**3. انتروکوک و استرپتوکوک**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل انجام و گزارش مقاومت های آنتی بیوتیکی در انتروکوک و استرپتوکوک ها** | |
| **کد سند:** | D-007-0026 | |
| **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}} |

مقاومت های قابل گزارش در این باکتری شامل سه مقاومت زیر می باشد:

1. تست بتالاکتاماز با روش نیتروسفین
2. مقاومت به ونکومایسین (VRE و VIE)
3. مقاومت سطح بالا به آمینوگلیکوزیدها یا HLAR

**1) تست بتالاکتاماز با روش نیتروسفین**

مطابق روش گفته شده در مورد استافیلوکوک‌ها به انجام می‌رسد و اگر باکتری دارای این مقاومت باشد، آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپیسیلین، آموکسی‌سیلین، پیپراسیلین و آزلوسین باید مقاوم گزارش شوند.

**2) مقاومت به ونکومایسین**

* برخلاف استافیلوکوک‌ها، در گونه‌های انتروکوک، ونکومایسین را با روش انتشار دیسک می‌توان آزمایش و گزارش نمود.
* اگر آنتی‌بیوتیک ونکومایسین در محدوده مقاوم باشد (در روش دیسک عدد کمتر از 14 و در روش MIC عدد مساوی یا بیشتر از 32) سویه به عنوان انتروکوک‌ مقاوم به ونکومایسین یا VRE قابل گزارش است.
* در روش دیسک بهتر است (ضروری نیست) این مقاومت با MIC تأیید شود و در حالت نیمه حساس توصیه شده است که با یک روش MIC مورد تأیید، چک شود.
* برای شناسایی صحیح با روش های انتشار دیسک یا رقیق‌سازی در محیط های جامد یا مایع و گزارش سویه به‌عنوان حساس، پلیت، لوله‌ها یا چاهک‌ها را باید از نظر وجود رشد خفیف به طور دقیق بررسی نمود و آزمایش را باید به‌مدت 24 ساعت تمام (به جای 20-16 ساعت) گرمخانه‌گذاری نمود.
* برای تأیید مقاومت یا نیمه حساس بودن ونکومایسین از روش غربال گری ونکومایسین آگار به شیوه‌ای که در ذیل توضیح داده شده است، می‌توان استفاده نمود.

**آزمایش غربال گری ونکومایسین آگار:**

تقریباً مشابه استافیلوکوک است و طبق مراحل زیر به انجام می‌رسد:

1. به محیط BHI آگار μg/mL 6 ونکومایسین اضافه کنید.
2. نظیر روش های تعیین MIC یا انتشار از دیسک، از ایزوله انتروکوک با روش مستقیم از کلنی (DCS)، کدورت سوسپانسیون معادل استاندارد 5/0 مک‌فارلند تهیه نمایید و به محیط فوق تلقیح کنید.
3. پلیت را با استفاده از لوپ 1 یا 10 میکرولیتری یا سواب، تلقیح نمایید. یا با استفاده از لوپ، نمونه را در ناحی‌های به قطر  
   mm 15-10 از سطح محیط آگار کشت خطی دهید. یا در صورت استفاده از سواب، مانند روش انتشار از دیسک، لکه**‌**ای به قطر mm 15-10 را کشت دهید.
4. پلیت را در دمای 2 ±35 درجه سانتی‌گراد، در هوای معمولی و به‌ مدت 24 ساعت تمام گرمخانه‌گذاری کنید. با استفاده از نور عبوری، هر نوع رشد شامل کلنی‌‌های کوچک (بیش از یک کلنی) یا لایه‌ای از رشد، نشان**‌**دهنده، مقاومت به ونکومایسین است.

* برای کنترل کیفیت (QC)، از سویه‌‌های ذیل استفاده کنید:

انتروکوکوس فکالیسATCC 29212 (حساس به ونکومایسین)-شاهد منفی.

انتروکوکوس فکالیس ATCC 51299 (مقاوم به ونکومایسین)-شاهد مثبت.

* **مقاومت VIE:**

وقتی باکتری به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین نیمه حساس است (عدد 16-15 در روش دیسک یا عدد 18-16 میکروگرم در میلی‌لیتر در روش MIC) می‌توان آن را به عنوان سویه نیمه حساس به ونکومایسین یا VIE گزارش نمود به شرطی که این نیمه حساس بودن حتماً با روش MIC چک و تأیید شود.

**3) مقاومت سطح بالا به آمینوگلیکوزیدها**

* آمینوگلیکوزیدها مانند جنتامایسین برای انتروکوک قابل استفاده نیستند و تنها مورد، استفاده از دوز بسیار بالای آنها برای درمان ترکیبی (سینرژیک یا هم افزایی) برخی عفونت‌های خاص مانند اندوکاردیت همراه با پنی‌سیلین‌ها (مانند آمپی‌سیلین یا پنی‌سیلین) می‌باشد.
* بنابراین در صورت نیاز، مقاومت سویه انتروکوک به دوز سطح بالای این داروها به خصوص جنتامایسین و استرپتومایسین چک شود که به چند روش انتشار دیسک، انتشار در آگار و یا روش رقیق‌سازی میکرودایلوشن امکان**‌**پذیر است که ساده‌ترین آنها که در آزمایشگاه قابل انجام است استفاده از دیسک های 120 میکروگرمی جنتامایسین و 300 میکروگرمی استرپتومایسین می‌باشد.
* همزمان با انجام آنتی‌بیوگرام یکی از این دیسک ها روی پلیت گذاشته می‌شود و همراه با بقیه دیسک ها روز بعد از انکوباسیون خوانش می‌شود.
* تفسیر قطر هاله‌ها به این ترتیب است که در هر دو دیسک اگر هیچ هاله‌ای مشاهده نشده (6 میلی‌متر) یعنی مقاومت سطح بالا به آنها وجود دارد. قطر هاله بین 7 تا 9 میلی‌متر مشکوک است و قطر هاله بالای 10 میلی‌متر به عنوان حساس گزارش می‌شود که در این حالت می‌توان از آنها برای درمان استفاده نمود. در حالت مقاومت گزارش به صورت زیر خواهد بود:

**High-Level Aminoglycoside Resis‌tance:** HLAR (120-μg gentamicin or 300-μg S‌treptomycin):   
positive

**نکته 1:** سویه‌های انتروکوک با MIC‌های آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین 16 ≥ میکروگرم در میلی‌لیتر به عنوان مقاوم طبقه‌بندی می‌شوند. با این حال، انتروکوک‌‌های دارای MIC پنی‌سیلین 64 ≤ میکروگرم در میلی‌لیتر یا MIC آمپی‌سیلین ≤ 32 میکروگرم در میلی‌لیتر ممکن است به کشتن سینرژیک توسط این پنی‌سیلین‌ها در ترکیب با جنتامایسین یا استرپتومایسین (در صورت عدم وجود مقاومت در سطح بالا به آنها) اگر از دوز‌های بالای پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین استفاده شود حساس باشند. انتروکوک‌هایی که سطوح بالاتری از پنی‌سیلین (128 (MICs ≥ یا آمپی‌سیلین (64 (MICs ≥ دارند، ممکن است نسبت به اثر هم**‌**افزایی حساس نباشند. در این مواقع درخواست پزشکان برای تعیین MIC پنی‌سیلین یا آمپی‌سیلین برای جدایه‌های خون و CSF انتروکوک باید در نظر گرفته شود و در صورت وجود امکانات به انجام برسد.

**نکته 2:** نیازی به تست بقیه عوامل آمینوگلیکوزیدی نیست زیرا برتری خاصی نسبت به جنتامایسین یا استرپتومایسین برای درمان عفونت‌های انتروکوکی ندارند و نتایج آنها قابل تعمیم به یکدیگر می‌باشد.

**نکته 3:** کنترل کیفی این دو دیسک دوز بالا با سویه E. faecalis ATCC® 29212به انجام می‌رسد که باید همانند بقیه دیسک ها کنترل کیفی 20 یا 30 روزه (یا طرح 3 بار تکراره 5 روزه) و سپس هفتگی برای آنها به انجام برسد (به فصل چهارم کنترل کیفیت مراجعه شود). در حالت استاندارد محدوده قطر هاله عدم رشد برای جنتامایسین دوز بالا با این سویه 23-16 میلی‌متر و برای استرپتومایسین برابر 20-14 میلی‌متر می‌باشد.

**نکته 4:** دقت شود در مورد روش های دیگر برای داروی استرپتومایسین (آگار دیلوشن و میکرودایلوشن) اگر در عرض 24 ساعت انکوباسیون، رشدی داخل محیط مشاهده نشد یعنی باکتری حساس بوده ولی باید قبل از گزارش حساس حتماً 24 ساعت دیگر انکوبه و سپس گزارش شود.

**مکانیسم مقاومت پنوموکوک**

مکانیسم قابل گزارش در باکتری پنوموکوک مقاومت القایی به کلیندامایسین یا ICR است که در قسمت استافیلوکوک‌ها به طور کامل گفته شد.

**مکانیسم مقاومت استرپتوکوکهای بتاهمولیتیک (گروه A و گروه B) و استرپتوکوک‌های ویریدانس**

برای این دسته از باکتری‌ها دو مقاومت بتالاکتاماز و مقاومت القایی به کلیندامایسین قابل انجام و گزارش است که در قسمت استافیلوکوک‌ها به طور کامل شرح داده شدند.