فصل اول

«تاریخچه میکروبیولوژی، ساختمان سلولی و رده‌بندی باکتری‌ها»

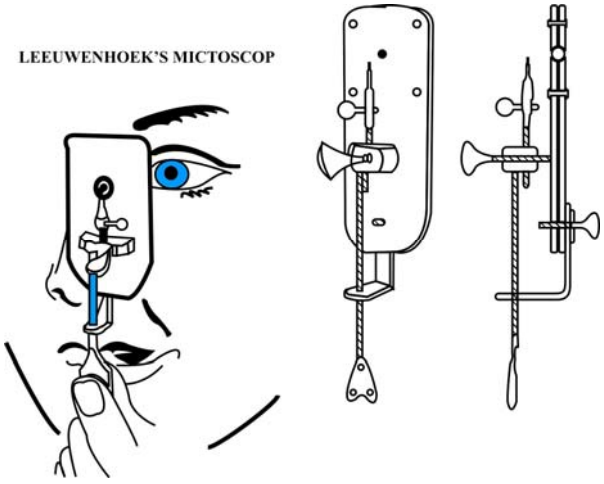
درسنامه (۱): تاریخچه میکروبیولوژی

واژه میکروب‌شناسی (میکروبیولوژی) یا مطالعهٔ موجودات ریز میکروسکوپی، اولین بار توسط لوئی پاستور (Louis Pasteur) به کار برده شده است. پاستور ضمن مطالعات خود ثابت کرد که تخمیر توسط باکتری‌ها و مخمرها انجام می‌شود. اصطلاح میکروب نیز اولین بار توسط سدیو (Sedillot) در سال ۱۸۷۸ به کاربرده شد که اکنون کلمهٔ میکروارگانیسم به جای آن به کار می‌رود.

میکروارگانیسم‌ها، موجودات ریز میکروسکوپی هستند که طول آن‌ها کمتر از یک میلیمتر است و با چشم دیده نمی‌شوند. اکثر آن‌ها تک سلولی (unicellular)، برخی به شکل مجموعه‌ای از سلول‌ها (Loose aggregates)، برخی به شکل رشته‌هایی دراز (long filaments) شامل واحدهای مجزا و تعدادی به صورت پروتوپلاست‌های درون دیواره سلولی (coenocytic) (پروتوپلاست چند هسته‌ای، قارچ‌ها و جلبک‌ها) دیده می‌شوند.

میکروارگانیسم‌ها با وجود تشکیلات و ساختمان سلولی تقریباً ساده دارای همان فعالیت‌های اساسی فیزیولوژیکی مانند مصرف غذا، تولید ماکرومولکول‌های جدید و مصرف انرژی هستند که در موجودات عالی با ساختمان چند سلولی دیده می‌شود. به طور کلی میکروارگانیسم‌ها از نظر بیولوژی مانند سایر موجودات زنده هستند. میکروارگانیسم‌ها شامل پروتوزوآها (Protozoa)، جلبک‌ها (Algae)، قارچ‌ها (Fungi)، باکتری‌ها (Bacteria) و ویروس‌ها (Viruses) می‌باشند.

اولین بار، میکروب‌ها را تاجری هلندی به نام آنتونی ون لیونهوک (Antony Van Leeuwenhoek) مشاهده کرد. او با میکروسکوپ‌های ساده‌ای که ساخته بود، دانه‌های گیاهی، مو، آب، شیر، خون، بزاق و چرک لثه و دندان را بررسی نمود و توانست قسمت‌های مختلف گیاهان، گلبول‌های قرمز و انواع باکتری‌ها را ببیند و شکل آن‌ها را ترسیم کند که هنوز هم این ترسیم‌های لیونهوک موجود می‌باشند.



«نمایی از میکروسکوپ لیونهوک»

بعد از ساخت و پیشرفت میکروسکوپ‌های ساخته شده، دانشمندان مختلف از جمله پاستور به بررسی موجودات میکروسکوپی پرداختند. کارهای مهم پاستور را می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد:

۱) حل مسئله تخمیر
۲) رد فرضیهٔ پیدایش خود به خودی موجودات زنده
۳) رد نظریه پلئومورفیسم (چند شکلی) و پیدایش نظریه مونومورفیسم (یک شکلی)
۴) حل مسائل تکنیکی و استریلیزاسیون (سترون‌سازی)
۵) رابطه میکروب‌ها با بیماری‌های مسری
۶) حدس در مورد وجود ویروس‌ها
۷) اساس واکسیناسیون

مدرسان شریف

فصل دوم

«فیزیولوژی رشد و بقای میکروارگانیسم‌ها»

درسنامه (۱): رشد میکروارگانیسم‌ها و شرایط آن

جمعیت میکروارگانیسم‌ها در بیوسفر به علت تعادل رویدادهای رشد و مرگ آنها نسبتاً ثابت بوده و یک میکروارگانیسم در طول دوره‌ی زندگی خود می‌بایست برای کسب مواد غذایی و فضای مناسب، با دیگر میکروارگانیسم‌ها رقابت کند. حداقل اجتماعات میکروبی ایجاد شده بر روی منابع غذایی، کلنی‌ها هستند که از تقسیمات متوالی یک سلول میکروبی ایجاد شده‌اند و در محیط‌های طبیعی اغلب به صورت به هم چسبیده یافت می‌شوند. اساس اطلاعات ما در مورد فیزیولوژی رشد، بقا و مرگ میکروارگانیسم‌ها، از بررسی سویه‌های جدا شده و خالص شده‌ای به دست آمده است که بدون هیچ‌گونه شرایط استرسی در آزمایشگاه و با فراهم بودن منابع کربن و انرژی رشد می‌کنند که این شرایط با آنچه در حیات طبیعی این میکروارگانیسم‌ها در محیط به وقوع می‌پیوندد، بسیار متفاوت است. رشد، افزایش متناسب تمام اجزای تشکیل‌دهنده‌ی یک ارگانیسم بوده و بنابراین علاوه بر افزایش حجم یک سلول، افزایش تعداد آن را نیز شامل می‌شود، بنابراین بزرگ شدن یک سلول به دلیل جذب آب، رشد محسوب نمی‌شود.

نکته۱: برای محاسبه‌ی کمی میزان رشد، گاهی افزایش میزان غلظت سلولی و یا به عبارتی تعداد سلول‌های زنده در واحد حجم را تعیین می‌کنند و گاهی نیز از بررسی میزان افزایش بیوماس یا وزن خشک سلول‌ها در واحد حجم استفاده می‌کنند.
البته این دو متغیر اگرچه در تعیین کمی میزان رشد اثر مشابهی دارند، اما در مجموع برای بررسی مکانیسم‌های ژنتیکی و نیز تأثیر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی روی حیات میکروارگانیسم‌ها، غلظت سلولی مناسب‌تر بوده و برای بررسی روند جذب و متابولیسم میکروبی، تراکم توده‌ی زیستی، مفیدتر می‌باشد.

نکته۲: اغلب برای محاسبه‌ی غلظت سلولی از میزان کدورت محیط کشت (بر اساس استانداردهای یازده‌گانه‌ی مک‌فارلند) استفاده می‌شود و تراکم توده زیستی را نیز با اندازه‌گیری وزن خشک یک محیط کشت میکروبی به دست می‌آورند.

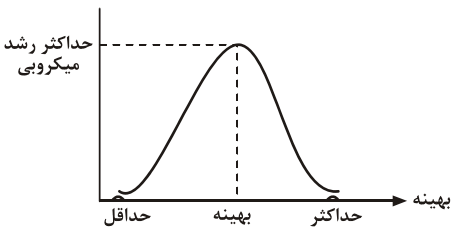
امروزه یک منحنی استاندارد برای ارتباط وزن خشک با میزان کدورت محیط به دست آمده که می‌توان با کمک کدورت علاوه بر غلظت سلولی، تراکم توده‌های زیستی را نیز تعیین کرد.

مثال۱: جهت بررسی اثر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی روی حیات میکروارگانیسم‌ها، کدام روش مناسب‌تر است؟

۱) اندازه‌گیری وزن خشک یک محیط کشت میکروبی
۲) تعداد سلول‌های زنده در واحد حجم
۳) افزایش بیوماس در واحد حجم
۴) تراکم توده‌ی زیستی

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» اندازه‌گیری وزن خشک محیط کشت میکروبی و افزایش بیوماس در واحد حجم، هر دو به مفهوم تعیین تراکم توده زیستی‌اند که معمولاً برای بررسی روند جذب و متابولیسم میکروبی مناسب‌اند. برای بررسی مکانیسم‌های ژنتیکی و نیز تأثیر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی روی حیات میکروارگانیسم‌ها، غلظت سلولی و به عبارتی تعیین تعداد سلول‌های زنده در واحد حجم به کمک میزان کدورت محیط کشت به کار می‌رود.

◆ ◆ ◆ ◆



رشد میکروارگانیسم‌ها در شرایط محیطی خاصی روی می‌دهد، به‌طوری‌که فاکتورهایی چون دما، pH، آب فعال و رطوبت در کنار نحوه‌ی تأمین منابع انرژی و کربن روی این روند اثرگذارند. در مقادیر متفاوت هریک از این فاکتورها، رشد میکروارگانیسم‌ها از یک حد کمینه آغاز و به یک حد بیشینه ختم می‌شود و در میزان مطلوبی از این فاکتورها، میکروارگانیسم رشد بهینه‌ی خود را خواهد داشت. بنابراین منحنی رشد میکروبی بر اساس میزان هریک از این فاکتورها به صورت مقابل خواهد بود که در آن حیات میکروبی در بالاتر از حد Max و پایین‌تر از میزان Min به فرم سلول رویشی وجود ندارد.

در ادامه به طور خلاصه به برخی از عوامل مؤثر در رشد میکروارگانیسم‌ها اشاره می‌شود که البته توضیح مفصل هریک در فصل میکروب‌شناسی محیطی گنجانده شده است.

فصل سوم

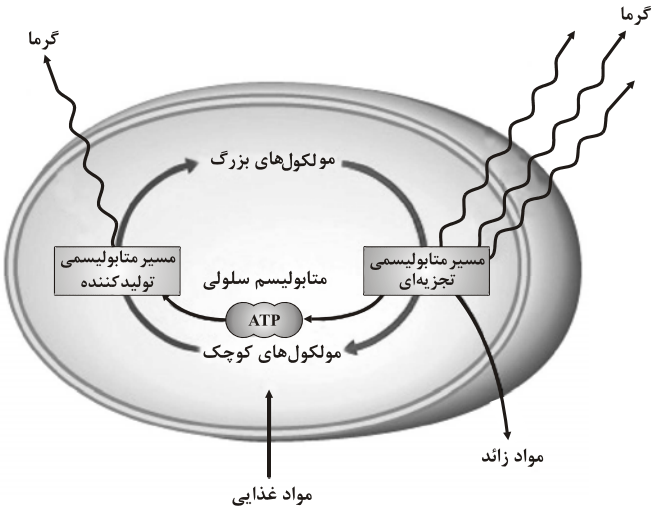
«متابولیسم یا سوخت‌وساز در میکروارگانیسم‌ها»

درسنامه (۱): کاتابولیسم و آنابولیسم

یکی از ویژگی‌های مهم یک سلول زنده، توانایی متابولیسم یا سوخت‌وساز آن سلول است که عمدتاً توسط واکنش‌های کاتالیزشده در حضور آنزیم‌ها می‌باشد و در دنیای میکرو ارگانیسم‌ها در دو مسیر کلی اولیه و ثانویه صورت می‌گیرد. مسیرهای اولیه‌ی متابولیسم که در میکروارگانیسم‌های مختلف، عمدتاً مشترک می‌باشد، هر دو نوع فرآیند سوخت‌وساز تولیدکننده‌ی انرژی (کاتابولیسم یا زیست‌سوزی) و مصرف‌کننده‌ی انرژی (آنابولیسم یا زیست‌سازی) را شامل می‌شود.

نکته۱: کاتابولیسم بُعد تجزیه و مصرف مواد غذایی و تولید زیرواحدهای مورد نیاز جهت آنابولیسم همراه با تولید انرژی را شامل شده و آنابولیسم به بیوسنتز ترکیبات آلی در سلول اشاره می‌کند که این روند با مصرف انرژی همراه است.

بنابراین این دو فرآیند اگرچه در ظاهر امر، مستقل از یکدیگر به‌نظر می‌رسند، اما در واقع بسیار به یکدیگر وابسته‌اند. الکل‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، آنزیم‌ها و زیست‌توده‌ی میکروبی از مهمترین متابولیت‌ها یا محصولات متابولیسم اولیه در میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که در بخش میکروب‌شناسی صنعتی این کتاب مورد بررسی قرار گرفته‌اند.



«مدل ساده ای از متابولیسم سلولی»

مسیرهای متابولیکی که در فاز رشد نهایی میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرند، اغلب منجر به تولید ترکیباتی در گروهی از میکروارگانیسم‌ها می‌شوند که تحت عنوان **متابولیت‌های ثانویه** نیز نامیده می‌شوند. توکسین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و برخی پیگمان‌ها از مهمترین این محصولات محسوب می‌شوند.

سلول‌های رویشی در میکروارگانیسم‌های مختلف به منظور رشد، حرکت، تقسیم سلولی (تولید مثل)، پاسخ به محرک‌های محیطی و به‌طور کلی بقای خود، نیازمند تأمین منابع انرژی و مواد خام معدنی و آلی می‌باشند که بتوانند از آنها به‌عنوان زیرساخت‌هایی جهت تولید ترکیبات ساختمانی و اجزاء درون سیتوپلاسمی بهره ببرند. اگرچه تمامی سلول‌های زنده، واجد نیازمندی‌های غذایی پایه اعم از منابع کربن، نیتروژن، انرژی و برخی عناصر پرمصرف و کم‌مصرف دیگر می‌باشند، اما سلول‌های مختلف نیازمندی‌های ویژه‌ای نیز دارند، مثلاً *E.coli* می‌تواند کلیه‌ی نیازمندی‌های خود را در یک محیط کشت حداقل (minimal media) تأمین کرده، حال آنکه باکتری دیگری مانند *تروپونما پالیدوم* حتی روی محیط‌های پیچیده‌ای مانند محیط کشت غنی‌شده (Enriched culture) قادر به رشد نمی‌باشد.

فصل چهارم

«ضدعفونی، استریلیزاسیون و عوامل ضد میکروبی»

درسنامه (۱): ضدعفونی و انواع آن

استریلیزاسیون عملی است که اشیاء بر اثر آن فاقد هر نوع موجود زنده می‌شوند. قبل از توضیح استریلیزاسیون توسط عوامل کشنده، ضروری است مختصری راجع به مرگ میکروارگانیسم‌ها بحث شود. مرگ در میکروارگانیسم‌ها عبارت است از آسیب جبران‌ناپذیری که به رشد و تکثیر سلول‌ها وارد می‌شود، یا حالتی که در آن میکروارگانیسم قادر به تکثیر نیست و در نتیجه، توانایی تشکیل کلنی را از دست می‌دهد. تست تجربی برای ارزیابی مرگ سلول‌ها، کشت آن‌ها در محیط جامد است. اثر بسیاری از عوامل که به سلول آسیب می‌رسانند و موجب مرگ آن می‌شوند ممکن است در شرایط خاصی بکلی از بین برود، برای مثال ادامهٔ حیات میکروارگانیسم‌ها با برطرف شدن اثر اشعهٔ فرابنفش و حرارت، امری بدیهی است.

از نظر کمّی، مرگ و نابودی میکروارگانیسم‌ها را از روی مجموعهٔ آن‌ها، نه از تک‌تک سلول‌ها، تعیین می‌کنند. میزان کاهش نسبی سلول‌ها را با تعیین تعداد سلول‌های زنده می‌توان مشخص کرد. تعداد میکروارگانیسم‌های زنده به طور تصاعدی نسبت به زمان کاهش می‌یابد. اگر لگاریتم تعداد باقیمانده نسبت به زمان در نظر گرفته شود، خطی به دست می‌آید که شیب منفی آن درجهٔ مرگ را مشخص می‌کند. بنابراین، برای استفاده از روش‌های استریلیزه، دو عامل (زمان مرگ و تعداد باکتری‌های اولیه) را باید در نظر گرفت.

میکروارگانیسم‌ها از نظر مقاومت در برابر عوامل نابودکننده متفاوتند و این تفاوت از نوعی به نوع دیگر محسوس و تابع مقدار آب موجود در سلول، pH محیط، سن سلول، وجود اسپور و غیره است. علاوه بر این، از بین رفتن میکروارگانیسم‌ها به شرایط محیطی نیز بستگی دارد.

روش‌های استریلیزاسیون با ترکیب ساختمانی جسم قابل استریل ارتباط دارد. استریل کردن به دو طریق انجام می‌گیرد:

الف) استریل به طریقه فیزیکی

ب) استریل به طریقه شیمیایی

استریل به طریقه فیزیکی به کمک حرارت، فیلتر کردن، استفاده از تشعشعات، امواج صوت و غیره امکان‌پذیر است. فیلتراسیون عموماً برای استریلیزاسیون مایعات حساس به حرارت استفاده می‌شود. استریل به روش شیمیایی توسط مواد ضدعفونی‌کننده انجام می‌گیرد.

در عمل، استریلیزاسیون به روندی گفته می‌شود که تمام میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه را از بین می‌برد. در هر حال، شرایطی که استریل کردن را در نمونه تضمین کند، چندان آسان نیست. پس از ۶۰ دقیقه، تعداد ارگانیسم‌های زنده موجود در نمونه برابر یک در هر میلی‌لیتر یعنی برابر با یک باکتری خواهد بود. این تعداد پس از ۷۰ دقیقه برابر $۱۰^{-۱}$ و پس از ۸۰ دقیقه برابر $۱۰^{-۲}$ باکتری زنده در هر میلی‌لیتر خواهد بود. $۱۰^{-۲}$ باکتری زنده در هر میلی‌لیتر پس از ۸۰ دقیقه بدان معنی است که در حجمی برابر با ۱۰۰ میلی‌لیتر، امکان وجود یک باکتری زنده وجود دارد. پس این سؤال مطرح می‌شود که چه مدت وقت لازم است تا محیط کشت استریل گردد؟ جوابی که می‌توان به این سؤال داد، عددی است که وجود یک باکتری را در یک میلی‌لیتر در منحنی نشان می‌دهد. برای مثال، بعد از دو ساعت احتمال وجود یک باکتری برابر با ۱×۱۰^{-۶} خواهد بود که احتمال وجود آن بی‌نهایت کم است و اصولاً زمان کافی برای استریل شدن را نشان می‌دهد، اما اگر نمونه اولیه در یک حجم ۱۰۰۰ لیتری باشد، هنوز احتمال وجود یک باکتری زنده وجود دارد، بنابراین، نمونه مورد نظر استریل نمی‌باشد.

شایان یادآوری است که اینگونه محاسبات از روی منحنی‌هایی حاصل شده که شیب آن، ثابت فرض شده است. متأسفانه، در اکثر موارد، پس از مدتی از شیب منحنی کاسته می‌شود، زیرا باکتری‌های موجود در نمونه، هم‌تیپ نبوده و حساسیت آن‌ها به عوامل غیرفعال‌کننده یکسان نمی‌باشد. به همین علت، تعمیم دادن این اطلاعات نادرست بوده و گاهی موجب اشتباهاتی می‌شود که برای مثال، در هنگام تولید واکسن فلج اطفال (در اوایل دوره تولید واکسن) مشاهده گردید.

فصل پنجم

«ژنتیک میکروارگانیسم»

درسنامه (۱): ژنوم یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها

دنیای میکروارگانیسم‌ها در برگیرنده ساختمان‌های سلولی یوکاریوت، پروکاریوت‌ها و ویروس‌ها بوده و لذا برای بررسی ژنتیک میکروبی می‌بایست در ابتدا نوع ژنوم هریک از این ساختارها را شناخت. به مجموع اطلاعات ژنتیکی موجود در یک سلول، ژنوم گفته می‌شود که اندازه‌ی آن در موجودات مختلف متغیر بوده، اما در هر گونه از موجودات، اندازه ژنوم یکسان است. جنس اطلاعات ژنتیکی به جز در برخی ویروس‌ها که ممکن است از نوع RNA باشد، عموماً از جنس DNA بوده که عمدتاً به صورت دورشته‌ای است و رشته‌ها که خود از توالی نوکلئوتیدهای مختلف به وجود آمده‌اند، از طریق پیوندهای هیدروژنی میان بازهای مکمل با یکدیگر جفت می‌شوند.

ژنوم یوکاریوت‌ها

محتوای ژنومی یوکاریوت‌ها به صورت قطعات مختلف DNA است که هنگام تقسیم سلولی به صورت دو تا چند کروموزوم خطی قابل مشاهده بوده که توسط غشای هسته محصور شده‌اند. سلول‌های ۲n یا دیپلوئید دو نسخه از هر ژن را دارا می‌باشند، حال آنکه سلول های n یا هاپلوئید یک نسخه از هر ژن را داشته که در صورت بروز جهش در آن یک نسخه، ممکن است عملکرد آن ژن را از دست بدهند.

نکته ۱: اندازه ژنوم یوکاریوت‌ها در حدود 10^{15} – 10^{10} bp بوده و هم‌چنین دارای توالی‌های تکرار شونده (Repetitive sequences) با تعداد زیاد می‌باشند که به نظر می‌رسد در سازماندهی DNA یوکاریوت‌ها نقش دارند، مثلاً در سانترومر، این توالی‌ها وجود دارند، ژن‌های RNA ریبوزومی جزء توالی‌های با تکرار متوسط‌اند.

نکته ۲: وجود اینترون در ساختمان ژن‌های یوکاریوتی، از مهم‌ترین اختصاصات این ژن‌هاست که رونویسی می‌شوند اما ترجمه نمی‌شوند و به جز چند مورد استثنا در آرکیاها در ژنوم باکتری‌ها و ویروس‌ها یافت نمی‌شوند.

میتوکندری و کلروپلاست از ارگانل‌های واجد محتوای ژنومی هستند که درون هریک از آنها، یک مولکول DNA حلقوی وجود دارد که بسیار شبیه ژنوم باکتری‌هاست. ژنوم این ارگانل‌ها، در ارتباط با عملکرد آنها بوده و طول آن با متکامل‌تر شدن سلول‌های میزبان آنها، کاهش می‌یابد.

مثال۱: کدام یک از گزینه‌های زیر پیرامون ژنوم یوکاریوت‌ها صحیح است؟

۱) ژنوم یوکاریوت‌ها به صورت قطعات مختلف DNA بوده که هنگام تقسیم سلولی به صورت چند کروموزوم حلقوی درمی‌آید.

۲) ژنوم یوکاریوت‌ها، همواره به صورت ۲n یا دیپلوئیدی است.

۳) ژنوم میتوکندری به صورت چند قطعه DNA حلقوی است که طول آن در طی تکامل کوتاه‌تر شده است.

۴) ژنوم یوکاریوت‌ها دارای توالی‌های تکرار شونده‌اند که احتمالاً در سازماندهی DNA یوکاریوت نقش دارند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» محتوای ژنوم یوکاریوت‌ها به صورت قطعات مختلف DNA بوده که هنگام تقسیم سلولی به صورت چند کروموزوم خطی قابل مشاهده است. ژنوم یوکاریوت‌ها می‌تواند به هر دو فرم دیپلوئید (۲n) و هاپلوئید (n) و گاهی پلی پلوئید (Nn) وجود داشته باشد. درون میتوکندری و کلروپلاست، یک مولکول DNA حلقوی وجود داشته که طول آن در طی تکامل کاهش می‌یابد. دارا بودن توالی‌های تکرار شونده از اختصاصات ژنوم یوکاریوت‌ها بوده که به نظر می‌رسد در سازماندهی DNA یوکاریوت نقش داشته باشند.

مدرسان شریف

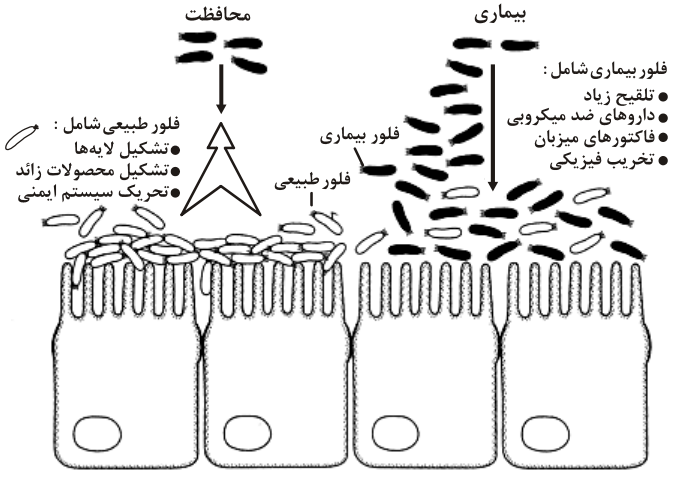
فصل ششم

« فلور میکروبی طبیعی بدن انسان»

درسنامه (۱): تعریف فلور میکروبی و نقش آن

فلور میکروبی طبیعی (Normal microbial flora)، به جمعیتی از میکروارگانیسم‌های ساکن روی سطوح بدن از جمله پوست و مخاطات اشاره می‌کند که بیشتر از انواع باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشند، ویروس‌ها و انگل‌ها معمولاً به عنوان فلور میکروبی محسوب نمی‌شوند. فلور میکروبی می‌تواند به دو صورت **مستقر (Resident)** و **موقت (Transient)** یافت شود. به طوری که فلور مستقر، به میکروارگانیسم‌های نسبتاً ثابتی اطلاق می‌شود که در یک دوره طی زمانی خاص، در منطقه‌ی خاصی از بدن کلنیزه شده‌اند و فلور موقت به میکروارگانیسم‌هایی گفته می‌شود که از محیط کسب شده و به صورت گذرا و طی چند ساعت یا روز یا هفته روی سطوح بدن یافت شده و عمدتاً ایجاد بیماری نمی‌کنند.

فلور میکروبی بدن انسان از نظر ترکیب و تعداد میکروارگانیسم‌های آن از یک منطقه به منطقه‌ی دیگر بدن متفاوت است که این مسئله به دلیل تفاوت فاکتورهایی چون دما، pH، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء، مقدار آب، اکسیژن و مواد غذایی و نیز وجود یا عدم وجود مواد مهارکننده‌ای نظیر لیزوزیم و آنتی‌بادی‌های ترشحی در نقاط مختلف بدن انسان می‌باشد.



«اهمیت فلور میکروبی بدن در تقویت سیستم ایمنی میزبان»

فلور میکروبی برای حیات میزبان خود ضروری نیستند اما اغلب در حفظ سلامت و عملکرد اندام‌های بدن میزبان می‌توانند مفید باشند. مثلاً فلور نرمال روده‌ای می‌تواند در تولید ویتامین‌های B و K نقش داشته و به جذب مواد غذایی کمک کند. هم‌چنین اعضای مختلف فلور میکروبی در پوست و مخاطات می‌توانند با اشغال گیرنده‌ها و محل‌های اتصال میکروارگانیسم‌های پاتوژن به سطح سلول‌های میزبان و یا رقابت بر سر مواد غذایی، تولید متابولیت‌های سمی نظیر آنتی‌بیوتیک و باکتریوسین‌ها و تحریک تولید آنتی‌بادی‌های متقاطع، از کلنی‌زایی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فرصت‌طلب جلوگیری کنند.

علی‌رغم دارا بودن این فواید، گاهی فلور نرمال میکروبی می‌تواند در ایجاد بیماری نقش داشته باشد. به‌طوری‌که هرگاه این میکروارگانیسم‌ها از جایگاه‌های اصلی خود به هر دلیلی خارج شده و همراه با جریان خون یا لنف به مناطق دیگر بدن راه پیدا کنند، می‌توانند زمینه‌ساز ایجاد یک عفونت یا بیماری باشند. مثلاً باکتروئیدها که شایع‌ترین فلور میکروبی روده‌ی بزرگ می‌باشند، در صورتی که به دنبال ضربه یا جراحی به بافت‌های لگنی یا فضاهای آزاد حفره‌ی شکمی راه پیدا کنند می‌توانند ایجاد باکتریمی و عفونت کنند. هم‌چنین عواملی از قبیل نقص ایمنی می‌تواند این مسئله را در میزبان تشدید کند.

مثال۱: میکروارگانیسم‌های نسبتاً ثابتی که در یک دوره‌ی زمانی خاص، در منطقه‌ی خاصی از بدن کلنیزه می‌شوند چه نام داشته و چه انواعی دارند؟

۱) فلورگذرا ـ باکتری‌ها و انگل‌ها ۲) فلور مستقر ـ باکتری‌ها و قارچ‌ها ۳) فلور موقت ـ باکتری‌ها و مخمرها ۴) فلور ثابت ـ قارچ‌ها و انگل‌ها

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» فلور مستقر (Resident)، به میکروارگانیسم‌های نسبتاً ثابتی اطلاق می‌شود که در یک دوره‌ی زمانی خاص، در منطقه‌ی خاصی از بدن کلنیزه می‌شوند و میکروارگانیسم‌های فلور، اغلب از انواع باکتری‌ها و قارچ‌ها هستند.

مدرسان شریف

فصل اول

«کوکسی‌های گرم مثبت هوازی و بی‌هوازی»

درسنامه (۱): استافیلوکوکاسه

این خانواده داری جنس استافیلوکوک است که این جنس بیش از ۳۰ گونه دارد.

استافیلوکوک‌های ویژه انسان: *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *استافیلوکوکوس اوریکولاریس*، *استافیلوکوکوس لودوننسیس* و *استافیلوکوکوس کاپتیس*.

استافیلوکوک‌های مشترک بین انسان و پریمات‌ها: *استافیلوکوکوس اورئوس (استافیلوکوک طلایی)*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس سیمولانس*.

استافیلوکوک‌های مختص حیوانات: *استافیلوکوکوس اینترمدیوس* که می‌تواند باعث چرک پس از گاز گرفتن سگ در موضع شود.

عفونت‌ها و بیماری‌زایی استافیلوکوک‌ها

تمامی استافیلوکوک‌ها باعث عفونت‌های چرکی با بروز آبسه در انسان می‌شوند. ۸۰% عفونت‌های پوستی ناشی از این ارگانیسم است، در نتیجه شایع‌ترین عامل عفونت‌های پوستی است. همچنین دومین عامل عفونت‌های بیمارستانی است (اولین عامل، *E. coli* می‌باشد).

استافیلوکوکوس اورئوس (*استافیلوکوک طلایی یا پیوژن*)

مورفولوژی: کوکسی گرم مثبت، بی‌حرکت، دارای کپسول در In vivo و فاقد پیلی و اسپور است. در چرک به‌صورت تکی، دوتایی و چهارتایی دیده می‌شود. اگر بیمار دارو گرفته باشد یا ارگانیسم فاگوسیته شده باشد، به صورت گرم منفی هم دیده می‌شود. پس درون لکوسیت‌ها ممکن است به صورت گرم منفی با نایسریاها اشتباه گرفته شود.

«مورفولوژی استافیلوکوکوس اورئوس»

«نمای کلنی استافیلوکوکوس اورئوس»

متابولیسم: هوازی ـ بی‌هوازی (بی‌هوازی اختیاری)، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی و کواگولاز مثبت می‌باشد.

نتیجه متابولیسم *استافیلوکوکوس اورئوس* در شرایط هوازی تولید استات، لاکتات و CO_2 است و در شرایط بی‌هوازی لاکتات، استات و پیرووات (به ترتیب میزان تولید). این ارگانیسم تست VP مثبت دارد (می‌تواند استوئین تولید کند).

مقاومت: در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد یک ساعت پایدار است و مقاوم ترین باکتری بدون اسپور محسوب می‌شود. همچنین به خشکی بسیار مقاوم است که این ویژگی به عنوان یک فاکتور ویرولاس برای این باکتری محسوب می‌شود.

به ترکیبات آنیلینی مانند کریستال ویوله نسبت به استرپتوکوک‌ها حساس‌تر است و نسبت $\frac{۱}{۵۰۰۰۰۰}$ این ترکیب می‌تواند از رشدش جلوگیری کند.

خصوصیات ژنتیکی: بسیار مشابه *E.coli* است. عمدتاً تبادلات ژنتیکی را به واسطه فاژ (ترانسداکشن) انجام می‌دهد. دارای دو نوع پلاسمید است: کونژوگه و غیر کونژوگه که سبب مقاومت نسبت به پنی‌سیلین به وسیله پنی‌سیلیناز، مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، فلزات سنگین و اریترومایسین می‌شوند. همچنین دارای ترنسپوزون است که سبب مقاومت به آمینوگلیکوزیدها مانند جنتامایسین می‌شود.

مدرسان شریف

فصل دوم

«باسیل‌های گرم مثبت فاقد اسپور»

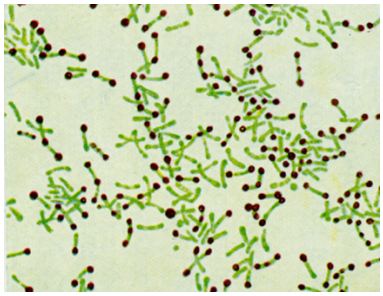
درسنامه (۱): کورینه باکتریوم‌ها

کورینه باکتریوم دیفتریه

مورفولوژی: کورینه باکتریوم‌ها ۱ـ ۰/۵ میکرون قطر داشته و چندین میکرون طول دارند. از ویژگی‌های آنها وجود تورم در یک انتها بوده که به آنها ظاهری چماقی شکل (Clube Shape) می‌دهد. گرانول‌هایی که با رنگ‌آمیزی آنیلینی رنگ می‌گیرند، یعنی گرانول‌های متاکروماتیک، به طور نامنظم در طول باسیل پراکنده شده‌اند (اغلب در نزدیکی دو قطب سلول) و ظاهری تسبیح مانند (Beaded) به باسیل می‌دهند.

درگسترش‌های رنگ شده هر یک از کورینه باکتریوم‌ها تمایل دارند به طور موازی قرار گرفته یا نسبت به دیگری زوایای حاد تشکیل دهند و به همین دلیل به شکل حروف الفبای چینی دیده می‌شوند. اشکال شاخه‌دار حقیقتی به ندرت در کشت کورینه باکتریوم‌ها دیده می‌شوند.

همچنین ممکن است هاله‌های کوچک همولیز بر روی محیط کشت بلادآگار ایجاد کنند. بر اساس ویژگی‌های رشد از قبیل مورفولوژی کلنی، واکنش‌های بیوشیمیایی و شدت بیماری، چهار بیوتیپ از *کورینه باکتریوم دیفتریه* شناسایی شده است که عبارتاند از: گروایس، میتیس، اینترمدیوس و بلفانتی. معمولاً بیماری‌زایی گراویس شدیدتر است ولی ممکن است بیماری مشابه توسط تمام تیپ‌ها ایجاد شود.



«مورفولوژی *کورینه باکتریوم دیفتریه* (با برجستگی در انتها و به شکل حروف الفبای چینی)»

نکته۱: کورینه باکتریوم‌ها تمایل زیادی به بروز پلی مورفیسم در مورفولوژی میکروسکوپی و کلنی از خود نشان می‌دهند، هنگامی که برخی از ارگانیسم‌های غیرتوکسین‌زای دیفتری با باکتریوفاژ حاصل از باسیل‌های توکسین‌زای دیفتری آلوده می‌شوند، در نسل بعد باکتری‌هایی تولید می‌شوند که لیزوژنیک و توکسین‌زا می‌باشند.

نکته۲: کسب فاژ منجر به توکسین‌زایی (کونورسیون لیزوژنیک) می‌گردد و احتمالاً تولید توکسین زمانی رخ می‌دهد که پروفاژ *کورینه باکتریوم دیفتریه* لیزوژن تحریک شده و باکتری را لیز نماید. توکسین‌زایی تحت کنترل ژن فاژ بوده در حالی که تهاجم تحت کنترل ژن‌های باکتری است.

بیماری‌زایی: *کورینه باکتریوم دیفتریه* در طبیعت در دستگاه تنفسی، زخم یا پوست افراد آلوده یا ناقلین طبیعی یافت می‌شود. این باکتری توسط قطرات تنفسی یا تماس با افراد مستعد انتشار می‌یابد. سپس باسیل‌ها روی غشاهای مخاطی یا خراش‌های پوستی رشد نموده و آنهایی که قادر به تولید توکسین هستند، شروع به تولید توکسین می‌نمایند.

نکته۳: تمام کورینه باکتریوم دیفتریه‌های توکسین‌زا قادر به ترشح اگزوتوکسینی هستند که بیماری مشابهی را ایجاد می‌کند.

نکته۴: در شرایط آزمایشگاهی تولید توکسین به مقدار زیادی به غلظت آهن بستگی دارد، به طوری که در ۰/۱۴Mg آهن در هر میلی‌لیتر از محیط کشت تولید توکسین حداکثر بوده ولی در حضور ۰/۵Mg آهن، تولید توکسین متوقف می‌شود. سایر عواملی که بر میزان تولید توکسین در شرایط آزمایشگاهی مؤثر می‌باشند عبارت‌اند از: فشار اسمزی، غلظت اسیدهای آمینه، pH و فراهم بودن منبع کربن و نیتروژن مناسب.

توکسین دیفتری، پلی پپتیدی حساس به حرارت بوده و در دوز $0/1\frac{Mg}{kg}$ کشنده و دارای وزن مولکولی ۶۲KDa می‌باشد. اگر باند دی‌سولفید موجود در این پلی پپتید باز شود مولکول توکسین به دو قطعه شکسته می‌شود. قطعه B با وزن مولکولی ۳۸KDa فاقد فعالیت مستقل است، ولی برای حمل قطعه

فصل سوم

«باسیل‌های گرم مثبت دارای اسپور»

درسنامه (۱): باسیلوس‌ها

باسیل‌های گرم مثبت هستند و به عنوان بزرگترین باسیل در پزشکی مطرح می‌باشند و در دو انتها صاف یا کمی مقعر هستند.

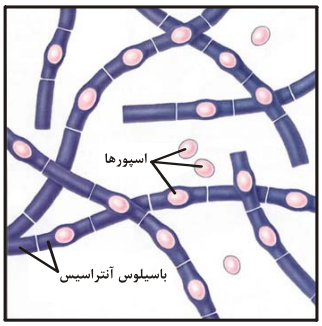
باسیلوس‌ها دو دسته‌اند: ۱ـ باسیلوس آنتراسیس ۲ـ باسیلوس‌های آنتراکوئید (آنتراکوئیدها)

۱ـ باسیلوس آنتراسیس (باسیل شاربن)

«مورفولوژی باسیلوس آنتراسیس»

باسیلوس آنتراسیس مخصوص حیوانات به ویژه احشام است و اسپور آن در طبیعت یافت می‌شود. باسیل گرم مثبت، دارای کپسول و فاقد حرکت و پیلی می‌باشد. کلنی‌های آن‌ها کروی بوده و در عبور نور نمای بلور کریستال را نشان می‌دهند. در شرایط In vivo و محیط‌های حاوی سرم، بی‌کربنات و CO_2 این باکتری به صورت کپسول دار نمایان می‌شود، در غیر از این شرایط و خارج از بدن یا محیط‌های کشت ساده، به صورت کلنی Rough و اسپوردار ظاهر می‌شود.

اسپور این ارگانیسم در انتهای فاز لگاریتمی ایجاد می‌شود، بیضوی است و معمولاً مرکزی یا نزدیک به انتها است.



«تصویر شماتیک باسیلوس آنتراسیس و اسپورهای آن»

متابولیسم

بی‌هوازی اختیاری است که در شرایط هوازی ترجیح رشد دارد و کاتالاز و اکسیداز مثبت می‌باشد. همچنین نیترات مثبت و اندول منفی می‌باشد.

مقاومت

اسپور این باکتری می‌تواند آب جوش (۱۰۰°C) را ۱۰ دقیقه تحمل کند ولی نسبت به عوامل اکسیدکننده مانند پرمنگنات و یا هالوژن‌ها حساس است. باکتری در حالت وژتاتیو (رویشی:Vegetative) مقاومت خاصی ندارد.

مثال۱: کدام گزینه در مورد ویژگی‌های متابولیک *باسیلوس آنتراسیس* صحیح است؟

۱) بی‌هوازی اختیاری، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی
۲) هوازی، کاتالاز و اکسیداز مثبت
۳) بی‌هوازی اختیاری، کاتالاز و اکسیداز مثبت
۴) هوازی، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» باسیلوس آنتراسیس واحد اسپورت میانی، فاقد حرکت، کاتالاز و اکسیداز مثبت بوده و بی‌هوازی اختیاری می‌باشد. این باکتری در نمونه‌های بالینی فاقد اسپورت ولی در محیط کشت ۲ تا ۳ روزه واحد اسپورت، در بدن واحد کپسول و در محیط کشت فقط در حضور مقادیر ۷ـ۵ درصد دی‌اکسیدکربن واحد کپسول می‌باشند.

مثال۲: روش توصیه شده برای آزمایش کارکرد صحیح اتوکلاو، استفاده از کدام مورد است؟ (زیست گیاهی و جانوری ـ سراسری ۹۳)

۱) *E.coil*
۲) *S.aureus*
۳) *Bacillus stearothermophilus*
۴) *Mycrobacterium tuberculosis*

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» برای بررسی عملکرد اتوکلاو از اسپور باسیلوس استئاروترموفیلوس (مقاوم‌ترین اسپور به گرما) استفاده می‌گردد.

فصل چهارم

«انتروباکتریاسه (باسیل‌های گرم منفی روده‌ای)»

درسنامه (۱): ویژگی‌های مشترک انتروباکتریاسه

ویژگی‌های مشترک انتروباکتریاسه‌ها شامل موارد زیر است:

۱) باسیل گرم منفی ۲) بی‌هوازی اختیاری ۳) دارای قدرت تخمیر گلوکز ۴) کاتالاز مثبت ۵) اکسیداز منفی ۶) غالباً متحرک ۷) دارای توانایی احیای نیترات به نیتریت

باسیل‌های گرم منفی روده‌ای به دو دسته لاکتوز مثبت و لاکتوز منفی تقسیم می‌شوند که به ترتیب بر روی محیط مک‌کانکی (mac conkey)، صورتی رنگ و بی‌رنگ می‌باشند. گروه لاکتوز مثبت عمدتاً فلور طبیعی هستند در حالی‌که لاکتوز منفی‌ها مانند سالمونلا، شیگلا، یرسینیا و پروتئوس عفونت‌های فرصت طلب ایجاد می‌کنند.

گروه لاکتوز مثبت را کلی فرم هم می‌گویند زیرا سر دسته این گروه E.coli است.

انترباکتریاسه را به دسته‌های متعدد تقسیم می‌کنند.

دسته I: دسته اشریشیه شامل اشریشیا و شیگلا

دسته II: ادواردسیله (Edwardsielleae) شامل ادواردسیلا

دسته III: سالمونله (Salmonelleae) شامل سالمونلا و ستیروباکتر

دسته IV: کلبسیه (Klebsielleae) شامل کلبسیلا، هافنیا و انتروباکتر

دسته V: دسته پروتئیه (Proteeae) شامل پروتئوس و مورگانلا

دسته VI: دسته یرسینیه (Yersinieae) شامل یرسینیا

مثال۱: همه صفات زیر در آنتروباکتریاسه وجود دارد به جز: (سراسری ۹۳)

۱) احیای نیترات ۲) اکسیداز مثبت ۳) تخمیرکننده گلوکز ۴) کاتالاز مثبت

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» تمام اعضای خانواده آنتروباکتریاسه توانایی رشد سریع را در شرایط هوازی و بی‌هوازی اختیاری در انواعی از محیط‌های غیرانتخابی (مانند آگار خونی) و انتخابی (مانند مک کانکی آگار) دارند. از ویژگی‌های دیگر این خانواده می‌توان به احتیاجات غذایی ساده، تخمیر گلوکز، احیای نیترات، واکنش مثبت کاتالاز و واکنش منفی اکسیداز اشاره کرد.

مثال۲: تفاوت Salmonella و Shigella با E. coli در تست‌های بیوشیمیایی، چیست؟ (زیست سلولی مولکولی ـ سراسری۹۵)

۱) Salmonella و E. coli لاکتوز مثبت هستند ولی Shigella لاکتوز منفی است.

۲) Salmonella و E. coli لاکتوز منفی هستند ولی Shigella لاکتوز مثبت است.

۳) Salmonella و Shigella لاکتوز منفی هستند ولی E. coli لاکتوز مثبت است.

۴) Salmonella و Shigella لاکتوز مثبت هستند ولی E. coli لاکتوز منفی است.

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» سالمونلاها لاکتوز منفی‌اند. شیگلاها غیرمتحرک بوده و لاکتوز را تخمیر نمی‌کنند. اشرشیا کلی توانایی تخمیر لاکتوز را دارد.

مدرسان شریف

فصل پنجم

«کوکسی‌های گرم منفی»

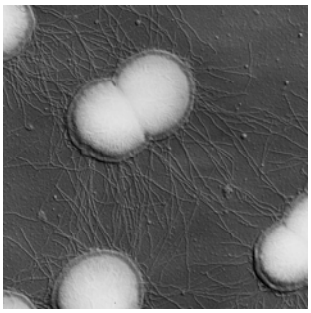
درسنامه (۱): نایسریاها

نایسریاها به دو گروه پاتوژن (*نایسریا گنوره* یا گنوکوک و *نایسریا منتژیتیدیس* یا منینگوکوک) و غیرپاتوژن تقسیم می‌شوند.
برای تشخیص این دو گروه از ویژگی‌های زیر می‌توان استفاده کرد:

ویژگی	گروه پاتوژن	گروه غیرپاتوژن
رشد بر روی ژلوز ساده	−	+
رشد بر روی محیط تایر مارتین	+	−
رشد در $۲۵-۳۰^{\circ}C$	−	+

نکته۱: نایسریا لاکتامیکا اگرچه پاتوژن نمی‌باشد، می‌تواند بر روی محیط تایر ـ مارتین رشد کند.

الگوی تخمیر قند نایسریاها به این ترتیب است که نایسریا گنوره فقط گلوکز را مصرف می‌کند، نایسریا منتژیتیدیس، گلوکز و مالتوز و نایسریا لاکتامیکا گلوکز، مالتوز و لاکتوز را مصرف می‌کند. نایسریا سیکا همه را به جز لاکتوز مصرف می‌کند (مانند نایسریا موکوزا) در حالیکه نایسریا فلاوسنس هیچکدام را نمی‌تواند مصرف نماید.
احیاء نیترات در میان نایسریاهای فوق فقط در گونه موکوزا مثبت است. همچنین انواع پاتوژن، فاقد پیگمان و انواع غیرپاتوژن دارای پیگمان می‌باشند



«گنوکوک (دیپلوکوک گرم منفی با پیلی‌های مشخص)»

نایسریا گنوره آ (گنوکوک)

انگل اجباری انسان، دیپلوکوک گرم منفی و شبیه دانه‌های لوبیا یا کلیوی شکل است. فاقد کپسول، دارای پیلی و فاقد تحرک است. متابولیسم آن هوازی است، گلوکز را اکسید می‌کند و مسیر کسب انرژی آن انتنردئودروف (ED) است اما می‌تواند از پنتوزفسفات (مسیر HMP) نیز استفاده کند. حاصل متابولیسم گنوکوک اسید استیک است و کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی می‌باشند.
۲۰% از سویه‌های گنوکوک برای رشد اولیه به گلوتامیک اسید نیاز دارند ولی اکثراً بدین منظور به CO_2 یا HCO_3 نیاز دارند. در کشت اولیه به آرژنین، هیپوگزانتین و اوراسیل نیاز دارند (اگزو تیپ Arg^-، Hyx^- و Ura^-).
مقاومت: به شرایط محیطی بسیار حساس‌اند و در سرما سریعاً از بین می‌روند. خشکی نیز موجب مرگ آنها می‌شود.

مثال۱: کدام ویژگی‌ها در مورد نایسریا گنوره‌آ صادق است؟ (سراسری ۸۰)

۱) به‌طور طبیعی در انسان و خوکچه هندی بیماری‌زاست و لاکتوز و گلوکز مثبت است.
۲) به‌طور طبیعی در خرگوش و موش بیماری‌زاست و لاکتوز و گلوکز مثبت است.
۳) میزبان‌های متعدد دارد و مالتوز مثبت است.
۴) انسان تنها میزبان طبیعی آن است و گلوکز مثبت است.

مدرسان شریف

فصل ششم

«سودوموناداسه»

درسنامه: انواع سودوموناس‌ها

در جدول زیر تقسیم‌بندی سودوموناس‌های مهم و بیماری‌زا را براساس همولوژی 16S rRNA مشاهده می‌کنید.

گروه	جنس‌ها و گونه‌ها
Ia: گروه فلورسنت	Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida
Ib: گروه غیر فلورسنت	Pseudomonas stutzeri, Pseudomonas mendocina
II	Burkholderia pseudomallei, Burkholderia mallei, Burkholderia cepacia, Ralstonia pickettii
III	Comamonas species, Acidovorax species
IV	Brevundimonas species
V	Stenotrophomonas maltophilia

سودوموناس آئروجینوزا (آئروژینوزا)

این باکتری در محیط هر جا که مرطوب باشد رشد می‌کند و در مواردی فلور طبیعی پوست و دستگاه گوارش است. باسیل گرم منفی و متحرک است (Twitching یا خزیدن)، به صورت مونوتریش یا لوفوتریش دارای تاژه و همچنین دارای پیلی است و فاقد کپسول می‌باشد. متابولیسم هوازی اجباری دارد، از قندها تنها گلوکز را اکسید می‌کند اما سوبستراهای دیگری هم برای کسب انرژی دارد. در حقیقت از طیفی از سوبستراها می‌تواند استفاده کند. اگر از گلوکز استفاده کند، گلوکورونیک اسید تولید خواهد کرد. کاتالاز و اکسیداز مثبت است و در شرایط بی‌هوازی اگر نیترات در محیط باشد می‌تواند تنفس بی‌هوازی داشته باشد.

«مورفولوژی سودوموناس آئروژینوزا»

مثال۱: کدام گزینه نوع حرکت در *سودوموناس آئروژینوزا* را نشان می‌دهد؟

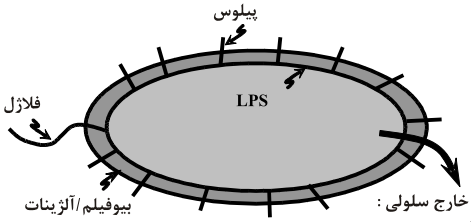
۱) Swarming ۲) Tumbling ۳) Twitching ۴) سودوموناس فاقد حرکت می‌باشد.

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» *سودوموناس آئروژینوزا* دارای حرکت Twitching (خزش یا خزیدن) است.

سودوموناس آئروجینوزا جزء مقاوم‌ترین باکتری‌ها به عوامل ضدعفونی‌کننده محسوب می‌شود و برای از بین بردن آن از فنول و گلوتارآلدئید باید استفاده شود (می‌تواند روی درجنت‌ها رشد کند).

در آب مقطر هم رشد می‌کند و به علت مقاومتش در عفونت‌های بیمارستانی دخیل است.

این باکتری در بین گرم منفی‌ها جزء مقاوم‌ترین‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد.



تصویر شماتیک سودوموناس آئروژینوزا و برخی آنتی‌ژن‌ها و محصولات آن

محصولات خارج سلولی :
- پروتئازها
- پروتئازهای قلیایی
- الاستاز
- همولیزین
- فسفولیپاز C
- رامنولیپید
- اگزوتوکسین A
- پیوسیانین

مدرسان شریف

فصل هفتم

« باسیل‌های اسید فست (مقاوم به اسید) »

درسنامه: انواع باسیل‌های مقاوم به اسید

باسیل‌هایی صاف یا خمیده هستند که به علت داشتن مقادیر زیاد موم و چربی در دیواره خود به سختی رنگ‌آمیزی می‌شوند و پس از رنگ‌آمیزی در برابر رنگ‌زدایی به وسیله اسیدهای معدنی (محلول ۲۵– ۲۰% اسید سولفوریک) و الکل مقاومت نموده و رنگ را از دست نمی‌دهند، به همین جهت آنها را به نام باسیل‌های اسید فست (مقاوم به اسید) نامیده‌اند. مایکوباکتریوم‌ها اعضای اصلی این گروه هستند که از بسیاری جهات با کورینه باکتریوم‌ها، نوکاردیا و رودوکوکوس شباهت دارند و در مجموع می‌توان آنها را در یک گروه بنام CMNR قرار داد که هر یک از این حروف از اول نام این چهار جنس گرفته شده است. در جدول زیر به برخی وجوه تمایز مایکوباکتریوم‌ها، نوکاردیاها و کورینه باکتریوم‌ها اشاره شده است.

ویژگی	N (نوکاردیا)	M (مایکوباکتریوم)	C (کورنیه باکتریوم)
تولید آریل سولفاتاز	–	+	–
مقاومت به لیزوزیم	مقاوم	مقاوم	حساس
حساسیت به پنی سیلین	مقاوم	مقاوم	حساس
مقاومت به اسید و الکل	–	+	–
G + C%	۶۰–۶۹	۶۲ – ۷۰	۵۱ – ۵۹

مثال۱: واکنش اسید فست در کدام باکتری مشاهده می‌شود؟ (سراسری۹۶)

۱) آر اکنیا پروپیونیکا ۲) اکتینومایسس ویسکوس ۳) لیستریا مونوسیتوژنز ۴) نوکاردیا برازیلینسیس

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» نوکاردیاسه اکتینومیست‌های هوازی می‌باشند. این باکتری‌های گرم مثبت، غیرمتحرک بوده و غالباً منشعب و شاخه‌دار می‌باشند. دیواره نوکاردیاها دارای مزو ـ دی‌آمینوپی‌ملیک‌اسید، آرابینوز و گالاکتوز است و به علاوه مانند مایکو باکتریوم‌ها، مایکولیک اسیدی دارند که حاوی ۵۸-۴۶ اتم کربن می‌باشد.

اجزای دیواره سلولی به ویژه اسید مایکولیک نوکاردیا را اسید فست کرده است که در رنگ‌آمیزی اسید فست به صورت رشته‌های منشعب دیده می‌شود.

مثال۲: علاوه بر مقاومت به اسید و الکل، چگونه می‌توان مایکوباکتریوم‌ها را همزمان از کورینه باکتریوم‌ها و نوکاردیاها افتراق داد؟

۱) حساسیت به پنی سیلین ۲) تولید آریل سولفاتاز ۳) مقاومت به لیزوزیم ۴) تفاوت عمده در GC%

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» تولید آریل سولفاتاز در مایکوباکتریوم‌ها مثبت است و در نوکاردیاها و کورینه باکتریوم‌ها منفی است. ویژگی‌های مطرح‌شده در گزینه‌های دیگر نمی‌تواند همزمان باعث افتراق مایکوباکتریوم‌ها از کورینه باکتریوم‌ها و نوکاردیاها شود.

مایکوباکتریوم‌ها

۱ـ مایکوباکتریوم‌های تیپیک یا مایکوباکتریوم‌های کمپلکس سل:

ـ مایکوباکتریوم توبرکولوزیس ـ مایکوباکتریوم بوویس ـ مایکوباکتریوم آفریکانوم ـ مایکوباکتریوم میکروتی

مدرسان شریف

فصل هشتم

«ویبریوناسه»

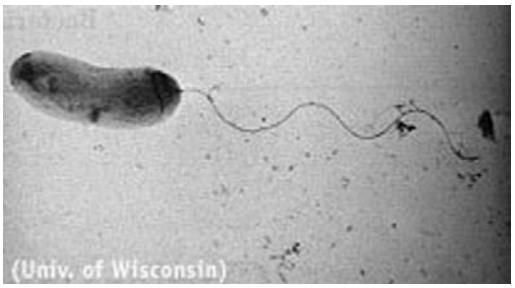
درسنامه: انواع ویبرنوها

- ویبریو
- آئروموناس
- پلزیوموناس

باکتری‌های گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری، اکسیداز و کاتالاز مثبت می‌باشند.

ویبریو کلرا (ویبریون کخ)

در محیط آبی وجود دارند. باسیل‌های ویرگولی شکل و خمیده‌اند. یک فلاژل غلاف‌دار در یک قطب این باکتری دیده می‌شود که به‌وسیله‌ی آن متحرک است. ویبریو دارای پیلی‌تیپ IV می‌باشد.



«مورفولوژی ویبریو کلرا»

متابولیسم: بی‌هوازی اختیاری، اکسیداز و کاتالاز مثبت است و از گلوکز استفاده می‌کند ولی گاز ایجاد نمی‌کند. مانیتول، لیزین و اورنیتین مثبت و اوره آز، MR، VP و آرژنین منفی می‌باشد و H_2S ایجاد نمی‌کند.

تقسیم‌بندی: آنتی‌ژنO (از LPS)، آنتی‌ژن گروه‌بندی است که بر این اساس به ۱۳۹ گروه تقسیم‌بندی می‌شوند.

تنها گروه‌های O1 و O139 در انسان بیماری وبا ایجاد می‌کنند و ویبریوهای دیگر معمولاً در محیط هستند و با عفونت‌های فرصت‌طلب با انسان در ارتباط می‌باشند. براساس آنتی‌ژن O، Typing (تیپ‌بندی) هم انجام شده است. مثلاً O1 را به اینابا و اوگاوا تیپ‌بندی کرده‌اند.

ویبریو O1 را براساس خصوصیات بیوشیمیایی هم تقسیم‌بندی کرده‌اند (Biotyping) و دو Biotype به نام‌های کلاسیک و التور را می‌توان برای O1 ذکر کرد. تعیین تیپ به منظور مطالعات اپیدمیولوژیکی استفاده می‌شود.

خصوصیات بیوشیمیایی کلاسیک و التور:

۱) همولیز RBC گوسفند: کلاسیک منفی / التور مثبت

۲) هماگلوتیناسیون RBC جوجه: کلاسیک منفی / التور مثبت

۳) حساسیت به پلی‌میکسین B: کلاسیک حساس / التور مقاوم

۴) حساسیت به فاژ IV یا فاژ موکرجی: کلاسیک حساس / التور مقاوم

نکته۱: بیوتیپ التور به شرایط محیطی مقاوم‌تر است و تست VP مثبت دارد.

مدرسان شریف

فصل نهم

«کمپیلوباکتر و هلیکوباکتر»

درسنامه (۱): کمپیلوباکتر

جایگاه: در روده حیوانات و پرندگان وجود دارند، به عنوان مثال گونه کمپیلوباکتر ژژونی در روده مرغ و خروس دیده می‌شود.

مورفولوژی: کمپیلوباکتر باسیل گرم منفی خمیده است و به صورت Gull wing (بال مرغ دریایی) دیده می‌شود و یا ممکن است S شکل باشد که دو باسیل خمیده در کنار هم قرار می‌گیرند و یکی از دو شکل فوق را ایجاد می‌کنند.

کمپیلوباکتر دارای فلاژل و فاقد کپسول است و در رنگ‌آمیزی گرم به خوبی دیده نمی‌شود. اندازه‌اش خیلی کوچک و در حدود ۰/۶μm – ۰/۳ است و اسپور تولید نمی‌کند.

«مورفولوژی کمپیلو باکتر ژژونی»

متابولیسم: کمپیلوباکترها نان فرمانتر (فاقد قدرت تخمیر)، میکروآئروفیل، کاتالاز و اکسیداز مثبت (به جز گونه آبسالینسیس که کاتالاز منفی یا مثبت ضعیف دارد) و اورئاز منفی هستند. نگه‌داری آن‌ها باید در محیط با کاهش فشار O_2 و افزایش فشار CO_2 باشد.

فاکتورهای ویرولانس و خصوصیات آنتی‌ژنیک

کمپیلوباکترها مانند سایر گرم منفی‌ها دارای LPS هستند و آنتی‌ژن مختص گروه، LPS است.

نکته۱: در برخی گونه‌ها مثل ژژونی و آبسالینسیس، برخی سروگروپ‌ها مانند O19 با گلیکواسفنگولیپیدهای سلول‌های عصبی واکنش متقاطع دارند و منجر به سندرم گلین ـ باره (فلج موقت در دست و پا) می‌شود.

نکته۲: این ارگانیسم دارای فلاژل می‌باشد که علاوه بر تحرک در چسبندگی به ارگانیسم کمک می‌کند. سویه‌های فاقد فلاژل، فاقد ویرولانس (بیماری‌زایی) هستند.

نکته۳: این ارگانیسم هم دارای سیتوتوکسین و هم دارای انتروتوکسین است. توسط سیتوتوکسین به مخاط روده حمله می‌کند و این تهاجم موجب تخریب ساختار روده و بروز التهاب می‌شود. به طوری که می‌توان در روده، خون و لکوسیت‌ها را دید. پس مدفوع می‌تواند حاوی سلول‌های التهابی (لکوسیت‌ها) باشد و گاهی هم همراه با خون دیده می‌شود.

نکته۴: اگر کمپیلوباکتر سیتوتوکسین یا انتروتوکسین را از دست بدهد باز هم ویرولان (بیماری‌زا) است. در نتیجه فلاژل و ادهزین‌ها نقش بیشتری در ویرولانس دارند (عامل ویرولانس: فلاژل).

مثال۱: کدام گزینه در مورد ویژگی‌های کلی کمپیلوباکترها صحیح نمی‌باشد؟

۱) باسیل گرم منفی خمیده و بسیار کوچک می‌باشند و دارای یک فلاژل قطبی منفرد هستند.

۲) کربوهیدارت‌ها را اکسید یا تخمیر نمی‌کنند، کاتالاز و اکسیداز مثبت می‌باشند.

۳) فاکتور ویرولانس و آنتی‌ژن مختص گروه در آنها فلاژل می‌باشد.

۴) سویه‌های فاقد فلاژل حتی در صورت داشتن توانایی تولید سیتوتوکسین و انتروتوکسین، فاقد ویرولانس هستند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» آنتی‌ژن مختص گروه در کمپیلوباکترها، LPS می‌باشد و بر اساس تفاوت‌های آنتی‌ژن O سروگروپ‌های مختلفی شناسایی شده‌اند.

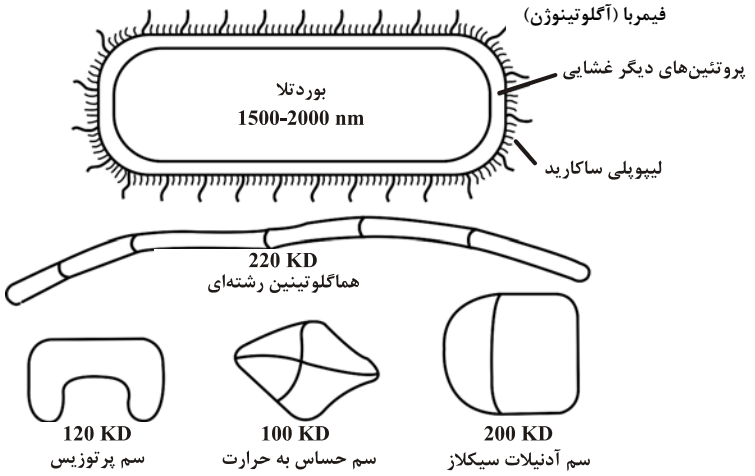
فصل دهم

«بوردتلا، فرانسیسلا، پاستورلا ، هموفیلوس، بروسلا و لژیونلا»

درسنامه (۱): بوردتلاها

بوردتلا پرتوزیس (باسیل برده ژانگو)

این باکتری مختص انسان است و در طبیعت مخزنی ندارد، باسیل کوچک یا کوکوباسیل گرم منفی است و دارای کپسول و پیلی و فاقد فلاژل است، بنابراین تحرک ندارد. بوردتلا پرتوزیس هوازی، اکسیداز مثبت و کاتالاز منفی است و نسبت به شرایط محیطی حساس است و مقاومت خاصی ندارد.



«تصویر شماتیک بوردتلا پرتوزیس و برخی آنتی‌ژن‌های آن»

خصوصیات آنتی‌ژنیک و ویرولانس

۱ـ عوامل مؤثر در چسبندگی یا ادهزین‌ها

پیلی که هماگلوتینین رشته‌ای (فیلامنتوس هماگلوتینین HfA) نیز نامیده می‌شود مهم‌ترین ادهزین این باکتری است که آنتی‌بادی ضد آن مصونیت‌دهنده است.

۲ـ توکسین‌ها

الف) LPS: که در *بوردتلا پرتوزیس* از دو لیپید X و A تشکیل شده است و به نام توکسین مقاوم به حرارت هم از آن یاد می‌شود.

ب) درمونکروتیک توکسین: یک آدنیلات سیکلاز است و همولیزین یا توکسین حساس به حرارت نیز نامیده می‌شود. مشابه توکسین *باسیلوس آنتراسیس* عمل می‌کند و موجب افزایش ترشح موکوس می‌شود.

ج) تراکئال سیتوتوکسین: قطعاتی از پپیتیدوگلیکان است که در بروز خواب با طول موج کوتاه (چرت زدن) نقش دارد و در عفونت‌های مننگوکوکی هم این حالت دیده می‌شود. این توکسین می‌تواند سلول‌های مژکدار دستگاه تنفسی را تخریب کند. این سیتوتوکسین در سلول‌های مژکدار، سنتز DNA را مهار می‌کند.

د) مهم‌ترین فاکتور ویرولانس *بوردتلا پرتوزیس*، پرتوزیس توکسین (توکسین پرتوزیس) است که ساختار AB5 دارد. بخش B (پنج زیر واحد B) در اتصال این توکسین نقش دارد و زیرواحد A بخش آنزیمی و فعال این توکسین می‌باشد.

فصل یازدهم

«اسپیروکتال‌ها»

درسنامه (۱): اسپیروکتاسیه

اسپیروکتال‌ها به دو دسته مقابل تقسیم می‌شوند: الف) اسپیروکتاسیه: ۱ـ ترپونما، ۲ـ بورلیا ب) لپتوسپیراسه: لپتوسپیرا

الف) اسپیروکتاسیه

۱ـ ترپونماها:

الف: پاتوژن: *ترپونما پالیدوم* که عامل سیفیلیس مقاربتی و غیر قابل کشت است.

ب: غیر پاتوژن: فلور دهان و دستگاه تناسلی و قابل کشت هستند.

ترپونما پالیدوم

۱ـ زیرگونه پالیدوم: عامل بیماری سیفیلیس مقاربتی

۲ـ زیرگونه پرتنوئه: عامل بیماری یاز

۳ـ زیرگونه کاراتئوم: عامل بیماری پینتا (Pinta)

۴ـ زیرگونه اندمیکوم: عامل سیفیلیس اندمیک یا غیرمقاربتی (بیماری بژل)

ترپونماهای پاتوژن غیرقابل کشت و تمایز از نظر مورفولوژی هستند ولی براساس الگوی عفونت در حیوانات حساس آزمایشگاهی و اپیدمیولوژی عفونت‌های انسانی از همدیگر تفکیک می‌شوند.

مثال۱: کدام زیرگونه‌ها از *ترپونما پالیدوم* به ترتیب عامل بیماری یاز، بژل و پینتا می‌باشند؟

۱) پرتنوئه، اندمیکوم، کاراتئوم ۲) اندمیکوم، پرتنوئه، کاراتئوم ۳) کاراتئوم، پرتنوئه، اندمیکوم ۴) اندمیکوم، کاراتئوم، پرتنوئه

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» *ترپونما پالیدوم* زیرگونه پرتنوئه عامل بیماری یاز (Yaws) یا پیان (Pian) می‌باشد. زیرگونه اندمیکوم عامل سیفیلیس اندمیک غیرمقاربتی یا بیماری بژل می‌باشد و زیرگونه کاراتئوم عامل بیماری پینتا (Pinta) است.

◆ ◆ ◆ ◆

مثال۲: کدام باکتری‌ها قادر به رشد بر روی محیط‌های کشت مصنوعی نیستند؟ (سراسری ۸۸)

۱) *Mycobacterium leprae – Treponema pallidum* ۲) *Pasteurella multocida – Neisseria gonorrhoeae*

۳) *Mycobacterium avium – Pasteurella multocida* ۴) *Chlamydia trachomatis – Neisseria gonorrhoeae*

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» محیط‌های کشت باکتریایی انواع مختلفی دارند که عبارت‌اند از:

ـ محیط‌های Supportive یا حمایت‌کننده که نوعی محیط سینتتیک بوده و دارای حداقل ترکیبات مورد نیاز برای رشد باکتری‌های غیر مشکل‌پسند است.

ـ محیط‌های transport یا انتقال برای جابه‌جایی میکروارگانیسم‌های حساس به شرایط محیطی مانند استوارت برای جابه‌جایی نایسریاها و آب پپتون جهت انتقال نمونه‌های حاوی ویبریو.

در بسیاری منابع محیط‌های حمایت‌کننده و انتقال را مجموعاً محیط‌های حداقل یا minimal medium می‌نامند.

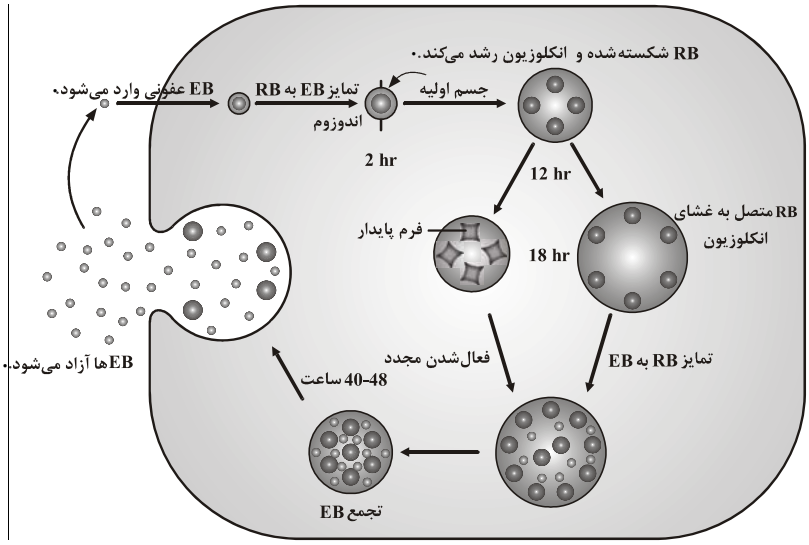
ـ محیط‌های غنی‌شده یا Enriched : با افزودن موادی به محیط‌های کشت حداقل رشد باکتری‌های مشکل‌پسند را ممکن می‌سازند.

فصل دوازدهم

«باکتری‌های درون‌سلولی اجباری (کلامیدیاها و ریکتزیاها)»

درسنامه (۱): کلامیدیاها

کلامیدیاها انگل اجباری و فاقد قدرت تولید ATP هستند و در بین حیوانات و انسان یافت می‌شوند. گرم منفی، درون سلولی اجباری، فاقد فلاژل، پیلی و کپسول می‌باشند. کلامیدیا طی زندگی خود دو فرم مورفولوژیک دارد:



سیکل زندگی کلامیدیا

- **EB** جسم اولیه (فرم عفونی)
- **RB** جسم مشبک (فرم غیرعفونی)

جسم اولیه یا EB، فرم عفونی است، نسبت به شرایط محیطی به دلیل پیوندهای دی سولفیدی فراوان مقاوم است و از نظر متابولیکی، غیرفعال است.

نکته۱: در فرم مورفولوژیک EB، میزان DNA با RNA برابر می‌باشد.

جسم مشبک یا RB فرم تکثیری است و تکثیرش توسط تقسیم دوتایی انجام می‌شود. RB به عوامل نامساعد محیطی حساس است و در خارج از سلول تخریب می‌شود (فرم غیرعفونی).

نکته۲: RB از نظر متابولیکی فعال است و به همین دلیل RNA در آن چهار برابر DNA است (چهار برابر بیشتر از DNA، RNA دارد).

کلامیدیا **چرخه تکثیر** خاصی دارد:

فرم EB به سلول‌های اپلی تلیال استوانه‌ای و مکعبی بدون مژک متصل می‌شود و توسط اندوسیتوز وابسته به رسپتور و یا پینوسیتوز (درشت‌خواری) وارد می‌شود، درون فاگوزوم قرار می‌گیرد و درون فاگوزوم پیوندهای دی سولفید احیا و EB تبدیل به RB می‌شود.

RB رشته‌ای‌شکل است و از طریق تقسیم دوتایی، اشکال IB (حد واسط) را ایجاد می‌کند که آنها خود به RB تبدیل می‌شوند و اگر تعداد RBها در فاگوزوزم ـ که در اینجا فاگوزوم انکلوزیون نامیده می‌شود ـ به ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ عدد برسد قسمت وسیعی از سیتوپلاسم سلول را احاطه می‌کنند و به دلیل فقدان مواد غذایی و انرژی، اشکال RB به EB تبدیل می‌شوند و پس از لیز سلول، EB، IB و RB رها می‌شوند که فقط EB باقی مانده (به دلیل مقاومت محیطی) و بقیه تخریب می‌شوند.

فصل سیزدهم

« مایکوپلاسماها (باکتری‌های فاقد دیواره سلولی) »

درسنامه: مایکوپلاسماها

اوره‌آ پلاسما

مایکوپلاسماها متعددند و تعدادی از آنها مانند *مایکوپلاسما هومینیس* و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم* فلور طبیعی بدن می‌باشند و تنها مایکوپلاسمای پاتوژن، *مایکوپلاسما پنومونیه* (عامل Eaton) می‌باشد. مایکوپلاسماها کوچک‌ترین ارگانیسم‌هایی هستند که در طبیعت زندگی آزاد داشته و توانایی همانندسازی مستقل را در محیط‌های آزمایشگاه نشان می‌دهند.

مایکوپلاسما پنومونیه

مایکوپلاسما پنومونیه انگل اجباری و ویژه انسان است، فاقد دیواره سلولی می‌باشد و پلیمورف است و می‌تواند از فیلترهای بیولوژیک بگذرد. *مایکوپلاسما پنومونیه* همچنین فاقد کپسول، پیلی و تاژک می‌باشد.

نکته۱: در میان مایکوپلاسماها فقط گونه پنومونیه هوازی است و بقیه بی‌هوازی اختیاری و کاتالاز منفی هستند.

نکته۲: مایکوپلاسماها به آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر دیواره، مقاوم می‌باشند. همچنین به استات تالیم و UV مقاوم هستند.

مایکوپلاسما پنومونیه توسط پروتئین P۱ به سطح سلول‌های میزبان متصل می‌شود. در حقیقت پاتوژن خارج سلولی است و به واسطه تولید H_2O_2 و گلیکوپروتئین‌های موجود در غشای سلولی که همانند سوپر آنتی‌ژن عمل می‌کنند به سلول آسیب می‌زند.

بیماری‌زایی: انتقال از طریق قطرات تنفسی است، عمدتاً عفونت در افراد ۱۵ـ۵ سال دیده می‌شود و معمولاً دوره کمون دو هفته‌ای دارد و ممکن است به صورت یک سرماخوردگی ساده، برونشیت و پنومونی آتیپیک ظاهر شود. از علایم عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم سندرم استیونس جانسون و سندرم گلین باره است. تفاوت‌های پنومونی آتیپیک (با عامل مایکوپلاسما پنومونیه) با پنومونی تیپیک:

۱ـ در پنومونی آتیپیک بررسی مستقیم ارزشمند نیست زیرا مایکوپلاسما دیواره ندارد و رنگ نمی‌گیرد.

۲ـ در پنومونی آتیپیک، کشت ارزش تشخیصی ندارد زیرا کلونی بعد از دو هفته ظاهر می‌شود.

ویژگی‌های کشت مایکوپلاسما

محیط کشت مایکوپلاسما باید حاوی سرم و عصاره مخمر باشد که سرم، استرول یا کلسترول را تأمین می‌کند و عصاره مخمر پیش‌ساز بازهای پورینی و پیریمیدینی را تهیه می‌کند. ۱۰ – ۵% CO_2 رشد مایکوپلاسما پنومونیه را تحریک می‌کند. کلونی مایکوپلاسماها به صورت تخم‌مرغ نیمرو ظاهر می‌شود به جز *مایکوپلاسما پنومونیه* که یک دست و متخلخل (توت‌مانند) است. این کلونی درون آگار فرو می‌رود برای مشاهده آن به لوپ یا ذره‌بین نیاز است و برای پاساژ یا برداشت کلونی باید مقداری از ژلوز (محیط جامد) را هم برداریم.

نکته۳: تأیید کلونی مایکوپلاسما پنومونیه توسط ایمونوفلورسانس، هماگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز خوکچه و عدم رشد در حضور آنتی‌بادی اختصاصی انجام می‌شود.

نکته۴: عدم رشد در حضور آنتی‌بادی اختصاصی در مایکوپلاسماها و کلامیدیاها دیده می‌شود.

مدرسان شریف

فصل اول

«کلیاتی از دانش انگل‌شناسی»

درسنامه (۱): انگل و انواع آن

انگل چیست؟

واژه یونانی Parasite به معنای انگل برگرفته از دو ریشه‌ی Para به معنای دیگر و Sitos به معنای غذا (خوردن) است. یک موجود انگل یا دگرخوار، موجود زنده‌ای است که به طور دائم (انگل‌های اجباری) و یا موقت (انگل‌های اختیاری و عادت‌پذیر) در سطح و یا داخل بدن موجودات زنده دیگر که میزبان (host) نامیده می‌شود زندگی کرده و از آن موجود، غذا تأمین می‌کند. زندگی انگلی همواره تداعی‌کننده یک رابطه‌ی بیماری‌زایی (Pathogenicity) نیست، بلکه موجود انگل می‌تواند طی یک رابطه‌ی هم‌سفرگی (Commensalisme) از میزبان خود سود برده، بدون آنکه به او آسیبی برساند.

انواع انگل‌ها

انگل‌ها را می‌توان به طور کلی براساس جایگاه‌هایی که برای زندگی در رابطه با میزبان اختیار می‌کنند به دو دسته‌ی اندوپارازیت (که در داخل بدن میزبان زندگی می‌کنند)، مانند کرم‌های روده و اکتوپارازیت (که در سطح بدن میزبان زندگی می‌کنند)، مانند شپش و کک تقسیم‌بندی کرد. اندوپارازیت‌ها خود می‌توانند به دو صورت انگل‌های درون‌سلولی و انگل‌های برون‌سلولی (که درون مایعات بدن یا در زمینه‌ی بین سلولی یافت می‌شوند) وجود داشته باشند.

انگل‌ها را با در نظر گرفتن زمینه‌های بالینی و زیست‌شناسی به سه دسته‌ی کلی زیر طبقه‌بندی می‌کنند:

۱ـ تک‌یاخته‌ها (Protozoa): برگرفته از دو ریشه یونانی proto به معنای ابتدایی و zoa یا جانور

۲ـ کرم‌ها (Helminths)

۳ـ بندپایان (Arthropoda)

این سه شاخه از مهم‌ترین جانوران بی‌مهره‌ای هستند که علاوه بر اهمیت در دانش پزشکی، به لحاظ زیست محیطی نیز حائز اهمیت‌اند. این فصل مروری کوتاه به انگل‌های تک‌یاخته‌ای و کرمی مهم به لحاظ بالینی خواهد داشت. بندپایان انگلی توسط حشره‌شناسان مورد مطالعه قرار می‌گیرند.

مثال۱: کدام‌یک از گزینه‌های زیر در رابطه با انگل‌ها و زندگی انگلی صحیح است؟

۱) بقای یک انگل تنها به آلوده کردن میزبان بستگی دارد.

۲) عموماً بین تلاش پیوسته‌ی میزبان برای نابودی انگل و مکانیسم‌های مقاومت انگل، یک حالت تعادل ایجاد می‌شود.

۳) از دیدگاه تکاملی، تمام موجودات انگل از یک جد مشترک که انگل بوده است، اشتقاق یافته‌اند.

۴) عمدتاً انگل‌ها علاقه‌مند هستند که میزبان خود را نابود کنند و یا حداقل میزبان خود را بیمار کنند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» بقای یک انگل به آلوده کردن میزبان و تولید مثل در محیط بدن میزبان بستگی دارد، به علاوه نسل بعدی انگل نیز باید بتواند از میزبان بیرون آمده و چرخه را تکرار کند. به لحاظ تکاملی به نظر می‌رسد تمام انگل‌ها از اشکال آزادزی (free living) اشتقاق یافته‌اند، به نحوی که برخی از آنها به موجودات بزرگ‌تر تبدیل شده‌اند و برخی دیگر که به این اندازه تکامل نیافته بودند، راه تهاجم به موجودات دیگر را انتخاب کردند. عموماً انگل‌ها علاقه‌ای به نابودی میزبان خود نداشته و باید تلاش کنند تا میزبان نتواند آنها را نابود سازد. اگر میزبان در نتیجه‌ی حضور انگل از بین برود، سودی برای انگل نخواهد داشت؛ چون انگل منبع کسب انرژی و تغذیه خود را از دست می‌دهد. انگل‌ها از طرق مختلفی مانند پوست، به طور غیر مستقیم (از طریق نیش حشرات) و یا مستقیماً از طریق مخاطات واقع در دستگاه تنفسی،گوارش، ادراری ـ تناسلی می‌توانند وارد بدن گشته و از طریق مواد بالینی مختلف مانند خون، ادرار و مدفوع، خلط و ... از بدن میزبان خارج شوند.

فصل دوم

«تک‌یاخته‌ها، ساختمان سلولی، طبقه‌بندی و بیماری‌زایی»

درسنامه (۱): ویژگی‌های مشترک تک‌یاخته‌ها

تک‌یاخته‌ها (Protozoa) عمدتاً موجودات هتروتروفی هستند که تمام اعمال حیاتی آنها درون یک سلول انجام می‌شود، برخی زندگی آزاد داشته و برخی دیگر نیز انگل سایر موجودات‌اند. برخی تک‌یاخته‌ها نظیر اوگلنا، با دارا بودن کلروپلاست قادر به فتوسنتز بوده و لذا یک فتواتوتروف است.

تک‌یاخته‌ها عمدتاً در ابعاد $2-100\ \mu m$ یافت می‌شوند، این یوکاریوت‌های تک‌سلولی دارای برخی ویژگی‌های ساختمانی خاص هستند که در ادامه به آنها اشاره می‌شود.

هسته

تک‌یاخته‌ها دارای یک یا چند هسته بوده که متراکم است و در شاخه‌های مختلف اشکال متفاوتی دارد؛ مثلاً در مژه‌داران گرد و کوچک است، مرکزی بوده و ساختار وزیکولار (حبابی) دارد که در وسط آن کاریوزوم قرارگرفته است. بر روی غشای هسته از سمت داخل، مواد کروماتینی وجود دارد که بافتی یکنواخت و خشن دارند، به این مواد **کروماتین محیطی یا Peripheral chromatin** گفته می‌شود. از کاریوزوم به سمت غشای هسته، شبکه‌ای وجود دارد که چنانچه روی این شبکه مواد کروماتینی باشد، گفته می‌شود که هسته دارای شبکه کروماتینی است و در غیر این صورت، هسته فاقد شبکه کروماتینی است.

سیتوپلاسم

تک‌یاخته‌ها سیتوپلاسم دو قسمتی دارند؛ اندوپلاسم، یک ناحیه آبکی و گرانولار بوده که به وسیله‌ی اکتوپلاسم که منطقه‌ای ژلاتینی و متراکم و شفاف است احاطه شده است. این دو بخش از نظر جنس مشابه اما از نظر ترکیب متفاوت‌اند، به نحوی که ارگانل‌های حرکتی در اکتوپلاسم و سایر ارگانل‌ها همراه با هسته در اندوپلاسم جای دارند. اکتوپلاسم در حرکت، جذب مواد غذایی، دفع، تنفس و حفاظت از ارگانیسم نقش دارد.

واکوئل

در ناحیه‌ی اندوپلاسم دو نوع واکوئل یافته می‌شود؛ واکوئل غذایی و واکوئل انقباضی. واکوئل‌های غذایی به دنبال احاطه شدن ذرات غذا به وسیله‌ی غشای سلولی طی فرآیندهای فاگوسیتوز یا پینوسیتوز تولید می‌شوند. آنزیم‌های گوارشی به درون این واکوئل‌ها تخلیه شده و مواد غذایی محلول به درون اندوپلاسم جذب می‌شوند و مواد زائد جامد از طریق این واکوئل‌ها از غشای سلول خارج می‌شوند. واکوئل‌های انقباضی که از اندامک‌های اختصاصی تک‌یاخته‌ها هستند، در جذب آب و نیز دفع آن از سیتوپلاسم به منظور حفظ تعادل فشار اسمزی سلول نقش دارند.

مثال۱: هسته در کدام یک از تک‌یاخته‌های زیر ساختار وزیکولار دارد؟

۱) تاژکداران ۲) مژکداران ۳) آمیب‌ها ۴) هاگداران

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» تعداد هسته‌ها و اشکال متفاوت آنها، از ویژگی‌هایی است که در طبقه‌بندی تک‌یاخته‌ها به کار می‌رود. به طوری که مژه‌داران، دارای هسته‌ی گرد و کوچک و مرکزی هستند که ساختار وزیکولار (حبابی) داشته و در وسط آن کاریوزوم قرار دارد.

مثال۲: در ناحیه‌ی ..... از سیتوپلاسم تک‌یاخته‌ها، ..... نوع واکوئل ..... وجود دارد.

۱) اکتوپلاسم ـ سه ـ غذایی، ذخیره‌ای و دفعی ۲) اندوپلاسم ـ یک ـ دفعی

۳) اندوپلاسم ـ دو ـ غذایی و انقباضی ۴) اکتوپلاسم ـ دو ـ ذخیره‌ای و انقباضی

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» در ناحیه‌ی اندوپلاسم در سیتوپلاسم تک‌یاخته‌ها، دو نوع واکوئل غذایی و انقباضی وجود دارد که اولی در جذب مواد غذایی و دفع مواد زائد متابولیکی و دیگری در حفظ تعادل اسمزی سلول نقش دارند.

اجسام اگزوزیتل و جسم کاستا: ساختارهای سلولی هستند که برای تک‌یاخته به ترتیب به منزله ستون فقرات و دنده‌ها می‌باشند.

وسیله حرکتی: در تک‌یاخته‌ها سه نوع وسیله حرکتی وجود دارد که شامل پای کاذب، تاژک و مژه می‌باشند. منشأ تاژک و مژه‌ها از بخشی به نام **جسم پایه (بلفاروپلاست)** می‌باشد که این ارگانل خود از سانتریول منشأ گرفته و علاوه بر پروتوزوآها، در جلبک‌ها نیز یافت می‌شود. Basal body یا جسم پایه در این سلول‌ها در مجاورت بخشی موسوم به کینتوپلاست قرار گرفته و از این طریق با اسکلت سلولی در تماس قرار می‌گیرد.

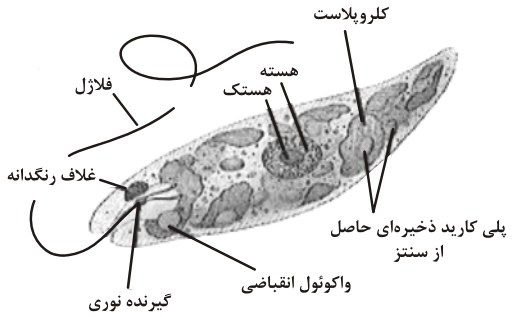
نکته ۱: کینتوپلاست، توده‌ای دیسکی‌شکل از DNA حلقوی درون یک میتوکندری بزرگ است که حاوی نسخه‌های زیادی از ژنوم میتوکندریایی است.

مژه‌ها در مقایسه با تاژک‌ها کوتاه‌ترند، اما تعداد بیشتری دارند؛ به علاوه مژه‌ها دارای یک مرکزیت خاص در سلول هستند.

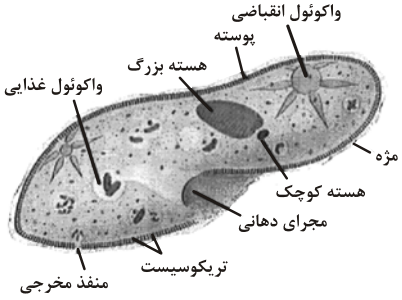
دهان سلولی (Cytostome): در مژه‌داران، مواد غذایی با حرکت موجی مژک‌ها به طرف دهان سلولی حرکت کرده و از آن طریق وارد سلول می‌شوند و از طریق مخرج (Cytopyge) مواد زائد دفع می‌شوند. در دیگر تک‌یاخته‌های فاقد دهان سلولی، مواد جامد به صورت فاگوسیتوز و مواد محلول به صورت پینوسیتوز وارد سلول شده و مواد دفعی از طریق واکوئول دفع می‌شود.

تریکوسیست (Trichocyst): از ساختارهای منحصر به فرد غشای تک‌یاخته‌های مژه‌دار و تاژکدار بوده که متشکل از یک حفره و یک دسته رشته‌های بلند و باریک که در پاسخ به محرک‌ها خارج می‌شوند. این ساختار می‌تواند محدود به منطقه‌ی خاصی از غشا بوده و یا در سرتاسر آن پراکنده باشد. این رشته‌های پروتئینی سمی نبوده و به کمک یک ساختمان شبکه‌ای که به خود می‌گیرند قادرند تا شکار را به دام بیندازند. این ساختار می‌تواند در متصل کردن تک‌یاخته به محلی خاص در حین تغذیه آن نقش داشته باشد، این نقش تریکوسیست‌ها در پارامسی به خوبی مطالعه شده است.

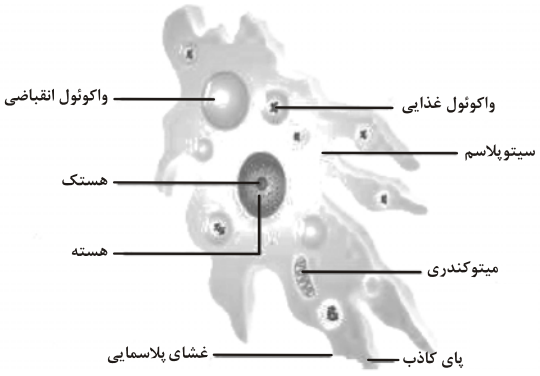
توکسی‌سیست (toxicyst): از دیگر اندامک‌های ویژه پروتوزوآها بوده که بسیار شبیه به تریکوسیست‌ها است، با این تفاوت که رشته‌های پروتئینی تولیدشده از این ساختار آغشته به سموم بوده که قادر به فلج کردن یا هضم شکار می‌باشد.



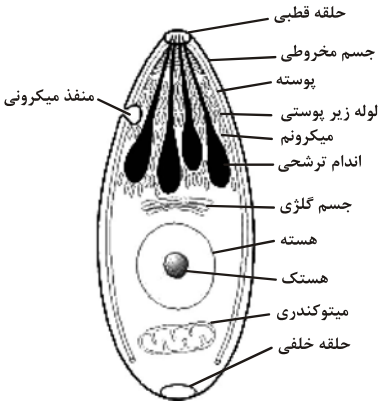
«ساختمان یک تاژکدار»



«ساختمان یک مژکدار»



«ساختمان یک آمیب»



«ساختمان یک اسپوروزوآ»

مثال۳: تاژک و مژه‌ها در تک‌یاخته‌ها، از کدام‌یک از بخش‌های زیر منشأ گرفته‌اند؟

۱) تریکوسیست ۲) جسم کاستا ۳) کینتوپلاست ۴) بلفاروپلاست

پاسخ: گزینه «۴» منشأ تاژک و مژه‌ها از بخشی به نام جسم پایه (بلفاروپلاست) می‌باشد که این ارگانل خود از سانتریول منشأ گرفته و علاوه بر پروتوزوآها، در جلبک‌ها نیز یافت می‌شود.

مثال۴: مدل تغذیه‌ای هضم مواد غذایی در کدام گروه از میکروارگانیسم‌های زیر دیده می‌شود؟ (زیست گیاهی و جانوری ـ سراسری۹۴)

۱) قارچ‌ها ۲) تک‌یاخته‌ها ۳) باکتری‌ها ۴) آرکی‌ها

پاسخ: گزینه «۲» اندامک تغذیه‌ای در تک‌یاخته‌ها، از راه انتشار از غشاء به دست می‌آید. در آمیب‌ها موادغذایی از راه آندوسیتوز وارد می‌شود. بعضی تک‌یاخته‌ها دارای سیتوستوم یا دهان سلولی هستند که در قسمت قدام تک‌یاخته وجود داشته و مواد غذایی از طریق آن وارد بدن تک‌یاخته می‌شود.

فصل سوم

«کرم‌ها، طبقه‌بندی، ساختمان و بیماری‌زایی»

درسنامه (۱): انواع کرم‌ها

کرم‌ها (Helminths) شاخه‌ای متعلق به سلسله‌ی جانوران و زیرسلسله‌ی metazoa بوده که براساس مورفولوژی و راه انتقال طبقه‌بندی می‌شوند. بر اساس مورفولوژی، کرم‌ها را در سه گروه کلی قرار می‌دهند:

✓ platyhelminths (flat worms) یا کرم‌های پهن که دو رده دارند: این کرم‌ها در سطح پشتی ـ شکمی پهن می‌باشند.

۱ـ Cestoda یا Tape worm یا کرم‌های نواری

۲ـ Termatoda یا fluke یا کرم‌های برگی‌شکل

✓ Nematoda (کرم‌های گرد یا نخی‌شکل): بدن آنها تقارن داشته و جنس‌های نر و ماده مجزا دارند.

✓ Acanthocephala

براساس راه انتقال، سازمان جهانی بهداشت (WHO) کرم‌ها را به ۵ گروه تقسیم می‌کند:

۱ـ کرم‌های انتقال‌یافته توسط حلزون (snail) که مرحله‌ی لاروی در حلزون ایجاد می‌شود و میزبان نهایی از راه پوست یا مواد غذایی آلوده می‌شود، مثل *فاسیولا* و *شیستوزوماها*.

۲ـ کرم‌های انتقال‌یافته توسط بندپایان (Arthropoda) که مرحله‌ی لاروی در بندپایان بوده و از طریق نیش بندپا یا خوردن آن به میزبان نهایی منتقل می‌شود، مثل فیلرها.

۳ـ کرم‌های انتقال‌یافته توسط خاک که تخم کرم‌ها تا رسیدن به فاز عفونت‌زا در خاک می‌ماند و با خوردن خاک آلوده، میزبان نهایی را مبتلا می‌سازند، مانند *آسکاریس* و کرم‌های قلابدار.

۴ـ کرم‌های منتقل‌شده توسط گوشت و غذا که مرحله لاروی را در عضلات میزبانان واسط سپری کرده و میزبان نهایی با خوردن گوشت آلوده، آب یا سبزیجات حاوی تخم آلوده می‌شوند، مثل *تنیاها* یا *اگنوکوکوس*.

۵ـ کرم‌های منتقل‌شده به وسیله‌ی تماس مستقیم که روش انتقال آنها مدفوعی ـ دهانی بوده، نیاز به میزبان واسط ندارند و تخم دفع‌شده مستقیماً آلوده‌کننده است، مثل *اکسیور* و *هایمنولپسیس*.

مثال۱: کرم‌های قلاب‌دار از چه طریق انتقال می‌یابند؟

۱) حلزون‌ها ۲) خاک ۳) بندپایان ۴) مواد غذایی

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» کرم‌های قلاب‌دار و *آسکاریس*‌ها، جزء کرم‌های انتقال‌یافته از طریق خاک هستند که تخم کرم‌ها تا رسیدن به فاز عفونت‌زا در خاک می‌ماند و با خوردن خاک آلوده، میزبان نهایی را مبتلا می‌سازند.

درسنامه (۲): Cestoda

این کرم‌ها که به کرم‌های نواری یا روبانی موسوم‌اند، دارای بدن سه قسمتی شامل **سر (scolex)**، **گردن (neck)** و **تنه (strobila)** می‌باشند، سفید یا شیری‌رنگ بوده و اندازه‌ای در حدود ۰/۵ تا چندین متر دارند. روی سر ممکن است بخش‌های مختلفی مانند **بادکش (sucker)**، **بوتریا** و **بوتریدیا**، **خرطوم (Rostellum)** و یک یا چند ردیف **قلاب (hook)** قرار گرفته باشند. بادکش‌ها عضلات سختی هستند که این کرم‌ها با کمک آنها به جدار روده میزبان نهایی می‌چسبند، در انواع انسانی سستودها، معمولاً ۴ بادکش وجود دارد. ممکن است به جای بادکش بوتریا (عضلات ضعیفی که به صورت ۲ شکاف طولی یکی در سطح پشتی و دیگری شکمی قرار دارند) یا بوتریدیا که ساختمان چتر مانند دارند، داشته باشند.

نکته ۱: ساختمان بدن سستودها، بندبند بوده (Segmented) و بندها از طریق سلول‌های زایای موجود در بخش گردن ساخته می‌شوند، بنابراین بخش سر در حضور گردن بندسازی را ادامه می‌دهد. به هریک از بندهای تنه، پروگلوتید گفته می‌شود.

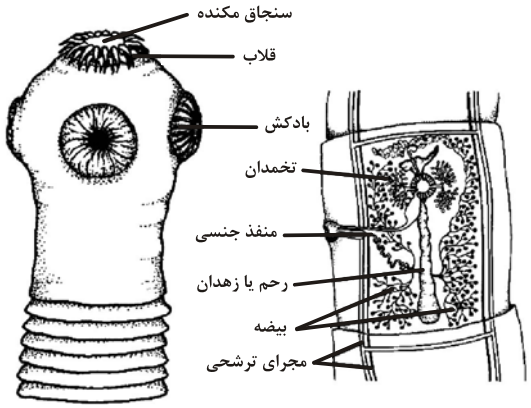
پروگلوتیدها به طور دائم تا زمانی که بخش سر متصل مانده و زنده است تشکیل می‌گردند. بندهای ابتدایی نزدیک گردن نارس‌اند و فاقد اعضای تناسلی هستند. این کرم‌ها عمدتاً هرمافرودیت (دو جنسی) بوده و در بندهای رسیده‌ی آنها ابتدا اعضای تناسلی نر و سپس ماده ساخته می‌شوند که پس از لقاح، سایر اعضای تناسلی از بین رفته و فقط در بندهای انتهایی، رحم پر از تخم باقی می‌ماند که به این بند، **بند گلاوید یا بارور** گفته می‌شود.

سطح بدن این کرم‌ها بر خلاف نماتدها که از کوتیکول سخت و غیر فعال پوشیده شده‌اند و نیاز به پوست‌اندازی دارند، از تگومنت پوشیده شده که پوششی فعال بوده و در جذب و دفع مواد شرکت می‌کند. بنابراین دستگاه گوارش حقیقی نداشته و تگومنت این نقش را در سستودها به عهده دارد.

در سستودها، اعضای تناسلی ماده از یک تخم‌دان دوبخشی در هر بند ساخته شده که از آنها یک لوله به کیسه‌ی اووتیپ ختم شده و اووتیپ از یک سمت به غدد وتیلوژن و از سمت دیگر از طریق مجرایی که به منزله واژن عمل می‌کند، به سوراخ تناسلی منتهی می‌شود. از تخم‌دان، مجرای رحم نیز خارج می‌شود؛ در بخشی از واژن، اسپرم ذخیره می‌شود.

در سستودها به استثنای *Hymenolepsis* که سه بیضه دارد، بقیه بیضه‌های زیادی دارند که به وسیله‌ی مجاری به هم وصل می‌شوند و در انتها توسط یک مجرای واحد به عضو تناسلی یا cirrus وصل و در نهایت به سوراخ تناسلی مشترک ختم می‌شوند. سوراخ تناسلی عموماً در یک طرف کناری بندها تشکیل می‌شود و در صورتی که در دو طرف جانبی وجود داشته باشند، نشان می‌دهد که کرم در هر بند یک جفت دستگاه تناسلی دارد.

سستودها، دستگاه گردش خون ندارند. دستگاه عصبی در این کرم‌ها از ده جفت عصب در سطح شکمی و پشتی و مغز که از به هم پیوستن رشته‌های عصبی در سر ایجاد می‌شود، تشکیل شده است. مجاری دفعی در این کرم‌ها به شکل طناب‌های جانبی در سطح شکمی و پشتی امتداد یافته‌اند که در بند آخر به مثانه ختم می‌شوند، دارای دستگاه ترشحی ویژه با سلول‌هایی به نام سلول‌های شعله‌ای یا flame cell هستند.



«ساختمان اسکولکس (چپ) و پروگلوتید (راست) در Cestoda»

فضای بین ارگان‌های مختلف را پارانشیمی از جنس یون‌های مختلف پر می‌کند. این یون‌ها که در مجموع اجسام آهکی یا calcareous bodies نامیده می‌شوند شامل یون‌های فسفات، سولفات و کلسیم بوده که همراه با مواد آلی می‌باشند که احتمالاً در تنظیم pH که با کاهش آن به دنبال فعالیت‌های متابولیکی روبرو هستیم، نقش دارند.

همه‌ی سستودها به طور مشترک بی هوازی بوده و در دستگاه گوارش میزبان زندگی می‌کنند و اشکال مختلف لاروی دارند و شامل این موارد هستند:

- **پروسرکوئید:** لاروی است که در بدن بند پا به وجود آمده و فاقد سر و گردن می باشد، البته در قسمت قدامی قلاب‌هایی دیده می‌شود.
- **پلروسرکوئید:** در ماهی‌ها که به عنوان میزبان واسط دوم عمل می‌کنند، سر به همراه دو عدد بوتریا ساخته می‌شود، اما تنه بندبند نیست.
- **سیستی سرکوئید:** عمدتاً در بندپایان تشکیل شده و سر و یک دم دارد.
- **سیستی سرکوس:** کیسه‌ای پر از مایع است که سر درون آن فرو رفته است.
- **سونوروس** هم لاروی است متشکل از کیسه‌ای پر از مایع اما با یک سر ابتدایی که از لایه‌ی زایا به وجود آمده و لکه‌های سفیدرنگی روی کیسه دیده می‌شود.
- **کیست هیداتید:** از لایه زایا ابتدا کیسه‌های زایا (brood capsule) و سپس سر به وجود می‌آید.
- **استربیلوسرکوس:** سر، گردن و چند بند دارد که انتهای بند به کیسه‌ی پر از مایع ختم می‌شود.

سستودها، شامل دو راسته می‌باشند:

- *Cyclophylidae* که بادکش و جنین ۱۰–۶ قلابه دارند که به آن آنکوسفر می‌گویند.
- *Pseudophylidae* که بوتریا دارند. در ادامه به مهم‌ترین سستودهای انگلی در انسان اشاره می‌کنیم.

فصل اول

« مقدمه‌ای بر میکروب‌شناسی محیطی و اکولوژی میکروبی»

درسنامه (۱): تعریف میکروب‌شناسی محیطی

میکروب‌شناسی محیطی شاخه‌ای از علم میکروبیولوژی است که زیر مجموعه اکولوژی میکروبی به شمار می‌رود. اکولوژی میکروبی را به عنوان علم تأثیر متقابل میکروارگانیسم‌ها با محیط‌های زنده و غیر زنده اطراف آنها و چگونگی و انواع این روابط می‌شناسند، در واقع در اکولوژی ارتباطات موجودات زنده با هم در یک محیط مطرح است که ارتباطات مثبت و منفی را شامل می‌شود. البته بیشترین ارتباطی که موجودات زنده با هم دارند ارتباط منفی بوده و شایع‌ترین ارتباط منفی هم رقابت می‌باشد.

پدر اکولوژی میکروبی، دانشمند هلندی به نام Martinus Beijerinck می‌باشد که برای نخستین بار ارتباطات بین میکروارگانیسم‌ها و موجودات پیشرفته را نشان داد. او برای اولین بار به نقش ارتباط همزیستی برخی باکتری‌ها با ریشه گیاهان در تثبیت ازت اشاره کرد و گونه‌هایی از باکتری‌های احیاکننده و اکسیدکننده گوگرد را از خاک جداسازی نمود.

دانشمند روسی به نام Sergei Winogradsky، پدر علم میکروبیولوژی محیطی می‌باشد که در زمینه‌های چرخه عناصر نیتروژن و گوگرد و معرفی باکتری‌های آهن تلاش‌های بسیاری نمود.

نکته ۱: استفاده از واژگان اتوتروفی و لیتوتروفی توسط این دانشمند پیشنهاد گردید و وی نخستین بار فرم دیگری از زندگی اتوتروفی در حیات میکروارگانیسم‌ها تحت عنوان شیمیولیتوتروفی را مطرح کرد. این گروه از میکروارگانیسم‌ها، برای تولید ATP به نور احتیاج ندارند و در تاریکی هم قادرند CO_2 را به ماده آلی تبدیل کنند، آنها از اکسیداسیون ترکیبات معدنی انرژی به دست می‌آورند و از این انرژی در تولید مواد آلی استفاده می‌کنند.

در میکروبیولوژی محیطی هدف، شناخت میکروارگانیسم‌های موجود در محیط است که این محیط‌ها مشتمل بر آب، خاک و هوا بوده که هر یک بر اساس نوع فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی خود، تنوع و تعداد معینی از میکروارگانیسم‌ها را در خود جای داده‌اند.

البته فراوان‌ترین و متنوع‌ترین محیط‌ها در واحد سطح در بین اکوسیستم‌های مختلف خاک است. به طوری که در هر گرم خاک غنی از ترکیبات آلی تا ۴۰۰۰ گونه‌ی باکتریایی شناسایی شده است که این مقدار می‌تواند به 10^{10} عدد باکتری، با احتساب گونه‌های غیر قابل کشت برسد. البته از آنجا که سطح کره زمین بیش از ۷۰%، از آب پوشیده شده است، احتمالاً در کل آب‌های سطح جهان، تعداد کل میکروارگانیسم‌ها، از تعداد کل میکروارگانیسم‌های موجود در خاک بیشتر است.

نکته ۲: در رابطه با میکروارگانیسم‌های موجود در هوا باید گفت که در هوا میکروارگانیسم ساکن نداریم، نه به این معنا که در هوا میکروارگانیسمی وجود ندارد، بلکه هوا، زیستگاه دائمی برای میکروارگانیسم‌ها محسوب نشده و این موجودات زنده از خاک یا آب اشتقاق یافته‌اند و هوا نمی‌تواند از حیات میکروبی حمایت کند.

همان‌طور که اشاره شد، آنچه نوع محیط را تعیین می‌کند، فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی‌اند که روی فرآیندهای حیاتی میکروارگانیسم‌ها اثر می‌گذارند. این فاکتورها شامل دما، pH، a_w (water activity)، فشار اسمزی، فشار هیدروستاتیک و ... می‌باشند. در یک تقسیم‌بندی کلی می‌توان محیط‌ها را به دو گروه کلی محیط‌های افراطی (extreme) و محیط‌های غیرافراطی یا معمولی (non extreme) طبقه‌بندی کرد. محیط افراطی محیطی است که برای اکثر موجودات زنده مانند انسان، حیوانات، گیاهان و ... محیط نامناسبی جهت زندگی و یا غیرقابل زندگی می‌باشد، لذا بیشترین تنوع موجودات زنده در محیط‌های غیراکستریم بوده، چرا که محیط اکستریم شرایط را برای زندگی دشوار و تنوع را کم می‌کند.

نکته۳: بسته به نوع میکروارگانیسم و نوع محیطی که در آن رشد می‌یابد از روش‌های مختلفی جهت جداسازی میکروارگانیسم‌ها می‌توان استفاده کرد. به‌عنوان مثال پیش‌تیمار (Pretreatment) می‌تواند به کلیه روش‌های فیزیکی که به صورت هدفمند جهت بررسی و مطالعه گروه خاصی از میکروارگانیسم‌ها و حذف گروه‌های دیگر در یک نمونه به کار می‌رود اشاره کند. سالم‌سازی یک نمونه (Sanitation) به روش‌های حذف یا کاهش میزان میکروارگانیسم‌های پاتوژن و مضر به یک حد قابل قبول اشاره می‌کند در حالی که سترون‌سازی (Sterilization) به حذف کلیه اشکال حیات میکروبی در یک نمونه به منظور افزایش زمان ماندگاری آن اشاره دارد. غنی‌سازی (Enrichment) به کاربرد گروه ویژه‌ای از مواد در محیط کشت به منظور رشد گروه خاصی از میکروارگانیسم‌ها اشاره می‌کند.

نکته۴: البته ناگفته نماند که بیشترین محیط‌های اطراف ما را محیط‌های اکستریم تشکیل می‌دهند. بنابراین اکستریم را بر اساس میزان رشد موجود زنده تعریف می‌کنیم، به طوری که در محیط‌های اکستریم میزان رشد موجود زنده کند یا متوقف می‌گردد. در محیط‌های غیر اکستریم حداکثر رشد و تنوع موجودات زنده را داریم، هر چند در مقابل محدوده‌ی اکستریم‌ها، فضای کوچکی را اشغال کرده‌اند.

مثال۱: کدام یک از محیط‌های زیر از حیات میکروارگانیسم‌ها حمایت نمی‌کند؟

۱) اعماق اقیانوس‌ها ۲) خاک ۳) هوا ۴) آب‌های پرشور

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» اگرچه در هوا هم میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شوند، اما هوا از حیات میکروبی حمایت نکرده و زیستگاه دائمی برای آنها محسوب نمی‌شود.

مثال۲: در یک پروژه غربال‌گری باکتری تجزیه‌کننده سم آترازین، نمونه خاک‌های جمع‌آوری شده به مدت ۲ ساعت در دمای $120^{\circ}C$ در آون حرارت داده شده است. به این فعالیت چه می‌گویند؟ (سراسری۹۲)

۱) پیش‌تیمار (pretreatment) ۲) غنی‌سازی (Enrichment) ۳) سالم‌سازی (sanitization) ۴) سترون‌سازی (sterilization)

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» پیش‌تیمار یا pretreatment، می‌تواند به کلیه روش‌های فیزیکی که به صورت هدفمند جهت بررسی و مطالعه گروه خاصی از میکروارگانیسم‌ها و حذف گروه‌های دیگر در یک نمونه به کار می‌رود اشاره کند. سالم‌سازی یک نمونه (sanitization) به روش‌های حذف یا کاهش میزان میکروارگانیسم‌های پاتوژن و مضر به یک حد قابل قبول اشاره می‌کند، در حالی که سترون‌سازی (sterilization) به حذف کلیه اشکال حیاتی میکروبی در یک نمونه به منظور افزایش زمان ماندگاری آن اشاره دارد. غنی‌سازی (enrichment) به کاربرد گروه ویژه‌ای از مواد در محیط کشت به منظور رشد گروه خاصی از میکروارگانیسم‌ها اشاره می‌کند.

فصل دوم

«پاسخ میکروارگانیسم به عوامل محیطی»

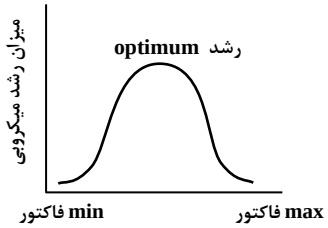
درسنامه (۱): نقش عوامل محیطی در رشد میکروارگانیسم‌ها

پاسخ میکروارگانیسم‌ها به عوامل محیطی مختلف، متفاوت بوده و به واسطه‌ی این تفاوت‌ها است که تنوع بالایی در فیزیولوژی میکروارگانیسم‌ها مشاهده می‌شود. به عنوان مثال بیشترین تنوع میکروبی درون خاک مربوط به باکتری‌های گرم منفی است اما خاک‌های مختلف ممکن است با یکدیگر تفاوت داشته باشند. یک نوع خاک ممکن است اسیدی یا قلیایی و غنی از مواد آلی یا فقیر از مواد آلی باشد؛ ممکن است در یک نقطه‌ی خاص تعداد باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌ها بالا باشد ولی در مجموع تنوع گرم منفی‌ها از گرم مثبت‌ها در محیط خاکی بالاتر است. به طور کلی تنوع میکروبی در خاک و سایر محیط‌ها را فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی که روی روند و فرآیندهای حیاتی موجود زنده مؤثرند تعیین می‌کنند که می‌توانند رشد را تسریع یا کند نمایند. این فاکتورها شامل دما، pH، پتانسیل اکسیداسیون و احیا، رطوبت، فشار اسمزی، پرتوها، میزان مواد سمی موجود در محیط و میزان املاح یک محیط می‌باشد. براساس این فاکتورها می‌توان میکروارگانیسم‌ها را تقسیم‌بندی فیزیولوژیک کرده و آنها می‌توانند نسبت به تغییرات این فاکتورها پاسخی از لحاظ میزان رشد بدهند.

نکته ۱: در یک میزان مشخصی از هر فاکتور، میکروارگانیسم نسبت به آن فاکتور، رشد بهینه دارد. هم چنین میکروارگانیسم می‌تواند در مقدار معینی از فاکتور که میزان کمینه و بیشینه آن فاکتور نام دارد، رشد کند اما رشد آن کند می‌باشد.

بنابراین پاسخ میکروارگانیسم‌ها به تغییرات هر گونه فاکتوری در محدوده‌ی بین دو حد کمینه و بیشینه قرار گرفته و پاسخی کاملاً دینامیک است.

اگر منحنی رشد هر میکروارگانیسم را بسته به تغییر میزان هر فاکتور تجسم کنیم، منحنی به فرم مقابل خواهیم داشت.



«نتیجه تغییر میزان فاکتورهای محیطی در رشد میکروارگانیسم‌ها»

در این منحنی زنگوله‌ای، رشد بهینه یا optimum در مقداری از فاکتور ایجاد می‌شود که در آن مقدار، میکروارگانیسم بیشترین فعالیت رشد و بالاترین قابلیت متابولیسم را نشان دهد. در حرکت فاکتور از میزان بهینه به سمت min وmax شرایط برای رشد میکروبی از مطلوب به سخت تغییر می‌کند. اگر میزان فاکتور حتی از حد کمینه هم کمتر شود، فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم متوقف شده، اما ممکن است سلول زنده باشد، یعنی سلول رویشی دیگر سوخت و سازی ندارد. با افزایش میزان فاکتور از حد بیشینه هم همین حالت رخ می‌دهد و رشد در آستانه کمینه و بیشینه به حداقل مقدار خود می‌رسد.

در نقطه‌ای خیلی بالاتر از حد آستانه بیشینه و یا خیلی پایین‌تر از حد کمینه که شرایط زندگی برای اکثر میکروارگانیسم‌ها غیر ممکن می‌باشد، یک گروه از میکروارگانیسم‌ها وجود دارند که در آن شرایط رشد مناسبی دارند. این‌ها همان محیط‌های اکستریم هستند که میکروارگانیسم‌های اکستریموفیل (افراطی دوست) را درخود جای داده‌اند. برای فاکتورهای موجود در این محیط نیز می‌توان میزان رشد میکروبی را به صورت فوق در نظر گرفت که در آن رشد میان دو حد آستانه کمینه و بیشینه هر فاکتور به صورت یک منحنی زنگوله‌ای در حال نوسان است.

مثال۱: در محیط‌های خاکی، به طور کلی تنوع کدام گروه از میکروارگانیسم‌ها بالاتر است؟

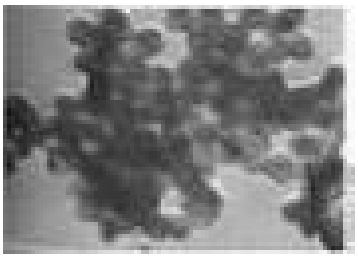
۱) قارچ‌ها ۲) باکتری‌های گرم منفی ۳) باکتری‌های گرم مثبت ۴) مخمرها

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» اگرچه خاک‌های مختلف براساس فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی سازنده‌ی آنها متنوع‌اند، اما در مجموع باکتری‌های گرم منفی فراوان‌ترین میکروارگانیسم‌های سازنده‌ی خاک هستند.

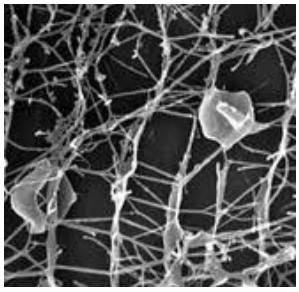
میکروارگانیسم‌هایی که در شرایط غیراکستریم زندگی می‌کنند و یا به عبارتی میکروارگانیسم‌های مزوفیل، انرژی بیشتری را در راه تکثیر خود صرف کرده و سریع رشد می‌کنند ولی اکستریموفیل‌ها، بخش اعظم انرژی خود را صرف ترمیم بافت‌های آسیب دیده خود با زندگی در شرایط سخت، می‌کنند. بنابراین اکستریموفیل‌ها برای زندگی در شرایط سخت، انرژی زیادی صرف می‌کنند. البته مزیت مهم زندگی در این محیط‌ها آن است که رقابت کمتری در این محیط‌ها نسبت به محیط‌های مطلوب وجود دارد و میکروارگانیسم‌ها ترجیح می‌دهند تا برای بالا بردن مقاومت خود در برابر استرس‌های محیطی با یکدیگر تجمع پیدا کرده و یا تولید بیوفیلم کنند. در ساختار بیوفیلم، سیتوپلاسم‌ها از طریق کانال با یکدیگر در ارتباط بوده و پایداری میکروبی را ارتقا می‌بخشد.

نکته ۲: *Pyrodicticum* جنسی از آرکیاهای هایپرترموفیل (بسیار گرمادوست) بوده و همان طور که از نامش معلوم است، در برابر دماهای بسیار بالا در محیط که گاهی به نزدیک دمای جوش آب نیز می‌رسد اقدام به تشکیل اجتماعات شبکه مانند (dict) می‌کند. *Staphylothermus* مثال دیگری از باکتری‌های هایپرترموفیل است که در دمای بالا به صورت staph یا شبیه شاخه‌ی انگور مجتمع شده تا شرایط زندگی برایش ساده‌تر شود.

در ادامه به مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر در رشد میکروبی می‌پردازیم.



«پیرودیکتیوم»



«استافیلوترموس»

مثال۲: میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با سایر موجودات زنده، در برابر عوامل محیطی حساس‌تر هستند. زیرا:

۱) اندازه کوچکی دارند. ۲) راه‌های مقاومت کافی ندارند.

۳) سطح تماس زیادی نسبت به حجم خود دارند. ۴) امکان ایجاد تغییرات در محیط خود را ندارند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» میکروارگانیسم‌ها به دلیل دارا بودن اندازه کوچک و در نتیجه نسبت سطح به حجم زیاد، در برابر عوامل محیطی بسیار حساس می‌باشند.

فاکتور اکسیژن

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای حیاتی برای میکروارگانیسم‌ها، مشابه دیگر موجودات زنده فاکتور اکسیژن بوده که بر اساس نیازمندی به این فاکتور، در دنیای میکروبی، پنج گروه میکروارگانیسم وجود دارد:

۱ـ هوازی‌های اجباری: این گروه برای رشد تنها از تنفس هوازی بهره برده و از اکسیژن مولکولی به عنوان تنها گیرنده نهایی الکترون استفاده می‌کنند.

۲ـ میکروآئروفیل‌ها: که دارای نوعی از متابولیسم هوازی بوده اما برای رشد خود به مقادیر اندک (کمتر از ۰/۲ اتمسفر) اکسیژن مولکولی نیاز دارند.

۳ـ بی‌هوازی‌های اجباری: این گروه میکروارگانیسم‌ها، نه تنها به اکسیژن مولکولی برای رشد نیاز ندارند، بلکه اکسیژن یک ماده سمی و مرگ‌آور برای آنها محسوب شده و آنها به جای به کارگیری مسیر متابولیکی تنفس هوازی، از مسیرهای دیگری چون تخمیر، تنفس بی‌هوازی، فتوسنتز بی‌هوازی و تولید متان برای حیات خود بهره می‌برند.

۴ـ بی‌هوازی‌های اختیاری: میکروارگانیسم‌های دوگانه دوستی محسوب می‌شوند که در شرایط بی‌هوازی، از طریق تخمیر یا تنفس بی‌هوازی و در حضور اکسیژن از طریق تنفس هوازی رشد می‌کنند. عمده‌ی میکروارگانیسم‌ها متعلق به این گروه می‌باشند.

۵ـ آئروتولرانت‌ها یا بی‌هوازی‌های تحمل‌کننده هوا: گونه‌ای از حیات میکروبی را به خود اختصاص داده‌اند که متابولیسم آنها از نوع بی‌هوازی بوده و در حضور یا فقدان اکسیژن، بدون اینکه به آن حساسیتی داشته باشند، عمل تخمیر را انجام می‌دهند.

قرارگیری هر میکروارگانیسم در هر یک از گروه‌های فوق، به نوع و عملکرد آنزیم‌هایی مربوط می‌شود که با اکسیژن و محصولات مشتق شده از آن (رادیکال‌های آزاد اکسیژن) واکنش می‌کنند. به عنوان مثال، در اثر واکنش فلاووپروتئین‌ها با اکسیژن مقدار زیادی پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و مقدار کمی رادیکال آزاد سوپر اکسید (O_2^-) حاصل می‌شود که می‌بایست اثرات سمی آنها، پیش از آسیب رساندن به ساختارهای سلولی از بین بروند.

نکته ۳: در میکروارگانیسم‌های هوازی، بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی تحمل کننده اکسیژن، آنزیمی به نام سوپراکسید دیسموتاز وجود دارد که ترکیب سمی سوپر اکسید را بی‌اثر می‌کند، به علاوه این میکروارگانیسم‌ها با دارا بودن آنزیم کاتالاز، قادر به تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌باشند.

فصل سوم

«انواع ارتباطات میکروارگانیسم‌ها در طبیعت»

درسنامه (۱): ارتباط میکروارگانیسم‌ها با هم

ارتباط بین موجودات زنده سه حالت کلی به صورت خنثی (Neutralism)، مثبت (Positive) و منفی (Negative) دارد. عواملی از قبیل جدایی زمانی یا مکانی ممکن است در ایجاد حالت خنثی در روابط میان موجودات زنده نقش داشته باشند. شاید بتوان این رابطه را میان دو جمعیت میکروبی در محیطی غیر از محیط طبیعی آنها مانند هوا که در آن میکروارگانیسم‌ها تقریباً فاقد هرگونه رابطه‌ای می‌باشند، مشاهده کرد. گاهی وجود استرس‌ها و شرایط نامساعد محیطی مانند وجود گرما یا سرمای زیاد، کم‌آبی و ... که منجر به غیر فعال شدن میکروارگانیسم‌ها می‌شوند، می‌تواند به برقراری رابطه‌ی خنثی میان اشکال مقاوم میکروبی و سلول‌های رویشی کمک کند.

نکته ۱: فراوان‌ترین ارتباطات در عالم حیات، ارتباطات منفی است. سه شکل اصلی در ارتباطات منفی عبارتند از رقابت، رابطه انگلی و ارتباط میان شکار و شکارچی. رقابت بیشترین فرم ارتباط منفی برای در اختیار گرفتن عوامل محدودکننده رشد نظیر فضا، اکسیژن، مواد غذایی و ... توسط موجودات زنده است.

رابطه انگلی در دنیای میکروارگانیسم‌ها و ارتباط میان شکار و شکارچی در دنیای ماکروارگانیسم‌ها به چشم می‌خورد. در رابطه‌ی انگلی و شکار و شکارچی معمولاً یک طرف رابطه سود برده و طرف دیگر زیان می‌بیند اما در رقابت به هر دوطرف رابطه زیان وارد می‌شود.

مثال۱: فراوان‌ترین ارتباطات در عالم حیات چه بوده و بیشترین فرم این ارتباطات کدام است؟

۱) خنثی ـ جدایی مکانی ۲) مثبت ـ همزیستی ۳) منفی ـ رقابتی ۴) هیچ‌کدام

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» فراوان‌ترین ارتباطات در عالم حیات، ارتباطات منفی بوده که خود دارای سه فرم رابطه انگلی، شکار و شکارچی و رقابت است. در این میان، رقابت بیشترین فرم رابطه‌ی منفی است که در آن به هر دو طرف رابطه زیان می‌رسد.

◆ ◆ ◆ ◆

ارتباطات مثبت به صورت همسفرگی، همیاری و همزیستی وجود دارند. در شکل همسفرگی، سود یک طرف و در همیاری و همزیستی سود دو طرفه وجود دارد. در رابطه‌ی هم‌سفرگی برای طرف دوم هیچ سود و زیانی وجود نداشته اما برای دو شکل دیگر رابطه مثبت منفعت برای هر دو طرف وجود داشته و تفاوت این دو شکل در این است که برقراری ارتباط همیاری اجباری نبوده و دو طرف می‌توانند به صورت جداگانه نیز به حیات خود ادامه دهند، حال آنکه در همزیستی برقراری این ارتباط شرط لازم و کافی ادامه حیات بوده، پس اجباری است.

یک نکته مهم در ارتباط با رقابت وجود دارد و آن این است که رقابت خود می‌تواند دو فرم سالم و ناسالم داشته باشد.

نکته ۲: در رقابت ناسالم که تحت عنوان Amensalism یا هم آزاری نیز از آن یاد می‌شود، موجودات زنده سعی در نابودی و ضعیف کردن رقیب خود دارند که این کار را از طریق رابطه‌ی آنتاگونیستی، یا آنتی بیوزی اعمال می‌کنند.

مثلاً در رقابت میان اکتینومیست‌ها و *سودوموناس‌های* خاک، اکتینومیست‌ها به دلیل کند رشد بودن برای آنکه در این رابطه شکست نخورند از ترفند تولید آنتی بیوتیک کمک گرفته تا *سودوموناس‌های* سریع الرشد را تضعیف کرده یا از پا درآورند. *لاکتوباسیلوس‌ها* در دستگاه گوارش انسان نیز برای غلبه بر سایر میکروارگانیسم‌های موجود، از کاهش pH و اسیدی شدن لومن دستگاه گوارش کمک می‌گیرند.

در زندگی انگلی معمولاً موجود انگل از میزبان خود کوچک‌تر است، مثل بسیاری از باکتری‌ها که انگل تک‌یاخته‌ها هستند. اما در زندگی شکار و شکارچی، معمولاً شکار از شکارچی کوچکتر می‌باشد. مثل شکار *E.coli* توسط *Vexillifera*، البته در این مورد استثنایی هم داریم، مثل باکتری *Bdellovibrio* که به باکتری‌های بزرگ‌تر از خود مثل باکتری‌های گرم منفی آهن مانند *Sphrothilus* یا *Leptotrix* حمله می‌کند. رابطه فوق انگلی یا هیپرپارازیتیسم، حالتی است که در آن موجود انگل میزبان انگل دیگری باشد. مثلاً در مثال بالا *بدلوویبریو* می‌تواند میزبان یک فاژ باشد.

رابطه‌ی همسفرگی، شکلی از روابط مثبت در نظر گرفته شد که در آن یک طرف رابطه سود برده و طرف دوم نه سود برده و نه زیان می‌بینند. ارتباط یک میکروارگانیسم اگزوتروف (که برای رشد به ویتامین‌ها و املاح معدنی افزودنی به محیط کشت نیاز دارد) با یک میکروارگانیسم پروتوتروف نمونه‌ای از ارتباط همسفرگی است چرا که پروتوتروف‌ها که نیازهای ساده‌ای دارند، گاهی فاکتورهای تولیدی خود را به خارج سلول فرستاده و اگزوتروف‌ها از آن سود می‌برند. ارتباط یک میکروارگانیسم حساس به فلز با میکروارگانیسم‌های مقاوم به یک فلز نیز نوعی رابطه همسفرگی است، چرا که میکروارگانیسم‌های مقاوم به فلز، فلز سمی مانند سرب یا جیوه را به ترکیبات غیر سمی تبدیل کرده و لذا در این رابطه موجود حساس به فلز سود می‌برد.

نکته ۳: ارتباط همیاری یا Synergism نوعی ارتباط همکاری اولیه یا Protocooperation بوده که در آن اجباری وجود ندارد. رابطه باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت یا Diazotroph با باکتری‌های غیرتثبیت‌کننده در خاک نوعی رابطه‌ی همیاری است. به نحوی که این دو بدون حضور یکدیگر نیز قادر به زندگی هستند اما رشد مطلوب آنها زمانی میسر می‌شود که این دو در کنار هم باشند.

در این رابطه، باکتری تثبیت کننده ازت، برای باکتری غیر تثبیت کننده، ازت در دسترس فراهم می‌کند و در طرف مقابل باکتری غیر تثبیت کننده نیز با دارا بودن کپسول که بار آلی زیادی دارد، انرژی لازم برای فرآیند تثبیت ازت را در باکتری تثبیت کننده ایجاد می‌کند.

مثال۲: رابطهٔ سینرژیسم بین دو جمعیت میکروبی عبارتست از رابطه‌ای که در آن: (سراسری ۸۵)

۱) وابستگی وسیعی بین دو جمعیت میکروبی وجود دارد.

۲) دو جمعیت میکروبی در مقابلهٔ با دشمن مشترک به هم کمک می‌کنند.

۳) دو جمعیت میکروبی قادر به استفاده مستقل از امکانات محیطی نیستند.

۴) دو جمعیت میکروبی از یکدیگر سود می‌برند ولی به تنهایی قادر به ادامه حیات هستند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» سینرژیسم شکل ساده همکاری بین دو میکروب است و این همکاری می‌تواند جهت به راه انداختن یک مسیر متابولیک باشد که در عدم وجود این مسیر متابولیک نیز هر دو میکروارگانیسم قادر به حیات می‌باشند، ولی راه‌اندازی آن دارای منافع و برتری‌های انتخابی برای هر یک از دو میکروارگانیسم خواهد شد. پس در سینرژیسم، دو جمعیت میکروبی از رابطه سود می‌برند.

به عنوان مثال سیکلوهگزان توسط *نوکاردیاها* تجزیه می‌شود ولی این باکتری‌ها به تنهایی بر روی این ماده قادر به رشد نیستند در حالی‌که متابولیت‌های آلدئیدی و الکلی حاصل از تجزیه سیکلوهگزان منبع کربن مناسب برای *سودوموناس* می‌باشند و *سودوموناس* می‌تواند در پی رشد، فاکتورهای رشد لازم و مورد نیاز برای رشد *نوکاردیا* را سنتز کند (مانند ویتامین‌های B از جمله بیوتین). پس در محیط حاوی *نوکاردیا* و *سودوموناس* سیکلوهگزان تجزیه خواهد شد که حاصل سینرژیسم این دو باکتری است.

مثال۳: ارتباط دو میکروارگانیسم، یکی حساس به فلز سمی و دیگری مقاوم به آن از چه نوعی است؟

۱) همسفرگی ۲) همزیستی ۳) همیاری ۴) آنتاگونیستی

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» ارتباط یک میکروارگانیسم حساس به فلز با یک میکروارگانیسم مقاوم به فلز از نوع همسفرگی است چراکه در این رابطه میکروارگانیسم حساس به فلز، با تبدیل فلزات سمی به ترکیبات غیرسمی توسط میکروارگانیسم مقاوم، سود برده اما میکروارگانیسم مقاوم از این رابطه سود یا زیان خاصی نمی‌برد.

مثال۴: ارتباط میان اکتینومیست‌ها و گونه‌های سودوموناس در خاک از چه نوعی است؟

۱) شکار و شکارچی ۲) رقابت سالم ۳) آنتی بیوز ۴) همسفرگی

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» رقابت ناسالم، آنتی بیوز یا آنتاگونیستی به حالتی گفته می‌شود که موجودات زنده سعی در نابودی و تضعیف رقیب خود دارند. درست مانند تولید آنتی بیوتیک توسط اکتینومیست‌های کند رشد به منظور از پا در آوردن سودوموناس‌هایی که از آنها سریع‌الرشدتر می‌باشند.

مثال۵: اعضای جنس *(Bdellovibrio)* معمولاً انگل ..... هستند. (سراسری ۹۱)

۱) اجباری در سلول‌های *کاندیدا آلبیکانس* ۲) اجباری در سلول‌های *اشریشیا کلی*

۳) اختیاری در سلول‌های پنومونیه ۴) اختیاری در سلول‌های *استافیلوکوکوس ارئوس*

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» اعضای جنس *بدلوویبریو* باکتری گرم منفی و هوازی اجباری بوده و ویژگی حائز اهمیت آنها این است که انگل سایر باکتری‌های گرم منفی هستند که با وارد شدن به فضای پریپلاسمی آنها از موادی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک تغذیه می‌کنند. با توجه به گزینه‌های مطرح شده در این سؤال پاسخ گزینه ۲ می‌باشد.

فصل چهارم

«میکروب‌شناسی خاک، چرخه‌های ژئوشیمیایی مواد»

درسنامه (۱): میکروب‌شناسی خاک

به طور معمول 10^6 تا 10^9 باکتری در هر گرم خاک یافت می‌شود. اما علاوه بر باکتری‌ها، خاک بستر مناسبی برای رشد و تکثیر قارچ‌ها، جلبک‌ها، گل‌سنگ‌ها و حتی ویروس‌ها است. پراکندگی و تنوع ویروس‌های خاک از لحاظ اکولوژی میکروارگانیسم‌های خاک کمتر مورد بررسی بوده و بیشتر از جهت کنترل بیماری‌های گیاهی مورد توجه بوده است. اما باکتری‌ها فراوان‌ترین میکروارگانیسم‌های خاک بوده که در تغییر خصوصیات خاک، تجزیه مواد و گردش عناصر در خاک نقش دارند.

بیشتر باکتری‌های خاک از گروه شیمیوهتروتروف‌ها هستند که از منابع آلی خاک برای تأمین کربن و انرژی مورد نیاز خود استفاده می‌کنند.

از مهم‌ترین نمونه‌های قارچی در خاک می‌توان به کپک‌های مخاطی و زیگومیست‌ها اشاره کرد. *دیکتیواستلیوم* و *میکسومیست* از مهم‌ترین کپک‌های مخاطی خاک می‌باشند. *پیتیوم*، *فایتوفتورا* و *کیتریدیومیست‌ها* از مهم‌ترین اوومیست‌ها و *موکور* و *ریزوپوس* از جمله زیگومیست‌ها در خاک هستند. قارچ‌های عالی نظیر آسکومیست‌ها و بازیدیومیست‌ها (*پلی‌اسپوروس* و *آرمیلاریا*) به ترتیب در ایجاد بیماری‌های گیاهی و خسارت به انبارهای چوب نقش دارند. کپک‌هایی نظیر *آسپرژیلوس*، *پنی سیلیوم*، *نوکاردیوم*، *فوزاریوم* و *کلادوسپوریوم* در خاک زندگی ساپروفیتی دارند.

شاید بتوان گفت، خاک بهترین محیط رشد و تکثیر قارچ است و بهترین نمونه برای جداسازی انواع قارچ‌ها، خاک می‌باشد. کپک‌ها در مقایسه با مخمرها سطحی‌تر بوده و گاهی کپک‌هایی تحت عنوان Snow mold در قطب شمال و جنوب یا توندرا دیده می‌شود که در دمای $-5^\circ C$ روی سطح خاک‌های یخ زده ایجاد می‌شود که درون خود پروتئین‌های ضد یخ می‌سازند که دمای انجماد داخل سلول را کم می‌کند.

مثال۱: کدام یک از قارچ‌های زیر در خسارت زدن به انبارهای چوب نقش دارند؟

۱) *موکور* ۲) *آرمیلاریا* ۳) *فایتوفتورا* ۴) *نوکاردیوم*

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» *آرمیلاریا*، از جمله قارچ‌های عالی موجود در خاک بوده که در خسارت زدن به انبارهای چوب نقش دارد.

◆ ◆ ◆ ◆

جلبک‌ها در خاک‌هایی فراوان‌ترند که میزان رطوبت بالاست و چون فتوسنتز کننده‌اند در خاک‌های سطحی و در ضخامت ۱۰ سانتی‌متری خاک وجود دارند، این گروه به فرم هتروتروفی تا عمق ۱ متری خاک هم دیده می‌شوند. مهم‌ترین ویژگی جلبک‌ها در خاک تولید اگزوپلی ساکاریدهاست که به دلیل نقشی که در تجمع ذرات خاک دارند، پراهمیت می‌باشند. جلبک‌های پرسلولی معمولاً در آب هستند.

نکته ۱: فراوان‌ترین جلبک‌ها در خاک، جلبک‌های سبز یا کلروفیت‌ها هستند که مثال بارز آن *کلامیدوموناس* است که فراوان ترین جلبک در خاک‌های اسیدی نیز می‌باشد.

دیاتومه‌ها، دومین گروه فراوان در خاک بوده که جزء اولین گروه فتوسنتزکننده‌های عالم حیات بوده و در گروه کرومیستا قرار دارند. دیاتومه‌ها بیشتر در خاک‌های خنثی و قلیایی یافت می‌شوند.

گروه سوم، جلبک‌های زرد ـ سبز یا کرایزوفیکوفیتا که مثال آن *بوتریدیوپسیس* می‌باشد. گروه چهارم جلبک‌های قرمز یا رودوفیکوفیتا می‌باشند. گل سنگ‌ها از مهم‌ترین تجزیه‌کنندگان سنگ، چوب و مواد اولیه سازنده خاک بوده و لذا در تشکیل اولیه خاک نقش مهمی دارند.

نکته ۲: فراوان‌ترین تک‌یاخته‌های موجود در خاک آمیب‌ها و پس از آن مژکداران می‌باشند. تاژکداران کمترین میزان تک‌یاخته‌های موجود در خاک را تشکیل می‌دهند و غذای اصلی تک‌یاخته‌ها در خاک به خصوص مژه‌داران را باکتری‌ها تشکیل می‌دهند.

نکته۳: میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در محیط خاک با کاتالیز واکنش‌های شیمیایی منجر به رسوب مواد معدنی خاک شوند و خصوصیات مکانیکی خاک از جمله استحکام آن را دچار تغییر سازند.

مثلاً اگر میکروارگانیسم‌های تولیدکننده اوره آز مثل اسپوروسارسینا پاستوری کشت داده شده و به همراه محلولی از اوره و کلرید کلسیم به خاک تزریق شوند، اوره آز میکروبی اوره را به آمونیوم و کربنات هیدرولیز می‌کند. یون‌های کربنات تولید شده با حضور یون‌های کلسیم به صورت کریستال‌های کربنات کلسیم رسوب کرده و به شکل پل‌های سیمانی به نام سیمان زیستی بین ذرات ماسه درمی‌آید.

مثال۲: مهم‌ترین ویژگی جلبک‌ها در خاک ..... بوده و فراوان‌ترین آنها، ..... می‌باشند.

۱) فتوسنتز، دیاتومه‌ها
۲) تجمع ذرات خاک، کرایزوفیکوفیتا
۳) تجزیه چوب‌ها، رودوفیکوفیتا
۴) تولید اگزوپلی ساکاریدها، کلروفیتا

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» مهم‌ترین ویژگی جلبک‌ها در خاک تولید اگزوپلی ساکاریدهاست که به دلیل نقشی که در تجمع ذرات خاک دارد، ارزشمند است. فراوان‌ترین جلبک‌ها در خاک جلبک‌های سبز یا کلروفیتا نظیر *کلامیدوموناس* هستند.

مثال۳: کدام گزینه صحیح است؟

۱) *کلامیدوموناس*، فراوان‌ترین جلبک موجود در خاک‌های اسیدی است.
۲) دیاتومه‌ها، فراوان‌ترین قارچ‌های موجود در خاک‌اند.
۳) مژکداران، کمترین تک‌یاخته‌های موجود در خاک را تشکیل می‌دهند.
۴) گل‌سنگ‌ها، غذای اصلی تک‌یاخته‌ها در خاک را تشکیل می‌دهند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» دیاتومه‌ها، دومین گروه فراوان جلبک‌ها در خاک‌ها هستند و در خاک‌های خنثی و قلیایی یافت می‌شوند. فراوان‌ترین تک‌یاخته‌های موجود در خاک آمیب‌ها و سپس مژکداران هستند و تاژکداران کمترین تک‌یاخته‌های خاک بوده و غذاهای اصلی تک‌یاخته‌ها در خاک باکتری‌ها هستند.

مثال۴: در تولید سیمان زیستی برای افزایش استحکام خاک توسط باکتری اسپوروسارسینا پاستوری، کدام آنزیم نقش مؤثرتری بر عهده دارد؟

(سراسری۹۵)

۱) اوره آز
۲) اکسیداز
۳) پراکسیداز
۴) کاتالاز

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» میکروارگانیسم‌ها می‌توانند واکنش‌های شیمیایی را کاتالیز کنند و در نتیجه مواد معدنی غیرآلی را رسوب دهند و خصوصیات مکانیکی خاک را دچار تغییر سازند. میکروارگانیسم‌های کشت داده شده به همراه محلولی از اوره و کلراید کلسیم به خاک تزریق می‌شوند. اوره آز میکروبی، اوره را به آمونیوم و کربنات هیدرولیز می‌کند. یون‌های کربنات تولید شده با حضور یون‌های کلسیم به صورت کریستال‌های کربنات کلسیم رسوب کرده و به شکل پل‌های سیمانی بین ذرات ماسه درمی‌آید.

فصل پنجم

«میکروب شناسی هوا، میکروب‌شناسی آب، فاضلاب و پساب»

درسنامه (۱): میکروب‌شناسی هوا

همان طور که پیش از این اشاره شد هوا را نمی‌توان به عنوان محل رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها به شمار آورد که شاید دلیل آن کمبود مواد غذایی، رطوبت کم و کاهش دمای هوا با افزایش ارتفاع از سطح زمین باشد.

نکته ۱: مهم‌ترین لایه‌ی پراکندگی میکروارگانیسم‌ها در هوا، لایه‌ی تروپوسفر بوده که نزدیک‌ترین لایه به زمین می‌باشد و عمدتاً در این فضا، اسپورهای قارچ‌ها و باکتری‌ها بیش از سایرین یافت می‌شوند.

اما به طور کلی در هوا ویروس‌ها، باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و تک‌یاخته‌ها حضور دارند. اسپور کپک‌ها نیز در هوا به وسیله باد مسافت زیادی به حرکت در می‌آید و سرانجام بر روی زمین رسوب می‌کند.

میکروب شناسی هوا در مراکز بهداشتی مانند بیمارستان‌ها و نیز تصفیه خانه‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. امروزه استاندارد وجود اسپور در هوای بیمارستان‌ها، کمتر از ۱ عدد در هر متر مکعب می‌باشد، برای ازبین بردن میکروب‌های هوا از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. مثلاً کاربرد صافی‌های غشایی در آزمایشگاه‌ها، تابش اشعه‌ی UV، بخار پروپیلن گلیکول یا تری‌اتیلن گلیکول از راه‌های نابودی میکروارگانیسم‌های موجود در هوا و یا جداسازی آنهاست.

از مهم‌ترین ویروس‌هایی که در هوا یافت شده و از این طریق به انسان سرایت می‌کنند می‌توان به ویروس عامل سرخک (موربیلی ویروس)، عامل اوریون (پارامیکسوویروس)، عامل فلج اطفال (پولیوویروس)، عامل آبله مرغان (ویروس واریسلا- زوستر) و عوامل بیماری‌های تنفسی (آدنوویروس، میکسوویروس، کروناویروس، رینوویروس و رئوویروس) اشاره کرد.

از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای موجود در هوا می‌توان به *هموفیلوس آنفلوآنزا*، *لژیونلاپنوموفیلا*، *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، *بوردتلا پرتوسیس*، *نایسریا مننژیتیدیس*، *مایکوپلاسما نومونیه*، *نوکاردیا آستروئیدس*، *کلبسیلا* و برخی گونه‌های *استافیلوکوکوس* و *استرپتوکوکوس‌ها* اشاره کرد. به طور کلی باکتری‌های موجود در هوا را می‌توان به سه گروه کوکسی‌های گرم مثبت، باسیل‌های گرم مثبت و باسیل‌های گرم منفی طبقه‌بندی کرد.

مثال۱: کدام یک از ویروس‌های زیر از طریق هوا به انسان سرایت نمی‌کند؟

۱) موربیلی ویروس ۲) پارو ویروس ۳) پارامیکسو ویروس ۴) پولیو ویروس

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» از مهم‌ترین ویروس‌هایی که از طریق هوا به انسان سرایت می‌کنند، ویروس سرخک (موربیلی ویروس)، عامل اوریون (پارامیکسو ویروس)، عامل فلج اطفال (پولیو ویروس) و عامل آبله مرغان (واریسلا ـ زوستر) می‌باشند.

◆ ◆ ◆ ◆

گونه‌های مربوط به جنس‌های *میکروکوکوس*، *استافیلوکوکوس* و *استرپتوکوکوس* که عمده میکروارگانیسم‌های قابل کشت در هوا را تشکیل می‌دهند درگروه کوکسی‌های گرم مثبت قرار دارند و بیشتر در ساختار غشاهای مخاطی انسان و به عنوان میکروارگانیسم‌های تشکیل‌دهنده فلورنرمال پوست مطرح‌اند.

باسیل‌های گرم مثبت معمولاً به صورت اشکال مقاوم در هوا و همراه با ذرات گردو غبار وجود داشته و عمدتاً غیر بیماریزا هستند. البته باسیل شاربن که عامل بیماری سیاه زخم می‌باشد، از باسیل‌های گرم مثبت بوده که از طریق جریان هوا منتقل می‌شود، باسیل‌های گرم منفی عمدتاً در خاک‌های مرطوب یافت شده و در هوا پراکندگی کمتری دارند و معمولاً در برابر تنش‌های محیطی ناپایدار بوده و از بین می‌روند. از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های این گروه می‌توان به *لژیونلاپنوموفیلا* اشاره کرد که قادر است توان تحمل خود را به استرس‌های محیطی با برقراری ارتباطات مثبت با سایر گروه‌های میکروبی، افزایش دهد.

از اکتینومیست‌های مطرح که در بروز اختلالات ریوی در انسان نقش دارند، *ترمواکتینومیست ولگاریس* و *میکروپلی اسپورا فانی* می‌باشند.
در حدود ۱۰% جمعیت میکروبی هوا را قارچ‌ها تشکیل می‌دهند که معمول‌ترین آنها *کلادوسپوریوم* است و در بروز واکنش‌های آلرژی زا نقش دارد. از دیگر قارچ‌های موجود در هوا می‌توان به گونه‌های مختلفی از جنس‌های *آلترناریا*، *بلاستومایسز*، *کوکسیدیوایدس*، *کریپتوکوکوس* و *هیستوپلاسما کپسولاتوم* اشاره کرد. قارچ‌های *آلترناریا*، *آسپرژیلوس* و *پنی سیلیوم*، درصد بالایی از اسپورهای قارچی را در هوا تولید می‌کنند که ازدیاد آنها خطر ابتلا به حساسیت و گاهی مسمومیت را در افراد بالا می‌برد.
خاستگاه عمده جلبک‌ها در آب و خاک بوده اما گاهی در اثر تغییرات آب و هوایی و وزش بادهای شدید، به صورت ذرات معلق درآمده و ایجاد حساسیت می‌کنند. از تک‌یاخته‌های معلق در هوا نیز می‌توان به کیست *نگلریا فولری* و *آکانتامبا* اشاره کرد. در هوای محیط‌های باز، عمدتاً اسپورهای قارچی غالب بوده و نشت اسپورها در اثر نیروی جاذبه تنها در هوای ساکن و در سرعت حرکت کم باد انجام می‌شود. از آنجا که اسپور بسیاری از قارچ‌های بیماریزای گیاهی نظیر *فایتوفتورا* و *پوکسینیا* درشت هستند بهتر در سطح ساقه یا برگ جمع شده و اسپور کوچک قارچ‌هایی چون *پنی سیلیوم* سریع‌تر جابه‌جا می‌شوند. حرکت براونی ذرات در هوا که در اثر حرکت مولکول‌های گاز در هوا ایجاد می‌شود، تنها در مورد ذراتی که کمتر از ۰/۱ میکرومتر قطر دارند، مانند ویروس‌ها دیده می‌شود.

مثال۲: اشکال مقاوم کدام‌یک از تک‌یاخته‌های زیر در هوا یافت می‌شود؟

۱) *ژیاردیا* ۲) *انتامبا* ۳) *تریکوموناس* ۴) *نگلریا*

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» *نگلریا فولری* و *آکانتامبا* در هوا واجد اشکال مقاوم می‌باشند که از این طریق قابل سرایت می‌باشند.

مثال۳: در هوای محیط‌های باز معمولاً کدام اشکال میکروبی فراوان‌ترند؟

۱) باکتری‌ها ۲) اسپور قارچ‌ها ۳) ویروس‌ها ۴) اسپورباکتری‌ها

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» اگر چه تنوع و تعداد میکروارگانیسم‌ها در هوا ناچیز است، اما اسپورهای قارچ‌ها و باکتری‌ها در آن فراوانی بیشتری نسبت به سایر اشکال میکروبی دارند. در این میان، هوای محیط‌های باز بیشتر از اسپورهای قارچی تشکیل شده است.

مثال۴: کدام گازهای تولیدی توسط میکروارگانیسم‌ها عامل پدیدهٔ گلخانه‌ای می‌باشند؟ (سراسری ۸۲)

۱) N_2O, CH_4, CO_2 ۲) NH_3, SH_2, CO_2 ۳) SH_2, CO_2, CH_4 ۴) CO_2, NH_3, N_2

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» CO_2، متان و N_2O گازهای گلخانه‌ای عمده تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که به ترتیب محصول نهایی متابولیسم هوازی، محصول عمده متابولیسم متانوژن‌ها و یکی از ترکیبات تولید شده طی شوره‌برداری (دنیتریفیکاسیون) می‌باشد.

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

نیترات نیتریت گازاکسیدنیترو گاز ازت

فصل اول

«مقدمه‌ای بر میکروب‌شناسی صنعتی»

درسنامه (۱): انواع فراورده‌های حاصل از میکروارگانیسم‌ها

فرآورده‌های حاصل از تخمیر مانند محصولات لبنی و نوشابه‌های الکلی برای هزاران سال مورد استفاده بوده‌اند، البته کمتر از ۱۵۰ سال است که اصول علمی این واکنش‌ها، شناخته شده است. شروع این مطالعات را می‌توان به پاستور نسبت داد که برای نخستین بار علت انجام تخمیر الکلی را به میکروب‌ها نسبت داد و تصور تولید این محصولات توسط واکنش‌های شیمیایی را از بین برد.

نکته ۱: اولین فرآوری مهم صنعتی در انتهای قرن نوزدهم، تخمیر استون- بوتانول بود که با استفاده از باکتری ***کلستریدیوم استوبوتیلیکوم*** انجام شد.

تلاش برای تهیه پنی سیلین در زمان جنگ جهانی دوم، موفقیت بزرگ دیگری در تکنولوژی تخمیر بود که در دهه‌ی ۱۹۴۰ صورت گرفت. این تلاش ادامه پیدا کرد، تا آنکه امروز با کمک تکنولوژی DNA نوترکیب، دستاوردهای زیادی در انواع صنایع میکروبی حاصل گردیده است.

اهمیت تولید میکروبی بسیاری از فرآورده‌هایی که پیش از این تولید شیمیایی داشتند، ارزش اقتصادی و زیست محیطی کارکردن با میکروارگانیسم‌هاست.

نکته ۲: این موجودات زنده به لحاظ حجم تولید بالا، سرعت رشد و استفاده از سوبستراهای ارزان و حتی ضایعات به عنوان منبع کسب غذا و انرژی و تولید انواع مختلف محصولات، با اهمیت می‌باشند. به علاوه قابلیت بالای دستکاری ژنتیکی در میکروارگانیسم‌ها و ایجاد تغییر در مقدار و نوع فرآورده‌ها، آنها را به ابزار ارزشمندی در بعد صنعتی تبدیل کرده است.

مثال۱: اولین محصول میکروبی تولید شده در مقیاس صنعتی مربوط به کدام واکنش است؟

۱) تخمیر الکلی ۲) تولید اسیدهای آلی ۳) تخمیر استون ـ بوتانول ۴) تولید میکروبی آمینواسیدها

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» تخمیر استون ـ بوتانول نخستین فرآیند میکروبی در مقیاس صنعتی بود که در اواخر قرن نوزدهم انجام شد.

کلیه‌ی مراحل تولید میکروبی هر نوع محصولی را می‌توان به دو فاز **فرآیندهای بالادستی و پایین دستی** تقسیم کرد. در فرآیندهای بالادستی، کلیه مراحل و پیش زمینه‌های لازم برای عمل تخمیر از جمله غربالگری سویه‌های مولد، انتخاب محیط مناسب رشد و تخمیر برای سویه‌ها و فراهم کردن دیگر شرایط لازم برای ارتقای تولید محصول باید رعایت شود.

گاهی محصولات میکروبی، متابولیت‌های اولیه‌ای هستند که در فاز فعال رشد میکروارگانیسم‌ها یا مرحله‌ی **تروفوفاز** تولید می‌شوند. این محصولات شامل اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و حلال‌های صنعتی مانند الکل و استون می‌باشند. علاوه بر متابولیت‌های اولیه، متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند آلکالوئیدها و آنتی بیوتیک‌ها هم محصولات مهم صنعت را تشکیل می‌دهند که در فاز سکون **(ایدیوفاز)** رشد میکروبی تولید می‌شوند.

فرآیندهای پایین دستی، مراحل مربوط به جداسازی سلول‌ها از محیط تخمیر و استخراج محصول می‌باشد که باید ثبات و سلامت محصول نیز در این فرآیندها در نظر گرفته شود.

مثال۲: کدام یک از گزینه‌های زیر در رابطه با مرحله‌ی تولید محصول مورد نظر صحیح نیست؟

۱) اسیدهای آلی ـ تروفوفاز ۲) آنتی بیوتیک‌ها ـ تروفوفاز ۳) آلکالوئیدها ـ ایدیوفاز ۴) ویتامین‌ها ـ تروفوفاز

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و حلال‌هایی نظیر الکل و استون، متابولیت‌های اولیه رشد میکروبی هستند که در تروفوفاز تولید می‌شوند. تولید متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها و آنتی بیوتیک‌ها مربوط به مرحله ایدیوفاز منحنی رشد میکروبی است.

درسنامه (۲): انواع روش‌های تخمیر در فرمانتور

در تخمیرهای میکروبی می‌تواند سه شکل مختلف رشد ناپیوسته (درBatch-fermentation)، رشد نیمه پیوسته (در fed-batch-fermentation) و پیوسته (Continious-fermentation) دیده شود. رشد ناپیوسته مستلزم سیستم بسته‌ای است که تمام مواد غذایی در شروع تخمیر و با مقدار معین اضافه می‌شوند و تنها اسیدها و بازها برای کنترل pH یا گازها جهت هوادهی می‌توانند در میانه واکنش افزوده شوند. در سیستم‌های نیمه پیوسته، افزایش حجم مواد موجود در فرمانتور به دنبال افزایش مداوم، متناوب و یا منفرد ترکیبات محیط کشت را خواهیم داشت و در رشد پیوسته اجزای سازنده محیط کشت در غالب سیستم‌های کاملاً باز به طور مداوم به ظرف تخمیر اضافه می‌شوند، اما به دلیل برابری مقدار مواد مصرفی اضافه شده و حجم سلول‌های برداشته شده، حجم محیط ثابت می‌ماند.

نکته ۳: سیستم‌های تخمیر نیمه‌پیوسته یا Fed-batch کاربرد بیشتری نسبت به سیستم‌های تخمیر دیگر در صنعت تولید فرآورده‌های زیست فناوری دارد.

مثال۳: کدام یک از گزینه‌های زیر پیرامون روش‌های تخمیر صحیح است؟

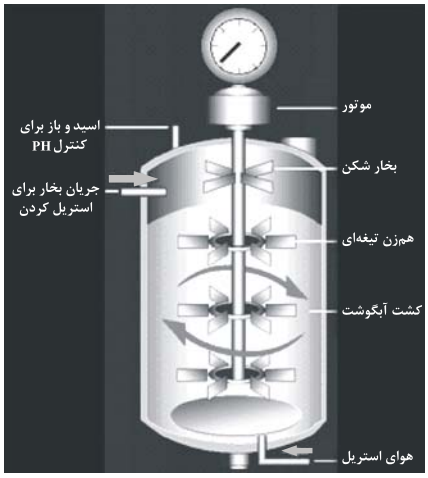
۱) در رشد ناپیوسته، افزایش متناوب مواد غذایی به فرمانتور صورت می‌گیرد.

۲) در سیستم‌های ناپیوسته تغییر حجم مواد موجود در فرمانتور طی عمل تخمیر صورت می‌گیرد.

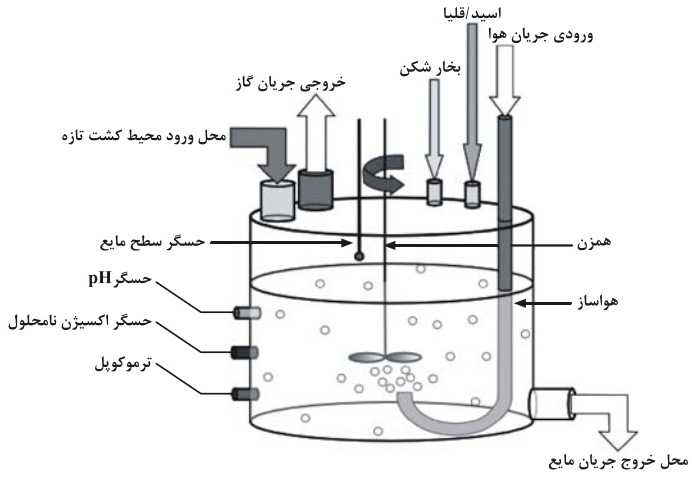
۳) استفاده از گازها جهت هوادهی، تنها حالت اضافه شدن مواد در رشد ناپیوسته است.

۴) در رشد پیوسته تمام مواد غذایی در شروع تخمیر به فرمانتور افزوده می‌شوند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» با توجه به موارد مطرح شده در گزینه‌ها تنها پاسخ صحیح گزینه ۲ می‌باشد. سیستم‌های ناپیوسته، تنها سیستم‌هایی هستند که در آنها با افزودن مواد به ظرف تخمیر، حجم تغییر می‌کند. در سیستم‌های بسته، تنها موادی که در حین عمل تخمیر افزوده می‌شوند اسیدها و بازها جهت کنترل pH و گازها به منظور هوادهی هستند. در رشد پیوسته افزایش مداوم مواد غذایی به فرمانتور بدون تغییر حجم انجام می‌شود.



(B)



(A)

«سیستم تخمیر پیوسته (A) و ناپیوسته (B)»

مثال۴: کدام عبارت در مورد شیوه تخمیر فرآورده‌های صنعتی درست است؟ (سراسری ۹۱)

۱) در تخمیر مداوم، احتمال آلوده شدن فرمانتور نسبت به ذخیره بچ بیشتر است.

۲) در تخمیر بچ، حجم محیط کشت در طول تخمیر متغیر است.

۳) در تخمیر مداوم، حجم محیط کشت در طول تخمیر متغیر است.

۴) در تخمیر بچ، احتمال آلوده شده فرمانتور نسبت به تخمیر بچ بیشتر است.

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» رشد ناپیوسته مستلزم سیستم بسته‌ای است که تمام مواد غذایی در شروع تخمیر و با مقدار معین اضافه می‌شوند و تنها اسیدها و بازها برای کنترل pH یا گازها جهت هوادهی می‌توانند در میانه واکنش افزوده شوند. در سیستم‌های نیمه بسته، افزایش حجم مواد موجود در فرمانتور به دنبال افزایش مداوم، متناوب یا منفرد ترکیبات محیط کشت را خواهیم داشت و در رشد پیوسته (مداوم) اجزای سازنده محیط کشت در قالب سیستم‌های کاملاً باز به طور مداوم به ظرف تخمیر اضافه می‌شوند که این مسئله احتمال آلودگی را در مقایسه با سیستم‌های بسته بالا می‌برد. به دلیل برابری مقدار مواد مصرفی اضافه شده و حجم سلول‌های برداشت شده، حجم محیط در سیستم‌های پیوسته ثابت می‌ماند.

مثال۵: کدام یک از سیستم‌های تخمیر کاربرد بیشتری در صنعت تولید فراورده‌های زیست فناوری دارد؟ (سراسری ۹۳)

۱) فیدبچ ۲) بچ ۳) مداوم ۴) بستر جامد

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» در سیستم‌های نیمه پیوسته یا فیدبچ، حجم مواد موجود در فرمانتور به دنبال افزایش مداوم، متناوب و یا منفرد تغییرات محیط کشت می‌باشد.

فصل دوم

«میکروارگانیسم‌های صنعتی و سیستم‌های تخمیر»

درسنامه (۱): میکروارگانیسم‌های صنعتی

میکروارگانیسم‌های به کار رفته در فرآیندهای تخمیری که در طول هشتاد سال اول قرن بیستم به کار می‌رفتند، اغلب از محیط طبیعی ایزوله می‌شدند که مستلزم جداسازی تصادفی تعداد بسیار زیادی سویه بودند. در ادامه بسیاری از این سویه‌ها، جهت ازدیاد محصول با کیفیت مطلوب دستکاری و اصلاح شدند. در طی بیست سال اخیر، کاربرد میکروارگانیسم‌های نوترکیب و تکنولوژی مهندسی ژنتیک، در تولید بسیاری از محصولات مورد استفاده بشر توسعه چشمگیری داشته است.

صنایع تخمیری برای انتخاب یک میکروارگانیسم صنعتی، علاوه بر توانایی تولید مؤثر یک یا چند محصول در کنار رشد سریع و کاربرد مواد غذایی ارزان و در دسترس، ترجیح می‌دهند تا از میکروارگانیسم‌های GRAS (Generaly recognized as safe) یا ایمن استفاده کنند. به همین دلیل است که برای به کار بردن میکروارگانیسم‌های پاتوژن و یا نژادهای دستکاری شده به لحاظ ژنتیکی یا GMM (Genetically manipulated microorganisms) باید بسیار احتیاط کرد. در جدول زیر به مهمترین میکروارگانیسم‌هایی که به عنوان GRAS یاد می‌شود، اشاره می‌کنیم.

نمونه‌هایی از انواع میکروارگانیسم‌های GRAS

میکرو ارگانیسم‌های ایمن (GRAS)		
باکتری ها	**مخمرها**	**قارچ‌های رشته‌ای**
باسیلوس سوبتیلیس	*کاندیدا یوتیلیس*	*آسپرژیلوس نایجر*
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	*کلویورومایسس مارکسیانوس*	*آسپرژیلوس اریزا*
لاکتوکوکوس لاکتیس	*کلویورومایسس لاکتیس*	*موکور ژاوانیکوس*
لوکونوستوک ائنوس	*ساکارومیسس سرویزیه*	*پنی‌سیلیوم راکفورتی*

ثبات ژنتیکی، مشخص بودن مسیر بیوسنتزی محصول مورد نظر، کم نیاز بودن، سهولت جداسازی میکروارگانیسم و فرآورده نهایی از محیط کشت تخمیر و تولید کم محصولات جانبی از دیگر ویژگی‌های مهم یک سویه‌ی صنعتی به شمار می‌روند. توانایی رشد میکروارگانیسم در شرایط پرتنش محیطی مانند گرما، فشار اسمزی، سرما و ... در یک سویه مولد، امتیاز بزرگی محسوب می‌شود.

مثال۱: کدام یک از سویه‌های زیر یک میکروارگانیسم GRAS محسوب نمی‌شود؟

۱) *آسپرژیلوس نایجر* ۲) *پنی سیلیوم راکفورتی* ۳) *باسیلوس سوبتیلیس* ۴) *سودوموناس پوتیدا*

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» بر طبق جدول شماره ۱، یکسری سویه‌های مطرح شده در گزینه‌های ۱، ۲ و۳ جزء میگروارگانیسم‌های ایمن (GRAS) محسوب می‌شوند اما گزینه ۴، این ویژگی را ندارد.

◆ ◆ ◆ ◆

نکته ۱: اشرشیاکولی از گروه گاما پروتئوباکتریا از شناخته‌شده‌ترین سویه‌های مورد استفاده در بیوتکنولوژی بوده که امروزه اطلاعات وسیعی در مورد بیوشیمی، فیزیولوژی و ویژگی‌های ژنتیکی آن وجود دارد. این اطلاعات در کنار سرعت رشد بالای این باکتری، اشرشیاکولی را به یکی از میکروارگانیسم‌های مهم صنعتی تبدیل کرده است. البته نقش اکتینوباکتریا (جنس استرپتومیسس) در تولید آنتی بیوتیک‌ها حائز اهمیت بوده اما در مجموع سهم اشرشیاکولی در دانش بیوتکنولوژی پررنگ‌تر است.

مثال۲: از بین تاکسون‌های باکتریایی زیر کدام‌یک تاکنون در زیست فناوری بیشتر مورد استفاده قرار گرفته‌اند؟ (سراسری۹۲)

۱) اکتینوباکتریا ۲) گاما ـ پروتئوباکتریا ۳) دلتا ـ پروتئوباکتریا ۴) سیانوباکتریا

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» اشرشیاکولی از گروه گاما پروتئوباکتریا، از شناخته‌شده‌ترین سویه‌های مورد استفاده در بیوتکنولوژی بوده که امروزه اطلاعات وسیعی در مورد بیوشیمی، فیزیولوژی و خصوصیات ژنتیکی آن وجود دارد. این اطلاعات به همراه سرعت رشد بالای این باکتری، اشرشیاکولی را به یکی از میکروارگانیسم‌های مهم صنعتی تبدیل کرده است. البته نقش اکتینوباکتریا (جنس استرپتومیسس) در تولید آنتی بیوتیک‌ها حائز اهمیت بوده اما در مجموع سهم اشرشیاکولی در دانش بیوتکنولوژی پررنگ‌تر است.

درسنامه (۲): محیط کشت تخمیر

در اکثر فرآیندهای تخمیر در صنعت، مراحل مختلفی وجود دارد که هر یک محیط کشت ویژه‌ای نیاز دارند. این مراحل شامل تکثیر مایه‌ی میکروبی (کشت استارتر)، تخمیر در ابعاد نیمه صنعتی و تولید فرآورده‌ی نهایی در مقیاس صنعتی است.

در مواردی که محصول مورد نظر متابولیت اولیه یا زیست توده می‌باشد، باید از محیط‌های کشتی بهره برد که موجب رشد بهینه‌ی میکروارگانیسم شود و چنانچه فرآورده‌ی نهایی بخشی از متابولیت ثانویه میکروبی است، باید از محیطی استفاده کرد که یک دوره مقدماتی رشد سلولی را فراهم کرده و بعد از آن شرایط مناسب را برای تولید متابولیت ثانویه ایجاد کند، چرا که تولید این محصولات وابسته به رشد نیست. در این حالت با کاهش یک یا چند ماده غذایی، رشد را متوقف می‌کنند.

نیازهای عمومی برای انجام فرآیند تخمیر، منابع کربن، نیتروژن، فسفر و گوگرد، برخی عناصر نادر و کمیاب، گاهی ویتامین‌هایی مثل بیوتین و ریبوفلاوین، بافرها و یا عوامل کنترل‌کننده pH و ضدکف می‌باشند.

منابع کربن

کربوهیدرات‌ها مهم‌ترین منابع کربن و انرژی جهت انجام تخمیرهای میکروبی هستند، البته گاهی الکل‌ها، آلکان‌ها و اسیدهای آلی و در مواردی چربی‌های حیوانی و روغن‌های گیاهی به عنوان مکمل منبع اصلی کربن اضافه می‌شوند.

نکته ۲: ملاس، شربت سیاهرنگ و چسبناکی است که محصول فرعی تولید قند از چغندر و نیشکر به شمار آمده و متداول‌ترین و در عین حال ارزان‌ترین منبع ساکارز است. **هیدرول ملاس**، منبع کربن دیگری است که محصول جانبی فرآوری نشاسته‌ی ذرت بوده و عمدتاً حاوی گلوکز می‌باشد.

ـ در ساختار **عصاره مالت** حدود ۹۰% کربوهیدرات وجود دارد که از انواع منو، دی و تری ساکاریدها محسوب می‌شوند که بخش عمده آن دی‌ساکاریدها به خصوص مالتوز می‌باشد. این عصاره که از جو تهیه می‌شود، منبع کربن مناسبی جهت رشد قارچ‌های رشته‌ای، مخمرها و اکتینومیست‌ها می‌باشد. عصاره مالت مانند ملاس حاوی درصد کمی مواد نیتروژن‌دار، برخی ویتامین‌ها و مواد معدنی است. pH پایین و حرارت بالا در محیطی که حاوی عصاره مالت است موجب راه افتادن واکنش میلارد شده که طی آن گروه آمین در آمینو اسیدها با گروه کربونیل قندها و اکنش داده و محصولات قهوه‌ای رنگی تولید می‌کنند که علاوه بر از دست رفتن مواد تخمیرپذیر، موجب ممانعت از رشد میکروبی نیز می‌شوند.

ـ **نشاسته و دکسترین** هم می‌توانند گاهی به عنوان منبع کربن بخصوص در مورد قارچ‌های رشته‌ای به کار روند، البته معمولاً از نشاسته، شربت قند که عمدتاً حاوی گلوکز بوده تهیه می‌کنند و سپس آن را مورد استفاده قرار می‌دهند.

ـ **ضایعات حاوی قندی** که از کارخانجات تولید خمیر کاغذ تهیه می‌شود و حاوی دی اکسید سولفور می‌باشد، پس از انجام پاره‌ای تغییرات، تحت عنوان لیکور ضایعات سولفیت جهت کشت مخمرها به کار می‌رود.

ـ **لیگنو سلولز** موجود در دیواره سلولی گیاهان که از سه پلیمر سلولز، همی سلولز و لیگنین تشکیل شده است، توسط تعداد کمی از میکروارگانیسم‌ها هیدرولیز شده و بیشتر در تخمیرهای با بستره جامد و برای تولید قارچ‌های خوراکی کاربرد دارد.

ـ بخش عمده **آب پنیر**، ساخته شده از قند لاکتوز بوده که اگر چه در مقایسه با ساکارز اهمیت کمتری در فرآیندهای تخمیری دارد، اما هنوز هم برای تولید اتانول، پروتئین‌های تک یاخته، اسید لاکتیک، صمغ زانتان، ویتامین B_{12} و اسید جیبرلیک به کار می‌رود. به علاوه از لاکتوز در گذشته به مقدار زیادی جهت تولید پنی‌سیلین استفاده می‌شد.

ـ مخلوط **آلکان‌ها و الکل‌هایی نظیر متانول** به عنوان منبع کربن توسط برخی میکروارگانیسم‌ها مصرف می‌شوند. البته متانول تنها در غلظت‌های ۱-۰/۱ درصد کاربرد داشته و بیشتر از آن سمی است. اتانول در مقایسه با متانول سمیت کمتری داشته ولی به دلیل گران بودن در فرایندهای خاصی نظیر تولید اسید استیک به کار می‌رود. امروزه با گران شدن قیمت نفت کاربرد آلکان‌ها و الکل‌ها به عنوان منابع کربن، چندان به صرفه نیست.

ـ **چربی‌ها و روغن‌ها**، به ازای واحد وزن انرژی بیشتری در مقایسه با کربوهیدرات‌ها تولید کرده و به علاوه حجم کمتری را نیز نسبت به آنها اشغال می‌کنند. از این رو می‌توانند برای تخمیرهای نیمه پیوسته مفید باشند که مخزن کمتری برای ذخیره منبع کربن اضافی سیکل بعد مورد نیاز باشد. چربی‌های جامد حیوانی عمدتاً گلیسریدهای اسید پالمتیک و اسید استئاریک هستند و روغن‌های گیاهی اکثراً از اسید اولئیک و لینولئیک تشکیل یافته‌اند.

منابع نیتروژن

منابع نیتروژن مورد استفاده میکرو ارگانیسم‌ها به دو صورت آلی مانند اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اوره و غیر آلی مانند نمک‌های آمونیوم تأمین می‌شود. **خیساب ذرت** (Corn steep Liquor)، **عصاره مخمر، پپتون‌ها، آرد سویا و اسیدهای آمینه خالص** از مهم‌ترین منابع نیتروژن محسوب می‌شوند. از مهم‌ترین سویه‌ها که در تولید عصاره مخمر به کار می‌روند، *ساکارومیسس سرویزیه*، *کلایورومایسس مارکسیانوس* و *کاندیدایوتیلیس* می‌باشند.

فصل سوم

«شرح عملیات پایین‌دستی»

درسنامه: تعریف عملیات پایین‌دستی و روش‌های آن

فرآیندهای تخمیر صنعتی به دو قسمت فرآیندهای بالادستی یا upstream processing و فرآیندهای پایین‌دستی یا Downstream processing تقسیم می‌شوند. کلیه‌ی مراحلی که به صورت اولیه و در جهت انجام عمل تخمیر صورت می‌گیرد، به عملیات بالادستی نسبت داده می‌شوند و آنچه به دنبال تخمیر و جهت خالص سازی و بازیابی محصول انجام می‌شود به عملیات پایین دستی مربوط می‌شود.

نکته ۱: عواملی نظیر خصوصیات میکروارگانیسم‌ها بخصوص مورفولوژی آنها، خصوصیات مربوط به حالت خود تجمعی آنها، اندازه‌ی سلولی و استحکام دیواره سلول از عوامل اثرگذار در عملیات پایین‌دستی به شمار می‌روند، به نحوی که بر نحوه فیلتر شدن، ته‌نشینی و کارآیی همگن‌سازی اثر می‌گذارند.

نکته ۲: محصولات جانبی فرآیند تخمیر، وجود ناخالصی‌ها در محیط کشت و افزودنی‌های سیستم نظیر مواد ضد کف می‌توانند در فرآیندهای پایین‌دستی ایجاد اختلال کنند. لذا همیشه انتخاب بسترهای ارزان که دارای ناخالصی بالا هستند برای تولید مطلوب نیست، شاید در مواقعی نیاز باشد تا از بسترهای کمکی گران‌تر اما بدون ناخالصی یا ناخالصی کمتر بهره برد تا هزینه کلی فرآیند را کاهش داد.

امروزه در بسیاری موارد از تلفیق فاز تولید و فرآیندهای پایین‌دستی یاد می‌کنند که می‌تواند باعث افزایش تولید، کاهش مراحل تولید و کاهش زمان کلی فرآیند و هزینه‌ها شود. اولین مرحله در عملیات پایین‌دستی در محیط‌های کشت مایع، تفکیک اجزاء جامد و مایع از هم به منظور خروج سلول‌ها از محیط‌های کشت مصرف شده می‌باشد. بسته به نوع محصول که درون سلولی بوده و یا به فضای پری پلاسمی و محیط بیرون ترشح شود و با توجه به مورفولوژی میکروارگانیسم‌ها (تک سلولی، میسلیومی یا مجتمع) و ویسکوزیته محیط کشت، نوع روش‌های تفکیک جامد ـ مایع انتخاب می‌شوند.

به منظور ایجاد قابلیت در فرآیندهای ته‌نشینی و سانتریفوژ که عمدتاً به دنبال مرحله‌ی تخمیر انجام می‌شوند، می‌توان محیط‌های مایع را با برخی مواد شیمیایی تیمار کرد. به عنوان مثال الکترولیت‌ها، اسیدها، بازها، نمک‌ها، یون‌های چندبنیانی و پلی الکترولیت‌ها از مواد منعقدکننده‌ای هستند که موجب تشکیل لخته‌های کوچک از کلوئیدهای معلق یا سلول‌ها شده و لذا موجب بهبود عملکرد انعقاد می‌شوند. لخته‌های حاصل ترکیبات آنیونی، کاتیونی یا آلی غیر یونی مثل پلی‌ساکاریدها و سولفات پلی‌استیرن، با وزن مولکولی بالا و حلال در آب می‌باشند. این روش که روشی کم هزینه می‌باشد، موجب جداسازی سلول‌های میکروبی در حجم بالایی از محیط کشت می‌شود.

مثال۱: کدام‌یک از موارد زیر در فرآیندهای پایین دستی مطرح می‌شوند؟

۱) مورفولوژی میکروارگانیسم‌ها
۲) انتخاب بسترهای مناسب جهت تولید
۳) اندازه سلولی
۴) فیلتراسیون

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» عملیات پایین دستی اشاره به فعالیت‌هایی می‌کند که به دنبال تخمیر و جهت خالص سازی محصول به کار رفته و ویژگی‌هایی نظیر مورفولوژی، اندازه سلولی و حالت خود تجمعی میکروارگانیسم‌ها به دلیل اثرگذاشتن برکیفیت فرآیندهای فیلترشدن و ته نشینی و حذف ناخالصی‌ها در این عملیات اهمیت دارند.

ته‌نشینی

روش ته‌نشینی به مقدار وسیعی برای جداسازی اولیه مخمرها در تولید نوشابه‌های الکلی و تصفیه فاضلاب‌ها به کار رفته و روش کم هزینه و قابل استفاده برای ذرات بزرگ، با قطر بیش از μ_m ۱۰۰ می‌باشد، به طوری که هر چه ذرات بزرگتر بوده و دانسیته بیشتری داشته باشند، با سرعت بیشتری ته‌نشین می‌شوند.

سانتریفوژ

سرعت جدا سازی ذرات معلق با کاربرد سانتریفوژ، به مراتب بیش از روش ته‌نشینی بوده و به علاوه قابلیت رسوب دادن ذرات کوچکتر را نیز دارا می‌باشد، به طوری که سانتریفوژ، ذراتی با قطر μ_m ۰/۱را نیز از یکدیگر جدا کرده و گاهی دو فاز مایع ـ مایع را نیز از هم جدا می‌کند. اندازه ذرات، تفاوت دانسیته آنها با محیط کشت و ویسکوزیته محیط کشت روی کارایی سانتریفوژ، اثر می‌گذارند.

سانتریفوژ با سرعت نسبتاً پایین برای جداسازی بقایای سلول‌های مخمری که بعد از جدا شدن سایر اجزای محیط کشت در آبجو باقی می‌ماند به کار رفته و سانتریفوژهایی با نیروی g ۲۰۰۰۰ برای جدا کردن سلول‌های باکتریایی معلق، اضافات سلولی و جداسازی پروتئین از محیط کشت مایع به کار می‌روند. بنابراین جداسازی میکروارگانیسم‌های کوچکتر مثل باکتری‌ها، در مقایسه با مخمرها، سانتریفوژهای با سرعت بالاتری نیاز دارد. ذکر این نکته هم شاید مفید باشد که در سانتریفوژها تنش برشی و پارگی فیزیکی سلول‌ها و یا افزایش غیر قابل کنترل درجه حرارت ممکن است اتفاق بیفتد.

سانتریفوژها را می‌توان به انواع آزمایشگاهی، نیمه صنعتی و صنعتی طبقه‌بندی کرد. اولتراسانتریفوژ نمونه‌ای از سانتریفوژهای آزمایشگاهی است که نیرویی برابر با g ۵۰۰۰۰۰–۵۰۰۰ تولید می‌کند. اما سانتریفوژهای نیمه صنعتی و صنعتی اگر چه نیروی کمی را اعمال می‌کنند، اما حجم بالاتری را فرآوری می‌کنند. سانتریفوژهای صنعتی، چهار شکل مختلف دارند که شامل:

ـ سانتریفوژهای لوله‌ای: متشکل از یک لوله تهی متصل به یک کاسه گرداننده‌اند که در لوله یک مسیر جریان برای محلول ایجاد شده، به طوری که محلول پس از ورود از بخش پایین به سمت بالا جریان پیدا کرده، ذرات ریز به اطراف کاسه پرتاب شده و مایع حاصل از بالای سانتریفوژ خارج می‌شود.

ـ سانتریفوژ کاسه‌ای چندمحفظه‌ای: از یک محفظه که توسط استوانه‌های عمودی متصل به هم از یکدیگر جدا شده‌اند ساخته شده و مایع وارد شده به دستگاه از بالا، از بخش مرکزی به درون دیگر محفظه‌ها وارد شده و ذرات کوچکتر در محفظه‌های خارجی جمع‌آوری می‌شوند.

ـ سانتریفوژهای دیسکی: در محفظه‌ی اصلی دستگاه، مجموعه‌ای از دیسک‌های مخروطی شکل قرار دارد که پس از ورود مایع از بخش فوقانی به دستگاه، ذرات ریز به سمت خارج پرتاب شده و به سمت دیواره کاسه حرکت کرده و در آنجا پس از تجمع، تخلیه می‌شوند.

ـ سانتریفوژهای دارای تخلیه‌کننده‌های مارپیچی: این سانتریفوژها برای آب‌زدایی از مواد جامد درشت مناسب بوده و در جدا کردن لجن در سیستم‌های فاضلاب و حذف مخمرها و میسلیوم‌های قارچی به کار می‌روند.

نکته ۳: در میان انواع سانتریفوژهای صنعتی، سانتریفوژ لوله‌ای بیشترین نیروی سانتریفوژی و سانتریفوژهای دارای تخلیه‌کننده مارپیچی کمترین نیرو را وارد می‌کنند. پس از سانتریفوژهای لوله‌ای، سانتریفوژ دیسکی از نظر اعمال نیرو در مرتبه‌ی دوم قرار می‌گیرند.

مثال۲: کدام‌یک از انواع سانتریفوژهای صنعتی جهت آب‌زدایی مواد جامد ریز مناسب‌ترند؟

۱) لوله‌ای ۲) کاسه‌ای چند محفظه‌ای ۳) دیسکی ۴) دارای تخلیه‌کننده مارپیچی

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» هر اندازه سانتریفوژ از سرعت و نیروی بالاتری برخوردار باشد، قادر به جداکردن ذرات ریزتری خواهد بود. در میان سانتریفوژهای صنعتی، انواع لوله‌ای از بالاترین قدرت برخوردار بوده و لذا در جداسازی مواد ریزتر، مناسب‌ترند.

فیلتراسیون

مواد متخلخل نظیر پارچه، پشم شیشه و سلولز جهت جدا کردن مواد جامد معلق درون مایعات به کار می‌روند. فیلتراسیون روندی است که جهت جداسازی قارچ‌های رشته‌ای مناسب بوده ولی در جمع‌آوری باکتری‌ها کاربرد چندانی ندارد. فیلترهای موجود در صنایع به دو صورت کلی فیلترهای صفحه‌ای یا پرسی و فیلترهای چرخشی وجود دارند که اولی برای برداشت میکروارگانیسم‌ها از محیط تخمیر، تهیه پروتئین رسوبی و آبگیری از لجن فاضلاب‌ها و دومی در فرآیندهای مشابه به علاوه‌ی برداشت میسلیوم قارچ‌ها در طی ساخت آنتی‌بیوتیک به کار می‌روند.

فیلتراسیون غشایی

امروزه به جای کاربرد فیلترهای معمولی، از فیلترهای مطلق استفاده می‌شود که از غشاهای تثبیت شده با اندازه منافذ مشخص تشکیل شده و بر این اساس به ترتیب کاهش اندازه‌ی منافذ آنها به سه دسته‌ی غشاهای میکروفیلتراسیون، اولترافیلتراسیون و اسمز معکوس تقسیم می‌شوند. در این حالت ذرات کوچکتر از اندازه منافذ فیلتر که اولترافیلترات (Ultra filtrate) یا پرمیت (Permeate) نامیده می‌شوند از فیلتر عبور کرده، در حالی که جزء رتنتیت (Retentate) پشت فیلتر باقی می‌ماند.

فصل چهارم

«نقش میکروارگانیسم‌ها در تولیدات صنعتی»

درسنامه (۱): آنزیم‌های میکروبی

هر ساله چندین هزار تن آنزیم تجاری تولید می‌شود که ارزشی بالای ۱۵۰۰ میلیون دلار دارد و سویه‌های مولد این آنزیم‌ها عمدتاً منابع میکروبی بوده و آنزیم‌های گیاهی و جانوری در مرتبه بعدی اهمیت قرار دارند.

نکته ۱: در جامعه بزرگ میکروارگانیسم‌ها، سهم باکتری گرم مثبت *باسیلوس* در تولید آنزیم‌ها، بخصوص آنزیم‌های خارج سلولی پروتئاز و آمیلاز و دیگر آنزیم‌های مقاوم به حرارت این جنس، چشمگیر است.

راه‌های عمده مصارف آنزیمی از بیشترین آنها به کمترین کاربردها شامل مصارف شویندگی، فرآورده‌های لبنی، فرآوری نشاسته و مصارف نساجی بوده و دیگر کاربردها در مرتبه پایین‌تر و به صورت متنوع می‌باشند. از مهم‌ترین این آنزیم‌ها می‌توان به آنزیم‌هایی که در بیولوژی مولکولی کاربرد دارند، مانند اندونوکلئاز محدودالاثر و DNA پلیمرازهایی مانند DNA پلیمراز حاصل از *Thermus aquaticus* (DNA پلیمراز Taq) یا *Pyrococcus furiosus* (DNA پلیمراز Pfu) اشاره کرد.

گاهی آنزیم‌های میکروبی را به صورت تثبیت شده مورد استفاده قرار می‌دهند که مزایای چنین کاربردی می‌تواند شامل موارد زیر باشد:

۱ـ امکان استفاده مجدد از آن ۲ـ استفاده مداوم

۳ـ عدم نیاز به عملیات اضافی جهت خارج سازی یا غیر فعال کردن آنزیم ۴ـ بالا بردن ثبات آنزیم

سطوحی از جنس مواد جامد آلی یا غیرآلی مانند نایلون، سلولز و دکستران، بسترهای لازم برای تثبیت آنزیمی را از طریق جذب سطحی و اتصالات یونی یا کووالانسی فراهم می‌کنند.

مثال۱: کدام یک از میکروارگانیسم‌های زیر در تولیدات آنزیمی بیش از سایرین نقش مطرحی دارند؟

۱) *آسپرژیلوس‌ها* ۲) *باسیلوس‌ها* ۳) *میکروکوکوس‌ها* ۴) *پنی سیلیوم‌ها*

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» در دنیای میکروارگانیسم‌ها، سهم باکتری باسیلوس در تولید آنزیم‌ها، به ویژه آنزیم‌های خارج سلولی بیش از سایر اعضاست.

تولید تجاری آنزیم‌های میکروبی

اولین آنزیم میکروبی تجاری، آنزیم تاکادیاستاز (یک آمیلاز قارچی) بود که از طریق کشت *آسپرژیلوس اوریزا* به روش تخمیر روی بستره‌ی جامد تولید شد. البته ادامه روند تولید تجاری آنزیم‌ها بعد از پیشرفت و توسعه روش تخمیر به صورت غوطه‌وری و عمدتاً از طریق فرآیند ناپیوسته صورت گرفت که متعاقب تولید پنی‌سیلین در دهه‌ی ۱۹۴۰ بود. امروزه تولید اکثر آنزیم‌های میکروبی در رآکتورهای همزن‌دار و تحت شرایط اسپتیک انجام می‌شود.

یکی از بهترین ارگانیسم‌هایی که امروزه در تولید آنزیم‌های میکروبی اهمیت دارند، ارگانیسم‌های ترموفیل هستند که آنزیم‌های مقاوم به حرارتی را تولید کرده که پتانسیل عملکرد در شرایط دمایی که دیگر آنزیم‌ها غیر فعال می‌شوند را دارا می‌باشند.

آنزیم‌های مورد استفاده در صنایع شوینده

کاربرد آنزیم‌ها در صنایع شوینده از دو بعد زیست محیطی و اقتصادی حائز اهمیت می‌باشد. بعد زیست محیطی این اثر مربوط به تجزیه‌پذیری این ترکیبات و ایمن بودن آن برای آبزیان و دیگر موجودات زنده می‌باشد. از نظر اقتصادی هم، کاربرد آنزیم‌ها در مواد شوینده، موجب اثرگذاری بالای این مواد در مقدار کم و نیز فعالیت آن در دمای پایین شده که نیاز به بالا رفتن دمای آب جهت شست وشوی بهتر را از بین می‌برد.

اولین بار، کاربرد آنزیم‌ها در مواد شوینده به سال ۱۹۵۹ برمی‌گردد که شوینده‌ای حاوی یک پروتئاز باکتریایی جایگزین تریپسین حیوانی کـه قـبلاً در ایـن محصولات به کار می‌رفت، شد. پس از آن سوبتیلیزین، پروتئاز حاصل از جنس‌های *باسیلوس لیکنی فورمیس* و *باسیلوس سوبتیلیس* معرفی شد کـه در pH قلیایی فعال می‌باشد و در درجه حرارت شست و شو به خوبی فعالیت می‌کند.

نکته ۲: سورفاکتین که یکی از مؤثرترین بیوسورفکتانت‌ها می‌باشد نیز توسط باسیلوس سوبتیلیس تولید می‌شود. این ترکیب لیپولیپیدی برخلاف سورفکتانت‌های شیمیایی قابل تجزیه بوده که از اثرات سمی آن می‌کاهد.

آمیلاز و لیپاز از دیگر آنزیم‌های مورد استفاده در تولید مواد شوینده بودند که پس از پروتئاز به کار گرفتـه شـدند. بـه عنـوان مثـال، لیپـولاز، اولـین آنـزیم شوینده‌ای بود که از طریق تکنولوژی مهندسی ژنتیک تولید شد که ژن مولد آن از یک قارچ رشته‌ای به نام Humicola به سـویه‌ی صـنعتی *آسـپرژیلوس اوریزا* منتقل گشت. به علاوه ژن یکی از آنزیم‌های تجزیه‌کننده اسیدهای چرب به نام کوتیناز، امروزه از *فوزاریوم سولانی* خارج شده و برای تولید ایـن آنـزیم به *ساکارومیسس سرویزیه* انتقال داده شده است.

مثال۲: اولین آنزیم میکروبی تجاری ..... نام دارد که سویه مولد آن ..... می‌باشد.

۱) اینورتاز ـ *آسپرژیلوس نایجر* ۲) سلولاز ـ *آسپرژیلوس آلبوس* ۳) تاکادیاستاز ـ *آسپرژیلوس اوریزا* ۴) آمیلاز ـ *باسیلوس سوبتیلیس*

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» اولین آنزیم میکروبی تجاری، آنزیم تاکادیاستاز، از انواع آمیلازها، بود که از طریق کشت *آسپرژیلوس اوریزا* به روش تخمیر بـر روی بستر جامد تولید شد.

◆ ◆ ◆ ◆

مثال۳: کدام یک از سیستم‌های تخمیر جهت تولید میکروبی آنزیم‌ها کاربرد دارد؟

۱) شرایط غیرآسپتیک و به صورت نیمه پیوسته ۲) شرایط آسپتیک و به صورت پیوسته

۳) شرایط غیرآسپتیک و به صورت پیوسته ۴) شرایط آسپتیک و به صورت ناپیوسته

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» روشی که امروزه جهت تولید میکروبی آنزیم‌ها کـاربرد دارد، تولیـد تحـت شـرایط آسـپتیک و بـه صـورت ناپیوسـته بـوده کـه در رآکتورهای همزن‌دار صورت می‌گیرد.

◆ ◆ ◆ ◆

مثال۴: سوبتیلیزین چیست؟

۱) پپتید ضدمیکروبی تولید شده از *باسیلوس سوبتیلیس* ۲) پروتئاز حاصل از باکتری *باسیلوس لیکنی فورمیس*

۳) اگزوتوکسین تولیدی از *باسیلوس سرئوس* ۴) همولیزین تولیدی از *باسیلوس سوبتیلیس*

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» سوبتیلیزین، پروتئاز تولیدی از جنس‌های *باسیلوس لیکنی فورمیس* و *باسیلوس سوبتیلیس* بوده که در pH قلیایی فعالیت می‌کند.

◆ ◆ ◆ ◆

مثال۵: سورفکتین (surfactin) که یکی از مؤثرترین بیوسورفکتانت‌ها می‌باشد، توسط کدام‌یک از باکتری‌های زیر تولید می‌شود؟ (سراسری ۸۸)

۱) *E. coli* ۲) *Bacillus subtilis*

۳) *Pseudomonas aeruginosa* ۴) *Staphylococcus aureus*

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» سورفکتین یک ترکیب لیپوپپتیدی بوده که توسط *باسیلوس سوبتیلیس* تولید می‌شود. این ترکیب دارای خواص متعددی بوده و از مهم‌ترین ویژگی‌های آن این است که برخلاف سورفاکتانت‌های شیمیایی، این ترکیب قابل تجزیه بوده و لذا از اثرات سمی آن می‌کاهد. *باسیلوس سوبتیلیس* یکی از متداول‌ترین میکروارگانیسم‌های خاک است که گاهی از آب، هوا و بقایای گیاهان جـدا شـده و هـیچ اثـر بیمـاریزایی نـدارد. ایـن بـاکتری در تولیـد آنزیم‌های صنعتی و شیمیایی به خصوص نوکلئوزیدها، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه نیز مفید بوده و برخی سویه‌های آن برای حفاظت گیاهـان زراعـی علیـه قارچ‌های بیماریزا به کار می‌روند.

◆ ◆ ◆ ◆

آنزیم‌های فرآوری نشاسته و دیگر کربوهیدرات‌ها

نشاسته پلی‌ساکاریدی متشکل از آمیلوز (با اتصالات $\alpha(1\rightarrow 4)$ گلوکز) و آمیلوپکتین (با اتصالات $\alpha(1\rightarrow 4)$ و $\alpha(1\rightarrow 6)$ از گلوکز) می‌باشد کـه تجزیـه میکروبی آن امروزه در صنعت اهمیت بسیار زیادی دارد. **$\alpha-$ آمیلاز**، از آنزیم‌های مهم تجزیه کننده نشاسته بـوده کـه بـه صـورت تصـادفی روی اتصـالات $\alpha(1\rightarrow 4)$ عمل کرده و مخلوطی از واحدهای گلوکز، مالتوز و مالتوتریوز را تولید می‌کند. این آنزیم در تولید بسیاری از شربت‌های قنـدی و صـنایع تولیـد نان که نیاز به مایع کردن نشاسته دارند به کار رفته و انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و برخی مخمرها آن را تولید مـی‌کننـد، البتـه امروزه $\alpha-$ آمیلاز مقاوم به حرارت تولیدی از *باسیلوس لیکنی فورمیس*، اهمیت زیادی پیدا کرده است.

از دیگر آنزیم‌های مفید میکروبی در فرآوری نشاسته، **آمیلوگلوکوزیداز (گلوکوآمیلاز)** تولیدی از *آسپرژیلوس نایجر* و برخی گونه‌هـای *ریزوپـوس* مـی‌باشـند کـه می‌تواند نشاسته و دکسترین‌ها را با تجزیه کامل به گلوکز تبدیل کند و لذا پس از شناسایی جایگزین کلیه روش‌های مرسوم هیدرولیز اسیدی نشاسته شد.

فصل اول

«مقدمه‌ای بر میکروب‌شناسی غذایی، عوامل مؤثر در فساد مواد غذایی»

درسنامه (۱): میکروب‌شناسی غذایی و فساد میکروبی

میکروب‌شناسی غذایی، شاخه‌ای از علم میکروب‌شناسی بوده که در آن خواص مواد غذایی در ارتباط با میکروارگانیسم‌ها، تولید میکروبی مواد غذایی و نیز تأثیر میکروب‌ها بر آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد. حضور میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی و تأثیر آنها می‌تواند در سه جنبه مختلف اثرات مضر، اثرات مفید و پیامدهای خنثی یا فاقد اثر، مطرح گردد.

در اغلب موارد میکروارگانیسم‌ها قادرند از مواد غذایی مشترک با سایر جانداران، به عنوان ماده غذایی مورد نیاز برای رشد و نمو خود بهره برند، چرا که این موجودات زنده نیز همانند دیگر اشکال حیاتی از درشت مولکول‌هایی چون پروتئین‌ها، چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک، قندها و هم‌چنین آب تغذیه کرده و در رسیدن به این منابع با سایر موجودات زنده از جمله انسان‌ها و نیز سایر جمعیت‌های میکروبی رقابت دارند.

از مهم‌ترین اثرات مضر حضور میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی و ایجاد **فساد میکروبی (Microbial spoilage)**، تولید سموم و ایجاد مسمومیت در اثر مصرف مواد غذایی و نیز استفاده از مواد غذایی به‌عنوان بستری برای انتقال و بروز بیماری در میزبان می‌باشد.

مثال۱: کدام یک از مباحث زیر، زیرمجموعه شاخه میکروب شناسی غذایی نمی‌باشد؟

۱) تولید مواد غذایی در حضور میکروارگانیسم‌ها

۲) تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی در حضور میکروارگانیسم

۳) بهینه‌سازی تولید میکروبی محصولات غذایی

۴) فساد میکروبی مواد غذایی

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» تولید میکروبی مواد غذایی از جمله اثرات مفید حضور میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی بوده، حال آنکه تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی در حضور میکروارگانیسم‌ها و فساد میکروبی مواد غذایی، از پیامدهای منفی مجاورت میکروارگانیسم‌ها با محصولات غذایی است. اما بهینه‌سازی تولید مواد غذایی توسط میکروارگانیسم‌ها مانند دیگر روش‌های بهینه‌سازی میکروبی مبحثی است که در میکروب‌شناسی صنعتی به آن پرداخته می‌شود.

◆ ◆ ◆ ◆

مسمومیت و بروز بیماری

تعاریف متعددی در ارتباط با فساد میکروبی مواد غذایی مطرح شده و شاید بتوان در یک تعریف جامع، فساد را هرگونه تغییر فیزیکی و شیمیایی ترکیبات مواد غذایی عنوان کرد که منجر به غیرقابل مصرف شدن آنها می‌شود.

در این شرایط، تغییر و تحولاتی در رنگ، بو، قوام، طعم و مزه غذاها ایجاد می‌شود که موجب عدم دلچسبی آنها برای مصرف‌کنندگان می‌شود. برای تعیین فاسد بودن یا نبودن یک ماده غذایی، مجموعه‌ای از استانداردها و معیارها در سطح جهانی و یا برای هر کشوری، بسته به نیازها و مصالح جامعه تدوین گردیده که قراردادی می‌باشد.

نکته۱: برای جلوگیری از بروز فساد در مواد غذایی، می‌بایست امکان تماس میکروارگانیسم‌ها و مواد غذایی را به حداقل رسانده و یا میکروارگانیسم‌های موجود در غذاها را به روش‌های خاصی کاهش داده و یا با قرار دادن مواد غذایی در شرایط مطلوب، مانع رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها شویم. به مجموعه این اقدامات و فعالیت‌های ضد میکروبی، **حفاظت یا preservation** گفته می‌شود.

بحث ایجاد مسمومیت در اثر مصرف مواد غذایی برخلاف بحث فساد میکروبی آنها، مسئله‌ای محدودتر بوده که تنها به فرآیند تولید سم توسط میکروارگانیسم‌ها و بروز تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از عملکرد سم در بدن میزبان اشاره دارد.

گاهی نیز حضور میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی عامل ایجاد فساد و مسمومیت نبوده، بلکه این مواد به عنوان بستر و عاملی برای انتقال میکروارگانیسم‌ها به بدن میزبان‌های خود بوده و در واقع میکروارگانیسم روی این مواد سوار می‌شود. در این حالت میکروارگانیسم‌ها تأثیری بر کیفیت ماده غذایی نداشته و ظاهر آن سالم است (مثل انگل‌های سطح سبزیجات خوراکی) اما می‌تواند راهی برای انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا باشد. بنابراین اگرچه ممکن است ترکیبات یک ماده غذایی برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها و تولید متابولیت‌های آنها، نامساعد تلقی شود، اما می‌تواند روش مطلوبی برای انتقال به میزبان‌ها و بروز بیماری محسوب گردد.

مثال۲: کدام یک از گزینه‌های زیر فساد میکروبی مواد غذایی را بهتر نشان می‌دهد؟

۱) در اثر تولید سم توسط میکروارگانیسم‌ها ایجاد می‌شود.

۲) در این حالت ماده غذایی بستری برای انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زاست.

۳) عدم دلچسبی مواد غذایی برای مصرف‌کننده از نشانه‌های فساد میکروبی آن است.

۴) تغییر فیزیکی و شیمیایی نامحسوس در مواد غذایی توسط فعالیت‌های میکروبی است.

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» گزینه ۱ به مفهوم مسمومیت غذایی و تولید سم توسط میکروارگانیسم‌ها و بروز تغییرات فیزیولوژیکی در اثر مصرف ماده غذایی آلوده در بدن میزبان اشاره می‌کند. گزینه ۲ مفهوم انتقال عوامل بیماری‌زا از طریق مواد غذایی را نشان می‌دهد که اگرچه ظاهر غذای آلوده در این حالت سالم است، اما بستر و راه انتقالی برای پاتوژن‌ها می‌باشد. تغییر فیزیکی و شیمیایی مانند تغییر رنگ، بو، قوام و طعم مواد غذایی که موجب از دست رفتن خاصیت دلچسبی (ارگانولپتیکی) مواد غذایی شود، به فساد میکروبی اشاره دارد.

جنبه‌های مطلوب حضور میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی

علاوه بر پیامدهای نامطلوبی که حضور میکروارگانیسم‌ها و رشد آنها می‌تواند در مواد غذایی ایجاد کند، با این حال نمی‌توان از جنبه‌های مفید فعالیت‌های میکروبی در صنعت مواد غذایی چشم پوشی کرد. از این دست زمینه‌های مطلوب می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

ـ **تولید مواد غذایی و یا ایجاد تغییرات مطلوب در اثر حضور میکروارگانیسم‌ها در آنها:** در این حالت میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی همراه با رشد و تکثیر و تولید متابولیت‌های ویژه آنها، راهی برای ایجاد تغییرات شیمیایی مطلوب در غذاها بوده که از دسته این تغییرات می‌توان به تولید انواع شورها و ترشی‌ها و نیز فرآورده‌های لبنی اشاره کرد.

ـ **کاربرد مستقیم محصولات میکروبی:** گاهی حضور برخی میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی به لحاظ رعایت استانداردهای کنترل کیفی، تایید شده نبوده، اما کاربرد محصولات تولیدشده آنها نظیر آنزیم‌ها می‌تواند در صنایع غذایی سودمند باشد. مثل استفاده از آسپارتات پروتئاز میکروبی در عمل‌آوری پنیر.

ـ **استفاده از خود میکروارگانیسم‌ها به عنوان ماده غذایی:** به دلیل افزایش روز افزون جمعیت دنیا و کمبود مواد غذایی به ویژه منابع پروتئینی، گاهی از میکروارگانیسم‌ها به عنوان ماده غذایی استفاده می‌شود.

مثال۳: کاربرد آنزیم آسپارتات پروتئاز میکروبی در عمل‌آوری پنیر مثالی است از:

۱) تولید مواد غذایی در اثر حضور میکروارگانیسم‌ها

۲) کاربرد محصولات میکروبی در صنایع غذایی

۳) استفاده از میکروارگانیسم‌ها به عنوان مواد غذایی

۴) تغییرات شیمیایی مطلوب حضور میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» تولید بسیاری از فرآورده‌های لبنی نظیر پنیر، ماست، کره، کفیر و ... به حضور مستقیم میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی و یا کاربرد محصولات میکروبی نظیر آنزیم‌ها وابسته بوده که در این میان استفاده از آنزیم آسپارتات پروتئاز در مرحله عمل‌آوری پنیر مثالی از کاربرد محصولات میکروبی در تولید مواد غذایی محسوب می‌شود.

مدرسان شریف

فصل دوم

«روش‌های نگهداری مواد غذایی»

درسنامه (۱): انواع روش‌های نگهداری مواد غذایی

نگهداری مواد غذایی در مدت زمان دلخواه و کنترل فساد میکروبی در آن، لازمه انجام مراحلی است که طی آن گاهی هدف سترون کردن مواد غذایی و کشتن کلیه میکروارگانیسم‌های آن است و گاهی نیز هدف تنها از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا یا ایجادکننده فساد می‌باشد. این روش که تحت عنوان کلی پاستوریزاسیون از آن یاد می‌شود می‌تواند به سه صورت کلی روش‌های فیزیکی از قبیل اعمال دماهای پایین، دماهای بالا، خشک کردن، پرتودهی (با پرتوهای یونیزه‌کننده)، روش‌های مکانیکی حذف میکروارگانیسم‌ها و نیز روش‌های شیمیایی مثل افزودن اسیدها، مواد شیمیایی، یا املاحی که کنترل‌کننده رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشند، انجام گیرد.

مثال۱: کدام گزینه در ارتباط با مفهوم پاستوریزاسیون صحیح است؟

۱) معادل سترون کردن مواد غذایی است.
۲) تنها به نابودی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌پردازد.
۳) تنها از طریق حرارت دادن مواد غذایی انجام می‌شود.
۴) به نابودی میکروارگانیسم‌های موجود در مواد غذایی اشاره می‌کند.

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» پاستوریزاسیون که به نابودی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مواد غذایی اشاره می‌کند، مفهوم متفاوتی نسبت به فرآیند سترون‌سازی داشته و برای انجام آن از روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی حذف میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود.

کاربرد دماهای پایین در نگهداری مواد غذایی

توقف رشد میکروارگانیسم‌ها و فعالیت‌های آنها و نیز کند کردن یا متوقف ساختن فعل و انفعالات شیمیایی و واکنش‌های آنزیمی، اساس کاربرد دماهای پایین در کنترل فساد میکروبی مواد غذایی را نشان می‌دهد. به همین دلیل منجمد کردن مواد غذایی یا قرار دادن آنها در یخچال موجب ممانعت از رشد میکروبی یا کند شدن آن می‌شود. البته باکتری‌هایی مانند *یرسینیا انتروکولی‌تیکا* و *کلستریدیوم بوتولینوم* تیپ E حتی در دماهای یخچال نیز قادر به بقا و رشد می‌باشند. حتی گزارش‌هایی از میکروارگانیسم‌هایی که در دمای زیر صفر درجه سانتی‌گراد نیز رشد و فعالیت دارند، وجود دارد.

کاربرد دماهای پایین، روشی نسبتاً قدیمی برای نگهداری مواد غذایی بوده، به‌طوری که در گذشته مواد غذایی را در انبارهای زیرزمینی که دمای کمتری از دیگر بخش‌های ساختمانی داشتند، نگهداری می‌کردند. علاوه بر این، در گذشته برای نگهداری مواد غذایی در کشورهای آسیایی و پس از آن در اروپا و آمریکا، از تجمعی از برف‌های زمستان استفاده می‌شد و مدت‌ها برای انتقال مواد غذایی فاسد شدنی مانند تخم‌مرغ، محصولات لبنی یا گوشت از قطعات بزرگ حاصل از یخچال‌های طبیعی استفاده می‌کردند.

سرد کردن (chilling) یکی از مکانیسم‌های اصلی نگهداری مواد غذایی بوده که در دماهایی بالاتر از نقطه انجماد آنها صورت می‌گیرد. البته این درجه حرارت بستگی به نوع غذا و زمان نگهداری داشته، چرا که گاهی در دماهای خیلی پایین، برخی مواد غذایی دچار پدیده تخریب در دماهای پایین یا Low temperature breakdown می‌شوند.

نکته۱: البته در دنیای میکروارگانیسم‌ها، قارچ‌ها و کپک‌ها میزان دمای کمینه پایینی نسبت به سایر گروه‌ها دارند، به‌طوری که پایین‌ترین دماهای متوقف‌کننده رشد قارچ‌ها، $-18^{\circ}C$ است که دمای تنظیم شده اکثر فریزرها بوده و در دمای یخچال که حدود $4^{\circ}C$ می‌باشد رشد و فعالیت اکثر باکتری‌ها کند یا متوقف می‌شود اما امکان فساد قارچی در یخچال همچنان بالا است.

بنابراین، بیشترین برودت و کمترین دمایی که موجب توقف رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود، دمای $-18^{\circ}C$ می‌باشد.

البته حداقل دمای لازم برای تکثیر میکروارگانیسم‌ها، با تغییر پارامترهایی چون میزان آب فعال، pH و ... تغییر می‌کند. به‌طوری که با نامساعد شدن شرایط رشد میکروارگانیسم‌ها، میزان **MTM یا Minimal temperature for multiplication** یا دمای حداقل برای تکثیر میکروبی افزایش می‌یابد. MTM یا حداقل دمای تکثیر *سودوموناس* $9^{\circ}C$ بوده و لذا در دمای یخچال قادر به رشد نیست، اما فساد ناشی از فعالیت *سودوموناس* را در یخچال داریم که علت آن آنزیم‌های این باکتری نظیر لیپاز و پروتئاز است که در این شرایط از سلول استخراج شده و ایجاد فساد می‌کند.

مثال۲: کدام یک از گزینه‌های زیر در ارتباط با سرد کردن (Chilling) مواد غذایی صحیح است؟

۱) یکی از روش‌های نگهداری مواد غذایی بوده که در دماهای بالاتر از نقطه انجماد آنها صورت می‌گیرد.

۲) میزان سرمادهی مواد غذایی مستقل از نوع مواد غذایی است.

۳) میزان حداقل دمای لازم برای تکثیر میکروبی (MTM) با نامساعد شدن شرایط کاهش می‌یابد.

۴) دمای یخچال ($4^{\circ}C$)، پایین‌ترین دمای متوقف‌کننده رشد میکروارگانیسم‌هاست.

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» سرد کردن مواد غذایی از مکانیسم‌های اصلی نگهداری آنها بوده که در دماهای بالاتر از نقطه انجماد اغذیه صورت می‌پذیرد. البته میزان برودت بسته به نوع ماده غذایی و زمان نگهداری متفاوت است. همچنین با توجه به گستردگی دماهایی که قارچ‌ها در مقایسه با باکتری‌ها قادر به فعالیت در آنها می‌باشند، دمای $-18^{\circ}C$ به عنوان بیشترین برودت لازم جهت توقف رشد میکروارگانیسم‌ها تعریف شده که دمای اکثر فریزرهاست. البته میزان دمای حداقل برای تکثیر میکروبی (MTM) با نامساعد شدن شرایط، افزایش می‌یابد.

نگهداری مواد غذایی در اثر انجماد (frozen storage)

در نگهداری مواد غذایی برای دراز مدت، انجماد آنها یکی از بهترین روش‌ها بوده که در آن کیفیت مواد غذایی در حد مطلوبی حفظ می‌شود. در این تغییر فیزیکی رشد میکروب‌ها متوقف شده ولی فعالیت آنزیم‌های میکروبی یا آنزیم‌های موجود در ماده غذایی، علی‌رغم کند شدن، همچنان ادامه دارد و همین مسأله می‌تواند تا حدودی کیفیت و رنگ مواد غذایی را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین، برخی مواد غذایی نظیر سبزیجات و گوشت را پیش از انجماد به منظور تثبیت رنگ آنها، جوشانده و یا تحت تأثیر بخار آب قرار می‌دهند (Blanching) تا آنزیم‌هایی نظیر پلی فنول اکسیداز غیرفعال شده و رنگ اغذیه ضمن انجماد آنها ثابت بماند. این عمل می‌تواند به کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها، کاهش حجم مواد غذایی و در نتیجه تسهیل بسته‌بندی آنها و حذف هوای محبوس‌شده در بافت مواد غذایی کمک کند که همگی در کاهش نرخ فساد میکروبی مؤثرند.

مثال۳: هدف اصلی از Blanching پیش از انجماد در صنایع غذایی کدام است؟

۱) کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها ۲) حفظ رنگ و کیفیت مواد غذایی

۳) کاهش حجم مواد غذایی ۴) تسهیل بسته‌بندی مواد غذایی

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» جوشاندن مواد غذایی و یا مجاور کردن آنها با بخار آب (Blanching) پیش از فرآیند انجماد، روشی است که با غیر فعال کردن آنزیم‌های موجود در مواد غذایی به حفظ رنگ و کیفیت آنها در ضمن انجماد کمک می‌کند. این عمل می‌تواند به کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها، کاهش حجم مواد غذایی در نتیجه خروج هوای محبوس شده در بافت مواد غذایی و تسهیل بسته‌بندی آنها نیز منجر شود.

روش‌های انجماد مواد غذایی و مقایسه آنها

مدت زمان لازم برای منجمد کردن مواد غذایی، علاوه بر اندازه و حجم بسته‌های مواد غذایی، می‌تواند تابع نوع مواد غذایی بوده و به روشی که برای انجماد به کار گرفته می‌شود بستگی دارد. انجماد سریع (sharp freezing) که در کمتر از ۳۰ دقیقه روی می‌دهد، معمولاً در حضور نیتروژن مایع و یا افشانه‌ای از مواد سرمازا ایجاد می‌شود. در روش کند یا slow freezing که بسته به ابعاد مواد غذایی در مدت ۷۲- ۳ ساعت انجام می‌شود، توسط فریزرهای معمول خانگی انجام می‌شود. در هر دو روش اگرچه انجماد در دمای پایین‌تر از $-18^{\circ}C$ رخ می‌دهد، اما تفاوت‌هایی بین آنها وجود دارد که عبارت‌اند از:

ـ در روش تند به علت کوتاه بودن زمان انجماد، مولکول‌های آب فرصت کافی برای تشکیل کریستال‌های یخ را نداشته و لذا بلورهای ریزی تولید می‌شود که معمولاً سلول را تخریب نمی‌کنند.

ـ در روش تند، تماس میکروارگانیسم‌ها با مواد سرمازا حداقل بوده و لذا زمان کافی برای تولید آنزیم یا پیگمان وجود ندارد و بنابراین امکان سازگاری میکروارگانیسم‌ها، با دمای پایین وجود ندارد.

فصل سوم

«کاربرد میکروارگانیسم‌ها در تولید مواد غذایی»

درسنامه (۱): تولید مواد غذایی به وسیله میکروارگانیسم‌ها

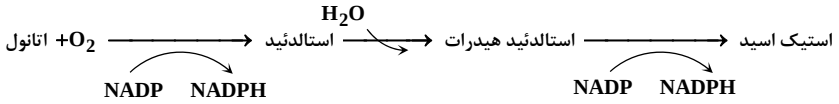
گذشته از عوارضی که رشد و فعالیت گروهی از میکروارگانیسم‌ها می‌تواند در مواد غذایی ایجاد کند، تولید برخی مواد غذایی از جمله مواد غذایی تخمیری وابسته به حضور و فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌هاست.

نوشیدنی‌های غیرالکلی، فرآورده‌های لبنی مانند ماست، پنیر، کفیر، فرآورده‌های گوشتی مانند سس ماهی و سوسیس تخمیری، نان، ترشی‌ها و انواع شورها، محصولاتی هستند که تولید آنها وابسته به فعالیت میکروارگانیسم‌هاست و این مواد تخمیری اغلب از ثبات طولانی‌مدت، طعم، عطر و بافت مناسبی برخوردار می‌باشند. گاهی خود میکروارگانیسم‌ها در قالب پروتئین تک‌یاخته (**SCP یا Single cell protein**) و پروبیوتیک‌ها، ارزش غذایی داشته و گاهی نیز جهت تولید افزودنی‌ها و مکمل‌های غذایی کاربرد دارند.

تولید سرکه

واژه سرکه (vinaiger) از کلمه فرانسوی vin به معنای شراب و aiger به معنای ترش مشتق شده است. در ترکیب سرکه حداقل ۴درصد وزن به حجم آن، اسید استیک می‌باشد که برای تولید آن آب‌میوه‌ها و شربت‌های قندی حاصل از درخت افرا، ملاس، عسل، سیب، انگورهای سفید و قرمز و مالت که همگی قابل تخمیر می‌باشند، در حضور مخمرها یک مرحله تخمیر الکلی و سپس درحضور باکتری‌ها یک فاز اکسیداسیون را پشت سر گذاشته تا طی فرآیند استیفیکاسیون، اتانول به اسید استیک تبدیل شود.

در مرحله **تخمیر الکلی** که فرآیندی بی‌هوازی است، معمولاً مخمر *ساکارومیسس سرویزیه*، سویه *ellipsoideus* و گاهی مخمرهای طبیعی موجود در محیط کاربرد دارد. در **تخمیر استیکی** که مرحله‌ای هوازی می‌باشد، اکسیداسیون ناقص اتانول به اسید استیک، توسط باکتری‌های اسید استیک انجام می‌شود که اعضایی از جنس‌های *استوباکتر* (که گاهی می‌توانند اسید استیک حاصل را به آب و دی‌اکسیدکربن متابولیزه کنند: گروه پراکسیدان) و *گلوکونوباکتر* (که قادر به تجزیه اسید استیک نمی‌باشند: ساب اکسیدان) محسوب می‌شوند.



این باکتری‌های هوازی که به‌طور طبیعی روی اغلب مواد گیاهی و همراه با مخمرها یافت می‌شوند، قادرند از طریق اکسیداسیون ناقص قندها و الکل‌ها، اسید تولید کنند. این باکتری‌ها بر روی سطح خارجی غشای سیتوپلاسمی خود، واجد دهیدروژنازهایی با گروه پروستتیک **پیرول کوئینولین کوئینون** (PQQ) می‌باشند که به کمک آنها این طریق واکنش‌ها را کاتالیز می‌کنند. باکتری‌های اسیدلاکتیک، باکتریوفاژها و نیز سویه‌هایی از باکتری‌های اسید استیک که محصول را تجزیه می‌کنند از عوامل کاهش بازدهی تولید سرکه می‌باشند.

مثال۱: در تولید میکروبی سرکه ..... وجود دارد که به ترتیب توسط ..... انجام می شود.

۱) دو فاز هوازی و بی‌هوازی ـ باکتری و مخمر
۲) یک فاز هوازی
۳) یک فاز بی‌هوازی
۴) دوفاز هوازی و بی‌هوازی ـ مخمر و باکتری

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» در تولید میکروبی سرکه، دو مرحله وجود دارد. مرحله تخمیر الکلی فرآیندی بی‌هوازی است که توسط مخمر *ساکارومیسس سرویزیه* روی می‌دهد و مرحله دوم فاز هوازی است که توسط باکتری‌های اسید استیک رخ می‌دهد.

مثال۲: کدام‌یک از اسیدهای آلی در دو مرحله (بی‌هوازی و هوازی) تولید می‌شود؟ (سراسری ۸۶)

۱) اسید استیک ۲) اسید سیتریک ۳) اسید لاکتیک ۴) اسید اگزالیک

☑ **پاسخ:** گزینه «۱» واکنش مقابل فرمول تولید استیک اسید (سرکه) است: $C_2H_5OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2$

این واکنش نشان می دهد که ماده اولیه، الکل اتیلیک (اتانول) بوده و فرآیند، فرآیندی هوازی است (حضور O_2 در واکنش). اتانول خود محصول تخمیر الکلی است که در شرایط بی‌هوازی صورت می‌گیرد. بنابراین برای تولید اسید استیک که محصول نهایی واکنش فوق می‌باشد و در شرایط هوازی انجام می‌شود، نیاز به تولید اتانول در شرایط بی‌هوازی می‌باشد.

سرکه محلولی است که معمولاً محتوی اسید استیک، مقدار کمی الکل، گلیسرین، استرها، قندها و نمک‌ها می‌باشد. اغلب سرکه را از شراب، آب سیب تخمیرشده یا مالت تخمیرشده تهیه می کنند. گونه‌های *استوباکتربنام استوباکتراستی*، *استوباکتر اورلانن سیس* و *استوباکترشولتزن باخیئی* از اتانول، استیک اسید تولید می‌کنند. این باکتری‌ها در هوا و خاک یافت می‌شوند.

◆ ◆ ◆ ◆

مثال۳: تولید اسید استیک از سوبسترای گلوکز چه نوع فرآیندی است؟ (سراسری ۸۹)

۱) تبدیل زیستی (یا بیوکانورژن) است ۲) تنفس بی‌هوازی است ۳) اکسیداسیون ناقص است ۴) تخمیر است

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» تخمیر الکلی، تخمیر هموالاکتیک، تخمیر هترولاکتیک، تخمیر اسیدی مخلوط، تخمیر ۲ و ۳ بوتان دی اُل، تخمیر اسید پروپیونیک و تخمیر اسید بوتیریک مهم‌ترین انواع تخمیر در میکروارگانیسم‌ها هستند و در شرایطی انجام می‌شوند که تنفس صورت نگرفته و ارگانیسم باید از یک مکانیسم جایگزین برای تولید مجدد کوآنزیم‌ها که طی اکسیداسیون گلوکز به پیروات احیاشده است، استفاده نماید. به این منظور از یک مولکول آلی مثل پیروات و یا یک مشتق آن به‌عنوان پذیرنده نهایی الکترون استفاده می‌شود که باعث تولید محصولات احیا شده مثل الکل‌ها و اسیدها می‌گردد که از سلول دفع می‌شود.

تخمیر اسیدی مخلوط، توسط *E.coil* و میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی اختیاری وابسته انجام می‌شود و محصولات آن شامل لاکتات، استات، مقدار کمی اتانول و فومارات است. در برخی شرایط خاص از تخمیر هترولاکتیک هم گاهی استات تولید می‌شود.

◆ ◆ ◆ ◆

مثال۴: کدام عبارت در رابطه با تولید اسید استیک صحیح است؟ (سراسری ۹۱)

۱) *استوباکتراستی*، در غلظت بیشتر از ۱۳–۱۰درصد اتانول، اسید استیک را تجزیه می‌کند.

۲) *استوباکتراستی*، در غلظت کمتر از ۲-۱ درصد اتانول، تولید اسید استیک را به شیوه‌ای ناقص انجام می‌دهد.

۳) *کلستریدیوم*، استیکوم یک باکتری هومواستوژن گرم منفی بی‌هوازی است.

۴) *گلوکونوباکتراکسیدامن*، یک باکتری هوازی ناتوان در اکسیداسیون اسید استیک است.

☑ **پاسخ:** گزینه «۴» در تخمیر استیکی (استیفیکاسیون) که مرحله‌ای هوازی می‌باشد، اکسیداسیون ناقص اتانول به اسید استیک توسط باکتری‌های اسید استیک انجام می‌شود که اعضایی از جنس‌های *استوباکتر* (که گاهی می‌توانند اسید استیک حاصل را به آب و دی‌اکسیدکربن متابولیزه کنند: گروه پراکسیدان) و *گلوکونوباکتر* (که قادر به تجزیه اسید استیک نمی‌باشند: ساب اکسیدان) محسوب می‌شوند.

درسنامه (۲): فرآورده‌های لبنی تخمیری

شیر امولسیون پیچیده‌ای با حدود ۸۷% آب، ۵ / ۳% چربی، ۵ / ۳% پروتئین و ۵% لاکتوز بوده که در گذشته شاید حدود ۶۰۰۰ سال قبل به منظور نگهداری آن، مواد غذایی تخمیری تولید و استفاده شد، اما ماهیت میکروبی آن تا مدت‌ها ناشناخته ماند.

باکتری‌های اسید لاکتیک، مسئول اصلی تولید فرآورده‌های لبنی تخمیری هستند که به‌طور طبیعی در شیر وجود دارند و امروزه تلقیح مخلوطی از انواع این باکتری‌ها به عنوان استارتر، نقش کلیدی را در تولید این محصولات دارد. پاستوریزه بودن شیر پیش از تولید محصولات تخمیری نه تنها احتمال بروز پاتوژن‌هایی چون *کلبسیلا بورنتی* را کاهش می‌دهد، بلکه از فعالیت متابولیکی و آنزیم‌های میکروبی مخرب فرآورده‌های لبنی تا حد زیادی پیشگیری می‌کند.

نکته۱: باکتریوفاژها از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده کاهش بازده تولید لبنیات به شمار می‌روند که استفاده از تکنیک‌های اسپتیک و کاربرد سویه‌های مقاوم به فاژها از این خسارت جلوگیری می‌کند.

در کلیه محصولات تخمیری لبنی به‌طور مشابه تولید اسید لاکتیک در اثر تخمیر و تغییر در ساختمان پروتئین‌های موجود در شیر و تولید ترکیبات طعم‌دهنده و عطرزا مانند دی‌استیل، مشاهده می‌شود. در شیر پاستوریزه‌شده، مقادیر زیادی از ترمودیوریک‌ها مانند *کورینه باکتریوم*، *میکروکوکوس*، *انتروکوکوس* و اسپورهای *کلستریدیوم* و *باسیلوس* ممکن است حضور داشته باشند.

روش‌های ارزیابی سالم بودن شیرهای خام و پاستوریزه

به منظور بررسی سالم بودن شیرهای خام از تستی به نام **متیلن بلو** استفاده می‌شود. اساس این تست بر آبی بودن رنگ متیلن بلو در حالت اکسیده و بی‌رنگ در حالت احیا می‌باشد. در شیرهای فاسد به دلیل فعالیت‌های متابولیکی میکروارگانیسم‌ها شرایط احیایی ایجاد می‌شود که سبب بی‌رنگ شدن نمونه شیر، پس از اضافه کردن متیلن بلو می‌شود.

سرعت بی‌رنگ شدن متیلن بلو شاخصی از میزان رشد میکروارگانیسم‌ها در شیر خام است. اما در شیرهای پاستوریزه به‌واسطه کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها، سرعت احیای متیلن بلو بسیار کم بوده و تمایزی میان انواع بیماری‌زا و غیربیماری‌زا قائل نمی‌شود. لذا در شیرهای پاستوریزه از تستی به نام **تست فسفاتاز قلیایی** استفاده می‌شود که اساس آن مقاومت بالای آنزیم فسفاتاز قلیایی حتی اندکی بیشتر از مقاوم‌ترین میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد. لذا اگر این آنزیم در شیر پاستوریزه از بین رفته باشد، باکتری بیماری‌زایی مانند *کوکسیلا بورنتی* هم از بین رفته و اگر در شیر پاستوریزه فسفاتاز قلیایی فعالیت کند، این شیر برای استفاده مطلوب نیست. برای این تست به نمونه شیر پاستوریزه، **دی‌سدیم فنیل استات** که سوبسترای این آنزیم است را افزوده و از **معرف ۲و۶دی‌کلروکینون کلرآمید** استفاده می‌شود. در صورت حضور آنزیم فسفاتاز، از سوبسترا، ترکیبات فنولی آزاد می‌شود که در حضور معرف ایجاد رنگ آبی می‌کنند.

مثال۵: کدام یک از تست‌های زیر به ترتیب جهت بررسی فساد و بیماری‌زایی شیرهای پاستوریزه به کار می‌روند؟

۱) رزازورین ـ متیلن بلو ۲) متیلن بلو ـ فسفاتاز قلیایی ۳) فسفاتاز قلیایی ـ رزازورین ۴) فسفاتاز قلیایی ـ متیلن بلو

☑ **پاسخ:** گزینه «۲» تست متیلن بلو بر اساس بی‌رنگ شدن آن به واسطه شرایط ایجادشده از فعالیت‌های متابولیکی میکروارگانیسم‌ها جهت بررسی میزان رشد میکروبی در شیر خام کاربرد دارد اما نوع میکروارگانیسم از نظر بیماری‌زایی در این تست قابل تشخیص نبوده و فسفاتاز قلیایی را به عنوان یک آنزیم پایدار در برابر حرارت به عنوان شاخص جهت تعیین حضور عوامل بیماری‌زای مقاوم در شیر به کار می‌برند.

هوموژنیزاسیون

شیر خام دارای یک سری ذرات چربی بوده که در هنگام حرارت، در بالای شیر تجمع یافته و ایجاد سرشیر می‌کنند که ممکن است با جدا کردن آن درصد چربی در محصول لبنی بسیار پایین آمده و لازم است تا با به‌کار بردن روشی امولسیون پایداری از ذرات روغن در آب بسازیم که این دو بافت از یکدیگر حتی پس از پاستوریزاسیون، تفکیک نشوند. این کار به کمک دستگاه‌های هموژنوزیتور انجام می‌شود که دارای منافذ ریزی است که ذرات چربی پس از عبور از آن بسیار خرد شده و لذا امکان گردهمایی آنها با هم و چسبیدن آنها از بین می‌رود. هموژنیزه کردن و پاستوریزه کردن شیر، همراه با تست‌های ارزیابی سلامت شیر پاستوریزه، معمولاً پیش از استفاده از شیر در تولید محصولات لبنی انجام می‌شوند.

تولید کره

کره، امولسیون قطرات آب در فاز پیوسته چربی بوده و دو گروه آن شامل کره حاصل از خامه شیرین و کره پرورده (ripened) می‌باشد که تنها کره پرورده حاصل فعالیت میکروبی است. برای تولید کره، در ابتدا شیر را به مقدار زیادی زده (churning) و چربی تجمع یافته در سطح آن را به‌عنوان خامه شیرین جمع‌آوری کرده، نمک می‌زنند و دراثر مالش (working) به توزیع بهتر آب در روغن کمک می‌کنند و آب باقی‌مانده پس از خارج شدن تولید کره شیرین می‌کند. درصورتی‌که خامه

شیرین قبل از کره‌گیری به مدت ۴۸ـ۲۴ ساعت با گونه‌هایی از باکتری *لاکتوکوکوس لاکتیس*، زیرگونه دی‌استیلاکتیس و *لوکونوستوک سیتروورووم* مجاور شود، اسید لاکتیک و ترکیبات طعم‌زایی چون دی‌استیل تولید می‌شود. شیرکره یا butter-milk به آب خارج شده از بافت خامه گفته می‌شود.

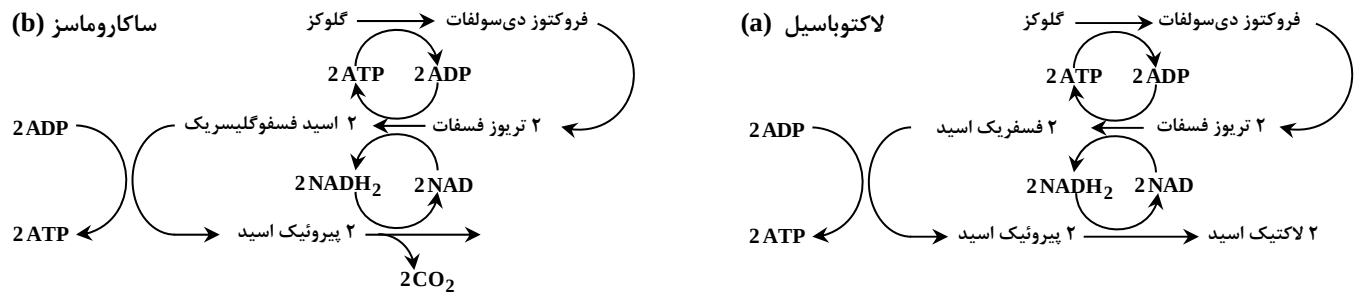
تولید ماست

در تولید ماست پس از پاستوریزاسیون شیر، آن را به دمای ۴۵– ۴۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و پس از آن مخلوطی از استارترهای *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* را به نسبت ۱به۱ و میزان ۲% به شیر اضافه می‌کنند.

استرپتوکوکوس ترموفیلوس غالباً در پایین آوردن pH فرآیند و *لاکتوباسیلوس* عمدتاً در تولید ترکیبات معطر چون استالدئید نقش دارد. این مخلوط در صورتی که به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه بماند، به دنبال تولید لاکتیک اسید و کاهش pH آن تا حد نقطه ایزوالکتریک کازئین و تجمعی از میسل‌های این پروتئین، ایجاد یک حالت ژل‌مانند کره و ماست می‌کند.

نکته۲: مسئله مهم در تولید ماست همزیستی دو میکروارگانیسم استارتر آن می‌باشد. به‌طوری‌که در آغاز فرآیند رشد سریع‌تر *استرپتوکوکوس* منجر به کاهش pH از حدود ۶/۵ به زیر ۵/۵ می‌شود که در این شرایط رشد *استرپتوکوکوس* کند شده و *لاکتوباسیلوس* غالب می‌شود.

هر دو استارتر جورتخمیر بوده ولی *استرپتوکوکوس* تندرشدتر است. رشد *استرپتوکوکوس* با فعالیت پروتئولیتیکی بالای خود به دنبال تجمع پپتیدها و آمینواسیدهایی که خودش تولید کرده، محدود شده و با تولید فورمات، پیروات و دی‌اکسیدکربن به رشد *لاکتوباسیلوس* کمک می‌کند. فقدان فعالیت الکل دهیدروژنازی این دو باکتری به تجمع استالدئید و ایجاد بوی ماست کمک می‌کند. ماست با دارا بودن این باکتری‌ها از مهم‌ترین مواد غذایی واجد پروبیوتیک‌ها به‌شمار می‌رود.



«نقش استارترهای مولد ماست»

مثال۶: کدام یک از میکروارگانیسم‌های زیر در تولید ماست نقش دارند؟

۱) لاکتوباسیلوس لاکتیس ـ لاکتوباسیلوس بولگاریکوس
۲) لکونوستوک سیتروورم ـ لاکتوکوکوس لاکتیس
۳) لاکتوباسیلوس بولگاریکوس ـ استرپتوکوکوس ترموفیلوس
۴) لاکتوکوکوس کرموریس ـ استرپتوکوکوس ترموفیلوس

☑ **پاسخ:** گزینه «۳» تولید ماست و یا به عبارتی شیر ترش‌شده سنتی حاصل همزیستی دو باکتری اسیدلاکتیک به نام‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* می‌باشد که فعالیت آنها منجر به کاهش pH شیر تا حد نقطه ایزوالکتریک کازئین و تجمع میسل‌های این پروتئین شده که منظره ژل مانندی را ایجاد می‌کند.

تولید پنیر

لازمه تولید پنیر، تغلیظ چربی شیر و پروتئین‌های آن از طریق حذف آب می‌باشد. البته امروزه بیش از ۳۰۰۰ نوع پنیر تولید شده‌اند که بستگی به نوع شیر، رژیم غذایی دام، نوع استارتر و... دارد. مراحلی که به طور مشترک در تولید انواع پنیرها وجود دارد شامل:

۱ـ تیمار اولیه شیر پاستوریزه: در این مرحله به منظور انعقاد پروتئین‌های شیر و ایجاد دلمه، از مخلوط استارتری حاوی *لاکتوکوکوس لاکتیس*، *لاکتوکوکوس کرموریس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* به مقدار ۲ – ۰/۵ درصد استفاده می‌شود و تخمیر در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷۵– ۱۰ دقیقه صورت می‌گیرد. این باکتری‌ها به‌دنبال تخمیر لاکتوز، تولید اسیدلاکتیک می‌کنند که با کاهش pH منجر به انعقاد پروتئین‌های شیر می‌شود. هر مول قند لاکتوز، ارزش تولید ۴مول لاکتیک اسید را خواهد داشت. این مسئله منجر به افزایش فشار اسمزی محیط و کمک به چروکیدگی دلمه و خروج آب خواهد شد.

۲ـ انعقاد شیر و تشکیل دلمه (clotting): میسل‌های موجود در ساختار شیر که عمدتاً از کازئین ایجاد شده‌اند به دلیل قرارگیری بخش‌های هیدروفیل در سطح پایدارند، اما با افزودن استارتر به آن، ساختار کاپا در سطح کازئین متزلزل شده و با به سطح کشیده شدن بخش‌های هیدروفوب، پروتئین پایداری خود را از دست می‌دهد و رسوب می‌کند. تشکیل دلمه در تمام پنیرها، به‌جز پنیرهای نرم مثل کاتیج و پنیرهای خامه‌ای از طریق افزودن آنزیم‌های پروتئولیتیک خاصی صورت می‌گیرد.