



عنوان دوره آموزشی

مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی و میکروب شناسی



گروه هدف

تکنسین و کاردان و کارشناس آزمایشگاه تشخیص طبی

اهداف آموزشی

افزایش دانش و مهارت فراگیران در زمینه نحوه نمونه برداری و انتقال نمونه

روش و نحوه اجرای آموزش

مدت دوره: ۱۰ ساعت

اجرای آموزش: کتابخوانی

نوع آزمون: کتابخوانی

روش آزمون: الکترونیک

مقدمه:

نکته اولیه در انتقال نمونه ها، فاصله محل نمونه برداری از آزمایشگاه می باشد. راهنمای کنترل

کیفیت دستورالعمل های نمونه برداری و انتقال آن ها توسط Laboratory Standards Institute (CLSI) ارائه شده است.

خطرات بالقوه حمل دستی نمونه ها با استفاده از ظروف مخصوص به حداقل می رسد. نمونه هادر حین انتقال باید در برابر شرایط محیطی نامناسب مانند سرما یا گرما، تغییرات شدید فشار و یخشک شدن محافظت شوند. با استفاده از فریزر $^{\circ}\text{C} -70$ می توان زمان نگهداری و انتقال نمونه را افزایش داد. (این زمان بستگی به نوع میکروارگانیسم دارد)

معمولاً نمونه های مایع باید هرچه سریع تر به آزمایشگاه منتقل شوند.

در بیمارستان ها معمولاً حداکثر زمان بین جمع آوری نمونه و ارسال آن ۲ ساعت می باشد. که این محدودیت زمانی مشکلی برای انتقال نمونه ها از مط ب پزشکان به آزمایشگاه می باشد. البته جهت رفع این مشکل بنا به نوع نمونه دستورکارهای خاصی ارائه شده است.

مثلاً برای نمونه کشت ادرار می توان از مقادیر کمی بوریک اسید استفاده کرد یا تا ۲۴ ساعت نمونه را در یخچال نگهداری کرد. همچنین بر طبق دستورعمل ها می توان از محیط های انتقال استفاده کرد. نمونه های خلط جهت بررسی مایکوباکتریو مها و قارچ ها می توانند در ظروف پروپیلن و پلی اتیلن حمل شوند، از ظروف شیشه ای به علت احتمال شکستگی نباید استفاده شود.

دریافت نمونه و مشاهده مقدماتی

محل خاصی برای تحویل نمونه ها در نظر گرفته شود. مشاهدات مقدماتی و حمل نمونه ها به دلیل پیشگیری از آلودگی کارکنان با عوامل بیماریزا، باید در یک اتاقک ایمن انجام گیرد. کارکنان باید با پوشیدن لباس آزمایشگاه، دستکش، ماسک و ... خود را در عوامل بیماریزای احتمالی محافظت نمایند. امروزه به علت احتمال آلودگی خون و سایر مایعات بدن با ویروس های HCV و HIV تمامی نمونه ها، نمونه پر خطر در نظر گرفته می شود.

فرم درخواست بایستی شامل اطلاعات زیر باشد:

(۱) نام و نام خانوادگی

(۲) نام بخش، شماره تخت بیمارستان

(۳) سن

(۴) نوع نمونه

(۵) تاریخ اخذ نمونه

(۶) زمان اخذ نمونه

(۷) علائم، نشانه های بالینی مهم و تشخیص احتمالی

(۸) مصرف آنتی بیوتیک

(۹) لبلینگ

در صورت رد نمونه باید به دکتر دلیل توضیح داده شود و دلیل به صورت کتبی ارائه گردد.

شاخص های رد نمونه های بالینی

- (۱) کامل نبودن اطلاعات برچسب نمونه و برگه درخواست آزمایشات. یک فرد مسئول عموماً در چنین موردی اطلاعات را از محل ارسال نمونه تکمیل می نماید، چون ممکن است احتمال نمونه گیری مجدد نباشد. در این حالت در برگه گزارش نتیجه، می توان ذکر نمود که داده های نمونه ناقص بوده است و توسط فرد تکمیل شده است.
- (۲) نمونه هایی که در فرمالین ارسال شده است (اگر قطعات بزرگ بوده و تماس با فرمالین کمتر از یک ساعت باشد می توان با برداشت از مرکز نمونه آن را کشت داد).
- (۳) نمونه های خلط ۲۴ ساعته
- (۴) گسترش ترشحات Anus, Vaginal canal, Uterine cervix برای تشخیص نایسریا گونوره آبه روش رنگ آمیزی گرم
- (۵) یک سواپ برای چند آزمایش، مثلاً برای تشخیص قارچ، باکتری و...
- (۶) نمونه هایی که در ظروف غیر استریل، آلوده و نامناسب ارسال شده باشد و مایع از آن ظرف نشت کرده باشد.
- (۷) پلیت های کشت که رشد خیلی زیادی دارند و یا خشک شده اند.
- (۸) نمونه هایی که آلودگی در آن ها آشکار است مانند حضور رنگ ها، مواد شیمیایی، روغنی و یا باریوم (Gastric washings)
- (۹) درخواست کشت بی هوازی برای نمونه شستشو معده، ادرار، حلق، بینی و یا سایر نمونه های Oropharyngeal (به جز نمونه های بافت عمقی در جراحی دهانی)، مدفوع (بجز برای کلسترییدیوم دیفسیل)، کشت های محیطی، سواپ های Ileostomy یا Colostomy و Super facial.

نمونه هایی که بی هوازی کشت نمی گردند:

گلو و نازوفارنکس و لثه

ملتحمه

کانال گوش

خلط

مایع معده و روده

ادرار

سواپ واژینال، دهانه رحم زخم

سطحی

جمع آوری و انتقال نمونه ادرار

ادرار برای بررسی های شیمیایی، سلول شناسی و میکروبیشناسی مورد ارزیابی قرار می گیرد. نحوه نمونه گیری و ظروف جمع آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه است. نمونه در ظرف تمیز با اندازه مناسب و غیر قابل نشت، جمع آوری شود. ظرف جمع آوری ادرار بایستی یکبار مصرف بوده و عاری از هرگونه آلودگی باشد. جهت کشت ادرار ظرف نمونه باید حتما استریل باشد.

هدف:

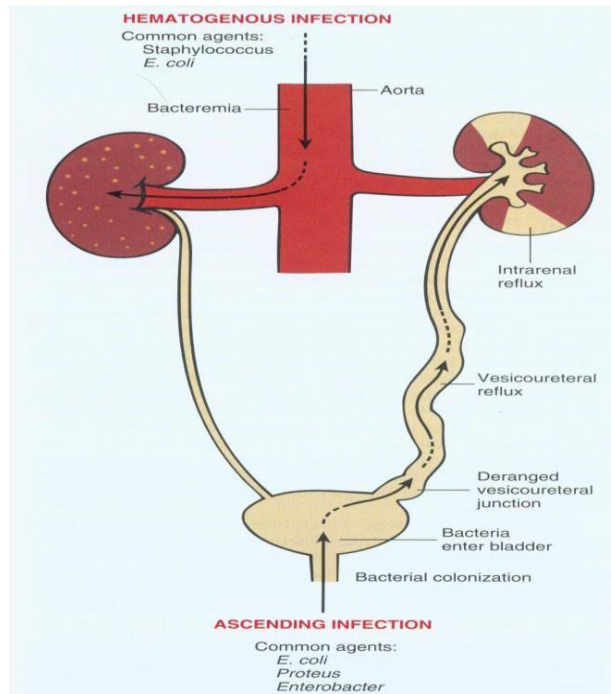
تشخیص عفونت

جداسازی عامل باکتریایی

تست حساسیت



عفونت های ادراری شایع ترین عفونت های بیمارستانی است که حدود ۱/۳ موارد را تشکیل می دهد. اکثر این عفونتها به دنبال استفاده مستقیم از وسایل و ابزار پزشکی در سیستم ادراری بوجود می آید که حدود ۸۰ درصد به علت استفاده از کاتترهای ادراری است. در بیمارانی که سوند ادراری دارند به ازای هر روز، ۵ درصد احتمال بروز باکتریوری وجود دارد و در افرادی که بین ۴ تا ۶ هفته سوند داشته اند، احتمال باکتریوری به ۱۰۰ درصد افزایش می یابد.



جمع آوری نمونه ادرار

جلوگیری از آلودگی نمونه با فلور واژینال و اطراف مقعد و پرینه و پیشابراه در جمع آوری نمونه الزامی است.

مسئولیت اخذ نمونه صحیح بر عهده آزمایشگاه است.

تمامی وسایل و اطلاعات و آموزش لازم باید توسط آزمایشگاه داده شود، بهتر است با تصاویر باشد.

نمونه ادرار میانی بیشتر استفاده می گردد.

زمان جمع آوری

بهترین نمونه ادرار اولین نمونه صبحگاهی است یا حداقل نمونه ای که با آخرین دفع ادرار ۴ ساعت فاصله داشته

باشد تا امکان تکثیر باکتری ها در مثانه فراهم گردد.

جمع آوری نمونه ادرار مناسب مهم ترین نکته جهت جلوگیری از آلودگی با فلور نرمال واژن، پرینه و بخش قدامی

مجرا است.

شیستوزوما ساعت ۱۰ صبح تا ۲ بعد از ظهر در پتری پس از فعالیت بدنی

روش های نمونه برداری ادرار

غیر تهاجمی

□ نیاز به آموزش بیماران

□ وسایل لازم:

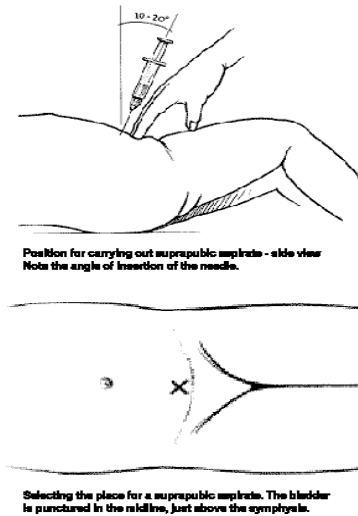
ظروف استریل، پنبه یا گاز استریل، صابون و آب

روش کار:

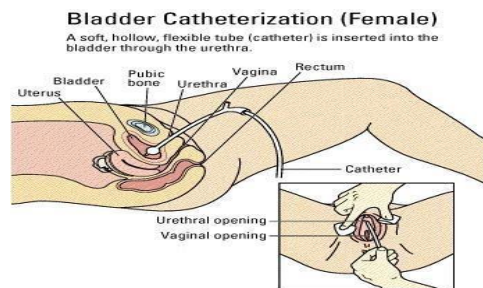
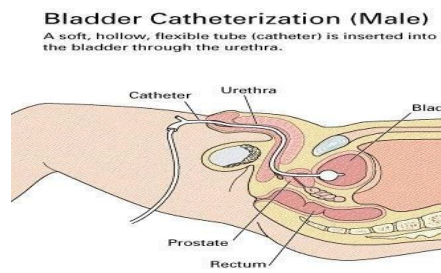
- (۱) ابتدا دست ها را با آب و صابون شسته و خشک مینماید.
 - (۲) نواحی اطراف پیشابراه را با آب یا آب و صابون تمیز کرده بلافاصله خشک می کنند.
 - (۳) قسمت اول را دور ریخته و قسمت میانی ادرار را به داخل ظرف استریل جمع اوری و سپس درب ظرف را بسته و به آزمایشگاه تحویل میدهند.
 - (۴) در بیماران بستری با کمک نرس ها
 - (۵) انتقال و تحویل نمونه هر چه سریع تر
- دقت شود تا از تماس دست به داخل ظرف جلوگیری شود.

Suprapubic aspiration

نمونه آسپیراسیون سوپراپوبیک بهترین روش است اما این روش به دلیل تهاجمی بودن مورد قبول نیست.



Catheterization



Catheter urine and urine bag are not ideal samples.



توصیه های پیش از نمونه گیری برای کشت ادرار

1- اگر پزشک جهت عفونت کنونی آنتی بیوتیک تجویز نموده است، آزمایش کشت ادرار باید پیش از شروع آنتی بیوتیک انجام شود، در غیر این صورت نام آنتی بیوتیک مصرفی در برگه درخواست آزمایش نوشته می شود.

2- نیازی به محدودیت غذایی پیش از انجام آزمایش نیست.

3- بهترین نمونه برای تشخیص عفونت های ادراری نخستین نمونه ادرار صبحگاهی است.

4- پیش از نمونه گیری، از نوشیدن بیش از حد مایعات اجتناب کنید. مقدار آب مصرفی به طور معمول در طول یک روز زمستان ۴ تا ۵ لیوان و در تابستان ۵ تا ۶ لیوان است.

5- دست های خود را با آب و صابون شسته و به خوبی با دستمال کاغذی خشک کنید.

نمونه گیری از سوند ادراری برای کشت ادرار

۱- حدود ۳۰ دقیقه پیش از نمونه گیری، سوند را کلامپ کنید. ۲-

دستکش بپوشید.

۳- اگر سوند محل مخصوص نمونه گیری دارد آن را با پنبه الککل ضدعفونی کنید. -

۴- سوزن را با زاویه ۹۰ درجه وارد قسمت مخصوص نمونه گیری کنید.

۵- ادرار را داخل سرنگ بکشید و نمونه را به ظرف استریل مخصوص نمونه گیری منتقل کنید.

۶- اگر سوند قسمت مخصوص نمونه گیری ندارد، درست بالای محل اتصال سوند به لوله جمع آوری را با پنبه

الکل ضدعفونی کنید. سوزن را با زاویه ۴۵ درجه وارد کنید و نمونه ادرار را با سرنگ کشیده و به ظرف استریل

مخصوص نمونه گیری منتقل کنید.

۷- برچسب حاوی مشخصات بیمار، زمان ارسال نمونه، تاریخ و نوع نمونه به ظرف بچسبانید و نمونه را سریعاً

به آزمایشگاه منتقل کنید.

طرز جمع آوری نمونه کشت ادرار از کودکان زیر ۲ سال

در مورد نوزادان و کودکان زیر دو سال باید از کیسه های سترون شده مخصوص جمع آوری ادرار

Urine Bag متناسب با جنس کودک استفاده کرد. این کیسه نباید بیش از ۴۵ دقیقه به مجرای ادرار متصل

باشد.

وقتی حدود ۱۰-۱۵ میلی لیتر ادرار در کیسه جمع شد، سر آن را تا کرده و سپس به آزمایشگاه برده شود. اگر

زمان گذاشتن کیسه طولانی شد و نوزاد ادرار نکرد، برای جلوگیری از آلودگی کیسه، باید آن را تعویض کرد.

اگر نیاز باشد نمونه گیری از نوزادان با روش اسپیراسیون سوپراپوبیک توسط پزشک متخصص انجام می گیرد.

شرایط رد نمونه ادراری:

نمونه های بدون برچسب مشخصات بیمار

نمونه هایی که در ظرفهای نامناسب به آزمایشگاه رسیده باشد.

نمونه ادرار ۲۴ ساعته

نمونه ادراری که بیش از ۲ ساعت در حرارت اتاق مانده باشد یا نحوه نمونه گیری صحیح نباشد.

کشت از نوک کاتتر ادراری

انتقال نمونه:

به دلیل آنکه ادرار یک محیط محافظت کننده بسیار عالی برای رشد اکثر باکتری ها به شمار می رود، باید تحویل نمونه به آزمایشگاه در عرض یک ساعت انجام گیرد.

انجام آزمایش باید در عرض دو ساعت بعد از نمونه برداری صورت گیرد.

اگر امکان کشت نبود باید در یخچال ۴ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شود و یا میتوان از نگهدارنده های باکتریواستاتیک استفاده نمود.

ادرار پس از ۴۸ ساعت فاقد ارزش تشخیصی می باشد.

جمع آوری و انتقال مدفوع برای میکروب شناسی

برای تشخیص پاتوژن های روده ای در آزمایشگاه، تبعیت از دستورالعمل های مناسب جهت نمونه گیری و انتقال آن امری ضروری محسوب می گردد.

هدف

(۱) تشخیص عامل بیماری زای اسهال مانند "سالمونلا، شیگلا، ویبریو، اشریشیا، ایروموناس، کلوستریدیوم و کمپیلوباکتر و...

(۲) آنتی بیوگرام

توصیه های لازم پیش از نمونه گیری

مدفوع اسهالی و شل مورد قبول است، مدفوع با شکل طبیعی پذیرش نمی گردد.

احتیاج به ناشتا بودن نیست.

بهتر است نمونه گیری مدفوع، در مراحل اولیه بیماری حداکثر ظرف ۲ تا ۳ روز که عامل بیماریزا به تعداد

بیشتری در مدفوع وجود دارد و پیش از درمان آنتی بیوتیکی انجام شود.

بیمار نباید از ۱۵ روز قبل از نمونه گیری آنتی بیوتیک (نظیر تتراسایکلین و سولفانامید)، داروهای ضد

تک یاخته، بیسموت، سولفات باریم، ترکیبات کاتولین، روغن کرچک، هیدروکسید منیزیم یا هرگونه داروی ملین مصرف کرده باشد.

نمونه مدفوع در صورت قوام دار بودن به مقدار حداقل ۵ گرم و یا در صورت آبکی بودن به حجم ۵ میلی لیتر، بر نمونه تهیه شده با سواب برتری دارد و بایستی حداقل دو نمونه سواب مقعدی یا سواب از مدفوع تازه برای هر بیمار جمع آوری شده و در محیط انتقال کاری بلیر تلقیح شود.

به هنگام بروز طغیان حداقل ۱۰ نمونه تهیه شده از بیمار باید مورد بررسی قرار گیرد.

در برخی شرایط سواب کاربرد بیشتری دارد، برای نمونه اگر به نمونه مدفوع زودتر نیاز باشد و انتقال سریع نمونه به آزمایشگاه با مشکلاتی همراه باشد، می توان سواب از مدفوع را تهیه و به سرعت به آزمایشگاه انتقال داد.

سواب مقعدی برای نمونه برداری پاتوژن هایی مانند شیگلا مناسب است. در اینگونه نمونه برداری ها، انجام صحیح روش نمونه برداری بسیار مهم است.

در صورت مشکوک بودن به عوامل باکتریایی سه نمونه در فاصله سه روز و در خصوص عوامل انگلی ۳ نمونه که در طول ۱۰ روز جمع آوری شده مناسب است.

وسایل لازم

□ ظرف مناسب درپوش دار، اپلیکاتور چوبی و کاغذ توالت

□ قوطی کبریت، ویال های دارویی و دیگر وسایل توصیه نشده سبب آلودگی نمونه و پرسنل می گردد.

□ آموزش نحوه نمونه برداری و انتقال به بیمار الزامی است، طرز نمونه دادن بهتر است در دستشویی به شکل پوستر نصب شود و یا توضیح داده شود.

نمونه گیری جهت عوامل باکتریایی مولد اسهال

*نمونه مدفوع: حداقل ۵ گرم مدفوع باید در ظرف در پیچدار تمیز، عاری از مواد ضدعفونی کننده و یا شوینده جمع آوری گردد.

*سواب مقعدی: سواب را با فروبردن در محیط انتقالی سترون، مرطوب کرده به اندازه ۲-۳ سانتیمتر در داخل اسفنگتر رکتوم فرو برده و بچرخانید. سواب را بیرون کشیده پس از اطمینان از آغشتگی به مدفوع، سریعاً به داخل محیط انتقال (کری بلر) فرو برید. سپس لوله های انتقال را در یخچال یا یخدان قرار دهید. نمونه بسیار مهم است. در موارد اسهال ناشی از باکتریهای مهاجم مانند شیگلا، ساییدن سواب به مخاط انتهایی روده جهت جمع آوری

*سواب مدفوع: در صورت لزوم به نگهداری نمونه مدفوع بیش از ۲ ساعت، مقدار اندکی از مدفوع و هرگونه بلغم یا تکه های مخاط پوششی روده را با فروکردن سواب سر پنبه ای یا سر پلی استری به درون مدفوع سریعاً به لوله حاوی محیط انتقالی تلقیح کنید و در یخچال یا یخدان قرار دهید.

نمونه گیری جهت عوامل انگلی

برای انجام این آزمایش حداقل ۵ گرم مدفوع در ظرف دهان گشاد در پیچدار تمیز و خشک مورد نیاز است (در صورت آبی بودن مدفوع معادل ۵ سیسی).

در صورتی که نتوان فاصله زمانی مناسب بین جمع آوری نمونه تا انجام آزمایش را رعایت نمود باید نمونه در ماده نگهدارنده جمع آوری شود (یک قسمت مدفوع و سه قسمت ماده نگهدارنده فرمالین ۱۰ درصد) باید توجه داشت که بررسی خصوصیات ظاهری نمونه در نمونه تازه صورت می گیرد. توجه: جهت آزمایشهای شیمیایی (مانند خون در مدفوع) به ۵۰ گرم مدفوع نیاز میباشد.

طرز نمونه برداری

بهتر است بیمار روی تکه کاغذ توالت دستشویی نموده و با کمک اپلیکاتور چوبی یا در ظرف نشان داده شده به ظرف نمونه برداری منتقل می کند. میزان مناسب ۵ گرم (نصف یا کمتر ظرف) بهتر است از قسمت موکوس و چرک و یا خون هرگز با ادارار یا آب الوده نشود و در سینک دستشویی جمع آوری نگردد.

سپس در ظرف محکم بسته می شود.

سفارش اکید به بیمار، از آلوده نمودن سطوح خارجی ظرف و یا شستن آن با آب خودداری نماید.



چنانچه بیمار قادر به تهیه نمونه نباشد

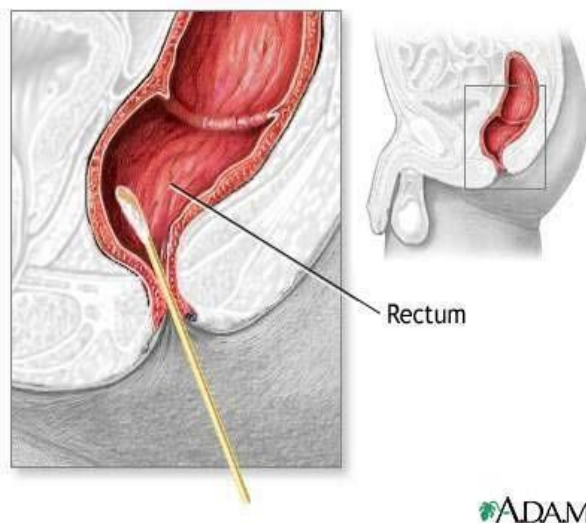
مانند کودکان و افراد بستری و پیر، روش سواب رکتال که نسبت به روش توضیح داده شده ارزش کمتری دارد. هرچند که در این گونه موارد روش دیگر مانند **Proctoscopy** که از درون رکتوم و بالاتر برداشت میشود قابل اطمینان تر از سواب رکتال است.

رکتال سواب

مرطوب نمودن سواب پنبه ای در محیط انتقالی

به اندازه ۲ سانتی متر داخل اسفنکتر رکتوم فرو برده به آرامی تا ۳۶۰ درجه بچرخانید و سواب را خارج کنید. رویت تغییر رنگ پنبه سر سواب و اطمینان از آغشته شدن آن با مدفوع نصف قسمت چوبی سواب را شکسته و وارد محیط انتقالی نمایید.

حداقل دو سواب باید برای هر بیمار جمع آوری و هر دو سواب را در یک لوله حاوی محیط انتقال قرار دهید.



انتقال

در اسرع وقت (نیم تا یک ساعت) انتقال به آزمایشگاه و کشت، در غیر اینصورت مدفوع اسیدی شده و اغلب میکروب های پاتوژن خصوصا سالمونلا و شیگلا کشته و کشت منفی خواهد شد.

نگهداری در یخچال ۴ درجه ارجح است.

در صورت تاخیر در انتقال ۲ تا ۳ ساعت در محیط ترانسپرت مانند کری بلیر، استوارت و یا آمیس و بافر فسفات گلیسرول ، اب پتون قلیایی، زنده ماندن در این محیط ها تا یک هفته در هوای اتاق.

در صورت انتقال از شهر به شهر، حتما بسته بندی مناسب و زنجیره سرد (۴ درجه) رعایت شود.

اگر ناچار به نگهداری نمونه ها بیش از دو ساعت هستید، سوآبی را درون نمونه مدفوع قرار داده و پس از حرکت چرخشی، آن را در یک محیط انتقالی تلقیح کنید.

زیرا این شرایط برای پاتوژن هایی مانند شیگلا و کامپیلوباکتر بسیار مهم است. البته بیشتر عوامل پاتوژن به

استثنای این دو ارگانیسم، قابلیت زنده ماندن برای مدتی در محیط انتقالی، در دمای محیط تا یک هفته را

داراست. هنگامی که نمونه ها در محیط انتقالی قرار داده شده و نیاز به نگهداری آنها برای مدت بیشتری است، آنها را در یخچال یا فریزر نگهداری کنید.

اگر مخاط با تکه هایی از سلولهای پوششی روده وجود داشته باشد و یا اگر مدفوع حالت مخاطی دارد باید همراه مخاط در محیط ترانسپورت قرار گیرد.

محیط انتقالی حاوی سوپ مدفوع یا مقعد را میتوان حداکثر ۷۲ - ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه نگهداری کرد. در غیر اینصورت این محیط میبایست ترجیحا در دمای منفی ۷۰ درجه و یا در صورت عدم دسترسی، در دمای منفی ۲۰ درجه قرار داد (یا حداقل در فریزرهای خانگی نگهداری شود).

نمونه های مدفوع که از بیماران مبتلا به وبا گرفته میشود و در محیط انتقالی قرار میگیرد نیازی به نگهداری در دمای یخچال ندارند، مگر آن که نمونه ها در معرض دمای بالا (بیش از ۴۰ درجه) قرار داشته باشند.

اهمیت تهیه اسمیر و رنگ آمیزی

گاهی برای بعضی میکروارگانیسم ها مانند ویبریو و کمپیلوباکتر کمک کننده است.

مشاهده گلبول سفید و قرمز در تشخیص می تواند کمک کننده باشد (افتراق اسهال تهاجمی از غیر تهاجمی)

محیطهای انتقالی:

کری بلر: این محیط برای انتقال بسیاری از عوامل بیماریزا کاربرد دارد. این محیط نیمه جامد بوده، حمل و نقل آن آسان است.

محیط انتقالی کاری بلیر برای نگهداری و انتقال سالمونلا، شیگلا، اشریشیاکلی، ویبریوکلا، ویبریوپارا

همولیتیکوس و یرسینیا انتروکولیتیکا بسیار مورد استفاده قرار می گیرد.

محیط کاری بلیر به میزان ۵ میلی لیتر با $\text{PH}=8.4$ در لوله دریچ دار تهیه شده که باید پیش از استفاده و

بعد از تلقیح نمونه به آن در ۴ سانتیگراد نگهداری شود.

محیط انتقالی کاری بلیر پس از آماده سازی حداکثر تا یکسال قابل استفاده است، به شرطی که حجم آن کاهش

پیدا نکرده باشد و هیچگونه علائم آلودگی و تغییر رنگ محیط مشاهده نشود.

آب پپتونه قلیایی : **(Alkaline Peptone Water=APW)** این محیط را میتوان را برای انتقال

ویبریو استفاده نمود ولی این محیط نسبت به کری بلر برتری ندارد و فقط در صورت عدم دسترسی به محیط

کری بلر باید مورد استفاده قرار گیرد(در صورتی که کشت بیش از ۶ ساعت از زمان نمونه گیری به تعویق

بیافتد نباید از این محیط استفاده گردد .) محیط فوق در دمای ۴ درجه تا ۶ ماه قابل نگهداری است.

سالین گلیسرول بافره : **(Buffered Glycerol Saline=BGS)** این محیط برای شیگلا مورد

استفاده قرار میگیرد و برای انتقال ویبریو مناسب نمی باشد . این محیط مایع بوده، لذا در حمل آن باید دقت

شود . همچنین تا ۱ ماه پس از تهیه قابل استفاده است.

برای تلقیح نمونه به محیط انتقالی کاریبلیر:

حداقل دو سوآب مدفوع یا مقعدی را به ته لوله حاوی محیط وارد کنید و پس از قرار دادن سوآب در لوله،

قسمت چوبی بیرون از لوله را بشکنید و در لوله را به خوبی ببندید.

نمونه ها را داخل یخچال نگهداری کنید و اگر امکان گذاشتن در یخچال وجود ندارد، محیط انتقال حاوی سوآب

را در مکانی خنک و دور از نور جهت پایین نگاه داشتن دما قرار دهید. محیط انتقالی حاوی سوآب مدفوع یا

مقعد را می توان حداکثر ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای یخچال مثبت چهار درجه سانتیگراد نگهداری کرد. اگر نتوان

نمونه را در مدت مقرر به آزمایشگاه رساند، بهتر است آنها را در فریزر -۲۰ درجه سانتیگراد قرار دهید.

نمونه هایی که در محیط انتقالی قرار دارند باید تا زمانی که کاری روی آنها انجام شود در یخچال نگهداری شوند.

ممکن است بتوان عوامل بیماری زا را از نمونه هایی که داخل یخچال نگهداری شده اند تا چند روز پس از

نمونه گیری جدا کرد ولی میزان جدا سازی پس از گذشت ۱ تا ۲ روز اول کاهش می یابد.

نگهداری در یخچال یا یخ زدن بی درنگ نمونه هایی که در کری بلر قرار دارند به ویژه جهت جداسازی شیگلا

که از دیگر ارگانایسم های روده حساس تر است اهمیت دارد.

نمونه های مدفوع که از بیماران مبتلا به وبا گرفته شده و در محیط انتقال قرار گرفته است نیاز به نگهداری در

یخچال ندارد مگر در مواردی که نمونه ها در معرض دمای بالای ۴۰ درجه باشند.

درجه حرارت بالا باعث رشد زیاد از حد و از دست دادن بعضی گونه های باکتریایی می شود و درجه حرارت های خیلی پایین نیز سبب پخش و انتشار اکسیژن و سمی شدن محیط برای باکتری های بی هوازی می شود که در اصطلاح میکروب از دست می رود (Fail) برخلاف محیط ترانسپورت باکتریایی، محیط ترانسپورت ویروسی بایستی دارای آنتی بیوتیک جهت جلوگیری از رشد باکتری ها باشد.

نمونه های غیر قابل قبول

کشت مدفوع نباید برای بیمارانی که با آنتی بیوتیک های با طیف وسیع تحت درمان قرار می گیرند انجام شود ، زیرا این احتمال وجود دارد که درمان ضد میکروبی مسئول اسهال باشد.

برای جمع آوری مدفوع از دستمال توالت استفاده نکنید ، زیرا ممکن است با نمکهای باریم آغشته شود ، که این مواد از رشد برخی عوامل بیماری زای مدفوع جلوگیری می کنند.

نمونه مدفوع نباید با گرد و خاک، آب و ادرار آلوده گردد، زیرا آلودگی اتفاقی با خاک و آب ممکن است باعث آلودگی نمونه با ارگانایسمهای دارای زندگی آزاد شود .ادرار نیز سبب تخریب تروفوزوئیت ها میشود .ترجیحا نباید نمونه از کاسه توالت جمعآوری گردد.

چون مرحله تروفوزوئیت تک یاخته خیلی زود از بین میرود، ثبت تاریخ و ساعت نمونه گیری ضروری است. مدفوع اسهالی که ۲ ساعت پس از جمع آوری به آزمایشگاه ارسال نشده است قابل قبول نیست چون در صورت وجود شیگلا در مدفوع باکتری از بین میرود.

چندین نمونه مدفوع از یک بیمار که در یک روز ارسال شده اند نباید کشت داده شود.

کشت مدفوع دریافت شده از بیماران بزرگسالان و اطفال که به مدت ۳ تا ۴ روز در بیمارستان بستری شده اند رد میشود ، مگر اینکه بیمار به عنوان ویروس نقص ایمنی انسانی مثبت شناخته شود یا بیماری همه گیر وجود داشته باشد.

مدفوع سفت و جامد را که نمی توان برای تلقیح نمونه برداری کرد، رد می شود.

سواب خشک کشت داده نمی شود.

بیش از سه مدفوع از یک بیمار در یک دوره ۳ هفته ای یا چندین نمونه دریافت شده در همان روز رد می شود.

تهیه نمونه از زخم

پوست همانند سدی بین اعضای داخلی و محیط بیرونی بدن قرار دارد. پوست علاوه بر آن که در معرض آسیب های پیاپی بوده و در نتیجه مستعد انواع عفونت ها می باشد، از طرفی نیز می تواند انعکاس دهنده بیماری های داخلی باشد.

تظاهرات عفونت های پوستی بسیار متنوع است.

علاوه بر عفونت های پوست و بافت نرم که در درجه اول حاصل آسیب های سطحی پوست می باشند، عفونت زخم می تواند ناشی از عوارض پس از جراحی، ضربات، گاز گرفتگی ها و یا بیماری هایی باشد که به سطح پوست و مخاط آسیب می رساند.



هدف از تهیه نمونه زخم

(۱) تشخیص عامل ایجاد عفونت

(۲) آنتی بیوگرام

ماده مورد آزمایش

(۱) چرک

(۲) بافت

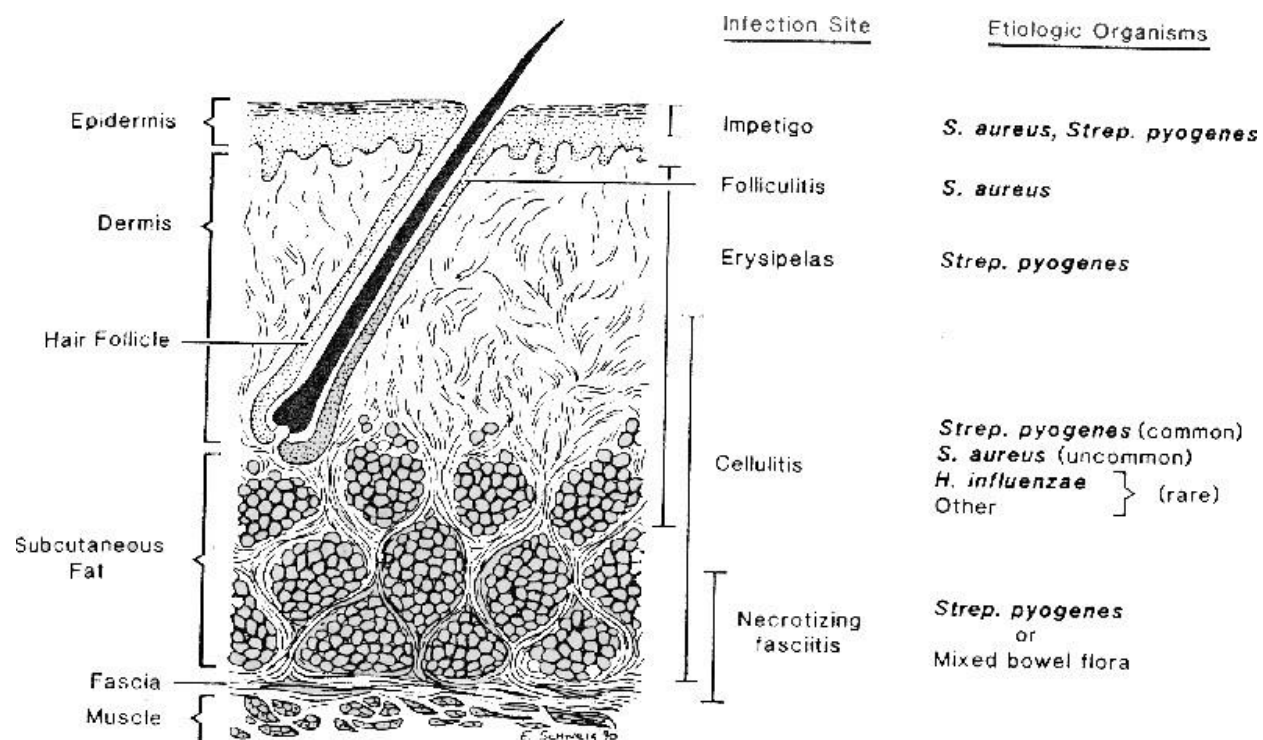
وسایل لازم

پنبه، پنس، سالین، الک، سرنگ، سواب استریل، لوله استریل، محیط انتقالی، وسایل بانداز

انواع زخم ها

الف) زخم های سطحی (اپیدرم)

ب) زخم های عمقی (درم و زیر درم)



زخم سطحی

زرد زخم

آبسه

عفونت ریشه مو

کورک و دمل

کیست

urogenital wounds

انواع نمونه برداری از زخم:

(۱) سواب



(۲) آسپیراسیون



(۲) بیوپسی



زخم های سطحی با سواب نمونه برداری می شوند.

برای زخم عمیق و بافت های عمقی و چرک داخل عمق پوست آسپیراسیون مناسب است.

نمونه برداری با سواب:

(۱) جلب همکاری بیمار

(۲) شستشوی دست

(۳) برداشتن بانداژ

(۴) شستشو با نرمال سالین

(۵) Deep swabbing

(۶) عدم تماس سواب به اطراف زخم

(۷) انداختن سواب به محیط کشت انتقالی (ابتدا چوب سواب کنده و خود سواب انداخته می شود)

(۸) بانداژ مجدد

(۹) شستشوی دست و تکمیل فرم مربوطه

آسپیراسیون:

(۱) جلب همکاری بیمار

۲) شستشوی دست

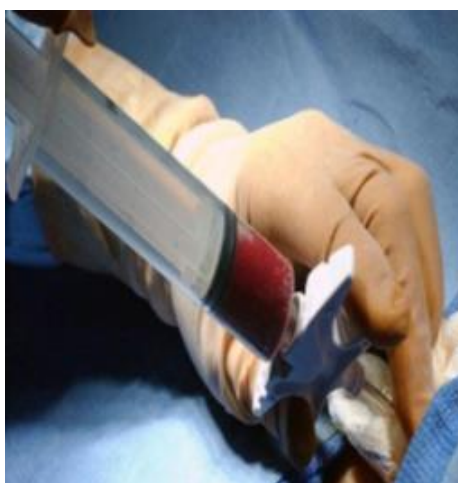
۳) باز کردن بانداژ

۴) تمیز کردن اطراف زخم با پنبه آغشته به الکل، ۲ بار

۵) سوزن به محل عفونت برده شده و از عمق زخم نمونه آسپیره می گردد (Sterile Needle)

(aspiration) سوسوزن برداشته و محتویات به محیط انتقالی ریخته میشود.

۶) تهیه اسمیر



زخم های عمقی فقط برای بی هوازی ها مناسب است.

نگهداری نمونه ها در اتاق

انتقال در داخل یک لوله استریل مناسب در دمای ۲ تا ۸ درجه

نگهداری در مواقع ضروری، یخچال ۴ درجه

درج محل و نوع اخذ نمونه (سطحی یا عمقی)

بیوپسی بافت

تهیه نمونه از طریق جراحی و توسط پزشک

کشت هوازی و بی هوازی اجباری

قبل از آنتی بیوتیک

قطعات بافتی نیم سانتی با روش آسپتیک تهیه

به ظرف استریل انداخته و انتقال سریع به آزمایشگاه

در صورت تاخیر بیش از یک ساعت در محیط کشت ترانسپورت

نگهداری نمونه در صورت لزوم در یخچال ۲ درجه

در شرایط آسپتیک خورد شده و سپس کشت و تهیه لام

اگر بیوپسی بافت امکان پذیر نباشد:

شستشوی زخم با سالین استریل

زخم های سطحی : با کمک سواب از قاعده زخم، نمونه برداری شود، سواب در ظرف محیط انتقالی گذاشته زخم

های عمقی : با کمک سواب از قاعده زخم، نمونه برداری شود، سواب در ظرف محیط انتقالی بی هوازی

گذاشته

امکان وجود آلودگی در صورت:

وجود باکتری های کنار زخم

همچنین به علت فلور نرمال پوست

استافیلوکوک اپیدرمیدیس، دیگر استافیلوکوک های کوآگولاز منفی، کورینه باکتریوم و ...

آبسه

در داخل آبسه امکان وجود انواع ارگانیسم ها به صورت تکی یا چندتایی وجود دارد.
احتمال وجود باکتری های بی هوازی و آمیب ها با توجه به محل آبسه باید در نظر گرفته شود.



روش تهیه نمونه از آبسه

قبل از شروع آنتی بیوتیک

تهیه برچسب های لازم

ابتدا ضد عفونی کردن با الکل روی آبسه و اطراف آن

کشیدن محتویات چرکی با سرنگ استریل و یا برش دادن آن با بیستوری و پاره کردن آن و جمع آوری نمونه

دراوردن سر سوزن، ریختن چرک به لوله استریل در صورت طولانی بودن زمان کشت، انتقال به محیط کشت

انتقالی

انتقال به آزمایشگاه



گره های لنفاوی



در عفونت های سیستمیک، انگزودای متورم، حساس و چرکی وجود دارد که محتویات مایع توسط پزشک آسپیره می شود.

بیوپسی یا آسپیراسیون گره های لنفاوی در کودکان باید از نظر توبرکلوزیس و دیگر مایکوباکتریوم ها بررسی شود. عوامل: استافیلوکوک ها، استرپتوکوک ها، باکتری های گرم منفی روده، مایکوزهای زیرجلدی مثل هیستوپلاسما و اسپروتریکوز

سوختگی



سوختگی ها مخصوصا سوختگی های درجه ۲ و ۳ مستعد عفونت با انواع گونه های باکتریایی می باشد. به دلیل آلودگی بسیار مهم است که قبل از اینکه مواد مورد نیاز برای کشت برداشته شود، انجام جراحی جهت برداشت بافت به صورت دقیق انجام گیرد.

از جمله عفونت های رایج استافیلوکوک ها و سودوموناس آئروژینوزا می باشند.

جمع آوری نمونه از زخم محل جراحی، زخم بستر و زخم عمیق

پس از تمیز کردن دقیق محل به روش جراحی

(۱) بخش هایی از بافت مورد نظر برداشته می شود.

۲) چرک اگزودا جمع آوری شده و در یک لوله ی استریل قرار داده می شود.

۳) در صورت لزوم می توان از سواب استفاده کرد.

جمع آوری نمونه جهت ضایعات پوستی

در اکثر ضایعات پوستی تشخیص ممکن است بر اساس مشاهده ظاهری و تاریخچه ی بیماری بدون جمع آوری نمونه های تشخیصی صورت گیرد. در مشاهده ظاهری ضایعه، نکات مهمی از قبیل نوع ضایعه پوستی (اریتماتوس، ماکولار، پاپولار، ماکولوپاپولار، وزیکولار، بولوس، پتشیال، پورپوریک و غیره) و نحوه پراکندگی آناتومیک ضایعه (مرکزی، محیطی منتشر و غیره) باید در نظر گرفته شود. در مواردی با تشخیص نامعلوم، غیرمعمول و نادر ممکن جمع آوری نمونه از راشها یا ضایعات پوستی نیاز باشد. در موارد راشهای وزیکولار، نمونه ها جهت بررسی میکروسکوپی و کشت نمونه مستقیماً از وزیکولها تهیه میگردد. در خصوص سایر ضایعات اگزانتوماتو (ماکولار یا پاپولار) ممکن است تشخیص بیشتر بر پایه سایر روشها، نظیر کشت خون و سرولوژی صورت گیرد. در موارد مشکوک به آنتراکس پوستی یا ضایعات خیارکی ممکن است نمونه ها از زخمهای پوستی و همچنین نمونه برای کشت خون تهیه شود.

راش های وزیکولو پوستولار (جهت تشخیص عفونتهای ویروسی)

زخم یا وزیکول تازه و رسیده را با اتانول ۷۰٪ تمیز نمایید.

وزیکول: سرنگ توپرکولین با سوزن ۲۷ - ۲۶ را در حالی که سر سوزن آن به سمت بالا قرار دارد، در پایه وزیکول وارد کنید.

مایع را آسپیره نموده و سریعاً و با دقت به داخل ظرف حاوی ۲ - ۱ میلی لیتر محیط انتقال ویروسی تخلیه نمایید (یکبار سرنگ را با محیط انتقالی شستشو دهید).

زخم: پوسته زخم را بالا آورده و به کمک سواپ استریل داکرونی بر روی پایه زخم بمالید (سواپ آلژینات کلسیم نباید استفاده شود). سپس سواپ به سرعت در ظرف حاوی محیط انتقالی قرار گیرد.

تهیه گسترش: پایه زخم به کمک اسکالپل یا کورت تراشیده شده و سوسپانسیونی از ضایعات در دو تا سه قطره از محیط انتقالی تهیه نمایید. از سوسپانسیون فوق دو تا سه قطره بر روی لام بگذارید. پس از خشک شدن در هوا در استون سرد فیکس نمایید.

آسپیراسیون

آسپیراسیون آبه فقط باید توسط پزشک صورت گیرد.

پوست روی آبه /خیارک بوسیله ایزو پروپیل الکل ۷۰٪ ضد عفونی شده و مایع به وسیله آسپیراسیون توسط سرنگ استریل جمع آوری می گردد.

نمونه را به طریق آسپتیک به لوله استریل حاوی محیط انتقالی منتقل کنید.

انتقال نمونه

نمونه ها جهت بررسی باکتریولوژیک باید در محیط آستوارت یا آمیس و سواپهای مشکوک به عوامل ویروسی در محیط انتقالی ویروس منتقل گردد.

در صورتی که نتوان نمونه ها را تا مدت ۲ ساعت بررسی نمود، نمونه های باکتریایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قابل نگهداری هستند. نمونه ها جهت جداسازی عوامل ویروسی در محیط انتقالی مناسب در دمای ۴ تا ۸ درجه قابل نگهداری بوده و در اسرع وقت باید به آزمایشگاه منتقل گردد.

نمونه برداری و انتقال مایعات بدن

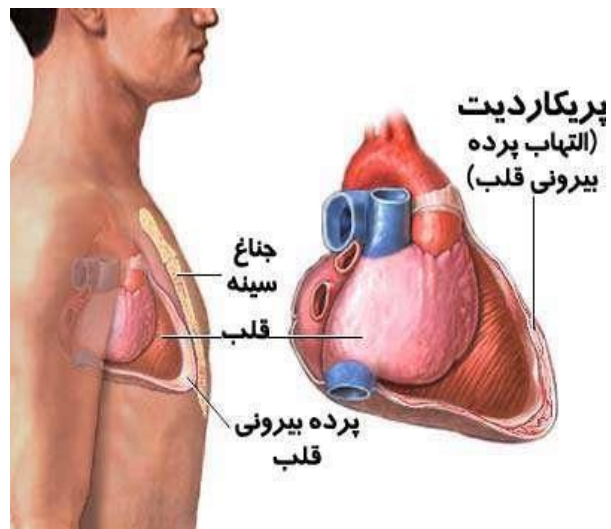
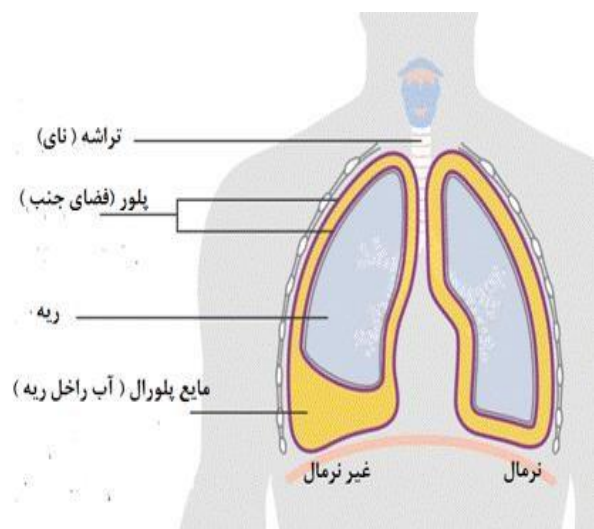
مانند پلور، پریکارد، مفصل و پریتون

هدف: تشخیص عامل بیماری عفونی و آنتی بیوگرام

نمونه برداری باید توسط پزشک انجام گیرد.

برای آزمایشات میکروبی (کشت یا رنگ آمیزی)، سیتولوژی و بیوشیمیایی

نمونه برداری باید قبل از تجویز آنتی بیوتیک صورت گیرد.



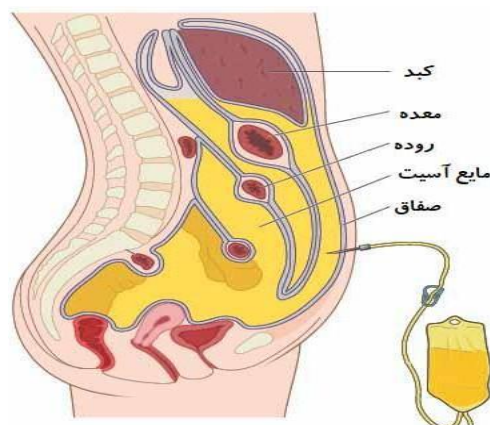
انتقال

انتقال ترشحات در داخل یک ظرف استریل به آزمایشگاه در اسرع وقت

نگهداری در یخچال، در صورت تاخیر بیش از ۱ ساعت

مایع اگر خارج از شیفیت صبح باشد، بهتر است ۲ تا ۵ سی سی از آن وارد محیط بطری کشت خون ریخته،

انتقال به آزمایشگاه و داخل انکوباتور گردد.



مایع سروزی

مایعات سروزی نظیر مایع جنب و صفاقی را میتوان در یک لوله جمع آوری و سپس در محل نمونه گیری یا آزمایشگاه به لوله های مختلف و با حجم های کمتر تقسیم نمود. قابل ذکر است که نمونه قبل از تقسیم و شمارش سلولی باید کاملاً مخلوط گردد. EDTA ضد انعقاد پیشنهادی در خصوص شمارش و افتراق سلولی است.

جهت شمارش و افتراق سلولی، نمونه ها تا ۲۴ ساعت در دمای ۶ - ۲ درجه قابل نگهداری هستند. در خصوص بررسی های میکروبی نمونه باید در ظرف استریل جمعآوری گردد.

جهت بررسی سیتولوژی ممکن است نمونه در حجم های متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردد (۱۵ تا ۱۰۰ میلی لیتر) ولی حجم پیشنهادی ۵۰ میلی لیتر است و نیاز به استفاده از لوله های استریل و ماده ضد انعقاد نیز نمی باشد.

البته میتوان از هپارین و EDTA هم استفاده کرد.

مایعات سرروزی باید در اسرع وقت و در دمای اتاق به آزمایشگاه منتقل شوند.

بررسی های سیتولوژی نیز باید هر چه سریعتر صورت گیرند، و در صورت نیاز میتوان نمونه را در دمای ۴درجه

و بدون ماده تثبیت کننده تا چند روز نگهداری نمود.

مایع سینوویال

حجم نمونه جهت بررسی های آزمایشگاهی بسته به اندازه مفصل و نوع مایع تجمع یافته در مفصل متفاوت است.

معمولا حجم ۵ - ۳ میلی لیتر ایده آل است. در مفاصل کوچک ممکن است این مقدار نمونه قابل تهیه نباشد،

لذا حجم کمتر نیز قابل قبولی باشد. قابل ذکر است که نمونه قبل از بررسی های آزمایشگاهی باید به خوبی

مخلوط گردد. در بعضی از مراجع ذکر شده که ضد انعقاد لیتیم هپارین و EDTA به دلیل ایجاد کریستال در

نمونه و امکان اشتباه با کریستال های پاتولوژیک، نباید مورد استفاده قرار گیرد. نقل و انتقال نمونه باید در

دمای اتاق صورت گیرد.

مایع مغزی نخاعی

دستگاه اعصاب مرکزی شامل مغز و نخاع میباشد.

لایه های محافظ دستگاه اعصاب مرکزی:

(۱) جمجمه و ستون فقرات

۲) مننژ (سخت شامه ،عنکبوتیه، نرم شامه)

۳) مایع مغزی نخاعی CSF

مایع مغزی نخاعی مایعی است بیرنگ

عملکرد : تامین مواد غذایی - دفع مواد زاید - سد مکانیکی جهت بافت عصبی مغز

محل و مقدار تولید : در شبکه کورویید ۲۰ میلی لیتر بر ساعت ساخته می شود و مقدار تام در نوزادان ۱۰-۶۰

میلی لیتر و در بالغین ۱۴۰-۱۷۰ میلی لیتر می باشد.

نحوه نمونه گیری:

پونکسیون کمری از بین مهره های سوم و چهارم یا پنجم انجام میشود.

جمع آوری مایع مغزی نخاعی توسط پزشک و به روش پونکسیون نخاعی و به صورت کاملاً استریل انجام می

گیرد. معمولاً مایع جهت آزمون های شیمیایی، میکروبیولوژیک و آنالیز سلولی در ۳ تا ۴ لوله جمع آوری می شود.

جهت آزمون های باکتری شناسی نمونه باید در لوله درپوشدار و استریل جمع آوری شود. لوله ها بر اساس

ترتیب جمع آوری برچسبگذاری می شود (لوله شماره ۱ جهت آزمایش های بیوشیمیایی، لوله شماره ۲ جهت

آزمایش های میکروبیشناسی، لوله شماره ۳ جهت بررسی سلولی.) جهت جمع آوری نمونه نیازی به ماده ضد

انعقاد نیست زیرا مایع مغزی نخاعی لخته نمی شود، مگر آن که نمونه گیری همراه با صدمه باشد. تخریب

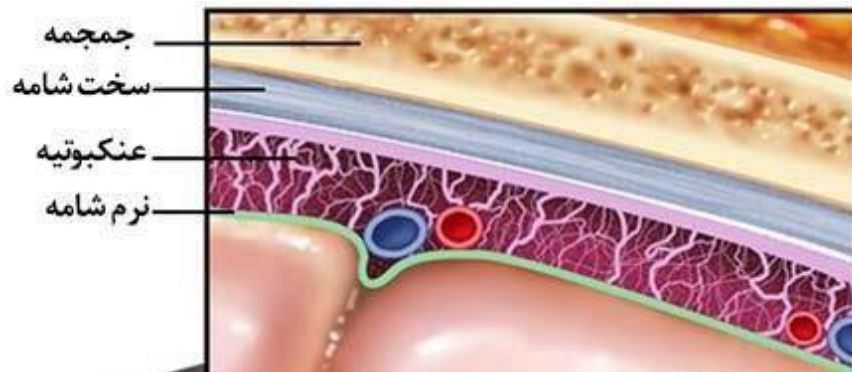
سلولی در طی یک ساعت اتفاق میافتد، لذا حداکثر

زمان گردش کاری نباید بیش از ۱ ساعت طول بکشد. جهت آزمون های باکتریولوژیک نباید نمونه در یخچال نگهداری شود. از قرار دادن نمونه در معرض نور خورشید و گرما باید خودداری کرد. در صورت نیاز به حمل نمونه استفاده از یخدان ضروری بوده و نمونه تا ۳ ساعت پایدار است.

جهت نگهداری طولانی مدت، نمونه ابتدا سانتریفیوژ شده پس از جداسازی سلولها، مایع رویی در ظرف درپوشدار شیشه ای یا پلی پروپیلن در دمای منفی ۷۰ درجه قابل نگهداری است.

جهت مطالعات سیتولوژیک رسوب CSF باید بلافاصله پس از جمع آوری به وسیله سانتریفیوژ مخصوص ۲۰ دقیقه در ۱۸۰ g تهیه و به آزمایشگاه ارسال شود.





مننژیت



مننژیت یک اورژانس پزشکی است.

مننژیت عفونت و التهاب پرده های مننژ را گویند.

مراحل بیماری:

اتصال باکتری به ناحیه حلق و بینی

کلونیزاسیون

حمله به بافت زیرین

ورود به خون

عفونت مننژ

امکانات مورد نیاز در شرایط ایده آل:

(۱) مکانی مناسب جهت انجام LP در هر بیمارستان

(۲) وجود یک نفر کلینیسین (فرد مجرب) جهت انجام LP در تمام ساعات و عدم تأخیر در انجام آن.

(۳) انجام آزمایش در شبانه روز در بیمارستان



جمع آوری و ارسال صحیح نمونه

LP قبل از شروع درمان آنتی بیوتیکی انجام شود. در مواردی که امکان انجام LP وجود ندارد با

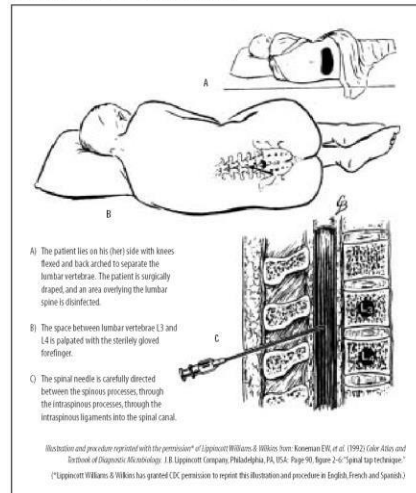
صلاح‌دید پزشک درمان بیمار شروع شود.

نمونه CSF باید ظرف کمتر از یک ساعت در آزمایشگاه به شکلات آگار و آگار خوندار تلقیح گردد.

در صورت عدم امکان بررسی ظرف این مدت نمونه به محیط TI تلقیح شده و در ۳۵ درجه انکوباتور نگهداری

شود و در اولین فرصت ممکن به آزمایشگاه منتقل شود.

FIGURE 55: Collection of cerebrospinal fluid (CSF) by lumbar puncture



جمع آوری نمونه برای کشت خون و انتقال نمونه

خون یکی از مهمترین نمونه هایی است که آزمایشگاه میکروبیولوژی برای کشت دریافت می کند و کشت خون معمولاً حساس ترین روش برای تشخیص باکتری و قارچ است.

هدف از کشت خون جداسازی، تعیین هویت و آنتی بیوگرام عامل سپتی سمی، اندوکاردیت، باکتری می، پنومونی، مننژیت، پیلونفریت و... است.

در بهترین شرایط به طور معمول حدود ۳ درصد کشت های خون دچار آلودگی می شوند.

مهم ترین عوامل آلودگی استافیلوکوک های کواگولاز منفی (شایعترین)، کورینه باکتریوم ها، میکروکوکها،

باسیلوس های غیرگونه آنتراکس می باشند.

نمونه گیری برای کشت خون

خونگیری از بیمار باید پیش از تجویز آنتی بیوتیک انجام گیرد. گرچه بهترین زمان پیش از آغاز تب و لرز بیمار

است، ولی آنچه مهم است، حجم خون کافی برای کشت می باشد. اندازه ی خون دریافتی از بزرگسالان ۱۰

الی ۲۰ میلی لیتر است ولی از کودکان و نوزادان ۱ الی ۵ میلی لیتر خون دریافت می شود.

مراحل تهیه نمونه خون برای کشت خون

۱- فرم درخواست آزمایش تکمیل شده و با شماره بیمار تطبیق شده و به بیمار در مورد چند و چون نمونه برداری خون توضیح داده می شود.

اطلاعاتی که مورد نیاز روی بطری کشت خون شامل نام بیمار، شماره بستری و پذیرش، زمان اخذ نمونه و تاریخ (روز و ساعت) می باشد.

۲- دستکش استریل به دست کرده و ماسک می زنیم.

۳- شیشه کشت خون آماده شده و پوشش فلزی آن برداشته می شود.

۴- پس از انتخاب رگ مناسب برای خونگیری، گارو به بازوی بیمار بسته می شود.

کشت خون نباید از کاتترهای داخل وریدی در زمانی که این کاتترها نصب می شوند انجام شود.

از خونگیری برای کشتهای از کاتتر داخل عروقی ثابت باید تا حد امکان جلوگیری شود، زیرا پورت ها اغلب با فلور پوست کلونیزه می شوند، در نتیجه احتمال کشت مثبت کاذب افزایش می یابد.

اگر کشت خون از یک لاین داخل وریدی گرفته شود، یک نمونه دوم باید از یک محل رگ محیطی گرفته شود.

۵- با پنبه آغشته به الکل ۷۰ درجه، محل خونگیری را به صورت دورانی از مرکز به خارج پاک می کنیم.

با پنبه دیگر آغشته به محلول آنتی سپتیک محل خونگیری دوباره به شکل دایره، از مرکز به خارج پاک می شود، و اجازه داده میشود تا محلول آنتی سپتیک روی پوست خشک شود.

۷- جهت حذف ید و کلرهگزیدین دوباره با پنبه آغشته به الکل ۷۰ درجه محل خونگیری را به صورت دورانی از مرکز به خارج پاک می کنیم، تا به طور کامل اثر ماده آنتی سپتیک از پوست پاک شود.

povidne-iodine (بتادین) ۱ تا ۱۰ درصد همراه الکل ۷۰ درصد بیشتر توصیه شده است.

در حال حاضر، کلرهگزیدین بهترین ماده ضد عفونی کننده توصیه شده است. به ویژه در نمونه گیری از کاتترها،

این ماده در بخشهای کودکان نتایج بهتری دارد (آلودگی کمتر) و عوارض پوستی که در

- کودکان با مصرف ترکیبات یددار ایجادمی شود درمصرف کلرهگزیدین کمتر است.
- کلرهگزیدین گلوکونات جهت نوزادان دو ماهه و بزرگتر و همچنین بزرگسالان دارای حساسیت نسبت به ید پیشنهاد می شود.
- قبل از خونگیری در سطح پوست باید اجازه داده شود تا ضد عفونی کننده بخار شود.
- ۸- تمام مراحل ضدعفونی گفته شده را برای بطری کشت خون نیز انجام می دهیم.
- ۹- اگر دستکش استریل موجود نبود، مراحل ضدعفونی ۴ الی ۶ را در مورد دست یا دستکش غیراستریل نیز انجام می دهیم.
- ۱۰- از لحظه ای که پوست محل خونگیری ضدعفونی شد تا موقعی که سرسوزن وارد رگ می شود، ناحیه ضدعفونی شده را باید با گاز استریل بپوشانید.
- ۱۱- سرسوزن سرنگ را در داخل ورید وارد نموده و حجم موردنیاز از خون برای کشت خون اخذ می شود.
- ۱۲- بعد از آزاد کردن گارو، سرسوزن سرنگ از ورید خارج می شود.
- ۱۳- بلافاصله مقداری پنبه تمیز و استریل را در محل خونگیری قرار داده و از بیمار یا همراه خواسته می شود تا چند دقیقه آن را تحت فشار نگه دارد.
- ۱۴- با دقت شیشه های کشت خون به وسیله خون گرفته شده تلقیح می گردد. لازم به ذکر است که هرگز نباید هوای داخل سرنگ به داخل شیشه کشت خون تزریق شود.
- ۱۵- بعد از کشیدن خون از ورید، سوزن سرنگ را تعویض کرده و با سرسوزن دیگری نمونه بلافاصله درمحیط کشت خون تلقیح شود.
- خون باید سریع به آبگوشت کشت خون اضافه شده و بلافاصله مخلوط گردد تا لخته نشود (حداقل ۱۰ بار)
- ۱۶- شیشه های کشت خون تلقیح شده نبایستی در یخچال نگهداری شود و باید بلافاصله و نهایتا درعرض ۱ تا ۲ ساعت به آزمایشگاه منتقل شده و درانکوباتور ۳۵ درجه قرار داده شود. در صورت هرگونه تاخیر روی میز ترجیح داده می شود.



مثبت کاذب ۵ تا ۲۰ درصد

□ آلودگی ضد عفونی کننده، آنژیوکت، سرنگ و سر سوزن

□ تماس سر سوزن به ویال غیر استریل و یا جاهای دیگر

□ ورود باکتری های سطح پوست مانند استافیلوکوک اپیدرمی دیس و دیفتروئید ها



زمان جمع آوری

نمونه گیری باید قبل از تب و لرز یا اوج تب و قبل از تجویز آنتی بیوتیک یا اوایل درمان آنتی بیوتیکی انجام شود.

تعداد باکتری در مراحل حاد عفونت، در زمان تب و در کودکان بالاتر است.

در باکتری می متناوب با یک کشت خون ۸۰ درصد و با سه کشت خون ۹۹ درصد عامل مشخص می شود.

یک عدد کشت خون به ندرت توصیه می شود. یک نتیجه مثبت کشت منفرد ممکن است قابل تفسیر نباشد، مگر اینکه یک پاتوژن صریح جدا شود.

در صورت مشکوک بودن به باکتری می مداوم و احتمال پیش بینی باکتری می زیاد ، در مجموع دو مجموعه کشت خون کافی است.

سه مجموعه کشت خون برای شرایطی مناسب است که در آن باکتری می ناشی از یک عامل بیماری زا که احتمالاً به علت یک contamination نمی باشد پیش بینی شده است و هنگامی که احتمال باکتری می کم یا متوسط است.

کشت های خون اول و دوم حتما باید از رگ های جداگانه و با فاصله نیم ساعت نمونه گیری شود .سومین کشت خون باید چهار تا شش ساعت بعد انجام شود.

روش خنثی سازی عوامل ضد میکروبی در خون

با اضافه نمودن مهار کننده های شیمیایی نظیر سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) ۰,۰۵ تا ۰,۲۵ درصد به محیط کشت و رقیق سازی خون، ویژگیهای باکتریسیدال خون و آنتی بیوتیکهای احتمالی خنثی میگردد. قابل ذکر است که سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) فعالیتهای ضد فاگوسیستی، ضد کمپلمانی، ضد انعقادی و ضد لیزوزمی دارد و اگر این ماده در مقادیر خیلی بالا استفاده شود، اثر مهار کنندگی در رشد میکروبها خواهد داشت.

کشت مجدد

شیشه های کشت خون را ظرف ۲۴ - ۶ ساعت (صرف نظر از وجود علائم رشد) کشت مجدد داده و سپس تا هفت روز، هر روز بررسی کنید. هر نوع کدورت یا لیز گلبولهای قرمز ممکن است نشانگر رشد میکروبی باشد و به طور حتم باید بلافاصله کشت مجدد انجام شود.

قابل ذکر است که ممکن است علیرغم عدم وجود کدورت، رشد میکروبی وجود داشته باشد، لذا ضروری است در فواصل ۲۴ - ۶ ساعت اولیه بعد از تلقیح، راس ۴۸ ساعت و نیز در روز هفتم نیز کشت مجدد صورت گیرد. قبل از انجام کشت مجدد شیشه کشت خون باید چند بار تکان داده شود.

جهت برداشت خون از محیط کشت، درپوش محیط کشت را با الکل و بتادین ضد عفونی کرده و حدود ۰,۰۵ میلی لیتر از نمونه را به محیط آگار انتخاب شده منتقل کنید.

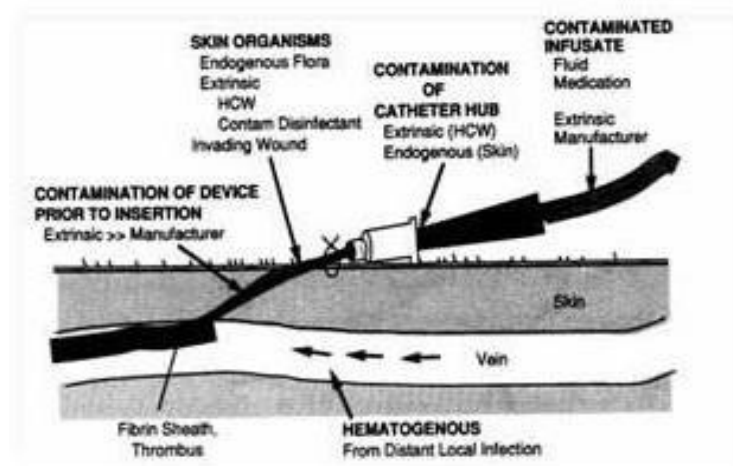
دلیل تکرار کشت خون

احتمال مثبت شدن بیشتر

احتمال شناسایی باکتری می گذرا بیشتر

کمک به تشخیص احتمال آلودگی با باکتری هایی مثل استافیلوکوک اپیدرمیدیس در صورت مشکوک بودن به میکروارگانیسم خاص پزشک باید اطلاع رسانی کند. مانند قارچ وتب مالت، بیهواری اجباری

کاتتر های خونی



مهم ترین عامل استافیلوکوک ها به خصوص در بیماران نقص ایمنی

توانایی تولید بیوفیلم در چسبیدن به سطح کاتترها

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین MRSA با ۸/۹ درصد اصلی ترین عامل

میزان مرگ در عفونتهای وابسته به کاتترها ۱۹ - ۱۴ درصد است.

استافیلوکوکوس کواگولاز منفی کمترین عامل مرگ و میر

نمونه گیری و ارسال کاتتر به آزمایشگاه:

محل ورود کاتتر به پوست را با الکل ضدعفونی و پس از خشک شدن آنرا را خارج می کنیم. ۴-

۵Cm آخر کاتتر کوتاه یا بلند را با قیچی استریل جدامی کنیم و در لوله استریل ارسال می کنیم.

مدت زمان کمتر از ۱۵ دقیقه و قبل از خشک شدن

سر کاتتر نباید در محیط ترانسپورت یا سالین قرار بگیرد.

در صورت رعایت نکردن زمان، میتوان نمونه را تا ۲ ساعت در یخچال ۴ درجه نگهداری کرد.

میکروارگانیسم های شایع

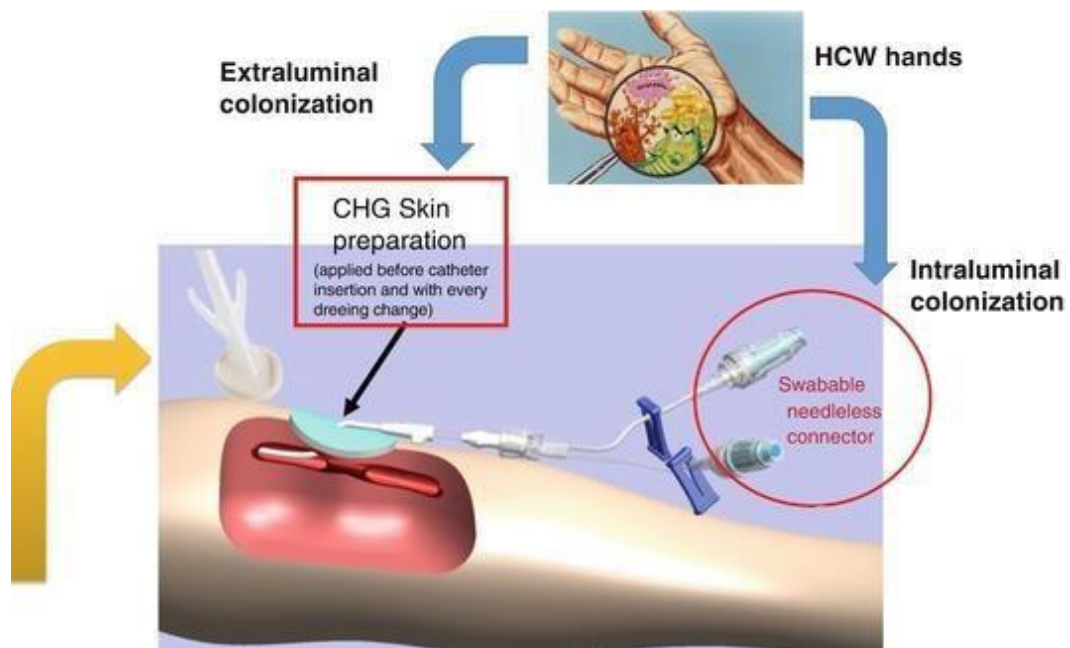
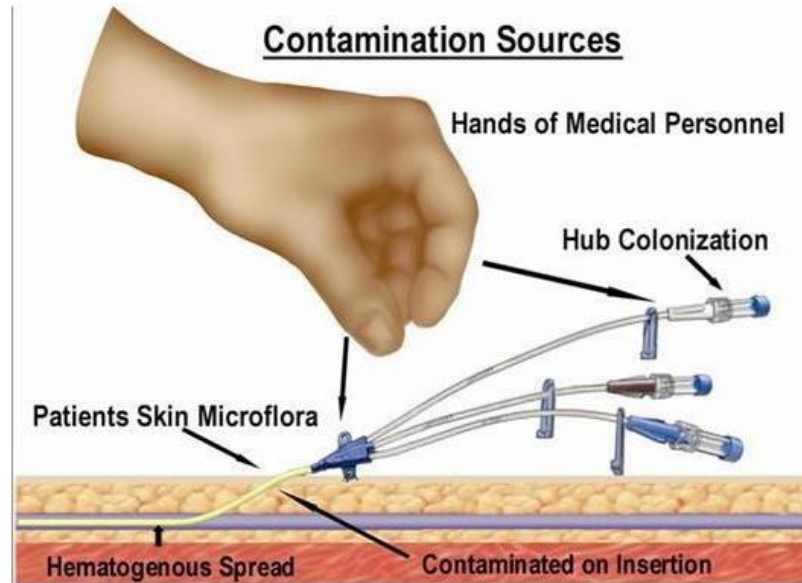
CNS

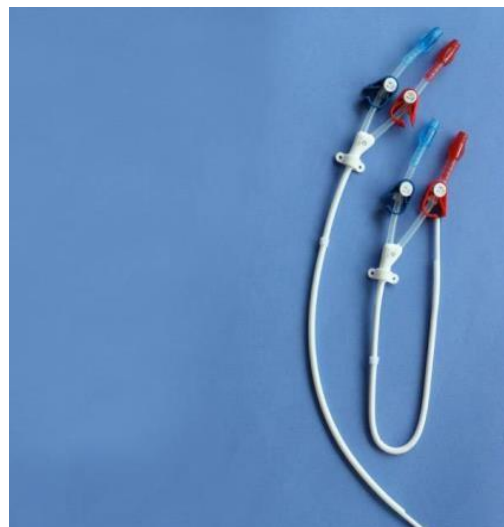
S. aureus

C. albicans

enterococci

Gram negative rods





توجه :پاتوژن اصلی جدا شده از کاتتر ها، همان شایعترین آلوده کننده کشت خون است.

رشد همزمان همان ارگانیسم از خون محیطی و یکی از موارد زیر:

کشت خون کمی کاتتر

کشت مثبت اگزودای محل ورود کاتتر (بدون توجه به پاتوژن)

تطابق رشد همان گونه، با همان آنتی بیوگرام

کشت اول و دوم مثبت با همان میکروارگانیسم

عدم وجود منبع دیگر عفونی در بیمار

تایید تشخیص آزمایشگاهی با پاسخ به درمان به عنوان رفع علائم و نشانه های ورود و کشت خون منفی در

ویزیت آزمایش از درمان تعریف می شود.

نمونه های دستگاه تنفسی

بهترین زمان جمع آوری نمونه در اکثر عفونتهای تنفسی در طول ۳ روز اول ایجاد علایم بیماری می باشد. نمونه ها بسته به محل عفونت، از قسمت فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی جمع آوری میشوند. عوامل بیماریزای دستگاه تنفسی فوقانی (ویروسی و باکتریایی) در نمونه های گرفته شده از قسمت نازوفارنژیال گلو و عوامل بیماری زای دستگاه تنفسی تحتانی در نمونه خلط قابل بررسی هستند.

کشت ارگانیسم هایی نظیر لژیونلا مشکل است لذا بهتر است که تشخیص بر اساس شناسایی آنتی ژن های جدا شده از ادرار باشد.

در صورت شک به التهاب حاد اپیگلوت، نمونه گیری از گلو یا فارنژیال نباید صورت گیرد زیرا استفاده از این شیوه ممکن است سبب انسداد شدید تنفسی شود. معمولاً التهاب اپیگلوت به وسیله رادیوگرافی گردن تایید میگردد ولی عوامل اتیولوژیک ایجاد کننده آن ممکن است از کشت خون هم جدا گردند.

دستگاه تنفسی فوقانی

نمونه برداری از گلو و لوزه ها

از بیمار خواسته میشود تا دهان خود را باز نماید و با آبسلانگ زبان وی را به پایین فشار داده، برای مشاهده نواحی ملتهب و اغزودا از چراغ قوه استفاده میشود. سوآپ استریل داکرونی یا آلژینات کلسیم را چندین بار بر روی نواحی ملتهب و اغزودای حلق میکشیم. باید توجه شود که سوآپ با سطح داخلی حفره دهانی تماس پیدا نکند.

چنانچه سوآب در طی ۲ - ۱ ساعت پس از نمونه گیری مورد آزمایش قرار نگیرد در یک لوله استریل درپوشدار حاوی محیط انتقالی باکتریایی یا ویروسی قرار داده میشود (انتهای سوآپ که با دست در تماس بوده باید شکسته شود و درپوش در جای خود قرار گیرد).

جهت تهیه گسترش مستقیم با سوآپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه گیری صورت می گیرد.

نمونه برداری از انتهای بینی و نازوفارنکس

به وسیله یک سواپ انعطاف پذیر استریل وارد سوراخ بینی شده و از نازوفارنکس نمونه تهیه گردد. سر بیمار باید کمی به عقب برده شود. در افراد بالغ سواپ را حدود ۵-۶ سانتیمتر وارد بینی کرده تا مطمئن شوید که سواپ وارد ناحیه خلفی فارنکس شده است، در همان وضعیت سواپ را چند ثانیه نگه داشته و سپس به آرامی بچرخانید. از هر سوراخ بینی دو سواپ گرفته میشود که یکی جهت گسترش مستقیم و دیگری جهت کشت استفاده میگردد.

آسپیراسیون نازوفارنکس

این روش در کودکان و نوزادان از سواپ راحتتر و کارآمدتر است. با کاتتر سیلیکون ترشحات را آسپیره نمایید.

دستگاه تنفسی تحتانی

تهیه نمونه خلط برای بررسی عفونت های مجاری تنفسی تحتانی

۱- بیمار ابتدا دهان خود را شسته و دندان های خود را بدون خمیردندان مسواک کرده و دندان های مصنوعی را بردارد تا احتمال آلودگی نمونه کاهش پیدا کند.

۲- سرفه های عمیق انجام دهد و در صورت نداشتن سرفه، چند بار نفس عمیق از بینی می تواند به ایجاد سرفه کمک کند.

۳- شستشوی دهان با سرم فیزیولوژی یا حتی غرغره نمودن آب خالی پیش از نمونه گیری به کم شدن فلور باکتریایی کمک می کند.

۴- خلط خارج شده را در یک ظرف دهان گشاد دردار (در حالی که ظرف نزدیک لب های بیمار قرار دارد) ، دارای گنجایش ۲۵ سی سی (و دارای مشخصات که آزمایشگاه داده است) بریزید و دقت کنید جدار داخلی

ظرف را لمس نکنید، زیرا ظرف استریل است. بطور معمول مقدار ۱ تا ۲ میلی لیتر نمونه برای بررسی میکروبی لازم است اما بهتر است حجم خلط بین ۵ - ۳ میلیلیتر باشد.

سپس درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار می‌دهد.

۵- بهتر است نمونه خلط در سه ظرف جداگانه و هنگام صبح در سه روز متوالی جمع آوری شود. در صورتی که بیمار نتواند با سرفه کردن برای انجام آزمایش، نمونه خلط بدهد باید به روش زیر عمل شود: بیمار روی تخت معاینه طوری بخوابد که صورت او رو به پایین بوده و سر او پایین تر از سینه قرار گیرد. سپس پس از دم عمیق نفس خود را نگه داشته با یک بازدم محکم خلط را خارج کند. این عمل باید تا تهیه نمونه کافی از خلط ادامه یابد.

روش جمع آوری خلط

یک نمونه خلط مناسب حاوی مواد ترشحات حاصل از ریه ها پس از سرفه عمیق است (نمونه حاوی آب دهان، ترشحات حلق و بینی مناسب نمیباشد).

زمان نمونه گیری

به دلیل اینکه تعداد باسیل سل دفع شده در زمانهای مختلف متفاوت میباشد، آزمایش یک نمونه خلط برای تشخیص کفایت نمیکند و حتما باید سه نمونه تهیه گردد. برای تهیه نمونه بیمار باید ناشتا باشد. در خصوص تعداد نمونه جمع آوری شده جهت سایر عوامل باکتریایی یک نمونه کفایت میکند ولی در صورت شک به وجود عوامل قارچی و عفونت مایکوباکتریوم سه نمونه جداگانه صبحگاهی مناسب میباشد. نمونه اول: در اولین مراجعه بیمار به واحد درمانی تهیه میگردد و ظرف جهت نمونه گیری دوم نیز تحویل داده می شود.

نمونه دوم: خلط صبحگاهی که بیمار قبل از برخاستن از جای خود و به صورت ناشتا در منزل تهیه مینماید.

نمونه سوم: خلط صبحگاهی که همزمان با مراجعه بیمار برای تحویل نمونه دوم از بیمار گرفته میشود.

نمونه باید در ظرف دهان گشاد از جنس پلاستیک قابل سوختن شفاف و محکم با قطر حدود ۷ - ۵ سانتیمتر جمع آوری گردد(نمونه داخل آن از نظر مقدار و کیفیت قابل رویت بوده و همچنین به راحتی سوزانده و معدوم گردد).

جهت جلوگیری از نشت خلط از داخل ظرف به بیرون، باید از ظرف در پیچدار استفاده نمود. در صورت عدم دسترسی به ظرف پلاستیکی با مشخصات فوق میتوان از ظروف شیشه ای دهان گشاد در پیچدار استفاده نمود. (با رعایت اصول استریلیزاسیون)

انتقال:

باید نمونه هر چه سریعتر به آزمایشگاه ارسال گردد. در غیر اینصورت در محل خنک (ترجیحا در یخچال) نگهداری شود.

همه نمونه های تنفسی به جز خلط، باید در محیط کشت انتقالی مناسب باکتریها / ویروسها منتقل گردند. نمونه های باکتریایی تا مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و ویروس ها در محیط انتقالی مناسب در دمای ۴ تا ۸ درجه قابل انتقال میباشند.

جمع آوری نمونه چشم

سواپ ها و گسترش های قرنیه و ملتحمه نمونه های معمول جهت تشخیص کونژکتیویت حاد ناشی از عوامل باکتریایی و ویروسی می باشند. تمام نمونه های گرفته شده از ترشحات قرنیه و ملتحمه باید از نظر اینکه از چشم چپ یا راست تهیه شده، برچسب گذاری گردند. جهت جمع آوری این نمونه ها باید شرایط استریل رعایت گردد. قبل از نمونه برداری بیمار نباید دارو یا قطره ای استفاده کرده باشد. قابل ذکر است که نمونه برداری از تراشه های قرنیه باید توسط پزشک متخصص چشم صورت گیرد.

روش جمع آوری سواب های ملتحمه

مراحل جمع آوری سواب های ملتحمه به شرح زیر است:

- ۱- پوست اطراف چشم را با یک ماده ضد عفونی کننده ملایم تمیز کنید.
- ۲- سواب استریل آلژینات کلسیم یا نخی را در سرم استریل مرطوب کرده و بهطور دورانی بر روی ملتحمه بمالید.
- ۳- سواب را در لوله در پیچدار حاوی محیط انتقالی مناسب قرار دهید.
- ۴- بر روی لوله مذکور علاوه بر نام بیمار، نوع نمونه و زمان جمعآوری نمونه نیز ذکر گردد.
- ۵- از سواب ملتحمه نیز دو گسترش بر روی یک لام تهیه میگردد. این کار بهتر است در محل نمونه برداری صورت گیرد. جهت شناسایی کلامیدیا مهم است که گسترش ها در محل نمونه برداری و قبل از انتقال تهیه شود. گسترش ها برچسب گذاری شده و نباید در دمای یخچال نگهداری شده یا منجمد گردند.

نقل و انتقال نمونه

نمونه جهت شناسایی باکتری های پاتوژن در دمای محیط، در محیط انتقالی مناسب انتقال داده میشوند.

نمونه جهت شناسایی ویروس های پاتوژن در دمای ۲ تا ۸ درجه در محیط انتقالی مناسب انتقال داده میشوند.

گسترش های تهیه شده در هوا خشک شده و در دمای محیط در جعبه لام منتقل میشوند.

نمونه برداری از مجاری ادراری تناسلی مردان

با دو سواب استریل از ترشحات چرکی نمونه برداری کنید. یکی از سواب ها جهت تهیه گسترش و دیگری جهت کشت مورد استفاده قرار می گیرد. در صورتیکه ترشحاتی مشهود نباشد با سواب نازک به اندازه 2-3 سانتیمتر درون مجرا وارد شده و قبل از بیرون آوردن در مجرا چرخانده شود.

در صورتی که آزمایش با تاخیر انجام گیرد، سواب باید در محیط انتقالی نگهداری شود.

نمونه برداری از دهانه رحم ترشحات واژن

جهت نمونه گیری ابتدا سرویکس با کمک اسپیکولوم که با آب گرم مرطوب شده مشاهده میشود (بدون استفاده از مواد Lubricant قبل از نمونه گیری باید تمامی ترشحات از دهانه خارجی رحم پاک شود. با یک سواپ استریل تا حدود ۳ - ۲ سانتیمتر درون دهانه رحم وارد شده و چند ثانیه در محل چرخانده شود تا ترشحات جذب سواپ گردد.

سپس بدون تماس با سطح واژن سواپ باید خارج شده و در لوله درپوشدار استریل قرار گیرد. سواپ باید فوراً در محیط کشت مناسب کشت داده شود و یا به کمک محیط انتقالی به آزمایشگاه ارسال گردد. نمونه با سه سواپ گرفته میشود، یکی را جهت تهیه گسترش مرطوب در لوله درپوشدار محتوی سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و دو تای دیگر جهت کشت و تهیه گسترش مستقیم مورد استفاده قرار میگیرند.

در صورت مشکوک بودن به نایسریا نمونه پس از تهیه سریعاً در دمای اتاق به آزمایشگاه ارسال میشود. سواپهای آلژینات کلسیم و بعضی سواپهای پنبه ای مهار کننده نایسریا بوده، لذا بهتر است از سواپ داکرون یا ریون استفاده شود.

سوزاک

زمان ترجیحاً صبح

ماده مورد آزمایش: چرک مجرای پیشابراه در مردان و دهانه رحم خانم ها
وسایل لازم: سواب داکرون یا کلسیم آلژینات، لام، محیط انتقالی (استوارت یا آمیس)، اسپیکولوم.

تهیه نمونه در مردان

در صورت زیاد بودن ترشح :چرک توسط سواب برداشته و لام و کشت.

در صورت کم بودن ترشح :ماساژ آلت از عقب به جلو، سواب را به آرامی داخل مجرا (۲ سانتی متر)، چرخش،

نمونه برداری، انداختن به محیط انتقالی و کشت و تهیه لام

در صورت انجام سریع، کشت مستقیم

تهیه نمونه در خانم ها

بیمار در تخت مخصوص

تعبیه اسپکولوم واژینال در نور کافی

سواب استریل داخل کانال دهانه رحم (۲سانتی متر) به آرامی چرخش آرام تا ترشحات کاملا جذب

انداختن سواب به محیط انتقالی

در صورت انجام سریع، کشت مستقیم

لام و کشت هردو اهمیت دارد خصوصا در آقایان ارزش لام خیلی زیاد است.

مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی

مقدمه

نتایج آزمایشها تحت تاثیر متغیرهای گوناگونی است که شناسایی آنها و به دنبال آن استاندارد نمودن روشهای آزمایشگاهی جهت تفسیر و استفاده بهینه از دادههای آزمایشگاهی ضروری است. این متغیرها شامل مراحل قبل از، حین و پس از آزمایش میشوند. در سالهای اخیر با توجه به تأکید بر اجرای روشهای کنترل کیفی در کلیه بخشهای آزمایشگاه در مرحله حین آزمایش و به دنبال آن برگزاری دورههای آموزشی در این خصوص، خطاهای حین آزمایش به حداقل رسیده است و لذا تأثیر متغیرهای قبل و بعد از آزمایش بسیار پررنگ شده است.

با توجه به اهمیت متغیرهای قبل از آزمایش در اینجا سعی شده است مجموعه‌ای از دستورالعمل‌های کاربردی در خصوص مدیریت نمونه بیان گردد که این موارد شامل: نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های بالینی، شامل خون و سایر مایعات بدن، آماده‌سازی نمونه، جابجایی و نقل و انتقال نمونه، شرایط نگهداری و موارد رد نمونه می‌باشد.

بدیهی است رعایت موارد ذکر شده در این مجموعه، در به حداقل رساندن عواملی که می‌تواند نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهد، کمک شایانی خواهد نمود.

کیفیت نتایج آزمایش‌هایی که در آزمایشگاه انجام می‌شود، هم ارزش نمونه‌هایی است که مورد آزمایش قرار می‌گیرند.

مدیریت نمونه‌های آزمایشگاهی به عنوان بخشی از فرآیند قبل و پس از انجام آزمایش تأثیر به سزایی در تشخیص، پیگیری و درمان بیماران داشته و در حوزه‌های زیر قابل بحث می‌باشد:

- نقش کلیدی در صحت تشخیص آزمایشگاهی
- تأثیر در روند مراقبت از بیمار
- تأثیر در تصمیم‌گیری بالینی پزشک
- تأثیر در مدت بستری شدن بیمار در بیمارستان و به دنبال آن، هزینه‌های بستری و آزمایشگاه
- تأثیر بر کارایی آزمایشگاه

اثرات ناشی از نمونه‌های نامناسب وعدم صحت نتیج آزمایش بر روی این نمونه‌ها:

- تأخیر در گزارش نتایج آزمایش‌ها
- نمونه‌گیری‌های غیر ضروری
- کاهش رضایت مندی مراجعین
- افزایش هزینه بیمار، آزمایشگاه و بیمارستان
- تشخیص‌ها و درمان غلط، طولانی شدن مدت بستری
- آسیب و احتمال مرگ

مدیریت نمونه‌های آزمایشگاهی در فرآیند قبل از انجام آزمایش: درخواست آزمایش، شناسایی بیمار، نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های کلینیکی، آماده‌سازی نمونه، جابه‌جایی و نقل انتقال نمونه، معیارهای رد نمونه، شرایط نگهداری و ارجاع نمونه در فرآیند بعد از انجام آزمایش، نگهداری نمونه پس از انجام آزمایش و امحاء نمونه را شامل می‌شود. هر یک از این مراحل فوق‌الذکر نیاز به مدیریت داشته، سیاست آزمایشگاه باید در این خصوص تعریف گردد.

♦ فرآیند قبل از آزمایش

• درخواست آزمایش / شناسایی بیمار

درخواست آزمایش باید از نظر قابلیت پذیرش و انجام بررسی شود. هر آزمایشگاه باید فهرست آزمایش‌های قابل انجام خود را تهیه و در اختیار مسئول پذیرش قرار دهد. همچنین باید از هویت بیمار قبل از پذیرش، اطمینان حاصل گردد و انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار صورت گیرد.

• نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های کلینیکی

هر آزمایشگاه با توجه به دامنه فعالیت خود باید دستورالعمل نحوه جمع‌آوری نمونه‌های کلینیکی را تهیه و در اختیار کارکنان آزمایشگاه قرار دهد. این دستورالعمل شامل موارد زیر می‌باشد:

- نحوه اطمینان از هویت بیمار
- شرایط مربوط به آماده‌سازی بیمار قبل از نمونه‌گیری
- نمونه موردنیاز در خصوص انواع آزمایش‌ها
- ظروف جمع‌آوری نمونه، نوع ضد انعقاد، حجم نمونه
- مشخصات برچسب نمونه، همچنین برچسب‌گذاری باید به نحوی باشد که امکان ردیابی نمونه به سهولت امکان - پذیر باشد.

- شرایط نگه‌داری نمونه قبل از انجام آزمایش
- < ردیابی نمونه

اطلاعات زیر جهت ردیابی کامل نمونه در آزمایشگاه مورد نیاز است که به صورت دستی یا نرمافزاری باید ثبت شود:

- شماره آزمایش
- نام و نام خانوادگی بیمار
- زمان نمونه‌گیری: روز - ساعت - دقیقه
- نوع نمونه
- آزمایش‌های انجام شده
- نام پزشک
- بخش موقعیت بیمار: بخش - کلینیک ...
- نتایج آزمایش‌ها
- تاریخ و ساعت جواب آزمایش
- < ذخیره‌سازی نمونه

تدوین سیاست آزمایشگاه در مورد ذخیره‌سازی نمونه شامل موارد زیر است:

- تعیین نمونه‌هایی که باید نگه‌داری شوند.
- مدت زمان نگه‌داری
- محل نگه‌داری
- شرایط مناسبی که نمونه باید در آن نگه‌داری شود (درجه حرارت مناسب)
- کنترل مرتب نمونه‌ها از نظر تعداد موارد یخ زدن/ آب کردن (Freeze/thaw) نمونه
- چیدمان منظم نمونه‌ها در محل مورد نگه‌داری (یخچال) مثلاً بر اساس شماره پذیرش یا روز پذیرش نمونه‌ها

- برنامه زمان‌بندی جهت کنترل دوره‌ای نمونه‌ها
- برقرار نمودن روشی جهت ردیابی نمونه

◀ نحوه نقل و انتقال و جابه‌جایی نمونه

انتقال نمونه‌های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه کاری در آزمایشگاه می‌باشد.

در آزمایشگاه باید شرایط انتقال نمونه از نظر درجه حرارت، ظروف مورد استفاده، حداکثر زمان مجاز جهت انتقال نمونه، نحوه انتقال نمونه با درخواست اورژانس و ملاحظات ایمنی تعریف، مکتوب و کارکنان مرتبط از آن اطلاع داشته باشند.

بسته بندی کلیه نمونه ها باید به روش استاندارد و با استفاده از سه محفظه صورت گیرد. با توجه به نوع نمونه ای که منتقل می شود، اطلاعات روی برچسب الصاق شده روی محفظه خارجی نمونه متفاوت است.

◀ رد نمونه

دستورالعمل معیارهای رد و قبول انواع نمونه‌های کلینیکی و نحوه برخورد با آن باید تدوین شده و به کارکنان مرتبط در این خصوص آموزش‌های لازم داده شود. گاهی موارد ”رد نمونه” مشکل است، اما باید به خاطر داشت که نمونه فاقد شرایط استاندارد از نظر کیفیت و کمیت نتایج صحیح نمی‌دهد.

◀ ارجاع نمونه

در روند ارجاع یکی از مهم‌ترین فرآیندهایی که باید مدنظر گرفته شود، مدیریت نمونه است که شامل کلیه اقداماتی است که جهت حفظ تمامیت و کیفیت نمونه از زمان جمع‌آوری و طی مراحل نگهداری و انتقال نمونه صورت گیرد. مدیریت فرآیند پس از انجام آزمایش، نحوه گزارشدهی و ارسال نتایج و نگهداری سوابق مربوطه در آزمایشگاه ارجاع و ارجاع‌دهنده نیز باید طبق ضوابط مشخصی صورت گیرد.

◀ امحاء نمونه

هر آزمایشگاه باید نحوه دفع مواد زائد را مستند نموده و بر اساس آن عمل نماید. در این مستند باید به قوانین امحاء مواد زائد در کشور توجه شود. نحوه بی‌خطر سازی پسماند مشخص شود، فرد مسئول نظارت بر این روند مشخص شود. اصول ایمنی رعایت شود.

♦ مدیریت نمونه در زمان انجام آزمایش

مدیریت نمونه در زمان انجام آزمایش در ادامه این فصل مورد بحث قرار می‌گیرد.

♦ نگهداری نمونه پس از انجام آزمایش

آزمایشگاه باید سیاست خود را در خصوص نگهداری انواع نمونه‌های کلینیکی با در نظر گرفتن ملاحظات زیر به- صورت دستورالعمل مکتوب تعریف نماید:

مکان و دمای نگهداری نمونه‌های کلینیکی، حداکثر زمان نگهداری، نحوه بی‌خطر سازی و امحاء نمونه‌ها

تجهیزات لازم جهت اتاق نمونه‌برداری

نمونه‌گیری باید در یک محل مجزا، تمیز و ساکت صورت گیرد. این اتاق بهتر است مجهز به دستشویی بوده و در صورت عدم دسترسی به آب، باید محلول‌های تمیزکننده دست موجود باشد.

۱- صندلی نمونه‌برداری: باید دارای دسته قابل تنظیم باشد به‌طوری که بیمار بتواند در راحت‌ترین وضعیت جهت نمونه‌گیری روی صندلی بنشیند. همچنین صندلی باید دارای حفاظ ایمنی جهت جلوگیری از افتادن بیمار باشد.

۳- سینی جمع‌آوری ظرف‌های نمونه

۴- دستکش

• دستکش در صورت آلودگی و یا در فواصل نمونه‌گیری‌ها باید تعویض گردد

۵- سوزن (19-23G)

۶- سرنگ یا نگهدارنده مخصوص (holder) جهت استفاده از لوله‌های خلاء (evacuated tube)

۷- نیشتر یک‌بار مصرف

۸- انواع لوله‌ها و ظروف در پیچ‌دار یا لوله‌های خلاء

۹- بازوبند (tourniquet)

۱۰- یخچال یا یخ باید در دسترس

باشد

۱۱- ضدعفونی‌کننده‌ها:

•• ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪

•• محلول povidone - iodine ۱-۱۰٪ یا کلر هگزیدین گلوکونات جهت کشت خون

۱۲- گاز پارچه‌ای در ابعاد ۵×۵ cm یا ۷/۵×۷/۵ cm (استفاده از پنبه پیشنهاد نمی‌گردد). باند و

گاز باید جهت پانسمان در دسترس باشد.

۱۳- ظروف مخصوص دفع سرسوزن‌های آلوده (Puncture Resistant Disposal Container) -

۱۵ فهرست انواع آزمایش‌ها و درج مقدار خون لازم برای هر آزمایش و نوع لوله مورد استفاده

۱۶- روتاتور جهت مخلوط نمودن لوله‌های محتوی خون

نمونه‌گیری وریدی

مراحل نمونه‌گیری

خون‌گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت توأم دارد. جهت جمع‌آوری نمونه خون وریدی، خون‌گیر کار آزموده باید مراحل زیر را پی‌گیری نماید:

۱- انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار

۲- اطمینان از رعایت رژیم غذایی پیش از نمونه‌گیری

۳- انتخاب وسایل مورد نیاز

سرنگ و سرسوزن مناسب یا لوله خلاء براساس نوع آزمایش انتخاب می‌شود.

* به‌طور کلی توصیه می‌گردد به‌دلیل رعایت اصول ایمنی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و لوله‌های خلاء جایگزین آن گردند.

۴- استفاده از دستکش

۵- وضعیت بیمار هنگام نمونه‌گیری

بیمار بر روی صندلی نمونه‌گیری نشسته و دست خود را به منظور برجسته شدن وریدها مشت کرده و به نحوی روی دسته صندلی نمونه‌برداری قرار می‌دهد که بازو تا مچ دست در یک خط مستقیم قرار گیرند. باید توجه داشت که بیمار نباید مشت خود را باز و بسته نماید زیرا باز و بسته کردن مشت باعث تغییر بعضی مواد در خون می‌شود.

۶- بستن تورنیکه

به منظور افزایش پر شدن ورید از خون و برجسته شدن رگ مورد نظر و جهت تسهیل ورود خون به‌داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء از رگ‌بند (تورنیکه) استفاده می‌شود (قابل ذکر است در مواردی نظیر اندازه‌گیری لاکتات خون نباید تورنیکه بسته شود).

رگ‌بند باید ۷/۵-۱۰ سانتی‌متر بالای ناحیه نمونه‌گیری بسته شود و نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند.

۷- انتخاب ورید مناسب

در اغلب موارد نمونه‌گیری از وریدهای Median cubital و Cephalic صورت می‌گیرد. خون‌گیری از وریدهای پشت دست نیز قابل قبول است، ولی وریدهای سطح داخلی مچ نباید مورد استفاده قرار گیرند.

۸- تمیز کردن محل نمونه گیری

ناحیه نمونه گیری به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪ به صورت حرکت دورانی از داخل به خارج تمیز می شود. نمونه گیری پس از خشک شدن موضع در هوا، به منظور جلوگیری از همولیز و کاهش سوزش ناشی از تماس نوک سوزن با الکل و پوست، صورت می گیرد.

۹- نمونه گیری

باید سر سوزن در حالی که قسمت مورب نوک آن به سمت بالا است، با زاویه 30°C یا کمتر وارد ورید شود.

* به محض ورود خون بداخل سرنگ یا لوله خلاء باید رگ بند (تورنیکه) باز شود.

در صورت استفاده از لوله خلاء باید تمهیدات زیر صورت گیرد :

- حتی الامکان سوزن در رگ ثابت نگه داشته شده و اولین لوله با فشار به سوزن مرتبط شود.
- لوله ها باید تا خاتمه مکش از خون پر شوند. پس از وقفه جریان خون اولین لوله از سوزن جدا شده و لوله های بعدی به سوزن متصل می شوند.
- لوله های حاوی ماده ضد انعقاد و خون باید بلافاصله پس از پر شدن مخلوط شوند (با ۵-۱۰ مرتبه سروته نمودن). جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله ها به شدت مخلوط گردند.

پس از جاری شدن روان خون به داخل سرنگ یا لوله های خلاء بیمار باید مشت خود را باز کند.

۱۰- دفع سر سوزن

سر سوزن های آلوده بدون گذاشتن درپوش سرسوزن باید در ظروف ایمن، دفع گردند. سپس نمونه خون به آرامی در ظروف مربوطه تخلیه شود.

۱۱- تخلیه خون

نمونه هایی که در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد ریخته می شوند باید بلافاصله و به آرامی ۵ تا ۱۰ بار مخلوط شوند. در صورتی که نمونه در لوله بدون ماده ضد انعقاد ریخته می شود باید به آرامی در جدار داخلی لوله تخلیه گردد.

۱۲- اقدامات پس از نمونه گیری

پس از خاتمه نمونه گیری، باید موضع از نظر بند آمدن خونریزی و یا به وجود آمدن هماتوم کنترل گردد.

۱۳- برچسب گذاری ظرف حاوی نمونه

بلافاصله پس از اتمام نمونه گیری باید برچسب دارای اطلاعات زیر را بر روی لوله ها و ظروف حاوی نمونه خون بیمار الصاق نمود:

- نام، نام خانوادگی بیمار، شماره شناسایی، تاریخ، زمان نمونه گیری (بخصوص در آزمایش های ردیابی دوز درمانی داروها (TDM)، نام فرد خون گیر

خون گیری مویرگی - نمونه گیری از طریق سوراخ کردن پوست (Skin Puncture)

خون گیری مویرگی در نوزادان، اطفال و بزرگسالان در شرایط خاص نظیر بیماران با سوختگی وسیع، بیماران بسیار چاق، بیماران مستعد به ترومبوز و بیماران مسن یا سایر بیمارانی که وریدهای سطحی آنها قابل دسترسی نبوده یا بسیار شکننده است، از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

• نواحی مناسب جهت سوراخ کردن پوست و جمع آوری نمونه:

- بند انتهایی انگشتان دست

- سطح داخلی و خارجی پاشنه پا

➤ در نوزادان کمتر از یک سال معمولاً خون گیری از پاشنه پا انجام می گیرد.

➤ در اطفال و بزرگسالان معمولاً از سطح داخلی بند آخر انگشتان (انگشت سوم یا چهارم) خون‌گیری صورت می‌گیرد. سطح جانبی و نوک انگشتان مناسب نمی‌باشند.

از نواحی زیر نباید خون‌گیری صورت گیرد:

- (۱) نرمه گوش
- (۲) ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان
- (۳) انگشتان (دست و پا) نوزادان و اطفال کمتر از یک سال

نواحی متورم یا مناطقی که قبلاً جهت نمونه‌گیری سوراخ شده‌اند (به‌دلیل تجمع مایع بافتی)

• روش کار

موضع مورد نظر توسط محلول ایزوپروپانول ۷۰٪ (یا اتانول ۷۰٪) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن در مجاورت هوا، خون‌گیری به‌وسیله لانت استریل انجام می‌شود. قابل ذکر است که باید اولین قطره خون را به‌وسیله گاز پاک کرده و از قطرات بعدی استفاده نمود.

آماده‌سازی نمونه خون

سرم یا پلاسما باید در کوتاه‌ترین زمان به‌دنبال نمونه‌گیری از سلول‌های خونی جدا گردد. حداکثر زمان مجاز جهت جداسازی سرم یا پلاسما ۲ ساعت پس از نمونه‌گیری پیشنهاد می‌گردد. قابل ذکر است که درخصوص اندازه‌گیری ترکیباتی نظیر پتاسیم، هورمون‌های کورتیکواستروئیدی، کورتیزول، کاتکولامین‌ها، اسید لاکتیک و هموسیستین این زمان باید کمتر از ۲ ساعت باشد.

قابل ذکر است که درجه حرارت محیط نیز بر پایداری برخی مواد تاثیر می‌گذارد. آماده‌سازی نمونه در طی سه مرحله انجام می‌گیرد: مرحله پیش از سانتریفیوژ، مرحله سانتریفیوژ، مرحله پس از سانتریفیوژ.

• مرحله پیش از سانتریفیوژ

برای اکثر روش‌های اندازه‌گیری مواد در خون به‌جز اندازه‌گیری گازهای خون و آمونیاک، استفاده از سرم یا پلاسما ارجحیت دارد.

• تهیه سرم: نمونه خون پس از جمع‌آوری (در ظروف در بسته)، باید جهت جداسازی و سانتریفیوژ مراحل لخته شدن را طی نماید که بهتر است این مرحله با طی زمان و به‌طور خودبخود صورت گیرد. عمل لخته شدن به‌طور طبیعی در دمای اتاق (22°C – 25°C) پس از ۳۰–۶۰ دقیقه کامل می‌گردد. در صورتی که بیمار داروهای ضد انعقاد مصرف نماید، زمان لخته شدن طولانی‌تر بوده و اگر نمونه در شرایط سرما قرار گیرد (2°C – 8°C) نیز این عمل به تاخیر می‌افتد. همچنین اگر زمان لازم جهت کامل شدن مراحل تشکیل لخته کافی نباشد، تشکیل رشته‌های ظریف فیبرین ممکن است سبب ایجاد خطا در نتایج بسیاری از دستگاه‌های خودکار بیوشیمی گردد. جهت تسریع در عمل لخته شدن می‌توان از لوله‌های جمع‌آوری سرم که حاوی فعال‌کننده یا تسریع‌کننده عمل لخته شدن باشد استفاده نمود. به‌طور مثال لوله‌های حاوی افزودنی نظیر سم مار، زمان تشکیل لخته را به ۲–۵ دقیقه، ترومبین به ۵ دقیقه، سیلیکا و پارتيكل‌های شیشه به حدود ۱۵–۳۰ دقیقه می‌رسانند. (استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی‌گردد)

•• تهیه پلاسما: لوله‌های حاوی خون به همراه مواد افزودنی به‌جز سیترات سدیم باید پس از نمونه‌گیری به آرامی برای حداقل ۵-۱۰ بار جهت مخلوط شدن سر و ته گردند (به‌جز موارد خاص که باید مطابق دستورالعمل سازنده لوله عمل گردد). لوله‌های حاوی سیترات سدیم و خون باید ۳-۴ مرتبه سر و ته گردند.

•• سرد نمودن: بعضی نمونه‌ها باید تا قبل از عمل سانتریفیوژ و جداسازی در سرما نگهداری شوند. سرد کردن نمونه، متابولیسم سلول‌های خونی را مهار نموده و سبب پایداری اجزای حساس به حرارت می‌گردد. جهت سرد نمودن، نمونه باید سریعاً در یخ خرد شده یا مخلوطی از آب و یخ قرار گیرد (استفاده از تکه‌های بزرگ یخ به‌دلیل تماس ناکافی بین نمونه و یخ قابل قبول نمی‌باشد). یخ باید کاملاً اطراف سطح خون درون لوله را احاطه کند.

نکته: قرار دادن نمونه خون بیش از دو ساعت در سرما سبب افزایش کاذب پتاسیم می‌گردد. سرما سبب مهار گلیکولیز شده، لذا انرژی جهت پمپ پتاسیم به داخل سلول ایجاد نمی‌گردد و بدنبال آن پتاسیم از سلول‌ها به بیرون نشت می‌کند. نمونه جهت اندازه‌گیری الکترولیت‌ها نیز نباید تا قبل از سانتریفیوژ و انجام آزمایش در دمای 4°C -۸ قرار گیرد.

نمونه خون جهت اندازه‌گیری ترکیباتی نظیر کاتکول آمین‌ها، آمونیاک، اسید لاکتیک، پیرووات، گاسترین، هورمون پاراتیروئید، فعالیت رنین پلاسما و اسید فسفاتاز، باید پس از جمع‌آوری در سرما نگهداری شود.

•• نگهدارنده‌ها و مهارکننده‌های متابولیک: بعضی افزودنی‌ها می‌توانند از تغییرات غلظت مواد در نمونه با گذشت زمان جلوگیری نمایند. مواد آنتی گلیکولیتیک نظیر فلوراید می‌توانند گلوکز را در حضور سلول‌های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (22°C - 24°C) و تا ۴۸ ساعت در دمای یخچال (2°C -۸) پایدار نگه‌دارند. به‌دلیل حساسیت اندازه‌گیری گلوکز در نوزادان و اطفال می‌توان از مواد افزودنی آنتی گلیکولیتیک استفاده نمود. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری لاکتات باید از فلوراید سدیم یا اگزالات پتاسیم استفاده نمود.

انتقال

انتقال نمونه‌های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه‌کاری در آزمایشگاه می‌باشد. در مورد نمونه‌های خون روند انتقال ۱/۳ زمان چرخه کاری را شامل می‌شود.

* جمع‌آوری نمونه در محل آزمایشگاه

•• زمان: نمونه‌ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال گردند. انتقال نمونه‌ها می‌بایست در شرایط دمای اتاق صورت گیرد، به‌جز نمونه‌هایی که باید با حفظ زنجیره سرد نگهداری و منتقل شوند. انتقال سریع نمونه از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه در شرایطی که دمای محل نمونه‌گیری بالاتر از 22°C است از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• وضعیت لوله: نمونه‌های خون باید در لوله‌های در پوشدار و در وضعیت قائم نگهداری گردند. این امر سبب تسریع فرایند انعقاد و هم‌چنین کاهش به‌هم خوردگی محتوی لوله می‌گردد و احتمال ایجاد همولیز را نیز کاهش می‌دهد.

•• درپوش: نمونه‌ها باید در طول مدت انتقال و نگهداری در ظروف درپوشدار قرار گیرند. عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به دلیل از دست دادن دی اکسید کربن و افزایش PH نظیر کلسیم یونیزه و اسید فسفاتاز (افزایش می‌یابند) می‌گردد. هم‌چنین وجود درپوش خطر ایجاد آئروسول، تبخیر نمونه و آلودگی را نیز کاهش می‌دهد.

•• همولیز: حمل و نقل نمونه باید به آرامی صورت گیرد تا امکان آسیب به گلبول‌های قرمز را به حداقل رساند. وجود همولیز در نمونه سبب تداخل با عملکرد برخی دستگاه‌هایی می‌شود که به روش نوری پارامترها را اندازه‌گیری کنند. ترکیبات زیادی در سرم و پلاسما تحت تاثیر همولیز (با منشا خارجی) قرار می‌گیرند که نمونه‌هایی از آن به شرح زیر است:

- پارامترهایی که شدیداً تحت تاثیر همولیز قرار گرفته و افزایش می‌یابند شامل: هموگلوبین پلاسما، آسپارژین امینو ترانسفراز (AST)، پتاسیم، لاکتات دهیدروژناز می‌باشند.
- پارامترهایی که به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر همولیز قرار می‌گیرند شامل: آهن، آلانین امینو ترانسفراز (افزایش می‌یابند) و T4 (کاهش می‌یابد) هستند.
- پارامترهایی که کمتر تحت تاثیر همولیز قرار گرفته ولی امکان افزایش آن‌ها به دنبال همولیز وجود دارد شامل: فسفر، پروتئین توتال، آلبومین، منیزیم، کلسیم، و اسید فسفاتاز می‌باشند.

قابل ذکر است پلاسمای حاوی ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ صورتی روشن و پلاسمای حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ قرمز است. بالا رفتن بیلی‌روبین در پلاسما ممکن است وجود هموگلوبین را بپوشاند به‌طور مثال غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین ممکن است با چشم غیر مسلح با وجود بیلی-روبین ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر قابل رویت نباشد.

وجود همولیز در نمونه خون کامل ممکن است با چشم قابل رویت نباشد لذا پیشنهاد می‌گردد در مواردی که نتایج متغیر مورد اندازه‌گیری بالاتر از محدوده مرجع آن می‌باشد، نمونه مورد آزمایش از نظر وجود همولیز نیز بررسی گردد. (با سانتریفیوژ و بررسی پلاسما)

•• مجاورت با نور: نمونه نباید در مقابل نور خورشید قرار گیرد این امر بخصوص در مورد ترکیباتی که به نور خورشید یا اولترا ویوله بسیار حساس هستند نظیر بیلی‌روبین، ویتامین A و B6 و بتا کاروتن بسیار اهمیت دارد. ظرف حاوی این نمونه‌ها جهت محافظت از نور باید در پوششی از کاغذ آلومینیوم پیچیده شده یا در ظرف شیشه‌ای قهوه‌ای نگه‌داری شوند.

* جمع‌آوری نمونه خارج از محل آزمایشگاه

در صورتی که در مرکزی فقط نمونه‌گیری انجام گیرد، نمونه‌های خون باید حداکثر تا دو ساعت پس از نمونه‌گیری با رعایت تمهیدات لازم نظیر شرایط پایداری متغیرهای مورد آزمایش و رعایت اصول ایمنی، در دمای اتاق (مگر در موارد خاص که نیاز به زنجیره سرد دارد) به آزمایشگاه منتقل شوند. در صورتی که نتوان در محدوده زمانی فوق، نمونه خون را ارسال نمود باید پس از جداسازی سرم و پلاسما، آن را در دمای 2°C - 8°C نگهداری و با رعایت پایداری نمونه به آزمایشگاه ارسال کرد.

* دریافت نمونه

نمونه خون پس از دریافت و کامل شدن مرحله لخته، جهت سانتریفیوژ آماده می‌گردد. در صورتی که خون در لوله فعال‌کننده لخته جمع‌آوری شده باشد در طی مدت ۵-۳۰ دقیقه پس از نمونه‌گیری می‌تواند سانتریفیوژ گردد. نمونه در لوله حاوی ماده ضد انعقاد سریعاً قابل سانتریفیوژ می‌باشد.

جهت اندازه‌گیری بعضی متغیرها در خون نظیر سرب، سیکلوسپورین و هموگلوبین گلیکوزیله، خون کامل مورد استفاده قرار می‌گیرد. ولی اگر نمونه اشتباهاً سانتریفیوژ شود مشکلی ایجاد نشده و می‌توان آن را با همان شرایط به بخش مربوطه ارسال نمود.

نمونه‌هایی که باید در شرایط سرما نگهداری شوند (2°C - 8°C) تا آماده شدن جهت سانتریفیوژ باید در این درجه حرارت باقی بمانند. سانتریفیوژ یخچالدار در این خصوص پیشنهاد می‌گردد.

* معیارهای رد نمونه خون

•• مشخصات ناکافی از بیمار یا نوع آزمایش (نظیر عدم وجود برچسب یا برچسب با اطلاعات ناقص)

•• حجم ناکافی

•• نشت نمونه به خارج از ظرف

•• استفاده از لوله نامناسب جمع‌آوری نمونه

•• ضد انعقاد نامناسب (مثلا فلوراید سدیم در اندازه‌گیری اوره با روش اوره‌آز تداخل می‌کند)

•• ترتیب نادرست جمع‌آوری نمونه در صورتی که در طی یک بار نمونه‌گیری از لوله‌های متعدد خلاء استفاده شود.

•• وجود همولیز یا لیپمی

•• نگهداری و انتقال نمونه در دمای نامناسب

•• وجود لخته در نمونه‌های جمع‌آوری شده با ماده ضد انعقاد

•• عدم تطابق برگه درخواست آزمایش با نوع نمونه و مشخصات آن

• مرحله سانتریفیوژ

همان‌طور که ذکر شد استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی‌گردد. در صورت استفاده باید احتیاط لازم برای جلوگیری از ایجاد همولیز و تولید آئروسل صورت گیرد. همچنین باید در تمام مراحل جداسازی نمونه، رعایت اصول ایمنی و استفاده از وسایل حفاظت فردی صورت گیرد. قابل ذکر است که درب لوله‌ها در طی سانتریفیوژ حتما باید بسته باشد.

امروزه با تنوع سانتریفیوژها از نظر قسمت گردان (Rotor)، سر (Head)، شعاع موثر و قطر داخلی دیگر از اصطلاح (Round Per Minute) استفاده نمی‌شود و نیروی نسبی سانتریفیوژ (Relative Centrifugal Force) یا RCF جایگزین آن شده است.

$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times (RPM)^2$$

r: شعاع گردان (سانتی متر)

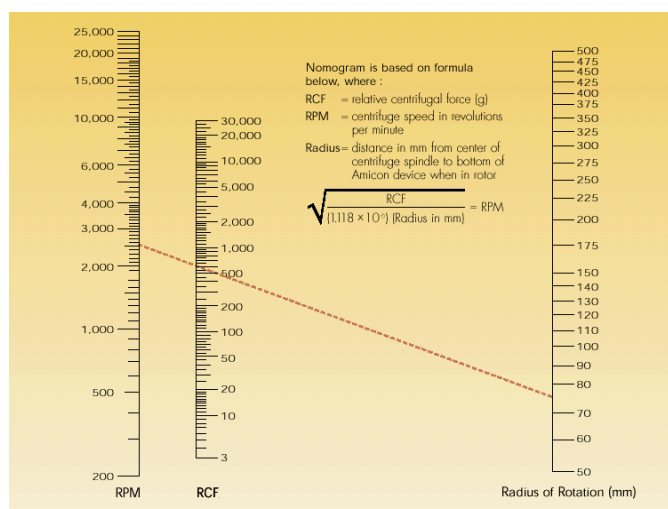
شعاع موثر بیشترین فاصله افقی از محور گردان تا انتهای مایع موجود در لوله می‌باشد.

RPM: سرعت گردان (تعداد دور در دقیقه)

می‌توان برای محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ به‌جای استفاده از فرمول بالا با استفاده از نمودار ۳-

۱ سانتریفیوژ با توجه به شعاع و میزان دور سانتریفیوژ، نیروی نسبی سانتریفیوژ را به‌دست آورد.

نمودار ۳-۱: نمودار تعیین نیروی نسبی سانتریفیوژ به کمک شعاع و میزان دور (PPM)



برای مطالعه بیشتر به دستورالعمل فنی سانتریفیوژ مراجعه شود.

قابل ذکر است جهت برخی فاکتورها که به دما حساس هستند، باید از سانتریفیوژهایی که دمای آنها قابل کنترل است استفاده نمود. به طور مثال ترکیباتی نظیر ACTH و cAMP به گرما حساس هستند و انتقال و سانتریفیوژ آنها نیز باید در دمای 4°C صورت گیرد.

نکته: در صورتی که اندازه گیری پتاسیم هم به همراه ترکیباتی که حساس به دما هستند درخواست شده باشد باید توجه نمود که نمونه مذکور سریعاً از سانتریفیوژ خارج شود (دمای پایین تر از 15°C سبب افزایش کاذب پتاسیم پس از ۲ ساعت می گردد). لازم به ذکر است جهت اندازه گیری پتاسیم نمونه نباید بیش از یک بار سانتریفیوژ گردد.

* زمان مورد نیاز جهت سانتریفیوژ نمونه

- تهیه سرم و پلاسما: نمونه در ظرف در پوشدار باید به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در 1000g - 1200g سانتریفیوژ شود. در صورتی که آزمایش تا ۴ ساعت بعد از جداسازی سرم انجام نگیرد، سرم یا پلاسما باید در دمای 4°C - 6°C نگهداری گردد.
- تهیه پلاسما جهت آزمون های انعقادی: نمونه در ظرف در پوشدار باید به مدت ۱۵ دقیقه در 1500g سانتریفیوژ گردد.

• مرحله پس از سانتریفیوژ

➤ نگهداری نمونه

پلاسما و سرم حداکثر تا ۸ ساعت پس از جداسازی در دمای اتاق قابل نگهداری است. در صورتی که سنجش مورد نظر تا ۸ ساعت صورت نگیرد نمونه باید در یخچال نگهداری گردد.

در صورتی که امکان انجام آزمایش تا ۴۸ ساعت مقدور نباشد یا در صورت نیاز به نگهداری طولانی تر، سرم یا پلاسما باید در دمای 20°C - نگهداری شود.

نکته: باید از آب شدن و یخ زدن مکرر نمونه های فریز شده جدا پرهیز گردد، زیرا این امر سبب از بین رفتن بعضی ترکیبات در سرم یا پلاسما می شود. استفاده از فریزرهای بدون برفک نیز جهت نگهداری نمونه پیشنهاد نمی گردد.

در صورت استفاده از مواد آنتی گلیکولیتیک (نظیر فلوراید) گلوگز پلاسما تا ۲۴ ساعت در دمای 25°C و تا ۴۸ ساعت در دمای 2°C -۸ پایدار می ماند. (حتی در صورت عدم جداسازی پلاسما از سلول ها) قابل ذکر است در صورتی که گلبول های قرمز، پلاکت و گلبول های سفید نمونه بالاتر از حد طبیعی باشند، اثر گلیکولیتیک این مواد کاهش می یابد. به دلیل مشکل بودن مهار گلیکولیز در نوزادان، باید پلاسما در اسرع وقت از سلول ها جدا گردد.

➤ در صورت استفاده از لوله های جمع آوری خلاء دارای ژل جداکننده همراه با افزودنی یا فعال کننده لخته، باید ملاحظات زیر صورت گیرد:

•• به محض جمع آوری خون جهت سرعت بخشیدن، تکمیل عمل لخته شدن و روند ضد انعقاد، لوله ها باید ۱۰-۵ بار تکان داده شوند.

•• نیروی نسبی سانتریفیوژ و زمان لازم جهت جداسازی سرم یا پلاسما بسته به کارخانه سازنده ممکن است متفاوت باشد.

•• به طور کلی می توان سرم را در لوله های مچتوی ژل تا ۴۸ ساعت در دمای 4°C نگهداری نمود، ولی باید قوام ژل به طور چشمی نیز بررسی گردد.

از لوله‌های جمع‌آوری خون حاوی ژل جداکننده جهت اندازه‌گیری میزان پروتسترون، داروهای سه حلقه‌ای ضدافسردگی، اندازه‌گیری سطح دارویی و آزمون‌های ایمنوهماتولوژی (بانک خون) نباید استفاده شود.

اسمیر خون محیطی

تهیه گستره خون محیطی باید توسط کارکنان آموزش دیده صورت گیرد. تهیه گستره با استفاده از نمونه تهیه شده از نوک انگشت، پاشنه پا یا نمونه همراه با ماده ضد انعقاد EDTA صورت می‌گیرد. در صورت استفاده از نمونه همراه با ماده ضد انعقاد، باید گسترش خون محیطی حداکثر تا یک ساعت پس از نمونه‌گیری تهیه گردد.

• گسترش ضخیم

- ۱- بند اول انگشت سوم یا چهارم در بزرگسالان و یا پاشنه پا در نوزادان (مراجعه به نمونه‌گیری مویرگی) ضد عفونی شده و با لانست یک‌بار مصرف موضع سوراخ می‌گردد.
- ۲- یک یا دو قطره خون را با مرکز لام مماس می‌کنیم، باید توجه شود که لام با پوست تماس پیدا نکند.
- ۳- با گوشه یک لام دیگر یا اپلیکاتور قطره خون را به‌طور یکنواخت پخش کرده تا دایره‌ای به قطر حدود ۱ سانتی‌متر ایجاد شود. گسترش باید به سرعت و با ضخامت یکنواخت تهیه گردد.
- ۴- لام را در وضعیت افقی قرار داده تا در حرارت محیط (25°C) خشک شود. برای تسریع در عمل خشک شدن نباید از شعله یا منبع دیگر حرارتی استفاده نمود.

نکته:

- ضخامت گسترش باید به گونه‌ای باشد که نوشته‌های روزنامه از زیر آن به سختی خوانده شود.
- گسترش ضخیم نباید به وسیله مواد تثبیت‌کننده ثابت گردد.
- گسترش ضخیم ممکن است از باقی‌کوت نیز تهیه گردد (با استفاده از نمونه خون در ماده ضد انعقاد)

• گسترش نازک

- ۱- یک قطره خون (حدود ۰/۰۵ میلی‌لیتر) به فاصله حدود ۲ سانتی‌متر از انتهای لام قرار داده شود. باید توجه شود که لام با پوست دست بیمار تماس پیدا نکند.
- ۲- لام بر روی سطح افقی و صاف قرار داده می‌شود.
- ۳- با یک لام تمیز دیگر (ترجیحا لام صیقلی) با زاویه 40°C - 45°C با حرکت سریع بر روی قطره خون موجود بر روی لام اول کشیده شود (نظیر تهیه گسترش خون در آزمون CBC).
- ۴- گسترش باید سریعا در حرارت محیط خشک شود.
- ۵- گسترش خشک شده باید در محلول متانول به مدت چند ثانیه تثبیت گردد.
- ۶- گسترش نازک باید به گونه‌ای تهیه شود که در یک انتها ضخیم و در انتهای دیگر به حدی نازک باشد تا گلبول - های قرمز با هم همپوشانی نداشته باشند.

نکته:

- باید از لام شیشه‌ای تمیز، بدون گرد و غبار و عاری از چربی استفاده نمود. علت ایجاد ناهمواری و یا حفراتی در گسترش چرب بودن لام یا کثیف بودن یا ناهموار بودن لبه لام دوم می‌باشد.
- هر دو گسترش نیز می‌تواند بر روی یک لام تهیه گردد، در این صورت باید فضایی بین دو گسترش وجود داشته باشد به - طوری که بتوان گسترش نازک را بدون آن که گسترش ضخیم را متاثر سازد تثبیت نمود.
- مشخصات بیمار باید با مداد سربی یا مازیک غیر قابل شست‌وشو در ناحیه ضخیم گسترش نازک نوشته شود.

•• برای تسریع در عمل خشک شدن می‌توان از پنکه استفاده نمود (نباید از شعله یا منابع دیگر حرارتی استفاده شود).

•• در مناطقی که رطوبت بالا است استفاده از گرمخانه 25°C جهت خشک نمودن لام‌ها پیشنهاد می‌گردد.

ادرار

نمونه ادرار برای بررسی‌های شیمیایی، سلول‌شناسی و میکروب‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نحوه نمونه‌گیری و ظروف جمع‌آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه می‌باشد. نمونه ادرار باید در ظرف تمیز دهان گشاد با قطر حداقل ۱۰ سانتی‌متر، با اندازه مناسب و غیر قابل نشست، جمع‌آوری گردد. بهتر است ظرف جمع‌آوری ادرار یک‌بار مصرف بوده و در غیر این صورت عاری از هرگونه آلودگی با مواد شوینده باشد. قابل ذکر است که نمونه ادرار نباید به مدفوع آلوده باشد. جهت کشت ادرار ظرف نمونه باید حتماً استریل باشد. برای نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه‌های ادراری استفاده شود.

جهت بررسی‌های معمول و میکروبیولوژیک نمونه ادرار باید حداکثر تا دو ساعت پس از جمع‌آوری (در دمای اتاق) مورد بررسی قرار گیرد. پس از این مدت ترکیبات شیمیایی ادرار تغییر کرده و عناصر تشکیل دهنده آن شروع به تخریب می‌کنند. سیلندرها، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید در نمونه‌های با وزن مخصوص پایین و PH قلیایی بسیار مستعد لیز هستند.

هنگامی که ارزیابی سلولی سدیمان ادراری مدنظر است باید مراحل آماده‌سازی ادرار هرچه سریع‌تر صورت گیرد. جهت تهیه رسوب ادرار باید نمونه در ظروف درپوشدار به مدت ۵ دقیقه در 400g سانتریفیوژ گردد.

در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی‌که نتوان نمونه را به سرعت به آزمایشگاه منتقل نمود و آزمایش کرد می‌توان آن را به مدت ۲۴ ساعت در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ نگهداری کرده و یا می‌توان از نگهدارنده‌های باکتریواستاتیک نیز استفاده نمود.

ظرف محتوی نمونه باید به‌درستی برچسب‌گذاری شود، اطلاعات مورد نیاز شامل: نام بیمار، زمان نمونه‌گیری، نام نگهدارنده، در موارد خاص ذکر نوع نمونه (کاتتر) می‌باشد. همچنین در صورتی‌که نمونه از محل دیگری ارسال

گردد باید نحوه نگهداری و زمان دریافت نیز ذکر گردد. حداقل حجم مورد نیاز جهت بررسی‌های معمول کمی و کیفی ادرار به‌طور متوسط ۱۲ میلی‌لیتر است، البته در اطفال و نوزادان ممکن است حجم کمتر نیز مورد بررسی قرار گیرد، ولی باید حتماً در برگه گزارش ذکر گردد.

• انواع مختلف جمع‌آوری ادرار و موارد استفاده آن

- ۱- ادرار اتفاقی جهت بررسی شیمیایی کیفی و نیمه کمی
- ۲- اولین ادرار صبحگاهی (ادرار ۸ ساعته) جهت بررسی اجزای سلولی، سیلندر و کست
- ۳- دومین ادرار صبحگاهی (۷-۱۰ صبح) جهت بررسی‌های کمی
- ۴- ادرار با زمان مشخص مثلاً ادرار ۲۴ ساعته جهت بررسی‌های کمی
- ۵- ادرار تمیز (ادرار میانی، کاتتر و سوپراپوبیک)

* ادرار اتفاقی

این نمونه جهت آزمون غربالگری روزمره مورد استفاده قرار می‌گیرد و در هر موقع از روز قابل جمع‌آوری می‌باشد، ولی زمان نمونه‌گیری باید روی ظرف درج گردد. بهتر است قبل از جمع‌آوری ادرار فرد چند ساعت ادرار خود را تخلیه نکرده باشد. برای این منظور اولین ادرار صبحگاهی به‌دلیل غلظت مناسب و PH پایین مناسب‌تر است.

* ادرار صبح‌گاهی (ادرار ۸ ساعته)

این نمونه معمولاً در اول صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد. این نمونه جهت بررسی پروتئین‌آوری اورتواستاتیک مناسب است. ابتدا شب قبل از خواب ادرار تخلیه شده و نمونه صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد. در صورت تخلیه ادرار در طول شب، باید در ظرف جمع‌آوری نمونه ریخته شود.

* ادرار زماندار

این نمونه در یک زمان مشخص در طول شبانه روز تهیه می‌گردد، مثلاً نمونه ناشتا، دو ساعت پس از غذا یا بلافاصله پس از ماساژ پروستات

* ادرار ۲۴ ساعته

به‌دلیل تغییرات دوره‌های ترشح مواد در ادرار، در بعضی مواقع نیاز است که ادرار ۲۴ جمع‌آوری گردد. به‌عنوان نمونه می‌توان از کاتکول آمین‌ها، ۱۷ هیدروکسی استروئید و الکترولیت‌ها نام برد که پایین‌ترین غلظت آن‌ها در صبح و بالاترین غلظت این ترکیبات در ظهر یا کمی پس از آن می‌باشد.

●● جمع‌آوری نمونه: ظرف نمونه باید پلاستیکی و دهان گشاد به گنجایش تقریبی ۳ لیتر باشد.

جهت جمع‌آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته ابتدا اولین ادرار صبحگاهی دور ریخته شده و در طی ۲۴ ساعت بعدی ادرار در ظرف نمونه‌گیری جمع‌آوری می‌شود به‌طوری که آخرین نمونه جمع‌آوری شده، اولین نمونه صبحگاهی روز بعد (در همان ساعت اولین نمونه تخلیه شده روز قبل) باشد.

بر روی برچسب روی ظرف محتوی نمونه علاوه بر نام و نام خانوادگی باید تاریخ، ساعت شروع و پایان نمونه‌گیری نیز یادداشت گردد و در صورت استفاده از ماده نگه‌دارنده درج نام ماده نیز ضروری است.

در طول مدت جمع‌آوری، ظرف نمونه باید در یخچال یا درون یخ نگه‌داری شود. ممکن است جهت ادرار ۲۴ ساعته از مواد نگه‌دارنده استفاده گردد که با توجه به خطر زیستی این مواد، باید هشدارهای لازم به بیمار داده شود.

* ادرار تمیز

جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی از نمونه ادرار تمیز استفاده می‌شود.

•• نحوه جمع‌آوری نمونه

بیمار ابتدا دست‌های خود را با آب و صابون شسته و سپس ناحیه تناسلی خود را با پنبه آغشته به آب و صابون تمیز می‌نماید، بخش اول ادرار را دور ریخته و بخش میانی ادرار را با رعایت شرایط استریل در درون ظرف جمع‌آوری ادرار می‌ریزد و سپس بقیه ادرار را دور می‌ریزد.

•• ادرار تهیه شده توسط کاتتر و فوق‌عانه (سوپراپوبیک) نیز از روش‌هایی هستند که جهت جمع‌آوری ادرار استریل در مواقع خاص و با درخواست پزشک تهیه می‌شوند.

•• جهت نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه جمع‌آوری ادرار استفاده نمود. در صورتی‌که بیمار در خواست کشت ادرار نیز داشته باشد، باید نواحی شرمگاهی و پرینه‌آل قبل از وصل کردن کیسه ادرار با آب و صابون شسته شود. قابل ذکر است که کیسه ادرار باید هر ۱۵ دقیقه کنترل شده و پس از جمع‌آوری، ادرار باید در ظرف دیگری نگهداری شود.

• مواد نگهدارنده ادرار

مواد نگهدارنده جهت نگهداری ادرار بیش از ۲ ساعت، بررسی ترکیبات ناپایدار در ادرار و پایداری نمونه جهت مطالعات میکروبیولوژیک کاربرد دارد.

نگهدارنده‌های رایج اسید استیک، اسید بوریک و اسید کلریدریک ۶ نرمال می‌باشند. این ترکیبات توکسیک بوده و دارای خطر زیستی می‌باشند. همچنین به دلیل امکان پاشیده شدن ادرار به هنگام تخلیه در ظرف، بهتر است ابتدا نمونه در ظرف دیگری جمع‌آوری شده و سپس به ظرف اصلی حاوی ماده نگهدارنده منتقل گردد.

➤ نگهداری و انتقال نمونه

- جهت انتقال نمونه باید درب ظرف کاملاً محکم باشد تا امکان نشت نمونه به خارج از ظرف و محیط اطراف به حداقل برسد (در صورت امکان جهت انتقال می‌توان ظرف نمونه را درون ظرفی دیگری قرارداد).
- نمونه ادرار باید در سریع‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و حداکثر در ظرف ۲ ساعت در دمای اتاق بررسی گردد. در غیر این صورت باید نمونه پس از جمع‌آوری در یخچال نگهداری شود (دمای ۸-۲ درجه)
- در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی که نتوان نمونه را به آزمایشگاه منتقل نمود و مورد بررسی قرارداد تمهیدات زیر باید صورت گیرد:
- •• نمونه را می‌توان به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰-۸ تا قبل از کشت نگهداری نمود.
- •• می‌توان قسمتی از نمونه ادرار را جهت بررسی‌های بیوشیمیایی در ظرف دیگری که حاوی نگهدارنده باکتریو استاتیک است، نگهداری نمود.

مدفوع

- مدفوع نمونه مناسبی جهت تشخیص عوامل پاتوژن مولد اسهال باکتریایی، ویروسی و انگلی است. نمونه-گیری در زمان مناسب (عوامل ویروسی تا ۴۸ ساعت و عوامل باکتریایی تا ۴ روز از زمان شروع اسهال)، نحوه انتقال نمونه و شرایط بیمار در هنگام نمونه‌گیری از عواملی هستند که رعایت آن‌ها در شناسایی عامل پاتوژن بسیار کمک‌کننده است. جهت جمع‌آوری نمونه مدفوع باید مواردی را در نظر داشت که به برخی از آن‌ها در زیر اشاره می‌گردد:
- •• بیمار نباید از ۱۵ روز قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک (نظیر تتراسایکلین و سولفانامید)، داروهای ضد تک‌تاخته، بیسموت، سولفات باریم، ترکیبات کائولین، روغن کرچک، هیدروکسید منیزیم یا هرگونه داروی ملین مصرف کرده باشد.
- •• تعداد دفعات نمونه‌گیری بر اساس درخواست پزشک می‌باشد.
- •• در صورت مشکوک بودن به عوامل باکتریایی سه نمونه در فاصله سه روز و در خصوص عوامل انگلی ۳ نمونه که در طول ۱۰ روز جمع‌آوری شده مناسب است.
- •• نباید در یک روز بیش از یک نوبت نمونه از بیمار گرفته شود.
- •• نمونه‌گیری در بیمارانی که بیش از سه روز بستری شده‌اند توصیه نمی‌شود.
- •• در نوزادان و اطفال می‌توان از سواپ رکتال در محیط انتقالی استفاده نمود ولی این کار معمولاً برای تشخیص ویروس‌ها و عوامل انگلی پیشنهاد نمی‌شود.

• نمونه‌گیری جهت عوامل باکتریایی مولد اسهال

* نمونه مدفوع: حداقل ۵ گرم مدفوع باید در ظرف در پیچ‌دار تمیز، عاری از مواد ضدعفونی‌کننده و یا شوینده جمع‌آوری گردد.

* سواپ مقعدی: سواپ را با فروبردن در محیط انتقالی سترون، مرطوب کرده به اندازه ۲-۳ سانتی‌متر در داخل اسفنگتر رکتوم فرو برده و بچرخانید. سواپ را بیرون کشیده پس از اطمینان از آغشتگی به مدفوع، سریعاً به داخل محیط انتقال (کری بلر) فرو برید. سپس لوله‌های انتقال را در یخچال یا یخدان قرار دهید.

در موارد اسهال ناشی از باکتری‌های مهاجم مانند شیگلا، ساییدن سواپ به مخاط انتهایی روده جهت جمع‌آوری نمونه بسیار مهم است.

* سواپ مدفوع: در صورت لزوم به نگهداری نمونه مدفوع بیش از ۲ ساعت، مقدار اندکی از مدفوع و هرگونه بلغم یا تکه‌های مخاط پوششی روده را با فروکردن سواپ سر پنبه‌ای یا سر پلی‌استری به درون مدفوع سریعاً به لوله حاوی محیط انتقالی تلقیح کنید و در یخچال یا یخدان قرار دهید.

• محیط‌های انتقالی

•• کری بلر: این محیط برای انتقال بسیاری از عوامل بیماری‌زا کاربرد دارد. این محیط نیمه جامد بوده، حمل و نقل آن آسان و پس از تهیه تا یکسال در دمای اتاق قابل نگهداری است (به شرطی که حجم آن کاهش نیافته، علایم آلودگی و تغییر رنگ در آن مشاهده نگردد).

•• آب پپتونه قلیایی (Alkalane Peptone Water=APW): این محیط را می‌توان را برای انتقال ویبریو استفاده نمود ولی این محیط نسبت به کری بلر برتری ندارد و فقط در صورت عدم دسترسی به محیط کری بلر باید مورد استفاده قرار گیرد (در صورتی که کشت بیش از ۶ ساعت از زمان نمونه‌گیری به تعویق بیافتد نباید از این محیط استفاده گردد). محیط فوق در دمای 4°C تا ۶ ماه قابل نگهداری است.

•• سالین گلیسرول بافره (Buffered Glycerol Saline=BGS): این محیط برای شیگلا مورد استفاده قرار می‌گیرد و برای انتقال ویبریو مناسب نمی‌باشد. این محیط مایع بوده، لذا در حمل آن باید دقت شود. همچنین تا ۱ ماه پس از تهیه قابل استفاده است.

➤ نگهداری:

•• نمونه‌های مدفوع حداکثر تا ۲ ساعت در یخچال قابل نگهداری است. نمونه‌هایی را که نمی‌توان به فاصله ۲ ساعت از نمونه‌گیری کشت داد، باید در محیط انتقالی قرار داده و سریعاً در یخچال نگهداری نمود.

•• محیط انتقالی حاوی سواپ مدفوع یا مقعد را می‌توان حداکثر ۴۸-۷۲ ساعت در دمای 4°C نگهداری کرد. در

غیر این صورت این محیط ترجیحاً در دمای (-70°C) و یا در صورت عدم دسترسی، در دمای (-20°C) می‌بایست

قرار داد (یا حداقل در فریزرهای خانگی نگهداری شود).
•• نمونه‌های مدفوع که از بیماران مبتلا به وبا گرفته می‌شود و در محیط انتقالی قرار می‌گیرد نیازی به نگهداری در دمای یخچال ندارند، مگر آن که نمونه‌ها در معرض دمای بالا (بیش از 40°C) قرار داشته باشند.

• نمونه‌گیری جهت عوامل انگلی

➤ جمع‌آوری نمونه

•• برای انجام این آزمایش حداقل ۵ گرم مدفوع در ظرف دهان گشاد در پیچ‌دار تمیز و خشک مورد نیاز است (در صورت آبکی بودن مدفوع معادل ۵ سی‌سی).
•• در صورتی که نتوان فاصله زمانی مناسب بین جمع‌آوری نمونه تا انجام آزمایش را رعایت نمود باید نمونه در ماده نگهدارنده جمع‌آوری شود (یک قسمت مدفوع و سه قسمت ماده نگهدارنده فرمالین ۱۰٪).

•• باید توجه داشت که بررسی خصوصیات ظاهری نمونه در نمونه تازه صورت می‌گیرد.
•• نمونه مدفوع نباید با گرد و خاک، آب و ادرار آلوده گردد، زیرا آلودگی اتفاقی با خاک و آب ممکن است باعث آلودگی نمونه با ارگانیسم‌های دارای زندگی آزاد شود. ادرار نیز سبب تخریب تروفوزوئیت‌ها می‌شود. ترجیحاً نباید نمونه از کاسه توالت جمع‌آوری گردد.
•• چون مرحله تروفوزوئیت تک یاخته خیلی زود از بین می‌رود، ثبت تاریخ و ساعت نمونه‌گیری ضروری است.

➤ نگهداری

•• نمونه باید هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در صورت تاخیر بیش از ۲ ساعت، نمونه در محل خنک (ترجیحاً در یخچال) نگهداری شود.

توجه: جهت آزمایش‌های شیمیایی (مانند خون در مدفوع) به ۵۰ گرم مدفوع نیاز می‌باشد.

مایع مغزی نخاعی (Cerebro-Spinal Fluid (CSF

جمع‌آوری مایع مغزی نخاعی توسط پزشک و به روش پونکسیون (Lumber نخاعی

Puncture=LP) و به صورت کاملاً استریل انجام می‌گیرد.

معمولاً مایع جهت آزمون‌های شیمیایی، میکروبیولوژیک و آنالیز سلولی در ۳ تا ۴ لوله جمع‌آوری می‌شود.

جهت آزمون‌های باکتری‌شناسی نمونه باید در لوله درپوشدار و استریل جمع‌آوری گردد. لوله‌ها بر اساس ترتیب جمع‌آوری برچسب‌گذاری می‌شوند (لوله شماره ۱ جهت آزمایش‌های بیوشیمیایی، لوله شماره ۲ جهت آزمایش‌های میکروب‌شناسی، لوله شماره ۳ جهت بررسی سلولی).

جهت جمع‌آوری نمونه نیازی به ماده ضد انعقاد نمی‌باشد زیرا مایع مغزی نخاعی لخته نمی‌شود، مگر آن که نمونه - گیری همراه با صدمه باشد (نمونه‌گیری تروماتیک).

الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی نخاعی در جدول ۳-۱ بیان شده است.

جدول ۳-۱: الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی - نخاعی

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز	ملاحظات
آزمون بیوشیمیایی (پروتئین، قند...)	-	۵-۳	لوله شماره ۱ در صورت نمونه‌گیری تروماتیک شمارش سلولی نیز از لوله شماره ۱ صورت می‌گیرد.
کشت و رنگ‌آمیزی گرم	-	۵-۳	لوله شماره ۲
شمارش سلولی و تشخیص افتراقی	-	۵-۳	لوله شماره ۳ یا ۴
سایر بررسی‌ها (سیتولوژی)	-	۵-۳	لوله شماره ۴

نمونه باید در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال گردد. دژنراسیون سلولی در طی یک ساعت اتفاق می‌افتد، لذا حداکثر زمان گردش کاری نباید بیش از ۱ ساعت به طول انجامد. نقل و انتقال نمونه در دمای اتاق صورت می‌گیرد. جهت آزمون‌های باکتریولوژیک نباید نمونه در یخچال نگهداری شود. از قرار دادن نمونه در معرض نور خورشید و گرما باید خودداری نمود. در صورت نیاز به حمل نمونه تا مسافت دور، استفاده از یخدان ضروری است. در این صورت نمونه تا ۳ ساعت پایدار می‌باشد. جهت نگهداری طولانی مدت، نمونه ابتدا سانتریفیوژ شده پس از جداسازی سلول‌ها، مایع - رویی در ظرف درپوشدار شیشه‌ای یا پلی‌پروپیلن در دمای (-70°C) قابل نگهداری است.

جهت مطالعات سیتولوژیک رسوب CSF باید بلافاصله پس از جمع‌آوری به وسیله سانتریفیوژ مخصوص (۲۰ دقیقه در ۱۸۰g) تهیه و به آزمایشگاه ارسال شود.

مایع سروز

مایعات سروزی نظیر مایع جنب و صفاقی را می‌توان در یک لوله جمع‌آوری و سپس در محل نمونه‌گیری یا آزمایشگاه به لوله‌های مختلف و با حجم‌های کمتر تقسیم نمود. قابل ذکر است که نمونه قبل از تقسیم و شمارش سلولی باید کاملاً مخلوط گردد.

ضد انعقاد پیشنهادی در خصوص شمارش و افتراق سلولی EDTA است. جهت شمارش و افتراق سلولی، نمونه‌ها تا ۲۴ ساعت در دمای 2°C تا 6°C قابل نگهداری هستند. در خصوص بررسی-های میکروبی نمونه باید در ظرف استریل جمع‌آوری گردد. جهت بررسی سیتولوژی ممکن است نمونه در حجم‌های متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردد (۱۵-۱۰۰ میلی-لیتر) ولی حجم پیشنهادی ۵۰ میلی‌لیتر است و نیاز به استفاده از لوله‌های استریل و ماده ضد انعقاد نیز نمی‌باشد. البته می‌توان از هپارین و EDTA هم استفاده کرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروز در جدول ۲-۳ بیان شده است.

جدول ۲-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروز

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز (میلی لیتر)
اندازه‌گیری پروتئین توتال، لاکتات دهیدروژناز، گلوکز و آمیلاز	هپارین یا بدون ضد انعقاد	۵-۸
کشت و رنگ‌آمیزی گرم	سدیم پلی سولفات (SPS) یا بدون ضد انعقاد یا ضدانعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۸-۱۰
شمارش سلولی (گلبول قرمز و سفید) و تشخیص افتراقی	EDTA	۸-۱۰
کشت باکتری اسید فست	SPS یا بدون ضد انعقاد یا ضد انعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۱۵-۵۰
رنگ آمیزی PAP- بلوک سلولی	بدون ضدانعقاد، هپارین یا EDTA	۱۵-۵۰

مایعات سروزی باید در اسرع وقت و در دمای اتاق به آزمایشگاه منتقل شوند. بررسی‌های سیتولوژی نیز باید هر چه سریع‌تر صورت گیرند، و در صورت نیاز می‌توان نمونه را در دمای 4°C و بدون ماده تثبیت کننده تا چند روز نگهداری نمود.

مایع سینوویال

حجم نمونه جهت بررسی‌های آزمایشگاهی بسته به اندازه مفصل و نوع مایع تجمع یافته در مفصل متفاوت است. معمولا حجم ۳-۵ میلی‌لیتر ایده‌آل است. در مفاصل کوچک ممکن است این مقدار نمونه قابل تهیه نباشد، لذا حجم کمتر نیز قابل قبول است. قابل ذکر است که نمونه قبل از بررسی‌های آزمایشگاهی باید به‌خوبی مخلوط گردد. در بعضی از مراجع ذکر شده که ضد انعقاد لیتیم هپارین و EDTA به‌دلیل ایجاد کریستال در نمونه و امکان اشتباه با کریستال‌های پاتولوژیک، نباید مورد استفاده قرار گیرد. نقل و انتقال نمونه باید در دمای اتاق صورت گیرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال در جدول ۳-۳ بیان شده است.

جدول ۳-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز (میلی‌لیتر)	ملاحظات
شمارش سلولی و تشخیص افتراقی، کریستال‌ها انکلوژیون‌ها	هپارین-EDTA	۳-۵	بر روی حجم کمتر (چندین قطره) نیز قابل انجام است
گلوکز پروتئین	فلوراید یا بدون ضد انعقاد بدون ضد انعقاد	۳-۵	ترجیحا ۸ ساعت ناشتایی
CH50	بدون ضد انعقاد	۳-۵	در صورت عدم انجام سریع آزمایش نمونه منجمد گردد.
C3, C4	بدون ضد انعقاد یا EDTA		نیاز به ۱ میلی‌لیتر نمونه است.
کشت	SPS، بدون ضدانعقاد یا ضد انعقاد بدون اثرباکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۳-۵	نیاز به لوله استریل است.

نمونه‌های دستگاه تنفسی

بهترین زمان جمع‌آوری نمونه در اکثر عفونت‌های تنفسی در طول ۳ روز اول ایجاد علائم بیماری می‌باشد. نمونه‌ها بسته به محل عفونت، از قسمت فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی جمع‌آوری می‌شوند. عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی فوقانی (ویروسی و باکتریایی) در نمونه‌های گرفته شده از قسمت نازوفارنژیال گلو و عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی تحتانی در نمونه خلط قابل بررسی هستند. کشت ارگانیس‌م‌هایی نظیر لژیونلا مشکل است لذا بهتر است که تشخیص بر اساس شناسایی آنتی‌ژن‌های جدا شده از ادرار باشد. در صورت شک به التهاب حاد اپیگلوت، نمونه‌گیری از گلو یا فارنژیال نباید صورت گیرد زیرا استفاده از این شیوه ممکن است سبب انسداد شدید تنفسی شود.

● دستگاه تنفسی فوقانی

●● نمونه برداری از گلو و لوزه ها

از بیمار خواسته می شود تا دهان خود را باز نماید و با آبسلانگ زبان وی را به پایین فشار داده، برای مشاهده نواحی ملتهب و اگزودا از چراغ قوه استفاده می شود. سواپ استریل داکرونی یا آلژینات کلسیم را چندین بار بر روی نواحی ملتهب و اگزودای حلق می کشیم. باید توجه شود که سواپ با سطح داخلی حفره دهانی تماس پیدا نکند. چنانچه سواپ در طی ۱-۲ ساعت پس از نمونه گیری مورد آزمایش قرار نگیرد در یک لوله استریل در پوشدار حاوی محیط انتقالی باکتریایی یا ویروسی قرار داده می شود (انتهای سواپ که با دست در تماس بوده باید شکسته شود و در پوش در جای خود قرار گیرد).

جهت تهیه گسترش مستقیم با سواپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه گیری صورت می گیرد.

●● نمونه برداری از انتهای بینی و نازوفارنکس

به وسیله یک سواپ انعطاف پذیر استریل وارد سوراخ بینی شده و از نازوفارنکس نمونه تهیه گردد. سر بیمار باید کمی به عقب برده شود. در افراد بالغ سواپ را حدود ۵-۶ سانتی متر وارد بینی کرده تا مطمئن شوید که سواپ وارد ناحیه خلفی فارنکس شده است، در همان وضعیت سواپ را چند ثانیه نگه داشته و سپس به آرامی بچرخانید. از هر سوراخ بینی دو سواپ گرفته می شود که یکی جهت گسترش مستقیم و دیگری جهت کشت استفاده می گردد.

□ آسپیراسیون نازوفارنکس

این روش در کودکان و نوزادان از سواپ راحت تر و کارآمدتر است. با کاتتر سیلیکون ترشحات را آسپیره نمایید.

● دستگاه تنفسی تحتانی

➤ روش جمع آوری خلط

یک نمونه خلط مناسب حاوی مواد ترشحاتی حاصل از ریه ها پس از سرفه عمیق است (نمونه حاوی آب دهان، ترشحات حلق و بینی مناسب نمی باشد).

●● زمان نمونه‌گیری

به دلیل این که تعداد باسیل سل دفع شده در زمان‌های مختلف متفاوت می‌باشد، آزمایش یک نمونه خلط برای تشخیص کفایت نمی‌کند و حتماً باید سه نمونه تهیه گردد. برای تهیه نمونه بیمار باید ناشتا باشد. در خصوص تعداد نمونه جمع‌آوری شده جهت سایر عوامل باکتریایی [۱] یک نمونه کفایت می‌کند ولی در صورت شک به وجود عوامل قارچی و عفونت مایکوباکتریوم سه نمونه جداگانه صبحگاهی مناسب می‌باشد.

نمونه اول: در اولین مراجعه بیمار به واحد درمانی تهیه می‌گردد و ظرف جهت نمونه‌گیری دوم نیز تحویل داده می‌شود.

نمونه دوم: خلط صبحگاهی که بیمار قبل از برخاستن از جای خود و به صورت ناشتا در منزل تهیه می‌نماید. نمونه سوم: خلط صبحگاهی که همزمان با مراجعه بیمار برای تحویل نمونه دوم از بیمار گرفته می‌شود.

نمونه باید در ظرف دهان گشاد از جنس پلاستیک قابل سوختن شفاف و محکم با قطر حدود ۵-۷ سانتی‌متر جمع-آوری گردد (نمونه داخل آن از نظر مقدار و کیفیت قابل رویت بوده و همچنین به راحتی سوزانده و معدوم گردد). جهت جلوگیری از نشت خلط از داخل ظرف به بیرون، باید از ظرف در پیچ‌دار استفاده نمود. در صورت عدم دسترسی به ظرف پلاستیکی با مشخصات فوق می‌توان از ظروف شیشه‌ای دهان گشاد در پیچ‌دار استفاده نمود (با رعایت اصول استریلیزاسیون).

➤ نحوه نمونه‌گیری

بیمار صبح ناشتا در فضای باز ابتدا یک نفس عمیق کشیده و با سرفه‌های عمیق خلط را درون ظرف (در حالی که ظرف نزدیک لب‌های بیمار قرار دارد) تخلیه می‌کند. سپس درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار می‌دهد. بهتر است حجم خلط بین ۳-۵ میلی‌لیتر باشد.

در صورتی که بیمار نتواند با سرفه کردن برای انجام آزمایش، نمونه خلط بدهد باید به روش زیر عمل شود:

بیمار روی تخت معاینه طوری بخوابد که صورت او رو به پایین بوده و سر او پایین‌تر از سینه قرار گیرد. سپس پس از دم عمیق نفس خود را نگه‌داشته با یک بازدم محکم خلط را خارج کند. این عمل باید تا تهیه نمونه کافی از خلط ادامه یابد.

➤ نگهداری: باید نمونه هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در غیر این صورت در محل خنک (ترجیحاً در یخچال) نگهداری شود.

●● همه نمونه‌های تنفسی به جز خلط، باید در محیط کشت انتقالی مناسب باکتری‌ها/ویروس‌ها منتقل گردند.

●● نمونه‌های باکتریایی تا مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و ویروس‌ها در محیط انتقالی مناسب در دمای 4°C -۸ قابل انتقال می‌باشند.

جمع آوری نمونه چشم

سواب‌ها و گسترش‌های قرنیه و ملتحمه نمونه‌های معمول جهت تشخیص کونژکتیویت حاد ناشی از عوامل باکتریایی و ویروسی می‌باشند. تمام نمونه‌های گرفته شده از ترشحات قرنیه و ملتحمه باید از نظر این که از چشم چپ یا راست تهیه شده، برچسب‌گذاری گردند. جهت جمع‌آوری این نمونه‌ها باید شرایط استریل رعایت گردد. قبل از نمونه‌برداری بیمار نباید دارو یا قطره‌های استفاده کرده باشد. قابل ذکر است که نمونه‌برداری از تراشه‌های قرنیه باید توسط پزشک متخصص چشم صورت گیرد.

روش جمع‌آوری سواب‌های ملتحمه

مراحل جمع‌آوری سواب‌های ملتحمه به شرح زیر است:

- ۱- پوست اطراف چشم را با یک ماده ضد عفونی‌کننده ملایم تمیز کنید.
- ۲- سواب استریل آلزینات کلسیم یا نخی را در سرم استریل مرطوب کرده و به‌طور دورانی بر روی ملتحمه بمالید.
- ۳- سواب را در لوله در پیچ‌دار حاوی محیط انتقالی مناسب قرار دهید.
- ۴- بر روی لوله مذکور علاوه بر نام بیمار، نوع نمونه و زمان جمع‌آوری نمونه نیز ذکر گردد.
- ۵- از سواب ملتحمه نیز دو گسترش بر روی یک لام تهیه می‌گردد. این کار بهتر است در محل نمونه‌برداری صورت گیرد. جهت شناسایی کلامیدیا مهم است که گسترش‌ها در محل نمونه‌برداری و قبل از انتقال تهیه شود. گسترش‌ها برچسب‌گذاری شده و نباید در دمای یخچال نگهداری شده یا منجمد گردند.

• نقل و انتقال نمونه

نمونه جهت شناسایی باکتری‌های پاتوژن در دمای محیط، در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند. نمونه جهت شناسایی ویروس‌های پاتوژن در دمای 2°C - 8°C در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند. گسترش‌های تهیه شده در هوا خشک شده و در دمای محیط در جعبه لام منتقل می‌شوند.

تهیه نمونه جهت کشت خون

ضروری است دقت بیشتری جهت ضد عفونی‌کردن محل نمونه‌گیری صورت گیرد. ابتدا موضع با الکل ۷۰٪ تمیز

شده سپس با محلول povidne-iodine ۱-۱۰٪ (یا کلرهگزیدین گلوکونات) ضد عفونی شده و پس از

خشک شدن موضع مجدداً جهت حذف ید و کلرهگزیدین با الکل تمیز می‌گردد. کلرهگزیدین گلوکونات جهت نوزادان دو ماهه و بزرگ‌تر و هم‌چنین بزرگسالان دارای حساسیت نسبت به ید پیشنهاد می‌گردد. به‌دنبال خون‌گیری

باید خون در عرض ۱ دقیقه به محیط کشت تلقیح شود. درب شیشه‌های کشت خون نیز باید قبل از تلقیح با الکل ۷۰٪ و سپس با محلول povidne-iodine ۱-۱۰٪ (بتادین) ضدعفونی گردد. محیط کشت تلقیح شده را چندین بار تکان داده، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و در انکوباتور ۳۵°C قرار داده شود.

• حجم خون مورد نیاز

- کودکان: حجم ۱-۳ میلی‌لیتر ختون کافی می‌باشد. این مقدار خون در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت خون رقیق می‌گردد.
- بزرگسالان: حجم خون جمع‌آوری شده به میزان ۵-۱۰ میلی‌لیتر است که در ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت خون رقیق می‌گردد.

• روش خنثی‌سازی عوامل ضد میکروبی در خون

با اضافه نمودن مهارکننده‌های شیمیایی نظیر سدیم پلی‌آنتول سولفانات (SPS) ۰/۰۲۵-۰/۰۵٪ به محیط کشت و رقیق‌سازی خون، ویژگی‌های باکتری‌سیدال خون و آنتی بیوتیک‌های احتمالی خنثی می‌گردد. قابل ذکر است که سدیم پلی‌آنتول سولفانات (SPS) فعالیت‌های ضد فاگوسیتی، ضد کمپلمانی، ضد انعقادی و ضد لیزوزمی دارد و اگر این ماده در مقادیر خیلی بالا استفاده شود، اثر مهارکنندگی در رشد میکروب‌ها خواهد داشت.

• کشت مجدد

شیشه‌های کشت خون را ظرف ۶-۲۴ ساعت (صرف نظر از وجود علائم رشد) کشت مجدد داده و سپس تا هفت روز هر روز بررسی کنید. هر نوع کدورت یا لیز گلبول‌های قرمز ممکن است نشانگر رشد میکروبی باشد و به‌طور حتم باید بلافاصله کشت مجدد انجام شود. قابل ذکر است که ممکن است علی‌رغم عدم وجود کدورت، رشد میکروبی وجود داشته باشد، لذا ضروری است در فواصل ۶-۲۴ ساعت اولیه بعد از تلقیح، راس ۴۸ ساعت و نیز در روز هفتم نیز کشت مجدد صورت گیرد.

- قبل از انجام کشت مجدد شیشه کشت خون باید چند بار تکان داده شود.
- جهت برداشت خون از محیط کشت، درپوش محیط کشت را با الکل و بتادین ضد عفونی کرده و حدود ۵/۰ میلی‌لیتر از نمونه را به محیط آگار انتخاب شده منتقل کنید.

نمونه‌برداری از مجاری ادراری تناسلی مردان

با دو سواپ استریل از ترشحات چرکی نمونه‌برداری کنید. یکی از سواپ‌ها جهت تهیه گسترش و دیگری جهت کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صورتی که ترشحاتی مشهود نباشد با سواپ نازک به اندازه ۲-۳ سانتی‌متر درون مجرا وارد شده و قبل از بیرون آوردن در مجرا چرخانده شود. در صورتی که آزمایش با تاخیر انجام گیرد، سواپ باید در محیط انتقالی نگهداری شود.

نمونه‌برداری از دهانه رحم - ترشحات واژن

جهت نمونه‌گیری ابتدا سرویکس با کمک اسپیکولوم که با آب گرم مرطوب شده مشاهده می‌شود (بدون استفاده از مواد Lubricant). قبل از نمونه‌گیری باید تمامی ترشحات از دهانه خارجی رحم پاک

شود. با یک سوآپ استریل تا حدود ۲-۳ سانتی متر درون دهانه رحم وارد شده و چند ثانیه در محل چرخانده شود تا ترشحات جذب سوآپ گردد سپس بدون تماس با سطح واژن سوآپ باید خارج شده و در لوله درپوشدار استریل قرار گیرد. سوآپ باید فوراً در محیط کشت مناسب کشت داده شود و یا به کمک محیط انتقالی به آزمایشگاه ارسال گردد. جهت تهیه گسترش مستقیم با سوآپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه گیری صورت می گیرد.

ترشحات واژن با استفاده از اسپیکولوم (بدون استفاده از مواد Lubricant) و سوآپ استریل از فورنیکس خلفی گرفته می شود. نمونه با سه سوآپ گرفته می شود، یکی را جهت تهیه گسترش مرطوب در لوله درپوشدار محتوی سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و دو تای دیگر جهت کشت و تهیه گسترش مستقیم مورد استفاده قرار می گیرند.

در صورت مشکوک بودن به نایسریا نمونه پس از تهیه سریعاً در دمای اتاق به آزمایشگاه ارسال می شود. سوآپ های آلژینات کلسیم و بعضی سوآپ های پنبه ای مهار کننده نایسریا بوده، لذا بهتر است از سوآپ داکرون یا ریون استفاده شود.

جمع آوری نمونه جهت ضایعات پوستی

در اکثر ضایعات پوستی تشخیص ممکن است بر اساس مشاهده ظاهری و تاریخچه ی بیماری بدون جمع آوری نمونه های تشخیصی صورت گیرد. در مشاهده ظاهری ضایعه، نکات مهمی از قبیل نوع ضایعه پوستی (اریتماتوس، ماکولار، پاپولار، ماکولوپاپولار، وزیکولار، بولوس، پتشیال، پورپوریک و غیره) و نحوه پراکندگی آناتومیک ضایعه (مرکزی، محیطی منتشر و غیره) باید در نظر گرفته شود. در مواردی با تشخیص نامعلوم، غیرمعمول و نادر ممکن جمع آوری نمونه از راش ها یا ضایعات پوستی نیاز باشد. در موارد راش های وزیکولار، نمونه ها جهت بررسی میکروسکوپی و کشت نمونه مستقیماً از وزیکول ها تهیه می گردد. در خصوص سایر ضایعات اگزانتوماتو (ماکولار یا پاپولار) ممکن است تشخیص بیشتر بر پایه سایر روش ها، نظیر کشت خون و سرولوژی صورت گیرد. در موارد مشکوک به آنتراکس پوستی یا ضایعات خیارکی ممکن است نمونه ها از زخم های پوستی و همچنین نمونه برای کشت خون تهیه شود.

• روش جمع آوری

* راش‌های وزیکولو - پوستولار (جهت تشخیص عفونت‌های ویروسی)

زخم یا وزیکول تازه و رسیده را با اتانول ۷۰٪ تمیز نمایید.
وزیکول: سرنگ توپرکولین با سوزن ۲۶-۲۷ را در حالی که سر سوزن آن به سمت بالا قرار دارد، در پایه وزیکول وارد کنید.

مایع را آسپیره نموده و سریعاً و با دقت به داخل ظرف حاوی ۱-۲ میلی‌لیتر محیط انتقال ویروسی تخلیه نمایید (یک‌بار سرنگ را با محیط انتقالی شست‌وشو دهید).

زخم: پوسته زخم را بالا آورده و به کمک سواب استریل داکرونی بر روی پایه زخم بمالید (سواب آلژینات کلسیم نباید استفاده شود). سپس سواب به سرعت در ظرف حاوی محیط انتقال قرار گیرد. تهیه گسترش: پایه زخم به کمک اسکالپل یا کورت تراشیده شده و سوسپانسیونی از ضایعات در دو تا سه قطره از محیط انتقالی تهیه نمایید. از سوسپانسیون فوق دو تا سه قطره بر روی لام بگذارید. پس از خشک شدن در هوا در استون سرد فیکس نمایید.

* نمونه کبره

•• به وسیله لانت و فورسپس یک‌بار مصرف، کبره‌ها را از محل خودش جدا نمایید.
•• ۵-۱۰ لایه کبره را برداشته و در ظرف پلاستیکی در پیچ‌دار قرار دهید.

•• اگر مشکوک به آنتراکس جلدی هستید، مایع وزیکولی زیر محل زخم نمونه تشخیصی بهتری نسبت به تکه‌های زخم می‌باشد.

* آسپیراسیون آبسه‌ها

•• آسپیراسیون آبسه فقط باید توسط پزشک صورت گیرد.
•• پوست روی آبسه/خیارک بوسیله ایزو پروپیل الکل ۷۰٪ ضد عفونی شده و مایع به وسیله آسپیراسیون توسط سرنگ استریل جمع آوری می‌گردد.
•• نمونه را به طریق آسپتیک به لوله استریل حاوی محیط انتقالی منتقل کنید.

• انتقال نمونه

نمونه‌ها جهت بررسی باکتریولوژیک باید در محیط آستوارت یا آمیس و سواب‌های مشکوک به عوامل ویروسی در محیط انتقالی ویروس منتقل گردد.
در صورتی که نتوان نمونه‌ها را تا مدت ۲ ساعت بررسی نمود، نمونه‌های باکتریایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قابل نگهداری هستند. نمونه‌ها جهت جداسازی عوامل ویروسی در محیط انتقالی مناسب در دمای ۴-۸°C قابل نگهداری بوده و در اسرع وقت باید به آزمایشگاه منتقل گردد.

نگهدارنده‌ها، ضد انعقادها و مواد افزودنی

مواد نگهدارنده جهت نمونه‌های خون، ادرار، مغز استخوان، مدفوع و مایعات بدن استفاده می‌گردند.

• ضد انعقادهای رایج جهت نمونه خون

ضد انعقادهای رایج مورد استفاده جهت نمونه خون شامل موارد زیر می‌باشند:

• اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، سیتрат سدیم، هپارین، سدیم پلی سولفانات (SPS)، فلوراید سدیم و اسید سیترات دکستروز (ACD) می‌باشد.

اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) که به اشکال نمک‌های سدیم و پتاسیم و لیتیم موجود است. مورد استفاده آن در بخش‌های خون‌شناسی، بیوشیمی و بانک خون می‌باشد. جهت شمارش سلول‌های خونی و تشخیص افتراقی نمک پتاسیک آن توصیه می‌گردد.

• سیترات سدیم جهت آزمون‌های انعقادی و سرعت رسوب گلبولی کاربرد دارد.

• هپارین به فرم نمک‌های لیتیم و سدیم در اندازه‌گیری بسیاری از پارامترهای خون و بررسی‌های ایمونولوژیک به همراه آزمون مقاومت گلبولی کاربرد دارد.

• فلوراید سدیم جهت اندازه‌گیری گلوکز کاربرد دارد.

• سدیم پلی سولفانات به‌عنوان ضد انعقاد جهت شیشه‌های کشت خون استفاده می‌گردد.

• اسید سیترات دکستروز به‌عنوان ماده ضد انعقاد در کیسه‌های خون در انتقال خون کاربرد دارد.

• نگهدارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع

انواع نگهدارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع به شرح زیر می‌باشد:

• جهت کشت ادرار و شمارش کلنی اسید بوریک مناسب می‌باشد. با استفاده از نگهدارنده نمونه ادرار تا ۲۴ ساعت در دمای اتاق جهت بررسی باکتریولوژیک قابل نگهداری است.

• نمونه مدفوع جهت کشت عوامل باکتریایی را در صورتی که نتوان سریعاً به آزمایشگاه ارسال نمود تا ۲ ساعت در دمای 4°C قابل نگهداری است، در غیر این‌صورت نمونه‌ها را می‌توان در محیط‌های نگهدارنده و انتقالی نظیر استوارت، آمیس و کری‌بلر منتقل نمود. در بعضی مواقع می‌توان با اضافه نمودن زغال به محیط استوارت و آمیس اسیدهای چرب موجود در سواب‌های پنبه‌ای، که بازدارنده ارگانسیم‌های سخت رشد نظیر نایسریا گونوره و بوردتلا پرتوسیس می‌باشند را جذب نمود.

• مدفوع از نظر توکسین کلستریدیوم دیفیسیل باید بدون مواد نگهدارنده جمع‌آوری گردد و این نمونه تا ۴۸ ساعت در دمای 4°C قابل نگهداری است. در صورت تاخیر بیشتر، نمونه باید در دمای 70°C - نگهداری گردد.

است، پولی وینیل ۱۰٪/ نگهدارنده مناسب جهت تخم انگل، تروفوزیت و کیست تک یاخته

• مواد ضد انعقاد در بررسی های میکروبیولوژی

جهت جلوگیری از ایجاد لخته در نمونه های خون، مغز استخوان و مایع سینوویال از مواد ضد انعقاد استفاده می شود. باند شدن میکروارگانیسم ها به لخته، شناسایی آن ها را مشکل می سازد، لذا استفاده از ضد انعقاد ضروری است. انتخاب نوع و غلظت ضد انعقاد به دلیل اثر ضد میکروبی بعضی از آن ها از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) معمول ترین ضد انعقاد مورد استفاده جهت نمونه های میکروبی می باشد. غلظت مورد استفاده نباید بیشتر از ۰/۰۲۵ (وزنی/حجمی) باشد. گونه های نایسریا و بعضی باکتری های بی هوازی به غلظت های بالای سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) حساس هستند. نسبت نمونه به ضد انعقاد سدیم پلی آنتول سولفات بسیار مهم است، لذا لازم است حجم های متفاوت از ضد انعقاد در لوله با سایز بزرگ (جهت نمونه بزرگسال) و

کوچک (نمونه اطفال) و همچنین جهت مقادیر کم ارگانیسم در نمونه های مغز استخوان و مایع سینوویال (جهت موجود باشد).

•• هپارین دیگر ماده ضد انعقاد متداول می باشد و اغلب جهت کشت ویروسی و جداسازی گونه مایکوباکتریوم از خون مورد استفاده قرار می گیرد. البته هپارین مهارکننده رشد باکتری های گرم مثبت و قارچ هاست.

سیترات سدیم و EDTA جهت نمونه های میکروبیولوژیک نباید مورد استفاده قرار گیرد.

نگهداری نمونه

در صورتی که نتوان نمونه ها را در اسرع وقت پس از دریافت نمونه مورد بررسی قرار داد، باید آن ها را در شرایط مناسب نگهداری کرد. دماهای متفاوت مورد استفاده، دمای اتاق (22°C)، دمای یخچال (4°C)، دمای بدن (37°C) و دمای فریزر (20°C یا -70°C) می باشند که بسته به نوع محیط انتقالی (در صورت استفاده) و عامل اتیولوژیک عفونت متفاوت است.

بعضی نمونه ها نظیر ادرار، مدفوع، نمونه جهت بررسی عوامل ویروسی، خلط، سواب ها (به غیر از عوامل بی هوازی)، وسایل خارجی نظیر کاتتر را می توان در دمای 4°C نگهداری نمود.

•• پاتوژن هایی که به سرما حساسند باید در دمای اتاق نگهداری شوند. این عوامل ممکن است در نمونه هایی که حاوی باکتری های بی هوازی بوده و همچنین در اکثر مایعات استریل بدن، نمونه های ژنیتال، سواب گوش و چشم نیز موجود باشند.

•• سرم جهت بررسی های سرولوژیک تا یک هفته در دمای 20°C قابل نگهداری است.

•• نگهداری طولانی مدت بافت ها یا نمونه ها در دمای -70°C صورت می گیرد.

•• مایع مغزی نخاعی در صورتی که سریعاً مورد بررسی قرار نگیرد تا ۶ ساعت در دمای 35°C قابل نگهداری است. جدول ۳-۴ شرایط نگهداری نمونه های مختلف را نشان می دهد.

جدول ۳-۴: شرایط نگهداری نمونه

دمای اتاق (۲۲-۲۶°C)	دمای ۴°C
آبسه- زخم- ضایعه	نوک کاتتر (IV)
مایعات بدن	مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی ویروس
مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی باکتری	گوشت خارجی
گوشت داخلی	مدفوع (بدون نگهدارنده)
مدفوع (با ماده نگهدارنده)	مدفوع جهت توکسین کلستریدیوم دیفیسیل تا ۳ روز (بیشتر از ۳ روز نگهداری در ۷۰°C-)
تناسلی	خلط
بینی- نازوفارنکس - گلو	ادرار (بدون نگهدارنده)
بافت	
ادرار (با ماده نگهدارنده)	

موارد رد نمونه

موارد رد نمونه به شرح زیر بیان می‌گردد:

- عدم هم‌خوانی اطلاعات برگه درخواست آزمایش و برچسب روی نمونه
 - استفاده از محیط انتقالی نامناسب
 - جمع‌آوری نمونه در ظرفی که دارای نشت است
 - نمونه ناکافی
 - زمان انتقال بیش از ۲ ساعت در نمونه‌های بدون مواد نگهدارنده
 - انتقال نمونه در دمای نامناسب
 - خشک شدن نمونه
 - دریافت نمونه در محلول فیکساتیو نظیر فرمالین (نمونه مدفوع مستثنی می‌باشد)
 - درخواست کشت بی‌هوازی بر روی نمونه‌هایی که باکتری‌های بی‌هوازی فلور طبیعی آنهاست. (مثل واژن، دهان)
 - نمونه حاصل از کاتتر فولی
 - بیش از یک نمونه با یک منشا از یک مریض در همان روز (به‌غیر از موارد کشت خون)
 - نمونه سواپ با درخواست‌های متعدد برای ارگانیزم‌های مختلف
 - نمونه خلط که در رنگ‌آمیزی گرم کمتر از ۲۵ سلول سفید و بیش از ۱۰ سلول اپی‌تلیال در بزرگ نمایی پایین داشته باشد.
- در جدول ۳-۵ تحت عنوان مدیریت نمونه و راهنمای برخورد با آن به‌طور خلاصه مباحث این فصل بیان گردیده است.

منابع:

۱. Baron EJ. Specimen collection, transport and processing: Bacteriology. In: Manual of Clinical Microbiology, ۱۱th ed, Jorgensen JH, Pfaller NA, Carroll KC, et al (Eds), American Society for Microbiology, Washington 2۰۱۵. p.2۷۰.
2. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2۰۱۳ recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2۵۷; ۰۱۳: e22
۳. محیط های کشت آزمایشگاهی (موارد مصرف و کنترل کیفی) به انضمام اطلس رنگی محیط های کشت؛ گردآوری و ترجمه مهناز صارمی، محمدعلی صارمی؛ آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی؛ 1387
4. W. Procop, Deirdre L. Church, Geraldine S. Hall, William M. Janda, Elmer. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, Seventh edition. Lippincott Williams & Wilkins, [2017].
5. Leber, Amy L. Clinical microbiology procedures handbook. Department of Laboratory Medicine, Nationwide Children's Hospital, Columbus, Ohio. ۴th edition. Washington, DC: ASM Press, [2016]
۶. Patricia M. Tille. BAILEY & SCOTT'S DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY. South Dakota State University Brookings, South Dakota Thirteen edition. Copyright © [2۰۱۴] by Mosby.