فصل دوم

باکتری‌ها

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فراگیر باید بتواند :

۱ــ سلول‌های یوکاریوت و پروکاریوت را توضیح دهد.

۲ــ ساختمان و ترکیب شیمیایی باکتری‌ها را شرح دهد.

۳ــ طبقه‌بندی باکتری‌ها را توضیح دهد.

۴ــ باکتری‌ها را بر مبنای شکل و اندازه، تفکیک کند.

۵ــ باکتری‌ها را بر مبنای نیاز به اکسیژن و هوا تقسیم‌بندی کند.

۶ــ تغذیه باکتری‌ها را توضیح دهد.

۷ــ نحوه تولیدمثل باکتری‌ها را توضیح دهد.

۸ــ تأثیر عوامل محیطی بر روی رشد و تولیدمثل باکتری‌ها را توضیح دهد.

۹ــ ساختمان و روش تولید اسپور در باکتری‌ها را شرح دهد.

۱۰ــ بیماری‌زایی باکتری‌ها را توضیح دهد.

۱۱ــ بیماری‌های مهم باکتریایی را در دام‌ها بیان کند.

۱۲ــ وسایل آزمایشگاهی را به روش‌های مختلف استریل نماید.

۱۳ــ انواع مختلف محیط‌های کشت را شرح دهد.

۱۴ــ انواع محیط‌های کشت را تهیه نماید.

۱۵ــ باکتری‌ها را به صورت هوازی و بی‌هوازی کشت کند.

۱۶ــ رنگ‌های مورد نیاز برای رنگ‌آمیزی باکتری‌ها را تهیه نماید.

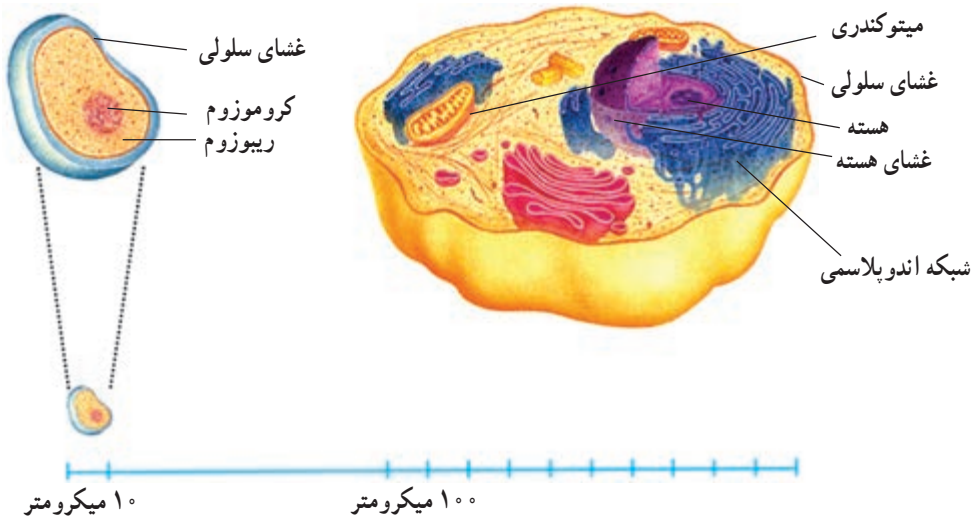
۱۷ــ باکتری‌ها را تثبیت و رنگ‌آمیزی کند.

۱۸ــ باکتری‌ها را شمارش نماید.

۱ــ۲ــ اوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها

موجودات زنده به سه سلسله بزرگ (Kingdom) گیاهان، حیوانات و پروتیست‌ها طبقه‌بندی می‌شوند.

پروتیست‌ها به ویروس‌ها، پروکاریوت‌ها و اوکاریوت‌ها تقسیم شده‌اند :



شکل ۱ــ۲

پروکاریوت‌ها: («پرو» به معنی ابتدایی و «کاریوت» به معنی هسته)، پروکاریوت‌ها شامل باکتری‌ها، آکتینومیست‌ها و سیانوباکترها (آلگ‌های سبز آبی) است. پروکاریوت‌ها به روش تقسیم دوتایی زیاد می‌شوند. و دارای یک رشته DNA بدون پروتئین‌های بازی هستند.

اوکاریوت‌ها: («او» به معنی واقعی و «کاریوت» به معنی هسته)، اوکاریوت‌ها شامل آلگ‌ها (به‌جز آلگ‌های سبز آبی)، قارچ‌ها و پروتوزوآها می‌باشند. خصوصیات عمده این گروه دارا بودن کلروفیل و دیواره سلولی حقیقی است. اعضای این گروه معمولاً دارای چندین کروموزوم، عناصر میتوزی، رتیکولوم آندوپلاسمی و میتوکندری می‌باشند. تفاوت‌های اساسی بین پروکاریوت‌ها و اوکاریوت‌ها در جدول ۱ــ۲ آمده است :

جدول ۱ــ۲ــ تفاوت‌های پروکاریوت‌ها و اوکاریوت‌ها

	پروکاریوت‌ها	اوکاریوت‌ها
قطر	یک میکرومتر	ده میکرومتر
غشای هسته	ندارند	دارند
کروموزوم	یک عدد	بیش از یک عدد
DNA	حلقوی	رشته‌ای
میتوزومیوز	ندارند	دارند
اندوواگزوسیتوز	ندارند	دارند
تکثیر جنسی	ندارند	دارند
محل فتوسنتز	غشای سلولی	کلروپلاست
ریبوزوم سیتوپلاسمی	۷۰S	۸۰S
تحرک آمیبی	ندارند	دارند
هسته	ندارند	دارند
مژه	ندارند	دارند
لیزوزوم	ندارند	دارند

۲ــ۲ــ طبقه‌بندی

بحث در مورد طبقه‌بندی و نام‌گذاری گیاهان و جانوران و میکروارگانیسم‌ها تاکزونومی[۱] نامیده می‌شود که از دو کلمه یونانی تاکزیس[۲] به معنی ترتیب و نظام و نوموس[۳] (ناموس) به معنی قاعده و قانون گرفته شده است. برای طبقه‌بندی باکتری‌ها قلمرو خاصی قایلند که همانا پروکاریوتی یا سلسله پروکاریوتیک‌ها می‌باشد و پس از این مرحله باکتری‌ها را به ترتیب زیر دسته‌بندی می‌کنند.

سلسله	Kingdom
شاخه	Phylum
رده	Class
راسته	Order
فامیل	Family
جنس	Genus
گونه	Species

۱ــ Taxonomy ۲ــ Taxas ۳ــ Nomos

۳ـ۲ـ نام‌گذاری علمی باکتری‌ها

اسامی علمی باکتری‌ها براساس اسم جنس و اسم گونه دسته‌بندی و به‌صورت لاتین نوشته می‌شوند. اسم جنس همیشه با حروف بزرگ مشخص می‌گردد ولی اسم گونه احتیاجی به حروف بزرگ ندارد مثال : B.anthrasis. نام اول مربوط به جنس باکتری‌ست و اغلب با شکل، نام کاشف و سایر مشخصات که از زبان لاتین گرفته می‌شود مربوط است. نام دوم، نام گونه‌ای‌ست و عنوان صفتی‌ست که تولید بیماری، رنگ و سایر خواص نام اول را توصیف می‌کند. برای مثال در نام باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس مشخص‌کننده باکتری‌های میله‌ای گرم مثبت هاگدار و هوازی‌ست و آنتراسیس یعنی زغالی. بدین‌صورت که این نوع باسیلوس بیماری آنتراکس یا تب زغالی (شاربون) را ایجاد می‌کند.

اسامی جنس را می‌توان به اولین حرف یا چند حرف اول آن خلاصه کرد در صورتی که اسامی گونه را نمی‌توان به صورت مخفف نوشت. ضمناً بسیاری از نام‌های اصلی از نام کاشفان گرفته شده است. برای مثال اشرشیا از نام دانشمند آلمانی اشرشی، شیگلا از نام ایمنی‌شناس ژاپنی شیگلا و سالمونلا از نام میکروب‌شناس امریکایی سالمون گرفته شده است. علاوه‌بر این، در بسیاری از موارد باکتری را به نام بیماری‌ای که ایجاد می‌نماید نامگذاری می‌کنند : چون با بعضی از باکتری‌ها در آزمایش‌های ثابت روزانه برخورد می‌کنیم می‌توانیم آن‌ها را با اسامی غیرعلمی نیز بنامیم. مانند : اشرشیا کلی و یا پنوموکوکس (ذات‌الریه).

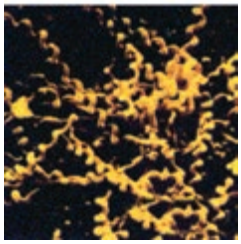
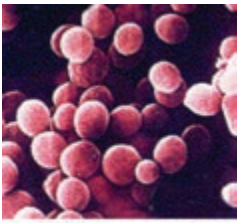
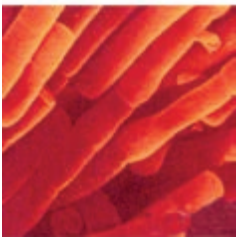
۴ـ۲ـ اصول دسته‌بندی باکتری‌ها

معیارهای مختلفی برای دسته‌بندی باکتری‌ها به‌کار می‌رود که از جمله به عوامل زیر می‌توان اشاره کرد :

شکل، طرز قرارگرفتن، حرکت و خواص مختلف شیمیایی از قبیل ارتباط‌های آنزیمی، مشابهت پادگنی و همسانی ماده ژنتیک. در این کتاب دسته‌بندی باکتری‌ها براساس شکل مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۵ـ۲ـ اندازه و شکل ظاهری برخی از گروه‌های باکتری‌ها

اکثر دانسته‌های ما درباره اندازه و ساختمان باکتری‌ها از بررسی آن‌ها در محیط کشت به‌دست آمده است. شکل شناسی باکتری‌ها، بسته به شرایط کشت و سن یاخته‌ها متفاوت است در این شرایط، شکل باکتری‌های جوان را در محیط و درجه حرارتی مناسب در نظر می‌گیرند.

شکل ۲ــ۲ــ اشکال باکتری‌ها

۱ــ۵ــ۲ــ اندازه باکتری‌ها: اندازه اکثر باکتری‌ها را برحسب میکرومتر یا میکرون µm می‌سنجند که برابر با $۱۰^{-۶}$ متر یا یک هزارم میلی‌متر است. قطر باکتری‌های کروی، مثل استافیلوکوک‌ها و هم‌چنین استرپتوکوک‌ها، ۰/۷۵ تا ۱/۲۵ میکرون و قطر متوسط برخی از میکروکوک‌ها یا سارسیناها (کوکسی‌هایی که مکعب‌وار قرار می‌گیرند) ۱/۵ تا ۲ میکرون است. عرض بعضی از باکتری‌های میله‌ای مانند : باسیل آنتراسیس (شاربن)، ۱ــ۱/۲۵ و طول آن، ۳ــ ۸ میکرون است. باسیل کوچکی مثل باسیل انفلوانزا دارای پهنای ۰/۲ــ۰/۴ و طول ۰/۷ــ۱/۵ میکرومتر است.

۲ــ۵ــ۲ــ شکل ظاهری برخی از باکتری‌ها: در باکتری‌ها سه شکل کوکسی‌ها یا باکتری‌های کروی، باسیل‌ها یا باکتری‌های میله‌ای و اسپیرال‌ها یا باکتری‌های مارپیچی شناخته شده هستند، باکتری‌های اخیر اجرامی میله‌ای می‌باشند که به حالت مارپیچی درآمده‌اند.

کوکسی‌ها

در کوکسی‌ها، طول و عرض باکتری تقریباً مساوی‌ست. بسیاری از کوکسی‌ها، تقریباً شبیه کره واقعی هستند. در ضمن آن‌ها ممکن است بیضوی، کله‌قندی و ... باشند و شباهتی به دانه‌های لوبیا، کلیه یا مشعل داشته باشند. کوکسی‌ها ممکن است به اشکال مختلف با هم اجتماع کنند :

ــ استافیلوکوک‌ها[۱]

۱ــ Staphilococci

ــ **استرپتوکوک‌ها**[1]

ــ **پنوموکوک‌ها**[2]

ــ **نیسریاها**

باسیل‌ها: در باسیل‌ها، طول از عرض زیادتر است. تفاوت بین طول و عرض متنوع است. چنان که برخی از باسیل‌ها، ظاهرشان مانند کوکسی‌ست و برخی دیگر کاملاً رشته‌ای هستند. وضعیت انتهای باسیل‌ها از نظر تشخیص مهم است، انتها ممکن است مقطع و چهارگوش، مدور یا کشیده باشد.

برخی از باسیل‌ها گرم مثبت و برخی از آن‌ها گرم منفی‌اند. بعضی هوازی و برخی بی‌هوازی هستند. چگونگی آرایش شکلی و اجتماع احتمالی باسیل‌ها متفاوت است که در این جا به چند نمونه اشاره می‌شود :

ــ **انتروباکتری‌ها**[3]: مانند سالمونلا

ــ **باسیلوس‌ها:** گرم مثبت، هاگ‌دار، هوازی به‌صورت مجزا و یا به شکل زنجیری، باسیل‌ها حجیم، یا بلند می‌باشند، انتهای آن‌ها تا حدی قطع شده است (مانند باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس سریوس).

ــ **کلستریدیوم‌ها**

ــ **کورینه باکتری‌ها**

ــ **پاستورلاها**

اشکال ویبریونی و اسپیرال

اشکال اسپیرال مربوط به خمیدگی یا پیچیدگی یاخته‌هاست. اگر باکتری یک خم داشته باشد، «ویبریو» نامیده می‌شود. مانند ویبریوکلرا مولد بیماری وبای انسان. اگر باکتری چند خم داشته باشد «اسپریل» نامیده می‌شود مانند اسپریلوم مینوس. این باکتری‌ها تاژک‌های قطبی دارند، گرم منفی می‌باشند و پیکر آن‌ها سخت است.

ــ **اسپیروکت‌ها**

ــ **آکتینومیست‌ها:** آکتینومیست‌ها اجرام رشته‌ای، به ضخامت تقریبی سایر باکتری‌ها هستند ولی انشعابات کوتاه و بلند دوشاخه‌ای شکل، شبیه قارچ‌ها دارند. این رشته‌ها گاهی به بندهای باسیلی یا بیضوی قطعه‌بندی می‌شوند.

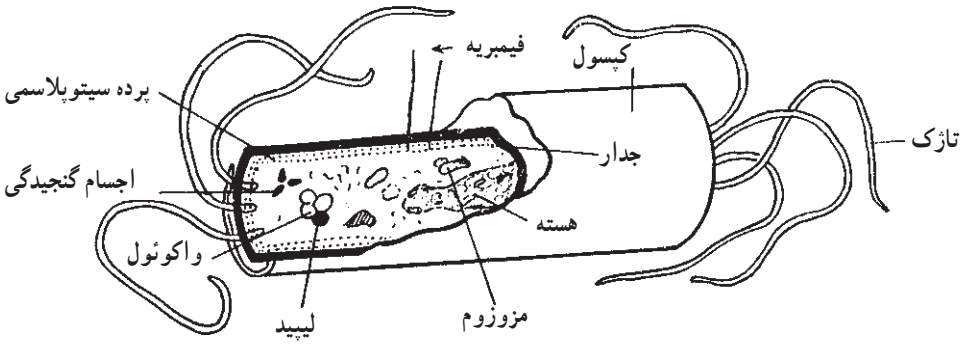
۱ــ Streptococci ۲ــ Penemococci ۳ــ Enter

شکل رشته‌ای باکتری‌ها

برخی از باسیل‌ها، گاهی به شکل بسیار طویل درمی‌آیند که طول آن‌ها حتی تا ۱۰۰ میکرون یا بیشتر می‌رسد. اصولاً در باکتری‌ها ممکن است تغییرات شکلی زیادی بروز کند و از جمله، انواع رشته‌ای ظاهر شود. این امر ممکن است در بسیاری از باکتری‌ها اتفاق افتد مثلاً در اشرشیاکلی این وضعیت مشاهده شده است. بسیاری از این اشکال، نتیجه شرایط غیرعادی کشت، عوامل زیان‌آور یاموتاسیون است، این پدیده ممکن است گاهی به قدری نادر باشد که نتوان تصور کرد که احتمالاً این امر می‌تواند موجب آسان‌شدن زندگی باکتری گردد.

۶ــ۲ــ ساختمان باکتری‌ها

۱ــ۶ــ۲ــ طرح کلی سلول باکتری‌ها: باکتری‌ها را به‌صورت سلول‌های مجزا در حد کامل یاخته‌ای یا در حد اجزای یاخته‌ای، مورد بررسی قرار می‌دهند و برای این کار از میکروسکوپ‌های نوری و یا الکترونی استفاده می‌کنند. در مورد میکروسکوپ نوری، یکی از روش‌ها، بررسی باکتری‌ها به حالت زنده و رنگ نکرده است. در این جا چگونگی کار باید طوری باشد که از خطر آلودگی با اجرام بیماری‌زا جلوگیری شود. در اکثر موارد قبلاً باکتری‌ها را روی لام ثابت کرده، آن‌ها را



شکل ۳ــ۲ــ ساختمان باکتری

می‌کشند. در مورد میکروسکوپ الکترونی نیز در موارد لزوم با تهیه برش‌های ظریف و رنگ‌آمیزی‌های مخصوص، به بررسی ساختمان ظریف باکتری‌ها می‌پردازند.

در یاخته باکتری‌ها قسمت داخلی آن (یعنی پروتوپلاسم) به دو قسمت سیتوپلاسم و مواد هسته‌ای تقسیم می‌شود.

۲ــ۶ــ۲ــ سیتوپلاسم باکتری‌ها: در باکتری‌ها برخلاف سلول‌های موجودات عالی،

هسته به‌وسیله پرده مخصوصی از سیتوپلاسم جدا نمی‌شود و هم‌چنین، رتیکولوم آندوپلاسمی و ساختمان میتوکندری وجود ندارد. در باکتری‌ها اعضای وابسته به پرده یا مزوزوم‌ها یافت می‌شوند که در اجرام گرم مثبت پیشرفته‌تر هستند. پرده سیتوپلاسمی در خارج از پروتوپلاست واقع شده و پس از آن، جدار باکتری قرار گرفته است. در باکتری‌های گرم منفی در جدار باکتری، پس از قشر پپتید و گلیکان پرده بیرونی وجود دارد که متشکل از لیپوپلی ساکارید، لیپید و پروتئین است. جدار یاخته‌ای موجب برقراری شکل مخصوص و هم‌چنین مقاومت باکتری‌ها در برابر فشار اسمزی می‌شود. در خارج از جدار، در برخی از باکتری‌ها کپسول و هم‌چنین در پاره‌ای از آن‌ها تاژک قرار دارد که اندام حرکتی‌ست. در باکتری‌های گرم منفی و برخی از باکتری‌های گرم مثبت، رشته‌های ظریفی به نام «خار» یا «فیمبریا» موجود است که تنها با میکروسکوپ الکترونی دیده می‌شود. برخی از باکتری‌ها، در مراحلی از زندگی، هاگ‌های داخلی تولید می‌کنند که در برابر شرایط نامساعد زیستی مقاومت فوق‌العاده‌ای دارند.

۳ــ۶ــ۲ــ هسته باکتری‌ها: با این‌که خواص ارثی باکتری‌ها، وجود ساختمان‌های مشابه هسته موجودات عالی در این اجرام را ضروری می‌کند ولی تا زمانی که محققان به روش‌های معمولی رنگ‌آمیزی تکیه می‌کردند قادر به نشان‌دادن هسته باکتری‌ها نبودند. پس از مدتی، پیکارسکی وجود هسته در باکتری‌ها را مشخصاً نشان داد. این‌جا بود که معلوم شد در باکتری‌ها اعضایی وجود دارد که واجد DNA هستند و نوکلیوس (هسته) یا «جسمک هسته‌ای» یا «جسمک کروماتین» نامیده می‌شوند که همانا مربوط به کروموزوم باکتری‌ست. شکل و وضعیت هسته، در مراحل مختلف رشد باکتری و هم‌چنین براثر بروز تغییرات محیطی، تغییر و تنوع می‌یابد که بیشتر مربوط به نبود دیواره هسته‌ای‌ست. این امر سبب می‌شود ماده هسته‌ای (DNA) کم و بیش با سیتوپلاسم مخلوط شود.

بررسی‌هایی که به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی و با ایجاد برش‌های ظریف و رنگ‌آمیزی آن‌ها، انجام گرفته، نشان می‌دهد که هسته به شکل ماده نواری شکلی است که در طول محور باکتری گسترده می‌شود و از یک مولکول واحد غول‌آسای اسید دزاکسی ریبونوکلییک چرخشی تشکیل شده است. این مولکول DNA، به‌صورت کلاف درهم‌پیچیده متراکمی‌ست که پیچ و تاب‌های آن به‌وسیله یک مرکز RNA پایدار می‌ماند. در بررسی‌هایی که با میکروسکوپ الکترونی انجام شده، مشخص گردیده است که با پرده سیتوپلاسمی از طریق مزوزوم ــ که خود ساختمانی وابسته به پرده است ــ صورت می‌گیرد. البته گاهی کروموزوم مستقیماً به پرده سیتوپلاسمی متصل است.

۷ـ۲ـ تغذیه باکتری‌ها

اساس تغذیه باکتری‌ها: ارگانیسم‌ها، برای رشد باید تمام مواد مورد نیاز ساختمان سلولی و مواد ضروری برای تولیدمثل و هم‌چنین انرژی خود را از محیط اطراف دریافت کنند. این‌گونه مواد را «مواد غذایی» می‌نامند که در خارج از بدن به‌وسیله محیط کشت تأمین می‌شوند. محیط کشت، علاوه‌بر مواد عام مورد نیاز موجودات، باید مقدار کافی از مواد مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها را نیز دربر داشته باشد که آن‌ها را «مواد غذایی» ضروری می‌نامند.

باید گفت میکروارگانیسم‌ها از نظر خواص فیزیولوژی مخصوص به خود و نیز مواد اختصاصی غذایی، بسیار از هم متفاوتند. ترکیب شیمیایی یاخته‌ها که تا حدود زیادی در موجودات زنده ثابت است نیاز اصلی رشد را مشخص می‌کند. آب ۸۰ تا ۹۰ درصد وزن کل یاخته‌ها را تشکیل می‌دهد و از نظر مقدار، مهم‌ترین ماده غذایی است. مواد معدنی مورد نیاز یاخته‌ها علاوه‌بر هیدروژن و اکسیژن که از نظر متابولیک مشتق از آب‌اند به ترتیب فراوانی عبارت‌اند از کربن، نیتروژن، فسفر، گوگرد. شش ماده فوق ۹۵ درصد وزن خشک هر یاخته را تشکیل می‌دهند، پنج درصد بقیه، متشکل از بسیاری عناصر دیگر است. بررسی‌های مختلف نشان می‌دهند که پتاسیم، منیزیم، کلسیم، آهن، منگنز، کبالت، مس، مولیبدن و روی، تقریباً مورد نیاز تمام میکروارگانیسم‌ها هستند.

تمام یون‌های فلزی مورد نیاز را می‌توان به شکل نمک‌های کاتیونی غیرآلی به‌عنوان غذا در اختیار میکروارگانیسم‌ها قرار داد. پتاسیم، منیزیم، کلسیم و آهن به مقدار نسبتاً زیادی مورد نیازند و آن‌ها را همواره به صورت نمک باید به محیط‌های کشت اضافه کرد. مقدار مورد نیاز منگنز، کبالت، مس، مولیبدن و روی بسیار کم و نشان‌دادن نقش آن‌ها مشکل است، چون به عنوان عوامل ثانوی، همواره اثراتی از این مواد در سایر ترکیبات محیط موجود است و همین مقدار کم، برای رشد کافی‌ست. این‌گونه مواد را «مواد غذایی جزیی» می‌نامند. فسفر را که عامل غیرفلزی‌ست می‌توان به شکل غیرآلی یعنی املاح فسفات به‌عنوان غذا مورد مصرف قرار داد. باید گفت که نیاز به سدیم برای بسیاری از اجرام ریزبینی مشهود نیست ولی این ماده، به مقدار نسبتاً زیادی برای برخی از باکتری‌های دریایی، باکتری‌های آبی و سبز و باکتری‌های فتوسنتزی لازم است.

۸ـ۲ـ تولیدمثل باکتری‌ها

زمانی که باکتری‌ها در شرایط مساعد قرار گیرند به‌سرعت شروع به تقسیم می‌نمایند و بر تعداد آن‌ها افزوده می‌شود. منظور از رشد در باکتری‌ها، اضافه‌شدن تعداد آن‌ها در محیط کشت (محیط کشت مصنوعی یا بدن موجودات زنده دیگر) می‌باشد. اگر باکتری در شرایط نامساعد قرار گیرد

تولیدمثل ممکن است با روش‌های دیگر انجام گیرد.

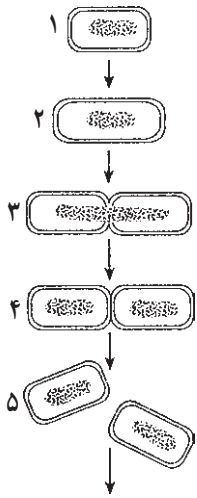
۱ــ۸ــ۲ــ تقسیم و تکثیر باکتری‌ها: باکتری‌ها برحسب گونه و نوع خود به دو طریق جنسی و غیرجنسی تکثیر می‌یابند. معمولاً مهم‌ترین روش تکثیر باکتری‌ها، تکثیر غیرجنسی به صورت تقسیم دوتایی می‌باشد.

۲ــ۸ــ۲ــ تکثیر غیرجنسی

الف ــ تقسیم دوتایی: در این نوع تقسیم، یک باکتری پس از زمان معین که برای تمام باکتری‌ها یکسان نیست و بستگی به شرایط محیط و مواد غذایی دارد، تقسیم شده و به دو باکتری تبدیل می‌گردد. در این روش، هنگامی که باکتری در محیط مناسبی قرار گیرد مواد مورد نیاز خود را جذب کرده، به‌وسیله آنزیم‌های خود، آن‌ها را تغییر می‌دهد و به پروتوپلاسم زنده تبدیل می‌کند. درنتیجه این عمل، بر حجم باکتری افزوده شده، کم‌کم طول باکتری زیاد می‌شود و هم‌زمان با آن، مواد هسته‌ای نیز دو برابر می‌گردد. وقتی که رشد به حد معینی رسید، ابتدا در قسمت وسط فرورفتگی ایجاد شده، رفته رفته دیواره عرضی در قسمت میانی شکل گرفته، یک باکتری به دو باکتری تبدیل می‌شود.

ب ــ روش‌های دیگر تولیدمثل غیرجنسی و تکثیر باکتری‌ها عبارتند از :

قطعه‌قطعه شدن
جوانه زدن



۱ــ باکتری در حال رشد
۲ــ پایان مرحله رشد باکتری
۳ــ تقسیم پروتوپلاسم و پیدایش فرورفتگی در دیواره
۴ــ تشکیل دیواره عرضی
۵ــ جداشدن دو باکتری جدید از یکدیگر

شکل ۴ــ۲ــ تکثیر غیرجنسی باکتری‌ها به روش تقسیم دوتایی

شکل ۵ ــ۲ــ تکثیر غیرجنسی به روش جوانه‌زدن

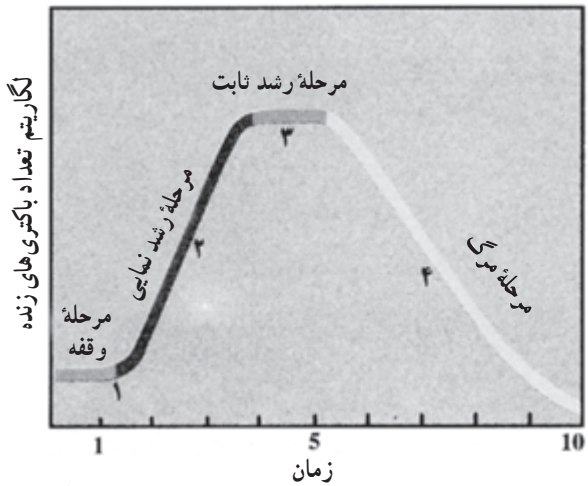
شکل ۶ ــ۲ــ تکثیر غیرجنسی به روش قطعه‌قطعه‌شدن

۳ــ۸ــ۲ــ تکثیر جنسی: به‌صورت آمیختگی[1] انجام می‌گیرد.

۹ــ۲ــ منحنی رشد باکتری

چنانچه باکتری در شرایط کشت مناسبی قرار گیرد، پس از زمان معینی به دو و سپس به چهار و بعد به هشت و همین‌طور شانزده و ... باکتری تقسیم می‌شود. مدت زمانی که لازم است تا یک باکتری به دو باکتری تقسیم شود «زمان تقسیم»[2] نامیده می‌شود. زمان تقسیم در باکتری‌های مختلف متفاوت است و نیز برای یک نوع باکتری در محیط و شرایط مختلف نیز متفاوت خواهد بود. اگر غذای کافی در اختیار یک باکتری قرار گیرد، در مدت یک هفته حجمی حدود حجم کره زمین تولید خواهد کرد. این نوع افزایش سلولی، افزایش به‌صورت تصاعد هندسی نامیده می‌شود. اما در عمل به علت کمبود مواد غذایی و بالارفتن مواد زاید، پس از مدت معینی رشد باکتری‌ها کاهش می‌یابد.

منحنی رشد و نمو باکتری‌ها: در این منحنی چهار قسمت مشخص را می‌توان در نظر گرفت.



شکل ۷ــ۲ــ منحنی عمومی رشد باکتری‌ها در یک محیط کشت آزمایشگاهی (بسته)

۱ــ Conjogation ۲ــ Generation Time

۱ــ۹ــ۲ــ مراحل مختلف منحنی رشد

۱ــ *مرحله وقفه*[1]: در این مرحله، باکتری‌ها که تازه در محیط کشت وارد شده‌اند خود را با محیط آشنا می‌کنند و تا مدتی به حالت نهفته یا کمون به‌سر می‌برند و سرعت رشد آن‌ها صفر می‌باشد. طول این مدت معمولاً ۲ تا ۳ ساعت است.

۲ــ *مرحله رشد لگاریتمی*[2] *یا رشد نمایی:* در این مرحله، که معمولاً ۵ تا ۸ ساعت طول می‌کشد، تقسیم باکتری‌ها به‌طور منظم و با حداکثر سرعت انجام می‌شود و در آن تمام باکتری‌ها زنده هستند سپس به مرحله رکود نزدیک می‌شوند.

۳ــ *مرحله رشد ثابت*[3]: ورود به این مرحله، از عواملی نظیر کمبود مواد غذایی، کمبود فضا و افزایش مواد سمی که محیط را برای ادامه رشد باکتری نامساعد می‌کند ناشی می‌شود. طول این مرحله براساس نوع باکتری متفاوت است و معمولاً حدود ۲۰ ساعت طول می‌کشد. تعداد باکتری‌ها در این مرحله ثابت است و افزایش تعداد باکتری‌ها با تعداد مرگ و میر آن‌ها برابر است.

۴ــ *مرحله مرگ*[4]: آخرین مرحله از رشد و نمو باکتری‌ها، مرحله مرگ است و ممکن است چند ساعت تا چند روز به طول بینجامد. در این مرحله، رشد باکتری متوقف و تمام مواد غذایی مصرف شده است و در اثر تجمع مواد سمی به‌صورت لگاریتمی متلاشی می‌شوند و از بین می‌روند.

۱۰ــ۲ــ اثر عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط در رشد و نمو و متابولیسم باکتری‌ها

اثر عوامل محیط: مواد غذایی، حرارت، رطوبت، pH، اکسیداسیون و احیا.

۱ــ۱۰ــ۲ــ نیازهای غذایی باکتری‌ها: یک محیط کشت باید بتواند نیازهای رشد میکروب‌ها را تأمین کند، بنابراین لازم است از نیازمندی‌های غذایی باکتری‌ها اطلاعات کافی داشته باشیم. هر محیط کشت برای گروه خاصی از میکروب‌ها مناسب است و هفت عامل را باید داشته باشد : آب، کربن، انرژی، نیتروژن، نمک‌ها، عوامل رشد و pH. در زیر، نقش هریک از عوامل مذکور، بیان می‌شود :

آب: پروتوپلاسم، شامل ۷۰ تا ۸۵ درصد آب است. آب در یک موجود تک‌سلولی، از آب محیط اطراف آن جذب می‌شود و مولکول‌ها آزادانه به داخل و خارج سلول عبور می‌کنند و آب حامل مواد غذایی داخل و خارج سلول می‌باشد و تمام فعالیت‌های آنزیمی کنترل‌کننده فعالیت‌های شیمیایی، با وجود میزان کافی آب مقدور است. کیفیت آب مورد استفاده برای تهیه محیط‌های کشت، مهم است. برای این منظور، از آب سخت که حاوی یون‌های کلسیم و منیزیم بالاست، نباید استفاده شود. فسفات‌های نامحلول کلسیم و منیزیم در حضور پپتون‌ها و عصاره گوشت رسوب می‌کنند، از این رو، بهترین کار، استفاده از آب مقطر است.

۱ــ Legphase ۲ــ Legarithmic phase ۳ــ Stationary Phase ۴ــ Phase of death

کربن: موجودات براساس این‌که کربن مورد نیاز خود را از چه منبعی تأمین می‌کنند به دو گروه تقسیم می‌شوند. آن‌هایی که می‌توانند برای سنتز مواد سلولی، کربن مورد نیاز خود را از دی‌اکسید کربن تأمین کنند اتوتروف[1] نامیده می‌شوند و آن‌هایی که برای تأمین کربن به مواد آلی نیازمند هستند، هتروتروف[2] گویند. علاوه‌بر منابع آلی کربن، هتروتروف‌ها به دی‌اکسیدکربن هم نیاز دارند و اگر این گاز کاملاً از محیط زندگی آن‌ها حذف شود مخصوصاً در مراحل اولیه شروع کشت، رشد آن‌ها به خطر می‌افتد. کربن آلی مورد نیاز موجودات مختلف متنوع‌اند : به طوری که یک موجود ممکن است تنها به ترکیب ساده‌ای مثل اسید استیک نیاز داشته باشد و موجود دیگر ترکیبات پیچیده آن را بطلبد.

انرژی: موجوداتی که دارای رنگدانه هستند می‌توانند از انرژی خورشید استفاده کنند. به این نوع موجودات فتواتوتروف[3] (اتوتروف‌های فتوسنتتیک) می‌گویند. محیط‌های کشت چنین موجوداتی، شامل ترکیباتی‌ست که انرژی مورد نیاز آن‌ها را تأمین می‌کنند به اتوتروف‌هایی که نمی‌توانند از انرژی خورشیدی استفاده کنند، اما قادرند مواد ساده معدنی را برای تأمین انرژی خود اکسید کنند، کمواتوتروف[4] می‌گویند. مواد اصلی تولیدکننده انرژی این موجودات، موادی مثل نیتریت، نیترات و یا سولفات است.اکثر باکتری‌ها در گروه کموهتروتروف‌ها قرار دارند و نیازمند یک منبع انرژی آلی مثل گلوکز یا اسیدآمینه هستند. میزان انرژی مورد نیاز گونه‌های مختلف کموسنتتیک در محیط کشت، ۰/۵ درصد است.

تعداد کمی از باکتری‌ها به‌عنوان فتوهتروتروف (هتروتروف‌های فتوسنتتیک) تقسیم می‌شوند. این میکروب‌ها، دارای رنگدانه‌های فتوسنتزکننده هستند که آن‌ها را قادر می‌سازد از انرژی نور خورشید استفاده کنند. منبع کربن آن‌ها باید یک ترکیب آلی مثل الکل باشد.

نیتروژن: گرچه موجودات اتوتروف می‌توانند از منابع نیتروژن معدنی استفاده کنند، ولی هتروتروف‌ها، نیتروژن خود را از اسیدهای آمینه و ترکیبات بینابینی پروتئینی مثل پپتیدها، پروتئوزها و پپتون‌ها به‌دست می‌آورند، عصاره گوشت و پپتون که در نوترینت براث[5] استفاده می‌شوند نیتروژن مورد نیاز هتروتروف‌ها را در این محیط تأمین می‌کنند.

نمک‌های معدنی: همه موجودات، به ترکیبات فلزی زیادی مثل سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، منگنز، آهن، روی، مس، فسفر و کبالت نیاز دارند، باکتری‌ها نیز از این قاعده مستثنی نیستند. البته مقدار این نیاز در آن‌ها بسیار اندک است.

عوامل رشد: تعدادی از مواد ضروری که موجود زنده قادر به ساخت آن‌ها از منابع کربن و

۱ـ Autotrophs ۲ـ Heterotrophs ۳ـ Photoautotrophs
۴ـ Chemoautotrophs ۵ـ Nutrient Broth

نیتروژن نیست، «عوامل رشد»[1] نامیده می‌شوند. این‌ها ممکن است اسیدهای آمینه یا ویتامین‌ها باشند. برای بسیاری از هتروتروف‌ها عوامل رشد موجود در عصاره گوشت داخل نوترینت براث کافی‌ست. اکثر عوامل بیماری‌زای مشکل‌پسند به محیط‌های کشت غنی شده مثل آگار خون‌دار[2] نیاز دارند.

یون هیدروژن: اگر pH محیط در محدوده خاصی نباشد ممکن است رشد میکروب در آن محیط کاملاً متوقف شود. آنزیم‌های میکروب‌ها نسبت به pH محیط به‌شدت حساس هستند. زیرا اکثر باکتری‌ها در pH حدود ۷ بهترین رشد را دارند. عوامل بیماری‌زا معمولاً pH قلیایی را ترجیح می‌دهند.

۲ــ۱۰ــ۲ــ درجه حرارت: باکتری‌ها از نظر دامنه حرارتی به سه دسته تقسیم می‌شوند:

الف ــ باکتری‌های ترموفیل[3] یا گرمادوست: باکتری‌هایی هستند که مناسب‌ترین درجه حرارت برای رشد آن‌ها ۴۵ درجه سانتی‌گراد است. این باکتری‌ها در طبیعت در چشمه‌های آب گرم و خاک، دمای بین ۷۵ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد را به‌راحتی تحمل می‌کنند و در حرارت ۵۵ درجه سانتی‌گراد می‌توانند رشد کنند. باکتری‌های ترموفیل اجباری در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قادر به رشد نیستند ولی باکتری‌های ترموفیل اختیاری می‌توانند هر دو درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵۵ درجه سانتی‌گراد را به خوبی تحمل کنند. اکثر باکتری‌های ترموفیل مولد فساد در مواد غذایی کنسروی متعلق به این گروه از باکتری‌ها هستند.

ب ــ باکتری‌های مزوفیل[4] (معتدل): باکتری‌هایی که معمولاً در بدن انسان و حیوانات زندگی می‌کنند و بیشتر مورد مطالعه قرار می‌گیرند، جزو این دسته هستند. باکتری‌های مزوفیل در درجه حرارت ملایم بهتر رشد می‌کنند و معمولاً از این نظر به دو دسته زیر تقسیم می‌شوند:

دسته اول: باکتری‌هایی که درجه حرارت مناسب برای رشد آن‌ها ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد است. باکتری‌های این گروه شامل اکثر ساپروفیت‌ها و باکتری‌های انگل گیاهان است.

دسته دوم: باکتری‌هایی که درجه حرارت مناسب برای رشد آن‌ها ۳۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و معمولاً برای حیوانات انگل‌اند یا به‌طور هم‌سفره[5] زندگی می‌کنند.

ج ــ باکتری‌های سایکروفیل[6] (سرمادوست): دامنه حرارتی رشدشان بین ۰ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. از نظر برخی صاحب‌نظران، متوسط درجه حرارت این باکتری‌ها حدود ۱۵درجه سانتی‌گراد است. این باکتری‌ها یکی از عوامل فساد مواد غذایی در یخچال هستند، به‌طورکلی، آنچه مشخص‌کننده یک باکتری سایکروفیل است قدرت رشد و تکثیر آن در صفر درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

۱ــ Growth Factors ۲ــ Blood Agar ۳ــ Termophiles
۴ــ Mesophiles ۵ــ Commensal ۶ــ Psychrophiles

با توجه به این‌که باکتری‌ها دارای حرارت دلخواه متفاوت هستند به کمک روش‌های حرارتی مختلف نظیر استریلیزه‌کردن، پاستوریزه‌کردن، تندالیزه‌کردن و ... که در کتاب عملی به‌طور مفصل توضیح داده شده، می‌توان مواد غذایی را تهیه و نگهداری نمود.

۳ـ۱۰ـ۲ـ pH: مقاومت یک میکروارگانیسم نسبت به حرارت در pH مناسب به حداکثر می‌رسد (اغلب نزدیک به خنثی) در pH زیاد اسیدی یا قلیایی، مرگ سریع‌تر اتفاق می‌افتد. هر باکتری در pH معین فعالیت کرده، توکسین و یا پیگمان تولید می‌نماید. اکثر باکتری‌های بیماری‌زا در pH حدود خنثی رشد می‌کنند و تعدادی از آن‌ها ممکن است pH اسیدی یا قلیایی را ترجیح دهند. برای مثال کپک‌ها و مخمرها در pH اسیدی رشد و تکثیر بهتری خواهند داشت. از این رو، میوه‌هایی که pH پایین‌تری دارند بیشتر در معرض فساد ناشی از کپک‌ها و مخمرها هستند. در مواد غذایی، pH می‌تواند نشان‌دهنده درجه سلامت، نوع آلودگی و نوع باکتری موجود در آن باشد.

۴ـ۱۰ـ۲ـ رطوبت: آب، یکی از مهم‌ترین اجزای ساختمان سلول باکتری‌هاست و تقریباً ۸۰ تا ۹۰ درصد وزن باکتری‌ها را به‌صورت آزاد یا ترکیب، تشکیل می‌دهد. باکتری‌ها در محیط فاقد آب می‌میرند و یا اسپور تولید می‌کنند.

نقش آب در زندگی باکتری‌ها را می‌توان به‌صورت زیر خلاصه نمود :

ـ مواد غذایی به‌وسیله آب به‌صورت محلول درآمده، جذب باکتری می‌شوند.

ـ آب، در دفع و انتقال مواد زاید حاصل از فعالیت‌های حیاتی باکتری از درون آن به خارج مؤثر است.

ـ آب در سرعت واکنش‌های شیمیایی بسیار مؤثر است و بدون آن واکنش‌های درون باکتری انجام نمی‌پذیرد.

ـ آب در حفظ شکل باکتری تأثیر زیادی دارد.

عوامل بازدارنده رشد: رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در اثر حضور مواد بازدارنده که به‌طور طبیعی در محیط کشت وجود دارند و یا این که مصنوعاً به آن اضافه شده‌اند، کند و یا به‌طور کامل متوقف می‌گردد. مانند آنتی‌بیوتیک‌ها که به‌طور مصنوعی به مواد غذایی، مانند گوشت و شیر اضافه می‌شود.

۱۱ـ۲ـ مراحل مختلف تولید اسپور

برخی از باکتری‌ها می‌توانند اسپور ایجاد کنند. اسپورها در شرایط نامساعد که حیات باکتری‌ها را به خطر می‌اندازد مانند مواد شیمیایی، سرما، گرما، خشکی و ... تشکیل می‌شوند تا بقای باکتری‌ها

را تضمین نمایند. در هر باکتری شکل، اندازه و محل استقرار اسپور آن ثابت بوده و بنابراین به تشخیص گونه‌های مختلف باکتری‌ها کمک می‌کند. شکل اسپورها از گرد تا بیضی متغیر می‌باشد.

۱ـ۱۱ـ۲ـ اهمیت اسپور در زندگی باکتری‌ها: اسپورزایی در بقای باکتری‌ها و دوام آلودگی محیط، اهمیت شایانی دارد. تا زمانی که شرایط محیطی برای رشد باکتری‌های اسپورزا مساعد نباشد، باکتری به حالت استراحت در شکل اسپور باقی می‌ماند و نیازی به غذا ندارد و شرایط نامساعد بر آن بی‌تأثیر است. بدین ترتیب، ممکن است ده‌ها سال و شاید قرن‌ها باقی بماند تا شرایط برای رشد مساعد گردد. اسپورزایی به تولیدمثل باکتری ارتباطی ندارد، چون یک باکتری ؛ به یک هاگ تبدیل می‌شود، یعنی تکثیر صورت نگرفته است بلکه زندگی استمرار یافته است. اسپور، در برابر حرارت و عوامل شیمیایی مقاومت زیادی دارد به همین دلیل، استریلیزه‌کردن محیط و پاک‌کردن آن از وجود اسپور مشکل است. همه‌ساله در دنیا مخارج سرسام‌آوری در صنایع کنسروسازی برای از بین‌بردن اسپور باکتری‌ها هزینه می‌شود. از طرفی، بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های مفید در مراحل اولیه اسپورزایی باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی تولید می‌شوند که از این نظر نیز اسپورزایی پدیده بسیار مهمی به‌شمار می‌آید.

شروع اسپورزایی: اسپورزایی معمولاً در انتهای مرحله رشد، درنتیجه نقصان یک ماده غذایی اصلی اتفاق می‌افتد که ممکن است یک منبع کربن یا ازت، یک عامل رشد و یا یک ماده معدنی باشد. اسپورزایی ممکن است پس از انتقال یاخته‌ها از محیط غنی به محیط فقیر از نظر مواد غذایی، ایجاد شود، درضمن اضافه‌کردن مواد ممانعت‌کننده اسپورزایی را برمی‌انگیزد. چنانچه سلول‌ها را از محیط غنی به محیط فقیر انتقال دهند، به علت کمبود اسیدهای آمینه اسپورزایی اتفاق می‌افتد. باکتری اسپورزا در طی پدیده اسپورزایی یک تقسیم نامتقارن را تحمل می‌کند که در جریان آن، سرانجام دو یاخته زاده می‌شوند یکی کوچکتر و دیگری بزرگتر.

۱۲ـ۲ـ بیماری‌زایی باکتری‌ها

باکتری‌ها از جنبه بیماری‌زایی یعنی توان تولید بیماری در انسان یا حیوانات، انواع مختلفی دارند و از میان انبوه باکتری‌ها تنها تعداد معدودی خواص بیماری‌زایی دارند. باکتری‌ها، در همه موجودات به استثنای حیوانات عاری از جرم (حیواناتی که به‌طور استریل از رحم مادر گرفته می‌شوند و در شرایط استریل زندگی می‌کنند.) همواره وجود دارند. ولی همه آن‌ها زیان‌آور و بیماری‌زا نیستند و حتی برخی نیز ممکن است مفید باشند. توان بیماری‌زایی از یک سو، مربوط به ماهیت، ساختمان و خواص جرم آلوده‌کننده و از سوی دیگر وابسته به خواص موجود آلوده شونده (گونه، نژاد، فرد،

دفاع غیراختصاصی و دفاع ایمنی موجود) است. باکتری‌ها بنابر دو مکانیسم اساسی حمله‌وری به بافت‌ها یا قسمت‌های سطحی و تولید زهرابه‌ها، موجب بروز بیماری می‌شوند. البته برخی از باکتری‌ها ممکن است بنابر مکانیسم ازدیاد حساسیت، سبب بروز بیماری گردند.

تهاجم و بیماری‌زایی بسیاری از باکتری‌ها بر این اساس است که پذیرنده‌هایی در باکتری‌ها و هم‌چنین در سطح برخی از یاخته‌های حیوانی و یا احتمالاً گیاهی وجود دارند، که باکتری‌های بیماری‌زا به‌وسیله آن‌ها به یاخته‌های میزبان می‌چسبند و در آن جا تمرکز یافته، بیماری زایی خود را ظاهر می‌کنند و بر باکتری‌هایی که این گونه پذیرنده‌ها را ندارند غالب می‌شوند و آن‌ها را از کارآیی باز می‌دارند.

۱۳ــ۲ــ بیماری‌های مهم باکتریایی

۱ــ۱۳ــ۲ــ بیماری سی ــ آر ــ دی: عامل این بیماری، نوعی باکتری (از گروه P.P.L.O) به نام «میکوپلاسما گالی سپتیکوم» است که معمولاً به‌تنهایی و بدون کمک دیگر عوامل بیماری‌زا نمی‌تواند علایم مشخص تنفسی به وجود آورد. زمینه‌ساز این بیماری معمولاً ویروس‌ها و عوامل بیماری‌زای دیگر دستگاه تنفسی هستند که در نهایت با حمله میکوپلاسماها پیچیده و پیشرفته‌تر می‌شود.

مشکل اصلی در این بیماری، بیشتر مرغ‌های پدر و مادری هستند که قبلاً به عامل این بیماری یعنی «میکوپلاسما گالی سپتیکوم» آلوده شده‌اند و خود، اکنون به کانون‌های انتقال این بیماری بدل شده‌اند. درنتیجه، بیماری می‌تواند به‌وسیله مادرهای آلوده از طریق تخم‌مرغ و جنین به جوجه‌ها انتقال یابد. علاوه‌بر این، انتقال و شیوع بیماری می‌تواند از راه تماس مستقیم طیور آلوده و بیمار با یکدیگر و هم‌چنین به‌وسیله گرد و خاک، هوای آلوده سالن، تهویه نادرست و ترشحات مرغ‌های بیمار صورت گیرد. دوره پنهان بیماری تا تجدید حیات دوباره آن متفاوت است و از ۴ روز تا ۳ هفته به طول می‌انجامد.

این بیماری، ممکن است از سن یک هفتگی به بعد و در تمام دوره زندگی مرغ‌ها بروز کند. علایم آن معمولاً منحصر به مجاری تنفسی‌ست. دوره کمون بیماری اغلب ۱۱ تا ۱۸ روز به طول می‌انجامد. در مرغ‌های بالغ، مشخصه بیماری عبارت است از : سرفه، عطسه، خرخرکردن (شبیه‌کشیدن قلیان) و گاهی آب‌آمدن از بینی و به‌طور کلی، بروز علایم عمومی ناراحتی‌های دستگاه تنفسی. در ضمن چشم‌ها حالت آبکی و باد کرده به خود می‌گیرد.

بهترین راه برای رفع مشکل سی ــ آر ــ دی، جلوگیری از ابتلا به بیماری و شیوع آن است. بنابراین، عمل پیشگیری در گله اهمیت خاصی دارد. ولی پیشگیری بیماری و رسیدن به حد مطلوب آن، کار دقیق و مشکلی‌ست. یکی از مهم‌ترین عوامل پیشگیری ، رعایت اصول بهداشت و تهویه سالم

است. علاوه‌بر این، طیور مبتلا باید در حد امکان از گله خارج و در صورت لزوم، معدوم شوند. گله‌های مادر و اجداد، باید به منظور کسب اطمینان از عدم آلودگی و پاک‌بودن، تحت تست خون قرار گیرند.

۲ـ۱۳ـ۲ـ بیماری سل: سل یکی از بیماری‌های میکروبی واگیر مشترک بین انسان و دام است و بیشتر دام‌های مسن را مبتلا می‌سازد. در مناطقی که دام به صورت متراکم نگهداری می‌شود شدت آلودگی بیشتر از نقاطی‌ست که این کار به‌صورت باز انجام می‌گیرد.

میکروب بیماری که نوعی باسیل[1] است نسبت به اسیدها و الکل مقاوم و نسبت به حرارت حساس است به‌طوری که در آب جوش فوراً از بین می‌رود ولی اگر میکروب به‌وسیله ترشحات یا خلط پوشیده شده باشد، مقاومت بیشتری دارد و دیرتر از بین می‌رود.

از مواد شیمیایی، ید و کلر تأثیر شدید و سریعی بر روی میکروب عامل این بیماری دارند و در مدت کوتاهی آن را از بین می‌برند. کلیه دام‌های اهلی و طیور نسبت به میکروب سل، حساس‌اند اما میزان حساسیت آن‌ها یکنواخت نیست. حساسیت انسان وگاو بیشتر از سایرین است، در گاو، شرایط نگهداری و سن دام نسبت به بیماری تأثیر زیادی دارد.

در بدن حیوان مبتلا، میکروب سل در اندام‌های مختلف جایگزین می‌شود. چنانچه این اندام‌ها ترشحاتی داشته باشند، میکروب همراه ترشحات به خارج راه پیدا می‌کند. ترشحات ریه (خلط) در سل ریوی، ترشحات رحم در سل رحمی و مدفوع در سل روده‌ای و شیر در سل پستان، به مقدار زیادی دارای میکروب سل هستند. در سل پستان، چنانچه شیر گاو آلوده با شیر سایر دام‌ها مخلوط شود، تمام آن را آلوده می‌کند و مصرف آن به‌صورت خام، خطرناک خواهد بود. در سل روده‌ای، چنانچه پستان به موارد دفعی آلوده باشد و یا مدفوع وارد ظرف شیر گردد شیر آلوده می‌شود. در این نوع سل، میکروب به وسیله مدفوع در تمام گاوداری پخش و در اثر گرد و غبار، وارد هوای تنفسی انسان یا حیوان می‌گردد و باعث انتشار بیماری می‌شود.

بیماری سل در گاو، مزمن است و سال‌ها طول می‌کشد و بیشتر در ریه، غدد لنفاوی، سر و گردن ظاهر می‌شود. در مراحل اولیه بیماری، دام سلامت ظاهر خود را حفظ کرده، کم‌کم در هنگام فعالیت یا استنشاق هوای سرد، سرفه‌های کوتاه و دردناکی بروز می‌کند و دام زودتر از معمول خسته می‌شود و به نفس نفس می‌افتد. در این هنگام، اشتهای دام کم شده، لاغر می‌گردد و نشخوار نامنظم و گاهی نفخ شکم مشاهده می‌شود، سپس درجه حرارت کمی بالا رفته، تنفس کوتاه و سریع می‌شود و سرفه شدت می‌یابد. در هنگام سرفه ترشحات غلیظ و زردرنگی دفع می‌گردد که اغلب به‌وسیله حیوان مجدداً بلعیده می‌شود و باعث آلودگی غدد لنفاوی دستگاه گوارش و کبد می‌گردد. به‌تدریج اشتهای

۱ـ Mycobactreum tubercolesis عامل بیماری سل

دام کم می‌شود و دام لاغر می‌گردد و درنتیجه از میزان ترشح شیر کاسته می‌شود. براثر وارد آمدن فشار روی دنده‌ها، دام به شدت سرفه می‌کند. با مشاهده علایم سرفه، لاغری، بی‌اشتهایی و تورم غدد لنفاوی می‌توان به این بیماری مشکوک شد ولی برای تشخیص قطعی باید از آزمایشگاه و تست‌های حساسیتی استفاده شود.

برای ریشه‌کنی بیماری سل در یک منطقه سالی یک بار عمل تست حساسیتی را روی دام‌ها انجام می‌دهند و در صورت واکنش مثبت، دام‌ها را روانه کشتارگاه می‌کنند. در گاوداری‌های آلوده، گوساله‌های سالم را جدا و به‌تدریج دام‌های مسن و مشکوک را از بین می‌برند و گوساله‌های به دنیا آمده از مادران مشکوک به بیماری سل را، بلافاصله جدا و با شیر سالم و پاستوریزه تغذیه می‌نمایند. وقتی گوساله‌ها از شیر گرفته شدند تست حساسیتی را روی آن‌ها انجام داده، در صورت منفی‌بودن وارد گله‌های سالم می‌کنند و در غیر این صورت، به کشتارگاه می‌فرستند. برای پیشگیری از ابتلای دام‌ها به این بیماری، در مناطق خیلی آلوده از واکسن سل که B.C.G (ب. ث. ژ) نامیده می‌شود، استفاده می‌گردد.

۳ـ۱۳ـ۲ـ بیماری باکتریال آبشش و پوسیدگی باله: این بیماری عمدتاً مربوط به باکتری‌های رشته‌ای و گرم منفی و تولیدکننده رنگدانه زرد می‌باشد. ماهیان مبتلا بی‌حس و کم اشتها شده و تمایل بیشتری به ماندن در سطح آب و دریچه‌های ورودی دارند. تعداد تنفس افزایش یافته و ترشحات چسبناک در صورت افزایش در آبشش‌های ماهیان مشخص می‌باشد.

در مراحل پایانی عفونت‌های ثانویه قارچی نیز مشاهده می‌شود.

انتقال بیماری از طریق آب محیط و سایر ماهیان مبتلا صورت می‌گیرد.

برای پیش‌گیری بایستی کیفیت شرایط محیطی ثابت نگه داشته شود که شامل جلوگیری از تراکم زیاد ماهیان، جلوگیری از کاهش اکسیژن محلول و ذرات معلق در آب و نیز پرهیز از افزایش آمونیاک آب می‌باشد.

۱۴ـ۲ـ ضدعفونی‌کردن و استریل‌نمودن

اساس استریل و ضدعفونی‌کردن به ۱۵۰ سال قبل مربوط می‌شود ولی عمل استریل‌کردن در قرون گذشته متداول بوده است. الکساندر (Alexander) قبل از نوشیدن آب آن را می‌جوشانده است. مصریان قدیم برای محافظت بدن مردگان خود، آن‌ها را مومیایی می‌کردند. کارهای لیستر (Lister)، پاستور (Pasteur)، و کخ (Koch) باعث شد که استریل‌کردن در کارهای پزشکی به‌طور اجباری اجرا شود.

تعریف استریلیزه‌کردن: به کشتن یا حذف همه میکروب‌های مفید و غیرمفید استریلیزه‌کردن می‌گویند.

تعریف ضدعفونی‌کردن (Disinfection): به کشتن میکروب‌ها بجز اسپورها ضدعفونی‌کردن می‌گویند.

تعریف آنتی‌سپتیک: به نابودکننده میکروب‌ها در بافت‌های زنده، آنتی‌سپتیک می‌گویند.

ماده استاتیک: تنها مانع رشد میکروب می‌شود.

۱ـ۱۴ـ۲ـ میکروب‌کش: میکروب‌ها را نابود می‌کند. (باکتری‌کش[۱]، ویروس‌کش[۲]، قارچ‌کش[۳]، اسپورکش[۴]) برای انجام عملیات فوق از دو روش فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود :

روش‌های فیزیکی بیش از روش‌های شیمیایی در استریلیزه کردن کاربرد دارند و عبارتند از : سرمادادن، فریزکردن، خشکاندن جسم میکروب برای نگهداری آن.

از گرما به دو صورت در استریلیزه‌کردن استفاده می‌شود : گرمای خشک و گرمای مرطوب

گرمای مرطوب: حرارت‌دادن در حضور آب که به سه طریق انجام می‌گیرد :

۱ـ گرمای زیر ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

۲ـ گرمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

۳ـ گرمای بالای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

دمای زیر ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد: بهترین مثال در این مورد پاستوریزه‌کردن است که در آن از دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده می‌شود و در روش اصلاح‌شده آن، دمای۷۱/۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه به‌کار می‌رود. بعضی از اسپورها در دمای ۱۰۰ درجه کشته می‌شوند اما این نوع استریل‌کردن را نمی‌توان به‌عنوان روش اسپورکش محسوب کرد.

دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد: در این مورد می‌توان تندالیزه‌کردن را مثال زد که در آن ماده مورد نظر ۳۰ دقیقه در هر روز به‌طور متوالی حرارت داده می‌شود. اساس عمل این است که بعد از هر حرارت‌دهی، اسپورهای زنده مانده به حالت رویشی افتاده، در مرحله حرارت‌دهی بعدی کشته می‌شوند. نتایجی که با این روش به‌دست آمده، زیاد رضایت‌بخش نیست، بنابراین، برای استریل‌کردن مواد حساس مثل محیط‌های کشت دارای کربوهیدرات‌ها، تخم‌مرغ یا سرم توصیه نمی‌شود.

دمای بالای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد: بخار خشک یک روش عالی برای استریل‌کردن است زیرا دمای بالایی دارد و قادر به تغییر سختی آب می‌باشد.

بخار با دمای کم همراه با فرم‌آلدئید: بخار با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، بسیار مؤثرتر از

۱ـ Bactericidal ۲ـ Virucidal ۳ـ Fungicidal ۴ـ Sporocidal

آب با همان دماست. افزودن فرم‌آلدئید به بخار با دمای کم تأثیر اسپورکشی دارد و برای لوازم ناپایدار در برابر حرارت مناسب است.

۲ـ۱۴ـ۲ـ غیرفعال‌کردن میکروب‌ها با سرما: در دمای پایین رشد باکتری‌ها کند و بالاخره متوقف می‌شود. البته بعضی از باکتری‌های سرمادوست می‌توانند حتی در صفر درجه سانتی‌گراد هم به رشد خود ادامه دهند و این‌ها ممکن است میکروب‌های مهم فاسدکننده مواد غذایی باشند.

تعریف لیوفیلیزه‌کردن : شامل فریزکردن سریع توأم با خشکاندن است. این روش برای محافظت میکروبی محیط‌های کشت و مواد غذایی خاص به‌کار می‌رود. فریزکردن و ذوب‌کردن دوباره می‌تواند باکتری‌ها را غیرفعال نماید و این عمل ممکن است به دلیل واردآمدن آسیب به غشای خارجی، صورت بگیرد.

۳ـ۱۴ـ۲ـ شوک سرما و شوک اسمزی: روشی‌ست که در آن میکروب‌ها بدون فریزکردن، ناگهان به لرزه می‌افتند. در این روش، باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نابود می‌شوند اما مخمرها زنده می‌مانند. در روش اصلاح‌شده شوک اسمزی، باکتری‌ها توسط یک محلول هیپرتونیک ساکاروز همراه با EDTA [1] احاطه می‌شوند و سپس در داخل محلول کلرور منیزیم با دمای صفر درجه قرار می‌گیرد. این عمل، باکتری‌ها را نابود کرده، آنزیم‌های پری‌پلاسم آن‌ها را آزاد می‌کند.

۴ـ۱۴ـ۲ـ تشعشعات یونیزه‌کننده: تشعشعات یونیزه‌کننده شامل اشعه ایکس، تشعشعات بتا و گاما و ... هستند. این‌ها باعث شکسته‌شدن یک رشته و یا هر دو رشته DNA می‌شوند. برعکس، اشعه ماورای بنفش انرژی کافی برای ایجاد تغییرات شیمیایی را ندارد.

اثر تشعشعات یونیزه‌کننده تابع عوامل زیر است :

۱ـ *نوع میکروب‌ها:* اسپورها نسبت به باکتری‌های بدون اسپور، بسیار مقاوم‌ترند.

۲ـ *شرایط قبل از تابش اشعه:* میکروب‌هایی که از محیط‌های کشت حاوی سرم جدا می‌شوند مقاومت بیشتری دارند.

۳ـ *اثر اکسیژن:* که مربوط است به اثر اکسیژن بر اسپورهای باکتریایی در محیط گازی و بعد از تابش اشعه.

۴ـ *مرحله اسپورزایی:* مقاومت نسبت به اشعه قبل از مقاومت نسبت به دما حاصل می‌شود.

تشعشعات یونیزه‌کننده برای استریل‌کردن لوازم یک بارمصرف پزشکی، کاربرد فراوان دارند.

۵ـ۱۴ـ۲ـ استریل‌کردن با صافی: قرن‌هاست که از صافی‌ها برای تخلیص آب و فاضلاب استفاده می‌شود.

۱ـ Ethylene Diamin Tetracetic Acid

انواع صافی‌ها

۱ــ *صافی‌های سرامیکی بدون لعاب:* این‌ها، به لحاظ اندازه سوراخ، در درجات مختلف ساخته شده‌اند و برای تصفیه آب به‌کار می‌روند. صافی‌های چنبرلند و دالتون (Chanberland and Dalton) نمونه‌هایی از این نوع صافی‌ها هستند. این صافی‌ها را پس از استفاده، می‌توان با مواد شیمیایی تمیز کرد.

۲ــ *صافی‌های آزبست:* این نوع صافی‌ها، ظرفیت جذب بالایی دارند اما در برابر محلول‌های قلیایی‌کننده، آسیب‌پذیراند و احتمالاً سرطان‌زا نیز هستند.

۳ــ *صافی‌های شیشه‌ای:* این صافی‌ها دارای ذرات پودرشده شیشه‌ای در اندازه‌های مختلف هستند که بسته به قطر منفذهای مورد نیاز، اندازه ذرات شیشه‌ای فرق می‌کند. این صافی‌ها گران‌قیمت‌اند.

۴ــ *صافی‌های غشایی:* این‌ها روزانه به مقدارزیاد به‌کار می‌روند و از استر سلولز ساخته شده‌اند و برای تهیه محلول‌های استریل بسیار مناسب‌اند. اندازه منفذهای آن‌ها بین ۰/۰۵ تا ۱۲ نانومتر است. قطر منفذی که برای استریل‌کردن لازم است بین ۰/۲ تا ۰/۲۲ نانومتر می‌باشد. این نوع صافی‌ها در پزشکی و صنعت کاربرد فراوان دارند.

موارد استفاده صافی‌ها

۱ــ برای استریل‌کردن محلول‌های تزریقی و چشمی حساس در برابر حرارت

۲ــ برای آزمایش محصولات دارویی از نظر استریل‌بودن

۳ــ برای تصفیه منابع آب

۴ــ برای ارزیابی میکروبی آب

۵ــ برای شمارش میکروبی

۶ــ برای تعیین اندازه ذرات ویروسی

۷ــ برای استریل‌کردن هوا

۸ــ برای استریل‌کردن سرم‌ها

۶ــ۱۴ــ۲ــ خواص یک ضدعفونی‌کننده مطلوب

۱ــ طیف گسترده : طیف گسترده ضد میکروبی داشته باشد.

۲ــ سرعت عمل : باید به سرعت بتواند فرم‌های رویشی و اسپورهای باکتری‌ها، قارچ‌ها، انگل‌ها و ویروس‌ها را نابود کند.

۳ــ تحت تأثیر عوامل فیزیکی قرار نگیرد : یعنی در حضور مواد آلی مثل خون، خلط و مدفوع فعال باشد و با صابون‌ها، دترجنت‌ها و مواد شیمیایی سازگار باشد.

۴ــ غیرسمی باشد.

۵ــ برای سطوح مضر نباشد و باعث تغییر شکل و تخریب لباس‌ها، لاستیک‌ها، پلاستیک‌ها و مواد دیگر نشود.

۶ــ به آسانی قابل استفاده باشد.

۷ــ بی‌بو باشد.

۸ــ ارزان قیمت باشد.

جدول ۲ــ۲ــ نحوه عمل و خواص عمده ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی

ماده ضدعفونی‌کننده	عمل عمده	مورد استفاده معمول	خواص دیگر	رقت (درصد)
الکل	حلال لیپید دناتوره‌کننده پروتئین‌ها	ضد میکروب‌های پوستی ضدعفونی‌کننده‌های سطحی	اثر سریع قابل اشتعال، پوست را خشک می‌کند.	۷۰
مواد جیوه‌ای	غیرفعال‌کننده پروتئین‌ها	مواد ضد میکروبی پوست ضدعفونی‌کننده‌های سطحی	اثر کشندگی ضعیف با مواد آلی غیرفعال می‌شوند.	۰/۱
نیترات نقره	دناتوره‌کننده پروتئین	ماده ضدمیکروبی برای چشم‌ها و سوختگی‌ها	با مواد آلی غیرفعال می‌شوند بر طیف محدودی از میکروب‌ها مؤثر است.	۱
ترکیبات فنلی	غشاهای سلولی را تخریب و پروتئین‌ها را غیرفعال می‌کنند.	در داخل شوینده‌های ضدمیکروبی پوست	با مواد آلی غیرفعال نمی‌شوند.	۰/۵ــ۵
ید	پروتئین‌ها را غیرفعال می‌کند.	ضدعفونی می‌کند ــ کشنده ضد میکروب‌های پوست	محلول در الکل ــ اثر سریع با صابون‌ها مخلوط می‌شود.	۲
ترکیبات کلردار	اکسیدکننده‌های آنزیم‌ها	اصلاح‌کننده آب ــ کشنده ضدعفونی‌کننده	با مواد آلی غیرفعال می‌شوند.	۵
ترکیبات چهارظرفیتی آمونیوم	عمل‌کننده سطحی مخرب غشاهای سلولی	ضد میکروب‌های پوست کشنده ــ ضدعفونی‌کننده	با صابون خنثی می‌شوند. بی‌بو ــ غیر سوزاننده	کمتر از ۱
گلوتار آلدئید	پروتئین‌ها را دناتوره می‌کند. پروتئین‌ها را غیرفعال می‌کند.	استریل‌کننده سرد برای لوازم حساس نسبت به گرما	ناپایدار ــ سمی دارای فعالیت بالا در قلیایی	۲ــ۱

۱۵ــ۲ــ روش‌های کشت

میکروب‌ها نیز مثل تمام موجودات زنده دیگر، به مواد غذایی اساسی خاص و به عوامل فیزیکی نیاز دارند و این نیازمندی‌ها، از تنوع گسترده‌ای برخوردار است. برای کسب اطلاعات لازم در مورد این نیازمندی‌ها لازم است میکروب‌ها در محیط‌های آزمایشگاهی، کشت داده شوند.

یک محیط کشت میکروبی، غذایی است که برای کشت باکتری‌ها، کپک‌ها و میکروب‌های دیگر به‌کار می‌رود و ممکن است مایع، جامد و یا نیمه‌جامد باشد.

۱ــ۱۵ــ۲ــ محیط‌های کشت مایع: این محیط‌ها شامل آب گوشت، محیط کشت مایع سیترات، محیط کشت مایع گلوکز، محیط کشت مایع شیر وغیره هستند و برای رشد و تکثیر تعداد زیادی از میکروب‌ها، مطالعه عمل تخمیری آن‌ها و برای آزمایش‌های مختلف دیگر به کار می‌روند.

۲ــ۱۵ــ۲ــ محیط‌های کشت جامد: این محیط‌های کشت، با افزودن مواد سفت‌کننده مثل ژلاتین و یا سلیکاژل به محیط کشت مایع، درست می‌شوند. یک ماده سفت‌کننده خوب، ماده‌ای‌ست که توسط میکروب‌ها مصرف نشود و از رشد میکروب‌ها جلوگیری نکند و در دمای اتاق ذوب نگردد. آگار و سلیکاژل در دمای اتاق ذوب نمی‌شود و به‌وسیله تعداد بسیار کمی از میکروب‌ها مصرف می‌شود. از طرف دیگر، ژلاتین به‌وسیله عده معدودی از میکروب‌ها هیدرولیز می‌شود و در دمای اتاق ذوب می‌گردد. نوترینت آگار، بلادآگار (آگار خون‌دار)، و سابروآگار، مثال‌هایی از این نوع محیط‌های کشت هستند که برای رشد پرگنه‌های باکتری‌ها و کپک‌ها در سطح محیط کشت به‌کار می‌روند. همان‌طورکه خواهیم دید تهیه پرگنه در سطح محیط کشت، برای جداسازی میکروب‌ها از یک محیط کشت مخلوط، کاری اساسی و مهم است.

۳ــ۱۵ــ۲ــ محیط‌های کشت نیمه جامد: محیط‌های کشتی هستند مابین مایع و جامد. گرچه آن‌ها شبیه محیط‌های کشت جامد هستند و مواد سفت‌کننده‌ای مانند آگار و ژلاتین را در برمی‌گیرند ولی به خاطر کم‌بودن ماده سفت‌کننده در آن‌ها، حالت ژله‌ای دارند. این محیط‌های کشت، برای تشخیص باکتری‌های خاص متحرک به‌کار می‌روند.

۴ــ۱۵ــ۲ــ محیط‌های کشت اختصاصی: دو نوع محیط کشت اختصاصی که به‌طور گسترده به‌کار می‌روند عبارت‌اند از محیط‌های انتخابی و محیط‌های افتراقی.

محیط‌های کشت انتخابی : محیط‌هایی هستند که به دلایل زیر، فقط به انواع خاصی از میکروب‌ها اجازه رشد می‌دهند : (۱) به علت نبود مواد غذایی حیاتی این محیط برای اکثر میکروب‌ها (البته نه برای همه آن‌ها) غیرمفید است. (۲) وجود مواد ممانعت‌کننده‌ای که از رشد گونه‌های خاصی از میکروب‌ها جلوگیری می‌کنند. ماده ممانعت‌کننده ممکن است نمک (NaCl)، اسید، یک ماده

شیمیایی سمی (کریستال ویوله)، یک آنتی‌بیوتیک (استرپتومایسین)، و یا مواد دیگر باشد.

محیط‌های افتراقی: این محیط‌ها، شامل موادی هستند که باعث می‌شوند ظاهر بعضی از باکتری‌ها متفاوت از باکتری‌های دیگر باشند. بنابراین امکان افتراق گونه‌های باکتریایی در این محیط‌های کشت، امکان‌پذیر می‌گردد.

در برخی موارد، محیط کشت طوری ساخته می‌شود که خاصیت هر دو نوع محیط کشت (افتراقی و اختصاصی) را داراست. در این مورد، می‌توان لوین EMB آگار را مثال زد که برای تعیین حضور کلی فرم‌ها در آزمایش آب به کار می‌رود.

محیط‌های کشت بدون آب (به صورت پودر): تا سال ۱۹۳۰، یک تکنسین آزمایشگاه بیشترین وقت خود را صرف تهیه محیط‌های کشت میکروبی از مواد مختلف می‌کرد. اگر یک محیط کشت ۵ یا ۶ ماده اولیه در خود داشت، نه تنها مقادیر مختلف مواد، باید اندازه‌گیری می‌شد، بلکه برای تهیه موادی مثل عصاره گوشت، روش‌های خسته‌کننده پخت باید اعمال می‌گردید، اما امروزه، تهیه محیط‌های کشت بسیار ساده شده است. با توزین مقدار مشخصی از محیط کشت بدون آب، آن را در آب حل کرده، pH آن را تنظیم و در لوله‌های آزمایش تقسیم کرده، استریل می‌نمایند. در اکثر موارد ، تنظیم pH لازم نیست.

۱۶ــ۲ــ چگونگی تهیه محیط‌های کشت

در این دوره از کار آزمایشگاهی، با همکارتان محیط‌های کشتی درست کنید که در کارهای بعدی آزمایشگاه به کار خواهید برد. معلمتان نحوه تهیه محیط کشت را به شما نشان خواهد داد. در نقطه‌چین‌های زیر، تعداد لوله‌های آزمایش محیط‌های کشتی را که تهیه آن‌ها به عهده شما و همکارتان گذاشته شده است یادداشت کنید :

نوترینت براث .....

نوترینت آگار .....

نوترینت آگار خوابیده .....

محیط کشت دیگر .....

برای تهیه محیط‌های کشت، لوله‌های آزمایش در اندازه‌های مختلف به‌کار می‌رود، اما معمولاً لوله‌های با قطر ۱۶ میلی‌متری و ۲۰ میلی‌متری و به بلندی ۱۵ سانتی‌متری، بیشترین کاربرد را دارند. ابتدا لوله‌های با اندازه‌های مناسب را انتخاب کنید :

لوله‌های آزمایش بزرگ (با قطر ۲۰ میلی‌متر): این لوله‌ها، برای محیط‌های کشت ذخیره

مثل نوترینت آگار، سایروآگار، EMB آگار و غیره به‌کار می‌روند. این محیط‌های کشت برای ریختن به داخل پلت‌ها کاربرد دارند.

لوله‌های آزمایش کوچک (با قطر ۱۶ میلی‌متر): این لوله‌های آزمایش برای محیط‌های کشت مایع و برای محیط‌های کشتی که در آن‌ها کشت عمقی داده می‌شود و برای محیط‌های کشت خوابیده (Slant)، به‌کار می‌روند. اگر لوله‌های آزمایش، تمیز و بدون گرد و غبار باشند نیازی به شستن ندارند. با این همه، در صورت نیاز، آن‌ها را در داخل آب گرم و دترجنت غوطه‌ور نموده، با برس شست و شوی لوله آزمایش، داخل آن‌ها را تمیز کنید. سپس دوباره آب‌کشی کنید. بار اول با آب معمولی و بار دوم، با آب مقطر در حالت غوطه‌ور تا بقایای دترجنت از آن‌ها زدوده شود. سپس، لوله‌ها را در جالوله‌ای یا سبد توری به‌طور سر و ته قرار دهید تا خشک شوند و هرگز آن‌ها را با حوله خشک نکنید.

توزین و مخلوط‌کردن: پودر محیط کشت مورد نظر را دقیقاً توزین کنید. (۰/۸ گرم)

مواد و لوازم: ترازو، بشر، هم‌زن شیشه‌ای میله‌ای، محیط‌های کشت پودری، شعله گاز یا هیتر

۱ــ آب مورد نیاز را تهیه کنید. حجم مورد نیاز برای هر لوله آزمایش، براساس مقادیر زیر در نظر گرفته شود :

۱ــ محیط‌های کشت ذخیره	۱۲ میلی‌لیتر
۲ــ محیط‌های کشت عمقی	۶ میلی‌لیتر
۳ــ محیط‌های کشت خوابیده	۴ میلی‌لیتر
۴ــ محیط‌های کشت آب گوشت	۵ میلی‌لیتر
۵ــ محیط‌های کشت برای تخمیر	۷ــ۵ میلی‌لیتر

۲ــ از روی برچسب بسته محیط کشت، مقدار پودر مورد نیاز برای ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب را مشخص کرده و سپس، مقدار مورد نیاز خود را محاسبه کنید، آن‌گاه، آن را وزن کرده داخل آب بشر بریزید. اگر محیط کشت حاوی آگار نباشد، نیازی به حرارت ندارد.

۳ــ اگر محیط کشت حاوی آگار باشد آن را بر روی شعله گاز یا هیتر حرارت دهید تا به جوش آید، برای این که مطمئن شوید در اثر حرارت آب تبخیر و کم نشده، قبل از حرارت، سطح آب را در بشر علامت‌گذاری کنید. قبل از این که در اثر جوشیدن سرریز شود هیتر را خاموش کنید.

توجه: در حین گرمادادن با هم‌زن شیشه‌ای، محیط کشت را به هم بزنید تا ته نگیرد.

۴ــ میزان حجم محیط کشت را در ظرف بررسی کرده، در صورت کاهش، با افزودن آب، آن

را به سطح علامت‌گذاری شده برسانید. دمای محیط کشت را در حدود ۶۰ درجه نگه دارید تا سفت نشود. چون در دمای حدود ۴۰ درجه سفت می‌شود.

تنظیم pH : گرچه محیط‌های کشت پودری شامل مواد بافری هستند pH را در یک محدوده مورد نظر ثابت نگه می‌دارد ولی ممکن است pH هر سری تولید شده با آنچه در بر چسب نوشته شده است فرق داشته باشد. قبل از اینکه محیط کشت به داخل لوله آزمایش ریخته شود، pH آن اندازه‌گیری و در صورت لزوم تنظیم می‌شود.

اگر pH متری در اختیار دارید که قبلاً استاندارد شده است برای تنظیم pH به کار برید و در صورت نیاز به تنظیم pH، از اسید هیدروکلریدریک (HCl) و هیدروکسیدسدیم (NaOH) استفاده کنید. البته از کاغذهای مخصوص برای تنظیم pH نیز می‌توانید بهره بگیرید و به قرار زیر، pH را تنظیم کنید :

مواد و لوازم مورد نیاز: بشر حاوی محیط کشت

اسید و باز (شیشه‌های دارای قطره‌چکان و حاوی اسید و باز یک نرمال و یک‌دهم نرمال NaOH,HCl) هم‌زن شیشه‌ای میله‌ای

کاغذ pH متر

دستگاه pH متر

روش کار:

۱ــ کاغذ pH متر را در داخل محیط کشت فرو ببرید.

۲ــ اگر pH خیلی بالا باشد با افزودن یک یا دو قطره HCl می‌توان آن را پایین آورد. برای مقادیر بیشتر، از HCl یک نرمال استفاده کنید. اگر به تغییر pH اندکی نیاز است، از ۰/۱HCl نرمال استفاده کنید. با یک میله به هم‌زن شیشه‌ای، قطرات اضافه شده به محیط را مخلوط کنید.

۳ــ اگر pH خیلی پایین باشد یک قطره NaOH اضافه کنید تا pH افزایش یابد برای تغییر اندک pH از NaOH یک دهم نرمال و برای تغییرات وسیع از NaOH یک نرمال بهره بگیرید.

سپس محیط کشت را در لوله‌های مناسب تقسیم کرده، سر لوله‌های در پیچ‌دار را با در مخصوص ببندید و اگر لوله‌ها در پیچ‌دار نباشند با گذاشتن پنبه در آن‌ها را ببندید و بعد استریل کنید.

استریلیزه‌کردن محیط‌های کشت: به محض این که لوله‌های آزمایش حاوی محیط‌های کشت آماده شدند باید استریل شوند. میکروب‌های موجود در سرپوش لوله‌های آزمایش و میکروب‌های موجود در آب محیط‌های کشت و پودر آن‌ها، در مدت بسیار کمی در دمای اتاق شروع به رشد کرده، محیط کشت را خراب می‌کنند. قبل از استریلیزه‌کردن، لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت باید در

یک سبد سیمی یا جالوله‌ای قرار داده و برچسب زده شوند، این برچسب باید نشان‌دهنده نوع محیط کشت، تاریخ و نام شما باشد، استریلیزه‌کردن باید با اتوکلاو انجام شود. رعایت موارد زیر در استفاده از اتوکلاو بسیار مهم است.

استریلیزه‌کردن کامل در دمای ۲۵۰ درجه فارنهایت (۱۲۱/۶ درجه سانتی‌گراد) صورت می‌گیرد. هنگام رسیدن به این دما، داخل اتوکلاو دارای فشار ۱۵ پوند در اینچ ربع (Psi) بخار آب خواهد بود. برای دستیابی به دمای دلخواه، اتوکلاو، باید دریچه‌هایی برای خروج هوا داشته باشد.

* محفظه اتوکلاو را از مواد استریل‌شونده پر نکنید. باید اطراف سبد حاوی محیط کشت، برای چرخش بخار آب خالی باشد.

* زمان استریلیزه‌کردن نسبت به میزان مواد داخل اتوکلاو تنظیم می‌شود. اگر مواد استریل‌شونده کم باشند تنها ۱۰ تا ۱۵ دقیقه برای این کارکافی‌ست. یک اتوکلاو پر از محیط کشت، ممکن است برای استریلیزه‌کردن کامل، به ۳۰ دقیقه وقت نیاز داشته باشد.

محیط‌های کشت خوابیده (Slants) : برای درست‌کردن این فرم، باید پس از خارج‌نمودن لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت از اتوکلاو، آن‌ها را به‌طور افقی بخوابانید.

محیط‌های کشت دیگر: لوله‌های آزمایش حاوی آب گوشت، آگار عمقی، ژلاتین و غیره را باید پس از اتوکلاو کردن در وضعیت ایستاده قرار دهید تا در دمای اتاق خنک شوند.

نگهداری محیط‌های کشت: اگر محیط‌های کشت بلافاصله به‌کار نمی‌روند. باید در یک مکان خنک نگهداری شوند. این محیط‌ها چنانچه برای مدت طولانی در دمای اتاق بمانند آب خود را از دست داده، خشک می‌شوند. آن‌ها را می‌توان در دمای ۴ درجه یخچال، ماه‌ها سالم نگه داشت.

۱ـ۱۶ـ۲ـ طرز تهیه محیط کشت آگار خون‌دار : محیط کشت آگار خون‌دار، محیط کشتی‌ست که در آزمایشگاه‌ها کاربرد فراوان دارد زیرا علاوه بر دارا بودن مواد معمول لازم، حاوی خون است بنابراین اکثر باکتری‌ها قادرند در آن رشد کنند. برای تهیه آن، خون گوسفند ضد انعقاددار به میزان ۳٪ تا ۵٪ به محیط کشت پایه (نوترینت آگار، بلادآگار بیس[۱]، تریپتون سوی آگار[۲]، بروسلا آگار[۳]) اضافه می‌شود. برای افزودن خون به محیط کشت پایه باید پس از اتمام اتوکلاو محیط کشت پایه آن را تا حدود ۴۲ درجه سانتی‌گراد خنک نمایید. سپس خون را به آن اضافه کنید و به هم بزنید، اگر دمای محیط کشت بیشتر باشد خون لیز می‌شود و رنگ محیط کشت کدر و نامناسب می‌گردد. پس از افزودن خون به محیط کشت پایه، بلافاصله باید آن را در پلت‌های استریل تقسیم کنید تا به طور یکنواخت سفت شود و سپس آن‌ها را وارونه در یخچال قرار دهید.

۱ـ Blood agar base ۲ـ Tryptone soy agar ۳ـ Brucella agar

۱۷ــ۲ــ روش پورپلیت[1]

این روش جداسازی یک گونه از باکتری‌ها از گونه‌های دیگر باکتریایی شامل رقیق کردن یک لوپ پر از میکروب در سه لوله آزمایش حاوی نوترینت آگار ذوب شده می‌باشد. در این حالت، یکی از لوله‌ها دارای تعداد معمولی باکتری‌ست. در این روش، نیاز به مهارت نیست ولی در آن به محیط کشت و لوله‌های آزمایش و پلیت‌های زیادتری نیاز است.

مواد و لوازم مورد نیاز:

محیط کشت حاوی مخلوط میکروبی

سه عدد محیط کشت نوترینت آگار

سه عدد پلیت استریل

یک عدد هیتر، بشر، دماسنج، ماژیک

۱ــ با ماژیک پشت سه محیط کشت نوترینت آگار را با شماره‌های ۱ و۲و ۳ شماره‌گذاری کنید و آن‌ها را در آب بشر قرار داده، آن را روی هیتر بگذارید تا ذوب شود.

۲ــ با ماژیک پشت سه عدد پلیت را با شماره‌های ۱ و ۲ و ۳ شماره‌گذاری کنید.

۳ــ محیط‌های کشت لوله‌های آزمایش را سرد کنید تا دمای آن‌ها به ۵۰ درجه سانتی‌گراد برسد.

۴ــ طبق روشی که در تصویر ۱۶ نشان داده شده است با یک لوپ، از میکروب‌های محیط کشت مخلوط میکروبی برداشته، به لوله آزمایش شماره یک منتقل کنید. در تصویر ۱۷ و ۱۸ به نحوه گرفتن لوله آزمایش و کار با لوپ توجه کنید.

۵ــ پس از به‌هم‌زدن محتویات لوله آزمایش حاوی میکروب، یک لوپ پر از آن را (لوله شماره ۱) به لوله آزمایش شماره دو منتقل کرده، به هم بزنید. احتیاط کنید هنگام به‌هم‌زدن محتویات لوله‌ها، محلول تا سر لوله بالا نیاید، سپس لوله آزمایش شماره یک را در داخل آب بشر قرار دهید.

۶ــ محتویات لوله آزمایش شماره ۲ را کاملاً به هم زده، یک لوپ پر از آن را بردارید و به لوله آزمایش شماره ۳ منتقل کنید. لوله شماره ۲ را در داخل آب بشر قرار دهید.

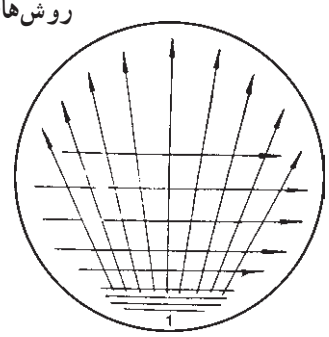
۷ــ محتویات لوله آزمایش شماره ۳ را به هم زده، سر لوله را روی شعله بگیرید، سپس محتویات آن را به داخل پلیت شماره ۳ بریزید.

۸ــ سر لوله‌های شماره ۱ و ۲ را نیز روی شعله گرفته، در داخل پلیت‌های مربوط خالی کنید.

۹ــ پس از این که محیط‌های کشت داخل پلیت‌ها کاملاً سفت شدند، آن‌ها را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت به‌طور وارونه در گرم‌خانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار دهید.

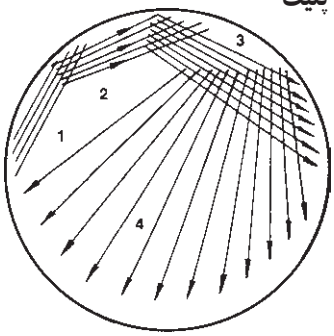
۱ــ Poure plate method

روش‌های مختلف کشت در سطح پلیت



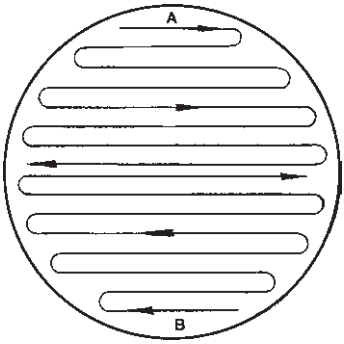
شکل ۸ ــ۲ــ روش کشت شعاعی

۱ــ یک لوپ پر از میکروب را در ناحیه کوچکی نزدیک حاشیه کشت دهید (ناحیه ۱).
۲ــ لوپ را سوزانده، بگذارید به مدت ۵ ثانیه سرد شود.
۳ــ از ناحیه یک، تعداد ۷ تا ۸ خط مستقیم به طرف دیگر پلیت بکشید.
۴ــ لوپ را دوباره در جهت عرضی از نزدیک ناحیه یک بر روی محیط کشت بکشید.
۵ــ لوپ را سوزانده، در جای خود قرار دهید.



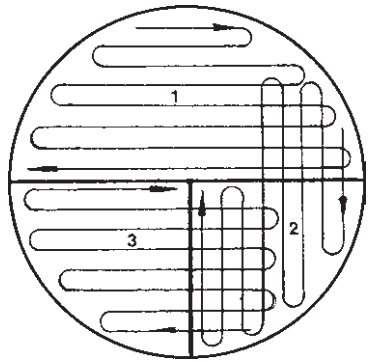
شکل ۹ ــ۲ــ روش کشت یک چهارم

۱ــ یک لوپ پر را در محدوده حاشیه یک کشت دهید. لوپ را داخل محیط کشت نکنید.
۲ــ لوپ را روی شعله بگیرید. ۵ ثانیه سرد کنید و سپس ۵ تا ۶ خط از ناحیه یک به ناحیه دو بکشید.
۳ــ لوپ را دوباره روی شعله بگیرید و ۶ تا ۷ خط به ناحیه سه بکشید.
۴ــ لوپ را دوباره روی شعله گرفته، تعدادی خط از ناحیه سه به ناحیه چهار بکشید.
۵ــ لوپ را روی شعله گرفته، در جای خود بگذارید.



شکل ۱۰ ــ۲ــ روش کشت ممتد

۱ــ یک لوپ پر از میکروب را از ناحیه A شروع کنید و تا مرکز یکباره گسترش دهید.
۲ــ پلیت را ۱۸۰ درجه دوران داده، بدون سوزاندن لوپ ازناحیه B به مرکز کشت دهید.
۳ــ لوپ را سوزانده در جای خود قرار دهید.



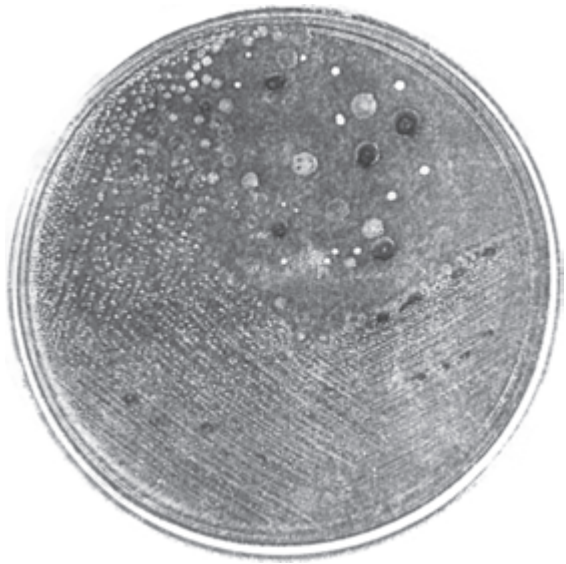
شکل ۱۱ــ۲ــ روش کشت T

۱ــ با یک ماژیک از پشت پلیت آن را به نصف و یک چهارم علامت‌گذاری کنید.

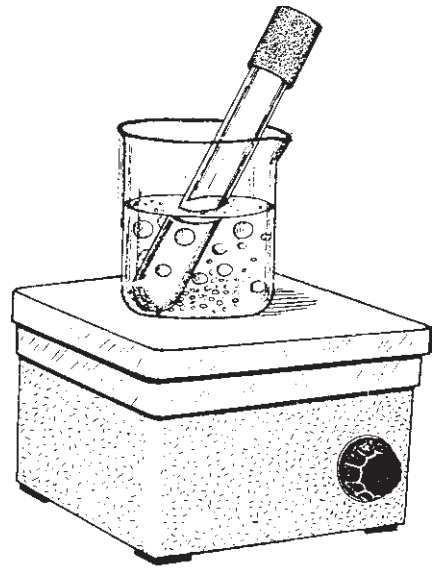
۲ــ یک لوپ پر از میکروب را از حاشیه پلیت به وسط آن کشت دهید.

۳ــ پس از سوزاندن لوپ از ناحیه یک به‌طور عرضی به ناحیه دو کشت دهید تا این ناحیه پر شود.

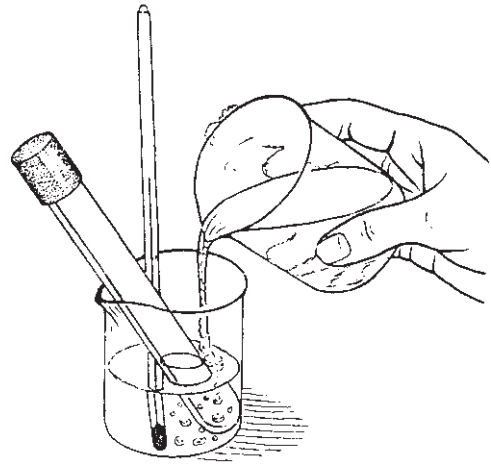
۴ــ پس ازسوزاندن دوباره لوپ، از ناحیه دو به ناحیه سه کشت دهید.



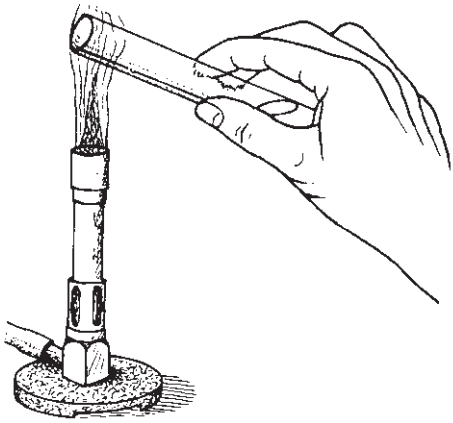
تصویر ۱ــ کشت میکروبی



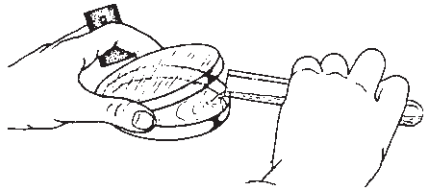
تصویر ۲ــ به مدت ۵ دقیقه نوترینت آگار را بجوشانید.



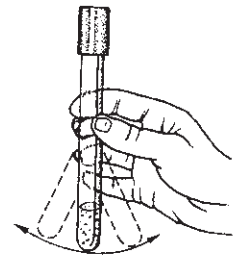
تصویر ۳ــ با افزودن آب سرد به آب جوش بشر آن را تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد سرد کنید.



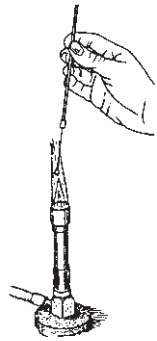
تصویر ۴ــ سر لوله آزمایش را روی شعله بگیرید.



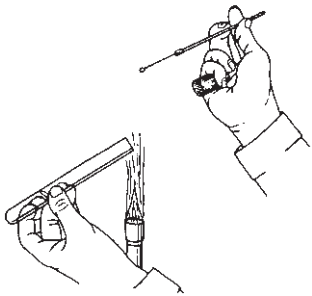
تصویر ۵ــ محتویات لوله را در داخل پلیت بریزید.



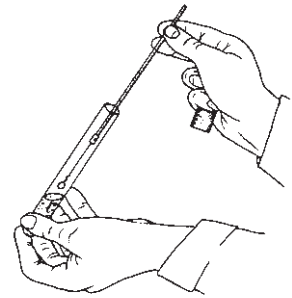
تصویر ۶ــ با تکان‌دادن به حالت پاندولی، محیط میکروبی را به هم بزنید. مواظب باشید سر لوله آلوده به میکروب نشود.



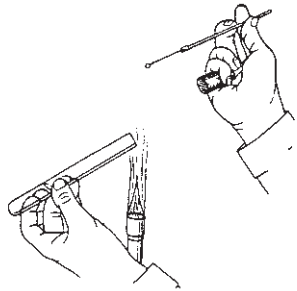
تصویر ۷ــ لوپ را روی شعله بگیرید تا گداخته شود.



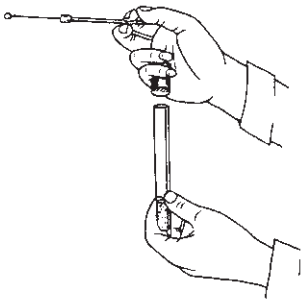
تصویر ۸ــ درپوش لوله را برداشته، سر لوله را روی شعله بگیرید. درپوش لوله را روی میز نگذارید.



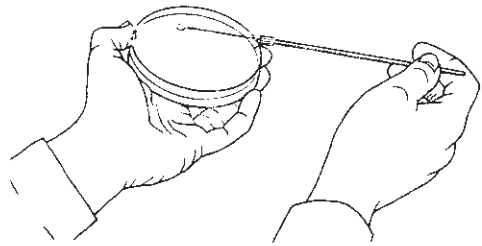
تصویر ۹ــ پس از سردشدن لوپ یک لوپ از محلول میکروبی برداشت کنید. مواظب باشید دهانه لوله آلوده نشود.



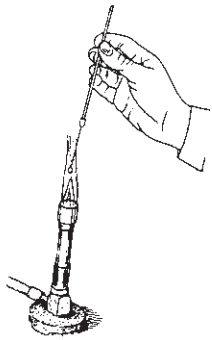
تصویر ۱۰ــ دهانه لوله حاوی محیط کشت را روی شعله بگیرید.



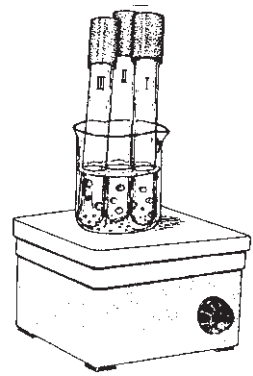
تصویر ۱۱ــ درپوش لوله را دوباره به سر لوله آزمایش بگذارید.



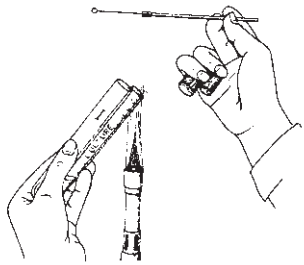
تصویر ۱۲ــ مطابق شکل پلیت را بگیرید و سطح آن را کشت دهید.



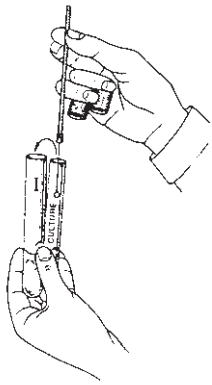
تصویر ۱۳ــ پس از اتمام کار، لوپ را بسوزانید.



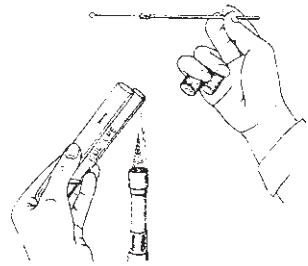
تصویر ۱۴ــ سه عدد محیط کشت نوترینت آگار ذوب کنید و دمای آن‌ها را به ۵۰ درجه برسانید.



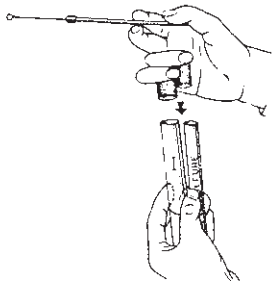
تصویر ۱۵ــ پس از به‌هم‌زدن محیط کشت، لوپ و سر لوله را روی شعله بگیرید.



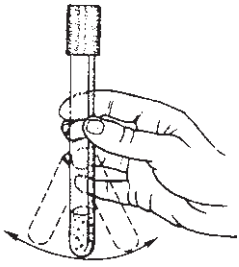
تصویر ۱۶ــ یک لوپ پر از محیط کشت لوله اول را به لوله دوم منتقل کنید.



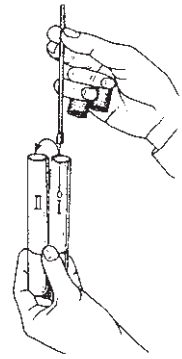
تصویر ۱۷ــ سر هر دو لوله را روی شعله بگیرید.



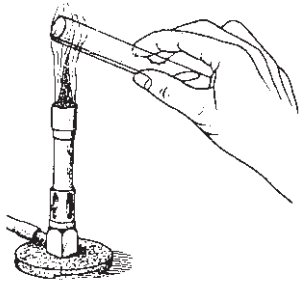
تصویر ۱۸ــ درپوش‌های لوله‌ها را در جای خود قراردهید.



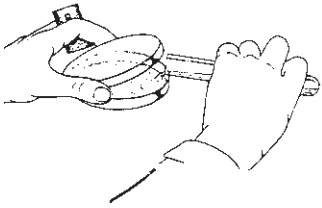
تصویر ۱۹ــ با به‌هم‌زدن لوله، بین دو انگشت، میکروب‌ها را به حالت معلق درآورید.



تصویر ۲۰ــ یک لوپ پر از لوله یک به لوله دو منتقل کرده، لوله دو را به داخل آب بشر برگردانید.



تصویر ۲۱ــ پس از به‌هم‌زدن لوله ۲ و انتقال به یک لوپ از آن به لوله ۳، سر لوله‌ها را روی شعله بگیرید.



تصویر ۲۲ــ محتویات هر لوله کشت داده شده را به داخل یک پلیت بریزید.

شکل ۱۲ــ۲ــ کشت پورپلیت