تشخیص باکتری های پاتوژن در آزمایشگاه میکروب شناسی بالینی

ارائه دهنده:
دکتر سودابه رستمی
دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی
Email: srostami1876@gmail.com

چه مطالبی گفته خواهد شد:

- فاکتورهای پیش از آنالیز
- اصول طبقه بندی و شناسائی باکتری ها
- پردازش نمونه (رنگ آمیزی و کشت)
- شناسائی باکتری های پاتوژن گرم مثبت
- شناسائی باکتری های پاتوژن گرم منفی
- شناسائی سایر باکتری های پاتوژن

فاکتورهای پیش از آنالیز (Preanalytical Factors)

- ۳۲ تا ۷۵ درصد خطاها در این مرحله رخ می دهد.

فاکتورهای مهم پیش از آنالیز :

- متغییرهای وابسته به بیمار (سن، جنس، بیماری زمینه ای و ...)
- جمع آوری نمونه
- تکنیک های برچسب گذاری
- نگهداری و حفظ نمونه
- انتقال نمونه
- پردازش و ذخیره نمونه

مبحث جمع آوری و پردازش نمونه برای تشخیص بیماری های عفونی

طبقه بندی باکتری ها

- رنگ آمیزی گرم (Gram Negative و Gram Positive)
- شکل (کوکسی، باسیل، کوکوباسیل، اسپیروکت)
- اتمسفر ترجیحی (هوازی، بی هوازی، میکروآئروفیلیک)
- وجود یا عدم حضور اسپور

شناسائی باکتری ها

- تستهای بیوشیمیائی مهم، ترکیبات آنتی ژنی، خصوصیات مولکولی
- شناخت فلور میکروبی طبیعی در محل های مختلف بدن

- شناسائی باکتری ها بر اساس نوع نمونه بالینی و ارگانهای مختلف بدن

پردازش نمونه

آماده سازی نمونه جهت بررسی مستقیم نمونه ها

تهیه اسمیر از سواب

تهیه اسمیر از مایعات غلیظ و نیمه جامد

تهیه اسمیر از مواد موکوئیدی و گرانولها

تهیه اسمیر از مایعات شفاف

مهمترین رنگ آمیزی های:

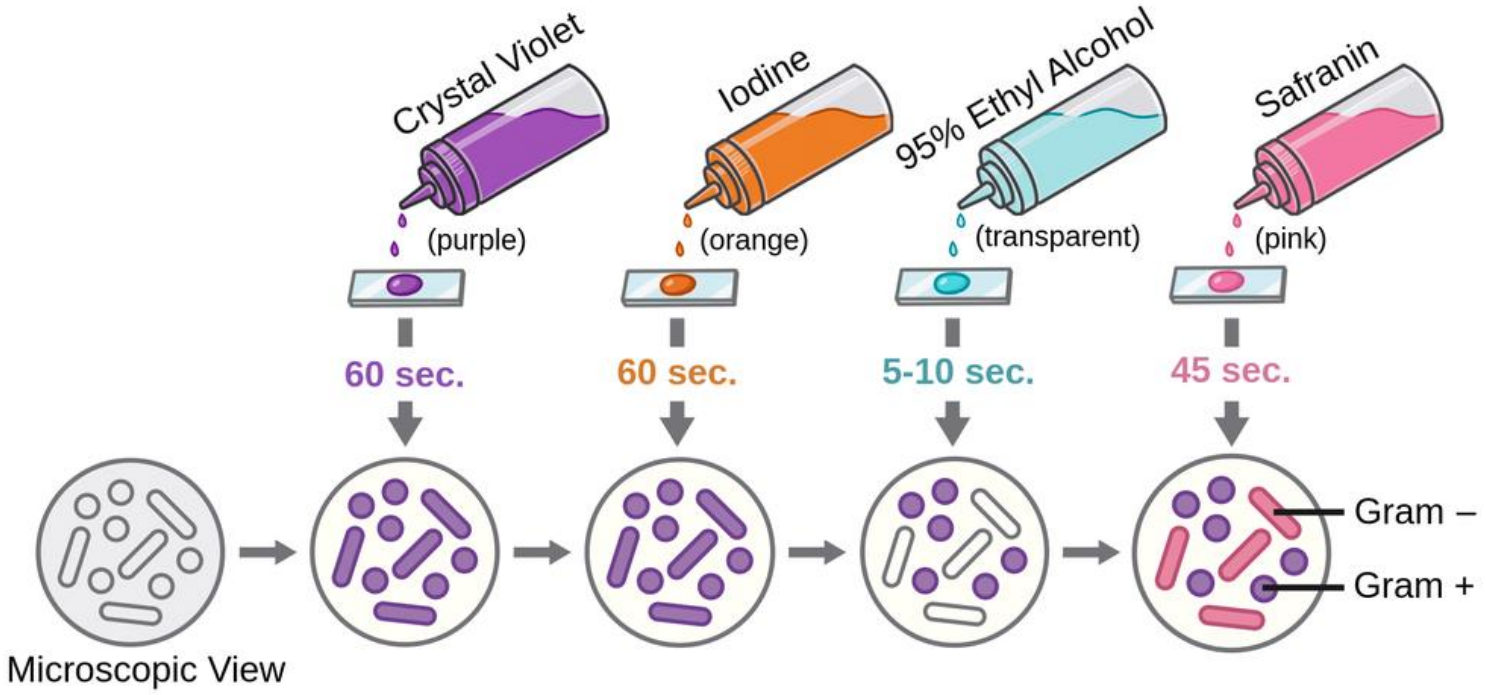
رنگ آمیزی گرم

رنگ آمیزی اسید فست

رنگ آمیزی با رنگ های متیلن بلو، رایت-گیمسا

رنگ آمیزی گرم (یکی از با ارزش ترین روش ها در بخش میکروب شناسی)

- اطلاعات سریع برای شروع درمان
- تشخیص کیفیت و مقدار نمونه
- مدارکی دال بر التهاب



تکنیک های کشت و محیط های کشت مناسب

ایجاد شرایط مناسب رشد پاتوژنها:

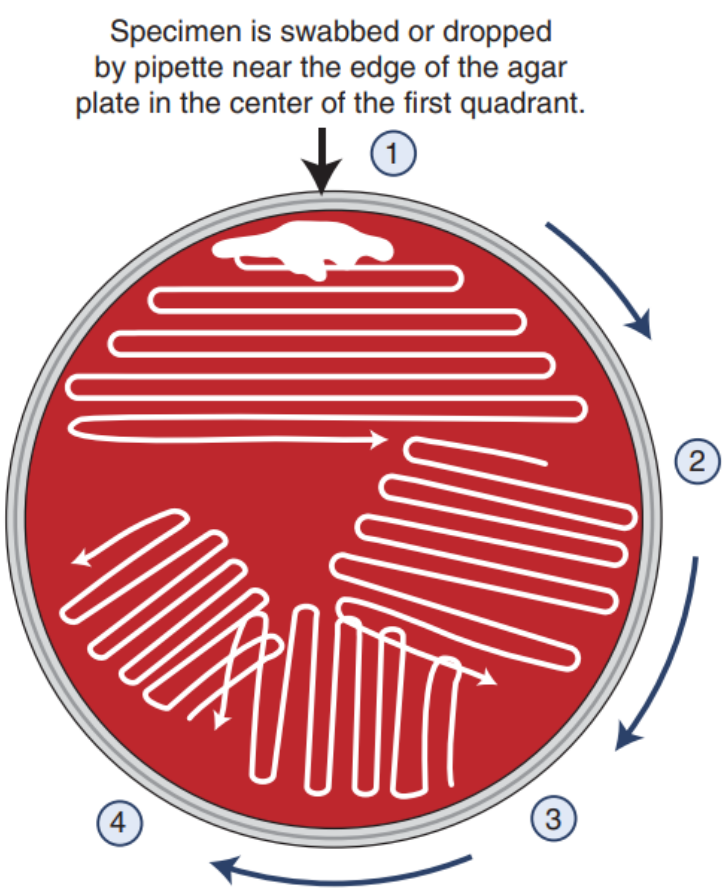
- دما
- اتمسفر
- مواد مغذی
- رطوبت
- زمان انکوباسیون
- pH محیط

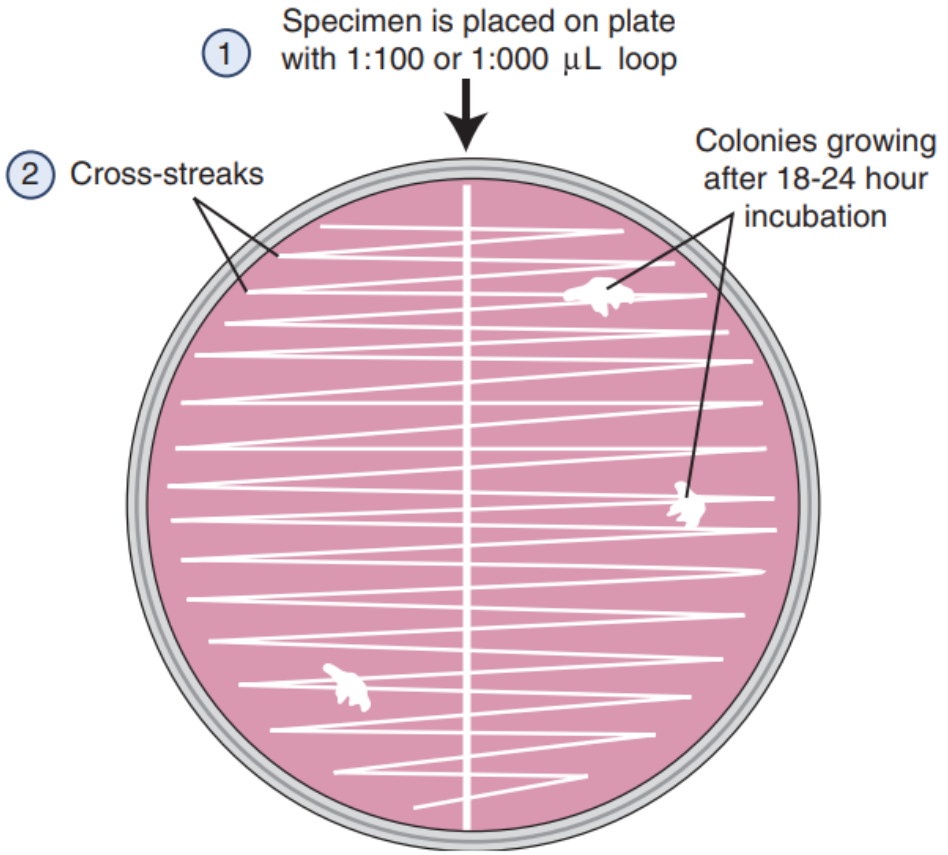
محیط های کشت : انتخابی، افتراقی و غنی شده

TABLE 6-4 Direct Gram Stain and Selection of Media for Bacterial Cultures

Specimen	Gram Stain	BAP	CHOC	MAC or EMB	ANA	THIO	TM	Other
Aqueous/vitreous	X	X	X	X		X		
Blood								Blood culture bottles
Body fluids								Blood culture bottles if
Amniotic	X	X	X	X	X	X	X	sufficient volume of fluid
Bile	X	X		X		X		
Bone marrow	X	X	X			X		
Pericardial	X	X	X	X	X	X		
Peritoneal	X	X	X	X		X		
Pleural	X	X	X			X		
Synovial	X	X	X			X	X	
Catheter tips		X						
CSF	X	X	X			X		Cytocentrifuge recommended for Gram stain
Ear								
Inner	X	X	X	X		X		
Outer	X	X	X	X				
Eye	X	X	X	X		X		
Gastrointestinal								
Duodenal aspirate	X	X	X	X				CNA
Feces		X		X				HE or XLD, CAMPY, SMAC
Gastric aspirate	X	X	X	X				
Genital								
IUD	X					X		
Vagina/cervix	X	X	X	X			X	
Urethra	X	X	X				X	
Genital screens								
Neisseria gonorrhoeae			X				X	
Group B beta streptococci		X						Lim broth*
Lesion/wound/abscess	X	X	X	X	X	X		CNA if Gram stain suggests mixed gram-positive and gram-negative
Respiratory tract: lower								
Bronchial (brush/wash/lavage)	X	X	X	X				
Sputum	X	X	X	X				
Respiratory tract: upper								
Nasal/nasopharynx		X	X					
Sinus aspirate	X	X	X	X	X	X		
Throat		X						
Tissue	X	X	X	X	X	X		
Urine								
Catheter/void		X		X				
Suprapubic aspirate	X	X		X	X	X		

تکنیک های کشت



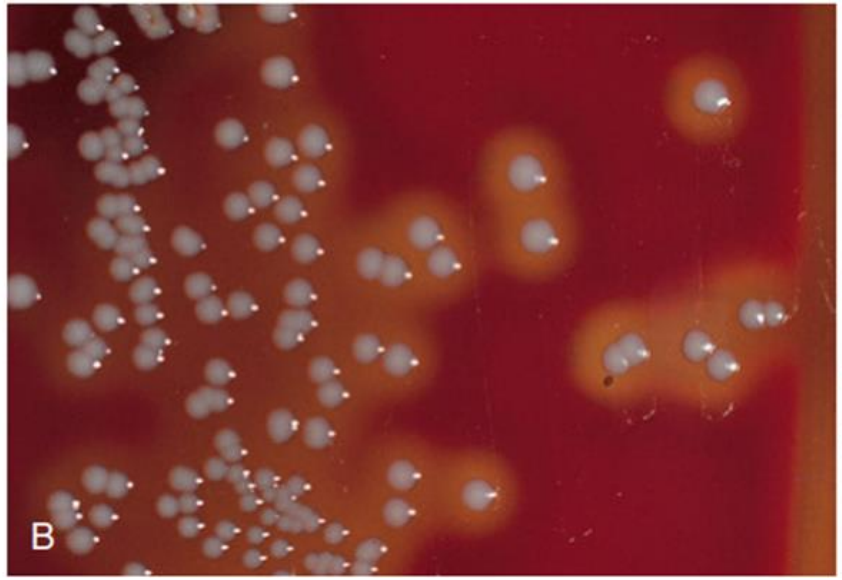


شناسائی باکتری های پاتوژن گرم مثبت

کوکسی های گرم مثبت

استافیلوکوک ها

- کوکسی های گرم مثبت کاتالاز مثبت
- مهمترین گونه: استافیلوکوک آرئوس
- سایر گونه های مهم: اپیدرمیدیس، ساپروفیتیکوس، همولیتیکوس، لوگدوننسیس و به درجات کمتر وارنری، کاپیتیس، سیمولانس، هومینیس و شلیفری


B

C

تست کوآگولاز

تست کلیدی در تشخیص ا. آرئوس

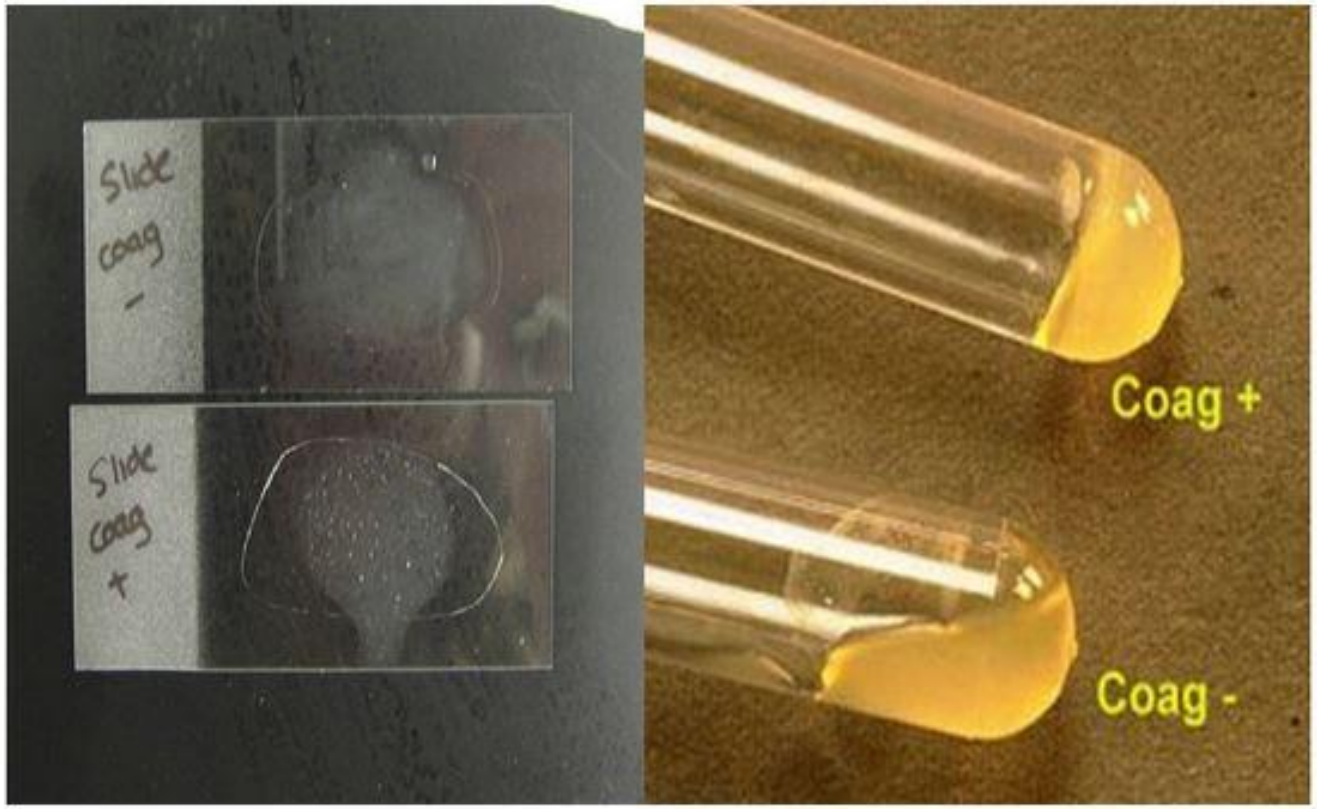
پلاسمای خرگوش تریت شده با EDTA

تست اسلایدی: مخلوط کردن شیرابه غلیظ باکتری با سالین و یک قطره پلاسما بر روی لام (منفی کاذب زیاد دارد و از حساسیت بالائی برخوردار نیست)

ا. لوگدوننسیس و ا. شلیفری: تست اسلایدی مثبت

تست لوله ای: ۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتیگراد، در صورت عدم تشکیل لخته ۲۴ ساعت در دمای اتاق

ا. اینترمدیوس، ا. پسودواینترمدیوس و ا. هایکوس (گونه های حیوانی): تست لوله ای مثبت



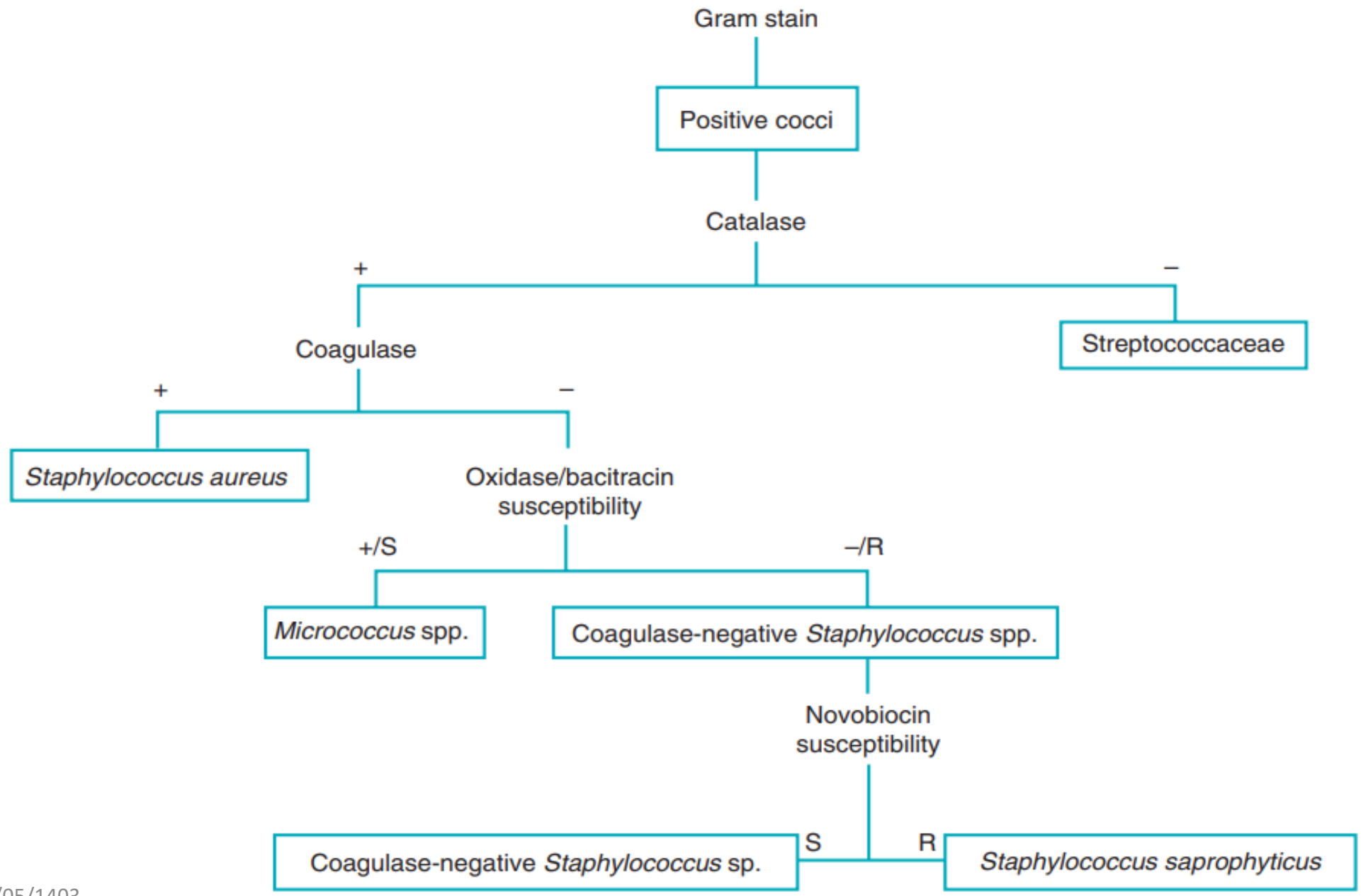

Gram stain
Positive cocci
Catalase
+
–
Coagulase
Streptococcaceae
+
–
Staphylococcus aureus
Oxidase/bacitracin susceptibility
+/S
–/R
Micrococcus spp.
Coagulase-negative Staphylococcus spp.
Novobiocin susceptibility
S
R
Coagulase-negative Staphylococcus sp.
Staphylococcus saprophyticus

TABLE 14.6 Key Tests for Identification of the Most Clinically Significant *Staphylococcus* Species

Test	*S. aureus*	*S. epidermidis*	*S. haemolyticus*	*S. lugdunensis*	*S. saprophyticus*	*S. schleiferi*	*S. simulans*
Colony pigment	+	–	d	d	d	–	–
Staphylocoagulase	+	–	–	–	–	–	–
Clumping factor	+	–	–	(+)	–	+	–
Heat-stable nuclease	+	–	–	–	–	+	–
Alkaline phosphatase	+	+[a]	–	–	–	+	(d)
Pyrrolidonlyl arylamidase	–	–	+	+	–	+	+
Ornithine decarboxylase	–	(d)	–	+	–	–	–
Urease	d	+	–	d	+	–	+
β-Galactosidase	–		(d)	–	+	(+)	+
Acetoin production	+	+	+	+	+	+	d
Novobiocin resistance	S	S	S	S	R	S	S
Polymyxin B resistance	R	R	S	(d)	S	S	S
Acid (aerobically from)							
D-Trehalose	+	–	+	+	+	d	d
D-Mannitol	+	–	–	–	d	–	+
D-Mannose	+	(+)	+	+	–	+	d
D-Turanose	+	(d)	(d)	(d)	+	–	–
D-Xylose	–	–	–	–	–	–	–
D-Cellubiose	–	–	–	–	–	–	–
Maltose	+	+	+	+	+	–	(±)
Sucrose	+	+	+	+	+	–	+

استرپتوکوک ها و انتروکوک ها

کوکسی های گرم مثبت کاتالاز منفی، بی هوازی اختیاری و برای جداسازی اولیه نیاز به CO2

Species	Lancefield Group Antigen	Hemolysis Types	Common Terms	Disease Association(s)
S. pyogenes	A	β[a]	Group A streptococci	Rheumatic fever, scarlet fever, pharyngitis, glomerulonephritis, pyogenic infections
S. agalactiae	B	β[a]	Group B streptococci	Neonatal sepsis, meningitis, puerperal fever, pyogenic infections
S. dysgalactiae, S. equi	C	β	Group C streptococci	Pharyngitis, impetigo, pyogenic infections
S. bovis group	D	α, none	Nonenterococcus member of viridans streptococci	Endocarditis, UTIs, pyogenic infections
E. faecalis, E. faecium	D	α, β, none	Enterococcus	UTIs, pyogenic infections
S. pneumoniae	—	α	Pneumococcus	Pneumonia, meningitis, pyogenic infections
Anginosus group, mutans group, mitis group, salivarius group	A, C, F, G, N, or —	β, α, none	Viridans streptococci[b]	Pyogenic infections, endocarditis, dental caries, abscesses in various tissues

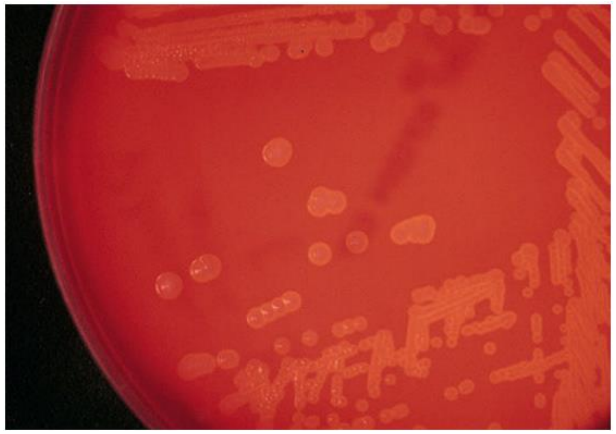
استرپتوکوک پیوژن

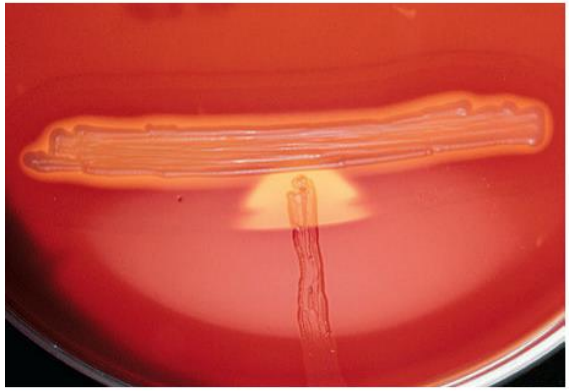
- بتا همولیتیک
- حساس به باسیتراسین (۹۹ درصد از سویه ها و۱۰ تا ۲۰ درصد گروه C و G مثبت هستند)
- تست هیدرولیز PYR مثبت (۱۰۰ درصد سویه ها و بیش از ۹۹ درصد انتروکوکها مثبت هستند)

- در صورتی که این باکتری از محلی به غیر از گلو جداسازی شده باشد برای شناسائی دقیق باید از سایر تستهای بیوشیمیائی استفاده شود.

Characteristic	*S. pyogenes*	*S. agalactiae*	Other β-Hemolytic Species[a]	*Enterococcus*	Group D Streptococci	*S. pneumoniae*	Viridans Streptococci
Hemolysis type	β	β	β	α, β, none	α, none	α	α, none
Susceptibility to							
Vancomycin	S	S	S	S(R)	S	S	S
Bacitracin	S	R[b]	R[b]	R	R	S	R[b]
SMZ	R	R	S	R	V	S	S
Optochin	R	R	R	R	R	S	R
Hydrolysis of							
Hippurate	–	+	–	–[b]	–	–	–[b]
PYR	+	–	–	+	–	–	–
CAMP	–	+	–	–	–	–	–
Leucine aminopeptidase	+	+	+	+	+	+	+
Bile esculin	–	–	–	+	+	–	–[b]
Growth in 6.5% NaCl	–	–	–	+	–	–	–

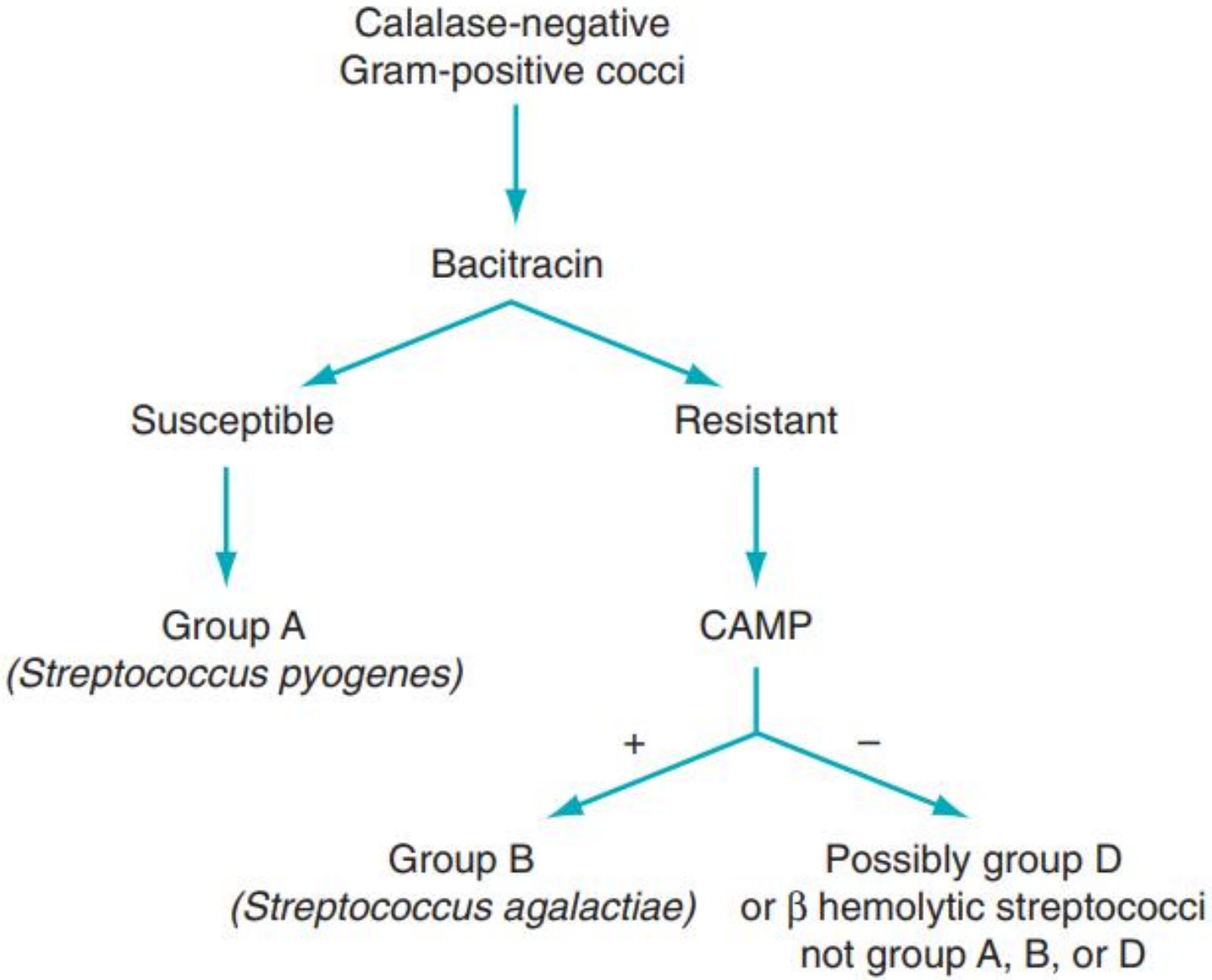
استرپتوکوک آگالاکتیه



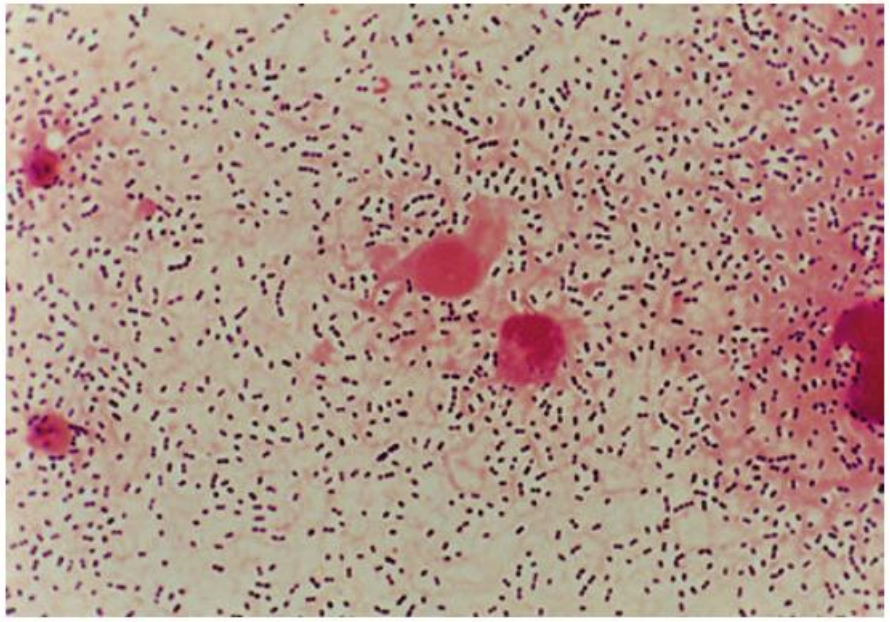


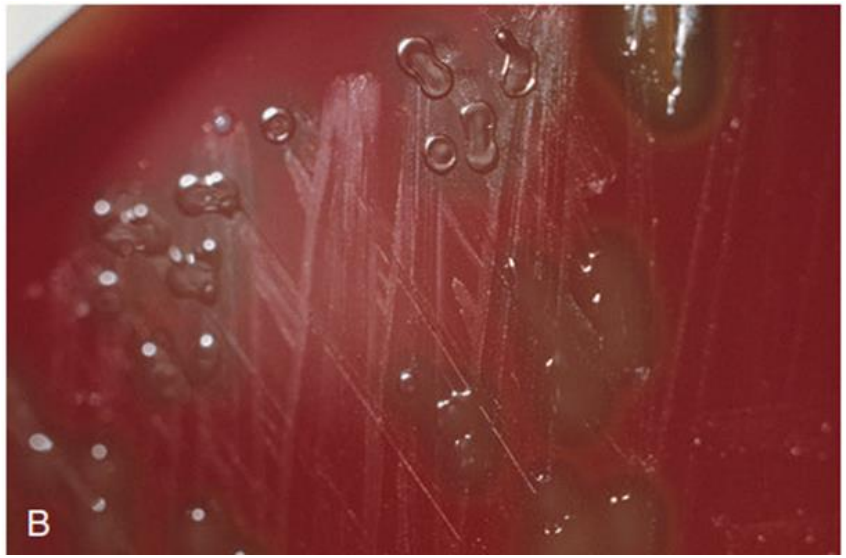
- بتا همولیتیک
- هیدرولیز هیپورات مثبت
- تست CAMP مثبت

- استفاده از محیط های کشت اختصاصی(محیط Lim Broth و Trans-vag Broth) خصوصا برای جداسازی باکتری از نمونه های رکتوواژینال زنان باردار


Calalase-negative
Gram-positive cocci
Bacitracin
Susceptible
Resistant
Group A
(Streptococcus pyogenes)
CAMP
+
–
Group B
(Streptococcus agalactiae)
Possibly group D
or β hemolytic streptococci
not group A, B, or D

استرپتوکوک پنومونیه



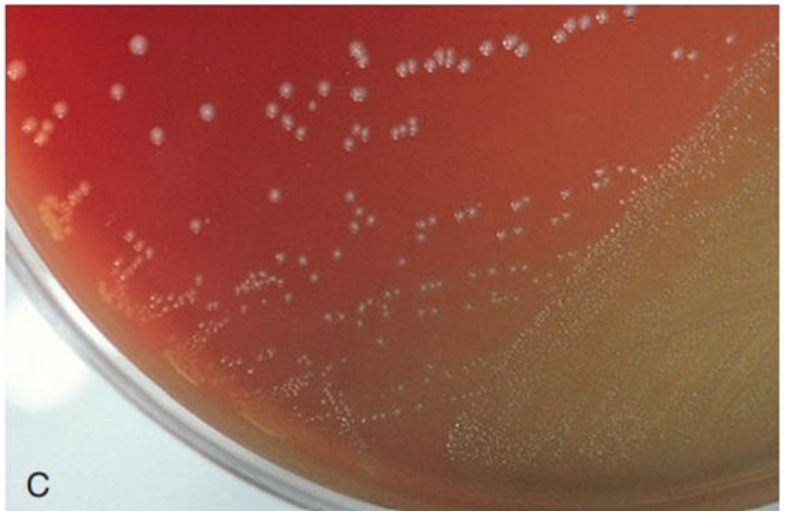


- دیپلوکوک، لانست شکل
- آلفا همولیتیک
- حساسیت به اپتوچین
- حلالیت در صفرا

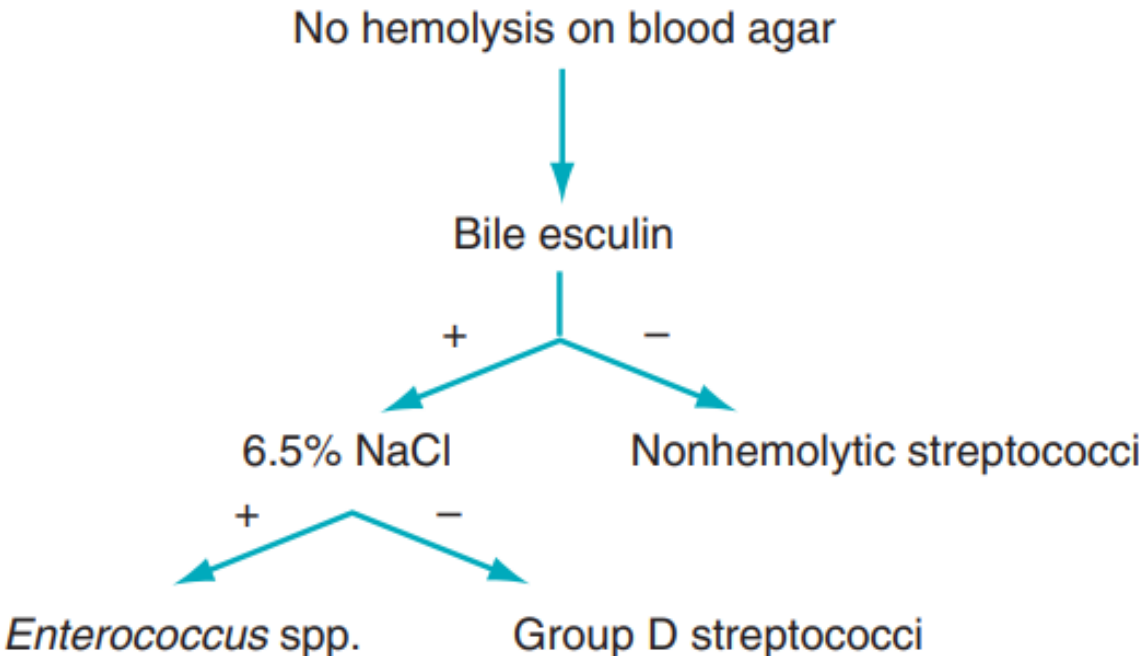
استرپتوکوک های ویریدانس

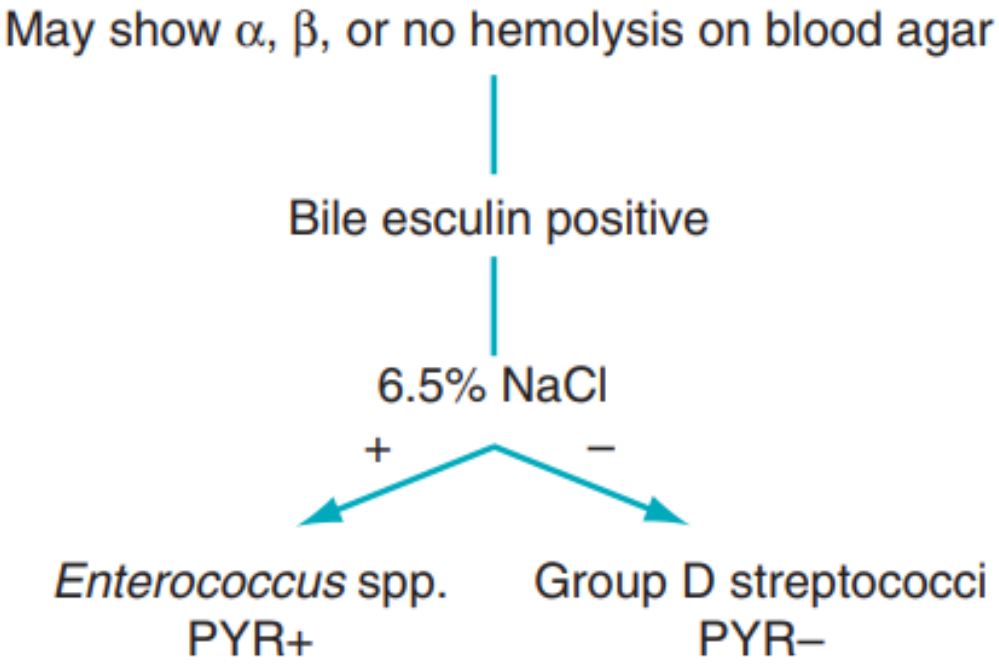
- در پنج گروه طبقه بندی می شوند: ۱) گروه میتیس، ۲) گروه موتانس، ۳) گروه سالیواریوس، ۴)گروه بوویس، ۵) گروه آنژینوسوس
- این باکتری ها باید از استرپتوکوهای آلفا همولیتیک مثل ا. پنومونیه و از انتروکوکها افتراق داده شوند.
- آلفا، بتا و یا بدون همولیز
- مقاوم به اپتوچین
- هیدرولیز PYR منفی
- عدم رشد در حضور نمک

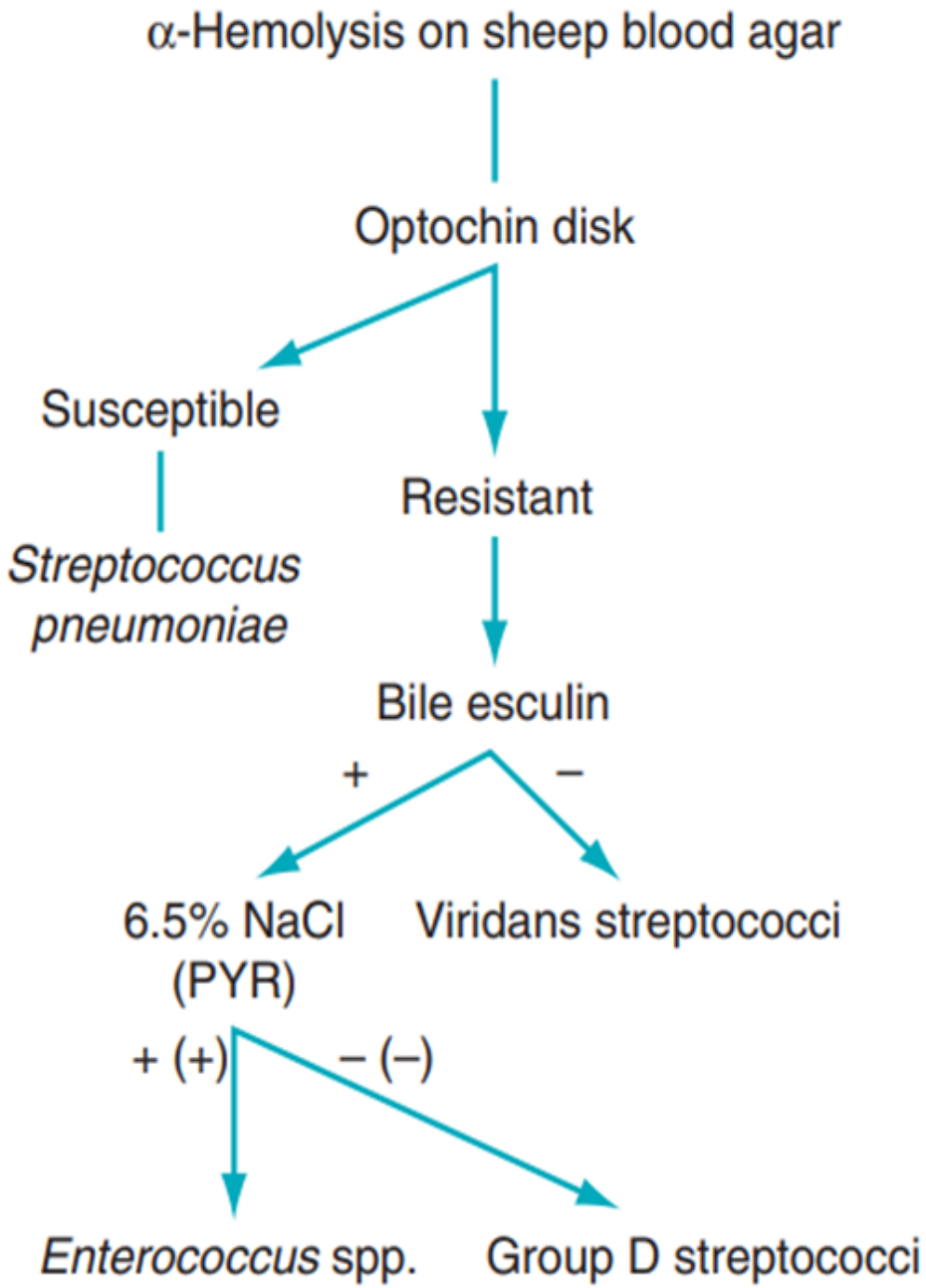
انتروکوکها

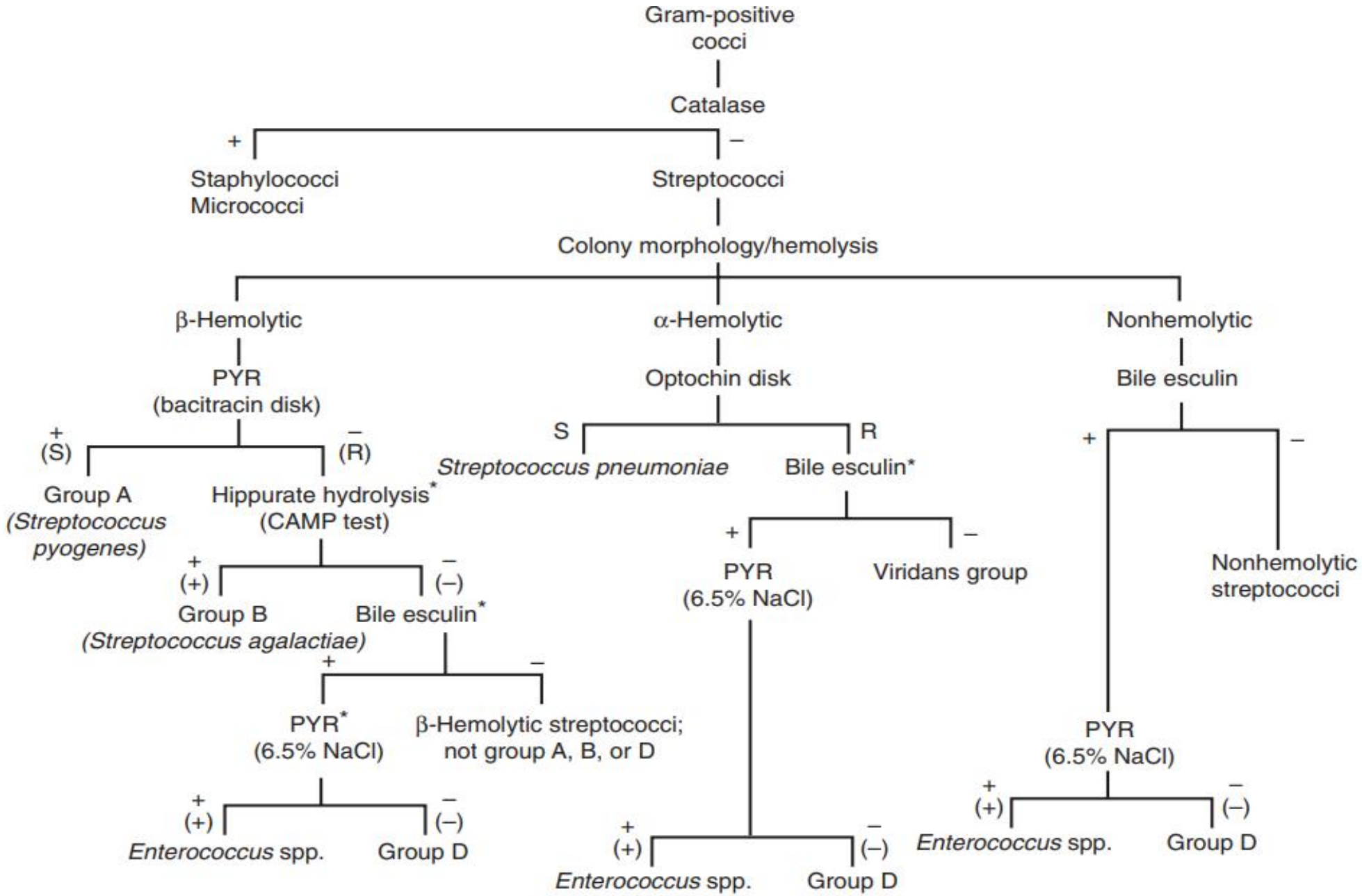


- آلفا، بتا و یا بدون همولیز
- هیدرولیز PYR مثبت
- رشد در حضور 6.5% نمک
- هیدرولیز اسکولین در حضور صفرا (رشد در محیط بایل-اسکولین)
- دارای دو گونه (پاتوژن برای انسان) فکالیس و فاسیوم (فکالیس فراوانی بیشتری دارد)
- افتراق انتروکوکها از گروه D استرپتوکوکها بسیار مهم است.


No hemolysis on blood agar
Bile esculin
+
–
6.5% NaCl
Nonhemolytic streptococci
+
–
Enterococcus spp.
Group D streptococci


May show α, β, or no hemolysis on blood agar
Bile esculin positive
6.5% NaCl
+
–
Enterococcus spp.
PYR+
Group D streptococci
PYR–


α-Hemolysis on sheep blood agar
Optochin disk
Susceptible
Resistant
Streptococcus pneumoniae
Bile esculin
+
–
6.5% NaCl (PYR)
Viridans streptococci
+ (+)
– (–)
Enterococcus spp.
Group D streptococci



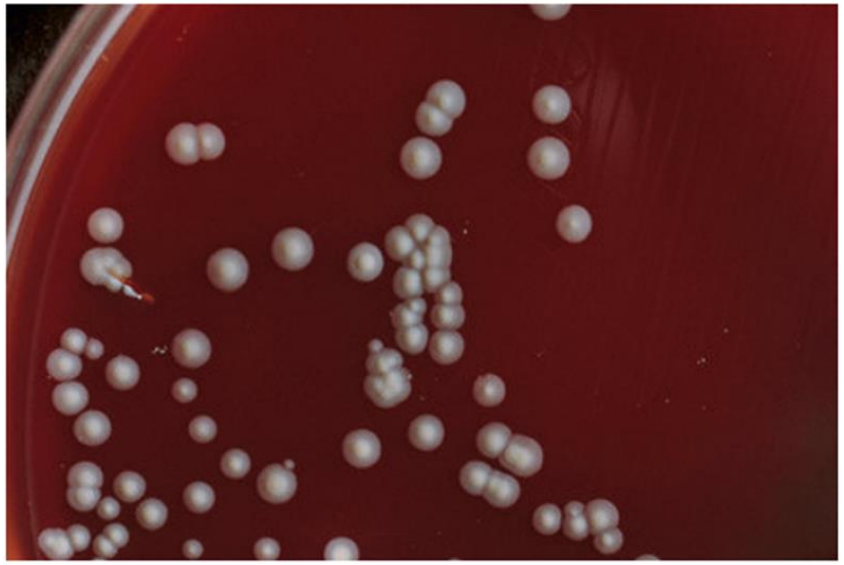
*Perform additional tests if isolate is from non-respiratory source.

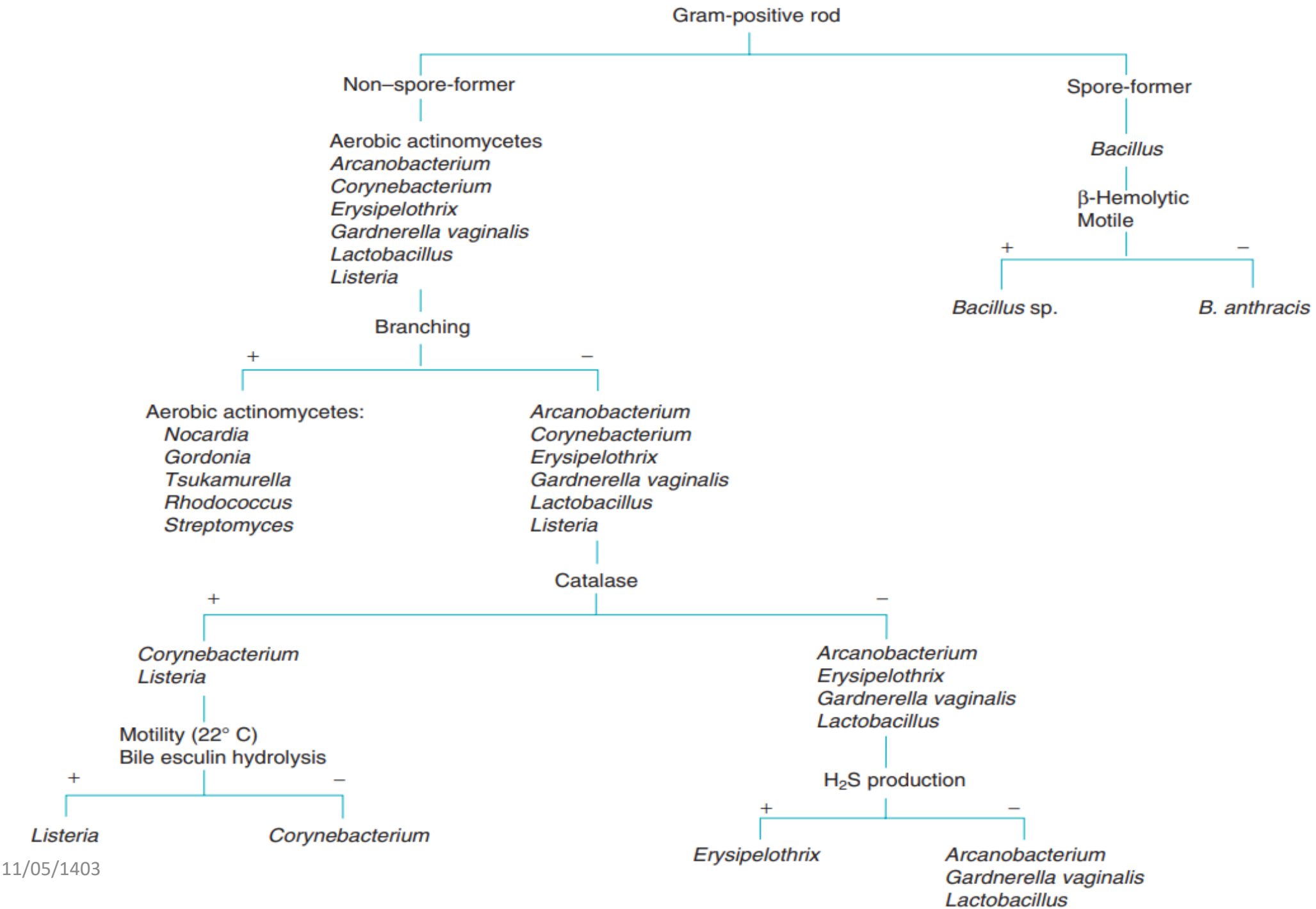
باسیل های گرم مثبت هوازی

- کورینه باکتریومها
- لیستریا
- باسیلوس ها
- اریزیپلوتریکس
- نوکاردیا ها
- اکتینومیستها

کورینه باکتریوم ها (دیفتروئیدها)

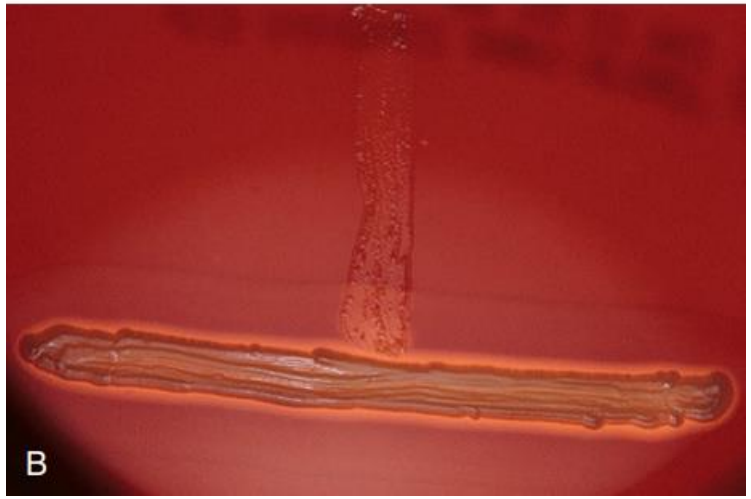
- اثبات نقش اتیولوژیک:
- جدا شده از مکان استریل (خصوصا از دو یا بیشتر کشت خون)
- در اسمیر گرم همراه با لکوسیت باشد و ارگانیسم غالب باشد
- در نمونه های ادرار اگر ارگانیسم غالب با کلنی کانت بیش از ۱۰۰۰۰۰ باشد و یا تنها ارگانیسم جدا شده با کلنی کانت بیش از ۱۰۰۰۰ باشد




Gram-positive rod
Non–spore-former
Aerobic actinomycetes
Arcanobacterium
Corynebacterium
Erysipelothrix
Gardnerella vaginalis
Lactobacillus
Listeria
Branching
+
–
Aerobic actinomycetes:
Nocardia
Gordonia
Tsukamurella
Rhodococcus
Streptomyces
Arcanobacterium
Corynebacterium
Erysipelothrix
Gardnerella vaginalis
Lactobacillus
Listeria
Catalase
+
–
Corynebacterium
Listeria
Motility (22° C)
Bile esculin hydrolysis
+
–
Listeria
Corynebacterium
Arcanobacterium
Erysipelothrix
Gardnerella vaginalis
Lactobacillus
H2S production
+
–
Erysipelothrix
Arcanobacterium
Gardnerella vaginalis
Lactobacillus
Spore-former
Bacillus
β-Hemolytic
Motile
+
–
Bacillus sp.
B. anthracis

لیستریا مونوسیتوژن

- کوکوباسیل گرم مثبت که گاهی به شکل کوکسی دیده می شود.
- کاتالاز مثبت است که آن را از استرپتوکوکها و انتروکوکها متمایز می کند.
- در تست CAMP در کنار استافیلوکوک همولیز کاملا متفاوتی با استرپتوکوک گروه B نشان می دهد.
- رشد در ۴ درجه سانتیگراد
- حرکت غلطان در دمای اتاق در سوسپانسیون نمکی
- حرکت شبیه به چتر در محیط نیمه جامد و در شرایط هوازی



شناسائی باکتری های پاتوژن گرم منفی

کوکسی های گرم منفی

- نایسریا ها
- بی حرکت، کاتاز و اکسیداز مثبت و هوازی
- اکثرا به صورت جفتی و به شکل دانه های قهوه
- استفاده از شکلات آگار، بلاد آگار و مهیا کردن اتمسفری با ۳ تا ۵ درصد CO2
- محیط کشت انتخابی برای نایسریاها: تایر مارتین (حاوی وانکومایسین، کلیستین، نیستاتین)
- مهمترین اصل در تشخیص: انتخاب نمونه ، جمع آوری (سواب داکرون یا رایون) و انتقال صحیح (به خشکی و دمای بالا حساس)
- دو گونه پاتوژن انسانی: نایسریا منتژیتیدیس و نایسریا گونوره

Characteristic	*N. gonorrhoeae*	*N. meningitidis*	*N. lactamica*	*N. cinerea*	*N. sicca*	*N. flavescens*	*Moraxella*	*Kingella*
Pigment on nutrient agar	–	–	–	–	+	+	–	–
Catalase (3% hydrogen peroxide [H_2O_2])	+	+	+	+	+	+	+	–
Superoxol (30% H_2O_2)	+	–	–	–	–	–	–	–
Growth on								
MTM, ML, NYC	+	+	+	d	–	–	d	+
Nutrient medium at 35°C	–	–	+	+	+	+	+	–
Acid Production from								
Glucose	+	+	+	+[a]	+	–	–	+
Maltose	–	+	+	–	+	–	–	–
Sucrose	–	–	–	–	+	–	–	–
Lactose	–	–	+	–	–	–	–	–
Fructose	–	–	–	–	+	–	–	–
DNase	–	–	–	–	–	–	+	–
Reduction of								
Nitrite (NO_3)	–	–	–	–	–	–	+	+
Nitrogen dioxide (NO_2	–	d	d	+	+	+	+	–
Tributyrin hydrolysis	–	–	–	–	–	–	+	NT
Enzymes Produced								
β-D-Galactosidase	–	–	+	–	–	NT	–	–
γ-Glutamyl aminopeptidase	–	+	–	–	–	NT	–	–
Hydroxyprolylaminopeptidase	+	–	–	+	NT	+	–	+

Organism	Colony Morphology[a]	Primary Isolation Sites
N. gonorrhoeae	Small (0.5–1 mm), grayish white, translucent, raised with entire edge Usually easily emulsified Smaller than *N. meningitidis* Up to five different colony morphologies from primary culture	Male: urethra Female: endocervix Laboratory should be notified to look for this organism from other sites so that appropriate media can be used
N. meningitidis	1–2 mm, bluish gray or tan (serogroup 6 may be yellowish) Serogroup A and C may be mucoid, translucent, and convex with smooth glistening surface; may be greenish cast in agar around colonies Usually easily emulsified	Nasopharynx and oropharynx (carriers) Spinal fluid: meningitis Blood: meningococcemia Lower respiratory tract: meningococcal pneumonia
Moraxella catarrhalis	3–5 mm, grayish white, opaque 48-hour colony may have elevated center and thinner, wavelike periphery ("wagon wheel") Often granular, difficult to emulsify Colony can be swept across plate intact ("hockey puck")	Upper respiratory tract

باسیل های گرم منفی

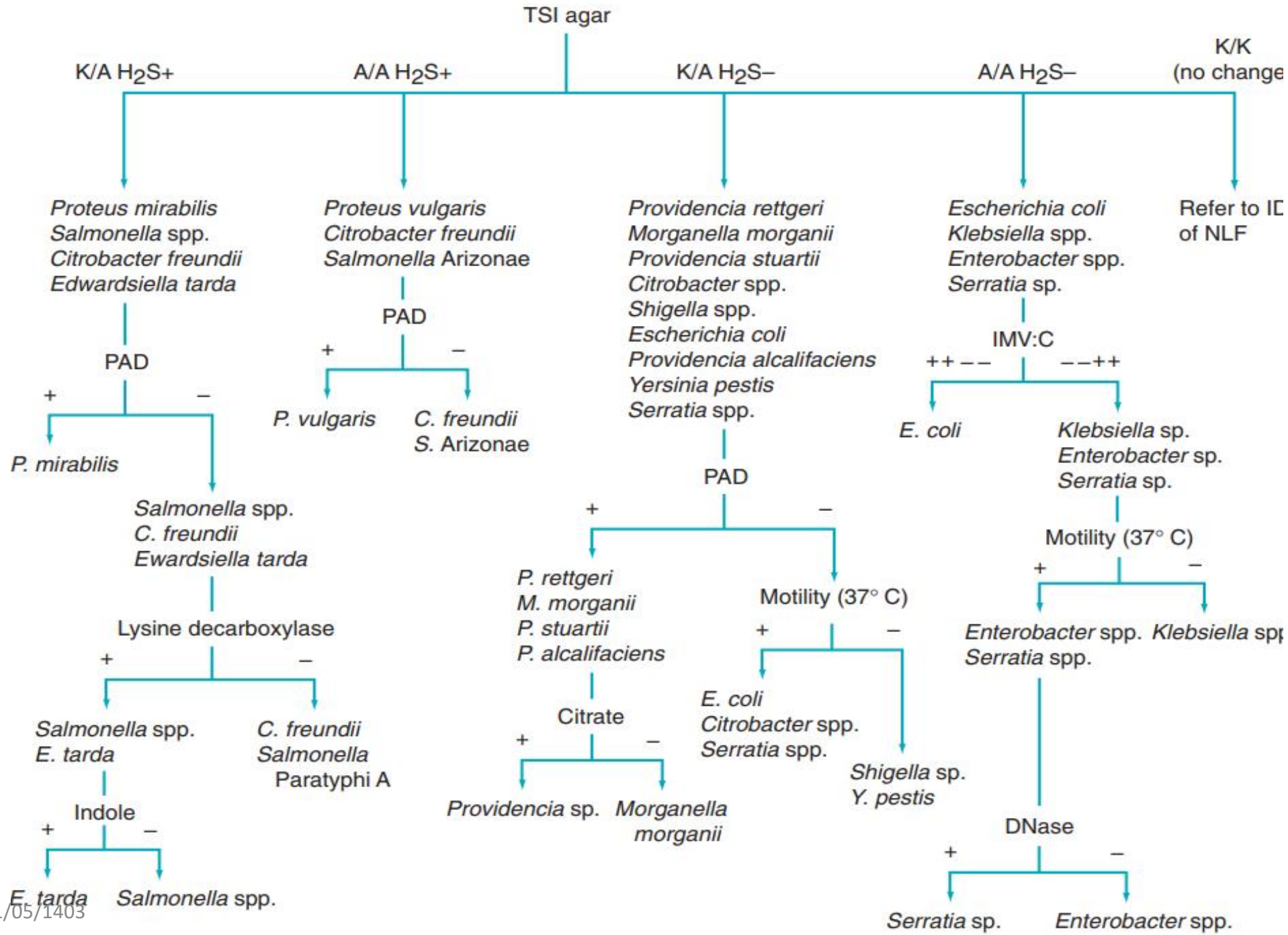
- انتروباکتریاسه ها (ساکن دستگاه گوارش)
- باسیل های گرم منفی غیر تخمیری (نسبتا باکتری های محیطی محسوب می شوند)
- غیر انتروباکتریاسه ها :
  - عوامل عفونی دستگاه گوارش: ویبریو و کمپیلوباکتر
  - عوامل عفونی با اپیدمیولوژی خاص: لژیونلا و فرانسیسلا
  - سایر باسیل های گرم منفی: هموفیلوس و جنس های طبقه بندی نشده

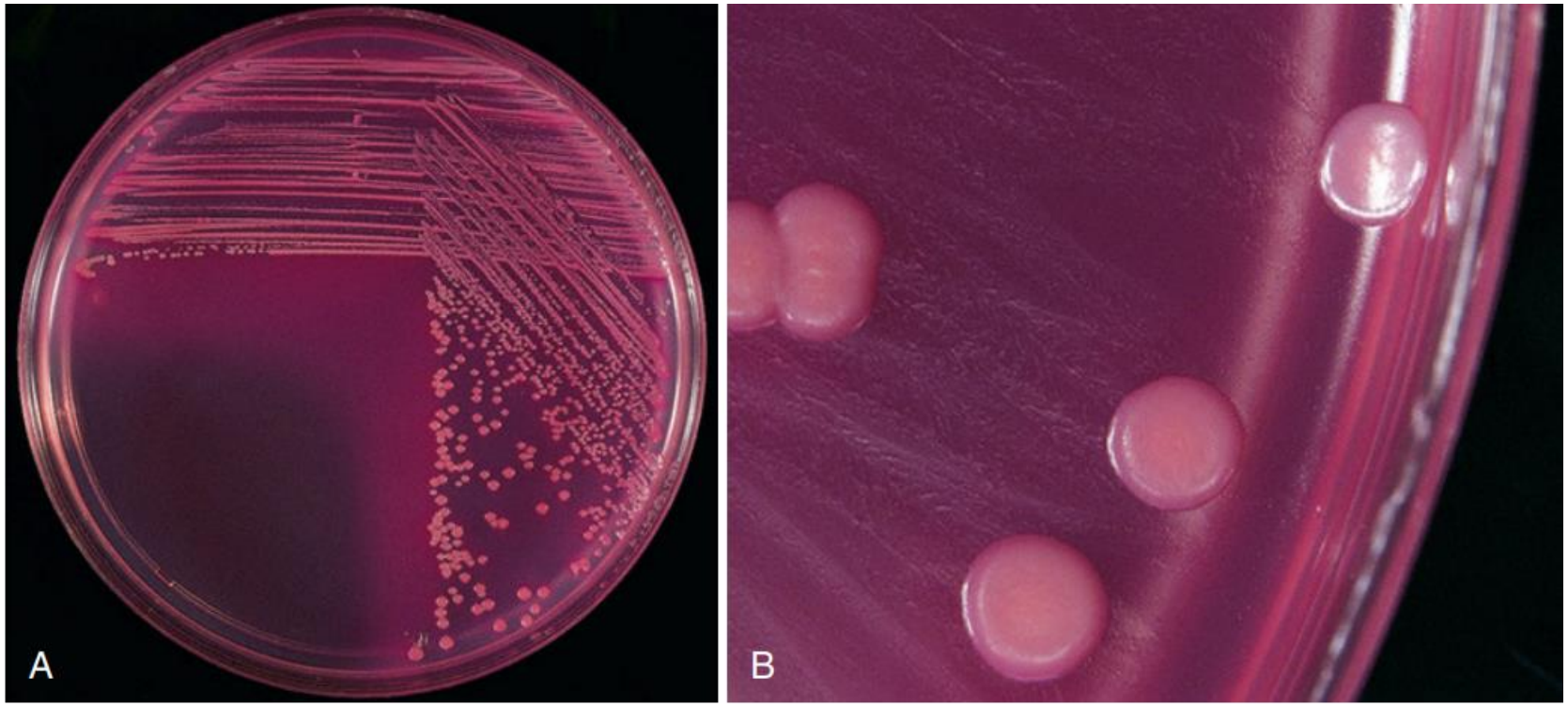
انتروباکتریاسه ها

- باسیل یا کوکوباسیل های گرم منفی هوازی اختیاری
- بدون اسپور
- تخمیر کننده گلوکز
- احیا کننده نیتراتها به نیتریتها
- اکسیداز منفی

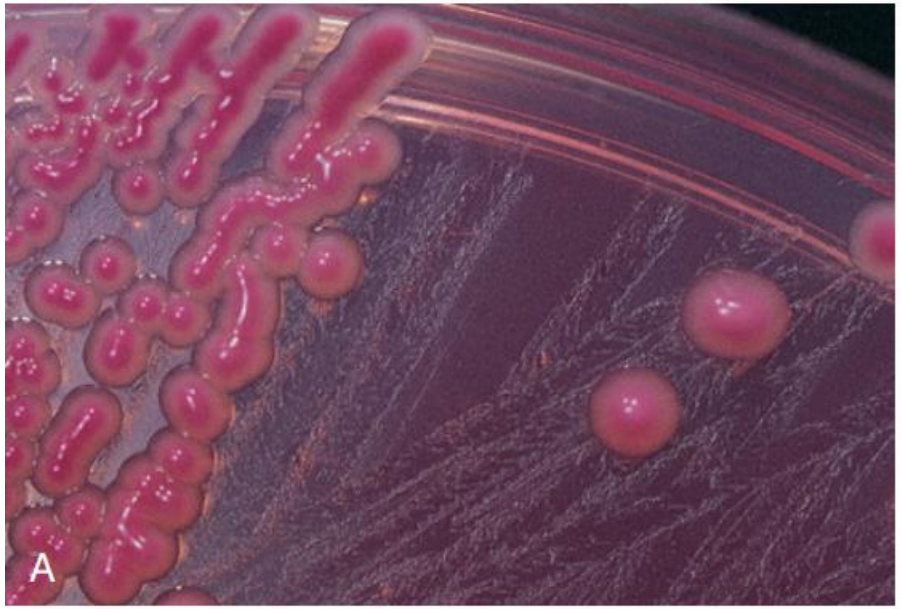
- کلنی مشخصی بر روی محیط های غیر انتخابی (بلاد آگار و شکلات آگار) ندارند.
- محیط کشتهای EMB و Mac conkey : محیط کشتهای کمی افتراقی- انتخابی که باعث تمایز کلنی های تخمیر کننده از غیر تخمیر کننده لاکتوز از یکدیگر می شوند.
- محیط های کشت XLD و HE: محیط کشتهای افتراقی و انتخابی تر که تولید H2S در آنها باعث تمایز ایزوله های تولید کننده این ماده می شود (جداسازی سالمونلا و شیگلا از مدفوع)
- محیط کشت بیسموت سولفیت آگار: بسیار انتخابی برای سالمونلا
- محیط های سلنیت F و GN broth : محیط های غنی کننده مناسب برای نمونه های با تعداد کم پاتوژنهائی مانند سالمونلا و شیگلا

- تستهای بیوشیمیائی مانند:
- ایندول
- متیل رد MR
- ووگس-پروسگوئر VP
- تولید اوره آز
- تولید H2S
- سیمون سیترات
- محیط SIM
- محیط TSI
- محیط LIA
- تست ONPG

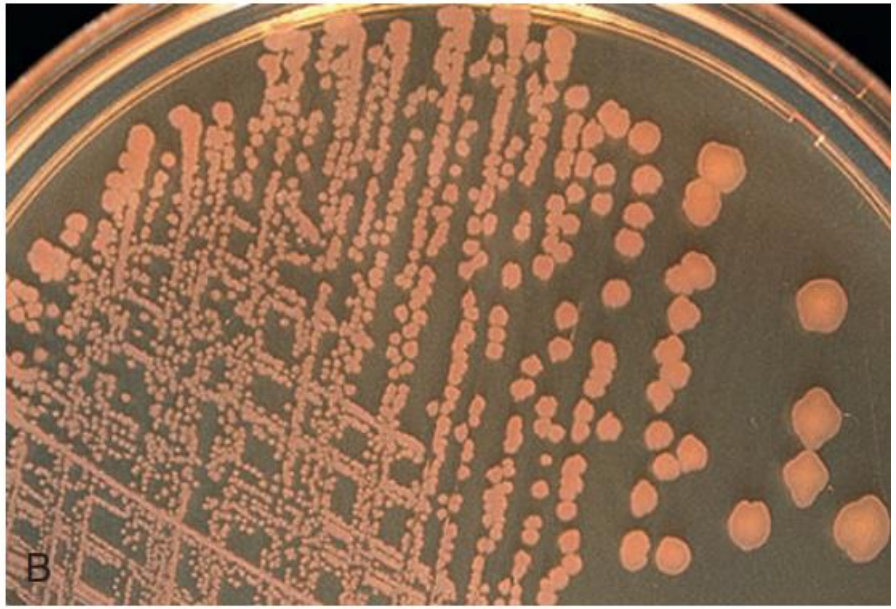

TSI agar
K/A H_2S+
A/A H_2S+
K/A H_2S–
A/A H_2S–
K/K
(no change
Refer to ID
of NLF
Proteus mirabilis
Salmonella spp.
Citrobacter freundii
Edwardsiella tarda
PAD
+
–
P. mirabilis
Salmonella spp.
C. freundii
Ewardsiella tarda
Lysine decarboxylase
+
–
Salmonella spp.
E. tarda
C. freundii
Salmonella
Paratyphi A
Indole
+
–
E. tarda
Salmonella spp.
Proteus vulgaris
Citrobacter freundii
Salmonella Arizonae
PAD
+
–
P. vulgaris
C. freundii
S. Arizonae
Providencia rettgeri
Morganella morganii
Providencia stuartii
Citrobacter spp.
Shigella spp.
Escherichia coli
Providencia alcalifaciens
Yersinia pestis
Serratia spp.
PAD
+
–
P. rettgeri
M. morganii
P. stuartii
P. alcalifaciens
Citrate
+
–
Providencia sp.
Morganella
morganii
Motility (37° C)
+
–
E. coli
Citrobacter spp.
Serratia spp.
Shigella sp.
Y. pestis
Escherichia coli
Klebsiella spp.
Enterobacter spp.
Serratia sp.
IMV:C
++ – –
– – ++
E. coli
Klebsiella sp.
Enterobacter sp.
Serratia sp.
Motility (37° C)
+
–
Enterobacter spp.
Klebsiella spp
Serratia spp.
DNase
+
–
Serratia sp.
Enterobacter spp.



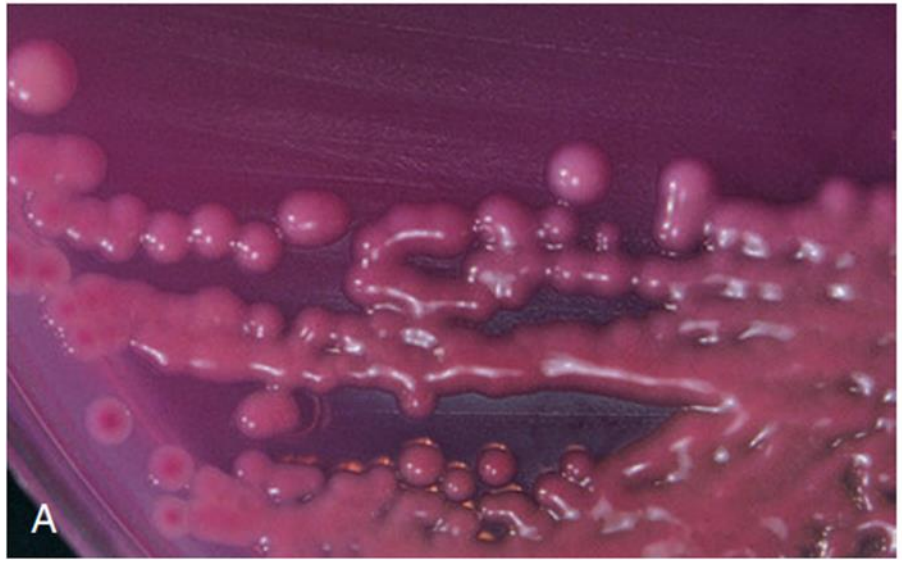
Lactose-fermenting Escherichia/Citrobacter-like organisms growing on MacConkey



Lactose-fermenting, gram-negative rods

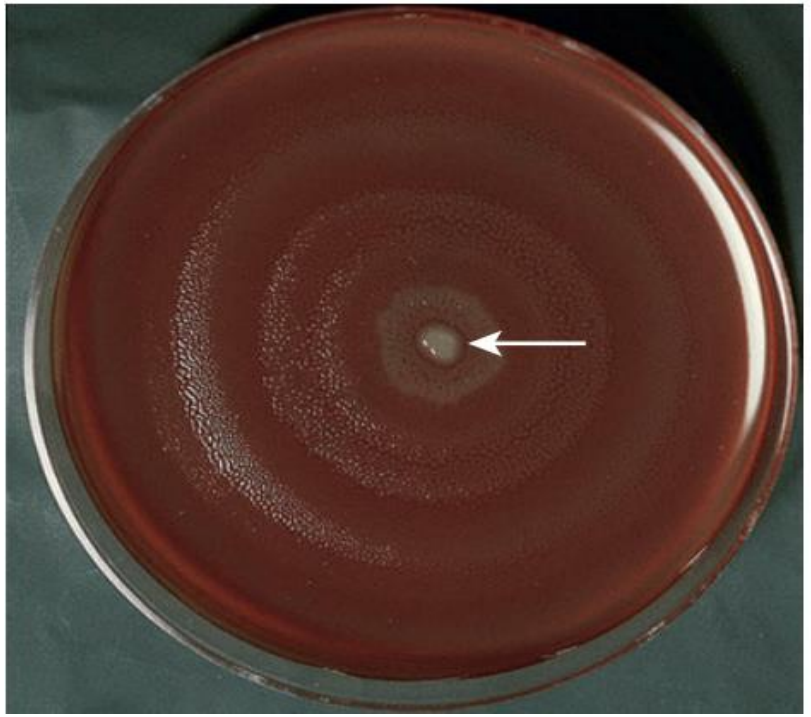


Non-lactose-fermenting, gram-negative rods

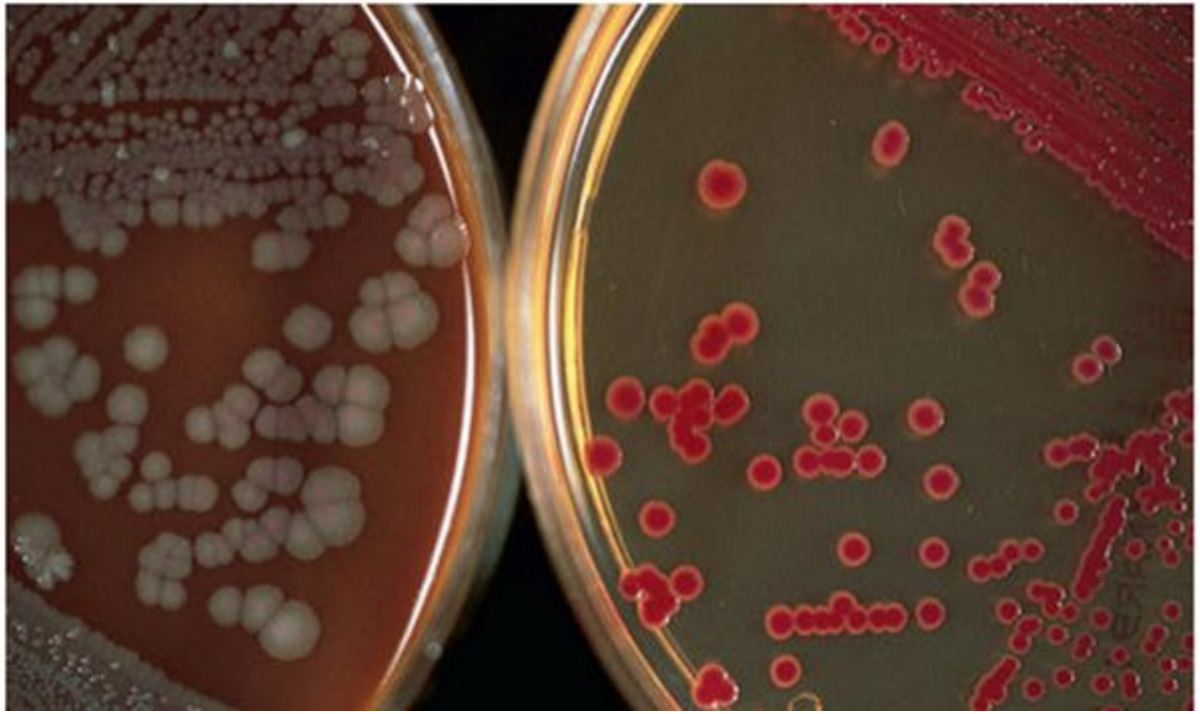


Klebsiella/Enterobacter-like lactose fermenters growing on MacConkey

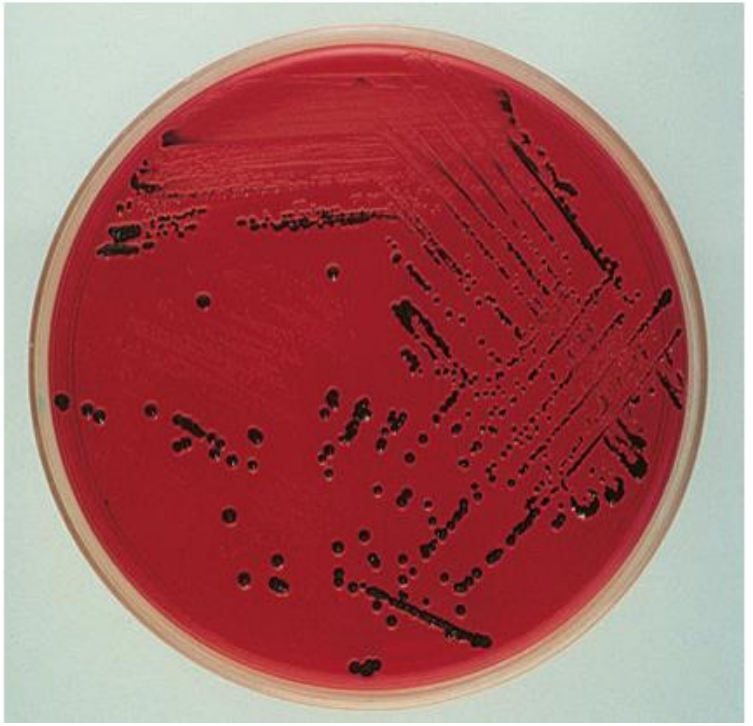
small, white colonies: gram-positive cocci.
large, gray, mucoid colonies: enteric gram-negative rod



Swarming colonies of Proteus spp.

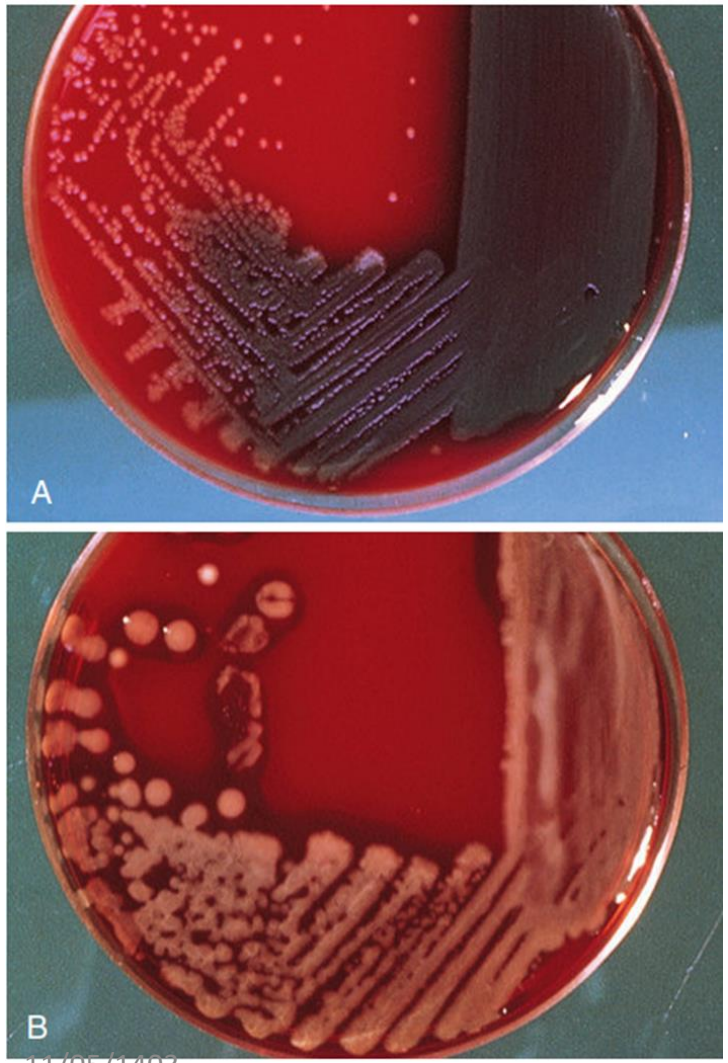


Brick-red pigment of Serratia marcescens



H2S– producing colonies of salmonellae growing on XLD agar

باسیلهای گرم منفی غیر تخمیر کننده



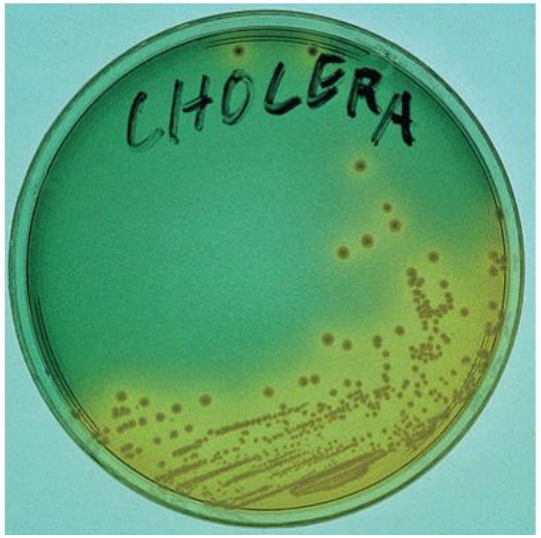
- پسودوموناس آئروژینوزا
- باسیل های گرم منفی شدیدا هوازی
- کاتالاز و اکسیداز مثبت
- تولید بوئی شبیه میوه
- رشد در ۴۲ درجه سانتیگراد

- اسینتوباکتر
- کوکوباسیل گرم منفی شدیدا هوازی
- اکسیداز منفی
- بدون حرکت
- اسینتوباکتر بومانی، لوفی و همولیتیکوس

- کمپلکس بورخولدریا سپاسیا
- اغلب اکسیداز مثبت
- متحرک به غیر از گونه مالئی

- استنوتروفوموناس مالتوفیلیا
- اکسیداز منفی
- DNase و لایزین دکربوکسیلاز مثبت
- بدون حرکت

باسیلهای گرم منفی غیر انتروباکتریاسه ها



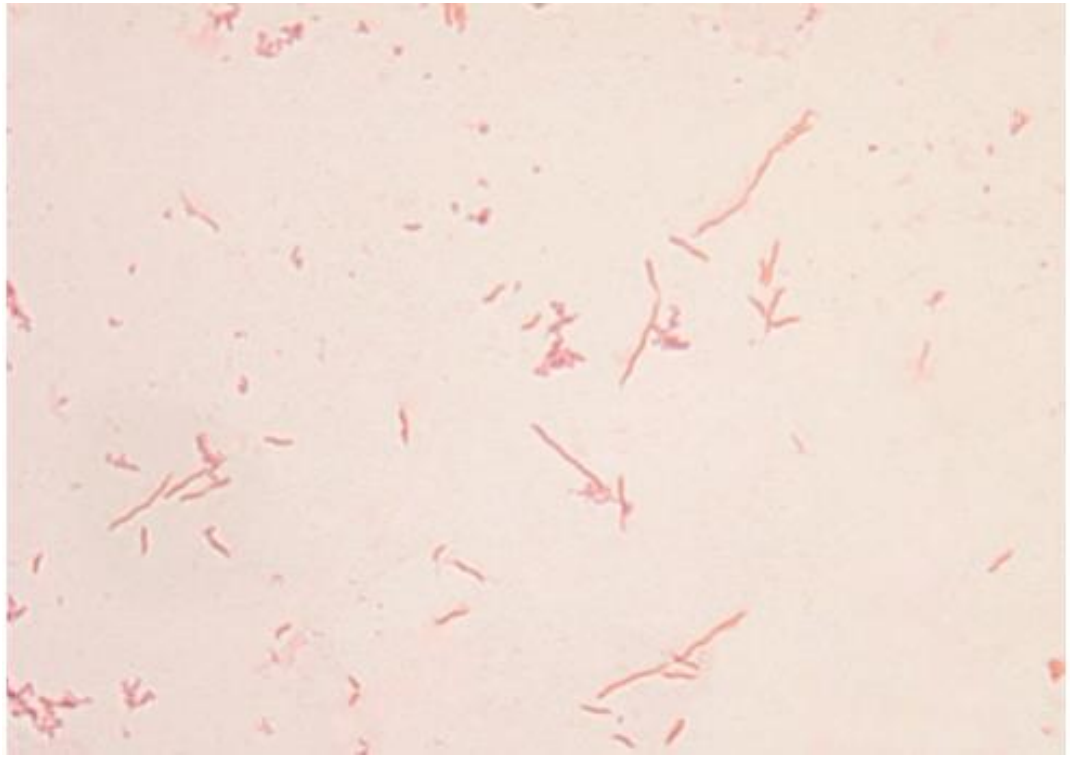
- ویبریو
  - باسیل گرم منفی کوتاه خمیده و یا مستقیم
  - اکسیداز و کاتالاز مثبت
  - متحرک
  - تخمیر کننده
- محیط کشت انتخابی : TCBS (thiosulfate citrate bile salt sucrose agar)
- محیط کشت غنی کننده: آب پپتون قلیائی

Feature	*Vibrio*	*Aeromonas*
Gram stain reaction	–	–
Oxidase activity	+	+
O/129[a] Susceptibility		
150 µg	S	R
Growth on TCBS agar	+	–
0% NaCl	– /+	+
6.5% NaCl	+	–
Acid from:		
Glucose	+	+
Inositol	–	–
Mannitol	+	+/–
Sucrose	+/–	+/–
Gelatin liquefaction	+	+

- کمپیلوباکتر
- محیط های کشت انتخابی
- شرایط اتمسفری میکروآئروفیلیک (5% O2, 10% CO2, 85% N2)
- رشد بهینه در ۴۲ درجه سانتیگراد

- هلیکوباکتر
- نیاز به محیط کشت اختصاصی
- تست اوره آز تنفسی
- آزمونهای سرولوژیک
- تست ایمونواسی مدفوع
- تهیه بیوپسی و انداختن قسمتی از آن در اوره براث (هیرولیز اوره در ۱ تا ۲۴ ساعت)

Medium	Base	Antimicrobial Agent
Campy blood agar plate	Brucella agar 10% sheep red blood cells	Vancomycin Trimethoprim Polymyxin B Amphotericin B Cephalothin
Skirrow's	Heart infusion Lysed, defibrinated horse red blood cells	Vancomycin Trimethoprim Polymyxin B
Butzler	Meat extract and peptone Horse blood, defibrinated	Bacitracin Novobiocin Cycloheximide Colistin Cefazolin
CCDA	Nutrient agar Charcoal Sodium desoxycholate	Cefoperazone Amphotericin B



سایر باسیل های گرم منفی

- هموفیلوس
- اکسیداز مثبت
- نیاز به فاکتورهای X (همین) و V (NAD)
- فاکتور V با اضافه کردن مکمل ایزوویتالکس، ترکیب عصاره مخمر و یا سوسپانسیون استاف آرئوس بر روی سطح بلاد آگار که هموفیلوس به صورت اقماری رشد می کند.
- بروسلا
- کشت خون باید ۱۰ تا ۱۴ روز بررسی شود.
- تستهای سرولوژیک برای تشخیص اولیه

خودتو