**2. فلور طبیعی و بیماریزا**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل باکتری های فلور طبیعی و بیماریزای هر ناحیه** | |
| **کد سند:** | D-006-0002 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل های تفسیر کشت های مختلف بدن | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | {{ReviewDate}} | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **تصدیق و امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری | {{ConfirmerOneName}} | {{ConfirmerTwoName}} |

**(1) هدف:**

هدف از این دستورالعمل شناخت باکتری های فلور طبیعی و بیماریزای هر ناحیه بدن می باشد. این شناسایی در تفکیک باکتری های بیماریزای هر ناحیه بدن که باید کارهای تشخیصی و آنتی بیوگرام بر روی آن به انجام برسد از فلور طبیعی که معمولاً بجز در موارد خاص نیاز به تشخیص دقیق و آنتی بیوگرام ندارند دارای اهمیت ویژه ای می باشد و یکی از مهمترین کارهای بخش میکروب شناسی محسوب می شود.

**(2) تعاریف و اصطلاحات:**

**فلور طبیعی یا میکروبیوم** (Microbiome): میکروب‌های همزیست یا میکروارگانیسم هایی هستند که معمولاً بدون ایجاد بیماری روی ارگانیسم های زنده دیگر (انسان یا حیوان) یا جسم بی جان زندگی می کنند.

**(3) شرح دستورالعمل:**

* مهمترین باکتری های فلور طبیعی و آلوده کننده کشت ها شامل استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی به خصوص استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استرپتوکوکوس های غیر پاتوژن، میکروکوکوس، دیفتروئیدها، باسیلوس ها و لاکتوباسیلوس ها (در دستگاه ادراری) هستند. لیست کامل فلور طبیعی هر ناحیه بدن در جداول 1 تا 8 آمده اند.
* تشخیص دقیق این باکتری ها به طور کامل در دستورالعمل های قبلی آمدند. در زیر اشاره ای به خصوصیات اولیه و مهم برای شناسایی آنها شده است:

**استافیلوکوک های کواگولاز منفی:** کلنی های سفید رنگ متوسط، تست کاتالاز مثبت، لام گرم باکتری گرم مثبت کوکسی خوشه ای فرم، عدم همولیز در غالب سویه ها و عدم تشکیل پیگمان و تست کواگولاز لامی منفی.

**دیفتروئیدها:** کلنی های سفید رنگ متوسط و برخی کوچک، تست کاتالاز مثبت، لام گرم باکتری گرم مثبت باسیلی فرم به شکل اشکال چینی و پرنده در حال پرواز و باسیل های جهت دار نسبت به هم، عدم همولیز در غالب سویه ها و عدم تشکیل پیگمان.

**ميکروکوک:** کلنی رنگی متوسط، تست کاتالاز مثبت، لام گرم باکتری گرم مثبت کوکسی بیشتر به فرم دوتایی و تترادی، عدم همولیز در غالب سویه ها و تشکیل پیگمان زرد تا قرمز (کلنی زرد آن جیغ تر از کلنی های زرد رنگ استافیلوکوک آرئوس و بدون همولیز)، تست میکروداز مثبت و حساس به دیسک باسیتراسین. در کشت کهنه سریعاً دیواره خود را از دست داده و به صورت گرم منفی دیده شود.

**باسیلوسها:** کلنی درشت شبیه شیشه خورد شده یا شبیه پلاستیک چروک خورده در اثر حرارت، باسیل های گرم مثبت نسبتاً درشت، کاتالاز مثبت، اکثر باسیلوس های عامل آلودگی دارای همولیز بتا و حرکت مثبت هستند.

**لاکتوباسیلوس ها:** معمولاً فلور طبیعی واژینال، کلنی های شبیه استرپتوکوک ولی ریزتر معروف به کلنی های سر سوزنی و غالباً همولیز آلفا، لام گرم باسیل های باریک دراز حالت فیلامنت، کاتالاز منفی.

جدول 1. ارگانیسم های فلور طبیعی و بیماریزاهای غیرویروسی دستگاه تنفسی (نازوفارنکس و اوروفارنکس).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **فلور طبیعی که اکثراً حضور دارند** | **فلور طبیعی که گاهی حضور دارند (تصادفی)** | **بیماریزاهای اولیه** | **بیماریزاهای احتمالی** |
| **غالب ترین:**  استرپتوکوک های غیرهمولیتیک، استرپتوکوک های ویریدانس ( مانند استرپتوکوک میتیس و استرپتوکوک سالیواریوس)، استافیلوکوک های کواگولاز منفی و دیفتروئیدها  **بقیه**: استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک بتاهمولیتیک غیر گروه A، استرپتوکوک پیوژنز، باکتروئید، ویونلا، پرووتلا، فوزوباکتریوم، پورفیروموناس، نایسریاها، ایکنلاها، میکروکوکوسها، کاپنوسیتوفاگاها. گونه های کاندیدا. | هموفیلوس آنفولانزا، هموفیلوس پاراآنفلوانزا، پپتواسترپتوکوک، اکتینومیستها، استافیلوکوکوس اورئوس، مایکوپلاسما، گونه های سودوموناس و مایکوباکتریوم، بولخوردریا سپاسیا، اکتینومایسس، باسیل AA و اگریگاتی باکتر آفروفیلوس، انتروباکترالها از جمله کلبسیلا اوزنه | استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A، نایسریا مننژیتیدیس، نایسریا گونوره آ، بوردتلا پرتوسیس، مایکوباکتریوم کانزاسی، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، لژیونلا پنوموفیلا، کورینه باکتریوم دیفتریه مولد سم، مایکوپلاسما پنومونیه، کلامیدیا تراکوماتیس، کلامیدوفیلا پنومونیه و پنوموسیستیس جیرووسی و پنوموسیستیس کارینی | آسینتوباکترها، انتریک ها و سایر باسیل های گرم منفی، قارچ، نوکاردیا، استافیلوکوکوس اورئوس، هموفیلوس آنفولانزا، استرپتوکوک بتا همولیتیک غیر گروه A، موراکسلا کاتارالیس، بیهوازی ها، مایکوباکتریومها، اکتینومیست ها |

جدول 2. میکروارگانیسم های فلور روده و بیماریزاهای روده ای.

|  |  |
| --- | --- |
| **میکروارگانیسم های فلور طبیعی روده بزرگ و درصد حضور** | **بیهوازی های مطلق:**  **گرم منفی**: باکتریوئیدس فراژیلیس و گونه های دیگر آن (100)، فوزوباکتریوم (100)  **گرم مثبت**: لاکتوباسیل ها (60-20)، کلستریدیوم پرفرنجنس (35-25)، بقیه کلستریدیوم ها (35-1)، پپتواسترپتوکوک (معمول)، پپتوکوکوس (معمول)  **باسیل های گرم منفی:**  اشریشیاکلی (100)، کلبسیلا (80-40)، انتروباکتر (55-5)، پروتئوس (11-3)، سودوموناس آئروژینوزا و بقیه غیرتخمیریها (11-3)،  **کوکسی های گرم مثبت و قارچ:**  استافیلوکوکوس اورئوس (50-30)، انتروکوکوس (100)، استرپتوکوک ویریدانس و استرپتوکوک بتا همولیتیک (16-0)، کاندیدا آلبیکنس (30-15) |
| **فلور طبیعی روده باريک** | گونه های انتروکوک، لاکتوباسیل، گونه های کلستریدیوم، انتروباکتریاسه و مایکوباکتریوم ها |
| **فلور طبیعی مري و معده** | باکتری های زنده مانده از سیستم تنفسی فوقانی و غذاها، هلیکوباکتر پیلوری |
| **بیماریزاهای رایج درگیر در اسهال** | کمپیلوباکتر، سالمونلا، شیگلا، اشریشیاکلی انتروهموراژیک، کلستریدیوئیدس دیفیسیل، یرسینیا انتروکولیتیکا، انتامبا هیستولیتیکا، کریپتوسپوریدیوم، سیکلوسپورا، ژیاردیا لامبلیا و ویروسها |
| **بیماریزاهای غذائی (مسمومیت) و معده** | باسیلوس سرئوس، ویبریو پارهمولیتیکوس، استافیلوکوکوس اورئوس، کلستریدیوم پرفرنجنس، گونه های سالمونلا، هلیکوباکتر پیلوری |

جدول 3. میکروبیوتای بومی پوست و عوامل بیماریزا.

|  |  |
| --- | --- |
| **فلور طبیعی پوست** | **رایج ترین**: استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، کورینه باکتریوم و گونه های لاکتوباسیلوس و کوتی باکتریوم آکنه،  **کمتر رایج**: استافیلوکوکوس اورئوس، هموفیلوس آنفولانزا، موراکسلا کاتارالیس، انتروباکترال ها و انواع استرپتوکوکوس ها، گونه های کاندیدا و مالاسزیا فورفور *Malassezia furfur* |
| **بیماریزاهای پوست** | استافیلوکوکوس اورئوس، کوتی باکتریوم آکنه، مالاسزیا فورفور، گونه های کاندیدا، سودوموناس آئروجینوزا و فرانسیسلا تولارنزیس |
| **ارگانیسم های ایجاد کننده میوزیت یا موارد آسیب شناسی عضلانی دیگر** | کلستریدیوم پرفرنژنز، کلستریدیوم نوایی، کلستریدیوم سپتیکوم، کلستریدیوم هیستولیتیکوم، کلستریدیوم اسپوروژنز، پاراکلستریدیوم بیفرمنتاس، گونه های باسیلوس، گونه های آئروموناس، گونه های پپتواسترپتوکوک، استرپتوکوک های میکروآئروفیل، گونه های باکتروئید، انتروباکترال ها، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوک گروه A (استرپتوکوک پیوژنز)، گونه های سودوموناس، ویبریو ولنیفیکوس، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، سالمونلا انتریکا سروتیپ تیفی، گونه های لژیونلا، گونه های ریکتزیا. |
| **ارگانیسم هایی درگیر در عفونت های زخم بعد از عمل** | استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوک های کواگولاز منفی، انتروکوک، استرپتوکوک پیوژنز، گونه های سودوموناس، استرپتوکوک های گروه استرپتوکوک آنژینوسوس، استرپتوکوک های میکروآئروفیل، اشریشیاکلی و گونه های گروه پروتئیه (پروتئوس، مورگانلا و پروویدنسیا) و سایر انتروباکترال ها، گونه های کاندیدا، گونه های باکتروئید و بقیه بیهوازی ها شامل گونه های پریوتلا، پورفیروموناس، فوزوباکتریوم، پپتواسترپتوکوک، کلستریدیوم و باسیل های گرم منفی بیهوازی |

جدول 4. میکروبیوتای بومی چشم و عوامل بیماریزا.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **میکروارگانیسم های فلور طبیعی** | **پاتوژن های رایج** | **پاتوژن های احتمالی** |
| استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و گونه های لاکتوباسیلوس رایج ترین موجودات و کوتی باکتریوم آکنه، استافیلوکوکوس اورئوس در کمتر از 30 درصد افراد و هموفیلوس آنفولانزا 4/0٪ تا 25٪ افراد را کلونیزه. موراکسلا کاتارالیس، انتروباکترال های مختلف و انواع استرپتوکوکوس ها (استرپتوکوکوس پیوژنز، استرپتوکوکوس پنومونیه و انواع استرپتوکوکوس های گاما و آلفا همولیتیک) در درصد بسیار کمی از افراد. | استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس آنفولانزا و بقیه هموفیلوسها، کلامیدیا تراکوماتیس، نایسریا گونوره، استرپتوکوک پیوژنز، موراکسلا لاکوناتا و بقیه موراکسلاها، کورینه باکتریوم، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استرپتوکوک ویریدانس، انتروکوک فکالیس، باسیلوس، کلامیدیا تراکوماتیس، انتروباکتریالها، | کاپنوسیتوفاگا اکراسه، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و بقیه مایکوباکتریوم ها، اسپیروکتها، ترپونما پالیدوم، بورلیا بورگدورفری |

جدول 5. میکروبیوتای بومی گوش خارجی و عوامل بیماریزا.

|  |  |
| --- | --- |
| **میکروارگانیسم های فلور طبیعی** | **بیماریزاهای رایج** |
| پنوموکوک، کوتی باکتریوم آکنه، استافیلوکوک آرئوس و انتروباکترالها تا حدودی شایع تر و سودوموناس آئروجینوزا هم در مواردی یافت می شود. گونه های کاندیدا (غیر کاندیدا آلبیکنس) نیز شایع هستند. | استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پیوژنز، سودوموناس آئروژینوزا و سایر باسیل های گرم منفی، بیهوازی ها، استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس آنفولانزا، موراکسلا کاتارالیس |

جدول 6. فلور طبیعی بيني و عوامل بیماریزای سینوزیت.

|  |  |
| --- | --- |
| **فلور طبیعی بيني** | **عوامل بیماریزای سینوزیت** |
| استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استرپتوکوک پیوژنز، استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک ویریدانس، گونه های هموفیلوس، گونه های نایسریا | هموفیلوس آنفولانزا، استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک پایوژنز و موراکسلا کاتارالیس |

جدول 7. فلور طبیعی ناحیه تناسلی و عوامل بیماریزا.

|  |  |
| --- | --- |
| **فلور طبیعی واژن** | **رایج**: لاکتوباسیلها (ارگانیسم غالب)، استافیلوکوکهای کواگولاز منفی، دیفتروئیدها، میکروآئروفیلها و کوکسی های بیهوازی مثل پپتواسترپتوکوک ، باسیل های گرم منفی بیهوازی، گونه های استرپتوکوک (ویریدانس) و انتروکوک، استرپتوکوک گروه B. گاردنرلا واژینالیس، گونه های کاندیدا  **کمتر رایج**: گونه های کلستریدیوم، گونه های مایکوپلاسما، اوره آپلاسما آوره آ لیتیکوم، گونه های کاندیدا، گونه های نایسریا، انتروباکتریالها، گونه های اکتینومایسس، کلستریدیوم، اکتینوباکتر و بیفیدوباکتریوم |
| **فلور طبیعی ژنيتال خارجي و مجرا** | مایکوباکتریوم اسمگماتیس، باکتریهای گرم مثبت (استافیلوکوک کواگولاز منفی و دیفتروئیدها)، بیهوازیها، انتروکوک، مایکوپلاسما و اوره آپلاسما آوره آ لیتیکوم |
| **بیماریزاهاي ژنيتال** | کلامیدیا تراکوماتیس، مایکوپلاسما ژنیتالوم و هومینیس، نایسریا گنوره آ، نایسریا مننژیتیدیس، اوره آپلاسما آوره آ لیتیکوم، گاردنرلا واژینالیس و موبیلونکوس، گونه های کاندیدا، هموفیلوس دوکرئی، تریکوموناس واژینالیس، ترپونما پالیدوم |

جدول 8. فلور طبیعی دستگاه ادراری و عوامل بیماریزا.

|  |  |
| --- | --- |
| **فلور طبیعی دستگاه ادرار** | لاکتوباسیلها، استافیلوکوکهای کواگولاز منفی، دیفتروئیدها، گونه های استرپتوکوک (ویریدانس) و انتروکوک، پروپیونی باکتریوم، مایکوباکتریوم های کامنسال و مایکوپلاسماهای کامنسال |
| **بیماریزاهاي دستگاه ادرار** | **بیماران سرپایی (کسب شده از جامعه) با علائم عفونت ادراری:**  انتروباکتریاسه ها از جمله اشریشیاکلی و کلبسیلا، استافیلوکوک ساپروفیتیکوس  **بیماران بستری یا سابقه بستری:**  انتروباکتریاسه های مقاوم به دارو از جمله اشریشیاکلی، کلبسیلا، انتروباکتر، پروتئوس و سیتروباکتر، سودوموناس آئروجینوزا، انتروکوکها، استافیلوکوک های کواگولاز منفی (وابسته به کتتر)  **بقیه عوامل کمتر شایع:**  آسینتوباکتر و بقیه غیرتخمیریها مثل آلکالیژنز، گاردنرلا واژینالیس، استرپتوکوک های بتا همولیز، نایسریا گنوره آ |

**(4) محدوديت ها و تداخلات:**

* تست های اولیه گفته شده برای تشخیص باکتری های فلور طبیعی گاهی اوقات کافی نیست و باید تست های بیشتر انجام شود. برای مثال باکتری های با کانت بالا در کشت ادرار خانم های جوان با خصوصیات کلنی های استافیلوکوک کواگولاز منفی می تواند باکتری استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس باشد که یک پاتوژن بالقوه و مهم عفونت ادراری است و باید تست های بیشتر برای آن گذاشته شود (خصوصیات اولیه مشابه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس است).
* باکتری های فلور طبیعی در شرایط خاص هم می توانند به صورت بیماریزا عمل کنند که بستگی به محل جداسازی آنها و خصوصیات فردی که نمونه از او جداسازی شده، دارد. برای مثال عفونت خون با استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در صورت جداسازی از دو نمونه مختلف و دو رگ مختلف با یک سویه مشترک و الگوی آنتی بیوگرام یکسان در صورتی که از شرایط نمونه گیری استاندارد مطمئن باشید یک عفونت واضح است، به خصوص در بیماران با نقص سیستم ایمنی یا بیماران سرطانی. این الگو تقریباً برای تمامی باکتری های نرمال فلور است.
* حضور برخی از باکتری ها مانند مایکوباکتریوم توبرکلوزیس عامل بیماری سل در هر تعداد در سیستم تنفسی بیماریزا محسوب شده و باید تشخیص کامل و درمان برای آن به انجام برسد. اما همانطور که در جداول فوق مشاهده شد در موارد بسیاری بیماریزاهای اندام های مختلف، جزو فلور طبیعی آن ناحیه هم محسوب می شوند (برای مثال باکتری پنوموکوک که هم جزو فلور طبیعی دستگاه تنفسی است و هم می تواند یکی از عوامل بالقوه ذات الریه باشد) بنابراین باید بدانیم که در چه مواقعی این باکتری ها فلور طبیعی در نظر گرفته می شوند و در چه هنگام باید بیماریزا محسوب شده و کار کامل شامل تشخیص در حد گونه و آنتی بیوگرام روی آنها به انجام برسد.
* هرچند معيارهاي تعيين بیماریزا يا آلاينده بودن باکتری های جدا شده از کشت های مختلف در دستورالعمل های مربوطه گفته خواهد شد اما یک قائده کلی در اغلب این موارد وجود دارد: وجود علائم بالینی به همراه حضور تعداد بالای این باکتری ها در کشت و غالب بودن آنها می تواند تشخیص را به سمت بیماریزا بودن آنها پیش ببرد و عدم علائم بالینی همراه با کانت پایین و همینطور غالب بودن فلور طبیعی دیگر، معمولاً آنها را به عنوان بیماریزا مطرح نمی کند.
* تعداد (کانت) کلونی فلور طبیعی جدا شده در تصمیم گیری برای گزارش مهم است. برای مثال باکتری استافیلوکوک آرئوس یه باکتری بالقوه بیماریزا است اما با تعداد کم ممکن است در نازوفارنکس یا گلوی افراد سالم هم حضور داشته باشد.

**(5) مستندات و سوابق:**

* آزمایشات اولیه که بر روی کلنی های رشد کرده به انجام رسیده و احتمال فلور طبیعی یک باکتری را رد کرده و احتمال حضور باکتری بیماریزا را مطرح کرده است، باید در روز بعدی با تست های تکمیلی تأیید شوند و کل مستندات مربوط به آزمایشات اولیه و نهایی در بخش میکروب شناسی موجود باشد و نمودار تشخیصی رسیدن به تشخیص نهایی هر باکتری باید مشخص باشد.

**(6) منابع**:

1. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد اول: تشخیص. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.
2. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد دوم: تفسیر کشت. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.
3. کتاب آنالیز و کشت مایعات بدن. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1403.
4. Baron EJ، Thomson RB Jr: Specimen collection، transport، and processing: bacteriology. In Versalovic J، et al، editors: Manual of clinical microbiology، Ed 10، Washington، DC، 2011، ASM Press، p. 228.
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Committee on Infectious Diseases. 2006 red book: report of the Committed on Infectious Diseases. ed 27. Elk Grove Village، IL: American Academy of Pediatrics; 2006.
7. Isenberg D. Henry: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*، American Society for Microbiology. 2007.
8. Koneman، Elmer W، et al. Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. *Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers. Seventh edition.* 2021.
9. Mahon CR, Lehman DC. Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book: Textbook of Diagnostic Microbiology. Elsevier Health Sciences; 2022 Nov 2.
10. Tille، Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences، fifteenth edition. 2021.