

میکروب‌شناسی عملی

(روش‌ها و تفسیرها)

مؤلفین

دکتر پرویز اولیاء

استاد میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

محسن میرزایی

عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد



واحد بروجرد

۱۳۹۰

سرشناسه	اولیاء، پرویز، ۱۳۴۵ -
عنوان و نام پدیدآور	میکروپشناسی عملی (روش‌ها و تفسیرها) / مولفین پرویز اولیاء، محسن میرزایی.
مشخصات نشر	بروجرد: دانشگاه آزاد اسلامی (بروجرد)، ۱۳۹۰
مشخصات ظاهری	۵۵۲ ص: مصور، جدول
شابک	۹۰۰۰ ریال: 8-0262-10-964-978
وضعیت فهرست‌نویسی	فیپا
یادداشت	واژه‌نامه
موضوع	میکروپشناسی -- آزمایشگاه‌ها -- ابزار و وسایل
موضوع	میکروپشناسی پزشکی
شناسه افزوده	میرزایی، محسن، ۱۳۵۹ -
شناسه افزوده	دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد
رده‌بندی کنگره	۱۳۸۹ الف ۹ / QR۶۴۱
رده‌بندی دیویی	۵۷۴۱۰۲۸
شماره کتابشناسی ملی	۲۰۴۶۱۸۱



دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد

میکروپشناسی عملی

(روش‌ها و تفسیرها)

مولفان

دکتر پرویز اولیاء - محسن میرزایی

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

مدیر مؤل: دکتر علی آریاپور

ناظر چاپ: حسام‌الدین یاریار

چاپ و صحافی: نویسنده

نوبت چاپ: اول/ ۱۳۹۰

شمارگان: ۲۰۰۰

بها: ۹۰۰۰ تومان

شابک: ۸-۲۶۲-۱۰۰۰-۹۶۴-۹۷۸

حق چاپ برای ناشر محفوظ است

بروجرد- میدان نواب - خیابان یادگار امام - مجتمع دانشگاهی امام خمینی (ره)

تلفکسی ۱۳ ۲۵۱۸۰۶۶۲

Email: Publisher@iaub.ac.ir

سخن ناشر

به نام خداوند لوح و قلم حقیقت نگار وجود و عدم
خدایی که داننده رازهاست نخستین سرآغاز آغازهاست

دانشگاه آزاد اسلامی، به عنوان یکی از ارکان نظام آموزش عالی کشور در چشم‌انداز بیست ساله خود، توسعه کیفی را به طور جدی مدنظر قرار داده است. دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد به عنوان یکی از با سابقه ترین واحدهای دانشگاهی سطح کشور با عنایت به پتانسیل‌های موجود و در راستای این حرکت عظیم علمی و فرهنگی و به منظور ایجاد سرعت، دقت و هماهنگی بیشتر در اجرای کلیه امور مربوط به تأمین منابع آموزشی مورد نیاز و همچنین تشویق و ترغیب محققان، مؤلفان و مترجمان دانشگاهی به نگارش و ترجمه کتب معتبر علمی، شورای انتشارات علمی خود را تشکیل داد. بدیهی است که ورود به این عرصه خطیر جز با استفاده از خداوند متعال و چشم یاری داشتن از محققان و پژوهشگران و استادان ارجمند امکان‌پذیر نیست. لذا از همه صاحب‌نظران ارجمند دعوت می‌شود ما را از نقطه‌نظرها و راهنمایی‌های ارزشمند خود بهره‌مند سازند. در پایان برخود لازم می‌دانم از جناب آقای دکتر جاسبی ریاست دانشگاه آزاد اسلامی و همچنین معاون محترم پژوهشی دانشگاه به سبب برقراری شرایط و بستر مناسب انجام فعالیت‌های حوزه پژوهش واحد در بخش توسعه فعالیت‌های چاپ و نشر، تشکر و قدردانی نمایم.

دکتر احمد سیف

رئیس دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد

www.ketab.ir

پیشگفتار

در بین علوم تجربی، میکروبیولوژی از جمله مواردی است که آمیختگی بسیار زیادی با کارهای آزمایشگاهی دارد. داشتن مهارت‌های عملی و تجربه آزمایشگاهی نقش بسزایی در درک و فهم مطالب تئوری دارد، بطوریکه فهم عمیق مطالب علمی بدون قدرت اجرای روش‌های آزمایشگاهی مربوطه، امری بعید به نظر می‌رسد. معمولاً میکروبیولوژیست‌هایی که دارای مهارت‌های عملی بالایی هستند، به مراتب محققین موفق‌تری هستند. در این راستا وجود منابع مناسب می‌تواند نقش کلیدی ایفا کند. در کتاب حاضر سعی شده است که با یک رویکرد متفاوت به میکروبیولوژی و شناسی عملی نظر کند و به گونه‌ای طراحی شده است تا دانشجویان رشته‌های مختلف زیست‌شناسی، پزشکی و پیراپزشکی بتوانند از قسمت‌های مختلف آن بهره‌برداری کنند این کتاب مشتمل بر ۱۴ فصل می‌باشد. در فصول ابتدایی سعی شده است اصول کلی و اولیه حاکم بر میکروبیولوژی و شناسی عملی شرح داده شود. در میکروبیولوژی کلیه گرایش‌های مربوطه، معمولاً یکسری اصول آزمایشگاهی مشترک وجود دارد. برای مثال شرایط ایمنی و تجهیزات آزمایشگاهی و روش کار با آنها، مواردی است که در هر آزمایشگاه میکروبیولوژی، باید به آن دقت شود. از دیگر ویژگی‌های این کتاب این است که در ابتدای هر فصل، اهداف آموزشی کاملاً مشخص شده و پس از بیان توضیحات اولیه، روش‌های عملی با جزئیات شرح داده شده است. در انتهای هر فصل محل مناسبی برای درج نتایج طراحی شده تا دانشجویان بتوانند بطور همزمان از این کتاب به عنوان دفتر گزارش، استفاده نمایند. ضمائم موجود در انتهای کتاب نیز به خواننده کمک می‌کند تا دسترسی آسانی به مطالب و جداول تشخیصی داشته باشد. بی‌شک کتاب حاضر نیز خالی از

اشکال نبوده و بسیار خرسند خواهیم بود تا با بیان اشکالات، ما را در رفع مشکلات آن یاری نماید.

برخود واجب می‌دانیم تا از زحمات و تلاش‌های بی‌شائبه جناب آقای دکتر احمد سیف ریاست محترم دانشگاه، جناب آقای دکتر محمدجعفر مهدیان معاونت محترم پژوهشی و جناب آقای حسام‌الدین یاریار مدیر محترم انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد که امکان نشر اثر حاضر را فراهم نموده‌اند، تشکر و قدردانی نماییم.

دکتر پرویز اولیاء

محسن میرزایی

www.ketab.ir

فهرست مطالب

۷	پیشگفتار
۱۷	فصل ۱: آشنایی با آزمایشگاه میکروپوشناسی
۱۹	ایمنی در آزمایشگاه میکروپوشناسی
۲۱	ایمنی در برابر مواد بیولوژیک و میکروبی
۲۲	نوصیه‌های ایمنی
۲۳	لوازم مورد استفاده در آزمایشگاه
۲۶	میکروبی پت
۲۷	پی‌پت‌های نیمه اتوماتیک یا سمپلر
۲۸	فلاسک‌های حجم سنجی (بالن روزه)
۲۸	کلنی کانتر
۳۰	ظروف مورد استفاده برای محیط کشت
۳۰	پتری دیش
۳۱	وسایل مورد استفاده برای تلقیح و کشت دادن
۳۳	انکوباتور
۳۴	انکوباتورهای آنوریبیک یا هوازی
۳۴	انکوباتورهای CO ₂ دار
۳۴	انکوباتورهای بی‌هوازی
۳۵	جار بی‌هوازی
۳۵	جار بی‌هوازی با استفاده از سیستم ایجاد خلأ و جایگزینی
۳۶	منابع گازها

۳۷	کندل جار
۳۸	سیستم‌های تهویه
۴۲	یخچال
۴۲	شیکر
۴۲	بن ماری
۴۳	پوآر
۴۳	میکروسکوپ
۵۳	روش استفاده و نگهداری از میکروسکوپ
۵۵	میکروسکوپ زمینه سیاه
۵۶	میکروسکوپ فاز کنتراست
۵۷	استرنو میکروسکوپ
۵۷	میکروسکوپ اینترفراکس
۵۸	میکروسکوپ فرابنفش
۵۸	میکروسکوپ فلورسنت
۵۹	میکروسکوپ الکترونی
۶۲	اتوکلاو
۶۳	ساختمان و طرز کار اتوکلاوهای ثابت
۶۴	اتوکلاوهای خلاء
۶۵	اتوکلاوهای حرارتی - سوختی
۶۶	بار زدن اتوکلاو
۶۶	احتیاطات لازم در هنگام استفاده از اتوکلاو
۶۸	فیلتراسیون
۶۹	فور باستور یا آون
۷۱	فصل ۲: محیط‌ها و روش‌های کشت
۷۳	مقدمه
۷۵	محیط کشت جامد و مایع
۷۶	محیط مایع
۷۶	محیط جامد

۷۷	محیط نیمه جامد.....
۷۷	آگار سفت.....
۷۸	روش نگهداری محیط‌های کشت بصورت پودر خشک.....
۷۸	روش تهیه محیط کشت.....
۸۰	خطاهای رایج در تهیه محیط‌های کشت.....
۸۱	نگهداری محیط‌های کشت تهیه شده.....
۸۲	کنترل کیفی محیط‌های کشت.....
۸۳	اصول کشت باکتری‌ها.....
۸۴	انواع محیط‌های کشت از نظر کاربرد.....
۸۵	محیط‌های کشت افتراقی و آمی توان به دو دسته زیر تقسیم نمود.....
۸۶	نیازهای غذایی.....
۹۶	فاکتورهای فیزیکی.....
۹۶	دما.....
۹۹	مشاهدات و نتایج.....
۱۰۰	pH محیط.....
۱۰۴	نیاز به اکسیژن اتمسفر.....
۱۰۸	روش‌های کشت میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی.....
۱۱۰	روش استفاده از گاز پک بیهوازی.....
۱۱۴	روش‌های انتقال کشت باکتری‌ها.....
۱۱۸	روش‌های جداسازی و تهیه کشت خالص میکروبی.....
۱۲۶	خصوصیات کشت میکروارگانیسم‌ها.....
۱۳۵	فصل ۳: روش‌های مطالعه میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی باکتری‌ها.....
	مشاهده میکروسکوپی ارگانیسم‌ها به حالت زنده با استفاده از روش گسترش مرطوب و روش قطره
۱۳۷	معلق.....
۱۳۷	مقدمه.....
۱۴۰	اندازه‌گیری میکروسکوپی میکروارگانیسم‌ها.....
۱۴۴	میکروسکوپ زمینه تاریک.....
۱۴۷	رنگ‌آمیزی باکتری‌ها.....

۱۵۵	رنگ آمیزی ساده
۱۵۷	رنگ آمیزی منفی
۱۵۹	رنگ آمیزی گرم
۱۶۵	رنگ آمیزی اسید - فست به روش زیل - نلسون
۱۷۱	رنگ آمیزی اسید - فست نسبی
۱۷۱	رنگ آمیزی‌های افتراقی برای مشاهده اجزاء ساختمانی سلول‌های باکتریایی
۱۷۲	رنگ آمیزی اسپور (روش Schaeffer- fulton)
۱۷۵	روش تهیه گشوش خشک برای کیسول
۱۷۶	رنگ آمیزی کیسول، روش آنتونی
۱۷۹	رنگ آمیزی دانه‌های ماکروماتیک درون باکتری‌ها
۱۸۰	رنگ آمیزی تازه
۱۸۳	فصل ۴: اثر عوامل فیزیکی و شیمیایی در کنترل رشد میکروبی
۱۸۵	استفاده از مواد فیزیکی و شیمیایی برای کنترل رشد میکروبی
۱۸۵	مقدمه
۱۸۷	عوامل فیزیکی مورد استفاده در کنترل رشد میکروب‌ها
۱۸۹	حرارت خشک
۱۹۱	حرارت مرطوب
۲۰۳	عوامل شیمیایی مورد استفاده در کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها
۲۰۳	الف) روش‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیک‌ها
۲۰۹	ب) اثر سینرژیسمی در استفاده توأم از داروها
۲۱۲	ج) اثر عوامل ضد عفونی کننده و گندزداها
۲۱۷	فصل ۵: فعالیت‌های بیوشیمیایی باکتری‌ها و آزمایش‌های متداول تشخیصی
۲۱۹	مقدمه
۲۲۰	آنزیم‌های خارج سلولی (اگزوانزیم‌ها)
۲۲۰	آنزیم‌های داخل سلولی (اندوانزیم‌ها)
۲۲۱	فعالیت‌های آنزیم‌های خارج سلولی میکروارگانیسم‌ها
۲۲۸	تخمیر قندها

۲۳۴	آزمایش تولید اندول.....
۲۳۵	آزمایش تولید سولفید میدروژن.....
۲۳۷	آزمایش حرکت.....
۲۳۹	آزمایش اوره آز.....
۲۴۱	واکنش لیموس میلک.....
۲۴۲	لخته.....
۲۴۳	پروتولیز (پیتولیزاسیون).....
۲۴۵	آزمایش احیاء تهرات.....
۲۴۹	آزمایش کاتالاز.....
۲۵۰	آزمایش اکسیداز.....
۲۵۳	استفاده از اسیدهای آمینه.....
۲۵۳	الف: آزمایش دکربو کسيلات.....
۲۵۶	ب: آزمایش فیل آلانین دامیناز.....
۲۵۹	فصل ۶: روش‌های شمارش و رسم منحنی رشد باکتری‌ها.....
۲۶۱	روش تهیه رقت متوالی در پلیت برای پی بردن به میزان کمی سلول‌های زنده.....
۲۶۷	منحنی رشد باکتری‌ها.....
۲۷۵	فصل ۷: تک یاخته‌شناسی.....
۲۷۷	مقدمه.....
۲۷۹	کار عملی.....
۲۸۹	فصل ۸: قارچ‌شناسی.....
۲۹۱	مقدمه.....
۲۹۳	کشت و مورفولوژی کپک‌ها.....
۲۹۴	قسمت الف: روش کشت لام.....
۲۹۷	قسمت ب: تهیه کشت کپک روی سطوح جامد.....
۳۰۰	مورفولوژی، خصوصیات کشت و تکثیر مخمرها.....
۳۰۶	شناسایی قارچ‌های نامشخص.....
۳۱۱	فصل ۹: ویروس‌شناسی.....

۳۱۳	مقدمه
۳۱۷	کشت و شمارش باکتریوفاژها
۳۲۲	جداسازی کلی فاژها از فاضلاب
۳۲۷	فصل ۱۰: میکروپشناسی آب
۳۲۹	مقدمه
۳۳۰	بررسی کیفی استاندارد آب
۳۳۰	الف: آزمایش احتمالی: تعیین بیشترین احتمال تعداد باکتری‌های کلی‌فرم
۳۳۷	ب: آزمایش تاییدی
۳۳۸	ج: آزمایش تکمیلی
۳۳۹	بررسی کمی آب: روش فیلتر غشایی
۳۴۵	فصل ۱۱: میکروپشناسی خاک
۳۴۷	مقدمه
۳۴۸	چرخه نیتروژن
۳۴۹	قسمت الف) آمونیفیکاسیون
۳۵۱	قسمت ب) نیتریفیکاسیون
۳۵۲	قسمت ج) دنتریفیکاسیون
۳۵۳	قسمت د) تثبیت نیتروژن
۳۵۵	جداسازی ازوتوباکتر
۳۵۶	مشاهده ریزویوم
۳۵۶	قسمت الف) آمونیفیکاسیون
۳۵۷	قسمت ب) نیتریفیکاسیون
۳۵۸	قسمت ج) دنتریفیکاسیون
۳۵۹	بخش د) تثبیت نیتروژن
۳۶۰	شناسایی و تشخیص ریزویوم
۳۶۰	جمعیت میکروبی موجود در خاک
۳۶۷	فصل ۱۲: میکروپشناسی غذا
۳۶۹	مقدمه

۳۷۰	آزمایش احیاء متیلن بلو.....
۳۷۲	روش بررسی میکروبیولوژیکی غذا: شمارش باکتری‌ها.....

فصل ۱۳: نمونه‌های بالینی..... ۳۷۵

۳۷۷	نمونه ادرار.....
۳۷۹	نمونه‌گیری از طریق سوند ادرار.....
۳۸۰	نمونه‌گیری از طریق کیه ادراری.....
۳۸۰	نمونه دستگاه تناسلی.....
۳۸۰	تهیه نمونه از دستگاه تناسلی مردان.....
۳۸۱	تهیه نمونه از دستگاه تناسلی زنان.....
۳۸۲	خون.....
۳۸۲	تعداد دفعات خونگیری و زمان آن.....
۳۸۳	چشم.....
۳۸۴	زخم‌ها و آبه‌ها.....
۳۸۵	جمع‌آوری و انتقال نمونه‌های مدفوع.....
۳۸۶	نمونه‌گیری از دستگاه تنفسی.....
۳۸۶	گلو.....
۳۸۷	نازو فارنکس.....
۳۸۷	بینی.....
۳۸۷	دستگاه تنفس تحتانی.....
۳۸۷	گوش.....
۳۸۸	سینوس‌ها.....
۳۸۸	خلط.....

فصل ۱۴: باکتری‌شناسی پزشکی..... ۳۸۹

۳۹۱	شناسایی جنس استافیلوکوکوس.....
۳۹۳	آزمایش‌های تشخیصی.....
۴۰۰	شناسایی استرپتوکوکوس‌ها.....
۴۱۲	شناسایی استرپتوکوکوس پنومونیه.....

F1A	خانواده انتروباکتریاسه.....
F21	روش‌های تشخیصی برای ایجاد افتراق بین باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه.....
F36	شناسایی جنس مایکوباکتریوم.....
F37	تشخیص آزمایشگاهی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس.....
F66	شناسایی باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیری.....
F70	شناسایی خانواده ویبریوناسه.....
F75	شناسایی خانواده کورینه باکتریوم دیفتری.....
F77	تشخیص آزمایشگاهی دیفتری.....
F81	شناسایی کیلوباکترها.....
F84	شناسایی جنس نیریا.....
F86	شناسایی نیریا‌های کومنسال.....
F86	تشخیص آزمایشگاهی.....
F89	میکروب‌های فلور دهان: تعیین حساسیت ابتلا به پوسیدگی دندان.....
F92	میکروب‌های فلور نرمال گلو و پوست.....
F97	بررسی میکروبیولوژیک نمونه ادرار.....
502	بررسی میکروبی نمونه خون.....
508	شناسایی جنس باکتری مجهول در یک کشت نامشخص.....
513	شناسایی گونه باکتری‌های موجود در یک کشت ناشناخته.....
519	ضمیمه ۱: معرف‌های رنگ آمیزی.....
523	ضمیمه ۲: معرف‌های آزمایش‌های بیوشیمیایی.....
527	ضمیمه ۳: محیط‌های کشت میکروپوشناسی.....
543	ضمیمه ۴: جداول تشخیصی.....
551	منابع.....