

خلیل گلستانی گیگلو، کارشناس علوم آزمایشگاهی، شبکه بهداشت و درمان پارس آبادمعان، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
ایوب رضایی، کارشناس علوم آزمایشگاهی، شبکه بهداشت و درمان پارس آبادمعان، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
نسیم کریموند خیروی، کارشناس پرستاری، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
رفعت موحد، کاردان مامایی، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

روش های تهیه نمونه های میکروب شناسی و انتقال آنها

یکی از مهم ترین وظایف هر کادر بهداشتی و درمانی دقت در تهیه، نگهداری و حمل و نقل نمونه ها به آزمایشگاه است. نمونه برداری های وابسته به مایعات استریل بدن به غیر از خون و آبسه ها و زخم های عمقی توسط پزشک متخصص انجام می گیرد و انتقال این نمونه ها باید بعد از تهیه هرچه زودتر به آزمایشگاه میکروبی شناسی انجام شود. برای نمونه، نمونه ی مایع مغزی نخاعی نباید در یخچال گذاشته شود، زیرا مننگوکوک بسیار به سرما حساس است و از بین می رود. نمونه برداری از مجاری ادراری، گلو، حلق و زخم های باز دارای ترشحات، باید با میکروب شناس انجام شود.

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

۶- 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- 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.

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 در محیط کشت خون تلقیح شود.

۱۶- شیشه‌های کشت خون تلقیح شده نبایستی در یخچال نگهداری شود و باید بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و در انکوباتور قرار داده شود.

تهیه نمونه برای کشت ادرار

توصیه های پیش از نمونه گیری برای کشت ادرار

- ۱- 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.
- ۲- نیازی به محدودیت غذایی پیش از انجام آزمایش نیست.
- ۳- بهترین نمونه برای تشخیص عفونت های ادراری نخستین نمونه ادرار صبحگاهی است.
- ۴- پیش از نمونه‌گیری، 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.
- ۵- دست های خود را با آب و صابون شسته و به خوبی با دستمال کاغذی خشک کنید.

شستشوی اندام تناسلی بانوان

با یک دست چین های پوستی دستگاه تناسلی را از هم باز کرده و با یک دستمال یک بار مصرف مرطوب حاوی صابون اطراف پیشابراه و مقعد را از جلو به عقب تمیز کنید. سپس دستمال جدیدی برداشته و با آب خیس کنید و دوباره عمل تمیز کردن را انجام دهید.

شستشوی اندام تناسلی آقایان

سر آلت را با یک دستمال یکبار مصرف مرطوب آغشته به صابون تمیز کنید و دستمال را دور بیندازید. سپس دستمال جدیدی برداشته و با آب خیس کنید و سپس تمیز کنید.

طرز جمع آوری نمونه ادرار میانی در بزرگسالان

مقدار کمی از قسمت اول را به داخل توالت تخلیه کنید، و نصف ظرف نمونه را از وسط ادرار پر کنید و آخر ادرار را داخل توالت تخلیه کنید. در هنگام گرفتن نمونه مواظب باشید درب ظرف کشت و سطح داخلی آن آلوده نشود. درب ظرف نمونه را بسته و آن را تحویل آزمایشگاه دهید.

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 الککل 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 آسپیراسیون سوپراپوبیک توسط پزشک متخصص انجام می گیرد.

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.



شیگلا مناسب است. در اینگونه نمونه برداری ها، انجام صحیح روش نمونه برداری بسیار مهم است.

روش های تهیه نمونه ها

۱- تهیه نمونه مدفوع و سواب مدفوع

- برای نمونه مدفوع، از یک ظرف تمیز با اندازه و در مناسب استفاده نمایید.
- درنبود ظروف یکبار مصرف، باید از ظرف تمیز استفاده کنید.
- هنگامی که نمونه به آزمایشگاه می رسد باید به سرعت و در عرض ۲ ساعت آزمایش بر روی آن انجام شود.
- اگر ناچار به نگهداری نمونه ها بیش از دو ساعت هستید، سوابی را درون نمونه مدفوع قرار داده و پس از حرکت چرخشی، آن را در یک محیط انتقالی تلقیح کنید.
- اگر مدفوع حالت مخاطی دارد، سعی کنید نمونه را همراه مخاط در محیط ترانسپورت تلقیح نمایید.

۲- سواب مقعدی

- برای نمونه گیری از سواب پنبه ای سالم استفاده کنید و دقت کنید که پنبه سر آن کنده نشده باشد. ابتدا سواب را با فروکردن در محیط ترانسپورت استریل مرطوب می کنیم.
- سواب را به اندازه ۲/۵ تا ۳/۵ سانتیمتر داخل اسفنگتر رکتوم نموده و به مدت یک دقیقه چرخانده و بیرون بکشید.
- با توجه به تغییر رنگ پنبه سر سواب، مطمئن شوید سواب به مدفوع آغشته است.
- تعداد سواب موردنیاز بستگی به تعداد عوامل پاتوژن مورد مطالعه دارد، معمولاً «حداقل ۲ سواب» باید تلقیح شود.
- در موارد نمونه گیری اسهال های ناشی از باکتری های مهاجم مانند شیگلا به هنگام تهیه سواب مقعدی، ساییدن سواب

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

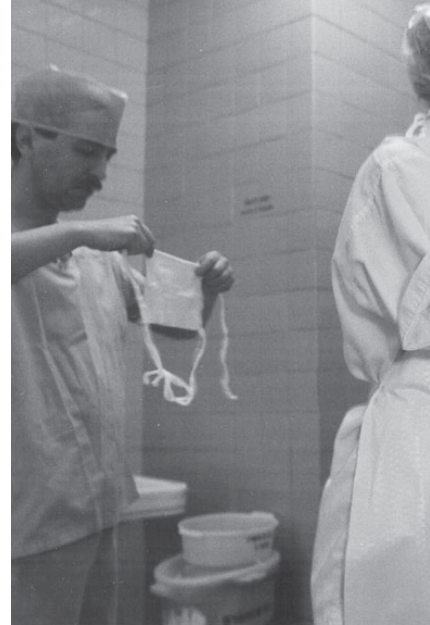
۴- خلط خارج شده را در یک ظرف دهان گشاد دردار، دارای گنجایش ۲۵ سی سی (و دارای مشخصات که آزمایشگاه داده است) بریزید و دقت کنید جدار داخلی ظرف را لمس نکنید، زیرا ظرف استریل است. بطور معمول مقدار ۱ تا ۲ میلی لیتر نمونه برای بررسی میکروبی لازم است.

۵- بهتر است نمونه خلط در سه ظرف جداگانه و هنگام صبح در سه روز متوالی جمع آوری شود.

تهیه نمونه های مدفوعی

توصیه های لازم پیش از نمونه گیری

- 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.
- 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



به مخاط انتهایی روده جهت جمع آوری نمونه از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است.

تلقیح به محیط انتقالی

در صورتیکه ناچار به تلقیح نمونه پس از دو ساعت شدید، نمونه ها را در یخچال و یا در محیط های انتقالی جهت بقای

بیشتر قرار دهید. محیط انتقالی

تلقیح شده نیز باید در سرما نگهداری شود، زیرا این شرایط برای پاتوژن هایی مانند شیگلا و کامپیلوباکتر بسیار مهم است. البته بیشتر عوامل پاتوژن به استثنای این دو ارگانیزم، 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.

محیط انتقالی کاری بلیر

- محیط انتقالی کاری بلیر برای نگهداری و انتقال سالمونلا، شیگلا، اشریشیاکلی، ویبریوکلرا، 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 در پیچ 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.

برای تلقیح نمونه به محیط انتقالی کاریبلیر:

- حداقل دو سوآب مدفوع یا مقعدی را به ته لوله حاوی محیط وارد کنید.
- پس از قرار دادن سوآب در لوله، قسمت چوبی بیرون از لوله را بشکند.
- 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.

منابع:

1. Wilson ML. General principles of specimen collection and transport. Clin Infect Dis 1996; 22:766.
2. Baron EJ. Specimen collection, transport and processing: Bacteriology. In: Manual of Clinical Microbiology, 11th ed, Jorgensen JH, Pfaller NA, Carroll KC, et al (Eds), American Society for Microbiology, Washington 2015. p.270.
3. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2013; 57:e22
4. Caldeira D, David C, Sampaio C; Skin antiseptics in venous puncture-site disinfection for prevention of blood culture contamination: systematic review with meta-analysis. J Hosp Infect. 2011 Mar;77(3):223-32. doi: 10.1016/j.jhin.2010.10.015. Epub 2010 Dec 30
5. Al-Orifi F, McGillivray D, Tange S, Kramer MS: Urine culture from bag specimens in young children: are the risks too high? J Pediatr. 2000;137:221-226
6. Grisaru-Soen G, Goldman R, Barzilai A, Lotan D, Keller N: Falsepositive urine cultures using bag collection. Clin Pediatr (Philadelphia). 2000;39:499-500
7. Schroeder AR, Newman TB, Wasserman RC, Finch SA, Pantell RH: Choice of urine collection methods for the diagnosis of urinary tract infection in young, febrile infants. Arch Pediatr Adolesc Med. 2005;159:915-922