

اصول جمع آوری نمونه های آزمایشگاهی

دکتر حسین صمدی کفیل

عضو هیئت علمی گروه میکروب شناسی
پزشکی

دستورالعمل جمع آوری نمونه های ادراری

■ شرایط آمادگی بیمار قبل از جمع آوری نمونه

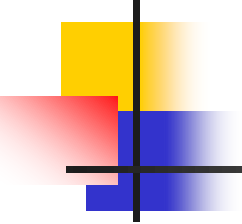
- در مواردی که بیمار سوند ادراری ندارد، بهترین نمونه اولین ادرار صبحگاهی است که حداقل به مدت ۸ ساعت داخل مثانه باقی مانده و تغلیظ شده باشد. در غیر اینصورت، می توان از نمونه های ادرار تصادفی استفاده نمود.
- در نمونه ادرار تصادفی، بیمار ترجیحا باید از آشامیدن آب و مایعات اضافی به منظور تولید ادرار خودداری نماید؛ زیرا این امر موجب رقیق شدن ادرار و کاهش تعداد باکتری می شود.
- بیمار نباید در ۴۸ ساعت گذشته آنتی بیوتیک مصرف کرده باشد، مگر با تجویز پزشک معالج. توصیه می شود در باکتریوری بدون علامت از سه نمونه ادرار صبحگاهی استفاده شود که در سه روز متوالی جمع آوری شده است.

نمونه گيري

- در بیمارانی که سوند ادراری ندارند، لازم است ادرار مطابق دستورالعمل های نمونه گيري جمع شود که به طور مجزا برای زنان، مردان و نوزادان تهیه شده است.

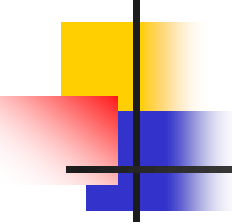
بیمارانی که سوند ادراری دارند

- در مواردی که از سوند های ادراری طولانی مدت استفاده می شود ، برای نمونه گیری سوند را قبل از محل اتصال به لوله کیسه ادراری با یک پنس یا وسیله مشابه مسدود می نماییم
- حدود ۱ تا ۵,۵ ساعت بعد لوله کیسه ادرار را جدا و محل اتصال را با الکل تمیز می کنیم و پس از خروج مقداری ادرار ، باقی نمونه را در ظرف استریل جمع می کنیم. همچنین ، می توان برای نمونه گیری از سرنگ یا سوند ادراری تازه تعویض شده استفاده نمود.



■ ۱. نمونه گیری ادرار نباید از کیسهٔ سوند ادراری صورت گیرد.

■ ۲. نمونه گیری و کشت از نوک کاتتر فولی قابل قبول نیست.

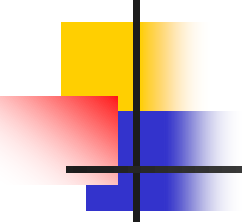


سوند نلاتون یا کاتتر Straight

- ابتدای مجرای ادرار را با آب و صابون مایع معمولی می شوئیم و پس از سوند گذاری قسمت اول ادرار را دور می ریزیم و بقیه را در ظرف استریل جمع می کنیم.

Ileal Conduit Urine

- پس از تمیز کردن Stoma Opening با الکل، نوک کاتتر را به آرامی و به عمق ۲,۵ تا ۵ میلی متر پس از تمیز کردن داخل می بریم و صبر می کنیم تا ادرار به تدریج خارج و در ظرف نمونه گیری جمع شود.



■ نمونه گیری ادرار با سیستم اسکوپ: گرفتن ادرار به کمک کاتتر ضمن عمل سیستم اسکوپ در اتاق عمل و توسط متخصص انجام می شود. در این روش می توان ادرار را جداگانه از دو حالب تهیه و منبع عفونت را مشخص نمود.

نحوه نمونه گیری و جمع آوری ادرار تمیز میانی در زنان، مردان و نوزادان

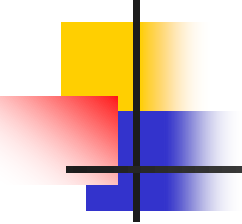
■ زنان

۱. در پوش ظرف استریل مخصوص جمع آوری ادرار را باز کنید و مراقب باشید تا لبه و سطوح داخلی ظرف با انگشتان شما تماس پیدا نکند.
۲. در موقعیت ادرار کردن قرار بگیرید و تا آنجا که ممکن است پاها را از یکدیگر باز کنید.
۳. با انگشتان یک دست چین های پوستی دستگاه تناسلی را از یکدیگر باز نگهدارید و تا پایان جمع آوری همین وضعیت را حفظ کنید.
۴. دستگاه تناسلی خارجی را از جلو به عقب با گاز آغشته به صابون مایع تمیز و با آب کاملاً آبکشی و سپس خشک کنید **(از مواد ضد عفونی کننده برای شستشو استفاده نکنید)**.
۵. قسمت اول ادرار را بیرون بریزید و بدون توقف جریان ادرار قسمت های میانی ادرار را داخل ظرف استریل بریزید و در پوش ظرف را محکم ببندید.
۶. توجه کنید که مشخصات کامل شما (نام، جنسیت و ...)، تاریخ و ساعت دریافت نمونه به طور صحیح روی برچسب ظرف نوشته شده باشد.
۷. ظرف کشت ادرار را در محل مخصوص جمع آوری نمونه ها قرار دهید.

۱. در پوش ظرف استریل مخصوص جمع آوری ادرار را باز کنید و مراقب باشید تا لبه و سطح داخلی ظرف با انگشتان شما تماس پیدا نکند.
۲. قسمت اول ادرار را بیرون بریزید و بدون توقف جریان ادرار، قسمت میانی ادرار را داخل ظرف استریل جمع آوری کنید.
۳. در پوش ظرف را روی آن قرار دهید و کاملاً سفت کنید.
۴. توجه کنید که مشخصات کامل شما به طور صحیح روی برچسب ظرف نوشته شده باشد.
۵. ظرف کشت ادرار را در محل مخصوص جمع آوری نمونه ها قرار دهید.

نوزادان

۱. کودک را به پشت بخوابانید و پاهای او را با خم کردن زانوهایش به حالت نیمه باز درآوردید.
۲. دستکش بپوشید. ناحیه تناسلی را با پنبه آغشته به صابون مایع و آب تمیز کنید.
۳. سپس با آب گرم آبکشی و کاملاً خشک نمایید.
۴. توجه کنید که کیسه ادرار به کار رفته برای کودکان دختر و پسر متفاوت است.
۵. کیسه مخصوص پسر بچه ها سوراخ چسب دار به شکل دایره دارد.
۶. کیسه مخصوص دختر بچه ها سوراخ چسب دار به شکل بیضی دارد.
۷. آلت تناسلی پسر بچه را با حداقل دستکاری داخل سوراخ کیسه قرار دهید و برچسب آن را محکم کنید.
۸. پس از برداشتن برچسب از اطراف دهانه کیسه، دستگاه تناسلی دختر بچه را به آرامی باز کنید و کیسه را از محل سوراخ طوری بچسبانید که مجرای ادرار در داخل کیسه قرار بگیرد و برچسب آن را محکم کنید.
۹. حداکثر نیم ساعت اجازه دهید تا ادرار (تقریباً ۲۰ سی سی) در داخل کیسه جمع شود.
۱۰. کیسه ادرار را با دقت از محل اتصال جدا کنید و داخل ظرف استریل مخصوص کشت قرار دهید.



شرایط نگهداری و انتقال

- نمونه ادرار تهیه شده تا ۲ ساعت در حرارت اتاق و تا ۲۴ ساعت در یخچال قابل نگهداری است
- افزودن اسید بوریک با غلظت ۲ - ۱ درصد تعداد باکتری را برای ۹۶ - ۴۸ ساعت در دمای محیط ثابت نگه می دارد و به ندرت روی رشد بعضی ارگانیسمها تأثیر منفی دارد.

نمونه برداري و انتقال نمونه

تنفسي

- روشهای مختلفی براي اجتناب از آلودگی نمونه ها با فلور طبیعی دستگاه تنفسي فوقانی وجود دارند که عبارتند از:
- ۱. استفاده از روشهای تهاجمی براي جمع آوري نمونه از محل عفونت مانند برونکوسکپی و بیوپسی،
- ۲. استفاده از وسایل نمونه برداری دارای حفاظ براي پیشگیری از آلودگی نمونه ها با فلور طبیعی دستگاه تنفسي فوقانی.
- از سوي دیگر، درباره کشت کمی و تعیین آستانه تعداد کلنی براي افتراق بين عفونت و کلنیزاسیون به طور گسترده تحقیق و بررسی شده است که از جنبه هاي تشخیصی و اقتصادی مقرون به صرفه است.

عفونت های تنفسی

نمونه	ظرف انتقال	آماده سازی بیمار	دستورالعمل های ویژه	انتقال به آزمایشگاه	نگهداری قبل از انجام کشت	محیط کشت	بررسی میکروسکوپی	توضیحات
دستگاه تنفسی تحتانی BAL, **BB, *BW	ظرف استریل		کشت بی هوازی فقط در صورت استفاده از کاتترهای حفاظت شده انجام می شود	حداکثر 2 ساعت در دمای اتاق	24 ساعت در دمای 4°C	***BA CA Mac	رنگ آمیزی گرم و دیگر رنگ آمیزی ها بنا به درخواست برای مثال DFA برای لژیونلا و AFB***	موارد دیگر: کشت شمارشی BAL, AFB, لژیونلا، نوکاردیا، مایکوپلاسما، پنوموسیستیس، سایتومگالوویروس
خلط، آسپیراسیون تراشه (ساکشن)	ظرف استریل	خلط؛ شستن یا قرقره آب قبل از جمع آوری	خلط را باید بیمار با سرفه عمیق جمع آوری کند، نمونه باید از نظر مناسب بودن برای کشت به وسیله رنگ آمیزی گرم آزمایش شود. خلط تحریکی در کودکان یا بیماران تحت عمل گرفته می شود. در این بیماران خلط ممکن است آبی باشد (به علت استفاده از سرم فیزیولوژی)	حداکثر 2 ساعت در دمای اتاق	24 ساعت در دمای یخچال	BA CA Mac	رنگ آمیزی گرم و دیگر رنگ آمیزی ها بنا به درخواست؛ برای مثال DFA برای لژیونلا و AFB برای تشخیص توبرکلوزیس	موارد دیگر: AFB و نوکاردیا

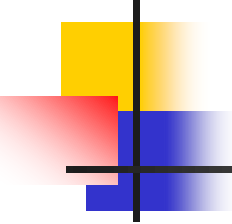
جمع آوری خلط

■ استفاده از نمونه خلط روشی غیر تهاجمی و ارزان برای تعیین عامل بیماری در پنومونی است.

■ اگرچه این روش خیلی راحت و سهل الوصول است، اما نتایج نمونه های خلط اغلب مفید نمی باشد؛ چون در جمع آوری خلط، نمونه با فلور طبیعی اروپارنژیال آلوده می شود، حتی اگر برای جمع آوری نمونه خلط آموزشهای کافی به بیمار داده شده باشد. بیماران باید با یک سرفه عمیق خلط خود را جمع آوری و تا حد امکان از آلوده شدن با آب دهان اجتناب کنند. نمونه را داخل یک ظرف استریل جمع آوری و سریعاً به آزمایشگاه ارسال نمایند.

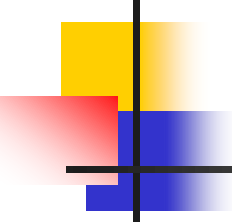
جمع آوری خلط از طریق روشهای القایی

- بیمارانی که قادر نیستند خلط خود را بگیرند، لازم است به وسیله کارکنان بخش های بیمارستان برای نمونه گیری یاری شوند تا با تحریک بتوانند یک نمونه قابل قبول تهیه کنند. این نوع نمونه برای جداسازی عواملی چون مایکوباکتریو مها و قارچها مناسب است. همچنین، برای تشخیص پنوموسیستیس کارینی مفید است.



جمع آوری خلط از طریق روشهای القایی

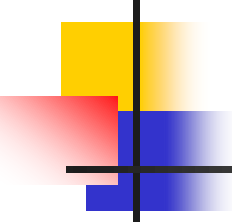
- این نمونه به واسطه استنشاق محلول نمکی حاوی ۱۵ درصد سدیم کلرید و ۱۰ درصد گلیسرین برای حدود ۱۰ دقیقه یا تا شروع سرفه عمیق به دست می آید. ترشحات دستگاه تنفسی تحتانی که به این روش تهیه می شود شبیه آب دهان و آبکی است؛ زیرا حاوی موادی هستند که مستقیم از فضای کیسه های هوایی گرفته می شوند. این نمونه ها معمولاً برای کشت کافی هستند و در آزمایشگاه باید بدون بررسی مقدماتی پذیرش شوند. گرفتن چنین نمونه هایی ممکن است در بیشتر موارد پزشک را از استفاده از روشهای تهاجمی تر مانند برونکوسکوپي یا اسپیراسیون به وسیله سوزن، معاف کند.



عفونت های تنفسی

■ کشت خون

- ۸ درصد پنومونی های مرتبط با ونتیلاسیون کشت خون مثبت است. - در ۲۰٪ مطالعات نشان داده است که در بیماران بد حال، باکتری می همیشه مربوط به عفونت های ریوی نیست. در صورتی که از کشت خون بیمار مبتلا به عفونت ریوی ارگانیزم مشابه جدا شود، نشان دهنده کانون عفونت در ریه است، ولی تحقیقات نشان داده اند که در ۵۰ درصد از مواردی که کشت خون آنها مثبت است، منشأ عفونت در قسمت دیگری از بدن وجود دارد. در این موارد، میکروارگانیزم جدا شده از خون و ترشحات دستگاه تنفسی یکسان نیست.



آسپیراسیون شیره معده

- این نوع نمونه برای جداسازی باسیل اسید فاست مناسب و برای بیمارانی که قادر به جمع آوری خلط نیستند به ویژه کودکان مفید است.

آسپیراسیون آندوتراکئال

- آسپیراسیون آندوتراکئال اغلب برای تشخیص پنومونی در بیمارانی به کار می رود که لوله گذاری شده اند. ترشحات بهسادگی در ظرف مخصوص:
(Lukens trap)
- این ترشحات در آزمایشگاه باید مانند خلط در نظر گرفته شود.

برونکوسکوپی

■ برای تشخیص پنومونی، به ویژه در افراد آلوده به HIV و دیگر بیماران دارای نقص برای تشخیص پنومونی، به ویژه در افراد آلوده به نقص سیستم ایمنی اغلب لازم است از روشهای تهاجمی تر استفاده کرد. با این روش می توان ترشحات مخاط برونش را مستقیماً مشاهده کرد و برای بیوپسی جمع آوری نمود. در هنگام برونکوسکوپی پزشکان می توانند نمونه هایی از شستشوی برونش ها یا آسپیراسیون برونش ها (BAL) را به دست آورند. مقداری از سرم فیزیولوژی استریل را داخل برونشها تلقیح و سپس توسط برونکوسکپی جمع آوری می کنند. از آنجا که برونکوسکپی از طریق بینی وارد می شود، بنابراین، با فلور دستگاه تنفسی فوقانی آلوده می شود، اما این نمونه ها برای تشخیص بسیار مفیدتر از خلط است.

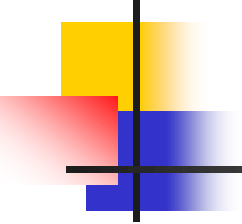
عفونت هاي زخم

■ روش نمونه گيري زخم

■ روش کمی

■ براي تعيين بار ميكروبی منطقه استفاده می شود. در این روش، بافت به صورت آسپتیک تهیه میشود و پس از توزین و هموژن کردن، از آن رقت هاي سریال تهیه می شود و روي محیطهاي انتخابی و غیرانتخابی در شرایط هوازي و بی هوازي کشت داده می شود تا اطلاعات کمی و کیفی لازم براي شناسایی عامل مهاجم به دست آید. البته در این روش در صورت وجود بافت هاي مرده سطحی، برداشت این بافت ها به وسیله کورتاژ آنها به خصوص در زخم هاي دیابتي ضروری است.

مفيدترین روش نمونه برداری از ترشحات چرکی و آبسه هاي جلدی اسپیراسیون آن توسط سرنگ است. در زخم هاي عمقی که باعث تشکیل حفره می شود (آبسه)، شستشو با نرمال سالین استریل غیرباکتریوستاتیک و ماساژ آرام موضع براي جم شدن و آسپیراسیون مایع لازم به نظر می رسد.

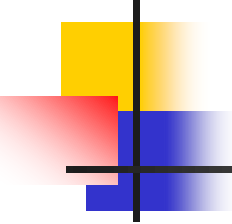


روش نمونه گیری زخم

- روش نیمه کمی و کیفی
- استفاده از سواب زخم: اغلب به وسیله سواب های پنبه ای انجام می شود و برای نمونه برداری زخم های سطحی و دبري هاي بافتی برای ارزیابی نیمه کمی و کیفی فلور میکروبی زخم به کار می رود. در صورت استفاده از سواب آلژینات می توان ارزیابی را کاملاً کمی انجام داد؛ زیرا سواب در مایع حل می شود و همه میکروارگانیسم ها را آزاد می کند.

عقونت هاي زخم

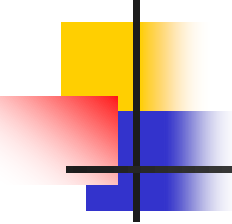
- اصولاً آسپیراسیون مایع چرکی برای جداسازی بیمار یزاهای، به خصوص بی هواز یها، بر نمونه برداری با سواب ارجحیت دارد. باوجود کم ارزش بودن سوابهای سطحی برای نمونه برداری، این روش ارزان، غیر تهاجمی و در دسترس است. اما استفاده از آن در زخم های سطحی در صورت تمیز نکردن زخم و برداشت دبري هاي سطحی، ممکن است فقط نشان دهنده آلودگی هاي سطحی باشد و موجب تشخیص نادرست شود. سواب می تواند به صورت نیمه کمی میزان فلور میکروبی را تخمین بزند



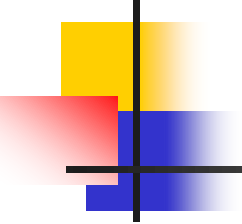
نحوه نمونه برداري

- باوجود آنکه اغلب نمونه ها در اتاق عمل و توسط پزشک و کادر پزشکی گرفت می شود، اما اطلاع از نحوه نمونه گيري و شرایط آماده سازي بیمار براي تهیه دستورالعمل و ارسال به بخش هاي بیمارستانی از جمله وظایف بخش میکرو بشناسی محسوب می شود.

زخم سطحی

- 
۱. اسپیراسیون با سرنگ بر نمونه برداری با سواب ارجحیت دارد.
 ۲. سطح زخم را به وسیله شستشو با سرم فیزیولوژی استریل یا الکل ۷۰ درصد تمیز کنید و بگذارید خشک شود.
 ۳. برای جمع آوری نمونه از سرنگ ۵ سی سی با سرسوزن ۲۲ یا ۲۳ استفاده کنید. پزشک باید تا حد امکان اسپیراسیون را عمقی انجام دهد. در ضمن، در صورت وجود وزیکول دو نمونه یکی از مایع داخل وزیکول و یکی از قاعده آن جمع کنید.
 ۴. در صورتی که اسپیراسیون اولیه ناموفق باشد، می توان با تلقیح مقداری سرم فیزیولوژی غیرباکتریوستاتیک در زیر جلد مجدد نمونه گرفت.
 ۵. اگر اسپیراسیون را دوباره تکرار کردید و موفق نشدید هیچ مایعی بردارید، سوزن و سرنگ را با کشیدن مقداری محیط مایع به داخل آن شستشو دهید و مایع را در محیطها تلقیح کنید.

زخم ها و ندولها

- 
-
- ۱. منطقه را با الکل ۷۰ درصد تمیز کنید.
 - ۲. ابتدا لایه دبري را بردارید.
 - ۳. سپس، از قسمت پایه زخم یا ندول نمونه بگیرید.
 - ۴. در صورت وجود اگزودا آن را به وسیله سرنگ یا سواب استریل جمع کنید.

بافت زیرجلدي و نمونه هاي پوست

- پانچ بیوپسی های پوست:
- سطح پوست را با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی کنید.
- ۳-۴ mm از قسمت درم را پانچ کنید.
- در لوله استریل بدون فرمالین و یا دارای سرم فیزیولوژی استریل غیرباکتریواستاتیک به بخش میکروشناسی ارسال کنید.

زخم‌های عمیق، اسپیراسیون و نمونه‌های بافتی عمیق)

- ۱. سطح را با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی کنید.
- ۲. عمیق‌ترین قسمت زخم را اسپیره کنید تا از آلودگی سطح پوست اجتناب شود.
- در صورتی که نمونه به وسیله جراحی گرفته می‌شود، قسمتی از دیواره زخم نیز باید برای کشت ارسال شود.

روش انتقال نمونه

- پس از نمونه برداری، انتقال نمونه ها به آزمایشگاه بسیار مهم است. این مطلب به ویژه درباره بی هوازی ها اهمیت فراوانی دارد. اسپیراسیون مایع چرکی و نمونه های بافتی از نمونه گیری با سواب صحیح تر است؛ زیرا استفاده از این روش موجب حفظ شرایط طبیعی بدون تغییر میکروبی در حین انتقال می شود.
- مواردی که انتقال نمونه ۱-۲ ساعت طول بکشد استفاده از محیط های انتقالی از قبل احیا شده مناسب ترند. بنابراین، از آنجا که نمونه های سواب به خشکی و فشار اکسیژن حساساند، برای حفظ میکروارگانیسمهای هوازی و بی هوازی همراه سواب های پنبه ای یک محیط انتقالی از قبل احیا شده و غیر مغذی مفید است.

کشت خون، کاتترهای خونی و فرآورده های بانک خون

■ نمونه گیری با 10% Povidone – Iodine

- ۱. ورید موردنظر را انتخاب کنید.
- ۲. در ابتدا پوست ناحیه را با الکل ۷۰ درصد با حرکت محکم دورانی از داخل به خارج به قطر تقریبی 5 cm ضدعفونی کنید.
- 3. Povidone - Iodine. پس از خشک شدن الکل همین کار را با بتادین (۱۰ درصد) تکرار و حداقل یک دقیقه (ترجیحاً ۲ دقیقه) صبر کنید تا محل ضدعفونی خشک شود. برای جلوگیری از آلودگی رعایت زمان توصیه شده بسیار اهمیت دارد.
- ۴. در صورت لزوم به لمس مجدد ورید باید نوك انگشت درحالی که با دستکش پوشیده شده است با بتادین ضدعفونی شود.
- ۵. پس از نمونه گیری، خون را مستقیماً و بدون تعویض سوزن به درون شیشه کشت خون که درپوش لاستیکی آن قبلاً با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و خشک شده است، تلقی کنید و شیشه را با ملایمت تکان دهید تا خون با ماده ضد انعقادی مخلوط شود.

تعداد و زمان خون گیری

- ۱. تب حاد: قبل از شروع درمان، ۲ نمونه از ۲ رگ در ۱۰ دقیقه گرفته شود.
- بیماری غیر حاد: قبل از شروع درمان، ۳ نمونه از رگهای جداگانه طی ۲۴ ساعت گرفته شود. فاصله بین نمونه ها نباید کمتر از ۳ ساعت باشد.
- ۳. اندوکاردیت حاد: قبل از شروع درمان، ۳ نمونه از ۳ رگ جداگانه در مدت ۱ - ۲ ساعت گرفته شود.
- ۴. اندوکاردیت تحت حاد: ۳ نمونه از ۳ رگ با فاصله زمانی حداقل یک ساعت ۲ نمونه - طی ۲۴ ساعت گرفته شود. اگر کشت بعد از ۲۴ ساعت منفی بود، ۳ دیگر با همین روش گرفته شود.

حجم نمونه

- در افراد بزرگسال در هر نوبت حداقل ۱۰ سی سی خون گرفته شود.
- در کودکان کمتر از ۱۰ سال تقریباً به ازای هر سال حداقل ۱ سی سی توصیه می شود، هر چند اخیراً به معیار وزنی توجه شده است.
- انتقال در ۲ تا ۴ ساعت در دمای اتاق انجام گیرد و در یخچال قرار داده نشود.

سوند

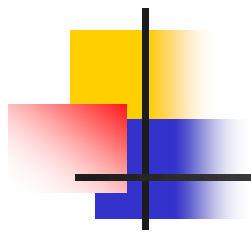
۱. محل ورود سوند به پوست را با الکل ضد عفونی و پس از خشک شدن سوند

را خارج می کنیم.

۲. ۴-۵ cm آخر سوند کوتاه یا بلند را با قیچی استریل جدا می کنیم و در لوله استریل قرار می دهیم و در زمانی کمتر از ۱۵ دقیقه و قبل از خشک شدن به آزمایشگاه می رسانیم. سوند نباید در سالین یا محیط ترانسپورت قرار گرفته باشد. در سوند های بلند در صورت نیاز پزشک می توان سوند نزدیک به پوست را نیز به طور جداگانه کشت داد.

۳. در صورت رعایت نکردن زمان، می توان نمونه را تا ساعت در یخچال ۴ درجه نگهداری کرد.

- با استفاده از ظروف مخصوص جمع آوری و در کمتر از ۲-۴ ساعت به آزمایشگاه ارسال گردد.



■ با آرزوی موفقیت