

جلوگیری از سوارمینگ پروتئوس با استفاده از دانه گیاه

* دکتر کیهان‌نیا نو لشری ** دکتر مهرناز قرائی

دکتر فاطمه کمال

(با همکاری فنی خانم خیرالنساء خمایی)

مقدمه

معمولاً باکتریها در روی محیط‌کشت تولید کلنی‌های جداگانه مینمایند ولی پروتئوس برخلاف میکربهای دیگر تمام محیط‌کشت را میپوشانند در نتیجه کلنی‌های مجزا تشکیل نمیگردد. این خاصیت را سوارمینگ میگویند. بررسی این پدیده سالهاست که فکر محققین را بخود مشغول ساخته است و دانشمندان فرضیه‌های مختلفی را برای حل این مسئله و چگونگی ایجاد آن ارائه داده‌اند.

۱ - تشکیل باندهای Swarm یک عمل دوره‌ای است. مثلاً اولین باند Swarm از لبه کشت ظاهر میشود و بطرف خارج حرکت میکند و این حرکت بمدت ۱ تا ۲ ساعت ادامه دارد و سپس برای چند ساعت متوقف میشود تا اینکه دومین باند Swarm از قسمت خارج باند اول بوجود بیاید.

۲ - (۱) Lemonski, (Lendsum,) نتایج مطالعات خود را در مورد سوارمینگ این‌طور تفسیر کرده‌اند.

(۴) - سوارمینگ در اثر یک کموتاکسی منفی ایجاد میشود و برطبق این فرضیه وقتی انواع پروتئوس که ایجاد سوارمینگ میکنند روی محیط‌های آزمایشگاهی کشت داده میشوند در اثر متابولیسم خود تولید یک یا چند فرآورده

سمی مینمایند این مواد زائد در داخل محیط جامد پخش شده سبب تغییر مرفولوژیکی، در سلولها شده و باعث میشود که باکتریها از محل خود که دارای مواد سمی است فرار کنند و در نتیجه در سطح محیط‌کشت میخزند تا آنکه از مواد سمی دور شوند (کموتاکسی) وقتی باکتریهائی که دارای قدرت سوارمینگ هستند به محیط عاری از مواد سمی میرسند تقسیم شده و سوارمینگ متوقف میشود و وقتی دوباره مواد سمی در اثر رشد و متابولیسم باکتری زیاد میشود مجدداً سوارمینگ شروع میشود.

با اینکه دانشمندان مواد مختلفی را برای جلوگیری از سوارمینگ پروتئوس پیشنهاد کرده‌اند معذالک هریک دارای معایبی میباشد. در آزمایشگاه میکربشناسی دانشکده علوم پایه پزشکی با استفاده از دانه گیاه محیطی برای کشت پروتئوس تهیه گردید که علاوه بر اینکه از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری مینماید انواع کوکسی‌های گرم مثبت هم روی این محیط قادر بر رشد میباشند و باین ترتیب میتوان بسادگی اگر استافیلوکوک ارئوس و پروتئوس عامل ایجاد یک عفونت میباشد از یکدیگر آنها را جدا نمود.

دانه گیاه Peganum Harmala از harmine

* * * گروه میکربشناسی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران

Peganine, hermaline, harmidine,

و تانن درست شده است.

مواد و روشها

پودر دانه گیاه *Peganum hermala* را بمقادیر مختلف (از ۲۵/۵ گرم تا ۴ گرم) در ۱۰۰ سانتیمتر مکعب آب مقطر جوشانیده صاف کرده و سپس ۴ گرم تریپتی کیس- سوی آگار به محیط اضافه کرده حجم آنرا دوباره به ۱۰۰ میرسانیم محیط فوق را جوشانیده pH به ۷/۲ میرسانیم سپس در اتوکلاو ۱۲۱ درجه حرارت و ۱۵ پوند فشار بمدت ۱۵ دقیقه استریل میکنیم. در ضمن این پودر را به محیط ژلر خوندار هم میافزائیم و همچنین به محیطی که به ترتیب بالا تهیه شده Yeast extract هم اضافه میکنیم. کلیه محیطهای تهیه شده را قبل از مصرف در اتو ۳۷ درجه قرار میدهم و محیطها بایستی کاملاً خشک باشند و بهیچوجه قطره آب روی محیط نباید وجود داشته باشد زیرا بوسیله قطره آب میکرب در محیط پخش میشود، (بدون اینکه سوارمینگ واقعی پیش آمده باشد).

سپس انواع مختلف باکتریهای گرم منفی مانند پروتئوس میرابی لیس، پروتئوس ولگاریس، پسودوموناس آئروژنیوزا، اشیشیاکلی، سالمونلاتیفی و همچنین میکربهای گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس ارئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمی دیس، انترتوکوک، استرپتوکوک، سوبتی لیس و همچنین مخلوط (استافیلوکوک و پروتئوس) (استرپتوکوک و پروتئوس) (پسودوموناس آئروژنیوزا و پروتئوس) روی محیطهای فوق کشت داده شد.

گونه‌های فوق اسواعتی هستند که در آزمایشگاه میکربشناسی نگهداری میشوند و برای تمام آزمایشات از کشت ۲۴ ساعته میکربهای ذکر شده استفاده شد و در تمام مراحل از شاهد هم استفاده نمودیم (کشت پروتئوس روی محیط ژلر ساده و ژلر خوندار بدون اضافه کردن پودر گیاه) کشت پروتئوس بصورت نقطه‌ای در یک ناحیه از ژلر انجام گرفت.

بحث

پروتئوس با دارا بودن قدرت سوارمینگ مانع از تشکیل

کلنی‌های جدا میگردد در مواردی که با میکربهای دیگر همراه باشد. روشهای بیشمار برای جلوگیری از سوارمینگ پروتئوس در محیط کشت جامد پیشنهاد شده است که بسیاری از آنها از رشد و یا حرکت آن جلوگیری نموده‌اند برای مثال موادی مانند فنیل اتانول و سدیم از اید (۲) در حالیکه مانع از سوارمینگ پروتئوس میشوند از رشد استافیلوکوک و استرپتوکوک هم جلوگیری میکنند و در ضمن سدیم از اید فقط بمدت ۲۴ ساعت از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری میکند.

در سال ۱۹۷۳ Feed و Williams (۳) با اضافه نمودن پارانیتروفنیل گلیسرین به محیط کشت از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری نمودند پارانیتروفنیل گلیسرین ماده جلوگیری کننده خوبی است و از سوارمینگ پروتئوس بمدت ۳۰ - ۷۲ ساعت جلوگیری میکند. مطالعات ما اثر جلوگیری کننده از سوارمینگ پروتئوس را بوسیله دانه گیاه *Peganum hermala* نشان میدهد که ماده فوق در مقایسه با مواد ذکر شده در بالا بمراتب بهتر است زیرا هم از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری میکند و هم بخوبی میتوان استافیلوکوک، پروتئوس و پسودوموناس را در مواردی که مخلوط با پروتئوس باشند از هم جدا نمود و در ضمن بمدت بیش از ۷۲ ساعت از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری مینمایند بدون اینکه در حرکت یا شکل و یا خصوصیات دیگر پروتئوس تغییری حاصل نماید و بهیچوجه رشد میکرب فوق کم نمیشود.

نتیجه

مقادیر مختلف پودر دانه گیاه *Peganum hermala* را به محیط ژلر ساده و ژلر خوندار را با اضافه کردن Yeast extract و بدون آن اضافه گردید در مورد ژلر ساده باید ۳/۷۵ گرم از ماده فوق به محیط اضافه شود تا از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری نماید ولی اگر Yeast extract به محیط اضافه شود چون این ماده محرک رشد برای پروتئوس است.

لذا به محیط فوق باید ۸ گرم از پودر اضافه نمود تا از سوارمینگ جلوگیری کند و به محیط ژلر خوندار باید ۱۰ گرم از ماده فوق اضافه نمود تا از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری شود.

جدول ۱ - میکربهایی که در روی محیط ژلز ساده با غلظت‌های مختلف ماده *Peganum hermal* کشت دادیم .

نوع میکروب	نتیجه - مقدار ماده مؤثر که باکتریها از هم جدا شوند ۳/۷۵ گرم pH به ۱۰°C ژلوز
۱ - پروتئوس	کشت در مرکز بوات . بدون سوارمینگ
۲ - پروتئوس بصورت ایزوله	کامل " کلنی‌های جدا
۳ - استافیلوکوک و پروتئوس	دونوع کلنی متمایز از هم و جدا شدنی
۴ - پseudomonas و پروتئوس	دو نوع کلنی متمایز از هم
۵ - اشریشیاکلی	کامل " کلنی‌های جدا
۶ - سالمونلاتیفی	" " "
۷ - سالمونلا	" " "
۸ - "	" " "
۹ - باسیلوس سرئوس	" " "
۱۰ - باسیلوس سوبیتی لیس	" " "

جدول شماره ۲ - میکربهایی که در روی محیط ژلز خوندار با ماده مؤثر با غلظت‌های ماده pH کشت دادیم

نوع میکروب	نتیجه - مقدار ماده مؤثر که باکتریها از هم جدا شوند ۱۰ گرم ماده P.C به ۱۰°C ژلز
۱ - پروتئوس	کشت در مرکز بوات بدون سوارمینگ
۲ - پروتئوس بصورت ایزوله	کامل " کلنی‌های جدا
۳ - استافیلوکوک و پروتئوس	دونوع کلنی متمایز از هم
۴ - استافیلوکوک و استرپتوکوک	" " "
۵ - پseudomonas و پروتئوس	" " "
۶ - اشریشیاکلی	کامل " کلنی‌های جدا
۷ - سالمونلاتیفی	" " "
۸ - "	" " "
۹ - "	" " "
۱۰ - باسیلوس سوبیتی لیس	" " "

۴- در صورتیکه پروتئوس با استرپتوکوک همراه باشد میتوان ماده موثر فوق را بمقدار بیشتر به محیط اضافه نمود و این دو میکرب را از روی محیط ژلز خوندار جدا نمود .
بنابراین دانه گیاه *Peganum hermala* بعنوان یک ماده موثر و ارزان قیمت برای جلوگیری از سوارمینگ پروتئوس و جدا کردن این باکتری از باکتریهای دیگر در موارد مختلف عفونی پیشنهاد میشود و در ضمن مزیت آن بر محیط سدیم از ایدوفینل اتانول این است که بخوبی میکربهای گرم مثبت از پروتئوس جدا میشود و در ضمن روی محیط پارانیتروفینیل گلیسرین پس از زمان ۷۲ ساعت پروتئوس دوباره سوارمینگ میدهد در صورتیکه روی محیط فوق تا بیش از ۴ روز سوارمینگ نمیدهد .

نیتجهای که از مطالعات اخیر گرفته میشود را میتوان به ترتیب زیر خلاصه نمود .

۱- با استفاده از پودر دانه گیاه *Peganum hermala* میتوان محیط کشتی برای پروتئوس تهیه نمود که از سوارمینگ پروتئوس جلوگیری شود .

۲- روی محیط فوق میتوان پروتئوس را از باکتریهای گرم منفی یا گرم مثبت که در موارد مختلف عفونتها مخلوط با هم باشند از هم جدا نمود و کاملاً کلنیهای ایزوله را تهیه نمود .

۳- ماده فوق هیچ اثری در تغییر شکل ظاهری میکرب یا خصوصیات بیوشیمیائی و پروتئوس ندارد .

References

1. Lemonski. L. and A.J. patheriology. 42; 431-437. 1942.
2. Williams and Feed. App. Microbiol. 35; 745-750. 1973.
3. Rudoli. Kopp. App. Microbiol. 14; No. 6- 873-878. 1966.
4. Judith, P. Experientia 32, 1266-73. 1976.