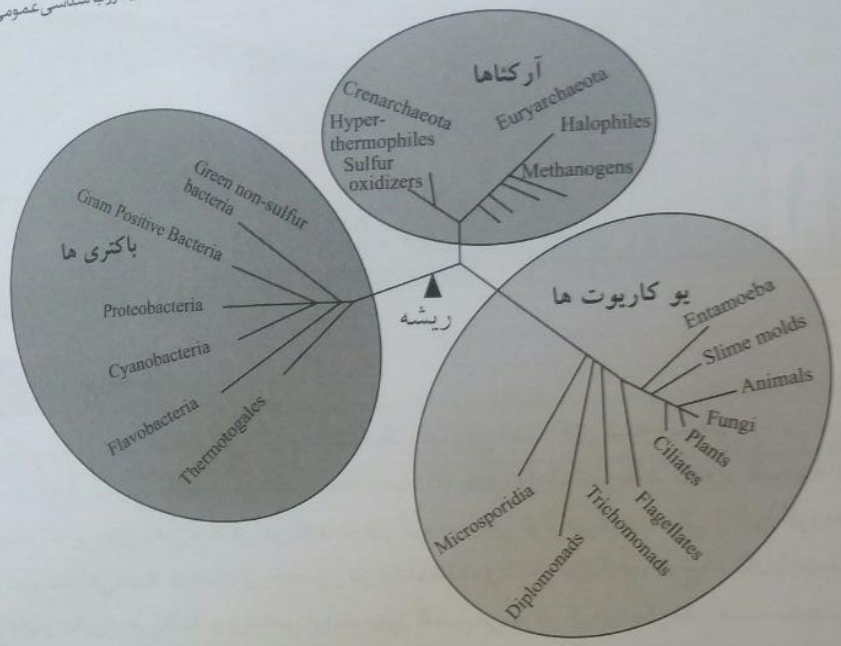
۱ کلیات میکروبیولوژی

علم میکروبیولوژی

میکروبیولوژی علم مطالعه انواع موجودات میکروسکوپی است؛ این کلمه ریشه‌ای یونانی دارد که متشکل از سه واژه Micros (کوچک)، Bios (حیات) و Logos (علم)، می‌باشد. تمام ارگانیسم‌های زنده‌ای که بر روی زمین زندگی می‌کنند در دو گروه سلولی قرار می‌گیرند. یکی از این گروه‌ها یوکاریوت‌ها می‌باشند که هسته‌ای محصور در غشاء داشته و شامل جلبک‌ها، قارچ‌ها، تک‌یاخته‌ها، گیاهان و جانوران می‌باشند و براساس فرایند **میتوز** تقسیم می‌شوند. گروه دیگر فاقد هسته محصور در غشاء بوده و به‌عنوان سلول‌های پروکاریوت شناخته می‌شوند. پروکاریوت‌ها شامل **یوباکتری‌ها** (باکتری‌های حقیقی) و **آرکئا باکتری‌ها** (باکتری‌های قدیمی) می‌باشند (شکل ۱-۱). باکتری‌ها ارگانیسم‌های تک‌سلولی هستند که به‌وسیله **تقسیم دوتایی**[1] تکثیر می‌یابند، اغلب آنها زندگی آزاد داشته و اطلاعات ژنتیکی، تولید انرژی و سیستم‌های بیوسنتزی مورد نیاز برای رشد و تولیدمثل را دارند. تعداد کمی از آنها از جمله **کلامیدیا** و **ریکتزیا**، انگل‌های اجباری داخل سلولی می‌باشند. از برخی لحاظ، باکتری‌ها (پروکاریوت‌ها) از یوکاریوت‌ها متفاوت می‌باشند؛ باکتری‌ها فاقد ریبوزم‌های 80s و اندامک‌های محصور با غشا (مثل هسته، میتوکندری، لیزوزوم، ER، گلژی و ...) می‌باشند. باکتری‌ها حاوی ریبوزوم‌های 70s و یک کروموزوم حلقوی یا **نوکلئوئید**[2] می‌باشند. این کروموزوم از یک رشته DNA تشکیل شده است که به روش **غیرمیتوزی** تقسیم می‌شود (جدول ۱-۱). در یوکاریوت‌ها، غشای سیتوپلاسمی حاوی لیپیدهایی با اتصالات **استری** است که عملکردهایی از قبیل انتقال، تولید انرژی و بیوسنتز اختصاصی را انجام می‌دهد. باکتری‌هایی که دارای **فلاژله** می‌باشند قادر به تحرک و جابجایی می‌باشند. برخی از باکتری‌ها، تارهای نازک (**پیلی یا فیمبریه**) را تولید می‌کنند که عملکرد چسبندگی دارند (شکل ۲-۱). تمام یوباکتری‌ها به استثنای مایکوپلاسماها دارای دیواره سلولی می‌باشند که موجب ایجاد شکل‌های مختلف کوکسی، باسیل، کوکوباسیل، خمیده و مارپیچی

1. binary fission
2. nucleoid



شکل ۱-۱ دیاگرام تقسیم‌بندی موجودات زنده

در بین باکتری‌ها می‌شود. پاستور و کخ در دهه ۱۸۷۰ و ۱۸۸۰ میلادی نشان دادند که میکروارگانیسم‌ها عامل ایجاد بیماری‌های سیاه‌زخم، هاری، طاعون و وبا بوده و در نتیجه **تئوری جرم**[1] بیماری را اثبات کردند.

پاستور پدر پزشکی مدرن و کخ پایه‌گذار میکروبیولوژی تشخیصی نام نهاده شدند. کخ اصول **چهارگانه‌ای** را براساس ارتباط بین انگل و میزبان پایه‌گذاری کرد که طبق آن یک باکتری معین باید آنها را داشته باشد تا به‌عنوان عامل قطعی یک بیماری خاص شناخته شود:

۱ ارگانیسم بایستی همیشه در حیوان بیمار یافت شود اما در حیوانات سالم وجود نداشته باشد.
۲ ارگانیسم باید از حیوان بیمار جدا شده و در خارج از بدن حیوان قابل کشت باشد.
۳ ارگانیسمی که ازکشت خالص جداسازی می شود باید بتواند در تلقیح به حیوانات حساس مجدداً بیماری را ایجاد کند.
۴ ارگانیسم باید از حیواناتی که به‌طور تجربی مبتلا شده‌اند قابل جداسازی مجدد باشد.

1. germ theory

جدول ۱-۱ مقایسه سلول‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی

ویژگی‌ها	سلول‌های پروکاریوت	سلول‌های یوکاریوت	میتوکندری و کلروپلاست
اندازه	۱۰-۱ میکرون	۱۰۰-۱۰ میکرون	۱۰-۱ میکرون
پوشش هسته‌ای	ندارند	دارند	ندارند
کروموزوم‌ها	یک کروموزوم حلقوی؛ بدون نوکلئوزوم	چندین کروموزوم خطی پیچیده به دور نوکلئوزوم‌ها	یک کروموزوم حلقوی؛ بدون نوکلئوزوم
دستگاه گلژی	ندارند	دارند	ندارند
شبکه آندوپلاسمی، لیزوزوم و پروکسی زوم	ندارند	دارند	ندارند
میتوکندری	ندارند	دارند	
کلروفیل	خارج از کلروپلاست	درون کلروپلاست	
ریبوزوم	تقریباً کوچک	تقریباً بزرگ	تقریباً کوچک
میکروتوبول، رشته‌های حد واسط و میکروفیلامان	ندارند	دارند	ندارند
فلاژل	فاقد میکروتوبول	حاوی میکروتوبول	

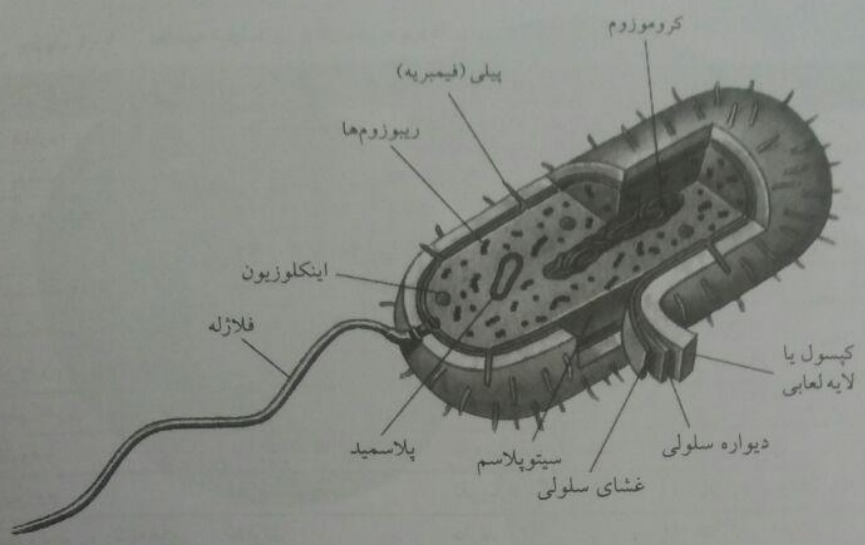
البته امروزه برخی از اصول کخ رد شده است مثلاً برخی میکروارگانیسم‌های بیماریزای انسان را نمی‌توان در محیط خارج کشت داد.

ادوارد جنر در اواخر قرن هیجدهم متوجه شد که زنان شیر دوشی که به آبله گاوی مبتلا شده بودند در مقابل بیماری آبله انسانی مصونیت می‌یافتند. او توانست اشخاص حساس را به وسیله تلقیح کردن با آبله گاوی، در مقابل آبله انسانی مصون نماید. بعد از این کارها، او این عمل را **واکسیناسیون**[1] نامید.

طبقه‌بندی باکتری‌ها

در سیستماتیک میکروبی تنوع، تشابه و ارتباطات میکروب‌ها در جهت نامگذاری آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد. دانش **تاگزونومی**[2] شامل رده‌بندی، نامگذاری و شناسایی ساختارهای زنده است. زیست‌شناسان ارگانیسم‌هایی که با یکدیگر شبیه‌اند را در گروه‌هایی قرار داده و به هر گروه یک تاگزون می‌گویند. تاگزون اولیه یا پایه، گونه[3] است که مجموعه‌ای از سوش‌ها[4] با خصوصیات مشابه به‌ویژه شباهت در مادهٔ ژنتیکی را دربرمی‌گیرد، گونه‌های وابسته به هم در درون یک جنس،[5]

1. vaccination
2. taxonomy
3. species
4. strains
5. genus



شکل ۲-۱ ساختار کلی سلول باکتری

جنس‌های مشابه در درون خانواده،[1] خانواده‌ها در درون راسته، راسته‌ها در درون رده، رده‌ها در درون شاخه و شاخه‌ها در درون سلسله قرار می‌گیرند. نامگذاری میکروارگانسیم‌ها براساس **دو اسمی**[2] می‌باشد که متشکل از دو کلمهٔ لاتین است. کلمهٔ اول جنس و کلمهٔ دوم گونه باکتری می‌باشد. درون هر مجموعه‌ای از گونه‌ها، سوشی که به خوبی نمایشگر گونه باشد به‌عنوان **بیوتیپ**[3] (بیووار) شناخته شده و خصوصیات آن برای توصیف گونه‌های معین مورد استفاده قرار می‌گیرد. سوش‌های بیوتیپ ممکن است تمامی ویژگی‌های مربوط به سوش‌های درون مجموعه گونه‌ها را نداشته باشند. بر همین اساس گاهی آنها را به زیرگونه‌هایی از جمله سروتیپ، پاتوتیپ، موروفوتیپ و یا فاگووار تقسیم‌بندی می‌کنند که نشان دهندهٔ اشکال معینی از تنوع سوش‌ها می‌باشد.

تقسیم‌بندی‌های خاصی برای پروکاریوت‌ها انجام شده است که هر کدام براساس ویژگی‌های مختلف آنها می‌باشد.

الف) **طرح ویتکار**: در طرح ویتکار پروکاریوت‌ها سلسله **مونرا**[4] را تشکیل داده که ابتدایی‌ترین سلسله بوده و اجداد یوکاریوت‌ها می‌باشند. براساس این طرح سلسله پروکاریوت‌ها براساس **دیوارهٔ سلولی** که یک صفت فتوتیپی است به چهار شاخه تقسیم می‌شوند:

۱. گراسیلی‌کوت‌ها:[5] پروکاریوت‌های این شاخه دارای دیوارهٔ سلولی پیچیده بوده و دارای

1. family
2. binominal
3. biotype
4. Monerea
5. gracillicutes

غشای خارجی و پپتیدوگلایکان می‌باشند. این گروه در رنگ‌آمیزی گرم معمولی گرم **منفی** رنگ می‌شوند و به اشکال مختلف دیده می‌شوند. حالت‌های شنا کردن و خزیدن در این باکتری‌ها دیده می‌شود. باکتری‌های این شاخه به سه رده تقسیم می‌شوند:

الف) **اسکوتوباکتری‌ها** که شامل باکتری‌های گرم منفی غیرفتوسنتز کننده است.

ب) **آنوکسی‌فوتوباکتری‌ها** که فتوسنتزکننده‌های بی‌هوازی هستند.

ج) **اکسی‌فوتوباکتری‌ها** که فتوسنتزکننده‌های هوازی هستند.

۲. فیرمی‌کوت‌ها:[1] پروکاریوت‌های با پوسته ضخیم بوده و گرم **مثبت** می‌باشند. برخی از باکتری‌های این شاخه اندوسپور تولید می‌کنند. شاخه فیرمی‌کوت‌ها شامل دو رده می‌باشند:

الف) **فیرمی‌باکتری‌ها** که کوکسی‌ها و باسیل‌های گرم مثبت می‌باشند.

ب) **تالوباکتری‌ها** که باکتری‌های گرم مثبت رشته‌ای می‌باشند مثل آکتینومسیت‌ها.

۳. تنری‌کوت‌ها:[2] باکتری‌های **فاقد دیواره** سلولی بوده و تولیدمثل آنها از طریق جوانه زدن، قطعه قطعه شدن و تقسیم دوتایی صورت می‌گیرد. باکتری‌های این شاخه مشابه **L فرم‌ها**[3] بوده اما برخلاف L فرم‌ها باکتری‌های این شاخه مانند مایکوپلاسما نمی‌توانند دوباره دیواره سلولی را بسازند و بیشتر آنها برای رشد به **استرول** نیاز دارند. در این شاخه یک رده به نام **مولیکوت** وجود دارد.

۴. مندوزی‌کوت‌ها:[4] پروکاریوت‌های فاقد پپتیدوگلایکان بوده **آرکاباکتری‌ها** را شامل می‌شوند. برخی از آرکاباکترها دارای دیواره سلولی حاوی پپتیدوگلایکان دروغین (سودوپپتیدوگلایکان) می‌باشند.

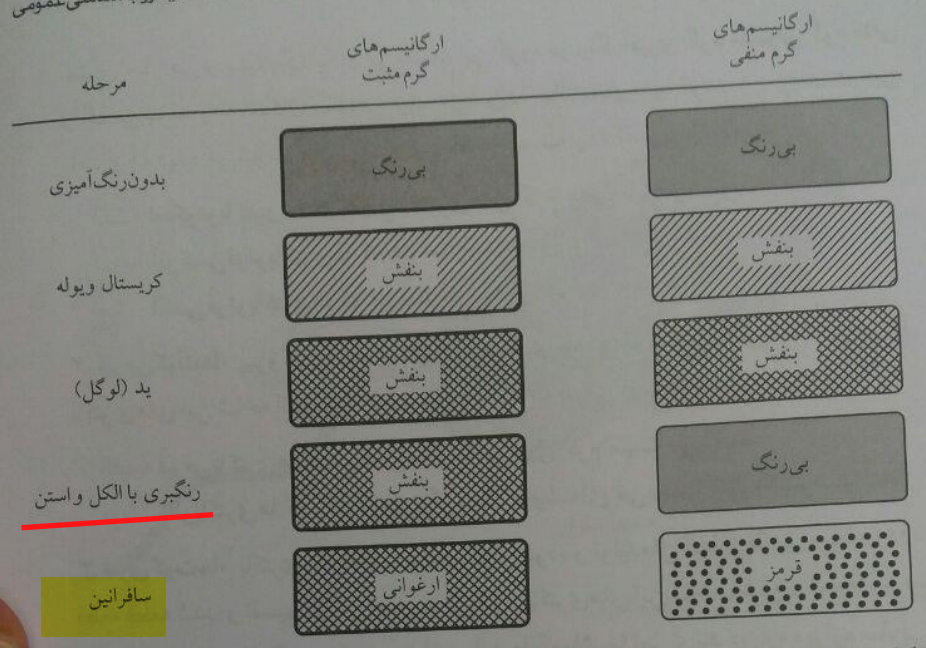
ب) **طبقه‌بندی براساس ژنتیک و فیلوژنی:** باکتری‌های مختلف را براساس میزان ماده ژنتیکی و محتوای G + C نیز تقسیم‌بندی می‌کنند. میزان G + C در باکتری‌های مختف از حدود ۲۵ تا بیش از حدود ۷۵ درصد برای ارگانیسم‌های مختلف تغییر می‌کند. همچنین با استفاده از روش هیبرید-اسیون مقایسه‌ای ژنومی (CGH) میزان شباهت بین گونه‌های مختلف باکتری تعیین شده است.

مقایسهٔ تشابه **۱۶srRNA** یکی از مفیدترین معیارهای نشان دادن ارتباط بین ارگانسیم‌های مختلف می‌باشد و این مطالعات اطلاعات بسیار جالبی را در زمینه ارتباط **فیلوژنیک**[5] باکتری‌ها فراهم آورده است.

ج) **طبقه‌بندی براساس رنگ‌آمیزی گرم:** براساس این رنگ‌آمیزی که توسط کریستین گرم ابداع شد

---

1. firmicutes
2. tenericutes
3. L-forms
4. mendosicutes
5. phylogenic



شکل ۳-۱ مراحل انجام رنگ‌آمیزی گرم

باکتری‌ها را می‌توان به دو گروه گرم مثبت و گرم منفی تقسیم‌بندی کرد (شکل ۳-۱). در این رنگ‌آمیزی ابتدا باکتری‌های سطح یک اسمیر را با استفاده از حرارت تثبیت کرده و توسط کریستال ویوله رنگ می‌کنند، سپس محلول یدی لوگل به آن اضافه می‌کنند. لوگل موجب تثبیت رنگ در دیوارهٔ پپتیدوگلایکان می‌شود پس از شستشوی با آب و رنگ‌بری با استن یا الکل، زمینهٔ اسلاید را با سافرانین رنگ‌آمیزی می‌کنند که پس از شستشو، ارگانسیم‌های گرم مثبت و گرم منفی به رنگ‌های متمایزی دیده می‌شوند. شکل ۳-۱ چگونگی رنگ‌آمیزی گرم در ارتباط با ضخامت دیوارهٔ سلولی، اندازهٔ منافذ و نفوذپذیری پوشش سلول باکتری می‌باشد. رنگ‌آمیزی گرم برای رنگ کردن مایکوباکتری‌ها و مایکوپلاسماها کاربردی ندارد.

در رنگ‌آمیزی **اسید- فاست**[1] یا **زیل- نلسون** که برای رنگ‌آمیزی **مایکوباکتریوم‌ها**[2] کاربرد دارد از کربول فوشین به همراه حرارت استفاده می‌شود و مایکوباکتری‌ها به‌صورت باسیل‌های قرمز رنگ دیده می‌شوند.

همچنین باکتری‌ها را می‌توان براساس خصوصیات بیوشیمیایی، شکل باکتری، حساسیت در

1. acid- fast
2. mycobacterium

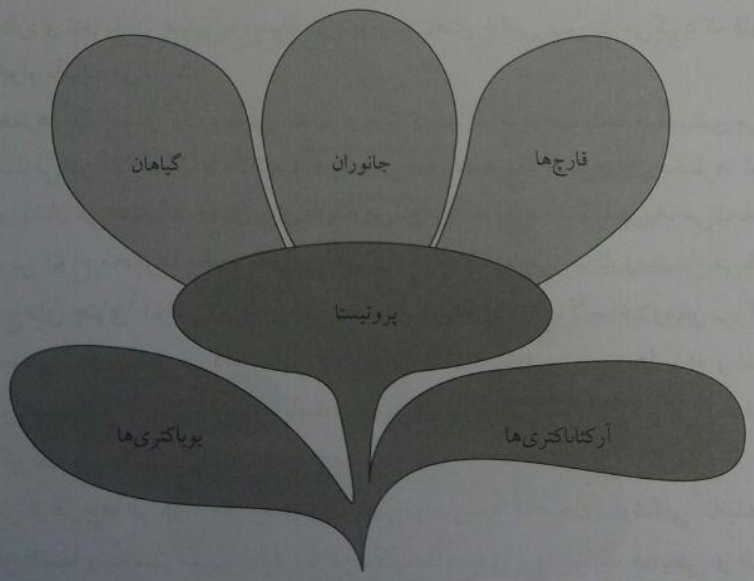
برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و ویژگی‌های اپیدمیولوژی تقسیم‌بندی کرد. سیستم رده‌بندی تاگزونومیکی باکتری‌ها را می‌توان در کتاب مرجع **برجی**[1] یافت. در این کتاب باکتری‌ها براساس صفات مشترک نظیر مورفولوژی، ویژگی‌های رنگ‌آمیزی، تغذیه و متابولیسم در یک گروه قرار داده‌اند.

فاژتایپینگ:[2] برخی از سویه‌ها و گونه‌های باکتری‌ها نسبت به برخی فاژها حساس هستند، به‌عبارت دیگر سویه‌های فاژی به سویه‌های خاصی از باکتری‌ها تمایل نشان می‌دهند. فاژ تایپینگ در ردیابی منشأ و دورهٔ بیماری در اپیدمی‌ها کمک مؤثری می‌نماید برای مثال می‌توان از آن برای تعیین سویه‌های استافیلوکوکی و منشأ آلودگی استفاده کرد.

میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی

چندین گروه از میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی وجود دارند که شامل جلبک، قارچ‌ها، کپک‌های لعابی و پروتوزآ می‌باشند که در سلسلهٔ **پروتیست‌ها**[3] قرار می‌گیرند. (شکل ۴-۱)

جلبک‌ها:[4] جلبک‌ها دستهٔ گسترده‌ای از ارگانیسم‌های یوکاریوتی هستند که حاوی **کلروفیل** بوده و فتوسنتز اکسیژنی را انجام می‌دهند. چندین ویژگی برای طبقه‌بندی جلبک‌ها استفاده می‌شود



شکل ۴-۱ طبقه‌بندی ارگانیسم‌های زنده

1. Bergy
2. phage typing
3. protista
4. alga

مثل ماهیت و نوع کلروفیل موجود، پلیمرهای ذخیره‌ای تولیدی، ساختار دیوارهٔ سلولی و نوع تحرک. همهٔ جلبک‌ها حاوی **کلروفیل a** بوده (برخی ممکن است دارای سایر انواع کلروفیل باشند) و همگی فتوسنتز اکسیژنی را با استفاده از آب به‌عنوان دهندهٔ الکترون انجام می‌دهند.

قارچ‌ها[1] در مقایسه با جلبک‌ها، قارچ‌ها فاقد کلروفیل می‌باشند. قارچ‌ها گروه بزرگ و متنوعی از میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی را تشکیل می‌دهند ولی سه گروه از آنها دارای اهمیت بیشتری هستند: کپک‌ها، مخمّرها و قارچ‌های چتری؛ قارچ‌ها عامل عمده‌ای در بیماری‌های گیاهی و خسارت به محصولات کشاورزی می‌باشند. برخی از قارچ‌ها نیز انگل حیوانات بوده و بیماری‌هایی را در انسان و سایر حیوانات ایجاد می‌کنند.

کپک‌ها[2] قارچ‌های رشته‌ای هستند که روی نان، پنیر و میوه‌ها رشد می‌کنند. یک رشته تنها هیف نامیده شده و هیف‌ها در کنار هم به‌طور مجتمع رشد کرده و مسیلیوم را ایجاد می‌کنند. در اغلب موارد یک هیف معمولی حاوی بیش از یک هسته می‌باشد که به این حالت **سن‌سی‌تیا** می‌گویند. کپک‌ها اسپورهای غیرجنسی به نام کونیدیا و... تولید کرده و برخی از آنها نیز قادر به تولید اسپورهای جنسی می‌باشند. یک فعالیت عمدهٔ بسیاری از قارچ‌ها به‌خصوص بازیدیوسپورها تجزیهٔ چوب، کاغذ، پارچه و سایر موارد می‌باشد. لیگنین پلیمر پیچیده‌ای است که در چوب وجود دارد و تجزیهٔ آن عمدتاً به وسیلهٔ بازیدیومیسیت‌های خاص صورت می‌گیرد که **قارچ‌های چوب‌خوار** نامیده می‌شوند.

مخمّرها[3] قارچ‌های تک سلولی هستند و بیشتر آنها با آسکومیست‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. تقسیم سلولی در آنها عمدتاً با مکانیسم جوانه‌زنی صورت می‌گیرد. برخی از مخمّرها تولیدمثل جنسی را نشان می‌دهند که جفت‌گیری نامیده می‌شود که به تولید آسکوسپورها می‌انجامد. یکی از مهمترین انواع مخمّرها مخمّر نانوایی است که اعضای جنسی ساکارومیسس می‌باشند.

قارچ‌های چتری[4] انواعی از قارچ‌های رشته‌ای هستند که معمولاً ساختارهای بزرگی به نام **اجسام میوه‌ای**[5] را تشکیل می‌دهند. این قارچ‌ها از جنس بازیدیومیسیت‌ها بوده و اسپورهای جنسی تولید می‌کند که بازیدیوسپور نامیده می‌شوند. قارچ‌های خوراکی در این رده از قارچ‌ها قرار می‌گیرند.

برخی از قارچ‌ها هر دو شکل مخمّری و کپکی را دارند و قارچ‌های **دوشکلی**[6] نامیده می‌شوند مثل هیستوپلاسما و بلاستومیسس. پدیدهٔ دوشکلی قارچ‌ها تابع شرایط محیطی و غالباً درجه حرارت محیط می‌باشد که در 37° مخمری شکل و در ۲۵ درجه به شکل کپک دیده می‌شود.

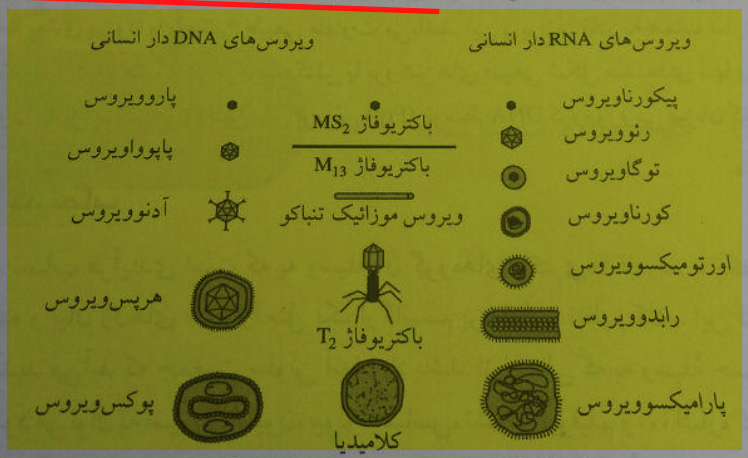
1. fungi
2. molds
3. yeast
4. mushroom
5. fruit body
6. dimorphic

کپک‌های لعابی:[1] کپک‌های لعابی میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی غیرفتوسنتیک هستند که به دو گروه تقسیم می‌شوند: نوع سلولی که شکل رویشی آنها از یک سلول آمیبی شکل تشکیل شده است و نوع بی‌سلول که در اشکال رویشی به شکل توده‌های پروتوپلاسمی به نام پلاسمودیوم وجود دارند.

پروتوزوئرها: پروتوزوئرها میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی تک سلولی هستند که فاقد دیوارهٔ سلولی بوده و اکثراً متحرک می‌باشند. همچنین فاقد کلروفیل بوده و از باکتری‌ها تغذیه می‌کنند. پروتوزاهایی که تحرک آمیبی دارند، **سارکودینا**، آنها که از فلاژله استفاده می‌کنند، **ماستگیوفورا** و آنهایی که مژه‌دار هستند، **سیلیوفورا** نامیده می‌شوند. نوع چهارم پرتوزوآها که متحرک نبوده و همگی به‌صورت انگل می‌باشند، **اسپورزوآ** نامیده می‌شوند.

ویروس‌ها

ویروس‌ها ساختار سلولی نداشته و به تنهایی قادر به تکثیر نمی‌باشند و برای همانندسازی و تکثیر باید وارد سلول میزبان شوند. ویروس‌ها واجد **یک نوع** اسید نوکلئیک (RNA یا DNA) بوده که به وسیلهٔ پوشش پروتئینی به نام **کپسید**[2] محافظت می‌شود و براساس شکل کپسید به اشکال مختلفی وجود دارند (شکل ۵-۱). **ویریون**،[3] ذرهٔ کامل ویروسی مرکب از اسید نوکلئیک



شکل ۵-۱ انواع مختلف اشکال ویروسی

1. slime mold 2. capsid 3. virion

و کپسید می‌باشد که قادر است از یک میزبان به میزبان دیگر منتقل شود. (شکل ۵-۱) ویروس‌ها دارای میزبان‌های گوناگون مثل گیاهان، جانوران و باکتری‌ها می‌باشند. ویروس‌های باکتریایی را **باکتریوفاژ** می‌نامند.

ویروئیدها[1]

ساختار اسید نوکلئیکی متشکل از RNA حلقوی تک رشته دارد و فاقد پوشش می‌باشد. ویروئیدها عامل بیماری در گیاهان می‌باشند. ویروس هپاتیت D یک شبه ویروئید می‌باشد.

پریون‌ها[2]

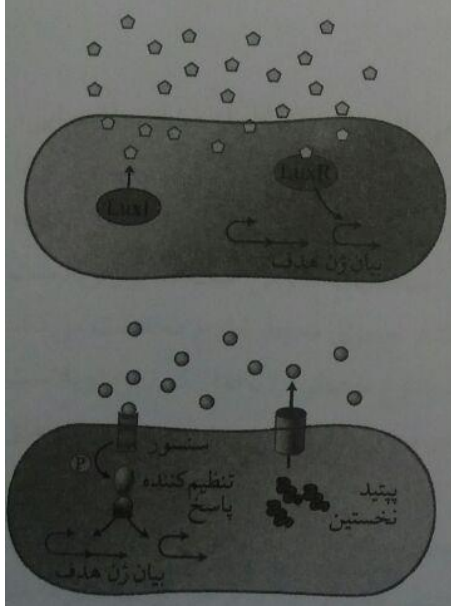
پریون‌ها کوچکترین ذرات عفونی بوده که عامل بیماری‌های سیستم عصبی مثل **جنون گاوی** (BSE)، **اسکرایی** (تب برفکی) در گوسفندان و بیماری‌های انسانی **کورو** و **کرتزفلد- ژاکوب** (CJD) می‌باشند. پریون‌ها گلیکوپروتئین‌هایی (سیالوگلیکوپروتئین) هستند که مقاوم به نوکلئاز و حرارت و حساس به پروتئاز می‌باشند. پریون‌ها از نظر توالی تقریباً مشابه با پروتئین طبیعی می‌باشند ولی شکل سه بعدی پریون با پروتئین طبیعی متفاوت می‌باشد. این پریون‌ها قادر به همانندسازی و تکثیر می‌باشند، بدین‌صورت که در اثر برهم کنش با پروتئین‌های طبیعی شکل سه بعدی آنها را تغییر داده و به پریون تبدیل می‌کنند. پروتئین‌های پریونی (Prp) توسط DNA کروموزومی **میزبان** کد می‌شوند.

حس حد نصاب[3]

حس حد نصاب فرآیندی است که به وسیلهٔ آن گروه‌های باکتری‌ها قادرند با یکدیگر ارتباط برقرار کرده و بیان ژن‌های خود را مثل یک ارگانیسم پرسلولی، تنظیم کنند. این فرآیندها فقط در زمانی پدید می‌آید که جمعیت سلولی آنها زیاد باشد. از اعمالی که به وسیلهٔ حس حد نصاب کنترل می‌شود می‌توان به اسپورولاسیون، بیولومینسانس، تشکیل بیوفیلم و... اشاره کرد. این اعمال از طریق تولید، آزادسازی و پاسخ به مولکول‌های سیگنالی که **خود القاگر**[4] نامیده می‌شوند، صورت می‌گیرد و زمانی مقدار تحریک کننده از یک خود القاگر حاصل می‌شود که تعداد کافی از سلول‌ها وجود داشته باشند. این خود القاگرها نوعی **لاکتون** و یا **الیگوپپتیدهایی** هستند که در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از نظر نوع و چگونگی عملکرد با هم متفاوت هستند. در باکتری‌های

1. viroid
2. perion
3. quorum sensing
4. auto-inducer

گرم منفی، خود القاگر نوعی لاکتون بوده که از طریق غشاء وارد سلول شده و رونویسی آنها را فعال می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت، خود القاگرها پپتیدهایی کوتاه بوده که با اتصال به گیرنده‌ای در سطح بیرونی غشاء، موجب پدید آمدن یک آبشار فسفریلاسیون داخل سلولی شده که در نهایت رونویسی ژن‌های هدف را کنترل می‌کند (شکل ۶-۱).



شکل ۶-۱ چگونگی عملکرد حس حد نصاب در باکتری‌ها

صفحه ۱۲ سفیده

ص ۱۳

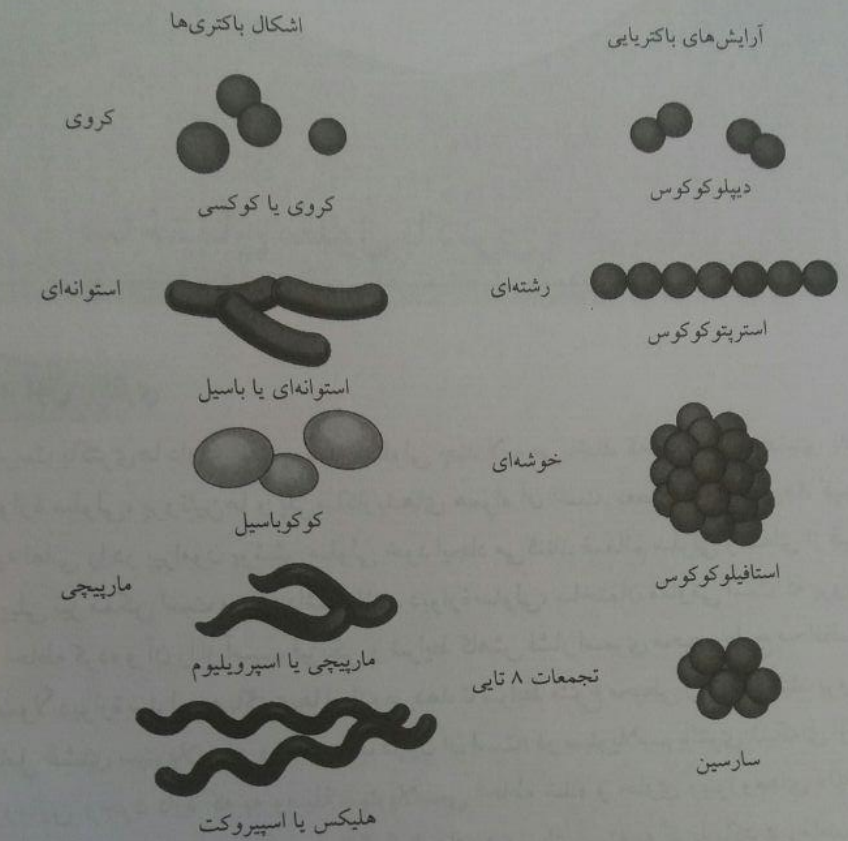
۲ ساختمان سلول باکتری

سلول باکتری

اکثریت باکتری‌ها دارای یک پوشش سلولی چند لایه می‌باشند که متشکل از غشای پلاسمایی، دیوارهٔ سلولی، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای همراه آن است. بعضی از باکتری‌ها، کپسول و یا لایه لعابی را در پیرامون پوشش سلولی خود ایجاد می‌کنند. ضمائم سلولی رشته‌ای از قبیل فلاژله و پیلی نیز ممکن است وجود داشته باشد. دیوارهٔ سلولی، ساختمان مقاومی است که پروتوپلاست را احاطه کرده و آن را از آسیب فیزیکی و شرایط کاهش فشار اسمزی محیط خارج محافظت می‌کند. معمولاً دیوارهٔ سلولی به باکتری‌ها اجازه می‌دهد تا شرایط متنوع محیطی را تحمل کند. پروتوپلاست شامل غشای سیتوپلاسمی و محتویات درون آن است؛ در سیتوپلاسم باکتری شبکه‌ای از رشته‌های کروماتین وجود دارد که به وسیلهٔ سیتوپلاسمی احاطه شده و حاوی ریبوزوم‌های 70s می‌باشد. اجسام انکلوزیونی سیتوپلاسمی یا گرانول‌های ذخیره‌ای بسته به گونهٔ باکتری، ماهیت شیمیایی متفاوتی دارند و مقدار آنها به مرحلهٔ رشد و شرایط محیطی بستگی دارد. برخی از ساختارها مثل اندوسپورها فقط به مقدار کمی از باکتری‌ها محدود می‌شوند. اندازهٔ باکتری‌های مختلف از حدود ۰/۱ میکرون تا آنهایی که بیش از ۵ میکرون قطر دارند متفاوت می‌باشد.

باکتری‌ها در زیر میکروسکوپ به اشکال مختلف **کروی** یا **کوکسی**، **استوانه‌ای** یا **باسیل** و **مارپیچ**[1] دیده می‌شوند. کوکسی‌ها در شکل سلول‌های منفرد، دوتایی (دیپلوکوک)، زنجیره‌ای (مثل استربتوکوک‌ها)، چهارتایی (تتراد)، ۸ تایی (سارسینا) و یا خوشه‌انگوری (مثل استافیلوکوک‌ها) آرایش می‌یابند. باسیل‌ها از نظر طول متغیر بوده و از استوانه‌های بسیار کوتاه (کوکوباسیل) تا استوانه‌های طویل متفاوت می‌باشند. از کوکوباسیل‌ها می‌توان بوردتلا و بروسلا و از باسیل‌های بلند می‌توان دو باکتری اسپوزای باسیلوس‌ها و کلستریدیوم‌ها را مثال زد. باکتری‌های مارپیچی به دو صورت مارپیچی سخت مثل اسپریلیوم و مارپیچی نرم مثل ترپونما پالیدوم دیده می‌شوند. برخی دیگر

1. spiral



شکل ۱-۲ اشکال مختلف باکتری‌ها

از باکتری‌ها نیز به اشکال مختلفی چون زائده‌دار، غلافدار و... دیده می‌شوند. (شکل ۱-۲)

برای مطالعه و مشاهده شکل و ساختار باکتری‌ها از میکروسکوپ و روش‌های رنگ‌آمیزی مختلف استفاده می‌شود.

میکروسکوپ نوری: قدرت تفکیک میکروسکوپ نوری حدود ۰٫۳-۰٫۲ میکرون می‌باشد. قدرت تفکیک به‌معنای تمایز دو نقطهٔ مجاور هم می‌باشد. برای ایجاد تمایز در این میکروسکوپ از روش‌های رنگ‌آمیزی استفاده می‌شود.

میکروسکوپ اختلاف فاز:[1] این میکروسکوپ نوع خاصی از میکروسکوپ‌های نوری است که متداول‌ترین میکروسکوپ‌ها در آزمایشگاه‌های پژوهشی برای مطالعهٔ میکروب‌های زنده

1. phase contrast

می‌باشد. این میکروسکوپ دارای ابزار نوری خاصی است که تباین بین میکروب‌ها و محیط اطراف را افزایش می‌دهد.

میکروسکوپ زمینه تاریک:[1] در این میکروسکوپ، نور با زاویهٔ معینی به طرف نمونه تابیده می‌شود به‌طوری که فقط نورهایی که به وسیلهٔ نمونهٔ مورد مطالعه منعکس می‌شوند، وارد عدسی شیئی شده و قابل رؤیت می‌گردد و زمینهٔ دید تاریک به‌نظر می‌رسد. این میکروسکوپ برای مشاهدهٔ ارگانسیم‌های زندهٔ بسیار نازک مثل **ترپونما پالیدوم** (عامل سیفلیس) کاربرد دارد. مزیت آن این است که می‌توان اندازهٔ تقریبی، شکل و حرکت میکروارگانیسم‌ها را بدون روش‌های تثبیت و رنگ-آمیزی و در حالت طبیعی مشاهده کرد.

میکروسکوپ فلورسانس: در این میکروسکوپ‌ها **آنتی‌بادی** خاص یک ارگانیسم و یا توکسین خاص را با رنگ‌های فلورسانت ترکیب کرده و برای شناسایی ارگانیسم یا پروتئین موردنظر به‌کار می‌برند.

میکروسکوپ الکترونی: در این میکروسکوپ از امواج الکترون به جای پرتوهای نوری استفاده می‌شود، لذا بزرگنمایی آن بسیار بیشتراز میکروسکوپ نوری است. با استفاده از روش سایه‌زنی (رسوب دادن یک لایهٔ فلزی با تراکم الکترونی بالا) و یا روش رنگ‌آمیزی منفی می‌توان جزئیات فاژله، پیلی، پوشش سلولی، غشای سلولی و اجزای کوچک داخل سلولی را مشاهد کرد. روش جدیدی که اخیراً ابداع شده و نیاز به تثبیت شیمیایی را برطرف کرده است روش قلم‌زنی در سطح جامد می‌باشد که در آن نمونه‌ها بلافاصله با استفاده از یخ خشک و یا نیتروژن مایع، منجمد می‌شوند و سپس سطح نمونه با یک تیغهٔ کوچک برش داده شده و سطح برش‌ها را با لایه نازکی از کربن می‌پوشانند. در این روش بررسی لایهٔ سطحی و ساختمان‌های داخلی، امکان‌پذیر می‌گردد.

اجزای ساختمان باکتری

تاژه‌ها و رشته‌های محوری

برخی از باکتری‌ها دارای **تحرک** می‌باشند. سه نوع مکانیسم تحرک در باکتری‌ها شناخته شده است:

۱ حرکت لغزشی که در گونه‌هایی مثل سیتوفاگا مشاهده می‌شود.
۲ حرکت مارپیچی یا اسپیروکتی که به کمک رشته‌های محوری صورت می‌گیرد.
۳ حرکت شنا کردن که حرکت به کمک فلاژله می‌باشد.

1. darkfield

فلاژله

فلاژله‌ها،[1] رشته‌های مارپیچ پروتئینی با طول و قطر یکنواخت هستند که مسئول حرکت سریع در بسیاری از باکتری‌ها می‌باشند. این فلاژله‌ها به قدری نازک هستند که به وسیلهٔ میکروسکوپ نوری دیده نمی‌شوند. برای دیدن فلاژله می‌توان آنها را با املاح نقره و یا نمک‌های اسید تانیک رنگ کرده و به وسیلهٔ میکروسکوپ **الکترونی** مشاهده کرد. برای مشاهدهٔ حرکت باکتری می‌توان آن را به روش قطرهٔ معلق یا لام مرطوب مشاهد کرد. روش مؤثری که برای تشخیص حرکت در باکتری‌های بی‌هوازی و بی‌هوازی اختیاری وجود دارد استفاده از محیط آگار نیمه جامد مثل محیط SIM می‌باشد که باکتری را به وسیلهٔ آنس سرصاف در امتداد یک خط عمودی در لوله آگار کشت داده، سپس باکتری‌های متحرک در اطراف خط کشت حرکت کرده تا نیازهای تغذیه‌ای خود را برطرف کنند.

باکتری‌ها را براساس **محل قرارگیری** تاژه و تعداد آنها به چهار گروه تقسیم می‌کنند: (شکل ۲-۲)

۱ **مونوتریش:**[2] یک فلاژله در یک قطب سلول قرار دارد؛ مانند پسودوموناس آئروژینوزا و ویبریو کلرا

۲ **لوفوتریش:**[3] چندین فلاژله در یک قطب سلول قرار دارد؛ مثل بارتونلا باسیلی فورمیس و هلیکوباکترپیلوری

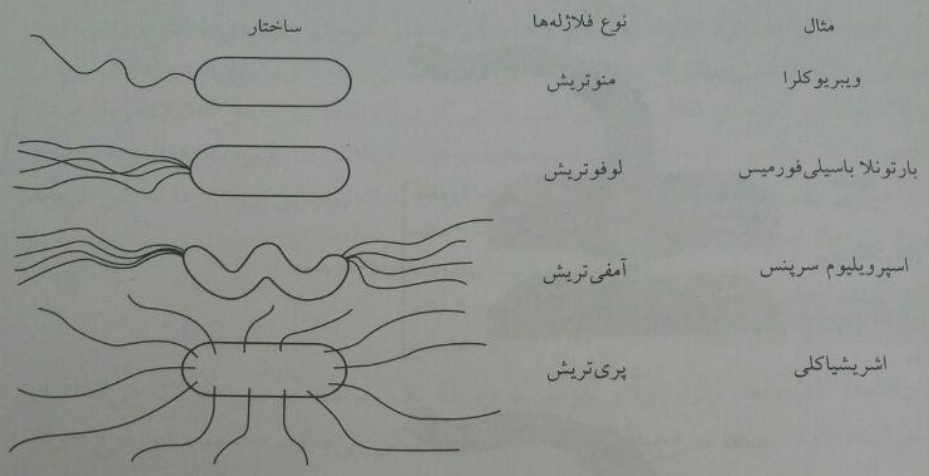
۳ **آمفی‌تریش:**[4] فلاژله‌ها در دو قطب سلول قرار دارند؛ مثل اسپریلیوم سرپنس

۴ **پری‌تریش:**[5] فلاژله‌ها در تمام سطح سلول باکتری پخش شده‌اند؛ مثل اشریشیاکولی، سالمونلا و پروتئوس

از نظر ساختمانی فلاژله از سه قسمت تشکیل شده است: (شکل ۳-۲)

۱ بخش بیرونی که در رنگ‌آمیزی مشاهده می‌گردد **رشته** یا **فیلامنت** نامیده می‌شود که از منومرهای پروتئین **فلاژلین** ساخته شده است. ترکیب پروتئینی فلاژلین برحسب گونهٔ باکتری متفاوت می‌باشد ولی به‌طورکلی دارای میزان بالای اسید آمینه‌های اسیدی (اسید گلوتامیک و اسید آسپارتیک)، کم بودن اسیدآمینه‌های آروماتیک و فاقد اسیدآمینه گوگردی سیستئین می‌باشد. این پروتئین را **آنتی ژن H** (آنتی ژن فلاژله‌ای) می‌نامند که از کلمه لاتین Hauch گرفته شده است. فلاژله‌ها را می‌توان با استفاده از تکان دادن باکتری‌ها در ظروف حاوی گلوله‌های شیشه‌ای

1. fellagelum
2. monotrichous
3. lophotrichous
4. amphitricous
5. peritricous



شکل ۲-۲ انواع مختلف قرارگیری فلاژله در باکتری‌ها: مونوتریش، لوفوتریش، آمفی‌تریش و پری‌تریش

از باکتری جدا کرد؛ این باکتری‌ها زنده مانده و مجدداً فلاژله جدیدی را سنتز می‌کنند؛ بدین‌ترتیب که واحدهای فلاژلین در سیتوپلاسم سنتز شده و از مجرای لوله‌ای تاژه به سطح سلول آمده و به انتهای رشتهٔ در حال رشد اضافه می‌شود. بعضی از گونه‌های سالمونلا دارای دو نوع ژن فلاژلین بیان شونده هستند.

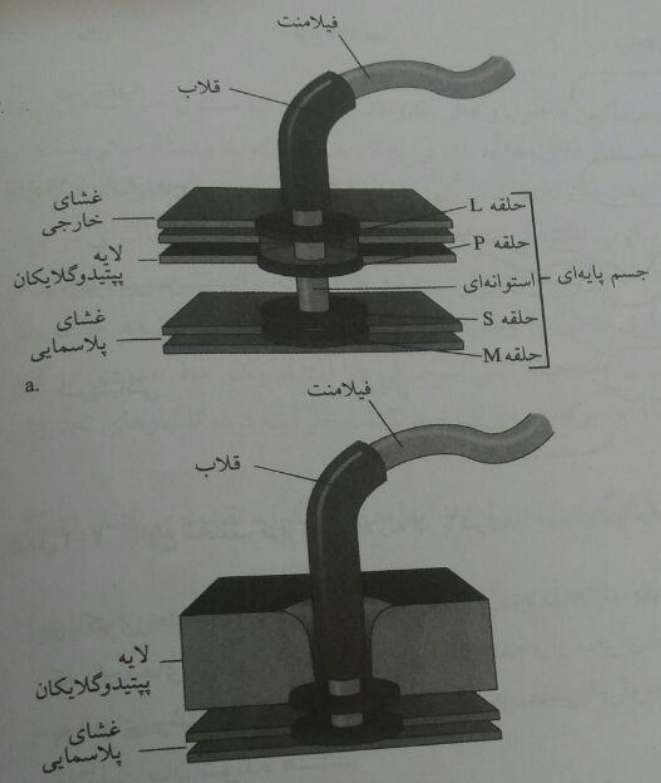
۲ بخش دوم **قلاب**[1] است که رشته را به جسم پایه متصل می‌کند.

۳ بخش سوم **جسم پایه**[2] می‌باشد که از تعدادی **حلقه** تشکیل شده و به وسیلهٔ میله‌ای پروتئینی تا قلاب ادامه می‌یابد. تعداد این حلقه‌ها در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی متفاوت می‌باشد (شکل ۳-۲). این بخش در باکتری‌های گرم **مثبت** از دو حلقه تشکیل شده است: حلقه **M** که در غشای سیتوپلاسمی قرار داشته و حلقه **S** که در بالای آن در بیرون از غشای سیتوپلاسمی قرار می‌گیرد، ولی در باکتری‌های گرم **منفی** چهار حلقه دیده می‌شود که به ترتیب از داخل به بیرون، حلقه **M** در غشای سیتوپلاسمی، حلقه **S** در فضای پری‌پلاسمی، حلقه **P** در پپتیدوگلایکان و حلقه **L** که در غشای خارجی باکتری قرار گرفته‌اند.

مکانیسم حرکت فلاژله

فلاژله‌های باکتری مانند پروانهٔ هواپیما در اطراف محور بزرگ خود چرخیده و سلول را به جلو

1. hook 2. basal body



شکل ۳-۲ ساختمان فلاژله در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

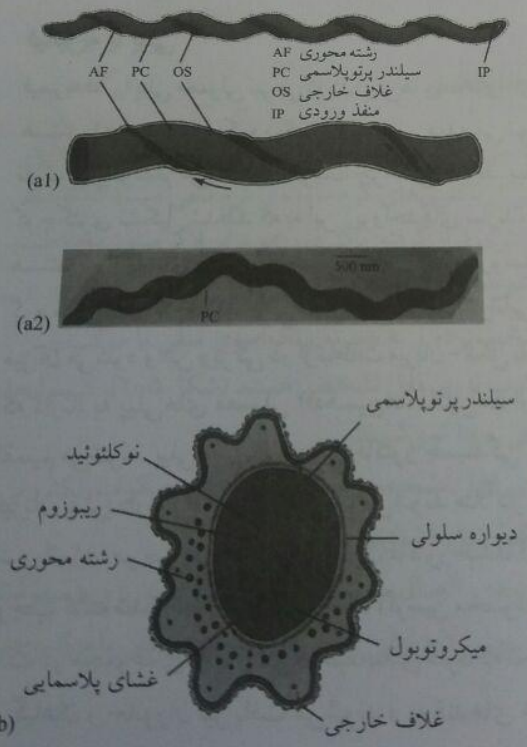
می‌رانند. نیرویی که موجب این چرخش می‌شود از جریان **شیب پروتونی** ایجاد می‌شود. این شیب پروتونی در اثر پمپ اولیه پروتون توسط یونوفورها به بیرون سلول باکتری ایجاد شده است. در باکتری‌هایی که در محیط‌های قلیایی زندگی می‌کنند (آلکالوفیل‌ها) انرژی حاصل از شیب یون **سدیم** به جای شیب پروتونی در به حرکت درآوردن موتور فلاژله‌ای نقش دارد. هنگامی که یک باکتری پری‌تریش شنا می‌کند همهٔ فلاژله‌ها با هم هماهنگ گشته و دسته خلفی ایجاد می‌کنند که با چرخش خود در جهت خلاف عقربهٔ ساعت، سلول را در یک خط مستقیم به طرف یک مادهٔ غذایی هدایت می‌کند (**شیمیوتاکسی مثبت**)؛ اما هنگامی که یک مادهٔ دافع در محیط باکتری وجود داشته باشد هماهنگی فلاژله‌ها از دست می‌رود و سلول به دور خود می‌چرخد و سعی می‌کند از مادهٔ دافع دور شود. این حرکت به طرف مادهٔ جاذب را **گرایش** یا **تاکسیس**[1] می‌نامند. عوامل محرک که موجب گرایش یا تاکسیس می‌شوند می‌تواند مادهٔ غذایی (شیمیوتاکسیس)، هوا (آئروتاکسیس) و یا نور (فوتوتاکسیس) باشد.

1. taxis

هماهنگی عملکرد فلاژله به لحاظ وجود گیرنده‌های شیمیایی ویژه‌ای به نام **پروتئین‌های اتصالی پری‌پلاسمی**[1] است که در انتقال غشایی نیز درگیر می‌باشند. گرایش براساس متیلاسیون و دمتیلاسیون پروتئین‌های خاص غشایی صورت می‌گیرد و واسطهٔ این عمل **CGMP** می‌باشد. در هنگامی که مادهٔ **جاذب**[2] در محیط وجود داشته باشد بر میزان متیلاسیون این پروتئین‌ها افزوده می‌شود اما در هنگامی که یک مادهٔ **دافع**[3] حضور داشته باشد میزان متیلاسیون این پروتئین‌ها کاهش می‌یابد (دمتیلاسیون رخ می‌دهد).

حرکت در اسپیروکت‌ها

اسپیروکت‌ها[4] (ترپونما، لپتوسپیرا و بورلیا) به وسیلهٔ یک حرکت موجی حرکت می‌کنند. این نوع حرکت، نفوذ آنها را در محیط‌های با غلظت بالا ممکن می‌سازد. مکانیسم این نوع حرکت



شکل ۴-۲ ساختار دیواره سلولی در اسپیروکت‌ها

1. periplasmic binding proteins 2. attractant 3. repellent
4. spirochetes

توسط فلاژله‌های آزاد صورت نمی‌گیرد، بلکه به ساختارهایی بستگی دارد که منحصراً در این باکتری‌ها دیده می‌شود. این باکتری‌ها دارای **رشته‌های محوری**[1] می‌باشند که در **فضای پری‌پلاسمی**[2] جای گرفته‌اند (شکل ۴-۲). این رشته‌ها از دو قطب باکتری منشأ گرفته‌اند و در ناحیهٔ مرکزی باکتری با هم همپوشانی دارند. تعداد این رشته‌ها در اسپیروکت‌های مختلف متفاوت است؛ این رشته‌های محوری، مانند فلاژله حرکت می‌کنند و تفاوتی که دیده می‌شود این است که این الیاف به خارج از سلول گسترش نمی‌یابند، بلکه در غلافی به نام **غلاف خارجی**،[3] قرار داشته و حرکتی شبیه مته در باکتری ایجاد می‌کنند.

حرکت لغزشی:[4] برخی از باکتری‌ها مثل گونه‌های **سیتوفاگا** در تماس با سطح جامد می‌توانند حرکت کنند. این حرکت که نوعی سرخوردن می‌باشد به کمک پیلی‌های باکتری صورت می‌گیرد و کندتر از سایر حرکات باکتری‌ها می‌باشد. سیتوفاگا یکی از میکروب‌های خاک بوده که در تجزیه سلولز خاک نقش مهمی دارد.

فیمبریه یا پیلی

فیمبریه‌ها[5] را پیلی معمولی نیز می‌گویند؛ پیلی‌ها رشته‌های نازک موئی شکل در سطح خارجی باکتری‌ها هستند که به وسیلهٔ میکروسکوپ الکترونی دیده می‌شوند. پیلی‌ها نسبت به فلاژله‌ها مستقیم‌تر، نازک‌تر و کوتاه‌تر می‌باشند و حرکت چرخشی ندارند. پیلی‌ها همانند فلاژله‌ها از واحدهای سازندهٔ کوچکتری تشکیل شده‌اند که به این زیرواحدهای سازنده، **پیلین** می‌گویند. پیلی‌ها رشته‌های توخالی هستند که از غشای پلاسمایی شروع شده و از دیوارهٔ سلول بیرون می‌زنند و عمدتاً در سلول‌های گرم منفی دیده می‌شوند. پیلی‌ها موجب افزایش توانایی هر چه بیشتر باکتری‌ها برای حضور در میزبان می‌شود و این ویژگی در ارتباطات میزبان-انگل نقش مهمی دارد. پیلی‌ها براساس عملکردی که دارند به پیلی‌های **معمولی** (ادهسین‌ها، لکتین‌ها، اوازین‌ها و اگرسین‌ها) و پیلی‌های **جنسی** تقسیم می‌شوند. پیلی‌هایی که به‌عنوان فاکتور چسبندگی[6] عمل می‌کنند و در اتصال باکتری به سلول میزبان نقش دارند، **ادهسین** محسوب می‌شوند مثلاً در نایسریا گنوره و سوش‌های اشریشیاکولی انتروپاتوژن؛ در صورتی که پیلی به‌عنوان فاکتور ضدفاگوسیتوز عمل کند، **اوازین**؛ و در صورتی که موجب **کشته شدن** گلبول‌های سفید شود **اگرسین** محسوب می‌شود. به‌علاوه، پروتئین‌های پیلی ممکن است در مجموعه‌ای از پروتئین‌ها طبقه‌بندی شود که تحت عنوان **لکتین** شناخته می‌شوند. لکتین‌ها در گیاهان و جانوران نیز یافت می‌شوند و به قندهای خاصی در سطوح سلولی متصل می‌گردند.

1. axial filament
2. priplasmic space
3. outer sheoth
4. gliding movement
5. fimbriea
6. adhesin factor

@pdf_jozveh

چنین پیلی‌هایی در اشریشیاکولی و شیگلا فلکسنری وجود داشته و تمایل به اتصال به قند مانوز داشته و **پیلی P** نامیده می‌شوند.

پیلی‌ها در باکتری‌ها ممکن است دارای چندین نقش باشند مثلاً در استرپتوکک پیوژن، پیلی محل اتصال آنتی ژن سطحی یا پروتئین **M** می‌باشد که این پروتئین از طریق اسید لیپوتیکوئیک به سلول میزبان متصل می‌شود و به‌عنوان ادهسین عمل می‌کند، همچنین این پروتئین مانع فاگوسیتوز شده (اوازین) و بالاخره کشندهٔ گلبول‌های سفید (اگرسین) است. نوع دیگری از پیلی در باکتری‌ها، پیلی **جنسی**[1] یا **پیلی F** است که متفاوت از انواع قبلی (پیلی‌های معمولی) می‌باشد. این پیلی‌ها بزرگتر از پیلی معمولی بوده و برخلاف پیلی معمولی، تعداد آنها کم و بین ۱ تا ۳ عدد می‌باشد، وظیفهٔ پیلی‌های جنسی نگه داشتن دو سلول باکتری و انتقال مادهٔ ژنتیکی از سلول‌دهنده به سلول گیرنده در هنگام **کنژوگاسیون**[2] است؛ پیلی جنسی توسط **پلاسمید F** کد می‌شود. همچنین برخی از پیلی‌ها به‌عنوان گیرنده‌ای برای فاژها عمل کرده و با پوشیده شدن به وسیلهٔ فاژها، این پیلی‌ها به آسانی با میکروسکوپ دیده می‌شوند.

کپسول‌ها و لایه‌های لعابی: گلیکوکالیکس

در اغلب موارد قدرت بیماریزایی (ویرولانس) باکتری‌های بیماریزا با تولید **کپسول**[3] ارتباط دارد. کپسول یک لایه موسیلاژی در سطح برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است که توسط باکتری، ترشح شده و بر روی تمام سطح باکتری قرار گرفته؛ باکتری را در برابر **فاگوسیتوز** محافظت می‌کند. کپسول‌ها به سه شکل دیده می‌شوند:

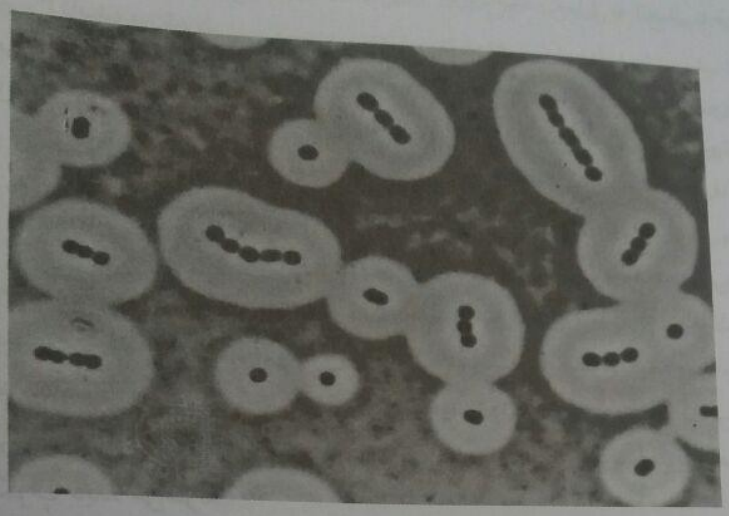
۱. **ماکروکپسول:** که به‌صورت لایه‌ای ضخیم بوده و به وسیلهٔ **رنگ‌آمیزی منفی** با مرکب‌چین[4] به‌صورت هاله‌ای از نور در زیر میکروسکوپ نوری قابل تشخیص هستند (شکل ۵-۲). کپسول‌ها به سطح باکتری چسبیده‌اند و به راحتی جدا نمی‌شوند.

۲. **میکروکپسول:** که با میکروسکوپ نوری قابل تشخیص نیست اما با میکروسکوپ الکترونی و تکنیک‌های سرولوژیک مثل **کوالانگ**[5] قابل تشخیص هستند.

۳. **لایهٔ لعابی:** که دارای ضخامت بسیار کم بوده و اتصال سستی با دیوارهٔ باکتری دارد و با سهولت بیشتری از پیرامون باکتری جدا می‌شود. همچنین لایهٔ لعابی به وسیلهٔ رنگ‌آمیزی منفی با مرکب‌چین قابل مشاهده نمی‌باشد.

---

1. sex pilli
2. conjugation
3. capsule
4. india ink
5. quellung



شکل ۵-۲ رنگ‌آمیزی کپسول به وسیله مرکب‌چین

ترکیب شیمیایی کپسول در گونه‌های مختلف و شرایط مختلف رشد، متفاوت می‌باشد و حتی در سویه‌های یک گونه باکتری ممکن است از نظر **آنتی ژنی** متفاوت باشد. ترکیب شیمیایی کپسول باکتری‌ها بیشتر **پلی‌ساکاریدی** می‌باشد ولی استثنائاتی نیز وجود دارد مثلاً در باسیلوس آنتراسیس کپسول از جنس **پروتئین** بوده و از واحدهای D- گلوتامیک اسید تشکیل یافته است (جدول ۱-۲). کپسول‌های پلی‌ساکاریدی به دو شکل **هموپلی‌ساکارید** (لوان در استربتوکوکوس سالیواریوس و دکستران در استرپتوکوکوس موتانس) و **هتروپلی‌ساکارید** (آلژینات در پسودوموناس آئروژینوزا) دیده می‌شوند. فاگوسیتوز باکتری‌های کپسول‌دار به‌علت حالت موسیلاژی کپسول دچار مشکل می‌شود ولی باکتری‌های بدون کپسول به سرعت به وسیله سلول‌های فاگوسیت کننده بلعیده شده و از بین می‌روند. باکتری‌های کپسول دار دارای کلونی‌هایی می‌باشند که از نظر ظاهری با کلونی باکتری‌های بدون کپسول متفاوت است. باکتری‌های کپسول‌دار کلونی‌های **موکوئید**[1] (M) و یا **صاف**[2] (S) را به‌وجود می‌آورند اما سوش‌های فاقد کپسول کلونی‌های **خشن**[3] (R) را پدید می‌آورند. جهش‌هایی که باعث تبدیل فرم صاف (S) به خشن (R) می‌شوند موجب از دست رفتن قدرت **بیماریزایی**[4] باکتری می‌شوند.

1. mocoid
2. smooth
3. rough
4. virulence

جدول ۱-۲ ترکیب شیمیایی برخی از کپسول‌های باکتریایی

باکتری	ترکیب کپسول	واحدهای ساختاری
باکتری‌های گرم مثبت		
باسیلوس آنتراسیس	پلی‌پپتید (پلی‌گلوتامیک اسید)	D- گلوتامیک اسید
باسیلوس مگاتریوم	پلی‌پپتید و پلی‌ساکارید	D- گلوتامیک اسید، قندهای آمینی، قندها
استرپتوکوکوس موتانس	پلی‌ساکارید	گلوکز (دکستران)
استرپتوکوکوس پنمونیه	پلی‌ساکارید	قندها، قندهای آمینی، اسیدهای اورونیک
استرپتوکوکوس پیوژن	پلی‌ساکارید (هیالورونیک اسید)	N-استیل گلوکزآمین و گلوکورونیک اسید
باکتری‌های گرم منفی		
استوباکتر گزیلینوم	پلی‌ساکارید	(سلولز) گلوکز
اشریشیاکلی	پلی‌ساکارید (کلونیک اسید)	گلوکز، گالاکتوز، فوکوز گلوکورونیک اسید
سودوموناس آئروژینوزا	پلی‌ساکارید	مانورونیک اسید
ازتوباکتروینلندی	پلی‌ساکارید	گلوکورونیک اسید
آگروباکتریوم تومی فاسینس	پلی‌ساکارید	(گلوکان) گلوکز

در استرپتوکوکوس موتانس، کپسول (گلیکوکالیکس) عامل اتصال باکتری به مینای دندان می‌باشد. این باکتری که عامل اصلی پوسیدگی دندان می‌باشد برای سنتز کپسول به ساکاروز احتیاج دارد. باکتری قند ساکاروز را به گلوکز و فروکتوز شکسته، فروکتوز را به‌عنوان منبع انرژی مصرف کرده و گلوکز به‌صورت کپسول دکستران در خارج سلول پلیمریزه می‌شود و موجب اتصال باکتری به سطح مینای دندان می‌شود. به همین دلیل رابطه مستقیمی بین مصرف غذاهای شیرین و پوسیدگی دندان وجود دارد.

واکنش کوالانگ:[1] باکتری‌های کپسول‌دار را با **آنتی‌بادی** ضدکپسول مخلوط کرده، این عمل منجر به **تورم** کپسول شده و به‌طور واضح در زیر میکروسکوپ دیده می‌شود. باکتری‌های کپسول‌دار را کوالانگ مثبت و باکتری‌های بدون کپسول را کوالانگ منفی گویند. از دست رفتن توانایی تولید کپسول هیچ تأثیری بر روی قابلیت زیست ارگانیسم ندارد. تولید کپسول به میزان قابل توجهی تحت تأثیر محیط و شرایط کشت قرار می‌گیرد، به‌علاوه پلی‌ساکاریدهای کپسولی ممکن است

1. quellung reaction

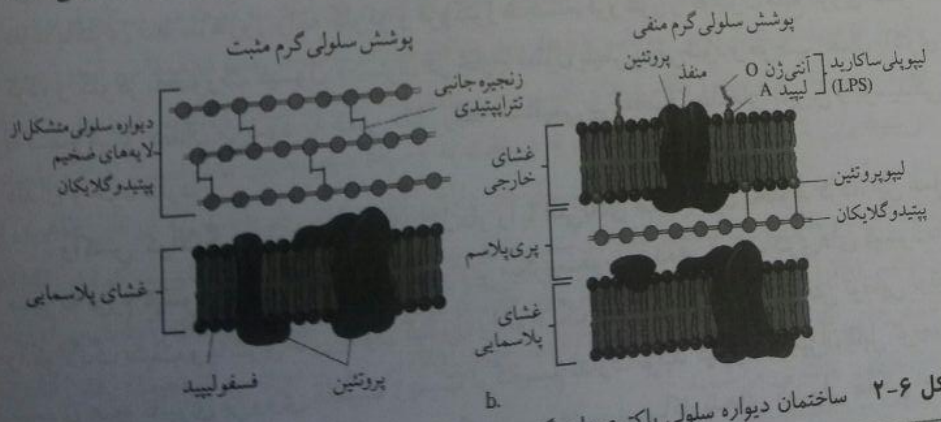
به‌عنوان گیرنده برای برخی از باکتریوفاژها عمل کرده و یا اینکه نقش محافظت در برابر سایر فاژها و آنتی‌بیوتیک‌ها را ایفاء کنند. کپسول دارای خاصیت آنتی ژنی بوده و به آن **آنتی‌ژن K** گویند.

لایهٔ S

بر روی دیوارهٔ سلولی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین آرکئاباکتری‌ها لایهٔ سطحی پروتئینی یا گلیکوپروتئینی با تقارن شش وجهی وجود دارد که عمدتاً دارای اسیدآمینه‌های اسیدی بوده و فاقد اسیدآمینه‌های گوگردی می‌باشد. این لایه ممکن است نقش حفاظتی در برابر آلودگی‌های ویروسی، نگهداری شکل سلول و یا در تراوایی انتخابی مواد به درون باکتری نقش داشته باشد. لایهٔ S را در همهٔ گروه‌های **آرکئاباکتری‌ها** می‌توان یافت.

دیوارهٔ سلولی

دیوارهٔ سلول لایه‌ای مستحکم در اطراف سلول، بین کپسول و غشای سیتوپلاسمی می‌باشد و در تمام باکتری‌هایی که زندگی آزاد دارند به استثنای مایکوپلاسماها و ترموپلاسماها (آرکئاباکتر)، وجود دارد (شکل ۶-۲). دیوارهٔ سلولی مانع از تخریب سلول باکتری در محیط‌های **هیپوتونیک**[1] (فشار اسمزی پایین) می‌شود و شکل سلول را نیز حفظ می‌کند. در صورتی که دیوارهٔ سلولی باکتری‌ها حذف شود و باکتری‌ها در محیط هیپوتونیک قرار گیرند منجر به ورود آب به داخل باکتری شده، در نتیجه باکتری متورم شده و می‌ترکد. تمام باکتری‌های دارای دیواره، واجد لایهٔ پپتیدوگلایکان هستند، به استثنای کلامیدیاها که باکتری‌های گرم منفی دیواره‌دار بوده ولی فاقد



شکل ۶-۲ ساختمان دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت (سمت چپ) و گرم منفی (سمت راست)

1. hypotonic

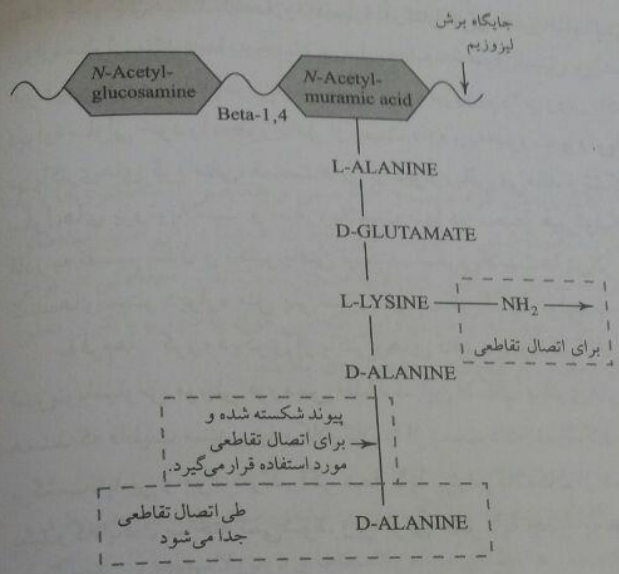
پپتیدوگلایکان هستند (به‌علاوه دیوارهٔ **آرکئاباکتری‌ها** نیز فاقد پپتیدوگلایکان می‌باشد). اگر دیوارهٔ سلولی باکتری‌ها به وسیلهٔ عواملی حذف شده و از بین بروند، باکتری‌ها به‌صورت اشکال غیرطبیعی کروی شکل درمی‌آیند. وقتی آنزیم **لیزوزیم** را بر روی باکتری‌های گرم مثبت اثر دهیم، دیوارهٔ سلولی خود را به‌طور کامل از دست داده و به‌صورت **پروتوپلاست**[1] درمی‌آیند در حالی‌که در باکتری‌های گرم **منفی**، قسمت‌هایی از دیواره باقی می‌ماند و تشکیل **اسفروپلاست**[2] را می‌دهند. سلول‌های پروتوپلاست و اسفروپلاست تنها در محیط **هیپرتونیک**[3] می‌توانند زنده بمانند ولی قادر به تقسیم شدن و تکثیر یافتن نیستند. اسفروپلاست‌ها در اثر رشد باکتری در حضور مهار-کننده‌های سنتز دیواره مثل پنی‌سیلین نیز ممکن است تولید شود.

L فرم‌ها:[4] گروه دیگری از باکتری‌های فاقد دیواره، اشکال L- هستند که ابتدا از سویه‌های استرپتوباسیلوس مونیلی فورمیس جدا شد. این اشکال، باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی ساده‌ای هستند که قابلیت سنتز پپتیدوگلایکان را از دست داده‌اند. اشکال L به دو صورت برگشت‌پذیر و برگشت‌ناپذیر وجود دارند. اگر همهٔ لایهٔ پپتیدوگلایکان از دست برود دیگر لایهٔ جدیدی از پپتیدوگلایکان ساخته نمی‌شود، زیرا برای سنتز لایهٔ جدید به مقداری از پپتیدوگلایکان به‌عنوان **پرایمر** نیاز می‌باشد.

پپتیدوگلایکان[5]

پپتیدوگلایکان، مورئین، یا موکوپپتید فقط در یوباکتری‌ها دیده می‌شود و در یوکاریوت‌ها و آرکئاباکتری‌ها وجود ندارد. این بخش ممکن است ۲ تا ۴۰ درصد از وزن خشک باکتری را تشکیل دهد. پپتیدوگلایکان پلیمری پیچیدهٔ متشکل از **N-استیل گلوکزآمین** و **N- استیل مورامیک اسید** می‌باشد که به‌طور یک در میان قرار گرفته و با پیوند **β - ۱ و ۴- گلیکوزیدی** به یکدیگر اتصال دارند و زنجیره‌های مجزایی را به‌وجود می‌آورند (شکل ۷-۲). پل‌های پپتیدی کوچک بین این زنجیره‌ها و بین واحدهای N-استیل مورامیک اسید دو زنجیره‌ی مجاور، موجب اتصال زنجیره‌ها به یکدیگر می‌شود. این پل‌های پپتیدی متشکل از ۴ اسید آمینه (**تتراپپتید**) می‌باشد و اسید آمینهٔ سوم آن در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی متفاوت می‌باشد. در گرم مثبت‌ها این اسید آمینه‌ها L- آلانین، D- گلوتامیک اسید، L- لیزین و D- آلانین می‌باشد ولی در گرم منفی‌ها به جای L- لیزین، **D- آمینوپایملیک اسید** (DAP) قرار می‌گیرند. DAP واسطه‌ای در بیوسنتز **لیزین** در باکتری‌ها می‌باشد. در باکتری‌های گرم منفی پیوند پپتیدی مستقیم بین گروه آمین دی آمینو پایمیلیک اسید

1. protoplst
2. spheroplast
3. hypertonic
4. L-forms
5. peptidoglycan



شکل ۷-۲ منومر پپتیدوگلایکان و چگونگی اتصال منومرها

(DAP) و گروه کربوکسیل D- آلانین انتهای زنجیره جانبی دیگر به‌وجود می‌آید؛ ولی در گونه‌های گرم مثبت اسیدآمینه‌های L-لیزین در یک تتراپپتید با اسیدآمینه D- آلانین از تتراپپتید مجاور توسط **پل‌های تقاطعی** اسیدآمینه‌ای به هم متصل می‌شوند که در گونه‌های مختلف باکتری‌های گرم مثبت، نوع و تعداد این اسیدآمینه‌ها متفاوت است. استحکام و سختی دیوارهٔ سلولی به عواملی چون تعداد لایه‌های پپتیدوگلایکان دیواره، تعدادی از مولکول‌های مورامیک اسید که در تشکیل پیوند عرضی شرکت می‌کنند، وجود پل‌های تقاطعی بین زنجیره‌های تتراپپتید و تعداد و نوع اسیدآمینه‌های موجود در این پل‌های تقاطعی بستگی دارد؛ مثلاً در استافیلوکوکوس اورئوس تمام مولکول‌های مورامیک اسید دارای زنجیره‌های تتراپپتیدی بوده و اکثر این تتراپپتیدها به وسیلهٔ پل‌های تقاطعی **پنتاگلیسینی**[1] به هم متصل می‌شوند. به‌علت وجود این ساختارهای تقاطعی، دیوارهٔ استافیلوکوکوس اوروئوس را **دیوارهٔ سفت** می‌نامیم. ضخامت لایه پپتیدوگلایکان در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت باهم متفاوت است. در گرم منفی‌ها لایه پپتیدوگلایکان متشکل از یک یا دو لایه می‌باشد ولی در گرم مثبت‌ها تعداد لایه‌ها تا ۴۰ لایه می‌رسد و ۵۰ درصد وزن خشک دیواره سلولی را تشکیل می‌دهد. برخی از اجزای پپتیدوگلایکان منحصر به سلول‌های پروکاریوتی است و در پلیمرهای یوکاریوتی مشاهده نمی‌شود مثل: اسیدآمینه‌های نوع D، N- استیل مورامیک اسید و D- آمینو پایمیلیک اسید (DAP).

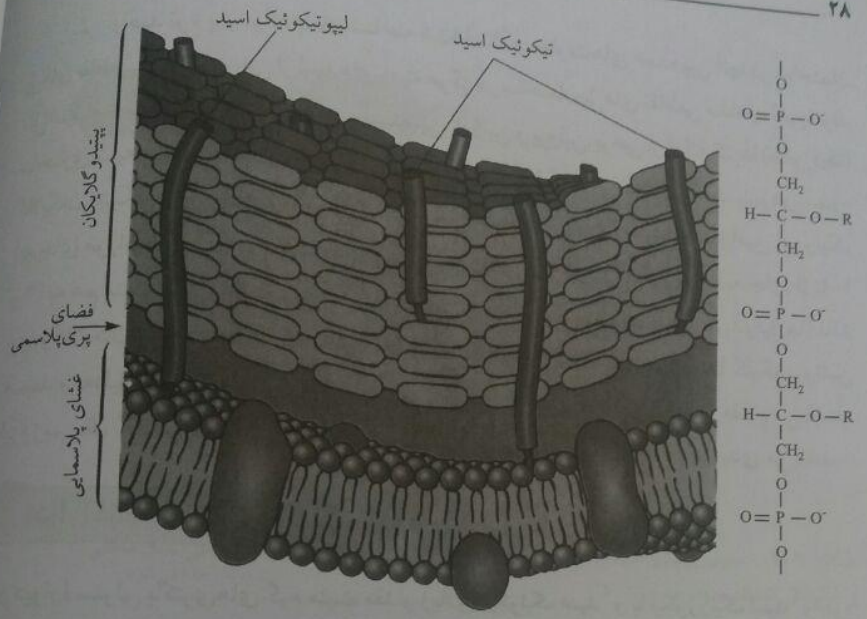
1. penta glycin

بیش از صد نوع پپتیدوگلایکان شناخته شده است و تفاوت‌های عمده بین آنها در ساختمان **پل‌های تقاطعی** می‌باشد. برخی از اسیدهای آمینه هرگز در ساختمان پل‌های تقاطعی مشاهده نمی‌شوند مثل اسیدآمینه‌های آروماتیک، گوگردی، هیستیدین، آرژنین و پرولین. برخی از آرکئاباکترها (متانوژن‌ها) ساختاری شبیه پپتیدوگلایکان دارند که آن را **پسودوپپتیدوگلایکان**[1] می‌نامند. اسکلت پسودوپپتیدو-گلایکان متشکل از واحدهای تکراری N- استیل گلوکزآمین و N- استیل تالوزآمین اورونیک (به جای مورامیک اسید) می‌باشد که به وسیلهٔ پیوندهای **β- ۱ و ۳ گلیکوزیدی** (به جای βبتا-۱ و ۴) به هم متصلند. دیوارهٔ سلولی سایر آرکئاباکتری‌ها (هیپرترموفیل‌ها و هیپراسیدوفیل‌ها) فاقد پپتیدوگلایکان و پسودوپپتیدوگلایکان بوده و متشکل از پلی‌ساکارید، پروتئین یا گلیکوپروتئین هستند و به‌دلیل نداشتن پپتیدوگلایکان واقعی، آرکئاباکترها در برابر آنزیم لیزوزیم مقاوم می‌باشند. لیزوزیم یک گلیکوزیداز است که قادر به شکستن اتصالات **β-۱ و ۴- لیکوزیدی** می‌باشد.

اجزاء اختصاصی دیوارهٔ سلولی باکتری‌های گرم مثبت

در دیوارهٔ سلولی باکتری‌های گرم مثبت مقدار زیادی **تیکوئیک اسید**[2] و یا **تیکورونیک اسید**[3] وجود دارد. این پلیمرها در دیوارهٔ باکتری‌های گرم منفی وجود ندارند. این ترکیبات تا ۵۰ درصد وزن خشک دیواره و ۱۰ درصد وزن خشک سلول را تشکیل می‌دهند. تیکوئیک اسید یک پلی‌اکارید اسیدی محلول در آب است که ممکن است دارای **ریبیتول** (ریبیتول تیکوئیک اسید در استافیلوکوکوس اورئوس) و یا دارای **گلیسرول** (گلیسرول تیکوئیک اسید در استافیلوکوکوس اپیدرمیس) باشد. دو نوع اسید تیکوئیک وجود دارد: اسیدتیکوئیک **دیواره** که به‌طور کووالان به پپتیدگلایکان متصل می‌شود و اسید تیکوئیک **غشاء (لیپوتیکوئیک اسید)** که به‌طور کووالان به گلیکولیپیدهای غشاء اتصال دارد و عمدتاً در **مزوزوم‌ها** متراکم می‌باشد. برخی از باکتری‌های گرم مثبت، **فاقد** اسید تیکوئیک دیواره هستند ولی لیپوتیکوئیک اسید در تمام گرم مثبت‌ها وجود دارد (شکل ۸-۲). در باکتری‌های مختلف اسید تیکوئیک‌های متفاوتی از طریق اضافه شدن زیر واحدهای قندی یا پلی‌ال پدید می‌آیند. اغلب اسید تیکوئیک‌ها دارای مقدار زیادی D- آلانین می‌باشند و این اسید تیکوئیک در سطح سلول باکتری **بار منفی** ایجاد می‌کند که با جذب یون Mg^{2+}، این یون را برای سلول فراهم می‌کند. اسید تیکوئیک همچنین در کار طبیعی پوشش سلولی شرکت دارد؛ جانشین شدن **اتانول آمین** به جای **کولین** در اسید تیکوئیک پنوموکوک‌ها موجب می‌شود سلول‌ها در برابر اتولیز مقاوم شده و همچنین توانایی جذب DNA در طی ترانسفورماسیون را نیز از دست بدهند. اسیدهای تیکوئیک به‌عنوان

1. pseudopeptidoglycan 2. teichoic acid 3. lipoteichoic acid



شکل ۸-۲ ساختمان دیواره سلولی باکتری گرم مثبت

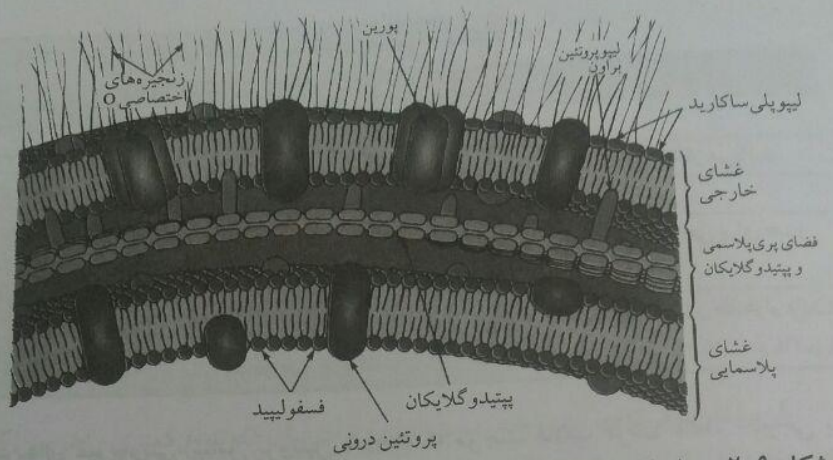
آنتی ژن‌های اختصاصی در سطح استافیلوکوک‌ها، استرپتوکوک‌ها و لاکتوباسیل‌ها اهمیت دارند. با تجزیه نسبی پپتیدوگلایکان، فعالیت اسید تیکوئیک افزایش پیدا می‌کند. در استرپتوکوک پنومونیه، اسیدلیپوتیکوئیک، شاخص آنتی ژنی محسوب شده و آن را آنتی‌ژن **فورسمن**[1] می‌نامند. به‌علاوه اسید تیکوئیک‌ها ممکن است در ویرولانس باکتری نقش داشته و یا به‌عنوان گیرنده فاژ عمل کنند.

تیکورونیک اسید: ترکیب شیمیایی اسید تیکوئیک تابع شرایط محیط است. در صورتی که باکتری در محیط فاقد فسفات رشد کند، به جای اسید تیکوئیک، تیکورونیک اسید ساخته می‌شود. تیکورونیک اسید حاوی واحدهای N-استیل گالاکتوزآمین و گلوکورونیک اسید می‌باشد.

اجزاء اختصاصی دیوارهٔ باکتری‌های گرم منفی

لایه لیپوپروتئین:[2] لیپوپروتئین فراوان‌ترین پروتئین سلول‌های گرم منفی می‌باشد و نقش آن تثبیت غشای خارجی و اتصال آن به پپتیدوگلایکان است. مولکول‌های لیپوپروتئین از یک طرف به طریق کووالان به ریشه **دی آمینو پایملیک** (DAP) در لایه پپتیدوگلایکان متصل است و از طرف دیگر

1. forssman
2. lipoprotein



شکل ۹-۲ ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی

در غشای خارجی وارد شده و پیوند غیرکووالان با غشا دارد (شکل ۹-۲). تریپسین قادر است پیوند بین لیزین و آرژینین را شکسته و موجب جدا شدن لیپوپروتئین از پپتیدوگلایکان شود.

غشای خارجی: بخش فسفولیپیدی یا غشای خارجی، دو لایهٔ فسفولیپیدی است که دارای حالت نامتقارن می‌باشد. یک لایهٔ داخلی آن مشابه با غشای سیتوپلاسمی است در حالی که تک لایهٔ خارجی حاوی مولکول‌های **لیپوپلی ساکارید** (LPS) می‌باشد. میزان پروتئین غشای خارجی بیشتر از غشای سیتوپلاسمی می‌باشد (جدول ۲-۲). غشای خارجی از خارج شدن و نشت پروتئین‌های پری‌پلاسمی جلوگیری کرده، باکتری‌ها (انتروباکتریاسه) را از اثر نمک‌های صفراوی و آنزیم‌های هیدرولیتیک میزبان محافظت می‌کند و همچنین مانع نفوذ مولکول‌های درشت برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها (مقاومت زیاد پسودوموناس آئروژینوزا به آنتی‌بیوتیک‌ها) می‌شود.

۱. **پورین‌های غیراختصاصی یا پورین‌های زمینه**: اکثر پورین‌ها غیراختصاصی بوده و منافذی **غیراختصاصی** را پدید می‌آورند که انتشار آزاد مواد **آبدوست**[1] کوچک را ممکن می‌سازد؛ مثل ompF و ompD.

۲. **پورین‌های اختصاصی**: پورین‌هایی که **القایی** بوده و در حضور یا فقدان سوبسترا تنظیم می‌شوند؛ مثل LamB که با پذیرندهٔ فاژ لامبدا و عامل انتشار مالتودکسترین از غشا است، TsX که پذیرندهٔ فاژ T_6 بوده و عامل انتشار نوکلئوزیدها و برخی اسیدهای آمینه می‌باشد و PhoE که در شرایط محدودیت **فسفات** بیان می‌شود.

1. hydrophil

جدول ۲-۲ برخی از اجزای تشکیل‌دهنده غشای خارجی و عملکرد آنها

اجزاء تشکیل‌دهنده	عملکرد
لیپوپلی‌ساکارید (LPS)	سد نفوذپذیری
پل‌های Mg^{2+}	پایدار کردن LPS و برای عملکردهای نفوذپذیری آن مورد نیاز می‌باشد.
لیپوپروتئین براون	لنگر کردن غشای خارجی به صفحه پپتیدوگلایکان (مورئین)
پورین‌های OmpC و OmpF	پروتئین‌هایی هستند که منافذ یا کانال‌هایی را در غشای خارجی برای عبور مولکول‌های هیدروفوب ایجاد می‌کنند.
پروتئین OmpA	ایجاد رسپتورهایی برای برخی ویروس‌ها و باکتریوسین‌ها؛ کنار هم قرار دادن سلول‌ها در طی کنژوگاسیون

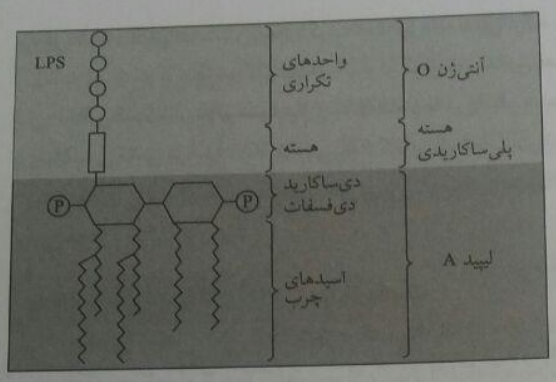
۳. **پروتئین‌های غیرپورینی**: شامل پروتئین **OmpA** که موجب قلاب کردن غشاء خارجی به پپتیدوگلیکان و پایداری غشاء خارجی می‌شود و همچنین به‌عنوان گیرندهٔ پیلی جنسی (پیلی F) در طی **کونژوگاسیون** عمل می‌کند. غشای خارجی همچنین دارای یکسری پروتئین‌هایی است که برای عبور مولکول‌های کوچک مثل ویتامین B_{12} و سیدروفورهای آهن اختصاصی هستند؛ **TonA** یکی از این پروتئین‌هاست که در شرایط کمبود آهن تولید می‌شود. پروتئین‌های غشای خارجی به وسیلهٔ ریبوزوم‌های متصل به غشای سیتوپلاسمی سنتز می‌گردد و از محل **اتصالات بایر**[1] وارد غشای خارجی می‌شود. در محل اتصالات بایر، غشای خارجی و داخلی به هم متصل می‌باشند.

لیپوپلی ساکارید (LPS)

لیپوپلی ساکارید (LPS) یا **اندوتوکسین**[2] یک مولکول دو قطبی است و از **سه قسمت** متفاوت تشکیل یافته است: زنجیرهٔ جانبی پلی‌ساکاریدی O، ناحیهٔ پلی‌ساکارید مرکزی و لیپید A (شکل ۱۰-۲).

زنجیرهٔ پلی‌ساکارید جانبی O: این زنجیره متشکل از واحدهای قندی است که در میان گونه‌ها متفاوت می‌باشد. خاصیت آنتی‌ژنی LPS به خاطر این لایه می‌باشد که به آن **آنتی‌ژن O** یا **آنتی‌ژن سوماتیک**[3] گویند. طول زنجیرهٔ جانبی O متغیر می‌باشد و در شرایط نامناسب محیطی زنجیره‌های کوتاه‌تری ممکن است مشاهده شود. برخی از جنس‌ها مثل نایسریا و هموفیلوس زنجیرهٔ جانبی O کوتاه‌تری داشته و از این رو **لیپوالیگوساکارید** (LOS) نامیده می‌شوند. کلونی باکتری‌هایی که پلی‌ساکارید O را تولید می‌کنند، در سطح محیط کشت به‌صورت کلونی **صاف** (S) ظاهر می‌شوند.

1. bayer's junction
2. endotoxin
3. somatic antigen



شکل ۱۰-۲ ساختمان لیپو پلی‌ساکارید (LPS)

پلی‌ساکارید مرکزی: این ناحیه نسبت به ناحیهٔ آنتی ژن O، تنوع کمتری را در بین گونه‌های باکتری دارد. ناحیهٔ مرکزی از قندهای هفت کربنه (هپتوز)، گلوکز، گالاکتوز و N-استیل گالاکتوزآمین تشکیل یافته است و از طریق قند ۸ کربنه **کتودی اکسی اکتونات** (KDO) به لیپید A متصل می‌باشد.

لیپید A: لیپید A داخلی‌ترین بخش LPS است و از واحدهای **دی ساکارید فسفاته** تشکیل شده است که به آن اسیدهای چرب متصل می‌باشند. در میان اسیدهای چرب، **بتا- هیدروکسی مریستیک اسید** ۱۴ کربنه همیشه وجود دارد و منحصر به لیپید A می‌باشد. لیپید A مسئول خاصیت سمی (**توکسوفور**)[1] LPS می‌باشد.

LPS با پیوند **آبگریز** به غشای خارجی متصل است. این ماده در غشای سیتوپلاسمی ساخته می‌شود و به محل اصلی خود منتقل می‌شود. LPS برای حیوانات فوق‌العاده سمی است و آن را **اندوتوکسین** باکتری‌های گرم منفی می‌گویند. این ترکیب به سطح سلول چسبیده و تنها با متلاشی شدن آن آزاد می‌شود و سبب کاهش فشار خون، انعقاد منتشر داخل عروقی (DIC)، تب و شوک شود.

واکنش شواتزمن:[2] آزاد شدن مقادیر زیاد اندوتوکسین در گردش خون موجب ایجاد انعقاد منتشر داخل عروقی (DIC) می‌شود که به برخی واکنش‌های شواتزمن منجر می‌شود.

تست لیمولوس:[3] آزمون بسیار حساسی برای سنجش حضور **اندوتوکسین** (LPS) در مایعات بیولوژیک است.

فضای پری‌پلاسمی

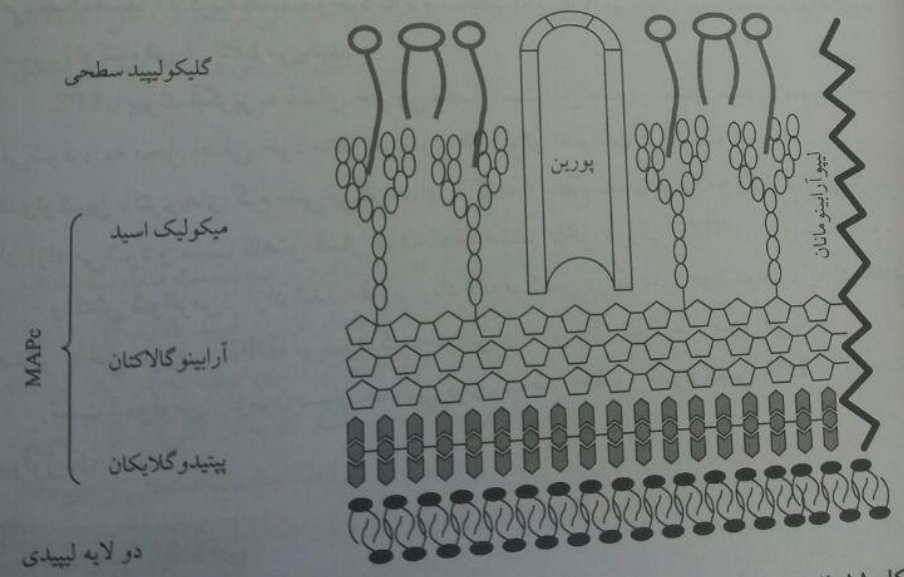
فضای بین غشای خارجی و غشای سیتوپلاسمی در باکتری‌های گرم منفی را فضای پری‌پلاسمی

1. toxophor 2. shwartzman reaction 3. limulus

می‌گویند؛ اما گاهی در باکتری‌های گرم مثبت نیز به سختی دیده می‌شود. این فضا حاوی ترکیبی ژل مانند است که لایه **پپتیدوگلایکان** در آن قرار گرفته است. این فضا حاوی آنزیم‌های هیدرولیتیک مثل **آلکالین فسفاتاز**، '۵- **نوکلئوتیداز** و **بتا لاکتامازها** می‌باشد. همچنین حاوی **اولیگو ساکاریدهای پری‌پلاسمی مشتق از غشا** (MDO_s) می‌باشد که این ترکیبات در تنظیم فشار اسمزی سلول دخالت دارند. فضای پری‌پلاسمی همچنین حاوی پروتئین‌های اتصال به سوبسترا هستند که در انتقال برخی مواد دخالت دارند.

دیوارهٔ سلولی باکتری‌های اسید- فاست

به اعضای جنس **مایکوباکتریوم** و بعضی از گونه‌های **نوکاردیا** که با کریول فوشین، قرمزرنگ می‌شوند و در برابر رنگبری با اسید-الکل مقاومت می‌کنند، ارگانیسم‌های **اسید- فاست**[1] می‌گویند. این ویژگی در ارتباط با حضور **اسیدهای میکولیک**[2] در دیوارهٔ سلولی می‌باشد (شکل ۱۱-۲). کورینه باکتری‌ها، نوکاردیاها و مایکوباکتری‌ها که قادر به تولید اسیدهای میکولیک هستند، به‌عنوان باکتری‌های گروه **CNM** شناخته می‌شوند. اسیدهای میکولیک در کورینه باکتری‌ها کوتاه بوده (30C)



شکل ۱۱-۲ ساختمان دیواره باکتری‌های اسید فاست

1. acid-fast
2. mycolic acids

و متصل به دیواره نیستند، به همین دلیل کورینه باکتری‌ها خاصیت اسید- فاست ندارند. مایکوباکتری‌ها دارای یک لایه پپتیدوگلایکانی هستند که به‌صورت کووالان به پلیمرآرابینوگالاکتان متصل هستند. این کمپلکس به وسیله پوشش مومی شکل (**موم D**) متشکل از اسید میکولیک، فاکتور طنابی و گلیکولیپیدها پوشیده می‌شود. این پوشش خاصیت **ضد فاگوسیتوزی** دارد. **لیپوآرابینومانان**[1] در دیواره سلولی مایکوباکتری‌ها معادل LPS در دیواره گرم منفی‌ها می‌باشد.

آنزیم‌های لیتیک دیوارهٔ سلول

در دیواره سلولی باکتری آنزیم‌هایی به‌صورت غیرفعال وجود دارند که به‌عنوان **اتولیزین‌های**[2] باکتری شناخته می‌شوند. این آنزیم‌ها توسط PH پایین و یا نمک‌های صفراوی فعال می‌شوند. این آنزیم‌ها در رشد سلولی، تقسیم سلولی و پس از مرگ در اتولیز باکتری‌ها نقش دارند. این آنزیم‌های اتولیزین در سه گروه بزرگ قرار می‌گیرند:

۱. **بتا-۱ و ۴- هگزوزآمینیداز**: که پیوندهای گلیکوزیدی بین N- استیل گلوکزآمین و اسید مورامیک را می‌شکنند و تاثیری مشابه با **لیزوزیم** دارند.

۲. **اندوپپتیدازها**: که بر پیوندهای پپتیدی بین زنجیره‌ها اثر می‌گذارند مثل لیزواستافین که پیوندهای پپتیدی پنتاگلیسینی را در استافیلوکک اورئوس می‌شکنند.

۳. **آمیدازها**: که پیوند بین N- استیل مورامیک اسید و L- آلانین از زنجیره تتراپپتیدی را می‌شکنند.

غشای سیتوپلاسمی

غشای سیتوپلاسمی که غشای داخلی نیز نامیده می‌شود، در سلول‌های فاقد دیواره سلولی (پروتوپلاست و اسفروبلاست) بیرونی‌ترین پوشش سلولی محسوب می‌شود. غشای پلاسمایی باکتری‌ها از فسفولیپید و پروتئین ساخته شده است و نسبت پروتئین به فسفولیپید بیشتر می‌باشد.

کاتیون‌هایی مثل Mg^{2+} و Ca^{2+} به پایداری غشا کمک می‌کنند. **فسفاتیدیل اتانول آمین** فسفولیپید عمده غشای داخلی است و به همراه فسفاتیدیل گلیسرول و گلیکولیپیدها به‌عنوان اجزای اصلی غشای داخلی حضور دارند. همچنین یک الکل ۵۵ کربنه ایزوپرنوئید تحت عنوان **آندکاپرنول** یا **باکتوپرنول**[3] نیز در غشای داخلی وجود دارد که وظیفه انتقالی دارد. غشای داخلی در پروکاریوت‌ها از غشای سیتوپلاسمی یوکاریوت‌ها به‌علت نداشتن استرول متمایز می‌شوند. (به استثنای **مایکوپلاسماها**[4]

1. lipoarabinomanan
2. autolysines
3. bactoprenol
4. mycoplasma

که استرول را وارد غشای خود می‌کنند). استرول‌ها مولکول‌های سخت و مسطحی بوده و موجب پایداری غشا می‌شوند. گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها مثل **پلی‌ان‌ها** (نیستاتین و کاندیسین) با استرول‌ها واکنش داده و موجب عدم پایداری آن می‌شوند.

این آنتی‌بیوتیک‌ها علیه سلول‌های یوکاریوت فعال بوده ولی سلول‌های پروکاریوت را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد. مولکول‌های شبیه استرول به نام **هوپانوئیدها** در برخی باکتری‌ها وجود داشته و نقش مشابه استرول در یوکاریوت‌ها دارند. هوپانوئید C_{30} به نام **دیپلوپتن** در پروکاریوت‌های واجد هوپانوئید شایع است. این مولکول‌ها بیشتر در باکتری‌های بی‌هوازی فتوتروفیک شایع می‌باشند.

فعالیت‌های آنزیمی متعددی در ارتباط با غشا وجود دارد:

۱. **جایگاه تولید انرژی**: سیتوکروم‌ها و سایر آنزیم‌های زنجیره تنفسی در **غشای سیتوپلاسمی** قرار دارند. از این رو غشای سیتوپلاسمی در باکتری‌ها نقشی مشابه غشای درونی میتوکندری در سلول‌های یوکاریوت را بر عهده دارند. به همین جهت منشأ میتوکندری‌ها را باکتری‌های همزیستی می‌دانند که وارد یوکاریوت‌های بی‌هوازی شده‌اند.

۲. **تراوایی و انتقال مواد**: در غشای سیتوپلاسمی باکتری سیستم‌های انتقالی وجود دارند که از سه فرایند انتقالی برای عبور مواد استفاده می‌کنند:

الف) انتقال یک ماده در یک جهت

ب) انتقال دو ماده در یک جهت و به‌طور همزمان

ج) انتقال دو ماده در دو جهت مخالف و به‌طور همزمان

پنج نوع سیستم انتقال درغشای سیتوپلاسمی شناخته شده است:

۱. **انتقال غیرفعال**: در این نوع انتقال مواد براساس شیب غلظت و به وسیله **انتشار**[1] غیرفعال وارد سلول می‌شوند. مثلاً انتقال آب و آمونیوم

۲. **انتقال تسهیل شده**:[2] در باکتری‌ها تعدادی از سیستم‌های انتقال اختصاصی به انرژی متابولیک نیاز ندارند و توسط کانال‌های پروتئینی انجام می‌شوند. مثلاً در غشای خارجی دو سیستم کانال پورین و کانال مالتوز به انرژی متابولیک نیازی ندارند. کانال‌های پورین که عمدتاً **غیراختصاصی**[3] هستند و عبور مولکول‌های آبدوست با اندازهٔ خاص را ممکن می‌سازند. کانال مالتوز یا پروتئین LamB (گیرندهٔ فاز لامبدا) نیز در غشای خارجی موجب عبور مالتوز و مالتودکسترین‌ها می‌شود. یک سیستم انتقال تسهیل شده شناخته شده در غشای سیتوپلاسمی سیستم انتقال **گلیسرول** می‌باشد، به همین دلیل گلیسرول برخلاف شیب غلظت نمی‌تواند تجمع یابد.

1. diffusion
2. facilitated diffusion
3. nonspecific

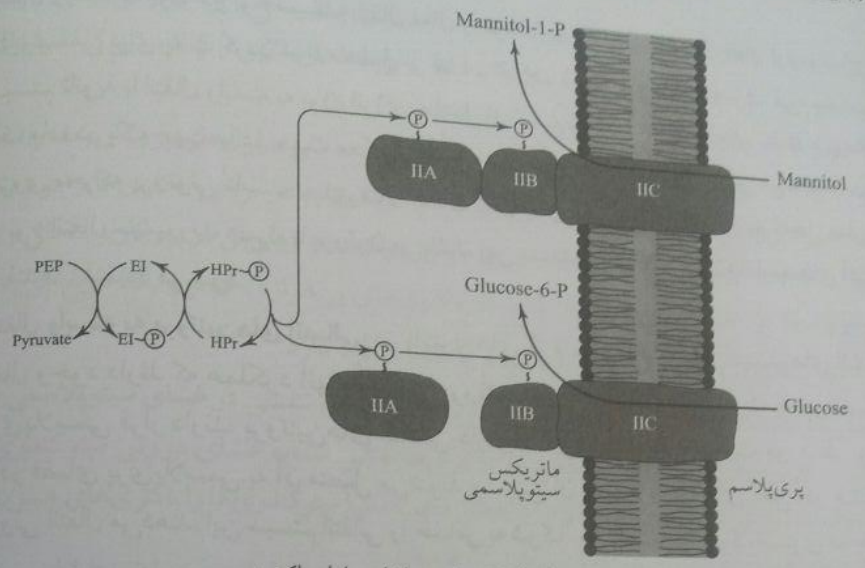
۳. **انتقال وابسته به یون**: دو نوع سیستم انتقال فعال وجود دارد: در سیستم انتقال فعال **اولیه**، انرژی متابولیسمی برای پمپ کردن مواد محلول از غشا برخلاف شیب غلظت به مصرف می‌رسد. در سیستم **ثانویه** یا انتقال وابسته به یون، انرژی حاصل از شیب غلظت یک یون برای انتقال هم‌زمان یک ماده در یک جهت یا در جهت معکوس استفاده می‌شود. دهنده انرژی در این سیستم عمدتاً **نیروی محرکه پروتونی**[1] است؛ برای مثال انتقال لاکتوز از طریق پرمئازلاکتوز به داخل سلول از نوع انتقال سیمپورت همراه با پروتون می‌باشد. این سیستم برای ورود یون‌ها، اسیدهای آمینه و قندها استفاده می‌شود.

۴. **انتقال وابسته به پروتئین‌های اتصالی**: در باکتری‌های گرم منفی تعدادی از سیستم‌های انتقال فعال وجود دارند که عملکرد آنها وابسته به پروتئین‌های اتصالی ویژه‌ای است که در فضای پری‌پلاسمی قرار دارند. پروتئین‌های اتصالی دارای تمایل زیادی به متابولیت موردنظر بوده و در فضای پری‌پلاسمی به آن متصل می‌شوند و سپس آن را به پروتئین‌های ناقل[2] در غشای درونی انتقال می‌دهند. این سیستم انتقالی را **حساس به شوک**[3] می‌نامند، زیرا شوک اسمزی موجب آسیب غشای خارجی سلول شده و این پروتئین‌ها به بیرون سلول نشت می‌کنند، در نتیجه برداشت متابولیت‌ها متوقف می‌شود. انتقال وابسته به پروتئین‌های اتصالی یک نوع انتقال فعال است و **ATP** دهنده انرژی می‌باشد؛ مثل سیستم‌های انتقال مالتوز و هیستیدین در اشرشیاکولی.

۵. **سیستم فسفوترانسفراز یا جابجایی گروهی**:[4] در سیستم‌های قبلی (انتقال واقعی) ماده منتقل شونده بدون تغییر ساختمانی از غشاء عبور می‌کند. در سیستم فسفوترانسفراز (PTS) که عمدتاً برای جذب برخی از قندها کاربرد دارد، مادهٔ منتقل شونده در حین انتقال تغییر کرده و فسفوریله می‌شود. ابتدا پروتئین ناقل در غشای سیتوپلاسمی به هزینه **فسفوانول پیروات** (PEP) فسفریله می‌شود و بعد ناقل فسفریله، قند آزاد را از سطح خارجی غشاء گرفته و آن را به‌صورت قند فسفریله به داخل سیتوپلاسم رها می‌کند. سیستم فسفوترانسفراز یک کمپلکس چند پروتئینی حاوی ۵-۴ پروتئین است (شکل ۱۲-۲). دو پروتئین **عمومی** یا **غیراختصاصی** (آنزیم I و Hpr)، پروتئین‌های محلول سیتوپلاسمی هستند که برای فسفریلاسیون تمامی سوبستراهای قندی مورد نیاز هستند. دو پروتئین **اختصاصی** (کمپلکس آنزیمی EIIA و EIIB) برای سوبستراهای قندی اختصاصی هستند. آنزیم IIC پروتئین غشایی بوده که در جریان انتقال، قند را فسفردار می‌کند. به‌علاوه موادی مثل پورین‌ها و پریمیدین‌ها نیز به وسیلهٔ سیستم جابجایی گروهی انتقال پیدا می‌کنند. این سیستم معمولاً در هوازی‌های اختیاری و بی‌هوازی‌ها یافت می‌شود ولی در ارگانیسم‌های **هوازی اجباری** وجود ندارد.

---

1. proton motive force
2. translocase
3. shock-sensitive
4. group translocation



شکل ۱۲-۲ سیستم فسفوترانسفراز در انتقال قندها به داخل سلول باکتری

اثر گلوکز یا رشد دیاکسیک: تجمع داخل سلولی قند- فسفات که در اثر فرآیند فسفوترانسفراز صورت می‌گیرد، به لحاظ مصرف انرژی، روش با صرفه‌ای است. بنابراین اگر در محیط رشد باکتری سوبستراهای قندی وابسته به سیستم فسفوترانسفراز و سوبستراهای غیروابسته به سیستم فسفوترانسفراز (مثل مالتوز و گلیسرول و...) به‌طور هم‌زمان وجود داشته باشند، سیستم فسفوترانسفراز در شکل یک سیستم **شیمیورسپتور**[1] عمل کرده و ابتدا قندهای وابسته به فسفوترانسفراز مصرف شده و سپس سیستم‌های کاتابولیسمی برای استفاده از قندهای غیروابسته به فسفوترانسفراز تحریک می‌شوند. در این عملکرد تنظیمی که **اثر گلوکز**[2] یا **رشد دیاکسیک**[3] گفته می‌شود، جذب قند غیروابسته به فسفوترانسفراز مهار می‌گردد.

نقش بیوسنتزی: غشای پلاسمایی محل ناقل‌های لیپیدی مثل باکتوپرنول می‌باشد که بر روی آنها زیرواحدهای کوچک دیوارهٔ سلولی تجمع می‌یابند. آنزیم‌های سنتز فسفولیپیدها و لیپوپلی‌ساکارید (LPS) نیز در غشای سیتوپلاسمی قرار دارد. همچنین پروتئین‌های کمپلکس همانندسازی DNA نیز احتمالاً در ناحیهٔ **مزوزوم‌های دیواره‌ای** غشاء قرار دارند.

سیستم‌های شیمیوتاکتیک: مواد جاذب و مواد دافع به رسپتورهای خاص در غشاء متصل می‌شوند. این رسپتورها که در فضای پری‌پلاسمی نیز قرار دارند، **شیمیورسپتور** نامیده می‌شوند

1. chemoreceptor
2. glucose effect
3. diaxic growth

و در فرآیند شیمیوتاکسی نقش دارند. این فرآیند در ارتباط با باکتری‌های متحرک می‌باشد. یک سری از پروتئین‌ها که پروتئین‌های شیمیوتاکسی گیرندهٔ متیل (MCPs) یا **ترانس دیوسرها**[1] نامیده می‌شوند در انتقال سیگنال شیمیوتاکتیک از شیمیورسپتورها به موتور فلاژله‌ای نقش دارند؛ چهار نوع پروتئین ترانس دیوسر در *E.coli* شناخته شده است. MCPها پروتئین‌های ترانس ممبران هستند که در طول چرخهٔ شیموتاکسیس دچار متیلاسیون و دمتیلاسیون می‌شوند و دهندهٔ متیل در آنها **S-آدنوزین متیونین** (SAM) است.

ترشح آنزیم‌های هیدرولیتیک برون سلولی: باکتری‌ها آنزیم‌های هیدولیتیک را به محیط خارجی (در باکتری‌های گرم مثبت) و یا به فضای پری‌پلاسمی (در باکتری‌های گرم منفی) ترشح می‌کنند. در باکتری‌های گرم منفی چندین مسیر برای ترشح پروتئین شناخته شده است. این مسیرها، سیستم‌های ترشحی نوع I، نوع II، نوع III، نوع IV و نوع V نامیده می‌شود. مسیرهای نوع II، IV و V به سیستم Sec احتیاج دارند. **سیستم Sec** شامل یک چاپرون (SecB)، یک ATP آزسیتوپلاسمی داخل غشایی (SecA) و تعدادی پروتئین‌های غشای داخلی (SecYFD) می‌باشند. مسیرهای ترشحی نوع I و III **غیروابسته به Sec** هستند و ترشح آنها بدون واسطه سیتوپلاسم و به‌صورت مستقیم صورت می‌گیرد. پروتئین‌هایی که از طریق این دو مسیر I و III ترشح می‌شوند، تحت پردازش انتهای آمینی قرار می‌گیرند.

مزوزوم‌ها:[2] چین‌خوردگی‌های غشای سیتوپلاسمی به درون سلول باکتری ساختارهای ویژه‌ای به نام مزوزوم را ایجاد می‌کنند. این چین‌خوردگی‌ها که در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دیده می‌شوند موجب افزایش سطح غشای سیتوپلاسمی شده که ممکن است در تنفس سلولی نقش داشته باشد. مزوزوم‌ها دو نوع هستند: **مزوزوم‌های دیواره‌ای** که در ایجاد دیوارهٔ عرضی حین تقسیم سلولی و همانندسازی DNA نقش دارند و **مزوزوم‌های کناری** که محل آنزیم‌های هیدرولیزکننده می‌باشد. باکتری‌هایی که از نظر متابولیسمی فعال‌تر هستند و به انرژی بیشتری نیاز دارند (باکتری‌های فتوسنتزی و تثبیت‌کنندهٔ ازت) دارای مزوزوم‌های بیشتر و عمیق‌تری هستند.

آنتی‌بیوتیک‌های موثر برغشاء

دترژنت‌ها مولکول‌های دو قطبی هستند که غشای سیتوپلاسمی را متلاشی کرده و باکتری را می‌کشند. پلی‌میکسین‌ها[3] ساختمان دترژنت مانند حلقوی داشته که به‌طور انتخابی غشاهای دارای **فسفاتیدیل**

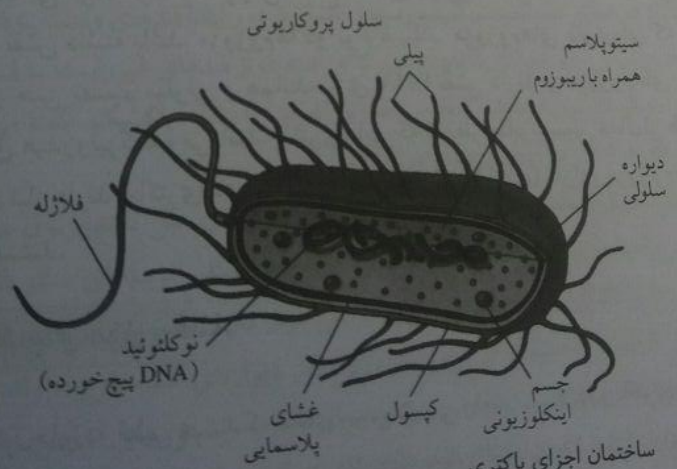
1. transducer 2. mesosome 3. polymixins

اتانل آمین (فسفولیپید اصلی غشای باکتری) را صدمه می‌زنند. گروه دیگری از مواد مؤثر بر غشاء، یونوفورها[1] هستند که برای باکتری‌ها انتخابی نبوده و بر روی همه غشاها اثر می‌گذارند مثلاً والینومایسین که عبور یون پتاسیم (K^+) را ممکن می‌سازد.

نوکلئوئید یا جسم هسته

با تثبیت سلول باکتری به روش رایتر-کلن برگر و رنگ‌آمیزی **فولگن**[2] می‌توان محل قرارگیری کروموزوم باکتری (**نوکلئوئید**) را مشاهده کرد (شکل ۱۳-۲). کروموزوم باکتری متشکل از یک مولکول DNA دو رشته‌ای **حلقوی** می‌باشد که در برخی نقاط با **مزوزوم‌های دیواره‌ای** ارتباط دارد و این ارتباط نقش مهمی را در جدا شدن دو کروموزوم باکتری طی تقسیم سلولی ایفاء می‌کند. میزان DNA باکتری در گونه‌های مختلف باکتری متفاوت می‌باشد؛ مثلاً *E.coli* حدود ۴٫۶ میلیون جفت باز دارد. در بین باکتری‌های آزادزی کمترین میزان DNA مربوط به مایکوپلاسما ژنیتالیوم می‌باشد. DNA باکتری دارای بار منفی زیادی است که با پلی‌آمین‌های کوچک (مثل **پوترسین** و **اسپرمیدین**) و یون منیزیم (Mg^{2+}) خنثی می‌شود. اخیراً پروتئین‌های **شبه هیستونی**[3] (مثل پروتئین HU) نیز شناخته شده‌اند که مانند هیستون‌های یوکاریوتی در بسته‌بندی کروموزوم نقش دارند.

برخی از باکتری‌ها مثل بورلیا بورگدورفری و استرپتومیس لویدانس، استثنائاً دارای DNA خطی بوده و برخی دیگر مثل رودوباکتر اسفروئیدس دارای دو کروموزوم حلقوی می‌باشد.



شکل ۱۳-۲ ساختمان اجزای باکتری

1. ionophores
2. fullgen
3. histone-like protein

گرانول‌های سیتوپلاسمی یا اینکلوزیون‌ها

بسیاری از باکتری‌ها دانه‌هایی را در درون سیتوپلاسم خود به‌صورت پلیمرهایی ذخیره کرده که بیشتر نقش‌دهندهٔ انرژی را بر عهده دارند (جدول ۳-۲). برخی از این گرانول‌ها عبارتند از:

۱. **گرانول‌های چربی یا پلی‌هیدروکسی بوتیرات (PHB)**: گرانول‌های چربی در برخی گونه‌ها مثل

جدول ۳-۲ انواع گرانول‌های ذخیره‌ای در باکتری‌ها

اینکلوزیون‌های سیتوپلاسمی	باکتری دارای گرانول	ترکیبات	عملکرد
گلیکوژن	بسیاری باکتری‌ها مثل *E.coli*	پلی‌گلوکز	منبع ذخیره کربن و انرژی
پلی بتا هیدروکسی بوتیریک اسید(PHB)	بسیاری باکتری‌ها مثل سودوموناس	پلیمر هیدروکسی بوتیرات	منبع ذخیره کربن و انرژی
پلی فسفات (گرانول‌های ولوتین)	بسیاری باکتری‌ها مثل کورینه باکتریوم	پلیمرهای خطی یا حلقوی فسفات	ذخیره فسفات
گرانول‌های گوگردی	باکتری‌های گوگردی فتوتروف ارغوانی و سبز و باکتری‌های گوگردی لیتوتروف	گوگرد عنصری	ذخیره الکترون در فتوتروف‌ها؛ منبع ذخیره انرژی در لیتوتروف‌ها
وزیکول‌های گازی	باکتری‌های آبزی به‌ویژه سیانوباکتری‌ها	پوسته‌های پروتئینی یا غلاف‌های پر شده از هوا	شناورسازی در لایه‌های آبی
کریستال‌های پاراسپوری	باسیل‌های تشکیل دهنده اسپور (جنس باسیلوس)	پروتئین	عملکرد ناشناخته داشته، اما برای برخی حشرات سمی است.
مگنتازوم‌ها	باکتری‌های آبزی خاص	اکسید آهن (Fe_3O_4)	جهت‌یابی و مهاجرت در طول خطوط میدان مغناطیسی زمین
کربوکسی‌زوم‌ها	بسیاری از باکتری‌های اتوتروف	آنزیم‌هایی برای تثبیت اتوتروفی CO_2	محل تثبیت CO_2
فیکوبیلیزوم‌ها	سیانوباکتری‌ها	فیکوبیلی پروتئین‌ها	رنگدانه‌های جمع کننده نور
کلروزوم‌ها	باکتری‌های سبز	لیپید، پروتئین و باکتریوکلروفیل	رنگدانه‌ها و آنتن جمع کننده نور

@pdf_jozveh

باسیلوس و پسودوموناس‌ها دیده می‌شود. این گرانول‌ها تأثیری بر فشار اسمزی داخل سلول ندارند و به وسیلهٔ رنگ‌های محلول در چربی مثل **سودان سیاه** و **اسید اسمیک** رنگ می‌شوند. این گرانول‌های PHB مخزن ذخیرهٔ کربن و انرژی محسوب می‌شوند.

۲. **گرانول‌های گلیکوژن**: این گرانول‌ها معمولاً کوچکتر از گرانول‌های PHB هستند و فقط با میکروسکوپ الکترونی دیده می‌شوند. این گرانول‌ها در حضور **ید** به رنگ قهوه‌ای یا ارغوانی دیده می‌شوند. گلیکوژن بزرگترین مادهٔ ذخیره‌ای در باکتری‌های روده‌ای (انتروباکتریاسه‌ها) می‌باشد.

۳. **گرانول‌های ولوتین**[1]: برخی باکتری‌ها **فسفات** معدنی را به‌صورت گرانول‌های ولوتین در خود ذخیره می‌کنند. این گرانول‌ها به وسیلهٔ رنگ‌های بازی مثل آبی تولوئیدین یا آبی متیلن رنگ شده و به‌صورت قرمز دیده می‌شوند. این پدیده را **متاکرومازی**[2] (تغییر رنگ) می‌گویند و گرانول‌ها را گرانول‌های متاکرومازی می‌نامند. این گرانول‌ها همچنین دانه‌های **بابز-ارنست** و یا **دانه‌های آلبرت** نامیده می‌شوند. گرانول‌های ولوتین از مشخصات ویژهٔ **کورینه باکتریوم دیفتریه** می‌باشد و در گونه‌های دیگر مثل یرسینیاپستیس (عامل طاعون) و میکوباکتریوم توبرکلوزیس (عامل سل) نیز دیده می‌شوند.

۴. **گرانول‌های گوگردی**: گوگرد به شکل عنصر گوگرد در برخی باکتری‌ها دیده می‌شود. این گرانول‌ها در برخی باکتری‌های گوگردی مثل تیوباسیلوس و بگیاتوآ ذخیره شده و به‌عنوان منبع انرژی یا دهندهٔ الکترون به‌کار می‌روند. زمانی که میزان گوگرد در محیط کاهش می‌یابد. گوگرد موجود در گرانول‌ها به **سولفات** اکسید شده و گرانول‌ها کم‌کم ناپدید می‌شوند.

۵. **کربوکسی زوم‌ها**: گرانول‌هایی که حاوی آنزیم **روبیسکو** بوده و در باکتری‌های اتوتروف که CO_2 را در فتوسنتز طی چرخه کلوین مصرف می‌کنند، دیده می‌شود؛ مثل سیانوباکترها، باکتری‌های نیتریفیه کننده و تیوباسیلوس‌ها

۶. **مگنتازوم‌ها**[3]: در برخی از اسپریلیوم‌های آبزی مثل آکواسپریلیوم مگنوتاکتیکم گرانول‌های حاوی Fe_3O_4 وجود دارد که موجب تحرک این باکتری‌ها در جهت میدان مغناطیسی می‌شود. این اثر **مگنتوتاکسیس** نامیده می‌شود.

۷. **فیکوبیلیزوم‌ها**: سیانوباکترها و جلبک‌های قرمز دارای **فیکوبیلی پروتئین‌ها** هستند که رنگدانه‌های فرعی در فتوسنتز می‌باشند؛ این پروتئین‌ها در گرانول‌های فیکوبیلیزوم متصل به غشای فتوسنتز-کننده قرار دارند.

1. volutin
2. metacromasy
3. magnetasomes

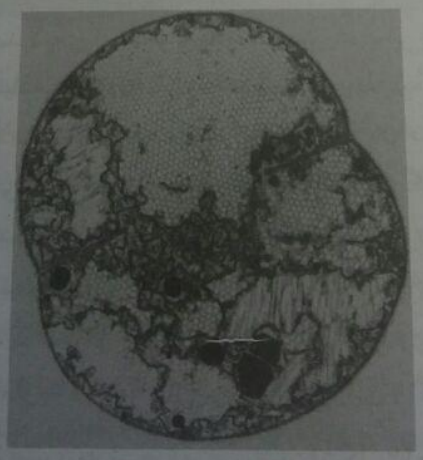
وزیکول‌های گازی[1]

تعدادی از ارگانیسم‌های پروکاریوت که به‌صورت شناور در محیط‌های آبی زندگی می‌کنند **وزیکول‌های گازی** تولید می‌کنند که موجب شناور شدن باکتری در سطح دریاچه‌ها و اقیانوس‌ها می‌شود. این وزیکول‌ها عمدتاً در سیانوباکترها دیده می‌شوند و دارای اندازه‌های مختلف هستند. دیوارهٔ این وزیکول‌ها منحصراً از **پروتئین** ساخته شده، نسبت به آب و مایعات نفوذناپذیر ولی نسبت به گازها نفوذپذیر است. وجود این وزیکول‌ها به باکتری‌ها این امکان را می‌دهد که در نواحی سطحی آب شناور مانده تا بتوانند از نور و اکسیژن محیط استفاده کنند. (شکل ۱۴-۲)

تمایز در سلولهای باکتری؛ اسپورولاسیون[2]

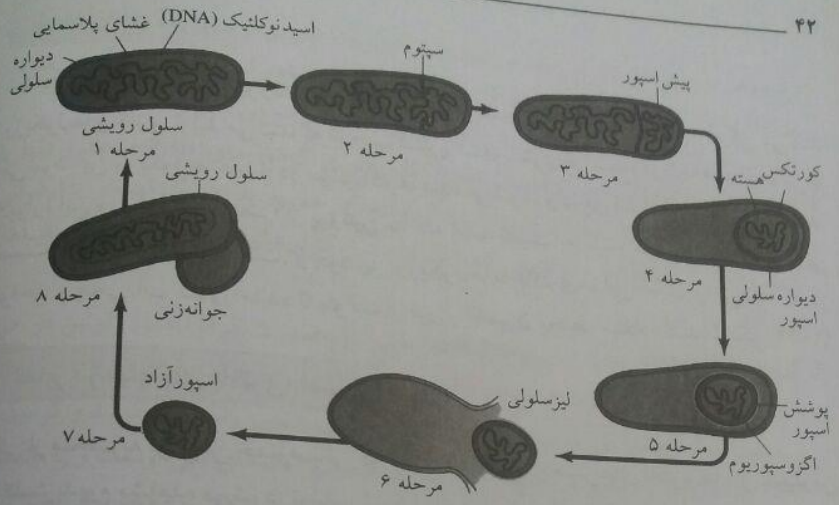
یکی از منحصربه فردترین خصوصیاتی که عمدتاً در برخی از جنس‌های باکتری‌ها مثل **باسیلوس** و **کلستریدیوم** مشاهده می‌شود، توانایی تشکیل **اندوسپور**[3] است (شکل ۱۵-۲). برخی از دیگر پروکاریوت‌ها که قادر به تشکیل اندوسپور می‌باشند شامل جنس‌های اسپورسارسینا، دسولفوتوماکلوم و اسپورولاکتوباسیلوس می‌باشند. عامل تب Q به نام کوکسیلابورنتی نیز دارای ساختار مقاوم شبه اسپور می‌باشد.

اسپور ساختمان نهفته‌ای است که می‌تواند برای دوره‌های طولانی در حالت سکون باقی‌مانده اما ظرفیت بازگشت به حالت رویشی را داشته باشد. در فرآیند اسپورولاسیون ساختارهای جدید



شکل ۱۴-۲ وزیکول‌های گازی در باکتری‌ها

1. gas vesicle 2. sporolation 3. endospore



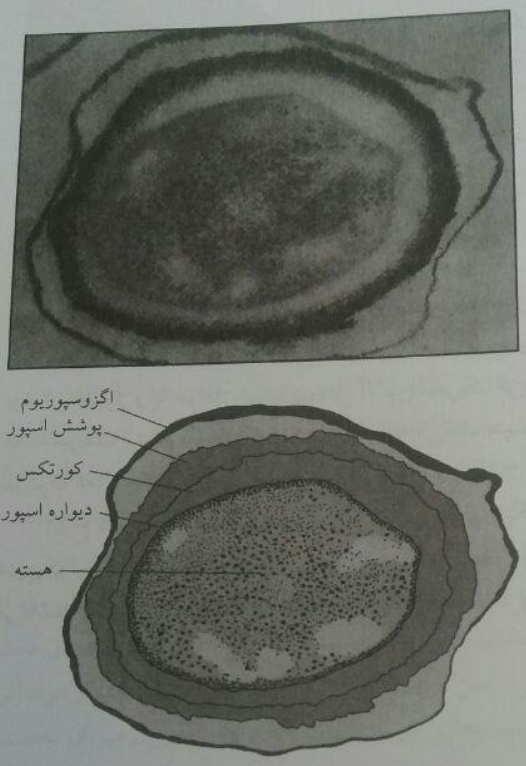
شکل ۱۵-۲ مراحل اسپورزایی در باکتری‌ها

و متابولیت‌های تازه تولید شده و هم‌زمان بسیاری از اجزای سلول رویشی ناپدید می‌شود بنابراین اسپورولاسیون را می‌توان به‌عنوان یک فرآیند **تمایز** واقعی محسوب کرد.

خصوصیات اندوسپورها: شکل‌گیری اندوسپورها در مرحلهٔ **سکون**[1] رشد اتفاق می‌افتد که مواد غذایی محیط کاهش می‌یابد. اسپورها در برابر حرارت، خشک شدن، انجماد، اشعه و مواد شیمیایی زیان‌آور مقاومت زیادی از خود نشان می‌دهند. اسپور فاقد آب آزاد و دارای ماده **دیپیکولینات کلسیم** بوده و همچنین ساختار چند لایه‌ای آن منجر به مقاومت اسپور در برابر عوامل خارجی شده است. شروع اسپورولاسیون به وسیلهٔ میزان **GTP** سلول تنظیم می‌شود. در باسیلوس سوبتیلیس کاهش ذخیرهٔ GTP برای شروع اسپورولاسیون کافی است. تغییراتی که در جریان اسپورولاسیون اتفاق می‌افتد ماحصل **خاموش شدن** بعضی از ژن‌های رویشی و **بیان شدن** دسته‌ای دیگر از ژن‌ها است. مکانیسمی که به کمک آن بیان ژنی تنظیم می‌شود، در نتیجهٔ تغییر فاکتور **سیگما**[2] می‌باشد. در سلول‌های رویشی باسیلوس سوبتیلیس δ^A عمده‌ترین فاکتور می‌باشد ولی برای شروع اسپورولاسیون δ^E شناخته شده‌ترین فاکتور سیگما می‌باشد که فقط در جریان تولید اسپور نسخه‌برداری می‌شود. یکی از بارزترین وقایع شروع اسپورولاسیون، تولید و ترشح آنتی‌بیوتیک‌های پپتیدی و اگزوآنزیم‌های مختلف است.

اجزای تشکیل دهندهٔ اسپور به شرح زیر می‌باشد: (شکل ۱۶-۲)

1. stationary phase
2. sigma factor



شکل ۱۶-۲ ساختمان شماتیک اسپور

۱. بخش مرکزی:[1] این بخش شامل **پروتوپلاست** اسپور بوده و دارای یک کروموزوم کامل است. سیستم مولد انرژی، بر پایهٔ **گلیکولیز** بوده و سیتوکروم‌ها وجود ندارند. برخی از آنزیم‌های سلول رویشی افزایش پیدا کرده (مانند آلانین راسماز) و برخی از آنزیم‌های مختص اسپور مثل **دی پیکولینات سنتتاز**، ساخته می‌شوند و انرژی لازم برای جوانه‌زنی اسپور به جای ATP در مولکول ۳- **فسفوگلیسرات** ذخیره می‌شود. مقاومت اسپور در برابر حرارت به خاطر نبودن آب آزاد و میزان بالای دی پیکولینات کلسیم می‌باشد. دی‌پیکولینیک اسید مانند دی‌آمینوپایمیلیک اسید (در دیوارهٔ پپتیدوگلایکان گرم منفی‌ها) مادهٔ حد واسطی در بیوسنتز **لیزین** می‌باشد.

۲. دیوارهٔ اسپور:[2] درونی‌ترین لایه‌ای که غشای اسپور را احاطه می‌کند، جنس آن **پپتیدوگلایکان طبیعی** بوده و پس از جوانه‌زنی دیوارهٔ سلول رویشی را تشکیل می‌دهد.

---

1. core
2. cell wall

۳. **کورتکس**،[1] ضخیم‌ترین لایه اطراف اسپور بوده و دارای **پپتیدوگلایکان غیرطبیعی** است که پیوندهای تقاطعی کمتری نسبت به نوع طبیعی دارد. این لایه به لیزوزیم بسیار حساس بوده و اتولیز آن نقش اصلی را در جوانه‌زنی یا تندش اسپور بازی می‌کند.

۴. **پوشش اسپور**،[2] دارای ترکیبی شبیه کراتین بوده که پیوندهای درون مولکولی **دی‌سولفیدی** زیادی دارد. این لایه مسئول مقاومت اسپور به **آنتی‌بیوتیک‌ها** می‌باشد.

۵. **پوسته خارجی**، این لایه پوسته خارجی یا **اگزوسپوریوم**[3] نامیده شده و ساختمان لیپوپروتئینی داشته و همچنین دارای کربوهیدرات می‌باشد.

جوانه‌زنی[4] **اسپور**: فرآیند جوانه‌زنی از سه مرحله متوالی تشکیل شده است: مرحلهٔ فعال شدن، مرحلهٔ ژرمیناسیون، مرحلهٔ رشد. این مرحله به وسیلهٔ عوامل مکانیکی مثل خراشیدگی پوشش اسپور و یا عوامل شیمیایی مثل آلانین تحریک می‌شود و طی آن **اتولیزین** فعال می‌شود که به سرعت پپتیدوگلیکان **کورتکس** را تجزیه می‌کند، سپس اسپور آب جذب کرده و بسیاری از آنزیم‌ها فعال شده و سلول رویشی تازه بیرون می‌آید.

انواع دیگری از ساختارهای مقاوم نیز در برخی دیگر از باکتری‌ها وجود دارد ولی فاقد دی‌پیکولینیک اسید بوده و لذا در برابر **حرارت** تحمل بالایی ندارند ولی به خشکی مقاوم می‌باشند برای مثال کیست ازتوباکتر و اگزوسپور در باکتری‌های اکتینومیست‌ها و متیلوسینوس.

1. cortex
2. coat
3. exosporium
4. germination

۳ متابولیسم باکتری

متابولیسم باکتری‌ها

رشد فرآیندی است که در آن با استفاده از ترکیبات غذایی محیط، تمامی ساختارهای سلول ساخته می‌شود. باکتری‌ها ارگانیسم‌های متنوعی هستند که توانایی زیادی برای مصرف مواد غذایی گوناگون دارند و بسیاری از گونه‌ها آموخته‌اند که چگونه بتوانند در شرایط خاص محیطی باقی بمانند. میکروارگانیسم‌ها برحسب شرایطی که در آن زندگی می‌کنند انرژی را از راه‌های مختلف تأمین می‌کنند.

میکروارگانیسم‌هایی که از نور به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند **فتوتروف**،[1] آنهایی که از مواد شیمیایی برای تأمین انرژی استفاده می‌کنند، **شیمیوتروف**[2] گویند که خود به دو دسته شیمیولیتوتروف (انرژی از مواد معدنی تأمین می‌شود) و شیمیوارگانوتروف (انرژی از مواد آلی تأمین می‌شود) تقسیم می‌شوند. ارگانیسم‌هایی نیز که انرژی خود را از سلول میزبان به‌دست می‌آورند **پاراتروف**[3] گویند.

سیستم‌هایی که باکتری‌ها به وسیلهٔ آنها انرژی نور خورشید و یا انرژی شیمیایی را به شکل بیولوژیک مفید تغییر می‌دهند، فتوسنتز، تخمیر و تنفس می‌باشد. انرژی حاصل از این فرآیندها عمدتاً به شکل **ATP** و یا ترکیبات پرانرژی مثل استیل فسفات، ۱،۳-دی فسفوگلیسرات، فسفوانول پیروات و ترکیبات دیگر ذخیره می‌شود.

فتوتروف‌ها

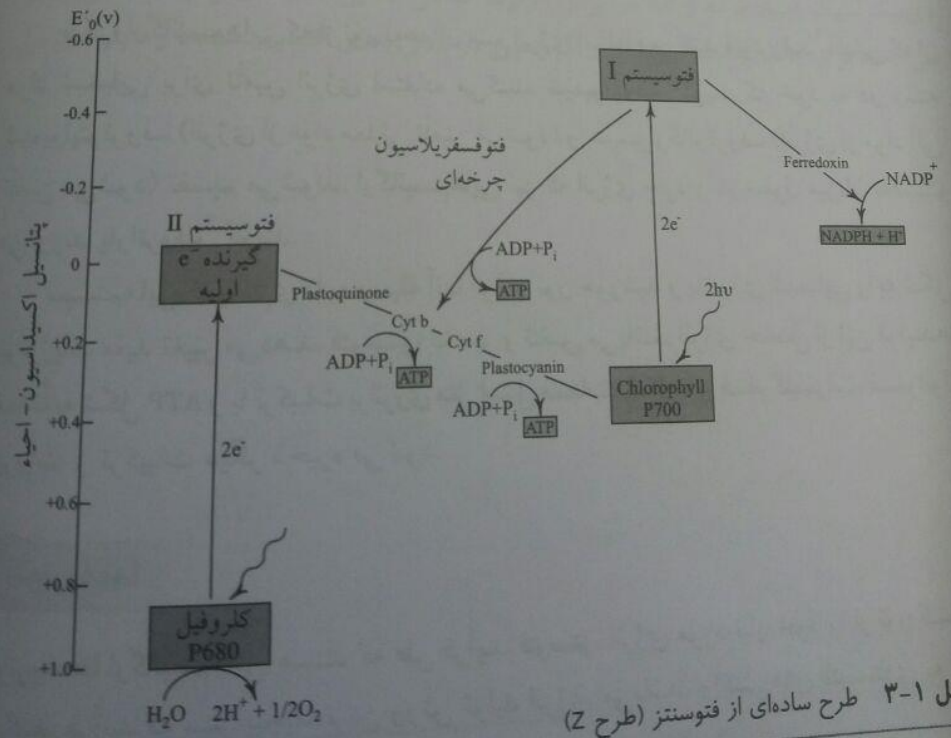
فتوتروف‌ها ارگانیسم‌هایی هستند که طی فرآیند **فتوسنتز**، انرژی مورد نیاز خود را از نور کسب می‌کنند. فرآیند فتوسنتز پیچیده‌ترین روش تولید انرژی می‌باشد. واکنش‌های فتوسنتزی به دو

---

1. phototroph 2. chemiotroph 3. paratroph

مرحله واکنش‌های **نوری** که انرژی نوری به انرژی شیمیایی تبدیل می‌شود و واکنش‌های **تاریکی** که انرژی شیمیایی حاصل از مرحله نوری، برای احیاء CO_2 به ترکیبات آلی استفاده می‌شود. واکنش‌های فتوتروفیک در باکتری‌ها به سه روش انجام می‌گیرد: فتوسنتز هوازی، فتوسنتز بی‌هوازی و فتوفسفریلاسیون غیرفتوسنتزی.

۱. **فتوسنتز هوازی**: در فتوسنتز هوازی که به تولید اکسیژن می‌انجامد، از انرژی نوری برای تولید ATP و NADPH استفاده می‌شود. این فتوسنتز که به فتوفسفریلاسیون غیرچرخه‌ای یا **طرح Z** نیز معروف است در گیاهان، جلبک‌ها و سیانوباکترها وجود دارد (شکل ۱-۳). فتوسنتز هوازی از دو **فتوسیستم I** و **فتوسیستم II** تشکیل یافته است که در مرکز واکنش آنها کلروفیل a قرار دارد. ابتدا فتوسیستم II با جذب انرژی نور، الکترون پرانرژی آزاد می‌کند و این الکترون در طول انتقال از فتوسیستم II به مرکز واکنش فتوسیستم I، یک پتانسیل غشایی را به‌صورت **شیب پروتونی**[1] ایجاد می‌کند که به تولید ATP منجر می‌شود. این الکترون در نهایت به $NADP^+$ رسیده و آن را به NADPH تبدیل می‌کند و چون در یک مسیر مستقیم از آب به NADP حرکت می‌کند بنابراین فتوفسفریلاسیون **غیرچرخه‌ای**[2] گفته می‌شود. در این سیستم **آب** به‌عنوان منبع دهندهٔ



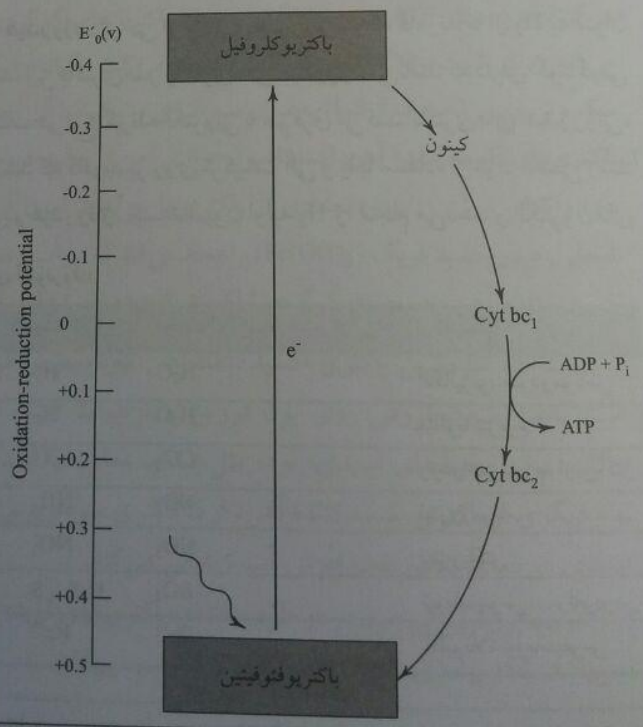
شکل ۱-۳ طرح ساده‌ای از فتوسنتز (طرح Z)

1. proton gradient
2. noncyclic

الکترون عمل می‌کند و **کلروفیل a** به‌عنوان رنگیزه اصلی عمل می‌کند. در پروکاریوت‌ها کلروفیل در اجزایی به نام **کروماتوفور**[1] قرار دارد که از تغییرات غشای سیتوپلاسمی پدید می‌آید.

۲. **فتوسنتز بی‌هوازی**: این نوع فتوسنتز که در باکتری‌های **گوگردی سبز، گوگردی ارغوانی** و **ارغوانی غیرگوگردی** وجود دارد و در طی آن O_2 تولید نمی‌شود. برخلاف فتوسنتز اکسیژنی، فتوسنتز غیراکسیژنی، دهنده الکترون آب نمی‌باشد و ممکن است ترکیبات گوگردی، H_2 و یا ترکیبات آلی باشد. بسیاری از باکتری‌های ارغوانی و سبز، بی‌هوازی هستند. در این سیستم فتوسنتزی که **چرخه‌ای**[2] نامیده می‌شوند فتوسیستم II وجود نداشته و الکترون از طریق سیتوکروم‌های bf دوباره به مرکز واکنش فتوسیستم I برمی‌گردند (شکل ۲-۳). گیرندهٔ نوری در این باکتری‌ها **باکتریوکلروفیل a** می‌باشد.

۳. **فتوفسفریلاسیون غیرفتوسنتزی**: انواع خاص از باکتری‌های هالوفیل مثل **هالوباکتریوم سالیناریوم** قادرند با استفاده از انرژی نور خورشید، ATP را سنتز کنند ولی رنگیزه کلروفیل در این فرآیند درگیر نمی‌باشد. غشای این باکتری‌ها دارای پروتئین **باکتریورودپسین**[3] است که حاوی رنگیزه خاصی



شکل ۲-۳ واکنش‌های اولیه فتوسنتز در باکتری‌های ارغوانی

1. chromatophore
2. cyclic
3. bacteriorhodopsine

بوده و انرژی نور خورشید را جذب کرده، پروتون را به خارج از سلول پمپ می‌کند که موجب ایجاد **شیب الکتروشیمیایی** در عرض غشاء و سنتز ATP می‌شود.

شیمیوتروف‌ها

باکتری‌هایی که انرژی خود را از **مواد شیمیایی** محیط به‌دست می‌آورند به دو دسته تقسیم می‌شوند: شیمیولیتوتروف و شیمیوارگانوتروف.

شیمیولیتوتروف‌ها: باکتری‌هایی که انرژی را از اکسیداسیون ترکیبات **غیرآلی** (معدنی) به‌دست می‌آورند، لیتوتروف نامیده می‌شوند (جدول ۱-۳). اکثر باکتری‌های لیتوتروف همچنین قادرند تمام کربن خود را از CO_2 به‌دست آورند و بنابراین **اتوتروف**[1] می‌باشند. لیتوتروف‌هایی که کربن خود را از طریق مواد آلی به‌دست می‌آورند یعنی منبع انرژی، غیرآلی ولی منبع کربن، آلی می‌باشد به‌عنوان **میکسوتروف**[2] یا **مزوتروف** شناخته می‌شوند. مثل باکتری **بگیاتوآ**.[3] در لیتوتروف ها تولید ATP شبیه ارگانوتروف‌ها می‌باشد با این تفاوت که دهنده الکترونی ترجیحاً ماده معدنی می‌باشد و سنتز ATP با اکسیداسیون‌دهندهٔ الکترونی همراه است. برخی از گروه‌های **لیتوتروفی** عبارتند از:

۱. باکتری‌های اکسیدکننده هیدروژن: برخی از باکتری‌های لیتوتروف قادرند تا از H_2 به‌عنوان یک منبع انرژی استفاده کنند، این باکتری‌ها را **باکتری‌های هیدروژن** می‌نامند که دارای گوناگونی زیادی بوده و گونه‌های مختلف در نوع **گیرنده** الکترونی با هم فرق می‌کنند. باکتری‌های هیدروژنی، لیتوتروف‌های اختیاری هستند که قادرند بر روی ترکیبات آلی و یا با استفاده از مواد معدنی رشد کنند. در این باکتری‌ها آنزیم **هیدروناژ**[4] اکسیداسیون اولیه H_2 را انجام می‌دهد و الکترون‌های

جدول ۱-۳ انواع باکتری‌های لیتوتروف

گروه فیزیولوژیک	منبع انرژی	محصول اکسید شده نهایی	ارگانیسم
باکتری‌های هیدروژنی	H_2	H_2O	آلکالیژنز، سودوموناس
متانوژن‌ها	H_2	H_2O	متانوباکتریوم
کربوکسیدوباکتری‌ها	CO	CO_2	رودواسپریلیوم، ازتوباکتر
باکتری‌های نیتریفیه	NH_3	NO_2	نیتروزموناس
باکتری‌های نیتریفیه	NO_2	NO_3	نیتروباکتر
اکسیدکننده‌های گوگردی	H_2S یا S	SO_4	تیوباسیلوس، سولفوبوس
باکتری‌های آهن	Fe^{2+}	Fe^{3+}	گالیونلا، تیوباسیلوس

1. autotroph
2. mixotroph
3. beggiatoa
4. hydrogenase

جدا شده، از طریق زنجیره انتقال الکترونی منتقل شده و منجر به تشکیل نیروی محرکه پروتون و ایجاد ATP می‌شوند. زمانی که باکتری‌های هیدروژنی به طریق **اتوتروفی** رشد می‌کنند، CO_2 را توسط چرخه **کلوین**[1] تثبیت می‌کنند.

۲. **باکتری‌های گوگردی:** بسیاری از ترکیبات گوگردی احیاء شده می‌توانند به‌عنوان دهندهٔ الکترونی به وسیله برخی از باکتری‌های گوگردی مورد استفاده قرار گیرند. معمول‌ترین ترکیبات گوگردی که به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌شوند، سولفیدهیدروژن (H_2S)، گوگرد عنصری (S°) و تیوسولفات ($S_2O_3^{2-}$) می‌باشد. محصول نهایی اکسیداسیون گوگرد در اکثر موارد، **سولفات** (SO_4^{2-}) می‌باشد اکسیداسیون H_2S که احیا شده‌ترین ترکیب گوگردی است در چند مرحله صورت می‌گیرد، مرحله اول اکسیداسیون منجر به تولید **گوگرد عنصری** (S°) می‌شود که در برخی باکتری‌ها مثل بگیاتوآ در داخل سلول باکتری در گرانول‌هایی رسوب می‌کند و تولید آن منجر به کاهش یافتن pH و اسیدی شدن محیط می‌شود. اسید تولید شده به وسیله باکتری‌های گوگردی، **اسید سولفوریک** (H_2SO_4) است که منجر به کاهش قابل ملاحظه PH محیط می‌شود. الکترون‌ها از ترکیبات احیاء شده گوگردی وارد زنجیرهٔ انتقال الکترون شده و به مولکول اکسیژن منتقل می‌شوند و پتانسیل غشایی ایجاد می‌کنند که به سنتز ATP منجر می‌شود. زمانی‌که باکتری‌های گوگردی به‌صورت اتوتروفی رشد می‌کنند، برای تثبیت CO_2 از چرخه کلوین استفاده می‌کنند. بگیاتوآ، ارگانیسمی است که به‌صورت میکسوتروفی و با استفاده از H_2S به‌عنوان منبع انرژی و ترکیبات آلی به‌عنوان منبع کربن رشد می‌کند.

۳. **باکتری‌های اکسیدکنندهٔ آهن:** اکسیداسیون هوازی آهن از حالت **فروس** (F^{2+}) به **فریک** (Fe^{3+})، یک واکنش انرژی‌زا برای تعدادی از باکتری‌ها می‌باشد. یون فریک (Fe^{3+}) ترکیب بسیار نامحلول هیدروکسید فریک ($Fe(OH)_3$) را ایجاد می‌کند که در آب رسوب می‌کند. اکثر باکتری‌های اکسید کننده آهن، همچنین گوگرد را اکسید کرده و **اسیدوفیل اجباری**[2] هستند.

شناخته شده‌ترین باکتری اکسیدکنندهٔ آهن **تیوباسیلوس فرواکسیدانس** است که قادر است به‌صورت اتوتروفی روی یون فروس یا ترکیبات احیاء شدهٔ گوگرد رشد کند. این ارگانیسم در محیط‌های اسیدی آلوده مثل پساب معادن زغال‌سنگ بسیار معمول می‌باشد. نوع دیگری از باکتری اکسیدکنندهٔ آهن، آرکئاباکتری **سولفوبوس** است که در چشمه‌های داغ اسیدی در دمای بالای نقطه‌جوش آب زندگی می‌کند.

شیب پروتونی موجود در دو طرف غشای باکتری‌های اسیدوفیل در نتیجه انتقال الکترونی نمی‌باشد بلکه پیامدی از محیط زندگی ارگانیسم می‌باشد.

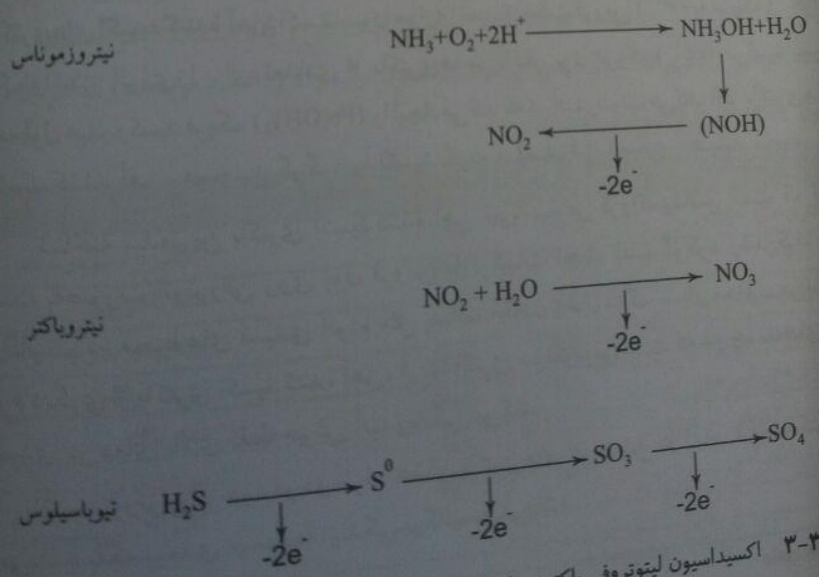
---

1. calvin cycle
2. obligate acidophile

برخی از باکتری‌های آهن قادرند در شرایط pH **خنثی** زندگی کنند، این باکتری‌ها که شامل گالیونلا، اسفروتیلوس ناتانس و لپتوتریکس می‌باشند در pH نزدیک خنثی و محیط‌های بی‌هوازی زندگی می‌کنند، زیرا در pH خنثی آهن فروس در حضور اکسیژن، پایدار نبوده و به سرعت به حالت فریک (نامحلول) تبدیل می‌شود که غیرقابل استفاده برای باکتری می‌باشد.

علاوه‌بر یون فروس، برخی از باکتری‌ها قادرند با اکسیداسیون یون **منیزیم** نیز انرژی مورد نیاز را به‌دست آورند. شناخته شده‌ترین باکتری اکسیدکنندهٔ منیزیم لپتوتریکس دیسکوفروس می‌باشد.

۴. باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم و نیتریت: معمول‌ترین ترکیبات نیتروژنی غیرآلی (معدنی) که به‌عنوان دهندهٔ الکترون استفاده می‌شوند آمونیاک (NH_3) و نیتریت (NO^{-2}) هستند که به‌طور **هوازی** به وسیلهٔ باکتری‌های نیتریفیه‌کننده اکسید می‌شوند. جنس **نیتروزموناس** آمونیاک را به نیتریت اکسید کرده و جنس **نیتروباکتر**، نیتریت را به نیترات اکسید می‌کند. باکتری‌های نیتریفیه در خاک وجود دارند و در حاصلخیزی خاک و چرخهٔ نیتروژن اهمیت دارند (شکل ۳-۳). الکترون‌ها از ترکیبات نیتروژنی وارد زنجیرهٔ انتقال الکترون شده و موجب ایجاد یک شیب پروتونی شده که در نهایت منجر به تولید ATP می‌شود. مشابه با لیتوتروف‌های اکسیدکنندهٔ گوگرد و آهن، باکتری‌های نیتریفیه کننده نیز برای تثبیت CO_2 از چرخهٔ **کلوین** استفاده می‌کنند.



شکل ۳-۳ اکسیداسیون لیتوتروفی باکتری‌های نیتریفیه و باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد

شیمیوارگانوتروف‌ها (هتروتروف‌ها)

ارگانوتروف‌ها،[1] ارگانیسم‌هایی هستند که با استفاده از مواد شیمیایی آلی انرژی مورد نیاز خود را تأمین می‌کنند. در بین ترکیبات آلی، کربوهیدرات‌ها معمول‌ترین منابع انرژی محسوب می‌شوند. باکتری‌ها با ترشح اگزوآنزیم‌های هیدرولازی، ماکرومولکول‌های بزرگ را در محیط خارج سلولی تجزیه کرده و منومرهای تولید شده را وارد سیتوپلاسم می‌کنند تا در مسیرهای کاتابولیسمی قرار گیرد.

باکتری‌ها برای تولید ATP از سه مکانیسم متفاوت از واکنش‌ها استفاده می‌کنند: فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا، فسفوریلاسیون اکسیداتیو و فتوفسفریلاسیون.

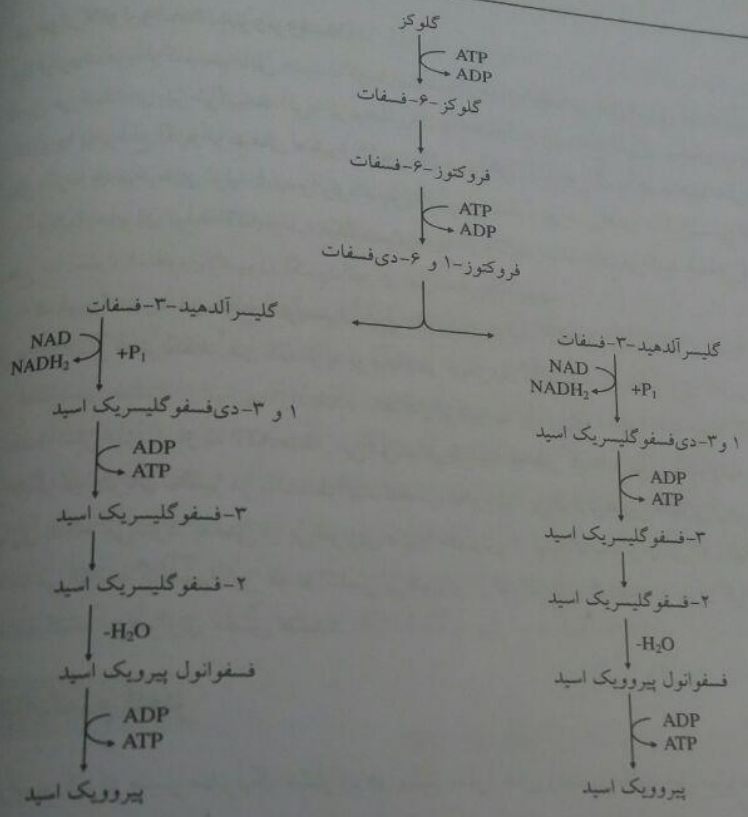
فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا:[2] این مکانیسم تولید ATP در **گلیکولیز** و تغییر اسیدهای آمینه (واکنش **استریکلند**[3] در کلستریدیوم‌ها) در میکروارگانیسم‌های تخمیری کاربرد دارد. در این مکانیسم بخشی از انرژی آزاد شده ابتدا در ترکیبات پرانرژی فسفریله ذخیره شده و سپس توسط واکنش‌های کیناز به ATP منتقل می‌شوند. در فرآیند تخمیر گیرندهٔ نهایی الکترون، یک ترکیب **آلی** دیگر در جریان تخمیر می‌باشد. فرآیند تخمیر، به وسیلهٔ **بی‌هوازی‌های اختیاری** و **بی‌هوازی‌های اجباری** انجام می‌شود. بعضی از بی‌هوازی‌های اختیاری از **نیترات** به‌عنوان گیرندهٔ نهایی الکترون استفاده می‌کنند. ارگانیسم‌هایی که در تنفس بی‌هوازی از **سولفات** یا **کربنات** به‌عنوان گیرندهٔ الکترون استفاده کنند، بی‌هوازی مطلق هستند.

کاتابولیسم گلوکز

کاتابولیسم گلوکز مسیر متابولیک مشترک در بیشتر سلول‌های زنده می‌باشد. این مونوساکارید توسط سیستم‌های انتقال غشایی خاص وارد سلول باکتری شده و در سیتوپلاسم باکتری متابولیزه می‌شود. چندین راه متابولیسمی برای شکستن گلوکز به مولکول‌های کوچکتر وجود دارد.

مسیر گلیکولیز یا امبدن- مایرهوف- پارناز[4] **(EMP)**: مسیر گلیکولیز یا EMP راه اصلی کاتابولیسم گلوکز در اغلب سلول‌ها است؛ در این مسیر مولکول گلوکز بدون دخالت اکسیژن به دو مولکول پیروات می‌شکند (شکل ۴-۳). گلیکولیز از دو مرحلهٔ اصلی تشکیل یافته است و در شرایط هوازی و بی‌هوازی رخ می‌دهد. در مرحلهٔ اول که فاز **آماده‌سازی** گفته می‌شود، گلوکز، فسفوریله شده و برای تشکیل گلیسرآلدهید ۳- فسفات شکسته می‌شود و در مرحلهٔ دوم که فاز **بهره‌وری** گفته می‌شود این ترکیب شکسته شده و به دو ترکیب سه کربنه پیروات تبدیل شده و به ازای هر مولکول گلوکز ۴ مولکول ATP تولید می‌شود. از آنجایی که در مرحلهٔ آماده‌سازی ۲ مولکول گلوکز مصرف می‌شود، لذا

1. organotroph
2. surface level phosphorylation
3. Strickland reaction
4. embden-meyerhof-parnas



شکل ۴-۳ مسیر گلیکولیز یا EMP

برآیند خالص گلیکولیز در شرایط بی‌هوازی و تخمیری ۲ مولکول ATP می‌باشد. مولکول‌های ATP تولیدی در گلیکولیز طی دو مرحله و توسط فرآیند **فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا**[1] تولید می‌شوند. آنزیم کلیدی در مسیر گلیکولیز **فسفوفروکتوکیناز I** می‌باشد که یک نقطه تنظیمی محسوب می‌شود.

پیرواتی که در مسیر گلیکولیز در تحت شرایط بی‌هوازی تولید شده و یا در شرایط هوازی به‌دست آمده دارای سرنوشت متفاوتی می‌باشد:

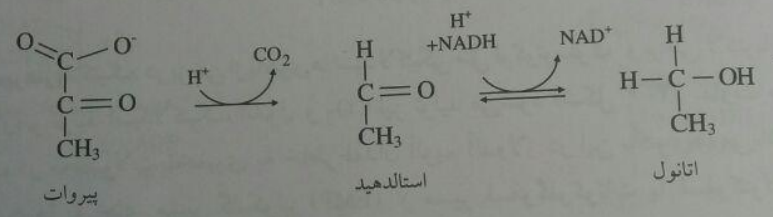
سرنوشت پیروات تحت شرایط بی‌هوازی

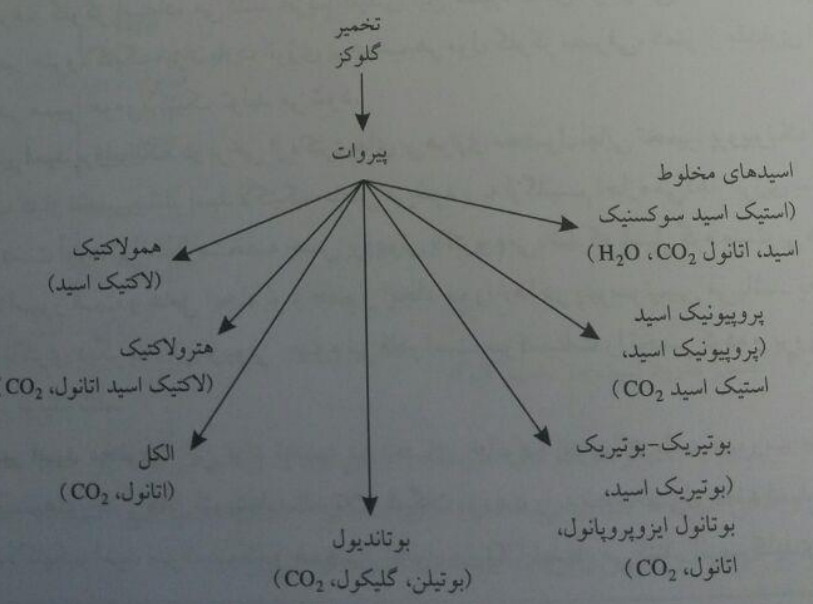
پیروات حاصل از گلیکولیز در شرایط بی‌هوازی وارد مسیر **تخمیر**[2] می‌شود. در شرایط بی‌هوازی

1. substrate-level phosphorylation
2. fermentation

NADH حاصل از گلیکولیز نمی‌تواند توسط O_2 مجدداً اکسید شود. بنابراین لازم است NAD^+ مجدداً به طریقی تولید شود؛ لذا با انتقال الکترون‌ها از NADH به پیروات محصولاتی مثل **لاکتات** و **اتانول** می‌گردد و بدین‌طریق به‌طور مداوم NAD^+ در شرایط بی‌هوازی تولید می‌شود. در تخمیر باکتری‌ها محصولات ارزشمند صنعتی تولید شده و همچنین محصولات تخمیری برای شناسایی باکتری‌ها مفید هستند و اهمیت کاربردی زیادی دارند. انواع مختلفی از تخمیرها به وسیلهٔ باکتری‌ها انجام می‌شوند: (شکل ۵-۳)

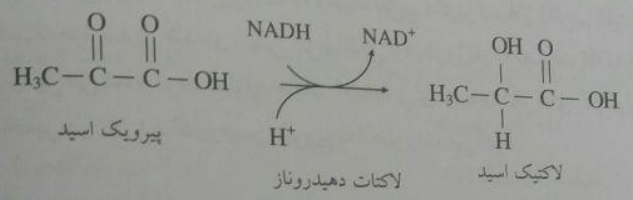
۱. تخمیر الکلی: در این فرآیند ابتدا پیروات به وسیلهٔ آنزیم **دکربوکسیلاز** (آنزیم کلیدی در تخمیر الکلی) به استالدهید تبدیل شده و سپس آنزیم الکل دهیدروژناز با مصرف NADH، استالدهید را به اتانول تبدیل می‌کند و موجب تولید مجدد NAD^+ برای ادامه واکنش‌های گلیکولیزی می‌شود. این نوع تخمیر در نان (ساکارومیس سرویزیه) صورت می‌گیرد.





شکل ۵-۳ انواع مختلف تخمیر در باکتری‌ها

۲. تخمیر هومولاکتیک:[1] در این فرایند که به وسیله جنس‌های استرپتوکک‌ها، پدیوکک‌ها و بسیاری از گونه‌های لاکتوباسیل صورت می‌گیرد، پیروات حاصل از گلیکولیز (EMP) توسط آنزیم لاکتات دهیدروژناز به اسید لاکتیک تبدیل می‌شود. این آنزیم از NADH استفاده کرده و NAD^+ مورد نیاز برای ادامه واکنش‌های گلیکولیزی را فراهم می‌کند. عملکرد تخمیر هومولاکتیک وابسته به وجود آنـزیم **آلدولاز**[2] می‌باشد که عملکرد آن شکستن فـروکتوز ۱ و ۶- بیس فسفات به دو تریوزفسفات می‌باشد.

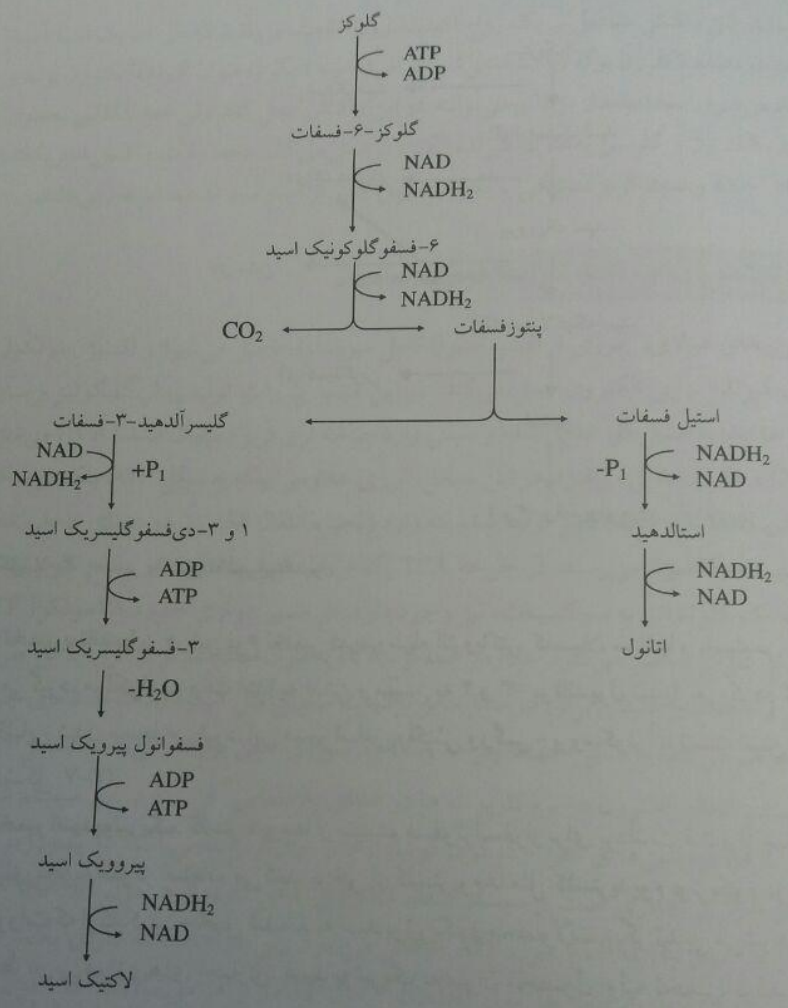


۳. تخمیر هترولاکتیک: در برخی از باکتری‌ها اسید لاکتیکی مثل **لوکونوستوک**[3] و برخی لاکتوباسیل‌ها، علاوه‌بر تولید اسیدلاکتیک، اتانول و CO_2 نیز تولید می‌شود (شکل ۶-۳). تفاوت مشاهده شده در محصولات تخمیری به خاطر فقدان آنزیم آلدولاز در این باکتری‌ها می‌باشد. این باکتری‌ها به جای مسیر گلیکولیز (EMP) از مسیر **فسفوگلوکونات** یا **فسفوکتولاز** برای مصرف گلوکز استفاده می‌کنند. آنزیم کلیدی این مسیر، **فسفوکتولاز** می‌باشد. همچنین در تخمیر هترولاکتیک میزان بازده انرژی برحسب هر مول گلوکز مصرفی، کمتر از مقداری است که در مسیر هومولاکتیک تولید می‌شود.

۴. تخمیر اسید پروپیونیک: در برخی از باکتری‌های بی‌هوازی محصول نهایی تخمیر، **پروپیونیک اسید**[4] است که از تخمیر بیشتر اسید لاکتیک حاصل می‌شود و به ارگانیسم اجازه می‌دهد انرژی بیشتری را به‌دست آورد. این مسیر مشخصه جنس **پروپیونی باکتریوم** می‌باشد که باسیل گرم مثبت بی‌هوازی فاقد اسپور است و عامل ایجاد بو و طعم و ایجاد سوراخ‌ها در پنیرسوئیسی می‌باشد. به‌علاوه یک باکتری دیگر به نام پروپیونی جینوم نیز قادر است سوکسینات را تخمیر کرده و پروپیونیک اسید تولید کند.

۵. تخمیر اسید مخلوط:[5] این نوع تخمیر در اعضای خانوادهٔ انتروباکتریاسه صورت می‌گیرد. ارگانیسم‌های جنس‌های **اشریشیا، سالمونلا و شیگلا**، پیروات را به سه محصول عمده اسیداستیک، اسیدلاکتیک، اسید سوکسینیک و همچنین اتانول و CO_2 تبدیل می‌کنند. آنزیم کلیدی در این

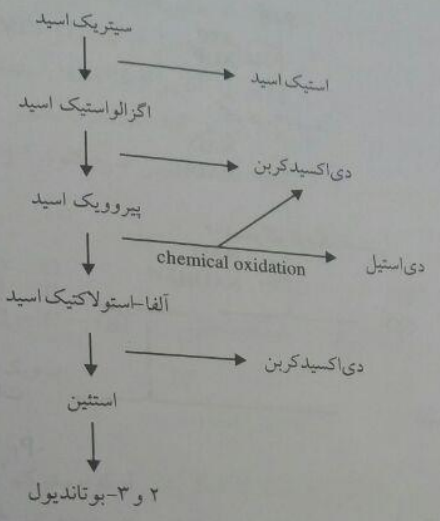
1. homolactic fermentation
2. aldolase
3. leuconostoc
4. propionic acid
5. mixed-acid fermentation



شکل ۶-۳ مسیر هترولاکتیک در تخمیر گلوکز

مسیر، آنزیم **پیروات- فومارات لیاز** است که واکنش اول را کاتالیز می‌کند. این مسیر تخمیری اساس واکنش **متیل رد**[1] (MR) می‌باشد که برای شناسایی اعضای جنس انتروباکتریاسه خصوصاً در متمایز کردن دو جنس اشریشیا و انتروباکتر به‌کار می‌رود.

1. methyl red resction



شکل ۷-۳ مسیر واکنش تخمیر بوتاندیول

۶. **تخمیر بوتاندیول**:[1] در این نوع تخمیر که به وسیله **انتروباکتر، کلبسیلا، سراشیا** و **باسیلوس** صورت می‌گیرد، مولکول پیروات ابتدا به استن و سپس به **۲ و ۳- بوتاندیول** تبدیل می‌گردد که سبب قلیایی شدن محیط می‌شود. این مسیر اساس واکنش **ووگس- پروسکوئر**[2] یا تست **استن** می‌باشد (شکل ۷-۳).

۷. **تخمیر اسیدبوتیریک**: **کلستریدیوم‌ها** از سیستم فسفوترانسفراز برای برداشت قند و از مسیر EMP برای تجزیه گلوکز استفاده می‌کنند. برخی از کلستریوم‌ها مثل **کلستریدیوم بوتریکوم** دو مولکول پیروات که ازگلیکولیز حاصل شده‌اند به اسید بوتیریک و محصولات دیگر تبدیل می‌شوند. معمولاً فقط در بی‌هوازی‌های اجباری، **اسید بوتیریک** به‌عنوان محصول اولیه تخمیر، تولید می‌شود. در مراحل اولیه، اسید بوتیریک و اسید استیک محصولات غالب هستند، اما با پایین آمدن pH محیط سنتز این اسیدها متوقف شده و بوتانول و استن تجمع می‌یابند.

۸. **تخمیر آمینواسیدها**: گروه دیگری از **کلستریدیوم‌ها** انرژی خود را با تخمیر آمینواسیدها به‌دست می‌آورند. **واکنش استریکلند**[3] بارزترین نوع تخمیر اسیدهای آمینه در کلستریدیوم‌های پروتئولیتیک (مثل کلستریدیوم اسپوروژنز، کلستریدیوم دیفیسل و تیپ‌های A و B کلستریدیوم بوتولینوم)

1. butanediol
2. voges-proskauer reaction
3. Strickland reaction

می‌باشد. این واکنش مشتمل بر یک زوج اکسیداسیون- احیاء می‌باشد که طی آن یک اسیدآمینه به‌عنوان **دهنده** الکترون بوده و اکسید می‌شود و اسید آمینه دیگر به‌عنوان **گیرنده** الکترون بوده و احیاء می‌شود. اسیدآمینه‌های زیادی می‌توانند در این واکنش عمل کنند ولی عمدتاً **آلانین** به‌عنوان دهنده الکترون و **گلیسین** به‌عنوان گیرنده الکترون عمل می‌کند. محصولات واکنش استریکلند، NH_3، CO_2 و اسید کربوکسیلیکی با یک اتم کربن کمتر از آمینواسید اکسید شونده می‌باشد.

سرنوشت پیروات تحت شرایط هوازی

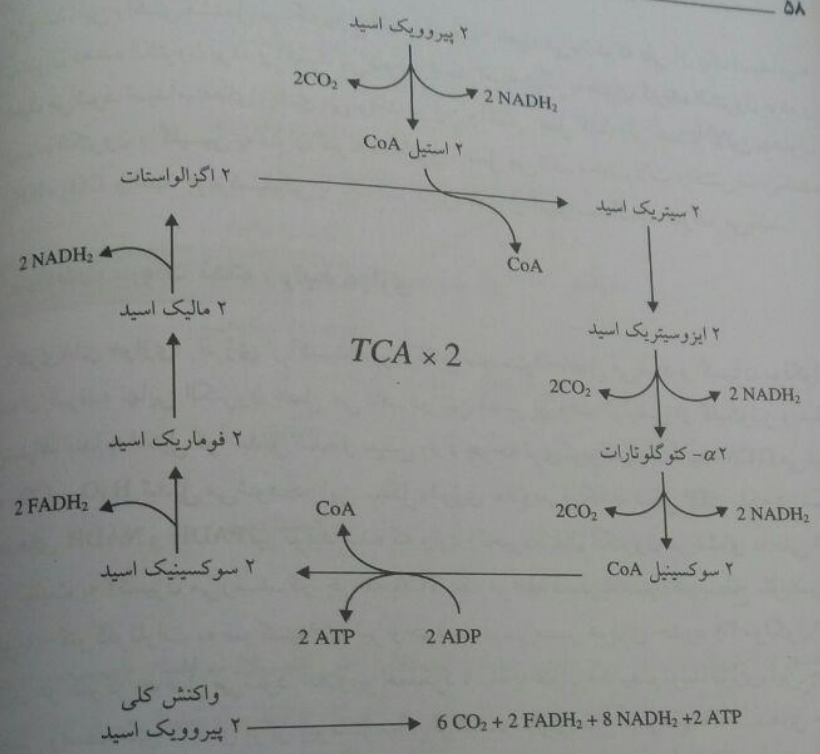
در باکتری‌های **هوازی**،[1] انرژی از اکسیداسیون کامل سوبسترا حاصل می‌شود و اکسیژن مولکولی به‌عنوان گیرنده نهایی الکترون عمل می‌کند. در این مسیر پیروات تولیدی از گلیکولیز و سایر سوبستراها ابتدا به استیل کوآ تبدیل شده و سپس وارد چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید (TCA) می‌شود و به CO_2 و H_2O تبدیل می‌شود. در این سیکل، انرژی علاوه‌بر اینکه به شکل ATP، بلکه در شکل واحدهای NADH و FADH نیز تولید شده که وارد زنجیره انتقال الکترون در غشای داخلی شده و در نهایت به **اکسیژن** می‌رسند. در چرخه TCA یک مرحله فسفریلاسیون در سطح سوبسترا در تبدیل α- کتوگلوتارات به سوکسینات، نیز وجود دارد. در مسیر هوازی حدود **۳۸** مولکول ATP به ازای هر گلوکز حاصل می‌شود. علاوه‌بر عملکرد TCA به‌عنوان مکانیسم تولید انرژی، این چرخه همچنین واسطه‌های کلیدی برای بیوسنتز سایر ترکیبات سلولی مثل آمینواسیدها، اسیدهای چرب و... را فراهم می‌کند، به همین جهت چرخه TCA (کربس) را **آمفی بولیک**[2] می‌نامند. (شکل ۸-۳)

سیستم انتقال الکترون در پروکاریوت ها در **غشای پلاسمایی**[3] قرار دارد. این سیستم شامل دهیدروژنازها، پروتئین‌ها ی آهن- گوگرد، کوئینون‌ها و سیتوکروم‌ها می‌باشد. در پسودوموناس که باکتری هوازی اجباری است و سیستم انتقال الکترونی کامل دارد، از هر مول NADH، ۳ مول ATP و از هر مول $FADH_2$، ۲ مول ATP حاصل می‌شود ولی در *E.coli* که دارای یک زنجیره الکترونی ساده شده می‌باشد، از هر مول NADH، ۲ مول ATP و از هر مول $FADH_2$، ۱ مول ATP ساخته می‌شود.

اشکال توکسیک اکسیژن

در ارگانیسم‌های **هوازی**، اکسیژن در آنها به‌عنوان گیرنده نهایی الکترون عمل کرده و تولید رادیکال‌های

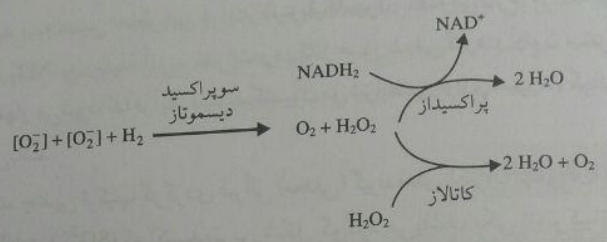
1. aerobic 2. amphibolic 3. plasma membrane



شکل ۸-۳ سیکل کربس

آزاد[1] اکسیژنی می‌کند که برای سلول سمی می‌باشند. احیاء اکسیژن به آب نیازمند افزودن ۴ الکترون می‌باشد. این فرایند احیایی معمولاً با افزوده شدن یک الکترون در هر مرحله صورت می‌گیرد در مرحله اول آنیون **سوپراکسید**[2] (O_2^-) تولید می‌شود که یک فرم سمی اکسیژن می‌باشد. ارگانیسم‌های هوازی و تحمل کننده هوا (آئروتولرانت)[3] دارای آنزیم سوپراکسید دیسموتازبوده که سوپر اکسید (O_2^-) را به مولکول **پراکسید هیدروژن**[4] (H_2O_2) تبدیل می‌کند. این مولکول نیز توسط آنزیم دیگری به نام کاتالاز که در هوازی‌ها وجود دارد، خنثی می‌شود. استرپتوکک‌ها، بی‌هوازی اختیاری هستند که فاقد آنزیم کاتالاز می‌باشند و به جای آن حاوی یک پراکسیداز می‌باشند. اغلب ارگانیسم‌های بی‌هوازی فاقد آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز هستند که دلیل سمیت اکسیژن در این ارگانیسم‌ها می‌باشد:

1. free radical
2. superoxide
3. aerotolerant
4. hydrogen peroxide



تنفس بی‌هوازی

ارگانیسم‌های **بی‌هوازی اختیاری**[1] زمانی که اکسیژن در دسترس می‌باشد، از O_2 به‌عنوان گیرنده الکترون بهره می‌برند ولی اگر اکسیژن محیط تخلیه شود می‌توانند، گیرنده‌های الکترونی دیگری مثل **نیترات**، **سولفات** و **کربنات** را مورد استفاده قرار دهند (جدول ۲-۳). ارگانسیم‌های بی‌هوازی اجباری که تنفس بی‌هوازی را انجام می‌دهند، قادر به استفاده از O_2 نمی‌باشند. بیشتر ارگانسیم‌هایی که تنفس بی‌هوازی انجام می‌دهند، پروکاریوت می‌باشند. این باکتری‌های بی‌هوازی دارای زنجیرهٔ تنفسی مشابه با هوازی‌ها می‌باشد و اختلاف آنها در گیرندهٔ نهایی الکترون می‌باشد. کارایی تنفسی هوازی بیشتر از تنفس بی‌هوازی و کارایی تنفس بی‌هوازی نیز بیشتر از تخمیر می‌باشد.

۱. نیترات به‌عنوان گیرندهٔ الکترون: ترکیبات نیتروژن معدنی (غیرآلی) از معمول‌ترین گیرنده‌های الکترون در تنفس بی‌هوازی هستند. یکی از مهمترین ترکیبات نیتروژنی که به‌عنوان گیرندهٔ الکترون جایگزین به‌کار می‌رود **نیترات**[2] (NO_3^-) می‌باشد که به اشکال احیاء شده‌تر نیتروژن مثل NO_2، NO و N_2 تبدیل می‌شود و چون این ترکیبات همگی گازی شکل هستند، می‌توانند از محیط

جدول ۲-۳ انواع فرآیندهای تنفسی در باکتری‌ها

گیرنده الکترونی	محصول احیا شده نهایی	نام فرایند	ارگانیسم
O_2	H_2O	تنفس هوازی	شریشیاکلی، استرپتومیسس
NO_3	N_2 یا N_2O یا NO_2	تنفس بی‌هوازی؛ دنیتریفیکاسیون	باسیلوس، سودوموناس
SO_4	S یا H_2S	تنفس بی‌هوازی؛ احیاء سولفات	دسولفوویبریو
فومارات	سوکسینات	تنفس بی‌هوازی؛ استفاده از یک گیرنده الکترونی آلی	اشریشیاکلی
CO_2	CH_4	متانوژنز	متانوکوکوس

1. facultative aerobic
2. nitrate

@pdf_jozveh

حذف شوند و به همین خاطر این فرآیند **دنیتریفیکاسیون**[1] گفته می‌شود. مرحلهٔ اول این فرآیند یعنی تولید NO_2^- به وسیلهٔ آنزیم نیترات ردوکتاز صورت می‌گیرد و چون سنتز این آنزیم به وسیلهٔ O_2 مهار می‌شود، لذا فرآیند دنیتریفیکاسیون در شرایط **بی‌هوازی** صورت گرفته و به اکسیژن حساس می‌باشد.

۲. **احیاء سولفات:** چندین ترکیب گوگردی غیرآلی (معدنی) گیرنده‌های الکترون مهمی در تنفس بی‌هوازی هستند. **سولفات** (SO_4^{2-}) که اکسیده‌ترین شکل گوگرد می‌باشد، یکی از ترکیباتی است که به وسیلهٔ باکتری‌های احیاء کننده سولفات به‌عنوان گیرندهٔ الکترون مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ محصول نهایی احیاء سولفات، H_2S می‌باشد. توانایی استفاده از سولفات به‌عنوان یک گیرندهٔ الکترونی برای فرآیندهای تولید انرژی محدود به گروه‌های خاصی از باکتری‌های **بی‌هوازی اجباری** می‌باشد که به آنها باکتری‌های احیاء کنندهٔ سولفات گویند. در این باکتری‌ها برخی ترکیبات مثل H_2، لاکتات، پیروات و... می‌توانند به‌عنوان دهندهٔ الکترونی مورد استفاده قرار گیرند.

احیاء سولفات به H_2S یک احیاء ۸- الکترونی است که از طریق چند واکنش حد واسط صورت می‌گیرد. یون سولفات نسبتاً پایدار بوده، بنابراین در ابتدا به وسیلهٔ آنزیم ATP سولفوریلاز و با کمک ATP موجب تشکیل آدنوزین فسفوسولفات یا **APS** می‌شود و این مولکول در برخی باکتری‌ها به سولفیت (SO_3^{2-}) و سپس H_2S تبدیل شده و سپس دفع می‌شود ولی در باکتری‌هایی که گوگرد را برای بیوسنتز به‌کار می‌گیرند و دفع نمی‌کنند، APS یکبار دیگر فسفریله شده و ترکیب فسفوآدنوزین فسفوسولفات یا **PAPS** را تولید و سپس این ترکیب به سولفیت و H_2S تبدیل شده که در نهایت در ساختار ترکیبات آلی گوگردی قرار می‌گیرند. از باکتری‌های احیاء کنندهٔ سولفات می‌توان دسولفوباکتر و دسولفوویبریو را مثال زد.

۳. **کربنات به‌عنوان گیرندهٔ الکترون:** چندین گروه از باکتری‌ها قادرند تا CO_2 را به‌عنوان گیرندهٔ الکترونی در تنفس بی‌هوازی به‌کار گیرند. مهمترین باکتری‌های احیاء کنندهٔ CO_2، **متانوژن‌ها**[2] هستند که یک گروه عمده از آرکئاباکتری‌ها می‌باشند. برخی از این ارگانیسم‌ها H_2 را به‌عنوان دهندهٔ الکترونی به‌کار می‌گیرند. گروه دیگری از باکتری‌های احیاء کنندهٔ CO_2، همواستوژن‌ها می‌باشند که تولید استات در آنها بیشتر از متان است. همواستوژن‌ها شامل باکتری‌های بسیار مختلف بوده و گروه مشخصی را شامل نمی‌شوند. هر دو گروه متانوژن‌ها و همواستوژن‌ها **بی‌هوازی اجباری** هستند.

۴. **گیرنده‌های الکترونی آلی:** چندین ترکیب آلی نیز شناخته شده‌اند که می‌توانند به‌عنوان گیرندهٔ

1. denitrification
2. methanogen

الکترونی در تنفس بی‌هوازی مورد استفاده قرار گیرند. از میان این ترکیبات می‌توان **فومارات**[1] را مثال زد که به سوکسینات احیاء می‌شود. باکتری‌هایی که می‌توانند از فومارات به‌عنوان گیرندهٔ الکترون استفاده کنند می‌توان، *E.coli* را مثال زد.

مسیر فسفو گلوکونات

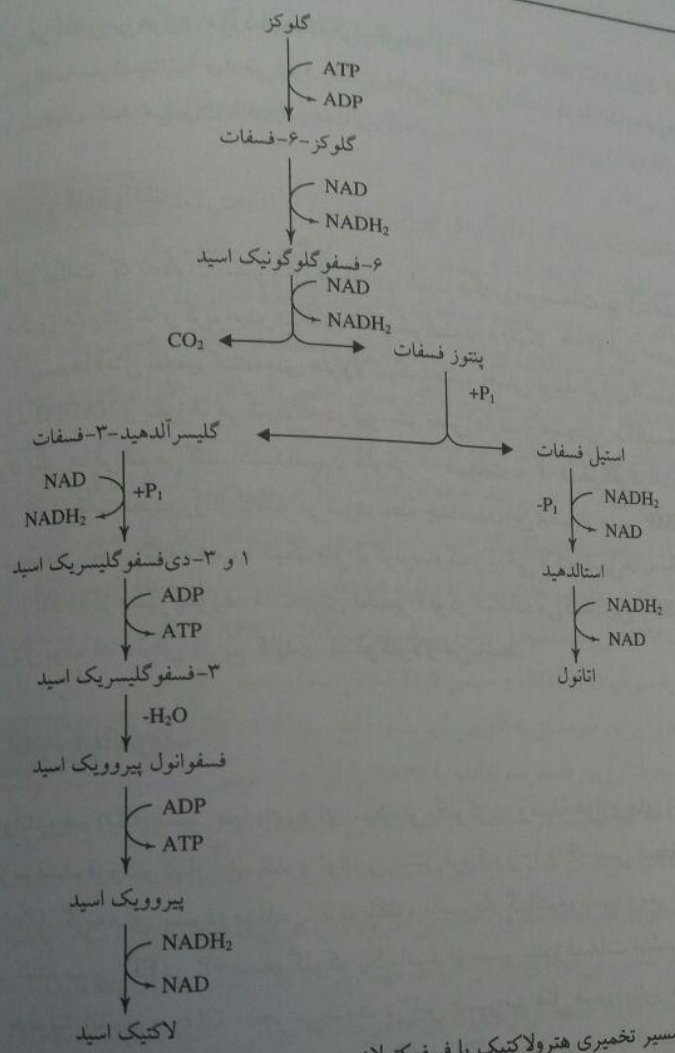
مسیر **فسفوگلوکونات**[2] که به‌عنوان مسیر پنتوزفسفات یا شنت هگزوزمنوفسفات نیز شناخته می‌شود، در تخمیر هگزوزها، پنتوزها و کربوهیدرات‌های دیگر شرکت دارد (شکل ۹-۳). این مسیر در برخی از میکروارگانیسم‌ها (مثل تخمیرکننده‌های **هترولاکتیک**) مسیر اصلی تولید انرژی است. این مسیر موجب تولید NADPH و پنتوزها می‌شود که در بیوسنتز نقش دارند و همچنین مکانیسمی را برای اکسیداسیون پنتوزها فراهم می‌کند. اکسیداسیون گلوکز ۶- فسفات به **۶- فسفوگلوکونات** که توسط آنزیم گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز کاتالیز می‌شود، نقطهٔ جدا شدن این مسیر از مسیر EMP می‌باشد. میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده هترولاکتیک مثل لوکونوستوک و برخی لاکتوباسیل‌ها به جای استفاده از گلیکولیز (EMP)، از مسیر پنتوزفسفات برای تخمیر گلوکز استفاده می‌کنند. این ارگانیسم‌ها فاقد آنزیم آلدولاز بوده اما دارای آنزیم کلیدی **فسفوکتولاز** می‌باشند.

مسیر انتنر- دوآندروف

مسیر نتردوآندروف (ED) مسیر عمده‌ای برای شکستن گلوکز به وسیلهٔ **هوازی‌های اجباری** است که فاقد آنزیم فسفوفروکتوکیناز[3] هستند و توانایی سنتز فروکتوز-۱ و ۶- بیس فسفات را ندارند (شکل ۱۰-۳). گونه‌های پسودوموناس، ازتوباکتر، نایسریا، گزانتوموناس و... از این مسیر استفاده می‌کنند. مسیر ED در ۶- فسفوگلوکونیک اسید از مسیر پنتوزفسفات منشعب می‌شود و در نهایت به تولید اتانول و CO_2 منجر می‌شود. در این مسیر نیز مثل مسیر پنتوز فسفات از هر مولکول گلوکزی که تخمیر می‌شود فقط **یک** مولکول ATP تولید می‌شود. (جدول ۳-۳)

اثر پاستور: در ارگانیسم‌های بی‌هوازی اختیاری، در حضور اکسیژن فعّالیت تخمیری متوقف شده و انرژی تقریباً به‌طور کامل از طریق **تنفس** تأمین می‌شود و چون تنفس، انرژی بیشتری نسبت به تخمیر تولید می‌کند، در نتیجه گلوکز کمتری مصرف شده و تجمع اسید کاهش می‌یابد. این پدیده برای اولین بار به وسیلهٔ پاستور و در مخمر شناسایی شد، لذا تحت عنوان اثر پاستور[4] نامگذاری

1. fumarat
2. phosphogluconat
3. phosphofructokinase
4. pasteur effect

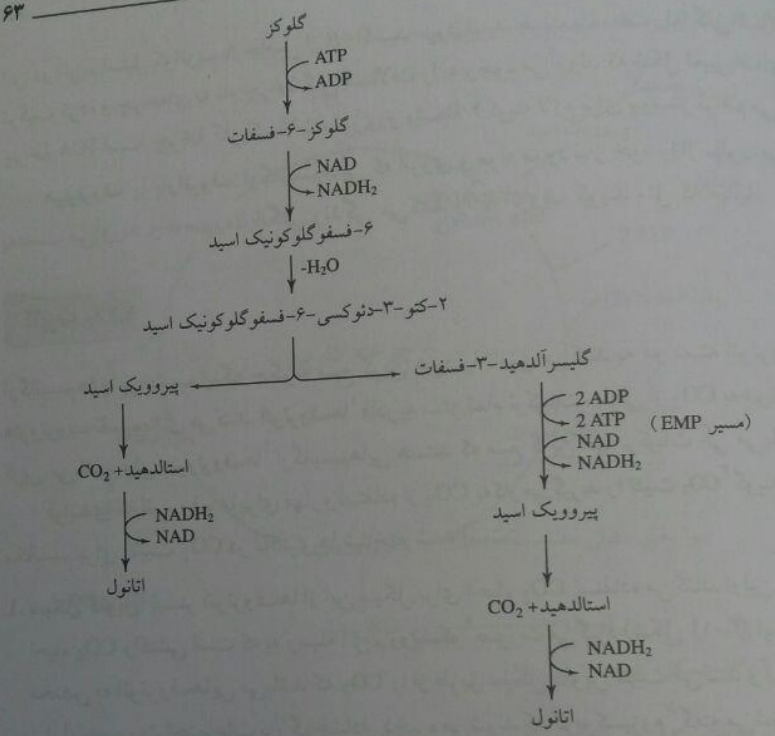


شکل ۹-۳ مسیر تخمیری هترولاکتیک یا فسفوکتولاز

گردید. فاکتورهای متعددی ممکن است مسئول اثر پاستور باشند اما آنزیم **فسفوفروکتوکیناز** (که نقش مرکزی در تنظیم گلیکولیز دارد) تعیین کنندهٔ اصلی می‌باشد.

چرخهٔ گلی‌اکسالات:[1] در هنگامی که میکروارگانیسم‌ها در شرایطی رشد می‌کنند که تنها منبع کربن، اسیدهای چرب و یا استات باشد، سنتز دو آنزیم ایزوسیترات لیاز[2] و مالات سنتاز[3] تحریک می‌شود.

1. glyoxylate cycle
2. isocitrate lyase
3. malate synthase



شکل ۱۰-۳ مسیر انتنر دودروف (ED)

جدول۳-۳ محصولات نهایی و آنزیم‌های کلیدی در مسیرهای تخمیر میکروبی

مسیر	آنزیم کلیدی	اتانول	اسید لاکتیک	CO_2	ATP
امبدون-مایرهوف (ساکارومیسس)	فروکتوز ۱و۶-دی فسفات آلدولاز	۲	۰	۲	۲
امبدون-مایرهوف (لاکتوباسیلوس)	فروکتوز ۱و۶-دی فسفات آلدولاز	۰	۲	۰	۲
هترولاکتیک (استرپتوکوکوس)	فسفوکتولاز	۱	۱	۱	۱
انتنر دودروف (زیموموناس)	KOPG آلدولاز	۲	۰	۲	۱

این دو آنزیم استیل کوآنزیم A حاصل از B- اکسیداسیون اسید چرب یا استات را با گلی‌اکسالات ترکیب کرده و چرخه‌ای به نام چرخهٔ گلی‌اگسالات را به وجود می‌آورند که شکل تغییریافته‌ای از چرخهٔ TCA است. چرخهٔ گلی‌اکسالات، انرژی و واسطهٔ ۴ کربنه لازم برای بیوسنتز فراهم می‌کند.

هیپوتروف یا **پاراتروف**: ارگانیسم‌هایی که انرژی و مواد مورد نیاز خود را از سلول میزبان به‌دست می‌آورند و به‌صورت انگلی زندگی می‌کنند را پاراتروف گویند مثل کلامیدیا.

تثبیت CO_2

ارگانیسم‌ها را برحسب اینکه چگونه منبع کربن خود را تامین می‌کنند به دو دسته اتوتروف و هتروتروف تقسیم‌بندی می‌کنند. **اتوتروف‌ها**[1] قادر به سنتز تمام ترکیبات سلولی از CO_2 به‌عنوان منبع کربن می‌باشند ولی **هتروتروف‌ها**[2] ارگانیسم‌هایی هستند که منبع کربن آنها ترکیبات آلی می‌باشد.

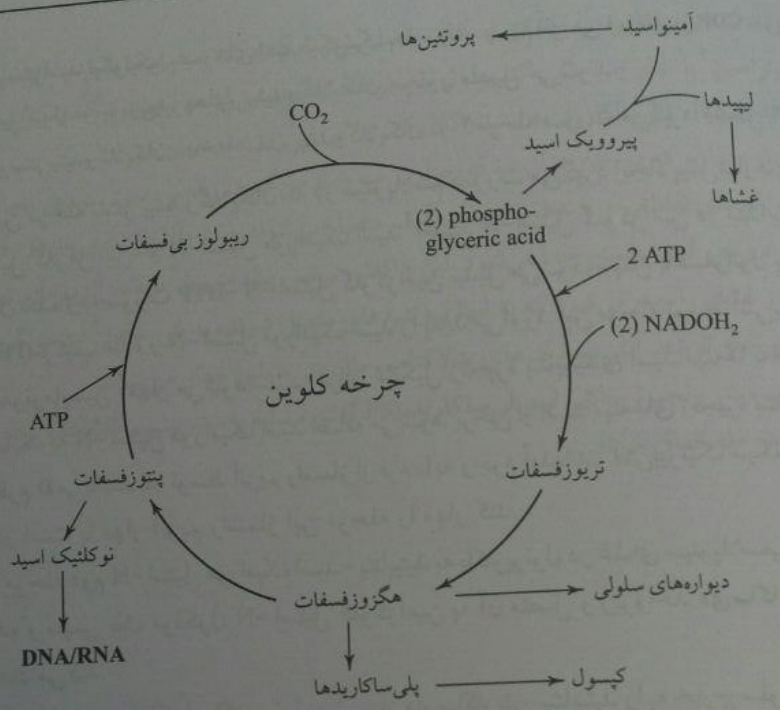
فرایندی که اتوتروف ها برای مهار و استفاده از CO_2 به‌کار می‌گیرند را **تثبیت CO_2**[3] گویند. چند مکانیسم برای تثبیت CO_2 در باکتری‌ها شناخته شده است:

۱. **سیکل کلوین**: بیشتر اتوتروف‌ها از این سیکل برای احیاء CO_2 استفاده می‌کنند. اولین مرحله احیاء CO_2 واکنشی است که به وسیله آنزیم **روبیسکو**[4] صورت می‌گیرد (شکل ۱۱-۳). این آنزیم مختص به اتوتروف‌هایی می‌باشد که CO_2 را از طریق سیکل کلوین تثبیت می‌کنند و در داخل سلول به‌صورت اجتماعات بزرگ غشادار ذخیره می‌شوند که **کربوکسیزوم**[5] گفته می‌شوند. این آنزیم در گیاهان، جلبک‌ها، سیانوباکتری‌ها، باکتری‌های گوگردی، آهن و نیتریفیان مشاهده می‌شوند. برای انجام سیکل کلوین که در مرحله تاریکی فتوسنتز صورت می‌گیرد نیاز به ATP و NADPH است که در مرحله روشنایی فتوسنتز تولید شده‌اند. برای تولید یک مولکول هگزوز از CO_2، ۱۲ مولکول NADPH و ۱۸ مولکول ATP نیاز می‌باشد.

چندین گروه از اتوتروف‌ها شامل باکتری‌های سبز، متانوژن‌ها و استوژن‌ها از چرخه کلوین برای تثبیت CO_2 استفاده نمی‌کنند.

۲. **مسیراستیل COA**: برخلاف سایر راه‌های تثبیت CO_2 (کلوین و TCA معکوس)، این مسیر به‌صورت چرخه‌ای نمی‌باشد. مسیراستیل-COA فقط در **بی‌هوازی‌های اجباری** خاص مثل باکتری‌های احیاء کنندهٔ سولفات و باکتری‌های متانوژن یافت می‌شود. یک آنزیم کلیدی مسیراستیل-COA، مونواکسیدکربن (CO) دهیدروژناز است.

1. autotrophs
2. heterotrophs
3. CO_2 fixation
4. rubisco
5. carboxisomes



شکل ۱۱-۳ سیکل کلوین

۳. **چرخه TCA معکوس:**[1] اگرچه مکانیسم چرخه کلوین برای تثبیت CO_2 در باکتری‌های ارغوانی نشان داده شده است ولی درباکتری های **گوگردی سبز** مثل کلروبیوم تثبیت CO_2 به وسیله معکوس شدن مراحلی از چرخه TCA صورت می گیرد. از این رو مسیرتثبیت CO_2 در باکتری‌های گوگردی سبز را چرخه TCA معکوس گویند.

۴. **روش هیدروکسی پروپیونات:** این مسیر روشی برای تثبیت CO_2 در باکتری **کلروفلوکسوس** می‌باشد.

مسیرهای بیوسنتزی[2]

پلیمرهای پوشش سلول باکتری به‌وسیله آنزیم‌های متصل به غشا از پیش سازهای قند- نوکلئوتید در درون سیتوپلاسم سنتز می‌شوند. در بیوسنتزپپتیدوگلایکان و زنجیره پلی‌ساکارید جانبی O، لیپید ناقل ۵۵ کربنی با عنوان **باکتوپرنول** شرکت دارد. این لیپید پیش سازهای این پلیمرها را به خارج از غشا منتقل می‌کند.

1. reverse TCA
2. biosynthetic pathway

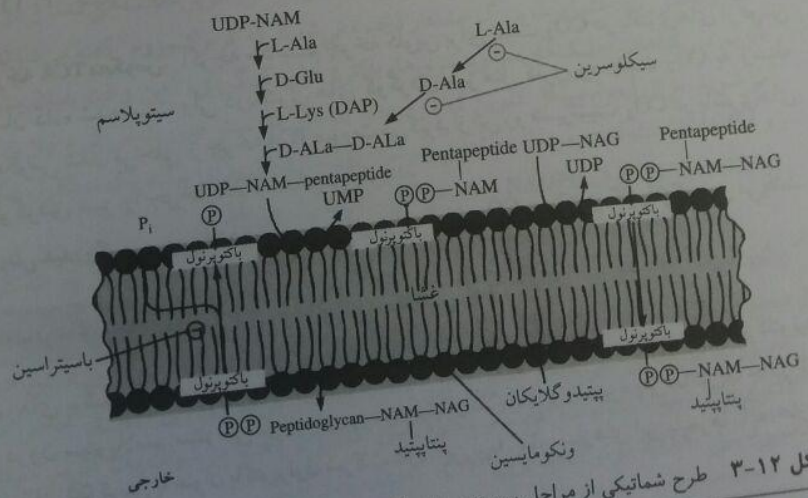
بیوسنتزاسید تیکوئیک: پلیمرهای اسید تیکوئیک به وسیله سیستم آنزیمی ویژه‌ای از **CDP - ریبیتول** شکل می‌گیرند و به زنجیره‌های پپتیدوگلایکان مجاور متصل می‌شوند.

بیوسنتز پپتیدوگلایکان: ساخته شدن پپتیدوگلایکان در ۴ مرحله صورت می‌گیرد: (شکل ۱۲-۳)

۱ اولین مرحله سنتز پپتیدوگلایکان که در **سیتوپلاسم** صورت می‌گیرد ایجاد پیش‌سازهای N-استیل گلوکزآمین[1] و N-استیل مورامیک اسید[2] است. N-استیل گلوکزآمین در ابتدا با **UTP** فعال شده و به‌صورت UTP- N-استیل گلوکزآمین تبدیل می‌شود، سپس با **فسفوانول پیروات** (PEP) ترکیب شده و N-استیل مورامیک اسید را پدید می‌آورد. این مرحله توسط آنتی‌بیوتیک فسفونومایسین[3] مهار می‌شود. سپس برای تشکیل زنجیرهٔ پنتاپپتیدی اسیدآمینه‌ها به‌صورت تک‌تک به N-استیل مورامیک اسید اضافه می‌شود. برخی از اسیدآمینه‌های زنجیرهٔ پنتاپپتیدی به فرم **D** می‌باشند که توسط آنزیم **راسماز** از فرم L به وجود آمده‌اند. آنتی‌بیوتیک سیکلوسرین قادر است با مهار آنزیم راسماز این مرحله را مهار کند.

۲ در مرحله دوم N-استیل مورامیک اسید- پنتاپپتید به باکتوپرنول در غشای سیتوپلاسمی متصل شده و سپس یک مولکول N-استیل گلوکزآمین به آن متصل و زیرواحد **دی‌ساکاریدی** را ایجاد می‌کند.

۳ در مرحله سوم مولکول باکتوپرنول پیش‌ساز دی‌ساکارید- پنتاپپتید را به خارج سلول جابجا



شکل ۱۲-۳ طرح شماتیکی از مراحل بیوسنتز پپتیدوگلایکان در باکتری‌ها

1. N-acetylglucosamine 2. N-actylmuramic acid 3. phosphonomycine

می‌کند و دی‌ساکارید به انتهای اسکلت اصلی پپتیدوگلایکان متصل می‌شود. آنتی‌بیوتیک **باسیتراسین**[1] با مهار چرخش باکتوپرنول این مرحله را مهار می‌کند و آنتی‌بیوتیک **ونکومایسین**[2] مرحله اتصال دی‌ساکارید به پپتیدوگلایکان را در این مرحله مهار می‌کند.

۴ مرحله چهارم که در خارج از غشای سلول صورت می‌گیرد، زنجیره‌های پپتیدی مجاور از طریق پل‌های تقاطعی و یا به‌طور مستقیم به هم متصل می‌شوند و D-آلانین انتهایی از D-آلانین چهارم زنجیرهٔ پنتاپپتیدی جدا می‌شود. این واکنش **ترانس پپتیداسیون**[3] توسط آنزیم‌های ترانس پپتیداز غشایی انجام می‌شود که به آنها **پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین**[4] نیز می‌گویند و این مرحله توسط آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی مثل پنی‌سیلین مهار می‌شود.

بیوسنتز زنجیرهٔ جانبی **لیپوپلی‌ساکارید** (LPS) نیز مشابه با سنتز پپتیدوگلایکان بوده و در چهار مرحله اتفاق می‌افتد.

1. bacitracin
2. vancomycin
3. transpeptidation
4. penicillin binding proteins (PBPs)

ص ۶۸ سفید

ص ۶۹

۴ فیزیولوژی رشد میکروبی

فیزیولوژی رشد

قسمت اعظم وزن خشک میکروارگانیسم‌ها از مادهٔ آلی تشکیل شده است. تقریباً عمده مادهٔ آلی از چهار نوع اتم کربن، اکسیژن، هیدروژن و نیتروژن تشکیل شده است. به‌علاوه تعدادی از اتم‌های دیگر که در میزان کمتری مورد نیاز می‌باشند نیز وجود دارند که شامل فسفر، کلسیم، منیزیم، گوگرد، آهن، روی، منگنز و ... می‌باشند.

عناصر مورد نیاز سلول را برحسب میزان نیاز سلول به آنها، به دو دسته تقسیم می‌کنند:

۱. **عناصر پرمقدار**: عناصری که به میزان زیادی مورد نیاز سلول می‌باشند و شامل: **کربن** که در ساختار اکثر ترکیبات سلولی مثل آمینواسیدها، اسیدهای چرب، قندها، بازهای آلی و غیره به‌کار می‌روند. ارگانیسم‌هایی که قادرند از CO_2 استفاده کنند اتوتروف بوده؛ ولی ارگانیسم‌هایی که منبع کربن آنها مادهٔ آلی می‌باشد هتروتروف می‌باشند. پس از کربن، فراوان‌ترین عنصر در سلول **نیتروژن** است که در ساختار پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به‌کار می‌رود. بیشتر باکتری‌ها قادرند با استفاده از آمونیاک به‌عنوان تنها منبع نیتروژن رشد کنند. به‌علاوه باکتری‌های خاص نیز قادر می‌باشند گاز نیتروژن (N_2) را به‌عنوان منبع نیتروژن به‌کار گیرند، که به آنها باکتری‌های **تثبیت کنندهٔ نیتروژن** می‌گویند.

فسفر نیز در ساختار اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدها، ATP، و ... به‌کار می‌رود. اکثر میکرو-ارگانیسم‌ها فسفات غیرآلی (PO_4^{3-}) را برای رشد به‌کار می‌گیرند. **گوگرد** نیز در ساختار آمینو-اسیدهای سیستئین و متیونین و تعدادی از ویتامین‌ها به‌کار می‌رود. **پتاسیم** در ساختار آنزیم‌های درگیر در سنتز پروتئین به‌کار رفته، **منیزیم** در پایداری ریبوزوم‌ها و غشای سلول و اسیدهای نوکلئیک نقش دارد. **کلسیم** در پایداری دیوارهٔ سلولی نقش داشته و نقش کلیدی در پایداری در برابر حرارت در اندوسپورها ایفاء می‌کند. **سدیم** برای برخی از میکروارگانیسم‌های دریازی مورد نیاز می‌باشد.

آهن نیز به مقدار زیادی مورد نیاز سلول می‌باشد و در ساختار آنزیم‌ها و سیتوکروم‌ها وجود دارد. در محیط‌های هوازی و در pH خنثی، غلظت آهن محیط، پائین بوده و عمدتاً به‌صورت رسوب‌های نامحلول وجود دارد. میکروارگانیسم‌ها برای دست‌یابی به این عنصر اساسی سیستم‌های متعددی را درگیر می‌کنند. بسیاری از باکتری‌ها با تولید **سیدروفورها**[1] که آهن را به شکل محلول درمی‌آورد، آهن را به‌دست می‌آورند. سیدروفورها مولکول‌هایی با وزن مولکولی پایین هستند که به‌طور اختصاصی به آهن متصل می‌شوند. به لحاظ ساختمانی، سیدروفورها از دو نوع کلی هستند: **کاتکول‌ها**[2] مثل انتروباکتین که تحت شرایط فقر آهن به سرعت تولید و در محیط ترشح می‌شود و **هیدروکسامات‌ها**[3] مثل فری‌کروم که به وسیلهٔ برخی قارچ‌ها تولید می‌شوند. در برخی از ارگانیسم‌ها، سیترات نیز می‌تواند به‌عنوان ناقل با تمایل بالا عمل کند. در باکتری‌های گرم منفی پروتئین‌ها در شرایط غلظت پایین آهن ساخته می‌شوند. سیدروفورها قادرند آهن را از انتقال دهنده‌های طبیعی آهن در بدن مثل ترانسفرین و لاکتوفرین جدا کنند، پس می‌توانند در پاتوژنز نقش داشته باشند.

۲. **عناصر کم مقدار یا عناصر نادر**: این عناصر در مقادیر کم مورد نیاز سلول می‌باشند و عبارتند از: **کبالت** که فقط در تشکیل ویتامین B_{12} به‌کار می‌رود. **روی** که دارای نقش ساختاری در برخی آنزیم‌ها مثل کربنیک انهیدراز، الکل دهیدروژناز و... می‌باشد. **مولیبدن** در ساختار آنزیم‌های تثبیت نیتروژن به‌کار می‌رود. **مس** که در آنزیم‌های تنفسی نقش دارد، **منگنز** که در ساختاز آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌کار می‌رود، **نیکل** که در ساختمان آنزیم هیدروژناز نقش دارد و سایر عناصری که در فرآیندهای مختلف سلولی نقش دارند.

عوامل محیطی که رشد میکروارگانیسم‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد

حرارت[4]

میکروارگانیسم‌ها را براساس درجه حرارت اپتیمم که در آن قادر به رشد می‌باشند به ۴ دسته کلی، تقسیم می‌کنند:

۱. **میکروب‌های سرمادوست**:[5] میکروارگانیسم‌هایی که درجه حرارت اپتیمم برای رشد آنها ۱۵ درجه سانتیگراد یا کمتر می‌باشد. میکروب‌های سرمادوست به دو دسته تقسیم می‌شوند سرمادوست‌های **اجباری** که قادر به رشد در دماهای بالای ۲۰ درجه نمی‌باشند و سرمادوست‌های **اختیاری** که می‌توانند در دماهای ۳۰ تا ۳۵ درجه نیز رشد کنند. صفت اصلی میکروب‌های سرمادوست

1. siderophore
2. catecholes
3. hydroxamates
4. temperature
5. psychrophilic

توانایی رشد آنها در صفر درجه است در حالی‌که درجه حرارت‌های پایین برای سایر میکروارگانیسم‌ها باکتریواستاتیک است (باکتری‌های نایسریاگنوره (گنوکک) و نایسریا منتژیتیس (مننگوکک) در درجه حرارت‌های پائین می‌میرند).

میکروارگانیسم‌هایی که درجه حرارت اپتیمم (حداکثر رشد) آنها صفر درجه می‌باشد را **کرایوفیل**[1] می‌گویند. ارگانیسم‌های سرمادوست دارای آنزیم‌هایی هستند که در حرارت‌های پایین کارایی داشته و نسبت به دما فوق‌العاده حساس می‌باشند و به سرعت غیرفعال می‌شوند. همچنین سرمادوست‌ها دارای میزان بالاتری از اسیدهای چرب **غیراشباع**[2] در غشای سلول خود می‌باشند که موجب می‌شود در دماهای پایین، غشاء به حالت جامد تبدیل نشود.

۲. مزوفیل‌ها:[3] میکروارگانیسم‌هایی که در محدودهٔ دمایی ۴۵-۲۰ درجه سانتیگراد رشد کرده ولی دمای اپتیمم رشد آنها ۳۷-۳۰ درجه می‌باشد. میکروب‌های بیماریزای انسان در این دسته قرار می‌گیرند. در این گروه میکروارگانیسم‌هایی وجود دارند که قادرند در دماهای زیر ۲۰ درجه سانتیگراد رشد کنند ولی دمای اپتیمم رشد آنها حدود ۳۷-۳۰ درجه می‌باشد، این دسته را **مزوفیل اختیاری** یا **سایکروتروف**[4] گویند. باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژن و یرسینیا انتروکولیتیکا باکتری‌های سایکروتروف هستند که به وسیلهٔ روش **غنی‌سازی در سرما**[5] جداسازی می‌شوند.

۳. گرمادوست‌ها یا ترموفیل‌ها:[6] این میکروارگانیسم‌ها درجه حرارت اپتیمم ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد دارند. این باکتری‌ها عمدتاً در لایه‌های سطحی خاک که در مجاورت با نور خورشید گرم می‌شوند یافت می‌شود. این باکتری‌ها دارای آنزیم‌ها و پروتئین‌هایی می‌باشند که در برابر حرارت مقاوم بوده و غشای سلولی آنها غنی از اسیدهای چرب اشباع شده می‌باشد که به آنها اجازه می‌دهد در گرمای بالا مقاومت کنند. همچنین باکتری‌های ترموفیل دارای درصد G + C بالاتری در DNA خود می‌باشند.

۴. باکتری‌های فوق گرمادوست یا هایپرترموفیل:[7] دسته‌ای از میکروارگانیسم‌های ترموفیل می‌باشند که دمای اپتیمم رشد آنها ۸۰ درجه یا بالاتر می‌باشد. این باکتری‌ها معمولاً در چشمه‌های آب داغ دیده می‌شوند که دمای آنها در حدود دمای جوش آب یا بالاتر می‌باشد. این باکتری‌ها شاخه‌ای از آرکئاباکترها بوده و عمدتاً بی‌هوازی اجباری می‌باشند. غشای سلولی هایپرترموفیل برخلاف سایر باکتری‌ها تک لایه بوده و فاقد اسیدهای چرب می‌باشند و همچنین اسیدهای غشا دارای پیوند اتری (به جای پیوند استری) می‌باشند. برخی از این باکتری‌های ترموفیل از نظر بیوتکنولوژیکی مهم می‌باشند؛ مثلاً باکتری ترموس آکوآتیکوس[8] دارای آنزیم **Taq پلیمراز** می‌باشد

1. cryophile
2. unsaturated
3. mesophilic
4. psychrotroph
5. cold-enrichment
6. thermophilic
7. hyperthermophilic
8. thermos aquaticus

که در PCR کاربرد دارد. ترموفیل‌ترین باکتری شناخته شده **پیرودیکتیکوم** است که قادر است در دمای بالای ۱۱۰ درجه سانتیگراد رشد کند.

pH

pH محیط بر روی میزان رشد ارگانیسم مؤثر است. pH اپتیمم هر ارگانیسم محدوده‌ای از pH است که ارگانیسم در آن به خوبی رشد می‌کند. میکروارگانیسم‌ها براساس محدودهٔ pH اپتیمم به سه دسته تقسیم می‌شوند. میکروارگانیسم‌هایی که در pH حدود ۸-۶ بهترین رشد را دارند را **خنثی دوست**[1] گویند و اغلب باکتری‌های بیماریزا در این دسته قرار می‌گیرند. میکروارگانیسم‌هایی که در pHهای پایین قادر به رشد هستند را **اسیدوفیل**[2] گویند. قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها تحمل بیشتری در برابر اسیدها دارند به همین علت در غذاهای با pH پایین عامل فساد بیشتر قارچ‌ها می‌باشند. علاوه‌بر این بعضی از باکتری‌های اسیدوفیل نیز وجود دارند که **اسیدوفیل اجباری** محسوب می‌شوند و قادر نیستند در pH خنثی رشد کنند. باکتری‌های اسیدوفیل اجباری شامل چندین گونه یوباکتری از جنس تیوباسیلوس و چندین جنس از آرکئاباکتری‌ها مثل سولفوبوس و ترموپلاسما می‌باشند. برخی دیگر از میکروارگانیسم‌ها را **قلیادوست** یا **آلکالوفیل**[3] گویند زیرا pH اپتیمم آنها حدود ۱۱-۱۰ می‌باشد. میکروارگانیسم‌ها در برابر طیف گسترده‌ای از pH خارجی، pH داخلی سیتوپلاسم خود را در حدود ۶٫۵ نگه می‌دارند. pH داخلی توسط مجموعه‌ای از سیستم‌های انتقال پروتون در غشای سیتوپلاسمی تنظیم می‌شوند. اسیدی شدن محیط‌های کشت به‌علت تجمع متابولیت‌های حاصل از رشد ممکن است از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کند، به همین دلیل برخی از باکتری‌ها به مکانیسم‌های جبرانی برای دفع اثرات سمی این متابولیت‌های اسیدی دست یافته‌اند؛ مثلاً کلستریدیوم استوبوتیلیکم برای این منظور اسید بوتیریک را به بوتانول و کلبسیلا آئروژن اسید استیک را به بوتاندیول تبدیل می‌کند.

شرایط اسمزی

فشار اسمزی پروتوپلاسم سلول باکتری سالم بیشتر از فشار اسمزی محیط می‌باشد که این موجب نفوذ آب از خلال غشاء به درون سلول می‌شود و در صورتی که دیوارهٔ باکتری وجود نداشته باشد، باکتری‌ها در محیط رقیق ورم کرده و می‌ترکند. بیشتر میکروارگانیسم‌ها قادر به تنظیم اسمولاریته داخلی و غلظت یونی هستند. اسمولاریته توسط انتقال فعال K^+ به درون سلول تنظیم می‌شود و برای جلوگیری از افزایش فشار یونی حاصل از تجمع K^+ در داخل سلول مولکول **پوترسین** با بار

1. neutrophiles
2. acidophiles
3. alkalophiles

مثبت به خارج سلول دفع می‌شود. به‌علاوه در ارگانیسم‌های گرم منفی ترکیبات **الیگوساکاریدهای مشتق از غشا**[1] یا MDO در فضای پری‌پلاسمی وجود دارند که در محیط‌های با اسمولاریته پایین، موجب نگهداری فشار اسمزی می‌باشند. باکتری‌های گرم منفی بیشتر با سنتز گلوتامات با فشار اسمزی محیط مقابله کنند اما باکتری‌های گرم مثبت نیز با سنتز پرولین این عمل را انجام می‌دهند.

میزان در دسترس بودن آب به‌طور کلی با اصطلاح **آب فعال**[2] یا **پتانسیل آبی** بیان می‌شود که به اختصار به‌صورت **aw** نشان می‌دهند که میزان آن بین صفر و یک، متغیر است و برای آب خالص برابر با یک می‌باشد. هر چه که مقدار نمک یا قند در آب بالاتر برود میزان آب فعال کاهش می‌یابد. میزان نیاز به آب فعال در میکروارگانیسم‌ها متفاوت است ولی به‌طور کلی قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها و همچنین باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به آب فعال کمتری نیاز دارند.

میکروارگانیسم‌هایی که قادر به زندگی در محیط‌های با نمک بالا می‌باشند را **هالوفیل** گویند. میکروارگانیسم‌هایی که در محیط‌های حاوی قند بالا زندگی می‌کنند، **اسموفیل** و آنهایی که در محیط‌های خیلی خشک زندگی می‌کنند را **گزروفیل** گویند.

اکسیژن

میکروارگانیسم‌ها را براساس تأثیر اکسیژن به چندین گروه تقسیم می‌کنند:

۱. **هوازی اجباری:**[3] میکروارگانیسم‌هایی که از اکسیژن به‌عنوان آخرین گیرنده الکترونی در زنجیرهٔ تنفسی اکسیداتیو بهره می‌برند و متابولیسم آنها عمدتاً از نوع اکسیداتیو می‌باشد. این میکروارگانیسم‌ها دارای آنزیم‌های **سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز** می‌باشند که آنها را از اثرات سمی محصولات اکسیژنی حفظ می‌کند.

۲. **میکروآئروفیلیک:**[4] میکروارگانیسم‌های هوازی که در فشارهای پایین اکسیژن بهترین رشد خود را دارند، اما در مجاورت فشارهای بالای اکسیژن، مهار می‌شوند. این ارگانیسم‌ها نیز دارای آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌باشند.

۳. **بی‌هوازی اجباری:** این ارگانیسم‌ها فاقد آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌باشند و از این رو اکسیژن برای آنها سمی می‌باشد و فقط در شرایط احیاءکنندگی بسیار بالا قادر به رشد هستند. به این دسته از میکروارگانیسم‌ها **آئروفوب**[5] نیز می‌گویند. برای کشت این میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های کشت، ترکیباتی حاوی سولفوریل مثل تیوگلیکولات[6] را به محیط کشت اضافه می‌کنند که موجب برداشت اکسیژن از محیط می‌شود.

---

1. membrane-derived oligosacharides
2. active water
3. obligate aerobes
4. microaerophilic
5. aerophobes
6. Thioglycolate

۴. **تحمل کننده هوا:**[1] میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی هستند که می‌توانند فشار معمولی اکسیژن را تحمل کنند. این میکروارگانیسم‌ها دارای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند ولی فاقد کاتالاز هستند و به جای آن **پراکسیداز** دارند مثل استرپتوکک‌ها؛ میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی اجباری و تحمل کننده هوا داری متابولیسم کاملاً **تخمیری** می‌باشند.

۵. **بی‌هوازی اختیاری:**[2] این میکروارگانیسم‌ها در حضور و یا غیاب اکسیژن رشد کرده و دارای هر دو نوع متابولیسم اکسیداتیو و تخمیری می‌باشند. در صورت حضور اکسیژن متابولیسم تخمیری متوقف شده و متابولیسم اکسیداتیو می‌شود. میکروارگانیسم‌های این گروه هر دو آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را دارند. اکثر باکتری‌های پاتوژن در این گروه قرار دارند.

رشد میکروارگانیسم‌ها

در هنگامی که باکتری‌ها در محیط غذایی کامل قرار می‌گیرند، سلول باکتری بزرگ شده و به دو سلول تقسیم می‌گردد. رشد به افزایش منظم توده زیستی[3] در تمام اجزای یک ارگانیسم گفته می‌شود، بنابراین افزایش در اندازهٔ سلول در اثر جذب آب و غیره رشد محسوب نمی‌شود. در طی رشد متعادل مضاعف شدن توده زنده با مضاعف شدن همه ترکیبات سلولی مثل پروتئین، DNA و... همراه است. منحنی رشد باکتریال شامل چهار مرحله می‌باشد که به ترتیب شامل مرحله تاخیری (lag)، مرحله تصاعدی (log)، مرحله سکون و در نهایت مرحله مرگ می‌باشد.

محاسبه ریاضی رشد باکتری

اکثر باکتری‌ها به روش تقسیم دوتایی تکثیر می‌شوند و تعداد سلول‌های باکتری به‌طور تصاعدی (لگاریتمی) افزایش می‌یابد. میانگین زمان لازم برای تقسیم و دو برابر شدن سلول باکتری را **زمان نسل**[4] یا **زمان دو برابر**[5] شدن گویند و با G نشان می‌دهند. این زمان برای باکتری‌های مختلف متفاوت می‌باشد و هر چه این زمان کوتاه‌تر باشد، سرعت رشد باکتری بیشتر بوده و در زمان کوتاه‌تری کلون‌های قابل مشاهده‌ای بر روی آگار محیط کشت تولید می‌کنند. این زمان برای *E.coli* حدود ۲۰ دقیقه، در مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ۱۳ ساعت و در ترپونما پالیدوم که نوعی اسپیروکت است به حدود ۳۰ ساعت می‌رسد.

برای محاسبهٔ تعداد سلول باکتری پس از مدت زمان معین می‌توان از فرمول زیر استفاده کرد:

1. aerotolerant
2. facultative anaerobic
3. biomass
4. generation time
5. duplication time

$$N_t = N_o \times Z^n \rightarrow N_t = N_o \times 2^n$$

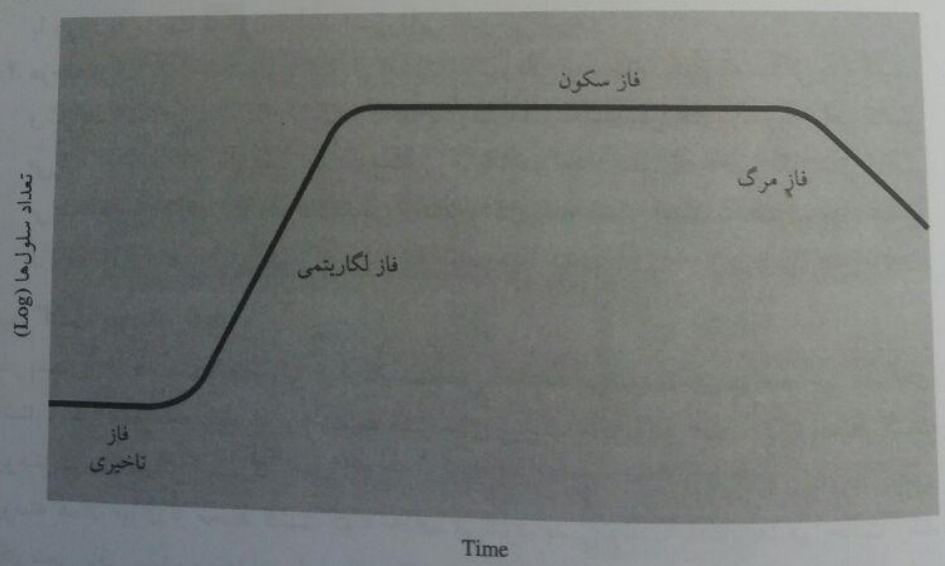
در فرمول فوق N_t تعداد سلول پس از زمان t، No تعداد سلول‌ها در زمان شروع (زمان صفر) و n تعداد تقسیم سلولی می‌باشد که در زمان t انجام می‌شود. برای محاسبه n می‌توان زمان (t) را بر زمان دو برابر شدن (G) تقسیم کرد: $n = t/G$

سیستم‌های کشت باکتریایی

الف) سیستم‌های کشت بسته[1]

هنگامی که توده‌ای از باکتری‌ها را در محیط رشد مناسب تلقیح می‌کنیم، در صورتی که این محیط‌ها ثابت بوده و ترکیبی به آن اضافه نشود، تغییرات رشد باکتری‌ها به‌صورت منحنی خاص درمی‌آید. منحنی رشد باکتریال در سیستم‌های کشت بسته را می‌توان در **چهار مرحله** نشان داد (شکل ۱-۴). این مراحل نشان دهندهٔ موقعیت فیزیولوژیک باکتری‌ها در محیط کشت و در یک زمان معین می‌باشند:

۱. مرحله رشد تاخیری:[2] هنگامی که باکتری‌ها به یک محیط کشت بسته جدید منتقل می‌شوند، در ابتدا مرحله‌ای وجود دارد که در آن اندازه سلول افزایش می‌یابد ولی تقسیم سلولی رخ نمی‌دهد. در این مرحله باکتری‌ها ماکرومولکول‌ها و متابولیت‌های لازم برای تقسیم سلول را سنتز کرده و سلول باکتری به بزرگترین اندازه خود می‌رسد. در این مرحله باکتری‌ها مقاومت بیشتری



شکل ۱-۴ منحنی رشد باکتریال در یک سیستم کشت بسته

1. closed system
2. lag phase

نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی (آنتی‌بیوتیک‌ها و...) دارند. در صورتی که باکتری‌های مرحله رشد لگاریتمی به یک محیط کشت مشابه، تحت شرایط یکسان رشد، تلقیح شوند، مرحله رشد تاخیری مشاهده نمی‌شود. مرحله رشد تاخیری در زمانی که باکتری‌ها از یک محیط کشت غنی به یک محیط کشت فقیر منتقل می‌شوند نیز مشاهده می‌شود.

۲. **مرحله رشد تصاعدی:**[1] در مرحله رشد تصاعدی یا لگاریتمی، سلول‌ها در حالت رشد ثابت هستند که در دوره‌های زمانی معین تقسیم و دو برابر می‌شوند و سرعت تقسیم آنها به ماهیت ذاتی ارگانیسم و شرایط محیطی بستگی دارد. در مرحله لگاریتمی، سلول‌ها در فعال‌ترین فرم خود بوده و نسبت به مواد شیمیایی مثل آنتی‌بیوتیک‌ها بیشترین **حساسیت** را دارند. مرحله رشد لگاریتمی تا زمانی ادامه پیدا می‌کند که یک یا چند ماده مورد نیاز در محیط تمام شود و یا اینکه محصولات متابولیک توکسیک انباشته شده و مانع رشد گردد. برای باکتری‌های هوازی معمولاً **اکسیژن** عامل محدودکننده است. در باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری، رشد در حضور اکسیژن معمولاً سریع‌تر از عدم وجود اکسیژن می‌باشد زیرا در شرایط اکسیداتیو انرژی بیشتری طی فسفریلاسیون اکسیداتیو در مقایسه با شرایط تخمیری تولید می‌شود.

۳. **مرحله سکون:**[2] پیشروی رشد در محیط کشت بسته، موجب تجمع مواد زائد، کاهش مواد غذایی، تغییر در pH و سایر فاکتورهای ناشناخته می‌شود که بر روی میزان رشد باکتری‌ها تأثیر می‌گذارد. در جریان مرحلهٔ سکون رشد، تعداد ارگانیسم‌های زندهٔ ثابت باقی می‌ماند. در باکتری‌های اسپورزا با ورود به مرحلهٔ سکون فرآیند **اسپورزایی** آغاز می‌شود.

۴. **مرحله مرگ**[3] **یا مرحله کاهش:**[4] پس از گذشت مدت زمانی از مرحله سکون که بستگی به ارگانیسم و شرایط کشت فرق می‌کند، میزان مرگ افزایش می‌یابد و تعداد سلول‌های زنده به آرامی کاهش می‌یابد. مرگ سلولی نیز تابع تصاعد هندسی می‌باشد و تعداد سلول‌ها به‌طور **لگاریتمی** کاهش می‌یابد. در برخی از موارد تعداد اندکی از سلول‌های زنده ممکن است با مصرف مواد غذایی آزاد شده از سلول‌هایی که مرده و لیز شده‌اند، رشد کنند.

ب) کشت پیوسته[5] **یا باز**

در بسیاری از کارهای تحقیقاتی از ارگانیسم‌هایی استفاده می‌شود که در مرحله رشد تصاعدی باشند و این عمل به وسیله کاربرد محیط کشت‌های پیوسته امکان‌پذیر است. یک محیط کشت پیوسته سیستم سیالی است که حجم ثابتی از محیط کشت تازه به آن اضافه شده و هم‌زمان به‌طور پیوسته همان میزان از محیط کشت کهنه حذف می‌شود، بدین‌ترتیب باکتری‌ها در حالت رشد لگاریتمی باقی مانده و تعداد سلول زنده ثابت می‌ماند.

1. exponential phase
2. stationary phase
3. death phase
4. decline phase
5. continuous culture

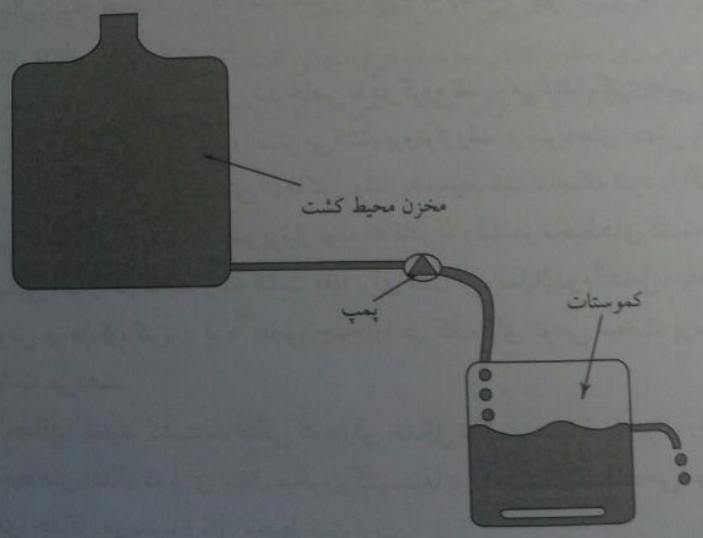
کموستات[1] معمول‌ترین نوع از محیط کشت‌های مداوم می‌باشد. در این دستگاه محیط کشت تازه به یک میزان مشخص و ثابت، از طریق لوله‌ای وارد شده و به‌طور هم‌زمان حجم برابری از سوسپانسیون کهنه باکتری از طرف دیگر خارج می‌شود. (شکل ۲-۴) دو عامل در کنترل کموستات به‌کار گرفته می‌شود: سرعت جریان مواد غذایی و غلظت مواد غذایی محدودکننده.

میزان اضافه شدن محیط کشت تازه (f) در لوله کشت نسبت به مقدار حجم کشت (V)، تحت عنوان **سرعت رقیق‌سازی**[2] (D) شناخته می‌شود: $D = f / V$

ثابت سرعت رشد باکتری‌ها را با K نشان می‌دهند. در دستگاه کموستات سرعت رقیق‌سازی (D) دقیقاً با ثابت سرعت رشد برابر است، یعنی: $D=K$

بالاترین میزان تراکم باکتری‌ها وقتی است که $D=0$ باشد، یعنی هیچ کشت تازه‌ای اضافه نشود. در این حالت کموستات در حقیقت به یک **کشت بسته** تبدیل می‌شود. هنگامی که سرعت رقیق‌سازی (D) افزایش یابد و بیشتر از میزان ثابت رشد باکتری باشد ($D>K$)، کاهش تدریجی در تراکم باکتری‌ها و افزایش تدریجی مواد غذایی ایجاد می‌شود. در صورتی که سرعت رقیق‌سازی (D) کمتر از ثابت رشد باکتری (K) باشد ($D<K$)، تراکم باکتری به‌طور تدریجی افزایش یافته و این عامل موجب کاهش میزان ماده غذایی می‌شود.

دستگاه دیگری که برای کشت پیوسته یا کشت باز به‌کار می‌رود، **توربیدوستات**[3] است که



شکل ۲-۴ سیستم کموستات؛ محیط کشت تازه از یک طرف وارد شده و محیط کهنه از طرف دیگر خارج می‌شود.

1. chemostate
2. dilution rate
3. turbidostate

ساده‌ترین محیط کشت مداوم می‌شود. این دستگاه به باکتری‌ها اجازه می‌دهد که با سرعت حداکثر، رشد کنند. در کموستات برخلاف توربیدوستات باکتری در سرعت پایین‌تر از حداکثر، رشد می‌کند که به وسیله سرعت رقیق‌سازی (D) تعیین می‌شود.

محیط‌های کشت

کشت خالص، کشتی است که فقط حاوی یک نوع میکروارگانیسم خاص باشد. واژه **کلون**[1] در میکروبیولوژی به‌عنوان مترادف برای کشت خالص به‌کار می‌رود. یک کلون مجموعه‌ای از سلول‌ها است که همگی از یک سلول منفرد ایجاد شده باشند. برای به‌دست آوردن کشت خالص همچنین بایستی از ورود میکروارگانیسم‌های آلوده کننده جلوگیری کرد. روش‌هایی که برای جلوگیری از آلودگی محیط کشت میکروبی به‌کار می‌رود را **تکنیک آسپتیک**[2] گویند. به‌طور کلی مواد غذایی مورد نیاز همه ارگانیسم‌ها یکسان هستند ولی برخی از ارگانیسم‌ها نیازمند مواد غذایی خاص می‌باشند. دو کلاس از محیط‌های کشت در میکروبیولوژی استفاده می‌شوند: محیط‌های کشت **سنتتیک** که ترکیب شیمیایی آن معین می‌باشد و محیط‌های کشت **پیچیده** که ترکیب اجزای تشکیل دهنده آن دقیقاً معلوم نمی‌باشد. محیط‌های کشت مایع را می‌توان به وسیلهٔ افزودن مواد ژل‌ساز به حالت نیمه جامد درآورد. **آگار** معمول‌ترین ماده ژل‌ساز می‌باشد که از انواع خاصی از جلبک‌های دریایی به‌دست می‌آید.

باکتری‌ها را براساس نیاز به فاکتور رشد خاص به دو گروه تقسیم می‌کنند: باکتری‌هایی که فاکتور رشد خاص مورد نیاز برای رشدشان را سنتز می‌کنند، **پروتوتروف**[3] و سویه‌های جهش یافته‌ای که قادر به سنتز فاکتور رشد نبوده و بایستی آن فاکتور رشد به محیط کشت اضافه شود را **اگزوتروف**[4] گویند. برخی از میکروارگانیسم‌ها آنقدر پرنیاز بوده که قادر به رشد در محیط‌های کشت مصنوعی نیستند و بایستی آنها را در محیط زنده کشت داد؛ برای مثال ترپونماپالیدوم[5] عامل سیفلیس را در بیضه خرگوش و مایکوباکتریوم لپره[6] عامل جذام را در کف پای نوعی سخت پوست به نام آرمادیلو کشت می‌دهند.

محیط حداقل:[7] محیط کشت ساختگی که دارای حداقل ترکیبات مورد نیاز برای رشد باکتری می‌باشد. محیط‌های انتقال که برای انتقال میکروارگانیسم‌ها به آزمایشگاه استفاده می‌شود نمونه‌ای از محیط‌های حداقل می‌باشند؛ مثل محیط استوارت.

---

1. clone
2. aseptic technique
3. prototroph
4. auxotroph
5. treponema palidum
6. mycobacterium lepre
7. minimum medium

محیط تمایزی یا افتراقی:[1] این محیط دارای معرف‌هایی می‌باشد که سبب تمایز یک باکتری یا دسته‌ای از باکتری‌ها از سایر باکتری‌ها می‌شود مثلاً محیط **EMB** نوعی محیط افتراقی و انتخابی می‌باشد. این محیط که برای جداسازی باکتری‌های گرم منفی روده‌ای استفاده می‌شود، حاوی متیلن بلو بوده که رشد باکتری‌های گرم مثبت را مهار می‌کند (انتخابی)، همچنین این محیط حاوی قندهای لاکتوزوسوکروز بوده و فاقد گلوکز می‌باشد، پس کلون‌های باکتری‌های تخمیرکننده لاکتوز مثل E.coli و انتروباکتر در اثر تولید اسید، تغییر رنگ داده و از کلونی باکتری‌های غیرتخمیری لاکتوز مثل سالمونلا و شیگلا قابل تمایز هستند.

محیط انتخابی:[2] در این محیط کشت، ترکیباتی وجود دارد که به‌طور انتخابی رشد میکروارگانیسم-های خاص را انتخاب می‌کند ولی سایر میکروارگانیسم‌ها را مهار می‌کند. عامل انتخابی می‌تواند pH، رنگ‌های خاص، نمک و یا آنتی‌بیوتیکی خاص باشد.

محیط‌های غنی‌کننده:[3] برخی از باکتری‌ها به تعداد خیلی کمی در برخی محیط‌های طبیعی وجود دارند به‌طوری که در اغلب موارد، جداسازی آنها از جمعیت میکروارگانیسم‌ها مشکل می‌باشد. بنابراین اگر یک سوبسترای مناسب و سایر شرایط برای این میکروارگانیسم‌ها فراهم شود طوری که برای سایر میکروارگانیسم‌های مخلوط، نامناسب باشد، میکروارگانیسم‌های موردنظر رشد کرده و غالب می‌شوند؛ به این محیط‌ها که دارای ترکیباتی است که اجازه رشد به گونه خاص یا گونه‌های باکتریایی را می‌دهد، محیط کشت سلنیت-F (Selenit – F) که برای تقویت و غنی‌سازی سالمونلا در نمونه مدفوع اسهالی استفاده می‌شود و محیط آب پپتونه قلیایی (Alkalin peptone water) که برای انتقال و غنی‌سازی ویبریوکلرا در نمونه اسهال کاربرد دارد.

صفحه ۸۰ سفید

ص ۸۱

۵ ژنتیک میکروبی

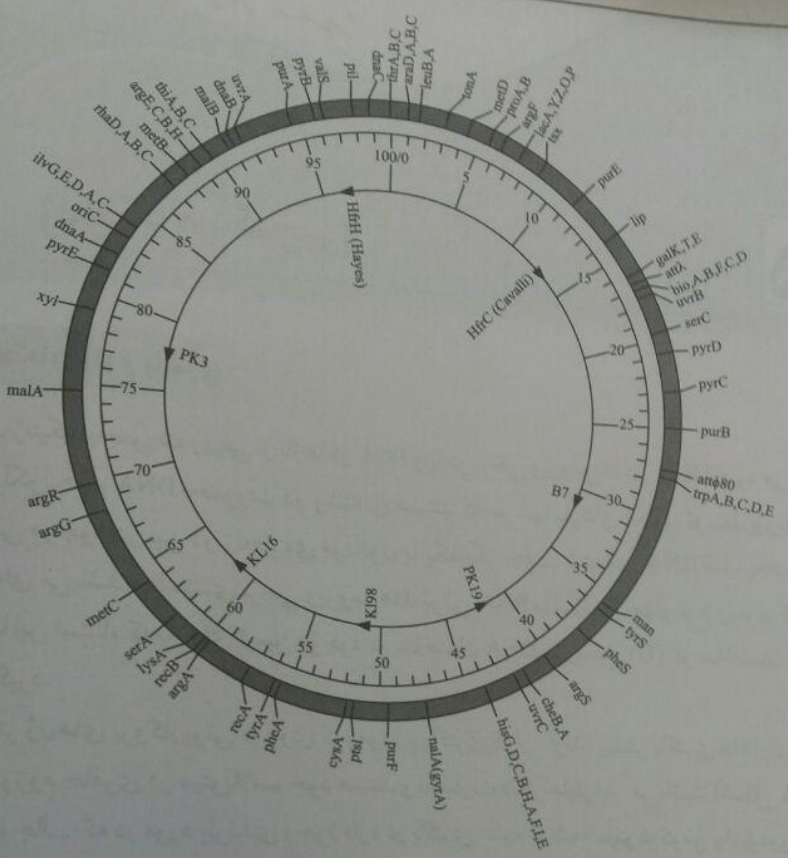
ساختمان ژنوم باکتری

اطلاعات ژنتیکی به‌صورت ردیفی از بازها در **DNA** و یا در برخی ویروس‌ها در **RNA** ذخیره می‌شود. بیشتر مولکول‌های DNA به‌صورت دو رشته‌ای هستند که در آنها بازهای مکمل توسط پیوندهای هیدروژنی موجود در بین دو زنجیره‌ی مولکول با یکدیگر جفت شده‌اند. RNA غالباً به‌صورت **تک رشته‌ای** می‌باشد (به‌استثنای برخی ویروس‌ها)، توالی RNA متشکل از چهار نوع ریبونوکلوئید می‌باشد با این استثناء که به جای تیمین موجود در ساختمان DNA، یوراسیل (U) در ساختمان RNA قرار می‌گیرد.

بیشتر ژن‌های پروکاریوتی بر روی کروموزوم باکتری قرار دارند. بیشتر باکتری‌ها دارای یک کپی کروموزوم حلقوی در سیتوپلاسم خود هستند و به‌عبارت دیگر **هاپلوئید**[1] می‌باشند (شکل ۱-۵). یک استثناء جالب که در مورد پلوئیدی وجود دارد در باکتری مقاوم به اشعهٔ **دایتوکوکوس رادیودورانس**[2] دیده می‌شود. این باکتری حتی در فاز سکون رشد نیز دارای ۴ کروموزوم یکسان می‌باشد. بدین‌ترتیب اگر یک کروموزوم در اثر اشعه تخریب شود، کروموزوم دیگر قادر است وظیفه آن را انجام دهد. مثال دیگری که در این‌باره وجود دارد **رودوباکتراسفروئیدس**[3] است؛ این باکتری دارای دو کروموزم حلقوی غیریکسان می‌باشد. بیشتر ژنوم‌های پروکاریوتی از یک مولکول DNA دورشته‌ای حلقوی تشکیل شده است. علاوه‌بر DNA کروموزمی، باکتری‌ها ممکن است دارای عناصر DNA خارج کروموزمی مثل **پلاسمید** و یا **ترانسپوزون‌ها** نیز باشند. بخشی از DNA که حاوی اطلاعات لازم برای همانندسازی خودشان می‌باشند را **رپلیکون**[4] گویند، مثلاً کروموزوم باکتری را یک رپلیکون می‌نامند. در برخی از باکتری‌ها کروموزوم‌های خطی (مشابه یوکاریوت‌ها) مشاهده شده است؛ از این باکتری‌ها می‌توان اعضای جنس **استرپتومیسس** مثل استرپتومیسس کولی‌کولور،[5] استرپتومیسس لیویدونس[6] و اعضای جنس **بورلیا** مثل بورلیا بورگدورفری را نام برد.

---

1. haploeid
2. deinococus radiodurans
3. rhodobacter sphaeroides
4. replicon
5. Streptoyces Coeicolor
6. Streptomyces Lividons



شکل ۱-۵ طرح شماتیکی از ساختمان ژنوم در باکتری *E.coli*

پروتئین‌های اتصالی DNA

اتصال یافتن پروتئین‌ها تاثیرات عمیقی بر روی ساختمان DNA ایجاد می‌کند. پیچیدن DNA به دور پروتئین‌ها موجب متراکم شدن DNA برای قرارگیری در داخل سلول می‌شود. در سلول‌های یوکاریوت، مولکول DNA در اطراف پروتئین‌های **هیستونی** می‌پیچد و این پیچش مسئول مارپیچ مضاعف منفی در DNA یوکاریوتی است. در اکثر **آرکئا باکتری‌ها** (متانوژن‌ها و اکسترموهالوفیل‌ها) نیز DNA با پروتئین‌های هیستونی متصل می‌باشند در حالی که در یوباکتری‌ها مولکول DNA با مارپیچ مضاعف با پروتئین‌های **شبه هیستونی**[1] مثل HU و H-NS پیوند یافته‌اند. برخی از پروتئین‌های آنزیمی قادرند ساختمان‌های مارپیچ مضاعف DNA را تغییر دهند. مهمترین دسته از آنزیم‌هایی که ساختار DNA را

1. histone-like proteins

@pdf_jozveh

توپوایزومرازهای[1] DNA هستند. این آنزیم‌ها که عدد چرخشی DNA را تغییر می‌دهند، قادرند چرخش‌هایی را در مارپیچ DNA القاء نموده و یا تعدادی از چرخش‌ها را حذف کنند. دو نوع از توپوایزومرازها وجود دارند: توپوایزومرازهای **نوع I** که یک رشته از مارپیچ DNA را می‌شکنند و توپوایزومرازهای **نوع II** (از قبیل DNA ژیراز) که هر دو رشته DNA را می‌شکنند. DNA ژیراز[2] یک هدف فیزیولوژیک برای دو گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها است. گروه اول، آنتی‌بیوتیک‌های **کوئینولون**[3] هستند که با اتصال به زیرواحدهای آلفا از آنزیم DNA ژیراز آن را مهار می‌کنند؛ از این گروه می‌توان نالیدیکسیک اسید، نورفلوکساسین و سیپروفلوکساسین را مثال زد. گروه دوم از مهارکننده‌های DNA ژیراز **نووبیوسین**[4] است که به‌طور رقابتی، اتصال یافتن ATP به DNA ژیراز را مهار می‌کند.

همانندسازی ژنوم باکتری

تفاوت اساسی میان همانندسازی DNA در سلول پروکاریوت و سلول یوکاریوت، ارتباط همانندسازی با چرخهٔ تقسیم سلول است. همانندسازی کروموزوم در سلول‌های یوکاریوت در مرحله خاصی از چرخهٔ سلولی به نام **مرحله S** صورت می‌گیرد ولی همانندسازی کروموزوم در سلول‌های باکتری در سراسر چرخه تقسیم سلول صورت می‌گیرد. واحد مجزایی از همانندسازی که در آن یک نقطهٔ آغاز برای شروع و یک نقطه پایان برای اتمام همانندسازی وجود داشته باشد و بتواند به‌طور مستقل همانندسازی کند، رپلیکون نامیده می‌شود. کروموزوم باکتری به‌عنوان یک واحد رپلیکون منفرد محسوب می‌شود.

همانندسازی DNA باکتری مانند سلول‌های یوکاریوت به روش **نیمه حفاظتی**[5] می‌باشد و پس از باز شدن مارپیچ دورشته‌ای مادری، هر رشته به‌عنوان الگو برای همانندسازی DNA عمل می‌کند. بازهای رشته تازه سنتز شده به‌صورت مکمل با بازهای رشته قبلی در کنار هم قرار می‌گیرند. پس از پایان همانندسازی، هر مولکول DNA دختری باکتری متصل شده و موجب مهار فعالیت هلیکازی DnaB و پایان همانندسازی می‌شود.

هر مولکول DNA دختری دارای یک رشته تازه سنتز شده و یک رشته قدیمی می‌باشد. همانندسازی باکتری در سه مرحله صورت می‌گیرد:

در مرحله آغاز که همانندسازی از جایگاه **Ori** شروع می‌شود، مجموعه‌ای از پروتئین‌ها در این جایگاه اجتماع می‌یابند و موجب باز شدن DNA در این جایگاه و ایجاد دو چنگال همانندسازی می‌شوند. سپس با قرارگیری آنزیم DNA پلیمراز **III** در این جایگاه، کمپلکس پروتئینی همانندسازی

1. topoisomerases
2. DNA gyrase
3. quinolones
4. novobiocin
5. semi-conservative

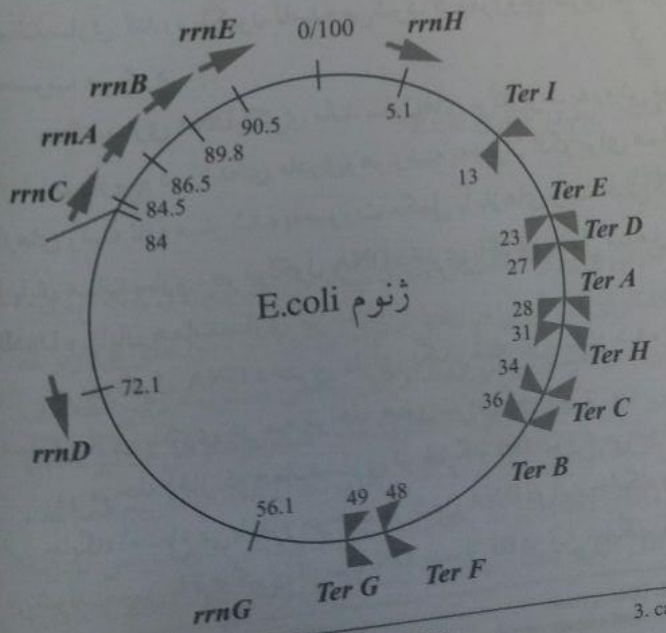
به نام **رپلیزوم**[1] در محل چنگال‌ها تشکیل می‌شود. این کمپلکس حاوی بخشی به نام **پرایموزوم**[2] می‌باشد که وظیفه سنتزپرایمر RNA برای شروع همانندسازی را بر عهده دارد. در مرحله طویل شدن همانندسازی، دو رشته در دو جهت مخالف پیشرفت کرده تا اینکه DNA سلول باکتری به میزان دو برابرافزایش یابد. بعد از اینکه دو دستگاه همانندسازی به جایگاه پایان همانندسازی در روبروی نقطه آغاز رسیدند، پروتئین **Tus** که به توالی ter در این جایگاه متصل است با جزء DnaB (هلیکاز) از کمپلکس رپلیزوم برهم‌کنش کرده و موجب مهار باز شدن DNA می‌شود. (شکل ۲-۵)

پس از پایان همانندسازی دو مولکول DNA حلقوی به‌صورت درهم رفته می‌باشند که به این حالت **کاتنان**[3] می‌گویند؛ این حالت به‌وسیله آنزیم‌های توپوایزومراز مثل ژیراز رفع شده و دو کروموزوم دختری از هم جدا می‌شوند.

محل آغاز همانندسازی در باکتری به **غشای سیتوپلاسمی** اتصال داشته و یک دستگاه شبه میتوزی در جدا شدن دو کروموزوم به دو قطب سلول باکتری نقش دارد، این دستگاه شبه میتوزی متشکل از رشته‌هایی است که از پروتئین **FtsZ** ساخته شده است که همولوگ توبولین در یوکاریوت‌ها می‌باشد.

رونویسی

بیان شدن ژن به فرآیندهای رونویسی و ترجمه بستگی دارد. در جریان رونویسی RNA پلیمراز با



شکل ۲-۵ در پایان همانندسازی، پروتئین‌هایی به نام Tus به جایگاه‌هایی به نام Ter بر روی کروموزوم

1. replisome
2. primosome
3. catenan

استفاده از DNA به‌عنوان الگو، رشته منفرد RNA را می‌سازد. سه تیپ بزرگ از RNA به نام mRNA، rRNA، tRNA و همچنین مقادیر کمی از RNAهای کوچک مولکول (sRNA) تولید می‌شود که برخی از آنها مثل **ریبوزیم‌ها**[1] نقش آنزیمی دارند. رونویسی در پروکاریوت‌ها نسبت به یوکاریوت‌ها **ساده‌تر** می‌باشد. باکتری‌ها فقط دارای یک نوع RNA پلیمراز می‌باشند. هسته آنزیم پلیمراز از چهار زیرواحد α_2BB' تشکیل شده و **آپوآنزیم** نامیده می‌شود. مجموعه آپوآنزیم و زیرواحد سیگما که انواع گوناگونی دارد، با هم آنزیم کامل یا **هولوآنزیم** را تشکیل می‌دهد. آرکئاباکتری‌ها نیز دارای یک نوع آنزیم RNA پلیمراز می‌باشند ولی RNA پلیمراز آرکئاباکتری‌ها بیشتر شبیه RNA پلیمراز II یوکاریوتی می‌باشند؛ به‌علاوه آرکئاباکتری‌ها فاقد زیرواحدهای سیگما می‌باشند.

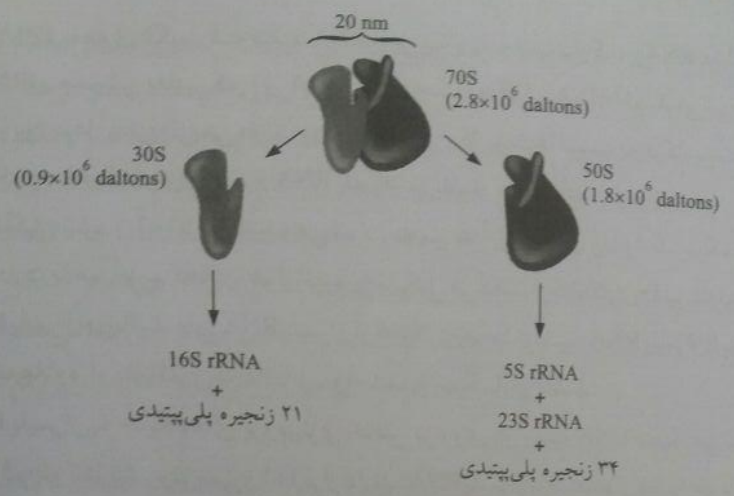
RNA پلیمراز به جایگاه‌های **پروموتری** خاص بر روی دو رشته DNA متصل می‌شود که در بالادست اولین نوکلئوتید رونویسی (۱+) قرار دارند. RNA پلیمراز با استفاده از زیرواحدهای **سیگما** توالی‌های پروموتری ژن‌های خاص را شناسایی می‌کنند. علاوه‌بر زیرواحد غالب سیگما (σ^{70})، چندین زیرواحد فرعی سیگما برای نسخه‌برداری تعدادی از ژن‌های تخصص یافته مثل ژن‌های شوک حرارتی، ژن‌های تثبیت نیتروژن و یا در هنگام اسپورلاسیون وجود دارند. یک پروموتر معمول باکتریال دارای دو ناحیه تماس بین مولکول DNA و آنزیم پلیمراز می‌باشد. یک ناحیه تماس در باز ۱۰- قرار دارد (**جعبه پریبنو**)[2] که توالی آن 5′TATAAT3′ می‌باشد و دیگری که در **۳۵**- قرار گرفته و توالی آن 5′TTGACA3′ می‌باشد. پروموتر **آرکئاباکتری‌ها** متفاوت از یوباکتری‌ها بوده و دارای یک توالی به نام جعبه TATA در حدود ۲۵- می‌باشد. خاتمه[3] رونویسی در پروکاریوت‌ها به دو صورت مستقل از فاکتور Rho و یا وابسته به Rho می‌باشد. هگزامر Rho یک هلیکاز RNA-DNA می‌باشد که قادر است دو رشته RNA-DNA را با کمک انرژی ATP از هم باز کند.

توالی‌هایی از DNA که **اینترون**[4] نامیده می‌شوند، پس از رونویس در طی فرآیند پیرایش یا اسپلایسینگ[5] از RNA اولیه حذف می‌شوند. وجود اینترون در باکتری‌ها نادر می‌باشد (مثلاً در جنس آگروباکتریوم وجود دارد) ولی در یوکاریوت‌ها و آرکئاباکتری‌ها وجود دارد.

ترجمه

ترجمه فرآیندی است که طی آن کدون‌های سه‌تایی نوکلئوتیدی در مولکول mRNA برای سنتز توالی آمینواسیدی در مولکول‌های پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرند. ریبوزوم‌ها جایگاه اصلی برای سنتز پروتئین هستند؛ در پروکاریوت‌ها ریبوزوم از نوع **70S** می‌باشد که از دو زیرواحد

1. rybozime
2. pribnow box
3. termination
4. intron
5. splicing



شکل ۳-۵ اجزای تشکیل دهنده ریبوزوم در باکتری‌ها

50S و 30S تشکیل یافته است. زیرواحد 50S از ۳۴ پروتئین و دو مولکول rRNA (23S و 5S) و زیرواحد 30S از ۲۱ پروتئین و یک مولکول rRNA (16S) تشکیل یافته است (شکل ۳-۵). علاوه‌بر ریبوزوم چندین مولکول دیگر مثل tRNA و آنزیم‌های آمینواسیل tRNA سنتتازها و غیره نیز در ترجمه نقش دارند. برخلاف یوکاریوت‌ها که فرآیند رونویسی و ترجمه هم‌زمان نبوده و در بخش‌های مختلفی از سلول (هسته و سیتوپلاسم) صورت می‌گیرد، در باکتری‌ها فرآیند رونویسی و ترجمه هم‌زمان است به‌طوری که **هم‌زمان** با رونویسی، ریبوزوم‌ها بر روی mRNA قرار گرفته و ترجمه را انجام می‌دهند. محل اتصال اولیه ریبوزوم در داخل مولکول mRNA ناحیه‌ای با ۹ زوج باز است که به‌عنوان جعبه **شاین-دالگارنو**[1] شناخته شده و مکمل بخش انتهای 3′ مولکول 16S rRNA در جزء کوچک ریبوزوم می‌باشد. اولین آمینواسید در زنجیره پروتئین در باکتری‌ها **N- فورمیل متیونین** می‌باشد؛ در حالی که در یوکاریوت‌ها و آرکئاباکتری‌ها آمینواسید اولیه متیونین می‌باشد. تا خوردن صحیح پروتئین در باکتری‌ها به کمک پروتئین‌هایی به نام **چاپرون**[2] تسهیل می‌شود. دو چاپرون مهم در E-coli، GroEL و GroES می‌باشند. پروتئین‌های مشابهی با چاپرون‌ها در سایر باکتری‌ها و آرکئاها وجود دارد.

تنظیم بیان ژن در باکتری‌ها

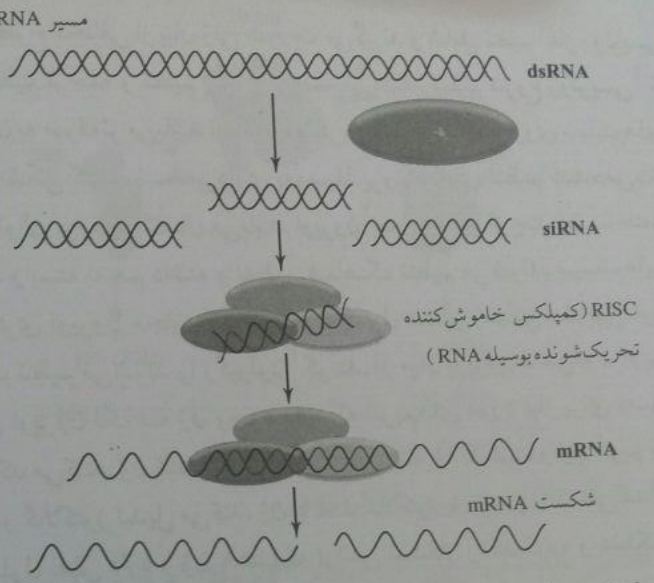
باکتری‌ها به‌منظور کنترل بیان چندین هزار ژن از انواعی از مکانیسم‌های تنظیمی استفاده می‌کنند.

1. shine-dalgarnow
2. chapron

این مکانیسم‌ها در سطوح مختلفی از بیان ژنی صورت می‌گیرند و شامل تنظیم آغاز رونویسی، تنظیم خاتمه رونویسی، تنظیم ترجمه و تنظیم پس از ترجمه می‌باشد. تنظیم **شروع رونویسی**[1] که از نظر اقتصاد سلولی مقرون به صرفه‌تر می‌باشد احتمالاً مهمترین سطح کنترل بر روی سیستم‌های باکتری می‌باشد. رایج‌ترین شکل کنترل نسخه‌برداری به‌وسیلهٔ پروتئین‌های تنظیم کننده می‌باشد که در نزدیک یا در درون توالی پروموتر اتصال می‌یابند. **اوپرون**[2] مجموعه‌ای از چند ژن ساختمانی است که معمولاً عملکرد وابسته به هم داشته و به‌طور هماهنگ تنظیم می‌شوند. سیستم‌هایی متشکل از دو یا تعداد بیشتری اوپرون مجاور هم که تحت کنترل عنصر ژنتیکی مشابهی قرار دارند و به‌صورت هماهنگ تنظیم می‌شوند را **رگیولون**[3] گویند. از میان اوپرون‌ها می‌توان اوپرون Lac و Trp را مثال زد. در اوپرون لک سه ژن وجود دارد که آنزیم‌های مورد نیاز برای مصرف **لاکتوز** در غیاب گلوکز را کد می‌کنند. ژن LacZ آنزیم بتا- گالاکتوزیداز را کد کرده و این آنزیم دی‌ساکارید لاکتوز را به گلوکز و گالاکتوز تبدیل می‌کند، ژن LacY، گالاکتوزید پرمئاز را کد می‌کند که در انتقال لاکتوز به داخل سلول نقش دارد و ژن LacA که ترانس استیلاز را کد کرده و عملکرد این آنزیم هنوز مشخص نمی‌باشد. وجود گلوکز در محیط موجب تولید پروتئین مهارکننده یا رپرسور شده که این پروتئین با اتصال به توالی **اوپراتور**[4] رونویسی را مهار می‌کند. اوپرون Trp دارای پنج ژن ساختمانی می‌باشد که آنزیم‌های مورد نیاز برای بیوسنتز اسید آمینه **تریپتوفان** را کد می‌کنند. بیان این اوپرون وابسته به میزان تریپتوفان در دسترس سلول می‌باشد؛ زمانی که تریپتوفان به اندازه کافی وجود ندارد، این اوپرون روشن شده و تریپتوفان مورد نیاز برای پروتئین‌سازی سنتز می‌شود. در زمانی که تریپتوفان در محیط وجود دارد، این اسید آمینه با اتصال به پروتئین مهارکننده (که به‌صورت غیرفعال در سلول وجود داشته و توانایی اتصال به اپراتور را ندارد)، آن را به مهارکننده فعال تبدیل کرده و سپس این مهارکننده فعال به اپراتور اوپرون Trp متصل شده و مانع رونویسی آن می‌شود؛ این شیوه تنظیم را کنترل منفی[5] می‌نامند. اوپرون Trp به شیوه دیگری نیز تنظیم می‌شود، که **تنظیم کاهشی**[6] گفته می‌شود و طی آن از ادامه و خاتمه رونویسی ممانعت می‌شود. این مکانیسم که در تنظیم حداقل ۵ اوپرون بیوسنتز اسیدهای آمینه درگیر است، براساس هم‌زمانی نسخه‌برداری و ترجمه در باکتری‌ها استوار می‌باشد.

مولکول‌های کوچک RNA یا **sRNA**، RNAهایی هستند که قادرند در کنترل بیان ژن‌های خاص نقش داشته باشند. مکانیسم تأثیر sRNAها با هم متفاوت است؛ برای مثال **RNA آنتی‌سنس** که نوعی sRNA می‌باشد، ممکن است که با تأثیر بر mRNA و تجزیهٔ سریع آن و یا اینکه به‌وسیلهٔ بلوکه کردن

1. transcription initiation
2. operon
3. regulon
4. operator
5. negative control
6. attenuation



شکل ۴-۵ چگونگی عملکرد siRNA بر روی mRNA و تجزیه آن

جایگاه اتصال اولیه ریبوزوم (توالی شاین دالگارنو) مانع ترجمه شود. این مکانیسم تداخل RNA[1] یا RNAi گفته می‌شود و RNAهای کوچک درگیر در این مکانیسم siRNA و یا microRNA گفته می‌شود. (شکل ۴-۵)

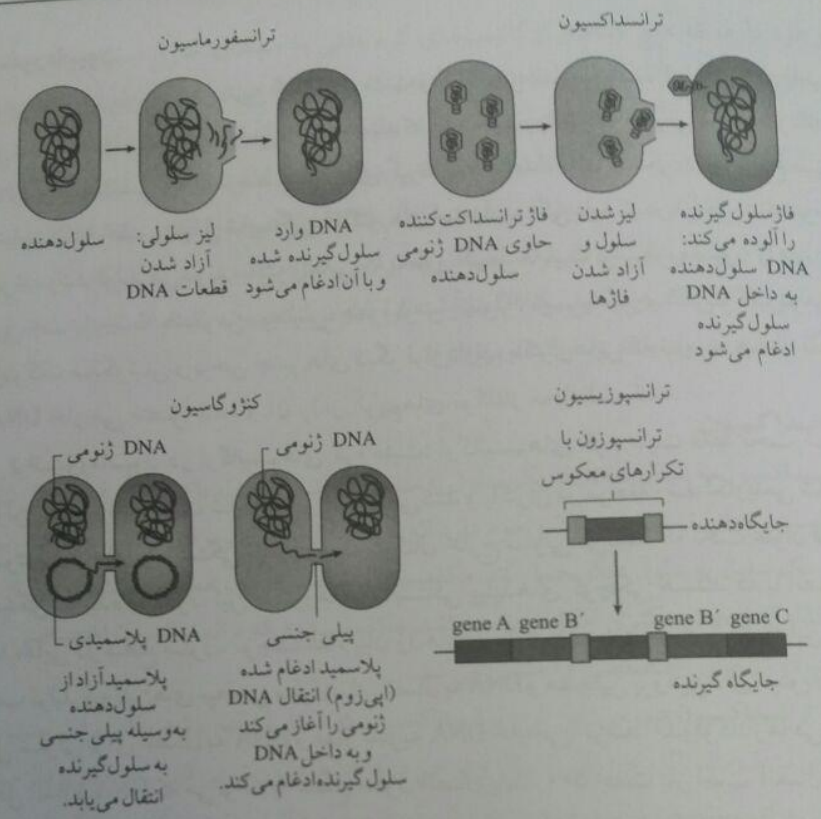
به‌علاوه تنظیم رونویسی از طریق تعویض فاکتورهای سیگمای مختلف در شرایط مختلف سلول نیز انجام می‌شود؛ برای مثال ژن‌های تثبیت نیتروژن به‌وسیله RNA پلیمراز همراه با فاکتور سیگما ۵۴ (σ^{54}) کنترل می‌شود و یا اینکه ایجاد اسپور طی اسپورولاسیون با فعالیت مربوط به‌وسیله فاکتورهای سیگمای جداگانه تنظیم می‌شود.

تنظیم پس از ترجمه از طریق تخریب پروتئین به‌وسیله پروتئازهای[2] داخل سلولی به انجام می‌رسد. مثلاً در پاسخ شوک حرارتی، پروتئین‌هایی که غیرطبیعی بوده و یا در اثر حرارت ساختمان فضایی خود را از دست داده‌اند، به‌وسیله پروتئازهای داخل سلول تخریب می‌شوند.

مکانیسم‌های انتقال اطلاعات ژنتیکی

برای تبادل عرضی اطلاعات ژنتیکی بین باکتری‌ها سه مسیر عمده وجود دارد؛ (شکل ۵-۵)

1. RNA interference
2. proteases



شکل ۵-۵ انواع مکانیسم‌های انتقال اطلاعات ژنتیکی در بین باکتری‌ها

ترانسفورماسیون،[1] که به مفهوم برداشت و ادغام DNA برهنه به داخل ژنوم باکتری است و فقط در بعضی از گونه‌های باکتری اتفاق می‌افتد. **ترانسداکسیون،**[2] فرآیندی است که در آن باکتریوفاژ به‌عنوان ناقل برای انتقال ژن عمل نموده و ژن‌های باکتری را از یک سلول به سلول دیگر منتقل می‌کند. فرآیند **کنژوگاسیون**[3] تخصصی‌ترین مکانیسم تبادل ژن در باکتری‌ها است. در این فرآیند یک سلول باکتری مستقیماً بخشی ازاطلاعات ژنتیکی را به گیرنده مناسب انتقال می‌دهد. در سه مسیر فوق، انتقال ژن، یک طرفه بوده و مولکول DNA فقط از سلول‌دهنده به سلول گیرنده منتقل می‌شود و DNA منتقل شده به‌وسیله فرآیند **کراس‌اور**[4] با ژنوم سلول میزبان ادغام می‌شود. سلول گیرنده که ممکن است برای برخی از ژن‌های منتقل شده، دیپلوئید شود را **مرودیپلوئید** یا **دیپلوئید جزئی**[5] می‌گویند.

1. transformation
2. transduction
3. conjugation
4. crossing over
5. partial diploeid

ترانسفورماسیون

ترانسفورماسیون طبیعی در چندین گونه گرم مثبت و گرم منفی اتفاق می‌افتد. گونه‌هایی که قابلیت انجام ترانسفورماسیون ندارند را می‌توان به‌وسیله کلریدکلسیم و یا شوک حرارتی وادار به برداشت DNA نمود. برداشت DNA توسط سلول‌های گیرنده به **استعداد**[1] آنها بستگی دارد، وقوع طبیعی این خاصیت، به حضور **عوامل شایستگی** یا **فاکتورهای استعداد** بستگی دارد که در مراحل به خصوصی از چرخه رشد تولید می‌شوند. باکتری‌هایی که به‌طور طبیعی قابلیت ترانسفورماسیون را دارند در چندین جنس از جمله باسیلوس سوبتلیس، هموفیلوس آنفلونزا، نایسریا گنوره، استرپتوکک پنومونیه، استرپتوکک سانگوئیس و برخی جنس‌های دیگر قرار دارند. باکتری‌هایی که شایسته هستند قادرند به DNA خارجی متصل شده و آن را از آنزیم‌های نوکلئاز محافظت کنند.

ترانسفورماسیون در ارگانیسم‌های گرم مثبت: ارگانیسم‌های گرم مثبت فقط تحت شرایط فیزیولوژیک ویژه‌ای حالت شایستگی را کسب می‌کنند و باکتری در مرحله رشد لگاریتمی شایسته می‌شود. بروز حالت شایستگی ناشی از یک سیگنال خارج سلولی می‌باشد که تحت عنوان **فاکتور شایستگی**[2] نامیده می‌شود. این فاکتورهای شایستگی پپتیدهای کوچکی هستند که با اتصال به گیرنده‌هایی در سطح سلول، موجب القاء بیان ژن‌های بسیاری در درون سلول شده که این ژن‌ها موجب تولید پروتئین‌های سطحی سلول برای اتصال به DNA و همچنین پروتئین‌های سیتوپلاسمی داخل سلولی برای اتصال به DNA و مهار تجزیه DNA خارجی، توسط اندونوکلئازها می‌شوند، حداقل اندازهٔ DNA که می‌تواند به سطح سلول اتصال یابد، ۵۰۰ جفت باز است. اتصال DNA به گیرنده‌های سطحی سلول در دو مرحله صورت می‌گیرد. ابتدا اتصال DNA شل بوده، سپس به‌صورت محکم به سطح باکتری متصل می‌شود که در هر دو حالت به آنزیم‌های نوکلئازی حساس می‌باشد. برای اینکه DNA به درون سلول وارد شود یک پروتئین **ترانس‌لوکاز**[3] که فقط در سلول‌های مستعد یافت می‌شود، وارد عمل می‌شود. در جریان ورود DNA به درون سلول یکی از دو رشته به وسیله نوکلئاز تخریب شده و تک رشته DNA وارد سلول می‌شود. قطعات تک رشته‌ای که وارد سلول می‌شوند توسط پروتئین‌های ویژه‌ای پوشیده می‌شوند تا از نوکلئازهای داخل سلولی در امان بمانند. این مولکول‌های DNA سپس به محل DNA باکتری گیرنده منتقل شده و با توالی‌های مشابه تشکیل هترودوبلکس داده و موجب نوترکیبی[4] در باکتری گیرنده می‌شود.

ترانسفورماسیون در ارگانیسم‌های گرم منفی: در باکتری‌های گرم منفی ترانسفورماسیون از چند جهت با ارگانیسم‌های گرم مثبت تفاوت دارد. تفاوت بزرگی از نظر مکانیسم القاء شایستگی

---

2. competence factor
3. competence
4. recombination
5. translocase

وجود دارد، که هیچ کدام از ارگانیسم‌های گرم منفی به سیگنال خارج سلول وابسته نیستند. برخی از آنها برخلاف گرم مثبت‌ها، در مرحله سکون شایسته می‌شوند و برخی مثل نایسریا گنوره فقط در حالت پیلی‌دار شایسته می‌شوند. تفاوت دوم اینکه در ارگانیسم‌های گرم منفی برای ترانسفورماسیون بایستی DNA ترتیب نوکلئوتیدی خاصی داشته و از گونه بسیار نزدیک منشأ گرفته باشد. تفاوت سوم مربوط به مکانیسم انتقال DNA خارجی است که در آنها DNA دو رشته‌ای در درون وزیکول‌هایی به نام **ترانسفورمازوم**،[1] وارد سلول می‌شود. پس از اینکه ترانسفورمازوم به محل DNA باکتری رسید، DNA دورشته‌ای خارج شده، یک رشته آن تجزیه شده و رشته دیگر با کروموزوم باکتری ترکیب می‌شود.

ترانسداکسیون

ترانسداکسیون به انتقال DNA از یک سلول به سلول گیرنده با واسطه **باکتریوفاژ**، اطلاق می‌شود. دو مکانیسم مجزای ترانسداکسیون وجود دارد که توسط آن یک باکتریوفاژ می‌تواند ژن‌های باکتری را از یک سلول به سلول دیگر حمل کند. مکانیسم اول **ترانسداکسیون عمومی**[2] است که طی آن انتقال هر کدام از ژن‌های باکتری امکان‌پذیر می‌باشد. مکانیسم دوم که **ترانسداکسیون اختصاصی**[3] نامیده می‌شود، ژن‌های اختصاصی را منتقل می‌کند.

ترانسداکسیون عمومی: این نوع ترانسداکسیون که شکل **لیتیک**[4] رشد باکتریوفاژ است توسط فاژهای لیتیک مثل T زوج (T_6, T_4, T_2) و برخی دیگر فاژها صورت می‌گیرد. هر باکتریوفاژ مکانیسم ویژه‌ای برای بسته‌بندی ژنوم خود در درون یک کپسید پروتئینی دارد و گاهی ممکن است DNA میزبان را به‌طور اشتباهی بسته‌بندی کند. مقدار DNA میزبان که می‌تواند از این طریق منتقل شود، محدود به اندازه کپسید فاژ می‌باشد. در روند چرخه لیتیک در انتهای فاز تکثیر فاژها، آنزیم‌های تخریب‌کنندهٔ دیوارهٔ باکتری مثل **لیزوزیم**[5] تولید شده که موجب تخریب دیوارهٔ باکتری و آزاد شدن فاژها می‌شود.

ترانسداکسیون اختصاصی: در برخی فاژهای معتدل مثل فاژ لامبدأ پس از اینکه DNA فاژ وارد سلول میزبان می‌شود، این DNA به‌صورت **پروفاژ**[6] وارد ژنوم میزبان شده و تحت کنترل ژنوم میزبان قرار می‌گیرد. این مکانیسم را که طی آن بیشتر ژن‌های ویروسی سرکوب می‌شود را فاز **لیزوژنی**[7] گویند که تأثیر کمی بر روی رشد باکتری دارد، ولی می‌تواند در اثر برخی تحریکات به حالت لیتیک تبدیل شود. فرآیند ترانسداکسیون اختصاصی وابسته به حالت لیزوژنی در ژنوم باکتریوفاژ است که طی

1. transformasome
2. generalized transduction
3. specialized transduction
4. lytic
5. lysosime
6. prophage
7. Lysogenic phase

آن ژن‌هایی از باکتری میزبان که در مجاورت ژنوم باکتریوفاژ هستند، به همراه آن خارج می‌شوند. اگر این فاژ حامل ژنوم میزبان وارد ارتباط لیزوژنی با باکتری دیگری شود، باکتری دوم ژن‌های میزبان قبلی را دریافت کرده و **ترانسداکت** می‌شود. فاژهای معتدل اغلب ژنوم خود را در جایگاه‌های ویژه‌ای به نام جایگاه اتصال، در کروموزوم باکتری وارد می‌کنند. باکتریوفاژهای معتدل، سلول میزبان را لیز نمی‌کنند بلکه به‌صورت پروفاژ در باکتری باقی می‌مانند.

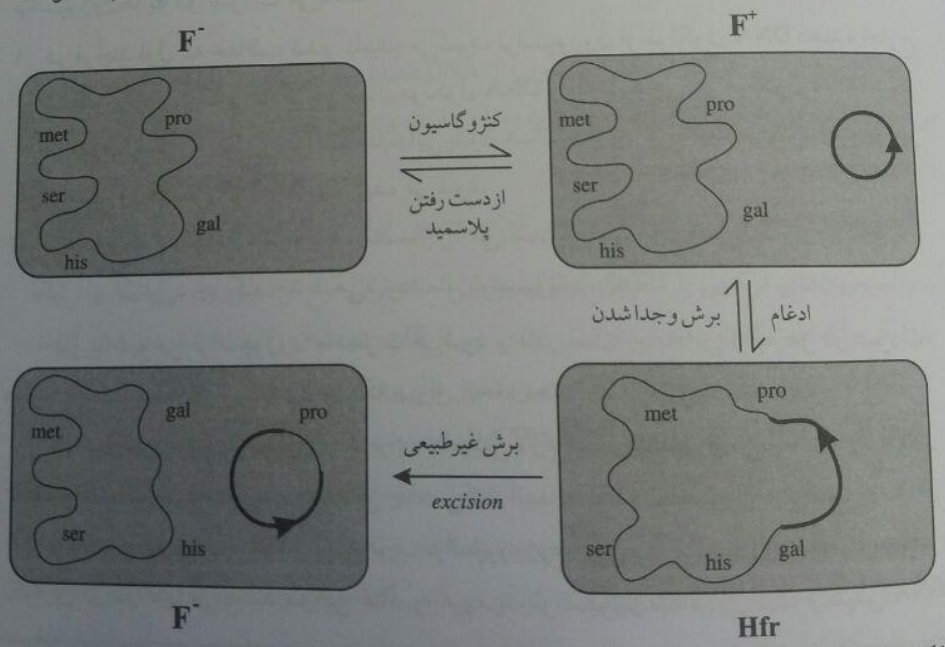
کنژوگاسیون

کنژوگاسیون یا همیوغی تخصصی‌ترین مکانیسم تبادل ژن در باکتری‌ها می‌باشد که به‌وسیلهٔ تماس مستقیم بین سلول‌های‌دهنده و گیرنده صورت می‌گیرد. پلاسمیدها عناصر ژنتیکی هستند که غالباً به وسیله کنژوگاسیون منتقل می‌شوند. پلاسمیدهایی که قادر به انتقال خود طی کنژوگاسیون می‌باشند را پلاسمیدهای **کنژوگه**[1] می‌گویند، این پلاسمیدها قادرند علاوه‌بر انتقال خود، پلاسمیدهای غیرقابل انتقال (غیرکنژوگه) و یا بخش‌هایی از کروموزوم را برای انتقال به حرکت درآورند. ژن‌های **tra** که توسط پلاسمیدهای کنژوگه حمل می‌شوند، اطلاعات ژنتیکی لازم برای انتقال را رمزگذاری می‌کنند. فاکتور F که نوعی پلاسمید کنژوگه می‌باشد در کنژوگاسیون نقش اصلی را دارد؛ باکتری‌هایی که دارای این فاکتور می‌باشند را F^+ گویند که به‌عنوان سلول‌دهنده[2] عمل می‌کند. فاکتور F خصوصیات مهمی را به سلول‌دهنده اعطاء می‌کند که عبارتند از یک پیلی جنسی و پروتئین‌های چسبنده‌ای که بر سطح سلول‌دهنده ایجاد می‌شوند. این عوامل، سلول‌گیرنده[3] (F^-) را به نزدیک سلول‌دهنده آورده و به هم متصل می‌کند و تماس این دو موجب ایجاد پلی بین دو سلول شده که رشته DNA از طریق آن به سلول‌دهنده منتقل می‌شود و سلول‌گیرنده (F^-) را به F^+ تبدیل می‌کند. در این فرآیند که همراه با همانندسازی می‌باشد، سلول‌دهنده نیز F^+ باقی می‌ماند. پلاسمید F دارای دو محل آغاز همانندسازی (ori) می‌باشد. **OriV** برای همانندسازی پلاسمید F در جریان رشد رویشی[4] و **OriT** برای همانندسازی پلاسمید در طی کنژوگاسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای انتقال DNA طی کنژوگاسیون، ابتدا توسط آنزیم خاصی یک شکستگی تک رشته‌ای در جایگاه **oriT** ایجاد می‌شود و سپس **انتهای 5′** رشته، شکسته شده به درون سلول‌گیرنده منتقل می‌شود و همانندسازی هم‌زمان در هر دو سلول انجام می‌گیرد. برای انتقال DNA و انجام همانندسازی بایستی مارپیچ DNA دهنده باز شود؛ این عمل توسط آنزیم ژیراز انجام می‌شود؛ لذا فرآیند انتقال DNA طی کنژوگاسیون توسط مهارکننده‌های ژیراز مثل **نالیدیکسیک اسید** مهار می‌شود. همانندسازی طی کنژوگاسیون

1. conjugal
2. donor cell
3. recipient cell
4. vegetative

توسط مکانیسم **حلقه چرخان**[1] صورت می‌گیرد. در صورتی که فاکتور F منتقل شده با کروموزوم باکتری ادغام شود به آن سلول **Hfr** گفته می‌شود، که موجب افزایش نوترکیبی بین باکتری‌ها می‌شوند. انتقال ژن‌ها از Hfr به F^- مشابه با انتقال ژن در F^+ می‌باشد، اما ابتدا ژن‌های کروموزومی منتقل می‌شوند و پس از آن ژن‌های پلاسمیدی انتقال می‌یابند. برای اینکه یک زنجیره کامل از کروموزوم باکتری منتقل شود حدود ۱۰۰ دقیقه زمان لازم است ولی چون زمان اتصال دو سلول باکتری طی کنژوگاسیون کوتاه می‌باشد، لذا پلاسمید F به باکتری گیرنده منتقل نخواهد شد، بنابراین از کنژوگاسیون یک سلول Hfr با یک سلول F^- همان دو سلول Hfr و F^- را خواهیم داشت. به پلاسمیدی مثل فاکتور F که داخل کروموزوم قرار می‌گیرد **اپی زوم**[2] گفته می‌شود. فاکتور F قادر است در نقاط مختلفی از کروموزوم وارد شود؛ لذا انواع مختلفی از سوش‌های Hfr شکل می‌گیرد. فاکتور F قادر است دوباره از کروموزوم میزبان جدا شود؛ در صورتی که یک قطعه از کروموزوم میزبان همراه با فاکتور F جدا شود، به آن **F′** گفته می‌شود. هنگامی که سلول F′ ماده ژنتیکی را به سلول F^- منتقل می‌کند، سلول گیرنده نیز F′ می‌شود. (شکل ۶-۵)

به وجود آمدن کنژوگاسیون و تنظیم شروع آن در اثر مولکول‌های پپتیدی است که از سلول ماده (F^-) تولید شده و بر سلول نر (F^+) تأثیر می‌گذارد. کنژوگاسیون بین سلول‌های F^+ با F^+ و Hfr



شکل ۶-۵ نقش فاکتور f در تعیین حالت‌های گیرنده و یا دهنده بودن *E.coli*

1. rolling circle
2. episome

با F^+ صورت نمی‌گیرد زیرا در سطح سلول‌های داری فاکتورهای F، پروتئین‌های مهارکننده تولید می‌شود که مانع اتصال می‌شوند.

ترانسفکشن:[1] نوع غیرمعمولی از ترانسفورماسیون، ترانسفکشن است که در آن منبع DNA دهنده، سلول باکتری دیگری نبوده بلکه یک **باکتریوفاژ** می‌باشد.

عناصر ژنتیکی متحرک

توالی‌های الحاقی[2] یا **عناصر IS** ساده‌ترین عناصر ژنتیکی متحرک هستند که حدود ۱۰۰۰ جفت باز طول داشته و دارای یک ژن می‌باشند که آنزیم **ترانسپوزاز**[3] را کد می‌کند؛ این آنزیم نقش اساسی در جابجایی عناصر IS دارند. این عناصر IS به‌طور تصادفی در مناطق مختلف ژنوم وارد شده و ممکن است موجب **جهش**[4] و غیرفعال شدن ژن‌ها شوند.

ترانسپوزون‌ها[5] دسته‌ای از عناصر ژنتیکی متحرک هستند که انواع وسیعی از ژن‌ها (مثل ژن‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها) را حمل می‌کنند. ترانسپوزون‌ها در محل‌های مختلفی از DNA هدف وارد می‌شوند، بنابراین غالباً می‌توانند موجب پیدایش **جهش** شوند. مکانیسم‌های مولکولی جابجایی ترانسپوزون‌ها به دو صورت می‌باشد:

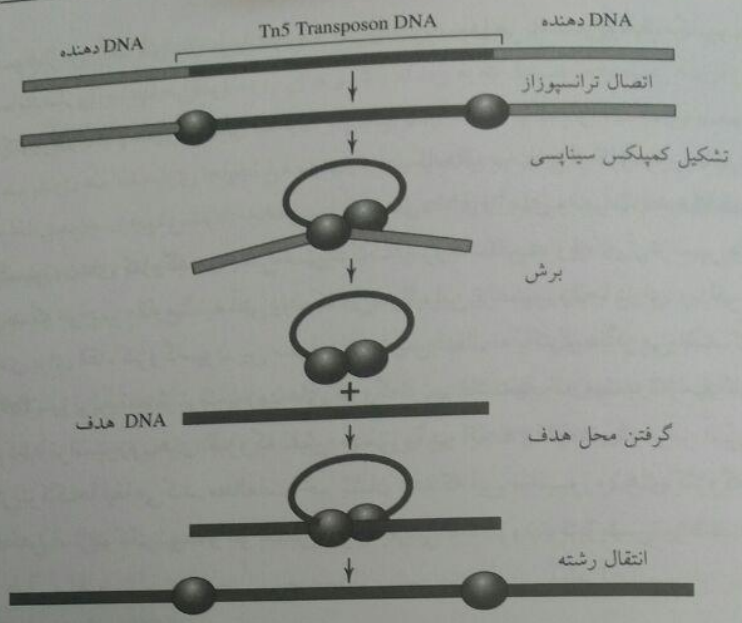
۱ در فرآیند اول که **حفاظت شده**[6] نامیده می‌شود، ترانسپوزون از مولکول DNA دهنده خارج شده و وارد جایگاهی دیگر در همان مولکول DNA و یا جایگاهی در مولکول DNA دیگر می‌شود. (شکل ۷-۵) این فرآیند، جابجایی بدون همانندسازی[7] نیز نامیده می‌شود و در برخی تراسپوزون‌ها مثل Tn5 و Tn10 دیده می‌شود.

۲ نوع دوم که جابجایی همراه با همانندسازی[8] می‌باشد، ترانسپوزون همانندسازی کرده و یک کپی از آن وارد جایگاه جدید می‌شود؛ مثل ترانسپوزون Tn3.

فاژ Mu نوعی ترانسپوزون محسوب می‌شود و قادر است جابجایی را به هر دو صورت، همراه با همانندسازی و یا بدون همانندسازی انجام دهد.

تنها پروتئین خاص ترانسپوزون که برای جابجایی لازم است، **ترانسپوزاز** می‌باشد، گرچه فاکتور IHF نیز نقش تنظیمی مهمی در جابجایی ایفاء می‌کند. اتصال IHF و ترانسپوزاز به ترانسپوزون‌ها در DNA موجب خم شدن DNA و تولید لوپ **ترانسپوزوزوم**[9] می‌شود. ترانسپوزون‌ها دارای عناصر تکراری در دو انتها می‌باشند که این عناصر به وسیله ترانسپوزاز شناسایی شده و سپس DNA

1. transfection
2. insertion sequences
3. transposase
4. mutation
5. transposones
6. conservative
7. non-replicative
8. replicative
9. transpososome



شکل ۷-۵ فرایند جابجایی بدون همانندسازی

ترانسپوزوزوم برش خورده و به‌صورت لوپ از DNA دهنده جدا می‌شود و به محل جدیدی وارد می‌شود. در برخی موارد برای ادغام شدن به محل جدید، پروتئین دیگری به نام **رزولواز**[1] نیز مورد نیاز می‌باشند.

ترانسپوزون‌های باکتریایی در چهار کلاس اصلی قرار می‌گیرند که عبارتند از:

۱. **ترانسپوزون‌های ترکیبی یا کامپوزیت ترانسپوزون:**[2] ساده‌ترین نوع ترانسپوزون می‌باشند و ارتباط نزدیکی با عناصر IS دارند به این ترتیب که دو کپی از IS در دو طرف ژن ساختمانی قرار می‌گیرند. این نوع ترانسپوزون‌ها می‌توانند ژن‌های ویرولانس مثل پروتئین‌های اتصالی، توکسین و یا مقاومت به یک یا چند آنتی‌بیوتیک را حمل کنند. Tn5 که ژن مقاومت به کانامایسین را حمل می‌کند و Tn10 که ژن مقاومت به تتراسایکلین را حمل می‌کند مثال‌هایی از کامپوزیت ترانسپوزون می‌باشند.

۲. **ترانسپوزون‌های خانواده TnA:** این ترانسپوزون‌ها فاقد عناصر IS در دو انتها می‌باشند و علاوه‌بر ترانسپوزاز آنزیم دیگری به نام **رزولواز** را نیز کد می‌کنند. Tn3 نوعی از ترانسپوزون‌های این خانواده می‌باشد که ژن بتالاکتاماز را حمل می‌کند. این ترانسپوزون مسئول مقاومت به آمپی‌سیلین در

1. resolvase
2. composite transposones

هموفیلوس آنفلوآنزا، نایسریا گنوره و انتروباکتریاسه‌ها می‌باشد و توسط مکانیسم **وابسته به همانندسازی** جابجا می‌شود.

۳. **باکتریوفاژ Mu و سایر فاژهای معتدل:** فاژ Mu قادر است هم به‌صورت همراه با همانندسازی و هم بدون همانندسازی جابجا شده و وارد جایگاه‌های مختلفی از کروموزوم باکتری می‌شود که اغلب موجب جهش شود. به همین دلیل به فاژ Mu و فاژهای مانند آن **Mutator** گفته می‌شود.

۴. **ترانسپوزون‌های کنژوگه:** در جنس استرپتوکک (**انتروکک**) دسته ویژه‌ای از ترانسپوزون‌ها وجود دارند که موجب مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌شوند. این ترانسپوزون‌ها دارای ویژگی منحصر به فردی برای القاء کنژوگاسیون بین سلول‌ها، و سپس انتقال به باکتری دیگر می‌باشند. ترانسپوزون **Tn916** بارزترین نوع از ترانسپوزون‌های کنژوگه‌ای می‌باشد که مقاومت به تتراسایکلین را منتقل می‌کند. ترانسپوزون‌های کنژوگه نقش مهمی را در ایجاد مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک در استرپتوکک‌ها ایفا می‌کند. مطالعات اخیر نشان داده که این ترانسپوزون‌های کنژوگه‌ای محدود به جنس استرپتوکک نبوده و در کلستریدیوم دیفیسل و باکتروئید فراژیلیس نیز شناسایی شده‌اند.

پلاسمیدهای باکتری

ژن‌های ضروری برای رشد باکتری برروی **کروموزوم** حمل می‌شوند و پلاسمیدها ژن‌هایی را حمل می‌کنند که در ارتباط با عملکردهای تخصصی می‌باشد. پلاسمیدها بیشترین ویژگی‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها و چند موارد از عوامل اصلی بیماریزایی را حمل می‌کنند. بسیاری از آنها از قبیل پلاسمید F که کنژوگاسیون باکتری را ممکن می‌سازد، توانایی خود انتقالی دارند. این پلاسمیدها را **کنژوگه‌ای**[1] گویند که علاوه‌بر انتقال خود می‌توانند انتقال پلاسمیدهای غیرکنژوگه‌ای را نیز ممکن سازند.

طبقه‌بندی پلاسمیدها: پلاسمیدها را براساس توانایی ویژه‌ای که به ارگانیسم اعطا می‌کنند به گروه‌های مختلفی تقسیم می‌کنند که عبارتند از:

۱. **پلاسمیدهای مقاومت**[2] **یا R:** این پلاسمیدها ژن‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و یا مقاومت در برابر فلزات سنگین را حمل می‌کنند. این پلاسمیدها دارای دو بخش عمده می‌باشند: یک فاکتور انتقال مقاومت (**RTF**) که انتقال پلاسمید را ممکن می‌سازد و دیگری ژن‌های متعددی که عامل مقاومت هستند. (**ژن‌های R**)

۲. **پلاسمیدهای تولیدکننده باکتریوسین:** برخی از باکتری‌ها پروتئین‌های کوچکی تحت عنوان

1. conjugative
2. resistance plasmids

باکتریوسین[1] را تولید می‌کنند که قادر است باکتری‌های گونه‌های نزدیک را از بین ببرد. کولیسین‌ها دسته‌ای از باکتریوسین‌ها هستند که به وسیله باکتری‌های روده‌ای تولید می‌شوند. باکتریوسین‌ها بر ارگانیسم تولید کننده خود تأثیری ندارند، زیرا این ارگانیسم‌ها پروتئینی به نام پروتئین مصونیت[2] تولید می‌کنند که آنها را در برابر باکتریوسین مصون می‌سازد.

۳. **پلاسمیدهای ویرولانس**:[3] برخی از پلاسمیدها (**پلاسمیدهای vir**) انواعی از توکسین‌های عامل بیماریزایی در باکتری‌ها را کد می‌کنند مثل توکسین‌های عامل کزاز، سیاه‌زخم و انتروتوکسین‌های Ecoli. به‌علاوه برخی از پلاسمیدهای ویرولانسی فاکتورهای چسبندگی مثل پیلی را تولید می‌کنند که در لانه گزینی و اتصال ارگانیسم اهمیت دارند.

۴. **پلاسمیدهای عامل مسیر متابولیک خاص**: برخی از پلاسمیدها مثل پلاسمیدهای پسودوموناس که به آنها پلاسمیدهای Biodegrative می‌گویند، به میزبان این امکان را می‌دهند تا موادی پیچیده مثل نفتالن، تولوئن و... را تجزیه کنند.

۵. **Sym plasmid**: تثبیت نیتروژن در باکتری‌های ریزوبیوم به یکسری از پلاسمیدها وابسته است؛ این پلاسمیدها عامل رابطه **همزیستی** یا **سیمبیوزیز**[4] بین این باکتری‌ها و گیاه میزبان می‌باشند.

سیستم دومی که برای طبقه‌بندی پلاسمیدها به‌کار می‌رود براساس **سازگارپذیری**[5] است. دو پلاسمید را در زمانی سازگار[6] می‌گویند که بتوانند به‌طور هم‌زمان در یک سلول وجود داشته و با هم به سلول‌های حاصل از تقسیم آن سلول انتقال یابند؛ در غیراین صورت ناسازگار[7] هستند. ناسازگاری پلاسمیدی اغلب در ارتباط با دو پلاسمید **مشابه** پدید می‌آید که در اثر اختلال در فرآیند همانندسازی و جدا شدن پلاسمیدها رخ می‌دهد.

باکتریوفاژها

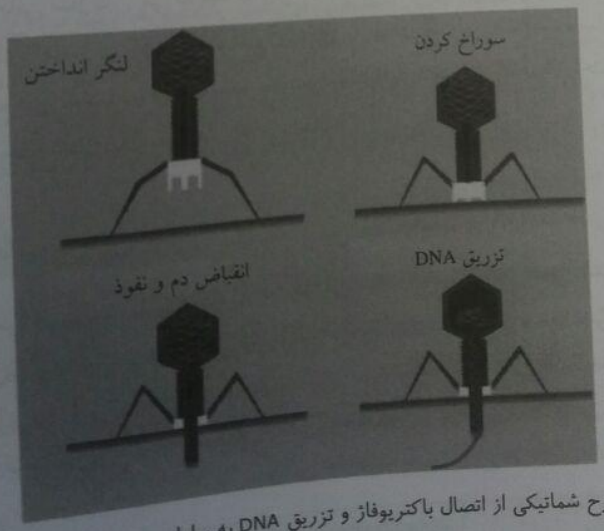
فاژها که ویروس می‌باشند بدون سلول میزبان قادر به رشد و تکثیر نمی‌باشند. تکثیر ژنوم ویروسی به انرژی متابولیک و دستگاه سنتز ماکرومولکول‌های میزبان وابسته است. ویروس‌های آلوده‌کننده باکتری‌ها را **باکتریوفاژ** می‌نامند. مولکول اسیدنوکلئیک باکتریوفاژ توسط یک پوشش پروتئینی به نام کپسید احاطه شده است و برخی از آنها دارای پوشش لیپیدی نیز می‌باشند. تنوع قابل ملاحظه‌ای در بین اسیدنوکلئیک فاژها وجود دارد، بسیاری از فاژها دارای DNA دو رشته‌ای

1. bacteriocin
2. immunity protein
3. virulence plasmids
4. symbiosis
5. compatibility
6. compatible
7. incompatible

هستند (مثل فاژهای گروه T) برخی دارای RNA تک رشته‌ای (مثل MS2) و برخی DNA تک رشته‌ای (مثل ΦX174 و M13) دارند.

برخی اوقات بازهای غیرمعمولی مثل هیدروکسی متیل سیتوزین در اسیدنوکلئیک فاژ یافت می‌شود. بسیاری از فاژها دارای ساختمان سرنگ مانند تخصص یافته‌ای هستند که به گیرنده‌های سطح سلول متصل شده و اسیدنوکلئیک فاژ را به درون سلول میزبان تزریق می‌کنند.(شکل ۸-۵) فاژها را می‌توان براساس نحوهٔ تکثیر یافتن آنها تقسیم نمود. **فاژهای لیتیک**[1] که نسخه‌های بسیاری از خود تولید می‌کنند و با کشتن و لیز سلول میزبان از آن خارج می‌شوند از این دسته از فاژها می‌توان فاژهای گروه T، ΦX174 و MS2 که میزبان آنها E.coli می‌باشد را مثال زد. **فاژهای معتدل**[2] قادرند وارد حالت پروفاژ غیرلیتیک شوند که در این حالت همانندسازی آنها همراه با همانندسازی سلول میزبان می‌باشد.

باکتری‌هایی که حامل یک باکتریوفاژ معتدل می‌باشند **لیزوژن**[3] نامیده می‌شوند. به‌طورکلی سلول‌های باکتری لیزوژن نسبت به عفونت به وسیلهٔ فاژ مشابه ایمن هستند، در حالت پروفاژی بسیاری از پروتئین‌های اختصاصی فاژ، به‌خصوص پروتئین‌های درگیر در مرحله نهایی تکثیر تولید نمی‌شوند. از بین فاژهای معتدل می‌توان باکتریوفاژ λ، PI و Mu در E.coli و فاژ P22 سالمونلا را نام برد. محل قرارگیری فاژ در کروموزوم میزبان ممکن است کاملاً اختصاصی باشد مثل فاژ



شکل ۸-۵ طرح شماتیکی از اتصال باکتریوفاژ و تزریق DNA به سلول میزبان

1. lytic phage
2. Temperate phage
3. lysogenic

لامبدا که در جایگاه int[1] در کروموزوم E.coli وارد می‌شود و یا اینکه در هر ناحیه‌ای از کروموزوم وارد می‌شود؛ مثل فاژ Mu.

پروفاژها ممکن است در اثر محرک‌هایی به حالت لیتیک تبدیل شوند که به این حالت **القاء**[2] گفته می‌شود. پروفاژهایی که کاملاً غیرفعال شده (در اثر جهش‌ها) و قادر به تولید ذرات فاژی آلوده کننده و ایجاد حالت لیتیک نمی‌باشند را **پروفاژ مخفی**[3] می‌نامند.

صفحه ۱۰۰ سفید

ص ۱۰۱

۶ آنتی‌بیوتیک‌های ضد میکروبی

آنتی‌بیوتیک‌ها

آنتی‌بیوتیک[1] به ماده‌ای گفته می‌شود که به وسیله یک میکروارگانیسم و یا به طریق شیمیایی سنتز می‌شود و با غلظت‌های کم، رشد سایر میکروارگانیسم‌ها را مهار می‌کند. میکروارگانیسم‌های تولید کنندهٔ آنتی‌بیوتیک به‌طورگسترده در طبیعت پخش شده‌اند و نقش مهمی را در کنترل جمعیت میکروبی خاک، آب، فاضلاب و... بر عهده دارند. برخی از آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی را که طیف اثر محدودی دارند به وسیله تغییرات شیمیایی به آنتی‌بیوتیک‌های مؤثرتری تبدیل می‌کنند که به این آنتی‌بیوتیک‌ها **نیمه سنتزی**[2] گفته می‌شود. شیمی درمانی مدرن در اوایل قرن بیستم به وسیله ارلیخ دانشمند آلمانی آغاز شد. تجربیات ارلیخ منجر به استفاده از ارسفنامین‌ها برای درمان سیفلیس شد. بعد از آن با کشف پنی‌سیلین توسط فلمینگ و استرپتومایسین توسط واکسمن آنتی‌بیوتیک‌ها توسعه پیدا کردند. آنتی‌بیوتیک‌هایی که بیشترین کاربرد روزانه را دارند توسط گروه کوچکی از میکرو-ارگانیسم‌ها (متعلق به جنس‌های پنی‌سیلیوم، استرپتومیسس، سفالوسپوریوم، میکرومونوسپورا و باسیلوس) سنتز شده‌اند و عمدتاً به وسیله استرپتومیسس‌ها[3] تولید می‌شوند.

یک عامل ضد میکروبی ایده‌آل باید دارای خصوصیات زیر باشد:

۱ داشتن سمیت انتخابی، یعنی بدون آسیب رساندن به میزبان، عامل بیماریزا را مهار کند.
۲ باکتریوسید[4] باشد؛ یعنی ارگانیسم بیماریزا را از بین ببرد. عوامل باکتریواستاتیک فقط اثر مهار-کنندگی داشته و باکتری بیماریزا را از بین نمی‌برند و فقط رشد آن را متوقف می‌کنند.
۳ مقاومت میکروبی پایین، یعنی ارگانیسم‌های بیماریزای حساس در برابر آن مقاوم نشده باشند.
۴ دارای طیف اثر وسیعی علیه ارگانیسم‌های بیماریزا باشد.
۵ آلرژی‌زا نباشد یعنی در میزبان عوارض جانبی ایجاد نکند.

---

1. antibiotic
2. semi-synthetic
3. stereptomyces
4. bacteriocidal

۶ عامل ضد میکروبی در مایعات بدن مثل خون، سیتوپلاسم و مایع مغزی نخاعی نفوذ کرده و فعال باقی بماند.

۷ دارای نیمه عمر طولانی بوده که بتواند پایدار باقی بماند و اثر باکتریوسیدی خود را اعمال کند.

حساسیت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها متفاوت می‌باشد؛ باکتری‌های گرم مثبت معمولاً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی هستند که احتمالاً به خاطر وجود غشای خارجی و لایه LPS در گرم منفی‌ها می‌باشد که نفوذ آنتی‌بیوتیک‌ها به داخل سلول باکتری را کاهش می‌دهند. آنتی‌بیوتیک‌هایی که هم بر روی باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی عمل می‌کنند را **آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف**[1] می‌گویند. به‌طور کلی آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف استفاده کلینیکی گسترده‌تری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های با **طیف اثر محدود**[2] دارند که فقط بر روی یک گروه خاص از باکتری‌ها اثر می‌کنند.

مکانیسم عملکرد آنتی‌بیوتیک‌ها

سلول‌های حساس به آنتی‌بیوتیک خاص دارای جایگاه اتصالی برای آن آنتی‌بیوتیک می‌باشند. آنتی‌بیوتیک‌ها را براساس مکانیسم عمل به ۵ گروه تقسیم‌بندی می‌کنند:

۱ مهارکننده سنتز دیواره سلولی

۲ مهارکننده عملکرد غشاء سلولی

۳ مهارکننده سنتز پروتئین

۴ مهارکننده سنتزاسیدنوکلئیک

۵ آنتی‌متابولیت‌ها

مهارکننده‌های سنتز دیواره

همان‌طور که می‌دانیم سلول باکتری به وسیله یک دیواره سلولی محکم احاطه می‌شود که شکل میکروارگانیسم را حفظ کرده و سلول باکتری را در برابر تغییرات فشار اسمزی و آسیب‌های مکانیکی محافظت می‌کند. هر ماده‌ای که دیواره سلولی را تخریب کند (مثل لیزوزیم) و یا اینکه از سنتز دیواره جلوگیری کند ممکن است منجر به لیز و تخریب سلول شود. در محیط **هیپرتونیک**،[3] آسیب به دیواره سلول منجر به شکل‌گیری پروتوپلاست‌های کروی شکل از ارگانیسم‌های گرم مثبت و اسفروپلاست‌ها از باکتری‌های گرم منفی می‌شود. این اشکال غیرطبیعی توسط غشای سیتوپلاسمی احاطه می‌شوند

1. broad-spectrum antibiotic 2. narrow-spectrum antibiotic 3. hypertonic

و در صورتی که در محیط **هیپوتونیک**[1] (رقیق) قرار گیرند، به سرعت مایع جذب کرده، متورم شده و می‌ترکند. از آنجا که دیواره سلولی پپتیدوگلایکانی باکتری منحصربه فرد بوده و در سلول‌های یوکاریوت وجود ندارد، عواملی که بر این جایگاه تاثیر می‌گذارند بسیار اختصاصی بوده و معمولاً سمیت پایینی برای میزبان دارند. همچنین گونه‌هایی از باکتری‌ها که فاقد دیواره سلولی پپتیدوگلایکانی می‌باشند (مثل **مایکوپلاسما**)، به وسیله این عوامل مهار نمی‌شوند.

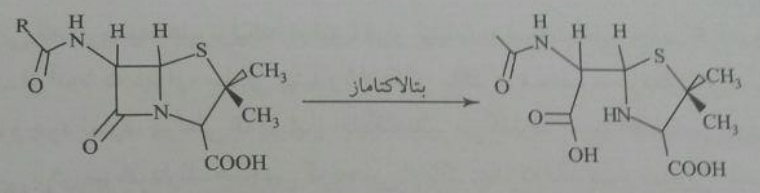
از میان آنتی‌بیوتیک‌هایی که عملکرد آنها بر روی بیوسنتز دیواره سلول باکتری می‌باشند می‌توان آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام (از قبیل پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها)، فسفومایسین، سیکلوسرین، ونکومایسین و باسیتراسین را نام برد.

آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام

تمام آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتا-لاکتام[2] یک حلقه چهارضلعی منحصر به فرد دارند. **پنی‌سیلین‌ها** و **سفالوسپورین‌ها** دو زیر گروه بزرگ از این خانواده می‌باشند. در این خانواده آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی مثل کارباپنم‌ها[3] و مونوباکتام‌ها[4] نیز قرار دارند. بتا-لاکتام‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های باکتریوسید می‌باشند و دارای اهداف معینی در دیواره می‌باشند که به آنها **پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین** (PBP_s) گفته می‌شود. آخرین مرحله سنتز دیوارهٔ پپتیدوگلایکان که در آن اتصال عرضی (**ترانس پپتیداسیون**) زنجیره‌های پپتیدوگلایکان صورت می‌گیرد، توسط آنزیم‌های ترانس پپتیداز صورت می‌گیرد. پنی‌سیلین با مهار این آنزیم‌های ترانس پپتیداز و همچنین کربوکسی پپتیدازها موجب مهار سنتز دیواره سلولی جدید در سلول‌های در حال رشد می‌شود. آنزیم‌های ترانس پپتیداز با شناسایی D-آلانین-D-آلانین در انتهای زنجیرهٔ پنتا پپتیدی با حذف یکی از D-آلانین‌ها، یک پل پپتیدی را بین دو زنجیره پپتیدوگلایکان مجاور ایجاد می‌کنند. پنی‌سیلین دارای شباهت ساختمانی با D-آلانین-D-آلانین انتهایی می‌باشد، بنابراین به‌عنوان سوبسترایی مشابه با سوبسترای طبیعی ترانس پپتیداسیون عمل کرده، با ترانس پپتیداز ترکیب شده و به‌طور غیرقابل برگشت آن را غیرفعال می‌کند. حدود ۳ تا ۶ نوع PBP_s وجود دارد که بعضی از آنها آنزیم‌های ترانس پپتیداز می‌باشند. این پروتئین‌ها در غشای تمامی باکتری‌های واقعی[5] (به غیراز مایکوپلاسماها) وجود دارند. اثرات آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام فقط در باکتری‌های در حال رشد دیده می‌شود و اگر از رشد باکتری ممانعت شود، پنی‌سیلین تاثیری نخواهد داشت. پس از توقف سنتز پپتیدوگلایکان، احتمالاً برخی از اتولیزین‌های موجود در دیوارهٔ سلولی فعال شده و منجر به لیز سلول می‌شود.

1. hypotonic
2. β-lactam
3. carbapenems
4. monobactam
5. eubacteria

@pdf_jozveh



پنی‌سیلین داروئی — پنی‌سیلوئیک اسید

مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام

مقاومت بیوشیمیایی در برابر بتالاکتام‌ها ممکن است در ارتباط با سه مکانیسم زیر باشد:

۱. **غیرفعال شدن دارو**: آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام تحت اثر آنزیم‌های **بتالاکتاماز**[1] که در ارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی یافت می‌شوند غیرفعال می‌شوند. بتا-لاکتامازها که انواع مختلفی دارند با شکستن حلقهٔ چهارضلعی بتا-لاکتام در پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها، آنها را غیرفعال می‌کنند. پنی‌سیلین تحت تاثیر آنزیم بتالاکتاماز (پنی‌سیلیناز) به ترکیب غیرفعال **پنی‌سیلوئیک اسید**[2] تبدیل می‌شود.

بتالاکتامازها ممکن است کروموزمی یا پلاسمیدی باشند مثلاً در استافیلوکوک اورئوس ژن کدکننده پنی‌سیلیناز بر روی پلاسمید بوده و می‌تواند توسط باکتریوفاژ به ارگانیسم‌های حساس منتقل شود. بتالاکتامازهایی که در باکتری‌های گرم منفی تولید می‌شوند در فضای پری‌پلاسمی قرار داشته، همچنین در مقادیر کمتری تولید شده و تمایل کمتری به سوبستراهای خود دارند. برخی از بتالاکتامازها، طیف وسیعی داشته و قادر به غیرفعال کردن بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی هستند، اینها را **بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف** (ESBLs) می‌نامند.

بتالاکتامازها توسط برخی از ترکیبات مهار می‌شوند و از این‌رو برای جلوگیری از غیرفعال شدن بتالاکتام‌ها، آنها را با این ترکیبات به‌کار می‌برند. از ترکیبات مهارکننده بتالاکتاماز می‌توان اسیدکلاوولانیک، سولباکتام و تازوباکتام را مثال زد. کو-آموکسی‌کلاو، ترکیبی از آموکسی‌سیلین و کلاوونیک‌اسید می‌باشد.

۲. **تغییر در جایگاه مهار هدف**: مکانیسم دوم مقاومت در برابر داروهای بتالاکتام ناشی از تغییر در مقدار و یا تمایل PBP_s می‌باشد، در نتیجه پنی‌سیلین و بتالاکتام‌ها قادر به اتصال به جایگاه‌های هدف نبوده و مهار صورت نمی‌گیرد. جایگاه‌های PBP_s توسط ژن‌های کروموزمی کد می‌شوند، در نتیجه بروز مقاومت ناشی از آن، منشأ کروموزمی دارد؛ مثلاً بروز مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوک اورئوس.

۳. **ممانعت از انتقال دارو به مجاورت جایگاه هدف**: بتالاکتام‌ها برای تاثیر گذاشتن بر روی سنتز

1. betalactamase
2. peniciloeic acid

دیواره، بایستی به محل PBP_s در دیواره پپتیدوگلایکانی برسند. در باکتری‌های گرم مثبت مانعی برای جلوگیری از نفوذ آنتی‌بیوتیک وجود ندارد ولی در باکتری‌های گرم منفی وجود غشای خارجی و فضای پری‌پلاسمی (که حاوی بتالاکتامازها می‌باشد) موجب مقاومت **ذاتی** گرم منفی‌ها در برابر اغلب آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شود. از این‌رو باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دارند.

پنی‌سیلین‌ها

آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین از سویه جهش‌یافته‌ای از پنی‌سیلیوم به نام پنی‌سیلیوم کریزوژنوم[1] به‌دست می‌آید. هستهٔ اصلی پنی‌سیلین، **۶- آمینوپنی سیلانیک اسید** است که شامل یک حلقه پنج ضلعی تیازولیدین و یک حلقه چهارضلعی بتالاکتام می‌باشد. نوع زنجیره جانبی که به حلقه بتالاکتام متصل می‌شود، بسیاری از خصوصیات آن را تعیین می‌کند.

پنی‌سیلین‌های طبیعی: پنی‌سیلین طبیعی که بنزیل پنی‌سیلین یا پنی‌سیلین G نامیده می‌شود از طریق افزودن پیش‌ساز **فنیل استیک اسید**[2] به محیط کشت پنی‌سیلیوم کریزوژنوم تولید می‌شود. تغییر شیمیایی مولکول پنی‌سیلین، محدودهٔ فعالیت آن را افزایش داده و برخی از خصوصیات آن را بهبود می‌بخشد. مضرات اصلی پنی‌سیلین G، حساسیت در برابر اسید معده، حساسیت در برابر بتالاکتامازها و واکنش‌های آلرژی‌زا می‌باشد.

پنی‌سیلین V گونه‌ای از پنی‌سیلین G است که به جای فنیل استیک دارای فنوکسی استیک اسید[3] در زنجیره جانبی می‌باشد. از نظر طیف ضد میکروبی مشابه بوده ولی مزیت اصلی پنی‌سیلین V، مقاومت در برابر اسید بوده، لذا مصرف خوراکی دارد.

پنی‌سیلین‌های نیمه‌صناعی:[4] اگر بنزیل پنی‌سیلین یا پنی‌سیلین G را در معرض آنزیم آمیداز قرار دهیم زنجیره جانبی جدا شده و ۶- آمینوپنی‌سیلانیک اسید به‌دست می‌آید که با اتصال زنجیره‌های جانبی مختلف به این هسته پنی‌سیلین، می‌توان تعداد نامحدودی از پنی‌سیلین‌های نیمه صناعی را تولید کرد که براساس فعالیت ضد باکتری در سه گروه بزرگ تقسیم‌بندی می‌شوند:

۱. **پنی‌سیلین مقاوم به پنی‌سیلیناز:** در این پنی‌سیلین‌ها فعالیت ضد میکروبی تغییری نکرده است. از این پنی‌سیلین‌ها می‌توان متی‌سیلین، نافیسیلین، کلوگزاسیلین و اگزاسیلین را مثال زد. از این آنتی‌بیوتیک‌ها فقط در درمان استافیلوکوک‌های تولیدکننده بتالاکتاماز، مثل استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیس استفاده می‌شود.

---

1. penicilium krisogenome
2. phenyLacetic acid
3. phenoxiacetic acid
4. semisynthetic

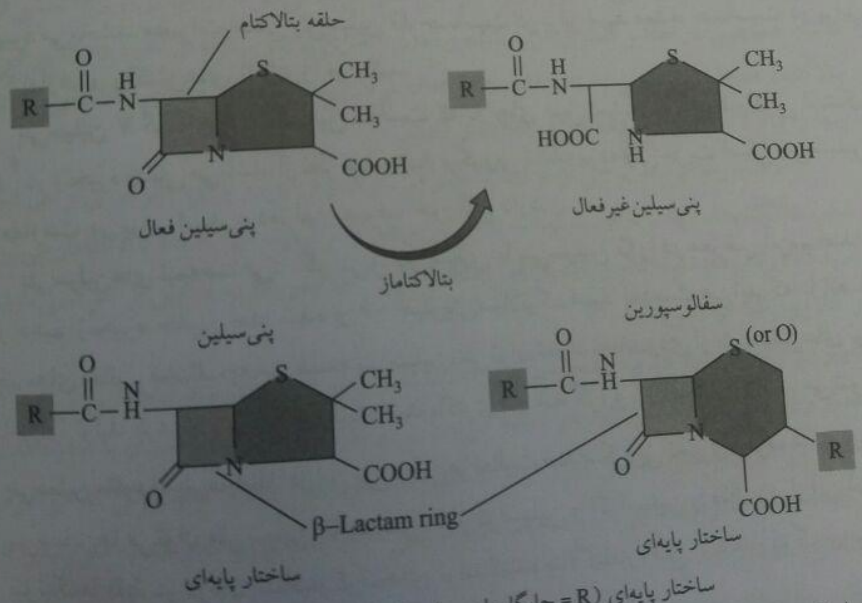
۲. **پنی‌سیلین‌های وسیع‌الطیف**: این پنی‌سیلین‌ها دارای فعالیت بیشتری برعلیه باکتری‌های گرم منفی می‌باشند و از آنها می‌توان آمینوپنی‌سیلین‌ها (آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین) را مثال زد که به خاطر دارا بودن گروه آمینو، نفوذ آنها از بین غشای خارجی گرم منفی‌ها افزایش می‌یابد.

۳. **پنی‌سیلین‌های ضد پسودوموناس**: این پنی‌سیلین‌ها دارای اثرات وسیع ضد میکروبی علیه گرم منفی‌ها می‌باشند ولی فعالیت آنها بر روی گرم مثبت‌ها کاهش یافته است. از این گروه می‌توان کاربنی سیلین، تیکارسین و پیپراسیلین را مثال زد.

سفالوسپورین‌ها

سفالوسپورین‌ها[1] گروهی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی بوده که به وسیله قارچ سفالوسپوریوم تولید می‌شوند. سفالوسپورین‌ها مشتق شده از هسته **۷- آمینوسفالوسپورانیک اسید** بوده که این هسته حاوی یک حلقه بتالاکتام بوده و به جای حلقه پنج ضلعی تیازولیدین (مشخصه پنی‌سیلین‌ها)، یک حلقه شش ضلعی دی‌هیدروتیازین[2] دارد. (شکل ۱-۶) سفامایسین‌ها شبیه سفالوسپورین‌ها بوده ولی از اکتینومیست‌ها (استرپتومیسس) به‌دست می‌آیند.

مکانیسم عمل سفالوسپورین‌ها شبیه پنی‌سیلین می‌باشد و اغلب جایگزین مفیدی برای پنی‌سیلین



شکل ۱-۶ ساختار شیمیایی سفالوسپورین‌ها و پنی‌سیلین‌ها (R = جایگاه‌هایی برای اتصالات زنجیره جانبی)

1. cephalosporines 2. dihydrothiazin

در بیماران حساس به پنی‌سیلین می‌باشد. سفالوسپورین‌ها را براساس طیف فعالیت ضد میکروبی به چهار نسل تقسیم می‌کنند. هر چه از نسل اول به نسل چهارم حرکت می‌کنیم تاثیر بر روی باکتری‌های گرم مثبت کاهش یافته و بر روی باکتری‌های گرم منفی افزایش می‌یابد. سفالوسپورین‌ها نسبتاً غیرسمی می‌باشند ولی ممکن است موجب انواعی از واکنش‌های ازدیاد حساسیت مثل آنافیلاکسی، تب و ... شوند.

نسل اول: این گروه از سفالوسپورین‌ها برعلیه باکتری‌های گرم مثبت مثل استرپتوکک‌ها و استافیلوکوک‌ها مؤثر می‌باشند و برخلاف پنی‌سیلین توانایی نفوذ در مایع مغزی نخاعی را ندارند؛ بنابراین نباید در مورد عفونت‌های مننژیت استفاده شوند. در این گروه آنتی‌بیوتیک‌های سفالکسین، سفالوتین و سفازولین کاربرد بیشتری دارند.

نسل دوم: این گروه از سفالوسپورین‌ها بر روی باکتری‌های گرم منفی مؤثر هستند، اما تاثیر آنها بر روی باکتری‌های گرم مثبت کاهش می‌یابد. برخی از آنها توانایی عبور از سد مغزی-نخاعی را دارند و در عفونت‌های مننژیت استفاده می‌شوند. در این گروه آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین، سفوروکسیم و سفامندول قابل ذکر هستند.

نسل سوم: این گروه از سفالوسپورین‌ها تاثیر زیادی بر باسیل‌های گرم منفی مقاوم (مثل انتروباکتر، پروتئوس، کلبسیلا و پسودوموناس) و کوکسی‌های گرم منفی (گونوکک و مننگوکک) دارند. در این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان سفتی زوکسیم، سفتریاکسون و سفیکسیم را مثال زد.

نسل چهارم: این گروه از سفالوسپورین‌ها، فعالیت بیشتری بر روی گونه‌های انتروباکتر و سیتروباکتر دارند. در این گروه می‌توان سفپیم و سف‌پیروم را مثال زد.

سایر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام

منوباکتام‌ها:[1] منوباکتام‌ها خانواده‌ای از بتالاکتام‌ها با یک هسته تک حلقه‌ای هستند و نسبت به بتالاکتامازها مقاوم می‌باشند. این داروها علیه باسیل‌های گرم منفی هوازی، فعال هستند ولی علیه باکتری‌های گرم مثبت یا بی‌هوازی‌ها فعالیتی ندارند. آزترونام[2] مشتق صناعی منوباکتام‌ها می‌باشد. از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی دیگر می‌توان کارباپنم‌ها و ایمی‌پنم را مثال زد.

سایر مهارکننده‌های سنتز دیواره

علاوه‌بر بتالاکتام‌ها آنتی‌بیوتیک‌های دیگری نیز وجود دارند که قادر هستند **سنتز دیوارهٔ** پپتیدوگلایکانی را در مراحل مختلف آن مهار کنند:

1. monobactams
2. aztreonam

فسفومایسین[1] **(فسفونومایسین)**: فسفومایسین مولکول کوچکی است که دارای شباهت با متابولیت **فسفوانول پیروات** (PEP) می‌باشد. این آنتی‌بیوتیک قادر است سنتز دیواره را در مرحله ابتدایی یعنی زمانی که N-UDP- اسیل گلوکزآمین با PEP ترکیب شده تا پیش‌ساز دیگر (N- استیل مورامیک اسید) را تولید کند، مهار می‌کند. فسفومایسین به‌طور کووالانسی به آنزیم ترانسفرازی اتصال می‌یابد که مسئول واکنش فوق است.

سیکلوسرین:[2] سیکلوسرین یک آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف است اما به‌علت داشتن عوارض جانبی بر سیستم عصبی مرکزی، فقط در درمان بیماری سل کاربرد دارد. جایگاه عمل سیکلوسرین در سیتوپلاسم می‌باشد و با اثر بر آنزیم‌های آلانین راسماز و D- آلانین سنتتاز، سنتز زنجیرهٔ پنتاپپتیدی را مهار و در نتیجه سنتز پپتیدوگلایکان متوقف می‌شود؛ این آنتی‌بیوتیک اثر باکتریوسیدی دارد.

ونکومایسین:[3] ونکومایسین یک **گلیکوپپتید** پیچیده است که توسط استرپتومیسس اورینتالیس ساخته می‌شود و از طریق اتصال برگشت‌ناپذیر به انتهای D-آلانین -D - آلانین زنجیرهٔ پنتاپپتیدی، بیوسنتز پپتیدوگلایکان را مهار می‌کند. ونکومایسین آنتی‌بیوتیک باکتریوسید فعالی بر علیه کوکسی‌های گرم مثبت است و کاربرد عمده آن در درمان عفونت‌های شدید استافیلوکک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و کولیت با غشای کاذب ناشی از کلستریدیوم دیفیسیل می‌باشد. ونکومایسین به‌علت بزرگی مولکول نمی‌تواند وارد غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی شود، بنابراین بر علیه باکتری‌های گرم منفی مؤثر نیست. به‌علاوه برخی از باکتری‌های گرم مثبت مثل لوکونوستوک، لاکتوباسیلوس، پدیوکوکوس و اریزیپلوتریکس نیز به‌طور ذاتی به ونکومایسین مقاومند، زیرا انتهای زنجیرهٔ پنتاپپتیدی در آنها D- آلانین -D - لاکتات می‌باشد و آنتی‌بیوتیک قادر به اتصال به آن نمی‌باشد.

تیکوپلانین: دارای ساختمانی مشابه ونکومایسین بوده و سمیت کمتری دارد. این دارو به جای ونکومایسین علیه استافیلوکوک‌های مقاوم به نافسیلین به‌کار می‌رود.

باسیتراسین: باسیتراسین یک آنتی‌بیوتیک **پلی پپتیدی** است که به وسیله باسیلوس سوبتلیس و یا باسیلوس لینکنی فورمیس تولید می‌شود. باسیتراسین عمدتاً بر روی باکتری‌های گرم مثبت و نایسریاهای بیماریزا مؤثر می‌باشد. باسیتراسین از طریق مهار فسفریلاسیون لیپید حامل در غشا (**باکتوپرنول**) چرخش مجدد آن را مهار کرده و در نتیجه موجب توقف سنتز پپتیدوگلایکان در مرحله سوم سنتز آن می‌شود. باسیتراسین دارای اثر سمی بر روی کلیه می‌باشد؛ بنابراین کاربرد آن بیشتر موضعی می‌باشد.

---

1. phosphomycin
2. cycloserine
3. vancomycin

مهارکننده‌های غشای سلولی

سیتوپلاسم تمام سلول‌های زنده توسط غشای سیتوپلاسمی احاطه شده است؛ این غشا به‌عنوان یک سد با قابلیت نفوذپذیری انتخابی عمل می‌کند و اگر انسجام عملکردی غشای سیتوپلاسمی دچار اختلال شود، ماکرومولکول‌ها و یون‌ها از آن خارج شده و مرگ سلولی رخ می‌دهد. آنتی‌بیوتیک‌هایی که غشای ارگانسیم را هدف قرار می‌دهند، کمتر می‌توانند غشای میکروارگانسیم‌ها و میزبان را از یکدیگر تمایز دهند و سمیت بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر دیواره دارند.

پلی‌میکسین‌ها:[1] انواع مختلفی از پلی‌میکسین‌ها (A,B,C,D,E) به وسیله سوش‌های مختلف **باسیلوس پلی میکسا**[2] تولید می‌شود ولی فقط دو پلی‌میکسین B و پلی‌میکسین E (کولیستین) برعلیه باکتری‌های گرم منفی به‌کار می‌روند و انواع دیگر خیلی توکسیک می‌باشند. پلی‌میکسن‌ها پپتیدهای دترژنت مانند می‌باشند که فعالیت آنها بر علیه باکتری‌های گرم منفی می‌باشد و برای عفونت‌های شدید پسودوموناس آئروژینوزا به‌کار می‌روند. پلی‌میکسن‌ها دارای اثرات جانبی شدید بر کلیه و سیستم عصبی می‌باشند؛ لذا استفاده از آنها فقط برای موارد خاص می‌باشند.

پلی‌ان‌ها: دو گروه مهم از پلی‌ان‌ها عوامل ضد قارچی آمفوتریسین B و نیستاتین است. پلی‌ان‌ها به‌طور انتخابی ارگانیسم‌هایی که حاوی **ارگوسترول**[3] در غشا باشند را مهار می‌کنند. آمفوتریسین B که به‌عنوان عمده‌ترین عامل ضد قارچی برای درمان عفونت‌های قارچی سیستمیک به‌کار می‌رود به وسیله استرپتومیسس نودوسوس تولید می‌شود و با اتصال به استرول غشای قارچی (ارگوسترول) موجب افزایش نفوذپذیری غشا می‌شود. نیستاتین که به وسیله استرپتومیسس نورسی تولید می‌شود به خاطر عوارض سمی، کاربرد داخل وریدی نداشته و مهمترین کاربرد آن در درمان عفونت‌های سطحی کاندیدایی می‌باشد.

ایمیدازول:[4] دارای مشتقات فراوانی مثل کتوکونازل، کلوتریمازول و... است و عوامل ضد قارچی وسیع‌الطیف می‌باشند که عملکرد آنها از طریق تداخل با سنتز ارگوسترول در سلول‌های قارچ می‌باشد. این آنتی‌بیوتیک‌ها در تجویز وریدی، عوارض جانبی شدیدی دارند لذا کاربرد آنها موضعی می‌باشد.

مهار کننده‌های عملکرد اسیدهای نوکلئیک

هر آنتی‌بیوتیکی که به‌طور اختصاصی با DNA بر هم کنش کرده و از همانندسازی یا رونویسی آن

1. polymixins
2. bacillus polymixa
3. ergostrol
4. imidazole

جلوگیری کند، قادر خواهد بود رشد و تقسیم سلولی را مهار کند. تعداد محدودی از این آنتی‌بیوتیک‌ها دارای سمیت انتخابی[1] بوده و در کاربردهای بالینی مفید می‌باشند. به‌طور کلی آنتی‌بیوتیک‌هایی که سنتز اسیدهای نوکلئیک را مهار می‌کنند به یکی از این دو طریق عمل می‌کنند:
(۱) بر هم‌کنش با رشته‌های مارپیچ دورشته‌ای DNA و جلوگیری از همانندسازی و رونویسی
(۲) ترکیب شدن با پلیمرازهای درگیر در سنتز DNA یا RNA.

مهارکننده‌های همانندسازی

میتومایسین[2] و آکتینومایسین:[3] هر دو آنتی‌بیوتیک میتومایسین و آکتینومایسین به DNA متصل شده و از همانندسازی و رونویسی جلوگیری می‌کنند. میتومایسین با اتصال به رشته‌های DNA، تشکیل پیوندهای عرضی در مولکول DNA را متوقف می‌کند. از آنجا که این آنتی‌بیوتیک‌ها توانایی تشخیص DNA میکرواگانیسم را از DNA سلول میزبان ندارند، پس سمیت آنها مانعی برای کاربرد بالینی آنها است و کاربرد آنها بیشتر به‌عنوان عوامل **ضد توموری** می‌باشد، زیرا که آنها بر سلول‌هایی که سریع تقسیم می‌شوند، تاثیر می‌گذارند.

کوئینولون‌ها:[4] تمام عواملی که در دسته کوئینولون‌ها وجود دارند ساختمان مشابه و مکانیسم منحصربه فرد دارند. این آنتی‌بیوتیک‌ها آنزیم **DNA ژیراز** باکتریایی (توپوایزومراز) که مسئول باز کردن مارپیچ‌های DNA در هنگام همانندسازی می‌باشد را مهار می‌کنند. آنزیم ژیراز دارای دو زیرواحد آلفا و دو زیر واحد بتا می‌باشد و کوئینولون‌ها با اتصال به زیرواحدهای **آلفا**، آنزیم را غیرفعال می‌کنند. از کوئینولون‌ها می‌توان نالیدیکسیک اسید را مثال زد. نالیدیکسیک اسید قبلاً برای درمان عفونت‌های مجاری ادراری استفاده می‌شد، ولی امروزه جای خود را به کوئینولون‌های جدیدتر داده است.

فلوروکوئینولون‌ها مثل سیپروفلوکساسین و نوروفلوکساسین از نالیدیکسیک اسید مشتق شده‌اند و صدها برابر قوی‌تر می‌باشند. سیپروفلوکساسین **قوی‌ترین** آنتی‌بیوتیک از میان کوئینولون‌ها است و روی اغلب سوش‌های گرم مثبت و منفی تاثیر دارد. جهش‌هایی که در زیرواحد آلفای آنزیم DNA ژیراز رخ داده‌اند موجب ایجاد مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها شده‌اند.

نووبیوسین:[5] نووبیوسین برای ارگانیسم‌های گرم مثبت اثرات باکتریوسیدی دارد. نووبیوسین موجب مهار همانندسازی DNA می‌شود و این عمل را با اتصال به زیرواحد **بتای** آنزیم DNA ژیراز انجام می‌دهد.

1. selective toxicity
2. mitomycin
3. actinomycin
4. quinolones
5. novobiocin

مترونیدازول: مترونیدازول یک عامل ضد میکروبی است که برای درمان عفونت در باکتری‌های **بی‌هوازی اجباری** مثل باکتریوئیدس فراژیلیس و برخی از تک یاخته‌های یوکاریوتی به‌کار می‌رود. این آنتی‌بیوتیک دارای گروه نیترو می‌باشد که در اثر احیاء، فعال شده و واسطه‌های توکسیک تولید می‌کند که موجب آسیب به DNA و توقف همانندسازی می‌شوند. مترونیدازول برای سلول‌های پستانداران بی‌خطر می‌باشد زیرا این سلول‌ها فاقد آنزیم‌های لازم برای احیاء گروه نیترو می‌باشند.

مهارکننده‌های رونویسی

آکتینومایسین D: اکتینومایسین D **الیگوپپتیدی** است که بر روی بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و حتی سلول‌های پستانداران اثر می‌گذارد. آکتینومایسین D با اتصال به واحدهای گوانین و قرار گرفتن در بین بازها، از حرکت پلیمراز جلوگیری می‌کند.

ریفامپین و ریفابوتین: ریفامپین[1] مشتق نیمه سنتزی ریفامایسین B است که به وسیله استرپتو-میسس مدیترانه‌ای تولید می‌شود. این آنتی‌بیوتیک بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و مایکو-باکتریوم‌ها مؤثر است و داروی بزرگی در درمان سل و جذام می‌باشد. ریفامپین با اتصال به زیرواحد **بتای** آنزیم RNA پلیمراز، رونویسی را متوقف می‌کند.

جهش در زیرواحد بتای آنزیم RNA پلیمراز موجب مقاومت به این آنتی‌بیوتیک می‌شود. باکتری‌های گرم منفی به خاطر قابلیت جذب کم دارو، مقاومت ذاتی به ریفامپین دارند.

ریفابوتین نیز مشتقی از ریفامایسین است و برای از بین بردن مایکوباکتریوم آویوم استفاده می‌شود.

مهار سنتز پروتئین

باکتری‌ها دارای ریبوزوم‌های **70 S** هستند، در حالی که پستانداران ریبوزوم 80 S دارند. زیرواحدهای هر دو نوع ریبوزوم، ترکیب شیمیایی آنها و خصوصیات عملکردی آنها با هم متفاوت بوده و بنابراین توجیه کننده مهار سنتز پروتئین در ریبوزوم‌های باکتریایی توسط برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، بدون تاثیر بر ریبوزوم‌های پستانداران می‌باشد. ریبوزوم 70 S باکتری‌ها متشکل از دو زیرواحد **30 S** و **50 S** می‌باشد. براساس اینکه آنتی‌بیوتیک به زیرواحد 30 S یا 50 S ریبوزمی متصل شود، آنتی‌بیوتیک‌ها به دو کلاس بزرگ تقسیم می‌شوند: مهارکننده‌های زیرواحد 30 S و مهارکننده‌های زیرواحد 50 S.

1. rifampin

مهارکننده‌های زیرواحد 30 S ریبوزومی

از میان آنتی‌بیوتیک‌هایی که بر زیرواحد 30 S ریبوزمی اثر می‌کنند می‌توان آمینوگلیکوزیدها و تتراسایکلین‌ها را مثال زد.

آمینوگلیکوزیدها: در این گروه، آنتی‌بیوتیک‌های مهمی چون استرپتومایسین، نئومایسین، کانامایسین، جنتامایسین، توبرامایسین و آمیکاسین قرار دارند که همگی **باکتریوسید** بوده و ساختار اصلی آنها مشتقی از اینوزیتول می‌باشد. این آنتی‌بیوتیک‌ها با اتصال برگشت‌ناپذیر به پروتئین‌های زیرواحد 30 S ریبوزمی، سنتز پروتئین را در باکتری‌ها متوقف می‌کنند.

استرپتومایسین:[1] آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین که به وسیله استرپتومیسس گریزئوس تولید می‌شود عامل باکتریوسیدی است که با اتصال به پروتئین S_{12} در زیرواحد 30 S، سنتزپروتئین را در مرحله شروع ترجمه مهار کرده و موجب اشتباه در خوانده شدن[2] پیام از روی mRNA می‌شود. هسته مرکزی استرپتامین مسئول اشتباهی است که در هنگام خوانده شدن اطلاعات ژنتیکی بروز می‌کند. داروهایی مثل اسپکتینومایسین که این هسته مرکزی را ندارند، هیچ اشتباهی در خواندن رمز ژنتیکی به وجود نیاورده و فقط باکتریواستاتیک می‌باشند. در یک باکتری خاص، احتمال بروز سه پاسخ متفاوت؛ **حساسیت**، **مقاومت** و یا **وابستگی** به استرپتومایسین وجود دارد. این پاسخ‌ها مربوط به آلل‌های متفاوت کدکننده پروتئین S_{12} می‌باشد. هر گونه تغییری که در جایگاه اتصالی پروتئین S_{12} رخ دهد، به‌طوری که استرپتومایسین دیگر نتواند به آن متصل شود، موجب بروز مقاومت[3] به استرپتومایسین می‌شود. در هنگامی که جمعیتی از ارگانیسم‌های حساس در یک محیط غنی از استرپتومایسین قرار گیرند، بسیاری از آنها نابود می‌شوند اما ارگانیسم‌های محدودی باقی می‌مانند که برای رشد خود به استرپتومایسین نیاز دارند. این باکتری‌های وابسته به استرپتومایسین به‌طور طبیعی دارای جهش‌هایی می‌باشند و وجود استرپتومایسین که موجب اشتباه خواندن پیام ژنتیکی می‌شود این جهش‌ها را تعدیل[4] کرده و پروتئین‌های سالمی را تولید می‌کند که قادر به انجام فعالیت طبیعی بوده و در نتیجه این سویه‌ها در حضور استرپتومایسین قادر به رشد می‌باشند. استرپتومایسین برای درمان تولارمی، طاعون، سل و اندوکاردیت انتروکوکی کاربرد دارد. عوارض جانبی استرپتومایسین بیشتر بر سیستم شنوایی و کلیه می‌باشد.

سایر آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزید: نئومایسین، کانامایسین، جنتامایسین، توبرامایسین وآمیکاسین، آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی دیگری هستند که همگی سنتز پروتئین را با اتصال به زیرواحد 30 S مهار می‌کنند و اکثریت آنها موجب اختلال در ترجمه نیز می‌شوند. به غیراز جنتامایسین که توسط

1. streptomycin
2. missreading
3. resistance
4. suppress

گونه‌های میکرومونوسپورا تولید می‌شود، بقیه توسط گونه‌های استرپتومیسس تولید می‌شوند. کانامایسین و نئومایسین به همدیگر شباهت زیادی دارند، آمیکاسین مشتق نیمه سنتزی کانامایسین است که در برابر آنزیم‌های غیرفعال‌کنندهٔ باکتریایی مقاوم‌تر می‌باشد.

آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی در PH **قلیایی** فعالیت بیشتری نسبت به PH اسیدی دارند و همه آنها دارای اثرات جانبی اتوتوکسیک (اثر توکسیک بر عصب هشتم یا عصب شنوایی) و نفروتوکسیک (کلیوی) می‌باشند. آمینوگلیکوزیدها به‌طور گسترده علیه باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شوند و باکتری‌های گرم مثبت (به استثنای استافیلوکوک اورئوس) در برابر آمینوگلیکوزیدها مقاومند. همچنین باکتری‌های بی‌هوازی اغلب به آمینوگلیکوزیدها مقاومند، زیرا انتقال غشایی آنتی‌بیوتیک به انرژی بالایی نیاز دارد.

اسپکتینومایسین:[1] اسپکتینومایسین آنتی‌بیوتیک آمینوسیکلیتول بوده و فاقد هسته استرپتامین می‌باشد، لذا نه تنها فاقد فرایند اشتباه در خواندن پیغام ژنتیکی می‌باشد، بلکه از نظر عملکردی باکتریواستاتیک می‌باشد. تنها مورد مصرف اسپکتینومایسین در درمان سوزاک در بیماران حساس به پنی‌سیلین و یا علیه گنوکک‌های تولید کنندهٔ بتالاکتاماز می‌باشد.

مقاومت به آمینوگلیکوزیدها: مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در اثر سه مکانیسم زیر رخ می‌دهد:

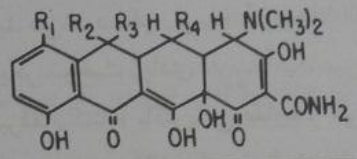
۱ جهش در جایگاه اتصالی آنتی‌بیوتیک در زیرواحد 30 S که منشأ مقاومت کروموزومی می‌باشد یعنی در اثر جهش در کروموزم باکتری ایجاد می‌شود.

۲ تولید آنزیم‌های غیرفعال‌کننده دارو که توسط پلاسمیدها ایجاد می‌شود. این مکانیسم شایع‌ترین مکانیسم مقاومت می‌باشد.

۳ نقص غشایی و کاهش نفوذپذیری دارو که اغلب توسط پلاسمید ایجاد می‌شود.

تتراسایکلین‌ها:[2] تتراسایکلین‌ها با اتصال به زیر واحد 30 S ریبوزوم پروکاریوتی، اتصال آمینواسیل- tRNA به زیرواحد 30 S را مهار کرده و در نتیجه سنتزپروتئین را متوقف می‌کنند. تتراسایکلین‌ها آنتی‌بیوتیک‌های باکتریواستاتیک وسیع‌الطیفی هستند که عملکرد مهاری داشته و با قطع مصرف، تاثیرات آنها برگشت‌پذیر می‌باشد. (شکل ۲-۶) تتراسایکلین‌ها داروی انتخابی در عفونت‌های ناشی از ریکتسیا، کلامیدیا و مایکوپلاسما پنومونیه می‌باشند. مقاومت به تتراسایکلین در باکتری‌ها ناشی از کاهش نفوذ آنتی‌بیوتیک به درون سلول و یا ترشح فعال آنتی‌بیوتیک به خارج سلول می‌باشد. تتراسایکلین‌ها در غلظت‌های بالا قادرند سنتز پروتئین در سلول‌های یوکاریوت را نیز متوقف کنند ولی چون این سلول‌ها فاقد مکانیسم‌هایی برای تجمع دارو در داخل سلول

1. spectinomycin
2. tetracyclins



	R_1	R_2	R_3	R_4
تتراسایکلین	H	OH	CH_3	H
اکسی‌تتراسایکلین	H	OH	CH_3	OH
کلروتتراسایکلین	Cl	OH	CH_3	H
دمکلوسیکلین	Cl	OH	H	H
داکسی‌سیکلین	H	H	CH_3	OH
مینوسایکلین	$N(CH_3)_2$	H	H	H

شکل ۲-۶ ساختار شیمیایی تتراسیکلین‌ها

می‌باشند، پس غلظت دارو در سلول یوکاریوت به میزان غلظت مهارکننده نمی‌رسد. تتراسایکلین‌ها به‌خصوص در جنین و در طی ۶ سال اول زندگی در ساختمان استخوان‌ها و دندان‌ها رسوب می‌کنند. اگر تتراسایکلین‌ها توسط زن باردار به مدت طولانی مصرف شوند، دندان‌های کودک ممکن است بدرنگ و فلورسانس شود.

مهارکننده‌های زیرواحد 50 S

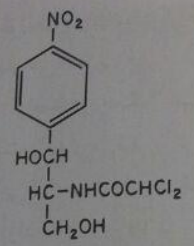
کلرامفنیکل، لینکومایسین و ماکرولیدها آنتی‌بیوتیک‌هایی هستند که بر زیرواحد **50 S** ریبوزمی عمل می‌کنند.

کلرامفنیکل:[1] کلرامفنیکل در ابتدا از سویه‌های استرپتومیسس ونزوئلا به‌دست آمد ولی امروزه به‌طور کامل از طریق شیمیایی سنتز می‌شود (شکل ۳-۶). کلرامفنیکل یک آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک وسیع‌الطیف است که با اتصال به زیرواحد 50 S سنتز پروتئین را در پروکاریوت‌ها مهار می‌کند. این دارو با مهار **پپتیدیل ترانسفراز**، شکل‌گیری پیوند پپتیدی را مهار می‌کند و تاثیر آن بر مرحله طویل‌سازی ترجمه می‌باشد. کلرامفنیکل بر علیه محدوده وسیعی از باکتری‌ها فعالیت دارد ولی به‌علت اثرات جانبی شدید (آنمی آپلاستیک)، کاربرد آن محدود شده و فقط برای عفونت‌های حصبه، منژیت مننگوککی و عفونت‌های هموفیلوس آنفلونزا مورد استفاده قرار می‌گیرد.

بروز مقاومت در برابر کلرامفنیکل عمدتاً ناشی از غیرفعال شدن دارو توسط آنزیم کلرامفنیکل استیل ترانسفراز می‌باشد که تحت کنترل پلاسمید می‌باشد.

ماکرولیدها: آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که در ساختمان شیمیایی

1. chloramphenicol



شکل ۳-۶ ساختار شیمیایی کلرامفنیکل

خود یک حلقه لاکتونی دارند. از آنتی‌بیوتیک‌های این گروه می‌توان اریترومایسین، کلاریترمایسین و آزیترومایسین را مثال زد که همگی با اثر بر زیرواحد **50 S** ریبوزوم، ترجمه را مهار می‌کنند. اریترومایسین[1] مهمترین آنتی‌بیتیک ماکرولید می‌باشد و از استرپتومیسس اریترئوس به‌دست می‌آید. اریترومایسین داروی باکتریواستاتیک بوده و به‌عنوان داروی اولیه برای درمان عفونت‌های مایکوپلاسما پنمونیه، کورینه باکتریوم دیفتریه و سیاه‌سرفه کاربرد دارد. اریترومایسین با اتصال به **ترانسلوکاز**[2] (23 SrRNA) در زیر واحد 50 S، مرحله ترانسلوکاسیون را متوقف می‌کند، بنابراین، مقاومت به اریترومایسین ناشی از متیلاسیون 23 SrRNA ریبوزمی می‌باشد. این مقاومت تحت کنترل یک پلاسمید قابل انتقال می‌باشد.

لینکومایسین[3] **و کلیندامایسین:**[4] لینکومایسین و کلیندامایسین در نحوه عملکرد و جایگاه اتصال مشابه اریترومایسین می‌باشند و هر دو با اتصال به زیرواحد **50 S** ریبوزم، پروتئین‌سازی را مهار می‌کنند. لینکومایسین از استرپتومیسس لینکولنسیس به‌دست می‌آید، ولی کلیندامایسین آنتی‌بیوتیک نیمه سنتزی می‌باشد و از لینکومایسین مشتق می‌شود. مهمترین مورد مصرف کلیندامایسین علیه باکتری‌های بی‌هوازی اجباری به خصوص عفونت‌های ناشی از باکتریوئید فراژیلیس می‌باشد. همچنین کلیندامایسین یکی از مهمترین آنتی‌بیوتیک‌های ایجادکننده **کولیت با غشای کاذب** ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌هاست که توسط کلستریدیوم دیفیسل ایجاد می‌شود. لینکومایسین موجب از هم پاشیدن سریع پلی‌ریبوزوم‌ها می‌شود. مقاومت حاصل از این آنتی‌بیوتیک‌ها ناشی از متیله شدن 23srRNA در زیرواحد 50 S ریبوزم‌ها می‌باشد.

سایر آنتی‌بیوتیک‌های مهارکننده سنتز پروتئین: پورومایسین،[5] این آنتی‌بیوتیک دارای ساختمان مشابه با آمینواسیل -tRNA می‌باشد و سنتز پروتئین را در مرحله‌ای متوقف می‌کند که در تمام

1. erithromycin
2. translocase
3. lincomycin
4. clindamycin
5. puromycin

سلول‌های زنده مشترک می‌باشد، لذا پورومایسین هم رشد پروکاریوت‌ها و هم یوکاریوت‌ها را مهار می‌کند؛ بر همین اساس، پورومایسین کاربرد درمانی چندانی ندارد.

اسید فوزیدیک:[1] اسید فوزیدیک یک آنتی‌بیوتیک **استروئیدی** است که رشد باکتری‌های گرم مثبت را مهار می‌کند اما اثر چندانی بر گرم منفی‌ها ندارد. در حال حاضر اسید فوزیدیک برای درمان برخی از عفونت‌های استافیلوکوکی کاربرد دارد. اسید فوزیدیک با تشکیل یک کمپلکس پایدار، مانع از آزاد شدن EF-G از ریبوزوم می‌شود، در نتیجه واکنش ترانسلوکاسیون را مهار می‌کند.

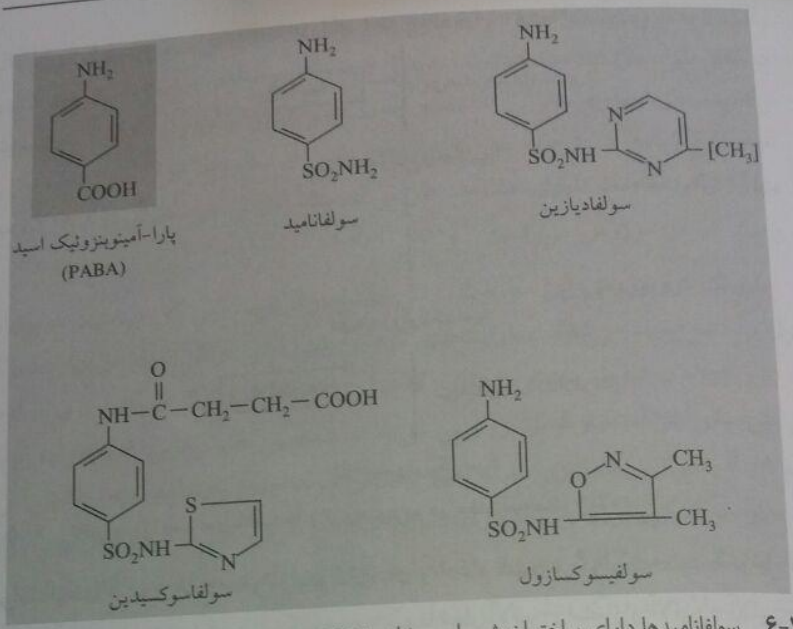
گریزئوفولوین:[2] گریزئوفولوین یک آنتی‌بیوتیک ضد قارچ است که برای قارچ‌های با دیوارهٔ کیتینی[3] اختصاصی می‌باشد. این آنتی‌بیوتیک که به وسیله پنی‌سیلیوم گریزئوفولوم تولید می‌شود برای درمان عفونت‌های درماتوفیت‌ها کاربرد دارد. گریزئوفولوین به وسیله تداخل با فرآیند تجمع زیرواحدهای توبولین به‌صورت میکروتوبول‌ها، تقسیم میتوز را متوقف می‌کند.

آنتی‌متابولیت‌ها

آنزیم‌ها غالباً به وسیله ترکیباتی مهار می‌شوند که ساختمانی مشابه با سوبسترای طبیعی دارند. بسیاری از این مهارکننده‌ها مشابه با فاکتورهای رشد باکتری هستند. **سولفانامیدها**[4] دارای ساختمانی مشابه پاراآمینوبنزوئیک اسید (PABA) هستند. پاراآمینوبنزوئیک اسید پیش‌ساز سنتز اسیدفولیک می‌باشد، بنابراین سولفانامیدها به‌طور رقابتی آنزیم دی هیدروپتریدین سنتتاز را مهار می‌کند و مانع تولید اسید فولیک می‌شود (شکل ۴-۶). ترکیبات دیگر مشابه با پاراآمینوبنزوئیک اسید (PABA) وجود دارند که به‌عنوان آنتی فولات به‌کار می‌روند، از آن جمله می‌توان به داپسون که در درمان جذام به‌کار می‌رود اشاره کرد.

تریمتوپریم، فولات دیگری می‌باشد که یکی دیگر از آنزیم‌های مسیر سنتز اسید فولیک، به نام دی‌هیدروفولات ردوکتاز را مهار می‌کند. این دارو تاثیر قوی‌تری نسبت به سولفانامیدها دارد و برخلاف سولفانامیدها که باکتریواستاتیک می‌باشند، تری‌متوپریم،باکتریوسید می‌باشد. در کاربرد بالینی، تری متوپریم را در ترکیب با یکی از سولفانامیدها به‌کار می‌برند؛ کاربرد این داروها با همدیگر (**کو-تریموکسازول**) موجب تقویت اثر ضد باکتریایی شده که این اثر را **سینرژیسم**[5] می‌گویند (شکل ۵-۶). ترکیبات آنتی‌فولات مثل سولفانامیدها و تری‌متوپریم بر پستانداران تاثیری ندارند، زیرا پستانداران اسید فولیک را سنتز نکرده و آن را از طریق مواد غذایی به‌دست می‌آورند.

1. fusidic acid
2. griseofulvin
3. chitin
4. sulfonamide
5. synergism



شکل ۴-۶ سولفانامیدها دارای ساختمان شیمیایی مشابه PABA هستند.

فلوئوسیتوزین[1] (۵- فلوئوسیتوزین): فلوئوسیتوزین مشتقی از نوکلئوتید سیتوزین است و دارای تشابه ساختمانی با آن می‌باشد. فلوئوسیتوزین یک آنتی‌متابولیت ضد قارچ است که به‌عنوان داروی انتخابی در درمان کروموماییکوزیس به‌کار می‌رود.

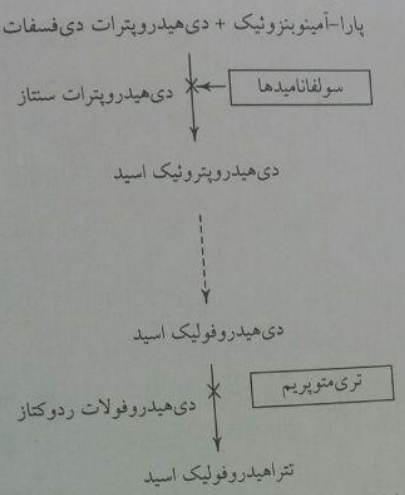
این ترکیب یک مهارکننده غیررقابتی آنزیم تیمیدیلات سنتتاز می‌باشد و از سنتز DNA جلوگیری می‌کند.

آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر مایکوباکتریوم

ایزونیازید، اتیون آمید، اتامبوتول و سیکلوسرین آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر دیوارهٔ سلولی در مایکوباکتریوم می‌باشند. ایزونیازید تاثیر کمی بر روی اغلب باکتری‌ها دارد، اما فعالیت چشمگیری بر علیه مایکوباکتریوم‌ها، به‌ویژه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارد. این دارو فعالیت باکتریوسید دارد و با مهار سنتز **اسیدهای میکولیک**[2] بر روی مایکوباکتریوم اثر می‌گذارد.

اتیون آمید نیز مانند ایزونیازید سنتزاسیدهای نوکلئیک را مهار می‌کند؛ اتامبوتول، باکتریواستاتیک

1. fluocytosine
2. mycolic acid



شکل ۵-۶ تاثیر سینرژیسم سولفانامیدها و تری‌متوپریم در مهار بیوسنتز فولات

(مایکواستاتیک) بوده و مانع سنتز آرابینوگالاکتان و ادغام شدن میکولیک اسید به داخل دیواره سلولی مایکوباکتریوم‌ها می‌شود. سیکلوسرین نیز با مهار آلانین راسماز و آلانین - آلانین سنتتاز، سنتز پپتیدوگلایکان را مهار می‌کند. ریفامپین نیز به همراه سایر آنتی‌بیوتیک‌های ضد مایکوباکتریومی در درمان سل به‌کار می‌رود. این آنتی‌بیوتیک با اتصال به RNA پلیمراز باکتری، رونویسی را در باکتری متوقف می‌کند. ریفامپین قادر است به سلول‌های فاگوسیت نفوذ کرده و ارگانیسم‌های درون سلولی را از بین ببرد.

منشأ مقاومت دارویی

منشأ مقاومت دارویی ممکن است غیرژنتیکی یا ژنتیکی باشد:

۱. منشأ غیرژنتیکی مقاومت دارویی: معمولاً برای فعالیت اغلب داروهای ضد میکروبی تکثیر فعال باکتری‌ها مورد نیاز می‌باشد و میکروارگانیسم‌هایی که از نظر متابولیکی غیرفعال بوده و تکثیر نمی‌شوند، به داروها مقاوم می‌باشند؛ مثلاً مایکوباکتریوم‌ها قادرند پس از عفونت، سال‌ها در بافت زنده باقی مانده و تکثیر نشوند؛ این ارگانیسم‌ها نسبت به داروها مقاوم بوده و نمی‌توانند توسط داروها ریشه‌کن شوند. میکروارگانیسم‌ها ممکن است برای مدتی اهداف اختصاصی داروها را از دست بدهند، مثلاً ارگانیسم‌هایی که تبدیل به **اشکال L**[1] می‌شوند، بدون دیواره سلولی بوده

1. L-form

و نسبت به داروهای مهارکنندهٔ دیوارهٔ سلولی مقاوم هستند، همچنین ممکن است میکروارگانیسم‌ها در محل‌هایی عفونت ایجاد کنند که داروهای ضد میکروبی وارد آنجا نمی‌شوند، مثلاً سالمونلاها ارگانیسم‌های مهاجم سلولی هستند و چون آمینوگلیکوزیدها وارد سلول نمی‌شوند، پس آمینوگلیکوزیدها در درمان تب‌های روده‌ای ناشی از سالمونلا مؤثر نمی‌باشند.

۲. **منشأ ژنتیکی مقاومت داروئی:** مقاومت داروئی که منشأ ژنتیکی دارد، دارای دو منشأ کروموزومی و منشأ غیرکروموزومی می‌باشد:

مقاومت کروموزومی: این مقاومت در اثر جهش در لوکوس ژنی که حساسیت به یک دارو را کنترل می‌کند، ایجاد می‌شود. مقاومت‌های کروموزومی اکثراً در اثر تغییر در ساختمان گیرندهٔ یک دارو ایجاد می‌شوند. مهمترین مثالی که در این ارتباط قابل ذکر می‌باشد بروز مقاومت در برابر **متی‌سیلین** در استافیلوکوک اورئوس می‌باشد. همچنین جهش‌هایی که منجر به تولید یک آنزیم RNA پلیمراز با یک زیرواحد بتا تغییر یافته می‌شوند، منجر به مقاومت به ریفامپین می‌شوند.

مقاومت غیرکروموزومی: باکتری‌ها دارای عناصر ژنتیکی خارج کروموزمی به نام پلاسمید می‌باشند. پلاسمیدهای R گروهی از پلاسمیدها بوده که ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک را حمل می‌کنند. این پلاسمیدها که اغلب، آنزیم‌های تخریب‌کننده آنتی‌بیوتیک را کد می‌کنند قادرند به وسیله کنژوگاسیون به باکتری‌های حساس منتقل شوند. همچنین بسیاری از ژن‌های مقاومت به دارو بر روی ترانسپوزون‌ها جای گرفته‌اند، ترانسپوزون‌ها، توالی‌های DNA هستند که می‌توانند بین کروموزوم و پلاسمیدهای مختلف جابجا شوند.

پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها دو عامل عمده گسترش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند. همچنین ممکن است مقاومت ژنتیکی نسبت به یک آنتی‌بیوتیک، هم منشأ کروموزمی و هم غیرکروموزومی داشته باشند مثلاً مقاومت به سولفانامیدها و تری‌متوپریم ممکن است در اثرجهش کروموزومی بوده و یا وابسته به پلاسمید باشد.

استفاده توأم از آنتی‌بیوتیک‌ها

وقتی دو داروی ضدمیکروبی به‌طور هم‌زمان بر روی جمعیت میکروبی به‌کار گرفته شوند یکی از اثرات زیر ممکن است ظاهر شود:

۱ **بی‌تفاوتی**، یعنی اثر ترکیبی دو دارو برابر با اثر داروی قوی‌تر می‌باشد.

۲ **اثرتجمّعی**، یعنی عملکرد دو دارو برابر با مجموع اثرات دو دارو می‌باشد.

۳ **سینرژیسم**، یعنی اثر داروی ترکیبی از مجموع اثر دو دارو بیشتر است.

۴ **آنتاگونیسم**، یعنی عملکرد داروی ترکیبی کمتر از اثر داروی قوی‌تر به تنهایی باشد. این حالت هنگامی پیش می‌آید که یکی از داروها باکتریواستاتیک و دیگری باکتریوسید باشد؛ مثلاً کاربرد هم‌زمان تتراسایکلین و پنی‌سیلین.

سینرژیسم ممکن است در چندین حالت اتفاق بیفتد:

الف) دو دارو ممکن است دو واکنش متوالی از یک مسیر متابولیک را متوقف کنند مثلاً کاربرد سولفانامید و تری‌متوپریم

ب) داروهای مهارکننده دیوارهٔ سلولی موجب تسهیل ورود سایر داروها شوند؛ مثلاً پنی‌سیلین‌ها موجب افزایش ورود آمینوگلیکوزیدها به داخل باکتری می‌شوند.

ج) داروهایی که به غشای خارجی آسیب‌زده و موجب تسهیل ورود سایر آنتی‌بیوتیک‌های نفوذ-ناپذیر شوند.

د) یک دارو ممکن است از غیرفعال شدن داروی دوم توسط آنزیم‌های میکروبی جلوگیری کند مثلاً مصرف هم‌زمان مهارکننده‌های بتالاکتاماز (اسید کلاولانیک، سولباکتام و تازوباکتام) همراه با بتالاکتام‌ها.

کموپروفیلاکسی ضد میکروبی

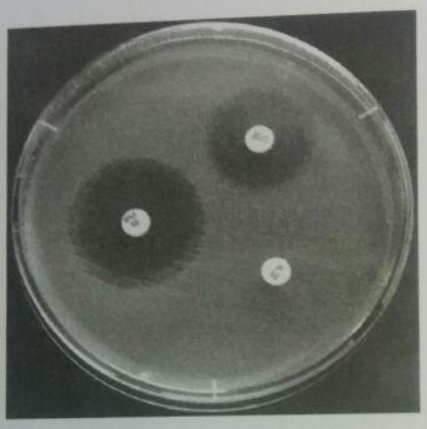
کموپروفیلاکسی[1] عبارت است از تجویز داروهای ضد میکروبی برای پیشگیری از عفونت. پروفیلاکسی برای اشخاصی که استعداد زیادی به عفونت‌ها دارند مثل افرادی که دارای دریچه‌های مصنوعی قلب می‌باشند و یا قبل از انجام جراحی‌ها، برای کاهش خطر عفونت‌ها استفاده می‌شود.

اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی یا تست آنتی‌بیوگرام[2]

فعالیت ضدمیکروبی یک دارو با اندازه‌گیری کمترین میزان مورد نیاز از دارو برای مهار کردن رشد باکتری موردنظر تعیین می‌شود و این میزان را **حداقل غلظت مهارکننده** (MIC) می‌گویند. یکی از روش‌های تعیین MIC استفاده از روش رقیق‌سازی در لوله می‌باشد. در این روش یک سری لوله‌های حاوی محیط کشت با غلظت‌های مختلفی از داروی موردنظر انکوبه می‌شوند. بعد از انکوباسیون، لوله‌ای که در آنها رشد رخ نداده است را مشخص کرده و بدین‌ترتیب MIC تعیین می‌شود. کاربردی‌ترین روشی که برای مطالعه عمل ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد روش **انتشار**

1. chemoprophilaxy
2. antibiogram

دیسک[1] یا **کربی-بوئر**[2] می‌باشد که برای تعیین حساسیت یک ارگانیسم خاص به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف استفاده می‌شود. یک پلیت حاوی محیط کشت **مولر-هینتون** که سطح آن با باکتری موردنظر، کشت شده است را استفاده می‌کنیم، سپس دیسک‌های کاغذی حاوی آنتی‌بیوتیک موردنظر را روی محیط کشت قرار داده و انکوبه می‌کنیم. بعد از انکوباسیون هاله‌ای اطراف دیسک کاغذی مشاهده می‌شود که رشد باکتری موردنظر در آن متوقف شده است. با اندازه‌گیری قطر هاله اطراف دیسک می‌توان قدرت مهاری دارو را در برابر ارگانیسم موردنظر تخمین زد. (شکل ۶-۶).



شکل ۶-۶ اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک با روش انتشار دیسک

1. disc diffusion
3. Kirby-Bauer

ص ۱۲۲ سفیده

ص ۱۲۳

۷ استریلیزاسیون و ضد عفونی

استریلیزاسیون

شناخت اصول پایه استریلیزاسیون و ضد عفونی نقش اساسی در امور پزشکی دارد. اصطلاحات زیر به‌طور متداول در ارتباط با عوامل ضد عفونی کننده و کاربردهای آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند:

بیوساید:[1] یک اصطلاح کلی است که بیان‌کنندهٔ عامل شیمیایی معمولاً وسیع‌الطیفی است که میکروارگانیسم‌ها را غیرفعال می‌کند.

باکتریواستاتیک: عوامل فیزیکی یا شیمیایی که موجب جلوگیری از تکثیر باکتری‌ها می‌شوند، ولی به محض برداشتن عامل، تکثیر از سر گرفته می‌شود. همچنین اصطلاحات فونجی استاتیک و اسپورو استاتیک نیز به عواملی گفته می‌شود که به ترتیب موجب توقف رشد قارچ‌ها و اسپورها می‌شود.

باکتریوساید: عوامل فیزیکی و شیمیایی که قادر به کشتن باکتری‌ها می‌باشند. به‌طوری که باکتری‌های کشته شده حتی پس از برداشتن عامل، قادر به تولیدمثل نمی‌باشند. اصطلاحات فونجی سیدال، اسپوروسیدال و ویریسیدال عواملی هستند که به ترتیب قادر به کشتن قارچ‌ها، اسپورها و ویروس‌ها می‌باشند.

استریلیزاسیون[2] **(سترون کردن):** فرایند فیزیکی یا شیمیایی که تمام اشکال حیات میکروبی از جمله اسپورها را از بین می‌برد.

مواد ضد عفونی کننده:[3] ترکیبات بیوسایدی که برای کشتن میکروارگانیسم‌ها بر روی سطوح یا اجسام بی‌جان به‌کار می‌روند. این ترکیبات می‌توانند اسپوروسیدال باشند یا نباشند.

آنتی‌سپتیک:[4] ترکیبات بیوسایدی که قادرند رشد میکروارگانیسم‌ها را بر روی بافت زنده متوقف کرده یا آنها را نابود کنند. این ترکیبات در بیشتر موارد فاقد فعالیت اسپورکشی هستند.

آسپتیک: عبارتست از عدم وجود میکروب‌های پاتوژنیک

---

1. biocide
2. sterilization
3. disinfectant
4. antiseptic

سالم‌سازی:[1] فرآیندی که برای کاهش تعداد میکروب‌های درون سطوح بی‌جان تا حد مطلوب، به‌کار می‌رود و جسم یا ماده‌ای از نظر مصرف سالم می‌گردد.

مقاومت میکروب‌ها نسبت به استریلیزاسیون متفاوت می‌باشد، اسپورهای باکتری‌ها بالاترین مقاومت را نشان می‌دهند در حالی که قارچ‌ها بیشترین حساسیت را به عوامل استریلیزاسیون دارند. در بین باکتری‌های فاقد اسپور، **مایکوباکتریوم‌ها** بیشترین مقاومت را در برابر عوامل ضد عفونی‌کننده نشان می‌دهند.

مفهوم مرگ سلولی:[2] برای میکروارگانیسم‌ها، تنها معیار با ارزش که در ارتباط با مرگ سلولی وجود دارد، از دست رفتن غیرقابل برگشت توانایی تولیدمثل می‌باشد. در هنگامی که یک جمعیت باکتری با یک عامل کشنده مواجه می‌شود، به مرور زمان تعداد میکروارگانیسم‌های زنده کاهش می‌یابد و این کاهش به‌صورت **لگاریتمی** می‌باشد. هر چه تعداد اولیه میکروارگانیسم‌هایی که باید کشته شوند بیشتر باشد مجاورت با مادهٔ ضد عفونی‌کننده نیز باید شدیدتر و طولانی‌تر باشد تا استریلیزاسیون حاصل شود.

@pdf_jozveh

فاکتورهای مؤثر بر کارایی ضد عفونی‌کنندگی

۱. **غلظت عوامل ضد عفونی:** بسیاری از عوامل فقط در هنگامی برای باکتری‌ها کشنده می‌باشند که در غلظت‌های بالا مورد استفاده قرار گیرند. غلظتی که برای ایجاد یک اثر معین مورد نیاز است، وابسته به ضد عفونی‌کننده، ارگانیسم و روش مورد استفاده، متغیر می‌باشد.

۲. **زمان تماس:** هنگامی که باکتری‌ها در تماس با غلظت معینی از یک عامل باکتریوسید قرار می‌گیرند، تمام میکروارگانیسم‌ها به‌طور هم‌زمان نمی‌میرند بلکه یک کاهش تدریجی در تعداد سلول‌های زنده اتفاق می‌افتد.

۳. **pH:** غلظت یون هیدروژن از طریق تأثیر بر روی ارگانیسم و عوامل شیمیایی، عملکرد باکتریوسیدی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. pH محیط بر بار الکتریکی سطحی سلول تأثیر می‌گذارد، همچنین میزان یونیزه شدن ماده شیمیایی را نیز تعیین می‌کند.

۴. **دما:** با افزایش دما، کشته شدن باکتری به وسیله عوامل شیمیایی افزایش می‌یابد. در دماهای پایین، به ازای هر ۱۰ درجه سانتیگراد تغییر در درجه حرارت، سرعت مرگ به میزان ۲ برابر افزایش می‌یابد. (این اثر **Q10** نیز نامیده می‌شود)

۵. **ماهیت ارگانیسم:** کارایی یک عامل شیمیایی معین به خصوصیات ارگانیسم مورد آزمایش بستگی

1. sanitation
2. cell death

دارد. مهمترین خصوصیات در ارتباط با گونه ارگانیسم، مرحله رشد، حضور اندوسپور یا کپسول و تعداد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.

۶. **حضور ترکیبات خارجی:** حضور ترکیبات آلی از قبیل سرم خون یا چرک بر روی فعالیت بسیاری از ضد عفونی کننده‌ها تأثیر می گذارد و آنها را بی‌اثر می کند مثلاً کاهش فعالیت مهاری رنگ‌های آنیلین، ترکیبات جیوه و دترژنت‌های کاتیونی.

ارزیابی ضد عفونی‌کننده‌ها

یکی از قدیمی‌ترین روش‌ها برای ارزیابی قدرت یک ضد عفونی‌کننده، روش تعیین **ضریب فنلی**[1] می‌باشد که از فنل به‌عنوان ماده شیمیایی استاندارد مرجع استفاده می‌کنند. ضریب فنلی عبارتست از حاصل مقایسه رقت‌های فنل و رقت‌های مادهٔ شیمیایی دیگر که اثر میکروب‌کشی مشابهی علیه میکروب مورد آزمایش داشته باشد.

امروزه روش دیگری **(AOAC)** به‌کار می‌رود که طی آن اثر باکتریوسیدی ماده شیمیایی بر روی ارگانیسم‌های استانداری مثل سالمونلا کلراسوئیس، استافیلوکوک اورئوس و پسودوموناس آئروژینوزا، اندازه‌گیری می‌شود.

مکانیسم عملکرد ضد عفونی‌کننده‌ها

مکانیسم‌هایی که به وسیله آنها، داروها رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار می‌کنند و یا آنها را می‌کشند، متنوع و پیچیده است که برخی از مکانیسم‌های آسیب رساندن به‌صورت زیر است:

۱. **عواملی که به غشای سلول آسیب می‌رسانند:** غشای سلول به‌صورت یک سد انتخابی عمل کرده و موجب تجمع برخی مواد در داخل سلول می‌شود. همچنین غشاء محل آنزیم‌هایی است که در بیوسنتز اجزای پوشش سلولی نقش دارند، پس عواملی که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی غشا را تغییر می‌دهند، موجب مهار یا کشته شدن باکتری می‌شوند:

عوامل کاتیونی: ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی که در آنها یک واحد آبگریز در اتصال با یک گروه آبدوست می‌باشند، هنگامی که بر باکتری‌ها اثر می‌کنند، گروه آبدوست با گروه‌های فسفات در فسفولیپیدهای غشاء مجاور می‌شود، و بخش آبگریز در داخل غشاء نفوذ می‌کند و تغییراتی را ایجاد می‌کند که موجب از دست رفتن عملکرد غشاء و تراوش ترکیبات پروتئینی از سلول می‌شود. ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی بالاترین فعالیت را در pH **قلیایی** دارند و در

1. Phenol coefficient

حضور ترکیبات آلی، فعالیت ضد باکتریال آنها کاهش می‌یابد. این ترکیبات همچنین اسپورواستاتیک و مایکوباکتریواستاتیک هستند.

عوامل آنیونی: از میان عوامل آنیونی می‌توان صابون‌های آنیونی و نمک‌های صفراوی را مثال زد. این عوامل که در pH **اسیدی** فعالیت بیشتری دارند، بر روی باکتری‌های گرم مثبت مؤثر هستند اما ارگانیسم‌های گرم منفی به علت داشتن لایه لیپوپلی‌ساکاریدی غشای خارجی به این ترکیبات نسبتاً مقاوم می‌باشند. دترژنت‌های آنیونی موجب تأثیرات شدید بر شبکه لیپوپروتئینی غشای سلول می‌شوند.

ترکیبات فنلی: ترکیبات فنلی امروزه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. درگذشته از ترکیبات فنلی به‌عنوان یک معیار ارزیابی سایر ترکیبات ضد عفونی‌کننده استفاده شده و به‌صورت ضریب فنلی عنوان می‌شد. ضریب فنلی نشان‌دهندهٔ فعالیت یک ضد عفونی‌کننده در مقایسه با فنل می‌باشد. ضریب فنلی کمتر از ۱ نشان‌دهنده فعالیت بیشتر از فنل و ضریب فنلی بیشتر از ۱ نشان‌دهندهٔ فعالیت ضد عفونی‌کنندگی کمتر از فنل می‌باشد. مکانیسم عمل ترکیبات فنلی، تخریب غشاهای لیپیدی می‌باشد، بنابراین برعلیه **مایکوباکتریوم‌ها** دارند که دیوارهٔ آنها غنی از لیپید کارآیی بالینی دارند. در pH قلیایی فعالیت ترکیبات فنلی کاهش می‌یابد. ترکیبات فنلی که بیشترین اهمیت را دارند دی‌فنیل‌ها و مشتقات آلکیله و کلره فنل می‌باشد. کروزول‌ها فنل‌های آلکیله بوده و هگزاکلروفن مهمترین ترکیب دی‌فنیل می‌باشد.

الکل‌ها: الکل‌ها با نفوذ به ناحیه هیدروکربنی غشاء، ساختار لیپیدی غشاء را به هم می‌ریزند. الکل‌ها بر روی باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و اسید- فاست مؤثر می‌باشند ولی تاثیری بر اسپور باکتری‌ها ندارند. اتانول و ایزوپروپیل الکل کاربرد بیشتری نسبت به سایر الکل‌ها دارند. اتانول در غلظت ۷۰٪ بیشترین تاثیرمیکروب‌کشی را دارد. الکل‌ها علاوه‌بر تاثیری که بر غشاء دارند، همچنین قادرند پروتئین‌های سلول را دناتوره کنند.

۲. عواملی که پروتئین‌ها را دناتوره می‌کنند:[1] هر پروتئین دارای شکل فضایی ویژه است و عواملی که شکل فضایی پروتئین را تغییر می‌دهند موجب از بین رفتن فعالیت طبیعی پروتئین می‌شوند. از عوامل شیمیایی که پروتئین‌های سلول را دناتوره می‌کنند، می‌توان اسیدها، قلیاها، الکل‌ها، استن و سایر حلال‌های آلی را نام برد. اسید بنزوئیک (بنزوات) کاربرد وسیعی به‌عنوان نگهدارندهٔ مواد غذایی دارد.

۳. عواملی که گروه‌های فعال پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را تغییر می‌دهند: جایگاه کاتالیتیک یک

1. denaturing agent

آنزیم حاوی گروه‌های فعال اختصاصی است که به سوبسترا متصل شده و وقایع کاتالیتیک را شروع می‌کند:

فلزات سنگین: نمک‌های محلول جیوه، آرسنیک، نقره و بقیه فلزات سنگین از طریق واکنش با گروه‌های **سولفیدریل** واحدهای سیستئین موجب بروز اثرات سمی بر روی فعالیت آنزیم می‌شوند. نیترات نقره تأثیر باکتریوسید بسیار بالا برای گنوکک (نایسریا گنوره) دارد و برای پیشگیری از عفونت‌های چشمی گنوککی (آفتالمیا) در نوزادان استفاده می‌شود. کاربردی که اخیراً برای ترکیبات نقره مورد توجه قرار گرفته، در پمادهای ضد سوختگی می‌باشد.

عوامل اکسیدکننده: هالوژن‌ها و پراکسیدهیدروژن مفیدترین عوامل ضد میکروبی در این گروه هستند. این ترکیبات از طریق غیرفعال کردن گروه‌های SH–، آنزیم‌ها را غیرفعال می‌کنند. **کلر** و **ید** از مهمترین هالوژن‌های ضد عفونی‌کننده هستند (کلر به‌عنوان ضدعفونی کنندهٔ آب و ید به‌عنوان ضد عفونی‌کنندهٔ پوست کاربرد دارد) این عوامل به خاطر اینکه باکتریوسید و اسپوروسید هستند، از مهمترین ترکیبات ضد عفونی‌کننده محسوب می‌شوند. ید به‌صورت کمپلکس با یک حامل که **یدوفور**[1] نامیده می‌شود وجود دارد. مهمترین و شناخته‌ترین ترکیب یدوفور، پوویدون– آیوداین (بتادین) می‌باشد. عملکرد ضد عفونی‌کنندگی کلر ناشی از رها شدن کلر آزاد می‌باشد و فعالیت آن به میزان زیادی به حضور ترکیبات آلی بستگی دارد. هیپوکلریت‌ها مفیدترین ترکیبات کلر هستند که به شکل نمک‌هایی در دسترس بوده و به‌طور وسیع در تصفیه آب و صنایع غذایی کاربرد دارند.

پراکسید هیدروژن در شکل محلول ۳٪، یک آنتی سپتیک بی‌ضرر است که برای تمیز کردن زخم‌ها به‌کار می‌رود. تشکیل شدن رادیکال آزاد اکسیژن مسئول خاصیت سمی آن می‌باشد که موجب شکستن مولکول DNA می‌شود.

رنگ‌ها: برخی از رنگ‌ها به‌ویژه رنگ‌های آنیلین و آکریدین‌ها نه تنها باکتری‌ها را رنگ می‌کنند، بلکه تأثیر مهاری نیز دارند. رنگ‌های **قلیایی** بیشترین کارایی را داشته زیرا تمایل قابل توجهی برای گروه‌های فسفات اسیدی در اسیدهای نوکلئیک و سایر اجزای سلول دارند. از میان رنگ‌های آنیلین، بریلیانت گرین، مالاشیت گرین و کریستال ویوله کاربردهای بسیاری دارند و عمدتاً بر گرم مثبت‌ها تأثیر دارند؛ کریستال ویوله موجب تداخل در سنتز پپتیدوگلایکان می‌شود. رنگ‌های آنیلین در حضور سرم یا چرک تأثیر خود را از دست می‌دهند. رنگ‌های آکریدین در حد فاصل دو باز مجاور در مولکول DNA وارد شده و موجب اختلال در همانندسازی DNA می‌شوند.

1. iodophore

عوامل آلکیله‌کننده: فرمالدهید، اکسید اتیلن و گلوتار آلدهید با اثر بر روی پروتئین‌ها، باکتری‌ها را مهار می‌کنند. این عوامل با **متیله کردن** گروه‌های کربوکسیل، هیدروکسیل و یا سولفیدریل موجب غیرفعال شدن فعالیت آنزیمی می‌شوند. فرمالین به‌صورت مایع حاوی ۳۷٪ فرمالدهید وجود داشته و عملکرد تخریبی بر تمامی اشکال سلولی از جمله **اسپورها** دارد. فرمالدهید به شکل گاز برای ضد عفونی کردن اتاق‌های عمل به‌کارمی‌رود. گلوتارآلدهید که به آن **استریل کننده سرد**[1] نیز اطلاق می‌شود، برای استریل کردن وسایل جراحی استفاده می‌شود. گلوتارآلدهید به‌عنوان یک عامل باکتریوسید و اسپوروسید، در حدود ۱۰ برابر مؤثرتر از فرمالدهید می‌باشد و سمیت کمتری دارد. بر روی تمامی گروه‌های باکتریایی و اسپورها فعال می‌باشد و بیشترین کاربرد آن در استریلیزاسیون موادی است که به وسیله حرارت آسیب می‌بینند.

طیف عمل ضد عفونی‌کننده‌ها

در تقسیم‌بندی دیگری مواد ضد عفونی‌کننده را برحسب **طیف عمل** به سه دسته کلی تقسیم‌بندی می‌کنند:

۱ مواد ضد عفونی‌کننده با **کارایی بالا** که تمام میکروارگانیسم‌ها از جمله اسپورها را از بین می‌برند مثل گلوتارآلدهید، فرمالدهید و پراکسید هیدروژن.

۲ مواد ضد عفونی‌کننده با **کارایی متوسط** که بیشتر میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برند ولی قادر به از بین بردن اسپورها نمی‌باشند مثل الکل‌ها و ترکیبات فنلی.

۳ مواد ضد عفونی‌کننده با **کارایی پایین** که طیف اثر ضعیفی دارند مثل ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی.

عوامل فیزیکی ضد میکروبی

۱. گرما:[2] استفاده از گرما ساده‌ترین و پرمصرف‌ترین روش استریلیزاسیون می‌باشد. استریلیزاسیون یک جمعیت باکتری به وسیله گرما دارای یک منحنی لگاریتمی می‌باشد. مدت زمانی که برای استریلیزاسیون مورد نیاز می‌باشد، ارتباط معکوس با دمایی دارد که ارگانیسم‌ها با آن مواجه می‌شوند. این ارتباط را می‌توان به‌صورت **زمان مرگ حرارتی**[3] (TDT) بیان کرد. زمان مرگ حرارتی، حداقل زمانی است که برای کشتن یک سوسپانسیون ارگانیسم در یک دمای مشخص و در یک محیط معین، مورد نیاز می‌باشد. در بالاتر از یک دمای معین، تأثیر کشندگی گرمای مرطوب معمولاً در ارتباط با دناتوره شدن و انعقاد پروتئین می‌باشد. تأثیر حرارتی گرمای

1. cold sterilant
2. heat
3. thermal death time

خشک و گرمای مرطوب بر میکروارگانیسم‌ها متفاوت است، اثرات کشندهٔ حرارت خشک که در آزمایشگاه با استفاده از اون تولید می‌شود در رابطه با دناتوره شدن پروتئین‌ها، آسیب اکسیداتیو و الکترولیت‌ها ایجاد می‌شود. حرارت مرطوب به چندین روش جوشاندن، بخار آب و بخار آب تحت فشار تولید می‌شود که از میان روش‌های فوق استفاده از بخارآب تحت فشار در دستگاه **اتوکلاو** در ارجحیت می‌باشد. در اتوکلاو مواد در مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و تحت فشار ۱۵ پوند براینچ مربع، استریل می‌شوند. در این روش حتی مقاوم‌ترین اسپورها نیز کشته می‌شوند. اسپور باکتری **باسیلوس استئار و ترموفیلوس** یکی از مقاوم‌ترین اسپورها در برابر حرارت می‌باشد که از آن برای ارزیابی عملکرد صحیح دستگاه اتوکلاو استفاده می‌شود.

تیندالیزاسیون:[1] برای استریل کردن برخی از مایعات یا مواد نیمه جامد که به سهولت در مجاورت حرارت تخریب می‌شوند، از یک روش فرعی به نام تیندالیزاسیون استفاده می‌گردد که طی آن ماده موردنظر در دمای ۸۰ یا ۱۰۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ دقیقه در سه روز متوالی، حرارت داده می‌شود. در این روش، سلول‌های رویشی و برخی از اسپورها در جریان اولین مرحله حرارت کشته می‌شوند، اما اسپورهایی که مقاوم‌تر می‌باشند، در هنگام سرد شدن جوانه می‌زنند و در جریان حرارت در روز دوم و یا روز سوم کشته می‌شوند. این روش در استریل کردن محیط‌های کشت حساس به حرارت مفید می‌باشد.

پاستوریزاسیون: اغلب باکتری‌های رویشی در تماس‌های نسبتاً کوتاه در مجاورت دمای 60-65°C کشته می‌شوند. مهمترین کاربرد دما در این محدود، برای پاستوریزاسیون شیر، آبمیوه و... می‌باشد. در این روش که ابتدا از دمای 62°C به مدت ۳۰ دقیقه استفاده می‌شد، باکتری‌های بیماریزایی که عمدتاً به وسیله شیر منتقل می‌شوند مثل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و غیره را تخریب می‌کرد. اخیراً پاستوریزاسیون با استفاده از دمای ۷۲ درجه و به مدت ۱۵ ثانیه انجام می‌گیرد که این روش اثر زیان بار کمتری بر مزهٔ شیر دارد.

۲. انجماد:[2] بسیاری از باکتری‌ها در مجاورت با سرما می‌میرند ولی انجماد روش قابل قبولی برای استریلیزاسیون نیست. اولین کاربرد این روش در نگهداری کشت‌های باکتریال می‌باشد. در انجماد، تشکیل بلورهای یخ موجب از دست رفتن آب از داخل سلول‌ها شده و غلظت الکترولیت‌ها را افزایش می‌دهد که در نتیجه آن، دناتوره شدن پروتئین‌ها اتفاق می‌افتد، غشای سلول آسیب دیده و مواد آلی سلول به بیرون تراوش می‌شود. در هنگامی که باکتری‌ها تا دماهای خیلی پایین منجمد می‌شوند، کریستال‌های یخ در درون سلول‌های باکتری به وجود می‌آیند، که در هنگام

1. tyndallization 2. freezing

آب شدن مجدد، موجب کشتن باکتری می‌شوند. در روش **لیوفیلیزاسیون**[1] که انجماد در حالت آبگیری شده می‌باشد (خشک کردن- منجمد کردن)، میزان موارد مرگ باکتری‌ها به میزان زیادی کاهش می‌یابد. این روش کاربرد وسیعی در نگهداری کشت‌های باکتریال دارد.

۳. **تشعشع**: نورخورشید فعالیت باکتریوسیدی قابل توجهی دارد و نقش مهمی را در استریلیزاسیون خود به خودی بر عهده دارد. عملکرد ضد عفونی‌کنندگی خورشید ناشی از اشعه ماورای بنفش (UV) می‌باشد. تأثیراشعه UV به‌عنوان یک عامل جهش‌زا ارتباط نزدیکی با طول موج آن دارد و مؤثرترین طول موج باکتریوسیدال اشعه UV در ۲۶۰ نانومتر می‌باشد که مطابق با جذب ماکزیمم در مولکول DNA است. اشعه UV موجب تشکیل پیوندهای کووالانسی در بین واحدهای پریمیدین مجاور و ایجاد دیمرهای پریمیدین می‌شود. کاربرد اولیه اشعه UV در کنترل عفونت‌های منتقل شونده به وسیله هوا است. اندوسپور باکتری‌ها برای غیرفعال شدن به وسیله UV تا حدود ۱۰ برابر دوز بیشتری از اشعه را نسبت به باکتری‌های فاقد اسپور نیاز دارند. باکتری **داینوکوکوس رادیودورانس**[2] دارای مقاومت شگفت‌انگیزی در برابر اشعه UV می‌باشد. مقاومت این باکتری در برابر اشعه که حتی از اندوسپورهای باکتریایی نیز بیشتر است، به خاطر سیستم ترمیم کارآمد و همچنین وجود چندین کپی از کروموزوم در این باکتری می‌باشد که قادر است نقص‌ها را بلافاصله ترمیم کرده و یا به وسیله سایر کپی‌ها همپوشانی دهد.

۴. **امواج صوت و فراصوت**: عبور صدا از یک مایع، موجب تشکیل حفراتی در محیط مایع می‌شود که موجب از هم پاشیدن ساختمان سلول می‌شود. به‌علاوه برخی از تغییرات فیزیکی و شیمیایی در سیتوپلاسم پدید می‌آید که از میان مهمترین آنها تشکیل **پراکسید هیدروژن** می‌باشد که اثرات مخرّب بر روی بعضی آنزیم‌ها دارد. میکروارگانیسم‌ها از نظر حساسیت در برابر امواج صوتی متفاوت می‌باشند. باسیل‌های گرم منفی بیشترین حساسیت را داشته و استافیلوکوک‌ها بیشترین مقاومت را نشان می‌دهند.

۵. **فیلتراسیون**:[3] روش اصلی که برای استریلیزاسیون مواد حساس به حرارت در آزمایشگاه استفاده می‌شود، فیلتراسیون است. برای مقاصد استریلیزاسیون تعدادی از انواع مختلف فیلترها کاربرد دارند. درگذشته فیلترهای چمبرلند و سیتز کاربرد داشتند ولی امروزه از فیلترهای غشایی مرکب از استرهای سلولز استفاده می‌کنند. فیلترهای غشایی با منافذ ۰٫۲۲ میکرون کاربردهای وسیعی در استریلیزاسیون دارند. ناگفته نماند که برخی از ویبریوها، اسپریل‌ها و اسپیروکت‌ها با حرکت سریعی که دارند و مایکوپلاسماها با اندازهٔ کوچک خود قادرند از فیلترهای ۰٫۲۲ میکرونی عبور کنند.

1. lyophilization
2. deinococcus radiodurans
3. filteration

ص ۱۳۱

۸ پاتوژنز عفونت باکتریال

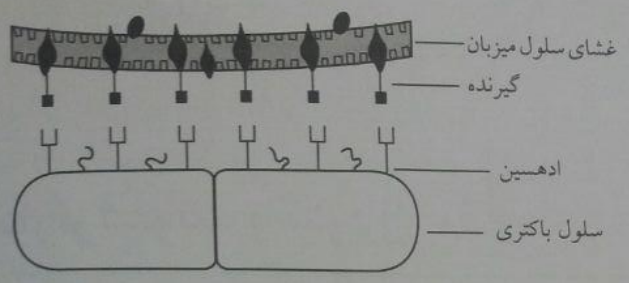
پاتوژنز

پاتوژنز[1] عفونت باکتریال عبارتست از آغاز فرآیند عفونی و مکانیسم‌هایی که منجر به ایجاد علائم و نشانه‌های بیماری می‌گردد. از خصوصیات باکتری‌های پاتوژن می‌توان قابلیت سرایت، چسبندگی به سلول‌های میزبان، تهاجم به سلول‌ها و بافت‌های میزبان، تولید توکسین و توانایی فرار کردن از چنگال سیستم ایمنی میزبان را نام برد. بیماری زمانی ایجاد می‌شود که باکتری‌ها و یا واکنش‌های ایمونولوژیکی که علیه باکتری‌ها ایجاد می‌شود باعث ایجاد آسیب به شخص شود. تعیین اینکه آیا یک گونه خاص باکتریال عامل یک بیماری به‌خصوص است، می‌تواند مشکل باشد. در سال ۱۸۸۴ رابرت کخ فرضیاتی را پیشنهاد کرد که برای مرتبط ساختن باکتری‌های ویژه‌ای با بیماری‌های خاص مورد استفاده قرار گرفته است. این فرضیات به‌عنوان زیر بنایی برای میکروبیولوژی باقی مانده است؛ ولی امروزه ثابت شده که بسیاری از میکروارگانیسم‌ها وجود دارند که معیارهای کخ را برآورده نمی‌کنند ولی می‌توانند باعث ایجاد بیماری شوند، برای مثال برطبق اصل سوم کخ بایستی بتوان میکروب عامل بیماری را در محیط کشت مصنوعی کشت داد؛ ولی برخی از میکروب‌ها مثل **تریپونما پالیدوم** (سیفلیس) و **مایکوباکتریوم لپره** (جذام) را نمی‌توان در محیط‌های مصنوعی کشت داد. همچنین طبق اصل سوم باید بتوان ارگانیسم عامل بیماری را در حیوان حساس آزمایشگاهی تلقیح کرد و عفونت را در آن مشاهده کرد ولی برخی از میکروارگانیسم‌ها مثل نایسریا گنوره (سوزاک) و سالمونلاتیفی (حصبه) فاقد الگوی حیوانی حساس می‌باشند.

برخی از واژهایی که در پاتوژنز باکتریال کاربرد دارند عبارتند از:

چسبندگی:[2] شیوه‌ای که باکتری به وسیله آن به سطوح سلول‌های میزبان می‌چسبد. هنگامی که باکتری وارد بدن میزبان می‌شود، چسبندگی گام اولیه در آغاز فرآیند عفونت خواهد بود. (شکل ۱-۸)

1. pathogenesis 2. adherence



شکل ۱-۸ باکتری‌ها به وسیله ادهسین‌های سطح خود به گیرنده‌های سطح سلول میزبان متصل می‌شوند.

حامل:[1] انسان یا حیوانی که دچار یک عفونت بدون علامت بوده و این عفونت می‌تواند به افراد یا حیوانات مستعد سرایت پیدا کند.

عفونت: تکثیر یک عامل عفونی در داخل بدن؛ تکثیر باکتری‌های فلور طبیعی بدن معمولاً عفونت تلقی نمی‌شود. از سوی دیگر تکثیر باکتری‌های بیماریزا، حتی اگر همراه با تولید بیماری نباشد، یک عفونت محسوب می‌شود.

عفونت ثانویه: عفونت ثانویه هنگامی پدید می‌آید که میکروب مهاجم اول، مقاومت بدن میزبان را کم کرده و یا فرد دچار سرکوب ایمنی شده باشد. این عفونت‌ها معمولاً در اثر میکروفلور طبیعی بدن میزبان پدید می‌آیند و این میکروب‌ها را **پاتوژن‌های فرصت طلب**[2] می‌نامند. مثلاً پنمونی (ذات‌الریه) استافیلوکوکی به‌ندرت بیماری اولیه محسوب می‌شود و در اغلب موارد، یک عفونت ثانویه بعد از عفونت ویروس آنفلوآنزا محسوب می‌شود.

بیماریزایی (پاتوژنیسیتی): توانایی یک میکروارگانیسم در ایجاد بیماری را پاتوژنیسیتی گویند.

توکسین‌زایی (توکسیژنیسیتی): توانایی یک میکروارگانیسم در تولید سمی که باعث بیماری می‌شود را توکسین‌زایی گویند.

ویرولانس: درجه بیماریزایی یک ارگانیسم را نشان می‌دهد و نشان‌دهندهٔ **تعداد** ارگانیسم‌های مورد نیاز برای ایجاد بیماری می‌باشد. ویرولانس شامل قدرت تهاجم و توکسین‌زایی ارگانیسم است. کمیتی به نام LD_{50} یا ID_{50} در رابطه با ویرولانس میکروارگانیسم مطرح می‌شود و بیانگر تعداد میکروارگانیسم مورد نیاز برای ایجاد بیماری یا مرگ، در ۵۰ درصد حیوانات آزمایشگاهی تلقیح شده، می‌باشد.

کلونیزاسیون: استقرار پایدار میکروارگانیسم‌ها در درون بدن را کلونیزاسیون می‌گویند که همراه با تکثیر موضعی باکتری در محل استقرار می‌باشد.

1. carrier
2. apportunistic pahtogen

تجزیه و تحلیل نمودن عفونت و بیماری‌ها منجر به طبقه‌بندی باکتری‌ها به انواع **پاتوژن**، **پاتوژن فرصت‌طلب** و عوامل **غیرپاتوژن** می‌شود. برخی از گونه‌های باکتریایی همیشه پاتوژن درنظر گرفته می‌شوند و وجودشان موجب بیماریزایی می‌شود مثل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (عامل سل)، یرسینیا پستیس (عامل طاعون) و سالمونلاتیفی (عامل حصبه)؛ گونه‌های دیگر که معمولاً بخشی از میکروفلور طبیعی بدن انسان هستند ولی در شرایط سرکوب ایمنی و ضعف بدن، می‌توانند موجب بیماری شوند که به اینها پاتوژن‌های فرصت‌طلب می‌گویند؛ مثل مخمرها که جزئی از فلور طبیعی هستند و در صورت مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌های ضد باکتریایی می‌توانند عفونت نیز ایجاد کنند.

انواع حالت‌های انگلی

انگل‌ها را براساس رفتار آنها در بدن میزبان زنده به پنج گروه تقسیم می‌کنند:

۱. **انگل‌های اختیاری**: انگل‌های اختیاری، میکروب‌هایی هستند که قادرند به حالت آزاد و یا انگل زندگی کنند. این قبیل میکروب‌ها قادرند در خارج از بدن میزبان زندگی کرده و تکثیر یابند ولی با وارد شدن به بدن میزبان، زندگی انگلی خود را آغاز کنند مثل: پسودوموناس، اشریشیاکلی و پروتئوس

۲. **انگل‌های اجباری**: میکروب‌هایی را گویند که در شرایط طبیعی فقط در درون میزبان زنده قادر به رشد و تکثیر می‌باشند، ولی برای مدتی در شرایط غیرزنده می‌توانند زنده بمانند؛ مثل انگل‌های تک سلولی.

۳. **انگل‌های برون سلولی اجباری**: این گونه انگل‌ها در خارج از سلول‌های بدن میزبان و در فضای بین بافت‌ها یا حفره‌های بدنی تکثیر پیدا می‌کنند ولی قادر به تهاجم به سلول‌های زنده نمی‌باشند و در اثر فاگوسیتوز به وسیلهٔ فاگوسیت‌ها رشد و تکثیر آنها متوقف شده و یا از بین می‌روند؛ مثل بسیاری از باکتری‌های بیماریزایی چون استافیلوکوک، باسیلوس و...

۴. **انگل‌های درون سلول اختیاری**: این قبیل میکروارگانیسم‌ها قادرند در خارج از سلول‌ها و یا در درون سیتوپلاسم و یا هسته سلول‌های بدن میزبان رشد و تکثیر نمایند. از این قبیل میکروب‌ها می‌توان نایسریاها، بروسلا و مایکوباکتریوم‌ها را مثال زد که معمولاً در سلول‌های فاگوسیت یافت می‌شوند و در سایر سلول‌ها یافت نمی‌شوند.

۵. **انگل‌های درون سلول اجباری**: این قبیل میکروب‌ها فقط در سلول‌های زنده می‌توانند رشد و تکثیر یابند و قادرند انواع سلول‌های بدن را مورد تهاجم قرار دهند. این میکروب‌ها اغلب در محیط‌های

غیرزنده قادر به رشد نمی‌باشند، ولی می‌توان آنها را در محیط کشت سلولی پرورش داد؛ مثل ویروس‌ها، ریکتزیاها، کلامیدیا و انگل مالاریا.

انتقال عفونت

برخی از باکتری‌ها که به‌طور شایع باعث ایجاد بیماری در انسان‌ها می‌شوند، به‌صورت اولیه در حیوانات وجود داشته و به‌طور اتفاقی انسان‌ها را آلوده می‌کنند؛ برای مثال گونه‌های سالمونلا و کمپیلوباکتر به‌طور نمادین حیوانات را آلوده می‌کنند و از طریق محصولات غذایی به انسان منتقل می‌شوند؛ این بیماری‌ها را **زئونوز**[1] می‌گویند. باکتری‌های دیگری نیز وجود دارند که به‌صورت تصادفی باعث ایجاد عفونت در انسان می‌شوند مثلاً یرسینیاپستیس (عامل طاعون) دارای یک چرخه زندگی مشخص در بین جوندگان و کوک می‌باشد و انتقال بیماری به انسان‌ها توسط کوک، تصادفی است. باسیلوس آنتراسیس (سیاه‌زخم) در محیط وجود داشته و گاهی اوقات حیوانات را آلوده می‌کند و می‌تواند توسط محصولاتی مانند پشم حیوانات آلوده به انسان منتقل شود (**بیماری پشم ریسان**).[2] کلستریدیوم‌ها به‌طور گسترده در محیط وجود داشته و می‌توانند به انسان منتقل شده و عامل عفونت‌هایی مثل **گانگرن گازی**[3] (ناشی از کلستریدیوم پرفرنژنس) و یا **کزاز**[4] (ناشی از کلستریدیوم تتانی) شوند.

تظاهرات بالینی بیماری‌ها (مثل اسهال، سرفه، ترشحات تناسلی) اغلب به انتقال عوامل بیماریزایی کمک می‌کند؛ برای مثال ویبریو کلرا (عامل وبا) باعث اسهال حجیمی می‌شود که ممکن است خاک یا آب تازه را آلوده کند و خوردن آب یا غذاهای دریایی آلوده می‌تواند منجر به ایجاد عفونت و بیماری شوند. مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به‌صورت طبیعی تنها انسان را آلوده می‌کند؛ این بیماری با سرفه و تولید آئروسل‌هایی همراه است که منجر به انتقال بیماری می‌شود. بسیاری از پاتوژن‌های فرصت‌طلب که عامل ایجاد **عفونت‌های بیمارستانی** هستند از طریق دست‌های کارکنان بیمارستان از یک بیمار به بیمار دیگر منتقل می‌شود.

شایع‌ترین راه‌های ورود باکتری‌های پاتوژن به بدن محل‌هایی هستند که سطوح مخاطی با پوست تلاقی پیدا می‌کند، مثل دستگاه تنفس، دستگاه گوارشی و دستگاه تناسلی.

فرآیند عفونی

برای ایجاد بیماریزایی، یک میکروارگانیسم باید مراحل زیر را طی کند:

1. zoonosis
2. Wool Sorter's Disease
3. gas gangren
4. tetani

۱. **آلودگی میزبان:** آلودگی میزبان در اغلب موارد اولین مرحله ضروری در ایجاد بیماری میکروبی محسوب می‌شود. استثنای قابل توجه، **مسمومیت غذایی** است که در آن، توکسین در نتیجه رشد باکتری، حاصل شده و خوردن آن موجب پیدایش علائم بیماری می‌شود. چگونگی ورود پاتوژن بستگی به راهی دارد که ارگانیسم برای ورود به سلول میزبان انتخاب می‌کند مثلاً یرسینیا پستیس (طاعون) و بورلیا بورگدورفری (بیماری لایم) به وسیلهٔ نیش حشرات وارد بدن میزبان می‌شوند. بسیاری از پاتوژن‌های روده‌ای مثل سالمونلا و شیگلا از طریق سلول‌های M در روده، وارد بدن می‌شوند. به‌علاوه برای برخی از میکروب‌های بیماریزا نیز نفوذ یا تهاجم به بافت‌ها ضرورت ندارد؛ مثلاً ویبریو کلرا (وبا) بافت‌های روده را مورد تهاجم قرار نمی‌دهد بلکه بر روی سطوح مخاطی رشد می‌کند و سمی را تولید می‌کند که بر سلول‌های روده اثر کرده موجب از دست رفتن آب و الکترولیت‌ها می‌شود؛ همچنین بوردتلا پرتوسیس و اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک نیز در نتیجه تکثیر بر سطح مخاط‌ها قادرند به میزبان آسیب برسانند.

۲. **چسبندگی:** با ورود باکتری‌ها به داخل بدن، آنها باید بتوانند به سلول‌های میزبان که معمولاً سلول‌های اپیتلیال هستند، متصل شوند. چسبندگی میکروب‌ها به سلول‌های یوکاریوت، یک فرآیند اختصاصی است که از طریق ساختمانی در سطح باکتری‌ها به نام **ادهسین**[1] صورت می‌گیرد، که با گیرنده‌های سطح سلول یوکاریوت واکنش نشان داده و به آن می‌چسبند. این صفت چسبندگی یک باکتری بیماریزا به‌عنوان شاخص مهم **ویرولانس**[2] شناخته می‌شود و نخستین مرحله بیماریزایی پس از ورود باکتری به میزبان می‌باشد. به‌علاوه نوعی اتصال غیراختصاصی نیز در بین باکتری‌ها و سلول‌های میزبان پدید می‌آید که عمدتاً در اثر نیروهای هیدروفوبیک سطحی است و هر چه سطح باکتری بیشتر هیدروفوبیک (آبگریز) باشد چسبندگی به سطوح میزبان بیشتر خواهد بود. اجزاء سطحی سلول که دارای محل‌های اتصال و چسبندگی هستند شامل پیلی، فیمبریه، پلی‌ساکاریدهای سطحی و پروتئین‌های سطحی می‌باشند:

پیلی:[3] بسیاری از باکتری‌ها دارای زوائد سطحی موئی شکلی هستند که از سطح باکتری بیرون زده‌اند و به چسبندگی باکتری به سلول میزبان کمک می‌کنند. این پیلی‌ها را به دو نوع تقسیم می‌کنند: پیلی‌های نوع I که به گیرنده‌های سلول اپیتلیال که حاوی D-مانوز است متصل می‌شود و با اضافه کردن D-مانوز به محیط کشت می‌توان چسبندگی را مهار کرد؛ این پیلی‌ها را **حساس به مانوز** می‌نامند. پیلی‌های نوع ۲ که به وسیلهٔ D-مانوز مهار نمی‌شوند و قادرند به بخشی از پلی ساکاریدهای گروه خونی P متصل شوند؛ این پیلی‌ها را مقاوم به مانوز یا **پیلی P-** می‌نامند و در سویه‌های *E.coli* که موجب عفونت ادراری می‌شوند، دیده می‌شود.

1. adhesin 2. virulence 3. pili

فیمبریه:[1] در سطح سلول‌های گرم مثبت مثل استرپتوکوک پیوژن زوائد موئی شکل وجود داشته که از سطح سلول خارج شده‌اند. این زوائد را فیمبریه می‌نامند و برای کمک به چسبندگی به سلول میزبان پدید آمده است. در استرپتوکوک پیوژن، این فیمبریه‌ها حاوی اسیدلیپوتیکوئیک و پروتئین M می‌باشند. اسید لیپوتیکوئیک موجب چسبیدن استرپتوکوک‌ها به سلول‌های مخاط دهان می‌شود و مولکول فیبرونکتین در سطح سلول‌های مخاطی نقش گیرنده را دارند. پروتئین M استرپتوکوک پیوژن به‌عنوان مولکول **ضد فاگوسیتی** عمل می‌کند.

پلی‌ساکاریدهای سطحی: برخی از باکتری‌های دهانی مثل استرپتوکوک موتانس از طریق گلیکوکالیکس خارج سلولی خود به سطح مینای دندان می‌چسبند. این گلیکوکالیکس در استرپتوکوک موتانس، گلوکان یا دکستران نام داشته و توسط آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز باکتری، از ساکارز ساخته می‌شود.

پروتئین‌های غشایی: در برخی باکتری‌ها مثل مایکوپلاسماها و برخی باکتری‌های اسپیروکتی نواحی اختصاص یافته‌ای در غشا وجود دارد که حاوی پروتئین‌های اتصالی بوده و به آنها **اندامک انتهایی**[2] می‌گویند. مایکوپلاسماها از طریق این اندام اتصالی به گیرنده‌های سطحی میزبان متصل می‌شوند.

۳. تهاجم به سلول میزبان: در بسیاری از باکتری‌های بیماریزا، تهاجم به اپیتلیوم میزبان، مهمترین قسمت فرآیند عفونی است. تهاجم فرآیندی است که برای بیان ورود باکتری‌ها به داخل سلول‌های میزبان به‌کار می‌رود. در بسیاری از عفونت‌ها، باکتری‌ها با تولید فاکتورهای ویرولانس، سلول‌های میزبان را تحت تأثیر قرار داده و باعث می‌شوند تا سلول‌های میزبان باکتری‌ها را ببلعند. تولید توکسین و دیگر خصوصیات ویرولانس، معمولاً مستقل از توانایی باکتری‌ها در تهاجم به سلول‌ها و بافت‌ها می‌باشد. برخی از باکتری‌ها مثل گونه‌های سالمونلا از طریق اتصالات بین سلولی به بافت‌ها تهاجم می‌کنند. شیگلا با اتصال به مولکول‌های اینتگرین به سطح سلول‌های M در پلاک‌های پیر می‌چسبد و سپس توسط این سلول‌ها فاگوسیت می‌شود ولی در داخل سلول از وزیکول‌های فاگوسیتیک (فاگوزوم‌ها) فرار کرده و در داخل سیتوپلاسم تکثیر می‌یابند. باکتری شیگلا قادر است با القاء پلیمریزاسیون آکتین در داخل سلول حرکت کرده و یا از سلولی به سلول دیگر منتقل شود.

فرآیند تهاجم در یرسینیا انتروکولیتیکا مشابه شیگلا می‌باشد؛ یرسینیا به **سلول‌های M** در پلاک‌های پیر متصل شده و موجب می‌شود تا سلول میزبان زوائد پروتوپلاسمی از خود خارج کرده، سپس سلول میزبان، باکتری را بلعیده و با ورود به داخل سلول غشای فاگوزوم از بین

1. fimberia
2. terminal organelle

رفته و باکتری‌ها به داخل سیتوپلاسم رها می‌شوند. تهاجم در یرسینیا انتروکولیتیکا زمانی تشدید می‌شود که باکتری به جای ۳۷ درجه در درجه حرارت ۲۲ درجه رشد کند. لیستریا مونوسیتوژن همراه با غذا بلعیده شده و در سلول‌های مخاط روده با اتصال به پروتئین **اینترنالین** وارد سلول‌ها شده و در داخل سلول از فاگوزوم فرار کرده و تکثیر می‌یابد. مشابه با شیگلا، لیستریا نیز برای حرکت در داخل سلول و بین سلولی نیاز به پلیمریزاسیون اکتین داخل سلولی دارد.

لژیونلا پنوموفیلا ماکروفاژهای ریه را آلوده نموده و پنمونی ایجاد می‌کند. چسبیدن لژیونلا به ماکروفاژ باعث ایجاد یک پای کاذب و باریک می‌شود که سپس به دور باکتری پیچیده و یک وزیکول را تشکیل می‌دهد؛ به این فرآیند **فاگوسیتوز پیچشی**[1] گفته می‌شود. لژیونلا برخلاف شیگلا از فاگوزوم فرار نمی‌کند بلکه در فاگوزوم باقی مانده، ولی مانع اتصال لیزوزوم به فاگوزوم شده، در نتیجه داخل فاگوزوم تکثیر می‌یابند.

نایسریا گنوره (گنوکک) از پیلی‌ها به‌عنوان عوامل چسبندگی اولیه و از پروتئین‌های همراه با کدورت (**OPa**) به‌عنوان عوامل چسبندگی ثانویه استفاده می‌کند. گنوکک‌ها پس از فاگوسیته شدن توسط سلول‌های پلی‌مورفونوکلئر، زنده مانده و در داخل سلول تکثیر می‌یابند.

آسیب دیدن سلولی

باکتری‌ها با تولید فرآورده‌های میکروبی مضر یا به‌کار گرفتن مواد موردنیاز سلولی موجب آسیب به میزبان می‌شوند. از این عوامل آسیب سلولی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. **توکسین‌ها**: توکسین‌های تولید شده توسط باکتری‌ها معمولاً به دو گروه طبقه‌بندی می‌شوند: اگزوتوکسین‌ها و اندوتوکسین‌ها

الف) اگزوتوکسین‌ها:[2] بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اگزوتوکسین‌هایی تولید می‌کنند که بسیار سمی بوده و برخی از آنها قوی‌ترین سموم شناخته شده هستند. اگزوتوکسین‌ها که **پروتئینی** می‌باشند توسط سلول‌های زنده تولید شده و در برابر حرارت حساس می‌باشند. اگزوتوکسین‌ها توسط فرمالین، اسید و گرما به **توکسوئید**[3] تبدیل می‌شوند که آنتی‌ژنیک بوده و به‌عنوان واکسن برای ایمن‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگزوتوکسین‌ها دارای خاصیت آنتی‌ژنیک قوی بوده که منجر به تولید آنتی‌توکسین در میزبان می‌شوند ولی قادر به ایجاد تب در میزبان نمی‌باشند، همچنین اغلب توسط ژن‌های خارج کرموزومی مثل پلاسمید، فاژ و ترانسپوزون کد می‌شوند.

1. coiling phagocytosis 2. exotoxines 3. toxoeid

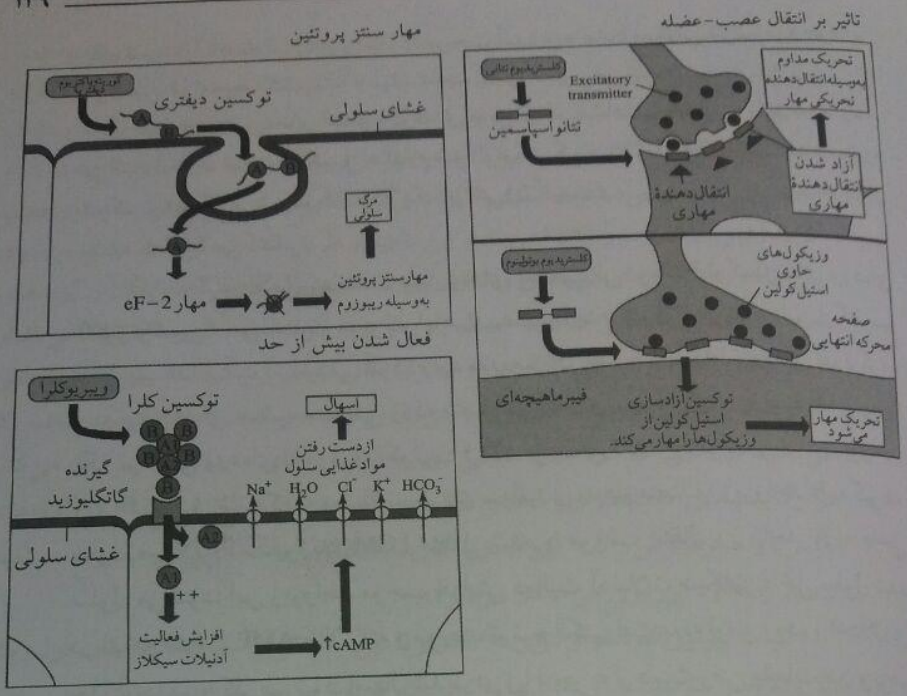
بسیاری از اگزوتوکسین‌ها که **AB** نامیده می‌شوند از دو زیرواحد **A** و **B** تشکیل شده‌اند؛ زیرواحد **B** با اتصال به سلول میزبان موجب ورود قطعه **A** به داخل سلول میزبان می‌شود؛ زیرواحد **A** مسئول فعالیت توکسیک می‌باشد.

مثال‌هایی از برخی مکانیسم‌های بیماریزایی که به اگزوتوکسین‌ها وابسته است در زیر آورده شده است: (شکل ۲-۸)

کورینه باکتریوم دیفتریه یک باسیل گرم مثبت است که می‌تواند در غشای مخاطی دستگاه تنفسی فوقانی رشد کند. گونه‌های لیزوژن کورینه باکتریوم دیفتریه که حامل باکتریوفاژهای معتدل هستند توکسیژنیک بوده و با تولید توکسین دیفتری باعث ایجاد بیماری دیفتری می‌شوند. فاکتورهای زیادی در تولید توکسین دخالت دارند، وقتی که میزان **آهن** در دسترس باکتری کم باشد، حداکثر میزان توکسین تولید می‌شود. مولکول توکسین به‌صورت یک مولکول پلی‌پپتیدی واحد تولید می‌شود که سپس به شیوه آنزیمی، به دو قسمت **A** و **B** تقسیم می‌شود که با یک پیوند دی‌سولفیدی به هم متصل هستند. قسمت **B** به گیرنده‌های ویژه سلول میزبان چسبیده و ورود قطعه **A** را به داخل سیتوپلاسم ممکن می‌سازد. قطعه **A** با کاتالیز واکنشی که موجب **ADP-ریبوزیله شدن EF2** می‌شود، سنتز پروتئین را متوقف می‌کند و موجب مرگ میزبان می‌شود.

کلستریدیوم تتانی یک باسیل گرم مثبت بی‌هوازی اسپوردار است که باعث بیماری کزاز می‌شود. کلستریدیوم تتانی موجود در محیط، زخم‌ها را آلوده می‌کند و اسپورها در محیط بی‌هوازی بافت مرده به شکل رویشی تبدیل می‌شوند و تولید توکسین تتانواسپاسمین می‌کنند. تتانواسپاسمین دارای وزن مولکولی ۱۵۰۰۰۰ بوده که توسط پروتئاز باکتریایی به دو قسمت ۱۰۰۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ شکسته می‌شوند. توکسین ابتدا به گیرنده‌ای بر روی غشای نورون‌های حرکتی متصل شده و وارد سلول‌های نورونی می‌شود. این توکسین موجب مهار آزادسازی نوروترانسمیترهای مهاری شده و در نتیجه اسپاسم عضلانی و **فلج اسپاستیک** رخ می‌دهد. توکسین کزاز فقط دارای یک تیپ سرولوژیک بوده و به وسیلهٔ توکسوئید کزاز می‌توان به‌طور کامل از آن پیشگیری کرد.

کلستریدیوم بوتولینوم، باکتری گرم مثبت و اسپوردار بوده و باعث ایجاد بوتولیسم می‌شود؛ اسپورها در محیط بی‌هوازی مثل کنسروها قادر به جوانه زدن و تولید توکسین می‌باشند. این توکسین قوی‌ترین توکسین شناخته شده است که دارای چندین نوع سرولوژیک می‌باشد. انواع **A**، **B** و **C** بیشتر باعث ایجاد بیماری در انسان می‌شوند و نوع



شکل ۲-۸ چگونگی ورود و عملکرد توکسین‌های AB به سلول حساس

A قوی‌ترین آنها می‌باشد. این توکسین‌ها بیشتر شبیه به توکسین کزاز می‌باشند، پروتئینی با وزن مولکولی ۱۵۰۰۰۰ که به دو قسمت ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ شکسته می‌شوند که به وسیله پیوندهای دی‌سولفیدی به هم متصلند. توکسین بوتولینوم پس از جذب شدن از طریق روده، به گیرنده‌های غشایی بر روی نورون‌های حرکتی متصل شده، وارد نورون‌ها می‌شود و در آنجا موجب مهار آزادسازی نوروترانسمیترهای تحریکی مثل استیل کولین شده که در نتیجهٔ آن **فلج شل** ایجاد می‌شود. توکسین کزاز و بوتولینوم را **نوروتوکسین** نیز می‌گویند چون بر سیستم عصبی تأثیر می‌گذارند.

اسپورهای **کلستریدیوم پرفرنژنس** از طریق خاک یا مدفوع آلوده وارد زخم‌های آلوده می‌شوند. در محیط بی‌هوازی بافت مرده، اسپورها جوانه زده و سلول‌های رویشی را به وجود می‌آورند. این سلول‌ها توانایی تولید چندین توکسین مختلف را پیدا می‌کنند؛ این توکسین‌ها باعث ایجاد گانگرن گازی می‌شوند. توکسین آلفای کلستریدیوم پرفرنژنس

یک لسیتیناز[1] (فسفولیپاز) می‌باشد که موجب آسیب به غشای سلولی می‌شود؛ وجود این توکسین در محیط کشت به وسیله **تست ناگلر**[2] تعیین می‌شود.

بسیاری از سویه‌های **استافیلوکوک اورئوس** که در غشاهای مخاطی یا در زخم‌ها رشد می‌کنند، با آزاد نمودن توکسین سندرم شوک توکسیک - ۱ (TSST-1) باعث ایجاد سندرم شوک توکسیک می‌شوند. TSST-1 یک **ابرآنتی‌ژن**[3] است و بسیاری از اثرات سیستمیک آن مشابه با LPS می‌باشد.

اگزوتوکسین‌هایی که باعث بیماری‌های اسهالی می‌شوند را توکسین‌های روده‌ای **(انتروتوکسین)**[4] می‌نامند. ویبریو کلرا باعث بیماری اپیدمیک **وبا**[5] می‌شود. این ارگانیسم از طریق غذا و آب آشامیدنی آلوده وارد بدن میزبان شده و به مخاط روده‌ای نفوذ کرده و به پرزچه‌های حاشیه مسواکی روده متصل می‌شود. ویبریو کلرای سروتیپ O_1 و O_{139} یک توکسین روده‌ای با وزن مولکولی ۸۴۰۰۰ تولید می‌کنند. این توکسین از دو زیرواحد A و B تشکیل شده که به وسیلهٔ پیوند دی سولفیدی به هم متصلند. زیرواحد B به گیرنده سلول میزبان (گانگلیوزید GM_2) متصل شده و موجب انتقال زیرواحد A به داخل سلول می‌شود؛ این زیرواحد موجب افزایش فعالیت آدنیلات سیکلاز داخل سلول شده در نتیجه غلظت cAMP بالا رفته و موجب ترشح الکترولیت‌ها به لومن روده و اختلال در جذب سدیم و کلر می شود. اسهال شدید در وبا منجر به از دست رفتن مایعات بدن و برهم خوردن تعادل اسید-باز می‌شود.

برخی از سویه‌های **استافیلوکوک اورئوس** هنگام رشد در غذا، توکسین‌های روده‌ای تولید می‌کنند. حداقل شش نوع توکسین روده‌ای استافیلوکوکی وجود دارد که پس از خورده شدن، از طریق روده جذب شده و موجب استفراغ می‌شوند؛ مسمومیت غذایی استافیلوکوکی شایع‌ترین مسمومیت غذایی می‌باشد. اگزوتوکسین‌ها عمدتاً به آنزیم‌های پروتئولیتیک حساس می‌باشند؛ به استثنای برخی از آنها مثل توکسین بوتولینوم، انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی و باسیلوس سرئوس، که عوامل مسمومیت غذایی می‌باشند.

ب) **اندوتوکسین:**[6] لیپوپلی‌ساکارید باکتری‌های گرم منفی از دیوارهٔ سلولی مشتق شده و هنگام لیز شدن باکتری آزاد می‌شود؛ به همین دلیل عمدتاً پس از مرگ باکتری آزاد می‌شود. اندوتوکسین نسبت به حرارت مقاوم بوده و به توکسوئید تبدیل نمی‌شود. خاصیت سمی اندوتوکسین‌ها کمتر از اگزوتوکسین‌ها می‌باشد و همچنین دارای خاصیت آنتی‌ژنیک خفیفی می‌باشند. اثرات بیماریزای LPS بدون توجه به منشأ باکتریایی آن، مشابه بوده و

1. lecithinase
2. nagler test
3. super antigen
4. enterotoxin
5. cholera
6. endotoxin

تنها استثناء، گونه‌های باکتروئیدس[1] می‌باشند که دارای ساختمان متفاوت بوده و کمتر توکسیک هستند. لیپوپلی‌ساکارید از سه قسمت تشکیل شده است: (۱) ناحیهٔ **لیپید A** که مسئول اصلی خاصیت سمی (توکسوفور) اندوتوکسین می‌باشند؛ بتا-هیدروکسی میریستیک اسید، اختصاصی برای لیپید A می‌باشد و تنها در لیپید A وجود دارد. این ناحیه در تمام باکتری‌های گرم منفی مشترک است. (۲) ناحیه **پلی‌ساکارید مرکزی** که حاوی قندهای هفت کربنه (هپتوز)، فسفات و KDO می‌باشد. این ناحیه از طریق KDO به لیپید A متصل می‌شود. پلی‌ساکارید مرکزی در گونه‌های مختلف تفاوت اندکی را نشان می‌دهد؛ مثلاً از گونه‌های سالمونلا تا اشریشیاکلی متفاوت است ولی در همه گونه‌های سالمونلا مشابه می‌باشد.

بخش خارجی لیپوپلی‌ساکارید که مسئول خاصیت آنتی‌ژنتیک آن است، **زنجیره جانبی O** می‌باشد. باکتری‌هایی که زنجیره جانبی O را تولید می‌کنند دارای کلونی صاف (S) می‌باشند در حالی که گونه‌های تشکیل‌دهنده در سویه‌های مختلف با هم فرق می‌کند. در ارگانیسم‌هایی که فاقد زنجیره جانبی O بوده و یا زنجیره O کوتاه‌تری دارند مثل گونه‌های نایسریا و هموفیلوس، آن را **لیپوالیگوساکارید (LOS)** می‌نامند. لیپوپلی‌ساکارید مستقیماً توسط ژن‌های کروموزومی سنتز می‌شود.

اثرات بیولوژیک اندوتوکسین‌ها: اندوتوکسین‌ها با اثر بر سلول‌های هدف اولیه مثل ماکروفاژها و منوسیت‌ها و... آنها را تحریک کرده و موجب تولید سیتوکین‌هایی چون IL-1، TNF و غیره می‌شوند. این سیتوکین‌ها با اثر بر سلول‌های هدف ثانویه منجر به اثرات پاتوفیزیولوژیک متعددی چون تب، لکوپنی، هیپوگلیسمی، شوک، انعقاد درون عروقی منتشر و اثرات دیگری می‌شود. تزریق مکرر اندوتوکسین به حیوانات آزمایشگاهی واکنشی تولید می‌کند که در آن پاسخ میزبان به تدریج کاهش می‌یابد. این اثر را تحمل‌پذیری می‌نامند. سطوح اندوتوکسین را می‌توان با استفاده از تست **لیمولوس** اندازه‌گیری کرد.

پپتیدوگلایکان: آزاد شدن پپتیدوگلایکان توسط باکتری‌های گرم مثبت ممکن است منجر به ایجاد شوک شود و ممکن است که بسیاری از اثرات LPS را داشته باشد هر چند که قدرت پپتیدوگلایکان همیشه از LPS کمتر است.

آنزیم‌های باکتریایی

بسیاری از گونه‌های باکتری‌ها آنزیم‌هایی تولید می‌کنند که ماهیت توکسیک ندارند، ولی نقش مهمی را در فرآیندهای عفونی ایفاء می‌کنند.

همولیزین‌ها: برخی از باکتری‌ها در محیط آگار خون‌دار (بلاد آگار) تغییرات قابل رؤیتی را در اطراف کلونی‌ها پدید می‌آورند که آن را **همولیز**[1] می‌گویند. دو نوع همولیز آلفا و بتا وجود دارد، در همولیز آلفا محیط اطراف کلونی‌ها به رنگ سبز درمی‌آید و در همولیز بتا هاله شفاف و بیرنگی در اطراف تشکیل می‌شود. این اثرات ناشی از همولیزین‌هایی است که به وسیله باکتری‌ها تولید می‌شود و گلبول‌های قرمز را از بین می‌برند. همولیزین‌های مختلف از نظر صفات آنتی‌ژنیک، حساس بودن به اکسیژن، درجه حرارت مناسب برای همولیز و اثر بر روی اریتروسیت‌های انواع حیوانات، با یکدیگر فرق دارند. تعداد زیادی از باکتری‌ها همولیزین تولید می‌کنند ولی همولیزین‌های استافیلوکوک‌ها، استرپتوکوک‌ها و کلستریدیوم‌ها بهتر شناخته شده است، برای مثال استافیلوکوک اورئوس، بتا- همولیزینی تولید می‌کند که نسبت به گرما حساس بوده و فقط در سرما پدیده همولیز بتا می‌دهد و به همین جهت آن را همولیز **گرم- سرد**[2] می‌گویند. استرپتوکوک‌ها دو نوع همولیزین تولید می‌کنند، **استرپتولیزین O** که حساس به اکسیژن بوده و به‌طور برگشت‌پذیر توسط اکسیژن غیرفعال می‌شود؛ این همولیزین مسئول همولیز عمقی در محیط‌های کشت استرپتوکوک می‌باشد. استرپتولیزین O دارای خاصیت **آنتی‌ژنیک** می‌باشد. استرپتولیزین S نسبت به اکسیژن مقاوم بوده و فاقد خاصیت آنتی‌ژنیک می‌باشد. استرپتولیزین S مسئول همولیز سطحی[3] در محیط‌های کشت استرپتوکوک می‌باشد. همچنین بسیاری از سویه‌های کلستریدیوم پرفرنژنس دو نوع همولیزین آلفا و بتا تولید می‌کنند که خاصیت همولیتیک دارند.

به‌علاوه برخی از باکتری‌ها لوکوسیدین تولید می‌کنند که سلول‌های سفید خون را از بین می‌برد. این لوکوسیدین‌ها که ایمونوژنیک می‌باشند به وسیله فرمالدهید به توکسوئید تبدیل می‌شود.

کوآگولاز:[4] کوآگولاز آنزیمی است که سبب لخته شدن پلاسما می‌شود و این مکانیسم مشابه با مکانیسم تبدیل پروترومبین به ترومبین می‌باشد. این آنزیم که به وسیله **استافیلوکوک اورئوس** تولید می‌شود موجب رسوب رشته‌های فیبرین بر روی دیواره استافیلوکوک شده و در نتیجه مانعی برای فاگوسیتوز ایجاد می‌کند و با ویرولانس ارگانیسم ارتباط دارد. کوآگولاز به حرارت نسبتاً مقاوم بوده و به دو شکل آزاد و متصل به سلول وجود دارد. کوآگولاز متصل به سلول را **فاکتور توده‌ای کننده،**[5] می‌نامند.

کینازها:[6] برخی از باکتری‌ها مثل استرپتوکوک‌ها و استافیلوکوک‌ها با تولید استرپتوکیناز و استافیلوکیناز، قادر به تجزیه لخته فیبرینی می‌باشند (فیبرینو لیزین). این کینازها باعث فعال شدن پلاسمینوژن در پلاسما شده و تبدیل آن به پلاسمین می‌شود که لخته فیبرینی را تجزیه می‌کند. این آنزیم

1. hemolysis
2. hot-cold hemolysis
3. surface hemolysis
4. coagulase
5. clumping factor
6. kinase

با تجزیه لخته‌ها موجب گسترش سریع استرپتوکوک‌ها و استافیلوکوک‌ها در بافت‌ها می‌شود. استرپتوکیناز به خاطر حل کردن لخته فیبرینی در درمان انفارکتوس (سکته قلبی) مورد استفاده قرار می‌گیرد.

هیالورونیداز:[1] اسیدهیالورونیک، یک موکوپلی‌ساکاریدمرکب از N- استیل گلوکزآمین و گلوکورونیک اسید می‌باشد که به‌صورت سیمان میان بافتی در پستانداران وجود دارد. با تجزیه این ماده توسط آنزیم هیالورونیداز، انتشار باکتری‌ها در بافت‌ها افزایش می‌یابد. هیالورونیداز که آن را فاکتور **Duran-Reynals** یا **فاکتور انتشار** نیز می‌نامند، توسط برخی باکتری‌ها مثل پنموکک‌ها و برخی از سویه‌های استافیلوکوکی، استرپتوکوکی و کلستریدیومی تولید می‌شود و موجب افزایش قدرت تهاجمی باکتری‌ها شده، در نتیجه اینوازین[2] محسوب می‌شود. به‌علاوه برخی از باکتری‌ها با تولید کلاژناز و یا لسیتیناز موجب گسترش عفونت در بافت می‌شوند.

پروتئازهای IgA_1: ایمونوگلوبین A آنتی‌بادی ترشحی بر روی سطوح مخاطی است. این مولکول دارای دو فرم IgA_1 و IgA_2 می‌باشد. برخی از باکتری‌های بیماریزا با تولید آنزیم‌هایی به نام پروتئاز IgA_1 باعث شکسته شدن آنتی‌بادی و خنثی شدن آن می‌شود. پروتئاز IgA_1 یک فاکتور ویرولانس مهم برای بیماریزایی باکتری‌هایی چون نایسریا گنوره، نایسریا مننژیتیس، هموفیلوس آنفلوآنزا و استرپتوکوک پنمونیه می‌باشد.

عوامل ضد فاگوسیتوز

بسیاری از عوامل بیماریزا با بلعیده شدن توسط فاگوسیت‌ها سریعاً کشته می‌شوند. برخی از عوامل بیماریزا با قرار دادن اجزاء طبیعی میزبان بر روی سطح خود از میزبان فرار می‌کنند. برای مثال استافیلوکوک اورئوس دارای **پروتئین A** سطحی که به قسمت F_C در IgG متصل می‌شود. برخی دیگر از باکتری‌ها مثل استرپتوکوک پنمونیه و نایسریا مننژیتیس دارای کپسول پلی ساکاریدی بوده که به وسیله آن از فاگوسیتوز فرار می‌کنند. از دیگر فاکتورهای ضد فاگوسیتوز می‌توان **پروتئین M** در استرپتوکوک پیوژن و پیلی‌های نایسریا گنوره را نام برد.

گوناگونی آنتی‌ژنیک:[3] ساختمان سطحی باکتری‌ها دارای گوناگونی آنتی‌ژنی چشمگیری می‌باشد که اغلب برای طبقه‌بندی سرولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گوناگونی توسط مکانیسم‌های مختلفی ایجاد می‌شود و به‌عنوان روشی برای فرار از سیستم ایمنی میزبان استفاده می‌شود. یک نوع از مکانیسم‌ها، تغییرات فازی می‌باشد که در سالمونلا برای تغییر آنتی‌ژن تاژکی (آنتی‌ژن H) صورت می‌گیرد.

1. hyaluronidase 2. invasine 3. antigenic variation

مکانیسم دیگری که برای تغییرات آنتی‌ژنیک استفاده می‌شود **تبدیل ژنی**[1] است که در بورلیا رکورانتیس (تب راجعه) و نایسریا گنوره (سوزاک) دیده می‌شود.

فرآورده‌های باکتریایی که قادرند سیستم دفاع همورال و سلولی میزبان را دفع کنند، **اگرسین**[2] می‌نامند مثل پروتئاز IgA_1 و سیدروفورها.

پاتوژنیسیته داخل سلولی

بعضی از باکتری‌ها مثل مایکوباکتریوم، بروسلا، لژیونلا و ... در داخل ماکروفاژها یا مونوسیت‌ها زندگی می‌کنند. باکتری‌ها با چندین مکانیسم این عمل را انجام می‌دهند؛ ممکن است از فاگوزوم‌ها فرار کنند و در داخل سیتوزول زندگی کنند، ممکن است از اتصال و ادغام فاگوزوم- لیزوزوم جلوگیری کنند و در داخل فاگوزوم زندگی کنند و یا اینکه در برابر آنزیم‌های لیزوزومی مقاوم بوده و در داخل فاگولیزوزوم زیست کنند. بسیاری از باکتری‌ها نیز می‌توانند در داخل سلول‌های غیرفاگوسیت زندگی کنند.

نیاز به آهن

باکتری‌های بیماریزا برای به‌دست آوردن مواد غذایی باید بتوانند با باکتری‌های غیربیماریزا و سلول‌های میزبان رقابت کنند. آهن یکی از مواد ضروری برای فرآیند عفونی می‌باشد. در پستانداران آهن آزاد به پروتئین‌های ترانسفرین و لاکتوفرین متصل می‌شود و لذا از دسترس باکتری‌ها دور می‌ماند. بنابراین برخی باکتری‌ها دارای ترکیباتی بنام **سیدوفور**[3] هستند که تمایل بیشتری به آهن داشته و آهن را از مهار ترانسفرین و لاکتوفرین خارج کرده و در اختیار باکتری قرار می‌دهند. از این سیدروفورها می‌توان آنتروباکتین و آئروباکتین در باکتری‌های روده‌ای، مایکوباکتین در گونه‌های مایکوباکتریوم، گونوباکتین و مننگو باکتین در گونه‌های نایسریا و پیوکلین را در سودوموناس‌ها نام برد. انواع مختلف سیدروفورها عمدتاً در دو دسته طبقه‌بندی می‌شوند: **کاتکول‌ها** یا **فنولات‌ها** که از بین آنها انتروباکتین شناخته شده‌ترین است و **هیدروکسامات‌ها** که از میان آنها فری کروم شناخته شده‌ترین است. هیدروکسامات‌ها اکثراً در قارچ‌ها یافت می‌شوند.

انواع عفونت

۱. عفونت موضعی:[4] عفونت‌های موضعی در نقطه‌ای از بدن که محل ورود پاتوژن است باقی

1. gene conversion
2. eggressin
4. local infection

@pdf_jozveh

مانده و در آن جا محدود می‌شود و سرانجام فاگوسیت‌ها در محل عفونت، میکروب‌های عفونت‌دار را بلعیده و از بین می‌برند. در اطراف محل عفونت لخته فیبرینی تشکیل شده که از انتشار عامل عفونی جلوگیری می‌کند.

۲. عفونت‌های عمومی:[1] هنگامی که میکروب، فوق‌العاده پاتوژن و دفاع موضعی بدن میزبان ضعیف باشد، عوامل عفونی به سایر نواحی بدن انتشار یافته و عمومی می‌گردند. در صورتی که باکتری بیماریزا وارد خون شده ولی در خون تکثیر نیافته و آسیبی به خون نرسانند، به این حالت **باکتریمی**[2] گویند؛ ولی در صورتی که باکتری بیماریزا در خون تکثیر پیدا کرده و به خون آسیب برساند به آن باکتریمی ثانویه یا **سپتی‌سمی**[3] گویند.

عفونت‌های موضعی که از آن باکتری‌ها به‌طور دائم یا متناوب، وارد رگ‌های خونی می‌شوند، عفونت **کانونی** نامیده می‌شود. سپتی‌سمی عمومی که دارای کانون‌های عفونت برای رشد و تکثیر میکروب‌ها می‌باشد، **پیمی** نامیده می‌شود.

ص ۱۴۷ سفیده

ص ۱۴۷

۹ ایمنی ضد میکروبی

ایمنی

واژهٔ ایمنی[1] به معنای تمام مکانیسم‌های مورد استفادهٔ بدن جهت محافظت در برابر عوامل بیگانه اطلاق می‌شود. این عوامل ممکن است میکروارگانیسم‌ها یا فرآورده‌های آنها، پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، مواد شیمیایی و مواد آلرژی‌زا باشد. در مهره‌داران ایمنی علیه میکروارگانیسم‌ها و یا سایر عوامل بیگانه، به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند: ایمنی ذاتی یا طبیعی و ایمنی اکتسابی یا تطبیقی

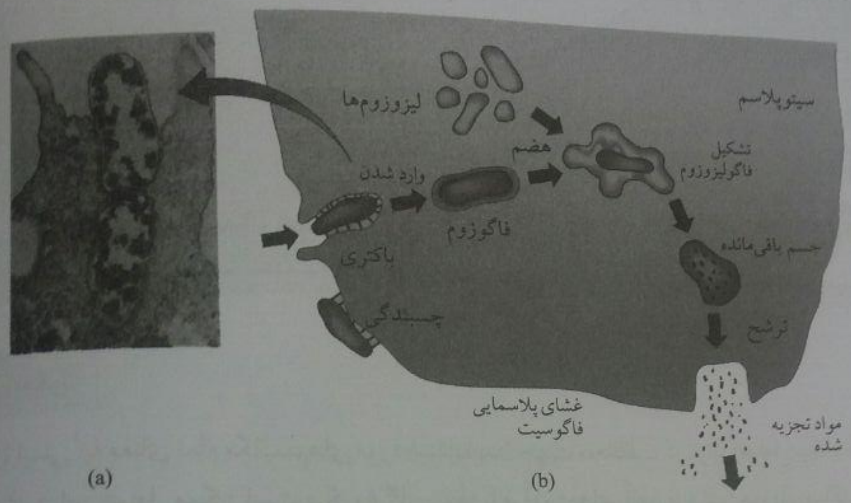
ایمنی ذاتی یا طبیعی

ایمنی ذاتی[2] شامل مکانیسم‌های دفاعی **غیراختصاصی** می‌باشد که از بدو تولد وجود داشته و نخستین سد دفاعی بدن در برابر میکروب‌ها محسوب می‌شود. برخی از عوامل غیراختصاصی مهم که در ایمنی ذاتی نقش دارند عبارتند از:

۱. **پوست و غشاهای مخاطی**: اکثر ارگانیسم‌ها و مواد خارجی نمی‌توانند به پوست سالم نفوذ کنند. pH اسیدی عرق و وجود اسیدهای چرب و آنزیم‌های مختلف مثل لیزوزیم که همگی اثرات ضدمیکروبی دارند موجب کاهش آلودگی و نفوذ میکروارگانیسم‌ها از طریق پوست می‌شود. همچنین وجود موکوس در سطوح دستگاه تنفسی و گوارشی موجب به دام افتادن میکروارگانیسم‌ها می‌شود.

۲. **دفاع سلولی**: پس از نفوذ میکروارگانیسم به بدن خط بعدی دفاع شامل انواعی از سلول‌های تخصص یافته می‌باشند که هدف آنها از بین بردن مهاجم است. سلول‌های تخصص یافته با بلعیدن میکروارگانیسم مهاجم و تخریب آن، موجب نابودی ارگانیسم می‌شوند، این فرآیند، **فاگوسیتوز**[3] نامیده می‌شود. (شکل ۱-۹) برخی از عوامل مثل برخی آنتی‌بادی‌ها و انواعی از اجزای کمپلمان قادرند با اتصال به ذرهٔ بیگانه آن را به یک هدف آسان‌تر برای فاگوسیتوز تبدیل کنند.

1. immune
2. innate immunity
3. phagocytosis



شکل ۱-۹ فرایند بلعیدن یک باکتری توسط فاگوسیت

به این عوامل که موجب تسهیل فاگوسیتوز می‌شوند مجموعاً **اپسونین**[1] گفته می‌شود. پس از بلعیده شدن، ذرهٔ بیگانه در داخل فاگوزوم قرار می‌گیرد که با لیزوزوم‌ها ادغام شده و تشکیل **فاگولیزوزوم** می‌دهند که منجر به تجزیهٔ ذرهٔ بیگانه به وسیلهٔ آنزیم‌های لیزوزومی می‌شود. سلول‌های ایمنی ذاتی شامل نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و NK سل‌ها می‌باشند. به‌علاوه پروتئین‌های خون نظیر اجزاء کمپلمان نیز جزئی از ایمنی ذاتی محسوب می‌شوند.

ایمنی اکتسابی یا سازشی

برخلاف ایمنی ذاتی که از خصوصیات هر موجود زنده است، ایمنی اکتسابی،[2] شکل تخصص یافته‌تری از ایمنی می‌باشد که فقط در **مهره‌داران** یافت می‌شود. ایمنی اکتسابی بعد از برخورد اولیه با عامل بیگانه ایجاد می‌شود و در برخوردهای بعدی بر قدرت دفاعی و میزان پاسخگویی آن افزوده می‌شود. ایمنی اکتسابی دارای ویژگی‌های گوناگونی چون تمایل بالا برای هر مولکول، عملکرد اختصاصی و ایجاد **خاطرهٔ ایمنی** است. ایمنی اختصاصی نیز دارای دو قسمت **هومورال** و **سلولی** می‌باشد. قسمتی از ایمنی اکتسابی که عمدتاً توسط سلول‌های B و آنتی‌بادی‌های در گردش عمل می‌کند را ایمنی هومورال می‌نامند و بخشی را که با واسطه سلول‌های T عمل کرده که سیتوکین‌های گوناگونی را می‌سازند و بر سایر سلول‌ها اثر می‌گذارند را ایمنی سلولی گویند.

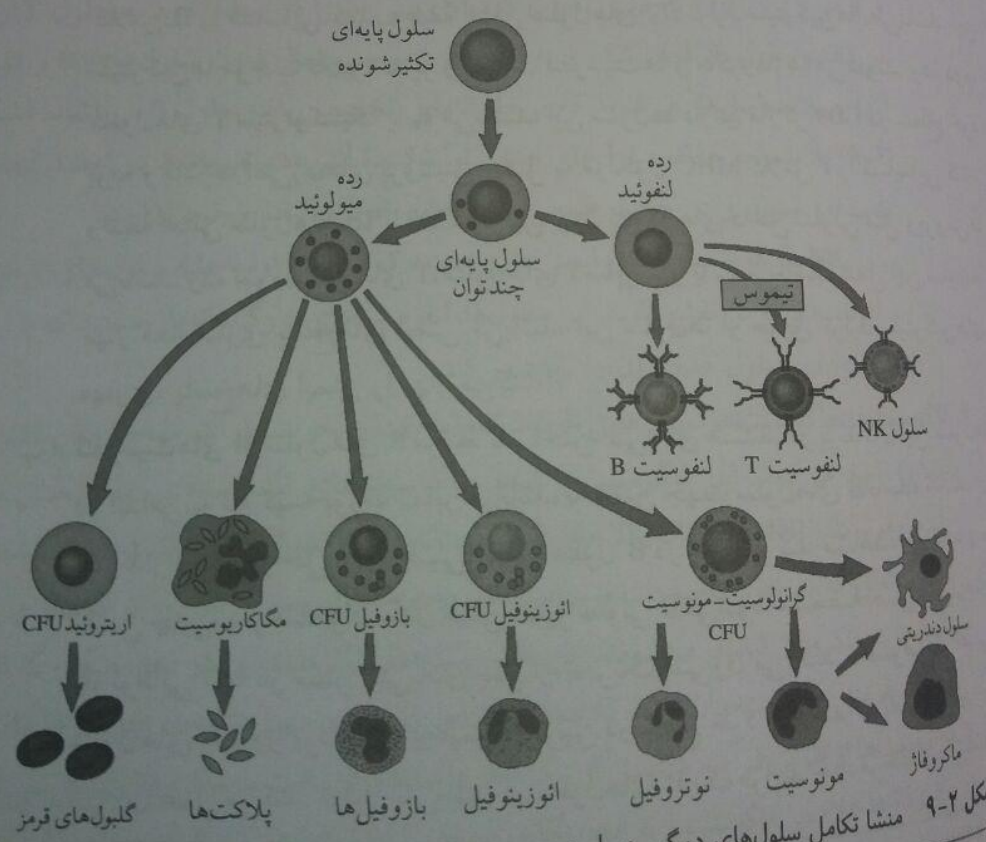
1. opsonin
2. acqured immunity

نوع سوم سلول‌های ایمنی اکتسابی، **سلول‌های عرضه‌کنندهٔ آنتی‌ژن**[1] (APC) می‌باشند. عمل اصلی آنها، پردازش آنتی‌ژن و ارائه آن به سلول‌های T می‌باشد.

ایمنی اکتسابی با ایمن‌سازی ایجاد می‌شود که به دو روش می‌تواند انجام گیرد: (۱) ایمن‌سازی فعال که به ایمن‌سازی فرد از طریق تجویز آنتی‌ژن اطلاق می‌شود. (۲) ایمن‌سازی غیرفعال که به ایمن‌سازی از طریق انتقال آنتی‌بادی خاص یا سلول‌های یک فرد ایمن به فردی که ایمن نیست اطلاق می‌شود.

سلول‌های سیستم ایمنی

در پستانداران منشأ تمام سلول‌های خونی در مراحل اولیه جنینی در کیسه زرده بوده که بعد به کبد جنین و در نهایت به مغز استخوان منتقل می‌شوند. (شکل ۲-۹) سلول‌های مختلف دارای شاخص‌های سطح سلولی می‌باشند که با علامت **CD** نشان می‌دهند. علامت اختصاری CD،



شکل ۲-۹ منشا تکامل سلول‌های درگیر در ایمنی

1. antigen presenting cells

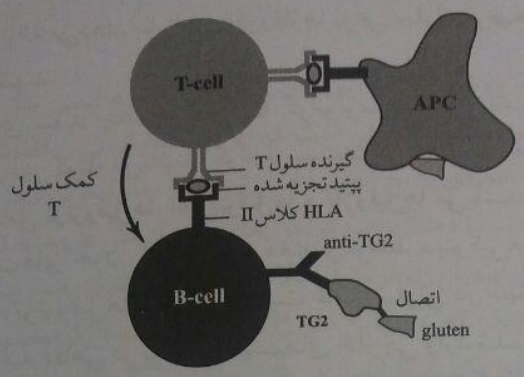
دسته‌ای از آنتی‌ژن‌ها را توصیف می‌کند که آنتی‌بادی‌ها با آنها واکنش می‌کنند و عدد مربوطه به آنها ترتیب کشف شدن آنها را نشان می‌دهد.

۱. **لنفوسیت‌ها:**[1] لنفوسیت‌ها سلول‌های اصلی در پاسخ ایمنی اکتسابی هستند و از سلول‌های پیش‌ساز لنفوئید منشأ می‌گیرند. این سلول‌ها در دو دوره وجود دارند لنفوسیت‌های T که در تیموس تمایز می‌یابند و لنفوسیت‌های B که در مغز استخوان تمایز می‌یابند.

الف) **لنفوسیت‌های T:** سلول‌های T نقش مرکزی در پاسخ به آنتی‌ژن‌های پروتئینی دارند. شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول T اساساً با شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول B تفاوت دارد. سلول‌های T در سطح خود دارای گیرنده‌ای برای آنتی‌ژن‌ها هستند که **گیرندهٔ سلول T**[2] (TCR) نامیده می‌شود و قادرند به کمک این TCRها، آنتی‌ژن‌های پروتئینی که به مولکول‌های MHC در سطح مولکول‌های عرضه‌کنندهٔ آنتی‌ژن متصل شده‌اند را شناسایی کنند. سه رده از سلول‌های T وجود دارد: ردهٔ اول، سلول‌های T **یاریگر**[3] یا T_h می‌باشد؛ این سلول‌ها که دارای مارکر **CD4** بر سطح خود می‌باشند، قادرند آنتی‌ژن‌های پروتئینی متصل به MHC کلاس II را شناسایی کنند. وظیفهٔ اصلی سلول‌های T_h، تولید **سیتوکین‌ها**[4] می‌باشد. این سیتوکین‌ها موجب تکثیر، تمایز و تقویت لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌شوند. ردهٔ دوم، سلول‌های T **سیتوتوکسیک** یا T_c می‌باشند، این سلول‌ها دارای مارکر **CD8** در سطح خود بوده و قادرند آنتی‌ژن‌های پروتئینی متصل به مولکول MHC کلاس I را شناسایی کنند. وظیفهٔ اصلی سلول‌های Tc یا TCD8 از بین بردن پاتوژن‌های داخل سلولی مثل ویروس‌ها می‌باشد. ردهٔ سوم سلول‌های T، سلول‌های T **ساپرسور** یا T_s می‌باشد. عمل این سلول‌ها مهار فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی می‌باشد. این سلول‌ها از طریق تولید سیتوکین‌های مهاری، پاسخ‌های ایمنی را مهار می‌کنند.

ب) **لنفوسیت‌های B:** سلول‌های B مرتبط با ساختن آنتی‌بادی هستند. در پرندگان این سلول‌ها در اندامی به نام **کیسهٔ بورسا** تمایز می‌یابند، به همین جهت سلول‌های B نامیده شدند. در پستانداران، در مراحل اولیهٔ جنینی، تمایز سلول B در ابتدا در کبد مشاهده می‌شود و با تکامل جنین، **مغز استخوان** مکان اصلی تمایز سلولی B می‌شود. مشخصهٔ اصلی سلول‌های B، توانایی آنها در سنتز آنتی‌بادی پس از تحریک آنتی‌ژن می‌باشد. خصوصیت اصلی سلول‌های B بروز مولکول‌های ایمونوگلوبین در سطح خود می‌باشد که به‌عنوان گیرندهٔ آنتی‌ژن عمل می‌کند. تولید آنتی‌بادی در سلول‌های B یک فرآیند چند مرحله‌ای می‌باشد

1. lymphocytes
2. T cell receptor
3. helper
4. cytokines



شکل ۳-۹ چگونگی برهم‌کنش سلول‌های APC، T و B

که نیازمند برهم‌کنش متقابل سلول‌های B با سلول‌های T می‌باشد (شکل ۳-۹). پس از اتصال آنتی‌ژن به گیرندهٔ ایمونوگلوبولین سطح سلول B، این سلول آنتی‌ژن را به درون فرو می‌برد و آن را تا حدی تجزیه کرده و سپس آن را در سطح خود به سلول T ارائه می‌دهد، سلول T، فعال شده و به نوبهٔ خود موجب فعال شدن سلول‌های B و تمایز آنها به **پلاسماسل‌ها**[1] می‌شوند که مرحلهٔ انتهایی تخصص یافته سلول B می‌باشند. (شکل ۳-۹) پلاسماسل‌ها که سلول‌های اصلی تولیدکنندهٔ آنتی‌بادی می‌باشند در اعضاء لنفاوی یافت می‌شوند و در حالت طبیعی در گردش خون و لنف وجود ندارند.

NK سل‌ها از سلول‌های ایمنی ذاتی هستند که در دفاع اولیه علیه سلول‌های توموری و آلوده به ویروس نقش دارند. این سلول‌ها، لنفوسیت‌های بزرگ دانه‌دار هستند که با ایجاد منافذی در سلول هدف آن را نابود می‌کنند.

۲. **فاگوسیت‌ها**: فاگوسیت‌ها سلول‌هایی هستند که با بلعیدن و تخریب ذرات مهاجم مثل باکتری‌ها آنها را نابود می‌کنند. این فاگوسیت‌ها شامل فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای، سلول‌های سفید پلی‌مورفونوکلئر (PMN) و ماکروفاژهای ثابت دستگاه رتیکواندوتلیال می‌باشند. فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای که در خون به‌صورت مونوسیت‌ها[2] وجود دارند، پس از خروج از خون و ورود به بافت‌ها به ماکروفاژ تبدیل می‌شوند. این فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای در مغز، میکروگلیال، در کبد، کوپفرسل و در استخوان، استئوکلاست نامیده می‌شوند. در صورت ایجاد عفونت در بافت‌ها، مونوسیت‌ها از طریق فرآیند **دیاپدز**[3] از رگ خارج شده و در بافت به ماکروفاژ تبدیل می‌شوند. ماکروفاژها علاوه‌بر فاگوسیتوز ذرات بیگانه، همچنین آنها را پردازش کرده و در سطح خود به

1. plsmacells
2. monocytes
3. diapedes

سلول‌های T ارائه می‌دهد. بنابراین ماکروفاژها نوعی سلول عرضه‌کننده آنتی‌ژن (APC) هم محسوب می‌شوند.

گلبول‌های سفید چند هسته‌ای که گرانولوسیت‌ها نیز نامیده می‌شوند، سلول‌هایی بیگانه‌خوار با عمر کوتاه می‌باشند. گرانولوسیت‌ها دارای گرانول‌های سیتوپلاسمی فراوانی می‌باشند و شامل **نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها** و **بازوفیل‌ها** می‌باشند. نوتروفیل‌ها فراوان‌ترین گروه لوکوسیت‌های خون را تشکیل می‌دهند و توسط سیتوکین‌های تولیدی از ماکروفاژها فعال می‌شوند. نوتروفیل‌ها به‌عنوان جمعیت غالب سلولی در التهاب حاد مشارکت دارند و به‌عنوان اولین سد دفاعی در برابر ارگانیسم‌های خارجی وارد شده به خون نقش ایفا می‌کنند. نوتروفیل‌ها پس از فاگوسیتوز ذرهٔ بیگانه، خود نیز از بین می‌روند به همین جهت به آنها سربازان یک‌بار مصرف اطلاق می‌شود.

ائوزینوفیل‌ها یا اسیدوفیل‌ها دارای گیرنده‌هایی با میل متوسط برای IgE می‌باشند. وظیفهٔ اصلی ائوزینوفیل‌ها در نابودی **کرم‌های انگلی** می‌باشد. بازوفیل‌ها عملکردی مشابه با ماست سل‌های بافتی دارند. این سلول‌ها دارای گیرنده‌هایی با میل زیاد برای IgE بوده و مجری اصلی واکنش‌های حساسیت شدید زودرس و آلرژی‌زا با واسطهٔ IgE می‌باشند.

سلول‌های دندریتی نیز گروهی از سلول‌های فرعی ایمنی می‌باشند که نقش مهمی در ارائهٔ آنتی‌ژن ایفاء می‌کنند.

اعضای لنفاوی

اعضای لنفاوی، اعضایی هستند که در آنها، بلوغ، تکثیر و تمایز لنفوسیت‌ها رخ می‌دهد. اعضای لنفاوی عموماً به دو دسته تقسیم می‌شوند: اعضای لنفاوی اولیه مثل مغز استخوان و تیموس؛ مغز استخوان پس از تولد جایگاه اصلی تکثیر سلول‌های خونی می‌باشد. غدهٔ تیموس جایگاه اصلی تکامل لنفوسیت‌های T می‌باشد. سلول‌های پیش‌ساز از مغز استخوان به تیموس مهاجرت کرده و در آنجا به لنفوسیت‌های T تمایز می یابند. انتخاب سلول‌های T در تیموس برای ورود به جریان خون طی فرآیندهای انتخاب **مثبت** و **منفی**[1] قرار می‌گیرد که طی آن سلول‌های T که با آنتی‌ژن‌های بیگانه متصل به MHC خودی واکنش نشان می‌دهند، انتخاب می‌شوند.

اعضای لنفاوی ثانویه: که در آنها لنفوسیت‌های بالغ توسط آنتی‌ژن تحریک می‌شوند تا تقسیم و تمایز بیشتری یابند. اعضای لنفاوی ثانویهٔ اصلی، طحال و گره‌های لنفی هستند.

1. positive and negative selection

آنتی‌ژن‌ها

آنتی‌ژن‌ها، عواملی هستند که بتوانند به‌طور اختصاصی به اجزاء پاسخ ایمنی مثل لنفوسیت‌ها و آنتی‌بادی‌ها متصل شوند؛ **ایمونوژن**[1] هر عاملی است که بتواند پاسخ ایمنی را القاء کند و برای این القاء باید به‌طور اختصاصی به اعضای پاسخ ایمنی متصل شود، لذا تمام ایمونوژن‌ها آنتی‌ژن‌اند ولی همهٔ آنتی‌ژن‌ها لزوماً ایمونوژن نیستند؛ مثلاً برخی مولکول‌های کوچک مثل داروها به تنهایی ایمونوژن نمی‌باشند ولی با اتصال به ترکیبات با وزن مولکولی بالا به نام **حامل**[2] قادرند پاسخ ایمنی را تحریک کنند. به این مولکول‌های کوچک که به تنهایی آنتی‌ژن بوده ولی ایمونوژن محسوب نمی‌شوند و در اثر ترکیب با حامل قادر به تحریک پاسخ ایمنی می‌باشند را **هاپتن**[3] گویند. برای ایمنوژن بودن یک ماده سه شرط ضروری می‌باشد: (۱) بیگانگی (۲) وزن مولکولی بالا و (۳) پیچیدگی شیمیایی

اولین برخورد یک فرد با یک ایمونوژن خاص را ایمن شدن اولیه و پاسخ قابل سنجش ناشی از آن را پاسخ اولیه می‌گویند. پاسخ اولیه معمولاً ضعیف بوده و ظرف مدتی متوقف می‌شود؛ آنتی‌بادی که عموماً در پاسخ اولیه تولید می‌شود **IgM** می‌باشد. فرد پس از برخورد اولیه با آنتی‌ژن، دارای **سلول‌های خاطره‌ای**[4] از این آنتی‌ژن می‌شوند. برخورد دوم با همان ایمونوژن به پاسخ ثانویه منجر می‌شود و به خاطر وجود سلول‌های خاطره‌ای حاصل از برخورد اولیه، پاسخ ثانویه، بسیار سریع‌تر و شدیدتر از پاسخ اولیه می‌باشد. به همین دلیل، پاسخ ثانویه را پاسخ خاطره‌ای و لنفوسیت‌های B و T دخیل در پاسخ خاطره‌ای را سلول‌های خاطره‌ای می‌نامند. **IgG** ایمونوگلوبولین اصلی تولید شده در پاسخ ثانویه می‌باشد.

قسمتی از آنتی‌ژن که به‌طور اختصاصی به محل اتصال واقع در یک آنتی‌بادی یا یک گیرندهٔ سلول T متصل می‌شود را شاخص آنتی‌ژنی یا اپی‌توپ[5] می‌نامند و بخشی از آنتی‌بادی که به اپی‌توپ یک آنتی‌ژن متصل می‌شود را پاراتوپ[6] گویند. اتصال آنتی‌ژن‌ها به آنتی‌بادی‌ها و برهم‌کنش آنها از طریق پیوندهای غیرکووالان صورت می‌گیرد و پیوندهای کووالان در این اتصال نقشی ندارند.

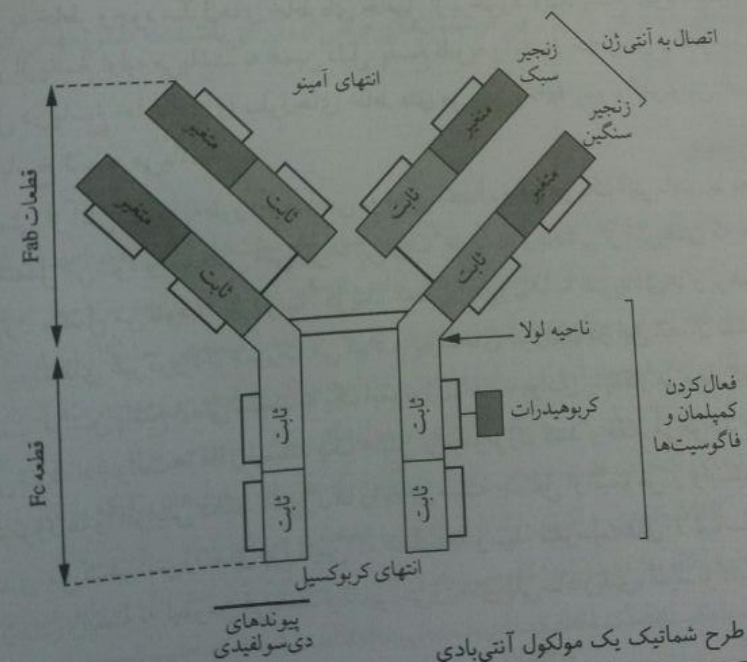
جهت افزایش پاسخ ایمنی نسبت به یک ایمونوژن، اغلب موادی را به‌کار می‌برند که **ادجوانت**[7] نامیده می‌شود. ادجوانت‌ها قادر نیستند یک هاپتن را ایمونوژن کنند و فقط می‌توانند پاسخ ایمنی علیه ایمونوژن‌ها را افزایش دهند. آنتی‌ژن‌ها را به دو دستهٔ مستقل از تیموس و وابسته به تیموس تقسیم‌بندی می‌کنند. آنتی‌ژن‌های پروتئینی که عمدتاً به وسیلهٔ **لنفوسیت‌های T** شناسایی می‌شوند را آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس می‌نامند و سایر آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکاریدی، اسید نوکلئیک و غیره را

1. immunogene
2. carrier
3. hapten
4. memory cells
5. epitope
6. paratope
7. adjuvant

آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس می‌نامند. آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس (پروتئینی) عموماً ایمونوژن‌های قوی‌تری می‌باشند.

سوپرآنتی‌ژن‌ها: سوپرآنتی‌ژن‌ها مولکول‌هایی هستند که بدون نیاز به پردازش در داخل سلول، به محلی در مولکول‌های MHCII متصل شده و می‌توانند تعداد زیادی از کلون‌های لنفوسیت T را تحریک کرده و انبوهی از سیتوکین‌ها و اختلالات بالینی را ایجاد کنند مثل انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی.

آنتی‌بادی‌ها (ایمونوگلوبولین‌ها): یکی از اعمال دستگاه ایمنی تولید پروتئین‌های محلولی است که آزادانه گردش می‌کنند و در برابر عناصر بیگانه نقش محافظتی دارند. این پروتئین‌های محلول، آنتی‌بادی‌ها هستند که به‌علت داشتن ساختمان کروی، به رده‌ای از پروتئین‌ها به نام گلوبولین‌ها تعلق دارند و در ردهٔ **گاماگلوبولین‌ها**[1] قرار می‌گیرند. ایمونوگلوبولین‌ها همچنین به‌عنوان گیرندهٔ آنتی‌ژنی در سطح سلول‌های B نقش ایفاء می‌کنند. ساختار اصلی تمام آنتی‌بادی‌ها، مشابه بوده و شامل چهار زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی، یعنی دو زنجیرهٔ **سنگین** یکسان و دو زنجیرهٔ **سبک** یکسان است و تعدادی پیوند دی‌سولفیدی، این زنجیره‌ها را در مجاورت هم نگه می‌دارد. (شکل ۴-۹) هر



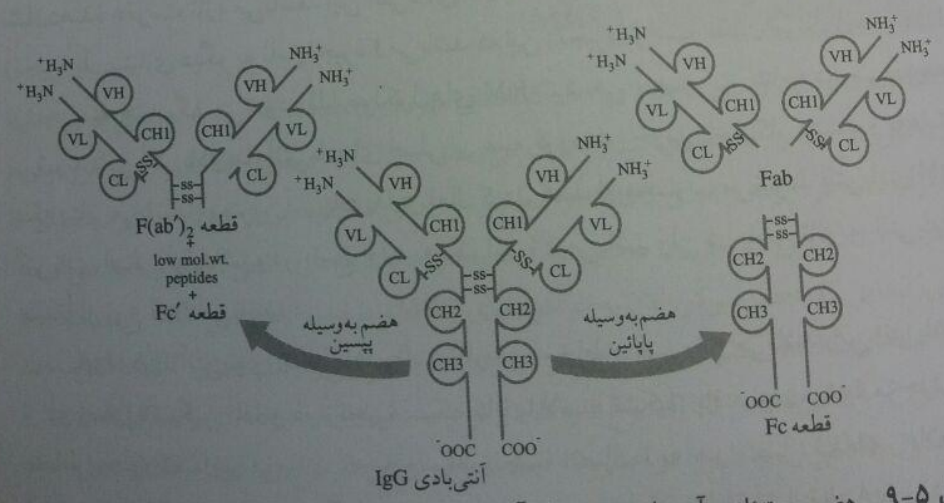
شکل ۴-۹ طرح شماتیک یک مولکول آنتی‌بادی

1. gamma glubolines

زنجیره دارای دو ناحیهٔ ثابت و متغیر می‌باشند، ناحیهٔ ثابت[1] در انتهای کربوکسیل زنجیره‌ها قرار داده و نواحی متغیر[2] در انتهای آمینو زنجیره‌های سبک و سنگین قرار دارد. ناحیهٔ متغیر (انتهای آمینو) وظیفهٔ **شناسایی آنتی‌ژن** و اتصال به آن را دارد و نواحی ثابت (انتهای کربوکسیل) در اعمال بیولوژیک آنتی‌بادی نقش دارند. اگر آنتی‌بادی‌هایی مثل IgG را به وسیلهٔ آنزیم پروتئولیتیک پاپائین هضم کنیم، آنتی‌بادی از ناحیهٔ **لولا**[3] شکسته شده، دو قطعه مشابه F_{ab} و یک قطعهٔ F_c ایجاد می‌کند. (شکل ۵-۹)

۱. **زنجیرهٔ سبک**: دو نوع زنجیرهٔ سبک **کاپا** و **لامبدا** در ایمونوگلوبولین‌ها وجود دارد و در هر مولکول ایمونوگلوبولین همیشه زنجیره‌های سبک، هر دو از یک نوع کاپا و یا لامبدا هستند و هرگز در یک مولکول آنتی‌بادی دو نوع زنجیرهٔ سبک وجود ندارد. ژن زنجیرهٔ کاپا روی کروموزوم ۲ و زنجیرهٔ لامبدا روی کروموزوم ۲۲ قرار دارد.

۲. **زنجیرهٔ سنگین**: ایمونوگلوبولین‌ها دارای **پنج کلاس** یا ایزوتایپ مختلف می‌باشند که تفاوت آنها در زنجیره‌های سنگین آنها می‌باشد. زنجیرهٔ سنگین μ در IgM، γ در IgG، α در IgA، δ در IgD و ε در IgE می‌باشد. در هر مولکول آنتی‌بادی، هر دو زنجیرهٔ سنگین یکسان‌اند و در خصوصیات بیولوژیک آنتی‌بادی نقش دارند. هر کدام از کلاس‌های آنتی‌بادی‌ها به زیر کلاس‌هایی تقسیم‌بندی می‌شوند مثلاً IgG را به چهار زیر کلاس IgG_1، IgG_2، IgG_3 و IgG_4 تقسیم‌بندی می‌کنند. ناحیه‌ای از آنتی‌بادی که **پاراتوپ** محسوب شده و قادر است **اپی‌توپ‌های** آنتی‌ژنی را شناسایی کند، از



شکل ۵-۹ هضم پروتئتازی آنتی‌بادی به وسیله آنزیم‌های پاپائین و پپسین

1. constant 2. variable 3. hinge

نواحی متغیر (V) زنجیرهٔ سبک و سنگین تشکیل یافته است. ژن‌های زنجیرهٔ سنگین آنتی‌بادی‌ها روی کروموزوم ۱۴ قرار دارند.

انواع ایمونوگلوبولین‌ها

IgG: IgG ایمونوگلوبولین غالب در سرم و لنف می‌باشد. مولکول IgG از دو زنجیرهٔ سنگین **گاما** و دو زنجیرهٔ سبک کاپا یا لامبدا تشکیل شده است که توسط پیوند **دی‌سولفیدی** در کنار یکدیگر، نگاه داشته می‌شوند. IgG در انسان دارای چهار زیر ردهٔ IgG_1، IgG_2، IgG_3 و IgG_4 می‌باشد. IgG در بین آنتی‌بادی‌ها دارای بالاترین **طول عمر** می‌باشد و آنتی‌بادی اصلی در خنثی کردن سموم باکتری‌ها در خون است. این آنتی‌بادی همچنین تنها کلاس آنتی‌بادی می‌باشد که قادر است از **جفت** عبور کرده و ایمنی را از مادر به جنین منتقل کند. خاصیت عبور از جفت وابسته به قسمت **Fc** زنجیرهٔ سنگین IgG می‌باشد. IgG همچنین در اپسونیزاسیون و سیتوتوکسیسیته وابسته به آنتی‌بادی (ADCC) نقش دارد. IgG یک آنتی‌بادی **اپسونیزه‌کننده** می‌باشد که قادر است به سطح میکروارگانیسم‌ها متصل شده و فاگوسیتوز آنها را تسهیل کند. در مکانیسم **ADCC** که در آن IgG به سطح سلول میکروبی یا سلول توموری متصل شده و موجب اتصال برخی سلول‌های ایمنی مثل NK سل‌ها به این سلول‌ها و نابودی آنها می‌شود.

IgM: IgM **اولین** ایمونوگلوبولینی است که طی ایمنی‌سازی تولید می‌شود و افزایش آن نشان‌دهندهٔ عفونت تازه می‌باشد. این آنتی‌بادی علاوه‌بر چهار زنجیرهٔ سبک و سنگین دارای یک زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی دیگر به نام زنجیرهٔ **J** می‌باشد که این زنجیره موجب اتصال مولکول‌های IgM ترشحی به همدیگر می‌شود، لذا مولکول‌های IgM ترشحی به‌صورت **پنتامر** در سرم دیده می‌شوند. این آنتی‌بادی‌ها، آنتی‌بادهای اصلی بر علیه **گروه‌های خونی** ناسازگار هستند و به‌علت اینکه پنتامر می‌باشند مهمترین آنتی‌بادی‌ها در فعال کردن کمپلمان محسوب می‌شوند. آنتی‌بادی IgM آنتی‌بادی اصلی تولید شده در **پاسخ اولیه** به یک آنتی‌ژن می‌باشد ولی در پاسخ ثانویه، آنتی‌بادی عمدتاً از نوع IgG می‌باشد.

IgA: IgA آنتی‌بادی اصلی ترشحات خارجی، مخاط و شیر مادر می‌باشد. این آنتی‌بادی، از دو زنجیرهٔ سنگین آلفا و دو زنجیرهٔ سبک کاپا یا لامبدا تشکیل یافته است. IgA موجود در مخاط به‌صورت **دایمر** می‌باشد که به وسیلهٔ زنجیرهٔ اتصال J به هم متصل شده‌اند. علاوه‌بر این، IgA دارای یک پروتئین دیگر به نام **جزء ترشحی** می‌باشد که وظیفهٔ آن انتقال IgA به درون مجرای مخاطی است. اگر IgA موجود در تمام سطوح مخاطی را درنظر بگیریم، **IgA** از نظر مقدار،

ایمونوگلوبولین اصلی بدن می‌باشد. این آنتی‌بادی نقش مهمی در دفاع ایمونولوژیک در برابر عفونت‌های موضعی در مخاط ایفاء می‌کند.

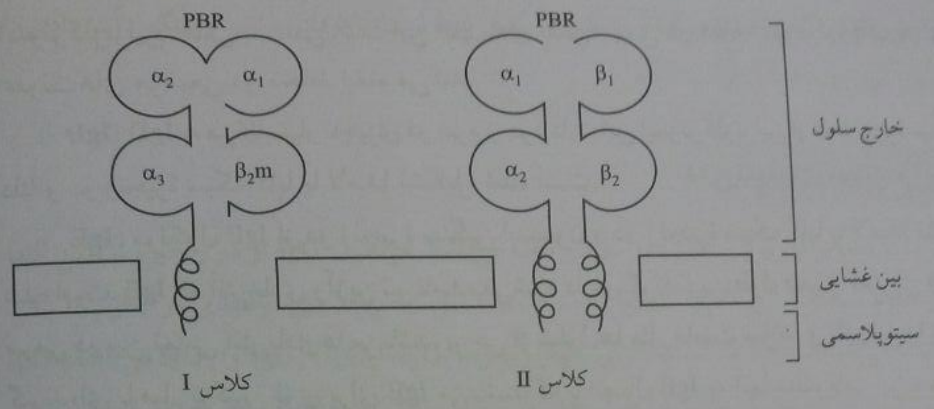
IgD: IgD به میزان بسیار ناچیزی در سرم وجود دارد. این ایمونوگلوبولین از دو زنجیرهٔ سنگین دلتا و دو زنجیرهٔ سبک کاپا یا لامبدا تشکیل شده است.

IgE: مولکول IgE از دو زنجیرهٔ سنگین اپسیلون و دو زنجیرهٔ سبک کاپا یا لامبدا تشکیل شده است. IgE که آنتی‌بادی **رآژین** نیز نامیده می‌شود دارای کوتاه‌ترین **طول عمر** و کمترین **غلظت سرمی** در بین تمامی آنتی‌بادی‌ها می‌باشد. برخی از سلول‌ها مثل **ماست سل‌ها** و **بازوفیل‌ها** دارای گیرنده‌ای با میل ترکیبی قوی برای IgE می‌باشند که با اتصال IgE به آنها محتویات این سلول‌ها مثل هیستامین و غیره آزاد شده و منجر به ایجاد **آلرژی** می‌شود. نقش بیولوژیک اصلی IgE، فعال کردن **ائوزینوفیل‌ها** برای از بین بردن انگل‌هایی مثل **کرم‌ها** می‌باشد.

بازآرایی ژنی آنتی‌بادی‌ها: آنتی‌بادی‌ها مولکول‌های پروتئینی هستند که از روی ژن‌ها ساخته می‌شوند و از آنجا که انواع آنتی‌بادی‌های ساخته شده در انسان بسیار بیشتر از تعداد کل ژن‌ها می‌باشد، لذا می‌بایست مکانیسم‌هایی برای ایجاد این **تنوع** در آنتی‌بادی‌ها وجود داشته باشد. طی فرآیندی که **نوترکیبی سوماتیک** نامیده می‌شود ژن‌های مختلف زنجیرهٔ سنگین و سبک به هم متصل و تنوعی از آنتی‌بادی‌ها را ایجاد می‌کنند. این فرآیند که در سطح DNA و قبل از رونویسی صورت می‌گیرد، توسط آنزیم **ریکامبیناز** کاتالیز می‌شود.

کمپلکس سازگاری بافتی (MHC)

MHC دسته‌ای از ژن‌های موجود در تمام گونه‌های مهره‌داران هستند که ارتباط نزدیکی با هم داشته و به‌صورت یک واحد (**هاپلوتایپ**) به ارث می‌رسند. در انسان ژن‌های MHC بر روی کروموزوم ۶ قرار دارد. فرآورده ژن‌های MHC در سطح سلول‌های مختلف بروز می‌یابد. **لنفوسیت‌های T** قادر به شناسایی یک آنتی‌ژن به‌صورت آزاد یا در حالت محلول نمی‌باشند و فقط می‌توانند آنتی‌ژن‌هایی که به‌طورغیرکووالان به مولکول‌های MHC متصلند را شناسایی کنند، به‌عبارت دیگر مولکول‌های MHC، مکانیسمی را برای **عرضه** پپتیدهای آنتی‌ژنی به سلول‌های T ایجاد می‌نمایند (شکل ۶-۹). دو کلاس MHC نوع I و II، دو نوع مختلف از فرآورده‌های ژن MHC هستند و هر سلول T، آنتی‌ژن بیگانه را در حالی که فقط به یکی از این دو نوع مولکول MHC متصل است شناسایی می‌کند. مولکول‌های MHC به غشای سلول متصل بوده و ترشح نمی‌گردند و سلولی که حاوی مولکول MHC باشد را **سلول عرضه‌کنندهٔ آنتی‌ژن** (APC) می‌نامند. دو کلاس مجزا از



شکل ۶-۹ اجزای ساختاری MHCI و MHCII؛ PBR نشان‌دهنده جایگاه اتصال پروتئین بیگانه می‌باشد.

لنفوسیت‌های T وجود دارند که فرآورده‌های متفاوت ژن‌های MHC را شناسایی می‌کنند، سلول‌های **Th** که عمدتاً **سیتوکین** را ترشح می‌کنند و نقش یاریگر دارند، ویژهٔ MHC **کلاس II** هستند و سلول‌های **Tc** که نقش **سیتولیتیک** داشته ویژهٔ مولکول‌های MHC **کلاس I** می‌باشند.

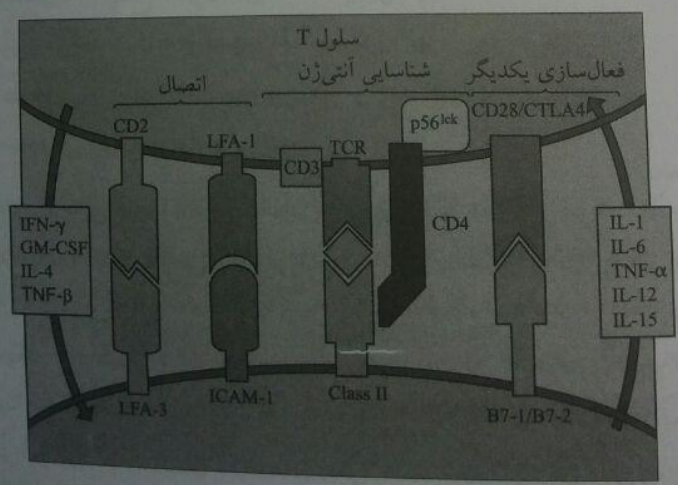
MHC کلاس I: در انسان سه جایگاه ژنی مستقل (C, B, A) برای MHC کلاس I وجود دارد. MHC کلاس I دارای دو زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی مجزا می‌باشند. زنجیرهٔ سنگین **آلفا** که دارای سه دومین α_1، α_2 و α_3 بوده و قسمتی از آن در غشاء قرار می‌گیرد. دو دومین α_1 و α_2 با همدیگر شیاری را تشکیل می‌دهند که با آنتی‌ژن پپتیدی واکنش می‌دهد. زنجیرهٔ سبک، **β_2- میکروگلوبولین** نامیده می‌شود. تقریباً تمام سلول‌های **هسته‌دار**، MHC کلاس I را در سطح غشای خود بروز می‌دهند، MHC کلاس I پروتئین‌هایی را عرضه می‌کند که منشأ **داخلی** داشته باشند مثلاً پپتیدهای تولیدی توسط ویروس‌ها و سلول‌های توموری.

پروتئین‌های ویروس که در سلول‌های آلوده به ویروس تولید می‌شوند ابتدا در سلول به‌طور نسبی هضم شده و تولید پپتیدهای کوتاه‌تری را می‌کنند که در کنار مولکول‌های MHC کلاس I در سطح سلول عرضه می‌شوند؛ سپس این پپتیدها توسط سلول‌های **Tc** یا **$TCD8^+$** شناسایی شده و منجر به تخریب سلول آلوده به ویروس می‌شود.

MHC کلاس II: در انسان MHC کلاس II حاوی سه دسته ژن به نام‌های DP، DQ و DR می‌باشد. این مولکول‌ها از دو زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی **آلفا** و **بتا** ساخته شده‌اند که هر دو دارای یک بخش داخل غشایی می‌باشند. ناحیهٔ اتصال به پپتید بیگانه در مولکول MHC کلاس II از برهم‌کنش دو ناحیه α_1 و β_1 ایجاد می‌شود. بخش عمده پپتیدهایی که به مولکول MHC کلاس **II** متصل می‌شوند، ناشی از پروتئین‌های **خارج سلولی** مثل پروتئین‌های میکروبی می‌باشند. این پروتئین‌های

خارج سلولی بعد از اینکه توسط سلول‌های **عرضه کنندهٔ آنتی‌ژن** بلعیده می‌شوند، در داخل سلول به‌طور نسبی هضم شده و همراه با مولکول‌های MHC کلاس **II** به سطح این سلول‌ها عرضه شده و توسط سلول‌های T_h یا T_{CD4+} شناسایی می‌شوند، این امر منجر به فعال شدن لنفوسیت‌های T_h و بروز عملکردهای اجرایی خاصی می‌شود که مهمترین آنها ترشح **سیتوکین** است. مولکول‌های MHC کلاس II بر سطح سلول‌های خاصی عرضه می‌شود که آنها را **APCهای حرفه‌ای** می‌نامند. بهترین APCهای شناخته شده برای سلول T_h عبارتند از سلول‌های **دندریتیک، فاگوسیت‌های تک-هسته‌ای** (ماکروفاژها) و **لنفوسیت‌های B**؛ این APCها آنتی‌ژن‌های پروتئین خارج سلولی را بلعیده و پس از هضم و قطعه قطعه کردن آن در داخل سلول، آنها را همراه با MHC کلاس II به سطح سلول عرضه می‌کنند.

تحریک لنفوسیت‌های T نیاز به **دو سیگنال** عمده دارد، اولین سیگنال، اتصال کمپلکس **پپتید-MHC** به مولکول‌های گیرنده در سطح سلول T (TCR) می‌باشد. سیگنال دوم برای فعال شدن سلول‌های T توسط مولکول‌های **کمک تحریکی** ایجاد می‌شود. مولکول‌های کمک تحریکی در واقع مولکول‌هایی بر سطح **APCها** هستند که با گیرنده‌های خود بر روی سلول‌های T اتصال برقرار می‌کنند (شکل ۷-۹). فقدان کمک تحریک‌کننده‌ها در زمان عرضه آنتی‌ژن به سلول T منجر به مرگ سلول T و یا ایجاد حالتی به نام **آنرژی** است که طی آن سلول T هیچ پاسخی را ایجاد نمی‌کند. **سوپرآنتی‌ژن‌ها** بدون نیاز به پردازش داخل سلول به سطح خارجی مولکول‌های **MHC کلاس II** متصل شده و تعداد زیادی از کلون‌های لنفوسیت T را تحریک می‌کنند که در نتیجه موجب تولید مقادیر زیادی از سیتوکین‌ها و اختلالات بالینی گسترده می‌شوند.



شکل ۷-۹ برای فعال‌سازی سلول‌های T_h علاوه‌بر اتصال MHC به TCR، برهم‌کنش کمک تحریک‌کننده‌ها نیز لازم می‌باشد.

سیتوکین‌ها

سیتوکین‌ها پروتئین‌های کوچک محلولی هستند که توسط یک سلول، ساخته شده و بر روی همان سلول و یا سلول‌های دیگر تأثیر می‌گذارد. این مولکول‌ها در پاسخ به میکروب‌ها و سایر آنتی‌ژن‌ها ترشح می‌شوند و مانند هورمون‌های پپتیدی با اتصال به **گیرنده‌های خاص** سطح سلول هدف بر آن اثر می‌کند. این مولکول‌ها دارای اعمال گوناگونی هستند؛ مثلاً اینترلوکین -۱ که در ایجاد تب نقش دارد و یا اینترلوکین-۲ که مهمترین عمل آن تکثیر سلول‌های T می‌باشد. در ایمنی ذاتی، سیتوکین‌ها اغلب توسط **فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای** تولید می‌شود و در ایمنی اختصاصی سیتوکین‌ها اغلب توسط سلول‌های **Th** ترشح می‌شوند.

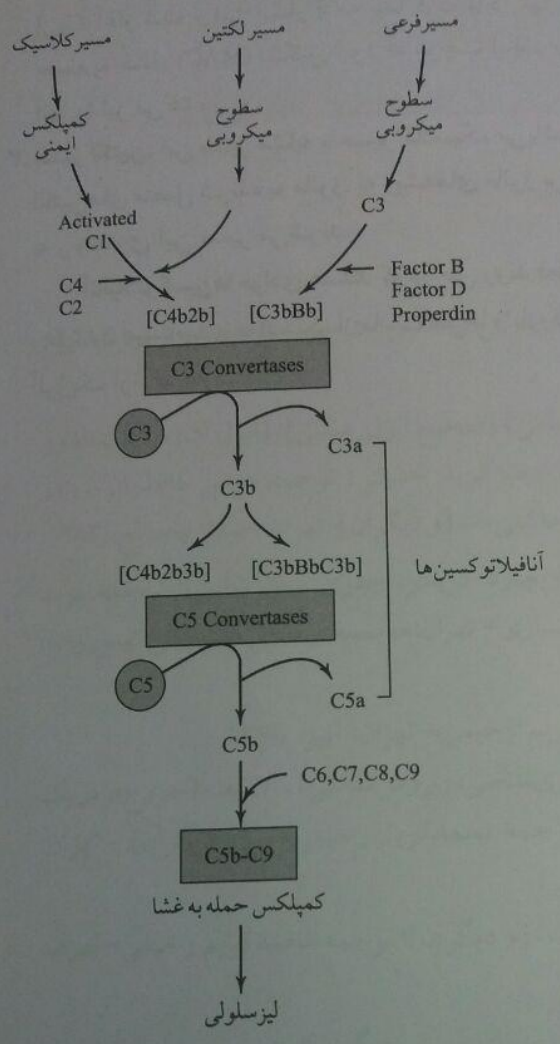
سیستم کمپلمان

سیستم کمپلمان، مجموعه‌ای مشتمل بر **۳۰ پروتئین** سرمی و سطحی سلول است که بسیاری از اعمال اجرایی ایمنی همورال و واکنش‌های القایی را به انجام می‌رسانند، این پروتئین‌ها که **حساس به حرارت** می‌باشند، هم در ایمنی ذاتی و هم ایمنی اکتسابی میزبان شرکت می‌کنند. اصطلاح کمپلمان بدین‌خاطر به آن اطلاق می‌شود که این پروتئین‌ها تأثیر سایر اجزای سیستم ایمنی (مانند آنتی‌بادی‌ها) را تکمیل می‌کند. این پروتئین‌ها عمدتاً توسط **کبد** و **فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای** تولید می‌شوند و دارای اعمال گوناگونی می‌باشند که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱ تشکیل منافذی در سطح سلول‌های هدف و لیز آنها
۲ اپسونیزاسیون ذرات بیگانه و تسهیل فاگوسیتوز آنها
۳ تولید واسطه‌هایی به نام آنافیلاتوکسین که موجب التهاب می‌شوند.
۴ تقویت پاسخ‌های ایمنی با واسطه آنتی‌بادی

پروتئین‌های آنزیمی موجود در کمپلمان بر اثر **پروتئولیز** فعال می‌شوند. فعال شدن کمپلمان از دو مسیر **کلاسیک** و مسیر **فرعی** آغاز می‌شود و این دو مسیر در انتها با هم ادغام می‌شوند. (شکل ۸-۹)

۱. مسیر کلاسیک: این مسیر شامل فعال شدن منظم و متوالی ۹ جزء پروتئین اصلی است که به‌صورت C_1 تا C_9 نشان داده می‌شوند. این مسیر که یکی از مکانیسم‌های ایمنی **اختصاصی** محسوب می‌شود، با اتصال اولین جزء مسیر یعنی C_1 به کمپلکس‌های **آنتی‌ژن- آنتی‌بادی** آغاز می‌شود. دو آنتی‌بادی **IgG** و **IgM** قادر به فعال کردن کمپلمان از این مسیر می‌باشند و **IgM**



شکل ۸-۹ مسیرهای مختلف فعال‌سازی سیستم کمپلمان

مؤثرتر از IgG می‌باشد. این آبشار فعال‌سازی ادامه یافته و در نهایت با اتصال آخرین جزء یعنی C_9، **کمپلکس حمله به غشاء** یا MAC تشکیل می‌شود که باکتری‌ها را لیز می‌کند.

۲. **مسیر فرعی**: این مسیر که از نظر تکاملی قدیمی‌تر از مسیر کلاسیک است برای فعال شدن نیازی به کمپلکس‌های آنتی‌ژن- آنتی‌بادی ندارد، بنابراین مسیر فرعی یکی از مکانیسم‌های مربوط به ایمنی **ذاتی** محسوب می‌شود. این مسیر ممکن است توسط مواد گوناگون مثل LPS غشای خارجی گرم منفی‌ها، دیوارهٔ برخی از باکتری‌ها و غیره فعال شود. فعال‌سازی این مسیر

از C_3 آغاز شده و این آبشار ادامه پیدا کرده تا در نهایت همانند مسیر کلاسیک، کمپلکس حمله به غشاء (MAC) تشکیل شود که موجب ایجاد منافذی در غشای سلول هدف شده و آنها را لیز می‌کند.

۳. **مسیر لکتین**: این مسیر مشابه با مسیر کلاسیک می‌باشد ولی با این تفاوت که در این مسیر لکتین‌های متصل شونده به مانوز، به ریشه‌های مانوز بر روی سطح پاتوژن می‌چسبند و منجر به راه‌اندازی این مسیر می‌شوند.

آنافیلاتوکسین‌ها موادی هستند که در طی روند فعال‌سازی کمپلمان تولید شده و موجب رها شدن هیستامین و مواد دیگر از ماست سل‌ها و بازوفیل‌ها می‌شوند که این امر با واکنش‌های آلرژیک ارتباط دارد.

فصل ۱۱

میکروب‌شناسی مواد غذایی

هدف‌های کلی

آشنایی با نقش میکروارگانیسم‌ها در فساد مواد غذایی و کاربرد آنها در تولید برخی از غذاها و مواد خوارکی.

هدف‌های یادگیری

۱. دانش میکروب‌شناسی در رابطه با فساد مواد غذایی.
۲. انواع مواد غذایی از نظر فسادپذیری.
۳. عوامل درونی و بیرونی مؤثر بر فساد مواد غذایی.
۴. مسمومیت‌های غذایی ناشی از میکروارگانیسم‌ها.
۵. نقش میکروارگانیسم‌ها در تولید مواد غذایی.
۶. انواع غذاهای تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها

مقدمه

میکروب‌ها، در مواد غذایی تغییرات مطلوب و نامطلوب پدید می‌آورند و از طرف دیگر تهیه‌ی بسیاری از فرآورده‌های غذایی (مانند کلم‌شور، زیتون رسیده، کاکائو، پنیر و از این قبیل) بدون کمک میکروب‌ها امکان‌پذیر نیست. اسیدهای تولیدی توسط میکروب‌ها به حفظ برخی مواد غذایی نظیر خیارشور و فرآورده‌های تخمیری شیر از گزند میکروب‌های

نامطلوب کمک می‌نمایند. تغییرات نامطلوب را **فساد مواد غذایی** می‌نامند.

۱۱ـ۱ فساد مواد غذایی

فساد عبارت است از: هر تغییری در طعم، بو، بافت یا ظاهر مواد غذایی که آن را نامطبوع و بدمزه می‌کند. اصطلاح نامطبوع و بدمزه را نمی‌توان دقیق توجیه کرد؛ زیرا بسته به ذائقه‌ی افراد و اجتماع‌های مختلف فرق می‌کند. فساد مواد غذایی مسئله‌ای اکولوژیک است. بسیاری مواد غذایی در شرایطی که آلودگی با انواع میکروب‌ها وجود دارد، تهیه یا تولید می‌شوند. رشد میکروب‌ها در مواد غذایی به ترکیب ماده غذایی و شرایط انبار کردن بستگی دارد.

غذاهای حیوانات و انسان را می‌توان برحسب منبع آن‌ها تقسیم‌بندی کرد که شامل: ۱. فرآورده‌های گیاهی ۲. فرآورده‌های حیوانی و ۳. فرآورده‌های ساختگی می‌شوند.

جدول ۱۱ـ۱. فرایند فساد در انواع مواد موجود در غذاها

ماده	واکنش‌های شیمیایی	فرآورده‌ها و اثرات
پکتین	پکتولیز	متانول، اسیدهای اورونیک (به‌هم ریختن ساختار میوه، پوسیدگی نرم)
پروتئین‌ها	پروتئولیز ـ دآمیناسیون	اسیدهای آمینه، پپتیدها، آمین‌ها، هیدروژن سولفوره، آمونیاک و اندول (تلخی، ترشیدگی بوی بد و ساده‌تر شدن)
هیدرات‌های کربن	هیدرولیز، تخمیر	اسیدهای آلی، دی‌اکسید کربن، مخلوط الکل‌ها (ترشیدگی و اسیدی شدن)
لیپیدها	هیدرولیز، تجزیه اسیدهای چرب	گلیسرول و مخلوط اسیدهای چرب (تلخ و بدبو شدن)

ترکیب غذاها با هم فرق می‌کند، در نتیجه میکروب‌هایی که می‌توانند روی هرکدام از آنها رشد کنند فرق می‌کنند، بنابراین فسادپذیری مواد غذایی در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها یکسان نیست و از این نظر می‌توان مواد غذایی را به سه گروه عمده به شرح زیر تقسیم کرد:

۱۱ـ۱ـ۱ مواد غذایی زود فاسدشدنی یا حساس

این گروه از مواد غذایی باید با دقت بسیار تهیه شوند و نگهداری از آنها دشوار است. این مواد شامل انواع گوشت‌ها، ماهی‌ها، تخم‌مرغ، شیر و اغلب میوه‌ها و سبزی‌ها هستند. به‌عبارت دیگر، غذاهای اصلی در بسیاری از نقاط جهان.

۱۱ـ۱ـ۲ مواد غذایی دیر فاسدشدنی

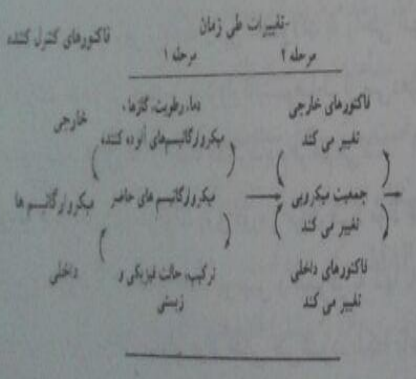
این مواد را می‌توان با استفاده از روش‌های اصولی، برای مدت نسبتاً طولانی نگهداری کرد. سیب‌زمینی، مغز برخی از دانه‌ها و میوه‌ها از این گروهند.

۱۱ـ۱ـ۳ مواد غذایی فاسدنشدنی یا باثبات

این‌گونه مواد بدون هیچ مشکلی برای مدتی طولانی قابل نگهداری هستند. این غذاها به‌دلیل میزان آب کم موجود در آن‌ها، نسبتا پایدار و مقاومند. این گروه شامل آرد، برنج و حبوبات خشک هستند.

۱۱ـ۲ عوامل مؤثر در رشد میکروارگانیسم‌ها در غذاها

غذاها، علاوه بر تأمین مواد مغذی برای ما، محیط‌های بسیار عالی برای رشد میکروارگانیسم نیز هستند. رشد میکروبی توسط عوامل درونی (مربوط به ترکیب خود مواد غذایی) و بیرونی (محیطی که در آن مواد غذایی ذخیره شده است) کنترل می‌شود (شکل ۱۱ـ۱).



شکل ۱۱ـ۱. عوامل بیرونی و درونی. انواع عوامل خارجی و داخلی می‌توانند رشد میکروبی در مواد غذایی را تحت تأثیر قرار دهد. با گذشت زمان تغییرات متوالی در

۱۱ـ۲ـ۱ عوامل ذاتی (درونی):

- **ترکیب غذایی**، یک فاکتور بسیار مهم ذاتی است که رشد میکروبی را در مواد غذایی تحت تأثیر قرار می‌دهد. اگر مواد غذایی عمدتاً از کربوهیدرات‌ها، تشکیل شده باشد؛ فساد در این‌گونه مواد غذایی بوی زیادی ایجاد نمی‌کند. در مقابل، هنگامی که غذاها حاوی مقادیر زیادی از پروتئین‌ها و / یا چربی‌ها (به‌عنوان مثال، گوشت و کره) باشند، فساد می‌تواند انواع بوی بد را در این‌گونه مواد غذایی ایجاد کند.
- **pH غذا** نیز یک فاکتور بسیار مهم است؛ زیرا pH پایین، به نفع رشد مخمرها و کپک‌ها است. در مواد غذایی با pH خنثی یا قلیایی (مانند گوشت‌ها)، باکتری ارگانیسم غالب در فساد و تعفن است (جدول ۱۱ـ۱).

فعالیت آب، در دسترس بودن آب نیز توانایی میکروارگانیسم‌ها را برای رشد در مواد غذایی تحت تأثیر قرار می‌دهد. به سادگی، با خشک کردن مواد غذایی می‌توان فرایندهای فساد یا از بین رفتن مواد غذایی را کنترل کرد. حتی اگر آب در مواد غذایی موجود باشد، می‌توان در دسترس بودن آب را با اضافه کردن املاح مانند قند و نمک کمتر کرد. میزان آب در دسترس را، فعالیت آب (a_w) می‌نامند. هنگامی که مقدار زیادی نمک یا شکر به غذا اضافه شود، بسیاری از میکروارگانیسم‌ها با این شرایط نمی‌توانند در مواد غذایی رشد کنند. در این شرایط نامطلوب، میکروارگانیسم‌های اسموفیلیک و گزروفیلیک[1] مواد غذایی را فاسد می‌کنند.

- **پتانسیل اکسیداسیون و احیای** مواد غذایی، نیز فساد مواد غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هنگامی که محصولات گوشتی، به‌صورت مایع، یا پخته شده‌اند، آنها اغلب پتانسیل اکسیداسیون و احیا پایین‌تر دارند و این محصولات به راحتی اسیدهای آمینه، پپتید و عوامل رشد خود را در دسترس میکروارگانیسم‌ها قرار می‌دهند و محیط ایده‌آلی را برای رشد بی‌هوازی‌ها، از جمله *کلستریدیوم* فراهم می‌کنند.
- **ساختار فیزیکی** مواد غذایی نیز، می‌تواند روی دوره و میزان فساد مواد غذایی تأثیر بگذارد. آسیاب و مخلوط کردن غذاها مانند سوسیس و همبرگر نه تنها باعث افزایش سطح مواد غذایی و تغییر ساختار سلولی مواد غذایی می‌شود، بلکه باعث توزیع میکروارگانیسم‌های عامل آلودگی در سراسر غذا نیز می‌شود که این موضوع می‌تواند

@pdf_jozveh

موجب فساد سریع‌تر در مواد غذایی شود. سبزیجات و میوه‌ها، دارای پوست بیرونی هستند که آنها را در مقابل فساد محافظت می کنند. اغلب میکروارگانیسم‌های عامل فساد، آنزیم‌هایی دارند که باعث تضعیف و لایه‌برداری پوست میوه و سبزیجات می‌شوند.

- مواد **ضدمیکروبی طبیعی** (از جمله مهارکننده‌های پیچیده شیمیایی و آنزیم‌ها) در بسیاری از غذاها وجود دارند. کومارین‌های[1] (ترکیبی از خانواده مواد فنلی رایج در گیاهان است) موجود در میوه‌ها و سبزیجات، فعالیت ضدمیکروبی دارند. شیر گاو و تخم مرغ نیز مواد ضدمیکروبی دارند. تخم مرغ غنی از آنزیم لیزوزیم است که می‌تواند دیواره‌های سلول باکتری‌های گرم مثبت را لیز کنند.

۱۱-۲-۲ عوامل بیرونی (محیطی):

- **دما و رطوبت نسبی** از عوامل بیرونی مهم هستند که در فساد مواد غذایی نقش مهمی دارند. رشد میکروبی در رطوبت نسبی بالاتر با سرعت بیشتری (حتی در دماهای پایین‌تر) انجام می گیرد. هنگامی که مواد غذایی خشک در محیط مرطوب قرار می‌گیرند، رطوبت در سطح مواد غذایی جذب می‌شود، که در نهایت باعث رشد میکروبی و فساد می‌شود.
- **فضایی که در آن مواد غذایی ذخیره** شده است، نیز در فساد مواد غذایی نقش دارد. این امر به‌ویژه برای غذاهای بسته‌بندی شده کوچک مهم است؛ زیرا بسیاری از فیلم‌های پلاستیکی اجازه نفوذ اکسیژن را به داخل بسته‌بندی مواد غذایی می‌دهند و این امر موجب افزایش رشد میکروارگانیسم‌ها، بر سطح این مواد غذایی بسته‌بندی شده، می‌شود. این مشاهدات که فضای ذخیره‌سازی مواد غذایی در جلوگیری از فساد مواد غذایی مهم است، به توسعه‌ی **بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده**[2] (MAP) منجر شده است. با استفاده از مواد جدید، بسته‌بندی و تکنولوژی خلاء، بسته‌بندی مواد غذایی با کنترل در MAP ممکن شده است. در این‌گونه بسته‌بندی‌ها، (با استفاده از محتوای دی‌اکسید کربن ۶۰٪ یا بیشتر) قارچ‌های عامل فساد در مواد غذایی در فضای اطراف

1. Coumarins
2. MAP: Modifie Atmosphere Packaging

غذا رشد نخواهند کرد. حتی اگر به میزان کمی اکسیژن در مواد غذایی وجود داشته باشد.

۱۱ـ۳ مسمومیت غذایی

دو عامل اصلی و مهم مسمومیت غذایی عبارتست از: ۱. انتروتوکسین حاصل از برخی سویه‌های *استافیلوکوک‌ها* و ۲. اگزوتوکسین *کلستریدیوم بوتولینوم*. این دو نوع توکسین در برابر آنزیم‌های پروتئولیتیک نسبتا مقاومند. این صفت، جذب آنها را از لوله‌ی گوارش امکان‌پذیر می‌سازد. انتشار وسیع *استافیلوکوک‌ها* روی پوست و غشاهای مخاطی بدن انسان در افراد سالم و افرادی که مبتلا به بیماری تنفسی هستند، دیده شده است. چند سلول از این میکروب‌ها برای تولید انتروتوکسین کافی است و اگر غذای آلوده شده به مدت چند ساعت خارج از یخچال بماند فرصت مناسب برای تولید سم وجود دارد.

انتروتوکسین *استافیلوکوکی* از نظر مقاوم به حرارت بودن و مقاومت در حرارت جوش به مدت ۳۰ دقیقه یا بیشتر، غیرعادی به نظر می‌رسد. خطر بوتولیسم ناشی از کنسرو کردن برای این است که معمولاً *کلستریدیوم بوتولینوم* در خاک باغچه به سر می‌برد و اسپور آن نسبت به حرارت مقاوم است. جوشاندن به مدت چندین ساعت برای اطمینان یافتن از نابود شدن آنها ضروری است و اتوکلاو کردن برای از بین بردن آنها در اغذیه غیراسیدی ضرورت دارد. خوشبختانه توکسین بوتولیسم در عرض چند دقیقه در حرارت ۶۵ درجه و در حرارت جوش فورا از بین می‌رود.

کلستریدیوم پرفرینجس موجب مسمومیت غذایی خفیف می‌شود که اکثرا مرگ‌زا نیست. این ارگانیسم طی اسپورزایی در روده سم تولید می‌کند. این سم بر روی دستگاه گوارش اثر می‌گذارد و موجب دل درد و اسهال می‌شود.

۱۱ـ۴ سموم قارچی (مایکوتوکسین)

بسیاری از قارچ‌ها، مواد سمی تولید می‌کنند که به آنها مایکوتوکسین می‌گویند. برخی از این سموم جهش‌زا و سرطان‌زا هستند. حداقل ۱۴ مایکوتوکسین شناخته شده است که سرطان‌زا هستند و قوی‌ترین آنها آفلاتوکسین‌ها هستند. *آسپرژیلوس فلاووس*

(*Aspergillus flavus*) آفلاتوکسین را تولید می‌کند (جمی و دیگران، ۲۰۰۵؛ ملک‌زاده و نیهامتی، ۱۳۸۶؛ مادیگان و دیگران، ۲۰۰۹؛ وایلی و دیگران، ۲۰۰۸).

۱۱ـ۵ نقش میکروارگانیسم در تولید مواد غذایی

استفاده از میکروب‌ها در تولید مواد غذایی به روش‌هایی که در صدها و هزاران سال پیش متداول بوده هنوز هم رواج دارد. میکروارگانیسم‌ها، در مقیاس وسیع برای تهیه‌ی نان، فراورده‌های لبنی مختلف، اسیدهای آلی و انواع مشروبات الکلی به‌کار گرفته می‌شوند. استفاده از میکروب‌ها در صنایع غذایی عمدتاً به سه طریق زیر صورت می‌گیرد:

- فعالیت‌های متابولیسمی ویژه، که اغلب شامل واکنش‌های تخمیری و تولید ترکیبات آلی می‌شود و مسئول ایجاد غذاهایی با خواص مطلوب‌تر است. فرآورده‌های شیر، انواع نان، ترشی‌ها، مشروبات الکلی، سوسیس و سرکه از طریق تخمیر تولید می‌شوند.
- پرورش یاخته‌های میکروبی به میزان زیاد، که به‌عنوان منبع پروتئین در غذاهای دامی و گاه انسانی استفاده می‌شود، تحت عنوان «پروتئین تک‌یاخته‌ای»[1] (SCP) شناخته می‌شود.
- فرآورده‌های جانبی متابولیسمی برخی از میکروب‌ها که در صورت اضافه شدن به مواد غذایی، باعث غنی شدن مواد غذایی یا ایجاد طعم مطبوع در مواد غذایی می‌شوند. آنزیم‌های جداشده از میکروارگانیسم‌ها نیز در تولید برخی از غذاها به مصرف می‌رسند (مادیگان و دیگران، ۲۰۰۹؛ وایلی و دیگران، ۲۰۰۸).

۱۱ـ۶ انواع غذاهای تولیدشده توسط میکروارگانیسم‌ها

۱۱ـ۶ـ۱ غذاهای لبنی

تنها عده‌ی کمی از افراد، هنگام مصرف ماست متوجه می‌شوند که در واقع توده باکتریایی زنده را (که مخلوطی از شیر اسیدی شده و باکتری‌ها است) مصرف می‌کنند. جای خوشبختی است که عموم مردم از این مطلب آگاهی ندارند و بسیاری از آنان

1. SCP: Single Cell Protein

احتمالاً معتقدند که خوردن توده سلولی باکتریایی تا حدی مضر است. با این وجود، ماست، مثالی خوب از کشت سلولی در مقیاسی وسیع در صنعت لبنیات است. امکان تولید ماست، پنیر و دوغ بدون شرکت گروهی خاص از باکتری‌های گرم مثبت (LAB: Lactic Acid Bacteria) وجود ندارد. LAB ها به‌طور غیرعادی می‌توانند اسید بالایی را تحمل کنند، در نتیجه می‌توانند در این شرایط زنده بمانند و رشد کنند. برخی حتی در pHهای پایین‌تر از ۳ عمل می‌کنند. ویژگی‌های مهم دیگر باکتری‌های اسید لاکتیک عبارتند از: ۱. آنها مگر در موارد نادر بیماری‌زا نیستند و در استفاده ایمن در مواد غذایی قدمت تاریخی طولانی دارند. ۲. LABهای خاص می‌توانند طعم محصولات لبنی را بهبود بخشند؛ مثلاً دی‌استیل که در دوغ وجود دارد، توسط *لاکتوباسیلوس کریموریس (Lactobacillus cremoris)* تولید می‌شود. ۳. افزایش زمان ماندگاری شیر و مواد لبنی. محافظت در برابر باکتری‌های بیماری‌زا در فرآورده‌های تخمیری توسط LABها، بخشی به دلیل کاهش pH و بخشی به دلیل تولید باکتریوسین‌هاست (گرین، ۲۰۰۲).

۱۱ـ۶ـ۲ فرآورده‌های گوشتی

سوسیس‌های تخمیری معمولا به دو صورت خشک یا نیمه‌خشک تولید می‌شوند. تولید سوسیس‌های تخمیری یا با تلقیح مستقیم مایه‌ی کشت است، یا تولیدکننده اجازه می‌دهد این محصول توسط ارگانیسم‌های موجود در مواد خام تهیه شود. از فرآورده‌های گوشتی تخمیری دیگر، ژامبون عمل آوری شده، سس‌های ماهی و پوره ماهی است.

۱۱ـ۶ـ۳ فرآورده‌های گیاهی

سبزی‌ها، به‌ویژه خیار، کلم و زیتون را می‌توان از راه فعالیت‌های تخمیری باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر که به‌طور طبیعی بر سطح آنها یافت می‌شوند حفظ و نگهداری کرد. این باکتری‌ها با قرار دادن سبزی‌ها در محلول نمکی، سریع‌تر رشد می‌کنند. معمولاً تولید اسید لاکتیک، تا زمانی که دیگر هیچ‌گونه هیدرات کربن قابل تخمیری در محیط باقی نماند؛ ادامه می‌یابد. وجود نمک و اسیدیته‌ی محیط و نبود هیدرات‌های کربن آن‌چنان به‌طور مؤثر از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کنند که ترشی‌ها را

برای مدت نامحدودی می‌توان نگهداری کرد (جی و دیگران، ۲۰۰۵).

۱۱ـ۶ـ۴ مخمر نانوایی

مخمر نانوایی سویه‌ای از *ساکارومیسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) است که قدرت تولید گاز و مزه مطبوع در نان را دارد. ابتدا کشت خالصی از مخمر را در آزمایشگاه تهیه می‌کنند و بعد آن را در مقیاس بزرگ تهیه می‌کنند و سرانجام آن را در فرمانتورهای بزرگ وارد می‌کنند. سلول‌های مخمر به سرعت تکثیر می‌شوند و در مدت ۱۰ـ۱۱ ساعت قند محیط را مصرف می‌کنند. سپس با سانتریفوژ و شستشو، مخمرها را از محیط جدا می‌سازند و آن را با نشاسته مخلوط می‌کنند و در نهایت تحت فشار به‌صورت کیک در می‌آورند. کیک مخمری را در شرایط سرما نگه می‌دارند تا میکروب‌های دیگر نتوانند آن را آلوده کنند. مخمرها را می‌توان تا ۱۰٪ رطوبت خشک کرد در این حالت مخمرها ماه‌ها سالم باقی می‌مانند.

۱۱ـ۶ـ۵ پروتئین‌های تک‌یاخته

اصطلاح، پروتئین تک‌یاخته‌ای، در سال ۱۹۶۶ در انستیتوی تکنولوژی ماساچوست، ابداع شد. امروزه به توده سلولی میکروبی اطلاق می‌شود که به‌عنوان ماده غذایی و یا افزودنی خوراک دام، استفاده می‌شود. در این زمینه، هم پروتئین سلولی استخراج شده و هم کل مواد سلولی، SCP[1] نامیده می‌شود. در زنجیره غذایی انسان، حیوانات و گیاهان اغلب منبع عمده غذایی را تشکیل می‌دهند. اما میکروارگانیسم‌ها نیز اغلب در مقادیر کم به‌صورت محصولاتی چون پنیر، سرکه، قارچهای خوراکی، مخمر و جلبک‌های سبز مثل *اسپیرولینا* (*Spirulina*) مصرف می‌شوند. به‌طور کلی، سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها به مراتب بیش از گیاهان و جانوران است. به‌عنوان مثال، بسیاری از باکتری‌ها در مدتی کمتر از یک ساعت از نظر تعداد دو برابر می‌شوند. زمان تکثیر مخمرها معمولاً بین ۱ تا ۳ ساعت، جلبک‌ها بین ۲ تا ۶ ساعت و بعضی کپک‌های کند رشد بین ۴ تا ۱۲ ساعت است. یاخته‌های میکروبی معمولاً سرشار از پروتئین هستند و گاه پروتئین‌ها تا ۸۰٪ وزن خشک آنها را تشکیل می‌دهند. بنابراین میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در مدت

1. Single Cell Protein

کوتاهی مقادیر زیادی پروتئین تولید کنند. بدین ترتیب میکروارگانیسم‌ها (به‌ویژه باکتری‌ها) در سده‌ی آینده مهم‌ترین منبع تولید پروتئین به‌شمار خواهند آمد.

پروتئین تک‌سلولی برای تغذیه‌ی حیوانات را، می‌توان از مواد اولیه نظیر تراشه چوب، خاک اره، کاه و سایر مواد زاید کشاورزی تهیه کرد. بدین‌معنا که ابتدا آنها را با هیدرولیز به کمک اسیدها یا هضم آنزیمی به قندهای قابل استفاده (معمولاً مالتوز یا گلوکز) تجزیه می‌کنند و سپس میکروارگانیسم‌ها را بر روی آن پرورش می‌دهند.

با وجود مزایای زیاد استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان منبع غذایی، مشکلاتی در این زمینه وجود دارد که برای حل آن باید تلاش کرد. از جمله، بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به‌علت داشتن دیواره‌ی سخت، دیر هضم هستند یا به خطر بو و طعم نامطبوع استفاده نمی‌شوند. برخی، تولیدکننده‌ی توکسین‌های داخلی هستند و به این دلیل مصرف آنها به‌عنوان ماده غذایی خطرناک است. به علاوه مقدار زیاد اسیدهای نوکلئیک (۴ـ۶٪ در جلبک، ۱۰ـ۱۶٪ در باکتری، ۶ـ۱۰٪ در مخمر و ۵/۲ـ۶٪ در قارچ) می‌تواند برای سلامتی انسان مضر باشد؛ زیرا به‌دلیل بالا بودن نسبت اسیدهای نوکلئیک آن، باعث بیماری نقرس می‌شود.

۱۱ـ۶ـ۶ تولید اسیدهای آمینه

در سال ۱۹۰۸ خواص تشدیدکنندگی طعم اسید گلوتامیک در ژاپن کشف شد، بعد از آن دیری نپایید که تولید تجاری گلوتامات سدیم، از ترکیبات حاصل از هیدرولیز اسیدی گندم و سویا آغاز شد. در سال ۱۹۷۵ گلوتامیک اسید به‌عنوان محصول محیط کشت کورینه باکتریوم گلوتامیکوم (*Corynebacterium glutamicum*) کشف شد و از آن به بعد این میکروارگانیسم به‌عنوان منبع اصلی گلوتامات سدیم مطرح شد. اسیدهای آمینه، کاربردهای گسترده ای در صنایع غذایی و دارویی، به‌عنوان افزودنی خوراک دام و به‌عنوان ماده اولیه در صنایع شیمیایی دارند. در صنایع غذایی، برای تشدید طعم از اسیدهای آمینه به تنهایی و یا به صورت مخلوط استفاده می‌شود. سدیم آسپارتات و DL-آلانین برای تکمیل طعم به آب‌میوه‌ها اضافه می‌شوند.

پروتئین‌های گیاهی اغلب از نظر اسیدهای آمینه ضروری از جمله: L لیزین، L متیونین، L تریپتوفان فقیر هستند. همچنین نظر به فقر غذایی موجود در جهان سوم،

بهطور فزآینده‌ای احساس می‌شود، لازم است که پروتئین‌های گیاهی با اسیدهای آمینه (که مقدار آنها در حد اپتیمم باشد)، تکمیل شود. برخی اسیدهای آمینه را می‌توان به روش تخمیر میکروبی به مقدار فراوان تولید کرد. اسیدهای آمینه که به روش میکروبی تولید می‌شوند عبارتند از: لیزین، ترئونین، متیونین و تریپتوفان و اسید گلوتامیک. برای تولید اسیدهای آمینه معمولاً از موتانت‌های باکتری استفاده می‌شود که سیستم خودکار تنظیم سرعت و میزان تولید اسید آمینه را ندارند. در میکروارگانیسم‌های عادی، سرعت سنتز اسیدهای آمینه به‌گونه‌ای تنظیم می‌شود که متناسب با سرعت سنتز پروتئین مورد نیاز ارگانیسم باشد. به این ترتیب، کلیه‌ی اسیدهای آمینه‌ی تولید شده به سرعت در سنتز پروتئین مصرف می‌شوند. درصورتی‌که این تعادل به هم خورد، مقدار زیادی اسید آمینه می‌تواند در یاخته یا در محیط جمع شود که قابل استخراج خواهد بود.

۱۱ـ۶ـ۷ افزودنی‌های غذایی

بسیاری از ویتامین‌ها، نوکلئوتیدها و آنزیم‌ها را که از نظر تجاری در صنایع غذایی ارزشمندند، به مقدار زیاد از کشت‌های میکروبی می‌توان به‌دست آورد. در این‌گونه موارد، استفاده از میکروارگانیسم هایی ضروری است که سیستم تنظیم ژنتیکی متابولیسمی آنها دچار اختلال شده باشد.

میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در تولید ویتامین‌هایی نظیر تیامین، ریبوفلاوین، اسید فولیک، اسید پانتوتنیک، پیرودوکسال و ویتامین B_{12} به‌کار روند. در اکثر فرایندهای تخمیر B_{12}، گلوکز به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌شود. چند نژاد تولید کننده‌ی معروف وجود دارند مثل: پروپیونی باکتریوم فریدن ریشی (*Propionibacterium freudenreichii*)، پروپیونی باکتریوم شرمانی (*Propionibacterium shermanii*). ریبوفلاوین توسط تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها (از جمله باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها) ساخته می‌شود. با وجود این فقط دو آسکومیست (*ارموتسیوم اشبی* (*Eremothecium ashbyii*) و *اشبیا گوسیپی* (*Ashbya gossypii*) که از نظر ژنتیکی پایدار است،) در تولید تجاری این ماده مهمند. مهم‌ترین تولیدکننده بتاکاروتن بلاکسلئا تریسپورا (*Blakeslea trispora*) است. پلی‌ساکاریدهای میکروبی (مانند صمغ زانتان) به‌طور وسیع در صنعت غذایی به‌عنوان غلیظ کننده و اصلاح کننده بافت استفاده می‌شوند

(کروگر و کروگر، ۱۳۷۶؛ گرین، ۲۰۰۲؛ ملک‌زاده و صعودی، ۱۳۸۵؛ مادیگان و دیگران، ۲۰۰۹؛ وایلی و دیگران، ۲۰۰۸).

۱۱ـ۶ـ۸ غذاهای فراسودمند

غذاهای فراسودمند یا عمل‌گرا[1] علاوه بر خواص تغذیه‌ای پایه، خواص سلامت بخش نیز دارند. به‌عبارت دیگر، غذاها یا محصولات غذایی که با شعارهای سلامت بخش نشانه‌گذاری شده‌اند در دسته عمل‌گراها به حساب می‌آیند. حتی غذاهای روزانه که با اضافه کردن ترکیبات منحصر به فرد، سلامت فرد را افزایش می‌دهند، نیز می‌توانند عمل‌گرا نام گیرند. البته این غذاها تعاریف دقیق و پیچیده دیگری هم دارند. به‌عنوان مثال، این غذاها را غذاهایی می‌دانند که از مواد طبیعی مشتق شده‌اند و باید به عنوان بخشی از رژیم غذایی روزانه مصرف شوند تا سبب تنظیم عملکرد یا ایجاد تغییر مثبت و منحصر به فرد در هنگام هضم غذا شوند.

- **پروبیوتیک، پره‌بیوتیک و سین‌بیوتیک‌ها:** سازمان جهانی بهداشت اصطلاح **پروبیوتیک**[2] را به «ارگانیسم‌های زنده‌ای» اطلاق می‌کند که در صورت مصرف به میزان لازم، اثرات «سلامت‌زایی» مؤثری برای میزبان خود دارند. پروبیوتیک، به‌عنوان صفت مواد غذایی حاوی این باکتری‌ها هم به‌کار می‌رود. پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های حاوی ارگانیسم‌هایی هستند که فلور میکروبی میزبان را تغییر می‌دهند. این ارگانیسم‌ها به‌طور معمول از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* (*Lactobacillus*)، *بیفیدوباکتریوم* (*Bifidobacterium*) و *استرپتوکوکوس* (*Streptococcus*) هستند. این عوامل می‌توانند در دستگاه گوارش انسان بر میکروارگانیسم‌های دیگر که به‌طور بالقوه پاتوژن هستند، غالب شوند. همچنین تصور می‌رود که فرآورده‌های متابولیک جانبی تولید می‌کنند که به‌عنوان تعدیل‌کننده‌های ایمنی عمل می‌نمایند.

در واقع پروبیوتیک‌ها به دو صورت: (۱. مکمل‌های غذایی، به شکل پودر، شربت یا قرص. و ۲. مواد غذایی غنی شده با پروبیوتیک‌ها) مصرف می‌شوند. مثلاً اگر در تولید هرگونه فرآورده لبنی تخمیری همچون ماست، از باکتری‌های پروبیوتیکی استفاده

بود به‌عنوان عامل را پروبیوتیک می‌نامند. استفاده از پروبیوتیک‌ها نه فقط در انسان، بلکه امروزه در غذای طیور صنعتی فراوان استفاده می‌شوند.

پرمیبوتیک‌ها[1] مکمل‌هایی که یک جزء غیرقابل گوارش - معمولاً به‌صورت فیبر - باکتری‌ها دارند و به صورت انتخابی، رشد یا فعالیت مطلوب باکتری‌های پروبیوتیک خاصی را تحریک می‌کنند. با وجود این‌که پرمیبوتیک‌ها غیرقابل گوارشند، فرآورده‌ها در دستگاه گوارش موجب افزایش تکثیر باکتری‌های پروبیوتیک، به‌ویژه گونه‌های لاکتوباسیلوس و باکتریوم، در کولون می‌شود.

سین‌بیوتیک‌ها[2] فرآورده‌های غذایی که پروبیوتیک‌ها و پرمیبوتیک‌ها را به‌طور توأم دارند (وایلی و دیگران، ۲۰۰۸).

خلاصه

- میکروب‌ها در مواد غذایی تغییرات مطلوب و نامطلوب پدید می‌آورند و از طرف دیگر تهیه بسیاری از فرآورده‌های غذایی بدون کمک میکروب‌ها امکان‌پذیر نیست.
- فساد عبارت است از هر تغییری در طعم، بو، بافت یا ظاهر مواد غذایی که آن را نامطبوع و پذیرفته می‌کند.
- فسادپذیری مواد غذایی در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها یکسان نیست و از این نظر می‌توان مواد غذایی را به سه گروه عمده به شرح زیر تقسیم کرد: الف) مواد غذایی زود فاسدشدنی یا حساس، ب) مواد غذایی دیرفاسد شدنی، ج) مواد غذایی فاسد نشدنی یا پایدار.
- غذاها، به‌دلیل تأمین مواد مغذی برای مناسب محیط‌های بسیار عالی برای رشد میکروارگانیسم نیز هستند. رشد میکروبی توسط عوامل ذاتی و بیرونی کنترل می‌شود.
- عوامل ذاتی مواد غذایی شامل: pH، رطوبت، محتوای آب یا آب در دسترس، قدرت [illegible] مواد غذایی و احتمال وجود

فصل ۱۲

میکروب‌شناسی صنعتی

هدف‌های کلی

آشنایی با نقش و کاربرد میکروارگانیسم‌ها در صنایع گوناگون.

هدف‌های یادگیری

۱. کشت میکروارگانیسم‌ها در مقیاس وسیع
۲. انواع فرآورده‌های میکروبی
۳. تهیه فرآورده‌های میکروبی
۴. تهیه آنزیم‌های میکروبی
۵. تهیه فرآورده‌های دارویی
۶. تولید صنعتی پروتئین‌های نوترکیب
۷. کاربرد میکروارگانیسم‌ها و فرآورده‌های میکروبی در صنایع مختلف پزشکی، دارویی، غذایی و...

مقدمه

میکروب‌شناسان، در صنایع میکروبی نقش دائمی و مهمی به‌عهده دارند. آنها میکروب‌های مورد لزوم را انتخاب می‌کنند و محیط کشت مناسب و شرایط مساعد (تهویه، به هم زدن محیط، pH، درجه حرارت) را تعیین می‌کنند. روش آزمایشگاهی به‌کار رفته توسط میکروبیولوژیست‌ها در سطح وسیع، همواره نتیجه مطلوب نمی‌دهد؛

بنابراین تنظیم مجدد روش کشت میکروبی برای متناسب کردن آن برای کاربرد تجارتی لازم است. در سراسر فرایند آماده کردن ماده‌ی غذایی، نظارت برای حفظ کیفیت فرآورده ضرورت دارد. کاربرد صنعتی میکروب‌شناسی شامل: کشت میکروب‌ها در مقیاس بزرگ و سنتز انواع مواد شیمیایی برای صنایع مختلف است.

۱۲ـ۱ کشت میکروب‌ها در مقیاس بزرگ

در صنعت، میکروب‌ها را در مقیاس بزرگ پرورش می‌دهند. مخمر نانوایی در شیرینی‌پزی و تهیه انواع نان‌ها برای ورآمدن خمیر استفاده می‌شود. کشاورزان، دانه‌های گیاهان تیره‌ی نخود را برای ایجاد گره‌های ریشه‌ای، به باکتری ریزوبیوم آغشته می‌کنند. تهیه مایه میکروبی برای تهیه‌ی کره و انواع پنیرها در صنایع شیری لازم است. به‌علاوه مخمرها و کپک‌ها به‌عنوان غذا یا برای تهیه غذا استفاده می‌شوند و باکتری‌های بیماری‌زا در مقیاس وسیع برای تهیه واکسن به‌منظور ایجاد ایمنی در انسان و حیوانات کشت داده می‌شوند. در صنعت، کشت میکروارگانیسم‌ها در دستگاه فرمانتور انجام می‌شود.

۱۲ـ۲ انواع فرآورده‌های میکروبی

فرآوردهای میکروبی حائز اهمیت از نظر صنعتی را می‌توان به سه گروه عمده: (۱. میکروارگانیسم کامل. ۲. متابولیت اولیه. ۳. متابولیت ثانویه) تقسیم کرد.

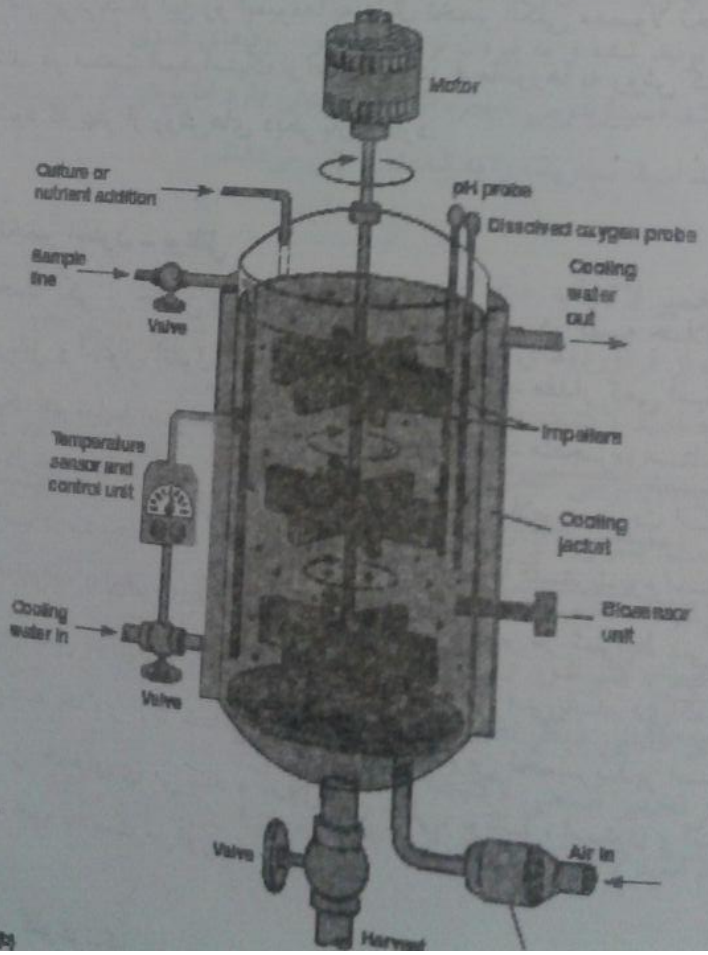
۱۲ـ۳ تهیه فرآورده‌های میکروبی

از میکروب‌ها، علاوه بر تولید فرآورده‌های شیری و سایر غذاهای تخمیر یافته، برای ساختن مواد شیمیایی گوناگون مانند: الکل اتیلیک، اسید استیک، حلال‌ها، اسیدهای آلی، آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، سموم و توکسوئیدها استفاده می‌شود. این مواد در صنایع، پزشکی و داروسازی کاربرد دارند.

۱۲ـ۳ـ۱ تولید الکل

تخمیر الکلی توسط مخمرها صورت می‌گیرد. قند، ماده اولیه‌ی این تخمیر است. فرایند

تخمیر، بی‌هوازی است. در فرایند تخمیر اتانول و دی اکسید کربن به مقدار زیاد (تا ۹۰٪) متراکم می‌شود و معمولاً مقادیر کمی از سایر فرآورده‌ها نیز تشکیل می‌شوند. مخمرهای عادی می‌توانند گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و مالتوز را تخمیر کنند؛ بنابراین آب‌میوه‌ها و ملاس و سایر شربت‌ها را می‌توان به‌وسیله‌ی مخمر تخمیر کرد. پلی‌ساکاریدهای نشاسته و سلولز را نمی‌توان مستقیماً به‌وسیله‌ی مخمرها تخمیر کرد. ابتدا باید آنها را به قندهای ساده تجزیه کرد، سپس تحت تأثیر مخمرها قرار داد. مخمرهای مورد استفاده در این تخمیرها عموماً *ساکارومیسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) است.



۱۲ـ۳ـ۲ تولید اسید استیک

مادهٔ اولیه برای تولید اسید استیک، الکل اتیلیک است و فرایند تولید آن، هوازی است. الکل معمولاً از تخمیر الکلی حاصل می‌شود. سرکه محلولی است که معمولاً محتوی ۴٪ اسید استیک و مقدار کمی الکل، گلیسیرین، استرها و قندها است. اغلب سرکه را از شراب، آب سیب تخمیر یافته یا مالت تخمیر یافته تهیه می‌کنند. گونه‌های *استوباکتر* (*Acetobacter*) به نام *استوباکتر استی* (*Acetobacter aceti*)، *استوباکتر اورینتالیس* (*Acetobacter orientalis*) و *استوباکتر وودی* (*Acetobacterium woodii*) و سایرین از الکل، اسید استیک تولید می‌کنند. این باکتری‌ها در خاک و هوا انتشار دارند و روی میوه‌ها به سر می‌برند. از این رو آبمیوه‌ها به دنبال تخمیر الکلی معمولاً تخمیر استیک پیدا می‌کنند. در صنعت اسید استیک از *استوباکتر* در فرمانتورها به روش کشت غوطه‌ور تولید می‌شود که بهتر از روش‌های دیگر بازده دارد.

۱۲ـ۳ـ۳ تخمیر استون ـ بوتانل

این نوع تخمیر یکی از چندین فرایند میکروبیولوژیک مهم در تهیه حلال‌ها است. علاوه بر بوتانل و استون، اتانول، دی‌اکسید کربن، هیدروژن، مقدار کمی اسید استیک و اسید بوتیریک هم تولید می‌شود. استن را در تهیه مواد منفجره، استات سلولز و چسب‌ها به‌کار می‌برند. در کشور آمریکا ماده خام اولیه ملاس و ذرت است. ملاس سترون یا مالت ذرت پخته شده را در فرمانتورهای تخمیر با *کلستریدیوم استوبوتیلیکوم* (*Clostridium acetobutylicum*) مخلوط می‌کنند. تخمیر در شرایط بی‌هوازی در حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد بعد از ۴۸ـ۷۲ ساعت پایان می‌یابد. دی‌اکسیدکربن و هیدروژن متصاعد شده را (که شامل ۶۰٪ هیدرات کربن تخمیرپذیر است)، برای مصارف صنعتی جمع‌آوری می‌کنند و حلال‌های خنثی، بوتانل، استون و اتانول را با تقطیر جزء به جزء به‌دست می‌آورند.

۱۲ـ۳ـ۴ اسید گلوکونیک

گونه‌های معینی از *آسپرژیلوس نیگرا* (*Aspergillus nigra*)، اسید گلوکونیک را تهیه

می‌کنند. گلوکونات کلسیم به‌عنوان دارو برای کودکان و زنان باردار مصرف می‌شود. *آسپرژیلوس نیگرا* اسید گالیک را از تانن یا اسید تانیک تهیه می‌کند که در صنایع تهیه رنگ و جوهر مصرف می‌شود.

۱۲ـ۳ـ۵ تولید اسید سیتریک

نخستین لازمه‌ی تولید اسید سیتریک، در اختیار داشتن کشتی از سلول‌های فعال آماده *آسپرژیلوس نایجر* (*Aspergillus niger*)، است. کپک *آسپرژیلوس* در دمای ۲۵ درجه تا ۳۰ درجه بهتر رشد می‌کند و فعالیت متابولیسمی شدیدتری دارد. اسید سیتریک درون هیف تولید شده و به بیرون ترشح می‌شود. یون‌های فلزی (مانند: آهن، روی و منگنز) بر رشد *آسپرژیلوس نایجر*، اثر بسیار مثبتی دارد اما برخی از این یون‌ها (به ویژه منگنز)، تولید اسید سیتریک را به شدت کاهش می‌دهند.

۱۲ـ۳ـ۶ تخمیر لاکتیک

اسیدلاکتیک از فرآورده‌های تخمیری دیگر است که در صنایع غذایی مصرف گسترده‌ای دارد. کاربرد اسید لاکتیک طبیعی در صنایع شیمیایی محدود اما در عین حال مهم است و کمتر قابل جایگزینی است. تهیه نخ جراحی مصنوعی و قابل جذب، نمونه‌ای از این کاربردها است. بسیاری از باکتری‌های لاکتیک در محیط طبیعی و خارج از فرمانتور استفاده می‌شوند. تخمیر لاکتیک در تولید فرآورده‌هایی مثل ماست، انواع پنیر، دوغ مشک، کومیس، کلم شور و خیارشور نقش اصلی را برعهده دارد و در تعداد زیادی از فرآورده‌های غذایی دیگر نظیر تهیه خمیر ترش مؤثر است. *لاکتوباسیلوس‌ها* بیش از سایرین در تخمیر صنعتی لاکتیک به‌کار گرفته می‌شوند. بیشترین روشی که در صنعت برای تولید اسید لاکتیک از باکتری‌ها به کار می‌رود، روش کشت بسته است.

۱۲ـ۳ـ۷ تولید اسید پروپیونیک

باکتری‌های پروپیونی باکتریوم فریدن ریشی (*Propionibacterium freudenreichii*)، پروپیونی باکتریوم شرمانی (*Propionibacterium shermanii*) در تولید اسید

پروپیونیک استفاده می‌شود. پیش ماده‌ی تخمیر اسید پروپیونیک، قندهای ساده نظیر گلوکز و یا اسیدهای آلی به‌ویژه اسیدلاکتیک است. ویتامین B_{12} یکی از فرآورده‌های فرعی محیط کشت تولید اسید پروپیونیک است (کروگر و کروگر، ۱۳۷۶؛ گرین، ۲۰۰۲؛ ملک زاده و صعودی، ۱۳۸۵؛ مادیگان و دیگران، ۲۰۰۹؛ مهرابیان، ۱۳۸۹؛ وایلی و دیگران، ۲۰۰۸).

جدول ۱۲ـ۱. مثال‌هایی از تولیدات صنعتی و ترکیبات آلی تولید شده به‌وسیله‌ی پروکاریوت‌ها.

Prokaryote source	Chemical	Mojor application
Acetobacter	Acetic acid	Solvent,starting compound for many synthetic reactions
Clostridium	Isopropanol	Solvent, antifreeze
Clostridium	Acetone	Solvent, starting compound for many synthetic reactions
Bacillus	Acrylic acid	Precursor for acrylonitrile and other polymers
Bacillus	Propylene glycol	Slovent, antifreeze, antifungal compound

۱۲ـ۴ آنزیم‌ها

چند نوع آنزیم میکروبی (مثل: آمیلاز، انورتاز، پروتئیناز و پکتیناز) برای مصارف صنعتی تولید می‌شود. به‌طور کلی میکروب را در شرایط مناسب، برای تهیه‌ی آنزیم، پرورش می‌دهند، آن‌گاه میکروب را برای تهیه‌ی آنزیم عصاره‌گیری می‌کنند و به روش رسوب دادن آنزیم را خالص می‌کنند. به‌عنوان مثال آمیلاز را با فرایند خاصی از گونه‌های *آسپرژیلوس* و گونه‌های *باسیلوس* به‌دست می‌آورند. آمیلاز را برای هیدرولیز نشاسته به دکسترین یا قند یا هر دو در تهیه چسب‌ها، در صنایع نساجی، شفاف کردن آب میوه‌ها و قندی کردن محلول نشاسته برای تخمیر به‌کار می‌برند.

انورتاز مخمر *ساکارومیسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) را برای هیدرولیز ساکاروز به گلوکز و فروکتوز در تهیه شربت‌های بدون تبلور به‌کار می‌برند.

پروتئیناز *آسپرژیلوس* و *باسیلوس*، پروتئین‌ها را هیدرولیز می‌کند و در نرم کردن گوشت، صنایع چرم‌سازی و شفاف کردن شربت‌ها به‌کار برده می‌شوند. به‌عنوان مثال پروتئازی که از *باسیلوس‌ها* به‌دست می‌آید و در pH خنثی فعال است، بیشترین قابلیت

را دارد.

دو آنزیم استرپتوکیناز و استرپتودورناز را در مقادیر تجارتی تولید می‌کنند. استرپتوکوکوس پیوژنز (*Streptococcus pyogenes*) به‌طور طبیعی این دو آنزیم را تولید می‌کند. این آنزیم‌ها در تجزیه بقایای سلولی و زاید در زخم عمل می‌کنند و به ترمیم زخم‌ها کمک می‌کنند.

پکتینازها از گونه‌های مختلف *آسپرژیلوس* به‌دست می‌آید و برای شفاف کردن آب‌میوه‌ها و جداکردن الیاف و تجزیه‌ی پکتین بین الیاف کمک می‌کند. کپک‌ها به روش هوازی در این فرایند شرکت می‌کنند. علاوه بر موارد فوق، باکتری‌ها و کپک‌ها در تهیه‌ی موادی نظیر دکسترین و هورمون‌هایی مانند ژیبرلین‌ها و استروئیدها نقش مهمی به‌عهده دارند. بسیاری از ترکیبات تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها، مصارف دارویی دارند و یا در صنایع دارویی کاربرد دارند. در اینجا تنها به سه فرآورده میکروبی یعنی آنتی‌بیوتیک‌ها، هورمون‌ها و واکسن‌ها اشاره می‌شود که وسیع‌ترین کاربرد را دارند.

جدول ۱۲ـ۲. کاربرد آنزیم‌ها در تولید و فرآوری مواد غذایی.

آنزیم	استفاده	محصول	منبع آنزیم
آلفا آمیلاز	پردازش نشاسته	دکسترین	باسیلوس ساتیلیس
بتا آمیلاز	آبجوسازی	مالتوز	باسیلوس ساتیلیس
گلوکوآمیلاز	پردازش نشاسته و آبجوسازی	گلوکز	آسپرژیلوس نیجر
گلوکزایزومراز	تولید فروکتوز	فروکتوز	استرپتومیسس
انورتاز	فرایند شیرینی‌سازی	گلوکز + فروکتوز	ساکارومایسس سرویزیه
پلولاناز	پردازش نشاسته	نشاسته بدون شاخه	کلبسیلا
پکتیناز	شفاف کردن آبمیوه	گالاکتورانت	آسپرژیلوس اوریزه
کیموزین	لخته کردن شیر	دلمه شدن پنیر	کلاوروماپسس
رنین	لخته کردن شیر	دلمه شدن پنیر	موکور میخی
بتاگلوکوناز	آبجوسازی	بتا گلوکز	آسپرژیلوس نیجر
لیپاز	ساختن پنیر	ترکیبات طعم‌دهنده	ریزوپوس اوریزه
لاکتاز		گلوکز + گالاکتوز	آسپرژیلوس نیجر

۱۲ـ۵ فرآورده‌های دارویی

۱۲ـ۵ـ۱ آنتی‌بیوتیک‌ها

سالانه بیش از یکصدهزار تن آنتی‌بیوتیک در جهان تولید می‌شود که عمدتاً شامل: پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و تتراسیکلین‌ها می‌شود. این داروها فرآورده‌های متابولیسمی جانبی یا مشتقات آنها هستند که در مرحله‌ی سکون منحنی رشد برخی از باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها و قارچ‌ها، تولید می‌شوند. در قارچ‌ها، فقط آنتی‌بیوتیک‌های تولید شده توسط *آسپرژیلاسه* و *مونیلیاس*، از نظر قابلیت استفاده، اهمیت دارند.

در باکتری‌ها، گروه‌های زیادی وجود دارند، که آنتی بیوتیک‌ها را تولید می‌کنند. بیشترین تنوع در ساختمان و شمار آنتی‌بیوتیک در استرپتومیست‌ها، به‌ویژه در جنس *استرپتومیسس* یافت می‌شود. گروه مهم دیگر از این ترکیبات، آنتی بیوتیک‌های پپتیدی هستند، که به‌وسیله جنس *باسیلوس* تولید می‌شوند (جدول ۱۲ـ۲).

میکروارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی آنتی‌بیوتیک را اغلب به مدت چندروز در فرمانتورهای عظیم کشت (که گاه تا ۱۰۰۰۰۰ لیتر گنجایش دارند) به‌صورت هوازی پرورش می‌دهند. در چنین شرایطی تولید پنی‌سیلین در حدود ۸ روز طول می‌کشد. تبدیل پنی‌سیلین G به مشتقات نیمه‌مصنوعی آن معمولاً به یک فرایند ثانویه میکروبی نیاز دارد. در این فرایند، پنی‌سیلین G باید به ۶- آمینوپنیسیلینک اسید (6APA) تبدیل شود. برای این منظور از باکتری مولد آنزیم ویژه‌ای استفاده می‌شود که این هیدرولیز را برعهده دارد. پنی‌سیلین G را برای مدتی با این باکتری در شرایط مناسب کشت قرار می‌دهند. فرآورده به‌دست آمده (۶- آمینوپنیسیلینک اسید) مولکول اصلی لازم برای تولید انواع مشتقات پنی‌سیلین است.

برای استخراج آنتی‌بیوتیک از محیط کشت، باید از روش‌های بسیار دقیق استفاده کرد تا آنتی‌بیوتیک خالص به‌دست آید. برای این منظور معمولاً آنتی بیوتیک را در یک حلال آلی غیرمحلول در آب حل می‌کنند. درصورتی‌که آنتی‌بیوتیک تولیدی در چنین حلالی، حل نشود، می‌توان به روش جذب یا رسوب‌دهی شیمیایی، آن را از محیط جدا کرد. در همه‌ی موارد، هدف، به‌دست آوردن فرآورده به‌صورت متبلور با درجه خلوص زیاد است. یکی از مشکلات اساسی این است که برخی از کشت‌ها بیش از یک نوع آنتی بیوتیک تولید می‌کنند که تنها یکی از انواع آنها را باید به‌صورت خالص تهیه کرد.

جدول ۱۲ـ۳. برخی از آنتی بیوتیک‌های مهم با منشا میکروبی و تولید وسیع صنعتی.

نام آنتی بیوتیک	نام میکروارگانیسم
باسیتراسین	*باسیلوس سوبتیلیس*
کلرامفنیکل	*استرپتومیسس وِنزوئلا*
سیکلوهگزایمید	*استرپتومیسس گریزئوس*
سیکلوسرین	*استرپتومیسس اورکیداسئوس*
اریترومایسین	*استرپتومیسس اریترئوس*
گریزئوفولین	*پنیسیلیوم گریزئوفولین*
کانامایسین	*استرپتومیسس کانامیسه‌تیکوس*
لینکومایسین	*استرپتومیسس لینکولنیس*
نئومایسین	*استرپتومیسس فرادیا*
نیستاتین	*استرپتومیسس نورسئی*
پنی‌سیلین	*پنیسیلیوم کریزوژنوم*
پلی‌میکسین B	*باسیلوس پلی‌میکسا*
استرپتومایسین	*استرپتومیسس گریزئوس*
اورومایسین (کلروتتراسیکلین)	*استرپتومیسس اورئوفاسینس*
ترامایسین	*استرپتومیسس ریموسوس*

۱۲ـ۵ـ۲ هورمون‌ها

استروئیدها گروهی از هورمون های مهم انسانی هستند که در تنظیم فرایندهای متابولیسمی دخالت دارند. گاه این ترکیبات را به‌صورت دارو نیز مصرف می‌کنند. استروئیدهای (آدرنال کورتیکال) در کاهش تورم مؤثرند؛ بنابراین برای کنترل آرتروز و آلرژی و سایر التهابات حاد مصرف می‌شوند. استروئیدها را به طریق سنتز شیمیایی تولید می‌کنند و فرایند تولید آنها بسیار پیچیده و گران است. برخی از مراحل کلیدی ویژه در این فرایند شیمیایی را می‌توان با استفاده از میکروارگانیسم‌ها انجام داد. به‌عنوان مثال استفاده از میکروب‌ها در ساخت کورتیزون، تعداد واکنش‌های شیمیایی ضروری برای تولید آن را از ۳۷ واکنش به ۱۱ واکنش کاهش داده است. در سال ۱۹۸۰، به کمک میکروب‌ها توانستند هزینه تولید کورتیزون را ۴۰۰ برابر کاهش دهند و در نتیجه بهای این فرآورده در بازار بسیار پایین آمد. سایر استروئیدها که در اثر تبدیل مواد به‌وسیله میکروب‌ها

تولید می‌شوند، شامل: هیدروکوتیزون و پردنیزون می‌شوند. تعداد زیادی از باکتری‌ها و قارچ‌ها کشف شده‌اند که می‌توانند در تولید استروئیدها دخالت داشته باشند. ارگانیسم‌هایی که به‌منظور تولید تجارتی این مواد استفاده می‌شوند، شامل موارد زیر می‌شوند: قارچ‌های *ریزوپوس نیگریکانس* (*Rhizopus nigricans*)، *کوروولاریا لوناتا* (*Curvularia lunata*)، باکتری‌های *استرپتومیسس روزئوکرومؤژنز* (*Streptomyces roseochromogenus*) و *کورینه باکتریوم سیمپلکس* (*Corynebacterium simplex*).

۱۲ـ۵ـ۳ واکسن‌ها

عامل ایمنی‌زایی که آن را واکسن می‌نامند عبارتست از: سوسپانسیون غلیظ میکروبی ضعیف شده یا کشته شده. در این کار سویه‌هایی از میکروب‌ها انتخاب می‌شوند. که قدرت ایمنی‌زایی بیشتری داشته باشند. واکسن‌ها را تحت شرایط کنترل شده تهیه می‌کنند. واکسن‌های باکتریایی را از کشت میکروب‌ها در آگار یا آبگوشت غذایی به‌دست می‌آورند. سلول‌های سطح آگار غذایی را با محلول سرم فیزیولوژیک (۸۵٪ کلرور سدیم) شستشو داده و سلول‌های باکتری‌ها را با سانتریفوژ به‌دست می‌آورند. این باکتری‌ها را سرانجام در سرم فیزیولوژیک در تراکم استاندارد وارد می‌سازند.

ریکتسیاها و ویروس‌ها را در بافت‌های زنده، بدن حیوانات، جنین جوجه یا کشت بافت پرورش می‌دهند. واکسن‌های تهیه شده با این روش دارای مواد بافتی است که گاهی ممکن است موجب پیدایش واکنش حساسیت در افراد گردد.

بسیاری از واکسن‌ها را با حرارت (۵۵ـ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ـ۶۰ دقیقه)، پرتو فرابنفش، فرمالدئید، فنل و غیره کشته یا غیرفعال می‌سازند. برخی دیگر از واکسن‌ها دارای میکروب‌های ضعیف نشده‌ای هستند که قادر به ایجاد بیماری نمی‌باشد. بعضی از ویروس‌ها را می‌توان با کشت در بدن میزبان غیرطبیعی ضعیف کرد مثلاً ویروس تب زرد در بدن موش، بیماری‌زایی خود را نسبت به انسان از دست می‌دهد. فرآورده‌ی نهایی را از نظر محتوا و ماده‌ی ایمنی و قدرت ایمنی‌زایی و خالص بودن مورد سنجش قرار می‌دهند. در مورد واکسن کشته شده استریل بودن آن نیز باید مورد تأیید قرار گیرد و گاهی مواد شیمیایی نگهدارنده را برای متوقف کردن رشد میکروب‌های آلوده‌کننده، به واکسن‌ها اضافه می‌کنند.

@pdf_jozveh

۱۲ـ۶ تولید صنعتی پروتئین‌های نوترکیب

به نظر می‌رسد که توسعه‌ی فرایندهای بیوتکنولوژی یک پیشرفت قابل ملاحظه برای زیست‌شناسان باشد. اما نظریات مختلف و قوانین حاکم بر تولیدات غذایی، از گسترش تکنولوژی ژن جلوگیری می‌کند. با این وجود فرآورده‌های مختلفی که از راه تکنولوژی DNA نوترکیب، کلون، دستکاری ژن‌ها تولید شدند، پس از گذراندن مراحل مختلف، مجوز تولید گرفته‌اند. امروزه واکسن هپاتیت B از طریق مهندسی ژنتیک ساخته می‌شود و در مقیاس وسیع در دسترس قرار می‌گیرد (جدول ۱۲ـ۳). حتی امروزه آنزیم‌های مورد استفاده در تحقیقات هم از راه کلون کردن و سپس بیان آنها در *E.coli* تولید می‌شوند. مثلاً آنزیم Taq polymerase مورد استفاده در تکنیک PCR از باکتری *ترموفیلوس آکوآتیکوس* (*Thermophilus aquaticus*) تولید می‌شود. بسیاری از فرآورده‌های دیگر مورد استفاده‌ی محققین از راه کلون کردن و سپس بیان آنها تولید می‌شوند (کروگر و کروگر، ۱۳۷۶؛ گرین، ۲۰۰۲؛ ملک‌زاده و صعودی، ۱۳۸۵؛ مادیگان و دیگران، ۲۰۰۹؛ وایلی و دیگران، ۲۰۰۸).

جدول ۱۲ـ۱۴. بعضی از پروتئین‌های انسانی که در *E.coli* کلون شده‌اند و استفاده درمانی از آنها.

Protein	Function	Therapeutic use
Urokinase	Plasminogen activator	Anticoagulant
Serum albomin	Major blood protein	Synthetic plasma constituent
Factor VIII, factor X	Blood - clotting	Prevention of bleeding in homophiliacs
Interferonse	Can cause cells to become Resistant to some viruses.	Antiviral therapy
Growth hormone releasing Factor (HGH)	Permits the action of growth Hormone in the body.	Grawth promotion, recovery from Physical stress
Erythropoietin (EPO)	Stimulates production of red blood cells.	Replacement of cells after chemotherapy; treatment of anemia

خلاصه

- میکروب‌شناسان نقش دائمی و مهمی در صنایع میکروبی به‌عهده دارند. آنها میکروب‌های مورد لزوم را انتخاب و محیط کشت مناسب و شرایط مساعد را تعیین می‌کنند.