جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه ششم – کلیات باکتری)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

ژنتیک باکتری ها

ژنتیک : بررسی اسیدهای نوکلئیک

- DNA : درشت، پایدار، دورشته ای، قند دئوکسی ریبوز
- RNA : کوچک، ناپایدار، تک رشته ای، قند ریبوز

RNA در بعضی مواقع می تواند دو رشته ای شود.

C_2 در قند دئوکسی ریبوز دارای H و در قند ریبوز دارای OH است. به دلیل وجود این OH و واکنش پذیری بالا و سریع آن، RNA ناپایدار می شود.

بخش های نوکلئوتید : قند ۵ کربنه، فسفات، باز آلی (A، T، C، G در DNA و A، U، C، G در RNA)

- A و G : پورین (دوحلقه ای) U و T و C : پیریمیدین (تک حلقه ای)

مراحل تشکیل نوکلئوتید

نوکلئوزید : باز + قند (پیوند N گلیکوزیدی)

نوکلئوزید + فسفات (۱ یا ۲ یا ۳) : نوکلئوتید (نوکلئوتید مونوفسفات، دی فسفات، تری فسفات)

مثالی از انواع نوکلئوتید :

آدنوزین مونوفسفات : AMP آدنوزین دی فسفات : ADP آدنوزین تری فسفات : ATP

اتّصال نوکلئوتیدها از طریق پیوند فسفودی استر (کووالانسی، پایدار و محکم) است و از اتّصال تعداد زیاد آن ها ساختمان DNA به وجود می آید.

اتّصال نوکلئوتیدها

- در یک رشته : OH قند C_3 یک نوکلئوتید و فسفات نوکلئوتید دیگر
- بین دو رشته : پیوند هیدروژنی

در دمای بالا پیوند هیدروژنی شکسته می شود. (هرچه C و G بیشتر، شکستن سخت تر)

جداکردن نوکلئوتیدهای یک رشته کار بسیار سخت و نیازمند دما و موادّ شیمیایی است.

ساختمان اوّل : پیوند فسفودی استر (DNA تک رشته ای)

ساختمان دوم و سوم : برهم کنش بین گروه مختلف بازها (ایجاد DNA دو رشته ای)

اصل بنیادی (Central Dogma) : همه DNA ها :

۱- Replication یا همانندسازی: DNA اوّل در سلول همانندسازی می کند. دو رشته از هم باز شده، یک رشته به عنوان الگو انتخاب شده و همانندسازی به روش نیمه محافظتی یا Semi-Conservative انجام می شود. از دو رشته DNA به وجود آمده، یکی قدیمی و یکی جدید است.

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۲- Transcription یا نسخه برداری: از روی DNA، RNA ساخته می شود.

۳- Translation

ژن : قسمتی از DNA که مسئول کدکردن RNA است.

انواع RNA

mRNA: الگو برای ترجمه، ۲ درصد از RNA ها

tRNA: نقش در تولید پروتئین، ناقل اسید آمینه

rRNA: در ساختار ریبوزوم

tRNA و rRNA ، ۹۵ درصد از RNA ها را تشکیل می دهند.

همه RNA ها در پروتئین سازی نقش دارند.

DNA (ژنوتیپ) به صورت پروتئین (فنوتیپ) درمی آید. ژنوتیپ، فنوتیپ را تعیین می کند. چگونگی تبدیل ژنوتیپ به فنوتیپ در Central Dogma است.

در یوکاریوت ها، فقط از ۲ درصد سکانس های DNA، نسخه برداری و ترجمه و پروتئین سازی صورت می گیرد. ۹۸ درصد باقی مانده، سکانس های غیرکدکننده اند ولی در بیان ژن تأثیر دارند.

در پروکاریوت ها، از ۹۸ درصد سکانس های DNA، نسخه برداری و ترجمه و پروتئین سازی صورت می گیرد و ۲ درصد باقی مانده سکانس های غیرکدکننده اند.

ژنوم باکتری ها

۹۸ درصد باکتری ها یک کروموزوم حلقوی دارند (هاپلوئیدند). در یوکاریوت ها چندین کروموزوم خطّی وجود دارد (دیپلوئیدند).

ویبریو کلرا و بروسلا دو باکتری ای هستند که دو کروموزوم حلقوی دارند. عملکرد کروموزوم دوم دقیقاً مشخّص نیست امّا اسهال شدید و مرگ طیّ ۲۴ ساعت در اثر ویبریو کلرا (عامل وبا) را به کروموزوم دوم نسبت می دهند.

پلازمید

DNA خارج کروموزومی، حلقوی، بسیار کوچکتر از DNA اصلی، در بعضی باکتری هاست. ژن هایی که به بیماری زایی باکتری کمک می کند و باعث مقاومت در برابر آنتی بیوتیک می شود در پلازمید است. ژن های حیاتی برای تکثیر و رشد در کروموزوم اصلی است.

پلازمید از طریق هم یوغی (Conjugation) به آسانی بین باکتری ها جا به جا می شود.

پلازمید، در هنگام تقسیم دوتایی باکتری، به صورت رندوم بین دو باکتری تقسیم می شود.

پلازمیدها به دو صورت دیده می شوند :

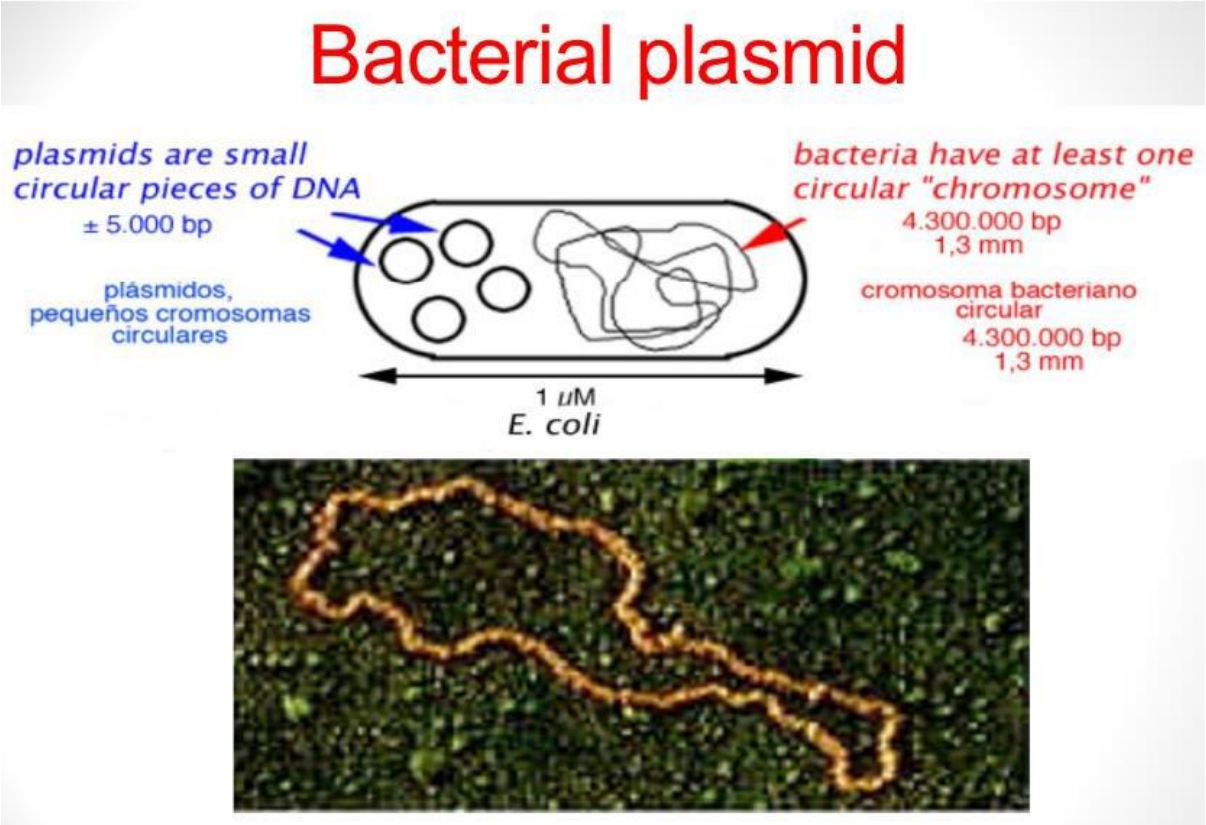
- High Copy Number : اندازه کوچک، تعداد زیاد

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

- Low Copy Number : اندازه بزرگ، تعداد کم

نوکلئوئید : فضایی در سیتوپلاسم که کروموزوم در آن قرار می گیرد.

در باکتری ها، هیستون وجود ندارد و به جای آن یک سری پروتئین های دیگری وجود دارد که به کروماتین متّصل می شود و مانند هیستون بار مثبت دارند.



سوپرکویل یا فراپیچیده

اندازه ژنوم باکتری ها نسبت به سیتوپلاسم خیلی زیاد است. به همین دلیل DNA توسّط آنزیم های توپوایزومراز یا DNA ژیراز فشرده می شوند.

این آنزیم ها در تنظیم حالت سوپرکویل و تبدیل آن به حالت ریلکس و بالعکس کاربرد دارند. در همانندسازی و نسخه برداری، قسمت های مورد نیاز را باز می کند (حالت ریلکس) و دوباره به حالت سوپرکویل درمی آید.

گروه آنتی بیوتیک های **فلوروکینولون** در کار توپوایزومرازها اختلال ایجاد می کنند و باعث متوقّف شدن همانندسازی و نسخه برداری می شود. **سیپروفلوکساسین** و **نالیدیکسیک اسید** جزء این گروه آنتی بیوتیک ها هستند.

Central Dogma

در باکتری ها نسخه برداری، همانندسازی و ترجمه در سیتوپلاسم رخ می دهد. ولی در یوکاریوت ها همانندسازی و نسخه برداری در هسته و ترجمه در سیتوپلاسم صورت می گیرد.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

در باکتری ها ترجمه و نسخه برداری تقریباً همزمان انجام می شود. ولی در یوکاریوت ها این دو در مراحلی کاملاً جدا انجام می گیرند. بعد از نسخه برداری در هسته mRNA نابالغ به سیتوپلاسم می آید، Splicing انجام می شود، اینترون ها حذف می شوند و mRNA بالغ می شود.

در باکتری ها Splicing نداریم چون اینترون (سکانس غیرکدشونده) نداریم.

mRNA باکتری بعد از نسخه برداری بالغ است چون اینترون وجود ندارد و فقط اگزون است.

اپران : مجموعه ژن هایی که توسّط یک پروموتر عمومی نسخه برداری می شوند.

در باکتری ها سازمان دهی ژن به صورت اپران است. یعنی ژن ها دسته ای و گروهی سازمان دهی می شوند.

RNA پلیمراز به پروموتر عمومی متّصل می شود و تمام ژن ها را با هم بیان می کند.

در یوکاریوت ها به ازای هر پروموتر یک ژن وجود دارد و اپران وجود ندارد.

mRNA در باکتری ها **پلی سیسترونیک** است (یعنی mRNA چند ژن دارد) ولی در یوکاریوت ها **مونوسیسترونیک** است (یعنی mRNA یک ژن دارد). (سیسترون = یک ژن)

تقسیم باکتری

۱- همانندسازی : کروموزوم دوتا می شود و هرکدام به یک قطب می روند.
۲- تشکیل دیواره عرضی یا سپتوم در وسط سلول که باعث جداشدن دو باکتری می شود.

Generation Time یا Duplicating Time

زمانی که طول می کشد یک باکتری دوتا شود.

باکتری ای که کند رشد کند مانند عامل سل (مایکوباکتریوم توبرکلوزیز)، GT زیادی دارد و بیماری های مزمن ایجاد می کند. بالاترین GT در بین باکتری ها ۱۱ روز است و مربوط به عامل جذام است (مزمن ترین عفونت میکروسکوپی را ایجاد می کند. اگر فردی در ۵ سالگی باکتری وارد بدنش شود، در ۵۰ الی ۶۰ سالگی جذام می گیرد). در باکتری ای مثل E. Coli که زمان رشد ۲۰ دقیقه است، GT پایین است.

نویسنده: یاسمن یزدان دوست تایپ: فرهاد اکبری کامرانی ویرایش: مریم خراسانچی

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه هفتم – کلیات باکتری)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

نکته مهم (مربوط به جلسه ۶): به پلازمید و کروموزوم در باکتری ها Replicon هم می گویند و به طور کلی به هر عنصر ژنتیکی که خودش بتواند همانند سازی کند (یعنی ناحیه Oric داشته باشد) Replicon گفته می شود پس هر DNA که ناحیه Oric داشته باشد خودش می تواند همانندسازی کند.

ساختمان دقیق ژنوم باکتری:

در ژنوم باکتری المنت های ژنتیکی دیگری وجود دارند به نام Transposable Elements یا المنت های ژنتیکی قابل جابه جایی(Jumping Genes)

انواع Transposable Elements:

بر اساس جاوتز: TE ← IS (Insertion Sequence) (سکانس دخولی یا القایی)

TE ↓ Transposons

بر اساس مورای: Transposons ← ساده ← IS

Transposons ↓ کمپلکس

تفاوت های IS با ترانسپوزون ها:

ساختمان IS: یک سکانس دخولی است که از ۲ قسمت ساخته شده است:

۱) توالی تکراری معکوس در دو انتها

۲) ژن در وسط سکانس تکراری معکوس به نام ژن ترانسپوزاز که مسئول کنده شدن IS از جایی به نقطه ای دیگر است(تولید آنزیم برای کنده شدن قسمتی از پلازمید یا کروموزوم)

*طبق کتاب مورای: ساده ترین ترانسپوزون ها توالی های الحاقی(Insertion sequence) نام دارند و ترانسپوزون های مرکب(composite transposons) حاوی یک منطقه مرکزی که کد کننده ی مقاومت آنتی بیوتیکی یا توکسین می باشند و در دو انتهای آن توالی های الحاقی(IS) که می تواند به صورت توالی های مستقیما تکراری یا معکوس باشند قرار گرفته است.

نکته: جابه جایی DNA سبب تغییرات ژنتیکی در باکتری می شود چون فنوتیپ وابسته به ژنوتیپ است یکی از عمده ترین تغییرات ژتیکی باکتری Transposable Elements ها هستند.

ترانسپوزون، ساختمان IS را دارد با این تفاوت که علاوه بر ژن ترانسپوزاز (Tnp) ژن های مقاومت باکتری ها را نیز حمل می کنند.

برای مثال ژن تولید کننده ی آنزیم βگالاکتوزیداز(آنزیم تخریب کننده ی لاکتوز در باکتری ← E.coli یک باکتری لاکتوز مثبت است یعنی می تواند لاکتوز را تخریب کند) به کروموزوم دیگری انتقال پیدا می کند در نتیجه ژنوتیپ آن باکتری تغییر می کند یعنی برای مثال E.coli لاکتوز منفی می شود و قابلیت تخریب لاکنوز را ندارد(آنزیم تخریب لاکتوز را تولید نمی کند.)

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

پس اگر انتقال ژن در جایی اتفاق بیفتد که ژن بیان کننده باشد آن ژن Inactive می شود و اگر این غیرفعال سازی در ژنی رخ دهد که یک پروتئین ضروری را کد می کند سلول می میرد و تغییرات فوتیپی هم ایجاد می شود.

نکته: میزان تغییرات فنوتیپی در باکتری ها بسیار بیشتر از یوکاریوت ها است به چند علت:

۱) Transposable Elements (ورود DNA به ژنوم)

۲) (تغییر سکانس) جهش زیاد

پس، از عمده علت های باقی ماندن باکتری ها تغییرات فنوتیپی دائمی در آن ها است(بسته به شرایط محیط سازگارتر می شوند)

اهمیت ترانسپوزون ها در باکتری علاوه بر تغییر سکانس و فنوتیپ در جابه جایی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی مهم هستند.

جزیره ی بیماری زا (Pathogenicity Island)

جز المنت های ژنتیکی اند که عمدتا روی کروموزوم قرار دارند(کمتر روی پلازمید اند) ژن هایی که در بیماری زایی باکتری نقش دارند در همه ی نقاط کروموزوم نبوده و در نقاط خاصی تجمع دارند که همان جزایر بیماری زا هستند که اطراف این ناحیه ترانسپوزون ها قرار دارند که بتواند این جزیره را با خود حمل کند.

GC content کروموزوم E.coli ۳۰ درصد است در حالیکه GC content جزایر بیماری زا در همان باکتری با سایر کروموزوم ها تفاوت داشته و ۵۰ درصد است پس نتیجه گرفته می شود این قطعه متعلق به خود باکتری نیست و از جایی دیگر (باکتری یا ویروس یا ...) به کروموزوم اضافه شده است.

برای مثال بیماری وبا تا ۳۰۰ سال گذشته عامل محیطی بوده و قابلیت بیماری زایی را نداشته ولی به دلیل اینکه ژن توکسین به وسیله ی فاژ(ویروسی که باکتری را آلوده می کند) به کروموزوم باکتری اضافه شده است پس باکتری قدرت تولید توکسین را بدست آورده و بیماری زا می شود. شدید ترین بیماری گوارشی از باکتری ها توسط عامل وبا ایجاد می شود و نهایتا در صورت عدم درمان حمایتی منجر به مرگ فرد می شود.

Element های ژنتیکی پلازمید و کروموزوم:

۱) IS ۲) ترانسپوزون ۳) جزیره ی بیماری زا

تنوع ژنتیکی (Genetic variation):

۱) Mutation ۲) Gene transfer

تنوع فنوتیپی باکتری نسبت به یوکاریوت ها بیشتر است به چند علت:

۱) باکتری ها هاپلوئیدند (از هر ژن یک کپی دارند) پس اگر این ژن دچار تغییر شود فنوتیپ باکتری را تغییر می دهد (درحالی که در هاپلوئید ها به علت خاصیت غالب و مغلوبی تغییر ژنتیکی فقط در الل غالب باعث ایجاد تغییر فنوتیپی می شود)

۲) انواع جهش ← ۱) نقطه ای ۲) حذف و اضافه

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

جهش یعنی تغییر سکانس DNA: برای مثال جهشی که به صورت خود به خودی اتفاق می افتد مثل دآمیناسیون باز ها (تغییر ساختمان بر اثر تغییر دما) یا بر اثر عوامل فیزیکی و شیمیایی و یا اشتباه DNA پلی مراز

۳) **Gene transfer**: فرآیند هایی که باعث نقل و انتقال ژنتیکی در باکتری ها می شوند. (از یک باکتری به باکتری دیگر مثلا گرم مثبت به گرم منفی) هم جهش و هم Gene transfer تغییرات فنوتیپی را دارند اما در Gene transfer ژن از یک باکتری به دیگری انتقال می یابد.

انواع Gene transfer**:**

۱) Conjugation (عمدتا پلازمید)
۲) Transformation (عمدتا DNA کروموزومی)
۳) Transduction (عمدتا DNA ویروسی)

در موتاسیون نقطه ای(تغییر در یک باز) ← Transition (جابه جایی پورین با ورین و پیریمیدین با پیریمیدین)
در موتاسیون نقطه ای(تغییر در یک باز) ← Transversion (جابه جایی پورین با پیریمیدین یا برعکس)

Phenotypic effects (تاثیرات موتاسیون های نقطه ای و حذف و اضافه روی باکتری):

۱) Silent Mutation (موتاسیون خاموش): جابه جایی باز انجام می شود اما تغییری در فنوتیپ انجام نمی شود یعنی کدون تغییر می کند اما اسید امینه تغییر نمی کند(هر آمینو اسید چند کدون دارد)

۲) Missense Mutation(موتاسیون بد زا): این موتاسیون باعث جایگزینی اسید های آمینه می شود

(اگر اسید آمینه ی جدید خصوصیاتی مشابه با اسیدآمینه ی قبلی داشته باشد ممکن است یک جهش محافظت شده (Conservation Mutation) باشد.)

۳) Nonsense Mutation (موتاسیون بی معنا): زمانی که کدون خاتمه می نشیند و باعث تولید پروتئین ناقص (Truncated Protein) می شود.

نکته: جهش های شرطی (Conditional Mutation) از قبیل جهش های حساس به دما ممکن است منجر به جهش های محافظت شده گردند که ساختار یا عملکرد یک پروتئین مهم را در دماهای افزایش یافته تغییر می دهد.

۴) Frameshift Mutation (موتاسیون تغییر چهارچوب): پروتئین کامل تولید می شود اما سکانس آمینو اسید از جایی که تغییر اتفاق افتاده عوض می شود چون ORF (Open Reading Frame) تغییر می کند.

در تغییر چهارچوب حذف و اضافه ممکن است یکبار اتفاق بیفتد و نباید مضربی از ۳ باشد که در اثر این جهش، تغییرات اساسی ایجاد می شود.

Recombination (نوترکیبی):

نوترکیبی بین دو قطعه ژنتیکی ۲ نوع دارد:

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۱) **هومولوگ:** دو قطعه DNA دارای سکانس مشابه هستند و از طریق crossing over بین سکانس ها این سکانس ها به داخل هم فرو می روند و در نهایت یک قطعه DNA جدید تولید می شود که با قبلی ها متفاوت است. در Gene transfer برای ورود DNA خاصی به DNA کروموزوم یا پلازمید باکتری Recombination (نوترکیبی) انجام می شود.

اتفاقی که در Gene transfer می افتد این است که DNA خارجی از بیرون وارد کروموزوم باکتری میشود ونوترکیبی انجام میشود ویک قطعه جدید ایجاد میشود .در نوترکیبی هومولوگ لازم نیست همه ی قطعات مشابه باشد، فقط اگر قطعه ی کوچکی مشابه باشد نوترکیبی هومولوگ انجام می شود .

۲) **هترولوگ**: زمانی که قطعه DNA خارجی وارد می شود هیچ تشابه ژنتیکی با کروموزوم باکتری ندارد اما برای تغییر ژنتیکی باید با کروموزوم باکتری Recombination انجام شود.و به زور به داخل هم فرو روند که به کمک آنزیم با هم پیوند می خورند.

دو نوع نوترکیبی هترولوگ داریم:

۱) Transposition(رندوم ریکامبینیشن) (نوترکیبی تصادفی): توسط Is وترانسپوزون انجام میشود. کنده شدن Is و ترانسپوزون وانتقال آن ها به وسیله ی نوترکیبی هترولوگ انجام می شود .این عمل توسط آنزیم ترانسپوزاز انجام می شود.

۲) Site Specific Recombination (نوترکیبی در جایگاه خاص): این عمل هم توسط آنزیم انجام میشود .در این پدیده یک فاژ (ویروس) وارد کروموزوم باکتری می شود ویروس که هیچ تشابه ژنتیکی با باکتری ندارد از این طریق وارد کروموزوم باکتری می شود. فاز لامبدا (Lambda):کروموزوم ژنوم خود را وارد ژنوم باکتری میکند از این طریق به صورت پروفاژ وارد باکتری می کند.

ßgene Transferانتقال قطعات ژنی ß ۳مکانیسم دارد:

۱) Conjugation
۲) Transduction
۳) Transformation

*این انتقال ها نقش بسیار مهمی در مقاومت باکتری ها دارند.

Conjugation: تمایل جنسی بین دوباکتری (ابتدایی ترین تمایل جنسی)

در conjugationدو نوع باکتری داریم:

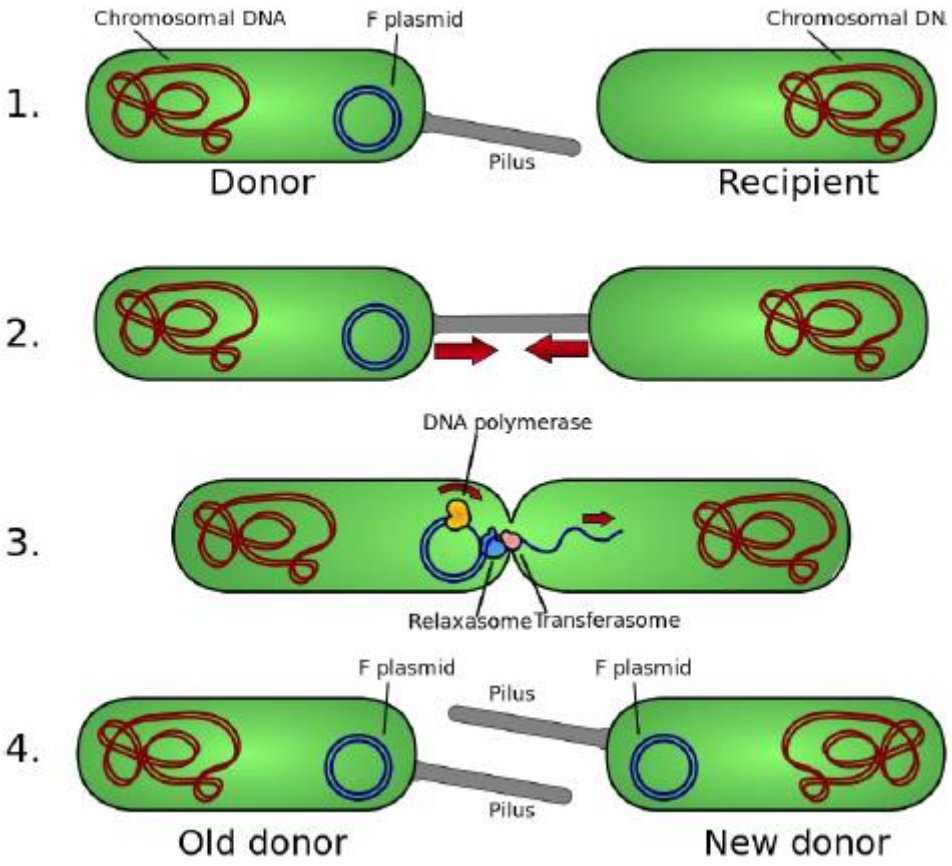
۱) باکتری گیرنده (ماده) (female) (recipient)
۲) باکتری دهنده (male) (donor)

ارتباط این دو باکتری از طریق لوله ای توخالی به نام پیلی جنسی برقرار می شود (به هم وصل میشود) و بعد باکتری دهنده DNAخود را که عمدتا پلازمید است به گیرنده منتقل می کند.

ژن های مقاومت باکتری و ژن های بیماری زا در پلازمید هستند .

Conjugation مدام بین باکتری ها (حتی باکتری هایی که از یک جنس و گونه نیستند) انجام میشود و باعث انتقال ژنوم می شود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo



ویژگی ها:

باکتری Donor به تعداد ۱تا۳ عدد پیلی جنسی دارد اما باکتری گیرنده پیلی جنسی ندارد.

چون باکتری دهنده پلازمید کد کننده ی پیلی جنسی دارد یعنی همان Fپلازمید ،پس باکتری وقتی نزدیک باکتری گیرنده قرار میگیرد پیلی جنسی به یکی از Proteinهای غشای خارجی باکتری گیرنده متصل میشود.

چندین نوع Conjugation داریم مثلا بین F^+ وF^- که باکتری که پلازمید F (Fertilityپلازمید) را دارد (F^+) با F^- ارتباط برقرار می کند و بعد Conjugation انجام می شود.

*پلازمید F، Conjugative نامیده می شود چون تمام ژن های لازم برای انتقال خودش شامل توانایی تولید پیلی جنسی و آغاز سنتز DNA در مورد انتقال پلازمید را دارا است.

توجه: بعد از Conjugation پلازمید نر که پلازمید را در اختیار باکتری گیرنده قرار می دهد خود به باکتری ماده تبدیل نمی شود در انتها هردو به Donor تبدیل می شوند ؛یعنی این گونه است که باکتری دهنده آنزیم اندونوکلئاز تولید می کند (ژن این آنزیم روی پلازمید است).

پلازمیدی که قابلیت Conjugation دارد ناحیه ای به نام Tra دارد (این ناحیه دارای ۳۰ژن است که یکی از این ۳۰ژن ،ژن کد کننده ی پیلی جنسی است).

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

ناحیه ی Tra ژنی به نام پیلی جنسی دارد و ژن دیگری وجود دارد که اندونوکلئاز را تولید می کند و بعد از ارتباط این آنزیم فعال می شود و یک برش به یکی از رشته های پلازمید می زند و یک رشته ی آزاد تولید می شود (به شکل خطی) و این رشته از پیلی جنسی منتقل می شود.

در نهایت دو باکتری داریم که هر یک ۱رشته پلازمید دارند و در مرحله بعد پلازمید همانند سازی می کند و مکمل آن را می سازد. در نهایت هر کدام از باکتری ها پلازمید F دارند و F^+ هستند و هردو Donor می شوند.

نکته مهم: پلازمید R (Resistance Transfer Factor): به پلازمیدی گفته می شود که ناحیه ی Tra را دارد (نوعی Fپلازمید است) اما ژن های مقاومت را با خود حمل می کند و انتقال می دهد.

RوF پلازمید ها جز High Copy Number هستند و Low Copy Number ها عمدتا قابلیت Conjugationرا ندارند.

همه ی پلازمید ها Conjugable نیستند فقط آن هایی که Tra دارند، این قابلیت را دارند.

نویسنده: مریم سادات دانشمند تایپ: سعید جلیلی، سارامعلمی ویرایش: مریم خراسانچی, علی لبافچی

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه هشتم – کلیات باکتری)

https://telegram.me/sarayedaneshjo

بر روی پلازمید های Conjugative منطقه ای به نام Orit وجود دارد که در انتهای ۵ پریم DNA قرار گرفته و توالی خاص آن توسط آنزیم اندونوکلئاز شناسایی می شود. برشی که قرار است توسط اندونوکلئاز ایجاد شود تا دو انتهای DNA دو رشته ایِ حلقوی از هم باز شود، در این ناحیه زده می شود.

یادآوری :DNA از انتهای ۵ پریم منتقل می شود.

سلول های Hfr:

- آیا درپدیده Conjugation ژن های کروموزومی هم منتقل می شود؟ بله. گاهی اوقات در صورت وجود سکانس مشابه بین پلازمید Conjugative و کروموزوم باکتریDonor طی فرایند نوترکیبی همولوگ پلازمید با کروموزوم باکتری ادغام می شود. به چنین پلازمیدی Episome گفته می شود.
- F Plasmid یک Episome است.
- سلولی که پلازمید آن وارد کروموزومش شده، Hfr (High Frequency Recombination)نامیده می شود. در اثر این ادغام، اندازه ژنوم سلول Hfr، بزرگ می شود.

Conjugation در باکتری های F منفی و HFR: (کونژوگاسیون در انتقال ژن های کروموزوم)

- ناحیه Orit توسط انزیم اندونوکلئاز برش داده می شود.
- از انتهای ۵ پریم یکی از رشته ها شروع به انتقال می کند .
- علاوه بر پلازمید ، قسمتی از ژن های کروموزوم هم منتقل می شود .

اگر زمان کافی موجود باشد ، یک کپی کامل از کروموزوم منتقل می شود . اما در عمل چنین اتفاقی ممکن نیست . چون رشته ی کروموزوم طویل است و حداقل ۲ ساعت زمان برای انتقال آن لازم است . این در حالی است که دو باکتری تنها به مدت ۲۰ دقیقه می توانند از طریق پیلی جنسی بهم متصل بمانند . بنابراین تنها بخشی از کروموزوم و بخشی از پلازمید منتقل می شود. (پیلی جنسی دراثر استرس های محیطی مثل امواج صوت ، از بین می رود)

قطعه ژنیِ منتقل شده، اگر سکانس مشابه داشته باشد ، طی فرایند نوترکیبی هومولوگ، وارد کروموزوم باکتری گیرنده می شود. در غیر این صورت به عنوان یک عامل بیگانه شناخته شده و در سیتوپلاسم توسط آنزیم های باکتری از بین خواهد رفت.

- چرا پلازمید های فاقد سکانس مشابه برخلاف کروموزوم ها در باکتری های گیرنده لیز نمی شوند؟

مناطق خاصی در کروموزوم وجود دارد که متیله هستند و توسط آنزیم های باکتری قابل شناسایی اند. کروموزومی که منتقل می شود اگر در مناطق مشابهی با کروموزوم باکتری، متیله نباشد توسط آنزیم ها از بین می رود.

پلازمید ها پس از انتقال اگر سکانس مشابه داشته باشند بلافاصله نوترکیب همولوگ شده و وارد کوموزوم می شوند. حتی اگر سکانس مشابه نداشته باشند جون عمدتا پلازمید بین باکتری ها با جنس و گونه مشابه منتقل می شود، آنزیم ها آن ها را بیگانه تلقی نمی کنند.

باکتری گیرنده چون ژن Tra را دریافت نکرده است ، تولید پیلی جنسی نخواهدکرد و F منفی باقی خواهد ماند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

- یادآوری: ناحیه Tra در انتهای ۳پریم و ناحیه Orit در انتهای ۵ پریم قرار دارد. در نتیجه Tra هرگز منتقل نخواهد شد.

F پریم پلازمید (Conjugation در انتقال ژن های پلازمید و کروموزوم):

گاهی اوقات Episome می تواند مجددا از کروموزوم باکتری خارج شود و دوباره به حالت F پلازمید درآید. اما گاهی اوقات دیده شده که موقع خارج شدن، به صورت تصادفی بخش کوچکی از کروموزوم باکتری هم همراه آن خارج می شود که در این صورت به چنین پلازمیدی F پریم پلازمید گفته می شود.

F پریم پلازمید دقیقا مشابه F^+ است و تنها تعداد کمی ژن کروموزومی هم حمل می کند.

اگر F پریم با F منفی کونژوگاسیون برقرار کند، در نهایت دو باکتری F′ خواهیم داشت. $F'\&F^- \rightarrow F' \& F'$

انتقال ژن بین F′ و F^-، Sexduction نام دارد.

Transduction (ترانسداکشن):

یک روش انتقال DNA و نوترکیبی ژنتیکی در باکتری هاست که با دخالت باکتریوفاژ ها انجام می گیرد.

اهمیت این قضیه در انتقال ژن های بیماری زایی (مانند فاکتورهای ویرولانس و ژن های کد کننده توکسین) به همراه ژن های مقاومت آنتی بیوتیک است .

برای مثال عامل بیماری وبا (ویبریو کلرا) و یا عامل دیفتری (کورینه باکتریوم دیفتریه) از همین طریق بوجود آمده اند. چند صدسال پیش این باکتری ها بیماری زا نبودند اما در اثر انتقال ژن های بیماری زا از طریق باکتریوفاژ ها به شکل امروزی در آمده اند.

نکته: ژن هایی که توسط فاژ منتقل می شود، در خود فاژ بیان نمی شود.

نکته: برخلاف یوکاریوت ها ، در باکتری عمدتا ویروس به آن داخل نمی شود و تنها ژنومش را به داخل باکتری تزریق می کند.

باکتریوفاژ ها :

ویروس هایی هستند که میزبان باکتریایی دارند . یک باکتریوفاژ شامل ۳ قسمت سر، ساقه و دم است. اسید نوکلئیک باکتریوفاژ ها در قسمت سر آن ها قرار دارد و توسط پوشش پروتئینی (گاهی همراه لیپید) احاطه شده است .

ساقه باکتریوفاژ به هنگام تزریق ژنوم به درون سلول میزبان ، به حالت منقبض قرار می گیرد و سبب اتصال دم های رشته ای به گیرنده هایی در سطح سلول میزبان می شود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

هر فاژ دوچرخه دارد:

۱) چرخه لیتیک Litic

ژنوم فاژ پس از تزریق ، توسط آنزیم های سلول میزبان بیان می شود و در پایان پروتیین های کپسید ساخته شده و ژنوم ویروس روی هم سوار می شود (Asending) و یک ویروس جدید ساخته می شود.

این تکثیر آن قدر ادامه پیدا می کند که در نهایت غشای باکتری لیز شده و باکتری از بین خواهد رفت.

به فاژ های دارای این چرخه ، فاژ کشنده گفته می شود. مثال: فاژهای T4وT2

فاژهای کشنده آنزیم هایی دارند که کروموزوم باکتری را لیز می کنند.

۲) چرخه لیزوژنیک Lysogenic:

به فاژهای دارای این چرخه، (Temperate) معتدل گفته می شود. مثال: فاژ لامبدا

ژنوم فاژ های معتدل بعد از تزریق به داخل باکتری، توسط آنزیم انتگراز و طی فرایند نوترکیبی هترولوگ (نوع Site Specific Recombination) وارد کروموزوم باکتری می شود.

در این نوع نوترکیبی هترولوگ، ورود ژن به داخل باکتری رندوم نیست و ژن از یک محل خاص کروموزوم، وارد آن می شود.

DNA فاژ در درون کروموزوم باکتری پروفاژ نامیده می شود.

باکتری شناسی قزوینی: باکتریوفاژ انتگره شده در کروموزوم باکتری، پروفاژ نامیده می شود.

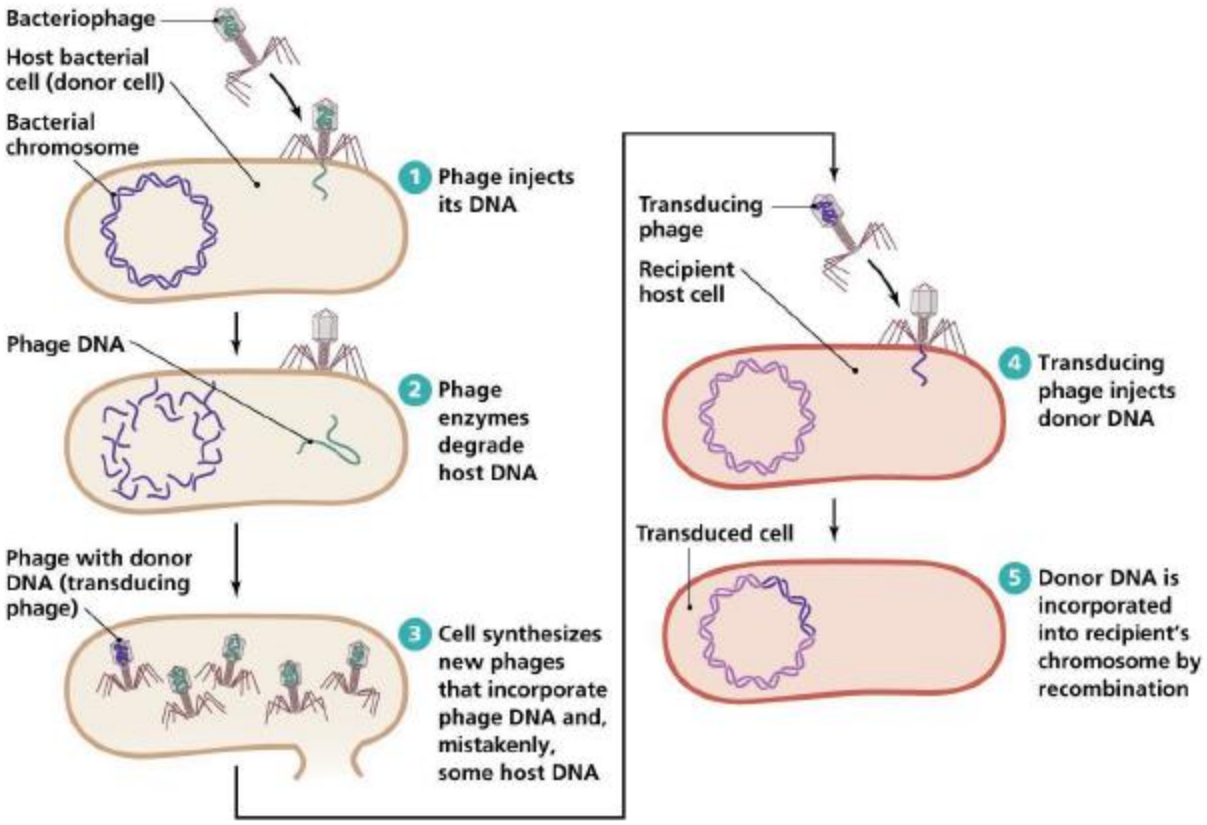
در این چرخه باکتری از بین نمی رود.

انتقال بخشی از ژن های بیماری زا به باکتری ها از این طریق انجام شده است. برای مثال ویبریو کلرا که عامل انتقال وبا است با یک فاژ لیزوژنیک آلوده شده است و ژن تولید کننده ی توکسین وبا به آن اضافه شده است.

ویروس HIV هم در بخشی از چرخه بیماری زایی اش، به طریق لیزوژنیک، ژنومش را وارد لنفوسیت های T4 می کند.

فاژ تراپی : از راه های جدید برای مقابله با باکتری هاست. در این روش ، فاژها را عمدتا به شکل نانو درآورده و به محل عفونت می رساند تا با باکتری ها مقابله کنند. نکته قابل توجه آن است که بعضی از باکتری ها مکانیسم هایی برای مقابله با فاژ ها دارند که این روش را بی اثر می کنند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

مکانیسم های ایجاد ترانسداکشن:

۱) ترانسداکشن عمومی Generalized transduction

با دخالت فاژهای لیتیک انجام می شود.

باکتریوفاژ لیتیک ضمن تکثیر ژنوم خود، DNA باکتری را قطعه قطعه می کند. (اولین جایی که لیز می شود کروموزوم باکتری است). در زمان مونتاژ باکتریوفاژ به صورت رندوم امکان دارد ، قطعه ای از DNA باکتری به درون کپسید باکتریوفاژ وارد شود. آنچه در نهایت ایجاد می شود سودوویرون (فاژ کاذب) است که در حقیقت فاژ نیست بلکه تنها قسمت کوچکی از DNAباکتری است که توسط کپسید باکتریوفاژ احاطه شده است. فاژ کاذب پس از خروج از باکتری لیز شده، در سطح باکتری دیگری قرار می گیرد و ژنوم اش را تزریق می کند.

اگر با کروموزوم باکتری جدید، سکانس مشابه وجود داشته باشد، ژنوم از طریق نوترکیبی همولوگ وارد کروموزوم می شود. در صورت فقدان سکانس مشترک، آنزیم های باکتری، ژنوم را عامل بیگانه شناخته و لیز خواهند کرد.

نکته: فاژ کاذب توانایی ایجاد نوترکیبی هترولوگ را ندارد.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۲) ترانسداکشن اختصاصی Specialized transduction

با دخالت فاژ های معتدل انجام می شود.

نوع اول: فقط ژن های فاژ مسئول اضافه کردن یک سری صفات به باکتری هستند.

ژن مربوط به فاژ است، به صورت پروفاژ درآمده و یک صفت جدید در باکتری ایجاد می کند؛ مانند ویبریوکلرا

نوع دوم: ژن های کروموزومی توسط فاژ ها بین باکتری ها منتقل می شوند.

گاهی اوقات تحت اثر بعضی از فاکتورها از جمله استرس های محیطی (دما، اشعه UV و...) پروفاژ ایجاد شده می تواند از کروموزوم باکتری جدا شود و وارد چرخه لیتیک شود.

گاهی اوقات فاژی که جدا می شود، به صورت رندوم، تعدادی ژن کروموزومی هم جدا می کند.

پس از ورود به چرخه لیتیک و تکثیر فاژ در نهایت تعداد زیادی فاژ وجود خواهند داشت که در ژنوم خود، بخشی از کروموزوم باکتری را نیز همراه دارند.این فاژهای جدید، باکتری های دیگری را آلوده خواهند کرد، از طریق چرخه لیزوژنیک صفات جدیدی در باکتری های آلوده ایجاد خواهد شد.

Transformation (ترانسفورماسیون): برداشت DNA آزاد توسط باکتری های زنده

باکتری شناسی قزوینی: تعداد کمی از گونه های باکتری می توانند DNA آزاد و همولوگ با DNA خود را از محیط برداشته و در ژنوم خود ترکیب می نماید.

ترانسفورماسیون یک پدیده اختصاصی است بنابراین پروسه ای است که به یک سری فاکتور نیاز دارد. باکتریهایی که به طور ذاتی توانایی ترانسفورماسیون را دارند دارای فاکتور لیاقت (Competence Factor) هستند. بعضی باکتری ها، فاکتورهای لیاقت را به طور طبیعی بیان می کنند؛ مانند: هموفیلوس آنفولانزا ـ استرپتوکوک پنومونیه ـ باسیلوس ها ـ نایسریا ها

باکتری هایی وجود دارند که به طور طبیعی فاکتورهای لیاقت را بیان نمی کنند و باید به صورت مصنوعی، شرایط لازم را برایشان فراهم کرد؛ مانند: E.coli که در مهندسی ژنتیک و Cloning اهمیت دارد.

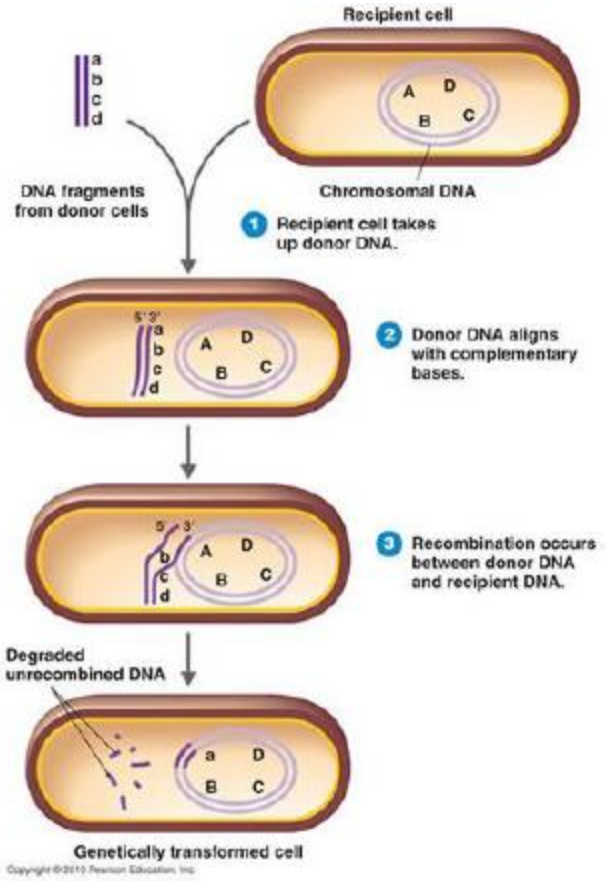
مکانسیم ایجاد ترانسفورماسیون:

قطعات DNA قطعه قطعه شده از سلول دهنده (سلول مرده) به غشای باکتری گیرنده وصل می شوند. (این قطعات به صورت آزاد درمحیط وجود دارند)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

از طریق مکانیسم هایی که آنزیم ها و پروتئین های خاص در آن نقش دارند وارد باکتری می شوند. پس از ورود اگر سکانس های مشابه داشته باشد از طریق نوترکیبی هومولوگ جزیی از کروموزوم باکتری می شود؛ اگر فاقد سکانس مشابه باشد توسط آنزیم های باکتری لیز می شود.

یادآوری: فقط فاژ و ترانسپوزون توانایی نوترکیبی هترولوگ را دارند.



جمع بندی:

در Conjugation عمدتا پلازمید منتقل می شود.در Transformation عمدتا DNA کروموزومی منتقل می شود.

در Transduction هم عمدتا DNA کروموزومی منتقل می شود.

مهندسی ژنتیک (Genetic Engineering (Cloning :

هدف: بیان یک پروتئین نوترکیب یا آنزیم یا ترکیبی که استفاده دارویی دارد. جرقه مهندسی ژنتیک از پلازمید باکتریها شروع شد. چون پلازمید قطعه ژنتیکی کوچکی بود که به راحتی بین باکتری ها جابه جا می شد.

فاکتورهای لازم برای فرآیند Cloning:

۱) **Cloning Vector**: حمل کننده ژن مورد نظر

عمدتا از پلازمیدهای باکتریایی استفاده می شود. PUC18 و PBR322 شایع ترین پلازمیدهای مورد استفاده که به صورت مصنوعی تولید شده اند.

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۲) **Restriction Enzyme**: آنزیم های محدودالاثر: آنزیم های برش دهنده ای هستند که در باکتری ها، DNA خارجی را لیز می کنند.

هر آنزیم توالی خاصی از DNA را برش می دهد درنتیجه در مهندسی ژنتیک، برای جداکردن ژن موردنظر از آن استفاده می شود. با همان آنزیمی که ژن موردنظر را جداکردیم، پلازمید را هم برش می دهیم.

آنزیم های محدودالاثر در هنگام برش انتهای چسبناک ایجاد می کنند بنابراین اگر ژن مورد نظر و پلازمید با یک نوع آنزیم برش داده شود، انتهاهای چسبناک ایجاد شده مکمل یکدیگر خواهند بود و ژن و پلازمید به راحتی به هم خواهند چسبید.

۳) **DNA Ligase**: ژن مورد نظر و پلازمید پس از اتصال توسط انتهای چسبناک همچنان در دوانتهای '۳ و '۵ از هم جدا هستند و دراین نواحی،۲تا Gap وجود دارد. آنزیم DNA Ligase وظیفه اتصال این نواحی را برعهده دارد.

T4ligase شایع ترین لیگاز مورد استفاده ازیک فاژ جدا شده است.

۴) **Host (میزبان)**: عمده ترین میزبان ها باکتری ها هستند. (البته مخمرها هم مورد استفاده قرار می گیرند.) شایع ترین باکتری میزبان در آزمایشگاه، E.coli است.

به روش مصنوعی پلازمید نوترکیب (که حاوی ژن مورد نظر است) طی فرآیند ترانسفورماسیون وارد باکتری می شود. با تکثیر باکتری، پلازمید نوترکیب هم تکثیر شده و ژن هایش بیان می شوند و تعداد زیادی پروتئین تولید خواهد شد که یکی از این پروتئین ها، پروتئین مورد نظرماست (برای مثال انسولین). در آخر پروتئین مورد نظر پس از نشانه گذاری تخلیص شده و برای کاربردهای موردنظر، استفاده خواهد شد.

نویسنده: ندا معتمدی تایپ: یاسمن یزدان دوست، محمد اکبر زاده ویرایش: مریم خراسانچی, علی لبافچی

https://telegram.me/sarayedaneshjo

جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه نهم – کلیات باکتری)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

عوامل ضد میکروبی:

به طور کلی هدف استفاده از عوامل ضد میکروبی، کنترل رشد باکتری هاست.

طبق مطالب گذشته ،در بحث رشد باکتری ها، باکتری ها منحنی رشدی داشتند که چهار مرحله ای بود. ابتدا فاز تاخیری، سپس بیشتر در فاز لگاریتمیک هستند، بعد وارد فاز Stationary می شوند و در نهایت فاز مرگ. این فازهای رشد بیشتر مربوط به محیط های کشت می شود ولی تمام باکتری هایی که برای ما بیماری زا هستند این منحنی رشد را دارند (بدن مانند یک محیط کشت است.)

نکته اینجاست که بسیاری از فاکتورهای ویرولانس (بیماریزایی) باکتری در فازهای Stationary, Exponential (دو فاز میانی) تولید می شود و بسیاری از آن ها (توکسین، انزیم ها و ...) باعث آسیب به بافت میزبان می گردد. بنابراین محققین اقدام به یافتن راهکارهایی کردند تا اجازه ندهند این منحنی رشد طی شود و جلوی رشد باکتری را بگیرند. به این معنی که اگر باکتری وارد بدن شد فرصت رشد، حمله به سلول های بدنی، تولید توکسین و آنزیم و ایجاد عفونت از آن گرفته شود.

بسیار مهم است که بتوانیم جلوی عفونت های میکروبی، به خصوص باکتریال را بگیریم و برای این کار از یک سری عوامل استفاده می کنیم .

عوامل ضد میکروبی که از آن ها برای کنترل رشد میکروب ها استفاده می کنند به دو گروه تقسیم می شوند:

أ) عوامل فیزیکی :

خود به سه دسته تقسیم می شوند:

۱. دما ۲.اشعه یونیزان و غیر یونیزان ۳. پدیده فیلتراسیون

ب) عوامل شیمیایی:

نیز به سه دسته تقسیم می گردند :

۱.ترکیبات ضد عفونی کننده ۲. ترکیبات انتی سپتیک ۳. ترکیبات انتی بیوتیک

(ترکیبات انتی بیوتیک که در جلسه اینده در موردشان صحبت می کنیم، جزء عوامل شیمیایی کنترل کننده میکروب ها هستند ولی بقیه عوامل که جز عوامل استریل کننده یا ضد عفونی کننده می باشند این جلسه مورد بحث قرار می گیرند)

قبل از پرداختن به عوامل گفته شده، برای قابل فهم شدن مطلب چند واژه را تعریف می کنیم:

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۱.استریلیزاسیون (Sterilization): مثلا می گوییم این مایع، سطح این میز، این محیط کشت و یا این سرنگ استریل شده است. منظور از استریل این است که آن محیط یا سطح آن مایع، عاری از هرگونه عامل بیماری زا (نه فقط باکتری) می باشد یعنی عاری از باکتری، ویروس انگل، قارچ و اسپور باکتری. هر عاملی که بتواند باعث عفونت شود وجود ندارد.

به فرایندهایی که با استفاده از آن میتوان تمامی اشکال حیاتی ارگانیسم (حتی اسپور باکتری ها) را از بین برد؛ فرایندهای استریلیزاسیون و به ترکیبات مورد استفاده، استریل کننده گفته می شود. وقتی می خواهیم از ترکیبی استفاده کنیم، بهترین حالت این است که آن ترکیب، هیچ ارگانیسمی در هیچ حالتی نداشته و استریل باشد. البته پروسه استریلیزاسیون تا حدودی نیز با سختی رو به روست و گاهی امکان انجام شدن ندارد که باید از ترکیبات دیگر استفاده کرد.

۲.ضدعفونی کردن (Disinfection): یک درجه پایین تر از استریلیزاسیون است. مثلا می گوییم این ترکیب، سطح این بیمارستان یا مطب دندانپزشکی ضد عفونی شده است. منظور این است که تعداد باکتری های بیماری زا تقریبا به حداقل (به تعدادی که دیگر بیماری زا نیست) رسیده است. همانطور می دانید که عوامل عفونی یک دوز عفونی دارند. مثلا این طور نیست که پنج عدد باکتری بتوانند بیماری زا باشند و حتما باید به یک تعداد (دوز) خاصی رسیده باشند. اکثر دوز مورد نیاز باکتری ها برای ایجاد بیماری، الودگی، عفونت، بالای ۱۰۰۰ عدد است به استثنای یکی دو نوع باکتری که با ۱۰۰ الی ۲۰۰ عدد هم می توانند عفونت ایجاد کنند. در Disinfection، از ترکیبی استفاده می کنیم که تعداد اشکال حیاتی ارگانیسم (باکتری های بیماری زا) را به حداقل برساند. مثلا فرم رویشی باکتری تقریبا از بین می رود و ممکن است فقط اسپور باکتری باقی بماند که عفونت ایجاد نمی کند و دیگر برای انسان بیماری زا نخوا هد بود. به ماده ای که از آن برای ضد عفونی کردن استفاده می کنیم، Disinfectant یا ضد عفونی کننده می گوییم.

۳. آنتی سپتیک: ترکیبات آنتی سپتیک نیز ترکیباتی ضد عفونی کننده هستند و فرق چندانی با Disinfectant ها ندارند. تنها تفاوت این است که می توانیم از آن ها روی بافتهای زنده استفاده کنیم؛ پس ضد عفونی کننده ها دو گروه هستند:

A) ترکیباتی که برای بافت زنده توکسیک هستند و نمی توان از آن ها برای بافت زنده (سطح پوست یا بدن انسان) استفاده کرد و فقط برای سطوح بی جان (در و دیوار و سینکهای بیمارستان ها و صندلی و آینه دندانپزشکی) کاربرد دارند.

B) ترکیباتی که برای بافت زنده می توان از آن ها استفاده کرد و برای سلول های یوکاریوتی توکسیک نیستند؛ که به آن ها آنتی سپتیک می گوییم مثل صابون یا الکل.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۴. آسپتیک Aseptic: مثلا می گویند در یک محوطه یا فضایی که استریل یا ضد عفونی شده است (در ازمایشگاه یا روی محیط کشت) Aseptic کار کنید این یعنی شرایطی را ایجاد کنیم تا محیطی که استریل شده است مجددا آلوده نشود.

به شرایطی که کمک می کند شرایط استریلیزاسیون یا ضد عفونی باقی بماند شرایط Aseptic و به پروسه ها و فاکتور های مورد استفده فاکتورهای Aseptic می گوییم .

مکانیسم عمل ترکیبات استریل کننده ، ضد عفونی کننده و انتی سپتیک:

چهار مکانیسم اصلی وجود دارد:

۱.آسیب به DNA: بعضی مواد ضد عفونی کننده یا استریل کننده با اسیب به DNA، باکتری، ویروس یا قارچ را از بین می برد.

۲. دناتوره کردن پروتئین ها: آسیب به اسیدهای امینه پروتئین های ساختمان سوم آن ها را بهم می ریزد و در نتیجه پروتئین های باکتری، ویروس، انگل با قارچ دناتوره شده و خاصیت خود را از دست می دهند؛ مثلا وقتی DNA پلیمراز باکتری (آنزیم مهم در همانند سازی باکتری) غیر فعال شود تکثیر باکتری هم غیر فعال شده، باکتری دیگر نمی تواند رشد کند و از بین می رود.

۳.تخریب غشا سیتوپلاسمی:گروهی از ترکیبات از این طریق باکتری ها را از بین می برد.

۴.غیر فعال و ازاد کردن گروه های سولفیدریل(خصوصا در بعضی اسیدهلی امینه یا باز های الی): فعالیت بیولوژیکی این اسیدهای امینه یا بازهای الی به خاطر وجود این گروه های سولفیدریل است در نتیجه ترکیبات دسته چهارم با خارج کردن و جایگزین کردن این گروه ها با ترکیبات دیگر آن ها را Inactive می کنند و پروتئین DNA و RNA و میکروب دیگر کارایی ندارد.

عوامل فیزیکی :

این عوامل به سه دسته گرما، پرتوها و فیلتراسیون تقسیم می شوند:

۱. دما (گرما): شاید بتوان گفت حرارت مهم ترین فاکتور فیزیکی است که هم اکنون برای پدیده استریلیزاسیون در محیط های مختلف (بیمارستانها و آزمایشگاه ها) استفاده می شود. حرارت به سه فرم است:

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

A) حرارت مستقیم: همان کاری که در آزمایشگاه انجام می دهیم ساده ترین روش استفاده از حرارت برای از بین بردن ارگانیسم هاست البته این روش را در مورد بسیاری از ابزار آلات و مواد موجود در ازمایشگاه (مانند ترکیبات پلاستیکی و سرنگ) نمیتوان استفاده کرد؛ زیرا شعله مستقیم ممکن است خود وسیله را از بین ببرد.

B) حرارت مرطوب: بر اساس حرارت مرطوب دستگاهی را به نام اتوکلاو طراحی کردند که بسیار پرکاربرد است و با استفاده از آن ابزار مختلف را استریل می کنند. پس به طور کلی حرارت فاکتور فیزیکی است که عمدتا باعث استریلیزاسیون (از بین بردن تمام اشکال حیاتی) می شود. در حرارت مرطوب از فشار بخار آب استفاده می گردد.

اتوکلاو: دارای یک محفظه ی فلزی (مانند دیگ) فشار سنج ، دماسنج و هیتر می باشد. همان طور که می دانید برای بعضی ابزار آلات که در پزشکی و دندانپزشکی کاربرد دارند و با بافتهای استریل بدن در تماس هستند (مانند لباس، تیغ و قیچی جراحی، فورسپس های مورد استفاده در جرم گیری) حتما باید استریلیزاسیون (و نه ضد عفونی) انجام شود. در این مواقع از اتوکلاو (حرارت مرطوب) بسیار استفاده می کنند که در سایز های مختلف، کوچک (مطب دندانپزشکی) و بزرگ (بیمارستانها) تهیه می شود. وسایلی را که حساس به حرارت نیستند می توان خیلی راحت با اتوکلاو استریل کرد. هر آنچه را که باید استریل شود درون محفظه دستگاه گذاشته، در آن را می بندند. سپس دستگاه خود به خود هوای داخل محفظه را تخلیه کرده و به وسیله هیتر، دمای آب را به حدود ۱۲۱ درجه می رساند. در نتیجه آب جوشیده و بخار آب ایجاد می شود. بعد از ۱۵ الی ۲۰ دقیقه فشار آب ایجاد شده (معادل ۱۵ پوند بر اینچ مربع) بسیار بالاست و می تواند تمام اشکال حیاتی را از بین ببرد. البته فرم رویشی باکتری خیلی راحت در ۶۰ الی ۷۰ درجه ، ظرف یک دقیقه غیر فعال می شود. اما از اتوکلاو استفاده می کنیم تا اسپور باکتری را از بین ببریم. زیرا اسپور حتی در دمای آب جوش هم از بین نمی رود؛ بلکه فقط فشار بالای بخار آب می تواند لایه های عجیب و غریب آن را از بین ببرد.

یک تیغ جراحی را در نظر بگیرید که تمام فرم های رویشی باکتری آن از بین رفته باشد ولی حامل اسپور باکتری است. در حین جراحی این اسپور خیلی راحت روی بافت زنده رفته، تبدیل به فرم رویشی می شود و عفونت ایجاد می کند در ۵ تا ۱۰ درصد جراحی ها فرد دچار عفونت پس از جراحی می شود. بخشی از این عفونت ها به دلیل استریلیزاسیون ناکافی نادرست تجهیزات اتاق عمل و وسایل مورد نیاز برای جراحی است.

به دلیل زیاد بودن زمان مورد نیاز در اتوکلاو، دستگاه های جدیدی به نام اتوکلاو **Flash** (اتوکلاو سریع) طراحی شده است در این اتوکلاو ها با بالا بردن دما (۱۳۴) درجه، زمان مورد نیاز را پایین می آورند (۳ دقیقه). فشار بخار آب ایجاد شده نیز معادل ۶۰ پوند بر

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

اینچ مربع خواهد بود. این دستگاه برای کسانی که می خواهند استریلیزاسیون را سریع انجام دهند (در مطب هایی که جراحی های کوچک نیز انجام می شود) بسیار پرکاربرد است.

C) **حرارت خشک:** بر اساس حرارت خشک دستگاهی به نام **Oven** طراحی شده که هم در بیمارستان ها و هم در آزمایشگاه های میکروب شناسی از آن زیاد استفاده می شود. این دستگاه یک هیتر دارد و دیگر آب ، رطوبت یا فشار بخار آبی در کار نیست. از هر ابزارآالاتی که نسبت به دماهای بالا حساس نیست و مقاوم به حرارت باشد (مانند ابزارآلات فلزی و شیشه ای) می توان برای استریلیزاسیون در فور (**Oven**) استفاده کرد. اما ابزار آلات پلاستیکی این قابلیت را ندارند و دماهای بالا آن ها را از بین می برد. عمدتا ترکیبات فلزی و شیشه ای به دور فویل های آلومینیومی پیچیده، داخل محفظه ی فور می گذارند و دما را روی ۱۶۰ تا ۱۸۰ درجه تنظیم می کنند. بعد از گذشت ۲ ساعت، آن ابزار، استریل شده و قابل استفاده است.

- ✓ تجهیزات فلزی پلاستیکی به دو دسته ی اتوکلاویبل و غیر اتوکلاویبل تقسیم می شوند. دسته اول مانند بعضی **Plate** های پلاستیکی ، مقاوم به حرارتند و می توان از آن ها در اتوکلاو استفاده کرد (مثل فالکون های اتوکلاویبل). اما دسته دوم مقاوم به حرارت نیستند و حتی وقتی داخل اتوکلاو قرار بگیرند کاملا دفرمه شده و فقط یکبار مصرف می باشند.
- ✓ اتوکلاو مقداری رطوبت روی ابزارها ایجاد می کند و ما در مواردی می خواهیم ابزار الات خشکی داشته باشیم (به خصوص ابزار فلزی و شیشه ای) ، در این مواقع می توان از فور استفاده کرد. البته در بسیاری موارد اتوکلاو و فور مکمل هم اند و می توان از آن ها به جای هم استفاده کرد. فور به دلیل زمان مورد نیاز طولانی تر، کم کاربرد تر است.

۲. پرتو ها: از پرتو ها نیز برای جلوگیری از رشد باکتری ها و ارگانیسم های دیگر، زیاد استفاده می شود. پرتو ها دو گروه اند:

a)پرتو های غیر یونیزان (اشعه UV):

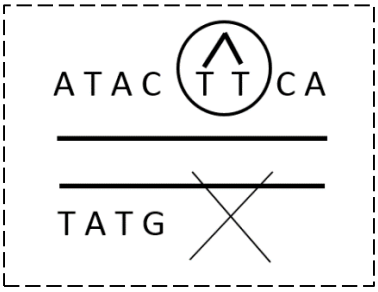
اشعه UV پر کاربرد تر از پرتو های یونیزان X و گاماست. لامپ های UV، به خصوص برای استریل کردن هوای اتاق در بیمارستان ها و مطب ها کاربرد دارد. اکنون در تمامی مطب های دندانپزشکی باید در سقف اتاق لامپ UV کار گذاشته شده باشد زیرا دندانپزشک دائما با بزاق و حفره ی دهانی بیمار سر و کار دارد و یا جراحی هایی انجام می دهد که با خونریزی همراه است و دائما ایروسل می شود؛ مثلا باکتری هایی در آب آلوده و استریل نشده وجود دارند به نام Legionella که می تواند ایجاد پنومونی بکند.

کافی است پس از اتمام کار ، ۱۰ الی ۱۵ دقیقه از لامپ های UV استفاده کنیم تا هر آنچه در اتاق است (مثل هوا یا روی میز کار) استریل شود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

مکانیسم اثر اشعه ی UV آسیب به DNA است. این اشعه با آسیب به DNA باکتری، ویروس و بقیه ی ارگانیسم ها، تمام اشکال حیاتی را از بین می برد پس یک فاکتور استریل کننده است و حتی بر DNA اسپور هم اثر می گذارد.

اشعه ی UV دایمر تیمین – تیمین ایجاد می کند؛ فرض می کنیم در شکل زیر ، DNA دو رشته ای مربوط به یک باکتری است ، پس از روشن کردن لامپ UV ، این اشعه خیلی راحت از دیواره و غشای سلولی باکتری نفوذ کرده و روی DNA اثر می گذارد. باز های آلی (به خصوص تیمین ها) آن را جذب می کنند. اشعه ی UV باعث می شود هر جا دو باز آلی تیمین در کنار هم هستند، پیوند کووالان بین آن ها برقرار شود (در صورتی که پیوند های اولیه بین دو باز آلی تیمین، غیرکووالان و واندروالسی بوده است). در هنگام تکثیر، دو رشته از هم باز شده (همانند سازی DNA نیمه حفاظتی است) و یک رشته برای رشته ی جدید، الگو قرار می گیرد. DNA پلیمراز نمی تواند دایمر تیمین – تیمین را به عنوان یک باز آلی تشخیص دهد (به دلیل وجود پیوند کووالان) و همانند سازی متوقف می شود؛ در نتیجه DNA یی سنتز می شود که ناقص است و کاری انجام نمی دهد. بنابراین رشد و تکثیر باکتری متوقف و آن باکتری مرده تلقی می شود.



اشعه ی UV می تواند با DNA سلول های انسان نیز چنین کاری را انجام دهد ؛ به همین دلیل باعث سرطان و بیماری های پوستی می گردد. استفاده از لامپ UV در مطب ها و اتاق های عمل، باید پس از اتمام کار، در محیطی تاریک و بدون حضور افراد و بافت زنده صورت گیرد. البته نفوذ اشعه ی UV در سلول های یوکاریوتی کمتر از پروکاریوتی است.

لامپ UV عمر کوتاهی دارد و حداکثر هر ۶ ماه یک بار باید آن را تعویض کرد چون نیمه عمر دارد و پس از اتمام نیمه عمر دیگر درست کار نمی کند.

b) پرتو های یونیزان (اشعه ی x و گاما):

این پرتو ها نیز روی DNA اثر می گذارند و باعث ایجاد **شکستگی** در آن می شوند؛ البته هنوز مکانیسم دقیق آن ها را نمی دانند. با شکستن پیوند های فسفو دی استر، DNA را تکه تکه کرده و از این طریق باعث تخریب DNA باکتری، ویروس و ارگانیسم های دیگر می شوند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

کبالت، عنصری است که اشعه ی X ساطع می کند. از کبالت و اشعه ی ایکسی که از آن ساطع می شود عمدتا در مراکز صنعتی و کارخانجاتی که سرنگ تولید می کنند ، برای استریل کردن سرنگ ها استفاده می گردد. استریلیزاسیون سرنگ ها (که یک بار مصرف هستند) توسط اتوکلاو ، فور یا حرارت امکان پذیر نیست چون پلاستیکی هستند و دفرمه می شوند؛ بنابراین یا باید از ترکیبات گازی استفاده کرد یا از پرتو.

مکانیسم عمل پرتو های یونیزان به دو صورت است:

الف) مستقیم که مستقیما باعث شکستگی در DNA می شوند.

ب) غیر مستقیم (Indirect): این پرتو ها رادیکال های آزاد اکسیژن تولید می کنند که این رادیکال ها باعث آسیب و شکستگی در DNA می شوند (مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نیست).

۳. فیلتراسیون:

از فیلتراسیون برای استریل کردن مایعات حساس به حرارت (مخصوصا واکسن ها) استفاده می شوند.

برای استریل کردن واکسن ها ، ترکیبات آنتی بیوتیکی یا سرم ها نمی توان از اتوکلاو ، فور و یا اشعه ی UV استفاده کرد چون ترکیباتی بیولوژیک هستند و باید ساختار آن ها حفظ شود بنابراین این فرایند باید کمترین تاثیر را روی خود ماده ی بیولوژیک داشته باشد.

به وسیله ی سرنگ ، سوسپانسیون واکسن یا ترکیب آنتی بیوتیکی یا مایعات بیولوژیک دیگر را کشیده و از یک طرف فیلتر به آن تزریق می کنند. این فیلتر های استریل کننده دارای غشا های سلولزی با پور های بسیار ریزی هستند (Pore) که اجازه ی عبور انگل ها ، باکتری ها ، قارچ ها و... را نمی دهند و هر ارگانیسمی روی این فیلتر گیر می کند. آنچه که از فیلتر عبور می کند ، مایعی استریل است.

ضخامت و اندازه ی Pore ها در فیلتر های مختلف متفاوت است (از ۰/۲۲ میکرومتر تا ۰/۴۵ میکرومتر).

۰/۲۲ میکرومتر تقریبا استریل می کند یعنی جلوی ویروس ها ، مایکوپلاسما ها و تمامی باکتری ها را می گیرد اما ۰/۴۵ میکرومتر فقط می تواند جلوی باکتری ها را بگیرد پس ویروس ها می توانند از این فیلتر عبور کنند ؛ بنابراین برای استریلیزاسیون باید از فیلتر ۰/۲۲ میکرو متر استفاده شود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

اگر واکسن از نوع میکروب کشته شده باشد (مثل سیاه سرفه) نمی توان از این روش استفاده کرد؛ این روش مخصوص واکسن هایی است که حاوی پروتئین یا سم (Toxoid) میکروب باشند (مثل دیفتری) و یا واکسن های Subunit که از قسمت خاصی از باکتری (مثلا پروتئین های غشای خارجی آن) استفاده می کنند.

عوامل شیمیایی:

همانطور که گفته شد عوامل فیزیکی عمدتا استریل کننده هستند (حرارت ، پرتو ها ، فیلتراسیون) اما عوامل شیمیایی اینگونه نیستند؛ برخی ضد عفونی کننده، برخی استریل کننده و برخی آنتی سپتیک هستند.

۱) الکل ها :

یکی از ترکیبات شیمیایی مختلفی که برای جلوگیری از رشد باکتری ها استفاده می شود الکل ها است. یکی از پرکاربرد ترین ترکیبات شیمیایی هستند.

در مراکز درمانی به دو صورت استفاده می شوند:

به صورت اتانول که می تواند اتانول ۹۶٪ یا ۷۰٪ باشد. از این ترکیبات به عنوان ترکیبات ضدعفونی کننده ی آنتی سپتیک استفاده می کنند یعنی ترکیباتی هستند که می توان روی بافت زنده به کار برد. بنابراین الکل آنتی سپتیک است.

البته ایزوپروپیل الکل هم می تواند با غلظت های ۹۰ تا ۹۵٪ مورد استفاده قرار بگیرد . در گذشته بیشتر از اتانول استفاده می شد اما امروزه ایزوپروپیل الکل کاربرد بیشتری دارد ؛ به این دلیل که میزان اثر و عمل آن بهتر از اتانول است.

اتانول ۷۰٪ کارایی بهتری نسبت به اتانول ۹۶٪ دارد ؛ پس اتانول ۹۶٪ را باید رقیق کنیم تا به اتانول ۷۰٪ برسیم. برای این منظور از فرمول $n_1V_1 = n_2V_2$ استفاده می کنیم.

دلایل برتری اتانول ۷۰٪ نسبت به اتانول ۹۶٪ :

۱) هرچه مقدار آب بیشتر باشد ، نفوذ الکل به غشا باکتری و تخریب آن بیشتر است. مکانیسم عمل الکل تخریب غشا سیتوپلاسمی است (تخریب لیپید های غشا)

۲) هرچه الکل کمتر باشد ، دیرتر تبخیر می شود و هرچه میزان آن بیشتره بوده ، زودتر تبخیر می شود و باکتری کمتر در معرض الکل قرار می گیرد.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

تاثیر الکل بر باکتری های گرم مثبت کمتر است چون دیواره ی وسیعی دارند ولی در گرم منفی ها، الکل بر روی غشای خارجی قرار گرفته و می تواند به راحتی آن را لیز کند.

الکل بر روی ویروس های Envelope شده اثر دارد ولی بر روی ویروس های فاقد پوشش لیپیدی اثر ندارد (به طور کلی ، الکل برای عاری کردن محیط از ویروس نامناسب است)

۲) آلدهید ها:

ترکیبات شیمیایی دیگری به نام آلدهید ها وجود دارند که ۲ ترکیب شیمیایی پرکاربرد در آن ها وجود دارد:

الف) گلوتارآلدهید

ب) فرمالدهید: عمدتا به شکل گاز است البته شکل مایع آن به صورت فرمالین است (فرمالدهید وقتی در آب حل شود، فرمالین را به وجود می آورد)

ترکیبات آلدهیدی ، عوامل آلکیلی کننده کننده هستند ؛ عوامل آلکیلی کننده باعث آلکیلاسیون اسید های آمینه می شوند (گروه آلکیل به آن ها اضافه می کنند و پروتئین های باکتری را غیر فعال می کنند). آلکیل ها شامل CH_3CH_2 (اتیل) و CH_3 (متیل) هستند. وقتی DNA و پروتئین آلکیله شوند، ساختمان بیولوژیکی خود را از دست می دهند؛ آلدهید ها از طریق اضافه کردن آلکیل به اسید های آمینه و باز ها ، پروتئین و DNA را غیر فعال می کنند.

گلوتارآلدهید و فرمالدهید جزو ترکیبات استریل کننده هستند و حتی می توانند بر روی اسپور باکتری هم اثر بگذارند و پروتئین های اسپور را هم آلکیله کنند. گاز فرمالدهید برای استریل کردن قضای اتاق استفاده می شود ، گلوتارآلدهید هم که به صورت مایع است در بیمارستان ها به ویژه در بخش های کلونوسکوپی استفاده می شود. به گلوتارآلدهید ، استریل کننده ی سرد هم می گویند و هنگامی که نیاز باشد حجمی را خیلی سریع استریل کنند و از اتوکلاو هم استفاده نکنند ، از مایع گلوتارآلدهید استفاده می شود (۵ الی ۱۰ دقیقه در مایع می گذارند). این مایع دمای پایینی دارد (حدودا ۱۰ درجه) به همین خاطر به استریل کننده سرد معروف است.

۳) ترکیبات سورفاکتانت:

این ترکیبات به دترژانت هم معروف هستند، لیپید های غشا را از بین می برند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

الف) دترژانت آنیونیک: صابون ها نمونه ای از دترژانت های آنیونیک هستند که بر غشای باکتری اثر می گذارند و لیپید ها را از بین می برند.

ب) دترژانت کاتیونیک : نمونه ی دترژانت های کاتیونیک ، بنزال کونیوم کلراید است که در شامپو ها استفاده می شود و با تخریب غشا ، عمل خود را انجام می دهد

دترژانت های کاتیونیک و آنیونیک جزو ترکیبات آنتی سپتیک هستند (یعنی برای بافت های زنده اثر توکسیک ندارند به همین دلیل در شامپو ها و صابون ها ، این ترکیبات زیاد استفاده می شوند) البته استریل کننده نیستند اما جزو ترکیبات ضد عفونی کننده محسوب می شوند.

۴) هالوژن ها:

هالوژن ها دو گروه ترکیب دارند: **الف)ترکیبات ید دار** **ب)ترکیبات کلر دار**

بتادین که به منظور ضد عفونی کردن زخم از آن استفاده می شود ، دارای ۱۰٪ ید می باشد. ید و کلر به شدت خاصیت ضد میکروبی دارند و به عنوان ترکیبات اکسید کننده مورد استفاده قرار می گیرند ؛ این ترکیبات ، باز ها ، پروتئین ها و DNA را اکسید می کنند و در نتیجه هم پروتئین و هم DNA را غیر فعال می کنند.

در غلظت های بالا ، خاصیت استریل کنندگی دارند ولی چون غلظت های بالا برای بافت ، توکسیک هستند به همین دلیل عمدتا از غلظت های زیر ۱۰٪ استفاده می شود.

از پرکلرین که ترکیبی کلر دار است برای شست و شو و ضدعفونی کردن میوه و سبزیجات استفاده می شود.

۵) فلزات سنگین

مثل نقره و مس؛ به طور مثال از ترکیبات نقره همچون نیترات نقره ۱٪ در چشم نوزاد تازه متولد شده می چکانند (۱ تا ۲ قطره) تا باکتری هایی که در کانال زایمان هستند از بین بروند.

امروزه باور بر این است که اگر سطوح تخت های بیمارستان و یا سطوح داخلی اتاق های بیمارستان با فلز نقره یا مس پوشانده شود، باکتری ها کمتر رشد کرده و عفونت های باکتریایی نیز کمتر خواهند شد. حتی از ابعاد نانو این ذرات در بافت های زنده استفاده می شود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۶) فنول ها

جزو ضدعفونی کننده ها محسوب می شوند. چند ترکیب فنولی وجود دارد که به فراوانی استفاده می شوند:

یکی خود **فنول** است که ترکیب ضد عفونی کننده محسوب می شود. این ترکیبات فنولی عمدتا از طریق تخریب پروتئین ها عمل می کنند. فنول برای بافت های زنده ترکیبی توکسیک به شمار می رود به همین دلیل فقط به عنوان ترکیب ضد عفونی کننده از آن استفاده می شود.

گروه دیگری از ترکیبات فنولی وجود دارد که آنتی سپتیک هستند ؛ برای مثال **هگزاکلروفن** و **کلرهگزیدین** که در صابون و دهانشویه ها (مخصوصا کلرهگزیدین) به فراوانی یافت می شوند. بنابراین خود فنول آنتی سپتیک نیست ولی هگزاکلروفن و کلرهگزیدین و تری کلوزان ، آنتی سپتیک هستند و در شامپو ها و دهانشویه ها به عنوان ترکیبات آنتی سپتیک استفاده می شوند.

۷) استریل کننده های گازی شکل

ترکیبات گازی شکلی که استریل کننده هستند و پرکاربرد ترین آن ها **H_2O_2** یا پراکسید هیدروژن است؛ البته H_2O_2 در همه ی غلظت ها استریل کننده نیست بلکه در غلظت های بالای ۲۰٪ خاصیت استریل کنندگی پیدا می کند و در غلظت های ۱ تا ۳٪ ضدعفونی کننده محسوب می شود.

این گاز ها عمدتا اکسید کننده هستند یعنی با اکسید کردن اسید های آمینه و باز ها، باعث غیر فعال شدن DNA و پروتئین ها می شوند.

ترکیب **اوزون** برای ضد عفونی کردن آب و ترکیب **پراستیک اسید** برای نگه داری مواد غذایی و استریل کردن بسته های غذایی مورد استفاده قرار می گیرند.

اتیلن اکسید که ترکیبی استریل کننده است ، در صنعت پزشکی کاربرد دارد به خصوص در استریل کردن وسایل پزشکی پلاستیکی و حساس که نمی توان از اتوکلاو برای استریل کردن آن ها استفاده کرد ، مثل سرنگ ها یا تجهیزات مصنوعی که قرار است در بدن بیمار کار گذاشته شوند . این گاز اشتعال پذیر است و باید در شرایط خاصی نگهداری شود (امروزه به جای آن از گاز پلاسما استفاده می شود که همان پراکسید هیدروژن یونیزه شده است یعنی باردار شده است).

در هنگام کار با ابزار و معاینه بیمارانی که مشکوک به ایدز هستند و همچنین برای رفع آلودگی از سطوح مشکوک به ویروس HIV، بهتر است از هیپوکلریت سدیم یا همان آب ژاول استفاده شود (از آب ژاول با غلظت ۵٪ هم می شود استفاده کرد).

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

نکاتی بیشتر برگرفته از کتاب مورای

- ✓ از فیلتراسیون برای جدا سازی باکتری ها و قارچ های موجود در هوا(با استفاده از فیلتر HEPA) (High –Efficiency Particulate Air) یا محلول ها استفاده می شود.
- ✓ از جمله محدودیت های استفاده از اشعه UV و اشعه ی یونیزان ، نیازمندی مواجهه مستقیم مواد با آن ها است.
- ✓ مواد ضد عفونی کننده در سه سطح ، با کارایی بالا (High) ، متوسط (Intermediate) و پایین (Low) دسته بندی می شوند.
- ✓ ژرمیسید (Germicide): ماده ی شیمیایی است که قادر است میکروب ها را از بین برده ولی اسپور ها در حضور آن زنده می مانند.
- ✓ اسپوروسید: ژرمیسیدی است که قادر به کشتن اسپور های باکتریایی است.
- ✓ از اسپور باکتری باسیلوس استئارو ترموفیلوس به صورت آماده و تجاری برای کنترل عملکرد استریلیزاسیون اتوکلاو استفاده می شود.
- ✓ کنترل عملکرد دستگاه فور با استفاده از اسپور باسیلوس سوبتیلیس که نسبت به هوای خشک مقاوم است (برخلاف باسیلوس استئارو ترموفیلوس) انجام می شود.

نویسنده: فرهاد اکبری کامرانی تایپ: مریم دانشمند، ندا معتمدی ویرایش: مریم خراسانچی

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه دهم – کلیات باکتری)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

می Antimicrobial Chemotherapyاستفاده از آنتی بیوتیک ها جهت درمان بیماری های عفونی یا عفونت های میکروبی را گویند که در واقع از یکسری ترکیبات شیمیایی استفاده می شود تا جلوی عفونت میکروب ها گرفته شود به خصوص عفونت های سیستمیک یعنی عفونت هایی که از استریلیزاسیون مواد ضدعفونی کننده آنتی سپتیک ها عمدتا برای پیشگیری استفاده می شوند. اما در بعضی مواقع عفونت میکروبی اتفاق می افتد و باکتری وارد بدن می شود و عفونت های مختلفی در بخش های مختلف بدن ایجاد می کند. در این صورت راه دیگر استفاده از آنتی بیوتیک هاست که بتوان عفونت میکروبی ایجاد شده را درمان کرد.

تاریخچه ی آنتی بیوتیک ها:

استفاده از آنتی بیوتیک ها به سال ۱۹۸۲ برمی گردد که فلمینگ پنیسیلین را کشف کرد. اما قبل از آن از قرن ۱۷ به بعد بسیاری از محققین با استفاده از ترکیبات مختلف عفونت های میکروبی را درمان می کردند. دراوایل قرن۱۷ محققی به نام ارلیش یک سلاح معجزه آسا برای درمان سفلیس مطرح کرد. او گفت می توان از ترکیبات جیوه برای درمان بیماران سفلیس استفاده کرد. این برای اولین بار بود که در دنیای مدرن از ترکیبی برای جلوگیری از عفونت میکروبی استفاده می شد. بعد از ارلیش تا سال ۱۹۲۸ از ترکیبات مختلفی استفاده می شد. که یا بر بافت های بدن اثر توکسیک داشتند (و ممکن بود عوارض جانبی خطرناکی ایجاد کنند)، یا اصلا اثر نداشتند تا اینکه اولین آنتی بیوتیک به صورت طبیعی کشف شد و در سال۱۹۲۸ فلیمینگ که روی باکتری های استافیلوکوک کار می کرد نمونه ای از آن را روی پلیت کشت داد و فراموش کرد آن را در انکوباتور ۳۷ درجه قرار دهد، بعد از مدتی متوجه شد که آن محیط آلوده به قارچ شده است ومحل هایی که قارچ رشد کرده بود باکتری نتوانسته بود رشد کند. اودر نهایت به این نتیجه رسید که عدم رشد باکتری در اطراف قارچ پنی سیلیوم به این معنی است که حتما این قارچ یک ترکیب ضد میکروبی دارد که منجر به از بین رفتن باکتری شده است. در نهایت در سال ۱۹۴۰ قارچ پنی سلیوم به عنوان آنتی بیوتیک وارد بازار شد.

اولین آنتی بیوتیک کشف شده پنی سیلین بود، اما اولین آنتی بیوتیکی که در درمان عفونت ها به صورت رسمی و تجاری مورد استفاده قرارگرفت، آنتی بیوتیک سولفانامید بودکه در سال ۱۹۳۵ وارد بازار شد. از سال ۱۹۴۰ به بعد کلرامفنیکل، تتراسایکلین، آمینوگلیکوزیدها، کنیزول ها و...یک به یک وارد بازار شدند.

به طورکلی **سه منبع برای تولید آنتی بیوتیک ها** وجود دارد:

۱) روش طبیعی: که به آنها آنتی بیوتیک طبیعی نیز می گویند. این نوع آنتی بیوتیک ها توسط میکروارگانیسمها تولید می شوند. شایع ترین این میکروارگانیسم ها، قارچ ها (مانند پنیسیلیوم که پنی سیلین تولید می کنند) و باکتری ها (مانند باسیلوس ها) هستند.

۲) روش نیمه سنتتیک: در آزمایشگاه ترکیب آنتی بیوتیک ها ی طبیعی را مقداری بهم می زنند ولی Base، همان آنتی بیوتیک طبیعی است. به عبارتی این نوع از داروها بخشی ساخته ی بشر و بخشی ساخته طبیعت است.

۳) سنتتیک: در این نوع از آنتی بیوتیک ها ارگانیسمی دخالت ندارد و به صورت پایه ترکیبات شیمیایی ای هستند که کاملا به صورت In Vitro در آزمایشگاه تولید می شوند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

چند نمونه برای باکتری هایی که Source طبیعی دارند: (Microbial Source Of Antibiotics)

۱- آنتی بیوتیک هایی که توسط باسیلوس ها تولید می شوند:

- در بین باسیل های گرم مثبت، باسیلوس سوبتیلیس (Bacillus Subtilis)، تولید آنتی بوتیک باسیتراسین
- باسیلوس پلی میکسا، تولید آنتی بیوتیک پلی میکسین

۲- آنتی بیوتیک هایی که توسط اکتینومیست ها (مهم ترین آن ها استرپتومایسزها) تولید می شوند مانند کلرامفنیکل و آمفوتریپین B

۳- آنتی بیوتیک هایی که توسط قارچ ها تولید می شوند مانند پنی سیلیوم (سنتز پنی سیلین G)، سفالوسپوریوم (سنتز سفالوسپورین ها)

اینها تنها باکتری هایی هستند که منبع طبیعی دارند؛ بقیه آنتی بیوتیک ها نیمه سنتتیک هستند یا سنتتیک.

- آیا از هر ترکیبی که در آزمایشگاه تولید می شوند و به خوبی علیه باکتری عمل می کند میتوان به عنوان آنتی بیوتیک استفاده کرد؟

خیر؛ زیرا هر داروی ضد میکروبی ایده آل باید دارای خصوصیاتی باشد.

۱. **سمیت انتخابی (Selective Toxicity)**: فقط ترکیباتی می‌توانند به عنوان آنتی بیوتیک استفاده شوند که سمیت انتخابی داشته باشند به این معنی که فقط به باکتری آسیب برسانند و آن را به خوبی از بین ببرند ولی روی سلول‌های یوکاریوتی اثر نداشته باشد و عوارض جانبی برای فرد ایجاد نکند.
۲. **طیف عملکردی (Antimicrobial Spectrum)**: داروی ضد میکروبی باید روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها موثر باشد و میکروارگانیسم ها نسبت به آن مقاوم نباشند. آنتی بیوتیک ها از نظر طیف عملکردی به ۲ دسته تقسیم می‌شوند:

الف. وسیع الطیف: که روی گروه بزرگی از باکتری‌ها تاثیر دارند. هم گرم مثبت ها هم گرم منفی ها؛ هم باکتری‌های داخل سلولی هم خارج سلولی.

ب. ضعیف الطیف: فقط روی گروه خاصی از باکتری ها اثر دارند.

۳. آنتی‌بیوتیک مورد تجویز بهتر است باکتریوسیدال باشد .
۴. آنتی‌بیوتیک ها نباید آلرژن یا حساسیت زا باشند.
۵. باید در آب محلول و پایدار باشند.

چند واژه مهم:

باکتریواستاتیک: آنتی‌بیوتیک هایی که فقط باعث توقف رشد باکتری می‌شوند و به سیستم ایمنی فرصت می‌دهند تا باکتری را از بین ببرد و برای کسانی استفاده می‌شود که سیستم ایمنی قوی و سالم دارند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

باکتریوسیدال: آنتی‌بیوتیک هایی که باعث مرگ باکتری می‌شوند و برای کسانی مورد استفاده قرار می‌گیرد که سیستم ایمنی ضعیف دارند و همچنین برای عفونت‌های خطرناک و شدید مانند اندوکاردیت و مننژیت و ....

Antibiotic Synergism: آنتی‌بیوتیک هایی که همزمان با هم استفاده می‌شوند و اثر یکدیگر را تقویت می کنند .

Antibiotic Antagonism: آنتی بیوتیک هایی که اثر هم را خنثی میکنند و نباید باهم استفاده شوند .

MIC (Minimum Inhibitory Concentration): کمترین غلظتی از آنتی بیوتیک که باعث مهار باکتری می‌شود.

MBC (Minimum Bactericidal Concentration): کمترین غلظتی از آنتی‌بیوتیک که باعث مرگ باکتری می شود.

این ۲ عدد در آزمایشگاه تعیین می شود سپس به صورت In Vivo (تجربی) حداکثر غلظت سرمی که فرد می‌تواند غلظت آنتی‌بیوتیک را تحمل کند، بررسی می‌کنند. یعنی میزان MIC سرمی هم تعیین می شود.

به عنوان مثال آنتی بیوتیک تتراسیکلین MIC= 5 ug/ml و MBC=15 ug/ml دارد و حد تحمل سرمی آن برابر ۸ ug/ml است. به این معنی که مجاز هستیم فقط تا این حد آنتی‌بیوتیک را تجویز کنیم و اگر بیشتر از این باشد عوارض جانبی خطرناک دارد.

مثلا فردی با باکتری اشرشیاکلای دچار عفونت ادراری شده است؛ آیا می‌توان از تتراسایکلین با MIC و MBC سرمی مشخص شده برای درمان این عفونت استفاده کرد؟

به عنوان آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک می‌توان از آن استفاده کرد اما به عنوان باکتریوسیدال قابل استفاده نیست؛ زیرا MBC آن بالاتر از غلظت سرمی است و باکتری فقط نسبت به آن حساس است. حال فرض کنید MIC=9 باشد، در این حالت آنتی‌بیوتیک قابل استفاده نیست و باکتری نسبت به آن مقاوم است.

محققین از اختلاف بین ساختمان باکتری و سلول یوکاریوتی برای تولید آنتی‌بیوتیک ها استفاده کردند بطوری که روی باکتری اثرگذار باشد ولی روی سلول‌های یوکاریوتی اثر نداشته باشد (Selective Toxicity)

آنتی بیوتیک ها از طریق **مکانیسم‌های مختلف خاصیت ضد میکروبی** خود را بروز می‌دهند:

۱. **ممانعت از سنتز پوشش باکتری:**
   أ) ممانعت از سنتز دیواره سلولی
   ب) ممانعت از سنتز غشاء
۲. **ممانعت از سنتز پروتئین**

ریبوزوم باکتری‌ها ۷۰S و ریبوزوم یوکاریوت‌ها ۸۰S است پروتئین های ریبوزوم باکتری‌ها و همچنین rRNA آنها با یوکاریوت ها متفاوت است .

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

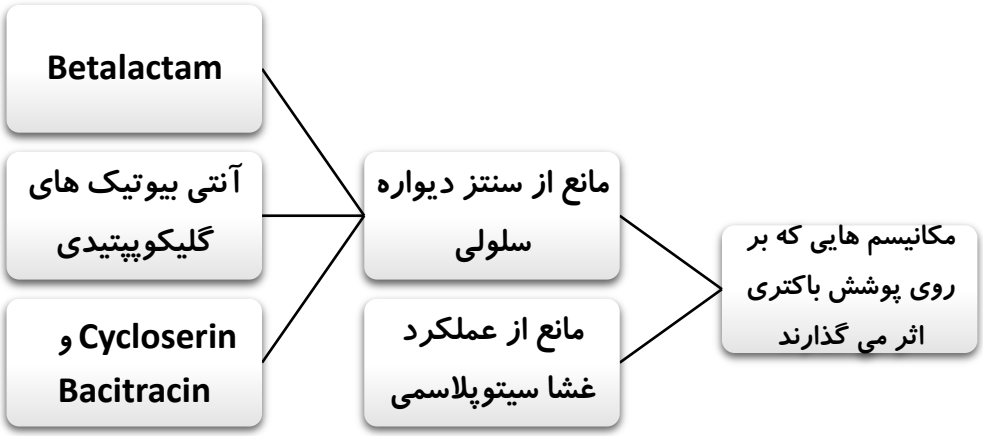
نکته: ریبوزوم باکتری‌ها مشابه ریبوزوم میتوکندری سلولهای یوکاریوتی است به همین دلیل بعضی از آنتی‌بیوتیک ها علاوه بر اثر روی باکتری ممکن است روی میتوکندری سلول‌های یوکاریوتی نیز اثر بگذارند و عوارض جانبی خطرناکی ایجاد کنند. مانند کلرامفنیکل که با اثر بر روی میتوکندری سلول‌های مغز استخوان باعث بیماری آنمی آپلاستیک می شود.

۳. **ممانعت از سنتز اسیدهای نوکلئیک:**

بعضی از آنتی بیوتیک ها از سنتز و همانندسازی DNA جلوگیری می کنند یا مانع نسخه برداری و تولید mRNA در باکتری می شوند، و یا از رونویسی ممانعت می کنند.

۴. **Antimetabolite:**

با استفاده از یک سری ترکیبات باعث اختلال رشد باکتری می شوند و به مسیرهای متابولیسمی باکتری ضربه می زنند بدون اینکه روی سلول باکتریایی اثر Toxic داشته باشند.



آنتی بیوتیک های بتالاکتام:

در ساختمان شیمیایی خود دارای حلقه ی بتالاکتام هستند که در همه ی آن ها ثابت است. یک ترکیب اسیدی پایه دارند و یک زنجیره ی جانبی دارند که علت تنوع آنتی بیوتیک های بتالاکتام، تفاوت در ساختار همین دو مورد است. بتالاکتام ها به گروه های مختلفی تقسیم می شوند که مکانیسم عمل همه ی آن ها یکی است.

۱) **پنی سیلین**
۲) **ممانعت کننده های آنزیم بتالاکتاماز** (Betalactamase Inhibitor): که این گروه آنتی بیوتیک نیستند؛ شامل: Tazobactom-Salbactom-Calvulanic Acid
۳) **کاربا‌پنم ها** (Carbapenem): مانند ایمی پنم (Imipenem)، مروپنم (Meropenem) و ارتاپنم (Ertapenem) که ذاتا نسبت به بتالاکتاماز مقاومند. این دسته به خوبی بر روی باکتری های گرم مثبت و منفی اثر می گذارند.

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

نکته: ایمی پنم در درمان عفونت های مقاوم به سایر آنتی بیوتیک ها به کار میرود. این آنتی بیوتیک توسط هیدروپپتیداز های موجود در توبول های کلیوی غیرفعال می گردد و در افراد دپار نارسایی کلیوی تجویز نمی شود.

مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها به روش های زیر ایجاد می شود:

الف) تولید آنزیم بتالاکتاماز تحت کنترل پلاسمید که این آنزیم سبب باز شدن حلقه ی بتالاکتام موجود در ساختمان آنتی بیوتیک ها می گردد.

ب) بروز جهش کروموزومی در باکتری که منجر به تغییر PBPS می شود که این PBPS پس از جهش قابلیت اتصال به داروهای بتالاکتام را ندارد.

ج) ایجاد تولرانس نسبت به داروهای بتالاکتام در باکتری هایی که داروهای بتالاکتام قادر نیستند آنزیم های اتولیتیک موجود در دیواره ی سلولی را فعال سازند، در نتیجه رشد باکتری متوقف شده اما منهدم نمی گردد.

۴) **مونوباکتام ها(Monobactam):**

گروه دیگری از بتالاکتام ها هستند که به آن ها آزتروئونام (Aztreonam) می گویند. آزتروئونام نسبت به بتالاکتاماز مقاوم است. بر علیه بی هوازی ها و گرم مثبت ها قابل استفاده نیست و فقط علیه گرم منفی های هوازی کاربرد دارد.

۵) **سفالوسپورین ها:**

آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و پرمصرفی هستند که دارای اثرات باکتریوسیدی می باشند و به چهار نسل تقسیم می شوند. (نسل اول تا چهارم)

مکانیسم عمل بتالاکتام ها

پیوند عرضی در باکتری ها توسط آنزیم ترانس پپتیداز برقرار می شوند. بتالاکتام ها روی آنزیم ترانس پپتیداز اثر می گذارند و آن را غیرفعال می کنند و باعث می شوند Cross Link برقرار نشود. عدم وجود Cross Link سنسورهایی را در باکتری فعال می کند به طوری که باکتری تلاش می کند آن قسمت از دیواره که Cross Link برقرار نشده است را دوباره سنتز کند اما چون ترانس پپتیداز غیرفعال شده Cross Link تشکیل نمی گردد. در این صورت باکتری آنزیمی به نام اتولیزین را فعال می کند که این آنزیم قسمت هایی از دیواره که پیوند عرضی ندارد را لیز می کند و در نهایت باکتری منهدم می گردد.

نکته: به دلیل تمایل ترانس پپتیدازها برای اتصال به پنی سیلین ها به آن ها PBP(penicillin binding protein) می گویند.

خلاصه:

اتصال بتالاکتام به ترانس پپتیداز ← غیرفعال شدن ترانس پپتیداز ← عدم برقراری Cross Link ← فعال شدن آنزیم اتولیزین باکتری ← لیز شدن دیواره سلولی← باکتری توسط خودش← مرگ باکتری

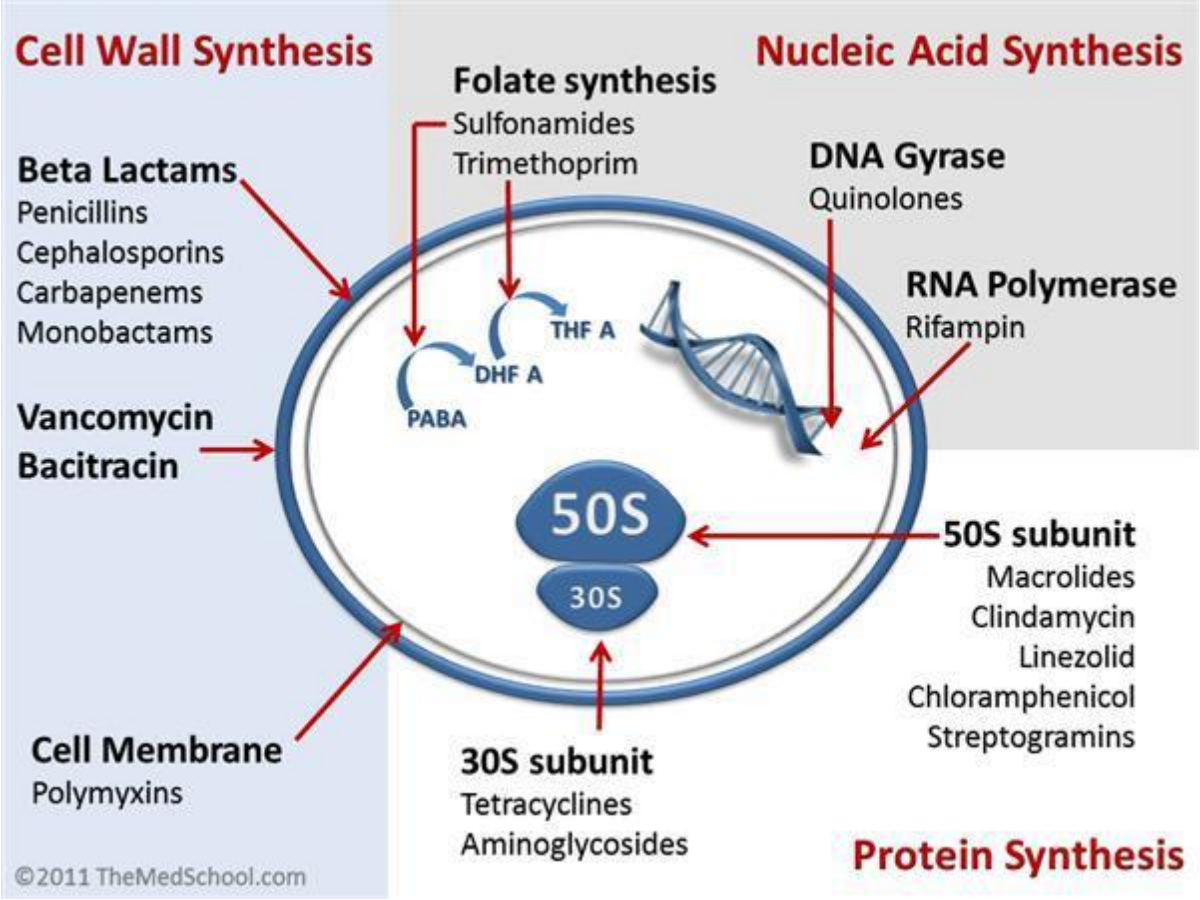
سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

نکته: در مبحث مقاومت باکتری به بتالاکتام ها شایع ترین روش این است که باکتری آنزیمی به نام بتالاکتاماز تولید می کند که با برش حلقه ی بتالاکتام باعث از بین رفتن بتالاکتام ها می شود و آن را تجزیه می کند.

نکته: باکتری هایی که در فاز لگاریتمی هستند بیشترین حساسیت را نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام دارند.

نکته: بتالاکتام ها به خصوص پنی سیلین ها روی باکتری های گرم مثبت اثر بیشتری دارند؛ زیرا غشای خارجی ندارند و آنتی بیوتیک بلافاصله به دیواره سلولی باکتری می رسد.

نکته: باکتری های گرم منفی مکانسیم دیگری که برای مقاومت به بتالاکتام ها دارند این است که کانال هایی که در غشای خارجی وجود دارد را می بندند. آنتی بیوتیک برای رسیدن به دیواره باید از این کانال ها عبور کند که با بسته شدن آن ها مانع از نفوذ آنتی بیوتیک می شوند و باکتری به آن مقاوم می شود.



https://telegram.me/sarayedaneshjo

پنی سیلین ها:

حلقه ی تیازولیدین (پایه ی اسیدی) + حلقه ی بتالاکتام + زنجیره ی جانبی

انواع پنی سیلین ها:

۱- **پنی سیلین G** یا طبیعی که از قارچ پنی سیلیوم استخراج شده است. استفاده از آن حتما باید به صورت تزریقی باشد نه خوراکی زیرا نسبت به اسید معده حساس است و اولین پنی سیلینی است که وارد بازار شد.

پنی سیلین V همان پنی سیلین G است که در آزمایشگاه تغییر یافته و به صورت خوراکی درآمده است؛ زیرا نسبت به اسید معده مقاوم شده است. پنی سیلین G وV طبیعی هستند.

۲- **پنی سیلین های مقاوم به پنی سیلیناز یا بتالاکتاماز:** به صورت نیمه سنتتیک تولید می شوند و بر علیه گرم مثبت ها مخصوصا کوکسی های گرم مثبت به خوبی اثر می گذارند مانند: Naficillin،Methicillin، Xacillin، Cloxacillin

۳- **پنی سیلین های وسیع الطیف:** بر اثر اضافه کردن گروه آمینی به پنی سیلین G به وجود می آیند و به آن ها آمینوپنیسیلین گفته می شود. این دسته از پنی سیلین ها به راحتی از غشای خارجی عبور می کنند به همین دلیل روی باکتری های گرم منفی نیز به خوبی اثر می گذارند. مانند: Ampicillin،Amoxicillin، Ticarcillin، Carbonicillin

نکته: گروهی از انتی بیوتیک ها وجود دارند که ترکیبی از ممانعت کننده های بتالاکتاماز و آمینوپنیسیلین ها هستند. این داروهای ترکیبی وسیع الطیف هستند. مانند:

Ampicillin/Sulbactam

Amoxicillin/Clavulanic Acid

Piperacillin/Tazobactam

Ticarcillin/Clavulanic Acid

نویسنده: سارا میشیان

تایپ: مائده دوست محمدی، سعید جلیلی

ویرایش: مریم خراسانچی, علی لبافچی

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه یازدهم – کلیات باکتری)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

سفالوسپورین ها:

آنتی بیوتیک های وسیع‌الطیف و پرمصرفی هستند که دارای اثرات باکتریوسیدی می‌باشند. (از دهه ۱۹۷۰)

دو ویژگی دارند که کاربرد آن‌ها را زیاد کرده است:

۱- نسبت به سایر، بتالاکتام بیشتری در مقابل بتالاکتازها دارند.

۲- نیمه عمر طولانی‌تری دارند؛ یعنی بیشتر در بدن باقی می‌مانند و زمان بیشتری در مواجهه با باکتری قرار می‌گیرند.

نکته: سفالوسپورین ها در بتالاکتام ها بالاترین نیمه عمر را دارند و به همین دلیل جزء آنتی بیوتیک های خوب هستند و در قسمت استریل بدن، به خوبی ترشح می‌شوند و در این مناطق به غلظت خوبی می‌رسند.

نکته: هرچه نیمه عمر آنتی بیوتیک کوتاه تر باشد، زودتر از بدن دفع می‌شود و در نتیجه باید دوز بالاتری از آنتی بیوتیک مصرف شود تا در یک غلظت خاصی باقی بماند.

سفالوسپورین ها به صورت بیولوژیک تولید می‌شوند. از ارگانیسم (قارچ سفالوسپوریوم) تولید می‌شوند. شباهتشان با پنی‌سیلین ها در حلقه ی بتالاکتام است و تفاوتشان در بخش پایه اسیدی است. در سفالوسپورین ها حلقه ی دی‌هیدرو نیازین وجود دارد.

عوارض تجویز: سفالوسپورین ها در افراد حساس منجر به آنافیلاکسی، تب، راش‌های پوستی، نفریت، گرانولوسیتوپنی و کم‌خونی همولیتیک می‌گردند. به دنبال تزریق درون عروقی این داروها، ترومبو فلبیت و واکنش‌های شدید Disulfiram بروز پیدا می‌کند.

۴ نسل از سفالوسپورین ها وجود دارد که براساس طیف عملکردی شان **تقسیم‌بندی** می‌شوند:

هرچه از نسل ۱به ۴ پیش می‌رویم، وسیع‌الطیف تر می‌شوند و به خصوص علیه باکتری‌های گرم منفی اثرشان بهتر می‌شود. برای مثال آنتی بیوتیک‌هایی که در نسل اول هستند عمدتاً برعلیه باکتری‌های گرم مثبت موثر هستند و کمتر برعلیه گرم منفی‌ها اثر می‌کنند. به همین جهت بیشتر در عفونت‌های گرم مثبت از آن‌ها استفاده می‌شود (به خصوص استرپتوکوک ها).

نسل اول: معروف ترینشان سفالوتین (Cephalothin) و سفازولین (Cefazolin) هستند. این دو آنتی‌بیوتیک تزریقی هستند و در درمان عفونت‌های گرم مثبت، به خصوص استرپتوکوک ها، نقش بسیار مهمی دارند.

نسل دوم: معروف ترین آنتی‌بیوتیک های این نسل Cefuroxim و Cefoxitin هستند که همچنان برعلیه گرم مثبت ها اثر دارند ولی مقدار طیف عملکردی شان برعلیه گرم منفی ها گسترش پیدا کرده است (تقریباً به نسبت ۵۰-۵۰) – اکثراً تزریقی اند.

نسل سوم: آنتی‌بیوتیک های مهم این نسل Ceftizoxime–Ceftraxone–Cefotaxim هستند. این دسته پرکاربردترین هستند که عمدتاً برعلیه باکتری‌های گرم منفی به کار می‌روند. مثل باسیل‌های گرم منفی انتروباکتر، پرتئوس ، کلبسیلا و کوکسی های گرم منفی مثل گونوکوک و منگوکوک، عمدتاً تزریقی هستند (Cefexim تنها آنتی‌بیوتیک Oral نسل سوم است.) و آنتی‌بیوتیک های مفیدی مخصوصا در درمان عفونت منتژیت هستند. ترشحات این آنتی‌بیوتیک ها در CSF خیلی خوب است؛ چون CSF از مکان‌هایی است که نفوذ آنتی‌بیوتیک به درونش خیلی ضعیف صورت می‌گیرد و خیلی از آنتی‌بیوتیک ها نمی‌توانند به آن نفوذ کنند.

نسل چهارم: آنتی‌بیوتیک هایی هستند که به صورت اختصاصی روی باکتری سودوموناس اثر می‌گذارند چون این باکتری بیشتر اوقات به نسل سوم هم مقاوم است. مهمترین باکتری نسل۴ که عمدتاً برای عفونت‌های سودوموناس استفاده می‌شود Cefepime است. علاوه براین Cefiperome هم جزء آنتی‌بیوتیک های جدید این نسل است.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

مکانیسم‌های مقاومت باکتری به بتالاکتام ها:

۱- **Alteration Membrane Permeability باکتری غشاء خارجی‌اش را نسبت به ورود آنتی‌بیوتیک نفوذ ناپذیر می‌کند** ← انحصاراً باکتری‌های گرم منفی پورین‌ها و کانال‌های غشاء خارجی‌شان را تغییر می‌دهند، در نتیجه اجازه نفوذ آنتی‌بیوتیک بتالاکتام را به فضای پری پلاسمیک نمی‌دهند.

۲- **Alternation Of Target Affinity (تغییر تمایل اتصال به هدف):** هدف بتالاکتام ها، اتصال به ترانس پپتیداز ها (Penicilin Binding Pr →PBP) است. باکتری ها ۶ نوع ترانس پپتیداز دارند. بعضی اوقات موتاسیون نقطه‌ای در ژن‌های سنتز کننده PBP باعث تغییر ساختار فضایی آن می‌شود و در نتیجه ترانس پپتیداز کمتر به بتالاکتام متصل می‌شود (تمایلشان تغییر می‌کند)، که علتی برای مقاومت است.

باکتری‌هایی مثل انتروکوک‌ها به طور ذاتی نسبت به بتالاکتام‌ها مقاوم اند. چون PBP هایش تغییر پیدا کرده و تمایل اتصال به بتالاکتام را ندارند.

۳- **Effects of Beta Lactamase اثر آنزیم بتالاکتاماز (پنی سلیناز):** مهمترین مکانیسم باکتری‌ها برای مقاومت به بتالاکتام‌ها است. باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، انواع بتالاکتاماز تولید می‌کنند (۴کلاس← A,B,C,D) که می‌تواند بتالاکتام‌ها را غیرفعال کند.

مکانیسم عمل بتالاکتاماز ← حلقه‌ی بتالاکتام را می‌شکند و دیگر پنی‌سیلین نمی‌تواند به ترانس پپتیداز بچسبند.

نکته: هر بتالاکتامازی همه‌ی بتالاکتام‌ها را نمی‌تواند نابود کند؛ برای مثال:

سفالوسپورنیاز: بتالاکتامازی که عمدتا سفالوسپورین‌ها را غیرفعال می‌کند.

پنی‌سلیناز: بتالاکتامازی که عمدتا پنی‌سلین‌ها را غیرفعال می‌کند.

کاربا‌پنماز: بتالاکتامازی که عمدتا کاربا‌پنم ها را غیرفعال می‌کند.

بعضی از بتالاکتاماز ها وسیع‌الطیف هستند و انواع و اقسام بتالاکتام‌ها را غیر فعال می‌کنند که به آن‌ها ESBL (Extended Spectro B.L می‌گویند. باکتری‌ای که ESBL تولید می‌کند، خطرناک است؛ مانند : Ecoli و کلبسیلا. (تعداد کمی از باکتری‌ها ESBL تولید می‌کنند.)

۴- **Tolerance**: باکتری ها نسبت به بتالاکتام ها تحمل پیدا می‌کنند؛ یعنی به ترانس پپتیداز متصل می‌شود (ترانس پپتیداز تغییر نکرده) ولی به دلیل موتاسیون در ژن‌های اتولایزین و از بین رفتن خاصیت آنزیمی اش، اتولایزین عمل نمی کند در نتیجه دیواره باکتری لیز نمی شود و در این حالت باکتری نسبت به بتالاکتام حساسیت بالایی ندارد. در نتیجه غلظت‌های زیادی از آنتی بیوتیک باید داده شود تا رشد باکتری متوقف شود ولی در این حالت نمی‌توان از بتالاکتام استفاده کرد چون غلظت های بالا از حد تحمل غلظت سرمی بالاتر می‌رود. در این‌گونه موارد باید آنتی بیوتیک را تغییر داد.

دسته ی دوم انتی بیوتیک های موثر بر دیواره ی سلولی:

آنتی‌بیوتیک‌های گلیکوپپتیدی: مانع سنتز دیواره می‌شوند. ۲ گروه آنتی بیوتیک در این دسته هستند:

۱- ونکومایسین Vancomysin

۲- تیکوپلانین Teicoplanin

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

این دو آنتی‌بیوتیک در درمان باکتری‌های گرم مثبت مهم هستند.گرم منفی ها به دلیل اندازه خیلی بزرگشان از کانال غشاء خارجی عبور نمی کنند، به همین دلیل گرم منفی ها نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها مقاومت ذاتی دارند.

مکانیسم عمل ونکومایسین: این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها به Ala-D انتهایی پیش‌سازهای دیواره سلولی متصل شده و اجازه نمی‌دهند ترانس پپتیداز عمل کرده و مانع عمل Cross Link می‌شود و در نهایت مانع تشکیل صحیح دیواره سلولی می‌شوند.

از باکتری‌های ایجاد کننده عفونت بیمارستانی، استاف اورئوس است که در ابتدا برای درمانش از پنی‌سیلین استفاده کردند و خیلی سریع نسبت به آن مقاوم شد. به همین دلیل از پنی‌سیلین‌های مقاوم به بتالاکتاماز مثل متی‌سیلین، Nafcillin(نفسیلین) ، کلوکساسیلین استفاده کردند. بعد از مدتی (اخیراً) به شدت سویه‌های استاف اورئوس مقاوم به متی‌سیلین افزایش پیدا کرده است ← MRSA ← استاف اورئوسی که نسبت به متی‌سیلین مقاوم است. باکتری هایی که به متی‌سیلین جواب نمی‌دهند، به بقیه بتالاکتام‌ها هم جواب نمی‌دهند بنابراین به عنوان درمان جایگزین از ونکومایسین استفاده می‌کنیم.

مکانیسم ایجاد مقاومت باکتری به ونکومایسین:

دو آمینواسید آخر که (D)Ala - (D)Ala است را باکتری تبدیل به (D)Lac - (D)Ala (لاکتات) می‌کند و در نتیجه ونکومایسین قادر نخواهد بود به آن متصل شود و باکتری نسبت به ونکومایسین مقاوم می شود.

باکتری ها سنسورهای غشایی برای حس کردن محیط دارند، در نتیجه وقتی ونکومایسین در محیط باشد باکتری ژن‌هایی را بیان می‌کند که با آنزیم‌هایی که تولید می‌شود پیروات به لاکتات تبدیل می شود و (D)Lac - (D)Ala تولید می‌شود. وقتی ونکومایسین از محیط رفت دوباره تبدیل به (D)Ala - (D)Ala می‌شود.

+ **استافیلوکوک ها و اینتروکوک ها**: ذاتاً مقاوم نیستند و در صورت وجود ونکومایسین با مکانیسم بالا مقاومت ایجاد می‌کنند.

+ **لاکتوباسیل – لوکونوستوک:** باکتری هایی که ذاتاً دو آمینواسید آخر آن‌ها (D)Lac - (D)Ala است و به طور ذاتی نسبت به ونکومایسین مقاوم هستند.

+ **باسیتراسین (Bacitracin) و سیکلوسرین (Cycloserine)**: دو آنتی‌بیوتیک دیگر که روی سنتز دیواره سلولی اثر می‌گذارند (مانع از سنتز دیواره سلولی می‌شوند).

باسیتراسین عمدتاً برای درمان گرم مثبت ها به خصوص به صورت موضعی استفاده می‌شود. برای عفونت های سطح پوست کاربرد دارد چون اگر به صورت سیستمیک استفاده شود توکسیک است. برای همین آنتی‌بیوتیک‌هایش عمدتاً به صورت موضعی است.

مکانیسم عمل Bacitracin: همانطور که میدانیم پیش‌سازهای دیواره سلولی در سیتوپلاسم تولید شده و به وسیله ناقلی به اسم باکتوپرنول (که در غشا قرار دارد) از غشاء سیتوپلاسمی گذشته و در ساختار دیواره سلولی قرار می‌گیرند.

باکتوپرنول به دو صورت مونوفسفات و دی‌فسفات وجود دارد. فرم مونوفسفات فرم فعال باکتوپرنول بوده و به پیش‌ساز می‌تواند اتصال یابد. در حین انتقال پیش‌ساز، یک گروه فسفات به باکتوپرنول مونوفسفات اضافه شده و آن را به صورت غیرفعال باکتوپرنول دی فسفات تبدیل می‌کند. باکتوپرنول دی‌فسفات برای این که دوباره به فرم فعال در بیاید باید یک فسفات خود را از دست بدهد (دفسفریله شود).

باسیتراسین مانع تبدیل باکتوپرنول دی فسفات به مونوفسفات شده و از انتقال پیش سازها ممانعت می کند در نتیجه دیواره سلولی ساخته نمی‌شود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

+ سیکلوسرین آنتی بیوتیک برای درمان مایکوباکتریوم ها و عمدتا برای درمان عفونت سل استفاده می شود.

مکانیسم عمل سیکلوسرین: پیش سازهای دیواره ۵ آمینواسید دارند. ابتدا ۳ آمینواسید اول قرار گرفته سپس (D)Ala - (D)Ala ساخته شده و به صورت یک دی پپتید اضافه می‌شود به ۳آمینواسید اول. برای اضافه شدن این دی پپتید دو آنزیم لازم است: آلانین راسماز+ (D)Ala - (D)Ala)پپتیداز. سیکلوسرین با مهار این دو آنزیم مانع سنتز پیش سازهای دیواره سلولی می شود.

آنتی بیوتیکهای موثر روی غشاء سیتوپلاسمی باکتری:

۱- Polymixine E(Colistin) و Polymixin B

۲- Daptomycin

توضیح مورد ۱: پلی پپتیدهای حلقوی هستند که مثل دترژانت عمل می کنند و با نفوذ به غشاء فسفولیپید های غشا را تخریب می کنند و باکتری از بین می رود و عمدتا روی گرم منفی ها اثر دارند (عمدتا روی خارجی اثر گذاشته و APS غشا خارجی را تخریب می کنند، البته روی غشا سیتوپلاسمی نیز اثر دارند). ایرادی که دارد این است که مصرف سیستمیک آن عوارض بالینی فراوانی دارد، به همین دلیل کمتر تجویز می شود.

توضیح مورد ۲: Daptomycin اثر توکسیک آن نسبت به Colistin کمتر است ولی همان اثر را داردو کمتر باکتری ها نسبت به آن مقاوم اند.

داپتومایسین با مکانیسمی که وابسته به Ca است به غشای سیتوپلاسمی متصل می‌شود و ایجاد سوراخ و کانال می‌کند که باعث می‌شود یون‌های ضروری داخل باکتری، به خصوص K، از باکتری خارج شوند و در نتیجه متابولیسم باکتری متوقف می‌شود و از بین می‌رود؛ در واقع باعث دپلیریزه شدن باکتری می‌شود و شارژ الکتریکی غشا را به هم می‌زند و غشا را کامل تخریب نمی‌کند و روی فسفولیپید هم اثر نمی‌گذارد، فقط غشا را نسبت به یون های اصلی باکتری نفوذ پذیر می‌کند.

آنتی بیوتیک های موثر در سنتز پروتئین باکتری:

ریبوزوم باکتری ها از دو زیر واحد ۳۰s و ۵۰s تشکیل شده است. بر این اساس این گروه آنتی بیوتیک ها را به دو دسته تقسیم می‌کنند:
۱- آنهایی که روی زیر واحد ۳۰s اثر می‌گذارند.

۲- آنهایی که روی زیر واحد ۵۰ اثر می‌گذارند.

آنتی بیوتیک هایی که روی زیر واحد ۳۰s اثر می‌گذارند:

۱- **آمینو گلیکوزیدها** ← معروف ترین و قدیمی ترین شان استرپتومایسین است. بعلاوه ی Neomycin – Tobramycin Gentamycin - Amikacin - Spectinomycin

گروه بزرگی از آنتی بیوتیک ها هستند که خاصیت باکتریوسیدال دارند؛ این گروه با اتصال به زیرواحد ۳۰s ریبوزوم باعث توقف پروتئین سازی می‌شوند (چون به صورت غیر قابل بازگشت به ریبوزوم متصل می‌شوند، باکتریوسیدال هستند).

مکانیسم عمل: با اتصال به زیر واحد ۳۰s باعث خطا خوانده شدن mRNA شده (miss reading) و پروتئین اشتباهی تولید می‌کند که غیر عملکردی هستند. حتی بعضی اوقات باعث می شود که mRNA از ریبوزوم جدا شده و پروتئین ساخته نشود. عیب این دسته این است که روی باکتری‌های بی هوازی اثر ندارند.

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

+ در حفره دهان عمده باکتری‌های فلور نرمال بی هوازی هستند.

دو آنتی‌بیوتیک که استفاده زیادی برای درمان باکتری‌های بی هوازی دارند (مخصوص آب‌های حفره دهان و لثه):

۱- کلیندامایسین ۲- ایمی پنم (کارباپنم ها)

مکانیسم ایجاد مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزید ها: باکتری با ایجاد آنزیم هایی باعث تغییر ساختار شیمیایی و غیر فعال شدن آمینوگلیکوزیدها می شود. این آنزیم ها با اضافه کردن گروه های استیل (استیل ترانسفراز)، فسفات (فسفات ترانسفراز) و آدنیل (آدنیل ترانسفراز) باعث تغییر ساختار آنتی بیوتیک شده، در نتیجه به زیر واحد ۳۰s متصل نمی‌شود. این ۳ آنزیم عمدتا روی پلازمید قرار دارد، در نتیجه به راحتی از طریق Conjugation این ژن‌ها منتقل می‌شوند.

+ چرا آمینو گلیکوزید ها روی باکتری‌های بی هوازی اثر ندارند؟ انتقال آمینوگلیکوزیدها به داخل فضای سیتوپلاسمی باکتری توسط یک مکانیسم وابسته به هوازی و E انجام می‌شود؛ اما باکتری‌های غیر هوازی چون سطح E آنقدر بالایی برای داخل کردن آمینوگلیکوزیدها ندارند، از این باکتری‌ها مصون می‌مانند.

۲- **تترا سایکلین**: بسیار وسیع الطیف است (هم روی گرم مثبت و هم گرم منفی و هم بی هوازی و هوازی اثر می‌گذارد). به علت کوچک بودن ساختار، نفوذش به سلول‌های یوکاریوتی نیز آسان بوده و روی باکتری‌های درون سلولی نیز تاثیر می‌گذارد. و در درمان عفونت‌های داخل سلولی مثل کلامیدیا – ریکتزیا و بروسلا استفاده می‌شود.
در بچه های زیر ۸ سال استفاده نمی‌شود؛ زیرا روی دندانها اثرات بدی می‌گذارد. (تغییر رنگ و زردی) و در خانمهای باردار نیز استفاده نمی‌شود.

این آنتی بیوتیک بر روی زیرواحد ۳۰S ریبوزوم اثر می‌گذارد. تتراسایکلین - داکسی سایکلین - مانیو سیکلین جزء این گروه هستند.

یکی از عیب های تتراسایکلین این است، باکتریو استاتیک است. (با زیرواحد ۳۰S اتصال برگشت‌پذیر دارد.)

مکانیسم عمل تتراسایکلین: این آنتی بیوتیک به جایگاه A ریبوزوم در زیرواحد ۳۰S متصل شده و مانع متصل شدن آمینواسید به این جایگاه می‌شود. (آمینواسید جدید به زنجیره پلی پپتیدی در حال ساخت اضافه نمی‌شود.)

+ **مکانیسم مقاومت نسبت به تتراسایکلین:**

۱- باکتری با ساختن آنزیم‌هایی باعث تغییر ساختار تتراسایکلین می‌شود.

۲- باکتری پروتئین های زیرواحد ۳۰s خود را تغییر می دهد (تغییر هدف)؛ یعنی تتراسایکلین دیگر نمی تواند به زیرواحد ۳۰s متصل شود.

۳- این راه بسیار مهم است و در مورد بسیاری از آنتی بیوتیک ها وجود دارد ← Efflux Pump ← Efflux پمپ سنتز می شود که آنتی‌بیوتیک هایی (مخصوصاً آنتی بیوتیک هایی که وارد سیتوپلاسم می‌شوند.) را خارج کند. به این صورت که با دخالت چندین پروتئین پمپ مکنده تولید می‌کند که آنتی بیوتیک را به بیرون بفرستد می‌کنند.

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

Antibiotics	Mode of action	Resistance
1. Betalactams		
A. Penicillins B. Cephalosporins C. Monobactams D. Carbapenems	با اتصال به PBPs قابلیت ممانعت از ترانس پپتیداسیون و در نتیجه دیواره سست و سپس آنزیم های اتولیتیک فعال و دیواره را برش می دهند	1. مقاومت ذاتی 2. تولید بتالاکتاماز 3. تغییر در ساختار PBP
2. Vancomycin	اتصال به انتهای آسیل Dآلانین Dآلانین از عملکرد PBP ها جلوگیری و مانع ایجاد پل عرضی	1. مقاومت ذاتی 2. تغییر Dآلانین پنجم
3. Bacitracin	تاثیر بر آنزیم پیرو فسفاتاز و مهار باکتوپرونل	
4. Cycloserin	بعنوان آنالوگ Dآلانین و قابلیت اتصال به آلانین راسماز و بجای D آلانین وارد پنتاپپتید میگردد	1. افزایش آنزیم آلانین راسماز

Antibiotics	Typs	Mode of action	Resistance mechanisms
A. Inhibit 50s Subunit			
Chloramphenicol		ممانعت از فعالیت پپتیدیل ترانسفرازی ریبوزوم	1. پلاسمیدی: استیل ترانسفراز 2. کروموزومی: تغییر در نفوذپذیری
Macrolides	Azitromycin Clarithromycin Erithromycin	ممانعت از رهایی tRNA و ممانعت از ترانس لوکاسیون	1. متیله کردن گیرنده ها
Lincosamides	Clindamycin	شکستگی پلی زوم ها و ممانعت از ترانس لوکاسیون	۱. متیله کردن گیرنده ها
Streptogramins	Quinupristin Dalfopristin		
B. Inhibit 30s Subunit			
Aminoglycosides	Kanamycin Neomycin Gentamycin Amikacin Spectinimycin	ممانعت از تشکیل کمپلکس اولیه اشتباه در خواندن mRNA ممانعت از تصحیح (proofreading) تبدیل پلی زوم به منوزوم	۱- پلاسمیدی: آنزیم های استیلاز، آدنیلاز و فسفریلاز ۲- کروموزومی: تغییر در گیرنده دارو
Tetracyclin	Doxicyclin Tetracyclin	از اتصال آمینوآسیل tRNA جلوگیری می کند	۱. پلاسمیدی: پمپ غشایی efflux ۲. کروموزومی: اختلال در نفوذپذیری

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

Antibiotics	Mode of action	Resistance
Actinomycin D	با باز گوانین در روی رشته DNA کمپلکس شده و در مرحله رونویسی mRNA از DNA مانع قرار گیری باز سیتوزین میشود	
Quinolone fluoroquinolones	با DNA ژیراز (توپوایزومراز II) کمپلکس تشکیل داده و مانع از عملکرد آن و در نتیجه مانع همانند سازی	تغییر در آنزیم DNA ژیراز
Rifampin	ریفامپین با زیر واحد β آنزیم RNA پلیمراز کمپلکس گشته و مانع ساخت mRNA میگردد.	جهش کروموزومی در آنزیم

نویسنده: شقایق رفیعی تایپ: زهرا حسینی ویرایش: مریم خراسانچی, علی لبافچی

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

جزوه باکتری شناسی

دکتر فارسیانی

(جلسه دوازده – کلیات باکتری)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

آنتی بیوتیک هایی که مانع از سنتز پروتئین میشوند در دو دسته طبقه بندی میشوند:

1) روی زیر واحد 30s اثر میگذارند
2) روی زیر واحد 50s اثر میگذارند

دسته ای که روی زیر واحد 50s اثر میگذارند, شامل:

A. ماکرولید ها: مهمترین انتی بیوتیک هایی که به زیر واحد 50s متصل میشوند. مهمترین ماکرولید ها عبارتند از: اریترومایسین و کلایترومایسین و آزیترومایسین.
B. کتولیدها: مهمترین کتولید, کلیترومایسین است که جزو انتی بیوتیک های نسبتا جدید به حساب میاید
C. کلرامفنیکل
D. لینکوزامید ها: شامل کلیندومایسین و لینکومایسین است و اثر بسیار خوبی روی باکتری های بی هوازی و عفونت های بی هوازی دارد.
E. استرپتوکولین ها: شامل کوینوپریسین و دالفوپریستین میباشد که این دو انتی بیوتیک اثر سینرژیسم دارند و به همین دلیل با هم استفاده میشوند و در درمان هایی که مقاوم به ونکومایسین هستند, کاربرد دارند.

ماکرولید ها و کتولیدها و لینکوزامید ها به rRNA 23s متصل میشوند و کلرامفنیکل روی پروتئین های ریبوزومی اثر میگذارد. (rrna 23s خاصیت انزیمی دارد و به اصطلاح ریبوزین است)

برقراری پیوند پپتدی بین زنجیره پلی پپتیدی در حال ساخت و اسیدامینه جدیدی که وارد ریبوزوم میشود (مرحله a longation) به عهده rRNA 23s میباشد. انتی بیوتیک نیز برای اثرگذاری به این rrna متصل میشود و اجازه پیوند را نمیدهد, در نتیجه پروتئین سازی در مرحله a long ation متوقف میشود.

در ارتباط با این که برقراری پیوند پپتیدی بین زنجیره پپتیدی در حال ساخت و اسید امینه جدید (خاصییت پپتیدیل ترانسفرازی) به عهده پروتئین های ریبوزومی است و یا rrna 23s, اختلاف نظر وجود دارد. حتی عده ای معتقدند که هر دو باید باهم فعالیت کنند.

انتی بیوتیک هایی که به زیر واحد 50s متصل میشوند, عمدتا باکتریواستاتیک هستند یعنی تا وقتی حضور دارند پروتئین سازی متوقف میشود ولی به محض خروج از محیط پروتئین سازی ادامه پیدا میکند, این انتی بیوتیک ها, فقط در غلظت های بالا میتوانند باکتروسیدال باشند. همچنین آمینوگلیکوزید ها نیز باکتریوسیدال هستند (باکتروسیدال: در حضور و عدم حضور این انتی بیوتیک ها, پروتیئن سازی متوقف میشود)

در ارتباط با استرتپوگرامین ها مکانیسم عمل دقیقا مشخص نیست ولی برخی معتقدند این انتی بیوتیک ها باعث جدا شدن زیر واحد 30s از 50s میشود و در نتیجه پروتئین سازی متوقف میشود.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

- مقاومت به کلرامفنیکل: انزیم کلرامفنیکل استیل ترانسفراز که به انتی بیوتیک گروه استیل اضافه میکند, باعث غیر فعال شدن انتی بیوتیک میشود.

کلرامفنیکل به علت نفوذ خوبی که در باکتری دارد انتی بیوتیک موثری (به خصوص در درمان عفونت های سالمونلایی) است, ولی دارای عوارض جانبی زیادی میباشد. طی تحقیقاتی مشخص شد، افرادی که در طولانی مدت از کلرامفنیکل استفاده میکنند دچار انمی اپلاستیک میشوند. با تحقیقات بیشتر مشخص شد کلرامفنیکل روی پروتئین سازی میتوکندری نیز تاثیر دارد. خصوصا میتوکندری سلول های مغز استخوان و باعث از بین رفتن سلول های مغز استخوان میشود.

مقاومت به ماکرولید ها از دو طریق ایجاد میشود:

1) از طریق موتاسیون در ژن کد کننده rRNA23s
2) متیلاسیون Rrna23s و در نتیجه تغییر ساختمان Rrna23s

به این طریق ماکرولیدها نمیتوانند روی rrna23s اثر بگذارند

به این نوع مقاومت در باکتری ها, تغییر هدف گویند, که طی این فرایند باکتری روی انتی بیوتیک اثی نمیگذارد بلکه روی هدف انتی بیوتیک تغییر ایجاد میکند.

دسته ای که مانع از سنتز اسید های نوکلوئیک میشوند:

این دسته از انتی بیوتیک هایی که مانع از سنتز دیواره سلولی میشوند, باکتریوسیدال هستند.

انواع این انتی بیوتیک ها عبارتند از:

1) ریفامپین
2) کینولون ها و فلوروکینولون ها که شامل: سیپروفلوکساسین, نوفلوکساسین, لوفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید
3) نووبیوسین
4) مترونیدازول

ریفامپین یک انتی بیوتیک خوراکی است که به خوبی از سیستم گوارش جذب میشود و عملکرد خوبی روی اکثر باکتری ها دارد.

میکانیسم اثر ریفامپین: ریفامپین روی زیر واحد بتای RNA پلی مراز که زیر واحد عملکردی میباشد و فعالیت پلیمرازی دارد اثر گذاشته و RNA پلیمراز باکتری را غیرفعال میکند.

RNA پلیمراز مسئول سنتز Mrna و rrna و به طور کل هر نوع rna که از روی dna نسخه برداری میشود, میباشد و با جلوگیری از سنتز mRNA, از سنتز پروتئین جلوگیری میکند. همچنین در صورت عدم سنتز rRNA, از سنتز ریبوزوم جلوگیری میشود و این فرایند ها باعث توقف رشد باکتری خواهد شد.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

ریفامپین یکی از انتی بیوتیک های موثر برای درمان سل میباشد, غیر فعال کردن مایکوباکتریوم توبرکلوسیز یک دوره ۹-۶ ماهه دارد و دو انتی بیوتیک همیشه پای ثابت این درمان هستند که ریفامپین یکی از انها میباشد. نقطه ضعف ریفامپین مقاومت بالای باکتری ها میباشد (در صورتی که به تنهایی استفاده شود) به همین علت عموما ریفامپین به صورت ترکیبی استفاده میشود.

مقاومت به ریفامپین به صورت تغییر بخش هدف انتی بیوتیک می باشد.

کینولون ها و فلوروکونولون ها: گروه بزرگی از انتی بیوتیک ها هستند و اولین انتی بیوتیک از این گروه وارد شده مربوط به دهه ۱۹۴۰ است و به نام نالیدیکسیک اسید مباشد که حدود ۱۵-۱۰ سال اول خیلی خوب جواب داد ولی بعد باکتری ها به شدت نسبت به ایت انتی بیوتیک مقاومت نشان دادند.

در ادامه متخصصین دسته جدیدی از کینولون ها به نام فلوروکینولون ها را وارد بازار کردند که بسیار موثر واقع شد (البته درصد کمی مقاومت نسبت به این انتی بیوتیک ها نیز مشاهده شد) نورفلوکساسین و لووفلوکساسین مثال هایی از این گروه میباشند. همچنین دو انتی بیوتیک نورفلوکساسین و سیکلوفلوکساسین برای درمان عفونت های ادراری در صورتی که باکتری به سایر انتی بوتیک ها مقاوم باشد قابل استفاده است.

میکانیسم عمل: این گروه از انتی بیوتیک ها با تاثیر روی بخش A (بخش عملکردی) dna ژیداز که نوعی توپوایزومراز میباشد, این انزیم را غیر فعال کرده و باعث میشود dna باکتری به صورت supercoil باقی بماند و در نتیجه از تکثیر باکتری جلوگیری شود.

نووبیوسین با تاثیر روی بخش B (بخش تامین انرژی) DNA ژیداز باعث جلوگیری از تکثیر باکتری میشود.

در التهاب دستگاه واژنیال (واژنیت) برخی باکتری های نقش دارند و مترونیدازول برای درمان این بیماری ها مورد استفاده قرار میگیرد. همچنین از این انتی بیوتیک برای درمان عفونت های بی هوازی در دستگاه گوارش استفاده میشود. عامل این عفونت کلستریوم .....میباشد که کولون را درگیر میکند و باعث تخریب کولون میشود و به طور کلی از مترونیدازول برای درمان عفونت های بی هوازی بخصوص در دستگاه واژینال و گوارش استفاده میشود.

میکانیسم عمل مترونیدازول دقیقا مشخص نیست ولی دیده شده نفوذ خوبی در باکتری دارد و در داخل باکتری توسط یکی از انزیم های خود باکتری احیا و فعال میشود و باعث شکستگی در DNA باکتری میشود و در نتیجه همانندسازی باکتری را متوقف خواهد کرد.

یکی از معایب مترونیدازول تخریب فلورنرمال میباشد, چون نسبت زیادی از فلور نرمال بدن بی هوازی هستند.

آنتی بیوتیک های انتی متابولیک:

این دسته از انتی بیوتیک ها باعث غیر فعال شدن مسیر های متابولیسمی و توقف رشد باکتری میباشند. این دسته از انتی بیوتیک ها عموما باکترویواستاتیک میباشند و شامل موارد زیر میباشد:

1) سولفونامید ها (سولفومتوکسازین)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

2) تری متوپریم

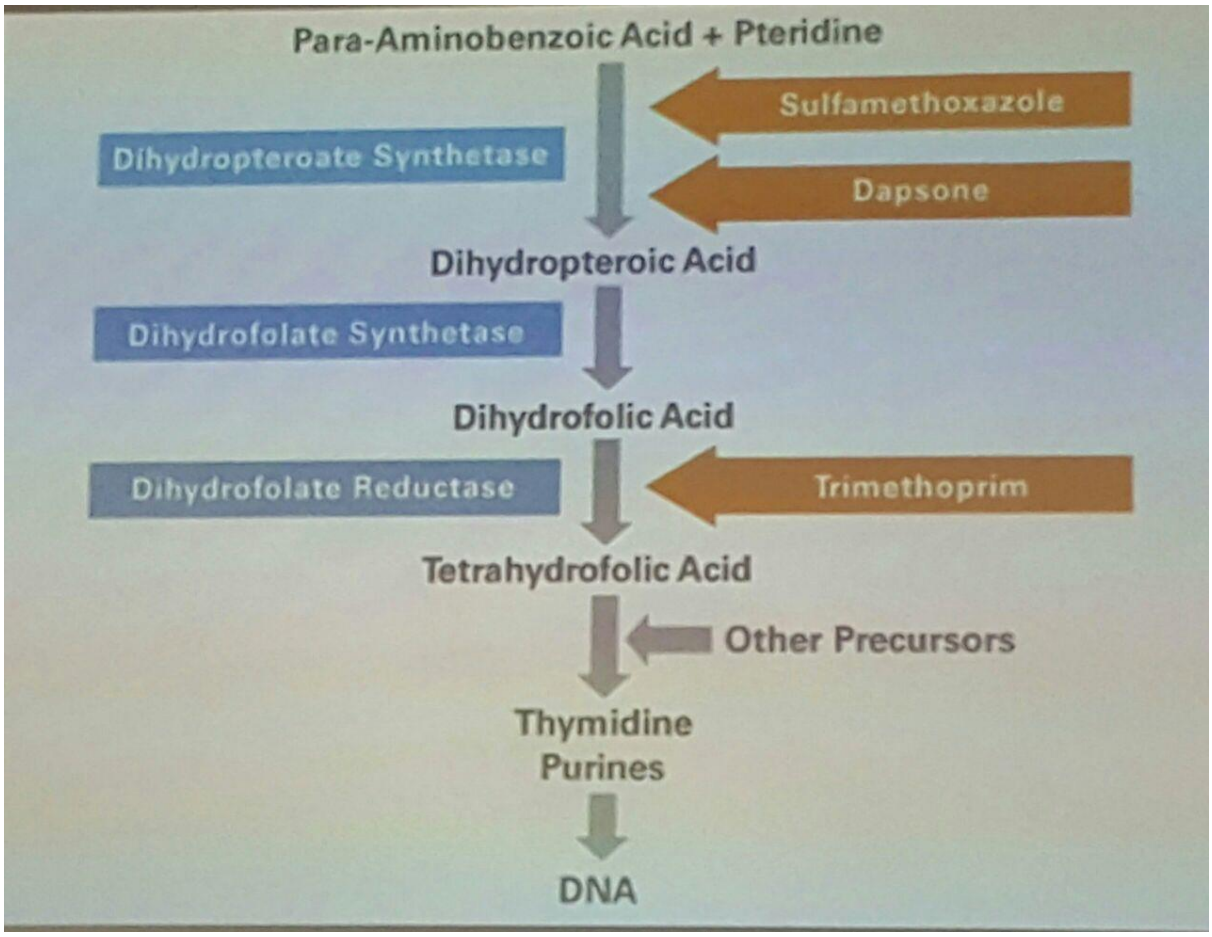
3) داپسون (برای درمان جذام و سل)

4) پاراا امینو سالیسلیک اسید (در عفونت های ادرای و درمان سل)

در درمان سولفونامید و تری متوپریم دو انتی بیوتیکی هستند که اثر سینرژیسم دارند (یعنی برای درمان موثر باید با هم استفاده شوند)

در باکتری ها مسیر متابولیسیمی با عنوان سنتز اسید فولیک وجود دارد. اسید فولیک پیش ساز تولید بازهای الی پورین و اسید امینه (متیونین و گلایسین) می باشد و در صورت عدم تولید اسید فولیک موارد فوق الذکر تولید نمیشوند در نتیجه باکتری در تکثیر دچار مشکل میباشد.

در انسان اسید فولیک توسط مواد خوراکی به سلول ها میرسد. در شکل زیر مسیر متابولیسیم اسید فولیک و نحوه بلوک این مسیر توسط انواع انتی بیوتیک را مشاهده میکنیم.



Antimycobacterium Drugs: داروهایی هستند که ویژه مایکوباکتریوم ها هستند. (مایکوباکتریوم ها عامل ابتلا به جذام و سل می باشند.)

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

این داروها عبارتند از: ایزونیازید، اتیونامید، اتامبوتول، سیکلوسرین، کلوفازیمین، پیرازین آمید، ریفابوتین، ریفامپین، داپسون، پاراآمینوسالیسیلیک اسید

*ایزونیازید مانع از سنتز دیواره سلولی میشود. در پوشش مایکوباکتریوم ها چربی زیادی مشاهده میشود. یکی از انواع چربی ها اسید مایکولیک میباشد که ایزونیازید مانع از سنتز آن میشود. ایزونیازید و ریفامپین، دو داروی اصلی در درمان سل میباشند و اثر سینرژیسم دارند.

*اتیونامید آنتی بیوتیک موثری بر علیه عامل جذام (مایکوباکتریوم لپره) می باشد.

*اتامبوتول در درمان سل استفاده میشود و از سنتز دیواره سلولی در مایکوباکتریوم جلوگیری میکند.

*سیکلوسرین در مایکوباکتریوم (عامل سل و جذام) از سنتز دیواره سلولی جلوگیری میکند.

*کلوفازیمین در درمان جذام استفاده میشود.

*پیرازین آمید از سنتز دیواره سلولی در مایکوباکتریوم ها جلوگیری میکند.

* ریفابوتین و ریفامپین با غیر فعال کردن RNA پلیمراز از سنتز RNA جلوگیری میکنند.

فلور نرمال بدن

نوزاد تا زمانی که در مرحله جنینی است، استریل است ولی به محض عبور از کانال زایمانی از همان لحظه تولد، باکتری هایی به عنوان فلور نرمال روی بدن قرار میگیرند که نقش بسیار مهمی در جلوگیری از عفونت های باکتری های پاتوژن و تکامل سیستم ایمنی نوزاد دارند.

سه گروه باکتری در بدن داریم:

۱-پاتوژن ها: از طریق محیط وارد بدن میشوند، زندگی انگلی دارند. باعث آسیب بدن شده و عارضه بالینی دارند. مانند شیگلا و سالمونلا.

۲- فلور نرمال (میکروبیوتا): باکتری های مقیم در بخش های مختلف بدن هستند و نقش های مختلفی دارند. در انسان حدود ۱۰ برابر تعداد کل سلول های بدن، فلور نرمال وجوددارد. طی تحقیقاتی مشخص شده دسته ای از تفاوت های بین فردی نظیر استعداد چاقی، به علت تفاوت بین فلور نرمال بدن یک شخص با شخص دیگر است. فلور نرمال در فضاهایی وجود دارد که با محیط بیرون در ارتباط می باشد، مانند حفره دهانی.

پاتوژن های فرصت طلب (opportunistic pathogen) :فلور نرمال بدن در شرایطی که سیستم ایمنی تضعیف شود، و یا به نحوی شرایط فراهم شود، میتواند ایجاد عفونت کند.

فواید فلور نرمال:

۱.سطح سلول های بدن را می پوشاند و به باکتری های بیماری زا اجازه اتصال نمیدهد.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

۲.نقش بسیار مهمی در تکامل سیستم ایمنی دارد.

۳.به جذب مواد غذایی کمک میکند. مثلا بخش مهمی از ویتامین K مورد نیاز بدن توسط فلور نرمال دستگاه گوارش فراهم میشود.

بخش های مختلفی از بدن دارای فلور نرمال هستند مانند سطح پوست، دستگاه تناسلی، دستگاه گوارش. بخش هایی از بدن نیز استریل هستند و ورود هر نوع باکتری به این اعضا، عفونت تلقی میشود مانند عضلات.

فلور نرمال حفره دهانی عبارتند از:

1. استرپتوکوک های ویریدنس (کوکسی های گرم مثبت هستند) که مهم ترینشان استرپتو کوک موتانس است که نقش اصلی در پوسیدگی دندان را بر عهده دارد.
2. ویلونلا ها (کوکسی های گرم منفی هستند)
3. باسیل های گرم منفی بی هوازی
4. اسپیروکت های بی هوازی
5. نایسریا ها

عمده عفونت های دهان و دندان نیز مربوط به فلور نرمال میباشد. برعکس خیلی از عفونت های بدن، عفونت های دهان و دندان ، توسط فلو نرمال همین ناحیه ایجاد میشود.

مکانیسم بیماری زایی باکتری ها:

- Adherence (adhesion): اولین قدم برای بیمازی زایی باکتری ها اتصال است. باکتری ها برای این کار ملوکول هایی در سطح خود دارند که باعث اتصال به سلول میزبان میشود و جزو فاکتور های بیماری زایی باکتری به حساب می آید.
- Colonization: باکتری پس از اتصال به سطح سلول میزبان شروع به تکثیر میکند در غیر اینصورت نمیتواند بیماری زا باشد.
- Infection: مجموعه دو مرحله قبلی را عفونت میگویند. یعنی باکتری که به بدن وارد شده، به سطح سلول ها متصل شده و تکثیر پیدا کرده است.
- Disease: د صورتی که عفونت منجر به علایم بالینی شود، بیماری نامیده میشود.
- Invasion:به معنی تهاجم است. در تهاجم هموستازی سلول میزبان بهم میخورد و سلول از حالت نرمال خارج میشود.

نکته: فرق بین فلور نرمال بدن و پاتوژن در این است که فلور نرمال تا مرحله عفونت پیش میرود ولی پاتوژن ها مرحله بیماری و علایم بالینی را نیز طی میکنند.

نکته: پس از مرحله disease باکتری ها به دو گروه طبقه بندی میشوند. یک گروه توکسین و آنزیم ترشح میکنند و گروه دیگر تهاجم میکنند. خود تهاجم نیز نوعی disease به حساب می آید.

Pathogenicity: همه ملوکول ها و یا فاکتور هایی که به بیماری زایی باکتری کمک میکنند.

سرای دانشجو
SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo

Virulence factor: هریک از فاکتور هایی که باکتری برای بیماری زایی از آنها استفاده میکند. مثلا در مرحله اتصال، هر باکتری virulence factor خاص خود را دارد.

باکتری های بیماری زا علاوه بر فاکتور های لازم برای آسیب بافتی، فاکتور هایی برای فرار از سیستم ایمنی نیز دارند که این فاکتور ها نیز جزو virulence factor ها هستند مانند کپسول.

نویسنده: سپیده زاینده تایپ و ویرایش: علی لبافچی

سرای دانشجو SARAYEDANESHJO.COM
https://telegram.me/sarayedaneshjo