



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی،  
آزمایشگاه میکروبیولوژی



# آزمایشگاه باکتری شناسی ۱

انجام آزمون های بیوشیمیایی جهت شناسایی رودو کوکوس

- باکتری رودوکوکوس یک گونه از باکتری‌های گرم مثبت است که به عنوان اعضای طبیعی از جمله میکروبیوم انسان و محیط‌های دیگر شناخته می‌شوند. این باکتری به‌طور گسترده در خاک، آب، گیاهان، حیوانات و انسان‌ها یافت می‌شود

## مقدمه

رودوکوکوس جنس هوازی، غیر اسپورزا ، باکتری های گرم مثبت غیر متحرکی هستند که از نزدیک به مایکوباکتریوم شبیه اند. در حالی که تعداد کمی از گونه های بیماری زا هستند، بیشتر خوش خیم هستند و به رشد در طیف گسترده ای از محیط، از جمله خاک، آب، و سلول های یوکاریوتی. قرار گرفته اند تعیین توالی، ژنوم در اکتبر 2006 به طور کامل انجام شده است

## مقدمه

- ساختار سلولی: باکتری رودوکوکوس دارای سلول‌های گرم مثبت و فعالیت متابولیک فعالی دارد.
- میکروبیولوژی: این باکتری از خانواده‌های مختلفی مانند استافیلوکوکوس و میکروکوس است که به دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیکی خاص، از جمله تولید کاتالاز مثبت و تخمیناً مثبت بودن نیترات به نیتریت، قابل تفکیک هستند.

## ویژگی های باکتری

- گونه ی رودوکوکوس اریتروپولیس (*R. erythropolis*) در صنایع نفت کاربرد دارد و با استفاده از آن، سولفور های آلی نفت که خطرناک هستند، از نفت جدا می شوند (بیودسولفوریزاسیون).
- گونه ی رودوکوکوس کوپروفیلوس (*R. Coprophilus*) مانند *E.coli* به عنوان شاخص آلودگی آب شناخته می شود.
- گونه ی رودوکوکوس فنولیکوس (*R. Phenolicus*) می تواند فنول را که یک ماده ی سمی است، تجزیه کند.

## گونه های مختلف جنس رودوکوکوس

برای تشخیص و شناسایی باکتری رودوکوکوس، از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که شامل کشت در محیط‌های انتخابی، تست‌های بیوشیمیایی مانند آزمایش کاتالاز و آزمایش احیای نیترات، و همچنین روش‌های مولکولی مانند «پی سی آر» برای شناسایی ژن‌های خاص می‌باشند.

## روش‌های آزمایشگاهی

# رشد کلنی های رودوکوکوس بر محیط بلاد آگار:

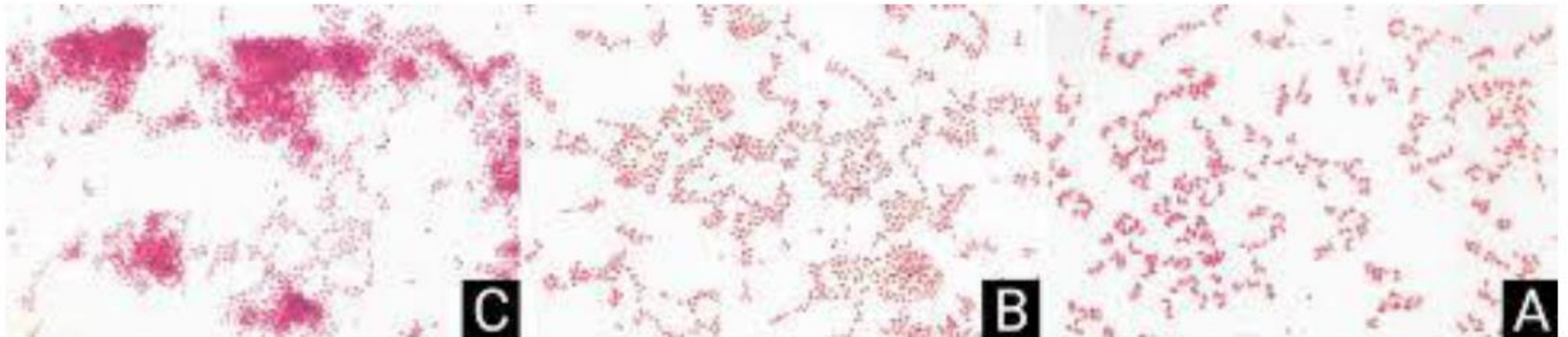


- الگوریتم‌های جداسازی و تشخیص رودوکوکوس از نمونه‌های بالینی مانند خلط‌ها، نمونه‌های بافتی، و نمونه‌های خونی.
- استفاده از محیط‌های کشت مناسب و شرایط انکوباسیون برای رشد بهینه رودوکوکوس.
- استفاده از روش‌های بیوشیمیایی برای شناسایی و تایید باکتری (مانند آزمایش کاتالاز، آزمایش احیای نیترات و غیره).
- روش‌های مولکولی مانند «پی سی آر» برای شناسایی ژن‌های خاص رودوکوکوس.

## روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص و شناسایی



# تصاویر میکروسکوپی رودوکوکوس و مشاهده ساختار پس از رنگ آمیزی گرم:



رودوکوکوس می‌تواند نقش مهمی در بیماری‌های مرتبط با عفونت‌های بیمارستانی عفونت‌های پوستی، و عفونت‌های سیستمیک ایفا کند. همچنین، این باکتری در مطالعات مختلف بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد.

- کاربردهای بالینی و پزشکی باکتری رودوکوکوس، از جمله بیماری‌های مرتبط و مکانیزم‌های مقاومت آن در برابر داروها.

- نقش رودوکوکوس در اکولوژی و بیوتکنولوژی.

## کاربردهای پزشکی

این باکتری به عنوان یکی از اعضای مهم میکروبیوم انسان و محیط‌های دیگر شناخته شده است و در تعادل و سلامت اکولوژیکی بدن انسان نقش دارد

## اکولوژی

# کاربرد و اهمیت:

همچنین رودوکوکوس ها در چرخه کربن اهمیت دارند. میتوانند بسیاری از آلوده کننده های محیطی مثل تولوئن، نفتالن و علف کش ها را تجزیه کنند. به عنوان Biosensor استفاده می شوند. در Bioconversion ( تبدیل ترکیبات ارزان به ترکیبات مفید) کاربرد دارند. برخی از آنها پیش ساز دارو های ایدز را تولید می کنند.

# ویژگی ها:

- رودوکوکوس ها هوازی هستند.
- گرم + تا گرم متغیر
- غیر متحرک
- کاتالاز +
- در محیط های آبی و خاکی وجود دارند.
- دمای رشد ۳۰ درجه است
- برخی سویه ها نیازمند تیامین هستند. اما اکثرا در محیط های معمولی رشد می کنند.
- مورفولوژی Rod تا میسلیموم های پایه ی بسیار منشعب ( چرخه ی زندگی Rod-cocci)
- سیکل زندگی از کوکسی یا Rod کوتاه شروع می شود ← بعد رشته ای می شوند ← این رشته ها قطعه قطعه می شوند و دوباره کوکسی ها را ایجاد می کنند.
- در یک سری مراحل زندگی اسید فست جزئی نشان می دهند.
- مورفولوژی کلنی بسیار متغیر است. می تواند خشن، صاف، موکوئیدی و ... باشد.
- رنگ کلی می تواند زرد، نارنجی، سفید و ... باشد.
- بیماری زایی آنها بستگی به سیستم ایمنی بدن دارد. اگر ضعیف شده باشد، امکان بیماری زایی وجود دارد.

این باکتری روی محیط های TSA، GYEA، محیط Bennet و حتی NA رشد می کند. برخی گونه ها نیازمند تیامین هستند. برای جداسازی، بسته به گونه ی مورد نظر ما روش جداسازی متفاوت است. مثلا اگر بخواهیم رودوکوسی جداسازی کنیم که سولفور آلی موجود در نفت را تجزیه می کند، یک محیط پایه نمکی درست می کنیم و یک ترکیب سولفور آلی به آن می افزاییم و نمونه خاک رقیق شده را به آن اضافه می کنیم. و باکتری مورد نظر روی آن رشد می کند. یا مثلا برای جداسازی سویه ای که فنول را تجزیه می کند، در محیط پایه، فنول را به عنوان تنها منبع کربن استفاده می کنیم.

## روش های جدا سازی

Table 6. Phenotypic properties separating the type strains of species classified in the *R. erythropolis* 16S rRNA subclade.

Characters	Strains <sup>a</sup>											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Morphogenetic sequence	EB-R-C	EB-R-C	H-R-C	EB-R-C	EB-R-C	H-R-C	R-C	H-R-C	H-R-C	H-R-C	EB-R-C	EB-R-C
Biochemical tests												
Esculin hydrolysis	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Arbutin hydrolysis	+	-	-	+	-	ND	+	+	-	-	-	+
Urea hydrolysis	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Growth on sole carbon sources (1%, w/v)												
L(+) Arabinose	-	-	+	-	w	ND	-	-	-	-	-	+
D(+) Arabinol	-	-	+	+	+	ND	-	-	+	+	+	+
D(+) Cellobiose	-	-	-	-	-	ND	-	-	+	-	-	-
D(+) Galactose	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-
Glycerol	+	ND	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
meso-Inositol	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+
Inulin	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
D(+) Lactose	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-
D(+) Maltose	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+
D(+) Mannitol	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
D(+) Mannose	-	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+
D(+) Melibiose	-	-	-	-	+	ND	+	-	+	+	+	+
α-L(-) Rhamnose	-	-	-	-	+	-	w	-	-	-	+	+
D(-) Ribose	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
D(+) Sorbitol	+	-	+	+	+	-	-	w	+	+	+	+
D(+) Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D(+) Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
D(+) Turanose	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
D(+) Xylose	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-

Symbols and abbreviations: +, positive; -, negative; ND, not determined; EB-R-C, elementary branching rod-coccus growth cycle; R-C, rod-coccus growth cycle; and H-R-C, hyphal-rod-coccus growth cycle.

<sup>a</sup>Strains: 1, *R. erythropolis* DSM 43066<sup>T</sup>; 2, *R. baikonurensis* DSM 44587<sup>T</sup>; 3, *R. fascians* DSM 20669<sup>T</sup>; 4, *R. globerulus* DSM 43954<sup>T</sup>; 5, *R. korensis* DSM 44498<sup>T</sup>; 6, *R. jostii* DSM 44719<sup>T</sup>; 7, *R. maanshanensis* DSM 44675<sup>T</sup>; 8, *R. marinonascens* DSM 43752<sup>T</sup>; 9, *R. opacus* DSM 43205<sup>T</sup>; 10, *R. percolatus* DSM 44240<sup>T</sup>; 11, *R. tukisamtuensis* DSM 44783<sup>T</sup>; and 12, *R. wratislaviensis* DSM 44107<sup>T</sup>.

Data from Li et al. (2004), Matsuyama et al. (2004), Takeuchi et al. (2002), and Zhang et al. (2002).

# Rhodococcus Equi





# *Rhodococcus equi*

- Gram positive coccobacillus bacterium
- Facultative intracellular pathogen
- Found in dry and dusty soil
- Infects domesticated animals or humans
  - Goat
  - Horses
  - wild boar
  - domesticated pigs
- Causes pneumonia in foals (young horses)
- Infections can get as high as 60%

## Rhodococcus equi Pneumonia

---

An important cause of pneumonia in foals

# Rhodococcus equi

---

- A common cause of pneumonia in foals less than 5 months of age
- Soil inhabitant
- Intracellular bacteria

# Exposure

---

- Inhalation of contaminated dust or soil
- Risk increased in dusty environments and high mare/foal populations
- Risk not decreased by most farm management practices.

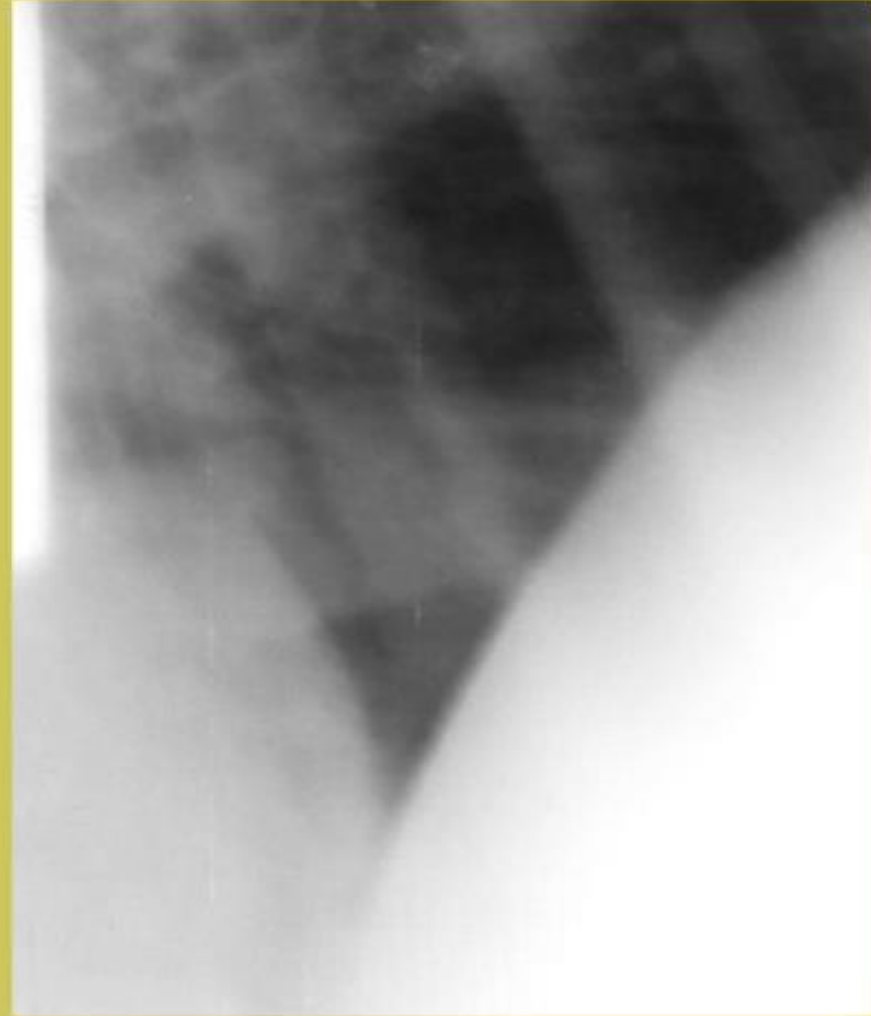
# Susceptibility

---

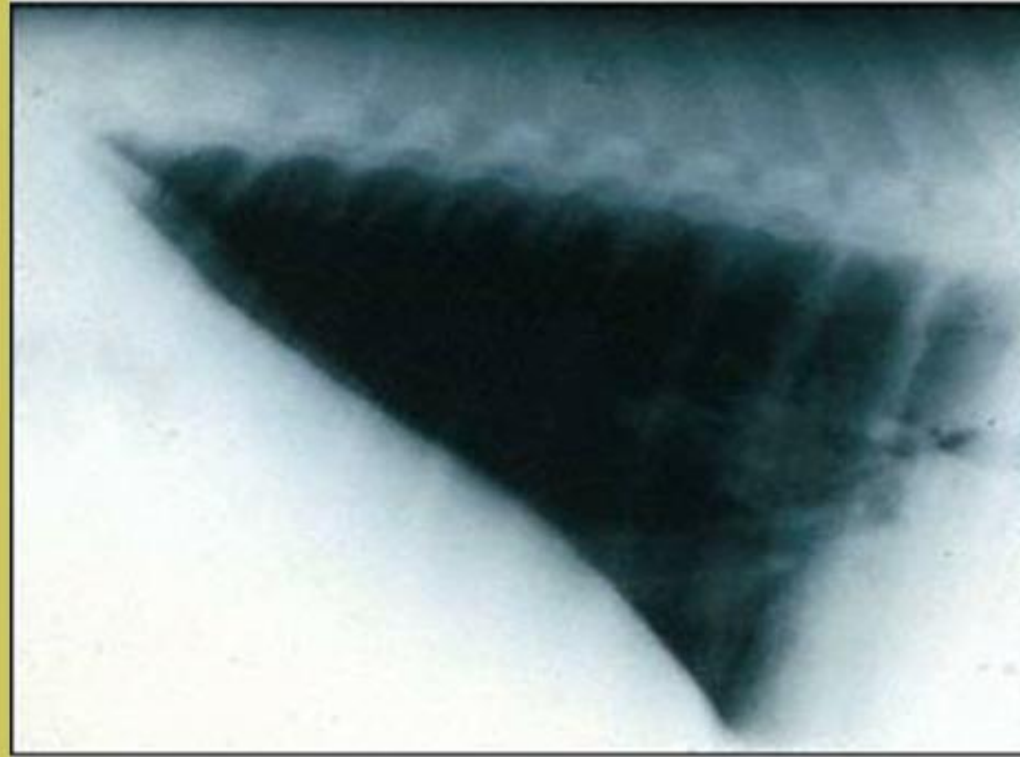
- Foals infected within the first few days of life
- Immune system is immature
- Colostral antibodies are not protective

# Disease Process

- Bronchopneumonia with local abscessation
- Formation and distribution of abscessation
- Non pulmonary disorders

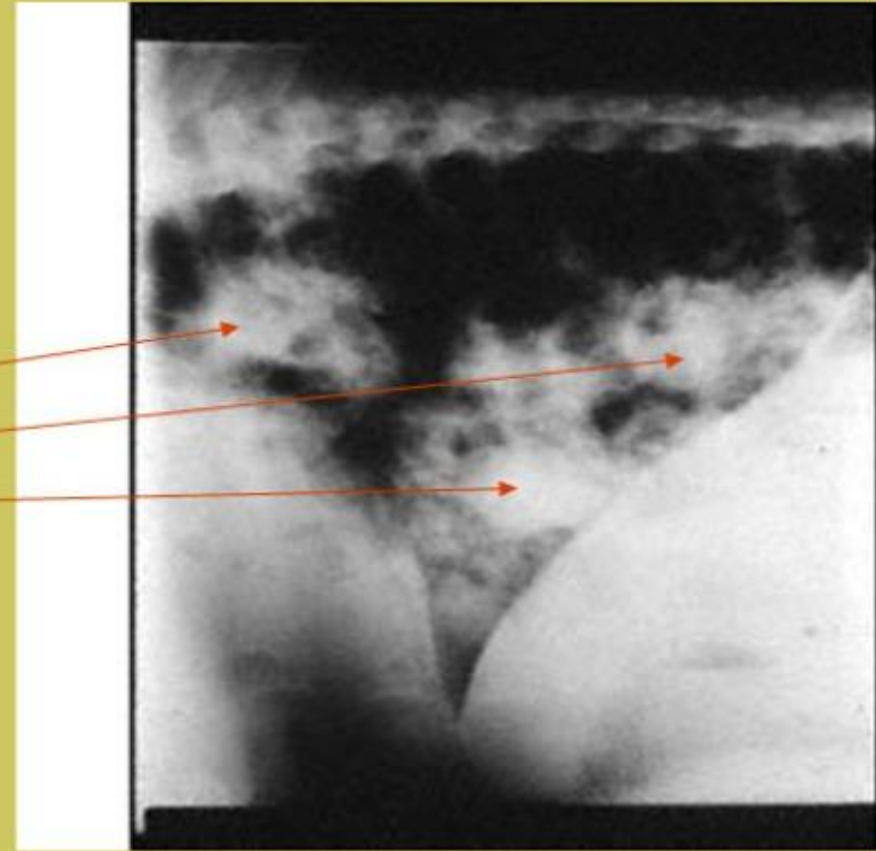


# Radiographic appearance of the chest of a normal foal.



# Radiographic appearance of the chest of a foal affected with *Rhodococcus equi*.

Note the appearance of multiple abscesses within the lungs.





# Postmortem appearance of a foal that died as a consequence of *Rhodococcus equi* pneumonia.

Note the presence of multiple coalescing large abscesses within the body of the lung.

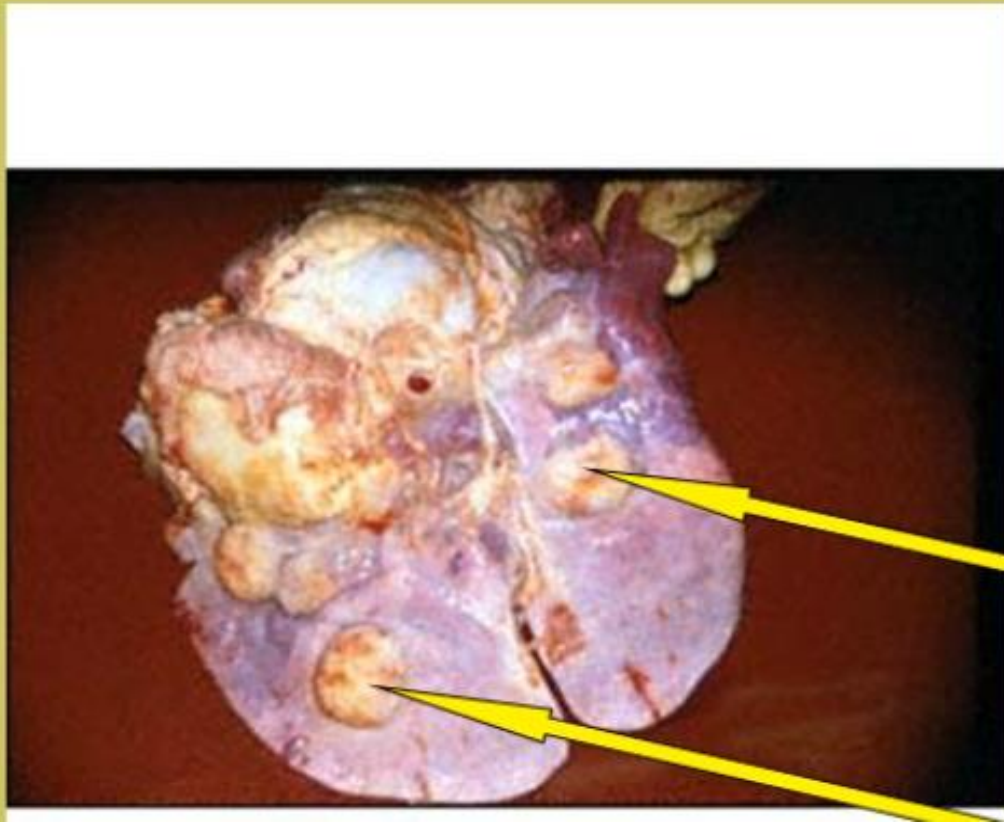


## Appearance of lungs of a foal affected with *Rhodococcus equi* pneumonia.



Notice that much of the lung has been affected by consumptive coalescing abscessation.

# Appearance of the lungs of a foal that died as a consequence of *Rhodococcus equi* pneumonia



Note the presence of multiple abscesses in several lung lobes.

# Clinical Signs

---

- Variable presentation depending on severity
- Early signs may be subtle
- More advanced signs easier to recognize
- Chronic forms harder to identify

# Diagnosis

---

- Definitive diagnosis requires specific tests
- History and presentation are good indicators
- Blood work, thoracic ultrasound and radiographs are highly suggestive
- Transtracheal wash with culture and cytology are definitive

# Treatment

---

- Long term antibiotics are warranted
- Antibiotic of choice is Clarithromycin and Rifampin
- Supportive care if needed
- Treat until blood work and radiographs are normal

# Prognosis

- Depends on severity at the time of diagnosis
- Race performance may be affected
- Permanent lung damage may or may not occur



با سپاس از توجه شما  
مهمتر است از همه چیز