



انستیتو پاستور ایران
بخش میکروب شناسی
آزمایشگاه کشوری دیفتری

دستور العمل نمونه گیری و ارسال نمونه دیفتری

۱- آماده سازی مقدمات کار

۲- روش نمونه گیری

۳- طریقه انتقال نمونه ها در محیط ترانسپورت

۴- تهیه لام مستقیم از نمونه ها

۵- ارسال نمونه ها

مقدمه :

دیفتری یک عفونت حاد است که توسط کرینه باکتریوم دیفتریه ایجاد می شود. ضایعه اولیه اغلب در حلق یا نازوفارنکس ایجاد می شود و با حضور یک غشاء کاذب خاکستری تا شیری رنگ (و گاهی سیاه) و انتشار آن در سطح لوزه ها و حلق مشخص می گردد. در هنگام رشد ارگانیزم و تکثیر آن در محل ضایعه ، یک توکسین قوی تولید می شود که از طریق خون پخش شده و به بافتهای دیگر می رود و ایجاد ضایعات هموراژیک و نکروتیک در ارگانهای مختلف می نماید. هر دو فرم سم زا و بدون سم از کورینه باکتریوم دیفتریه ایجاد بیماری می کنند ولی گونه های تولید کننده توکسین علائم سیستمیک نیز ایجاد کرد و بیماری شدید و کشنده می دهند. انتقال از طریق سیستم تنفسی و توسط قطرات تنفسی فرد آلوده صورت می گیرد. بعد از تماس با عامل عفونی ، دوره انکوباسیون بیماری ۷-۱ روز است و پس از استقرار باکتری در حلق و تولید توکسین و جذب آن به ارگانهای مختلف قلب ، سیستم عصبی و کلیه ها درگیر خواهند شد. بهمین دلیل تشخیص بموقع دیفتری و درمان با آنتی توکسین بهمراه آنتی بیوتیکهای مناسب بهترین راه کمک به بیمار است. بعلاوه گزارش به موقع از موارد مثبت دیفتری به اداره مبارزه با بیماریها به منظور بکارگیری روشهای پیشگیری مناسب و درمان پروفیلاکسی در مناطق آلوده بسیار مفید و مؤثر است.

(I) آماده سازی مقدمات کار:

- ۱ - آماده نمودن بیمار و صحبت با او در مورد همکاری در زمینه نمونه گیری مناسب تا نتیجه بهتری بدست آید.
- ۲ - کامل کردن پرسش نامه مربوط به هر بیمار
- ۳ - دستکش و ماسک و برچسب کوچک جهت نمونه گیری
- ۴ - سواب استریل جهت نمونه گیری مورد استفاده قرار گیرد.
- ۵ - استفاده از آبسلانگ چوبی استریل برای پایین نگه داشتن زبان در حین نمونه گیری الزامی است.
- ۶ - از محیط Amies بعنوان ترانسپورت استفاده می شود و چنانچه این محیط قبل از استفاده بصورت در بسته بماند تا مدت ۲ ماه قابل نگهداری در یخچال است.
- ۷ - لام میکروسکپ تمیز و نو جهت تهیه اسمیر و جعبه کوچک مخصوص لام جهت ارسال آن

روش نمونه گیری :

وسایل لازم :

- ۱ - سواب استریل ۶ عدد
- ۲ - آبسلانگ استریل ۱-۲ عدد
- ۳ - دستکش و ماسک
- ۴ - ۳ عدد محیط ترانسپورت دیفتری (Amies)
- ۵ - لام ۶ عدد

موضع نمونه برداری :

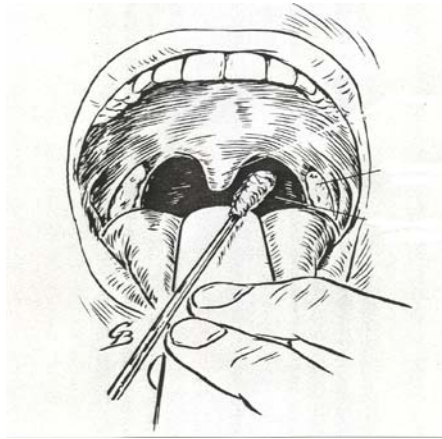
- ۱ - لوزه های حلقی و اطراف آنها
- ۲ - انتهای بینی

II. **طریقه نمونه برداری :**

الف- نمونه گیری از حلق :

یک نمونه از اگزودای جراحات و در صورت وجود غشاء سفید رنگ یک نمونه هم از آن غشاء باید گرفته شود.

۱. ابتدا با آبسلانگ استریل زبان بیمار را کاملاً به پایین فشار داده و از او خواسته می شود که حداکثر همکاری را بنماید.
۲. دو سواب را بصورت چسبیده و در کنار هم در دست گرفته و محکم به سطح ضایعات کشیده می شود. برای هر موضع نمونه گیری لازم است دو سواب گرفته شود. یعنی برای جراحات ۲ سواب ، در صورت وجود غشاء سفید یا کرم رنگ ۲ سواب و ۲ سواب هم برای تهیه نمونه از بینی (جمعاً ۶ سواب) که یکی از سواب ها برای کشیدن روی ۲ عدد لام و دیگری برای بردن به داخل محیط ترانسپورت. ابتدا لازم است از غشاء سفید رنگ نمونه گیری شده و بطوریکه مقداری از آن کنده شود و سپس با کنار زدن این غشاء از جراحات زیر آن با شدت بوسیله سواب نمونه گیری شود.



طریقه نمونه گیری از حلق : از بیمار خواسته می شود تا دهان خود را باز کند و با ادای صدای (ah) جهت نمونه گیری همکاری کند. زبان به آرامی با آبنلانگ به پایین رانده می شود ، سپس سواب را به قسمت عقب فارنکس برده و در ناحیه لوزه ها چند بار به عقب و جلو کشیده می شود.

ب- نمونه برداری از انتهای بینی:

۱. انتهای بینی جزء مناطقی است که احتمال جداسازی باسیل دیفتری در آنجا بیشتر است. لذا با استفاده از یک سواب استریل به هر دو سوراخ بینی وارد می شویم و به اندازه ۲-۳ سانتی متر به آرامی به داخل فرو می کنیم و چند لحظه نگه می داریم تا ترشحات به آن جذب شوند.
۲. یک سواب از هر دو سوراخ بینی و یک سواب هم برای تهیه ۱ عدد لام مستقیم باید گرفته شود (جمعاً ۲ عدد سواب از هر سوراخ بینی و ۲ عدد لام از هر سوراخ بینی).

III. طریقه انتقال نمونه ها در محیط ترانسپورت :

۱- سواب اول از حلق یا هر موضعی (ترشحات حلق، غشاء کاذب و جراحات زیر آن) بر روی محیط ترانسپورت Amies فرو برده می شود و اضافه سواب را شکسته و درب لوله را محکم می بندیم. سواب دوم را روی ۲ لام جهت رنگ آمیزی گرم و آلبرت می کشیم.

۳ - سواب بینی هر دو طرف در یک لوله Amies فرو برده می شوند. محیطهای ترانسپورت بعد از نمونه گیری باید در یخچال قرار گیرد و در حداکثر ظرف مدت ۴۸ ساعت ارسال گردد. اگر امکان ارسال آن بصورت فوری وجود دارد قبل از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه کشوری دیفتری ارسال گردد.

IV. تهیه لام مستقیم از نمونه ها :

۱. لامهای نو و تمیز باید استفاده شوند.

۲. سواب حاوی نمونه را به آرامی در وسط لام بشکل بیضی کوچک با حرکت دورانی می کشیم تا نمونه روی لام منتقل شود.
(لام باید غلیظ گرفته شود) .

۳. با چسباندن بر چسب بر روی هر لام مشخصات بیمار و محل نمونه گیری را یادداشت می شود.

۴. پس از خشک شدن لام در هوای آزاد ، هر ۶ لام تهیه شده بوسیله حرارت (گذرانیدن سه بار از روی شعله چراغ آزمایشگاه) فیکس می شوند تا برای رنگ آمیزی آماده شوند.

V. ارسال نمونه ها :

۱. چنانچه نمونه در تهران گرفته شده و امکان ارسال آن به آزمایشگاه ملی دیفتری و سیاه سرفه در انستیتوپاستور در همان روز نمونه گیری وجود دارد بهتر است در اسرع وقت ۳ عدد محیط ترانسپورت Amies و ۶ عدد لام مستقیم به این مرکز فرستاده شوند.

۲. چنانچه نمونه در شهرستانها گرفته شده است و امکان ارسال آن در همان روز نباشد محیطهای ترانسپورت حاوی نمونه را باید در ۴°C (یخچال) قرار داد و در اسرع وقت (ظرف مدت ۴۸ ساعت) به آدرس ذیل ارسال نمود

نکته: ارسال نمونه ها باید طبق دستورالعمل آزمایشگاه مرجع سلامت و بر اساس بسته بندی سه لایه صورت گیرد.

آدرس : تهران – انستیتوپاستور ایران، بخش میکروشناسی، آزمایشگاه کشوری دیفتری تلفکس: ۶۶۴۰۵۵۳۵