دستورالعمل آماده سازی، تهیه و کنترل کیفی محیط های کشت

آزمایشگاه مرجع سلامت

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

تابستان ۱۳۹۶

محل مهر تضمین کیفیت	
تاریخ :	تاریخ :

مقدمه

محیط های کشت نقش اساسی را در آزمایشگاه میکروب شناسی ایفا می کنند و به طور گسترده ای جهت جداسازی، تعیین هویت و آنتی بیوگرام میکروارگانیسم های بیماری زا به کار می روند. بسیاری از آزمایشگاه ها به طور روتین محیط های کشت مورد نیاز برای مصارف تشخیصی و تحقیقاتی را خودشان تهیه می نمایند. با این همه برای اطمینان از این که محیط های کشت، کیفیت خوب و نتایج مطلوبی دارند، باید روش های کنترل کیفی مناسبی به کار گرفته شود. برای رسیدن به این هدف باید در تهیه و مصرف محیط های کشت معیارهای ذیل در نظر گرفته شود.

نکات عمومی در مورد تهیه محیط های کشت:

آب:

کیفیت محیط های کشت به طور مستقیم به کیفیت مواد خام مورد استفاده در تهیه آنها بستگی دارد. آب یکی از مهمترین موادی است که در تهیه محیط های کشت به کار می رود. سه معیار مهم برای آب مورد استفاده در تهیه محیط های کشت (آب نوع III) شامل عدم وجود یون های مس، قدرت هدایت الکتریکی و pH می باشد. در شرایط ایده آل یون های مس به دلیل خاصیت مهارکنندگی برای اغلب میکروارگانیسم ها، نباید در آب مورد استفاده برای تهیه محیط های کشت وجود داشته باشد. قدرت هدایت الکتریکی آب باید حدود ۱۰ میکروزیمنس بر سانتی متر با شد و همچنین pH آب مورد ا ستفاده بهتر ا ست کمی ا سیدی باشد، ولی نباید کمتر از ۵ و بیشتر از ۸ باشد.

توزین پودر محیط کشت و افزودن آب:

طبق دستورالعمل تهیه محیط کشت که بر روی ظرف آن نصب گردیده است، مقدار مناسبی از پودر محیط کشت را با دقت وزن نمایید. ظرف محیط کشت را دور از جریان هوا و رطوبت باز کنید. از استنشاق پودرها به خصوص آنهایی که دارای مواد سمی هستند و تماس طولانی مدت آنها با پوست اجتناب کنید. پودر را به سرعت، به دقت و بدون ایجاد غبار وزن کنید. هرچه زودتر درِ ظرف را ببندید. نصف حجم آب مورد نیاز را داخل ظرف بریزید. سپس مقدار وزن شده محیط کشت را به آن اضافه نمایید. برای چند دقیقه به تندی تکان دهید. باقیمانده آب را به دیواره داخلی ظرف بریزید تا ذرات محیط کشت چسبیده به دیواره نیز وارد محلول شوند. این مرحله بسیار مهم است، چون پودر خشک محیط کشت در بالای سطح آب، ممکن است در اتوکلاو استریل نشود و منبع آلودگی گردد.

حل کردن محیط کشت:

محیط های کشت بدون آگار، معمولاً با تکان دادن آهسته و ملایم حل خواهند شد. اما محیط های کشت حاوی آگار باید قبل از حرارت دادن به مدت چند دقیقه با آب مخلوط شوند. سپس حرارت داده شوند تا آگار قبل از اتوکلاو کردن، حل شود. محیط های کشت را بجوشانید بدون آنکه بسوزند. محیط های کشتی که نباید اتوکلاو شوند، بعد از این مقدار حرارت دادن، برای تقسیم

داخل پلیت ها یا ظروف استریل دیگر آماده خواهند بود. اکثر محیط های کشت به استریلیزاسیون نهایی (در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه) نیاز خواهند داشت.

توزیع:

محیط کشت را در ظرفی مناسب با حجم ۲ تا ۳ برابر حجم محیط کشت بریزید تا بتوانید آن را به خوبی تکان دهید و مخلوط کنید.

استریلیزاسیون:

بعضی از محیط های کشت به استریلیزاسیون با اتوکلاو احتیاجی نداشته و با جوشاندن قابل استفاده می شوند که دستور ساخت آنها بر روی برچسب ظرف محیط کشت قید گردیده است. استریلیزاسیون سایر محیط های کشت توسط حرارت مرطوب (اتوکلاو) یا صافی غشایی (فیلتراسیون) انجام می گردد که این موارد نیز بر روی برچسب ظرف محیط کشت قید گردیده است.

الف) استریلیزاسیون با حرارت مرطوب:

استریلیزاسیون محیط کشت تا حجم یک لیتر، در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۱۲۱°C (فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی متر مربع) انجام می گیرد. برای حجم های بیشتر از یک لیتر باید چرخه استریلیزاسیون را به طور مناسب تغییر داد. اما چون اکثر مشکلات در استریلیزاسیون محیط های کشت هنگامی رخ میدهد که مقادیر بیشتر از دو لیتر محیط کشت باید استریل شود، لذا توصیه می شود که مقادیر زیاد محیط کشت را در حجم های کوچکتر تقسیم نمایید.

کنترل کیفی اتوکلاو، کنترل دما و فشار آن باید به طور مداوم انجام گردد. برای کنترل اتوکلاو از اندیکاتورهای شیمیایی کلاس ۶ (TST) در هر ران کاری استفاده می شود. از اندیکاتورهای بیولوژیکی جهت پایش عملکرد اتوکلاو حداقل به طور هفتگی یا فواصل بیشتر، متناسب با بار کاری اتوکلاو استفاده می شود که ویال حاوی اسپور *Geobacillus Stearothermophilus* ATCC 7953 است ($SAL \leq 10^6$ CFU) و به صورت تجاری در دسترس می باشد.

ب) استریلیزاسیون با صافی غشایی (فیلتراسیون):

از صافی غشایی برای استریل کردن محیط های کشت و ترکیبات حساس به حرارت استفاده می شود.

استریلیزاسیون به وسیله صافی غشایی تحت شرایط خلاء یا افزایش فشار انجام می پذیرد. از غشاء ها و صافی های با قطر منفذ ۰/۲۲ یا ۰/۴۵ میکرومتر استفاده نمایید. این فیلترها باید قبل از استفاده، در اتوکلاو استریل شوند. در مورد غشاء ها و صافی هایی که در بسته بندی های استریل به فروش می رسند، به دستورالعمل سازنده مراجعه نمایید. قسمت های مختلف دستگاه صافی را با صافی یا بدون صافی در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱°C استریل نمایید.

آماده سازی جهت مصرف:

بعد از استریلیزاسیون، اجازه دهید دمای محیط کشت به حدود ۵۰°C برسد، سپس با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم نمایید. هیچ وقت محیط کشت را در دمای بالاتر از ۵۰°C تقسیم نکنید. مکمل های حساس به گرما و حرارت باید بعد از این که دمای محیط کشت به حدود ۵۰°C رسید، به آن اضافه شوند. دمای مکمل (ساپلمنت) استریل قبل از این که به محیط کشت اضافه شود، باید به دمای اتاق برسد. سپس مکمل را با رعایت شرایط آسپتیک به محیط کشت اضافه نموده، خوب مخلوط کنید و در ظروف نهایی که از قبل استریل شده اند، تقسیم نمایید.

اندازه گیری و تنظیم pH:

محیط های کشت دهیدراته اگر به طور مناسب تهیه شوند، نیازی به تنظیم pH ندارند. pH نهایی محصول استریل شده را می توان روی پلیت یا بطری اندازه گیری کرد، اما باید آنها را بعد از سنجش pH دور ریخت. بنابراین بعد از استریل شدن و خنک شدن محیط کشت تا دمای ۲۵°C، مقدار pH را در حد مورد نظر (۰/۲±) تنظیم نمایید. تنظیم pH معمولاً با استفاده از هیدروکسید سدیم ۴۰ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) و یا با استفاده از اسید کلریدریک ۳۶/۵ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) انجام می شود. pH را به یکی از روش های ذیل کنترل نمایید:

- روش اول: روش خیساندن (Macerate): آگار یک پلیت را در ظرفی کوچک حاوی مقدار کمی آب مقطر (۵-۷ ml) له کرده و به مدت ۱۰ دقیقه بخیسانید، سپس نوک الکترود pH متر را در این مخلوط غوطه ور کنید.

- روش دوم: نوک الکترود pH متر را در داخل ارلن کوچکی قرار دهید. مقدار اندکی از آگار مذاب را به داخل ارلن ریخته، پس از سفت شدن آگار، pH را اندازه گیری نمایید.

- روش سوم: از الکترودهای سطحی استفاده نمایید.

نگهداری محیط های کشت تهیه شده:

طول عمر محیط های کشت تهیه شده به نوع اجزاء تشکیل دهنده محیط، نحوه نگهداری و ذخیره سازی آنها بستگی دارد. تمامی محیط های کشت باید دور از نور نگهداری شوند. تابش نور به محیط های کشت موجب تشکیل مواد باکتریوستاتیک و باکتریساید مانند پراکسیداز می گردد. طول عمر اغلب محیط های کشت پلیتی در دمای ۴ درجه سانتی گراد یک هفته می باشد، ولی اگر در داخل کیسه های پلاستیکی به گونه ای بسته بندی شوند که هوا داخل آنها نفوذ نکند، تا ۴-۳ هفته قابل مصرف هستند. طول عمر محیط های کشت حاوی آنتی بیوتیک به پایداری آنتی بیوتیک موجود در آن بستگی دارد. در مجموع، محیط های حاوی آنتی بیوتیک را در مدت یک هفته باید مصرف کرد. از سوی دیگر با گذشت زمان این گونه محیط های کشت رطوبت خود را از دست داده، به دلیل افزایش غلظت آنتی بیوتیک، قدرت انتخابی آنها افزایش می یابد. پلیت ها را باید قبل از مصرف به دمای اتاق رساند. اگر پلیت محیط کشت بیش از ۸ ساعت در دمای اتاق باقی بماند برای مصرف مناسب نمی باشد. محیط های کشت لوله ای در

مقایسه با محیط های کشت پلیتی عمر طولانی تری دارند. اغلب این محیط های کشت اگر در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شوند، ۶-۳ ماه قابل مصرف می باشند.

موارد استثناء: تایوگلیکولات براث، اندول نیترات براث و SIM فقط به مدت یک ماه قابل نگهداری می باشند. محیط های CTA Medium و OF Medium حاوی کربوهیدرات و مولر هینتون براث فقط به مدت ۶ هفته قابل نگهداری می باشند.

جدول شماره ۱- خطاها، مشکلات و علل ممکن در استریلیزاسیون محیط های کشت

مشکلات	علل ممکن
رنگ یا تیرگی غیر طبیعی محیط کشت (Abnormal color/darkening)	ـ آب ناخالص ـ ظروف شیشه‌ای کثیف ـ افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ـ حرارت زیاد یا نادرست در طی استرایلیزاسیون ـ pH اشتباه یا تغییر و انحراف pH ـ حل نشدن کامل محیط کشت ـ ذخیره‌سازی طولانی مدت در دمای ۵۰°C
لخته یا منعقد شدن محیط کشت (Coagulation)	داغ بودن محیط کشت در هنگام افزودن ساپلمنت (مکمل) به آن
رگه رگه شدن محیط کشت (Flecks in culture medium)	رگه رگهٔ سیاه: نیم‌سوز شدن آگار رگه رگهٔ روشن: سرد شدن تقریبی آگار در هنگام افزودن ساپلمنت (مکمل) به آن
pH نادرست (Incorrect pH)	ـ آب ناخالص یا ظروف شیشه‌ای کثیف ـ حرارت زیاد در طی استرایلیزاسیون ـ ذوب مجدد یا ذخیره‌سازی طولانی مدت در دمای ۵۰°C ـ آلودگی شیمیایی ـ کالیبراسیون نادرست pH متر ـ حل نشدن کامل محیط کشت ـ اندازه‌گیری pH در دمای بالای ۲۵°C ـ افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ـ ذخیره‌سازی نادرست یا بیش از نیمه عمر محیط کشت دهیدراته ـ کیفیت پایین آب یا ظروف

مشکلات	علل ممکن
ایجاد رسوب یا کدورت (Percipitation/Turbidity)	ـ حرارت بیش از اندازه در طی استریلیزاسیون ـ ذخیره‌سازی طولانی مدت (بیش از ۴ ساعت) در حالت مذاب (بیش از ۵۰°C) ـ افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ـ pH اشتباه ـ آب ناخالص یا ظروف شیشه‌ای کثیف ـ حل نشدن کامل محیط کشت ـ داغ بودن محیط کشت در هنگام افزودن مکمل به آن ـ کیفیت پایین آب یا ظروف
سمّیت (Toxicity)	ـ حرارت بیش از اندازه در طی استریلیزاسیون ـ افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ـ قرارگیری در معرض نور مستقیم خورشید ـ حجم اشتباه مکمل اضافه شده
رشد باکتریولوژیک ضعیف یا اثر روی خواص انتخابی/ افتراقی	ـ توزین یا مخلوط کردن نادرست ـ آب یا ظروف آلوده ـ مواد مهارکننده در آب یا ظروف ـ افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ـ داغ بودن محیط کشت در هنگام افزودن مکمل به آن ـ داغ بودن محیط کشت در هنگام کشت نمونه بر روی آن ـ ذخیره‌سازی طولانی مدت محیط کشت ـ خشک شدن بیش از حد سطح محیط کشت ـ حل نشدن کامل محیط کشت ـ تیرگی محیط کشت و تغییر و انحراف pH ـ حرارت بیش از اندازه و طولانی مدت
شل بودن آگار (Soft agar)	ـ حرارت بیش از اندازه (به ویژه در مقایر pH پایین) ـ هیدرولیز اسید در محیط کشت با pH پایین ـ توزین یا مخلوط کردن نادرست ـ حل نشدن کامل آگار ـ حجم نادرست آب ـ رقیق‌سازی زیاد با مایه تلقیح یا مکمل‌های محیط کشت ـ ذخیره‌سازی طولانی مدت در دمای ۵۰°C

ارزیابی کیفیت محیط های کشت:

هر آزمایشگاه باید از کیفیت هر شماره ساخت از محیط های آماده مصرف تجاری و یا محیط های دهیدراته، قبل از استفاده اطمینان حاصل نماید. الزامات عمومی کنترل کیفیت محیط های کشت عبارتند از:

الف) ثبت اطلاعات محیط های کشت

۱. محیط های آماده مصرف تجاری:

- منبع تهیه آن، شماره ساخت، تاریخ انقضاء، تاریخ دریافت و تاریخ شروع به استفاده از آن را برای هر یک از انواع محیط ثبت کنید.
- هر محیط را مطابق دستورالعمل سازنده نگهداری کنید (معمولاً در $^{\circ}C$ ۸-۲).

۲. محیط های ساخته شده از پودر دهیدراته در آزمایشگاه:

- مقدار محیط ساخته شده، منبع تهیه آن، شماره ساخت، روش استریل نمودن آن، تاریخ ساخت، pH، تاریخ شروع به استفاده از آن، تاریخ انقضاء و نام فرد سازنده آن ثبت شود.

ب) بررسی مشخصات ظاهری:

محیط های کشت تهیه شده باید قبل از استفاده، از لحاظ فیزیکی و ظاهری نیز بررسی شوند:

- شکستگی یا آسیب دیدگی پلیت ها و لوله ها؛
- جدا شدن آگار از جداره پلیت ها و لوله ها؛
- یخ زدگی یا ذوب شدن آگار؛
- ناصاف پر شدن پلیت ها؛
- مقدار ناکافی آگار در پلیت ها (عمق کمتر از ۳ mm) و لوله ها (عمق و سطح ناکافی)؛
- وجود همولیز در محیط های حاوی خون؛
- تغییر در رنگ مورد انتظار برای هر محیط (احتمال اشکال در pH محیط)؛
- وجود حباب یا ناهمواری بیش از حد در سطح محیط؛
- رطوبت اضافی یا خشک شدن بیش از حد محیط؛
- آلودگی قابل مشاهده؛
- وجود رسوب.

ج) بررسی وجود آلودگی:

به عنوان یک قاعده کلی، برای سری ۱۰۰تایی یا کمتر (≤۱۰۰)، ۵-۳٪ از لوله ها/ پلیت ها باید از نظر عدم وجود آلودگی و رشد باکتریایی بررسی شوند. برای مقادیر بیشتر (>۱۰۰) باید ۱۰ لوله یا پلیت به صورت رندوم و تصادفی انتخاب، و انکوبه شوند. نمونه ها باید برای ۴۸-۲۴ ساعت در دمای $^{\circ}C$۳۷-۳۵ انکوبه، و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شوند. نباید شواهدی از رشد میکروبی بعد از انکوباسیون مشاهده گردد. بعد از کامل شدن بررسی، باید تمام نمونه های بررسی شده دور ریخته شوند.

د) انجام آزمایش کنترل کیفیت:

هر محیط کشت باید از نظر میزان رشد قابل قبول و/یا خصوصیت مهارکنندگی، با میکروارگانیسم های کنترل مناسب مطابق جدول شماره ۳ بررسی شوند.

منابع تهیه میکروارگانیسم های کنترل عبارتند از:

- ATCC (American Type Culture Collection) یا PTCC (Persian Type Culture Collection)
- سویه های شناسنامه دار که طی برنامه ارزیابی خارجی کیفیت دریافت می شوند.
- سویه های شناخته شده بیماران که دارای ثبات فنوتیپی می باشند.

برای این کار لازم است از سویه های کنترل کیفی مورد نظر، سوسپانسیون میکروبی تهیه شود.

A. تهیه سوسپانسیون میکروبی:

یک کشت از ارگانیسم کنترل کیفی مورد نظر روی پلیت بلاد آگار تهیه کنید. بعد از انکوباسیون پلیت به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۵±۲°C، ۵-۳ کلنی ایزوله را در ۵-۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل کرده و کدورت آن را با کدورت استاندارد نیم مک فارلند تنظیم نمایید. این سوسپانسیون میکروبی باید کدورتی مطابق با استاندارد نیم مک فارلند (10^7-10^8 CFU/ml) داشته باشد.

B. بررسی عملکرد محیط های کشت:

۱) بررسی ظرفیت مغذی بودن (Nutritional activity) محیط های کشت غیر انتخابی پلیتی مانند بلاد آگار، نوترینت آگار، تریپتیک سوی آگار و ...

سوسپانسیون اولیه میکروبی مطابقت یافته با کدورت 0.5 MF را مطابق شکل ۱ به نسبت **۱:۱۰۰** در سرم فیزیولوژی استریل رقیق نموده و مقدار ۱۰µl یا ۰/۰۱ ml سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش، تلقیح نموده و به گونه ای کشت دهید که کلنی های ایزوله بدست آید. پلیت ها را مطابق شرایط ذکر شده در جداول شماره ۲ و ۳ انکوبه نمایید. تعداد کلنی های مورد انتظار در هر پلیت بعد از انکوباسیون (CFU/plate) 10^3-10^4 می باشد. برای اجتناب از رشد زیاد باکتری در بعضی از محیط های کشت غیر انتخابی و برای داشتن کلنی های ایزوله، ممکن است لازم باشد رقت ۱:۱۰۰۰ تهیه شود.

۲) بررسی ظرفیت مهار کنندگی (Inhibitory activity) محیط های کشت انتخابی پلیتی مانند مکانکی آگار، EMB آگار، XLD آگار و ...

سوسپانسیون اولیه میکروبی مطابقت یافته با کدورت 0.5 MF را مطابق شکل ۱ به نسبت **۱:۱۰** در سرم فیزیولوژی استریل رقیق نموده و مقدار ۱۰µl یا ۰/۰۱ ml سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح نموده و به گونه ای کشت دهید که کلنی های ایزوله بدست آید. پلیت ها را مطابق شرایط ذکر شده در جداول شماره ۲ و ۳ انکوبه نمایید. تعداد کلنی های مورد انتظار در هر پلیت بعد از انکوباسیون (CFU/plate) 10^4-10^5 می باشد. برای

اجتناب از ر شد زیاد باکتری در بع ضی از محیط های ک شت انتخابی و برای دا شتن کلنی های ایزوله ممکن ا ست لازم باشد رقت ۱:۱۰۰ تهیه شود.

۳) بررسی محیط های کشت لوله ای مانند نوترینت براث، MRVP، SIM، مالونات و ...

هر لوله را با ۱۰µl یا ۰/۰۱ ml از سو سپان سیون اولیه میکروبی مطابقت یافته با کدورت 0.5 MF (بدون رقیق سازی) تلقیح نمایید. لوله ها را مطابق شرایط ذکر شده در جداول شماره ۲ و ۳ انکوبه نمایید. پس از انکوبا سیون، لوله ها را از نظر وجود رشد و/یا ایجاد کدورت و نیز ایجاد واکنش مناسب بیوشیمیایی بررسی نمایید.

C. زمان انکوباسیون (جدول شماره ۲):

سویه های کنترل کیفی	دمای انکوباسیون	اتمسفر انکوباسیون	مدت انکوباسیون
باکتری های دارای رشد سریع	۳۵-۳۷˚C	*هوای محیط یا غنی شده با CO_2	۲۴- ۱۸ ساعت
باکتری های دارای نیازهای خاص برای رشد	۳۵-۳۷˚C	غنی شده با CO_2	۷۲- ۲۴ ساعت
بی هوازی ها	۳۵-۳۷˚C	گاز بی هوازی	۷۲- ۲۴ ساعت
کمپیلوباکتر	۴۲˚C	گاز Campy	۴۸- ۲۴ ساعت
مایکوباکتریوم ها	۳۵-۳۷˚C	غنی شده با CO_2	۲۱- ۷ روز
مخمر	۳۵-۳۷˚C	هوای محیط	≥ ۷۲ ساعت
کپک ها	۲۵-۳۰˚C	هوای محیط	≥ ۷۲ ساعت

* اتمسفر به نوع محیط بستگی دارد. توصیه های سازنده را بررسی نمایید.

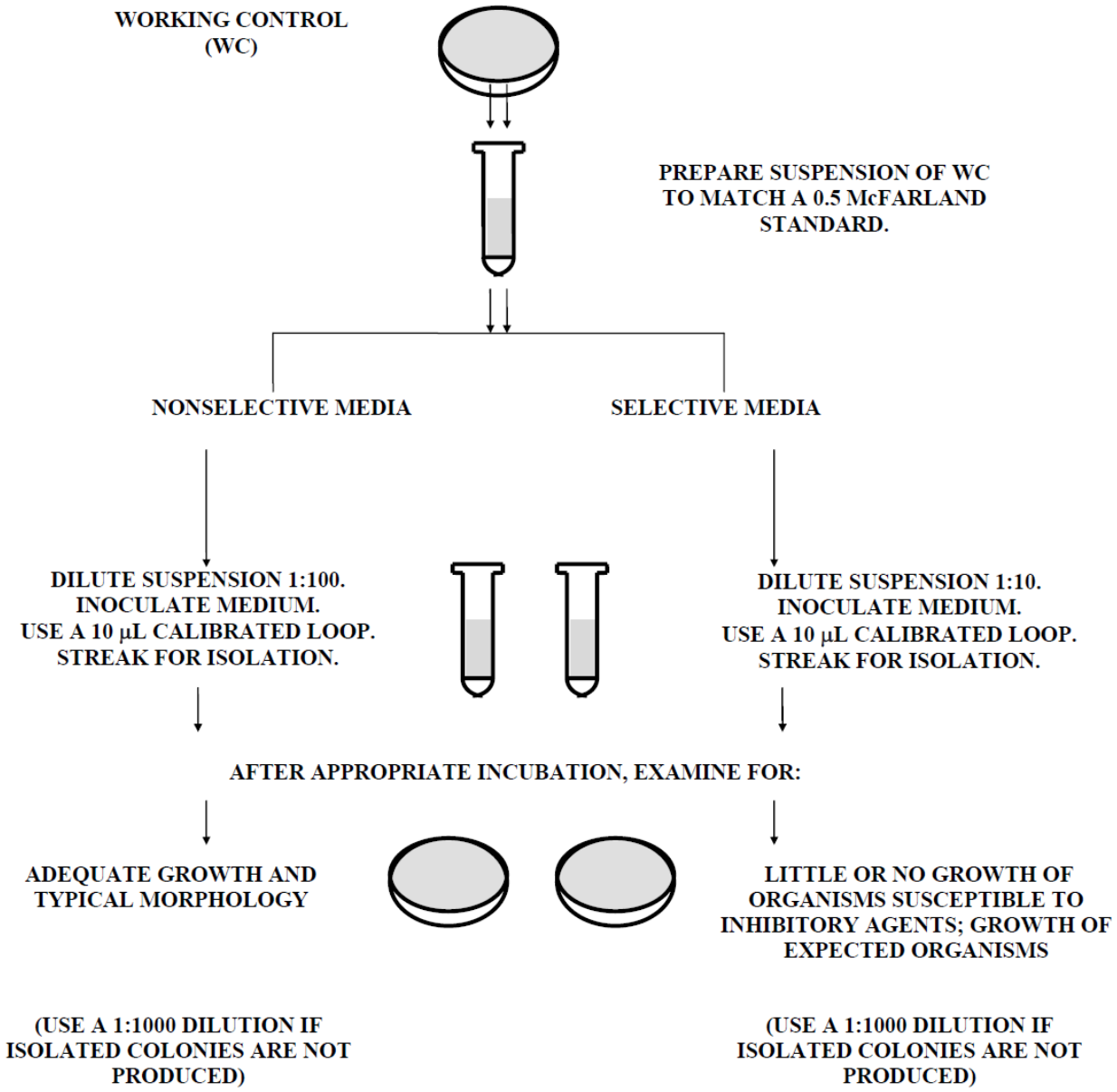
D. تفسیر نتایج:

- عملکرد محیط های غیر انتخابی در صورتی رضایت بخش است که سویه های کنترل کیفی، رشد کافی، سایز مورد انتظار کلنی، مرفولوژی بارز کلنی را نشان دهند.
- عملکرد محیط های انتخابی در صورتی ر ضایت بخش ا ست که سویه های کنترل کیفی، ر شد کافی، سایز مورد انتظار کلنی، مرفولوژی بارز کلنی و مهار رشد بعضی از ارگانیسم های خاص را نشان دهند.

در بعضی موارد، واکنش های رنگی خاص یا همولیز همچنان که در جدول شماره ۳ آمده است، باید ایجاد شود. مثلاً در مورد محیط کشت بلاد آگار ایجاد همولیز مناسب ضروری است و یا برای محیط مکانکی آگار ایجاد واکنش های رنگی برای سویه های میکروبی مشخص ضروری می باشد.

- عملکرد محیط های لوله ای در صورتی ر ضایت بخش ا ست که سویه های کنترل کیفی در آن ر شد کافی نموده یا کدورت لازم را ایجاد کنند و واکنش های بیوشیمیایی مورد انتظار را نشان دهند.

شکل ۱- روش رقیق سازی برای کنترل کیفیت محیط های کشت انتخابی و غیر انتخابی پلیتی



جدول شماره ۳- الزامات کنترل کیفیت محیط های کشت

محیط کشت	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	نتایج قابل انتظار
Alkaline peptone water (APW)	هوازی، ۱۲- ۶ ساعت، ۳۵˚C	*V. cholerae* (9459) *E. coli* (25922)	رشد بر روی ساب کالچر (TCBS) عدم رشد بر روی ساب کالچر (TCBS)
Anaerobic sheep blood and laked blood agar	بی هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*B. fragilis* (25285) *C. perfringens* (13124) *F. nucleatum* (25586) *P. anaerobius* (27337) *P. melaninogenica* (25845)	رشد می کند رشد می کند، همولیز بتا رشد می کند رشد می کند رشد می کند
Anaerobic broths— (thioglycolate medium را ملاحظه نمایید)			
Bile esculin agar	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. faecalis* (29212) *S. pyogenes* (19615)	رشد می کند، اطراف کلنی ها سیاه می شود (نصف یا بیشتر محیط سیاه می شود) مهار (جزئی تا کامل)؛ اطراف کلنی ها سیاه نمی شود
Bismuth sulfite agar	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*S. typhi* (19430) *S. typhimurium* (14028) *E. coli* (25922) *E. faecalis* (29212)	رشد، کلنی های سیاه با درخشندگی رشد، کلنی های سیاه یا خاکستری مایل به سبز، ممکن است درخشندگی داشته باشند مهار جزئی؛ کلنی های قهوه ای تا سبز مهار کامل رشد
Blood agar (BA)—nonselective sheep blood agar media	هوازی یا Co_2، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. pyogenes* (19615) *S. pneumoniae* (6305) *S. aureus* (25923) *E. coli* (25922)	رشد می کند، همولیز بتا رشد می کند، همولیز آلفا رشد می کند رشد می کند
Blood agar-CAMP test (trypticase soy agar [TSA] with sheep blood only)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. aureus* (33862) or (25923) *S. agalactiae* (12386) *S. pyogenes* (19615)	رشد می کند واکنش مثبت (تشکیل نوک پیکان شفاف) واکنش منفی (عدم تشکیل نوک پیکان)
Blood agar—Selective sheep blood agar media (Columbia [CNA] agar, phenylethyl alcohol [PEA] agar)	CNA، CO_2، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C PEA، CO_2، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*S. pyogenes* (19615) *S. pneumoniae* (6305) *S. aureus* (25923) *P. mirabilis* (12453) *S. pyogenes* (19615) *S. aureus* (25923) *P. mirabilis* (12453)	رشد می کند، همولیز بتا رشد می کند، همولیز آلفا رشد می کند مهار می شود (به طور جزئی) رشد می کند رشد می کند مهار می شود (به طور جزئی)
Blood culture media	بیهوازی، CO_2، ۵ روز، ۳۵˚C هوازی، CO_2، ۵ روز، ۳۵˚C	*B. fragilis* (25285) *S. pneumoniae* (6305)	رشد می کند رشد می کند
Brain heart infusion agar	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*C. albicans* (10231) *S. flexneri* (12022) *S. pneumoniae* (6305)	رشد متوسط تا زیاد رشد متوسط تا زیاد رشد متوسط تا زیاد
Campylobacter agar	O_2 کاهش یافته، غنی شده با Co_2، ۴۸ ساعت، ۴۲˚C	*C. jejuni* (33291) *E. coli* (25922)	رشد می کند مهار می شود (به طور جزئی)
Cary-Blair transport medium	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۲۵˚C	*N. gonorrhoeae* (19424) *H. influenzae* (10211) *S. flexneri* (12022) *S. pneumoniae* (6305)	روی ساب کالچر (شکلات آگار) رشد می کند روی ساب کالچر (شکلات آگار) رشد می کند روی ساب کالچر (بلاد آگار) رشد می کند روی ساب کالچر (بلاد آگار) رشد می کند

محیط کشت	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	نتایج قابل انتظار
Chocolate agar	CO_2، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*N. gonorrhoeae* (43069) *H. influenzae* (10211)	رشد می کند رشد می کند
DNase test agar	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. aureus* (25922) *S. marcescens* (8100) *S. pyogenes* (19615) *S. epidermidis* (12228) *K. pneumonia* (33495)	رشد خوب، ایجاد هاله رشد خوب، ایجاد هاله رشد خوب، ایجاد هاله رشد خوب، عدم ایجاد هاله رشد متوسط تا زیاد، عدم ایجاد هاله
Enrichment broths for enterics (gram-negative [GN] broth, selenite broths)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. typhimurium* (14028) *S. sonnei* (9290) *E. coli* (25922)	روی ساب کالچر (مکانکی آگار) رشد می کند روی ساب کالچر (مکانکی آگار) رشد می کند (ممکن است روی محیط های دارای سلنیت مهار شود) مهار (جزئی تا کامل) بر روی ساب کالچر (مکانکی آگار)، اما از GN broth بر روی ساب کالچر رشد می کند
Eosin methylene blue media (Levine EMB agar; EMB agar, modified)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. typhimurium* (14028) *E. coli* (25922) *E. faecalis* (29212)	رشد می کند، کلنی های بی رنگ تا کهربایی رشد می کند، کلنی های آبی- سیاه با جلای سبز فلزی مهار می شود (به طور جزئی)
Gelatin medium	هوازی، ۴۸- ۱۸ ساعت یا تا ۲ هفته، ۳۵˚C	*B. atrophaeus* (6633) *C. sporogenes* (11437) *E. coli* (25922)	رشد می کند، ژلاتیناز مثبت رشد می کند، ژلاتیناز مثبت رشد می کند، ژلاتیناز منفی
Hektoen enteric (HEK) agar	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. typhimurium* (14028) *S. flexneri* (12022) *E. faecalis* (29212) *E. coli* (25922)	رشد می کند، کلنی های آبی تا سبز- آبی با مراکز سیاه رشد می کند، کلنی های سبز تا سبز- آبی مهار می شود (به طور جزئی)؛ کلنی های زرد مهار (جزئی تا کامل)؛ کلنی های زرد تا زرد-قرمز
Kligler iron agar (KIA)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *S. typhimurium* (14028) *S. flexneri* (12022) *P. aeruginosa* (27853)	A/A، ایجاد گاز Alk/A، با یا بدون گاز، ایجاد SH_2 Alk/A Alk/Alk
Loeffler medium	هوازی، ۹۶- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*C. diphtheria* (51696) *P. aeruginosa* (10145)	رشد متوسط تا خوب. در بررسی میکروسکوپی، دانه های متاکروماتیک و باسیل های زنجیره ای بدون اسپور، شکل چماقی متورم و برجسته دارد رشد کلنی های قهوه ای- سبز با پروتئولیز
Lysine iron agar (LIA)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*S. arizonae* (13314) *C. freundii* (8454) *P. vulgaris* (9484)	Alk/Alk، ایجاد SH_2 Alk/A، با یا بدون SH_2 Red/A
MacConkey agar	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *P. mirabilis* (12453) *S. typhimurium* (14028) *E. faecalis* (29212)	رشد می کند، کلنی های صورتی رشد می کند، کلنی های بی رنگ، مهار جزئی سوارمینگ رشد می کند، کلنی های بی رنگ مهار می شود (به طور جزئی)
Malonate broth	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. aerogenes* (13048) *E. coli* (25922)	قلیایی (آبی) بدون تغییر رنگ (سبز) یا زرد (تخمیر دکستروز)

محیط کشت	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	نتایج قابل انتظار
Mannitol salt agar	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*S. aureus* (25923) *S. epidermidis* (12228) *P. mirabilis* (12453)	رشد، کلنی ها پس از ۴۸ ساعت هاله زرد دارند رشد، کلنی ها پس از ۴۸ ساعت هاله قرمز دارند مهار جزئی در ۲۴ h، مهار سوارمینگ در ۴۸ h
Moeller decaboxylase broth with amino acids (Arginine, Ornithine and Lysin)	بیهوازی، ۹۶- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*K. pneumoniae* (33495) *E. cloacae* (13047)	دهیدرولاز آرژینین و دکربوکسیلاز اورنیتین، منفی (A) و دکربوکسیلاز لایزین، مثبت (Alk) دهیدرولاز آرژینین و دکربوکسیلاز اورنیتین، مثبت (Alk) و دکربوکسیلاز لایزین، منفی (A)
MR-VP broth	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *E. aerogenes* (13048)	MR مثبت (قرمز) و VP منفی (بدون تغییر) MR منفی (زرد) و VP مثبت (قرمز)
Mycobacteria media (Lowenstein-Jensen agar and Middlebrook)	CO_2، >۲۱ روز، ۳۵˚C	*M. tuberculosis H37Ra* (25177) *M. kansasii* Group I (12478) *M. scrofulaceum* Group II (19981) *M. intracellulare* Group III (13950) *M. fortuitum* Group IV (6841) *E. coli* (25922)	رشد می کند رشد می کند رشد می کند - ممکن است روی محیط های انتخابی مهار شود رشد می کند- ممکن است روی محیط های انتخابی مهار شود رشد می کند مهار (جزئی تا کامل روی محیط های انتخابی)
Nitrate broth	هوازی، ۴۸ ساعت، ۳۵˚C	*P. stutzeri* (17588) *A. calcoaceticus* (19606)	احیاء نیترات مثبت، تولید گاز احیاء نیترات منفی، عدم تولید گاز
Nonselective mycology media	هوازی، ≥ ۷۲ساعت، ۲۵-۳۵˚C	*C. albicans* (60193 or 10231) *T. mentagrophytes* (9533)	رشد می کند رشد می کند
Nutrient agar (NA)	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*P. aeruginosa* (10145) *S. flexneri* (12022) *S. aureus* (25923)	رشد متوسط تا زیاد، ایجاد پیگمان سبز رشد متوسط تا زیاد رشد متوسط تا زیاد، کلنی های کرم تا طلایی
Nutrient broth (NB)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *S. aureus* (25923)	رشد خوب رشد خوب
OF medium with Dextrose	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*A. calcoaceticus* (19606) *E. aerogenes* (13048) *P. aeruginosa* (27853) *S. flexneri* (12022)	لوله بدون روغن، A (زرد) و لوله دارای روغن Alk (سبز) لوله بدون روغن، A (زرد) و گاز و لوله دارای روغن A (زرد) و گاز لوله بدون روغن، A (زرد) و لوله دارای روغن Alk (سبز) لوله بدون روغن و لوله دارای روغن A (زرد)
Phenol red agar/ broth with carbohydrates	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *E. faecalis* (33186) *P. vulgaris* (8427) *P. aeruginosa* (10145) *S. typhimurium* (14028) *S. flexneri* (9199) *S. aureus* (25923)	دکستروز، لاکتوز و مانیتول AG (اسید و گاز) دکستروز، لاکتوز و ساکاروز A (اسید) دکستروز A ، مانیتول Alk (قلیا) و ساکاروز AG دکستروز Alk لاکتوز و ساکاروز Alk دکستروز و مانیتول A، لاکتوز و ساکاروز Alk مانیتول AG
Phenylalanine agar	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*P. vulgaris* (8427) *E. coli* (25922)	مثبت (ایجاد رنگ سبز) منفی (بدون تغییر رنگ)

محیط کشت	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	نتایج قابل انتظار
Salmonella-Shigella (SS) agar	هوازی، ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*S. typhimurium* (14028) *S. flexneri* (12022) *E. faecalis* (29212) *E. coli* (25922)	رشد، کلنی های بی رنگ با یا بدون مراکز سیاه رشد می کند، کلنی های بی رنگ مهار می شود (به طور کامل) مهار می شود (جزئی تا کامل؛ کلنی های صورتی تا قرمز با رسوب)
Selective mycology media	هوازی، ≥ ۷ روز، ۲۵˚C	*A. niger* (16404) *C. albicans* (10231) *T. mentagrophytes* (9533) *E. coli* (25922)	مهار (جزئی تا کامل) روی محیط های حاوی سیکوهگزیماید رشد می کند رشد می کند مهار (جزئی تا کامل) روی محیط های حاوی کلرامفنیکل
Selective media for pathogenic *Neisseria* spp.	CO_2، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*N. gonorrhoeae* (43069) *P. mirabilis* (43071) *S. epidermidis* (12228)	رشد می کند مهار (جزئی) فقط برای محیط های حاوی تری متوپریم استفاده شود مهار می شود (به طور جزئی)
Selective media for enterococci, with azide	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. faecalis* (29212) *S. pyogenes* (19615) *E. coli* (25922)	رشد می کند، سیاه شدن اطراف کلنی ها مهار می شود (به طور جزئی تا کامل) مهار (جزئی)- کلنی های بی رنگ روی بایل اسکولین آگار
Selective media for enterococci, without azide	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. faecalis* (29212) *S. pyogenes* (19615)	رشد می کند، سیاه شدن اطراف کلنی ها مهار می شود (به طور جزئی تا کامل)
SIM medium	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *S. typhimurium* (13311) *S. sonnei* (9290)	تولید SH_2 منفی، اندول مثبت و حرکت مثبت تولید SH_2 مثبت، اندول منفی و حرکت مثبت تولید SH_2 منفی، اندول منفی و حرکت منفی
Simmons citrate agar	هوازی، ۹۶- ۴۸ ساعت، ۳۵˚C	*E. aerogenes* (13048) *E. coli* (25922)	رشد می کند، سطح شیب دار آبی می شود فاقد رشد تا رشد کم، بدون تغییر رنگ
Thioglycollate broth, with or without indicator	هوازی، ۴۸ ساعت (درپیچ های محکم)، ۳۵˚C	*B. fragilis* (25285) *S. aureus* (25923)	رشد می کند رشد می کند
Thioglycollate broth, enriched with vitamin K and hemin	هوازی، ۴۸ ساعت (درپیچ های محکم)، ۳۵˚C	*P. anaerobius* (27337) *B. vulgatus* (8482) *C. perfringens* (13124)	رشد می کند رشد می کند رشد می کند
Thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS) agar	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*V. cholerae* (9459) *V. parahaemolyticus* (17802) *E. coli* (25922) *P. aeruginosa* (10145) *E. faecalis* (29212)	رشد متوسط تا زیاد، کلنی های زرد رشد متوسط تا زیاد، کلنی های سبز آبی مهار جزئی یا کامل، کلنی های کوچک و شفاف مهار جزئی یا کامل، کلنی های سبز آبی مهار جزئی یا کامل، کلنی های کوچک و زرد
Triple sugar iron (TSI) agar	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *S. typhimurium* (14028) *S. flexneri* (12022) *P. aeruginosa* (27853)	A/A، ایجاد گاز Alk/A، با یا بدون گاز، ایجاد SH_2 Alk/A Alk/Alk

محیط کشت	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	نتایج قابل انتظار
Trypticase soy agar (TSA)	هوازی، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*S. flexneri* (12022) *S. aureus* (25923) *E. coli* (25922)	رشد می کند، کلنی های متوسط تا بزرگ، سفید مایل به خاکستری و کمی محدب موکوئیدی رشد می کند، کلنی های متوسط تا بزرگ، مات، مدور، کامل با پیگمان کرم- زرد تا طلایی رشد می کند
Tubed media (brain heart infusion and tryptic soy broth)	هوازی، ۲۴- ۱۸ ساعت، ۳۵˚C	*E. coli* (25922) *S. aureus* (25923)	رشد می کند رشد می کند
Urea agar/ broth	هوازی، ۴۸- ۸ ساعت، ۳۵˚C	*P. vulgaris* (8427) *S. typhimurium* (13311)	اوره آز مثبت، رنگ قرمز صورتی اوره آز منفی، بدون تغییر رنگ
Xylose lysine desoxycholate (XLD) agar	هوازی، ۲۴ ساعت، ۳۵˚C	*S. typhimurium* (14028) *S. flexneri* (12022) *E. faecalis* (29212) *E. coli* (25922)	رشد می کند، کلنی های قرمز با مراکز سیاه رشد می کند، کلنی های قرمز با مراکز سیاه مهار جزئی مهار می شود (جزئی تا کامل؛ کلنی های زرد تا زرد- قرمز)

منابع:

۱- محیط های کشت آزمایشگاهی (موارد مصرف و کنترل کیفی) به انضمام اطلس رنگی محیط های کشت؛ گردآوری و ترجمه مهناز صارمی، محمد علی صارمی؛ آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی؛ ۱۳۸۷

2- Quality Assurance for commercially prepared Microbiological Culture Media- Second Edition; Approved standard- Third edition document M22-A3. Vol. 24, No. 19; 2006.

3- Oxoid company- General Guide to the use of Oxoid culture Media.

4- Microbiological culture media; second Edition; 2009; Becton, Dickinson and Company.

دستورالعمل فنی

فور، اتوکلاو و انکوباتور

آزمایشگاه مرجع سلامت

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

تابستان ۱۳۹۶

محل مهر تضمین کیفیت	
تاریخ :	تاریخ :

فور (اون)

از اون برای خشک کردن لوازم آزمایشگاهی یا سترون کردن آنها به روش حرارت خشک استفاده می شود. اون برای سترون کردن موادی به کار می رود که با اطمینان کافی تحت نفوذ بخار قرار نمی گیرند، اما می توانند دماهای بالای مورد نیاز مثل ۱۸۰˚C-۱۶۰˚C را تحمل کنند. اون به ویژه برای سترون کردن ظروف شیشه ای مثل لوله های آزمایش، پلیت های شیشه ای، پی پت ها و نیز برای آلات فلزی مثل پنس، اسکالپل و قیچی به کار می رود.

اون باید دارای فن (جهت چرخش هوای متراکم در سراسر اتاقک)، نشانگر درجه حرارت، ترموستات و تایمر، طبقات مشبک، قفل داخلی درب و عایق بندی مناسب جداره ها باشد.

سترون سازی در اون

۱- برای بسته بندی وسایل فوق‌الذکر جهت سترون نمودن آنها در اون می توان از فویل آلومینیومی یا کاغذ کرافت و سربطری های پنبه ای استفاده نمود. باید دقت شود که کاغذ و پنبه نسوزند، چون پنبهٔ نیم سوز مواد ضد باکتری فرّاری را متصاعد می کند.

۲- حدود ۲ سانتی متر از انتهای فوقانی پی پت ها را با پنبهٔ غیر جاذب ببندید و آنها را در ظرف فلزی قرار داده، درِ ظرف را ببندید.

۳- درپوش لوله های آزمایش را با کاغذ آلومینیومی بپوشانید و آنها را به طور عمودی در جالوله ای قرار دهید. درپوش، لبهٔ لوله را از آلودگی از طریق هوا در طی ذخیره سازی حفظ می کند.

۴- در صورتی می توان بطری های درپیچ دار را در اون سترون نمود که درپوش و آستری آنها از موادی مثل فلز، تفلون، پلی‌پروپیلن یا لاستیک سیلیکون ساخته شده باشد، چون در دمای سترون سازی از شکل طبیعی خارج نمی شوند.

۵- قبل از قرار دادن ظروف شیشه ای در اون، از خشک بودن آنها مطمئن شوید. توصیه می شود که ابتدا آنها را در دمای ۱۰۰˚C قرار دهید.

۶- پودر، روغن، چربی و گریس مثل Petroleum Jelly را در ظرف شیشه ای یا فلزی و در اندازه های کوچک که از وزن ۱۰ گرم یا عمق یک سانتی متر تجاوز نکند، سترون نمایید.

۷- مواد، وسایل یا بسته ها را به گونه ای در اون قرار دهید که هوای داغ در اطراف و بین آنها در جریان باشد.

۸- درِ اون را ببندید و منبع گرما را روشن کنید.

۹- زمان نگهداری سترون سازی از زمانی آغاز می شود که اتاقک به دمای سترون انتخابی برسد و نیز مدتی هم بیشتر درنظر گرفته می شود تا همهٔ قسمت های اتاقک و بار داخل آن به دمای مورد نظر برسند (۱۸۰˚C-۱۶۰˚C به مدت ۲ تا ۴ ساعت).

۱۰- به دلیل عایق بودن دستگاه، چند ساعت طول می کشد تا اشیاء داخل آن خنک شوند، مگر آنکه دستگاه مجهز به فن باشد. درِ اون را باز نکنید تا اتاقک، ظروف و مواد داخل آن تا دمای حدود ۶۰°C خنک شوند. اگر هوای سرد به طور ناگهانی وارد دستگاه شود، ممکن است ظروف شیشه ای ترک بخورند.

۱۱- برای خشک کردن وسایل معمولاً از دمای کمتر از ۱۰۰°C استفاده می گردد.

نحوهٔ نگهداری:

به طور ماهانه داخل آن تمیز و هر ۶ ماه توسط نمایندهٔ سرویس تعمیر، بازرسی شود.

توجه: قبل از انجام هر گونه اقدام برای نگهداری معمول، اطمینان حاصل کنید که اون به دمای اتاق رسیده و به پریز برق متصل نیست.

کنترل کیفیت:

اندیکاتور شیمیایی: برای پایش مستمر اون در هر بار استفاده، از این اندیکاتور استفاده کنید. مشاهدهٔ تغییر رنگ مناسب اندیکاتور پس از پایان مرحله سترون سازی، نشان دهنده عملکرد مطلوب دستگاه است.

اندیکاتور بیولوژیک: استفاده از نوار کاغذی حاوی اسپور *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 حداقل به طور هفتگی یا فواصل بیشتر، متناسب با بار کاری اون برای پایش عملکرد آن توصیه می شود. پس از پایان سیکل، پاکت نوار کاغذی اندیکاتور بیولوژیک را از داخل اون بیرون بیاورید و طی مدت ۲ ساعت نوار اندیکاتور را در کنار شعله با پنس استریل (شرایط آسپتیک) خارج نمایید و در داخل لوله حاوی محیط کشت تریپتیک سوی براث (TSB) یا سوی بین کازئین دایجست براث تلقیح کنید. لوله را حداقل به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱°C ± ۳۶ انکوبه نمایید. لوله محیط کشت را هر روز از نظر ایجاد کدورت که علامت رشد باکتریایی است، بررسی نمایید. مشاهده هرگونه رشد باید از نظر وجود این باسیلوس بررسی گردد، بنابراین باید آن را بر روی محیط های کشت مناسب، کشت مجدد دهید. نتیجه را ثبت کنید.

کنترل منفی: همیشه از یک لوله کنترل منفی در کنار سایر لوله های حاوی نوار کاغذی اندیکاتور بیولوژیک استفاده کنید. این لوله فقط حاوی محیط کشت است و برای بررسی آلوده نبودن محیط کشت، در کنار سایر لوله های حاوی نوار کاغذی اندیکاتور بیولوژیک، داخل انکوباتور قرار می گیرد. این لوله را به همراه سایر لوله ها حداقل به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱°C±۳۶ انکوبه نمایید، لوله محیط کشت را هر روز از نظر ایجاد کدورت که علامت رشد باکتریایی است، بررسی نمایید. اگر در لوله کنترل منفی کدورت ایجاد شود، نتایج سایر لوله ها قابل اعتماد نمی باشد.

کنترل مثبت: چند وقت یکبار برای بررسی زنده بودن میکروارگانیسم نوار کاغذی اندیکاتور بیولوژیک از کنترل مثبت استفاده کنید. برای این کار یک نوار کاغذی اندیکاتور بیولوژیک را بدون آن که در داخل اون قرار گرفته باشد، در کنار شعله با پنس استریل (شرایط آسپتیک) از پاکت آن خارج نمایید و در داخل لوله حاوی محیط کشت تریپتیک سوی براث (TSB) یا سوی بین کازئین دایجست براث تلقیح کنید. به همراه سایر لوله ها، حداقل به مدت ۴۸ ساعت در دمای $۳۶ \pm ۱^{\circ}C$ انکوبه نمایید، لوله محیط کشت را هر روز از نظر ایجاد کدورت که علامت رشد باکتریایی است، بررسی نمایید. اگر در لوله کنترل مثبت رشد و کدورت ایجاد نشود، نتایج سایر لوله ها قابل اعتماد نمی باشد.

ایمنی:

- نباید از مواد قابل اشتعال یا انفجار در داخل اون استفاده شود.
- باید از پاشیده شدن محلول های اسیدی یا بخارات خورنده در داخل اون جلوگیری نمود، تا از خوردگی سطوح و قفسه های داخلی پیشگیری شود.
- باید برای برداشتن وسایل از داخل اون، از وسایل حفاظت فردی مثل دستکش های عایق و مقاوم به حرارت، عینک ایمنی یا محافظ چشم استفاده گردد.

اتوکلاو

اتوکلاو بهترین وسیله برای سترون کردن محیط های کشت، محلول ها، پسماند آلوده و مواد خشک است که با بهره گیـری از حرارت بخار آب تحت فشار مورد استفاده قرار می گیرد.

چرخهٔ سترون سازی

- مرحلهٔ ۱ : زمان بالا رفتن دما در محفظهٔ اتوکلاو (۱۲۱˚C-۲۰˚C)
- مرحلهٔ ۲ : زمان نفوذ گرما به داخل ظرف محیط کشت (۱۲۱˚C - ۱۰۰˚C>)
- مرحلهٔ ۳ : زمان نگهداری در دمای مقرر (۱۲۱˚C)
- مرحلهٔ ۴ : زمان پایین آمدن دمای محفظه (۱۲۱˚C -۸۰˚C)

انواع سترون سازی

- سترون سازی محیط های کشت و محلول ها
- سترون سازی پسماند آلوده
- سترون سازی مواد خشک بسته بندی شده

سترون سازی محیط های کشت و محلول ها

باید تصدیق کنیم که طولانی شدن مرحلهٔ گرمایی، سبب کاهش کیفیت مواد مغذی در محیط های کشت کمـپلکس محتـوی قند، مواد معدنی و فلزی می شود و در نتیجه به محیط های کشت زیان وارد می کند. بنابراین در چرخهٔ سترون سازی بایـد از زمان کوتاهتر و دمای بالاتر استفاده کنیم تا علاوه بر آنکه آسیب کمتری به محیط کشت وارد می شـود، بـرای ارگانیسـم نیـز کشنده تر باشد.

- بهتر است از لوله ها و ارلن های درپیچ دار استفاده شود. بیشتر از ۲/۳ آنها را پر نکنید. درپیچ آنها را شل کنید.
- از قرار دادن اشیاء بر روی یکدیگر بپرهیزید. باید فاصلهٔ اشیاء از یکدیگر و از دیواره هـای اتـوکلاو حـداقل ۵ سـانتی متـر باشد تا بخار جریان یابد.
- درِ اتوکلاو را ببندید. زمان و دما را طبق دستور شرکت سازنده (معمولاً ۱۵ دقیقه در ۱۲۱˚C) تنظیم کنید.

- در بعضی از محیط های کشت که به دمای بالا حساس هستند (محتوی مقدار قند بالا یا عوامل مهار کننده مثل دزوکسی کولات سدیم یا نمک های صفراوی هستند) تحت تأثیر دمای بالا، pH محصول نهایی کاهش می یابد.
- دمای سترون سازی به دمای اتاقک اتوکلاو برمی گردد، نه به دمای محیط کشت. زمان لازم برای رسیدن به این دما باید در حد ممکن کوتاه باشد.
- چرخهٔ سترون سازی باید متناسب با زمان نفوذ گرما در نظر گرفته شود. برای مثال محتویات یک ظرف یک لیتری محیط کشت باید طی ۱۵ دقیقه از زمان رسیدن محفظه به دمای ۱۲۱°C، به این دما برسد.

سترون سازی پسماند آلوده

- مواد آلوده را جدا نموده و در کیسه های قابل اتوکلاو شدن قرار دهید و بر روی آنها برچسب Biohazard نصب کنید.
- برای اطمینان از نفوذ بخار به همهٔ قسمت های کیسه، یا گرهٔ آنرا شل کنید یا قبل از محکم کردن گره، یک پیمانه (۰/۳ لیتر) آب به آن اضافه کنید. بیش از ۳/۴ کیسه را پر نکنید.
- برای جلوگیری از مسدود شدن آبگذر اتاقک اتوکلاو توسط آگار مذاب، کیسه ها را داخل سطل قرار دهید.
- زمان لازم برای سترون سازی پسماند، ۶۰ دقیقه در ۱۲۱°C یا ۴۵ دقیقه در ۱۳۴°C می باشد.
- وقتی آگار ذوب شده، سفت شد آنرا مثل پسماند طبیعی دور بریزید. اما محیط کشت محتوی سلنیت را باید به صورت پسماند مخصوص منهدم کنید.

سترون سازی مواد خشک بسته بندی شده

- بسته ها را طوری در اتوکلاو قرار دهید که حداکثر چرخش بخار در بین آنها ایجاد شود و با دیواره های اتوکلاو نیز تماسی نداشته باشند.
- زمان لازم برای سترون سازی مواد خشک بسته بندی شده، ۲۵ دقیقه با خروج سریع بخار در دمای ۱۲۱°C یا ۳۰ دقیقه بدون خروج بخار در دمای ۱۲۱°C می باشد.

نحوهٔ نگهداری

- روزانه: صفحهٔ کف اتوکلاو را از سوراخ آبگذر اتاقک جدا کرده، تمیز کنید. لوازم فرعی مثل طبقات و سینی ها را با آب و صابون بشویید. سطح آب ژنراتور را کنترل کنید.
- هفتگی: آبگذر و درزها را تمیز کنید. سوپاپ اطمینان را بررسی کنید.

- ماهانه: آب دستگاه را تعویض نمایید.
- هر ۳ ماه: داخل و خارج دستگاه و قسمت بیرونی آبگذر را تمیز کنید.
- هر ۶ ماه: دستگاه توسط نمایندۀ سرویس تعمیر، بازرسی شود.

کنترل کیفیت

اندیکاتور شیمیایی:

اندیکاتور شیمیایی کلاس ۶ (TST): برای پایش مستمر اتوکلاو در هر بار استفاده، از این اندیکاتور استفاده کنید. این اندیکاتور سه عامل زمان، بخار و دما را کنترل می کند و تغییر رنگ می دهد. مشاهدۀ تغییر رنگ مناسب اندیکاتور پس از پایان مرحله سترون سازی، نشان دهنده عملکرد مطلوب دستگاه است.

اندیکاتور بیولوژیک:

استفاده از ویال اندیکاتور بیولوژیک حاوی اسپور *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 حداقل به طور هفتگی یا فواصل بیشتر، متناسب با بار کاری اتوکلاو برای پایش عملکرد آن توصیه می شود.

در ته یک ظرف کوچک مقاوم به حرارت و نفوذپذیر نسبت به بخار مثل Safety Box چند لایه تنزیب قرار داده، تست شیمیایی و بیولوژیک را داخل آن قرار داده، درِ Safety Box را ببندید و آن را به همراه سایر مواد و وسایل داخل دستگاه قرار دهید. برنامه سترون سازی را اجرا کنید. پس از پایان سیکل، ویال اندیکاتور بیولوژیک را بیرون بیاورید و طی مدت ۲ ساعت آمپول شیشه ای داخل آن را بشکنید تا محیط کشت و اندیکاتور pH داخل آمپول شیشه ای با کاغذ آغشته به اسپور باسیلوس در تماس قرار گیرد، سپس ویال را به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در دمای ۱°C ± ۵۶ انکوبه نمایید و تغییر رنگ در آن را بررسی کنید. تغییر رنگ محیط کشت به رنگ اعلام شده توسط سازنده، نشانگر رشد باکتریایی و تغییر pH محیط کشت و عدم صحت عملکرد دستگاه است و عدم تغییر رنگ، نشان دهنده از بین رفتن باسیلوس و صحت عملکرد دستگاه است. نتیجه را ثبت کنید.

کنترل مثبت: چند وقت یکبار برای بررسی زنده بودن میکروارگانیسم داخل ویال از کنترل مثبت استفاده کنید. برای این کار، یک ویال اندیکاتور بیولوژیک را بدون آن که اتوکلاو شود، به همراه سایر ویال های بیولوژیک که از اتوکلاو خارج کرده اید، بشکنید و به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در دمای ۱°C ± ۵۶ انکوبه نمایید. باسیلوس موجود در این ویال حتماً باید رشد کند و رنگ محیط کشت را تغییر دهد. اگر تغییر رنگ مورد نظر در این ویال ایجاد شود، نتایج سایر ویال ها قابل اعتماد

است. اگر این ویال تغییر رنگ ندهد، نشان دهنده از بین رفتن خودبخودی باسیلوس است، بنابراین نتایج سایر ویال ها نیز قابل اعتماد نیست.

ایمنی

- از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم استفاده کنید.
- بعد از آن که فشار اتاقک اتوکلاو به صفر و دمای آن به حدود $60^{\circ}C$ رسید، کنار اتوکلاو (و نه در جلوی درِ آن) بایستید و آن را به آرامی باز کنید. منتظر بمانید تا ظروف کمی خنک شوند، سپس آنها را حمل کنید.
- هرگز در هنگام روشن بودن دستگاه اقدام به بارگذاری یا خارج نمودن وسایل و مواد ننمایید، همیشه ابتدا دستگاه را خاموش نموده و سپس اقدام به گذاردن و برداشتن وسایل نمایید.
- هرگز در هنگام روشن بودن دستگاه و اتصال آن به پریز برق اقدام به تمیز نمودن آن نکنید. در صورت سهل انگاری و ریختن آب یا مایعات بر روی تابلوی برق، فوراً دستگاه را از پریز جدا نموده و سپس اقدام به خشک کردن تابلوی برق نمایید، از دستگاه استفاده نکنید تا مواد ریخته شده، کاملاً خشک شود.
- هرگز پیچ های محکم کنندهٔ در را در هنگام کار دستگاه شل و سفت نکنید.

انکوباتور

انکوباتور محفظه عایق بندی شده ای است که برای نگهداری دما و رطوبت کنترل شده محیط، برای رشد میکروارگانیسم ها نیاز است. بعضی انکوباتورها برای نگهداری میزان دلخواه از CO_2 برای میکروارگانیسم هایی که دی اکسیدکربن دوست (Capnophilic) هستند، تجهیز شده اند.

الف _ انکوباتورهای بدون CO_2:

- تنظیم کننده دما را روی دمای مورد نظر قرار دهید.
- وقتی درجه حرارت به دمای مورد نظر رسید، دما را در هر روز کاری که از انکوباتور استفاده می‌شود، روی برگه کنترل کیفیت (QC) ثبت کنید.
- نمونه ها را به طور ایمن روی سینی ها یا قفسه ها قرار دهید.
- می توانید با قرار دادن یک تشتک پر از آب متناسب با اندازه اتاقک در کف انکوباتور، محیط مرطوب ایجاد نمایید.

ب _ انکوباتورهای CO_2 دار:

- سطح دما و CO_2 در برگه QC در هر روز استفاده ثبت می شوند.

نکته: در صورت اتمام کپسول گاز CO_2، تا زمان شارژ مجدد آن می توان جهت انکوباسیون نمونه های نیازمند CO_2 از کندل جار (جار حاوی شمع) به صورت جایگزین استفاده نمود.

نحوه نگهداری:

- همه انکوباتورها باید به طور ماهانه و نیز بعد از ریختن مواد عفونی، با استفاده از محلول گندزدای مناسب تمیز شوند.
- قبل از تمیز کردن، انکوباتور را از پریز برق جدا کنید.
- از مواد تمیز کننده ای استفاده کنید که خراش ایجاد نمی کنند. سطوح داخلی و خارجی انکوباتور را با پارچه آغشته به محلول تمیز کننده ملایم تمیز کنید.
- از تماس بین مواد پاک کننده و ساختارهای الکتریکی خودداری نمایید.
- قبل از اتصال مجدد انکوباتور به برق، منتظر بمانید تا داخل انکوباتور خشک شود.

توجه: قبل از انجام هر گونه تعمیر، مطمئن شوید که انکوباتور، آلودگی زدایی، تمیز و از پریز برق جدا شده است.

- به منظور رعایت موارد ایمنی، کپسول های CO_2 باید به صورت ایستاده با زنجیر سنگین به دیوار محکم شود. زمانی که از سیلندرها استفاده نمی شود، سوپاپ ها و درپوش ها باید به طور محکم بسته شوند. سیلندرهای خالی را روی حمل کننده سیلندر گاز به طور محکم با زنجیر نگهداری کنید. هرگز سیلندرهای گاز را در دمای بالاتر از (۵۲˚C) ۱۲۵˚F نگهداری نکنید. سیلندرها را در وضعیت افقی قرار ندهید.

کنترل کیفی:

الف _ انکوباتورهای بدون CO_2:

- دمای انکوباتور را با دماسنج کالیبره اندازه گیری نموده و به طور روزانه و در دو نوبت بر روی منحنی دما، ثبت کنید.
- تمام عملیات نگهداری، تمیز کردن و دمای روزانه را در جداول مربوطه ثبت نمایید.

زمانی که دمای انکوباتور خارج از محدوده قابل قبول باشد، علاوه بر اطلاع رسانی به مسئول فنی یا سوپروایزر، اقدامات اصلاحی باید مطابق موارد ذیل انجام شود:

- منبع برق، پریز برق و Circuit Panel را بررسی کنید.
- دمای تنظیمی (Set Point) را بررسی کنید.
- اگر دستگاه هنوز درست کار نمی کند، به نماینده سرویس دهنده اطلاع دهید.

ب _ انکوباتورهای CO_2 دار:

- یک کشت از *نیسریا گونوره* در انکوباتور قرار دهید. هر روز آن را پاساژ داده و رشدش را بررسی نمایید. این ارگانیسم برای رشد به CO_2 نیاز دارد.
- تمام عملیات نگهداری، تمیز کردن، تعویض سیلندر و دمای روزانه را در جداول مربوطه ثبت نمایید.

دستورالعمل فنی

هودهای ایمنی بیولوژیک

آزمایشگاه مرجع سلامت

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

تابستان ۱۳۹۶

محل مهر تضمین کیفیت	
تاریخ :	تاریخ :

دستورالعمل فنی هودهای ایمنی بیولوژیک:

محل قرارگیری هود:

- هود ایمنی بیولوژیک باید در مکانی دور از رفت و آمد افراد، قرار داده شود. عبور و مرور افراد، وجود در و پنجره در نزدیک هود و باز و بستن آنها باعث تولید جریان های هوایی می شود که یکنواختی جهت جریان هوا را از فضای باز جلویی به داخل هود مختل می کند.
- تعبیه فضای حداقل ۳۰ سانتی متری در اطراف هود جهت دسترسی به آن برای تعمیر و نگهداشت و نیز تعبیه فضای ۳۰ تا ۳۵ سانتی متری در بالای هود به منظور انجام آزمایش های کنترل کیفیت بررسی سرعت هوا در فیلتر خروجی، تعویض فیلتر و غیره باید مد نظر قرار گیرد.

کاربر:

- از قبل تمامی وسایل، مواد و غیره باید آماده شوند تا تعداد دفعات حرکت دست و یا حرکت افراد به حداقل برسد. می توان بدین منظور چک لیستی تهیه نمود.
- باید از حرکات سریع دست در داخل هود خودداری شود. باید بعد از وارد کردن دست ها، یک دقیقه منتظر ماند تا جریان هوای داخل هود تنظیم گردد.
- هنگام استفاده از هود بیولوژیک نباید درِ شیشه‌ای محافظ آن باز و بسته شود.

طریقه قراگیری وسایل و مواد در داخل هود:

- باید دقت کرد که سطح مشبک (سوراخ های مختص عبور جریان هوا) هودهای کلاس ۲ با قرار دادن وسایل، کاغذ و غیره مسدود نشود.
- تجهیزاتی مانند سانتریفیوژ، ورتکس و غیره در قسمت عقب هود قرار می گیرند. کیسه های مخصوص اتوکلاو و ظروف ایمن (Safety Box) و غیره باید در داخل هود و در قسمت عقب آن قرار داده شوند. در صورت لزوم، می توان در هنگام کار از دستمال های جاذب آغشته به مواد گندزدا بر روی سطح کاری استفاده نمود.
- اختلال در جریان هوای داخل هود می تواند باعث آلودگی کارکنان و کشت گردد.
- فن هود باید ۵ دقیقه قبل از شروع کار و یا بعد از اتمام کار، روشن باشد تا هوای آلوده از هود خارج شود.

استفاده از شعله:

- استفاده از شعله می تواند در جریان هوا اختلال ایجاد کرده و به فیلتر آسیب برساند. همچنین در هنگام استفاده از مواد قابل اشتعال باعث ایجاد خطراتی گردد. بدین منظور از سوزاننده های کوچک (Microincinerator) یا کوره های الکتریکی استفاده می شود، اما بهتر است از لوپ های یکبار مصرف استریل استفاده شود.

لامپ ماوراء بنفش (UV):

- معمولاً این لامپ ها در هود ایمنی بیولوژیک مورد نیاز نمی باشند. در صورت وجود، باید به صورت هفتگی با الکل ۷۰٪ تمیز و گندزدایی گردد. این لامپ ها در زمان حضور افراد باید خاموش باشند. در ارتباط با فضای داخل هود باید از لامپ مناسب استفاده شود.

بررسی و تأیید صحت عملکرد هود:

- صحت عملکرد دستگاه باید در زمان نصب و در فواصل زمانی منظم، مطابق دستورالعمل سازنده توسط افراد مجرب، بررسی و مستند شود. آزمایش های لازم می تواند شامل بررسی نشت فیلتر هپا، بررسی سرعت جریان هوا و چگونگی جابجایی آن، محاسبه حجم هوای خروجی، فشار منفی و غیره باشد. همچنین آزمایش های دیگری شامل بررسی میزان ارتعاش، بررسی سیستم الکتریکی و روشنایی، بررسی عملکرد لامپ UV می تواند مد نظر قرار گیرد. تعویض فیلترها به علت جذب زیاد عوامل میکروبی در فاصله زمانی مناسب با توجه به ساعات کارکرد و توصیه سازنده نیز باید انجام شود.

آلودگی زدایی هودهای بیولوژیک:

- تمامی وسایل و سطوح داخلی باید قبل و بعد از استفاده به وسیله ماده گندزدای مناسب مانند الکل ۷۰٪ و یا محلول های تجاری گندزدایی شود. در صورت استفاده از محلول سفید کننده خانگی با رقت ۱/۱۰ و یا ۱/۱۰۰، باید بعد از استفاده از این ماده، به علت خاصیت خورندگی آن، محل را با آب استریل تمیز نمود.
- همچنین هودهای ایمنی بیولوژیک باید قبل از تعویض فیلتر و قبل از جابجایی آن، با استفاده از روش هایی مانند بخار دادن با گاز فرمالدئید آلودگی زدایی شوند. این کار باید توسط افراد کارآزموده انجام شود. در صورت وجود دستگاه پسماند سوز استاندارد می توان از آن جهت سوزاندن فیلتر استفاده نمود.
- برای آلودگی زدایی هودهای بیولوژیک کلاس ۱ و ۲، از تجهیزاتی که جداگانه قابلیت تولید، گردش هوا و خنثی سازی گاز فرمالدئید را دارند، استفاه می‌شود. روش دیگر، استفاده از میزان مناسبی پارافرمالدئید (با غلظت نهایی ۸٪ پارافرمالدئید در هوا) درون یک ظرف است که روی پلیت گرمکن الکتریکی گذاشته می‌شود. همچنین درون ظرف دیگر، محلول حاوی بی‌کربنات آلومینیوم به میزان ۱۰٪ بیش از پارافرمالدئید روی گرمکن الکتریکی دوم در داخل هود قرار داده می‌شود. باید سیم برق پلیت‌های گرمکن خارج از هود درون پریز شود، تا بتوان ظروف را خارج از هود به وسیله خاموش و روشن کردن گرمکن کنترل کرد.
- اگر رطوبت نسبی زیر ۷۰٪ است باید یک ظرف آب داغ بدون در نیز در داخل هود گذاشته شود، سپس درِ هود توسط نوار محکم بسته شود. فضای باز جلوی هود و هواکش‌های هود به‌وسیله پوشش پلاستیکی ضخیمی که محکم بسته شده، پوشیده می‌شود تا بتوان از عدم نشت درون اتاق اطمینان یافت.
- اطراف محل ورود سیم برق به داخل هود نیز توسط نوار محکم بسته می‌شود.

- برق مربوط به گرمکن ظرف حاوی پارافرمالدئید وصل می‌شود و تا زمانی که تمامی پارافرمالدئید تبخیر نشده، نباید از پریز برق کشیده شود.
- هود باید به مدت حداقل ۶ ساعت دست نخورده باقی بماند. سیم پلیت گرمکن مربوط به ظرف دوم به برق متصل شده تا بی‌کربنات آلومینیوم نیز تبخیر شود، سپس پریز برق قطع شده، هود برای دو بار به مدت هر بار ۲ ثانیه روشن می‌شود تا گاز بی‌کربنات آلومینیوم کاملاً در داخل هود گردش کند. هود به مدت ۳۰ دقیقه قبل از باز شدن درِ جلوئی و برداشتن پوشش پلاستیکی دست نخورده باقی می‌ماند. سطوح داخل هود قبل از استفاده مجدد باید کاملاً تمیز شود.

سیستم هشدار دهنده:

- بعضی از هودها دارای سیستم هشدار دهنده در خصوص وضعیت نامناسب پنجره، اختلال در جریان هوا و غیره می باشند که در این صورت باید کار متوقف شده و مشکل برطرف گردد. در صورت لزوم باید به مسئول مرتبط اطلاع داده شود.

آلودگی زدایی در موارد ریختن مواد آلوده در داخل هود ایمنی:

نکته: در هنگام کار با هود ایمنی، مواد و وسایل پاک کننده لازم و کیسه مخصوص اتوکلاو دارای برچسب خطر زیستی را در داخل هود ایمنی قرار دهید تا در هنگام ریختن مواد آلوده، در دسترس باشند. پس از ریختن مواد آلوده، اجازه دهید هود به کار خود ادامه دهد. برای جلوگیری از پخش آلودگی به بیرون از هود، هیچ چیزی از جمله دستانتان را، از داخل هود خارج نکنید. برای جلوگیری از پاشیدن مواد به خارج از هود در هنگام آلودگی زدایی آن، با احتیاط کار کنید تا از تولید و رها شدن آئروسل ها و مواد آلوده کننده به بیرون از هود جلوگیری شود.

- **در موارد ریختن مقدار کم مواد آلوده:** در صورت ریختن جزئی مواد آلوده درون هود ایمنی بیولوژیک، فوراً آن را مدیریت کنید:

۱- محل ریزش مواد آلوده را با محلول سفید کننده خانگی ۱۰٪ (به شرط آن که دارای کلر فعال ۵٪ باشد) تازه تهیه شده یا سایر محصولات گندزدای مورد تأیید بپوشانید، به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه منتظر بمانید، و سپس محل را با حوله کاغذی یا جاذب دیگر پاک کنید.

۲- کاغذ جاذب آلوده را برداشته و آن را در کیسه مخصوص اتوکلاو دارای برچسب خطر زیستی داخل هود قرار دهید.

۳- دوباره سطح را با آب استریل یا الکل ۷۰٪ و حوله های کاغذی تمیز، پاک کنید تا باقی مانده های محلول سفید کننده حذف شود و سپس حوله های کاغذی را در کیسه اتوکلاو قرار دهید.

۴- همه آلودگی های روی وسایل داخل هود ایمنی را بدون خارج کردن وسایل، و نیز فضای داخل هود ایمنی را با حوله کاغذی آغشته به محلول سفید کننده ۱۰٪ یا سایر محصولات گندزدای مورد تأیید، پاک کنید. برای جلوگیری از خوردگی سطوح، دوباره آنها را با آب استریل یا الکل ۷۰٪ و حوله های کاغذی تمیز پاک کنید تا باقی مانده های محلول سفید کننده حذف شود و سپس حوله های کاغذی را در کیسه اتوکلاو قرار دهید.

۵- دستکش های آلوده را درآورید و دست ها را بشویید.

۶- دستکش های تمیز بپوشید و همه چیز را به جای خود بازگردانید.

۷- کیسه حاوی پسماند را اتوکلاو کنید.

- **در موارد ریختن مقدار زیاد مواد آلوده:** در صورت ریختن مقدار زیاد مواد آلوده به حدی که منجر به جاری شدن مایع در سطوح مشبک جلو یا عقب گردد، نیاز به آلودگی زدایی گسترده تری دارد:

۱- فن هود ایمنی را روشن بگذارید.

۲- در حالی که وسایل داخل هود ایمنی بیولوژیک را از جای خود برمی دارید، سطح همه آنها را با محلول سفید کننده ۱۰٪ تازه تهیه شده با سایر محصولات گندزدای مورد تأیید آلودگی زدایی کنید.

۳- محلول سفید کننده ۱۰٪ یا سایر محصولات گندزدای مورد تأیید را روی سطح کاری هود، و از طریق سطوح مشبک، داخل تانک تخلیه (مجرا) بریزید.

۴- ۲۰ تا ۳۰ دقیقه منتظر بمانید تا آلودگی زدایی شود. مدت زمان انتظار، مطابق با نوع بیماریزا یا میکروارگانیسمی که با آن سروکار داریم، متغیر است.

۵- سطح را با حوله های کاغذی آغشته به محلول سفید کننده ۱۰٪ یا سایر مواد جاذب مورد تأیید، پاک کنید و در کیسه اتوکلاو قرار دهید.

۶- برای جلوگیری از خوردگی سطوح، با استفاده از حوله های کاغذی تمیز آغشته به آب استریل یا الکل ۷۰٪، سطوح هود را دوباره پاک کنید تا باقی مانده های محلول سفید کننده حذف شود و سپس حوله های کاغذی را در کیسه اتوکلاو قرار دهید.

۷- محتویات تانک تخلیه را درون ظرف حاوی محلول سفید کننده ۱۰٪ تازه تهیه شده با سایر محصولات گندزدای مورد تأیید، خالی کنید.

۸- لوله ای انعطاف پذیر را به دریچه تخلیه وصل کنید. لوله باید به اندازه کافی بلند باشد تا انتهای باز آن بتواند در محلول گندزدا در داخل ظرفی که در بالا ذکر شد، غوطه ور شود.

۹- تانک تخلیه را کاملا با آب شستشو دهید و مواد را از طریق لوله، خالی کنید. لوله تخلیه را بردارید.

۱۰- دستکش ها را درآورید و دست ها را بشویید.

۱۱- دستکش های تمیز بپوشید و همه چیز را به جای خود بازگردانید.

۱۲- کیسه حاوی پسماند را اتوکلاو کنید.

دستورالعمل مدیریت نمونه در

آزمایشگاه های پزشکی

آزمایشگاه مرجع سلامت

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

تابستان ۱۳۹۶

محل مهر تضمین کیفیت	
تاریخ :	تاریخ :

مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی

مقدمه

نتایج آزمایش‌ها تحت تاثیر متغیرهای گوناگونی است که شناسایی آن‌ها و به دنبال آن استاندارد نمودن روش‌های آزمایشگاهی جهت تفسیر و استفاده بهینه از داده‌های آزمایشگاهی ضروری است. این متغیرها شامل مراحل قبل از، حین و پس از آزمایش می‌باشند. در سال‌های اخیر با توجه به تأکید بر اجرای روش‌های کنترل کیفی در کلیه بخش‌های آزمایشگاه در مرحله حین آزمایش و به‌دنبال آن برگزاری دوره‌های آموزشی در این خصوص، خطاهای حین آزمایش به حداقل رسیده است و لذا تأثیر متغیرهای قبل و بعد از آزمایش بسیار پررنگ شده است.

با توجه به اهمیت متغیرهای قبل از آزمایش در اینجا سعی شده است مجموعه‌ای از دستورالعمل‌های کاربردی در خصوص مدیریت نمونه بیان گردد که این موارد شامل: نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های بالینی، شامل خون و سایر مایعات بدن، آماده‌سازی نمونه، جابجایی و نقل و انتقال نمونه، شرایط نگه‌داری و موارد رد نمونه می‌باشد.

بدیهی است رعایت موارد ذکر شده در این مجموعه، در به حداقل رساندن عواملی که می‌تواند نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهد، کمک شایانی خواهد نمود.

کیفیت نتایج آزمایش‌هایی که در آزمایشگاه انجام می‌شود، هم ارزش نمونه‌هایی است که مورد آزمایش قرار می-گیرند.

مدیریت نمونه‌های آزمایشگاهی به‌عنوان بخشی از فرآیند قبل و پس از انجام آزمایش تأثیر به‌سزایی در تشخیص، پیگیری و درمان بیماران داشته و در حوزه‌های زیر قابل بحث می‌باشد:

- نقش کلیدی در صحت تشخیص آزمایشگاهی
- تأثیر در روند مراقبت از بیمار
- تأثیر در تصمیم‌گیری بالینی پزشک
- تأثیر در مدت زمان بستری شدن بیمار در بیمارستان و به‌دنبال آن، هزینه‌های بستری و آزمایشگاه
- تأثیر برکارآیی آزمایشگاه

اثرات ناشی از نمونه های نامناسب وعدم صحت نتیج آزمایش بر روی این نمونه ها:

- تاخیر در گزارش نتایج آزمایش ها
- نمونه گیری های غیر ضروری
- کاهش رضایت مندی مراجعین
- افزایش هزینه بیمار، آزمایشگاه و بیمارستان
- تشخیص ها و درمان غلط، طولانی شدن مدت بستری
- آسیب و احتمال مرگ

مدیریت نمونه‌های آزمایشگاهی در فرآیند قبل از انجام آزمایش:

درخواست آزمایش، شناسایی بیمار، نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های کلینیکی، آماده‌سازی نمونه، جابه‌جایی و نقل انتقال نمونه، معیارهای رد نمونه، شرایط نگه‌داری و ارجاع نمونه

در فرآیند بعد از انجام آزمایش، نگه‌داری نمونه پس از انجام آزمایش و امحاء نمونه را شامل می‌شود. هر یک از این مراحل فوق‌الذکر نیاز به مدیریت داشته، سیاست آزمایشگاه باید در این خصوص تعریف گردد.

♦ **فرآیند قبل از آزمایش**

● **درخواست آزمایش / شناسایی بیمار**

درخواست آزمایش باید از نظر قابلیت پذیرش و انجام بررسی شود. هر آزمایشگاه باید فهرست آزمایش‌های قابل انجام خود را تهیه و در اختیار مسئول پذیرش قرار دهد. همچنین باید از هویت بیمار قبل از پذیرش، اطمینان حاصل گردد و انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار صورت گیرد.

● **نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های کلینیکی**

هر آزمایشگاه با توجه به دامنه فعالیت خود باید دستورالعمل نحوه جمع‌آوری نمونه‌های کلینیکی را تهیه و در اختیار کارکنان آزمایشگاه قرار دهد. این دستورالعمل شامل موارد زیر می‌باشد:

•• نحوه اطمینان از هویت بیمار

•• شرایط مربوط به آماده‌سازی بیمار قبل از نمونه‌گیری

•• نمونه موردنیاز در خصوص انواع آزمایش‌ها

•• ظروف جمع‌آوری نمونه، نوع ضد انعقاد، حجم نمونه

•• مشخصات برچسب نمونه، همچنین برچسب‌گذاری باید به نحوی باشد که امکان ردیابی نمونه به سهولت امکان-پذیر باشد.

•• شرایط نگه‌داری نمونه قبل از انجام آزمایش

➢ **ردیابی نمونه**

اطلاعات زیر جهت ردیابی کامل نمونه در آزمایشگاه مورد نیاز است که به صورت دستی یا نرم‌افزاری باید ثبت شود:

•• شماره آزمایش

•• نام و نام خانوادگی بیمار

•• زمان نمونه گیری: روز – ساعت – دقیقه

•• نوع نمونه

•• آزمایش‌های انجام شده

•• نام پزشک

•• بخش موقعیت بیمار: بخش – کلینیک ....

•• نتایج آزمایش‌ها

•• تاریخ و ساعت جواب آزمایش

➢ **ذخیره‌سازی نمونه**

تدوین سیاست آزمایشگاه در مورد ذخیره سازی نمونه شامل موارد زیر است:

•• تعیین نمونه هایی که باید نگه داری شوند.

•• مدت زمان نگه داری

•• محل نگه داری

•• شرایط مناسبی که نمونه باید در آن نگه داری شود (درجه حرارت مناسب)

•• کنترل مرتب نمونه ها از نظر تعداد موارد یخ زدن/ آب کردن (Freeze/thaw) نمونه

•• چیدمان منظم نمونه ها در محل مورد نگه داری (یخچال) مثلا بر اساس شماره پذیرش یا روز پذیرش نمونه ها

•• برنامه زمان بندی جهت کنترل دوره ای نمونه ها

•• برقرار نمودن روشی جهت ردیابی نمونه

➢ **نحوه نقل و انتقال و جابه‌جایی نمونه**

انتقال نمونه‌های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه کاری در آزمایشگاه می‌باشد.

در آزمایشگاه باید شرایط انتقال نمونه از نظر درجه حرارت، ظروف مورد استفاده، حداکثر زمان مجاز جهت انتقال نمونه، نحوه انتقال نمونه با درخواست اورژانس و ملاحظات ایمنی تعریف، مکتوب و کارکنان مرتبط از آن اطلاع داشته باشند.

بسته بندی کلیه نمونه ها باید به روش استاندارد و با استفاده از سه محفظه صورت گیرد. با توجه به نوع نمونه ای که منتقل می شود، اطلاعات روی برچسب الصاق شده روی محفظه خارجی نمونه متفاوت است.

➢ **رد نمونه**

دستورالعمل معیارهای رد و قبول انواع نمونه‌های کلینیکی و نحوه برخورد با آن باید تدوین شده و به کارکنان مرتبط در این خصوص آموزش‌های لازم داده شود. گاهی موارد "رد نمونه" مشکل است، اما باید به خاطر داشت که نمونه فاقد شرایط استاندارد از نظر کیفیت وکمّیت نتایج صحیح نمی دهد.

➢ **ارجاع نمونه**

در روند ارجاع یکی از مهم‌ترین فرآیندهایی که باید مدنظر گرفته شود، مدیریت نمونه است که شامل کلیه اقداماتی است که جهت حفظ تمامیت و کیفیت نمونه از زمان جمع‌آوری و طی مراحل نگه‌داری و انتقال نمونه صورت گیرد. مدیریت فرآیند پس از انجام آزمایش، نحوه گزارش‌دهی و ارسال نتایج و نگه‌داری سوابق مربوطه در آزمایشگاه ارجاع و ارجاع‌دهنده نیز باید طبق ضوابط مشخصی صورت گیرد.

➢ **امحاء نمونه**

هر آزمایشگاه باید نحوه دفع مواد زائد را مستند نموده و بر اساس آن عمل نماید. در این مستند باید به قوانین امحاء مواد زائد در کشور توجه شود. نحوه بی خطرسازی پسماند مشخص شود، فرد مسئول نظارت بر این روند مشخص شود. اصول ایمنی رعایت شود.

♦ **مدیریت نمونه در زمان انجام آزمایش**

مدیریت نمونه در زمان انجام آزمایش در ادامه این فصل مورد بحث قرار می‌گیرد.

♦ **نگه‌داری نمونه پس از انجام ازمایش**

آزمایشگاه باید سیاست خود را در خصوص نگه‌داری انواع نمونه‌های کلینیکی با در نظر گرفتن ملاحظات زیر به‌صورت دستورالعمل مکتوب تعریف نماید:

مکان و دمای نگه‌داری نمونه‌های کلینیکی، حداکثر زمان نگه‌داری، نحوه بی‌خطرسازی و امحاء نمونه‌ها

تجهیزات لازم جهت اتاق نمونه‌برداری

نمونه‌گیری باید در یک محل مجزا، تمیز و ساکت صورت گیرد. این اتاق بهتر است مجهز به دستشویی بوده و در صورت عدم دسترسی به آب، باید محلول‌های تمیزکننده دست موجود باشد.

۱- صندلی نمونه‌برداری: باید دارای دسته قابل تنظیم باشد به‌طوری که بیمار بتواند در راحت‌ترین وضعیت جهت نمونه‌گیری روی صندلی بنشیند. هم‌چنین صندلی باید دارای حفاظ ایمنی جهت جلوگیری از افتادن بیمار باشد.

۲- تخت معاینه

۳- سینی جمع‌آوری ظرف‌های نمونه

۴- دستکش

- *دستکش در صورت آلودگی و یا در فواصل نمونه‌گیری‌ها باید تعویض گردد.*

۵- سوزن (19–23G)
۶- سرنگ یا نگه‌دارنده مخصوص (holder) جهت استفاده از لوله‌های خلاء (evacuated tube)
۷- نیشتر یک‌بار مصرف
۸- انواع لوله‌ها و ظروف در پیچ‌دار یا لوله‌های خلاء
۹- بازوبند (tourniquet)
۱۰- یخچال یا یخ باید در دسترس باشد
۱۱- ضدعفونی کننده‌ها:
●● ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪
●● محلول povidone – iodine ۱۰-۱٪ یا کلر هگزیدین گلوکونات جهت کشت خون
۱۲- گاز پارچه‌ای در ابعاد cm ۵×۵ یا cm ۷/۵×۷/۵ (استفاده از پنبه پیشنهاد نمی‌گردد). باند و گاز باید جهت پانسمان در دسترس باشد.
۱۳- ظروف مخصوص دفع سرسوزن‌های آلوده (Puncture Resistant Disposal Container)
۱۵- فهرست انواع آزمایش‌ها و درج مقدار خون لازم برای هر آزمایش و نوع لوله مورد استفاده
۱۶- روتاتور جهت مخلوط نمودن لوله‌های محتوی خون

نمونه‌گیری وریدی

مراحل نمونه‌گیری

خون‌گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت توام دارد. جهت جمع‌آوری نمونه خون وریدی، خون‌گیر کار آزموده باید مراحل زیر را پی‌گیری نماید:
۱- انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار
۲- اطمینان از رعایت رژیم غذایی پیش از نمونه‌گیری
۳- انتخاب وسایل مورد نیاز
سرنگ و سرسوزن مناسب یا لوله خلاء براساس نوع آزمایش انتخاب می‌شود.
**** به‌طور کلی توصیه می‌گردد به‌دلیل رعایت اصول ایمنی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و لوله‌های خلاء جایگزین آن گردند.***
۴- استفاده از دستکش
۵- وضعیت بیمار هنگام نمونه‌گیری
بیمار بر روی صندلی نمونه‌گیری نشسته و دست خود را به منظور برجسته شدن وریدها مشت کرده و به نحوی روی دسته صندلی نمونه‌برداری قرار می‌دهد که بازو تا مچ دست در یک خط مستقیم قرار گیرند. باید توجه داشت که بیمار نباید مشت خود را باز و بسته نماید زیرا باز و بسته کردن مشت باعث تغییر بعضی مواد در خون می‌شود.
۶- بستن تورنیکه
به منظور افزایش پر شدن ورید از خون و برجسته شدن رگ مورد نظر و جهت تسهیل ورود خون به‌داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء از رگ‌بند (تورنیکه) استفاده می‌شود (قابل ذکر است در مواردی نظیر اندازه‌گیری لاکتات خون نباید تورنیکه بسته شود).
رگ‌بند باید ۱۰-۷/۵ سانتی‌متر بالای ناحیه نمونه‌گیری بسته شود و نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند.
۷- انتخاب ورید مناسب
در اغلب موارد نمونه‌گیری از وریدهای Median cubital و Cephalic صورت می‌گیرد. خون‌گیری از وریدهای پشت دست نیز قابل قبول است، ولی وریدهای سطح داخلی مچ نباید مورد استفاده قرار گیرند.

۸- تمیزکردن محل نمونه‌گیری

ناحیه نمونه‌گیری به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪ به‌صورت حرکت دورانی از داخل به خارج تمیز می‌شود. نمونه‌گیری پس از خشک شدن موضع در هوا، به‌منظور جلوگیری از همولیز و کاهش سوزش ناشی از تماس نوک سوزن با الکل و پوست، صورت می‌گیرد.

۹- نمونه‌گیری

باید سر سوزن در حالی که قسمت مورب نوک آن به سمت بالا است، با زاویه ۳۰°C یا کمتر وارد ورید شود.

**** به محض ورود خون بداخل سرنگ یا لوله خلاء باید رگ‌بند (تورنیکه) باز شود.***

در صورت استفاده از لوله خلاء باید تمهیدات زیر صورت گیرد :

•• حتی‌الامکان سوزن در رگ ثابت نگه‌داشته شده و اولین لوله با فشار به سوزن مرتبط شود.

•• لـولـه‌ها باید تا خاتمه مکش از خون پر شوند. پس از وقفه جریان خون اولین لوله از سوزن جدا شده و لوله‌های بعدی به سوزن متصل می‌شوند.

•• لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد و خون باید بلافاصله پس از پرشدن مخلوط شوند (با۱۰-۵ مرتبه سروته نمودن). جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله‌ها به شدت مخلوط گردند.

پس از جاری شدن روان خون به داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء بیمار باید مشت خود را باز کند.

۱۰- دفع سر سوزن

سر سوزن‌های آلوده ***بدون گذاشتن درپوش سرسوزن*** باید در ظروف ایمن، دفع گردند. سپس نمونه خون به آرامی در ظروف مربوطه تخلیه شود.

۱۱- تخلیه خون

نمونه‌هایی که در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد ریخته می‌شوند باید بلافاصله و به آرامی ۵ تا ۱۰ بار مخلوط شوند. در صورتی‌که نمونه در لوله بدون ماده ضد انعقاد ریخته می‌شود باید به آرامی در جدار داخلی لوله تخلیه گردد.

۱۲- اقدامات پس از نمونه‌گیری

پس از خاتمه نمونه‌گیری، باید موضع از نظر بندآمدن خون‌ریزی و یا به‌وجود آمدن هماتوم کنترل گردد.

۱۳- برچسب‌گذاری ظرف حاوی نمونه

بلافاصله پس از اتمام نمونه‌گیری باید برچسب دارای اطلاعات زیر را بر روی لوله‌ها و ظروف حاوی نمونه خون بیمار الصاق نمود:

- نام، نام خانوادگی بیمار، شماره شناسایی، تاریخ، زمان نمونه‌گیری (بخصوص در آزمایش‌های ردیابی دوز درمانی داروها TDM)، نام فرد خون‌گیر

خون‌گیری مویرگی – نمونه‌گیری از طریق سوراخ کردن پوست (Skin Puncture)

خون‌گیری مویرگی در نوزادان، اطفـــال و بزرگسالان در شرایط خاص نظیر بیماران با سوختگی وسیع، بیماران بسیار چاق، بیماران مستعد به ترومبوز و بیماران مسن یا سایر بیمارانی که وریدهای سطحی آن‌ها قابل دسترسی نبوده یا بسیار شکننده است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

- **نواحی مناسب جهت سوراخ کردن پوست و جمع‌آوری نمونه:**

- بند انتهایی انگشتان دست
- سطح داخلی و خارجی پاشنه پا

➢ ***در نوزادن کمتر از یک‌سال معمولا خون‌گیری از پاشنه پا انجام می‌گیرد.***

- ***در اطفال و بـزرگسـالان معمولا از سطـح داخـلی بند آخـر انگشتان (انگشت سـوم یـا چهـارم) خون‌گیری صورت می‌گیرد. سطح جانبی و نوک انگشتان مناسب نمی‌باشند.***

از نواحی زیر *نباید* خون‌گیری صورت گیرد:

۱) نرمه گوش

۲) ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان

۳) انگشتان (دست و پا) نوزادان و اطفال کمتر از یک‌سال

نواحی متورم یا مناطقی که قبلا جهت نمونه‌گیری سوراخ شده‌اند(به‌دلیل تجمع مایع بافتی)

• روش کار

موضع مورد نظر توسط محلول ایزوپروپانول ۷۰٪ (یا اتانول ۷۰٪) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن در مجاورت هوا، خون‌گیری به‌وسیله لانست استریل انجام می‌شود. قابل ذکر است که باید اولین قطره خون را به‌وسیله گاز پاک کرده و از قطرات بعدی استفاده نمود.

آماده‌سازی نمونه خون

سرم یا پلاسما باید در کوتاه‌ترین زمان به‌دنبال نمونه‌گیری از سلول‌های خونی جدا گردد. حداکثر زمان مجاز جهت جداسازی سرم یا پلاسما ۲ ساعت پس از نمونه‌گیری پیشنهاد می‌گردد. قابل ذکر است که درخصوص اندازه‌گیری ترکیباتی نظیر پتاسیم، هورمون‌های کورتیکواستروئیدی، کورتیزول، کاتکولامین‌ها، اسید لاکتیک و هموسیستین این زمان باید کمتر از ۲ ساعت باشد.

قابل ذکر است که درجه حرارت محیط نیز بر پایداری برخی مواد تاثیر می‌گذارد.

آماده‌سازی نمونه در طی سه مرحله انجام می‌گیرد: مرحله پیش از سانتریفیوژ، مرحله سانتریفیوژ، مرحله پس از سانتریفیوژ.

• مرحله پیش از سانتریفیوژ

برای اکثر روش‌های اندازه‌گیری مواد در خون به‌جز اندازه‌گیری گازهای خون و آمونیاک، استفاده از سرم یا پلاسما ارجحیت دارد.

•• **تهیه سرم:** نمونه خون پس از جمع‌آوری (در ظروف در بسته)، باید جهت جداسازی و سانتریفیوژ مراحل لخته شدن را طی نماید که بهتر است این مرحله با طی زمان و به‌طور خودبخود صورت گـیرد. عمـل لخته شدن به‌طور طبیعی در دمای اتاق (۲۲-۲۵°C) پس از ۶۰-۳۰ دقیقه کامل می‌گردد. در صورتی که بیمار داروهای ضد انعقاد مصرف نماید، زمان لخته شدن طولانی‌تر بوده و اگر نمونه در شرایط سرما قرار گیرد (۲-۸°C) نیز این عمل به تاخیر می‌افتد. هم‌چنین اگر زمان لازم جهت کامل شدن مراحل تشکیل لخته کافی نباشد، تشکیل رشته‌های ظریف فیبرین ممکن است سبب ایجاد خطا در نتایج بسیاری از دستگاه‌های خودکار بیوشیمی گردد. جهت تسریع در عمل لخته شدن می‌توان از لوله‌های جمع‌آوری سرم که حاوی فعال‌کننده یا تسریع‌کننده عمل لخته شدن باشد استفاده نمود. به‌طور مثال لوله‌های حاوی افزودنی نظیر سم مار، زمان تشکیل لخته را به ۵-۲ دقیقه، ترومبین به ۵ دقیقه، سیلیکا و پارتیکل‌های شیشه به حدود ۳۰-۱۵دقیقه می‌رسانند. (استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی‌گردد)

•• **تهیه پلاسما:** لـولـه‌هـای حاوی خون به همراه مواد افزودنی به‌جز سیترات سدیم باید پس از نمونه‌گیری به آرامی برای حداقل ۱۰-۵ بار جهت مخلوط شدن سر و ته گردند (به‌جز موارد خاص کـه بایـد مطابق دستورالعمل سازنده لوله عمل گردد). لوله‌های حاوی سیترات سدیم و خون باید ۴-۳ مرتبه سر و ته گردند.

•• **سرد نمودن:** بعضی نمونه‌ها باید تا قبل از عمل سانتریفیوژ و جداسازی در سرما نگه‌داری شوند. سرد کردن نمونه، متابولیسم سلول‌های خونی را مهار نموده و سبب پایداری اجزای حساس به حرارت می‌گردد. جهت سرد نمودن، نمونه باید سریعا در یخ خرد شده یا مخلوطی از آب و یخ قرار گیرد (استفاده از تکه‌های بزرگ یخ به‌دلیل تماس ناکافی بین نمونه و یخ قابل قبول نمی‌باشد). یخ باید کاملا اطراف سطح خون درون لوله را احاطه کند.

نکته: قرار دادن نمونه خون بیش از دو ساعت در سرما سبب افزایش کاذب پتاسیم می‌گردد. سرما سبب مهار گلیکولیز شده، لذا انرژی جهت پمپ پتاسیم به داخل سلول ایجاد نمی‌گردد و بدنبال آن پتاسیم از سلول‌ها به بیرون نشت می‌کند. نمونه جهت اندازه‌گیری الکترولیت‌ها نیز نباید تا قبل از سانتریفیوژ و انجام آزمایش در دمای ۸°C-۲ قرار گیرد.

نمونه خـون جهت انـدازه‌گیری تـرکیباتـی نظیر کـاتکول آمین‌ها، آمونیاک، اسید لاکتیک، پیروات، گاسترین، هورمون پاراتیروئید، فعالیت رنین پلاسما و اسید فسفاتاز، باید پس از جمع‌آوری در سرما نگه‌داری شود.

•• **نگه‌دارنده‌ها و مهارکننده‌های متابولیک:** بعضی افزودنی‌ها می‌توانند از تغییرات غلظت مواد در نمونه با گذشت زمان جلوگیری نمایند. مواد آنتی گلیکولیتیک نظیر فلوراید می‌توانند گلوگز را در حضور سلول‌های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۴°C-۲۲) و تا ۴۸ ساعت در دمای یخچال (۸°C-۲) پایدار نگه‌دارند. به‌دلیل حساسیت اندازه‌گیری گلوگز در نوزادان و اطفال می‌توان از مواد افزودنی آنتی گلیکولیتیک استفاده نمود. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری لاکتات باید از فلوراید سدیم یا اگزالات پتاسیم استفاده نمود.

انتقال

انتقال نمونه‌های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه‌کاری در آزمایشگاه می‌باشد. در مورد نمونه‌های خون روند انتقال ۱/۳ زمان چرخه کاری را شامل می‌شود.

*** جمع‌آوری نمونه در محل آزمایشگاه**

•• **زمان:** نمونه‌ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال گردند. انتقال نمونه‌ها می‌بایست در شرایط دمای اتاق صورت گیرد، به‌جز نمونه‌هایی که باید با حفظ زنجیره سرد نگه‌داری و منتقل شوند. انتقال سریع نمونه از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه در شرایطی که دمای محل نمونه‌گیری بالاتر از ۲۲°C است از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• **وضعیت لوله:** نمونه‌های خون باید در لوله‌های در پوش‌دار و در وضعیت قائم نگه‌داری گردند. این امر سبب تسریع فرایند انعقاد و هم‌چنین کاهش به هم خوردگی محتوی لوله می‌گردد و احتمال ایجاد همولیز را نیزکاهش می‌دهد.

•• **درپوش:** نمونه‌ها باید در طول مدت انتقال و نگه‌داری در ظروف درپوش‌دار قرار گیرند. عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به‌دلیل از دست دادن دی اکسید کربن و افزایش PH نظیر کلسیم یونیزه و اسید فسفاتاز (افزایش می‌یابند) می‌گردد.
هم‌چنین وجود درپوش خطر ایجاد آئروسل، تبخیر نمونه و آلودگی را نیز کاهش می‌دهد.

•• **همولیز:** حمل و نقل نمونه باید به آرامی صورت گیرد تا امکان آسیب به گلبول‌های قرمز را به حداقل رساند. وجود همولیز در نمونه سبب تداخل با عملکرد برخی دستگاه‌هایی می‌شود که به روش نوری پارامترها را اندازه‌گیری می-

کنند. ترکیبات زیادی در سرم و پلاسما تحت تاثیر همولیز (با منشا خارجی) قرار می‌گیرند که نمونه‌هایی از آن به شرح زیر است:

- پارامترهایی که شدیدا تحت تاثیر همولیز قرار گرفته و افزایش می‌یابند شامل: هموگلوبین پلاسما، آسپارژین امینو ترانسفراز (AST)، پتاسیم، لاکتات دهیدروژناز می‌باشند.
- پارامترهایی که به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر همولیز قرار می‌گیرند شامل: آهن، آلانین امینو ترانسفراز (افزایش می‌یابند) و T4 (کاهش می‌یابد) هستند.
- پارامترهایی که کمتر تحت تاثیر همولیز قرار گرفته ولی امکان افزایش آن‌ها به‌دنبال همولیز وجود دارد شامل: فسفر، پروتئین توتال، آلبومین، منیزیم، کلسیم، و اسید فسفاتاز می‌باشند.

قابل ذکر است پلاسمای حاوی ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ صورتی روشن و پلاسمای حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ قرمز است. بالا رفتن بیلی‌روبین در پلاسما ممکن است وجود هموگلوبین را بپوشاند به‌طور مثال غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین ممکن است با چشم غیر مسلح با وجود بیلی-روبین ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر قابل رویت نباشد.

وجود همولیز در نمونه خون کامل ممکن است با چشم قابل رویت نباشد لذا پیشنهاد می‌گردد در مواردی که نتایج متغیر مورد اندازه‌گیری بالاتر از محدوده مرجع آن می‌باشد، نمونه مورد آزمایش از نظر وجود همولیز نیز بررسی گردد. (با سانتریفیوژ و بررسی پلاسما)

•• **مجاورت با نور**: نمونه نباید در مقابل نور خورشید قرار گیرد این امر بخصوص در مورد ترکیباتی که به نور خورشید یا اولترا ویوله بسیار حساس هستند نظیر بیلی‌روبین، ویتامین A و B6 و بتا کاروتن بسیار اهمیت دارد. ظرف حاوی این نمونه‌ها جهت محافظت از نور باید در پوششی از کاغذ آلومنییوم پیچیده شده یا درظرف شیشه‌ای قهوه‌ای نگه-داری شوند.

*** جمع‌آوری نمونه خارج از محل آزمایشگاه**

در صورتی که در مرکزی فقط نمونه‌گیری انجام گیرد، نمونه‌های خون باید حداکثر تا دو ساعت پس از نمونه‌گیری با رعایت تمهیدات لازم نظیر شرایط پایداری متغیرهای مورد آزمایش و رعایت اصول ایمنی، در دمای اتاق (مگر در موارد خاص که نیاز به زنجیره سرد دارد) به آزمایشگاه منتقل شوند. در صورتی که نتوان در محدوده زمانی فوق، نمونه خون را ارسال نمود باید پس از جداسازی سرم و پلاسما، آن را دردمای ۸°C-۲ نگه‌داری و با رعایت پایداری نمونه به آزمایشگاه ارسال کرد.

*** دریافت نمونه**

نمونه خون پس از دریافت و کامل شدن مرحله لخته، جهت سانتریفیوژ آماده می‌گردد. در صورتی که خون در لوله فعال‌کننده لخته جمع‌آوری شده باشد در طی مدت ۳۰-۵ دقیقه پس از نمونه‌گیری می‌تواند سانتریفیوژ گردد. نمونه در لوله حاوی ماده ضد انعقاد سریعا قابل سانتریفیوژ می‌باشد.

جهت اندازه‌گیری بعضی متغیرها در خون نظیر سرب، سیکلوسپورین و هموگلوبین گلیکوزیله، خون کامل مورد استفاده قرار می‌گیرد. ولی اگر نمونه اشتباها سانتریفیوژ شود مشکلی ایجاد نشده و می‌توان آن را با همان شرایط به بخش مربوطه ارسال نمود.

نمونه‌هایی که باید در شرایط سرما نگه‌داری شوند (۸°C-۲) تا آماده شدن جهت سانتریفیوژ باید در این درجه حرارت باقی بمانند. سانتریفیوژ یخچال‌دار در این خصوص پیشنهاد می‌گردد.

*** معیارهای رد نمونه خون**

- مشخصات ناکافی از بیمار یا نوع آزمایش (نظیر عدم وجود برچسب یا برچسب با اطلاعات ناقص)
- حجم ناکافی
- نشت نمونه به خارج از ظرف
- استفاده از لوله نامناسب جمع‌آوری نمونه
- ضد انعقاد نامناسب (مثلا فلوراید سدیم در اندازه‌گیری اوره با روش اوره‌آز تداخل می‌کند)
- ترتیب نادرست جمع‌آوری نمونه در صورتی که در طی یک بار نمونه‌گیری از لوله‌های متعدد خلاء استفاده شود.
- وجود همولیز یا لیپمی
- نگه‌داری و انتقال نمونه در دمای نامناسب
- وجود لخته در نمونه‌های جمع‌آوری شده با ماده ضد انعقاد
- عدم تطابق برگه درخواست آزمایش با نوع نمونه و مشخصات آن

• مرحله سانتریفیوژ

همان‌طور که ذکر شد استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی‌گردد. در صورت استفاده باید احتیاط لازم برای جلوگیری از ایجاد همولیز و تولید آئروسل صورت گیرد. هم‌چنین باید در تمام مراحل جداسازی نمونه، رعایت اصول ایمنی و استفاده از وسایل حفاظت فردی صورت گیرد. قابل ذکر است که درب لوله‌ها در طی سانتریفیوژ حتما باید بسته باشد.

امروزه با تنوع سانتریفیوژها از نظر قسمت گردان (Rotor)، سر (Head)، شعاع موثر و قطر داخلی دیگر از اصطلاح (Round Per Minute) استفاده نمی‌شود و نیروی نسبی سانتریفیوژ (Relative Centrifugal Force) یا RCF جایگزین آن شده است.

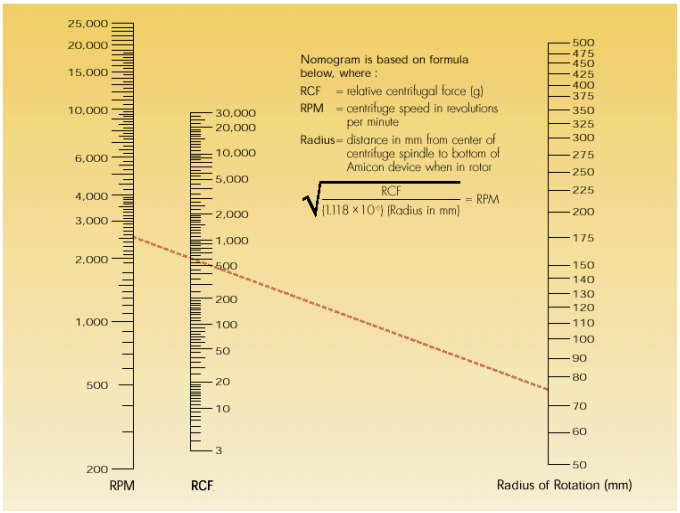
$$RCF= 1.118\times10^{-5}\times r\times(RPM)^2$$

r : شعاع گردان (سانتی متر)

شعاع موثر بیشترین فاصله افقی از محور گردان تا انتهای مایع موجود در لوله می‌باشد.

RPM : سرعت گردان (تعداد دور در دقیقه)

می‌توان بـرای محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ به‌جای استفاده از فرمول بالا با استفاده از نمودار ۱-۳ سانتریفیوژ با توجه به شعاع و میزان دور سانتریفیوژ، نیروی نسبی سانتریفیوژ را به‌دست آورد.



نمودار ۱-۳: نموگرام تعیین نیروی نسبی سانتریفیوژ به کمک شعاع و میزان دور (PPM)

برای مطالعه بیشتر به دستورالعمل فنی سانتریفیوژ مراجعه شود.

قابل ذکر است جهت برخی فاکتورها که به دما حساس هستند، باید از سانتریفیوژهایی‌که دمای آن‌ها قابل کنترل است استفاده نمود. به‌طور مثال ترکیباتی نظیر ACTH و cAMP به گرما حساس هستند و انتقال و سانتریفیوز آن‌ها نیز باید در دمای ۴°C صورت گیرد.

نکته: در صورتی‌که اندازه‌گیری پتاسیم هم به همراه ترکیباتی که حساس به دما هستند درخواست شده باشد باید توجه نمود که نمونه مذکور سریعا از سانتریفیوژ خارج شود (دمای پایین‌تر از ۱۵°C سبب افزایش کاذب پتاسیم پس از ۲ ساعت می-گردد). لازم به ذکر است جهت اندازه‌گیری پتاسیم نمونه نباید بیش از یک‌بار سانتریفیوژ گردد.

*** زمان مورد نیاز جهت سانتریفیوژ نمونه**

- **تهیه سرم و پلاسما:** نمونه در ظرف درپوش‌دار باید به مدت ۱۵-۱۰دقیقه در ۱۲۰۰g-۱۰۰۰ سانتریفیوژ شود. در صورتی‌که آزمایش تا ۴ ساعت بعد از جداسازی سرم انجام نگیرد، سرم یا پلاسما باید در دمای ۶°C-۴ نگه‌داری گردد.
- **تهیه پلاسما جهت آزمون‌های انعقادی:** نمونه در ظرف درپوش‌دار باید به مدت ۱۵دقیقه در ۱۵۰۰g سانتریفیوژ گردد.

• مرحله پس از سانتریفیوژ

- **نگه‌داری نمونه**

پلاسما و سرم حداکثر تا ۸ ساعت پس از جداسازی در دمای اتاق قابل نگه‌داری است. در صورتی‌که سنجش مورد نظر تا ۸ ساعت صورت نگیرد نمونه باید در یخچال نگه‌داری گردد.

درصورتی‌که امکان انجام آزمایش تا ۴۸ ساعت مقدور نباشد یا در صورت نیاز به نگه‌داری طولانی‌تر، سرم یا پلاسما باید در دمای ۲۰°C- نگه‌داری شود.

نکته: باید از آب شدن و یخ زدن مکرر نمونه‌های فریز شده جدا پرهیز گردد، زیرا این امر سبب از بین رفتن بعضی ترکیبات در سرم یا پلاسما می‌شود. استفاده از فریزرهای بدون برفک نیز جهت نگه‌داری نمونه پیشنهاد نمی‌گردد.

در صورت استفاده از مواد آنتی گلیکولیتیک (نظیر فلوراید) گلوگز پلاسما تا ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C و تا ۴۸ ساعت در دمای ۸°C-۲ پایدار می‌ماند. (حتی در صورت عدم جداسازی پلاسما از سلول‌ها) قابل ذکر است در صورتی‌که گلبول‌های قرمز، پلاکت و گلبول‌های سفید نمونه بالاتر از حد طبیعی باشند، اثر گلیکولیتیک این مواد کاهش می‌یابد. به‌دلیل مشکل بودن مهار گلیکولیز در نوزادان، باید پلاسما در اسرع وقت از سلول‌ها جدا گردد.

- در صورت استفاده از لوله‌های جمع‌آوری خلاء دارای ژل جداکننده همراه با افزودنی یا فعال کننده لخته، باید ملاحظات زیر صورت گیرد:

•• به محض جمع‌آوری خون جهت سرعت بخشیدن، تکمیل عمل لخته شدن و روند ضد انعقاد، لوله‌ها باید۱۰-۵ بار تکان داده شوند.

•• نیروی نسبی سانتریفیوژ و زمان لازم جهت جداسازی سرم یا پلاسما بسته به کارخانه سازنده ممکن است متفاوت باشد.

•• به‌طور کلی می‌توان سرم را در لوله‌های محتوی ژل تا ۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگه‌داری نمود، ولی باید قوام ژل به‌طور چشمی نیز بررسی گردد.

تداخلات:

از لوله‌های جمع‌آوری خون حاوی ژل جداکننده جهت اندازه‌گیری میزان پروژسترون، داروهای سه حلقه‌ای ضدافسردگی، اندازه‌گیری سطح دارویی و آزمون‌های ایمونوهماتولوژی (بانک خون) نباید استفاده شود.

اسمیر خون محیطی

تهیه گستره خون محیطی باید توسط کارکنان آموزش دیده صورت گیرد. تهیه گستره با استفاده از نمونه تهیه شده از نوک انگشت، پاشنه پا یا نمونه همراه با ماده ضد انعقاد EDTA صورت می‌گیرد.

در صورت استفاده از نمونه همراه با ماده ضد انعقاد، باید گسترش خون محیطی حداکثر تا یک ساعت پس از نمونه گیری تهیه گردد.

● گسترش ضخیم

۱- بند اول انگشت سوم یا چهارم در بزرگسالان و یا پاشنه پا در نوزادان (مراجعه به نمونه‌گیری مویرگی) ضد عفونی شده و با لانست یک‌بار مصرف موضع سوراخ می‌گردد.

۲- یک یا دو قطره خون را با مرکز لام مماس می‌کنیم، باید توجه شود که لام با پوست تماس پیدا نکند.

۳- با گوشه یک لام دیگر یا اپلیکاتور قطره خون را به‌طور یکنواخت پخش کرده تا دایره‌ای به قطر حدود ۱سانتی‌متر ایجاد شود. گسترش باید به سرعت و با ضخامت یکنواخت تهیه گردد.

۴- لام را در وضعیت افقی قرار داده تا در حرارت محیط (۲۵°C) خشک شود. برای تسریع در عمل خشک شدن نباید از شعله یا منبع دیگر حرارتی استفاده نمود.

نکته:

●● ضخامت گسترش باید به گونه‌ای باشد که نوشته‌های روزنامه از زیر آن به سختی خوانده شود.

●● گسترش ضخیم نباید به‌وسیله مواد تثبیت‌کننده ثابت گردد.

●● گسترش ضخیم ممکن است از بافی کوت نیز تهیه گردد (با استفاده از نمونه خون در ماده ضد انعقاد)

● گسترش نازک

۱- یک قطره خون (حدود ۰/۰۵ میلی‌لیتر) به فاصله حدود ۲ سانتی‌متر از انتهای لام قرار داده شود. باید توجه شود که لام با پوست دست بیمار تماس پیدا نکند.

۲- لام بر روی سطح افقی و صاف قرار داده می‌شود.

۳- با یک لام تمیز دیگر (ترجیحا لام صیقلی) با زاویه ۴۵°C-۴۰ با حرکت سریع بر روی قطره خون موجود بر روی لام اول کشیده شود (نظیر تهیه گسترش خون در آزمون CBC).

۴- گسترش باید سریعا در حرارت محیط خشک شود.

۵- گسترش خشک شده باید در محلول متانول به مدت چند ثانیه تثبیت گردد.

۶- گسترش نازک باید به گونه‌ای تهیه شود که در یک انتها ضخیم و در انتهای دیگر به حدی نازک باشد تا گلبول-های قرمز با هم همپوشانی نداشته باشند.

نکته:

●● باید از لام شیشه‌ای تمیز، بدون گرد و غبار و عاری از چربی استفاده نمود. علت ایجاد ناهمواری و یا حفراتی در گسترش چرب بودن لام یا کثیف بودن یا ناهموار بودن لبه لام دوم می‌باشد.

●● هر دو گسترش نیز می‌تواند بر روی یک لام تهیه گردد، در این‌صورت باید فضایی بین دو گسترش وجود داشته باشد به-طوری که بتوان گسترش نازک را بدون آن‌که گسترش ضخیم را متاثر سازد تثبیت نمود.

●● مشخصات بیمار باید باید با مداد سربی یا ماژیک غیر قابل شست‌وشو در ناحیه ضخیم گسترس نازک نوشته شود.

●● برای تسریع در عمل خشک شدن می‌توان از پنکه استفاده نمود (نباید از شعله یا منابع دیگر حرارتی استفاده شود).

●● در مناطقی که رطوبت بالا است استفاده از گرمخانه ۳۵ ℃ جهت خشک نمودن لام‌ها پیشنهاد می‌گردد.

ادرار

نمونه ادرار برای بررسی‌های شیمیایی، سلول‌شناسی و میکروب‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نحوه نمونه‌گیری و ظروف جمع‌آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه می‌باشد.

نمونه ادرار باید در ظرف تمیز دهان گشاد با قطر حداقل ۱۰سانتی‌متر، با اندازه مناسب و غیر قابل نشت، جمع‌آوری گردد. بهتر است ظرف جمع‌آوری ادرار یک‌بار مصرف بوده و درغیر این‌صورت عاری از هرگونه آلودگی با مواد شوینده باشد. قابل ذکر است که نمونه ادرار نباید به مدفوع آلوده باشد.

جهت کشت ادرار ظرف نمونه باید حتما استریل باشد. برای نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه‌های ادراری استفاده شود.

جهت بررسی‌های معمول و میکروبیولوژیک نمونه ادرار باید حداکثر تا دو ساعت پس از جمع‌آوری (در دمای اتاق) مورد بررسی قرار گیرد. پس از این مدت ترکیبات شیمیایی ادرار تغییر کرده و عناصر تشکیل دهنده آن شروع به تخریب می‌کنند. سیلندرها، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید در نمونه‌های با وزن مخصوص پایین و PH قلیایی بسیار مستعد لیز هستند.

هنگامی که ارزیابی سلولی سدیمان ادراری مدنظر است باید مراحل آماده‌سازی ادرار هرچه سریع‌تر صورت گیرد. جهت تهیه رسوب ادرار باید نمونه در ظروف درپوش‌دار به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰g سانتریفیوژ گردد.

در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی‌که نتوان نمونه را به سرعت به آزمایشگاه منتقل نمود و آزمایش کرد می‌توان آن را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸°C-۲ نگه‌داری کرده و یا می‌توان از نگه‌دارنده‌های باکتریواستاتیک نیز استفاده نمود.

ظرف محتوی نمونه باید به‌درستی برچسب‌گذاری شود، اطلاعات مورد نیاز شامل: نام بیمار، زمان نمونه‌گیری، نام نگه‌دارنده، در موارد خاص ذکر نوع نمونه (کاتتر .....) می‌باشد. هم‌چنین در صورتی‌که نمونه از محل دیگری ارسال گردد باید نحوه نگه‌داری و زمان دریافت نیز ذکر گردد.

حداقل حجم مورد نیاز جهت بررسی‌های معمول کمی و کیفی ادرار به‌طور متوسط ۱۲ میلی‌لیتر است، البته در اطفال و نوزادان ممکن است حجم کمتر نیز مورد بررسی قرار گیرد، ولی باید حتما در برگه گزارش ذکر گردد.

- **انواع مختلف جمع‌آوری ادرار و موارد استفاده آن**

۱- ادرار اتفاقی جهت بررسی شیمیایی کیفی و نیمه کمی

۲- اولین ادرار صبحگاهی (ادرار ۸ ساعته) جهت بررسی اجزای سلولی، سیلندر و کست

۳- دومین ادرار صبحگاهی (۷-۱۰صبح) جهت بررسی‌های کمی

۴- ادرار با زمان مشخص مثلا ادرار ۲۴ ساعته جهت بررسی‌های کمی

۵- ادرار تمیز (ادرار میانی، کاتتر و سوپراپوبیک)

*** ادرار اتفاقی**

این نمونه جهت آزمون غربالگری روزمره مورد استفاده قرار می‌گیرد و در هر موقع از روز قابل جمع‌آوری می‌باشد، ولی زمان نمونه‌گیری باید روی ظرف درج گردد. بهتر است قبل از جمع‌آوری ادرار فرد چند ساعت ادرار خود را تخلیه نکرده باشد. برای این منظور اولین ادرار صبحگاهی به‌دلیل غلظت مناسب و PH پایین مناسب‌تر است.

*** ادرار صبح‌گاهی (ادرار ۸ ساعته)**

این نمونه معمولا در اول صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد.

این نمونه جهت بررسی پروتئین‌اوری اورتواستاتیک مناسب است. ابتدا شب قبل از خواب ادرار تخلیه شده و نمونه صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد. در صورت تخلیه ادرار در طول شب، باید در ظرف جمع‌آوری نمونه ریخته شود.

*** ادرار زمان‌دار**

این نمونه در یک زمان مشخص در طول شبانه روز تهیه می‌گردد، مثلا نمونه ناشتا، دو ساعت پس از غذا یا بلافاصله پس از ماساژ پروستات

*** ادرار ۲۴ ساعته**

به‌دلیل تغییرات دوره‌ای ترشح مواد در ادرار، در بعضی مواقع نیاز است که ادرار ۲۴ ساعته جمع‌آوری گردد. به‌عنوان نمونه می‌توان از کاتکول آمین‌ها، ۱۷هیدروکسی استروئید و الکترولیت‌ها نام برد که پایین‌ترین غلظت آن‌ها در صبح و بالاترین غلظت این ترکیبات در ظهر یا کمی پس از آن می‌باشد.

•• جمع آوری نمونه: ظرف نمونه باید پلاستیکی و دهان گشاد به گنجایش تقریبی ۳ لیتر باشد.

جهت جمع‌آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته ابتدا اولین ادرار صبحگاهی دور ریخته شده و در طی ۲۴ ساعت بعدی ادرار در ظرف نمونه‌گیری جمع‌آوری می‌شود به‌طوری که آخرین نمونه جمع‌آوری شده، اولین نمونه صبحگاهی روز بعد (در همان ساعت اولین نمونه تخلیه شده روز قبل) باشد.

بر روی برچسب روی ظرف محتوی نمونه علاوه بر نام و نام خانوادگی باید تاریخ، ساعت شروع و پایان نمونه‌گیری نیز یاداشت گردد و در صورت استفاده از ماده نگه‌دارنده درج نام ماده نیز ضروری است.

در طول مدت جمع‌آوری، ظرف نمونه باید در یخچال یا درون یخ نگه‌داری شود.

ممکن است جهت ادرار ۲۴ ساعته از مواد نگه‌دارنده استفاده گردد که با توجه به خطر زیستی این مواد، باید هشدارهای لازم به بیمار داده شود.

*** ادرار تمیز**

جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی از نمونه ادرار تمیز استفاده می‌شود.

•• نحوه جمع‌آوری نمونه

بیمار ابتدا دست‌های خود را با آب و صابون شسته و سپس ناحیه تناسلی خود را با پنبه آغشته به آب و صابون تمیز می‌نماید، بخش اول ادرار را دور ریخته و بخش میانی ادرار را با رعایت شرایط استریل در درون ظرف جمع‌آوری ادرار می‌ریزد و سپس بقیه ادرار را دور می‌ریزد.

•• ادرار تهیه شده توسط کاتتر و فوق عانه (سوپراپوبیک) نیز از روش‌هایی هستند که جهت جمع‌آوری ادرار استریل در مواقع خاص و با در خواست پزشک تهیه می‌شوند.

•• جهت نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه جمع‌آوری ادرار استفاده نمود. در صورتی‌که بیمار در خواست کشت ادرار نیز داشته باشد، باید نواحی شرمگاهی و پرینه‌آل قبل از وصل کردن کیسه ادرار با آب و صابون شسته شود. قابل ذکر است که کیسه ادرار باید هر ۱۵ دقیقه کنترل شده و پس از جمع‌آوری، ادرار باید در ظرف دیگری نگه‌داری شود.

• مواد نگه‌دارنده ادرار

مواد نگه‌دارنده جهت نگه‌داری ادرار بیش از ۲ ساعت، بررسی ترکیبات ناپایدار در ادرار و پایداری نمونه جهت مطالعات میکروبیولوژیک کاربرد دارد.

نگه‌دارنده‌های رایج اسید استیک، اسید بوریک و اسید کلریدریک ۶ نرمال می‌باشند. این ترکیبات توکسیک بوده و دارای خطر زیستی می‌باشند. هم‌چنین به‌دلیل امکان پاشیده شدن ادرار به هنگام تخلیه در ظرف، بهتر است ابتدا نمونه در ظرف دیگری جمع‌آوری شده و سپس به ظرف اصلی حاوی ماده نگه‌دارنده منتقل گردد.

➢ نگه‌داری و انتقال نمونه

- ➢ جهت انتقال نمونه باید درب ظرف کاملا محکم باشد تا امکان نشت نمونه به خارج از ظرف و محیط اطراف به حداقل برسد (در صورت امکان جهت انتقال می‌توان ظرف نمونه را درون ظرفی دیگری قرارداد).
- ➢ نمونه ادرار باید در سریع‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و حداکثر در ظرف ۲ ساعت در دمای اتاق بررسی گردد. در غیر این‌صورت باید نمونه پس از جمع‌آوری در یخچال نگه‌داری شود (دمای ۸°C-۲).
- ➢ در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی‌که نتوان نمونه را به آزمایشگاه منتقل نمود و مورد بررسی قرارداد تمهیدات زیر باید صورت گیرد:
- ➢ •• نمونه را می‌توان به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸°C-۲ تا قبل از کشت نگه‌داری نمود.
- ➢ •• می‌توان قسمتی از نمونه ادرار را جهت بررسی‌های بیوشیمیایی در ظرف دیگری که حاوی نگه-دارنده باکتریو استاتیک است، نگه‌داری نمود.

مدفوع

- ➢ مدفوع نمونه مناسبی جهت تشخیص عوامل پاتوژن مولد اسهال باکتریایی، ویروسی و انگلی است. نمونه-گیری در زمان مناسب (عوامل ویروسی تا ۴۸ ساعت و عوامل باکتریایی تا ۴ روز از زمان شروع اسهال)، نحوه انتقال نمونه و شرایط بیمار در هنگام نمونه‌گیری از عواملی هستند که رعایت آن‌ها در شناسایی عامل پاتوژن بسیار کمک‌کننده است. جهت جمع‌آوری نمونه مدفوع باید مواردی را در نظر داشت که به برخی از آن‌ها در زیر اشاره می‌گردد:
- ➢ •• بیمار نباید از ۱۵ روز قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک (نظیر تتراسایکلین و سولفانامید)، داروهای ضد تک‌تاخته، بیسموت، سولفات باریم، ترکیبات کائولین، روغن کرچک، هیدروکسید منیزیم یا هرگونه داروی ملین مصرف کرده باشد.
- ➢ •• تعداد دفعات نمونه‌گیری بر اساس درخواست پزشک می‌باشد.
- ➢ •• در صورت مشکوک بودن به عوامل باکتریایی سه نمونه در فاصله سه روز و در خصوص عوامل انگلی ۳ نمونه که در طول ۱۰ روز جمع‌آوری شده مناسب است.
- ➢ •• نباید در یک روز بیش از یک نوبت نمونه از بیمار گرفته شود.
- ➢ •• نمونه‌گیری در بیمارانی که بیش از سه روز بستری شده‌اند توصیه نمی‌شود.
- ➢ •• در نوزادان و اطفال می‌توان از سواپ رکتال در محیط انتقالی استفاده نمود ولی این کار معمولا برای تشخیص ویروس‌ها و عوامل انگلی پیشنهاد نمی‌شود.

• نمونه‌گیری جهت عوامل باکتریایی مولد اسهال

*** نمونه مدفوع:** حداقل ۵ گرم مدفوع باید در ظرف در پیچ‌دار تمیز، عاری از مواد ضدعفونی‌کننده و یا شوینده جمع‌آوری گردد.

*** سواپ مقعدی:** سواپ را با فروبردن در محیط انتقالی سترون، مرطوب کرده به اندازه ۲-۳ سانتی‌متر در داخل اسفنگتر رکتوم فرو برده و بچرخانید. سواب را بیرون کشیده پس از اطمینان از آغشتگی به مدفوع، سریعا به داخل محیط انتقال (کری بلر) فرو برید. سپس لوله‌های انتقال را در یخچال یا یخدان قرار دهید.
در موارد اسهال ناشی از باکتری‌های مهاجم مانند شیگلا، ساییدن سواپ به مخاط انتهایی روده جهت جمع‌آوری نمونه بسیار مهم است.

*** سواپ مدفوع:** در صورت لزوم به نگه‌داری نمونه مدفوع بیش از ۲ ساعت، مقدار اندکی از مدفوع و هرگونه بلغم یا تکه‌های مخاط پوششی روده را با فروکردن سواپ سر پنبه‌ای یا سر پلی‌استری به‌درون مدفوع سریعا به لوله حاوی محیط انتقالی تلقیح کنید و در یخچال یا یخدان قرار دهید.

• محیط‌های انتقالی

•• کری بلر: این محیط برای انتقال بسیاری از عوامل بیماری‌زا کاربرد دارد. این محیط نیمه جامد بوده، حمل و نقل آن آسان و پس از تهیه تا یکسال در دمای اتاق قابل نگه‌داری است (به شرطی که حجم آن کاهش نیافته، علایم آلودگی و تغییر رنگ در آن مشاهده نگردد).

•• آب پپتونه قلیایی (Alkalane Peptone Water=APW): این محیط را می‌توان را برای انتقال ویبریو استفاده نمود ولی این محیط نسبت به کری بلر برتری ندارد و فقط در صورت عدم دسترسی به محیط کری بلر باید مورد استفاده قرار گیرد (در صورتی که کشت بیش از ۶ ساعت از زمان نمونه‌گیری به تعویق بیافتد نباید از این محیط استفاده گردد). محیط فوق در دمای ۴°C تا ۶ ماه قابل نگه‌داری است.

•• سالین گلیسرول بافره (Buffered Glycerol Saline=BGS): این محیط برای شیگلا مورد استفاده قرار می‌گیرد و برای انتقال ویبریو مناسب نمی‌باشد. این محیط مایع بوده، لذا در حمل آن باید دقت شود. هم‌چنین تا ۱ ماه پس از تهیه قابل استفاده است.

➢ نگه‌داری:

•• نمونه‌های مدفوع حداکثر تا ۲ ساعت در یخچال قابل نگه‌داری است. نمونه‌هایی را که نمی‌توان به فاصله ۲ ساعت از نمونه‌گیری کشت داد، باید در محیط انتقالی قرار داده و سریعا در یخچال نگه‌داری نمود.
•• محیط انتقالی حاوی سواپ مدفوع یا مقعد را می‌توان حداکثر ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگه‌داری کرد. در غیر این‌صورت این محیط می‌بایست ترجیحا در دمای (۷۰°C-) و یا در صورت عدم دسترسی، در دمای (۲۰°C-) قرار داد (یا حداقل در فریزرهای خانگی نگه‌داری شود).
•• نمونه‌های مدفوع که از بیماران مبتلا به وبا گرفته می‌شود و در محیط انتقالی قرار می‌گیرد نیازی به نگه‌داری در دمای یخچال ندارند، مگر آن که نمونه‌ها در معرض دمای بالا (بیش از ۴۰°C) قرار داشته باشند.

- **نمونه‌گیری جهت عوامل انگلی**

➢ **جمع‌آوری نمونه**

•• برای انجام این آزمایش حداقل ۵ گرم مدفوع در ظرف دهان گشاد در پیچدار تمیز و خشک مورد نیاز است (در صورت آبکی بودن مدفوع معادل ۵ سی‌سی).

•• در صورتی که نتوان فاصله زمانی مناسب بین جمع‌آوری نمونه تا انجام آزمایش را رعایت نمود باید نمونه در ماده نگه‌دارنده جمع‌آوری شود (یک قسمت مدفوع و سه قسمت ماده نگه‌دارنده فرمالین ۱۰٪).

•• باید توجه داشت که بررسی خصوصیات ظاهری نمونه در نمونه تازه صورت می گیرد.

•• نمونه مدفوع نباید با گرد و خاک، آب و ادرار آلوده گردد، زیرا آلودگی اتفاقی با خاک و آب ممکن است باعث آلودگی نمونه با ارگانیسم‌های دارای زندگی آزاد شود. ادرار نیز سبب تخریب تروفوزوئیت‌ها می‌شود. ترجیحا نباید نمونه از کاسه توالت جمع‌آوری گردد.

•• چون مرحله تروفوزوئیت تک یاخته خیلی زود از بین می‌رود، ثبت تاریخ و ساعت نمونه‌گیری ضروری است.

➢ **نگه‌داری**

•• نمونه باید هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در صورت تاخیر بیش از ۲ ساعت، نمونه در محل خنک (ترجیحا در یخچال) نگه‌داری شود.

توجه: جهت آزمایش‌های شیمیایی (مانند خون در مدفوع) به ۵۰ گرم مدفوع نیاز می‌باشد.

مایع مغزی نخاعی Cerebro-Spinal Fluid (CSF)

جمع‌آوری مایع مغزی نخاعی توسط پزشک و به روش پونکسیون نخاعی (Lumber Puncture=LP) و به صورت کاملا استریل انجام می‌گیرد.

معمولا مایع جهت آزمون‌های شیمیایی، میکربیولوژیک و آنالیز سلولی در ۳ تا ۴ لوله جمع آوری می‌شود.

جهت آزمون‌های باکتری‌شناسی نمونه باید در لوله درپوش‌دار و استریل جمع‌آوری گردد. لوله‌ها بر اساس ترتیب جمع‌آوری برچسب‌گذاری می‌شوند (لوله شماره ۱ جهت آزمایش‌های بیوشیمیایی، لوله شماره ۲ جهت آزمایش‌های میکروب‌شناسی، لوله شماره ۳ جهت بررسی سلولی).

جهت جمع‌آوری نمونه نیازی به ماده ضد انعقاد نمی‌باشد زیرا مایع مغزی نخاعی لخته نمی‌شود، مگر آن که نمونه-گیری همراه با صدمه باشد (نمونه‌گیری تروماتیک).

الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی نخاعی در جدول ۱-۳ بیان شده است.

جدول ۱-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی – نخاعی

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز	ملاحظات
آزمون بیوشیمیایی (پروتئین، قند...)	-	۳-۵	لوله شماره ۱ در صورت نمونه گیری تروماتیک شمارش سلولی نیز از لوله شماره ۱صورت می‌گیرد.
کشت و رنگ‌آمیزی گرم	-	۳-۵	لوله شماره ۲
شمارش سلولی و تشخیص افتراقی	-	۳-۵	لوله شماره ۳یا ۴
سایر بررسی‌ها (سیتولوژی)	-	۳-۵	لوله شماره ۴

نمونه باید در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال گردد. دژنراسیون سلولی در طی یک ساعت اتفاق می‌افتد، لذا حداکثر زمان گردش کاری نباید بیش از ۱ ساعت به طول انجامد. نقل و انتقال نمونه در دمای اتاق صورت می‌گیرد. جهت آزمون‌های باکتریولوژیک نباید نمونه در یخچال نگه‌داری شود. از قرار دادن نمونه در معرض نور خورشید و گرما باید خودداری نمود. در صورت نیاز به حمل نمونه تا مسافت دور، استفاده از یخدان ضروری است. در این صورت نمونه تا ۳ ساعت پایدار می‌باشد. جهت نگه‌داری طولانی مدت، نمونه ابتدا سانتریفیوژ شده پس از جداسازی سلول‌ها، مایع-رویی در ظرف درپوش‌دار شیشه‌ای یا پلی‌پروپیلن در دمای (-۷۰°C) قابل نگه‌داری است.
جهت مطالعات سیتولوژیک رسوب CSF باید بلافاصله پس از جمع‌آوری به‌وسیله سانتریفیوژ مخصوص (۲۰ دقیقه در ۱۸۰g) تهیه و به آزمایشگاه ارسال شود.

مایع سروز

مایعات سروزی نظیر مایع جنب و صفاقی را می‌توان در یک لوله جمع‌آوری و سپس در محل نمونه‌گیری یا آزمایشگاه به لوله‌های مختلف و با حجم‌های کمتر تقسیم نمود. قابل ذکر است که نمونه قبل از تقسیم و شمارش سلولی باید کاملا مخلوط گردد. EDTA ضد انعقاد پیشنهادی در خصوص شمارش و افتراق سلولی است.
جهت شمارش و افتراق سلولی، نمونه‌ها تا ۲۴ ساعت در دمای ۶°C-۲ قابل نگه‌داری هستند. در خصوص بررسی-های میکروبی نمونه باید در ظرف استریل جمع‌آوری گردد.
جهت بررسی سیتولوژی ممکن است نمونه در حجم‌های متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردد (۱۰۰-۱۵میلی-لیتر) ولی حجم پیشنهادی ۵۰ میلی‌لیتر است و نیاز به استفاده از لوله‌های استریل و ماده ضد انعقاد نیز نمی‌باشد. البته می‌توان از هپارین و EDTA هم استفاده کرد.
الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروز در جدول ۲-۳ بیان شده است.

جدول ۲-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروز

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز (میلی لیتر)
اندازه‌گیری پروتئین توتال، لاکتات دهیدروژناز، گلوکز و آمیلاز	هپارین یا بدون ضد انعقاد	۵-۸
کشت و رنگ‌آمیزی گرم	سدیم پلی سولفانات (SPS) یا بدون ضد انعقاد یا ضدانعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۸-۱۰
شمارش سلولی (گلبول قرمز وسفید) و تشخیص افتراقی	EDTA	۸-۱۰
کشت باکتری اسید فست	SPS یا بدون ضد انعقاد یا ضد انعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۱۵-۵۰
رنگ آمیزی PAP- بلوک سلولی	بدون ضدانعقاد، هپارین یا EDTA	۱۵-۵۰

مایعات سروزی باید در اسرع وقت و در دمای اتاق به آزمایشگاه منتقل شوند.
بررسی‌های سیتولوژی نیز باید هر چه سریع‌تر صورت گیرند، و در صورت نیاز می‌توان نمونه را در دمای ۴°C و بدون ماده تثبیت کننده تا چند روز نگه‌داری نمود.

مایع سینوویال

حجم نمونه جهت بررسی‌های آزمایشگاهی بسته به اندازه مفصل و نوع مایع تجمع یافته در مفصل متفاوت است. معمولا حجم ۵-۳ میلی‌لیتر ایده‌ال است. در مفاصل کوچک ممکن است این مقدار نمونه قابل تهیه نباشد، لذا حجم کمتر نیز قابل قبول است. قابل ذکر است که نمونه قبل از بررسی‌های آزمایشگاهی باید به‌خوبی مخلوط گردد. در بعضی از مراجع ذکر شده که ضد انعقاد لیتیم هپارین و EDTA به‌دلیل ایجاد کریستال در نمونه و امکان اشتباه با کریستال‌های پاتولوژیک، نباید مورد استفاده قرار گیرد. نقل و انتقال نمونه باید در دمای اتاق صورت گیرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال در جدول ۳-۳ بیان شده است.

جدول ۳-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم موردنیاز (میلی‌لیتر)	ملاحظات
شمارش سلولی و تشخیص افتراقی، کریستال‌ها انکلوزیون‌ها	هپارین -EDTA	۵-۳	بر روی حجم کمتر (چندین قطره) نیز قابل انجام است
گلوکز پروتئین	فلوراید یا بدون ضد انعقاد بدون ضد انعقاد	۵-۳ ۵-۳	ترجیحا ۸ ساعت ناشتایی
CH50	بدون ضد انعقاد	۵-۳	در صورت عدم انجام سریع آزمایش نمونه منجمد گردد.
C3,C4	بدون ضد انعقاد یا EDTA		نیاز به ۱ میلی‌لیتر نمونه است.
کشت	SPS، بدون ضدانعقاد یا ضد انعقاد بدون اثرباکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۵-۳	نیاز به لوله استریل است.

نمونه‌های دستگاه تنفسی

بهترین زمان جمع‌آوری نمونه در اکثر عفونت‌های تنفسی در طول ۳ روز اول ایجاد علایم بیماری می‌باشد. نمونه‌ها بسته به محل عفونت، از قسمت فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی جمع‌آوری می‌شوند. عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی فوقانی (ویروسی و باکتریایی) در نمونه‌های گرفته شده از قسمت نازوفارنژیال گلو و عوامل بیماری-زای دستگاه تنفسی تحتانی در نمونه خلط قابل بررسی هستند. کشت ارگانیسم‌هایی نظیر لژیونلا مشکل است لذا بهتر است که تشخیص بر اساس شناسایی آنتی‌ژن‌های جدا شده از ادرار باشد. در صورت شک به التهاب حاد اپیگلوت، نمونه‌گیری از گلو یا فارنژیال نباید صورت گیرد زیرا استفاده از این شیوه ممکن است سبب انسداد شدید تنفسی شود. معمولا التهاب اپیگلوت به‌وسیله رادیوگرافی گردن تایید می‌گردد ولی عوامل اتیولوژیک ایجاد کننده آن ممکن است از کشت خون هم جدا گردند.

- **دستگاه تنفسی فوقانی**

•• نمونه‌برداری از گلو و لوزه‌ها

از بیمار خواسته می‌شود تا دهان خود را باز نماید و با آبسلانگ زبان وی را به پایین فشار داده، برای مشاهده نواحی ملتهب و اگزودا از چراغ قوه استفاده می‌شود. سواپ استریل داکرونی یا آلژینات کلسیم را چندین بار بر روی نواحی

ملتهب و اگزودای حلق می‌کشیم. باید توجه شودکه سواپ با سطح داخلی حفره دهانی تماس پیدا نکند. چنانچه سواب در طی ۲-۱ساعت پس از نمونه‌گیری مورد آزمایش قرار نگیرد در یک لوله استریل درپوش‌دار حاوی محیط انتقالی باکتریایی یا ویروسی قرار داده می‌شود (انتهای سواپ که با دست در تماس بوده باید شکسته شود و درپوش در جای خود قرار گیرد).

جهت تهیه گسترش مستقیم با سواپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه‌گیری صورت می‌گیرد.

•• نمونه‌برداری از انتهای بینی و نازوفارنکس

به‌وسیله یک سواپ انعطاف‌پذیر استریل وارد سوراخ بینی شده و از نازوفارنکس نمونه تهیه گردد. سر بیمار باید کمی به عقب برده شود. در افراد بالغ سواپ را حدود ۵-۶ سانتی‌متر وارد بینی کرده تا مطمئن شوید که سواپ وارد ناحیه خلفی فارنکس شده است، در همان وضعیت سواب را چند ثانیه نگه‌داشته و سپس به آرامی بچرخانید. از هر سوراخ بینی دو سواپ گرفته می‌شود که یکی جهت گسترش مستقیم و دیگری جهت کشت استفاده می‌گردد.

➢ **آسپیراسیون نازوفارنکس**

این روش در کودکان و نوزادان از سواپ راحت‌تر و کارآمدتر است. با کاتتر سیلیکون ترشحات را آسپیره نمایید.

• دستگاه تنفسی تحتانی

➢ **روش جمع‌آوری خلط**

یک نمونه خلط مناسب حاوی مواد ترشحی حاصل از ریه‌ها پس از سرفه عمیق است (نمونه حاوی آب دهان، ترشحات حلق و بینی مناسب نمی‌باشد).

•• زمان نمونه‌گیری

به‌دلیل این‌که تعداد باسیل سل دفع شده در زمان‌های مختلف متفاوت می‌باشد، آزمایش یک نمونه خلط برای تشخیص کفایت نمی‌کند و حتما باید سه نمونه تهیه گردد. برای تهیه نمونه بیمار باید ناشتا باشد. در خصوص تعداد نمونه جمع‌آوری شده جهت سایر عوامل باکتریایی یک نمونه کفایت می‌کند ولی درصورت شک به‌وجود عوامل قارچی و عفونت مایکوباکتریوم سه نمونه جداگانه صبحگاهی مناسب می‌باشد.

نمونه اول: در اولین مراجعه بیمار به واحد درمانی تهیه می‌گردد و ظرف جهت نمونه‌گیری دوم نیز تحویل داده می‌شود.

نمونه دوم: خلط صبحگاهی که بیمار قبل از برخاستن از جای خود و به‌صورت ناشتا در منزل تهیه می‌نماید.

نمونه سوم: خلط صبحگاهی که همزمان با مراجعه بیمار برای تحویل نمونه دوم از بیمار گرفته می‌شود.

نمونه باید در ظرف دهان گشاد از جنس پلاستیک قابل سوختن شفاف و محکم با قطر حدود ۷-۵ سانتی‌متر جمع‌آوری گردد (نمونه داخل آن از نظر مقدار و کیفیت قابل رویت بوده و هم‌چنین به‌راحتی سوزانده و معدوم گردد). جهت جلوگیری از نشت خلط از داخل ظرف به بیرون، باید از ظرف در پیچدار استفاده نمود. در صورت عدم دسترسی به ظرف پلاستیکی با مشخصات فوق می‌توان از ظروف شیشه‌ای دهان گشاد در پیچدار استفاده نمود (با رعایت اصول استریلیزاسیون).

➢ **نحوه نمونه‌گیری**

بیمار صبح ناشتا در فضای باز ابتدا یک نفس عمیق کشیده و با سرفه‌های عمیق خلط را درون ظرف (در حالی که ظرف نزدیک لب‌های بیمار قرار دارد) تخلیه می‌کند. سپس درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار می‌دهد. بهتر است حجم خلط بین ۵-۳ میلی‌لیتر باشد.

در صورتی که بیمار نتواند با سرفه کردن برای انجام آزمایش، نمونه خلط بدهد باید به روش زیر عمل شود:

بیمار روی تخت معاینه طوری بخوابد که صورت او رو به پایین بوده و سر او پایین‌تر از سینه قرار گیرد. سپس پس از دم عمیق نفس خود را نگه‌داشته با یک بازدم محکم خلط را خارج کند. این عمل باید تا تهیه نمونه کافی از خلط ادامه یابد.

- **نگه‌داری:** باید نمونه هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در غیر این‌صورت در محل خنک (ترجیحا در یخچال) نگه‌داری شود.

•• همه نمونه‌های تنفسی به جز خلط، باید در محیط کشت انتقالی مناسب باکتری‌ها/ ویروس‌ها منتقل گردند.

••نمونه‌های باکتریایی تا مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و ویروس‌ها در محیط انتقالی مناسب در دمای ۸°C-۴ قابل انتقال می‌باشند.

جمع‌آوری نمونه چشم

سواپ‌ها و گسترش‌های قرنیه و ملتحمه نمونه‌های معمول جهت تشخیص کونژکتیویت حاد ناشی از عوامل باکتریایی و ویروسی می‌باشند. تمام نمونه‌های گرفته شده از ترشحات قرنیه و ملتحمه باید از نظر این‌که از چشم چپ یا راست تهیه شده، برچسب‌گذاری گردند. جهت جمع‌آوری این نمونه‌ها باید شرایط استریل رعایت گردد. قبل از نمونه‌برداری بیمار نباید دارو یا قطره‌ای استفاده کرده باشد. قابل ذکر است که نمونه‌برداری از تراشه‌های قرنیه باید توسط پزشک متخصص چشم صورت گیرد.

روش جمع‌آوری سواپ‌های ملتحمه

مراحل جمع‌آوری سواب‌های ملتحمه به شرح زیر است:

۱- پوست اطراف چشم را با یک ماده ضد عفونی‌کننده ملایم تمیز کنید.

۲- سواپ استریل آلژینات کلسیم یا نخی را در سرم استریل مرطوب کرده و به‌طور دورانی بر روی ملتحمه بمالید.

۳- سواپ را در لوله در پیچ‌دار حاوی محیط انتقالی مناسب قرار دهید.

۴- بر روی لوله مذکور علاوه بر نام بیمار، نوع نمونه و زمان جمع‌آوری نمونه نیز ذکر گردد.

۵- از سواپ ملتحمه نیز دو گسترش بر روی یک لام تهیه می‌گردد. این کار بهتر است در محل نمونه‌برداری صورت گیرد. جهت شناسایی کلامیدیا مهم است که گسترش‌ها در محل نمونه‌برداری و قبل از انتقال تهیه شود. گسترش‌ها برچسب‌گذاری شده و نباید در دمای یخچال نگه‌داری شده یا منجمد گردند.

- **نقل و انتقال نمونه**

نمونه جهت شناسایی باکتری‌های پاتوژن در دمای محیط، در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند.

نمونه جهت شناسایی ویروس‌های پاتوژن در دمای ۸°C-۲ در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند.

گسترش‌های تهیه شده در هوا خشک شده و در دمای محیط در جعبه لام منتقل می‌شوند.

تهیه نمونه جهت کشت خون

ضروری است دقت بیشتری جهت ضد عفونی‌کردن محل نمونه‌گیری صورت گیرد. ابتدا موضع با الکل ۷۰٪ تمیز شده سپس با محلول povidne–iodine ۱۰-۱٪ (یا کلرهگزیدین گلوکونات) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن موضع مجددا جهت حذف ید و کلرهگزیدین با الکل تمیز می‌گردد. کلرهگزیدین گلوکونات جهت نوزادان دو ماهه و بزرگ‌تر و هم‌چنین بزرگسالان دارای حساسیت نسبت به ید پیشنهاد می‌گردد. به‌دنبال خون‌گیری

باید خون در عرض ۱ دقیقه به محیط کشت تلقیح شود. درب شیشه‌های کشت خون نیز باید قبل از تلقیح با الکل ۷۰٪ و سپس با محلول povidne–iodine ۱۰-۱٪ (بتادین) ضدعفونی گردد.
محیط کشت تلقیح شده را چندین بار تکان داده، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و در انکوباتور ۳۵°C قرار داده شود.

• حجم خون مورد نیاز

•• کودکان: حجم ۳-۱ میلی‌لیتر ختون کافی می‌باشد. این مقدار خون در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت خون رقیق می‌گردد.

•• بزرگسالان: حجم خون جمع‌آوری شده به میزان ۱۰-۵ میلی‌لیتر است که در ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت خون رقیق می‌گردد.

• روش خنثی‌سازی عوامل ضد میکروبی در خون

با اضافه نمودن مهار کننده‌های شیمیایی نظیر سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) ۰/۰۵٪-۰/۰۲۵٪ به محیط کشت و رقیق‌سازی خون، ویژگی‌های باکتریسیدال خون و آنتی بیوتیک‌های احتمالی خنثی می‌گردد. قابل ذکر است که سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) فعالیت‌های ضد فاگوسیتی، ضد کمپلمانی، ضد انعقادی و ضد لیزوزمی دارد و اگر این ماده در مقادیر خیلی بالا استفاده شود، اثر مهارکنندگی در رشد میکروب‌ها خواهد داشت.

• کشت مجدد

شیشه‌های کشت خون را ظرف ۲۴-۶ ساعت (صرف نظر از وجود علایم رشد) کشت مجدد داده و سپس تا هفت روز هر روز بررسی کنید. هر نوع کدورت یا لیز گلبول‌های قرمز ممکن است نشانگر رشد میکروبی باشد و به‌طور حتم باید بلافاصله کشت مجدد انجام شود.
قابل ذکر است که ممکن است علی‌رغم عدم وجود کدورت، رشد میکروبی وجود داشته باشد، لذا ضروری است در فواصل۲۴-۶ ساعت اولیه بعد از تلقیح، راس ۴۸ ساعت و نیز در روز هفتم نیز کشت مجدد صورت گیرد.

•• قبل از انجام کشت مجدد شیشه کشت خون باید چند بار تکان داده شود.

•• جهت برداشت خون از محیط کشت، درپوش محیط کشت را با الکل و بتادین ضد عفونی کرده و حدود ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه را به محیط آگار انتخاب شده منتقل کنید.

نمونه‌برداری از مجاری ادراری تناسلی مردان

با دو سواپ استریل از ترشحات چرکی نمونه‌برداری کنید. یکی از سواپ‌ها جهت تهیه گسترش و دیگری جهت کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صورتی‌که ترشحی مشهود نباشد با سواپ نازک به اندازه ۳-۲ سانتی‌متر درون مجرا وارد شده و قبل از بیرون آوردن در مجرا چرخانده شود.
در صورتی‌که آزمایش با تاخیر انجام گیرد، سواپ باید در محیط انتقالی نگه‌داری شود.

نمونه‌برداری از دهانه رحم- ترشحات واژن

جهت نمونه‌گیری ابتدا سرویکس با کمک اسپیکولوم که با آب گرم مرطوب شده مشاهده می‌شود (بدون استفاده از مواد Lubricant). قبل از نمونه‌گیری باید تمامی ترشحات از دهانه خارجی رحم پاک شود. با یک سواپ استریل تا حدود ۳-۲ سانتی‌متر درون دهانه رحم وارد شده و چند ثانیه در محل چرخانده شود تا ترشحات جذب سواپ گردد سپس بدون تماس با سطح واژن سواپ باید خارج شده و در لوله درپوش‌دار استریل قرار گیرد. سواپ باید فورا در

محیط کشت مناسب کشت داده شود و یا به کمک محیط انتقالی به آزمایشگاه ارسال گردد. جهت تهیه گسترش مستقیم با سواپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه‌گیری صورت می‌گیرد.

ترشحات واژن با استفاده از اسپیکولوم (بدون استفاده از مواد Lubricant) و سواپ استریل از فورنیکس خلفی گرفته می‌شود. نمونه با سه سوآپ گرفته می‌شود، یکی را جهت تهیه گسترش مرطوب در لوله درپوش‌دار محتوی سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و دو تای دیگر جهت کشت و تهیه گسترش مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند.

در صورت مشکوک بودن به نایسریا نمونه پس از تهیه سریعا در دمای اتاق به آزمایشگاه ارسال می‌شود.

سواپ‌های آلژینات کلسیم و بعضی سواپ‌های پنبه‌ای مهار کننده نایسریا بوده، لذا بهتر است از سواپ داکرون یا ریون استفاده شود.

جمع‌آوری نمونه جهت ضایعات پوستی

در اکثر ضایعات پوستی تشخیص ممکن است بر اساس مشاهده ظاهری و تاریخچه‌ی بیماری بدون جمع‌آوری نمونه‌های تشخیصی صورت گیرد. در مشاهده ظاهری ضایعه، نکات مهمی از قبیل نوع ضایعه پوستی (اریتماتوس، ماکولار، پاپولار، ماکولوپاپولار، وزیکولار، بولوس، پتشیال، پورپوریک و غیره) و نحوه پراکندگی آناتومیک ضایعه (مرکزی، محیطی منتشر و غیره) باید در نظر گرفته شود. در مواردی با تشخیص نامعلوم، غیرمعمول و نادر ممکن جمع‌آوری نمونه از راش‌ها یا ضایعات پوستی نیاز باشد. در موارد راش‌های وزیکولار، نمونه‌ها جهت بررسی میکروسکوپی و کشت نمونه مستقیما از وزیکول‌ها تهیه می‌گردد. در خصوص سایر ضایعات اگزانتوماتو (ماکولار یا پاپولار) ممکن است تشخیص بیشتر بر پایه سایر روش‌ها، نظیر کشت خون و سرولوژی صورت گیرد.

در موارد مشکوک به آنتراکس پوستی یا ضایعات خیارکی ممکن است نمونه‌ها از زخم‌های پوستی و هم‌چنین نمونه برای کشت خون تهیه شود.

• روش جمع‌آوری

*** راش‌های وزیکولو - پوستولار (جهت تشخیص عفونت‌های ویروسی)**

زخم یا وزیکول تازه و رسیده را با اتانول ۷۰٪ تمیز نمایید.

وزیکول: سرنگ توبرکولین با سوزن ۲۷-۲۶ را در حالی که سر سوزن آن به سمت بالا قرار دارد، در پایه وزیکول وارد کنید.

مایع را آسپیره نموده و سریعا و با دقت به داخل ظرف حاوی ۲-۱ میلی‌لیتر محیط انتقال ویروسی تخلیه نمایید (یک‌بار سرنگ را با محیط انتقالی شست‌وشو دهید).

زخم: پوسته زخم را بالا آورده و به کمک سواپ استریل داکرونی بر روی پایه زخم بمالید (سواپ آلژینات کلسیم نباید استفاده شود). سپس سوآپ به سرعت در ظرف حاوی محیط انتقال قرار گیرد.

تهیه گسترش: پایه زخم به کمک اسکالپل یا کورت تراشیده شده و سوسپانسیونی از ضایعات در دو تا سه قطره از محیط انتقالی تهیه نمایید. از سوسپانسیون فوق دو تا سه قطره بر روی لام بگذارید. پس از خشک شدن در هوا در استون سرد فیکس نمایید.

*** نمونه کبره**

•• به وسیله لانست و فورسپس یک‌بار مصرف، کبره‌ها را از محل خودش جدا نمایید.

•• ۱۰-۵ لایه کبره را برداشته و در ظرف پلاستیکی در پیچ‌دار قرار دهید.

•• اگر مشکوک به آنتراکس جلدی هستید، مایع وزیکولی زیر محل زخم نمونه تشخیصی بهتری نسبت به تکه‌های زخم می‌باشد.

*** آسپیراسیون آبسه‌ها**

•• آسپیراسیون آبسه فقط باید توسط پزشک صورت گیرد.

•• پوست روی آبسه/ خیارک بوسیله ایزو پروپیل الکل ۷۰٪ ضد عفونی شده و مایع به وسیله آسپیراسیون توسط سرنگ استریل جمع آوری می گردد.

•• نمونه را به‌طریق آسپتیک به لوله استریل حاوی محیط انتقالی منتقل کنید.

● انتقال نمونه

نمونه‌ها جهت بررسی باکتریولوژیک باید در محیط آستوارت یا آمیس و سواپ‌های مشکوک به عوامل ویروسی در محیط انتقالی ویروس منتقل گردد.

در صورتی که نتوان نمونه‌ها را تا مدت ۲ ساعت بررسی نمود، نمونه‌های باکتریایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قابل نگه‌داری هستند. نمونه‌ها جهت جداسازی عوامل ویروسی در محیط انتقالی مناسب در دمای ۴-۸°C قابل نگه‌داری بوده و در اسرع وقت باید به آزمایشگاه منتقل گردد.

نگه‌دارنده‌ها، ضد انعقادها و مواد افزودنی

مواد نگه‌دارنده جهت نمونه‌های خون، ادرار، مغز استخوان، مدفوع و مایعات بدن استفاده می‌گردند.

● ضد انعقادهای رایج جهت نمونه خون

ضد انعقادهای رایج مورد استفاده جهت نمونه خون شامل موارد زیر می‌باشند:

•• اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA)، سیترات سدیم، هپارین، سدیم پلی سولفانات (SPS)، فلوراید سدیم و اسید سیترات دکستروز (ACD) می‌باشد.

اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) که به اشکال نمک‌های سدیم و پتاسیم و لیتیم موجود است. مورد استفاده آن در بخش‌های خون‌شناسی، بیوشیمی و بانک خون می‌باشد. جهت شمارش سلول‌های خونی و تشخیص افتراقی نمک پتاسیک آن توصیه می‌گردد.

•• سیترات سدیم جهت آزمون‌های انعقادی و سرعت رسوب گلبولی کاربرد دارد.

•• هپارین به فرم نمک‌های لیتیم و سدیم در اندازه‌گیری بسیاری از پارامترهای خون و بررسی‌های ایمونولوژیک به همراه آزمون مقاومت گلبولی کاربرد دارد.

•• فلوراید سدیم جهت اندازه‌گیری گلوکز کاربرد دارد.

•• سدیم پلی سولفانات به‌عنوان ضد انعقاد جهت شیشه‌های کشت خون استفاده می‌گردد.

•• اسید سیترات دکستروز به‌عنوان ماده ضد انعقاد در کیسه‌های خون در انتقال خون کاربرد دارد.

● نگه‌دارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع

انواع نگه‌دارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع به شرح زیر می‌باشد:

•• جهت کشت ادرار و شمارش کلنی اسید بوریک مناسب می‌باشد. با استفاده از نگه‌دارنده نمونه ادرار تا ۲۴ ساعت در دمای اتاق جهت بررسی باکتریولوژیک قابل نگه‌داری است.

•• نمونه مدفوع جهت کشت عوامل باکتریایی را در صورتی که نتوان سریعا به آزمایشگاه ارسال نمود تا ۲ ساعت در دمای ۴°C قابل نگه‌داری است، در غیر این‌صورت نمونه‌ها را می‌توان در محیط‌های نگه‌دارنده و انتقالی نظیر استوارت، آمیس و کری‌بلر منتقل نمود. در بعضی مواقع می‌توان با اضافه نمودن زغال به محیط استوارت و آمیس

اسیدهای چرب موجود در سواپ‌های پنبه‌ای، که بازدارنده ارگانیسم‌های سخت رشد نظیر نایسریا گونوره و بوردتلا پرتوسیس می‌باشند را جذب نمود.

•• مدفوع از نظر توکسین کلستردیوم دیفیسیل باید بدون مواد نگه‌دارنده جمع‌آوری گردد و این نمونه تا ۴۸ ساعت در دمای ۴°C قابل نگه‌داری است. در صورت تاخیر بیشتر، نمونه باید در دمای ۷۰°C- نگه‌داری گردد.

•• نگه‌دارنده مناسب جهت تخم انگل، تروفوزیت وکیست تک یاخته فرمالین ۱۰٪، پولی وینیل الکل و سدیم استات فرمالین (Sodium Acetate Formalin = SAF) است.

• مواد ضد انعقاد در بررسی‌های میکروبیولوژی

جهت جلوگیری از ایجاد لخته در نمونه‌های خون، مغز استخوان و مایع سینوویال از مواد ضد انعقاد استفاده می‌شود. باند شدن میکروارگانیسم‌ها به لخته، شناسایی آن‌ها را مشکل می‌سازد، لذا استفاده از ضد انعقاد ضروری است. انتخاب نوع و غلظت ضد انعقاد به‌دلیل اثر ضد میکروبی بعضی از آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) معمول‌ترین ضد انعقاد مورد استفاده جهت نمونه‌های میکروبی می‌باشد. غلظت مورد استفاده نباید بیشتر از ۰/۰۲۵ (وزنی/حجمی) باشد. گونه‌های نایسریا و بعضی باکتری‌های بی‌هوازی به غلظت-های بالای سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) حساس هستند. نسبت نمونه به ضد انعقاد سدیم پلی آنتول سولفات بسیار مهم است، لذا لازم است حجم‌های متفاوت از ضد انعقاد در لوله با سایز بزرگ (جهت نمونه بزرگسال) و کوچک (جهت نمونه اطفال) و هم‌چنین جهت مقادیر کم ارگانیسم در نمونه‌های مغز استخوان و مایع سینوویال موجود باشد.

•• هپارین دیگر ماده ضد انعقاد متداول می‌باشد و اغلب جهت کشت ویروسی و جداسازی گونه مایکوباکتریوم از خون مورد استفاده قرار می‌گیرد. البته هپارین مهارکننده رشد باکتری‌های گرم مثبت و قارچ هاست.

سیترات سدیم و EDTA جهت نمونه‌های میکروبیولوژیک نباید مورد استفاده قرار گیرد.

نگه‌داری نمونه

در صورتی‌که نتوان نمونه‌ها را در اسرع وقت پس از دریافت نمونه مورد بررسی قرار داد، باید آن‌ها را در شرایط مناسب نگه‌داری کرد. دماهای متفاوت مورد استفاده، دمای اتاق (۲۲°C)، دمای یخچال (۴°C)، دمای بدن (۳۷°C) و دمای فریزر (۲۰°C- یا ۷۰°C-) می‌باشند که بسته به نوع محیط انتقالی (درصورت استفاده) و عامل اتیولوژیک عفونت متفاوت است.

بعضی نمونه‌ها نظیر ادرار، مدفوع، نمونه جهت بررسی عوامل ویروسی، خلط، سواپ‌ها (به‌غیر از عوامل بی‌هوازی)، وسایل خارجی نظیر کاتتر را می‌توان در دمای ۴°C نگه‌داری نمود.

•• پاتوژن‌هایی که به سرما حساسند باید در دمای اتاق نگه‌داری شوند. این عوامل ممکن است در نمونه‌هایی که حاوی باکتری‌های بی‌هوازی بوده و هم‌چنین در اکثر مایعات استریل بدن، نمونه‌های ژنیتال، سواپ گوش و چشم نیز موجود باشند.

•• سرم جهت بررسی‌های سرولوژیک تا یک هفته در دمای ۲۰°C– قابل نگه‌داری است.

•• نگه‌داری طولانی مدت بافت‌ها یا نمونه‌ها در دمای ۷۰°C- صورت می‌گیرد.

•• مایع مغزی نخاعی در صورتی‌که سریعا مورد بررسی قرار نگیرد تا ۶ ساعت در دمای ۳۵°C قابل نگه‌داری است.

جدول ۴-۳ شرایط نگه‌داری نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۳: شرایط نگه‌داری نمونه

دمای ۴°C	دمای اتاق (۲۲-۲۶°C)
نوک کاتتر (IV)	آبسه- زخم- ضایعه
مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی ویروس	مایعات بدن
گوش خارجی	مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی باکتری
مدفوع (بدون نگه‌دارنده)	گوش داخلی
مدفوع جهت توکسین کلستردیوم دیفیسیل تا ۳ روز (بیشتر از ۳ روز نگه‌داری در ۷۰°C-)	مدفوع (با ماده نگه‌دارنده)
خلط	تناسلی
ادرار (بدون نگه‌دارنده)	بینی- نازوفارنکس – گلو
	بافت
	ادرار (با ماده نگه‌دارنده)

موارد رد نمونه

موارد رد نمونه به شرح زیر بیان می‌گردد:

- عدم هم‌خوانی اطلاعات برگه درخواست آزمایش و برچسب روی نمونه
- استفاده از محیط انتقالی نامناسب
- جمع‌آوری نمونه در ظرفی که دارای نشت است
- نمونه ناکافی
- زمان انتقال بیش از ۲ ساعت در نمونه‌های بدون مواد نگه‌دارنده
- انتقال نمونه در دمای نامناسب
- خشک شدن نمونه
- دریافت نمونه در محلول فیکساتیو نظیر فرمالین (نمونه مدفوع مستثنی می‌باشد)
- درخواست کشت بی‌هوازی بر روی نمونه‌هایی که باکتری‌های بی‌هوازی فلور طبیعی آنهاست. (مثل واژن، دهان)
- نمونه حاصل از کاتتر فولی
- بیش از یک نمونه با یک منشا از یک مریض در همان روز (به‌غیر از موارد کشت خون)
- نمونه سواپ با درخواست‌های متعدد برای ارگانیسم‌های مختلف
- نمونه خلط که در رنگ‌آمیزی گرم کمتر از ۲۵ سلول سفید و بیش از ۱۰ سلول اپی‌تلیال در بزرگ نمایی پایین داشته باشد.

در جدول ۵-۳ تحت عنوان مدیریت نمونه و راهنمای برخورد با آن به‌طور خلاصه مباحث این فصل بیان گردیده است.

استاندارد عملکردی آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به روش انتشار از دیسک

مترجمان به‌ترتیب حروف الفبا:

دکتر غلامرضا ایراجیان

دکتر محمدعلی برومند

دکتر فریناز راشد مرندی

دکتر محمد رهبر

دکتر فرشته شاهچراغی

دکتر مسعود شریفی

مهناز صارمی

دکتر فاطمه فلاح

دکتر بابک ولی‌زاده

ویراستار:

دکتر مسعود شریفی

مرکز نشر

آزمایشگاه مرجع سلامت

عنوان و نام پدیدآور: *استاندارد عملکردی آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به روش انتشار از دیسک* / آزمایشگاه مرجع سلامت؛ مترجمان به ترتیب حروف الفبا غلامرضا ایراجیان ... [و دیگران].
مشخصات نشر: تهران: مرکز نشر صدا، ۱۳۹۱.
مشخصات ظاهری: ١٦٤ ص.: مصور، جدول.
شابک: ۳-۲۹٤-۳۵۹-۹٦٤-۹۷۸
وضعیت فهرست‌نویسی: فیپا
یادداشت: مترجمان به ترتیب حروف الفبا غلامرضا ایراجیان، محمدعلی برومند، فریناز راشدمرندی، محمد رهبر، فرشته شاهچراغی، مسعود شریفی، مهناز صارمی، فاطمه فلاح، بابک ولی‌زاده.
یادداشت: عنوان اصلی: Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing
یادداشت: واژه‌نامه.
موضوع: میکروب‌شناسی – حساسیت‌سنجی
موضوع: میکروب‌شناسی – حساسیت‌سنجی – دستنامه‌ها
شناسه افزوده: ایراجیان، غلامرضا، مترجم
شناسه افزوده: آزمایشگاه مرجع سلامت
شناسه افزوده: Reference Health Laboratory
رده‌بندی کنگره: ٦٩QR /ح٥ر٩ ۱۳۹۱
رده‌بندی دیویی: ٦١٥/٣٢٩
شماره کتابشناسی ملی: ۲۷۹۲۹۸۷

استاندارد عملکردی آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به روش انتشار از دیسک
Performance Standard for Antimicrobial Disk SusceptibilityTesting

مترجمان به‌ترتیب حروف الفبا: دکتر غلامرضا ایراجیان، دکتر محمدعلی برومند، دکتر فریناز راشد مرندی، دکتر محمد رهبر، دکتر فرشته شاهچراغی دکتر مسعود شریفی، مهناز صارمی، دکتر فاطمه فلاح، دکتر بابک ولی‌زاده
ویراستار: دکتر مسعود شریفی
خدمات طراحی، چاپ و نشر: مرکز نشر صدا
نوبت چاپ: اول(۱۳۹۱)
شمارگان: ۷۰۰۰ نسخه
شابک: ۳ ٢٩٤-٣٥٩-٩٦٤ ٩٧٨ ISBN: 978-964-359-294-3

«حق چاپ برای آزمایشگاه مرجع سلامت محفوظ است.»

تهران: تقاطع خیابان ولی‌عصر و مطهری، خیابان منصور، شمارهٔ ٢٤
تلفن: ٨٨٥٥٠٣٤٥ و ٨٨٥٥٣٤٠٣ ، دورنگار: ٨٨٧١٣٦٥٣

سرآغاز

به نام آنکه جان را فکرت آموخت

سالی که گذشت، سال توجه به سلامت عمومی از طریق مصرف درست آنتی‌بیوتیک‌ها و یادآوری به صاحبان حرف پزشکی برای ایجاد راهکارهای مناسب مبارزه با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی بود. این سال گذشت و حاصل زحمات همکاران من در آزمایشگاه مرجع سلامت و اعضای محترم کمیته میکروب‌شناسی پیش روی شما است. من از نزدیک شاهد تلاش‌های این عزیزان و همت و غیرتشان در تدوین علمی این متن بودم. از خداوند متعال برای آنها عزت و طول عمر و برای شما خوانندگان این اثر، توفیق درک مطلب و عمل به نکته‌های علمی آن را خواستارم.

دکتر سعید مهدوی

مدیر کل آزمایشگاه مرجع سلامت

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

فهرست مطالب

پیش‌گفتار ۹

فصل اول: سند M02-A10 ۱۱

کاربرد روش‌های استاندارد در سنجش حساسیت به روش انتشار از دیسک ـ استاندارد تأییدشده ویرایش ۱۰ ۱۱

۱. چشم‌انداز ۱۱

۲. مقدمه ۱۱

۳. اقدامات احتیاطی استاندارد ۱۲

٤. واژه‌شناسی ۱۲

۱.٤ تعاریف ۱۲

۲.٤ اختصارات/ سری نام‌ها ۱۳

۵. موارد انجام آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی ۱٤

٦. انتخاب عوامل ضدمیکروبی برای آزمایش روتین و گزارش‌دهی ۱۵

۱.٦ گزارش‌های روتین ۱۵

۲.٦ اسامی غیرتجاری(ژنریک) ۱۵

۳.٦ دستورالعمل‌های انتخاب دارو ۱۸

٤.٦ دستورالعمل پیشنهادی برای آزمایش و گزارش‌دهی روتین و انتخابی ۱۹

۷. مواد مورد نیاز برای آزمایش تعیین حساسیت میکروبی ۲۰

۱.۷ مولر هینتون آگار ۲۰

۲.۷ آزمایش سویه‌هایی که به خوبی رشد نمی‌کنند ۲۱

۳.۷ دیسک‌های ضدمیکروبی ۲۱

۸. تهیهٔ سوسپانسیون میکروبی برای انجام آزمایش تعیین حساسیت به روش انتشار از دیسک ۲۲

۱.۸ کدورت استاندارد برای تهیهٔ سوسپانسیون ۲۲

۲.۸ تهیهٔ سوسپانسیون میکروبی(مایه میکروبی) ۲۲

۹. روش انجام آزمایش انتشار از دیسک ۲۳

۱.۹ تلقیح باکتری در ظرف پتری ۲۳

۲.۹ دیسک‌گذاری روی ظرف پتری تلقیح‌شده ۲۳

۳.۹ خواندن نتایج و تفسیر آنها ۲٤

۱۰. باکتری‌های پرنیاز ۲۵

۱.۱۰ *هموفیلوس انفلوانزا* و *هموفیلوس پاراانفلوانزا* ۲۵

۲.۱۰ *نیسریا گونوره* ۲٦

۳.۱۰ *نیسریا مننژیتیدیس* ۲۷

٤.۱۰ *استرپتوکوکوس پنومونیه* و سایر گونه‌های *استرپتوکوک* ۲۸

۱۱. میکروارگانیسم‌هایی که به توجه خاص نیاز دارند ۲۹

۱.۱۱ استافیلوکک‌ها ۲۹

۲.۱۱ انتروکک‌ها ۳۵

۳.۱۱ مقاومت ناشی از بتالاکتاماز در باسیل‌های گرم منفی ۳٦

٤.۱۱ *استرپتوکوکوس پنومونیه* ۳۸

۱۲. مقاومت القایی به کلیندامایسین ۳۸

۱۳. آزمایش‌های بتالاکتاماز ۳۹
۱.۱۳ هدف ۳۹
۲.۱۳ انتخاب آزمایش بتالاکتاماز ۳۹
۱٤. تفسیر نتایج آزمایش انتشار از دیسک ٤۰
۱.۱٤ استانداردهای تفسیر قطر هاله عدم رشد ٤۰
۲.۱٤ معیارهای تفسیر ٤۰
۱۵. روش‌های کنترل کیفیت و تضمین کیفیت ٤۰
۱.۱۵ هدف ٤۰
۲.۱۵ مسئولیت‌ها در کنترل کیفیت ٤۰
۳.۱۵ انتخاب سویه‌های کنترل کیفی برای انجام کنترل و تضمین کیفیت ٤۱
٤.۱۵ نگهداری و آزمایش سویه‌های کنترل کیفیت ٤۲
۵.۱۵ کنترل کیفیت بهر(Batch) یا سری ساخت ٤۲
٦.۱۵ محدودهٔ قطر هاله مهار رشد در باکتری‌های کنترل کیفیت ٤۳
۷.۱۵ تعداد آزمایش‌های کنترل کیفیت ٤۳
۸.۱۵ اقدام اصلاحی ٤٤
۹.۱۵ گزارش نتایج بیماران زمانی که آزمایش‌ها خارج از کنترل هستند ٤۵
۱۰.۱۵ تأیید نتایج آزمایش بیمار ٤٦
۱۱.۱۵ سایر روش‌های کنترلی ٤٦
۱٦. محدودیت‌های روش انتشار از دیسک ٤۷
۱.۱٦ کاربرد آزمایش در گروه‌های مختلف باکتری‌ها ٤۷
۲.۱٦ نتایج گمراه‌کننده ٤۷
۳.۱٦ ظهور مقاومت ٤۷
۱۷. آزمایش‌های غربالگری ٤۷
پیوست A. نمودارهای جریان کار در پروتکل کنترل کیفیت ٤۸
پیوست B تهیهٔ محیط‌های کشت و محلول‌ها ۵۰
پیوست C. شرایط انجام آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به روش انتشار از دیسک ۵۳
پیوست D. سویه‌های کنترل کیفیت برای آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی ۵۵
پیوست E. نگهداری سویه‌های کنترل کیفیت ۵۸

فصل دوم: سند M100-S21 ۵۹
مقدمه در رابطه با جدول‌های شمارهٔ ۱ و ۲ برای استفاده همراه با اسناد M02-A10 (روش انتشار از دیسک) و M07-A8(آزمایش MIC) ۵۹
I. انتخاب عوامل ضدمیکروبی برای آزمایش و گزارش ۵۹
II. گزارش نتایج ٦۱
III. توضیحات تکمیلی مرتبط با درمان ٦۳
IV. صحه‌گذاری نتایج بیمار ٦۳
V. ایجاد مقاومت و آزمایش باکتری‌هایی که مجدداً جداشده‌اند ٦٤
VI. هشدار ٦٤
VII. آزمایش‌های غربالگری ٦٤
VIII. اختصارات و سری نام‌ها ٦٦

جدول 1A. گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی با کاربرد بالینی مورد تأیید FDA، که آزمایشگاه‌های میکرب‌شناسی باید آن را برای آزمایش و گزارش روتین ارگانیسم‌های کم‌نیاز درنظر بگیرند ٦۷

جدول 1B. گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی با کاربرد بالینی مورد تأیید FDA، که آزمایشگاه‌های میکرب‌شناسی باید آن را برای آزمایش و گزارش روتین ارگانیسم‌های پرنیاز درنظر بگیرند ۷۲

جدول 1C. گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی که باید برای آزمایش و گزارش‌دهی روتین ارگانیسم‌های بی‌هوازی، درنظر گرفته‌شوند ۷۶

جدول 2A. استانداردهای تفسیر حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد(MIC) و قطر هاله مهار رشد برای *انتروباکتریاسه* ۷۷

جدول تکمیلی 2A-S1. آزمایش‌های غربالگری و تأییدی تعیین ESBL در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه*، *کلبسیلا اکسی‌توکا*، *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس* برای استفاده با جدول 2A ۸۲

جدول تکمیلی 2A-S2. آزمایش تأییدی برای *انتروباکتریاسه* مشکوک به تولید کارباپنماز، درصورت استفاده از معیارهای تفسیری «جدید» برای کارباپنم‌ها ۸۴

جدول تکمیلی 2A-S3. آزمایش تأییدی برای *انتروباکتریاسه* مشکوک به تولید کارباپنماز درصورت استفاده از معیارهای تفسیری «قدیمی» برای کارباپنم‌ها(برای استفاده با جدول 2A در M100-S20) ۸۸

جدول 2B-1. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *سودوموناس آئروژینوزا* ۹۲

جدول 2B-2. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا* ۹۴

جدول 2B-3. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *بورخلدریا سپاشیا* ۹۶

جدول 2B-4. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا* ۹۷

جدول 2B-5. استانداردهای تفسیر MIC (µg/mL) برای سایر باسیل‌های گرم منفی غیر از *انتروباکتریاسه* ۹۸

جدول 2C. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *استافیلوکک* ۱۰۰

جدول تکمیلی 2C-S4. آزمایش‌های غربالگری تولید بتالاکتامازها، مقاومت به اگزاسیلین، مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* با استفاده از سفوکسیتین، MIC وانکومایسین ≥ ۸µg/mL مقاومت القایی به کلیندامایسین و مقاومت سطح بالا به موپیروسین(mupirocin) در گروه *استافیلوکوکوس اورئوس* برای استفاده همراه با جدول 2C ۱۰۹

جدول تکمیلی 2C-S5. آزمایش‌های غربالگری تولید بتالاکتامازها، مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* با استفاده از سفوکسیتین، مقاومت القایی به کلیندامایسین در استافیلوکک‌های کواگولاز منفی (به استثناء *استافیلوکوکوس لاگدانسیس*) برای استفاده همراه با جدول 2C ۱۱۲

جدول 2D. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *انتروکک* ۱۱۴

جدول تکمیلی 2D-S6. آزمایش‌های غربالگری برای تعیین سطح بالای مقاومت به آمینوگلیکوزیدها(HLAR)، و مقاومت به وانکومایسین در گونه‌های *انتروکک* جهت استفاده همراه با جدول 2D ۱۱۷

جدول 2E. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *هموفیلوس انفلوانزا* و *هموفیلوس پاراانفلوانزا* ۱۱۸

جدول2F. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای *نیسریا گونوره* ۱۲۲

جدول 2G. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای *استرپتوکوکوس پنومونیه* ۱۲۵

جدول 2H-1. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *استرپتوکک* بتاهمولیتیک ۱۲۹

دستور تهیهٔ (LHB) خون لیزشده اسب(۵۰٪) ۱۳۲

جدول ضمیمه 2H-1-S7. آزمایش غربالگری برای مقاومت القایی کلیندامایسین در گروه بتاهمولیتیک گونه‌های *استرپتوکک* جهت استفاده با جدول 2H-1 ۱۳۳

جدول 2H-2. استانداردهای تفسیری MICو قطر هاله مهار رشد برای گروه ویریدنس، گونه‌های *استرپتوکک* ۱۳۴

جدول 2I. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای *نیسریا منتژیتیدیس* ۱۳۷

جدول 2J. استانداردهای تفسیری(µg/mL) MIC برای باکتری‌های بی‌هوازی ۱۴۰

جدول 3A. محدوده‌های کنترل کیفی برای ارگانیسم‌های کم‌نیاز در روش انتشار از دیسک(با استفاده از محیط مولر هینتون بدون مواد افزودنی) ۱۴۲

جدول 3B. محدوده‌های کنترل کیفی برای ارگانیسم‌های پرنیاز در روش انتشار از دیسک ۱۴۴

جدول 3C. راهنمای مرجع برای تعیین دفعات انجام آزمایش کنترل کیفی در روش انتشار از دیسک ۱۴۶

جدول 3D. راهنمای حل مشکلات کنترل کیفی در روش انتشار از دیسک ۱۴۷

پیوست A. پیشنهادهایی برای تأیید مقاوم(R)، حساس بینابینی(I) یا غیرحساس(NS) در آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی و شناسایی ارگانیسم ۱۴۹

پیوست B. مقاومت ذاتی ـ *انتروباکتریاسه* ۱۵۲

پیوست C. سویه‌های کنترل کیفی برای آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی ۱۵۳

پیوست D. گزارش تجمعی تعیین حساسیت ضدمیکروبی برای ارگانیسم‌های گروه *باکتروئیدس فراژیلیس* ۱۵۶

پیوست E. گزارش تجمعی تعیین حساسیت ضدمیکروبی برای ارگانیسم‌های بی‌هوازی به‌جز گروه *باکتروئیدس فراژیلیس* ۱۵۷

واژه‌نامهٔ I. بتالاکتام‌ها؛ معرفی کلاس و زیرکلاس و نام ژنریک ۱۵۸

واژه‌نامهٔ I. غیربتالاکتام‌ها؛ معرفی کلاس و زیرکلاس و نام ژنریک ۱۵۹

واژه‌نامهٔ II. اختصارات/ نحوهٔ تجویز/ کلاس دارو برای عوامل ضدمیکروبی فهرست‌شده از M100-S21 ۱۶۰

واژه‌نامهٔ III. فهرست اختصارات یکسان استفاده‌شده برای بیش از یک عامل ضدمیکروبی در محصولات تشخیصی ایالات متحده ۱۶۳

پیش گفتار

بررسی سیر تحول پیکار با میکروارگانیسم‌های عفونت‌زا در سده اخیر، از یک سو، بیانگر موفقیت انسان در کنترل عفونت‌ها از طریق تولید آنتی‌بیوتیک‌های نوین است و از سوی دیگر نشان‌دهندهٔ تلاش بی‌وقفهٔ طبیعت در بقاء این مخلوقات میکروسکوپی از راه ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. توجه به این نکته ضروری است که به‌رغم افزایش سرعت بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، روند تولید آنتی‌بیوتیک‌ها در جهان سیری آهسته یافته است؛ بنابراین آنچه اثری تعیین‌کننده دارد، تغییر نگرش و هدایت تجویزکنندگان و مصرف‌کنندگان در استفادهٔ منطقی از آنتی‌بیوتیک‌ها است. در این بین، نقش و تأثیر آزمایشگاه‌های بیمارستانی و غیربیمارستانی در انتخاب و استفادهٔ منطقی از داروهای ضدمیکروبی و درنتیجه، کاهش میزان بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و کنترل سویه‌های مقاوم بیمارستانی حائز اهمیت بسیار است. انتخاب مناسب داروهای ضدمیکروبی برای آزمایش تعیین حساسیت، گزارش انتخابی نتایج با توجه به ارزش بالینی داروها و اطمینان از کیفیت مطلوب انجام آزمایش در قالب برنامه‌های تضمین کیفیت، از مراحل ضروری برای نیل به این اهداف است.

آزمایشگاه مرجع سلامت از دیرباز با تدوین دستورالعمل‌های آزمایشگاهی تعیین حساسیت ضدمیکروبی و کنترل کیفی آن در جهت استقرار روش‌های استاندارد این آزمایش در آزمایشگاه‌های میکرب‌شناسی تلاش نموده‌است. با این حال نیاز به مجموعه‌ای جامع و روزآمد که الزامات کیفی آزمایشگاه‌ها را تأمین نماید، ما را مصمم به ترجمه و تدوین این کتاب نمود. این کار با تشکیل جلسات تخصصی هفتگی در مدت ۱۸ ماه توسط کارگروهی متشکل از استادان و متخصصان مجرب در زمینهٔ میکرب‌شناسی بالینی و مقاومت‌های دارویی، به انجام رسید.

این اثر که برگرفته از دو استاندارد M02-A10 و CLSI M100-S21 با هدف استانداردسازی آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به روش انتشار از دیسک منتشر می‌گردد، شامل دو فصل است. در فصل اول کاربرد روش‌های استاندارد در سنجش حساسیت به روش انتشار از دیسک توضیح‌داده شده‌است. این فصل به واژه‌شناسی، طبقه‌بندی تفسیری، موارد انجام آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی و دستورالعمل‌های انتخاب دارو، دستورالعمل پیشنهادی برای آزمایش و گزارش‌دهی روتین و انتخابی، روش انجام آزمایش انتشار از دیسک در باکتری‌های کم‌نیاز، پرنیاز و باکتری‌های نیازمند به توجه خاص، مقاومت ناشی از بتالاکتاماز، کنترل کیفیت و گزارش‌دهی می‌پردازد.

در فصل دوم نیز انتخاب عوامل ضدمیکروبی برای آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی(پانل آنتی‌بیوتیکی)، گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی با کاربرد بالینی آن، استانداردهای تفسیر حداقل غلظت مهارکننده رشد(MIC) و قطر هاله مهار رشد برای میکروارگانیسم‌های مختلف بیان شده‌است. آزمایشگاه‌ها می‌توانند از این فصل برای آزمایش و گزارش روتین ارگانیسم‌های کم‌نیاز و پرنیاز استفاده‌نمایند. همچنین لازم است آزمایشگاه‌ها در مشورت با متخصصان عفونی، داروسازان و پزشکان کمیتهٔ کنترل عفونت‌های بیمارستانی، پانل آنتی‌بیوتیکی مناسب خود را طراحی نمایند.

در پایان لازم است از همکاری و همراهی اساتید محترم جناب آقایان دکتر عبدالعزیز رستگار لاری، دکتر محمدرضا پورمند و دکتر مسعود حاجیا تشکر و قدردانی گردد.

همچنین از جناب آقای دکتر شریفی که علی‌رغم دشواری‌های بسیار، رنج مسیر را صبورانه به جان خریدند و ما را از حمایت‌های علمی و معنوی خویش بهره‌مند ساختند صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

از اساتید فرهیخته، متخصصان و تمام خوانندگان این اثر درخواست می‌گردد که نظرات پیشنهادی و تکمیلی خود را به آدرس آزمایشگاه مرجع سلامت ارسال فرمایند.

گروه نویسندگان

فصل اول: سند M02-A10

کاربرد روش‌های استاندارد در سنجش حساسیت به روش انتشار از دیسک ـ استاندارد تأییدشده ویرایش ۱۰

۱. چشم‌انداز[1]

این سند، روش استاندارد انتشار از دیسک در تعیین حساسیت باکتری‌های هوازی را در شرایط *in vitro* ارائه می نماید. همچنین روش تهیه ظروف پتری آگاردار، شرایط آزمایش(شامل تهیهٔ مایه میکروبی، استانداردکردن آن، مدت زمان و دمای گرمخانه‌گذاری)، تفسیر نتایج، روش‌های کنترل کیفی و محدودیت‌های روش انتشار از دیسک را توضیح می دهد. در این سند به‌منظور کمک به آزمایشگاه‌های بالینی، پیشنهادهایی درخصوص انتخاب دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی برای انجام آزمایش روتین و گزارش آنها بیان شده‌است. استانداردهای آزمایش تعیین حساسیت باکتری‌های هوازی به روش تعیین رقت و آزمایش سنجش حساسیت برای باکتری‌های بی‌هوازی را می‌توان به‌ترتیب در اسناد CLSI M07 و CLSI M11 یافت. راهنماهای آزمایش تعیین حساسیت استاندارد برای باکتری‌هایی که به‌ندرت جدا می‌شوند و یا باکتری‌های پرنیاز که در اسناد M07، M02 یا CLSI M11 یافت نمی‌شوند، در سند CLSI M45 قابل دسترس است.

۲. مقدمه[2]

از روش‌های مختلف آزمایشگاهی می‌توان برای تعیین حساسیت باکتری‌ها به عوامل ضدمیکروبی در شرایط *in vitro* استفاده‌کرد. در بسیاری از آزمایشگاه‌های میکرب‌شناسی بالینی به‌منظور سنجش حساسیت باکتری‌های بیماری‌زا با رشد سریع و بعضی از باکتری‌های بیماری‌زای پرنیاز از روش انتشار از دیسک روی آگار استفاده‌می‌شود. این سند نحوهٔ انجام، کاربردها و محدودیت‌های روش استانداردشده آزمایش انتشار از دیسک را توصیف می‌کند. توصیه‌های حاصل از مطالعه دسته‌جمعی بین‌المللی(ICS)[3] و مقررات پیشنهادی سازمان غذا و داروی آمریکا مرورشده و قسمت‌های مناسب آن به این استاندارد اضافه شده‌است. سایر روش‌های سنجش حساسیت هم وجوددارند که نتایج آنها اساساً معادل روش‌های CLSI می‌باشند که در اینجا توصیف‌شده‌اند. سازمان غذا و دارو، مسئول تأیید ابزارهای تجاری مورد مصرف در آمریکا می‌باشد. CLSI فرآورده‌ها یا ابزار تجاری را تأیید یا حمایت نمی‌کند.

آزمایش‌های انتشار از دیسک صرفاً براساس وجود یا نبود هاله عدم رشد، بدون توجه به اندازهٔ هاله، قابل قبول نمی‌باشد. نتایج قابل اطمینان با روش انتشار از دیسک فقط زمانی به‌دست می‌آید که با استفاده از اصول روش استاندارد، قطر هالهٔ اندازه‌گیری‌شده با MIC سویه‌هایی که حساسیت یا مقاومت شناخته‌شده به عوامل ضدمیکروبی مختلف دارند، همخوانی داشته‌باشند.

روش‌های مشروح در این سند باید به‌طور کامل انجام‌شود تا نتایج تکرارپذیر به‌دست آید. روش استاندارد فعلی که توسط زیرکمیته آزمایش تعیین حساسیت میکروبی CLSI توصیه‌شده، براساس روش اصلی است که توسط بائر و همکاران توصیف

1. Scope
2. Introduction
3. International Collaborative Study

شده‌است. این روش، کامل‌ترین روش انتشار از دیسک توضیح‌داده شده‌است که استانداردهای تفسیری، با داده‌های بالینی و آزمایشگاهی، بسط داده‌شده و پشتیبانی می‌گردد.

این سند، روش‌ها، کنترل کیفیت و معیارهـای تفسیری فعلی توصیه‌شده برای آزمایش تعیین حساسیت به روش انتشار از دیسک را توضیح‌می‌دهد. زمانی که مشکلات جدیدی شناخته‌شوند یا معیارهای تفسیری ارتقایابند، تغییرات در ویرایش‌های بعدی این استاندارد اعمال خواهدشد و همچنین در سنـد M100 کـه به‌طور سالیانه چاپ می‌شود، آورده خواهدشد.

۳. اقدامات احتیاطی استاندارد[1]

نظر به این که اغلب غیرممکن است بدانیم کدام یک از باکتری‌های جداشده یا نمونه‌ها عفونی هستند، لازم است با تمام بیماران و نمونه‌های آزمایشگاهی بـه‌عنوان منابع احتمالی عفونت رفتار شـود و کار روی این نمونه‌ها براساس اقـدامات احتیاطی استاندارد انجام‌گیـرد. اقـدامات احتیاطی استاندارد، راهنماهـایی شامـل رئـوس مطالب کاربردی استاندارد پیشین «universal precautions and body substance isolation» می‌باشند. «اقدامات احتیاطی استاندارد» که موارد مربوط به انتقال تمام عوامل عفونی را توضیح‌می‌دهد، در مقایسه با «اقدامات احتیاطی عمومی» که فقط برای پاتوژن‌های منتقله از طریق خون کاربرد دارد، جامع‌تر است. از این‌رو، دسترسی به اقدامات احتیاطی عمومی و استاندارد از منابعی مانند CDC امکان‌پذیر است. برای اقدامات احتیاطی اختصاصی جهت پیشگیری از انتقال تمام عوامل عفونی ناشی از ابزارآلات و مواد آزمایشگاهی و توصیه‌های لازم جهت مدیریت برخورد با تمام بیماری‌های عفونی به سند CLSI M29 مراجعه‌شود.

۴. واژه‌شناسی[2]

۱.٤ تعاریف[3]

طبقه‌بندی تفسیری آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی: نوعی طبقه‌بندی براساس پاسخ ارگانیسم در شرایط *in vitro* به سطوحی معادل سطوح خونی یا بافتی حاصل از تجویز دوز معمول یک عامل ضدمیکروبی است.

۱. **حساس(Susceptible)**: اصطلاح «حساس» به گروهی از باکتری‌های جداشده اطلاق می‌گردد که رشد آنها در برابر غلظت داروی ضدمیکروبی، بر اساس دوز توصیه‌شده که معمولاً در محل عفونت به‌دست می‌آید، مهار می‌شود.

۲. **حساسیت بینابینی(Intermediate)**: اصطلاح «حساسیت بینابینی» به گروهی از باکتری‌های جداشده اطلاق می‌گردد که با سطح MIC به‌دست آمده در خون و بافت، پاسخی پایین‌تر از باکتری‌های حساس می‌دهند. اصطلاح حساسیت بینابینی در موارد ذیل کاربرد دارد:

الف) در مناطقی از بدن که دارو از لحاظ فیزیولوژیک در بافت‌ها تغلیظ می‌شود(مانند کینولون‌ها یا بتالاکتام‌ها در ادرار).

ب) زمانی که مقدار دارو را می‌توان بیش از دوز معمولی آن استفاده‌کرد(مانند بتالاکتام‌ها).

ج) جهت ایجاد محدوده‌ای به‌منظور پیشگیری از خطاهای کوچک و غیرقابل کنترل تکنیکی که موجب تناقض و اختلالات اساسی در تفسیر خواهدشد. این امر به ویژه برای داروهایی صادق است که حاشیه مسمومیت دارویی آنها محدود و باریک است.

۳. **مقاوم(Resistant)**: اصطلاح «مقاوم» به گروهی از باکتری‌های جداشده اطلاق می‌گردد که:

الف) رشد آنها با غلظت‌های معمولی دارو با دوز متداول تجویزشده مهار نشود، و/ یا

ب) هاله عدم رشد به‌دست آمده از آنها به علت مکانیسم‌های ویژه مقاومت میکروبی(نظیر بتالاکتامازهایی مانند MRSAها یا ESBLها) باید به‌صورت مقاوم گزارش گردد. همچنین در مطالعات درمانی، اثربخشی بالینی عامل ضدمیکروبی برای این باکتری نشان‌داده نشده‌است.

---

1. Standard Precautions
2. Terminology
3. Definitions

٤. **غیرحساس(Nonsusceptible)**: یک نوع طبقه‌بندی برای ارگانیسم‌هایی است که فقط محدوده تفسیری حساس دارند، اما محدوده تفسیری بینابینی یا مقاوم ندارند(برای مثال طبقه‌بندی تفسیری فقط حساس). معیار طبقه‌بندی تفسیری «فقط حساس» را می‌توان برای آن دسته از عوامل ضدمیکروبی جدیدی به‌کار برد که در زمان تدوین معیارهای تفسیری اولیه ارگانیسم‌های مقاوم در آنها دیده نشده‌است. ایزوله‌هایی کـه MIC آنها بالاتر از نقطه انفصال تفسیری حساس باشد، به‌عنوان غیرحساس درنظر گرفته‌می‌شوند. اصطلاح غیرحساس الزاماً به معنای وجود مکانیسم مقاومت در ایزوله نیست. ایزوله‌ای که درحال حاضر MIC آن در محدوده غیرحساس قراردارد، ممکن‌است قبلاً جزء تیپ‌های وحشی حساس شناخته‌شده درنظر گرفته شده‌باشد. با این همه، تجربیات بالینی درخصوص این ایزوله‌ها محدود است.

آزمایش D-zone(D-zone test): یک آزمایش انتشار از دیسک است که در آن دیسک اریترومایسین و کلیندامایسین نزدیک هم قرار داده‌می‌شوند تا مقاومت القایی کلیندامایسین در استافیلوکک‌ها و استرپتوکک‌ها سنجیده شود.

تضمین کیفیت(QA)[1]

بخشی از مدیریت کیفیت است که بر حصول اطمینان از دستیابی به الزامات کیفیت مطابق ISO 9000 متمرکز می‌باشد.

نکته: این موارد شامل تمام روش‌ها و فعالیت‌هایی است که موجب حصول اطمینان از کیفیت خاص محصول و حفظ آن می‌گردد. در شرایط آزمایش، این موارد شامل پایش تمام مواد خام، لوازم، دستگاه‌ها، روش‌ها، جمع‌آوری/ انتقال/ ذخیره‌سازی/ و کار روی نمونه، ثبت، کالیبره‌کردن و نگهداری تجهیزات، کنترل کیفیت، مهارت‌آزمایی، آموزش کارکنان و سایر مواردی است که در تهیه گزارش نهایی نقش دارند.

کنترل کیفیت(QC)[2]

فعالیت‌ها و روش‌های عملیاتی است که برای دستیابی به الزامات کیفیت ISO 9000 به‌کار می‌رود.

نکته: سیستمی برای حصول اطمینان از حفظ استانداردهای مناسب که به وسیله بازرسی‌های دوره‌ای نتایج و روش های عملیاتی آن و به‌منظور اطمینان از صحت و تکرارپذیری این روش‌ها به‌کار می‌رود.

سرم فیزیولوژی[3]: محلول ۰/۸۵ تا ۰/۹٪ کلرید سدیم.

۲.٤ اختصارات/ سری نام‌ها[4]

ATCC: American Type Culture Collection
BHI: Brain Heart Infusion
BNLAR: β-lactamase negative, ampicillin- resistant
BSC: biological safety cabinet
BSL: Biological Safety Level (USA)
CDC: Centers for Disease Control and Prevention (USA)
CFU: colony forming unit
CMRNG: chromosomally mediated penicillin-resistant *Neisseria gonorrhoeae*
CSF: cerebrospinal fluid
DNA: deoxyribonucleic acid

1. Quality Assurance
2. Quality Control
3. Saline
4. Abbreviations/Acronyms

EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid
ESBL: extended-spectrum β-lactamase
FDA: Food and Drug Administration (USA)
HTM: *Haemophilus* Test Medium
hVISA: heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*
ICS: International Collaborative Study
KPC: *Klebsiella pneumonia* carbapenemase
MDR: multidrug resistant
MHA: Mueller-Hinton agar
MHB: Mueller-Hinton broth
MIC: minimal inhibitory concentration
MLS_B: macrolide, lincosamide, and type B streptogramin
MRS: methicillin-resistant staphylococci
MRSA: methicillin-resistant *Staphyloccus aureus*
NAD: nicotinamide adenine dinucleotide
PBP 2a: penicillin- binding protein 2a
QA: quality assurance
QC: quality control
RNA: ribonucleic acid
US: United States
VISA: vancomycin-intermediate *Staphyloccus aureus*
VRE: vancomycin-resistant enterococci

۵. موارد انجام آزمایش‌های تعیین حساسیت ضد میکروبی[1]

آزمایش‌های تعیین حساسیت زمانی کاربرد دارد که با توجه به هویت یک باکتری، که در فرایند عفونی شرکت دارد و نیازمند درمان ضدمیکروبی است، نتوان حساسیت آن را به آنتی‌بیوتیک بـه‌طور قطعی پیش‌بینی کرد. آزمایش‌های تعیین حساسیت، اغلب هنگامی کاربرد دارند که باکتری بیماریزا متعلق به گونه‌ای باشد که قادر است مقاومت به عوامل ضدمیکروبی را نشان‌دهد. مکانیسم‌های مقاومت عبارتند از:

- تولید آنزیم‌های غیرفعال‌کننده دارو،
- تغییر در محل اثر دارو در باکتری،
- تغییر در ورود و خروج دارو از باکتری.

بعضی از باکتری‌ها به عـوامل ضدمیکروبی، حساسیت قابل پیش‌بینی دارند. برای این دسته از باکتری‌ها، درمان تجربی به‌طور کامل پذیرفته شده‌است. انجام آزمایش تعیین حساسیت برای باکتری‌های بیماری‌زایی که به یک داروی بسیار مؤثر حساس شناخته شده‌باشند، به‌ندرت ضرورت دارد(مانند *استرپتوکوکوس پایوژنز* که تاکنون به پنی‌سیلین حساس شناخته شده‌است). در بیمارانی که از آنها *استرپتوکوکوس پایوژنز* جدا می‌شود و به پنی‌سیلین آلرژی دارند، می‌توان اریترومایسین یا ماکرولیدهای دیگر را برای تعیین مقاومت احتمالی، مورد آزمایش قرارداد. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در مطالعات اپیدمیولوژی مقاومت‌های دارویی و در ارزیابی عوامل ضدمیکروبی هم حائز اهمیت می‌باشد.

کلنی جداشده هر نوع باکتری که ممکن‌است بیماری‌زا باشد، باید از روی کشت اولیه انتخاب‌شود و حساسیت آن به‌طور جداگانه آزمایش گردد. روش‌های تعیین هویت هم اغلب بـه‌طور همزمان انجام‌می‌شـود. برای تعیین حساسیت هر باکتری باید از کشت خالص استفاده‌کرد، به بیان دیگر کشت هر باکتری باید خالص باشد.

برای انجام آزمایش‌های حساسیت نباید به‌طور مستقیم از نمونه‌هـای بالینی(مانند مایعات استریل بدن و ادرار) استفاده‌نمود، مگر در مـوارد فوریت‌های بالینی و زمانی که آزمایش رنگ‌آمیزی گرم، وجود یک باکتری بیماری‌زا را نشان‌دهد. در مواردی

1. Indications for Performing Susceptibility Tests

که آزمایش تعیین حساسیت به‌طور مستقیم با نمونه بالینی انجام‌می‌گردد، باید نتایج به‌عنوان نتایج اولیه گزارش شود، سپس آزمایش تعیین حساسیت باید با استفاده از روش استاندارد تکرار گردد.

در مواردی که ماهیت عفونت، مشخص نیست و نمونه حاوی رشد مخلوطی از باکتری‌ها یا همراه با فلور طبیعی است(که در آن ارگانیسم‌ها احتمالاً ارتباط کمی با فـرایند عفونی تحت درمـان دارند، اغلب انجام آزمایش تعیین حساسیت ضرورت ندارد، زیرا نتایج ممکن‌است گمراه‌کننده باشد.

۶. انتخاب عوامل ضدمیکروبی برای آزمایش روتین و گزارش‌دهی[1]

انتخاب مناسب‌ترین عوامل ضدمیکروبی برای تعیین حساسیت و گزارش آن با مشورت بین آزمایشگاه بالینی، متخصص عفونی، داروساز و کادر پزشکی در کمیته‌هـای کنترل عفونت ـ درمان و دارویی در بیمارستان صورت‌می‌گیرد. توصیه‌های موجود در جدول‌های 1 و 1A سند M100 برای هر گروه از باکتری‌ها، شامل فهرستی از عوامل با تأثیر بالینی ثابت شده‌است کـه در شرایط *in vitro* نیز عملکرد قابـل قبولی نشان‌می‌دهند. عوامل مؤثر در تعیین داروهای ضدمیکروبی برای باکتری خاص و گزارش آن عبارتند از:

تأیید بالینی، شیوع مقاومت، کاهش بروز مقاومت، هزینه، موارد مصرف بالینی، داشتن تأییدیه از مراجع ذی‌صلاح و توصیه‌های گروه‌بندی انتخاب دارو(گروه A, B, C, ...). آزمایش داروهای انتخاب‌شده می‌تواند برای اهداف کنترل عفونت نیز مفید باشد.

۱.۶ گزارش‌های روتین[2]

عوامل ضدمیکروبی پیشنهادی، در جدول‌های 1 و 1A سند M100، درحال حاضر برای آزمایش و گزارش مناسب هستند. برای اجتناب از تفسیر اشتباه، گزارش‌های روتین برای پزشکان باید شامل آن دسته از عوامل ضدمیکروبی باشد که مناسب درمان هستند و در جدول‌های 1 و 1A سند M100 پیشنهاد شده‌اند. عوامل ضدمیکروبی برحسب شرایط ممکن‌است به فهرست اصلی، اضافه‌شود و یا از آن کم گردد. به جز عوامل ضدمیکروبی مناسب در درمان، سایر داروها را می‌توان به‌منظور اهداف بررسی داده‌های تاکسونومیک و اطلاعات اپیدمیولوژیک استفاده‌نمود. باید توجه داشت که این دسته از داروها نباید در گزارش بیماران قید شوند، اما چنین نتایجی باید در آزمایشگاه و برای استفاده متخصص کنترل عفونت و یا اپیدمیولوژیست بیمارستانی قابل دسترسی باشد.

۲.۶ اسامی غیرتجاری(ژنریک)[3]

برای درک بهتر، تمام عوامل باید با اسامی شناخته‌شده ژنریک گزارش گردند. تأکید بر ارتباط بین بسیاری از این عوامل ضدمیکروبی که درحال حاضر در دسترس هستند ازطریق دسته‌بندی در گروه‌های دارویی ذیل صورت گرفته‌است(واژه‌نامه I در سند M100 را ملاحظه‌نمایید).

۱.۲.۶ بتالاکتام‌ها(β-Lactams) (واژه‌نامه I، بخش ۱ در سند M100 را ملاحظه نمایید)

خصوصیت مشترک تمام بتالاکتام‌ها، داشتن حلقه مرکزی چهارضلعی بتـالاکتام و جلوگیـری از تشکیل دیواره سلولی، به‌عنوان مکانیسم اولیه عملکرد است. وجود حلقه‌های اضافی و یا گروه‌های جایگزین که به حلقه بتالاکتام اضافه‌می‌شوند، شاخص قرارگرفتن داروی مربوطه در یکی از زیرگروه‌های پنی‌سیلین(penicillin)، سفم(cephem)، کارباپنم(carbapenem) یا منوباکتام(monobactam) است.

۱.۱.۲.۶ پنی‌سیلین‌ها(Penicillins)

پنی‌سیلین‌ها عمدتاً علیه باکتری‌های هوازی گرم مثبت و فاقد بتالاکتاماز، بعضی از باکتری‌های گرم منفی هوازی و پرنیاز (fastidious) و بعضی از باکتری‌های بی‌هوازی فعال هستند. آمینوپنی‌سیلین‌ها(آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین) علیه طیف بیشتری

1. Selection of Antimicrobial Agents for Routine Testing and Reporting
2. Routine Reports
3. Nonproprietary Names

از باکتری‌های گرم منفی ازجمله بعضی از اعضای انتروباکتریاسه نیـز فعال می‌باشند. کربوکسی‌پنی‌سیلین‌ها (کاربنی‌سیلین و تیکارسیلین[carbenicillin and ticarcillin] و اورئیدوپنی‌سیلین‌هـا[ureidopenicillins] و مـزلوسیلین و پیپراسیلین [mezlocillin and piperacillin]) علیه طیف گسترده و قابل توجهی از باکتری‌های گرم منفی ازجمله بسیاری از باکتری‌های *سودوموناس* و *بورخلدریا* نیز فعال می‌باشند. پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز(کلوگزاسیلین[cloxacillin]، دیکلوگزاسیلین [dicloxacillin]، متی‌سیلین[methicillin]، نفسیلین[nafcillin] و اگزاسیلین[oxacillin]) غالباً علیه باکتری‌های گرم مثبت شامل استافیلوکک‌های مولد پنی‌سیلیناز فعال می‌باشند.

۲.۱.۲.٦ ترکیبات بتالاکتام همراه با مهارکننده بتالاکتاماز(β-Lactam/β-Lactamase Inhibitor Combinations)

این عوامل ضدمیکروبی شامل ترکیبی از داروهای گروه پنی‌سیلین همراه با ماده دیگری است که فعالیت ضدباکتری اندکی دارد و به‌عنوان بازدارنده بعضی از انواع بتالاکتامازها عمل‌می‌کند. درحال حاضر سه ماده بازدارنده بتالاکتاماز شامل کلاولانیک اسید، سولباکتام(sulbactam) و تازوباکتام(tazobactam) استفاده‌می‌شوند.

نتایج مربوط به آزمایش بخش پنی‌سیلین این ترکیبات به تنهایی، علیه باکتری‌های مولد بتالاکتاماز، در اغلب موارد نمی‌تواند نتیجه آزمایش حساسیت نسبت به ترکیب دوتایی این گروه از داروها را پیش‌بینی نماید.

۳.۱.۲.٦ سفم‌ها/ شامل سفالوسپورین‌ها([Cephems [Including Cephalosporins)

عوامل مختلف ضدمیکروبی در خانواده سفم‌ها، طیف متفاوتی از فعالیت ضدمیکروبی را در مقابل باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی گرم مثبت و گرم منفی نشان‌می‌دهند. سفم‌ها شامل گروه اصلی سفالوسپورین‌ها و زیرگروه‌های سفامایسین(Cephamycin)، اگزاسفم(Oxacephem) و کارباسفم‌ها(Carbacephems) هستند(واژه‌نامه I در سند M100 را ملاحظه‌نمایید). سفالوسپورین‌ها را براساس طیف فعالیت ضـدمیکروبی و مـقاومت دارویی در مقابل باکتری‌های گرم منفی هوازی به نسل‌های اول، دوم، سوم و چهارم تقسیم‌بندی می‌کنند. باید توجه داشت که تمام داروهایی که در یک نسل یا گروه از سفالوسپورین‌ها قراردارند، لزوماً طیف فعالیت مشابه ندارند و به این دلیل در آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی می‌توان از هر گروه یک نمونه انتخاب نمود.

٤.۱.۲.٦ پنم‌ها(Penems)

گروه پنم‌ها از نظر ساختمانی اختلاف کمی با پنی‌سیلین‌ها دارند. پنم‌ها به دو زیرگروه تقسیم می‌شوند:

۱) کارباپنم‌ها و ۲) پنم‌ها.

این عوامل ضدمیکروبی به آنزیم‌های بتالاکتاماز بسیار مقاوم هستند، به همین دلیل طیف فعالیت گسترده‌ای علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت دارند.

۵.۱.۲.٦ منوباکتام‌ها(Monobactams)

منوباکتام‌ها، بتالاکتام‌های تک‌حلقه هستند. درحال حاضر آزترئونام(aztreonam) تنها داروی این گروه است که مورد تأیید FDA می‌باشد. آزترئونام فقط در مقابل باکتری‌های گرم منفی هوازی مؤثر است.

۲.۲.٦ غیربتالاکتام‌ها[1](واژه‌نامه I، بخش ۲ در سند M100 را ملاحظه نمایید)

۱.۲.۲.٦ آمینوگلیکوزیدها(Aminoglycosides)

این گروه از عوامل ضدمیکروبی از نظر ساختمانی در یک خانواده قرارمی‌گیرند. آمینوگلیکوزیدها از ساخت پروتئین باکتری در سطح ریبوزوم جلوگیری می‌کنند. در این گروه عوامل ضدمیکروبی متنوعی وجوددارند که به‌وسیله آنزیم‌های مختلف غیرفعال می‌شوند و درنتیجه طیف اثر آنها متفاوت است. آمینوگلیکوزیدها اصولاً برای درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی

1. Non-β-lactams

هوازی استفاده‌می‌شوند. مصرف هم‌زمان آمینوگلیکوزیدها با داروهای مهارکننده ساخت دیواره سلولی(مانند پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، وانکومایسین) باعث افزایش اثر داروها(هم‌افزایی synergism) در مقابل بعضی از باکتری‌های گرم مثبت مانند انتروکک می‌گردد.

۲.۲.۲.٦ مهارکننده‌های مسیر فولات(Folate Pathway Inhibitors)

طیف اثر سولفونامیدها و تری‌متوپریم مهار مسیر فولات در باکتری‌ها است. سولفی سوکسازول رایج‌ترین سولفونامیدی است که در درمان عفونت‌های مجاری ادراری استفاده‌می‌شود؛ لذا برای آزمایش در شرایط ***in vitro*** می‌تواند مناسب‌ترین گزینه باشد. چون سولفامتوکسازول و تری‌متوپریم در بعضی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مراحل متوالی مسیر فولات را مهار می‌کنند، معمولاً به‌صورت ترکیب دارویی آزمایش می‌شوند.

۳.۲.۲.٦ گلیکوپپتیدها(Glycopeptides)

گلیکوپپتیدها ساختمان شیمیایی پیچیده‌ای دارند. وانکومایسین(vancomycin) (در زیرکلاس گلیکوپپتید) و تیکوپلانین(teicoplanin) (در زیرکلاس لیپوگلیکوپپتید) در این گروه قراردارند. گلیکوپپتیدها ساخت دیواره سلولی را مهار می‌کنند و محل اثر آنها متفاوت از محل اثر پنی‌سیلین‌ها است. فعالیت ضدمیکروبی این گروه در مقابل باکتری‌های گرم مثبت هوازی است. وانکومایسین در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت که به عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام مقاوم هستند(مانند MRSA و برخی از انتروکک‌ها) کاربرد دارد. همچنین در درمان عفونت‌های باکتری‌های گرم مثبت که بیمار به‌علت آلرژی به پنی‌سیلین نمی‌تواند از این دارو استفاده‌کند نیز کاربرد دارد.

٤.۲.۲.٦ لیپوپپتیدها(Lipopeptides)

لیپوپپتیدها از نظر ساختمانی در یک خانواده قراردارند و محل اثر آنها غشاء سلولی است. زیرگروه پلی‌میکسین شامل پلی‌میکسین B (polymyxin B) و کلیستین(colistin)[1] علیه باکتری‌های گرم منفی مؤثرند. داپتومایسین(daptomycin)، لیپوپپتید حلقوی است که علیه باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است. وجود کاتیون‌های دوظرفیتی در محیط کشت روی فعالیت لیپوپپتیدها اثر می‌گذارد. مقادیر زیاد کلسیم در محیط کشت، فعالیت پلی‌میکسین را مهار می‌کند، درحالی که وجود این یون در مقادیر فیزیولوژیک(۵۰mg) برای فعالیت مناسب داپتومایسین ضروری است.

۵.۲.۲.٦ ماکرولیدها(Macrolides)

ماکرولیدها آنتی‌بیوتیک‌هایی هستند که ازنظر ساختمانی در یک خانواده قرارمی‌گیرند. این آنتی‌بیوتیک‌ها باعث مهار ساخت پروتئین‌های باکتری در سطح ریبوزوم می‌شوند. برای باکتری‌های گرم منفی پرنیاز(fastidious) تعداد زیادی از ماکرولیدها را می‌توان آزمایش کرد. اما برای باکتری‌های گرم مثبت، به‌طور روتین اریترومایسین آزمایش می‌شود. داروهای ضدمیکروبی گروه ماکرولیدها متشکل از چند زیرگروه، شامل آزیترومایسین(azithromycin)، کلاریترومایسین(clarithromycin)، دیریترومایسین (dirithromycin) و کتولاید تلیترومایسین(ketolide telithromycin) است.

٦.۲.۲.٦ کینولون‌ها(Quinolones)

کینولون‌ها(شامل کینولون‌ها و فلوئوروکینولون‌ها) از لحاظ ساختمانی در یک خانواده قراردارند. این آنتی‌بیوتیک‌ها ازطریق مهار فعالیت آنزیم‌های DNA- ژیراز یا توپوایزومراز(DNA-gyrase or topoisomerase) روی بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی عمل‌می‌کنند. به دلیل وجود اختلاف در طیف اثر آنها، هر یک از داروهای این خانواده باید به‌طور مستقل آزمایش شوند.

۷.۲.۲.٦ تتراسایکلین‌ها(Tetracyclines)

آنتی‌بیوتیک‌هایی که به لحاظ ساختمانی در خانواده تتراسایکلین‌ها قراردارند، در تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، ساخت پروتئین‌های باکتری را در سطح ریبوزوم مهار می‌کنند. آنتی‌بیوتیک‌های این خانواده بسیار به هم شبیه هستند و به‌جز

---

۱. کلیستین، همان پلی‌میکسین E می‌باشد.

برخی موارد استثناء بـه‌طور معمول تتراسایکلین آزمایش می‌شود. میکروارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس باشند، نسبت بـه داکسی‌سایکلین(Doxycycline) و مایتوسایکلین(Minocyclin) نیز حساس محسوب‌می‌شوند. هر چند باکتری‌هایی کـه نسبت بـه تتراسایکلین(Tetracycline)، حساسیت بینابینی یـا مقاومت داشته‌بـاشند ممکن‌است بـه داکسی‌سایکلین یـا مایتوسایکلین یا هر دو حساس باشند. تایگسایکلین(Tigecycline)، یک گلایسیل‌سایکلین(Glycylcycline) از مشتقات مایتوسایکلین است که فعالیت ضدمیکروبی علیـه ارگانیسم‌های مقاوم به سایر تتراسایکلین‌ها دارد.

۸.۲.۲.٦ خانواده‌های تک‌دارویی(Single-Drug Classes)

عوامل ضدمیکروبی ذیل درحال حاضر تنها عضو خانواده دارویی خود هستند که برای انسان استفاده‌می‌شود که در این دستورالعمل ذکر شده‌است و برای آزمایش *In vitro* مناسب هستند.

کلرامفنیکل(chloramphenicol) [فنیکل‌ها(phenicols)]، کلیندامایسین(clindamycin) [لینکوزامیدها(lincosamides)]، لینزولید(linezolid) [اگزازولیدینون‌ها(oxazolidinones)]، کوئینوپریستین ـ دالفوپریستین(quinupristin-dalfopristin) [استرپتوگرامین‌ها(streptogramins)]، تلیترومایسین(telithromycins) [کتولیدها(ketolides)]، تایگسایکلین(tigecycline) [گـلایسیل‌سایکلین‌هـا(glycylcyclines)]. تمـام ایـن داروها سنتـز پـروتئین را مـهـار می‌کنند. ریـفـامپین(rifampin) [آنزامایسین‌ها(ansamycins)] مهارکننده سنتز RNA می‌باشد. نیتروفورانتوئین(nitrofurantoin) [نیتروفوران‌ها (nitrofurans)]، که فقط در درمان عفونت‌های ادراری کاربرد دارد، در سطح ریبوزوم و ازطریق مهار ساخت و مرحله الحاق(ترکیب) پروتئین عمل‌می‌کند. فسفومایسین(fosfomycin)[فسفومایسین‌ها(fosfomycins)] نیـز ازطـریق مهار آنزیم‌های دخیل در ساخت دیواره سلولی عمل می‌کنند و برای درمان عفونت‌های ادراری توسط FDA تأیید شده‌است.

۳.٦ دستورالعمل‌های انتخاب دارو[1]

برای آنکه آزمایش‌های روتین تعیین حساسیت عملی و معتبر باشد، تعداد عوامل ضدمیکروبی منتخب جهت آزمایش باید حتی‌الامکان محدود باشد. جدول‌های 1 و 1A در سند M100 شامل عوامل ضدمیکروبی است که نیازهای پایه برای مصرف روتین اکثر آزمایشگاه‌های بالینی را شامل می‌شود. جدول‌ها براساس باکتری‌ها یا گروه‌های باکتریایی خاص به ستون‌هایی تقسیم شده‌اند. داروهای مختلف براساس اولویت آزمایش جهت کمک به آزمایشگاه‌ها در انتخاب عوامل ضدمیکروبی روتین طبقه‌بندی شده‌اند.

داروهایی که در یک خانه از جدول قـراردارند، نشان‌دهندهٔ دسته‌جاتی از عـوامل ضدمیکروبی است که نتایج تفسیری (حساس، حساس بینابینی یا مقاوم) و اثربخشی بالینی آنها مشابه هم است. در درون هر خانه از جدول، کلمه «یا/or» بین عوامل ضدمیکروبی، نشان‌دهنده عوامل ضدمیکروبی است که میزان مقاومت و حساسیت آنها تقریباً به‌طور کامل مشابه است. این بدان معنی است که در یک جمعیت عظیم از باکتری‌های آزمایش‌شده، مجموعه خطاهای عمده و خیلی عمده، کمتر از ۳٪ و خطاهای جزئی، کمتر از ۱۰٪ است. افزون بر این، استفاده از واژه «یا/or» زمانی مناسب است که اگر حداقل ۱۰۰ سویه مقاوم به عامل مورد نظر آزمایش شوند، نتایج حداقل ۹۵٪ از آنها باید به تمام عوامل دیگر مقاوم باشد. همچنین کلمه «یا/or» برای عوامل ضدمیکروبی قابل مقایسه با هم، در مقابل ارگانیسم‌هایی که معیارهای تفسیری «فقط حساس» دارند، به کار می‌رود (به‌عنوان مثال سفوتاکسیم یا سفتریاکسون در مقابل *هموفیلوس انفلوانزا*). بنابراین، نتایج حاصل از یک عامل ضدمیکروبی که همراه با واژه «یا/or» است را می‌توان برای پیش‌بینی نتایج عامل ضدمیکروبی دیگر به‌کار برد. برای مثال، یک ایزوله *انتروباکتریاسه* غیرمولد ESBL و حساس به سفوتاکسیم را می‌توان به سفتریاکسون هم حساس درنظر گرفت. نتایج به‌دست آمده از آزمایش با سفوتاکسیم را می‌توان گزارش کرد و در گزارش باید توضیح‌داد که این ایزوله در مقابل سفتریاکسون نیز حساس می‌باشد. زمانی که عوامل یک خانه از جدول با واژه «یا/or» به‌هم مرتبط نباشند، نتایج آزمایش یک عوامل ضدمیکروبی را به‌دلیل ناهمخوانی یا داده‌های ناکافی، نمی‌توان برای پیش‌بینی نتایج عوامل ضدمیکروبی دیگر استفاده‌نمود.

1. Selection Guidelines

٤.٦ دستورالعمل پیشنهادی برای آزمایش و گزارش‌دهی روتین و انتخابی[1]

همانگونه کـه در جدول‌هـای 1 و 1A در سند M100 آمده‌است، داروهای گروه A جهت آزمایش و گزارش روتین نتایج گروه‌های خاص باکتریایی درنظر گرفته‌می‌شوند.

گروه B نیز معرف داروهای مورد مصرف برای آزمایش‌های اولیه است. اگرچه باید نتایج به‌صورت انتخابی گزارش گردد، مانند زمانی که باکتری به عوامل ضدمیکروبی همان طبقه مقاومت نشان‌می‌دهد. معیارهای دیگر برای گزارش نتایج شامل موارد ذیل است:

- منابع خاص اخذ نمونه، مانند سفالوسپورین‌های نسل سوم برای باسیل‌های روده‌ای جداشده از مایع مغزی ـ نخاعی یا تری‌متوپریم سولفامتوکسازول برای باکتری‌های جداشده از ادرار
  - عفونت‌های چندمیکروبی
  - عفونت در کانون‌های مختلف
  - وجود آلرژی به داروهای اولیه
  - عدم تحمل دارویی و یا عدم پاسخ به داروهای گروه A
  - یا برای اهداف کنترل عفونت.

گروه C معرف داروهای جایگزین یا اضافی است که در موارد ذیل به‌کار می‌رود:

- در مراکزی که حاوی سویه‌های اپیدمیک یا اندمیک مقاوم به چند دارو از داروهای اولیه باشند(به‌ویژه از هـمان طبقه دارویی [برای مثال، بتالاکتام‌ها یا آمینوگلیکوزیدها]).
- برای درمان بیماران با آلرژی به داروهای اولیه.
- برای درمان باکتری‌های غیرمتعارف مانند کلرامفنیکل برای ایزوله‌های خارج روده‌ای گونه‌های سالمونلا.
- یا به‌عنوان یک ابزار اپیدمیولوژیک برای گزارش به کنترل عفونت.

گروه U، بعضی عوامل ضدمیکروبی را فهرست می‌کند که در وهله اول یا صرفاً برای درمان عفونت‌های ادراری مصرف می‌شوند(به‌عنوان مثال، نیتروفورانتوئین و و برخی از کینولون‌ها). این داروها نباید برای پاتوژن‌های جداشده از سایر نواحی، به‌طور روتین گزارش شوند. سایر عوامل ضدمیکروبی با موارد کاربرد وسیع‌تر را می‌توان برای پاتوژن‌های ادراری خاصی نظیر *سودوموناس آئروژینوزا*، در گروه U جای داد.

گروه O (Other) [سایر داروها]، شامل عوامل ضدمیکروبی است که کاربرد بالینی برای باکتری دارد، اما برای آزمایش روتین و گزارش در آمریکا داروی انتخابی نیست.

عوامل ضدمیکروبی گروه Inv (Investigational)، شامل عوامل ضدمیکروبی است که برای گروهی از ارگانیسم‌ها جنبه تحقیقاتی دارد، ولی هنوز توسط FDA تأیید نشده‌است.

هر آزمایشگاه باید تصمیم بگیرد کدام عامل از جدول‌های 1 و 1A در سند M100 را به‌طور روتین (گروه A) و کدام را صرفاً به‌صورت انتخابی(گروه B) گزارش نماید. این تصمیم در مشورت با متخصصان بیماری‌های عفونی، داروسازها و اعضای پزشک کمیته‌های درمان و کنترل عفونت بیمارستان گرفته خواهدشد. گزارش انتخابی نتایج باید ارزش بالینی گزارش‌ها را بهبود بخشد و ازطریق کاهش استفاده بیش از حد، از آنتی‌بیوتیک‌های با طیف اثر گسترده به کنترل سویه‌های بیمارستانی مقاوم به چند دارو کمک نماید. نتایج عوامل گروه B که به‌طور روتین گزارش نمی‌شود، باید درصورت تقاضای پزشک در دسترس باشد و یا در مواردی می‌تواند برای بعضی از نمونه‌های خاص گزارش گردد. مقاومت‌های غیرمنتظره باید پس از تأیید گزارش گردد(برای مثال، به عامل ثانویه مقاوم، ولی به عامل اولیه حساس باشد).

1. Suggested Guidelines for Routine and Selective Testing and Reporting

۷. مواد مورد نیاز برای آزمایش تعیین حساسیت میکروبی[1]

۱.۷ مولر هینتون آگار[2]

از میان انواع محیط‌های کشت موجود، زیرکمیته برای آزمایش روتین تعیین حساسیت باکتری‌هـای کم‌نیاز(nonfastidious)، به دلایل ذیل مولر هینتون آگار را به‌عنوان بهترین محیط درنظر گرفته‌است:

- در سری ساخت‌های متفاوت، تکرارپذیری قابل قبولی را نشان‌می‌دهد.
- مهارکننده‌های آن به‌حدی اندک است که نمی‌تواند نتایج آزمایش حساسیت سولفونامید، تری‌متوپریم و تتراسایکلین‌ها را تحت تأثیر قراردهد.
- رشد اکثر عوامل بیماری‌زای کم نیاز را به‌طور مطلوب تأمین می‌کند.
- حجم زیادی از داده‌ها و تجربه‌ها در ارتباط با آزمایش تعیین حساسیت با این محیط کشت گردآوری شده‌است.

اگرچه مولر هینتون آگار عموماً برای آزمایش تعیین حساسیت، قابل اعتماد است، نتایج بعضی از سری ساخت‌های آن در مواردی ممکن‌است تغییرات معنی‌داری داشته‌باشد. اگر یک سری ساخت از محیط کشت موجب رشد مناسب ارگانیسم نشود، در روش انتشار از دیسک، قطر هاله مهار رشد معمولاً بزرگ‌تر از حد انتظار است و ممکن‌است در زمان استفاده از سویه‌های کنترل کیفی، قطر این هاله بیش از حد قابل قبول باشد. فقط از محیط مولر هینتون آگاری باید برای آزمایش استفاده‌شود که فرمول ساخت آن بر مبنای محدوده قابل قبولی باشد که در سند CLSI M06 توضیح‌داده شده‌است. از محیط‌های آماده تجاری می‌توان استفاده‌کرد و یا آنها را طبق دستورالعمل پیوست B تهیه‌نمود.

۱.۱.۷ pH[3]

pH محیط مولر هینتون آگار را برای هر نوبت ساخت باید کنترل نمود. pH محیط آگار پس از ژله شدن در دمای اتاق، باید در حد ۷/٤–۷/۲ باشد. روش سنجش pH در پیوست B1.1 آمده‌است.

۲.۱.۷ رطوبت[4]

درصورت خیس بودن سطح آگار در زمان مصرف، ظـرف پتری را با درپوش نیمه‌بـاز بـه‌مدت ۳۰–۱۰ دقیقه در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد و یا زیر هود کلاس II در دمای اتاق قراردهید تا رطوبت اضافی آن تبخیر گردد. برای تلقیح باکتری، سطح محیط کشت باید مرطوب ولی فاقد قطرات آب روی آگار یا درپوش ظرف پتری باشد.

۳.۱.۷ اثرات تایمیدین یا تایمین[5]

وجـود مقادیـر زیاد تایمین و تایمیدین در محیط مولر هینتون آگار می‌تواند اثرات مهارکنندگی سولفونامیدها و تری‌متوپریم را معکوس نماید، منجر به کاهش، عدم وضوح یا از بین رفتن هاله عدم رشد و گزارش مقاومت به‌صورت کاذب گردد. برای ارزیابی کیفیت هر بسته از محیط مولر هینتون آگار باید از *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 29212 و یا ATCC 33186 و دیسک‌های تری‌متوپریم ـ سولفامتوکسازول استفاده‌نمـود. هاله عدم رشد ۲۰mm ≥ با حاشیه واضح، نشانگر کیفیت مناسب محیط است. قطر هاله عدم رشد ۲۰mm>، عدم وجود هاله و یا رشد کلنی‌ها در داخل هاله عدم رشد، بر کیفیت نامناسب محیط مورد نظر دلالت دارد.

---

1. Reagents for the Disk Diffusion Test
2. Mueller-Hinton Agar

۳. لازم به ذکر است که استفاده ازکاغذ pH متر به دلیل عدم حساسیت مورد انتظار توصیه‌نمی‌شود.

4. Moisture
5. Effects of Thymidine or Thymine

٤.١.٧ تأثیر غلظت کاتیون‌های دوظرفیتی[1]

تغییر در غلظت کاتیون‌های دو ظرفیتی به‌ویـژه کلسیم و منیزیم نتایج آزمایش آمینوگلیکوزید و تتـراسایکلین را روی *سودوموناس آئروژینوزا* تحت تأثیر قرارمی‌دهد. مقادیر زیاد کاتیون‌ها قطر هاله عدم رشد را کوچک‌تر و مقادیر کم آنها قطر هاله عدم رشد را در حد غیرقابل قبولی بزرگ‌تر خواهدنمود. همچنین مقادیر زیاد یون‌های روی(zinc) ممکن‌است قطر هاله عدم رشد کارباپنم‌ها را کاهش‌دهد. نتایج آزمایش روی هر بسته محیط مولر هینتون آگار باید با محدوده‌های کنترل که در جدول 3 سند M100 فهرست شده‌است، مطابقت داده‌شود.

۲.۷ آزمایش سویه‌هایی که به‌خوبی رشد نمی‌کنند[2]

فقط باکتری‌های هوازی یا بی‌هوازی اختیاری که روی محیط مولر هینتون آگار بدون افزودنی، به‌خوبی رشدمی‌کنند باید در این محیط آزمایش شوند. برخی از باکتری‌ها نظیر *نیسریا گونوره*، گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا منتژیتیدیس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه*، استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک و ویریدنس بدون مواد افزودنی محرک رشد روی محیط مولر هیتون آگار رشد کافی ندارند. این باکتری‌ها برای رشد، به مواد افزودنی و یا محیط‌های دیگری نیاز دارند. این دسته از باکتری‌ها باید روی محیط‌هایی که در ذیل فهرست شده و در پیوست B شرح داده‌شده‌اند و با استفاده از روش‌های ذیل آزمایش شوند. جزئیات این آزمایش‌ها در بند ۱۰ و پیوست C شرح‌داده شده‌است.

- مولر هینتون آگار (MHA) با ۵٪ خون گوسفند؛
- *Haemophilus* Test Medium
- GC Agar Base + ۱٪ مکمل رشد تعریف‌شده.

۳.۷ دیسک‌های ضدمیکروبی[3]

۱.۳.۷ منبع دیسک‌ها و اطلاعاتی درمورد دیسک‌ها[4]

دیسک‌های آنتی‌بیوتیک باید از منابع تجاری معتبر تهیه‌شوند. دیسک‌ها باید حداقل دارای تأییدیه ارزیابی شامل ذکر غلظت دیسک‌ها، شماره سری ساخت و مدارکی دال بر انجام کنترل کیفی با سویه‌های توصیه‌شده و بر مبنای معیارهای از پیش تعیین‌شده باشند.

۲.۳.۷ ذخیره‌سازی دیسک‌های ضدمیکروبی[5]

جهت نگهداری دیسک‌ها توجه به شرایط ذیل ضروری است:

- دیسک‌ها را تا زمان تاریخ انقضا باید در یخچال(دمای ۸ درجه سانتی‌گراد یا کمتر) یا در فریزر(١٤- درجه سانتی‌گراد یا کمتر) نگهداری کنید. دیسک‌ها نباید در فریزرهایی با قابلیت ذوب یخ خود به خودی، نگهداری گردند. بسته‌های باز نشده دیسک‌های کلاس بتالاکتام باید در فریزر نگهداری شوند و به مقدار کم و مصرف حداکثر یک هفتـه، از فـریـزر خارج‌شونـد و در یخچال نگهداری گـردند. بعضی آنتی‌بیوتیک‌های حساس(مانند ایمی‌پنم، سفاکلر[cefaclor] و ترکیبات حاوی کلاولانیک اسید) درصورت نگهداری در فریزر تـا زمان مصرف، از پایداری بیشتری برخوردار خواهندبود.
- بسته‌های بازنشده حاوی دیسک را ۲-۱ ساعت قبل از مصرف، از یخچال یا فریزر خارج‌کنید تا به دمای اتاق برسد. این کار تماس هوای گرم با دیسک یخ‌زده و متعاقباً تغلیظ دارو در سطح دیسک را به حداقل می‌رساند.

1. Effects of Variation in Divalent Cations
2. Testing Strains That Fail to Grow Satisfactorily
3. Antimicrobial Disks
4. Source of Disks and Information about Disks
5. Storage of Antimicrobial Disks

- دیسک‌ها توسط تولیدکنندگان، در بسته‌های غیر قابل نفوذ به رطوبت ارائه می‌گردند. لازم است از بازکردن بسته حاوی دیسک، به میزان بیش از مقدار مورد نیاز خودداری گردد. درصورت بازکردن، باید دیسک‌ها را در لوله‌های درپیچ‌دار محتوی ماده جاذب رطوبت نگهداری کرد. درصورت استفاده از دستگاه توزیع‌کننده دیسک، باید آن را با یک درپوش محکم، بست و از ماده جاذب رطوبت به مقدار کافی استفاده‌نمود. باید اجازه‌داد دستگاه توزیع‌کننده دیسک قبل از بازشدن، به دمای اتاق برسد. درصورت تغییر رنگ معرف، ماده جاذب رطوبت را تعویض نمایید و به‌این وسیله از رطوبت اضافی جلوگیری کنید.
- وقتی از دستگاه توزیع‌کننده حاوی دیسک استفاده‌نمی‌شود، باید آن را در یخچال قرارداد.
- فقط از دیسک‌هایی استفاده‌کنید که هنوز به تاریخ انقضاء قیدشده روی برچسب نرسیده‌اند. دیسک‌ها را با اتمام تاریخ انقضا دور بریزید.

۸. تهیهٔ سوسپانسیون میکروبی برای انجام آزمایش تعیین حساسیت به روش انتشار از دیسک[1]

۱.۸ کدورت استاندارد برای تهیهٔ سوسپانسیون[2]

جهت استانداردکردن غلظت مایه میکروبی برای آزمایش‌های تعیین حساسیت، باید از کدورت استاندارد استفاده‌شود. کدورت استاندارد، با سولفات باریم($BaSo_4$) معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند ساخته‌می‌شود، یا از معادل نوری آن استفاده‌می‌شود(برای مثال، سوسپانسیون ذرات لاتکس). استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند سولفات باریم را مطابق پیوست B تهیه‌کنید. به‌جای آن می‌توان از یک وسیله نورسنجی(photometric) استفاده‌کرد.

۲.۸ تهیهٔ سوسپانسیون میکروبی(مایهٔ میکروبی)[3]

۱.۲.۸ تهیهٔ سوسپانسیون با استفاده مستقیم از کلنی باکتری(DCS)[4]

۱. این روش، آسان‌ترین شیوه تهیه سوسپانسیون میکروبی است و می‌تواند برای بیشتر باکتری‌ها قابل استفاده باشد. این شیوه، روش توصیه‌شده برای آزمایش باکتری‌های پرنیاز گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا گونوره*، *نیسریا منتژیتیدیس* و استرپتوکک‌ها(بند ۱۰ را ملاحظه نمایید) و نیز برای بررسی استافیلوکک‌ها از نظر مقاومت بالقوه به متی‌سیلین یا اگزاسیلین است.

۲. مایه میکروبی را به‌طور مستقیم در محیط کشت مایع یا سرم فیزیولوژی، با استفاده از کلنی‌های ایزوله ۲۴-۱۸ ساعته از روی محیط حاوی آگار، تهیه‌کنید(باید از محیط غیرانتخابی نظیر آگار خون‌دار استفاده‌شود).

۳. کدورت سوسپانسیون را معادل کدورت استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم نمایید. درنتیجه، این سوسپانسیون میکروبی تقریباً حاوی $1-2\times10^8$ CFU/mL، برای *E.coli* ATCC 25922 خواهدبود. برای انجام صحیح این مرحله، از یک وسیله نورسنجی استفاده‌کنید. اگر آن را به‌طور چشمی انجام‌می‌دهید، با استفاده از نور مناسب، لوله حاوی سوسپانسیون باکتری را به‌طور همزمان با لوله حاوی استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند در مقابل کاغذ سفید با خطوط سیاه مقایسه‌کنید.

۲.۲.۸ تهیهٔ سوسپانسیون ازطریق رشد باکتری‌ها در محیط مایع[5]

این روش، جایگزین روش مستقیم است که بهتر است در موارد ذیل از آن استفاده‌گردد:

الف) در مواردی که در روش تهیهٔ سوسپانسیون مستقیم از کلنی باکتری، به کلنی‌های تازه(۲۴ ساعته) نیاز است، درصورت کهنه بودن کشت اولیه و عدم امکان تهیه کشت تازه، می‌توان از این روش استفاده‌کرد. باید توجه داشت که این روش فقط برای باکتری‌های کم‌نیاز(به استثنا استافیلوکک‌ها) کاربرد دارد.

---

1. Inoculum Preparation for Disk Diffusion Tests
2. Turbidity Standard for Inoculum Preparation
3. Inoculum Preparation
4. Direct Colony Suspension Method
5. Growth Method

ب) باکتری‌هایی که تهیه سوسپانسیون یکنواخت از آنها مشکل است.

۱. ۵-۳ کلنی کاملاً ایزوله و با شکل یکسان را انتخاب‌کنید. به کمک لوپ(فیلدوپلاتین حلقه‌ای) یا سواب از قله آنها برداشت نمایید و به لوله حاوی ٤-٥mL محیط مایع مانند TSB اضافه‌کنید.

۲. محیط مایع تلقیح‌شده را در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری کنید تا به غلظتی برابر یا بیشتر از ۰/۵ مک‌فارلند برسد(معمولاً ٦-۲ ساعت).

۳. کدورت محیط مایع حاوی باکتری‌های درحال تکثیر را، با استفاده از محیط کشت مایع یا سرم فیزیولوژی استریل، معادل کدورت استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم کنید. در نتیجه، این سوسپانسیون میکروبی تقریباً حاوی $۱۰^{۸}\times$ ۲-۱ CFU/mL، از *E.coli* ATCC 25922 خواهدبود. برای انجام صحیح این مرحله، از یک وسیله نورسنجی استفاده‌کنید. اگر آن را به‌طور چشمی انجام‌می‌دهید، با استفاده از نور مناسب، لوله حاوی سوسپانسیون باکتری را به‌طور همزمان با لوله حاوی استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند در مقابل کاغذ سفیدی با خطوط سیاه مقایسه‌کنید.

۹. روش انجام آزمایش انتشار از دیسک[1]

۱.۹ تلقیح باکتری در ظرف پتری[2]

۱. در مدت ۱۵ دقیقه از زمان تنظیم کدورت سوسپانسیون باکتری با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، باید عمل تلقیح باکتری به محیط کشت صورت‌پذیرد. برای این کارها سوابی را داخل لوله حاوی سوسپانسیون باکتری فرو ببرید، چند بار بچرخانید، بالاتر از سطح مایع به دیواره داخلی لوله فشار دهید، تا مایع اضافی آن گرفته‌شود.

۲. سواب را بر سطح مولر هینتون آگار بکشید. این کار باید ۲ بار دیگر(در مجموع ۳ بار) با چرخاندن ظرف پتری، هر بار به میزان ٦۰ درجه، تکرارشود. به این ترتیب، از پخش یکنواخت سوسپانسیون بر سطح ظرف پتری اطمینان حاصل می‌گردد. در پایان سواب باید یک دور به لبه خارجی آگار، در مجاورت دیواره داخلی ظرف پتری هم کشیده‌شود.

۳. پس از تلقیح و قبل از عمل دیسک‌گذاری، درپوش ظرف پتری را به‌مدت ۳ تا ۵ دقیقه، نیمه‌باز بگذارید تا رطوبت اضافی آن تبخیر گردد(حداکثر به مدت ۱۵ دقیقه).

از افزودن غلظت مایهٔ میکروبی خودداری نمایید. هرگز از کشت‌های مایع یک شب‌ماندهٔ رقیق‌نشده یا مایه‌های میکروبی غیراستاندارد دیگر، برای کشت‌دادن ظروف پتری استفاده‌نکنید.

۲.۹ دیسک‌گذاری روی ظرف پتری تلقیح‌شده[3]

۱. باید دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی را برای هر باکتری، با پنس و به‌دقت و به طرز یکنواخت روی ظرف پتری حاوی مولر هینتون آگار قرارداد. با فشار مختصر از تماس کامل آن با سطح آگار اطمینان حاصل نمایید. فاصله دیسک‌ها از مرکز یک دیسک تا مرکز دیسک مجاور نباید کمتر از ۲٤mm باشد. همچنین، نزدیکی بیش از اندازه دیسک‌ها به لبه ظرف پتری موجب عدم تقارن هاله عدم رشد(در بعضی داروها) خواهدشد. حداکثر تعداد قابل قبول دیسک روی ظرف پتری با قطر ۱۵۰mm، ۱۲عدد و روی ظرف پتری با قطر ۱۰۰mm، ۵ عدد است. در همه موارد بهتر است دیسک‌های دارای قطر هاله عدم رشد کوچک‌تر(جنتامایسین، وانکومایسین) در کنار دیسک‌هایی قرارگیرند که قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تر (سفالوسپورین‌ها) دارند، تا احتمال همپوشانی هاله‌ها کمتر شود. به‌دلیل انتشار سریع برخی داروها، به محض تماس دیسک با سطح آگار، از جابه‌جا کردن دیسک بعد از قرارگیری در سطح آگار خودداری نمایید. درصورت نیاز باید دیسک

1. Procedure for Performing the Disk Diffusion Test
2. Inoculation of Test Plates
3. Application of Disks to Inoculated Agar Plates

جدیدی در ناحیه دیگری از ظرف پتری قراردهید. نحوه دیسک گذاری درمورد آزمایش D-zone با روش متداول تفاوت دارد. اگر آزمایش D-zone برای مقاومت القایی کلیندامایسین انجام‌می‌شود، بند ۱۲ و جدول‌های 2C، 2H-1 و 2H-2 در سند M100 را برای راهنمایی درمورد نحوهٔ قراردادن دیسک ملاحظه نمایید.

۲. ظرف پتری را روی درپوش آن برگردانید، و طی ۱۵ دقیقه از زمان دیسک‌گذاری به گرمخانه ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد منتقل نمایید. دمای گرمخانه‌گذاری بیش از ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ممکن‌است مانع از رشد استافیلوکک‌های مقاوم به متی‌سیلین گردد. به استثنای گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا مننژیتیدیس* و استرپتوکک‌ها(بند ۱۰ را ملاحظه نمایید)، از قراردادن ظرف پتری حاوی دیسک در گرمخانه CO_2 دار خودداری نمایید، چون CO_2 قطر هاله عدم رشد برخی داروها را به‌طور معنی‌دار تغییر می‌دهد.

۳.۹ خواندن نتایج و تفسیر آنها[1]

۱. بعد از ۱۸–۱۶ ساعت گرمخانه‌گذاری(برای موارد استثنا به بندهای ۱۰ و ۱۱ و پیوست C مراجعه‌شود)، هر یک از ظروف پتری را بررسی‌نمایید. اگر ظرف پتری به‌طور مناسب کشت‌داده شده‌باشد و میزان تلقیح مایه میکروبی صحیح باشد، قطر هاله مهار رشد به شکل دایره یکنواخت و رشد، انبوه و یکدست خواهدبود. اگر کلنی‌ها به‌طور منفرد ظاهر شوند، نشان‌دهندهٔ آن است که مایه میکروبی خیلی رقیق بوده و آزمایش را باید تکرار کرد. قطر هاله‌های کامل ممانعت از رشد را که شامل قطر دیسک آنتی‌بیوتیک نیز می‌باشد، با چشم غیرمسلح اندازه‌گیری کنید. قطر هاله ممانعت از رشد را از پشت ظرف پتری درحالی که آن را چند سانتی‌متر بالاتر از یک سطح سیاه مات و در حضور نور انعکاسی نگه‌داشته‌اید، با یک کولیس یا خط‌کش اندازه‌گیری کنید. موارد ذیل استثنا می‌باشد:

- اگر آگار، حاوی خون باشد(برای استرپتوکک‌ها) قطر هاله ممانعت از رشد را درحالی که در ظرف پتری برداشته‌شده و سطح آگار به‌وسیله نور انعکاسی روشن شده‌است، اندازه‌گیری کنید.
- اگر از اگزاسیلین و یا وانکومایسین برای سنجش حساسیت گونه‌های *استافیلوکک* و یا از وانکومایسین برای گونه‌های *انتروکک* استفاده‌می‌کنید، قبل از این که نتایج را حساس گزارش کنید، لازم است ظرف پتری به‌مدت ۲٤ ساعت کامل گرمخانه‌گذاری شود. سایر عوامل ضدمیکروبی را می‌توان پس از ۱۸–۱۶ ساعت گرمخانه‌گذاری، قرائت و گزارش نمود. برای بررسی هرگونه رشد کم کلنی‌های مقاوم در داخل هاله‌های مهار رشد دیسک‌های اگزاسیلین و وانکومایسین، ظروف پتری را در مقابل منبع نور نگهدارید و از نور عبوری استفاده‌کنید. هرگونه رشد قابل تشخیص در داخل هاله مهار رشد، نشان‌دهندهٔ مقاومت به اگزاسیلین یا وانکومایسین است.
- اگر از سفوکسی‌تین برای گونه‌های *استافیلوکک* استفاده‌می‌کنید، قطر هاله مهار رشد را در برابر نور انعکاسی (و نه نور عبوری) قرائت کنید.
- اگر از لینزولید برای گونه‌های *استافیلوکک* استفاده‌می‌کنید، قطر هاله مهار رشد را با نور عبوری قرائت کنید.

۲. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که در آن با چشم غیرمسلح هیچ رشد قابل مشاهده و واضحی را نمی‌توان تشخیص‌داد. از رشد ضعیف کلنی‌های ریز که آنها را فقط می‌توان با ذره‌بین در لبه هاله مهار رشد تشخیص‌داد، صرفنظر کنید.

- با این حال زمانی که رشد پراکنده کلنی‌ها در منطقه شفاف مهار رشد مشاهده‌شود، آزمایش باید با کشت خالص یا کشت مجدد از یک کلنی منفرد از ظرف پتری کشت اولیه تکرارشود. اگر رشد کلنی‌های پراکنده در داخل ناحیه هاله مهار رشد تداوم یابد، هاله داخلی را که عاری از کلنی است، اندازه‌گیری کنید.
- سویه‌های گونه‌های پروتئوس ممکن‌است در اطراف بعضی از عوامل ضدمیکروبی به داخل نواحی مهار رشد، خزش(سوارمینگ) داشته‌باشند. در آزمایش گونه‌های پروتئوس، از رشد خزنده و غشایی نازک در مقابل هاله واضح مهار رشد، چشم‌پوشی کنید.
- در هنگام استفاده از محیط‌های غنی‌شده با خون، برای سنجش حساسیت استرپتوکوک‌ها، قطر هاله مهار رشد(و نه قطر هاله مهار همولیز) را اندازه‌گیری نمایید.

1. Reading Plates and Interpreting Results

- در زمان استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط، ممکن‌است منجر به رشد ضعیف گردد. بنابراین، از این رشد ضعیف(۲۰٪ یا کمتر از آن) صرفنظر کنید و برای تعیین قطر هاله، حاشیه واضح‌تر مهار رشد را درنظر بگیرید.

۳. برای تفسیر قطر هاله‌های ممانعت از رشد به سند M100، جدول‌های 2A تا 2J مراجعه‌نمایید. نتایج را به‌صورت حساس، حساس بینابینی و مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش، گزارش نمایید(به بند ١٤ مراجعه‌شود). از آنجا که تاکنون سویه‌های مقاوم نسبت به بعضی از عوامل ضدمیکروبی، خیلی کم شناسایی شده‌اند یا اصلاً شناسایی نشده‌اند، برای این عوامل ضدمیکروبی فقط نقاط انفصال حساس تعریف شده‌است و فقط به‌عنوان حساس می‌توانند گزارش گردند.

۱۰. باکتری‌های پرنیاز[1]

محیط مولر هینتون آگار که برای باکتری‌های هوازی کم‌نیاز به‌کار می‌رود، برای باکتری‌های پرنیاز مناسب نیست. درصورت استفاده از روش انتشار از دیسک برای باکتری‌های پرنیاز باید محیط کشت، روش‌های کنترل کیفیت محیط و معیارهای تفسیر آزمایش‌ها متناسب با هر ارگانیسم تغییر نماید. روش انتشار از دیسک با تعدادی از عوامل ضدمیکروبی انتخابی برای باکتری‌های پرنیازی مانند *هموفیلوس انفلوانزا*، *نیسریا گونوره*، *نیسریا منتژیتیدیس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه*، استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک و ویریدنس، روش مناسبی به‌شمار می‌رود که در اینجا شرح داده‌شده‌اند. سایر باکتری‌های پرنیاز را می‌توان با روش رقیق‌سازی(MIC) یا انتشار از دیسک، طبق سند CLSI M45 آزمایش کرد. باکتری‌های بی‌هوازی نباید با روش انتشار از دیسک آزمایش شوند. برای روش‌های مناسب آزمایش بی‌هوازی‌ها، سند CLSI M11 را ملاحظه نمایید.

۱.۱۰ *هموفیلوس انفلوانزا و هموفیلوس پاراانفلوانزا*[2]

محیط انتخابی برای آزمایش انتشار از دیسک گونه‌های *هموفیلوس*، HTM است. این روش صرفاً برای *هموفیلوس انفلوانزا* و *هموفیلوس پاراانفلوانزا* کاربرد دارد(در متن ذیل، منظور از عبارت «گونه‌*های هموفیلوس*» فقط همین دو گونه است). دستورالعمل‌های تهیه محیط‌های کشت، در پیوست B آورده شده‌است یا محیط‌ها را می‌توان به‌صورت تجاری تهیه نمود. مولرهینتون شکلات آگار برای آزمایش روتین گونه‌های *هموفیلوس* توصیه‌نمی‌شود.

۱.۱.۱۰ روال انجام آزمایش[3]

از روال آزمایش که در بخش ۹ توضیح‌داده شده‌است پیروی کنید، به‌جز در موارد استثناشده ذیل:

۱. جهت انجام آزمایش روی گونه *هموفیلوس* از روش تهیه سوسپانسیون مستقیم از کلنی باکتری، که در بند ۱.۲۸ شرح‌داده شده‌است، استفاده‌می‌گردد. برای این کار کلنی‌های باکتری به‌طور مستقیم از ظرف پتری حاوی شکلات آگار(ترجیحاً ٢٤–٢٠ ساعته) برداشت‌می‌شود و در محیط مایع مولر هینتون و یا سرم فیزیولوژی تلقیح می‌گردد. برای تنظیم کدورت سوسپانسیون از محیط مایع و یا سرم فیزیولوژی و مطابقت آن با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند استفاده‌می‌شود. این سوسپانسیون تقریباً حاوی $10^8 \times 4$–۱ CFU/mL باکتری است. دقت کافی در تهیهٔ سوسپانسیون ضروری است. زیرا، غلظت زیاد آن می‌تواند منجر به بروز نتایج مقاومت کاذب در ارتباط با برخی آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام، خصوصاً *هموفیلوس انفلوانزاهای* مولد بتالاکتاماز، شود. باید طی ۱۵ دقیقه از زمان تنظیم غلظت سوسپانسیون، عمل تلقیح روی ظرف پتری انجام‌گیرد.

۲. به‌طور کلی، در ظروف پتری با قطر ۱۵۰mm حداکثر تا ۹ دیسک و در ظروف پتری با قطر ۱۰۰mm حداکثر تا ٤ دیسک قراردهید.

۳. ظروف پتری در گرمخانه ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۵٪ CO_2 قرارمی‌گیرند. قطر هاله عدم رشد پس از گذشت ۱۸–١٦ ساعت خوانده‌می‌شود.

---

1. Fastidious Organisms
2. *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae*
3. Test Procedure

٤. حاشیه هاله، منطقه‌ای درنظر گرفته‌می‌شود که با چشم غیرمسلح، رشد واضح کلنی در آن وجود نداشته‌باشد. رشد اندک و کلنی‌های خیلی ریز قابل چشم‌پوشی است.

۲.۱.۱۰ معیارهای تفسیر قطر هاله عدم رشد[1]

عوامل ضدمیکروبی انتخابی برای آزمایش روتین گونه‌های *هموفیلوس* در جدول 1A سند M100 آمده‌است. معیارهای اختصاصی تفسیر قطر هاله عدم رشد برای گونه‌های *هموفیلوس* در جدول 2E سند M100 آمده‌است. انجام آزمایش انتشار از دیسک گونه‌های *هموفیلوس* با عوامل ضدمیکروبی خارج از جدول توصیه‌نمی‌شود.

۲.۱۰ *نیسریا گونوره*[2]

۱.۲.۱۰ روش انجام آزمایش[3]

از روش انجام آزمایش که در بند ۹ توضیح‌داده شده‌است، پیروی کنید، به‌جز در موارد استثناشده ذیل:

۱. جهت انجام آزمایش روی *نیسریا گونوره*، از روش تهیه سوسپانسیون مستقیم از کلنی باکتری، که در بند ۱.۲۸ شرح‌داده شده‌است، استفاده‌می‌گردد. برای این کار کلنی‌های باکتری به‌طور مستقیم از ظرف پتری حاوی شکلات آگار(ترجیحاً ۱۸-۱٦ ساعته) که در هوای حاوی ۵٪ CO_2 گرمخانه‌گذاری شده، برداشت‌می‌شود. کلنی‌ها در محیط مایع مولر هینتون و یا سرم فیزیولوژی تلقیح می‌گردد. برای تنظیم کدورت سوسپانسیون از محیط مایع و یا سرم فیزیولوژی و مطابقت آن با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند استفاده‌می‌شود. باید طی ۱۵ دقیقه از زمان تنظیم غلظت سوسپانسیون، باکتری روی ظرف پتری تلقیح گردد.

۲. در ظروف پتری با قطر ۱۵۰mm حداکثر تا ۹ دیسک و در ظروف پتری با قطر ۱۰۰mm حداکثر تا ٤ دیسک قراردهید. هرچند کـه برای بعضی از عوامل ضدمیکروبی(مانند فلوئوروکینولون‌ها یا سفالوسپورین‌ها) که هاله‌های مهار رشد خیلی بزرگ ایجادمی‌کنند، فقط دو تا سه دیسک را در هر ظرف پتری می‌توان آزمایش کرد.

۳. جهت گرمخانه‌گذاری، ظرف پتری در گرمخانه ۱±۳٦ درجه سانتی‌گراد(از ۳۷ درجه سانتی‌گراد تجاوز نکند) و در شرایط ۵٪ CO_2 قرارمی‌گیرد. قطر هاله عدم رشد پس از گذشت ۲٤-۲۰ ساعت خوانده‌می‌شود.

۲.۲.۱۰ معیارهای تفسیر قطر هاله عدم رشد[4]

آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی جهت آزمایش روتین *نیسریا گونوره* در جدول 1A سند M100 آمده‌است. معیارهای اختصاصی تفسیر قطر هاله عدم رشد برای این باکتری در جدول 2F سند M100 آمده‌است. انجام آزمایش انتشار از دیسک برای این باکتری با آنتی‌بیوتیک‌های خارج از جدول توصیه‌نمی‌شود.

هاله عدم رشد ۱۹mm≤ بااستفاده از دیسک پنی‌سیلین (۱۰ug) در *نیسریا گونوره*، عموماً نمایانگر تولید آنزیم بتالاکتاماز توسط باکتری می‌باشد. آزمایش بتالاکتاماز نسبت به روش انتشار از دیسک، از سرعت بیشتری در شناسایی این نوع مقاومت پلاسمیدی برخوردار است. قطر هاله عدم رشد *نیسریا گونوره* با مقاومت پلاسمیدی به تتراسایکلین و با استفاده از تتراسایکلین ۳۰µg، ۱۹mm≤ می‌باشد. درصورت وجود مقاومت کروموزمی به تتراسایکلین و پنی‌سیلین، هاله بزرگ‌تری ایجادمی‌گردد، و با استفاده از معیارهای تفسیری در جدول 2F سند M100 به‌طور صحیح شناسایی می‌گردد.

1. Zone Diameter Interpretive Criteria
2. *Neisseria gonorrhoeae*
3. Test Procedure
4. Zone Diameter Interpretive Criteria

۳.۱۰ *نیسریا مننژیتیدیس*[1]

توجه: تمام مراحل آزمایش حساسیت ضدمیکروبی *نیسریا مننژیتیدیس* را زیر هود بیولوژیک انجام‌دهید. کار با سوسپانسیون‌های *نیسریا مننژیتیدیس* در خارج از هود بیولوژیک با خطر زیاد ابتلا به بیماری منگوککی همراه است. میزان مرگ‌ومیر بیماری منگوککی اکتسابی از آزمایشگاه ۵۰٪ است. مواجهه با قطرات یا آئروسل‌های *نیسریا مننژیتیدیس*، محتمل‌ترین خطر برای عفونت منگوککی اکتسابی از آزمایشگاه به‌شمار می‌رود. هنگام انجام کارهای میکرب‌شناسی(ازجمله آزمایش سنجش حساسیت ضدمیکروبی) روی تمام ایزوله‌های *نیسریا مننژیتیدیس*، محافظت شدید در برابر تمام قطرات و آئروسل‌ها ضروری می‌باشد.

احتیاط‌های توصیه‌شده: نمونه‌ها و کشت‌های *نیسریا مننژیتیدیس* که ناشی از بیماری تهاجمی نباشند را می‌توان در شرایط ایمنی زیستی سطح ۲ با به کارگیری جدی استانداردهای کاری، روش‌های ویژه و تجهیزات ایمنی بررسی‌کرد. هرگونه کار روی سویه‌های *نیسریا مننژیتیدیس* جداشده از نواحی استریل بدن باید در داخل هود بیولوژیک انجام‌شود. اگر هود بیولوژیک در دسترس نباشد، کار روی ایزوله‌ها باید به حداقل ممکن کاهش یابد و به رنگ‌آمیزی گرم یا تعیین سروگروه با استفاده از محلول نمکی فنل‌دار محدود شود. در این شرایط، پوشیدن روپوش آزمایشگاهی، دستکش و استفاده از محافظ کامل صورت برای حفاظت فرد در مقابل پاشیدن نمونه لازم است. هنگام فعالیت‌هایی که در آنها به احتمال بسیار زیاد قطرات یا ذرات آئروسل عفونی تولیدمی‌گردد و کار روی غلظت‌های زیاد مواد عفونی، از تجهیزات، روش‌ها و عملکرد در محدوده سطح ۳ ایمنی زیستی استفاده‌کنید. اگر امکانات سطح ۲ یا ۳ ایمنی زیستی در دسترس نیست، ایزوله‌ها را به آزمایشگاه‌های مرجع یا آزمایشگاه‌های بهداشتی با حداقل امکانات در سطح ۲ ایمنی زیستی، ارسال نمایید.

کارکنان آزمایشگاه که به‌طور روتین در معرض آئروسل‌های خطرناک ایجادشده از *نیسریا مننژیتیدیس* هستند، باید طبق توصیه‌های جاری کمیته مشورتی واکسیناسیون CDC، واکسینه شوند. واکسیناسیون خطر عفونت را کاهش‌می‌دهد، ولی از بین نخواهدبرد. دلیل این مسئله، مؤثر نبودن ۱۰۰٪ واکسن و پوشش ندادن سروگروه B به‌عنوان عامل شایع عفونت‌های اکتسابی از آزمایشگاه است.

برای شناسایی مقاومت‌های نوپدید ممکن در *نیسریا مننژیتیدیس*، آزمایش انتشار از دیسک تأیید شده‌است. تا به امروز مقاومت، بیشتر در این موارد یافت شده‌است: در مقابل عوامل ضدمیکروبی قدیمی‌تر مورد استفاده در درمان(پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین)، یا عوامل ضدمیکروبی مورد استفاده برای پروفیلاکسی در موارد تماس با بیمار. از آنجا که مقاومت به عوامل ضدمیکروبی که اغلب در درمان بیماری تهاجمی استفاده‌می‌شوند، نظیر سفتریاکسون یا سفوتاکسیم شناسایی نشده‌است، آزمایش تعیین حساسیت ایزوله‌ها به‌طور روتین در آزمایشگاه‌های بالینی ضروری نیست.

محیط کشت توصیه‌شده برای آزمایش تعیین حساسیت *نیسریا مننژیتیدیس*، مولر هینتون آگار با ۵٪ خون گوسفند است. دستورالعمل تهیه محیط کشت در پیوست B ارائه شده‌است، یا می‌توان محیط را به‌صورت تجاری هم تهیه‌نمود. محیط غنی‌شده شکلات آگار برای تعیین حساسیت *نیسریا مننژیتیدیس* توصیه‌نمی‌شود.

۱.۳.۱۰ روش انجام آزمایش[2]

از روش انجام آزمایش که در بند ۹ توضیح‌داده شده‌است پیروی کنید، به‌جز در موارد استثناشده ذیل:

۱. برای انجام آزمایش روی *نیسریا مننژیتیدیس*، از روش تهیهٔ سوسپانسیون مستقیم از کلنی باکتری، که در بند ۱.۲۸ شرح‌داده شده‌است، استفاده‌می‌گردد. از کلنی‌های رشدیافته روی محیط شکلات آگار که به‌مدت ۲۲–۲۰ ساعت در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد در مجاورت ۵٪ CO_2 گرمخانه‌گذاری شده‌است، یک سوسپانسیون در محیط مایع مولر هینتون یا سرم فیزیولوژی تهیه‌کنید. کدورت سوسپانسیون را معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم کنید. ظرف پتری را در مدت ۱۵ دقیقه از زمان تنظیم کدورت مایه میکروبی، تلقیح نمایید.

۲. روی ظرف پتری با قطر ۱۵۰mm، بیش از ۵ دیسک و روی ظروف پتری با قطر ۱۰۰mm، بیش از دو دیسک قرارندهید.

---

1. *Neisseria meningitidis*
2. Test Procedure

۳. ظرف پتری را به‌مدت ۲۴–۲۰ ساعت در دمای۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد و در مجاورت ۵٪ CO_2 گرمخانه‌گذاری نمایید، سپس قطر هاله عدم رشد را اندازه بگیرید.

۲.۳.۱۰ معیارهای تفسیر قطر هاله عدم رشد[1]

معیارهای اختصاصی تفسیر قطر هاله عدم رشد برای *نیسریا مننژیتیدیس* در جدول 2J فهرست شده‌است. آزمایش انتشار از دیسک برای *نیسریا مننژیتیدیس*، با دیگر عوامل ضدمیکروبی توصیه‌نمی‌گردد.

۴.۱۰/*استرپتوکوکوس پنومونیه* و سایر گونه‌های *استرپتوکک*[2]

محیط توصیه‌شده برای آزمایش تعیین حساسیت میکروبی *استرپتوکوکوس پنومونیه* و سایر استرپتوکک‌ها، مولر هینتون آگار با ۵٪ خون گوسفند است. دستورالعمل‌های تهیهٔ آن، در پیوست B ارائه شده‌است، یا می‌توان آن را بـه‌صورت تجاری هم تهیه‌نمود.

۱.۴.۱۰ روش انجام آزمایش[3]

از روش انجام آزمایش که در بند ۹ توضیح‌داده شده‌است پیروی کنید، به‌جز در موارد استثناشده ذیل:

۱. برای آزمایش استرپتوکک از روش تهیهٔ سوسپانسیون مستقیم از کلنی باکتری، که در بند ۱.۲.۸ شرح‌داده شده‌است، استفاده‌می‌گردد. با استفاده از کلنی‌های تازه ۲۰–۱۸ ساعته رشدکرده روی محیط آگار خوندار، باید سوسپانسیونی معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند در محیط مایع مولر هینتون و یا سرم فیزیولوژی تهیه‌شود. در مدت ۱۵ دقیقه از زمان تنظیم کدورت مایه میکروبی، باید عمل تلقیح روی محیط مولر هینتون آگار انجام‌گردد.

۲. در ظروف پتری ۱۵۰ میلی‌متری حداکثر تا ۹ عدد دیسک و در ظروف پتری ۱۰۰ میلی‌متری حداکثر تا ٤ عدد دیسک استفاده‌می‌شود.

۳. برای اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد، ظروف پتری به‌مدت ۲٤–۲۰ ساعت در دمای ۲± ۳۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط ۵٪ CO_2 گرمخانه‌گذاری می‌گردد.

۲.٤.۱۰ معیارهای تفسیر قطر هاله عدم رشد /*استرپتوکوکوس پنومونیه*[4]

عوامل ضدمیکروبی پیشنهادی برای آزمایش روتین /*استرپتوکوکوس پنومونیه* در جدول 1A سند M100 و معیارهای اختصاصی تفسیر قطر هاله عدم رشد برای این باکتری در جدول 2G سند M100 آورده شده‌است.

نکته: ایزوله‌های /*استرپتوکوکوس پنومونیه* با قطر هاله عدم رشد ۲۰mm ≥ برای اگزاسیلین را می‌توان برای عوامل ذیل، در مواردی که مورد مصرف تأییدشده دارند، حساس درنظر گرفت: پنی‌سیلین V (MIC ≤ ۰/۰٦µg/mL)، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آموکسی‌سیلین ـ کلاولانیک اسید، آمپی‌سیلین ـ سـولباکتام، سفاکلر، سفـدینیر، سفـدیتورن(cefditoren)، سفپیم، سفـوتـاکسیم(cefotaxime)، سفپودوکسیم، سفپروزیل(Cefprozil)، سفتی‌زوکسیم، سفتریاکسون(ceftriaxone)، سفوروکسیم، ارتاپنم، ایمی‌پنم، لوراکاربف و مروپنم (meropenem). در ایزوله‌های /*استرپتوکوکوس پنومونیه* که قطر هاله عدم رشد اگزاسیلین ۱۹mm≤ دارند، باید MIC با یک پنی‌سیلین و سفوتاکسیم یا سفتریاکسون یا مروپنم تعیین گردد. تعیین MIC به‌این دلیل است که قطر هاله عدم رشد ۱۹mm≤ در آزمایش غربالگری دیسک اگزاسیلین در سویه‌های /*استرپتوکوکوس پنومونیه* با حساسیت بینابینی، مقاوم و بعضی از سویه‌های حساس به پنی‌سیلین مشاهده می‌گردد. ایزوله‌هایی با قطر هاله عدم رشد اگزاسیلین ۱۹ mm≤ را نباید بدون انجام MIC پنی‌سیلین، به‌عنوان مقاوم گزارش نمود.

1. Zone Diameter Interpretive Criteria
2. *Streptococcus pneumonia* and Other *Streptococcus* spp
3. Test Procedure
4. *Streptococcus pneumonia*e Zone Diameter Interpretive Criteria

۳.٤.۱۰ معیارهای تفسیر قطر هاله عدم رشد در سایر گونه‌های *استرپتوکک*[1]

عوامل ضدمیکروبی توصیه‌شده برای آزمایش روتین سایر استرپتوکک‌ها در جدول 1A سند M100 نشان‌داده شده‌است. معیارهای اختصاصی تفسیر قطر هاله عدم رشد جهت سایر استرپتوکک‌ها در جدول‌های 2H-1 و 2H-2 سند M100 آورده شده‌است.

آزمایش دیسک اگزاسیلین جهت تعیین حساسیت استرپتوکک‌ها، غیر از *استرپتوکوکوس پنومونیه*، نسبت به پنی‌سیلین توصیه‌می‌شود. دیسک‌های پنی‌سیلین و یا آمپی‌سیلین جهت تعیین حساسیت استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک به‌کار می‌رود. استرپتوکک‌های ویریدنس که از نواحی استریل بدن(نظیر خون، استخوان و مایع مغزی ـ نخاعی) جدا می‌شوند، باید به روش MIC آزمایش گردند. آزمایش به روش انتشار از دیسک روی استرپتوکک‌های ویریدنس با استفاده از پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین قابل اطمینان نیست.

مقاومت القایی کلیندامایسین با استفاده از روش مشروح در بخش ۱۲ برای استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک قابل استفاده است.

۱۱. میکروارگانیسم‌هایی که به توجه خاص نیاز دارند[2]

این بخش، گروه‌هایی از ارگانیسم‌ها یا مکانیسم‌های خاصی از مقاومت را توضیح می‌دهد که در آزمایش تعیین حساسیت آنها، موارد قابل توجه وجوددارد. موارد توضیح داده‌شده در اینجا، در ارتباط با هر دو روش رقیق‌سازی و انتشار از دیسک است.

۱.۱۱ استافیلوکک‌ها[3]

۱.۱.۱۱ مقاومت به پنی‌سیلین و بتالاکتاماز[4]

بیشتر استافیلوکک‌ها به پنی‌سیلین مقاوم هستند و پنی‌سیلین برای درمان عفونت‌های استافیلوککی، به‌ندرت یک انتخاب محسوب می‌شود. سویه‌های استافیلوککی مقاوم به پنی‌سیلین، بتالاکتاماز تولیدمی‌کنند و آزمایش پنی‌سیلین نسبت به آمپی‌سیلین ارجحیت دارد. برای تعیین حساسیت همه استافیلوکک‌ها به تمام پنی‌سیلین‌های حساس به پنی‌سیلیناز، مانند آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آزلوسیلین(Azlocillin)، کاربنی‌سیلین، مزلوسیلین(Mezlocillin)، پیپراسیلین و تیکارسیلین، باید از پنی‌سیلین استفاده‌شود.

قبل از گزارش ایزوله‌های استافیلوکک با MIC پنی‌سیلین ۰/۱۲μg/mL ≤ یا قطر هاله مهار رشد پنی‌سیلین ۲۹mm≥، به‌عنوان سویه‌های حساس به پنی‌سیلین، باید آزمایش بتالاکتاماز القایی انجام‌گردد. آزمایش بتالاکتاماز القایی با استفاده از کلنی‌های برداشته‌شده از حاشیه منطقه مهار رشد دیسک اگزاسیلین یا سفوکسی‌تین انجام‌می‌شود. در آزمایشگاه‌هایی که از روش MIC استفاده‌می‌کنند، آزمایش القایی با دیسک را می‌توان روی آگار خون‌دار انجام‌داد.

با نتیجه مثبت آزمایش بتالاکتاماز، مقاومت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آزلوسیلین، کاربنی‌سیلین، مزلوسیلین، پیپراسیلین و تیکارسیلین قابل انتظار است. اگر برای استافیلوکک‌های مقاوم به اگزاسیلین، نتیجه پنی‌سیلین گزارش می‌شود، صرفنظر از MIC و یا قطر هاله مهار رشد پنی‌سیلین، باید همیشه در این موارد نتیجه به‌صورت مقاوم به پنی‌سیلین گزارش گردد.

۲.۱.۱۱ مقاومت به متی‌سیلین/اگزاسیلین[5]

۱.۲.۱.۱۱ سابقه(Background)

به‌لحاظ تاریخی به مقاومت نسبت به پنی‌سیلین‌های ضداستافیلوککی مقاوم به پنی‌سیلیناز(مثل متی‌سیلین، نفسیلین و اگزاسیلین)، «مقاومت به متی‌سیلین» گفته شده‌است. هر چند که متی‌سیلین درحال حاضر داروی انتخابی تشخیص و یا درمان نمی‌باشد، اما کلمهٔ MRSA[6](*استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین) و MRS[7](استافیلوکک‌های مقاوم به متی‌سیلین) معمولاً هنوز هم مورد استفاده قرارمی‌گیرند. در این سند، مقاومت به این عوامل ممکن‌است با استفاده از اصطلاحات مختلف

1. Other *Streptococcus* spp. Zone Diameter Interpretive Criteria
2. Organisms Requiring Special Consideration
3. Staphylococci
4. Penicillin Resistance and β-lactamase
5. Methicillin/Oxacillin Resistance
6. methicillin-resistant *S. aureus*
7. methicillin-resistant staphylococci

بیان‌شود(برای مثال «MRS»، «مقاومت به متی‌سیلین» یا «مقاومت به اگزاسیلین»). اکثر موارد مقاومت به اگزاسیلین در استافیلوکک‌ها به‌واسطه ژن *mecA* ایجادمی‌گردد. این ژن تولید یک پروتئین متصل‌شونده به پنی‌سیلین اضافی، بـه نام PBP 2a را هـدایت می‌کند. بروز ژن یادشده به‌صورت همگون(homogeneous) یا غیرهمگون(heterogeneous) می‌باشد. مقاومت همگون به‌آسانی با روش‌های آزمایش استاندارد شناسایی می‌شود، درحالی که شناسایی مقاومت ناهمگون با بعضی روش‌ها چندان آسان نمی‌باشد، زیرا تعداد بسیار اندکی از جمعیت سلول‌ها(برای مثال، ۱ در ۱۰۰۰۰۰ سلول) فنوتیپ مقاومت را نشان‌می‌دهند. در گذشته وجود مقاومت به سایر کلاس‌های عوامل ضدمیکروبی، مقاومت به اگزاسیلین را در ایزوله مطرح‌می‌کرد. هر چند، بعضی از ایزوله‌های MRSA، نظیر عفونت‌های اکتسابی از جامعه، مقاوم چندگانه دارویی(MDR) نباشند.

۲.۲.۱.۱۱ گروه‌های ارگانیسمی(Organism Groups)

امـروزه هنگام تعیین مقاومت بـه متی‌سیلین/ اگزاسیلین، *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در یک گـروه قرارمی‌گیرنـد. بیشتر سویه‌های *استافیلوکوکوس لاگدانسیس*، بتالاکتاماز منفی هستند و تقـریباً تمـام آنها حساس به اگزاسیلین می‌باشند. سویه‌های حساس به اگزاسیلین و ژن *mecA* منفی، MIC در محدوده ۰/۲۵µg/mL تا ۱µg/mL را نسبت به اگزاسیلین نشان‌می‌دهنـد. درحـالی که سویه‌های *mecA* مثبت، معمولاً MIC ≥ ٤µg/mL دارند، مشخصه‌ای که به *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر شبیه است تا سایر استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی. بنابراین، وجود مقاومت به‌واسطه ژن *mecA* در *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* را با معیارهای تفسیری برای *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور صحیح‌تر می‌توان تشخیص‌داد تا با معیارهای تفسیری برای استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی. *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* در این بخش و در جدول 2C سند M100 باید در کنار *استافیلوکوکوس اورئوس* درنظر گرفته‌شود. روش‌های آزمایش اگزاسیلین و سفوکسی‌تین برای استافیلوکک‌های کـوآگولاز منفی، شامـل *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* نمی‌گردد.

۳.۲.۱.۱۱ روش‌های تشخیص مقاومت به اگزاسیلین(Methods for Detection of Oxacillin Resistance)

مقاومت بـه‌واسطه ژن *mecA* در استـافیلوکک‌ها را می‌تـوان با استفاده از اگزاسیلین یا سفوکسی‌تین مشخص‌کرد. از روش‌های انتشار از دیسک با اگزاسیلین نباید بـرای *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* و سایر استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی استفاده‌نمود. روش‌هـای مبتنی‌بر سفوکسی‌تین، صرفاً وجود مقاومت به‌واسطه ژن *mecA* را پیش‌بینی می‌کند. استفاده از سفوکسی‌تین نسبت به اگزاسیلین ارجحیت دارد، برای اینکه سفوکسی‌تین حضور ژن *mecA* را در مقایسه با روش‌های مبتنی بر اگزاسیلین(ازجمله روش غربالگری اگزاسیلین سالت آگار) بهتـر پیش‌بینی می‌کند. به‌دلیل رخداد نادر مکانیسم‌های مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* به اگزاسیلین به‌علتی به‌جز حضور ژن *mecA*، ممکن‌است بعضی از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بـه اگزاسیلین مقاوم باشند، ولی ژن *mecA* آنهـا منفی باشد. این موارد عموماً به سفوکسی‌تین حساس است.

- در تمام روش‌ها برای تهیه مایه میکروبی باید از روش تهیه سوسپانسیون با استفاده مستقیم از کلنی باکتری(DCS) پیروی شود(به بند ۲.۸ مراجعه‌شود).
- برای تشخیص MRS با روش اگـزاسیلین و قبل از گزارش اگزاسیلین به‌عنوان حساس، گرمخانه‌گذاری باید به مدت ٢٤ ساعت کامل در دمای۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد انجام‌شود. آزمایش در دمای بیش از ۳۵ درجه سانتی‌گراد، بـه‌ویژه هنگام استفـاده از اگزاسیلین ممکن‌است MRS را تشخیص‌ندهد. در زمان استفاده از سفوکسی‌تین، گرمخانه‌گذاری باید به مدت ۲۰-١٦ ساعت برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* و به مدت ٢٤ ساعت برای استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی صورت پذیرد.
- برای ملاحظه جدیدترین توصیه‌ها در ارتباط با آزمایش و گزارش، به جدول 2C در سند M100 مراجعه‌شود.

٤.۲.۱.۱۱ روش‌هایی که بر پایه اگزاسیلین است(Oxacillin-Based Methods)

- از میان پنی‌سیلین‌های مقاوم بـه پنی‌سیلیناز، اگزاسیلین در شرایط *in vitro* اولویت دارد. اگزاسیلین در هنگام ذخیره‌سازی، نسبت به تجزیه شدن مقاوم‌تر است و احتمال تشخیص مقاومت ناهمگون سویه‌های استافیلوککی با استفاده از اگزاسیلین

بیشتر است. از کلوگزاسیلین نباید استفاده‌شود، چون ممکن‌است *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به اگزاسیلین را شناسایی‌نکند. نتایج آزمایش تعیین حساسیت به اگزاسیلین را می‌توان به سایر پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز(از قبیل کلوگزاسیلین(Cloxacillin)، دیکلوگزاسیلین(dicloxacillin)، فلوکلوگزاسیلین (flucloxacillin)، متی‌سیلین(methicillin) و نفسیلین(nafcillin)) هم تعمیم داد.

- برای شناسایی بهتر سویه‌های MRSA با مقاومت ناهمگون در آزمایش به روش‌های رقیق‌سازی در محیط‌های جامد و مایع، به افزودن NaCl (۲٪ w/v;۰/۳٤mol/L) در محیط نیاز است. در روش انتشار از دیسک، به محیط مولر هینتون آگار نباید نمک اضافه‌شود.
- در روش انتشار از دیسک، درصورت استفاده از اگزاسیلین، هاله مهار رشد در اطراف دیسک را با استفاده از نور عبوری برای مشاهده رشد ضعیف بررسی‌کنید(ظرف پتری را در مقابل نور قراردهید). هر نوع رشد قابل تمایز در داخل هاله مهار رشد، حاکی از مقاومت به اگزاسیلین است.
- اگر در روش انتشار از دیسک برای *استافیلوکوکوس اورئوس* نتایج بینابینی به‌دست آمد، از آزمایش‌های ذیل استفاده‌کنید:
  - *mecA* یا PBP 2a،
  - آزمایش تعیین MIC یا دیسک سفوکسی‌تین،
  - آزمایش تعیین MIC اگزاسیلین،
  - یا آزمایش غربالگری اگزاسیلین سالت آگار.

به‌جای نتایج بینابینی دیسک اگزاسیلین، نتایج آزمایش‌های جایگزین را گزارش کنید(برای گزارش نتایج آزمایش اگزاسیلین در صورت استفاده از سفوکسی‌تین به‌عنوان آزمایش جایگزین، بند ذیل(۵.۲.۱.۱۱) را مشاهده نمایید).

۵.۲.۱.۱۱ روش‌هایی که بر پایه سفوکسی‌تین است(Cefoxitin-Based Methods)

- نتایج آزمایش‌های سفوکسی‌تین(آزمایش رقیق‌سازی در محیط مایع به روش میکرو یا انتشار از دیسک با دیسک سفوکسی‌تین ۳۰µg) و نقاط انفصال مختلف آن را(به جدول 2C در سند M100 مراجعه‌شود) می‌توان برای پیش‌بینی مقاومت به اگزاسیلین با واسطه ژن *mecA* در *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌کار برد. حساسیت و ویژگی سفوکسی‌تین(دیسک یا MIC) برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، معادل آزمایش‌های تعیین MIC اگزاسیلین است.
- درحال حاضر برای استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی فقط دیسک سفوکسی‌تین برای پیش‌بینی مقاومت با واسطه ژن *mecA* معتبر است. حساسیت آزمایش انتشار از دیسک سفوکسی‌تین، معادل آزمایش‌های MIC اگزاسیلین است، ولی ویژگی آن بیشتر است(آزمایش با دیسک سفوکسی‌تین، سویه‌های حساس به اگزاسیلین را صحیح‌تر از آزمایش تعیین MIC اگزاسیلین شناسایی می‌کند). برای استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی، آزمایش انتشار از دیسک اگزاسیلین توصیه‌نمی‌شود.
- برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی، خواندن نتایج آزمایش انتشار از دیسک سفوکسی‌تین آسان‌تر از دیسک اگزاسیلین است. بنابراین، در آزمایش به روش انتشار از دیسک، استفاده از دیسک سفوکسی‌تین ارجح است.
- در آزمایش انتشار از دیسک برای *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* فقط از دیسک سفوکسی‌تین باید استفاده‌شود.
- برای تمام استافیلوکک‌ها، هنگام خواندن قطر هاله مهار رشد در دیسک سفوکسی‌تین از نور انعکاسی استفاده‌کنید.
- درصورت استفاده از سفوکسی‌تین برای تشخیص مقاومت به اگزاسیلین، براساس نتیجه سفوکسی‌تین سویه را به‌عنوان حساس یا مقاوم به اگزاسیلین گزارش کنید.

٦.۲.۱.۱۱ روش‌های شناسایی مولکولی(Molecular Detection Methods)

صحیح‌ترین روش‌ها برای پیش‌بینی مقاومت به اگزاسیلین، آزمایش‌های تعیین ژن *mecA* یا پروتئین تولیدشده به‌وسیلهٔ ژن *mecA* (PBP 2a که PBP 2' هم نامیده‌می‌شود) است.

۷.۲.۱.۱۱ گزارش(Reporting)

- درصورت مشاهده رشد حداقل پس از ١٦ ساعت گرمخانه‌گذاری، می‌توان مقاومت را گزارش نمود.

- اگر برای تشخیص مقاومت به اگزاسیلین از روش‌های مبتنی بر سفوکسی‌تین استفاده‌می‌شود، براساس نتیجه سفوکسی‌تین سویه را به‌عنوان حساس یا مقاوم به اگزاسیلین گزارش کنید.
- سویه‌های استافیلوکک جداشده که حامل ژن *mecA* هستند یا پروتئین PBP 2a تولیدمی‌کنند، باید به‌عنوان مقاوم به اگزاسیلین گزارش گردند. ایزوله‌هایی که حامل ژن *mecA* نیستند و یا PBP 2a تولیدنمی‌کنند، باید به‌عنوان حساس به اگزاسیلین گزارش شوند.
- استافیلوکک‌های مقاوم به اگزاسیلین را به تمام پنی‌سیلین‌های دیگر، کاربانم‌ها، سفم‌ها و مهارکننده‌های بتالاکتام/ بتالاکتاماز، بدون توجه به نتایج آزمایش این عوامل در شرایط *in vito* ، مقاوم گزارش کنید. این توصیه بر این واقعیت استوار است که اکثر موارد مستندشده از عفونت‌های استافیلوککی مقاوم به متی‌سیلین(MRS) به درمان با بتالاکتام‌ها ضعیف پاسخ می‌دهند، یا داده‌های بالینی قانع‌کننده‌ای درخصوص اثربخشی بالینی این عوامل در عفونت‌های مذکور تاکنون ارائه نشده‌است.
- برای سویه‌های حساس به اگزاسیلین، نتایج سفم‌ها، ترکیبات مهار کننده بتالاکتام/ بتالاکتاماز و کاربانم‌ها را، اگر آزمایش شده‌اند، مطابق با نتایج حاصل از معیارهای تفسیری روتین گزارش کنید.

۳.۱.۱۱ مقاومت به وانکومایسین در *استافیلوکوکوس اورئوس*[1]

در سال ۲۰۰۶ در سند M100-S16 معیارهای تفسیری وانکومایسین برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، تا سطح ۲μg/mL ≤ برای حساس، و ۸–۴μg/mL برای موارد حساس بینابینی و ۱۶μg/mL ≤ برای موارد مقاوم کاهش‌داده شده‌است. این معیارها برای استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی ۴μg/mL ≤ به‌عنوان حساس، ۱۶–۸μg/mL به‌عنوان حساس بینابینی و ۳۲μg/mL ≤ برای موارد مقاوم، باقی مانده‌است.

اولین رخداد از یک سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* با حساسیت کاهش‌یافته به وانکومایسین(MICs ۱۶–۴μg/mL) در سال ۱۹۹۷ از ژاپن و متعاقب آن از آمریکا و فرانسه گزارش شد. مکانیسم‌های دقیق مقاومت که منجر به افزایش MIC می‌گردد، ناشناخته است. هرچند این مکانیسم‌ها احتمالاً ناشی از تغییرات دیواره سلولی و تعویض چند مسیر متابولیک است. تاکنون به‌نظر می‌رسد اکثر سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با حساسیت بینابینی به وانکومایسین، از سویه‌های MRSA منشاء گرفته‌اند.

از سال ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۷، سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC وانکومایسین در محدوده ۱۰۲۴–۳۲μg/mL در ایالات متحده گزارش شده‌است. تمام این سویه‌ها حاوی ژن *vanA* مشابه آنچه در انتروکک‌ها یافت‌می‌شود، بوده‌اند. این سویه‌ها با روش مرجع رقیق‌سازی در محیط مایع به روش میکرو، روش انتشار از دیسک و آزمایش غربالگری وانکومایسین آگار(توضیح داده‌شده در ذیل) هنگامی که آزمایش‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت تمام در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری می‌شوند، به طور قابل اعتمادی شناسایی گردیده‌اند.

۱.۳.۱.۱۱ روش‌های تشخیص حساسیت کاهش یافته به وانکومایسین
(Methods for Detection of Reduced Susceptiblity to Vancomycin)

سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* که MIC آنها به وانکومایسین ۳۲μg/mL ≤ است را می‌توان با یکی از روش‌های تعیین MIC، انتشار از دیسک، یا آزمایش غربالگری وانکومایسین آگار تشخیص‌داد. به‌منظور شناسایی سویه‌های استافیلوکک که MIC آنها ۱۶–۴μg/mL است، آزمایش تعیین MIC باید انجام‌گردد و آزمایش باید در دمای۲± ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت کامل گرمخانه‌گذاری شود. سویه‌های با MIC کمتر از ۳۲μg/mL، با روش انتشار از دیسک حتی اگر ۲۴ ساعت تمام گرمخانه‌گذاری شده‌باشند، تشخیص داده‌نمی‌شوند. از روش غربالگری وانکومایسین آگار ممکن‌است برای تشخیص سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC ≥ ۸μg/mL استفاده‌کرد. با این حال، این محیط همیشه *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC = ۴μg/mL را تشخیص‌نمی‌دهد.

1. Vancomycin Resistance in *S. aureus*

جدول 1. توانایی روش‌های مختلف تشخیص سطوح حساسیتی *استافیلوکوکوس اورئوس* به وانکومایسین

Vancomycin MIC (µg/mL)	MIC Method	Disk Diffusion Method*	Vancomycin Agar Screen
≤ 2 (S)	yes	no	yes
4 (I)	yes	no	variable
8 (I)	yes	no	yes
16 (R)	yes	no	yes
≥ 32 (R)	yes	yes	yes

* سویه‌هایی از *استافیلوکوکوس اورئوس* که قطر هاله مهار رشد آنها ≥ ۷mm است، ممکن‌است دارای MIC ≤ ۲µg/mL تا ۱۶µg/mL باشند. اگر آزمایش انتشار از دیسک انجام‌شود، تعیین هویت سویه‌هایی که هیچ هاله‌ای از مهار رشد نشان‌نمی‌دهند، باید تأییدشود. ایزوله‌هایی از *استافیلوکوکوس اورئوس* با هاله مهار رشد ≥ ۷mm را نباید بدون انجام آزمایش تعیین MIC وانکومایسین، به‌عنوان حساس گزارش نمود.

تا زمانی که درباره شیوع یا اهمیت بالینی ایزوله‌هایی که حساسیت آنها به وانکومایسین کاهش‌یافته، داده‌های بیشتری به‌دست آید، امید است که آزمایشگاه‌ها سویه‌های MRSA را از نظر افزایش MIC به وانکومایسین با دقت بیشتری مورد آزمایش قراردهند.

۲.۳.۱.۱۱ آزمایش غربالگری وانکومایسین آگار(Vancomycin Agar Screen)

آزمایش را طبق روش ذیل با تلقیح ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* روی BHI آگار حاوی ٦µg/mL وانکومایسین انجام‌دهید.

۱. سوسپانسیونی معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند به‌روش مستقیم، مانند آنچه که برای روش MIC یا انتشار از دیسک استفاده‌می‌شود، تهیه‌نمایید.

۲. با استفاده از یک میکروپی‌پت، قطره‌ای معادل ۱۰µL به سطح آگار منتقل کنید. به‌جای این کار می‌توان همانند آزمایش انتشار از دیسک، از یک سواب که مایع اضافی آن گرفته شده‌باشد، استفاده‌کرد و ناحیه‌ای به قطر ۱۵-۱۰mm بر سطح آگار ایجادنمود.

۳. ظرف پتری را به‌مدت ٢٤ ساعت تمام در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه با هوای معمولی، گرمخانه‌گذاری کنید.

٤. ظرف پتری را به‌دقت از نظر وجود کلنی‌های کوچک(بیش از یک کلنی) یا لایه‌ای از رشد بررسی‌کنید. وجود بیش از یک کلنی یا لایه‌ای از رشد، احتمال حساسیت کاهش‌یافته به وانکومایسین را مطرح‌می‌کند.

۵. نتایج *استافیلوکوکوس اورئوس* رشدیافته روی محیط BHI وانکومایسین اسکرین آگار را با تکرار آزمایش‌های تعیین هویت و انجام MIC برای وانکومایسین تأییدکنید. این MIC با استفاده از روش تهیه رقت مرجع، توصیه‌شده توسط CLSI، یا سایر روش‌های معتبر انجام‌می‌شود.

٦. برای انجام کنترل کیفیت:

- از سویه *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 29212 و *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 29213 حساس به وانکومایسین به‌عنوان کنترل منفی استفاده‌کنید(به‌دلیل بروز نتایج مثبت کاذب، از *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 استفاده‌نشود).
- از سویه *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 51299 (مقاوم به وانکومایسین) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده‌شود.

۷. بعد از گرمخانه‌گذاری، ظروف پتری حاوی محیط BHI وانکومایسین اسکرین آگار را نباید دوباره مورد استفاده قرارداد.

در حال حاضر داده‌های کافی برای توصیه به استفاده از این آزمایش غربالگری روی آگار در استافیلوکک‌های کواگولاز منفی، وجودندارد.

۳.۳.۱.۱۱ *استافیلوکوکوس اورئوس* با حساسیت بینابینی ناهمگون به وانکومایسین(hVISA)

(Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*)

ایزوله‌های hVISA که برای اولین بار در سال ۱۹۹۷ شرح داده‌شدند، شامل زیرگروهی از جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند(به تعداد ۱ در هر ۱۰۰,۰۰۰ تا ۱,۰۰۰,۰۰۰ سلول) که MIC وانکومایسین ۱۶µg/mL-۸(به‌معنی محدوده حساسیت

بینابینی) داشتند. بـه‌دلیل استفاده از مایه میکروبی با رقت 5×10^5 CFU/mL در آزمایش استاندارد رقیق‌سازی در محیط مایع به روش میکرو، این زیرگروه جمعیتی مقاوم، تشخیص داده‌نمی‌شود و MIC تعیین‌شده وانکومایسین برای این سویه‌ها در محدوده حساس قرارمی‌گیرد(قبلاً ۱۶μg/mL–٤). در ابتدا بسیاری از پزشکان و میکرب‌شناسان در این که مقاومت ناهمگون به وانکومایسین منجر به شکست درمان با وانکومایسین شود تردید داشتند. زیرا این سویه‌ها در روش مرجع رقیق‌سازی در محیط مایع به روش میکرو(استاندارد CLSI)، به وانکومایسین حساس بودند. بعد از بازنگری یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی، CLSI برای استفادهٔ بهینه از نقطه انفصال در پیش‌بینی سرانجام بالینی عفونت، نقطه انفصال بینابینی برای وانکومایسین را(فقط برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و نـه استافیلوکک‌هـای کواگولاز منفی) از ۸μg/mL بـه ٤μg/mL و نقطه انفصال مقـاومت را از ۳۲μg/mL ≥ بـه ۱٦μg/mL≥ کاهش‌داد. بنابـراین، درحـال حـاضر نقطه انفصال حساسیت بـه وانکومایسین بـرای *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲μg/mL ≤ و محدوده بینابینی ۸μg/mL–٤ و محدوده مقـاوم ۱٦μg/mL ≥ است. با این کار بسیاری از سویه‌های hVISA با MIC وانکومایسین ٤μg/mL را که قبلاً حساس محسوب می‌شدنـد، می‌توان پیـدا کـرد. هنـوز هم بـرخی از سویـه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با ۲-۱ μg/mL = MIC ممکن‌است hVISA باشند.

در چند مطالعه پایشی بزرگ که برای تحقیق درمورد ارتباط بالینی سویه‌های hVISA انجام شده‌است، مشخصات تجزیه و تحلیـل جمعیتی[1] ایزوله‌هـای *استافیلوکوکوس اورئوس* در عمل بـه‌عنوان استاندارد طلایی برای تشخیص این سویه‌هـا تعیین شـده‌است. در این روش، طیفی از رقت‌هـای مـایـه میکروبی استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* [10^8 CFU – 10^1] را روی مجموعه‌ای از محیط‌های جامد حاوی غلظت‌های مختلف وانکومایسین تلقیح می کنند. در ادامه با داده‌های به‌دست آمده، منحنی جمعیتی تقسیم بر شمارش باکتریایی را روی منحنی می‌برند و آن را با نسبت‌های به‌دست آمده از سویه‌های شاهد Mu3 و Mu50 *استافیلوکوکوس اورئوس* مقایسه‌می‌کنند. با این حال، این روش پرزحمت و انجام آن برای آزمایشگاه‌های بالینی روتین نامناسب است. متأسفانه درحال حاضر روش استانداردشده راحت و قابل اعتمادی برای تشخیص سویه‌های hVISA وجودندارد. ناتوانی روش دستگاهی و نیز روش استاندارد مرجع تعیین حساسیت میکروبی برای تشخیص فنوتیپ‌های hVISA، شناسایی عفونت‌هایی را که ممکن‌است به درمان با وانکومایسین پاسخ ندهند، مشکل ساخته‌است. بنابراین، تأیید حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* با مقاومت ناهمگون، همچنان به‌عنوان یک چالش دشوار باقی مانده‌است.

٤.۳.۱.۱۱ گزارش(Reporting)

استافیلوکک حساس بـه وانکومایسین بایـد طبق پروتکل گـزارش‌دهی روتین آزمـایشگاه، گـزارش گـردد. بـرای سویه‌های غیرحساس به وانکومایسین(با ٤μg/mL ≥ MIC و/ یا رشدکـرده روی BHI وانکومایسین اسکریـن آگار) نتایج اولیه باید طبق همین پروتکل گزارش گـردد و نتایج نهایی قبل از گزارش‌دهی، بایـد تـوسط یک آزمایشگاه مرجع تأییدشود.

٤.۱.۱۱ مقاومت القائی به کلیندامایسین[2]

مقاومت القایی کلیندامایسین را می‌توان با روشی که در بند ۱۲ و سند CLSI M07 (بند ۱۳ را ملاحظه نمایید) شرح‌داده شده‌است، شناسایی کرد.

۵.۱.۱۱ مقاومت به لینزولید[3]

هنگام آزمایش لینزولید به روش انتشار از دیسک، بعد از گذشت ۱۸–۱٦ ساعت از زمان گرمخانه‌گذاری در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد، باید هاله مهار رشد را با استفاده از نور عبوری بررسی نمود.

٦.۱.۱۱ مقاومت به موپیروسین[4]

در *استافیلوکوکوس اورئوس*، میزان مقاومت بـه سطح بالای موپیروسین، ممکن‌است افـزایش‌یابد(MIC ≥ ۵۱۲μg/mL). این

1. Population Analysis Profiles
2. Inducible Clindamycin Resistance
3. Linezolid Resistance
4. Mupirocin Resistance

مقاومت، به دلیل وجود ژن پلاسمیدی *mupA* است. مقاومت به سطح بالای موپیروسین با روش روتین انتشار از دیسک یا MIC قابـل شناسایی است. در روش انتشار از دیسک، از دیسک ۲۰۰ میکروگرمی موپیروسین استفاده‌کنید و به‌مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری نمایید. سپس بـا استفاده از نـور عبوری، وجـود هر میزان کدورت یا رشد را به‌دقت بررسی‌کنید.

نبود هاله مهاری = وجود مقاومت به سطح بالای موپیروسین
هر میزان هاله مهار رشد = نبود مقاومت به سطح بالای موپیروسین

در مطالعه‌ای که اخیراً انجام‌شد، اکثر ایزوله‌های *mupA* منفی، با دیسک ۲۰۰ میکروگرمی موپیروسین، هاله رشد بزرگتر از ۱۸mm نشان‌دادند.

در آزمایش رقیق‌سازی در محیط مایع به روش میکرو:

$MIC \geq ۵۱۲\ \mu g/mL$ = مقاومت به سطح بالای موپیروسین، و
$MIC \leq ۲۵٦\mu g/mL$ = نبود مقاومت به سطح بالای موپیروسین

در آزمایش به روش رقیق‌سازی می‌توان تنها از یک چاهک حاوی ۲۵٦µg/mL موپیروسین استفاده‌نمود. در هنگام آزمایش با یک غلظت:

رشد = مقاومت به سطح بالای موپیروسین، و عدم رشد = نبود مقاومت به سطح بالای موپیروسین.

۲.۱۱ انتروکک‌ها[1]

۱.۲.۱۱ مقاومت به پنی‌سیلین / آمپی‌سیلین[2]

انتروکک‌ها ممکن‌است به‌واسطه تولید پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین (PBPs) با میل ترکیبی کم، به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاوم شوند. به ندرت این مقاومت به‌واسطه تولید آنزیم بتالاکتاماز است. هر یک از روش‌های رقیق‌سازی در محیط‌های جامد یا مایع، به‌طور صحیح ایزوله‌های دارای PBPs[3] تغییریافته را تشخیص‌می‌دهند، اما روش مطمئنی برای تشخیص ایزوله‌های مولد بتالاکتاماز نیستند. سویه‌هایی نادری از انتروکک را که مولد بتالاکتاماز هستند، می‌توان با آزمایش بتالاکتاماز مستقیم، با پایه نیتروسفین(بـه بند ۲.۱۳ مـراجعه‌شود) بهتر تشخیص‌داد. آزمـایش بتالاکتاماز مثبت، نشانگر مقـاومت نسبت به پنی‌سیلین، آمینو- کربوکسی ـ و اورئیدوپنی‌سیلین‌ها(ureidopenicillins) است.

سویه‌هایی از انتروکک با$MICs \geq ۱٦\mu g/mL$ برای آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین، به‌عنوان مقاوم طبقه‌بندی می‌شوند. با این حال، انتروکک‌هایی با سطح پایین مقاومت به پنی‌سیلین($MIC \leq ٦٤\mu g/mL$) یا آمپی‌سیلین ($MIC \leq ۳۲\mu g/mL$) ممکن‌است درصورت استفاده از دوز بالای پنی‌سیلین، به اثرات هم‌افزایی کشنده این پنی‌سیلین‌ها همراه با جنتامایسین یا استرپتومایسین(در نبود مقاومت به سطح بالای جنتامایسین یا استرپتومایسین) حساس باشد. انتروکک‌هایی که به سطوح بالاتر پنی‌سیلین ($MIC \geq ۱۲۸\mu g/mL$) یا آمپی‌سیلین($MIC \geq ٦٤\mu g/mL$) مقاومت دارند، ممکن‌است به اثر هم‌افزایی حساس نباشند. درخواست پزشکان بـرای تـعیین MIC واقعی پنی‌سیلین یـا آمپی‌سیلین برای ایزوله‌های انتروکک جداشده از نمونه‌های خون و مایع مغزی ـ نخاعی را باید مورد توجه قرارداد.

۲.۲.۱۱ مقاومت به وانکومایسین[4]

برای شناسایی صحیح انتروکک‌های مقاوم به وانکومایسین(VRE) با روش‌های رقیق‌سازی در محیط‌های جامد یا مایع، قبل از بررسی دقیق ظروف پتری، لوله‌ها یا چاهک‌ها از نظر وجود رشد خفیف و گزارش سویه به‌عنوان حساس، آزمایش را باید به‌مدت

1. Enterococci
2. Penicillin/Ampicillin Resistance
3. Penicillin-Binding Proteins
4. Vancomycin Resistance

۲٤ ساعت تمام(به‌جای ۲۰-۱٦ ساعت) گرمخانه‌گذاری نمود. همچنین از روش غربالگری وانکومایسین آگار به شیوه‌ای که در ذیل و در پیوست D از سند M100 توضیح‌داده شده‌است، می‌توان استفاده‌نمود.

۳.۲.۱۱ آزمایش غربالگری وانکومایسین آگار[1]

علاوه‌بر روش‌های رقیق‌سازی که در بالا توضیح داده‌شد، می‌توان از روش غربالگری وانکومایسین آگار برای تشخیص انتروکک‌های مقاوم به وانکومایسین استفاده‌کرد. آزمایش را طبق روش ذیل با تلقیح ایزوله انتروکک روی BHI آگار که به آن ٦µg/mL وانکومایسین اضافه‌شده، انجام‌دهید.

۱. نظیر روش‌های تعیین MIC یا انتشار از دیسک، کدورت سوسپانسیون میکروبی را با روش مستقیم از کلنی(DCS)، معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تهیه‌نمایید.
۲. ظرف پتری را با استفاده از لوپ ۱ یا ۱۰ میکرولیتری یا سواب، تلقیح نمایید.
الف) با استفاده از لوپ، نمونه را در ناحیه‌ای به قطر ۱۵mm-۱۰ از سطح محیط آگار کشت دهید.
ب) درصورت استفاده از سواب، مانند روش انتشار از دیسک، لکه‌ای به قطر ۱۵mm-۱۰ را کشت دهید.
۳. ظرف پتری را در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد، در هوای معمولی و به‌مدت ۲٤ ساعت تمام گرمخانه‌گذاری کنید. با استفاده از نور عبوری، هر نوع رشد شامل کلنی‌های کوچک(بیش از یک کلنی) یا لایه‌ای از رشد، نشان‌دهندهٔ مقاومت به وانکومایسین است(پیوست D در سند M100 را ملاحظه نمایید).
٤. برای کنترل کیفیت(QC)، از سویه‌های ذیل استفاده‌کنید:
- *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 29212 (حساس به وانکومایسین)- شاهد منفی؛
- *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 51299 (مقاوم به وانکومایسین)- شاهد مثبت.

۵. از ظروف پتری بعد از گرمخانه‌گذاری، مجدداً استفاده‌نکنید.

٤.۲.۱۱ سطح بالای مقاومت به آمینوگلیکوزید[2]

سطح بالای مقاومت به جنتامایسین[3] و/ یا استرپتومایسین نشان‌دهندهٔ این است که ایزوله‌های انتروکک با اثر هم‌افزایی ترکیبی از آمینوگلیکوزید و پنی‌سیلین از بین نمی‌روند. آزمایش با غلظت‌های زیاد جنتامایسین(۵۰۰µg/mL) و استرپتومایسین (۱۰۰۰µg/mL) در روش رقیق‌سازی در محیط مایع به روش میکرو؛ ۲۰۰۰µg/mL در محیط جامد) در محیط‌های جامد یا مایع را می‌توان برای غربالگری این نوع مقاومت استفاده‌کرد(پیوست D در سند M100 را ملاحظه نمایید). کنترل کیفیت این آزمایش‌ها در پیوست D از سند M100 توضیح‌داده شده‌است. نیازی به آزمایش سایر آمینوگلیکوزیدها نیست، چون فعالیت آنها در برابر انتروکک‌ها مزیتی به جنتامایسین یا استرپتومایسین ندارد.

۳.۱۱ مقاومت ناشی از بتالاکتاماز در باسیل‌های گرم منفی[4]

۱.۳.۱۱ سابقه[5]

مکانیسم اصلی مقاومت باسیل‌های گرم منفی به عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است. انواع مختلفی از آنزیم‌ها گزارش شده‌اند. این آنزیم‌ها را می‌توان در کلاس‌های مولکولی A، B، C و یا D تقسیم‌بندی کرد.

Class	Active site	Examples
A	Serine	TEM-1, SHV-1, KPCs, and most ESBLs including CTX-M-1
B	Zinc	Metalloenzymes; VIM, IMP, SPM
C	Serine	AmpC
D	Serine	OXA

1. Vancomycin Agar Screen
2. High-Level Aminoglycoside Resistance
۳. لازم به ذکر است که جنتامایسین‌های معمول مورد استفاده در آزمایشگاه‌ها دارای غلظت کم هستند و برای انجام این آزمایش مناسب نیستند.
4. β-Lactamase-Mediated Resistance in Gram-Negative Bacilli
5. Background

۲.۳.۱۱ بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و آنزیم‌های AmpC کدشده توسط پلاسمید[1]

بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف(ESBLs) آنزیم‌هایی هستند که ممکن‌است به‌واسطه موتاسیون در ژن‌های وابسته به پلاسمیدهای مولد بتالاکتامازهای شایع مانند TEM-1, SHV-1 و OXA-10 به‌وجود آیند، یا ممکن‌است به‌واسطه آنزیم‌های طبیعی مانند CTX-M β-lactamases باشد. یک آنزیم طبیعی مشابه که در *کلبسیلا اکسی‌توکا* وجوددارد(OXY یا K1)، درصورت بیان بیش از حد، به‌عنوان یک ESBL عمل‌می‌کند. آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف می‌توانند موجب مقاومت *کلبسیلا پنومونیه*، *کلبسیلا اکسی توکا*، *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و سایر باسیل‌های گرم منفی خانواده *انتروباکتریاسه* در مقابل پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها(cephalosporins) و آزترئونام(aztreonam) گردند.

آنزیم‌های شبه AmpC که توسط پلاسمید کد می‌شوند، الگویی مشابه ESBLها دارند که منجر به کاهش حساسیت به پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و آزترئونام و همچنین سفامایسین‌ها می‌شود. چون این آنزیم‌ها به‌وسیله پلاسمیدها حمل می‌شوند، بین باکتری‌ها قابل انتقالند. اگرچه آنزیم‌های AmpC با واسطه پلاسمید از آنزیم‌های کروموزومی طبیعی در سایر باکتری‌ها منشأ گرفتند(بند ۱.٤.۳.۱۱ را ملاحظه نمایید)، اما اساساً در *کلبسیلا پنومونیه* و *اشریشیا کلی* یافت شدند. برخلاف ESBLها، این آنزیم‌ها توسط کلاولانیک اسید مهار نمی‌شوند.

تعدادی از *انتروباکتریاسه* که دارای آنزیم‌های ESBL یا شبه AmpC هستند، در مقابل بعضی از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف یا آزترئونام، MIC بیشتر از جمعیت حساس طبیعی نشان‌می‌دهند. ولی این MIC کمتر از نقاط انفصال حساسیت تعیین شده‌ای است که پیش از ظهور ESBL ها در دهه ۱۹۸۰ تعیین شده بود. پیوست A در سند M100 آزمایشی را توصیف می‌کند که برای غربالگری ESBL در *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *کلبسیلا اکسی توکا* و *پروتئوس میرابیلیس* به‌کار می‌رود.

تقریباً در تمام سویه‌هایی که آنزیم‌های ESBL نوع TEM, SHV, CTX-M و OXY را بیان‌می‌کنند، میزان MIC برای یک یا چند سفالوسپورین وسیع‌الطیف یا آزترئونام در حضور کلاولانیک اسید، باید کاهش‌یابد(برای روش‌ها، پیوست A در سند M100 را ملاحظه‌نمایید). در سویه‌های دارای بتالاکتاماز شبه AmpC که توسط پلاسمید کد می‌شوند، میزان MIC در ترکیب با کلاولانیک اسید کاهش‌نمی‌یابد، از این‌رو در آزمایش غربالگری اولیه، مثبت اما در آزمایش تأییدی فنوتیپی منفی هستند. درحال حاضر آزمایش‌های معتبر فنوتیپی برای تأیید وجود بتالاکتاماز شبه AmpC که توسط پلاسمید کد می‌شوند، وجودندارد. سویه‌های حامل ESBL و بتالاکتاماز شبه AmpC که توسط پلاسمید کد می‌شوند، در برخی نواحی جغرافیایی شایع هستند و کارایی آزمایش‌های غربالگری و تأییدی، در تشخیص آنها غیرقابل پیش‌بینی است. زیرکمیته CLSI معتقد است که نهایتاً بازنگری در تعیین نقاط انفصال حساسیت برای داروهایی که تحت تأثیر مجموعه این آنزیم‌ها قرارمی‌گیرند، بهترین رویکرد برای تهیه راهنما به‌منظور درمان سویه‌هایی است که حاوی این آنزیم‌ها می‌باشند(به سند M100-S21 مراجعه‌شود). برای توصیه‌هایی که درحال حاضر درخصوص آزمایش و گزارش استفاده‌می‌شود، پیوست A و جدول 1 از سند M100 را ملاحظه کنید.

۳.۳.۱۱ کاربا‌پنمازهای *کلبسیلا پنومونیه*[2]

برای توصیه‌هایی که درحال حاضر درخصوص آزمایش و گزارش *انتروباکتریاسه* مقاوم به کاربا‌پنم استفاده‌می‌شود، به پیوست G و جدول‌های 2A و 1 در سند M100 مراجعه‌کنید.

٤.۳.۱۱ انواع دیگر مقاومت به‌واسطه بتالاکتاماز در باسیل‌های گرم منفی[3]

۱.٤.۳.۱۱ بتالاکتامازهای AmpC درگونه‌های *انتروباکتر*، *سیتروباکتر* و *سراشیا*

(AmpC β- Lactamases in *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* species)

بتالاکتامازهای AmpC، آنزیم‌های کروموزومی هستند که در *انتروباکتر*، *سیتروباکتر*، *سراشیا* و برخی از دیگر گونه‌های گرم منفی پیدا شدند. این آنزیم‌ها به مهارکننده‌های بتالاکتاماز، که درحال حاضر استفاده بالینی دارند، مقاوم هستند. آنزیم‌های AmpC

1. Extended-Spectrum β-Lactamases and Plasmid-Encoded AmpC Enzymes
2. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases
3. Other β-Lactamase-Mediated Resistance in Gram-Negative Bacilli

معمولاً در مقادیر اندک بیان می‌شوند، اما تولید مقادیر زیادتری از این آنزیم‌ها می‌تواند به وسیله پنی‌سیلین‌ها، کارباپنم‌ها و برخی از سفم‌ها نظیر سفوکسیتین القا شود. سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف(زیرگروه‌های ۳ و ٤ سفالوسپورین) آنزیم‌های AmpC را القا نمی‌کنند، اما می‌توانند به وسیله آنها به‌آرامی هیدرولیز شوند، و هرچند که سفپیم به‌ویژه به هیدرولیز با آنزیم AmpC مقاوم است؛ با این حال، این داروها را می‌توان برای سویه‌های جهش‌یافته‌ای که به‌طور ثابت فعالیت آنزیمی آنها سرکوب شده‌است و می‌توانند در حین درمان ظهور پیدا کنند، گزینش نمود. از آزمایش مقاومت به سفوکسیتین و سفوتتان(cefotetan) می‌توان به‌عنوان آزمایش شناسایی باکتری‌های تولیدکننده AmpC استفاده‌کرد. به‌علاوه، جهش در پورین همراه با تولید AmpC، باعث مقاومت به کارباپنم‌ها در آزمایش تعیین حساسیت می‌شود.

۲.٤.۳.۱۱ متالوبتالاکتامازها(Metallo-β-lactamases)

متالوبتالاکتامازها، کارباپنمازهایی هستند که برای فعالیت نیاز به روی(Zinc) دارند و توسط موادی نظیر اتیلن دیامین ترا استیک اسید(EDTA) که به روی وصل می‌شود، مهار می‌گردند. *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا*، *باسیلوس آنتراسیس* و برخی از سویه‌های *باکتروئیدس فراژیلیس*، متالوبتالاکتاماز کروموزومی تولیدمی‌کنند. سایر متالوآنزیم‌ها ممکن‌است روی عناصر ژنتیکی متحرک حمل گردند و می‌توانند در گونه‌های *اسینتوباکتر*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سراشیا مارسسنس* و *کلبسیلا پنومونیه* رخ دهند.

٤.۱۱ *استرپتوکوکوس پنومونیه*[1]

۱.٤.۱۱ پنی‌سیلین و مقاومت به نسل سوم سفالوسپورین‌ها[2]

در سویه‌های *استرپتوکوکوس پنومونیه* جداشده از نمونه مایع مغزی ـ نخاعی(CSF)، پنی‌سیلین و سفوتاکسیم یا سفتریاکسون یا مروپنم باید با استفاده از یک روش معتبر تعیین MIC آزمایش و گزارش شوند.

این سویه‌ها باید در مقابل وانکومایسین با استفاده از روش تعیین MIC یا انتشار از دیسک هم آزمایش شوند. برای گزارش پنی‌سیلین‌ها و نسل سوم سفالوسپورین‌ها از جدول 2G در سند M100 استفاده‌کنید. زیرا، لازم است براساس محل عفونت و فرمولاسیون پنی‌سیلین مورد استفاده در درمان از معیارهای تفسیری اختصاصی استفاده‌نمود. در جدول 2G از سند M100، نقاط انفصال برای درمان وریدی پنی‌سیلین در منتژیت و عفونت‌های غیر از منتژیت فهرست شده‌اند. برای درمان عفونت‌هایی که شدت آنها کمتر است، نقاط انفصال جداگانه‌ای برای پنی‌سیلین خوراکی ارائه شده‌است.

برای درمان عفونت‌های پنوموککی می‌توان از آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفوروکسیم، ارتاپنم، ایمی‌پنم و مروپنم استفاده‌کرد، هرچند که هنوز آزمایش‌های تعیین حساسیت معتبری به روش انتشار از دیسک وجودندارد. فعالیت این عوامل ضدمیکروبی در شرایط *In vitro*، با استفاده از یک روش MIC بهتر تعیین‌می‌شود.

۱۲. مقاومت القایی به کلیندامایسین[3]

مقاومت در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی و سویه‌های استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک مقاوم به ماکرولید(مانند اریترومایسین) می‌تواند به‌علت مقاومت ساختمانی یا مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین بیان‌شوند (متیلاسیون 23S rRNA که توسط ژن‌های *erm* کد می‌شود، به‌عنوان MLS [مقاومت به گروه ماکرولید، لینکوزامید و تیپ B استرپتوگرامین] درنظر گرفته‌می‌شود). این مقاومت ممکن‌است تنها نسبت به ماکرولید باشد(مکانیسم انتشار به خارج توسط ژن *msrA* در استافیلوکک‌ها و یا ژن *mef* در استرپتوکک‌ها کد می‌شود). برای تمام استافیلوکک‌ها و استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک، مقاومت القایی به کلیندامایسین را می‌توان با قراردادن دیسک‌های کلیندامایسین و اریترومایسین نزدیک به‌هم، به

1. *Streptococcus pneumoniae*
2. Penicillin and Third-Generation Cephalosporin Resistance
3. Inducible Clindamycin Resistance

روش انتشار از دیسک آزمایش کرد. برای استافیلوکک‌ها می‌توان از روش‌رقیق‌سازی در محیط مایع به‌روش میکرو به‌صورت تک‌چاهکی نیز استفاده‌نمود(بند ۱۳ در سند CLSI M07 را ملاحظه نمایید).

این آزمایش در روش روتین انتشار از دیسک، با قراردادن دیسک ۲ میکروگرمی کلیندامایسین در نزدیکی لبه دیسک ۱۵ میکروگرمی اریترومایسین انجام‌می‌شود. فاصله این دو دیسک برای استافیلوکک‌ها ۱۵–۲۶mm و برای استرپتوکک‌ها ۱۲mm است. صاف و بدون انحناء شدن لبه هاله کلیندامایسین در مجاورت دیسک اریترومایسین(که به آن D-Zone گفته‌می‌شود) بر مقاومت القایی کلیندامایسین دلالت دارد. درصورتی که لبه هاله کلیندامایسین صاف و بدون انحنا نشود، نتیجه را همانگونه که خوانده‌می‌شود، گزارش کنید(حساس یا حساس بینابینی به کلیندامایسین). آزمایشگاه‌هایی که به‌طور روتین آزمایش انتشار از دیسک را انجام‌نمی‌دهند(فقط از روش تعیین MIC استفاده‌می‌کنند)، می‌توانند این آزمایش را روی محیط آگار خوندار استاندارد که برای کنترل خلوص مایه میکروبی استفاده‌می‌شود، انجام‌دهند(بند ٤.١٠ در سند CLSI M07 را ملاحظه نمایید).

صاف‌شدن لبه هاله کلیندامایسین در مجاورت دیسک اریترومایسین(که به آن D-Zone گفته‌می‌شود) بر مقاومت القایی کلیندامایسین دلالت دارد. چنین ایزوله‌هایی را به‌عنوان «مقاوم به کلیندامایسین» گزارش نمایید. ارگانیسم‌هایی که در سراسر منطقه مهار رشد در اطراف دیسک کلیندامایسین رشد غیرواضح یا نامشخص نشان‌می‌دهند، صرف‌نظر از ظهور یا عدم ظهور منطقه D، باید به‌عنوان مقاوم به کلیندامایسین گزارش شوند. برای ایزوله‌هایی که مقاومت القایی به کلیندامایسین نشان‌می‌دهند، توضیح ذیل را می‌توان در گزارش بیمار گنجانید:

> «این ایزوله براساس مشاهده مقاومت القایی، به کلیندامایسین مقاوم درنظر گرفته‌می‌شود. کلیندامایسین هنوز ممکن‌است در بعضی از بیماران مؤثر باشد».

توصیه‌های کنترل کیفیت و آخرین توصیه‌های به‌روز شده، در جدول‌های 2C، 2H-1، 2H-2، 3، 3A، و پیوست‌های B و C از سند M100 آورده‌شده‌اند.

۱۳. آزمایش‌های بتالاکتاماز[1]

۱.۱۳ هدف[2]

در بعضی از باکتری‌ها مانند *هموفیلوس انفلوانزا*، *نیسریا گونوره* و *موراکسلا کاتارالیس*، استفاده از آزمایش تشخیص سریع بتالاکتاماز می‌تواند نتایج سریع‌تری نسبت به روش انتشار از دیسک به‌دست دهد. آزمایش بتالاکتاماز، تنها آزمایش مطمئن برای تشخیص سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز در گونه‌های انتروکک می‌باشد.

آزمایش بتالاکتاماز مثبت موارد ذیل را پیشگویی می‌کند:

- مقاومت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین در بین ایزوله‌های گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا گونوره* و *موراکسلا کاتارالیس*
- مقاومت به پنی‌سیلین و آمینو ـ کربوکسی ـ اورئیدوپنی‌سیلین در بین استافیلوکک‌ها و انتروکک‌ها.

آزمایش بتالاکتاماز منفی مقاومت به عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام با سایر مکانیسم‌های مقاومت را نشان‌نمی‌دهد. از آزمایش بتالاکتاماز برای خانواده انتروباکتریاسه، گونه‌های *سودوموناس* و سایر باسیل‌های گرم منفی هوازی استفاده‌نکنید. زیرا حساسیت یا مقاومت به اغلب بتالاکتام‌ها که در درمان این دسته از باکتری‌ها به‌کار می‌روند، با این روش قابل پیش‌بینی نمی‌باشد.

۲.۱۳ انتخاب آزمایش بتالاکتاماز[3]

آزمایش‌هایی که با پایه نیتروسفین هستند برای آزمایش گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا گونوره*، *موراکسلا کاتارالیس*، استافیلوکک‌ها و انتروکک‌ها ارجح می‌باشند. آزمایش بتالاکتاماز با روش اسیدی‌متری معمولاً نتایج قابل قبولی با گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا گونوره*

1. β-Lactamase Tests
2. Purpose
3. Selecting a β-Lactamase Test

و استافیلوکک‌ها می‌دهد. آزمایش‌های یدومتری می‌تواند برای *نیسریا گونوره* به‌کار رود، ولی برای *موراکسلا کاتارالیس* فقط باید آزمایش‌های بر پایه نیتروسفین استفاده‌شود. شناسایی دقیق بتالاکتامازها در استافیلوکک‌ها ممکن‌است نیاز به القای آنزیم و گرمخانه‌گذاری به‌مدت یک ساعت داشته‌باشد. این القا را می‌توان به‌آسانی با آزمایش سویه‌هایی انجام‌داد که در لبه هاله عدم رشد دیسک اگزاسیلین و سفوکسیتین رشد کرده‌اند. در این آزمایش باید دقت کرد که هم‌زمان با آزمایش ایزوله‌های بالینی از سویه‌های شاهد مثبت و منفی برای کنترل کیفی استفاده‌نمود(توصیه‌های تولیدکننده را ملاحظه نمایید).

۱۴. تفسیر نتایج آزمایش انتشار از دیسک[1]

۱.۱۴ استانداردهای تفسیر قطر هاله عدم رشد[2]

معیارهای تفسیر قطر هاله عدم رشد برای تقسیم‌بندی حساسیت باکتری‌ها در مقابل عوامل ضدمیکروبی مختلف در جدول‌های 2A تا 2J سند M100 نشان‌داده شده‌است. برای بیشتر عوامل ضدمیکروبی، این معیارها براساس مقایسه قطر هاله عدم رشد و MIC تعداد زیادی از ایزوله‌های جداشده به‌دست آمده‌است. تعدادی از این ایزوله‌ها، مکانیسم‌های مشخصی از مقاومت در برابر عوامل ضدمیکروبی داشته‌اند. همچنین MIC و قطر هاله عدم رشد در ارتباط با فارموکوکینتیک رژیم درمانی با دوز معمول آنتی‌بیوتیک تجزیه‌شده، بررسی شده‌است. نهایتاً، درصورت امکان و به‌طور تجربی در شرایط *in vitro* رابطه بین کارایی آنتی‌بیوتیک و میزان مؤثر بودن آن در مهار بیماری‌زاهای خاص مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌است و در سند CLSI M23 آورده شده‌است.

۲.۱۴ معیارهای تفسیر[3]

برای تعاریف طبقه‌بندی‌شده تفسیری حساس، حساس بینابینی، مقاوم و غیرحساس، بند ۱.۴ را ملاحظه نمایید.

۱۵. شیوه‌های کنترل کیفیت و تضمین کیفیت[4]

۱.۱۵ هدف[5]

در آزمایش تعیین حساسیت میکروبی، کنترل کیفیت شامل روال‌هایی برای پایش کارایی تمام مراحل و اجزای آزمایش، جهت اطمینان از نتایج قابل اعتماد است. این منظور با آزمایش سویه‌های کنترلی در مقابل عوامل ضدمیکروبی با حساسیت شناخته‌شده به‌دست می‌آید، اما به آن محدود نمی‌شود. اهداف برنامه کنترل کیفیت، پایش موارد ذیل است:

- دقت(تکرارپذیری) و صحت روش سنجش حساسیت.
- کارایی موادی که در آزمایش استفاده‌می‌شوند.
- کارایی افرادی که آزمایش را انجام‌داده و نتایج را می‌خوانند.

یک برنامه تضمین کیفیت جامع به کسب اطمینان از مواد و روش‌هایی که به‌طور مداوم نتایج با کیفیت تولیدمی‌کنند، کمک‌می‌کند. تضمین کیفیت شامل پایش، ارزیابی، انجام اقدامات اصلاحی(درصورت لزوم)، نگهداری نتایج، کالیبراسیون و نگهداری تجهیزات، مهارت‌سنجی، آموزش و کنترل کیفیت است، اما به این موارد محدود نمی‌شود.

۲.۱۵ مسئولیت‌ها در کنترل کیفیت[6]

آزمایشگاه‌های مدرن برای تهیهٔ معرف‌ها، محیط‌های کشت یا سیستم‌های تشخیصی مورد استفاده در انجام آزمایش‌های

1. Interpretation of Disk Diffusion Test Results
2. Zone Diameter Interpretive Standards
3. Interpretive Categories
4. Quality Control and Quality Assurance Procedures
5. Purpose
6. Quality Control Responsibilities

تعیین حساسیت میکروبی، عمدتاً به سازندگان محصولات تشخیصی و دارویی متکی هستند. اگرچه این بخش از سند، صرفاً جهت کاربرد روش‌های مرجع استاندارد منظور شده‌است، اما می‌تواند در سیستم‌های تجاری آزمایش تعیین حساسیت میکروبی در دسترس که به‌طور کامل یا در پـاره‌ای از قسمت‌ها بر این روش‌ها استوارند، نیز کاربرد داشته‌باشد.

تولیدکنندگان و کاربران آزمایش‌های تعیین حساسیت میکروبی، مسئولیت مشتـرکی در ارتباط بـا کیفیت دارند. هدف اولیه از انجام آزمـایش کنترل کیفیت تـوسط تولیدکنندگان(با روش‌های مرجع داخلی یا روش‌های تجاری)، کسب اطمینان از ساخت مناسب محصول(test) است. هدف اولیه از انجام کنترل کیفیت توسط آزمایشگاه‌ها(کاربران)، حصول اطمینان از نگهداری مناسب مواد و تجهیزات و انجام صحیح آزمایش‌ها است.

مسئولیت و پاسخ‌گویی را می‌توان به‌طور منطقی به‌شرح ذیل تقسیم نمود:

- تولیدکنندگان(برای محصولات داخلی یا تجاری)
  - پایداری عوامل ضدمیکروبی
  - برچسب گذاری مواد ضدمیکروبی
  - توان محلول‌های مادر(stock) عوامل ضدمیکروبی
  - تطابق با اصول عملکرد مطلوب ساخت(برای مثال، استانداردهای سیستم کیفیت)
  - سالم و بی‌عیب بودن محصول
  - قابلیت ردیابی و پاسخ‌گویی به گیرندگان محصول
- آزمایشگاه‌ها(کاربران)
  - ذخیره‌سازی در شرایط محیطی توصیه‌شده توسط تولیدکننده(برای جلوگیری از تخریب دارو)
  - مهارت کارکنان انجام‌دهندهٔ آزمایش
  - استفاده از استانداردهای جاری CLSI(یا دستورالعمل‌های تولیدکننده برای استفاده) و تبعیت از روش‌های مصوب (به‌عنوان مثال تهیه مایه‌میکروبی، شرایط گرمخانه‌گذاری، تفسیر نتایج MIC).

تولیدکنندگان باید یک برنامهٔ کنترل کیفیت را طراحی و توصیه‌کنند که به کاربران اجازه‌دهد متغیرهایی(به‌طور مثال غلظت مایه میکروبی، شرایط ارسال/ ذخیره‌سازی) را که در عمل به‌احتمال زیاد مشکل‌ساز خواهندبود، ارزیابی نمایند و مشخص نماید که درصورت استفاده از پروتکل‌های مصوب، عملکرد آزمایش صحیح است.

۳.۱۵ انتخاب سویه‌های کنترل کیفی برای انجام کنترل و تضمین کیفیت[1]

انتخاب سویه‌های کنترلی بـه‌دقت انتخاب‌شـده، بـه میکرب‌شناس این اجـازه را می‌دهـد که آزمایش در محدوده استانداردهای پذیرفته‌شده انجام یافته‌است و بنابراین نتایج آزمایش احتمالاً قابل اطمینان است.

هر سویه کنترلی باید از یک منبع شناخته‌شده(مثلاً ATCC) تهیه‌شود. تمام سویه‌های کنترلی توصیه‌شده توسط CLSI، مناسب برای عوامل ضدمیکروبی و روش مرجع، باید ارزیابی شود و نتایج مورد انتظار براساس روش‌های مشروح در سنـد CLSI M23 ثبت گـردد. کاربران سیستم‌های تجاری باید از تـوصیه‌های کنترلی در دستورالعمل دستگاه تبعیت کنند.

سویه‌های کنترلی و ویژگی‌های آنها در پیوست D شرح‌داده شده‌است. برخی از آنها به‌عنوان سویه‌های کنترل کیفی و بقیه به‌عنوان سویه‌های کنترلی تکمیلی فهرست شده‌اند. این موارد به شرح ذیل مشخص گردیده‌اند:

سویه‌های کنترلی به‌طور منظم آزمایش می‌شوند(مثلاً به‌طور روزانه یا هفتگی) تا از کارکرد فرایند آزمایش و تولید نتایج در محدوده مشخص‌شده در سند M100 اطمینان حاصل شود.

اگر آزمایشگاهی از روش مرجع انتشار از دیسک CLSI، همچنان که در اینجا توضیح داده‌شده، پیروی می‌کند، لازم است از سویه‌های کنترلی توصیه‌شـده در این سند استفاده‌نماید. در سیستم‌های تجاری آزمایش تعیین حساسیت، در تمام روش‌های کنترل کیفی، تبعیت از توصیه‌های تولیدکننده الزامی است.

1. Selection of Quality Strains for Quality Control and Quality Assurance

سویه‌های کنترلی تکمیلی برای ارزیابی ویژگی خاصی از یک آزمایش یا سیستم‌های آزمایش تعیین حساسیت در شرایط انتخابی مورد استفاده قرارمی گیرند، یاممکن‌است معرف سویه‌های کنترلی جانشین باشند. برای مثال *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 از *Haemophilus influenzae* ATCC 49247 یا *Haemophilus influenzae* ATCC 49766 پرنیازتر است و برای حصول اطمینان از این که محیط HTM توان کافی برای حمایت از رشد ایزوله‌های بالینی *هموفیلوس انفلوانزا* و *هموفیلوس پاراانفلوانزا* را دارد، به‌کار می‌رود. سویه‌های کنترلی تکمیلی ممکن‌است ویژگی‌های حساسیتی یا مقاومتی خاص به یک یا تعداد بیشتری آزمایش‌های اختصاصی فهرست‌شده در M02 و M07 را دارا باشند. از آنها می‌توان جهت ارزیابی یک آزمایش تازه، برای آموزش کارکنان جدید، برای ارزیابی صلاحیت و موارد دیگر بهره برد. قراردادن سویه‌های کنترلی تکمیلی در برنامه‌های روتین کنترل کیفی هفتگی یا روزانه آزمایش تعیین حساسیت ضروری نیست.

نتایج کنترل کیفیت مورد انتظار برای هر کدام از عوامل ضدمیکروبی و آزمایش‌های جدول‌های 3 و 3A در سند M100 فهرست شده‌اند.

٤.١٥ نگهداری و آزمایش سویه‌های کنترل کیفیت[1]

- سویه‌های کنترل کیفی را با روش استاندارد انتشار از دیسک و با همان مواد و روش‌های مورد استفاده برای ایزوله‌های بالینی آزمایش کنید.
- لازم است با ذخیره‌سازی و نگهداری صحیح ارگانیسم، از کارایی قابل قبول سویه‌های کنترلی اطمینان حاصل شود(به پیوست E نیز مراجعه‌شود).

— برای نگهداری طولانی‌مدت کشت‌های ذخیره، از دمای ۲۰- یا پایین‌تر(ترجیحاً ٦٠- یا کمتر یا در نیتروژن مایع) با یک تثبیت‌کننده مناسب(مانند سرم جنین گاوی ۵۰٪ در محیط مایع، Tryptic Soy Broth حاوی ۱۵٪-۱۰٪ گلیسرول، خون گوسفندی دفیبرینه شده یا Skim milk) یا روش لیوفیلیزاسیون استفاده‌کنید.

— سویه‌های ذخیره منجمدشده یا لیوفیلیزه را روی محیط کشت مناسب(مثلاً TSA یا آگار خون‌دار برای سویه‌های کم‌نیاز یا شکلات آگار غنی‌شده یا آگار خون‌دار غنی‌شده برای سویه‌های پرنیاز) کشت مجدد دهید و در شرایط مناسب برای ارگانیسم گرمخانه‌گذاری نمایید(کشت مجدد اولیه). کشت‌های منجمدشده یا لیوفیلیزه را قبل از استفاده در آزمایش‌ها، دو بار کشت مجدد دهید. کشت مجدد دوم، به‌عنوان کشت کاری روز اول محسوب می‌گردد.

— کشت‌های مجدد را در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد یا در شرایط متناسب با نوع ارگانیسم نگهداری نمایید.

— کشت‌های کاری را ازطریق کشت مجدد سویه‌های کنترلی روی محیط آگار، به‌منظور به‌دست آوردن کلنی‌های ایزوله برای انجام آزمایش تهیه‌نمایید. هر روز یک کشت کاری تازه تهیه‌کنید.

— برای به‌دست آوردن کشت‌های کاری، هر هفته کشت مجدد تازه تهیه‌نمایید(برای مثال کشت‌های کاری را از همان کشت مجدد تا هفت روز تهیه نمایید، سپس در روز هشتم، کشت مجدد تازه فراهم کنید).

— حداقل ماهی یکبار یک کشت مجدد اولیه تازه از کشت‌های منجمدشده، لیوفیلیزه یا کشت‌های تجاری تهیه کنید(کشت‌های مجدد هفتگی برای بیش از ۳ هفته متوالی استفاده‌نشود). برای نتایج بهتر، ممکن‌است برخی سویه‌ها نیاز به تهیه کشت‌های مجدد جدید به دفعات بیشتر(مثلاً دو هفته یکبار) داشته‌باشند.

- اگر نتایج غیرمنتظره دلالت بر تغییر در حساسیت ذاتی ارگانیسم نماید، کشت مجدد اولیه جدید یا کشت کاری تهیه‌کنید، یا آن که از کشت‌های ذخیره تازه سویه‌های کنترل کیفی استفاده‌کنید(برای کسب اطلاعات بیشتر به بند ۸.۱۵ مراجعه‌شود).

۵.۱۵ کنترل کیفیت بهر(Batch) یا سری ساخت[2]

۱. هر بهر یا سری ساخت جدید از دیسک‌ها یا محیط‌های جامد را با سویه‌های کنترلی مناسب آزمایش کنید تا از قرارگرفتن

1. Storing and Testing Quality Control Strains
2. Batch or Lot Quality Control

اندازه قطر هاله‌ها در محدوده مورد انتظار اطمینان حاصل نمایید(جدول 3 در سند M100)؛ در غیر این صورت بهر یا سری ساخت مورد نظر باید عودت داده‌شود.

۲. برای تأیید عدم آلودگی محیط کشت، حداقل یک ظرف پتری تلقیح‌نشده از هر بهر یا سری ساخت را به‌مدت یک شب گرمخانه‌گذاری کنید.

۳. مستندات سری‌های ساخت تمام مواد و معرف‌های مورد مصرف در آزمایش‌های تعیین حساسیت میکروبی باید نگهداری‌شود.

۶.۱۵ محدوده قطر هاله مهار رشد در باکتری‌های کنترل کیفیت[1]

محدوده قطر هاله کنترلی قابل قبول برای یک آزمایش کنترل کیفیت منفرد(در مصرف آنتی‌بیوتیک واحد برای ارگانیسمی خاص) در جدول‌های 3 و 3A در سند M100 فهرست شده‌است.

۷.۱۵ تعداد آزمایش‌های کنترل کیفیت(همچنین به پیوست A و جدول 3B سند M100 مراجعه‌نمایید)[2]

کارکرد کلی مجموعه آزمایش‌ها را با استفاده از محدوده‌های کنترلی با آزمایش سویه‌های کنترلی مناسب در هر روز کاری یا درصورت کارکرد مناسب سیستم(بند ۱.۲.۷.۱۵ را ملاحظه نمایید) به‌طور هفتگی پایش نمایید. هنگامی که آزمایش‌های تعیین حساسیت میکروبی کمتر از یکبار در هفته انجام‌می‌شوند، استفاده از آزمایش کنترل هفتگی شرح داده‌شده در ذیل کاربرد ندارد. درصورتی که یک آنتی‌بیوتیک، کمتر از یکبار در هفته آزمایش شود، انجام آزمایش‌های کنترل کیفیت در هر روز کاری برای آن الزامی است.

۱.۷.۱۵ آزمایش روزانه[3]

زمانی که بیش از ۳ خوانده از ۳۰ نتیجه حاصله در روزهای متوالی برای هر عامل ضدمیکروبی در مقابل باکتری خاص، خارج از محدوده قابل قبول(جدول‌های 3 و 3A موجود در سند M100) نباشد، نتایج کنترل کیفیت رضایت‌بخش است. اگر تعداد خطا از این بیشتر باشد باید اقدام اصلاحی انجام‌شود(بند ۸.۱۵ را ملاحظه نمایید).

۲.۷.۱۵ آزمایش هفتگی[4]

۱.۲.۷.۱۵ نشان‌دهنده رضایت‌مندی از انجام آزمایش‌های کنترل کیفیت برای تبدیل آزمایش‌ها از روزانه به هفتگی (Demonstrating Satisfactory Performance for Conversion from Daily to Weekly Quality Control Testing)

- تمام سویه‌های قابل دسترس را برای ۲۰ یا ۳۰ روز متوالی کاری آزمایش نمایید و نتایج را مستند کنید.
- جهت تغییر انجام آزمایش کنترل کیفیت از روزانه به هفتگی نباید قطر هاله عدم رشد در بیش از ۱ مورد از ۲۰ آزمایش یا ۳ مورد از ۳۰ آزمایش، خارج از محدوده قابل قبول موجود در جدول 3 سند M100 باشد.

۲.۲.۷.۱۵ استقرار آزمایش کنترل کیفیت هفتگی(Implementing Weekly Quality Control Testing)

- کنترل کیفیت هفتگی، زمانی انجام‌می‌گیرد که نتایج رضایت‌بخش باشد(بند ۱.۲.۷.۱۵ را ملاحظه نمایید).
- کنترل کیفیت تا هر زمان که مواد آزمایش عوض نشوند(به‌عنوان مثال هنگامی که قوطی جدیدی از محیط آگار یا دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با سری ساخت یکسان از همان شرکت تهیه‌می‌شود) باید به‌طور هفتگی ادامه‌یابد.
- اگر نتایج هر کدام از آزمایش‌های هفتگی خارج از محدوده باشد، باید اقدام اصلاحی انجام‌شود(بند ۸.۱۵ را ملاحظه نمایید).
- برای راهنمایی درمورد تکرار کنترل کیفیت با مواد جدید یا اصلاحات آزمایش، به جدول 3B سند M100 مراجعه نمایید.

1. Zone Diameter Quality Control Limits
2. Frequency of Quality Control Testing(also refer to Appendix A and M100 Table 3B)
3. Daily Testing
4. Weekly Testing

۸.۱۵ اقدام اصلاحی[1]

۱.۸.۱۵ نتیجه خارج از کنترل به‌دلیل خطای قابل تشخیص[2]

اگر علت نتایج خارج از کنترل، قابل تشخیص است، اقدام اصلاحی انجام‌دهید، آن را مستند کنید و آزمایش را در همان روزی که اشتباه مشاهده شده‌است، تکرار کنید. اگر نتایج تکرارشده در محدودهٔ قابل قبول باشد، اقدام اصلاحی بیشتری لازم نیست. اگر به وجود مشکل در ارتباط با سویه کنترلی مشکوک هستید یا این مشکل شناسایی شده‌است، یک کشت کاری جدید یا کشت مجدد تازه تهیه‌کنید و آزمایش را هرچه سریع‌تر تکرار نمایید.

راهنمای خطایابی در جدول 3D سند M100، رهنمودی برای خطایابی و انجام اقدامات اصلاحی درخصوص نتایج کنترل کیفیت خارج از محدوده محسوب می‌شود. پاره‌ای از علل نتایج خارج از کنترل، شامل موارد ذیل است، اما به این موارد محدود نمی‌شود:

- سویه کنترلی
  - استفاده از سویه کنترلی اشتباه
  - انبارش نامناسب
  - نگهداری نامناسب(برای مثال، استفاده از یک کشت کاری به‌مدت طولانی‌تر از یک ماه)
  - آلودگی
  - زنده نبودن باکتری‌ها
  - تغییر در ارگانیسم(برای مثال جهش، از دست رفتن پلاسمید)
- ملزومات آزمایش
  - شرایط حمل یا انبارش نامناسب
  - آلودگی
  - استفاده از ظروف پتری معیوب(برای مثال، محیط خیلی ضخیم یا خیلی نازک)
  - استفاده از ظروف پتری آسیب‌دیده(برای مثال، ترک‌خورده)
  - استفاده از مواد تاریخ مصرف گذشته
- مراحل آزمایش
  - استفاده از شرایط یا دمای گرمخانه‌گذاری نادرست.
  - مایه میکروبی به‌طور غیرصحیح تهیه یا تنظیم شده‌باشد.
  - تهیه مایه میکروبی از کلنی‌هایی که مدت گرمخانه‌گذاری آنها مناسب نبوده‌است.
  - مایه میکروبی از کلنی‌هایی تهیه شده‌باشد که روی محیط‌های افتراقی یا انتخابی حاوی عوامل ضدعفونی یا سایر ترکیبات مهارکننده، رشد کرده‌اند.
  - استفاده از دیسک اشتباه.
  - قراردهی ناصحیح دیسک(برای مثال، تماس ناکافی با سطح آگار).
  - قرائت یا تفسیر نتایج آزمایش به‌طور نادرست.
  - خطا در ثبت و انتقال اطلاعات.
- تجهیزات
  - عملکرد نامناسب یا کالیبره نبودن(برای مثال، پیپت‌ها).

1. Corrective Action
2. Out-of-Control Result Due to Identifiable Error

۲.۸.۱۵ نتیجه خارج از کنترل با خطای نامشخص[1]

۱.۲.۸.۱۵ اقدام اصلاحی فوری(Immediate Corrective Action)

اگر علت نتیجه خارج از کنترل را نمی‌توان شناسایی نمود، لازم است اقدام اصلاحی طبق روال ذیل انجام‌پذیرد:

- نتیجه خارج از کنترل را در همان روزی که اشتباه اتفاق افتاده‌است و/ یا به‌محض تهیه یک کشت کاری یا کشت مجدد جدید آزمایش کنید. برای ۵ روز متوالی فرایند را پایش نمایید. همه نتایج را مستند کنید.
  - اگر تمام پنج قطر هاله عدم رشد، در محدوده قابل قبول باشند، همچنان که در جدول 3 سند M100 نشان‌داده شده‌است، اقدام اصلاحی اضافی لازم نیست.
  - اگر هر کدام از پنج قطر هاله عدم رشد، خارج از محدوده باشند، اقدام اصلاحی اضافی لازم است(بند ۲.۲.۸.۱۵ و جدول‌های 3 و 3A در سند M100 را ملاحظه نمایید).
- آزمایش‌های کنترل روزانه باید تا حل مشکل ادامه‌یابد.

۲.۲.۸.۱۵ اقدام اصلاحی اضافی(Additional Corrective Action)

اگر اقدام اصلاحی فوری مشکل را حل نکند، در این حالت احتمال وجود خطای سیستمیک نسبت به خطای اتفاقی بیشتر است. لازم است بررسی بیشتر و اقدام اصلاحی انجام شود. به بند ۱.۸.۱۵ و راهنمای خطایابی جدول 3D در سند M100 مراجعه نمایید.

درصورت لزوم سویه کنترل کیفیت جدید(از ذخیره فریزشده یا از سایر منابع قابل اطمینان) همراه با سری جدیدی از مواد(شامل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند) را درصورت امکان از تولیدکننده‌های متفاوت تهیه‌نمایید. اگر مشکل از تولیدکننده بود، با تولیدکننده تماس بگیرید و مشکل را مطرح‌کنید. ممکن‌است تبادل مواد و سویه‌های کنترل کیفیت با آزمایشگاه‌هایی که از روش مشابه شما استفاده‌می‌کنند، به‌منظور تعیین ریشه علل مشکلات سیستمیک مبهم، کمک‌کننده باشد. تا زمانی که مشکل حل نشود ممکن‌است لازم باشد از روش جایگزین دیگری استفاده‌کنید.

اگر مشکل شناسایی و اصلاح‌شد، برای بازگشت به آزمایش کنترل کیفیت هفتگی، لازم است برای ۵ روز متوالی دیگر، عملکرد مطلوب آزمایش ثبت‌شود. اگر مشکل شناسایی نشود و نتایج بدون هر گونه اقدام اصلاحی خاص، مجدداً در محدوده کنترل قرارگیرد، برای بازگشت به آزمایش کنترل کیفیت هفتگی، لازم است برای ۲۰ یا ۳۰ روز متوالی دیگر، عملکرد مطلوب آزمایش ثبت‌شود(بند ۱.۲.۷.۱۵ را ملاحظه نمایید).

۹.۱۵ گزارش نتایج بیماران زمانی که آزمایش‌ها خارج از کنترل هستند[2]

درصورت حصول نتیجه خارج از محدوده کنترل و یا در مواردی که به اقدام اصلاحی نیاز است، باید برای تصمیم‌گیری درمورد گزارش یا عدم گزارش نتیجهٔ آزمایش، براساس شرایط بیمار و نوع خطا، ارزیابی دقیقی صورت‌بگیرد و درصورت نیاز با پزشک معالج مشورت شود. نکات مورد توجه شامل موارد ذیل است، اما به آنها محدود نمی‌شود:

- اندازه و جهت خطا(برای مثال، افزایش اندک یا بارز اندازه قطر هاله، کاهش اندک یا بارز اندازه قطر هاله)
- آیا نتیجه آزمایش بیمار به نقطه انفصال تفسیری نزدیک است؟
- نتایج با سایر ارگانیسم‌های کنترل کیفیت
- نتایج با سایر عوامل ضدمیکروبی
- آیا سویه کنترل کیفیت/ عامل ضدمیکروبی مورد نظر، نشانگری برای سنجش وضعیت انبارش یا روش انجام آزمایش است(برای مثال، وابسته به شرایط مایه میکروبی، ناپایداری در مقابل گرما)؟ به راهنمای خطایابی جدول 3D در سند M100 مراجعه نمایید.

1. Out-of-Control Result With No Error Identified
2. Reporting Patient Results When Out-of-Control Tests Occur

تا رفع مشکل، موارد ذیل را باید مدنظر قرارداد:

- جلوگیری از گزارش نتایج آنتی‌بیوگرام با دیسک‌های مورد نظر
- مرور نتایج قبلی بیمار
- مرور اطلاعات جمع‌آوری‌شده برای الگوهای غیرمعمول حساسیت و مقاومت در آن آزمایشگاه
- استفاده از روش‌های آزمایش جایگزین
- ارسال نمونه باکتری به آزمایشگاه مرجع

۱۰.۱۵ تأیید نتایج آزمایش بیمار[1]

عوامل مختلفی در آزمایش تعیین حساسیت دخالت دارند که این موارد را می‌توان با رعایت روش‌های کنترل کیفیت توصیه‌شده در این استاندارد ارزیابی کرد. نتایج کنترل کیفیت قابل قبول به‌دست آمده، الزاماً دلیل بر تأیید صحت نتایج آزمایش سویه جداشده از بیمار نمی‌باشد. مرور نتایج آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی این سویه‌ها قبل از گزارش نتایج اهمیت دارد. این بررسی باید حداقل شامل موارد ذیل باشد:

- نتایج سنجش حساسیت ضدمیکروبی، با هویت باکتری جداشده تطابق داشته‌باشد.
- نتایج حاصل از آزمایش یک آنتی‌بیوتیک خاص در گروه خاصی از آنتی‌بیوتیک‌ها از قوانین اثبات‌شده فعالیت نسل‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی پیروی کند(برای مثال، نسل سوم سفالوسپورین‌ها در مقایسه با نسل اول و دوم، روی انتروباکتریاسه مؤثرتر می‌باشند).
- باکتری جداشده، به آنتی‌بیوتیک‌هایی که تاکنون مقاومت به آنها ثابت نشده‌است، حساس باشد(مانند وانکومایسین و استرپتوکک‌ها).

نتایج غیر معمول یا متناقض باید با در نظر گرفتن موارد ذیل بررسی و تأیید گردند:

- بررسی نتایج قبلی آزمایش بیمار(آیا از بیمار قبلاً همان سویه با نتایج آنتی‌بیوگرام غیرمعمول جدا شده‌است؟)
- نتایج قبلی کنترل کیفیت(آیا روند یا مشاهده مشابهی با آزمایش کنترلی اخیر وجوددارد؟)
- مشکلات همراه با مواد، فرایندها یا تجهیزات(بند ۱.۸.۱۵ و راهنمای خطایابی جدول 3D در سند M100 را ملاحظه نمایید).

اگر دلیلی برای نتیجه نامناسب یا متناقض محقق نمی‌شود، آزمایش تعیین حساسیت یا تعیین هویت باکتری و یا هر دو باید تکرار شود. گاهی استفاده از روش جایگزین در تکرار آزمایش مفید خواهدبود. هر آزمایشگاهی باید برای تأیید نتایج غیرمعمول یا متناقض حساسیت ضدمیکروبی، سیاست از پیش تعیین‌شده داشته‌باشد.

۱۱.۱۵ سایر روش‌های کنترلی[2]

۱.۱۱.۱۵ کنترل مایه میکروبی[3]

از اینکه استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تحت کنترل است، به‌طور دوره‌ای اطمینان حاصل نمایید(پیوست B2.1 را ملاحظه نمایید).

۲.۱۱.۱۵ کنترل تفسیر نقطه خوانش(قرائت) [4]

برای کاهش تفاوت در تفسیر اندازه قطر هاله بین کارکنان مختلف، تفسیر نقطه خوانش را به‌طور دوره‌ای پایش نمایید. برای این منظور تمام کارکنان آزمایشگاه که این آزمایش‌ها را انجام‌می‌دهند، باید به‌طور مستقل مجموعه انتخاب‌شده‌ای از آزمایش‌ها را قرائت نمایند، نتایج را ثبت‌کنند و با نتایج یکی از کارکنان با تجربه، یا در موقع استفاده از سویه‌های کنترل کیفیت، با نتایج مورد انتظار جدول‌های 3 و 3A در سند M100 مقایسه نمایند.

1. Verification of Patient Test Results
2. Other Control Procedures
3. Inoculum Control
4. End-point Interpretation Control

۱۶. محدودیت‌های روش انتشار از دیسک[1]

۱.۱۶ کاربرد آزمایش در گروه‌های مختلف باکتری‌ها[2]

روش انتشار از دیسک شرح داده‌شده در این بخش، برای باکتری‌های بیماری زای کم‌نیاز شامل گونه‌های *استافیلوکک*، *انتروکک*، *انتروباکتریاسه*، *سودوموناس آئروژینوزا*، گونه‌های *اسینتوباکتر*، *بورخلدریا سپاشیا* و *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا*، استاندارد شده‌است. این روش برای باکتری‌های پرنیاز، مانند گونه‌های *هموفیلوس*، *نیسریا گونوره*، *نیسریا منتژیتیدیس* و استرپتوکک‌ها اصلاح شده‌است. هنوز برای باکتری‌های خارج از فهرست موجود در جدول‌های 2A تا 2J سند M100 و باکتری‌هایی که در سایر راهنماهای CLSI(مانند CLSI M45) از آنها نام برده نشده‌است، استانداردی تدوین نگردیده‌است. این باکتری‌ها ممکن‌است به محیط‌های کشت مختلف و شرایط گرمخانه‌گذاری خاص نیاز داشته‌باشند، یا شرایط رشد آنها از سویه‌ای به سویه دیگر متفاوت باشد. برای این باکتری‌ها توصیه می‌شود جهت انتخاب آنتی‌بیوتیک‌ها و تفسیر نتایج با یک متخصص عفونی مشورت شود. گزارش‌های چاپ‌شده در مقالات و توصیه‌های جاری ممکن‌است جهت انجام آزمایش این‌گونه باکتری‌ها مفید باشند. اگر آزمایش این باکتری‌ها لازم باشد، مناسب‌ترین راه، استفاده از روش رقیق‌سازی است که برای این منظور می‌توان باکتری را به آزمایشگاه مرجع ارسال نمود.

۲.۱۶ نتایج گمراه‌کننده[3]

استفاده از برخی عوامل ضدمیکروبی برای باکتری‌های خاص و گزارش نتیجه حساسیت می‌تواند نتایج گمراه‌کننده و خطرناکی به‌دنبال داشته‌باشد، مانند:

- نسل اول و دوم سفالوسپورین‌ها، سفامایسین‌ها و آمینوگلیکوزیدها در آزمایش گونه‌های *سالمونلا* و *شیگلا*
- پنی‌سیلین‌ها، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌ها و کارباپنم‌ها در آزمایش گونه‌های استافیلوکک مقاوم به اگزاسیلین
- آمینوگلیکوزیدها(به‌جز غلظت‌های بالا)، سفالوسپورین‌ها، کلیندامایسین و تری‌متوپریم ـ سولفامتوکسازول در مقابل انتروکک‌ها
- پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و آزترئونام در مقابل سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه*، *کلبسیلا اکسی‌توکا*، *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس* مولد ESBL.

۳.۱۶ ظهور مقاومت[4]

درمان‌های طولانی‌مدت با بعضی از عوامل ضدمیکروبی موجب ظهور مقاومت در برابر آنها می‌شود و در نتیجه سویه‌هایی که در ابتدا حساس هستند، ممکن‌است پس از شروع درمان مقاوم گردند. این مقاومت در طی سه الی چهار روز پس از شروع درمان و معمولاً بیشتر در گونه‌های *انتروباکتر*، *سیتروباکتر* و *سراشیا* با نسل سوم سفالوسپورین‌ها، در *سودوموناس آئروژینوزا* با همه عوامل ضدمیکروبی و در استافیلوکک‌ها با کینولون‌ها و با وانکومایسین روی می‌دهد(VISAs).

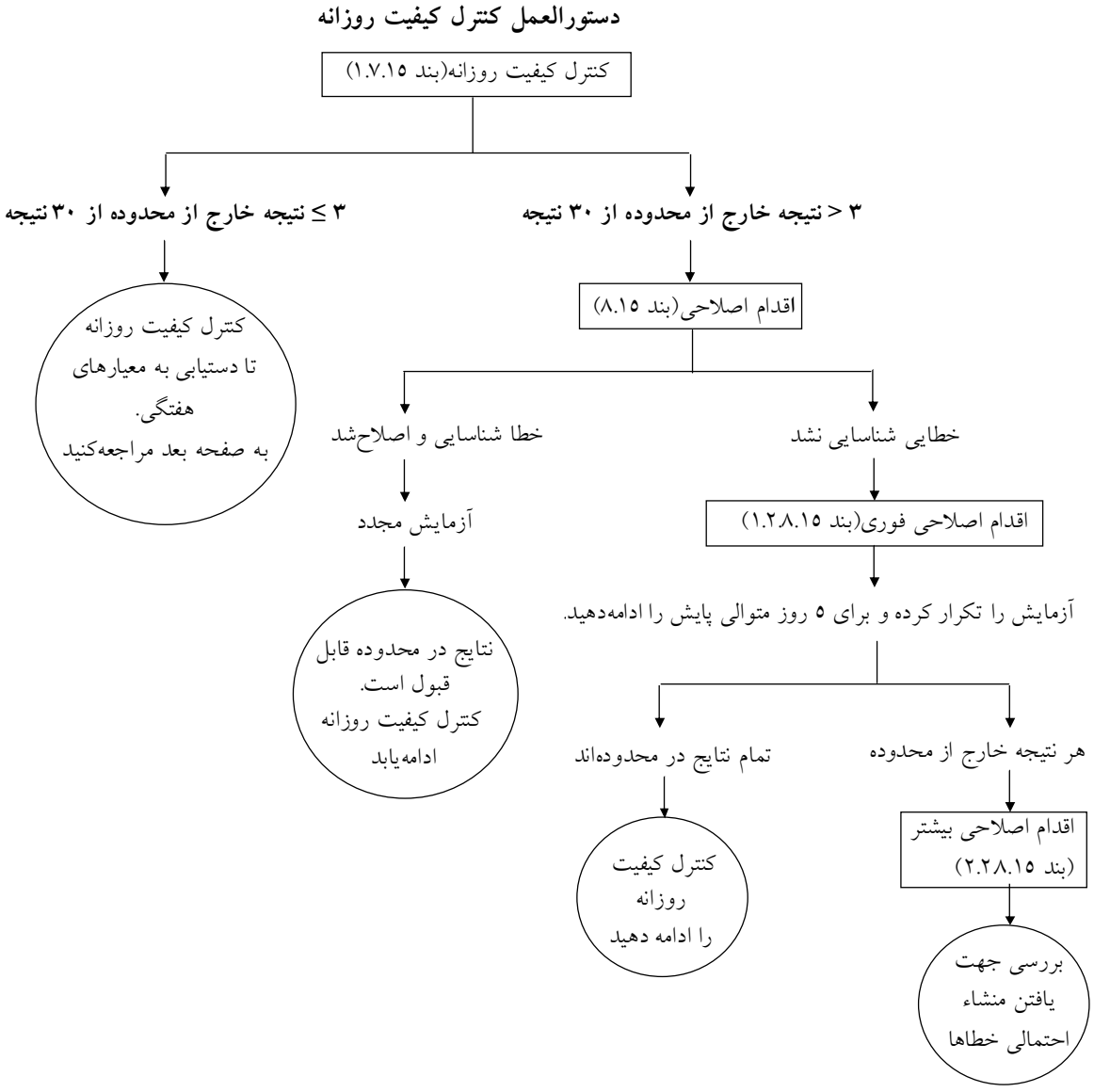
در شرایط خاصی جهت تعیین ظهور مقاومت ممکن‌است تکرار آزمایش زودتر از سه الی چهار روز لازم باشد. تصمیم جهت انجام چنین آزمایشی منوط به داشتن اطلاعات درخصوص شرایط و وخامت حال بیمار است. طی دستورالعمل‌های آزمایشگاهی، زمان تکرار این آزمایش‌ها باید پس از مشورت با پزشک مسئول بیمار مشخص شود.

۱۷. آزمایش‌های غربالگری[5]

جهت تعیین مقاومت‌های مهم بالینی، برای تعیین MRSA و انتروکک‌ها با سطح بالای مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، آزمایش‌های غربالگری، قابلیت اعتماد مشابه با روش‌های استاندارد آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی دارند. در این موارد نیازی به آزمایش‌های تأییدی نمی‌باشد. محدودیت‌های سایر آزمایش‌های غربالگری(برای مثال، بررسی مقاومت وانکومایسین در انتروکک‌ها [پیوست D در سند M100] و در *استافیلوکوکوس اورئوس* [پیوست B در سند M100] و ESBLها در بعضی از *انتروباکتریاسه* [پیوست A در سند M100] و لزوم انجام آزمایش‌های تأییدی در جدول‌های مجزا نشان‌داده شده‌است.

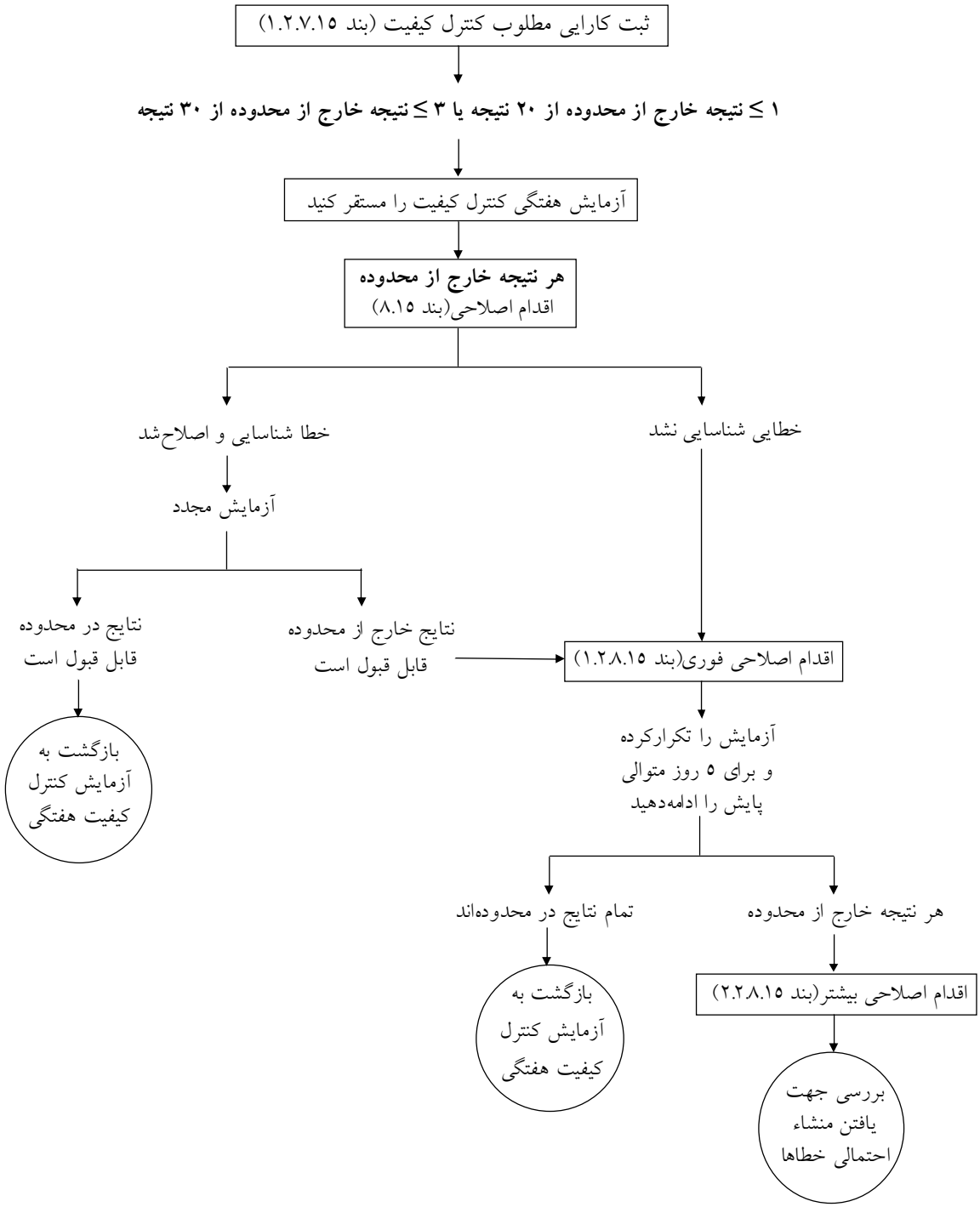
1. Limitations of Disk Diffusion Methods
2. Application to Various Organism Groups
3. Misleading Results 4. Emergence of Resistance 5. Screening Tests

پیوست A نمودارهای جریان کار در پروتکل کنترل کیفیت



پیوست A. (ادامه)

دستورالعمل کنترل کیفیت هفتگی



پیوست B. تهیه محیط‌های کشت و محلول‌ها

B1. محیط‌های جامد

B1.1 مولر هینتون آگار

تهیه محیط مولر هینتون آگار شامل مراحل ذیل است:

۱. محیط مولر هینتون آگار را از محیط پایه تجاری و بر اساس دستورالعمل تولیدکننده تهیه نمایید.

۲. بلافاصله بعد از اتوکلاو، محیط را در بن ماری ۵۰–۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک نمایید.

۳. محیط تازه تهیه‌شده خنک را در ظروف پتری، با کف صاف و جنس شیشه‌ای یا پلاستیکی، بر یک سطح صاف(تراز) قراردهید تا عمق یکنواخت به میزان ٤mm ایجادگردد. این میزان، معادل ۷۰mL–۶۰ محیط برای ظروف پتری با قطر ۱۵۰mm و ۳۰mL–۲۵ برای ظروف پتری با قطر ۱۰۰mm می‌باشد.

٤. اجازه دهید ظروف پتری حاوی محیط جامد در دمای اتاق خنک‌تر شوند و جز مواردی که در همان روز مصرف خواهندشد، بقیه را در یخچال(۸–۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری کنید.

۵. ظروف پتری را طی هفت روز بعد از تهیه استفاده‌کنید. در غیر این صورت، برای آن که خشک‌شدن آگار به حداقل برسد، اقدامات پیشگیرانه کافی، نظیر قراردادن ظروف پتری در کیسه‌های پلاستیکی را انجام‌دهید.

٦. برای ارزیابی عدم آلودگی، لازم است یک نمونه از هر سری ساخت ظروف پتری در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت یا بیشتر گرمخانه‌گذاری شود.

۷. pH محیط تهیه‌شده از هر سری ساخت جدید را ارزیابی کنید. روش مناسب مورد استفاده عمدتاً به نوع pH متر موجود در آزمایشگاه بستگی دارد. pH محیط آگار باید در دمای اتاق بین ۷/٤–۷/۲ باشد. بنابراین، باید بعد از بسته‌شدن آگار اندازه‌گیری شود. اگر pH محیط کمتر از ۷/۲ باشد، برخی داروها توان خود را از دست خواهندداد (مانند آمینوگلیکوزیدها و ماکرولیدها)، درحالی که برخی دیگر فعالیت زیادتری نشان خواهندداد(مانند تتراسایکلین‌ها). اگر pH بیشتر از ۷/٤ باشد، ممکن‌است تأثیرات معکوس ظاهرشود. pH را ازطریق یکی از موارد ذیل کنترل نمایید:

روش اول: روش خیساندن(Macerate): تمام مولر هینتون آگار یک پتری را در ظرفی کوچک کاملاً له کنید. می‌توانید کمی آب مقطر (۳mL–۲) نیز اضافه‌کرده و به‌مدت ۱۰ دقیقه بخیسانید، سپس نوک الکترود pH متر را در این مخلوط غوطه‌ور کنید.

روش دوم: نوک الکترود pH متر را در داخل ارلن کوچکی قراردهید. مقدار اندکی از آگار مذاب را به داخل ارلن ریخته، پس از سفت شدن آگار، pH را اندازه‌گیری نمایید.

روش سوم: از الکترودهای سطحی استفاده‌نمایید.

۸. کاتیون‌های افزودنی کلسیم یا منیزیم را به محیط مولر هینتون آگار اضافه‌نکنید.

B1.2 مولر هینتون آگار + ۵٪ خون گوسفند

۱. طبق روش ذکرشده در بند (۲) B1.1 محیط مولر هینتون آگار را تهیه‌کنید. زمانی که محیط کشت تا دمای ۵۰–۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شد، ۵۰mm خون دفیبرینه گوسفند را به ۱ لیتر مولر هینتون آگار اضافه‌نمایید. روش توصیه‌شده در B1.1 را ادامه‌دهید.

۲. بعد از افزودن خون با رعایت شرایط سترونی به محیط اتوکلاوشده خنک، pH را اندازه گیری نمایید. pH نهایی باید به‌اندازه قبل از افزودن خون و معادل ۷/٤–۷/۲ باشد.

B1.3 آگار GC + ۱٪ فاکتور رشد

۱. به ازای هر لیتر محیط، از ۱٪ فاکتور رشد معین که حاوی ترکیبات ذیل است، استفاده‌کنید:

• L-cystine	1.1 g
• guanine HCl	0.03 g
• thiamine HCl	0.003 g
• p-aminobenzoic acid	0.013 g
• vitamin B12	0.01 g
• thiamine pyrophosphate (cocarboxylase)	0.1 g
• nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)	0.25 g
• adenine	1 g
• L-glutamine	10 g
• glucose	100 g
• ferric nitrate	0.02 g
• L-cysteine HCl	25.9 g

۲. محیط پایه آگار GC را از پایه دهیدراته تجاری و براساس دستورالعمل تولیدکننده تهیه‌نمایید.
۳. بعد از اتوکلاو نمودن، آن را تا دمای ۵۰–۴۵ درجه سانتی‌گراد در بن ماری ۵۰–۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک نمایید.
٤. ۱۰mL از ۱٪ فاکتور رشد معین را به آن اضافه‌نمایید.

B1.4 *هموفیلوس* تست مدیوم (HTM)[1]

HTM به شکل جامد (آگار) حاوی ترکیبات ذیل است:

• MHB	
• β-NAD	15 µg/mL
• bovine or porcine hematin	15 µg/mL
• yeast extract	5 g/L

۱. برای تهیه محلول تازه هماتین مـادر(stock)، در ابتدا ۵۰mg پـودر هماتین را به ۱۰۰mm از ۰/۰۱mol/L NaOH اضافه‌کنید. با استفاده از حرارت و چرخاندن مداوم، از حل شدن آن اطمینان حاصل نمایید.
۲. محلول مادر(stock) NAD را با حل کردن ۵۰mg از پودر NAD در ۱۰mL آب مقطر تهیه کنید. با فیلتر نمودن آن را استریل نمایید.
۳. محیط مولر هینتون آگار را از محیط پایه دهیدراته تجاری و براساس دستورالعمل تولیدکننده تهیه‌نمایید. ۵g عصاره مخمر و ۳۰mL از محلول هماتین مادر را به ۱ لیتر مولر هینتون آگار اضافه‌نمایید.
٤. بعد از اتوکلاو نمودن، آن را تا دمای ۵۰–۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک نمایید.
۵. با رعایت شرایط سترونی ۳mL از محلول ذخیره NAD را به آن اضافه نمایید.
٦. pH نهایی باید بین ۷/٤– ۷/۲ باشد.

Haemophilus influenzae ATCC 10211 به‌عنوان سویه کنترل کیفیت اضافی که برای تأیید خواص افزایش رشد HTM مفید است، توصیه‌می‌شود. به‌ویژه، تولیدکنندگان HTM استفاده از *H. influenzae* ATCC 10211 به‌عنوان سویه آزمایش کنترل کیفیت مکمل را ترغیب می‌نمایند.

1. *Haemophilus* Test Medium

B2. معرف‌ها(مواد)

B2.1 کدورت استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند

۱. محلول مادر(stock) ۰/۰٤۸ مول در لیتر کلرور باریم ($1.175\%\ w/v\ BaCl_2 \cdot 2H_2O$) را تهیه نمایید.
۲. محلول مادر(stock) ۰/۱۸ مول در لیتر (۰/۳٦ N) اسید سولفوریک (1% v/v) را تهیه نمایید.
۳. ۰/۵mm کلرور باریم را درحال هم‌زدن مداوم به ۹۹/۵mm محلول مادر اسید سولفوریک اضافه‌نمایید تا سوسپانسیون تشکیل‌شود.
٤. صحت غلظت سوسپانسیون را از طریق اندازه‌گیری جذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر با طول مسیر ۱cm و کووت همخوان مشخص کنید. جذب نوری سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند در طول موج ٦۲۵ نانومتر باید معادل ۰/۱۳–۰/۰۸ باشد.
۵. سولفات باریم ساخته‌شده را به مقدار ٦mL–٤ در لوله‌های درپیچ‌داری که از لحاظ قطر و اندازه مشابه لوله‌های حاوی سوسپانسیون باکتری خواهدبود، بریزید.
٦. درپوش لوله‌ها را محکم ببندید و با پارافیلم درزگیری(seal) نمایید. آنها را در حرارت اتاق و در پوششی تیره رنگ نگهداری کنید.
۷. قبل از هر بار مصرف، سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند را با استفاده از ورتکس یا با دست به‌شدت تکان‌دهید تا ظاهری یکنواخت پیدا کند. درصورت ظهور ذرات درشت، استاندارد را تعویض کنید. سوسپانسیون تهیه‌شده از ذرات لاتکس را با سر و ته کردن به‌طور آرام، مخلوط‌کنید. از ورتکس کردن آن خودداری نمایید.
۸. لازم است سوسپانسیون به‌طور ماهیانه تعویض شود و یا جذب آن اندازه‌گیری گردد.

استانداردهای مک‌فارلند ساخته‌شده از ذرات لاتکس به‌صورت تجاری نیز موجود می‌باشد. هنگام استفاده، درست قبل از انجام آزمایش باید با سر و ته کردن به‌طور آرام(نه روی ورتکس)، محتویات آنها را مخلوط نمود.

پیوست C. شرایط انجام آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به‌روش انتشار از دیسک

C1. شرایط انجام آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به‌روش انتشار از دیسک برای ارگانیسم‌های کم‌نیاز

Organism/Organism group	M100 Table	Medium	Incubation	Incubation Time	Minimal Quality Control	Comments/Modifications
Enterobacteriaceae	2A	MHA	35 ± 2 °C; ambient air	16 to 18 hours	*E. coli* ATCC® 25922 *E. coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/ β-lactamase inhibitor combinations)	
Pseudomonas aeruginosa	2B-1	MHA	35 ± 2 °C; ambient air	16 to 18 hours	*E. coli* ATCC® 25922 *P. aeruginosa* ATCC® 27853 *E. coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/ β-lactamase inhibitor combinations)	
Acinetobacter spp.	2B-2	MHA	35 ± 2 °C; ambient air	20 to 24 hours	*E. coli* ATCC® 25922 *P. aeruginosa* ATCC® 27853 *E. coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/ β-lactamase inhibitor combinations)	
Burkholderia cepacia	2B-3	MHA	35 ± 2 °C; ambient air	20 to 24 hours	*E. coli* ATCC® 25922 *P. aeruginosa* ATCC® 27853	
Stenotrophomonas maltophilia	2B-4	MHA	35 ± 2 °C; ambient air	20 to 24 hours	*E. coli* ATCC® 25922 *P. aeruginosa* ATCC® 27853	
Staphylococcus spp.	2C	MHA	35 ± 2 °C; ambient air (Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRS.)	16 to 18 hours; 24 hours for oxacillin and vancomycin	*S. aureus* ATCC® 25923 *E. coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/ β-lactamase inhibitor combinations)	فقط سوسپانسیون مستقیم از کلنی. هاله‌های اگزاسیلین، وانکومایسین و لینزولید را با استفاده از نور عبوری به‌دقت ازنظر وجود کلنی‌های کوچک یا کدورت در داخل هاله مهاری بررسی نمایید؛ هرگونه رشد = مقاومت. برای کنترل کیفیت تکمیلی D-test، از *S. aureus* ATCC BAA-977 استفاده‌کنید.
Enterococcus spp.	2D	MHA	35 ± 2 °C; ambient air	16 to 18 hours; 24 hours for vancomycin	*S. aureus* ATCC® 25923	هاله‌های وانکومایسین را با استفاده از نور عبوری به دقت ازنظر وجود کلنی‌های کوچک یا کدورت در داخل هاله مهاری بررسی نمایید؛ هر گونه رشد = مقاومت

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ پیوست C صفحهٔ قبل ←

C2. شرایط انجام آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به‌روش انتشار از دیسک برای ارگانیسم‌های پرنیاز

Organism/Organism group	M100 Table	Medium	Inoculum	Incubation	Incubation Time	Minimal Quality Control	Comments/Modifications
H. influenzae *H. parainfluenzae*	2E	*Haemophilus* Test Medium	سوسپانسیون مستقیم از کلنی در MHB یا سالین تهیه‌شده از ظرف پتری شکلات آگار یک شب مانده(ترجیحاً ۲۰ تا ۲٤ ساعته)[a]	35 ± 2 °C; 5% CO_2	16 to 18 hours	*H. influenzae* ATCC® 49247 *H. influenzae* ATCC® 49766 *E. coli* ATCC® 35218(for amoxicillin-clavulanate acid)	حداکثر ۹ دیسک را روی ظرف پتری ۱۵۰ میلی‌متری و ٤ دیسک را روی ظرف پتری ۱۰۰ میلی‌متری آزمایش‌کنید.
N. gonorrhoeae	2F	GC agar base + 1% defined supplement	سوسپانسیون مستقیم از کلنی در MHB یا سالین فسفات بافر pH = ۷، ۰/۹٪ تهیه‌شده از ظرف پتری شکلات آگار گرمخانه‌گذاری‌شده در ۵٪ CO_2.	36 ± 1 °C (do not exceed 37 °C); 5% CO_2	20 to 24 hours	*N. gonorrhoeae* ATCC® 49226	حداکثر ۹ دیسک را روی ظرف پتری ۱۵۰ میلی‌متری و ٤ دیسک را روی ظرف پتری ۱۰۰ میلی‌متری آزمایش‌کنید. برای بعضی از عوامل مانند فلوروکینولون‌ها یا سفالوسپورین‌ها، فقط ۲ تا ۳ دیسک را می‌توان در هر ظرف پتری آزمایش‌کرد.
S. pneumoniae	2G	MHA + 5% sheep blood	سوسپانسیون مستقیم از کلنی در MHB یا سالین با استفاده از کلنی‌های ظرف پتری آگار خون‌دار یک شب مانده (۱۸ تا ۲۰ ساعته)	35 ± 2 °C; 5% CO_2	20 to 24 hours	*S. pneumoniae* ATCC® 49619	حداکثر ۹ دیسک را روی ظرف پتری ۱۵۰ میلی‌متری و ٤ دیسک را روی ظرف پتری ۱۰۰ میلی‌متری آزمایش‌کنید. هاله مهار رشد را اندازه‌گیری نمایید، نه هاله همولیز را.
Streptococcus spp.	2H-1 2H-2	MHA + 5% sheep blood	سوسپانسیون مستقیم از کلنی در MHB یا سالین.	35 ± 2 °C; 5% CO_2	20 to 24 hours	*S. pneumoniae* ATCC® 49619	حداکثر ۹ دیسک را روی ظرف پتری ۱۵۰ میلی‌متری و ٤ دیسک را روی ظرف پتری ۱۰۰ میلی‌متری آزمایش‌کنید. هاله مهار رشد را اندازه‌گیری نمایید، نه هاله همولیز را.
N. meningitidis	2J	MHA + 5% sheep blood[b]	سوسپانسیون مستقیم از کلنی در MHB یا سالین تهیه‌شده از ظرف پتری شکلات آگار ۲۰ تا ۲٤ ساعته گرمخانه‌گذاری‌شده در ۵٪ CO_2.[c]	35 ± 2 °C; 5% CO_2	20 to 24 hours	*S. pneumoniae* ATCC® 49619 (5% CO_2) *E. coli* ATCC® 25922 (ambient air or 5% CO_2; for ciprofloxacin, nalidixic acid, and minocycline)	حداکثر ۵ دیسک را روی ظرف پتری ۱۵۰ میلی‌متری و ۲ دیسک را روی ظرف پتری ۱۰۰ میلی‌متری آزمایش‌کنید.

a. این سوسپانسیون حاوی تقریباً $۱-٤ \times ۱۰^{۸}$ CFU/mL خواهدبود. دقت در تهیه این سوسپانسیون را تمرین نمایید، چون غلظت‌های بالاتر مایه میکروبی ممکن‌است بـه نتایج مقاومت غیرواقعی در استفاده از برخی عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام منجرگردد، بـه خصوص در مـوقع استفاده از سویه‌های *هموفیلوس انفلوانزا* که بتالاکتاماز تولیدمی‌کنند.

b. شکلات آگار مغذی برای تعیین حساسیت *نیسریا منژیتیدیس* توصیه‌نمی‌شود.

c. کلنی‌های رشدیافته روی آگار خون‌دار با خون گوسفند می‌تواند برای تهیه مایه میکروبی مورد استفاده قرارگیرد. اگرچه سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند حاصل از خون گوسفند، CFU/mL کمتری خواهدداشت. این موضوع به ویژه زمانی که آخرین رقت قبل از تلقیح ظرف پتری تهیه می‌گردد، باید ازطریق شمارش کلنی‌ها مورد توجه قرارگیرد.

پیوست D. سویه‌های کنترل کیفیت برای آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی(برای به‌روزترین نسخه این جدول، به ویرایش اخیر M100 مراجعه‌نمایید)

Quality Control Strain	Organism Characteristics	Disk Diffusion Tests	MIC Tests	Screening Tests	Other
Enterococcus faecalis ATCC® 51299	•Resistant to vancomycin (*VanB*) and high-level aminoglycosides			•Vancomycin agar High-level aminoglycoside resistance	
Escherichia coli ATCC® 25922	•β-lactamase negative	•Nonfastidious gram-negatives •*Neisseria meningitidis*	•Nonfastidious gram-negatives •*Neisseria meningitidis* •Potential agents of bioterrorism		
Escherichia coli ATCC® 35218	•Contains plasmid-encoded TEM-1 β-lactamase (non-ESBL) [a,b,e,f]	•β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations	•β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations		
Haemophilus influenzae ATCC® 49247	•BLNAR	•*Haemophilus* spp.	•*Haemophilus* spp.		
Haemophilus influenzae ATCC® 49766	•Ampicillin susceptible	•*Haemophilus* spp. (more reproducible with selected β-lactams)	•*Haemophilus* spp. (more reproducible with selected β-lactams)		
Helicobacter pylori ATCC® 43504			•*Helicobacter pylori*		
Klebsiella pneumoniae ATCC® 700603	•Contains SHV-18 ESBL [b,e,f]	•ESBL screen and confirmatory tests	•ESBL screen and confirmatory tests		
Neisseria gonorrhoeae ATCC® 49226	• CMRNG, chromosomally mediated penicillin resistant	•*Neisseria gonorrhoeae*	•*Neisseria gonorrhoeae*		
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853[c]	• Contains inducible AmpC β-lactamase	•Nonfastidious gram-negatives	•Nonfastidious gram-negatives •Potential agents of bioterrorism		•Assess suitability of cation content in each batch/lot of Mueller-Hinton for gentamicin MIC and disk diffusion.
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	•β-lactamase negative •*mecA* negative •Little value in MIC testing due to extreme susceptibility to most drugs	•Nonfastidious gram-positives			

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ پیوست D صفحهٔ قبل ←

Quality Control Strain	Organism Characteristics	Disk Diffusion Tests	MIC Tests	Screening Tests	Other
Staphylococcus aureus ATCC® 29213	• Weak β-lactamase producing strain • *mecA* negative		• Nonfastidious gram-positives • Potential agents of bioterrorism	• Oxacillin agar	• Assess suitability of cation content in each batch/lot of Mueller-Hinton for daptomycin disk diffusion
Staphylococcus aureus ATCC® 43300	• Oxacillin-resistant, *mecA* positive	• Cefoxitin disk testing	• Cefoxitin MIC testing	• Oxacillin agar	
Staphylococcus aureus ATCC® BAA-1708	• High-level mupirocin resistance mediated by the *mupA* gene	• Screening test for high-level mupirocin resistance	• Screening test for high-level mupirocin resistance		
Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619	• Penicillin intermediate by altered penicillin binding protein	• *Streptococcus pneumoniae* • *Streptococcus* spp. • *Neisseria meningitidis*	• *Streptococcus pneumoniae* • *Streptococcus* spp. • *Neisseria meningitidis* • Potential agents of bioterrorism		
Supplemental QC[g]					
Enterococcus faecalis ATCC® 33186					• Alternative to *E. faecalis* ATCC® 29212 to assess suitability of medium for sulfonamide or trimethoprim MIC tests.[d]
Haemophilus influenzae ATCC® 10211					• Assess each batch/lot for growth capabilities of HTM
Klebsiella pneumoniae ATCC® BAA-1705	• KPC-producing strain[b] • Modified Hodge test positive	• Phenotypic confirmatory test for carbapenemase production (modified Hodge test)			
Klebsiella pneumoniae ATCC® BAA-1706	• Resistant to carbapenems by mechanisms other than carbapenemase • Modified Hodge test negative	• Phenotypic confirmatory test for carbapenemase production (modified Hodge test)			
Staphylococcus aureus ATCC® BAA-976	• Contains *msr*A-mediated macrolide-only resistance	• Assess disk approximation tests with erythromycin and clindamycin (D-zone test negative)	• QC – See M100 Appendix B		
Staphylococcus aureus ATCC® BAA-977	• Contains inducible *erm*A-mediated resistance	• Assess disk approximation tests with erythromycin and clindamycin (D-zone test positive)	• Routine QC for inducible clindamycin test by MIC method—See M100 Appendix B		

زیرنویس‌ها

a. *E. coli* ATCC 35218 فقط به‌عنوان یک سویه کنترلی برای ترکیبات مهار کننده بتالاکتاماز مانند دارندگان کلاولانیک اسید، سولباکتام یا تازوباکتام توصیه شده‌است. این سویه حاوی یک بتالاکتاماز کدشونده توسط پلاسمید(غیر از ESBL) است. در نتیجه این ارگانیسم به بسیاری از داروهای حساس به پنی‌سیلیناز، مقاوم است، اما به ترکیبات حاوی بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز حساس می‌باشد. برای اطمینان از صحت آزمایش کنترل کیفیت باید سویه کنترلی حاوی پلاسمید باشد، هر چند که پلاسمید ممکن‌است طی ذخیره‌سازی سویه در برودت یخچال یا فریزر از بین برود. جهت اطمینان از وجود پلاسمید، سویه را با یک عامل بتالاکتام(بدون ترکیبات مهارکننده بتالاکتاماز) مانند آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پیپراسیلین یا تیکارسیلین و نیز با یک عامل حاوی بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز مانند آموکسی‌سیلین- کلاولانیک اسید آزمایش کنید. اگر سویه، پلاسمید از دست بدهد به عامل بتالاکتام(بدون ترکیبات مهارکننده بتالاکتاماز) حساس خواهدشد. این امر بر غیرقابل اطمینان بودن آزمایش کنترل کیفیت دلالت دارد و باید کشت تازه‌ای از *E. coli* ATCC 35218 مورد استفاده قرارگیرد.

b. به‌دلیل وجود شواهد ثبت‌شده، مبنی بر از بین رفتن خودبه‌خودی پلاسمید کدکننده بتالاکتاماز یا کارباپنماز، توجه دقیق به نگهداری ارگانیسم(برای مثال، به حداقل رساندن کشت‌های مجدد) و نگهداری(برای مثال، در دمای ۶۰- درجه سانتی‌گراد یا کمتر) به‌ویژه برای نگهداری سویه‌های کنترل *E. coli* ATCC 35218، *کلبسیلا پنومونیه* ATCC 700603 و *کلبسیلا پنومونیه* ATCC BAA-1705 اهمیت دارد. ازدست دادن پلاسمید به‌ظهور نتایج کنترل کیفیت خارج از محدوده قابل قبول، مانند کاهش MIC برای *E. coli* ATCC 35218 با پنی‌سیلین‌های حساس به آنزیم(نظیر آمپی‌سیلین، پیپراسیلین و تیکارسیلین)، کاهش MIC برای *کلبسیلا پنومونیه* ATCC 700603 با سفالوسپورین‌ها و آزترئونام و نتیجه منفی کاذب در آزمایش تغییریافته هاج(MHT) با *کلبسیلا پنومونیه* ATCC BAA-1705 منجر می‌شود.

c. در کشت‌های مجدد متوالی، مقاومت به عوامل ضدمیکروبی گروه بتالاکتام ایجادمی‌شود. برای به‌حداقل رساندن این امر، حداقل ماهی یکبار یا هر زمان که سویه میکروبی شروع به نشان‌دادن مقاومت می‌کند، از ذخیره کنترلی، یک کشت تازه تهیه‌نمایید.

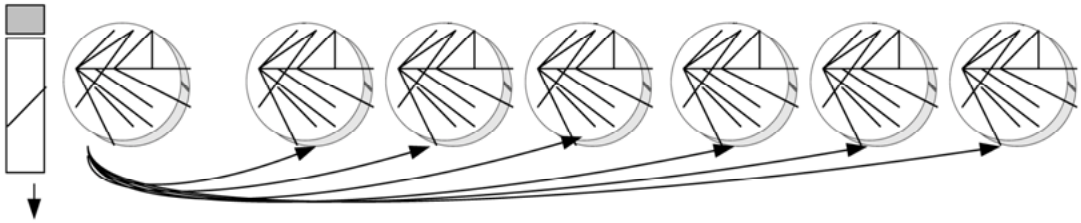
d. درصورت وجود مقادیر قابل قبول تایمیدین در محیط کشت، باید خواندن نتایج MIC به‌سهولت انجام‌پذیرد(برای مثال، کاهش ۸۰٪ یا بیشتر در رشد در مقایسه با کنترل).

پیوست E. نگهداری سویه‌های کنترل کیفیت

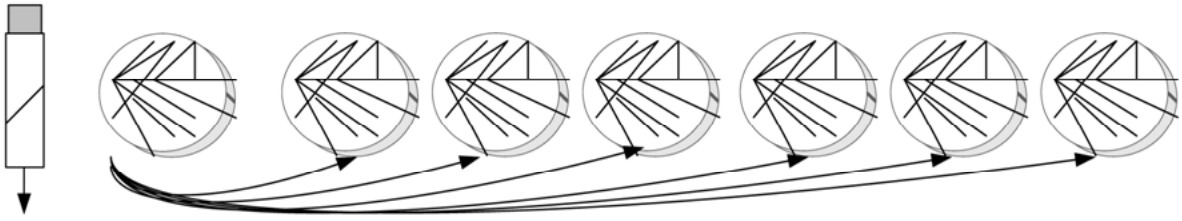
۱. با افزودن محیط مایع مناسب به ویال پودر لیوفیلیزه و یا یک نمونه مادر (stock) از فریزر، سوسپانسیون تهیه‌کنید یا از ذخیره فریزشده سویه‌ای خارج‌کنید.

۲. در محیط مناسب کشت دهید و گرمخانه‌گذاری نمایید (کشت مجدد اولیه).

۳. متناسب با نوع ارگانیسم، کشت مجدد تهیه نمایید، گرمخانه‌گذاری و سپس ذخیره نمایید. از کلنی‌های جداشده در طی روزهای اول تا هفتم به‌عنوان کشت‌های کاری استفاده‌کنید.



٤. هر هفت روز کشت مجدد تهیه‌کنید(ازپلیت یا لوله کشت روز اول). متناسب با نوع ارگانیسم، در دمای مناسب نگهداری نمایید. در هر روز کاری از کشت کاری جدید استفاده‌کنید.



۵. این کار را برای هفته‌های سوم و چهارم نیز تکرار کنید. پس از چهار هفته، کشت‌های مجدد را دور بریزید و ارگانیسم جدید را از فریزر خارج کرده، یا از ویال لیوفیلیزه جدید استفاده‌کنید.

نکته ۱: نمونه فریزشده یا لیوفیلیزه را قبل از استفاده، دوبار کشت مجدد دهید.

نکته ۲: برای آزمایش‌های کنترل کیفیت، از کلنی‌های تک‌کشت‌کاری استفاده‌کنید.

نکته ۳: اگر آلودگی دیده‌شد یا کیفیت زیر سوال بود، یک کشت مجدد جدید(کشت کاری)، یا کشت ذخیره جدید تهیه‌کنید.

نکته ٤: ممکن‌است درمورد بعضی از ارگانیسم‌ها مانند *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 51299 و *S. pneumonia* ATCC 49619 لازم باشد که کشت کاری جدید، هر دو هفته یکبار تهیه‌شود(به جای چهار هفته یکبار).

فصل دوم: سند M100-S21

مقدمه در رابطه با جدول‌های شمارهٔ ۱ و ۲ برای استفاده همراه با اسناد M02-A10 (روش انتشار از دیسک) و M07-A8 (آزمایش MIC)

در صفحات بعدی مطالب ذیل را خواهیدیافت:

۱. جدول‌های شماره 1A و 1B گروه‌بندی عوامل ضدمیکروبی را پیشنهاد می‌کند که باید توسط آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بالینی در آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی به‌طور روتین ارزیابی و گزارش شوند. این دستورالعمل‌ها براساس موارد استفاده بالینی تهیه‌شده‌اند که مورد تأیید FDA آمریکا می‌باشد. در سایر کشورها تعیین عوامل ضدمیکروبی جدول‌های فوق باید براساس داروهای در دسترسی صورت‌گیرد که کاربرد بالینی آنها توسط سازمان‌های ذیربط تأیید شده‌باشد.

۲. برای هر گروه از ارگانیسم‌ها، جدول‌های اضافی(جدول‌های 2A تا 2I) ارائه‌شده که شامل مطالب ذیل می‌باشد:

a. شرایط توصیه شده برای انجام آزمایش.

b. حداقل‌های کنترل کیفیت (QC) که توصیه‌می‌شود(متن مستندات M02-A10، بند ۱۵ و M07-A8، بند ۱۶ را نیز ملاحظه‌نمایید).

c. توضیحات عمومی برای آزمایش هر گروه از ارگانیسم‌ها و توضیحات اختصاصی برای آزمایش داروی خاص در مقابل ارگانیسم ویژه.

d. عوامل ضدمیکروبی پیشنهادی، که در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بالینی باید به‌طور روتین برای آزمایش و گزارش درنظر گرفته‌شوند، در جدول‌های 1A و 1B مشخص‌شده‌اند(گروه‌های A، B، C و U برای آزمایش و گزارش).

e. داروهای دیگری که موارد استفاده بالینی آنها برای گروه ارگانیسم مورد نظر تأیید شده‌است، ولی معمولاً در آزمایشگاه‌های میکرب‌شناسی بالینی آمریکا به‌طور روتین آزمایش نمی‌شود(حرف اختصاری O برای گروه «other» است. حروف اختصاری Inv برای گروه «Investigational» است که جنبه تحقیقاتی دارد و هنوز مورد تأیید FDA نمی‌باشد).

f. معیارهای استاندارد برای تفسیر MIC و قطر هاله عدم رشد.

۳. برای بعضی از گروه‌های ارگانیسمی، یک جدول تکمیلی ارائه شده که حاوی آزمون‌های غربالگری خلاصه شده‌است. این آزمون‌ها ممکن‌است برای آزمایش بعضی از ایزوله‌های آن گروه مناسب باشد.

٤. جدول‌های 1C و 2J به توصیه‌های ویژه برای آزمایش و گزارش نتایج بی‌هوازی‌ها اشاره‌می‌کند و حاوی برخی از اطلاعاتی است که در بندهای ۱ و ۲ در بالا ذکرشده‌اند.

I. انتخاب عوامل ضدمیکروبی برای آزمایش و گزارش[1]

A. برای انتخاب مناسب‌ترین عوامل ضدمیکروبی جهت آزمایش و گزارش، بهترین راه، مشاوره آزمایشگاه بالینی با متخصصان بیماری‌های عفونی و داروسازها است. این مشاوره می‌تواند با پزشکان و اعضای کمیته‌های درمان و کنترل عفونت بیمارستان هم صورت‌گیرد. توصیه‌هایی که در اینجا برای هر گروه از ارگانیسم‌ها ارائه‌می‌شود، شامل عوامل ضدمیکروبی است که دارای اثر اثبات‌شده هستند و در شرایط *in vitro* نیز کارایی قابل قبول نشان‌داده‌اند. برای تعیین عوامل ضدمیکروبی به‌منظور آزمایش و گزارش گروه‌های خاص، ملاحظاتی را باید مد نظر قرارداد که عبارتند از: اثربخشی بالینی، شیوع مقاومت،

1. Selecting Antimicrobial Agents for Testing and Reporting

کاهش ظهور مقاومت، هزینه، موارد استفاده بالینی توصیه‌شده توسط FDA، توصیه‌های مورد توافق برای داروهای انتخاب اول و جایگزین آنها. مقاومت‌های دور از انتظار نیز باید گزارش شوند(به‌عنوان مثال، مقاومت انتروباکتریاسه به کارباپنم‌ها). آزمایش روی عوامل ضدمیکروبی انتخاب‌شده می‌تواند برای اهداف کنترل عفونت مفید باشد.

B. فهرست داروهایی که در یک خانه از جدول با هم ذکرشده‌اند، نشانگر گروه‌هایی از عوامل ضدمیکروبی است که نتایج تفسیری(حساس، حساس بینابینی یا مقاوم) و اثربخشی بالینی مشابه دارند. داخل هر خانه، کلمه «or» نشان‌دهندهٔ عوامل ضدمیکروبی است که بین آنها مقاومت متقاطع یا حساسیت متقاطع برقرار است و لذا نتایج این عوامل را می‌توان تقریباً به‌طور کامل بین آنها تعمیم داد. این بدان معنی است که تعمیم نتایج براساس انجام آزمایش روی تعداد زیادی از باکتری‌ها به‌دست آمده و مشخص شده‌است که مجموع خطاهای عمده و خیلی عمده برای تعمیم نتایج در حد کمتر از ۳٪ و برای خطاهای جزئی در حد کمتر از ۱۰٪ بوده است. لازم به ذکر است برای ارزیابی اعتبار کلمه «or» حداقل ۱۰۰ سویه مقاوم نسبت به عوامل ضدمیکروبی مورد ارزیابی، آزمایش شده‌است و حداقل در ۹۵٪ این سویه‌ها نتیجه «مقاوم» نسبت به همه عوامل ضدمیکروبی آزمایش‌شده، به‌دست آمده‌است. همچنین کلمه «or» می‌تواند در مواردی استفاده‌شود که عوامل ضدمیکروبی با نتایج تفسیری قابل تعمیم، برضد ارگانیسم‌هایی به‌کار روند که برای آنها فقط حالت «حساس« ذکر شده‌است(مانند سفوتاکسیم یا سفتریاکسون برای *هموفیلوس انفلوانزا*). بنابراین، نتایج حاصل از یک عامل ضدمیکروبی که با کلمه «or» به عامل دیگر متصل شده‌است، می‌تواند نتایج تفسیری برای عامل ضدمیکروبی دیگر را نیز پیش‌بینی نماید. برای مثال، *انتروباکتریاسه* حساس به سفوتاکسیم را می‌تـوان نسبت به سفتریاکسون نیز حساس درنظر گرفت. در این موارد نتایج آزمایش با سفوتاکسیم گزارش می‌شود و حساسیت قابل انتظار نسبت به سفتریاکسون به‌عنوان یک توضیح اضافی در گزارش ذکرمی‌شود. اگر در یک خانه جدول در بین دو عامل ضدمیکروبی کلمه «or» نوشته نشده‌باشد، براساس نتایج یک عامل نمی‌توان نتایج را به عامل دیگر تعمیم داد. این مسئله بـه دلیل عدم تطابق نتایج این عوامل با یکدیگر و یا به دلیل اطلاعات ناکافی است.

C. گروه‌بندی برای آزمایش و گزارش (Test/Report Groups)

۱. همان‌طور که در جدول‌های 1A و 1B **و 1C** فهرست شده‌است، عوامل ضدمیکروبی **گروه A** برای لحاظ در آزمایش روتین پانل آزمایش اولیه و نیز برای گزارش روتین نتایج روتین گروه‌های ارگانیسمی خاص مناسب است.

۲. **گروه B** عواملی هستند که می‌توان از آنها در آزمایش اولیه استفاده‌کرد، ولی باید به‌طور انتخابی گزارش شوند. نظیر زمانی که ارگانیسم به عوامل ضدمیکروبی متعلق به همان کلاس از گروه A مقاوم است. سایر شرایط گزارش نتـایج می‌توانـد شامـل مـوارد ذیل بـاشد: منبع خـاص نمونـه(بـرای مثال، سفالوسپورین‌های نسل سوم بـرای ارگانیسم‌هـای روده‌ای کـه از CSF جدا شده‌اند، یـا تری‌متوپریم ـ سولفامتوکسازول برای ارگانیسم‌های جداشده از سیستم ادراری)؛ عفونت‌های چندمیکروبی؛ عفونت‌های چندکانونی؛ موارد آلرژی بیمار؛ عدم تحمل؛ یا عدم موفقیت در پاسخ به درمان با یکی از عوامل گروه A؛ یا برای اهداف کنترل عفونت.

۳. **گروه C** عوامل ضدمیکروبی جایگزین یا مکمل هستند که ممکن‌است بر ضد سویه‌های اندمیک یا اپیدمیک موجود در مراکز بهداشتی ـ درمانی و مقاوم به چند دارو از گروه اولیه(به ویژه اگر از یک کلاس دارویی باشند، مانند بتالاکتام‌ها) آزمایش شوند. این گروه همچنین برای درمان بیماران آلرژیک بـه داروهای اولیه، برای درمان ارگانیسم‌های غیرمتعارف(برای مثال، کلرامفنیکل برای *سالمونلاهای* خارج روده‌ای)، یا به‌منظور اهداف اپیدمیولوژیک و جهت گزارش به کمیته کنترل عفونت آزمایش می‌شوند.

٤. **گروه U (Urine)** فهرست عوامل ضدمیکروبی(مانند نیتروفورانتوئین و بعضی از کینولون‌ها) است که فقط یا در درجه اول برای درمان عفونت‌های مجاری ادرار استفاده‌می‌شود. این عوامل ضدمیکروبی نباید به‌طور روتین درمورد بیماری‌زاهایی که از سایر محل‌های عفونت جدا می‌گردند، گزارش شوند. سایر عواملی که کاربرد وسیع‌تری دارند، ممکن‌است برای بعضی بیماری‌زاهای خاص دستگاه ادراری در این گروه قرارگیرند(مانند *سودوموناس آئروژینوزا* و افلوکساسین).

۵. **گروه O (Other)** شامل عواملی است که برای گروهی از ارگانیسم‌ها کاربرد بالینی دارند، ولی عموماً در آمریکا برای آزمایش و گزارش به‌طور روتین، منظور نمی‌شوند.

٦. **گروه Inv (Investigational)** شامل عواملی است که برای گروهی از ارگانیسم‌ها جنبه تحقیقاتی دارد، ولی هنوز توسط FDA تأیید نشده‌است.

D. گزارش انتخابی (Selective Reporting)

هر آزمایشگاه باید درباره اینکه کدام یک از عوامل ضدمیکروبی موجود در جدول‌ها را به‌صورت روتین (گروه A) یا صرفاً به‌صورت انتخابی(از گروه B) گزارش کند، تصمیم‌گیری نماید. این تصمیم در پی مشورت با متخصصان بیماری‌های عفونی، داروسازها و اعضای پزشک کمیته‌های درمان و کنترل عفونت بیمارستانی اتخاذ می‌شود. گزارش انتخابی نتایج باید ارزش بالینی گزارش‌ها را بهبود بخشد و ازطریق کاهش استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌های طیف گسترده به کنترل سویه‌های بیمارستانی مقاوم به چند دارو کمک کند. نتایج عوامل گروه B که به‌طور روتین گزارش نمی‌شود، باید درصورت تقاضای پزشک در دسترس باشد و در مواردی هم می‌تواند درمورد بعضی از نمونه‌های خاص گزارش شود. مقاومت‌های دور از انتظار باید پس از تأیید، گزارش گردد(برای مثال، به عامل ثانویه مقاوم ولی به عامل اولیه حساس باشد).

II. گزارش نتایج[1]

میزان MIC تعیین‌شده که در مستند M07-A8 شرح داده‌شد، ممکن‌است به‌منظور درمان بیمار، مستقیم به پزشک گزارش شود. در عین حال، برای درک داده‌ها توسط تمام پزشکان باید تفسیر نتایج در اختیار همه پزشکان قرارگیرد. اندازه‌گیری قطر هاله بدون تقسیم‌بندی تفسیری(S, I, R, NS) نباید گزارش شود. تقسیم‌بندی‌های تفسیری توصیه‌شده برای MIC و اندازه‌های مختلف قطر هاله برای هر گروه از ارگانیسم‌ها در جدول‌های جداگانه آورده‌شده‌اند. این جدول‌ها براساس ارزیابی داده‌ها طبق CLSI M23، می‌باشد.

معیارهای تفسیر انتشار از دیسک و MIC براساس مقدار مصرف رایج دارو و راه‌های تجویز آن تنظیم شده‌است.

A. تفسیرهای حساس، حساس بینابینی و مقاوم به‌صورت ذیل تعریف و گزارش می‌شوند.

۱. حساس(S)[2]

اصطلاح «حساس» به گروهی از باکتری‌های جداشده اطلاق می‌گردد که رشد آنها در برابر غلظت داروی ضدمیکروبی، براساس دوز توصیه‌شده برای درمان که معمولاً در محل عفونت به‌دست می‌آید، مهار می‌شود.

۲. حساس بینابینی (I)[3]

اصطلاح «حساس بینابینی» به گروهی از باکتری‌های جداشده اطلاق می‌گردد که با سطح MIC به‌دست آمده در خون و بافت، پاسخی پایین‌تر از باکتری‌های حساس می‌دهند. اصطلاح حساس بینابینی در موارد ذیل کاربرد دارد:

الف) در مناطقی از بدن که دارو از لحاظ فیزیولوژیک در بافت‌ها تغلیظ می‌شود(مانند کینولون‌ها یا بتالاکتام‌ها در ادرار).

ب) زمانی که مقدار دارو را می‌توان بیش از دوز معمولی آن استفاده‌کرد(مانند بتالاکتام‌ها).

ج) جهت ایجاد محدوده‌ای به‌منظور پیشگیری از خطاهای کوچک و غیرقابل کنترل تکنیکی که موجب تناقض و اختلالات اساسی در تفسیر خواهدشد. این امر به ویژه برای داروهایی صادق است که حاشیه مسمومیت دارویی آنها باریک است.

۳. مقاوم (R)[4]

اصطلاح «مقاوم» به گروهی از باکتری‌های جداشده اطلاق می‌گردد که:

الف) رشد آنها با غلظت‌های معمولی دارو با دوز متداول تجویزشده مهار نشود، و/ یا

1. Reporting Results
2. Susceptible
3. Intermediate
4. Resistant

ب) هاله عدم رشد آنها به علت مکانیسم‌های ویژه مقاومت میکروبی(نظیر بتالاکتامازها) باید به‌صورت مقاوم گزارش شود.
ج) در مطالعات درمانی، اثربخشی بالینی عامل ضدمیکروبی برای این باکتری نشان‌داده نشده‌است.

٤. غیرحساس (NS)[1]

به‌علت عدم وجـود یـا نادر بودن سویه‌های مقاوم، تقسیم‌بندی مورد استفاده بـرای ایزوله‌هایی است که تنها معیار تفسیری حساس برای آنها معین شده‌است. ایزوله‌هـایی که MIC بالا یـا قطر هاله کمتر از مقدار مشخص‌شده برای محدودهٔ حساس دارند، باید به‌عنوان غیرحساس گزارش شوند.

نکته: ایزوله‌ای که به‌عنوان غیرحساس (NS) تفسیر می‌شود، الزاماً به معنی داشتن مکانیسم مقاومت نیست. تا زمانی که فقط محدوده حساس تعریف شده‌است، MIC بالاتر از محدوده حساس برای تیپ‌های وحشی (wild type) باکتری که فاقد مکانیسم‌های مقاومتی هستند، به‌عنوان NS گزارش می‌گردد.

نکته: بـرای سویه‌های «غیرحساس»، نتایج تعیین هویت باکتری و تست تعیین حساسیت ضدمیکروبی باید تأییدشود(پیوست A).

B. راهنمای CLSI-M45–
(*Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*)
روش‌های استانداردشده آزمایش تعیین حساسیت را برای گروهی از باکتری‌ها غیر از مواردی که در جدول‌های 2A تا 2J ذکر شده‌است، ارائه‌می‌نماید. این روش‌ها شامل اطلاعات انتخاب دارو، تفسیر و کنترل کیفی(QC) است. این گروه شامل باکتری‌های ذیل می‌باشد:

گونه‌های *آبیوتروفیا*[2]، *گرانولیکاتلا*[3](قبلاً به‌عنوان استرپتوکک‌هایی با نقص تغذیه‌ای یا واریان‌های تغذیه‌ای استرپتوککی شناخته شده‌بودند)؛ کمپلکس *آئرومونـاس هیدروفیلا*[4]؛ گونه‌های *باسیلوس*[5](غیر از *باسیلوس آنتراسیس* ***B. anthracis***)؛ *کمپیلو بـاکتر ژژونی/ کلی*[6]؛ گونـه‌هـای *کـورینه باکتریوم*[7](شـامـل *کـورینه بـاکتریوم دیفتـریه* ***C. diphteriae***)؛ *اریزیپلوتریکس روزیوپاتیه*[8]؛ گـروه HACEK: گـونه‌هـای *آگرگاتی‌باکتر*[9] (قبلاً دسته *آفروفیلوس*[10] در جنس *هموفیلوس*[11] بـوده‌است[مانند همـوفیلوس *آفـروفیلوس*(***H. aphrophilus***)، همـوفیلوس *پـارافروفیلوس*(***H. paraphrophilus***)، *هموفیلوس سگنیس*(***H. segnis***)]، *اکتینوباسیلوس اکتینومیستم کومیتانس*[12]، گونه‌های *کاردیوباکتریوم*[13]، *آیکنلا کورودنس*[14] و گونه‌های *کینگلا*[15]؛ ***هلیکوباکتر پایلوری***[16]؛ گونه‌های *لاکتوباسیلوس*[17]؛ گونه‌های *لوکونوستوک*[18]؛ *لیستریا مونوسیتوژنز*[19]؛ *موراکسلا کاتارالیس*[20]؛ گونه‌های *پاستورلا*[21]؛ گونه‌های *پدیوکوکوس*[22]؛ **عـوامل بالقوه بیـوتروریسم**؛ و گونه‌هـای *ویبریو* **شامل *ویبریو کلرا***[23].

برای باکتری‌هایی غیر از موارد ذکرشده در بالا، هنوز اطلاعات کـافی برای تدوین استانداردهای قابل تعمیم و قطعی جهت تفسیر نتایج وجودنـدارد. این باکتری‌ها ممکن‌است به محیط‌های کشت و شـرایط گرمخانه‌گذاری متفاوت نیاز داشته‌باشند و سرعت رشد آنها از سویه‌ای به سویه دیگر متفاوت باشد. بـرای این دسته از باکتری‌ها توصیه‌می‌گردد در ارتباط با موارد ذیل، با پزشک متخصص بیماری‌های عفونی مشورت شود:

۱. لزوم انجام آزمایش تعیین حساسیت و تفسیر نتایج
۲. انتخـاب داروی پیشنهادی از سـوی پـزشک بـه دلیـل نبـود روش استانـدارد تـوصیه‌شده CLSI برای این باکتـری خاص گزارش‌های منتشرشده در ادبیات پـزشکی و توصیه‌های مورد توافق برای درمـان باکتری‌هـای غیـرشایع می‌تواند نیاز به انجام

1. Nonsusceptible
2. *Abiotrophia*
3. *Granulicatella*
4. *Aeromonas hydrophila*
5. *Bacillus*
6. *Campylobacter jejuni/ coli*
7. *Corynebacterium*
8. *Erysipelothrix rhusiopathiae*
9. *Aggregatibacter*
10. *Aphrophilus*
11. *Haemophilus*
12. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
13. *Cardiobacterium*
14. *Eikenella corrodens*
15. *Kingella*
16. *Helicobacter pylori*
17. *Lactobacillus*
18. *Leuconostoc*
19. *Listeria monocytogenes*
20. *Moraxella catarrhalis*
21. *Pasteurella*
22. *Pediococcus*
23. *Vibrio cholerae*

آزمایش‌ها را مرتفع سازد. درصورت لزوم، روش تعیین رقت (مانند MIC) معمولاً مناسب‌ترین روش آزمایش است که برای انجام آن ممکن‌است لازم باشد باکتری به آزمایشگاه مرجع ارسال‌شود. به دلیل محدودیت‌های موجود در نتایج، باید درباره تفسیر محتاطانه نتایج، پزشکان را مطلع نمود.

C. خط‌مشی‌های مبتنی بر تولید آنتی‌بیوگرام‌های تجمعی، باید با بخش بیماری های عفونی، کارکنان کنترل عفونت و کمیته دارو و درمان هماهنگ باشد. در اکثر اوقات، درصد نتایج حساس و حساس بینابینی را نباید در یک آمار ترکیب نمود (رجوع‌کنید به: *Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data* –CLSI M39).

III. توضیحات تکمیلی مرتبط با درمان[1]

برخی از توضیحات در جدول‌ها، مربوط به ملاحظات درمانی است. این توضیحات با علامت ***RX*** (توضیح به پزشک معالج) مشخص شده‌اند. بهتر است که برخی از این توضیحات(یا تغییرات آن) در گزارش بیمار آورده‌شود. برای نمونه در رابطه با حساسیت *انتروکک* جداشده از کشت خون این توضیح را می‌توان اضافه‌کرد که: «برای عفونت‌های وخیم انتروککی نظیر اندوکاردیت می‌توان از درمان‌های ترکیبی مانند آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین یا وانکومایسین(برای سویه‌های حساس) همراه با آمینوگلیکوزید استفاده‌کرد، مگر آنکه مقاومت حد بالایی در ارتباط با دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و استرپتومایسین ثبت شده‌باشد. پیش‌بینی می‌شود این ترکیب دو دارویی، در از بین بردن *انتروکک* نقش هم‌افزایی ایفا نماید».

دوز رژیم‌های ضدمیکروبی در میان پزشکان و در مراکز درمانی، اغلب از تنوع زیادی برخوردار است. در برخی موارد که رژیم‌های خاص دارویی برای انسان استفاده‌می‌شود، معیارهای تفسیری MIC بر مبنای اطلاعات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک(PK-PD) خواهدبود. در مواردی که برای به‌کار بردن مناسب نقاط انفصال(breakpoints)، رژیم‌های خاص درمانی حائز اهمیت باشد، توضیح مرتبط با درمان لحاظ شده‌است.

IV. صحه‌گذاری نتایج بیمار[2]

با پیروی از توصیه‌های کنترل کیفی که در این استاندارد توضیح‌داده شده‌است، عوامل متعددی در آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی پایش می‌شود. با این حال نتایج قابل قبول حاصل از آزمایش سویه‌های کنترل کیفیت، صحت نتایج مربوط به باکتری‌های جداشده از بیمار را تضمین نمی‌کند. ضروری است قبل از ارائه گزارش همه نتایج به‌دست آمده از داروهای آزمایش‌شده روی ایزوله بیمار بازنگری شود. این بازنگری باید حداقل شامل حصول اطمینان از موارد ذیل باشد:

۱. نتایج تعیین حساسیت ضدمیکروبی با تعیین هویت ایزوله، همخوانی داشته‌باشد.

۲. نتایج به‌دست آمده از یک دارو‌ی مشخص در میان خانواده خاصی از داروها از قواعد سلسله مراتبی تثبیت‌شده مربوط به فعالیت‌های ضدمیکروبی پیروی نماید. به‌عنوان مثال، نسل سوم سفم‌ها نسبت به نسل‌های اول و دوم علیه *انتروباکتریاسه* مؤثرترند.

۳. باکتری جداشده به آنتی‌بیوتیک‌هایی که تاکنون مقاومتی نسبت به آنها مستند نشده‌است، حساس باشد(برای مثال وانکومایسین و گونه‌های استرپتوکک) و مواردی که برای آنها فقط معیارهای تفسیری حساس در دستورالعمل M100 وجوددارد.

نتایج غیرمتعارف یا متناقض باید با بررسی موارد ذیل صحه‌گذاری شود:

۱. خطا در ثبت و انتقال اطلاعات

۲. آلودگی در آزمایش(برای مثال، خالص بودن کشت مجدداً بررسی‌شود)

۳. استفاده از پانل، پلیت یا کارت معیوب(برای مثال شکسته یا کامل پرنشده) در آزمایش‌های MIC

٤. نتایج قبلی بیمار(برای مثال، آیا قبلاً بیمار همان ایزوله را با آنتی‌بیوگرام غیرمتعارف، داشته‌است؟)

اگر دلیلی برای نتایج متناقض یا غیرمعمول پیدانشد، تکرار تست حساسیت یا تعیین هویت باکتری یا هر دو باید انجام‌گیرد. برخی اوقات استفاده از یک روش جایگزین برای تکرار آزمایش، کمک‌کننده است. فهرست پیشنهادی از نتایج که نیازمند تأیید باشد،

1. Therapy-Related Comments
2. Verification of Patient Results

در پیوست A آورده شده‌است. هر آزمایشگاه باید سیاست‌های خود را برای تأیید نتایج تعیین حساسیت ضدمیکروبی متناقض یا غیرمعمول اتخاذ نماید. این فهرست باید بر نتایجی که احتمالاً بر مراقبت از بیمار تأثیرگذار خواهدبود، تأکید داشته‌باشد.

اگر دلیلی برای نتایج متناقض یا غیرمتعارف پیدا نشد، آزمایش تعیین حساسیت یا تعیین هویت باکتری یا هر دو باید تکرارشود. برخی اوقات استفاده از یک روش جایگزین برای تکرار آزمایش، کمک‌کننده است. فهرست پیشنهادی از نتایجی که نیازمند تأیید است، در پیوست A آورده شده‌است. هر آزمایشگاهی برای تأیید نتایج تعیین حساسیت ضدمیکروبی متناقض یا غیرمتعارف باید سیاست‌هایی را اتخاذ نماید. این فهرست باید بر نتایجی که احتمالاً بر مراقبت از بیمار تأثیرگذار خواهدبود، تأکید داشته‌باشد.

V. ایجاد مقاومت و آزمایش باکتری‌هایی که مجدداً جدا شده‌اند[1]

باکتری‌های جداشده که در ابتدا حساس هستند، ممکن‌است پس از شروع درمان، به باکتری‌هایی با حساسیت بینابینی یا مقاوم تبدیل شوند. بنابراین، باکتری‌هایی که به‌طور پی‌درپی از همان‌گونه و از همان محل مشابه جدا شده‌اند، باید به‌منظور تشخیص مقاومت احتمالی آزمایش شوند. این امر می‌تواند در زمان کوتاهی بین ۳ تا ٤ روز روی دهد. این مقاومت بیشتر در باکتری‌های ذیل دیده شده‌است:

- *انتروباکتر، سیتروباکتر و سراشیا* با نسل سوم سفالوسپورین‌ها
- *سودوموناس آئروژینوزا* با تمام آنتی‌بیوتیک‌ها
- استافیلوکک‌ها با کینولون‌ها

طی درمان طولانی‌مدت با وانکومایسین، *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به وانکومایسین می‌تواند به باکتری‌هایی با حساسیت بینابینی تبدیل شود. در موارد خاص، به‌منظور تعیین مقاومت ایجادشده روی باکتری‌هایی که به‌طور متوالی جداشده‌اند، ممکن‌است آزمایش در فاصله زمانی کمتر از ۳ الی ٤ روز هم لازم باشد. تصمیم برای انجام چنین آزمایشی مستلزم داشتن اطلاعات در زمینه وضعیت خاص و وخامت حال بیمار می‌باشد(برای مثال، *انتروباکتر کلواکه* جداشده از کشت خون در یک شیرخوار زودرس). دستورالعمل‌های آزمایشگاهی درخصوص زمان انجام آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی روی باکتری‌هـای جداشده باید پس از مشورت با کادر پزشکی مشخص‌شود.

VI. هشدار[2]

با انجام آزمایش و «حساس» گزارش کردن بعضی از عوامل ضدمیکروبی معین برعلیه باکتری‌های خاص، نتایج گمراه‌کننده و خطرآفرین خواهدبود. لذا، برخی از توضیحات مندرج در جدول‌ها مربوط به این موارد است که با عنوان «**هشدار**» مشخص‌شده‌اند.

هشدار: ترکیبات ارگانیسم/عامل ضدمیکروبی ذیل، ممکن‌است در شرایط *in vitro* فعال به‌نظر برسند، اما کارایی بالینی ندارند و نباید به‌عنوان حساس گزارش‌شوند.		
محل	ارگانیسم	عوامل ضدمیکروبی که نباید به‌عنوان حساس گزارش‌شوند
جدول 2A	گونه‌های *سالمونلا*، گونه‌های *شیگلا*	نسل اول و دوم سفالوسپورین‌ها، سفامایسین‌ها و آمینوگلیکوزیدها
جدول 2C	گونه‌های *استافیلوکوکوس* مقاوم به اگزاسیلین	پنی‌سیلین‌ها، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌های **ضداستافیلوککی** و کارباپنم‌ها
جدول 2D	گونه‌های *انتروکوکوس*	آمینوگلیکوزیدها(به جز غلظت‌های بالا)، سفالوسپورین‌ها، کلیندامایسین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول

VII. آزمایش‌های غربالگری[3]

آزمایش‌های غربالگری، همانطور که در این سند شرح داده‌شد، باکتری جداشده را براساس مکانیسم مقاومت یا فنوتیپ خاص به‌عنوان حساس یا مقاوم به یک یا چند عامل ضدمیکروبی مشخص‌می‌کند. کفایت حساسیت و ویژگی بعضی از آزمایش‌های غربالگری به‌قدری است که گزارش نتایج آنها نیازی به آزمایش‌های اضافی ندارد. در سایر موارد، نتیجه آزمایش غربالگری احتمالی است و نیاز به آزمایش‌های تأییدی دارد. خلاصه‌ای از آزمایش‌های غربالگری در اینجا آمده‌است: جزئیات هر آزمایش شامل ویژگی‌ها، محدودیت‌ها و آزمایش‌های اضافی مورد نیاز برای تأیید در جدول‌های ضمیمه فهرست‌شدهٔ ذیل آمده‌است.

1. Development of Resistance and Testing of Repeat Isolates 2. Warning 3. Screening Test

Organism Group	Table Location	Resistance Phenotype or Mechanism	Screening Tests	Further Testing or Confirmation Required?
Enterobacteriaceae	2A-S1	ESBL production	Broth microdilution and disk diffusion with various cephalosporins and aztreonam	Yes, if screen test positive[a]
	2A-S2	Carbapenemase production	Broth microdilution and disk diffusion with various carbapenems	Yes, if screen test positive
	2A-S3	Carbapenemase production	Broth microdilution and disk diffusion with various carbapenems	Yes, if screen test positive
Staphylococcus aureus	2C-S4	β-Lactamase production	Chromogenic cephalosporin or other method	Yes, if screen test negative, repeat penicillin MIC and induced β-lactamase test (if penicillin MIC ≤ 0.12 µg/mL or zone ≥ 29 mm) on subsequent isolates from same patient; PCR for *blaZ* may be considered.
		Oxacillin resistance	Agar dilution; MHA with 4% NaCl and 6 µg/mL oxacillin	No
		mecA-Mediated oxacillin resistance	Broth microdilution and disk diffusion with cefoxitin	No
		Vancomycin MIC ≥ 8 µg/mL	Agar dilution; BHI with 6 µg/mL vancomycin	Yes, if screen test positive
		Inducible clindamycin resistance	Broth microdilution and disk diffusion with clindamycin and erythromycin	No
		High-level mupirocin resistance	Broth microdilution and disk diffusion with mupirocin	No
Coagulase-negative staphylococci	2C-S5	β-Lactamase production	Chromogenic cephalosporin or other method	Yes, if screen test negative, repeat penicillin MIC and induced β-lactamase test (if penicillin MIC ≤ 0.12 µg/mL or zone ≥ 29 mm) on subsequent isolates from same patient; PCR for *blaZ* may be considered.
		mecA-Mediated oxacillin resistance	Disk diffusion with cefoxitin	No
		Inducible clindamycin resistance	Broth microdilution and disk diffusion with clindamycin and erythromycin	No
Enterococci	2D-S6	Vancomycin resistance	Agar dilution with vancomycin	Yes, if screen test positive
		HLAR	Broth microdilution, agar dilution, and disk diffusion with gentamicin and streptomycin	No for MIC; yes for disk, if inconclusive
Streptococcus pneumoniae	2G	Penicillin resistance	Disk diffusion with oxacillin	Yes, if nonsusceptible
Streptococcus spp. β-hemolytic Group	**2H-1-S7**	**Inducible clindamycin resistance**	**Broth microdilution and disk diffusion with clindamycin and erythromycin**	**No**

Abbreviations: BHI, Brain Heart Infusion; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; FDA, US Food and Drug Administration; HLAR, high-level aminoglycoside resistance; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*.

a درصورت استفاده از نقاط انفصالی بازنگری‌شده سفالوسپورین‌ها و آزترئونام، به آزمایش ESBL نیاز نیست؛ اما اگر غربالگری ESBL انجام‌شود، برای اثبات وجود ESBL آزمایش تأییدی باید انجام‌گیرد.

VIII. اختصارات و سری نام‌ها[1]

AST: antimicrobial susceptibility testing
ATCC: American Type Culture Collection
BHI: Brain Heart Infusion
BLA: β-lactamase (activity determined by the chromogenic cephalosporin test)
BNLAR: β-lactamase negative, ampicillin- resistant
BSC: biological safety cabinet
BSL-2: Biosafety Level 2
BSL-3: Biosafety Level 3
CAMHB: cation-adjusted Mueller-Hinton Broth
CDC: Centers for Disease Control and Prevention
CoNS: coagulase-negative Staphylococci
CSF: cerebrospinal fluid
DMF: dimethylformamid
DMSO: dimethyl sulfoxide
ESBL: extended-spectrum β-Lactamase
FDA: US Food and Drug Administration
HLAR: high- level aminoglycoside resistance
HTM: *Haemophilus* Test Medium
ID: identification
KPC: *Klebsiella pneumonia* carbapenemase
LHB: lysed horse blood
MHA: Mueller-Hinton agar
MHB: Mueller-Hinton broth
MHT: modified Hodge test
MIC: minimal inhibitory concentration
MRS: methicillin-resistant staphylococci
MRSA: Methicillin-resistant *S. aureus*
NAD: nicotinamide adenine dinucleotide
PABA: para-aminobenzoic acid
PBP 2a: penicillin-binding protein 2a
PK- PD: pharmacokinetics-pharmacodynamics
QC: quality control

1. Abbreviations and Acronyms

جدول 1A. گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی با کاربرد بالینی مورد تأیید FDA، که آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی باید آن را برای آزمایش و گزارش روتین ارگانیسم‌های کم‌نیاز درنظر بگیرند

	Enterobacteriaceae[g]	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus* spp.	*Enterococcus* spp.[n]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin[g]	Ceftazidime	Azithromycin[c] or clarithromycin[c] or erythromycin[c]	Ampicillin Penicillin[o]
			Clindamycin[c]	
			Oxacillin (cefoxitin)[k,l]	
	Cefazolin[h,i]	Gentamicin Tobramycin	Penicillin[k]	
	Gentamicin Tobramycin	Piperacillin	Trimethoprim-sulfamethoxazole	
GROUP B[e] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Amikacin	*Daptomycin	*Daptomycin
		Aztreonam	Linezolid	Linezolid
	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid	Cefepime	Telithromycin[c]	Quinupristin-dalfopristin[p]
	Cefuroxime		Doxycycline **Minocycline** Tetracycline[a]	Vancomycin
		Ciprofloxacin Levofloxacin	Vancomycin	
	Cefepime	Imipenem Meropenem	Rifampin[b]	
	Cefotetan Cefoxitin	Piperacillin-tazobactam Ticarcillin		
	Cefotaxime[g,h,i] or ceftriaxone[g,h,i]			
	Ciprofloxacin[g] Levofloxacin[g]			
	Ertapenem Imipenem Meropenem			
	Piperacillin			
	Trimethoprim-sulfamethoxazole[g]			
GROUP C[f] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Aztreonam[j] Ceftazidime[j]		Chloramphenicol[c]	Gentamicin (high-level resistance screen only)
			Ciprofloxacin or levofloxacin or ofloxacin Moxifloxacin	Streptomycin (high-level resistance screen only)
	Chloramphenicol[c,g]		Gentamicin	
	Tetracycline[a]		Quinupristin-dalfopristin[m]	
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY	Cephalothin[f]	Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin	Lomefloxacin Norfloxacin	Ciprofloxacin Levofloxacin Norfloxacin
	Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin			
	Nitrofurantoin		Nitrofurantoin	Nitrofurantoin
	Sulfisoxazole		Sulfisoxazole	
	Trimethoprim		Trimethoprim	
				Tetracycline[a]

* فقط آزمایش MIC؛ آزمایش انتشار از دیسک قابل اطمینان نیست.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 1A صفحهٔ قبل

	Acinetobacter spp.[j]	*Burkholderia cepacia*[j]	*Stenotrophomonas maltophilia*[j]	*Other Non-*Enterobacteriaceae*[j]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin-sulbactam	Trimethoprim-sulfamethoxazole	Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ceftazidime
	Ceftazidime			
	Ciprofloxacin Levofloxacin			Gentamicin Tobramycin
	Imipenem Meropenem			Piperacillin
	Gentamicin Tobramycin			
GROUP B[e] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Ceftazidime	*Ceftazidime	Amikacin
		*Chloramphenicol[c]	*Chloramphenicol[c]	Aztreonam
		*Levofloxacin	Levofloxacin	Cefepime
	Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate	Meropenem	Minocycline	Ciprofloxacin Levofloxacin
		Minocycline	*Ticarcillin-clavulanate	Imipenem Meropenem
		*Ticarcillin-clavulanate		Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate
	Cefepime			
	Cefotaxime Ceftriaxone			Trimethoprim-sulfamethoxazole
	Doxycycline Minocycline Tetracycline			
	Piperacillin			
	Trimethoprim-sulfamethoxazole			
GROUP c[f] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY				Cefotaxime Ceftriaxone
				Chloramphenicol[c]
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY				Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin
				Sulfisoxazole
				Tetracycline[a]

Abbreviation: FDA, US Food and Drug Administration.

* فقط آزمایش MIC؛ آزمایش انتشار از دیسک قابل اطمینان نیست.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد

ادامهٔ جدول 1A صفحهٔ قبل

هشدار: عوامل ضدمیکروبی ذیل نباید به‌طور روتین برای باکتری‌هایی که از نمونه مایع مغزی ـ نخاعی (CSF) جدا می‌شوند، گزارش گردند. در عفونت‌های CSF، این دسته از عوامل ضدمیکروبی، داروهای انتخابی نیستند و ممکن‌است در درمان عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم‌ها مؤثر نباشند(منظور از این ارگانیسم‌ها، باکتری‌هایی هستند که در جدول‌های 2A تا 2J آورده‌شده‌اند).

آنتی‌بیوتیک‌های صرفاً خوراکی

نسل اول و دوم سفالوسپورین‌ها[به‌جز سفوروکسیم(Cefuroxime) تزریقی]

و سفامایسین‌ها(Cephamycins)

کلیندامایسین

ماکرولیدها

تتراسایکلین‌ها

فلوئوروکینولون‌ها

نکته ۱: بهترین راه برای انتخاب مناسب‌ترین عوامل ضدمیکروبی، جهت آزمایش و گزارش، مشاوره آزمایشگاه بالینی با متخصصان بیماری‌های عفونی و داروسازها است. این مشاوره می تواند با پزشکان و اعضای کمیته‌های دارو و درمان و کنترل عفونت بیمارستانی هم صورت‌گیرد. فهرست عوامل ضدمیکروبی برای هر گروه از ارگانیسم‌ها، شامل عواملی است که اثربخشی اثبات‌شده دارند و در شرایط ***in vitro*** نیز کارایی قابل قبول نشان‌داده‌اند. تقسیم‌بندی عوامل ضدمیکروبی به گروه‌های A، B، C و U براساس معیارهای ذیل صورت گرفته‌است:
اثربخشی بالینی، شیوع مقاومت، کاهش ظهور مقاومت، هزینه، موارد استفاده بالینی توصیه‌شده توسط FDA، توصیه‌های مورد توافق برای داروهای انتخاب اول و جایگزین آنها. همچنین بعضی توصیه‌ها به‌ویژه در زیرنویس‌های «e» و «f» در این انتخاب درنظر گرفته‌شده‌اند. مقاومت‌های دور از انتظار نیز باید گزارش گردند (به‌عنوان مثال، مقاومت *انتروباکتریاسه* به کارباپنم‌ها). آزمایش روی عوامل ضدمیکروبی انتخاب‌شده می‌تواند برای اهداف کنترل عفونت مفید باشد.

نکته ۲: فهرست داروهایی که در یک خانه از جدول با هم ذکرشده‌اند، نشانگر گروه‌هایی از عوامل ضدمیکروبی است که نتایج تفسیری(حساس، حساس بینابینی یا مقاوم) و اثربخشی بالینی مشابه دارند. داخل هر خانه، کلمه «or» نشان‌دهندهٔ عوامل ضدمیکروبی است که بین آنها مقاومت متقاطع یا حساسیت متقاطع برقرار است و لذا نتایج این عوامل را می‌توان تقریباً به‌طور کامل بین آنها تعمیم داد. این به آن معنی است که تعمیم نتایج براساس انجام آزمایش روی تعداد زیادی از باکتری‌ها به‌دست آمده و مشخص شده‌است که مجموع خطاهای عمده و خیلی عمده برای تعمیم نتایج در حد کمتر از ۳٪ و برای خطاهای جزئی در حد کمتر از ۱۰٪ بوده‌است. لازم به ذکر است برای ارزیابی اعتبار کلمه «or» حداقل ۱۰۰ سویه مقاوم نسبت به عوامل ضدمیکروبی مورد ارزیابی، آزمایش شده‌است و حداقل در ۹۵٪ این سویه‌ها نتیجه «مقاوم» نسبت به همه عوامل ضدمیکروبی آزمایش‌شده، به‌دست آمده‌است. همچنین کلمه «or» می‌تواند در مواردی استفاده‌شود که عوامل ضدمیکروبی با نتایج تفسیری قابل تعمیم، برضد ارگانیسم‌هایی به‌کار روند که برای آنها فقط حالت «حساس» ذکر شده‌است(مانند سفوتاکسیم یا سفتریاکسون برای *هموفیلوس انفلوانزا*). بنابراین، نتایج حاصل از یک عامل ضدمیکروبی که با کلمه «or» به عامل دیگر متصل شده‌است، می‌تواند نتایج تفسیری برای عامل ضدمیکروبی دیگر را نیز پیش‌بینی نماید. برای مثال، *انتروباکتریاسه* حساس به سفوتاکسیم که آنزیم ESBL تولیدنمی‌کند را می‌توان نسبت به سفتریاکسون نیز حساس درنظر گرفت. در این موارد نتایج آزمایش با سفوتاکسیم گزارش می‌شود و حساسیت قابل انتظار نسبت به سفتریاکسون به‌عنوان یک توضیح اضافی در گزارش ذکرمی‌شود. اگر در یک خانه جدول در بین دو عامل ضدمیکروبی کلمه «or» نوشته نشده‌باشد، براساس نتایج یک عامل نمی‌توان نتایج را به عامل دیگر تعمیم داد. این مسئله به دلیل عدم تطابق نتایج این عوامل با یکدیگر و یا به دلیل اطلاعات ناکافی است.

نکته ۳: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییرکرده‌اند.**

زیرنویس‌ها

توضیحات

a. ارگانیسم‌هایی کـه به تتراسایکلین حساس هستند، بـه داکسی‌سایکلین(doxycycline) و مـاینوسایکلین(minocycline) هم حساس درنـظر گرفته‌می‌شوند. هـر چند بعضی از ارگانیسم‌ها که نسبت به تتراسایکلین، مقاوم یـا حساس بینابینی هستند، ممکن‌است بـه داکسی‌سایکلین یا ماینوسایکلین، یا هر دو آنها حساس باشند.

b. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): ریفامپین نباید به‌تنهایی برای درمان ضدمیکروبی استفاده‌شود.

c. برای ارگانیسم‌های جداشده از نمونه ادرار به‌طور روتین گزارش نمی‌شوند.

d. گروه B، آن دسته از عوامل ضدمیکروبی را نشان‌می‌دهد که می‌توانند در آزمایش اولیه استفاده‌شوند، ولی باید به‌طور انتخابی گزارش شوند. برای مثال، هنگامی که ارگانیسم به عوامل ضدمیکروبی متعلق به همان خانواده از گروه A مقاوم باشد. سایر دلایل برای گزارش نتایج به‌طور انتخابی می‌تواند شامل موارد ذیل باشد: نمونه از منابع انتخابی(برای مثال، سفالوسپورین‌های نسل سوم برای ارگانیسم‌های روده‌ای که از نمونه CSF جدا شده‌اند، یا تری متوپریم سولفامتوکسازول برای ارگانیسم‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری)، گزارش عدم تحمل یا آلرژی به دارو، عدم پاسخ به درمان با یکی از عوامل گروه A، عفونت‌هـای چندمیکروبی، عفونت‌های چندکانونی با میکروارگانیسم‌های مختلف یا به‌منظور گزارش به کمیته کنترل عفونت برای اهداف اپیدمیولوژیک.

e. گروه C **شامل** عوامل ضدمیکروبی جایگزین یا مکمل است که ممکن‌است بر ضد سویه‌های اندمیک یا اپیدمیک موجود در مراکز بهداشتی‌درمانی و مقاوم به **چند** دارو از گروه اولیه آزمایش شوند(به‌ویژه از یک **کلاس** دارویی مانند بتالاکتام‌ها). همچنین گروه C **برای درمان بیمارانی که به داروهای اولیه آلرژی دارند؛** برای درمان عفونت‌های ناشی از ارگانیسم‌های غیرمتعارف(برای مثال کلرامفنیکل برای ایزوله‌های خارج روده‌ای گونه‌های *سالمونلا*)؛ یا **برای** گزارش به کمیته کنترل عفونت برای مقاصد اپیدمیولوژیک نیز آزمایش می‌شوند.

انتروباکتریاسه

f. **نتـایج تـفسیری سفالوتین بـایـد فـقط بـرای پیش‌بینی نتایج عـوامل ضدمیکروبی خـوراکی از قبیـل: سـفادروکسیل(cefadroxil)، سفپـودوکسیم (cefpodoxime)، سفالکسین(cephalexin) و لوراکاربف(loracarbef) استفاده‌شود. داده‌های قدیمی‌تر که پیشنهاد می‌کرد از نتایج سفالوتین می‌توان نتایج حساسیت به سایر سفالوسپورین‌ها را پیش‌بینی نمود، ممکن‌است هنوز صحیح باشد، ولی اطلاعات جدیدی برای تأیید آنها وجودندارد.**

g. زمانی که برای گونه‌های *سالمونلا* و *شیگلای* جداشده از نمونه مدفوع آزمایش تعیین حساسیت انجام‌می‌شود، به‌طور روتین تنها باید آمپی‌سیلین، یک فلوروکینولون و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول گزارش شود. به‌علاوه، **برای گونه‌های *سالمونلای* جداشده از عفونت‌های خارج روده‌ای،** یک سفالوسپورین از نسل سوم را بایـد آزمایش و گزارش نمـود **و درصـورت درخواست، کلرامفنیکل را می‌توان آزمایش و گزارش نمود.**

h. برای باکتری‌های جداشده از نمونه مایع مغزی‌نخاعی به جای سفازولین، باید سفوتاکسیم و سفتریاکسون را تعیین حساسیت و گزارش نمود.

i. به دنبال ارزیابی خصوصیات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک(PK-PD) و داده‌های محدود بالینی، معیارهای تفسیری جدید(بازبینی‌شده) برای سفالوسپورین‌ها (سفازولین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتی زوکسیم و سفتریاکسون) و آزترئونام(aztreonam) تعیین‌شد که در جدول 2A آمده‌است. سفپیم(cefepime) و سفوروکسیم(cefuroxime) تزریقی هم ارزیابی شده‌اند. هر چند برای دوزهای دارویی ذکرشده در جدول 2A نیازی به تغییر معیارهای تفسیری نیست. زمانی که از معیارهای جدید تفسیر استفاده‌می‌شود، انجام آزمایش روتین ESBL قبل از گزارش نتایج ضروری نیست(برای مثال: لازم نیست که گزارش حساس برای سفالوسپورین‌ها، آزترئونام یا پنی‌سیلین را به مقاوم تغییر داد). با این حال تا زمان اجراشدن معیارهای جدید تفسیری در آزمایشگاه‌ها، آزمایش تعیین ESBL باید براساس جدول تکمیلی 2A-S1 انجام‌گیرد. آزمایش تعیین ESBL برای اهداف اپیدمیولوژیک یا کنترل عفونت هنوز می‌تواند مفید باشد.

باید توجه‌داشت که معیارهای تفسیر برای داروهایی که در بسیاری از کشورها دسترسی به آنها محدود است[مانند موکزالاکتام(moxalactam)، سفونیسید (cefonicid)، سفامندول(cefamandole) و سفوپرازون(cefoperazone)] ارزیابی نشده‌است. اگر استفاده از این داروها برای *اشریشیا کلی*، گونه‌های *کلبسیلا* یا *پروتئوس* مدنظر باشد، آزمایش تعیین ESBL باید انجام‌شود(جدول تکمیلی 2A-S1 را ملاحظه نمایید). اگر باکتری جداشده ESBL مثبت باشد، نتایج موکزالاکتام، سفونیسید، سفامندول و سفوپرازون باید مقاوم گزارش شود.

سودوموناس آئروژینوزا و سایر باسیل‌های گرم منفی غیر *انتروباکتریاسه*

j. سایر باسیل‌های گرم منفی غیر*انتروباکتریاسه* شامل گونه‌های *سودوموناس* و سایر باسیل‌های گرم منفی است که کم‌نیازند و قادر به تخمیر گلوکز نیستند. از این گروه، *سودوموناس آئروژینوزا*، گونه‌های *اسینتوباکتر*، *بورخلدریا سپاشیا*(*Burkholderia cepacia*)، *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا* (*Stenotrophomonas maltophilia*) مستثنی می‌باشند. زیرا، برای این باکتری‌ها فهرست‌های جداگانه‌ای از داروهای پیشنهادی برای آزمایش و گزارش ارائه شده‌است.

توصیه‌های مربوط به آزمایش و گزارش *بورخلدریا مالئی*(*B. mallei*) و *بورخلدریا سودومالئی*(*B. pseudomallei*) در سند CLSI M45 وجوددارد.

گونه‌های *استافیلوکک*

k. استافیلوکک‌های حساس به پنی‌سیلین به داروهای ذیل نیز حساسند: سایر پنی‌سیلین‌ها، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌ها و کاربانم‌های مورد تأیید FDA برای درمان عفونت‌های استافیلوککی. سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین و حساس به اگزاسیلین، نسبت به پنی‌سیلین‌های ناپایدار در برابر پنی سیلیناز مقاومند، ولی به موارد ذیل حساسند: پنی‌سیلین‌های پایدار در مقابل پنی‌سیلیناز، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌های **ضداستافیلوککی** و کاربانم‌ها. استافیلوکک‌های مقاوم به اگزاسیلین به تمام عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام موجود مقاوم هستند به جز سفالوسپورین‌های جدید با فعالیت ضد MRSA (مانند ceftobiprole). بنابراین، حساسیت یا مقاومت به دامنه وسیع عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام را می‌توان فقط با استفاده از پنی‌سیلین و یا سفوکسیتین یا اگزاسیلین نتیجه‌گیری نمود. آزمایش روتین سایر پنی سیلین‌ها و ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌ها یا کاربانم‌ها توصیه‌نمی‌شود.

l. از نتایج آزمایش سفوکسیتین(انتشار از دیسک یا MIC) می‌توان برای پیش‌بینی وجود مقاومت به اگزاسیلین ناشی از ژن *mec-A* در *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس لاگدانسیس*(*S. lugdunensis*) استفاده‌نمود. روش ارجح برای تعیین مقاومت ناشی از ژن *mec-A* به اگزاسیلین برای استافیلوکک‌های کواگولاز منفی(به‌جز *استافیلوکوکوس لاگدانسیس*) آزمایش سفوکسیتین به روش انتشار از دیسک است. سفوکسیتین به‌عنوان جانشین اگزاسیلین برای تعیین مقاومت به اگزاسیلین استفاده‌می‌شود. در این حالت نتایج مقاومت یا حساسیت به سفوکسیتین به‌عنوان مقاومت یا حساسیت به اگزاسیلین گزارش می‌گردد. اگر قرار است یک پنی‌سیلین پایدار در مقابل پنی سیلیناز ارزیابی شود، اگزاسیلین در این گروه ارجح است و نتایج آن را می‌توان به سایر اعضای گروه مانند کلوگزاسیلین(cloxacillin)، دیکلوگزاسیلین(dicloxacillin) و فلوکلوگزاسیلین(flucloxacillin) تعمیم داد.

m. برای گزارش در مقابل سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به متی‌سیلین(MSSA).

گونه‌های *انتروکک*

n. **هشدار:** در گونه‌های *انتروکک*، سفالوسپورین‌ها، آمینوگلیکوزیدها(به‌جز آزمایش غربالگری تعیین سطح بالای مقاومت)، کلیندامایسین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول می‌توانند در شرایط *in vitro* حساس باشند. ولی این داروها تأثیر بالینی ندارند و بنابراین نباید به‌عنوان حساس گزارش شوند.

o. پیش‌بینی می‌شود انتروکک‌های حساس به پنی‌سیلین، که پنی‌سیلیناز تولیدنمی‌کنند، به عوامل ذیل حساس باشند: آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین سولباکتام، آموکسی‌سیلین ـ کلاونات، پیپراسیلین و پیپراسیلین ـ تازوباکتام(piperacillin-tazobactam). با این حال، انتروکک‌های حساس به آمپی‌سیلین الزاماً به پنی‌سیلین حساس نیستند. اگر نتایج حساسیت به پنی‌سیلین لازم باشد، انجام آزمایش پنی‌سیلین ضروری است. *RX*(توضیح به پزشک معالج): برای عفونت‌های وخیم انتروککی نظیر اندوکاردیت می‌توان از درمان‌های ترکیبی مانند آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین یا وانکومایسین(برای سویه‌های حساس) همراه با آمینوگلیکوزید استفاده‌نمود، مگر آنکه سطح بالای مقاومت در ارتباط با دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و استرپتومایسین ثبت شده‌باشد. پیش‌بینی می‌شود این نوع ترکیبات دو دارویی، در از بین بردن *انتروکک* نقش هم‌افزایی ایفا نمایند.

p. برای گزارش در مقابل سویه‌های *انتروکوکوس فسیوم* مقاوم به وانکومایسین(VRE).

جدول 1B. گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی با کاربرد بالینی مورد تأیید FDA، که آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی باید آن را برای آزمایش و گزارش روتین ارگانیسم‌های پرنیاز درنظر بگیرند

	Haemophilus spp.[f]	*Neisseria gonorrhoeae*[j]	*Streptococcus pneumoniae*[j]	*Streptococcus* spp. β-Hemolytic Group[q]	*Streptococcus* spp. Viridans Group[q]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin[f,h]		Erythromycin[a,e]	Clindamycin[e,p]	*Ampicillin[m] *Penicillin[m]
				Erythromycin[a,e,p]	
			Penicillin[k] (oxacillin disk)	†Penicillin[n] or †ampicillin[n]	
	Trimethoprim-sulfamethoxazole		Trimethoprim-sulfamethoxazole		
GROUP B[b] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Ampicillin-sulbactam		*Cefepime *Cefotaxime[k] *Ceftriaxone[k]	Cefepime or cefotaxime or ceftriaxone	Cefepime Cefotaxime Ceftriaxone
	Cefuroxime (parenteral)				
			Clindamycin[e]		
	Cefotaxime[f] or ceftazidime or ceftriaxone[f]		Gemifloxacin[j] Levofloxacin[j] Moxifloxacin[j] Ofloxacin	Vancomycin	Vancomycin
	Chloramphenicol[e,f]		*Meropenem[k]		
			Telithromycin		
	Meropenem[f]		Tetracycline[d]		
			Vancomycin[k]		
GROUP C[c] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Azithromycin[g] Clarithromycin[g]	Cefixime or cefpodoxime	*Amoxicillin *Amoxicillin-clavulanic acid	Chloramphenicol[e]	Chloramphenicol[e]
	Aztreonam				Clindamycin[e]
	Amoxicillin-clavulanic acid[g]	Cefotaxime or ceftriaxone			Erythromycin[a,e]
	Cefaclor[g] Cefprozil[g]	Cefoxitin Cefuroxime	*Cefuroxime	*Daptomycin	
	Cefdinir[g] or cefixime[g] or cefpodoxime[g]			Levofloxacin Ofloxacin	
	Cefuroxime (oral)[g]	Ciprofloxacin or ofloxacin	Chloramphenicol[e]	Linezolid	Linezolid
				Quinupristin-dalfopristin[o]	
	Ciprofloxacin or levofloxacin or lomefloxacin or moxifloxacin or ofloxacin Gemifloxacin	Penicillin[i]	*Ertapenem *Imipenem		
			Linezolid		
	Ertapenem or imipenem	Spectinomycin	Rifampin[l]		
	Rifampin	Tetracycline[d]			
	Telithromycin[g]				
	Tetracycline[d]				

Abbreviation: FDA, US Food and Drug Administration.

* فقط آزمایش MIC؛ آزمایش انتشار از دیسک قابل اطمینان نیست.

† **آزمایش روتین ضروری نیست (زیرنویس «n» را ملاحظه نمایید).**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 1B صفحهٔ قبل

هشدار: عوامل ضدمیکروبی ذیل نباید به‌طور روتین برای باکتری‌هایی که از نمونه مایع مغزی‌نخاعی (CSF) جدا می‌شوند، گزارش گردند. در عفونت‌های CSF، این دسته از عوامل ضدمیکروبی، داروهای انتخابی محسوب نمی‌شوند و ممکن‌است در درمان عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم‌ها مؤثر نباشند(منظور از این ارگانیسم‌ها، باکتری‌هایی هستند که در جدول‌های 2A تا 2J آورده شده‌اند).

آنتی‌بیوتیک‌های صرفاً خوراکی

نسل اول و دوم سفالوسپورین‌ها(به‌جز سفوروکسیم [cefuroxime] تزریقی)

و سفامایسین‌ها(cephamycins)

کلیندامایسین

ماکرولیدها

تتراسایکلین‌ها

فلوئوروکینولون‌ها

نکته ۱: بهترین راه برای انتخاب مناسب‌ترین عوامل ضدمیکروبی، جهت آزمایش و گزارش، مشاوره آزمایشگاه بالینی با متخصصان بیماری‌های عفونی و داروسازها است. این مشاوره می‌تواند با پزشکان و اعضای کمیته‌های دارو و درمان و کنترل عفونت بیمارستانی هم صورت‌گیرد. فهرست عوامل ضدمیکروبی برای هر گروه از ارگانیسم‌ها، شامل عواملی است که اثربخشی اثبات‌شده دارند و در شرایط *in vitro* نیز کارایی قابل قبول نشان‌داده‌اند. تقسیم‌بندی عوامل ضدمیکروبی به گروه‌های A، B، C براساس معیارهای ذیل صورت گرفته‌است:

اثربخشی بالینی، شیوع مقاومت، کاهش ظهور مقاومت، هزینه، موارد استفاده بالینی توصیه‌شده توسط FDA، توصیه‌های مورد توافق برای داروهـای انتخاب اول و جایگزین آنـها. همچنین بعضی توصیه‌ها به‌ویژه در زیرنویس‌های «b» و «c» در این انتخاب درنظر گرفته‌شده‌اند. مقاومت‌های دور از انتظار نیز باید گزارش گردند (به‌عنوان مثال، مقاومت *انتروباکتریاسه* بـه کارباپنم‌ها). آزمـایش روی عـوامل ضدمیکروبی انتخاب‌شده می‌تواند برای اهداف کنترل عفونت مفید باشد.

نکته ۲: فهرست داروهایی که در یک خانه از جدول با هم ذکرشده‌اند، نشانگر گروه‌هایی از عوامل ضدمیکروبی است که نتایج تفسیری(حساس، حساس بینابینی یا مقاوم) و اثربخشی بالینی مشابه دارند. داخل هر خانه، کلمه «or» نشان‌دهندهٔ عوامل ضدمیکروبی است که بین آنها مقاومت متقاطع یا حساسیت متقاطع برقرار است و لذا نتایج این عوامل را می‌توان تقریباً به‌طور کامل بین آنها تعمیم داد. این به آن معنی است که تعمیم نتایج براساس انجام آزمایش روی تعداد زیادی از باکتری‌ها به‌دست آمده و مشخص شده‌است که مجموع خطاهای عمده و خیلی عمده برای تعمیم نتایج در حد کمتر از ۳٪ و برای خطاهای جزئی در حد کمتر از ۱۰٪ بوده‌است. لازم به ذکر است برای ارزیابی اعتبار کلمه «or» حداقل ۱۰۰ سویه مقاوم نسبت به عوامل ضدمیکروبی مورد ارزیابی، آزمایش شده‌است و حداقل در ۹۵٪ این سویه‌ها نتیجه «مقاوم» نسبت به همه عوامل ضدمیکروبی آزمایش‌شده، به‌دست آمده‌است. همچنین کلمه «or» می‌تواند در مواردی استفاده‌شود که عوامل ضدمیکروبی با نتایج تفسیری قابل تعمیم، برضد ارگانیسم‌هایی به‌کار روند که برای آنها فقط حالت «حساس» ذکر شده‌است(مانند سفوتاکسیم یا سفتریاکسون برای *هموفیلوس انفلوانزا*). بنابراین، نتایج حاصل از یک عامل ضدمیکروبی که با کلمه «or» به عامل دیگر متصل شده‌است، می‌تواند نتایج تفسیری برای عامل ضدمیکروبی دیگر را نیز پیش‌بینی نماید. برای مثال، *انتروباکتریاسه* حساس به سفوتاکسیم که آنزیم ESBL تولیدنمی‌کند را می‌توان نسبت به سفتریاکسون نیز حساس درنظر گرفت. در این موارد نتایج آزمایش با سفوتاکسیم گزارش می‌شود و حساسیت قابل انتظار نسبت به سفتریاکسون به‌عنوان یک توضیح اضافی در گزارش ذکرمی‌شود. اگر در یک خانه جدول در بین دو عامل ضدمیکروبی کلمه «or» نوشته نشده‌باشد، براساس نتایج یک عامل نمی‌توان نتایج را به عامل دیگر تعمیم داد. این مسئله به دلیل عدم تطابق نتایج این عوامل با یکدیگر و یا به دلیل اطلاعات ناکافی است.

نکته ۳: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

زیرنویس‌ها

توضیحات

a. با آزمایش اریترومایسین می‌توان حساسیت و مقاومت نسبت به آزیترومایسین (azithromycin)، کلاریترومایسین (clarithromycin) و دیریترومایسین (dirithromycin) را پیش‌بینی نمود.

b. گروه B شامل عواملی است که می‌توانند به‌طور اختیاری و اولیه آزمایش شوند ولی فقط باید به‌طور انتخابی گزارش گردند، مانند زمانی که ارگانیسم به عوامل همان کلاس آنتی‌بیوتیکی در گروه A مقاوم باشد. سایر دلایل برای گزارش نتایج به‌طور انتخابی می‌تواند شامل موارد ذیل باشد: نمونه‌هایی از منابع انتخابی (مانند نسل سوم سفالوسپورین‌ها برای ایزوله‌های *هموفیلوس انفلوانزا* جداشده از نمونه مایع مغزی ـ نخاعی)، عفونت‌های چندمیکروبی، عفونت‌های چندکانونی، موارد آلرژی بیمار، وجود گزارش عدم تحمل، یا عدم موفقیت در پاسخ به درمان با یکی از عوامل گروه A، یا به منظور گزارش به کمیته کنترل عفونت.

c. گروه C شامل عوامل ضدمیکروبی جایگزین یا مکمل می‌باشد که ممکن‌است در موارد ذیل به آزمایش آنها نیاز باشد: در مراکزی که دارای سویه‌های اندمیک یا اپیدمیک مقاوم به یک یا بیش از یک داروی اولیه هستند(به‌ویژه داروهایی که در یک کلاس قراردارند مانند بتالاکتام‌ها)، برای درمان ارگانیسم‌های غیرمتعارف، یا به‌منظور گزارش به کمیته کنترل عفونت جهت اهداف اپیدمیولوژیک.

d. ارگانیسم‌های حساس به تتراسایکلین، نسبت به داکسی سایکلین و مایتوسایکلین نیز حساس درنظر گرفته‌می‌شوند.

e. برای ارگانیسم‌های جداشده از نمونه مجاری ادراری به‌طور روتین گزارش نمی‌گردد.

گونه‌های *هموفیلوس*

f. برای *هموفیلوس انفلوانزای* جداشده از نمونه CSF به‌طور روتین فقط باید نتایج آزمایش با آمپی‌سیلین، یک سفالوسپورین نسل سوم، کلرامفنیکل و مروپنم گزارش گردد.

g. عوامل ضدمیکروبی ذیل خوراکی هستند که ممکن‌است برای درمان عفونت‌های تنفسی ناشی از گونه‌های *هموفیلوس* به‌صورت تجربی(empiric therapy) استفاده‌شوند: آموکسی‌سیلین ـ کلاولانیک اسید، آزیترومایسین، سفاکلر(cefaclor)، سفدینیر(cefdinir)، سفیکسیم(cefixime)، سفپودوکسیم(cefpodoxime)، سفپروزیل(cefprozil)، سفوروکسیم(cefuroxime)، کلاریترومایسین(clarithromycin)، لوراکاربف(loracarbef) و تلیترومایسین(telithromycin). نتایج آزمایش حساسیت با این عوامل ضدمیکروبی غالباً برای درمان این گروه از بیماران مفید نیست. هرچند که انجام آزمایش تعیین حساسیت گونه‌های *هموفیلوس* با این آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن‌است برای پایش یا مطالعات اپیدمیولوژیک مناسب باشد.

h. از نتایج آزمایش حساسیت به آمپی‌سیلین باید برای پیش‌بینی فعالیت آموکسی‌سیلین استفاده‌شود(نباید از دیسک آموکسی‌سیلین استفاده‌گردد). اکثر باکتری‌های جداشده *هموفیلوس انفلوانزا* مقاوم به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین، بتالاکتاماز نوع TEM تولیدمی‌کنند. در بیشتر موارد، آزمایش مستقیم بتالاکتاماز(مانند دیسک نیتروسفین) می‌تواند راه تشخیص سریع مقاومت به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین باشد.

نیسریا گونوره

i. آزمایش بتالاکتاماز یک شکل مقاومت به پنی‌سیلین را در *نیسریا گونوره* شناسایی می‌کند و ممکن‌است برای اطلاعات اپیدمیولوژی نیز کاربرد داشته‌باشد[۱]. سویه‌هایی که مقاومت آنها به واسطه کروموزوم است، فقط ازطریق روش‌های تعیین حساسیت مانند انتشار از دیسک یا تعیین MIC به روش رقت‌سازی در محیط آگار مشخص می‌شوند.

استرپتوکوکوس پنومونیه

j. باکتری‌های جداشده *استرپتوکوکوس پنومونیه* حساس به لووفلوکساسین (levofloxacin)، حساسیت قابل پیش‌بینی به جمیفلوکساسین(gemifloxacin) و موکسی فلوکساسین(moxifloxacin) دارد. با این حال *استرپتوکوکوس پنومونیه* حساس به جمیفلوکساسین یا موکسی فلوکساسین را نمی‌توان نسبت به لووفلوکساسین حساس درنظر گرفت.

k. برای *استرپتوکوکوس پنومونیه* جداشده از نمونه CSF، پنی‌سیلین و سفوتاکسیم یا سفتریاکسون یا مروپنم باید به‌طور روتین و به روش معتبر تعیین MIC، آزمایش و گزارش گردد(همانند آنچه در سند CLSI M07-A8 شرح‌داده شده‌است). این باکتری‌ها باید در برابر وانکومایسین به روش تعیین MIC یا دیسک نیز آزمایش شوند. درمورد باکتری‌های جداشده از سایر نواحی، آزمایش غربالگری با دیسک اگزاسیلین می‌تواند مورد استفاده قرارگیرد. هرگاه قطر هاله عدم رشد اگزاسیلین ≤ ۱۹ mm باشد، باید MIC پنی‌سیلین، سفوتاکسیم، سفتریاکسون یا مروپنم تعیین گردد.

l. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): ریفامپین نباید به‌تنهایی برای درمان ضدمیکروبی استفاده‌شود.

---

۱. با آزمایش بتالاکتاماز، مقاومت نوع پلاسمیدی شناسایی می‌شود.

گونه‌های *استرپتوکک*

m. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): برای باکتری‌هایی که به پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین حساسیت بینابینی دارند، ممکن‌است به درمان ترکیبی با یک آمینوگلیکوزید به‌عنوان اثر باکتری‌کش(اثر باکتریسیدال) نیاز باشد.

n. **پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین برای درمان عفونت‌های ناشی از استرپتوکک بتاهمولیتیک، داروی انتخابی محسوب‌می‌شوند**. آزمایش تعیین حساسیت به پنی‌سیلین‌ها و سایر بتالاکتام‌های مورد تأیید FDA برای درمان عفونت‌های ناشی از استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک ضروری نیست و نیازی به انجام آن به‌طور روتین نمی‌باشد. **زیرا ایزوله‌های غیرحساس(پنی سیلین با MIC >۰/۱۲µg/mL و آمپی‌سیلین با MIC >۰/۲۵ µg/mL) در استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک، فوق‌العاده نادر هستند و برای *استرپتوکوکوس پایوژنز* گزارش نشده‌است. درصورت انجام آزمایش تعیین حساسیت، هر ایزوله استرپتوکک بتاهمولیتیک غیرحساسی که یافت شود باید مجدداً تعیین هویت گردد، دوباره تعیین حساسیت شود و درصورت تأیید، به آزمایشگاه مرجع ارسال گردد(برای راهنمایی بیشتر به پیوست A مراجعه‌شود).**

o. برای *استرپتوکوکوس پایوژنز* گزارش می‌گردد.

p. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین در پروفیلاکسی حین زایمان برای استرپتوکک‌های گروه B توصیه‌می‌شود. هرچند برای زنان حساس به پنی‌سیلین با خطر اندک شوک آنافیلاکسی سفازولین توصیه‌می‌شود، ولی ممکن‌است درصورت وجود خطر زیاد شوک آنافیلاکسی، کلیندامایسین یا اریترومایسین تجویز گردد. استرپتوکک‌های گروه B نسبت به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین و سفازولین حساس هستند، ولی ممکن‌است نسبت به کلیندامایسین و/ یا اریترومایسین مقاوم باشند. در مواردی که استرپتوکک گروه B از یک خانم باردار با حساسیت شدید به پنی‌سیلین(خطر زیاد آنافیلاکسی) جدا می‌شود، باید کلیندامایسین و اریترومایسین آزمایش و گزارش گردد.

q. در این جدول، گروه بتاهمولیتیک شامل ارگانیسم‌های ذیل است:

- سویه‌های چرک‌زای استرپتوکک با آنتی‌ژن‌های گروه A (*استرپتوکوکوس پایوژنز*)، C، یا G که کلنی‌های بزرگ تشکیل‌می‌دهند
- سویه‌هایی که دارای آنتی‌ژن گروه B (*استرپتوکوکوس آگالاکتیه*) هستند
- سویه‌هایی از استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک با آنتی‌ژن‌های گروه A، C، F، یا G که کلنی‌های کوچک تولیدمی‌کنند(شامل استرپتوکوکوس آنژینوزوس [*S. Anginosus*] می‌باشند که قبلاً *استرپتوکوکوس میلری*[*S. Milleri*] نامیده‌می‌شدند)، که به‌عنوان گروه ویریدنس درنظر گرفته‌می‌شوند، و برای آنها باید معیار تفسیری این گروه استفاده‌شود.

جدول 1C. گروه‌بندی پیشنهادی عوامل ضدمیکروبی که باید برای آزمایش و گزارش‌دهی روتین ارگانیسم‌های بی‌هوازی، درنظر گرفته‌شوند

	Bacteroides fragilis Group and Other Gram-Negative Anaerobes	Gram-Positive Anaerobes[c]
Group A Primary Test and Report	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid	Ampicillin[a] Penicillin[a]
		Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid
	Clindamycin	
	Ertapenem Imipenem Meropenem	Clindamycin
	Metronidazole	Ertapenem Imipenem Meropenem
		Metronidazole
Group C Supplemental Report Selectively	Penicillin[a] Ampicillin[a]	Ceftizoxime Ceftriaxone Cefotetan Cefoxitin
	Ceftizoxime Ceftriaxone	
	Chloramphenicol	
	Cefotetan Cefoxitin	Piperacillin Ticarcillin
		Tetracycline[b]
		Moxifloxacin
	Piperacillin	
	Moxifloxacin	

نکته ۱: اطلاعاتی که با حروف پررنگ درج‌شده‌اند، جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییرکرده‌اند.

نکته ۲: اغلب عفونت‌های بی‌هوازی، چندمیکروبی هستند که شامل سویه‌های بتالاکتاماز مثبت و بتالاکتاماز منفی همراه با ارگانیسم‌های بالقوه مقاوم می‌باشد(فعالیت بتالاکتاماز با آزمایش رنگ‌زای سفالوسپورین تعیین‌می‌شود). در مواردی که عفونت به‌وسیلهٔ یک سویه بتالاکتاماز منفی به تنهایی ایجاد شده‌است، پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین می‌تواند برای آزمایش و گزارش مناسب باشد.

نکته ۳: بسیاری از سویه‌های گرم مثبت بی‌هوازی همراه با ارگانیسم‌های بالقوه مقاوم از عفونت‌های چندمیکروبی جدا می‌شوند. با این وجود بعضی از گونه‌های *کلستریدیوم*(***C. perfringens, C. septicum, C. sordellii***) ممکن‌است به‌تنهایی عامل یک عفونت باشند و با این که انتظار داریم به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین حساس باشند، ولی باید آزمایش و گزارش شوند.

نکته ٤: داروهای فهرست‌شده در یک خانه جدول معرف خوشه‌هایی از عوامل ضدمیکروبی است که نتایج تفسیری(حساس، حساس بینابینی یا مقاوم) و اثربخشی بالینی مشابه دارند. بنابراین، برای انجام آزمایش فقط یکی از عوامل موجود در هر خانه باید انتخاب شود.

a. اگر ارگانیسم جداشده بتالاکتاماز مثبت باشد، آن را به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین مقاوم گزارش‌کنید. آگاه‌باشید که سویه‌های بتالاکتاماز منفی ممکن است با مکانیسم‌های دیگری به بتالاکتام‌ها مقاوم باشند.

b. درحال حاضر همه اطلاعات مربوط به این عوامل(مانند تعیین نقاط انفصال [جدول 2J] و مقادیر کنترل کیفی [جدول‌های 4D و 4E]) در دسترس نمی‌باشد. به محض قطعی شدن، این اطلاعات به جدول اضافه خواهدشد. انجام آزمایش می‌تواند برای جمع‌آوری داده‌های مراقبتی یا اهداف تحقیقاتی کاربرد داشته‌باشد.

c. بسیاری از باسیل‌های گرم مثبت بی‌هوازی بدون اسپور به مترونیدازول مقاوم هستند.

جدول 2A. استانداردهای تفسیر حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد(MIC) و قطر هاله مهار رشد برای *انتروباکتریاسه*

Testing Conditions	
Medium:	Disk diffusion: Mueller-Hinton agar (MHA) Broth dilution: cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) Agar dilution: MHA
Inoculum:	Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; Disk diffusion: 16 to 18 hours Dilution methods: 16 to 20 hours

Minimal Quality Control (QC) Recommendations (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC®* 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

* ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگه‌دارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی‌کنید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره‌بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. سویه‌های *پروتئوس* ممکن‌است در آزمایش با برخی از عوامل ضدمیکروبی به داخل نواحی مهار رشد بخزند(سوارمینگ). در گونه‌های *پروتئوس* از رشد ناشی از سوارمینگ در مقایسه با هاله مهار رشد آشکار صرفنظر نمایید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است منجر به رشد ضعیفی گردند. بنابراین، از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرف‌نظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه‌گیری نمایید.

۲. زمانی که گونه‌های *سالمونلا* و *شیگلای* جداشده از مدفوع تعیین حساسیت می‌شود، تنها باید آمپی‌سیلین، یکی از فلوروکینولون‌ها و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول به‌طور روتین گزارش گردد. به‌علاوه، برای گونه‌های *سالمونلای* جداشده در عفونت‌های خارج روده‌ای، یک سفالوسپورین نسل سوم باید تعیین حساسیت و گزارش شود **و کلرامفنیکل درصورت درخواست، می‌تواند تعیین حساسیت و گزارش شود.**

۳. رژیم‌های درمانی که در ستون توضیحات درج شده‌اند و برای تأمین سطح پلاسمایی مناسب دارو استفاده‌می‌شوند(با فرض عملکرد طبیعی کلیه و کبد در افراد بزرگسال) مبنایی برای تعیین نقاط انفصال هستند. هنگامی که نقاط انفصال جدید مورد استفاده قرارمی‌گیرد، اکیداً توصیه‌می‌شود که آزمایشگاه‌ها این اطلاعات را با متخصصان بیماری‌های عفونی، داروسازها و کمیته‌های درمان، و کمیته‌های کنترل عفونت درمیان بگذارند. اطلاعات تجویز دارو باید مرور گردد و درمورد دوز درمانی عفونت بیماران خاص با پزشکان مرکز درمانی مشورت شود.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2A صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
A	Ampicillin	10 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 8	16	≥ 32	٤. آمپی‌سیلین به‌عنوان نماینده کلاس آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین استفاده‌می‌شود.
B	Piperacillin	100 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Mecillinam	10 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 8	16	≥ 32	٥. فقط در مقابل سویه *E.coli* جداشده از نمونه دستگاه ادراری استفاده‌می‌شود.
O	Carbenicillin	100 µg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 16	32	≥ 64	
O	Mezlocillin	75 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Ticarcillin	75 µg	≥ 20	15–19	≤ 14	≤ 16	32–64	≥ 128	
β-LACTAM/β-LACTAMASE COMBINATION									
B	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16/4	32/4–64/4	≥ 128/4	
B	Ticarcillin-clavulanate	75/10 µg	≥ 20	15–19	≤ 14	≤ 16/2	32/2–64/2	≥ 128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
									٦. **هشدار:** در شرایط آزمایشگاه ممکن‌است گونه‌های *سالمونلا* و *شیگلا*، نسبت به نسل اول و دوم سفالوسپورین‌ها و سفامایسین‌ها حساس باشند، اما از نظر بالینی مؤثر نیستند و نباید حساس گزارش شوند.
									٧. به دنبال ارزیابی خصوصیات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک (PK-PD) و داده‌های محدود بالینی، معیارهای تفسیری بازبینی‌شده برای سفالوسپورین‌ها(سفازولین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتی زوکسیم و سفتریاکسون) و آزترئونام **ابتدا در ژانویه ۲۰۱۰ (M100-S20) چاپ‌شده** که در فهرست این جدول آمده‌است. **معیارهای تفسیری سفازولین مجدداً در ژوئن ۲۰۱۰ بازنگری شد که در ذیل فهرست شده‌است.** سفپیم(cefepime) و سفوروکسیم (cefuroxime) تزریقی نیز ارزیابی شده‌اند. هر چند برای دوزهای دارویی ذکرشده در ذیل نیازی به تغییر معیارهای تفسیری نمی‌باشد. زمانی که از معیارهای جدید تفسیر استفاده‌می‌شود، انجام آزمایش روتین تعیین ESBL قبل از گزارش نتایج ضروری نیست(یعنی لازم نیست که گزارش حساس برای سفالوسپورین‌ها، آزترئونام یا پنی‌سیلین را به مقاوم تغییر داد). با این حال تا زمان اجراشدن معیارهای جدید تفسیری در آزمایشگاه‌ها، آزمایش تعیین ESBL باید بر اساس جدول تکمیلی 2A-S1 باید انجام‌گیرد. آزمایش تعیین ESBL برای اهداف اپیدمیولوژیک یا کنترل عفونت هنوز می‌تواند مفید باشد.
									باید توجه‌داشت که معیارهای تفسیر برای داروهایی که در بسیاری از کشورها دسترسی به آنها محدود است[مانند موکزالاکتام(moxalactam)، سفونیسید(cefonicid)، سفامندول(cefamandole) و سفوپرازون(cefoperazone)] ارزیابی نشده‌است. اگر استفاده از این داروها برای *اشریشیا کلی*، گونه‌های *کلبسیلا* یا *پروتئوس* مدنظر باشد، آزمایش تعیین ESBL باید انجام‌شود(به جدول تکمیلی 2A-S1 مراجعه‌شود). اگر باکتری جداشده ESBL مثبت باشد، نتایج موکزالاکتام، سفونیسید، سفامندول و سفوپرازون باید مقاوم گزارش‌شود.
									٨ *انتروباکتر*، *سیتروباکتر* و *سراشیا* ممکن‌است طی درمان طولانی‌مدت با نسل سوم سفالوسپورین‌ها مقاوم شوند. بنابراین، باکتری‌هایی که ابتدا حساس هستند، ممکن‌است طی سه تا چهار روز پس از شروع درمان به مقاوم تبدیل گردند. آزمایش تعیین حساسیت باکتری‌هایی که مجدداً جداشده‌اند شاید اطمینان‌بخش باشد.
A	Cefazolin	30 µg	**≥ 23**	**20–22**	**≤ 19**	**≤ 2**	**4**	**≥ 8**	**٩. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۲ گرم هر ۸ ساعت است.**
U	Cephalothin	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	١٠. از معیارهای تفسیر سفالوتین تنها باید برای پیش‌بینی نتایج انتی‌بیوتیک‌های خوراکی[(سفادروکسیل(cefadroxil)، سفپدوکسیم)، سفالکسین و لوراکاربف)] استفاده‌شود. داده‌های قدیمی‌تر که پیشنهاد می‌کند نتایج آزمایش سفالوتین را می‌توان برای پیش‌بینی حساسیت به برخی از سفالوسپورین‌ها درنظر گرفت، ممکن‌است هنوز صحیح باشد اما اطلاعات جدیدی برای تأیید آنها وجودندارد.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2A صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)									
B	Cefepime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	۱۱. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۸ ساعت یا ۲ گرم هر ۱۲ ساعت است.
B B	Cefotaxime or ceftriaxone	30 µg 30 µg	≥ 26 ≥ 23	23–25 20–22	≤ 22 ≤ 19	≤ 1 ≤ 1	2 2	≥ 4 ≥ 4	۱۲. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۲٤ ساعت برای سفتریاکسون و ۱ گرم هر ۸ ساعت برای سفوتاکسیم است.
B	Cefotetan	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	
B	Cefoxitin	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	۱۳. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱/۵ گرم هر ۸ ساعت است.
C	Ceftazidime	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16	۱٤. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۸ ساعت است.
O	Cefamandole	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	See comment (7).
O	Cefmetazole	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefonicid	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	See comment (7).
O	Cefoperazone	75 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 16	32	≥ 64	See comment (7).
O	Ceftizoxime	30 µg	≥ 25	22–24	≤ 21	≤ 1	2	≥ 4	۱۵. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۱۲ ساعت است.
O	Moxalactam	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 8	16–32	≥ 64	See comment (7).
CEPHEMS (ORAL)									
B	Cefuroxime (oral)	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 4	8–16	≥ 32	
O	Loracarbef	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	۱٦. به دلیل وجود گزارش‌هایی مبنی‌بر این که سویه‌هایی از گونه‌های *سیتروباکتر*، *پرووییدنسیا* و *انترویاکتر* به دیسک‌های سفدینیر(cefdinir) و لوراکاربف حساسیت کاذب نشان‌می‌دهند، بنابراین سویه‌های جنس‌های مذکور را نباید با روش انتشار از دیسک با این دیسک‌ها، آزمایش و گزارش نمود.
O	Cefaclor	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefdinir	5 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	See comment (16).
O	Cefixime	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۱۷. روش انتشار از دیسک برای گونه‌های *مورگانلا* کاربرد ندارد.
O	Cefpodoxime	10 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 2	4	≥ 8	See comment (17).
O	Cefprozil	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	۱۸. به دلیل وجود گزارش‌هایی مبنی بر این‌که سویه‌هایی از گونه‌های *پرووییدنسیا* به دیسک‌های سفپروزیل(cefprozil) حساسیت کاذب نشان‌می‌دهند، لذا سویه‌های جنس مذکور را نباید با این دیسک، آزمایش و گزارش نمود.
Inv.	Cefetamet	10 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	See comment (17).
Inv.	Ceftibuten	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 8	16	≥ 32	۱۹. فقط برای باکتری‌های جداشده از نمونه‌های ادرار کاربرد دارد.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2A صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
MONOBACTAMS									
C	Aztreonam	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16	۲۰. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۸ ساعت است.
CARBAPENEMS									
۲۱. به دنبال ارزیابی ویژگی‌های PK-PD، داده‌های محدود بالینی و پراکندگی مقادیر MIC سویه‌های مولد کارباپنماز که به تازگی توصیف شده‌اند، معیارهای تفسیری تجدیدنظر شده برای کارباپنم‌ها برای اولین بار در ژوئن ۲۰۱۰ در سند M100-S20-U به روز شده چاپ‌شد و در ذیل فهرست گردیده‌است. با توجه به انتخاب‌های محدود در درمان عفونت‌های ناشی از ارگانیسم‌هایی که MIC یا هاله مهار رشد آنها برای کارباپنم در محدودهٔ بینابینی قرارمی‌گیرد، ممکن‌است پزشکان بخواهند از دوزهای رژیم درمانی کارباپنم با حداکثر دوز پیشنهادشده در مقالات و احتمالاً به‌صورت رژیم تزریقی طولانی مدت استفاده نمایند. پیشنهاد می‌شود برای ایزوله‌هایی که نسبت به کارباپنم‌ها در محدوده حساسیت بینابینی یا مقاوم قرار می‌گیرند، با متخصصین عفونی مشاوره گردد.									
تا زمانی که آزمایشگاه‌ها بتوانند از معیارهای تفسیری جدید استفاده‌کنند، باید آزمایش تغییر یافته هاج [modified Hodge test (MHT)] براساس جدول تکمیلی به‌روز شده 2A-S3 انجام‌شود. پس از استفاده از معیارهای تفسیری جدید، جز برای اهداف اپیدمیولوژی یا کنترل عفونت، نیازی به انجام آزمایش MHT نیست(به جدول 2A-S2 مراجعه‌شود).									
با درنظر گرفتن این که کارباپنمازها عمدتاً مسئول تغییر قطر هاله مهار رشد و MICهای در محدوده‌های جدید حساسیت بینابینی و مقاوم هستند، توجه به نکات ذیل توصیه‌می‌شود: • **اثربخشی بالینی کارباپنم در درمان عفونت‌های ناشی از ایزوله‌هایی که MIC کارباپنم یا نتایج روش انتشار از دیسک آنها در محدودهٔ جدید حساسیت بینابینی قرارمی‌گیرد، نامشخص است. زیرا، در این زمینه مطالعات بالینی کنترل‌شده به اندازه کافی وجودندارد.** • **MIC ایمی‌پنم برای گونه‌های *پروتئوس*، *پروویدنسیا* و *مورگانلا مورگانی* نسبت به MIC مروپنم یا دوریپنم بیشتر است(MICهایی در محدوده جدید حساسیت بینابینی یا مقاوم). MIC این ایزوله‌ها ممکن است با مکانیسم‌هایی غیر از تولید کارباپنمازها افزایش یافته‌باشد.**									
B	**Doripenem**	**10 µg**	**≥ 23**	**20–22**	**≤ 19**	**≤ 1**	**2**	**≥ 4**	**۲۲. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۵۰۰mg هر ۸ ساعت است.**
B	Ertapenem	10 µg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 0.25	0.5	≥ 1	۲۳. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۲٤ ساعت است.
B	Imipenem	10 µg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 1	2	≥ 4	۲٤. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۵۰۰mg هر ٦ ساعت یا ۱ گرم هر ۸ ساعت است.
B	Meropenem	10 µg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 1	2	≥ 4	۲۵. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۸ ساعت است.
AMINOGLYCOSIDES									۲٦. **هشدار:** گونه‌های *سالمونلا* و *شیگلا*، ممکن‌است در شرایط *in vitro* نسبت به آمینوگلیکوزیدها حساس باشند، اما از نظر بالینی مؤثر نیستند و نباید حساس گزارش شوند.
A	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	30 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	
O	Kanamycin	30 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	30 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	
O	Streptomycin	10 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	–	–	–	۲۷. استانداردهای تفسیری برای MIC وجودندارد.
TETRACYCLINES									۲۸. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مایتوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند. اگرچه برخی از ارگانیسم‌هایی که دارای حساسیت حد واسط و یا مقاوم به تتراسایکلین می‌باشند، ممکن‌است به داکسی‌سایکلین، مایتوسایکلین یا هر دو حساس باشند.
C	Tetracycline	30 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 4	8	≥ 16	
O	Doxycycline	30 µg	≥ 14	11–13	≤ 10	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2A صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
FLUOROQUINOLONES									۲۹. در سالمونلوزیس خارج روده‌ای، سویه‌های حساس به فلوئوروکینولون که به نالیدیکسیک اسید مقاوم هستند ممکن‌است در درمان با فلوئوروکینولون، با شکست یا تأخیر در پاسخ به درمان مواجه گردند. *سالمونلاهای* جداشده از عفونت‌های خارج روده‌ای باید از نظر مقاومت به نالیدیکسیک اسید آزمایش شوند. برای *سالمونلاهای* حساس به فلوئوروکینولون‌ها و مقاوم به نالیدیکسیک اسید، باید به پزشکان اطلاع داده‌شود که این سویه‌ها ممکن‌است در پی درمان با فلوئوروکینولون‌ها ریشه‌کن نشوند. در این موارد توصیه‌می‌شود با پزشک متخصص بیماری‌های عفونی مشورت گردد.
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۳۰. این دارو را FDA برای *کلبسیلا پنومونیه* تأیید کرده‌است.
B	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
U	Lomefloxacin or	10 µg	≥ 22	19–21	≤ 18	≤ 2	4	≥ 8	
U	ofloxacin	5 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Enoxacin	10 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gemifloxacin	5 µg	≥ 20	16–19	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	
QUINOLONES									
O	Cinoxacin	100 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	See comment (19).
O	Nalidixic acid	30 µg	≥ 19	14–18	≤ 13	≤ 16	–	≥ 32	۳۱. نالیدیکسیک اسید علاوه‌بر آزمایش برای باکتری‌های جداشده از نمونه ادرار، می‌تواند برای تعیین حساسیت کاهش‌یافته نسبت به فلوئوروکینولون‌ها در *سالمونلاهای* جداشده از عفونت‌های خارج روده‌ای نیز آزمایش شود See comments (19) and (29).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	See comment (2).
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 256	–	≥ 512	۳۲. سولفی‌سوکسازول(Sulfisoxazole) می‌تواند به‌عنوان نماینده ترکیبات سولفونامیدی که درحال حاضر موجود است، استفاده‌شود.
U	Trimethoprim	5 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 8	–	≥ 16	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 18	13–17	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	۳۳. برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، به‌طور روتین گزارش نمی‌گردد.
FOSFOMYCINS									
O	Fosfomycin	200 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 64	128	≥ 256	۳٤. فقط برای *E.coli* جداشده از نمونه دستگاه ادراری کاربرد دارد. ۳۵. یک دیسک ۲۰۰ میکروگرم فسفومایسین حاوی ۵۰ میکروگرم گلوکوز ٦ فسفات است. ۳٦. روش تأییدشده تعیین MIC برای این آنتی‌بیوتیک، رقت‌سازی در آگار است. به محیط آگار باید ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر گلوکوز ٦ فسفات اضافه‌شود. از روش رقت‌سازی در محیط مایع نباید استفاده‌شود.
NITROFURANS									
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; FDA, US Food and Drug Administration; MHA, Mueller-Hinton agar; MHT, modified Hodge test; MIC, minimal inhibitory concentration; PK-PD, pharmacokinetic-pharmacodynamic; QC, quality control.

جدول تکمیلی 2A-S1. آزمایش‌های غربالگری و تأییدی تعیین ESBL در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه*، *کلبسیلا اکسی‌توکا*، *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس* برای استفاده با جدول 2A

توجه: به دنبال ارزیابی خصوصیات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک (PK-PD) و داده‌های محدود بالینی، معیارهای تفسیری جدیدی(بازبینی‌شده) برای سفالوسپورین‌ها(سفازولین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتی‌زوکسیم و سفتریاکسون) و آزترئونام **ابتدا در ژانویه ۲۰۱۰ چاپ‌شد(M100-S20)** که در فهرست جدول 2A آمده‌است. سفپیم و سفوروکسیم تزریقی نیز ارزیابی شده‌اند. هرچند برای دوزهای دارویی ذکرشده در جدول 2A نیازی به تغییر معیارهای تفسیری نمی‌باشد. زمانی که از معیارهای جدید تفسیر استفاده‌می‌شود، انجام آزمایش‌های روتین تعیین ESBL قبل از گزارش نتایج ضروری نیست(یعنی لازم نیست که گزارش حساس برای سفالوسپورین‌ها، آزترئونام یا پنی‌سیلین را به مقاوم تغییرداد). با این حال تا زمان اجرای معیارهای جدید تفسیری در آزمایشگاه‌ها، آزمایش تعیین ESBL باید براساس این جدول انجام‌گیرد. آزمایش تعیین ESBL برای اهداف اپیدمیولوژیک یا کنترل عفونت هنوز می‌تواند مفید باشد.

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	MHA	CAMHB	MHA	CAMHB
Antimicrobial concentration	For *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, and *E. coli*: Cefpodoxime 10 μg or Ceftazidime 30 μg or Aztreonam 30 μg or Cefotaxime 30 μg or Ceftriaxone 30 μg For *P. mirabilis*[a]: Cefpodoxime 10 μg or Ceftazidime 30 μg or Cefotaxime 30 μg (در آزمایش غربالگری، استفاده از بیش از یک عامل ضدمیکروبی، حساسیت تشخیص را بهبود می‌بخشد.)	For *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, and *E. coli*: Cefpodoxime 4 μg/mL or Ceftazidime 1 μg/mL or Aztreonam 1 μg/mL or Cefotaxime 1 μg/mL or Ceftriaxone 1 μg/mL For *P. mirabilis*[a]: Cefpodoxime 1 μg/mL or Ceftazidime 1 μg/mL or Cefotaxime 1 μg/mL (در ازمایش غربالگری، استفاده از بیش از یک عامل ضدمیکروبی، حساسیت تشخیص را بهبود می‌بخشد.)	Ceftazidime 30 μg Ceftazidime-clavulanic acid[b] 30/10 μg and Cefotaxime 30 μg Cefotaxime-clavulanic acid[b] 30/10 μg (برای آزمایش‌های تأییدی لازم است از هر دو آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و سفتازیدیم، به‌تنهایی و همراه با کلاولانیک اسید استفاده‌شود.)	Ceftazidime 0.25–128 μg/mL Ceftazidime-clavulanic acid 0.25/4–128/4 μg/mL and Cefotaxime 0.25–64 μg/mL Cefotaxime-clavulanic acid 0.25/4–64/4 μg/mL (برای ازمایش‌های تاییدی لازم است از هر دو انتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و سفتازیدیم، به‌تنهایی و همراه با کلاولانیک اسید استفاده‌شود).
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations
Incubation conditions	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	16–18 hours	16–20 hours	16–18 hours	16–20 hours
Results	For *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, and *E. coli*: Cefpodoxime zone ≤ 17 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Aztreonam zone ≤ 27 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm Ceftriaxone zone ≤ 25 mm For *P. mirabilis*[a]: Cefpodoxime zone ≤ 22 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm محدوده‌های ذکرشده در بالا ممکن‌است نشانه تولید ESBL باشد.	رشد در حد غلظت‌های غربالگری یا بیش از آن ممکن‌است نشانه تولید ESBL باشد. یعنی برای *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *کلبسیلا اکسی‌توکا*، MIC ≥ ۸μ/mL برای سفپودوکسیم به‌دست آید و یا MIC≥ ۲μg/mL برای سفتازیدیم، آزترئونام، سفوتاکسیم یا سفتریاکسون به‌دست آید و درمورد *پروتئوس میرابیلیس*، MIC≥ ۲μg/mL برای سفپودوکسیم، سفتازیدیم یا سفوتاکسیم به‌دست آید.	افزایش قطر هاله عدم رشد برابر ۵mm یا بیش از آن برای هر یک از عوامل ضدمیکروبی آزمایش شده همراه با کلاولانیک اسید در مقایسه با قطر هاله عامل ضدمیکروبی به تنهایی(بدون کلاولانیک اسید)، نشانه تولید ESBL است(برای مثال هاله‌های مهار رشد با سفتازیدیم= ۱۶ باشد؛ و با سفتازیدیم ـ کلاولانیک‌اسید = ۲۱ باشد.)	اگر غلظت MIC هر یک از عوامل ضدمیکروبی همراه با کلاولانیک اسید در مقایسه با غلظت عوامل ضدمیکروبی به تنهایی(بدون کلاولانیک اسید) ۳ برابر یا بیشتر کاهش‌یابد، نشانهٔ تولید ESBL است(مثال: برای سفتازیدیم MIC= ۸μg/mL؛ برای سفتازیدیم ـ کلاولانیک اسید MIC = ۱μg/mL)

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2A-S1 صفحهٔ قبل ←

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Reporting			برای تمام سویه‌هایی که تولید ESBL در آنها تأیید شده‌است: اگر آزمایشگاه‌ها هنوز معیارهای جدید تفسیر برای سفالوسپورین و آزترئونام را اجرانمی‌کنند(از جدول‌های قبل از CLSI 2010 استفاده‌می‌کنند)، سویه‌های تولیدکننده ESBL را باید به تمام پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین ها و آزترئونام مقاوم گزارش کنند. اگر آزمایشگاه، معیارهای جدید تفسیر برای سفالوسپورین و آزترئونام را اجرا می‌کند، نیازی به تغییر معیارهای تفسیر برای آنتی‌بیوتیک‌ها نیست و نتایج باید عیناً گزارش‌گردد.	
QC recommendations	When testing ESBL-screening antimicrobial agents, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 is provided as a supplemental QC strain (eg, for training, competency, or test evaluation). Either strain, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 or *E. coli* ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily). *E. coli* ATCC® 25922 (see control limits in Table 3A) *K. pneumoniae* ATCC® 700603: Cefpodoxime zone 9–16 mm Ceftazidime zone 10–18 mm Aztreonam zone 9–17 mm Cefotaxime zone 17–25 mm Ceftriaxone zone 16–24 mm	When testing ESBL-screening antimicrobial agents, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 is provided as a supplemental QC strain (eg, for training, competency, or test evaluation). Either strain, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 or *E. coli* ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily). *E. coli* ATCC® 25922 = No growth (also refer to control limits listed in Table 4A). *K. pneumoniae* ATCC® 700603 = Growth: Cefpodoxime MIC ≥ 8 µg/mL Ceftazidime MIC ≥ 2 µg/mL Aztreonam MIC ≥ 2 µg/mL Cefotaxime MIC ≥ 2 µg/mL Ceftriaxone MIC ≥ 2 µg/mL	When performing the ESBL confirmatory tests, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 and *E. coli* ATCC® 25922 should be tested routinely (eg, weekly or daily). *E.coli* ATCC 25922: قطر هاله مهار رشد برای ترکیب آنتی‌بیوتیک و کلاولانیک اسید در مقایسه با آنتی‌بیوتیک به‌تنهایی(بدون کلاولانیک اسید) حداکثر ۲mm (۲ ≤) افزایش می‌یابد. *K. pneumonia* ATCC 700603: افزایش قطر هاله مهار رشد ۵mm ≥ برای ترکیب سفتازیدیم ـ کلاولانیک اسید؛ ۳ mm ≥ برای سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید.	When performing the ESBL confirmatory tests, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 and *E. coli* ATCC® 25922 should be tested routinely (eg, weekly or daily). *E.coli* ATCC 25922: غلظت MIC برای ترکیب آنتی‌بیوتیک و کلاولانیک اسید در مقایسه با آنتی‌بیوتیک به‌تنهایی(بدون کلاولانیک اسید) کمتر از ۳ تیتر(۳ >) کاهش می‌یابد. *K. pneumonia* ATCC 700603: کاهش ۳ ≥ تیتر در MIC در زمان استفاده از ترکیب دارو با کلاولانیک اسید، در مقایسه با استفاده از آنتی‌بیوتیک به تنهایی

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; PK-PD, pharmacokinetic-pharmacodynamic; QC, quality control.

زیرنویس‌ها

a. آزمایش غربالگری تولید ESBL برای *پروتئوس میرابیلیس* فقط زمانی توصیه‌می‌شود که از نظر بالینی اهمیت داشته‌باشد(مانند سویه‌ای که باعث باکتریمی می‌شود).

b. طرز تهیه دیسک‌های سفتازیدیم ـ کلاولانیک اسید (۳۰µg/۱۰µg) و سفوتاکسیم ـ کلاولانیک اسید (۳۰µg/۱۰µg): از محلول ذخیره کلاولانیک اسید با غلظت ۱۰۰۰µg/mL استفاده‌کنید(از محلول تازه تهیه‌شده یا محلول فریز شده در $-۷۰^{\circ}C$). ۱۰µL از کلاولانیک اسید را به دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰µg) و سفوتاکسیم (۳۰µg) اضافه‌کنید. برای این منظور از میکروپیپت استفاده‌کنید. این کار را یک ساعت قبل از قراردادن دیسک‌ها در سطح محیط انجام‌دهید، چون حدود ۳۰ دقیقه برای جذب کلاولانیک اسید و خشک‌شدن مناسب دیسک‌ها زمان لازم است. دیسک‌ها را بلافاصله پس از تهیه، استفاده‌کنید یا دور بریزید؛ ذخیره نکنید.

جدول تکمیلی 2A-S2. آزمایش تأییدی برای *انتروباکتریاسه* مشکوک به تولید کارباپنماز، درصورت استفاده از معیارهای تفسیری «جدید» برای کارباپنم‌ها

فقط وقتی از معیارهای تفسیری جدید برای کارباپنم‌ها، که اولین بار در ژوئن ۲۰۱۰ چاپ شده‌است، استفاده‌می‌شود(M100-S20-U):
۱. از این پس آزمایش غربالگری اولیه(در جدول تکمیلی 2A-S3 توضیح‌داده شده‌است) و آزمایش تأییدی(یعنی MHT) برای آزمایش باکتری‌های جداشده از بیماران به‌طور روتین ضروری نیست.
۲. MHT می‌تواند برای آزمایش ایزوله‌هایی که برای اهداف اپیدمیولوژیک یا کنترل عفونت آزمایش می‌شود، مفید باشد.
۳. برای ایزوله‌هایی که آزمایش MHT آنها مثبت است، تغییر در تفسیر نتایج حساسیت کارباپنم لازم نیست.

When to do this test:	در فرایندهای کنترل عفونت یا تحقیقات اپیدمیولوژیک ممکن‌است به تعیین هویت *انتروباکتریاسه* تولیدکننده کارباپنماز نیاز باشد. با استفاده از معیارهای تفسیری جدول 2A، ایزوله‌های تولیدکننده کارباپنماز معمولاً به یک یا بیشتر از یک نوع کارباپنم حساسیت بینابینی یا مقاومت دارند(توجه: عدم حساسیت به ارتاپنم(ertapenem) حساس‌ترین نشانگر تولید کارباپنماز است) و به یک یا بیشتر از یک عامل در زیرکلاس III سفالوسپورین‌ها(مانند سفوپرازون، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتی‌زوکسیم و سفتریاکسون) مقاومت دارند. بنابراین، انجام آزمایش می‌تواند محدود به ایزوله‌هایی شود که این ویژگی‌ها را دارند.
Test method	MHT
Medium	MHA
Antimicrobial concentration	Ertapenem disk 10 μg or Meropenem disk 10 μg
Inoculum	۱. از *E.coli* ATCC 25922 (ارگانیسم نشانگر) در سرم فیزیولوژی یا محیط مایع یک سوسپانسیون معادل کدورت استاندارد 0.5 MF تهیه نمایید(روش DCS [Direct Colony Suspension] یا GM [Growth Method] بندهای ۱.۲.۸ یا ۲.۲.۸)، سپس آن را با سرم فیزیولوژی یا محیط مایع به نسبت ۱:۱۰ رقیق کنید. سطح محیط مولر هینتون آگار را مانند روش انتشار از دیسک تلقیح نمایید. اجازه‌دهید سطح محیط به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه خشک شود. چنانچه در ذیل توضیح داده‌می‌شود به تعداد مناسب دیسک ارتاپنم(ertapenem) یا مروپنم مطابق شکل‌های ۱ و ۲ در سطح محیط قراردهید. ۲. ۵-۳ کلنی از کشت تازه(۲٤ ساعته) باکتری مورد آزمایش یا سویه کنترل را از روی محیط آگار خون‌دار بردارید و به‌صورت خط مستقیم تا حاشیه دیسک تلقیح نمایید(مطابق شکل‌های ۱ و ۲). برای این منظور از لوپ ۱۰μL یا سواب استفاده‌کنید. طول خط تلقیح باید حداقل ۲۰ تا۲۵mm باشد. تعداد ایزوله‌هایی را که می‌توان در یک ظرف پتری تلقیح کرد، بستگی به گنجایش ظرف مولر هینتون آگار دارد(قطر ۱۰۰ یا ۱۵۰mm)، که در شکل‌های ۱ و ۲ آمده‌است. گنجایش ظروف بزرگ و کوچک مولر هینتون آگار(به‌ترتیب به قطر ۱۵۰ یا ۱۰۰mm):
Incubation conditions	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	16 to 20 hours

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2A-S2 صفحهٔ قبل ⟵

Results	پس از گرمخانه‌گذاری، مطابق شکل‌های ۱ و ۲ ظروف پتری را از نظر افزایش میزان رشد در حد فاصل و محل تلاقی خط کشت باکتری(یا سویه کنترل) و منطقه مهار رشد بررسی‌نمایید. افزایش رشد به داخل هاله مهار رشد(نمای برگ شبدری Clover leaf) = مثبت از نظر تولید کارباپنماز عدم افزایش رشد به داخل هاله مهار رشد = منفی از نظر تولید کارباپنماز بعضی از ایزوله‌ها ممکن است موادی تولیدکنند که منجر به مهار رشد *E.coli* ATCC 25922 شود. در این حالت یک منطقه بدون رشد در اطراف خط کشت باکتری تلقیح‌شده دیده‌می‌شود(شکل ۳) و آزمایش تغییریافته هاج برای این باکتری غیرقابل تفسیر است. درصورت مثبت شدن آزمایش تغییریافته هاج، قبل از گزارش نتایج کارباپنم، MIC تعیین‌شود، چون تفسیر بالینی منحصراً براساس MIC است.
Reporting	**نتایج MHT را به کمیته کنترل عفونت یا درخواست‌کنندگان اطلاعات اپیدمیولوژیک گزارش کنید.** **برای ایزوله‌هایی که آزمایش MHT آنها مثبت است، تغییر در تفسیر نتایج حساسیت کارباپنم لازم نمی‌باشد.**
QC recommendations	Test positive and negative QC organisms each day of testing. *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705—MHT positive *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706—MHT negative

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; MHA, Mueller-Hinton agar; MHT, modified Hodge test; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

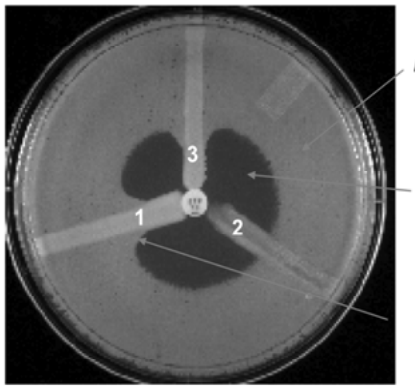
ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2A-S2 صفحهٔ قبل ⟵

نکته‌ها:

۱. توصیه‌های مربوط به این آزمایش عمدتاً به‌دنبال آزمایش روی سویه‌های *انتروباکتریاسه* جداشده در آمریکا می‌باشد. حساسیت و ویژگی این آزمایش‌ها در تشخیص کارباپنماز نوع *کلبسیلا پنومونیه*(KPC) در این ایزوله‌ها بیش از ۹۰٪ است. حساسیت و ویژگی این آزمایش برای شناسایی مقادیر کم تولید متالوبتالاکتاماز نامشخص است.

۲. هیچ داده‌ای وجودندارد که نشان‌دهد این آزمایش‌ها برای شناسایی تولید کارباپنماز در باسیل‌های گرم منفی غیرتخمیرکننده هم کارایی دارد.



E. coli ATCC® 25922

Inhibition of *E. coli* ATCC® 25922 by ertapenem

Enhanced growth of *E. coli* ATCC® 25922. Carbapenemase produced by *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705 inactivated ertapenem that diffused into the media. Thus, there is no longer sufficient ertapenem here to inhibit *E. coli* ATCC® 25922 and an indentation of the zone is noted.

Figure 1. The MHT Performed on a Small MHA Plate.
(1) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705, positive result;
(2) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706, negative result;
and (3) a clinical isolate, positive result.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2A-S2 صفحهٔ قبل ←

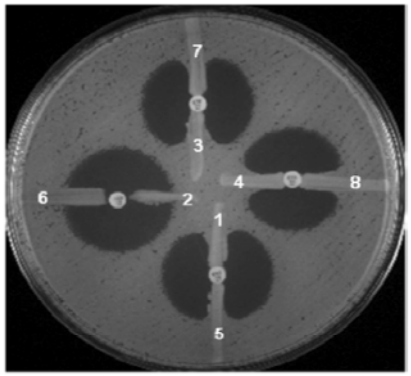


Figure 2. The MHT Performed on a Large MHA Plate With Ertapenem. (1) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705, positive result; (2) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706, negative result; (3–8) clinical isolates; (6) negative result; (3, 4, 5, 7, 8) positive result.

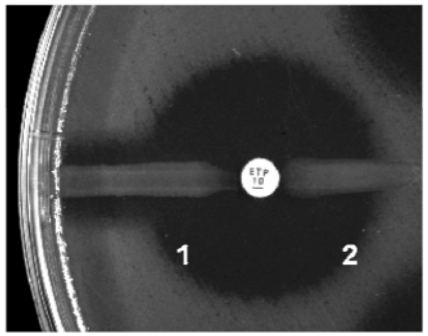


Figure 3. An Example of an Indeterminate Result. (1) A clinical isolate with an indeterminate result; and (2) a clinical isolate with a negative result.

جدول تکمیلی 2A-S3. آزمایش تأییدی برای *انتروباکتریاسه* مشکوک به تولید کارباپنماز درصورت استفاده از معیارهای تفسیری «قدیمی» برای کارباپنم‌ها(برای استفاده با جدول 2A در M100-S20 [ژانویه ۲۰۱۰])

تا زمان به‌کارگیری معیارهای تفسیری جدید برای کارباپنم‌ها باید آزمایش‌های غربالگری و تأییدی، انجام و گزارش‌شود. این آزمایش‌ها با استفاده از دستورالعمل‌های جدید برای MHT مثبت که در ذیل توضیح‌داده شده‌است، انجام‌می‌گیرد. انجام آزمایش تعیین کارباپنماز با روش MHT برای ایزوله‌ای که به تمام کارباپنم‌های گزارش‌شده توسط آزمایشگاه، حساسیت بینابینی یا مقاومت دارد، ضروری نیست(نتایج حساسیت بینابینی یا مقاومت باید مطابق نتایج به‌دست آمده، گزارش شود).

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test
When to do this test	**موارد ذیل فقط درصورت استفاده از معیارهای تفسیری کارباپنم‌ها مطابق سند M100-S20(ژانویه ۲۰۱۰) کاربرد دارد.**		ازمایش غربالگری مثبت و مقاومت به یک یا بیش از یک عامل ضدمیکروبی در نسل سوم سفالوسپورین‌ها(مانند سفوپرازون، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتی زوکسیم و سفتریاکسون).
Test method	Disk diffusion	Broth microdilution	MHT
Medium	MHA	CAMHB	MHA
Antimicrobial concentration	Ertapenem 10 µg or Meropenem 10 µg (**نکته:** دیسک ایمی‌پنم برای آزمایش غربالگری کارباپنمازها کارایی مناسب ندارد.)	Ertapenem 1 µg/mL or Imipenem 1 µg/mL or Meropenem 1 µg/mL	Ertapenem disk 10 µg or Meropenem disk 10 µg
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	۱. یک سوسپانسیون معادل کدورت استاندارد 0.5 MF از *E.coli* ATCC 25922 (ارگانیسم نشانگر) در سرم فیزیولوژی یا محیط مایع تهیه نمایید(روش DCS [Direct Colony Suspension] یا GM [Growth Method] بندهای ۱.۲۸ یا ۲.۲۸). سپس آن را با سرم فیزیولوژی یا محیط مایع به نسبت ۱:۱۰ رقیق کنید. سطح محیط مولر هینتون آگار را مانند روش انتشار از دیسک تلقیح نمایید. اجازه‌دهید سطح محیط به مدت ۳ تا ۱۰ دقیقه خشک شود. مطابق توضیحات ذیل و شکل‌های ۱ و ۲، از دیسک‌های ارتاپنم(ertapenem) یا مروپنم به تعداد مناسب در سطح محیط قراردهید. ۲. ۵-۳ کلنی از کشت تازه(۲٤ ساعته) باکتری مورد آزمایش یا سویه شاهد را از روی محیط آگار خون‌دار بردارید و به‌صورت خط مستقیم تا حاشیه دیسک تلقیح نمایید(مطابق شکل‌های ۱ و ۲). برای این منظور از لوپ ۱۰ میکرولیتری یا سواب استفاده‌کنید. طول خط تلقیح باید حداقل ۲۰ تا ۲۵mm باشد. تعداد ایزوله‌هایی را که می‌توان در یک ظرف پتری تلقیح کرد، بستگی به گنجایش ظرف مولر هینتون آگار دارد، که در شکل‌های ۱ و ۲ آمده‌است. گنجایش ظروف بزرگ و کوچک مولر هینتون آگار(به‌ترتیب به قطر ۱۵۰ یا ۱۰۰mm) عبارتند از: ظرف کوچک ظرف بزرگ تعداد دیسک ۱ ۱-٤ تعداد ایزوله ۱ ۱-٦ تعداد سویه کنترل کیفیت ۲ ۲
Incubation conditions	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	16–18 hours	16–20 hours	16–20 hours

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2A-S3 صفحهٔ قبل ⟵

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test
Results	Ertapenem **16**–21 mm Meropenem **14**–21 mm قطر هاله مهار رشد که در بالا ذکر شده است، ممکن‌است نشانه تولید کارباپنماز باشد، علیرغم این واقعیت که در حال حاضر این اعداد در محدوده تفسیری حساس قرارمی‌گیرند. برای تأیید، آزمایش تغییریافته هاج را انجام‌دهید. (نکته: دیسک ایمی‌پنم برای آزمایش غربالگری کارباپنمازها کارایی مناسبی ندارد.)	Ertapenem 2–**4** µg/mL Imipenem 2–**8** µg/mL Meropenem 2–**8** µg/mL مقادیر MIC که در بالا ذکرشده‌اند ممکن‌است نشانه تولید کارباپنماز باشد، علیرغم این واقعیت که این اعداد در سند **M100-S20 (ژانویه ۲۰۱۰)** در محدوده تفسیری حساس قرارمی‌گیرند. برای تأیید آزمایش تغییریافته هاج انجام‌شود.	پس از گرمخانه‌گذاری، ظروف پتری را مطابق شکل‌های ۱ و ۲ ازنظر افزایش رشد، در حد فاصل و محل تلاقی خط کشت باکتری مورد آزمایش(یا سویه شاهد) و منطقه مهار رشد، بررسی نمایید. افزایش رشد به داخل هاله مهار رشد(نمای برگ شبدری Clover leaf) = مثبت از نظر تولید کارباپنماز عدم افزایش رشد به داخل هاله مهار رشد = منفی از نظر تولید کارباپنماز بعضی از ایزوله‌ها ممکن‌است موادی تولیدکنند که منجر به مهار رشد *E.coli* ATCC 25922 شود. در این حالت در اطراف خط کشت باکتری یک منطقه بدون رشد دیده‌می‌شود(شکل ۳). آزمایش تغییریافته هاج برای این ایزوله‌ها غیرقابل تفسیر است. درصورت مثبت‌شدن نتایج آزمایش غربالگری با دیسک ارتاپنم یا مروپنم و آزمایش تغییریافته هاج، قبل از گزارش نتایج کارباپنم، آزمایش تعیین MIC انجام‌شود.
Reporting			**موارد ذیل فقط وقتی به‌کار می‌رود که از معیارهای تفسیری کارباپنم‌ها که در سند M100-S20 (ژانویه ۲۰۱۰) توضیح‌داده شده‌است، استفاده‌شود.** **ایزوله‌هایی که MHT مثبت هستند و MIC آنها برای ارتاپنم ۲-٤µg/mL، برای ایمی‌پنم ۲-۸µg/mL، یا برای مروپنم ۲-۸µg/mL است، به همه کارباپنم‌ها مقاوم گزارش می‌شوند.** اگر آزمایش MHT منفی بود، نتایج MIC کارباپنم را **مطابق جدول 2A در سند M100-S20 (ژانویه ۲۰۱۰)**، بر اساس معیارهای موجود در CLSI تفسیر نمایید.
QC recommendations	Use *E. coli* ATCC® 25922 for routine QC.	Use *E. coli* ATCC® 25922 for routine QC.	Test positive and negative QC organisms each day of testing. *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705—MHT positive *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706—MHT negative

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; MHA, Mueller-Hinton agar; MHT, modified Hodge test; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

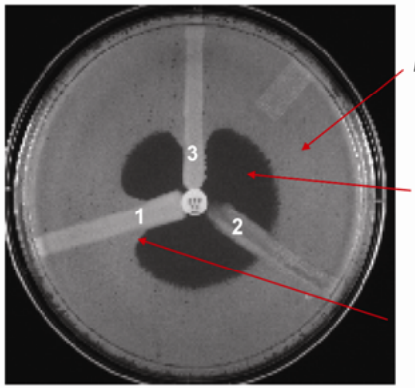
ادامهٔ جدول 2A-S3 صفحهٔ قبل ⟵

نکته‌ها:

۱. گونه‌های *پروتئوس*، *پرووویدنسیا*، *مورگانلا* به ایمی پنم MIC زیادی دارند که علت آن مکانیسم‌های دیگری غیر از تولید کاربا‌پنمازها است. بنابراین، ارزش آزمایش غربالگری کاربا‌پنمازها ازطریق اندازه‌گیری ایمی‌پنم در این سه جنس هنوز به اثبات نرسیده‌است. به‌علاوه، آزمایش دیسک ایمی‌پنم به‌عنوان آزمایش غربالگری برای تشخیص کاربا‌پنمازها در *انتروباکتریاسه* کارایی ضعیفی دارد.

۲. توصیه‌های مربوط به آزمایش‌های غربالگری و تأییدی عمدتاً براساس آزمایش روی سویه‌های جداشده از *انتروباکتریاسه* در آمریکا می‌باشد. حساسیت و ویژگی این آزمایش‌ها در تشخیص کاربا‌پنماز نوع *کلبسیلا پنومونیه* کاربا‌پنماز(KPC) بیش از ۹۰٪ است. حساسیت و ویژگی این آزمایش جهت شناسایی سطح پایین تولید متالوبتالاکتاماز نامشخص است.

۳. هیچ داده‌ای وجودندارد که نشان‌دهد این آزمایش‌ها برای شناسایی تولید کاربا‌پنماز در باسیل‌های گرم منفی غیرتخمیرکننده هم کارایی دارد.



E. coli ATCC® 25922

Inhibition of *E. coli* ATCC® 25922 by ertapenem

Enhanced growth of *E. coli* ATCC® 25922. Carbapenemase produced by *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705 inactivated ertapenem that diffused into the media. Thus, there is no longer sufficient ertapenem here to inhibit *E. coli* ATCC® 25922 and an indentation of the zone is noted.

Figure 1. The MHT Performed on a Small MHA Plate.
(1) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705, positive result;
(2) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706, negative result;
and (3) a clinical isolate, positive result.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2A-S3 صفحهٔ قبل ←

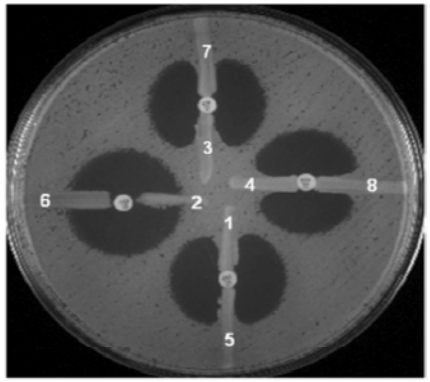


Figure 2. The MHT Performed on a Large MHA Plate With Ertapenem. (1) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705, positive result; (2) *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706, negative result; (3–8) clinical isolates; (6) negative result; (3, 4, 5, 7, 8) positive result.

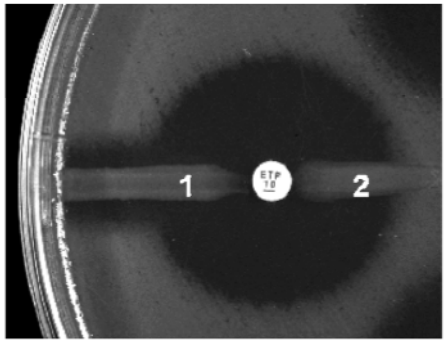


Figure 3. An Example of an Indeterminate Result. (1) A clinical isolate with an indeterminate result; and (2) a clinical isolate with a negative result.

جدول 2B-1. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *سودوموناس آئروژینوزا*

Testing Conditions

Medium: Disk diffusion: MHA
Broth dilution: CAMHB
Agar dilution: MHA
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air;
Disk diffusion: 16 to 18 hours
Dilution methods: 16 to 20 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، با چشم غیرمسلح اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس‌نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی‌کنید. حاشیهٔ هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، در آن هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره‌بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید.

۲. حساسیت سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جداشده از بیماران سیستیک فیبروزیس را می‌توان با روش انتشار از دیسک یا روش‌های رقیق‌سازی، با اطمینان تعیین‌کرد. بهتر است قبل از گزارش به‌صورت حساس، زمان گرمخانه‌گذاری تا ۲٤ ساعت ادامه‌یابد.

۳. سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ممکن‌است طی درمان طولانی‌مدت به تمام مواد ضدمیکروبی مقاوم شوند. بنابراین، ممکن‌است سویه‌هایی که در ابتدا حساس هستند، پس از شروع درمان در عرض ۳ تا ٤ روز مقاوم شوند. در این موارد ممکن‌است لازم باشد آزمایشگاه توصیه‌کند که نمونه‌گیری تجدیدشود و آزمایش تعیین حساسیت برای ایزوله جدید انجام‌گیرد.

٤. رژیم‌های درمانی که در ستون توضیحات نشان داده‌شده‌اند و برای تأمین سطح پلاسمایی مناسب دارو استفاده‌می‌شوند(با فرض عملکرد طبیعی کلیه و کبد در افراد بزرگسال) مبنایی برای تعیین نقاط انفصال هستند. هنگامی که نقاط انفصال جدید مورد استفاده قرارمی‌گیرد، قویاً پیشنهاد می‌گردد که آزمایشگاه‌ها این اطلاعات را با متخصصان بیماری‌های عفونی، داروسازها و کمیته‌های درمانی، و کمیته‌های کنترل عفونت درمیان بگذارند. اطلاعات تجویز دارو باید مرور شود و درمورد دوز درمانی عفونت‌های بیماران خاص با پزشکان مؤسسه مشورت گردد.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییرکرده‌اند.**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
۵. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): درصورتی که آزمایشگاه نتیجه را برای این دسته از داروها(پنی‌سیلین‌های ضد *سودوموناس*) حساس گزارش کند، برای درمان عفونت‌های خطیر ناشی از *سودوموناس آئروژینوزا*، پزشک باید از دوز بالای دارو استفاده‌نماید. در این عفونت‌ها درمان تک‌دارویی با شکست بالینی مواجه خواهدشد									
A	Piperacillin	100 µg	≥ 18	–	≤ 17	≤ 64	–	≥ 128	
B	Ticarcillin	75 µg	≥ 15	–	≤ 14	≤ 64	–	≥ 128	
O	Azlocillin	75 µg	≥ 18	–	≤ 17	≤ 64	–	≥ 128	
O	Carbenicillin	100 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 128	256	≥ 512	
O	Mezlocillin	75 µg	≥ 16	–	≤ 15	≤ 64	–	≥ 128	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2B-1 صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS See comment (4).									
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 18	–	≤ 17	≤ 64/4	–	≥ 128/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 µg	≥ 15	–	≤ 14	≤ 64/2	–	≥ 128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
A	Ceftazidime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	٦. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ٦ ساعت یا ۲ گرم هر ۸ ساعت است.
B	Cefepime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	۷. معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ۸ ساعت یا ۲ گرم هر ۱۲ ساعت است.
MONOBACTAMS									
B	Aztreonam	30 µg	≥ 22	16–21	≤ 15	≤ 8	16	≥ 32	۸ معیارهای تفسیر مبتنی بر دوز رژیم درمانی ۱ گرم هر ٦ ساعت یا ۲ گرم هر ۸ ساعت است.
CARBAPENEMS									
B	Imipenem	10 µg	≥ 16	14–15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
B	Meropenem	10 µg	≥ 16	14–15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
LIPOPEPTIDES									
O	Colistin	10 µg	≥ 11	–	≤ 10	≤ 2	4	≥ 8	
O	Polymyxin B	300 units	≥ 12	–	≤ 11	≤ 2	4	≥ 8	
AMINOGLYCOSIDES									
A	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	30 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	30 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	
FLUOROQUINOLONES									
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
B	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
U	Lomefloxacin or	10 µg	≥ 22	19–21	≤ 18	≤ 2	4	≥ 8	
U	ofloxacin	5 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	۹. این معیارهای تفسیری فقط برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری کاربرد دارد.

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration.

جدول 2B-2. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *اسینتوباکتر*

Testing Conditions

Medium: Disk diffusion: MHA
Broth dilution: CAMHB
Agar dilution: MHA
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours, all methods

Minimal QC Recommendations (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره‌بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرفنظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه‌گیری نمایید.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییرکرده‌اند.**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
B	Piperacillin	100 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Mezlocillin	75 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Ticarcillin	75 µg	≥ 20	15–19	≤ 14	≤ 16	32–64	≥ 128	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
A	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 16/4	32/4–64/4	≥ 128/4	
B	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 µg	≥ 20	15–19	≤ 14	≤ 16/2	32/2–64/2	≥ 128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
A	Ceftazidime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefepime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefotaxime	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 8	16–32	≥ 64	
B	Ceftriaxone	30 µg	≥ 21	14–20	≤ 13	≤ 8	16–32	≥ 64	
CARBAPENEMS									
A	Imipenem	10 µg	≥ 16	14–15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
A	Meropenem	10 µg	≥ 16	14–15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
LIPOPEPTIDES									
O	Polymyxin B	–	–	–	–	≤ 2	–	≥ 4	
O	Colistin		–	–	–	≤ 2	–	≥ 4	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2B-2 صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
AMINOGLYCOSIDES									
A	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	30 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	
TETRACYCLINES									
۲. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مایتوسایکلین هم حساس در نظر گرفته‌می‌شوند. اگر چه برخی از ارگانیسم‌ها که دارای حساسیت حد واسط و یا مقاوم به تتراسایکلین می‌باشند، ممکن‌است به داکسی‌سایکلین، مایتوسایکلین یا هر دو حساس باشند.									
B	Tetracycline	30 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 4	8	≥ 16	
B	Doxycycline	30 µg	≥ 13	10–12	≤ 9	≤ 4	8	≥ 16	
B	Minocycline	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES									
A	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
A	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

جدول 2B-3. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *بورخلدریا سپاشیا*

Testing Conditions

Medium: Disk diffusion: MHA
Broth dilution: CAMHB
Agar dilution: MHA
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; all methods, 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرف نظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه‌گیری نمایید.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
B	Ceftazidime	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 8	16	≥ 32	
CARBAPENEMS									
B	Meropenem	10 µg	≥ 20	16–19	≤ 15	≤ 4	8	≥ 16	
TETRACYCLINES									
B	Minocycline	30 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
B	Ticarcillin-clavulanic acid	–	–	–	–	≤ 16/2	32/2–64/2	≥ 128/2	
FLUOROQUINOLONES									
B	Levofloxacin	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
PHENICOLS									
B	Chloramphenicol	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	۲. برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، به‌طور روتین گزارش نمی‌شود.

ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

جدول 2B-4. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا*

Testing Conditions

Medium: Disk diffusion: MHA
Broth dilution: CAMHB
Agar dilution: MHA
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; all methods, 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرفنظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه‌گیری نمایید.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییرکرده‌اند.**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
B	Ceftazidime	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 8	16	≥ 32	
CARBAPENEMS									
B	Meropenem	10 µg	≥ 20	16–19	≤ 15	≤ 4	8	≥ 16	
TETRACYCLINES									
B	Minocycline	30 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
B	Ticarcillin-clavulanic acid	–	–	–	–	≤ 16/2	32/2–64/2	≥ 128/2	
FLUOROQUINOLONES									
B	Levofloxacin	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
PHENICOLS									
B	Chloramphenicol	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	۲. برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، به‌طور روتین گزارش نمی‌شود.

ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

جدول 2B-5. استانداردهای تفسیر MIC (µg/mL) برای سایر باسیل‌های گرم منفی غیر از *انتروباکتریاسه*

Testing Conditions	**Minimal QC Recommendations** (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)
Medium: Broth dilution: CAMHB Agar dilution: MHA **Inoculum:** Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard **Incubation:** 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours	*Escherichia coli* ATCC® 25922 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 *Escherichia coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

توضیحات

۱. سایر باسیل‌های گرم منفی غیر از *انتروباکتریاسه* شامل گونه‌های *سودوموناس*(نه *سودوموناس آئروژینوزا*) و سایر باسیل های گرم منفی است که کم‌نیاز هستند و قادر به تخمیر گلوکز نمی‌باشند. از این گروه، *سودوموناس آئروژینوزا*، گونه‌های *اسینتوباکتر*، *بورخلدریا سپاشیا*، *بورخلدریا مالئی*، *بورخلدریا سودومالئی*، *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا* مستثنی می‌باشند. برای آزمایش گونه‌های *اسینتوباکتر*، *بورخلدریا سپاشیا* و *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا* به جدول های 2B-2، 2B-3 و 2B-4 و برای آزمایش *بورخلدریا مالئی* و *بورخلدریا سودومالئی* به **سند CLSI M45** رجوع شود.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
A	Piperacillin	–	–	–	–	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Mezlocillin	–	–	–	–	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Ticarcillin	–	–	–	–	≤ 16	32–64	≥ 128	
O	Carbenicillin	–	–	–	–	≤ 16	32	≥ 64	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
B	Ticarcillin-clavulanic acid	–	–	–	–	≤ 16/2	32/2–64/2	≥ 128/2	
B	Piperacillin-tazobactam	–	–	–	–	≤ 16/4	32/4–64/4	≥ 128/4	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2B-5 صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
A	Ceftazidime	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefepime	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	
C	Cefotaxime	–	–	–	–	≤ 8	16–32	≥ 64	
C	Ceftriaxone	–	–	–	–	≤ 8	16–32	≥ 64	
O	Cefoperazone	–	–	–	–	≤ 16	32	≥ 64	
O	Ceftizoxime	–	–	–	–	≤ 8	16–32	≥ 64	
O	Moxalactam	–	–	–	–	≤ 8	16–32	≥ 64	
MONOBACTAMS									
B	Aztreonam	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	
CARBAPENEMS									
B	Imipenem	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
B	Meropenem	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
LIPOPEPTIDES									
O	Colistin	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
O	Polymyxin B	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
AMINOGLYCOSIDES									
A	Gentamicin	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	–	–	–	–	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	
TETRACYCLINES ۲. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مینوسایکلین هم حساس در نظر گرفته‌می‌شوند. اگرچه برخی از ارگانیسم‌ها که دارای حساسیت حد واسط و یا مقاوم به تتراسایکلین می‌باشند، ممکن‌است به داکسی‌سایکلین، مینوسایکلین یا هر دو حساس باشند.									
U	Tetracycline	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
O	Doxycycline	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES									
B	Ciprofloxacin	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	
B	Levofloxacin	–	–			≤ 2	4	≥ 8	
U	Lomefloxacin or	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
U	ofloxacin	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	
O	Gatifloxacin	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	۳. این معیارهای تفسیر برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، به‌طور روتین کاربرد ندارد.
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	–	–	–	–	≤ 2/38	–	≥ 4/76	
U	Sulfonamides	–	–	–	–	≤ 256	–	≥ 512	٤. سولفی سوکسازول می‌تواند به‌عنوان نماینده ترکیبات سولفونامیدی که درحال حاضر موجود است، استفاده‌شود.
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	–	–	–	–	≤ 8	16	≥ 32	۵. برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، به‌طور روتین گزارش نمی‌شود.

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration: QC quality control.

جدول 2C. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *استافیلوکک*

Testing Conditions	
Medium:	Disk diffusion: MHA Broth dilution: CAMHB; CAMHB + 2% NaCl for oxacillin, methicillin, and nafcillin; CAMHB supplemented to 50 µg/mL calcium for daptomycin Agar dilution: MHA; MHA + 2% NaCl for oxacillin, methicillin, and nafcillin. Agar dilution has not been validated for daptomycin.
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; Disk diffusion: 16 to 18 hours; 24 hours (coagulase-negative staphylococci and cefoxitin); Dilution methods: 16 to 20 hours; All methods: 24 hours for oxacillin, methicillin, nafcillin, and vancomycin. Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRS.

Minimal QC Recommendations (See Tables 3A and 4A for acceptable QC ranges.)
Staphylococcus aureus ATCC® 25923 (disk diffusion) *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 (MIC) *Escherichia coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

توصیه‌های بیشتر در مورد شرایط آزمایش، پیشنهادهای مرتبط با گزارش و کنترل کیفی در جدول‌های تکمیلی 2C-S4 و 2C-S5 در انتهای جدول 2C آمده‌است.

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. درمورد دیسک‌های لینزولید(linezolid)، اگزاسیلین و وانکومایسین استثنائاً باید ظرف پتری را در مقابل منبع نور(نور عبوری) نگهداشت و نتیجه را قرائت نمود. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرفنظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه‌گیری نمایید. هرگونه رشد مشخص در منطقه مهار رشد(در مقابل نور عبوری) نشانگر وجود مقاومت نسبت به اگزاسیلین، لینزولید و وانکومایسین می‌باشد.

۲. در گذشته مقاومت به پنی‌سیلین‌های پایدار در مقابل پنی‌سیلیناز(واژه نامه ۱) را تحت عنوان «مقاوم به متی‌سیلین» یا «مقاوم به اگزاسیلین» می‌شناختند. سویه‌های MRSA، سویه‌هایی از *استافیلوکوکوس اورئوس* هستند که از طریق بیان ژن *mecA* و یا مکانیسم دیگری نسبت به متی‌سیلین مقاومت نشان‌می‌دهند. ازجمله این مکانیسم‌ها، تغییر در تمایل پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین در قبال اگزاسیلین می‌باشد(سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* تغییریافته [MOD-SA]).

۳. چنانچه درمورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و استافیلوکک‌های کواگولاز منفی حساس به اگزاسیلین، آزمایش تعیین حساسیت نسبت به سفم‌های تزریقی و خوراکی، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز و کاربانم‌ها انجام‌شود، نتایج به‌دست آمده باید با استفاده از معیارهای تفسیری روتین گزارش گردند. برای گزارش نتایج تعیین حساسیت نسبت به بتالاکتام در سویه‌های مقاوم به اگزاسیلین، بند ٤ توضیحات ذیل را ملاحظه نمایید.

٤. **هشدار:** در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و استافیلوکک‌های کواگولاز منفی مقاوم به اگزاسیلین، سایر عوامل بتالاکتام مانند پنی‌سیلین‌ها، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌ها(به استثناء «سفالوسپورین‌های جدیدی که علیه MRSA فعال هستند») و کاربانم‌ها از نظر بالینی مؤثر نمی‌باشند، هرچند که ممکن‌است در شرایط آزمایشگاهی ظاهراً فعال باشند. نتایج مربوط به عوامل بتالاکتام به‌جز سفالوسپورین‌هایی که علیه MRSA فعال می‌باشند، باید به‌صورت مقاوم گزارش شوند و یا اصلاً گزارش نشوند. این توصیه بر مبنای مشاهده پاسخ ضعیف به درمان با بتالاکتام در عفونت‌های استافیلوکک مقاوم به متی‌سیلین اثبات‌شده، بوده‌است و یا به‌دلیل فقدان اطلاعات بالینی کافی برای تأیید کارایی بالینی این عوامل آنتی‌بیوتیکی می‌باشد.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

۵. شناسایی مقاومت به اگزاسیلین: دقیق‌ترین روش برای پیش‌بینی وجود مقاومت به اگزاسیلین، آزمایش بررسی وجود ژن *mecA* و یا وجود پروتئین متصل‌شونده به پنی‌سیلین 2a (PBP 2a) است(این پروتئین توسط ژن *mecA* بیان‌شده و به‌عنوان ´PBP2 هم شناخته‌می‌شود). از این آزمایش‌ها می‌توان برای اثبات نتایج مربوط به استافیلوکک‌های جداشده از عفونت‌های جدی(serious) (خطیر) استفاده‌نمود. سویه‌های استافیلوکک جداشده که حامل ژن *mecA* هستند و یا پروتئین PBP 2a تولیدمی‌کنند، باید به‌عنوان مقاوم به اگزاسیلین گزارش گردند. سویه‌هایی که حامل ژن *mecA* نیستند و یا PBP 2a تولیدنمی‌کنند، باید حساس به اگزاسیلین گزارش شوند. به‌دلیل وقوع موارد نادری از سایر مکانیسم‌های مقاومت به غیر از ژن *mecA*، اگر باکتری جداشده، ازنظر ژن *mecA* و تولید PBP 2a، منفی ولی MIC آن برای اگزاسیلین ≥ ٤ µg/mL باشد، باید آن را مقاوم به اگزاسیلین گزارش کرد. چنین سویه‌هایی ممکن‌است در روش انتشار از دیسک نسبت به سفوکسیتین(cefoxitin) حساس باشند.

٦. آزمایش تعیین حساسیت برای *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* جداشده از نمونه ادرار به‌طور روتین توصیه‌نمی‌شود. زیرا عفونت‌های حاد و بدون عارضه مجاری ادراری با این باکتری، در پاسخ به عوامل ضدمیکروبی که معمولاً در درمان این عفونت‌ها استفاده‌می‌شوند و سطح مناسبی از دارو را در ادرار ایجادمی‌کنند، به خوبی درمان می‌گردند(داروهایی مانند نیتروفورانتوئین، تری متوپریم ± سولفامتوکسازول، یا فلوئوروکینولون‌ها). آزمایشگاه می‌تواند این توصیه را در انتهای نتیجه کشت ادرار بیمار ذکر نماید.

۷. درمورد بعضی از عوامل آنتی‌بیوتیکی و ارگانیسم‌های ذکرشده همراه آن، به‌دلیل نبود یا وقوع نادر سویه‌های مقاوم، در جدول‌های تفسیری فقط «گروه حساس» تعریف شده‌است. اگر نتایج آزمایش این سویه‌ها، مطرح‌کننده گروه «غیرحساس» باشد، تعیین هویت و آزمایش حساسیت ضدمیکروبی باکتری باید تأیید گردد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

۸. در موارد ذیل به جدول تکمیلی 2C-S4 در انتهای جدول 2C مراجعه نمایید: آزمایش‌های غربالگری تولید بتالاکتاماز، مقاومت به اگزاسیلین، مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* با استفاده از سفوکسیتین، کاهش حساسیت به وانکومایسین، مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در گروه *استافیلوکوکوس اورئوس*. برای استافیلوکک‌های کواگولاز منفی به جدول تکمیلی 2C-S5 در انتهای جدول 2C مراجعه‌کنید. به‌علاوه، توضیحات بیشتر در رابطه با استفاده از سفوکسیتین برای پیش بینی مقاومت به اگزاسیلین با واسطه ژن *mecA* در بخش ۱۲ سند M07-A8 و بخش ۱۱ سند M02-A10 ارائه شده‌است.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییرکرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									۹. استافیلوکک‌های حساس به پنی‌سیلین به داروهای ذیل نیز حساسند: سایر پنی‌سیلین‌ها، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌های **ضداستافیلوککی** و کارباپنم‌های تأییدشده از سوی FDA برای درمان عفونت‌های استافیلوککی. سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین و حساس به اگزاسیلین، نسبت به پنی‌سیلین‌های ناپایدار در برابر پنی‌سیلیناز مقاومند، ولی به داروهای ذیل حساسند: پنی‌سیلین‌های پایدار در مقابل پنی‌سیلیناز، ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌های **ضداستافیلوککی** و کارباپنم‌ها. استافیلوکک‌های مقاوم به اگزاسیلین به تمام عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام موجود مقاوم هستند به‌جز سفالوسپورین‌های جدید با فعالیت ضد MRSA (مانند ceftobiprole). بنابراین، حساسیت یا مقاومت به طیف وسیع داروی بتالاکتام را می‌توان فقط با استفاده از پنی‌سیلین و یا سفوکسیتین یا اگزاسیلین نتیجه‌گیری نمود. بررسی روتین سایر پنی‌سیلین‌ها و ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز، سفم‌ها یا کارباپنم‌ها توصیه‌نمی‌شود. ۱۰. در صورت انجام آزمایش روی پنی‌سیلین‌های پایدار به پنی‌سیلیناز، اگزاسیلین برای انجام آزمایش ارجح است و نتایج آن می‌تواند برای سایر پنی‌سیلین‌های پایدار به پنی‌سیلیناز(کلوگزاسیلین، دی کلوگزاسیلین، فلوکلوگزاسیلین، متی‌سیلین و نفسیلین) به‌کار گرفته‌شود.
A	Penicillin	10 units	≥ 29	–	≤ 28	≤ 0.12	–	≥ 0.25	۱۱. سویه‌های استافیلوکک مقاوم به پنی‌سیلین، مولد بتالاکتاماز هستند و آزمایش پنی‌سیلین به جای آمپی‌سیلین در این موارد ارجح است. از دیسک پنی‌سیلین باید برای تعیین حساسیت تمام استافیلوکک‌ها نسبت به تمام پنی‌سیلین‌های ناپایدار در مقابل پنی‌سیلیناز (مانند آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آزلوسیلین(azlocillin)، کاربنی‌سیلین، مزلوسیلین (mezlocillin)، پیپراسیلین و تیکارسیلین) استفاده‌نمود. برای تمام سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده که میزان MIC پنی‌سیلین آنها ۰/۱۲µg/mL ≤ و یا قطر منطقه مهار رشد آنها ۲۹ mm ≥ باشد، باید قبل از گزارش حساسیت به پنی‌سیلین، روی آنها آزمایش بتالاکتاماز القایی(induced β-lactamase test) **انجام‌گردد. در ایزوله‌های نادری از استافیلوکک‌ها که ژن مولد بتالاکتاماز دارند، ممکن است نتیجه آزمایش بتالاکتاماز القایی مثبت نباشد. بنابراین، در عفونت‌های خطیری که نیاز به درمان با پنی‌سیلین دارند، آزمایشگاه باید آزمایش‌های تعیین MIC و بتالاکتاماز القایی را روی تمام ایزوله‌هایی که به‌طور متوالی از یک بیمار جداسازی‌شوند، انجام‌دهد. آزمایش PCR برای جداسازی ژن *BlaZ* بتالاکتاماز را برای این ایزوله می‌توان درنظر گرفت.** به جدول‌های تکمیلی 2C-S4 و 2C-S5 در انتهای جدول 2C مراجعه‌نمایید.
A	Oxacillin For *S. aureus* and *S. lugdunensis*.	1 µg oxacillin	≥ 13	11-12	≤ 10	≤ 2 (oxacillin	–	≥ 4 (oxacillin)	For *S. aureus*.
		1 µg oxacillin	–	–	–	≤ 2 (oxacillin)	–	≥ 4 (oxacillin)	For *S. lugdunensis*.
		30 µg cefoxitin	≥ 22	–	≤ 21	≤ 4 (cefoxitin)	–	≥ 8 (cefoxitin)	For *S. aureus* and *S. lugdunensis*. ۱۲. سفوکسیتین به‌عنوان جانشین برای آزمایش مقاومت به اگزاسیلین استفاده‌می‌شود. نتیجه آزمایش سفوکسیتین را برای گزارش مقاومت یا حساسیت به اگزاسیلین استفاده‌نمایید. ۱۳. اگر برای *استافیلوکوکوس اورئوس* یا *استافیلوکوکوس لاگدانسیس* (*S. lugdunensis*) هر دو دیسک سفوکسیتین و اگزاسیلین آزمایش شود، مقاومت در هر یک از دیسک‌ها باید به‌عنوان مقاومت به اگزاسیلین تلقی شود و گزارش گردد. See comment (9).

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS (Continued)									
A	Oxacillin For coagulase-negative staphylococci except *S. lugdunensis*.	1 µg oxacillin	–	–	–	≤ 0.25 (oxacillin)	–	≥ 0.5 (oxacillin)	For coagulase-negative staphylococci except *S. lugdunensis*. ۱۴. معیارهای تفسیری اگزاسیلین ممکن‌است در بعضی از استافیلوککهای کواگولاز منفی، سویه‌های مقاوم را بیش از میزان واقعی نشان‌دهد. این امر به آن دلیل است که بعضی از سویه‌های غیر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* که MIC اگزاسیلین آنها بین ۰/۵ تا ۲µg/mL است، فاقد ژن *mecA* هستند. برای عفونت‌های خطیر ناشی از استافیلوککهای کواگولاز منفی به غیر از *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* که MIC اگزاسیلین آنها ۰/۵ µg/mL تا ۲µg/mL است، استفاده از آزمایش‌های *mecA* یا PBP 2a یا آزمایش انتشار از دیسک با سفوکسیتین می‌تواند مناسب باشد.
		30 µg cefoxitin	≥ 25	–	≤ 24	–	–	–	See comment (12). See comment (9).

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS (Continued)									
O	Ampicillin	10 µg	≥ 29	–	≤ 28	≤ 0.25	–	≥ 0.5	۱۵. آمپی‌سیلین به‌عنوان نماینده کلاس آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین استفاده می‌شود. ۱۶. استافیلوکک‌های مقاوم به اگزاسیلین را مقاوم به آمپی‌سیلین گزارش کنید و یا اصلاً گزارش نکنید.
O	Methicillin	5 µg	≥ 14	10–13	≤ 9	≤ 8	–	≥ 16	۱۷. فقط برای *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌کار می‌رود.
O	Nafcillin	1 µg	≥ 13	11–12	≤ 10	≤ 2	–	≥ 4	See comment (17).
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS ۱۸. استافیلوکک‌های مقاوم به اگزاسیلین را مقاوم به این گروه از داروها گزارش کنید و یا اصلاً گزارش نکنید. See comments (4) and (9).									
O	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≥ 20	–	≤ 19	≤ 4/2	–	≥ 8/4	
O	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
O	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 18	–	≤ 17	≤ 8/4	–	≥ 16/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 µg	≥ 23	–	≤ 22	≤ 8/2	–	≥ 16/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) See comment (18). See comments (4) and (9).									
O	Cefamandole	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefazolin	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefepime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefmetazole	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefonicid	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefoperazone	75 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefotaxime	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 8	16–32	≥ 64	
O	Cefotetan	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	
O	Ceftazidime	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Ceftizoxime	30 µg	≥ 20	15–19	≤ 14	≤ 8	16–32	≥ 64	
O	Ceftriaxone	30 µg	≥ 21	14–20	≤ 13	≤ 8	16–32	≥ 64	
O	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cephalothin	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Moxalactam	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 8	16–32	≥ 64	
CEPHEMS (ORAL) See comment (18). See comments (4) and (9).									
O	Cefaclor	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefdinir	5 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefpodoxime	10 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 2	4	≥ 8	
O	Cefprozil	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefuroxime (oral)	30 µg	≥ 23	15–22	≤ 14	≤ 4	8–16	≥ 32	
O	Loracarbef	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CARBAPENEMS See comment (18). See comments (4) and (9).									
O	Ertapenem	10 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	
O	Imipenem	10 µg	≥ 16	14–15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
O	Meropenem	10 µg	≥ 16	14–15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
GLYCOPEPTIDES									
B	Vancomycin	–	–	–	–	≤ 2	4–8	≥ 16	For *S. aureus*. ۱۹. برای تعیین حساسیت تمام ایزوله‌های استافیلوکک به وانکومایسین باید آزمایش تعیین MIC انجام‌گیرد. با روش انتشار از دیسک نمی‌توان ایزوله‌های استافیلوکک حساس به وانکومایسین را از ایزوله‌هایی که حساسیت بینابینی دارند، متمایز نمود. همچنین در ایزوله‌های استافیلوکک کوآگولاز منفی، موارد حساسیت، حساسیت بینابینی و مقاومت به وانکومایسین را نیز نمی‌توان با روش انتشار از دیسک افتراق داد. زیرا، اندازه هاله مهار رشد در همه آنها مشابه است. ۲۰. ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به وانکومایسین (*VRSA*) که واجد ژن *vanA* می‌باشند، با آزمایش دیسک ۳۰ میکروگرمی وانکومایسین مشخص‌می‌شوند. چنین ایزوله‌هایی هیچ هاله‌ای از مهار رشد را نشان‌نمی‌دهند(هاله مساوی ۶mm). تعیین هویت ایزوله‌هایی که هیچ هاله‌ای از مهار رشد را نشان‌نمی‌دهند، باید تأییدشود. درصورتی که هاله مهار رشد وانکومایسین ۷mm ≥ باشد، بدون انجام آزمایش تعیین MIC، نباید به‌عنوان حساس گزارش شود. ۲۱. هر ایزوله‌ای از *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC وانکومایسین ۸µg/mL ≥ را به آزمایشگاه مرجع ارسال‌کنید. **ضمیمه A را ملاحظه نمایید.** ۲۲. آزمایش به روش انتشار از دیسک برای وانکومایسین قابل اعتماد نیست. همچنین در پایان جدول 2C به پیوست 2C-S4 برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، بند ۳.۱.۱۲ در سند M07-AB و بند ۳.۱.۱۱ در سند M02-A10 مراجعه‌شود.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
GLYCOPEPTIDES (Continued)									
B	Vancomycin	–	–	–	–	≤ 4	8–16	≥ 32	For coagulase-negative staphylococci. See comments (19) and (22). ۲۳. هر ایزوله‌ای از *استافیلوکوکوس* با MIC وانکومایسین ≥ ۳۲µg/mL را به آزمایشگاه مرجع ارسال‌کنید. **پیوست A را ملاحظه نمایید.** همچنین بند ۳.۱.۱۲ در سند M07-AB و بند ۳.۱.۱۱ در سند M02-A10 مشاهده‌شود.
Inv.	Teicoplanin	30 µg	≥ 14	11–13	≤ 10	≤ 8	16	≥ 32	۲٤. معیار تفسیر دیسک تیکوپلانین(Teicoplanin) همانند معیار تفسیر دیسک وانکومایسین، ارزیابی مجدد نشده‌است. بنابراین، قابلیت معیارهای تفسیری تیکوپلانین جهت افتراق سویه‌های استافیلوکک با حساسیت بینابینی و مقاوم از سویه‌های حساس نامشخص است.
LIPOPEPTIDES									
B	Daptomycin	–	–	–	–	≤ 1	–	–	۲۵. ازمایش به روش انتشار از دیسک برای داپتومایسین(daptomycin) قابل اعتماد نیست. **۲٦. داپتومایسین نباید برای باکتری‌های جداشده از مجاری تنفسی تحتانی، گزارش گردد.**
AMINOGLYCOSIDES									
C	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Amikacin	30 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	
O	Kanamycin	30 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	30 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	
O	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13–14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
MACROLIDES									۲۷. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، گزارش نمی‌شود.
A	Azithromycin or	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
A	clarithromycin or	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
A	erythromycin	15 µg	≥ 23	14–22	≤ 13	≤ 0.5	1–4	≥ 8	
O	Dirithromycin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	
KETOLIDES									
B	Telithromycin	15 µg	≥ 22	19–21	≤ 18	≤ 1	2	≥ 4	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
TETRACYCLINES									
۲۸. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مایتوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند. اگر چه برخی از ارگانیسم‌هایی که دارای حساسیت حد واسط و یا مقاوم به تتراسایکلین می‌باشند، ممکن‌است به داکسی‌سایکلین، مایتوسایکلین یا هر دو حساس باشند.									
B	Tetracycline	30 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
B	Doxycycline	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	30 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES									
۲۹. گونه‌های *استافیلوکوکوس* ممکن‌است طی درمان طولانی‌مدت با کینولون‌ها مقاوم شوند. بنابراین، ممکن‌است سویه‌هایی که در ابتدا حساس هستند، پس از شروع درمان در عرض ۳ تا ٤ روز مقاوم شوند. در این موارد ممکن‌است لازم باشد آزمایشگاه توصیه‌کند که نمونه‌گیری تجدید شود و آزمایش تعیین حساسیت برای ایزوله جدید انجام‌گیرد.									
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۳۰. برای *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*(نه برای *استافیلوکوکوس اورئوس*) توسط FDA تأیید شده‌است.
C	levofloxacin or	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
C	ofloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	
C	Moxifloxacin	5 µg	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 0.5	1	≥ 2	
U	Lomefloxacin	10 µg	> 22	19–21	< 18	< 2	4	> 8	
U	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Enoxacin	10 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	
O	Sparfloxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
NITROFURANTOINS									
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	
LINCOSAMIDES									
A	Clindamycin	2 µg	≥ 21	15–20	≤ 14	≤ 0.5	1–2	≥ 4	۳۱. مقاومت القائی کلیندامایسین را می‌توان به روش انتشار از دیسک، با آزمایش D-test، و همچنین با روش MIC و استفاده از یک چاهک (well) شامل اریترومایسین و کلیندامایسین تعیین‌کرد. به جدول‌های تکمیلی 2C-S4 و 2C-S5، بند ۱۲ در سند M02-A10 و بند ۱۳ در سند M07-A8 برای توصیه‌های رایج مراجعه‌شود. See comment (27).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 256	–	≥ 512	۳۲. سولفی‌سوکسازول می‌تواند به‌عنوان نمایندهٔ ترکیبات سولفونامید که درحال حاضر موجود است، استفاده‌شود.
U	Trimethoprim	5 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 8	–	≥ 16	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 18	13–17	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	See comment (27).
ANSAMYCINS									
B	Rifampin	5 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	۳۳. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): ریفامپین نباید به تنهایی برای درمان ضدمیکروبی استفاده‌شود.
STREPTOGRAMINS									
C	Quinupristin-dalfopristin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۳۴. برای گزارش در مقابل سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس به متی‌سیلین (MSSA).
OXAZOLIDINONES									
B	Linezolid	30 µg	≥ 21	–	≤ 20	≤ 4	–	≥ 8	۳۵. در آزمایش لینزولید، جهت مشاهده هاله مهار رشد باید از نور عبوری استفاده شود. میکروارگانیسم‌هایی که در روش انتشار از دیسک مقاوم هستند، باید با روش MIC تأیید شوند.

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; FDA, US Food and Drug Administration; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; MRS, methicillin-resistant staphylococci; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus;* MOD-SA, modified *S. aureus;* PBP, penicillin-binding protein; PCR, polymerase chain reaction; QC, quality control; VRSA, *vanA* vancomycin resistance gene.

جدول تکمیلی 2C-S4. آزمایش‌های غربالگری تولید بتالاکتامازها، مقاومت به اگزاسیلین، مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* با استفاده از سفوکسیتین، MIC وانکومایسین ≥ ۸μg/mL، مقاومت القایی به کلیندامایسین و مقاومت سطح بالا به موپیروسین(mupirocin) در گروه *استافیلوکوکوس اورئوس* برای استفاده همراه با جدول 2C

Screen Test	β-Lactamase	Oxacillin Resistance	*mecA*-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin		Vancomycin MIC ≥ 8 μg/mL	Inducible Clindamycin Resistance		High-level Mupirocin Resistance[a,b]	
Organism group	*S. aureus* and *S. lugdunensis* with penicillin MICs ≤ 0.12 μg/mL or zones ≥ 29 mm	*S. aureus*	*S. aureus* and *S. lugdunensis*		*S. aureus*	*S. aureus* and *S. lugdunensis* resistant to erythromycin and susceptible or intermediate to clindamycin		*S. aureus*	
Test method	Nitrocefin-based test	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	NA	MHA with 4% NaCl	MHA	CAMHB	BHI agar	MHA or blood agar purity plate used with MIC tests	CAMHB	MHA	CAMHB
Antimicrobial concentration	NA	6 μg/mL oxacillin	30 μg cefoxitin disk	4 μg/mL cefoxitin	6 μg/mL vancomycin	15-μg erythromycin disk and 2-μg clindamycin disk spaced 15–26 mm apart	4 μg/mL erythromycin and 0.5 μg/mL clindamycin in same well	200-μg mupirocin disk	Single mupirocin 256-μg/mL well
Inoculum	رشد القایی(به معنی برداشت باکتری رشدیافته از نواحی اطراف دیسک‌های سفوکسیتین یا اگزاسیلین روی محیط‌های مولر هینتون آگار یا آگار خون‌دار بعد از ۱۸-۱۶ ساعت گرمخانه‌گذاری).	سوسپانسیونی با کدورت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند را بطور مستقیم از کلنی تهیه‌نمایید. با استفاده از لوپ ۱μL که تا عمق سوسپانسیون واردشده، مایه میکروبی را در ناحیه‌ای به قطر ۱۵-۱۰ میلی‌متر کشت‌دهید. به‌عنوان روش جایگزین، سواب را در عمق سوسپانسیون واردکنید، به جداره لوله فشار دهید و به‌صورت نقطه‌ای مانند روش قبل یا در یک‌چهارم کامل از سطح محیط به صورت خطی کشت دهید.	توصیه‌های روش استاندارد انتشار از دیسک	توصیه‌های روش استاندارد رقیق‌سازی در مایع به روش میکرو (microdilution)	سوسپانسیونی با کدورت معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند را به‌طور مستقیم از کلنی تهیه‌نمایید. بهتر است با استفاده از میکرو پی‌پت، یک قطره ۱۰ میکرولیتری را در سطح محیط آگار قراردهید. به‌صورت روش جایگزین، سواب را درعمق سوسپانسیون واردکنید، به جداره لوله فشار دهید و مایع اضافی آن را بگیرید و به‌صورت نقطه‌ای در ناحیه‌ای به قطر ۱۵-۱۰ میلی‌متر و یا در قسمتی از ظرف پتری به‌صورت خطی کشت دهید.	توصیه‌های روش استاندارد انتشار از دیسک یا ناحیه‌ای در سطح محیط کشت خالص که به‌صورت انبوه تلقیح شده‌است.	توصیه‌های روش استاندارد رقیق‌سازی در مایع به روش میکرو	توصیه‌های روش استاندارد انتشار از دیسک	توصیه‌های روش استاندارد رقیق‌سازی در مایع به روش میکرو
Incubation conditions	Room temperature	دمای ۳۵-۳۳ درجه سانتی‌گراد؛ هوای معمولی (درصورت آزمایش در دمای بالای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ممکن‌است MRSA شناسایی نشود.)	دمای ۳۵-۳۳ درجه سانتی‌گراد؛ هوای معمولی (درصورت آزمایش در دمای بالای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ممکن‌است MRSA شناسایی نشود.)	دمای ۳۵-۳۳ درجه سانتی‌گراد؛ هوای معمولی (در صورت آزمایش در دمای بالای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ممکن‌است MRSA شناسایی نشود.)	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	تا ۱ ساعت، برای ازمایش‌هایی که پایه نیتروسفین دارند و یا طبق دستورالعمل کارخانه سازنده	۲۴ ساعت، نتایج با نور عبوری خوانده‌شود	16–18 hours	16–20 hours	۲۴ ساعت، نتایج با نور عبوری خوانده‌شود	16–18 hours	18–24 hours	۲۴ ساعت، نتایج با نور عبوری خوانده‌شود	24 hours

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C-S4 صفحهٔ قبل ⟵

Screen Test	β-Lactamase	Oxacillin Resistance	*mecA*-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin		Vancomycin MIC ≥ 8 µg/mL	Inducible Clindamycin Resistance		High-level Mupirocin Resistance[a,b]	
Test method	Nitrocefin-based test	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Results	آزمایش با پایه نیتروسفین: تغییر رنگ از زرد به قرمز/ صورتی = بتالاکتاماز مثبت	آن را به دقت و با استفاده از نور عبوری از نظر وجود بیش از یک کلنی و یا لایه نازکی از رشد بررسی کنید. بیش از یک کلنی = مقاوم به اگزاسیلین.	≤ ۲۱ mm = حامل ژن *mecA* ≥ ۲۲ mm = فاقد ژن *mecA*	>4 µg/mL = *mecA* positive ≤ 4 µg/mL = *mecA* negative	آن را به دقت و با استفاده از نور عبوری از نظر وجود بیش از یک کلنی و یا لایه نازکی از رشد بررسی کنید. بیش از یک کلنی = احتمال کاهش حساسیت به وانکومایسین.	صاف شدن هاله مهار رشد در مجاورت دیسک اریترومایسین(موسوم به منطقه D) = مقاومت القایی به کلیندامایسین رشد غیرواضح یا نامشخص داخل هاله مهار رشد در اطراف دیسک کلیندامایسین = مقاومت به کلیندامایسین حتی اگر منطقه D نمایان نباشد.	هرگونه رشد = مقاومت القایی به کلیندامایسین نبود رشد = نبود مقاومت القایی به کلیندامایسین	داخل منطقه مهار رشد را با استفاده از نور عبوری از نظر وجود رشد کم، به دقت بررسی کنید. نبود هاله مهار رشد = مقاومت سطح بالای موپیروسین وجود هرگونه هاله مهار رشد = نبود مقاومت سطح بالای موپیروسین	For single 256-µg/mL well: Growth = high-level mupirocin resistance. No growth = the absence of high-level mupirocin resistance.
Further testing and reporting	استافیلوککهای بتالاکتاماز مثبت به پنی‌سیلین، آمینو پنی‌سیلین‌ها، کربوکسی پنی‌سیلین‌ها و اورئیدو پنی‌سیلین‌ها (ureidopenicillins) مقاوم هستند.	استافیلوککهای مقاوم به اگزاسیلین به تمام عوامل بتالاکتام مقاوم هستند؛ سایر عوامل بتالاکتام باید به‌عنوان مقاوم گزارش شوند و یا اصلاً گزارش نشوند.	برای تشخیص مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* از سفوکسیتین به‌عنوان آزمایش جایگزین استفاده می‌شود. ایزوله‌های حامل ژن *mecA* را باید به‌عنوان مقاوم به اگزاسیلین(و نه سفوکسیتین) گزارش نمود؛ سایر عوامل بتالاکتام باید به‌عنوان مقاوم گزارش شوند و یا اصلاً گزارش نشوند. از آنجایی که غیر از ژن *mecA* سایر مکانیسم‌های مقاومت به اگزاسیلین به‌ندرت روی می‌دهد، ایزوله‌هایی را که فاقد ژن *mecA* هستند، اما MIC اگزاسیلین آنها در محدوده مقاومت قراردارد(MIC ≥ ٤µg/mL) باید به‌عنوان مقاوم به اگزاسیلین گزارش نمود.	با استفاده از یک روش معتبر تعیین MIC، MIC سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* را که روی محیط غربالگری BHI– وانکومایسین رشدکرده، تعیین نمایید. آزمایش روی محیط غربالگری BHI– وانکومایسین، تمام سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* را که مقاومت حد واسط به وانکومایسین دارند، به‌طور قابل اطمینان شناسایی نمی‌کند. زیرا، برخی از سویه‌هایی که MIC وانکومایسین آنها ٤µg/mL است، نمی‌توانند روی این محیط رشد کنند.	ایزوله‌هایی را که مقاومت القایی به کلیندامایسین دارند، تحت عنوان «مقاوم به کلیندامایسین» گزارش کنید. توضیحی با این عنوان را هم می‌توان اضافه کرد: «براساس شناسایی مقاومت القایی به کلیندامایسین، این ایزوله را می‌توان به کلیندامایسین، مقاوم فرض کرد. با این وجود کلیندامایسین ممکن‌است برای بعضی از بیماران مؤثر باشد».		ایزوله‌هایی را که در برابر موپیروسین فاقد هاله مهار رشد هستند، به‌عنوان مقاوم به سطح بالای موپیروسین گزارش کنید. هر هاله ممانعت از رشد در برابر موپیروسین را به‌عنوان نبود مقاومت به سطح بالای موپیروسین گزارش کنید.	رشد در چاهک حاوی رقت ٢٥٦µg/mL را به‌عنوان وجود مقاومت به سطح بالای موپیروسین گزارش کنید. عدم رشد در چاهک حاوی رقت ٢٥٦µg/mL را به‌عنوان نبود مقاومت به سطح بالای موپیروسین گزارش کنید.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2C-S4 صفحهٔ قبل ←

Screen Test	β-Lactamase	Oxacillin Resistance	*mecA*-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin		Vancomycin MIC ≥ 8 µg/mL	Inducible Clindamycin Resistance		High-level Mupirocin Resistance[a]	
Test method	Nitrocefin-based test	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
QC recommen-dations	*S. aureus* ATCC® 29213 – positive *S. aureus* ATCC® 25923 – negative (or see manufacturer's recommendations)	*S. aureus* ATCC® 29213 – Susceptible *S. aureus* ATCC® 43300 – Resistant	*S. aureus* ATCC® 25923 – *mecA* negative (zone 23–29 mm) *S. aureus* ATCC® 43300 – *mecA* positive (zone ≤ 21 mm)	*S. aureus* ATCC® 29213 – *mecA* negative (MIC 1–4 µg/mL) *S. aureus* ATCC® 43300 – *mecA* positive (MIC >4 µg/mL)	*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*S. aureus* ATCC® 25923 for routine QC of disks. See Table 3A for use of supplemental QC strains.	*S. aureus* ATCC® BAA-976 or *S. aureus* ATCC® 29213 – no growth *S. aureus* ATCC® BAA-977 – growth	*S. aureus* ATCC® 25923 (200-µg disk) – *mupA* negative (zone 29 to 38 mm) *S. aureus* ATCC® BAA-1708 – *mupA* positive (no zone)	*S. aureus* ATCC® 29213 – *mupA* negative (MIC 0.06–0.5 µg/mL) *E. faecalis* ATCC® 29212 – *mupA* negative (MIC 16–128 µg/mL) *S. aureus* ATCC® BAA-1708 – *mupA* positive (growth in 256-µg/mL well)

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; BHI, Brain Heart Infusion; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus;* QC, quality control.

زیرنویس

a. برای از بین بردن کلنیزاسیون *استافیلوکوکوس اورئوس* از رژیم‌های دارویی حاوی موپیروسین استفاده‌می‌شود. برخی مطالعات، عدم پاسخ به این نوع رژیم‌های دارویی را به ایزوله‌هایی نسبت می‌دهند که MIC موپیروسین در آنها ≥ ۵۱۲µg/mL است. البته تجزیه و تحلیل‌های سند M-23 CLSI رسماً این موضوع را تأیید نکرده‌است. هر چند که سند حاضر، راهنما یا معیارهای تفسیری برای موپیروسین ارائه‌نمی‌کند، ولی آزمایش‌های غربالگری با روش دیسک و MIC که در اینجا توصیف‌شده‌اند، ایزوله‌هایی را که MIC موپیروسین در آنها ≥۵۱۲µg/mL باشد هم تشخیص‌می‌دهند.

جدول تکمیلی 2C-S5. آزمایش‌های غربالگری تولید بتالاکتامازها، مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* با استفاده از سفوکسیتین، مقاومت القایی به کلیندامایسین در استافیلوکک‌های کواگولاز منفی(به استثناء *استافیلوکوکوس لاگدانسیس*) برای استفاده همراه با جدول 2C

Screen Test	β-Lactamase	*mecA*-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin	Inducible Clindamycin Resistance	
Organism group	Coagulase-negative staphylococci[a] with penicillin MICs ≤ 0.12 µg/mL or zones ≥ 29 mm	Coagulase-negative staphylococci[a]	Coagulase-negative staphylococci[a] resistant to erythromycin and susceptible or intermediate to clindamycin.	
Test method	Nitrocefin-based test	Disk diffusion	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	NA	MHA	MHA or blood agar purity plate used with MIC tests	CAMHB
Antimicrobial concentration	NA	30-µg cefoxitin disk	15-µg erythromycin and 2-µg clindamycin disks spaced 15–26 mm apart	4 µg/mL erythromycin and 0.5 µg/mL clindamycin in same well
Inoculum	رشد القایی(به معنی برداشت باکتری رشدیافته از نواحی اطراف دیسک‌های سفوکسیتین یا اگزاسیلین روی محیط‌های مولر هینتون آگار یا آگار خوندار بعد از ۱۸–۱۶ ساعت گرمخانه گذاری).	توصیه‌های روش استاندارد انتشار از دیسک	توصیه‌های روش استاندارد انتشار از دیسک یا ناحیه‌ای در سطح محیط کشت خالص که به‌صورت انبوه تلقیح شده‌است.	توصیه‌های روش استاندارد رقیق‌سازی در مایع به روش میکرو (microdilution)
Incubation conditions	Room temperature	دمای ۳۵–۳۳ درجه سانتی‌گراد؛ هوای معمولی(درصورت آزمایش در دمای بالای ۳۵°C، ممکن‌است MRSA شناسایی نشود.)	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	تا یک ساعت، برای آزمایش‌هایی که پایه نیتروسفین دارند و یا طبق دستورالعمل کارخانه سازنده	۲۴ ساعت(اگر مقاوم است، ممکن‌است بعد از ۱۸ ساعت گزارش‌شود)	16–18 hours	18–24 hours
Results	آزمایش با پایه نیتروسفین: تغییر رنگ از زرد به قرمز/ صورتی =بتالاکتاماز مثبت	≤ ۲۴ mm = حامل ژن *mecA* ≥ ۲۵ mm = فاقد ژن *mecA*	صاف‌شدن هاله مهار رشد در مجاورت دیسک اریترومایسین(موسوم به منطقه D)= مقاومت القایی به کلیندامایسین رشد غیرواضح یا نامشخص داخل هاله مهار رشد در اطراف دیسک کلیندامایسین = مقاومت به کلیندامایسین حتی اگر منطقه D نمایان نباشد	هر گونه رشد = مقاومت القایی به کلیندامایسین نبود رشد = نبود مقاومت القایی به کلیندامایسین

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2C-S5 صفحهٔ قبل ←

Screen Test	β-Lactamase	*mecA*-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin	Inducible Clindamycin Resistance	
Test method	Nitrocefin-based test	Disk diffusion	Disk diffusion	Broth microdilution
Further testing and reporting	استافیلوکک‌های بتالاکتاماز مثبت به پنی‌سیلین، آمینو پنی‌سیلین‌ها، کربوکسی پنی‌سیلین‌ها و اورئیدو پنی‌سیلین‌ها (ureidopenicillins) مقاوم هستند	برای تشخیص مقاومت به اگزاسیلین به واسطه ژن *mecA* از سفوکسیتین به‌عنوان جایگزین استفاده‌می‌شود. ایزوله‌های حامل ژن *mecA* را باید به‌عنوان مقاوم به اگزاسیلین(و نه سفوکسیتین) گزارش نمود؛ سایر عوامل بتالاکتام باید به‌عنوان مقاوم گزارش شوند و یا اصلاً گزارش نشوند. از آنجایی که غیر از ژن *mecA* سایر مکانیسم‌های مقاومت به اگزاسیلین به‌ندرت روی می‌دهد، ایزوله‌هایی را که فاقد ژن *mecA* هستند، اما MIC اگزاسیلین آنها در محدوده مقاومت قراردارد (MIC ≥ ٤µg/mL) باید به‌عنوان مقاوم به اگزاسیلین گزارش شوند. برای عفونت‌های جدی ناشی از استافیلوکک‌های کواگولاز منفی، به غیر از *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، که MIC اگزاسیلین آنها ۰/۵µg/mL تا ۲µg/mL است، استفاده از آزمایش تشخیص ژن *mecA* یا آزمایش تشخیص پروتئین‌هایی که توسط ژن *mecA* بیان‌می‌شوند، می‌تواند مناسب باشد.	ایزوله‌هایی را که مقاومت القایی به کلیندامایسین دارند، تحت عنوان «مقاوم به کلیندامایسین» گزارش کنید. توضیحی با این عنوان را هم می‌توان اضافه کرد: «براساس شناسایی مقاومت القایی به کلیندامایسین، این ایزوله را می‌توان به کلیندامایسین، مقاوم فرض کرد. با این وجود کلیندامایسین ممکن‌است برای بعضی از بیماران مؤثر باشد».	
QC recommendations	*S. aureus* ATCC® 29213 – positive *S. aureus* ATCC® 25923 – negative (or see manufacturer's recommendations)	*S. aureus* ATCC® 25923 – *mecA* negative (zone 23–29 mm) *S. aureus* ATCC® 43300 – *mecA* positive (zone ≤ 21 mm)	*S. aureus* ATCC® 25923 for routine QC of disks; see Table 3A for use of supplemental QC strains.	*S. aureus* ATCC® BAA-976 or *S. aureus* ATCC® 29213 – no growth *S. aureus* ATCC® BAA-977 – growth

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; MRS, methicillin-resistant staphylococci; QC, quality control.

زیرنویس

a. به جز *S. lugdunensis* که در گروه *S. aureus* قرار گرفته‌است. جدول قبلی را ملاحظه نمایید.

جدول 2D. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *انتروکک*

Testing Conditions	
Medium:	Disk diffusion: MHA Broth dilution: CAMHB; CAMHB supplemented to 50 µg/mL calcium for daptomycin Agar dilution: MHA; agar dilution has not been validated for daptomycin
Inoculum:	Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; Disk diffusion: 16 to 18 hours; Dilution methods: 16 to 20 hours; All methods: 24 hours for vancomycin

Minimal QC Recommendations (See Tables 3**A** and 4**A** for acceptable QC ranges.)

Disk diffusion:
Staphylococcus aureus ATCC® 25923

Dilution methods:
Enterococcus faecalis ATCC® 29212

توصیه‌های بیشتر درمورد شرایط آزمایش، پیشنهادهای مرتبط با گزارش و کنترل کیفی در جدول تکمیلی 2D-S5، در انتهای جدول 2D آمده‌است.

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. در مورد دیسک وانکومایسین استثنائاً باید ظرف پتری را در مقابل منبع نور نگهداشته و نتیجه را قرائت نمایید(نور عبوری). حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. هرگونه رشد مشخص در منطقه مهار رشد(در مقابل نور عبوری) نشانگر وجود مقاومت نسبت به وانکومایسین می‌باشد.

۲. **هشدار:** سفالوسپورین‌ها، آمینوگلیکوزیدها(غیر از غربالگری برای مقاومت سطح بالا)، کلیندامایسین و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول ممکن‌است در برابر گونه *انتروکک* در شرایط *in vitro* فعال به‌نظر آید. در حالی که این داروها از لحاظ بالینی اثری در درمان ندارند و چنین ایزوله‌هایی را هم نباید به‌عنوان حساس گزارش نمود.

۳. اثر هم‌افزایی(synergy) تجویز آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین یا وانکومایسین همراه با یک آمینوگلیکوزید را می‌توان با استفاده از آزمایش غربالگری سطح بالای آمینوگلیکوزید(جنتامایسین و استرپتومایسین) پیش‌بینی نمود. در این موارد به آزمایش سایر آمینوگلیکوزیدها نیازی نیست، زیرا فعالیت آنها در مقابل انتروکک‌ها بیشتر از جنتامایسین و استرپتومایسین نمی‌باشد.

٤. درمورد بعضی از عوامل ضدمیکروبی و ارگانیسم‌های ذکرشده همراه آن، به دلیل نبود یا وقوع نادر سویه‌های مقاوم در جدول‌های تفسیری فقط «گروه حساس» تعریف شده‌است. اگر نتایج آزمایش این سویه‌ها، مطرح‌کننده گروه «غیرحساس» باشد، تعیین هویت و آزمایش حساسیت ضدمیکروبی باکتری باید تأیید گردد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2D صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
A	Penicillin	10 units	≥ 15	–	≤ 14	≤ 8	–	≥ 16	۵. آمپی‌سیلین به‌عنوان نماینده کلاس آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین استفاده‌می‌شود. برای انتروکک‌هایی که بتالاکتاماز تولیدنمی‌کنند، نتایج آزمایش آمپی‌سیلین را می‌توان برای پیش‌گویی حساسیت به آموکسی‌سیلین- کلاوولانیک اسید، آمپی‌سیلین- سولباکتام، پیپراسیلین و پیپراسیلین- تازوباکتام استفاده‌نمود. از حساسیت به آمپی‌سیلین می‌توان برای پیش گویی حساسیت به ایمی‌پنم استفاده‌کرد، مشروط بر اینکه گونه مورد آزمایش به‌عنوان *E. faecalis* تأیید گردد.
A	Ampicillin	10 µg	≥ 17	–	≤ 16	≤ 8	–	≥ 16	
									٦. حساسیت به پنی‌سیلین در انتروکک‌هایی که بتالاکتاماز تولید نمی‌کنند، قابل تعمیم به آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین- سولباکتام آموکسی‌سیلین- کلاوولانات، پیپراسیلین و پیپراسیلین- تازوباکتام است. با این وجود، انتروکک حسلس به آمپی‌سیلین را نمی‌توان حساس به پنی‌سیلین تلقی نمود. درصورت نیاز باید پنی‌سیلین آزمایش گردد.
									۷. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): برای درمان عفونت‌های جدی انتروککی نظیر اندوکاردیت‌ها، معمولا" درمان ترکیبی آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین یا وانکومایسین(برای سویه‌های حساس) همراه با یک آمینوگلیکوزید کاربرد دارد. مگر آن که مقاومت به سطح بالای هر دو آمینوگلیکوزید جنتامایسین و استرپتومایسین ثابت شده‌باشد. این نوع درمان‌های ترکیبی به هم‌افزایی کشنده برای انتروکک‌ها منجر می‌شود.
									۸. گزارش مقاومت ناشی از بتالاکتاماز به پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین در بین انتروکک‌ها بسیار نادر است. تشخیص مقاومت ناشی از بتالاکتاماز به پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین با روش‌های روزمره دیسک یا رقیق سازی قابل اعتماد نیست. این نوع مقاومت را باید با آزمایش مستقیم به روش نیتروسفین تشخیص‌داد. به دلیل نادر بودن انتروکک‌های بتالاکتاماز مثبت نیازی به انجام این آزمایش به‌طور روتین وجودندارد، اما می‌توان آن را در موارد منتخب انجام‌داد. آزمایش بتالاکتاماز مثبت به معنی مقاومت به پنی‌سیلین و نیز آمینوپنی‌سیلین‌ها و یورئیدوپنی‌سیلین‌ها است(واژه‌نامه ۱ را ملاحظه نمایید).
GLYCOPEPTIDES									
B	Vancomycin	30 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 4	8–16	≥ 32	۹. برای تشخیص صحیح مقاومت انتروکک‌ها به وانکومایسین، ظروف پتری را باید ۲٤ ساعت کامل گرمخانه‌گذاری نمود. همانطور که در جدول تکمیلی 2D-S6، در انتهای جدول 2D، تحت عنوان «مقاومت به وانکومایسین» آمده‌است، برای ایزوله‌هایی که MIC وانکومایسین در آنها ۸–۱٦µg/mL است، جهت تعیین هویت ایزوله‌ها، آزمایش‌های بیوشیمیایی موجود در جدول(تولید پیگمان و تحرک) را باید انجام‌داد. هاله‌های مهار رشد را باید با نور عبوری بررسی کرد. وجود رشد اندک یا هر نوع رشد در داخل هاله عدم رشد، دلالت بر مقاومت دارد. ارگانیسم‌هایی که هاله مهار رشد آنها بینابینی است باید به روش MIC که در سند M07-A8 CLSI توصیف شده‌است، آزمایش شود آزمایش مقاومت به وانکومایسین که در جدول تکمیلی 2D-S6، در انتهای جدول 2D، توضیح‌داده شده‌است را ملاحظه نمایید. See comments (3) and (7).
Inv.	Teicoplanin	30 µg	≥ 14	11–13	≤ 10	≤ 8	16	≥ 32	
LIPOPEPTIDES									
B	Daptomycin	–	–	–	–	≤ 4	–	–	۱۰. آزمایش به روش انتشار از دیسک برای داپتومایسین قابل اعتماد نیست. **۱۱. داپتومایسین نباید برای باکتری‌های جداشده از نمونه مجاری تنفسی تحتانی، گزارش گردد.** See comment (4).

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2D صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
MACROLIDES									
O	Erythromycin	15 µg	≥ 23	14–22	≤ 13	≤ 0.5	1–4	≥ 8	۱۲. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، گزارش نمی‌شود.
TETRACYCLINES									۱۳. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند، به داکسی‌سایکلین و ماینوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند. هر چند بعضی ارگانیسم‌ها که نسبت به تتراسایکلین، مقاوم یا حساس بینابینی می‌باشند، ممکن‌است به داکسی‌سایکلین یا ماینوسایکلین، یا هر دو آنها حساس باشند.
U	Tetracycline	30 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
O	Doxycycline	30 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	30 µg	≥ 19	15–18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES									
U	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۱٤. این معیارهای تفسیر فقط برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری کاربرد دارد.
U	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	13–16	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	
NITROFURANTOINS									
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	
ANSAMYCINS									
O	Rifampin	5 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	۱۵. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): ریفامپین نباید به تنهایی برای درمان ضدمیکروبی استفاده‌شود.
FOSFOMYCINS									
O	Fosfomycin	200 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 64	128	≥ 256	۱٦. فقط در مقابل *E. faecalis* جداشده از نمونه دستگاه ادراری کاربرد دارد. ۱۷. آزمایش MIC تأییدشده، روش رقیق سازی در آگار است. به محیط آگار باید ۲۵µg/mL گلوکز-٦- فسفات اضافه‌کرد. آزمایش رقیق‌سازی در محیط مایع را نباید انجام‌داد. ۱۸. دیسک ۲۰۰ میکروگرمی فسفومایسین حاوی ۵۰µg گلوکز-٦- فسفات است.
PHENICOLS									
O	Chloramphenicol	30 µg	≥ 18	13–17	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	See comment (12).
STREPTOGRAMINS									
B	Quinupristin-dalfopristin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۱۹. برای گزارش در مقابل سویه‌های *E. faecalis* مقاوم به وانکومایسین.
OXAZOLIDINONES									
B	Linezolid	30 µg	≥ 23	21–22	≤ 20	≤ 2	4	≥ 8	

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

جدول تکمیلی 2D-S6. آزمایش‌های غربالگری برای تعیین سطح بالای مقاومت به آمینوگلیکوزیدها (HLAR)، و مقاومت به وانکومایسین در گونه‌های *انتروکک* جهت استفاده همراه با جدول 2D

Screen Test	Gentamicin HLAR			Streptomycin HLAR			Vancomycin Resistance
Test method	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Agar dilution
Medium	MHA	BHI[a] broth	BHI[a] agar	MHA	BHI[a] broth	BHI[a] agar	BHI[a] agar
Antimicrobial concentration	120-µg gentamicin disk	Gentamicin, 500 µg/mL	Gentamicin, 500 µg/mL	300-µg streptomycin disk	Streptomycin, 1000 µg/mL	Streptomycin, 2000 µg/mL	Vancomycin, 6 µg/mL
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	10 µL of a 0.5 McFarland suspension spotted onto agar surface	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	10 µL of a 0.5 McFarland suspension spotted onto agar surface	1–10 µL of a 0.5 McFarland suspension spotted onto agar surface
Incubation conditions	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	16–18 hours	24 hours	24 hours	16–18 hours	24–48 hours (if susceptible at 24 hours, reincubate)	24–48 hours (if susceptible at 24 hours, reincubate)	24 hours
Results	6 mm = Resistant; 7–9 mm = Inconclusive; ≥ 10 mm = Susceptible. MIC correlates: R = >500 µg/mL S = ≤ 500 µg/mL	Any growth = Resistant	>1 colony = Resistant	6 mm = Resistant; 7–9 mm = Inconclusive; ≥ 10 mm = Susceptible MIC correlates: R = > 1000 µg/mL (broth) and > 2000 µg/mL (agar); S = ≤ 500 µg/mL (broth) and ≤ 1000 µg/mL (agar)	Any growth = Resistant	>1 colony = Resistant	>1 colony = Presumptive vancomycin resistance
Further testing and reporting	مقاوم: با عامل فعال علیه دیواره سلولی(نظیر آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین و وانکومایسین) هم‌افزایی ندارد. حساس: با عامل فعال علیه دیواره سلولی که ارگانیسم نسبت به آن نیز حساس است(نظیر آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین و وانکومایسین) هم‌افزایی دارد. درصورتی که نتایج روش انتشار از دیسک قطعی نباشد: برای تأیید، آزمایش رقیق‌سازی در آگار یا رقیق سازی در مایع به روش میکرو (microdilution) باید انجام‌شود.						به‌منظور افتراق گونه‌هایی که دارای مقاومت اکتسابی به وانکومایسین (*vanA*، *vanB*) هستند، از گونه‌هایی که مقاومت ذاتی و سطح متوسط (*vanC*) دارند، نظیر *Enterococcus gallinarum* و *Enterococcus casseliflavus*، آزمایش تعیین MIC وانکومایسین و آزمایش‌های تحرک و تولید پیگمان را انجام‌دهید. این ارگانیسم‌ها در ظروف پتری حاوی وانکومایسین در آزمایش غربالگری رشد می‌کنند. برخلاف سایر انتروکک ها، *E. gallinarum* و *E. casseliflavus* با MIC وانکومایسین ۱۶-۸ µg/mL (حساسیت بینابینی) از نظر اهداف کنترل عفونت با انتروکک‌های مقاوم به وانکومایسین (VRE) متفاوت هستند.
QC recommendations	*E. faecalis* ATCC® 29212: 16–23 mm	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212: 14–20 mm	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; BHI, Brain Heart Infusion; HLAR, high-level aminoglycoside resistance; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control; VRE, vancomycin-resistant enterococcus.

زیرنویس

a. BHI: Brain Heart Infusion، با آن‌که دکستروزفسفات جامد و مایع در بسیاری از موارد در دسترس نیست، در آزمایش‌های محدودی برای انجام مقایسه مورد استفاده قرار گرفته‌است.

جدول 2E. استانداردهای تفسیر MIC و قطر هاله مهار رشد برای *هموفیلوس انفلوانزا* و *هموفیلوس پاراانفلوانزا*

Testing Conditions	
Medium:	Disk diffusion: *Haemophilus* Test Medium (HTM) Broth dilution: HTM broth
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; Disk diffusion: 5% CO_2; 16 to 18 hours Broth dilution: ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables 3A, **3B,** 4A, **and 4B** for acceptable QC ranges.)

Haemophilus influenzae ATCC® 49247
Haemophilus influenzae ATCC® 49766
Escherichia coli ATCC® 35218 (when testing amoxicillin-clavulanic acid)

توضیحات

۱. گونه‌های *هموفیلوس* که در این جدول به آنها اشاره شده است، فقط شامل *هموفیلوس انفلوانزا* و *هموفیلوس پاراانفلوانزا* می‌باشد. برای آزمایش، گزارش و توضیحات در مورد سایر گونه‌های *هموفیلوس* به سند CLSI M45 مراجعه نمایید.

۲. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرفنظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه گیری نمایید.

۳. برای *هموفیلوس انفلوانزای* جداشده از مایع مغزی ـ نخاعی، به‌طور روتین باید فقط نتایج آزمایش با آمپی‌سیلین، یکی از سفالوسپورین‌های نسل سوم، کلرامفنیکل و مروپنم گزارش شود.

٤. آموکسی‌سیلین – کلاوولانیک اسید، آزیترومایسین، کلاریترومایسین، سفاکلر، سفپروزیل، لوراکاربف، سفدینیر، سفیکسیم، سفپودوکسیم، سفوروکسیم و تلیترومایسین، عوامل خوراکی می‌باشند که ممکن‌است برای درمان تجربی (empiric therapy) عفونت‌های تنفسی ناشی از گونه‌های *هموفیلوس* مورد استفاده قرارگیرند. نتایج آزمایش حساسیت با این عوامل ضدمیکروبی اغلب برای درمان انفرادی بیماران مفید نیست. با این حال، نتایج آزمایش حساسیت آنها می تواند برای برنامه‌های مراقبت و مطالعات اپیدمیولوژیک مناسب باشد.

۵. طرز تهیه محیط کشت آزمایش *هموفیلوس* (*Haemophilus* Test Medium (HTM)):
محلول ذخیره و تازه هماتین را به ترتیب ذیل تهیه‌کنید:
۵۰ میلی‌گرم پودر هماتین را در ۱۰۰ میلی‌لیتر mol/L NaOH ۰/۰۱ با حرارت دادن و همزدن کاملاً حل نمایید.
۳۰ میلی‌لیتر از محلول ذخیره هماتین و ۵ گرم عصاره مخمر را به یک لیتر مولر هینتون آگار اضافه‌کنید و اتوکلاو نمایید.
بعد از خنک شدن، ۳ میلی‌لیتر از محلول ذخیره نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) را به‌طور استریل به آن اضافه نمایید.
محلول ذخیره NAD: ۵۰ میلی‌گرم NAD را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید و به روش فیلتراسیون استریل نمایید.

٦. برای بعضی ترکیبات ارگانیسم/ عامل ضدمیکروبی، به علت فقدان و یا نادر بودن سویه‌های مقاوم، این گروه ناگزیر در طبقه «حساس» قرارداده شده‌است. برای سویه‌هایی که نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آنها را در طبقه «غیرحساس» قرارمی‌دهد، تعیین هویت ارگانیسم و نتیجه آزمایش تعیین حساسیت باید مورد تأیید قرارگیرد.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2E صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
A	Ampicillin	10 µg	≥ 22	19–21	≤ 18	≤ 1	2	≥ 4	See comment (3). ۷. نتایج ازمایش حساسیت امپی‌سیلین باید برای پیش‌بینی فعالیت آموکسی‌سیلین استفاده‌شود. اکثریت ایزوله‌های *هموفیلوس انفلوانزا* که به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین مقاوم هستند بتالاکتاماز نوع TEM تولیدمی‌کنند. در اغلب موارد آزمایش مستقیم بتالاکتاماز می‌تواند یک روش سریع برای تشخیص مقاومت به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین باشد. ۸. به‌ندرت برخی از سویه‌های *هموفیلوس انفلوانزا*، بتالاکتاماز منفی ولی مقاوم به آمپی‌سیلین می‌باشند(BLNAR). این سویه‌ها را باید نسبت به عوامل ذیل مقاوم درنظر گرفت، هر چند در شرایط *in vitro* بعضی از آنها به این عوامل حساس هستند. این عوامل عبارتند از: آموکسی‌سیلین ـ کلاولانیک‌اسید، آمپی‌سیلین ـ سولباکتام، سفاکلر، سفتامت(ceftamet)، سفونیسید، سفپروزیل، سفوروکسیم، لوراکاربف، پیپراسیلین – تازوباکتام.
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥ 20	–	≤ 19	≤ 2/1	–	≥ 4/2	See comment (8).
C	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≥ 20	–	≤ 19	≤ 4/2	–	≥ 8/4	See comments (4) and (8).
O	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 21	–	–	≤ 1/4	–	≥ 2/4	See comment (8).
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
B	Cefotaxime or	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	See comments (3) and (6).
B	ceftazidime or	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	
B	ceftriaxone	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	
B	Cefuroxime	30 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 4	8	≥ 16	See comment (8).
O	Cefonicid	30 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 4	8	≥ 16	See comment (8).
O	Cefamandole	–	–	–	–	≤ 4	8	≥ 16	See comment (8).
O	Cefepime	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	See comment (6).
O	Ceftizoxime	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	See comment (6).

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2E صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (ORAL)									
C	Cefaclor	30 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 8	16	≥ 32	See comments (4) and (8).
C	Cefprozil	30 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
C	Cefdinir or	5 µg	≥ 20	–	–	≤ 1	–	–	See comments (4) and (6).
C	cefixime or	5 µg	≥ 21	–	–	≤ 1	–	–	
C	cefpodoxime	10 µg	≥ 21	–	–	≤ 2	–	–	
C	Cefuroxime	30 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 4	8	≥ 16	
O	Loracarbef	30 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 8	16	≥ 32	See comments (4) and (8).
O	Ceftibuten	30 µg	≥ 28	–	–	≤ 2	–	–	See comment (6).
Inv.	Cefetamet	10 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	See comment (8).
MONOBACTAMS									
C	Aztreonam	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	See comment (6).
CARBAPENEMS									
B	Meropenem	10 µg	≥ 20	–	–	≤ 0.5	–	–	See comments (3) and (6).
C	Ertapenem or	10 µg	≥ 19	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (6).
C	imipenem	10 µg	≥ 16	–	–	≤ 4	–	–	
MACROLIDES									
C	Azithromycin	15 µg	≥ 12	–	–	≤ 4	–	–	See comment (6).
C	Clarithromycin	15 µg	≥ 13	11–12	≤ 10	≤ 8	16	≥ 32	
KETOLIDES									
C	Telithromycin	15 µg	≥ 15	12–14	≤ 11	≤ 4	8	≥ 16	See comment (4).
TETRACYCLINES									
C	Tetracycline	30 µg	≥ 29	26–28	≤ 25	≤ 2	4	≥ 8	۹. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مینوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2E صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
FLUOROQUINOLONES									See comment (6).
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≥ 21	–	–	≤ 1	–	–	
C	levofloxacin or	5 µg	≥ 17	–	–	≤ 2	–	–	
C	lomefloxacin or	10 µg	≥ 22	–	–	≤ 2	–	–	
C	moxifloxacin or	5 µg	≥ 18	–	–	≤ 1	–	–	
C	ofloxacin	5 µg	≥ 16	–	–	≤ 2	–	–	
C	Gemifloxacin	5 µg	≥ 18	–	–	≤ 0.12	–	–	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	–	–	≤ 1	–	–	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 24	–	–	≤ 0.5	–	–	
O	Sparfloxacin	–	–	–	–	≤ 0.25	–	–	
O	Trovafloxacin	10 µg	≥ 22	–	–	≤ 1	–	–	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 19	–	–	≤ 2	–	–	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 0.5/9.5	1/19–2/38	≥ 4/76	
PHENICOLS									
B	Chloramphenicol	30 µg	≥ 29	26–28	≤ 25	≤ 2	4	≥ 8	See comment (3). ۱۰. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، گزارش نمی‌شود.
ANSAMYCINS									
C	Rifampin	5 µg	≥ 20	17–19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	۱۱. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): ریفامپین نباید به تنهایی برای درمان ضدمیکروبی استفاده‌شود.

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; BLNAR, β-lactamase negative, ampicillin-resistant; CSF, cerebrospinal fluid; HTM, *Haemophilus* Test Medium; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; QC, quality control.

جدول 2F. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای *نیسریا گونوره*

Minimal QC Recommendations (See Tables 3B and 4C for acceptable QC ranges.)
Neisseria gonorrhoeae ATCC® 49226

شرایط آزمایش

محیط کشت: انتشار از دیسک: محیط پایه GC آگار همراه با ۱٪ از مکمل اختصاصی رشد (در این روش به مکمل‌های رشد فاقد سیستئین نیازی نیست).
رقت در آگار: محیط پایه GC آگار همراه با ۱٪ از مکمل اختصاصی رشد (برای آزمایش کارباپنم‌ها و کلاوولانات به مکمل‌های فاقد سیستئین نیاز است. مکمل‌های رشد که دارای سیستئین هستند تغییرات حائز اهمیتی را در نتایج آزمایش به‌روش رقیق سازی با سایر داروها ایجاد نمی کنند).

مایه میکروبی: سوسپانسیون مستقیم از کلنی، معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند

گرمخانه گذاری: دمای ۱±۳۶ درجه سانتی‌گراد(نباید بیشتر از ۳۷ درجه سانتی‌گراد باشد)، ۵٪ CO_2 ، زمان مورد نیاز برای تمام روش‌ها: ۲۴-۲۰ ساعت

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگه‌دارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید.

۲. اثربخشی بالینی سفمتازول، سفوتتان، سفوکسیتین و اسپکتینومایسین در درمان ارگانیسم‌هایی که نتایج بینابینی با این داروها ایجادکرده‌اند، مشخص نیست.

۳. در آزمایش انتشار از دیسک برای *نیسریا گونوره*، نتیجه بینابینی برای یک عامل ضدمیکروبی، یا نشان‌دهندهٔ یک مشکل فنی است که باید با تکرار آزمایش حل شود و یا به علت نبود تجربه بالینی در درمان ارگانیسم با این محدوده مهار رشد است. ثابت شده‌است سویه‌هایی که در برابر عوامل ضدمیکروبی- به‌جز سفمتازول، سفوتتان، سفوکسیتین و اسپکتینومایسین- هاله مهار رشد بینابینی دارند، میزان بهبودی بالینی کمتری(۸۵٪ تا ۹۵٪) در مقایسه با سویه‌های حساس(بیشتر از ۹۵٪) دارند.

٤. محیط کشت پیشنهادشده برای آزمایش *نیسریا گونوره* شامل GC آگار حاوی ۱٪ ترکیبات مکمل اختصاصی رشد است(۱/۱g ال- سیستئین، ۰/۰۳g گوآنین HCl، ۳mg تیامین HCl، ۱۳mg پارا آمینوبنزوئیک اسید، ۰/۰۱g ویتامین B12، ۰/۱g کوکربوکسیلاز، ۰/۲۵g NAD، ۱g آدنین، ۱۰g ال- گلوتامین، ۱۰۰g گلوکز، ۰/۰۲g نیترات فریک [در یک لیتر آب]) که بعد از اتوکلاو کردن به آن اضافه‌می‌گردد.

۵. برای بعضی ترکیبات ارگانیسم/ عامل ضدمیکروبی، به علت فقدان و یا نادر بودن سویه‌های مقاوم، این گروه ناگزیر در طبقه «حساس» قرارداده شده‌است. برای سویه‌هایی که نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آنها را در طبقه «غیرحساس» قرارمی‌دهد، تعیین هویت ارگانیسم و نتیجه آزمایش تعیین حساسیت باید مورد تأیید قرارگیرد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2F صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
C	Penicillin	10 units	≥ 47	27–46	≤ 26	≤ 0.06	0.12–1	≥ 2	See comment (3).
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
C	Cefotaxime or	30 µg	≥ 31	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (5).
C	ceftriaxone	30 µg	≥ 35	–	–	≤ 0.25	–	–	
C	Cefoxitin	30 µg	≥ 28	24–27	≤ 23	≤ 2	4	≥ 8	See comment (2).
C	Cefuroxime	30 µg	≥ 31	26–30	≤ 25	≤ 1	2	≥ 4	See comment (3).
O	Cefepime	30 µg	≥ 31	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (5).
O	Cefmetazole	30 µg	≥ 33	28–32	≤ 27	≤ 2	4	≥ 8	See comment (2).
O	Cefotetan	30 µg	≥ 26	20–25	≤ 19	≤ 2	4	≥ 8	See comment (2).
O	Ceftazidime	30 µg	≥ 31	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (5).
O	Ceftizoxime	30 µg	≥ 38	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (5).
CEPHEMS (ORAL)									
C	Cefixime or	5 µg	≥ 31	–	–	≤ 0.25	–	–	See comment (5).
C	cefpodoxime	10 µg	≥ 29	–	–	≤ 0.5	–	–	
Inv.	Cefetamet	10 µg	≥ 29	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (5).
TETRACYCLINES									۹. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مینوسایکلین هم حساس در نظر گرفته‌می‌شوند.
C	Tetracycline	30 µg	≥ 38	31–37	≤ 30	≤ 0.25	0.5–1	≥ 2	۱۰. گونوکک‌هایی کـه قطر هاله مهار رشـد آنها در مقابل دیسک تتراسایکلین ۳۰ میکروگرمی ۱۹mm≤ باشد، معمولاً نشان‌دهنده ایزوله مقاوم به تتراسایکلین (TRNG) به واسطه پلاسمید است. مقاومت در این سویه‌ها باید با آزمایش تعیین رقت تأیید گردد(MIC ≥ ۱۶µg/mL).

۶. آزمایش بتالاکتاماز مثبت، پیش‌بینی‌کننده مقاومت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین است.

۷. آزمایش بتالاکتاماز یکی از انواع مقاومت *نیسریا گونوره* به پنی‌سیلین(نوع پلاسمیدی) را تشخیص‌می‌دهد و ممکن‌است برای به‌دست آوردن اطلاعات اپیدمیولوژیک مورد استفاده قرارگیرد. سویه‌هایی که مقاومت به واسطه کروموزوم دارند را فقط می‌توان با روش انتشار از دیسک یا روش تعیین MIC با رقیق‌سازی در آگار، تشخیص‌داد.

۸. گونوکک‌هایی که در مقابل دیسک ۱۰ واحدی پنی‌سیلین قطر هاله مهار رشد ۱۹mm≤ ایجادمی‌کنند، احتمالاً سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز هستند. با این حال، آزمایش بتالاکتاماز به‌عنوان روش ارجح نسبت به سایر آزمایش‌های تعیین حساسیت می‌باشد، زیرا روشی سریع و صحیح برای تشخیص مقاومت به پنی‌سیلین به واسطه پلاسمید است.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2F صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
FLUOROQUINOLONES									See comment (3).
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≥ 41	28–40	≤ 27	≤ 0.06	0.12–0.5	≥ 1	
C	ofloxacin	5 µg	≥ 31	25–30	≤ 24	≤ 0.25	0.5–1	≥ 2	
O	Enoxacin	10 µg	≥ 36	32–35	≤ 31	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 38	34–37	≤ 33	≤ 0.125	0.25	≥ 0.5	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 37	28–36	≤ 27	≤ 0.06	0.12–0.5	≥ 1	
O	Lomefloxacin	10 µg	≥ 38	27–37	≤ 26	≤ 0.12	0.25–1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	10 µg	≥ 34	–	–	≤ 0.25	–	–	See comment (5).
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 35	29–34	≤ 28	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
AMINOCYCLITOLS									
C	Spectinomycin	100 µg	≥18	15–17	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	See comment (2).

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; MIC, minimal inhibitory concentration; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; PABA, para-aminobenzoic acid; QC, quality control; TRNG, tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae.*

جدول 2G. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای *استرپتوکوکوس پنومونیه*

Testing Conditions	
Medium:	Disk diffusion: MHA with 5% sheep's blood Broth dilution: CAMHB with LHB (2.5% to 5% v/v) (see M07-A8 for instructions for preparation of LHB)
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C Disk diffusion: 5% CO_2; 20 to 24 hours Dilution methods: ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables **3B** and **4B** for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره‌بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرفنظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه گیری نمایید.

۲. آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین، سفپیم، سفتریاکسون، سفوروکسیم، ارتاپنم (ertapenem)، ایمی‌پنم و مروپنم ممکن‌است برای درمان عفونت‌های پنوموککی مورد استفاده قرارگیرند. با این حال، آزمایش تعیین حساسیت به روش انتشار از دیسک برای این عوامل هنوز قابل اعتماد نیست. تعیین حساسیت این عوامل بهتر است به روش MIC انجام‌شود.

۳. پنی‌سیلین و سفوتاکسیم، سفتریاکسون یا مروپنم باید با یک روش MIC قابل اعتماد آزمایش شوند(مانند روشی که در سند M07–A8 CLSI توضیح‌داده شده‌است) و به‌طور روتین برای *استرپتوکوکوس پنومونیه* جداشده از نمونه مایع مغزی ـ نخاعی گزارش گردند. این قبیل ایزوله‌ها باید با روش MIC یا انتشار از دیسک در مقابل وانکومایسین نیز آزمایش شوند.

٤. برای بعضی ترکیبات ارگانیسم/ عامل ضدمیکروبی، به علت فقدان و یا نادر بودن سویه‌های مقاوم، این گروه ناگزیر در طبقه «حساس» قرارداده شده‌ست. برای سویه‌هایی که نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آنها را در طبقه «غیرحساس» قرارمی‌دهد، تعیین هویت ارگانیسم و نتیجه آزمایش تعیین حساسیت باید مورد تأیید قرارگیرد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2G صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
۵. برای ایزوله‌هایی که از نمونه‌هایی غیر از مایع مغزی ـ نخاعی جداشده‌اند(غیرمننژیت)، MIC پنی‌سیلین می‌تواند حساسیت به سایر بتالاکتام‌ها، که در ذیل به انها اشاره شده‌است، را پیش‌بینی نماید: MIC پنی‌سیلین µg/mL ۰/۰۶ ≤ (یا هاله مهار رشد mm۲۰≤ برای اگزاسیلین) نشان‌دهندهٔ حساسیت به آمپی‌سیلین(خوراکی یا تزریقی) آمپی‌سیلین – سولباکتام، سفاکلر، سفدینیر، سفدیتورن (cefditoren)، سفپودوکسیم، سفپروزیل، سفتی‌زوکسیم، سفوروکسیم، ایمی‌پنم، لوراکاربف و مروپنم است. MIC پنی‌سیلین µg/mL ۲ ≤، نشان‌دهنده حساسیت به آموکسی‌سیلین، آموکسی‌سیلین کلاوولانیک اسید، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و ارتاپنم است. See comment (3).									
A	Penicillin	1 µg oxacillin	≥ 20	–	–	–	–	–	٦. ایزوله‌هایی از پنوموکک که در مقابل اگزاسیلین هاله مهار رشد mm ۲۰≤ دارند، به پنی‌سیلین هم حساس هستند(MIC≤ ۰/۰٦µg/mL). درصورتی که در مقابل اگزاسیلین اندازه هاله مهار رشد mm۱۹≤ باشد، MIC پنی‌سیلین و سفوتاکسیم، سفتریاکسون یا مروپنم باید تعیین گردد زیرا، هاله مهار رشد mm۱۹≤ توسط سویه‌های مقاوم یا سویه‌های با حساسیت بینابینی یا برخی سویه‌های حساس به پنی‌سیلین ایجادمی‌شود. مقاومت به پنی‌سیلین در ایزوله‌هایی کـه قطر هاله مهـار رشـد آنها mm ۱۹≤ است، نباید بدون انجام آزمایش MIC گزارش شود.
A	Penicillin parenteral (nonmeningitis)	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	۷. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): برای درمان عفونت ناشی از سویه‌های پنوموکک (به‌جز منژیت) با µg/mL ۲ ≥ MIC پنی‌سیلین در افراد بالغ با عملکـرد طبیعی کلیه می‌توان حـداقـل ۲ میلیـون واحـد پنـی‌سیلین تـزریقی هـر ٤ سـاعت یک بـار استفاده‌کـرد(۱۲ میلیون واحـد در روز). سویه‌هایی با MIC بینابینی µg/mL ٤ ممکن‌است به پنی‌سیلین با دوز ۱۸ تا ۲٤ میلیون واحد در روز نیاز داشته‌باشند. ۸. برای تمام ایزوله‌های غیر از نمونه مایع مغزی ـ نخاعی، معیارهای تفسیری برای هر دو حالت منژیت و غیرمنژیت گزارش گردد.
A	Penicillin parenteral (meningitis)	–	–	–	–	≤ 0.06	–	≥ 0.12	۹. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): برای درمان منژیت با پنی‌سیلین از حداکثر دوز تزریقی استفاده‌نمایید(در افراد بالغ با عملکرد طبیعی کلیه حداقل ۳ میلیون واحد هر ٤ ساعت یک بار). ۱۰. برای ایزوله‌های نمونه مایع مغزی ـ نخاعی، فقط معیارهای تفسیری برای منژیت گزارش گردد.
A	Penicillin (oral penicillin V)	–	–	–	–	≤ 0.06	0.12–1	≥ 2	
C	Amoxicillin (nonmeningitis)	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
C	Amoxicillin-clavulanic acid (nonmeningitis)					≤ 2/1	4/2	≥ 8/4	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2G صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
O	Cefepime (meningitis)	–	–	–	–	≤ 0.5	1	≥ 2	۱۱. بـرای ایزوله‌های نمونه مـایع مغـزی ـ نخاعی، فقط معیارهـای تفسیری برای منتژیت گزارش گردد. تأییدیه مورد مصرف سفپیم در منتژیت‌ها توسط FDA وجوددارد.
B	Cefepime (nonmeningitis)	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	۱۲. در ایالات متحده آمریکا معیار تفسیر فقط برای موارد غیرمنتژیت گزارش می‌گردد. ذکر اصطلاح غیرمنتژیت در گزارش ضروری است.
B	Cefotaxime (meningitis)	–	–	–	–	≤ 0.5	1	≥ 2	۱۳. برای ایزوله‌های نمونه مایع مغزی ـ نخاعی، فقط معیارهای تفسیری برای منتژیت گزارش گردد.
B	Ceftriaxone (meningitis)	–	–	–	–	≤ 0.5	1	≥ 2	۱٤. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): در درمان منتژیت باید از حداکثر دوز سفوتاکسیم یا سفتریاکسون استفادهشود.
									See comment (3)
B	Cefotaxime (nonmeningitis)	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	۱۵. برای تمام ایزوله‌ها به‌جز نمونه مایع مغزی ـ نخاعی، گزارش شود که تفسیر برای منتژیت و غیرمنتژیت می‌باشد.
B	Ceftriaxone (nonmeningitis)	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	
C	Cefuroxime (parenteral)	–	–	–	–	≤ 0.5	1	≥ 2	
CEPHEMS (ORAL)									
C	Cefuroxime (oral)	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefaclor	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefdinir	–	–	–	–	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Cefpodoxime	–	–	–	–	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Cefprozil	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
O	Loracarbef	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	
CARBAPENEMS									
B	Meropenem	–	–	–	–	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comment (3).
C	Ertapenem	–	–	–	–	≤ 1	2	≥ 4	
C	Imipenem	–	–	–	–	≤ 0.12	0.25–0.5	≥ 1	
GLYCOPEPTIDES									
B	Vancomycin	30 µg	≥ 17	–	–	≤ 1	–	–	See comments (3) and (4).
MACROLIDES									۱٦. حساسیت و مقاومت به آزیترومایسین، کلاریترومایسین و دیریترومایسین را می‌توان با استفاده از اریترومایسین پیش‌بینی کرد. ۱۷. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، گزارش نمی‌شود.
A	Erythromycin	15 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Azithromycin	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Clarithromycin	15 µg	≥ 21	17–20	≤ 16	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Dirithromycin	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 0.5	1	≥ 2	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2G صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
KETOLIDES									
B	Telithromycin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
TETRACYCLINES									
B	Tetracycline	30 µg	≥ 23	19–22	≤ 18	≤ 2	4	≥ 8	۱۸. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مایتوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند.
FLUOROQUINOLONES									
B	Gemifloxacin	5 µg	≥ 23	20–22	≤ 19	≤ 0.12	0.25	≥ 0.5	
B	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
B	Moxifloxacin	5 µg	≥ 18	15–17	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	
B	Ofloxacin	5 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 1	2	≥ 4	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Sparfloxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	10 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5/9.5	1/19–2/38	≥ 4/76	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 21	–	≤ 20	≤ 4	–	≥ 8	See comment (17).
ANSAMYCINS									
C	Rifampin	5 µg	≥ 19	17–18	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	۱۹. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): ریفامپین نباید به تنهایی برای درمان ضدمیکروبی استفاده‌شود.
LINCOSAMIDES									
B	Clindamycin	2 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comment (17).
STREPTOGRAMINS									
O	Quinupristin-dalfopristin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES									
C	Linezolid	30 µg	≥ 21	–	–	≤ 2	–	–	See comment (4).

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; CSF, cerebrospinal fluid; FDA, US Food and Drug Administration; LHB, lysed horse blood; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration.

جدول 2H-1. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای گونه‌های *استرپتوکک* بتاهمولیتیک

Minimal QC Recommendations (See Tables 3B and 4B for acceptable QC ranges.)
Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

شرایط آزمایش

محیط کشت: انتشار از دیسک: مولر هینتون آگار با ۵٪ خون گوسفند

رقیق‌سازی در محیط مایع: CAMHB همراه با LHB (۲/۵ تا ۵٪ حجمی/ حجمی)؛ برای داپتومایسین ۵۰ µg/mL مکمل کلسیم باید به محیط CAMHB اضافه‌شود. (برای دستور تهیه LHB، به انتهای جدول مراجعه‌شود). *

رقیق‌سازی در آگار: مولر هینتون آگار با خون گوسفند(۵٪ حجمی/ حجمی)؛ برای داپتومایسین روش رقیق‌سازی در آگار معتبر نمی‌باشد

مایه میکروبی: سوسپانسیون مستقیم از کلنی، معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند

گرمخانه‌گذاری: ۲± ۳۵ درجه سانتی‌گراد؛

انتشار از دیسک: ۵٪ CO_2؛ ۲۴-۲۰ ساعت

روش رقیق‌سازی: هوای معمولی؛ ۲۴-۲۰ ساعت(شرایط CO_2: درصورتی که برای رشد در روش رقیق‌سازی در آگار لازم باشد)

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی‌نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره‌بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید.

۲. در این جدول، گروه بتاهمولیتیک شامل سویه‌های ذیل است:

- سویه‌های پیوژنیک که کلنی بزرگ تشکیل‌می‌دهند و دارای آنتی‌ژن گروه‌های A (*S. pyogenes*)، C یا G هستند و سویه‌هایی که دارای آنتی‌ژن گروه B (*S. agalactiae*) می‌باشند.
- سویه‌هایی که کلنی کوچک تشکیل‌می‌دهند و دارای آنتی‌ژن گروه‌های A، C، F یا G می‌باشند(گروه *S. anginosus* که قبلاً *S. milleri* نامیده‌می‌شد). این سویه‌ها جزء گروه ویریدنس درنظر گرفته‌می‌شوند، لذا باید از معیارهای تفسیری گروه ویریدنس استفاده‌شود(به جدول 2H-2 مراجعه‌شود).

۳. **برای درمان عفونت‌های استرپتوککی بتاهمولیتیک، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین داروهای انتخابی هستند.** برای پنی‌سیلین و سایر بتالاکتام‌هایی که برای درمان **عفونت‌های استرپتوککی بتاهمولیتیک** توسط FDA تأییدشده‌اند، نیاز به انجام آزمایش حساسیت دارویی برای مقاصد بالینی نیست و همچنین به‌طور روتین نیازی به انجام این آزمایش نمی‌باشد. **زیرا ایزوله‌های غیرحساس(برای مثال MIC پنی‌سیلین ۰/۱۲µg/mL < و MIC آمپی‌سیلین ۰/۲۵ µg/mL<) فوق‌العاده نادر هستند و درمورد *استرپتوکوکوس پایوژنز* گزارش نشده‌است. اگر طبق آزمایش یک ایزوله استرپتوکک بتاهمولیتیک غیرحساس پیدا شود، ایزوله مذکور باید مجدداً تعیین هویت و تعیین حساسیت شود و در صورت تأیید به آزمایشگاه مرجع ارسال‌گردد(برای اطلاعات بیشتر به پیوست A مراجعه‌شود).**

٤. معیارهای تفسیری برای **گروه بتاهمولیتیک گونه‌های استرپتوککی** براساس توزیع جمعیتی گونه‌های مختلف، فارماکوکینتیک عوامل ضدمیکروبی، متونی که قبلاً منتشر شده‌است، تجارب بالینی بعضی از اعضای زیرکمیته CLSI پیشنهاد شده‌است. داده‌های بالینی که به‌طور قاعده‌مند(systematically) جمع‌آوری شده‌اند، برای مرور بسیاری از ترکیبات دارویی در گروه استرپتوکک‌ها در دسترس نیست.

۵. برای بعضی ترکیبات ارگانیسم/ عامل ضدمیکروبی، به علت فقدان و یا نادر بودن سویه‌های مقاوم، این گروه ناگزیر در طبقه «حساس» قرارداده شده‌است. برای سویه‌هایی که نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آنها را در طبقه «غیرحساس» قرارمی‌دهد، تعیین هویت ارگانیسم و نتیجه آزمایش تعیین حساسیت باید مورد تأیید قرارگیرد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2H-1 صفحهٔ قبل

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
٦. برای گروه‌های ذیل، وقتی یک ارگانیسم به پنی‌سیلین حساس باشد، در مقابل عوامل ضدمیکربی فهرست‌شده هم حساس درنظر گرفته‌می‌شود، و زمانی که برای کاربردهای تأییدشده استفاده‌می‌گردد، به تعیین حساسیت در مقابل آن عامل ضدمیکربی نیاز نیست: الف) برای استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک(گروه‌های A، B، C و G): آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، آموکسی‌سیلین – کلاوولانیک اسید، آمپی‌سیلین – سولباکتام، سفازولین، سفپیم، سفرادین، سفالوتین، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفتی زوکسیم، ایمی‌پنم، ارتاپنم و مروپنم. ب) برای استرپتوکک‌های گروه A، علاوه‌بر عوامل گروه الف: سفاکلر، سفدینیر، سفپروزیل، سفتی‌باتن، سفوروکسیم، سفپودوکسیم و سفاپیرین.								
A	Penicillin or	10 units	≥ 24	–	–	≤ 0.12	–	–	See comment (5).
A	ampicillin	10 µg	≥ 24	–	–	≤ 0.25	–	–	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									See comments **(5) and** (6).
B	Cefepime or	30 µg	≥ 24	–	–	≤ 0.5	–	–	
B	cefotaxime or	30 µg	≥ 24	–	–	≤ 0.5	–	–	
B	ceftriaxone	30 µg	≥ 24	–	–	≤ 0.5	–	–	
CARBAPENEMS									See comments (5) **and (6).**
O	Ertapenem	–	–	–	–	≤ 1	–	–	
O	Meropenem	–	–	–	–	≤ 0.5	–	–	
GLYCOPEPTIDES									
B	Vancomycin	30 µg	≥ 17	–	–	≤ 1	–	–	See comment (5).
LIPOPEPTIDES									
C	Daptomycin	–	–	–	–	≤ 1	–	–	**٧. داپتومایسین نباید برای باکتری‌های جداشده از نمونه مجاری تنفسی تحتانی، گزارش گردد.** See comment (5).

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد

ادامهٔ جدول 2H-1 صفحهٔ قبل ⟵

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
MACROLIDES									۸. حساسیت و مقاومت به آزیترومایسین، کلاریترومایسین و دیریترومایسین را می‌توان با استفاده از اریترومایسین پیش‌بینی کرد. ۹. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه اداری، گزارش نمی‌شود.
A	Erythromycin	15 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	۱۰. ***RX***(توضیح به پزشک معالج): پیشنهاد می‌شود برای پروفیلاکسی حین زایمان درمورد استرپتوکک‌های گروه B از پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین استفاده‌شود. برای خانم‌هایی که به پنی‌سیلین حساسیت دارند، ولی احتمال خطر آنافیلاکسی در آنها کم است، سفازولین پیشنهاد می‌شود. خانم‌هایی که خطر آنافیلاکسی در آنها زیاد است، می‌توانند کلیندامایسین یا اریترومایسین دریافت نمایند. استرپتوکک‌های گروه B به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین و سفازولین حساس هستند، اما ممکن‌است به کلیندامایسین یا اریترومایسین یا هر دو مقاوم باشند. وقتی یک استرپتوکک گروه B از خانم باردار با حساسیت شدید به پنی‌سیلین(خطر زیاد برای آنافیلاکسی) جدا می‌شود، اریترومایسین و کلیندامایسین باید آزمایش و گزارش گردند.
O	Azithromycin	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Clarithromycin	15 µg	≥ 21	17–20	≤ 16	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Dirithromycin	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 0.5	1	≥ 2	
TETRACYCLINES									
O	Tetracycline	30 µg	≥ 23	19–22	≤ 18	≤ 2	4	≥ 8	۱۱. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مایتوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند.
FLUOROQUINOLONES									
C	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
C	Ofloxacin	5 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 1	2	≥ 4	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	10 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16	See comment (9).
LINCOSAMIDES									
A	Clindamycin	2 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comments (9) and (10). ۱۲. مقاومت القایی کلیندامایسین را می‌توان با روش انتشار دیسک و استفاده از هاله مهار رشد D (D-zone test) **و رقیق‌سازی در مایع به روش میکرو تشخیص‌داد**(به **جدول 2H-1-S7** و بند ۱۲ در سند M02-A10 و بند ۱۳ در سند M07-A8 مراجعه‌شود).
STREPTOGRAMINS									
C	Quinupristin-dalfopristin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	۱۳. در مقابل *S. pyogenes* گزارش شود.
OXAZOLIDINONES									
C	Linezolid	30 µg	≥ 21	–	–	≤ 2	–	–	See comment (5).

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; FDA, US Food and Drug Administration; LHB, lysed horse blood; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

*** دستور تهیهٔ (LHB) خون لیزشده اسب(۵۰٪)**

۱. حجم مساوی از خون دفیبرینه اسب را با آب دیونیزه استریل در شرایط آسپتیک[1] مخلوط کنید(خون لیزشده اسب با غلظت ۵۰٪).

۲. خون اسب با غلظت ۵۰٪ را تقریباً ۵ تا ۷ بار در چرخه انجماد ـ ذوب پی‌درپی قراردهید تا سلول‌ها کاملاً لیز شود.

۳. برای انجام آزمایش تعیین حساسیت به روش رقیق‌سازی در محیط مایع(مخلوط محیط مایع و LHB باید شفاف باشد). این کار را می‌توان با سانتریفوژ نمودن LHB با غلظت ۵۰٪ در g × ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه انجام‌داد. مایع رویی را دور ریخته و درصورت ضرورت، دوباره سانتریفوژ کنید.

٤. مقادیر مناسبی از LHB با غلظت ۵۰٪ را در شرایط آسپتیک به محیط CAMHB اضافه‌کنید تا غلظت نهایی ۵٪–۲/۵٪ از LHB به‌دست آید.

۵. pH را پس از اضافه‌نمودن خون در شرایط شرایط آسپتیک به محیط مایعی که اتوکلاوشده و سرد گردیده‌است، اندازه‌گیری نمایید.

٦. خون را به دو صورت می‌توان به میکروپلیت‌های MIC اضافه‌کرد:

الف) در زمان توزیع اولیه میکروپلیت‌ها

ب) پس از ذوب‌کردن و درست قبل از تلقیح

در روش (الف) اگر پس از تهیه میکروپلیت‌ها خون اضافه‌می‌شود، باید این کار همراه با تلقیح مایه میکروبی انجام‌گیرد، به‌طوری که رقت ماده ضدمیکروبی کاهش‌نیابد(به دستورالعمل ۲.٤.۱۰ روش رقیق‌سازی در MIC، سند M2-A8 مراجعه‌شود) و غلظت نهایی خون لیزشده اسب در چاهک‌ها به میزان ۵٪–۲/۵٪ باشد.

در روش (ب) ۵µL از خون لیزشده اسب با غلظت ۵۰٪ به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتری، قبل از تلقیح مایه میکروبی، اضافه‌می‌گردد. این روش درصورتی قابل قبول است که حجم کل مایع افزوده‌شده، بیشتر از ۱۰µL نشود.

۷. LHB با غلظت ۵۰٪ را می‌توان به‌طور نامحدود در ۲۰°C– ≤ نگهداری‌نمود.

نکته: خون لیزشده اسب آماده برای استفاده در روش MIC را می‌توان از منابع تجاری تهیه‌نمود.

1. Aseptically

جدول ضمیمه 2H-1-S7. آزمایش غربالگری برای مقاومت القایی کلیندامایسین در گروه بتاهمولیتیک گونه‌های *استرپتوکک* جهت استفاده با جدول 2H-1

Screen Test	Inducible Clindamycin Resistance	
Organism group	β-hemolytic *Streptococcus* spp. resistant to erythromycin and susceptible or intermediate to clindamycin[a]	
Test method	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	MHA supplemented with sheep blood (5% v/v) or TSA supplemented with sheep blood (5% v/v)	CAMHB with LHB (2.5%–5% v/v)
Antimicrobial concentration	15-µg erythromycin disk and 2-µg clindamycin disk spaced 12 mm apart	1 µg/mL erythromycin and 0.5 µg/mL clindamycin in same well
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth microdilution recommendations
Incubation conditions	35 ± 2 °C; 5% CO_2	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	20–24 hours	20–24 hours
Results	صاف‌شدن هاله مهار رشد در مجاورت دیسک اریترومایسین(موسوم به منطقه D [شبیه حرف D]) = مقاومت القایی به کلیندامایسین رشد غیرواضح یا نامشخص داخل هاله مهار رشد در اطراف دیسک کلیندامایسین = مقاومت به کلیندامایسین حتی اگر منطقه D نمایان نباشد.	Any growth = inducible clindamycin resistance; No growth = no inducible clindamycin resistance
Further testing and reporting	ایزوله‌هایی با مقاومت القایی به کلیندامایسین را به‌عنوان «مقاوم به کلیندامایسین» گزارش کنید. این توضیح را می‌توان به گزارش اضافه‌کرد: این باکتری جداشده براساس آزمایش مقاومت القایی، به کلیندامایسین مقاوم درنظر گرفته‌می‌شود. کلیندامایسین ممکن‌است همچنان در بعضی از بیماران مؤثر باشد.	
QC recommendations	*S. pneumoniae* ATCC® 49619 for routine QC of disks; See Appendix C for use of supplemental QC strains.	*S. pneumoniae* ATCC® 49619 *S. aureus* ATCC® BAA-976 or *S. aureus* ATCC® 29213 – no growth *S. aureus* ATCC® BAA-977 – growth

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; LHB, lysed horse blood; MHA, Mueller-Hinton agar; QC, quality control; TSA, tryptic soy agar.

a از آنجا که اهمیت بالینی مقاومت القایی کلیندامایسین در بین همه استرپتوکک‌های بتاهمولیتیک مشخص نیست، ممکن‌است انجام این آزمایش القایی روی همه باکتری‌های جداشده مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین ضرورت نداشته‌باشد؛ ولی همه باکتری‌های جداشده از عفونت‌های مهاجم باید آزمایش شوند. هنگامی که استرپتوکک گروه **B** از یک خانم باردار دارای آلرژی شدید به پنی‌سیلین(خطر زیاد شوک آنافیلاکسی) جدا شود، کلیندامایسین و اریترومایسین باید آزمایش و گزارش گردند(توضیح [۱۰] در جدول **2H-1** را ملاحظه‌نمایید).

جدول 2H-2. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای گروه ویریدنس، گونه‌های *استرپتوکک*

Minimal QC Recommendations (See Tables 3B and 4B for acceptable QC ranges.)
Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

شرایط ازمایش

محیط کشت: انتشار از دیسک: مولر هینتون آگار با ۵٪ خون گوسفند

رقیق‌سازی در محیط کشت مایع: CAMHB همراه با LHB (۲/۵٪ تا ۵٪ حجمی/ حجمی)؛ برای داپتومایسین ۵۰µg/mL مکمل کلسیم باید به محیط CAMHB اضافه‌شود(برای دستور تهیه LHB، به انتهای جدول 2H-1 مراجعه‌گردد).

رقیق‌سازی در آگار: مولر هینتون آگار با خون گوسفند(۵٪ حجمی/ حجمی)؛ برای داپتومایسین روش رقیق‌سازی در آگار معتبر نمی‌باشد.

مایه میکروبی: سوسپانسیون مستقیم از کلنی، معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند

گرمخانه‌گذاری: ۲ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد؛

انتشار از دیسک: ۵٪ CO_2؛ ۲۴–۲۰ ساعت

روش رقیق‌سازی: هوای معمولی؛ ۲۴–۲۰ ساعت(شرایط CO_2: در صورتی که برای رشد در روش رقیق‌سازی در آگار لازم باشد).

توضیحات

۱. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی‌نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید.

۲. استرپتوکک‌های گروه ویریدنس شامل پنج گروه است که در هر گروه چند گونه وجوددارد:

- گروه *موتانس* (*mutans*)
- گروه *سالیواریوس* (*salivarius*)
- گروه *بویس* (*bovis*)
- گروه *آنژینوسوس* (*anginosus*) (قبلاً گروه «*S. milleri*» نامیده‌می‌شد)
- گروه *میتیس* (*mitis*)

گروه *آنژینوسوس* واجد سویه‌های بتاهمولیتیکی است که کلنی‌های کوچک تشکیل‌می‌دهند و دارای آنتی‌ژن‌های گروه‌های A، C، F و G هستند. برای کسب اطلاعات بیشتر درباره گونه‌های این گروه‌ها، به منابع میکرب‌شناسی بالینی جدید رجوع شود.

۳. معیارهای تفسیر برای **گروه ویریدنس گونه‌های استرپتوککی** براساس توزیع جمعیتی گونه‌های مختلف، فارماکوکینتیک عوامل ضدمیکروبی، متونی که قبلاً منتشر شده‌است، تجارب بالینی بعضی از اعضای زیرکمیته CLSI پیشنهاد شده‌است. داده‌های بالینی که به‌طور قاعده‌مند(systematically) جمع‌آوری شده‌اند، برای مرور بسیاری از ترکیبات دارویی در گروه استرپتوکک‌ها در دسترس نیست.

۴. برای بعضی ترکیبات ارگانیسم/ عامل ضدمیکروبی، به‌علت فقدان و یا نادر بودن سویه‌های مقاوم، این گروه ناگزیر در طبقه «حساس» قرارداده شده‌است. برای سویه‌هایی که نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آنها را در طبقه «غیرحساس» قرارمی‌دهد، تعیین هویت ارگانیسم و نتیجه آزمایش تعیین حساسیت باید مورد تأیید قرارگیرد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2H-2 صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
A	Penicillin	–	–	–	–	≤ 0.12	0.25–2	≥ 4	۵. روش انتشار از دیسک برای آزمایش پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین معتبر نمی‌باشد. ۶. استرپتوکک‌های ویریدنس جداشده از نواحی بدن که به‌طور طبیعی استریل هستند(برای مثال مایع مغزی ـ نخاعی، خون، استخوان) از نظر حساسیت به پنی‌سیلین باید با روش MIC آزمایش شود. ۷. ***RX*** (توضیح به پزشک معالج): برای حصول اثر باکتری‌کشی در درمان ایزوله‌هایی که به پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین حساسیت بینابینی دارند، ممکن‌است نیاز به استفاده توأم از یک آمینوگلیکوزید باشد.
A	Ampicillin					≤ 0.25	0.5–4	≥ 8	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
B	Cefepime	30 µg	≥ 24	22–23	≤ 21	≤ 1	2	≥ 4	
B	Cefotaxime	30 µg	≥ 28	26–27	≤ 25	≤ 1	2	≥ 4	
B	Ceftriaxone	30 µg	≥ 27	25–26	≤ 24	≤ 1	2	≥ 4	
CARBAPENEMS									
O	Ertapenem	–	–	–	–	≤ 1	–	–	See comment (4).
O	Meropenem	–	–	–	–	≤ 0.5	–	–	See comment (4).
GLYCOPEPTIDES									
B	Vancomycin	30 µg	≥ 17	–	–	≤ 1	–	–	See comment (4).
LIPOPEPTIDES									
O	Daptomycin	–	–	–	–	≤ 1	–	–	۸. آزمایش دیسک برای داپتومایسین قابل اعتماد نیست. **۹. داپتومایسین نباید برای باکتری‌های جداشده از نمونه مجاری تنفسی تحتانی، گزارش گردد.**
MACROLIDES									۱۰. حساسیت و مقاومت به آزیترومایسین، کلاریترومایسین و دیریترومایسین را می‌توان با استفاده از اریترومایسین پیش‌بینی کرد. ۱۱. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، گزارش نمی‌شود.
C	Erythromycin	15 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Azithromycin	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Clarithromycin	15 µg	≥ 21	17–20	≤ 16	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Dirithromycin	15 µg	≥ 18	14–17	≤ 13	≤ 0.5	1	≥ 2	
TETRACYCLINES									
O	Tetracycline	30 µg	≥ 23	19–22	≤ 18	≤ 2	4	≥ 8	۱۲. ارگانیسم‌هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی‌سایکلین و یا مینوسایکلین هم حساس درنظر گرفته‌می‌شوند.
FLUOROQUINOLONES									
O	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
C	Ofloxacin	5 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 1	2	≥ 4	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	10 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2H-2 صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 21	18–20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16	See comment (11).
LINCOSAMIDES									
C	Clindamycin	2 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comment (11).
STREPTOGRAMINS									
O	Quinupristin-dalfopristin	15 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES									
C	Linezolid	30 µg	≥ 21	–	–	≤ 2	–	–	See comment (4).

Abbreviations: ATCC, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; CSF, cerebrospinal fluid; LHB, lysed horse blood; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

جدول 2I. استانداردهای تفسیری MIC و قطر هاله مهار رشد برای *نیسریا مننژیتیدیس*

Minimal QC Recommendations (See Tables 3A, **3B, 4A**, and **4B** for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619:

Disk diffusion: incubate in 5% CO_2.

Broth microdilution: incubate in ambient air or CO_2 (except azithromycin QC tests that must be incubated in ambient air).

E. coli ATCC® 25922
Disk diffusion, broth microdilution or agar dilution for ciprofloxacin, nalidixic acid, minocycline, and sulfisoxazole: **incubate in ambient air or CO_2.**

شرایط آزمایش

محیط کشت: انتشار از دیسک: مولر هینتون آگار با ۵٪ خون گوسفند

رقیق‌سازی در محیط کشت مایع: CAMHB همراه با ۲/۵ تا ۵٪ حجمی/ حجمی LHB (برای دستور تهیه LHB، به انتهای جدول 2H-1 مراجعه‌گردد)

رقیق‌سازی در آگار: مولر هینتون آگار با ۵٪ حجمی/ حجمی خون دفیبرینه گوسفند

مایه میکروبی: سوسپانسیون میکروبی به روش مستقیم معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند، از کلنی‌های رشدیافته به مدت ۲۴–۲۰ ساعت روی شکلات آگار که در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد با ۵٪ CO_2 گرمخانه‌گذاری شده، تهیه‌شده‌اند. برای تهیه مایه میکروبی می‌توان از کلنی‌های رشدیافته روی آگار خون‌دار با خون گوسفند استفاده‌کرد، ولی سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند حاصل از این روش حدوداً حاوی ۵۰٪ کمتر CFU/mL است. این نکته، همچنان که در راهنمای روش MIC برای محاسبه کلنی کانت توضیح‌داده شده‌است، باید هنگام تهیه رقت نهایی برای تلقیح در روش MIC درنظر گرفته‌شود.

گرمخانه‌گذاری: ۳۵ ±۲ درجه سانتی‌گراد ؛ ۵٪ CO_2؛ ۲۴–۲۰ ساعت

توضیحات

نکته مهم: برای اطلاع کامل از احتیاط‌های ایمنی، به منبع ذیل مراجعه‌شود:

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; 2007. http://www.cdc.gov/OD/ohs/biosfty/bmbl5/bmbl5toc.htm.

۱. توجه: تمام مراحل آزمایش حساسیت ضدمیکروبی *نیسریا مننژیتیدیس* را داخل هود بیولوژیک انجام‌دهید. کار با سوسپانسیون‌های *نیسریا مننژیتیدیس* در خارج از هود بیولوژیک با خطر زیاد ابتلا به بیماری منگوککی همراه است. میزان مرگ و میر بیماری منگوککی اکتسابی از آزمایشگاه ۵۰٪ است. مواجهه با قطرات یا آئروسل‌های *نیسریا مننژیتیدیس*، محتمل‌ترین خطر برای عفونت منگوککی اکتسابی از آزمایشگاه به‌شمار می‌رود. هنگام انجام کارهای میکرب‌شناسی(از جمله آزمایش حساسیت ضدمیکروبی) روی تمام ایزوله‌های *نیسریا مننژیتیدیس*، محافظت جدی در برابر تمام قطرات و آئروسل‌ها ضروری می‌باشد.

۲. احتیاط‌های توصیه‌شده: نمونه‌های مورد آزمایش و کشت‌های *نیسریا مننژیتیدیس* که همراه با بیماری مهاجمی نباشند را می‌توان در شرایط ایمنی زیستی سطح ۲ با به‌کارگیری جدی استانداردهای کاری، روش‌های ویژه و تجهیزات ایمنی بررسی‌کرد. هرگونه کار روی سویه‌های *نیسریا مننژیتیدیس* جداشده از نواحی استریل بدن باید در داخل هود بیولوژیک انجام‌شود. اگر هود بیولوژیک در دسترس نباشد، کار روی ایزوله‌ها باید به حداقل ممکن کاهش‌یابد و به رنگ‌آمیزی گرم یا تعیین سروگروه با استفاده از محلول نمکی فنل‌دار محدود شود. در این شرایط، پوشیدن روپوش آزمایشگاهی، دستکش و استفاده از محافظ کامل صورت برای حفاظت فرد در مقابل پاشیدن نمونه لازم است. هنگام فعالیت‌هایی که در آنها به احتمال بسیار زیاد قطرات یا ذرات آئروسل عفونی تولید می‌گردد و کار روی غلظت‌های زیاد مواد عفونی، از تجهیزات، روش‌ها و عملکرد در محدوده سطح ۳ ایمنی زیستی استفاده‌کنید. اگر امکانات سطح ۲ یا ۳ ایمنی زیستی در دسترس نیست، ایزوله‌ها را به آزمایشگاه‌های مرجع یا آزمایشگاه‌های بهداشتی با حداقل امکانات در سطح ۲ ایمنی زیستی، ارسال نمایید.

۳. کارکنان آزمایشگاه که به‌طور روتین در معرض آئروسل‌های احتمالی ایجادشده از *نیسریا مننژیتیدیس* هستند، باید طبق توصیه‌های جاری کمیته مشورتی واکسیناسیون CDC، واکسینه شوند. واکسیناسیون خطر عفونت را کاهش‌می‌دهد، ولی از بین نخواهدبرد. دلیل این مسئله، مؤثر نبودن ۱۰۰٪ واکسن و پوشش ندادن سروگروه B به‌عنوان عامل شایع عفونت‌های اکتسابی از آزمایشگاه است.

٤. در روش انتشار از دیسک با چشم غیرمسلح، قطر کامل هاله مهار رشد را که شامل قطر دیسک نیز می‌باشد، اندازه‌گیری نمایید. ظرف پتری را چند سانتی‌متر بالاتر از زمینه تیره‌ای که نور را منعکس نمی‌کند، نگهدارید و با استفاده از نور غیرمستقیم(انعکاسی)، نتیجه را بررسی نمایید. حاشیه هاله مهار رشد باید ناحیه‌ای درنظر گرفته‌شود که با چشم غیرمسلح، هیچ رشد واضح و قابل مشاهده‌ای در آن ملاحظه نگردد. رشد ضعیف کلنی‌های خیلی ریز را که تنها با ذره‌بین در حاشیه هاله مهار رشد قابل تشخیص است، درنظر نگیرید. در استفاده از تری‌متوپریم و سولفونامیدها، آنتاگونیست‌های موجود در محیط کشت ممکن‌است باعث رشد ضعیف باکتری شود، بنابراین از این رشد اندک(۲۰٪ یا کمتر از منطقه مهار رشد) صرفنظر کنید و قطر هاله واضح‌تر(بزرگ‌تر) را اندازه‌گیری نمایید.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2I صفحهٔ قبل ⟵

۵. معیارهای تفسیری مبتنی بر پراکندگی‌های جمعی، از MIC عوامل متعدد ضدمیکروبی، فارماکوکینتیک آنها، متون چاپ‌شده قبلی و تجربه بالینی بعضی از اعضای زیرکمیته‌ها است. برای بررسی بسیاری از عوامل ضدمیکروبی این جدول، داده‌های بالینی که به‌طور قاعده‌مند جمع‌آوری شده‌باشند، در دسترس نبوده‌است.

٦. برای بعضی ترکیبات ارگانیسم/ عامل ضدمیکروبی، به‌علت فقدان و یا نادر بودن سویه‌های مقاوم، این گروه ناگزیر در طبقه «حساس» قرارداده شده‌است. برای سویه‌هایی که نتایج به‌دست آمده، احتمالاً آنها را در طبقه «غیرحساس» قرارمی‌دهد، تعیین هویت ارگانیسم و نتیجه آزمایش تعیین حساسیت باید مورد تأیید قرارگیرد(ضمیمه A را ملاحظه نمایید).

۷. معیارهای تفسیری برای آزیترومایسین، در ابتدا با استفاده از MIC تعیین‌شده و گرمخانه‌گذاری در هوای معمولی برای محاسبات فارماکودینامیک به‌دست آمد.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
C	Penicillin		–	–	–	≤ 0.06	0.12–0.25	≥ 0.5	۸ ازمایش به روش انتشار از دیسک برای پنی‌سیلین و امپی‌سیلین جهت *نیسریا مننژیتیدیس* قابل اعتماد نیست. برای این ارگانیسم باید از آزمایش‌های تعیین MIC استفاده‌گردد.
C	Ampicillin		–	–	–	≤ 0.12	0.25–1	≥ 2	
CEPHEMS									
C	Cefotaxime or	30 µg	≥ 34	–	–	≤ 0.12	–	–	See comment (6).
C	ceftriaxone	30 µg	≥ 34	–	–	≤ 0.12	–	–	See comment (6).
CARBAPENEMS									
C	Meropenem	10 µg	≥ 30	–	–	≤ 0.25	–	–	See comment (6).
MACROLIDES									
C	Azithromycin	15 µg	≥ 20	–	–	≤ 2	–	–	۹. ممکن‌است فقط برای پروفیلاکسی در موارد تماس با بیماران منگوککی مناسب باشد. این معیارهای تفسیری برای درمان بیماران مبتلا به بیماری تهاجمی منگوکک به‌کار برده نمی‌شود.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول 2I صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
TETRACYCLINES									
C	Minocycline	30 µg	≥ 26	–	–	≤ 2	–	–	See comments (6) and (9).
FLUOROQUINOLONES									۱۰. برای اهداف مراقبتی (surveillance purposes)، MIC ≥ ۸µg/mL یا هاله مهار رشد ≤ ۲۵mm نالیدیکسیک اسید، ممکن‌است با کاهش حساسیت فلوروکینولون مطابقت داشته‌باشد.
C	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 35	33–34	≤ 32	≤ 0.03	0.06	≥ 0.12	See comment (9).
C	Levofloxacin	–	–	–	–	≤ 0.03	0.06	≥ 0.12	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
C	Sulfisoxazole	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	See comment (9).
C	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 30	26–29	≤ 25	≤ 0.12/2.4	0.25/4.75	≥ 0.5/9.5	۱۱. این دیسک برای تعیین مقاومت به سولفونامید، برتری دارد. آزمایش تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، حساسیت و مقاومت به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و سولفونامیدها را پیش‌بینی می‌نماید. سولفونامیدها ممکن‌است فقط برای پروفیلاکسی موارد تماس با بیماران منتگوککی مناسب باشند.
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 26	20–25	≤ 19	≤ 2	4	≥ 8	۱۲. به‌طور روتین برای باکتری‌های جداشده از نمونه دستگاه ادراری، گزارش نمی‌شود.
ANSAMYCINS									
C	Rifampin	5 µg	≥ 25	20–24	≤ 19	≤ 0.5	1	≥ 2	See comment (9).

Abbreviations: AST, antimicrobial susceptibility testing; ATCC, American Type Culture Collection; BSC, biological safety cabinet; BSL-2, Biosafety Level 2; BSL-3, Biosafety Level 3; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; CDC, Centers for Disease Control and Prevention; CFU, colony forming unit; LHB, lysed horse blood; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

جدول 2J. استانداردهای تفسیری (µg/mL) MIC برای باکتری‌های بی‌هوازی

Minimal QC Recommendations (See Tables 4D and 4E for acceptable QC ranges.)

Bacteroides fragilis **ATCC® 25285**
Bacteroides thetaiotaomicron **ATCC® 29741**
Clostridium difficile **ATCC® 700057**
Eubacterium lentum **ATCC® 43055**

Test any 2 for agar dilution; test 1 for a single broth dilution test

شرایط ازمایش

محیط کشت: رقیق‌سازی در محیط مایع: محیط مایع بروسلا غنی‌شده با هِمین، ویتامین K_1 و خون لیزشده اسب
رقیق‌سازی در آگار: محیط بروسلا آگار غنی‌شده با هِمین، ویتامین K_1 و خون لیزشده اسب

مایه میکروبی: آگار: 10^5 cfu per spot
مایع: 10^6 cfu/mL

گرمخانه‌گذاری: دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۴۴ ساعت در شرایط بی‌هوازی

توضیحات

۱. به دلیل دشواری در خواندن نقاط انتهایی و دسته‌بندی MICها در غلظت‌های نقطه انفصال و یا نزدیک به آن، محدوده بینابینی درنظر گرفته شده‌است. در مواردی که داده‌ها در دسترس است، دستورالعمل تفسیری براساس داده‌های فارماکوکینتیک، پراکندگی غلظت‌های MIC و مطالعات اثربخشی بالینی استوار است. برای دستیابی به بهترین سطح ممکن از دارو در آبسه‌ها و یا بافت‌هایی با میزان خون‌رسانی کاهش‌یافته(که معمولاً در این دسته از عفونت‌ها شایع است و منجر به نفوذ اندک دارو می‌شود)، توصیه‌می‌گردد برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های بی‌هوازی از بیشترین دوز تأییدشده عوامل ضدمیکروبی استفاده‌شود. هنگامی که از بیشترین دوز دارو همراه با درمـان مناسب استفاده‌می‌شود، این باور وجوددارد که ارگانیسم‌هـایی کـه MIC آنها در محدوده حساس قراردارد، عموماً به درمان پاسخ می‌دهند. آن دسته که MIC آنها در محدوده بینابینی قراردارد، ممکن‌است به درمان جواب دهند، در این موارد پاسخ بیمار باید به دقت پایش شود:
درمان‌های کمکی از قبیل تخلیه ترشحات(drainage) و برداشتن بافت‌های مرده (debridement) در کنترل و درمان مناسب عفونت‌های بی‌هوازی اهمیت زیادی دارند.
نکته: اطلاعاتی که با حروف پررنگ درج شده‌اند، جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC Interpretive Standard (µg/mL) S	I	R	Comments
PENICILLINS					
C	Ampicillin	≤ 0.5	1	≥ 2	۲. فرض بر این است که اعضای گروه ***Bacteroides fragilis*** مقاوم هستند. سایر باکتری‌های گرم منفی بی‌هوازی را می‌توان ازنظر فعالیت بتالاکتاماز با آزمایش رنگ‌زای سفالوسپورین غربالگری نمود و درصورت مثبت شدن، مقاوم به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین گزارش نمود. از آنجایی که دستیابی به سطوح زیادتر غلظت دارو در خون امکان‌پذیر است، عفونت ناشی از ارگانیسم‌های بتالاکتاماز منفی که MIC آنها زیادتر می‌باشد(۴µg/mL-۲ با فواصل مناسب تجویز دوز دارو) ممکن‌است قابل درمان باشد. نقاط انفصال آموکسی‌سیلین معادل نقاط انفصال آمپی‌سیلین درنظر گرفته‌می‌شود. داده‌های محدود ***in vitro*** نشان‌می‌دهد که MIC این دو عامل ضدمیکربی در مقابل باکتری‌های بی‌هوازی یکسان است، با این وجود نقاط انفصال آموکسی‌سیلین مشخص نشده‌است.
C	Mezlocillin	≤ 32	64	≥ 128	
C	Penicillin	≤ 0.5	1	≥ 2	See comment (2).
C	Piperacillin	≤ 32	64	≥ 128	۳. براساس گزارش‌های ازمایشگاهی منتشرشده و کارازمایی‌هایی که با همکاری چند مرکز درباره این عوامل ضدمیکروبی انجام گرفته‌است، میزان MIC با استفاده از محیط‌های Brucella Blood و Wilkins Chalgren agar (محیط مرجع پیشین) معادل هم درنظر گرفته‌می‌شود. ٤. میزان MIC براساس روش رقیق‌سازی در آگار به‌روش میکرو و یا رقیق‌سازی در محیط مایع به‌روش میکرو، یکسان درنظر گرفته‌می‌شود.
C	Ticarcillin	≤ 32	64	≥ 128	

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 2J صفحهٔ قبل ←

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
		S	I	R	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					
A	Amoxicillin-clavulanic acid	≤ 4/2	8/4	≥ 16/8	See comment (3).
A	Ampicillin-sulbactam	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	See comments (3) and (4).
A	Piperacillin-tazobactam	≤ 32/4	64/4	≥ 128/4	See comment (3).
A	Ticarcillin-clavulanic acid[b]	≤ 32/2	64/2	≥ 128/2	See comment (3).
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
C	Cefmetazole	≤ 16	32	≥ 64	
C	Cefoperazone	≤ 16	32	≥ 64	
C	Cefotaxime	≤ 16	32	≥ 64	
C	Cefotetan	≤ 16	32	≥ 64	See comment (3).
C	Cefoxitin	≤ 16	32	≥ 64	See comments (3) and (4).
C	Ceftizoxime	≤ 32	64	≥ 128	See comment (3).
C	Ceftriaxone	≤ 16	32	≥ 64	
CARBAPENEMS					
A	Ertapenem	≤ 4	8	≥ 16	See comment (4).
A	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	See comment (3).
A	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	See comment (3).
TETRACYCLINES					
C	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES					
C	Moxifloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
LINCOSAMIDES					
A	Clindamycin	≤ 2	4	≥ 8	See comments (3) and (4).
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	
NITROIMIDAZOLES					
A	Metronidazole	≤ 8	16	≥ 32	See comments (3) and (4).

Abbreviation: MIC, minimal inhibitory concentration.

جدول 3A. محدوده‌های کنترل کیفی برای ارگانیسم‌های کم‌نیاز در روش انتشار از دیسک(با استفاده از محیط مولر هینتون بدون مواد افزودنی)

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Escherichia coli* ATCC®[a] 25922	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Escherichia coli* ATCC® 35218[b,c]
Amikacin	30 µg	19–26	20–26	18–26	–
Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	18–24	28–36	–	17–22
Ampicillin	10 µg	16–22	27–35	–	6
Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	19–24	29–37	–	13–19
Azithromycin	15 µg	–	21–26	–	–
Azlocillin	75 µg	–	–	24–30	–
Aztreonam	30 µg	28–36	–	23–29	–
Carbenicillin	100 µg	23–29	–	18–24	–
Cefaclor	30 µg	23–27	27–31	–	–
Cefamandole	30 µg	26–32	26–34		
Cefazolin	30 µg	21–27	29–35	–	–
Cefdinir	5 µg	24–28	25–32	–	–
Cefditoren	5 µg	22–28	20–28	–	–
Cefepime	30 µg	31–37	23–29	24–30	–
Cefetamet	10 µg	24–29	–	–	–
Cefixime	5 µg	23–27	–	–	–
Cefmetazole	30 µg	26–32	25–34	–	–
Cefonicid	30 µg	25–29	22–28	–	–
Cefoperazone	75 µg	28–34	24–33	23–29	–
Cefotaxime	30 µg	29–35	25–31	18–22	–
Cefotetan	30 µg	28–34	17–23	–	–
Cefoxitin	30 µg	23–29	23–29	–	–
Cefpodoxime	10 µg	23–28	19–25	–	–
Cefprozil	30 µg	21–27	27–33	–	–
Ceftaroline	30 µg	26–34	26–35	–	–
Ceftazidime	30 µg	25–32	16–20	22–29	–
Ceftibuten	30 µg	27–35	–	–	–
Ceftizoxime	30 µg	30–36	27–35	12–17	–
Ceftobiprole	30 µg	30–36	26–34	24–30	–
Ceftriaxone	30 µg	29–35	22–28	17–23	–
Cefuroxime	30 µg	20–26	27–35	–	–
Cephalothin	30 µg	15–21	29–37	–	–
Chloramphenicol	30 µg	21–27	19–26	–	–
Cinoxacin	100 µg	26–32	–	–	–
Ciprofloxacin	5 µg	30–40	22–30	25–33	–
Clarithromycin	15 µg	–	26–32	–	–
Clinafloxacin	5 µg	31–40	28–37	27–35	–
Clindamycin[d]	2 µg	–	24–30	–	–
Colistin	10 µg	11–17	–	11–17	–
Daptomycin[e]	30 µg	–	18–23	–	–
Dirithromycin	15 µg	–	18–26	–	–
Doripenem	10 µg	27–35	33–42	28–35	–
Doxycycline	30 µg	18–24	23–29	–	–
Enoxacin	10 µg	28–36	22–28	22–28	–
Ertapenem	10 µg	29–36	24–31	13–21	–
Erythromycin[d]	15 µg	–	22–30	–	–
Faropenem	5 µg	20–26	27–34	–	–
Fleroxacin	5 µg	28–34	21–27	12–20	–
Fosfomycin[f]	200 µg	22–30	25–33	–	–
Garenoxacin	5 µg	28–35	30–36	19–25	–
Gatifloxacin	5 µg	30–37	27–33	20–28	–
Gemifloxacin	5 µg	29–36	27–33	19–25	–
Gentamicin[g]	10 µg	19–26	19–27	16–21	–
Grepafloxacin	5 µg	28–36	26–31	20–27	–
Iclaprim	5 µg	14–22	25–33	–	–
Imipenem	10 µg	26–32	–	20–28	–
Kanamycin	30 µg	17–25	19–26	–	–
Levofloxacin	5 µg	29–37	25–30	19–26	–
Linezolid	30 µg	–	25–32	–	–
Linopristin-flopristin	10 µg	–	25–31	–	–
Lomefloxacin	10 µg	27–33	23–29	22–28	–

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 3A صفحهٔ قبل

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Escherichia coli* ATCC® 25922[a]	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Escherichia coli* ATCC® 35218[b]
Loracarbef	30 µg	23–29	23–31	–	–
Mecillinam	10 µg	24–30	–	–	–
Meropenem	10 µg	28–34	29–37	27–33	–
Methicillin	5 µg	–	17–22	–	–
Mezlocillin	75 µg	23–29	–	19–25	–
Minocycline	30 µg	19–25	25–30	–	–
Moxalactam	30 µg	28–35	18–24	17–25	–
Moxifloxacin	5 µg	28–35	28–35	17–25	–
Nafcillin	1 µg	–	16–22	–	–
Nalidixic acid	30 µg	22–28	–	–	–
Netilmicin	30 µg	22–30	22–31	17–23	–
Nitrofurantoin	300 µg	20–25	18–22	–	–
Norfloxacin	10 µg	28–35	17–28	22–29	–
Ofloxacin	5 µg	29–33	24–28	17–21	–
Oxacillin	1 µg	–	18–24	–	–
Penicillin	10 units	–	26–37	–	–
Piperacillin	100 µg	24–30	–	25–33	12–18
Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	24–30	27–36	25–33	24–30
Polymyxin B	300 units	13–19	–	14–18	–
Quinupristin-dalfopristin	15 µg	–	21–28	–	–
Razupenem	10 µg	21–26	–[j]	–	–
Rifampin	5 µg	8–10	26–34	–	–
Sparfloxacin	5 µg	30–38	27–33	21–29	–
Streptomycin[g]	10 µg	12–20	14–22	–	–
Sulfisoxazole[i]	250 µg or 300 µg	15–23	24–34	–	–
Teicoplanin	30 µg	–	15–21	–	–
Telavancin	30 µg	–	16–20	–	–
Telithromycin	15 µg	–	24–30	–	–
Tetracycline	30 µg	18–25	24–30	–	–
Ticarcillin	75 µg	24–30	–	21–27	6
Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 µg	24–30	29–37	20–28	21–25
Tigecycline	15 µg	20–27	20–25	9–13	–
Tobramycin	10 µg	18–26	19–29	19–25	–
Trimethoprim[i]	5 µg	21–28	19–26	–	–
Trimethoprim-sulfamethoxazole[i]	1.25/23.75 µg	23–29	24–32	–	–
Trospectomycin	30 µg	10–16	15–20	–	–
Trovafloxacin	10 µg	29–36	29–35	21–27	–
Ulifloxacin (prulifloxacin)[h]	5 µg	32–38	20–26	27–33	–
Vancomycin	30 µg	–	17–21	–	–

Abbreviations: AST, antimicrobial susceptibility testing; MHA, Mueller-Hinton agar.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

زیرنویس‌ها

a. ATCC یک نام تجاری ثبت‌شده از مجموعه کشت نوع آمریکایی است.

b. به‌دلیل احتمال از دست دادن پلاسمید در این سویه، نگهداری دقیق ارگانیسم ضروری است؛ به سند M02-A10 بند ٤.١٥ مراجعه‌شود.

c. **توصیه‌می‌شود هنگام آزمایش بتالاکتام و مهارکننده بتالاکتاماز از سویه کنترل کیفی استفاده‌شود.**

d. در زمان انجام آزمایش D (D تست) با اریترومایسین و کلیندامایسین توصیه‌می‌شود از سویه‌های ذیل به‌عنوان سویه‌های تکمیلی برای کنترل کیفی استفاده‌گردد (برای مثال آموزش، ارزیابی صلاحیت کارکنان یا ارزیابی آزمایش):

I. *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC BAA-977 (دارای مقاومت القایی به‌واسطه ژن *erm*A)، باید مقاومت القایی به کلیندامایسین نشان‌دهد(آزمایش D-zone مثبت).

II. *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC BAA-976(دارای افلاکس انحصاری ماکرولید به واسطه ژن *msr*A)، این سویه نباید مقاومت القایی به کلیندامایسین نشان‌دهد.

برای کنترل کیفی روزانه و یا هفتگی دیسک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین با استفاده از مولر هینتون آگار استاندارد باید از *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 استفاده‌نمود.

e. میزان کلسیم در بعضی از سری‌های تولیدشده مولر هینتون آگار، کم است که منجر به ایجاد هاله مهار رشد کوچک می‌شود.

f. دیسک فسفومایسین ۲۰۰ میکروگرمی حاوی ۵۰µg گلوکز ٦ فسفات است.

g. برای کنترل محدوده‌های دیسک‌های جنتامایسین و استرپتومایسین از سویه *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 29212 استفاده‌شود(جنتامایسین: ۲۳mm–۱٦؛ استرپتومایسین: ۲۰mm–۱٤).

h. یولیفلوکساسین(ulifloxacin) متابولیت فعال پیش‌داروی پرولیفلوکساسین(prulifloxacin) است. برای انجام آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی باید فقط از یولیفلوکساسین استفاده‌شود.

i. این عوامل می‌توانند تحت تأثیر مقادیر زیاد تایمیدین و تایمین قرارگیرند. درصورت ایجاد مشکل با سویه‌های کنترل کیفی (QC) به راهنمای M02-A10 بند ۳.۱.۷ مراجعه‌شود.

j. در آزمایش سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 با رازوپنم(razupenem) ممکن‌است اغلب منطقه مهار رشد دوگانه یا پدیده هدف تولیدشود. برای حصول نتایج دقیق کنترل کیفی، از سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 29213(بدون هاله‌های دوگانه) با محدوده قابل قبول ۳۹mm–۳۳ استفاده‌کنید.

جدول 3B. محدوده‌های کنترل کیفی برای ارگانیسم‌های پرنیاز در روش انتشار از دیسک

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49247	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49766	*Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49226	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619[a]
Amoxicillin-clavulanic acid[b]	20/10 µg	15–23	–	–	–
Ampicillin	10 µg	13–21	–	–	30–36
Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	14–22	–	–	–
Azithromycin	15 µg	13–21	–	–	19–25
Aztreonam	30 µg	30–38	–	–	–
Cefaclor	30 µg	–	25–31	–	24–32
Cefdinir	5 µg	–	24–31	40–49	26–31
Cefditoren	5 µg	25–34	–	–	27–35
Cefepime	30 µg	25–31	–	37–46	28–35
Cefetamet	10 µg	23–28	–	35–43	–
Cefixime	5 µg	25–33	–	37–45	16–23
Cefmetazole	30 µg	16–21	–	31–36	–
Cefonicid	30 µg	–	30–38	–	–
Cefotaxime	30 µg	31–39	–	38–48	31–39
Cefotetan	30 µg	–	–	30–36	–
Cefoxitin	30 µg	–	–	33–41	–
Cefpodoxime	10 µg	25–31	–	35–43	28–34
Cefprozil	30 µg	–	20–27	–	25–32
Ceftaroline	30 µg	29–39	–	–	31–41
Ceftazidime	30 µg	27–35	–	35–43	–
Ceftibuten	30 µg	29–36	–	–	–
Ceftizoxime	30 µg	29–39	–	42–51	28–34
Ceftobiprole[c]	30 µg	28–36	30–38	–	33–39
Ceftriaxone	30 µg	31–39	–	39–51	30–35
Cefuroxime	30 µg	–	28–36	33–41	–
Cephalothin	30 µg	–	–	–	26–32
Chloramphenicol	30 µg	31–40	–	–	23–27
Ciprofloxacin	5 µg	34–42	–	48–58	–
Clarithromycin	15 µg	11–17	–	–	25–31
Clinafloxacin	5 µg	34–43	–	–	27–34
Clindamycin	2 µg	–	–	–	19–25
Daptomycin[d]	30 µg	–	–	–	19–26
Dirithromycin	15 µg	–	–	–	18–25
Doripenem	10 µg	21–31	–	–	30–38
Enoxacin	10 µg	–	–	43–51	–
Ertapenem	10 µg	20–28	27–33	–	28–35
Erythromycin	15 µg	–	–	–	25–30
Faropenem	5 µg	15–22	–	–	27–35
Fleroxacin	5 µg	30–38	–	43–51	–
Garenoxacin	5 µg	33–41	–	–	26–33
Gatifloxacin	5 µg	33–41	–	45–56	24–31
Gemifloxacin	5 µg	30–37	–	–	28–34
Grepafloxacin	5 µg	32–39	–	44–52	21–28
Iclaprim	5 µg	24–33	–	–	21–29
Imipenem	10 µg	21–29	–	–	–
Levofloxacin	5 µg	32–40	–	–	20–25
Linezolid	30 µg	–	–	–	25–34
Linopristin-flopristin	10 µg	25–31	–	–	22–28
Lomefloxacin	10 µg	33–41	–	45–54	–
Loracarbef	30 µg	–	26–32	–	22–28
Meropenem	10 µg	20–28	–	–	28–35
Moxifloxacin	5 µg	31–39	–	–	25–31
Nitrofurantoin	300 µg	–	–	–	23–29
Norfloxacin	10 µg	–	–	–	15–21
Ofloxacin	5 µg	31–40	–	43–51	16–21
Oxacillin	1 µg	–	–	–	≤ 12[e]
Penicillin	10 units	–	–	26–34	24–30
Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	33–38	–	–	–
Quinupristin-dalfopristin	15 µg	15–21	–	–	19–24
Razupenem	10 µg	24–30	–	–	29–36
Rifampin	5 µg	22–30	–	–	25–30

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 3B صفحهٔ قبل

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49247	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49766	*Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49226	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619[a]
Sparfloxacin	5 µg	32–40	–	43–51	21–27
Spectinomycin	100 µg	–	–	23–29	–
Telavancin	30 µg	–	–	–	17–24
Telithromycin	15 µg	17–23	–	–	27–33
Tetracycline	30 µg	14–22	–	30–42	27–31
Tigecycline	15 µg	23–31	–	30–40	23–29
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	24–32	–	–	20–28
Trospectomycin	30 µg	22–29	–	28–35	–
Trovafloxacin	10 µg	32–39	–	42–55	25–32
Vancomycin	30 µg	–	–	–	20–27

Disk Diffusion Testing Conditions for Clinical Isolates and Performance of Quality Control

Organism	*Haemophilus influenzae*	*Neisseria gonorrhoeae*	Streptococci and *Neisseria meningitidis*
Medium	HTM	GC agar base and 1% defined growth supplement. The use of a cysteine-free growth supplement is not required for disk diffusion testing.	MHA supplemented with 5% defibrinated sheep's blood
Inoculum	Direct colony suspension	Direct colony suspension	Direct colony suspension
Incubation characteristics	5% CO_2; 16–18 hours; 35 °C	5% CO_2; 20–24 hours; 35 °C	5% CO_2; 20–24 hours; 35 °C

Abbreviations: HTM, *Haemophilus* Test Medium; MHA, Mueller-Hinton agar.

نکته: اطلاعاتی که با **حروف پررنگ** درج شده‌اند، **جدید هستند یا از ویرایش قبلی تغییر کرده‌اند.**

زیرنویس‌ها

a. به رغم نبود معیار تفسیری قابل اعتماد در روش انتشار از دیسک برای *استرپتوکوکوس پنومونیه* با بعضی از بتالاکتام‌ها، از سویه *استرپتوکوکوس پنومونیه* ATCC 49619 برای کنترل کیفی تمام آزمایش‌های انتشار از دیسک درمورد تمام گونه‌های *استرپتوکک* استفاده‌می‌شود.

b. در زمان آزمایش *هموفیلوس* روی محیط HTM در شرایط هوای معمولی محدوده قابل قبول برای سویه کنترل کیفی *E.coli* ATCC 35218 برای دیسک آموکسی‌سیلین ـ کلاوولانیک اسید به میزان ۲۲mm–۱۷ است.

c. برای آزمایش کنترل کیفی به‌طور روتین می‌توان از *هموفیلوس انفلوانزا* ATCC 49247 یا ATCC 49766 استفاده‌کرد.

d. میزان کلسیم در بعضی از سری‌های تولیدشده مولر هینتون آگار، کم است که منجر به ایجاد هاله مهار رشد کوچک می‌گردد.

e. برای بررسی افت کیفیت دیسک اگزاسیلین بهتر است از سویه کنترل کیفی *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 با محدوده قابل قبول ۲٤mm–۱۸ استفاده‌شود.

جدول 3C. راهنمای مرجع برای تعیین دفعات انجام آزمایش کنترل کیفی در روش انتشار از دیسک

این جدول به‌طور خلاصه تعداد دفعات پیشنهادی برای انجام آزمایش روی سویه‌های کنترل کیفی ATCC براساس توصیه CLSI را به کسانی که از آزمایش‌های تعیین حساسیت استفاده‌می‌کنند، ارائه‌می‌دهد. این جدول فقط برای عوامل ضدمیکروبی که به‌مدت ۲۰ یا ۳۰ روز متوالی در آزمایش‌های کنترل کیفی نتایج رضایت‌بخش داشته‌اند، کاربرد دارد.

	تعداد روزهای متوالی آزمایش کنترل کیفی مورد نیاز			
اصلاح آزمایش	۱	۵	۲۰ یا ۳۰	توضیحات
دیسک‌ها				
استفاده از محموله یا سری ساخت جدید	×			
استفاده از تولیدکننده جدید	×			
محیط‌های کشت(ظروف پتری حاوی آگار آماده)				
استفاده از محموله یا سری ساخت جدید	×			
استفاده از تولیدکننده جدید		×		
تهیه مایه میکروبی				
تبدیل نحوه تهیه مایه میکروبی/ استاندارد کردن با استفاده از دستگاهی که برای خودش دستورالعمل کنترل کیفی مجزا دارد.		×		مثال: تبدیل روش تنظیم چشمی کدورت به روش استفاده از دستگاه فتومتریک که روش‌های انجام کنترل کیفی آن ارائه شده‌است.
تبدیل نحوه تهیه مایه میکروبی/ استانداردکردن روشی که به فن کاربر بستگی دارد.			×	مثال: تبدیل روش تنظیم چشمی کدورت به روش دیگری که مبنای آن دستگاه فتومتریک نباشد.
اندازه‌گیری هاله‌ها				
تغییر روش اندازه‌گیری هاله‌های مهار رشد.			×	مثال: تغییر روش اندازه‌گیری دستی به روش استفاده از دستگاه(اتوماتیک). علاوه‌بر آن، در آزمایشگاه روش دستگاهی به روش دستی نیز اعتباربخشی شود.
ابزار/ نرم افزار (مثل هاله‌خوان خودکار)				
به روز نمودن نرم‌افزار که نتایج آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی را تحت تأثیر قراردهد.		×		همه داروها، نه فقط آنهایی که در تغییر نرم‌افزار منظور شده‌اند را کنترل نمایید.
تعمیر دستگاه که نتایج آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی را تحت تأثیر قراردهد.	×			بسته به وسعت تعمیر(برای نمونه قسمت دارای نقش تعیین‌کننده مانند دستگاه فتوگرافیک) ممکن‌است به تکرار آزمایش، برای مثال به‌مدت ۵ روز، نیاز باشد.

نکته ۱: برای هر عامل ضدمیکروبی جدیدی که اضافه‌می‌شود، قبل از استفاده از این راهنما، به نتایج رضایت‌بخش آزمایش کنترل کیفی به‌مدت ۳۰-۲۰ روز متوالی نیاز می‌باشد(سند M02-A10، بند ۷.۱۵ ملاحظه‌شود).

نکته ۲: کنترل کیفی می‌تواند قبل و یا هم‌زمان با آزمایش باکتری‌های جداشده از بیمار صورت‌گیرد. درصورتی که نتایج کنترل کیفی در محدوده قابل قبول باشد، نتایج آزمایش بیمار را می‌توان گزارش نمود.

نکته ۳: مواد مورد استفاده در آزمایش که به‌صورت تجاری و یا در آزمایشگاه تهیه‌می‌شوند، باید طبق دستورالعمل‌های تدوین‌شده داخلی و ضوابط موجود باشند.

نکته ٤: برای حل مشکل نتایج خارج از محدوده، به بند ۸.۱۵ سند M02-A10 مراجعه‌شود.

نکته ۵: محیط کشت مایع، محلول سرم فیزیولوژی و یا آبی که برای تهیه مایه میکروبی استفاده‌می‌شود، به آزمایش کنترل کیفی روتین نیاز ندارد.

زیرنویس

a. نیاز به کنترل کیفی روزانه و یا هفتگی روتین را برطرف نمی‌نماید.

جدول 3D. راهنمای حل مشکلات کنترل کیفی در روش انتشار از دیسک

این جدول، راهنمایی برای حل مشکل و انجام اقدام اصلاحی در مواردی است که نتایج کنترل کیفی خارج از محدوده قابل قبول است. این جدول بیشتر در آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی با محیط مولر هینتون آگار مورد استفاده قرارمی‌گیرد. برای اطلاعات بیشتر درمورد اقدامات کنترل کیفی و تضمین کیفیت به دستورالعمل M02-A10 بند ۱۵ مراجعه‌نمایید. آزمایش‌های کنترل کیفی با نتیجه خارج از محدوده در مرحله اول باید تکرارگردد. درصورت برطرف نشدن مشکل، این راهنما پیشنهادات بیشتری برای حل مشکل نتایج کنترل کیفی خارج از محدوده، ارائه‌می‌نماید. اگر ایراد باقی ماند، در اقدام بعدی تولیدکننده باید از احتمال وجود مشکلات محصول تولیدی خود مطلع گردد.

توضیحات

۱. نگهداری ارگانیسم‌های کنترل کیفی: از کشت مکرر ارگانیسم پرهیز نمایید. سویه جدید کنترل کیفی را از ذخیره اصلی بازیابی کنید. اگر از سویه‌های لیوفیلیزه استفاده‌می‌کنید، در نگهداری آنها از توصیه‌های شرکت تولیدکننده پیروی نمایید. ذخیره‌های مربوط به سویه‌های *E. coli* ATCC 35218 و *K. pneumonia* ATCC 700603 را در دمای ۶۰- درجه سانتی‌گراد یا کمتر نگهداری کرده و کشت ذخیره کاری را به‌صورت هفتگی تهیه‌کنید.

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Action
Aminoglycosides	Any	Zone too small	pH of media too low	محدوده pH قابل قبول بین ۷/۲ تا ۷/٤ است. از گرمخانه‌گذاری همراه با گاز CO_2 پرهیز نمایید، زیرا این مسئله باعث کاهش pH می‌شود.
Aminoglycosides	Any	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2–7.4
Aminoglycosides	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	Zone too small	Ca++ and/or Mg++ content too high	Use alternative lot of media.
Aminoglycosides	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	Zone too large	Ca++ and/or Mg++ content too low	Use alternative lot of media.
Amoxicillin-clavulanic acid	*E. coli* ATCC® 35218	Zone too small	Clavulanic acid is labile. Disk has lost potency.	از سری ساخت دیگری از دیسک‌ها استفاده نمایید. شرایط نگهداری، استحکام و سالم بودن بسته‌بندی را کنترل کنید.
Ampicillin	*E. coli* ATCC® 35218	Zone too large (should be no zone—resistant)	ازدست دادن خودبه‌خودی پلاسمید کدکننده بتالاکتاماز	See comment (1) on QC organism maintenance.
β-Lactam group	Any	هاله مهار رشد در ابتدا قابل قبول است، ولی با گذشت زمان کاهش‌می‌یابد و امکان دارد در خارج از محدوده قرارگیرد.	دیسک توان آنتی‌بیوتیکی خود را از دست داده‌است.	از سری ساخت دیگری از دیسک‌ها استفاده نمایید. شرایط نگهداری، استحکام و سالم بودن بسته‌بندی را کنترل کنید. به‌ویژه ایمی‌پنم، کلاولانیک اسید و سفاکلر ناپایدار می‌باشند.
Aztreonam Cefotaxime Cefpodoxime Ceftazidime Ceftriaxone	*K. pneumoniae* ATCC® 700603	Zone too large	ازدست دادن خودبه‌خودی پلاسمید کد کننده بتالاکتاماز	See comment (1) on QC organism maintenance.
Cefotaxime/clavulanic acid Ceftazidime/clavulanic acid	*K. pneumoniae* ATCC® 700603	Negative ESBL confirmatory test	ازدست دادن خودبه‌خودی پلاسمید کد کننده بتالاکتاماز	See comment (1) on QC organism maintenance.
Penicillins	Any	Zone too large	pH of media too low	محدوده pH قابل قبول بین ۷/۲ تا ۷/٤ است. از گرمخانه‌گذاری همراه با گاز CO_2 پرهیز نمایید، زیرا این مسئله باعث کاهش pH می‌شود.
Penicillins	Any	Zone too small	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2–7.4
Carbenicillin	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	Zone too small	سویه‌های کنترل کیفی پس از انجام کشت‌های مکرر، مقاوم می‌شوند.	See comment (1) on QC organism maintenance.
Ticarcillin-clavulanic acid	*E. coli* ATCC® 35218	Zone too small	دیسک توان آنتی‌بیوتیکی خود را از دست داده‌است.	از سری ساخت دیگری از دیسک‌ها استفاده نمایید. شرایط نگهداری، استحکام و سالم بودن بسته‌بندی را کنترل کنید.
Clindamycin	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too small	pH of media too low	محدوده pH قابل قبول بین ۷/۲ تا ۷/٤ است. از گرمخانه‌گذاری همراه با گاز CO_2 پرهیز نمایید، زیرا این مسئله باعث کاهش pH می‌شود.
Clindamycin	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2–7.4
Macrolides	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too small	pH of media too low	محدوده pH قابل قبول بین ۷/۲ تا ۷/٤ است. از گرمخانه‌گذاری همراه با گاز CO_2 پرهیز نمایید، زیرا این مسئله باعث کاهش pH می‌شود.
Macrolides	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2–7.4

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ جدول 3D صفحهٔ قبل

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Action
Quinolones	Any	Zone too small	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2–7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Quinolones	Any	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2–7.4
Tetracyclines	Any	Zone too large	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2–7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Tetracyclines	Any	Zone too small	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2–7.4
Tetracyclines	Any	Zone too small	Ca++ and/or Mg++ content too high	Use alternative lot of media.
Tetracyclines	Any	Zone too large	Ca++ and/or Mg++ content too low	Use alternative lot of media.
Sulfonamides Trimethoprim Trimethoprim-sulfamethoxazole	*E. faecalis* ATCC® 29212	Zone ≤ 20 mm	Media too high in thymidine content	Use alternative lot of media.
Various	Any	Many zones too large	مـایـه میـکروبی خیـلی رقیـق است؛ اشتباه در نحوه تهیـه مایـه میکروبی؛ ضخامت مـحیط کـشت خـیلی کم است؛ محیط مولر هینتون آگار ازنظر مغذی بودن قابل قبول نیست.	کدورت مایه میکروبی را مجددا با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند یا به وسیله دستگاه تظیم نمایید. درصورت استفاده از استانداردهای سولفات باریم یا لاتکس، تاریخ انقضا و نحوه نگهداری آنها را کنترل نمایید. از محیط آگار با عمق تقریبی ٤ میلی‌متر استفاده‌کنید. آزمایش را با محیط مولر هیتون آگار با سری ساخت متفاوت، مجدداً بازبینی نمایید.
Various	Any	Many zones too small	مـایـه میـکروبی خیـلی غلیظ است؛ اشتباه در نحوهٔ تهیه مایه میکروبی؛ ضخامت محیط کشت خیلی زیاد است؛ محیط مـولر هینتون آگـار از نظر مغذی بودن قابل قبول نیست.	کدورت مایه میکروبی را مجدداً با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند یا به وسیله دستگاه تظیم نمایید. درصورت استفاده از استانداردهای سولفات باریم یا لاتکس، تاریخ انقضا و نحوه نگهداری آنها را کنترل نمایید. از محیط آگار با عمق تقریبی ٤mm؛ استفاده‌کنید. آزمایش را با محیط مولر هیتون آگار با سری ساخت متفاوت، مجدداً بازبینی نمایید.
Various	Any	One or more zones too small or too large	این احتمالات را درنظر بگیرید: خطا در اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد، خطا در ثبت و ارزیابی نتایج، نقص اتفاقی در دیسک، دیسک بـا فـشار کافی روی محیط قرار نگرفته‌است.	اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد و نحوه ثبت و ارزیابی اطلاعات را با خوانش مجدد کنترل کنید. آزمایش را تکرار نمایید. اگر نتایج تکرار، خارج از محدوده مناسب بود و هیچ خطایی شناسایی نشد، اقدامات اصلاحی را شروع نمایید.
Various	*S. pneumoniae* ATCC® 49619	Zones too large. Lawn of growth scanty.	ظرف پتـری که از آن مایـه میکروبی تهیه‌شده، خیلی کهنه است و حاوی تعداد زیادی باکتری غیرزنده می‌باشد. ظرف پتری که برای تهیه رقت استاندارد استفاده‌می‌شود، باید ۲۰–۱۸ ساعته باشد.	سویه کنترل کیفی را مجدداً کشت دهید و آزمایش کنترل کیفی را تکرار کنید، یا سویه کنترل کیفی را از کشت ذخیره به‌صورت تازه بازیابی نمایید.
Various	Any	نتایج یکی از سویه‌های کنترل کیفی خارج از محدوده است، ولی نتایج سایر ارگانیسم‌های کنترل کیفی بـا همـان عـامل ضـدمیـکروبی، در محـدوده قراردارند.	یـکی از سـویه‌هـای کنتـرل کیـفی ممکن‌است بـه نحـو بهتـری نشانگر مشکل کنترل کیفی باشد.	بـرای تـأییـد تکرارپذیری نتایج قابل قبول، آزمایش‌های مربوط به این سویه را تکرار کنید. سویه‌های جایگزین با MIC مشخص را ارزیابی نمایید. اقدامات اصلاحی را برای مشکل مربوط به نتایج نامطلوب سویه کنترل کیفی/ عوامل ضدمیکروبی آغاز نمایید.
Various	Any	Two QC strains out of range with the same antimicrobial agent	Indicates a problem with the disk	از سری ساخت دیگری از دیسک‌ها استفاده‌کنید. شـرایط نگهـداری، استحـکام و سـالم‌بـودن بسته‌بندی را کنترل‌کنید.
Various	Any	Zones overlap	Too many disks per plate	در ظرف پتری ۱۵۰ میلی‌متری، بیش از ۱۲ دیسک و در ظرف پتری ۱۰۰ میلی‌متری، بیش از ۵ دیسک قرارندهید؛ لازم به ذکر است برای بعضی از باکتری‌های پرنیاز که هاله مهار رشد بزرگی ایجـادمی‌نمایند، باید از تعداد دیسک کمتری استفاده‌شود

Abbreviations: ESBL, extended-spectrum β-lactamase; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control.

پیوست A. پیشنهادهایی برای تأیید نتایج مقاوم(R)، حساس بینابینی(I) یا غیرحساس(NS) در آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی و شناسایی ارگانیسم

Organism or Organism Group	Resistance Phenotype Detected [a]	Occurrence and Significance of Resistance and Actions to Take Following Confirmation of Results[a]		
		Category I	Category II	Category III
		Not reported or only rarely reported to date	Uncommon in most institutions	May be common, but is generally considered of epidemiological concern
		Action Steps:		
		• Confirm ID and susceptibility (see footnote "a"). • Report to infection control. • Send to public health laboratory. • Save isolate. *Note: May be appropriate to notify infection control of preliminary findings before confirmation of results.*	• Confirm ID and susceptibility if uncommon in your institution (see footnote "a"). • Check with infection control in your facility to determine if special reporting procedures or further action are needed. • Check with your local public health department to determine which isolates should be reported to them and when isolates should be sent to the public health laboratory.	• Confirm ID and susceptibility if uncommon in your institution (see footnote "a"). • Check with infection control in your facility to determine if special reporting procedures or further action are needed.
Any *Enterobacteriaceae*	Carbapenem – I or R[b]		x	
	Amikacin, gentamicin, and tobramycin – R			x
Escherichia coli *Klebsiella* spp. *Proteus mirabilis*	Extended-spectrum cephalosporin[c] – I or R			x
Salmonella spp.[d]	Cephalosporin III and/or fluoroquinolone – R		x	
Acinetobacter baumannii	Colistin/polymyxin – R		x	
	Carbapenem – I or R			x
Pseudomonas aeruginosa	Colistin/polymyxin – I or R		x	
	Amikacin, gentamicin, and tobramycin – R Carbapenem – I or R			x

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ پیوست A صفحهٔ قبل

Stenotrophomonas maltophilia	Trimethoprim-sulfamethoxazole – I or R		x	
Haemophilus influenzae	Carbapenem – NS Extended-spectrum cephalosporin[c] – NS Fluoroquinolone – NS	x		
	Amoxicillin-clavulanic acid – R Ampicillin – R and β-lactamase-negative		x	
Neisseria gonorrhoeae	Extended-spectrum cephalosporin[c] – NS		x	
	Fluoroquinolone – I or R			x
Neisseria meningitidis	Ampicillin or penicillin – R Extended-spectrum cephalosporin[c] – NS Meropenem – NS Minocycline – NS	x		
	Ampicillin or penicillin – I Azithromycin – NS Rifampin – I or R		x	
	Chloramphenicol – I or R Fluoroquinolone – I or R			x
Enterococcus spp.	Daptomycin – NS Linezolid – R		x	
	Vancomycin – R High-level aminoglycoside – R			x
Staphylococcus aureus	Vancomycin MIC ≥ 8 µg/mL[e]		x	
	Daptomycin – NS Linezolid – R Quinupristin-dalfopristin – I or R Vancomycin MIC = 4 µg/mL		x	
	Oxacillin – R			x
Staphylococcus, coagulase-negative	Daptomycin – NS Linezolid – R Quinupristin-dalfopristin – I or R Vancomycin – I or R[f]		x	
Streptococcus pneumoniae	Linezolid – NS Vancomycin – NS	x		
	Fluoroquinolone – I or R Imipenem or meropenem – I or R Quinupristin-dalfopristin – I or R Rifampin – I or R		x	
	Using nonmeningitis breakpoints: Amoxicillin or penicillin – R Extended-spectrum cephalosporin[c] – R			x

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد

ادامهٔ پیوست A صفحهٔ قبل

***Streptococcus*, β-hemolytic group**[g]	**Ampicillin or penicillin – NS** **Extended-spectrum cephalosporin**[c] **– NS** **Daptomycin – NS** **Ertapenem or meropenem – NS** **Linezolid – NS** **Vancomycin – NS**	x		
	Quinupristin-dalfopristin – I or R		x	
***Streptococcus*, viridans group**	**Daptomycin – NS** **Ertapenem or meropenem – NS** **Linezolid – NS** **Quinupristin-dalfopristin – I or R** **Vancomycin – NS**	x		

Abbreviations: CoNS; FDA, US Food and Drug Administration; I, intermediate; ID, identification; MIC, minimal inhibitory concentration; NS, nonsusceptible; R, resistant.

نکته ۱: ایزوله‌ای که به‌عنوان غیرحساس (NS) تفسیر می‌شود، الزاماً به معنی داشتن مکانیسم مقاومت نیست. تا زمانی که فقط محدوده حساس تعریف شده‌است، MIC بالاتر از محدوده حساس برای تیپ‌های وحشی (wild type) باکتری که فاقد مکانیسم‌های مقاومتی هستند، به‌عنوان NS گزارش می‌گردد.

نکته ۲: برای سویه‌های «غیرحساس»، نتایج تعیین هویت باکتری و آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی باید تأییدشود(زیرنویس «a» را ملاحظه نمایید).

a از درستی و تکرارپذیری آزمایش‌ها، تعیین هویت ارگانیسم و تعیین حساسیت ضدمیکروبی اطمینان حاصل کنید. مراحل ذیل را ملاحظه نمایید:

۱. خطا در ثبت و انتقال اطلاعات، آلودگی در آزمایش، استفاده از پانل، پلیت یا کارت معیوب را بررسی کنید.

۲. گزارش‌های پیشین بیمار را بررسی‌کنید تا اگر این ایزوله قبلاً جدا و تأیید شده‌است، مشخص گردد.

۳. آزمایش‌های تعیین هویت و تعیین حساسیت ضدمیکروبی را با روش‌هایی که در اولین بار انجام شده‌است، تکرار کنید تا از تکرارپذیری آن اطمینان حاصل کنید(برای گروه‌بندی I و II می‌توان به‌طور انتخابی مرحله ۳ را حذف کرد و مراحل ٤ و ٥ را انجام‌داد. برای گروه‌بندی III، اگر مقاومت در مرکز شما شایع باشد، ممکن‌است دیگر به تکرار و/ یا انجام آزمایش تأییدی نیازی نباشد.)

٤. هویت ارگانیسم را با استفاده از روش شناسایی دوم در مرکز خود یا در آزمایشگاه مرجع، تأیید کنید.

٥. نتایج آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی را با استفاده از روش تعیین حساسیت دوم، تأیید کنید(برای مثال در مرکز خود یا در آزمایشگاه مرجع). روش دوم می‌تواند از سایر روش‌های مرجع CLSI (برای مثال broth microdilution, agar dilution, or disk diffusion) یا یک روش تجاری مورد تأیید FDA باشد.

b در گونه‌های *پروتئوس*، *پروویدنسیا* و *مورگانلا مورگانی* میزان MIC برای ایمی‌پنم در مقایسه با MIC برای مروپنم یا دوریپنم(doripenem) می‌تواند زیادتر باشد، به گونه‌ای که در محدوده‌های جدید با حساسیت بینابینی و یا مقاوم قرارگیرد. در این ایزوله‌ها، افزایش سطح MIC با مکانیسم‌های متفاوتی از تولید کارباپنماز ایجادمی‌شود.

c سفالوسپورین‌های با طیف اثر گسترده = سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم(واژه‌نامه I را ملاحظه نمایید)

d در زمان ارائه گزارش نتایج تعیین حساسیت ضدمیکروبی به مراکز بهداشتی، موارد مقاوم یا حساس بینابینی گونه‌های *سالمونلا* به سفالوسپورین‌های نسل سوم و/ یا موارد مقاوم یا حساس بینابینی به فلوروکینولون یا مقاوم به نالیدیکسیک اسید را گزارش نمایید.

e به‌ندرت با این مورد مواجه‌می‌شوید. به دلیل اهمیت بهداشت عمومی و کنترل عفونت، توصیه‌های گروه‌بندی I را برای اطلاع مقامات و مسئولان مراکز بهداشتی و کنترل عفونت اجرا کنید.

f در بعضی از گونه‌های استافیلوکک کواگولاز منفی (CoNS)، ممکن‌است MIC وانکومایسین در محدوده با حساسیت بینابینی قرارگیرد. در مقابل، به ندرت موارد استافیلوکک کواگولاز منفی مقاوم به وانکومایسین دیده‌می‌شود.

g تأیید کنید که استرپتوکک‌های گروه C و G دارای کلنی بزرگ هستند. انواعی از استرپتوکک‌های گروه C و G که دارای کلنی کوچک هستند، در گروه ویریدنس قرارمی‌گیرند.

پیوست B. مقاومت ذاتی ـ *انتروباکتریاسه*

مقاومت ذاتی، مقاومتی درونی و غیراکتسابی به عوامل ضدمیکروبی است. این الگوی مقاومت ضدمیکروبی در تیپ‌های وحشی تمام یا تقریباً تمام گونه‌های یک میکروارگانیسم خاص مشاهده‌می‌شود. مقاومت ذاتی در یک میکروارگانیسم خاص، آنقدر شایع و معمول است که تعیین حساسیت ضدمیکروبی، دیگر ضرورتی ندارد. برای مثال گونه‌های *سیتروباکتر* به آمپی‌سیلین مقاومت ذاتی دارند.

این جدول حداقل به سه روش می‌تواند کمک‌کننده باشد:

۱. امکان ارزیابی صحت روش‌های آزمایش را فراهم می‌کند؛ ۲. به شناسایی فنوتیپ‌های معمولی کمک می‌کند؛ ۳. در تأیید داده‌های تجمعی آزمایش تعیین حساسیت ضدمیکروبی کمک می‌کند.

در این جدول کلمه «**R**» به این معنی است که ارگانیسم در مقابل آن داروی ضدمیکروبی باید مقاوم باشد. درصد کمی از این ارگانیسم‌ها (۳٪– ۱٪) ممکن‌است حساس باشند. این حالت می‌تواند به‌علت نوسانات روش سنجش، جهش یا بیان سطوح پایینی از مقاومت ایجادشود.

درمورد یک نتیجه «حساس» باید با احتیاط قضاوت شود. مطمئن شوید که نتایج تعیین حساسیت ضدمیکروبی و تعیین هویت، صحیح و تکرارپذیر است. پیوست «**A**» و زیرنویس «a» را ملاحظه نمایید.

Antimicrobial Agent / Organism	Ampicillin	Amoxicillin-clavulanate	Ampicillin-sulbactam	Piperacillin	Ticarcillin	Cephalosporin I: Cefazolin, Cephalothin	Cephamycins: Cefoxitin, Cefotetan	Cephalosporin II: Cefuroxime	Tetracyclines	Nitrofurantoin	Polymyxin B Colistin
Citrobacter freundii	R	R	R			R	R	R			
Citrobacter koseri	R	R	R	R	R						
Enterobacter aerogenes	R	R	R			R	R	R			
Enterobacter cloacae	R	R	R			R	R	R			
Escherichia coli	There is no intrinsic resistance to β-lactams in this organism.										
Escherichia hermannii	R				R						
Hafnia alvei	R	R	R			R	R				
Klebsiella pneumoniae	R				R						
Morganella morganii	R	R				R		R	R	R	R
Proteus mirabilis	There is no intrinsic resistance to β-lactams in this organism.								R	R	R
Proteus penneri	R					R		R	R	R	R
Proteus vulgaris	R					R		R	R	R	R
Providencia rettgeri	R	R				R			R	R	R
Providencia stuartii	R	R				R			R	R	R
Salmonella and *Shigella* spp.	There is no intrinsic resistance to β-lactams in these organisms; see Table 2A, comment (6) for reporting.										
Serratia marcescens	R	R	R			R	R	R		R	R
Yersinia enterocolitica	R	R			R	R					

به‌دلیل عدم وجود مقاومت ذاتی در *انتروباکتریاسه*، سفالوسپورین‌های نسل سوم، سفپیم، آزترئونام، تیکارسیلین ـ کلاولانات، پیپراسیلین ـ تازوباکتام و کارباپنم‌ها در این فهرست آورده‌نشده‌اند.

پیوست C. سویه‌های کنترل کیفی برای آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی

Quality Control Strain	Organism Characteristics	Disk Diffusion Tests	MIC Tests	Screening Tests	Other
E. faecalis ATCC® 29212			•Nonfastidious gram-positive bacteria	•Vancomycin agar HLAR	•Assess suitability of medium for sulfonamide or trimethoprim MIC tests[d] •Assess suitability of cation content in each batch/lot of Mueller-Hinton for daptomycin broth microdilution
E. faecalis ATCC® 51299	• Resistant to vancomycin (*VanB*) and high-level aminoglycosides			•Vancomycin agar HLAR	
E. coli ATCC® 25922	• β-Lactamase negative	•Nonfastidious gram-negative bacteria •*Neisseria meningitidis*	•Nonfastidious gram-negative bacteria •*Neisseria meningitidis* •Potential agents of bioterrorism		
E. coli ATCC® 35218	• Contains plasmid-encoded TEM-1 β-lactamase (non-ESBL)[a,b,e,f]	•β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations	•β-Lactam/β-lactamase inhibitor combinations		
H. influenzae ATCC® 49247	• BLNAR	•*Haemophilus* spp.	•*Haemophilus* spp.		
H. influenzae ATCC® 49766	• Ampicillin susceptible	•*Haemophilus* spp. (more reproducible with selected β-lactams)	•*Haemophilus* spp. (more reproducible with selected β-lactams)		
H. pylori ATCC® 43504			•*H. pylori*		
K. pneumoniae ATCC® 700603	• Contains SHV-18 ESBL[b,e,f]	•ESBL screen and confirmatory tests	•ESBL screen and confirmatory tests		
N. gonorrhoeae ATCC® 49226	• CMRNG	•*N. gonorrhoeae*	•*N. gonorrhoeae*		
P. aeruginosa ATCC® 27853[c]	• Contains inducible AmpC β-lactamase	•Nonfastidious gram-negative bacteria	•Nonfastidious gram-negative bacteria •Potential agents of bioterrorism		•Assess suitability of cation content in each batch/lot of Mueller-Hinton for gentamicin MIC and disk diffusion
S. aureus ATCC® 25923	• β-Lactamase negative • *mecA* Negative • Little value in MIC testing due to its extreme susceptibility to most drugs	•Nonfastidious gram-positive bacteria			

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ←

ادامهٔ پیوست C صفحهٔ قبل ⟵

Quality Control Strain	Organism Characteristics	Disk Diffusion Tests	MIC Tests	Screening Tests	Other
S. aureus ATCC® 29213	• Weak β-lactamase producing strain • *mecA* negative		• Nonfastidious gram-positive bacteria • Potential agents of bioterrorism	• Oxacillin agar	• Assess suitability of cation content in each batch/lot of Mueller-Hinton for daptomycin broth microdilution
S. aureus ATCC® 43300	• Oxacillin-resistant, *mecA* positive	• Cefoxitin disk testing	• Cefoxitin MIC testing	• Oxacillin agar	
S. aureus ATCC® BAA-1708	• High-level mupirocin resistance mediated by the *mupA* gene	• Screening test for high-level mupirocin resistance	• Screening test for high-level mupirocin resistance		
S. pneumoniae ATCC® 49619	• Penicillin intermediate by altered penicillin-binding protein	• *S. pneumoniae* • *Streptococcus* spp. • *N. meningitidis*	• *S. pneumoniae* • *Streptococcus* spp. • *N. meningitidis* • Potential agents of bioterrorism		
Supplemental QC Strains[g]					
***E. faecalis* ATCC® 29212**			**Ceftaroline MIC testing**		
E. faecalis ATCC® 33186					• Alternative to *E. faecalis* ATCC® 29212 to assess suitability of medium for sulfonamide or trimethoprim MIC tests[d]
H. influenzae ATCC® 10211					• Assess each batch/lot for growth capabilities of HTM
K. pneumoniae ATCC® BAA-1705	• KPC-producing strain[b] • MHT positive	• Phenotypic confirmatory test for carbapenemase production (MHT)			
K. pneumoniae ATCC® BAA-1706	• Resistant to carbapenems by mechanisms other than carbapenemase • MHT negative	• Phenotypic confirmatory test for carbapenemase production (MHT)			
S. aureus ATCC® BAA-976	• Contains *msr*A-mediated macrolide-only resistance	• Assess disk approximation tests with erythromycin and clindamycin (D-zone test negative)	• QC – see Tables 2C-S4, 2C-S5, 3A, and 4A		
S. aureus ATCC® BAA-977	• Contains inducible *erm*A-mediated resistance	• Assess disk approximation tests with erythromycin and clindamycin (D-zone test positive)	• Routine QC for inducible clindamycin test by MIC method – see Tables 2C-S4, 2C-S5, 3A, and 4A		

Abbreviations: BLNAR, β-lactamase negative, ampicillin-resistant; CMRNG, chromosomally mediated penicillin resistant; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; HLAR, high-level aminoglycoside resistance; HTM, *Haemophilus* Test Medium; KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; MHT, modified Hodge test; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, qual control.

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ پیوست C صفحهٔ قبل

زیرنویس‌ها

a *E. coli* ATCC 35218 فقط به‌عنوان ارگانیسم کنترل برای ترکیبات مهارکننده بتالاکتاماز مانند داروهای حاوی کلاولانیک اسید، سولباکتام یا تازوباکتام توصیه‌می‌شود. این سویه دارای پلاسمید کدکننده بتالاکتاماز از نوع غیر ESBL است؛ همچنین این باکتری، مقاوم به بسیاری از داروهای ناپایدار در مقابل پنی‌سیلیناز و حساس در برابر ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز است. این پلاسمید باید در سویه‌های کنترلی وجود داشته‌باشد تا آزمایش کنترل کیفی قابل قبول باشد؛ با این حال، پلاسمید ممکن‌است در مدت نگهداری در حرارت یخچال یا فریزر از بین برود. برای اطمینان از اینکه این پلاسمید هنوز حضور دارد، آزمون این سویه با داروهای بتالاکتام مانند آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پیپراسیلین یا تیکارسیلین به‌تنهایی و همین داروها با ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز مانند آموکسی‌سیلین – کلاولانات انجام‌می‌شود. اگر پلاسمید ازدست رفته‌باشد، باکتری در برابر داروهای بتالاکتام وقتی به تنهایی استفاده‌می‌شوند، حساس خواهدبود و دیگر سویه کنترل کیفی قابل قبول نمی‌باشد و باید از کشت جدید *E. coli* ATCC 35218 استفاده‌شود.

b دقت و احتیاط خاص در نگهداری(انجام حداقل پاساژ) و ذخیره‌سازی(حرارت ٦٠- یا کمتر)، برای ارگانیسم‌های کنترلی *E. coli* ATCC 35218، *K. pneumoniae* ATCC 700603 و *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 اهمیت دارد، زیرا ثابت شده‌است که این ارگانیسم‌ها خودبه‌خود پلاسمیدهای کدکننده بتالاکتاماز و کارباپنماز را از دست می‌دهند. ازدست رفتن پلاسمید منجر به خارج از محدوده مورد انتظار قرارگرفتن نتایج می‌شود، مانند کاهش MIC برای *E. coli* ATCC 35218 در مقابل پنی‌سیلین‌های حساس در برابر آنزیم(برای مثال، آمپی‌سیلین، پیپراسیلین و تیکارسیلین)، کاهش MIC برای *K. pneumoniae* ATCC 700603 در مقابل سفالوسپورین‌ها و آزترئونام، و نتایج منفی کاذب MHT در برابر *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705.

c مقاومت به عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام پس از پاساژهای متعدد روی محیط‌های کشت ایجادمی‌شود. این مشکل را می‌توان با استفاده از کشت تازه از ذخیره(حداقل یک بار در ماه) یا هر زمانی که مقاومت مشاهده‌شد، به حداقل رساند.

d اگر محیط دارای مقادیر قابل قبولی از تایمیدین باشد، باید بتوان نقاط پایانی را به آسانی قرائت نمود(کاهش رشد ٨٠ درصدی یا بیشتر در مقایسه با سویه کنترل).

e منبع:

Rasheed JK, Anderson GJ, Yigit H, et al. Characterization of the extended-spectrum beta-lactamase reference strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC® 700603), which produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:2382-2388.

f منبع:

Queenan AM, Foleno B, Gownley C, Wira E, Bush K. Effects of inoculum and beta-lactamase activity in AmpC- and extended-spectrum betalactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *J Clin Microbiol.* 2004;42:269-275.

g سویه‌های کنترلی به طور منظم (روزانه یا هفتگی) آزمایش می‌شوند، تا اطمینان حاصل گردد که نتایج حاصل از کارکرد روش و مجموعه آزمایش، در محدوده‌های خاص فهرست‌شده در M100 قراردارد. اگر آزمایشگاهی در این مورد از روش انتشار از دیسک یا MIC مرجع CLSI استفاده‌می‌کند، باید سویه‌های کنترل کیفی توصیه‌شده در این سند را درنظر بگیرد. برای سیستم‌های تجاری، باید توصیه‌های سازنده درمورد تمام دستورالعمل‌های کنترل کیفی دنبال شود. سویه‌های کنترل کیفی تکمیلی برای سنجش خصوصیات ویژه یک آزمایش یا یک مجموعه آزمایش در وضعیت‌های انتخابی یا به‌عنوان سویه‌های کنترل کیفی جایگزین استفاده‌می‌شوند. برای مثال، *Haemophilus influenzae* ATCC 10211، از *H. influenzae* ATCC 49247 یا *H. influenzae* ATCC 49766 پرنیازتر است و برای اطمینان از اینکه محیط HTM می‌تواند به خوبی رشد ایزوله‌های بالینی *H. influenzae* و *H. parainfluenzae* را تأمین کند، به‌کار می‌رود. سویه‌های کنترل کیفی تکمیلی می‌توانند دارای مقاومت یا حساسیت ویژه برای یک یا بیش از یک آزمایش اختصاصی فهرست‌شده در سند M02-A10 و M07-A08 باشند. از این سویه‌ها می‌توان برای ارزیابی یک آزمایش جدید، یا برای آموزش و ارزیابی شایستگی کارمندان جدید و مانند آن استفاده‌کرد. ضرورتی ندارد که برای سویه‌های کنترل کیفی تکمیلی، برنامه کنترل کیفی روزانه یا هفتگی تعیین حساسیت میکروبی انجام‌شود.

پیوست D. گزارش تجمعی تعیین حساسیت ضدمیکروبی برای ارگانیسم‌های گروه *باکتروئیدس فراژیلیس*

Anaerobic Organisms	Number of Strains	Ampicillin-sulbactam		Piperacillin-tazobactam		Cefoxitin		Ertapenem		Imipenem		Meropenem		Clindamycin		Moxifloxacin		Metronidazole[b]	
Percent Susceptible (%S) and Percent Resistant (%R)[c]		%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R
Breakpoints in µg/mL		≤ 8/4	≥ 32/16	≤ 32/4	≥ 128/4	≤ 16	≥ 64	≤ 4	≥ 16	≤ 4	≥ 16	≤ 4	≥ 16	≤ 2	≥ 8	≤ 2	≥ 8	≤ 8	≥ 32
B. fragilis	**872**	89	**4**	98	**1**	**85**	**6**	96	2	98	2	97	2	**64**	**28**	**53**	**38**	100	0
B. thetaiotaomicron	**342**	**86**	3	92	2	32	**13**	**96**	**2**	99	0	99	1	**27**	**56**	**44**	**34**	100	0
B. ovatus	**67**	**93**	**2**	**93**	**2**	**37**	**15**	98	0	100	0	100	0	**54**	39	**43**	**39**	100	0
B. vulgatus	**70**	**67**	**6**	100	0	**83**	**4**	98	2	**98**	**2**	98	2	**49**	**51**	**43**	**46**	100	0
B. uniformis	**60**	**87**	2	**93**	0	**42**	**13**	**97**	0	100	0	**98**	0	**35**	**52**	**35**	**50**	100	0
B. eggerthii	**58**	**95**	**0**	100	0	**98**	**2**	100	0	100	0	100	0	**29**	**55**	**28**	**55**	100	0
Parabacteroides distasonis	**111**	**69**	**11**	**91**	2	**41**	**16**	**97**	0	**100**	0	99	0	**30**	41	**54**	**38**	100	0
B. fragilis group without *B. fragilis*	**708**	83	4	**93**	1	**40**	**12**	97	1	**99**	0	99	**0**	**33**	**42**	**43**	**40**	100	0
B. fragilis group (all 7 species listed)	**1580**	86	4	**95**	2	**65**	**9**	**97**	**1**	98	1	**98**	**1**	**50**	**39**	**49**	**39**	100	0

a داده‌های این جدول از ایزوله‌های خاص جداشده از نمونه های بیماران ارسال‌شده به سه آزمایشگاه مرجع ذیل به‌دست آمده‌است:

Tufts New England Medical Center, Boston, MA; Loyola University Medical Center, Maywood, IL; and R.M. Alden Research Laboratory, Culver City, CA.

آزمایش با روش رقیق‌سازی در آگار انجام شده‌است.

b مقاومت به مترونیدازول به ندرت اتفاق‌می‌افتد.

c **محدوده حساسیت میانی نشان‌داده نشده‌است، اما می‌توان درصد آن را با کم‌کردن مجموع درصد موارد حساس و مقاوم از عدد ۱۰۰ به دست آورد.**

پیوست E. گزارش تجمعی تعیین حساسیت ضدمیکروبی برای ارگانیسم‌های بی‌هوازی به‌جز گروه *باکتروئیدس فراژیلیس*

Anaerobic Organisms	No. of Strains	Ampicillin-sulbactam		Piperacillin-tazobactam		Cefoxitin		Ertapenem		Imipenem		Meropenem	Penicillin/ ampicillin		Clindamycin		Moxifloxacin		Metronidazole	
Percent Susceptible (%S) and Percent Resistant (%R)[d]		%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R	%S	%R
Breakpoints in µg/mL		≤ 8/4	≥ 32/16	≤ 32/4	≥ 128/4	≤ 16	≥ 64	≤ 4	≥ 16	≤ 4	≥ 16	≥ 16	≤ 0.5	≥ 2	≤ 2	≥ 8	≤ 2	≥ 8	≤ 8	≥ 32
Prevotella spp.	173	98	1	99	1	99	1	100	0	100	0	1	40	49	66	30	59	24	100	0
Fusobacterium nucleatum-necrophorum	44	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	0	100	0	100	0	95	5	100	0
Anaerobic gram-positive cocci[e]	168	98	1	100	0	100	0	100	0	100	0	0	96	3	78	20	82	11	98	1
Veillonella spp.[b]	28	100	0	61	7	100	0	100	0	100	0	0	57	28	89	7	79	14	86	11
P. acnes	34	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	0	100	0	91	3	100	0	3	97
Clostridium perfringens	73	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	0	100	0	96	0	99	1	100	0
C. difficile[c]	56	100	0	100	0	0	100	100	0	20	18	0	0	79	5	79	78	22	100	0
Other *Clostridium* spp.	43	100	0	100	0	47	26	100	0	100	0	0	79	9	56	21	74	12	100	0

a داده‌های این جدول از ایزوله‌های خاص جداشده از نمونه‌های بیماران ارسال‌شده به سه آزمایشگاه مرجع ذیل به‌دست آمده‌است:
Tufts New England Medical Center, Boston, MA; Loyola University Medical Center, Maywood, IL; and R.M. Alden Research Laboratory, Culver City, CA.
آزمایش با روش رقیق‌سازی در آگار انجام شده‌است.

b محاسبات در این مورد بر مبنای تعداد ارگانیسم کمتر از ۳۰ ایزوله که در سند **CLSI M39** توصیه‌شده، انجام گرفته‌است.

c ایزوله‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* از دستگاه گوارش جداشده‌اند؛ نتایج جدول بر اثربخشی عوامل ضدمیکروبی ارائه‌شده در عفونت‌های داخل روده‌ای دلالت ندارند. **MIC** وانکومایسین برای تمام ایزوله‌ها کمتر از **٤µg/mL** بود.

d محدوده حساسیت بینابینی نشان‌داده نشده‌است، اما می‌توان درصد آن را با کم‌کردن مجموع درصد موارد حساس و مقاوم از عدد ۱۰۰ به‌دست آورد.

e کوکسی‌های گرم مثبت بی‌هوازی عبارتند از: گونه‌های ***Peptococcus, Peptostreptococcus, Finegoldia, Peptoniphilus*** و ***Anaerococcus***.

واژه‌نامهٔ I (بخش ۱). بتالاکتام‌ها: معرفی کلاس و زیرکلاس و نام ژنریک

Antimicrobial Class	Antimicrobial Subclass	Agents Included; Generic Names
Penicillins[e]	Penicillin[a]	Penicillin
	Aminopenicillin[a]	Amoxicillin Ampicillin
	Ureidopenicillin[a]	Azlocillin Mezlocillin Piperacillin
	Carboxypenicillin[a]	Carbenicillin Ticarcillin
	Penicillinase-stable penicillins[b]	Cloxacillin Dicloxacillin Methicillin Nafcillin Oxacillin
	Amidinopenicillin	Mecillinam
β-Lactam/β-lactamase inhibitor combinations		Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid
Cephems (parenteral)	Cephalosporin I[c,e]	Cefazolin Cephalothin Cephapirin Cephradine
	Cephalosporin II[c,e]	Cefamandole Cefonicid Cefuroxime (parenteral)
	Cephalosporin III[c,e]	Cefoperazone Cefotaxime Ceftazidime Ceftizoxime Ceftriaxone
	Cephalosporin IV[c,e]	Cefepime
	Cephalosporins with anti-MRSA activity	Ceftaroline Ceftobiprole
	Cephamycin[d]	Cefmetazole Cefotetan Cefoxitin
	Oxacephem	Moxalactam
Cephems (oral)	Cephalosporin[e]	Cefaclor Cefadroxil Cefdinir Cefditoren Cefetamet Cefixime Cefpodoxime Cefprozil Ceftibuten Cefuroxime (oral) Cephalexin Cephradine
	Carbacephem	Loracarbef
Monobactams[e]		Aztreonam
Penems	Carbapenem	Doripenem Ertapenem Imipenem Meropenem Razupenem
	Penem	Faropenem Sulopenem

a داروی ناپایدار در مقابل پنی‌سیلیناز؛ توسط پنی‌سیلیناز استافیلوککی تجزیه می‌شود.

b توسط پنی‌سیلیناز استافیلوککی تجزیه نمی شود.

c از سفالوسپورین‌های I، II، III و IV گاهی اوقات به‌عنوان سفالوسپورین‌های نسل اول تا چهارم نام برده‌می‌شود. از سفالوسپورین‌های III و IV به‌عنوان «سفالوسپورین‌های با طیف اثر گسترده» نام برده‌می‌شود. این عبارت به آن معنا نیست که این داروها در مقابل باکتری‌های گرم منفی تولیدکننده ESBL فعال هستند.

d اگرچه از سفامایسین‌ها اغلب به‌عنوان نسل دوم سفالوسپورین نام برده‌می‌شود، اما در باب گزارش سویه‌های تولیدکننده ESBL، با دیگر سفالوسپورین‌ها قرارنمی‌گیرند.

e برای تمام سویه‌هایی که تولید ESBL در آنها تأیید شده‌است، در تفسیر آزمایش تعیین حساسیت، نتایج باید نسبت به این کلاس و زیرکلاس دارویی مقاوم گزارش گردد.

واژه‌نامهٔ I (بخش ۲). غیربتالاکتام‌ها: معرفی کلاس و زیرکلاس و نام ژنریک

Antimicrobial Class	Antimicrobial Subclass	Agents Included; Generic Names
Aminocyclitols		Spectinomycin Trospectinomycin
Aminoglycosides		Amikacin Gentamicin Kanamycin Netilmicin Streptomycin Tobramycin
Ansamycins		Rifampin
Folate pathway inhibitors		Iclaprim Sulfonamides Trimethoprim Trimethoprim-sulfamethoxazole
Fosfomycins		Fosfomycin
Glycopeptides	Glycopeptide	Vancomycin
	Lipoglycopeptide	Dalbavancin Oritavancin Teicoplanin Telavancin
Glycylcyclines		Tigecycline
Ketolides		Telithromycin
Lincosamides		Clindamycin
Lipopeptides		Daptomycin
	Polymyxins	Colistin Polymyxin B
Macrocyclic		**Fidaxomicin**
Macrolides		Azithromycin Clarithromycin Dirithromycin Erythromycin
Nitrofurans		Nitrofurantoin
Nitroimidazoles		Metronidazole
Oxazolidinones		Linezolid
Phenicols		Chloramphenicol
Pseudomonic acid		Mupirocin
Quinolones	Quinolone	Cinoxacin Garenoxacin Nalidixic acid
	Fluoroquinolone	Besifloxacin Ciprofloxacin Clinafloxacin Enoxacin Fleroxacin Gatifloxacin Gemifloxacin Grepafloxacin Levofloxacin Lomefloxacin Moxifloxacin Norfloxacin Ofloxacin Sparfloxacin Trovafloxacin Ulifloxacin (prulifloxacin)
Streptogramins		Linopristin-flopristin Quinupristin-dalfopristin
Tetracyclines		Doxycycline Minocycline Tetracycline

واژه‌نامهٔ II. اختصارات/ نحوهٔ تجویز/ کلاس دارو برای عوامل ضدمیکروبی فهرست‌شده در M100-S21

Antimicrobial Agent	Agent Abbreviation[a]	Routes of Administration[b]				Drug Class
		PO	IM	IV	Topical	
Amikacin	AN, AK, Ak, AMI, AMK		X	X		Aminoglycoside
Amoxicillin	AMX, Amx, AMOX, AC	X				Penicillin
Amoxicillin-clavulanic acid	AMC, Amc, A/C, AUG, Aug, XL, AML	X				β-Lactam/β-lactamase inhibitor
Ampicillin	AM, Am, AMP	X	X	X		Penicillin
Ampicillin-sulbactam	SAM, A/S, AMS, AB			X		β-Lactam/β-lactamase inhibitor
Azithromycin	AZM, Azi, AZI, AZ	X		X		Macrolide
Azlocillin	AZ, Az, AZL		X	X		Penicillin
Aztreonam	ATM, AZT, Azt, AT, AZM			X		Monobactam
Besifloxacin	BES				X	Fluoroquinolone
Carbenicillin (indanyl salt) Carbenicillin	CB, Cb, BAR	X	 X	 X		Penicillin
Cefaclor	CEC, CCL, Cfr, FAC, CF	X				Cephem
Cefadroxil	CFR, FAD	X				Cephem
Cefamandole	MA, CM, Cfm, FAM		X	X		Cephem
Cefazolin	CZ, CFZ, Cfz, FAZ, KZ		X	X		Cephem
Cefdinir	CDR, Cdn, DIN, CD, CFD	X				Cephem
Cefditoren	CDN	X				Cephem
Cefepime	FEP, Cpe, PM, CPM		X	X		Cephem
Cefetamet	CAT, FET	X				Cephem
Cefixime	CFM, FIX, Cfe, IX	X				Cephem
Cefmetazole	CMZ, CMZS, CMT		X	X		Cephem
Cefonicid	CID, Cfc, FON, CPO		X	X		Cephem
Cefoperazone	CFP, Cfp, CPZ, PER, FOP, CP		X	X		Cephem
Cefotaxime	CTX, TAX, Cft, FOT, CT		X	X		Cephem
Cefotetan	CTT, CTN, Ctn, CTE, TANS, CN		X	X		Cephem
Cefoxitin	FOX, CX, Cfx, FX		X	X		Cephem
Cefpodoxime	CPD, Cpd, POD, PX	X				Cephem
Cefprozil	CPR, CPZ, FP	X				Cephem
Ceftaroline	CPT			X		Cephem
Ceftazidime	CAZ, Caz, TAZ, TZ		X	X		Cephem
Ceftibuten	CTB, TIB, CB	X				Cephem
Ceftizoxime	ZOX, CZX, CZ, Cz, CTZ, TIZ		X	X		Cephem
Ceftobiprole	BPR			X		Cephem
Ceftriaxone	CRO, CTR, FRX, Cax, AXO, TX		X	X		Cephem
Cefuroxime (oral) Cefuroxime (parenteral)	CXM, CFX, ROX, Crm, FUR, XM	X	 X	 X		Cephem
Cephalexin	CN, LEX, CFL	X				Cephem
Cephalothin	CF, Cf, CR, CL, CEP, CE, KF			X		Cephem

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد ⟵

ادامهٔ جدول واژه‌نامهٔ II صفحهٔ قبل

Antimicrobial Agent	Agent Abbreviation[a]	Routes of Administration[b]				Drug Class
		PO	IM	IV	Topical	
Cephapirin	CP, HAP		X	X		Cephem
Cephradine	RAD, CH	X				Cephem
Chloramphenicol	C, CHL, CL	X		X		Phenicol
Cinoxacin	CIN, Cn	X				Quinolone
Ciprofloxacin	CIP, Cp, CI	X		X		Fluoroquinolone
Clarithromycin	CLR, CLM, CLA, Cla, CH	X				Macrolide
Clinafloxacin	CFN, CLX, LF	X		X		Fluoroquinolone
Clindamycin	CC, CM, CD, Cd, CLI, DA	X	X	X		Lincosamide
Colistin	CL, CS, CT			X		Lipopeptide
Dalbavancin	DAL			X		Glycopeptide
Daptomycin	DAP			X		Lipopeptide
Dicloxacillin	DX, DIC	X				Penicillin
Dirithromycin	DTM, DT	X				Macrolide
Doripenem	DOR			X		Carbapenem
Ertapenem	ETP		X	X		Carbapenem
Erythromycin	E, ERY, EM	X		X		Macrolide
Faropenem	FAR, FARO	X				Penem
Fidaxomicin	**FDX**	**X**				**Macrocyclic**
Fleroxacin	FLE, Fle, FLX, FO	X		X		Fluoroquinolone
Fosfomycin	FOS, FF, FO, FM	X				Fosfomycin
Garenoxacin	GRN	X		X		Quinolone
Gatifloxacin	GAT	X		X		Fluoroquinolone
Gemifloxacin	GEM	X				Fluoroquinolone
Gentamicin Gentamicin synergy	GM, Gm, CN, GEN GM500, HLG, Gms		X	X		Aminoglycoside
Grepafloxacin	GRX, Grx, GRE, GP	X				Fluoroquinolone
Iclaprim	ICL			X		Folate pathway inhibitor
Imipenem	IPM, IMI, Imp, IP			X		Carbapenem
Kanamycin	K, KAN, HLK, KM		X	X		Aminoglycoside
Levofloxacin	LVX, Lvx, LEV, LEVO, LE	X		X		Fluoroquinolone
Linezolid	LNZ, LZ, LZD	X		X		Oxazolidinone
Linopristin-flopristin	LFE	X				Streptogramin
Lomefloxacin	LOM, Lmf	X				Fluoroquinolone
Loracarbef	LOR, Lor, LO	X				Cephem
Mecillinam	MEC	X				Penicillin
Meropenem	MEM, Mer, MERO, MRP, MP			X		Carbapenem
Methicillin	DP, MET, ME, SC		X	X		Penicillin
Metronidazole	**MTZ**	**X**		**X**		**Nitroimidazole**
Mezlocillin	MZ, Mz, MEZ		X	X		Penicillin
Minocycline	MI, MIN, Min, MN, MNO, MC, MH	X		X		Tetracycline
Moxalactam	MOX		X	X		Cephem
Moxifloxacin	MXF	X		X		Fluoroquinolone
Mupirocin	MUP, MOP, MU				X	Pseudomonic acid
Nafcillin	NF, NAF, Naf		X	X		Penicillin
Nalidixic acid	NA, NAL	X				Quinolone
Netilmicin	NET, Nt, NC		X	X		Aminoglycoside
Nitrofurantoin	F/M, FD, Fd, FT, NIT, NI, F	X				Nitrofurantoin
Norfloxacin	NOR, Nxn, NX	X				Fluoroquinolone
Ofloxacin	OFX, OFL, Ofl, OF	X	X	X		Fluoroquinolone
Oritavancin	ORI			X		Lipoglycopeptide
Oxacillin	OX, Ox, OXS, OXA	X	X	X		Penicillin

ادامهٔ جدول صفحهٔ بعد

ادامهٔ جدول واژه‌نامهٔ II صفحهٔ قبل

Antimicrobial Agent	Agent Abbreviation[a]	Routes of Administration[b]			Drug Class
		PO	IM	IV	
Penicillin	P, PEN, PV	X	X	X	Penicillin
Piperacillin	PIP, PI, PP, Pi		X	X	Penicillin
Piperacillin-tazobactam	TZP, PTZ, P/T, PTc			X	β-Lactam/β-lactamase inhibitor combination
Polymyxin B	PB			X	Lipopeptide
Quinupristin-dalfopristin	SYN, Syn, QDA, RP			X	Streptogramin
Razupenem	RZM			X	Carbapenem
Rifampin	RA, RIF, Rif, RI, RD	X		X	Ansamycin
Sparfloxacin	SPX, Sfx, SPA, SO	X			Fluoroquinolone
Spectinomycin	SPT, SPE, SC		X	X	Aminocyclitol
Streptomycin Streptomycin synergy	S, STR, StS, SM, ST2000, HLS		X	X	Aminoglycoside
Sulfonamides	SSS, S3	X		X	Folate pathway antagonist (some PO only)
Sulopenem	SLP, SULO	X		X	Penem
Teicoplanin	TEC, TPN, Tei, TEI, TP, TPL		X	X	Glycopeptide
Telavancin	TLV			X	Glycopeptide
Telithromycin	TEL	X			Ketolide
Tetracycline	TE, Te, TET, TC	X		X	Tetracycline
Ticarcillin	TIC, TC, TI, Ti		X	X	Penicillin
Ticarcillin-clavulanic acid	TIM, Tim, T/C, TCC, TLc			X	β-Lactam/β-lactamase inhibitor
Tigecycline	TGC			X	Glycylcycline
Tobramycin	NN, TM, TO, To, TOB		X	X	Aminoglycoside
Trimethoprim	TMP, T, TR, W	X			Folate pathway inhibitor
Trimethoprim-sulfamethoxazole	SXT, SxT, T/S, TS, COT	X		X	Folate pathway inhibitor
Trospectinomycin			X	X	Aminocyclitol
Trovafloxacin	TVA, Tva, TRV, TV	X		X	Fluoroquinolone
Ulifloxacin (prulifloxacin)	PRU	X			Fluoroquinolone
Vancomycin	VA, Va, VAN	X		X	Glycopeptide

Abbreviations: PO = per OS (oral); IM = intramuscular; IV = intravenous.

a اختصاراتی که به یک یا بیش از یکی از فراورده‌های تشخیصی در ایالات متحده اختصاص دارد. اگر فراورده‌ای موجود نباشد، نام اختصاری خاص تولیدکننده است.

b در دسترس در ایالات متحده.

واژه‌نامهٔ III. فـهرست اختصارات یکسان استفاده‌شـده برای بیش از یک عامل ضدمیکروبی در محصولات تشخیصی ایالات متحده

Agent Abbreviation	Antimicrobial Agents for Which Respective Abbreviation Is Used
AZM	Azithromycin, Aztreonam
AZ	Azithromycin, Azlocillin
CB, Cb	Ceftibuten, Carbenicillin
CFR, Cfr	Cefaclor, Cefadroxil
CF, Cf	Cefaclor, Cephalothin
CM	Clindamycin, Cefamandole
CFM, Cfm	Cefixime, Cefamandole
CZ, Cz	Ceftizoxime, Cefazolin
CD, Cd	Clindamycin, Cefdinir
CPZ	Cefprozil, Cefoperazone
CP, Cp	Cephapirin, Cefoperazone, Ciprofloxacin
CN, Cn	Cephalexin, Cefotetan, Cinoxacin, Gentamicin
CFX, Cfx	Cefoxitin, Cefuroxime
CL	Cephalothin, Chloramphenicol
CH	Clarithromycin, Cephradine
DX	Doxycycline, Dicloxacillin
FO	Fleroxacin, Fosfomycin
SC	Spectinomycin, Methicillin
SO	Sparfloxacin, Oxacillin
TC	Tetracycline, Ticarcillin