

راهنمای کاربردی آزمایشگاه باکتری شناسی

تألیف:

دکتر وحیده جاوید خجسته

(استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی گیلان)

سرشناسه	: جاوید خجسته
عنوان و نام پدیدآور	: راهنمای کاربردی آزمایشگاه باکتری شناسی/تألیف وحیده جاوید خجسته
مشخصات نشر	: رشت: پیام سبحان، ۱۳۹۱.
مشخصات ظاهری	: ۹۶ص: مصور (بخشی رنگی)، جدول.
شابک	: ۴۰۰۰ریال: ۸-۳-۵-۹۲۷۰۵-۶۰۰-۹۷۸
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
یادداشت	: کتابخانه: ص. ۶۹.
موضوع	: باکتری شناسی پزشکی - دستنامه های آزمایشگاهی
رده بندی کنگره	: ۱۳۹۱ ۲۲ج QR۴۷
رده بندی دیویی	: ۶۱۶/۰۱۱
شماره کتابشناسی ملی	: ۲۶۷۵۴۶۹



انتشارات پیام سبحان

نام کتاب

راهنمای کاربردی
آزمایشگاه باکتری شناسی

مؤلف: دکتر وحیده جاوید خجسته

ناشر: انتشارات پیام سبحان

حروفچینی و لیتوگرافی: انتشارات پیام سبحان

چاپ: زیتون

نوبت چاپ: اول ۱۳۹۱

تیراژ: ۱۰۰۰ نسخه

قیمت: ۴۰۰۰ تومان

رشت: چهار راه حشمت نبش کوچه هدایتی تلفن ۰۱۳۱-۶۶۰۷۷۱۸-۰۹۱۱۱۳۶۱۳۲۵

پیش گفتار

گسترده‌گی علوم زیستی در عرصه‌های مختلف، لزوم آشنایی هرچه بیشتر با منابع جدید را آشکار می‌سازد. توجه به جهانی علم میکروبیشناسی بویژه باکتری‌شناسی عملی نیز در سالهای اخیر رشد سریعی داشته است. علم باکتری‌شناسی یکی از سر فصلهای آموزشی با اهمیت و قابل توجه در رشته‌های پزشکی و پیراپزشکی و علوم آزمایشگاهی است. از این رو مرجعی مناسب که حاوی نکات اساسی و کلیدی باشد ضروری است. لذا این کتاب جهت دسترسی بهتر دانشجویان با روشهای ایمنی، کاربردی، آموزشی و پژوهشی در آزمایشگاه باکتری‌شناسی تدوین شده است.

مجموعه حاضر تلاش بر آن دارد که بتواند با ارائه چگونگی بکارگیری روشهای ساده و نوین در آزمایشگاه باکتری‌شناسی پاسخگوی نیاز علمی و عملی دانشجویان پزشکی و پیراپزشکی باشد. خدا را سپاس می‌گوییم که فرصتی به من داد تا به وظیفه خود که خدمتی ناچیز در گسترش و اشاعه علم کاربردی و پژوهشی در حیطه باکتری‌شناسی است عمل نموده و به مدد لطف و کرمش گامی در راه خدمت به دانشجویان این رشته بردارم.

بدیهی است این مجموعه نیز همچون سایر کتب خالی از نقص نخواهد بود، لذا ارائه نقطه نظرات همکاران گرامی ما را در رفع نواقص و اشکالات مساعدت خواهد فرمود. در اینجا لازم می‌دانم از معاونت محترم پژوهشی، کارشناسان آزمایشگاه میکروبیشناسی دانشکده شهید بهشتی و مدیریت و پرسنل انتشارات پیام سبحان در استان گیلان- رشت که در تهیه و نشر این اثر همکاری داشته‌اند تشکر نمایم.

فهرست مطالب

فصل اول: کلیات

۱	مقدمه
۱	اصول ایمنی در آزمایشگاه میکروبی شناسی
۱	روش عاری کردن از میکروب
۳	نام گذاری کشتهای انجام شده
۴	توصیه برای تهیه گزارش کار آزمایشگاه

فصل دوم: کشت و رنویت باکتریها

۵	کار با میکروسکوپ
۶	نمونه برداری و انتقال باکتریها
۸	کشت باکتریها
۹	کشت باکتری به روش خطی
۱۳	کشت باکتری به روش سفره ای

فصل سوم: رنگ آمیزی باکتریها

۱۶	روشهای رنگ آمیزی
۱۶	چگونگی تهیه گسترش بر روی لام
۱۷	متداولترین اشکال باکتریها
۱۹	رنگ آمیزی ساده
۱۹	رنگ آمیزی گرم
۲۲	رنگ آمیزی ذیل نلسون
۲۴	رنگ آمیزی اسپور

فصل چهارم : انواع محیطهای کشت

۲۶	 محیطهای تشخیصی
۲۷	 محیطهای کشت
۲۷	 (۱) محیطهای کشت متداول
۲۷	 (۲) محیطهای کشت غنی شده
۲۸	 (۳) محیطهای انتخابی و افتراقی
۳۳	 (۴) محیطهای غیرانتخابی و افتراقی

فصل پنجم: تستهای تشخیصی

۴۷	 تست کاتالاز
۴۸	 تست کواگولاز
۴۹	 تست آنتی بیو گرام

فصل ششم: روش استخراج DNA

۵۳	 روش سریع استخراج DNA
۵۴	 استخراج DNA باکتری اشریشیا کلی
۵۶	 اندازه گیری میزان و خالصی DNA
۵۶	 اندازه گیری سایز DNA
۵۷	 استخراج DNA از سلولهای گیاهی (تخم گل کلم)
۵۸	 روش شستشوی DNA
۶۰	 استخراج DNA از پلاسمید باکتری
۶۲	 الکتروفورزیس با استفاده از ژل آگاروز

فصل هفتم: انواع همولیزین

۶۶	 روش تشخیص آنزیم در باکتریهای بیماری زا
۶۹	 منابع

فهرست تصاویر

فصل اول: کلیات

شکل (۱-۱) نمایش لوپ و سوزن ۳

فصل دوم: کشت و رثویت باکتریها

شکل (۲-۱) میکروسکوپ نوری ۶

شکل (۲-۲) روش استریل کردن لوپ و دهانه شیشه توسط شعله ۷

شکل (۲-۳) مشاهده ظاهر کلنی باکتریها با چشم غیر مسلح ۸

شکل (۲-۴) برداشت کلنی از محیط ۹

شکل (۲-۵) نمایش مرحله اول و دوم کشت خطی ۱۰

شکل (۲-۶) مرحله سوم کشت خطی ۱۱

شکل (۲-۷) مرحله چهارم کشت خطی ۱۲

شکل (۲-۸) مرحله پنجم کشت خطی ۱۲

شکل (۲-۹) روش رقیق کردن نمونه باکتری ۱۳

شکل (۲-۱۰) پخش کننده شیشه ای ۱۴

شکل (۲-۱۱) نمایش روش کشت سفره ای ۱۵

فصل سوم: رنگ آمیزی باکتریها

شکل (۳-۱) نمایش تهیه گسترش بر روی لام ۱۶

شکل (۳-۲) طبقه بندی و زاویه تقسیم شدن باکتریها ۱۷

شکل (۳-۳) مشاهده شکل باکتری ها با رنگ آمیزی ساده ۱۹

شکل (۳-۴) باسیل و کوکسی گرم منفی ۲۱

شکل (۳-۵) کوکسی و باسیل گرم مثبت ۲۲

شکل (۳-۶) مایکوباکتریومها با رنگ آمیزی اسید فاست ۲۳

شکل (۳-۷) سلول باکتری بشکل تنیس با اسپوره‌های گرد انتهایی ۲۵

فصل چهارم : انواع محیط‌های کشت

- شکل (۴-۱) محیط آگار غذایی ۲۷
- شکل (۴-۲) محیط آگار خونی ۲۸
- شکل (۴-۳) محیط آگار شکلاتی ۲۸
- شکل (۴-۴) محیط سالمونلا و شیگلا آگار ۲۹
- شکل (۴-۵) محیط اثرین متیلن بلو آگار ۲۹
- شکل (۴-۶) محیط مک کانکی آگار ۳۰
- شکل (۴-۷) کشت باکتری ای کلی روی محیط ای ام بی و مک کانکی ۳۲
- شکل (۴-۸) کشت باکتری گرم منفی روی محیط SSA ۳۳
- شکل (۴-۹) محیط متیل رد - واگوس پروسکوئر ۳۴
- شکل (۴-۱۰) محیط نیمه جامد SIM ۳۵
- شکل (۴-۱۱) محیط آگار سه قندی و آهن ۳۶
- شکل (۴-۱۲) محیط سیمون سیترات آگار ۳۷
- شکل (۴-۱۳) محیط اوره آگار ۳۷
- شکل (۴-۱۴) نتایج کشت باکتری روی محیط آگار سه قندی و آهن ۳۸
- شکل (۴-۱۵) نمایش کشت بر عمق و سطح محیط با استفاده از سوزن ۳۹
- شکل (۴-۱۶) روش کشت با استفاده از سوزن ۳۹
- شکل (۴-۱۷) نتایج کشت روی محیط سیمون سیترات ۴۱
- شکل (۴-۱۸) نتایج کشت روی محیط اوره آگار ۴۲
- شکل (۴-۱۹) نتایج توانایی حرکت باکتری روی محیط نیمه جامد ۴۲
- شکل (۴-۲۰) تولید گاز هیدروژن سولفید (SH_2) توسط باکتری ۴۳
- شکل (۴-۲۱) تولید ایندول توسط باکتری ۴۴
- شکل (۴-۲۲) نتایج کشت باکتری بر محیط متیل رد - واگوس پروسکوئر ۴۵

فصل پنجم: تست‌های تشخیصی

- شکل (۵-۱) تفسیر نتایج تست کاتالاز ۴۷
- شکل (۵-۲) تفسیر نتایج تست کواگولاز ۴۸

شکل (۵-۳) نمایش دیسکهای آنتی بیوتیک روی محیط مولر هینتون آگار ۵۰

فصل ششم: روش استخراج DNA

شکل (۶-۱) طرح شماتیکی مراحل کار با ژل آگاروز ۶۳

شکل (۶-۲) دستگاه الکتروفورزیس ۶۴

شکل (۶-۳) عکس دیجیتال از ژل آگاروز ۶۵

فصل هفتم: انواع همولیزین

شکل (۷-۱) نمایش نتا (چپ) و الفا (راست) همولیزین توسط باکتری استرپتوکوکوسی ۶۶

فهرست جداول

- جدول (۱-۲) تفسیر واکنشهای مختلف محیط آگارسه قندی و آهن ۴۰
- جدول (۲-۴) تفسیر و تشخیص انتروباکتریاسه ها بر روی محیطهای غیرانتخابی افتراقی ۴۶
- جدول (۱-۵) قطر هاله عدم رشد باکتریها درمقابل آنتی بیوتیکهای مختلف ۵۱
- جدول (۲-۵) قطر هاله عدم رشد باکتریها درمقابل آنتی بیوتیکهای مختلف ۵۲
- جدول (۱-۷) تفسیر نتایج کشت و فعالیت های آنزیمی استرپتوکوک روی آگار خونی ۶۷

www.ketab.ir