دکتر فائقه زمردی - شیروز ایرانپور دکتر یدالله ظفری - دکتر ابوالحسن ظریفی

قدرت نگهداری ویبریون کلرا در دو محیط نگهدارنده دریانمك و کاری بلر*

مقدمه : درطی اپیدمی وبای التور که درسال ۱۳۴۴ درایران روی دادیکی ازنکات قابل توجه روش ارسال نمونه ازنقاط دوردست به‌آزمایشگاه بود. درابتداء اپیدمی نمونه های مدفوع بطور مستقیم ازمناطق روستائی و دوردست به‌آزمایشگاههای مختلف کشور ارسال میگردید وکمی بعدازآب پپتون‌دار قلیائی برای اینکار استفاده گردید.

درمورد اول غالباً بعلت آبکی بودن مدفوع بیماران امکان بوجود آمدن آلودگیهائی وجود داشت ویا آنکه بعلت خشك شدن نمونه نتایج حاصل رضایت‌بخش نبود.

درمورد دوم یعنی استفاده ازآب پپتون‌دار قلیائی این اشکال وجودداشت که‌ویبریون کلراوالتور حداکثر درظرف شش تاهشت ساعت دراین محیط به‌رشد کامل میرسد و پس از آن میکروب‌های دیگرموجود در روده رشد نموده وسبب‌جلوگیری از رشد ویبریون‌هامیشود.

پس‌از مدت کوتاهی ازمحیط نگهدارنده دریانمك بعنوان محیط ارسال استفاده گردید وتاکنون نیزازاین محیط برای ارسال وحمل ونقل نمونه ازمراکز روستائی به آزمایشگاهها ویاآزمایشگاه‌های محلی به‌آزمایشگاه رفرانس استفاده میشود.

نمونه مدفوع بوسیله میله سرپنبه پیچیده در داخل لوله‌های درپیچ محتوی این‌محیط قرار داده شده ودرجعبه های‌چوبی به‌آزمایشگاه ارسال میگردد. مشکلاتی که‌حمل‌ونقل‌محیط مایع معمولاً برای آزمایشگاهها بوجود میآورد مارا برآن داشت که اولا برروی محیط‌های مختلفی که بعنوان محیط‌های نگهدارنده ویبریون معرفی شده‌اند مطالعاتی انجام دهیم‌وثانیاً مدتی راکه ویبریون کلراویاالتورمی تواند درچنین محیط‌هائی زندگی کرده وبر روی محیط کشت خواص باکتریولوژیك وآنتی‌ژنیك خودرا ظاهرسازد معلوم نمائیم. برروی این اصل دومحیط دریانمك وکاری‌بلر بعنوان دومحیط نگهدارنده انتخاب گردید.

هنگام شروع این مطالعه تمام محیط ومواد آزمایشی بدودسته تقسیم گردیدیك‌سری ازآن به‌Comunical Disease Center Atlanta Georgia ارسال‌شد که‌مورد مطالعه‌قرارگیرد

---

* - این مطالعه درآزمایشگاه رفرانس وزارت بهداری انجام‌گرفته است

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-18]

ودسته دیگر درآزمایشگاه رفرانس مورد آزمایش قرار گرفت وبرای‌سهولت کار محیط کاری‌ـ بلرباعلامت (CB) مشخص گردیده است .

مواد وروش کار

۱- روش تهیه محلولهای نگاهدارنده.

الف - محلول دریانمك قلیائی (Alkaline Sea Salt)

این محلول بوسیله Venkatraman وراما کریشنان Rama Krishnan(۱)معرفی‌شده وفرمول آن‌بقرار زیراست:

نمك ناخالص دریائی	۲۰ گرم
پپتون	۵ گرم
آب‌مقطر	یك‌لیتر

نمك وپپتون‌رادرآب‌حل کرده وPHمحیط‌رابه۸/۶ تا ۸/۸ میرسانیم ودرشیشه های در پیچ بمقدار۷سانتی مترمکعب درهرلوله پرکرده ودرمدت یك‌ربع در۱۲۱ درجه سانتیگراد (۱۵ پوند فشار) اتوکلاو میگذاریم.

ب - محیط‌کاری‌بلر (Carry Blair)

این محیط بوسیله Eugene B. Blair (۲) معرفی شده است وبعقیده آنها این محیط برای نگهداری سالمونلا وشیگلا واشرشیاکلی وویبریون میتواند مورداستفاده قرارگیرد.

فرمول تهیه‌آن بقرار زیراست :

سدیم تیوگلیکولات	۱/۵ گرم
فسفات دی‌سدیك	۵ »
کلرور سدیم	۵ »
آگار آگار	۵ »
آب‌مقطر	۹۹۱ سانتیمترمکعب

مواد فوق رادریك ارلن میریزیم باید حرارت داد تا آگارآگارکاملا حل شود سپس آنرا سرد نموده تادرجه حرارت به ۵۰برسد سپس مقدار۹سانتیمترمکعب ازمحلول یك‌درصد کلرور دوکلسیم که تازه تهیه شده باشد بآن افزوده وخوب تکان میدهیم تا مخلوط شودو سپسPHمحیط‌رابه۸/۴ میرسانیم درلوله های درپیچ ازنوع Bijou Bottle بمقدار۷سانتیمترمکعب درهرلوله تقسیم کرده ودرب‌لوله ها راکمی‌شل میکنیم دراتوکلاو میگذاریم «صددرجه‌بمدت ۱۵دقیقه» سپس درب لوله ها را خوب بسته محیط را درحرارت اتاق آزمایشگاه قرارمیدهیم «قرار دادن محیط دریخچال سبب رسوب فسفاتها میگردد».

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-18]

۲- محیط‌های گزینی که برای کشت مورد استفاده قرارگرفته است :

آب پپتون‌دار قلیائی

کلرورسدیم	۱۰ گرم
پپتون	۱۰ «
آب‌مقطر	۱ لیتر

PH رابه۸/۶ تا۹ رسانده وپس‌از تقسیم‌درلوله‌های آزمایشی و بمدت‌یکربع در حرارت ۱۲۱ درجه اتوکلاو می گذاریم.

محیط سفت منصور (Mansour)

محیط سفت منصور شامل دوقسمت :

اول - قسمت‌بازبشرح زیر:

تریپتوگاز	۱۰ گرم
کلرورسدیم	۱۰ «
تروکولات سدیم	۵ «
کربنات سدیم	۱ «
ژلاتین	۳۰ «
آگارآگار	۱۵ «
آب مقطر	۱لیتر

ابتدا آگارآگار را به‌آب‌مقطر اضافه کرده وبجوشانیم تاخوب حل شود سپس‌ژلاتین‌را افزوده‌وحل میکنیم وبعد بقیه موادرا اضافه میکنیم.

PHاین محیطرا پس‌ازاینکه‌خوب‌حل‌شد به۸/۸-۸/۶رسانده،درشیشه ۱۰۰ میلی‌لیتری تقسیم نموده و۱۵دقیقه در ۱۲۱ درجه حرارت و ۱۵ پاند فشار استریل مینمائیم.

دوم - محلول تلوریت پتاسیم۱٪ استریل که ۱۵/. میلی‌لیتر ازآنرابهرصد میلی لیتر ازمحلول‌فوق‌اضافه نموده‌ودرتشتک‌های استریل تقسیم مینمائیم.

محیط جامد TCBS تغییریافته

مقدار۹۱/۶ گرم ازپودرTCBS تغییریافته‌را دریک‌لیترآب مقطراستریل بکمک حرارت حل کرده ودرتشتک‌های استریل‌تقسیم مینمائیم.

(محیطTCBSتغییریافته سه‌ماه همراه با محیط منصور و TCBSژاپنی (Eiken) برای

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-18]

کشت بکار رفت وباآنها مقایسه شد وچون نتیجه بسیار رضایتبخش بود پس ازآن فقط ازاین محیط ومحیط منصور استفاده شد).

روش جمع آوری نمونه

از بین ۲۷ بیماری که در دوران اپیدمی التور در دسترس بودند ۳۹ نمونه بدفعات و تاریخهای مختلف انتخاب شدند وتمام نمونه های مدفوع به تناوب بین ۱ الی ۳۹ روز در یخچال ٤ درجه حرارت نگهداری شدوازتمام نمونه های مزبوریک میله سرپنبه پیچیده درمحیط C.B ویکی دیگر درمحیط دریانمک کشت شد ولوله های مزبور در حرارت آزمایشگاه قرارگرفت «باید توجه داشت که بعلت عدم وجود دستگاه حرارت مطبوع درجه حرارت آزمایشگاه درطی تقریباً ۸ماه بین ۱۰ الی ۳۲ درجه نوسان داشته است».

روش آزمایش

از روی نمونه های نگهداری شده در دومحیط دریانمک و C.B مجموعاً ۵۳ بار در بین تاریخهای ۱۰ آبان ۱۳٤٤ تا ۳۰ خرداد ۱۳٤٥ آزمایش بعمل آمد.

ابتدا باحلقه پلاتین SWG از روی دومحیط نگهدارنده برروی آب پپتون دارقلیائی کشت شد وپس از قراردادن درگرمخانه ۳۷ درجه بمدت ٦ ساعت از این محیط برروی دو محیط سفت منصور وTCBS تغییریافته کشت داده شد. وبمدت ٤ ۲ ساعت درگرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شد وسپس آزمایشهای بعدی انجام گرفت.

درفواصل بین ۱۰ آبان تااول فروردین تقریباً هردوروز یکبار وپس ازآن درفواصل نامعین این کشت انجام گردید. کلیه پرگنه های مشکوك باآنتی سرم پلی والان «ازسرم پلی والان ساخت آزمایشگاه رفرانس استفاده شد» وآنتی سرم آگاواوایناوا «بروز ولکام» استفاده شد ویکبار کلیه آزمایشهای شیمیائی وکشت برروی محیط های قندی، آزمایش همولیز وحساسیت درمقابل پلی میکسین B انجام گرفت.

درتمام مواقع کلنی های مشکوك برروی KIA کشت شد وآگلوتیناسیون مجدداز روی این محیط انجام گرفت. نتایج آگلوتیناسیون نشان داد که سوش بیمار شماره ٤٥ اینابا وبقیه از بیوتایپ التورآگاوا بوده است. نتایج کشت درجدول مربوطه خلاصه شده است.

دراین جدول تعداد روزهائی که مدفوع دریخچال نگهداری شده وروزهائی که نتایج کشت آنها برروی دومحیط تاتاریخ ۳۰ خرداد مثبت بوده، نشان داده شده است.

ازسمت چپ ستون اول شماره ردیف را نشان میدهد.

ستون دوم شماره بیمار وستون سوم تعداد روزهائی راکه مدفوع دریخچال نگهداری

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-18]

شماره دفتر	شماره بیمار	مدت نگاهداری در یخچال	مثبت نتایج برحسب روزها	
			محیط دریا نمکی	محیط کاپیلر
۱	۹	۳۹	۱۷	۵
۲	۹	۲۲	۷	۵
۳	۹	۷	۶۸	۱۴۸
۴	۹	۶	۷	۹
۵	۲۳	۱۹	۷	۵
۶	۲۶	۲۸	—	—
۷	۳۲	۲۴	۲۳۳ ×	۲۲۶
۸	۳۲	۲۳	۲۳۳	۶۶
۹	۳۳	۲۱	۲۳۳	۱۴۸
۱۰	۴۰	۲۲	—	—
۱۱	۴۰	۲۹	۶۶	۲۳۳
۱۲	۴۰	۱۹	—	—
۱۳	۴۱	۱۷	—	—
۱۴	۴۴	۱۴	۲۳۳	۲۰۱
۱۵	۴۵	۱۷	—	۱۴۸
۱۶	۴۵	۱۱	۲۳۳	۲۰۱
۱۷	۴۵	۲	۲۲۶	۲۰۱
۱۸	۴۵	۲	۲۳۳	۲۳۳
۱۹	۴۵	۱	۲۳۳	۲۳۳
۲۰	۴۶	۱۸	۲۳۳	۱۷۹
۲۱	۴۷	۱۸	۲۳۳	۲۳۳
۲۲	۴۹	۱۷	—	—
۲۳	۵۸	۱۲	۲۳۳	۲۳۳
۲۴	۵۹	۱۱	—	—
۲۵	۶۰	۱۱	—	—
۲۶	۶۱	۵	۱۹	۳۳
۲۷	۶۲	۱۲	۲۳۳	۲۳۳
۲۸	۶۲	۱۱	—	—
۲۹	۶۳	۱۱	۲۳۳	۲۳۳
۳۰	۶۳	۸	۲۳۳	۳۱
۳۱	۶۴	۱۱	—	—
۳۲	۶۵	۸	۲۳۳	۲۰۱
۳۳	۶۵	۷	۶۸	۲۲۶
۳۴	۶۵	۶	—	—
۳۵	۶۶	۸	۲۳۳	۲۳۳
۳۶	۶۸	۷	۲۳۳	۲۳۳
۳۷	۱۰۱	۸	۲۳۳	۲۳۳
۳۸	۱۰۲	۸	۲۳۳	۹۹
۳۹	۱۰۴	۲	—	—

۵ ـ عدد۲۳۳ نمودارمواردی است که از ابتدا تا انتهای آزمایش همچنان مثبت مانده است

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-18]

شده است مشخص مینماید درستون چهارم تعداد روزهائی که ویبریون در محیط دریانمک نگاهداری شده و درستون پنجم تعداد روزهائی که ویبریون برروی محیط C.B حفظ شده است ذکر گردیده است.

نتیجه :

۱- این مطالعه نشان داد که ویبریون کلراتابیش ازدویست روزدر دومحیط نگهدارنده دریانمک وکاری بلر قابل نگهداری است بدون آنکه درخصوصیات باکتریولوژیک آن تغییری حاصل شود.

۲- هردومحیط مزبور میتواند بعنوان محیط نگهدارنده جهت ارسال مواد پاتولوژیک ازمناطق دوردست به آزمایشگاهها مورد استفاده قرار گیرد.

۳- درمواقعیکه ارسال نمونه درلوله های مایع مشکل باشد بعلت نیمه سفت بودن محیط کاری بلر بهتر میتوان ازآن استفاده نمود وبخصوص آنکه بنابعقیده تهیه کنندگان این محیط میکرب های گروه سالمونلاوشیگلا نیز درآن نگهداری میشود.

References

1) Dr. Oscar Felsenfeld : Revue of recent trends in research & control of cholerae W.H.O. 1965 PA/20/50

2) Sylivia G. Cary & Eugene Blair : new transport Medium for shipment of clinical specimens. Journal of Bacteriology. No. 1, P 96 - 98, Jun 1964.

3) Sidney Gaunes, et al : A field trial of a new transport Medium tor collectiom of feces for Bacteriologic examination. An. J. Trop. Med. Vol. 14. 1965.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-18]