**20. باکتری های بیوتروریستی**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل آنتی بیوگرام باکتری های عامل بیوتروریستی** | |
| **کد سند:** | D-007-0023 | |
| **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 عامل بیوتروریستی شرح داده شده است.

**(2) شرح دستورالعمل:**

* در جدول 1 شرایط تست و کنترل کیفی برای عوامل بیوتروریستی شامل باسیلوس آنتراسیس، یرسینیا پستیس، بورخولدریا مالئی، بورخولدریا سودومالئی، بروسلا و فرانسیسلا تولارنزیس آمده است.
* عوامل انتخابی اولیه برای آنتی‌بیوگرام این باکتری‌ها در جدول 2 آمده است. برای تست حساسیت ضد میکروبی این باکتریها فقط روش MIC قابل قبول است.
* دقت شود در آزمایشگاه‌های معمولی روی این ارگانیسم‌ها نباید کار شود و نباید نمونه‌ای که توسط پزشک از نظر این ارگانیسم‌ها درخواست شده است پذیرش گردد. در صورت جداسازی اتفاقی آنها در آزمایشگاه (مثلاً جداسازی باسیلوس آنتراسیس از نمونه زخم)، مقامات بهداشت عمومی را از تمام ایزوله‌هایی که احتمالاً به عنوان عوامل بیوتروریستی شناسایی شده‌اند، مطلع کنید.
* تأیید ایزوله‌‌های این باکتری‌ها ممکن است نیاز به آزمایش‌‌های تخصصی داشته باشد که فقط در آزمایشگاه‌‌های مرجع یا بهداشت عمومی در دسترس است.

**اقدامات احتیاطی توصیه شده:**

* از روش های ایمنی زیستی سطح 2 (BSL-2)، تجهیزات مهاری و امکانات ویژه برای تست‌های اولیه استفاده کنید.
* اگر آزمایشات بیشتر انجام می‌دهید (مانند آنتی‌بیوگرام) باید از روش های ایمنی زیستی سطح 3 (BSL-3)، تجهیزات و امکانات مهاری برای فعالیت‌هایی با پتانسیل بالا برای تولید آئروسل، استفاده کنید.
* اگر امکانات BSL-2 یا BSL-3 در دسترس نیست، ایزوله‌ها را به یک آزمایشگاه بهداشت عمومی مرجع با حداقل امکانات BSL-2 برای تست حساسیت ارسال کنید.

جدول 1. شرایط تست و کنترل کیفی برای عوامل بیوتروریستی.

|  |  |
| --- | --- |
| **شرایط تست** | **محیط کشت:** براث میکرودایلوشن: **برای گونه‌های بروسلا:** محیط بروسلا براث بدون مکمل کهpH روی 1 /0 ± 1/7 تنظیم شده است. **برای فرانسیسلا تولارنزیس:** CAMHB 2٪ با مکمل رشد تعریف شده.  **برای ارگانیسم‌های دیگر:** CAMHB |
| **تلقیح:** روش رشد در محیط براث یا سوسپانسیون مستقیم کلنی معادل استاندارد نیم مک فارلند. برای فرانسیسلا تولارنزیس تلقیح را برای سوسپانسیون کلنی از پلیت شکلات آگار تهیه کنید. |
| **شرایط انکوباسیون:**  2±35 سانتی‌گراد؛ هوای محیط؛ 16 تا 20 ساعت؛ برای یرسینیا پستیس، 24 ساعت انکوبه کنید و در صورت عدم رشد در چاهک شاهد، 24 ساعت دیگر انکوبه کنید. برای گونه فرانسیسلا تولارنزیس و بروسلا، 48 ساعت انکوبه کنید. |
| **کنترل کیفی** | E.coli ATCC®\* 25922 (تمام ارگانیسم‌ها)  E.coli ATCC® 35218 (برای ترکیبات بتالاکتام/ مهارکننده بتالاکتاماز و بورخولدریا سودومالئی)  S.aureus ATCC® 29213 (برای باسیلوس آنتراسیس و فرانسیسلا تولارنزیس)  P.aeruginosa ATCC® 27853 (برای بورخولدریا سودومالئی/مالئی و فرانسیسلا تولارنزیس)  S.pneumoniae ATCC® 49619 (فقط برای گونه‌های بروسلا)  جداول کنترل کیفی را ببینید. |

جدول 2. عوامل انتخابی اولیه برای آنتی‌بیوگرام عوامل بیوتروریستی.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Brucella spp.*** | ***F.tularensis*** | ***B.pseudomallei*** | ***B.mallei*** | ***Y.pes‌tis*** | ***B.anthracis*** |
| Gentamicin  S‌treptomycin | Gentamicin  S‌treptomycin | Amoxicillin-  clavulanate | Ceftazidime | Gentamicin | Penicillin |
| Doxycycline  Tetracycline | Doxycycline  Tetracycline | Ceftazidime | Imipenem | S‌treptomycin | Doxycycline  Tetracycline |
| Trimethoprim- Sulfamethoxazole | Ciprofloxacin or  levofloxacin | Imipenem | Doxycycline  Tetracycline | Doxycycline  Tetracycline | Ciprofloxacin |
|  | Chloramphenicol | Doxycycline  Tetracycline |  | Ciprofloxacin |  |
| Trimethoprim-  sulfamethoxazole | Trimethoprim- sulfamethoxazole |
| Chloramphenicol |

**a. باسیلوس آنتراسیس**

جدول 3. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری باسیلوس آنتراسیس.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نام آنتی‌بیوتیک** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** |
| **Amoxicillin** | ≤ 0.12 µg/mL | - | ≥ 0.25 µg/mL |
| **Penicillin** | ≤ 0.5 µg/mL | - | ≥ 1 µg/mL |
| **Doxycycline** | ≤ 1 µg/mL | - | - |
| **Tetracycline** | ≤ 1 µg/mL | - | - |
| **Ciprofloxacin** | ≤ 0.25 µg/mL | - | - |
| **Levofloxacin** | ≤ 0.25 µg/mL | - | - |

**نکات جدول:**

1. اگر باکتری حساس به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین باشد، نسبت به آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین هم حساس است.
2. اگر آنتی‌بیوتیک‌های داکسی‌سایکلین، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین حساس نباشند، در قسمت مقاومت به صورت غیرحساس گزارش می‌شوند.
3. اگر باکتری به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین حساس باشد، آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین هم حساس در نظر گرفته می‌شود.

**b. گونه‌های بروسلا**

جدول 4. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری گونه‌های بروسلا.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **(S) حساس** | **(I) نیمه حساس** | **(R) مقاوم** |
| **Gentamicin** | ≤ 4 µg/mL | - | - |
| **S‌treptomycin** | ≤ 8 µg/mL | - | - |
| **Doxycycline** | ≤ 1 µg/mL | - | - |
| **Tetracycline** | ≤ 1 µg/mL | - | - |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole** | ≤ 2/38 µg/mL | - | - |

**نکات جدول:**

1. اگر باکتری به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین حساس بود، آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین هم حساس است.
2. تمام آنتی‌بیوتیک‌های قابل استفاده، اگر حساس نبودند به صورت غیرحساس گزارش می‌شوند.
3. ممکن است انکوباسیون در 5 درصد CO2 برای رشد برخی از گونه‌های بروسلا، به ویژه بروسلا آبورتوس، مورد نیاز باشد.
4. انکوباسیون آزمایش‌‌های MIC براث در CO2 ممکن است MIC آمینوگلیکوزیدها را افزایش دهد و MIC تتراسایکلین‌ها را معمولاً با یک رقت دو برابری کاهش دهد.

**c. یرسینیا پستیس**

جدول 5. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری یرسینیا پستیس.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **(S) حساس** | **(I) نیمه حساس** | **(R) مقاوم** |
| **Gentamicin** | ≤ 4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥ 16 µg/mL |
| **S‌treptomycin** | ≤ 4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥ 16 µg/mL |
| **Doxycycline** | ≤ 4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥ 16 µg/mL |
| **Tetracycline** | ≤ 4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥ 16 µg/mL |
| **Ciprofloxacin** | ≤ 0.25 µg/mL | - | - |
| **Levofloxacin** | ≤ 0.25 µg/mL | - | - |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole** | ≤ 2/38 µg/mL | - | ≥ 4/76 µg/mL |
| **Chloramphenicol** | ≤ 8 µg/mL | 16 µg/mL | ≥ 32 µg/mL |

**نکات جدول:**

1. اگر باکتری حساس به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین باشد، آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین هم حساس است.
2. ارگانیسم‌های حساس به پنی‌سیلین به آموکسی‌سیلین نیز حساس هستند.
3. اگر آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین حساس نباشند به صورت غیرحساس گزارش می‌شوند.
4. برای یرسینیا پستیس، عوامل ضد میکروبی بتالاکتام از نظر بالینی مؤثر نیستند گرچه ممکن است در شرایط آزمایشگاهی فعال به نظر برسند، اما در مدل‌های حیوانی عفونت فاقد کارایی هستند و باید به عنوان مقاوم به این عوامل ضد میکروبی گزارش شود. این مورد به صورت توصیه Rx زیر قابل گزارش است:

**Rx:** Retrospective clinical data sugges‌t that ß-lactam antimicrobial agents are not effective clinically.

**d. فرانسیسلا تولارنزیس**

جدول 6. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری فرانسیسلا تولارنزیس.

| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **(S) حساس** | **(I) نیمه حساس** | **(R) مقاوم** |
| --- | --- | --- | --- |
| **Gentamicin** | ≤ 4 µg/mL | - | - |
| **S‌treptomycin** | ≤ 8 µg/mL | - | - |
| **Doxycycline** | ≤ 4 µg/mL | - | - |
| **Tetracycline** | ≤ 4 µg/mL | - | - |
| **Ciprofloxacin** | ≤ 0.5 µg/mL | - | - |
| **Levofloxacin** | ≤ 0.5 µg/mL | - | - |
| **Chloramphenicol** | ≤ 8 µg/mL | - | - |

**نکات جدول:**

1. اگر باکتری به آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین حساس بود، آنتی‌بیوتیک داکسی‌سیکلین هم حساس است.
2. برای تمامی آنتی‌بیوتیک‌های این باکتری اگر حساس نبودند به صورت غیرحساس گزارش می‌شوند.
3. ارگانیسم‌های حساس به پنی‌سیلین به آموکسی‌سیلین نیز حساس هستند.
4. محیط توصیه شده برای آزمایش فرانسیسلا تولارنزیس شامل CAMHB است با 2% مکمل رشد تعریف شده در یک لیتر آب است که پس از اتوکلاو اضافه می‌شود. مکمل شامل مواد زیر می‌باشد: 9/25 گرم -L سیستئینHCl، 1/1 گرم -L سیستئین، 1 گرم آدنین، 03/0 گرم گوآنین HCL، 01/0 گرم ویتامین B12، 1/0 گرم کوکاربوکسیلاز، 25/0 گرم نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید، 10 گرم L-گلوتامین، 02/0 گرم نیترات آهن، 100 گرم گلوکز، 3 میلی گرم تیامین HCl و 13 میلی گرم p-آمینوبنزوئیک).pH محیط باید روی 1/0 ± 1/7 تنظیم شود.

**e. بورخولدریا مالئی و بورخولدریا سودومالئی**

جدول 7. آنتی‌بیوتیک‌‌های مجاز و تفسیر هاله‌های عدم رشد در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری بورخولدریا مالئی و بورخولدریا سودومالئی.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **بورخولدریا مالئی** | | | |
| **نام آنتی‌بیوتیک (دوز)** | **حساس (S)** | **نیمه حساس (I)** | **مقاوم (R)** |
| **Ceftazidime** | ≤8 µg/mL | 16 µg/mL | ≥32 µg/mL |
| **Imipenem** | ≤4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥16 µg/mL |
| **Doxycycline** | ≤4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥16 µg/mL |
| **Tetracycline** | ≤4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥16 µg/mL |
| **بورخولدریا سودومالئی** | | | |
| **Amoxicillin-clavulanate** | ≤8/4 µg/mL | 16/8 µg/mL | ≥32/16 µg/mL |
| **Ceftazidime** | ≤8 µg/mL | 16 µg/mL | ≥32 µg/mL |
| **Imipenem** | ≤4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥16 µg/mL |
| **Doxycycline** | ≤4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥16 µg/mL |
| **Tetracycline** | ≤4 µg/mL | 8 µg/mL | ≥16 µg/mL |
| **Trimethoprim-sulfamethoxazole** | ≤2/38 µg/mL | - | ≥4/76 µg/mL |

**نکات جدول:**

اگر باکتری‌ها حساس به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بودند، آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین نیز حساس 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.