

## بررسی حضور باکتری های مولد مسمومیت استافیلوکوکال در مواد غذایی (بخش دوم)

یکی دیگر از ویژگی های مهم استافیلوکوک های بیمارزا خاصیت همولیز کنندگی آنها و تولید آنزیم کوآگولاز است. برای پیگیری این ویژگی ها لازم است تا از محیط کشت مناسب خون دار مانند محیط کشت بلاد آگار (Blood Agar) استفاده شود. برای این منظور، لازم است توسط آنس حلقوی استریل پرگنه های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس را از محیط M.S.A برداشته و در محیط B.A کشت خطی ساده داده شود. پس از ۱۸-۲۴ ساعت اینکوباتورگذاری در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  می توان پرگنه ها را از نظر خواص مورد نظر بررسی نمود.

ترکیبات محیط بلاد آگار عبارتند از:

✓ عصاره گوشت

✓ پروتئین تریپتون

✓ نمک طعام

✓ آگار

✓ خون به میزان ۵-۱۵٪

(پس از تهیه و استریل نمودن محیط B.A، زمانیکه تا حدود  $45^{\circ}\text{C}$  خنک شد، به مقدار ۵-۱۵٪ حجم محیط کشت خون انسان یا حیوانات به آن اضافه شده و سپس به پلیت منتقل می شود.)

وجود خون در محیط کشت امکان پیگیری همولیز کنندگی را میسر می سازد.

استافیلوکوک های بیمارزا قادرند با تولید سموم همولیزین، گلبول های قرمز خون را تجزیه و به پروتئین گلوبین (Globin) و آهن (Heme) تبدیل نمایند. در این حالت پروتئین گلوبین به مصرف باکتری رسیده و جز هم که ماده رنگی خون است، بیرنگ می گردد.

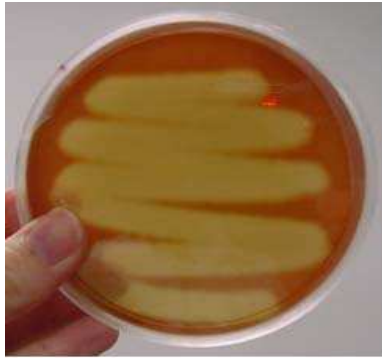
در محیط B.A به دلیل عدم حضور مواد قندی، به ناچار باکتری برای کسب انرژی از خاصیت پروتئولیتیک خود استفاده کرده و با تولید سم همولیز کننده سبب شکستن هموگلوبین و مصرف گلوبین می شود.

استافیلوکوکوس اورئوس سه نوع سم همولیزین ترشح می کند:

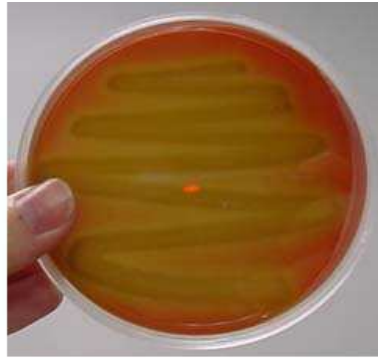
**همولیزین  $\alpha$ :** در این نوع همولیزین، باکتری به طور جزئی گلبول قرمز را لیز می شکند. پرگنه باکتری ها به رنگ زرد تیره یا سبز دیده می شود که در اطراف ایجاد حاشیه ای به رنگ سبز می نمایند. علت این امر، تولید  $H_2O_2$  توسط باکتری و اکسیداسیون هموگلوبین قرمز به مت میوگلوبین سبز رنگ است. این سموم ضمن بروز مسمومیت در انسان، کشنده نیست اما حیوانات کوچک را تلف می کند.

**همولیزین  $\beta$ :** در این نوع همولیز، گلبول قرمز به طور کامل لیز شده و پرگنه ها سفید کدر تا خاکستری دیده می شود که در حاشیه پرگنه ها محیطی شفاف ایجاد می شود. هرچه محیط شفاف گسترده تر باشد، می توان نتیجه گرفت که قدرت سم زایی باکتری قویتر بوده است. معمولاً سم همولیز  $\beta$  می تواند برای انسان و حیوانات خطرناک و کشنده باشد.

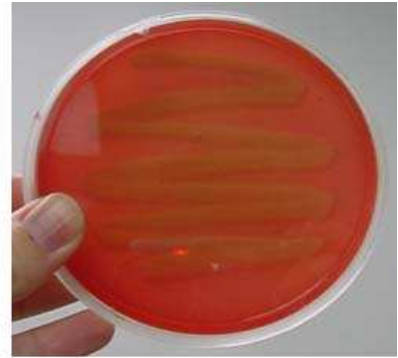
**همولیزین  $\gamma$ :** این نوع همولیزین قادر به تخریب گلبول قرمز نیست به همین دلیل با تولید این سم، پرگنه ها به رنگ سفید کدر تا خاکستری روشن در آمده و اطراف به حالت شفاف دیده نمی شوند. سم حاصل ضمن بروز مسمومیت خفیف در انسان و حیوان، قدرت کشندگی ندارد.



**Beta Hemolysis**



**Alpha Hemolysis**



**Gamma Hemolysis**

از دیگر ویژگی های مخصوص استافیلوکوکوس اورئوس تولید آنزیم کوآگولاز است (استاف های غیر بیماریزا این خاصیت را ندارند). برای پیگیری این خصوصیت کافیت به صورت زیر عمل کنید:

۱. برداشتن یک لام تمیز و استریل و افزودن ۱-۲ قطره سرم فیزیولوژی به آن

۲. برداشتن مقداری پرگنه مشکوک توسط آنس حلقوی استریل و افزودن به سرم فیزیولوژی

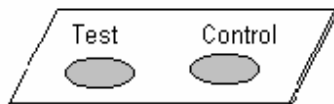
۳. افزودن مقدار کمی پلاسمای خون به سطح لام

۴. مخلوط نمودن پرگنه و سرم خون و گسترش آن در سطح لام به مدت ۵-۳۰ ثانیه

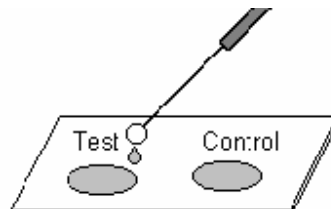
مشاهده گرانول های ریز حاصل از انعقاد سرم خون نتیجه فعالیت آنزیم کوآگولاز و نشانه مثبت بودن تست کوآگولاز است.

#### SLIDE COAGULASE TEST

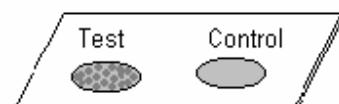
© Sridhar Rao



Dense suspensions of test are made on slide



One loopful of plasma is added to test and mixed



Clumping occurs in test, indicating it is *S. aureus*