



هم اندیشی
طرح کشوری

تشخیص سروتیپ های شایع اشیشیا کلی مولد اسهال در ایران برای شناسایی سروتیپ های بومی و اتخاذ سیاست های لازم برای پیشگیری در مواقع بروز اپیدمی در کانونهای حساس کشور

نحوه نمونه گیری، کشت و ارسال نمونه مدفوع

سعید مستعان

آزمایشگاه مرجع کشوری اشیشیا کلی
بخش بیولوژی مولکولی
انستیتو پاستور ایران

۱۳۹۱/۰۷/۱۵



نمونه گیری (۱)

نمونه اسهالی

تعریف اسهال: دفع ۲ الی ۳ بار مدفوع آبکی در روز
همراه موکوس

اسهال حاد خونی یا غیر خونی

بیمار دارای اسهال مزمن نباشد

اسهالی که بیش از دو هفته طول کشیده باشد



نمونه گیری (۲)

✓ زمان نمونه گیری
حداکثر تا ۴۸ ساعت پس از شروع اسهال

✓ بیمار بومی منطقه
به شرط سکونت ۱۰ ساله و فعلی

✓ ملیت ایرانی

✓ سابقه مسافرت در دو هفته قبل از شروع اسهال نداشته باشد

✓ بدون نقص سیستم ایمنی تایید شده

✓ عدم مصرف آنتی بیوتیک در حال حاضر تا یک هفته قبل از شروع اسهال

✓ عدم درمان با داروهای شیمی درمانی و کورتیکواستروئیدها



نمونه گیری (۳)

در ظروف پلاستیکی تمیز، دهان گشاد و فاقد نشتی، نیازی به استریل بودن نیست

عاری از مواد نگهدارنده، شوینده، یونهای فلزی یا کاغذ توالنت

نباید با ادرار مخلوط باشد

حداقل ۵ سی سی نمونه اسهالی

حداکثر ظرف مدت ۲ ساعت نمونه بایستی کشت داده شود

در مواقع اضطراری که امکان کشت در ۲ ساعت وجود ندارد، بایستی به محیط ترانسپورت کری بلر منتقل شود و در یخچال نگهداری شود و ظرف مدت ۷۲ ساعت کشت داده شود. در این صورت نیاز به سواب مدفوع خواهد بود

فیلم آموزشی به آدرس الکترونیک www.pasteur.ac.ir

کد نمونه، نام بیمار، پرسشنامه، ظرف مخصوص، پارافیل



XLD agar

Xylose Lysine Deoxycolate agar

تظاهرات کلنی	میکروارگانسیم
کلنی زرد با محیط زیر زرد رنگ	اشریشیا کلی، انتروباکتر، آنروموناس
کلنی زرد موکونییدی با محیط زیر زرد رنگ	کلبسیلا
کلنی زرد با محیط زیر زرد و گاهی با مرکز سیاه	سیتروباکتر (سویه های لاکتوز مثبت)
کلنی به رنگ محیط گاهی با مرکز سیاه	سالمونلا
کلنی به رنگ محیط	شیگلا، پروویدنسیا، سودوموناس
کلنی نارنجی	سالمونلا تیفوza (زیلوز مثبت)
کلنی زرد با محیط زیر زرد رنگ	سراشیا، هافنیا
کلنی زرد با محیط زیر زرد و با مرکز سیاه	پروتئوس ولگاریس و اکثر پروتئوس میرابیلیس ها

تجزیه زیلوز، لاکتوز و یا سوکروز باعث اسیدی شدن محیط و تغییر رنگ معرف فنل رد از قرمز به زرد می شود.

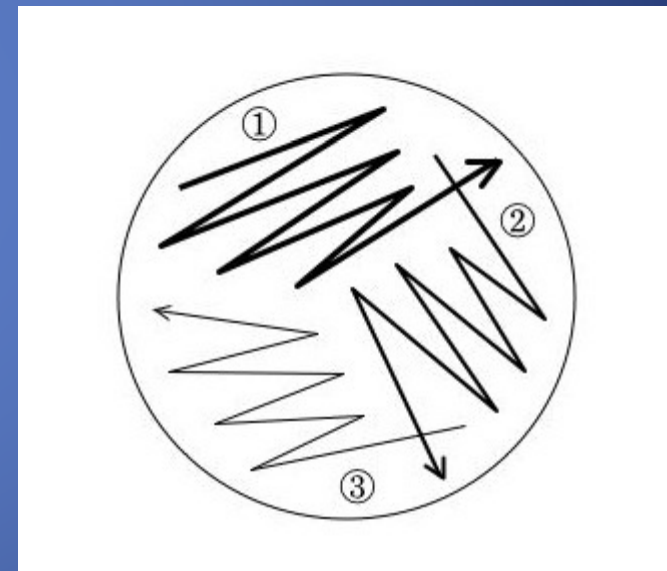
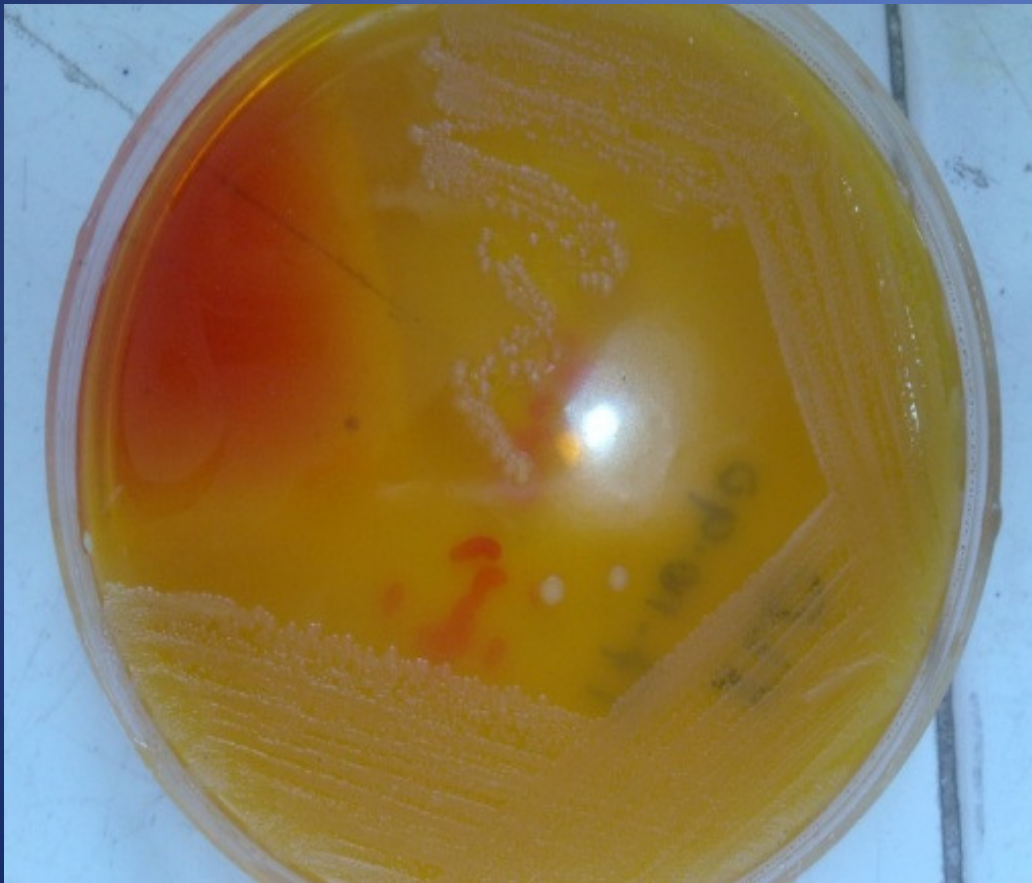
تولید سولفید هیدروژن بواسطه حضور تیوسولفات و نمک آهن و تولید سولفید آهن سیاه رنگ در شرایط قلیایی مشخص می شود.

باکتریهایی که قدرت دکربوکسیله کردن لیزین به کاداورین را دارند، در اطراف کلنی بدلیل افزایش pH رنگ بنفش تولید می کنند.

Yeast extract 3.0; sodium chloride 5.0; D(+)xylose 3.75; lactose 7.5; sucrose 7.5; L(+)lysine 5.0; sodium deoxycholate 1.0; sodium thiosulfate 6.8; ammonium iron(III) citrate 0.8; phenol red 0.08; agar-agar 14.5.



Escherichia coli on XLD agar





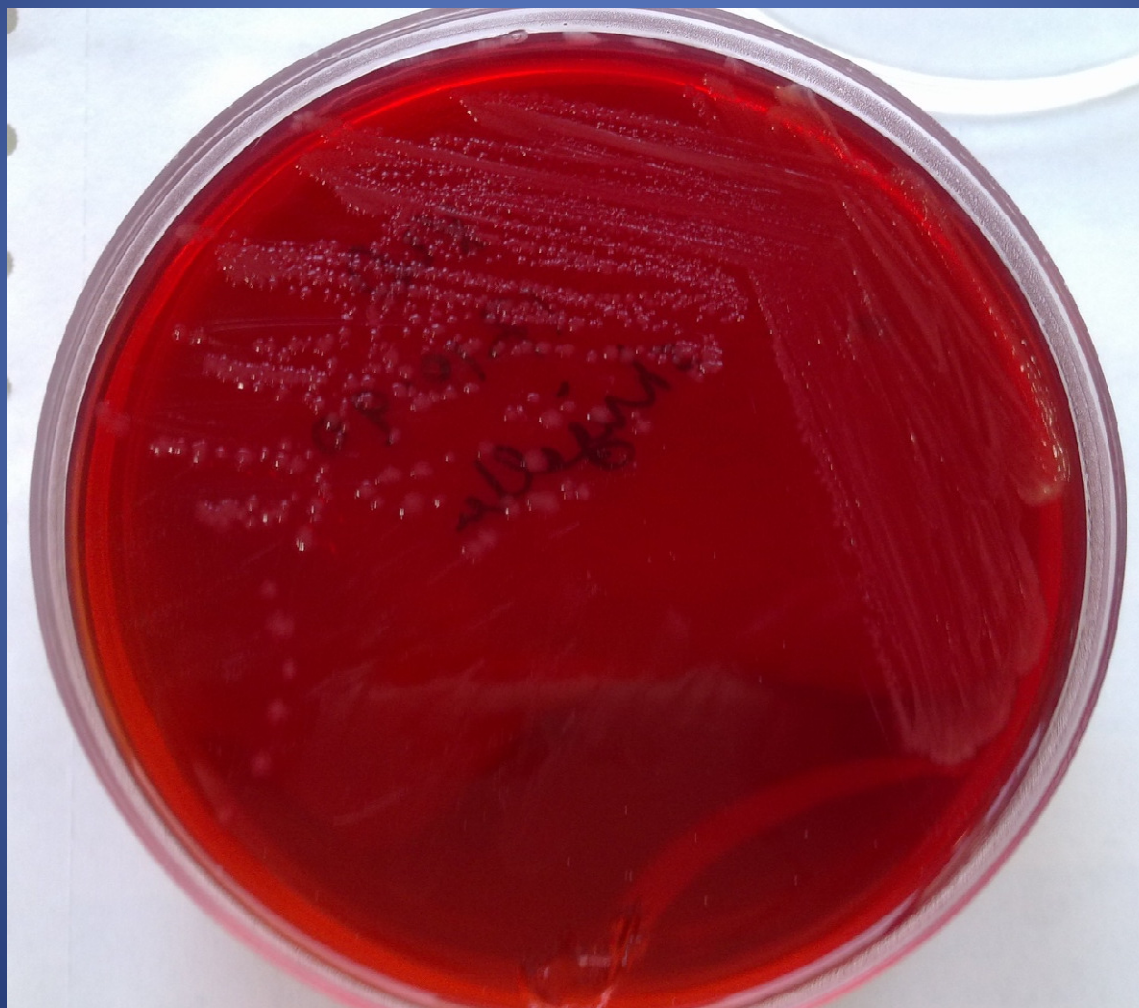
Salmonella on XLD agar



Copyright Oxoid Ltd. All rights reserved



Shigella on XLD agar





MacConkey Agar

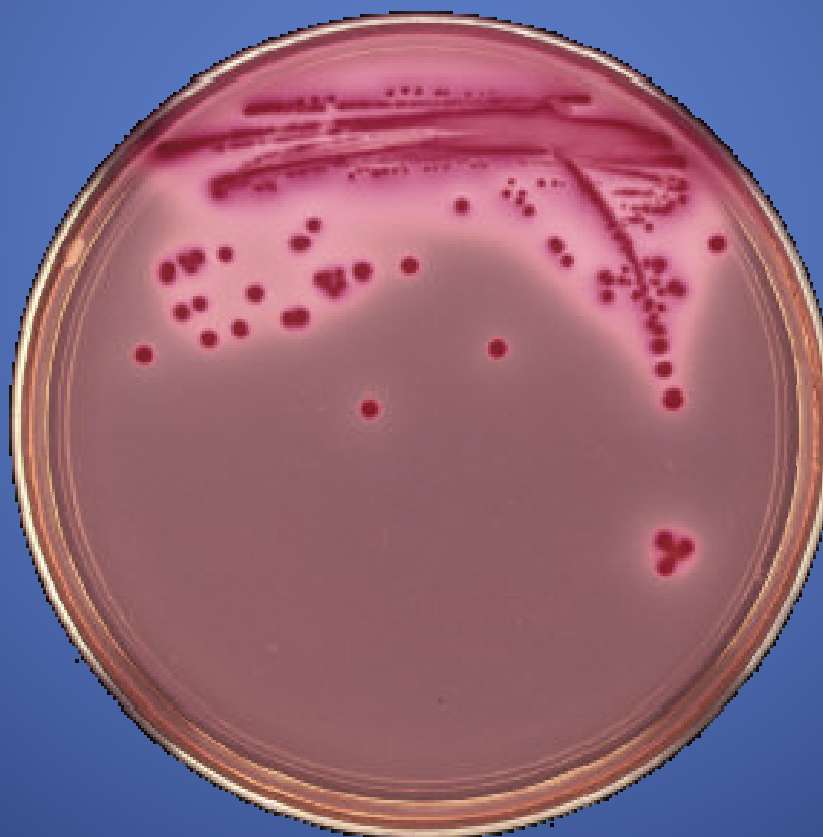
تظاهرات کلنی	میکروارگانیسم
کلنی بزرگ، قرمز با حاشیه کدر	اشریشیا کلی
کلنی بزرگ، صورتی و موکوئیدی	انتروباکتر و کلبسیلا
کلنی بی رنگ	سالمونلا، شیگلا

نمک های صفراوی و کریستال ویوله باعث مهار رشد باسیلهای گرم مثبت فلور می شود
قند لاکتوز و معرف نوترال رد باعث تشخیص مصرف لاکتوز می شوند

Peptone from gelatin 17.0; peptone from casein 1.5; peptone from meat 1.5; sodium chloride 5.0; lactose 10.0; bile salt mixture 1.5; neutral red 0.03; crystal violet 0.001; agar-agar 13.5

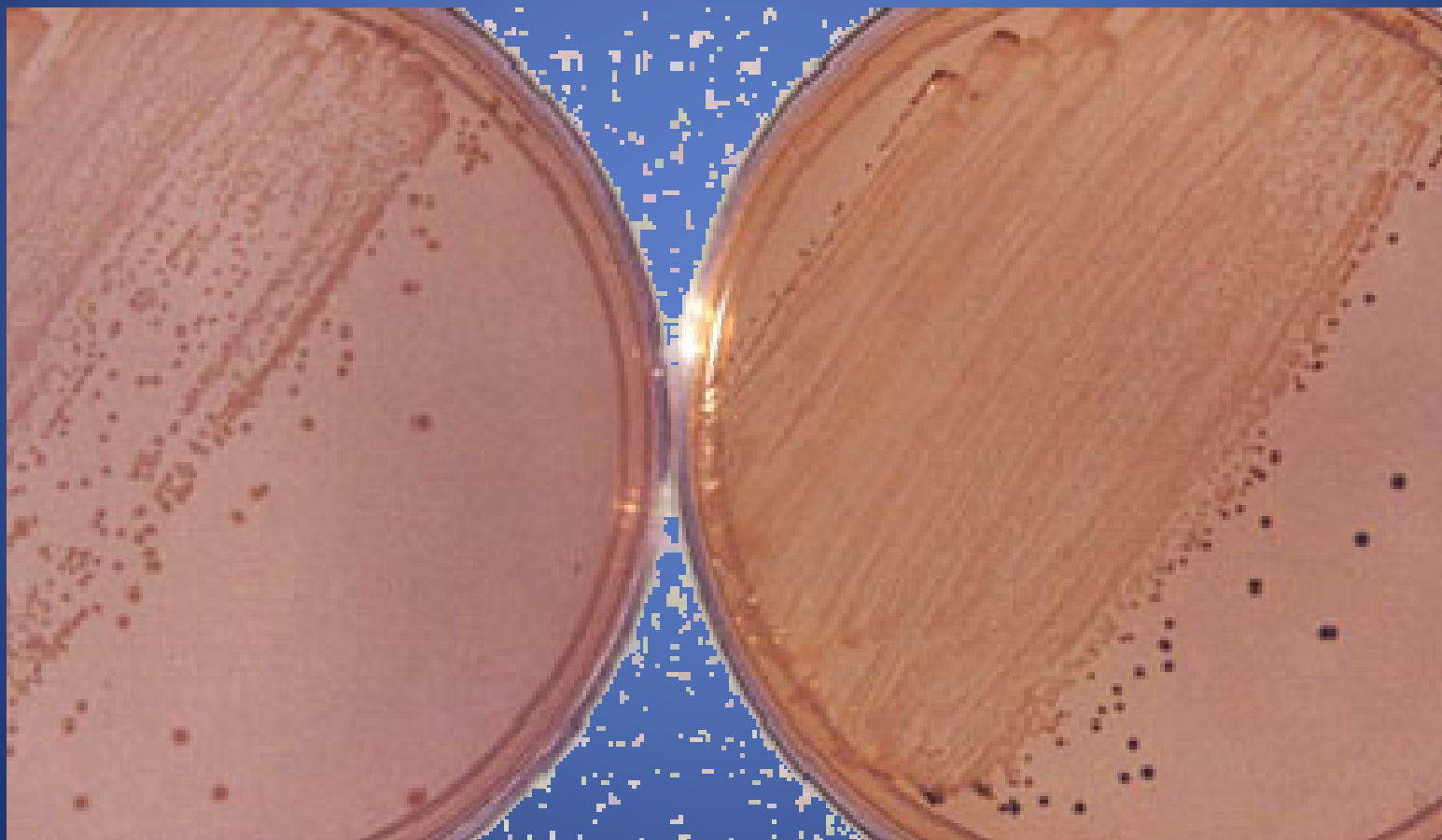


Escherichia coli on MacConkey agar



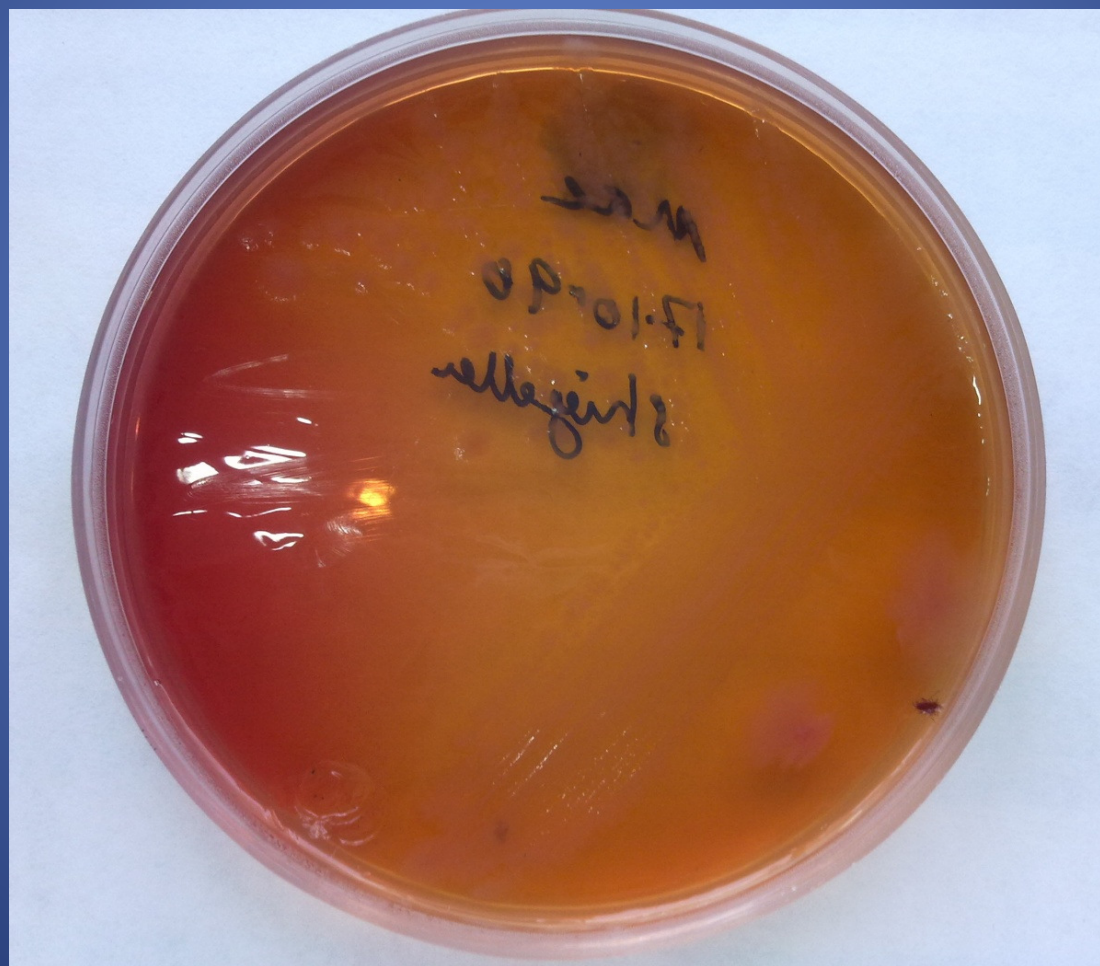


Salmonella on MacConkey agar





Shigella on MacConkey agar





انتقال نمونه ها

همانگی با آزمایشگاه مرجع کشوری اشیریشیا کلی قبل از ارسال نمونه

هفته دوم هر ماه

۲۴ ساعت انکوباتور سپس ۴ درجه با پارافیلیم تا زمان ارسال

۱۵ محیط کشت کنترل کیفی شده (MacConkey و XLD)

۱۲ نمونه از هر مرکز با ذکر مشخصات روی هر پلیت (کد نمونه، نام بیمار، تاریخ)

کیف مخصوص

ارسال پرسشنامه به همراه نمونه ها





Package Insert

شماره های تماس آزمایشگاه مرجع کشوری اشریشیا کلی

شرایط ورود به مطالعه و خروج از مطالعه

دستورالعمل نمونه گیری

پرسشنامه (نمونه)

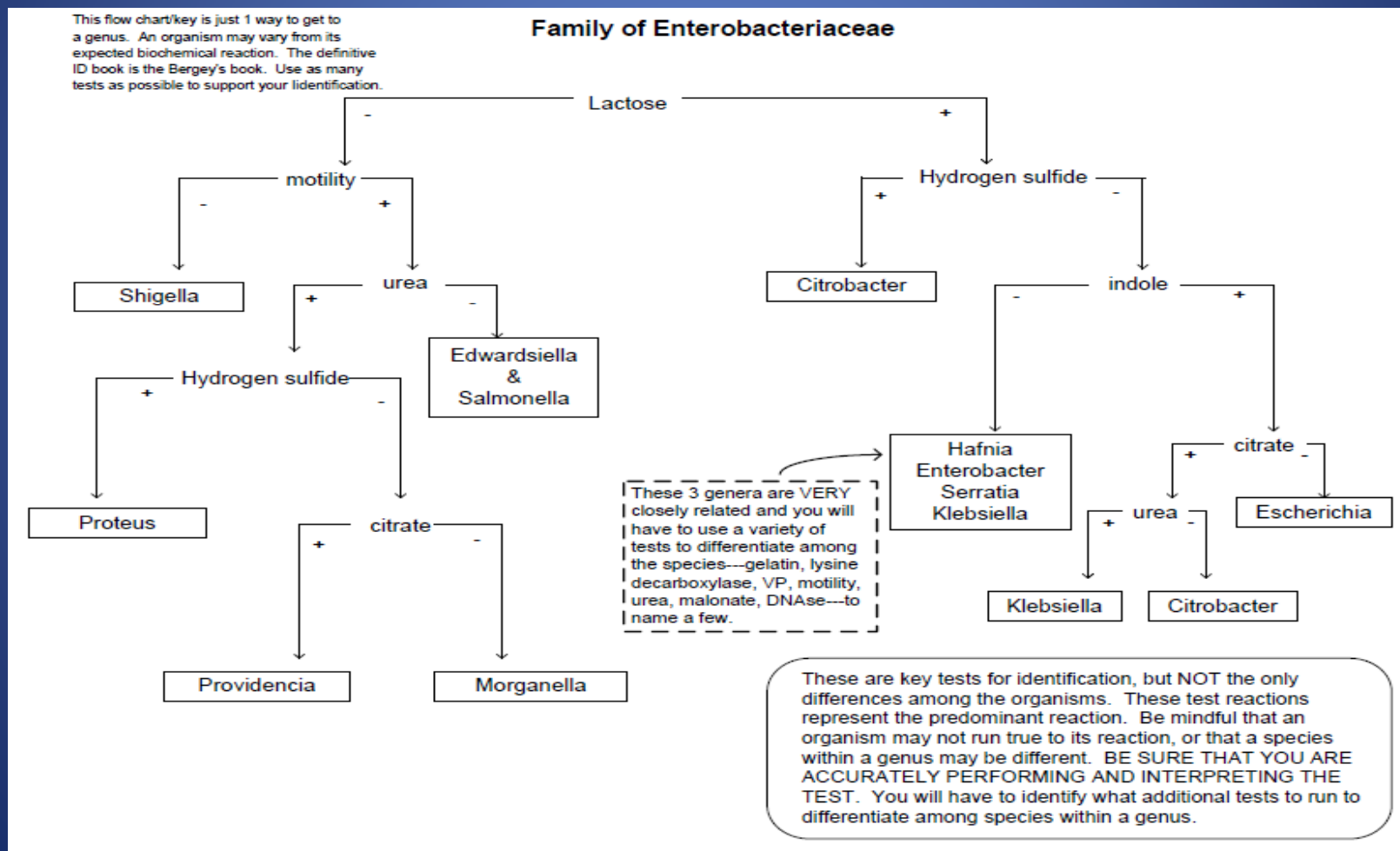


پایان

با تشکر از توجه شما



افتراق سویه های اکولی، شیگلا و سالمونلا (۱)





افتراق سویه های اکولی، شیگلا و سالمونلا (۲)

تست های اختصاصی EIEC:

Mucate

Christensen Citrate

LDC

Congo Red





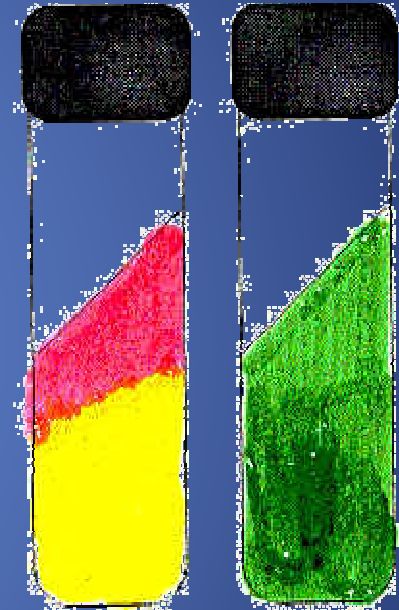
TSI & Citrate



Salmonella



Escherichia coli



Shigella