مجله دانشکده پزشکی تهران
شماره دهم ــ تیر ماه ۲۵۳۵ صفحه ۴۰۱

تهیه یک محیط اختصاصی برای کشت و جدا کردن کرینه باکتریوم دیفتریه

دکتر کیهان بانو لشگری دکتر هرمز یار اعتمادی

تشخیص آزمایشگاهی بیماری دیفتری هنوز حائز اهمیت خاصی است، با وجودیکه بیماری فوق در بعضی از ممالک دنیا ریشه کن گردیده‌است ولی هنوز کودکان زیادی از این بیماری تلف میشوند. شاید یکی از دلائلی که میتوان بعنوان مشکلی برای تشخیص صحیح بیماری ذکر نمود اظهارات Mueller (۱) درسال ۱۹۴۶ راجع به عدم مهارت کامل تکنیسین‌های آزمایشگاهی برای تشخیص کرینه باکتریوم دیفتریه باشد.

در سال ۱۹۴۷ Tinsdale (۲) محیط سیستین سدیم تیوسولفیت تلوریت را معرفی‌نمود. روی محیط فوق کلنی‌های دیفتری‌برنگ سیاه خاکستری بود و اطرافشان را هاله قهوه‌ای تیره فرا میگرفت. علت ایجاد هاله برقراری واکنش بین K_2TeO_3 و H_2S ایجادشده بوسیله باسیل از L سیستین میباشد. سایر باکتریها و دیفتروئیدها که ممکن است در حلق وجود داشته‌باشنداین هاله‌را ایجادنمیکنند (۳) Billing در سال ۱۹۵۶ تغییراتی در محیط فوق داد زیرا محیط Tinsdale از نظر تهیه بسیار مشکل بود.

در سال ۱۹۷۱ Jelland (۴) مقایسه‌ای بین محیط Tinsdale و محیط مدیفیه Billing و محیط (۱۹۴۱) Hoyle (۵) انجام داد و محیط Tinsdale را برای کشت دیفتری محیط بهتری تشخیص داد.

جدا کردن وشناخت کرینه‌باکتریوم دیفتریه روی محیط تلوریت دوپتاس ولفلر که امروزه برای کشت دیفتری بکار میروند کار مشکلی است و احتیاج به تجربه قابل ملاحظه‌ای دارد در آزمایشگاه میکربشناسی دانشکده پزشکی طی دو سال کار و کوشش مداوم محیط جدیدی برای کشت باسیل دیفتری تهیه گردیده است که از بسیاری جهات بر محیطهای فوق ارجحیت دارد.

مواد و روشها

جهت تهیه یک محیط اختصاصی برای کشت باسیل دیفتری از مواد لازم و ضروری برای رشد باسیل فوق در ضمن کیفیت تخمیر قند بوسیله این میکرب استفاده گردیده.

تریپتوکازسوی آگار	۴ گرم
اسیدنیکوتی نیک	۱۰۰ میلیگرم
بتاآلانین	۱۰۰ میلیگرم
استتات سدیم	۱۰۰ میلیگرم
سوکروز	۳۰۰ میلیگرم
لاکتوز	۳۰۰ میلیگرم
ترهالوز	۳۰۰ میلیگرم
فنل رد	۰/۰۰۲ گرم

مواد فوق را در ۱۰۰ سانتی‌مترمکعب آب مقطر حل مینمائیم.

گروه میکروب‌شناسی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی ــ دانشگاه تهران

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

PH محیط فوق را به ۷/۲ با PH متر الکتریکی رسانیده و بمدت زمان یکربع در اتو کلاوو ۱۱۵ درجه حرارت با پیچ باز استریل نموده و سپس وقتی حرارت محیط به حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسید مواد زیر بآن اضافه میگردد.

سرم گوساله	۱۰ سانتی‌مترمکعب
گلیسرین	۸ سانتی‌مترمکعب
تلوریت پتاسیم یک‌درصد	۲ سانتی‌مترمکعب

محیط را خوب تکان داده و در بوات دوپتری ریخته و یکشب در اتو ۳۷ درجه بمنظور کنترل آلودگی قرار میگیرد.

طرز جمع آوری نمونه‌ها و کشت

از ۶۰ بیمار مشکوک به دیفتری کشت بعمل آمد. جهت کشت از بینی و حلق بیماران با سواب برداشت شد و روی محیط لفلروتلوریت دوپتاس و محیط جدید کشت داده شد. بواتها در اتو ۳۷ درجه قرار داده شد و در فاصله‌های زمانی ۹ ـ ۱۰ ـ ۱۱ ساعت ببالا از نظر رشد باسیل دیفتری مورد بررسی قرار گرفت. در ضمن میکربهائی که معمولا" در حلق دیده میشوند مانند استرپتوکوک ـ پنوموکوک، استافیلوکوک و کاندیداروی محیط فوق کشت داده شد.

بحث و نتیجه

تشخیص سریع و هرچه زودتر بیماری دیفتری بسیار با اهمیت میباشد، زیرا هرگونه تأخیر در تشخیص آزمایشگاهی بیماری فوق با خطر مرگ بیمار همراه میباشد. محیطهائی مانند لفلروتلوریت دوپتاس که برای کشت باسیل دیفتری به کار میروند هر یک مزایا و مضاری دارند از جمله اینکه روی محیطهای فوق تشخیص دیفتری از دیفتروئیدها و حتی بعضی ارگانیسم‌های دیگر احتیاج به مهارت و تجربه خاص دارد. لذا احتیاج به محیطی است که حتی فردی که تجربه کافی در تشخیص کرینه باکتریوم دیفتریه ندارد بتواند آنرا تشخیص دهد.

از ۶۰ بیمار مشکوک به دیفتری کشت به منظور جداکردن کرینه باکتریوم دیفتریه روی محیط لفلروتلوریت دوپتاس و محیط جدید بعمل آمد که نتایجی بشرح زیر بدست آمد. از ۶۰ بیمار مشکوک فقط ۲۵ سوش دیفتری جدا گردید و بقیه تماما" باکتریهای دیگر مانند استافیلوکوک ـ استرپتوکوک ـ پنوموکوک وغیره بود. در مقایسه‌ای که بین محیط لفلروتلوزیت دوپتاس و محیط جدید انجام شد مشاهده گردید که روی محیط لفلر اکثر باکتریها قادربرشد میباشند و بهیچوجه نمیتوان از آن بعنوان یک محیط اختصاصی برای کشت و جدا کردن محیط دیفتری استفاده نمود زیرا بکرات مشاهده گردیده است که دیفتروئید با دیفتری اشتباه شده‌اند و آزمایشگاههائی که تخمیر قندها و آزمایشگات لازم برای جدا کردن دیفتری را انجام نمی‌دهند بغلط دیفتروئید را دیفتری گزارش کرده‌اند. روی محیط تلوریت دوپتاس اولا" باسیل دیفتری دیر رشد میکند و ثانیا" استافیلوکوک ـ کاندیدا و دیفتروئید وپروتئوس روی آن رشد نموده و شناخت کلنی‌ها از یکدیگر مشکل است.

بررسی دانه‌های

نوع محیط	زمان رشد باسیل دیفتری	کاندیدا	استرپتوکوک	پنوموکوک	استافیلوکوک	دیفتروئید	متاکروماتیک
تلوریت دوپتاس	۴۸ ساعت	+	ـ	ـ	+	+	+
لفلر	۱۲ ـ ۱۸ ساعت	+	+	+	+	+	+
محیط جدید	۹ ـ ۱۲ ساعت	ـ	ـ	ـ	+	+	+

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

بطوریکه در جدول فوق مشاهده میگردد روی محیط جدید دیفتری سریعتر رشد میکند و مزیتی که محیط فوق بر محیط لفلروتلوریت دوپتاس دارد دراین است که کلنی دیفتری روی محیط جدید دارای مرکز سیاه و اطراف بیرنگ است زیرا قندهائی که در محیط فوق وجود دارد قابل تخمیر بوسیله کرینه باکتریوم دیفتریه نیستند در حالیکه کلنی دیفتروئیدها بدلیل تخمیر قندها اطرافشان زردرنگ است و همچنین کلنی کرینه باکتریوم اولسرنس که گاهی باباسیل دیفتری اشتباه میگردد روی محیط فوق قابل تشخیص است زیرا باکتری فوق قندترهالوزرا تخمیر نموده و اطراف کلنی زردرنگ میشود. در ضمن روی محیط فوق دانه‌های متاکروماتیک بخوبی در رنگ‌آمیزی باکتری قابل شناخت و بررسی میباشند. زیرا روی محیط جدید میتوان کلنی دیفتری را که غالبا" چه از نظر شکل کلنی و چه در رنگ‌آمیزی شبیه دیفتروئیدها میباشد. شناخت وآنرا تشخیص داد و باین وسیله کمک به تشخیص هرچه سریعتر بیماری دیفتری که باعث مرگ سریع بیمار می‌گردد. نمود و در ضمن راهی برای یکی از مشکلات بزرگ آزمایشگاهی که جدا کردن دیفتری از باکتریهای دیگر در کشت حلق میباشد پیدا نمود زیرا بسهولت کلنی دیفتری که برنگ سیاه میباشد از باکتریهای دیگر که اکثرا" یک یا همه قندهای اضافه شده به محیط فوق را تخمیر میکنند قابل شناخت میباشد.

Reference

1. Mueller. J. Bact. 51, 743, 1946
2. Tinsdale. J. Path. Bact., 59-461, 1947
3. Billing. Thesis, Univ., Michigan, 1956
4. Gellard. J. ned, Microbiol, vol 4, 1971
5. Hoyle, Lancet, 1, 175-1941

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]