

## اثر تی پول در رشد سریع ویبریون وبا

دکتر کیهان بانوشکری\*

### مقدمه

با افزودن بعضی مواد به محیط کشت باکتریها میتوان محیطهای اختصاصی تهیه نموده و با کمک آنها باکتری مورد نظر را کشت داد 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 جدا کردن و خالص نمودن باکتریها است با کمک محیطهای فوق میتوان یک یا تعداد معینی باکتری را کشت داد.

قسمتی از موضوع تحقیقی فوق اثر تی پول 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 غذایی وجود دارد لذا تشخیص نوری آن چه از نظر شیوع همه گیری و چه برای درمان سریع تر آن حائز اهمیت است.

تی پول ۶۱۰ یک دترژان آنیوتیک است که مخلوطی از نمکهای سدیم الکلهای چرب سولفات است. رنگ آن زرد کهربائی و شفاف می باشد.

Barua در سال ۱۹۶۶ برای اولین بار از محیط ژلز ساده با  $PH = 7/6$  که حاوی  $0/1$  تی پول بود برای رشد ویبریون وبا استفاده نمود. بر روی این محیط کشت پس از ۴-۷ ساعت قرار گرفتن در اتو  $37^{\circ}$  کلنیها ظاهر گردید. Barua بوسیله میکروسکپ آگلوتیناسیون آنها را مشاهده کرد و بعدها تی پول را برای نگاهداری و غنی کردن ویبریون وبا بکار برد.

در ژاپن از تی پول برای جدا کردن ویبریون پاراهمولیتیک (ویبریونی است که در آب دریا و ماهی پیدا میشود و باعث مسمومیت غذایی 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 پیتونه قلیائی کشت میدهند و پس از ۲-۷ ساعت آنتی سرم ضد وبا را اضافه می نمایند ولی این روش با شکست مواجه گردید زیرا Paul متوجه گردید که با روشهای معمولی کشت ۳۸٪ جواب مثبت بالا می رود. بوسیله میکروسکپ دارک فیلد در ۸۰٪ موارد میتوان در چند دقیقه جواب کشت ویبریون وبا را روی محیط آنریشیمان بدست آورد.

از آزمایش فلئورسان 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

تی پول ۶۱۰ با غلظتهای مختلف ۵/۵ تا ۵/۶ درصد سانتی متر مکعب به ژلز غذایی اضافه گردید ابتدا ژلز غذایی را در اتو کلاو استریل نمودند و سپس تی پول بآن اضافه شد. PH محیط ۷/۲ تنظیم شده بود. سپس باکتریهای استافیلوکوک طلائی - لیموئی - سفید - میکروکوک - باسیلوس انتراسیس - سویتی لیس - آنتروکوک - دینتروئید - لیستریا مونوسیتوژنس روی آن کشت داده شد و در مورد هر یک از باکتریهای فوق یک بوات دوپنری ژلز غذایی بدون تی پول بعنوان شاهد نیز کشت داده شد. بواتها بمدت ۲۴

\* گروه میکروبیشناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی - دانشگاه تهران

ساعت در اتو ۳۷ درجه قرار گرفت .

سپس در مرحله بعد با کتریهای گرم منفی مانند سالمونلا تیفی، سالمونلا پارا A1، سالمونلا پارا B1 - اشریشیا کلی - پروتئوس ولگاریس - ویبریون وبا - پزودوموناس ائروژینوزا - سراتیا مرهسنس - شیگلا فلکسنری بروسلا بورتوس - سوئیس و ملی - تنسیس روی محیط ژلز غذائی تی پول دار با غلظتهای متفاوت تی پول کشت داده شد . در مرحله سوم از محیط ژلز خوندار استفاده گردید و با کتریهای فوق اعم از گرم مثبت و منفی روی ژلز خوندار با غلظتهای متفاوت تی پول کشت داده شد و در هر مورد شاهد نیز که محیط ژلز خوندار بدون تی پول بود کشت داده شد . قسمت بعدی تحقیقات در مورد اثر تی پول ۶۱۰ در رشد سریع ویبریون وبا بود که آزمایش بر روی ۵۰ سوش ویبریون وبا بیوتیپ التور و نوع اینابای جدا شده از همه گیری ۱۳۴۸ در تهران انجام شد .

باین منظور تی پول ۶۱۰ به 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 يك از ژلزه‌های ذکر شده يك ژلز غذائی بدون تی پول بعنوان شاهد نیز کشت دادند . ژلزه‌ها در اتو ۳۷ درجه قرار گرفت و در فاصله زمانی ۱-۲-۳-۴-۵-۶ ساعت از نظر رشد باکتری و پیدایش پرگنه‌ها مورد بررسی قرار گرفت . سپس ویبریون وبا روی محیط T.C.B.S که بآن به نسبتهای ۰/۵، ۰/۱، ۰/۱۵، تا ۵ سانتی متر مکعب در ۱۰۰ سانتی متر مکعب محیط تی پول ۶۱۰ اضافه شده بود کشت داده شد و محیط T.C.B.S بدون تی پول هم بعنوان شاهد کشت داده شد .

روی محیطهای DC و SS آب پیتونه - کلیگر تی پول با غلظتهای مختلف از ۰/۵ تا ۵ سانتی متر مکعب محیط اضافه شد . از آنجائیکه همیشه منظور جدا کردن میکرب از مدفوع می باشد لذا ۵۰ نمونه مدفوع که ویبریون وبا بآن اضافه شده بود روی محیط باتی پول و بدون تی پول کشت داده شد .

#### نتیجه

از بررسی جدول شماره ۱ ملاحظه میشود که تی پول اثر مانع کننده در رشد باکتریهای گرم مثبت دارد . غلظت ۰/۵ تی پول مانع رشد باسیلوس سوبتی لیس، استافیلوکوک

لیموتی و باسیلوس انتراسیس گردیده و مانع رشد استافیلوکوک طلائی و دیفتروئید شده است . غلظت ۰/۲ تی پول مانع رشد میکروکوک و ۰/۳ آن مانع رشد سارسین گردیده است . در صورتیکه باکتریهای گرم منفی همگی بجز سراتیا - پرودیوزوم روی محیط تی پول دار رشد میکنند .

در مورد ژلز خوندار نیز نتایج مشابه بود و فقط با این تفاوت که غلظت مانع کننده تی پول برای رشد باکتریهای گرم مثبت ۱/۵ سانتی متر مکعب، برای ۱۰۰ سانتی متر مکعب محیط بود و در غلظتهای کمتر همه باکتریها رشد می کردند . در ضمن مشخص گردید که تی پول اثر جلوگیری کننده از سوارمینک پروتئوس دارد و همانطور که جدول ۳ نشان میدهد غلظت ۰/۱ درصد آن از سوارمینک پروتئوس جلوگیری بعمل می آورد ولی در ژلز خوندار غلظت ۰/۳ تی پول مانع سوارمینک پروتئوس میشود .

تی پول ۶۱۰ اثر تسریع کننده در رشد ویبریون وبا دارد زیرا همانطور که جدول شماره ۴ نشان میدهد شروع رشد ویبریون وبا روی محیط ژلز ساده پس از ۷ ساعت بود در ژلز بدون تی پول کلنی‌ها در حدود ساعت ۱۶ ظاهر می شوند . در مورد محیط T.C.B.S کلنی‌ها پس از ۵ ساعت و نیم ظاهر شدند در صورتیکه در T.C.B.S بدون تی پول پس از حدود ۱۵ ساعت ویبریون وبا رشد کرد ، PH محیط = ۸/۲ بود .

محیطهای DC و SS - کلیگر و آب پیتونه در مقایسه با شاهد تفاوت فاحشی نداشتند . ویبریون کلره رشد کرده روی محیط تی پول دار از نظر آزمایشات بیوشیمیائی مانند تخمیر مانیتول ، اندول ، حساسیت به پلی میکسین B و فاژ ۴ موکرجی هم آگلوتیناسیون گلبول قرمز مرغ و همولیز گلبول قرمز گوسفند تفاوتی نکرده بود .

#### بحث

دترژانهای آنیونیک موادی هستند که در اثر شکسته شدن ، ین‌های با بار منفی ایجاد می نمایند . از میان آنها میتوان صابونها و اسیدهای چرب ، تی پول ۶۱۰ و سدیم لوریل سولفات را نام برد . این عوامل در PH اسید فاعتر می باشند و بر روی باکتریهای گرم مثبت مؤثرند ولی اثر آنها بر روی باکتریهای گرم منفی کم است زیرا این باکتریها در سطح خود دارای فسفولیپید می باشند که با عوامل آنیونیک ایجاد نمک

جدول ۱- غلظت دترژان آنیونیک تیپول ۱۰۰٪ (محیط ژلز ساده) PH = ۷/۴

غلظت	۵/۰	۱/۰	۲/۰	۳/۰	۴/۰	۵/۰	۶/۰
باسیلوس سوبتی لیس	-	-	-	-	-	-	-
استافیلوکوک طلائی	+	-	-	-	-	-	-
استافیلوکوک لیومنی	-	-	-	-	-	-	-
استافیلوکوک سفید	+	-	-	-	-	-	-
باسیلوس آنتراسیس	-	-	-	-	-	-	-
دیفترئوئید	+	-	-	-	-	-	-
میکروکوک	+	+	-	-	-	-	-
سارسین	+	+	+	-	-	-	-
انتروکوک	+	+	+	-	-	-	-
فرید لندر	+	+	+	+	+	+	+
سالمونلا تیفی	+	+	+	+	+	+	+
سالمونلا پارا A	+	+	+	+	+	+	+
سالمونلا پارا B	+	+	+	+	+	+	+
پروتئوس و لگاریس	+	+	+	+	+	+	+
شیکلا فلاکسنتری	+	+	+	+	+	+	+
پروسیازیک	+	+	+	+	+	+	+
اشریشیا کلی	+	+	+	+	+	+	+
سراتیا پرو دیترئوزوم	+	+	-	-	-	-	-

جدول ۲- غلظت تیپول (ژلز خوندار) در ۱۰۰ سانتی متر مکعب PH = ۷/۴

غلظت	۵/۰	۶/۰	۷/۰	۸/۰	۹/۰	۱	۵/۱
باسیلوس سوبتی لیس	+	+	+	+	+	-	-
باسیلوس آنتراسیس	+	+	+	+	+	-	-
استافیلوکوک طلائی	+	+	+	+	+	+	-
» » لیومنی	+	+	+	+	+	-	-
» » سفید	+	+	+	+	+	-	-
میکروکوک	+	+	+	+	+	+	-
دیفترئوئید	+	+	+	+	+	-	-
استرپتوکوک پناه مو لیک	+	+	+	+	+	-	-
فرید لندر	+	+	+	+	+	+	+
باسیل تیفی	+	+	+	+	+	+	+
پارا A	+	+	+	+	+	+	+
پارا B	+	+	+	+	+	+	+
شیکلا فلاکسنتری	+	+	+	+	+	+	+
پروسیازیک	+	+	+	+	+	+	+
اشریشیا کلی	+	+	+	+	+	+	+
لیستریا	+	+	+	+	+	+	+
پروسیازیک	+	+	+	+	+	+	-

و با تحريك آنها سرعت تقسيم سلول را افزايش ميدهد. يكي از راههاي ديگر كه ممكن است باعث تقسيم سلول گردد عبارتست از اثر مستقيم تيپول بر روي مواد تشكيل دهنده محيط كشت كه آنها را تبديل بموادي مي نمايد كه سلول بتواند با آساني جذب نمايد. هر سه اين فرضيه ها در حال حاضر تحت بررسي مي باشند.

جدول ۴- اثر تيپول ۶۱۰ در رشد سريع ويبريون و با در غلظتهای مختلف تيپول ۶۱۰ روي محيط ژل ساده

زمان تشكيل كلتي	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲۵	۰/۳
۱ ساعت	-	-	-	-	-	-
۲ "	-	-	-	-	-	-
۲ "	-	-	-	-	-	-
۴ "	-	-	-	-	-	-
۵ "	-	-	+	+	-	-
۶ "	-	+	+	+	-	-
۷ "	-	+	+	+	-	-
۸ "	-	+	+	+	-	-
۹ "	-	+	+	+	+	-
۱۰ "	-	+	+	+	+	-

ميکنند. اين عوامل را مدت زيادي باكتريولوژيستها براي از بين بردن پنوموكوك بكار مي بردند كه باعث متلاشي شدن مامبران شده و آنزيمهاي اتوليتيك را آزاد مي نمود.

بنابراين با بررسي دقيق جدولهاي فوق ميتوان نتيجه گرفت كه در غلظت هاي پائين تيپول ۶۱۰ نه تنها از رشد ويبريون كلرا جلوگيري نمي نمايد بلكه كمك به رشد آن نموده و ظهور كلتي ها را تسريع مي نمايد. در حال حاضر چنين تصور مي رود كه تيپول يا برروي مامبران سلولي اثر گذاشته و باعث ميگردد كه جذب مواد غذايي با سرعت زياد تري صورت گرفته و با سرعت تقسيم سلول بيفزايد و يا اينكه برروي آنزيم هاي موجود در سلول كه عهده دار تقسيم آن مي باشند اثر محرك داشته

جدول ۳- مقايسه سوارمينگ پروتئوس و لگاریس

روي محيطهاي تيپول دارو بدون تيپول

غلظت تيپول در ۱۰۰cc محيط	ژل ساده	ژل خوندار	شاهد ژل ساده	ژل خوندار بدون تيپول
۰/۰۵	-	+	+	+
۰/۱	-	+	+	+
۰/۱۵	-	+	+	+
۰/۲	-	+	+	+
۰/۲۵	-	+	+	+
۰/۳	+	-	+	+

+ پيدايش سوارمينگ

- عدم سوارمينگ

### 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 separation from the cholera like diseases is very important

Among different methods suggested for rapid bacteriological diagnosis of V. cholera, fluorescent 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 usefulness in most areas where cholera is most likely to occur.

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 0.1% 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.