



تغذیه: فرایندی که طی آن مواد غذایی توسط باکتری جذب می شود.

← بر اساس نیازمندی به مواد غذایی، عناصر را به دو گروه تقسیم می کنیم:

۱. **macro nutrient** که ساختار اصلی سلول را تشکیل می دهند:

(کربن، اکسیژن، هیدروژن، نیتروژن، فسفر و گوگرد). سلول به مقدار زیاد به این مواد نیاز دارد

۲. **micro nutrients** که شامل عناصر کم یابی مثل **Mg, Cu, Zn**... است. سلول به مقدار کم به این مواد نیاز دارد. این عناصر: ۱. نقش کوآنزیمی دارند. ۲. در پایداری ساختارهای سلولی مثل دیواره سلولی و اسپور نقش دارند. ۳. بعضی مثل **Mg** در تشکیل ریبوزوم و همانند سازی اسید نوکلئیک دخالت دارد.

معمولا لازم نیست که در آزمایشگاه **micro nutrients** در اختیار میکروارگانیسم قرار گیرند چرا که آنها را از آلودگی هایی که رخ می دهد (آب شهری، فلاسک های شیشه ای...) به دست می آورند.

* تقسیم بندی دیگر مواد مورد نیاز سلول: ۱. مواد آلی: موادی که در آن پیوند **H, C** وجود دارد. ساده ترین ماده آلی: **CH₄** ۲. مواد غیر آلی: اتم ها و مولکول های ساده که پیوند **C, H** در آن ها وجود ندارد. مثل آب، شمار زیادی از گازها و عناصر فلزی.

اگر سلول را خشک کنیم و درصد عناصر سازنده آن را بررسی کنیم، ۹۶٪ وزن خشک آن را ۶ عنصر اصلی تشکیل می دهند. در آزمایشگاه باید این عناصر در اختیار سلول باشند تا بتواند رشد کند. برای رشد باکتری حداقل هایی نیاز است که شامل: ۱. منبع انرژی ۲. منبع کربن ۳. منبع الکترون ۴. مواد غیر آلی ۵. آب می باشند.

تقسیم بندی ارگانیسم ها:

بر اساس منبع کربن: ۱. اتوتروف ها: نیاز خود را از منابع کربن ساده و **CO₂** تأمین می کنند

۲. هتروتروف ها: نیاز خود را از کربن آلی تأمین می کنند.

بر اساس منبع انرژی: ۱. فتوتروف ها: منبع انرژی نور است.

۲. کموتروف ها: منبع انرژی واکنش های اکسیداسیون-احیا است.

بر اساس منبع الکترون: ۱. ارگانوتروف ها: منبع الکترون یک ترکیب آلی است.

۲. لیتوتروف ها: منبع الکترون یک ترکیب غیر آلی است.

← سؤال: در باکتری فوتو ارگانوتروف منابع کربن، انرژی و الکترون را نام ببرید.

انرژی: نور الکترون: ترکیب آلی ← با توجه به منبع الکترون می توان اظهار داشت که منبع کربن هم آلی است.

بر اساس منبع کربن و انرژی: ۱. کموتروف: نیازمند به کربن آلی

۲. کمواتوتروف: نیازمند به کربن غیر آلی



نکته! در باکتری های پاتوژن هتروتروف معمولاً دهنده الکترون و منبع کربن وانرژی یک ترکیب است (معمولاً گلوکز)

نیازمندی به نیتروژن:

فرم قابل استفاده نیتروژن آمونیاک (NH₃) یا آمونیوم است. منبع اصلی نیتروژن برای بسیاری از باکتری ها اسید های آمینه است. بیشترین منبع نیتروژن در اتمسفر است (۷۹٪) که قابل استفاده نیست. با این وجود باکتری های تثبیت کننده نیتروژن قادرند که نیتروژن را به نیتريت تبدیل کنند و باکتری های شوره گذاران نیتريت را به نترات که قابل استفاده برای گیاهان است تبدیل می کنند. گیاهان هم نترات را به آمونیوم (فرم قابل استفاده برای ما) تبدیل می کنند. به این چرخه، سیکل ازت می گوئیم.

نکته! باکتری های شوره بردار نترات را به نیتروژن تبدیل می کنند (نترات را به عنوان گیرنده نهایی الکترون در تنفس استفاده می کنند).

نیازمندی به فسفر:

منبع فسفر برای موجودات فسفات غیر آلی است. بسیاری از رسوبات کره ی زمین حاوی فسفات غیر آلی هستند. بنابراین بسیاری از منابع آبی حاوی فسفات است. (منبع آن فسفریک اسید است)

نیازمندی به گوگرد:

منبع گوگرد برای ارگانسیم ها، اسیدهای آمینه ی گوگرد دار است: مثل سیستئین

بسیاری از باکتری ها می توانند از تجزیه اسیدهای آمینه نیاز خود به گوگرد را تأمین کنند. برخی از باکتری ها از گاز H₂S استفاده کرده و گروهی دیگر از سولفات یا سولفیت به عنوان منبع گوگرد استفاده می کنند که در صنعت نفت کاربرد دارند. باکتری های گوگردی در چشمه های آب گرم وجود دارند.

فاکتورهای رشد:

فاکتورهای رشد شامل **اسیدهای آمینه، بازهای پورینی و پریمیدینی و ویتامین ها** هستند. این فاکتورها به عنوان محرک رشد ضروری اند.

← بر اساس نیازمندی یا عدم نیازمندی به فاکتورهای رشد ارگانسیم ها به دو گروه تقسیم می شوند: ۱. پروتروف ۲. آکسوتروف

پروتروف ها بر روی محیط های حداقلی می توانند رشد کنند در حالی که آکسوتروف ها توانایی رشد بر روی محیط حداقلی را ندارند (محیط حداقلی حاوی حداقل منابع کربن، انرژی، گوگرد و نیتروژن است) و برای رشد نیاز به فاکتورهای رشد دارند. معمولاً در این باکتری ها در ژن های مربوط به سنتز ویتامین، بازهای پورینی و اسیدهای آمینه جهش رخ داده که در نتیجه توانایی تولید یک آنزیم خاص را ندارند و در چرخه های متابولیکی و بیوسنتزی قادر به تولید ماده ای خاص نخواهند بود، بنابراین باید آن ماده خاص را به محیط اضافه کنیم.

- کاربرد باکتری های آکسوتروف: این گروه از باکتری ها می توانند برای تعیین جهش زا و سرطان زا بودن مواد مورد استفاده قرار گیرند. (تست AMES)
- باکتری های کموارگانوتروف: دهنده الکترون: ترکیب آلی

منبع انرژی: واکنش اکسیداسیون-احیا

تقسیم باکتری ها: تقسیم دوتایی

← رشد باکتری در دو سطح انجام می شود: ۱. افزایش حجم ۲. افزایش تعداد سلول که هر دو را باید داشته باشیم تا بگوییم باکتری رشد کرده است.



محیط های کشت: ۱. جامد: در صورت دیده شدن کثرت باکتری رشد کرده است.

۲. مایع: در صورت تغییر رنگ محیط و ایجاد کدورت باکتری رشد کرده است.

محیط کشت بسته (batch culture): اگر یک لوله آزمایش برداریم، محیط کشت را در آن ایجاد کنیم و به آن باکتری تلقیح کنیم محیط کشت بسته خواهیم داشت چرا که منبع غذایی جدیدی به محیط اضافه نمی شود و پس از گذشت زمان غلظت منابع غذایی کاهش می یابد و غلظت مواد سمی که ناشی از فعالیت متابولیکی است زیاد می شود. از این به بعد تمام مطالب در مورد این محیط کشت است. در چنین محیطی اگر یک نمودار براساس زمان (محور افقی) و تعداد باکتری های زنده (محور عمودی) رسم کنیم به منحنی رشد می رسیم که ۴ فاز دارد.

توجه! تمام مطالب یادشده مربوط به جمعیت میکروارگانیسم هاست نه یک سلول!

منحنی رشد ۴ فاز دارد: ۱. فاز اول (Lag phase) فاز تأخیری یا فاز تطابق

۲. فاز دوم (Log phase) فاز لگاریتمی یا فاز نمایی

۳. فاز سوم (Stationary phase) فاز سکون

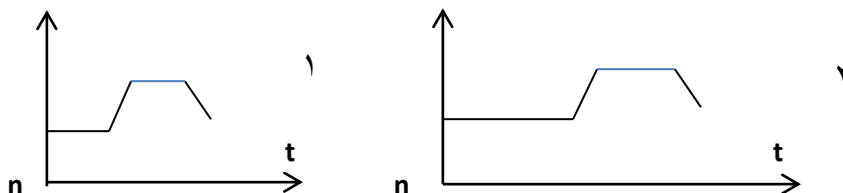
۴. فاز چهارم (Death phase): فاز کاهش سلولی یا فاز مرگ

فاز تأخیری:

از این جهت فاز تأخیری نام گرفته که در آن ارگانیسم خود را با شرایط جدید تطابق می دهد. در این مرحله، محیط و خود ارگانیسم از جمله عوامل تأثیر گذار هستند. در این فاز رشد نداریم چرا که افزایش حجم صورت می گیرد اما تکثیر سلولی نداریم. (تقسیم انجام نمی شود) در این مرحله سلول به شدت در حال سنتز محتویات خود است (در نتیجه سنتز پروتئین ها و آنزیم ها به شدت بالا است) و به محض شروع اولین تقسیم وارد مرحله دوم می شود.

تأثیر محیط بر فاز تأخیری:

فرض کنید محیط کشتی حاوی باکتری خاصی مانند E. coli داریم و قند محیط کشت، گلوکز است. باکتری را از این محیط بر می داریم و به دو محیط کشت جدید اضافه می کنیم. دو لوله جدید از نظر شرایط کاملا یکسان هستند اما قند لوله اول گلوکز و قند لوله ی دوم غیر گلوکز مثلا فروکتوز است. سپس با گذشت زمان منحنی رشد را رسم می کنیم.



علت تفاوت در منحنی ها :

در لوله ی اول از آن جایی که تمام شرایط (منبع الکترون، انرژی، کربن و قند) با محیط اولیه برابر است، آنزیم لازم برای هضم گلوکز تولید شده و باکتری می تواند از گلوکز استفاده کند. پس در این محیط جدید زمان کمتری برای شروع تکثیر نیاز است. اما در محیط دو چون باکتری باید آنزیم جدیدی برای مصرف فروکتوز سنتز کند زمان بیشتری نیاز است.

← تأثیر خود ارگانیسم بر فاز تأخیری: از یک باکتری مشخص مثل E. coli از دو زمان مختلف برداشت میکنیم. در محیط کشت اول از زمان کشت

E. coli ۲۴ ساعت گذشته و در محیط کشت دوم از کشت اولیه ۴۸ ساعت گذشته است. از محیط اول به لوله شماره ۱ و از محیط دوم به لوله شماره



۲ منتقل می کنیم. لوله شماره ۲۰۱ از لحاظ ترکیبات محیطی کاملاً شبیه محیط های اولیه است و در هر دو قند گلوکز است. سپس منحنی رشد را برای هر کدام رسم می کنیم.

نکته! از آن جایی که می خواهیم اثر خود ارگانیسم را بر فاز تأخیری بررسی کنیم باید تمام فاکتورهای محیطی را ثابت نگه داریم و متغیری نداشته باشیم.

۳. چرا مدت زمان فاز تأخیری در لوله شماره دوم بیشتر است؟

در محیط اول سلول ها جوان و فعال هستند. آنزیم های تولید شده پایدار است. سلول های جوان به دلیل فعال تر بودن سریع تر خودشان را با محیط تطابق می دهند. اما در محیط دوم، باکتری ها فرسوده و پیر هستند و خیلی از آن ها در حال مرگ اند. (سلول های پیر به انرژی بیشتری برای تطابق نیاز دارند.) در محیط اول تعداد سلول های جوان و نزدیک به فاز لگاریتمی بیشتر از محیط دوم است.

فاز لگاریتمی:

۱. افزایش تعداد سلول ها به صورت تصادفی است ... ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶

۲. سلول ها از نظر شکل خیلی شبیه اند (unique) این ویژگی سبب شده که نتایج آزمایش های انجام شده در این مرحله بسیار معتبر باشند.

۳. سلول ها به صورت نمایی افزایش می یابند.

قبلاً گفته می شد که در فاز لگاریتمی مرگ سلولی اتفاق نمی افتد. این حرف درست نیست. اما ما نمی توانیم خط کش گذاشته و مشخص کنیم از این نقطه تا آن نقطه فاز لگاریتمی است. این فاز معمولاً بین ۱۰-۵ ساعت طول می کشد. پس دقت داشته باشید که در انتهای فاز لگاریتمی و در ابتدای فاز سوم سلول ها در حال مرگ هستند.

توجه! در این فاز تعداد سلول های ایجاد شده خیلی بیشتر از تعداد سلول هایی است که می میرند.

نکته! در فاز لگاریتمی باکتری ها با نسبتی ثابت رشد می کنند. (درست است که محیط بر عدد این نسبت اثر گذار است اما در هر محیطی دارای یک نسبت ثابت می باشد)

نکته! از آن جایی که سلول ها در این مرحله به شدت در حال تکثیر اند، نسبت به آنتی بیوتیک ها (مؤثر بر دیواره مثل پنی سیلین یا غیر از آن) بیشترین حساسیت را دارند.

فرمول محاسبه باکتری ها

فقط در فاز لگاریتمی صدق می کند!

باکتری ها تقسیم دوتایی انجام می دهند که آن را به صورت 2^n نشان می دهیم.

$$N_t = N_0 \times 2^n \quad N_0 \text{ جمعیت در یک زمان معین: } N_t$$

در این مجموعه N_0 و N_t در حالت عادی مجهول است. اما در آزمایشگاه با شمارش این مقادیر به دست می آیند. به فرض باکتری را به محیط کشت تلقیح کردیم. timer را می زنیم. پس از گذشت ۱۰ ساعت تعداد سلول ها را شمارش می کنیم. برای مثال N_t به دست می آید. N_0 را هم از قبل شمارش کرده ایم. با این فرض، تعداد تقسیمات n است و از فرمول زمان کل تقسیم بر زمان بین هر تقسیم به دست می آید.

$$n = T/t$$



t برابر است با زمان بین هر تقسیم یا Generation time یا $T/n=g=t$

مثلا باکتری E.coli در شرایط مناسب هر ۲۰ دقیقه تقسیم دو تایی انجام می دهد ولی عامل بیماری سل (مایکو باکتریوم توبرکلوزیس) برای دو برابر شدن به چندین ساعت زمان نیاز دارد. این زمان تحت تأثیر عوامل محیطی زیادی است و با کمبود مواد غذایی این زمان طولانی می شود.

نکته! در فاز لگاریتمی رشد به صورت متعادل صورت می گیرد. یعنی تمام اجزای سلول با یک فاصله زمانی ثابت نسبت به هم سنتز می شوند و اگر در این فاز نمونه برداریم، می بینیم همه سلول ها در یک سن و یک مرحله هستند.

در ۳-۴ ساعت اول فاز لگاریتمی شرایط محیا است ولی پس از آن به دلیل تغییر شرایط محیط کشت بسته، کمبود مواد غذایی، آزاد شدن ترکیبات زائد به دلیل فرآیند های متابولیکی در محیط و ایجاد محدودیت فاز لگاریتمی ادامه پیدا نمی کند و ارگانسیم وارد فاز سوم می شود. n را چگونه به دست می آوریم؟

$$\log N_t = \log N_0 + \log 2^n$$

$$\log N_t - \log N_0 = \log 2^n = n \log 2$$

$$n = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2}$$

$$\log 2 = 0.3$$

نکته! محیط کشت بسته را در عفونت های بالینی در جوش و آبنه می بینیم.

بهترین زمان تجویز آنتی بیوتیک فاز لگاریتمی است که بیشترین میزان تکثیر را داریم.

هرچه تشخیص دیرتر صورت گیرد درمان سخت تر است، چرا که باکتری وارد فاز سوم می شود و از آن جایی که باکتری در این دو فاز تحت استرس است و واکنش هایی از خود نشان می دهد و خود را تغییر می دهد. یکی از این واکنش ها می تواند ایجاد جهش هایی برای کسب مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک باشد.

باکتری های تولید کننده توکسین در انتهای فاز لگاریتمی تولید توکسین دارند.

فاز سوم (فاز سکون)

در این فاز تعداد سلول هایی که می میرند با سلول هایی که ایجاد می شوند برابر است پس تعداد کل سلول ها ثابت می ماند (نمودار به یک خط افقی تبدیل می شود). معمولا اگر تعداد باکتری ها به 10^9 برسد، وارد فاز سوم می شود.

- هرچه به فاز اول و دوم نزدیکتر باشیم اثر دارو بیشتر است زیرا بر خلاف فاز سوم که تعداد سلول ها ثابت است، تکثیر زیاد است و در معرض دارو بیشتر قرار می گیرند و دارو امکان دسترسی بیشتری به سلول دارد.
- متابولیت ثانویه به موادی گفته می شود که توسط ارگانسیم ساخته شده و آزاد می شوند مثل توکسین ها، که بیشترین مقدار آن در فاز سوم است.
- متابولیت اولیه به موادی گفته می شود که در داخل سلول بر اثر واکنش های بیوشیمیایی تولید و در سنتز ساختارهای باکتری نقش دارد.

← باکتری هایی مانند جنس کلستریدیوم، عامل کزاز، عامل بوتولیسم، عامل فانتاریا عامل سیاه زخم، در پاسخ به شرایط سخت محیطی معمولا در فاز سوم **spore** تولید می کنند.

فاز چهارم (فاز کاهش)

در این فاز تعداد سلول های از بین رفته بیش تر از تعداد سلول های جدید است. این مرحله همانند مرحله لگاریتمی است با این تفاوت که در مرحله ی چهارم،



تعداد سلول ها به صورت لگاریتمی کاهش می یابد .

← آیا تعدادشان به صفر می رسد؟ در این خصوص دانشمندان به توافق نرسیده اند. در این رابطه دونظریه وجود دارد (البته هیچ کدام به طور صد در صد ثابت نشده):

نظریه اول: همه سلول ها از بین نمی روند و برخی می مانند اما قابل کشت نیستند. (نظریه VBNC: viable but non-culturable state)

نظریه دوم: مرگ برنامه ریزی شده یا آپوپتوزیس. در این نظریه اعتقاد بر این است که تعدادی از باکتری ها خودکشی می کنند تا سایر باکتری ها زنده بمانند. وقتی که یک باکتری کشته می شود از آن مواد غذایی آزاد می شود که باکتری های دیگر می توانند با استفاده از این مواد غذایی زنده بمانند.

• برای اندازه گیری رشد در باکتری دو روش داریم: ۱. مستقیم ۲. غیر مستقیم

روش مستقیم: ۱. شمارش سلول ها (plate count) (دوروش داریم: ۱. شمارش سلول های زنده ۲. شمارش کل سلول ها) ۲. لام مدرج ۳. مشاهده ارگانسیم در زیر میکروسکوپ

روش غیر مستقیم: ۱. تعیین و اندازه گیری کدورت turbidity ۲. اندازه گیری وزن خشک ارگانسیم

در اندازه گیری غیر مستقیم خود سلول ها را اندازه گیری نمی کنیم بلکه اتفاقاتی که در نتیجه رشد باکتری ها می افتد و موادی که آزاد می کنند را اندازه می گیریم.

در روش لام مدرج کل سلول ها (زنده و مرده) شمارش می شوند اما در سیستم بیولوژیک بهترین روش شمارش سلول های زنده است چراکه سلول های زنده مشکل سازند.

برای شمارش سلول های زنده، باکتری ها را از محیط کشت مایع به محیط کشت جامد انتقال می دهند و پس از رشد باکتری در محیط جامد کلونی ها یا پرگنه ها مشاهده می شوند. هر کلونی بیانگر حضور یک باکتری است که رشد و تکثیر یافته و به ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰ عدد رسیده که اکنون قابل مشاهده است. به همین خاطر CFU یا Colony forming unit نامیده می شود که واحد شمارش آن CC یا ml است.

← اگر تعداد کلونی ها زیاد باشد قابل شمارش نیستند. برای تفکیک آنها از هم رقت سازی صورت می گیرد تا تعداد سلول ها کم شود و بر روی محیط جامد بتوانیم کلونی ها را به صورت مجزا ببینیم.

رقت سازی:

مجموعه ای از لوله ها را بر می داریم. در هر کدام 9 CC سرم فیزیولوژیک می ریزیم. (چون می خواهیم با محیط ایزوتونیک باشد و سلول ها از بین نروند و از طرفی ماده غذایی هم ندارد در نتیجه رشد هم نداریم و به طور کلی تعداد سلول ها ثابت می ماند)

از لوله ی 1CC باکتری به لوله شماره ی ۱ اضافه می کنیم در نتیجه غلظت ۱/۱۰ برابر می شود و ۱۰ برابر رقیق می شود. پس از هم زدن دوباره 1CC از آن بر می داریم و به لوله شماره ۲ منتقل می کنیم و به همین ترتیب ادامه می دهیم.

عکس رقت × تعداد کلونی گزارش شده = تعداد باکتری در لوله S (در 1 ml)

مثال: $3 \times 1000 = 3000$



نکته! واحد گزارش شده در مرحله آخر ml است، اما اگر در لوله آخر به جای 1cc، $\frac{1}{10}$ برداریم باید به ml تبدیل کنیم. 3000×10
در هر plate حداکثر کلونی های گزارش شده ۲۰۰ تا است.

اندازه گیری رشد با روش غیر مستقیم:

کدورت سنجی: این کار با اسپکتروفتومتر انجام می شود که در آن یک لوله ی آزمایش بین یک منبع نور و یک سنسور گذاشته می شود. در صورتی که لوله (مایع درون آن) شفاف باشد تمام نور عبور میکند. اما در لوله ی کدر چون تکثیر صورت گرفته و تعداد سلول ها بالا است، جذب نوری (میزان عبور نور) کاهش می یابد. (منظور جذب نور توسط سنسور است)

در اینجا از **OD (optical density)** که عکس جذب نوری است، استفاده می شود. هر چه قدر OD بالاتر باشد، تعداد سلول ها بیشتر است یعنی با تعداد سلول ها رابطه مستقیم دارد ولی با جذب نوری رابطه عکس دارد و هرچه جذب نوری بالاتر OD کمتر است.

عوامل مؤثر بر رشد باکتری ها: ۱. فعالیت آبی ۲. غلظت نمک در محیط ۳. دما ۴. اکسیژن ۵. PH ۶. عوامل فیزیکی مثل اشعه گاما و فشار اتمسفر

فعالیت آبی:

یعنی میزان آب موجود در یک ارگانیسم که تحت تأثیر غلظت مواد حل شونده است، هرچه غلظت بیشتر میزان آب کمتر. اگر باکتری در محیطی قرار بگیرد که غلظت مواد در محیط بیشتر باشد یعنی هایپر تونیک باشد سلول آب از دست می دهد. اگر غلظت بیشتر از محیط باشد یعنی محیط هایپو تونیک باشد سلول آب جذب کرده و می ترکد. سلول باید در محیط ایزوتونیک باشد یعنی غلظت مواد حل شونده در داخل و خارج سلول یکسان باشد.

غلظت نمک در محیط: باکتری ها بر اساس نیازمندی به نمک دو گروه می شوند:

۱. **نمک دوست یا هالوفیل:** حضور نمک برای رشد آن ها لازم است. رشد optimal هالوفیل ها در در محیط نمکی با غلظت بیش از ۰.۲ مولار است. در extreme halophiles به غلظت بیش از ۲ مولار نیاز است.

باکتری های خانواده vibrio به غیر از عامل وبا (vibrio colerea) هالوفیل هستند

۲. **حساس به نمک یا تحمل کننده نمک یا هالوتروف ها:** تا ۱۲٪ نمک در محیط را تحمل می کنند. بسیاری از باکتری های بیماری زا از این نوع اند. مثل استفیلوکوکوس اورئوس

← با تغییر نمک می توانیم یک محیط کشت selective یا انتخابی داشته باشیم طوری که با اضافه کردن نمک هالوفیل ها رشد کرده و هالوتروف ها رشد نمی کنند.

دما:

محدوده دمایی مناسب برای رشد باکتری که در آن بیشترین رشد را داشته دمای اپتیمم یا بهینه می گویند :

۱. **termophile** یا گرمادوست: دمای بهینه بالای ۵۰ درجه

۲. **Extratermophile:** دمای بهینه بالای ۸۰ درجه است.



3. mesophile: دمای بهینه ۳۷-۳۵ درجه است. اغلب باکتری های بیماری زا مزوفیل اند، چون دمای بدن نزدیک به ۳۷ درجه است.

4. psychrotroph یا تحمل کننده سرما: دمای بهینه معمولا زیر ۳۰ درجه (بین ۳۰-۱۵) است مثل عامل بیماری جزام (*Mycobacterium leprae*)

5. (psychrophile) یا سرما دوست: دمای بهینه زیر ۱۵ درجه است.

۴. اکسیژن:

اکسیژن به علت ایجاد رادیکال های آزاد عاملی سمی برای بیشتر ارگانیسم ها محسوب می شود. از جمله اکسیژن موجود در یون سوپر اکسید O_2^- ، هیدروکسید OH^- ، آب اکسیژنه H_2O_2

- برای خنثی کردن خاصیت متابولیزه کننده اکسیژن چند آنزیم دخالت دارند:



سوپراکسید را به آب اکسیژنه که کمتر سمی است تبدیل می کند.



- در آزمایشگاه برای ردیابی کاتالاز از آب اکسیژنه استفاده می شود که حباب آزاد شده در محیط حاوی O_2 و نشان دهنده وجود کاتالاز و وقوع واکنش است.

← از نظر **نیازمندی به اکسیژن** باکتری ها به ۵ گروه تقسیم می شوند:

۱. باکتری هوازی مطلق: در فشار اکسیژن ۲۱٪ رشد می کند و در غیاب اکسیژن نمی تواند رشد کند چون مکانیسم تولید انرژی در آن ها تنفس است و نمی توانند تخمیر انجام دهند. (در محیط کشت مایع روی سطح رشد می کنند)

۲. باکتری بی هوازی اختیاری: هم در حضور اکسیژن رشد می کند و هم در غیاب آن و معمولا دارای کاتالاز و SOD هستند. مکانیسم تولید انرژی در آن ها تخمیر و تنفس است. (بسیاری از باکتری های بیماری زا از این نوع اند.)

۳. باکتری بی هوازی مطلق: در حضور اکسیژن نمی تواند رشد کند چون SOD و کاتالاز ندارد. (در محیط کشت در ته آن زندگی می کند)

۴. باکتری بی هوازی تحمل کننده اکسیژن: فقط آنزیم SOD دارد و حدود نیم تا ۱ ساعت اکسیژن را تحمل می کند.

۵. میکروآروفیل ها: حداکثر در فشار ۱۰٪ رشد میکنند ولی فشار معمول ۶٪ است. با استفاده از **Candle jar** فشار اکسیژن را به ۶٪ می رسانیم. طوری که باروشن کردن یک شمع در **candle jar** که یک محیط بسته است اکسیژن می سوزد و به ۶٪ می رسد. در نتیجه ی سوزاندن اکسیژن، CO_2 تولید می شود.

* باکتری های کپنوفیل باکتری هایی هستند که برای رشد به CO_2 نیاز دارند، البته همه باکتری های میکروآروفیل کپنوفیل نیستند.

* کار با باکتری های بی هوازی سخت است. برای رشد باکتری های بی هوازی در محیط باید پتانسیل ردوکس یا اکسیداسیون-احیا منفی باشد و باید ترکیبات احیا کننده به محیط اضافه کنیم (مثل taiglycollat) که باعث حذف O_2 از محیط شده و ایجاد یک محیط بی هوازی می کند. در روش دیگر O_2 را از هوا خارج کرده و مخلوطی از گازهای جایگزین مثل N_2 به محیط اضافه می کنند.

**PH:**

باکتری ها بر اساس محدوده ی PH مناسب برای رشد به سه دسته تقسیم می شوند:

۱. اسیدوفیل یا اسید دوست

۲. نوتروفیل یا خنثی دوست

۳. آلکالوفیل یا قلیا دوست

اکثر عوامل بیماری زا خنثی دوست هستند و در بدن رشد می کنند.

اشعه:

اشعه ها دو نوع اند: یونیزان (گاما، کاتدی،) و غیر یونیزان (UV) که بر روی DNA اثر می گذارند.

در مبحث عوامل ضد عفونی کننده به طور مفصل شرح داده خواهد شد.

پدیده Quaru Sensing:

پاسخ همزمان باکتری ها به محرک خارجی، پدیده ای وابسته به چگالی سلولی است. هرچه قدر تعداد سلول ها بیشتر می شود، QS هم افزایش می یابد. باکتری ها یک سری ترکیباتی به نام **Quarum Signaling molecule** را آزاد می کنند که این ترکیبات در کلونی های مختلف متفاوت است و باکتری های دیگر سیگنال ها را دریافت می کنند و منجر به پاسخ همزمان باکتری ها به محرک خارجی می شود مثل ترشح فرمون در مورچه ها که مورچه های دیگر آن را دریافت کرده و همه روی یک خط حرکت می کنند. پپتید های سیگنال بیان ژن ها را تغییر می دهند که **Autoinducer** یا فرمون نام دارند

یه نکته:

مواد سیگنالی:

G- :Acyl homoserine lactone

G+ :Oligopeptides

شهید علی صیاد شیرازی:

ذهنهای بزرگ درباره ایده های بزرگ صحبت میکنند

ذهنهای متوسط درباره رویدادها حرف میزنند

ذهنهای کوچک درباره دیگران حرف میزنند

موفق باشید