



جزوه ی ۵

بakteri شناسی هنری

ویژه آزمون فلوشیپ علوم آزمایشگاهی و بورداپاتولوژی

تالیف: دکتر امید عزیزی

 @dr_yazdandoustgroup

 @heamato

 09107434515

 <http://yazdandoustgr.ir>



جزوه باکتری شناسی پزشکی کتاب هنری

ویژه آزمون دوره تکمیلی تخصصی علوم آزمایشگاهی

دکتر امید عزیزی

دانشیار باکتری شناسی پزشکی

پیشگفتار

در عصر حاضر، موفقیت در آزمون‌های تخصصی و دوره‌های پیشرفته تحصیلی، نیازمند منابع آموزشی جامع و بهینه است. با توجه به اهمیت روزافزون علوم آزمایشگاهی در تشخیص و درمان بیماری‌ها، آماده‌سازی داوطلبان برای آزمون دوره تکمیلی تخصصی علوم آزمایشگاهی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در راستای تحقق این هدف مهم، جزوه حاضر با دقت و حساسیت علمی فراوان، از ترجمه، دسته‌بندی و سازماندهی فصول مرتبط به باکتری‌شناسی (شامل فصل‌های ۵۷، ۵۸، ۵۹، ۶۱، ۶۲ و ۶۳) از پارت ۷ کتاب معتبر "HENRY'S CLINICAL DIAGNOSIS AND MANAGEMENT BY LABORATORY METHODS" تهیه شده است. این اثر با رعایت اصول علمی و آموزشی، به گونه‌ای طراحی شده که ضمن حفظ جامعیت، سهولت یادگیری را نیز برای مخاطبان فراهم آورد.

ویژگی‌های برجسته این جزوه عبارتند از:

- پوشش کامل و دقیق تمامی مباحث مربوط به فصول باکتری‌شناسی کتاب مرجع هنری
- ساختار منسجم و سازمان‌یافته برای تسهیل فرآیند یادگیری و به خاطر سپاری مطالب
- ترجمه دقیق و روان تمامی جداول و تصاویر، همراه با توضیحات تکمیلی
- ارائه مطالب به زبانی ساده و قابل فهم، بدون از دست دادن محتوای علمی آن

این جزوه به گونه‌ای طراحی شده که داوطلبان بدون نیاز به مراجعه مستقیم به کتاب اصلی و صرف زمان زیاد برای مطالعه متون پیچیده، بتوانند به طور کامل نیازهای علمی خود را در زمینه باکتری‌شناسی کتاب مذکور برآورده سازند. علاوه بر داوطلبان آزمون دوره تکمیلی تخصصی علوم آزمایشگاهی، این منبع می‌تواند برای دانشجویان مقاطع کارشناسی ارشد و دکترای رشته‌های مرتبط با میکروبیولوژی، باکتری‌شناسی، و سایر رشته‌های پزشکی و پیراپزشکی نیز مفید واقع شود.

از آنجا که بهبود مستمر، اساس پیشرفت علمی است، از تمامی خوانندگان گرامی دعوت می‌شود با ارائه نظرات، پیشنهادات و انتقادات سازنده خود، اینجانب را در ارتقای کیفی و کمی این اثر یاری رسانند. بی‌شک، بازخورد ارزشمند شما می‌تواند نقش بسزایی در بهبود این منبع آموزشی و خدمت‌رسانی بهتر به جامعه علمی کشور ایفا کند.

امید است این تلاش علمی، گامی مؤثر در مسیر موفقیت تحصیلی و حرفه‌ای شما عزیزان باشد و به ارتقای سطح دانش و مهارت‌های شما در حوزه علوم آزمایشگاهی بیفزاید. بی‌تردید، پیشرفت شما در این عرصه، به معنای ارتقای سطح خدمات بهداشتی و درمانی کشور و در نهایت، سلامت جامعه خواهد بود. در پایان، ضمن قدردانی از اعتماد شما به این اثر، لازم به یادآوری است که با توجه به تلاش‌های گسترده صورت گرفته در تهیه و تدوین این جزوه، هرگونه کپی‌برداری یا تکثیر بدون اجازه، علاوه بر پیگرد قانونی، از منظر اخلاقی و شرعی نیز ناپسند بوده و موجب مسئولیت معنوی و دین‌اخروی خواهد شد. امید است خوانندگان گرامی با رعایت حقوق معنوی این اثر، در حفظ و صیانت از دستاوردهای علمی کشور مشارکت فعال داشته باشند. با آرزوی توفیق الهی و کامیابی برای تمامی پویندگان راه علم و دانش

دکتر امید عزیزی

دانشیار باکتری‌شناسی پزشکی

Azizi-omid@outlook.com

Tel: 09038995905

فهرست مطالب

۸	فصل ۱: باکتری شناسی پزشکی
۹	پردازش نمونه
۱۲	کوکسی های گرم مثبت
۱۲	۱- استافیلوکوک
۱۶	۲- استرپتوکوکوس و انتروکوکوس
۲۴	۳- جیملا و آئروکوکوس
۲۶	باکتری های میله ای گرم مثبت
۲۶	۱- کورینه باکتریوم و آرکانوباکتریوم
۲۸	۲- لیستریا
۳۱	۳- اریزیپلوتریکس
۳۲	۴- باسیلوس
۳۵	۵- نوکاردیا
۳۷	۶- سایر اکتینومیسست های هوازی
۳۹	باکتری های گرم منفی - کوکسی ها
۳۹	۱- نایسریا
۴۴	۲- موراکسلا کاتارالیس
۴۵	باکتری های گرم منفی - میله ای (باسیلی)
۴۵	۱- انتروباکتریال ها (خانواده انتروباکتریاسه)
۴۹	۲- پلزیوموناس
۵۰	باکتری های گرم منفی - باسیل های غیر تخمیری
۵۰	۱- سودوموناس
۵۱	۲- اسینتوباکتر
۵۲	۳- بورخولدريا
۵۳	۴- استنوتروفوموناس مالتوفیلیا
۵۴	۵- سایر باسیل های گرم منفی غیر تخمیری
۵۵	ویبریو
۵۶	آئروموناس
۵۷	کمپیلوباکتر و آرکوباکتر
۵۹	هلیکوباکتر
۶۱	هموفیلوس
۶۳	باکتری های گرم منفی - گروه HACEK
۶۴	۱- اگریگاتی باکتر (هموفیلوس) آفروفیلوس
۶۵	۲- اگریگاتی باکتر
۶۵	۳- کاردیوباکتریوم هومینیس
۶۶	۴- آیکنلا
۶۶	۵- کینگلا
۶۷	باکتری های گرم منفی متفرقه
۶۷	۱- لژیونلا
۶۹	۲- بوردتلا
۷۱	۳- بروسلا

۷۴	۴-پاستورلا
۷۵	۵-فرانسیسلا تولارنسیس
۷۶	۶-گاردنرلا
۷۷	۶-کاپنوسیتوفاگا
۷۸	۷-کلبسیلا گرانولوماتیس (کالیماتوباکتریوم گرانولوماتیس)
۷۹	۸-استرپتوباسیلوس
۸۰	باکتری‌های بی‌هوازی
۹۲	فصل ۲: آزمایش عوامل ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی
۹۴	ملاحظات فنی در آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی
۹۷	روش‌های مهمی برای آزمایش حساسیت
۱۰۱	آزمایش‌های باکتری‌کشی (باکتری‌سیدال)
۱۰۴	سیستم‌های خودکار تجاری برای آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی
۱۰۶	روش‌های مولکولی و جدیدتر تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی
۱۲۶	موارد نیاز به آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی
۱۲۷	انتخاب آنتی‌بیوتیک‌ها برای آزمایش
۱۲۹	انتخاب آنتی‌بیوتیک‌ها برای گزارش‌دهی
۱۳۰	گزارش‌های تجمعی حساسیت ضد میکروبی
۱۳۲	فصل ۳: مایکوباکتریوم
۱۳۲	کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس
۱۳۶	مایکوباکتری‌های غیر سلی
۱۴۴	آزمایش‌های تشخیص عفونت نهفته سل
۱۴۶	تشخیص آزمایشگاهی عفونت‌های مایکوباکتریایی
۱۶۰	فصل ۴: عفونت‌های اسپیروکتی
۱۶۱	ترپونما
۱۶۲	بیماری ترپونمال کلاسیک
۱۷۵	سایر بیماری‌های ترپونمی
۱۷۶	لپتوسپیرا
۱۷۸	بورلیا
۱۹۲	عوامل اسپیروکتوز روده‌ای
۱۹۴	فصل ۵: عفونت‌های کلامیدیایی و مایکوپلاسمایی
۱۹۴	کلامیدیا
۱۹۴	عفونت‌های کلامیدیایی
۱۹۶	۱-کلامیدیا تراکوماتیس
۲۰۰	۲-کلامیدوفیلا سیتاکی
۲۰۲	۳-کلامیدوفیلا پنومونیه
۲۰۷	عفونت‌های مایکوپلاسمایی و اوره‌پلاسمایی
۲۰۷	۱-مایکوپلازما پنومونیه
۲۱۰	۲-مایکوپلازما‌های تناسلی
۲۱۵	فصل ۶: ریکتزیا و سایر باکتری‌های داخل سلولی مرتبط
۲۱۵	عفونت‌های ریکتزایی
۲۱۷	۱-عفونت‌های ناشی از ارگانیسم‌های جنس ریکتزیا

- ۲- تیفوس اسکراب (بوته‌زار) ناشی از اورینتیا تسوتسوگاموشی ۲۲۶
- ۳- عفونت‌های ناشی از جنس‌های ارلیشیا و آناپلاسما ۲۲۹
- ۴- عفونت‌های ناشی از کوکسیلا بورنتی ۲۳۵

دکتر عزیزی (گروه آموزشی دکتر یزدان دوست)

میکروب شناسی پزشکی

دکتر عزیزی (گروه آموزشی دکتر یزدان دوست)

فصل ۱: باکتری شناسی پزشکی

نکات کلیدی فصل

- دسته‌بندی باکتری‌ها:
 - باکتری‌ها بر اساس موارد زیر طبقه‌بندی می‌شوند:
 - واکنش به رنگ آمیزی گرم (گرم مثبت یا گرم منفی)
 - شکل (کوکسی، باسیل، کوکوباسیل، اسپیروکت)
 - محیط ترجیحی (هوازی، میکرواُتروفیل، بی‌هوازی)
 - وجود یا عدم وجود اسپور
 - شناسایی باکتری‌ها بر اساس موارد زیر است:
 - آزمایش‌های بیوشیمیایی کلیدی
 - اجزای آنتی‌ژنی (مانند آنتی‌ژن‌های دیواره سلولی، توکسین‌ها)
 - ویژگی‌های مولکولی (شامل آزمایش‌های مبتنی بر اسید نوکلئیک و تشخیص پروتئومیک)
- باکتری‌های گرم مثبت کوکسی:
 - مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی و عفونت‌های شایع ناشی از آن‌ها:
 - استافیلوکوکوس اورئوس: عفونت‌های پوست و بافت نرم، باکتری، آرتريت عفونی
 - استرپتوکوکوس پایونز: گلودرد و عوارض غیرچرکی آن، عفونت‌های پوست و بافت نرم
 - استرپتوکوکوس آگلالتیه: باکتری و مننژیت نوزادان
 - استرپتوکوکوس پنومونیه: پنومونی اکتسابی از جامعه، مننژیت
 - انتروکوکوس فکاليس و انتروکوکوس فاسیوم: عفونت‌های بیمارستانی دستگاه ادراری و باکتری
 - مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی و عفونت‌های شایع ناشی از آن‌ها:
 - لیستریا مونوسیتوژنز: مننژیت، باکتری
 - گونه‌های نوکاردیا: پنومونی، عفونت‌های بافت نرم، آبسه مغزی
 - باسیلوس آنتراکس: عفونت‌های پوست و بافت نرم، پنومونی (عامل بیوتروریسم)
 - کورینه‌باکتریوم دیفتری: دیفتری (به ندرت در آزمایشگاه‌های بالینی آمریکا مشاهده می‌شود)
- باکتری‌های گرم منفی کوکسی:
 - مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی و عفونت‌های شایع ناشی از آن‌ها:
 - نایسریا مننژیتیدیس: مننژیت
 - نایسریا گونوره‌آ: سوزاک
 - موراکسلا کاتاراليس: عفونت‌های دستگاه تنفسی فوقانی و تحتانی
 - شامل موارد زیر هستند:
 - انتروباکتریال‌ها (بسیاری از آن‌ها فلور طبیعی دستگاه گوارش هستند)
 - باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیری (مانند سودوموناس آئروژینوزا و اسینتوباکتر بومانی)
 - ارگانیسم‌های هالوفیل (گونه‌های ویبریو)
 - باکتری‌های میکرواُتروفیل (کمپیلوباکتر، هلیکوباکتر)
 - ارگانیسم‌های سخت‌رشد (گونه‌های لژیونلا، گونه‌های بوردتلا، فرانسیسلا تولارنسیس، گونه‌های بروسلا، گونه‌های هموفیلوس)
 - باکتری‌های متفرقه که به ندرت مشاهده می‌شوند
 - مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی در میان انتروباکتریال‌ها و عفونت‌های شایع ناشی از آن‌ها:
 - اشریشیا کلی: عفونت دستگاه ادراری، اسهال، باکتری
 - کلبسیلا پنومونیه و کلبسیلا اکسی‌توکا: عفونت دستگاه ادراری، پنومونی، باکتری
 - گونه‌های پروتئوس: عفونت دستگاه ادراری، عفونت‌های زخم
 - گونه‌های سالمونلا: اسهال، تب تیفوئید

- گونه‌های شیگلا: اسهال
- گونه‌های انتروباکتر: پنومونی بیمارستانی، عفونت دستگاه ادراری، باکتری

• باکتری‌های بی‌هوازی:

- مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی و عفونت‌های شایع ناشی از آن‌ها:
- گروه باکترئیدس فراژیلیس: عفونت‌های داخل شکمی، آبسه‌ها
- گونه‌های کلستریدیوم:
- کلستریدیوم پرفرنزئس: عفونت‌های بافت نرم، مسمومیت غذایی
- کلستریدیوم تتانی: کزاز
- کلستریدیوئیدس دیفیسیل: اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک
- بی‌هوازی‌های گرم مثبت غیراسپوردار:
- اکتینومایسس اسرائیلی
- کوئی باکتریوم آکنس

• فلور باکتریایی طبیعی و نمونه‌گیری:

- در نمونه‌های بالینی، تنوع زیادی از گونه‌های باکتریایی قابل مشاهده است.
- برای ارزیابی اهمیت بالینی ارگانیسیم‌ها، درک فلور باکتریایی طبیعی در مکان‌های آناتومیک مختلف ضروری است.
- تعداد ارگانیسیم‌ها در برخی نقاط بدن می‌تواند بسیار زیاد باشد، مثلاً:
- 10^6 ارگانیسیم در هر سانتی‌متر مربع پوست
- 10^9 ارگانیسیم در هر میلی‌لیتر ترشحات دهانی
- 10^{11} ارگانیسیم در هر گرم محتویات روده
- گرفتن نمونه با حداقل آلودگی از فلور طبیعی مهم است، اگرچه این کار دشوار است و نیاز به پیروی از روش‌های مناسب دارد.

پردازش نمونه

رنگ‌آمیزی گرم

• جایگاه رنگ‌آمیزی گرم:

- رنگ‌آمیزی گرم یکی از ارزشمندترین روش‌ها در آزمایشگاه میکروبیولوژی است.
- نتیجه رنگ‌آمیزی گرم به سرعت اطلاعاتی را برای انتخاب درمان آنتی‌بیوتیکی مناسب فراهم می‌کند.
- این روش به ارزیابی کیفیت نمونه و میزان بررسی ارگانیسیم‌های کشت شده کمک می‌کند.
- به ارگانیسیم‌هایی که در مقادیر زیاد در نمونه‌های حاوی گلبول‌های سفید فراوان وجود دارند، توجه بیشتری می‌شود.
- نتایج مثبت مشابه در چندین نمونه، اهمیت بالینی بیشتری دارد.
- روش تهیه اسمیر برای رنگ‌آمیزی:
- برای تهیه اسمیر، از بخش چرکی یا خونی نمونه استفاده می‌شود.
- نمونه روی لام تمیز به صورت ضخیم و نازک قرار داده می‌شود.
- برای مایعات استریل بدن مانند مایع مغزی-نخاعی، از سانتریفیوژ سیتولوژی برای تغلیظ ۱۰ تا ۱۰۰ برابری نمونه استفاده می‌شود.
- نمونه در هوا خشک شده و با متانول یا حرارت ملایم فیکس می‌شود.
- سپس با معرف‌های گرم (کریستال ویوله، ید گرم، الکل و سافرانین) رنگ‌آمیزی می‌شود.
- تفسیر رنگ‌آمیزی گرم:
- باکتری‌های گرم مثبت رنگ بنفش کریستال ویوله را حفظ می‌کنند.
- باکتری‌های گرم منفی با متانول رنگ‌زدایی شده و با سافرانین به رنگ قرمز در می‌آیند.
- بررسی میکروسکوپی:

- ابتدا از عدسی کم‌قدرت برای مشاهده ساختارهای بزرگ استفاده می‌شود.
- سپس از لنز روغنی برای ارزیابی نوع باکتری‌ها استفاده می‌شود.
- برای دیدن یک ارگانیسم در هر میدان روغنی (×۱۰۰۰)، نیاز به ۱۰۵ ارگانیسم در هر میلی‌لیتر است.
- نحوه گزارش:
- اندازه، شکل و واکنش گرم ارگانیسم‌ها ارزیابی و گزارش می‌شود.
- گزارش باید توصیفی دقیق باشد، مثلاً به جای گزارش ساده کوکسی گرم مثبت، گزارش کوکسی گرم مثبت جفتی شبیه استرپتوکوک پنومونیه ارائه شود.
- گلبول‌های سفید و سلول‌های اپیتلیال سنگفرشی شمارش و گزارش می‌شوند.
- باکتری‌های داخل سلولی نیز گزارش می‌شوند.
- اهمیت تطابق نتایج رنگ‌آمیزی گرم با نتایج کشت:
 - این همبستگی برای بررسی کیفیت رنگ‌آمیزی و کشت مهم است.
 - می‌تواند به شناسایی ارگانیسم‌های غیرمعمول که نیازمند محیط کشت یا شرایط خاص هستند، کمک کند.
 - احتمال نتایج مثبت کاذب در رنگ‌آمیزی گرم را نشان می‌دهد.
 - می‌تواند راهنمایی برای استفاده از محیط‌های کشت اضافی باشد.
- سایر روش‌های رنگ‌آمیزی:
 - رنگ‌آمیزی آکریدین نارنجی برای بطری‌های کشت خون، مایع مغزی-نخاعی یا لایه لکوسیته استفاده می‌شود.
 - این روش، رنگ‌آمیزی فلورسنت سریع و گاهی حساس‌تری برای باکتری‌ها و قارچ‌ها است. در این روش، باکتری‌ها و قارچ‌ها فلورسانس نارنجی و سلول‌های پستانداران رنگ سبز نشان می‌دهند.
 - تفسیر دقیق این روش نیاز به تجربه دارد.
 - آماده‌سازی صحیح اسمیر برای جلوگیری از مواد سلولی اضافی مهم است.
- روش‌های سریع شناسایی پاتوژن‌ها در کشت خون مثبت:
 - تشخیص سریع برای بهبود نتایج درمانی سیستم اهمیت دارد.
 - روش‌های مختلفی مانند MALDI-TOF، هیبریداسیون درجا، هیبریداسیون میکروآرایه DNA و تکثیر اسید نوکلئیک از بطری‌های کشت خون مثبت استفاده می‌شود.
 - تکنولوژی رزونانس مغناطیسی امکان تشخیص مستقیم از نمونه خون بیمار بدون نیاز به انکوباسیون را فراهم می‌کند.
 - این روش‌ها از نظر تعداد پاتوژن‌های قابل تشخیص و آزمایش‌های حساسیت یا مقاومت انجام شده متفاوت هستند.

تکنیک‌های کشت

- انتخاب محیط کشت:
 - محیط‌های کشت برای فراهم کردن شرایط بهینه رشد پاتوژن‌های رایج در یک محل خاص یا نوع خاصی از نمونه انتخاب می‌شوند.
 - نیازهای رشد ویژه باکتری‌های مرتبط با نوع خاصی از عفونت در نظر گرفته می‌شود.
 - گاهی لازم است باکتری‌های بیماری‌زای خاص از جمعیت مخلوطی از فلور معمولی جدا شوند.
- انواع محیط‌های کشت:
 - علاوه بر آگار غنی شده استاندارد از محیط‌های انتخابی و افتراقی نیز استفاده می‌شوند.
 - آگار مکمل خون یک محیط رشد عمومی خوب است که می‌تواند عمل همولیتیک کلونی‌ها را روی گلبول‌های قرمز نشان دهد.
 - آنتی‌بیوتیک‌ها یا مواد شیمیایی می‌توانند برای ایجاد محیط انتخابی اضافه شوند.
- محیط‌های کشت اختصاصی:
 - آگار کولیسیتین-نالدیکسیک اسید (CNA) و آگار فنیل اتیل الکل (PEA) برای مهار رشد باسیل‌های گرم منفی و اجازه رشد به باکتری‌های گرم مثبت استفاده می‌شوند.
 - آگار شکلاتی با حرارت دادن خون و افزودن مکمل‌های ویتامینی ساخته می‌شود و محیطی غنی‌شده با همین (فاکتور X) و نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (فاکتور V) برای جداسازی گونه‌های هموفیلوس و سایر باکتری‌های سخت‌رشد فراهم می‌کند.

- آگار مک کانکی با استفاده از نمک‌های صفرای و رنگ، باسیل‌های گرم منفی را از گرم مثبت جدا می‌کند و همچنین کلونی‌ها را به لاکتوز مثبت و لاکتوز منفی تقسیم می‌کند.

• شرایط انکوباسیون:

- کشت‌های باکتریایی معمولاً در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌شوند.
- افزودن ۵٪ تا ۱۰٪ دی‌اکسید کربن (CO_2) ممکن است برای رشد برخی باکتری‌ها مانند نایسریا گونوره‌آ، هموفیلوس آنفلوانزا و استرپتوکوکوس پنومونیه ضروری یا تحریک‌کننده باشد.
- استثنائاتی برای افزودن CO_2 وجود دارد، مانند محیط‌های افتراقی و انتخابی که در آن‌ها تغییر pH (که می‌تواند توسط CO_2 اضافه شده تحت تاثیر قرار گیرد) برای تمایز انواع کلونی استفاده می‌شود (مانند زایلوز-لیزین-دئوکسی کولات [XLD] آگار، هکتون انتریک [HE] آگار).

• کشت باکتری‌های بی‌هوازی:

- برای بازیابی باکتری‌های بی‌هوازی، محیط کشت تلقیح شده باید به سرعت در محیط بی‌هوازی قرار گیرد.
- چندین نوع سیستم کشت بی‌هوازی وجود دارد:
 - جار بی‌هوازی: در آن آب به یک بسته تولیدکننده CO_2 و هیدروژن اضافه می‌شود و اکسیژن به کمک گلوله‌های (پلت) آلومینای پوشیده شده با پالادیوم به آب تبدیل می‌شود.
 - کیسه پلاستیکی شفاف: حاوی تولیدکننده گاز و کاتالیزور پالادیوم، طراحی شده برای نگهداری پلیت آگار (مانند Bio-Bag بی‌هوازی).
 - سیستم مبتنی بر تخلیه-جایگزینی خودکار برای کنترل محیط بی‌هوازی.
 - محفظه یا جعبه دستکش بی‌هوازی: محفظه‌ای بزرگ، شفاف و پلاستیکی که هواگیری شده و پر شده با مخلوط گازی عاری از اکسیژن شامل نیتروژن، هیدروژن و دی‌اکسید کربن است.
- نمونه‌ها، پلیت‌ها و لوله‌ها از طریق قفل تبادل گاز وارد یا خارج می‌شوند.
- شرایط بی‌هوازی توسط کاتالیزورهای پالادیوم و گاز هیدروژن در محفظه حفظ می‌شود.
- دستکاری‌ها با دستکش‌های نئوپرن متصل به دیواره یا از طریق سوراخ‌هایی با آستین‌های مهر و موم شده انجام می‌شود.
- دارای انکوباتورهای داخلی برای حفظ دمای انکوباسیون.

- مزایا و معایب سیستم‌های بی‌هوازی: همه سیستم‌ها در جداسازی باکتری‌های بی‌هوازی مهم بالینی از نمونه‌ها به یک اندازه مؤثر هستند.

• زمان‌بندی بررسی کشت‌های باکتریایی:

- کشت‌های معمولی: بررسی پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون.
- کشت‌های بی‌هوازی: بررسی پس از ۴۸ ساعت به دلیل رشد کندتر.
- محیط‌های جامد: نگهداری به مدت ۴۸ ساعت.
- محیط‌های مایع: نگهداری به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت اضافی.
- محیط‌های بی‌هوازی: انکوباسیون حداقل ۵ روز.

• گزارش‌دهی نتایج کشت:

- گزارش اولیه: پس از اولین بررسی کشت.
- به‌روزرسانی گزارش: با دریافت اطلاعات جدید.
- گزارش فوری برخی نتایج مهم است (مانند رنگ‌آمیزی گرم مثبت خون یا CSF یا جداسازی ارگانیسمی که به اقدامات کنترل عفونت نیاز دارد).
- گزارش نهایی: پس از تکمیل تمام کارهای مربوط به یک کشت.

باکتری‌های مهم پزشکی

کوکسی‌های گرم مثبت

۱- استافیلوکوک

ویژگی‌های عمومی

- مشخصات استافیلوکوکوس:

- استافیلوکوک‌ها باکتری‌های کروی شکل کاتالاز مثبت هستند که اغلب در خوشه‌های شبیه انگور دیده می‌شوند.
- این باکتری‌ها در شرایط هوازی و بی‌هوازی به خوبی رشد می‌کنند.
- آن‌ها ممکن است همولیز گلبول‌های قرمز خون و تولید رنگدانه‌های زرد یا نارنجی داشته باشند.
- رشد استافیلوکوک‌ها به راحتی روی پلئیت‌های آگار خون‌دار یا در انواع محیط‌های کشت مایع قابل تشخیص است.
- محیط انتخابی برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس حاوی ۷.۵٪ تا ۱۰٪ کلرید سدیم با مانیتول است.
- استافیلوکوکوس اورئوس از سایر گونه‌ها با تولید کواگولاز متمایز می‌شود.
- امروزه بسیاری از آزمایشگاه‌ها از آزمایش‌های PCR برای تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس در سواب‌های بینی و مستقیماً از کشت‌های خون مثبت استفاده می‌کنند.

تظاهرات بالینی و پاتوژنز

- استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند بخشی از فلور طبیعی پوست، چشم، دستگاه تنفسی فوقانی، دستگاه گوارش، مجرای ادرار و گاهی واژن باشد.
- عفونت می‌تواند از منبع درون‌زاد یا برون‌زاد ایجاد شود.
- عوامل مهم در ایجاد عفونت شامل: آسیب به سطوح مخاطی و پوستی، وجود اجسام خارجی یا ایمپلنت‌ها، بیماری‌های ویروسی قبلی، درمان آنتی‌بیوتیکی قبلی و بیماری‌های زمینه‌ای با نقص در ایمنی سلولی یا هومورال است.
- انواع عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس:
 - (۱) عفونت‌های پوستی مانند زرد زخم، فولیکولیت، ماستیت و عفونت زخم‌های جراحی
 - (۲) باکتری‌می (یکی از علل اصلی در بیماران بستری): ممکن است باعث اندوکاردیت شود، به ویژه در افراد با بیماری دریچه‌ای سمت چپ قلب و معتادان تزریقی
 - (۳) شایع‌ترین علت آبسه اپیدورال نخاعی و فلجیت چرکی داخل جمجمه‌ای
 - (۴) آبسه مغزی (معمولاً پس از تروما)
 - (۵) مننژیت (نادر، معمولاً پس از تروما به سر یا جراحی اعصاب)
 - (۶) بسیاری از موارد استئومیلیت و شایع‌ترین علت آرتریت سپتیک
 - (۷) پنومونی (به ندرت اکتسابی از جامعه، اما شایع در پنومونی بیمارستانی به علت آسپیراسیون ارگانیزم‌های اندوژن نازوفارنگس): عوامل مستعد کننده برای پنومونی استافیلوکوک شامل عفونت با ویروس آنفلوآنزای A، فیبروز کیستیک و نقص ایمنی است.
 - (۸) عفونت‌های مجاری ادراری (نادر، اما می‌تواند باعث پیلونفریت و آبسه‌های داخل کلیوی و اطراف کلیه شود)
- عوامل بیماری‌زایی استافیلوکوکوس اورئوس:
 - (۱) کپسول (در صورت وجود) خاصیت ضد فاگوسیتوزی دارد.
 - (۲) پپتیدوگلیکان‌های دیواره سلولی فعالیت شبه اندوتوکسین داشته و محرک آزادسازی سیتوکین‌ها، فعال شدن کمپلمان و تجمع پلاکت‌ها است.
 - (۳) پروتئین A در دیواره سلولی به علت توانایی آن در اتصال به قطعه Fc آنتی‌بادی IgG خاصیت ضد فاگوسیتوزی دارد.
 - (۴) پروتئین‌های سطحی دیگر به نام "اجزای سطحی میکروبی تشخیص‌دهنده مولکول‌های چسبنده ماتریکس" در توانایی کلونیزاسیون بافت‌های میزبان نقش دارند.
 - (۵) سوپرانتی‌ژن‌ها در سپسیس، اندوکاردیت و آسیب حاد کلیوی نقش دارند.

- توکسین‌ها و آنزیم‌های تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس:
 - TSST-1 مسئول سندرم شوک سمی است.
 - انتروتوکسین‌های A تا E مسئول مسمومیت غذایی استافیلوکوکی هستند.
 - توکسین‌های اکسفولیاتیو (لایه بردار) - یا توکسین‌های اپیدرمولیتیک A و B - باعث ارتیم و جدا شدن پوست مشابه سندرم شبه سوختگی پوست^۱ می‌شوند.
 - آنزیم‌هایی مانند پروتاز، لیپاز و هیالورونیداز به تخریب بافت و تسهیل گسترش عفونت کمک می‌کنند.
- بیماری‌های ناشی از توکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس:
 - سندرم شبه سوختگی پوست:
 - در نوزادان آلوده به سویه‌های تولیدکننده توکسین اکسفولیاتیو رخ می‌دهد.
 - با قرمزی پوست شروع شده و طی ۲ تا ۳ روز تاول‌های شل ایجاد می‌شود.
 - تاول‌ها پوسته می‌شوند و پس از ریزش مناطق برهنه باقی می‌ماند که نهایتاً بهبود می‌یابند.
 - مسمومیت غذایی استافیلوکوکی:
 - علائم شامل تهوع، استفراغ، دل‌پیچه و اسهال است.
 - ۱ تا ۶ ساعت پس از مصرف غذای آلوده به انتروتوکسین از پیش تشکیل شده رخ می‌دهد.
 - معمولاً توسط افرادی که غذا را آماده یا سرو می‌کنند به محصول غذایی منتقل می‌شود.
 - سندرم شوک توکسیک:
 - یک بیماری چند اندامی است که افراد فاقد آنتی‌بادی علیه TSST-1 را درگیر می‌کند.
 - توسط سویه‌های تولیدکننده TSST-1 یا به ندرت انتروتوکسین B یا C ایجاد می‌شود.
 - عمدتاً ناشی از طوفان سیتوکینی القا شده توسط سوپرانتی‌ژن و فعال‌سازی نوتروفیل‌ها توسط پروتئین M است.
 - منجر به نارسایی تنفسی، نشت عروقی و شوک می‌شود.
 - در زنان ۱۵ تا ۲۵ ساله که از تامپون استفاده می‌کنند، بیماران با زخم جراحی یا عفونت موضعی، و افرادی که جراحی بینی یا سینوس داشته‌اند رخ می‌دهد.
 - با تب ناگهانی، درد عضلانی، استفراغ و اسهال شروع می‌شود. سپس افت فشار خون، شوک هیپوولمیک و بثورات قرمز (معمولاً در کف دست و پا) ایجاد می‌شود. پوسته‌ریزی پوست طی ۱ تا ۲ هفته رخ می‌دهد.
 - تشخیص بالینی است و نیازی به جداسازی باکتری نیست.
 - معمولاً بهبودی کامل حاصل می‌شود، اما ممکن است دوره‌های تکراری رخ دهد.
- استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اگزاسیلین اکتسابی از جامعه (CA-MRSA):
 - در ۱۰ تا ۱۵ سال اخیر شیوع آن افزایش یافته است.
 - حاوی توکسین لوکوسیدین پنتون-والنتین (PVL^۳) است که در سویه‌های بیمارستانی استافیلوکوکوس اورئوس (HA-MRSA^۴) نادر است.
 - PVL مسئول عفونت‌های نکروزدهنده پوست و بافت نرم و گاهی پنومونی نکروزدهنده کشنده است.
 - گروه‌های در معرض خطر شامل کودکان درگیر در ورزش‌های تماسی و افراد در موسسات مانند زندان‌ها هستند.
 - سویه‌های CA-MRSA برخلاف MRSA^۵ بیمارستانی، اغلب به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های غیر بتا-لاکتام حساس است. سویه‌های HA-MRSA معمولاً به همه آنتی‌بیوتیک‌ها، به جز گلیکوپپتیدهایی مانند وانکومایسین مقاوم‌اند.
 - مکانیسم مقاومت به اگزاسیلین:
 - در هر دو نوع CA-MRSA و HA-MRSA مشابه و شامل حضور ژن *mecA* است.
 - *mecA* مسئول تولید یک پروتئین جدید متصل‌شونده به پنی‌سیلین (PBP-2a یا PBP-2') می‌باشد.

¹ Scalded skin syndrome.

² Community-acquired infection with *S. aureus* that are oxacillin resistant

³ Pantone-Valentine leukocidin toxin

⁴ Hospital-acquired strains of MRSA

⁵ Methicillin-resistant *S. aureus*

- کاست کروموزومی حاوی ژن *mecA* در *CA-MRSA* کوچک‌تر و متفاوت از *HA-MRSA* است.
- احتمال ترکیب سویه‌های *CA-MRSA* و *HA-MRSA* در آینده وجود دارد.
- همولوگ‌های ژن *mecA* مانند *mecC* نیز شناسایی شده‌اند که باعث تولید یک همولوگ *PBP2a* می‌شوند که تمایل بیشتری به اگزاسیلین نسبت به سفوکسیتین دارد.
- باکتری‌می استافیلوکوکوس اورئوس:
 - می‌تواند توسط سویه‌های سطح جامعه و بیمارستانی ایجاد شود.
 - عوامل خطر *CA-MRSA*: دیابت، بیماری مزمن کبد و HIV
 - عوامل خطر *HA-MRSA* (بیش از ۴۸ ساعت بستری): کاتتر ورید مرکزی، تومور جامد، نارسایی مزمن کلیه، بستری‌های قبلی و درمان آنتی‌بیوتیکی قبلی
 - عوامل خطر *HA-MRSA* (کمتر از ۴۸ ساعت بستری): بستری‌های قبلی، اقامت در مراکز مراقبت طولانی‌مدت و درمان با کورتیکواستروئید
- استافیلوکوک کواگولاز منفی (*CONS*):
 - معمولاً مرتبط با اجسام خارجی مانند دریچه‌های مصنوعی قلب، مفاصل و شنت‌های CSF هستند.
 - کمتر از استافیلوکوکوس اورئوس بیماری‌زا هستند، اما این امر بین گونه‌ها و سویه‌ها متفاوت است.
 - تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی با باکتری‌می مرتبط است و قابلیت چسبندگی باکتری با عفونت‌های مفصل مصنوعی ارتباط دارد.
 - از شایع‌ترین عوامل عفونت شنت CSF هستند و به ندرت در عفونت‌های ادراری، پنومونی یا عفونت‌های پوست و بافت نرم دخیل هستند.
 - بیش از ۲۰ گونه شناخته شده‌اند که استافیلوکوک اپیدرمیدیس شایع‌ترین آنهاست.
 - استافیلوکوک ساپروفیتیکوس عامل مهم باکتریوری در زنان جوان فعال از نظر جنسی است.
 - استافیلوکوک همولیتیکوس که در نمونه‌های بالینی پس از استافیلوکوک اپیدرمیدیس دومین رتبه را دارد، می‌تواند به ونکومایسین مقاوم باشد، در حالی که بیشتر گونه‌های *CONS* به این آنتی‌بیوتیک حساس‌اند.
 - استافیلوکوک لوگدوننسیس از نظر مورفولوژی شبیه استافیلوکوک اورئوس است، یک منطقه باریک همولیز بتا در پلیت‌های آگار خون ایجاد می‌کند و گاهی در آزمایش کواگولاز مثبت می‌شود. این گونه رفتار تهاجمی‌تری نسبت به سایر *CONS* دارد و می‌تواند عامل اندوکاردیت، استئومیلیت و عفونت‌های شدیدتر باشد.
 - تمایز استافیلوکوک لوگدوننسیس از سایر *CONS* مهم است زیرا معیارهای تفسیر نتایج حساسیت به اگزاسیلین (یا سفوکسیتین) برای آن متفاوت از اعضای *CONS* بوده و مشابه استافیلوکوک اورئوس است.

تشخیص آزمایشگاهی استافیلوکوک

- مشاهده میکروسکوپی کوکسی‌های گرم مثبت خوشه‌ای در نمونه‌های ضایعات بدون درناژ (باز نشده) یا کشت خون مثبت، نشان‌دهنده عفونت استافیلوکوکی است.
- تست کاتالاز:
 - تمام استافیلوکوک‌ها کاتالاز مثبت هستند.
 - این آنزیم پراکسید هیدروژن را به اکسیژن و آب تبدیل می‌کند و تولید حباب هنگام ترکیب کلونی باکتری با پراکسید هیدروژن، نشانه مثبت بودن این آزمایش است.
- تست کواگولاز:
 - استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز تولید می‌کند. کواگولاز آنزیمی است که فیبرینوژن پلاسما را به هم متصل می‌کند، این امر باعث آگلوتیناسیون باکتری‌ها یا لخته شدن پلاسما می‌شود. به ندرت سایر گونه‌های استافیلوکوک کواگولاز مثبت هستند.
 - انواع تست‌های تشخیصی کواگولاز:
 - (۱) تست اسلایدی کواگولاز:
 - بیش از ۹۵٪ ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس را شناسایی می‌کند.
 - آنزیم متصل به سلول (فاکتور لخته‌کننده) را تشخیص می‌دهد.
 - روش انجام: مخلوط کردن امولسیون غلیظ باکتری با پلاسما روی اسلاید شیشه‌ای.
 - نتیجه مثبت: تشکیل لخته در ۳۰ ثانیه.

- استافیلوکوکوس لوگدوننسیس و استافیلوکوکوس شلیفری نیز ممکن است نتیجه مثبت دهند.
- کنترل: مخلوط کردن کلونی مشکوک با سالین برای اطمینان از عدم خودآگلوتیناسیون.

۲) تست لوله‌ای کوآگولاز:

- تقریباً ۱۰۰٪ ایزوله‌ها را شناسایی می‌کند.
- کوآگولاز آزاد را تشخیص می‌دهد.
- روش انجام: انتقال چند کلونی به لوله حاوی پلاسما و انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتی‌گراد.
- بررسی تشکیل لخته پس از ۴ ساعت و در صورت عدم تشکیل لخته مجدداً پس از ۲۴ ساعت بررسی می‌شود.
- برخی سویه‌ها فیبرینولیزین تولید می‌کنند که می‌تواند لخته را تجزیه کند و باعث نتیجه منفی کاذب شود.
- استافیلوکوکوس اینترمدیوس و استافیلوکوکوس هایکوس نیز در این تست مثبت می‌شوند، اما عمدتاً پاتوژن حیوانات هستند.

• تست‌های آگلوتیناسیون لاتکس تجاری:

- برای شناسایی سریع استافیلوکوکوس اورئوس استفاده می‌شوند.
- پروتئین A و فاکتور لخته‌کننده را تشخیص می‌دهند.
- برخی پلی‌ساکارید کپسولی را نیز تشخیص می‌دهند که ممکن است شناسایی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین را بهبود بخشد.
- استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و استافیلوکوکوس سیوری^۱ و برخی میکروکوکوس‌ها نیز ممکن است در این تست مثبت شوند، اما باید در تست اسلایدی کوآگولاز منفی باشند.

• شناسایی گونه‌های استافیلوکوک کوآگولاز منفی:

- به جز استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس لوگدوننسیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، شناسایی سایر گونه‌ها در هر کشت ضروری نیست.
- شناسایی گونه ممکن است در موارد خاص مانند جداسازی مکرر از مناطق استریل، انجام تست حساسیت، رد استافیلوکوکوس لوگدوننسیس یا بررسی ارتباط بین ایزوله‌ها در یک بیمار لازم باشد.

- روش‌های شناسایی شامل کیت‌های تجاری، MALDI-TOF، آزمایش‌های بیوشیمیایی استاندارد یا آنالیز مولکولی RNA ریبوزومی 16S است.

• طبقه‌بندی سویه‌های استافیلوکوک برای اهداف اپیدمیولوژیک:

- روش‌های مختلف برای این منظور عبارتست از:
 - حساسیت به باکتریوفازهای مختلف
 - الگوهای پلاسمید
 - اسیدهای چرب سلولی
 - الکتروفورزس آنزیم‌های چندلوکوسی
 - تایپینگ مولکولی کروموزومی (الکتروفورز ژل پالس-فیلد و PCR تکراری)
- این آزمایش‌ها معمولاً فقط در آزمایشگاه‌های مرجع در دسترس هستند.

حساسیت ضد میکروبی

• مقاومت به پنی‌سیلین:

- بیش از ۹۰٪ استافیلوکوک‌ها به دلیل بتا-لاکتاماز کدشده توسط پلاسمید القایی، به پنی‌سیلین مقاوم هستند.
- برای تأیید حداقل غلظت مهارکننده (MIC) حساس به پنی‌سیلین، باید آزمایش لبه ناحیه انتشار دیسک پنی‌سیلین^۲ یا PCR برای ژن *blaZ* انجام شود.

• مقاومت به پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز:

- تا ۸۰٪ استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی و بیش از ۵۰٪ جدایه‌های (ایزوله‌های) استافیلوکوک اورئوس بیمارستانی به پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز (مثل متی‌سیلین، اگزاسیلین و نافسیلین) مقاوم هستند.
- مقاومت توسط ژن *mecA* که پروتئین اتصال پنی‌سیلین تغییر یافته (PBP2a) را کد می‌کند، ایجاد می‌شود.

¹ *S. sciuri*

² Penicillin disk diffusion zone edge test

- تشخیص مقاومت به اگزاسیلین با نشان دادن مقاومت به سفوکسیتین انجام می‌شود.
- برای تشخیص MIC اگزاسیلین، پلیت‌ها باید به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شوند تا مقاومت آشکار گردد.
- ژن *mecC* که همولوگ *mecA* است، می‌تواند با برخی از تست‌های مولکولی *mecA* شناسایی شود و در برخی آزمایشات به جای PBP2a نیز تشخیص داده شود.
- روش‌های تشخیص سریع مقاومت به اگزاسیلین:
 - (۱) تکثیر اسید نوکلئیک
 - (۲) آزمایش‌های پروب اسید نوکلئیک برای *mecA*
 - (۳) آزمایش‌های آگلوتیناسیون لاتکس برای PBP2a
- تشخیص مستقیم MRSA در نمونه‌های بالینی (مانند سواب بینی، کشت خون و زخم‌ها):
 - محیط‌های کشت کروموزنیک: نیاز به انکوباسیون شبانه دارند اما تشخیص آسان کلونی‌های رنگی خاص را که نشان‌دهنده حضور *mecA* است امکان‌پذیر می‌کنند. این محیط‌ها حساسیت کمتری نسبت به تست‌های مولکولی موجود دارند.
 - آزمایش‌های مولکولی: می‌توانند MRSA را مستقیماً در نمونه‌های بالینی تشخیص دهند.
- مقاومت القایی به کلیندامایسین:
 - مقاومت القایی ناشی از مکانیسم‌های مربوط به ژن‌های *erm* ممکن است در آزمایش‌های معمول حساسیت تشخیص داده نشود.
 - ژن *erm* باعث ایجاد مقاومت متقاطع به ماکرولیدها (مثل اریترومايسين) و استرپتوگرامین‌ها (کونیوپریستین-دالفوپریستین) می‌شود.
 - اگر ایزوله‌ای از استافیلوکوکوس اورئوس به اریترومايسين مقاوم و به کلیندامایسین حساس باشد، باید تست "D-zone" برای ارزیابی مقاومت القایی به کلیندامایسین استفاده شود.
 - در این تست، دیسک ۱۵ میکروگرم اریترومايسين و ۲ میکروگرم کلیندامایسین در فاصله ۱۵ میلی‌متری روی سطح یک پلیت آگار خون که با ایزوله مذکور تلقیح شده، قرار می‌گیرند. اگر مقاومت القایی وجود داشته باشد، محدوده ممانعت از رشد کلیندامایسین در سمت نزدیک به دیسک اریترومايسين تضعیف می‌شود و به شکل یک منطقه D ظاهر می‌شود.
- مقاومت به ونکومايسين:
 - به ندرت در استافیلوکوکوس اورئوس دیده می‌شود اما موضوعی جدی است.
 - ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس با حساسیت متوسط به ونکومايسين (VISA) دارای MIC در محدوده متوسط (۸-۴ میکروگرم/میلی‌لیتر) هستند.
 - مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC) توصیه می‌کند که تمامی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس که به ونکومايسين مقاوم هستند، برای تأیید به آزمایشگاه‌های بهداشت عمومی ارسال شوند.
- عوامل ضد میکروبی جدید:
 - داروهایی مانند کونیوپریستین/دالفوپریستین (استرپتوگرامین)، داپتومايسين (لیپوپپتید)، لینزولید، تلووانسین و سفتراولین فعالیت خوبی علیه استافیلوکوک‌های حساس و مقاوم دارند.
 - سفتراولین تنها سفالوسپورینی است که ایزوله‌های MRSA به آن حساس هستند.

۲- استرپتوکوکوس و انتروکوکوس

ویژگی‌های عمومی

- استرپتوکوک‌ها باکتری‌های کاتالاز منفی، گرم مثبت، کروی یا بیضی یا نیزه‌ای (لانسیت) شکل هستند و معمولاً به صورت جفت یا زنجیره‌ای دیده می‌شوند.
- بی‌هوازی اختیاری بوده و برخی سویه‌ها برای رشد اولیه به CO₂ اضافه‌شده نیاز دارند اما ممکن است این نیاز در کشت‌های بعدی (پاساژ)^۱ از بین برود.
- طبقه‌بندی استرپتوکوک‌ها:
 - (۱) استرپتوکوک‌ها بر اساس واکنش همولیتیک روی آگار خونی به سه دسته تقسیم می‌شوند:

¹ Subculture