بررسی یک روش جدید برای انجام رنگ‌آمیزی گرم باکتری‌ها

عباس حسین‌زاده ایواتلو- کارشناس علوم آزمایشگاهی

چکیده

رنگ‌آمیزی گرم یک روش بسیار مهم و مفید برای شناسایی باکتری‌ها است که اغلب به درمان آنتی‌بیوتیکی تجربی کمک شایانی می‌کند. در اینجا تعدادی از محلول‌های مورد لزوم برای رنگ‌آمیزی گرم می‌توانند توسط محلول‌های دیگری جایگزین شوند که در سایر رنگ‌آمیزی‌ها کاربرد دارند. ما در این پژوهش این روش جدید را بررسی کرده‌ایم.

واژه‌های کلیدی: رنگ‌آمیزی گرم، روش جدید

مقدمه:

رنگ‌آمیزی گرم یک روش مهم و سریع برای شناسایی باکتری‌ها است. واژه Gram از نام دانشمندی بنام Hans Christian Gram اقتباس شده است. وی در سال ۱۸۸۴ این رنگ‌آمیزی را گسترش داد. رنگ‌آمیزی گرم به تشخیص باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی براساس اختلاف رنگ‌پذیری کمپلکس ویوله- ید در مقابل یک رنگ تمایزی سافرانین کمک می‌کند. محلول ۱ درصد اسید- الکل برای رنگ‌آمیزی Mycobacterium leprae مفید واقع می‌شود، بنابراین اگر این محلول ۱ درصد اسید- الکل در مرحله رنگ‌زدایی به‌جای استون بکار برده شود در هزینه‌های مربوطه خیلی صرفه‌جویی خواهد شد، لذا این مطالعه برای بررسی سودمندی استفاده از محلول ۱ درصد اسید- الکل (که دارای اتانول ۷۰ درصد است) انجام شده است.

مواد و روش‌ها:

این بررسی یک مطالعه مشاهده‌ای با اساس آزمایشگاهی است که در بخش میکروب‌شناسی مؤسسه از ماه ژوئن تا اواخر جولای ۲۰۱۵ به مدت یک ماه و نیم انجام شده است. ایزوله‌های بالینی ۱۰ مرکز شامل Staphylococcus aureus، گونه‌های باسیلوس و Escherichia coli بطور تصادفی برای این مطالعه انتخاب شدند. روی هر لام شیشه‌ای تمیز ۲ گسترش، یکی از Staphylococcus aureusیا باسیلوس و دیگری از Eschericha coli تهیه شد.

در روش روتین، گسترش بعد از تهیه در هوا خشک شده و توسط حرارت ثابت گردید، سپس توسط محلول کریستال ویوله به مدت ۱ دقیقه مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفت. بعد از شستشوی لام، محلول ید گرم را به گسترش اضافه کرده و بعد از ۱ دقیقه لام را شستشو دادیم. بعد از آن با استون به مدت ۱۵ ثانیه عمل رنگبری را انجام داده و در مرحله آخر با محلول ۰/۵ درصد سافرانین گسترش را رنگ‌آمیزی کردیم.

در روش جدید، گسترش بعد از تهیه در هوا خشک شده و توسط حرارت ثابت گردید، سپس توسط محلول کریستال ویوله به مدت ۱ دقیقه مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفت. بعد از شستشوی لام، محلول ید گرم را به گسترش اضافه کرده، بعد از ۱ دقیقه لام را شستشو دادیم، بعد با محلول ۱ درصد اسید- الکل به مدت ۴ الی ۵ ثانیه عمل رنگبری را انجام دادیم. محلول ۱ درصد اسید- الکل از ۹۹ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر محلول غلیظ اسید سولفوریک تهیه می‌شود.

در مرحله آخر با محلول ۰/۵ درصد سافرانین گسترش را رنگ‌آمیزی کردیم.

این روش‌ها در ۳ نوبت برای یک ایزوله اختصاصی تکرار شدند.

گسترش‌ها بعد از رنگ‌آمیزی در هوا خشک شده و با میکرسکوپ، زیر عدسی روغنی مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج:

رنگبر جدید بطور یکسان مؤثر بود و هیچگونه تفاوتی ازلحاظ خاصیت رنگبری با استون نشان نداد. با استفاده از روش جدید Staphylococcus aureus و گونه‌های باسیلوس گرم مثبت و Escherichia coli گرم منفی بودند، بنابراین تطابق ۱۰۰ درصدی بین دو روش مرسوم و جدید نشان داده شد.

بحث:

رنگ‌آمیزی گرم یک تکنیک بسیار قدیمی برای باکتری‌ها مهم پزشکی است که در درمان انتخابی بیماری‌ها کمک شایانی می‌کند و این موضوع خیلی مهم است چون درمان بیماری بطور قابل‌ملاحظه‌ای براساس نتایج رنگ‌آمیزی گرم می‌باشد. براساس این ذهنیت، روش رنگ‌آمیزی جدید ما بخصوص روش جدید رنگبری خیلی مفید خواهد بود. استفاده از استون وقتی که با مقادیر زیاد استنشاق گردد با اثرات سمی بالقوه مثل سردرد و سرگیجه همراه است بنابراین اسید- الکل می‌تواند جایگزین استون در رنگ‌آمیزی گرم گردد.

نتیجه‌گیری:

اسید- الکل با درصد مذکور یک روش جدید رنگبری در رنگ‌آمیزی گرم می‌باشد که می‌تواند جایگزین استون گردد و روشی مفید و از لحاظ زیست‌محیطی ایمن و بدون خطر بوده و همچنین می‌تواند در رنگ‌آمیزی‌های دیگر کاربرد داشته باشد.

این مقاله ترجمه‌شده مقاله زیر است:

Bhattacharyya, Prasad, Sarfraz, Jaiswal NK, Kumar R: Evaluation of a new method for Gram staining of bacteria. available from https://www.researchgate.net/publication/281397399:2015.