

## استرپتوکوک های بتا همولیتیک



### مقدمه:

استرپتوکوک یک گروه از باکتری های گرم + است که به دلیل داشتن شکل کروی جزو کوکسی ها هستند استرپتوکوکها به شکل رشته ای کنار هم قرار می گیرند (باکتریها در یک محور تکثیر می شوند). این گروه شاید مهمترین گروه باکتریهای گرم مثبت هستند. تخم مرغی شکلند و قطر ۰/۵ میکرومتر دارند. گاهی اوقات شکل نیزه ای یا شعله شمعی میگیرند. غیر متحرک بدون اسپور و اکثرا کپسول دار هستند. بی هوازی اختیاری هستند. تست کاتالاز آنها منفی است. دمای ایتیمم رشد آنها ۳۷ درجه است. انگل مهره داران بوده و در دهان و دستگاه گوارش زندگی میکنند و بعضی از گونه ها پاتوژن انسان و حیوان هستند.

برخی از گونه های استرپتوکوکها می توانند بیماری هایی مانند (فارنژیت استرپتوکوکی (گلودرد چرکی)، مننژیت، پنومونی (سینه پهلو)، اندوکاردیت، بادسرخ و فاسئیت نکروزان (قانقاریا) را ایجاد کنند. با این وجود، بیشتر گونه های استرپتوکوک، غیربیماریزا هستند و به عنوان فلور (همزیست) دهان، پوست، روده و سیستم تنفسی فوقانی محسوب می شوند. همچنین استرپتوکوکها به عنوان یکی از اجزای ضروری تولید پنیر امثال (پنیر سوئسی) به حساب می آیند. استرپتوکوکها بر اساس ویژگی های همولیتیک (همولیز خون) طبقه بندی می شوند. گونه های آلفا همولیتیک موجب اکسیداسیون آهن در گلبول های قرمز می شوند و آگار خون دار را سبزرنگ می نمایند. گونه های بتاهمولیتیک موجب از هم گسیختگی کامل گلبول های قرمز می شوند بطوریکه ناحیه ای عاری از گلبول های قرمز در اطراف کلنی باکتری در آگار خون دار دیده خواهد شد. گونه های گاما همولیتیک، هیچ نوع همولیزی تولید نمی کنند گونه های بتاهمولیتیک استرپتوکوکها، با استفاده از سروتیپ بندی لانسفیلد (به انگلیسی: Lancefield serotyping) تقسیم بندی می شوند. این تقسیم بندی بر اساس حضور وجود کربوهیدرات های خاصی در دیواره سلولی باکتری است تاکنون ۲۰ سروتیپ لانسفیلد یعنی از A تا V غیر از I و L توصیف شده است. از دیدگاه پزشکی، مهمترین استرپتوکوکها عبارتند از گروه آلفا همولیتیک (استرپتوکوک پنومونیه و استرپتوکوک های ویریدانس)، گروه بتا همولیتیک (استرپتوکوک های گروه A و استرپتوکوک های گروه B)

## استرپتوکوک‌های آلفا همولیتیک

### • استرپتوکوک پنومونیه (پنوموکوک)

پنوموکوک عامل پنومونی (سینه پهلو) و گاهی اوقات، عفونت گوش، سینوزیت، مننژیت و پریتونیت (التهاب صفاق) است.

### • استرپتوکوک‌های ویریدانس

استرپتوکوک میتیس (*S. mitis*)، استرپتوکوک موتانس (*S. mutans*)، استرپتوکوک سانگوئینیس (*S. sanguinis*)، استرپتوکوک سالیواریوس (*S. salivarius*) همگی فلور دهان هستند. استرپتوکوک سانگوئینوس زیرگونه ترموفیلوس در ساخت برخی از پنیرها و ماست‌ها کاربرد دارد. استرپتوکوک کانستلاتوس (*S. constellatus*) گاهی اوقات در انسان ایجاد بیماری می‌کند. کلنی‌های استرپتوکوک کانستلاتوس بر روی آگار خون دار، بوی شدید کارامل می‌دهند!

## استرپتوکوک‌های بتا همولیتیک

### استرپتوکوک‌های گروه A

مهمترین گونه استرپتوکوک‌های گروه A، استرپتوکوک پیوژنز (*S. pyogenes*) است. این باکتری عامل، گلودرد چرکی، تب روماتیسمی، مخرمک، گلومرولونفریت حاد، فاسییت نکروزان (قانقاریا) است. این باکتری، توکسین‌هایی (سم‌ها) تولید می‌کند که موجب تخریب کلیه‌ها (گلومرولونفریت)، دریچه‌های قلبی (تب روماتیسمی)، پوست (مخرمک) و از بین رفتن بافت (فاسییت نکروزان) می‌شود. سایر استرپتوکوک‌هایی که آنتی ژن گروه A را دارند عبارتند از استرپتوکوک دیسگالاکتیه زیرگونه اکوئی سیمیلیس (*S. dysgalactiae subsp. equisimilis*) و استرپتوکوک آنژینوسوس (*S. anginosus*). باکتری‌های اخیر، غیرشایع هستند.

### استرپتوکوک‌های گروه B

استرپتوکوک آگالاکتیه (*S. agalactiae*) عامل پنومونی (سینه پهلو) و مننژیت در نوزادان و گاهی اوقات باکتری می (عفونت خون) در افراد سالخورده است. باکتری می‌تواند روده و اندام تناسلی زنان را کلونیزه کند. زایمان زودرس و پارگی زود هنگام غشا در هنگام بارداری، خطر انتقال باکتری به نوزاد را افزایش می‌دهد. زنان بارداری (زنان باردار بین هفته ۳۵ تا ۳۷ ام از

بارداری) که توسط باکتری کلونیزه شده‌اند باید بطور پیشگیرانه تحت درمان با آنتی بیوتیک‌ها قرار گیرند تا خطر انتقال باکتری به نوزاد کاهش پیدا کند

### استرپتوکوک‌های گروه C

استرپتوکوک اکوئی (*S. equi*) عامل بیماری **Strangles** در اسب‌ها است. استرپتوکوک زئو اپیدرمیکوس (*S. zooepidemicus*) موجب عفونت در پستانداران مانند اسب‌ها و گوساله‌ها می‌شود. استرپتوکوک دیسگالاکتیه عامل فارنژیت (گلودرد) و سایر عفونت‌های تب‌زا مشابه استرپتوکوک‌های گروه **A** است. باکتری در استرپتوکوک‌های گروه **C** طبقه بندی می‌شود و بتا همولیتیک است هرچند استرپتوکوک دیسگالاکتیه زیرگونه اکوئی سیمیلیس در استرپتوکوک‌های گروه **A** طبقه بندی می‌شود

### استرپتوکوک‌های گروه D (انتروکوک‌ها)

بسیاری از گونه‌های سابق استرپتوکوک‌های گروه **D** امروزه دوباره طبقه بندی شده‌اند و در جنس انتروکوک قرار گرفته‌اند به عنوان مثال، استرپتوکوک فکالینس به انتروکوک فکالینس (*Enterococcus faecalis*) تغییر یافت. سایر گونه‌های باقیمانده عبارتند از استرپتوکوک بوویس (*Streptococcus bovis*) و استرپتوکوک اکوئینوس (*Streptococcus equinus*). بیشتر انتروکوک‌ها، گاما همولیتیک (غیر همولیتیک) هستند.

### استرپتوکوک‌های گروه F

در سیستم طبقه بندی لنسفیلد، استرپتوکوک‌های گروه **F** همان استرپتوکوک آنزینوسوس است. از آنجایی که طبقه بندی لنسفیلد، قطعیت کامل ندارد ممکن است استرپتوکوک آنزینوسوس در گروه **A** نیز قرار گیرد. در سیستم طبقه بندی اروپایی، استرپتوکوک آنزینوسوس در گروه استرپتوکوک میلری (*group S. milleri*) قرار می‌گیرد.

### استرپتوکوک‌های گروه G

آن‌ها بطور معمول بتا همولیتیک هستند. استرپتوکوک کنیس (*Streptococcus canis*) که موجب بیماری در حیوانات و گاهی انسان می‌شود، مهمترین گونه در این گروه است.

### استرپتوکوک‌های گروه H

این گروه به ندرت موجب بیماری در سگ می‌شود و در صورت تماس مستقیم انسان با دهان سگ یا لیسیدن انسان توسط سگ، می‌تواند موجب عفونت شود.

## درمان

استرپتوکوک‌ها در گذشته به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام مانند پنی سیلین حساس بودند ولی امروزه مقاومت به آنتی بیوتیک در بین آنها افزایش یافته‌است، لذا برای درمان ناچاریم از آنتی بیوتیک‌های جدید مانند وانکومايسين، کوآموکسی کلاو و سفالوسپورینهای نسل سوم و چهارم استفاده کنیم

## تست های تشخیصی

بررسی مستقیم میکروسکوپی: رنگ آمیزی گرم، مشاهده کوکسی های گرم + زنجیره ای  
تست کاتالاز: استرپ ها کاتالاز منفی هستند

مشاهده نوع همولیز: با کشت بر روی محیط بلاد اگر نوع همولیز باکتری را می بینیم

تست CAMP: برای تشخیص **s.agalactia** انجام می شود

یک پروتئین خارج سلولی ترشح می کند که می تواند بتا همولیز استاف اورئوس را تشدید کند  
تست هیدرولیز هیپورات سدیم:

برای تشخیص **s.agalactia** انجام می شود که در این مورد + و در بقیه استرپ ها- است

باکتری را در یک محیط مایع + یک درصد هیپورات سدیم تلقیح می کنیم اگر توانست هیپورات سدیم را تجزیه کند آن را به گلايسين و بنزوئیک اسید تبدیل می کند پس از انکوباسیون به آن معرف اضافه می کنیم :

**FeCl<sub>3</sub>** : اسیدی شده و بنزوئیک اسید را تشخیص می دهد : رسوب پایدار سفید رنگ  
نشاندنده + بودن است

نین هیدرین: برای تشخیص گلايسين است که در صورت + بودن آبی تیره می شود

تست نمک ۶.۵ درصد : هدف تشخیص بعضی استرپ هاست که می توانند روی آن رشد کنند  
تست بایل اسکولین:

این محیط دارای بایل (نمک صفراوی) و اسکولین (یک ترکیب گلیکوزیدی که از پوست درخت شاه بلوط بدست می آید) می باشد پس باکتری هایی که قادر به تحمل نمک هستند رشد می کنند. در صورتی که باکتری قادر به هیدولیز اسکولین باشد گلوکز و اسکولتین (یک مولکول الکلی) آزاد می شود سپس اسکولتین با یون فریک موجود در محیط ایجاد کمپلکس سیاه رنگ می شود.

از ۳ تست اصلی برای شناسایی آن استفاده میشود:

تست باسیتراسین

تست کمپ

تست هیدرولیز هیپورات

## روش کار:

ابتدا با سوآپ از حلق نمونه میگیریم و روی محیط بلاد آگار کشت ۴ منطقه ای انجام میدیم و در منطقه ۴ استپ میکنیم برای اینکه بتوانیم هم باکتری حساس ب اکسیژن را ببینیم و هم مقاوم به اکسیژن را ببینیم.



بعد از رشد تهیه گسترش میکنیم و رنگ آمیزی میکنیم که باید کوکسی های گرم مثبت باشند

بعد از آن تست کاتالاز انجام میدهیم که منفی میشود و به این معناست که استرپتوکوک است.

برای انجام تست کاتالاز از روی محیط خوندار برداشته نمیشود ولی چون استرپتوکوک ها روی محیط غیر خونی رشد نمیکنند مستقیم از روی محیط BLOOD AGAR بر میداریم.

بعد از آن باید همولیز آن را مشخص کنیم.

۱- همولیز بتا : **Beta hemolysis** در صورتیکه در اطراف کلنی لیز کامل گلبولهای قرمز به صورت هاله ای شفاف بر روی آگار خوندار مشاهده شود باکتری رابتهامولیتیک می نامند . همولیز بتا در اثر ترشح آنزیم همولیزین توسط باکتری بوجود می آید .

۲- همولیز الفا : **Alpha hemolysis** در صورتیکه در اطراف کلنی هاله نیمه شفاف و سبزرنگ ایجاد شده باشد همولیز را الفا می نامند . در این حالت باکتری با ترشح مواد اکسید کننده باعث تبدیل هموگلوبین به مت هموگلوبین می گردد .

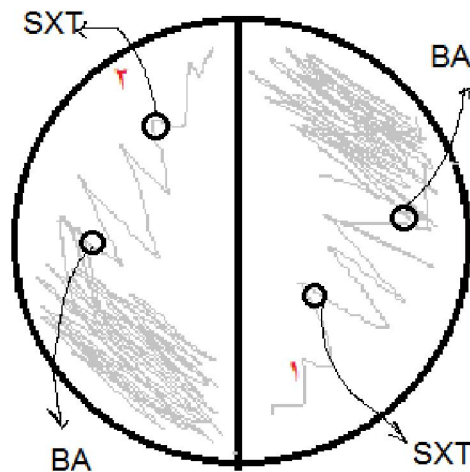
۳- همولیز گاما : **Gamma reaction** در صورتیکه در اطراف باکتری هیچ گونه همولیزی بر روی آگار خوندار ایجاد نکردد گاما همولیتیک نامیده می شود .



### تقسیم بندی رنگا لانسفیلد :

براساس خاصیت آنتی ژنی کربوهیدرات سل وال به گروههای سرولوژیکی **A تا U** تقسیم بندی شده اند

استرپتوکوک ها سه نوع هستند **A B NAB**  
 برای شناسایی انها از تست حساسیت باسیتراسین استفاده میکنیم.  
 از کلنی مورد نظر روی محیط دیگر کشت میدهیم به صورت زیر:



روی دیسک باسیتراسین چیزی نوشته نمیشود.

و به صورت بالا دیسکها را قرار میدهیم. باسیتراسین نزدیک به منطقه ۱ و SXT در منطقه ۲ میگذاریم به آرامی و دقت زیاد که محیط سوراخ نشه.

بعد از ۲۴ ساعت اگر هاله ایجاد شده بود میشه حساس به آنتی بیوتیک ولی اگر هاله ایجاد نشده بود میشه مقاوم به آنتی بیوتیک. وقتی حساس باشه میشه گروه A لانسفیلد و وقتی مقاوم باشه میشه گروه B لانسفیلد.

برای اینکه مطمئن بشیم ک نوع B رو درست تشخیص دادیم باید از تست کمپ استفاده کنیم  
تست کمپ:

۱. استرپتوکوک گروه B یک ماده شبه پروتئینی به نام فاکتور CAMP تولید میکنند که با بتا توکسین ایجاد شده توسط برخی از سویه ای استافیلوکوکوس اورئوس حالت سینرژیسیم داشته و همولیز قوی ایجاد می کند

روش کار:

۱. در وسط پلیت بلاد آگار یک سوش همولیتیک *s.aureus* را به صورت یک خط مستقیم کشت دهید.

۲. باکتری مشکوک به استرپتوکوک گروه B را به صورت عمود بر خط کشت استافیلوکوک کشت دهید. البته بین دو خط کشت فاصله باید باشد و با هم تلاقی نکنند

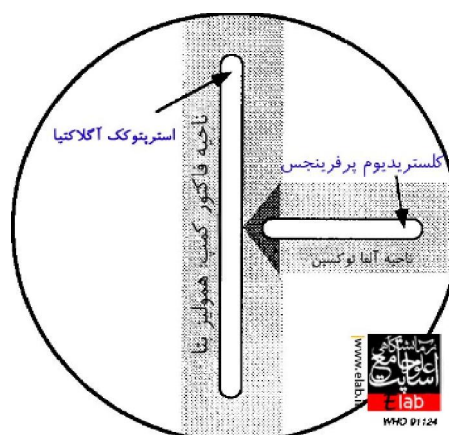
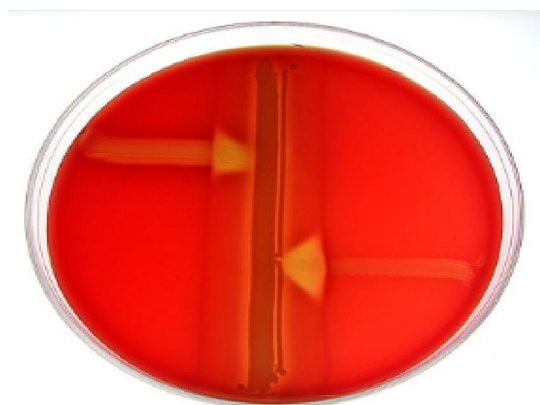
۳. پلیت را به مدت یک شب در ۳۷-۳۵ و یا به مدت شش ساعت در جار شمع در همانحرارت قرار دهید قرار دادن در محیط بدون CO2 اختصاصی بودن تست را افزایش میدهد

۴. در صورتی که باکتری مورد آزمایش استرپتوکوک گروه B باشد در مجاورت خط کشت استافیلوکوک همولیز تشدید می شود و به شکل سر پیکان مشاهده می شود

حدود ۹۵ درصد استرپتوکوک های گروه B و سوش های نادری از گروههای دیگر دارای تست کمپ مثبت هستند.

کنترل مثبت: استرپتوکوک گروه B

کنترل منفی: استرپتوکوک گروه NAB



## نتیجه:

تست مثبت بود یعنی هاله پیکانی شکل تشکیل شده بود استریتوکوک گروه بتا در نمونه وجود دارد