جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فصلنامه علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، سال پنجم، شماره چهارم، تابستان ۹۲، دانشگاه ازاد اسلامی واحد دامغان

بررسی فلور باکتریایی معده سوسری آلمانی (*Blattela germanica*) در تهران

ساناز اکبری[1*]، مجید مقبلی[1] و محمدعلی عشاقی[2]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

۲ـ گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

مسئول مکاتبات: sanazakbari62@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱ تاریخ پذیرش:۹۱/۱۰/۱۶

چکیده

سوسری‌ها حشراتی هستند که غالباً درمحیط‌های آلوده مانند فاضلاب دستشویی‌ها و توالت‌ها زندگی و از مواد آلوده تغذیه می‌کنند. این حشرات یکی از عوامل مهم در حمل و نقل و گسترش باکتری‌ها بویژه باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به محیط زندگی انسان محسوب می‌شوند. هدف از این تحقیق بررسی و شناسایی فلور باکتریایی هوازی - بی‌هوازی اختیاری سوسری آلمانی شایع در شهر تهران می‌باشد. در این مطالعه سوسک‌های سوسری آلمانی از مناطق مختلف تهران جمع‌آوری و معده‌ی آنها پس از استخراج بر روی محیط-های کشت میکروبی کشت و در نهایت نمونه‌های رشد کرده با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی شناسایی شدند. ۱۰ جنس باکتریایی در معده سوسری آلمانی یافت شد که ۹ جنس گرم منفی و ۱ جنس گرم مثبت بودند. بررسی‌های انجام شده نشان داد که جنس‌های *سیتروباکتر* ۲۰٪، *سودوموناس* ۱۸٪، پروتئوس ۱۷٪، *E.coli* ۱۵/۵٪، *انتروباکتر* ۱۲٪، *استافیلوکوکوس* ۱۱/۱٪، *سالمونلا* ۳/۳٪، *کلبسیلا* ۱/۱٪، *شیگلا* و *هافنیا* هر کدام با ۱٪ به ترتیب فراوانترین باکتری‌های معده سوسری آلمانی بودند. باکتری‌های متعدد بیماریزا در داخل بدن سوسری‌های آلمانی رشد و نمو می‌یابند و به همراه این حشره به محیط زندگی انسان منتقل می‌شوند. در این مطالعه مشخص گردید اغلب این باکتری‌ها متعلق به خانواده انتروباکتریاسه بوده و می‌توانند بیماریزا باشند در نتیجه می‌توانند بهداشت انسان را تحت تأثیر قرار دهند.

کلمات کلیدی: سوسری آلمانی، محیط کشت افتراقی، انتروباکتریاسه، فلور باکتریایی

مقدمه

تا کنون بیش از ۳۵۰۰ گونه سوسری در دنیا گزارش شده است. سوسری‌ها حشراتی با دگردیسی تدریجی هستند و در زندگی آنها سه مرحله‌ی تخم، پوره یا نمف، و حشره کامل مشاهده می‌شود. سوسری‌ها تحمل زیادی در برابر گرسنگی و قحطی دارند و ۵۰-۴۰ روز بدون آب و غذا زنده می‌مانند و در صورتی که آب تأمین باشد ۶۰ تا ۹۰ روز زنده می‌مانند.

سوسری آلمانی (*Blattela germanica*) به رنگ قهوه‌ای مایل به زرد و به طول ۱۵-۱۰میلی متر در همه جای دنیا یافت می‌شود و به شدت به آب نیاز دارد [۱]. این حشرات قادر به انتقال مکانیکی بسیاری از عوامل بیماری‌زا به انسان هستند و از نظر پزشکی و بهداشت بسیار اهمیت دارند [٤]. در حال حاضر این حشرات به انواع حشره‌کش‌ها مقاوم شده‌اند و عملا کنترل آنها با مشکل مواجه است. منابع غذایی سوسری‌ها حاوی انواع میکروب‌ها است بنابراین عامل انتقال بسیاری از باکتری‌ها و ایجاد انواع بیماری‌ها بخصوص بیماری‌های گوارشی مانند اسهال خونی می‌باشند [۲ و ۹]. برخی از پاتوژن‌ها مثل *اشرشیا کلی*، گونه‌های *کلبسیلا*، *سودوموناس* *آئروژینوزا* توسط سوسری‌ها انتقال پیدا می‌کنند [٦، ۷ و ۱۰] سوسری‌ها از مدفوع خود نیز تغذیه می‌کنند و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا وارد دستگاه گوارش آنها می‌شوند و با مدفوع دفع می‌شوند بدون این که ویرولانس خود را از دست داده باشند [۱۱].

باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه یک گروه از باکتری-های گرم منفی میله‌ای شکل، متحرک، اغلب ساپروفیت و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بی‌هوازی اختیاری هستند که به راحتی در محیط‌های ساده رشد و نمو می‌نمایند. در طبیعت روی گیاهان و حیوانات یافت می‌شوند و بعضی از آنها از جمله جنس‌های *Escherichia*، *Enterobacter*، *Klebsiella*، *Shigella*، *Yersinia*، *Proteus*، *Providentia* و *Salmonella* بیماری‌زا و بعضی از آنها مانند *Citrobacter*، *Edwardsiella*، *Erwinia*، *Hafnia* و *Serratia* کمتر بیماری‌زا هستند [۵، ٦، ۸ و ۱۲].

هدف این مطالعه بررسی فلور باکتریایی هوازی ـ بیهوازی اختیاری معده سوسری آلمانی شایع در تهران و شناسایی باکتری‌های جدا شده با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی می‌باشد.

مواد و روش کار

۱.جمع‌آوری سوسری آلمانی: در این مطالعه سوسری آلمانی از شمال، مرکز، غرب، و شرق تهران جمع آوری شد. روش‌های جمع‌آوری مورد استفاده شامل روش دستی (Hand catch) و استفاده از قوطی کبریت خالی بودند. پس از جمع آوری، سوسری‌ها به صورت زنده در شیشه بزرگی که درب آن با توری بسته شده بود به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه منابع آب و غذای سوسری‌ها (نان) جهت زنده نگه داشتن آنها تأمین شد.

۲. استخراج معده سوسری‌ها: سوسری‌ها روی پارافین جامد با سوزن فیکس شدند و با استفاده از اسکالپل زیر لوپ دو چشمی معده آنها خارج شد. معده استخراج شده با آب مقطر شستشو داده شد و پس از هموژنیزه کردن در محیط کشت مایع، کشت داده شد [١٤]. این عملیات در زیر هود میکروبی انجام شد.

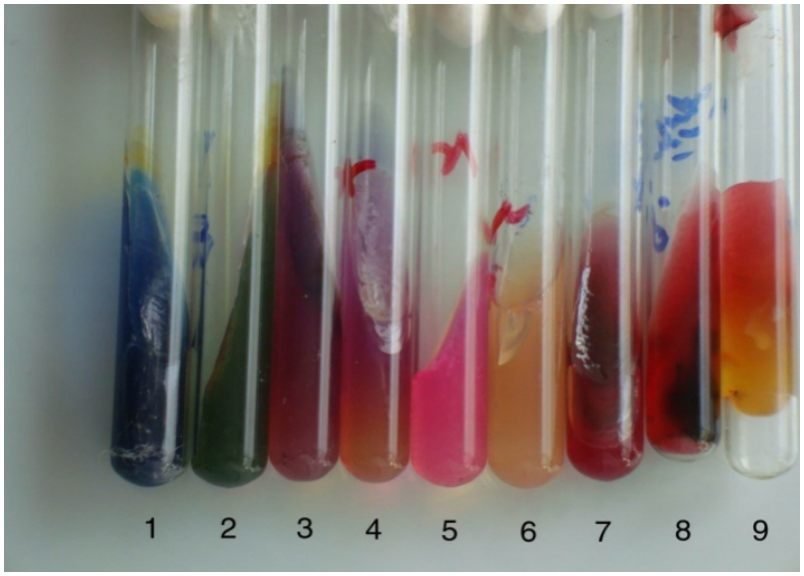
۳. محیط‌های کشت مورد استفاده در مطالعات میکروبیولوژی: در این مطالعه از محیط کشت‌های مختلف از جمله Brain-Heart Infussion (BHI) براث و آگار با برند مرک آلمان و همچنین مک کانکی آگار و آگار خون دار (Blood agar) با برند مرک آلمان استفاده شد. محیط BHI براث و آگار برای رشد باکتری‌های سریع‌الرشد مناسب هستند و محیط مغذی محسوب می‌شوند. آگار خون‌دار برای رشد و جداسازی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای سخت رشد مناسب است. در این محیط از خون دفیبرینه گوسفندی استفاده شد. محیط مک کانکی آگار نیز یک محیط افتراقی و انتخابی برای تعیین و جداسازی کلی فرم‌ها و سالمونلا می‌باشد [١٦]. در این آزمایش معده سوسری آلمانی جدا شده به کمک پستل شیشه‌ای استریل در زیر هود در داخل لوله‌های اپندروف هموژنیزه شده و سپس محصول هموژنیزه شده وارد ۹ میلی‌لیتر محیط BHI براث شد و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس بصورت خطی بر روی محیط‌های مکانکی آگار، آگار خون‌دار و BHI آگار (مرک آلمان) کشت داده شده و به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. باکتری‌های رشد کرده بر اساس مشخصات کلنی دسته‌بندی شده و برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند [۹].

٤. مطالعات فنوتیپی باکتری‌ها: کلنی‌های رشد کرده روی هر یک از محیط‌ها از نظر شکل، رنگ، سطح صاف یا محدب، لبه‌های صاف یا چیندار، و اندازه مورد بررسی قرار گرفتند. از کلنی‌های رشد یافته لام تهیه و با استفاده از تکنیک رنگ‌آمیزی گرم در دو دسته گرم منفی و گرم مثبت دسته بندی شدند [۱۵].

۵. شناسایی باکتری‌ها با استفاده از محیط‌های افتراقی: باکتری‌هایی که پس از کشت از نظر ویژگی‌های فنوتیپی گرم مثبت شناسایی شده بودند در رنگ‌آمیزی به عنوان کوکسی گرم مثبت تایید شدند. همگی این باکتری‌های گرم مثبت متعلق به جنس *استافیلوکوک* بودند بنابراین با استفاده از تست کوآگولاز اسلایدی بررسی شدند تا بیماری‌زا یا غیربیماری‌زا بودن آنها مشخص شود. در این مطالعه برای شناسایی باکتری‌های گرم منفی از محیط‌های افتراقی مانند سیمون سیترات، لایزین، SIM و معرف کوآکس، اوره آز، تخمیر قند با استفاده از محیط دو قندی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

KIA، تولید SH2، و نیز بررسی حرکت باکتری استفاده شد. نتایج برخی از این تست‌ها و نتایج مثبت و منفی در شکل ۱ نشان داده شده است [۱۵].



شکل ۱ـ نتایج مثبت و منفی برخی از محیط‌های افتراقی: سیترات مثبت (۱)، سیترات منفی(۲)، لایزین مثبت (۳)، لایزین منفی (٤)، اوره آز مثبت (٥)، اوره آز منفی (٦)، کلیگلر تخمیر گلوکز و لاکتوز منفی (۷)، کلیگلر تخمیر گلوکز و لاکتوز منفی با تولید رسوب (۸) و کلیگلر تخمیر گلوکز مثبت با تولید گاز و تخمیر لاکتوز منفی(۹).

نتایج

۹۰ کلنی متفاوت باکتریایی از معده ۵۰ سوسری آلمانی مطالعه شده جدا شد و با استفاده از محیط‌های افتراقی تا حد جنس شناسایی شدند. مطالعات فنوتیپی با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی بر روی باکتری‌های بدست آمده نشان داد که باکتری‌های جدا شده متعلق به ده جنس مختلف باکتریایی می‌باشند. نتایج مربوط به محیط های افتراقی برخی از این جنس‌ها در جدول ۱ آورده شده است. با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و تست کواگولاز، مشخص گردید در بین باکتری‌های جدا شده *استافیلوکوک‌های* گرم مثبت کوآگولاز مثبت و کوآگولاز منفی نیز وجود دارند.

نتایج روش محیط کشت افتراقی نشان داد که جنس‌های *سیتروباکتر* (۲۰٪)، *سودوموناس* (۱۸٪)، *پروتئوس* (۱۷٪)، *E.coli* (۱۵/۵٪)، *انتروباکتر* (۱۲٪)، *استافیلوکوکوس* (۱۱/۱٪)، *سالمونلا* (۳/۳٪)، *کلبسیلا* (۱/۱٪)، *شیگلا* و *هافنیا* هر کدام با ۱٪ به ترتیب فراوان-ترین باکتری‌های معده سوسری آلمانی بودند.

جدول۱- نتایج تست‌های بیوشیمیایی و محیط‌های افتراقی تعدادی از باکتری‌های جدا شده از معده میانی سوسری آلمانی

جنس باکتری	SIM			اوره آز	کلیگلر و تولید گاز	لایزین	سیمون سیترات
	SH2	اندول	حرکت				
Citrobacter	+	-	+	+	Alk/A +	–	+
Pseudomonas	-	+	+	+	Alk/Alk +	–	+
Enterobacter	-	-	+	-	A/A +	-	+
Salmonella	+	-	+	-	Alk/A +	+	+
Escerichia coli	-	+	+	-	A/A +	+	-
Klebsiella	-	-	-	-	A/A +	+	-
Shigella	-	-	-	-	Alk/A -	-	-
Hafnia	-	-	+	-	Alk/A +	+	-
Proteus	+	+	+	+	Alk/A +	-	-

بحث

در این پژوهش موفق شدیم با استفاده از روش بیوشیمیایی با محیط‌های افتراقی فلور باکتریایی معده سوسری آلمانی را شناسایی نمائیم. در نتایج بدست آمده مشخص شد که خانواده‌های باکتریایی متفاوتی در معده سوسری‌ها وجود دارد اما اغلب باکتری‌های شناسایی شده مربوط به خانواده انتروباکتریاسه می‌باشند. در این مطالعه نشان داده شد که جنس‌های *سیتروباکتر* با ۲۰٪، *سودوموناس* ۱۸٪، *پروتئوس* ۱۷٪، ***E.coli*** ۱۵/۵٪، *انتروباکتر* ۱۲٪، *استافیلوکوکوس* ۱۱/۱٪، *سالمونلا* ۳/۳٪، *کلبسیلا* ۱/۱٪، *شیگلا* و *هافنیا* هر کدام با ۱٪ به ترتیب فراوانترین باکتری‌های معده سوسری آلمانی بودند.

لفو و همکارانش در سال ۲۰۰۸ در مطالعه‌ای روی سوسری‌های آلمانی نشان دادند که باکتری‌های سطوح داخلی سوسری از سطح خارجی بیشتر است و مشخص شد در سطح خارجی باکتری گرم منفی کمتر از داخل بدن است ولی در مورد باکتری‌های گرم مثبت نمی‌توان گفت در کدام سطح بیشتر است. گونه‌های غالب یافت شده در سطح داخلی شامل *انتروکوکوس فکالیس*، *لیستریا منوسایتوژنز*، *باسیلوس پومیلیس*، *سالمونلا*، *میکروکوکوس لوتئوس* می‌باشد به عبارتی غالب باکتری‌های جدا شده گرم مثبت می‌باشند [۹] در حالی که غالب باکتری‌های جدا شده در مطالعه حاضر گرم منفی و متعلق به خانواده انتروباکتریاسه می‌باشند.

صالح‌زاده و همکارانش در سال ۲۰۰۷ به بررسی آلودگی باکتریایی سوسری آلمانی در بیمارستان‌های شهر همدان پرداختند و پس از جمع‌آوری سوسری‌ها از بیمارستان‌ها نشان دادند که فراوانی باکتری‌های جدا شده از این سوسری‌ها به این ترتیب است: *انتروباکتر* (۲۲/۶٪)، *کلبسیلا* (۲۱٪) *انتروکوکوس* (۱۷/۳٪)، *استافیلوکوکوس* (۱۶/۵٪) *اشرشیاکولی* (۸/۳٪)، *سودوموناس* (۳٪) و از *هموفیلوس* و *استرپتوکوکوس بتاهمولیتیک* کمتر از ۱٪ وجود داشت [۱۳] که با نتایج مطالعه حاضر شباهت بالایی دارد. تفاوت مهم جداسازی استرپتوکوکوس‌های بتاهمولیتیک است که در سوسری‌های مورد بررسی ما از این گونه باکتری جداسازی نشد.

فوته‌دار و همکارانش در سال ۱۹۹۱ به بررسی و شناسایی میکروارگانیسم‌های سوسری آلمانی و پتانسیل ناقل بودن آنها در بیماری‌زایی پرداختند. از جمله این عامل‌ها انتروپاتوژن‌های انسانی هستند که توسط سوسری در بیمارستان انتقال می‌یابند. در سوسری‌های جدا شده از بیمارستان‌ها، *کلبسیلا* و *استافیلوکوک اورئوس* به نسبت بیشتری جدا شد و نتیجه گرفتند تقریباً همه سوسری‌های بیمارستانی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را در خود دارند [٦]. در مطالعه حاضر بر خلاف فوته‌دار و همکارانش اغلب باکتری‌های جدا شده از خانواده انتروباکتریاسه بودند و کمتر از ۵٪ باکتری‌های جدا شده *استافیلوکوک کوآگولاز* مثبت بود.

مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰٦ بر روی مدفوع سوسری‌های آلمانی انجام شد نشان داد که ۷۰ گونه از ۳۷ جنس باکتری جدا شده متعلق به خانواده انتروباکتریاسه می‌باشند که با نتایج مطالعه حاضر شباهت دارد [۱۰].

نتیجه‌گیری

فلور باکتریایی معده سوسری‌ها رابطه مستقیم با محل زندگی و نوع تغذیه آنها دارد بنابراین فلور باکتریایی معده سوسری‌های جمع‌آوری شده از مکان‌های مختلف می‌تواند تا حدود زیادی با هم متفاوت باشند.

داخل معده سوسری‌های آلمانی انواع باکتری‌های از جمله عوامل بیماری‌زا وجود دارند که این باکتری‌های بیماریزا می‌توانند بوسیله مدفوع این حشرات انسان را آلوده کنند لذا باید ورود آنها به اماکن انسانی و بیمارستانی کنترل گردد تا سطح بهداشت جامعه افزایش یابد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کارشناسان و دانشجویان آزمایشگاه حشره‌شناسی پزشکی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل همکاری ارزنده در انجام این پژوهش کمال سپاس را دارند.

منابع

1- Bell, W.J., L.M. Roth, C.A. Nalepa (2007), Cockroaches: Ecology, Behavior, and Natural History. JHU Press, 230-248.

2- Capinera, J.L. (2008), Cockroaches (*Blattodea). Encyclopedia of Entomology, Springer Science*, 2: 978-1007.

3- Chavoshin, A.R., M.A. Oshaghi., H. Vatandoost., M.R. Pourmand., A. Raeisi., A.A. Enayati., N. Mardani, S. Ghorchian (2012), Identification of bacterial microflora in the midgut of the larvae and adult of wild caught *Anopheles stephensi*: A step toward finding suitable paratransgenesis candidates. *Acta Tropica*, 121: 129-134.

4- Erme, F., M. Certel, B. Karakas (2009), Identification of *Bacillus* species isolated from ropey breads both with classical methods and API identification kits. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakultesi Dergisi*, 22(2): 201-210.

5- Farmer, J. J., K. D. Boatwright, and, J. M. Janda (2007), *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*, 9: 649-669.

6- Fotedar, R., U. Banerjee, S. Shriniwas, A. Verma (1991), Cockroaches (*Blattella germanica*) as Carriers of Microorganisms of Medical Importance in Hospitals. *Epidemiology Infection*, 107:181-187.

7- Guthrie, D.M., A.R. Tindall (1968), The biology of the cockroach. Edward Arnold Ltd., London, 44: 263-275.

8- Iebba, V., M. Aloi, F. Civitelli, and S. Cucchiara (2011), Gut microbiota and pediatric disease. *Diagnostic Diseases*, 29(6): 531-9.

9- Lefu, Y. E., F. U. Xue, and G. E. Feng (2008), Habitat Influences On Diversity of Bacteria found on German cockroach in Beijing. *Journal of Environmental Science*, 21: 249-254.

10- Mpuchane, S., J. Allotey, I. Matsheka, M. Simpanya, S. Coetzee, A. Jordaan, N. Mrema, B.A. Gashe (2006), Carriage of Micro-organisms by Domestic

Cockroaches and Implication on Food Safety. *International Journal of Tropical Insect Science*, 26(3): 166-175.
11- Roth, L.M., E.R. Willis (1967), The Medical and Veterinary Importance of Cockroaches. Smithsonian Miscellaneous Collections, 134 (10).
12- Russo, T.A., J.R. Johnson (2008), Diseases Caused by Gram-Negative *Enteric Bacilli*. In A. S. Fauci & A. Fauci (Eds.). Harrison's principles of internal medicine (17th ed.), New York: McGraw-Hill Medical Publications, 172: 440-445.
13- Salehzadeh, A., P. Tavacol, H. Mahjub (2007), Bacterial, Fungal and Parasitic Contamination of Cockroaches in Public Hospitals of Hamadan, Iran. *Journal of Vector Borne Diseases*, 44: 105–110.
14- Skóra, J., K. Mahjub, B. Gutarowska, D. Rembisz (2012), Harmful biological agents at museum work posts. *Medical Proceedings*, 63(2): 153-65.
15- Sneath, P.H.A. (1984), Endospore forming Gram- Positive Rods and Cocci. In: Sneath PHA (Editor), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore, 1104-1139.
16- Washington, C., A. Stephen, W. Janda (2006), Konemans Color Atlas and Text Book of Diagnosis microbiology, 6: 775-9.