**2.کوکسی گرم مثبت کاتالاز مثبت**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل آنتی بیوگرام کوکسی های گرم مثبت کاتالاز مثبت** | |
| **کد سند:** | D-007-0005 | |
| **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 مثبت کاتالاز مثبت شامل استافیلوکوک، میکروکوک و روتیا موسیلاجینوزا، شرح داده شده است.

**(2) شرح دستورالعمل:**

**a. باکتری استافیلوکوک**

جدول 1. تست حساسیت آنتی بیوتیکی برای آنتی بیوتیک های مجاز و معمول در گونه های استافیلوکوکوس. برای آنتی بیوتیک هایی که روش انتشار از دیسک برای تفسیر ندارند مانند ونکومایسین و تیکوپلانین اعداد بر حسب عدد MIC آمده است.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| توضیحات | مقاوم (R) | نیمه حساس (I) | حساس (S) | نام آنتی بیوتیک (دوز) |
|  | ≤28 mm | - | ≥29 mm | **Penicillin (10 unit)** |
| برای نمونه غیرادراری | ≤13 mm | 14-17 mm | ≥18 mm | **Azithromycin (15 μg)** |
| برای نمونه غیرادراری | ≤13 mm | 14-17 mm | ≥18 mm | **Clarithromycin (15 μg)** |
| برای نمونه غیرادراری | ≤13 mm | 14-22 mm | ≥23 mm | **Erythromycin (15 μg)** |
| برای نمونه غیرادراری | ≤14 mm | 15-20 mm | ≥21 mm | **Clindamycin (2 μg)** |
|  | ≤10 mm | 11-15 mm | ≥16 mm | **Trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25/23.75 μg)** |
| برای گونه های آرئوس و لاگدوننزیس | ≤21 mm | - | ≥22 mm | **Cefoxitine (30 μg)** |
| برای گونه اپیدرمیدیس | ≤24 mm | - | ≥25 mm | **Cefoxitine (30 μg)** |
| برای سودواینترمدیوس، شلفری و اپیدرمیدیس | ≤17 mm | - | ≥18 mm | **Oxacillin (1μg)** |
|  | ≤14 mm | 15-18 mm | ≥19 mm | **Tetracycline (30 μg)** |
|  | ≤12 mm | 13-15 mm | ≥16 mm | **Doxycycline (30 μg)** |
|  | ≤16 mm | 17-19 mm | ≥20 mm | **Rifampin (5 μg)** |
|  | ≤22 mm | 23-25 mm | ≥26 mm | **Linezolid (30 μg)** |
| برای گونه آرئوس | MIC: ≥16 µg | MIC: 4-8 µg | MIC: ≤2 µg | **Vancomycin** |
| برای بقیه بجز آرئوس | MIC: ≥32 µg | MIC: 8-16 µg | MIC: ≤4 µg | **Vancomycin** |
|  | ≤15 mm | 16-20 mm | ≥21 mm | **Ciprofloxacin (5 μg)** |
|  | ≤15 mm | 16-18 mm | ≥19 mm | **Levofloxacin (5 μg)** |
|  | ≤12 mm | 13-14 mm | ≥15 mm | **Gentamicin (10 μg)** |
| برای نمونه ادراری | ≤12 mm | 13-16 mm | ≥17 mm | **Norfloxacin (10 μg)** |
|  | ≤14 mm | 15-17 mm | ≥18 mm | **Ofloxacin (5 μg)** |
|  | MIC: ≥32 µg | MIC: 16 µg | MIC: ≤8 µg | **Teicoplanin** |
| برای نمونه ادراری | ≤14 mm | 15-16 mm | ≥17 mm | **Nitrofurantoin (300 μg)** |

دسته بندی (اولویت بندی) آنتی بیوتیک ها برای گونه های استافیلوکوکوس طبق CLSI2025 در زیر آمده است.

**Tier1**: Azithromycin or Clarithromycin or Erythromycin, Clindamycin, Oxacillin, Cefoxitin, Doxycycline, Minocycline, Tetracycline, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Vancomycin, Nitrofurantoin

**Tier2**: Penicillin, Daptomycin, Linezolid

**Tier3**: Ceftaroline, Tedizoloid, Rifampin, Lefamulin

**Tier4**: Ciprofloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin, Dalbavancin, Oritavancin, Telavancin, Gentamicin

**Other**: بقیه آنتی بیوتیک های جدول

**نکات جدول:**

1. کمپلکس استافیلوکوکوس آرئوس از گونه های کواگولاز مثبت استافیلوکوکوس آرئوس، استافیلوکوکوس آرژنتوس و استافیلوکوکوس اسچیتزری تشکیل شده است.
2. داخل هاله های مهار آنتی بیوتیک های تری متوپریم و سولفونامیدها، ممکن است مقدار کمی از باکتری ها رشد کنند. بنابراین، رشد جزئی 20 درصد یا کمتر از رشد چمنی را نادیده بگیرید و حاشیه واضح تر را برای تعیین قطر منطقه اندازه گیری کنید.
3. برای آنتی بیوتیک لینزولید، هر گونه رشد قابل تشخیص (حتی ضعیف) از همان باکتری اصلی در منطقه مهار نشان دهنده مقاومت به آن است و باید مقاوم گزارش شود.
4. نتایج دو دیسک سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین به یکدیگر قابل تعمیم هستند. یعنی فقط لازم است یکی از آنها را تست کرد و هر نتیجه به دست آمده را برای دیگری گزارش نمود.
5. نتایج آنتی بیوتیکهای اریترومایسین، کلاریترومایسین و آزیترومایسین به یکدیگر قابل تعمیم هستند.
6. آنتی بیوتیک های سولفونامید، سولفومتاکسازول، سولفیسوکسازول در اینجا فقط برای نمونه های ادرار قابل استفاده هستند.
7. هر نتیجه به دست آمده برای آنتی بیوتیک سفوکستین برای اگزاسیلین در نظر گرفته می شود و در گزارش نهایی به جای سفوکستین اگزاسیلین گزارش می شود.
8. آنتی بیوتیک های آزیترومایسین، کلاریترومایسین، اریترومایسین، کلیندامایسین، مینوسایکلین، به طور معمول در مورد ارگانیسم های جدا شده از دستگاه ادراری استفاده نمی شوند.
9. استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین (اگزاسیلین) به تمام عوامل ضد میکروبی بتالاکتام موجود در حال حاضر، به استثنای سفتارولین (که باید تست شود)، مقاوم هستند. بنابراین، حساسیت یا مقاومت به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی بتالاکتام را می‌توان تنها با آزمایش سفوکسیتین یا اگزاسیلین تعیین کرد. در این حالت با مقاومت به سفوکسیتین یا اگزاسیلین، آزمایش روتین سایر عوامل بتالاکتام، به جز سفتارولین، توصیه نمی شود.
10. تشخیص مقاومت متی سیلین (اگزاسیلین) در استافیلوکوک ها در قسمت مکانیسم های مقاومت گفته شده است.
11. آنتی بیوتیک های سفتارولین، تدیزولاید، لفامولین، دالباوانسین، اوریتاوانسین و تلاوانسین فقط برای استافیلوکوکوس آرئوس، از جمله استافیلوکوکوس آرئوس مقاوم به متی سیلین (اگزاسیلین) استفاده و گزارش می شوند.
12. ارگانیسم هایی که به تتراسایکلین حساس هستند به داکسی سایکلین و مینوسیکلین نیز حساس در نظر گرفته می شوند. با این حال، برخی از ارگانیسم هایی که نیمه حساس یا مقاوم به تتراسایکلین هستند ممکن است به داکسی سایکلین، مینوسیکلین یا هر دو حساس باشند.
13. برای آنتی بیوتیک های ونکومایسین، داپتومایسین، ریفامپین، دالباوانسین، اوریتاوانسین و تلاوانسین فقط از روش MICمی توان استفاده کرد و تست انتشار دیسک قابل اعتماد نیست.
14. آنتی بیوتیک داپتومایسین به طور معمول در مورد ارگانیسم های جدا شده از دستگاه تنفسی نباید انجام و گزارش شود.
15. ریفامپین نباید به تنهایی برای درمان ضد میکروبی استفاده شود، همچنین برای استافیلوکوک های حساس، جنتامایسین فقط در ترکیب با سایر عوامل فعال که حساس به آزمایش هستند استفاده می شود.
16. انکوباسیون آنتی بیوگرام استاف ها در دمای بالای 35 درجه ممکن است مقاومت متیسیلین (MRS) را تشخیص ندهد. بنابراین بهتر است دما روی 35 درجه تنظیم شود. برای سفوکسیتین (اگزاسیلین) و ونکومایسین 24 ساعت کامل انکوباسیون لازم است.
17. دقت شود تمامی استافیلوکوک ها به صورت ذاتی به پلی میکسینها (مانند کولیستین)، نالیدیکسیک اسید و آزترئونام مقاوم هستند و می توان در جواب نهایی به صورت نکته زیر برای پزشک گزارش شود:

**Note**: *Staphylococcus* spp. are intrinsically resistant to the below antibiotics and therefore they can’t be used for treatment: Aztreonam, Polymyxin B/Colistin, and Nalidixic acid.

1. دقت شود تمامی استافیلوکوک ها به صورت ذاتی به پلی میکسینها (مانند کولیستین)، نالیدیکسیک اسید و آزترئونام مقاوم هستند و می توان در جواب نهایی به صورت نکته زیر برای پزشک گزارش شود:

**Note**: *Staphylococcus* spp. are intrinsically resistant to the below antibiotics and therefore they can’t be used for treatment: Aztreonam, Polymyxin B/Colistin, and Nalidixic acid.

**نحوه گزارش آنتی بیوگرام استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس**

1. آزمایش روتین استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس جداشده از ادرار توصیه نمی شود، زیرا عفونت با این باکتری به غلظت های به دست آمده از عوامل ضد میکروبی ادرار که معمولاً برای درمان عفونت های ادراری حاد استفاده می شوند (مانند نیتروفوراًنتوئین، تری متوپریم - سولفامتوکسازول یا فلوروکینولونها) پاسخ می دهند. اگر برای این باکتری آنتی بیوگرام انجام نشود، می توان گزارش آنتی بیوگرام این باکتری را به صورت زیر گزارش نمود:

**Antimicrobial Susceptibility Test**

**Comment 1:** Routine Susceptibility testing of urine isolates of *Staphylococcus saprophyticus* is not advised according to Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI; 2024) recommendation because its infections respond to antimicrobial agents concentrations achieved in urine that commonly used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections (e.g., Nitrofurantoin, Trimethoprim ± Sulfamethoxazole, or a Fluoroquinolone).

**Comment 2:** Antibiotics that can be used for *Staphylococcus saprophyticus* treatment are as follow:

1-Nitrofurantoin 2-Trimethoprim 3-Trimethoprim-sulfamethoxazole 4-Ciprofloxacin

5-Levofloxacin 6-Ofloxacin 7- Norfloxacin 8-Lomefloxacin 9- Moxifloxacin

10-Enoxacin 11- Grepafloxacin 12- Sparfloxacin 13- Fleroxacin 14- Gatifloxacin

**آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوگرام استافیلوکوک‌ها**

* طبق برنامه کشوری مهار مقاومت میکروبی بر اساس راهنمای سازمان جهانی بهداشت برای میکروارگانیسم‌های اولویت‌دار که توسط آزمایشگاه مرجع سلامت ارائه شده است، از بین آنتی‌بیوتیک‌های قابل گزارش برای گونه‌های استافیلوکوک، بسته به سرپایی یا بستری بودن بیمار دارو‌های جدول 2 برای آنتی‌بیوگرام استافیلوکوک‌ها پیشنهاد می‌شود.
* برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در CLSI ممکن است جزو دسته‌های اولیه پیشنهادی نباشند ولی به علت مقاومت احتمالی (حضور سویه‌های MRSA) نسبتاً بالا در ایران برای انجام آنتی‌بیوگرام پیشنهاد می‌شوند مانند لینزولاید، ونکومایسین، ریفامپین و تیکوپلانین.
* همچنین در انتخاب آنتی‌بیوتیک‌ها برای انجام آنتی‌بیوگرام دقت شود که معمولاً از یک دسته آنتی‌بیوتیکی یک مورد انتخاب می‌شود مانند سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین یا آزیترومایسین و اریترومایسین.

جدول 2. آنتی‌بیوتیک‌های پیشنهادی برای آنتی‌بیوگرام روزانه استافیلوکوک ها.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| بستری | سرپایی | توضیحات/نوع نمونه/بیمار |
| Erythromycin  و Clindamyci | Erythromycin  و Clindamycin | برای همه نمونه‌ها بجز ادراری و CSF، برای نوزادان و اوایل بارداری ممنوع |
| Oxacillin  یا Cefoxitin | Oxacillin  یا Cefoxitin | برای همه نمونه‌‌ها و بیماران، |
| Doxycycline | Doxycycline | برای همه نمونه‌ها، در بچه‌های زیر 8 سال و در سه ماهه اول بارداری ممنوع |
| Trimethoprim-  Sulfamethoxazole | Trimethoprim-  sulfamethoxazole, | برای همه نمونه‌ها، سه ماهه اول و هفته‌‌های آخر بارداری و نوزادان ممنوع |
| Nitrofurantoin | Nitrofurantoin | فقط برای نمونه ادراری، بعد از هفته ۳۷ بارداری و در نوزادان ممنوع |
| Levofloxacin  یا Ciprofloxacin | Levofloxacin  یا Ciprofloxacin | برای همه نمونه‌ها، اوایل بارداری و سن زیر 18 سال ممنوع، نتایج آنها به هم قابل تعمیم است. برای آنتی‌بیوگرام روتین استافیلوکوک‌ها توصیه نمی‌شوند. |
| Penicillin | Penicillin | برای همه نمونه‌ها، همه بیماران |
| Vancomycin (MIC), Teicoplanin (MIC), Ceftaroline  Linezolid  Rifampin |  | برای سویه‌های سرپایی اگر سویه جداشده MRSA باشد گذاشته شوند.  برای خانم‌های حامله و نوزادان و بچه‌های زیر 8 سال چون اکثر بقیه داروها ممنوعیت دارند می‌توان از این داروها استفاده نمود |

**b. باکتری میکروکوک**

* طبق دستورالعمل M45 شرایط آزمایش آنتی‌بیوگرام و کنترل کیفی آن برای این باکتری در جدول 3 آمده است.
* برای این باکتری آنتی‌بیوگرام به روش دیسک وجود ندارد و باید با روش MIC طبق جدول 4 به انجام برسد.

جدول 3. شرایط آزمایش آنتی‌بیوگرام و کنترل کیفی آن برای گونه‌های میکروکوک.

|  |  |
| --- | --- |
| **شرایط تست** | **محیط کشت:** CAMHB (مولر-هینتون براث تنظیم شده با کاتیون) |
| **مایع تلقیح:** سوسپانسیون مستقیم کلنی معادل استاندارد نیم مک فارلند |
| **شرایط انکوباسیون:** دما C°35، هوای محیط، زمان 20 تا 24 ساعت |
| **کنترل کیفی (QC)** | برای QC دیسک های مورد استفاده این باکتری از سویه *S. aureus* ATCC® 29213 استاندارد طبق جداول QC گفته شده در فصل کنترل کیفی استفاده می‌شود. |
| **عوامل انتخابی اولیه آنتی‌بیوگرام** | پنی‌سیلین و ونکومایسین |

جدول 4. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی میکروکوک.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| نام آنتی‌بیوتیک | حساس (S) | نیمه حساس (I) | مقاوم (R) |
| Penicillin | ≤ 0.12 µg/mL | - | ≥ 0.25 µg/mL |
| Vancomycin | ≤ 2 µg/mL | - | - |
| Erythromycin | ≤ 0.5 µg/mL | 1-4 µg/mL | ≥ 8 µg/mL |
| Clindamycin | ≤ 0.5 µg/mL | 1-2 µg/mL | ≥ 4 µg/mL |

**نکات جدول:**

1. این باکتری به خوبی در محیط بلادآگار (BAP) در هوای محیط به مدت 16 تا 20 ساعت رشد می‌کند.
2. گونه‌های میکروکوکوس اغلب نشان‌دهنده آلودگی در کشت‌ها هستند و به همین خاطر آزمایش حساسیت ضد میکروبی ایزوله‌ها از منابع غیر استریل توصیه نمی‌شود.
3. ممکن است آزمایش این ایزوله‌ها در بیماران با چندین کشت خون مثبت یا دستگاه‌‌های پروتز کاشته شده ضروری باشد.
4. اگر ونکومایسین حساس نباشد، در قسمت مقاومت به صورت غیرحساس گزارش می‌شود.
5. گونه‌های میکروکوکوس با مقاومت به بتالاکتام‌ها و اریترومایسین گزارش شده‌اند.
6. اگرچه داده‌‌های کمی از تست حساسیت ضد میکروبی برای ارگانیسم‌هایی که قبلاً در جنس میکروکوکوس بودند (یعنی Kocuria spp.،Nes‌terenkonia spp.،Dermacoccus spp.،Kytococcus spp) وجود دارد، اما استفاده از معیارها و جداول فوق ممکن است برای آنتی‌بیوگرام آنها در نظر گرفته شود.

**c. روتیا موسیلاجینوزا**

* طبق دستورالعمل M45 شرایط آزمایش آنتی‌بیوگرام و کنترل کیفی آن برای این باکتری در جدول 5 آمده است.
* برای این باکتری آنتی‌بیوگرام به روش دیسک وجود ندارد و باید با روش MIC طبق جدول 6 به انجام برسد.

جدول 5. شرایط تست آنتی‌بیوگرام و کنترل کیفی آن برای روتیا موسیلاجینوزا.

|  |  |
| --- | --- |
| **شرایط تست** | **محیط کشت:** CAMHB-LHB (5/2 تا 5 درصد v/v)  (مولر-هینتون براث تنظیم شده با کاتیون همراه با خون اسب لیز شده). |
| **مایع تلقیح:** سوسپانسیون مستقیم کلنی معادل استاندارد نیم مک فارلند |
| **شرایط انکوباسیون:** دما C° 35، هوای محیط، زمان 20 تا 24 ساعت |
| **کنترل کیفی (QC)** | برای QC دیسک های مورد استفاده این باکتری از سویه *S. pneumoniae* ATCC® 49619 استاندارد طبق جداول QC گفته شده در فصل کنترل کیفی استفاده می‌شود. |
| **عوامل انتخابی اولیه آنتی‌بیوگرام** | پنی‌سیلین و ونکومایسین |

جدول 6. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی روتیا موسیلاجینوزا.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** |
| **Penicillin** | ≤ 0.12 µg/mL | 0.25-2 µg/mL | ≥ 4 µg/mL |
| **Vancomycin** | ≤ 2 µg/mL | - | - |
| **Erythromycin** | ≤ 0.5 µg/mL | 1-4 µg/mL | ≥ 8 µg/mL |
| **Clindamycin** | ≤ 0.5 µg/mL | 1-2 µg/mL | ≥ 4 µg/mL |
| **Levofloxacin** | ≤ 1 µg/mL | 2 µg/mL | ≥ 4 µg/mL |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole** | ≤ 2/38 µg/mL | - | ≥ 4/76 µg/mL |

**نکات جدول:**

1. برای رشد کافی به محیط های حاوی خون در هوای محیط و زمان انکوباسیون 20 تا 24 ساعت نیاز دارد.
2. برخی از سویه‌های این باکتری در مولر هینتون براث تنظیم شده با کاتیون رشد رضایت**‌**بخشی دارند و این محیط می‌تواند به عنوان جایگزینی برای محیط CAMHB-LHB در نظر گرفته شود که تهیه آن سخت است.
3. آزمایش ایزوله‌ها از منابع استریل معمولی (مانند کشت خون، بافت عمیق) به ویژه در بیماران مبتلا به نقص ایمنی ممکن است ضروری باشد.
4. اگر آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حساس نباشد در قسمت مقاومت به صورت غیرحساس گزارش می‌شود.
5. مقاومت به بتالاکتام‌ها، کلیندامایسین، اریترومایسین و فلوروکینولون‌ها گزارش شده 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.
7. Kaase M، Lenga S، Friedrich S، et al. Comparison of phenotypic methods for penicillinase detection in Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Infect. 2008;14(6):614-616.
8. Tille، Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences، fifteenth edition. 2021.