**8. چشم، گوش و سینوس**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل نمونه های چشم، گوش و سینوس ها** | |
| **کد سند:** | D-006-0008 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل های تفسیر کشت های مختلف بدن | |
| **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:**

تشریح روش انجام نمونه های چشم، گوش و سینوس ها شامل نمونه گیری، انتقال، نحوه کشت و تفسیر کشت ها.

**(2) تعاریف و اصطلاحات:**

**بلفاریت:** التهاب لبه های پلک ها (پلک ها، مژه ها یا غدد پیلوسباسه مرتبط یا غدد میبومین)؛ علائم شامل سوزش، قرمزی، احساس سوزش و خارش گاه به گاه است. شرایط معمولاً دو طرفه است.

**ورم ملتحمه (کانجکتیویت):** ملتحمه؛ علائم بسته به عامل اتیولوژیک متفاوت است، اما اکثر بیماران دارای تورم ملتحمه، ترشحات التهابی و سوزش و خارش هستند.

**کراتیت:** التهاب قرنیه؛ اگرچه علائم بالینی خاصی برای تأیید عفونت وجود ندارد، اکثر بیماران از درد و معمولاً کاهش دید بدون ترشح از چشم شکایت دارند.

**کراتوکانجکتیویت** (Keratoconjunctivitis): عفونتی که هم ملتحمه و هم قرنیه را درگیر می کند؛ افتالمیا یا کراتوکونژونکتیویت نوزادی ورم ملتحمه حاد نوزاد ناشی از نایسریا گنوره آ یا کلامیدیا تراکوماتیس است.

**کوریورتینیست و یوویتیست (**Chorioretinitis and uveitis**):** التهاب شبکیه و مشیمیه زیرین از لایه رنگدانه ای چشم؛ عفونت می تواند منجر به از دست دادن بینایی شود.

**سلولیت اربیتال:** عفونت بافت‌های نرم و چربی است که چشم را در حفره خود نگه می‌دارد.

جدول 1. عوامل ایجادکننده بیماری های چشم.

|  |  |
| --- | --- |
| **باکتری ها** | **عفونت** |
| استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، کاپنوسیتوفاگا اکراسه | بلفاریت |
| استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس آنفولانزا و بقیه هموفیلوس ها، استافیلوکوکوس اورئوس، کلامیدیا تراکوماتیس، نایسریا گونوره، استرپتوکوک پیوژنز، موراکسلا، کورینه باکتریوم و سودوموناس آئروژینوزا | ورم ملتحمه (کانجکتیویت) |
| استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک ویریدانس، هموفیلوس آنفولانزا، انتروکوک فکالیس، استرپتوکوک پیوژنز، موراکسلا لاکوناتا، باسیلوس، مایکوباکتریوم، اسپیروکتها، کلامیدیا تراکوماتیس، پسودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتریالها | کراتیت |
| همان عوامل کراتیت و کانجکتیویت | کراتوکانجکتیویت |
| مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ترپونما پالیدوم، بورلیا بورگدورفری | کوریورتینیست و یوویتیست |

جدول 2. بیماری ها و علل عفونی عمده عفونت گوش.

|  |  |
| --- | --- |
| **بیماری ها** | **علل شایع** |
| اوتیت خارجی | **حاد**: استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پیوژنز، سودوموناس آئروژینوزا و سایر باسیل های گرم منفی  **مزمن**: سودوموناس آئروژینوزا، بیهوازی ها |
| اوتیت میانی | **حاد**: استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس آنفولانزا، موراکسلا کاتارالیس، استرپتوکوک پایوژنز، ویروس سین سیشال تنفسی، ویروس آنفولانزا، کرونا ویروس ها، انترو ویروس ها، راینوویروس ها  **مزمن**: بیهوازی ها |

جدول 3. علل عفونی عمده سینوزیت حاد.

|  |  |
| --- | --- |
| **گروه سنی** | **علل شایع** |
| جوانان بزرگسال | هموفیلوس آنفولانزا، استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک پایوژنز و موراکسلا کاتارالیس |
| بچه ها | استرپتوکوک پنومونیه، هموفیلوس آنفولانزا، موراکسلا کاتارالیس، رینوویروس |

**(3) شرح دستورالعمل:**

**1) تشخیص آزمایشگاهی عفونت های چشم**

**جمع آوری نمونه ها و انتقال**

* مواد چرکی از سطح کیسه ملتحمه تحتانی و داخلی کنتوس (زاویه) چشم بر روی یک سواب استریل برای کشت جمع آوری می شود.
* هر دو چشم باید جداگانه کشت شوند.
* 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 پلک بر روی یک سواب با یک روش معمول جمع آوری می شود.
* نمونه قرنیه برای کشتHSV و آدنوویروس در محیط های انتقال ویروس قرار می گیرد.
* برای نمونه کانالیکولیت، مواد از کانال اشکی باید در شرایط بیهوازی منتقل شوند.
* آسپیراسیون مایع در بیماران مبتلا به سلولیت اربیتال منع انجام دارد و بیمار با سابقه سینوزیت و سلولیت اوربیتال، برای نمونه برداری به منظور جمع آوری مواد از سینوس ماگزیلاری با سوراخ آنترال، به کمک متخصص گوش و حلق و بینی نیاز دارد. در اینجا کشت خون هم باید انجام شود و بیوپسی بافت برای مطالعه میکروب شناسی ضروری است.
* برای تشخیص قارچ موکور از آنجا که کشت ها معمولاً منفی هستند، تشخیص با معاینه بافت شناسی (پاتولوژی) انجام می شود.
* برای جمع آوری نمونه زجاجیه از تکنیک های تهاجمی تر استفاده می شود که شامل آسپیراسیون سوزنی یا ویترکتومی است. ویترکتومی یک روش جراحی است که برش انجام و مقداری مایع زجاجیه جمع آوری می شود. کشت خون نیز مهم است و باید انجام شود.

**بررسی لام مستقیم**

* تمام مواد ارسالی چشم باید مستقیماً با رنگ آمیزی گرم یا سایر تکنیک های میکروسکوپی مناسب مورد بررسی قرار گیرد.
* در ملتحمه باکتریایی، لکوسیت های پلی مورفونوکلئر غالب هستند اما در عفونت ویروسی، در درجه اول لنفوسیت و مونوسیت ها ظاهر می شوند.
* نمونه های مشکوک به کلامیدیا می توانند با رنگ آمیزی آنتی بادی مونوکلونال کونژوگه به ​​فلورسین برای تشخیص اجسام یا اجزاء ابتدایی باکتری آماده شوند. با استفاده از رنگ های هیستولوژیک اجسام داخل سیتوپلاسمی، سلول های اپیتلیال بازوفیلیک دیده می‌شوند.
* معاینه مستقیم نمونه های ورم ملتحمه با استفاده از روش های بافت شناسی (اسمیر Tzanck) ممکن است سلول های اپیتلیال چند هسته ای ناشی از عفونت های ویروسی هرپسی را نشان دهد. با این حال رنگ های DFA برای هر دو عفونت HSV و VZV برای تشخیص سریع عفونت های ویروسی توصیه می شود.
* در بیماران مبتلا به کراتیت، خراش قرنیه ممکن است با استفاده از رنگ آمیزی گرم، گیمسا، اسید پریودیک شیف (PAS) و نقره متنامین بررسی شود. اگر آکانتامبا یا سایر آمیب ها تشخیص داده شد، تراشه های قرنیه یا بیوپسی قرنیه باید در دمای اتاق (24 تا 28 درجه سانتیگراد) نگهداری شود و یک لام مرطوب باید برای دیدن تروفوزوئیت های متحرک بررسی شود و رنگ تری کروم اضافه شود. برای این تشخیص، کشت تا حد زیادی حساس ترین روش برای شناسایی ارگانیسم است.
* در بیماران مبتلا به اندوفتالمیت، نمونه ها با استفاده از رنگ آمیزی گرم، گیمسا، PAS و رنگ نقره متنامین بررسی می شود. هنگامی که حجم مایع از نمونه های چشمی بالا باشد باید قبل از انجام مطالعات اضافی توسط سانتریفیوژ تغلیظ شوند.

**کشت**

* به دلیل عمل شستشوی مداوم اشک، تعداد ارگانیسم های بازیابی شده از کشت های عفونت چشم ممکن است نسبتاً کم باشد، مگر اینکه نمونه بالینی آشکارا چرکی باشد.
* کشت با استفاده از تلقیح نسبتاً زیاد در انواع محیط ها توصیه می شود.
* برای اطمینان از رشد عامل اتیولوژیک، خراش های ملتحمه به طور مستقیم بر روی محیط های بلاد آگار و شکلات آگار باید کشت و سریعاً در 5 تا 10 درصد دی اکسید کربن انکوبه شود تا بهترین نتایج را به همراه داشته باشد.
* در کشت از چشم عفونی مشکوک به مورکسلا لاکوناتا، اضافه کردن محیط لوفلر مفید است. رشد این ارگانیسم اغلب منجر به پروتئولیز و ایجاد حفره در محیط می شود، اگرچه سویه های غیرپروتئولیتیک ممکن است جدا شوند.
* اگر مشکوک به ورم ملتحمه دیفتری بودید، باید از محیط لوفلر یا سیستین تلوریت استفاده کرد.
* برای عفونت های چشمی جدی تر، مانند کراتیت، اندوفتالمیت و سلولیت اربیتال، محیط های بلاد آگار، شکلات آگار و محیطی برای جداسازی قارچ ها، تیوگلیکولات براث و یک پلیت بیهوازی بلاد آگار استفاده می شود.
* تشخیص اندوفتالمیت معمولاً نیاز به کشت برای تأیید دارد.
* اخیراً مجموعه ای از دو خراش قرنیه (یکی برای رنگ آمیزی گرم و دیگری در محیط براث BHI برای کشت) استفاده شده که به ارائه یک روش ساده برای تشخیص کراتیت باکتریایی می انجامد.
* عفونت های جدی چشم، نمونه های کشت کلامیدیا و ویروس ها باید به محیط های مناسب آبگوشت انتقالی تلقیح شوند.
* برای جداسازی کلامیدیا، سلول های مک کوی تیمار شده با سیکلوهگزیماید و برای جداسازی ویروسی استفاده از کلیه جنینی انسان، کلیه میمون اولیه و رده های سلولی Hep-2 توصیه می شود.

**روش های غیرکشت**

* اگرچه آزمایش‌های سرولوژیک در مرحله حاد و دوران نقاهت برای عوامل ویروسی ممکن است در صورت اپیدمی ملتحمه استفاده شود، اما معمولاً نیازی به این کار نیست زیرا عفونت ها به خودی خود محدود می شوند.
* تست های سنجش ایمونوسوربنت (ELISA) و رنگ آمیزی DFA برای تشخیص کلامیدیا تراکوماتیس و آزمایش الایزای زلالیه برای تشخیص عفونت توکسوکارا موجود هستند.
* روش های مبتنی بر اسید نوکلئیک جایگزینی بیشتر این روش‌ها شده‌اند. تشخیص کراتوکانژکتیویت ویروسی و کلامیدیایی، همراه با سایر عفونت های چشمی، از جمله یوئیت با روش های مولکولی بهتر و دقیق تر انجام می پذیرد.
* روش های ملکولی مانند PCR برای عوامل اصلی عفونت چشم برای مثال در مورد کلامیدیا تراکوماتیس استفاده شده است.

**2) تشخیص آزمایشگاهی عفونت های گوش**

**جمع آوری و حمل و نقل نمونه**

* اگرچه عفونت گوش میانی یا اوتیت میانی معمولاً با کشت تشخیص داده نمی شود اما کشت می تواند برای تشخیص آزمایشگاهی اوتیت خارجی استفاده شود.
* 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).
* موادی که از گوش، به ویژه پس از سوراخ شدن خود به خود پرده گوش یا با سوزن آسپیراسیون مایع گوش میانی (تمپانوسنتز) به دست می‌آیند، باید توسط متخصص و با استفاده از تجهیزات استریل جمع‌آوری شوند.
* نمونه‌های ماستوئید معمولاً در حین جراحی بر روی سواب گرفته می‌شوند، اگرچه بافت استخوان ترجیح داده می‌شود. نمونه ها باید به صورت بیهوازی حمل شوند.

**بررسی لام مستقیم**

* مواد آسپیره شده از گوش میانی یا ماستوئید به طور مستقیم برای باکتری ها و قارچ ها مورد بررسی قرار می گیرد.
* رنگ کالکوفلور سفید یا PAS می تواند عناصر قارچی را آشکار کند.
* رنگ نقره متنامین کارآیی بیشتری برای رنگ‌آمیزی بیشتر ارگانیسم‌های باکتریایی و قارچی و چندین گونه انگلی دارند.

**کشت و روش های غیرکشت**

* نمونه های گوش ارسالی برای کشت باید به بلاد آگار، مک کانکی آگار (یا EMB) و شکلات آگار تلقیح شوند.
* کشت های بیهوازی نیز باید بر روی نمونه های به دست آمده توسط تمپانوسنتز یا نمونه های به دست آمده از بیماران مبتلا به اورماستوئیدیت مزمن اوتیت میانی انجام شود.
* از آنجایی که کشت ترشحات گوش میانی تنها برای 20 تا 30 درصد بیماران کشت مثبت است، روش های آزمایشی معمولی و مبتنی بر اسید نوکلئیک برای شناسایی پاتوژن‌های شایع گوش میانی استفاده شده‌اند.

**3) تشخیص آزمایشگاهی سینوس ها**

* در بیشتر موارد، تشخیص را می توان بر اساس یافته های فیزیکی، تاریخچه، مطالعات رادیوگرافی و سایر تکنیک های تصویربرداری مانند تصویربرداری رزونانس مغناطیسی انجام داد.
* با این حال، اگر نیاز به تشخیص آزمایشگاهی باشد، متخصص گوش و حلق و بینی با سوراخ کردن و آسپیراسیون یا در حین جراحی، نمونه ای را از فک بالا جمع آوری می کند.
* تخلیه سینوس برای اسمیر یا کشت غیرقابل قبول است، زیرا این ماده با میکروبیوتای تنفسی طبیعی هوازی و بیهوازی آلوده می شود. شستشوی سینوس ها یا آسپیراسیون های جمع آوری شده با جراحی نمونه های انتخابی هستند.
* روی هر نمونه باید اسمیر رنگ آمیزی گرم و کشت های هوازی و بیهوازی انجام شود. محیط کشت هوازی باید شامل آگار خوندار، شکلات و مک کانکی آگار باشد.
* روش طیف سنجی جرمی یونیزاسیون دفعی لیزر با کمک ماتریکس (MALDI-TOF MS) می تواند برای شناسایی پاتوژن ها مستقیماً از جدایه های کلنی خالص استفاده شود.

**(4) محدوديت ها و تداخلات:**

در کشت های چشم، گوش و به خصوص سینوس ها به علت حضور فلور طبیعی به خصوص استافیلوکوک های کواگولاز منفی و دیفتروئیدها احتمال آلودگی نمونه در حین نمونه گیری با آنها وجود دارد و بنابراین بهتر است در صورت رشد این باکتری ها توصیه زیر در جواب بیمار قید شود:

**Comment**: The bacterium X can be as normal microbiota (a Probable Contaminant). Repeat of sample with correct sampling is recommended.

**(5) موارد رد و تکرار نمونه**

* اطلاعات روی برچسب با اطلاعات درخواست شده مطابقت نداشته باشد، یا برچسب ناقص یا نمونه اصلاً برچسب گذاری نشده باشد (نام بیمار یا منبع نمونه متفاوت است).
* زمان انتقال نمونه بیشتر از زمان توصیه شده پس از جمع آوری تا انجام باشد.
* نمونه سواب بدون محیط انتقالی ارسال شده باشد.
* نمونه بیوپسی با فرمالین ارسال شده باشد.
* کشت نمونه از نظر بیهوازی در محیط انتقالی بیهوازی ارسال نشده باشد.
* نمونه عفونت گوش میانی یا اوتیت میانی با سواب ارسال شده باشد.

**(6) نتایج بحرانی:**

* در کشت ترشحات چشم جداسازی سودوموناس آئروژينوزا يا گونه هاي باسيلوس در تمام گروه هاي سني جزو نتایج بحرانی می باشد.
* هر نتيجه مثبت کشت و اسمیر تراشه قرنيه در هر رده سنی جزو نتایج بحرانی می باشد.

**(7) مستندات و سوابق:**

* مستندات مربوط به نحوه نمونه گیری و کشت و تفسیر کشت ها باید در بخش موجود باشد.
* مستندات مربوط به تکرار نمونه و دلایل تکرار و نوع باکتری های رشد کرده (به صورت توصیفی و اولیه) باید موجود باشد.
* مستندات مربوط به نتایج بحرانی گفته شده باید موجود باشد.

**(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. کتاب آنالیز و کشت مایعات بدن. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1403.
4. 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.
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Committee on Infectious Diseases. 2006 red book: report of the Committed on Infectious Diseases. ed 27. Elk Grove Village، IL: American Academy of Pediatrics; 2006.
7. Isenberg D. Henry: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*، American Society for Microbiology. 2007.
8. Koneman، Elmer W، et al. Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. *Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers. Seventh edition.* 2021.
9. Mahon CR, Lehman DC. Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book: Textbook of Diagnostic Microbiology. Elsevier Health Sciences; 2022 Nov 2.
10. Tille، Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences، fifteenth edition. 2021.