

یک طریقه ساد و عملی برای کشت

میکروبهای آناerobی

نگارش

دکتر حسین سهراب و دکتر زهرا پتیان

استاد کرسی میکروب شناسی
دانشکده پزشکی
دستیار آزمایشگاه میکروب شناسی
دانشکده پزشکی

چون در طی مطالعات درباره جذب سموم میکربی بوسیله نباتات احتیاج وافر بسموم میکروبهای آناerobی داشتیم در صدد برآمدیم که طریقه سادهتری برای کشت و بدست آوردن این میکربها پیدا نمائیم. طریقه جدید عبارت است از اضافه کردن ویتامین C یا اسید اسکوربیک استریل بمحیط غذایی معدولی آبگوشت و کشت میکروب آناerobی در آن.

بدواً مختصری از طرق کشت میکروبهای آناerobی که تاکنون معمول و متداول بوده است ذیلا شرح می دهیم:

۱- تخلیه هوا و ایجاد خلاء با وسایل مکانیکی در مخزنیکه کشتهای آناerobی را در آن قرار می دهند.

۲- قرار دادن وازلین یا پارافین مایع بر سطح محیط کشت.

۳- طریقه کشت عمیق لیبوروس و ژلوزویون^(۱)

۴- تخلیه هوای مخزنی که کشتهای آناerobی در آن قرار دارد و

۱ - liborius gelose Veillon

داخل نمودن گازهای خنثی از قبیل ئیدروژن یا ازت

۵- جذب اکسیژن مخزن بوسیله محلول قلیائی اسیدپیروگالیک^(۱)

۶- کشت میکرب آناروبی در لوله‌های گلوله‌دار «هال»^(۲)، میکرب

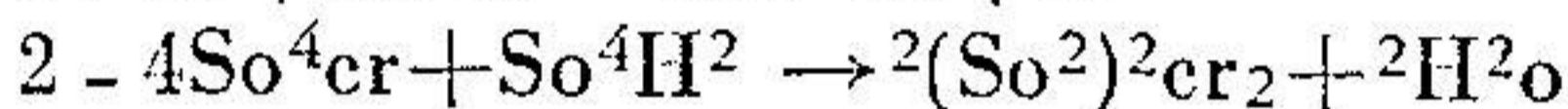
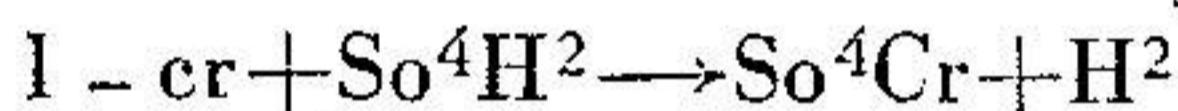
در قسمت تحتانی لوله که با هوا مربوط نیست رشد میکند

۷- ترکیب اکسیژن هوای مخزن با ئیدروژن توسط کاتالیزوری

که بوسیله الکتریسیت گرم شده است مانند مخزن «برورلیدلاو»^(۳) و «ماک اینتوش»^(۴)

۸- طریقه «روزنتال» در مخزن بوسیله فعل و انفعال شیمیائی

اکسیژن را از بین میبرند.



۹- قرار دادن يك تکه نسج تازه حیوانی از قبیل جگر - کلیه - سپرز

قلب - مغز و غیره در محیط کشت.

۱۰- کشت توأم میکرب آناروبی با يك میکرب آناروبی قوی

مانند باسیل سوبتیلیس.

بطوریکه ملاحظه میشود برای کشت میکرب آناروبی باروشهای

فوق بمخازن - اسبابهای مکانیکی و الکتریکی گرانبها - لوله‌ها و ظروف

مخصوص کشت آناروبی و مواد شیمیائی متعدد احتیاج پیدا میشود و

در بسیاری از موارد اشکالات فنی موجود میباشد بدینجهت برای پیدا

کردن يك طریقه سهل و عملی ب فکر افتادیم که يك عامل احیاء کننده^(۵)

داخل محیط کشت نموده بدینوسیله اکسیژن را از بین ببریم برای این

مقصود محتوی آمپولهای ویتامین C را که در دسترس همه میباشد و يك

احیاء کننده قوی است با رعایت اصول آسپسی داخل محیط کشت معمولی

۱ - acide pyrogallique ۲ - Hall ۳ - Lewer aidlaw

۴ - Macintosh ۵ - radueteur

آبگوشت نموده میکرب آناروبی را در آن کشت دادیم و لوله‌های کشت را مثل کشتهای آئروبی در گرم‌خانه قرار دادیم و ملاحظه نمودیم که با این طریقه جدید و ساده بسهولت میتوان میکربهای آناروبی را در محیط مایع رشد داد.

میکربهایی را که برای آزمایش بکار برده‌ایم عبارتند از باسیل بوتولیک و باسیل تتانیک که هر دو با این طریق بخوبی و حتی بهتر از طرق فوق رشد میکنند.

اکنون چند نمونه از آزمایشهای انجام شده را شرح میدهیم:

الف - کشت باسیل تتانیک در لوله‌های ده سانتیمتر مکعب آبگوشت

که با آنها

۱ - ۲۵ میلیگرم یا ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود

نتیجه - آبگوشت بعد از ۲۴ ساعت کدر شده میکرب رشد کرده بود.

۲ - ۲۰ میلیگرم یا ۴۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود

نتیجه - آبگوشت بعد از ۲۴ ساعت کدر شده میکرب رشد کرده بود.

۳ - ۱۵ میلیگرم یا ۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود

نتیجه - آبگوشت بعد از ۲۴ ساعت کدر شده میکرب رشد کرده بود.

۴ - ۱۰ میلیگرم یا ۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود

نتیجه - آبگوشت بعد از ۲۴ ساعت کدر شده میکرب رشد کرده بود.

۵ - ۵ میلیگرم یا ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود

نتیجه - آبگوشت بعد از ۲۴ ساعت کدر شده میکرب رشد کرده بود.

۶ - ۲/۵ میلیگرم یا ۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود.

نتیجه - آبگوشت تغییری نکرده و میکرب رشد نکرده بود.

۷ - ۱/۲۵ میلیگرم یا ۲۵ واحد بین‌المللی ویتامین C اضافه شده بود

نتیجه - آبگوشت تغییری نکرده و میکرب رشد نکرده بود.

لوله‌های شاهد

۸ - آبگوشت بدون ویتامین - تغییری نکرده و میکرب رشد نکرده بود.

۹ - آبگوشت بدون ویتامین - تغییری نکرده و میکرب رشد نکرده بود.

۱۰ - آبگوشت و ۵۰۰ واحد ویتامین ولی میکرب کشت داده نشد. تغییری در محیط کشت ملاحظه نشد.

۱۱ - کشت میکرب در لوله گلوله دار «هال» میکرب فقط در قسمت آنائروبی بعد از ۴۸ ساعت رشد کرده بود.

میکربهای رشد کرده در لوله‌های ۱ تا ۵ را در لوله گلوله دار کشت داده بعد از ۴۸ ساعت فقط قسمت پائین گلوله کدر شده و میکرب رشد کرده بود.

میکربهای رشد کرده در لوله‌های ۱ تا ۵ از لحاظ شکل کاملاً شبیه باسیل تتانیک بودند از تمام کشتهای بوی مخصوص کشت باسیل تتانیک (شاخ سوخته) استشمام میشد.

ب - کشت باسیل بوتولیک در لوله‌های ده سانتیمتر مکعبی آبگوشت که با آنها

۱ - ۲۵ میلیگرم یا ۵۰۰ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت بعد از ۲۴ ساعت مثبت شد.

۲ - ۲۰ میلیگرم یا ۴۰۰ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت بعد از ۲۴ ساعت مثبت شد.

۳ - ۱۵ میلیگرم یا ۳۰۰ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت

بعد از ۲۴ ساعت مثبت شد .

۴- ۱۰ میلیگرم یا ۲۰۰ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت

بعد از ۲۴ ساعت مثبت شد .

۵- ۵ میلیگرم یا ۱۰۰ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت

بعد از ۲۴ ساعت مثبت شد .

۶- ۲/۵ میلیگرم یا ۵۰ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت

میکرب رشد نکرده بود .

۷- ۱/۲۵ میلیگرم یا ۲۵ واحد ویتامین C اضافه شده بود - کشت

میکرب رشد نکرده بود .

لوله‌های شاهد

۸- به آبگوشت ویتامین اضافه نشده بود میکرب رشد نکرده بود .

۹- به آبگوشت ویتامین اضافه نشده بود میکرب رشد نکرده بود

۱۰- آبگوشت و ۵۰۰ واحد ویتامین ولی میکرب کشت

داده نشد. تغییری در محیط کشت مشاهده نشد .

۱۱- کشت میکرب در لوله گلوله دار میکرب فقط در قسمت آناروبی

بعد از ۴۸ ساعت رشد کرده بود .

میکربهای رشد کرده در لوله‌های ۱ تا ۵ در لوله‌های گلوله دار کشت

داده شد همگی کاملاً آناروبی بودند .

از کشت‌های ۱ تا ۵ بوی مخصوص باسیل بوتولیک استشمام میشود .

میکربهای رشد کرده در لوله‌های ۱ تا ۵ از لحاظ شکل کاملاً با باسیل

بوتولیک یکی بودند .

زهرابه میکربهایی که با ویتامین C رشد کرده بودند بموش

تزریق شد بمقدار یک سانتی متر مکعب از محلول یک درصد هزار حیوان را در ۲۴

ساعت تلف کرد .

این آزمایشها را چندین بار تکرار کرده بنظر میآید که پنج میلی گرم یا صد واحد بین المللی ویتامین C در ده سانتی متر میکرب آبگوشت کمترین مقدار لازم برای رشد میکربهای آناروبی باشد .
ج - بچندین شیشه آبگوشت صد سانتی متر مکعبی هزار واحد ویتامین C اضافه کرده باسیل بوتولیک و باسیل تتانیک کشت داده شد میکربها فوق العاده خوب رشد کرده بعد از ۲۴ ساعت آبگوشت کدر شد و بعد از ۴۸ ساعت رسوب زیادی از میکرب ته نشین شد .

همین آزمایش در چند شیشه آبگوشت صد سانتی متر مکعبی بدون ویتامین C انجام شد میکربهای مذکور رشد نکردند .
د - يك سوش قدیمی با سیل تتانیک که کاملاً تبدیل به اسپر شده بود در چند لوله گلوله دار آبگوشت ولوله معمولی کشت داده شد بعد از ۷ روز تمام لوله ها شفاف بودند و میکرب رشد نکرده بود و بمحض اضافه کردن صد واحد ویتامین C بهر لوله تمام آنها بعد از ۲۴ ساعت کدر شده و میکرب هم در قسمت آناروبی و هم در قسمت آنروبی لوله گلوله دار رشد کرد .

ه - میکربهای آناروبی را در چندین لوله ده سانتی متر مکعبی سرم فیزیولوژیک و هزار واحد ویتامین C کشت دادیم بعد از ۲۴ ساعت میکرب رشد نکرده بنابراین ویتامین C در محیط کشت فقط خاصیت احیاء کننده دارد و هیچگونه اثر غذایی ندارد .

ملاحظات فوق را همچنان دنبال کرده در شماره های آینده بررسیهای خود را در مباحث زیر بتفصیل شرح خواهیم داد .

۱ - مقایسه سمیت میکربهای در شرایط معمولی رشد کرده اند با

یا یک طبقه برای کشت میکربهای آناروبی شماره ۱۰ و ۱۱ و ۱۲

سمیت میکربهایی که بروش جدید کشت داده شده است .

۲- اثر حرارت اتوکلاو و بر آبگوشتهاییکه با آنها ویتامین اضافه

شده است .

۳- اثر مرور زمان بر آبگوشتهایی که با آنها ویتامین C اضافه شده

است از لحاظ قابلیت رشد میکربهای آناروبی .

۴- تعیین دقیق کمترین مقدار لازم ویتامین C برای رشد میکربهای

مختلف آناروبی .

در اینجا لازم می‌داند از نمایندگی بنگاه دارویی وینتروپ که

آمپولهای ویتامین C را برایگان و بمقدار لازم در اختیار ما گذارده است

تشکر کنیم .