Blood Culture

کشت خون

هما فروهش تهرانی

باکتريمي Bacteremia: وجود باکتري زنده در کشت خون

Pseudobacteremia: آلودگي به دليل باکتري هاي کومنسال پوست

Occult (unsuspected) bacteremia: فقدان علائم باليني و يا نشانه‌هاي عفونت شديد

Septicemia: باکتريمي، نشانه هاي کلينيکي، تهاجم باکتري، توليد توکسين

Septic shock: (سپتمي سمي همراه با کاهش فشار خون)

تعریف واژه ها در ارتباط با عفونت شدید

Systemic inflammatory response syndrome

Sepsis hypotension

Sepsis

Septic shock

- حداقل 2 مورد از شرایط زیر:

درجه حرارت 38c < یا 36c>

طیف قلب 90min >

طیف تنفس 20min >

WBC >12000mm3

< 4000mm

فشار سیستولیک 90mm >

کاهش فشار خون نقص عملکرد ارگان ها

Severe

کاهش فشار خون: انعقاد درون رگی DIC

طبقه‌بندي باكتريمى:

باكتريمي اوليه: حضور باكتري در عروق خوني (دريچه قلب عفوني، كاتتردرون عروقي عفوني)

باكتريمي ثانويه: وجود يك منبع عفوني

باكتريمي با منبع ناشناخته: عدم تشخيص كانون عفونت

طبقه‌بندي بر اساس عوامل ايجاد باكتريمي:

باكتريمي گرم مثبت:

Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium

باكتريمي گرم منفي:

E. coli, Pseudomonas aeruginosa

باكتريمي بي‌هوازي:

Bacteroides fragilis

باكتريمي چندميكروبي: (آنتروكك، باسيل‌هاي گرم منفي) انتشار باكتري‌هاي روده

طبقه‌بندی بر اساس محل کسب عفونت:

Community-aquired bacteremia
Nosocomial bacteremia

طبقه‌بندی بر اساس طول مدت باکتریمی:

موقتی: **Transient bacteremia**

متناوب: **Intermittent bacteremia**

پیوسته: **Continuous bacteremia**

Epidemiology

- اولین مورد باکتریمی Brill 1899
- سپتی سمی یازدهمین علت مرگ ومیر
- هفتمین عامل مرگ در نوزادان
- میزان بروز Septic shock 10-30% میزان مرگ و میر 40-50%
- میزان مرگ باکتریمی 10-30%

Risk factors

عوامل خطر ساز

- تضعیف سیستم ایمنی
- استفاده از ابزار و وسایل درون عروقی
- سن
- مقاومت آنتی بیوتیکی

سرطان و باکتریمی:

علت تغییر شرایط موضعي در بافت تومور

باکتري ها:

کلستریدیوم سپتیکوم، استرپتوکوکوس بوویس،

آئروموناس، پلزیوموناس، کمپیلوباکتر

TABLE 36-2 Most Common Organisms Associated with Nosocomial Bacteremias

Organism	Percentage of Bacteremias (N = 20,978)
Coagulase-negative staphylococci	31.3
Staphylococcus aureus	20.2
Enterococcus spp.	9.4
Candida albicans	9.0
Escherichia coli	5.6
Klebsiella spp.	4.8
Pseudomonas aeruginosa	4.3
Enterobacter spp.	3.9
Serratia spp.	1.7
Acinetobacter baumannii	1.3

تابلوی ۱-۱	ارگانیسم هایی که به طور شایع از کشت های خون جدا می شوند

Staphylococcus aureus
Escherichia coli
Coagulase-negative staphylococci
Enterococcus spp.
Candida albicans
Pseudomonas aeruginosa
Klebsiella pneumoniae
Viridans streptococci
Streptococcus pneumoniae
Enterobacter cloacae
Proteus spp.
Beta-hemolytic streptococci
Anaerobic *bacteria-Bacteroides* and *Clostridium* spp.

تابلوی ۲-۱	عوامل ایجادکننده اندوکاردیت عفونی

Viridans streptococci*
Nutritionally deficient streptococci (*Abiotrophia* spp. and *Granulicatella* spp.)
Enterococci*
Streptococcus bovis
Staphylococcus aureus*
Staphylococci (coagulase-negative)
Enterobacteriaceae
***Pseudomonas* spp. (usually in drug users)**
Haemophilus* spp., particularly *H. aphrophilus
Unusual gram-negative bacilli (e.g., *Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, Coxiella burnetii)
Yeast
Other (including polymicrobial infectious endocarditis)

*Most common organisms associated with native valve endocarditis in non-drug-using adults.

باکتری های جدا شده از کشت خون (تعداد1067)

- E.coli 11مورد aerogenes
- S.aureus 7 مورد
- Acinetobacter 6 مورد
- Pseudomonas 6 مورد
- Enterococcus 5 مورد
- S.epidermidis 3 مورد
- S.haemolyticus 2 مورد
- K.pneumoniae 2 مورد

Enterobacter 1 مورد

Salmonella 1 مورد

Candida spp 1 مورد

جمع 45 مورد (%4)

باکتریمي بر اساس منبع عفونت:

عفونت در ارتباط با کاتتر

عفونت ادراري

پنوموني

عفونت داخل شکمي

سلولیت – آبسه (S. anginosus)

اندوکاردیت عفوني

سیستم عصبي مرکزي

باکتریمی ناشی از Catheter:

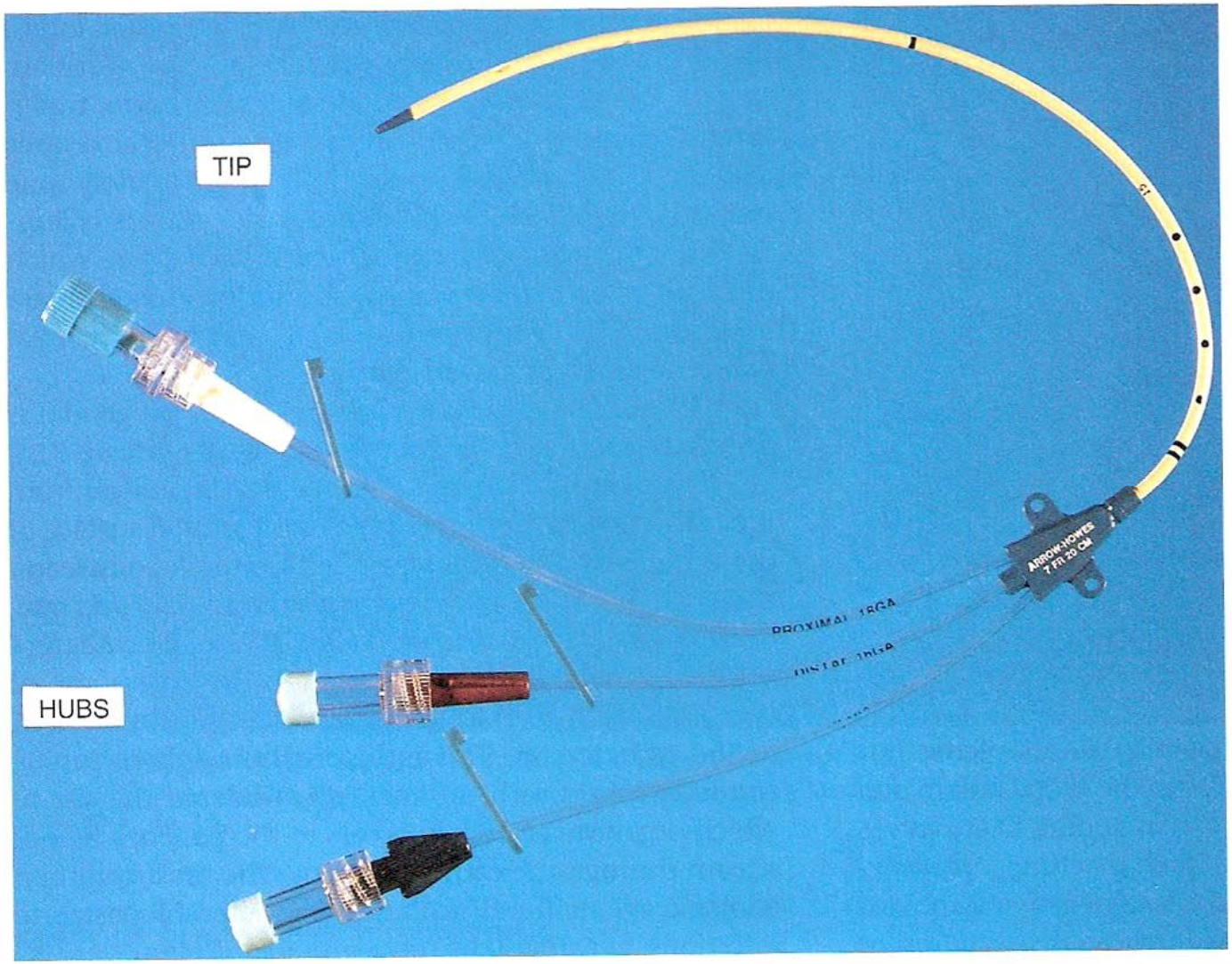


Figure 52-2 Short-term, triple-lumen central venous catheter. The ends from which the catheter is accessed are usually referred to as the hubs. After the catheter is inserted, the tip resides within the bloodstream.

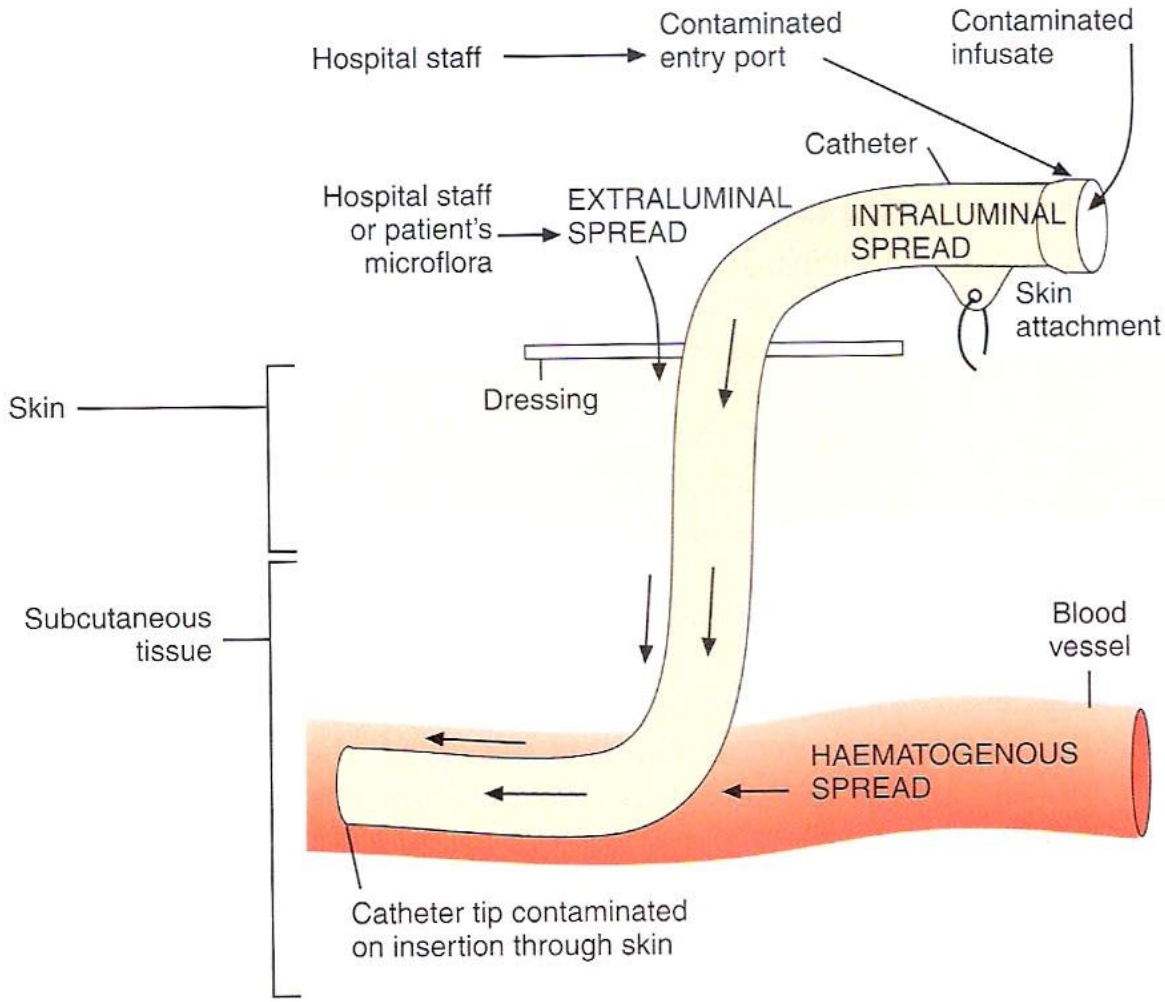


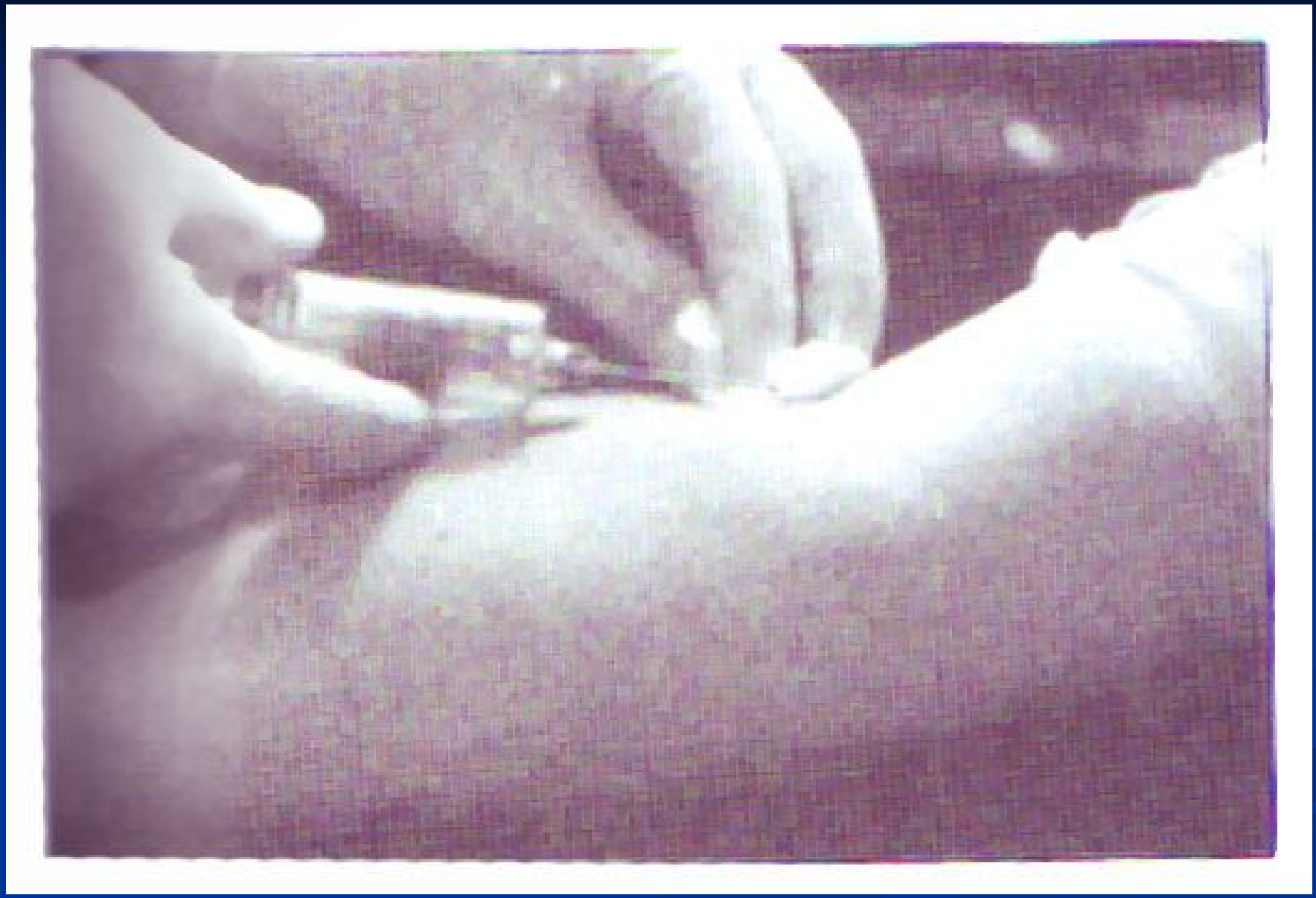
Figure 52-3 Possible routes by which microorganisms gain access to the bloodstream to cause intravenous catheter–associated bacteremias. (Modified from Elliott TS: PHLS Communicable disease report: line-associated bacteraemias, *CDR Review* 3:R91, 1993.)

BOX 52-3 Common Agents of IV Catheter-Associated Bacteremia

Staphylococcus epidermidis
Other coagulase-negative staphylococci
Staphylococcus aureus
Enterobacteriaceae
Pseudomonas aeruginosa
Candida spp.
Corynebacterium spp.
Other gram-negative rods

علایم و نشانه ها Sings and Symptoms

- لرز،تب، کاهش دما،تعرق،تندشدن تنفس، هذیان،گیجی ، لرزش، دل بهم خوردگی،تهوع، کاهش اد
- عفونت Ecthyma gongrenosume
- یافته های آزمایشگاهی
- Thrombocytopenia
- Leukocytocis or Leukopenia
- Lactic acidosis
- Hypoglycemia or Hyperglycemia
- Hyperbilirubinemia
- Coagulopathy
- Elevation in CRP/haptoglobin/fibrinogen



روش تهیه نمونه خون برای کشت

۱- ابتدا محل رگ قبل از ضد عفونی مشخص شود .

۲- سطح پوست به صورت دایره ای در حدود ۵ سانتی متر با الکل ۷۰٪ تمیز شود و در هوا خشک شود .

۳- از مرکز دایره با Povidone - iodine کاملا" ضد عفونی شود و حداقل ۱ دقیقه زمان گرفته شود .

۴- خون گیری انجام شود ، بدون تعویض سوزن به بطری کشت خون وارد شود.

۵- بعد از در آوردن سوزن محل نمونه گیری با الکل ۷۰٪ تمیز شود .

جدا سازی میکروارگانیسم ها از خون به فاکتورهای زیر ارتباط دارد :

۱- نوع باکتری

۲- متدهای جمع آوری نمونه

۳- حجم خون

۴- تعداد و زمان کشت خون

۵- میزان و ترکیبات محیط کشت

۶- زمان Subculture

۷- تفسیر نتایج

میزان حجم خون:

سن	حجم خون	بر اساس وزن	
کمتر از ۱۰ سال	۱ میلی لیتر خون برای هر سال سن	نوزاد کمتر از ۱ کیلوگرم	۲ ml خون
۱۰ سال یا بیشتر	۲۰ میلی لیتر	نوزاد بیشتر از ۲ کیلوگرم	۴ ml خون
۱۰ سال یا بیشتر	کمتر از ۲۰ میلی لیتر (بر اساس شرایط کلینیکی)	کودک ۱۲/۷کیلوگرم	۶ ml خون
		کودک ۳۶/۳ کیلوگرم	۱۰ ml خون
		بیشتر از ۳۶/۳ کیلوگرم	مانند بزرگسالان

حجم خون پیشنهادی برای کشت بر حسب میلی‌لیتر					وزن بیمار	
حجم کل خون	کشت نوبت اول	کشت نوبت دوم	حجم کل برای کشت	درصد از حجم کل خون	پوند	کیلوگرم
50-99	2	-	2	4	≤2.2	≤1
100-200	2	2	4	4	2.2-4.4	1.1-2
> 200	4	2	6	3	4.5-27	2.1-12.7
> 800	10	10	20	2.5	28-80	12.8-36.3
> 2200	20-30	20-30	40-60	1.8-2.7	> 80	> 36.3

ارتباط تعداد کشت با موارد مثبت:

اندوکاردیت عفوني (عدم دريافت آنتي‌بيوتيك): يك نوبت كشت خون (95-90%) نوبت‌دوّم (98%)

دريافت آنتي‌بيوتيك: سه نوبت كشت خون (روزاوّل)

يك يا دو نوبت (روزدوّم)

باكتريمي با ساير علل: نوبت‌اوّل 65/1%، نوبت دوم 80% ، سومين نوبت 95/7%

حجم خون در بالغين 20-10 ميلي‌ليتر در هر نوبت (نسبت 1/5 حجم خون به بطري)

تعداد کشت خون

- در اندوکاردیت عفونی 60-30 دقیقه فاصله هر کشت
- عدم جمع آوری یک کشت خون
- کشت خون هوازی – کشت خون بی هوازی
- مهم ترین فاکتور حجم خون

انواع محیط کشت خون

Peptone broth

Trypticase soy broth

Thioglycolate broth

Brucell broth

BHI broth

Columbia broth

Cooked meat broth

ضد انعقاد Anticoagulansts

- Sodiumpolyanethol Sulfunate SPS
- Sodium amylosulfate SAS
- جلوگیری از لخته
- خنثی کردن اثر باکتریسیدال سرم
- جلوگیری از فاگوسیتوز
- غیرفعال کردن آنتی بیوتیک ها

روش انجام کشت خون معمول

- ارسال سریع به آزمایشگاه
- قراردادن در انکوباتور2 -+35
- Blind sub culture 6-12 ساعت، 24 ساعت ، 48 ساعت،3، 7 ، 14 روز
- در موارد ارگانیسم های سخت رشد و اندوکاردیت تحت حاد تا 3 هفته
- مشاهده بطری کشت خون روزانه 2 بار در روز (تکان دادن بطری ها)

سایر سیستم های کشت خون

- (Becton Dickinson) Septichek
- (Termo fisher) Oxoid Signal System
- Isolator/Isostate

Figure 52-5 Becton Dickinson Septi-Chek pediatric-size biphasic blood culture bottle. The medium-containing base bottle is inoculated with blood, and the top piece containing agar paddles is added in the laboratory. The agar is inoculated by tipping the bottle to allow the blood-containing medium to flow over the agar.

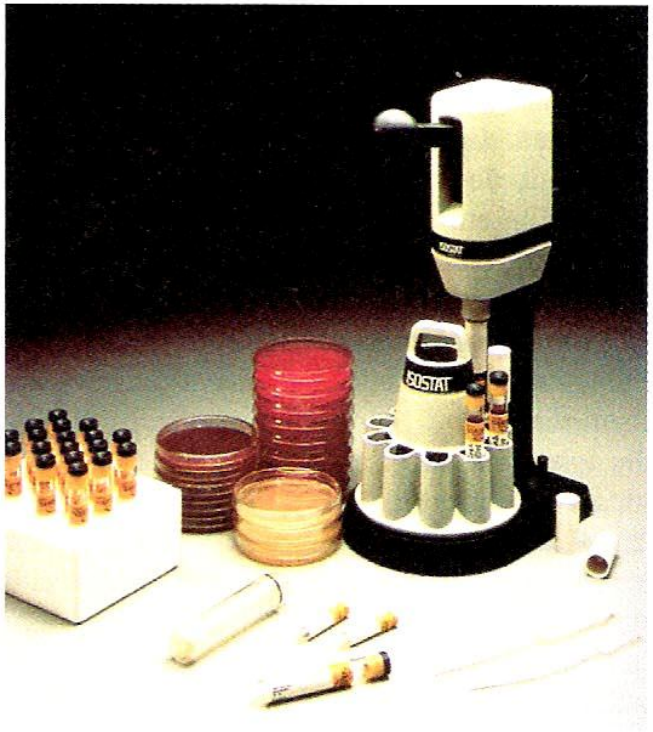


Figure 52-6 Lysis centrifugation blood culture (Isolator System, Wampole Laboratories) uses vacuum-draw collection tubes with a lysing agent and special apparatus (Isostat Press) to facilitate removal of the supernatant without use of needles. (Courtesy Wampole Laboratories, Cranbury, NJ.)

Figure 52-4 Standardized blood collection and blood culturing system (Becton Dickinson). Blood culture procedural tray consists of instructions, gauze pads, alcohol prep pad, latex-free tourniquet, Vacutainer brand standard needle holder and Safety-lok blood collection set, blood culture media, latex-free gloves, and Persist Skin Prep Swab.

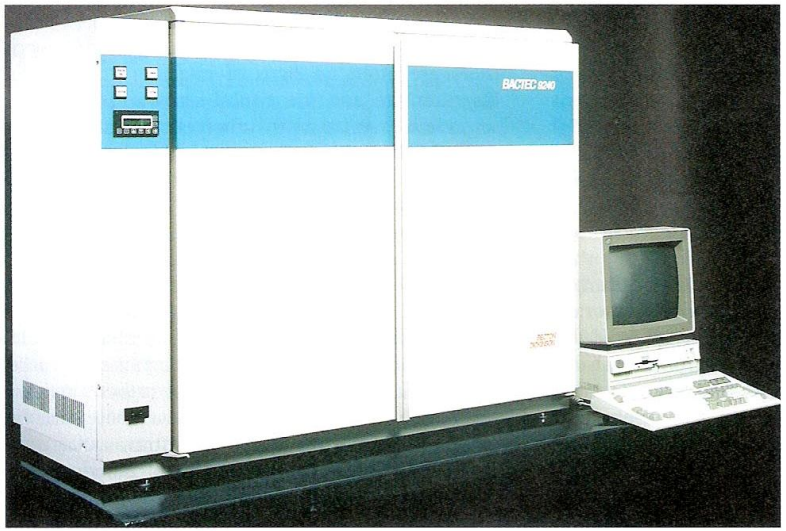
D

E

Figure 52-7—cont'd D, The BacT/ALERT continuously monitoring blood culture system. E, Blood culture bottles for Trek Diagnostic Systems, Inc., ESP Culture System II continuous monitoring instrument.

A

B



C

Figure 52-7 A, Blood culture bottles for the BACTEC 9240, 9120, and 9050 continuous monitoring instruments. **B,** The BACTEC 9240 continuous monitoring blood culture system. **C,** Blood culture bottles for the BacT/ALERT continuous monitoring blood culture instruments.

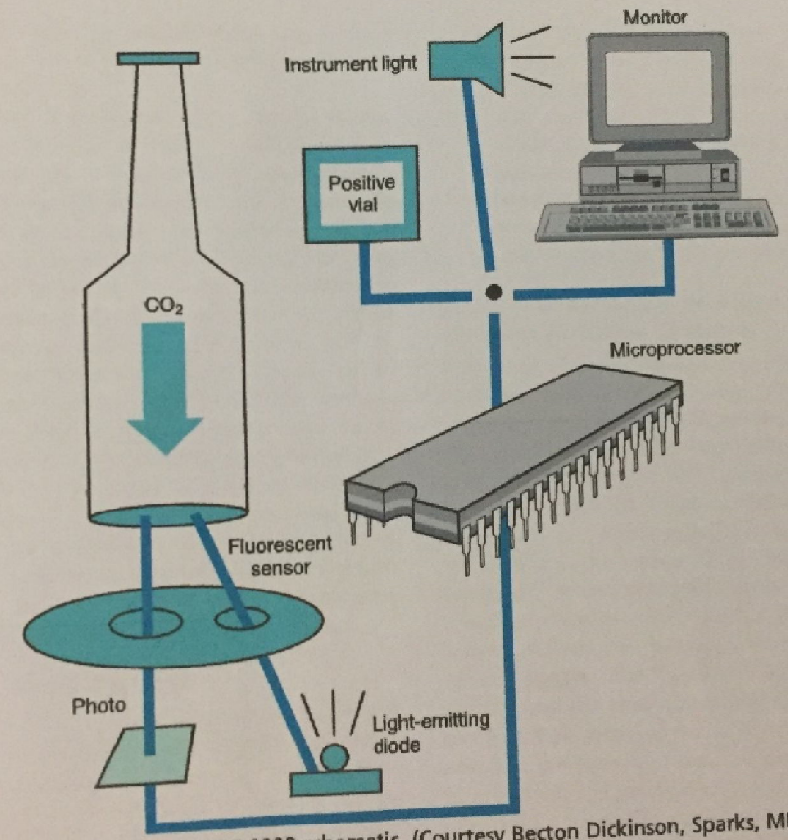


FIGURE 36-1 BACTEC 9000 schematic. (Courtesy Becton Dickinson, Sparks, MD.)

نشانه های کشت خون مثبت :

۱- همولیز

۲- کدورت

۳- گاز

۴- اگر گـه هـای کوچـک بـاکتری و یـا قـارچ در قسـمت مایع- سطح لایه سدیمان و در میان دیوارۀ بطری

۵- غشاء سطحی

۶- کوآگولاسیون مایع

باکتری هائی که بطور غیر معمول از خون جدا میشوند:

۱– باکتری گروه HA CEK شامل :

Haemophilus aphrophilus
Actinobacillus actinomycetem comitans
Cardiobacterium hominis
Eikenella Corrodens
Kingella Kingae

۲– سایر باکتری ها:

Campylobacter sp
Capnocytophaga
Rothia dentocariosa
Flavobacterium
Chromobacterium
Borelia
Leptospira
Abiotrophia(streptococcus adjacens , Streptococcus defectivus)
Mycoplasma homins
Bartonella

TABLE 18-4 Summary of Key Reactions and Characteristics of HACEK and *Capnocytophaga* Species

	Catalase	Oxidase	Glucose	Maltose	Sucrose	Lactose	Comments
Aggregatibacter aphrophilus Gram stain: small coccobacillus Colony morphology: raised, convex, granular, yellowish	–	V	+	+	+	+	
Aggregatibacter actinomycetemcomitans Gram stain: very small coccobacillus Colony morphology: small colonies that adhere to agar	+	V	+	V	–	–	
Cardiobacterium hominis Gram stain: straight bacilli, spindles, rosettes Colony morphology: smooth, opaque, adherent to agar	–	+	+	+	+	–	Indole+
Eikenella corrodens Gram stain: straight bacilli Colony morphology: usually pits the agar	–	+	–	–	–	–	Smells like bleach Ornithine+
Kingella kingae Gram stain: coccoid to straight bacilli, chains and pairs, square ends Colony morphology: 2 types—spreading and corroding or smooth and convex β-hemolysis under colony	–	+	+	+	–	–	Nitrate–
***Capnocytophaga* spp.** Gram stain: long, thin bacilli; tapered ends Colony morphology: flat colonies, irregular in shape, may appear purple	–	–	+	+	–	V	Esculin V

+, Positive; –, negative; *V*, variable.

FIGURE 18-16 Gram stain of *Cardiobacterium hominis* showing typical "rosettes" (×1000).

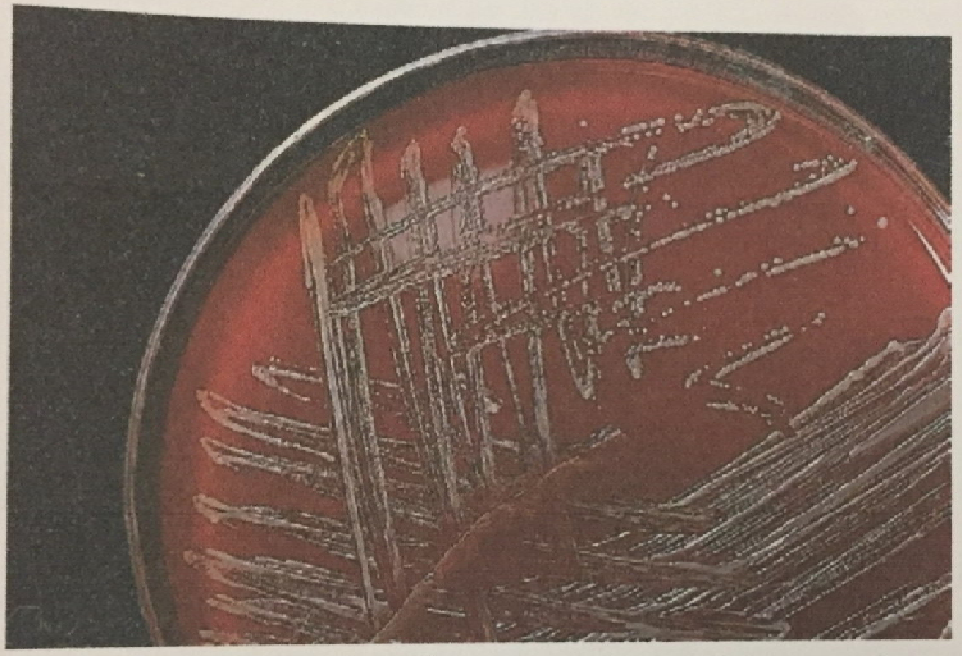


FIGURE 18-12 *Aggregatibacter aphrophilus* growing on sheep blood agar (SBA).

FIGURE 18-14 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* on sheep blood agar (SBA). The star-shaped centers of the colonies are not usually evident until after 48 hours of incubation and are best observed using a ×100 magnification (light microscope) or a stereomicroscope.

FIGURE 18-15 Growth of colonies of *Cardiobacterium hominis* over 48 hours on sheep blood agar (SBA).

FIGURE 18-16 Gram stain of *Cardiobacterium hominis* showing typical "rosettes" (×1000).

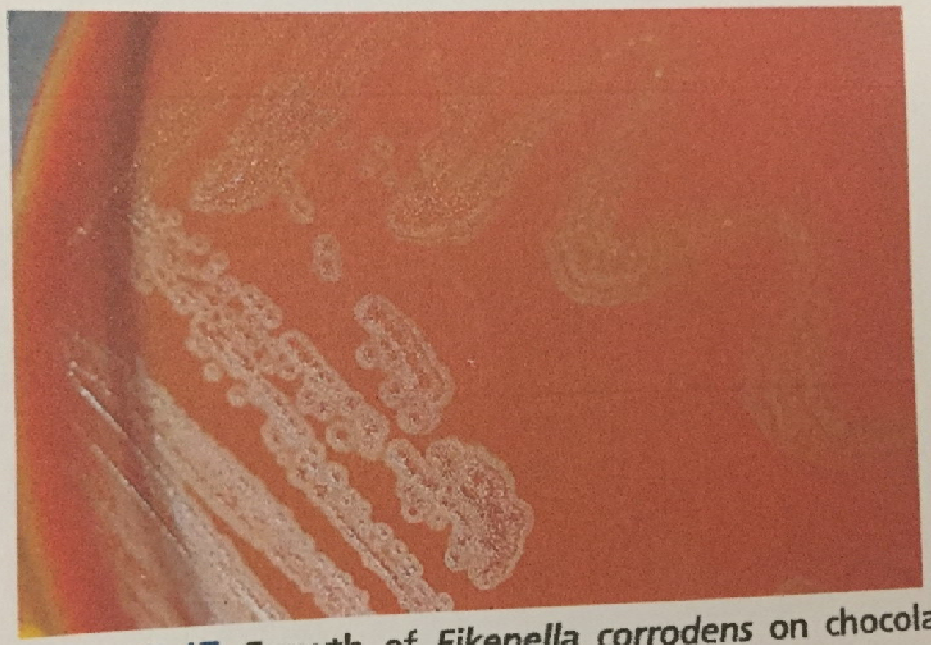


FIGURE 18-17 Growth of *Eikenella corrodens* on chocolate (CHOC) agar. (Compare with Figure 18-20)

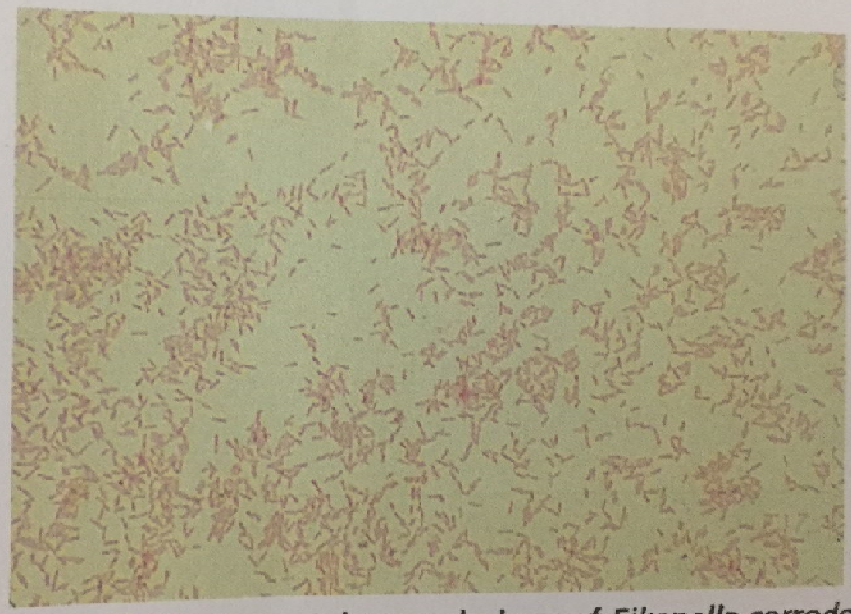


FIGURE 18-18 Gram stain morphology of *Eikenella corrodens* (×1000).

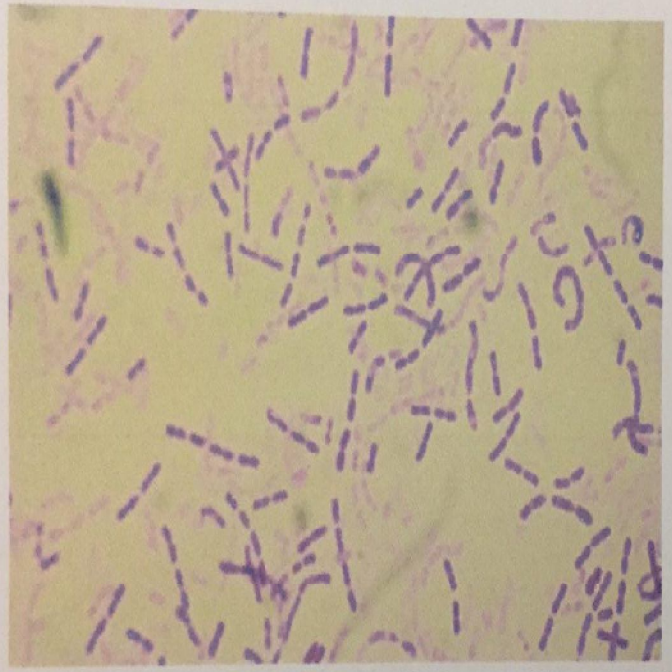


FIGURE 18-19 Gram stain of *Kingella kingae* illustrating the plump bacilli in chains. Compare with the other members of the HACEK group (×1000).

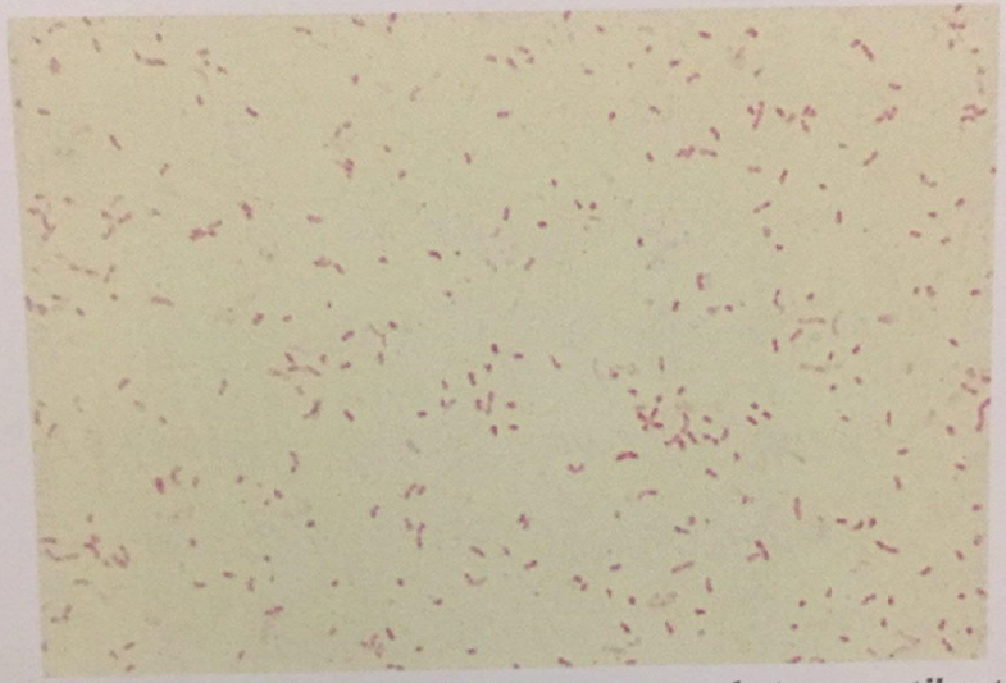
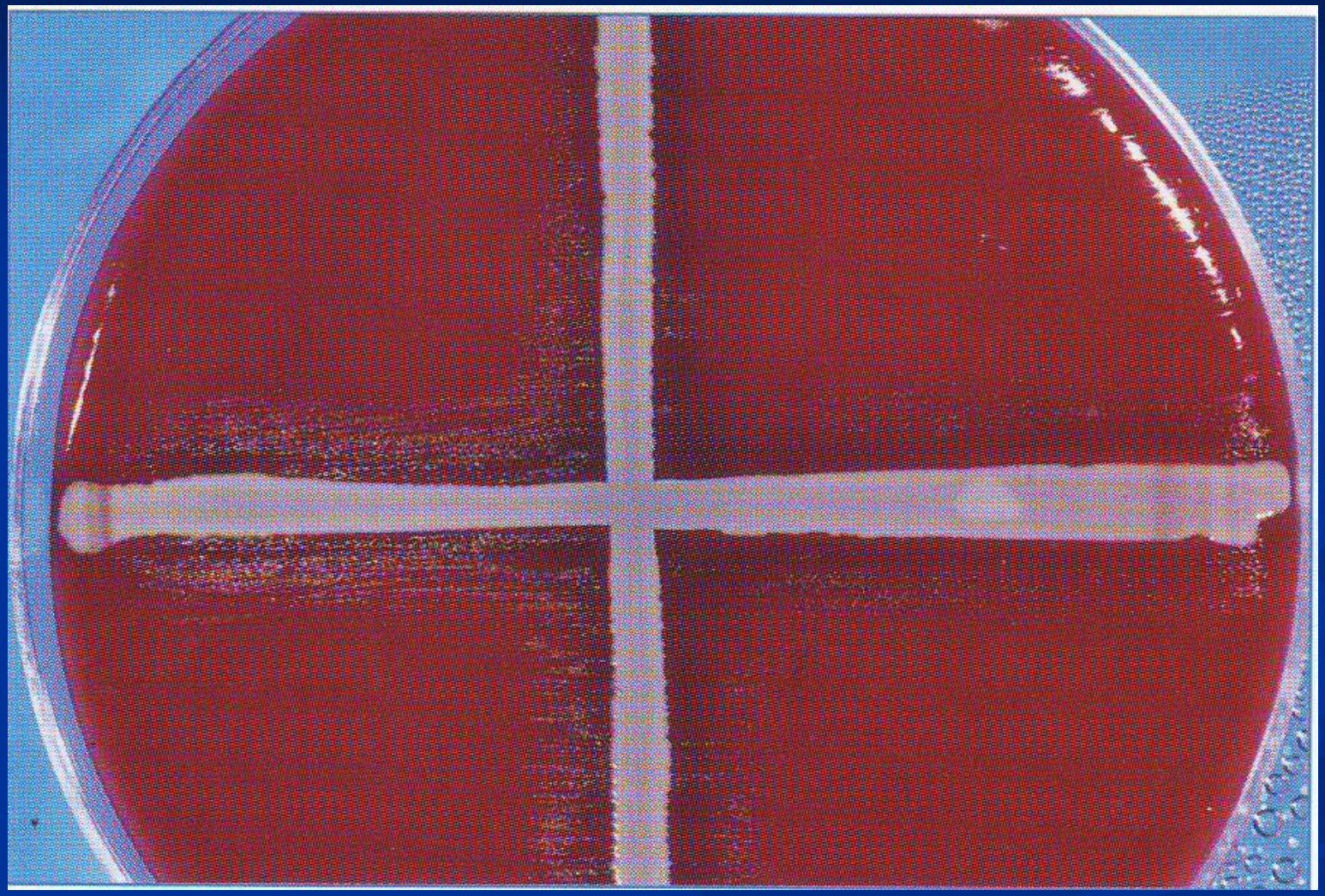


FIGURE 18-13 Gram stain morphology of *Aggregatibacter aphrophilus* (×1000).



نتایج بحرانی Critical value

موارد زیر باید فورا گزارش شود:

- نتایج رنگ گرم از بطری شامل باکتری و قارچ
- تهیه گسترش مرطوب Wet mount
- در موارد استفاده از محیط مایکباکتریوم رنگ آمیزی اسیدفست

موارد زیر می تواند گزارش شود:

- انجام تست کوآگولاز از بطری کشت خون
- رنگ آمیزی Modified kinyoun در مورد نوکاردیا
- اکسیداز
- انحلال در املاح صفراوی، سایر تست های افتراقی، DNase

Biomarkers

- Procalcitonin : Sensitivity حساسیت 77%
  Specificity اختصاصیت 79%

لاکتات سرم

CRP

Procalcitonin

D-dimer

Contamination in blood culture

آلودگی در کشت خون

- 2-3% آلودگی می تواند وجود داشته باشد.

P.acnes , Diphtheroids , Micrococcus , CONS

جداسازی از 2 یا بیشتربطری کشت خون : عفونت

جداسازی ارگانیسم هم زمان از کشت خون و سایر مایعات بدن: عفونت

جداسازی از یک بطری کشت خون : امکان آلودگی

چگونه آلودگی را کاهش دهیم :

- آموزش افراد Phlebotomist
- عدم نمونه برداری از کاتتر
- استفاده از دستکش استریل
- محلول ضدغفونی مناسب
- ضدعفونی درب بطری
- تلقیح بطری کشت خون قبل از سایر لوله ها
- ارزیابی طیف آلودگی

بروسلا
جداسازی و خصوصیات کشت

- تب مواج ، تب مدیترانه ای ، Crimean ، Matla
- افراد در معرض خطر : تماس با حیوانات ، محصولات حیوانی
- کارکنان آزمایشگاه 2% موارد بروسلا

خطر برای آزمایشگاهیان (30-100%)

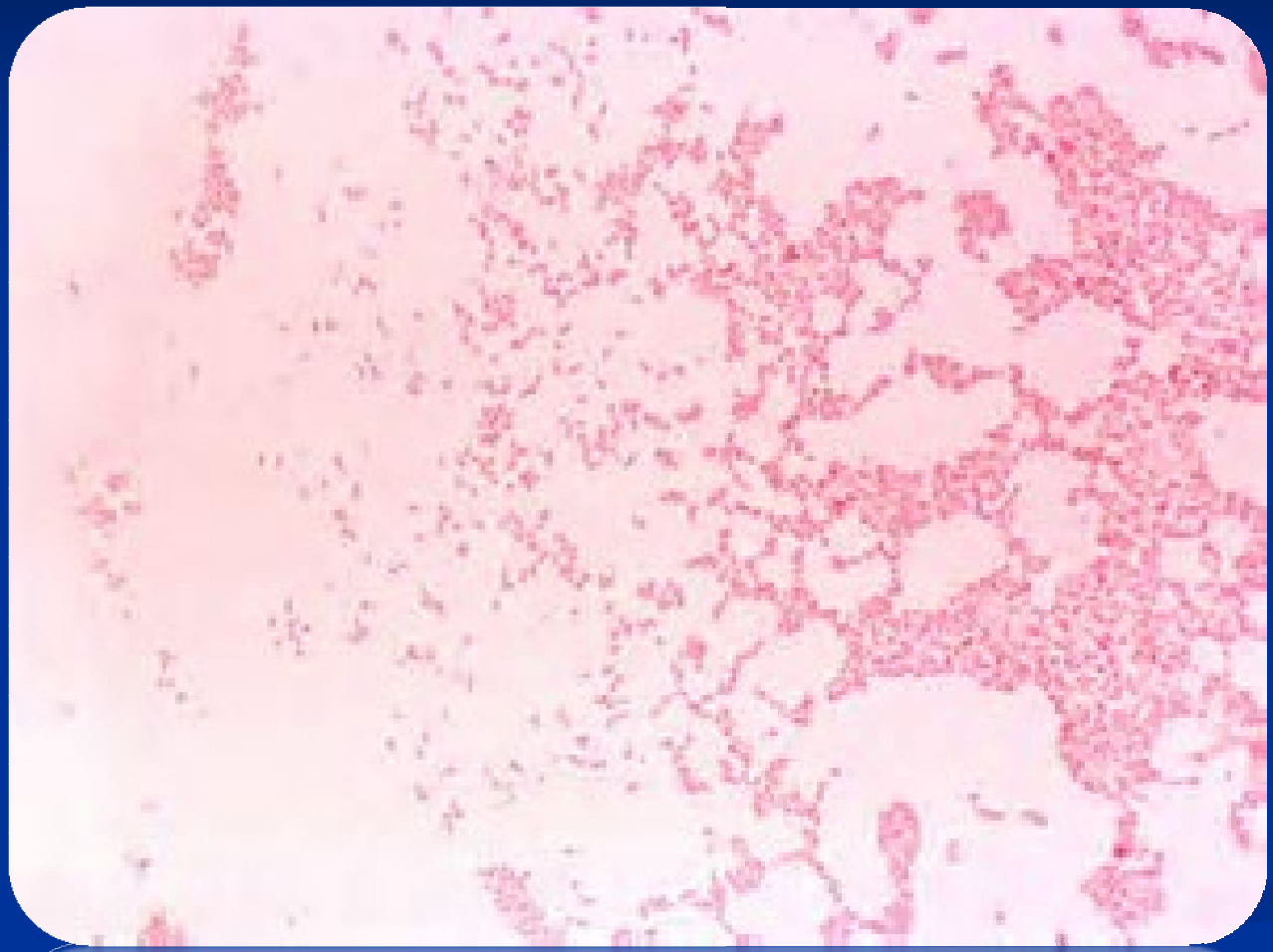
- کابینت ایمنی کلاس 3
- روش های تولید Aerosols
  - برداشت نمونه خون بوسیله سرنگ
  - مخلوط کردن – تهیه گسترش
  - انجام تست های تشخیصی
  - آگاه نمودن پرسنل آزمایشگاه از امکان جداسازی بروسلا

جداسازی و تشخیص

- نوع نمونه : خون ، مغز استخوان ، بافت ،CSF ، بیوپسی
- کشت در بطری کشت خون هوازی و بی هوازی
- قرار دادن بطری به مدت 4-6 هفته (Blind Subculture)
- روش های اتوماتیک 5-7 روز تا 10-14 روز نگه داری شوند.

مشخصات بروسلا

- رشد آهسته BA ، CA ، ML – TM – Bcye Agar 4 رو
- کوکوباسیل ، بدون حرکت ، بدون کپسول
- هوازی – اکسیداز و کاتالاز مثبت – اوره آز مثبت



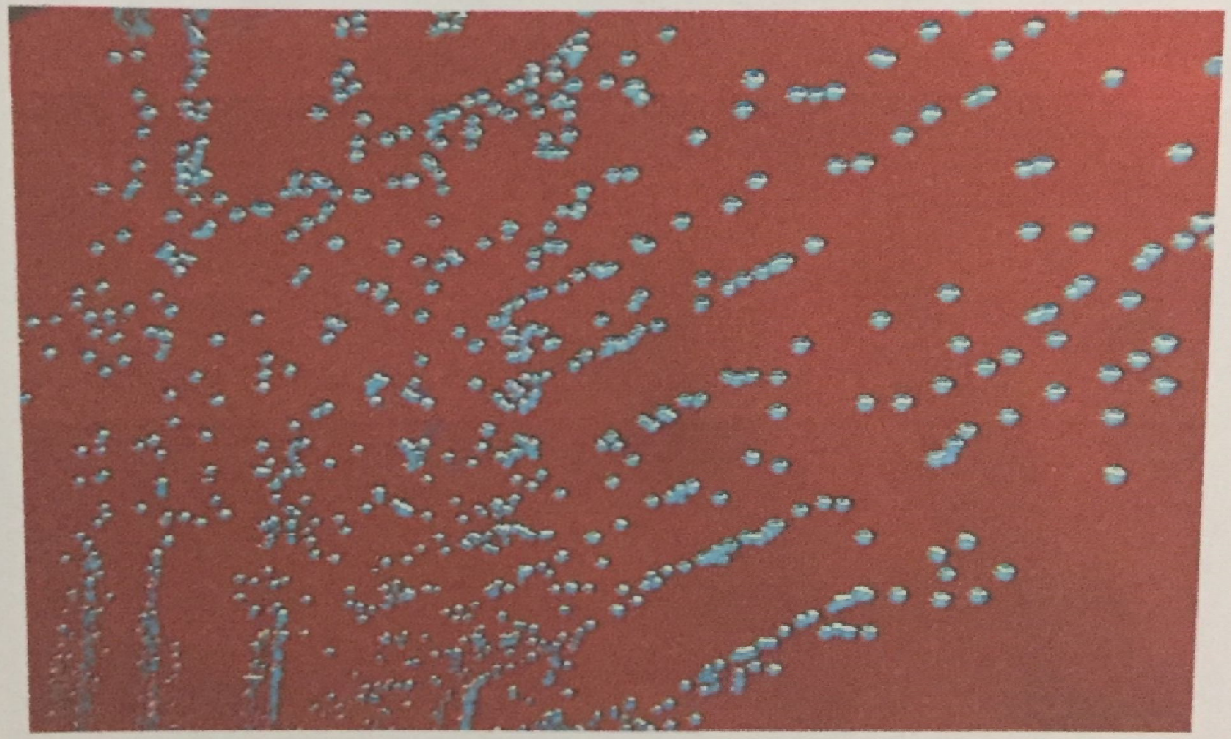


FIGURE 18-24 *Brucella melitensis* colonies on sheep blood agar (SBA) appear smooth, raised, and translucent. (From the CDC Public Health Image Library. Available at: http://www.phil.cdc.gov/phil. Courtesy Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory.)

TABLE 18-6 Differential Characteristics of *Brucella* Species Associated with Human Infections

Brucella Species	Natural Hosts	Serum Agglutination (Patient Antibodies)	H_2S (Lead Acetate)	Urease	CO_2 (Enhanced Growth)	Inhibition of Growth in Dyes	
						Thionine	Fuchsin
B. melitensis	Goat or sheep	+	–	V	–	–	–
B. abortus	Cattle	+	+	+<2 hours	+/–	+	–
B. suis	Swine	+	+	+<0.5 hour	–	–	+
B. canis	Dogs	–	–	+<0.5 hour	–	–	+

CO_2, Carbon dioxide; *H_2S*, hydrogen sulfide; +, >90% positive; –, >90% negative; *+/–*, more positive than negative; *V*, variable.

TABLE 18-7 Differential Characteristics for the Identification of *Brucella* from Similar Organisms

Test	*Brucella* spp.	*Bordetella bronchiseptica*	*Acinetobacter* spp.	*Psychrobacter phenylpyruvicus**	*Oligella ureolytica*	*Haemophilus influenzae*
Oxidase	+†	–	–	+	+	V
Motility	–	+	–	–	V	–
Urea hydrolysis	+	+	V	+	+	V
Nitrate reduction	+	+	–	V	+	+
Growth SBA	+	+	+	+	+	–
Cellular morphology	Tiny ccb stains faint	Small ccb, bacilli	Broad ccb	Broad ccb	Tiny ccb	Small ccb
Specimen source	Blood, bone marrow	Respiratory tract	Various sites	Various sites	Urinary tract	Mucous membrar
X or V factor requirement	–	–	–	–	–	+

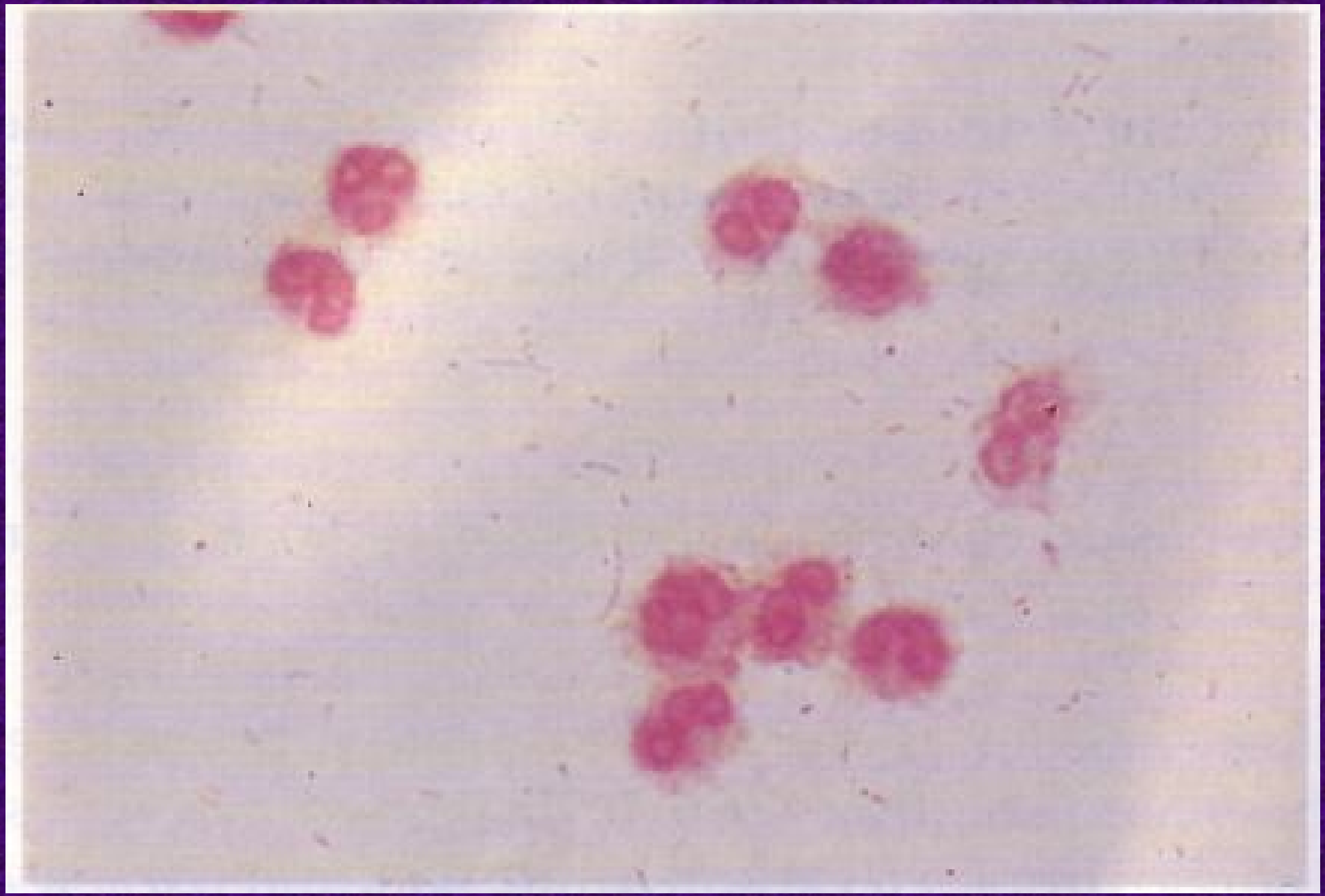
From CDC: *Presumptive Brucella spp. identification and similar organisms*. Available at: http://www.bt.cdc.gov/documents/PPTResponse/table5brucellaid.pc Accessed July 28, 2013.

+, >90% positive; –, >90% negative; *V*, variable (11%-89% positive); *ccb*, coccobacillus; *SBA*, sheep blood agar.

*Formerly *Moraxella phenylpyruvica*.

†*B. abortus*, *B. melitensis*, and *B. suis* are ≥95% positive; *B. canis* is 72% positive.

Haemophilus influenzae
and
Antimicrobial susceptibility Test



Box 9-1 Members of the Genus *Haemophilus*

Human Species	Animal Species
*H. influenzae**	*H. parasuis* (swine)
H. parainfluenzae	*H. paragallinarum* (poultry)
H. haemolyticus	*H. paracuniculus* (rabbits)
H. parahaemolyticus	*H. haemoglobinophilus* (dogs)
H. aphrophilus	*H. felis* (cats)
H. paraphrophilus	
H. paraphrophaemolyticus	
H. segnis	
H. ducreyi	

* *Includes the former species H. aegyptius as H. influenzae biogroup aegyptius.*

TABLE 31-5 **Key Biochemical and Physiologic Characteristics of *Haemophilus* spp.**

Organism	X Factor	V Factor	Beta-Hemolytic on Rabbit Blood Agar	Catalase	Lactose	Glucose	Xylose	Sucrose	Mannose	Beta-galactosidase
Haemophilus influenzae	+	+	+	+	−	+	+	−	−	−
Haemophilus aegyptius	+	+	+	+	−	+*	−	−	−	−
Haemophilus haemolyticus	+	+	+	+	−	+	v	−	−	−
Haemophilus parahaemolyticus	−	+	+	v	−	+	−	+	−	v
Haemophilus parainfluenzae	−	+	v	v	−	+	−	+	+	v
Haemophilus pittmaniae	−	+	+	+w	−	+	−	+	+	+
Haemophilus paraphrohaemolyticus	−	+	+	+	−	+	−	+	−	v
H. ducreyi	+	−	−*	−	−	v	−	−	−	−
A. aphrophilus	+	v	−	−	+	NA	NA	+	v	+

+, >90% of strains positive; −, >90% of strains negative; *v*, indicates a variable reaction; *w*, indicates a weak reaction.

*Delayed reactions in some strains.

Data compiled from Versalovic J: *Manual of clinical microbiology*, ed 10, Washington, DC, 2011, ASM Press; Weyant RS, Moss CW, Weaver RE, et al, editors: *Identification of unusual pathogenic gram-negative aerobic and facultatively anaerobic bacteria*, ed 2, Baltimore, 1996, Williams & Wilkins.

Table 9-1 Characteristics for Differentiation of Members of the Family *Pasteurellaceae*

CHARACTERISTIC	*HAEMOPHILUS*	*ACTINOBACILLUS*	*PASTEURELLA*	*MANNHEIMIA*	*LONIPINELLA*	*PHOCOENOBACTER*
Hemolysis	V	V	–	V	–	–
Catalase	V	V	+	+	–	–
Oxidase	V	V	V	+	–	+
Requirement for X factor	V	–	–	–	–	–
Requirement for V factor	+[a]	V	V	–	–	–
Indole	V	–	+[b]	–	–	–
Urease	V	+	V	–	–	–
Acetoin production	–	–	–	–	+	+
ODC	V	–	V	V	–	–
Acid produced from:						
Glucose	+	+	+	+	+	+
L-Arabinose	–	V	–	V	V	NA
Meso-inositol	–	–	–	V	–	–
D-Mannitol	–	V	V	+	–	–
D-Mannose	V	V	+	–	NA	–
D -Melibiose	–	V	–	–	V	–
D -Sorbitol	–	–	V	V	NA	–
Trehalose	–	V	V	–	NA	–

[a] *H. aphrophilus and H. ducreyi are negative.*

[b] *P. avium is indole-negative.*

+, positive reaction; −, negative reaction; V, variable reaction; NA, data not available.

TABLE 18-1 Infections Caused by *Haemophilus influenzae*

Encapsulated Strains	Nonencapsulated Strains
Septicemia	Otitis media with effusion
Septic arthritis	Conjunctivitis
Meningitis	Sinusitis
Osteomyelitis	Bacteremia
Cellulitis	Pneumonia*
Pericarditis	
Pneumonia	
Epiglottitis	

*Nontypable (nonencapsulated) strains cause lower respiratory tract infections primarily in elderly patients and individuals with underlying respiratory tract problems, including cystic fibrosis.

by serotype b. Bloodstream invasion and bacteremic spread follow colonization, invasion, and replication of this organism in the respiratory mucous membranes. Headache, stiff neck, and other meningeal signs are usually preceded by mild respiratory disease.

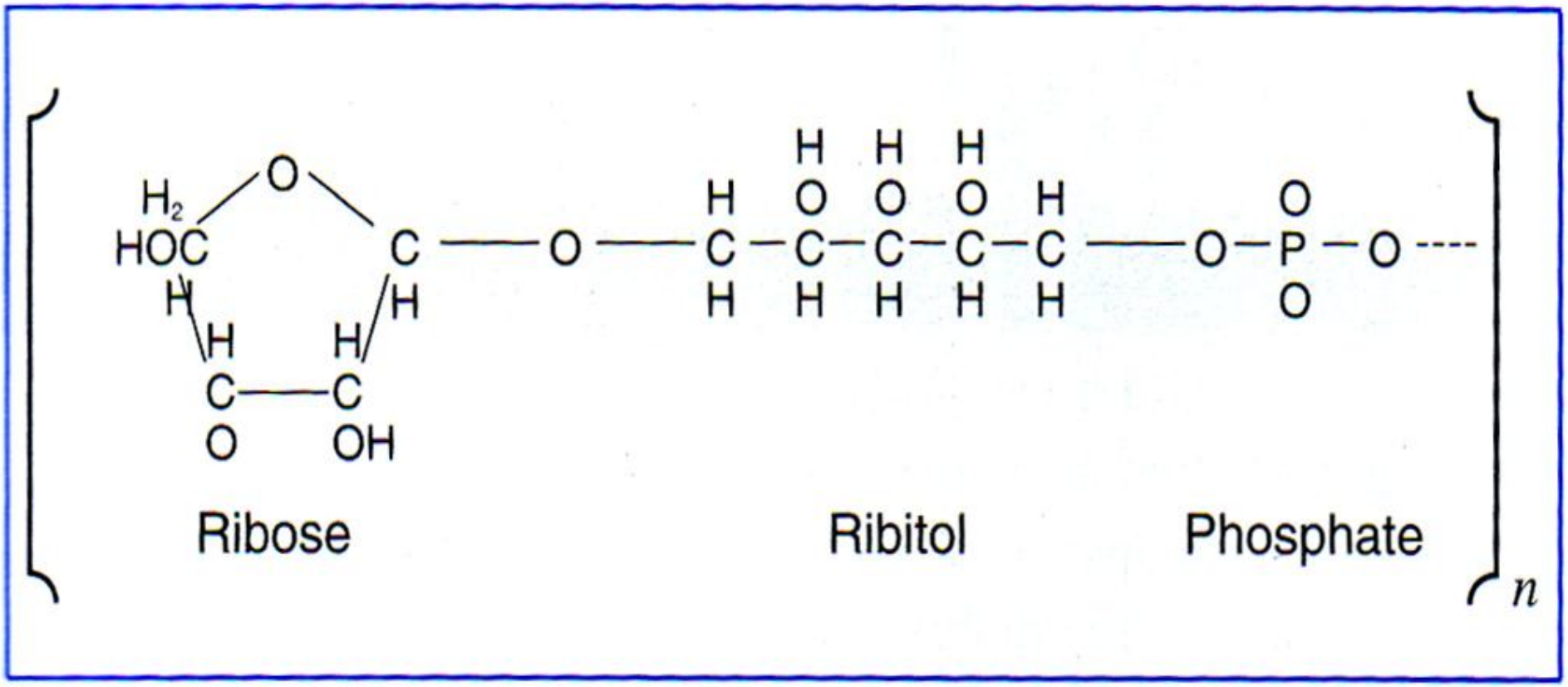


Figure 9-1 Structure of the repeating unit of the *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide polyribose-ribitol-phosphate (PRP). This molecule consists of the five-carbon monosaccharide ribose, linked by an ester bond to ribitol, a five-carbon sugar alcohol which, in turn, is linked to a phosphate group.

Laboratory Diagnostic of haemophilus infection

Gram stain

Detection of type B capsular antigen.

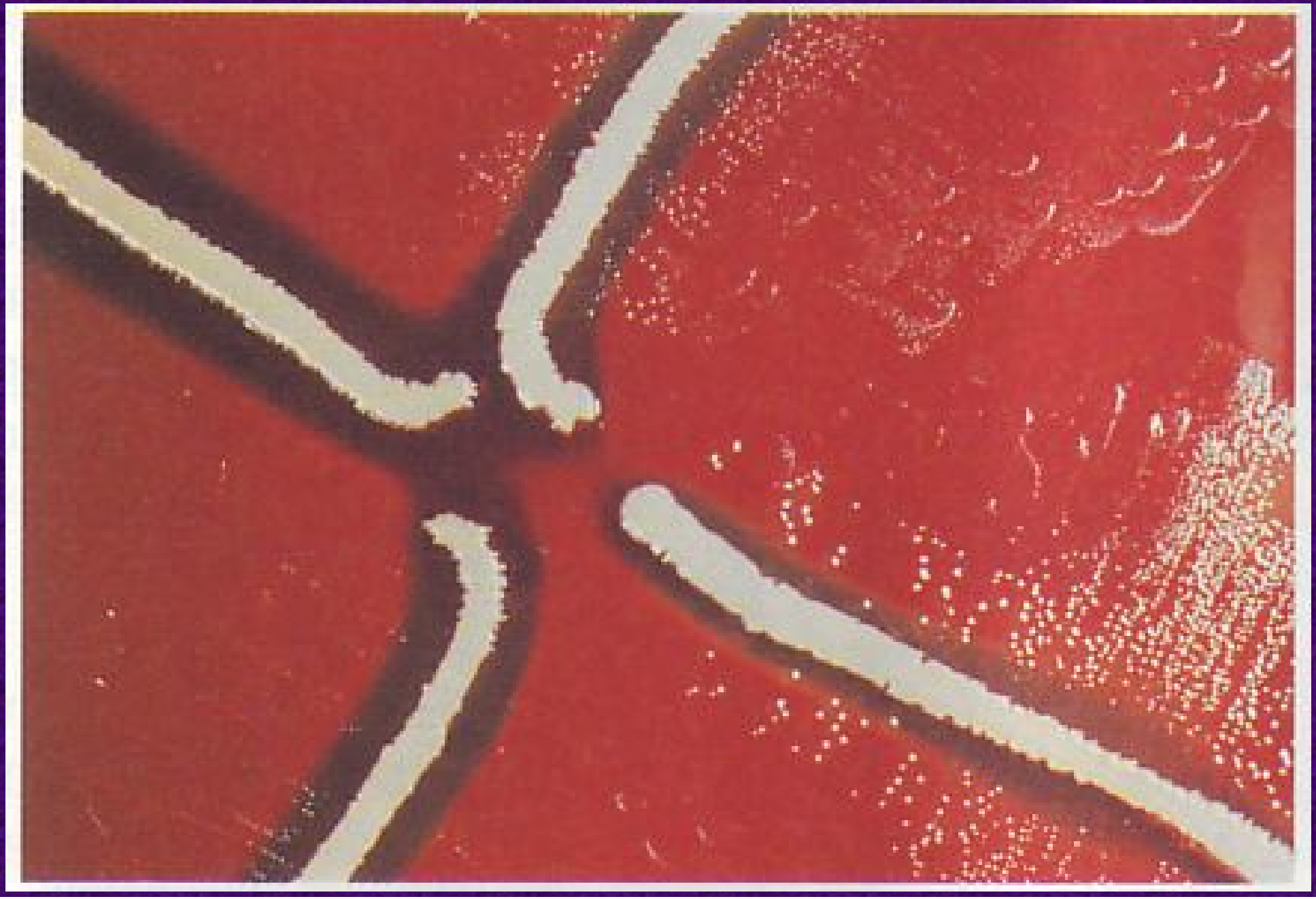
Culture of Haemophilus species:

chocalate Agar

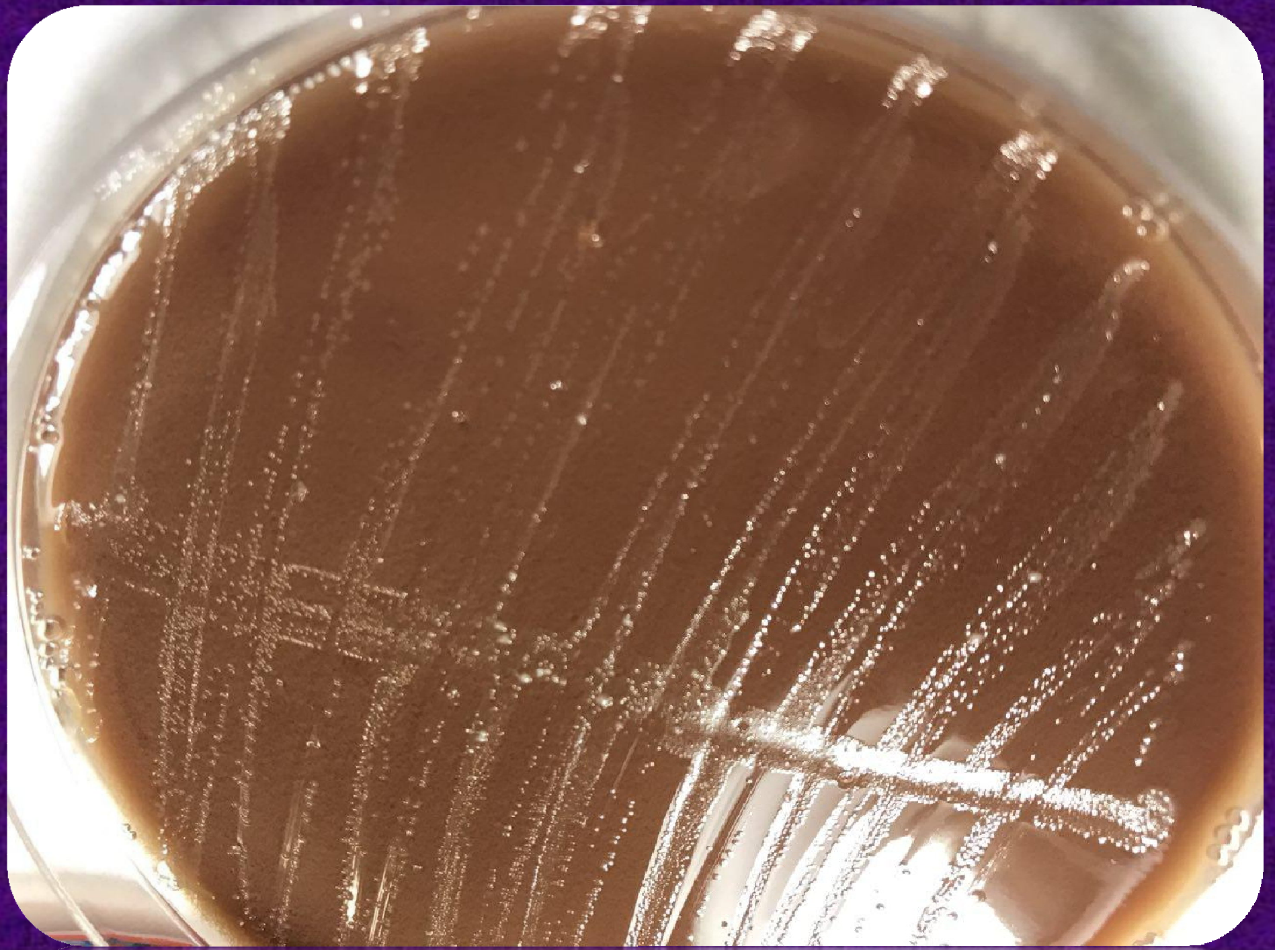
GC Agar + IsoVitalex (Proteose peptone, corn strach monobasic and bibasic phosphate buffers, sodium chloride + NAD

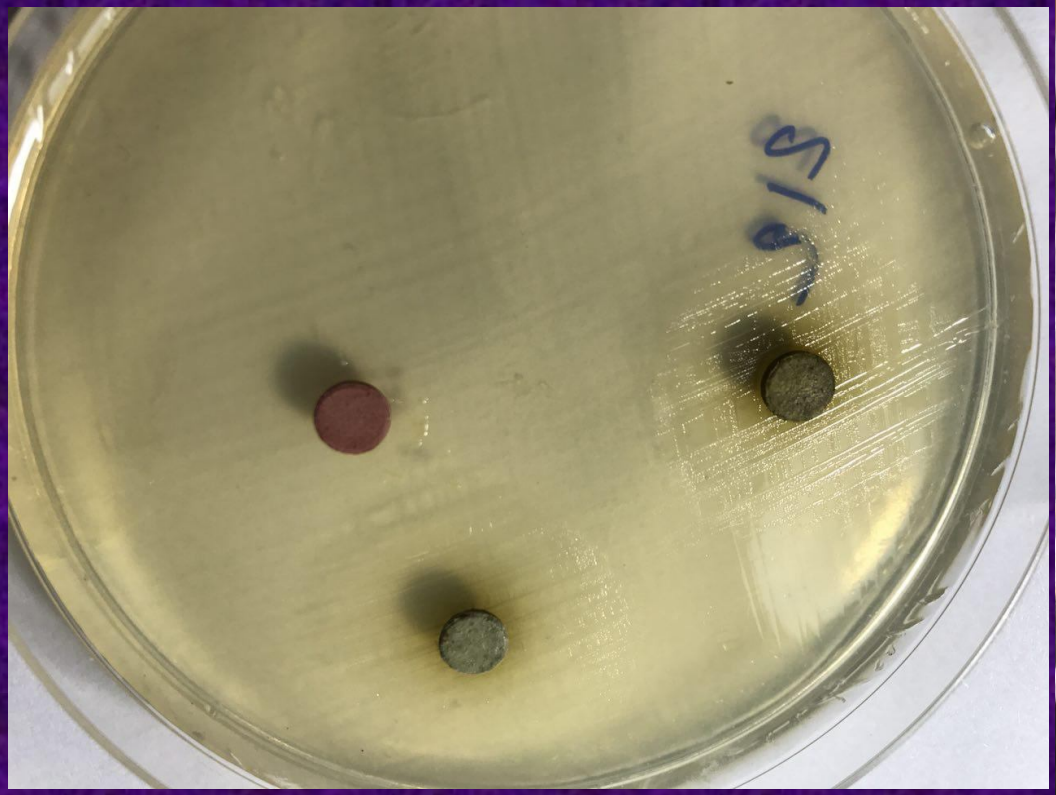
Haemophius Isolation Agar (beef heart infusion peptones, yeast extract, hors blood 5% (X, V factors) Bacitracin (300 µg/ml)

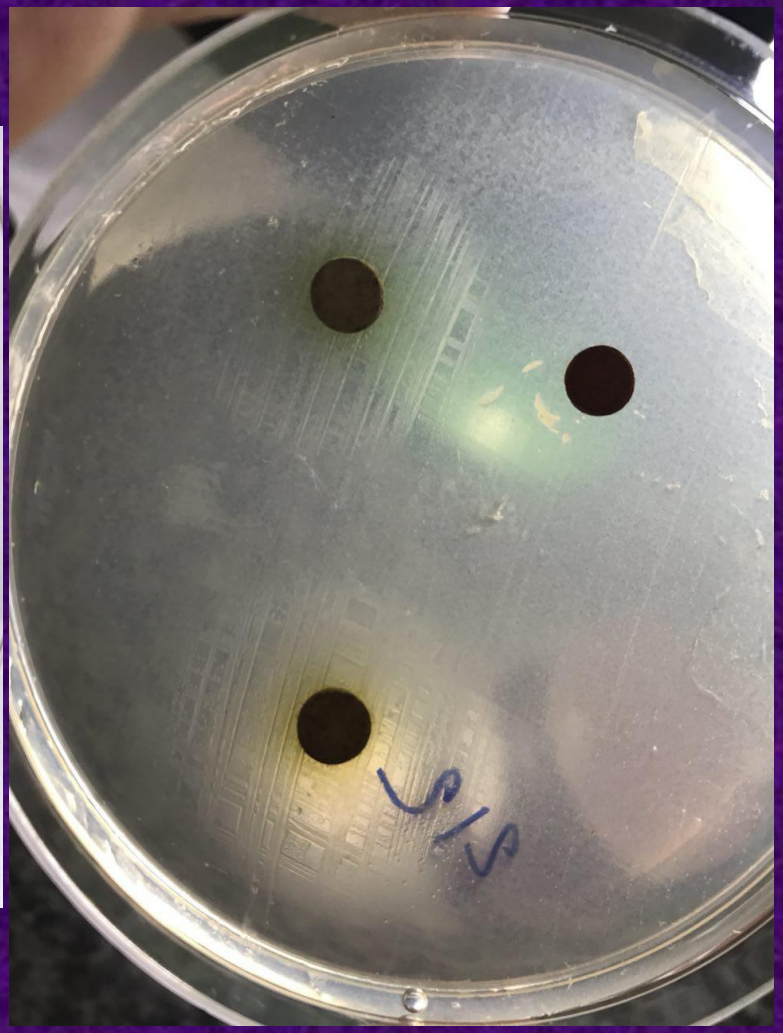
Staphylococal streak technique

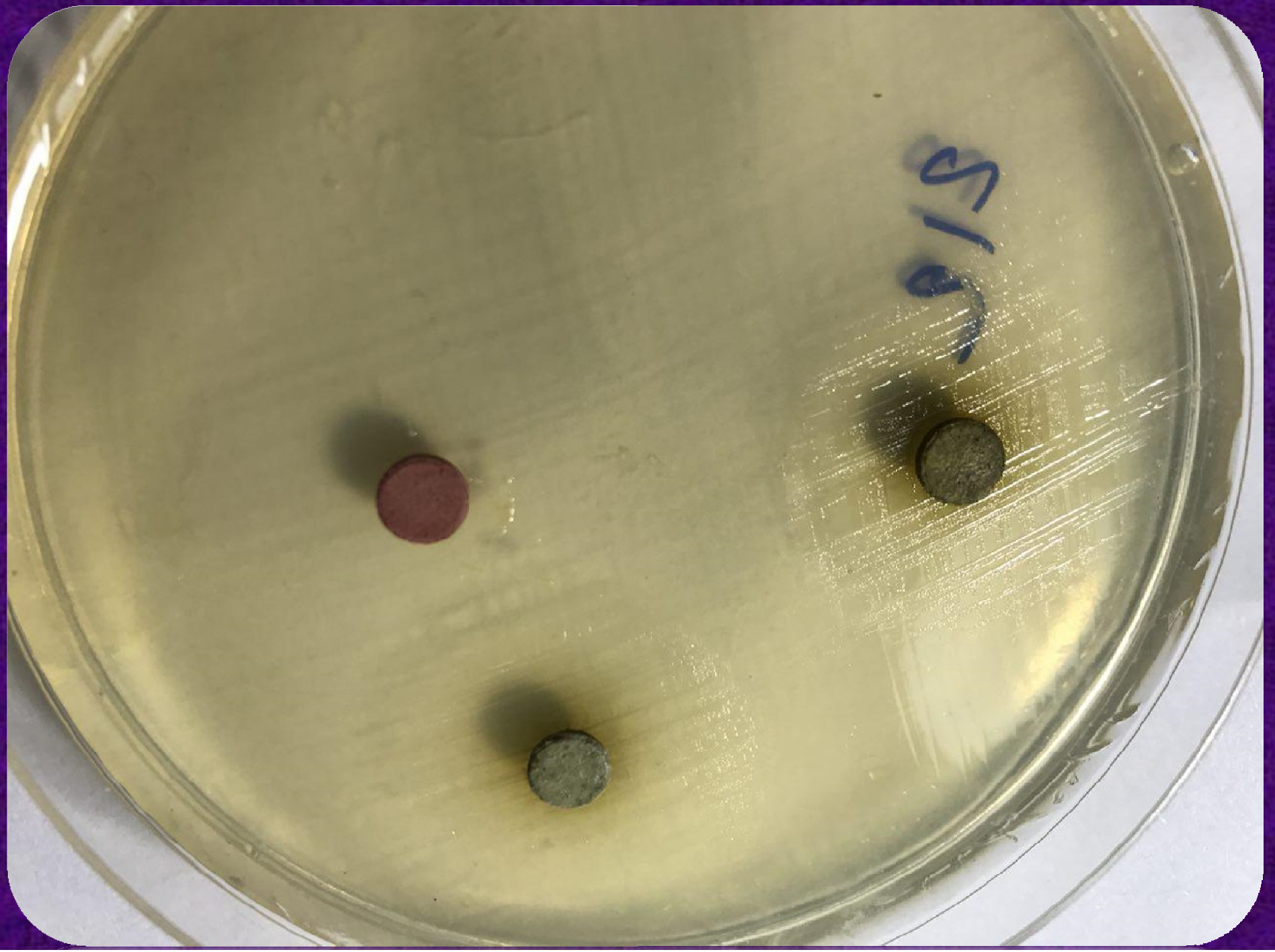


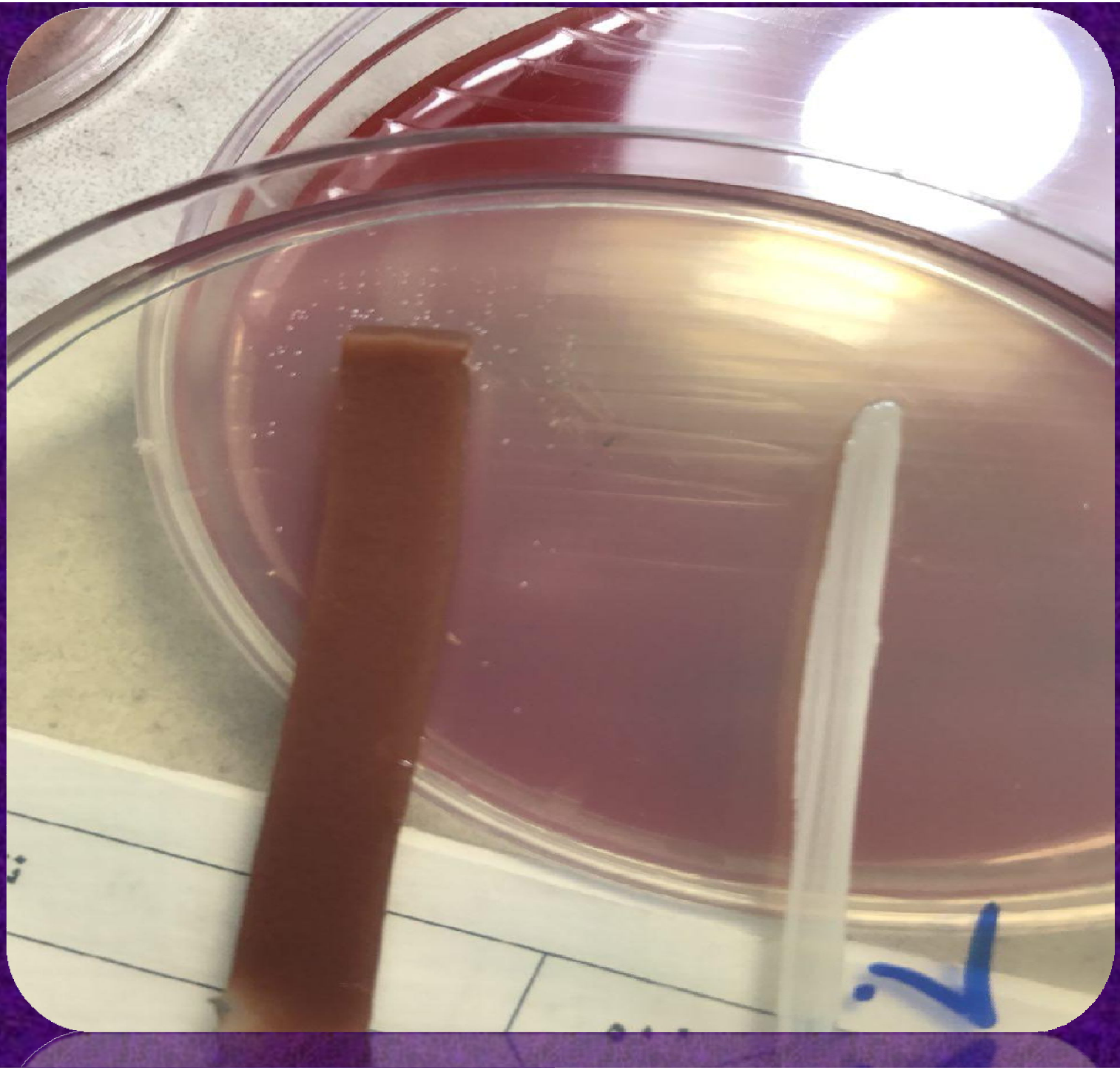
Identification Procedures











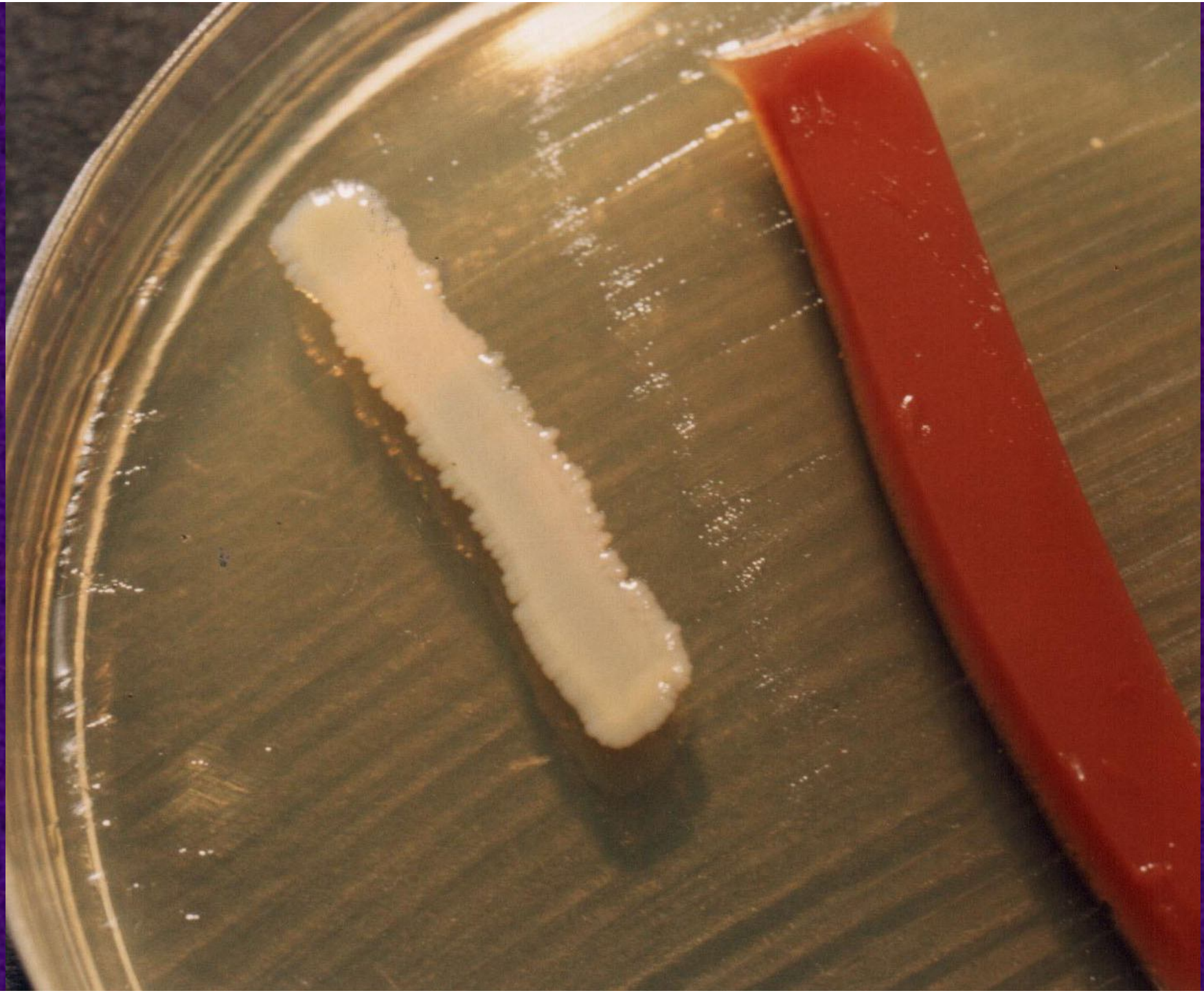


TABLE 18-2 Differential Tests for *Haemophilus* and *Aggregatibacter* Species

	Oxidase	Catalase	Hemolysis (Horse, Rabbit Blood)	Carbon Dioxide Enhances Growth	ONPG	Glucose	Sucrose	Mannose	Fructose	Mannitol	Maltose	Xylose	Lactose	Nitrate	Esculin	Ornithine	Indole	Urea
Factor X+, V+, Porphyrin–																		
H. influenzae	+	+	–	–	–	+	–	–	V	–	–	+	–	+	–	See biotype chart		
H. haemolyticus	+	+	+	–	–	+	–	–	V	–	–	V	–	+	–	–	V	+
Factor X–, V+, Porphyrin+																		
H. parainfluenzae	+	V	–	V	V	+	+	V	+	–	+	–	–	+	–			
H. parahaemolyticus	+	+	+	–	–	+	+	–	+	–	+	–	–	+	–	V	–	+
H. paraphrohaemolyticus	+	+	+	+	V	+	+	–	+	–	+	–	–	+	–	–	–	+
A. segnis	–	V	–	–	–	W	W	–	W	–	W	–	–	+	–	See biotype chart		
Factor X+, V–, Porphyrin–																		
H. ducreyi	–	–	+/–	+/–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
Factor X–, V–, Porphyrin+																		
*A. aphrophilus**	+/–	–	–	+	+	+	+	V	+	–	+	–	+	+	–	–	–	–

ONPG, *O*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside; +, >90% positive; –, >90% negative; +/–, more positive than negative; *V*, variable; *W*, weak reception.
*On initial isolation, may appear to be hemin dependent.

Characteristics for Identification of Human Haemophilus Species

Species / Biotype	Hemolysis	Requirement for: X	Requirement for: V	ALA Test	Indole Test	Urease Test	Ornithine Decarboxylase	Acid Production from: Glucose	Sucrose	Lactose	Fructose	Ribose	Xylose	Mannose
H. influenzae														
Biotype I	−	+	+	−	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−
Biotype II	−	+	+	−	+	+	−	+	−	−	−	+	+	−
Biotype III*	−	+	+	−	−	+	−	+	−	−	−	+	+	−
Biptype IV	−	+	+	−	−	+	+	+	−	−	−	+	+	−
Biotype V	−	+	+	−	+	−	+	+	−	−	−	+	+	−
Biotype VI	−	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	+	+	−
Biotype VII	−	+	+	−	+	−	−	+	−	−	−	+	+	−
Biotype VIII	−	+	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	+	−
Biogroup *aegyptius*	−	+	+	−	−	+	−	+	−	−	−	+^{w}	−	−
H. parainfluenzae†														
Biotype I	−	−	+	+	−	−	+	+	+	−	+	−	−	+
Biotype II	−	−	+	+	−	+	+	+	+	−	+	−	−	+
Biotype III	−	−	+	+	−	+	−	+	+	−	+	−	−	+
Biotype IV	−	−	+	+	+	+	+	+	+	−	+	NA	−	+
Biotype VI	−	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+	NA	NA	v
Biotype VII	−	−	+	+	+	+	−	+	+	−	NA	−	−	NA
Biotype VIII	−	−	+	+	+	−	−	+	+	−	NA	−	−	NA
H. haemolyticus	+	+	+	−	v	+	−	+	−	−	+^{w}	+	v	−
H. parahaemolyticus	+	−	+	+	−	+	v	+	+	−	+	−	−	−
H. segnis	−	−	+	+	−	−	−	+	+^{w}	−	+^{w}	−	−	−
H. aphrophilus	−	−	−	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+
H. paraphrophilus	−	−	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+
H. paraphrophaemolyticus	+	−	+	+	−	+	−	+	+	−	+	−	−	−
H. ducreyi	+^{w}	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

+, positive; −, negative; +^{w}, weak positive; v, variable; NA, not available

* Biotyping reactions are identical with those of *H. influenzae* biogroup aegyptius, but the biogroup aegyptius strains are xylose-negative

† Biotype V strains of *H. parainfluenza* are identical to *H. segnis*.

تغییرات پیشنهاد شده توسط NCCLS (CLSI) در تست حساسیت دارویی

- افزودن موادی به محیط کشت جهت افزایش رشد باکتری
- افزایش زمان انکوباسیون
- انکوباسیون در آتمسفر غنی از CO_2

هموفیلوس انفلوانزه H. influenzae

داروی انتخابی در عفونت‌های موضعی: آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، تری‌متوپریم، سولفامتوکسازول، آموکسی‌سیلین Clavulanic acid، یک سفالوسپورین، تتراسیکلین، یک کینولون.

در عفو نت‌های سیستمیک: سفالوسپورین وسیع الطیف

مکانیسم بروز مقاومت. تولید بتالاکتاماز (سال ۱۹۷۰)

روش انجام تست حساسیت دارویی در هموفیلوس

انتشار از دیسک

روش تعیین MIC

تولید بتالاکتاماز

محیط HTM (مولر هنیتون آگار، ۱۵ µg/ml هماتین، ۱۵ µg/ml NAD،
Yeast extract 5 mg)

HTM broth (۲/۰ IU تایمیدین فسفات در هر میلی لیتر)

Choc-MHA

تفسیر و گزارش نتایج

مقاومت به آمپی‌سیلین در BLNAR = مقاومت به آموکسی سیلین – کلاولانیک، آمپی‌سیلین – Sulbactam، Cefaclor، Cefprozil، Cefuroxime، Loracabef، Cefonicid)

انواع تولیدکننده بتالاکتاز: مقاوم به آمپی‌سیلین و آموکسی سیلین

عدم تولید بتالاکتاماز: حساسیت به آمپی سیلین

مقاومت به SXT حائز اهمیت است.

مقاومت به داروهای خوراکی، سفالوسپورین‌های خوراکی، ماکرولیدهای جدید، کینولون، حائز اهمیت است.

تست β- lactamase

- Nitrocefin disk
- Chromogenic cephalosporin disk

٤ ارگانیسم می‌تواند در یک دیسک آزمایش شود.

هیدرولیز حلقه بتالاکتام سبب تغییر رنگ (زرد به قرمز) می‌شود.

مطالعات انجام شده در تهران

زمان انجام مطالعه ۱۸ ماه

تعداد هموفیلوس جدا شده ۱۸ مورد (۱۱ مورد از چشم، ۵ مورد از ترشحات سینوس، ۱ مورد از خون و ۱ مورد از مایع نخاع)

تعیین بیوتایپ: انواع جدا شده از سینوس بیوتایپ III

انواع جدا شده از چشم ۶ مورد بیوتایپ II و ۵ مورد بیوتایپ III

خون بیوتایپ I

اهمیت تعیین بیوتایپ: ارتباط بیوتایپ های خاص با مقاومت آنتی بیوتیکی و عفونت های متفاوت