

دما و رشد میکروبی

فعالیت های میکروارگانیسم ها به شدت تحت تأثیر حالات فیزیکی و شیمیایی محیط هستند. بسیاری از عوامل محیطی را می توان مورد توجه قرار داد. در هر حال، 4 عامل کلیدی دما، pH، دسترسی به آب و اکسیژن رشد تمام میکروارگانیسم ها را کنترل نمایند. عوامل دیگری مانند فشار و تشعشعات بر روی رشد میکروارگانیسم ها نیز موثرند.

اثر دما بر رشد میکروبی

دما به احتمال بسیار زیاد، مهمترین عامل محیطی بر رشد و بقا میکروارگانیسم ها می باشد. در دماهای بسیار بالا بسیار گرم و دماهای بسیار پایین بسیار سرد میکروارگانیسم ها قادر به رشد نبوده و حتی ممکن است از بین بروند. حداقل و حداکثر دمای رشد برای میکروارگانیسم های مختلف، بسیار متفاوت است و معمولاً نشاندهنده محدوده دمایی و دمای متوسط محل سکونت میکروارگانیسم ها هستند.

دماهای اصلی

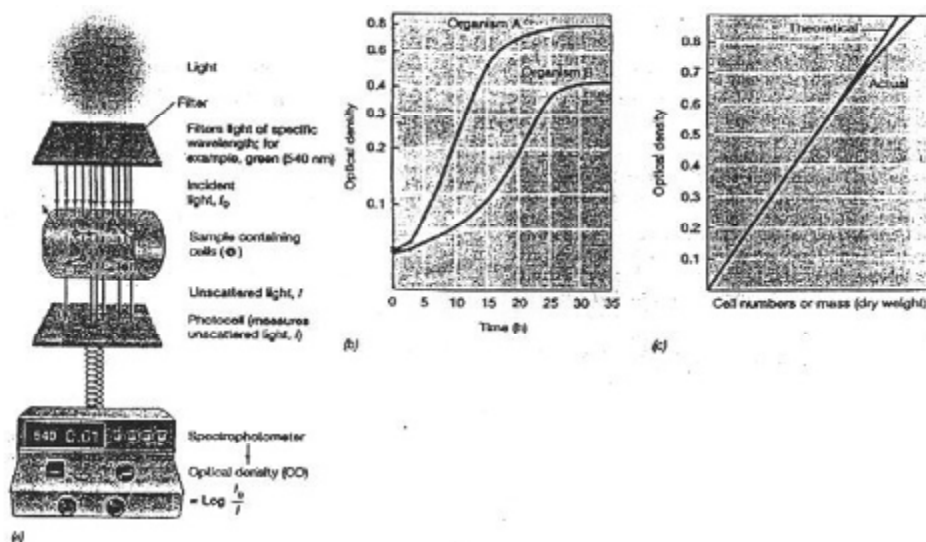
دما از دو روش متفاوت بر میکروارگانیسم ها موثر است:

با افزایش دما، واکنش های آنزیمی و شیمیایی درون سلول با سرعت بیشتری انجام شده و رشد سریع تر می شود. در هر حال، در دمای بالاتر از حد معین آسیب غیر قابل جبرانی به اجزای سلولی وارد می گردد. بنابراین، با افزایش دما در محدوده خاص رشد و فعالیت متابولیکی افزایش یافته، تا جایی که واکنش ها موجب تخریب رشد می شوند. در بالاتر از این نقطه دما، فعالیت سلول به صفر کاهش می یابد.

برای هر میکروارگانیسمی، دمای حداقلی وجود دارد که رشد در کمتر از آن دما، غیر ممکن است. دمای مناسب یا بهینه دمایی است که رشد، سریعترین است و رشد در دمای بالاتر از دمای حراکثر غیر مقدور

است شکل 3-18. دمای مناسب به دمای حداکثر نزدیکتر از دمای حداقل است. این 3 دما که دماهای اصلی نام دارند از ویژگی های هر میکروارگانیسمی می باشند.

شکل 3-17



شکل 3-17: کدورت سنجی رشد میکروبی. **a** کدورت سنجی در اسپکتروفوتومتر انجام می شود. سلول نوری، پخش شدن نور را به وسیله سلول های موجود در محلول، اندازه گیری میکند و در واحدهای تراکم نوری خوانده می شود. **b** داده های منحنی رشد بر دو ارگانیسم در حال رشد در میزان های مختلف رشد.

در عمل، زان تقسیم **g** دو کشت را با استفاده از فرمول $n = 3/3 (\log N - \log N_0)$ محاسبه می کنند که در آن، N و N_0 ، دو تراکم نوری OD متفاوت هستند که بین فاصله زمانی **t** رخ داده است. کدام ارگانیسم، رشد سریعتری دارد؟ **A** یا **B**؟ **c** ارتباط بین تعداد سلول ها یا وزن خشک و کدورت، توجه کنید که هم زمانی یک به یک بین این ارتباط ها در کدورت های بالا از بین می رود.

رشد میکروبی در دنیای واقعی: بیوفیلم ها

در این فصل به بررسی چندین روش اندازه گیری رشد میکروبی شامل روش های میکروسکوپی، شمارش زنده و اندازه گیری پخش نور کدورت سنجی توسط سلول در محیط مایع پرداخته شده است. در اندازه

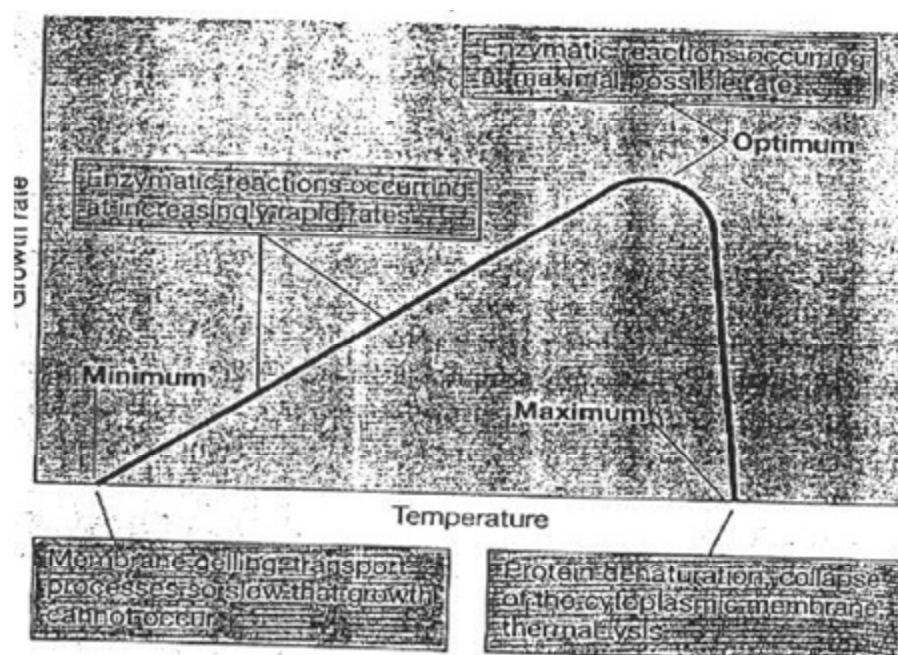
گیری رشد میکروبی به روش کدورت سنجی فرض بر آن است که سلول ها به صورت یکنواخت در مایع پخش شده اند. در این حالت، تراکم نوری محیط کشت متناسب با لگاریتم تعداد سلول ها در محلول سوسپانسیون است (شکل 1). این روش زندگی معلق که پلانکتونی **planktonic** نام دارد روشی است که بعضی از باکتری ها در طبیعت زندگی می کنند.

برای مثال سلول هایی که ساکن آب دریاچه ها هستند. در هر حال، تعداد دیگری از میکروارگانیسم ها چسبنده **sessile** هستند، یعنی آنها با اتصال به سطح رشد می کنند. این سلول های متصل به سطح می توانند تشکیل بیوفilm دهند. انسان روزانه با باکتری های بیوفilm روبرو می شود. برای مثال در هنگام پاک کردن ظروف آب حیوانات خانگی که به مدت چند روز رها شده یا هنگام احساس کردن زبان بر روی دندان که مسواک نشده است.

بیوفilm، شبکه ای پلی ساکاریدی متصل شده حاوی سلول های باکتریایی است. بیوفilm ها در طی چندین مرحله تشکیل می شوند:

1- چسبیدن برگشت پذیر سلول های پلانکتونی. 2- اتصال غیرقابل برگشت همان سلول ها. 3- رشد سلول و تولید پلی ساکارید. 4- رشد بیشتر تا تشکیل بیوفilm کامل مقاوم و غیر قابل نفوذ.

در مراحل اولیه تشکیل بیوفilm، با اتصال سلول های باکتریایی به سطح، بیان ژن مخصوص بیوفilm آغاز می شود. ژن ها، تولید پلی ساکارید سطحی سلول را هدایت می کنند یعنی با تولید آنها، اتصال سلول های بیشتر تسهیل می شود. در نهایت، با رشد و به کارگیری بیشتر جوامع میکروبی در درون شبکه لایه لزج پلی ساکاریدی، بیوفilm توسعه می یابد.



شکل 3-18: دماهای اصلی: حداقل مناسب و حداکثر. ارزش های واقعی ممکن است در میکروارگانیسم های مختلف به مقدار زیاد متفاوت باشد.

بیوفیلم های باکتریایی می توانند به صورت گسترده ای، انسان را تحت تاثیر قرار دهند. برای مثال، عفونت های باکتریایی اغلب در ارتباط با پاتوژن هایی هستند که در طی فرآیند بیماری در بیوفیلم ها توسعه یافته اند. بیماری سیستمیک فیبروز CF با توسعه بیوفیلم حاوی سودوموناس آئروژینوزا و سایر باکتری ها در ریه بیماران مبتلا به CF رخ می دهد. (شکل 2).

شبکه بیوفیلم که حاوی آلژینات و سایر پلی ساکاریدها و همچنین DNA باکتریایی است، موجب می شود توانایی نفوذ مواد آنتی میکروبی مانند آنتی بیوتیک کاهش می یابد و در نتیجه، باکتری در درون بیوفیلم ممکن است تحت تاثیر دارو قرار نگیرد. درمان عفونت های ناشی از بیوفیلم های باکتریایی در پیوند اعضا مانند جایگزینی دریچه های قلب و مفصل مصنوعی بسیار مشکل است.

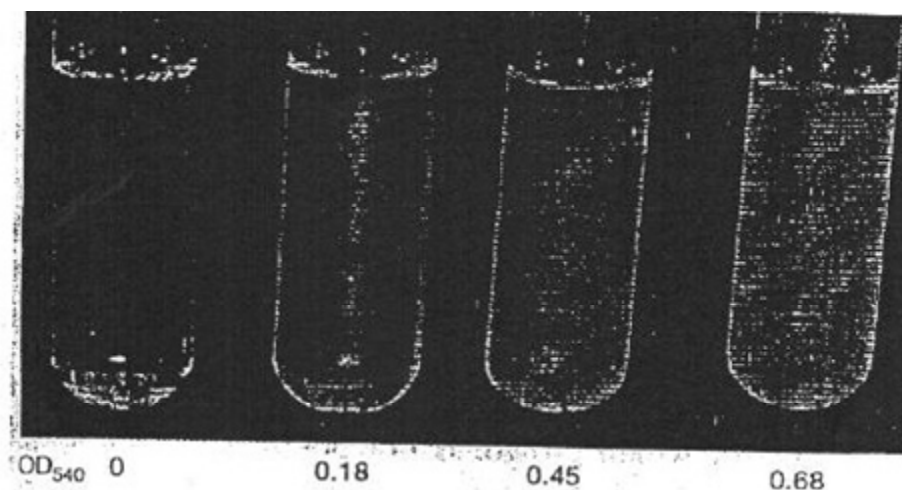
بیوفیلیم در صنعت نیز مشکل بزرگی را ایجاد می کند. بیوفیلیم های میکروبی موجب آسیب به تجهیزات و آلودگی محصولات می شوند، به ویژه اگر مایع جاری، ماده مناسب میکروبی مانند شیر باشد. بیوفیلیم ها می توانند آسیب طولانی مدت را در شبکه توزیع آب و سایر تجهیزات عمومی وارد سازند.

بیوفیلیم هایی که در ظروف ذخیره مانند تانک نگهداری سوخته توسعه می یابند می توانند سبب آلودگی سوخت و موجب ترش شدن مواد شیمیایی مانند سولفید هیدروژن H_2S ترشح شده توسط باکتری های بیوفیلیم شوند.

بیوفیلیم ها شکل معمول رشد باکتری ها در طبیعت هستند. نه تنها بیوفیلیم ها سبب حفاظت از مواد شیمیایی مضر می شوند بلکه شبکه ضخیم بیوفیلیم، پوششی را برای میکروارگانیسم ها ایجاد می کند و مانع شسته شدن میکروارگانیسم ها و دور شدن آنها از محیط های نامساعد می شود. بنابراین در حالی که تراکم نوری، تصویر آزمایشگاهی از باکتری ها محیط کشت را نشان می دهد، اما رشد باکتری ها در حالت بیوفیلیم ممکن است شیوه معمول از دنیای واقعی آن باشد.

دماهای اصلی میکروارگانیسم های مختلف به طور گسترده ای متفاوت است: دمای مناسب بعضی از میکروارگانیسم ها حدود 4 درجه سانتیگراد و بعضی بیش از 100 درجه سانتیگراد می باشد. محدوده دمایی که میکروارگانیسم ها می توانند در آن رشد نمایند حتی وسیع تر بوده به طوری که کمتر از نقطه انجماد تا بالاتر از نقطه جوش آب قادر به رشد می باشند. در هر حال، هیچ میکروارگانیسمی نمی تواند در این محدوده دمایی رشد کند، زیرا محدوده دمایی اکثر میکروارگانیسم ها معمولا 25-40 درجه سانتیگراد می باشد.

شکل 1:



شکل 1: کشت های مایع را از اشیریشیا کلی، سلول ها در این کشت ها در حالت پلانکتونی هستند و در محیط کشت همواره معلق می شوند. افزایش تراکم نوری چپ به راست OD₅₄₀ هر یک از کشت ها در پایین هر لوله نشان داده شده است.

شکل 2:



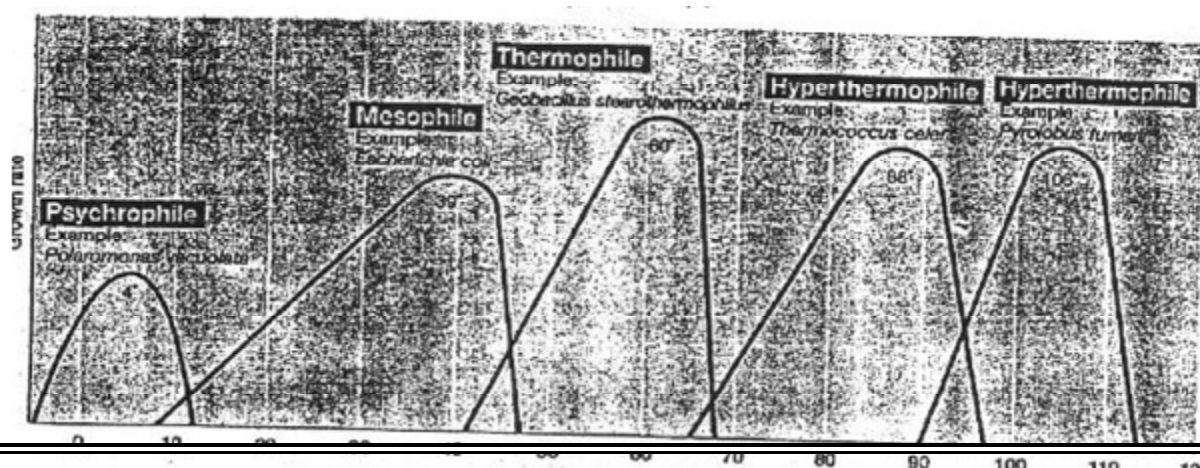
شکل 2: سلول های سودوموناس آئروژینوزا که به طور فلورسنت رنگ آمیزی شده از نمونه خلط بیمار مبتلا به سیتیک فیبروزیس سلول های قرمز رنگ، سودوموناس آئروژینوزا بوده و ماده سفید، آلزینات است که ماده ای مشابه پلی ساکارید بوده و توسط سودوموناس آئروژینوزا تولید می شود.

حداکثر دمای رشد میکروارگانیسم، دمایی است که در بالاتر از آن، یک یا بعضی از اجزاء سلول مانند آنزیم های کلیدی تجزیه می شوند. عواملی که دمای حداقل رشد ارگانیسم را کنترل می کنند کاملاً واضح نمی باشند. در هر حال، غشاء سیتوپلاسمی باید به منظور انجام نقل و انتقالات و انجام سایر اعمال مهم سلولی، در حالت مایع باشند.

حداقل دمایی که ارگانیسم می تواند عملکرد غشاء را کنترل کند: اگر غشاء سیتوپلاسمی ارگانیسم به حدی سفت شود که نتواند عملکرد مناسبی در انتقال مواد غذایی داشته باد و یا نتواند نیروی محرکه پروتون ایجاد نماید، ارگانیسم رشد نخواهد کرد. دمای مناسب رشد، بیانگر حالتی است که تمام و یا اغلب اجزای سلولی در بالاترین میزان سرعت فعالیت می کنند.

طبقه بندی ارگانیسم بر حسب دما

اگر چه بین ارگانیسم ها پیوستگی گونه هایی که با دمای مناسب بسیار پایین تا آنهایی با دمای مناسب بسیار بالا وجود دارد، حداقل 4 گروه از میکروارگانیسم ها بر اساس دمای مناسب رشد قابل تشخیص هستند: سردادوست ها Psychrophiles با دمای مناسب پایین، میانه دوست ها Mesophiles یا دمای مناسب



متوسط، گرمادوست ها **Thermophiles** با دمای مناسب بالا و دوستداران گرمای شدید **Hyperthermohiles** با دمای مناسب بسیار بالا (شکل 3-19).

شکل 3-19

شکل 3-19: ارتباط دما و رشد در میکروارگانیسم های مختلف. دمای مناسب هر یک از ارگانیسم های نمونه در نمودار نشان داده شده است.

میانۀ دوست های در طبیعت بسیار شایع اند. آنها در حیوانات خونگرم و در محیط های خشکی و دریا در نواحی گرمسیری و معتدل یافت می شوند. سرمادوست ها و گرمادوست ها به ترتیب در محیط های بسیار سرد و گرم یافت می شوند. دوستداران گرمای شدید در مناطق بسیار گرم مانند چشمه های آب گرم و یا خروجی های گرمایی اعماق دریا یافت می شوند.

اشریشیا کلی، میانۀ دوست برجسته ای است و دمای اصلی آن به طور دقیق شناسایی شده است. دمای مناسب برای بیشتر سویه های **E.Coli** حدود 39 درجه سانتیگراد و دمای حداکثر و حداقل به ترتیب 48 درجه و 8 درجه سانتیگراد می باشد. بنابراین، محدوده دمایی **E.Coli** حدود 40 درجه می باشد که مشابه بالاترین مقدار برای پروکاریوت هاست (شکل 3-19).

مروری کوتاه

دما مهمترین عامل در کنترل رشد میکروبی است. دماهای اصلی نشاندهنده دمای حداقل ، مناسب و حداکثر هستند که ارگانیسم در آنها رشد می کند. میکروارگانیسم ها را می توان بر اساس محدوده دمایی مورد نیاز طبقه بندی کرد.

- دماهای اصلی **E.Coli** چیست؟ در چه رده دمایی قرار دارند؟
- تفاوت بین دوستدار گرمای شدید و سرما دوست در چیست؟
- چرا **E.Coli** می تواند در محیط کشت پیچیده در مقایسه با محیط کشت مشخص در دمای بالاتری رشد کند؟

رشد میکروبی در دماهای سرد

چون انسان در سطح زمین در مکان هایی زندگی و کار می کند که معمولا دمای متوسطی دارند طبیعی است که محیط های بسیار گرم یا بسیار سرد را دشوار **extreme** در نظر گرفته است. در هر حال، مسکن بسیاری از میکروارگانیسم ها، بسیار سرد یا بسیار گرم است. بنابراین ارگانیسم هایی که در این مناطق زندگی می کنند اکتروموفیل **extremophiles** نامند و جالب است که در اکثر موارد سازش یا تکامل یافته اند و در این شرایط **extreme** به طور مناسب رشد می کند.

جدول 1-3: محدودیت های حرارتی شناخته شده برای رشد ارگانیسم های زنده

گروه	محدودیت های حرارتی درجه سانتیگراد
میکروارگانیسم ها	
حیوانات	
ماهی و سایر مهره داران آبی	38
حشرات	4-0

49-50	Ostracods سخت پوستان
	گياهان
45	گياهان آوندى
50	خزه ها
	ميكروارگانيزم ها
	ميكروارگانيزم هاى يوكاريوتى
5	پروتوزوا
55-60	جلبك ها
60-62	قارچ ها
	پرويوكاريوت ها
	باكتري ها
73	سيانوباكتري ها
70-73	فتوتروف هاى غير اكسيژنى
95	باكتري هاى كموارگانوتروفي / كموليتوتروفي
	آركي ها
121	آركي هاى كموارگانوتروفي / كموليتوتروفي

محيط هاى سرد

اکثر سطوح زمین سر است. دمای متوسط اقیانوس ها که بیش از نصف زمین را فرا گرفته اند حدود 5 درجه سانتیگراد است و دمای ثابت اعماق اقیانوس های آزاد حدود 3-1 درجه سانتیگراد می باشد. سطح وسیعی از قطب شمال و جنوب همواره یخبندان بوده و یخ ها فقط به مدت چند دقیقه در تابستان آب می شوند (شکل 20-3). این محیط های سرد استریل نیستند، زیرا درجه سانتیگراد های قابل حیات در هر محیطی با دمای پایین که مقداری آب وجود داشته باشد ساکن می شوند.