**12. بیهوازی ها**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل آنتی بیوگرام باکتری های بیهوازی** | |
| **کد سند:** | D-007-0015 | |
| **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 باکتری های بیهوازی شرح داده شده است.

**(2) شرح دستورالعمل:**

* شرایط تست و کنترل کیفی برای باکتری‌های بی‌هوازی (شامل باکتری‌های گرم منفی مانند باکتروئید، فوزوباکتریوم، موبیلونکوس، پریوتلا و ویونلا و باکتری‌های گرم مثبت مانند کلستریدیوم، کوتی باکتریوم و پپتواسترپتوکوک) در جدول 1 آمده است.
* همانطور که مشاهده می‌شود برای تعیین حساسیت میکروبی باکتری‌های بیهوازی، فقط روش MIC قابل تأیید است.
* همچنین آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای این دسته در جدول 2 آمده است (فقط دارای روشMIC).

جدول 1. شرایط تست و کنترل کیفی برای باکتری‌های بی‌هوازی.

|  |  |
| --- | --- |
| **شرایط تست** | **محیط کشت: روش رقیق‌سازی در آگار (برای همه بی‌هوازیها):** بروسلا آگار غنی شده با هِمین  (5µg/mL)، ویتامین (1µg/mL) K1، 5 درصد خون گوسفند  **روش رقیق‌سازی میکرودایلوشن (فقط برای گونه‌های باکتروئید و پاراباکتروئیدس):** بروسلا براث غنی شده با هِمین (5µg/mL)، ویتامین K1 ا (1µg/mL) و LHB (%۵ V/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:** 1±36سانتی‌گراد، در شرایط بی‌هوازی؛  **زمان:** روش براث میکرودایلوشن: 48-46 ساعت، روش رقیق‌سازی 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 2. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر حسب µg/mL برای باکتری‌های بی‌هوازی.

| **آنتی‌بیوتیک** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** |
| --- | --- | --- | --- |
| **Ampicillin** | ≤0.5 | 1 | ≥2 |
| **Penicillin** | ≤0.5 | 1 | ≥2 |
| **Amoxicillin-clavulanate** | ≤4/2 | 8/4 | ≥16/8 |
| **Ampicillin-sulbactam** | ≤8/4 | 16/8 | ≥32/16 |
| **Piperacillin-tazobactam** | ≤16/4 | 32/4-64/4 | ≥128/4 |
| **Imipenem-relebactam** | ≤4/4 | 8/4 | ≥16/4 |
| **Ticarcillin-clavulanate** | ≤32/2 | 64/2 | ≥128/2 |
| **Cefotetan** | ≤16 | 32 | ≥64 |
| **Cefoxitin** | ≤16 | 32 | ≥64 |
| **Ceftizoxime** | ≤32 | 64 | ≥128 |
| **Ceftriaxone** | ≤16 | 32 | ≥64 |
| **Cefmetazole** | ≤16 | 32 | ≥64 |
| **Cefoperazone** | ≤16 | 32 | ≥64 |
| **Cefotaxime** | ≤16 | 32 | ≥64 |
| **Doripenem** | ≤2 | 4 | ≥8 |
| **Ertapenem** | ≤4 | 8 | ≥16 |
| **Imipenem** | ≤4 | 8 | ≥16 |
| **Meropenem** | ≤4 | 8 | ≥16 |
| **Tetracycline** | ≤4 | 8 | ≥16 |
| **Moxifloxacin** | ≤2 | 4 | ≥8 |
| **Clindamycin** | ≤2 | 4 | ≥8 |
| **Chloramphenicol** | ≤8 | 16 | ≥32 |
| **Metronidazole** | ≤8 | 16 | ≥32 |

دسته‌بندی (اولویت‌بندی) آنتی‌بیوتیکها برای باکتری‌های بیهوازی گرم منفی طبق CLSI2025 به صورت زیر است:

**Tier1:** Amoxicillin-clavulanate, Ampicillin-sulbactam, Piperacillin-tazobactam, Clindamycin, Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Metronidazole

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

**Tier4:** Imipenem-relebactam, Penicillin, Ampicillin, Cefotetan, Cefoxitin, Ceftriaxone, Moxifloxacin,

Tetracycline **Other**: بقیه آنتی بیوتیک های جدول

دسته‌بندی (اولویت‌بندی) آنتی‌بیوتیکها برای باکتری‌های بیهوازی گرم مثبت طبق CLSI2025 به صورت زیر است:

**Tier1:** Ampicillin, penicillin, Amoxicillin-clavulanate, Ampicillin-sulbactam, Piperacillin-tazobactam,

Clindamycin, Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Metronidazole

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

**Tier4:** Imipenem-relebactam, Cefotetan, Cefoxitin, Ceftriaxone, Moxifloxacin, Tetracycline

**Other**: بقیه آنتی بیوتیک های جدول

**نکات جدول:**

1. بیشتر عفونت‌های بی‌هوازی چند میکروبی هستند. انجام آنتی‌بیوگرام برای جدایه‌های مرتبط با عفونت‌های بی‌هوازی چند میکروبی ضروری نیست. با این حال، در صورت درخواست پزشک، آنتی‌بیوگرام فقط برای ارگانیسمی با احتمال مقاومت بالا (به عنوان مثال سویه‌های باکتروئیدز و پاراباکتروئیدز) انجام و نتایج گزارش می‌شود.
2. ارگانیسم‌هایی که MIC آنتی‌بیوتیک‌ها برای آنها در محدوده حساس قرار دارند، معمولاً قابل درمان هستند اما ارگانیسم‌هایی که MIC آنتی‌بیوتیک‌ها برای آنها در محدوده نیمه حساس قرار دارند ممکن است پاسخ دهند، اما در چنین مواردی، اثربخشی آن دارو باید بر اساس پاسخ بالینی بیمار به دقت بررسی شود و حداکثر دوز آن آنتی‌بیوتیک همراه با درمان کمکی مناسب جهت دستیابی به بهترین سطح مؤثر دارو در آبسه‌ها و یا بافت‌های با نفوذ ضعیف تجویز شود.
3. مقادیر MIC با استفاده از محیط کشت‌های بروسلا آگار خوندار یا Wilkins Chalgren آگار (محیط مرجع سابق) یکسان در نظر گرفته می‌شوند.
4. روش براث میکرودایلوشن فقط برای گونه‌های باکتروئیدز و پاراباکتروئیدز پیشنهاد می‌شود. مقادیر MIC برای هر دو روش آگار یا براث میکرودایلوشن برای آن گونه‌ها برابر در نظر گرفته می‌شود. تا زمانی که مطالعات تکمیلی برای تأیید دقت روش میکرودایلوشن براث برای آزمایش سایر ارگانیسم‌ها انجام نشود، این روش باید فقط برای آزمایش این دو گونه استفاده شود.
5. درمان‌های جانبی، مانند روش های خارج کردن ترشحات دریناژ و دبریدمان، برای مدیریت صحیح عفونت‌های بیهوازی از اهمیت بالایی برخوردار هستند.
6. در صورت حساس بودن پنی‌سیلین برای باکتری فوزوباکتریوم، این دارو در اولویت اول (Tier1) قرار می‌گیرد. پنی‌سیلین در شرایط آزمایشگاهی فعالیت خوبی را در برابر اکثر گونه‌های فوزوباکتریوم دارد.
7. نتایج حاصل برای آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (حساس، نیمه حساس، مقاوم) برای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین نیز صادق است.
8. آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین برای باکتری باکتروئیدز قابل استفاده نیستند.
9. اگر آنتی‌بیوتیک ایمی**‌**پنم حساس باشد، آنتی‌بیوتیک ایمی**‌**پنم-رلباکتام نیز حساس است. اگر آنتی‌بیوتیک ایمی**‌**پنم-رلباکتام مقاوم باشد، آنتی‌بیوتیک ایمی**‌**پنم هم مقاوم است. در مورد بقیه ترکیبی‌ها هم همینطور (مثل آموکسی‌سیلین و آموکسی‌سیلین-کلاولانات). حالت عکس صادق نیست.
10. برای بیهوازی‌های گرم مثبت اگر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین یا هر دو حساس باشند می‌توان در قسمت حساسیت این گونه گزارش داد:

**Rx:** Ampicillin and penicillin are recommended for primary tes‌ting and reporting for gram positive   
organisms.

1. به جز باکتری‌های کلستریدیوم و کلستروئیدس دیفیسل، سایر باسیل‌های گرم مثبت بی‌هوازی نسبت به آنتی‌بیوتیک مترونیدازول دارای مقاومت هستند. می‌توان در انتهای جواب گزارش شده در قسمت مقاومت آنها را به صورت زیر گزارش نمود:

**Rx:** Many non–spore-forming, gram-positive anaerobic rods are resis‌tant to metronidazole.

1. گونه‌های کلستریدیوم به آنتی‌بیوتیک‌های زیر دارای مقاومت ذاتی هستند و می‌توان در کامنت برای پزشک به صورت زیر گزارش شوند:

***Clos‌tridium* spp. are intrinsically resis‌tant to the below antibiotics and therefore they cannot be used for treatment:** Amikacin, Amikacin-Fosfomycin, Gentamycin, Kanamycin, Netilmicin, Plazomicin, S‌treptomycin, Tobramycin.

1. گونه کلستریدیوئیدز اینوکوم به آنتی‌بیوتیک‌های زیر دارای مقاومت ذاتی است و می‌توان در کامنت برای پزشک به صورت زیر گزارش شوند:

***Clos‌tridioides innocuum* is intrinsically resis‌tant to the below antibiotics and therefore they cannot be used for treatment:** Amikacin, Amikacin-Fosfomycin, Gentamycin, Kanamycin, Netilmicin, Plazomicin, S‌treptomycin, Tobramycin, Vancomycin.

1. گونه‌های باکتروئیدز به آنتی‌بیوتیک‌های زیر دارای مقاومت ذاتی هستند و می‌توان در کامنت برای پزشک به صورت زیر گزارش شوند:

***Bacteroides* spp. Are intrinsically resis‌tant to the below antibiotics and therefore they cannot be used for treatment:** Amikacin, Amikacin-Fosfomycin, Gentamycin, Kanamycin, Netilmicin, Plazomicin, S‌treptomycin, Tobramycin, Penicillin, Ampicillin.

1. گونه فوزوباکتریوم کانیفلینوم به آنتی‌بیوتیک‌های زیر دارای مقاومت ذاتی است و می‌توان در کامنت برای پزشک به صورت زیر گزارش شوند:

***Fusobacterium canifelinum* is intrinsically resis‌tant to the below antibiotics and therefore they cannot be used for treatment:** Amikacin, Amikacin-Fosfomycin, Gentamycin, Kanamycin, Netilmicin, Plazomicin, S‌treptomycin, Tobramycin, Cinoxacin, Garenoxacin, Nalidixic acid.

**(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.