

اصول جمع آوری نمونه های آزمایشگاهی نمونه های تنفسی

دکتر حسین صمدی کفیل
عضو هیئت علمی گروه میکروب شناسی
پزشکی

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

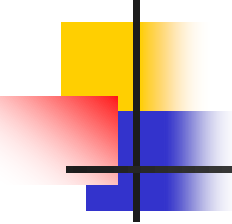
جمع آوری خلط

■ 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.

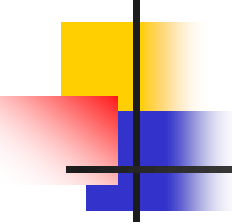
جمع آوری خلط از طریق روشهای القایی

- 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

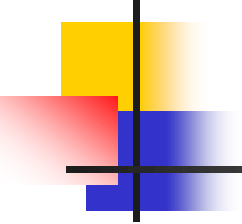
- این نمونه به واسطه استنشاق محلول نمکی حاوی ۱۵ درصد سدیم کلرید و ۱۰ درصد گلیسرین برای حدود ۱۰ دقیقه یا تا شروع سرفه عمیق به دست می آید. ترشحات دستگاه تنفسی تحتانی که به این روش تهیه می شود شبیه آب دهان و آبکی است؛ زیرا حاوی موادی هستند که مستقیم از فضای کیسه های هوایی گرفته می شوند. این نمونه ها معمولاً 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

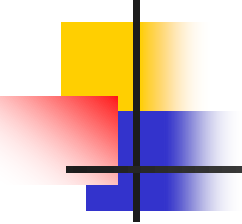
- ۸ درصد پنومونی های مرتبط با ونتیلاسیون کشت خون مثبت است. - در ۲۰٪ مطالعات نشان داده است که در بیماران بد حال، باکتری می همیشه مربوط به عفونت های ریوی نیست. در صورتی که از کشت خون بیمار مبتلا به عفونت ریوی ارگانیزم مشابه جدا شود، نشان دهنده کانون عفونت در ریه است، ولی تحقیقات نشان داده اند که در ۵۰ 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



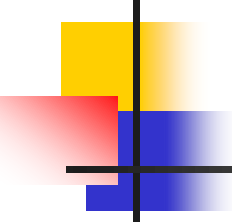
- آسپیراسیون آندوتراکئال اغلب برای تشخیص پنومونی در بیمارانی به کار می رود که لوله گذاری شده اند. ترشحات بهسادگی در ظرف مخصوص:

- (Lukens trap)

- این ترشحات در آزمایشگاه باید مانند خلط در نظر گرفته شود.

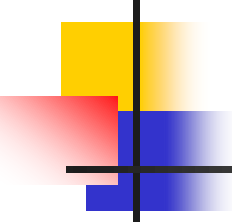
برونکوسکوپی

■ 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.



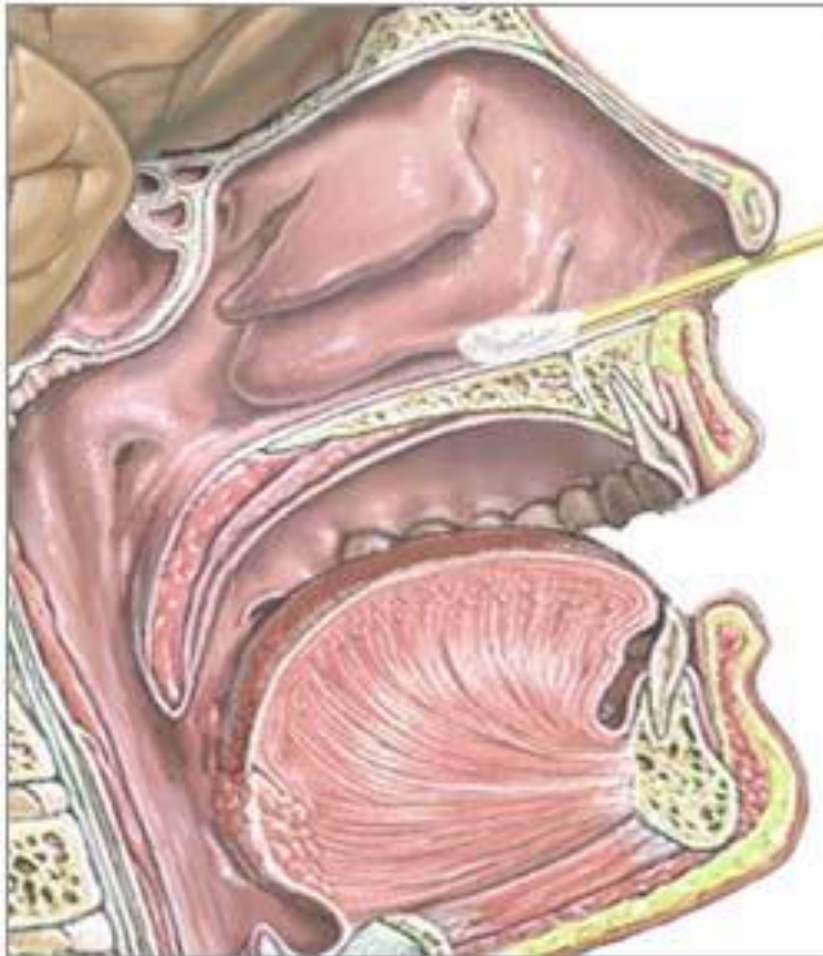
Respiratory Tract

- Tests to determine abnormal cells or infection
 - Throat cultures
 - Sputum specimens
 - Skin testing
 - Thoracentesis

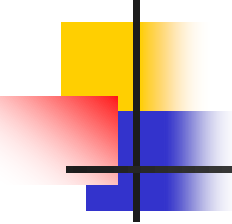


Nose, Throat Specimens

- Upper respiratory/ throat infections
- Should Not be delegated
- Throat swabs
 - ac meal or 1 hr pc meal
 - Wash hands, glove
 - Tilt head backward
 - “ah” (if pharynx not visualized, tongue depressor, anterior 1/3 of tongue)
 - Don’t contaminate

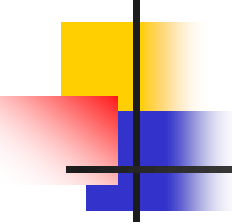


A sterile swab is passed gently through the nostril and into the nasopharynx



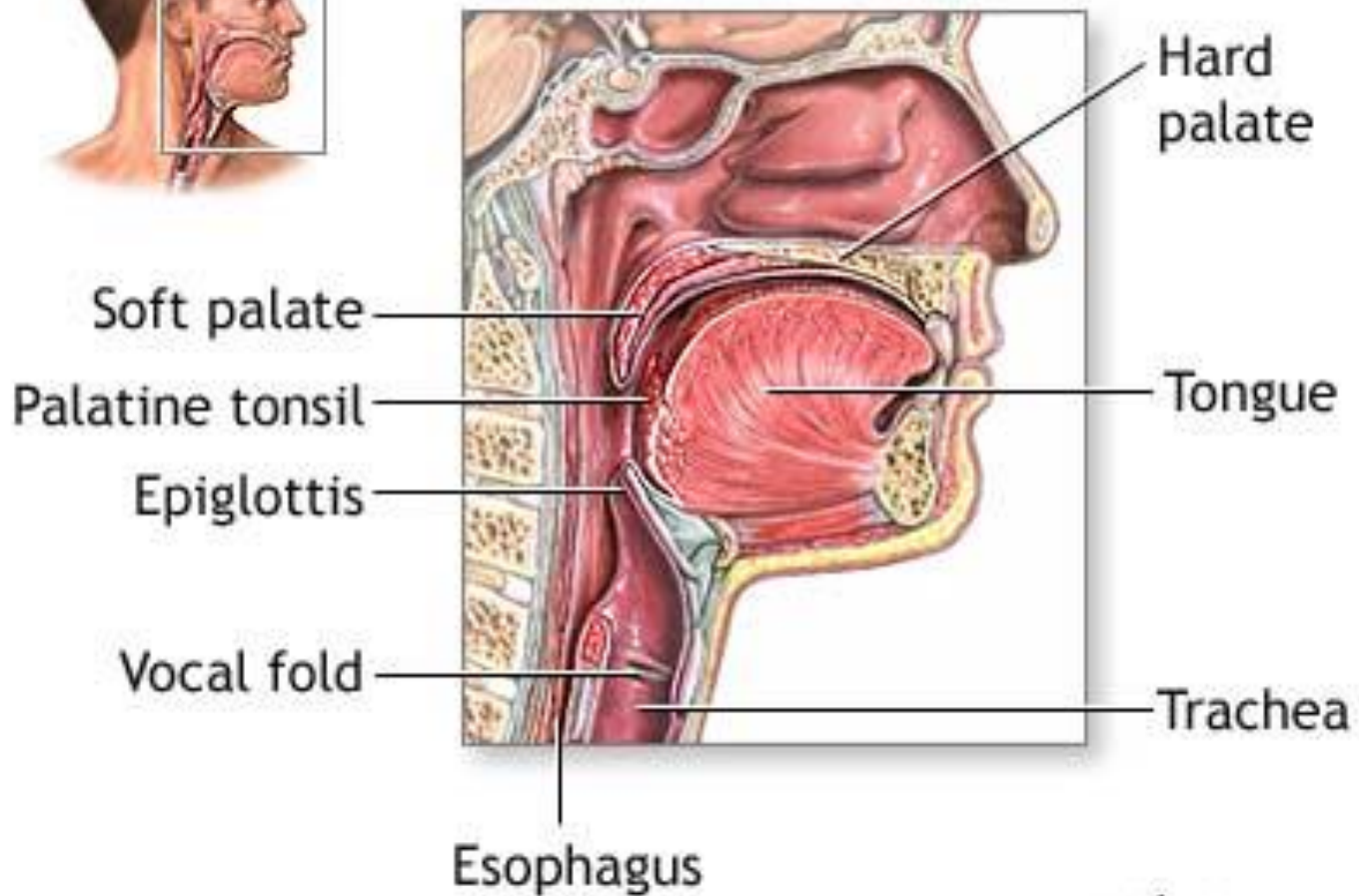
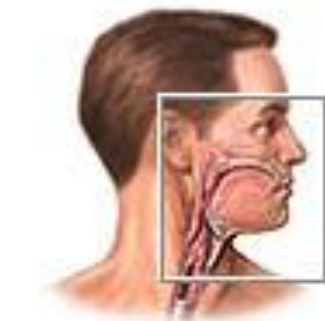
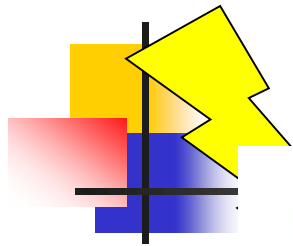
Throat cultures

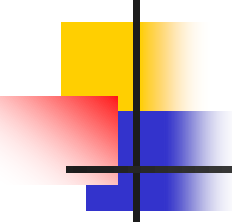
- Oropharynx & tonsillar
- Sterile swab
- Culture determines pathogenic microorganisms
- Sensitivity determines the antibiotics to which the microorganisms are sensitive or resistant



Method for throat culture

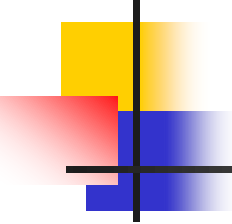
- Insert swab into pharyngeal region
- Reddened areas/ exudate
- Gag reflex ↓ if client sitting and leaning forward slightly
- Inform client re procedure





Nose culture

- Blow nose, check nostril patency
- Rotate Swab inflamed mucosa or exudate
- Swab must advance into nasopharynx to ensure culture properly obtained



Sputum specimens (3 major types)

Ordered to identify organisms growing in sputum

➤ ***C&S***

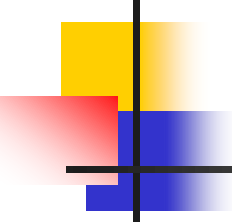
➤ ***AFB***

➤ ***3 consecutive, early am***

➤ ***Cytology***

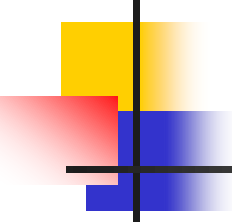
➤ ***Abnormal lung cancer by cell type***

➤ ***3 early am***



Sputum collection

- May be delegated
- Cough effectively
- Mucus from bronchus
- **Not Saliva**
- Record
 - Color
 - Consistency
 - Amount
 - Odor
 - Document date & time sent to lab.

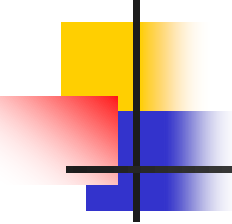


Sputum collection

- No mouthwash/toothpaste-

↓ viability of microorganisms and alter culture results





Suspect Case Form

- Patient name
- Unique identification number
- Patient symptoms and date of onset
- Specimens and collection date
- Whether or not patient is hospitalized
- Patient contact information
- Patient demographic information

Field Data Collection Form

General patient information

Name: _____

Address: _____

Country: _____

County: _____

City/town/village: _____

Tracking record number

Date of Birth (dd/mm/yyyy): _____

Sex: M ☐ F ☐

Nationality: _____

Occupation: _____

Date of onset of illness (dd/mm/yyyy): _____

Clinical specimens

Unique ID No.	Type	Date of collection	Clinical diagnosis	Health status when specimens collected	Remarks

Post-mortem specimens

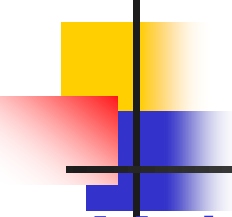
Date of death(dd/mm/yyyy): ____/____/____

Name of person completing form: _____

Institutional affiliation: _____

Contact details: _____

Date(dd/mm/yyyy): ____/____/____



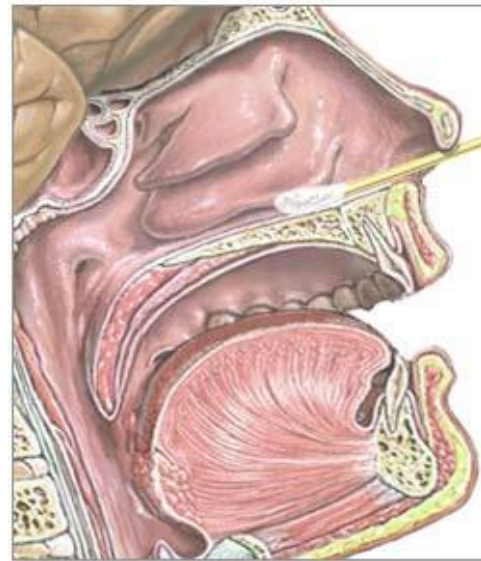
Specimen Tracking System

Maintain a database to track:

- Identification number
- Subject information
- Type of specimen
- Specimen collection date
- Specimen collection location
- Date of laboratory receipt of specimen
- Date tested
- Diagnostic test results

Nasopharyngeal Swab

1. Insert dry swab into nostril and back to nasopharynx
2. Leave in place for a few seconds
3. Slowly remove swab while slightly rotating it

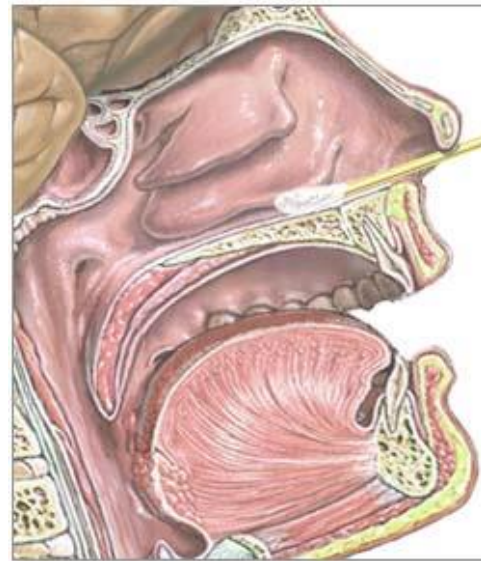


A sterile swab is passed gently through the nostril and into the nasopharynx

Nasopharyngeal Swab

continued

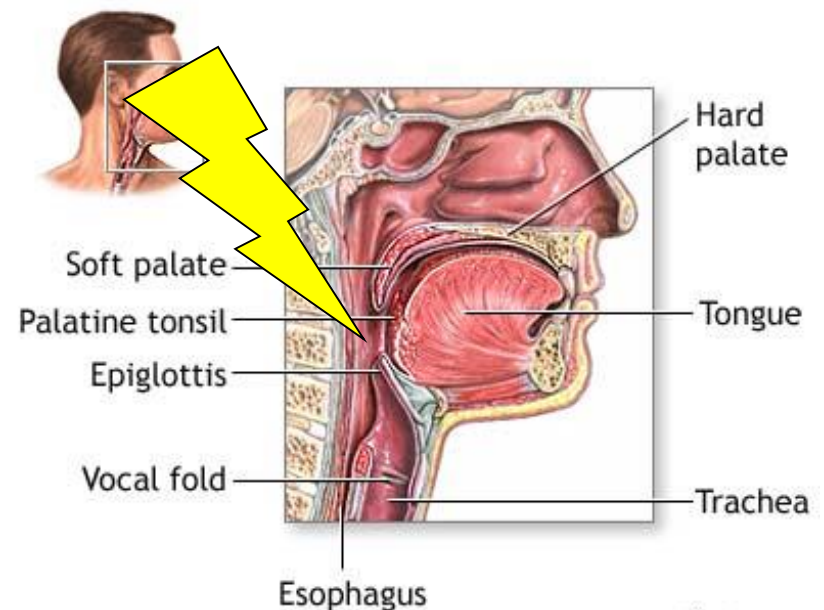
4. Use a different swab for the other nostril
5. Put tip of swab into vial containing VTM, breaking applicator's stick

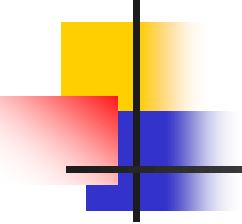


A sterile swab is passed gently through the nostril and into the nasopharynx

Oropharyngeal Swab

1. Ask the subject to open his or her mouth
2. Depress the tongue
3. Swab the posterior pharynx
4. Avoid the tonsils

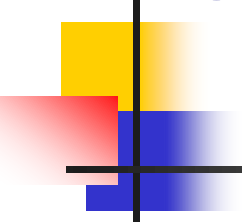




Nasopharyngeal Aspirate Collection Process

1. Attach mucus trap to vacuum source
2. Place catheter into nostril parallel to palate
3. Apply vacuum
4. Slowly remove catheter while slightly rotating it
5. Repeat with other nostril using the same catheter
6. After collection, flush catheter with 3 ml VTM and return VTM to a plastic vial

Blood Collection for Serology



- Only by trained persons
- Collect red-top tubes
- Freeze sera separated from cells at -20° C

How to Label Samples

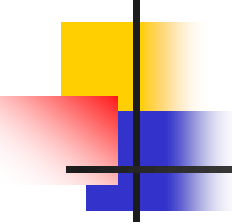
Use pre-printed barcode labels:

- On the specimen container
- On the field data collection form
- On the log book

Label each specimen with:

- Subject's name
- Subject's unique identification number





How to Store Respiratory Specimens

For specimens in VTM:

Transport to laboratory as soon as possible ■

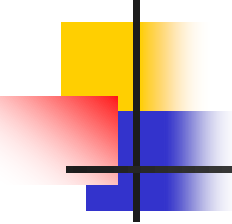
Store specimens at 4 °C before and during transportation within 48 hours ■

Store specimens at -70 °C beyond 48 hours ■

Do not store in standard freezer – keep on dry ice or in refrigerator ■

Avoid freeze-thaw cycles ■

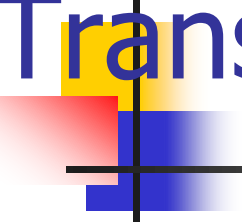
Better to keep on ice for a week than to have repeat freeze and thaw ■



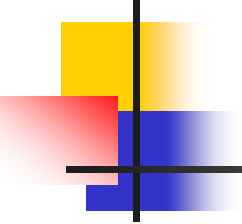
Handling Infectious Materials in the Field

- Always wear personal protective equipment
- Be careful with sharp objects
- Treat all clinical samples as potentially infected with avian influenza

Packing Specimens for Transportation

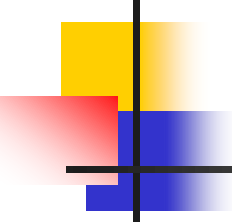


- Use three packaging layers
- First layer should be water tight
- Use absorbent material in all layers
- No more than 500 mL should be in the specimen container



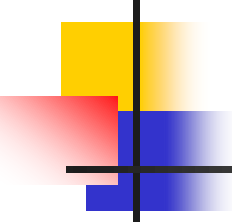
Packing Specimens for Transportation

- Keep specimens at 4 °C
 - Fill a cooler with ice packs or coolant packs
 - Double-bag specimens if you use dry ice
- Include an itemized list of specimens with identification numbers and laboratory instructions



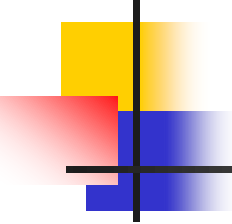
Transporting Specimens

- Initial testing at State Public Health Laboratory
- Call CDC Hotline before sending specimens for reference testing
770-488-7100
- Send overnight or using appropriate means based on recommendations from the State Department of health or CDC
- Include inventory sheet and CDC case ID number
- Coordinate with the laboratory



Laboratory Biosafety

- Laboratory testing of suspected novel influenza viruses should be conducted in biosafety level 3 (BSL-3) laboratories
 - Infectious agents that *may* be transmitted via the airborne route
 - PPE for laboratory personnel may include respirators



Data Management Rules

- Double check data entry accuracy
- Include unique identification numbers
- Keep subject names confidential
- Track testing dates and results
- Back up the database