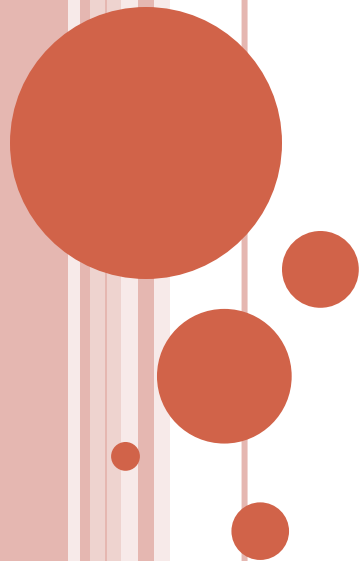


جمع آوری نمونه های آزمایشگاهی

علی خواه (کارشناس کنترل عفونت) ۱۳۹۳



اصول کلی نمونه گیری

○ پروسه تشخیص آزمایشگاهی عفونت های مختلف، از بالین بیمار و زمان نمونه گیری آغاز می شود

نه

از زمان تحویل نمونه بالینی به آزمایشگاه



در واقع، آزمایشگاه تنها در صورتی می تواند تشخیص درستی از یک عفونت

ارائه دهد که نمونه بالینی:

○ به موقع و با شیوه صحیح جمع آوری شده

○ و سریعا به آزمایشگاه ارسال شود.

در این باره توجه به چند نکته ضروری است:

○ اخذ نمونه ارسالی برای کشت ترجیحا باید در فاز حاد عفونت (مثل

زمانیکه بیمار دارای تب و ...) باشد.

○ نمونه گیری صرفا باید قبل از شروع تجویز آنتی بیوتیک صورت گیرد، در

غیر اینصورت حتما باید تجویز آنتی بیوتیک به آزمایشگاه میکروشناسی

اطلاع داده شود.

○ نمونه باید به همراه ثبت در سیستم HIS و داشتن مشخصات کامل بیمار

به آزمایشگاه ارسال شود.



- و نهایتاً یکی از مهمترین اصول نمونه گیری:
- **جلوگیری از آلوده شدن نمونه با میکروفلور طبیعی و باکتریهای موجود در اطراف محل نمونه گیری**



جمع آوری نمونه های ادراری

ادرار از جمله نمونه های بالینی است که معمولا توسط خود فرد یا

همراهان وی جمع آوری می شود.

بنابراین **آموزش** نحوه صحیح جمع آوری ادرار ، وظیفه پرستار و

آزمایشگاه (در موارد سرپایی) است.



نمونه گیری در بیمارانی که سوند ادراری دارند

○ در مواردی که از سوند ادراری طولانی مدت (سوند فولی) استفاده می شود:

دستها را با آب و صابون شسته و دستکش لاتکس پوشیده و محل اتصال سوند به کیسه ادراری را با سواب آغشته به الکل ضد عفونی کرده و با سرنگ استریل و سرسوزن شماره ۲۲ ادرار را آسپیره و سوزن را در آورید. در صورت نیاز به کلمپ سوند جهت جمع شدن ادرار، با یک پنس قبل از محل اتصال به لوله کیسه ادراری مسدود می کنیم.

مسدود کردن مسیر نباید بیش از ۱-۰.۵ ساعت طول بکشد.



توجه

- نمونه گیری ادرار نباید از کیسه ادراری صورت گیرد.
- نمونه گیری و کشت از نوک کاتتر فولی قابل قبول نیست.



سوند نلاتون

- ابتدای مجرای ادرار را با آب و صابون مایع معمولی می شوئیم و پس از سوندگذاری (به روش استریل) قسمت اول ادرار را دور می ریزیم و بقیه را در ظرف استریل جمع می کنیم.



نمونه ادرار سوپراپوبیک

بهترین روش نمونه گیری به لحاظ عدم آلودگی، آسپیراسیون از ناحیه سوپراپوبیک است.

این روش، روش اصلی جهت نمونه گیری ادرار در موارد زیر است:

- نمونه گیری از نوزادان
- کشت بی هوازی
- مواردی که نمونه ادرار تمیز میانی به دلیل آلودگی حین نمونه گیری دارای نتایج تشخیصی و تفسیری مناسبی نیست.
- افرادی که کنترل ادرار یا هوشیاری ندارند.



نمونه گیری ادرار با سیستم اسکوپ

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



نمونه گیری و جمع آوری ادرار تمیز میانی

CLEAN-CATCH MIDSTREAM

زنان □

- درپوش ظرف استریل مخصوص جمع آوری ادرار را باز کنید و مراقب باشید تا لبه و سطوح داخلی ظرف با انگشتان شما تماس پیدا نکند.
- در موقعیت ادرار کردن قرار بگیرید و تا آنجا که ممکن است پاها را از یکدیگر باز کنید.
- با انگشتان یک دست چین های پوستی دستگاه تناسلی را از یکدیگر باز نگهدارید و تا پایان جمع آوری همین وضعیت را حفظ کنید.
- دستگاه تناسلی را از جلو به عقب با گاز آغشته به صابون مایع تمیز و با آب کاملاً آبکشی و سپس خشک کنید (از مواد ضد عفونی کننده برای شستشو استفاده نکنید.)



بر اساس توصیه WHO می توان در صورت دسترسی نداشتن به مواد شوینده، از آب و گاز استفاده کرد.

▪ قسمت اول ادرار را بیرون بریزید و بدون توقف جریان ادرار قسمت های میانی ادرار را داخل ظرف استریل بریزید و درپوش ظرف را محکم ببندید.

▪ توجه کنید که مشخصات کامل (نام، نام خانوادگی، شماره پرونده، نام پدر، تاریخ و ساعت دریافت نمونه) بطور صحیح روی برچسب ظرف نوشته شده باشد.



- درپوش ظرف استریل مخصوص جمع آوری ادرار را باز کنید و مراقب باشید تا لبه و سطوح داخلی ظرف با انگشتان شما تماس پیدا نکند.
- قسمت اول ادرار را بیرون بریزید و بدون توقف جریان ادرار، قسمت میانی ادرار را داخل ظرف استریل جمع آوری کنید.
- درپوش ظرف را روی آن قرار دهید و کاملا سفت کنید.
- مشخصات کامل بر روی برچسب ظرف بنویسید.



□ کودکان و نوزادان

- کودک را به پشت بخوابانید و پاهای او را با خم کردن زانوهایش به حالت نیمه باز در آورید.
- دستکش بپوشید. ناحیه تناسلی را با پنبه آغشته به صابون و آب تمیز کنید.
- سپس با آب گرم آبکشی و کاملاً خشک کنید.
- کیسه ادرار دختران و پسران متفاوت است. کیسه مخصوص پسران سوراخ چسب دار به شکل دایره دارد و دختران به شکل بیضی است.
- آلت تناسلی پسر بچه را با حداقل دستکاری داخل سوراخ کیسه قرار دهید و برچسب آن را محکم کنید.



○ پس از برداشتن برچسب از اطراف دهانه کیسه، دستگاه تناسلی دختر بچه را به آرامی باز کنید و کیسه را از محل سوراخ طوری بچسبانید که مجرای ادرار در داخل کیسه قرار بگیرد و برچسب آن را محکم کنید.

○ حداکثر نیم ساعت اجازه دهید تا ادرار (تقریباً ۲۰ سی سی) در داخل کیسه جمع شود.

○ کیسه ادرار را با دقت از محل اتصال جدا کنید و داخل ظرف استریل مخصوص کشت قرار دهید.



زمان مناسب نمونه گیری

- نمونه ادرار صبحگاهی که **حداقل ۸ ساعت** داخل مثانه باقی مانده بهترین نمونه برای این منظور است.
- اگر مقدور باشد، ادرار باید **حداقل ۴ ساعت** در مثانه محبوس باشد. (اما نباید برای تولید ادرار از آشامیدن مایعات اضافی استفاده شود.)
- عدم مصرف آنتی بیوتیک در ۴۸ ساعت گذشته یکی از پیش نیازهای مهم برای دادن نمونه است.



حجم نمونه ادرار

- حجم ادرار در کشت های روتین چندان مهم نیست، اما:
- در افراد بزرگسال حداقل ۱۰ سی سی است.
- در نوزادان ممکن است کمتر از ۱۰ سی سی باشد.
- برای ارزیابی از نظر سل کلیوی یا قارچها حداقل ۲۰ ml ادرار لازم است.
- اما در این موارد، ادرار ۲۴ ساعته مناسب نیست.

شرایط نگهداری و انتقال:

نمونه ادرار تهیه شده تا ۲ ساعت و در حرارت اتاق و تا ۲۴ ساعت در

یخچال قابل نگهداری است.

افزودن اسید بوریک با غلظت ۱-۲ درصد تعداد باکتری را برای ۴۸-۹۶ ساعت

در دمای محیط ثابت نگه می دارد و به ندرت روی رشد بعضی از ارگانیزم ها

تاثیر منفی دارد.



شرایط رد نمونه

- نمونه های بدون برچسب مشخصات بیمار
- نمونه هایی که در ظرف 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



نمونه برداری از ترشحات تنفسی

۱. روش غیرتهاجمی

۲. تهاجمی



روش غیرتهاجمی

○ جمع آوری خلط:

استفاده از نمونه خلط روشی غیرتهاجمی و ارزان برای تعیین عامل بیماری در پنومونی است.

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



روش تهاجمی

○ آسپیراسیون شیره معده **Gastric aspiration** :

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



آسپیراسیون آندوتراکئال ENDOTRACHEAL ASPIRATE

- آسپیراسیون آندوتراکئال اغلب برای تشخیص پنومونی در بیمارانی به کار می رود که لوله گذاری شده اند.
- ترشحات انتهای لوله تراشه را به روش استریل آسپیره کرده و در حالیکه در انتهای سوند نلاتون ترشحات وجود دارد عمل ساکشن را قطع کرده و ۷-۵ سانتی متر نوک سوند را با قیچی استریل به قطعات ۱ سانتی متری تقسیم نموده و به داخل لوله محیط کشت می ریزیم.
- برچسب مشخصات بیمار را روی لوله محیط کشت چسبانده و بلافاصله نمونه را به آزمایشگاه ارسال کنید.



برونکوسکوپی

- با این روش می توان ترشحات مخاط برونش را مستقیماً مشاهده کرد و برای بیوپسی جمع آوری نمود.
- در هنگام برونکوسکوپی پزشکان می توانند نمونه هایی از شستشوی برونش یا آسپیراسیون برونش ها (BAL) را به دست آورند. به این صورت که زمانی که ترشحات چرکی قابل مشاهده نیستند، مقداری سرم فیزیولوژی استریل را داخل برونشها تلقیح و سپس توسط برونکوسکوپ جمع آوری می کنند.



○ نوع دیگری از نمونه های تنفسی که از طریق برونکوسکوپی به دست می آید، براشینگ (Brushing) است. نمونه های به دست آمده به وسیله این روش نسبتاً تهاجمی، برای مطالعات میکروشناسی به خصوص در تشخیص پنومونی ناشی از اسپیراسیون مناسب تر است.

○ بیوپسی ریه باز:

در بیماران پنومونی منتشر، علاوه بر تشخیص در درمان مواردی ماربرد دارد که از سایر روشهای کمتر تهاجمی نتوان استفاده کرد.



عفونت های زخم های جراحی SURGICAL SITE INFECTION

عموما از دو روش کمی و کیفی برای نمونه برداری از بافت یا ترشحات زخم استفاده می شود.

○ روش کمی:

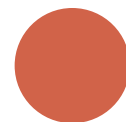
برای تعیین بار میکروبی منطقه استفاده می شود. در این روش، بافت به صورت آسپتیک تهیه می شود و پس از توزین و همزن کردن، از آن رقت های سریال تهیه می شود و روی محیط های انتخابی و غیرانتخابی در شرایط هوازی و بی هوازی کشت داده می شود تا اطلاعات کمی و کیفی لازم برای شناسایی عامل مهاجم به می آید.

البته در این روش در صورت وجود بافتهای مرده سطحی، برداشت این بافتها بوسیله کورتاژ آنها به خصوص در زخم های دیابتیک ضروری است.



○ مفیدترین روش نمونه برداری از ترشحات چرکی و آبسه های جلدی
آسپیراسیون آن توسط سرنگ است.

○ در زخم های عمقی که باعث تشکیل حفره می شود (آبسه)، شستشو با
نرمال سالین استریل غیرباکتریوستاتیک و ماساژ آرام موضع برای جمع شدن
و آسپیراسیون مایع لازم به نظر می رسد.



نحوه نمونه برداری

○ الف) زخم سطحی:

۱. آسپیراسیون با سرنگ بر نمونه برداری با سواب ارجحیت دارد.
۲. سطح زخم را به وسیله شستشو با سرم فیزیولوژی استریل یا الکل ۷۰ درصد تمیز کنید و بگذارید خشک شود.
۳. از سرنگ ۳-۵ سی سی با سرسوزن ۲۲ یا ۲۳ برای جمع آوری نمونه استفاده کنید. پزشک باید تا حدامکان آسپیراسیون را عمقی انجام دهد. در ضمن، در صورت وجود وزیکول دو نمونه یکی از مایع داخل وزیکول و یکی از قاعده آن جمع کنید.
۴. در صورتی که آسپیراسیون اولیه ناموفق باشد، می توان با تلقیح مقداری سرم فیزیولوژی غیرباکتریوستاتیک در زیر جلد مجدد نمونه گرفت.



○ اگر آسپیراسیون را دوباره تکرار کردید و موفق نشدید هیچ مایعی بردارید، سوزن و سرنگ را با کشیدن مقداری محیط مایع به داخل آن شستشو دهید و مایع را در محیط ها تلقیح کنید.

(ب) زخم ها و ندول ها

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



ج) بافت زیرجلدی و نمونه های پوست

۲. پانچ بیوپسی پوست:

- سطح پوست را با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی کنید.
- ۳-۴ میلی متر از قسمت درم را پانچ کنید.
- در لوله استریل بدون فرمالین و یا دارای سرم فیزیولوژی استریل غیر باکتریوستاتیک به بخش میکروب شناسی ارسال کنید.

۲. آسپیراسیون بافت نرم:

- سطح پوست را با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی کنید.
- عمیق ترین قسمت زخم یا مجرای سینوس را آسپیره کنید.
- مراقب آلودگی سطحی باشید.



انتقال نمونه های زخم

- در مورد انتقال ترشحات مشکوک به عفونتهای بی هوازی، خالی کردن هوای داخل سرنگ پس از اسپیراسیون فاکتور بسیار مهم است.
- در صورتیکه ترشحات با سواب جمع آوری شده، سواب باید در داخل لوله حاوی محیط انتقالی ارسال شود.



کشت خون

جداسازی عوامل میکروبی از کشت خون به عوامل متعددی بستگی دارد که مهمترین آنها عبارتند از:

○ نوع باکتری می و ارگانیزم عامل

○ روش نمونه گیری

○ حجم خون گرفته شده

○ تعداد و دفعات خونگیری و زمان آن

○ روش کشت و امکانات آزمایشگاهی



نحوه نمونه گیری

○ ورید مورد نظر را انتخاب کنید.

○ در ابتدا پوست ناحیه را با الکل ۷۰ درصد با حرکت محکم دورانی از داخل به خارج به قطر تقریبی ۵ cm ضدعفونی کنید.

○ پس از خشک شدن الکل همین کار را با بتادین ۱۰ درصد تکرار و حداقل یک دقیقه (ترجیحا ۲-۱/۵ دقیقه) صبر کنید تا محل ضدعفونی شود. **برای**

جلوگیری از آلودگی رعایت زمان توصیه شده بسیار اهمیت دارد.

○ در صورت لزوم به لمس مجدد ورید باید نوک انگشت در حالی که با دستکش پوشیده شده است با بتادین ضدعفونی شود .



○ پس از نمونه گیری، خون را مستقیماً و بدون تعویض سوزن به درون شیشه کشت خون که درپوش لاستیکی آن قبلاً با الکل ۷۰درجه ضدعفونی و خشک شده است، تلقیح کنید و شیشه را با ملایمت تکان دهید تا خون با ماده ضدانعقاد مخلوط شود.

○ در گذشته روش استفاده از دو سوزن، یعنی تعویض سوزن اول پس از خروج از رگ و جایگزینی با سوزن استریل نو، توصیه می شد. اما در حال حاضر، با توجه به احتمال خطر این کار برای کارکنان این روش توصیه نمی شود.

○ محل نمونه گیری را مجدداً با الکل ۷۰درصد تمیز می کنیم تا از واکنش پوستی در افراد حساس به ترکیبات ید جلوگیری شود.



کشت خون به روش BACTEC

- بسته به نوع سیستم برای سنجش از روش های سنجش کلریمتریک و فلوسنت برمبنای تشخیص CO₂ غیررادیواکتیو استفاده می شود و در انواع هوازی، بی هوازی، مایکوباکتریوم ها و برای رشد قارچ وجود دارد.
- ویالها در دمای بین ۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شود.
- در صورت نگهداری ویالها در یخچال حتما ۱۵- ۱۰ دقیقه قبل از خونگیری، ویالها را از یخچال خارج نمایید تا به دمای اتاق برسد.



- با رعایت شرایط خونگیری برای آزمایش کشت خون نمونه خون را اخذ و به مقدار ۱-۳ سی سی به ویال کشت خون اضافه نمایید.
- در صورت عدم موفقیت در خونگیری از نوزادان مقدار فوق تا ۰.۵ سی سی هم کافی است. (بدیهی است هر قدر مقدار نمونه به ۳ سی سی نزدیکتر باشد امکان جدا کردن میکروارگانیسم بیشتر می شود) از اضافه نمودن نمونه بیش از ۳ سی سی به ویالها خودداری نمایید.
- مشخصات بیمار (اتیکت) در قسمت مشخص شده بر روی ویال چسبانده شود.
- در صورت نداشتن اتیکت، فقط با خودکار و در قسمت مشخص شده مشخصات بیمار چسبانده شود.



○ از نوشتن مشخصات بیمار بر روی چسب لوکوپلاست و ... و چسباندن آن بر روی ویال خودداری شود.

○ به هیچ عنوان مشخصات بیمار بر روی بارکد ویال چسبانده نشود یا

بارکد مخدوش یا کثیف نشود. در غیر اینصورت دستگاه قادر به شناسایی ویال نخواهد بود و نمونه ارسالی دور انداخته خواهد شد.

○ **حتما بر روی ویال ساعت و تاریخ اخذ نمونه با خودکار یادداشت شود.**

○ به محض خونگیری از بیمار و انتقال نمونه به داخل ویال نمونه کشت خون را سریعاً به آزمایشگاه انتقال داده و به کشیک مربوطه تحویل فرمائید.

○ پس از تزریق خون به اخل ویال، به هیچ وجه نباید در یخچال گذاشته شود.



نحوه اخذ کشت از نوک کاتتر ورید مرکزی در حین خروج کاتتر

تکنیک خارج کردن کاتتر ورید مرکزی:

- در آوردن کاتتر باید توسط پزشک و یا فرد آموزش دیده انجام می گیرد.
- برای پیشگیری از آمبولی، بیمار را در وضعیت خوابیده به پشت (Supine) قرار دهید.
- دستها را بشوید.
- کلیه انفوزیون ها را متوقف نمایید و محیطی استریل فراهم آورید.
- دستکش غیر استریل (تمیز) بپوشید و پانسمان را بردارید.
- ست استریل را باز نموده و دستکش استریل بپوشید و محل ورود و اطراف کاتتر را با محلول بتادین ۱۰٪ ضد عفونی نمایید.
- بخیه ها را بردارید.



○ در حالیکه با گاز استریل محل ورود کاتتر را به ملایمت فشار می دهید کاتتر را با حرکت آرام و مداوم خارج کنید. از کشش بیش از حد و محکم کاتتر خودداری کنید.

○ **بدون آلوده کردن نوک کاتتر**، آن را از نظر سالم و بدون نقص بودن بررسی نمایید. (امکان جدا شدن بخش هایی از کاتتر در طی خارج کردن آن وجود دارد).

○ به مدت ۱۰ – ۵ دقیقه محل ورود کاتتر را فشار دهید تا خون بند بیاید.



○ در صورت نیاز به نمونه برداری از نوک کاتتر، ۴-۵ cm آخر کاتتر را با قیچی استریل جدا و در لوله محیط کشت استریل قرار دهید و در زمانی کمتر از ۱۵ دقیقه به آزمایشگاه بفرستید. سوند نباید در داخل سرم نرمال سالین یا محیط دیگری ارسال گردد. در صورت رعایت نکردن زمان می توان نمونه را تا ۲ ساعت در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری نمود.

○ محل ورود کاتتر را در صورتیکه خونریزی نداشته باشد با گاز استریل پانسمان کنید و تا ۲۴ ساعت محل را از نظر خونریزی و هماتوم کنترل نمایید.

○ در بیماران دارای کاتتر ورید مرکزی در صورت نیاز به انجام کشت خون، باید همزمان نمونه از ورید محیطی و ورید مرکزی تهیه گردد.



خونگیری از کاتتر:

- برای خونگیری در صورتیکه بیمار CVC دارد برای به حداقل رساندن Needling و استرس بیمار، می توان از آن استفاده نمود.
- سعی گردد نمونه ها در یک زمان و فقط مقدار حجم خونی که برای انجام آزمایش نیاز است اخذ گردد. دستکاری نمودن مکرر و بی مورد کاتتر موجب آلودگی آن می شود.
- بهتر است برای خونگیری از سرنگ ۱۰ ml استفاده گردد.
- توصیه می شود برای کشت خون از CVC خونگیری نشود. بجز مواردی که پزشک معالج دستور خونگیری از کاتتر را بدهد.
- بهتر است در صورت شک به عفونت خونی بطور همزمان از ورید محیطی و کاتتر ورید مرکزی بطور همزمان نمونه کشت خون تهیه شود.



○ برای خونگیری بهتر است از شاخک دیستال (قهوه ای رنگ) استفاده شود. زیرا نوک شاخک دیستال در قسمت انتهایی کاتتر است و احتمال چسبیدن آن به دیواره رگ کمتر است.



اگر مایعات از طریق کاتر انفوزیون نشود:

- دستها را بشویید.
- محیط استریل فراهم کنید. (زیر شاخکهای کاتر شان استریل بیندازید)
- دستکش بپوشید.
- قسمت hub کاتر را با الکل ۷۰٪ ضدعفونی کنید.
- با رعایت روش اسپتیک، محلول داخل لومن را اسپیره (حجم مایع اسپیره به حجم لومن کاتر بستگی دارد) و بیرون ریخته شود (معمولا ۵CC-۳) و سپس نمونه را اخذ نموده مسیر لومن را با ۱۰-۵ سی سی سرم نرمال سالین شستشو داده و کلمپ کنید و هپارین لاک را ببندید.



اگر محلول در حال انفوزیون است:

- دستها را بشویید.
- محیط استریل فراهم کنید. (زیر شاخکهای کاتتر شان استریل بیندازید)
- دستکش بپوشید.
- مایع تزریقی را قطع کنید، حدود ۱۰ - ۵ سی سی خون را (به روش استریل)
آسپیره کنید. زیرا مایعات تزریقی موجود در مسیر لومن کاتتر و جریان خون
می تواند بر نتایج آزمایشات تاثیر گذارد.
- به مقدار مورد نیاز خونگیری کنید.
- خون آسپیره شده به روش استریل را، مجدداً از طریق لومن به داخل بدن
برگردانید و انفوزیون مایعات را ادامه دهید.



با تشکر

