عباس حسین‌زاده ایواتلو، کارشناس علوم آزمایشگاهی،
دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشگین شهر
زهرا رخشیدن، کارشناس آزمایشگاه، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

ارزیابی روشی جدید برای انجام رنگ‌آمیزی گرم در باکتری ها

رنگ‌آمیزی گرم یک روش مفید، مهم و سریع برای شناسایی باکتری‌ها است که می تواند کمک شایانی به درمان به هنگام بیماری نماید. واژه Gram برگرفته شده است از نام دانشمندی بنام Christian Gram. وی در سال ۱۸۸٤ 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 ۱درصد اسید- الکل برای رنگ‌آمیزی Mycobacterium leprae مفید واقع می‌شود، بنابراین اگر این محلول ۱درصد اسید-الکل در مرحله رنگ‌زدایی به‌جای استون به کار 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 بهداشت عمومی هندوستان 2015 میلادی به مدت یک ماه و نیم انجام شده است. میکروب های جدا شده از ۱۰ مرکز، شامل، Staphylococcus aureus گونه‌های باسیلوس و Escherichia coli به طور تصادفی برای این مطالعه انتخاب شدند. روی هر لام شیشه‌ای تمیز ۲ گسترش، یکی از Staphylococcus aureus یا باسیلوس و دیگری از Eschericha coli تهیه شد.

در روش روتین، گسترش پس از تهیه در هوا خشک شده وبا حرارت ثابت شد. سپس با محلول کریستال ویوله به مدت ۱ دقیقه رنگ‌آمیزی شد. پس از شستشوی لام، محلول ید گرم را روی گسترش ریخته و پس از ۱ دقیقه لام را شستشو دادیم. پس از آن با استون به مدت ۱۵ ثانیه عمل رنگبری را انجام داده و در مرحله پایانی با محلول ۰/۵درصد سافرانین گسترش را رنگ‌آمیزی کردیم.

در روش تازه، گسترش پس از تهیه در هوا خشک شده و با حرارت ثابت گردید، سپس با محلول کریستال ویوله به مدت ۱دقیقه رنگ آمیزی شد. پس از شستشوی لام، محلول ید گرم را به گسترش ریخته، پس از ۱دقیقه لام را شستشو دادیم، سپس با محلول ۱درصد اسید- الکل به مدت ٤ 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 میکرب اختصاصی تکرار شد.

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

نتایج

رنگبر جدید به طور 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 و نتیجه گیری

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 ها به طور قابل‌ملاحظه‌ای براساس نتایج رنگ‌آمیزی گرم است. براساس این ذهنیت، روش رنگ‌آمیزی جدید ما به خصوص روش جدید رنگبری خیلی مفید خواهد بود. استفاده از استون وقتی که با مقادیر زیاد استنشاق شود با اثرات سمی بالقوه مثل سردرد و سرگیجه همراه است بنابراین اسید- الکل می‌تواند جایگزین استون در رنگ‌آمیزی گرم شود. اسید-الکل با درصد مذکور یک روش جدید رنگبری در رنگ‌آمیزی گرم است که می‌تواند جایگزین استون شود و روشی مفید و از لحاظ زیست‌محیطی ایمن و بدون خطر بوده و همچنین می‌تواند در رنگ‌آمیزی‌های دیگر کاربرد داشته باشد.

منابع

1. Bhattacharyya, Prasad, Sarfraz, Jaiswal NK, Kumar R: Evaluation of a new method for Gram staining of bacteria. available from https://www.research-gate.net/publication/281397399:2015.
2. Beveridge TJ. Use of the gram stain in microbiology. Biotech Histochem 2001 ,76,111-18.
3. Coico R. Gram Staining. Curr Protoc Microbiol. 2005 ,Appendix 3:Appendix 3C. doi: 10.1002/9780471729259.mca03cs00.
4. Acharya T. Ziehl-Neelsen technIque: Principle, Procedure and reporting. www.microbeonline.org
5.Gramstainprotocol.http://www.med- hem.com/pages/lab_procedures/pdf/gram_stain_table.pdf.
6. Perez-Jorge EV, Burdette SD. Antibiotic Therapy for Positive Blood Cultures.
7. Part 1 of 7: Overview.What Is Acetone Poisoning? http://www.healthline.com/health/acetone-poisoning#Overview1.