- برای بررسی همه‌گیری‌های ناشی از اشریشیا $O_{157}:H_7$، سالمونلا و شیگلا ابتدا مطالب مختصری جهت یادآوری مشخصات این پاتوژن‌ها ذکر می‌گردد و سپس راهکارهای تشخیصی برای جداسازی آنها ارائه می‌شود.

انتروباکتریاسه :

خانواده انتروباکتریاسه بزرگترین و نامتجانس‌ترین مجموعه باسیل‌های گرم منفی هستند که از لحاظ بالینی اهمیت دارند در مجموع ۳۲ جنس و بیش از ۱۳۰ گونه از این خانواده توصیف شده‌اند. جنس‌های این خانواده براساس خصوصیات بیوشیمیایی، ساختار آنتی‌ژنی، هیبریداسیون و ترادف‌یابی اسیدهای نوکلئیک طبقه‌بندی شده‌اند. این باکتری‌ها باعث ایجاد بیماری‌های مختلفی در انسان می‌شود. برخی ارگانیسم‌ها همیشه مرتبط با بیماری هستند (مانند سالمونلا تیفی و گونه‌های شیگلا) ولی برخی دیگر به عنوان اعضای فلور طبیعی کومنسال بوده و با ایجاد شدن شرایط جدید مانند کسب ژن‌های بیماری‌زای موجود در پلاسمید و باکتریوفاژ، بهم‌خوردگی فلور میکروبی، جابجایی فلور میکروبی و ... قدرت بیماری‌زایی را بدست آورده سبب ایجاد عفونت‌های فرصت طلب می‌شوند (مانند E.Coli، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس میرابیلیس و ...)

باکتری‌های روده‌ای:

روده انسان از زمان تولد به وسیله باکتری‌های گوناگون کلونیزه می‌شود. این باکتری‌ها به دو گروه تقسیم می‌شوند:

- باکتری‌های کامنسال: مثل کلبسیلا، انتروباکتر
- باکتری‌های انتروپاتوژن: مثل سالمونلا، شیگلا

مثال‌هایی از مکانیسم بیماری‌زایی برخی از باکتری‌های آنتروپاتوژن :

مکانیسم	شامل
– تولید توکسین • انتروتوکسین	ویبریوکلرا، شیگلا دیسانتری تیپ یک، اشریشیاکلی انتروتوکسینوژن، سالمونلا، آئروموناس، کمپیلوباکترژژونی
• سیتوتوکسین	شیگلا، اشریشیاکلی انتروهموراژیک
• نوروتوکسین	کلستریدیوم‌بوتولینوم، استافیلوکوک‌ارئوس، باسیلوس‌سرئوس
– چسبندگی و اتصال به سلول‌های مخاطی	اشریشیا کلی انتروپاتوژن
– تهاجمی	شیگلا، اشریشیاکلی انترو اینویزیو، کمپیلوباکترژژونی یرسینیا انتروکولیتیکا، سالمونلا، ادوارد سیلاتاردا

صفات عمومی آنتروباکتریاسه:

- باسیل گرم منفی ؛
- اکسیداز منفی ؛
- کشت بررسی محیط معمولی طی ۲۴ ساعت ؛
- هوازی– بی‌هوازی اختیاری ؛
- تخمیر گلوکز ؛
- احیای نیترات به نیتریت ؛
- در انواع متحرک، فلاژل از نوع پری‌تریش.

سالمونلا :

سالمونلاها باسیل‌های گرم منفی و متحرک از خانواده انتروباکتریاسه هستند که باعث بیماری در انسان و حیوانات می‌شوند.

جداسازی سالمونلا :

روز اول

- غنی‌سازی در GN براث و کشت مستقیم نمونه روی محیط XLD یا هکتون (انکوباسیون GN براث به مدت ۶ تا ۸ ساعت در $۳۷^{\circ}C$ و کشت آن روی محیط XLD یا هکتون)

روز دوم

- برداشت پرگنه مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و انجام تست‌های افتراقی

روز سوم

- بررسی نتایج تست‌های افتراقی، انجام سروتایپینگ و تست حساسیت دارویی (آنتی‌بیوگرام)

روز چهارم

- اعلام نتیجه نهایی و معرفی آنتی‌بیوتیک‌های حساس و مقاوم

موارد خطا در تشخیص سالمونلا:

organism	Indole	urea	LDC	Malonate	ONPG
Salmonella (Group I strains) most Serotypes	-	-	+[a]	-	-
(Group III a strains) Salmonella. ari zonae	-	-	+	+	+
Citrobacter. freundii	-[b]	-[c]	-	-	+
Proteus.mirabilis	-	+	-	-	-
Edwardsiella.tarda	+	-	+	-	-

a. S.paratyphiA, LDC = 0%
b. C.freundii, Indole = 33%
c. C.freundii, urea = 44%

شیگلا :

شیگلاها باسیل‌های گرم منفی، فاقد حرکت، از خانواده انتروباکتریاسه هستند که از نظر سرولوژی به ۴ گروه تقسیم می‌شوند:

– گروه A شیگلا دیسانتری که تیپ یک آن همه‌گیری‌های گسترده و طولانی مدت ایجاد می‌نماید و عفونت با آن به نسبت دیگر گونه‌های شیگلا شدیدتر و طولانی‌تر است و در موارد بیشتری با مرگ و میر همراه است.

– گروه B شیگلا فاکسنری که مانند شیگلا دیسانتری در کشورهای در حال توسعه بیشتر دیده می‌شود.

– گروه C شیگلا بویدی و گروه D شیگلا سونئی که در کشورهای توسعه یافته شایع‌تر است.

جداسازی شیگلا:

– غنی‌سازی در GN براث و کشت مستقیم نمونه روی محیط XLD یا هکتون (انکوباسیون GN براث به مدت ۶ تا ۸ ساعت در $37^{\circ}C$ و کشت آن روی محیط XLD یا هکتون) **روز اول**

– برداشت پرگنه مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و انجام تست‌های افتراقی **روز دوم**

– بررسی نتایج تست‌های افتراقی، انجام سروتایپینگ و تست حساسیت دارویی (آنتی‌بیوگرام) **روز سوم**

– اعلام نتیجه نهایی و معرفی آنتی‌بیوتیک‌های حساس و مقاوم **روز چهارم**

نکته: به هنگام جداسازی و تشخیص شیگلا از E.coliهای لاکتوز منفی می‌توان از جدول زیر استفاده نمود:

Organism	Indole	Motility	D-Glucose (gas)	LDC	Lactose	ONPG
Shigella	$V_{(1)}$	-	-	-	- [b1]	$V_{(2)}$
E.coli inactive	+	-	-	- [a]	- [b2]	- [c]
E: coli fergusonii	+	+	+	+	-	+
E. coli hermannii	+	+	+	-	- [b3]	+
E. coli cliVulneris	-	+	+	+	- [b4]	+
E. coli blattae	-	-	+	+	-	-

a) LDC = 40%
b_1) Sh.sonnei, Lactose = 2%
b_2) Lactose = 25%
b_3) Lactose = 45 %
b_4) Lactose = 15 %
C) ONPG = 45%
V_1) Sh.dysenteriae Indole = 45% ____sh.flexneri, Indole = 50% ____ sh. boydii, Indol= 25% ___ sh. Sonnei, Indole = 0%
V_2) Sh.dysenteriae , ONPG = 30% ____ sh.flexneri, ONPG = 1% ____ sh.boydii, ONPG = 10% ___ sh.Sonnei, ONPG = 90%

نمونه‌گیری و راهنمایی تشخیصی به هنگام پیدایش اسهال و گاستروانتریت:

- نمونه‌گیری مدفوع تازه یا سوآب مدفوع
- آزمایش نمونه‌ها در طی ۲ ساعت اولیه
- جمع‌آوری اطلاعات با کمک پزشک و بیمار
  - سن بیمار
  - مسافرت جدید و منشاء جغرافیایی
  - دفعات اسهال
  - وجود خون در مدفوع
  - دریافت آنتی‌بیوتیک
  - علایم کلینیکی: تب، درد شکم و تهوع

راهنمایی ناشی از آزمایش‌های بیولوژیک:

- مشاهده ماکروسکپی نمونه
- تهیه سوسپانسیون ۱۰٪ از مدفوع قوام‌دار در سرم فیزیولوژی
- مشاهده میکروسکپی نمونه بین لام و لامل
  - لکوسیت
  - هماسیت
  - بررسی حرکت باکتری
- تهیه لام رنگ‌آمیزی گرم بر روی نمونه مدفوع و مشاهده
  - میکروارگانیسم خاص
  - دیس میکروبیسم (بهم خوردن نظم فلور میکروبی روده)

اشریشیاکلی:

جنس اشریشیاکلی فراوان‌ترین ارگانیسم بی‌هوازی اختیاری موجود در کولون و مدفوع است و شامل ۵ گونه می‌باشد که اشریشیاکلی شایع‌ترین و با اهمیت‌ترین گونه از لحاظ بالینی است.

– سویه‌هایی از آن که سبب گاستروانتریت می‌شوند به شش گروه تقسیم می‌شوند:

- Enterotoxigenic E.coli (ETEC): عامل اسهال کودکان زیر ۵ سال و اسهال مسافران در کشورهای در حال توسعه است.
- Enterophatogenic E.coli (EPEC): علت عمده اسهال کودکان در کشورهای توسعه نیافته است.
- Enteroinvasive E.coli (EIEC): سویه‌های آن از نظر خصوصیات بیماری‌زایی و ظاهری شباهت زیادی به شیگلا دارند.
- Enterohemorrhagic E.coli (EHEC) : که شایع‌ترین سویه عامل اسهال‌های ناشی از غذا در کشورهای توسعه یافته می‌باشد.
- Diffusely adherant E.coli (DAEC): اسهال آبکی در کودکان ۱ تا ۵ ساله ایجاد می‌کند.

EHEC (سروتیپ $O_{157}:H_7$)

این دسته از E.coliها معمولاً باعث اسهال آبکی که متعاقباً خونی شده و همراه با درد شکمی و بندرت با تب گزارش می‌شود، می‌گردد. در برخی از بیماران استفراغ نیز وجود دارد و بیشترین موارد بیماری در کودکان زیر ۵ سال مشاهده می‌شود. (میانگین سن ابتلا ۱۵ ماهه تا ۷۳ سال) بیشترین موارد بیماری به علت مصرف گوشت قرمز گاو و یا دیگر محصولات گوشتی با پخت ناکافی، آب، شیر، آبمیوه‌های پاستوریزه نشده، سبزیجات پخته نشده و میوه‌ها می‌باشد. این ارگانیسم سمومی همانند سم شیگلا دیسانتری تیپ یک تولید می‌کند (Shiga-liketoxin) و به همین جهت در طغیان‌های دیسانتری که گونه‌های شیگلا از مدفوع بیماران مبتلا به اسهال خونی جدا نمی‌شود باید مورد توجه قرار گیرد. از آنجا که درمان به علت ایجاد سندرم

HUS توسط E.coli $O_{157}:H_7$ توصیه نمی‌شود، آزمون حساسیت ضدمیکروبی برای آن ضروری نمی‌باشد.

روش‌های جداسازی و شناسایی E.coli $O_{157}:H_7$:

این باکتری به سرعت لاکتوز را تخمیر نموده و از دیگر سروتایپ‌های E.coli که بر روی محیط‌های متداول لاکتوزدار رشد می‌کنند قابل افتراق نیست. با این وجود، تقریباً تمام موارد جدا شده E.coli $O_{157}:H_7$ بر خلاف ۸۰ درصد E.coliها، ایزومر راست گردان سوربیتول (D-Sorbitol) را اصلاً تخمیر نمی‌کند و یا به آهستگی تخمیر می‌نماید.

آگار Sorbitol-macconkey (S-Mac) که محیط انتخابی برای E.coli $O_{157}:H_7$ است با بهره‌گیری از همین ویژگی و جایگزینی کربوهیدرات سوربیتول بجای لاکتوز در آگار Mac ساخته شده است. (این محیط بصورت آماده بفروش می‌رسد.)

* توجه داشته باشید که اضافه نمودن سفکسیم و تلوریت به این محیط سبب می‌شود تا جداسازی این سروتیپ E.coli اختصاصی‌تر شود (محیط اختصاصی‌تر SMac ـ CT، که در آن ساپلمنت CT، بصورت آماده به محیط Smac اضافه می‌گردد).

زیرا E.coliهای دیگری نظر E. fergusonii و E. hermannii نیز قند د- سوربیتول را تخمیر نمی‌کنند که جهت افتراق $O_{157}:H_7$ انجام تست سرولوژیکی جهت کلنی مشکوک سوربیتول منفی (کلنی بی‌رنگ) حتماً ضروری می‌باشد.

کلید تشخیصی : کلنی‌های سوربیتول منفی بر روی محیط S-mac بی‌رنگ به نظر می‌رسند.

معمولاً نیازی به استفاده از محیط غنی‌کننده برای جداسازی E.coli $O_{157}:H_7$ از فردی که بیماری حاد دارد، نیست. محیط کشت داده شده S-mac در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه می‌شود.

کلنی‌های سوربیتول منفی را از S-mac انتخاب نموده با آنتی سرم O_{157} مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آن آزمایش کرده و سپس شناسایی آنتی‌ژن H_7 فلاژلی نیز باید انجام پذیرد.

نمونه‌های جدا شده‌ای که بی‌حرکتند یا آنتی‌ژن H_7 در مورد آنها منفی است باید از نظر توکسین شیگلا آزمایش شوند تا سوش‌های بیماری‌زا شناسایی گردد (این کار در آزمایشگاه مرجع انجام می‌گردد).

در پایان خلاصه مطالب جمع‌آوری شده جهت مروری بر آنچه که بیان گردید ارائه می‌شود.

بررسی همه‌گیری‌های ناشی از سالمونلا، شیگلا، اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$:

* شرایط نمونه‌گیری:

۱. بیمار مبتلا به اسهال باشد.
۲. آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده باشد.
۳. حداکثر ظرف ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از شروع علائم نمونه‌گیری کنید.

* نوع نمونه:

ممکن است نمونه بصورت مدفوع تازه و یا به صورت سوآب به آزمایشگاه ارسال شود:

۱. مدفوع تازه
۲. سوآب مدفوع
۳. سوآب رکتال

* مقدار نمونه‌گیری:

۱. معادل ۵ گرم از نمونه قوام‌دار و در صورت آبکی بودن معادل 5^{cc} از مدفوع تازه برداشت کنید.
۲. حداقل ۲ سوآب مدفوع یا سوآب رکتال تهیه کنید.

* محیط انتقال:

– محیط کری‌بلر: محیط PH =۸/۴ که داشتن قوام نیمه جامد آن موجب آسانی حمل و نقل شده و در صورت نگهداری در محیط خشک و تغییر نیافتن حجم و رنگ و خشک نشدن آن تا ۱۸ ماه قابل استفاده برای انتقال نمونه‌های مشکوک به سالمونلا، شیگلا و اشریشیاکلی می‌باشد.

* نگهداری نمونه:

۱. مدفوع تازه را حداکثر طی ۲ ساعت کشت دهید.
۲. از سوآب مدفوع یا سوآب رکتال نگهداری شده در دمای $+۴^{\circ}C$ حداکثر ظرف ۴۸ ساعت استفاده کنید.
۳. در صورت عدم انتقال و کشت نمونه در مدت تعیین شده ترجیحاً در فریزر $-۲۰^{\circ}C$ (یا فریزرهای خانگی) نگهداری کنید.

* انتقال نمونه:

۱. در لوله‌های محیط انتقال دهنده را کاملاً ببندید.
۲. بر روی هر لوله اطلاعات لازم به بیمار را به طور کامل ثبت کنید.
۳. جهت پرهیز از شکستن، لوله‌ها را بسته‌بندی و در ظرف دوجداره که عایق ضدآب و رطوبت است قرار دهید.
۴. در صورت ارسال با پست باید مقررات ارسال بسته‌های نمونه‌گیری را رعایت کنید.

روش کار تشخیص پاتوژن‌های مولد اسهال

بررسی سالمونلا

روز اول : **مرحله غنی‌سازی و کشت**	تلقیح نمونه مدفوع با قرار دادن سوآب مدفوع یا رکتال در محیط GN براث و کشت مستقیم نمونه روی محیط XLD یا هکتون ← گرما گذاری GN براث در ۳۷°C به مدت ۶ تا ۸ و گرما گذاری پلیت کشت مستقیم در ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت (پس از انکوبه شدن GN براث، آن را روی محیط XLD یا هکتون کشت دهید)
روز دوم : **مرحله بررسی کشت و جداسازی**	برداشت پرگنه مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و کشت آن بر روی محیط‌های افتراقی: انتخاب پرگنه‌های سبز یا سبز متمایل به آبی با یا بدون SH_2 روی محیط هکتون و پرگنه‌های قرمز رنگ با یا بدون SH_2 روی محیط XLD و انتقال به محیط‌های افتراقی نظیر KIA یا TSI، SIM، اوره، سیمون سیترات، ONPG, LDC, MRVP ← گرما گذاری در ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت * توجه داشته باشید تست ONPG، حداکثر بعد از ۴ ساعت بررسی شود و در صورت منفی بودن تا مرحله بعدی مورد استفاده قرار گیرد (تا روز بعد)
روز سوم : **مرحله شناسایی**	بررسی محیط‌های افتراقی، انجام تست سرولوژی و آنتی‌بیوگرام: انتخاب یک پرگنه کاملاً تک برای تست سرولوژی با آنتی‌سرم مناسب و تهیه استاندارد نیم مک فارلند جهت انجام آنتی‌بیوگرام ← گرما گذاری پلیت مربوط به آنتی‌بیوگرام در ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت
روز چهارم : **مرحله پاسخ نهایی**	اعلام نتیجه سروتایپ و معرفی آنتی‌بیوتیک‌های حساس و مقاوم

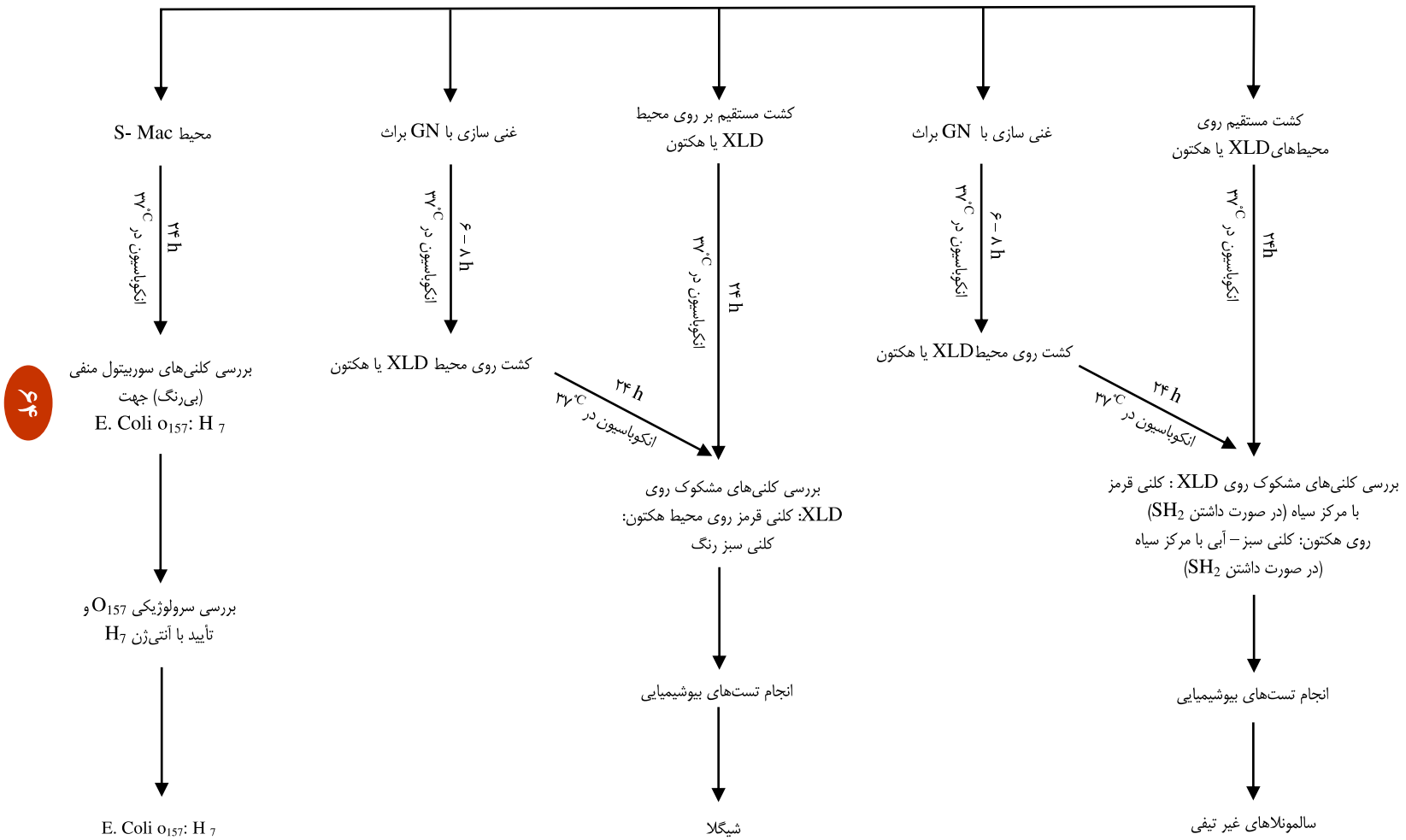
بررسی شیگلا

روز اول : **مرحله غنی‌سازی و کشت**	تلقیح نمونه مدفوع با قرار دادن سوآب مدفوع یا رکتال در محیط GN براث و کشت مستقیم نمونه مدفوع روی محیط XLD یا هکتون ⟵ گرما گذاری GN براث در $37^{\circ}C$ به مدت ۶ تا ۸ ساعت و گرماگذاری پلیت کشت مستقیم در $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴ ساعت (پس از انکوبه شدن GN براث، آن را روی محیط XLD یا هکتون کشت دهید)
روز دوم : **مرحله بررسی کشت و جدا سازی**	برداشت پرگنه مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و کشت آن بر روی محیط‌های افتراقی: انتخاب کلنی‌های سبز رنگ روی محیط هکتون و کلنی‌های قرمز رنگ روی محیط XLD و انتقال به محیط‌های افتراقی KIA یا TSI، SIM، اوره، سیمون‌سیترات، ONPG, LDC, MRVP ⟵ گرما گذاری در $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴ ساعت * توجه داشته باشید تست ONPG، حداکثر بعد از ۴ ساعت بررسی شود و در صورت منفی بودن برای مرحله بعدی (روز بعد) مورد استفاده قرار گیرد.
روز سوم : **مرحله شناسایی**	بررسی محیط‌های افتراقی، انجام تست سرولوژی و آنتی‌بیوگرام: انتخاب یک پرگنه کاملاً تک برای تست سرولوژی و آنتی‌سرم مناسب و تهیه استاندارد نیم مک‌فارلند جهت انجام آنتی‌بیوگرام ⟵ گرما گذاری پلیت مربوط به آنتی‌بیوگرام در $37^{\circ}C$ به مدت ۲۴ ساعت
روز چهارم : **مرحله پاسخ نهایی**	اعلام نتیجه سروتایپ و معرفی آنتی بیوتیک‌های حساس و مقاوم

بررسی کشت اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$

روز اول : مرحله کشت	کشت نمونه مدفوع یا سوآب مدفوع یا رکتال بر روی محیط S-mac(ترجیحاً CT،S-mac) ← گرماگذاری در $۳۷^{\circ}C$ به مدت ۲۴ ساعت
روز دوم : مرحله جدا سازی، سروتایپ و اعلام نتیجه	برداشت پرگنه‌های مشکوک از روی محیط اختصاصی: کلنی‌های بیرنگ که سوربیتول منفی هستند ← انتخاب کلنی تک جهت انجام تست سرولوژی با آنتی‌سرمO_{157} و سپس تأیید آن با آنتی‌سرم فلاژلی H_7 و پس از تأیید آن، اعلام نتیجه

نمونه مدفوع یا نمونه همراه با ترانسپورت کری‌بلر یا سوآب مقعدی



(پیوست ۵)

تقسیم‌بندی دانشگاه‌های علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کشور برای ارسال کلیه نمونه‌های بالینی استاف ارئوس و ۵ تا ۱۰٪ نمونه‌های بالینی سالمونلا، شیگلا و E.Coli 0157 :H7 به دو آزمایشگاه همکار در تهران

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

دانشگاه/ دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی
۱. تهران
۲. ایران
۳. مشهد + بجنورد
۴. گلستان
۵. مازندران
۶. خوزستان
۷. اصفهان
۸. هرمزگان
۹. یزد
۱۰. چهارمحال بختیاری
۱۱. کرمانشاه
۱۲. کردستان
۱۳. قم
۱۴. همدان
۱۵. بیرجند
۱۶. سبزوار
۱۷. بابل
۱۸. کاشان
۱۹. مرکزی
۲۰. گناباد

مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دانشگاه/ دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی
۱. شهید بهشتی
۲. آذربایجان شرقی
۳. آذربایجان غربی
۴. اردبیل
۵. گیلان
۶. شیراز
۷. کرمان
۸. سیستان و بلوچستان
۹. بوشهر
۱۰. کهکیلویه و بویراحمد
۱۱. فسا
۱۲. جهرم
۱۳. ایلام
۱۴. زنجان
۱۵. قزوین
۱۶. شاهرود
۱۷. سمنان
۱۸. زابل
۱۹. لرستان
۲۰. رفسنجان

(پیوست ۶)

فهرست دانشگاه‌های علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی منتخب کشور (هفت قطب) که آزمایشگاه‌های کنترل غذا و داروی آنها نمونه‌های مشکوک غذا را برای تشخیص آلودگی آنها به سالمونلا، شیگلا، E.Coli O157 و استافیلوکوک‌ارئوس از دانشگاه‌های علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تحت پوشش خود دریافت می‌کنند.

۱. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز
۲. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران
۳. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد
۴. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز
۵. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان
۶. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اهواز
۷. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمانشاه

(پیوست ۷)
دستورالعمل جمع‌آوری نمونه‌های مواد غذایی به هنگام شیوع بیماری‌های مرتبط با غذا
(Foodborne disease outbreaks)

مقدمه و اهمیت موضوع :

پدیده جهانی شدن و افزایش مسافرت‌ها و توسعه گردشگری و همچنین افزایش مصرف غذا در خارج از منزل در جوامع مختلف بیماری‌های منتقله از غذا را به عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح کرده است.

از میان عوامل مؤثر در افزایش بیماری‌های منتقله از غذا، نقل و انتقالات جمعیتی اهمیتی بیشتر از بقیه دارد. طبق تخمین مراکز ذیصلاح سالیانه جمعیتی حدود ۷۰۰ میلیون نفر در سطح جهان نقل و انتقال می‌یابند. نکته مهم دیگر اینکه بیماری‌های اسهالی ناشی از آلودگی‌های غذایی معمولاً در ۲۴ تا ۴۸ ساعت بدون هیچگونه مداخله پزشکی بهبود می‌یابند و معمولاً تشخیص داده نشده و گزارش نمی‌شوند. این مسئله بویژه در نبود نظام مراقبت فعال بیماری کار تشخیص به موقع و پاسخ‌دهی مناسب و کنترل آنها را بسیار مشکل می‌سازد و بروز طغیان‌های (out breaks) بیماری منجر به تلفات انسانی و خسارت‌های مادی فراوان می‌شود. از طرفی نمونه‌برداری صحیح یا به عبارتی جمع‌آوری تعداد کافی و مناسب نمونه‌های مختلف مواد غذایی اساس کار بررسی‌های میکروبیولوژیکی است که متعاقب همه‌گیری مسمومیت‌ها و بیماری‌های ناشی از غذا انجام می‌گیرد و یا برای بازرسی و نظارت مواد غذایی ضرورت دارد. تصمیم در انتخاب نمونه، تعداد نمونه‌هایی که می‌بایستی انتخاب شوند، روش نمونه‌برداری و چگونگی راه‌های حمل آنها به طوری که تغییر فاحشی در تعداد و کیفیت باکتری‌ها ایجاد نشود حائز اهمیت است. دقت، صحت و کفایت نمونه‌برداری به اندازه سرعت در رساندن آنها به آزمایشگاه و روش‌های آماده کردن و آزمون نمونه‌ها دارای اهمیت می‌باشد.

نمونه‌برداری از مواد غذایی:

قبل از بیان مسئله این نکته حائز اهمیت است که بهترین نمونه مواد غذایی در مراقبت یا کنترل بیماری‌های مرتبط در یک طغیان، نمونه مواد غذایی باقیمانده مورد مصرف می‌باشد.

۱- نحوه نمونه‌برداری و ارسال آن :

الف) نکات مورد توجه و لازم در مورد نحوه نمونه‌برداری ؛

۱. اطمینان از سترون بودن تجهیزات نمونه‌برداری ؛
۲. انجام عملیات نمونه‌برداری در شرایط استریل و ترجیحاً در مجاورت حرارت انجام شود ؛
۳. نمونه یا نمونه‌های گرفته شده نماینده کل مواد غذایی مشکوک باشد ؛
۴. میزان و مقدار هر نمونه با توجه به نوع مواد غذایی به ترتیب ذیل می‌باشد :

- مواد غذایی جامد یا نیمه جامد — حداقل ۱۰۰ و حداکثر ۳۰۰ گرم
- مواد غذایی مایع — حداقل ۲۵۰ و حداکثر ۵۰۰ سانتی‌متر مکعب
- مواد غذایی کنسروی — ارسال یک قوطی یا ظرف

لازم به ذکر است در صورت زیاد بودن ماده غذایی تعداد نمونه به تناسب زیاد می‌شود. همچنین داشتن نمونه شاهد دردرجه حرارت ۱۸- درجه سانتی‌گراد در صورت نیاز به انجام آزمایش مجدد ضروری است.

ب) نکات مورد توجه و لازم در ارسال نمونه:

۱. تکمیل فرم مشخصات همراه نمونه توسط نمونه‌بردار ؛
۲. ارسال نامه اداری جهت درخواست انجام آزمایشات مورد نیاز ؛
۳. حفظ شرایط درجه حرارت محیط نمونه در مسیر انتقال به آزمایشگاه که با توجه به وضعیت مواد غذایی به ترتیب ذیل می‌باشد:

- مواد غذایی منجمد بایستی شرایط انجماد حفظ شود و به آزمایشگاه انتقال داده شود.
- مواد غذایی غیرمنجمد در درجه حرارت $^{\circ}C$ ۵-۰ به آزمایشگاه انتقال داده شود.

۴. زمان ارسال نمونه در کمتر از ۲۴ ساعت صورت پذیرد در غیر این صورت در $-18^{\circ}C$ نگهداری و در اسرع وقت به آزمایشگاه انتقال داده شود.

۲- روند اجرایی انتقال نمونه مواد غذایی به آزمایشگاه و پس‌خوراند نتایج نمونه‌ها به سیستم

الف) روند اجرایی انتقال نمونه مواد غذایی در خصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با اشریشیاکلی، سالمونلا و شیگلا

فرم مشخصات همراه نمونه در خصوص نمونه‌های مشکوک به آلودگی با اگزوتوکسین‌های باکتریایی و برخی از پاتوژن‌ها جهت ارسال به آزمایشگاه کنترل غذا و دارو و انستیتو پاستور ایران

معاونت بهداشتی/ سلامت/ دانشگاه/ دانشکده علوم پزشکی .....

مرکز بهداشت شهرستان/ شبکه .....

۱. **نوع نمونه:**

۲. **محل نمونه‌برداری:**

مراکز تهیه، توزیع و عرضه مواد غذایی ☐ اماکن خصوصی (منزل شخصی، ....) ☐

۳. **نشانی نمونه‌برداری:**

۴. **تاریخ نمونه‌برداری:**

۵. **شرایط نگهداری نمونه قبل از مصرف:**

دمای زیر صفر ☐ دمای یخچال ☐ دمای معمولی ☐ دمای پخت ☐

۶. **تاریخ وقوع مسمومیت:**

۷. **علائم مسمومیت:**

تب ☐ سرگیجه ☐ سردرد ☐ دل درد ☐ تاری دید ☐

تهوع ☐ استفراغ ☐ اسهال ☐ اسهال خونی ☐ اختلال در بلع ☐

۸. **زمان شیوع علائم پس از مصرف غذا:**

کمتر از ۱۲ ساعت ☐ ۱۲ تا ۲۴ ساعت ☐ بیش از ۲۴ ساعت ☐

۹. **میزان شیوع مسمومیت:**

تعداد مسمومین: محدوده سنی مسمومین:

۱۰. **تاریخ ارسال نمونه به آزمایشگاه:**

۱۱. **شرایط انتقال نمونه به آزمایشگاه:**

دمای زیر صفر ☐ دمای یخچال ☐ دمای معمولی ☐

تذکر : در صورت عدم تکمیل فرم، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو از پذیرش نمونه و انجام آزمایش معذور می‌باشد.

نام نمونه‌بردار:

نکات لازم در مورد نحوه نمونه‌برداری و ارسال نمونه به آزمایشگاه کنترل غذا و دارو در خصوص نمونه‌های مشکوک به آلودگی با اگزوتوکسین‌های باکتریایی و برخی پاتوژن‌ها*

۱. ویژگی نمونه : نمونه مورد آزمون باید به نحوی جمع‌آوری شود تا نماینده کل فرآورده مشکوک باشد.

۲. **نحوه نمونه‌برداری :** در حین نمونه‌برداری با بکارگیری از ظروف و وسایل سترون، شرایط استریل رعایت گردد.

۳. نکات ایمنی : با پیشگیری از استنشاق و تماس نمونه با پوست، نکات ایمنی رعایت شود.

۴. میزان نمونه : میزان نمونه جهت تکرار آزمون کافی باشد (حدود ۱۰۰گرم)

۵. **مشخصات لازم همراه نمونه :** (طبق فرم پیوست)

۶. نحوه نگهداری و انتقال نمونه : در صورت امکان انتقال نمونه به آزمایشگاه در کمتر از ۲۴ ساعت پس ازنمونه‌برداری، باید نمونه را در دمای ۵-۰ $^{\circ}C$ نگهداری نمود، در غیر این صورت پس از نمونه‌برداری باید نمونه را فوراً منجمد کرد (۱۸- $^{\circ}C$) و در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال نمود. حمل و نقل باید به طریقی انجام پذیرد که از ایجاد ترک در ظرف نمونه، پاشیدن نمونه به خارج و تغییر در دمای آن جلوگیری شود.

* Salmonella, E.coli, Shigella

بازرس بهداشت محیط مرکز بهداشتی درمانی محل با حفظ رعایت کامل شرایط نمونه‌برداری، از مواد غذایی مشکوک نمونه گرفته و در اسرع وقت به مرکز بهداشت شهرستان و از آنجا به مرکز بهداشت استان و یا مستقیم به آزمایشگاه کنترل غذای استان انتقال داده می‌شود. جواب آزمایشات به مرکز بهداشت استان یا مستقیم به مرکز بهداشت شهرستان ارسال که در صورت دوم رونوشت جواب جهت برنامه‌ریزی استانی به مرکز بهداشت استان ارسال می‌گردد.
جهت بررسی بهتر و مناسب‌تر در زمان همه‌گیری (out breaks) ۵ درصد از نمونه‌های غذایی با کلونی مشکوک از طریق آزمایشگاه کنترل غذای استان به یکی از آزمایشگاه‌های کنترل غذا و داروی هفت قطب کشور ارسال می‌گردد. جواب نهایی به استان و جهت هماهنگی و برنامه‌ریزی کشوری به مرکز مدیریت بیماری‌ها و مرکز سلامت محیط و کار معاونت سلامت ارسال می‌گردد. (فلوچارت آن پیوست می‌باشد).

ب) روند انتقال نمونه مواد غذایی درخصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با برخی توکسین‌ها (استافیلوکوک‌اورئوس):

بازرس بهداشت محیط مرکز بهداشتی درمانی محل با حفظ رعایت کامل شرایط نمونه‌برداری، از مواد غذایی مشکوک نمونه گرفته و در اسرع وقت به مرکز بهداشت شهرستان و از آنجا به مرکز بهداشت استان و یا مستقیم با هماهنگی شهرستان و استان به یکی از آزمایشگاه‌های کنترل غذا و داروی هفت قطب کشور ارسال می‌نماید. جواب آزمایش توسط آزمایشگاه مستقیم به استان مربوطه و رونوشت آن جهت هماهنگی و برنامه‌ریزی به مرکز مدیریت بیماری‌ها و مرکز سلامت محیط و کار معاونت سلامت ارسال می‌گردد. (فلوچارت آن پیوست می‌باشد).

روند انتقال نمونه به یکی از آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو (هفت قطب) در خصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با برخی پاتوژن‌ها *

بهداشت محیط مرکز بهداشتی درمانی

نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ

مرکز بهداشت شهرستان

نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ

مرکز بهداشت استان

نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ

آزمایشگاه کنترل غذای استان
(معاونت/ مدیریت غذا و دارو استان)

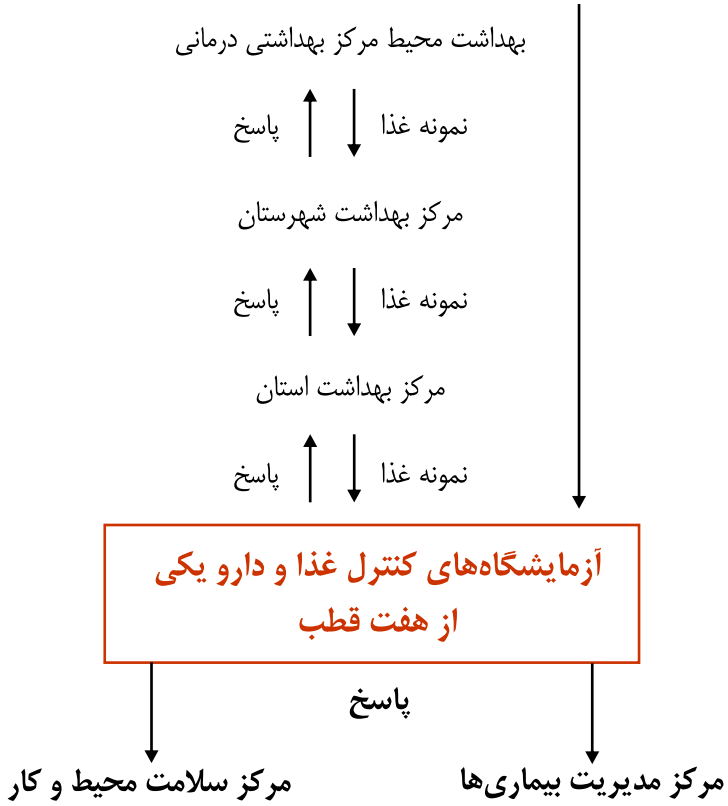
نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ
یا کلونی
مشکوک

آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو یکی از هفت قطب

پاسخ

مرکز مدیریت بیماری‌ها | **مرکز سلامت محیط و کار**

روند انتقال نمونه به آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو (هفت قطب)
در خصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با برخی اگزوتوکسین‌ها S.aureus



ج) روند انتقال نمونه به انستیتو پاستور ایران در خصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با بوتولیسم

بازرس بهداشت محیط مرکز بهداشتی درمانی محل با حفظ رعایت کامل شرایط نمونه برداری، از مواد غذایی مشکوک نمونه گرفته و در اسرع وقت به مرکز بهداشت شهرستان و از آنجا به مرکز بهداشت استان و یا مستقیم با هماهنگی شهرستان و استان به انستیتو پاستور ایران ارسال می‌نماید. جواب آزمایش توسط انستیتو مستقیم به استان مربوطه و جهت هماهنگی و برنامه‌ریزی به مرکز مدیریت بیماری‌ها معاونت سلامت ارسال می‌گردد. (فلوچارت آن پیوست می‌باشد).

روند انتقال نمونه به انستیتو پاستور ایران
در خصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با بوتولیسم

بهداشت محیط مرکز بهداشتی درمانی

نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ

مرکز بهداشت شهرستان

نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ

مرکز بهداشت استان

نمونه غذا ↓ ↑ پاسخ

انستیتو پاستور ایران

پاسخ ↓

مرکز مدیریت بیماری‌ها ⇄ **مرکز سلامت محیط و کار**

References :

1.Guidelines for strengthening a National Food Safety programme: WHO/FNU/FOS/96.2 - 1996

2. Mead, P.S, et al.“ Food - Related Illness and Death in the United States” Emerging Infectious Diseases. 1999: 5(5), PP.607 25

3. Beaglehole R, Bonita R, Kjellstrom T. Basic Epidemiology. Geneva: world Health Organization, 1993.

4. Fleming LE, Ducatman AM, Shalat Sl. Disease Clusters in Occupational Medicine: A protocol for Their investigation in the workplace. AM J Ind Med 1992:22:33-47.

5. Fleming LE, Eason J. Sea food poisoning. Travel Medicine 1998; 2(10): 1- 8.

6. II nd International Calcivirus Conference. Dijon, France, 9-11-04, session: Food and water Issues

7. James Chin. Control of Communicable Diseases, Manual 17th Edition, 2000

8. Reports of CDC, Islamic Republic of IRAN. 2004

9. Recommendations for collection of laboratory specimens Associated with outbreaks of Gastroenteritis (2005/04/16)

10. Diagnostic microbiology Bailey & Scott
part Three: chaptcr 27 (380-392), Part Four: chapter 37 (509-526)

11. Manual of clinical microbiology 7 th Edition, chapters 27 & 28 (442-474)

۱۲. فشرده میکروبیولوژی پزشکی دکتر رحیمی–ویرایش دوم– فصل‌های ۱۷– ۱۸–۱۹–۲۰

۱۳. میکروب شناسی پزشکی مورای – ویرایش جدید– فصل ۲۹ (ترجمه رضا رنجبر، نورخدا صادقی‌فر ... با مقدمه و تحت نظارت دکتر قاضی سعیدی)

National Guideline of Foodborne Diseases Surveillance

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
معاونت سلامت
مرکز مدیریت بیماریها