بسته آموزشی

عوامل میکروبی شایع و کنترل کیفی درآزمایشگاه میکروبشناسی

تهیه و تدوین :

احد شهنامی

کارشناس مسئول آزمایشگاه مرکز بهداشت استان

بسته آموزشی

عوامل میکروبی شایع و کنترل کیفی در آزمایشگاه میکروبشناسی

این مجموعه در راستای کنترل کیفیت و تضمین کیفیت در آزمایشگاه، در گروه کارشناسان آزمایشگاه مرکز بهداشت استان آذربایجان شرقی با مشارکت وهمکاری افراد زیر تهیه و تدوین گردیده است :

۱. احد شهنامی (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس مسئول آزمایشگاه)

۲. فرشاد آریادوست (کارشناس آزمایشگاه - پست سازمانی : کارشناس مسئول آزمایشگاه)

با قدردانی از همکاری صمیمانه کارشناسان آزمایشگاه های تابعه معاونت بهداشتی استان آذربایجان شرقی

تاریخ تهیه بسته آموزشی : مهرماه سال ۱۴۰۱

گروه های هدف:

کارشناس آزمایشگاه –کاردان آزمایشگاه - تکنسین آزمایشگاه

اهداف آموزشی:

هدف کلی:

افزایش دانش وآگاهی پرسنل آزمایشگاه های بهداشتی در مورد عوامل میکروبی شایع و کنترل کیفی در آزمایشگاه میکروبشناسی می باشد.

روش و نحوه اجرای آموزش:

با توجه به اینکه هدف این مجموعه آموزشی افزایش دانش و آگاهی کارکنان در مورد عوامل میکروبی شایع و کنترل کیفی در آزمایشگاه میکروبشناسی می باشد، بنابراین می تواند جهت ارائه بهتر مطالب به روش حضوری درقالب کارگاه آموزشی وعملی ارائه شود و یا جهت پوشش تعداد بیشتری از آموزش گیرندگان بصورت غیرحضوری و در قالب کتابخوانی انجام گیرد.

مدت دوره آموزشی : ۳۰ ساعت

ارزشیابی :

در پایان دوره بمنظور ارزیابی میزان حصول موفقیت ودستیابی به اهداف آموزشی و بررسی آگاهی، نگرش وعملکرد آموزش گیرندگان و بهبود مستمر فرآیند، یک ارزشیابی از شرکت کنندگان بصورت تستهای چهارگزینه ای بعمل خواهدآمد.

مقدمه

آنتوان لیون هوک، بیولوژیست آلمانی در سال ۱۶۷۴ طی بررسی های دقیق میکروسکوپی روی یک قطره آب، دنیایی از میلیونها ذره کوچک به نام animalcules را کشف کرد. همچنین ۱۰۰ سال بعد یک دانشمند دانمارکی به نام اتومولر مطالعات وان لیون هوک را گسترش داد و باکتریها را براساس طبقه‌بندی به روش کارلوس لینوس به ردهها و گونه هایشان دسته‌بندی کرد. این سرآغاز طبقه‌بندی میکروبها بود. در سال ۱۸۴۰ یک پاتولوژیست آلمانی به نام فردریک هنله، یک سری خصوصیاتی را جهت اثبات این مطلب که میکروارگانیسم ها مسئول بیماریهای انسانی هستند (تئوری جرم در مورد بیماریها) ارائه نمود. رابرت کخ و لوئیس پاستور این تئوری را طی سالهای ۱۸۷۰ تا ۱۸۸۰ تأیید کرده و با یک سری آزمون های ویژه و خاص ثابت کردند که میکروارگانیسم ها عامل بیماری هایی چون سیاهزخم، هاری، طاعون، وبا و سل هستند. دیگر دانشمندان ثابت نمودند که مجموعه‌ای از میکروبهای مختلف مسئول بیماریزایی انسان هستند.

تاریخچه آغاز شیمی درمانی به سال ۱۹۱۰ برمی گردد، زمانی که یک شیمیدان آلمانی به نام پل ارلیش اولین ماده ضدباکتری را کشف کرد، ماده مذکور علیه اسپیروکت های عامل سیفلیس مؤثر بود. در سال ۱۹۲۸ الکساندر فلمینگ پنی‌سیلین را کشف کرد. جرالد دوماگ در سال ۱۹۳۵ سولفانامیدها را کشف کرد و سلمن واکسمن در سال ۱۹۴۳ استرپتومایسین را کشف کرد. در سال ۱۹۴۶، یک میکروبشناس آمریکایی به نام جان اندرز، اولین کسی بود که ویروس ها را در کشت های سلولی پرورش داد و راهی به سوی تولید انبوه کشت‌های سلولی پرورش داد و راهی به سوی تولید انبوه کشت های ویروسی برای گسترش واکسیناسیون گشود. هزاران دانشمند این مسیر را دنبال کردند، هر کدام یافته ها و

روشهای خاص خود را داشتند و هر کدام روشهایی را برای شناخت میکروبها و راههای بیماریزایی آنها ارائه و گسترش دادند .

دنیایی که وان لیون هوک کشف کرد، بسیار پیچیده و شامل تک یاخته ها و باکتری هایی از هر شکل و اندازه بود. هر چند پیچیدگی های میکروب شناسی پزشکی که ما امروزه می دانیم با تصورات محدود ما رقابت می‌کند. امروزه ما می‌دانیم که هزاران نوع مختلف از میکروبها درون، بیرون و اطراف ما زندگی می‌کنند و صدها نوع آنها مسبب بیماری های جدی در انسان هستند. برای دریافتن این اطلاعات و طبقه بندی آنها به صورت کارآمد، مهم است که یک سری مسائل ابتدایی و اصلی میکروب شناسی پزشکی را بدانیم. برای شروع باید بدانیم که میکروب ها می‌توانند به ۴ گروه تقسیم بندی شوند: ویروس ها، باکتری ها، قارچها و انگل‌ها که هر کدام از این‌ها دسته‌بندیهای خاص خود را دارند.

ویروس ها

ویروس ها کوچک ترین ذرات عفونی به قطر ۱۸تا حدوداً ۳۰۰ نانومتر می‌باشند (اکثر ویروس ها کمتر از ۲۰۰ نانومتر هستند و با میکروسکوپ نوری قابل رؤیت نیستند). بیست و پنج خانواده با بیش از ۱۵۵۰ گونه از ویروسها تعریف شدهاند و اکثر آنها در رابطه با بیماری های انسانی هستند. ویروس ها حاوی دزوکسی ریبونوکلیک اسید (DNA) یا ریبونوکلئیک اسید (RNA) هستند و همچنین ممکن است حاوی پروتئین های لازم جهت همانندسازی و بیماری زایی باشند. این اجزاء در یک پوشش پروتئینی با غشاء لیپیدی یا بدون آن بسته بندی شده اند. ویروس ها، انگل های واقعی هستند و برای همانندسازی نیاز به سلولهای میزبان دارند. سلول هایی که آنها آلوده می‌کنند و پاسخ میزبان به آن عفونت ممکن است سبب همانندسازی سریع و تخریب سلول شود و یا سبب یک رابطه مزمن به صورت انتگره شدن ژنوم ویروس در ژنوم میزبان شود.

فاکتورهایی که مشخص می کند کدام یک از این مکانیزم ها رخ می‌دهد، تقریباً شناسایی شده اند. به عنوان مثال آلودگی با ویـروس نقص ایمنی انسانی، عامل سندروم نقص ایمنی اکتسابی(AIDS) ، می‌تواند به دلیل آلودگی نهفته لنفوسیت‌های CD4 یا بـه دلیـل همانندسازی فعال و تخریب این سلول های ایمونولوژیکی مهم باشد. آلودگی می‌تواند به سایر سلولهای حساس مثـل سـلولهـای میکروگلیال مغز منتشر شود و منجر به تظاهرات عصبی بیماری ایدز شود. بنابراین بیماریهای ایجاد شده توسط ویروس می‌تواند از یک سرماخوردگی شایع تا یک عفونت معدی ـ رودهای تا بیماریهای نوزادی مثل هاری، ابولا، آبله یا ایدز باشد.

باکتری ها

باکتری ها از نظر ساختمانی تقریباً ساده هستند. آنها ارگانیسم‌های پروکاریوت ـ ارگانیسم‌های تک سلولی ساده فاقد غشاء هسته‌ای، میتوکندری، دستگاه گلژی یا رتیکولواندوتلیال ـ هستند که با تقسیم غیرجنسی تکثیر می‌یابند. دیواره سلولی بـاکتریهـا پیچیـده و شامل یکی از دو شکل اصلی می باشد: دیواره سلولی گرم مثبت با یک پپتیدوگلیکان صخیم و دیواره سلولی گرم منفی با یک لایـه پپتیدوگلیکان نازک و یک غشاء خارجی. بعضی از باکتری ها فاقد ساختار دیواره سلولی هستند و فقط در سلولهـای میزبـانی یـا در یک محیط هایپرتونیک زنده می مانند. اندازه (۲۰-۱ میکرومتر یا بیشتر)، شکل (کروی، میله ای، فنری) و آرایش فضایی (سلول های تک، زنجیره ای، خوشه ای) سلولها برای طبقه‌بندی اولیه باکتریها به کار می‌رود و جنبه‌هـای فنوتیپیـک و ژنوتیپیـک بـاکتریهـا اساس طبقه‌بندی قطعی آنها را تشکیل می‌دهد. بدن انسان به عنوان محیط زیست هزاران گونه مختلف باکتریایی است ـ بعضی از آنها به صورت گذرا (زودگذر) زندگی می‌کنند و بعضی دیگر به صورت دائمی یک رابطه انگلی با میزبان خود دارند. به همین صورت محیطی که اطراف ما را احاطه کرده شامل هوایی که تنفس می کنیم، آبی که می نوشیم و غذایی که می خوریم، برای باکتریها نیز محیط زیست می باشد، بسیاری از آنها غیربیماری زا هستند و بعضی از آنها قادر به ایجـاد

بیماری های مرگ آور هستند. بیماری می تواند به توسط اثرات سمی مواد مترشحه از باکتری ها (توکسین ها) یا در نتیجه ساکن شدن باکتری ها در نقاط استریل بدن روی دهد.

قارچ ها

در مقابل باکتری ها، ساختار سلولی قارچی بسیار پیچیده است. قارچ ها ارگانیسم های یوکاریوت هستند که دارای هسته مشخص، میتوکندری، دستگاه گلژی و رتیکولوم اندوپلاسمیک هستند. قارچها هم می‌توانند به صورت تک سلولی (مخمر) که دارای تکثیر غیرجنسی هستند و هم به صورت رشته‌ای (کپک) که دارای تکثیر جنسی و غیرجنسی هستند، موجود باشند. اکثر قارچ ها به صورت مخمرها یا کپک ها می باشند، هرچند بعضی از قارچ ها به هر دو صورت وجود دارند. این‌ها به عنوان قارچهای دو شکلی محسوب شده و شامل هیستوپلاسما، بلاستومایسس و کوکسیدیوئیدس هستند.

انگل‌ها

انگل ها پیچیده ترین میکروارگانیزم ها هستند. هرچند تمام انگل‌ها به عنوان یوکاریوت طبقه‌بندی شده اند، بعضی از آنها تک سلولی اند و بعضی دیگر پر سلولی هستند. از نظر اندازه، انگل ها از ریزترین پروتوزوآ به قطر ۲-۱ میکرومتر (اندازه اکثر باکتری ها در این محدوده است) تا آرتروپودها و کرم های نواری که می توانند بیش از ۱۰ متر طول داشته باشند متغیر هستند.

در حقیقت تصور اندازه بعضی از انگل ها و طبقه بندی آنها جزو میکروارگانیزم ها باعث تعجب است. چرخه زندگی آنها هم کاملاً پیچیده است، بعضی از انگل ها به طور دائمی در رابطه با انسانها هستند و بعضی از آنها طی مراحل پیشرفت در رابطه با میزبان های حیوانی هستند.

یکی از مشکلاتی که دانشجویان با آن روبه رو هستند این است که تنها درک طیف بیماری های ناشی از انگل کافی نیست بلکه اپیدمیولوژی این عفونت‌ها، تشخیص، کنترل و پیشگیری آنها بسیار مهم و حیاتی است.

بیماریهای میکروبی

یکی از دلایل مهم در بررسی و مطالعه میکروبها درک بیماری ایجاد شده و راههای کنترل آنها است. متأسفانه، رابطه بین بسیاری از ارگانیسم‌ها و بیماریهای آنها ساده نیست. به خصوص اینکه اکثر ارگانیسم‌ها یک بیماری مشخص ایجاد نمی کنند هر چند بعضی ها هستند که بیماری مشخص می دهند (مثل ترپونماپالیدوم، عامل سیفلیس؛ پولیوویروس، عامل فلج؛ گونه های پلاسمودیوم، عامل مالاریا). در عوض در مورد یک ارگانیسم خاص احتمال این که بیماری های متعدد ایجاد کند زیاد است (مثل استافیلوکوک اورئوس که سبب اندوکاردیت، پنومونی، عفونت های زخمی و مسمومیت غذایی می شود) یا بسیاری از ارگانیسم‌ها هستند که بیماری مشابه ایجاد می‌کنند (مثل مننژیت که توسط ویروس ها، باکتری ها، قارچ ها و انگل‌ها ایجاد می‌شود). به علاوه تقریباً ارگانیسم‌های معدودی وجود دارند که همیشه بیماریزا باشند، هر چند گروهی هستند که همیشه بیماریزا می‌باشند (مثل ویروس هاری، باسیلوس آنتراسیس، اسپوروتریکس شنکی ئی و گونه های پلاسمودیوم). در عوض اکثر ارگانیسم ها تحت شرایط مناسب قادر به بیماری زایی هستند (مثل ارگانیسم های دارای پتانسیل بیماری زایی در نقاط استریل بدن مثل مغز، ریه ها و حفره پریتونئال). بعضی از بیماری ها زمانی رخ می دهند که فرد در معرض تماس خارجی با ارگانیسم ها قرار گیرد که به عنوان عفونت های خارجی مطرح هستند به طور مثال بیماری ناشی از ویروس آنفلوانزا، کلستریدیوم تتانی، نیسریا گونورهآ، کوکسیدیوئیدس ایمیتیس و آنتامبا هیستولیتیکا. هر

چند اکثر بیماری های انسانی به واسطه انتشار فلور میکروبی ساکن در بدن خود شخص به نقاط نامناسب رخ می‌دهد (عفونت‌های درونی).

تأثیر متقابل بین ارگانیسم و بدن میزبان یک رابطه پیچیده است. این اثر متقابل می تواند سبب یک کلونیزاسیون زودگذر، یک رابطه هم‌زیستی طولانی یا بیماری شود. بیماریزایی ارگانیسم، محل ارگانیسم و توانایی میزبانی در پاسخ دهی به ارگانیسم می تواند این اثر متقابل را تشریح کند. بنابراین ظهور بیماری از یک سری علائم ملایم تا نقص یک عضو و مرگ می تواند متغیر باشد. نقش بیماری زایی میکروبی و پاسخ ایمنی میزبانی به طور کامل در بخش های بعدی ذکر شده است.

بدن انسان به طور خارق العاده ای جهت کنترل میکروب های بیماری زایی که در معرض آنها قرار می گیرد، وفق داده شده است. موانع فیزیکی از تهاجم میکروب ها ممانعت می کند؛ پاسخ های ایمنی اختصاصی علیه میکروب هدف که باید حذف شود را فعال می کند. متأسفانه پاسخ ایمنی اغلب خیلی دیر و خیلی کند است. برای افزایش توانایی بدن جهت ممانعت از عفونت، پاسخ سیستم ایمنی می‌تواند به دو صورت افزایش یابد: هم از طریق انتقال غیرفعال آنتی بادی های موجود در ایمیون گلوبولین ها و هم از طریق ایمن سازی فعال به واسطه اجزای میکروب ها (آنتی‌ژنها). عفونت ها همچنین می‌توانند به وسیله عوامل دارو درمانی متعدد کنترل شوند. متأسفانه بسیاری از میکروبها قادرند کمپلکس آنتی ژنی خود را تغییر دهند (تغییرات آنتی ژنیک) یا قادرند علیه آنتی بادی های بسیار مؤثر مقاومت بروز دهند. بنابراین مبارزه جهت کنترل بین میکروب و میزبان بدون این که هیچکدام بتواند به طور مطلق پیروز باشد، ادامه دارد (هر چند میکروبها توانایی خارقالعاده ثابت شدهای دارند).

میکروبشناسی تشخیصی

میکروب شناسی آزمایشگاهی نقش مهمی در تشخیص و کنترل بیماری های عفونی دارد. اگرچه توانایی یک آزمایشگاه با یک سری موارد مثل کیفیت نمونه جمع‌آوری شده از بیمار، وسایل مورد استفاده جهت انتقال نمونه بیمار به آزمایشگاه و روش های ثبوت میکروب در نمونه محدود می شود. به دلیل این که اکثر تست های تشخیصی براساس توانایی رشد ارگانیسم است، شرایط انتقال نمونه باید طوری باشد که از زنده بودن باکتری پاتوژن مطمئن باشیم. به علاوه، اگر نمونه گرفته شده به طور دقیق از مکان عفونت نباشد، از ارزش اکثر پروتکل‌های تست‌های مورد استفاده کاسته می شود. این مسئله به نظر واضح می‌رسد ولی بسیاری از نمونه‌های ارسال شده به آزمایشگاهها جهت بررسی، طی برداشت نمونه توسط ارگانیسم‌هایی که در سطوح موکوسی کلونیزه می‌باشند، آلوده می‌گردند. واقعاً تفسیر نتایج تست نمونه‌هایی که آلوده شده اند غیرممکن است چرا که اکثر عفونت‌ها به واسطه ارگانیسم‌های درونزاد ایجاد می‌شوند.

همچنین آزمایشگاه می تواند فعالیت ضدمیکروبی عوامل شیمی درمانی انتخابی را (هر چند که ارزش این تست محدود است) تعیین کند. آزمایشگاه تنها باید ارگانیسم‌هایی را که قادر به بیماریزایی هستند را بررسی کرده و مواد ضدمیکروبی مناسب علیه آنها را مشخص نماید. انجام آزمایش روی تمام ارگانیسم‌های جدا شده یا انتخاب داروی مناسب می‌توانند نتایج نه چندان مطلوب و حتی خطرناکی دربرداشته باشد. وقتی تمام ارگانیسم‌های جدا شده مورد بررسی قرار می گیرند نه تنها بیمار به طور مناسب درمان نمی شود بلکه ارگانیسم پاتوژن حقیقی هم از میان این ارگانیسم های گسترده شناسایی نمی‌شود. نهایتاً تعیین آزمایشگاهی ارگانیسم های حساس به آنتی بیوتیک های مختلف تنها یکی از

جنبه‌های پیچیده کار است. بیماریزایی ارگانیسم، مکان عفونت و توانایی پاسخ بیمار به عفونت، واکنش متقابل انگل ـ میزبان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باید این موارد در برنامه‌ریزی جهت درمان مورد توجه قرار گیرد.

دراین بسته آموزشی به با کتری ها وتعدادی از مهمترین بیماریهایی که در انسان ایجاد می کنند می پردازیم.

نیازمندی های متابولیک

باکتری برای رشد به منبع انرژی، مواد خام برای ساختن پروتئین ها، اندامک ها و غشایی که ساختار و ماشین بیوسنتزی سلول را شکل می دهد نیازمند است. باکتری ها می بایست اسیدهای آمینه، کربوهیدرات ها و لیپیدها را که به عنوان بلوکهای ساختمانی سلول هستند را به دست آورده و یا آنها را بسازند. حداقل موارد مورد نیاز برای رشد شامل یک منبع کربن،یک منبع نیتروژن، منبع انرژی، آب و یون های مختلف می باشند. آهن عنصر مهمی است بطوریکه بسیاری از باکتری ها پروتئین‌های مخصوصی (سیدروفور) برای جذب آهن از محلولهای رقیق ترشح می‌کنند. اگرچه اکسیژن برای میزبان انسانی ضروری است؛ ولی برای بسیاری از باکتریها سم محسوب می‌شود. برخی از ارگانیسم‌ها از جمله کلستریدیوم پرفرنجنس (عامل گانگرن گازی) در حضور اکسیژن قادر به رشد نمی‌باشند. این‌گونه باکتریها را به عنوان بی‌هوازی اجباری می شناسند. دیگر ارگانیسم‌ها مانند مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (عامل سل) به اکسیژن مولکولی برای رشد نیاز داشته و بنابراین هوازی اجباری نامیده می شوند. بعضی از باکتریها نیز هم در حضور اکسیژن و هم در فقدان آن رشد می‌کنند، این باکتری ها به عنوان باکتریهای بی‌هوازی اختیاری شناخته شدهاند. برخی از باکتریها (کموتروفها) انرژی خود را مستقیماً از اکسیداسیون یونهای فلزی مانند آهن به دست می‌آورند. بعضی دیگر مانند جلبک‌های سبز ـ آبی توانایی فتوسنتز دارند. باکتریهای پاتوژن انرژی خود را به وسیله متابولیسم قندها، چربی‌ها و پروتئین‌ها به دست می‌آورند.

برخی باکتری ها مانند سویه های مشخصی از اشرشیاکلی قادرند تمام اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، لیپیدها و کربوهیدرات هـای لازم برای رشد و تقسیم خود را بسازند به شرطی که مواد غذایی غیرآلی همـراه بـا منبـع کـربن ماننـد گلـوکز بـرای آنهـا مهیـا باشـد (جدول ۱- ۲). از طرف دیگر باکتری هایی مانند عامل مولد سیفیلیس(ترپونماپالیدوم) احتیاجـات رشـدی بسـیار پیچیـده ای دارنـد. احتیاجات رشد و محصولات فرعی متابولیک، ممکن است به عنوان یک شاخص در طبقه بندی باکتری های مختلف استفاده شـوند. آن هایی که جهت کسب انرژی و منبع کربن خود، به مواد شیمیایی غیرآلی متکی هستند به عنوان اتوتروف یـا لیتـوتروف شـناخته می شوند. در حالی که بسیاری از باکتری ها و سلول های حیوانی که به منبع کربن آلی نیاز دارند به عنوان هتروتروف یا ارگـانوتروف شناخته می‌شوند.

رشد باکتریایی

در طی تکثیر باکتری دو سلول دختر تولید می‌شود. برای اینکه رشد صورت گیرد باید متابولیت‌هـای کـافی بـرای حمایـت از سـنتز اجزای باکتریایی و خصوصاً نوکلئوتیدها برای سنتز DNA وجود داشته باشد. آبشاری از وقایع منظم (سنتز پـروتئین‌هـای کلیـدی و RNA) در چرخه تکثیر روی می دهد. در صورت آغاز تکثیر، سنتز DNA باید کامل گردد حتی اگر همه مواد غذایی محـیط حـذف شود. تکثیر کروموزومی در غشاء آغاز شده و هر کروموزوم دختر به یک پروتئین متفاوت از غشاء متصل می‌ماند. در برخی سلولهـا DNA به مزوزوم متصل است. هنگامی که غشای باکتری رشد می کند، کروموزوم های دختری کنار کشیده مـی شـوند. بـا شـروع همانندسازی کروموزوم، روند تقسیم سلول نیز آغاز می شود که می‌تواند با شروع شکل‌گیری دیواره بین دو سلول دختر خاتمـه یابـد (شکل ۹-۲). شروع روند تکثیر جدید ممکن است قبـل از تکمیـل تکثیـر کرومـوزوم و تقسـیم سـلولی قبلـی روی دهـد. کـاهش متابولیت ها با ساخت محصولات سمی (مانند اتانل) و هشداردهنده های شیمیایی که موجب توقف سنتز می‌شوند، آغاز می‌گردد. امـا بروز تخریب همچنان ادامه می یابد. با وجود اثر زیان آور بر روی سلول، برخی ریبوزوم ها بـه

پیش‌سازهای داکسی ریبونوکلئوتید تجزیه می شوند. پروتئین ها و پپتیدوگلیکان به متابولیت تبدیل گشته و سلول چروکیده می شود. ممکن است شکل گیری دیواره آغاز شود ولی تقسیم سلولی روی ندهد. برخی سلولها می‌میرند. علائم مشابهی ممکن است اسپورسازی را آغاز کنند.

دینامیک جمعیت

هنگامی که باکتری ها به محیطی اضافه می شوند، قبل از آن که شروع به تقسیم نمایند مدتی زمان لازم است تا به محیط جدید عادت کنند، (شکل ۱۰-۲). این فاصله زمانی به نام Lag phase یا فاز تأخیری رشد معروف است. باکتری ها در زمان دو برابر شدن (برای هر گونه اختصاصی است) رشد می کنند و تقسیم می شوند. با توجه به شرایطی که در طی فاز رشد لگاریتمی وجود دارد، در طی فاز رشد لگاریتمی تعداد باکتریها به 2^n افزایش می‌یابد. n تعداد تقسیم‌هاست. وقتی محیط کشت از متابولیت‌ها خالی می‌شود و یا ترکیبات سمی ساخته می‌شوند، رشد باکتریها متوقف شده و وارد فاز سکون می‌گردند.

استریلیزاسیون(Sterilization)

از بین بردن کلیه میکروبها حتی شکلهای بسیار مقاوم نظیر اسپور باکتریها، مایکوباکتریومها، ویروسهای بدون پوشش و قارچها را استریلیزاسیون گویند. جهت انجام این عمل از روشهای فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود.

حرارت خشک و مرطوب از روشهای فیزیکی استریلیزاسیون هستند که معمولاً در بیمارستان ، جهت استریل کردن به کار می‌روند. این روش فیزیکی البته بیشتر جهت موادی استفاده می‌شود که به حرارت حساس نیستند.

جهت جدا کردن باکتری ها و قارچ ها از هوای اطراف از روش فیلتراسیون استفاده می‌شود (HEPA این نوع فیلتر مانع از عبـور ریز تـرین ذرات موجـود در هـوا مـی شـود). پرتوهـای گامـا ، Xپرتوهـای یـونیزان و مـاوراء بـنفش از پرتوهـای متـداول در استریلیزاسیون می‌باشند.

در مورد روش های شیمیایی استریلیزاسیون می توان از گاز هایی مانند اتیل اکساید نام بردکـه متـداولترین گـاز مـورد اسـتفاده در استریلیزاسیون است. این ترکیب بسیار مؤثر و مفید بوده ولی به علت سمیت استفاده از آن محدود شده است.

گاز فرمالدئید نیز به علت داشتن خواص سرطان زایی به ندرت اسـتفاده مـی شـود. از فرمـالین (فرمالدئیـد ۳۷ درصـد + اب) جهـت نگهداری بافت ها استفاده می شود. از فرمالدئید سال هاست که جهت ضدعفونی نمودن اتـاقهـا، محصـولات پارچـه ای، وسـایل و دستگاهها استفاده می‌شود.

بخار پراکسیدهیدروژن جهت استریل نمودن ابـزار و وسـایل آلـوده اسـتفاده مـی شـود. در روش گـاز پلاسـما بـا اسـتفاده از بخـار پراکسیدهیدروژن و انرژی حاصل از فرکانس های مایکروویو و فرکانس های رادیویی، رادیکالهای آزاد اکسیژن تولیـد مـی‌شـود. در این روش محصولات توکسیک تولید نمی شود، بنابراین به عنوان یک روش بی خطر در استریلیزاسیون به جای اتیلن اکسید به کـار می‌رود. دو محلول استریل‌کننده شیمیایی که به طور معمول استفاده می‌شوند، عبارتند از: پراستیک اسید و گلوتارآلدئید.

پراستیک اسید یک عامل اکسیدکننده است که دارای فعالیت بسیار مناسب بـوده و محصـولات نهـایی واکـنش آن اسیداسـتیک و اکسیژن غیرتوکسیک هستند. گلوتارآلدئید نیز کاربرد خوبی دارد ولی هنگام کار با این ماده باید از تمـاس و برخـورد بـا آن اجتنـاب نمود.

ضدعفونی (Disinfection)

یکی از روشهای از بین بردن میکروبها، ضدعفونی نمودن است، اما در این روش اشکال مقاوم میکروب ها زنده می‌مانند. گاهی به اشتباه واژۀ استریلیزاسیون و ضدعفونی به جای هم به کار می روند. به همین جهت مراحل ضدعفونی به ۳ سطح بالا، متوسط و پایین تقسیم بندی شده اند (جدول ۲-۳). ضدعفونی با سطح بالا از لحاظ کارایی و تأثیر معادل استریلیزاسیون است .در حالیکه اسپور باکتری در برابر ضدعفونی کننده هایی با سطح متوسط زنده می ماند و بسیاری از باکتری ها پس از در معرض قرار گرفتن با ضدعفونی کننده های سطح پائین زنده باقی می‌مانند. از ضدعفونی کنندههای با سطح بالا جهت مواردی که امکان استفاده از استریلیزاسیون نیست، استفاده می شود. مثل انواع خاصی از اندوسکوپ ها و لوازم و وسایل جراحی پلاستیک و یا سایر موادی که قابل اتوکلاو کردن نیستند.

ضدعفونی کننده های سطح بالا مثل گلوتارآلدئید، پراکسید هیدروژن، پراستیک اسید، کلردی اکساید و دیگر ترکیبات کلردار هستند. ضدعفونی کننده با سطح متوسط (الکل ها، ترکیبات یدوفور و ترکیبات فنولیک) جهت پاک کردن سطوح یا وسایلی که آلودگی آنها با اسپور باکتری ها و دیگر ارگانیسم های مقاوم غیرمحتمل است به کار می روند، زیرا اسپور باکتریها توسط این ترکیبات از بین نمی‌روند.

ضدعفونی کننده ها با سطح پایین (ترکیبات آمونیوم چهارظرفیتی) در مورد ابزار و وسایل غیربحرانی مانند دسته دستگاه فشار خون، الکتروکاردیوگرام و استتوسکوپ کاربرد دارد. لازم به ذکر است که علیرغم تماس مستقیم این ترکیبات با بدن بیمار، باید از ورود آنها به بافت و سطوح موکوسی جلوگیری شود.

گندزدایی (Antisepsis)

آنتی سپتیک ها یا عوامل گندزدا (جدول ۳-۳) به منظور کاهش تعداد میکروبها بر روی سطوح

پوستی به کار می‌روند. این ترکیبات براساس کارایی و بی‌خطر بودن، انتخاب و مورد استفاده قرار می‌گیرند. خلاصه‌ای از خصوصیات ضدمیکروبی آنها در جدول ۴-۳آورده شده است.

الکل ها فعالیت خوبی علیه همه گروههای میکروبی به استثنای باکتریهای اسپوردار را دارا می باشند. معمولاً از غلظت ۷۰ درصد الکل ها جهت گندزدایی استفاده می کنند. این ترکیبات غیرسمی بوده و اثر ات جانبی‌روی موضع ندارند. ضمناً سطح پوست را به علت حذف چربی ها خشک می کنند. این ترکیبات توسط مواد آلی غیرفعال می‌شوند. بنابراین قبل از به کار بردن بایستی سطح پوست را تمیز نمود.

یدوفورها از عوامل گندزدای پوست هستند. این ترکیبات با محدوده فعالیتی مشابه الکل ها جهت ضدعفونی پوست کاربرد دارند. یدوفورها به میزان جزئی برای پوست سمی بوده و به وسیله مواد آلی غیرفعال می شوند. یدوفورها و مشتقات یدغالباً برای ضدعفونی کردن سطح پوست همراه با الکل‌ها استفاده می‌شوند.

اگرچه اثر کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم ها کندتر از الکل می باشد ولی فعالیت ضدمیکروبی وسیعی دارد. در حضور مواد آلی و تغییر pH مقداری از کارایی آن کاسته می‌شود. پاراکلرومتاگزیلنول (PCMX) فعالیتش محدود به باکتریهای گرم مثبت است. از آن جایی که این ماده غیرسمی با اثر طولانی مدت است، در محلول های شستشوی دست مورد استفاده قرار می گیرد. تریکلوزان فقط بر روی باکتری ها مؤثر بوده ولی بر دیگر ارگانیسم ها تأثیری ندارد. تریکلوزان عامل گندزدایی متداول در صابونهای دئودورانت و انواع خمیردندانها است.

حرارت مرطوب

استریل کردن مواد و وسایل با آب جوش خیلی مؤثر نیست زیرا دمای نسبتاً پایینی (۱۰۰ درجه سانتیگراد) تولید می‌شود که قادر به از بین بردن اسپور باکتری ها نمی‌باشد. با اینحال رشد باکتریها در اثر جوشاندن متوقف می شود. فرمهای رویشی باکتریها در اثر جوشاندن از بین رفته ولی اسپورها باقی می مانند. اگر

ارگانیسم در کشت مجدد از محلول جوشانده قادر به رشد باشد این امر نشـان دهنده تولید اسپور در باکتری می باشد. بخار تحت فشار (اتوکلاو) عامل استریل کننده بسیار مؤثری است. حرارتهای بـالاتر باعـث دناتوره شدن پروتئین‌های میکروبی می‌شود. در حرارت اتوکلاو میکروب سریعاً کشته شده و از بین می‌رود. عمل اتوکلاو تحت تأثیر عوامل و شرایط مختلفی از جمله دما، زمان اتوکلاو، اندازه و حجم اتوکلاو، میزان جریان بخار، دانسیته وسایل درون اتوکلاو و طرز قرار گرفتن وسایل‌در درون اتوکلاو قرار دارد. باید دقت نمود تا هوای اتوکلاو کاملاً تخلیه گردد تا بخـار بتوانـد بـه داخـل وسـایل موجود در اتوکلاو نفوذ نماید. اکثر اتوکلاوها در محدوده حرارتی ۱۲۱ درجه سانتیگراد و در فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع، به مدت ۱۵ دقیقه عمل می کنند. به کمـک چسـب هـای تجـاری یـا آمپـولهـای باسـیلوس اسـتئاروترموفیلوس، مـی‌تـوان از درسـتی عمـل استریلیزاسیون اطمینان حاصل نمود. آمپول حاوی اسپورهای باسیل مذکور را در مرکز وسایل داخل اتوکلاو قرار داده و پس از اتمام مراحل اتوکلاو این آمپول را خارج کرده و سپس آن را در ۳۷ درجه انکوبه می‌کنیم. اگر استریلیزاسیون بـه طـور اصـولی و صـحیح انجام شده باشد دیگر ارگانیسم نمی‌تواند اسپور تولید کند و در محیط کشت مجدد رشد نماید.

حرارت خشک

دمای بالا می تواند جهت استریل کردن وسایل شیشه‌ای به کار رود. البته کارایی آن به اندازه دمای مرطـوب نیسـت زیـرا انتشـار و نفوذ حرارت خشک کندتر از هوای مرطوب می باشد. به همین دلیل، مدت زمان استریلیزاسیون، طولانی و دماهای بالاتری موردنیاز است. مکانیسم عمل حرارت خشک، اکسیداسیون مواد است. برای استریل کردن در حرارت خشک می توان از شرایط زیـر اسـتفاده کرد: ۱ ساعت در ۱۷۱ درجه، ۲ ساعت در ۱۶۰ درجه و یا ۱۶ ساعت در ۱۲۱درجـه سـانتیگراد. ضـمناً بـرای حصـول اطمینـان از استریل شدن با واسطه حرارت خشک از اسپور باسیلوس سوبتیلیس استفاده می شود. اسـپور باسـیلوس سـوبتیلیس در برابـر دمـای خشک نسبتاً مقاوم است (برخلاف باسیلوس استئاروترموفیلوس).

اتیلن اکسید

اتیلن اکسید گاز بی رنگ، محلول در آب و از حلالهای آلی است که برای استریل کردن وسایل و مواد حساس به حرارت به کار می رود. سرعت استریل کردن با این ترکیب، آهسته بوده و بستگی به عواملی از قبیل غلظت گاز، درصد رطوبت جسم استریل شونده، مدت زمان مجاورت جسم با گاز و همچنین درجه حرارت دارد. به ازای افزایش دوبرابر غلظت اتیلن اکسید مدت زمان استریلیزاسیون ۵۰ درصد کاهش می‌یابد. ضمناً افزایش دما به ازای هر ۱۰ درجه سانتیگراد فعالیت اتیلن اکسید را دو برابر می‌کند.

اثر اتیلن اکسید در رطوبت نسبی تقریباً ۳۰ درصد بهتر می شود و با افزایش یا کاهش رطوبت نسبی میزان فعالیت اتیلن اکسید کاهش می یابد. ارزیابی دقیقی از اتیلن اکسید بر روی ارگانیسم های خشک شده بر روی سطوح یا ارگانیسم های لیوفیلیزه وجود ندارد. فعالیت اسپورکشی این ترکیب به واسطه آلکیله کردن گروههای هیدروکسیل انتهایی، کربوکسیل و آمینوسولفیدریل است. سایر ترکیبات گازی که به عنوان استریل کننده به کار می‌روند عبارتند از: فرمالدئید و بتا ـ پروپیولاکتون. از آنجایی که اتیلن اکسید می تواند به بافت های زنده آسیب برساند، بنابراین بایستی قبل از استفاده از وسایل استریل شده با این ترکیب وسیله موردنظر را پاک نموده و سپس استفاده کرد. مدت گازدهی با اتیلن اکسید معمولاً ۱۶ ساعت یا بیشتر طول می کشد. کارایی استریلیزاسیون توسط اسپور باسیلوس سوبتیلیس ارزیابی می‌شود.

آلدئید

تأثیر این ترکیب مانند اتیلن اکسید از طریق آلکیلاسیون است. دو آلدئید شناخته شده که می‌توانند هم به عنوان استریل کننده و هم به عنوان ضدعفونی کننده سطح بالا مورد استفاده قرار گیرند، شامل فرمالدئید و گلوتارآلدئید هستند. فرمالدئید با غلظت ۳۷ درصد در آب حل شده و به صورت فرمالین مصرف می شود. فرمالین در غلظت های پایین به صورت باکتریواستاتیک (یعنی باعث توقف رشد باکتری می شود

ولی منجر به مرگ نمی‌شود)، و در غلظت‌های بالاتر (مثلاً ۲۰ درصد) می‌تواند باکتریوسید باشد (ارگانیسم ها را بکشد). درصورت اضافه کردن الکل به فرمالین (مثلاً ۲۰ درصد فرمالین در الکل ۷۰ درصد) فعالیت میکروبکشی آن افزایش می یابد. مجاورت پوست یا غشاهای مخاطی با فرمالدئید خطرناک است. سمیت گلوتارآلدئید برای بافت های زنده کمتر است ولی باعث سوختگی پوست یا غشاهای مخاطی می شود. گلوتارآلدئید در pH قلیایی فعال تر بوده (فعال شدن به وسیله هیدروکسید سدیم) ولی پایداری آن در این شرایط کمتر است. همچنین، گلوتارآلدئید به وسیله مواد آلی غیرفعال می‌شود. بنابراین قبل از استفاده از آن باید وسایل را پاک نمود.

عوامل اکسیدکننده

اکسیدان هایی که به طور معمول استفاده می شوند شامل ازون، پراستیک اسید و پراکسید هیدروژن هستند. پراکسید هیدروژن با غلظتی برابر ۳ تا ۶ درصد اغلب باکتریها را از بین می‌برد. غلظت‌های بالاتر (۲۵-۱۰ درصد) همه ارگانیسم‌ها از جمله اسپور باکتریها را هم از بین می برد. رادیکال های آزاد هیدروکسیل تولید شده در اثر تجزیه پراکسید هیدروژن فرم مؤثر و اکسیدکننده آن هستند. پراکسید هیدروژن به عنوان ضدعفونی کننده وسایل پلاستیکی لنزهای تماسی و پروتزهای جراحی به کار می‌رود.

ترکیبات آمونیوم چهارظرفیتی

این ترکیبات دارای چهار گروه آلی بوده که به طور کووالان به نیتروژن متصل‌اند و فعالیت میکروبکشی این ترکیبات کاتیونی به واسطه ماهیت گروه های طویل ۱۸-۸ کربنه است. بنزآلکونیوم کلراید و ستیل پریدینیوم کلراید نمونه ای از این ترکیبات هستند که باعث از بین رفتن غشاهای سلولی شده و در نتیجه منجر به آزاد شدن اجزای داخل سلولی می شوند. این ترکیبات در غلظت های پایین باکتریواستاتیک و در غلظت‌های بالا باکتریسیدال هستند.

به هر حال ارگانیسم هایی مانند سودوموناس و مایکوباکتریوم و قارچ های تریکوفیتون نسبت به سایر ارگانیسم ها بـه ایـن ترکیبـات مقاوم تر هستند. بعضی از گونه های سودوموناس در ترکیبات چهارظرفیتی آمونیوم به راحتی رشد می کنند. اکثر ویـروس هـا و همـه باکتریهای اسپوردار نیز به این ترکیبات مقاوم هستند. اثر آنها به وسیله دترجنت‌های یونی، مواد آلی و رقیق شدن کاهش می‌یابد.

آنتی بیوتیکها

مکانیسم عمل آنتی‌بیوتیک ها	
آنتی‌بیوتیک	عملکرد
شکستن دیواره سلولی پنی‌سیلی سفالوسپورین سفامایسین کارباپنم مونوباکت	اتصال به $PBPS$ و آنزیم‌های مسئول سنتز پپتیدوگلیکان
بتالاکتام/ بازدارنده بتالاکتاماز	اتصال به بتالاکتامازها و ممانعت از غیرفعال شدن بتالاکتام
ونکومایسین	ممانعت از تشکیل پیوند عرضی لایه‌های پپتیدوگلیکان
ایزونیازید اتیونامید	ممانعت از سنتز مایکولیک اسید
اتامبوتول	ممانعت از سنتز آرابینوگالاکتان
سیکلوسرین	ممانعت از تشکیل پیوند عرضی لایه‌های پپتیدوگلیکان
پلی‌میکسین	تأثیر بر غشاهای باکتریایی
باسیتراسین	تأثیر بر غشای سیتوپلاسمی و حرکت پیش‌سازهای پپتیدوگلیکان
ممانعت از سنتز پروتئین	

آمینوگلیکوزید	رهایی زنجیرههای پپتیدی ناقص از ریبوزوم ۳۰S
تتراسیکلین	ممانعت از طویل شدن پلیپپتید در ریبوزوم ۳۰S
اگزازولیدینون	ممانعت از آغاز سنتز پروتئین در ریبوزوم ۵۰S
ماکرولید کلیندامایسین استرپتوگرامین ها	ممانعت از طویل شدن پلیپپتید در ریبوزوم ۵۰S
ممانعت از سنتز اسیدنوکلئیک کینولون	اتصال به زیرواحد آلفای *DNA* ژیراز
ریفامپین ریفابوتین	ممانعت از رونویسی بهوسیله اتصال به *RNA* پلیمراز وابسته به *DNA*
مترونیدازول	متلاشی کردن *DNA* (زیرا یک ترکیب سیتوتوکسیک است)
آنتیمتابولیت سولفونامیدها	ممانعت از دیهیدروپتروآت سنتاز و برهم زدن سنتز اسیدفولیک
داپسون	ممانعت از دیهیدروفولات سنتاز
تری متوپریم	ممانعت از دیهیدروفولات ردوکتاز و برهم زدن سنتز اسیدفولیک

مکانیزمهای بیماریزایی باکتری ها

برای هر باکتری، بدن انسان مجموعه ای از فضاهای محیطی است که گرما، رطوبت و غذای ضروری را جهت رشد ارگانیزم فراهم می کند. باکتری ها ممکن است صفات ژنتیکی را کسب نمایند که آنها را قادر می‌سازد وارد محیط شوند (تهاجم یا حمله) یا در شکاف محیطی باقی بمانند (اتصال و کلونیزه شدن)، بتوانند از منابع غذایی استفاده نمایند (با کمک آنزیم‌های تجزیه کننده) و یا از دفاع های ایمنی میزبان و پاسخ

های محافظتی غیرایمنی (مانند کپسول) بگریزند. متأسفانه بسیاری از مکانیزم هایی کـه بـاکتری هـا برای بقای خود در شکافهای محیطی استفاده می‌کنند و یا فرآوردههای حاصل از رشد آنها با سیستم میزبـانی انسـانی ناسـازگاری دارد. بسیاری از این صفات ژنتیکی فاکتورهای ویرولانس یا عوامل بیماری زایی هستند که باکتری را قادر به ایجاد بیماری می‌کنند. اکثر باکتری های مولدبیماری مستقیماً بافت را تحریک می کنند یا برخی از آنها سمومی را تولید می کنند که از طریق جریان خـون منتشر گردیده و باعث ایجاد بیماری زایی در حد وسیع می‌شوند (کادر ۱-۴). ساختمان سطحی باکتریها محـرک قدرتمنـدی بـرای پاسخ های میزبان (فاز حاد: اینترلوکین-۱ [IL-1] اینترلوکین-۸[IL-8] ، فاکتور نکروز دهنده توموری [TNF]) است که می‌توانـد منجر به حفاظت شود، اما غالباً عامل مهمی در بروز علایم بیماری (مانند سپسیس) می‌باشد.

همه باکتری ها بیماری زا نیستند اما برخی از آنها همیشه پـس از ایجـاد عفونـت بیمـاری را بـه وجـود مـی آورنـد. بـدن انسـان بـا میکروب های متعددی کلونیزه شده است (فلور طبیعی). بسیاری از آنها عملکرد مهمی را برای میزبان ایفا می‌کنند ماننـد کمـک بـه هضم غذا و تولید ویتامین هایی مانند ویتامین K و از طرفی میزبان را از استقرار میکروبهای بیماریزا مصون مـی‌دارنـد. اگـر چـه بسیاری از این باکتری های درونی قادر به ایجاد بیماری هستند ولی آنها به طور طبیعـی در منـاطقی نظیـر مجـرای معـده رودهای، پوست، مجرای فوقانی تنفسی مستقر می باشند. باکتریهای فلور طبیعی در صورتی که وارد مناطق استریل بدن شـوند موجب ایجاد بیماری می گردند. باکتری های بیماریزا مکانیزمهای مختلفی دارند که رشد آنها را با هزینـه عملکـرد بافـت یـا انـدام میزبان افزایش می دهد. علایم بیماری ناشی از آسیب یا فقدان عملکرد بافت یا اندام با پیشرفت پاسخ‌های التهابی میزبان می‌باشـد. باکتری های فرصت طلب تنها در افرادی که بیماری زمینه ای دارند یا در شرایطی به سر می برند که حساسـیت شـان افـزایش یافتـه است تولید بیماری می کنند. به عنوان مثال پسودوموناس آئروجینوزا در بیماران دچار سوختگی و ریه مبتلایان به

فیبروز سیستیک و نیز در بیماران مبتلا به سندروم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) که به عفونت‌های باکتریهای داخل سلولی مانند مایکوباکتریومها فوقالعاده حساس هستند دیده می‌شود.

ورود به بدن انسان

برای استقرار یک عفونت، باکتری ها ابتدا باید بتوانند وارد بدن شوند (شکل ۱-۴ و جدول ۱-۴). مکانیزم های طبیعی دفاع و سدهایی نظیر پوست، مخاط، اپی تلیوم مژه دار و ترشحات حاوی مواد ضدباکتریایی (مانند لیزوزیم) راه ورود باکتری ها را به درون بدن سد می کنند. با این وجود چنین موانعی گاهی اوقات در هم شکسته می شود (مانند بریده شدن پوست، وجود تومور یا زخم در روده) و راهی جهت ورود باکتری ها باز می‌شود یا ممکن است باکتری بر این سد چیره شده و به بدن حمله نماید. در حالت تهاجم، باکتریها قادر به حرکت در جریان خون به سایر نقاط بدن می‌باشند.

پوست حاوی لایه ضخیم و شاخی از سلول های مرده است که بدن را در برابر عفونت مصون می دارد. با این وجود در اثر بریده شدن پوست به طور تصادفی یا با جراحی یا باز شدن آن توسط کاتتر یا سایر ابزار جراحی و باکتریها راهی را برای نفوذ به بدن می یابند. به عنوان مثال استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس که بخشی از فلور طبیعی پوست هستند از طریق شکستن سد دفاعی پوست وارد بدن می شوند و موجب بروز مشکل حاد در افرادی که کاتتر یا ابزار درون رگی استفاده می کنند می‌شوند.

دهان، بینی، مجرای تنفسی، گوش، چشم، مجرای ادراری ـ تناسلی و مقعد مکانهایی هستند که باکتری می‌تواند از آن راه وارد بدن شوند. این مناطق باز طبیعی در پوست و حفرات بدن با استفاده از موانع طبیعی مانند مخاط و اپی‌تلیوم مژهدار که مجرای فوقانی تنفسی را مفروش کرده است. همچنین لیزوزیم و سایر ترشحات ضدباکتریایی در اشک، مخاط، اسید و صفرا در مجرای معده ـ رودهای محافظت می‌شوند. اما بسیاری از باکتریها از این موانع می‌گریزند واین سدها هیچ اثری بر آنها ندارند. مثلاً

غشای خارجی باکتریهای گرم منفی آنها را در برابر لیزوزیم، اسید و صفرا مصون می‌دارد. به همین دلیل آنها می‌توانند در مجرای معده ـ روده ای کلونیزه شوند. برخی از این انتروباکتری ها دارای عملکرد مفیدی مانند تولید ویتامین K هستند. این باکتریهای درونزاد به طور طبیعی خوش خیم بوده و حفرات بدن را با استقرارشان حفاظت می‌کنند. با این وجود به محض ورود در نقاط استریل بدن مانند پریتوان و جریان خون از سد طبیعی بدن می گذرند. بهترین مثال در این مورد بیماران مبتلا بـه تومـور کولـون هسـتند کـه در اثـر باکتریهای رودهای دچار سپتمی‌سمی (عفونت خونزاد) می‌شوند.

راههای ورود به بدن

روش	مثال
بلعیدن	*گونه های سالمونلا، گونه های شیگلا، پرسینیا انتروکولیتیکا، اشریشیاکلی انتروتوکسینوژن، گونه‌های ویبریو، گونه‌های کمپیلوباکتر، کلستریدیوم بوتولینوم، باسیلوس سرئوس، گونه‌های لیستریا، گونه‌های برومیلا*
استنشاق	*گونه های مایکوباکتریوم، گونه های نوکاردیا، مایکوپلاسما پنومونیه، گونه‌های لژیونلا، بوردتلا، کلامیدیاپسی تاسی، کلامیدیا پنومونیه، گونه‌های استرپتوکوکوس*
تروما	*کلستریدیوم تتانی*
فرورفتن سوزن	*استافیلوکوکوس اورئوس، گونه‌های پسودوموناس*
نیش بندپایان	*گونه‌های ریکتزیا، گونه‌های ارلیشیا، گونه‌های کوکسیلا، گونه‌های فرانسیسلا، گونه‌های بورلیا، یرسینیاپستیس*
انتقال جنسی	*نیسریاگونورهآ، کلامیدیا تراکوماتیس، تریپونماپالیدوم*

کلونیزاسیون، اتصال و تهاجم

مجرای دستگاه معده ـ رودهای به‌طور طبیعی با باکتریهای مفید و خوشخیم و بی‌آزار کلونیزه شده است. در برخی مـوارد شـرایط محیطی تعیین می‌کنند که آیا باکتری مستقر خواهد شد یا نه. مثلاً باکتری لژیونلا در ریه رشد می کند امـا نمـی توانـد بـه سـرعت منتشر شود چون قادر به تحمل دماهای بالای C ۳۵ نمی

باشد. کلونیزاسیون مکانهای استریل طبیعی مانند ریه بستگی به نقص در مکانیزم های دفاعی یا به وجود آمدن دروازه ای جهت ورود باکتری دارد. بیماران مبتلا به فیبروز سیستیک دارای چنین نقصی هستند چون عملکرد مولکولی اپی‌تلیال مژهای کاهش یافته و ترشحات مخاطی نیز تغییر کرده است. این بیماران از کلونیزاسیون استافیلوکوکوس اورئوس و پسودوموناس آروژینوزا در رنجند. باکتریها ممکن است به مکانیزم های خاصی نیاز داشته باشند که آنها را قادر به اتصال و کلونیزاسیون در سطوح مختلف بدن می‌سازند (جدول ۲-۴).

چنان چه باکتری بتواند به سطح سلول اپی تلیال یا اندوتلیال مثانه، روده و عروق خونی بچسبد، با شستشو پاک نمی شود و این امر امکان کلونیزاسیون باکتری در بافت را فراهم می سازد. به عنوان مثال عملکرد طبیعی مثانه در اثر استقرار باکتری در دیواره آن مختل می شود. اشریشیاکلی و سایر باکتری ها دارای مولکول های چسبندگی هستند که به گیرنده های اختصاصی موجود بر روی سطح بافت می چسبند و این امر آنها را از کنده شدن مصون می دارد. بسیاری از این پروتئین‌های چسبندگی در نوک فیمبریه (پیلی) قرار دارند و به طور محکم به قندهای اختصاصی موجود بر روی بافت هدف متصل می‌شوند (این فعالیت اتصال به قند در پروتئین های لاکتین دیده می شود).به عنوان مثال اشریشیاکلی خصوصاً اکثر سویه‌های عامل مولد پیلونفریت عامل چسبنده فیمبریه‌ای را به نام فیمبریه P تولید می‌کنند. این چسبنده (ادهسین) می‌تواند به گیرندههای آلفا ـ D ــ گالاکتوزیل ـ بتا ـ D ــ گالاکتوزید (Gal-Gal) متصل شود. این ماده بخشی از ساختار آنتی‌ژن گروه خونی P بر روی گلبولهای قرمز انسان و سلولهای اورواپی تلیال است. پیلی های نیسریاگونوره آ نیز عامل ویرولانس مهمی به حساب می آید. آنها قادرند به این وسیله به گیرندههای اولیگوساکاریدی موجود بر روی سلول های اپی‌تلیال بچسبند. ارگانیزمهایی مانند یرسینیا، بوردتلا پرتوزیس و مایکوپلاسما پنومونیه پروتئین های چسبندگی را بروز می‌دهند که بر روی فیمبریه قرار ندارند. استرپتوکوکوس پایوژنز از لیپوتیکوئیک اسید و پروتئین F (به فیبرونکتین می‌چسبد) جهت اتصال به سلولهای اپی‌تلیال استفاده می‌کند.

نوعی سازگاری در باکتری ها به واسطه تولید بیوفیلم در اتصال به ابزار خارجی جراحی نظیر دریچه‌های مصنوعی یا کاتترهـای کـار گذاشته شده دیده می‌شود. باکتریهای موجود در بیوفیلم در داخل شبکه چسبناک پلی‌ساکاریدی که سـلولهـا را در کنـار یکـدیگر نگه می دارد به سطوح می چسبند. پلاک دندانی مثالی از یک بیوفیلم است. ماتریکس بیوفیلم می‌توانـد بـاکتریهـا را از دفـاعهـای میزبانی و آنتی‌بیوتیک مصون دارد.

با وجود این‌که برخی باکتریها فاقد مکانیزمهایی هستند که بتوانند از عرض پوست عبور نمایند. برخی از آنها قادر به عبور از عرض غشاهای مخاطی و سایر موانع بوده و خود را به مکان های استریل طبیعی و بافت‌های بسـیار حسـاس رسـانند. ایـن بـاکتریهـای مهاجم هم قادر به تخریب این غشاها بوده و هم این‌که می‌توانند از طریق این غشاها به سلولها نفوذ پیدا کنند.

تشخیص آزمایشگاهی رایج

خون

کشت خون یکی از رایج ترین روش هایی است که در آزمایشگاه های بالینی انجام مـی شـود. یکـی از مهـم‌تـرین فاکتورهـایی کـه موفقیت یک کشت خون را تضمین می‌کند میزان خونی است که برداشت می‌شود. زمانی که ml ۲۰ خون بـه جـای ml ۱۰خـون کشت داده می شود میزان موارد کشت مثبت۴۰ درصد افزایش پیدا می کند. بیش از نیمی از بیماران آلوده کمتر از یک ارگانیسـم در هر میلی لیتر خون دارند.بنابراین تقریباً ml۲۰ از خون یک فرد بالغ برای تهیه کشت خون باید گرفته شود. در هر سی سی از خون بالغین مبتلا به باکتریمی به طور کلی ۱ تا ۱۰ ارگانیسم وجود دارد. در کودکان در شرایط باکتریمی غلظت بیشتری از ارگانیسم هـا در خون موجود است (۱۰ تا ۱۰۰ ارگانیسم در هـر سـی سـی)، لـذا گـرفتن مقـادیر کمتـری از خـون جهـت کشـت کفایـت مـی نماید.درکودکان کمتراز ۶ سال ۱ تا ۳ سی سی خون جهت کشت کافی است در حالیکه در نوزاد این مقدار ۰/۵ تا ۱ سی سی است. بطور کلی وقتی

حجم خون گرفته شده ۲ سی سی یا کمتر است، برای داشتن مناسب ترین حجم خون نسبت به مایع محیط کشت حتما باید از بطری های کشت خون کودکان استفاده کرد .ترجیحا باید کشت خون قبل از شروع آنتی بیوتیک انجام گردد. به علت وجود بعضی از میکرو ارگانیسم های پوست، ضدعفونی کردن پوست قبل از خون گیری ضروری است. از بتادین جهت ایـن منظـور میتوان استفاده کرد ولی این ماده باید برای حداکثر اثر روی پوست کاملا خشک شود و برای جلوگیری از واکنشهای پوستی نسبت به ید موجود در آن، با الکل از روی پوست پاک گردد. خود الکل نیز یک باکتریسیدال سـریع بـوده و مـی توانـد بـه تنهـایی بـرای ضدعفونی پوست قبل از خونگیری بکار رود . برای رسیدن به بهترین نتیجه بهتراست ابتداء پوست با الکل ۷۰ ٪ پاک شده و سـپس با محلول ید (۱ دقیقه) و یا بتادین (۲ دقیقه) تمیز گردد و در صورت استفاده از بتادین نهایتا بایک پنبه الکـل از روی پوسـت پـاک شود.سطح روی بطری کشت فقط باید با الکل ۷۰٪ پاک شود و سپس بلافاصله و بدون نیاز به تعویض سرسوزن (needle) خـون درون سرنگ به داخل بطری تزریق شود.

با توجه به اینکه بسیاری از بیماران دارای کاتتر های درون وریدی میباشند گرفتن نمونه خون از درون این کاتترها به دلیل سهولت نمونه گیری مرسوم گردیده است. ازطرف دیگر بسیاری از این کاتترها میتوانند توسط استاف کواگولاز منفی، کورینه باکتری ها، باسیلوس ، مخمرها و حتی برخی باکتری های گرم منفی ناشایع ولی فرصت طلب کولونیزه شوند و علاوه بر مثبت کردن کشت خون موجب سر در گمی تشخیصی و درمانی گردند. به همین دلیل اخذ نمونه کشت خون از کاتترهای درون وریدی توصیه نمیشود و باید مستقیما از وریدهای محیطی صورت گیرد.

باکتریمی و فونگمی به معنای حضور باکتری و قارچ در خون است و این عفونت‌ها می توانند منجر به سپتی‌سمی شـوند. مطالعـات بالینی نشان داده اند که سپتی سمی میتواند مداوم یا متناوب باشد.

سپتی سمی مداوم در بیماران با عفونت های درون عروقی مثل اندوکاردیت، ترومبوفلبیت، عفونت های کاتترهای درون عروقی دیـده می شود. سپتی سمی متناوب در بیمارانی که درسایر ارگانها یا بافتها عفونت دارند (مانند عفونت در مجاری ادراری و بافت نرم ریه) دیده می‌شود.

زمان جمع آوری نمونه خون برای بیماران مبتلا به سپتی سمی دائم مهم نیست، اما برای بیماران مبتلا به سپتی‌سمی متنـاوب مهـم است. از آنجایی که علائم بالینی سپسیس مثل تب، لرز، کاهش فشار در اثر رها شدن اندوتوکسین و اگزوتوکسین ارگانیسـم اسـت، این نشانه ها یک ساعت بعد از این که ارگانیسم در خون داخـل مـی شـود ظـاهر مـی شـود. هنگـامی کـه بیمـار تـب دارد تعـدادی میکروارگانیسم در خون دیده می شوند. بنابراین بهترین زمان برای خون گیری زمانی است که بیمار تب کرده است. دو تا سه نمونـه خون در زمانهای متفاوت در طی یک دوره ۲۴ ساعته باید گرفته شود.

اغلب نمونه های خون در بطری هایی که حاوی آبگوشت مغذی هستند تلقیح می شود. هر نمونه باید در دو بطری کشت تلقیح شـود و سپس زمانی که به آزمایشگاه ارسال شدند در ۳۷ درجه قرار بگیرند. در فاصله‌های زمانی باید رشد میکروبی بررسی شود و زمـانی که رشد باکتری مشاهده شد در محیط آبگوشت ساب کالچر داده می‌شوند تا کشت خالص برای تعیین هویت (ازطریق رنگ آمیزی گرم وانجام تست های بیوشیمیایی) و حساسیت آنتی بیوتیکی انجام شود. اغلب ایزوله هـا بعـد از ۱ تـا ۲ روز انکوباسـیون مشـاهده می شوندبا اینحال کشتها باید برای حداقل ۵ تا ۷ روز انکوبه شوند گر چه برای ارگانیسم ها مشکل پسند بـه زمـان بیشـتری بـرای انکوباسیون نیاز است. از آنجایی که ارگانیسم های کمی به صورت تیپیک در خون بیمار آلوده وجود دارد لزومـی نـدارد نمونـه‌هـای خون از نظر میکروسکوپی رنگ آمیزی شوند. با توجه به اینکه باکتریمی بیهوازی در کودکان نادر است، نیازی به کشت خون روتین در لوله های بیهوازی نمی باشد. البته در کودکان با ضعف ایمنی، یا عفونت در نقاط خاصی که احتمال عفونت بـی هـوازی توسـط پزشک با ضریب بالایی مطرح می گردد، کشت بیهوازی نیز باید انجام شود.

کشت به روش BACTEC می تواند سریع تر وجود میکروارگانیسم در خون را نشان دهد.

سیستم BACTEC شامل یک انکوباتور حساس و یک کامپیوتر متصل به انکوباتور است. در این انکوباتور می توان تعداد زیادی ویال یا بطری محیط کشت را در یک زمان نگهداری و بررسی نمود.

در زمانی که درب انکوباتور بسته باشد،بطری محیط کشت به طور خودکار دارای حرکت گهواره ای است.بدین ترتیب همواره محتویات محیط کشت به طور مطلوب با هم مخلوط شده و مواد مورد نیاز میکروارگانیسم براحتی در اختیار آن قرار گیرد.

دمای داخل بطری همواره روی ۳۷ درجه سانتیگراد تنظیم شده است. در انتهای هر بطری در دستگاه حس گرهایی نصب شدهاند که وجود میکروارگانیسم توسط آن ها اعلام می گردد.

مزیت های این سیستم:

۱- کوتاه کردن زمان پاسخ دهی به بیمار.

۲- دقت فراوان و حساسیت فوق العاده در تشخیص رشد میکرو ارگانیسمها.

۳- ثابت نگه داشتن دمای رشد میکروارگانیسمها هنگام رشد.

۴- دارا بودن مواد غذایی خاص برای رشد میکرو ارگانیسمها که در محیطهای معمولی وجود ندارند.

۵- حرکت گهواره ای هر ۱۰ ثانیه یک بار ویالها در انکوباتور.

۶- رشد میکرو ارگانیسمهای بی هوازی بدون استفاده از gas pack یا سیستم های بی هوازی دیگر.

۷- قابلیت نگهداری ویالها در دمای اتاق قبل از تلقیح (نیاز به یخچال جهت نگهداری ویال یا محیط کشت نیست).

نمونه‌های مجاری تنفس فوقانی

اکثر عفونت‌های باکتریال حلقی ناشی از استرپتوکوکهای گروه A است. باکتریهای نظیر استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس انفلوانزا، انتروباکتریاسه و سودوموناس ائروژینوزا در ناحیه اوروفارنکس وجود دارد،ن ولی ندرتاً باعث فارنژیت می‌شوند. روش نمونه گیری از دستگاه تنفسی فوقانی شامل گرفتن سواب از گلو، سواب یا قرقره نازوفارنکس و آسپیراسیون از دهانه سینوسهای پارا نازال یا تراشه است در حالت طبیعی نیز، غیراستریل محسوب می شوند (برخلاف نمونه های دستگاه تنفسی تحتانی که نسبتا استریل می باشند). این نکته، یعنی مشخص کردن نمونه های استریل و غیر استریل خصوصا از نظر آزمایشگاه مهم است،به این دلیل که میکروارگانیسم های موجوددراین نمونه ها را بتوان از نظر کمنسال یا پاتوژن بودن،در آن نمونه خاص افتراق داد.

از سواب داکرون یا آلژینات کلسیم برای جمع آوری نمونه های حلقی استفاده می شود. در مورد بوردتلاپرتوسیس باید از سواپ هـای داکرون استفاده کرد. از لوزه ، حلق خلفی و اگزودا یا مناطق اولسراتیو باید نمونه برداری شود. نمونه نباید با بزاق آلـوده شـود چـو ن رشد زیاد باکتری های موجود در بزاق ممکن است مانع از رشد استرپهای گـروه A گـردد . جهـت نمونـه گیـری از نـواحی لـوزه و اوروفارنکس،برای دریافت نتیجه بهتر، سواب باید محکم به این مناطق کشیده شود. بدین ترتیب گرفتن حتی یک سـواب میتواننـد ۹۰٪ عفونت ها را ردیابی کند.

در عفونت هایی مثل کورینه باکتریوم دیفتریه که غشای کاذب دارند باید لایه برداری شود. استرپتوکوک گروه A و کورینه باکتریوم دیفتریه در مقابل خشک شدن مقاوم هستند در نتیجه احتیاجات زیادی برای انتقال نمونه به آزمایشگاه لازم نمـی‌باشـد. در مقابـل، نمونه های جمع‌آوری شده به منظورجدا نمودن بوردتلا پرتوسیس و نیسریا گنـورهآ بایـد بلافاصـله در محـیط کشـت تلقـیح شـوند. نمونه های جمع‌آوری شده برای جداسازی کلامیدیاو مایکوپلاسما پنومونیه باید در محیط‌های مخصوص به آزمایشگاه ارسال

شوند. استرپتوکوکهای گروه A می‌توانند مستقیماً در نمونه‌های بالینی از طریق ایمونواسی شناسایی شوند- [Enzyme immunoassays(EIAs)] ، که می تواند در عرض حداکثر ۱۰تا ۱۵ دقیقه نتیجه را نشان دهد. در صورت مثبت بودن می توان بلافاصله درمان جهت استرپتوکوک A را شروع کرد. این تست اگر چه بسیار اختصاصی است ولی از نظر حساسیت، خصوصا در مواردی که تعداد باکتری در گلو کم باشد، نتایج مختلف و گاهی پائینی برای آن گزارش گردیده است. بطور کلی علاوه بر کشت و ایمونواسی سواپ های گلو یا اوروفارنکس توسط PCR نیز میتوانند مورد بررسی قرار گیرند. سایر عفونت های مجاری تنفسی فوقانی شامل اپی گلوتیت و سینوزیت است. مسدود شدن کامل مجاری هوایی ممکن است بر اثر تلاش برای نمونه گیری از اپی گلوتیت ایجاد شود. تشخیص عفونت سینوسی نیاز به: (۱) آسپیراسیون مستقیم از سینوس، (۲) انتقال نمونه در شرایط بی‌هوازی به آزمایشگاه (با استفاده از یک سیستم که مانع ورود اکسیژن و خشک شدن نمونه می‌شود)، (۳) پردازش مراحل. کشت نازوفارنکس یا اوروفارنکس مفید نیست و نباید انجام شود. استرپتوکوک پنومونیه و هموفیلوس آنفلوانزا و موراکسلا کاتارالیس از مهم ترین پاتوژن های ایجاد کننده سینوزیت حاد می باشند. درسینوزیت مزمن استاف اورئوس و بیهوازی های نیز جزء عوامل اتیولوژیک سینوزیت قرار می گیرند.

عفونتی‌های مجاری تنفسی تحتانی

تکنیک های متنوعی می تواند برای جمع آوری نمونه از مجاری تنفسی تحتانی مورد استفاده قرار بگیرد. نمونه ها شامل خلط، شستشوی برونش، برونکوسکوپی و آسپیراسیون برونش می باشد. از آنجایی که باکتریهای مجاری تنفسی بالا ممکن است خلط را آلوده کنند نمونه خلط باید میکروسکوپی برداشت شود تا از آلودگی خلط جلوگیری شود. وجود سلولهای اپیتلیال سنگ فرشی نشان دهنده آلودگی نمونه با بزاق است. از این نوع آلودگی می توان با استفاده از یک برونکوسکوپ یا آسپیراسیون مستقیم ریه‌ها جلوگیری کرد. درصورت مشاهده تعداد زیاد سلولهای سنگفرشی باید نمونه عودت داده شود. وجود لکوسیت

های پلی مورفونـوکلئر معمولا نشان دهنده کیفیت خوب نمونه گیری است ولی این ضابطه در مورد بیماران لوکوپنیک نباید مورد اسـتفاده قـرار گیـرد. در یک نمونه خلط، وجود نوتروفیل های فراوان و یک نمونه باکتری غالب سندی محکم در احتمال وجود پنومونی باکتریال می باشـد. خلط و آسپیراسـیون هـای تراشـه را مـی تـوان روی محـیط هـای کشـت مختلـف ماننـد آگـار خـونی، آگـار شـکلاتی و محـیط MacConkey کشت داد. در صورت احتمال پنومونی آسپیراسیون، در کودکان، ممکن است لازم باشد این نمونه ها روی محـیط های بیهوازی نیز رشد داده شود. اغلب پاتوژن های موجود در مجاری تنفس تحتانی در عرض ۲ تا ۳ روز رشد می‌کنند. اما بعضی از باکتری های کند رشد مثل مایکوباکتریوم یا نوکاردیا نیاز بـه زمـان بیشـتری دارنـد. انجـام کشـت هـای کمـی مایعـات حاصـل از برونکوسکوپی تا حد زیادی برای افتراق آلودگی و کولونیزاسیون از بیماری واقعی کمک کننده است.

گوش و چشم

تیمپانوسنتزیس (آسپیراسیون مایع از گوش میانی) برای تشخیص اختصاصی عفونت گوش میانی لازم است. از آنجایی کـه اغلـب پاتوژن های شایع که باعث عفونت گوش می شوند (مثل استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس انفلوانزا، موراکسـلا کاتـارالیس) درمـان می شوند، نیازی به آسپیراسیون گوش نمی باشد. عفونت گوش خارجی به صورت تیپیک توسط سـودوموناس ائروژینـوزا (در گـوش شناگران) یا استافیلوکوک اورئوس ایجاد می‌شود. نمونه مناسب برای کشت تراشیدن نواحی درگیردر کانال گوش است.

جمع آوری نمونه برای تشخیص عفونت‌های چشم، سخت است زیرا نمونه به دست آمده معمـولاً بسـیار کـم اسـت و تعـداد کمـی ارگانیسم ممکن است وجود داشته باشد. نمونه‌های سطح چشم باید توسط سواب قبل از استفاده از پمادهای سطحی جمع‌آوری شود و اگر لازم باشد خراشیدن قرنیه انجام می شود. برای نمونه‌های داخل چشمی، چشم باید مسـتقیماً آسـپیره شـود. پـس از برداشـت نمونه ها باید قبل از ارسال به آزمایشگاه در محیط کشت مناسب تلقیح شوند. اغلب پاتوژنهای چشمی مثل استافیلوکوک اورئـوس،

استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس انفلوانزا، سودوموناس ائروژینوزا، باسیلوس سرئوس سریع‌الرشد هستند. ولی بعضی دیگر (نظیر استافیلوکوک های کواگولاز منفی) کندرشد هستند و یا نیاز به محیط‌های کشت اختصاصی دارند مثل نیسریا گنورهآو کلامیدیا تراکوماتیس.

زخم، آبسه، بافت

زخم های باز و منفذدار می توانند به راحتی با ارگانیسم‌های متعدد کلونیزه شوند . لذا کشت سواب های زخمهای سطحی، منفذ خارجی یک سینوس ، یا آبسه باز شده به بیرون، اغلب منجر به رشد مخلوطی از باکتریها (mixed bacterial flora) می شود که عموما نشان دهنده پاتوژن اصلی نیستند. وجود سلولهای اپی تلیال فراوان در رنگ آمیزی گرم، دال بر آلودگی نمونه و وجود لکوسیت های PMN فراوان شاهدی بر کیفیت خوب آن است. نمونه را باید از عمق زخم بعد از این‌که سطح زخم تمیز شد برداشت نمود. از سواب نباید استفاده شود زیرا باید نمونه را بدون آلوده شدن با ارگانیسم های کلونیزه کننده سطح پوست برداشت کرد. در مورد نمونه از زخمهای پوستی، بهتر است از حاشیه فعال زخم نمونه برداری شود. خصوصا اگر قارچها، مایکوباکتریوم یا لیشمانیا جهت اسمیر یا کشت مدنظر باشد. آسپیراسیون از آبسه های بسته باید از مرکز و دیواره آبسه جمع‌آوری شود. جمع‌آوری ساده چرک از آبسه ها مفید نیست زیرا بیشتر ارگانیسم در قسمت عمقی یک آبسه قرار دارند تا در بخش مرکزی آن. تخلیه عفونت های بافت نرم می تواند با آسپیراسیون انجام شود. اگر مقدار نمونه کم باشد باید به آن سرم فیزیولوژی اضافه کرده و بعد آن را کشت داد . از سرم فیزیولوژی حاوی محافظت کننده های باکتریسیدال نباید استفاده شود. از بخش های عفونی بافت باید نمونه برداری شود و حدالامکان چند نمونه گرفته شود. نمونه باید در یک لوله استریل درپیچ دار حاوی نگه‌دارنده و سرم فیزیولوژی استریل برای جلوگیری از خشک شدن نمونه های کوچک، به آزمایشگاه ارسال شود. یک نمونه بافتی باید برای مطالعات هیستولوژیک برداشت شود. از آنجایی که نمونه برداری از بافت احتیاج به روش های تهاجمی دارد، از مناسب ترین قسمت برای

برداشت نمونه باید استفاده نمود و مطمئن بود که برای ارگانیسم هایی که ممکن است مسئول عفونت باشند کشت انجام مـی شـود که این امر نیاز به ارتباط نزدیک پزشک و میکروبیولوژیست دارد.

نمونه‌های تناسلی ــ ژنیتال

- نمونه های دستگاه ژنیتال شامل سواپ های اورترال ، سرویکس و آنورکتال می شود. علـی رغـم تعـدد بـاکتری هـای درگیـر در بیماری های منتقل شونده از راه جنسی ، اغلب آزمایشگاهها روی تشخیص نیسریا گنورهآ و کلامیدیا تراکوماتیس تمرکز دارند. تلقیح نمونه روی محیط های کشت انتخابی این ارگانیسم ها متداول می باشد. حداقل ۲ روز یا بیشتر طول می کشد تا کشت مثبت شود و زمان بیشتری لازم است تا باکتری جدا شده و تشخیص قطعی داده شود. کشت به نظر غیرحساس می‌آید، زیرا ارگانیسم‌ها به مقدار زیادی ناپایدارند و تحت شرایط نامناسب انتقال از بین میروند. به طور مثال نیسریا گونوره ارگانیسمی بسیار شکننده وحساس است و باید به فوریت بعد از اخذ نمونه در محیط Thayer-Martin تایر مارتین که در حد دمای اتاق گرم شده باشد، کشت داده شود. بیشترین نتیجه زمانی حاصل خواهد شد که همزمان با کشت ژنیتال از ناحیه آنورکتـال نیـز نمونـه گیـری بعمـل آید.نمونـه هـای کلامیدیا تراکوماتیس باید توسط سواب های داکرون ودسته آلومینیومی انجام گردد وبه محیط کشت سلولی منتقـل شـود.به دلیـل عدم حساسیت کافی کشت، اخیرا روش های غیرکشت ابداع گردیده. یکی از شایع‌ترین این روشها که امـروزه اسـتفاده مـی‌شـود، PCRاست. تشخیص این توالی‌های تکثیرشونده با پروبهای اختصاصی ، حساس و مقرون به صرفه میباشد.

باکتری دیگری که از طریق جنسی منتقل می‌شود ترپونما پالیدوم عامل سیفلیس است. این ارگانیسم قابـل کشـت نیسـت و بـرای تشخیص آن از روش ها سرولوژی یا میکروسکوپی استفاده می شود. نمونه تهیه شده از زخم با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک بررسی می شود زیرا ارگانیسم بسیار نازک است و با

میکروسکوپ نوری قابل مشاهده نیست. به علاوه این ارگانیسم در معرض هوا خشک می‌شود و سریع از بین می رود و باید بلافاصله پس از نمونه برداری، به روش میکروسکوپی بررسی شود.

سایر مایعات استریل بدن

این مایعات شامل مایع درون شکمی، مفصلی، پری کارد و مایع جنب است. مایع جمع آوری شده توسط آسپیراسیون (مایع درون شکمی ، مایع ریه) در محیط کشت خون حاوی مواد مغذی تلقیح می‌شود. مقدار کمی از آن در لوله‌های استریل برای رنگ‌آمیزی (گرم یا اسیدفست) ارسال می شود. ارگانیسم های هوازی و بی هوازی مسئول بروز عفونت در این مناطق هستند. اگر مقدار کمی مایع جمع‌آوری شده باشد نمونه باید حتماً روی محیط کشت تلقیح شود. از آنجایی که تقریباً مقدار کمی ارگانیسم در نمونه وجود دارد باید تا جایی که ممکن است مقدار زیادی از مایع کشت داده شود. چون احتمال حضور بی هوازی ها هم مطرح است (به خصوص در نمونه های شکمی و عفونت های ریوی) نمونه نباید در معرض اکسیژن قرار گیرد و حتما در محیط کشت بیهوازی به آزمایشگاه منتقل و کشت داده شود.

جمع‌آوری نمونه‌ها برای باکتریهای پاتوژن			
نمونه خون	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
کشت رایج باکتری	بطری کشت خون حاوی موادمغذی	بالغین: کشت ml ۲۰-۱۰ نوزادان: کشت ml ۲-۱	پوست باید با الکل ۷۰ درصد و یدین ۲ درصد ضدعفونی شود، ۳-۲ کشت در ۲۴ ساعت انجام شود، مگر این که بیمار در شوک سپتیک باشد یا مصرف آنتی بیوتیک را شروع کرده باشد. نمونه های جمع آوری شده باید در عرض ۳۰ تا ۶۰ دقیقه جدا شوند. خون به مقدار مساوی به داخل هر دو محیط کشت تقسیم می‌شود.
باکتریهای داخل سلولی (بروسلا، فرانسیسلا و نیسریا)	مشابه کشت خون، سیستم لیزیز ـ سانتریفوژ	مشابه کشت خون رایج	شرایط مشابه کشت خون رایج است، گونه های نیسریا توسط بعضی از ضد انعقادها مهار می شود (سدیم پلی آنتوسولفانات)
گونه‌های لپتوسپرا	لوله های استریل حاوی هپارین	۱-۵ ml	نمونه باید در هفته اول بیماری تهیه شود، بعداً ادرار باید کشت داد شود.

نمونه مایع مغزی - نخاعی	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
رنگ آمیزی-کشت رایج باکتری	لوله استریل در پیچدار	برای کشت باکتری: ۱-۵ میلی لیتر برای کشت مایکوباکتریوم بیشترین حجمی که ممکن است.	نمونه باید به صورت استریل جمع‌آوری شود و سریع به آزمایشگاه ارسال شود. نباید حرارت داده شود یا در یخچال قرار گیرد.

نمونه دستگاه تنفسی‌نمونه دستگاه	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
دستگاه تنفسی ـ گلو دستگاه تنفسی ـ گلو	سواب در داخل سواپ داخل محیط انتقالی انداخته می‌شود.	نامشخص	با استفاده از سواب از ناحیه ملتهب نمونه‌برداری شده در صورت وجود اگزودا، از اگزودا نمونه گیری می شود. از تماس با بزاق اجتناب شود چرا که باعث مهار استرپتوکوک گروه A می‌شود.
دستگاه تنفسی ـ اپی‌گلوت	نمونه خون برای کشت تهیه می‌شود.	مشابه کشت خون رایج	استفاده از سواب باعث انسداد مجاری تنفسی می شود. کشت خون برای تشخیص اختصاصی انجام می‌شود.
دستگاه تنفسی ـ سینوسها	لوله یا ویالهای بی‌هوازی استریل	۱-۵ ml	نمونه با سرنگ و سوزن تهیه می‌شود، کشت نازوفارنکس یا اوروفارنکس بی ارزش است. نمونه‌ها باید از نظر باکتریهای هوازی و بی‌هوازی کشت شوند.
دستگاه تنفسی ـ مجاری تنفسی	لوله‌های درپیچدار لوله درپیچ دار	۱-۲ ml	جمع آوری خلط: اگر ممکن بود بیمار قبل از نمونه گیری دهانش را با آب شستشو دهد. بیمار باید سرفه عمیق کند و

		استریل، لوله و ویال های استریل بی هوازی برای نمونه های جمع آوری شده طوری که آغشته به فلور نرمال نشده باشد.	
تحتانی	ویالهای استریل بی‌هوازی برای نمونه های جمع آوری شده طوری که		ترشحات مجاری تنفسی تحتانی را حتماً در ظرف استریل جمع آوری کند. باید از آلوده شدن با بزاق جلوگیری شود. نمونه های برونکوسکوپی: مواد بی‌حس کننده ممکن است باعث مهار رشد باکتری ها شود. بنابراین نمونه باید سریع آماده شود. اگر برونکوسکوپ protect استفاده می‌شود، باکتری های بی‌هوازی هم بررسی می‌شوند. آسپیره مستقیم ریه ها: نمونه برای باکتری های هوازی و بی‌هوازی می‌تواندریه ها: نمونه براي باكتري هاي هوازي و بی‌هوازي می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

نمونه گوش- چشم	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
گوش	لوله‌های درپیچدار استریل، سرنگ‌های بدون سوزن درپوشدار	هر مقداری که جمع‌آوری شود.	نمونه باید با سرنگ و سوزن آسپیره شود. کشت از گوش خارجی برای اوتیت میانی ارزشمند نیست.
چشم	سریع در پلیت کشت داده شود (در پلیت بسته شود و سریع به آزمایشگاه ارسال شود)	هر مقداری که جمع‌آوری شود.	برای عفونت های سطح چشم، نمونه با سواب یا با خراشیدن قرنیه جمع آوری می شود. برای عفونت های عمیق آسپیره ترشحات استفاده می‌شود. همه نمونه‌ها باید روی محیط کشت مناسب تلقیح شود. تأخیر منجر به از دست دادن میکروارگانیسم می‌شود.

نمونه – ادرار	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
ادرار (وسط ادرار)	در ظرف استریل ادرار	برای بررسی باکتریال: ۱ml برای بررسی مایکوباکتریوم: ≤ ۱۰ ml	از آلوده شدن نمونه توسط باکتری های موجود در واژن و اورترا باید جلوگیری شود. اولین بخش ادرار باید دور ریخته شود. ارگانیسم ها به سرعت می توانند در ادرار رشد کنند، بنابراین نمونه باید سریع به آزمایشگاه ارسال شود. در نگهدارنده‌های باکتریواستاتیک یا در یخچال نگهداری شود.
ادرار ـ کاتتر	در ظروف استریل ادرار	برای بررسی باکتریال: ۱ ml برای بررسی مایکوباکتریوم: ≤ ۱۰ ml	برای کشت از نمونه‌های کاتتری نباید استفاده شود. (به دلیل احتمال آلودگی) اولین بخش از نمونه جمع آوری شده به باکتری های مجاری ادراری آلوده است. بنابراین باید دور ریخته شود. (مشابه

			نمونه های تهیه شده در ادرار وسط). نمونه باید سریع به آزمایشگاه ارسال شود.
ادرار ـ آسپیره شدن سوپراپوبیک	لوله‌ها و ویالهای بی‌هوازی استریل	برای بررسی باکتریال: ۱ml برای بررسی مایکوباکتریوم: ≤ ۱۰ ml	یک روش نمونه گیری مهاجم است. اما تنها روش معتبر در دسترس برای جمع‌آوری نمونه برای کشت

نمونه تناسلی	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
ترشحات تناسلی	سواب های مخصوصی برای نیسریا گنورهآ و کلامیدیا وجود دارد	نامشخص	از ناحیه التهابی یا اگزودا باید نمونه‌برداری شود. اندوسرویکس (نه واژن) و اورترا برای کشت استفاده می‌شود.

نمونه مدفوع	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
مدفوع	ظروف درپیچدار استریل	نامشخص	انتقال سریع به آزمایشگاه برای جلوگیری از تولید اسید (برای برخی از پاتوژن های رودهای باکتریوسید است) توسط باکتریهای نرمال مدفوع لازم است. از آنجایی که نمونه در تعداد زیادی از محیط های کشت باید تلقیح شود، سواب برای جمع‌آوری نمونه مناسب نیست.

نمونه بافت	محیط انتقالی	حجم نمونه	سایر شرایط
اگزودا (ترانسودا، اولسر، درناژ)	سواب در داخل محیط های انتقالی انداخته می‌شود.	برای بررسی باکتریایی: ۱-۵ ml	باید از آلودگی با سطوح جلوگیری شود. نمونه‌ها معمولاً برای کشت

	نمونه‌های آسپیره در لوله درپیچ دار استریل جمع آوری می‌شود.	برای بررسی مایکوباکتریوم: ۳-۵ml	بی‌هوازی نامناسب هستند.
زخم (آبسه چرک)	نمونه های آسپیره در داخل ظرف استریل درپیچ دار یا در ویال و لوله‌های استریل بی‌هوازی	۵-۱ ml از چرک	نمونه باید توسط سوزن و سرنگ استریل جمع‌آوری شود. از روش تراشیدن برای جمع آوری نمونه از قاعده زخم استفاده می شود. از سواب برای جمع آوری نمونه نباید استفاده شود.
بافت	لوله های استریل درپیچ دار یا ویال و لوله‌های استریل بی‌هوازی	نمونه از مرکز و لبه‌های زخم تهیه می‌شود.	نمونه باید به صورت استریل در ظروف مناسب استریل قرار گیرد. مقدار مناسبی نمونه برای بازیافتن مقدار کم باکتری باید تهیه شود.

باکتریهای مهم بیماریزا در انسان

استافیلوکوکوس(Staphylococcus)

کوکسی های گرم مثبت مجموعه ای هتروژن، به شکل کروی و بدون اندوسپور می‌باشند. نام استافیلوکوکوس به دلیل چگونگی تقسیم باکتری و ایجاد آرایشی شبیه خوشه انگور انتخاب شده است. باکتری بشکل منفرد، خوشه ای، زنجیرهکوتاه دیده می شود (شکل ۱-۱). استافیلوکوکها بی‌حرکت،کاتالاز مثبت، هوازی-بی‌هوازی اختیاری هستند و توانایی رشد در محیط نمک (NaCl) با غلظت ۱۰٪ و دمای C ۴۰-۱۸ را دارند. این باکتری فلور نرمال پوست و مخاط انسان، پرندگان و پستانداران است و شامل ۴۵ گونه

و ۲۴ زیرگونه است. استافیلوکوکوس شایعترین پاتوژن انسانی است که قادر به ایجاد بیماریهای سیستمیک تهدید کننـده زنـدگی، عفونتهای پوستی و فرصت‌طلب می‌باشد.

شـایع‌تـرین گونـه در ارتبـاط بـا بیمـاری انسـان اسـتافیلوکوکوس اورئـوس (S.aureus) ، اسـتافیلوکوکوس اپیدرمیـدیس (S.epidermidis)، اسـتافیلوکوکوس سـاپروفیتیکوس (S.saprophyticus)، اسـتافیلوکوکوس کـاپیتیس (S.capitis) و استافیلوکوکوس همولیتیکوس (S.haemolyticus)می‌باشد. گونه استافیلوکوکوس اورئوس قادر به ایجاد پیگمان طلایـی بـوده وکواگولاز مثبت است که بدین صورت از بقیه گونه‌ها تمایز می‌شود.

جنس میکروکوکوس(Micrococcus) ، به همراه ۶ جنس دیگر که از لحاظ مورفولـوژی مشـابه اسـتافیلوکوکوس امـا هـوازی اجباری هستند در پوست کلنیزه شده ومعمولاً در بیماران مبتلا به عفونتهای فرصت‌طلب یافت می‌شوند.

آلوئیدیوکوکوس اوتیتیدیس (Alloiococcus otitidis) تنها گونه این جنس است که عامل عفونت گوش میانی کودکان بوده و رشد آهسته ای دارد.

جدول ۱-۶ بعضی از گونه های استافیلوکوکوس وبیماریهای ناشی از آنها

ارگانیسم	بیماری
استافیلوکوکوس اورئوس	با واسطه سم (مسمومیت غذایی، سندروم فلسی شدن پوست، سندرم شـوک سمی)؛ بیماریهای پوستی(جوش، کـورک،کفگیرک، زرد زخـم و عفونتهـای زخـم)؛ سـایرین (بـاکتریمی، امپـیم، انـدوکاردیت، اسـتئومیلیت، پنومـونی و آرتریت سپتیک)
استافیلوکوکوس اپیدر میدیس	باکتریمی،اندوکاردیت، عفونت زخمهـای جراحـی، عفونـت دسـتگاه ادراری، عفونت فرصت طلب کاتترها، شنت ،پروتزها و دیالیزکننده پریتوئن
اسـتافیلوکوکوس	عفونت دستگاه ادراری و عفونت فرصت طلب

ساپروفیتیکوس	
استافیلوکوکوس لوگدونسیس	آرتریت، باکتریمی، اندوکاردیت، عفونتهای فرصت طلب وعفونتهای دستگاه ادراری
استافیلوکوکوس همولیتیکوس	باکتریمی، عفونت استخوان و مفاصل، اندوکاردیت، عفونت دستگاه ادراری، عفونت زخم و عفونت فرصت طلب

اپیدمیولوژی

استافیلوکوک ها در همه جا یافت می‌شوند. تمام افراد، حامل استافیلوکوکوس کواگولاز منفی بر روی پوست خود هستند و کلنیزاسیون نواحی مرطوب پوست به وسیله استافیلوکوکوس اورئوس شایع است. همچنین کلنیزاسیون در ریشه مو، ناف، پوست ـ ناحیه پرینه نوزادان نیز شایع می باشد. استافیلوکوکوس اورئوس و انواع کواگولاز منفی در اوروفارنکس، مجاری گوارشی و مجاری اورژنیتال یافت می شود. کودکان بزرگتر یا بالغین که به طور موقت یا دائم ناقل استافیلوکوکوس اورئوس هستند بیشتر باکتری را در ناحیه نازوفارنکس حمل می کنند، ۱۵٪ بالغین ناقل اورئوس در فارنکس خود هستند. ناقلین اصلی، بیماران بستری شده در بیمارستان، پرسنل پزشکی، افراد مبتلا به اگزمای پوستی، معتادان تزریقی و افرادی که نیاز به تزریق دائم دارند (مانند مبتلایان به دیابت، آلرژی، همودیالیزی) می باشند. اتصال ارگانیسم به اپیتلیوم مخاطی به وسیله اتصال اسید تیکوئیک به رسپتورهای فیبرونکتین انجام می‌گیرد.

به دلیل وجود باکتری در پوست و نازوفارنکس انتشار باکتری شایع بوده و عامل عفونت های بیمارستانی است. استافیلوکوک ها به دمای بالا، دزانفکتانت ها و محلولهای آنتی سپتیک حساس بوده ولی قادر به زندگی بر روی سطح خشک می‌باشند. ارگانیسم‌ها از طریق تماس مستقیم یا تماس با وسایل شخصی به

افراد منتقل می شوند. پرسنل پزشکی باید جهت جلوگیری از انتقال بـاکتری از خود به بیمار و بالعکس از تکنیک‌های مناسب شستشوی دست‌ها استفاده کنند.

کشت

نمونه های بالینی باید در محیط غنی شده آگار با خون گوسفند انکوبه شود. اگر مخلوطی از ارگانیسم‌ها در نمونه دیده شـود (نمونـه زخم ، تنفسی) استافیلوکوکوس اورئوس به طور انتخابی بر روی محیط آگار حاوی NaCl۷/۵ ٪ رشد می‌کند. زیـرا نمـک از رشـد سایر ارگانیسم ها جلوگیری می کند. همچنین می توان از مانیتول استفاده کرد چرا که ایـن قنـد توسـط اورئـوس تخمیـر مـی شـود. استافیلوکوکها در شرایط هوازی و بی‌هوازی در محیط‌های غنی‌شده غیراختصاصی رشد می‌کنند و بعد از ۲۴ ساعت کلنی بزرگ و صاف ظاهر می شود. کلنی استافیلوکوکوس اورئوس طلائی رنگ است. بخصوص اگر کشت در دمـای اتـاق انکوبـه شـود. تمـامی ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس و برخی از سویه های کواگولاز منفی بر روی آگار خون دار حاوی خون گوسـفند همـولیز ایجـاد می‌کنند. همولیز به وسیله سیتوتوکسین‌ها خصوصاً آلفا توکسین ایجاد می‌شود.

سرولوژی

تلاش برای آشکارسازی آنتی ژن های استافیلوکوکی در نمونه های خون یا سایر نمونه‌ها معمـولاً موفقیـت‌آمیـز نیسـت. آنتـی‌بـادی ضداسید تیکوئیک دیواره سلولی در بسیاری از بیماران مبتلا به عفونت پایدار استافیلوکوکی دیده می شود. آنتی‌بادیها در طی ۲ هفته بعد از استقرار بیماری افزایش می یابند و در اکثر بیمارانی که اندوکاردیت اسـتافیلوکوکی دارنـد، قابـل ردیـابی اسـت. آشکارسـازی آنتی بادی ها در بیماران مبتلا به استئومیلیت استافیلوکوکی یا عفونت زخم به علت تمرکز عفونـت در ایـن نـواحی و عـدم

تحریـک سیستم ایمنی هومورال قابل اعتماد نیست. تیتر بالای آنتی بادی در بیماران مبتلا به باکتریمی نشان دهنده نیاز بـه درمـان طـولانی مدت با آنتی‌بیوتیک است. جواب منفی سرولوژی نیز باید ارزیابی شود، زیرا قابل اعتماد نیست.

تشخیص

تست های بیوشیمیایی ساده (واکنش مثبت کواگولاز، نوکلئاز مقاوم به حرارت، آلکـالین فسـفاتاز و تخمیـر مـانیتول) جهـت افتـراق اورئوس از سایر استافیلوکوک ها کاربرد دارند. افتراق انواع کواگولاز منفی سخت تر است و در آزمایشگاهها انجام نمی شود مگراینکه از لحاظ بالینی حائز اهمیت باشد.

برای تشخیص فراگونه ای ایزوله ها می توان از روشهای، حساسیت آنتی بیوتیکی (آنتی بیوگرام)، بیوتایپینـگ و فاژتایپینـگ اسـتفاده کرد. آنتی بیوگرام و بیوتایپینگ به عنوان بخشی از مراحل تشخیص معمول ایزوله‌ها بکار می‌رود. این تسـت، حساسـیت تشخیصـی بالایی ندارد اما در مواردی که دو ایزوله دارای حساسیت آنتی بیـوتیکی متفـاوت یـا خاصـیت بیوشـیمیایی متفـاوت باشـد مناسـب می باشند. از فاژتایپینگ در افتراق سویه های استافیلوکوکی می توان استفاده کرد که براساس حساسیت باکتری به لیز توسـط فاژهـا است. آنالیز پلاسمید و DNA ی ژنومی میتواند در سطح گونه و زیرگونه ایزوله‌های استافیلوکوکی را شناسایی نماید.

استرپتوکوکها

جنس استرپتوکوکوس مجموعه گوناگونی از کوکسی های گرم مثبت هستند که معمولا" به صورت جفت یا زنجیره قرار گرفته انـد. بیشتر گونه ها بی‌هوازی اختیاری هستند و بعضی فقط در اتمسفری حاوی دیاکسیدکربن رشد می‌کنند (کاپنوفیل). نیازهای غـذایی آنها پیچیده بوده و جداسازی آنها مستلزم استفاده

از محیط های غنی شده با خون یا سرم است. این باکتری ها از تخمیر کربوهیدراتها اسیدلاکتیک تولید می‌کنند و برخلاف گونه‌های استافیلوکوک، استرپتوکوکها کاتالاز منفی هستند.

استرپتوکوکها پاتوژنهای انسانی مهمی هستند. متأسفانه تفاوت گونه‌ها در این جنس پیچیده است، به همین علت سه روش مختلف برای طبقه بندی این ارگانیسم‌ها استفاده می‌شود که به ترتیب زیر است:

۱. صفات سرولوژیکی: گروه بندی لانسفیلد A تاW

۲ .الگوهای همولیز: همولیز کامل(β) ، همولیز ناقص (α) و عدم همولیز (γ) ۳ .صفات بیوشیمیایی (فیزیولوژیکی)

بیشتر گونه های β همولیتیک و بعضی گونه های α همولیتیک و غیر همولیتیک دارای آنتی ژن های اختصاصی گروه هستند که بیشتر آنها کربوهیدرات های دیواره سلولی می باشند. این آنتی ژنها می توانند به آسانی به وسیله روشهای ایمونولوژیکی تشخیص داده شوند و برای تشخیص سریع بعضی استرپتوکوکهای پاتوژن می‌توانند مفید باشند.

اغلب استرپتوکوکهای α همولیتیک و غیر همولیتیک آنتی ژنهای اختصاصی گروه دیواره سلولی را ندارند. این ارگانیسم ها بیشتر بر اساس صفات فیزیولوژیکی تشخیص داده می‌شوند. بعضی گونه ها مانند گونه استرپتوکوکوس آنژینوسوس ممکن است غیرقابل تیپ بندی باشد (گروه ویریدانس) و یا ممکن است با آنتی سرمهای گروهA ، B، C، Fیا G واکنش دهد.

استرپتوکوکهای چرکزا(Streptococcus pyogenes)

دو گونه استرپتوکوک در گروه A طبقه بندی می‌شوند: استرپتوکوکوس پایوژنز و استرپتوکوکوس آنژینوسوس (S.angionsus)، استرپتوکوکوس پایوژنز، بیشتر متداول است و یکی از عوامل مهم بیماریهای

چرکی و غیرچرکی می‌باشد. اگرچه آنها عامـل بسـیار شایع فارنژیت باکتریایی هستند، اما گزارشهایی از این باکتریهای تحت عنوان (گوشت‌خوار) هم در مقالات علمی وجود دارد.

اپیدمیولوژی

استرپتوکوکهای گروه A بطور شایع اوروفارنکس (ناحیه حلقی ـ دهانی) کودکان سالم و بزرگسـالان جـوان را کلنیـزه مـی‌کننـد. امروزه مشخص شده است که اگرچه استرپتوکوکوس آنژینوسوس نیز می تواند آنتی ژن اختصاصی گروه A را حمل کنـد ولـی ایـن گونه عامل فارنژیت نمی‌باشد. کلنیزاسیون به وسیله استرپتوکوکوس پیوژنز زودگذر است و با افزایش قدرت ایمنی اختصاصـی ضـد پروتئین M سویه کلنیزه شده و حضور ارگانیسم‌های رقیب در اوروفارنکس تعدیل می‌شود.

بیماران درمان نشده، آنتی بادی ضد پروتئین M تولید می کنند که می تواند ایمنـی طـولانی مـدت ایجـاد کنـد. لـیکن ایـن پاسـخ آنتی بادی در بیماران درمان شده کم تولید می شود. باکتریهایی مانند استرپتوکوکهای غیرهمولیتیک وآلفا همولیتیک این توانایی را دارندکه موادی شبیه آنتی‌بیوتیک که باکتریوسین نامیده می‌شوند تولید کنند؛ این مواد رشـد اسـترپتوکوکهای گـروه A را سـرکوب می‌کنند.

در کل، بیماری ناشی از استرپتوکوکوس پیوژنز به وسیله سویه‌هایی در اوروفارنکس یا پوست قبل از تولید آنتی‌بادیهای اختصاصی و یا سرکوب آنها توسط ارگانیسم های رقیب، می توانند عفونت ایجاد کنند. فارنژیت ایجاد شده بـه وسـیله اسـترپتوکوکوس پیـوژنز بیماری اطفال بین ۱۵-۵ ساله است ولی نوزادان و بزرگسالان نیز مستعد ابتلاء به آن هستند.

عامل بیماری از طریق قطرات تنفسی، از شخصی به شخص دیگر منتشر می‌شود. اجتماع در کلاس درس یـا مهـدکودک فرصـت انتشار ارگانیسم را خصوصاً در طی ماههای زمستان افزایش می‌دهد. عفونت بافت نرم (مانند پیودرم، باد سرخ، سـلولیت و فاسـیت) بطور تیپیک ابتدا به وسیله کلنیزاسیون پوست با

استرپتوکوکهای گروه A و سپس ورود ارگانیسم بـه داخـل بافتهـای سـطحی یـا بافتهای عمقی از طریق بریدگی در پوست ایجاد می‌شود.

تشخیص آزمایشگاهی

نمونه های لازم با توجه به ماهیت عفونت استرپتوکوکی تهیه می شوند. برای کشت از نمونه حلق، چرک یا خون استفاده مـی‌شـود. سرم برای تعیین آنتی بادیها بکار می رود. در گسترش های تهیه شده از چرک، اغلب به جای زنجیره های مشـخص، کوکسـی هـای تک یا جفتی دیده می شود. گاهی کوکسی ها، خود را بصورت گرم منفی نشان می دهند، چرا که ارگانیسم‌ها با دوام نبوده و توانـایی نگهداری رنگ کریستال ویوله را ندارد و خصوصیات گرم مثبت بودن را از دست می‌دهند. اگـر در گسـترش چـرک، اسـترپتوکوک دیده شد، اما کشت منفی بود، باید به وجود ارگانیسم های بی هوازی شک کرد. گسترش های تهیـه شـده از نمونـه حلـق، بنـدرت کمک کننده هستند، چرا که استرپتوکوکها ویریدانس همیشه وجود دارند و در اسمیرهای رنگ شده، نمایی شـبیه اسـترپتوکوکهای گروه A را نشان می دهند.

کشت

نمونه های مشکوک به داشتن استرپتوکوک در محیط آگار خون دار، کشت داده می‌شوند. اگر به وجود بی‌هـوازیهـا شـک کـردیم محیط کشت مناسب بی هوازیها نیز باید استفاده شود. کشت در محیط دارای ۱۰ CO2 %اغلب سـرعت همـولیز را بـالا مـی‌بـرد. کشت نمونه در قسمتهای عمقی آگار خونی، اثر مشابهی دارد چرا که اکسیژن به سهولت به قسمتهای عمقـی محـیط کشـت کـه ارگانیسم قرار داده شده نمی‌رسد. زیرا اکسیژن استرپتولیزین O را غیرفعال می‌کند.

در کشتهای تهیه شده از خون مثلاً در (سپسیس)، استرپتوکوکهای همولیتیک گروه A طی چندین ساعت یا چند روز رشد می‌کنند. بعضی از انواع استرپتوکوکهای آلفا همولیتیک و انتروکوکها، به آهستگی رشد می

کنند. بنابراین در موارد مشکوک بـه انـدوکاردیت، گاهی مثبت شدن کشت خون، ۱ هفته یا بیشتر طول می کشد. با کمک آزمایشات زیر می توان به سرعت استرپتوکوکهای گروه A را از استرپ آنژینوسوس و بقیه استرپ های بتا همولیتیک جدا نمود شناسایی کرد:

تستهای آنتی بادی فلوئورسان، PYRو تشخیص سریع اختصاصی برای آنتی ژن خاص گروه A . استرپتوکوکهای گـروه A ممکـن است با مهار رشد توسط باسیتراسین شناسایی شوند، اما این راه تنها در صورت عدم دسترسی به آزمونهای قطعی دیگر باید استفاده شود.

آزمونهای سرولوژیک

افزایش تیتر آنتی بادیهایی که علیه بسیاری از آنتی ژنهای استرپتوکوکی گروه A ایجاد می‌شوند، قابل اندازه گیری اسـت. ایـن قبیـل آنتی‌بادیها عبارتند از: آنتی استرپتولیزین O (ASO) ـ به ویژه در بیماریهای تنفسی ـ anti DNase و آنتی‌هیالورونیداز ـ به ویـژه در عفونتهای پوستی ـ آنتی استرپتوکیناز، آنتی‌بادیهای اختصاصی علیه انواع پروتئین M و غیره. آنتی اسـترپتولیزین O (ASO) از همه بیشتر کاربرد دارد و تیترهای بالاتر از ۲۵۰ واحد نشان دهنده عفونت جدید یا عود کننده هستند و در افراد دچار رماتیسم نسبت به کسانی که دچار عفونتهای استرپتوکوکی بدون عارضه شده اند، با شیوع بیشتری یافت می‌شوند.

استرپتوکوک پنومونیه (پنوموکوک)S.pneumoniae

پنوموکوکها دیپلوکوکهای گرم مثبتی هستند که اغلب شکل لانست (lancet) دارند یـا زنجیـره ای قـرار مـی گیرنـد. پنوموکوکهـا کپسول پلی‌ساکاریدی دارند که تعیین نوع آن با آنتی‌بادیهای اختصاصی صورت می گیرد.

مرفولوژی و مشخصات

الف ـ ارگانیسمهای تیپیک:

دیپلوکوکهای تیپیک گرم مثبت که دارای شکلی مانند لانست هستند، اغلب در نمونه بدست آمده از کشتهای تازه دیده مـی‌شـوند. در خلط یا چرک، کوکسیهای تک یا زنجیره ای هم دیده می‌شوند. با گذشت زمـان، ارگانیسـم‌هـا سـریعاً گـرم منفـی مـی‌شـوند و خودبخود تخریب می‌گردند

اتولیز پنوموکوکها به شدت توسط عوامل فعال سطحی افزایش می‌یابد. با اضافه کردن صفرای گـاوی (۱۰٪) یـا دزکسـی کـولات (۲٪) به محیط کشت مایع حاوی سوسپانسیون ارگانیسمها در pH خنثی، تخریب پنوموکوکها طی چند دقیقه انجام می شود، با این روش استرپتوکوکهای ویریدانس تخریب نمی شوند و به این ترتیب به سهولت از پنوموکوکها افتراق داده می‌شوند. در محیط کشت جامد، رشد پنوموکوکها در اطراف یک دیسک اپتوچین مهار می‌شود، اما استرپتوکوکهای ویریدانس توسط اپتوچین مهار نمی‌گردند. سایر نکات تشخیصی عبارتند از: قدرت تهاجم تقریباً یکسان وقتی بصورت داخل صفاقی به موش تزریق می شـود و آزمـون تـورم کپسولی یا واکنشquellung.

ب ـ کشت:

پنوموکوکها کلنی کوچک و گرد ایجاد می‌کنند که در ابتدا حالت گنبدی دارد و بعداً از قسمت مرکزی مسـطح بـا حاشـیه برجسـته می‌شوند. پنوموکوکها در آگار خونی، آلفا همولیتیک هستند. رشد آنها با اضافه کردن ۱۰-۵ CO2 %افزایش می‌یابد.

ج ـ خصوصیات رشد:

بیشتر این باکتریها گلوکز را تخمیر کرده و اسیدلاکتیک تولید می‌کنند که رشد را محدود می‌کند. خنثی‌سـازی محـیط کشـت بـا مواد قلیایی در فواصل معین، موجب افزایش رشد باکتری می‌گردد.

مکانیسم بیماریزایی

مکانیسم بیماریزایی در سه مرحله روی می‌دهد:

الف) کلنیزاسیون ومهاجرت - این باکتری به کمک ادهزینهای پروتئینی سطحی بر روی سلولهای اپیتلیال اوروفارنکس کلنیزه شده و از مهاجرت آن به نقاط دیگر جلوگیری می شود. اما در شرایطی ویژه به ریه ها، گوش میانی و سینوسهای پارانازال انتشار می یابد. همچنین از طریق گردش خون به مغز منتقل می شود. این باکتری با ترشح پروتئاز، IgAترشحی را تخریب می‌کند در ضمن با تولید پنومولیزین غشای سلولی میزبان (سلولهای اپیتلیال مژه دار و فاگوسیت کنندهها) را سوراخ کرده و از بین می برد.

ب) تخریب بافت- با تحریک اسید تایکوئیک، قطعات پپتیدوگلیکان و پنومولیزین، سلولهای التهابی به منطقه عفونی فراخوانده می‌شوند. اسید تایکوئیک و قطعات پپتیدوگلیکان راه آلترناتیو و پنومولیزین مسیر کلاسیک کمپلمان را فعال می‌کنند. تحریک تولید سایتوکاینهای IL-1 و TNF-α علاوه بر فراخوانی سلولهای التهابی و تب، همانند پراکسید هیدروژن موجب آسیب بافتی نیز می‌شوند. فسفوریل کولین نیز با اتصال به گیرنده های سطحی سلولهای اندوتلیال، لکوسیتها، پلاکتها و سلولهای بافتی مانند مغز از اپسونیزاسیون و فاگوسیتوز در امان می‌مانند.

ج) فرار از فاگوسیتوز- باکتری به واسطه کپسول SSS) یا مواد محلول اختصاصی) از پدیده فاگوسیتوز درامان مانده و با کمک پنومولیزین انفجار تنفسی و تولید متابولیتهای سمی سرکوب می‌گردد.

آزمونهای تشخیص آزمایشگاهی

خون برای انجام کشت گرفته می شود و خلط نیز جهت نشان دادن پنوموکوکها در گسترش و کشت جمع آوری می گردد. آزمونهای مربوط به آنتی‌بادیهایی سرمی غیرعملی است. چندین راه برای آزمایش خلط وجود دارد:

الف. گسترشهای رنگ شده:

در خلط قرمز رنگی که با گرم رنگ‌آمیزی شده، ارگانیسم‌های تیپیک، چند نوتروفیل و تعداد زیادی گلبول قرمز دیده می‌شود (شکل ۶-۷).

ب. آزمایشهای تورم کپسولی:

اگر خلط تازهٔ یکنواخت شده را با آنتی‌بادیهای سرمی مخلوط کنیم، کپسول باکتری دچار تورم می‌شود (واکنش quellung) که این امر شناسایی و تعیین نوع پنوموکوکها را ممکن می‌سازد. از اگزودای صفاقی نیز می‌توان برای این کار استفاده کرد.

پ . کشت:

خلط در آگار خون دار کشت داده می‌شود و برای نگهداری و رشد از CO2 یا candle jar (جار شمعی) استفاده می‌شود. خون نیز کشت داده می‌شود.

ت. تزریق داخل صفاقی خلط به موش:

موشها طی ۱۸ تا ۴۸ ساعت می میرند. کشت تهیه شده از خون قلب، کلنی‌های خالص پنوموکوک ایجاد می‌کند. این نوع کشت برای پنوموکوک بسیار حساس است، اما بندرت استفاده می‌شود، چرا که نیاز به نگهداری تعداد زیادی موش دارد.

ث. منتژیت پنوموکوکی:

بررسی و کشت سریع مایع مغزی نخاعی، این تشخیص را امکانپذیر می‌سازد.

اپیدمیولوژی، پیشگیری و کنترل

پنومونی پنوموکوکی حدود ۶۰ ٪ پنومونی های باکتریهایی را تشکیل می‌دهد. این بیماری یک بیماری اندمیک است و ناقلین زیادی ایجاد می کند. در ایجاد بیماری، عوامل مستعدکننده، از تماس با عامل عفونی مهم تر می باشند و ناقل سالم در انتشار پنوموکوکها، از شخص بیمار، اهمیت بیشتری دارد.

ایجاد مصونیت در افراد با استفاده از پلی ساکاریدهای اختصاصی هر نوع امکانپذیر است. این‌گونه واکسنها احتمالاً می‌توانند افراد را تا ۹۰٪در مقابل پنومونی باکتریایی حفاظت می کنند. در بیمارانی که کم‌خونی داسی‌شکل داشتند یا عمل برداشتن طحال انجام داده بودند تجویز واکسنی که حاوی ۱۴ نوع پلی ساکارید پنوموکوکی بود نتایج خوبی دربرداشت. در سال ۱۹۸۳، یک واکسن پلی ساکاریدی وسیع‌الطیف که حاوی ۲۳ نوع پلی‌ساکارید بود، ساخته شد. این قبیل واکسنها برای اطفال، افراد سالمند، افراد ناتوان یا افراد دچار سرکوب ایمنی، مناسب هستند.

یک واکسن پنوموکوکی کنژوگه (ترکیبی) ساخته شده که دارای پلی ساکاریدهای کپسولی است که روی پروتئین CRM197 دیفتری سوار شده اند. این واکسن هفت ظرفیتی برای تمام کودکان ۲۳-۲ ماهه و برخی کودکان ۵۹-۲۴ ماهه توصیه می‌شود. بعلاوه، باید از عوامل مستعد کننده اجتناب شود، تشخیص را هرچه سریع‌تر قطعی نمود و درمان دارویی را به موقع شروع کرد.

انتروکوکوس

فیزیولوژی و ساختار

کوکسی‌های گرم مثبت جفت جفت و زنجیرههای کوتاه (مشابه استرپتوکوکوس پنومونیه) بی‌هوازی اختیاری

دیواره سلولی با آنتی‌ژن اختصاصی گروه (گروه D گلیسرول تایکوئیک اسید)

اپیدمیولوژی

در مجرای معده ـ رودهای انسان و حیوانات کلنیزه می‌شود.

ساختار دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت قادر به زیست بر روی سطوح محیطی برای دورههای طولانی مـی باشند. اکثر عفونت‌ها از فلور باکتریایی بیمار منشاء می‌گیرد. انتشار از فردی به فرد دیگر صورت می‌گیرد. بیماران در معرض خطر شامل آنهایی که به مدت طولانی بستری شده اند و تحت درمان با آنتـی بیوتیـک هـای وسیع‌الطیف هستند (به ویژه سفالوسپورین‌ها، البته مقاومت انتروکوکها ذاتی است).

بیماریها

عفونت‌های مجرای ادراری عفونت‌های زخم (به ویژه عفونت‌های داخل شکمی و چند میکروبی) باکتریمی و اندوکاردیت

تشخیص

رشد در محیط های غیرانتخابی: افتراق از ارگانیسم های وابسته به وسیله تست‌های ساده (کاتـالاز منفـی، PYRمثبت، مقاومت به صفرا و اپتوشین)

درمان، کنترل و پیشگیری

درمان برای عفونت های جدی نیازمند ترکیب آمینوگلیکوزیدها بـا آنتـی‌بیوتیـک‌هـای مـؤثر بـر دیـواره سـلولی (پنی سیلین، آمپی سیلین یا ونکومایسین) عوامـل جدیـدتر شـامل لـین زولیـد، کینـو پریسـتین/ دالفوپریسـتین و فلوروکوییـنولونهای انتخابی است.

مقاومت آنتی بیوتیکی در حال افزایش است و عفونت با بسیاری از ایزوله‌ها (به ویژه انتروکوکوس فسیوم) با هیچ آنتی‌بیوتیکی قابل درمان نیست.

پیشگیری و کنترل عفونت‌ها : استفاده محدود از آنتی‌بیوتیک و استفاده مناسب از ابزار کنترل عفونت

نایسریا

جنس نیسریا به افتخار پزشک آلمانی (نیسر) نامگذاری شده است. این جنس شامل ۱۰ گونه می باشد که دو گونه یعنی نیسریا گونورهآ و نیسریا مننژیتیدیس برای انسان بیماری زا می باشند. بقیه گونه ها معمولاً روی سطوح موکوسی اوروفارنکس، نازوفارنکس و غشاهای دستگاه ادراری - تناسلی ساکن هستند (جدول۱-۸). گونه‌های این جنس به صورت کوکسی گرم منفی هوازی بوده که به صورت دوتایی و شبیه دانه های قهوه در کنار هم قرار گرفته‌اند. این باکتریها غیرمتحرک و فاقد اسپور هستند. تمام گونه‌ها اکسیداز مثبت بوده و آنزیم کاتالاز تولید می‌کنند. تولید اسید از کربوهیدرات به طریق اکسیداسیون است نه تخمیر. تنها دو گونه گونورهآ و مننژیتیدیس برای انسان بیماری زا هستند و بقیه گونه‌ها ویرولانس کمتری داشته و عموماً در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی و کسانی که دارای مشکلات جسمی هستند بیماریزا می‌باشند. ایکنلا کورودنس و کینگلا کینگا در اوروفارنکس انسان کلنیزه شده و پاتوژن فرصت‌طلب می باشند.

نیسریا گونورهآ و نیسریا مننژیتیدیس

بیماری ناشی از نیسریا گونوره آ در اغلب کشورهای جهان شناخته شده است و علی رغم در مان آنتی بیوتیکی هنوز یکی از مهمترین بیماریهایی است که از طریق تماس جنسی منتقل می شود.

لایه ای اطراف نیسریا مننژیتیدیس را پوشانیده است که همان کپسول پلی ساکاریدی است. باکتریها به صورت گرم منفی، دیپلوکوک و دارای کپسول پلی ساکاریدیهستند که عموماً در ناحیه نازوفارنکس افراد سالم کلنیزه می‌شوند. این باکتری دومین عامل مولد مننژیت در افراد بالغ می‌باشد. پیشرفت سریع بیماری در مبتلایان به مننژیت، موجب ترس و وحشت زیادی در آنها می‌شود که از این لحاظ قابل مقایسه با سایر بیماریها نیستد.

اپیدمیولوژی

سوزاک بیماری خاص انسان هاست که مخزن غیرانسانی برای آن شناخته نشده است. نسبت و میـزان عفونـت در زنـان و مـردان برابر است. مهم ترین راه انتقال بیماری از راه تماس جنسی است. خطر ابتلا به عفونت در زنان با یک بار تماس بـا مـرد آلـوده ۵۰ درصد است و این خطر در مردان برای یک بار تماس با زن آلوده در حدود ۲۰ درصد می باشد. خطر ابتلا به عفونـت در اشخاصـی که با افراد گوناگون تماس جنسی دارند بیشتر می‌شود.

مهم ترین مخزن بیماری افراد ظاهراً سالم و بدون علامت هستند. ناقلین بدون علامت در زنان بیشتر از مـردان هسـتند. بیشـتر از نیمی از زنان آلوده فاقد علایم بالینی بوده یا علایم خفیفی دارند. در صورتی که بیشتر مردان مبتلا علایـم اولیـه بیمـاری را بـروز می دهند. علایم بیماری پس از چند هفته در بیماران درمان نشده ظاهر می شود و به همین دلیل در طی این مـدت نـاقلین بـدون علایم بیماری، تعدادشان افزایش می‌یابد.

بیماری مننژیت خاص انسان است و به صورت اندمیک در نقاط مختلفی بروز می کند و به طور اپیـدمی در کشـورهای پیشـرفته و توسعه یافته هم ظاهر می شود. شیوع اپیدمیک بیماری در جمعیت های با ایمنی طبیعی و دست نخورده و جمعیت هایی که کمتر در معرض بیماری بوده اند در اثر بروز گونه های ویرولان جدید پیش می‌آید. پاندمی در طی جنگ جهانی در کشورهای فقیـر مشـاهده شده است. از میان ۲۳ گروه سرمی، گروههای سرمیA ، B، C، Yو W135 عامل اکثر عفونت‌ها هستند. در اروپا و آمریکا، گـروه سرمی B، Cو Y و در کشورهای در حال توسعه گروه سرمی A وW135 غالباً عامل مننژیت یا منگوکوکسمی است.

گروه سرمی Y و W135 در ارتباط با پنومونی منگوککی هستند. انتقال بیماری از طریـق قطـرات تنفسـی و بیشـتر در فضـاهای مسدود و جاهایی که مردم در تماس بیشتری با هم هستند صورت می گیرد. خـانواده هـای پرجمعیـت کـه در یـک محـل زنـدگی می کنند، سربازانی که در آسایشگاه های نظامی به سر می

برند، بچه های مدرسه‌رو و کارمندان بیمارستان از جمله افرادی هستند که در محیط های بسته قرار داشته و در تماس مستقیم با ترشحات تنفسی افراد آلوده قرار دارند و به همین دلیل خطر ابتلا به بیماری در این افراد بیشتر است. مطالعه بر روی ناقلین بدون علامت، نشان دهنده طیف وسیعی از شیوع بیماری (کمتر از ۱ درصد تا ۴۰ درصد) می باشد. ناقلین دهانی و نازوفارنکس در بین بچه های دبستانی و نوجوانان درصد بیشتری دارد. تغییرات فصلی ارتباط چندانی با شیوع بیماری ندارد، حتی اگر در ماه های سرد و خشک سال، بیماری شایع شود ارتباطی میان فصل و تغییرات آن با بیماری و شیوع آن مشاهده نشده است. شیوع اندمی بیماری در بچه های کمتر از ۵ سال به ویژه نوزادان بیشتر است. افراد مسن، سربازان و زندانیان در طول اپیدمی نسبت به عفونت مستعدتر هستند.

نیسریا گونوره آ

بیماریهای بالینی

سوزاک

اورتریت اولین علامت بالینی بارز در مردان است. ترشحات چرکی در مجرای ادراری و سوزش هنگام دفع ادرار ۲ تا ۵ روز پس از ابتلا به بیماری بروز می کند (شکل ۲-۸). دوره کمون ۲ تا ۵ روز می‌باشد. پس از طی دوره کمون در ۹۵ درصد از مردان مبتلا، علایم حاد بیماری بروز می کند. علایم دیگر در مردان شامل اپیدیدیمیت، پروستاتیت، آبسه و زخم اطراف مجرای ادراری می باشد. سرویکس در زنان اولین ناحیه ای است که دچار عفونت ناشی از گونوکوک می‌شود. باکتری تنها قادر به آلوده کردن سلولهای اپیتلیال استوانه ای اندومتر است و قادر به آلوده کردن سلول های اپیتلیال سنگفرش سطح واژن نمی باشد. علایم بالینی سوزاک در زنان به صورت ترشحات واژن، سوزش ادرار و دردهای شکمی است. عفونت و التهاب لوله های فالوپ، فیبروز، انسداد لوله‌های رحمی و التهاب لگن در ۱۰ تا ۲۰ درصد از زنان مبتلا بروز می‌نماید.

نیسریا منتژیتیدیس

بیماریهای بالینی

منتژیت

بیماری به طور ناگهانی و با علایمی از قبیل سردرد، تب و علایم منتژیت ظاهر می شود. در بچه های کم سن و سال در برخی مواقع علایمی به صورت غیراختصاصی و معمولاً همراه با تب و استفراغ بروز می‌کند. در افراد درمان نشده، مرگ و میر در حدود ۱۰۰ درصد بوده و در افرادی که در زمان مناسب و با آنتی بیوتیک مناسب درمان شوند این میزان به ۱۰ درصد می‌رسد. وقوع عوارض عصبی نادر است ولی به هر حال در برخی مواقع کاهش شنوایی و آرتریت ناشی از باکتری گزارش گردیده است.

تشخیص آزمایشگاهی میکروسکوپی

در تشخیص سوزاک در مردان، رنگ آمیزی گرم در حدود ۹۰درصد حساسیت و ۹۸درصد اختصاصیت دارد (شکل ۱-۸). این حساسیت در مردان بدون علامت بالینی در حدود ۶۰ درصد یا کمتر از این مقدار است. اما در تعیین التهاب گردن رحم در زنان بدون علامت یا دارای علامت بالینی، رنگ آمیزی گرم ارتباط صددرصد با سوزاک ندارد و باید نتایج مثبت میکروسکوپی (دیپلوکوک های گرم منفی) با روش های دیگر مانند کشت تأیید شود. بنابراین نتیجه رنگ‌آمیزی گرم در زنان و مردان دارای ترشحات مجرای اداری قابل قبول است ولی در زنان و مردان بدون علامت اگر نتیجه رنگ‌آمیزی گرم منفی باشد باید نتایج کار با انجام کشت از ترشحات تأیید شود. از رنگ آمیزی گرم در تشخیص سریع آرتریت چرکی هم استفاده می شود اما در تعیین بیماران مبتلا به سوزاک از ترشحات و زخم‌های پوستی، عفونت‌های مقعدی یا فارنژیت رنگ‌آمیزی گرم حساسیت زیادی ندارد. نیسریاهای غیربیماریزا در اوروفارنکس و باکتریهای مشابه آنها در دستگاه گوارش در برخی مواقع با نیسریا گونورهآ اشتباه می‌شوند.

نیسریا منتژیتیدیس درمایع مغزی نخاعی (CSF) در بیمار مبتلا به منتژیت به راحتی دیده می شود (شکل۶-۸) مگر اینکه فرد درمان آنتی بیوتیکی را شروع کرده باشد. در اکثر بیماران با باکتریمی ناشی از سایر ارگانیسم ها میزان ارگانیسم در خون بسیار کم است و رنگ آمیزی گرم ارزشی ندارد. در بیماران مبتلا به منتگوک میزان ارگانیسم در خون بسیار زیاد است و با رنگ آمیزی از خون محیطی ارگانیسم‌ها قابل رؤیت می‌باشند.

کشت

در هنگام نمونه گیری و مراحل آن از جمله جمع آوری نمونه باید دقت کافی کرد. نیسریا گونورهآ به راحتی از نمونه‌های دستگاه تناسلی قابل جداسازی است. از آنجایی که ارگانیسم های غیربیماری زا به طور طبیعی در سطوح مخاطی دستگاه تناسلی، مقعد و حلق زندگی می کنند؛ بهمین علت باید جهت جداسازی ارگانیسم از نواحی مذکور از محیط های انتخابی و غیرانتخابی استفاده شود. مهم‌ترین محیط کشت انتخابی جهت جداسازی ارگانیسم محیط تغییریافته تایرمارتین و محیط شکلات آگار می‌باشد.

محیط انتخابی از رشد بسیاری از ارگانیسم های فلور طبیعی جلوگیری می کند. به علت حساسیت برخی گونه های نیسریا گونوره آ به ونکومایسین موجود در محیط انتخابی باید از محیط غیرانتخابی شکلات آگار هم استفاده شود. به علت وجود اسیدهای چرب، یون های فلزی و نیز پپتون موجود در محیط‌های متداول آزمایشگاهی (نوترین آگار، بلادآگار) که باعث عدم رشد برخی گونه‌های نیسریا می‌شود استفاده از این محیط‌ها جهت شناسایی ارگانیسم مناسب نیست.

انتروباکتریاسه

خانواده انتروباکتریاسه بزرگترین مجموعه ناهمگون از باسیل های گرم منفی در پزشکی می باشند. حدود ۴۰ جنس و ۱۵۰ گونه از آنها شناسایی شده است. این جنس ها براساس مشخصات بیوشیمیایی،

ساختمان آنتی ژنیک، هیبریداسیون اسید نوکلئیک و تعیین توالی رده بندی می‌شوند. با وجود پیچیدگی این خانواده، کمتر از ۲۰ جنس عامل بیش از ۹۵ درصد عفونت‌ها می‌باشند

انتروباکتریاسه‌ها ارگانیسم های فراگیری هستند که در خاک، آب و سبزیجات پیدا می شوند و قسمتی از فلور نرمال روده ی بیشتر حیوانات و نیز انسانهارا تشکیل می دهند. این باکتریها بیماریهای مختلفی در انسان شامل ۳۰ تا ۳۵ درصد کل سپتی‌سمی‌ها، بیشتر از ۷۰ درصد عفونت‌های مجرای ادراری و بسیاری از عفونت‌های رودهای را ایجاد می‌کنند.

۱۱انتروباکتریاسیه های مهم از نظر پزشکی

سیتروباکتر فروندی، سیتروباکتر کوزری انتروباکتر آئروژنز، انتروباکتر کلوآکه اشریشیاکلی کلبسیلا پنومونیه، کلبسیلا اکسی توکا مورگانلا مورگانی

پروتئوس میرابیلیس، پروتئوس ولگاریس سالمونلا انتریکا سراشیا مارسسنس

شیگلا سونئی، شیگلا فلکسنری یرسینیا پستیس، یرسینیا انتروکولیتیکا، یرسینیا پسودوتوبرکلوزیس

برخی از ارگانیسم‌ها مانند سالمونلا تیفی (Salmonella typhi)، گونه‌های شیگلا (Shigella spp.) و یرسینیا پستیس (Yersinia pestis) همیشه بیماریزا هستند. در حالی که جنس‌های دیگر مانند اشریشیا کلی((Escherichia coli، کلبسیلا پنومونیه (Klebsiella pneumoniae)، پروتئوس میرابیلیس (Proteus mirabilis)، به عنوان عضوی از فلور نرمال می‌باشند. عفونت‌های ناشی از انتروباکتریاسه، یا از مخازن حیوانی منشأ می‌گیرند یا از حاملان انسانی و یا از طریق گسترش درونی ارگانیسم در بیماران حساس و می‌توانند تقریباً همه قسمت‌های بدن را گرفتار کنند.

اشریشیا کلی

جنس اشریشیا کلی دارای ۵ گونه است که E.coli از همه شایع تر و از نظر کلینیکی مهم تـر اسـت. ایـن ارگانیسـم در ارتبـاط بـا بسیاری از بیماری ها است از جمله: سپسیس، عفونت دستگاه ادراری UTI))، منـنژیـت و گاسـتروانتریت. همچنـین انتظـار مـی رود جمعیت سویه‌های ایجاد کننده بیماری توانایی تغییر آنتی‌ژنتیکی را داشته باشند.

آنتی‌ژنO ، H، Kدر این باکتری شرح داده شده است و از این آنتی ژن ها بـرای کـلاس بنـدی سـویه‌هـای جـدا شـده در اهـداف اپیدمیولوژیک استفاده می‌شود.

پاتوژنز و ایمنی

E.coliدارای طیف وسیعی از فاکتورهـای بیمـاریزا اسـت. عـلاوه بـر ایـن فاکتورهـای کلـی کـه توسـط همـه اعضـاء خـانواده انتروباکتریاسیه تولید می شود سویه های اشریشیا برای ایجـاد بعضـی بیمـاریهـا ماننـد UTI و گاسـتروانترویت دارای فاکتورهـای ویرولانس اختصاصی شامل اگزوتوکسین و ادهسین‌ها می‌باشند.

ادهسین‌ها

E.coli توانایی چسبیدن و باقی ماندن در مجرای ادراری یا معدی ـ رودهای را دارد. زیرا در این جایگاهها به سلول متصل شـده و مانع عمل پاک کنندگی و نیز حرکت مجرای ادراری و یا روده ای می شود. سـویه هـای E.coli دارای ادهسـین هـای متعـدد بسـیار اختصاصی هستند که عبارتند از : آنتی‌ژنهـای فـاکتور کلنیزاسـیون(CFA/I, CFA/II, CFA/III) ، فیمبریـه چسـبنده مهـاجم(AAF/I, AAF/III) ، پیلی تشکیل‌دهنده دسته(Bfp) ، اینتیمین، پیلی) p که به آنتی‌ژنهای p گروه خونی p متصـل مـی‌شـود(،

پروتئین Ipa (آنتی‌ژن پلاسمیدی مهاجم) و فیمبریه) Dr که به آنتی‌ژنهای گروه خونی Dr متصل می‌گردد) می‌باشند.

اگزوتوکسین‌ها

E.coliطیف وسیعی از اگزوتوکسین ها را تولید می‌کند که شامل شیگا توکسین (Stx-2-Stx-1) ، توکسین مقاوم به گرما STa) (-STb و توکسین‌های حساس به گرما (LT-II, LT-I) هستند. علاوه بر این همولیزین‌ها (HLYA) در پاتوژنز بیماریهای مجرای ادراری ناشی از E.coli نقش دارند.

اپیدمیولوژی

تعداد زیادی E.coli در مجرای معدی ـ رودهای وجود دارند و این باکتریها عامل سپتی‌سمی، منتژیت نوزادان، عفونت‌های مجرای ادراری و گاستروانتریت هستند. برای مثال، E.coli شایع ترین باسیل گرم منفی است که از بیماران دارای سپسیس جدا شده است. E.coli مسئول ایجاد بیشتر از ۸۰ درصد عفونت‌های مجرای ادراری اکتسابی و مسئول بیشتر عفونت‌های بیمارستانی است. E.coli عامل اصلی گاستروانتریت در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. بیشتر عفونت‌ها به استثنای گاستروانتریت و منتژیت نوزادان بصورت دورن زاد (اندوژن) هستند. با وجود اینکه E.coli به عنوان قسمتی از فلور نرمال میکروبی می‌باشد اما در هنگام نقص ایمنی ، بیماری ایجاد می کند.

بیماریهای کلینیکی

سپتی‌سمی

بطور تیپیک سپتی سمی توسط باسیل گرم منفی از جمله E.coli ایجاد می‌شود و منشاء آن عفونت‌های مجرای ادراری و دستگاه گوارش می باشد. مرگ ومیر ناشی از سپتی سمی E.coli برای بیماران با ضعف ایمنی یا عفونت اولیه در شکم یا سیستم عصبی مرکزی بالا است.

عفونت دستگاه ادراری

بیشتر باسیل های گرم منفی که ایجاد عفونت‌های مجرای ادراری می‌کنند از کولون منشاء می‌گیرند و پیشابراه را آلـوده کـرده و بـه مثانه صعود کرده و حتی ممکن است به کلیه و پروستات مهاجرت کنند. عفونت مجـرای ادراری عفونـت بالارونـده ،اگرچـه بیشـتر سویه های E.coli می‌توانند عفونت مجرای ادراری ایجاد کنند امIZ بیشتر مربوط بـه گروههـای سـرولوژی خاصـی مـی‌باشـد. ایـن باکتری ها ویرولان هستند زیرا توانایی تولید ادهسین ها را دارند که به سلول های مثانه و مجرای ادراری فوقـانی متصـل مـی‌شـوند (مانع از حذف باکتری در طی دفع ادرار می گردد) و همولیزین HlyA که اریتروسیت ها و سایر سلولها را لیز می کند (منجر به آزادی سایتوکاین‌ها و تحریک پاسخ‌های التهابی می‌گردد).

مننژیت نوزادان

E.coliو استرپتوکوکهای گروه B ((Group B streptococci اکثر اوقات سبب عفونت‌هـای سیسـتم عصـبی مرکـزی در کودکان بیشتر از یک ماه می‌گردند. تقریباً ۷۵ درصد از سویه های E.coli دارای آنتی ژن کپسولی K1 می باشند. این گـروه سـرمی بطور متداول در مجرای معدای ـ رودهای زنان باردار و نوزادان تازه متولد شده وجود دارد. با این حال دلیل تمایل این گـروه سـرمی برای ایجاد بیماری در نوزادان مشخص نیست.

گاستروانتریت

سویه های E.coli که ایجاد گاستروانتریت می کنند به شش گـروه تقسـیم شـدهانـد. انتروتوکسـیژنیک (ETEC)، انتروپاتوژنیـک(EPEC) ، انتروایـنوازیو(EIEC) ، انتروهموراژیک(EHEC) ، انترواگریگیتیو).) EAEC

EPEC

E.coli انتروپاتوژنیک، علت اصلی اسهال نوزادان در کشورهای فقیر است. بیماری در بچه‌های مسن‌تر و بالغین اندک است که بـه دلیل داشتن ایمنی قوی می باشد. اگرچه گروههای سرمی O ی خاص در ارتباط با شیوع اسـهال EPEC در پرسـتاران مـی باشـد سروتایپینگ E.coli جدا شده بطور اتفاقی یا در طی بیماری آندمیک انجام نمی‌شود. این بیماری به وسـیله اتصـال باکتریـایی بـه سلول های اپیتلیال روده کوچک و سپس از بین بردن میکروویلی ها مشخص می شود. این میکرو ویلی ها روی سطح سلول اپیتلیال با اتصال باکتری به سلول میزبان به وسیله پدستال فنجانی شکل پایه‌ها ایجاد می‌شود. در آغاز اتصال سستی به واسطه پیلی دسـته ایجاد شده و به دنبال آن ترشح فعال پروتئین ها توسط سیستم ترشحی تیپ III باکتریایی درون سلول اپیتلیال روی میدهد. اسهال آبکی از مشخصات این بیماری است که به دلیل سوء جذب ناشی از تخریب میکروویلی‌هاست.

ETEC

E.coliانتروتوکسیژنیک، بیماری ایجاد شونده توسط ETEC بطور شایع در کشورهای در حال پیشرفت دیده می شود. عفونـت در بچه های جوان کشورهای در حال توسعه یا آنهایی که به این نواحی سفر می‌کنند مشاهده می‌شود. عفونت‌ها بصورت اولیه از طریق مصرف غذا یا آب آلوده با مدفوع کسب می‌شود. انتقال فرد به فرد اتفاق نمی‌افتد.

E.coliانتروتوکسیژنیک دو رده از انتروتوکسین‌ها را ایجاد می‌کنند: توکسین‌های حساس به گرما (LT-II, LT-I)و توکسین‌های مقاوم به حرارت (STb , STa) که LT-II با بیماری انسان ارتباطی ندارد.

LT-Iاز نظر عمل و ساختمان شبیه توکسین کلرا است. این توکسین از یک زیرواحد A و ۵ زیرواحد B یکسان تشکیل شده است. زیرواحدهای B به گلیکوپروتئین های سطح سلول های اپیتلیال روده کوچک متصل می گـردد کـه در ادامـه اندوسـیتوز زیرواحـد A توکسین LT1 از میان غشاء واکوئل انجام می شود.

زیرواحد A دارای فعالیت ADP ریبوزیل ترانسفراز بوده و با پـروتئین غشـایی (GS) که آدنیلات سیکلاز را تنظیم می‌کنند واکنش می‌دهد.

در نتیجه این واکنش میزان آدنوزین منوفسفات حلقوی و ترشح کلر افزایش پیدا کرده و جذب سدیم و کلر کاهش پیدا می‌کند. این تغییرات سبب ایجاد اسهال آبکی می شود. همچنین توکسین، ترشح پروستاگلاندین را تحریک کرده و سایتوکاین های التهابی تولید می گردد STa .به گوانیلات سیکلاز باند شده و سبب بالا رفـتن میـزان گوانـوزین منوفسـفات حلقـوی و افـزایش ترشـح مایعـات می‌گردد. ژنهای LT-1 و STa روی پلاسمید قابل انتقال قرار دارند که همچنین توانایی حمل ژنهای ادهسین را دارد.

گیرنده های فاکتورهای کلنیزاسیون، گلیکوپروتئین ها هستند. پس از ۱ تا ۲ روز دوره کمون ترشح اسهال توسط ETEC شروع شده و بطور متوسط ۳ تا ۴ روز ادامه دارد. نشانه هایی از قبیل کرامپ، استفراغ، تهوع و اسهال آبکی شبیه کلرا نشان می دهد. اما شـدت آنها کمتر می‌باشد. تغییرات هیستولوژیک موکوس رودهای و التهاب مشاهده نمی‌شود.

EHEC

E.coliانتروهموراژیک، این سویه ها شایع ترین سویه هایی هستند که در کشورهای توسعه یافته بیماری ایجاد مـی کننـد. کمتـر از ۱۰۰ باسیل می تواند بیماری ایجاد کند. شدت بیماری ایجاد شده توسط گروه EHECاز شکل ملایـم بیمـاری و فاقـد اسـهال تـا کولیت هموراژیک شدید با درد شکمی، اسهال خونی و تب مختصر متغیر است. بیشتر از ۵۰ سروگروه EHEC جدا شده اسـت. بـا این حال بیشترین سروتیپی که سبب بیماری انسان در ایالات متحده می‌گردد، سروتیپ O157:H7 می‌باشد.

سندروم اورمی همولیتیک با نقص کلیوی حاد، ترومبوسیتوپنی و آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک همراه اسـت. ایـن عارضـه در ۵ تا۱۰ درصد از بچه های مبتلای بالای ۱۰ سال مشاهده می‌شود. بیماری ناشی از EHECبیشتر در ماههای گرم سال شایع است و بالاترین میزان شیوع آن در بچه‌های بزرگتر از ۵ سال

می‌باشد. در بیشتر موارد بیماران از گوشت پخته گاو یا تولیدات گوشتی دیگر، آب، شیر غیرپاستوریزه یا آب میوه، سبزیجات خام و میوهها استفاده کردهاند.

در آغاز، در افراد بیمار اسهال غیرخونی همراه با درد شکمی مشاهده می‌گردد. استفراغ در بعضی از افراد دیده شده و طی ۲ روز از آغاز بیماری در ۳۰ تا ۶۵ درصد بیماران به طرف اسهال خونی همراه با درد شکمی پیش می‌رود. در بیشتر افراد درمان نشده نشانه های عمده بطور تیپیک پس از ۴ الی ۱۰ روز اتفاق می افتد. از این رو سندروم اورمی همولیتیک بخصوص در بچه‌های جوان یک گرفتاری جدی است. مرگ در ۳ الی ۵ درصد از بیماران مبتلا به HUS اتفاق می‌افتد و نیز عوارض وخیمی در بیشتر از ۳۰ درصد بیماران رخ می دهد.

سویه های EHEC دارای شیگاتوکسین هستند که ایجاد زخمهای A/E روی سلولهای اپیتلیال می‌کند و دارای پلاسمیدی هستند که ژن های دیگر فاکتورهای ویرولانس را حمل می کند. stx1 مشابه توکسین شیگا است که توسط شیگلا دیسانتری تولید می شود. stx2 دارای ۶۰ درصد هومولوژی با stx1 است. هر دو این توکسین‌ها توسط باکتریوفاژهای لیزوژنیک کد می‌شوند.

هر دو توکسین دارای یک زیرواحد A و ۵ زیرواحد B هستند. زیرواحد B به گلیکولیپید خاصی روی سطح سلول میزبان که به میزان زیادی در پرزهای روده ای و سلول های اندوتلیال کلیوی وجود دارد، متصل می‌گردد. زیرواحد A به ریبوزوم متصل گشته و سنتز پروتئین را مختل می‌کند. در نتیجه تخریب پرزهای رودهای میزان جذب کاهش یافته و ترشح مایعات نسبتاً افزایش می‌یابد.

سندروم اورمی همولیتیک در ارتباط با تولید توکسین stx2 می باشد که سلول های اندوتلیال گلومرولی را تخریب می کند. در نتیجه تخریب کاهش فیلتراسیون گلومرولی و نقص کلیوی حاد رخ می دهد. توکسین های stx ظهور سایتوکاین‌های التهابی را تحریک می‌کنند که در این میان بیان گلیکولیپید Gb3 افزایش می‌یابد.

EIEC

سویه های پاتوژن در ارتباط با سروتیپ‌های O124, O , O143 و O164 هستند. این سویه‌ها از نظر مشخصات فنوتیپی و پاتوژنی به شیگلا شبیه هستند. باکتری توانایی حمله و تخریب اپیتلیوم کولون را دارد و بیماری ناشی از آن با اسهال آبکی همراه می‌باشد. در تعداد اندکی، بیماری به طرف فرم غیرروده ای پیش می رود که با تب، کرامپ های شکمی و مشاهده خون و لکوسیت در نمونه مدفوعی همراه می باشد. یک سری از ژن های باکتریایی که در روی پلاسمید حمل می‌شوند مسئول تهاجم باکتری به اپیتلیوم کولون می‌باشد. سپس باکتری واکوئل فاگوسیتی را لیز کرده و در سیتوپلاسم سلول شروع به همانندسازی می کند. باکتری به واسطه تشکیل دم های اکتینی بین سیتوپلاسم و درون سلول های اپیتلیال مجاور حرکت می کند (شبیه آنچه در لیستریا مشاهده می‌شود). این پروسه تخریب سلولهای اپی‌تلیال همراه با فیلتراسیون التهابی می‌تواند به سمت ایجاد زخم کولون پیش رود.

EAEC

E.coli انترواگریگیتیو، سبب اسهال آبکی همراه با دهیدراتاسیون در کودکان کشورهای در حال توسعه می شود. باکتری به وسیله اتوآگلوتیناسیون همانند آجر روی هم انباشته می‌شوند. این پروسه توسط پیلی دسته که روی پلاسمید حمل می‌شود صورت می گیرد. سویه های EAEC ترشح موکوس را تحریک کرده در نتیجه باکتری ها در بیوفیلمی روی اپیتلیوم روده کوچک به دام می‌افتند. کوتاه شدن میکروویلی‌ها، فیلتراسیون تک‌هسته‌ای و خونریزی مشاهده می‌گردد.

سالمونلا

رده بندی جنس سالمونلا نامعلوم است. آنالیز دقیق همولوژی DNA نشان داده کـه ایـن جـنس از ۲ گونـه تشـکیل شـده اسـت. سالمونلا انتریکا (Salmonella enterica) و شیگلا بنگوری (Shigella bongori)، گونه سالمونلا انتریکا به شش زیر گونه تقسیم می‌شود که مهم‌ترین عامل پاتوژنهای انسانی در اولین زیر گونه یعنی سالمونلا اینتریکا قرار دارد.

پاتوژنز و ایمنی

پس از خوردن غذا و عبور آن از معده سالمونلاها می‌توانند به سلولهای M در پلاکهای پیر قسمت انتهـایی روده کوچـک حملـه کرده و همانندسازی این سلول ها بطور تیپیک آنتی ژن های بیگانه را به ماکروفاژهای موجود در زیر لایه، بـرای پاکسـازی و حـذف ارائه می دهند. اتصال به سلول های M به واسطه فیمبریه اختصاصی گونه صورت گرفته و سپس سیسـتم ترشـحی Spl.1 باعـث القاء ترشح پروتئین های سالمونلا به سلول های M می شود. در نتیجه بی نظمی در اکتین سلول میزبان و بهم خوردن غشاء، اتفـاق می افتد. به دنبال ناهمواری در غشاء، سلول میزبان سالمونلا را در برمی گیرد و سالمونلا در سلول فاگوزوم همانندسازی می کنـد. در نتیجه مرگ سلول به سلولهای اپیتلیال مجاور و بافت لنفاوی انتقال پیدا می‌کند. پاسـخ التهـابی عفونـت را بـه مجـرای معـدی ـ روده ای محدود می‌کند و سبب آزادسازی پروستاگلاندین و ترشح cAMPو مایعات می‌شود. گونه‌هـای سـالمونلا از اسـید معـده و pH اسیدی فاگوزوم به وسیله ژن پاسخ تحمل اسید محافظت می شوند. کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز فاکتورهای دیگری هسـتند که باکتری را از مرگ درون سلولی نجات می‌دهند.

اپیدمیولوژی

سالمونلا می تواند در همه حیوانات از جمله ماکیـان، خزنـدگان، حیوانـات اهلـی، جونـدگان، پرنـدگان و انسـان هـا کلـونیزه شـود. انتشارحیوان به حیوان و استفاده از غذاهای آلوده به سالمونلا حیوان را بصورت مخزن باکتری در می آورد.

گروههای سرمی مانند: سالمونلا تیفی و سالمونلا پاراتیفی (Salmonella paratyphi) در انسان بیماریزا هستند اما در میزبان های غیرانسانی بیماری ایجاد نمی کنند. دیگر سویه های سالمونلا سازگار با حیوانات هنگامی که انسان را آلوده می کنند سبب بیماری شدیدی می‌گردند.

بسیاری از سویه ها به میزبان خاصی اختصاص نداشته و سبب بیماری در میزبان انسانی و غیرانسانی می‌گردند. بیشتر عفونت‌ها از مصرف تولیدات غذایی آلوده و در بچه‌ها از طریق مستقیم مدفوعی ـ دهانی حاصل می‌شود. گسترش بیماری بیشتر در میان بچه های بزرگتر از ۵ سال و افراد بالغ بیشتر از ۶۰ سال رخ داده و این افراد بیشتر در طی ماههای تابستان و پاییز هنگامی که غذای آلوده در بیرون از خانه مصرف می شود، آلوده می گردند. منابع متداول عفونت های انسانی، ماکیان، تخم مرغ، فرآورده های خشک، و غذاهایی که روی سطوح آلوده تهیه می شود، می‌باشد. سالمونلاتیفی فاقد مخزن حیوانی است. تخمین زده می‌شود که هر ساله ۲۱ میلیون مورد عفونت در جهان اتفاق می‌افتد. ۲۰۰۰۰۰ مرگ در هر سال رخ می‌دهد. ریسک ابتلا به بیماری در بچه‌هایی که در کشورهای فقیر و در حال توسعه هستند، بیشتر است. دوز عفونی در عفونت‌های سالمونلاتیفی پایین است و بنابراین گسترش فرد به فرد شایع است. برعکس دوز زیاد باکتری برای ایجاد نشانه های بیماری لازم است. دوز عفونی برای افراد در معرض خطر کاهش می‌یابد.

سندرومهای بالینی

۴ نوع عفونت سالمونلایی وجود دارد: گاستروانتریت، سپتی‌سمی، تب رودهای و کلنیزاسیون فاقد علامت.

گاستروانتریت

شایع ترین فرم، سالمونلوز می باشد. نشانه ها بطور عمومی ۶ تا ۴۸ ساعت پس از مصرف غذا یا آب آلوده ظاهر شده و شـامل تهـوع، استفراغ و اسهال غیرخونی می باشد. تب، کرامپ های شکمی، استفراغ، اسهال و میالژی و سردرد نیز شایع می باشد. گرفتـاری هـای کولونی در شکل حاد بیماری رخ می دهد.

سپتی‌سمی

همه گونه‌های سالمونلا می‌تواند سبب ایجاد باکتریمی شوند. خطر باکتریمی سالمونلایی در بیماران سالخورده و کودکان و همچنین بیماران دارای سندرم نقص ایمنی اکتسابی بیشتر است. تظـاهرات کلینیکـی بـاکتریمی سـالمونلایی شـبیه بـاکتریمی سـایر گـرم منفی‌هاست. عفونت‌های چرکی موضعی در بیشتر از ۱۰ درصد بیماران رخ می‌دهد.

تب روده ای

سالمونلا ایجاد بیماری تب داری بنام تب تیفوئید می کند. شکل ملایم این بیماری بنام تب پاراتیفوئید خوانده می‌شود که بـه وسـیله سالمونلا پاراتیفی A ، سـالمونلا شـوت مـولری (S. schottmuelleri)، سـالمونلا هیرشـفلدی((S. hirschfeldii ایجـاد می شود. برخلاف دیگر عفونت های سالمونلایی، باکتری مسئول تب روده ای از میان سـلول هـای روده ای عبـور کـرده بـه وسـیله ماکروفاژها در برگرفته می شود. این باکتری ها پس از انتقال به کبد و طحال و مغز استخوان تکثیر پیدا می‌کنند. ۱۰ تا ۱۴ روز پـس از تلقیح باسیل، فرد دچار تب و علامت غیراختصاصی مثل سردرد و بیحالی، آنورکسی و میالژی می‌شود.

این علائم برای مدت ۱ هفته یا بیشتر وجود داشته و به دنبال آن نشانه‌های معدی ـ رودهای ظاهر می‌شود. این سیکل با یک فـاز باکتریمی شروع شده و به دنبال آن کلنیزاسیون در کیسه صفرا رخ می دهد و سپس روده را دوباره عفونی می‌کند.

کلنیزاسیون بدون علامت

گونه های سالمونلا مسئول تب های تیفوئیدی و پاراتیفوئیدی انسانی است. کلنیزاسیون مزمن ۱ سال پس از بیماری علامت‌دار در ۱ تا ۵ درصد بیماران اتفاق می افتد. کیسه صفرا در بیشتر بیماران به عنوان محل ذخیره باکتری می باشد. کلنیزاسیون مزمن توسط دیگر گونه‌های سالمونلا در کمتر ۱ درصد بیماران اتفاق افتاده و به عنوان منبع مهم عفونت انسانی محسوب نمی‌شوند.

شیگلا

رده بندی شیگلا بسیار ساده است. شیگلا دیسانتری(Shigella dysenteriae) ، شیگلا فلکسنری S.flexneri))، شیگلا بوئیدی (S.boydii) ، شیگلا سونه‌ئی(S.sonnei).

شیگلا سونئی مهمترین عامل ایجاد کننده شیگلوز در جهان صنعتی و شیگلا فلکسنری مهمترین عامل در کشورهای در حال توسعه می‌باشد.

پاتوژنز و ایمنی

شیگلا به وسیله تهاجم و تکثیر در سلول های پایه مخاط کولون بیماری ایجاد می‌کند. پروتئین های ژن ساختمانی عامل اتصال ارگانیسم به سلول، تهاجم آن و همانندسازی درون سلولی و انتشار سلول به سلول است. این ژنها روی یک پلاسمید ویرولانس بزرگ حمل می‌شوند اما توسط ژنهای کروموزومی تنظیم می‌شوند. از این رو وجود پلاسمید به تنهایی برای فعالیت ژن کافی نیست. گونه‌های شیگلا ابتدا به سلولهای موجود در پلاکهای پیر حمله می‌کنند. سیستم ترشحی تیپ III ترشح چهار پروتئین به درون سلول اپیتلیال و ماکروفاژها را کنترل می کند. پروتئین ها سبب ناهمواری های غشایی در سطح سلول هدف شده و در نتیجه باکتری بلعیده می‌شود. شیگلا توانایی لیز واکوئل فاگوسیتی و همانندسازی در سیتوپلاسم سلول میزبان را دارند.

با آرایش دوباره فیلامان های اکتین در سلول میزبان، باکتری از میان سیتوپلاسم به طرف سلول های مجاور پیش رفته و در اینجـا انتقال سلول به سلول اتفاق می افتد در نتیجه شیگلا از حذف به واسطه ایمنی محافظت می‌شوند. شیگلا بـه واسـطه ایجـاد مـرگ سلولی برنامه ریزی شده در نتیجه فاگوسیتوز زنده می مانند. این پروسه همچنین منجر به آزادی اینترلوکین یک بتـا و در نتیجـه آن جذب لکوسیت های چندهسته‌ای به سوی بافت عفونی شود. در این تغییرات ثبات دیواره روده بهم خورده و به باکتری اجازه می‌دهد به سلولهای اپیتلیال عمیق‌تری دسترسی پیدا کند.

شیگلا دیسانتری اگزوتوکسینی بنام شیگاتوکسین تولید می کند. همانند توکسینEHEC ، توکسین شیگلا دارای یک زیرواحد A و پنج زیرواحد B می‌باشد. زیرواحدهای B به گلیکولیپید سلول میزبان متصل شده و انتقـال زیرواحـد A بـه درون سـلول را تسـهیل می کند. زیرواحد A سنتز پروتئین را مختل می کند. تظاهرات اولیه فعالیت توکسین صدمه به اپیتلیوم روده اسـت. بـا ایـن حـال در تعداد اندکی از بیماران توکسین شیگلا می‌تواند سبب آسیب به سلولهای اندوتلیال گلومرولی و در نتیجه نقص کلیوی شود.

اپیدمیولوژی

شیگلوز در اصل بیماری کودکان است. ۷۰ درصد از عفونت ها در بچه‌های بزرگتر از ۱۵ سال اتفاق مـی‌افتـد. بیمـاری انـدمیک در مردان هم‌جنس‌باز و در شیرخوارگاهها وجود دارد. شیوع اپیدمیک بیماری در مراکز مراقبت روزانه، پرستاران و غیره اتفاق می‌افتد.

شیگلوزیس انتقال مدفوعی ـ دهانی دارد. در مراحل اولیه به وسیله دست آلوده افراد و کمتر توسـط آب و غـذا منتقـل مـی‌شـود. از آنجایی که کمتر از ۲۰۰ باسیل می تواند ایجاد بیماری کند، شیگلوز در جوامعی که استانداردهای بهداشتی در سطح بهداشت فـردی پایین است، سریعاً انتشار می‌یابد.

سندرمهای بالینی

شیگلوزیس به وسیله کرامپ شکمی، اسهال، تب و مدفوع خونی مشخص می شود. نشانه‌های کلینیکی و نشانه‌های بیماری ۱ تـا ۳ روز پس از خوردن باسیل اتفاق می افتد. باسیل ابتدا در روده کوچک کلونیزه شده و در طی ۱۲ ساعت اول شروع به تکثیر می‌کنـد. اولین نشانه عفونت اسهال آبکی فراوان بدون نشانه های هیستولوژیک ناشی از تهـاجم مـی‌باشـد کـه توسـط انتروتوکسـین ایجـاد می گردد. میزان زیادی نوتروفیل، گلبول قرمز و مخاط در مدفوع مشاهده می‌شود. بطور کلی عفونت خود محدود شونده است اگرچه درمان آنتی‌بیوتیکی برای کاهش خطر انتشار ثانویه به اعضای خانواده و دیگران توصیه می‌شود. کلنیزاسیون فاقد علامت، در کولون تعداد اندکی بیماران صورت گرفته و به عنوان یک مخزن عفونت محسوب می شود.

یرسینیا

جنس یرسینیا از ۱۱ گونه تشکیل شده است. یرسینیا پستیس، یرسینیا انتروکولیتیکـا (Yersinia entrocolitica) و یرسـینیا سودوتوبرکلوزیس (Y. pseudotuberculosis) پاتوژنهایانسانی کاملاً شناخته شدهای هستند.

اپیدمیولوژی

همه عفونت های یرسینیا زئونوز هستند و انسان میزبان تصادفی است. دو شکل عفونت یرسینیایی وجود دارد: طـاعون شـهری کـه رت ها به عنوان مخزن طبیعی محسوب می شوند و طاعون جنگلی که سبب عفونت در سنجاب، خرگوش، رت مزرعه و گربه هـای اهلی می‌شود. حیوانات وحشی و پرندگان شکارچی مخازن طبیعی برای یرسینیا سودوتوبرکلوزیس محسوب می‌شوند.

طاعون در کتب قدیمی ثبت شده است. اولین پاندمی طاعون در مصر در ۵۴۱ قبل از میلاد مسـیح شـروع شـده و در تمـام شـمال افریقا، اروپا، آسیای مرکزی و جنوبی و عربستان گسترش یافت. در مدت زمان پایان یافتن طاعون در این کشورها تعـداد زیـادی از افراد جامعه از بین رفتند. دومین پاندمی طاعون که در سال

۱۳۲۰ شروع شد، بیش از ۵ سال بـالاتر از ۲۵ میلیـون مـرگ، تنهـا در اروپا رخ داد. پاندمی سوم طاعون در چین در سال ۱۸۶۰ شروع شد و تا افریقا، اروپا و امریکا گسترش یافت.

طاعون شهری در موش صحرایی مشاهده و در میان رت ها یا بین رت ها و انسان به وسیله کک گسترش می یابد. کـک در هنگـام تغذیه از خون رت مبتلا، آلوده می شود. پس از تکثیر باکتری در معده کک، ارگانیسم می‌تواند به دیگر جوندگان یا انسانهـا منتقـل شود. طاعون شهری با کنترل مؤثر رتها و بهداشت صحیح از بسیاری جوامع حذف شده است.

یرسینیا پستیس عفونت کشنده ای در مخازن حیوانی ایجاد می‌کند. از این رو بیماری انسانی بصورت فرصت‌طلب در نتیجه تماس با جمعیت مخازن بیماری روی می دهد. عفونت ها در نتیجه مصرف حیوانات آلوده و یا دست زدن به بافت حیـوانی آلـوده نیـز ایجـاد می‌شود. اگرچه ارگانیسم بسیار عفونی است اما انتقال انسان به انسان غیرشایع است. مگر این که بیمار دارای بیماری تنفسی باشد. بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که عفونت‌ها بیشتر در طی ماههای سرد شایع هستند.

سندرمهای بالینی

دو شکل عفونت کلینیکی یرسینیا پستیس، طاعون خیارکی و طاعون تنفسی هستند. طاعون خیارکی پس از کمون بـیش از ۷ روز پس از گزیده شدن شخص توسط کک عفونی مشخص می‌شود. بیماران تب بالایی داشته و درد خیـارک در ناحیـه کشـاله ران یـا زیربغل وجود دارد. اگر فرد درمان نشود، باکتریمی ایجاد شده و باعث مرگ در ۷۵ درصد مـوارد مـی‌شـود. دوره کمـون در بیمـاران مبتلا به طاعون تنفسی کوتاهتر است.

در آغاز بیمار بی حالی و تب را از خود نشان داده و علائم تنفسی در طی یک روز پیشرفت می کند. بیماران بسیار عفـونی هسـتند و انتقال فرد به فرد توسط آئروسل ها رخ می دهد. میزان مرگ ومیر در بیماران درمان شده مبتلا به طاعون تنفسی بیشتر از ۹۰ درصـد است.

گاستروانتریت بطور تیپیک در نتیجه مصرف تولیدات غذایی آلوده یا آب آلوده بوجود می‌آید. بعد از یـک دوره کمـون ۱ تـا ۱۰ روزه تظاهرات بیماری بصورت اسهال، تب و درد شکمی که به مدت ۱ تا ۲ هفته طول می کشد، ظاهر مـی شـود. فـرم مـزمن بیمـاری می تواند برای ماهها ادامه یابد. بیماری انتهای ایلئوم را درگیر کرده و اگر غدد لنفاوی مزانتریک بزرگ شده باشـد، مـی‌توانـد سـبب آپاندیسیت حاد گردد. یرسینیا انتروکولیتیکا بیشتر در بچه ها شایع است و تظاهر آپاندیسیت کاذب یکی از مشکلات این گروه سـنی است. یرسینیا سودوتوبرکلوزیس می تواند بیماری روده ای با تظاهرات کلینیکی مشابه ایجاد کند. دیگر تظاهراتی که در بالغین دیـده می‌شود سپتی‌سمی، آرتریت، آبسه‌های درون شکمی، هپاتیت و استئومیلیت می‌باشد.

در سال ۱۹۸۷ اولین بار یرسینیا انتروکولیتیکا به عنوان عامل باکتریمی وابسته به انتقال خون و شـوک اندوتوکسـیک گـزارش داده شد. از آنجایی که ارگانیسم های یرسینیا می توانند در ۴ درجه سانتیگراد رشد کنند، این ارگانیسم می‌تواند در فرآوردههـای تغذیـه‌ای غنی از خون که آلوده هستند و برای حداقل ۳ هفته خنک نگه داشته می‌شوند، به غلظت توکسیک برسد. استفاده از فرآوردههـایی که برای مدت کمتری ذخیره شده اند می تواند مشکل را حل کند. زیرا ارگانیسم ها نمی توانند در حد توکسیک تکثیر پیدا کنند. با این حال این روش در کمبود متداول فرآوردههای خونی عملی نیست.

کلبسیلا

اعضای جنس کلبسیلا دارای کپسولی ضخیم می باشند که مسئول ایجـاد ظـاهر موکوئیـدی در کلنـی‌هـای و افـزایش ویـرولانس ارگانیسم در محیط زنده می باشد. شایع ترین عضو این جنس کلبسیلا پنومونیه است که سبب پنومونی لوبار اکتسابی می‌گردد. افـراد الکلی و افرادی که عملکرد ریوی ضعیف دارند در معرض

خطر بالایی از پنومونی هستند، زیرا توانایی آسپیراسیون دهانی ترشحات از مجرای تنفسی تحتانی را ندارند.

پنومونی ایجاد شده توسط گونه های کلبسیلا به فراوانی سبب تخریب نکروتیک فضاهای آلوئولی تشکیل حفره و تولید خلط همراه با خون می‌گردد. این باکتری همچنین بافت نرم و مجرای ادراری را درگیر می‌کند.

این ارگانیسم قبلاً دنووانیا گرانولوماتیس (Donovania gronulomatis) نام داشت و سپس کالیماتوباکتریوم گرانولوماتیس (Calymmatobacterium gronulomatis) نام گرفت و بعد به عنوان کلبسیلا گرانولوماتیس (Klebsiella gronulomatis) نامیده شد. براساس معیارهای ژنومی و این که ارگانیسم از نظر ابعاد کلینیکی و تغییرات پاتولوژیک شبیه به ۲ گونه دیگر کلبسیلاها ـ کلبسیلا رینواسکلروماتیس (Klebsiella rhinoscleromatis) و کلبسیلا اوزونه (Klebsiella ozaenae)است، طبقه بندی شد. کلبسیلا گرانولوماتیس عامل اتیولوژیک گرانولومای اینگوئینال است. یک بیماری گرانولوماتوز که روی ناحیه ژینتال و اینگوئینال اثر می گذارد، متأسفانه این بیماری برحسب نام قدیمی آن هنوز به نام دونووانوزیس خوانده می شود.

کلبسیلا گرانولوماتیس در کشت سلولی در منوسیت ها رشد می‌کند ولی در کشت بدون سلول رشد ندارد. تشخیص آزمایشگاهی براساس رنگ آمیزی بافت آلوده با گیسما یا رایت است. ارگانیسم کوچک و باسیلی شکل در سیتوپلاسم هیستوسیت‌ها، پلاسماسل ها و سلول های لکوسیت چندهسته ای دیده می شود. از ۱ تا ۲۵ باکتری کپسول دار در هر سلول فاگوسیت کننده دیده می شود. گرانولوما اینگوئینال بصورت جنسی و غیرجنسی منتقل می‌شود. بعد از انکوباسیون طولانی مدت برای هفته‌ها تا ماهها ندول زیرجلدی روی ناحیه ژنیتال یا اینگوئینال ظاهر شده، ندول بلافاصله پاره شده و یک یا چند ضایعه گرانولوماتوز بدون درد دیده می شود که می تواند گسترش پیدا کنند و بهم متصل شوند. تأئید

آزمایشگاهی گرانولوما اینگوئینال براساس تراشیدن لبـه‌هـای ضایعات است. سپس نمونه جمع آوری شده را روی لام قرار داده و با رایت یا گیسما رنگ کرده و دونووان بادی در فاگوسـیت تـک هسته ای دیده می شود. تتراسایکلین، اریترومایسین و تری متوپریم- سولفامتوکسازول بطور موفقیت‌آمیز برای درمان استفاده می‌شود. پروفیلاکسی آنتی‌بیوتیک برای جلوگیری و کنترل عفونت هنوز ثابت نشده است.

پروتئوس

عفونت مجرای ادراری توسط پروتئوس میرابیلیس شایع ترین بیماری است که توسط این جنس ایجاد می شود. پروتئوس میرابیلیس میزان زیادی اوره آز تولید می کند که اوره را به دیاکسیدکربن و آمونیاک تبدیل می‌کند. این واکنش باعث بالا رفتن pH ادرار شده و تشکیل سنگ های کلیوی را تسهیل می کند. افزایش pHادرار برای اپیتلیوم مجرای ادراری سـمی اسـت. علـی رغـم گونـاگونی سرولوژیک این ارگانیسم ها، عفونت در ارتباط با گروه سرمی خاصی نمی باشد. علاوه بر این برخلاف E.coli پیلی موجود بر روی پروتئوس میرابیلیس ممکن است با افزایش فاگوسیتوز باسیل‌ها ویرولانس این باکتری را کاهش دهد.

انتروباکتر، سیتروباکتر، مورگانلا و سراشیا

عفونت های ایجاد شده توسط انتروباکتر، سیتروباکتر، مورگانلا (Morganella) و سراشیا در بیمـاران دارای ایمنـی کامـل، نـادر است. آنها بیشتر سـبب ایجـاد عفونـت اکتسـابی بیمارسـتانی در نـوزادان و بیمـاران دارای نقـص ایمنـی مـی‌شـوند. بـرای مثـال سیتروباکترکوزری (Citrobacter koseri) تمایل به ایجاد مننژیت و آبسه‌های مغزی در نوزادان دارد.

تشخیص آزمایشگاهی کشت

اعضای خانواده انتروباکتریاسیه به آسانی روی محیط کشت رشد می کنند. نمونه هایی که بطور طبیعی استریل هستند از قبیل مـایع نخاعی و بافت های جمع آوری شده در طی جراحی را می توانند روی محیط کشت آگار خوندار کشت داده شوند. از محـیط انتخـابی مانند مک کانکی آگار، ائوزین متیلن بلو آگار برای کشت نمونه‌هایی که بطور طبیعی با دیگر ارگانیسم‌ها آلوده اند، استفاده می‌شود.

با استفاده ازمحیط های افتراقی-انتخابی می توان سویه های تخمیرکننده لاکتـوز خـانواده انتروباکتریاسـیه را از غیرتخمیرکننـدههـا افتراق داد.

بدست آوردن یرسینیا انتروکولیتیکا مشکل است زیرا این ارگانیسم به آهستگی در دماهای انکوباسیون معمولی رشد می کند و دمای پایین تر را ترجیح می دهد که در این دما از نظر متابولیکی فعـالتـر مـی‌باشـد. آزمایشـگاههای کلینیکـی از ایـن خصوصـیت بهـره می گیرند. از این رو نمونه مدفوعی را با سالین مخلوط کرده و سپس نمونه را در ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲ هفته یا بیشتر قبل از انجام کشت روی محیط آگار نگهداری می کنند. غنی سازی در سرما رشد یرسینیا را تقویت می‌کند اما دیگر ارگانیسم‌ها را در نمونـه مهار کرده یا از بین می‌برد.

تشخیص بیوشیمیایی

سیستم های تست بیوشیمیایی در حال افزایش می باشد و اکنون همه اعضای این خانواده در کمتر از ۲۴ ساعت به یـک یـا چنـدین سیستم تشخیصی موجود تجاری قابل شناسایی هستند.

روش های سرولوژیک

تست های سرولوژیک برای تعیین مشخصات کلینیکی و برای رده بندی در اهداف اپیدمیولوژیک بسیار مفید می باشد. مزیت این روش ها محدود است چرا که واکنش متقاطع با دیگر انتروباکتریاسه‌ها و سایر ارگانیسم‌ها وجود دارد.

درمان، پیشگیری و کنترل

تجویز آنتی‌بیوتیک برای درمان عفونت‌های ناشی از انتروباکتریاسیه باید با تست‌های سنجش حساسیت در آزمایشگاه انجام شود. در حالی که بعضی ارگانیسم‌ها مانند E.coli و پروتئوس میرابیلیس به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها حساس هستند، دیگر باکتریها می توانند بسیار مقاوم باشند. علاوه بر این ارگانیسم‌های حساس که در معرض غلظتی کمتر از غلظت درمانی آنتی‌بیوتیک قرار می‌گیرند به سرعت مقاوم گردند، بطور کلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیشتر در عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی شکل می‌گیرد.

درمان آنتی بیوتیکی برای بعضی عفونت‌ها پیشنهاد نمی‌شود برای مثال در بیماران مبتلا به گاستروانتریت سالمونلایی یا E.coli بیشتر درمان علامتی انجام می شود، زیرا مصرف آنتی بیوتیک می تواند سبب طولانی شدن حاملان مدفوعی این ارگانیسم ها یا افزایش گرفتاریهای ثانویه شوند.

جلوگیری از عفونت های ناشی از انتروباکتریاسیه مشکل است. زیرا این ارگانسیم‌ها قسمت بزرگی از جمعیت میکروبی درونزاد می باشند. برخی از فاکتورهای خطر که باید در عفونت ها از آنها خودداری کرد عبارتند از: استفاده آزاد از آنتی بیوتیک هایی که برای باکتری های مقاوم می تواند انتخابی باشد، انجام روش هایی که به سدهای مخاطی آسیب برساند و استفاده از کاتترهای ادراری و غیره.

ارگانیسم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاوم می‌باشد. مقاومت آنتی بیوتیکی مشکل جدی در مورد گونه‌های انتروباکتر است.

باسیل های گرم منفی و غیر تخمیری

سودوموناس(Pseudomonas)

سودوموناس (سودوموناد) ارگانیسمی با انتشار وسیع است که در خاک، موادمعدنی، گیاهان و آب یافت می شـود. همچنـین ایـن باکتری در محیط بیمارستانی در مناطق مرطوب مثل غذاها، سینک ها، توالت ها، وسایل دیالیز و حتی در مواد ضد عفونی کننده یافت‌می شود. سودوموناس معمولاً جزء فلور نرمال محسوب نمی شود مگر درافراد بستری در بیمارستان و یا افراد دارای نقـص سیستم ایمنی. دلیل انتشار گسترده سودوموناس ها نیاز های غذایی محدود و ساده آنها می باشد. بسیاری از ترکیبات معدنی می توانند به عنوان منبع کربن و نیتروژن مورد استفاده قرار گیرند. گروهی حتی می توانند در آب مقطر زنده بمانند. سودوموناس هـا همچنین فاکتورهای ساختمانی، آنزیم ها و توکسین های بسیاری به منظور افزایش ویرولانس و مقاومت به آنتی بیوتیک هـای معمول تولید می‌کنند.

با وجود گستردگی وسیع، ویرولانس فاکتورهای مختلف و توانایی رشد و زنده ماندن بالای این ارگانیسم سودوموناس به عنـوان پاتوژن معمول محسوب نمی شود. عفونت های سودوموناس به طور فرصت طلب رخ می دهند (یعنی محدود به بیماران با نقص در مکانیسم‌های دفاعی است) از این رو توانایی میزبان در جلوگیری از کلونیزه شدن این باکتری در ممانعت از بروز عفونت های سودوموناسی نقش مهمی ایفا می‌کند.

فیزیولوژی و ساختمان

سودوموناس ها باسیل مستقیم یا کمی خمیده و گرم منفی، متحرک با فلاژل های قطبی می باشند (شکل۱-۱۲). ارگانیسم غیـر تخمیری بوده و کربوهیدرات های کمی را در طی متابولیسم های اکسیداتیو مورد مصرف قرار می دهنـد مثـل گلـوکز، ریبـوز و گلوکونات. اکسیژن پذیرنده نهایی الکترون بوده و وجـود سـیتوکروم اکسـیداز در سـودوموناس هـا باعـث افتـراق آنهـا از گـروه انتروباکتریاسه می شود. گرچه این ارگانیسم ها هوازی اجباری محسوب می شوند، ولی با استفاده از نیترات به عنوان پذیرنـده نهایی الکترون به

جای اکسیژن می توانند به صورت بی هوازی نیز رشد کنند. گروهی از آنها حالت موکوئیدی دارند و واجد کپسول پلی ساکاریدی می‌باشند.

این سویه ها به طور عمده در بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس دیده می شوند. برخی از سودوموناس ها پیگمان های منتشر شونده مثل پیوسیانین (آبی)، فلورسین (زرد- سبز) و پیوروبین (قرمز قهوه ای) تولید می‌کنند.

سودوموناس آئروژینوزا معمول ترین و مهم ترین سودوموناس محسوب می شود. امروزه این جنس شامل ۱۰ گونه است که از نمونه های بالینی جدا شده است.

مقاومت آنتی بیوتیکی

سودوموناس آئروژینوزا به صورت ژنتیکی به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بوده و می تواند در طی درمان با سایر آنتی بیوتیک ها، موتانت های مقاوم دیگری نیز تولید کند. اگر چه مکانیسم های زیادی برای بروز مقاومت شناخته شده اما موتاسیون در پروتئین های پورین مکانیسم اصلی مقاومت می باشد.

نفوذ آنتی بیوتیک ها به درون سلول های سودوموناسی از طریق منافذ غشاء خارجی صورت می گیرد. اگر در پروتئین های سازنده این منافذ موتاسیون رخ دهد جریان عبور مواد از این کانال ها دچار تغییر شده و باکتری به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها مقاوم می شود. سودوموناس آئروژینوزا مقادیر متفاوتی بتالاکتاماز تولید می کند که منجر به غیر فعال شدن بسیاری از آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام (مثل پنی سیلین، سفالوسپورین و کارباپنم می‌شود).

اپیدمیولوژی

سودوموناس ها پاتوژن های فرصت طلبی هستند که در محیط های مختلفی یافت می‌شوند. سودوموناسها احتیاجات غذایی ساده ای داشته و طیف وسیعی از دما را تحمل می‌کنند (۴-۴۲ ° C) و به آنتی بیوتیک ها و مواد دزانفکتانت مقاومت نشان می‌دهند. جداسازی سودوموناس از بیماران بستری نگران کننده نیست اما فقط در مواقعی که نشانه هایی از وجود بیماری مشاهده شود درمان انجام می گیرد. جداسازی سودوموناسها خصوصاً گونه های غیر از سودوموناس آئروژینوزا از نمونه های کلینیکی ممکن است در اثر آلوده شدن نمونه ها در طول جمع آوری و انجام مراحل آزمایشگاهی صورت گرفته باشد. از آنجایی که این ارگانیسم ها پاتوژن های فرصت طلب هستند اهمیت نمونه ایزوله باید با بررسی تظاهرات بالینی بیمار سنجیده شود.

سندرمهای کلینیکی عفونت‌های ریوی

عفونت های سودوموناس آئروژینوزا در دستگاه تنفس تحتانی می تواند از کلنیزاسیون بدون علامت یا تراکئوبرونشیت خوش خیم تا برونکوپنومونی نکروز دهنده شدید را در برگیرد.

کلنیزه شدن باکتری در مبتلایان به سیستیک فیبروزیس، بیماری های مزمن ریوی یا نوتروپنی دیده می شود. عفونت‌های ریوی سودوموناس در مبتلایان به سیستیک فیبروزیس با بیماری های زمینه ای مثل بیماری های تهاجمی پارانشیم ریه همراه است. سویه های موکوئیدی که معمولاً از نمونه های بیماران ذکر شده جدا می‌شود در آنتی بیوتیک تراپی به سختی قابل کنترل هستند. شرایطی که بیماران دارای نقص ایمنی را مستعد عفونت با سودوموناس می کند: (۱) درمان قبلی با آنتی بیوتیک های وسیع الطیف که باعث اختلال در جمعیت باکتری های طبیعی می شود. (۲) استفاده از تجهیزات درمانی تنفسی که ممکن است باعث عرضه باکتری به مجاری تنفسی تحتانی شود. بیماری تهاجمی در

ایـن گـروه بـا برونکوپنومـونی دو طرفـه منتشـر همـراه بـا آبسـه هـای کوچـک و نکـروز بافتی مشخص می شود. میزان مرگ ومیر بیش از ۷۰ درصد است.

عفونت‌های اولیه پوستی

سودوموناس آئروژینوزا می تواند عفونت های پوستی مختلفی را سبب شود. عفونت زخم های حاصل از سوختگی بیشترین مورد مشاهده شده محسوب می شود (شکل۳ -۱۲). کلنیزه شدن آئروژینوزا در زخم های سوختگی با آسیب موضعی عـروق ، نکـروز بافتی و باکتریمی دنبال می شود. سطح مرطوب زخم های سوختگی و کمبود پاسخ نوتروفیلیک از عوامل مسـتعد کننـده رخـداد عفونت های سودوموناس است. مصرف پمادهـای موضـعی در درمـان زخـم هـا موفقیـت محـدودی در کنتـرل کلنیـزه شـدن سودوموناس در بیماران دارد.

از عفونت های شایع دیگر که توسط گونه های سودوموناس در نتیجه شناور شدن در آب های آلوده (حمام آب گـرم، شـناکردن در استخر و حوضچه) رخ می‌دهد فولیکولیت می باشد

عفونت ثانویه سودوموناس آئروژینوزا در مبتلایان به آکنه و کسانی که موی پای خـود را مـی کننـد روی مـی دهـد. همچنـین سودوموناس آئروژنوزا در افرادی که دست هایشان تماس مداوم با آب دارد منجر به بروز عفونت های ناخن می شود.

عفونت دستگاه ادراری

عفونت دستگاه ادراری به طور اولیه در بیمارانی که کاتترهای ادراری دارند دیده می شود به طـور معمـول ایـن بیمـاران تحـت درمان، چند آنتی بیوتیکی هستند که باعث گزینش سودوموناس های مقاوم به آنتی بیوتیک می شود.

عفونت گوش

عفونت گوش خارجی به وفور توسط سودوموناس آئروژینوزا در شناگران (گوش شناگران) به عنوان یک ریسک فاکتور مهم روی می دهد . این عفونت با مصرف آنتی بیوتیک های موضعی و خشک کردن قابل کنترل است. عفونت بد خیم گوش خارجی حالت شدید بیماری است که در افراد دیابتیک و افراد مسن دیده می شود. این عفونت می تواند بافت های زیرین را مورد تهاجم قرار داده و باعث آسیب اعصاب و استخوان جمجمه شده و حتی موجب مرگ گردد. درمان های تهاجمی ضد میکروبی و انجام اعمال جراحی در مورد بیماران مورد نیاز است. سودوموناس آئروژینوزا همچنین می تواند از عوامل عفونت‌های مزمن گوش میانی باشد.

عفونت چشم

عفونت های چشمی در پی ترومای اولیه در قرنیه چشم رخ می دهند (خراشیدگی ناشی از زخم روی سطح چشم) و سپس نسبت به ورود سودوموناس آئروژینوزا از آب آلوده آسیب پذیر می شود. زخم های قرنیه توسعه یافته و می تواند به سوی بیماری های وخیم تر چشمی پیش رود (در صورت عدم درمان).

باکتریمی و اندوکاردیت

باکتریمی سودوموناس آئروژینوزا از نظر کلینیکی نسبت به عفونت سایر باکتری های گرم منفی غیر قابل تشخیص است اگر چه میزان مرگ و میر در این بیماران بالاتر است. این میزان بالای مرگ ومیر مربوط است به: (۱) تمایل این ارگانیسم به بیماران با ضعف سیستم ایمنی (۲) ویرولانس ذاتی باکتری. باکتریمی در اغلب موارد در بیماران مبتلا به نوتروپنی، دیابت، سوختگی های وسیع و بدخیمی های هماتولوژیک رخ می دهد. بیشتر موارد باکتریمی سودوموناسی از عفونت دستگاه تنفسی تحتانی، دستگاه ادراری، پوست و بافت های نرم خصوصاً زخم های سوختگی منشاء می گیرد. زخم های مشخص پوستی به نام اکتیما گانگرونوزم در تعداد کمی از بیماران دیده می شود. زخم ها به صورت هموراژیک، نکروتیک در می

آینـد. آزمایشـات میکروسکوپی، ارگانیسم های فراوان، عروق تخریب شده و بر طبق آنچـه در بیمـاران نـوتروپنی انتظـار مـی رود عـدم حضـور نوتروفیل ها را نشان می دهد.

اندوکاردیت سودوموناسی به وفور در موارد استعمال نادرست داروهای داخل وریدی مشاهده می شود. وسـایل تزریـق آلـوده بـه ارگانیسم (با منشاء آب آلوده) باعث انتقال سودوموناس می شود. دریچه سه لختی قلب اغلب در گیر شده و بیماری سـیر مـزمن داشته و نسبت به عفونت دریچه های آئورتی و میترال تشخیص بهتری دارد.

سایر عفونت‌ها

سودوموناس آئروژینوزا از عوامل مؤثر در بروز عفونت های مختلفی از جمله عفونـت هـای گاستروانتسـتینال، دسـتگاه عصـبی مرکزی و سیستم عضلانی - اسکلتی می باشد. شرایط زمینه ای لازم برای اکثـر عفونـت هـای سودوموناسـی عبارتنـد از: (۱) حضور ارگانیسم در مخازن مرطوب (۲) کاهش یا حذف سیستم دفاعی میزبـان (تروماهـای جلـدی - حـذف فلورنرمـال در پـی مصرف آنتی بیوتیک و نوتروپنی).

تشخیص آزمایشگاهی کشت

از آنجا که سودوموناس ها نیازمندی های غذایی ساده ای دارند می توان آنها را روی محیط های کشت معمولی مثل بلادآگار یا مک کانکی آگار کشت داد. در محیط مایع ، رشد به بخش سطحی محیط کشت محدود می شود.

تشخیص

مورفولوژی کلونی (اندازه- همولیز- پیگمان) (شکل۵-۱۲) به همراه نتایج تست های سریع بیوشـمیایی (اکسـیداز مثبـت) بـرای تشخیص اولیه به کار می روند. به عنوان مثال سودوموناس آئروژینوزا رشد سریع و همولیز بتا و کلنی های مسطح با لبـه هـای منتشر به همراه پیگمان سبز ناشی از پیوسیانین (آبی) و فلوئورسین (زرد) داشـته و دارای بـویی شـبیه بـه انگـور اسـت. اگرچـه شناسایی سودوموناس آئروژینوزا نسبتاً ساده است امـا تشـخیص سـایر سـودوموناس هـا ممکـن اسـت بـه انجـام تسـت هـای فیزیولوژیکی گران قیمتی نیـاز داشـته باشد.

درمان، پیشگیری، کنترل

درمان های ضد میکروبی علیه سودوموناس ها بی نتیجه است زیرا (۱) بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنـی قـادر بـه افـزایش عملکرد آنتی بیوتیکی نبوده (۲) سودوموناس ها نیز به طور تیپیک به بسیاری از آنتی بیوتیک ها مقاومنـد (جـدول۳-۱۲). حتـی ارگانیسم های حساس نیز در طی درمان آنتی بیوتیکی با تولید آنزیم های خنثی کننده فعالیت آنتی بیوتیک (بتالاکتاماز) و یا با انتقال پلاسمیدهای مقاومت از سویه های حساس و یا با موتاسیون در ژن کد کننده پورین ها، مقاوم می شوند. به علاوه برخـی از آنتی بیوتیک ها فاقد کارایی مناسب در محل عفونت هستند (مثل فعالیت ضعیف آمینوگلیکوزیدها در محـیط اسـیدی آبسـه). انتقال ایمونوگلوبین ها و گرانولوسیت ها به منظور بهبود سیستم ایمنی می تواند در بیماران مبتلا به عفونت های سودوموناسی و دارای نقص ایمنی مفید واقع شود.

کوکوباسیل های گرم منفی

بروسلا و فرانسیسلا

فرانسیسلا و بروسلا پاتوژن های مهـم ایجـاد کننـده بیماریهـای مشـترک بـین انسـان و حیـوان هسـتند. ایـن ارگانیسـم هـا به عنوان عامل بالقوه در بیوتروریسم، کوکوباسیل بسیار کوچک، دیر رشد و مشکل پسند هستند.

بروسلا

جنس بروسلا دارای شش گونه است، چهارگونه که سبب بروسلوز در انسان می شوند عبارتند از: بروسلا آبورتوس، بروسلا ملی تنسیس، بروسلا سوئیس و بروسلا کنیس (کادر ۱-۱۳). برخی اسامی بر پایه منبعی که میکروبیولوژیست ها آنها را جدا نموده اند و ارگانیسم ها را شرح داده اند مشخص می گردد، (مثلاً : سردیوید بروس } بروسلوز{ برناردبنگ } بیماری بنگ{ و یا ظاهرت کلینیکی (تب مواج) و یا نواحی که شیوع پیدا کرده (مثلاً: تب مالت، تب متناوب مدیترانه ای، تب کوه های گیب رالتار، تب روستای کانستان تینوپل، تب کرت). با این حال متداول ترین عبارت مورد استفاده بروسلوز است.

بیماری زایی و ایمنی

بروسلا، توکسین قابل شناسایی تولید نمی کند و نسبت به سایر توکسین های تولیدی توسط باسیل های گرم منفی سمیت کمتری دارد. تغییر از استرین های صاف به خشن باعث کاهش ویرولانس می شود در نتیجه زنجیره O از Lps صاف مارکر مهمی در بیماری زایی می باشد.

بروسلا انگل درون سلولی سیستم رتیکلواندوتلیال می باشد. پس از تماس با باکتری ارگانیسم توسط ماکروفاژها و مونوسیت ها فاگوسیت می شود. در شرایط اسیدی فاگولیزوزوم ژن های ضروری ویرولانس در اپرون virB تحریک شده و باعث تنظیم همانندسازی درون سلولی شده و سپس به طحال، کبد، مغز استخوان، غدد لنفاوی و کلیه حمل می شوند. در این ارگان ها تشکیل گرانولوم داده و تغییرات مخرب بافت و نیز بافت های دیگر بیماران رخ می دهد

اپیدمیولوژی

عفونت های بروسلائی در تمام جهان گسترش دارد به طوری که سالیانه بیشتر از ۵۰۰۰۰۰ مورد گزارش مستند وجود دارد. شیوع بروسلوز در ایران در سال ۱۳۸۷ بیشترین بروز این بیماری در استان های کردستان و آذربایجان حدود ۸۸ تا ۱۱۰ در صد هزار مورد، بعد در استان های مرکزی، همدان و خراسان رضوی ۶۶ تا ۱۰۰ در صد هزار و کرمان، کردستان، فارس، کرمانشاه، آذربایجان غربی و زنجان ۲۲ تا ۴۳ در صد هزار مورد دیده شده است. به علت این که مخازن حیوانی به خوبی در ایالات متحده کنترل شده است بیماری در این کشور اندک است. از این رو شیوع بیماری در ایالت متحده بسیارکمتر و تقریباً حدود یک مورد در ۳ میلیون نفر می باشد.

بروسلا سبب بیماری ملایم یا فاقد علامت در میزبان طبیعی می گردد: بروسلا آبورتوس در گاو، بروسلا ملی تنسیس در بزها و گوسفندان، بروسلا سوئیس در خوک، بروسلا کنیس در سگ، روباه و کویوت ها۱ ایجاد عفونت می کند (کادر ....). ارگانیسم تمایل به ایجاد عفونت در ارگان های غنی از اریتریتول دارد. (اریتریتول قندی است که توسط بسیاری از سویه های بروسلا به گلوکز تبدیل می شود). بافت های حیوانی (اما نه بافت های انسانی) شامل پستان، رحم، جفت و اپیدیدیم غنی از اریتریتول می باشند از این رو ارگانیسم ها در این بافت ها جایگزین شده (در بافت های مخازن غیر انسانی) و می تواند سبب نازایی، سقط جنین و ایجاد ناقلین بدون علامت گردد. بروسلا به مقدار زیاد در شیر، ادرار، ترشحات زایمان وجود دارد.

بیماری انسانی در ایالات متحده در نتیجه مصرف شیر آلوده غیر پاستوریزه و دیگر فرآورده های لبنی حاصل می شود. بروسلوزیس در انسان می تواند به وسیله تماس مستقیم با ارگانیسم (در معرض قرار گرفتن در آزمایشگاه) یا خوردن (مصرف مواد غذایی آلوده) یا تنفس کسب شود. در سلاح های بیولوژیکی از بروسلا استفاده می شود که احتمال در معرض قرار گرفتن با ارگانیسم از طریق تنفس وجود دارد.

بیماری بالینی

طیف بیماری بروسلوز بستگی به ارگانیسم ایجادکننده عفونت دارد. بروسلا آبورتوس و بروسلا کنیس بیماری ملایمی بدون گرفتاری چرکی ایجاد می کنند. برعکس، بروسلا سوئیس سبب تشکیل زخم های مخرب گشته و دوره طولانی را دارا می باشد. بروسلا ملی تنسیس متداول ترین عامل ایجادکننده بروسلوز می باشد. هم چنین سبب بیماری شدید با شیوع بالا می شود زیرا ارگانیسم ها می توانند در سلول های فاگوسیتیک زنده مانده و به میزان زیادی تکثیر پیدا نمایند.

تقریباً در نیمی از بیماران عفونی با بروسلا بیماری به شکل حاد گسترش می یابد و اولین نشانه ها در بیشتر از دو ماه پس از برخورد ظاهر می گردند. نشانه های آغازین مشخص نبوده و همراه با بی حالی، لرز، عرق، خستگی، ضعف، میالژی، کاهش وزن، درد مفاصل و سرفه بدون خلط است. تقریباً همه بیماران دارای تب بوده و این تب در بیماران درمان نشده به صورت متناوب می باشد از این رو به نام تب نوبه ای نامیده می شود. بیماران دارای بیماری پیشرفته دارای علائم گوارشی (۷۰ درصد بیماران)، ضایعات استخوانی یا تظاهرات مفصلی (۲۰ تا ۶۰ درصد) و علائم دستگاه تنفسی (۲۵ درصدی) و علائم جلدی، عصبی یا تظاهرات قلبی عروقی کمتر شایع می باشند و عفونت های مزمن هم چنین می تواند در بیماران کامل درمان شده گسترش پیدا کند.

خلاصه علائم بالینی

بروسلا بروسلوزیس: علائم اولیه غیر اختصاصی مثل خستگی، لرز، تعریق، کسالت، درد عضلانی، کاهش وزن، آرترالژی و تب می تواند متناوب باشد (تب مواج)، می تواند به سمت درگیری سیستمیک پیشرفت کند. (مجاری گوارشی، استخوان ها یا مفاصل، مجاری تنفسی، ارگان های دیگر)

بروسلا ملی تنسیس: بیماری شدید شایع

بروسلا آبورتوس: بیماری خفیف شایع

بروسلا سوئیس: بیماری مزمن، چرکی و مخرب

بروسلا کانیس: بیماری خفیف با درگیری های چرکی

فرانسیسلا اولسروگلاندولار تولارمی: پاپول دردناک در محل تلقیح که به سمت زخمی شدن پیش می رود؛ لنفادنوپاتی موضعی

اکولوگلاندولار تولارمی: تلقیح ثانویه به داخل چشم (مالیدن چشم با انگشتان آلوده) کونژنکتیویت دردناک که همراه لنفادنوپاتی موضعی می باشد.

پنومونیک تولارمی: پنومونی با علائم سپسیس که بلافاصله بعد از تماس با آئروسل های آلوده شروع می شود؛ مرگ و میر بالا مگر این که سریعاً تشخیص داده شود و درمان گردد.

تشخیص آزمایشگاهی:

جمع آوری نمونه

برای انجام تست های سرولوژیک و کشت چندین نمونه خون باید جمع آوری شود. کشت مغز استخوان و بافت عفونی می تواند مفید باشد.

میکروسکوپی

ارگانیسم های بروسلا در هنگام استفاده از تکنیک های متداول به آسانی رنگ می گیرد. اما به علت درون سلولی بودن و اندازه کوچک آنها شناسایی آنها را در نمونه های کلینیکی مشکل می سازد.

کشت

ارگانیسم های بروسلا در هنگام جداسازی اولیه به آهستگی رشد می کنند. آنها روی بیشتر محیط های آگار رشد می‌نمایند. از این رو نیاز به انکوباسیون به مدت ۳ روز یا بیشتر(۳ هفته) می باشد. کشت های خون برای مدت ۲ هفته قبل از این که منفی در نظر گرفته شوند نیاز به انکوباسیون دارند.

تشخیص

تشخیص اولیه بروسلا بر پایه میکروسکوپی و مورفولوژی کلونی ها، واکنش مثبت اکسیداز و واکنش با آنتی بادی های نشاندار شده علیه بروسلا آبورتوس، بروسلا ملی تنسیس می باشد. بروسلا ملی تنسیس و بروسلا آبورتوس و بروسلا سوئیس با آنتی سرم های تهیه شده بر ضد بروسلا آبورتوس یا ملی تنسیس (بیان کننده رابطه نزدیک میان گونه هاست) واکنش می دهند. در مقابل بروسلاکنیس با این آنتی سرم ها واکنش نمی دهند. شناسایی در سطح ژنی با استفاده از سکانس ریبوزومی ۱۶ s r RNA است.

سرولوژی

بروسلوز تحت بالینی و بسیاری از موارد بیماری های حاد و مزمن به وسیله پاسخ آنتی بادی خاص در بیماران مبتلا مشخص می شوند. آنتی بادی تقریباً در همه بیماران مشخص می شوند. در آغاز پاسخ IgM مشاهده می شود. سپس هر دو آنتی بادی IgA و IgG تولید می شوند. آنتی بادی ها برای ماه ها و سال ها ماندگار هستند. از این رو برای تشخیص سرولوژیک بیماری های شایع نیاز به افزایش قابل ملاحظه در تیتر آنتی بادی می باشد. اگر افزایش چهار برابر در تیتر بیشتر یا مساوی ۱:۱۶۰ مشاهده شود تشخیص بیماری با قطعیت صورت می گیرد. تیترهای بالای آنتی بادی ۱:۱۶۰) یا بیشتر) در ۵ تا ۱۰ درصد جمعیتی که در مناطق آندمیک زندگی می کنند قابل توجه می باشد. از این رو تست های سرولوژیک باید برای تثبیت تشخیص کلینیکی بروسلوز استفاده شود و مبنای اصلی تشخیص بیماری قرار نگیرد. آنتی

ژنـی کـه در تسـت آگلوتیناسـیون بروسـلا اسـتفاده مـی شـود (SAT) از بروسلا آبورتوس است. آنتی بادی علیـه بروسـلا ملـی تنسـیس یـا بروسـلا سـوئیس بـا ایـن آنتـی ژن واکـنش متقـاطع دارد. در حالی که هیچ گونه واکـنش متقـاطعی بـا بروسـلا کنـیس نشـان نمـی دهـد. از آنتـی ژن خـاص بروسـلا کنـیس بایـد در تشخیص عفونت های ناشی از ایـن ارگانیسـم اسـتفاده گـردد. آنتـی بـادی علیـه دیگـر جـنس هـا نیـز بـا آنتـی ژن بروسـلا آبورتوس واکنش متقاطع دارند.

ویبریو و آئروموناس

دومین گروه عمده از باسـیل هـای گـرم منفـی، بـی هـوازی اختیـاری شـامل جـنس هـای ویبریـو و آئروموناس اسـت. ایـن ارگانیسم ها را با هـم در خـانواده ویبریوناسـه دسـته بنـدی کـردهانـد و بـر اسـاس واکـنش مثبـت اکسـیداز و داشـتن فـلاژل قطبی از انتروباکتریاسـیه مجـزا مـی باشـند. ایـن‌ارگانیسـم هـا را بـه دلیـل اینکـه اساسـاً در آب یافـت مـی شـوند و عامـل بیماری دستگاه گوارش به شمار می‌آیند با هم رده بنـدی کـرده انـد. تکنیـک هـای بیولـوژی مولکـولی ثابـت کـرد، کـه ایـن جـنس هـا هـر کـدام متعلـق بـه خـانوادۀ جداگانـه‌ای مـی‌باشـند. ویبریـو و آئروموناس امـروزه بـه ترتیـب در خـانواده هـای ویبریوناسیه و آئروموناسیه رده بندی می‌شوند

ارگانیسم	تاریخچه و پیدایش
ویبریو (Vibrio)	ویبریـو، حرکـت سـریع یـا ارتعاشـی (حرکـت سـریع بـه دلیـل وجود فلاژل های قطبی)
ویبریو کلرا (V.cholerae)	عامل وبا یا بیماری رودهای است
ویبریـو پـارا همولیتیکـوس V.parahaemolyticus	لیز کننده خون

ویبریو ولنیفیکوس V.vulnificus	در ارتباط با عفونت های بارز در زخم
آئروموناس Aeromonas	باکتری های تولید کننده گاز
آئروموناس کاویه A.caviae	اولین جداسازی در خوکچه هندی
آئروموناس هیدروفیلا A.hydrophila	آب دوست
آئروموناس ورونی A.veronii	به نام باکتریولوژیست کاشف آن ورون

ویبریو *(Vibrio)*

جنس ویبریو شامل بیش از ۶۰ گونه است که به شکل باسیل منحنی شکل می باشند و ۱۰ گونه از آنها به عنوان عامل عفونت های انسانی به شمار می آیند. ویبریو کلرا، ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو ولنیفیکوس شایع ترین آنها هستند.

گونه ها	منبع عفونت	بیماری بالینی
ویبریو کلرا V.cholerae	آب، غذا	گاستروانتریت
ویبریو پاراهمولیتیکوس V.parahaemolyticus	صدف، آب دریا	گاستروانتریت، عفونت زخم، باکتریمی
ویبریو ولنیفیکوس V.vulnificus	صدف، آب دریا	باکتریمی، عفونت زخم، سلولیت
ویبریو آلژینولیتیکوس V.alginolyticus	آب دریا	عفونت زخم، اوتیت بیرونی
ویبریو هاروی V.harveyi	آب دریا	عفونت زخم، گازگرفتگی کوسه
ویبریو فلوویالیس V.fluvialis	غذای دریایی	گاستروانتریت، عفونت زخم، باکتریمی
ویبریو میچنیکوف V.metschnikovii	ناشناخته	باکتریمی
ویبریو میمیکوس V.mimicus	آب شیرین	گاستروانتریت، عفونت زخم، باکتریمی

ویبریو فورنیسی V.furnissii	آب دریا	گاستروانتریت
ویبریو سین‌سیناتینسیس V.cincinnatiensis	ناشناخته	باکتریمی، مننژیت

فیزیولوژی و ساختار

گونه های ویبریو می توانند در انواع مختلفی از محیط های ساده در محدوده دمای متوسط (C ۴۰-۱۴)رشد کنند. ویبریو کلرا در غیاب نمک قادر به رشد است اما اکثر گونه‌هایی که برای انسان پاتوژن هستند به نمک نیاز دارند (هالوفیل). ویبریو طیف وسیعی از PH (۶/۵ تا ۹) را تحمل می کند اما به اسید معده حساس است. اگر اسید معده کم شود یا خنثی شود، بیماران به عفونت های ویبریو بسیارحساس می شوند.

ویبریو دارای یک فلاژل قطبی است و پیلی های آن برای ویرولانس باکتری مهم هستند. برای مثال گونه ای از ویبریوکلرا، دارای پیلی هم تنظیمی با توکسین ۱ را دارد. همه گونه ها دارای لیپوپلی ساکارید حاوی لیپید A (اندوکسین) ، هسته پلی ساکاریدی و زنجیره های پلی ساکاریدی O هستند. پلی ساکارید O برای تقسیم بندی گونه های ویبریو به سروتیپ ها استفاده می شوند: بیش از ۱۴۰ گروه سرمی از ویبریوکلراشناسایی شده است. ویبریوکلرا O12 و O129 توکسین وبا را تولید کرده و در ارتباط با اپیدمی وبا است. برای ویبریو کلرا ی O1 سه سروتیپ شناخته شده اند: اینابا، اوگاوا، هیکوجیما.

هیکوجیما هر دو آنتی ژن مربوط به اوگاوا و اینابا را بیان می کند. دو بیوتیپ ویبریو کلرا، کلاسیک و التور است. این بیوتیپ ها بر اساس شباهت فنوتیپی و ویژگی های موروفولوژی تقسیم بندی شده اند. هفت پاندمی از فنوتیپ ویبریوکلرا در دنیا ثبت شده؛ که فنوتیپ

کلاسیک ویبریوکلرا مسئول ۶ پاندمی از وبا بوده در حالی که مسئول پاندمی هفتم بیوتیپ التور بوده است.

ویبریو ولنیفیکوس و ویبریو کلرا non-O1 کپسول پلی ساکاریدی دارند که در انتشار عفونت نقش مهمی دارد. ویبریوکلرا O1 کپسول ندارد؛ در نتیجه عفونت ناشی از آن روده پخش نمی شود.

اپیدمیولوژی

در سراسر جهان گونه های ویبریو (شامل ویبریوکلرا) به طور طبیعی در خلیج ها و دریا ها رشد می کنند. تمام گونه های ویبریو قادر به زندگی و تکثیر در آب های آلوده ی دارای نمک زیاد و دمای ۱۰°C تا ۳۰ °C هستند. ویبریو های پاتوژن می توانند به وسیله صدفها منتقل شوند؛ بنابراین ارتباط بین عفونت های ویبریو و مصرف صدفداران وجود دارد. همچنین افرادآلوده بدون علامت در مناطقی که بیماری ویبریوکلرا اندمیک است، یک مخزن مهم برای این ارگانیسم به شمار می آیند. ۷ پاندمی بزرگ کلرا در ۱۸۱۷ اتفاق افتاد که در نتیجه آن هزاران نفر . عامل پاندمی هفتم، ویبریوکلرا O1 بیوتایپ التور بود که در سال ۱۹۶۱ از آسیا شروع شد و در فاصله ۱۹۸۰-۱۹۷۰ به آفریقا، اروپا و استرالیا گسترش پیدا کرد. نژاد اپیدمیک جدیدی در سال ۱۹۹۲ در هند پیدا شد که به سرعت از آسیا به اروپا و USA گسترش پیدا کرد. این نژاد ویبریو کلرا O139 سویه بنگال بود که توکسین کلرا و سایر صفات مشخصه ویبریو کلرا O1 را داشت. این اولین نژاد non-O1 بود که می توانست بیماری اپیدمیک ایجاد کند و همین طور قادر به ایجاد بیماری در بالغینی‌بود که قبلاً به وسیله نژاد O1 عفونی شده بودند (این نشان دهنده عدم وجود ایمنی حفاظت شده است) . باکتری به وسیله آب و غذای آلوده انتقال می یابد اما انتقال انسان به انسان معمول نیست زیرا دوز بالای

ارگانیسم (بیش از۱۰۸ ارگانیسم) لازم است تا فردی با اسیدیته معده نرمال، بیمار شود. در افرادی که فاقد اسید معده هستند یا مقدار اسید معده شان اندک است دوز عفونی می تواند به کمتر از ۱۰۳ تا ۱۰۵ ارگانیسم برسد. عفونت هایی که به وسیله ویبریو پاراهمولیتیکوس، ویبریو ولنیفیکوس و سایر ویبریوهای پاتوژن ایجاد می شوند، در نتیجه غذاهای دریایی نیمه پخته خصوصاً صدف یا تماس با آب آلوده دریا رخ می دهد . گاستروانتریت حاصل از ویبریوها در تمام فصول سال دیده می شود؛ در مقابل سپتی سمی و عفونت های پوستی ناشی از ویبریوها در طول ماههای گرم اتفاق می افتد، چون ارگانیسم های موجود در آب دریا بیشترین میزان تکثیر را دارند.

ویبریوکلرا(Vibrio cholerae)

عفونت به وسیله ویبریوکلرا O1 می تواند از یک کلونیزاسیون بدون علامت یا بیماری همراه با اسهال خفیف تا اسهال شدید و کشنده باشد. تظاهرات کلینیکی ۲ تا ۳ روز بعد ازخوردن باکتری، با اسهال آبکی و استفراغ شروع می شود. مدفوع بی رنگ و بو، بدون پروتئین و دارای مخاط (مدفوع آب برنجی) است. دفع شدید مایعات و الکترولیت ها بجز دهیدراتاسیون، باعث اسیدوز متابولیک (کاهش بی‌کربنات)، هیپوکالمی(کاهش پتاسیم)، شوک هیپوولمیک(کاهش حجم خون) همراه با آریتمی قلبی و ضعف کلیوی می شود. میزان مرگ در افرادی که درمان نمی شوند ۶۰٪ و در افرادی است که درمان می شوند کمتر از۱ ٪ است. با جبران آب و الکترولیت به طور خود به خود بعد از گذشت چند روز بیماری بهبود می یابد. بیماری که به وسیله ویبریو کلرا O139 ایجاد می شود به شدت بیماری ناشی از ویبریوکلرا O1می باشد. گاستروانتریتی که به وسیله سایر سروتیپ های ویبریو کلرا ایجاد می‌شود، خفیف تر بوده و با اپیدمی ها ارتباط ندارد.

ویبریو پاراهمولیتیکوس(Vibrio parahaemolyticus)

شدت گاستروانتریت ناشی از ویبریو پاراهمولیتیکوس ،می تواند از یک اسهال خود محدود شونده تا یک بیماری خفیف شبه وبا باشد. معمولاً تظاهرات بیماری بعد از ۶ تا ۷۲ ساعت (متوسط ۲۴ ساعت) به شکل اسهال آبکی شدید بروز می کند. در نمونه های مدفوعی هیچ خون یا موکوسی دیده نمی شود مگر در موارد استثنایی که بیماری بسیار شدید باشد. سر درد،دردهای شکمی ، تهوع ، استفراغ و تب خفیف ممکن است به مدت ۷۲ ساعت یا بیشتر دیده شوند. معمولاً بیماران خود به خود بهبود می یابند. عفونت های پوستی حاصل از این ارگانیسم می تواند در افرادی که در تماس با آب آلوده دریا بوده اند دیده شود.

ویبریو ولنیفیکوس(Vibrio vulnificus)

ویبریو ولنیفیکوس شاخص ترین گونه ویرولان ویبریو است که عامل عفونت های سریع و پیشرونده زخم بعد از تماس با آب آلوده دریا و سپتی سمی بعد از مصرف صدف آلوده می باشد. مشخصه عفونت های زخم شامل تورم اولیه، اریتم و درداست که با تشکیل وزیکول یا تاول و نکروز بافتی ادامه می یابد. بیماران معمولاً تب و لرز را نشان می دهند. مرگ و میر در میان بیماران مبتلا به سپتی سمی ویبریو ولنیفیکوس در صورت عدم مصرف سریع آنتی بیوتیک بیش از ۵۰٪ است. شدیدترین شکل عفونت در بیماران مبتلا به هپاتیت، بیماری های خونی، ضعف کلیوی مزمن و بیمارانی که داروهای سرکوب کننده ایمنی مصرف می کنند، دیده می شود.

سایر گونه‌های ویبریو

ویبریو آلژینولیتیکوس می تواند عامل عفونت زخم های سطحی در اثر تماس با آب آلوده دریا باشد. عفونت گوش، چشم و مجاری معدی - گوارشی هم‌ندرتاً گزارش می شود. ویبریو میمیکوس، ویبریو فلوویالیس و ویبریو فورنیسی نیز عامل ایجاد گاستروانتریت، عفونت

زخم و باکتریمی می باشند. عفونت های ناشی از ویبریو مچنیکوف باکتریمی، ویبریو سین سیناتینسیس مننژیت می باشد.

تشخیص آزمایشگاهی میکروسکوپی

گونه های ویبریو باسیل های گرم منفی،کوچک ومنحنی شکل هستند. ارگانیسم را ندرتاً می توان در رنگ آمیزی گرم نمونه های مدفوعی یا زخم مشاهده کرد. به هر حال با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک می توان باسیل های متحرک را در نمونه های مدفوع دید.

کشت

ارگانیسم های ویبریو به سختی در محیط اسیدی یا خشک زندگی می کنند. نمونه ها باید در اوایل بیماری گرفته شوند و در محیط کشت انکوبه گردند. اگر کشت به تعویق افتاد باید نمونه ها را به محیط انتقال کری - بلیر منتقل و در یخچال قرار نگهداری کرد. ویبریو به طور ضعیف در بافر گلیسرول- نمک که محیط انتقال برای اکثر پاتوژن های انتریک است، رشد می کند. ویبریو در اکثر محیط هایی که در آزمایشگاه های کلینیکی برای نمونه های مدفوعی به کار می روند، مثل بلاد آگار، مک کانکی آگار رشد می کنند.

محیط آگاردار انتخابی برای ویبریو تیوسولفات سیترات، بایل سالت سوکروز آگار (TCBS) است ،همچنین می توان ازمحیط پپتون براث قلیایی(۸/۶ =PH) استفاده نمود. ایزوله ها به وسیله آنتی سرم های پلی والان سروتایپینگ می‌شوند. در تست هایی که برای تشخیص ویبریوهای نمک دوست استفاده می شوند، باید محیط دارای NaCl ۱٪ باشد.

مایکوباکتریوم

جنس مایکوباکتریوم باسیل های هوازی فاقد اسپور، غیرمتحرک می‌باشد. این باسیل‌ها گاهی می توانند رشته‌های منشعب تشکیل دهند. دیواره سلولی غنی از لیپیدها می‌باشد که سطح سلول را هیدروفوبیک ساخته و مایکوباکتریوم را به بسیاری از ضدعفونی کننده ها و رنگ آمیزی های متداول آزمایشگاهی مقاوم می نماید . هنگامی که ارگانیسم رنگ آمیزی شد، دیگر نمی‌تواند با محلول های اسیدی بی رنگ شود. از این رو، باسیل های اسید فست نامیده می‌شوند. به علت این‌که دیواره سلولی مایکوباکتریوم ها پیچیده می باشد و این گروه از ارگانیسم ها سخت رشد هستند، اکثر مایکوباکتریوم ها به آهستگی رشد کرده و هر ۲۴-۱۲ ساعت تقسیم می شوند. جداسازی ارگانیسم های کندرشد (مثلاً مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، مایکوباکتریوم آویوم- اینتراسلولار -کمپلکس آویوم-، مایکوباکتریوم کانزاسی) به ۸-۳ هفته انکوباسیون نیاز دارد، در صورتی که بیشتر مایکوباکتریومهای تند رشد (مانند چلونه، فورتوئیتوم، آبسه سوس) به ۳ روز یا بیشتر انکوباسیون نیاز دارند. مایکوباکتریوم لپره عامل اتیولوژیک جذام، نمی‌تواند در کشت‌های بدون سلول رشد نماید.

در حال حاضر، بیش از ۱۰۰ گونه از مایکوباکتریومها شناسایی شدهاند که بسیاری از آنها با بیماری انسانی همراه هستند (جدول ۲-۱۶). گونه‌های زیر عامل اکثر عفونت‌های انسانی می‌باشند: مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، (کمپلکس توبرکلوزیس:توبرکلوزیس،آفریکانوم،بویس و میکروتی) مایکوباکتریوم لپره، مایکوباکتریومکمپلکس آویوم، مایکوباکتریوم کانزاسی، مایکوباکتریوم فورتوئیتوم، مایکوباکتریوم چلونه، مایکوباکتریوم آبسه سوس.

فیزیولوژی و ساختار مایکوباکتریوم

مایکوباکتریوم دارای دیواره سلولی پیچیده وغنی از لیپید می‌باشند. دیواره سلولی مسئول بسیاری از خصوصیات مشخص باکتری ها است(مثلاً اسید فستی، رشد کند، مقاومت به دترجنت‌ها، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ضدباکتریایی معمول، آنتی ژنیسیته و تشکیل طناب).

ساختمان اصلی دیواره سلولی مشابه باکتری های گرم مثبت است.در عین حال، دیواره سلولی مایکوباکتریوم بسیار پیچیده تر از سایر گرم مثبت ها است و دارای یک غشاء سیتوپلاسمی داخلی متشکل از با یک لایه پپتیدوگلیکان ضخیم و فاقد غشاء خارجی می باشد.

پروتئین های دیواره سلول آنتی ژن های مهمی هستند که باعث تحریک ایمنی سلولی بیماران می شوند مشتقات پروتئینی تخلیص شده یا PPDs به عنوان معرف تست پوستی برای بررسی تماس با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس استفاده می شود.

طبقه بندی رانیون طرح افتراقی مفیدی برای سازماندهی مجموعه گوناگون از گونه های مهم بالینی می باشد، مخصوصاً زمانی که شناسایی و تعیین هویت باکتری در آزمایشگاه زمان طولانی هفته تا ماه را در بردارد. اگرچه امروزه استفاده از این روش برای شناسایی و تعیین هویت مایکوباکتریوم اهمیت کمتری دارد.

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پاتوژنز و ایمنی

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس پاتوژن داخل سلولی است که قادربه ایجاد عفونت های مادام العمر می باشد . عفونت به واسطه تنفس ذرات آئروسل عفونی کسب شده که پس از آن به راه های هوایی تحتانی منتقل می گردد. در این مکان ها، باکتری ها به داخل ماکروفاژهای آلوئولار نفوذ می کند. در مقایسه با اغلب باکتری های فاگوسیت شده، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از اسیدی شدن فاگوزوم و ادغام فاگولیزوزومی جلوگیری می کنند. هرچند فاگوسیتوز توسط ماکروفاژهای آلوئولار آغاز می شود، ماکروفاژها و لنفوسیت های در گردش توسط باسیل ها و فاکتورهای کموتاکتیک میزبان(مثلاً C5a کمپلمان) و لاشه های سلولی به کانون عفونی کشیده می شوند. مشخصه هیستولوژی این کانون، تشکیل سلولهای بزرگ چند هسته ای از ماکروفاژهای با هم ادغام شده است که سلول های لانگرهانس نیز نامیده می شوند. ماکروفاژهای آلوده

همچنین می توانند در طـی فـاز اولیـه بیمـاری بـه غـدد لنفاوی موضعی و به داخل جریان خون و سایر بافت ها انتشار یابند (مثلاً مغزاستخوان ، طحال، کلیه ها، سیستم عصبی مرکزی).

اپیدمیولوژی

اگر چه بیماری سل می تواند در پریمات ها و حیوانات آزمایشگاهی از قبیل خوکچه های هندی به وجود آید اما انسان تنها مخزن طبیعی می باشد. بیماری توسط تماس شخص به شخص به واسطه تنفس آئروسل های عفونی منتشـر مـی شـود.ذرات بـزرگ در سطح مخاطی به دام افتاده به وسیله فعالیت مژه ای حذف می شود.اما، ذرات کوچک حاوی ۱ تا۳ میکرون باسیل سل می توانند به فضاهای آلوئولار برسند و عفونت ایجاد گردد.

توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) تخمین زده می شود که در سال ۲۰۰۲ ، یـک سـوم جمعیـت جهـان بـا مایکوبـاکتریوم توبرکلوزیس آلوده شده باشند. ۸/۸ میلیون مورد جدید و۲ میلیون نفر مرگ بوسیله این باکتری گزارش شـده اسـت. کشـورهایی بـا بیشترین بروز بیماری، کشورهای آسیای جنوب شرقی، آفریقای زیرصحرا و اروپای شرقی بودند. افراد با خطر بـالاتر بـرای بیمـاری سل ، افراد بی خانمان، معتادان به الکل و مواد مخدر، زندانیان و افراد آلوده با ویروس HIV می باشند. به علـت ایـن کـه از بـین بردن کامل بیماری در این بیماران مشکل است، عفونت می تواند به سایر مردم از جمله کارکنان مراکز بهداشتی انتقال یابنـد و بـه عنوان مشکل بهداشتی عمومی مطرح شود. این موضوع به ویژه برای مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به دارو صدق می کند، زیرا بیمارانی که درمان نامناسب و ناکافی دریافت می کنند ممکن است برای مدت زمان طولانی مسری باقی بمانند.

بیماری های بالینی

اگرچه سل می تواند هر عضوی را درگیر کند، اکثر عفونت ها در بیماران با ایمنی کامل به ریه ها محدود شده است. اولـین کـانون ریوی، مرکز یا فضاهای پایین تر ریه می باشد، جایی که باسیل های سل می

توانند آزادانه تکثیر یابند. ایمنی سلولی بیماران فعـال شده ، تکثیر مایکوباکتریوم در اکثر بیماران طی ۶-۳هفته بعد از تماس با ارگانیسم متوقف می شود. تقریباً ۵٪ بیماران در تماس با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به سمت بیماری فعال طی ۲ سال پیش می روند و ۱۰-۵٪ موارد، مدت ها بعد در زندگی (سـال هـای آینده زندگی) دچار بیماری می شوند.

احتمال این که عفونت به سمت بیماری فعال پیشرفت نماید، به دو عامل یعنی دوز عفونی و وضعیت ایمنی بیمـاران بسـتگی دارد. برای مثال، بیماری فعال در ۱۰٪ بیمارانی که مبتلا به ویروس HIV می باشند، درظرف مدت ۱ سال پس از تماس ایجاد می‌شود. در بیماران با عفونتHIV ، بیماری معمولاً قبل از تهاجم سایر عفونت های فرصت طلب مشاهده می شود در این صورت، احتمال انتشار بیماری به خارج ریه ۲ برابر خواهد بود و می تواند به سرعت به مرگ منتهی شود. نشانه ها و علایم بالینی سل مکان عفونت را نشان می دهندو بیماری اولیه معمولاً به مجرای تنفسی تحتانی محدود می باشد. در آغاز بیماری بی سروصدا می باشد. بیماران به طور تیپیک شکایات غیر اختصاصی نظیر بی قراری، کاهش وزن، سرفه و عرق شبانه دارند. خلط ممکن است خـونی یـا چرکـی بشود. تولید خلط خونی با تخریب بافتی همراه می باشد. تشخیص کلینیکی به واسطه روش های ذیل تقویت می‌شود:

(۱) مشاهدات رادیولوژی بیماری ریوی

(۲) واکنش تست پوستی مثبت

(۳) مشاهدات آزمایشگاهی مایکوباکتریوم با روش میکروسکوپی یا در کشت یک یا هر دو لوب بالایی ریه ها معمولاً در بیماران با بیماری فعال درگیر هستند که شامل پنومونی یا تشکیل آبسه و حفره میباشد.

همانطور که قبلاً گفته شد، سل خارج ریوی می تواند در نتیجه انتشار خونی باسیل ها طی فاز اولیه تکثیر، رخ دهد ممکن اسـت در بیماران مبتلا به توبرکلوزیس ارزنی یا منتشر شواهدی از بیماری ریوی یافت نشود.

تشخیص آزمایشگاهی

ارزیابی ایمنی سلولی

یک تست قدیمی برای ارزیابی پاسخ بیماران که در معرض مایکوباکتریوم توبرکلوزیس قرار گرفته اند تست پوستی توبرکولین است. واکنش به تزریق داخل جلدی آنتی ژن های مایکوباکتریوم می تواند بین افراد آلوده و آلوده نشده متفاوت باشد. تنها مدرک عفونت با مایکوباکتریوم در اکثر بیماران یک واکنش تست پوستی مثبت دائم است و رادیوگرافی کلسیفیکاسیون کانون های فعال اولیـه در ریه ها یا دیگر ارگان ها را ثابت می کند. آزمایش با آنتی ژن های پروتئینی استخراج شده از ایکوبـاکتریومم توبرکلـوزیس معمـولاً بیشتر استفاده می شود. هر چند تست های پوستی با سایر آنتی ژن های مایکوباکتریایی خاص گونه ها طراحی شده اند.

امروزه به طور متداول از آنتی ژن توبرکولین، PPDکه پروتئین تخلیص شده دیواره سلولی است استفاده می شود . در این تست، مقدار معینی آنتی ژنPPD =)۰/۱ میکروگرم یا ۵ واحد توبرکولین (به لایه داخل جلدی پوست بیمار تلقیح می گردد. واکنش تست پوستی ۴۸ ساعت بعد اندازه گیری می شود. واکنش مثبت بر اساس جمعیت و افراد متفاوت تعیین می شود . یـک واکـنش مثبـتPPD معمولاً ۴-۳ هفته بعد از تماس با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آشکار می شود. تماس با سایر مایکوباکتریوم ها باعث واکنش متقاطع با توبرکولین می شود، اما واکنش عموماً کمتر ازmm ۱۰ می باشد. بیماران آلوده بـا مایکوبـاکتریوم توبرکلـوزیس ممکـن است به تست پوستی توبرکولین پاسخ ندهند (آنرژیک یا بی پاسخ). بنابراین همیشه از آنتی ژن کنتـرل بایـد در تسـت توبرکـولین استفاده نمود.

واکنش به لپرومین که از گونه لپره غیرفعال تهیه شده است، برای تأیید تشخیص کلینیکی جذام توبرکلوئیدی با ارزش می باشد. سفتی پاپولار ۴ -۳ هفته بعد از تزریق داخل جلدی آنتی ژن آشکار می‌شود. این تست برای تشخیص بیماران با جذام لپروماتوز مفید نمی باشد، زیرا این چنین بیمارانی نسبت به آنتی ژن آنرژیک می باشند.

اخیراً (FDA) امریکا تست جایگزینی را به جای تست پوستی توبرکولین تأیید کرده است. اساس تست مقدار اینترفرون گامای ترشح شده از لنفوسیت های حساس شده در خون بیماران است که به مدت یک شب با PPD انکوبه شده باشند. با وجود این که تست (QuantiFERON-TB test) کمتر تحت تأثیر خطا و اشتباهات قرائت کننده قرار می گیرد ولی حساسیت و اختصاصیت بهتری نسبت به تست پوستی ندارد.

میکروسکوپی

تشخیص میکروسکوپی باسیل های اسید فست در نمونه های بالینی سریع ترین راه برای تأیید بیماری مایکوباکتریوم می باشد. نمونه بالینی با کربول فوشین (متدهای زیل نلسون یا کاینیون) یا رنگ‌های اورامین-رودامین فلورسنت (روش

فلوروکروم توروآنت) رنگ آمیزی می شود. سپس با یک محلول اسید الکل رنگ بری شده و بعد از آن رنگ آمیزی زمینه ای انجام می شود. نمونه ها با میکروسکوپ نوری یا اگر رنگ‌های فلورسنت استفاده شدهاند، با میکروسکوپ فلورسنت بررسی می‌شوند (شکل۴-۱۶). روش فلوروکروم توروآنت‌حساس تر می باشد، زیرا نمونه سریعاً با بزرگنمایی پایین اسکن شده و سپس وجود باسیل های اسید فست با درشت نمایی بزرگ تر تأیید می شوند.

در یک سوم تا نصف تمام نمونه های کشت مثبت، باسیل ها به وسیله روش میکروسکوپی اسیدفست مشخص می شوند. حساسیت این آزمایش بالا است خصوصاً:

(۱) برای نمونه های تنفسی (به ویژه بیماران با حفره مشخص پس از انجام رادیوگرافی)

(۲) نمونه هایی که مایکوباکتریوم های زیادی از کشت جدا شده اند. بنابراین، این واکنش رنگ آمیزی اسیدفست مثبت دلیل بر آلودگی فراوان است. اختصاصیت آزمایش بیشتر از ۹۵درصد می باشد.

کشت

مایکوباکتریوم هایی که باعث بیماری ریوی می شوند (به ویژه در بیماران دارای غار سلی در ریه) در ترشحات تنفسی به فراوانی یافت می شوند (به طور مثال، ۱۰۸ باسیل در هر میلی متر یا بیشتر). به دست آوردن ارگانیسم ها در بیمارانی که نمونه خلط صبحگاهی آنها برای ۳ روز متوالی جمع آوری شده باشد، اطمینان بخش خواهد بود. ولی جداسازی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و سایر مایکوباکتریوم ها (NTM) یا Non tuberculosis mycobacterium از سایر جاها در بیماران با بیماری منتشر مشکل تر می باشد (به طور مثال، مجرای ادراری تناسلی، بافت ها، مایع مغزی نخاعی).در چنین مواردی، باید نمونه های اضافی برای کشت ها جمع آوری شوند و مقدار زیادی مایع یا بافت باید گرفته شود.

نمونه هایی از قبیل خلط در ابتدا با یک محلول گندزا (مانند هیدروکسید سدیم ۲ ٪) برای از بین بردن ارگانیسم هایی که می توانند نتایج کاذب ایجاد کنند آلودگی زدایی خواهند شد. مایکوباکتریوم در مقابل عمل قلیایی مختصری که باکتری های تند رشد را از بین می برد، مقاومت کرده و به همین دلیل جداسازی انتخابی مایکوباکتریوم فراهم می شود. آلودگی زدایی زیاد نمونه ها، مایکوباکتریوم را از بین می برد، بنابراین این روش زمانی که به طور نرمال نمونه های استریل آزمایش می شوند یا زمانی که تعداد کمی مایکوباکتریوم وجود داشته باشد انجام نمی شود.

تشخیص مقدماتی

خصوصیات رشد و مورفولوژی کلنی می تواند برای تشخیص اولیه اکثر گونه های متداول مایکوباکتریوم استفاده شوند. بنابراین فقط بیماران آلوده به مایکوباکتریومهای گروه توبرکلوزیس شناسایی شده وآنتی بیوتیک های پیشگیری کننده دریافت می کنند. همچنین، تشخیص مقدماتی یک ایزوله می تواند منجر به درمان ضدمیکروبی تجربی شود.

تشخیص قطعی

مایکوباکتریوم با استفاده از روشهای مختلفی به طور قطع تشخیص داده می شود. تست های بیوشیمیایی روش استانداردی برای تشخیص مایکوباکتریوم می باشند، اما نتایج تست ها تا حداقل ۳ هفته یا بیشتر قابل دسترسی نیستند. دو تست برای طبقه بندی اولیه اکثر مایکوباکتریوم ها استفاده می شود: تولید نیاسین و احیاء نیترات. گونه های مایکوباکتریایی می توانند به واسطه آنالیز کروماتوگرافی شاخص های لیپیدی دیواره سلولی تشخیص داده شوند. هرچند پروب های مولکولی خاص گونه ها، مفیدترین اسباب تشخیصی مایکوباکتریوم های جدا شده متداول می باشند (مثلاً توبرکلوزیس، کمپلکس آویوم، کانزاسی). سیستم های تشخیصی پروب تهیه شده به صورت تجاری معمولاً سریع، (زمان تست ۲ ساعت) حساس و اختصاصی می باشند.

روش دیگر برای تشخیص گونه های باکتریایی براساس نواحی بسیار متغیر s rRNA۱۶ ریبوزومی پایه گذاری شده است و روش سریعی است (۱ تا ۲ روز).

دستورالعمل آماده سازی، تهیه و کنترل کیفی محیط های کشت

آزمایشگاه مرجع سلامت

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

مقدمه

محیط های کشت نقش اساسی را در آزمایشگاه میکروب شناسی ایفا می کنند و به طور گسترده ای جهت جداسازی، تعیین هویت و آنتی بیوگرام میکروارگانیسم های بیماری زا به کار می روند. بسیاری از آزمایشگاه ها به

طور روتین محیط های کشت مورد نیاز برای مصارف تشخیصی و تحقیقاتی را خودشان تهیه می نمایند. با این همه برای اطمینان از این که محیط های کشت، کیفیت خوب و نتایج مطلوبی دارند، باید روش های کنترل کیفی مناسبی به کار گرفته شود. برای رسیدن به این هدف باید در تهیه و مصرف محیط های کشت معیارهای ذیل در نظر گرفته شود.

نکات عمومی در مورد تهیه محیط های کشت:

آب:

کیفیت محیط های کشت به طور مستقیم به کیفیت مواد خام مورد استفاده در تهیه آنها بستگی دارد. آب یکی از مهمترین موادی است که در تهیه محیط های کشت به کار می رود. سه معیار مهم برای آب مورد استفاده در تهیه محیط های کشت (آب نوع III) شامل عدم وجود یون های مس، قدرت هدایت الکتریکی و pH می باشد. در شرایط ایده آل یون های مس به دلیل خا صیت مهارکنندگی برای اغلب میکروارگانیسم ها، نباید در آب مورد استفاده برای تهیه محیط های کشت وجود داشته باشد. قدرت هدایت الکتریکی آب باید حدود ۱۰ میکروزیمنس بر سانتی متر با شد و همچنین pH آب مورد ا ستفاده بهتر ا ست کمی اسیدی باشد، ولی نباید کمتر از ۵ و بیشتر از ۸ باشد.

توزین پودر محیط کشت و افزودن آب:

طبق دستورالعمل تهیه محیط کشت که بر روی ظرف آن نصب گردیده است، مقدار مناسبی از پودر محیط کشت را با دقت وزن نمایید. ظرف محیط کشت را دور از جریان هوا و رطوبت باز کنید. از استنشاق پودرها به خصوص آنهایی که دارای مواد سمی هستند و تماس طولانی مدت آنها با پوست اجتناب کنید. پودر را به سرعت، به دقت و بدون ایجاد غبار وزن کنید. هرچه زودتر درِ ظرف را ببندید. نصف حجم آب مورد نیاز را داخل ظرف بریزید. سپس مقدار وزن شده محیط کشت را به آن اضافه نمایید. برای چند دقیقه به تندی تکان دهید. باقیمانده آب را به دیواره داخلی ظرف بریزید تا ذرات محیط کشت چسبیده به دیواره نیز وارد محلول شوند. این مرحله بسیار مهم

است، چون پودر خشک محیط کشت در بالای سطح آب، ممکن است در اتوکلاو استریل نشود و منبع آلودگی گردد.

حل کردن محیط کشت:

محیط های کشت بدون آگار، معمولا با تکان دادن آهسته و ملایم حل خواهند شد. اما محیط های کشت حاوی آگار باید قبل از حرارت دادن به مدت چند دقیقه با آب مخلوط شوند. سپس حرارت داده شوند تا آگار قبل از اتوکلاو کردن، حل شود. محیط های کشت را بجوشانید بدون آنکه بسوزند. محیط های کشتی که نباید اتوکلاو شوند، بعد از این مقدار حرارت دادن، برای تقسیم داخل پلیت ها یا ظروف استریل دیگر آماده خواهند بود. اکثر محیط های کشت به استریلیزاسیون نهایی (در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه)نیاز خواهند داشت.

توزیع:

محیط کشت را در ظرفی مناسب با حجم ۲ تا ۳ برابر حجم محیط کشت بریزید تا بتوانید آن را به خوبی تکان دهید و مخلوط کنید.

استریلیزاسیون:

بعضی از محیط های کشت به استریلیزاسیون با اتوکلاو احتیاجی نداشته و با جوشاندن قابل استفاده می شوند که دستور ساخت آنها بر روی برچسب ظرف محیط کشت قید گردیده است. استریلیزاسیون سایر محیط های کشت توسط حرارت مرطوب)اتوکلاو(یا صافی غشایی)فیلتراسیون(انجام می گردد که این موارد نیز بر روی برچسب ظرف محیط کشت قید گردیده است.

الف) استریلیزاسیون با حرارت مرطوب:

استریلیزاسیون محیط کشت تا حجم یک لیتر، در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۱۲۱°C(فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی متر مربع(انجام می گیرد. برای حجم های بیشتر از یک لیتر باید چرخه استریلیزاسیون را به طور مناسب تغییر داد. اما چون اکثر مشکلات در استریلیزاسیون محیط های کشت هنگامی رخ میدهد که مقادیر

بیشتر از دو لیتر محیط کشت باید استریل شود، لذا تو صیه می شود که مقادیر زیاد محیط کشت را در حجم های کوچکتر تقسیم نمایید.

کنترل کیفی اتوکلاو، کنترل دما و فشار آن باید به طور مداوم انجام گردد. برای کنترل اتوکلاو از اندیکاتورهای شیمیایی کلاس ۶)TST)در هر ران کاری استفاده می شود. از اندیکاتورهای بیولوژیکی جهت پایش عملکرد اتوکلاو حداقل به طور هفتگی یا فوا صل بیشتر، متناسب با بار کاری اتوکلاو استفاده می شود که ویال حاوی اسپور *Geobacillus Stearothermophilus* ATCC ۷۹۵۳ به صورت تجاری در دسترس می باشد.

ب) استریلیزاسیون با صافی غشایی (فیلتراسیون):

ازصافی غشایی برای استریل کردن محیط های کشت و ترکیبات حساس به حرارت استفاده می شود. استریلیزاسیون به وسیله صافی غشایی تحت شرایط خلا یا افزایش فشار انجام می پذیرد. از غشاء ها و صافی های با قطر منفذ ۰/۲۲ یا ۰/۴۵ میکرومتر استفاده نمایید. این فیلترها باید قبل از استفاده، در اتوکلاو استریل شوند. در مورد غشاء ها و صافی هایی که در بسته بندی های استریل به فروش می رسند، به دستورالعمل سازنده مراجعه نمایید. قسمت های مختلف دستگاه صافی را با صافی یا بدون صافی در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱°C استریل نمایید.

آماده سازی جهت مصرف:

بعد از استریلیزاسیون، اجازه دهید دمای محیط کشت به حدود ۵۰°C برسد، سپس با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم نمایید. هیچ وقت محیط کشت را در دمای باالاتر از ۵۰°C تقسیم نکنید. مکمل های حساس به گرما و حرارت باید بعد از این که دمای محیط کشت به حدود ۵۰°C رسید، به آن اضافه شوند. دمای مکمل (ساپلمنت) استریل قبل از این که به محیط کشت اضافه شود، باید به دمای اتاق برسد. سپس مکمل را با رعایت

شرایط آسپتیک به محیط کشت اضافه نموده، خوب مخلوط کنید و در ظروف نهایی که از قبل استریل شده اند، تقسیم نمایید.

اندازه گیری و تنظیم pH:

محیط های کشت دهیدراته اگر به طور مناسب تهیه شوند، نیازی به تنظیم pH ندارند. pH نهایی محصول استریل شده را می توان روی پلیت یا بطری اندازه گیری کرد، اما باید آنها را بعد از سنجش pH دور ریخت. بنابراین بعد از استریل شدن و خنک شدن محیط کشت تا دمای ۲۵°C ،مقدار pH را در حد مورد نظر (۰/۲)±تنظیم نمایید. تنظیم pH معمولاً با استفاده از هیدروکسید سدیم ۴۰ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) و یا با استفاده از اسید کلریدریک ۳۶/۵ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) انجام می شود. pH را به یکی از روش های ذیل کنترل نمایید:

- روش اول: روش خیساندن (Macerate :)آگار یک پلیت را در ظرفی کوچک حاوی مقدار کمی آب مقطر)ml ۷-۵)له کرده و به مدت ۱۰ دقیقه بخیسانید، سپس نوک الکترود pH متر را در این مخلوط غوطه ور کنید.

روش دوم: نوک الکترود pH متر را در داخل ارلن کوچکی قرار دهید. مقدار اندکی از آگار مذاب را به داخل ارلن ریخته، پس از سفت شدن آگار، pH را اندازه گیری نمایید.

- روش سوم: از الکترودهای سطحی استفاده نمایید.

نگهداری محیط های کشت تهیه شده:

طول عمر محیط های کشت تهیه شده به نوع اجزاء تشکیل دهنده محیط، نحوه نگهداری و ذخیره سازی آنها بستگی دارد. تمامی محیط های کشت باید دور از نور نگهداری شوند. تابش نور به محیط های کشت موجب تشکیل مواد باکتریوستاتیک و باکتریساید مانند پراکسیداز می گردد. طول عمر اغلب محیط های کشت پلیتی در دمای ۴ درجه سانتی گراد یک هفته می باشد ، ولی اگر در داخل کیسه های پلاستیکی به گونه ای بسته بندی

شوند که هوا داخل آنها نفوذ نکند، تا ۴-۳ هفته قابل مصرف هستند. طول عمر محیط های کشت حاوی آنتی بیوتیک به پایداری آنتی بیوتیک موجود در آن بستگی دارد. در مجموع، محیط های حاوی آنتی بیوتیک را در مدت یک هفته باید مصرف کرد. از سوی دیگر با گذ شت زمان این گونه محیط های کشت رطوبت خود را از د ست داده، به دلیل افزایش غلظت آنتی بیوتیک، قدرت انتخابی آنها افزایش می یابد. پلیت ها را باید قبل از مصرف به دمای اتاق ر ساند. اگر پلیت محیط کشت بیش از ۸ ساعت در دمای اتاق باقی بماند برای مصرف منا سب نمی با شد. محیط های کشت لوله ای در مقایسه با محیط های کشت پلیتی عمر طولانی تری دارند. اغلب این محیط های کشت اگر در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شوند، ۶-۳ ماه قابل مصرف می باشند.

موارد ا ستثناء: تایوگلیکولات براث، اندول نیترات براث و SIM فقط به مدت یک ماه قابل نگهداری می باشاند. محیط های CTA Medium و Medium OF حاوی کربوهیدرات و مولر هینتون براث فقط به مدت ۶ هفته قابل نگهداری می باشند.

جدول شماره ۱ -خطاها، مشکلات و علل ممکن در استریلیزاسیون محیط های کشت

	مشکلات علل ممکن

ا آب ناخالص ا ظروف شیشه ای کثیف ا افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ا حرارت زیاد یا نادرست در طی استرلیزاسیون ا pH اشتباه یا تغییر و انحراف pH ا حل نشدن کامل محیط کشت ا ذخیره سازی طولانی مدت در دمای ۵۰°C	رنگ یا تیرگی غیر طبیعی محیط کشت (Abnormal color/darkening)
داغ بودن محیط کشت در هنگام افزودن ساپلمنت)مکمل(به آن	لخته یا منعقد شدن محیط کشت (Coagulation)
رگه رگهٔ سیاه: نیمسوز شدن آگار رگه رگهٔ روشن: سرد شدن تقریبی آگار در هنگام افزودن ساپلمنت)مکمل(به آن	رگه رگه شدن محیط کشت (Flecks in culture medium)
ا آب ناخالص یا ظروف شیشهای کثیف ا حرارت زیاد در طی استرلیزاسیون ا ذوب مجدد یا ذخیره سازی طولانی مدت در دمای ۵۰°C ا آلودگی شیمیایی ا کالیبراسیون نادرست pH متر ا حل نشدن کامل محیط کشت ا اندازه گیری pH در دمای باالی ۲۵°C ا افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ا ذخیره سازی نادرست یا بیش از نیمه عمر محیط کشت	pH نادرست (pH Incorrect)

دهیدراته ا کیفیت پایین آب یا ظروف	

	مشکالت علل ممکن
ا حرارت بیش از اندازه در طی استرلیزاسیون ا ذخیرهسازی طوالنی مدت)بیش از ۴ ساعت(در حالت مذاب)بیش از ۵۰°C) ا افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ا pH اشتباه ا آب ناخالص یا ظروف شیشه ای کثیف ا حل نشدن کامل محیط کشت ا داغ بودن محیط کشت در هنگام افزودن مکمل به آن ا کیفیت پایین آب یا ظروف	ایجاد رسوب یا کدورت (Percipitation/Turbidity)
ا حرارت بیش از اندازه در طی استرلیزاسیون ا افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ا قرارگیری در معرض نور مستقیم خورشید ا حجم اشتباه مکمل اضافه شده	سمّیت Toxicity

ا توزین یا مخلوط کردن نادرست ا آب یا ظروف آلوده ا مواد مهارکننده در آب یا ظروف ا افت کیفیت محیط کشت دهیدراته ا داغ بودن محیط کشت در هنگام افزودن مکمل به آن ا داغ بودن محیط کشت در هنگام کشت نمونه بر روی آن ا ذخیرهسازی طولانی مدت محیط کشت ا خشک شدن بیش از حد سطح محیط کشت ا حل نشدن کامل محیط کشت ا تیرگی محیط کشت و تغییر و انحراف pH ا حرارت بیش از اندازه و طولانی مدت	رشد باکتریولوژیک ضعیف یا اثر روی خواص انتخابی/ افتراقی
ا حرارت بیش از اندازه)به ویژه در مقایر pH پایین(ا هیدرولیز اسید در محیط کشت با pH پایین ا توزین یا مخلوط کردن نادرست ا حل نشدن کامل آگار ا حجم نادرست آب ا رقیق سازی زیاد با مایه تلقیح یا مکملهای محیط کشت ا ذخیره سازی طولانی مدت در دمای ۵۰°C	شل بودن آگار (agar Soft)

ارزیابی کیفیت محیط های کشت: هر آزمایشگاه باید از کیفیت هر شماره ساخت از محیط های آماده مصرف تجاری و یا محیط های دهیدراته، قبل از استفاده اطمینان حا صل نماید. الزامات عمومی کنترل کیفیت محیط های کشت عبارتند از:

الف(ثبت اطالعات محیط های کشت

۱ .محیط های آماده مصرف تجاری: • منبع تهیه آن، شماره ساخت، تاریخ انقضاء، تاریخ دریافت و تاریخ شروع به استفاده از آن را برای هر یک از انواع محیط ثبت کنید.

• هر محیط را مطابق دستورالعمل سازنده نگهداری کنید (معمولا در C °۸-۲)

۲ .محیط های ساخته شده از پودر دهیدراته در آزمایشگاه: • مقدار محیط ساخته شده، منبع تهیه آن، شماره ساخت، روش استریل نمودن آن، تاریخ ساخت، pH ،تاریخ شروع به استفاده از آن، تاریخ انقضاء و نام فرد سازنده آن ثبت شود.

ب(بررسی مشخصات ظاهری:

محیط های کشت تهیه شده باید قبل از استفاده، از لحاظ فیزیکی و ظاهری نیز بررسی شوند:

• شکستگی یا آسیب دیدگی پلیت ها و لوله ها؛

• جدا شدن آگار از جداره پلیت ها و لوله ها؛

• یخ زدگی یا ذوب شدن آگار؛

• نا صاف پر شدن پلیت ها؛

• مقدار ناکافی آگار در پلیت ها (عمق کمتر از mm ۳)و لوله ها عمق و سطح ناکافی؛

• وجود همولیز در محیط های حاوی خون؛

• تغییر در رنگ مورد انتظار برای هر محیط (احتمال اشکال در pH محیط)؛

• وجود حباب یا ناهمواری بیش از حد در سطح محیط؛

• رطوبت اضافی یا خشک شدن بیش از حد محیط؛

• آلودگی قابل مشاهده؛

• وجود رسوب.

ج(بررسی وجود آلودگی:

به عنوان یک قاعده کلی، برای سری ۱۰۰تایی یا کمتر ۱۰۰ ، ≤۵-۳ ٪ از لوله ها/ پلیت ها باید از نظر عدم وجود آلودگی و رشد باکتریایی بررسی شوند. برای مقادیر بیشتر ۱۰۰ باید ۱۰ لوله یا پلیت به ورت رندوم و تصادفی انتخاب، و انکوبه شوند. نمونه ها باید برای ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C-۳۵ انکوبه، و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شوند. نباید شواهدی از رشد میکروبی بعد از انکوباسیون مشاهده گردد. بعد از کامل شدن بررسی، باید تمام نمونه های بررسی شده دور ریخته شوند.

د(انجام آزمایش کنترل کیفیت: هر محیط کشت باید از نظر میزان رشد قابل قبول و/یا خصو یت مهارکنندگی، با میکروارگانیسم های کنترل مناسب مطابق جدول شماره ۳ بررسی شوند.

منابع تهیه میکروارگانیسم های کنترل عبارتند از:

·· American Type Culture Collection) ATCC (یا PTCC (Persian Type Culture Collection)

سویه های شناسنامه دار که طی برنامه ارزیابی خارجی کیفیت دریافت می شوند.

· سویه های شناخته شده بیماران که دارای ثبات فنوتیپی می باشند.

برای این کار لازم است از سویه های کنترل کیفی مورد نظر، سوسپانسیون میکروبی تهیه شود.

A .تهیه سوسپانسیون میکروبی:

یک کشت از ارگانیسم کنترل کیفی مورد نظر روی پلیت بلاد آگار تهیه کنید. بعد از انکوبا سیون پلیت به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۵±۲°C ،۵-۳ کلنی ایزوله را در ۵-۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی ا ستریل حل کرده و کدورت آن را با کدورت استاندارد نیم مک فارلند تنظیم نمایید. این سوسپانسیون میکروبی باید کدورتی مطابق با اساتاندارد نیم مک فارلندداشته باشد.

C .زمان انکوباسیون جدول شماره ۲:)

	سویه های کنترل کیفی دمای انکوباسیون اتمسفر انکوباسیون		
۱۸- ۲۴ ساعت	* هوای محیط یا غنی شده با CO_2	-۳۷°C ۳۵	باکتری های دارای رشد سریع
۲۴- ۷۲ ساعت	۳۵-۳۷ غنی شده با CO_2	°C	باکتری های دارای نیازهای خاص برای رشد
	۳۵-۳۷ گاز بی هوازی ۷۲ -۲۴ ساعت	°C	بی هوازی ها
ساعت ۲۴ - ۴۸	Campy گاز	C°۴۲	کمپیلوباکتر
۲۱ -۷ روز	۳۵-۳۷ غنی شده با CO_2	°C	مایکوباکتریوم ها
≤ ۷۲ ساعت	۳۵-۳۷ هوای محیط	°C	مخمر
≤ ۷۲ ساعت	۲۵-۳۰ هوای محیط	°C	کپک ها

* اتمسفر به نوع محیط بستگی دارد. تو یه های سازنده را بررسی نمایید.

D .تفسیر نتایج:

عملکرد محیط های غیر انتخابی در صورتی رضایت بخش است که سویه های کنترل کیفی، رشد کافی، سایز مورد انتظار کلنی، مرفولوژی بارز کلنی را نشان دهند.

عملکرد محیط های انتخابی در صورتی ر ضایت بخش ا ست که سویه های کنترل کیفی، ر شد کافی، سایز مورد انتظار کلنی، مرفولوژی بارز کلنی و مهار رشد بعضی از ارگانیسم های خاص را نشان دهند.

در بعضی موارد، واکنش های رنگی خاص یا همولیز همچنان که در جدول شماره ۳ آمده است، باید ایجاد شود. مثالً در مورد محیط کشت بلاد آگار ایجاد همولیز مناسب ضروری است و یا برای محیط مکانکی آگار ایجاد واکنش های رنگی برای سویه های میکروبی مشخص ضروری می باشد.

• عملکرد محیط های لوله ای در صورتی ر ضایت بخش ا ست که سویه های کنترل کیفی در آن ر شد کافی نموده یا کدورت الزم را ایجاد کنند و واکنش های بیوشیمیایی مورد انتظار را نشان دهند.

جدول شماره ۳ -الزامات کنترل کیفیت محیط های کشت

نتایج قابل انتظار	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	محیط کشت
رشد بر روی ساب کالچر (TCBS) عدم رشد بر روی ساب کالچر(TCBS)	(۹۴۵۹) *V. cholerae* (۲۵۹۲۲) *E. coli*	۳۵°C، ساعت ۶ -۱۲ ،هوازی	Alkaline peptone water (APW)
رشد می کند رشد می کند، همولیز بتا رشد می کند رشد می کند رشد می کند	(۲۵۲۸۵) *B. fragilis* (۱۳۱۲۴) *C. perfringens* (۲۵۵۸۶) *F. nucleatum* (۲۷۳۳۷) *P. anaerobius* *P. melaninogenica* (۲۵۸۴۵)	بی هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، ۳۵°C	Anaerobic sheep blood and agar laked blood
			—Anaerobic broths medium thioglycolate(را مالحظه نمایید)
رشد می کند، اطراف کلنی ها سیاه می شود (نصف یا بیشتر محیط سیاه می شود)	(۲۹۲۱۲) *E. faecalis* (۱۹۶۱۵) *S. pyogenes*	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، ۳۵°C	Bile esculin agar

مهار)جزئی تا کامل(؛ اطراف کلنیها سیاه نمی شود			
رشد، کلنی های سیاه با درخشندگی رشد، کلنی های سیاه یا خاکستری مایل به سبز، ممکن است درخشندگی داشته باشند مهار جزئی؛ کلنی های قهوه ای تا سبز مهار کامل رشد	(۱۹۴۳۰) *S. typhi* *S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) (۲۵۹۲۲) *E. coli* (۲۹۲۱۲) *E. faecalis*	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	Bismuth sulfite agar
رشد می کند، همولیز بتا رشد می کند، همولیز آلفا رشد می کند رشد می کند	(۱۹۶۱۵) *S. pyogenes* (۶۳۰۵) *S. pneumoniae* (۲۵۹۲۳) *S. aureus* (۲۵۹۲۲) *E. coli*	۱۸ -۲۴ ،Co۲ یا هوازی ،C°۳۵ ساعت	Blood agar (BA)—blood nonselective sheep agar media
رشد می کند واکنش مثبت)تشکیل نوک پیکان شفاف(واکنش منفی)عدم تشکیل نوک پیکان(	or (۳۳۸۶۲) *S. aureus* *S. agalactiae* (۲۵۹۲۳) (۱۲۳۸۶) (۱۹۶۱۵) *S. pyogenes*	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	Blood agar-CAMP test agar [TSA] (trypticase soy (with sheep blood only
رشد می کند، همولیز بتا رشد می کند، همولیز آلفا رشد می کند مهار می شود)به طور جزئی(رشد می کند رشد می کند مهار می شود)به طور جزئی(	(۱۹۶۱۵) *S. pyogenes* (۶۳۰۵) *S. pneumoniae* (۲۵۹۲۳) *S. aureus* (۱۲۴۵۳) *P. mirabilis* (۱۹۶۱۵) *S. pyogenes* (۲۵۹۲۳) *S. aureus* (۱۲۴۵۳) *P. mirabilis*	CNA، ،CO، ۴۸- ۲۴ ساعت، C°۳۵ PEA، ،CO، ۴۸- ۲۴ ساعت، C°۳۵	Blood agar—Selective sheep media (Columbia blood agar ,[CNA] agar phenylethyl alcohol [PEA] (agar

Blood culture media	۵٪ CO، روز ۳۵°C بیهوازی ۳۵°C، روز ۵ هوازی، CO	رشد می کند (۲۵۲۸۵) *B. fragilis* رشد می کند (۶۳۰۵) *S. pneumoniae*	
Brain heart infusion agar	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، ۳۵°C	رشد متوسط تا زیاد (۱۰۲۳۱) *C. albicans* رشد متوسط تا زیاد (۱۲۰۲۲) *S. flexneri* رشد متوسط تا زیاد (۶۳۰۵) *S. pneumoniae*	
agar *Campylobacter*	۵٪ O، کاهش یافته، غنی شده با ۴۲°C، ساعت ۴۸، ۲Co	رشد می کند (۳۳۲۹۱) *C. jejuni* مهار می شود)به طور جزئی((۲۵۹۲۲) *E. coli*	
Cary-Blair transport medium	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، ۲۵°C	روی ساب کالچر)شکالت آگار(رشد می کند *N. gonorrhoeae* روی ساب کالچر)شکالت آگار(رشد می کند *H. influenzae* (۱۹۴۲۴) روی ساب کالچر)بالد آگار(رشد می کند (۱۰۲۱۱) روی ساب کالچر)بالد آگار(رشد می کند (۱۲۰۲۲) *S. flexneri* روی ساب کالچر)بالد آگار(رشد می کند (۶۳۰۵) *S. pneumoniae*	

نتایج قابل انتظار	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	محیط کشت
رشد می کند رشد می کند	*N. gonorrhoeae* *H. influenzae* (۴۳۰۶۹) (۱۰۲۱۱)	۲CO، ۴۸-۲۴ ساعت، C°۳۵	Chocolate agar
رشد خوب، ایجاد هاله رشد خوب، ایجاد هاله رشد خوب، ایجاد هاله رشد خوب، عدم ایجاد هاله رشد متوسط تا زیاد، عدم ایجاد هاله	*S. aureus* (۲۵۹۲۲) *S. marcescens* (۸۱۰۰) *S. pyogenes* (۱۹۶۱۵) *S. epidermidis* (۱۲۲۲۸) *K. pneumonia* (۳۳۴۹۵)	هوازی، ۲۴-۱۸ ساعت، C°۳۵	DNase test agar
روی ساب کالچر)مکانکی آگار(رشد می کند روی ساب کالچر)مکانکی آگار(رشد می کند)ممکن است روی محیط های دارای سلنیت مهار شود(مهار)جزئی تا کامل(برروی ساب کالچر)مکانکی آگار(، اما از broth GN بر روی ساب کالچر رشد می کند	*S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *S. sonnei* (۹۲۹۰) *E. coli* (۲۵۹۲۲)	هوازی، ۲۴-۱۸ ساعت، C°۳۵	Enrichment broths for enterics gram-negative [GN] (broth, selenite broths)
رشد می کند، کلنی های بی رنگ تا کهربایی رشد می کند، کلنی های آبی- سیاه با جالی سبز فلزی مهار می شود)به طور جزئی(	*S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *E. coli* (۲۵۹۲۲) *E. faecalis* (۲۹۲۱۲)	هوازی، ۲۴-۱۸ ساعت، C°۳۵	Eosin methylene blue media Levine EMB agar; EMB) ,agar (modified
رشد می کند، ژالتیناز مثبت رشد می کند، ژالتیناز مثبت	*B. atrophaeus* (۶۶۳۳) *C. sporogenes* (۱۱۴۳۷)	۲ تا یا ساعت ۱۸ -۴۸ هوازی C°۳۵، هفته،	Gelatin medium

رشد می کند، ژالتیناز منفی	*E. coli* (۲۵۹۲۲)		
رشد می کند، کلنی های آبی تا سبز-آبی با مراکز سیاه رشد می کند، کلنی های سبز تا سبز-آبی مهار می شود)به طور جزئی(؛ کلنی های زرد مهار)جزئی تا کامل(؛ کلنی های زرد تا زرد-قرمز	*S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *S. flexneri* (۱۲۰۲۲) *E. faecalis* (۲۹۲۱۲) *E. coli* (۲۵۹۲۲)	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	Hektoen enteric (HEK) agar
A/A ،ایجاد گاز A/Alk ،با یا بدون گاز، ایجاد H_2S Alk/A Alk/Alk	*E. coli* (۲۵۹۲۲) *S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *S. flexneri* (۱۲۰۲۲) *P. aeruginosa* (۲۷۸۵۳)	،ساعت ۱۸ -۲۴ ،هوازی C°۳۵	Kligler iron agar (KIA)
رشد متوسط تا خوب. در بررسی میکروسکوپی، دانه های متاکروماتیک و باسیل های زنجیره ای بدون اسپور، شکل چماقی متورم و برجسته دارد رشد کلنی های قهوه ای- سبز با پروتئولیز	*C. diphtheria* (۵۱۶۹۶) *P. aeruginosa* (۱۰۱۴۵)	C°۳۵ ،ساعت ۲۴ -۹۶ ،هوازی	Loeffler medium
SH،ایجاد، Alk/Alk A/Alk ،با یا بدون H_2S Red/A	*S. arizonae* (۱۳۳۱۴) *C. freundii* (۸۴۵۴) *P. vulgaris* (۹۴۸۴)	،ساعت ۱۸ -۲۴ ،هوازی C°۳۵	Lysine iron agar (LIA)
رشد می کند، کلنی های ورتی رشد می کند، کلنی های بی رنگ، مهار جزئی سوارمینگ رشد می کند، کلنی های بی رنگ مهار می شود)به طور جزئی(	*E. coli* (۲۵۹۲۲) *P. mirabilis* (۱۲۴۵۳) *S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *E. faecalis* (۲۹۲۱۲)	،ساعت ۱۸ -۲۴ ،هوازی C°۳۵	MacConkey agar

قلیایی)آبی(بدون تغییر رنگ)سبز(یا زرد) تخمیر دکستروز(	(۱۳۰۴۸) *E. aerogenes* (۲۵۹۲۲) *E. coli*	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	Malonate broth

نتایج قابل انتظار	ارگانیسم های کنترلی شماره ATCC)	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	محیط کشت
رشد، کلنی ها پس از ۴۸ ساعت هاله زرد دارند رشد، کلنی ها پس از ۴۸ ساعت هاله قرمز دارند مهار جزئی در h ۲۴ ،مهار سوارمینگ در h ۴۸	(۲۵۹۲۳) *S. aureus* (۱۲۲۲۸) *S. epidermidis* (۱۲۴۵۳) *P. mirabilis*	،ساعت ۲۴ -۴۸ ،هوازی C°۳۵	Mannitol salt agar
دهیدروالز آرژینین و دکربوکسیالز اورنیتین، منفی)A(و دکربوکسیالز الیزین، مثبت)Alk(دهیدروالز آرژینین و دکربوکسیالز اورنیتین، مثبت)Alk(و دکربوکسیالز الیزین، منفی)A(	(۳۳۴۹۵) *K. pneumoniae* (۱۳۰۴۷) *E. cloacae*	بیهوازی، ۹۶ -۲۴ ساعت، C°۳۵	Moeller decaboxylase acids broth with amino Arginine, Ornithine and) (Lysin
MRمثبت)قرمز(و VP منفی)بدون تغییر(MRمنفی)زرد(و VP مثبت)قرمز(	(۲۵۹۲۲) *E. coli* (۱۳۰۴۸) *E. aerogenes*	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	MR-VP broth

Mycobacteria media Lowenstein-Jensen agar) and (Middlebrook	C°۳۵ ،روز ۲۱< ،CO_2	*M. tuberculosis H37Ra* Group I *M. kansasii* (۲۵۱۷۷) *M. scrofulaceum* (۱۲۴۷۸) Group II (۱۹۹۸۱) Group *M. intracellulare* (۱۳۹۵۰) III Group IV *M. fortuitum* (۲۵۹۲۲) *E. coli* (۶۸۴۱)	رشد می کند رشد می کند رشد می کند -ممکن است روی محیط های انتخابی مهار شود رشد می کند- ممکن است روی محیط های انتخابی مهار شود رشد می کند مهار)جزئی تا کامل روی محیط های انتخابی(
Nitrate broth	C°۳۵ ،ساعت ۴۸ ،هوازی	(۱۷۵۸۸) *P. stutzeri* (۱۹۶۰۶) *A. calcoaceticus*	احیاء نیترات مثبت، تولید گاز احیاء نیترات منفی، عدم تولید گاز
Nonselective mycology media	هوازی، ≤ ۷۲ساعت، C°۳۵-۲۵	or ۶۰۱۹۳) *C. albicans* *T. mentagrophytes* (10231 (۹۵۳۳)	رشد می کند رشد می کند
Nutrient agar (NA)	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	(۱۰۱۴۵) *P. aeruginosa* (۱۲۰۲۲) *S. flexneri* (۲۵۹۲۳) *S. aureus*	رشد متوسط تا زیاد، ایجاد پیگمان سبز رشد متوسط تا زیاد رشد متوسط تا زیاد، کلنی های کرم تا طالبی
Nutrient broth (NB)	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	(۲۵۹۲۲) *E. coli* (۲۵۹۲۳) *S. aureus*	رشد خوب رشد خوب
OF medium with Dextrose	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	(۱۹۶۰۶) *A. calcoaceticus* (۱۳۰۴۸) *E. aerogenes* (۲۷۸۵۳) *P. aeruginosa* (۱۲۰۲۲) *S. flexneri*	لوله بدون روغن، A(زرد(و لوله دارای روغن Alk)سبز(لوله بدون روغن، A(زرد(و گاز و لوله دارای روغن A(زرد(و گاز لوله بدون روغن، A(زرد(و لوله دارای

روغن Alk)سبز(لوله بدون روغن و لوله دارای روغن A(زرد(			
دکستروز، الکتوز و مانیتول AG(اسید و گاز(دکستروز، الکتوز و ساکاروز A(اسید(دکستروز A ، مانیتول Alk(قلیا(و ساکاروز AG دکستروز Alk الکتوز و ساکاروز Alk دکستروز و مانیتول A ،الکتوز و ساکاروز Alk مانیتول AG	*E. coli* (۲۵۹۲۲) *E. faecalis* (۳۳۱۸۶) *P. vulgaris* (۸۴۲۷) *P. aeruginosa* (۱۰۱۴۵) *S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *S. flexneri* (۹۱۹۹) *S. aureus* (۲۵۹۲۳)	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	Phenol red agar/ broth with carbohydrates
مثبت)ایجاد رنگ سبز(منفی)بدون تغییر رنگ(	*P. vulgaris* (۸۴۲۷) *E. coli* (۲۵۹۲۲)	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	Phenylalanine agar

نتایج قابل انتظار	**ارگانیسم های کنترلی شماره ATCC)**	**اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون**	**محیط کشت**
رشد، کلنی های بی رنگ با یا بدون مراکز سیاه رشد می کند، کلنی های بی رنگ مهار می شود)به طور کامل(مهار می شود)جزئی تا کامل؛ کلنی های ورتی تا قرمز با رسوب(	*S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *S. flexneri* (۱۲۰۲۲) *E. faecalis* (۲۹۲۱۲) *E. coli* (۲۵۹۲۲)	C°۳۵ ،ساعت ۲۴ ،هوازی	(SS) *Salmonella-Shigella* agar

Selective mycology media	۲۵°C، روز ۷ ≥، هوازی	(۱۶۴۰۴) *A. niger* (۱۰۲۳۱) *C. albicans* *T. mentagrophytes* (۲۵۹۲۲) *E. coli* (۹۵۳۳)	مهار)جزئی تا کامل(رویمحیط های حاوی سیکوهگزیماید رشد می کند رشد می کند مهار)جزئی تا کامل(روی محیط های حاوی کلرامفنیکل
Selective media for pathogenic *Neisseria* spp.	۲CO، ۴۸- ۲۴ ساعت، ۳۵°C	*N. gonorrhoeae* *P. mirabilis* (۴۳۰۶۹) (۴۳۰۷۱) (۱۲۲۲۸) *S. epidermidis*	رشد می کند مهار)جزئی(فقط برای محیط های حاوی تری متوپریم استفاده شود مهار می شود)به طور جزئی(
Selective media for azide enterococci, with	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، ۳۵°C	(۲۹۲۱۲) *E. faecalis* (۱۹۶۱۵) *S. pyogenes* (۲۵۹۲۲) *E. coli*	رشد می کند، سیاه شدن اطراف کلنی ها مهار می شود)به طور جزئی تا کامل(مهار)جزئی(- کلنی های بی رنگ روی بایل اسکولین آگار
Selective media for azide enterococci, without	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، ۳۵°C	(۲۹۲۱۲) *E. faecalis* (۱۹۶۱۵) *S. pyogenes*	رشد می کند، سیاه شدن اطراف کلنی ها مهار می شود)به طور جزئی تا کامل(
SIM medium	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، ۳۵°C	(۲۵۹۲۲) *E. coli* (۱۳۳۱۱) *S. typhimurium* (۹۲۹۰) *S. sonnei*	تولید SH، منفی، اندول مثبت و حرکت مثبت تولید SH، مثبت، اندول منفی و حرکت مثبت تولید SH، منفی، اندول منفی و حرکت منفی
Simmons citrate agar	۳۵°C، ساعت ۴۸ -۹۶ ، هوازی	(۱۳۰۴۸) *E. aerogenes* (۲۵۹۲۲) *E. coli*	رشد می کند، سطح شیب دار آبی می شود فاقد رشد تا رشد کم، بدون تغییر رنگ

Thioglycollate broth, indicator with or without	هوازی، ۴۸ ساعت C°۳۵ (درپیچ های محکم،)	(۲۵۲۸۵) *B. fragilis* (۲۵۹۲۳) *S. aureus*	رشد می کند رشد می کند
Thioglycollate broth, vitamin K enriched with and hemin	هوازی، ۴۸ ساعت C°۳۵ (درپیچ های محکم،)	(۲۷۳۳۷) *P. anaerobius* (۸۴۸۲) *B. vulgatus* (۱۳۱۲۴) *C. perfringens*	رشد می کند رشد می کند رشد می کند
Thiosulfate citrate bile (TCBS) salts sucrose agar	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	(۹۴۵۹) *V. cholerae* *V. parahaemolyticus* (۲۵۹۲۲) *E. coli* (۱۷۸۰۲) (۱۰۱۴۵) *P. aeruginosa* (۲۹۲۱۲) *E. faecalis*	رشد متوسط تا زیاد، کلنی های زرد رشد متوسط تا زیاد، کلنی های سبز آبی مهار جزئی یا کامل، کلنی هایکوچک و شفاف مهار جزئی یا کامل، کلنی های سبز آبی مهار جزئی یا کامل، کلنی های کوچک و زرد
Triple sugar iron (TSI) agar	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	(۲۵۹۲۲) *E. coli* (۱۴۰۲۸) *S. typhimurium* (۱۲۰۲۲) *S. flexneri* (۲۷۸۵۳) *P. aeruginosa*	A/A ،ایجاد گاز A/Alk ،با یا بدون گاز، ایجاد H_2S Alk/A Alk/Alk

نتایج قابل انتظار	ارگانیسم های کنترلی (شماره ATCC)	اتمسفر، مدت زمان و دمای انکوباسیون	محیط کشت
رشد می کند، کلنی های متوسط تا بزرگ، سفید مایل به خاکستری و کمی محدب موکوئیدی رشد می کند، کلنی های متوسط تا بزرگ، مات، مدور، کامل با پیگمان کرم- زرد تا طالیی رشد می کند	*S. flexneri* (۱۲۰۲۲) *S. aureus* (۲۵۹۲۳) *E. coli* (۲۵۹۲۲)	هوازی، ۴۸ -۲۴ ساعت، C°۳۵	Trypticase soy agar (TSA)
رشد می کند رشد می کند	*E. coli* (۲۵۹۲۲) *S. aureus* (۲۵۹۲۳)	هوازی، ۲۴ -۱۸ ساعت، C°۳۵	Tubed media (brain heart tryptic soy infusion and broth)
اوره آز مثبت، رنگ قرمز ورتی اوره آز منفی، بدون تغییر رنگ	*P. vulgaris* (۸۴۲۷) *S. typhimurium* (۱۳۳۱۱)	C°۳۵ ،ساعت ۸ -۴۸ ،هوازی	Urea agar/ broth
رشد می کند، کلنی های قرمز با مراکز سیاه رشد می کند، کلنی های قرمز با مراکز سیاه مهار جزئی مهار می شود)جزئی تا کامل؛ کلنی های زرد تا زرد- قرمز(	*S. typhimurium* (۱۴۰۲۸) *S. flexneri* (۱۲۰۲۲) *E. faecalis* (۲۹۲۱۲) *E. coli* (۲۵۹۲۲)	C°۳۵ ،ساعت ۲۴ ،هوازی	Xylose lysine desoxycholate agar (XLD)

منبع :

- مبانی تضمین کیفیت در آزمایشگاههای میکروب شناسی، ترجمه زهرا خاتمی، سازمان جهانی بهداشت دفتر منطقه ای شرق مدیترانه

- جزوات و دستورالعمل های اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت، تالیف دکتر شهلا فارسی