پوهنتون طبی کابل

مایکروبیولوژی طبی

جلد اول

پوهاند دوکتور عبیدالله عبید

۱۳۹۱

Dr. Bilal Ahmad Mudasir
Kandahar, Afghanistan

تصنیف باکتری ها

تعریفات: تصنیف، نامگذاری و تشخیص عبارت از سه عرصه مجزا، ولی باهم مرتبط در علـم تکسانومی می‌باشند. تصنیف عبارت از تنظیم اورگانیزم‌ها به اساس شباهت ها و روابط به داخـل گروپ های توکسانومیک می‌باشد. تصنیف اورگانیزم‌های پروکاریوتیک مانند باکتریها مستلزم معلوماتی می‌باشد که به‌صورت تجربوی و نیز بشکل نظری به دست آید، زیرا مشخصات بیوشمیک، فزیولوژیک، جنتیک و مورفولوژیک اکثراً برای توضیح کافی گروپ های توکسانومیک لازم می‌باشند. نامگذاری عبارت از تعیین نام اورگانیزم‌ها به اساس قواعد بین

المللی و در مطابقت با مشخصات همان اورگانیزم می‌باشد. تشخیص عبارت از استفاده عملی از تصنیف جهت نیل به اهداف ذیل می‌باشد:

۱- تجرید و تفکیک اورگانیزم‌های مطلوب از غیر مطلوب

۲- تصدیق و تائید خواص اورگانیزم در کشت و یا در حالات کلینیکی

۳- تجرید و تشخیص عوامل سببی امراض. هدف اخیر الذکر ممکن تعیین تداوی انتخابی را جهت محو اورگانیزم مساعد سازد. عملیه تشخیص صرف بعد از تصنیف مناسب یک گروپ ممکن می‌باشد.

معیارات تصنیف باکتری

معیارات مناسب برای تصنیف باکتری مشتمل بر عده زیادی از مشخصات ذکر شده در فوق می‌باشد. معلومات مفیدی را می‌توان ذریعه معاینه مایکروسکوپیک و مشاهده شکل حجره و موجودیت و یا عدم موجودیت ساختمانهای بخصوص مانند سپور و فلاجیل فراهم نمود. پروسیجر های تلوین مانند تلوین گرام در مورد ماهیت حجره معلوماتی مفیدی ارایه نموده می‌تواند. عده از باکتریها سبب تولید صباغات وصفی گردیده و عده دیگر به اساس انزایم‌های خارج الحجروی خود تشخیص می‌گردد. فعالیت این پروتین‌ها را اکثراً می‌توان به شکل ساحات شفاف در اطراف کالونیهای که درموجودیت مواد غیر قابل حل روئیده باشد، دریافت نمود. (مثلاً هیمولیز در وسط اگر که حاوی حجرات سرخ خون باشد). تعاملات متصالبه ایمونولوژیک می‌تواند در مورد ساختمان‌های سطحی مشابه در باکتریهای متفاوت معلومات دهد. تست های مانند تست اوکسیداز که در آن از electron acceptor مصنوعی استفاده به عمل می‌آید، جهت تفکیک اورگانیزم‌ها به اساس موجودیت انزایم تنفسی (cytochrome C) استعمال می‌گردد. تست های ساده بیوشمیک می‌تواند در مورد موجودیت فعالیت های مشخص میتابولیک معلومات موثق دهد. معیارات تعیین موفقانه گروپ باکتریهای مرتبط با هم، مشتمل بر اندازه گیری حساسیت آنها در مقابل انتی بیوتیکها می‌باشد.

همه مشخصات قبل الذکر توسط جین‌های اورگانیزم‌های مورد معاینه به‌صورت مستقیم ویا غیر مستقیم تعیین می‌گردد. انکشافات و پیشرفت های در عرصه بیولوژی مالیکولی ممکن می‌سازد تا مرتبط بودن جین‌های انواع مختلفه باکتری ها را مورد تحقیق قرار دهیم.

اهمیت معیارات توکسانومیک بستگی به گروپ مورد معاینه دارد. مشخصاتی که در اعضای یک گروپ به‌صورت مشترک موجود باشد، برای تفکیک اعضای آن مفید نمی‌باشد، اما می‌توان گروپ را توسط آن تعریف نمود، (مثلاً همه ستافیلوکوک ها انزایم کتلاز را تولید می‌نمایند.) علاوتاً بی ثباتی

PUBLICATIONS © AAZEM

جنیتیک می‌تواند سبب تغییرپذیری زیادی در عده ای از اورگانیزم‌ها گردد، مثلاً جین‌های مقاومت در مقابل انتی بیوتیک ها و یا جین‌های کودکننده انزایم ها توسط پلازمید ها انتقال یافته می‌تواند. (پلازمید عبارت از عناصر جنتیک خارج از کروموزم بوده که میان باکتریهای غیر مرتبط تبادله گردیده می‌تواند). اکثریت معیارات تصنیف به اساس نموی مایکروازگانیزم ها در لابراتوار استوار می‌باشد. بعضاً اورگانیزم‌های پتوجن مانند treponema در لابراتوار نمی رویند و در چنین حالات معاینات نوکلیک اسیدها ممکن مفید باشد.

سیستم های تشخیص و تصنیف

کلید ها

کلید ها باکتریها را به شیوه یی تنظیم می‌نماید که تشخیص مؤثر اورگانیزم‌ها را ممکن می‌سازد. یک سیستم تشخیصیه آیدیال باید کمترین مشخصات لازم برای تشخیص درست را در بر داشته باشد. گروپ ها به اساس موجودیت (+) و یا عدم موجودیت (-) مشخصات تشخیصیه به گروپ های فرعی تقسیم می‌گردد. ادامه پروسه با استفاده از مشخصات مختلفه محققین را قادر می‌سازد تا کوچکترین گروپ فرعی مشتمل بر اورگانیزم مورد مطالعه را دریافت نماید. در مراحل ابتدایی ممکن گروپ های فرعی تشکیل گرددکه از نظر جنیتیک با هم مرتبط نباشد. مثلاً باکتریهای که صباغ سرخ را تولید می‌نماید، گروپی را تشکیل می‌نمایند که باکتریهای بسیار متفاوت مانند Serratia marcescens و باکتری فوتوسنتیتیک بنفش در آن شامل می‌باشد. دو نوع متذکره باکتری ها اشکال متفاوت داشته و به دو شکل کاملاً متفاوت میتابولیزم انرژی متکی می‌باشند. با آنهم تعیین مقدماتی گروپ های باکتری مفید می‌باشد زیرا محققین را کمک می‌نماید تا با شناسایی کلچرهای دارنده صباغ سرخ جستجو خود را به چند نوع معین مایکروبی محدود سازد.

توکسانومی عددی

توکسانومی عددی یا کمپیوتری در دهه ۱۹۶۰ مروج گردید. از تشخیص کمپیوتری برای ساختن تست های تشخیصیه که در آن انواع کلینیکی مایکروب‌ها از طریق کود های عددی و یا سیستم های probabilistic تشخیص می‌گردد، استفاده به عمل می‌آید.

تصنیف فایلوجنیک (Phylogentic classification)

Phylogentic classification عبارت از اندازه گیری genetic divergence در فایلم های مختلفه می‌باشد. ارتباط نزدیک phylogentic میان دو اورگانیزم وانمود کننده موجودیت اجداد مشترک

PUBLICATIONS ©AAZEM

میان شان می‌باشد و معلومات حاصله از فوسیل ها چنین نظریات را در خصوص اکثریت نباتات و حیوانات آسان ساخته است. اما چنین معلومات در مورد باکتریها موجود نمی‌باشد.

خواص جنیتیک باکتریها تبادله بعضی از جین‌ها را میان اورگانیزم‌های دارنده پیوند ضعیف، ممکن ساخته است. علاوتاً تکثر باکتریها تقریباً در همه موارد بشکل vegetative بوده و میکانیزم های تبادله جنتیک آنها نادراً زمینه تبادله حصص بزرگ از جینوم آنها را مساعد می‌سازد. بناً مفهوم نوع species در پروکاریوت ها و ایوکاریوت ها کاملاً متفاوت است. نوع باکتریایی عبارت از گروپی از باکتریها است که مشخصات معینی میان آنها مشترک بوده و عموماً مشابهت نزدیک باهم دیگر دارند. توکسانومیست ها می‌توانند نوع باکتریایی را به biotypes تصنیف نمایند و می‌توانند species شامل در genera را کلستر نمایند. جدول ذیل طبقات معمول توکسانومیک را نشان می‌دهد؛ اما عمدتاً صرف از نوع، جینس و خانواده استفاده به عمل می‌آید.

تفاوت قابل ملاحظه جنتیک میان باکتری ها موجود می‌باشد و DNA باکتریها تفاوت کسب می‌نماید؛ اما جین‌های سازنده رایبوزوم ها نسبتاً ثابت تر بوده و به سرعت کمتری تفاوت کسب نموده اندکه در مطالعه و کشف باکتریها مفید می‌باشد.

توضیح کتگوریها و گروپ های عمده باکتری ها

دو گر وپ عمده باکتریها موجود می‌باشد: eubacteria و archeobacteria. eubacteria شکل معمولتر باکتری را تشکیل می‌دهد در حالیکه archeobacteria باعث تولید پپتیدوگلایکان نمی‌گردد که یک تفاوت عمده را میان این دو نشان می‌دهد. همچنان archeobacteria در شرایط غیر معمول زنده‌گی می‌نمایند مانند درجه حرارت بسیار بلند، نمک زیاد و یا PH بسیار پائین. علاوتاً این‌ها تعاملات غیر معمول میتابولیک را اجرا می‌نمایند مانند تشکل میتان.

ایوباکتری های گرام منفی که دیوار حجروی دارند

این گروپ غیر متجانس بوده که دارای لفاف حجروی مغلق بوده و شکل حجروی آن مدور، بیضوی، راد های مستقیم و تاب خورده، فنری و یا میله مانند می‌باشد. بعضی اشکال دارای کپسول بوده و تکثر بشکل انقسام دوگانه می‌باشد اما بعضاً با جوانه زدن هم صورت گرفته می‌تواند. Myxobacteria می‌تواند myxospore و fruiting bodies را به‌میان آرد. در صورتیکه حرکت موجود باشد، ذریعه فلاجیل و یا لغزیدن صورت می‌گیرد. اعضا این گروپ ممکن فوتوتروپیک ویا غیر فوتوتروپیک بوده و مشتمل بر اشکال هوازی، غیر هوازی، غیر هوازی اختیاری و microaerphilic می‌باشد. بعضی از اعضای آن پرازیت های مطلق داخل حجروی می‌باشد.

© TAZHEM PUBLICATIONS

ایوباکتری های گرام مثبت که دیوار حجروی دارند

اکثراً دیوار حجروی این اورگانیزم‌ها به‌صورت گرام مثبت تلوین می‌گردد. حجرات ممکن مدور، میله مانند و یا چوبک ها باشد. چوبک ها و میله ها ممکن غیر منشعب و یا هم منشعب باشند. تکثر عموماً توسط انقسام دوگانه بوده و بعضی اشکال سپور تولید می‌نمایند (endospores). این اورگانیزم‌ها عموماً chemosynthetic heterotrophs بوده و مشتمل بر انواع هوازی، غیر هوازی و غیر هوازی اختیاری می‌باشد. این گروپ شامل بر باکتریهای ساده دارای سپور و بدون سپور بوده و نیز انواع پیچیده و مغلق که عبارت از اکتینومایسیت ها و انواع مشابه آن می‌باشد، در آن شامل است.

Eubacteria های فاقد دیوار حجروی

این اورگانیزم‌ها به‌صورت معمول mycoplasma نامیده شده و مشتمل بر کلاس mollicutes می‌باشد. این‌ها مواد پیشقدم peptidoglycan را نساخته و توسط غشا پلازمایی احاطه گردیده اند.

اورگانیزم‌های متذکره مشابه اشکال L بوده اما مایکوپلازما نمی‌توانند مانند اشکال L دوباره به شکل غشا دار تبدیل گردد. علاوتاً هیچ تشابه جنیتیک میان مایکوپلازما و اشکال L وجود ندارد.

شش genera در مایکوپلازما موجود بوده که صرف دو آن برای انسانها پتوجن می‌باشد. این اورگانیزم‌ها بسیار pleomorophic بوده و اندازه آن متفاوت بوده که بعضی آن حتی قابل فلتر می‌باشد (0.2 مایکرومتر). تکثر ذریعه جوانه زدن، fragmentation، انقسام دوگانه و یا به‌صورت ترکیب از میتود های فوق می‌باشد. اکثراً مستلزم اوساط مغلق بوده که کالونی های وصفی fried egg را تشکیل می‌دهد. یکی از مشخصات ویژه آن نیاز به کولسترول برای نمو می‌باشد.

Archeobacteria ها

این اورگانیزم‌ها اغلباً در شرایط غیر معمول زیست نموده بعضاً بشکل همزیستی در طرق هضمی حیوانات موجود می‌باشد. این‌ها مشتمل بر اورگانیزم‌های ایروبیک، غیر ایروبیک و غیرایروبیک اختیاری بوده و به شکل heterotroph، chemolithotroph و یا facultative heterotroph می‌باشد. بعضی از انواع آن mesophiles بوده درحالیکه انواع دیگر در درجه حرارت بلندتر از ۱۰۰درجه سانتی گراد نمو می‌نماید. انواع اخیرالذکر عادت به زیست نمودن در درجه های حرارت بسیار زیاد را کسب نموده که به نام hyperthermophilic یاد می‌شود و انزایم‌های موجود در حجرات شان نسبت به انزایم‌های حجرات میزوفیلیک باثبات تر می‌باشد. بعضی ازین انزایم‌های باثبات مانند DNA polymerase از Thermus aquaticus بخش عمده از میتود هایی amplification را تشکیل می‌دهد، مانند عملیه PCR. تفاوت میان archeobacteria و Eubacteria را می‌توان توسط عدم

© AAZEM PUBLICATIONS

موجودیت دیوار حجروی peptidoglycan، موجودیت شحمیات isoprenoid diether و یا diglycerol tetra ether و موجودیت RNA بخصوص، نشان داد. همچنان archeobacteria ها عده ای از تشابهات مالیکولی با eukaryotes دارند. حجرات آن ممکن مختلف الشکل باشند و اشکال مدور، فنری، هموار یا میله مانند، دیده شده می‌تواند. شکل وحیدالحجروی و چندین حجروی در میله ها و یا به شکل تجمعات نیز دیده شده می‌تواند. تکثر به‌صورت انقسام دوگانه، جوانه زدن، constriction، fragmentation و یا میکانیزم های نامعلوم صورت گرفته می‌تواند.

Subtyping و استفاده از آن

در بعضی حالات مثلاً در اپیدیمی ها لازم است تا strains یک نوع را از هم تفکیک نمود و یا اینکه یک سترین معین را تشخیص نمود. این عملیه به نام تعیین تایپ های فرعی (subtyping) یاد می‌گردد. درین عملیه از مشخصات باکتریایی استفاده بعمل می‌آید که تشخیص مفصلتر از نوع را ممکن سازد. جهت مثمر بودن کار در همه عملیه‌های subtyping لازم است تا مایکروب‌های مشتمل در واقعات را از مایکروب‌های غیر مشتمل تفکیک نمود. حسب معمول subtyping ذریعه biotyping, serotyping، تست های حساسیت مقابل انتی بیوتیک ها، bacteriophage typing و bacteriocine typing صورت می‌گیرد. مثلاً به اساس تفاوت های انتیجنیک در انتیجن LPS O بیشتر از 130 سیروگروپ ویبریوکولرا کشف گردیده اند، اما صرف اشکال O1 و O139 در کولرای اپیدیمیک و پاندیمیک نقش دارد. در اشکال اخیر صرف سترین های که سبب تولید توکسین می‌گردد، virulent می‌باشد، مثلاً شکل O1.

nontoxigenic V. cholera با کولرای اپیدیمیک ارتباط نداشته و از specimen های محیطی، مواد غذایی و از مریضان مصاب به اسهالات sporadic، تجرید گردیده است.

مواجه شدن با عامل سببی که از یک منبع واحد انتانی منشآ می‌گیرد، در تعداد زیادی از وقوعات انتانات نقش دارد. عموماً می‌توان گفت که این عوامل سببی یا مایکرواورگانیزم‌های مرضی clonal می‌باشد یعنی از یک حجره واحد مادری منشآ گرفته و زاده همان حجره می‌باشد و بدینصورت در همه موارد از نظر جنیتیک یکسان اند. بنابران می‌توان گفت که subtyping نقشی مهمی در تشخیص مایکرواورگانیزم‌ها دارد. پیشرفت های اخیر در عرصه بیوتکنالوژی توانمندی ما را در subtype نمودن مایکرواورگانیزمها بسیار زیاد ساخته است. تکنالوژی hybridoma منتج به ساختار انتی بادیهای monoclonal در مقابل انتیجنهای سطح حجرات گردیده است. میتودهای molecular typing قدرت تشخیصیه سیستم های subtyping را ازدیاد بخشیده و اثرات قابل ملاحظه بر اپیدیمولوژی انتانات

© AAZEM PUBLICATIONS

داشته است. این شیوه در مقابل مواد معین حساس می‌باشد مثلاً میتود های برای تشخیص lipopolysaccharide، میتودهای تشخیص پروتینها و میتود های تشخیصیه نوکلییک اسید. تحلیل و مطالعه LPS ذریعه Sodium Dedecyl Sulfate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) در باکتریهای گرام منفی به ساده‌گی اجرا شده می‌تواند.

Multi Locus Enzyme Electrophoresis(MLEE) نیز برای مایکرواورگانیزم‌های پتوجن مورد استفاده قرار گرفته است. با استفاده ازین میتود علما در مرکز کنترول امراض CDC توانسته اند تا دریافت نمایند که سیروتایپ E. Coli O157:H7 را که در وقوعات hemorrhagic colitis و Hemolytic uremic syndrome نقش دارد، از یک clone که در امریکایی شمالی به‌صورت گسترده موجود است، تولد گردیده اند.

انکشافات و پیشرفتهایی حاصله که در عرصه تجرید، تسلسل و amplification نوکلییک اسیدها به‌میان آمده، منتج به‌میان آمدن سیستم های subtyping به اساس نوکلیک اسیدها می‌گردد که مشتمل اند بر plasma profile analysis، ribotyping، pulse field gel electrophoresis، PCR amplification و nucleic acid sequence analysis.

شیوه های تشخیص مایکرواورگانیزمها بدون زرع آن

تعداد تخمینی مایکروب‌های کشت ناشده واضح نمی‌باشد؛ اما معلومات اخیر نشان می‌دهد که بسیار زیاد است. تشخیص مایکروب‌ها تا این اواخر مستلزم کشت و حصول کلچر خالص و بعداً اجرا معاینات فزیولوژیک و بیوشمیک می‌باشد. علما از مدت زیادی در مورد مایکروب‌های غیر قابل زرع معلومات داشتند و فعلاً از شیوۀ کار می‌گیرند که با کمک PCR و با استفاده از rRNA می‌توان مایکروب‌ها را تشخیص نمود. از ین شیوه برای کشف و تشخیص یک نوع از اکتینومایسیت ها استفاده شده که whipple disease rod shape bacterium است و پیشنهاد گردیده تا به نام Tropheryma whippelli مسمی‌شود. عامل سببی bacillary angiomatosis تشخیص گردیده و نام آن Bartonella henselae می‌باشد و نیز به اثبات رسیده که pneumocystis carinii از جمله فنگس‌ها می‌باشد.

© AAZEM PUBLICATIONS

انتی بیوگرام یا حساسیت مایکروب ها به مقابل انتی بیوتیک ها

مقدمه

برای دلایل عمده ذیل حساسیت مایکروب‌ها به مقابل انتی بیوتیک تعیین می‌شود:

- برای رهنمائی نمودن دوکتور معالج تا مناسب ترین انتی بیوتیک را برای هر فرد از مریضان خود انتخاب نماید.
- نگهداشت ثبت حساسیت مایکروب‌های یک جامعه و انتانات شفاخانه به مقابل انتی بیوتیک ها و تغییراتی که به مرور زمان در آن رخ می‌دهد.
- رهنمائی نمودن مسوؤلین پروگرام ملی تداوی کتگوری امراض بخصوص مانند انتانات حاد طرق تنفسی، اسهالات و امراضیکه توسط مقاربت جنسی انتقال می‌نمایند.
- کشف تغییراتیکه در نوع و توزیع مقاومت به مقابل انتی بیوتیک ها در امراض که غیراز شفاخانه رخ می‌دهد.

PUBLICATIONS AAZEM ©

این عملیه بالای تمام مایکروب‌هایی که قبلاً حساسیت آنها معلوم نشده و سبب انتاناتی می‌گردند که ایجاب کیموتراپی را می‌نمایند، باید اجرأ شود.

تست حساسیت مایکروب‌ها قدرت انتی بیوتیک را نشان می‌دهد که در لابراتوار تحت شرایط معیاری مانع نشونمای مایکروب می‌گردد. این نهی نشونما به دو طریقه ای رقیق سازی و انتشار تخمین می‌گردد.

در تست رقیق سازی، فعالیت انتی بیوتیک طوری تخمین می‌گردد که غلظت ها مختلف انتی بیوتیک را در وسط زرعیه ای مایع یا جامد می‌سازند و بعد مایکروب مورد نظر را در آن زرع

می کند. پایان ترین غلظت انتی بیوتیک که مانع نشونمای قابل دید مایکروب بعد از گذشت یک شب گردد به نام Minimal inhibitory Concentration (MIC) مایکروب یاد می‌گردد.

در تست انتشار اصول کیربی باور (Kirby Bauer) یک دیسک کاغذی را گرفته با یک مقدار انتی بیوتیک آنرا مغطوس (Impregnate) می‌سازند و بالای یک وسط Agar دار که در آن مایکروب مورد نظر بصورت متجانس زرع شده باشد می گذارند.

انتی بیوتیک از کاغذ بداخل وسط زرعیهٔ انتشار می‌نماید. هرقدر که از مرکز دیسک دور شویم غلظت انتی بیوتیک کمتر شده می رود. بعد از گذاشتن به درجه ای حرارت 35°c برای 18 تا 24 ساعت دیده می‌شود که نشونمای مایکروب به شکل دایروی به دور دیسک نهی گردیده است. قطر این دایره، در بین دیگر عوامل، تابع حساسیت مایکروب به انتی بیوتیک دیسک می‌باشد. منطقه ای بزرگ نهی مترافق است یا حساسیت زیاد مایکروب به مقابل انتی بیوتیک منطقه ای متوسط نهی مترافق است با حساسیت متوسط آن و عدم منطقه ای نهی مترافق است به مقاومت مایکروب به مقابل انتی بیوتیک داخل دیسک کاغذی یک ارتباط تقریباً خطی بین لوگارتم غلظت اصغری نهی (MIC) و قطر زون نهی شده که به این دو طریقه ای مختلف تعیین می‌گردد وجود دارد. اگر حساسیت مایکروب‌های مختلف به این دو طریق تعیین گردد، می‌توان یک Regression Line را بدست آورد.

انتخاب وسط زرعیه برای تست انتشار (Diffusion Test) بسیار مهم می‌باشد، زیرا انتی بیوتیک در اوساط زرعیه ای مختلف بصورت متفاوت انتشار می کند. بعضی اوساط زرعیه می‌تواند موادی داشته باشد که فعالیت انتی بیوتیک را نهی کند مانند Sulfonamide و Trimethoprim. غلظت Agar، ضخامت وسط زرعیه و PH آن نیز عوامل مهم می‌باشند. اگر ضخامت وسط زرعیه کم باشد منطقه ای نهی بصورت کاذب بزرگ می‌باشد و اگر زیاد باشد منطقه ای نهی بصورت کاذب کوچک می‌باشد.

اعتماد بر تست حساسیت به مقابل انتی بیوتیک به انجام دادن تست به اصول ستاندرد و کنترول کیفیت مناسب و درست آن تعلق دارد.

تعبیر تست حساسیت عادتاً به سه درجه داده می‌شود:

- حساس (S) اگر انتان توسط مایکروبی به وجود آمده باشد که احتمال دارد انتان با دادن

PUBLICATIONS AZEM ©

مقدار یا Dosage عادی آن انتی بیوتیک شفا یاب گردد.

- متوسط (Intermediate (I که احتمال دارد انتان با مقدار بلند آن انتی بیوتیک جواب بدهد. یا وقتیکه انتان در جائی رخ داده باشد که غلظت انتی بیوتیک در آنجا زیاد گردد مانند طرق بولی.
- مقاوم (Resistant (R که مایکروب به دادن انتی بیوتیک، صرف نظر از مقدار دادن انتی بیوتیک و محل انتان، جواب شاید ندهد.

شکل ۲ – ۴ تست انتی بیوگرام و اندازه گیری قطر نواحی نهی شده مایکروب به مقابل انتی بیوتیک ها

نامگذاری حساس و مقاوم باکتری ها عموماً به سویه ای غلظت انتی بیوتیک ارتباط دارد که در سیرم بدست آمده بتواند. انتی بیوتیک هائیکه از طریق گرده اطراح می‌شوند در ادرار غلظت آنها به کرات بیشتر از سیرم می گردد. مایکروب‌هائیکه از انتان طرق بولی تجرید می‌شوند و حساسیت آنها به اصول انتشار در "اگر" متوسط یا حتی مقاوم باشد می‌تواند در طرق بولی به همان انتی بیوتیک حساس باشد.

به همین دلیل برای انتی بیوتیک که تنها برای تداوی انتان طرق بولی استعمال می‌گردند مانند Nitrofurantoin, Trimethoprim, Sulfonamide و Nalidixic Acid اندازه ای زون نهی شده ای آنها مطابق به غلظت آنها در ارار تعیین شده است.

تست حساسیت فعالیت انتی بیوتیک را به مقابل مایکروب‌ها در تحت شرایط لابراتوار اندازه می‌نمایند، اما کنترول انتان را نزد هر مریض تضمین نمی‌تواند. جذب، انتشار در نسج، میتابولیزم، اطراح و سمیت انتی بیوتیک های مختلف متفاوت می‌باشد که قبل از توصیه ای انتی

بیوتیک باید مد نظر گرفته شود.

برای بعضی انتی بیوتیک ها فاصله بین غلظت مؤثر و غلظت سمی آن در خون بسیار کم است. در خون مریضانیکه این انتی بیوتیک ها را می‌گیرند غلظت آنها باید شدیداً زیر نظارت گرفته شود، مخصوصاً اگر انتان شان شدید باشد و خود شان Dehydrated باشند و وظایف جگر یا گرده ای شان مختلف باشد.

دو سویه ای غلظت انتی بیوتیک اندازه می‌شود یکی غلظت اعظمی در سیرم که بعد از زرق بعدی از یک مدت کوتاه حاصل می‌شود و دیگر غلظت اصغری در سیرم که فقط پیش از زرق بعدی به آن می‌رسد.

اکثراً انتانات طرق بولی سفلی سلیم بوده حتی بدون تداوی می‌تواند خوب شود لذا انتی بیوتیک بسیار قیمتی یا سمی به ندرت ضروری می‌باشد و نباید یومیه راپور داده شود.

عبور انتی بیوتیک به داخل مایع نخاع شوکی (C.S.F) برای انتی بیوتیک های مختلف متفاوت می‌باشد. تنها انتی بیوتیک هاییکه تا رسیدن به غلظت مؤثر در تداوی در داخل مایع نخاع شوکی عبور نموده بتواند باید راپور داده شود. (8)

PUBLICATIONS

Penetration of antibiotics into the CSF		
Good	Intermediate	Poor or none
Chloramphenicol	Pencillin G	Clindamycin
Sulphamide	Ampicillin	Vancomycin
Trimethoprim	Ceftriaxone	Tetracycline
Metronidazole	Cefuroxime	Erythromycin
Isoniazid	Cefotaxime	Flucytosine
Rifampicin	Methicillin	Cephalothin
Pyrazinamide	Ethambutol	
Ethionamide		
Amphotericin B		

© AAM

زرع برای انتی بیوگرام می‌تواند از نمونه ای که از مریض گرفته می‌شود صورت گیرد که به نام تست حساسیت مستقیم یا direct susceptibility test یاد می‌شود. یا از زرع خالص مایکروب صورت می‌گیرد که به نام تست حساسیت غیر مستقیم یا indirect susceptibility test یاد می‌شود.

تست حساسیت مستقیم دارای مزایای ذیل می‌باشد:

- راپور دادن را سرعت می بخشد.
- تجرید نمودن باکتری ها را در یک زرع مخلوط آسان می‌سازد.
- تعداد کم از انواع مقاوم را شناسائی می کند.

مشکل عمده درین است که بدست آوردن زرع ستاندرد برای تست حساسیت از نمونه ای مریض آسان نیست. اگر نموی مایکروب در زرع برای حساسیت مستقیم بسیار کم یا بسیار زیاد باشد، باید تست حساسیت تکرار شود و تخنیک ستاندرد برای هر یک از انواع مایکروب‌ها استعمال گردد.

دیسک های تجارتی برای تعیین انتی بیوگرام

هر دیسک تجارتیکه قطر و مقدار انتی بیوتیک مناسب داشته باشد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. دیسک ها به 20°c- نگهداری شوند. دیسک هایی که مورد استفاده قرار می‌گیرند باید به 4 تا 8 درجه سانتی گراد گذاشته شوند. اما برای اینکه رطوبت بالای آن بصورت اصغری تشکیل گردد قبل از باز کردن گذاشته شود تا درجه ای حرارت اتاق را بگیرد.

تهیه ای دیسک انتی بیوگرام در لابراتوار

۱- از کاغذ فلتر یا کاغذ جاذب خوب دیسک ها به قطر 5 تا 6 ملی متر قطع می‌شود.

۲- بالای هر دیسک حرفی را بنویسید که محتویات انتی بیوتیک های مختلف را نشان بدهد.

۳- دیسک ها را برای یک ساعت به حرارت خشک به 160 درجه ای سانتی گراد تعقیم نمائید.

۴- طبق جدول ذیل محلولات رقیق انتی بیوتیک های مختلف را در محلل انتی بیوتیک بسازید:

Antibiotics	Dry substance per vial	Disk content	Dilution & added antibiotic solvent	Concentration in final dilution
Ampicillin	250 mg	10 µg	250 mg/10 ml,	
			25 mg/ml + 9 ml	
			2.5 mg /ml + 4 ml	500 µg/ml
Penicillin G	100.000 IU	10 µg	60 mg/10 ml	

AAZEM PUBLICATIONS ©

	60 mg		6 mg/ml + 1 ml	
			3 mg/ml + 5 ml	500 µg/ml
Ceftriaxone,	250 mg	30 µg	250 mg/10 ml	
Cephalothin			6x25 mg/ml + 9 ml	
			15 mg/ml + 9 ml	1500 µg/ml
Cefuroxime	750 mg	30 µg	750mg/10 ml	
			75 mg/ml + 4 ml	
			15 mg/ml + 9 ml	1500 µg/ml
Chloramphenicol	1g	30 µg	1g/10 ml	
			3x100mg/ml+7ml	
			30 mg/ml+ 9 ml	
			3mg/ml+1 ml	1500 µg/ml
Ciprofloxacin	40 mg	5 µg	400mg/10 ml	
			400mg/ml+9ml	
			4 mg/ml+ 3 ml	
			1mg/ml+3 ml	250 µg/ml
Clindamycin	300 mg	2 µg	300mg/3 ml	
			100mg/10ml	
			10 mg/10 ml	
			1 mg/10 ml	100 µg/ml
Erythromycin	100 mg	15 µg	100 mg/4 ml	

© AAZEM PUBLICATIONS

			3x25 mg/ml+ 7 ml	
			7.5 mg/ml+ 9 ml	750 µg/ml
Gentamyein	20 mg	10 µg	20 mg/10 ml	
			2 mg/ml+ 3 ml	500 µg/ml
Oxacillin	250 mg	7 µg	250 mg/10 ml	
			25 mg/ml+ 9 ml	
			2.5 mg/ml+ 9 ml	
	100.000 IU	10 µg	0.25 mg/ml+4ml	50 µg/ml
piperacillin	1 g	100 µg	1 g/10 ml,	
			100 mg/ml+ 1 ml	5 mg/ml
			50 mg /ml+ 9 ml	
Streptomycin	500 mg	10 µg	500 mg/10 ml	
			50 mg/ml+ 9 ml	
			5 mg/ml+ 9 ml	500 µg/ml
Sulfisoxazole	1 mg	300 µg	1 g/10 ml	
			3x100 mg/ml+ 7 ml	
			30 mg/ml+ 1 ml	15 µg/ml
Tetracycline	500 mg	30 µg	500mg/10 ml	
			3x50 mg/ml+ 7 ml	
			15 mg/ml+ 9 ml	1500 µg/ml

© AAZEM PUBLICATIONS

۵- بالای هر دیسک 20 مایکرولیتر از محلول رقیق شده ای آخری هر انتی بیوتیک را بیاندازید.
۶- دیسک ها را در یک قطی پتری انداخته در داخل انکیوبتور تا فردا آن ها را خشک کنید. سرپوش پطری دیش را قدری بلند بگذارید.
۷- دیسک ها را در یک بوتل انداخته لیبل و تاریخ بزنید. سر بوتل باید خوب بسته باشد که هوا در آن داخل شده نتواند. برای نگهداری دراز مدت که از یک سال بیشتر نباشد به $20^{o}c$- در فریزر آنرا نگهداری کنید.
۸- دیسکهاییکه از آن کار گرفته می‌شود تا یک هفته در یخچال نگهداری شده می‌تواند.
۹- بوتل دیسک ها را از فریزر یا یخچال یک تا دو ساعت پیشتر از استعمال بیرون بکشید تا درجه ای حرارت اتاق را قبل از باز کردن بگیرد. این کار مقدار رطوبت را که در بالای دیسک تراکم می‌کند به حد اصغری کاهش می‌دهد.

کنترول کیفیت: هر Batch دیسک را بالای مایکروب‌های کنترول امتحان کنید که‌کار می‌دهد یانه. پتوجن های هوازی که بالای Mueller-Hinton agar می رویند:

تخنیک که در ذیل شرح داده شده اشاره ای است به Kirby-Bauer method که در هرجا میسر است و خوب به ثبوت رسیده است.

Mueller-Hinton agar

۱. از یک Mueller-Hinton agar کنترول کیفیت شده طبق توصیه ای کمپنی تولید کننده یک وسط زرعیه بسازید.
۲. در قطی پطری دیش به عمق 3-4 ملی متر آنرا بریزید. یک قطی پطری دیش 9 سانتی متره تقریباً 20 تا 25 ملی لیتر وسط زرعیه به کار دارد، در حالیکه یک قطی پطری دیش 14 سانتی متره به 60 ملی لیتر ضرورت دارد. پطری دیش را در یک سطح هموار گذاشته معطل شوید تا منجمد شود.
۳. پطری دیش را خشک نموده به 2-4 درجه ای سانتی گراد نگهداری کنید PH وسط به درجه ای حرارت اتاق باید 7.2 تا 7.4 باشد.

ستاندرد مکدریت (Turbidity standard)

برای اینکه معلق مایکروب را که زرع می نمایید عیار سازید، یک ستاندرد barium sulphate turbidity standard را باید بسازید.

PUBLICATIONS © AAZEM

اول محلولات ذیل را بسازید:

0.048 M Ba Cl_2 solution	
$BaCl_2$, $2H_2O$	*1.175 g*
Distilled water	*100 ml*
0.36 N H_2SO_4 solution	
H_2SO_4, conc	*1 ml*
Distilled water	*100ml*

بعد محلولات ذیل را به هم یکجا بسازید.

0.048 M $BaCl_2$	*0.5 ml*
0.36 N H_2SO_4	*99.5 ml*

در تیوب ها در هر یک 5 ملی لیتر توزیع نموده سر آنها را با ستاپر رابری محکم کنید. قبل از استعمال تیوب را شدیداً شور بدهید.

این ستاندرد باید در تاریکی به درجه ای حرارت اتاق نگهداری شود و تا شش ماه نگهداری شده می‌تواند. (8)

عملیه

۱) از یک زرع یک شبه 4 تا 5 کالونی خوب جداگانه ای هم شکل را انتخاب کنید. نوک سوزن زرع را در قسمت بالائی کالونی تماس بدهید. در داخل آن باید سوزن نرود. در تیوبیکه در آن 5 ملی لیتر محلول 0.9 فیصد سودیم کلورایډ باشد انتقال بدهید.

۲) مکدریت آنرا با مکدریت ستاندرد مقایسه کنید با علاوه کردن مایکروب یا محلول نمک معقم مکدریت آنرا با مکدریت ستاندرد برابر نمائید. برای اینکه نموی مایکروب‌ها متجانس باشد و کولونی ها تقریباً به تماس یکدیگر بیایند باید مکدریت خوب عیار شود.

۳) مایکروب را در *Meuller Hinton agar plate* ذیلاً زرع کنید:

- دو قطره ای معلق مایکروب را در بالای Agar باندازید توسط Spreader شیشه ای آنرا طوری پخش کنید که تمام سطح Agar را بگیرد.
- یک سواب معقم پنبه ای را در معلق مایکروب غوطه کنید. مایع اضافگی را با فشار دادن شدید پنبه به جدار تیوب و دور دادن آن از پنبه دور کنید. سواب را در تمام سطح Agar بمالید.

۴) سرپوش قطی پتری را بالای آن گذاشته برای 3 الی 5 دقیقه آنرا بگذارید تا قبل از گذاشتن دیسک انتی بیوتیک مایع اضافگی سطح توسط Agar جذب گردد.

۵) توسط یک فورسپس یا سوزن دیسک های انتی بیوتیک را اقلاً 24 ملی متر دور از یکدیگر در بالای Agar زرع شده بگذارید. در قطی پتری های 9 سانتی متره بصورت اعظمی پنج دیسک (برای مایکروب‌های Fastidious چهار دیسک). اگر قطی پتری های 14 سانتی متر استعمال شده باشد بصورت اعظمی 12 دیسک (برای مایکروب‌های Fastidious نه (9)

© KAZEM PUBLICATIONS

دیسک استعمال می‌گردد. وقتیکه یک دیسک در یکجا گذاشته می‌شود باید شور داده نـه شـود، زیرا به مجرد گذاشتن دیسک انتشار انتی بیوتیک شروع می‌شود.

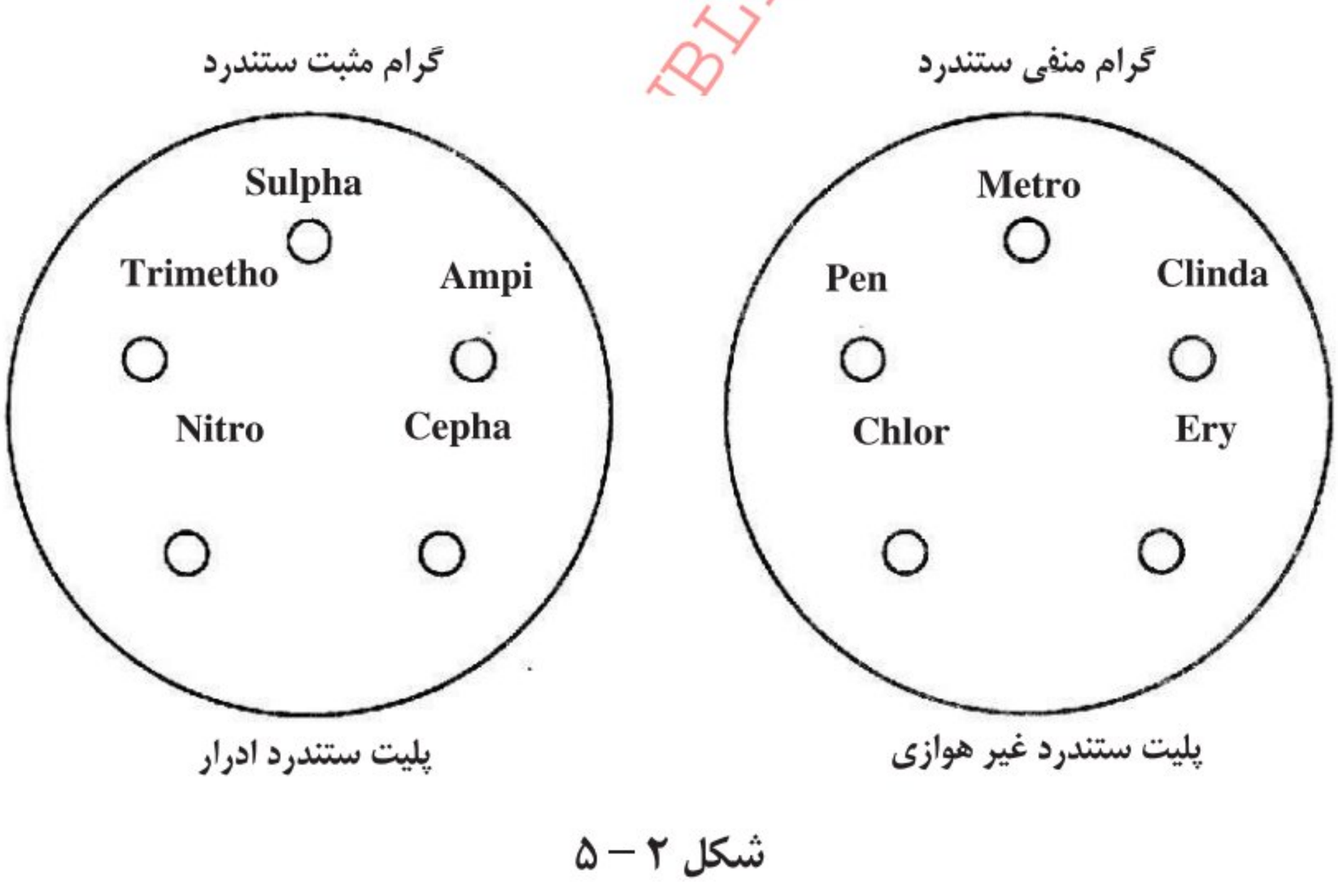
۶) قطی پتری ها را در انکیوبتور به 35 درجه ای سانتی گـراد بگذاریـد. طـول مـدت آن ذیـلاً بـه مایکروب‌های تحت امتحان تعلق دارد:

- *Staphylococci & Enterococci: 24 hours*
- *Haemophilus influenzae, Streptococcus, Pneumoniae & Neisseria gonorrhoeae: 20-24 hours in 5-7% carbon dioxide or in a candle jar*
- *All other species: 16-18 hours*

۷) اگر زرع درست صورت گرفته باشد بعد از 18 الی 24 ساعت کالونی هـا به اندازه ای مـی‌شـود که در بین آنها Agar محـض قابـل دیـد مـی‌باشـد و تمـام زون هـای نهـی شـده بـصورت متحدالشکل دایروی می‌باشد. اگر نموی مایکروب‌ها بسیار ضخیم یا بسیار نازک باشد معاینـه را تکرار کنید.

۸) قطر هر زون نهی شده (به شمول قطر دیسک) را به ملی متـر انـدازه نمائیـد و نتیجـه را طبـق جدول تعبیر نمائید.

۹) نتیجه را برای قطی پتری test و کنترول ثبت نمائید.



پلیت ستندرد ادرار — پلیت ستندرد غیر هوازی

شکل ۲ – ۵

۱۰) بعداز گذاشتن در انکیوبتور با استفاده از یک خطکش قطر منطقه ای نهی شده را بـه ملـی متـر اندازه نمائید.

۱۱) بسیار کولونی های بزرگ که در داخل ناحیه ای نهی شده می‌روند باید دوبـاره زرع و شناسـائی گردند و انتی بیوگرام آن دوباره تعیـین شـود. بعـضی اوقـات انـواع مـایکروب‌هـای *Protesu*

mirabilis and P. vulgaris می‌تواند در منطقه ای نهی شده گردش نمایند لاکن هنوز هم حساس می‌باشند. با بعضی Batch های Mueller – Hinton Agar در منطقه ای نهی شده ای نادیده گرفته شود و تنها حاشیهٔ نموی ضخیم برای تعیین منطقه ای نهی شده گرفته شود.

۱۲)منطقه ای نهی شده را تعبیر نموده راپور مایکروب را حساس (S) متوسط (I) و مقاوم (R) بدهید.

شکل ۲ – ۶ اندازه نواحی ایکه توسط انتی بیوتیک ها نهی شده می‌توانند.

Antibiotic or chemotherapeutic agent	Disc potency	Diameter of zone of inhibition (mm) Resistant	Intermediate/ moderately susceptible	Susceptible
amikacin	30 µg	⩽14	15–16	⩾17
ampicillin when testing:				
– Enterobacteriaceae	10 µg	⩽13	14–16	⩾17
– *Enterococcus faecalis*	10 µg	⩽16	—	⩾17
benzylpenicillin when testing staphylococci	10 IU	⩽28	—	⩾29
ceftriaxone	30 µg	⩽13	14–20	⩾21
cefuroxime sodium	30 µg	⩽14	15–17	⩾18
cefalotin	30 µg	⩽14	15–17	⩾18
chloramphenicol	30 µg	⩽12	13–17	⩾18
clindamycin	2 µg	⩽14	15–20	⩾21
co-trimoxazole	25 µg	⩽10	11–15	⩾16
erythromycin	15 µg	⩽13	14–22	⩾23
gentamicin	10 µg	⩽12	13–14	⩾15
nalidixic acid	30 µg	⩽13	14–18	⩾19
nitrofurantoin	300 µg	⩽14	15–16	⩾17
oxacillin when testing:				
– staphylococci	1 µg	⩽10	11–12	⩾13
– pneumococci	1 µg	⩽19	—	⩾20
piperacillin when testing:				
– Enterobacteriaceae	100 µg	⩽17	18–20	⩾21
– *Pseudomonas*	100 µg	⩽14	15–17	⩾18
sulfonamides	300 µg	⩽12	13–16	⩾17
tetracycline	30 µg	⩽14	15–18	⩾19
tobramycin	10 µg	⩽12	13–14	⩾15
trimethoprim	5 µg	⩽10	11–15	⩾16

شکل ۲ – ۷ اندازه نهی انتی بیوتیک ها به ملی متر

باکتری‌های آنا یروبیک (Anaerobic bacteria)

امتحان حساسیت باکتری‌های آن آیروبیک توسط disk diffusion method تنها وقتی امکان پذیر است اگر قطر منطقه ای نهی شده بعد از 24 ساعت در انگیوبتور اندازه شود. حتی درین صورت the agar and broth dilution method بیشتر قابل اعتماد است و در تمام واقعاتیکه انتان شان وخیم و بحرانی است باید استعمال شود.

عملیه

۱) آنایروبیک هایی که به سرعت می رویند مانند *Bacteroids fragitis* و *Clostridium* در وسط *Mueller-Hinton* و باکتری‌های ایروبیک در وسط *Blood Agar* کشت می‌شوند تا بعد از 24 ساعت به اندازهٔ کافی برویند.

۲) دیسک های کاغذی *Penicillin*، *Metronidazole*، *Chloramphenicol* و *Clindamycine* را بالای پطری دیش کشت شده بگذارید و آنرا در *Aneorobic Jar* به درجهٔ حرارت $35°c$ بگذارید.

۳) قطر منطقه ای نهی شده را توسط خط کش یا *Calliper* به ملی متر اندازه کنید.

۴) مایکروب‌های آن آیروبیک تنها حساس (*S*) و مقاوم (*R*) راپور داده می‌شود. حساسیت بین البینی یا *intermediate* استعمال نمی‌شود.

۵) به منظور تعبیر نتایج قطر منطقه های نهی شده ذیلاً داده شده است:

Zone diameter in mm	*Resistant*	*Sensitive*
Penicillin	*<19*	*>20*
Ampicillin	*<24*	*>25*
Cephalosporin	*<24*	*>25*
Piperacillin	*<29*	*>30*
Clindamycin	*<19*	*>20*
Chloramphenicol	*<34*	*>35*
Erythromycin	*<24*	*>25*
Tetracycline	*<29*	*>30*
Metronidazole	*<19*	*>20*

© FAZEM PUBLICATIONS

Extended Spectrum β–lactamases (ESBLs) عبارت از انزایم هائی اند که توسط باسیل های گرام منفی تولید می‌شوند که قدرت غیر فعال ساختن انتی بیوتیک های *β- Lactam* را که دارای گروپ *Oxyimino* باشند دارند، مانند *Ceftizoxime*، *Ceftriaxone*، *Cefotaxime*، *Cefuroxime*، *Cefpodoxime*، *Cefpirome* و *Ceftazidime*. اینها به نام *Spectrum Extended* یاد می‌شوند، زیرا یکتعداد زیاد انتی بیوتیک های *β- Lactam* را هایدرولیز می‌نمایند.

ESBLs توسط Plasmid از یک مایکروب بر مایکروب دیگر انتقال می‌نماید و عموماً در مایکروب‌هایی از قبیل Proteus Mirabilis، E. Coli، Klebsilla Pneumonia و سلمونیلا پیدا می‌شود.

توصیه می‌شود که تمام لابراتوار های مایکروبیولوژی سریری تمام باکتری‌های انتریک گرام منفی را برای مقاومت به مقابل Cefpodoxime امتحان نمایند. اگر حساسیت آن به مقابل Cefpodoxime کم شده باشد تست برای تولید انزایم ESBL باید انجام شود. تمام انواع تولید کنندهٔ ESBL باید راپور داده شود که به مقابل تمام Penicillin ها و Cephalosporin ها مقاوم است به استثناء Cephamycin.

لابراتوار مایکروبیولوژی وقتیکه یک نوع مایکروب ESBL-producing را می یابد بصورت واضح به دوکتور معالج راپور بدهد و اهتمامات لازمه گرفته شود تا جلو پخش آن به دیگر مریضان شفاخانه گرفته شود.

دو میتود تائید کننده برای تولید ESBL عادتاً استعمال می‌شود:

۱- معاینهٔ Synergy بین Cephalosporin و Clavulanic Acid یا (میتود Double Disc).

۲- مقایسه نمودن منطقه ای نهی شده ای Ceftazidime یا Cefpodoxime با یا بدون Clavulanic Acid (میتود Combined Disc).

میتود دیسک دو چند (Double Disc Method)

۱. از یک زرع خالص یک شبه بالای Mac Conkey agar چهار الی پنج کولونی را به یک تیوب دارای 0.9 فیصد سودیم کلورایید باشد انتقال بدهید و مکدریت معلق به مکدریت 0.5 Mcfarland standard برابر ساخته شود که با علاوه کردن مایکروب یا محلول نمک صورت می‌گیرد.

۲. یک سواب را در معلق مایکروب غوطه نموده مایع اضافگی را با فشار دادن پنبه ای سواب جدار تیوب بالاتر از مایع بر طرف نمائید. سواب را به تمام سطح وسط زرعیه Mueller Hinton Agar– بمالید و بعد آنرا برای خشک شدن بگذارید اما نه بیشتر از 15 دقیقه.

۳. دسک که دارای Amoxicillin – Clavulanic Acid (20+10 Mg) باشد و دیسک Ceftazidime را به فاصله ای 25 تا 30 ملی متر بالای Agar بگذارید یک دیسکی که دارای

Cefotaxime یـــا Cefpodoxime باشـد مـی‌توانـد در مقـــابل دیـسک Amoxicilin + Clavulanic Acid گذاشته شود.

۴. پطری دیش تا فردا به 35 درجهٔ سانتی گراد گذاشته می‌شود.

۵. اگر منطقه ای نهی شده Cephalosporine با علاوه شدن Clavulanic Acid توسـعه یافتـه باشد از آن تولید ESBL استنباط می‌گردد.

۶. مایکروب‌هایی که REM و SHVESBLs تولیـد مـی‌نماینـد بـا دیـسک هـای ceftazidime cefotaxime و cefpodoxime نتیجه ای مثبت می‌دهند، در حالیکه آنهائیکه انـزایم CTX-M تولید نموده اند تنها با دیسک های cefotaxime و cefpodoxime نتیجه ای مثبت می‌دهنـد. تولید کننده ای AmpC و اکثر تولید کنندگان فوق العاده ای انزایم K1 همرای تمـام ایـن سـه دیسک نتیجه ای منفی می‌دهند.

Combined disc Method

۱. وسط Mueller – Hinton agar را مانند فوق کشت کنید. دو دیسک دارای cefpodoxime (10 µg) و cefpodoxime + clavulanic acid (10 +1 µg) را به فاصله ای 24 ملی متـر بالای آن بگذارید.

۲. پطری دیش را به 35 درجه ای سانتی گراد برای 16 الی 18 سـاعت بـرای نمـوی confluent آنرا معاینه کنید.

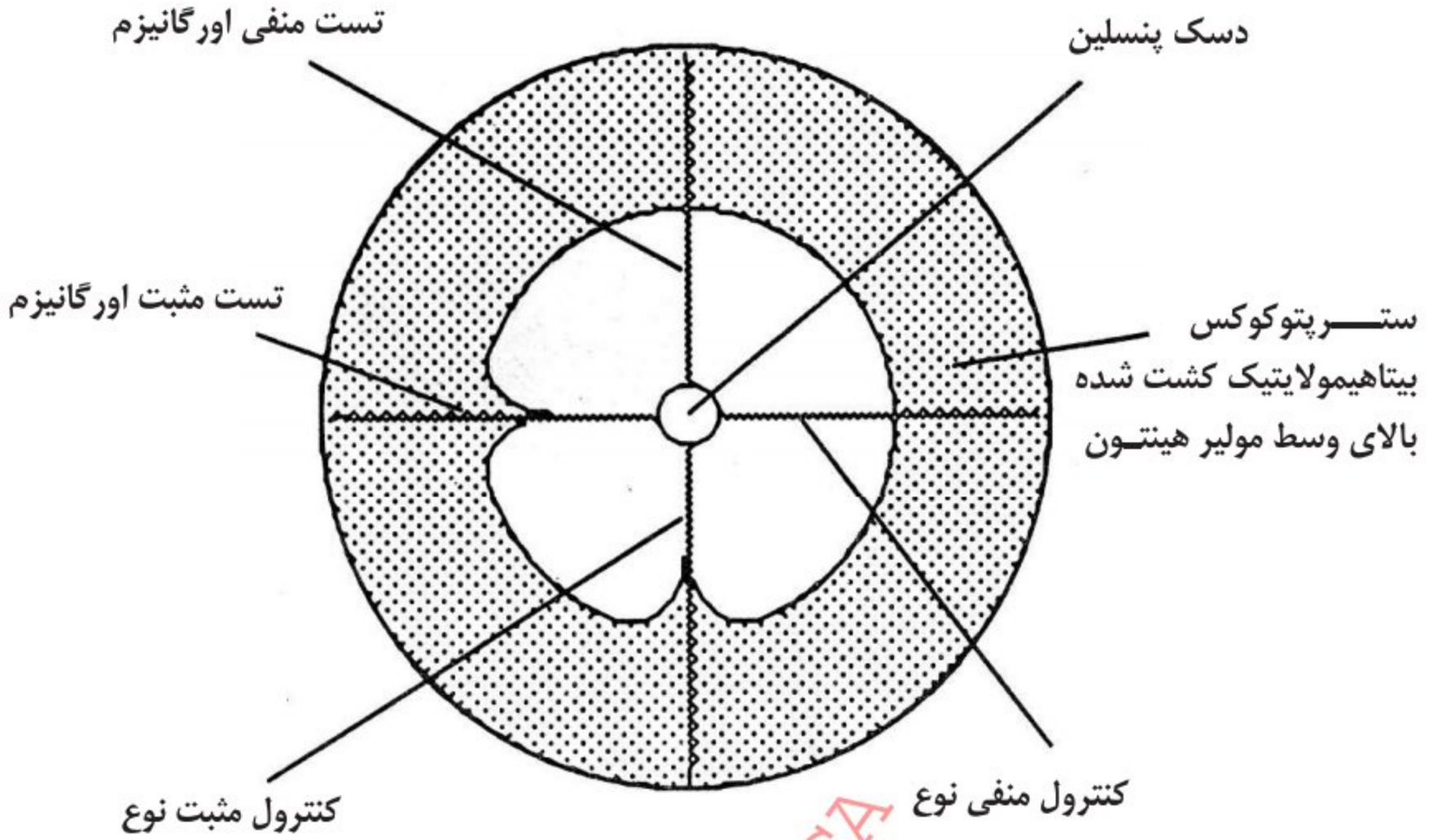
۳. قطر منطقه ای نهی شده را به ملی متر اندازه نمائید.

۴. اگر منطقه ای نهی شده ای cefpodoxime با Clavulanic Acid بـه انـدازه ای بیـشتر از 5 ملی متر از منطقه ای نهی شـده ای cefpodoxime بـدون clavulanic Acid بزرگتـر باشـد، مایکروب مذکور تولید کننده ای انزایم ESBL می‌باشد.

۵. این میتود با استفاده از ESBL – producing Klebsiella امتحان و تحقیق شـد نتیجـه داده sensitivity و specificity آن 100% بود.

۶. NCCLs توصیـــه می‌نماید کـــه منطقه ای نهـــی شده ای ceftazidime (30 µg) با منطقـه ای نهی شده Ceftazidime + Clavulanic Acid (30+10 µg) باید مقایسه گردد.

© AAZEM PUBLICATIONS



شکل ۲-۸

© AAZEM PUBLICA