

استفاده از کریستال ویوله در محیط کشت جهت تشخیص نایسریاها

دکتر علی اکبر سلیمانی رهبر^{۱*}، دکتر محمد نیاکان^۲، دکتر فریبا فیاض^۱، سودابه طاهری^۱، جعفر محمودیان^۲،
محمد رضا نژاد مقدم^۲، دکتر علی اصغر کلاهی^۳

^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۲ جهاد دانشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۳ گروه بهداشت و پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: از خصوصیات مهم نایسریاها، مقاومت در برابر ماده رنگی کریستال ویوله است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر کریستال ویوله بر رشد این باکتری‌ها، افزودن آن به محیط کشت جهت جداسازی این باکتری‌ها، و ساخت یک محیط کشت اختصاصی برای نایسریا است.

روش بررسی: اقدامات انجام شده عبارتند از: (۱) ترشحات مجرای ۱۰۶ بیمار مرد مبتلا به اورتریت، بر روی محیط‌های New York City Medium Agar (NYC agar)، آگار شکلاتی، و آگار شکلاتی دارای غلظت‌های کریستال ویوله در حد فاصل ۱:۱۰۰۰۰ تا ۱:۲۵۰۰۰۰ کشت داده و لام گرم تهیه شد. (۲) ترشح حلق ۲۳۰ فرد سالم، بر روی محیط‌های آگار خوندار، آگار شکلاتی و نیز آگار شکلاتی حاوی غلظت‌های متفاوت کریستال ویوله در حد فاصل ۱:۵۰۰۰۰ تا ۱:۵۰۰۰۰۰ کشت داده و لام گرم تهیه گردید. (۳) برای بررسی احتمال رشد سوش استاندارد ATCC گونوکوک در حضور کریستال ویوله، باکتری در محیط‌های آگار شکلاتی، آگار خوندار، مولر هینتون آگار، تایمراتین آگار و نیز در همین محیط‌ها، همراه نسبت‌های ۱:۵۰۰۰۰ تا ۱:۲۰۰۰۰۰ کریستال ویوله کشت داده شد.

یافته‌ها: ۶۹ نفر از ۱۰۶ بیمار مبتلا به اورتریت، مشکوک به سوزاک بودند که کشت ۶۴ نفر از آنان در محیط NYC، از نظر گونوکوک، مثبت بود. حاصل رشد این نمونه‌ها، در محیط آگار شکلاته، ۵۴ مورد مثبت (با حساسیت ۸۴٪ نسبت به محیط NYC) همراه باکتری‌های مختلف فلور نرمال بود. بیشترین و مناسبترین رشد، در آگار شکلاتی حاوی کریستال ویوله به نسبت ۱:۱۵۰۰۰۰، ۵۸ مورد مثبت (با حساسیت ۹۱٪ نسبت به محیط NYC) و با حداقل رشد فلور نرمال همراه بود. ترشح حلق ۲۲۸ نفر از ۲۳۰ فرد سالم، از نظر نایسریا، مثبت بود. این نایسریاها، قادر به رشد در حداقل ۱:۵۰۰۰۰۰ و حداکثر ۱:۵۰۰۰۰۰ غلظت کریستال ویوله بودند. با این تفاوت که در غلظت ۱:۵۰۰۰۰۰، باکتری‌های فلور طبیعی نیز رشد کامل داشته و با افزایش تدریجی غلظت، از رشد آنها کاسته شد تا اینکه در غلظت نهایی ۱:۵۰۰۰۰۰، فقط نایسریا رشد کرده بود. در آزمایش مستقیم این نمونه‌ها نیز در ۲۲۸ مورد دیپلوکوک‌های گرم منفی نایسریا فرم مشاهده شده بود. نتیجه کشت نایسریا گونوره‌آی استاندارد بر روی محیط‌های آگار شکلاته، مولر هینتون و تایمراتین، همراه مقادیر مختلف کریستال ویوله و نیز بدون آن عبارت است از: در همه محیط‌های بدون کریستال ویوله، رشد این نمونه بطور کامل و یکسان مشاهده شد؛ درحالی که در محیط‌های حاوی کریستال ویوله، حداقل تعداد کولونی، در غلظت ۱:۵۰۰۰۰ و حداکثر ۱:۲۰۰۰۰۰ مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: برای جداسازی و تشخیص نایسریا‌های بیماری‌زایی مانند گونوکوک می‌توان از محیط اختصاصی کروموژن مانند آگار شکلاتی حاوی ۱:۱۵۰۰۰۰ کریستال ویوله یا یکی از محیط‌های تایمراتین و مولر هینتون حاوی ۱:۲۰۰۰۰۰ کریستال ویوله استفاده نمود. نایسریا‌های بی‌آزار، مقاومت زیادی به این ماده داشته و در غلظت ۱:۵۰۰۰۰، در هریک از محیط‌های فوق، قابل رشد و جداسازی هستند. برای ساخت انبوه محیط کروموژن، با توجه به وزن پودر و غلظت‌های ذکر شده می‌توان میزان پودر کریستال ویوله لازم را محاسبه و با پودر اولیه هریک از این محیط‌ها بطور هوموژن مخلوط نمود.

واژگان کلیدی: نایسریا؛ کریستال ویوله؛ ویوله دوزانسیان؛ محیط کشت.

مقدمه

استفاده از رنگ‌ها در میکروبیشناسی، سابقه دیرینه دارد. بعضی از مواد رنگی، منجمله کریستال ویوله، اثر ضد میکروبی داشته

و در نتیجه می‌توانند از رشد بعضی از میکروب‌ها جلوگیری کنند. در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و تشخیص طبی، از کریستال ویوله، در رنگ‌آمیزی میکروب‌ها به روش گرم استفاده می‌شود (۱). بسیاری از باکتری‌ها، بویژه گرم مثبت‌ها، در برابر این ماده، حساس بوده و در حضور آن قادر به رشد نیستند. باکتری‌های گرم منفی از جمله نایسریاها، نسبت به این رنگ، مقاوم بوده و بنابراین، در صورت افزودن غلظت‌های

*نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر علی اکبر سلیمانی رهبر؛ تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی؛ پست الکترونیک: draasrahbar@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۹/۱۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۴/۱۸