**3.حفظ، نگهداری و انتقال نمونه**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل های حفظ، نگهداری و انتقال نمونه ها** | |
| **کد سند:** | D-004-0003 | |
| **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:**

هدف اصلی این دستورالعمل شرح نحوه حفظ، نگهداری و انتقال نمونه های میکروبی به منظور حفظ شرایط نمونه مشابه شرایط اولیه، رسیدن کمترین آسیب به عوامل عفونت و کاهش خطر ایمنی برای منتقل کننده نمونه تا حد ممکن است.

**(2) مسئولیت ها:**

* در مراکز درمانی و بیمارستان ها، سیستم پرستاری با همکاری آزمایشگاه موظف است تا شرایط حفظ، نگهداری و انتقال صحیح و استاندارد نمونه های میکروبی را فراهم کند.
* بخش میکروب شناسی موظف است دستورالعمل های استاندارد حفظ، نگهداری و انتقال صحیح و استاندارد نمونه های میکروبی را در اختیار سیستم پرستاری قرار دهد.

**(3) تعاریف و اصطلاحات:**

* **نگهداری نمونه:** بسیاری از میکروارگانیسم ها به شرایط محیطی مانند وجود اکسیژن (مانند باکتری های بی هوازی)، تغییرات دما (مانند نایسریا مننژیتیدیس) یا تغییرات pH (مانند شیگلا) حساس هستند. بنابراین استفاده از نگهدارنده های ویژه یا محیط های نگهدارنده با دمای کنترل شده یا نگهدارنده، به منظور حمل و نقل نمونه ها برای اطمینان از زنده ماندن (بقاء) ارگانیسم و حفظ نمونه از شرایط محیطی غیر مطلوب مانند تغییرات اکسیژن، دما و pH مهم است.
* همچنین برخی نمونه ها که قابل انتقال نیستند یا پروسه کشت آنها باید بلافاصله به انجام برسد می توانند تحت شرایط خاص برای مدت محدود نگهداری شوند
* **ذخیره سازی نمونه:** اگر نمونه ها به محض دریافت قابل پردازش نباشند، می توان آنها را تحت شرایط خاص ذخیره نمود.
* **محیط های انتقالی:** محیط هایی هستند که اگر کشت سریع نمونه های میکروبی امکان پذیر نیست به عنوان بهترین راهکار نگهداری شرایط میکروارگانیسم ها بدون تغییر در تعداد محسوب می شوند.

**(4) شرح دستورالعمل:**

**نگهداری نمونه:**

* نمونه باید تحت شرایط نگهداری خاص قرار گیرد یا به کمک نگهدارنده ها، ضد لخته ها و محیط ترانسپورت شرایط بهینه نمونه حفظ گردد.
* در حالت ایده آل، بیشتر نمونه ها باید در عرض 2 ساعت پس از جمع آوری به آزمایشگاه منتقل شوند. با این وجود مواردی وجود دارد که زمان از جمع‌آوری تا پردازش در صورتی که در یخچال قرار نگیرد یا در محیط حمل و نقل خاصی قرار نگیرد، نباید از 15 دقیقه تجاوز کند و حتی طبق منابع جدید برخی نمونه ها (مانند مایع زجاجیه) باید در بالین بیمار کشت شوند. در جداول 3 تا 16 زمان استاندارد ارسال هر نمونه آمده است.

**ذخیره سازی نمونه:**

بسته به نوع محیط انتقال (در صورت وجود) و عوامل اتیولوژیک عفونی مشکوک، چندین روش نگهداری استفاده می شود: دمای یخچال 4 درجه سانتی گراد، دمای محیط یا اتاق (22-25 درجه سانتی گراد)، دمای بدن (35-37 درجه سانتی گراد)، و دمای فریزر (20- یا 70- درجه سانتی­گراد) (جدول 1):

ﺟﺪول1. ﺷﺮاﯾﻂ نگه داري ﻧﻤﻮﻧﻪ.

|  |  |
| --- | --- |
| **دمای 20-** | سرم برای مطالعات سرولوژیک |
| **دمای 70-** | * بافت یا نمونه ها برای نگهداری طولانی * مدفوع به منظور نگهداری برای کلستریدیوئیدس دیفیسیل بیشتر از 3 روز |
| **دمای یخچال (4 درجه سانتی گراد)** | * ﻧﻮك کتتر (IV)، گوش خارجی، خلط * ﻣﺎﯾﻊ ﻣﻐﺰي ﻧﺨﺎعی ﺟﻬﺖ ﺷﻨﺎﺳﺎیی وﯾﺮوس * مدفوع و ادرار بدون نگه دارنده * مدفوع جهت بررسی توکسین کلستریدیوئیدس دیفیسیل تا 3 روز * بررسی کلامدیا و مایکوپلاسما و ویروس ها |
| **دمای اتاق (26-22 درجه سانتی گراد)** | * آبسه، زخم، و بقیه ضایعات پوستی و بافت ها * مایعات بدن و مایع مغزی-نخاعی جهت بررسی باکتری ها * گوش داخلی، نمونه های بینی، نازوفارنکس و گلو، نمونه تناسلی * مدفوع و ادرار با نگه دارنده * بررسی ارگانیسم های حساس به حرارت (مانند نایسریا، هموفیلوس و پنوموکوک) |
| **دمای 37-35 درجه سانتی گراد** | نمونه CSF غیرقابل انجام به صورت فوری (به مدت 6 ساعت) |

**استفاده از مواد نگهدارنده:‌** مواد نگهدارنده را می توان فقط در دو نوع نمونه میکروبی ادرار و مدفوع استفاده نمود:

* بوریک اسید می تواند تعداد باکتری ها را در نمونه ادرار به منظور کشت، تا 24 ساعت ثابت نگه دارد و برای جمع آوری نمونه ادرار در مکان های دور از آزمایشگاه مفید است. میزان مورد نیاز از بوریک اسید حدود ۵ میلی گرم برای ۳ سی سی از ادرار می باشد.
* نمونه مدفوع که قابل انجام از نظر کشت به مدت 1 ساعت نیست را می توان به محیط انتقالی و نگهدارنده کری-بلیر اضافه کرد اما اگر از نظر توکسین باکتری کلستریدیوئیدس دیفیسیل نمونه مورد بررسی باشد نمی توان از نگهدارنده استفاده کرد.
* در جداول دستورالعمل زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند برای هر نمونه آمده است.

**استفاده از مواد ضد انعقادی:** مواد ضد انعقادی به منظور جلوگیری از لخته شدن نمونه های میکروبی در نمونه هاي زير کاربرد دارد: خون، مغز استخوان و مایع مفصلی، زیرا در نمونه های لخته شده جداسازی ارگانیسم ها دشوار است.

* اصلی ترین ماده ضد انعقادی مورد استفاده سدیم پلیانتول سولفات (SPS) می باشد که نسبت آن به محیط کشت باید دقیق باشد و غلظت آن نباید بیشتر از (wt/vol) 025/0 % باشد زیرا مانع رشد برخی سویه های نایسریا و برخی باکتری های بی هوازی می شود.
* ماده ضدانعقاد مورد تأيید دیگر هپارین است که برای کشت ویروس ها و مایکوباکتریوم از خون استفاده می شود.
* سیترات و EDTA به هیچ عنوان نباید به عنوان مواد ضد انعقاد برای نمونه های میکروبی استفاده شوند.

**انتقال نمونه:**

* محیط انتقالی آمیس (Amies)یا استوارت (Stuart’s) معمولی ترین محیط های انتقالی مورد استفاده می باشند (جدول2).
* برخی محیط های انتقالی مانند آمیس چارکول، حاوی زغال فعال (چارکول) هستند که باعث جذب اسیدهای چرب می شوند که برای نگهداری نایسریا گنوره آ و بوردتلا پرتوزیس مناسب هستند.
* کشت خون، مایع مفصلی و دیگر مایعات استریل به طور مستقیم کشت داده می شوند و نیازی به محیط انتقالی ندارند مگر اینکه زمان کشت طولانی گردد (بیشتر از یک ساعت) که از محیط های انتقالی خاص می توان استفاده کرد.

جدول 2. محیط های انتقالی (ترانسپورت) رایج.

|  |  |
| --- | --- |
| **محیط انتقالی** | **توضیحات** |
| محیط ترانسپورت آمیس | بازیابی باکتریهای هوازی و بیهوازی |
| محیط ترانسپورت آمیس با ذغال فعال یا چارکول | بازیابی باکتری های هوازی و بیهوازی؛ زغال فعال سموم باکتریایی و سایر مواد بازدارنده را خنثی می کند و pH را حفظ می کند |
| محیط ترانسپورت بی­هوازی | سیستم های تجاری متعدد در دسترس؛ بازیابی باکتری های بیهوازی و میکروهوازی |
| محیط کری بلیر | بازیابی باکتری های روده ای |
| فرمالین (5٪-10٪)، PVA (پلی وینیل الکل)، SAF (سدیم استات-اسید استیک-فرمالین) | بازیابی انگل های گوارشی؛ برخی ممکن است برای سنجش ایمنی قابل قبول باشند |
| محیط ترانسپورت استوارت | بازیابی اکثر باکتری ها |
| محیط ترانسپورت یونیورسال یا عمومی | بازیابی کلامیدیا، مایکوپلاسما و اوره آپلاسما و ویروس ها |

در جداول 3 تا 16 دستورالعمل های کلی هر نمونه میکروبی از ظرف مورد نیاز، دستورالعمل ویژه، زمان قابل انتقال به آزمایشگاه و زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند (در صورت عدم امکان کشت سریع) و توصیه های لازم برای هر نمونه بدن به طور مجزا آمده است.

جدول 3. نمونه آبسه (همچنین ضایعه ، زخم ، تاول و زخم معده).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **انتقال به آزمایشگاه** | **زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| آبسه سطحی و زخم | سوآب هوازی مرطوب شده با محیط های آمیس یا استوارت | 2 ساعت یا کمتر | 24 ساعت در دمای اتاق |
| آبسه عمیق و زخم | انتقال دهنده های بیهوازی | 2 ساعت یا کمتر | 24 ساعت در دمای اتاق |

جدول 4. نمونه های استریل.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **انتقال به آزمایشگاه** | **زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| خون | مجموعه محیط های کشت خون (بطری های هوازی و بیهوازی)  درب ظرف را با ایزوپروپیل الکل 70 درصد یا کلرهگزیدین استریل | در عرض2 ساعت در دمای اتاق | 2 ساعت یا کمتر در دمای اتاق و به هنگام دریافت نمونه در آزمایشگاه باید در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه گردد. |
| آسپیره ی مغز استخوان | مجموعه محیط های کشت خون (بطری های هوازی و بیهوازی)یا لوله های 1و نیم سیستم سانتریفیوژ لیزیز | 24 ساعت یا کمتر در دمای اتاق | 24 ساعت یا کمتر در دمای اتاق |
| مایعات بدن | لوله درپیچ دار استریل، یا انتقال دهنده های بیهوازی یا تلقیح مستقیم به بطری های کشت خون | 15 دقیقه یا کمتر | کمتر از 24 ساعت در دمای اتاق (به محض دریافت گذاشته شود). بطری های کشت خون به محض رسیدن به آزمایشگاه در دمای 37 درجه انکوبه شود. کمتر از 24 ساعت در دمای 4 درجه برای کشت مایعات از نظر قارچ. |
| بافت استخوان | ظرف درپیچ دار استریل | سریعاً (در دمای اتاق باشد) | به محض دریافت انجام شود. |

جدول 5. مايع مغزي – نخاعي (CSF)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **ظرف** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** | **توضیحات** |
| لوله در پیچ دار استریل | کمتر از 15 دقیقه در دمای اتاق. هرگز برای بررسی باکتری در فریزر یا در یخچال گذاشته نشود | کمتر از 24 ساعت به صورت روتین در دمای 37 درجه انکوبه می شود بجز ویروسها که در دمای 4 درجه بالای سه روز می توانند نگهداری شوند. | برايCSF جدا شده از شانت محيط تایوگلیکولات اضافه مي شود همچنين جمع آوري در كشت خون نيز پیشنهاد می شود. |

جدول 6. گوش

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **آماده سازی بیمار** | **دستورالعمل ویژه** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| گوش درونی | لوله ی در پیچ دار استریل یا انتقال دهنده بیهوازی | تميز كردن كانال گوش با محلول صابون ملايم | در صورت سالم بودن پرده گوش (Drum ) مواد پشت را با سرنگ بکشید. از سوآب انعطاف پذیر برای جمع آوری مواد از پرده گوش آسيب ديده استفاده کنید. | 2 ساعت یا کمتر | 24 ساعت در دماي اتاق |
| گوش بیرونی | سوآب هوازی مرطوب شده با محيط استوارت یا آمیس | پاک کردن پوست گوش با محلول نمکی (سالين) استریل | سوآب را محکم در کانال بیرونی گوش بچرخانید. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي 4 درجه |

اگر عفونت گوش به درمان های قبلی پاسخ نداده باشد پزشک با عمل تیمپانوسنتز (Tympanocentesis) که به ندرت به انجام می رسد، از لوله ای نازک استفاده می کند، پرده گوش را سوراخ کرده و مایعات را از گوش میانی بیرون می کشد و برای کشت ارسال می کند.

جدول 7. چشم

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **آماده سازی بیمار** | **دستورالعمل ویژه** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| ملتحمه  (Conjunctiva) | کشت مستقیم در محیط بلاد آگار و شکلات آگار  یا سواب در محیط انتقالی |  | درصورت نمونه گرفتن از هر دو چشم: از سوآب های جداگانه که از پیش با محلول نمکی(سالين) استریل مرطوب شده، استفاده. | پلیت های کشت 15 دقیقه یا کمتر در دمای اتاق سوابها 2 ساعت یا کمتر در دمای اتاق | 24 ساعت در دمای اتاق |
| مايع زجاجيه Aqueous/vitreous fluid) | لوله ی در پیچ دار استریل | چشم ها را براي آسپیراسیون سوزنی آماده نماييد. |  | 15 دقیقه یا کمتر در دمای اتاق | کمتر از 24 ساعت در دماي اتاق به محض رسيدن نمونه به سرعت انجام گردد. |
| زخم قرنيه  Corneal scrapings | تخت بیمار تلقيح در BHI 10% | پزشک باید قبل از جمع آوری نمونه ، بی حس کننده موضعی تزریق کند. |  | 15 دقیقه یا کمتر در دمای اتاق | کمتر از 24 ساعت در دماي اتاق  به محض رسیدن به آزمایشگاه ، باید در دمای 28 درجه سانتی گراد برای قارچ انکوبه شود(SDA).  يا در دماي 37 درجه سانتي گراد براي بقيه نمونه انكوبه شود |

جدول 8. **دستگاه گوارشي**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **دستورالعمل ویژه** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| آسپیره معده | لوله ی درپیچ دار استریل | بیشتر آسپیره های معده برای نوزادان و یا برای باكتريهاي اسيد فست انجام مي شود. | 15 دقیقه یا کمتر در دمای اتاق | کمتر از 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد  بايد ظرف 1 ساعت پس از جمع آوری با بی کربنات سدیم خنثی گردد. |
| بيوپسی معده | لوله ی درپیچ دار استریل با محيط انتقال دهنده | تست اوره آز سریع یا کشت برای هلیکوباکتر پیلوری | 1 ساعت یا کمتر در دمای اتاق | 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد |
| سوآب مقعدی | سوآب باید در محیط انتقال دهنده روده ای قرار بگیرد. | سوآب را 1 تا 5/1 سانتی متر از اسفنگتر مقعد وارد کنید ؛ مدفوع باید روی سوآب قابل مشاهده. | 2 ساعت یا کمتر در دمای اتاق | کمتر از 24 ساعت در دماي اتاق |
| كشت رايج مدفوع | ظرف تميزي كه نشتي نداشته باشد؛  اگر فرايند انتقال بيش از 1 ساعت شود نمونه بايد به محيط انتقال دهتده روده اي مثل کری-بلیر منتقل شود | كشت رايج بايد شامل شیگلا، سالمونلا و کمپیلوباکتر و اگر نياز باشد ویبریو، آئروموناس، پلزیوموناس، یرسینیا E.coli O157: H7  همچنين پیگیری ها ممکن است شامل سنجش Shiga toxin طبق توصيه CDC باشد. | 24 ساعت در دمای اتاق براي محيط هاي نگهدارنده  و 1 ساعت یا کمتر در دمای اتاق براي محيط هاي بدون نگهدارنده | 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد  کمتر از 48 ساعت  در دماي اتاق يا 4 درجه سانتي گراد |
| O & P  (انگل و تخم انگل) | انتقال دهنده هاي O&P( مثل فرمالين 10% و PVA پلی وینیل الکل) | اگر بیمار ترکیب ضد انگلی، باریم، آهن، کائوپکتات، مترونیدازول، شیر منیزی، پپتوبیسمول يا تتراسایکلین دریافت کرده باشد، حداقل 5 تا 10 روز (تا 2 هفته) باید صبر کند. | مدفوع مایع و تازه و نگهداری نشده باید در 30 دقیقه پس از جمع آوری بررسی شوند. مدفوع نیمه جامد در عرض 1 ساعت مورد آزمایش قرار میگیرد. نمونه های مدفوع داخل فيكساتيو24 ساعت در دمای اتاق قابل انتقال | نامعین در دمای اتاق |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| *Clostridiodes difficile* | ظرف استریلی که نشتی نداشته باشد. | 1 تا 24 ساعت در دمای در دمای 4 درجه  1 ساعت یا کمتر در دمای اتاق | 48 ساعت در دمای 4 درجه ی سانتی گراد برای کشت یا PCR |
| *Escherichia coli* O157-H7 یا دیگر سویه های تولید کننده ی شیگلا توکسین |  | 1 تا 24 ساعت در دمای در دمای 4 درجه در سوآب های انتقالی و 1 ساعت یا کمتر در دمای اتاق برای محیط های بدون نگهدارنده | کمتر از 24 ساعت در دمای 4 درجه برای محیط های بدون نگهدارنده |

جدول 9. اجسام خارجي

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **محیط کشت های اولیه** | **زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند** | **انتقال به آزمایشگاه** | **دستورالعمل ویژه** | **آماده سازی بیمار** | **ظرف** | **نمونه** |
| تایوگلیکولات | به محض دریافت گذاشته شود. | 15 دقیقه یا کمتر در دمای اتاق |  | قبل از خارج کردن IUD، پوست را ضد عفونی کنید. | ظرف درپیچ دار استریل | IUD |
| بلاد آگار  تایوگلیکولات | به محض دریافت گذاشته.  نگهداري به مدت کمتر از 2 ساعت در دماي 4 درجه | 15 دقیقه یا کمتر در دمای اتاق | كاتترهاي foley را كشت ندهيد. | قبل از خارج كردن نمونه، پوست را با الکل ضد عفونی. | ظرف درپیچ دار استریل | IV Catheters  Pins |

جدول 10. مجرای تناسلی زنان

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| نمونه | ظرف | دستورالعمل ویژه | انتقال به آزمایشگاه | زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند |
| کیست يا غده بارتولن | انتقال دهنده بيهوازی | مایع را آسپیره کنید؛ کلامیدیا و كشت گنوکوک را در نظر بگيريد. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |
| دهانه رحم (سرويكس‌ ) | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس | از لوبريكانت (روان كننده ) روي اسپکولوم استفاده نکنید؛  از محیط انتقال دهنده ویروسی و کلامیدیایی استفاده کنید. در صورت ضرورت از سوآب عمیق در کانال اندوسرویکال استفاده کنید. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |
| Cul-de-sac  مايع آزاد لگني يا  كل-د-ساك | انتقال دهنده بيهوازي | آسپیره شود | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |
| اندومتر | انتقال دهنده بيهوازي | بيوپسی جراحی یا آسپیره، انتقال دهنده با کاتترهای پوششدار | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |
| مجرای ادراری زنان | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس | جمع آوري ترشحات با قرار دادن سوآب انعطاف پذیر 2 تا 4 سانتی در مجرای ادرار و چرخاندن سوآب برای 2 ثانیه؛ حداقل یک ساعت بعد از دفع ادرار جمع آوری شود. ترشحات اولیه بعد از باز شدن مجرا تمیز شود | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |
| واژن | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس | ترشحات سوآب و غشای مخاطی واژن. اگر اسمیر نیز لازم باشد از سوآب دوم استفاده کنید. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |
| زخم ناحیه تناسلی (مردان یا زنان) | سواب ترانسپورت | سطح ضایعه را با چاقوی جراحی استریل بردارید. پایه ضایعه را با یک سواب استریل مالش دهید. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |

جدول 11. دستگاه تناسلي مردان

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **دستورالعمل ویژه** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| پروستات | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس یا لوله ی در پیج دار استریل، نمونه گیری به روش 4 ظرفی استاندارد است. | ترشحات را با سوآب يا داخل لوله جمع آوري كنيد. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق براي سوآب،  به سرعت در دماي اتاق اگر داخل لوله جمع آوری شده. | 24 ساعت در دماي اتاق براي سوآب و اگر داخل لوله است به سرعت انجام شود |
| مجراي ادرار مردان | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس | سوآب انعطاف پذیر را 2 تا 4 سانتی داخل مجرا فرو و آنرا 2 ثانیه داخل مجرا بچرخانید. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |

جدول 12. مو، ناخن ها يا خراش هاي پوستی (برای کشت های قارچی)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| نمونه | ظرف | آماده سازی بیمار | دستورالعمل ویژه | انتقال به آزمایشگاه | نگهداری قبل از انجام فرایند |
| مو  ناخن ها  خراش پوست | لوله ی در پیج دار تمیز | برای جمع آوری نمونه ناخن یا پوست:  ناحیه را با الکل 70% پاک کنید. | مو: موها را باshaft سالم جمع آوری کنید.  ناخن ها: از ناحیه آسیب دیده، برشی ارسال کنید.  پوست: پوست را در امتداد ضایعه خراش دهید | در عرض 72 ساعت در دمای اتاق | نامعین / در دمای اتاق |

جدول 13. مجراي تنفسي فوقاني

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| نمونه | ظرف | دستورالعمل ویژه | انتقال به آزمایشگاه | نگهداری قبل از انجام فرایند |
| نازوفارنكس | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس | سوآب انعطاف پذیر را از طریق بینی وارد نازوفارنکس پشتی کرده و به مدت 5 ثانیه بچرخانید؛ نمونه ی انتخابی برای بوردتلا پرتوزیس | 15 دقيقه یا کمتر در دماي اتاق بدون محيط انتقال دهنده. 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق همراه با محيط انتقال دهنده | 24 ساعت در دماي اتاق |
| بيني | سواب انتقالی | سواب خیس به نرمال سالین را به اندازه یک تا 2 سانتی متر داخل بینی فرو کنید تا مخاط بینی را نمونه گیری کنید | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق |
| حنجره (گلو) | سوآب مرطوب شده با محيط هاي استوارت یا آمیس | سوآب پشت حلق و لوزه ها | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |

جدول 14. مجراي تنفسي تحتاني

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **دستورالعمل ویژه** | **انتقال به آزمایشگاه** | **زمان قابل نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| BAL  BB (براش برونش)  BW (شستشوی برونش)  آسپیره اندوتراکئال | ظرف در پیج دار استريل | كشت بيهوازي تنها در صورت استفاده از كاتتر محافظت شده مناسب است. | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | کمتر از 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد |
| خلط | ظرف در پیج دار استريل | نمونه باید از سرفه های عمیق جمع شود و از نظر مناسب بودن برای کشت با رنگ آمیزی گرم بررسی شود؛ خلط گرفته شده از کودکان یا بیمارانی که همکاری لازم را ندارند، ممکن است بدلیل نبولیزاسیون نمکی آبکی شود . | 2 ساعت یا کمتر در دماي اتاق | کمتر از 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد |

جدول 15. بافت

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **ظرف** | **دستورالعمل ویژه** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| انتقال دهنده هاي بي هوازي يا لوله استريل در پیچ دار | اجازه ندهید نمونه خشک شود ، در صورتی که نمونه خونی نیست با آب مقطر استریل آن را مرطوب. | 15 دقيقه یا کمتر در دماي اتاق | 24 ساعت در دماي اتاق |

جدول 16. ادرار

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **نمونه** | **ظرف** | **انتقال به آزمایشگاه** | **نگهداری قبل از انجام فرایند** |
| ادرار خانم ها و آقایان برای بررسی نوکلئیک اسید (مثل PCR) | لوله استریل با لوله آماده شده توسط سازنده تست | در محیط های بدون نگهدارنده : 2 ساعت یا کمتر در دمای اتاق  یا 24 ساعت در دماي 4 درجه | توسط سازنده |
| ادرار مياني يا  CVS | ظرف درپیچ دار استریل  ظروف حاوی انواع مواد نگهدارنده شیمیایی ادرار نیز ممکن است استفاده گردد. | در محیط های داراي نگهدارنده : طی 24 ساعت در دمای اتاق  در محیط های بدون نگهدارنده : 1 تا 2 ساعت یا کمتر دماي در اتاق | 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد |
| كاتتر مستقيم (داخل و خارج) | ظرف درپیچ دار استریل  یا محیط لوله انتقالی ادراری با بوریک اسید | در محیط های داراي نگهدارنده : طی 24 ساعت در دمای اتاق. در محیط های بدون نگهدارنده : 1 تا 2 ساعت یا کمتر دماي در اتاق | 24 ساعت در دماي 4 درجه سانتي گراد |
| آسپیراسیون سوپراپوبیک | ظرف درپیچ دار استریل یا انتقال دهنده بیهوازی | به سرعت در دمای اتاق | به محض دریافت گذاشته شود. |

**دستورالعمل حمل و نقل مواد عفونی به مکان های دور**

**مواد عفونی**: طبق تعریف دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی (WHO)، مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های ایالات متحده (CDC) و انجمن بین المللی حمل و نقل هوایی (IATA) مواد عفونی (اصطلاح بین‌المللی: Infectious Substances/ Materials) به عنوان مواد حاوی ارگانیسم بیماری زای شناخته شده یا مشکوک که باعث بیماریزایی می شود تعریف می شود (شامل باکتری‌ها، ویروس‌ها، ریکتزیا، انگل‌ها، قارچ‌ها و عوامل دیگری مانند پریون‌ها).

## دسته‌بندی مواد عفونی

به طور کلی جهت انتقال نمونه های عفونی، این مواد را به 3 دسته‌ی زیر تقسیم می‌کنند:

### 1- نمونه‌های عفونی گروه :A

ارگانیسم‌هایی که نام آن‌ها در جدول 17 ذکر شده است، در دسته نمونه‌های عفونی گروه A قرار می‌گیرند که عوامل عفونی شناخته شده‌ای هستند که در صورت تماس با انسان و یا حیوانات می‌توانند باعث بروز بیماری‌های بسیار خطرناکی شوند که تهدیدکننده‌ی زندگی خواهند بود. کشت باكتری سل، بروسلا و كشت انواع ویروس‌ها مانند [هپاتیت B](https://medpip.com/mag/%d9%87%d9%be%d8%a7%d8%aa%db%8c%d8%aa-%d9%86%d9%88%d8%b9-b/) در این گروه قرار می‌گیرند.

لازم به ذکر است که نمونه‌های عفونی گروه A خود نیز به 2 دسته‌‌‌ی زیر تقسیم می‌شوند:

1. مواد عفونی که قابلیت ایجاد بیماری‌ خطرناک در انسان را دارند و مطابق با قوانین سازمان ملل متحد با عنوانUN 2814 طبقه‌بندی می‌شوند.
2. مواد عفونی که فقط باعث بروز بیماری در حیوانات شده و تحت عنوانUN 2900 نام‌گذاری می‌شوند.

جهت انتقال نمونه های عفونی، برچسب گذاری صحیح و مشخص کردن نوع نمونه از اهمیت زیادی برخوردار است. به همین دلیل نام گذاری این 2 دسته نیز بر اساس قوانین بین الملل متفاوت است.

جدول 17: دسته‌بندی نمونه‌های عفونی گروه A.

|  |  |
| --- | --- |
| **1. مواد عفونی که قابلیت ایجاد بیماری‌های خطرناک در انسان را دارند** | |
| *Bacillus anthracis, Brucella abortus, Brucella melitensis, Brucella suis, Burkholderia mallei, Burkholderia pseudomallei, Chlamydia psittaci (avian strains), Clostridium botulinum, Coccidioides immitis, Coxiella burnetii, Mycobacterium tuberculosis, Rickettsia prowazekii, Rickettsia rickettsii, Yersinia pestis, Francisella tularensis, verotoxigenic Escherichia coli* | باکتری ها  (فقط کشت) |
| *Eastern equine encephalitis virus, Flexal virus, Japanese Encephalitis virus Hepatitis B virus, Guanarito virus, Hantaviruses causing haemorrhagic fever with renal syndrome, Hantaan virus, Hendra virus, Poliovirus, Herpes B virus, Human immunodeficiency virus, Highly pathogenic avian influenza virus, Rabies virus, Tick-borne encephalitis virus, Rift Valley fever virus, Venezuelan equine encephalitis virus, West Nile virus, Yellow fever virus, encephalitis virus,* | ویروس ها  (فقط کشت) |
| *Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, Dengue virus, Ebola virus, Junin virus, Kyasanur Forest disease virus, Lassa virus, Machupo virus, Marburg virus, Monkeypox virus, Nipah virus, Omsk haemorrhagic fever virus, Variola virus, Sabia virus, Russian spring-summer,* | ویروس ها  (همه نمونه های مشکوک) |
| **2. مواد عفونی که قابلیت ایجاد بیماری‌های خطرناک در حیوانات را دارند** | |
| *Avian paramyxovirus Type 1 (Velogenic Newcastle disease virus), African swine fever virus, Classical swine fever virus, Foot and mouth disease virus, Lumpy skin disease virus, Mycoplasma mycoides, Peste des petits ruminants virus, Rinderpest virus, Sheep-pox virus, Goatpox virus, Swine vesicular disease virus, Vesicular stomatitis virus* | ویروس ها  (فقط کشت) |

**2- نمونه‌های عفونی گروه B:**

نمونه‌ها و عوامل عفونی که در جدول 17 ذکر نشده‌اند، در دسته‌ی نمونه‌های عفونی گروه B قرار می‌گیرند که قادر به ایجاد بیماری‌های کشنده در انسان و یا حیوانات نیستند اما می‌توانند مخاطراتی را برای سلامت انسان و یا حیوانات ایجاد کنند. مطابق با قوانین بین الملل، این نمونه‌ها تحت عنوانUN3373 شناخته می‌شوند و جهت بسته‌بندی و برچسب گذاری آن‌ها برای انتقال، ذکر این عنوان بر روی بسته‌بندی ضروری است.

**3- موارد معاف شده:**

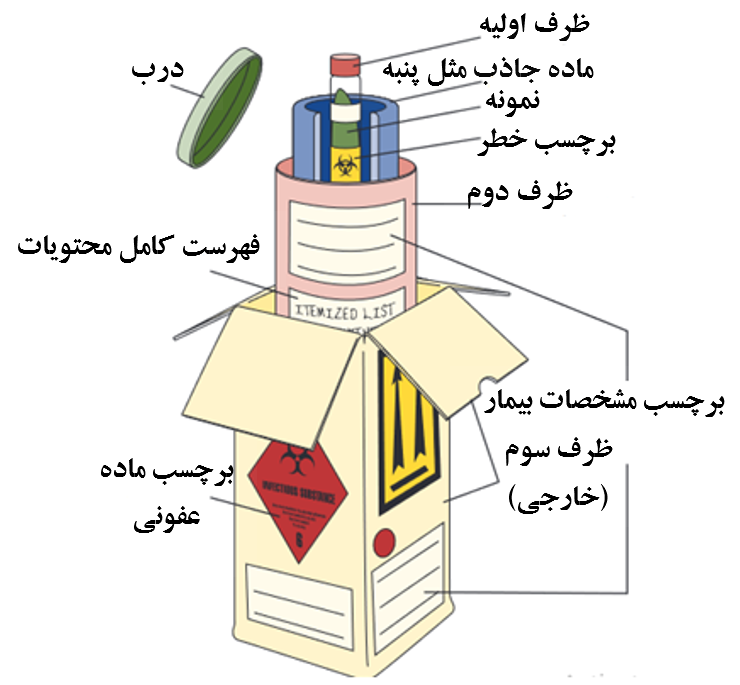
موارد معاف شده (Exempt specimens)، موادی هستند که حاوی عوامل عفونی نیستند یا بعید است سبب بروز بیماری در انسان و حیوانات شوند. البته جهت تشخیص این موضوع لازم است تا این نمونه‌ها مورد ارزیابی یک فرد متخصص قرار گیرند. گاهی اوقات ممکن است به تشخیص پزشک، نمونه‌ی بررسی شده جزو نمونه‌های عفونی محسوب شود و به همین دلیل بسته‌بندی آن‌، باید با توجه به مقررات محموله‌های خطرناک (استفاده از 3 محفظه جهت بسته‌بندی) صورت گیرد.

برخی از موارد معاف شده که مشمول مقررات 3 محفظه‌ای نمی‌شوند، در ادامه ذکر شده‌اند:

* نمونه‌هایی که عوامل بیماری‌زای موجود در آن‌ها غیر فعال یا خنثی شده‌ است.
* خون و فرآورده‌های خونی جهت انتقال خون و یا پیوند اعضا
* بافت‌ها و اندام‌های پیوندی
* لکه‌های خون خشک شده
* پسماندهای پزشکی که آلودگی زدایی شده باشند

## نحوه انتقال نمونه های عفونی:

* حمل و نقل مواد عفونی به مکان های دور باید طبق دستورالعمل WHO، CDC و IATA به انجام برسد.
* حمل و نقل نمونه عفونی باید در بسته بندی 3 تایی (Triple Package) به انجام برسد که نمونه در داخلی ترین ظرف قرار می گیرد (شکل 1).
* لازم است تا محفظه اولیه و ثانویه قابلیت تحمل فشاری معادل با حداقل kPa 95 را داشته باشند.
* بسته‌بندی باید به گونه‌ای باشد که در صورت سقوط از ارتفاع 9 متری، هیچگونه نشتی نمونه رخ ندهد.

**** 

شکل 1. **راست**. ویژگی های بسته بندی 3 تایی مخصوص ارسال نمونه به مناطق دور. **چپ**: شکل واقعی سه محفظه جهت حمل نمونه‌های عفونی.

با توجه به دسته‌بندی نوع نمونه، هر یک از این 3 محفظه باید دارای ویژگی‌های خاص خود باشد که توضیح داده می شوند.

## ویژگی های محفظه های مورد استفاده جهت انتقال نمونه های عفونی

**محفظه‌ی ۱:** این محفظه معمولاً یک ظرف درب‌دار غیرقابل نفوذ و ضدنشت است که نمونه‌ی گرفته شده درون آن قرار می‌گیرد. معمولاً از لوله‌های آزمایش به عنوان محفظه اول استفاده می‌شود. گاهی اوقات نیاز است تا چندین لوله آزمایش حاوی نمونه (به عنوان محفظه اولیه) منتقل شوند. در چنین شرایطی لازم است تا اطراف این محفظه به طور کامل توسط یک لایه‌ی جاذب (مانند تکه‌های ابر یا اسفنج) پوشانده شود تا در صورت شکستن محفظه، نمونه را جذب کند. همچنین در صورتی که تعداد نمونه‌ها و لوله‌های آزمایش زیاد باشد، لازم است تا لوله‌ها توسط جداکننده‌های ضخیمی از جنس مقوا یا اسفنج از یکدیگر جدا شوند به طوری که حین حمل با یکدیگر برخورد نداشته باشند.

**محفظه‌ی ۲**: این محفظه برای نگهداری محفظه‌ی اول مورد استفاده قرار می‌گیرد و معمولاً مشخصات نمونه بر روی آن درج می‌شود. لازم به ذکر است که محفظه‌ی دوم نیز باید کاملاً ضدنشت و ضدنفوذ مایعات باشد.

**محفظه‌ی ۳** :محفظه‌ی دوم درون یک محفظه‌ی ضد ضربه قرار می‌گیرد که در برابر شرایط محیطی نامساعد (مانند رطوبت، دمای بالا و …) نیز مقاوم است. در مورد نمونه‌هایی که نیاز است در دمای پایین نگهداری شوند می‌توان از کول باکس(Cool Box) به عنوان محفظه‌ی سوم استفاده نمود. كوچكترین ابعاد خارجی محفظه سوم باید 10×10 سانتی متر باشد.

از آنجایی که میزان بیماری‌زایی و مخاطرات ایجاد شده توسط نمونه‌های عفونی گروه A،B و نمونه‌های معاف شده متفاوت است، در نحوه‌ی برچسب‌گذاری (**نام گذاری**) این نمونه‌ها نیز تفاوت‌هایی وجود دارد که در جدول 18 و شکل 2 آمده است.

بسته‌بندی باید حاوی اطلاعات زیر باشد:

* نام و آدرس فرستنده یا ارسال کننده کالا و نام و آدرس حمل کننده کالا
* شماره تلفن شخصی که مسئول تأیید نحوه صحیح بسته‌بندی نمونه است
* نام و آدرس دریافت‌کننده (گیرنده کالا)
* دسته بندی نوع نمونه و شماره UN مناسب طبق جدول 18 و شکل 2
* الزامات دمای ذخیره سازی (اختیاری)
* برچسب تعیین جهت (دو عدد بر روی محفظه سوم)

**جدول 18: نحوه نام گذاری نمونه‌های عفونی جهت حمل و شماره UN مناسب.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **شماره UN** | **نام نمونه** | **دسته بندی نمونه** |
| UN 2814 | INFECTIOUS SUBSTANCES AFFECTING HUMANS | نمونه‌های عفونی گروه A که برای انسان خطرآفرین هستند. |
| UN 2900 | INFECTIOUS SUBSTANCES AFFECTING ANIMALS | نمونه‌های عفونی گروه A که برای حیوانات خطرآفرین هستند. |
| UN 3373 | BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B | نمونه‌های عفونی گروه B |
| فاقد شماره UN | Exempt human specimen” or “Exempt animal specimen | مواد معاف شده |



## شکل 2. برچسب های خطر زیستی و UN مخصوص نمونه های عفونی (شکل راست و وسط مخصوص نوع A و شکل چپ مخصوص نوع B).

**در حمل و نقل زمینی مواد عفونی، محدودیت وزنی وجود ندارد اما برای انتقال هوایی** حداکثر حجم و وزن مجاز برای انتقال نمونه باید به صورت جدول 19 رعایت شود.

جدول 19. حجم مجاز برای حمل نمونه‌های عفونی.

|  |  |
| --- | --- |
| 50 میلی لیتر یا50 گرم برای هواپیمای مسافربری | حداکثر حجم مجاز در انتقال هوایی برای نمونه‌های عفونی گروه A |
| 4 لیتر یا40 کیلوگرم برای هواپیمای باربری |
| حداکثر گنجایش محفظه اولیه: 1 لیتر | رعایت حداکثر حجم مجاز در انتقال هوایی برای نمونه‌های عفونی گروه B |
| حداکثر وزن محفظه سوم: 4 كیلوگرم (به جز برای بسته های محتوی اعضای بدن) |

## استفاده از مواد خنک کننده جهت سرد نگه داشتن نمونه هنگام انتقال نمونه های عفونی

گاهی اوقات ممکن است نیاز باشد تا جهت انتقال نمونه های عفونی، آن‌ها را به همراه مواد خنک کننده حمل نمود. در این شرایط ممکن است از یخ خشک و یا نیتروژن مایع استفاده شود و لازم است تا نکات زیر حتماً مورد توجه واقع شوند:

* یخ خشک را به دلیل خطر انفجار نباید درون محفظه اولیه و یا ثانویه قرار داد.
* اگر از مواد خنک‌کننده‌ای استفاده می‌شود که ممکن است ذوب شوند، باید مواد سرمازا رو به گونه‌ای بسته‌بندی کرد که در صورت ذوب شدن محفظه ثانویه شناور نشود.
* استفاده از مواد خنک کننده باید با استفاده از برچسب‌های مناسب و یا با استفاده از عباراتی همچون AS COOLANT در نام‌گذاری نمونه نشان داده شود.
* چنانچه جهت سرد نگه داشتن نمونه، از نیتروژن مایع استفاده می‌شود، ظروف اولیه باید قادر به مقاومت در دماهای خیلی پایین باشند و همچنین بیرونی‌ترین بسته باید دارای برچسب خطر برای نیتروژن مایع باشد.
* توصیه می‌شود اگر نیاز است نمونه در دمای پایین نگهداری شود، از کول باکس به عنوان محفظه سوم برای انتقال نمونه عفونی استفاده گردد.

**(5) ملاحظات ایمنی:**

* انتقال نمونه های عفونی باید به نحوی صورت گیرد، که احتمال بروز آلودگی و مخاطرات سلامتی برای افرادی که این نمونه‌ها را حمل می‌کنند، به حداقل میزان ممکن کاهش یابد.
* استفاده از وسايل حفاظت فردی مخصوصاً دستکش مقاوم و غير قابل نفوذ، ماسک، روپوش، پيش‌بند مخصوص و غيره برای انجام تمام مراحل فرایند پردازش و انتقال نمونه لازم می باشد.

**(6) محدوديت ها و تداخلات:**

گاهی یک نمونه ارسالي، تهاجمی و غیرقابل تکرار است ولی نمونه در ظرف غیراستریل یا بدون محیط انتقالی ارسال شده یا شرایط مناسب رعایت نشده است و رد نمونه امکان پذیر نمی باشد. نحوه مواجهه با این نمونه ها در دستورالعمل رد نمونه های غیرقابل قبول آمده است.

**(7) مستندات و سوابق :**

فرم سوابق یاLog book زمان ارسال نمونه و ثبت زمان دریافت نمونه ها، موارد عدم انطباق (مانند ارسال نمونه زخم بدون محیط انتقالی) و اقدامات اصلاحی.

**(8) 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.