Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 17:40 IRST on Sunday September 24th 2017

مجلهٔ دانشکده پزشکی تهران
شمارهٔ هشتم ـ اردیبهشت‌ماه ۱۳۵۲ ـ صفحه ۲۶۹

اثر تی‌پول در رشد سریع ویبریون وبا

دکتر کیهان بانو لشکری*

مقدمه

با افزودن بعضی مواد به محیط‌کشت باکتریها میتوان محیطهای اختصاصی تهیه نموده و باکمك آنها باکتری مورد نظر را کشت‌داد و جدا کرد ضمناً ممکن است این مواد رشد آن باکتری را نیز تسریع نماید و از رشد باکتریهای مختلف دیگر جلوگیری کنند. چون یکی از مشکلات باکتریولوژی جداکردن و خالص نمودن باکتریها است باکمك محیطهای فوق میتوان یك یا تعداد معینی باکتری را کشت داد.

قسمتی از موضوع تحقیقی فوق اثر تیپول ۶۱۰ در رشد سریع ویبریون وبا میباشد چون این بیماری با علائمی از قبیل اسهال و استفراغ شروع میگردد در هنگام همه گیری امکان اشتباه شدن آن با مسمومیت غذائی وجود دارد لذا تشخیص فوری آن چه از نظر شیوع همه‌گیری و چه برای درمان سریع‌تر آن حائز اهمیت است.

تی‌پول ۶۱۰ یك دترژان آنیوتیك است که مخلوطی از نمك‌های سدیم الکلهای چرب‌سولفاته است. رنك آن زرد کهربائی و شفاف می‌باشد.

Barua در سال ۱۹۶۶ برای اولین بار از محیط ژلز ساده با PH = ۷/۶ که حاوی ۰/۱ تی پول بود برای رشد ویبریون وبا استفاده نمود. بر روی این محیط‌کشت پس از ۴-۷ ساعت قرارگرفتن در اتو ۳۷° کلنی‌ها ظاهر گردید.

Barua بوسیله میکرسکپ آگلوتیناسیون آنها را مشاهده کرد و بعدها تی‌پول را برای نگاهداری و غنی کردن ویبریون وبا بکار برد.

در ژاپن از تی‌پول برای جداکردن ویبریون پاراهمولیتیك (ویبریونی است که در آب دریا و ماهی پیدا میشود و باعث مسمومیت غذائی در انسان میگردد) استفاده میکنند.

روشهای سریع دیگری برای کشت ویبریون وبا وجود دارد از جمله روش Banti [۳] است که نمونه مدفوع را روی محیط آب پپتونه قلیائی کشت میدهند و پس از ۲-۷ ساعت آنتی سرم ضد وبا را اضافه می‌نمایند ولی این روش باشکست مواجه گردید زیرا Paul متوجه گردید که با روشهای معمولی کشت ۳۸٪ جواب مثبت بالا می‌رود. بوسیله میکرسکپ دارك فیلد در ۸۰٪ موارد میتوان در چند دقیقه جواب کشت ویبریون وبا را روی محیط آنریشیسمان بدست آورد.

از آزمایش فلوئورسان آنتی بادی نیز میتوان تا ۹۰٪ در عرض ۲ ساعت بیماری را تشخیص داده ولی روش کار مشکل و مهارت مخصوص احتیاج دارد.

روش آزمایش

تی‌پول ۶۱۰ باغلظتهای مختلف ۰/۰۵ تا ۰/۶ درصد سانتی مترمکعب به ژلز غذائی اضافه گردید ابتدا ژلز غذائی را در اتوکلاو استریل نمودند و سپس تی‌پول بآن اضافه‌شد. PH محیط ۷/۲ تنظیم شده بود. سپس باکتریهای استافیلوکوك طلائی ـ لیموئی ـ سفید ـ میکروکوك ـ باسیلوس انتراسیس ـ سوبتی لیس ـ آنتروکوك ـ دیفتروئید ـ لیستریا مونوسیتوژنس روی آن کشت داده شد و در مورد هریك از باکتریهای فوق یك بوات دوپتری ژلز غذائی بدون تی‌پول بعنوان شاهد نیز کشت داده شد. بواتها بمدت ۲۴

* گروه میکروبشناسی و ایمونولوژی دانشکده پزشکی ـ دانشگاه تهران

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 17:40 IRST on Sunday September 24th 2017

ساعت دراتو۳۷ درجه قرار گرفت .

سپس درمرحله بعد باکتریهای گرم منفی مانند سالمونلاتیفی، سالمونلاپاراA ،سالمونلاپاراB ـ اشریشیاکلی ـ پروتئوس ولگاریس ـ ویبریون وبا ـ پزودوموناس ائروژینوزا ـ سراتیا مرسه‌سنس ـ شیگلافلکسنری بروسلاابورتوس ـ سوئیس وملی ـ تن‌سیس روی محیط ژلزغذائی تی‌پول‌دار باغلظتهای متفاوت تی‌پول کشت داده شد . در مرحله سوم از محیط ژلز خوندار استفاده گردید و باکتریهای فوق اعم ازگرم مثبت و منفی روی ژلز خوندار با غلظتهای متفاوت تی‌پول کشت داده شد و در هر مورد شاهد نیزکه محیط ژلز خوندار بدون تی‌پول بودکشت داده شد .قسمت بعدی تحقیقات درمورد اثرتی‌پول ۶۱۰ دررشد سریع ویبریون وبا بودکه آزمایش برروی ۵۰ سوش ویبریون وبا بیوتیپ‌التور و نوع اینابای جدا شده از همه‌گیری ۱۳۴۸ در تهران انجام شد .

باین‌منظور تی‌پول ۶۱۰به نسبتهای ۰/۵، ۰/۱، ۰/۲ تا ۵ سانتی متر مکعب برای ۱۰۰ سانتی متر مکعب ژلز غذائی اضافه شد و در موقع آزمایش از هر یك از ژلزهای ذکر شده یك ژلز غذائی بدون تی‌پول بعنوان شاهد نیزکشت دادند . ژلزها در اتو ۳۷ درجه قرارگرفت و در فاصله زمانی ۱ـ۲ـ۳ـ۴ـ۵ـ۶ ساعت از نظر رشد باکتری‌و پیدایش پرگنه‌ها مورد بررسی قرارگرفت . سپس ویبریون وبا روی محیط T.C.B.S که بآن به‌نسبتهای ۰/۵ ، ۰/۱، ۰/۱۵ تا ۵ سانتی‌مترمکعب در ۱۰۰ سانتی مترمکعب محیط تی‌پول ۶۱۰ اضافه شده بودکشت داده شد و محیطT.C.B.S بدون تی‌پول هم بعنوان شاهدکشت داده شد .

روی محیطهای DCوSS آب پپتونه ـ کلیگلر تی‌پول با غلظتهای مختلف از ۰/۵ تا ۵سانتی متر مکعب محیط اضافه شد . از آنجائیکه همیشه منظور جداکردن میکرب از مدفوع می‌باشد لذا ۵۰ نمونه مدفوع که ویبریون وبا بآن اضافه شده‌بودروی محیطباتی‌پول وبدون‌تی‌پول کشت‌داده شد .

نتیجه

از بررسی جدول شماره ۱ ملاحظه میشودکه تی‌پول اثرممانعت‌کننده در رشد باکتریهای‌گرم مثبت دارد . غلظت ۰/۵ تی‌پول مانع رشدباسیلوس سوبتی‌لیس، استافیلوکوك لیموئی و باسیلوس‌انتراسیس گردیده و مانع رشد استافیلوکوك طلائی و دیفتروئید شده‌است . غلظت ۰/۲ تی‌پول مانع رشد میکروکوك و ۰/۳ آن‌مانع رشد سارسین گردیده است . در صورتیکه باکتریهای گرم منفی همگی بجز سراتیا ـ پرودیژیوزوم روی محیط تی‌پول‌دار رشد میکنند .

در مورد ژلز خوندار نیز نتایج مشابه بود و فقط با این تفاوت‌که غلظت‌ممانعت‌کننده تیپول برای رشد باکتریهای گرم مثبت ۱/۵ سانتی‌مترمکعب، برای۱۰۰سانتی مترمکعب محیط بود و درغلظت‌های‌کمتر همه باکتریها رشد می‌کردند . در ضمن مشخص گردیدکه تیپول اثر جلوگیری‌کننده از سوارمینك‌پروتئوس دارد و همانطورکه جدول۳نشان میدهد غلظت ۰/۱ درصد آن از سوارمینك پروتئوس جلوگیری بعمل می‌آورد ولی در ژلز خوندار غلظت ۰/۳ تیپول مانع سوارمینك‌پروتئوس میشود .

تیپول ۶۱۰ اثر تسریع‌کننده‌در رشدویبریون وبا دارد زیراهمانطورکه جدول‌شماره۴نشان میدهدشروع‌رشدویبریون وبا روی‌محیط ژلز ساده پس‌از ۷ ساعت بود در ژلز بدون تیپول‌کلنی‌ها در حدود ساعت ۱۶ ظاهر می‌شوند .در مورد محیطT.C.B.S کلنی‌ها پس از ۵ ساعت‌ونیم ظاهر شدند در صورتیکه در T.C.B S بدون تیپول پس ازحدود ۱۵ ساعت ویبریون وبا رشدکرد ، PHمحیط = ۸/۲ بود .

محیطهای DCوSS ـ کلیگلر و آب پپتونه در مقایسه با شاهد تفاوت فاحشی نداشتند .. ویبریون کلره رشد کرده روی محیط تیپول‌دار از نظر آزمایشات بیوشیمیائی مانند تخمیر مانیتول ،اندول ، حساسیت به‌پلی‌میکسین B وفاژ ۴ موکرجی هم آگلوتیناسیون‌گلبول قرمز مرغ و همولیزگلبول قرمزگوسفند تفاوتی نکرده بود .

بحث

دترژانهای آنیونیك موادی هستندکه در اثر شکسته شدن ، ین‌های بابار منفی ایجاد می‌نمایند . از میان آنها میتوان صابونها و اسیدهای چرب،تیپول ۶۱۰ وسدیم لوریل سولفات‌رانام برد . این عوامل در PH اسید فعالتر می‌باشند و برروی باکتریهای‌گرم مثبت مؤثرند ولی اثر آنها برروی باکتریهای‌گرم منفی‌کم است زیرا این باکتریها در سطح خود دارای فسفولیپید می‌باشندکه با عوامل آنیونیك ایجاد نمك

جدو ل۱ـ غلظت دترژان آنیو نیك تیپول ۱۰۰٪ (محیط ژلز ساده) PH = ۷/۴

غلظت	باسیلوس سوبتی لیس	استافیلو کوك طلائی	استافیلو کوك لیموئی	استافیلو کوك سفید	باسیلوس آنتراسیس	دیفتروئید	میکرو کوك	سارسین	انتروکوك	فرید لندر	سالمونلا تیفی	سالمونلا پارا A	سالمونلا پارا B	پروتئوس ولگاریس	شیگلافلکسنری	بروسلا	اشریشیا کلی	سراتیا پرودیژیوزوم
۰/۰۵	−	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۰/۱	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ضعیف
۰/۲	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
۰/۳	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−
۰/۴	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−
۰/۵	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−
۰/۶	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−

جدول ۲ـ غلظت‌تیپول (ژلز خوندار) در ۱۰۰ سانتی مترمکعب PH = ۷٫۴

غلظت	باسیلوس سوبتی لیس	باسیلوس آنتراسیس	استافیلو کوك طلائی	« « لیموئی	« « سفید	میکرو کوك	دیفتروئید	استرپتوکوك بتاهمولیتیك	فرید لندر	باسیل تیفی	پارا A	پارا B	شیگلافلکسنری	پیوسیانیك	اشریشیا کلی	لیستریا	بروسلا
۰/۵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۰/۶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۰/۷	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۰/۸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۰/۹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۱	−	−	+	−	−	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
۱/۵	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 17:40 IRST on Sunday September 24th 2017

میکنند . این عوامل را مدت زیادی باکتریولوژیستها برای از بین بردن پنوموکوك بکار می‌بردند که باعث متلاشی شدن مامبران شده و آنزیمهای اتولیتیك را آزاد می‌نمود .

بنابراین با بررسی دقیق جدولهای فوق میتوان نتیجه گرفت که در غلظت‌های پائین تیپول ۶۱۰ نه تنها ازرشد ویبریون کلرا جلوگیری نمی‌نماید بلکه کمك به رشد آن نموده و ظهور کلنی‌هارا تسریع می‌نماید . در حال حاضر چنین تصور میرود که تیپول یا برروی مامبران سلولی اثر گذاشته و باعث میگردد که جذب موادغذائی باسرعت زیادتری صورت گرفته و بسرعت تقسیم سلول بیافزاید و یا اینکه برروی آنزیم‌های موجود درسلول که عهده‌دار تقسیم آن می‌باشند اثر محرك داشته

جدول ۳ــ مقایسه سوارمینگ پروتئوس و لگاریس روی محیطهای تیپول دار و بدون تیپول

غلظت تیپول در ۱۰۰cc محیط	ژلز ساده	ژلز خوندار	شاهد ژلز ساده	ژلز خوندار بدون تیپول
۰/۰۵	−	+	+	+
۰/۱	−	+	+	+
۰/۱۵	−	+	+	+
۰/۲	−	+	+	+
۰/۲۵	−	+	+	+
۰/۳	+	−	+	+

− عدم سوارمینك + پیدایش سوارمینك

وباتحریك آنها سرعت تقسیم سلول‌را افزایش میدهد. یکی از راههای دیگر که ممکن‌است باعث تقسیم سلول گردد عبارتست ازاثرمستقیم تیپول برروی موادتشکیل دهنده محیط کشت که آنها راتبدیل بموادی می‌نماید که سلول بتواند بآسانی جذب نماید. هرسه این فرضیه‌ها درحال حاضر تحت بررسی‌می‌باشند.

جدول ۴ــ اثر تیپول ۶۱۰ دررشدسریع ویبریون‌وبا در غلظتهای مختلف تیپول ۶۱۰ روی محیط‌ژلز ساده

زمان تشکیل کلنی	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲۵	۰/۳
۱ ساعت	−	−	−	−	−	−
۲ «	−	−	−	−	−	−
۲ «	−	−	−	−	−	−
۴ «	−	−	−	−	−	−
۵ «	−	−	∓	−	−	−
۶ «	−	∓	+	−	−	−
۷ «	−	+	+	∓	−	−
۸ «	−	+	+	+	−	−
۹ «	∓	+	+	+	∓	−
۱۰ «	+	+	+	+	−	−

Summary

The Effect of Teepol 610 on the Growth and Biological Characteristic of V. Cholerae, El Tor Biotype

From the standpoint of public health and sanitary control of disease as well as the treatment of patient, rapid and correct diagnosis of cholera and its seperation from the cholera like diseases is very important

Among different methods suggested for rapid bacteriological diagnosis of V. cholera, fluerescent antibody gives a rapid and correct diagnosis of this organism within 2-3 hours in 90% of the cases, but the need for special skill and equipment restrict its usefullness in most areas where cholera is most likely to occure.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 17:40 IRST on Sunday September 24th 2017

According to Barua, however, it is possible to obtain a correct bacteriological diagnosis in 4-5 hours with the help of stereoscope. The fecal matter is properly streaked on a dry, noninhibitory nutrient agar plate with or without O.1% teepol, and incubated for 4-5 hours. The vibrio colonies can be easily spotted with a stereoscope and confirmed by slide agglutination with O- group serum.

The purpose of the present investigations was to find out the optimum conditions for the effect of teepol on the growth of Vibrio cholerae (El Tor biotype) and the shortest period for colony formation in nutrient agar, TCBS and other media.

REFERENCES

1- Ernest Jawetz. Review of Medical Microbiology 9 Edition, California, 85, 1970.

2_ Oscar Felsenfeld. The Cholera Problem, California, 85, 1967.

3_ D. Barua. W. Burrows. Principles and Practice of Cholera Control. W H.O. 15-21_1970

4- Zinsser Microbiology, 14 th Edition, NewYork 139-1968.

5- Woldringer. C.L. Lysis of the cell membrane of Escherichia coli K 12 by ionic detergents. Biochim, Biophys. Acta, 224:288_290 , 1970.

6- K. Wahn Und K. Zapf. Mode of action of ionic surface active compounds in bacteria. Zentbl. Bakt. I. orig. V. 211, 514_29, 1969.

7_ P. Adhikary. Effect of sodium lauryl sulphate on Vibrio Cholerae. Bulletin, Calcutta School of Tropical Medicine. Vol, 16 _ 1970.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 17:40 IRST on Sunday September 24th 2017