

نکات ضروری در نمونه گیری کشت خون

یکی از مهم ترین وظایف آزمایشگاه میکروب شناسی خون است که هدف آن جداسازی میکروارگانیسم های ایجاد کننده عفونت خون (septicemia) می باشد . از آنجه که اکثر عفونت های خونی و بویژه انواع مهلک آن بوسیله باکتری ها ایجاد می شود لذا هدف از کشت خون نیز در مرحله اول جداکردن و شناسایی این میکروارگانیسم ها می باشد .

مواد ضدعفونی کننده برای نمونه گیری کشت خون :

- بتادین ۱۰ درصد Povidone – Iodine
- محلول الکلی ۲ درصد کلرهگزیدین

در حال حاضر، کلرهگزیدین بهترین ماده ضدعفونی کننده توصیه شده است . به ویژه در نمونه گیری از کاتترها، این ماده در بخشهای کودکان نتایج بهتری دارد (آلودگی کمتر) و عوارض پوستی که در کودکان با مصرف ترکیبات یددار ایجاد می شود در مصرف کلرهگزیدین کمتر است.

***** Povidone – Iodine 10% نمونه گیری با *****

ابتدا نمونه گیر باید دستان خود را با محلول الکلی ضدعفونی نموده و دستکش استریل بپوشد.

1-ورید موردنظر را انتخاب کنید.

2-در ابتدا پوست ناحیه را با الکل ۷۰ درصد با حرکت محکم دورانی از داخل به خارج به قطر تقریبی 5 cm ضدعفونی کنید

3- پس از خشک شدن الکل همین کار را با بتادین (Povidone – Iodine 10%) تکرار و حداقل یک دقیقه (ترجیحا 1.5-2 دقیقه) صبر کنید تا محل ضدعفونی شود . برای جلوگیری از آلودگی رعایت زمان توصیه شده بسیار اهمیت دارد.

4-در صورت لزوم به لمس مجدد ورید باید نوک انگشت درحالی که با دستکش پوشیده شده است با بتادین ضدعفونی شود.

5-پس از نمونه گیری، خون را مستقیماً و بدون تعویض سوزن به درون شیشه کشت خون که درپوش لاستیکی آن قبلاً با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و خشک شده است، تلقیح کنید و شیشه را با ملایمت تکان دهید تا خون با ماده ضد انعقاد sps مخلوط گردد.

****پس از ضد عفونی کردن درب شیشه کشت با مواد ضد عفونی کننده فوق تزریق خون را انجام دهید.**

****دقت شود تا هنگام تزریق خون هوا وارد محیط کشت نشود.**

****به هیچوجه درپوش پلاستیکی شیشه کشت خون را پاره نکنید یا آن را بر ندارید.**

****به هیچوجه از یک نمونه خون در دوشیشه یا بیشتر کشت ندهید**

****در گذشته روش استفاده از دو سوزن، یعنی تعویض سوزن اول پس از خروج از رگ و جایگزینی با سوزن استریل نو، توصیه میشد باید توجه داشت که احتمال آلودگی کشتهای خون در روش دو سوزن حدود ۲ درصد در روش یک سوزن حدود ۳.۷ درصد است.**

6- محل نمونه گیری را مجدداً با الکل ۷۰ درصد تمیز میکنیم تا از واکنش پوستی در افراد حساس به ترکیبات ید جلوگیری شود.

تعداد کشت خون، زمان نمونه گیری و حجم خون مورد نیاز

بسته به نوع باکتریی احتمالی، سن و مصرف قبلی آنتی بیوتیک متفاوت است. به طور کل، تعداد باکتری در مراحل حاد عفونت، در زمان تب و در کودکان بالاتر است. در صورتی که حجم مناسبی از خون به درون محیط کشت تلقیح شود، بسته به تعداد نمونه گرفته شده: با استفاده از سرنگ مناسب خونگیری را انجام دهید در

****بهترین نسبت توصیه شده ۱ به ۵ است. با توجه به حداقل نمونه در بزرگسالان که ۱۰ سی سی است، نباید از محیطهای کشت که کمتر از ۴۰ سی سی محیط مایع دارند در این موارد استفاده کرد**

****میزان خون لازم جهت انجام کشت خون در بزرگسالان 5-10 سی سی و در اطفال و نوزادان 3-1 سی سی می باشد.**

****در کودکان کمتر از ۱۰ سال تقریباً به ازای هر سال حداقل ۱ سی سی توصیه میشود. هر چند اخیراً به معیار وزنی توجه شده است باید توجه داشت به ازای هر 1 سی سی خون احتمال جداسازی 3.2 درصد زیاد می شود**

****مشخصات کامل بیمار روی شیشه کشت خون درج گردد**

- در باکتری می متناوب Intermittent: با یک کشت خون ۸۰ درصد و با سه کشت خون ۹۹ درصد عامل مشخص میشود.
 - در موارد غیراندوکاردیت کشت خون اول 82-92 درصد، کشت خون دوم ۹۰-۹۹ درصد و در کشت خون سوم ۹۹.۶ درصد عامل مشخص می شود.
 - در موارد اندوکاردیت با یک نمونه خون ۹۰ درصد و با دو نمونه خون ۹۵ درصد عامل مشخص میشود. در کسانی که آنتی بیوتیک دریافت کرده اند بیش از ۳ کشت خون نیاز است.
- این تکنیک فقط باید توسط پرستاران مورد تایید، و تحت تکنیک شدیداً آسپتیک انجام شود.
- بین زمان گرفتن دو نمونه باید حداقل یک ساعت فاصله بوده؛ و ترجیحاً از دو محل جداگانه گرفته شوند.
 - نمونه ها باید قبل از شروع درمان آنتی بیوتیکی گرفته شوند.
 - نمونه ها باید حتی الامکان از اندام های محیطی گرفته شوند؛ رگ های مرکزی و سرخرگ ها فقط زمانی که امکان خونگیری از سیاهرگ های محیطی امکان پذیر نباشد، استفاده می شوند.
 - اگر خون را زمانی از بیمار می گیرید که آنتی بیوتیک شروع شده است؛ نمونه گیری باید همزمان از سه محل جداگانه انجام شود.

مسئله آلودگی کشت خون

از دیرباز پزشکان و میکروبیولوژیست ها به اهمیت کشت خون بعنوان یکی از مهم ترین تست های آزمایشگاهی برای تشخیص بیماری های مهلک پی برده بودند. در سال های اخیر مشخص شده که کشت های خون آلوده شده (ورود و حضور یک پاتوژن از خارج از جریان خون) که منجر به نتایج مثبت کاذب می شوند شایع هستند. کشت های خون آلوده شده حدود نصف و یا بیشتر از نیمی از موارد تمام کشت های خون مثبت را در بعضی مراکز به خود اختصاص می دهند و این مسئله موجب تحمیل هزینه های بسیار هم برای بیماران و نیز سیستم مراقبت بهداشتی و درمانی شده و همچنین باعث سردرگمی برای کلینیسین ها شده است.

دلائل متعددی وجود دارد که چرا کشت های خون غالباً آلوده می شوند؛ احتمالاً مهم ترین فاکتور مربوط به نحوه ی نمونه گیری است که پرستار یا نمونه گیر از تکنیک مناسب آسپتیک استفاده نمی کند. مطالعات مختلف نشان می دهند که فلبوتومیست های آموزش دیده و یا تیم های کشت خون نسبت به سایرین دارای میزان کمتری از کشت های خون آلوده هستند. فاکتور دوم مربوط به ماده ی آسپتیک به تنهایی است، تتنورید و کلرهگزیدین گلوکونات (chlorhexidine gluconate) برای استریلیزاسیون پوست نسبت به یدوفورها مثل پویدون ایوداین (povidone iodine) بسیار مؤثرتر هستند. فاکتور سوم طریقه فراهم کردن نمونه ی خون برای کشت است. در سالیان اخیر تمایلی برای بدست آوردن نمونه از طریق کاتترهای داخل رگی و یا از طریق دستگاه های دیگر مثل پورت ها پدید آمده و کشت های خون بدست آمده از این طریق بیشتر از نمونه هایی که از طریق خونگیری از عروق محیطی صورت گرفته آلودگی نشان داده اند. چهارمین علت سیستم های کشت خون مدرن و محیط های کشتی است که در آنها از رزین های باند شده به آنتی بیوتیک و یا ذغال فعال استفاده می کنند. این سیستم ها همانطور که پاتوژن های بیشتری را آشکار

می‌کنند از طرف دیگر موارد نشان دادن استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی را بعنوان شایع‌ترین آلوده‌کننده‌ی کشت خون افزایش داده‌اند. سرانجام اینکه تکنیک‌های کشت خون بعد از مشخص شدن اینکه HIV یک پاتوژن منتقله از راه خون است تغییر کرده است. قبل از پیدایش HIV سوزنی که برای بدست آوردن نمونه خون برای کشت استفاده می‌شد برداشته می‌شد و از سوزن دیگری برای تلقیح نمونه‌ی خون به محیط کشت استفاده می‌شد. برای کاهش خطر جراحت ناشی از سوزن (needle stick) که با تعویض سرسوزن مرتبط است، روش استاندارد امروزه به این صورت است که از یک سرسوزن برای تهیه نمونه خون و تلقیح آن به محیط کشت استفاده شود، هرچند که مطالعات متعددی در ابتدا نشان داد که استفاده از تکنیک یک سوزن با افزایش میزان آلودگی ارتباط نداشته است اما یک متاآنالیز نشان داد که میزان آلودگی هنگام استفاده از تکنیک یک سوزن 3/7 درصد است در حالیکه هنگام استفاده از تکنیک دو سرسوزن این میزان به 2 درصد رسیده است.

رهنمودهای مربوط به تفسیر و تعبیر کشت‌های خون مثبت

برخی از ابزارهای کلینیکی و آزمایشگاهی می‌توانند به پزشکان و میکروبیولوژیست‌ها کمک کنند تا تصمیم بگیرند که یک ایزوله‌ی خونی آیا پاتوژن است و یا صرفاً یک آلوده کننده است. بصورت واضح و آشکاری حضور فاکتورهای مستعدکننده در بیمار و وجود یک حالت پایدار کلینیکی می‌تواند به پزشکان در تفسیر نتایج تست کمک کنند. هویت میکروارگانیسم نیز اطلاعات مهمی را فراهم می‌کند. میکروارگانیسم‌هایی که همیشه و یا تقریباً همیشه (یعنی بیشتر و یا برابر 90 درصد موارد) وقتی از خون جدا شوند، عفونت حقیقی را نشان می‌دهند شامل استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پیورن، استرپتوکوک آگالاکتیه، استرپتوکوک پنمونی، اشریشیا کولی و دیگر اعضاء خانواده‌ی آنتروباکتریاسه، سودوموناس آئروژینوزا، گروه باسیلوس فراژیلیس و گونه‌های کاندیدا هستند. در مقابل استافیلوکوک کوآگولاز منفی، گونه‌های کورینه باکتریوم، گونه‌های باسیلوس غیر از آنتراسیس و پروپیونی باکتریوم آکنه معمولاً نمایانگر آلودگی هستند. جدا کردن این ارگانیسم‌ها و بطور عمده استافیلوکوک کوآگولاز منفی و نیز کورینه باکتریوم‌ها ممکن است موجب سردرگمی برای کلینیسین‌ها شوند. گونه‌های کورینه باکتریوم بخشی از فلور نرمال پوست انسان هستند و بنابراین نوعاً بیماری تهاجمی حقیقی را بوجود نمی‌آورند، اما کورینه باکتریوم در حضور دستگاه‌های پزشکی مثل پروتزهای مفصلی، کاتترها، پورت‌ها، گرافت‌های عروقی، دریچه‌های مصنوعی قلب و باطری (پیس میکر) می‌تواند عفونت‌های قابل توجهی را بلحاظ کلینیکال موجب شود. در عفونت‌های داخل عروقی و دیگر عفونت‌های جریان خون همه یا اکثر کشت‌های خون که در زمان تشخیص بیماری بدست می‌آیند مثبت هستند در صورتیکه اگر کشت خون آلوده باشد (مثبت کاذب) معمولاً فقط یکی از چند نوبت کشت خونی که گرفته می‌شود مثبت خواهد بود. بسیاری از مراکز بیمارستانی دارای میزان‌های آلودگی در طیف 3٪ کشت‌های خون بدست آمده هستند. اگر دو نمونه کشت خون تهیه شود و هر دو نمونه مثبت باشد حتی اگر با میکروارگانیسمی که معمولاً بعنوان آلوده کننده در نظر گرفته می‌شود، در این صورت بیانگر یک بیماری واقعی است.

کاهش بار آلودگی

آلودگی کشت خون را بطور کامل نمی‌توان تخمین زد اما این امکان برای مؤسسات و بیمارستان‌ها وجود دارد که میزان موارد آلودگی را کاهش دهند. یک مرحله این است که از مواد آنتی‌سپتیک مؤثرتر استفاده شود. محلول‌های پوئیدون آیوداین (یدوفورها) نیاز به یک و نیم الی دو دقیقه زمان تماس دارند تا حداکثر اثرات آنتی‌سپتیکی خود را باقی بگذارند در حالی که تنتور ید و کلرهگزیدین گلوکونات به فقط 30 ثانیه زمان تماس نیاز دارند. بسیاری از پرستاران یا فلبوتومیست‌ها که کشت خون تهیه می‌کنند در حال عجله هستند و به زمان تماس آنتی‌سپتیک توجه ندارند و اهمیت آن را نمی‌دانند و تمایلی ندارند که تا 2 دقیقه صبر کنند و بعد اقدام به نمونه‌گیری کنند. مؤسسه استانداردهای کلینیکی و آزمایشگاهی (CLSI) که رهنمودهایی را بر پایه بهترین داده‌های در دسترس تهیه می‌کند، تنتور ید، کلرین پراکساید و کلرهگزیدین گلوکونات را توصیه می‌کند و نیز ابراز می‌دارد که تنتور ید و کلرهگزیدین گلوکونات احتمالاً دارای اثرات برابری هستند.

مراکز بیمارستانی می‌توانند با بکارگیری فلبوتومیست‌های آموزش‌دیده و یا با تشکیل تیم‌های ویژه کشت خون و صرفاً استفاده از آنها برای نمونه‌گیری کشت خون، بعوض استفاده اتفاقی از پرسنل آزمایشگاه، دستیاران پرستاری بدون مدرک، دانشجویان پزشکی و رزیدنت‌ها، میزان‌های آلودگی کشت خون را کاهش دهند. فلبوتومیست‌های آموزش‌دیده‌ی آزمایشگاهی و تیم‌های کشت خون را بهتر می‌توان آموزش داد و آنان را روی تکنیک‌های صحیح آنتی‌سپتیک متمرکز نمود. علاوه بر این‌ها می‌توان بعنوان بخشی از برنامه بهبود اجرائی آن مؤسسه یا مرکز بیمارستانی میزان‌های آلودگی کشت خون را همواره پایش نمود. بدلیل اینکه تقریباً نیمی از تمام موارد کشت‌های خون در اکثر مراکز آلودگی را نشان می‌دهند آزمایشگاه‌ها باید سیاست‌ها و خط‌مشی‌هایی را برنامه‌ریزی کنند که احتمال آلودگی‌ها را هرچه محدودتر کنند. بعنوان مثال اگر فقط در یک نوبت کشت خون "استافیلوکوک کوآگولاز منفی، گونه‌های باسیلوس، کورینه باکتریوم، پروپیونی باکتریوم، گروه استرپتوکوک ویریدنس، گونه‌های میکروکوک یا آئروکوک" رشد کند، احتمال آلودگی بالا است و لازم نیست که شناسائی کامل میکروارگانیسم جدا شده و تست تعیین حساسیت باکتریائی انجام بگیرد مگر آنکه یک رابطه‌ی مستقیم بین پزشک معالج بیمار و مسئول آزمایشگاه وجود داشته باشد که در اینصورت با در نظر گرفتن وضعیت کلینیکی بیمار این میکروارگانیسم‌ها ممکن است بصورت پاتوژن‌های قابل توجهی خود را نشان داده باشند.

نکات مهم

- 1- آلودگی کشت خون مسئله‌ی شایعی است و در برخی از مراکز تا 50٪ کشت‌های خون ممکن است آلودگی داشته باشند.
- 2- شناسائی ارگانیسم‌های جدا شده در تعیین اینکه کشت خون آلوده شده است یا خیر می‌تواند کمک‌کننده باشد زیرا برخی ارگانیسم‌ها بندرت ایجاد عفونت‌های خونی می‌نمایند.
- 3- تعداد کشت‌های خون که ارگانیسم خاصی از آن جدا می‌شود می‌تواند در ارزیابی عفونت واقعی کمک کند. بعنوان مثال اگر 2 نمونه کشت خون که بصورت جداگانه از 2 محل مختلف در یک زمان بدست آمده باشند و هر دو یک ارگانیسم را نشان دهند، در این حالت احتمال آلودگی کمتر از یک در هزار خواهد بود.

4- مراکز بیمارستانی می‌توانند با استفاده از عوامل آنتی‌سپتیک بسیار مؤثر و بکارگیری پرسنل آموزش‌دیده و ویژه برای تهیه کشت خون میزان آلودگی را کاهش دهند.

- نکته آخر
- با رعایت موارد فوق می‌توان تا حد زیادی از آلوده شدن کشت‌های خون جلوگیری کرد هرچند حتی با رعایت این موازین و در بهترین شرایط کاری حدود 3-5 درصد کشت‌های خون در معرض آلودگی قرار می‌گیرند این آلودگی می‌تواند منشأ پوستی (استافیلوکوکوس اپیدرمیدس ، پروپیونی باکتریوم آکنه ، دیفتروئیدها و کلستریدیوم) یا محیطی (اسینتوباکتر باسیلوس) داشته باشد با این حال چنین ارگانیزم‌هایی می‌توانند گاهی به عنوان بیماریزایی واقعی عمل نموده موجب اندوکاردیت شوند ارتباط مناسب بین پزشک و پرسنل آزمایشگاه و همکاری مؤثر آنان از نکات ارزشمند در حل معضلات و مشکلات بیماران خواهد بود

Weinstein MP. Contaminated or not? Guidelines for interpretation of positive Blood cultures.

(Jan 2008). Available at: <http://webmm.ahrq.gov>

1. Isenberg D. Henry: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, American Society for Microbiology