

طراحی نانو زیستگر حسی جهت تشخیص اگزوتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس

مؤلفین:

دکتر حامد اهری

عضو هیات علمی دانشکده آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
و دستیار دکترای تخصصی بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی

دکتر ویرا رضایی

عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
و استاد نمونه دانشگاه تهران

دکتر عباسعلی مطلبی

عضو هیات علمی وزارت کشاورزی

دکتر بهروز اکبری

عضو هیات علمی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

عنوان و نام پدیدآور	طراحی نانو زیستگر حسی جهت تشخیص اگزوتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس / مولفین حامد اهری ... [و دیگران]
مشخصات نشر	تهران : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۱۳۹۲.
مشخصات ظاهری	۴۳۰ ص. : مصور (رنگی)، جدول (رنگی)، نمودار (رنگی)؛ ۱۴/۵ × ۲۱/۵ س. م.
شابک	978-964-5856-78-4
وضعیت فهرست نویسی	فیا :
یادداشت	مولفین حامد اهری، ودود رضویلو، عباسعلی مطلبی، بهروز اکبری.
یادداشت	کتابنامه.
موضوع	زیست حسگرها
موضوع	استافیلوکوکوس ارئوس
نوع	نانوتکنولوژی
موضوع	تکنولوژی زیستی
شماره افزوده	اهری، حامد، [دکتر]، ۱۳۶۰-
سده افزوده	موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
رده بندی کتب	۱۳۹۲ ط ۹/۸۵۷ R
رده بندی دهی	۶۱۰/۲۸
شماره کتابشناختی	۳۱۷۵۷۵۴

نام کتاب : طراحی نانو زیستگر حسی جهت تشخیص اگزوتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس
مولفین : دکتر حامد اهری، دکتر ... رضویلو، دکتر عباسعلی مطلبی، دکتر بهروز اکبری
شمارگان : ۶۰۰ نسخه

چاپ اول : سال ۱۳۹۲

ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

ناظر چاپ : مدیریت اطلاعات و ارتباطات علمی و بین المللی
(بزرگراه تهران کرج، خروجی پیکان شهر، خیابان سرو زر، خیابان سرو آزاد، خیابان هشتم
غربی - بلوار باغ ملی گیاهشناسی - موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تلفن ۴۴۵۸۰۹۵۴ - (Web Add: www. ifro.ir)

شابک : ۹۷۸-۹۶۴-۵۸۵۶-۷۳-۹ (ISBN : 978- 964-5856-73-9)

قیمت : ۱۰۰۰۰۰ ریال

حق چاپ و نشر برای موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور محفوظ است.

قدردانی و سپاسگزاری

بدین وسیله از استاد فرهیخته و گرانقدر جناب آقای دکتر رضویلر استاد نمونه دانشگاه تهران که با شکیبایی هرچه تمام بنده و کاستی‌های ام را تحمل نمودند و در کل مسیر دوره تخصص افتخار تلمذ از رهنمودها و شیوه تدریس ایشان را داشتم بازبانی قاصر قدردانی می‌نمایم.

از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر مطلبی که با اخلاق و سعه صدر خویش باوجود کلیه مشکلات سمتی اجرائی ایشان در تمام زمان‌ها پاسخگو و پشتیبان واقعی بنده بودند سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر اکبری مشاور محترم بنده که تکه به تکه مسیر را همچون یک همکار دلسوز یاری رساندند و کلیه ندانسته‌های بنده در زمینه فنی و شیمی میکروب را به‌صورتی بسیار دادند و اجازه هیچ نقصانی را در پروژه را نمی‌داند تشکر و امتنان دارم.

از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر زهرائی که ورود مجدد من بعد از دوره عمومی و علاقه وافری پژوهش نتیجه راهنمایی ایشان و جناب دکتر طباطبائی به انسیتویاستویران برای انجام پروژه دوره دکترای عمومی بنده بود که با وجود عدم شناخت قبلی بنده حقیر را به درستی و به صحیح‌ترین وجهه راهنمایی نمودند کمال سپاس و امتنان را دارم.

از جناب آقای دکتر جوانبخت استاد نمونه دانشگاه امیرکبیر و جناب آقای دکتر شاکریان که با وجود دوری مسیر منت نهاده و داوری این طرح را پذیرفتند بسیار تشکر می‌نمایم.

و برادر عزیز و صادق امیرعلی انوار که همیشه و در همه شرایط در کنارم بوده و هست.

و در نهایت تقدیم به:

اولین اساتید زندگانی ام، مادر و پدر عزیزم.

چکیده

با توجه به رشد روزافزون جمعیت و صنعتی شدن سیر تکاملی حیات بشر دیگر با استفاده از روش‌های سنتی قادر به تشخیص سموم تولید شده در مواد غذایی نمی‌باشیم چرا که از لحاظ زمانی مدتی طولانی برای فرآورده‌های غذایی مقرون به صرفه نبوده و حتی در بسیاری از موارد دقت روش‌های کاربردی همچون محیط کشت باکتریایی و استفاده از خط‌های اپراتور و یا ترکیبات مصرفی می‌باشد غذا با پیشرفت تکنولوژی نانو، طراحی سنسورهای انتخابی و هوشمند یکی از بزرگترین چالش‌های صنعت کنترل کیفی مواد غذایی می‌باشد که امروزه زمان معادل چند دقیقه و هم با دقتی بسیار بالا می‌تواند تشخیص جرم و توکسین باکتری را انجام دهد. در این تحقیق، از پلیمر قالب مولکولی اگزوتوکسین باکتریایی به عنوان اصلاحگر برای بهبود خواص الکتروشیمیایی الکتروده غشایی PVC به منظور اندازه‌گیری اگزوتوکسین استفاده شده است.

در این روش از مونومرهای متاکریلیک اسید برای تهیه قالب مولکولی و تهیه پلیمر استفاده گردیده که با پیوند کوالانسی بین مونومرهای متاکریلیک اسید (MAA) پلی‌مر پلیمری سفید تشکیل شده، همچنین پیوند هیدرونی بین اسید آمینه اگزوتوکسین و متاکریلیک اسید بوجود می‌آید که عامل جذب انتخابی آن خواهد بود.

سپس در مرحله دوم سنسوری برپایه اتصال آنتی بادی باکتری به نانو پارتیکل استفاده شد که در این بخش از تحقیق از نانو ذرات سیلیکای با سایز متوسط ۱۰ نانومتر که بصورت پودر جامد می‌باشند با برند نوترینو به عنوان پایه جذب برای تشخیص توکسین باکتری استفاده، سپس سوسپانسیون حاصل از نانوسیلیکای عامل دار متصل به آنتی بادی باکتری را در مجاورت نمونه‌های آب مقطر آلوده به توکسین باکتری استافیلوکوکوس ارئوس با غلظت 10^{-3} قرار داده تا در صورت وجود توکسین در نمونه، اتصال بین آنتی ژن توکسین با آنتی بادی انجام بگیرد در نهایت بوسیله اسپکتروفتومتری میزان جذب نوری جهت اتصال آنتی ژن به آنتی بادی متصل به پارتیکل سنجیده شد که نتایج بدست آمده از آن است که تا رقت 10^{-3} سنسور پلی‌مر قالب مولکولی قابل تشخیص می‌باشد و رقت‌های رقیق‌تر قابل ردیابی نمی‌باشد. سنسور دوم تا رقت 10^{-4} قابل ردیابی می‌باشد. همچنین حساسیت سنسور تا ۶۰ روزگی مورد بررسی قرار گرفت که سنسور ۱ تا ۲۸ روزگی ولی سنسور دوم تا ۵۶ روزگی مورد تایید بوده و بعد از زمان مذکور رو به کاهش قرار گرفت.

فصل اول: مقدمه و کلیات

- ۱-۱ طبقه بندی ا نافیای کوکوس ۳
- ۱-۲ خصوصیات استایلر ک ۱ ۴
- ۱-۲-۱ شکل ۴
- ۱-۲-۲ ساختمان سلولی ۴
- ۱-۲-۳ کپسول ۴
- ۱-۲-۴ متابولیسم ۴
- ۱-۳ تفریق استایلوکوک طلایی از سایر جنس ها ۵
- ۱-۴ تایپینگ استایلوکوک طلایی ۶
- ۱-۴-۱ سرو تایپینگ ۶
- ۱-۴-۲ فاز تایپینگ ۶
- ۱-۴-۳ بیوتاایپینگ ۶
- ۱-۴-۴ سایر روش های تایپینگ ۶
- ۱-۵ طبقه بندی ۷
- ۱-۵-۱ بر اساس ترکیبات آنتی ژنتیک ۷
- ۱-۵-۲ بر اساس نوع باکتریوفاز ۷
- ۱-۵-۳ بر اساس منشأ بدست آمده ۸

- ۸-۶-۱- مسمومیت استافیلوکوکی و علائم ۸
- ۸-۷-۱- افراد در معرض خطر ۸
- ۸-۷-۱-۱- میزان حساسیت ۸
- ۸-۷-۲- میزان در معرض قرار گرفتن ۸
- ۸-۸-۱- استافیلوکوکوس آرنوس در محیط ۹
- ۸-۹-۱- خصوصیت آنروتوکسین ها ۹
- ۸-۹-۱-۱- مکانیسم عمل آنروتوکسین ها ۹
- ۸-۹-۲- تشخیص آنروتوکسین ها ۹
- ۸-۱۰-۱- ارزش های استافیلوکوک در انسان و درمان و پیشگیری ۱۰
- ۸-۱۰-۱-۱- تیولوژی ۱۰
- ۸-۱۰-۲- آریتری ۱۰
- ۸-۱۰-۳- آید و لوز ۱۱
- ۸-۱۰-۴- ایمنی ۱۲
- ۸-۱۰-۵- مسمومیت غذایی استافیلوکوکی ۱۲
- ۸-۱۰-۶- علائم مسمومیت غذایی استافیلوکوکی ۱۴
- ۸-۱۰-۷- درمان ۱۵
- ۸-۱۰-۸- پیشگیری و کنترل در مسمومیت های غذایی ۱۵
- ۸-۱۱-۱- مکانیسم بیماری زایی ۱۵
- ۸-۱۲-۱- نقش انسان در انتقال استافیلوکوکوس آرنوس ۱۶
- ۸-۱۳-۱- اهمیت حضور استافیلوکوکوس آرنوس در غذا ۱۶
- ۸-۱۴-۱- غذاهای مرتبط با آلودگی به استافیلوکوکوس آرنوس ۱۶
- ۸-۱۴-۱-۱- غذاهای خام یا منشاء حیوانی ۱۶
- ۸-۱۴-۱-۱-۱- (گوشت قرمز و گوشت طیور) ۱۶
- ۸-۱۴-۱-۲- شیر ۱۶
- ۸-۱۴-۲- غذاهای حرارت دیده (پاستوریزه) ۱۶

- ۱۴-۲-۱- محصولات گوشتی..... ۱۶
- ۱۴-۲-۲- شیر..... ۱۷
- ۱۴-۲-۳- محصولات دریایی..... ۱۷
- ۱۴-۳- غذاهای تخمیری..... ۱۷
- ۱۴-۳-۱- فرآورده‌های گوشتی..... ۱۷
- ۱۴-۳-۲- فرآورده‌های شیر..... ۱۷

۱۵-۱- فاکتورهای مؤثر در بقاء و رشد استافیلوکوکوس آرئوس در غذا و تولید و

- پایداری آنتی‌توکسین‌های آن..... ۱۷
- ۱۵-۱-۱- رجه حرارت..... ۱۸
- ۱۵-۲- پی‌اچ..... ۱۸
- ۱۵-۳- میزان pH..... ۱۸
- ۱۵-۴- میزان آب فعال..... ۱۹
- ۱۵-۵- ترکیب استافیلوکوکوس آرئوس..... ۱۹
- ۱۵-۶- ترکیبات عمل کرده..... ۱۹
- ۱۵-۶-۱- نمک..... ۱۹
- ۱۵-۶-۲- نیتریت..... ۱۹
- ۱۵-۷- نوع غذا..... ۲۰
- ۱۵-۸- سایر ارگاناسم‌ها..... ۲۰
- ۱۵-۹- اثر مواد شیمیایی..... ۲۰

۱۶-۱- روش‌های آزمایشگاهی جداسازی استافیلوکوکوس آرئوس..... ۲۱

- ۱۶-۱-۱- غنی‌سازی..... ۲۱
- ۱۶-۲- محیط پلیت انتخابی..... ۲۱

۱۷-۱- تغییرات ژنتیکی..... ۲۱

۱۸-۱- مقاومت..... ۲۱

۱۹-۱- ساختمان آنتی ژنیک..... ۲۲

۲۰-۱- خواص کشت..... ۲۳

۲۱۵-۱- خواص بیوشیمیایی ۲۴

۲۲۲-۱- توکسین ۲۵

۲۲۲-۱- همولیزین ها ۲۶

۲۶ الف-همولیزین آلفا

۲۶ ب-همولیزین بتا

۲۶ ج-همولیزین دلتا

۲۷ د-همولیزین اپسیلون

۲۷ ز-همولیزین گاما

۲۷ ج-سیگما همولیزین

۲۷ و-لکوسیدین

۲۲۲-۲- آنزیم توکسین ۲۷

۲۲۳-۱- آنتی‌توکسین ها ۲۸

۲۸ الف-کاتالاز

۲۸ ب-هیالورونیداز

۲۹ ج-استافیلوکیناز (لیزین)

۲۹ د-نوکلئاز

۲۹ ه--پنی سیلیناز

۲۹ ی-ژلاتیناز

۲۹ و-فسفاتاز

فصل دوم: تشخیص مولکولی

مقدمه ۳۲

۲-۱- روشهای سریع (Rapid methods) ۳۴

۲-۱-۱- آزمایشهای بیوشیمی مینیاتوری (Miniaturized biochemical assay) ۳۴

۲-۱-۲- تستهای شیمی فیزیک (Physicochemical assay) ۳۵

۲-۱-۳- روش امپدانس ۳۵

۲-۱-۴- سیستم تشخیص میکروبی ۳۶

۳۶.....	۵-۱-۲- سیستم فیزیکی دیگر (BIS) Biolog Identification System
۳۷.....	۶-۱-۲- آزمایش‌هایی بر پایه آنتی‌بادی.....
۳۷.....	۷-۱-۲- آزمایش‌های ایمونوفلورسنت.....
۳۷.....	۸-۱-۲- تست الیزا ELSA.....
۴۰.....	۹-۱-۲- آزمایش‌هایی بر پایه اسید نوکلئیک.....
۴۰.....	۱-۹-۲- هیبرید سازی.....
۴۲.....	۲-۹-۲- روش‌های افزایش DNA در محیط خارج سلول (PCR).....
۴۴.....	۲-۲- عوامل مورد نیاز جهت انجام PCR.....
۴۴.....	۳-۲- مرحله سیکل PCR.....
۴۶.....	۴-۲- عوامل مؤثر بر PCR.....
۴۷.....	۵-۲- مراحل مختلف آزمایش PCR.....
۴۷.....	۱-۵-۲- آماده سازی نمونه.....
۴۷.....	۲-۵-۲- استخراج DNA.....
۴۸.....	۳-۵-۲- مرحله حذف مواد آلی.....
۴۹.....	۴-۵-۲- مرحله حذف املاح و تغلیظ DNA.....
۵۰.....	۶-۲- واکنش‌های PCR.....
۵۰.....	۱-۶-۲- آنزیم.....
۵۰.....	۱-۶-۲-۱- آنزیم DNA پلی‌مراز تک.....
۵۲.....	۲-۶-۲- داکسی نوکلئوزید تری فسفات.....
۵۳.....	۳-۶-۲- یافر و $MgCl_2$
۵۳.....	۴-۶-۲- الگو.....
۵۴.....	۵-۶-۲- پرایمرها.....
۵۶.....	۶-۶-۲- بازدارنده‌ها و تقویت کننده‌های PCR.....
۵۶.....	۷-۲- آشکار سازی و تجزیه و تحلیل محصول PCR.....
۵۸.....	۸-۲- مزایای روش PCR.....

۶۱.....	۹-۲-۱- انواع برخی از روش های PCR در تشخیص عوامل عفونی
۶۱.....	۹-۲-۱-۱- مالتیپلکس پی سی آر
۶۱.....	۹-۲-۱-۲- آر تی- پی سی آر
۶۱.....	۹-۲-۱-۳- آرم اس- پی سی آر
۶۱.....	۹-۲-۱-۴- نستد- پی سی آر

فصل سوم: مواد لازم و روش کار

۶۴.....	مقدمه
۶۵.....	۳-۱- جمع آوری نمونه استاندارد و مرضی
۶۶.....	۳-۲- استخراج DNA
۶۶.....	۳-۲-۱- استخراج با استفاده از کیت DNG-Plus شرکت سیناژن
۶۷.....	۳-۲-۲- استخراج با استفاده از روش Boiling
۶۷.....	۳-۲-۳- روش لیزر با استفاده از سونیکاتور (Sonicator)
۷۰.....	۳-۲-۳-۱- آزمایش اندازه گیری جذب نوری
۷۱.....	۳-۲-۳-۲- آزمایش رتبه آمیزی
۷۲.....	۳-۲-۴- Freeze thaw
۷۳.....	۳-۲-۵- Freeze thaw به همراه لیزر مکانیک درهاون چینی
۷۴.....	۳-۲-۲- واکنش PCR
۷۴.....	۳-۳-۱- انتخاب پرایمر
۷۶.....	۳-۳-۱-۱- روش تهیه رقت های پرایمرها
۷۷.....	۳-۳-۱-۲- نحوه انجام واکنش
۷۷.....	۳-۴- الکتروفورز ژل آگارز
۷۷.....	۳-۴-۱- مراحل تهیه ژل ۱ درصد
۷۸.....	۳-۵- کشت سطحی نمونه های آلوده
۷۸.....	۳-۶- انجام تست های اختصاصی

۷۹.....	۳-۶-۱-۱- تست حساسیت (Sensitivity)
۷۹.....	۳-۶-۱-۱- کشت باکتری (Serial Dilution)
۸۰.....	۳-۶-۱-۲- انجام PCR به روی رقت‌های حاصله
۸۰.....	۳-۶-۲- بررسی ویژگی تست Multiplex PCR
۸۰.....	۳-۷- شمارش نمونه‌های شیر خام به روش کشت سطحی
۸۰.....	۳-۸- آنتی بیوگرام نمونه‌های شیر

فصل چهارم: نتایج

۸۲.....	مقدمه
۸۳.....	۴-۱- نتایج استخراج DNA از نمونه‌هاستندارد
۸۳.....	۴-۲- نتایج ویژگی تست (specificity)
۸۴.....	۴-۳- نتایج حساسیت تست (sensitivity)
۸۶.....	۴-۴- نتایج استخراج DNA از نمونه‌های آلوده
۸۶.....	۴-۵- نتایج کشت میکروبی نمونه‌های شیر
۸۷.....	۴-۶- نتایج PCR نمونه‌های شیر آلوده
۸۹.....	۴-۷- نتایج شمارش نمونه‌های شیر خام به روش کشت سطحی
۸۹.....	۴-۸- نتایج آنتی بیوگرام نمونه‌های شیر
۹۲.....	بحث و پیشنهادات
۹۳.....	بحث

پیشنهادهات..... ۱۰۰

منابع فارسی..... ۱۰۱

REFERENCES..... ۱۰۲

ENGLISH ABSTRACT:..... ۱۰۹

مجله پنجم: کلیاتی در خصوص باکتری استافیلوکوکوس

مقدمه..... ۱۱۲

۱-۵- طبقه بندی استافیلوکوکوس..... ۱۱۳

۲-۵- خصوصیات استافیلوکوک ها..... ۱۱۴

۱-۲-۵- شکل..... ۱۱۴

۲-۲-۵- ساختمان سلولی..... ۱۱۴

۳-۲-۵- کپسول..... ۱۱۴

۳-۵- تفریق استافیلوکوک طلایی از سایر گونه ها..... ۱۱۵

۴-۵- تایپینگ استافیلوکوک طلایی..... ۱۱۶

۱-۴-۵- سرو تایپینگ..... ۱۱۶

۲-۴-۵- فاز تایپینگ..... ۱۱۶

۳-۴-۵- بیوتاایپینگ..... ۱۱۶

۴-۴-۵- سایر روش های تایپینگ..... ۱۱۷

۵-۵- طبقه بندی..... ۱۱۷

۱-۵-۵- بر اساس ترکیبات آنتی ژنتیک..... ۱۱۷

۲-۵-۵- بر اساس نوع باکتریوفاز..... ۱۱۷

- ۱۱۸.....۳-۵-۵- براساس منشأ بدست آمده
- ۱۱۸.....۶-۵- مسمومیت استافیلوکوکی و علایم
- ۱۱۸.....۷-۵- افراد در معرض خطر
- ۱۱۸.....۱-۷-۵- میزان حساسیت
- ۱۱۸.....۲-۷-۵- میزان در معرض قرار گرفتن
- ۱۱۹.....۸-۵- استافیلوکوکوس آرئوس در محیط
- ۱۱۹.....۹-۵- خصوصیات آنزیم‌ها
- ۱۱۹.....۱-۹-۵- مکانیسم عمل آنزیم‌ها
- ۱۱۹.....۲-۹-۵- تشخیص آنزیم‌ها
- ۱۲۰.....۱۰-۵- بیماری‌های استافیلوکوکوس در انسان و درمان و پیشگیری
- ۱۲۰.....۱-۱۰-۵- اتیولوژی
- ۱۲۰.....۲-۱۰-۵- بیماری‌زایی
- ۱۲۱.....۳-۱۰-۵- اپیدمیولوژی
- ۱۲۲.....۴-۱۰-۵- ایمنی
- ۱۲۲.....۵-۱۰-۵- مسمومیت غذایی استافیلوکوکی
- ۱۲۴.....۶-۱۰-۵- علائم مسمومیت غذایی استافیلوکوکی
- ۱۲۵.....۷-۱۰-۵- درمان
- ۱۲۵.....۸-۱۰-۵- پیشگیری و کنترل در مسمومیت‌های غذایی
- ۱۲۵.....۱۱-۵- مکانیسم بیماری‌زایی
- ۱۲۶.....۱۲-۵- نقش انسان در انتقال استافیلوکوکوس آرئوس
- ۱۲۶.....۱۳-۵- اهمیت حضور استافیلوکوکوس آرئوس در غذا
- ۱۲۶.....۱۴-۵- غذاهای مرتبط با آلودگی به استافیلوکوکوس آرئوس
- ۱۲۶.....۱-۱۴-۵- غذاهای خام با منشأ حیوانی
- ۱۲۶.....۱-۱-۱۴-۵- گوشت قرمز و گوشت طیور
- ۱۲۶.....۲-۱-۱۴-۵- شیر

- ۱۲۶.....۵-۱۴-۲-۲-غذاهای حرارت دیده (پاستوریزه)
- ۱۲۶.....۵-۱۴-۲-۱-محصولات گوشتی
- ۱۲۷.....۵-۱۴-۲-۲-شیر
- ۱۲۷.....۵-۱۴-۲-۳-محصولات دریایی
- ۱۲۷.....۵-۱۴-۳-۱-غذاهای تخمیری
- ۱۲۷.....۵-۱۴-۳-۱-فرآورده‌های گوشتی
- ۱۲۷.....۵-۱۴-۳-۲-فرآورده‌های شیر

۱۵-۵-فاکتورهای مؤثر در بقاء و رشد استافیلوکوکوس آرنوس در غذا و تولید و

- ۱۲۷.....۵-۱۵-۱-آندوتوکسین‌های آن
- ۱۲۸.....۵-۱۵-۱-درجه حرارت
- ۱۲۸.....۵-۱۵-۲-پراکنش
- ۱۲۸.....۵-۱۵-۳-پH
- ۱۲۹.....۵-۱۵-۴-میزان آب فعال
- ۱۲۹.....۵-۱۵-۵-زمان رشد
- ۱۲۹.....۵-۱۵-۶-تربیت
- ۱۲۹.....۵-۱۵-۶-۱-نمک
- ۱۲۹.....۵-۱۵-۶-۲-نیتریت
- ۱۲۹.....۵-۱۵-۷-نوع غذا
- ۱۳۰.....۵-۱۵-۸-سایر ارگانسم‌ها
- ۱۳۰.....۵-۱۵-۹-اثر مواد شیمیایی

۱۶-۵-روش‌های آزمایشگاهی جداسازی استافیلوکوکوس آرنوس

- ۱۳۱.....۵-۱۶-۱-غنی سازی
- ۱۳۱.....۵-۱۶-۲-محیط پلیت انتخابی

۱۷-۵-تغییرات ژنتیکی

۱۸-۵-مقاومت

۱۹-۵-ساختمان آنتی ژنیک

- ۱۳۲.....الف-پلی ساکارید A
- ۱۳۳.....ب-پلی ساکارید B

- ج-آنتی ژن A (پروتئین A) ۱۳۳
- د-آنتی ژن کپسولی ۱۳۳
- ه--آنتی ژنهای دیگر ۱۳۳

۱۳۳ ۵-۲۰- خواص کشت

۱۳۴ ۵-۲۱- خواص بیوشیمیایی

۱۳۵ ۵-۲۲- توکسین

- ۱-۲۲-۵- مولدین ها ۱۳۵
- الف- مولدین آلفا ۱۳۶
- ب-همولیزین بتا ۱۳۶
- ج-همولیزین دلتا ۱۳۶
- د-همولیزین اپسilon ۱۳۷
- ز-همولیزین گاما ۱۳۷
- ج-سیگما همولیزین ۱۳۷
- و-لکوسیدین ۱۳۷
- ۲-۲۲-۵- آنتروتوکسین ۱۳۷

۱۳۸ ۵-۲۳- آنزیم های استافیلوکوک ها

- الف- کوآگولاز ۱۳۸
- ب-هیالورونیداز ۱۳۸
- ج-استافیلوکیناز (فیبرینولیزین) ۱۳۸
- د-نوکلئاز ۱۳۹
- ه--پنی سیلیناز ۱۳۹
- ی-ژلاتیناز ۱۳۹
- و-فسفاتاز ۱۳۹

فصل ششم: کلیاتی در خصوص تکنولوژی نانو و حسگرها

۱۴۱.....	مقدمه.....
۱۴۲.....	۱-۶-نانوفناوری.....
۱۴۷.....	۲-۶-پیشینه نانو فناوری.....
۱۴۸.....	۳-۶-سهم سرمایه‌گذاری جهانی.....
۱۴۹.....	۴-۶-شاخص‌های تعیین وضعیت توسعه فناوری نانو.....
۱۴۹.....	۱-۴-۶-فعالیت فناوری نانو.....
۱۵۰.....	۲-۴-۶-توسعه فناوری.....
۱۵۱.....	۵-۶-پیش‌بینی بازار.....
۱۵۲.....	۶-۶-گروه بندی کشورها.....
۱۵۲.....	۱-۶-۶-کشورهای برتر (Dominant).....
۱۵۲.....	۲-۶-۶-کشورهای عالم ریز (Ivory tower).....
۱۵۳.....	۳-۶-۶-کشورهای دارای موفقیت متوسط (Niche).....
۱۵۳.....	۴-۶-۶-کشورهای طبقه فرعی (Minor league).....
۱۵۴.....	۷-۶-جایگاه کشورها در توسعه فناوری نانو.....
۱۵۴.....	۱-۷-۶-ایالات متحده آمریکا.....
۱۵۶.....	۲-۷-۶-ژاپن.....
۱۵۶.....	۳-۷-۶-چین.....
۱۵۶.....	۴-۷-۶-روسیه.....
۱۵۷.....	۸-۶-شرکت‌های اروپایی در زمینه نانوفناوری.....
۱۵۸.....	۹-۶-حوزه اقیانوس آرام در زمینه نانوفناوری.....
۱۵۸.....	۱۰-۶-جایگاه ایران در توسعه فناوری نانو.....

- ۱۱-۶-شاخه‌های اصلی نانوفناوری ۱۶۲
- ۱۱-۱-۶-نانو روکش‌ها ۱۶۲
- ۱۱-۲-۶-نانو مواد ۱۶۳
- ۱۱-۳-۶-مهندسی مولکولی ۱۷۸
- ۱۱-۴-۶-نانو الکترونیک ۱۷۹
- ۱۲-۶-دستاوردهای نانوفناوری ۱۸۱
- ۱۲-۱-۶-سنتز فاز بخار نانو ذرات (PVS) ۱۸۳
- ۱۲-۲-۶-فتولیز یا روش پرتوکافت گاما ۱۸۳
- ۱۲-۳-۶-سنتز نانو ذرات نقره از طریق کاهش شیمیایی ۱۸۳
- ۱۲-۴-۶-مقاوم در برابر فرسودگی ۱۸۵
- ۱۳-۶-نانو مواد کربن ۱۸۵
- ۱۴-۶-نقش نانو فناوری در ساخت میکروسکوپ‌های پیشرفته ۱۸۷
- ۱۴-۱-۶-میکروسکوپ‌های الکترونی ۱۸۷
- ۱۴-۱-۱-۶-میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ۱۸۷
- ۱۴-۱-۲-۶-میکروسکوپ الکترونی پراش (SEM) ۱۸۸
- ۱۴-۲-۶-میکروسکوپ‌های نوین ۱۹۰
- ۱۴-۲-۱-۶-میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) ۱۹۰
- ۱۴-۲-۲-۶-میکروسکوپ الکترونی محیطی روبشی SEM ۱۹۰
- ۱۵-۶-فیلتراسیون و نانو فیلتراسیون ۱۹۰
- ۱۶-۶-نانو فیلتراسیون به عنوان یک فرآیند غشایی ۱۹۲
- ۱۷-۶-حسگرهای پتانسیومتری ۱۹۱
- ۱۷-۱-۶-طبقه بندی روش‌های الکترو تجزیه ای ۱۹۱
- ۱۷-۲-۶-پتانسیومتری ۱۹۴
- ۱۷-۲-۱-۶-پتانسیومتری مستقیم ۱۹۵
- ۱۸-۶-حسگرهای شیمیایی ۱۹۶
- ۱۸-۱-۶-حسگرهای الکتروشیمیایی ۱۹۶

۱۹۷.....	۶-۱۸-۲- حسگرهای پتانسیومتری
۱۹۸.....	۶-۱۸-۳- الکترودهای یون گزین
۱۹۹.....	۶-۱۸-۳-۱- تاریخچه پیدایش الکترودهای یون گزین
۲۰۰.....	۶-۱۸-۳-۱-۱- خواص عمومی الکترودهای یون گزین
۲۰۱.....	۶-۱۸-۳-۲- تقسیم بندی الکترودهای یون گزین
۲۰۱.....	۶-۱۸-۴- غشاهای مایع روی بستر پلیمری
۲۰۲.....	۶-۱۸-۵- اجزاء سازنده الکترودها مایع روی بستر پلیمری
۲۰۳.....	۶-۱۸-۵-۱- حامل یون یا یونوفر
۲۰۳.....	۶-۱۸-۵-۲- افزودنی‌های یونی
۲۰۴.....	۶-۱۸-۵-۳- حلال غشاء
۲۰۶.....	۶-۱۸-۵-۴- ماتریس پلیمری
۲۰۶.....	۱-۵- مکانیسم پاسخ دهی
۲۰۷.....	۱۹-۱- سنتز و کاربردهای آن‌ها
۲۰۷.....	۱۹-۱-۱- مقدمه
۲۰۸.....	۶-۱۹-۲- پلیمرهای قالب مولکولی
۲۰۹.....	۶-۱۹-۲-۱- مفهوم قالب‌گیری مولکولی
۲۱۰.....	۶-۱۹-۳- تاریخچه پیدایش پلیمرهای قالب مولکولی
۲۱۱.....	۶-۱۹-۴- ساختار پلیمرهای قالب مولکولی
۲۱۲.....	۶-۱۹-۵- اجزای سازنده پلیمر قالب مولکولی
۲۱۳.....	۶-۱۹-۶- انتخاب مولکول هدف
۲۱۳.....	۶-۱۹-۷- حلال
۲۱۴.....	۶-۱۹-۸- آغازگر
۲۱۵.....	۶-۱۹-۹- سنتز پلیمرهای قالب مولکولی
۲۱۵.....	۶-۱۹-۱۰- مراحل ساخت یک پلیمر قالب مولکولی
۲۱۶.....	۶-۱۹-۱۱- خواص پلیمر حاصل
۲۱۷.....	۶-۱۹-۱۲- شبکه پلیمرهای NIP
۲۱۷.....	۶-۱۹-۱۳- پیکربندی پلیمرهای قالب مولکولی
۲۱۸.....	۶-۲۰- پژوهش‌های خارجی
۲۱۹.....	خلاصه فصل ششم

فصل هفتم: مواد و روش کار

مواد و تجهیزات مورد نیاز.....	۲۲۱
۷-۱ طراحی پتانسیومتری مبتنی بر پلیمر قالب ملکولی.....	۲۲۲
۷-۱-۱-تهیه رقت از اگزوتوکسن استافیلوکوکوس ارئوس.....	۲۲۲
۷-۱-۲-تهیه ذرات پلیمر قالب ملکولی MIP.....	۲۲۴
۷-۱-۳-الکتروود غشائی واتصال پلی مر حاوی ملکول توکسین به سر الکتروود.....	۲۲۶
۷-۱-۴-تهیه غشا نازک پلی مری روی سطح مقطع الکتروود:.....	۲۲۶
۷-۱-۵-دستگاه pH/mV پتانسیومتری:.....	۲۲۷
۷-۱-۶-پیمایی پلیمر با میکروسکوپ الکترونی.....	۲۳۰
۷-۱-۶-۱-تهیه تصویر میکروسکوپی SEM.....	۲۳۰
۷-۱-۶-۲-تهیه تصویر میکروسکوپی TEM.....	۲۳۱
۷-۲ طراحی نانوبیوسنسور به روش مال آنتی بادی به نانو سیلیکا.....	۲۳۴
۷-۲-۱-اتصال آنتی بادی به نانوذره.....	۲۳۵
۷-۲-۲-روش اصلاح شده استوربر.....	۲۳۶
۷-۲-۳-بررسی حساسیت سنسور.....	۲۳۷
۷-۲-۳-۱-بررسی رقت آنتی بادی در حساسیت سنسور.....	۲۳۷
۷-۲-۳-۲-بررسی میزان نانوسیلیکا بر حساسیت سنسور.....	۲۳۷
۷-۲-۴-طول عمر الکتروود.....	۲۳۸
۷-۲-۵-تعیین اندازه ذرات و چگونگی پراکنش کپسول ها:.....	۲۳۸
۷-۳-تعیین ژنوتیپ باکتری به روش واکنش زنجیره ای پلی مرار.....	۲۳۹
۷-۳-۱-کشت باکتری و غنی سازی:.....	۲۳۹
۷-۳-۲-استخراج DNA ژنومیک باکتری:.....	۲۳۹
۷-۳-۳-تشخیص مولکولی به کمک ژن 23S rRNA, sea.....	۲۴۱
۳-۳-۴-اندازه گیری میزان دقت آزمایش:.....	۲۴۱

فصل هشتم: نتایج کار

نتایج کار..... ۲۴۴

۸-۱-۱- نتایج سنسور غشای پلیمری اصلاح شده با پلیمر قالب ملکولی ۲۴۴

۸-۱-۱-۱- نتایج حاصل از حساسیت سنسور پلیمر قالب ملکولی: ۲۴۴

۸-۱-۱-۲- حداقل مقدار قابل تشخیص ۲۴۵

۸-۱-۱-۳- تصاویر حاصل از بررسی میکروسکوپ الکترونی ۲۴۵

۸-۱-۱-۴- تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی TEM: ۲۴۸

۸-۲-۱- نتایج حاصل از سنسور نانوسیلیکا ۲۴۹

۸-۲-۱-۱- حساسیت سنسور نانوسیلیکا ۲۴۹

۸-۲-۱-۲- حساسیت سنسور بر اساس پارامتر نانوسیلیکا: ۲۴۹

۸-۲-۱-۳- نتایج حاصل از حساسیت سنسور دوم بر اساس تغییر دوز آنتی بادی: ۲۴۹

۸-۲-۱-۴- نتایج حاصل از حساسیت سنسور دوم بر اساس پارامتر آنتی ژن ۲۵۰

۸-۳-۱- مقایسه آماری دو سنسور: ۲۵۰

۸-۴-۱- نتایج میزان زمان استفاده از سنسورهای طراحی شده: ۲۵۲

۸-۵-۱- نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمرراز: ۲۵۲

۸-۵-۱-۱- نتایج استخراج DNA نمونه استاندارد ۲۵۳

۸-۵-۱-۲- نتایج ویژگی تست (Specificity) ۲۵۴

۸-۵-۱-۳- نتایج حساسیت تست (Sensitivity) ۲۵۴

فصل نهم: بحث و پیشنهادات

بحث ۲۵۸

مزیت ها و مشکلات سنسورها: ۲۶۱

محدودیت های حسگر پلیمر نقش پذیر مولکولی ۲۶۴

۲۶۷	در تحلیل نتایج دوسنسور نسبت به همدیگر:.....
۲۶۸	مقایسه دو نوع سنسور طراحی شده
۲۶۹	واکنش زنجیره ای پلی مراز
۲۷۲	پیشنهادهات.....
۲۷۳	منابع فارسی
۲۷۴	REFERENCES
۲۹۰	پیوست ها
۲۹۷	ENGLISH ABSTRACT

دیارم اسکو فرزند: دکتر وودر منوچهر
اسکو نموده دانشگاه تهران و دانشگاه آریو اسکو

بسم خداوند جان و خرد کزین برتر اندیشه برگزیده

مجموعه ما سر که در پیش برآید گردیده است نتایج حاصل از نزدیکترین موی و دکترای شخصی یکی از دستیاران کرده شخصی بداشت مولود خدائی، آکای دکتر علیرضا می باشد که تحت
تأثیر و سرپرستی این جانب در طول سال به انجام رسیده است.

این مجموعه حاصل کار و مشورت با دکتران عزیز جناب آکای دکتر اکبری و جناب آکای دکتر مطلبی و راهنمایی این جانب می باشد که به دست دکتر علیرضا می باشد. به استخراج همکار ISI و
همکار علمی و دیگران. در این املی و دوستی اقترح و یک دال طلای جهانی گردیده است، لازم به ذکر است که در سالهای ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ به ترتیب موفق به اخذ رتبه سوم جشنواره طرح های
فنون دانشگاه تهران و در سال بعد اخذ رتبه برگزیده از پنجمین جشنواره بین املی اقتراعات بنیادی همچنان ریاست جمهوری گردیده است، همچنین از مسکنات محترم
پژوهشی و معتمد علوم و تحقیقات اسلامی و نیز از محترم ملی همچنان ریاست جمهوری و نیز اداره آساینگاه های مرجع وزارت بهداشت (آساینگاه آنتیژن مولود خدائی) و دیگران
به کمک و نوازی انستیتو، ستور ایران که در انجام این طرح از بهر حمایتی و تمهید، پاسکولری و قدر دانی نموده.

دکتر وودر منوچهر

اسکو میکروسکوپ خدائی

تهران بهار ۱۳۹۲

مقدمه

امروزه از واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز به عنوان روشی حساس و دقیق در تشخیص به موقع عفونت‌های میکروبی استفاده می‌نمایند. با توجه به شایع بودن آلودگی نمونه‌های لبنی به انواع گونه‌های استافیلوکوکوس و همچنین بازده پائین روش‌های بازاراکلینیکی همچون کشت میکروبی، روش‌های تشخیص سریع و دقیق زنجیره‌ای پلی‌مراز در تشخیص سریع و دقیق پاتوژن می‌نماید (شاه‌حسینی، ۱۳۷۴). در این مطالعه از ژن *Staphylococcus aureus* تمامی گونه‌های استافیلوکوکوس مشخص شده است و همچنین ژن‌های *SEC*، *EB*، *SEA* که مختص گونه آرنوس می‌باشد جهت تشخیص آلودگی‌های ناشی از استافیلوکوکوس آرنوس در شیرهای خام تولیدی استان تهران، استفاده شد.

گزارش‌های متعددی از بیماران ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به باکتری‌های غذایی وجود دارد که شامل عفونت‌های مسمومیت‌های باکتریایی غذایی ناشی از سالمونلا، استافیلوکوکوس آرنوس، شیگلایستریامونوسیتوز، می‌باشد، بین باکتری‌های پاتوژن غذایی، استافیلوکوکوس آرنوس از اهمیت به سزایی برخوردار می‌باشد (ملک‌زاده، ۱۳۷۴).

استافیلوکوکوس، کوکسی گرم مثبتی است که عفونت‌های متنوعی را در انسان و دام ایجاد می‌کند و از طرفی مقاومت سویه‌های انسانی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، درمان و تشخیص را مشکل می‌نماید. تشخیص سریع و به موقع سویه‌های باکتری از اهمیت ویژه‌ای در درمان و ریشه‌کنی عفونت برخوردار می‌باشد (صائبی، ۱۳۷۶).