

پیوست

نحوه تهیه نمونه های بالینی برای انجام آزمایش میکروبیشناسی مستقیم

بدیهی است که برای نتیجه گیری دقیق از یک آزمایش، نمونه مورد بررسی باید به روش صحیح جمع آوری شود. نمونه ی خوب نمونه ای است که:

الف) از محل ضایعه و به مقدار کافی گرفته شده باشد؛

ب) در ظرفی مناسب با ثبت مشخصات کامل بیمار قرار گیرد و

ج) در وضعیت مناسب نگهداری شده و به روش صحیح به آزمایشگاه انتقال یابد.

۱- نمونه خلط

یک "نمونه ی خلط خوب" عبارتست از مواد ترشحاتی حاصل از ریه ها پس از یک سرفه عمیق. عبارتی نمونه ای که از حلق و بینی ترشح می شود همانند آب دهان، نمونه مناسبی محسوب نمی شود. همچنین از آنجایی که تعداد باسیل در خلط های دفع شده در زمان های مختلف متفاوت می باشد، آزمایش تنها یک نمونه خلط، برای تشخیص کافی نبوده و بنابراین باید سه نمونه خلط تهیه و مورد آزمایش قرار گیرد. به منظور کاهش دفعات مراجعه بیمار برای دادن سه نمونه خلط، توصیه می شود که نمونه اول در اولین مراجعه بیمار همزمان با تکمیل فرم بیماریابی، تحت نظارت کارمند بهداشتی (اعم از بهورز، کاردان یا کارشناس مرکز بهداشتی درمانی، پرستار یا تکنسین آزمایشگاه) و در فضای باز دریافت شود (تنها در صورتی بیمار مجاز به دادن خلط در فضای بسته است که تمهیدات کنترل عفونت نظیر فشار منفی، تهویه، فیلتراسیون هوا توسط فیلتر هپا و یا لامپ UV در آن فضا لحاظ شده است). سپس ضمن تحویل ظرف دارای مشخصات بیمار برای جمع آوری نمونه دوم و توصیه به بیمار جهت مراجعه به واحد بهداشتی در روز بعد، به وی آموزش داده شود که صبح روز دوم قبل از برخاستن از بستر و بدون اینکه چیزی بخورد، با سرفه ای عمیق خلط خود را خارج کرده و در ظرف دریافتی از واحد بهداشتی خالی کند و پس از بستن در ظرف و گذاشتن آن در کیسه تایلونی، کیسه را بسته و با خود به واحد بهداشتی بیاورد. سپس کارمند بهداشتی در هنگام دومین مراجعه بیمار، ضمن تحویل گرفتن نمونه ی دوم، از بیمار می خواهد که سومین نمونه ی خلط را تحت نظارت مستقیم وی به داخل ظرف بریزد. بدیهی است که در اولین مراجعه، باید نحوه دادن نمونه ی خلط مناسب (که در ذیل آمده است) برای فرد به زبان ساده توضیح داده شود. روش دادن نمونه خلط:

۱. به بیمار در مورد اهمیت دادن نمونه ی خلط مناسب و کافی توضیح دهید
۲. به وی آموزش دهید که قبل از تهیه نمونه خلط، دهان خود را با آب شستشو دهد تا ذرات و بقایای مواد غذایی و باکتری های آلوده کننده از دهان فرد خارج شود.
۳. به فرد یاد بدهید که ابتدا باید ۲ نفس عمیق بکشد، به این ترتیب که در هر بار تنفس، پس از یک دم عمیق، چند ثانیه نفس خود را در سینه حبس کند و سپس به آرامی هوای بازدمی را از ریه ها خارج کند. سپس بدنبال تنفس بعدی، هوای بازدمی را با فشار خارج کرده و بعد در پی تنفس بعدی سرفه کند. با این کار امکان خروج خلط از اعماق ریه ها فراهم می شود.
۴. از بیمار بخواهید که قوطی خلط را نزدیک لب های خود نگه داشته و خلط ایجاد شده را به آرامی درون آن بریزد.

نکته ۱: واضح است که اگر حجم خلط تهیه شده کافی نباشد، باید از فرد خواسته که اقدامات فوق را آنقدر تکرار کند که نمونه خلط کافی تهیه شود. (حجم خلط مناسب ۳ تا ۵ میلی لیتر می باشد)

نکته ۲: کیفیت و کمیت نمونه بقدری در فرآیند بیماریابی موثر بوده و اهمیت دارد که مجدداً بر تهیه نمونه های اول و سوم تحت نظارت مستقیم کارمند بهداشتی تاکید می شود. برای این کار باید کارمند بهداشتی در هنگام تهیه نمونه خلط، پشت سر بیمار ایستاده و بر جریان کار نظارت کند.

نکته ۳: کارمند بهداشتی، علاوه بر تکمیل فرم استاندارد بیماریابی (فرم شماره ۱)، باید مشخصات بیمار را روی بدنه ظرف (و نه روی در آن) ثبت کند. حداقل مواردی که باید روی ظرف خلط ثبت شود عبارتند از: نام و نام خانوادگی بیمار، نام پدر، شماره مسلسل نمونه، تاریخ دریافت نمونه و نام واحد یا مرکز بهداشتی – درمانی (و خانه بهداشت، در صورت ارسال نمونه از روستا)

نکته ۴: کارمند بهداشتی باید در تمام مراحل گرفتن ظرف حاوی خلط و کنترل آن از دستکش یکبار مصرف استفاده کند.

نکته ۵: ظرف خلط باید دهانه گشاده، درب پیچ دار و از جنس پلاستیک شفاف باشد تا بدون نیاز به باز کردن در آن بتوان از مناسب بودن کمیت و کیفیت خلط موجود در آن اطمینان حاصل کرد.

نکته ۶: نمونه های خلط تا زمان ارسال به آزمایشگاه باید در داخل ظرف حمل قوطی های خلط و در محلی خنک و دور از نور آفتاب نگهداری شود.

نکته ۵: نمونه ها باید در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال گردد. ایده آل آنست که این کار در کمتر از ۷۲ ساعت صورت پذیرد و نباید بیشتر از یک هفته بطول انجامد. آزمایشگاه ظرف مدت ۲۴ ساعت از زمان دریافت نمونه باید نتیجه آن را تعیین و گزارش کند و نتیجه آزمایش اسمیر بیمار می بایست حداکثر ظرف مدت ۴ روز از زمان تحویل نمونه به آزمایشگاه در اختیار محل بیماریابی (مرکزی که نمونه بیمار را ارسال نموده است) قرار بگیرد.

۲. تهیه شیره معده

مقدمه

کودکان مبتلا به سل ممکن است ترشحات تنفسی (مخاطی) خود را که محتوی مایکروباکتریوم سل است بلعند. تهیه شیره معده تکنیکی است که برای جمع آوری محتویات شیره معده برای تأیید تشخیص سل با آزمایش میکروب شناسی مستقیم و کشت سل استفاده می گردد.

به علت دشواری روش برای کودکان، و ارزش تشخیصی پایین برای اسمیر مثبت بودن در این روش، گاستریک لاواژ باید تنها در جاهایی مورد استفاده قرار گیرد که آزمایش کشت به راحتی آزمایش میکروب شناسی مستقیم در دسترس باشد. آزمایش میکروب شناسی مستقیم می تواند گاهی اوقات به طور کاذب، پاسخ مثبت نشان دهد (خصوصاً در کودکان آلوده به HIV که در خطر مایکوباکتریوم های غیرسلی هستند). کشت امکان تعیین حساسیت ارگانیزم به داروهای ضدسل (انجام آنتی بیوگرام) را فراهم می کند.

آزمایش شیره معده عمدتاً برای کودکان کم سن و سال که قادر به ارائه ارادی خلط نبوده و همچنین نمی توان از طریق القاء خلط با محلول غلیظ نمکی hypertonic saline آنها را وادار به تهیه خلط کرد کاربرد دارد. این روش بخصوص برای کودکان بستری در بیمارستان مفید واقع می شود. البته تنها در ۲۵٪ تا ۵۰٪ کودکان مبتلا به سل فعال، پاسخ مثبت از کشت انجام شده بر روی سه نمونه شیره معده حاصل می شود؛ بنابراین وجود اسمیر یا کشت منفی شیره معده هیچگاه به معنای رد ابتلا به سل در کودک نیست.

شیره معده از کودکان کم سن و سال مشکوک به سل ریوی جمع آوری می شود.

در حین خواب، سیستم مخاطی – مژکی دستگاه تنفس با کمک ضربات مداوم مژکها، ترشحات مخاطی را به سمت حلق هدایت می کند. ترشحات بلعیده شده تا زمانیکه معده تخلیه شود در آنجا (معده) باقی می ماند. بنابراین نمونه اول صبح شیره معده بهترین نمونه تشخیصی محسوب می شود.

آسپیراسیون شیره معده می بایست در سه صبح متوالی برای هر بیمار انجام پذیرد؛ چون با این تعداد نمونه، حساسیت آزمایش برای کشف موارد اسمیر مثبت به حداکثر می رسد. از طرفی، اولین نمونه شیره معده بالاترین ارزش تشخیص را دارد. برای انجام یک گاستریک لاواژ قابل قبول به حضور ۲ نفر نیاز است. (یکی به عنوان مجری فرآیند و دیگری به عنوان دستیار)

کودکان باید حداقل از ۴ ساعت قبل چیزی نخورده باشند (این زمان برای شیرخواران حداقل ۳ ساعت ذکر شده است).

کودکان با تعداد پلاکت پایین و یا استعداد خونریزی بالا نباید تحت گاستریک لاواز قرار بگیرند.

برای انجام آسپیراسیون شیره معده، تجهیزات زیر مورد نیاز است:

- دستکش
- لوله NG (معمولاً شماره ۱۰ و یا بزرگتر)
- سرنگ ۵، ۱۰، ۲۰ یا ۳۰ سی سی
- کاغذ لیتوس / تورنسل
- ظرف جمع آوری نمونه
- قلم (جهت ثبت مشخصات و برچسب نمونه ها)
- فرمهای مورد نیاز آزمایشگاه
- آب مقطر یا محلول نرمال سالین (normal saline ۰.۹٪ NaCl)
- الکل / کلروهگزین

روش کار

این اقدام قابل انجام در شرایط بستری است و می بایست به محض بیدار شدن کودک از خواب در کنار بستر او و یا در اتاق یا بخش ویژه انجام پذیرد. در بیماران غیربستری (out patient) نیز به شرط آماده بودن امکانات و تجهیزات قابل انجام است. کودک نباید از ۴ ساعت قبل چیزی خورده باشد. (در شیرخواران به مدت ۳ ساعت)

مراحل کار عبارتند از:

۱. یک دستیار برای کمک تعیین کند.
۲. قبل از شروع کار، تمامی تجهیزات را آماده نمایید.
۳. کودک را به پشت یا پهلو بخوابانید. دستیار می بایست برای نگه داشتن کودک همکاری لازم را داشته باشد.
۴. فاصله میان بینی تا معده را اندازه گیری کنید تا بتوانید سایز لوله مورد نیاز برای وارد کردن به معده را تخمین بزنید.
۵. یک سرنگ به لوله نازوگاستریک متصل کنید.
۶. به آرامی لوله را از طریق بینی به سمت معده هدایت کنید.
۷. محتویات شیره معده را ابتدا به میزان ۲ تا ۵ میلی لیتر با استفاده از سرنگ متصل به لوله نازوگاستریک بکشید و از آن برای اطمینان از صحیح قرار گرفتن محل لوله نازوگاستریک استفاده کنید. برای این کار محتویات شیره معده را با کاغذ لیتموس / تورنسل تماس دهید. کاغذ لیتموس آبی در صورت تماس با اسید به رنگ قرمز در می آید. (در پاسخ به اسیدی بودن محتویات معده). این عمل همچنین از طریق وارد کردن مقداری هوا به درون معده (مثلاً ۳۳ تا ۵ سی سی) از طریق سرنگ و گوش کردن با یک گوشی معاینه که بر روی معده قرار داده شده امکان پذیر است.
۸. اگر هیچ مایعی خارج نشد، مقدار ۵ تا ۱۰ میلی لیتر آب مقطر یا محلول نرمال سالین وارد کرده و مجدداً اقدام به گرفتن شیره معده نمایید.
۹. در صورت ناموفق بودن، مجدداً این عمل را حداکثر تا ۳ بار تکرار کنید.
۱۰. محتویات شیره معده را بکشید. مقدار مطلوب آن حداقل ۵ تا ۱۰ میلی لیتر می باشد.
- ۱۱- مایع شیره معده را از سرنگ به درون ظرف استریل جمع آوری خلط انتقال دهید.
- ۱۲- به میزان هم حجم نمونه شیره معده تهیه شده، از محلول بیکربنات سدیم به نمونه اضافه نمایید (به منظور خنثی سازی محتویات اسیدی شیره معده و در نتیجه جلوگیری از تخریب باسیل سل)

اقدامات بعد از تهیه نمونه شیره معده:

۱. سطح خارجی ظرف نمونه را با استفاده از الکل یا محلول کلروهگزین پاک کنید تا از انتقال آلودگی جلوگیری شود.
۲. مشخصات لازم را بر روی برچسب ظرف نمونه یادداشت کنید.
۳. فرمهای مورد نیاز آزمایشگاه را تکمیل کنید.
۴. نمونه ها را با رعایت زنجیره سرما هرچه سریعتر برای انجام آزمایشات لازم به آزمایشگاه ارسال نمایید. (طی ۴ ساعت)
۵. اگر به نظر می رسد نقل و انتقال نمونه ها بیش از ۴ ساعت بطول انجامد، آنها را تا زمان انتقال در یخچال (درجه حرارت ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد) نگهداری نمایید.
۶. غذای معمول کودک را به او بدهید.

ایمنی

تهیه شیره معده معمولاً جزء روشهایی که در طی آن آئروسول تشکیل می شود نیست. همچنین کودکان کمترین خطر انتقال آلودگی برای دیگران را دارند؛ لذا تهیه شیره معده می تواند به عنوان اقدامی با میزان خطر پایین برای انتقال سل در نظر گرفته شده و بدون نگرانی در کنار بستر کودک و یا یک اتاق معمولی معاینه انجام پذیرد.

۳- القاء خلط

توجه داشته باشید که بر خلاف تهیه شیره معده، القاء خلط شیوه ای است که در طی آن آئروسول ایجاد می شود. بنابراین می بایست در یک اتاق ایزوله که در آن امکانات احتیاطی کافی برای کنترل عفونت "نظیر فشارمنفی، اشعه ماوراء بنفش (که در زمانیکه اتاق در حال استفاده نیست باید روشن باشد) و هواکش" وجود دارد انجام پذیرد.

القاء خلط روشی است که از نظر ایجاد خطر برای فرد بیمار، روشی کم خطر تلقی می شود و موارد بسیار کمی از عوارض ناخواسته (نظیر حملات سرفه، ایجاد ویزینگ ملایم و خونریزی بینی) در اثر آن گزارش شده است.

مطالعات اخیر نشان داده است که این شیوه می تواند بدون مشکل حتی در کودکان کم سن و سال انجام پذیرد؛ اما برای انجام آن در سنین پائین، پرسنل به آموزشها و تجهیزات ویژه نیاز خواهند داشت.

اقدامات اولیه:

افراد را قبل از این اقدام معاینه نمایید تا از سلامتی کافی آنان برای انجام عملیات القای خلط مطمئن شوید.

افراد دارای خصوصیات ذیل نباید تحت القاء خلط قرار گیرند:

- ناشتا بودن به میزان ناکافی؛ در صورتیکه کودک حداقل ۳ ساعت ناشتا نبود، القای خلط را تا زمان مناسب به تعویق بیندازید.
- وجود ناراحتی شدید تنفسی؛ (نظیر تنفس سریع، خس خس سینه، هیپوکسی)
- لوله گذاری شده
- خونریزی یا خطر بالای بروز آن؛ پائین بودن تعداد پلاکت (کمتر از ۵۰ عدد در میلی لیتر خون)، گرایش به خونریزی، خونریزی شدید بینی
- سطح هوشیاری پایین؛
- سابقه آسم شدید (آسم تشخیص داده و معالجه شده توسط پزشک)

روش کار

۱. یک داروی برونکودیلاتور (مانند سالبوتامول) برای کاهش احتمال بروز ویزینگ تجویز کنید.
۲. محلول سالین هیپر تونیک (سالین ۳٪) را بصورت بخور برای مدت ۱۵ دقیقه یا تا زمانیکه ۵ سی سی از محلول بطور کامل استفاده شده باشد تجویز کنید.
۳. دادن فیزیوتراپی قفسه سینه برای به حرکت درآوردن ترشحات لازم است. هرچند که بایداز تلاش ارادی خود فرد برای ارائه خلط پس از سرفه عمیق نیز بهره برد.
۴. برای کودکان بویژه کودکان کم سن و سال که خود قادر به همکاری برای دادن خلط در پی سرفه عمیق نیستند می توانید مراحل زیر را دنبال کنید:

- ✓ راههای تنفسی (هوایی) را برای خارج کردن ترشحات تنفسی ساکشن کنید؛
- ✓ ترشحات ناروفارنژیال را برای جمع آوری نمونه مناسب جمع آوری کنید.

نکته: هر وسیله ای که مجدداً مورد استفاده قرار خواهد گرفت می بایست قبل از استفاده برای بیمار بعدی استریل و ضدعفونی گردد.

۴- راهنمای آسپیراسیون غده لنفاوی

تجهیزات مورد نیاز:

- محلول ضدعفونی کننده موضعی
- دستکش
- سرنگ ۵ سی سی با سرسوزن ۱۸ تا ۲۱ گاژ
- ۳ عدد لام میکروسکوپی
- ماده تثبیت کننده سیتولوژی (مانند الکل خالص یا متانول) در صورت دسترسی به آزمایش بررسی سیتولوژیک

مراحل انجام کار:

۱. نام و کد شناسایی بیمار را بر روی حاشیه لام های میکروسکوپی درج/حک کنید؛
۲. پوست روی غده لنفاوی بزرگ شده را با محلول ضدعفونی کننده موضعی تمیز کنید؛
۳. سرسوزن را بر روی سرنگ نصب کرده و تمامی هوای داخل سرنگ را خارج کنید؛
۴. با دست غیر غالب خود غده لنفاوی مورد نظر را مابین انگشتان شصت و اشاره نگهدارید، بطوری که برجسته شده و در جای خود ثابت و بدون حرکت شود؛
۵. در حالی که سرنگ را در دست غالب خود می گیرید، سرسوزن آن را از طریق پوست سالم به سمت مرکز غده یا نقطه ای از آن که بیشترین ترمج و نرمی را دارد وارد کنیدو سپس پیستون سرنگ را به عقب بکشید. اگر بافت یا مایعی خارج نشد، در حالیکه سرسوزن را در مرکز غده به عقب و جلو حرکت می دهید پیستون سرنگ را نیز به بیرون بکشید. سعی کنید که با ملایمت غده را با دست غیر غالب خود فشار داده و همزمان سرنگ را در جهات مختلف بچرخانید. با این مانورها، حتی اگر چیزی در داخل سرنگ مشاهده نشود، مقادیر کمی از بافت غده لنفاوی به داخل مجرا و تویی سرسوزن کشیده خواهد شد.

۶. آنچه را در مجرای سر سوزن و سرنگ موجود است تحلیل کرده و بر روی هر یک از لام ها بگسترانید. ممکن است برای هر یک از لام ها تهیه نمونه ی مجزا لازم باشد.
۷. پس از تهیه اسمیر، اجازه دهید لام ها در هوای اتاق خشک شوند.
۸. اگر حاصل این آسپیراسیون، مایعی چرکی باشد لازمست یکی از اسمیر ها را جهت رنگ آمیزی گرم و دیگری را برای انجام آزمایش میکروبشناسی مستقیم سل تهیه و ارسال کنید. اما چنانچه بافت/مایع آسپیره شده چرکی نباشد، هر دو نمونه را برای انجام آزمایش میکروبشناسی مستقیم سل ارسال نمائید.
۹. در صورت دسترسی به آزمایش بررسی سیتولوژیک، بر روی اسمیر سوم تهیه شده، ماده تثبیت کننده سیتولوژیک اسپری نمودهو آن راس از خشک شدن در هوای اتاق برای انجام آزمایش مذکور ارسال کنید.