**2. نمونه گیری**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل های نمونه برداری و جمع آوری نمونه ها** | |
| **کد سند:** | D-004-0002 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل های مدیریت و پردازش نمونه های میکروبی | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | {{ReviewDate}} | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **تصدیق و امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری | {{ConfirmerOneName}} | {{ConfirmerTwoName}} |

**(1) هدف**:

در این دستورالعمل کلیات نمونه گیری و جمع آوری نمونه ها و نمونه گیری دقیق هر ناحیه خاص بدن شرح داده شده است.

**(2) مسئولیت ها:**

**مسئولیت نمونه گیری:** نمونه یا توسط خود بیمار گرفته می شود (اگر بستری نباشد) مانند ادرار، خلط یا مدفوع که در این حالت دستورالعمل ها باید به گونه ای ساده نوشته شود که نمونه های جمع آوری شده توسط بیمار (مانند ادرار) به درستی انجام شود، یا توسط پرسنل آزمایشگاه و سیستم پرستاری گرفته می شوند مانند خون، کتتر، کشت گلو و غیره و یا توسط پزشک متخصص به انجام می رسد مثل سینوویال، CSF، مایع پلور و مایع پریکاردیال.

* انجام نمونه گیری در مراکز درمانی و بیمارستان ها با توافق سیستم پرستاری و آزمایشگاه برای تقسیم کار به انجام می رسد.
* بخش میکروب شناسی موظف است دستورالعمل های استاندارد هر نمونه بخش را در اختیار سیستم پرستاری قرار دهد.

**(3) تعاریف و اصطلاحات:**

**نمونه گیری** در بخش میکروب شناسی به منظور جداسازی عوامل عفونت از نمونه های بیمار به انجام می رسد. هدف اصلی نمونه گیری حفظ و جداسازی عوامل اصلی بیماریزا و کاهش احتمال آلودگی است**.**

**(4) شرح دستورالعمل:**

به منظور نمونه گیری باید ناحیه دقیق و صحیح آناتومیک و تکنیک صحیح برای نمونه گیری انتخاب شود و پاکسازی ناحیه قبل از نمونه گیری با دقت به انجام برسد.

**ظرف**: ظرف جمع آوری نمونه های میکروب شناسی باید حتماً ضد نشت و استریل باشد و نمونه گیری در ظروف غیر استریل یکی از مهمترین عوامل عدم تطابق آن محسوب شده و نمونه باید رد گردد (بجز نمونه مدفوع).

برای نمونه مدفوع نیازی به ظرف استریل نمی باشد اما باید ظرف جمع­آوری تمیز و بدون نشتی باشد.

**شرایط و ﺗﺠﻬﯿﺰات ﻻزم ﺟﻬﺖ اﺗﺎق ﻧﻤﻮﻧﻪﺑﺮداري:**

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 ﻣﺤﻠﻮلﻫﺎي ﺗﻤﯿﺰکننده دﺳﺖ ﻣﻮﺟﻮد ﺑﺎﺷﺪ. ﺗﺠﻬﯿﺰات ﻻزم ﺟﻬﺖ ﻧﻤﻮﻧﻪﺑﺮداري شامل موارد زیر می باشد:

1-ﺻﻨﺪلی ﻧﻤﻮﻧﻪﺑﺮداري: ﺑﺎﯾﺪ داراي دﺳﺘﻪ ﻗﺎﺑﻞ ﺗﻨﻈﯿﻢ ﺑﺎﺷﺪ ﺑﻪ ﻃﻮري که ﺑﯿﻤﺎر ﺑﺘﻮاﻧﺪ در راﺣﺖ ﺗﺮﯾﻦ وﺿﻌﯿﺖ ﺟﻬﺖ ﻧﻤﻮﻧﻪگیری روي ﺻﻨﺪلی ﺑﻨﺸﯿﻨﺪ. ﻫمچنین ﺻﻨﺪلی ﺑﺎﯾﺪ داراي ﺣﻔﺎظ اﯾﻤنی ﺟﻬﺖ ﺟﻠﻮگیری از اﻓﺘﺎدن ﺑﯿﻤﺎر ﺑﺎﺷﺪ.

2-ﺗﺨﺖ ﻣﻌﺎﯾﻨﻪ، 3- سینی ﺟﻤﻊآوري ﻇﺮفﻫﺎي ﻧﻤﻮﻧﻪ، 4- دستکش: دستکش در ﺻﻮرت آﻟﻮدگی و ﯾﺎ در ﻓﻮاﺻﻞ ﻧﻤﻮﻧﻪگیری ﻫﺎ ﺑﺎﯾﺪ ﺗﻌﻮﯾﺾ گردد، 5-ﺳﻮزن (19–23G)، 6-ﺳﺮنگ ﯾﺎ نگه دارﻧﺪه ﻣﺨﺼﻮص ﺟﻬﺖ اﺳﺘﻔﺎده از ﻟﻮﻟﻪﻫﺎي ﺧﻼء، 7- نیشتر (اسکالپل یا تیغ بیستوری) یک ﺑﺎر ﻣﺼﺮف، 8-اﻧﻮاع ﻟﻮﻟﻪﻫﺎ و ﻇﺮوف در پیچ دار ﯾﺎ ﻟﻮﻟﻪﻫﺎي ﺧﻼء، 9-ﺑﺎزوﺑﻨﺪ، 10-یخچال ﯾﺎ ﯾﺦ (برای نگهداری نمونه ادرار یا مدفوع در صورت عدم امکان انجام سریع آنها)، 11-ﺿﺪﻋﻔﻮنی کننده ها: اﯾﺰوپروپیل الکل ﯾﺎ اﺗﯿﻞ الکل 70% و یا ﻣﺤﻠﻮل پوویدون-یدین 1 تا 10 درصد ﯾﺎ کلر هگزﯾﺪﯾﻦ گلوکنات ﺟﻬﺖ کشت ﺧﻮن.

12- ﺑﺎﻧﺪ و گاز ﺑﺎﯾﺪ ﺟﻬﺖ پاﻧﺴﻤﺎن در دﺳﺘﺮس ﺑﺎﺷﺪ (اﺳﺘﻔﺎده از پنبه پیشنهاد نمی گردد)، 13-ﻇﺮوف ﻣﺨﺼﻮص دﻓﻊ ﺳﺮﺳﻮزنﻫﺎي آﻟﻮده (ظروف ایمن یا سفتی باکس).

14-ﻓﻬﺮﺳﺖ اﻧﻮاع آزﻣﺎﯾﺶﻫﺎ و درج الزامات نمونه گیری هر نمونه از جمله ﻣﻘﺪار نمونه ﻻزم ﺑﺮاي ﻫﺮ آزﻣﺎﯾﺶ.

**اصول کلی نمونه برداری:**

* به طور کلی استفاده از سوآب برای جمع آوری نمونه ها توصیه نمی شود زیرا میزان کافی نمونه را فراهم نمی کند، به راحتی آلوده می شود و سریعاً خشک شده و باعث کم شدن تعداد ارگانیسم ها می شود.
* سوآب برای نمونه گیری از سیستم تنفسی فوقانی (بینی و گلو)، گوش خارجی، چشم و ناحیه تناسلی مناسب می باشد.
* سوآب ها می توانند حاوی سر پنبه ای، داکرون یا آلژینات کلسیم باشند که نوع پنبه ای به خاطر داشتن میزان بالای اسیدهای چرب که برای برخی از ارگانیسم ها سمی هستند (مانند نایسریا گنوره آ) توصیه نمی شوند.
* نمونه ها باید در مرحله حاد (اوایل) بیماری (یا در عرض 2 تا 3 روز برای عفونت های ویروسی) و در صورت امکان قبل از تجویز داروهای ضد میکروبی، ضد قارچی یا ضد ویروسی جمع آوری شوند.
* در مورد نمونه های جراحت، زخم و آبسه نمونه گيري ترجیحاً بهتر است با آسپیراسیون به کمک سرنگ انجام شود نه سوآب.
* نمونه گیری باید از حاشیه فعال در حال پیشرفت زخم به انجام برسد.
* به منظور حذف فلور نرمال، ناحیه باید قبل از نمونه گیری پاک سازی و تمیز گردد (توسط الکل 70 درصد).
* نمونه آسپیره شده باید داخل ظرف استریل و یا محیط انتقالی، انتقال داده شود و به هیچ عنوان بر روی سوآب ریخته نشود.

**نمونه گيري کشت خون**:

**مواد ضدعفوني کننده براي نمونه گيري**: از ماده ضد عفوني کننده براي کشتن باکتري هاي سطحي و زير سطحي استفاده مي شود. مواد ضدعفوني کننده معمول براي نمونه گيري شامل: بتادين يا پوويدين-يدين 10 درصد، محلول الکلي و کلرهگزيدين 2 درصد می باشند. کلرهگزيدين ترکیب بهتری است و به ويژه در نمونه گيري از کاتترها و در بخش هاي کودکان نتايج بهتري دارد (آلودگي کمتر) و عوارض پوستي که در کودکان با مصرف ترکيبات يددار ايجاد مي شود با مصرف آن کمتر است.

**روش استاندارد نمونه گيري:**

1- وريد موردنظر انتخاب شود.

2- **چربي زدايي**: پوست ناحيه با ايزوپروپيل الکل 70% یا الکل اتانول 70 تا 95 درصد با حرکت محکم دوراني از داخل به خارج به قطر تقريبي cm5 چربي زدايي شود.

3- **ضدعفونی**: پس از خشک شدن الکل همين کار را با یکی از مواد ضدعفونی کننده مانند بتادين (پوويدين-يدين 10 درصد) تکرار و حداقل يک دقيقه (ترجيحاً 5/1 تا 2 دقيقه) صبرکرده تا محل ضدعفوني شود (مهمترین مرحله). براي جلوگيري از آلودگي، رعايت زمان توصيه شده بسيار اهميت دارد.

4- در صورت لزوم به لمس مجدد وريد بايد نوك انگشت درحالي که با دستکش پوشيده شده است با بتادين ضدعفوني شود.

5- پس از نمونه گيري، خون را مستقيماً و بدون تعويض سوزن به درون شيشه کشت خون که درپوش لاستيکي آن قبلاً با الکل 70 % ضدعفوني و خشک شده است، تلقيح کنيد و شيشه را به آرامی تکان دهيد تا خون با ماده ضدانعقاد (SPS) مخلوط شود. در گذشته روش استفاده از دو سوزن، يعني تعويض سوزن اول پس از خروج از رگ و جايگزيني با سوزن استريل نو، توصيه مي شد. اما درحال حاضر، با توجه به احتمال خطر نیدل استیک شدن کارکنان، اين روش رد شده است.

6- در نهایت محل نمونه گيري با الکل 70% تميز مي شود تا از واکنش پوستي در افراد حساس به ترکيبات يد جلوگيري شود.

**نمونه گیری مايعات استریل:**

مايعات استریل (مايعات جنب، صفاق، پريکارد و سينوويال) با آسپيراسيون با سوزن و سرنگ توسط پزشک متخصص جمع آوري مي شوند و نباید توسط آزمایشگاه نمونه گیری شوند.

**نمونه گیری گلو:**

* برای به حداقل رساندن آلودگی با میکروبیوتای دهان و رقیق شدن نمونه، سوآب نباید با دیگر ساختارهای زبانی و دهانی برخورد کند. به این منظور از چوب آبسلانگ استفاده می شود که زبان را باید با آن نگه داشته تا از تماس ممانعت کرد و سپس سواب را به سمت فارنکس و لوزه حرکت می دهیم.
* باید سوآب در هر دو ناحیه لوزه و بخش پشتی حلق محکم کشیده شود و اگر هرگونه ترشح التهابی (اگزودا) در لوزه مشاهده شد باید سوآب مستقیماً با آن ناحیه تماس پیدا کند.

**نمونه گیری گوش خارجی و میانی:**

اگر ترشحات از گوش خارج می شود، نمونه گیری با سواب از ترشحات به انجام می رسد.

گوش خارجی باید با یک میکروب کش مانند محلول آبی بنزالکونیوم کلرید 1:1000 تمیز شود تا تعداد میکروبیوتای پوستی آلوده قبل از تهیه نمونه کاهش یابد (در صورت عدم وجود اتانل 70 درصد).

**نمونه گیری حفره دهان و گردن:**

* برای جمع آوری مواد از عفونت ریشه، دندان با استفاده از یک سد لاستیکی (rubber dam) مخصوص دندانپزشکی از کانال ریشه فاصله داده می شود، با الکل 70 درصد یک میدان استریل ایجاد می شود و پس از نمایان شدن کانال ریشه، یک تکه کاغذ استریل مخصوص دندانپزشکی برای نمونه گیری وارد ناحیه شده و سپس در محیط بلادآگار و محیط بیهوازی کشت می شود.

**نمونه گیری خلط:**

بیمار 1 تا 2 ساعت قبل از خلط نباید غذا خورده شود (خلط صبحگاهی بهتر است) و باید قبل از دادن نمونه، دهان خود را با آب نمک یا آب بشوید و در صورت امکان روی زبان مسواک زده شود. سپس باید بیمار یک نمونه سرفه عمیق تهیه کند و با تلاش برای به حداقل رساندن آلودگی با بزاق، نمونه باید در یک ظرف استریل جمع آوری شود.

**نمونه گیری خلط از طريق روش القایی:**

بيمارانی که قادر به نمونه گیری خلط نیستند، باید به کمک کارکنان آزمایشگاه یا بیمارستان با تحريک بتوانند يک نمونه قابل قبول تهيه کنند.

خلط القایی به واسطه استنشاق محلول نمکی حاوی 3 درصد سديم کلرايد برای حدود 10 تا 20 دقيقه با نبولايزر تا شروع سرفه عميق به دست می آيد.

**نمونه گیری نمونه های ساکشن نای یا تراشه یا تراکئوستومی و برونکوسکوپی:**

بیماران دارای لوله تراشه (تراکئوستومی) قادر به تولید خلط به روش طبیعی نیستند، اما ترشحات دستگاه تنفسی تحتانی را می توان به راحتی در ظرف مخصوص استریل با ساکشن جمع آوری کرد.

**نمونه گیری برونکوسکوپی و لاواژها:**

در طی روش های لاواژها مثلBAL ، حجم بالایی از نمک (100 تا 300 میلی‌لیتر) از طریق برونکوسکوپ به یک بخش ریه تزریق می‌شود تا سلول‌ها و پروتئین های بینابینی ریوی و فضاهای آلوئولی به دست آید.

**نمونه گیری نمونه مدفوع:**

* نمونه گیري مدفوع بهتر است در مراحل اولیه بیماری روده اي (حداکثر در 2 تا 3 روز اول) که عامل بیماري زا به تعداد بیشتري در مدفوع وجود دارد و قبل از شروع درمان آنتی بیوتیکی انجام شود.
* سه نوع نمونه مدفوعی موجود است:

الف( نمونه مدفوع، ب) سوآب مدفوع، ج) سوآب مقعدي

**الف( نمونه مدفوع:**

* نمونه مدفوع باید در ظرف پلاستیکی تمیز (نیاز به استریل بودن نیست)، دهان گشاد با درپوش محکم و فاقد نشتی که بدون مواد نگهدارنده، شوینده، یون هاي فلزي یا کاغذ توالت باشد جمع آوري شود.
* نمونه مدفوع نباید با ادرار مخلوط شده باشد.
* حداقل یک گرم مدفوع با قوام طبیعی (به اندازه یک فندق) یا 2 میلی لیتر مدفوع اسهالی جهت کشت مورد نیاز است.
* هنگامی که نمونه مدفوع به آزمایشگاه می رسد باید در مدت 30 دقیقه و حداکثر 2 ساعت بعد از نمونه گیري مورد آزمایش و کشت قرار گیرد، به خصوص براي جداسازي شیگلا که بسیار حساس است. نمونه هایی را که نمی توان به فاصله 2 ساعت از نمونه گیري کشت داد، باید در محیط انتقالی قرار داد و بلافاصله در یخچال گذاشت. در این صورت نیاز به تهیه سوآب مدفوع می باشد.

**ب) سوآب مدفوع:**

* براي قرار دادن نمونه مدفوع در محیط انتقالی، سوآبی را درون نمونه مدفوع قرار داده و پس از حرکت چرخشی، مقدار کمی از آن را بردارید.
* در صورت مشاهده موکوس و خون در مدفوع باید با سوآب از آنها نیز نمونه گرفت.
* سوآب را بلافاصله به ته لوله محیط انتقالی وارد کنید و اضافی چوب را بشکنید و دور بیندازید تا درپیچ لوله بسته شود.
* در صورت عدم ارسال سریع، لوله را بلافاصله در یخچال قرار دهید. در صورت عدم دسترسی به یخچال آن را در مکانی خنک و دور از نور جهت پایین نگه داشتن دما قرار دهید.

**ج) سوآب مقعدي:**

* در بعضی موارد استفاده از سوآب مقعدي به جاي نمونه مدفوع ضروري است، مخصوصاً در نوزدان یا افراد مسن ناتوان.
* از آنجائیکه بعضی سویه هاي شیگلا به سرما و خشکی حساسند، همچنین مخاط تحتانی روده را مورد هجوم قرار می دهند، سوآب مقعدي در جداسازي این میکروارگانیسم مناسب تر می باشد.

**نمونه گیری ضایعات پوستی:**

نمونه های حاصل از ضایعات پوستی به سه صورت سواب، آسپیراسیون و بیوپسی بافت جمع آوری می شوند که دو نوع اول توسط پرسنل آموزش دیده آزمایشگاه هم قابل انجام است و نوع سوم توسط متخصص به انجام می رسد.

**الف) زخم، ندول و وزيکول**

1- سطح زخم را به وسيله شستشو با سرم فيزيولوژی استريل يا الکل 70 درصد تميز کنيد و بگذاريد خشک شود. اگر زخم وسیع است ترجیحاً از محلول الکلی برای پاکسازی ناحیه استفاده نشود.

2- از سرنگ 5-3 میلی لیتر با سرسوزن 22 يا 23 برای جمع آوری نمونه استفاده کنيد. بايد تا حد امکان آسپيراسيون عمقی انجام شود. در ضمن، درصورت وجود ندول یا وزيکول، دو نمونه، يکی از مايع داخل و يکی از قاعده آن جمع کنيد.

3- در صورتی که آسپيراسيون اوليه ناموفق باشد، می توان با تلقيح مقداری سرم فيزيولوژی غيرباکتريوستاتيک در زير جلد مجدد نمونه گرفت.

4- اگر آسپيراسيون را دوباره تکرار کرديد و موفق نشديد هيچ مايعی برداريد، خود سوزن و سرنگ را که احتمال زیاد حاوی نمونه (هرچند کم) است با کشيدن مقداری محيط مايع به داخل آن شستشو دهيد و مايع را در محيط ها تلقيح کنيد.

5- اگر در نهایت امکان نمونه گیری با آسپیره کردن وجود نداشت با سواب آغشته به نرمال سالین استریل نمونه گیری را انجام دهید.

**ب) بافت زيرجلدی، پانچ نمونه های پوست،** **زخم و بافت های عميق**

1- **پانچ بيوپسی های پوست:** توسط پزشک متخصص به انجام می رسد. سطح پوست را با الکل 70 درصد ضدعفونی کنيد. mm 4-3 از قسمت درم را پانچ کنيد. در لوله استريل بدون فرمالين و يا دارای سرم فيزيولوژی استريل غيرباکتريوستاتيک به بخش ميکروب شناسی ارسال کنيد (معمولاً توسط پزشک انجام می شود).

2- **آسپيراسيون بافت نرم و زخم و بافت های عميق:** توسط پزشک متخصص به انجام می رسد. سطح پوست را با الکل 70 درصد ضدعفونی کنيد و عميق ترين قسمت زخم يا مجرای سينوس را آسپيره کنيد تا از آلودگی سطح پوست اجتناب شود. در صورتی که نمونه به وسيله جراحی گرفته می شود، قسمتی از ديواره زخم نيز بايد برای کشت ارسال شود. يک بطري يا ظرف پلاستيکي دهان گشاد با درپوش پيچي برای جمع آوری نمونه توصيه مي شود. ممکن است مقدار کمي از سالين استريل و غير باکتريواستاتيک براي مرطوب نگه داشتن نمونه اضافه شود.

**ج) بیوپسی:** بیوپسی توسط پزشک متخصص از بافت های عمیق با اجتناب از تماس با لایه های سطحی و آلودگی با نرمال فلور به دست می آید. این نمونه به خصوص چون باید به صورت کمی گزارش شود باید با دقت نمونه برداری شود.

**نمونه گیری چشم:**

* مواد چرکی از سطح کیسه ملتحمه تحتانی و داخلی کنتوس (زاویه) چشم بر روی یک سواب استریل برای کشت جمع آوری می شود.
* کشت های کلامیدیایی با سواب خشک آلژینات کلسیم گرفته شده و در محیط انتقال ساکارز فسفات منتقل می شوند.
* برای بیماران مبتلا به کراتیت، چشم پزشک خراش های قرنیه را با یک کاردک پلاتینیوم استریل شده با حرارت جمع آوری می کند.
* نمونه های اندوفتالمیت توسط چشم پزشک از بخش های قدامی و خلفی چشم شامل حفره های چشم، آبسه های زخم و باز شدن زخم (شکاف باز شده) به دست می آید.
* عفونت مشخص روی پلک با یک سواب خیس شده با سرم فیزیولوژی استریل جمع آوری می شود.
* برای جمع آوری نمونه زجاجیه از تکنیک های تهاجمی تر استفاده می شود که شامل آسپیراسیون سوزنی یا ویترکتومی توسط پزشک متخصص است.

**نمونه گیری دستگاه تناسلی:**

**نمونه مجرا:**

* در مردان اگر ترشحات واضح چرکی خارج می شود، بعد از استریل کردن نوک مجرا با پنبه الکل ۷۰ درصد اجازه می دهیم الکل خشک شود و سپس از بیمار می خواهیم پوست ناحیه تناسلی را از قسمت پایین به سمت بالا فشار دهد تا ترشحات جدید خارج شده و با کمک یک سواب نمونه را برداشت می کنیم. اگر نمونه خارج نشد سواب را چند سانتی متر وارد سوراخ مجرا کرده و با اندکی چرخش نمونه را بگیرید.
* چند قطره از اولین تخلیه ادرار نیز با موفقیت برای تشخیص گنوکوک در مردان استفاده شده است.

**نمونه سرویکس یا دهانه رحم:**

* برای نمونه گیری ابتدا مخاط با مالش آرام ناحیه با پنبه پاک می شود، سواب از مجرای ادرار به کانال دهانه رحم وارد می شود و قبل از برداشتن به مدت 30 ثانیه چرخانده ​​و از یک طرف به سمت دیگر حرکت می دهیم.
* نمونه های اندوسرویکال با حذف موکوس اکتوسرویکال پس از قرار گرفتن اسپکولوم در دهانه رحم به دست می آیند که امکان دیدن ساختار واژن و دهانه رحم را فراهم می کند. اسپکولوم بهتر است برای نرم شدن با آب گرم مرطوب شود، زیرا بسیاری از روان کننده ها حاوی عوامل ضد باکتری هستند.

**نمونه ترشحات واژن:**

* علاوه بر نمونه دهانه رحم، نمونه های ترشحات واژن نیز ممکن است با سواب جمع آوری شوند.

**روش های نمونه­گيري ادرار:**

**نمونه تازه اول صبحگاهي**:

* اولین نمونه ادراری که پس از بیدار شدن از خواب تخلیه می­شود به عنوان نمونه تازه اول صبحگاهي شناخته می­شود و نمونه ايده آل ادرار می باشد.
* شب قبل از جمع­آوری، بیمار قبل از خواب ادرار را تخلیه می­کند و نمونه ادرار ابتدای صبح که به مدت 6 تا 8 ساعت در مثانه باقی مانده است در ظرف مخصوص ادرار جمع­آوری می­کنیم.
* این تست برای آزمایش موادی که غلظت در آنها مهم است مثل پروتئین یا تست­هایی که نیاز به دوران ماندگاری دارد مثل تولید نیتریت توسط باکتریها و كشت ادرار ایده­آل است.
* عناصر تشکیل شده مانند گلبول­های سفید، گلبول­های قرمز و کست­ها در چنین ادرار غلیظی پایدارتر هستند.
* به علاوه، این نمونه ها اغلب برای مطالعات سیتولوژی ترجیح داده می­شوند به دلیل اینکه تعداد سلول های اپی­تلیال موجود در آنها می­تواند قابل توجه باشد.
* مورفولوژی اجزای سلولی و کست­ها معمولاً به وسیله اسمولالیته بالای نمونه­های صبحگاهی تقویت می­شود. اما غلظت بالای نمک در این نمونه­ها می­تواند هنگام سرد شدن تا دمای اتاق کریستاله شود و منجر به تولید کریستال­های بی­شکل اورات یا فسفات آمورف شود و در بررسی روتین مطالعات سیتولوژیک مداخله کند.
* نمونه تازه اول صبحگاهي می­تواند به سه صورت زیر توسط پزشک درخواست گردد هر چند سه روش گفته شده زیر می­توانند بعد از ادرار صبحگاهی و ماندن ادرار به مدت چند ساعت در مثانه نیز به انجام برسد:

**ادرار تمیز میانی یا CCMU**: مهمترین و بیشترین نوع نمونه درخواستی ادرار توسط پزشکان است. یک نمونه ادرار پس از پاکسازی کامل آلت تناسلی در مردان یا مجرای ادرار در زنان حاصل می­شود. در ادامه عمل پاکسازی، بیمار اولین قسمت از ادرار را در چاه تخلیه می­کند، متوقف می­شود و قسمت میانی را در ظرف نمونه جمع­آوری می­کند، سپس هر مقدار ادرار باقی مانده را در چاه تخلیه می­کند.

برای آزمایش­های ادرار روتین و کشت میکروب ادرار به کار می­رود و نمونه در صورت مراعات شرایط نمونه­گیری اساساً عاری از آلودگی آلت تناسلی و مجرای ادرار است.

**ادرار تمیز اول ادرار یا CCFU:** در این نمونه حدود 10 سی­سی اول ادرار جمع­آوری می­شود و بقیه ادرار دور ریخته می­شود. این نمونه برای نمونه­های مشکوک به عفونت مجرا کاربرد دارد.

**ادرار تمیز آخر ادرار یا CCEU:** در این نوع نمونه حدود 10 سی­سی آخر ادرار جمع­آوری می­شود. در مردان هنگام شک به عفونت پرستات این نوع نمونه­گیری مد نظر قرار می­گیرد.

**دستورالعمل** **نمونه­گيري ادرار تميز مياني**

* در صورتي که بيمار توانائي جمع­آوري ادرار را دارد براي انجام اين روش بايد به طريق زير به بيمار آموزش لازم داده شود و در آزمايشگاه فرم­هايي با ذکر دقيق مراحل زير تعبيه شده و در اختيار بيماران قرار بگيرد.
* به بيمار آموزش داده شود که بر روي ظرف نمونه­گيري تحویل داده شده به آنها مشخصات کامل­شان شامل نام، جنسيت، سن، تاريخ و ساعت دريافت نمونه به طور صحيح روي برچسب ظرف نوشته شده باشد.

**نمونه­گيري ادرار تميز مياني در زنان**

1. بعد از اطمينان از باز نشدن قبلي درپوش ظرف استريل، درپوش آن را باز کرده و بدون قرار دادن آن بر روي زمين مراقب باشيد تا لبه و سطوح داخلي ظرف با انگشتان شما تماس پيدا نکند.
2. در موقعيت ادرار کردن قرار گرفته و پاها را از يکديگر کاملاً باز کنيد.
3. با انگشتان يک دست چينهاي پوستي دستگاه تناسلي را از يکديگر کاملاً باز کنيد.
4. به منظور حذف موکوس موجود، دستگاه تناسلي خارجي را چندين بار از جلو به عقب با گاز آغشته به آب تميز و سپس خشک کنيد. در غير اين صورت مي­توان با جريان آب ناحيۀ تناسلي را شستشو داده و با گاز استريل خشک کرد. استفاده از مواد ضدعفوني براي شستشو ممنوع است و در صورت استفاده قبلي از اين مواد يا استفاده از کرم­هاي خاص باید با جريان آب آنها را کاملاً حذف کرد. اخیراً استفاده از صابون را نیز به علت احتمال ورود آن به نمونه ادرار و تأثیر بر فاکتورهای ادراری غیر مجاز می­دانند.
5. اجازه دهيد ابتداي ادرار در چاه تخليه شود و بدون توقف جريان ادرار، قسمت­هاي مياني ادرار را داخل ظرف استريل بريزيد و بلافاصله درپوش ظرف را محکم ببنديد و اجازه دهيد بقيه ادرار در چاه تخليه شود.
6. ظرف کشت ادرار را در محل مخصوص جمع­آوري نمونه­ها قرار دهيد.

**نمونه­گيري ادرار تميز مياني در مردان**

1. بعد از اطمينان از باز نشدن قبلي درپوش ظرف استريل، درپوش آن را باز کرده و بدون قرار دادن آن بر روي زمين مراقب باشيد تا لبه و سطوح داخلي ظرف با انگشتان شما تماس پيدا نکند.
2. اجازه دهيد ابتداي ادرار در چاه تخليه شود و بدون توقف جريان ادرار قسمتهاي مياني ادرار را داخل ظرف استريل بريزيد و بلافاصله درپوش ظرف را محکم ببنديد و اجازه دهيد بقيه ادرار در چاه تخليه شود.
3. ظرف کشت ادرار را در محل مخصوص جمع­آوري نمونه­ها قراردهيد.

**نمونه­گيري ادرار در نوزادان توسط کیسه ادراری**

* بهترين زمان نمونه­گيري از نوزادان و اتصال کيسه ادراري مخصوص نوزادان به اين منظور هنگامي است که والدين طبق عادت نوزاد خود مي­دانند که زمان ادرار کردن نوزادشان نزديک است زيرا اتصال بيشتر از نيم ساعت باعث افزايش احتمال آلودگي کيسه و در نتيجه ايجاد جواب مثبت کاذب خواهد شد.
* استحمام نوزاد قبل از نمونه­گيري به خصوص در مورد دختر بچه­ها باعث کاهش آلودگي خواهد شد. در صورت عدم استحمام، منطقه تناسلي طفل باید با آب و صابون به طوركامل شستشو و خشك گردد (خصوصاً ناحيه پرينه و پوبيس) در ضمن پوست ناحيه نباید حاوي روغن، پودر يا لوسيون باشد.
* چسب كيسه ادرار باید ضد حساسيت و با قدرت چسبندگي مناسب باشد.
* مراحل نمونه گیری شامل موارد زیر است:

1. کودك را به پشت خوابانده و زانوهايش را خم کنيد تا پاهاي او به حالت نيمه باز درآيد.
2. دستکش پوشيده و ناحيۀ تناسلي را با پنبۀ آغشته به صابون مايع و آب تميز کنيد و سپس با آب گرم آبکشي و کاملاً خشک نماييد. در غير این صورت مي­توان با جريان آب ناحيۀ تناسلي را شستشو داده و با گاز استريل خشک کرد.

* اگر نوزاد پسر است: برچسب موجود بر روي سوراخ کيسه ادراري مخصوص نوزادان را جداسازي کرده و آلت تناسلي پسر بچه را با حداقل دستکاري و بدون تماس با سوراخ مجرا داخل سوراخ کيسه قرار دهيد و برچسب آن را محکم کنيد.
* اگر نوزاد دختر است: دستگاه تناسلي دختر بچه را به آرامي کاملاً باز کنيد و کيسه را از محل سوراخ به ناحيه داخلي دستگاه تناسلی(دور از مقعد) طوري بچسبانيد که مجراي ادرار در داخل کيسه قرار بگيرد و برچسب آن را محکم کنيد.

1. حداکثر نيم ساعت اجازه دهيد تا ادرار (بهترين ميزان 10 میلی لیتر است) در داخل کيسه جمع شود. اگر زمان از نيم ساعت بيشتر شد کيسه ادراري را برداشته، مراحل 1 و 2 را تکرار کنيد و سپس کيسه جديدي را نصب کنيد.
2. کيسۀ ادرار را با دقت از محل اتصال جدا کنيد و سر آن را با چسب خودش ببنديد و بدون تخليه خود کيسه را داخل ظرف استريل مخصوص کشت قرار دهيد.
3. پس از ثابت کردن كيسه ادرار بهتر است از طرف همراه نوزاد ورود ادرار به كيسه هر 15 دقيقه كنترل گردد و به محض جمع­آوري نمونه از محل جدا و سپس برچسب روي آن و درب كيسه محكم بسته شود و تحویل آزمایشگاه گردد.

**نمونه­گيري از بيماران داراي سوند ادراري ثابت از جمله سوندهاي فولي:**

* اگر بيمار هوشيار است و در همان لحظه داراي ادرار است سوند را از محل اتصال آن به کيسه ادراري جدا کرده، کيسه ادراري نمونه به وسيله پنبه آغشته به الکل 70 درصد يا کلر هگزيدين 2 درصد ديواره لوله سوند را ضد عفوني کرده و اجازه داده مي­شود ابتداي ادرار به داخل يک ظرف ريخته شود و سپس وسط ادرار در داخل يک ظرف استريل مخصوص ادرار جمع­آوري شود.
* اگر بيمار هوشيار نيست و يا در آن لحظه فاقد ادرار است براي نمونه­گيري، سوند را قبل از محل اتصال به لولۀ کيسۀ ادراري با يک پنس يا وسيلۀ مشابه مسدود کرده و بعد از حدود نيم تا يک ساعت از دو روش مي­توان ادرار را جمع­آوري کرد: روش اول طبق روش گفته شده در هنگامي که بيمار هوشيار است. روش دوم به کمک سرنگ بدون سر سرنگ از محل تعبيه شده براي نمونه­گيري در حد فاصل بين سوند و لولۀ کيسۀ ادراري با استفاده از يک سرنگ ادرار را جمع­آوري مي­کنيم.
* نمونه­گيري ادرار از کيسۀ سوند ادراري و يا نوك سوند فولي قابل قبول نيست.

**نمونه­گيري از سوند مستقيم يا نلاتون:**

ابتداي مجراي ادرار را با آب و صابون مايع معمولي شستشو شده و پس از سوندگذاري قسمت اول ادرار دور ريخته شده و بقيه را در ظرف استريل جمع مي­کنيم.

**نمونه­گيري ادرار در بيماران فاقد مثانه:**

* بيماراني که مثانه آنها برداشت شده است داراي سيستم ادرار به کمک مجراي روده (Ileal conduit) هستند که در آنها جراح به کمک قسمتي از روده کوچک از حالب­هاي کليه، مجرايي به بيرون شکم تعبيه کرده است و داراي يک منفذ بيروني (Stoma Opening) متصل به يک کيسه جمع­آوري ادرار (Stomabag) هستند.
* براي نمونه­گيري ادرار از اين مجرا، پس از تميز کردن منفذ بيروني با الکل 70 درصد، نوك يک سوند استريل را که به کمک ماده لوبريکنت ليز شده است را به آرامي و به عمق 5/2 تا 5 سانتيمتر داخل ميبريم و صبر مي کنيم تا ادرار به تدريج خارج و در يک ظرف نمونه­گيري استريل جمع شود. در صورت عدم خروج ادرار از بيمار خواسته شود جابه­جا شود و يا سرفه عميق کند.
* به هيچ وجه نبايد از کيسه متصل به اين مجرا نمونه­گيري انجام گردد.

**نمونۀ ادرار سوپراپوبيک:**

* براي نمونه­گيري از نوزادان يا در موارد کشت بي­هوازي و همچنين در مواردي که نمونه ادرار تميز مياني به دليل آلودگي حين نمونه­گيري نمي­تواند نتايج مناسبي ارائه دهد پزشک متخصص به طور مستقيم به کمک سرنگ مخصوص از مثانه نمونه­گيري کرده و همان سرنگ که سر آن به کمک کپ مخصوص استريل بسته شده است را براي آزمايشگاه ارسال مي­کند.
* در صورت عدم وجود کپ استريل بلافاصله بعد از جمع­آوري، ادرار باید به داخل يک ظرف استريل مخصوص نمونه ادرار ريخته شود و ارسال گردد.
* از آنجايي که اين نمونه بسيار حساس است باید ارسال آن بلافاصله انجام شده و کشت شود و همانند يک نمونه CSF با آن برخورد شود.

**نمونه­گيري ادرار در حين سيستوسکوپي**:

گرفتن ادرار به کمک يک سوند استريل ضمن انجام عمل سيستوسکوپي در اتاق عمل و توسط متخصص انجام مي­شود و ادرار در يک ظرف استريل جمع­آوري مي­گردد.

**روش جمع­آوري نمونه پروستات:**

* نمونه پروستات به دو روش چهار ظرفي يا VB1-VB2 -EPS- VB3 و دو ظرفی (VB2 و VB3) به انجام می رسد.
* اين روش در آقايان به منظور تعيين منشأ عفونت ادراري استفاده مي­شود و به اين ترتيب مي­توان عفونت مجاري ادراري و مثانه را از عفونت پروستات افتراق داد.
* اين روش مي­تواند به کمک روش زير توسط پرسنل و یا پزشک متخصص به انجام برسد يا طريقه انجام در بیمارانی که راضی به انجام نمونه­گیری نمی­شوند به خود بيمار آموزش داده شود:

1. چهار ظرف استريل ادراري که بر روي آنها به ترتيب VB1، VB2، EPS و VB3 برچسب خورده است در اختيار بيمار قرار بگيرد.

2. نمونهVB1 يا خروجي مثانه اول (Voided Bladder): 5 تا 10 سي­سي اول ادرار را داخل ظرف استريل کشت ادرار اول جمع مي­کنيم که اين نمونه در واقع نمونه مجرا مي­باشد.

3. نمونه VB2يا خروجي مثانه دوم پس از تخليه حدود 10 تا 20 میلی لیتر از ادرار در چاه، 10 میلی لیتر از وسط ادرار را داخل ظرف استريل دوم جمع مي­کنيم. بقيه ادرار را نگه مي­داريم و از تخليه آن جلوگيري مي­کنيم. اگر بیمار به خاطر ادرار باقی مانده زیاد، تحت فشار است اجازه دهیم مقداری ادرار در چاه تخلیه شود.

4. نمونه EPSيا ترشحات خروجي پروستات: پس از استفاده از ماده ليزکننده و درصورت نياز ليدوکايين به منظور کاهش درد، ماساژ پروستات به مدت يک دقيقه انجام شده (به اندازه تقريبي دو بند انگشت از مقعد به سمت پشت بيضه­ها وارد شده تا به برجستگي پروستات برسيم. سپس اين برجستگي را به مدت يک دقيقه و گاهی بیشتر ماساژ مي­دهيم) و سپس چند قطره ترشحات خارج شده از پيشابراه را داخل ظرف استريل سوم جمع مي کنيم. عدم وجود ترشحات پروستات نشان­دهنده ماساژ غيرصحيح است و ادامه ماساژ توصيه مي­شود. در صورت عدم خروج ترشحات مي­توان چند میلی لیتر اول ادرار خروجي را جمع­آوري کرد.

5. نمونه VB3 يا خروجي مثانه سوم: بدون قطع ادرار اولين 5 تا 10 میلی لیتر ادرار خروجي پس از ماساژ را داخل ظرف استريل چهارم جمع مي­کنيم. بقيه ادرار را درون چاه تخليه مي­کنيم.

* روش ديگر کشت پروستات روش دو ظرفي است که شامل مرحله VB2 و سپس ماساژ پروستات و انجام مرحله VB3 مي­باشد.

**(5) محدودیت ها و تداخلات:**

نمونه گیری نمونه های تهاجمی و همچنین انجام بیوپسی به منظور کشت نباید در بخش میکروب شناسی به انجام برسد و در صورت مراجعه بیمار برای انجام این نمونه ها، باید به مراکز مجهز و مخصوص این نمونه گیری ها ارجاع داده شود و نمونه گرفته شده در آنجا در سریع ترین زمان ممکن ارسال گردد.

**(6) الزامات ایمنی:**

استفاده از وسايل حفاظت فردی مخصوصاً دستکش مقاوم و غير قابل نفوذ، ماسک، روپوش، پيش‌بند مخصوص و غيره برای انجام تمام مراحل فرایند جمع‌آوری نمونه ضروری می باشد.

**(7) منابع**:

1. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد اول: تشخیص. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.
2. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد دوم: تفسیر کشت. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.
3. دستورالعمل مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی. آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. تابستان 1396.
4. Isenberg D. Henry: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*، American Society for Microbiology. 2007.
5. Koneman، Elmer W، et al. Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. *Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers. Seventh edition.* 2021.
6. Mahon CR, Lehman DC. Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book: Textbook of Diagnostic Microbiology. Elsevier Health Sciences; 2022 Nov 2.
7. Tille، Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences، fifteenth edition. 2021.
8. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
9. Baron EJ، Thomson RB Jr: Specimen collection، transport، and processing: bacteriology. In Versalovic J، et al، editors: Manual of clinical microbiology، Ed 10، Washington، DC، 2011، ASM Press، p. 228.