**7. آنتي بيوگرام مستقیم از خون**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل انجام آنتي بيوگرام مستقیم از ویال کشت خون مثبت شده طبق CLSI2025** | |
| **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}} |

**(1) هدف:**

در این دستورالعمل نحوه انجام آنتي بيوگرام مستقیم از ویال کشت خون مثبت شده طبق CLSI2025 برای انتروباکترال ها، سودوموناس آئروجینوزا و آسینتوباکتر شرح داده شده است.

**(2) تعاریف و اصطلاحات:**

* برای اکثر نمونه های میکروبی دستورالعملی برای انجام آنتی بیوگرام از نمونه مستقیم مثبت شده به منظور سرعت بخشیدن در جواب بیمار وجود ندارد.
* تنها مورد در دستورالعمل CLSI انجام آزمايش‌ حساسيت‌ ضد ميکروبي مستقيم یعنی بدون کشت اولیه، از بطري‌هاي کشت خون مثبت شده در صورت عفونت تک ميکروبي (بر اساس ارزيابي ميکروسکوپي) با سه باکتری انتروباکتریالها، سودوموناس آئروجینوزا و اخیراً آسینتوباکتر و برای فقط برخی آنتی بیوتیک ها می باشد.

**(3) شرح دستورالعمل:**

1. مرحله اول بعد از مثبت شدن کشت خون تشخیص اولیه است تا مشخص شود یکی از ۳ باکتری فوق حضور دارد یا خیر.
2. برای انجام تست های اولیه بهترین روش استفاده از لوله وکیوم لخته ژل دار است. مقدار 5 میلی لیتر از کشت خون مثبت شده را داخل این لوله ریخته و به مدت 10 دقیقه در در دور g 1000 سانتریفیوژ کنید. این عمل باعث جدا شدن گلبول های قرمز از سرم حاوی باکتری ها و تغلیظ باکتری ها شده و انجام تست های اولیه را راحت می کند.
3. از مایع رویی که حاوی باکتری هاست رنگ آمیزی گرم و تست اکسیداز انجام دهید. اگر باکتری گرم منفی نبود کلاً انجام آنتی بیوگرام مستقیم قابل انجام نخواهد بود. اگر باکتری ها کوکسی گرم منفی و اکسیداز منفی بودند احتمالاً باکتری آسینتوباکتر است، باسیل گرم منفی و اکسیداز منفی احتمال انتروباکترال ها را مطرح می کند و وجود باسیل گرم منفی اکسیداز مثبت احتمالاً نشان دهنده باکتری سودوموناس آئروجینوزا است.

بعد از تشخیص اولیه مراحل زیر را برای انجام آنتی بیوگرام مستقیم به انجام می رسانیم:

1. بطری کشت خون را 5 تا 10 بار برعکس کنید تا کاملاً مخلوط شود.

2. بالای بطری را با دستمال مرطوب الکلی استریل کنید، اجازه دهید خشک شود و سوزن سرنگ را داخل بطری کشت خون قرار دهید.

3. چهار قطره از محیط آبگوشت کشت خون را روی یک پلیت مولر هینتون آگار بریزید. به عنوان بررسی خلوص، بر روی یک پلیت بلاد آگار هم تلقیح را انجام دهید.

4. نمونه ریخته شده را با استفاده از یک سواب پنبه ای استریل در تمام سطح پلیت پخش کنید و کشت چمنی چند جهته را انجام دهید.

5. درب را برای 3 تا 5 دقیقه (در حالت ایده آل) اما نه بیشتر از 15 دقیقه باز بگذارید.

6. دیسک های آنتی بیوتیکی را روی سطح پلیت تلقیح شده بگذارید و کمی فشار دهید (انتخاب دیسک ها بر حسب رنگ آمیزی گرم و تست اکسیداز).

7. در نهایت پلیت را معکوس کرده و ظرف 15 دقیقه پس از گذاشتن دیسک ها در انکوباتور قرار دهید. زمان انکوباسیون از 10-8 ساعت و یا 18-16 ساعت متغیر است.

* برای سه باکتری فوق جداول تفسیری اندکی با جداول استاندارد باکتریها که برای هر باکتری گفته شد متفاوت است و ممکن است بسته به زمان انکوباسیون هم تفسیر یک دیسک متفاوت باشد.
* در جداول 1 تا 3 آنتی بیوتیک های مجاز قابل انجام با روش مستقیم از کشت خون و همچنین تفسیر هر دیسک بر اساس باکتری و زمان انکوباسیون آمده است. ممکن است برای خوانش هاله های برخی از دیسک ها زمان 10-8 ساعت انکوباسیون کافی نباشد و به همین خاطر داخل جداول زیر جلوی آنها خط تیره آمده است.

جدول 1.آنتی بیوتیک های مجاز قابل انجام با روش مستقیم از کشت خون و همچنین تفسیر هر دیسک بر اساس زمان خوانش برای انتروباکترال ها.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **آنتی بیوتیک** | **زمان خوانش** | **حساس** | **نیمه حساس** | **مقاوم** |
| Ampicillin | 10-8 ساعت | ≥16 | 12-15 | 11 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥ 17 | 14-16 | 13 ≥ |
| Cefepime | 8-10 ساعت | ≥23 | 19-22 | 18 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥23 | 19-22 | 18 ≥ |
| Ceftriaxone | 10-8 ساعت | ≥23 | 20-22 | 19 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥23 | 20-22 | 19 ≥ |
| Ceftazidime | 10-8 ساعت | ≥21 | 18-20 | 17 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥21 | 18-20 | 17 ≥ |
| Aztreonam | 10-8 ساعت | ≥21 | 18-20 | 17 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥21 | 18-20 | 17 ≥ |
| Meropenem | 10-8 ساعت | ≥22 | 20-21 | 19 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥22 | 19-21 | 18 ≥ |
| Tobramycin | 10-8 ساعت | ≥ 17 | 13-16 | 12 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥ 17 | 13-16 | 12 ≥ |
| Ciprofloxacin | 10-8 ساعت | ≥21 | 18-20 | 17 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥21 | 18-20 | 17 ≥ |
| Trimethoprim-  Sulfamethoxazole | 10-8 ساعت | - | - | - |
| 18-16 ساعت | ≥ 16 | 11-15 | 10 ≥ |

جدول 2. آنتی بیوتیک های مجاز قابل انجام با روش مستقیم از کشت خون و همچنین تفسیر هر دیسک بر اساس زمان خوانش برای سودوموناس آئروجینوزا.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **آنتی بیوتیک** | **زمان خوانش** | **حساس** | **نیمه حساس** | **مقاوم** |
| Cefepime | 8-10 ساعت | - | - | - |
| 16-18 ساعت | ≥ 18 | 15-17 | 14 ≥ |
| Ceftazidime | 8-10 ساعت | ≥ 18 | - | 14 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥ 18 | 15-17 | 14 ≥ |
| Meropenem | 8-10 ساعت | ≥19 | 16-18 | 15 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥19 | 16-18 | 15 ≥ |
| Tobramycin | 8-10 ساعت | ≥19 | 13-18 | 12 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥ 19 | 13-18 | 12 ≥ |
| Ciprofloxacin | 8-10 ساعت | ≥23 | 18-22 | 17 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥25 | 19-24 | 18 ≥ |

جدول 3. آنتی بیوتیک های مجاز قابل انجام با روش مستقیم از کشت خون و همچنین تفسیر هر دیسک بر اساس زمان خوانش برای آسینتوباکتر.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **آنتی بیوتیک** | **زمان خوانش** | **حساس** | **نیمه حساس** | **مقاوم** |
| Ampicillin-sulbactam | 8-10 ساعت | - | - | - |
| 16-18 ساعت | ≥ 15 | 12-14 | 11 ≥ |
| Piperacillin-tazobactam | 8-10 ساعت | ≥19 | 17-18 | 16 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥19 | 17-18 | 16 ≥ |
| Cefepime | 8-10 ساعت | ≥ 18 | 15-17 | 14 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥ 18 | 15-17 | 14 ≥ |
| Ceftazidime | 8-10 ساعت | ≥ 17 | 15-16 | 14 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥ 17 | 15-16 | 14 ≥ |
| Ceftriaxone | 10-8 ساعت | ≥21 | 14-20 | 13 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥20 | 13-19 | 12 ≥ |
| Meropenem | 8-10 ساعت | ≥ 18 | 15-17 | 14 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥ 18 | 15-17 | 14 ≥ |
| Tobramycin | 8-10 ساعت | ≥ 15 | 13-14 | 12 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥ 15 | 13-14 | 12 ≥ |
| Ciprofloxacin | 8-10 ساعت | ≥21 | 16-20 | 15 ≥ |
| 16-18 ساعت | ≥21 | 16-20 | 15 ≥ |
| Trimethoprim-  Sulfamethoxazole | 10-8 ساعت | ≥ 16 | 11-15 | 10 ≥ |
| 18-16 ساعت | ≥ 16 | 11-15 | 10 ≥ |

**(4) محدودیت ها و تداخلات:**

* اگر باکتری های شناسایی شده آسینتوباکتر، سودوموناس یا انتروباکتریال نباشد نمی توان تفسیر را انجام داد.
* اگر الگوی رشد ناسازگاری در پلیت وجود دارد (مثلاً تلقیح مخلوط، رشد غیریکنواخت، رشد خیلی ضعیف)، نتایج آزمایش انتشار مستقیم دیسک را تفسیر یا گزارش نکنید و آزمایش حساسیت استاندارد را از رشد کلنی خالص انجام دهید.
* اگر دو هاله عدم رشد مشاهده شد، قطر ناحیه داخلی را اندازه گیری کنید.
* در صورت وجود کلنی در داخل مناطق، یا وجود هر دو ناحیه داخلی و خارجی، خلوص پلیت را بررسی کنید و در صورت خالص بودن، قطر ناحیه داخلی را ثبت کنید.
* اين سوسپانسيون‌ها همچنين ممکن است براي انجام آزمايش‌هاي اوليه مانند کواگولاز، نوکلئاز پايدار در برابر حرارت، هيدروليز اسکولين، حلاليت صفرا، تشخيص آنتي‌ژن با رنگ‌آميزي آنتي‌بادي فلورسنت يا روش‌هاي آگلوتيناسيون براي باکتری های گرم مثبت، اکسيداز، و رنگ آمیزی گرم استفاده شوند.
* نتايج احتمالی بايد با روش‌هاي مرسوم با استفاده از کشت‌هاي خالص تأیید شوند.

**(4) منبع:**

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 35th edition. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100. Wayne، PA: CLSI; 2025.