

تشخیص بتالاكتامازهای وسیع الطیف

به عنوان مثال اگر هاله عدم رشد باکتری در مقابل دیسک *Ceftazidim* برابر با ۱۶ میلیمتر و در مقابل دیسک *Ceftazidim/Clavulanic acid* برابر با ۲۱ میلیمتر و یا بیشتر باشد، باکتری مورد نظر آنزیمهای *ESBLs* را تولید میکند.

کنترل کیفیت

کنترل منفی:

E.coli ATCC 25922: قطر هاله عدم رشد برای ترکیب آنتی بیوتیک و کلاولانیک اسید در مقایسه با آنتی بیوتیک به تنهایی (بدون کلاولانیک اسید) حداکثر 2mm (≤ 2) افزایش می یابد.

کنترل مثبت:

K.pneumonia ATCC 700603: افزایش قطر هاله عدم رشد به میزان $\geq 5mm$ برای ترکیب *Ceftazidim/Clavulanic acid* و $\geq 3mm$ برای *Cefotaxim/Clavulanic acid* اسید نسبت به آنتی بیوتیک به تنهایی.
** توجه: سوشهای فوق را می توانید از شرکت پادتن طب تهیه فرمایید.

نکات قابل توجه

- ۱- دیسکها را حدود ۱ ساعت قبل از انجام آزمایش از یخچال بیرون آورده تا به حرارت اتاق برسند و بلافاصله پس از مصرف به یخچال بازگردانید.
- ۲- دقت آزمایش بستگی به قدرت دیسکها، نحوه صحیح کشت، نوع و عمق محیط کشت دارد.
- ۳- هر سری محیط کشت مولر هینتون را طبق روش استاندارد *CLSI* کنترل کنید.
- ۴- تاخیر زیاد بین تهیه سوسپانسیون میکروبی و تلقیح به پلیت باعث ایجاد خطا در نتیجه آزمایش می شود.
- ۵- تاخیر زیاد بین قرار دادن دیسکها و انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد باعث ایجاد خطا در نتیجه آزمایش می شود.
- ۶- دیسکها را از نمایندگی هاو شرکتهایی که زنجیره سرد را رعایت میکنند تهیه فرمایید.

Reference

Clinical laboratory Standard Institute (CLSI) Performance standard For Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S22, 2011

هشدارهای توصیه ای

کاربران محترم لطفا رعایت نکات ایمنی و بهداشتی را در اجرای آزمایش مورد توجه قرار دهید. تمامی مواد داخل آزمایشگاه را پاتوژن تلقی کنید.

تلفن: ۰۲۱-۶۶۸۴۵۸۸۰-۶۶۸۸۴۶۲۷

www.padtanteb.ir



اصول آزمایش

آنزیمهای بتالاكتامازهای وسیع الطیف، آنزیم هایی می باشند که توسط بعضی از باکتریها از جمله باکتریهای گروه انتروباکتریاسه تولید می شوند که موجب مقاومت آنها در مقابل پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و آزترونام میگردد. روشهای مختلفی جهت تعیین *ESBLs* وجود دارد که ساده ترین آنها، استفاده از روشهای فنوتایپی پیشنهاد شده توسط *CLSI* می باشد.

محتویات کیت

دیسک *Ceftazidim 30µg*

دیسک *Ceftazidim/Clavulanic acid 30+10 µg*

دیسک *Cefotaxim 30µg*

دیسک *Cefotaxim/Clavulanic acid 30+10 µg*

نگهداری دیسک ها

دیسکهای ذخیره باید در حرارت ۲۰- درجه سانتیگراد و دیسکهای مصرفی در یخچال بین ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود. نگهداری دیسکها در حرارت بالاتر باعث افت قدرت دیسکها شده و جواب مناسبی نخواهد داد.

روش انجام آزمایش

برای تعیین *ESBLs* از روش *Disk diffusion* در دو مرحله استفاده می شود. مرحله اول غربالگری و مرحله دوم تاییدی می باشد. در مرحله اول بر روی باکتری جدا شده از بیمار (*E.coli* , *Kelebsiella* و *Proteus*) بر طبق روش *Disk diffusion* آزمایش آنتی بیوگرام را انجام دهید. در صورتی که قطر هاله عدم رشد باکتری در مقابل دیسک *Ceftazidim ۲۲* میلیمتر و یا کمتر، و در مقابل دیسک *Cefotaxim ۲۷* میلیمتر و یا کمتر باشد، احتمال تولید آنزیمهای *ESBLs* توسط باکتری مورد نظر وجود دارد. در مرحله دوم یک بار دیگر آزمایش آنتی بیوگرام را بر روی باکتری مورد نظر با استفاده از دیسکهای فوق طبق روش ذیل انجام دهید: پس از کشت باکتری روی محیط مولر هینتون آگار (با کدورت نیم مک فارلند)، دیسکهای *Ceftazidim* ، *Ceftazidim/Clavulanic acid* ، *Cefotaxim* و *Cefotaxim/Clavulanic acid* را با استفاده از یک پنس استریل روی محیط قرار داده و آنرا کمی در جای خود فشار دهید تا به سطح محیط بچسبد.

پلیت فوق را به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در انکوباتور با دمای ± 2 ۳۵ درجه سانتیگراد قرار دهید. پس از طی این مدت قطر هاله های عدم رشد اطراف دیسکها را با استفاده از خط کش اندازه گیری کرده و یادداشت کنید.

تفسیر نتایج

در صورتی که اختلاف هاله های عدم رشد بین *Ceftazidim* و *Ceftazidim/Clavulanic acid* و همچنین بین *Cefotaxim* و *Cefotaxim/Clavulanic acid* بیش از ۵ میلی متر باشد، نشانه تولید آنزیمهای *ESBLs* توسط باکتری مورد نظر می باشد.