**11. نایسریا و موراکسلا**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل آنتی بیوگرام کوکسی های گرم منفی (نایسریا گونوره آ، نایسریا مننژیتیدیس و موراکسلا)** | |
| **کد سند:** | D-007-0014 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل و کنترل کیفی آنتی بیوگرام | |
| **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:**

در این دستورالعمل نحوه انجام آنتی بیوگرام و تمامی نکات مربوطه برای کوکسی های گرم منفی شامل نایسریا گونوره آ، نایسریا مننژیتیدیس و موراکسلا شرح داده شده است.

**(2) شرح دستورالعمل:**

**a. باکتری نایسریا گونوره آ**

آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای این باکتری در جدول 1 آمده است.

جدول 1. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری نایسریا گونوره‌ آ.

| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** |
| --- | --- | --- | --- |
| **Penicillin (10 units)** | ≥47 mm | 27-46mm | ≤26 mm |
| **Ceftriaxone (30µg)** | ≥35 mm | - | - |
| **Cefoxitin (30µg)** | ≥28 mm | 24-27 mm | ≤23 mm |
| **Cefepime (30µg)** | ≥31 mm | - | - |
| **Cefotaxime (30µg)** | ≥31 mm | - | - |
| **Cefotetan (30µg)** | ≥26 mm | 20-25 mm | ≤19 mm |
| **Ceftizoxime (30µg)** | ≥38 mm | - | - |
| **Cefixime (5µg)** | ≥31 mm | - | - |
| **Cefpodoxime (10 µg)** | ≥29 mm | - | - |
| **Azithromycin (15 µg)** | ≥30 mm | - | - |
| **Tetracycline (30µg)** | ≥38 mm | 31-37 mm | ≤30 mm |
| **Ciprofloxacin (5 µg)** | ≥41 mm | 28-40 mm | ≤27 mm |
| **Spectinomycin (100 µg)** | ≥18 mm | 15-17 mm | ≤14 mm |

دسته‌بندی (اولویت‌بندی) آنتی‌بیوتیک‌ها برای نایسریا گونوره آ طبق CLSI2025 به صورت زیر است:

**Tier1:** Azithromycin, Ceftriaxone, Cefixime, Ciprofloxacin, Tetracycline

**Other**: بقیه آنتی بیوتیک های جدول

**نکات جدول:**

1. طبق دستورالعمل CLSI کشت و تست حساسیت نایسریا گونوره آ باید در موارد شکست درمان در نظر گرفته شود که البته با توجه به مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیکها و عدم رشد بعد از درمان به خصوص در ایران بهتر است همان ابتدای شک به سوزاک کشت و آنتی‌بیوگرام به انجام برسد.
2. محیط توصیه شده برای آزمایش این باکتری، شامل GC آگار است که نحوه ساخت آن قبلاً توضیح داده شد.
3. برای روش انتشار دیسک، حداکثر 9 دیسک را روی پلیت 150 میلی‌متری و 4 دیسک را روی پلیت 100 میلی‌متری آزمایش کنید. برای برخی از عوامل، به عنوان مثال، فلوروکینولون‌ها یا سفالوسپورین‌ها، تنها 2 تا 3 دیسک ممکن است در هر پلیت آزمایش شود.
4. رشد ضعیف کلنی‌‌های کوچک که در لبه ناحیه رشد مهار شده قابل تشخیص هستند، نادیده بگیرید.
5. برای آنتی‌بیوتیک‌های زیر اگر حساسیت وجود نداشت چون مقاومت تعریف نشده است به صورت غیرحساس باید گزارش شوند: سفتریاکسون، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتیزوکسیم، سفکسیم، سفپودوکسیم و آزیترومایسین.
6. در آزمایش انتشار دیسک برای این باکتری، در مورد اغلب آنتی‌بیوتیکها مانند پنی‌سیلین، سفوکسیتین، سفوتتان، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین و اسپکتینومایسین اگر مقادیر به دست آمده در قسمت نیمه حساس بود، نشان‌دهنده‌ی یک مشکل تکنیکی است که باید با تکرار آزمایش حل شود چون تجربه بالینی اندکی برای درمان عفونت با ایجاد نتیجه نیمه حساس برای آنها وجود دارد.
7. همینطور اثربخشی بالینی سفوتتان، سفوکسیتین و اسپکتینومایسین برای درمان عفونت‌‌های ناشی از ارگانیسم‌هایی که نتایج نیمه حساسی را با این عوامل ایجاد می‌کنند ناشناخته است. سویه‌هایی با ناحیه‌‌های نیمه حساس به عواملی غیر از سفوتتان، سفوکسیتین و اسپکتینومایسین، نرخ درمان بالینی کمتری (85 تا 95 درصد) در مقایسه با سویه‌‌های حساس (بیش از 95 درصد) دارند.

**آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوگرام نایسریا گونوره آ**

بر اساس توضیحات گفته شده، بسته به بیمار سرپایی یا بستری دارو‌های جدول 2 برای آنتی‌بیوگرام نایسریا گونوره آ پیشنهاد می‌شود.

جدول 2. آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوگرام روزانه نایسریا گونوره آ.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **توضیحات** | **بستری** | **سرپایی** |
|  | Ceftriaxone یا Cefotaxime | Ceftriaxone یا Cefotaxime |
|  | Azithromycin | Azithromycin |
|  | Ciprofloxacin | Ciprofloxacin |
|  | Spectinomycin | Spectinomycin |
|  | Tetracycline | Tetracycline |
|  | Cefepime | Cefixime |

**b. باکتری نایسریا مننژیتیدیس**

آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای این باکتری در جدول 3 آمده است.

جدول 3. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری نایسریا مننژیتیدیس.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** | **توضیحات** |
| **Cefotaxime (30 µg)** | ≥34 mm | - | - |  |
| **Ceftriaxone (30 µg)** | ≥34 mm | - | - |  |
| **Meropenem (10 µg)** | ≥30 mm | - | - |  |
| **Azithromycin (15 µg)** | ≥20 mm | - | - |  |
| **Minocycline (30 µg)** | ≥26 mm | - | - |  |
| **Ciprofloxacin (5 µg)** | ≥35 mm | 33-34 mm | ≤32 mm |  |
| **Levofloxacin** | MIC: ≤0.03 µg/mL | MIC:0.06 µg/mL | MIC: ≥0.12 µg/mL |  |
| **Penicillin** | MIC: ≤0.06 µg/mL | MIC:0.12-0.25 µg/mL | MIC: ≥0.5µg/mL |  |
| **Ampicillin** | MIC: ≤0.12 µg/mL | MIC:0.25-1 µg/mL | MIC: ≥0.2 µg/mL |  |
| **Sulfisoxazol** | MIC: ≤2 µg/mL | MIC:4 µg/mL | MIC: ≥8 µg/mL |  |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg)** | ≥30 mm | 26-29 mm | ≤25 mm |  |
| **Chloramphenicol (30 µg)** | ≥26 mm | 20-25 mm | ≤19 mm | غیرادراری |
| **Rifampin (5 µg)** | ≥25 mm | 20-24 mm | ≤19 mm |  |

دسته‌بندی (اولویت‌بندی) آنتی‌بیوتیک‌ها برای نایسریا مننژیتیدیس طبق CLSI2025 به صورت زیر است:

**Tier1:** Penicillin, Cefotaxime or Ceftriaxone

**Tier2:** - **Tier3:** -

**Tier4:** Meropenem, Azithromycin, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Minocycline,

Trimethoprim- sulfamethoxazole, Rifampin

**Other:** Ampicillin, Sulfisoxazol, Chloramphenicol

**نکات جدول:**

1. برای انتشار دیسک، حداکثر 5 دیسک را روی پلیت 150 میلی‌متری و 2 دیسک را روی پلیت 100 میلی‌متری آزمایش کنید.
2. اگر نتیجه تست آنتی‌بیوتیک‌های آزیترومایسین، مینوسیکلین، مروپنم، سفتریاکسون و سفوتاکسیم در روش دیسک یا در روشMIC حساس نباشد، نتیجه به صورت غیرحساس گزارش شود.
3. نتایج 2 آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون و سفوتاکسیم به یکدیگر قابل تعمیم هستند.
4. آنتی‌بیوتیک‌های آزیترومایسین، مینوسیکلین، سیپروفلوکساسین، سولفیسوکسازول و ریفامپین اگر در محدوده حساس باشند ممکن است فقط برای پیشگیری از مننگوکوک مناسب باشند و این محدوده‌ها برای درمان بیماران مبتلا به بیماری تهاجمی مننگوکوک اعمال نمی‌شود.
5. آزمایش تری متوپریم-سولفامتوکسازول حساسیت و مقاومت سولفونامیدها (سولفامتوکسازول و سولفیسوکسازول) را پیش**‌**بینی می‌کند.
6. برای آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، لووفلوکساسین و سولفیسوکسازول فقط روش MIC قابل تأیید است.

**اقدامات احتیاطی توصیه شده:**

* بیماری مننگوکوک اکتسابی از آزمایشگاه با نرخ مرگ و میر 50 درصدی همراه است.
* قرار گرفتن در معرض قطرات یا آئروسل‌های نایسریا مننژیتیدیس محتمل‌ترین خطر برای عفونت آزمایشگاهی است.
* کل فرایند آنتی‌بیوگرام نایسریا مننژیتیدیس را در زیر هود بیولوژیک BSC انجام دهید.
* کار با نایسریا مننژیتیدیس در خارج از BSC با افزایش خطر ابتلا به بیماری مننگوکوک همراه است. اگر BSC در دسترس نباشد، کار با این ایزوله‌ها باید به حداقل برسد و در حالی که روپوش و دستکش آزمایشگاهی و شیلد محافظ صورت پوشیده شده به رنگ‌آمیزی گرم یا شناسایی سروتایپ محدود شود.
* هنگامی که کار کامل (از جمله آنتی‌بیوگرام) روی تمام ایزوله‌های این باکتری انجام می‌شود، حفاظت شدید از قطرات یا ذرات معلق در هوا الزامی است. در این حالت از روش‌ها، رویه‌ها و تجهیزات سطح سه (BSL-3) استفاده کنید و اگر امکانات BSL-2 یا BSL-3 در دسترس نیست، ایزوله‌ها را به یک آزمایشگاه مرجع یا بهداشت عمومی با حداقل امکانات BSL-2 ارسال کنید.
* آزمایشگاه‌هایی که به طور معمول در معرض آئروسل‌‌های بالقوه نایسریا مننژیتیدیس قرار می‌گیرند، باید واکسیناسیون را طبق توصیه‌‌های فعلی کمیته مشورتی مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری در شیوه‌‌های ایمن‌سازی در نظر بگیرند.

**آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوگرام مننگوکوک**

* بر اساس تمامی توضیحات گفته شده، از بین آنتی‌بیوتیک‌های قابل گزارش برای مننگوکوک، دارو‌های جدول 4 برای آنتی‌بیوگرام پیشنهاد می‌شود.
* چون معمولاً این باکتری یک باکتری عامل مننژیت و بنابراین بیمارستانی است برای همه بیماران دارای این عفونت الگو زیر پیشنهاد می‌شود. داروهایی که فقط دارای روش MIC هستند در این لیست نیامده**‌**اند.

جدول 4. آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوگرام روزانه مننگوکوک.

|  |  |
| --- | --- |
| **بستری** | **توضیحات** |
| **Ceftriaxone** یا  **Cefotaxime** | نتایج قابل تعمیم به یکدیگر |
| **Ciprofloxacin** |  |
| **Meropenem** |  |
| **Rifampin** |  |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole** |  |
| **Azithromycin** |  |

**c. باکتری موراکسلا کاتارالیس**

* شرایط تست و کنترل کیفی برای این باکتری در جدول 5 آمده است.
* همچنین آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای این باکتری در جدول 6 آمده است.

جدول 5. شرایط تست و کنترل کیفی برای باکتری موراکسلا کاتارالیس.

|  |  |
| --- | --- |
| **شرایط تست** | **محیط کشت:** روش رقیق سازی در آگار (برای همه بی هوازیها): بروسلا آگار غنی شده با هِمین (**۵** µg/mL)، ویتامین (µg/mL1) K1، ۵ درصد خون گوسفند  **روش رقیق سازی میکرودایلوشن (فقط برای گونه‌های باکتروئید و پاراباکتروئیدس):** بروسلا براث غنی شده با هِمین (µg/mL5)، ویتامین(1µg/mL) K1 و LHB (%۵V/V). |
| **روش تهیه مایع تلقیح:** روش کشت در محیط آبگوشت یا سوسپانسیون کلنی معادل سوسپانسیون نیم مک فارلند؛ آگار: CFU/SPOT 105، براث: CFU/mL 106 |
| **شرایط انکوباسیون:** ֯C 1±36، در شرایط بی هوازی؛  **زمان:** روش براث میکرودایلوشن: 48-46 ساعت، روش رقیق سازی آگار: 48-42 ساعت. |
| **کنترل کیفی** | یک یا چند مورد از ارگانیسم‌های زیر را برای کنترل کیفی آزمایش کنید:  *Bacteroides fragilis* ATCC® 25285 *B.thetaiotaomicron* ATCC® 29741 *Clos‌tridioides* (formerly *Clos‌tridium*)  difficile ATCC® 700057, *Eggerthella Ienta* (formerly *Eubacterium lentum*) ATCC® 43055  هنگامی که یک سیستم تست تجاری برای انجام تست حساسیت استفاده می‌شود، به دستورالعمل‌های سازنده برای توصیه‌های تست QC و محدوده QC مراجعه کنید. |

جدول 6. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری موراکسلا کاتارالیس.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** |
| **Amoxicillin-clavulanate (20/10 μg)** | ≥24 mm | - | ≤23 mm |
| **Azithromycin (15 μg)** | ≥26 mm | - | - |
| **Clarithromycin (15 μg)** | ≥24 mm | - | - |
| **Erythromycin (15 μg)** | ≥21 mm | - | - |
| **Tetracycline (30 μg)** | ≥29 mm | 25-28 mm | ≤24 mm |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25/23.75 μg)** | ≥13 mm | 11-12 mm | ≤10 mm |

**نکات جدول:**

1. این باکتری به خوبی در محیط بلادآگار (BAP) بعد از 16 تا 20 ساعت انکوباسیون در هوای محیط رشد می‌کند.
2. آزمایش آنتی‌بیوگرام به طور معمول توصیه نمی‌شود. با این حال، آزمایش ممکن است برای اهداف اپیدمیولوژیک یا برای مدیریت بیماران مبتلا به عفونت‌های طولانی مدت یا شدید مفید باشد.
3. اگر سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، آزیترومایسین، کلاریترومایسین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و آموکسی**‌**سیلین کلاولانات حساس نباشند به صورت غیرحساس گزارش می‌شوند.
4. برای تست حساسیت ضد میکروبی سفوروکسیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، کلیندامایسین و کلرامفنیکل فقط روش MIC قابل قبول است.
5. اکثر سویه‌های موراکسلا کاتارالیس یکی از دو بتالاکتاماز BRO-1 یا BRO-2 (کمتر معمول) را تولید می‌کنند که آنها را در برابر پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین مقاوم می‌کند. در صورت تمایل، آزمایش بتالاکتاماز را می‌توان با استفاده از روش های سفالوسپورین کروموژنیک مانند نیتروسفین انجام داد.
6. مقاومت القایی به تتراسیکلین‌ها و تری**‌**متوپریم-سولفامتوکسازول در برخی از جدایه‌ها گزارش شده است اما مقاومت در برابر ماکرولیدها بسیار نادر است.

**(3) منابع:**

1. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد اول: تشخیص. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.
2. کتاب آنتی بیوگرام (تست حساسیت ضدمیکروبی). دکتر داریوش شکری. انتشارات مانی. 1404.
3. مجموعه جداول انتخاب شده از CLSI M100 33th 2023 برای میکروارگانیسم های اولویت دار در برنامه کشوری مهار مقاومت میکروبی بر اساس راهنمای سازمان بهداشت جهانی. (GLASS).ویرایش هفتم.1402. آزمایشگاه مرجع سلامت.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 35th edition. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100. Wayne، PA: CLSI; 2025.
5. Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline. CLSI Document M45. Wayne، PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2018.
6. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 13th ed. CLSI standard M02. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.