

- برای بررسی همه‌گیری‌های ناشی از اشریشیا O₁₅₇:H₇، 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 زن‌های بیماری‌زای موجود در پلاسמיד و باکتریوفاز، به‌هم‌خوردگی 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 انتروپاتوژن:

مکانیسم	شامل
- تولید توکسین	ویبریوکلرا، شیگلا دیسانتری تیپ یک، اشریشیاکلی
• انتروتوکسین	انتروتوکسینوژن، سالمونلا، آئروموناس، کمپیلوباکترژرونی
• سیتوتوکسین	شیگلا، اشریشیاکلی انتروهموراژیک
• نوروپاتوژن	کلستریدیوم بوتولینوم، استافیلوکوک ارئوس، باسیلوس سرئوس
- چسبندگی و اتصال به سلول‌های مخاطی	اشریشیاکلی انتروپاتوژن
- تهاجمی	شیگلا، اشریشیاکلی انترو اینویزیو، کمپیلوباکترژرونی یرسینیا انتروکولیتیکا، سالمونلا، ادوارد سیلاتاردا

صفات عمومی انتروباکتریاسه:

- 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 :

- غنی‌سازی در GN براث و کشت مستقیم نمونه روی محیط XLD یا هکتون (انکوباسیون GN براث به مدت ۶ تا ۸ ساعت در 37°C و کشت آن روی محیط XLD یا هکتون)
 - برداشت پرگنه مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و انجام تست‌های افتراقی
 - بررسی نتایج تست‌های افتراقی، انجام سروتایپینگ و تست حساسیت دارویی (آنتی‌بیوگرام)
 - اعلام نتیجه نهایی و معرفی آنتی‌بیوتیک‌های حساس و مقاوم
- روز اول
- روز دوم
- روز سوم
- روز چهارم

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 بوییدی 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°C و کشت آن روی محیط XLD یا هکتون)
 - برداشت پرگنه مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و انجام تست‌های افتراقی
 - بررسی نتایج تست‌های افتراقی، انجام سروتایپینگ و تست حساسیت دارویی (آنتی‌بیوگرام)
 - اعلام نتیجه نهایی و معرفی آنتی‌بیوتیک‌های حساس و مقاوم
- روز اول
- روز دوم
- روز سوم
- روز چهارم

نکته: به هنگام جداسازی و تشخیص شیگلا از E.coli های لاکتوز منفی می توان 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%

b₁) Sh.sonnei, Lactose = 2%

b₂) Lactose = 25%

b₃) Lactose = 45 %

b₄) Lactose = 15 %

C) ONPG = 45%

V₁) Sh.dysenteriae Indole = 45% ____ sh.flexneri, Indole = 50% ____ sh. boydii, Indole= 25% ____ sh. Sonnei, Indole = 0%

V₂) 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
 - علائم کلینیکی: تب، درد شکم و تهوع

راهنمایی ناشی از آزمایش‌های بیولوژیک:

- مشاهده ماکروسکوپی نمونه
- تهیه سوسپانسیون ۱۰٪ از مدفوع قوام‌دار در سرم فیزیولوژی
- مشاهده میکروسکوپی نمونه بین لام و لامل
 - لکوسیت
 - هماسیت
 - بررسی حرکت باکتری
- تهیه لام رنگ‌آمیزی گرم بر روی نمونه مدفوع و مشاهده
 - میکروارگانیزم خاص
 - دیس میکروویسم (به هم خوردن نظم فلور میکروبی روده)

اشریشیاکلی:

جنس اشریشیاکلی فراوانترین ارگانسیم 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.

- Enteropathogenic 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 O₁₅₇:H₇)

این دسته از E.coli ها 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، آمپوه‌های پاستوریزه نشده، سبزیجات پخته نشده و میوه‌ها می‌باشد. این ارگانسیم سمومی همانند سم شیگلا دیسانتری تیپ یک تولید می‌کند (Shiga-like toxin) 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 O₁₅₇:H₇ توصیه نمی‌شود، آزمون حساسیت ضد میکروبی برای آن ضروری نمی‌باشد.

روش‌های جداسازی و شناسایی E.coli O₁₅₇:H₇:

این باکتری به سرعت لاکتوز را تخمیر نموده و از دیگر سرو تایپ‌های E.coli که بر روی محیط‌های متداول لاکتوز دار رشد می‌کنند قابل افتراق نیست. با این وجود، تقریباً تمام موارد جدا شده E.coli O₁₅₇:H₇ بر خلاف ۸۰ درصد E.coli ها، 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 O₁₅₇:H₇ 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 سرو تیپ E.coli اختصاصی‌تر شود (محیط اختصاصی‌تر CT – SMac، که در آن ساپلمنت CT، بصورت آماده به محیط Smac اضافه می‌گردد).

زیرا E.coli های دیگری نظر E. fergusonii و E. hermannii نیز قند د- سوربیتول را تخمیر نمی‌کنند که جهت افتراق O₁₅₇:H₇ 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 O₁₅₇:H₇ از فردی که بیماری حاد دارد، نیست. محیط کشت داده شده S-mac در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه می‌شود.

کلنی‌های سوربیتول منفی را از S-mac انتخاب نموده با آنتی سرم O₁₅₇ مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آن آزمایش کرده و سپس شناسایی آنتی‌ژن H₇ فلاژلی نیز باید انجام پذیرد.

نمونه‌های جدا شده‌ای که بی‌حرکتند یا آنتی‌ژن H7 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 O₁₅₇:H₇:

* 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 ۵^{cc} از مدفوع تازه برداشت کنید.
۲. حداقل ۲ سوآب مدفوع یا سوآب رکتال تهیه کنید.

* محیط انتقال:

- محیط کری‌بلر: محیط $PH = 8/4$ 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 $4^{\circ}C$ حداکثر ظرف ۴۸ ساعت استفاده کنید.
۳. در صورت عدم انتقال و کشت نمونه در مدت تعیین شده ترجیحاً در فریزر $-20^{\circ}C$ (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

<p>تلقیح نمونه مدفوع با قرار دادن سوآب مدفوع یا رکتال در محیط GN براث و کشت مستقیم نمونه روی محیط XLD یا هکتون ————— گرمادهی GN براث در 37°C به مدت ۶ تا ۸ و گرمادهی پلیت کشت مستقیم در 37°C به مدت ۲۴ ساعت (پس از انکوبه شدن GN براث، آن را روی محیط XLD یا هکتون کشت دهید)</p>	<p>روز اول : مرحله غنی سازی و کشت</p>
<p>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 ————— گرمادهی در 37°C به مدت ۲۴ ساعت</p> <p>* 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)</p>	<p>روز دوم : مرحله بررسی کشت و جداسازی</p>
<p>بررسی محیطهای افتراقی، انجام تست سرولوژی و آنتی بیوگرام: انتخاب یک پرگنه کاملاً تک برای تست سرولوژی با آنتی سرم مناسب و تهیه استاندارد نیم مک فارلند جهت انجام آنتی بیوگرام ————— گرمادهی پلیت مربوط به آنتی بیوگرام در 37°C به مدت ۲۴ ساعت</p>	<p>روز سوم : مرحله شناسایی</p>
<p>اعلام نتیجه سروتایپ و معرفی آنتی بیوتیکهای حساس و مقاوم</p>	<p>روز چهارم : مرحله پاسخ نهایی</p>

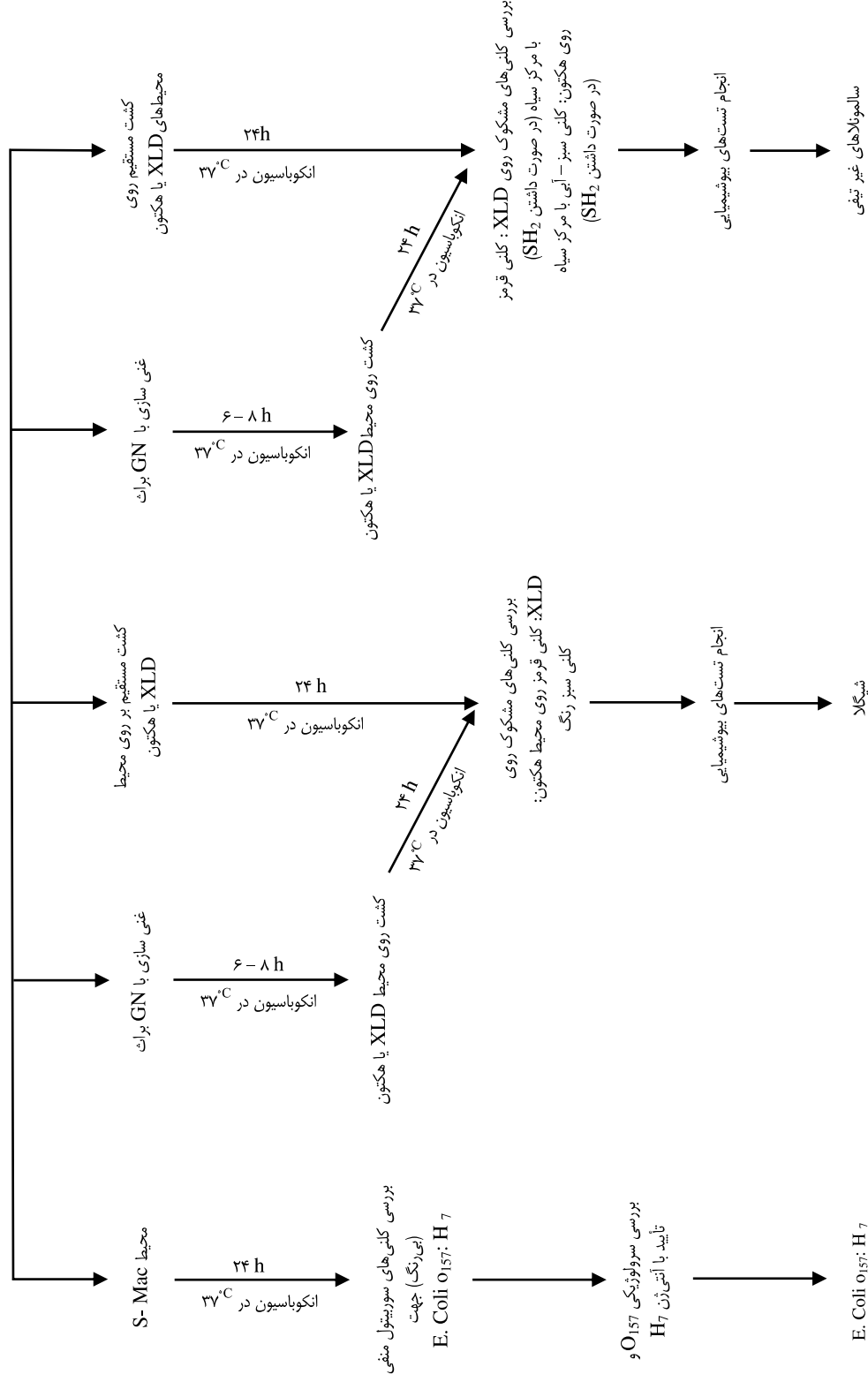
بررسی شیگلا

<p>تلقیح نمونه مدفوع با قرار دادن سوآب مدفوع یا رکتال در محیط GN براث و کشت مستقیم نمونه مدفوع روی محیط XLD یا هکتون — گرمما گذاری GN براث در 37°C به مدت ۶ تا ۸ ساعت و گرماگذاری پلیت کشت مستقیم در 37°C به مدت ۲۴ ساعت (پس از انکوبه شدن GN براث، آن را روی محیط XLD یا هکتون کشت دهید)</p>	<p>روز اول : مرحله غنی سازی و کشت</p>
<p>برداشت پرگنه مشکوک از پلیت های کشت مستقیم و کشت شده از GN براث و کشت آن بر روی محیط های افتراقی: انتخاب کلنی های سبز رنگ روی محیط هکتون و کلنی های قرمز رنگ روی محیط XLD و انتقال به محیط های افتراقی KIA یا TSI، SIM، اوره، سیمون سیترات، ONPG, LDC, MRVP — گرمما گذاری در 37°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.</p>	<p>روز دوم : مرحله بررسی کشت و جدا سازی</p>
<p>بررسی محیط های افتراقی، انجام تست سرولوژی و آنتی بیوگرام: انتخاب یک پرگنه کاملاً تک برای تست سرولوژی و آنتی سرم مناسب و تهیه استاندارد نیم مک فارلند جهت انجام آنتی بیوگرام — گرمما گذاری پلیت مربوط به آنتی بیوگرام در 37°C به مدت ۲۴ ساعت</p>	<p>روز سوم : مرحله شناسایی</p>
<p>اعلام نتیجه سروتایپ و معرفی آنتی بیوتیک های حساس و مقاوم</p>	<p>روز چهارم : مرحله پاسخ نهایی</p>

بررسی کشت اشریشیا کلی O₁₅₇:H₇

روز اول : مرحله کشت	کشت نمونه مدفوع یا سوآب مدفوع یا رکتال بر روی محیط S-mac (ترجیحاً CT, S-mac) ← گرماگذاری در ۳۷°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 آنتی‌سرم O ₁₅₇ و سپس تأیید آن با آنتی‌سرم فلاژلی H ₇ و پس از تأیید آن، اعلام نتیجه

نمونه مدفوع یا نمونه همراه با ترانسپورت کری بلر 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 H7:0157 به دو آزمایشگاه همکار در تهران

مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه
علوم پزشکی شهید بهشتی

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

دانشگاه/ دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی	دانشگاه/ دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی
۱. شهید بهشتی	۱. تهران
۲. آذربایجان شرقی	۲. ایران
۳. آذربایجان غربی	۳. مشهد + بجنورد
۴. اردبیل	۴. گلستان
۵. گیلان	۵. مازندران
۶. شیراز	۶. خوزستان
۷. کرمان	۷. اصفهان
۸. سیستان و بلوچستان	۸. هرمزگان
۹. بوشهر	۹. یزد
۱۰. کهکیلویه و بویراحمد	۱۰. چهارمحال بختیاری
۱۱. فسا	۱۱. کرمانشاه
۱۲. چهارم	۱۲. کردستان
۱۳. ایلام	۱۳. قم
۱۴. زنجان	۱۴. همدان
۱۵. قزوین	۱۵. بیرجند
۱۶. شاهرود	۱۶. سبزوار
۱۷. سمنان	۱۷. بابل
۱۸. زابل	۱۸. کاشان
۱۹. لرستان	۱۹. مرکزی
۲۰. رفسنجان	۲۰. گناباد

(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 در درجه 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 5°C - به آزمایشگاه انتقال داده شود.

۴. زمان ارسال نمونه در کمتر از ۲۴ ساعت صورت پذیرد در غیر این صورت در -18°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 انسیتو 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 نمونه برداری و ارسال نمونه به آزمایشگاه کنترل غذا و دارو در خصوص نمونه های مشکوک به آلودگی با اگزوتوکسین های باکتریایی و برخی پاتوژن ها*

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

۲. **نحوه نمونه برداری :** در حین نمونه برداری 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 ۱۰۰ گرم)

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 از نمونه برداری، باید نمونه را در دمای 5°C -۵- نگهداری نمود، در غیر این صورت پس از نمونه برداری باید نمونه را فوراً منجمد کرد (18°C -۱۸-) 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.

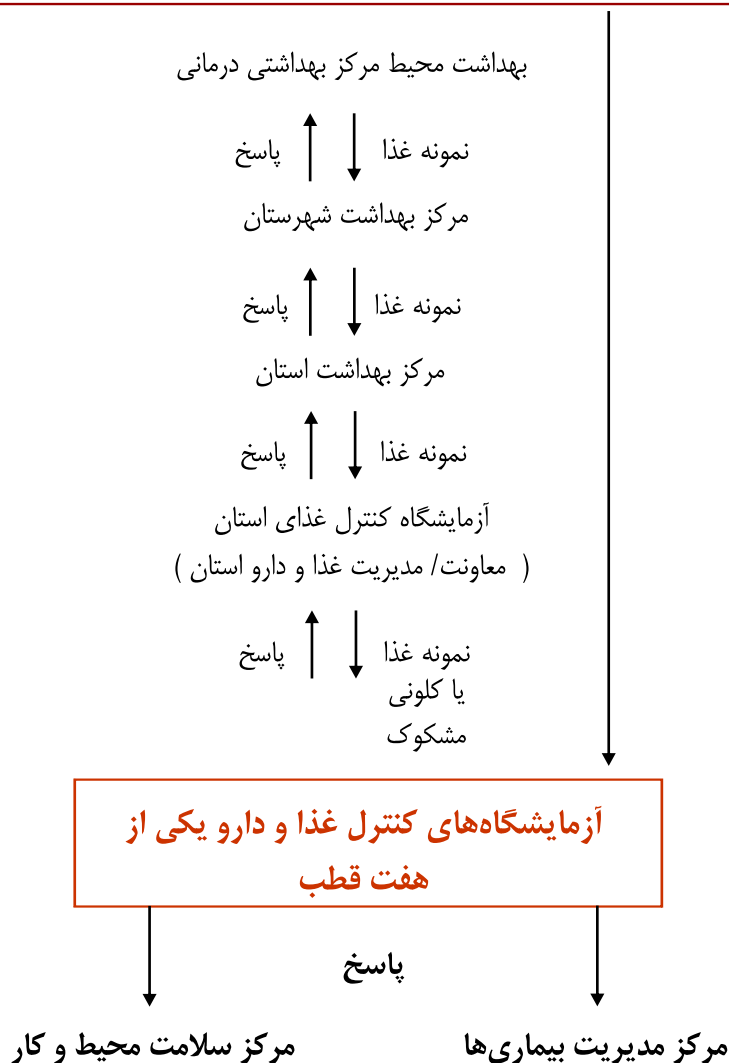
* Salmonella, E.coli, Shigella

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).

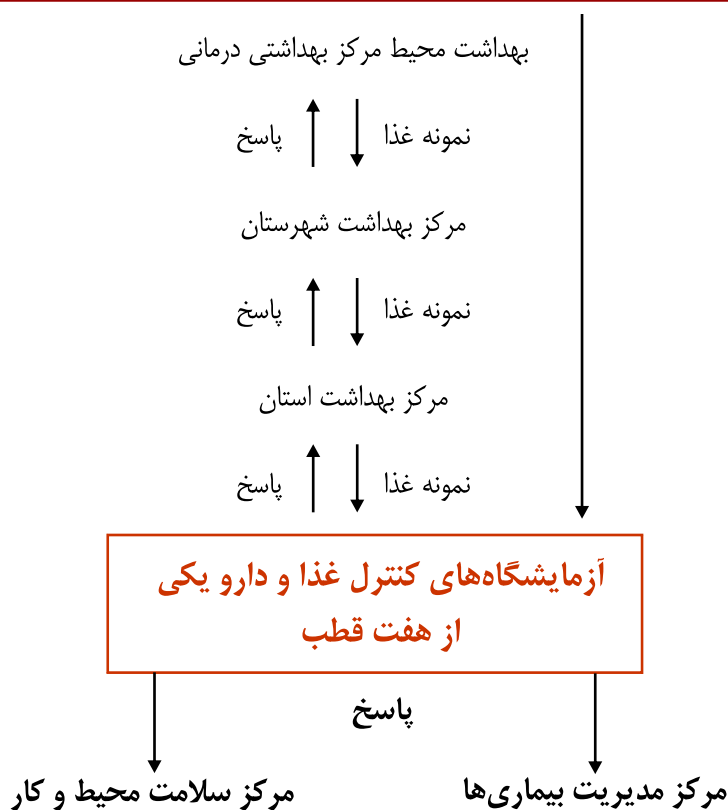
ب) روند انتقال نمونه مواد غذایی درخصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با برخی توکسین‌ها (استافیلوکوک اورئوس):

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 پاتوژن ها *



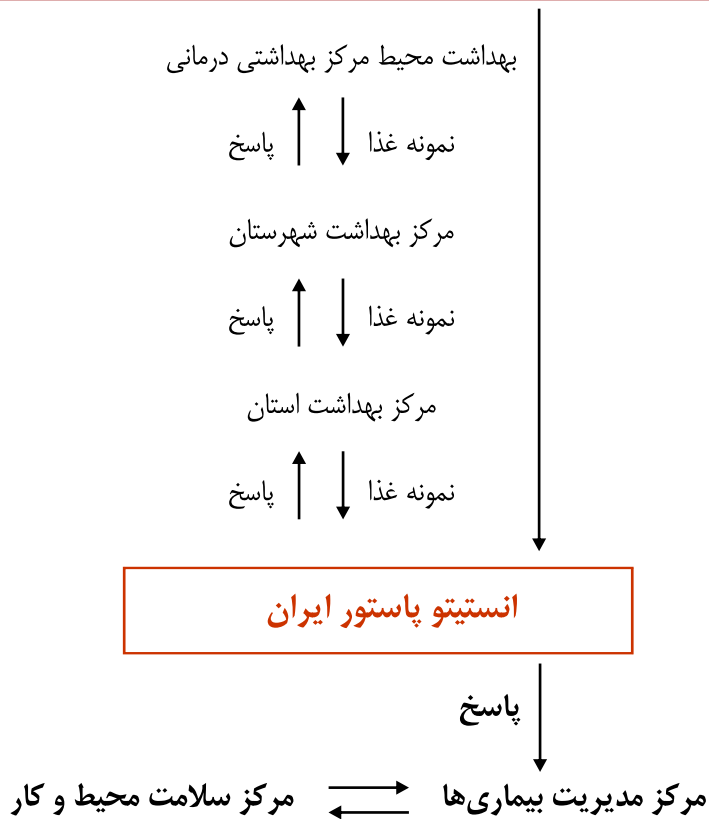
روند انتقال نمونه به آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو (هفت قطب)
در خصوص غذاهای مشکوک به آلودگی با برخی اگزوتوکسین‌ها S.aureus



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**



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 SI. 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: chapter 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