (DAP)	+	-

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران- ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس- طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

بخش‌های سلولی	ویژگی‌ها	پروکاریوت	یوکاریوت
	تئی‌کوئیک اسید	+ (در Gr^+ ها)	–
ضمائم	ویژگی قرارگیری ۲+۹ میکروتوبول‌ها در مقطع فلاژل	–	+
	قطر فلاژل (در صورت وجود)	۰/۰۱-۰/۰۲ μm	۰/۲ μm
سایر فعالیت‌های بیولوژیک	ایجاد پای کاذب، اندوسیتوز فاگوسیتوز و اگزوسیتوز	–	متفاوت
	میتوز و تشکیل دوک تقسیم	–	+
	میوز	–	متفاوت
	گامتوژنز و تشکیل زیگوت	–	+
	اولین اسیدآمینه در زنجیره پلی پپتیدی	N . فرمیل متیونین	متیونین
	قطره سلول	۰/۵-۳ μm	>۵ μm
	حساسیت به پنی‌سیلین و استرپتومایسین یا سایر آنتی‌بیوتیک‌های اختصاصی برای پروکاریوت‌ها	+ (متفاوت در میان میکروارگانیسم)	–

مقایسه خصایص ۲ باکتری‌ها (باکتری‌های حقیقی، آرکئی باکتری‌ها) و یوکاریوت‌ها

خصایص	یوباکتری‌ها	آرکئی باکتری‌ها	یوکاریوت
فرم DNA حلقوی (Circular)	+	+	–
اینترون	–	+	+
وجود اسید مورامیک	+	–	–
tRNA حاوی اینترون	–	+	+
متیونین به عنوان آغازگر سنتز پروتئین	–	+	+
فرمیل میتونین به عنوان آغازگر سنتز پروتئین (F.met)	+	–	–
مهار سنتز پروتئین توسط کلرامفنیکل و کانامایسین	+	–	–
واکنش‌های غیر معمول متابولیک نظیر تولید متان و نیاز به غلظت بادی نمک، فشار اسمزی و دما برای رشد	–	+	–
مهار سنتز پروتئین سازی توسط توکسین دیفتری	–	+	+
میوز و میتوز	–	–	+

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران– ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس– طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

انواع میکروسکپ و کاربردهای آن

میکروسکپ	منبع نور	رنگ‌آمیزی	مطالعه سلولی زنده	مرگ سلول باکتری در پروسه مطالعه	کاربرد
نوری	نور سفید	+/-	+	+/-	برای بررسی شکل، اندازه و حرکت باکتری‌ها – بزرگنمایی ۱۰۰۰-۱۵۰۰ قدرت تفکیک $0/2\ \mu$
معکوس	نور سفید	-	+	-	برای مطالعه کلنی باکتری‌ها و مشاهده قارچ‌ها و مطالعه کشت سلول
فازکنتراست	نور سفید	-	+	-	- مطالعه جزئیات درون سلولی باکتری‌ها - مطالعه تغییرات ساختاری مثل فاگوسیتوز و ماکروپینوزوم و حرکت - اساس کار این میکروسکوپ خروج نور از فازهای مختلف می‌باشد (in phase out of phase)
دارک فیلد	نور سفید	-	+	-	- مطالعه‌ی باکتری‌های نازک (خانواده اسپیروکتال) - مطالعه حرکت باکتری (ویبریوکلرا)
تداخلی افتراقی (اینترفرانس) (DIC)	نور سفید	-	+	-	- برای مشاهده سلولهای رنگ‌آمیزی نشده مثل (اسپور، واکوئل، گرانول) - تصویر سه بعدی -برای مطالعه فرآیندهای پویای درون سلولی
فلورسانس	UV	+	-	+	-برای مشاهده باسیل کخ با استفاده از رنگ‌آمیزی اورامین- ردامین - برای شناسائی در تستهای ایمونولوژیک Ab فلورسنت - با استفاده از فلورسین ایزوتیوسیانات (FITC)
الکترونی	الکترون	+	-	+	- SEM(نگاره): مطالعه ساختار سطحی و ارائه تصاویر سه بعدی - TEM(گذاره): برای مشاهده اندازه و اجزای سلولی و مطالعه اجزای درون سلولی با قدرت تفکیک بالاتر
لیزری (Confocal)	لیزر	+	+	-	ـ ارائه تصویر سه بعدی ـ مطالعه در آرایش ژنوم

نگاره پروب دار

(Scaning prob): میکروسکوپی با قدرت تفکیک بسیار بالا دارای دو نوع Atomic force , Tunneling می‌باشد.

مثلا با میکروسکوپ Atomic force می‌توان واکنش بین Prهای اشرشیاکلی را بررسی نمود.

نکته: میکروسکوپ نوری واجد ۲ عدسی شئی (بزرگنمایی ۱۰۰) و چشمی (بزرگنمایی ۱۰) می باشد پس نمونه را ۱۰۰۰ برابر بزرگتر می‌کند.

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران- ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس- طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

ردیف‌های تاکسونومی (جدید)

بولتن گروه آموزشی دکتر خلیلی

بررسی توالی ژن 16S RNA (بر سایر روش‌ها ارجحیت دارد).

تعریف Biovar: سوش مرجع دسته‌ای از باکتری‌ها

تعریف واژه Semantic: اطلاعات موجود در ماکرومولکول‌های باکتری

تعریف واژه Strain: دودمان مشترک یا تجدید کشت از یک باکتری خاص

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

روش‌های رنگ‌آمیزی اجزای باکتری

اجزای باکتری	روش
هسته کروموزومDNA	فولگن، روبینو،تولازن
غشا سیتوپلاسمی	ویکتوریا بلو
فلاژل	لیفسون (Liffson)، گری، ریو(Ryu)، روش اصلاح شده Hugb، فونتانا تری بوندو (آندوفلاژل)
پیلی	رنگ‌آمیزی ندارد (مشاهده با میکروسکوپ الکترونی)
کپسول	ولش (welch)، روش Hiss، روش آنتونی، مویر (muir)، مک نیل، Law son، رنگ‌آمیزی منفی به روش Barri (جوهرپلیکان، مرکب چین)
اسپور	روش مولر، ریتز (مالاشیت گیرین)، دورنر، شفر و فولتون دورنر، Abbott
دانه‌های متاکروماتیک	تولوئیدن بلو روش آلبرت، نایسر، بلودومتیلن (روش لوفلر)
دانه‌های پلی هیدروکسی بوتیرات	سودان سیاه (روش Burdon)
دانه‌های گلوسیدی	رنگ‌آمیزی با ید (ایجاد رنگ قهوه‌ای)

تعریف دانه‌های ذخیره‌ای:

ساختارهای ذخیره‌ای به شکل نامحلول دارای دیواره‌ی نازک غیرواحد که در شرایط فقر مواد غذایی و pH اسیدی و در فاز سکون تولید شده و در فاز Log مصرف می‌شود.

انواع دانه‌های ذخیره‌ای در باکتری‌ها

دانه‌های ذخیره‌ای	شرایط ایجاد	ماده ذخیره‌ای	اسیدفاست	مثال
متاکروماتیک یا لوتین یا آلبرت	کاهش N یا C	فسفات غیرآلی	+	ارگانیسم شاخص: کورینه باکتریوم دیفتریه، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس،اشرشیاکلای، انتروباکترآئروژنز، پرسینیاپستیس
PHB (چربی)	کاهش N یا P	C	+	سودوموناس، باسیلوس، ازتوباکتر، اسپریلیوم در باسیلوس‌ها به وفور یافت می‌شود
گلوسیدی	کاهش N یا P	C	–	انتروباکتریاسه‌ها

مزوزوم (فرورفتگی غشای سلولی به درون سیتوپلاسم):

۱)دیواره‌ای:

۱- تولید دیواره در تقسیم سلولی

۲- نقش در جدا شدن دو DNA در هنگام همانندسازی

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است

تهران– ضلع جنوب غربی میدان انقلاب– جنب سینما پارس– مجتمع تجاری پارس– طبقه اول – شماره تماس ۶۶۵۶۸۶۲۱-۰۲۱ –website:www.DKG.ir

۲)کناری (جانبی یا لترال)

۱- ترشح اگزوپروتئین‌ها ، اگزوآنزیم‌ها

۲- نقش معادل میتوکندری (جایگاه زنجیره انتقال الکترون)

غشای سیتوپلاسمی:

غشای دو لایه‌ی متقارن از جنس فسفولیپید، Pr و کربوهیدرات‌ها

ـ تفاوت با غشای سلولی یوکاریوت‌ها: فقدان استرول، کولین، اسفنگولیپیدها در پروکاریوت‌ها

ـ فسفولیپید غالب: فسفاتیدیل اتانول آمین

ـ علت اهمیت بیشتر غشای پروکاریوت‌ها از یوکاریوت‌ها: مزوزوم‌ها و وجود زنجیره انتقال الکترون (تنفسی)

ـ خالص‌سازی Prها
- ۱ـ سراسری: دترجنت
- ۲ـ محیطی: نمک

ـ محل قرارگیری باکتوپرنل (اسید چرب ۵۵ کربنه) برای انتقال پیش‌سازهای دیواره و ضمائم از سیتوپلاسم به خارج

ـ دو عملکرد بسیار مهم غشای پروکاریوت‌ها: تولید انرژی، نفوذ پذیری انتخابی

بولتن گروه آموزشی دکتر خلیلی

هر گونه کپی و واگذاری به غیر شرعاً حرام است