

کارگاه

مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

مدیریت نمونه های مشکوک ومظنون به آلودگی با
شاربن و حمل و نقل امن و ایمن آن در چهار چوب
استراتژی بلند مدت مراقبت، کنترل و پیشگیری
بیماری شاربن

ارائه دهنده:

دکتر علیرضا جنانی

بخش:

میکروشناسی

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

شاربن و آزمایشگاه میکروب شناسی

- برای کار در موارد صرفاً تشخیصی، BSL-2 همراه با وسایل نگهدارنده و تسهیلات مورد نیاز لازم می باشد.
- در موارد زیر رعایت و بکارگیری استاندارد های BSL-3 الزامی است. (موارد کشت)
- زمانی که مقادیر زیادی میکروارگانیزم تولید گردد.
- هنگامی که فعالیت ها بطور بالقوهای برای تولید آئروسول (ریزگرد) فراهم می گردد.
- موقعی که با سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک روبرو می شوید.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

سلامتی حین انجام کار وملاحظات ریسک

- مخاطره واقعی برای سلامتی انسان ها از خاک آلوده شده ودیگر مواد محیطی بسیار کم می باشد. انسان ها بطور نسبی ومتوسط نسبت به شاربین مقاوم هستند. علیرغم این مسئله در انجام تمام مراحل نمونه برداری، سایر اقدامات آزمایشگاهی وپانسمان زخم ها ،فاکتور مهم بکارگیری حفاظت شخصی ورعایت نکات بهداشتی می توان ریسک های عفونت موجود را بطور اساسی کاهش داد.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

انواع نمونه برداری

- نمونه برداری به نوع نمونه مورد آزمایش برای مقاصد تست بستگی داشته، که بر اساس موارد ذیل متغیرند:
- نمونه های تازه از انسان های و دام های درمان نشده
- نمونه های از انسان های درمان شده برداشت گردد.
- نمونه از لاشه حیوانات مدفون شده برای مدتی یا از تولیدات دامی باشد
- نمونه های محیطی تهیه شده در کانون های مظنون

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

نمونه های محیطی که عمدا وارد محیط شده اند بیو تروریسم

- نمونه های مظنون که به طور مصنوعی آلوده شده اند بایستی تحت شرایط بیو محافظتی ترجیحا درجه ۳ (BSL-3) حمل، نقل و آزمایش گردند.
- پودر های مشکوک باید با دقت و در یک کابینت محافظتی کلاس ۳ مورد بررسی قرار گیرد.
- نمونه های محیطی آلوده بسیار خطرناک بوده و می باید نمونه های مشکوک محیطی در آزمایشگاه سطح خطر ۳ و دارای تسهیلات و تجهیزات کامل آزمایشگاه مرکزی یا فرانس مورد آزمایش قرار گیرند.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

وسائل و مواد مورد نیاز برای جمع آوری نمونه

- در مورد نمونه انسانی لازم است که بوسیله دستیار پزشک حرفه ایی نمونه ها جمع آوری گردند.
- ظروف مورد استفاده جهت قرار دادن نمونه بایستی نفذ ناپذیر باشد. در مورد نمونه های محیطی ترجیحا از ظروف دهان گشاد استفاده شود.
- ظروف ثانویه جهت استقرار ظروف اولیه نیز منظور گردد
- ظروف محافظتی برای حمل و نقل (یخدان های با کیفیت مطلوب، جعبه فلزی یا ظروف پلاستیکی) مورد بهره برداری قرار گیرند.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

- سواب های استریل، پنس، قیچی، سرنگ (1ml) با سر سوزن ۱۹
- آب استریل همراه با سرم نمکی
- لام و لامل
- محیط کشت ولوپ، ظروف تمیز یک بار مصرف، ماژیک، اتیکت، چسب
- کیسه های یکبار مصرف قابل از بین رفتن در اتوکلاو
- کیسه مخصوص وسایل و ابزار، لباس، چکمه های قابل ضد عفونی در اتوکلاو
- محلول هیپوکلریت با غلظت ۵۰۰۰-۱۰۰۰۰ PPM برای شستشوی دست ها

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

وسایل حفاظتی شخص نمونه بردار

- لباس آزمایشگاهی، گان، رولبازی متناسب و بایستی به نحوی پوشیده شود که آستین های بلند همراه با دکمه سر دست ارتجاعی باشند.
- دو دستکش مصرف شدنی
- روکش کفش یا از چکمه های قابل استریل استفاده گردد.
- دستکش دوم بایستی تعویض شود تا از اشاعه آلودگی جلوگیری بعمل آید
- پوست فرد عمل کننده نبایستی بین آستین و دستکش در معرض تماس قرار گیرد.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

اقدامات حفاظتی برای جمع آوری نمونه

• قبل از جمع آوری:

- لباس مخصوص همراه با دو دستکش بپوشید، مطمئن شوید که ضد عفونی، کیسه های یکبار مصرف و تجهیزات شستشوی آماده بکار وجود داشته باشد.
- زخم ها و بریدگی ها را قبل از پوشیدن لباس حفاظتی پانسمان نمائید

• بعد از جمع آوری:

- دست ها را با دستکش در محلول ۱۰٪ هیپوکلریت فرو برده و دستکش بیرونی را معدوم کنید.
- لباس های استفاده شده و دور ریختنی را در کیسه های یکبار مصرف قرار دهید، اقلام قابل انتقال به اتو کلاو را جدا سازی نمائید، در آخر کار نیز دستکش های داخلی هم بایستی معدوم شوند و اشیا نوک تیز در ظرف خود قرار گیرند.
- دست ها را با استفاده از ضد عفونی ها شستشو دهید.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

ثبت مشخصات نمونه

ظرف با یک شماره یا یک کد یا مرکب پاک نشدنی علامت گذاری گردد
و ظرف یا ورقه حاوی مستندات بشرح ذیل باشد:

- تاریخ و زمان نمونه برداری
- موقعیت نقطه مورد نمونه برداری
- نوع نمونه
- علت نمونه برداری
- مشخصات فردی که نمونه برداری کرده است.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

حمل و نقل و نگهداری نمونه

نمونه ها بایستی بر اساس سطح خطر کمتر BSL-3 همراه با مراعات حفاظتی ذیل حمل و نقل و نگهداری شوند:

استفاده از لباس های محافظت شده (دستکش، گان که بطور کامل در قسمت های پشت محکم شوند). استفاده از ماسک با کیفیت مطلوب برای محافظت صورت و بویژه چشم که اپراتور را در مقابل عوامل عفونی (غیر شاربن) کموجود نیز محافظت نماید.

استقرار و در دسترس بودن امکانات و تجهیزات لازم با کیفیت بالا برای شستشوی دست ها پانسمان محتاطانه زخم یا خراش های موجود در پوست افرادی که در این پروسه دخیلند. نمونه ها می باید در ظروف استریل و با استفاده از تکنیک های آسپتیک جمع آوری گردد. ظروف بایستی با محلول هیپوکلریت (PPM 10000) پاک شده و در ظرف خارجی ثانویه قرار گیرد. نمونه ها بایستی در درجه حرارت ۲-۸ درجه سانتیگراد و ترجیحا در یخدان حمل و نقل شوند. حمل و نقل نمونه ها با استفاده از شیوه های ایمن و بسته بندی مطلوب بایستی مد نظر قرار گیرد.

کارگاه
مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم
حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

استراتژی ملی بلند مدت مراقبت، کنترل و پیشگیری بیماری شاربین در کشور جمهوری اسلامی ایران

جدول شماره ۱: مشخصات، وسایل و مواد برای تشخیص آزمایشگاهی شاربین

وسایل و مواد مورد نیاز	وضعیت	آزمایشگاه	
		سطح توانمندی	تشخیص
کیت های حمل نمونه	لام نشان دهنده G^+ میکروب به صورت میله ای مربعی به طور جفتی یا میله های کوتاه بندرت تکی همراه با تاریخچه کلینیکی بیماری	نوع سطحی، متوسط مرکزی / رفرانس	مظنون
سوا بهای استریل - میکروسکوپ اسلایدهای میکروسکوپ و cover slips روغن غوطه‌وری و لنز پاک کن اتانول (متانول) مساوی یا بیشتر از ۹۵ درصد رنگ‌ها: رنگ پلی کرم میتیلین‌بلو (کنترل کیفی شده به وسیله آزمایشگاه رفرانس برای رنگ آمیز کپسول) رنگ آمیزی گرم لوله آزمایش، بطری آب درب‌دار قابل پیچ خوردن دستکش، ماسک‌های صورت با قدرت فیلتری قوی، گان، لامپ مخصوص یا Bunsen Burner، اسپری ضد عفونی بصورت تفنگ اتو کلاو (نوار / دیسک حاوی اسپور)			

کارگاه مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

روش های آزمایشگاهی تشخیصی، جداسازی و شناسایی میکروب باسیلوس آنتراسیس در بیماری شاربن

وسایل و موارد مورد نیاز	وضعیت	آزمایشگاه	
		تشخیص	سطح توانمندی
مانند فوق کابینت سلامتی بیولوژیکی ترجیحاً با توانایی بخاردهی	رنگ آمیزی شده با پای کرم متیلین بلو نشان از مکعب آبی تیره دو انتهای میله‌ها بطور جفتی یا زنجیره‌های کوتاه بندرت تکی احاطه شده با کپسول مورثی	محتمل نوع سطحی، متوسط مرکزی / رفرانس	
انکوباتور	کشت اولیه دارای خصوصیات بارز می‌باشد		
سانتریفیوژ	دیگر تست‌های کمک کننده یا ابزار شناسایی کننده		
حمام آب بخار	آنتی‌ژن بر پایه آنتی‌ژن محافظت‌کننده در دسترس		
انکوباتور 2 CO ₂ / جار حاوی شمع	باشند		
وسایل برای کشت : لوپ‌ها، پتری‌دیش، بی‌بت، ظروف و لوله‌های با درب پیچ‌دار ، فلاسک و غیره			
محیط‌ها و معرف‌ها			
محیط‌های کشت (آگار خون‌دار، آگارمغذی Heart Infusion Broth, آگار Plate (دیگر آگار انتخابی)			
دیگر رنگ‌ها - رنگ اسپور			
فاز گاما (کنترل کیفی بوسیله آزمایشگاه رفرانس برای اثر بخشی)			
دیسک‌های پنی‌سیلین			
خون اسب بدون فیبرین (خون از دیگر گونه‌ها نیز مناسب است)			
سرم اسب (سرم از دیگر گونه‌ها نیز مناسب است)			
بی‌کربنات سدیم			
واکسن استرن سویه باسیلوس آنتراسیس برای فاز کنترل و تست‌های پنی‌سیلین یا اگر ممکن باشد جداسازی سویه وحشی برای فاز کنترل ، تست‌های کپسول و پنی‌سیلین			

کارگاه مدیریت نمونه های آزمایشگاهی سیاه زخم حمل امن و ایمن نمونه های آزمایشگاهی

استراتژی ملی بلند مدت مراقبت، کنترل و پیشگیری بیماری شاربین در کشور جمهوری اسلامی ایران

شد عفونی های بیشتر فرمالین (۴۰-۳۸ درصد محلول فرمالدئید) یا پارافرمالدئید با کربنات آمونیوم خنثی کننده

ابزارهای شناسایی آنتی ژن		در صورت در دسترس بودن	
آزمایشگاه سطح ۳ خطر، حاوی وسایل شامل کابینت بیولوژیکی کلاس ۳ و مواد لازم برای تست PCR و مواد ضد میکروبی در صورت نیاز توانایی بخاردهی محافظه تست حساسیت	تست های تایید کننده کشت باسیلوس/انتراسیس، PCR تایید کننده وجود توکسین و ژن های کیپول	متوسط، آزمایشگاه سوربرزی بهراس	تایید شده

جدول شماره ۲: راهنمای برداشت نمونه های مناسب از انسان های مظنون مبتلا به عفونت با باسیلوس/انتراسیس

چهره کلینیکی	نمونه	مقدار	ظرف	دیگر اقدامات
شاربین جلدی	مایع ویزیکول	۳ عدد	سواب استریل	تهیه گسترش با یکی از سوابها برای تست McFadyean (کیپول) بقیه را برای کشت در صورت در دسترس بودن تست با وسیله تشخیصی آنتیژن استفاده کنید.
تنفسی شاربین روی	خون	۱-۲CC	خون کامل (بدون ضد انعقاد)	تهیه گسترش با یک قطره خون برای انجام تست McFadyean (کیپول) همچنین کشت یا تست با وسیله شناسایی آنتیژن در صورت موجود بودن
	CSF	۰.۵-۱CC	ظرف استریل درب پیچدار	تهیه گسترش برای انجام تست McFadyean (کیپول) همچنین کشت سواب بینی
شاربین گوارشی	خون	۱-۲CC	ظرف کشت خون	تهیه گسترش با یک قطره خون برای کشت یا انجام تست McFadyean (کیپول) و در صورت در دسترس بودن تست بوسیله ابزار تشخیصی آنتیژن
	مایع اسیت	۲CC	ظرف استریل درب پیچدار	تهیه گسترش با یک قطره خون برای کشت یا انجام تست McFadyean (کیپول) و در صورت در دسترس بودن تست بوسیله برای تشخیص آنتیژن
	مایع صفائی	۲CC	ظرف استریل درب پیچدار	تهیه گسترش با یک قطره مایع برای کشت یا انجام تست McFadyean (کیپول) و در صورت در دسترس بودن تست با وسیله تشخیصی آنتیژن
مننژیت شاربین	CSF	۰.۵-۱CC	ظرف استریل درب پیچدار	تهیه گسترش با یک قطره مایع برای کشت یا انجام تست McFadyean (کیپول)
	خون	۱-۲CC	لوله های کشت خون	تهیه گسترش با یک قطره خون برای کشت یا انجام تست McFadyean (کیپول) و در صورت در دسترس بودن تست با وسیله تشخیصی آنتی ژن

در صورت امکان جمع آوری نمونه قبل از تجویز آنتی بیوتیک به بیمار صورت گیرد
می توان مورد مظنون به شاربین Oropharyngeal را مانند شاربین جلدی بررسی و تعقیب نمود.