

آزمایش کشت مدفوع S/C

نام اختصاری S/C :

سایر نام ها: کشت مدفوع، کشت مدفوع بر ای تشخیص میکروب های پاتوژن روده ای

Enteric Pathogens Culture, Stool/ Aerobic Bacteria Culture, Stool/ Pathogen-Culture Stool

نوع نمونه قابل اندازه گیری : مدفوع رندم تازه یا سواب رکتال

حجم نمونه مورد نیاز: ۲ گرم مدفوع قوام یافته یا ۲ میلی لیتر مدفوع آبکی.

شرایط و نحوه جمع آوری نمونه مدفوع:

نمونه های مدفوع تازه یا مدفوع اسهالی باید در لگن خشک و تمیز و یا روی یک روزنامه جمع آوری شود. مدفوع نباید با ادرار، بقایای صابون یا مواد ضد عفونی کننده آلوده شود.

نمونه باید به یک ظرف پلاستیکی خشک و تمیز و دربدار بدون نشستی انتقال یابد.

آن قسمتهایی از مدفوع که حاوی خون یا مخاط است حائز اهمیت است و باید به ظرف انتقال یابد.

نمونه های در پوشاک قابل قبول نمی باشد. جهت نمونه برداری از کودکان مبتلا به اسهال شدید میبایست از کیسه ادرار مخصوص (U bag) استفاده شود. کیسه را در ناحیه مقعد کودک قرار دهید و از تماس پوشاک به کیسه جلوگیری کنید. پس از جمع آوری نمونه، آن را به ظرف پلاستیکی درب دار انتقال دهید.

اگر تاخیر در انتقال نمونه بیشتر از یک ساعت باشد، نمونه را در یک ویال نارنجی (C & S) Para Pak® نگه دارید.

سواب رکتال: سواب های کشت مدفوع باید حاوی مدفوع باشد.

سواب های مقعدی برای کشت میکروب های ایجاد کننده اسهال غیر قابل قبول است.

سواب را تقریباً یک اینچ در داخل کانال مقعد قرار دهید.

به آرامی سواب را سمت به سمت حرکت دهید تا مدفوع مقعد به آن بچسبد. مدفوع باید بر روی سواب آشکار باشد.

سواب را در محیط ترانسپورت (انتقالی) قرار دهید و به بخش میکروب شناسی ارسال نمایید.

راهنمای Para Pak® (C & S) system زمانیکه انتقال نمونه بیش از ۱ ساعت بطول می انجامد:

با استفاده از قاشق مخصوص مقداری مدفوع برداشته و در آن را در ویال های دربدار می ریزید. ترجیحاً از نواحی خونی، آبکی یا لزج مدفوع برداشت شود. ویال را بیش از گنجایشش پر ننمایید.

اگر مدفوع قوام یافته است (Formed) بهتر است مقدار کمی نمونه از انتها، اطراف و اوسط ویال بردارید.

محتویات ویال را با قاشق بخوبی مخلوط نمایید.

درپوش ویال را محکم ببندید و سپس ویال را به شدت تکان دهید، تا محتویات آن به خوبی مخلوط گردد. اطمینان حاصل کنید که نشستی وجود نداشته باشد.

به ویال نمونه برجسی حاوی اطلاعاتی نظیر نام بیمار، تاریخ و زمان نمونه گیری را نصب نمایید

ویال ها را در دمای اتاق نگاه دارید.
کیت جمع آوری نمونه را تا کمتر از ۷۲ ساعت به آزمایش ارسال نمایید.

ملاحظات نمونه گیری:

نمونه باید در یک ظرف در پوش دار استریل پلاستیکی، جمع آوری و سریعاً به آزمایشگاه انتقال داده شود.
نمونه نباید با ادرار مخلوط شود و حداکثر ۲ ساعت بعد از آوردن نمونه به آزمایشگاه بایستی مورد آزمایش و کشت قرار گیرد.
در صورت ماندن بیش از حد نمونه و سرد شدن آن PH کاهش یافته و در نتیجه مانع از رشد بسیاری از انواع شیگلا و برخی از سالمونلا در محیط کشت می شود.

بعضی از پاتوژن های روده ای نظیر یرسینیا، آئروموناس، استافیلوکوک و ویبریو باید به طور اختصاصی درخواست شده و در محیط های اختصاصی کشت داده شوند.

تشخیص گونه EHEC باکتری E. Coli در موارد زیر نامعتبر و غیر قابل انجام است:

مدفوع ارسال شده با محیط های انتقالی (بجز کری-بلایر)، سواب رکتال، مدفوع ارسال شده به همراه نگهدارنده ها) نظیر SAF، PVA یا فورمالین (، آسپیره های مدفوع آندوسکوپی.

محیط های مایع گرم منفی که رشد در آن پس از دوره انکوباسیون مشاهده نگردیده است

نمونه انتخابی جهت تشخیص عامل باکتریایی اسهال، مدفوع تصادفی تازه، و نه یک سواب می باشد.

سواب رکتال تنها جهت کشت برای باکتریهای سالمونلا، شیگلا، کمپیلوباکتر و E.Coli 0157 قابل انجام است.

جمع آوری مدفوع جهت شناسایی ویروس در ابتدای بیماری (۴ روز اول بیماری) که بیشترین مقدار را ویروس در مدفوع دارد باید انجام گیرد. دو نمونه مدفوع به فاصله ۲۴ تا ۴۸ ساعت در محیط ترانسپورت مخصوص ویروس از بیمار گرفته شود. اگر نمونه با سواب رکتال گرفته می شود باید با دو میلی لیتر سرم فیزیولوژی سوسپانسیونی تهیه شود و سپس تمام آزمایشات تشخیصی و کشت از روی سوسپانسیون انجام گیرد.

محل نمونه گیری و تاریخ و زمان جمع آوری مدفوع را یادداشت نمایید.

موارد عدم پذیرش نمونه:

نمونه هایی بدون نگهدارنده که بیش از ۲ ساعت از جمع آوری آن گذشته باشد.

نمونه گرفته شده از پوشک قابل قبول نیست.

چندین نمونه از یک بیمار در یک روز

نمونه های بدون برچسب

نمونه های آلوده شده به ادرار یا آب

حجم ناکافی نمونه

نمونه های حاوی عناصر مداخله گر نظیر روغن کرچک، بیسموت، متاموسیل، باریم، وازلین، یا سایر پمادهای آلاینده

اگر نمونه ای غیرقابل قبول رسیده باشد، به پزشک یا ایستگاه پرستاری اطلاع داده می شود و نمونه دیگری درخواست خواهد شد قبل از اینکه نمونه دور ریخته شود.

شرایط انتقال و نگهداری: نمونه حاوی نگهدارنده تا ۷۲ ساعت در دمای اتاق و دمای یخچال پایدار است. نمونه تازه بدون نگهدارنده تنها دو ساعت قابل نگهداری است.

هنگامی که نمونه مدفوع را نمی توان سریعاً مورد بررسی قرار داد باید آن را به محیط ترانسپورت انتقال داد. جمع آوری در محل (آزمایشگاه): نمونه های تازه، بدون نگهدارنده یا سواب رکتال را در ظرف یک ساعت (در دمای اتاق) به بخش میکروبیولوژی انتقال دهید.

جمع آوری در خارج محل: سیستم (S,C) و سواب رکتال، نباید در یخچال قرار گیرد. و باید در دمای اتاق نگهداری شود. نمونه ها باید فوراً توسط پیک در دسترس، به آزمایشگاه ارسال گردند. نباید بیش از ۲۴ ساعت از زمان نمونه گیری گذشته باشد. با این حال، به تاخیر افتاد حمل و نقل باعث تاخیر در نتایج آزمون می گردد.

اطلاعات تکمیلی: اسهال ممکن است با تعدادی از عوامل (به عنوان مثال، باکتری ها، ویروس ها، انگل و مواد شیمیایی) ایجاد شود و این عوامل ممکن است در علائم بالینی مشابه باشند.

سابقه اسهال، شدت و طول مدت بیماری، سن، سابقه سفر، مصرف غذا، سابقه استفاده اخیر از آنتی بیوتیک، و بیماری در اعضای خانواده و سایر اطلاعات به پزشک در طبقه بندی بیماری و اطمینان از هر گونه درخواست ویژه مرتبط با آزمایشگاه کمک خواهد کرد.

کاربردهای بالینی از نظر باکتریایی:

تشخیص گاستروانتریت حاد که می تواند توسط باکتری هایی چون کلسترییدیوم دیفیسل، استافیلوکوک اورئوس، سالمونلا، شیگلا، آئروموناس، ویبریوکلرا، یرسینا انترکولیتیکا، اشرشیا انترتوکسیژنیک و کمپیلوباکتر ژژونی ایجاد شود. تعیین اینکه آیا یک پاتوژن روده باکتریایی علت اسهال است؟ ممکن است در شناسایی منبع عامل عفونی (به عنوان مثال، محصولات لبنی، مرغ، آب، و یا گوشت) مفید باشد.

کاربرد بالینی از نظر ویروس:

تشخیص گاستروانتریت ایجاد شده توسط ویروسهای پولیو، روتاویروس، آنترروویروس، آدنوویروس.

کاربرد بالینی از نظر انگل روده ای:

تشخیص عفونتهای انگلی نظیر تک یاخته های روده ای، لیشمانیوز، تریکوموناس، تریپانوزوم، توکسوپلاسمازموز و تشخیص لاروها روش: تکنیک های کشت سنتی

محدوده مرجع: عدم رشد پاتوژن روده ای.

تفسیر: رشد و مشاهده پاتوژن روده شناسایی شده عامل اسهال نشاندهنده مثبت بودن تست است.

محیط های کشت باکتریهای روده:

محیط های کشت مورد استفاده در کشت مدفوع جهت شناسایی باکتریها را می توان به چهار دسته تقسیم کرد:

محیط های افتراقی انتخابی ضعیف مانند ائوزین متیلن بلو (EMB) و مک کانکی محیط های افتراقی انتخابی متوسط مانند سالمونلا-شیگلا (SS)، دزوکسی آگار، گزیلوز لایزین (XLD) و دزوکسی کولات هکتون انتریک آگار

محیط های افتراقی قوی مانند بیسموت سولفیت آگار (BSA) و بریلیانت گرین محیط های غنی کننده مانند سلنیت F، تتراتینوات و گرم نکاتیو براث

محیط های انتخابی قوی در موارد خاصی استفاده می شوند چرا که اولاً دوام این محیط ها کم بوده و حداکثر ۷۲-۴۸ ساعت بعد از تهیه باید مصرف شوند ثانیاً بیسموت سولفیت آگار هنگامی که اپیدمی سالمونلا تیفی وجود داشته باشد بکار می رود و جلای فلزی آن مشخص می شود ولی اختصاصی نیست. در مورد محیط های غنی کننده زمان یک فاکتور مهم تلقی می شود و حداکثر ۸-۶ ساعت بعد از کشت روی آنها باید روی محیط SS ساب کالچر شوند. زیرا محیط سلنیت F باکتریهای فلور نرمال را در فاصله ۸-۶ ساعت در فاز تاخیری نگه داشته ولی پاتوژنها و از جمله سالمونلا از املاح سلنیوم استفاده نموده و وارد فاز لگاریتمی شده و تعدادشان افزایش می یابد. این محیط ها بیشتر برای سالمونلا کاربرد دارند و شیگلا از کشت مستقیم مدفوع راحتتر جدا می گردد.

بطور کلی حداقل محیط های لازم جهت کشت روتین مدفوع سه محیط EMB یا مک کانکی، SS و سلنیت F می باشند. هر کلنی لاکتوز منفی که در محیط های EMB، مک کانکی و SS رشد کند (کلنی های بیرنگ) باید از نظر آزمایشات بیوشیمیایی و سرولوژی مورد بررسی قرار گیرد.

محیط های کشت ویروسهای روده:

برای جداسازی ویروس عامل گاستروانتریت، نمونه مدفوع را در محیط های کشت سلولی حاوی سلول های انسانی نظیر هلا (Hella) و سلول های جنینی کلیه انسان و میمون کشت می دهند. کشت سلولی نسبت به روش شناسایی مستقیم [آنتی ژن](#) از حساسیت بیشتری برخوردار است و نتایج کشت سلولی باید در مدت ۱۰-۷ روز گزارش گردد.

محیط های کشت انگلهای روده:

محیط کشت مناسب جهت تشخیص تک یاخته های روده ای، سرم منعقد شده اسب می باشد. محیط NNN برای کشت لیشمانیا و محیط دُرسه جهت کشت تریکوموناس و ژینالیس مناسب می باشند. از محیط های کشت سلولی هم برای رشد تریپانوزوم و توکسوپلاسما می توان استفاده نمود. همچنین روش کشت هاراداموی و کاواردنیز برای تشخیص لاروها بکار برده می شوند.

محدودیت ها و عوامل مداخله گر:

کشت مدفوع در بیماران بیمارستانی بستری شده به مدت ۳ روز یا بیشتر قابل اعتماد نیست مگر اینکه شرایط ویژه ای وجود داشته باشد.

اگر بیمار بیش از ۳ روز بستری باشد و تشخیص عفونت گاستروانتریت (معده ای- روده ای) نباشد، باید از لحاظ توکسین کلستریدیوم دفیسل مورد بررسی قرار گیرد.

توضیحات:

استافیلوکوک کوآگولاز منفی در نوزادانی که تشخیص انتروکولیت نکرودان (NEC) داده شده قابل شناسایی خواهد بود. در صورت مثبت شدن کشت های مدفوع به باکتریهای سالمونلا، شیگلا، اشریشیا کلی O157، و گونه های کمپیلوباکتر مثبت و مثبت شدن توکسین شیگلا در محیط کشت مایع GN، باید به پزشک یا ایستگاه پرستاری اطلاع داده شود. محیط کری بلر (Cary Blair) محیط مناسبی برای نگهداری ویبریو و کمپیلوباکتر می باشد. محیط های بافر فسفات گلیسرول ۰/۰۳۳ مول برای نگهداری شیگلا مناسب می باشد. آب پبتونه قلیایی بعنوان محیط ترانسپورت و همچنین یک محیط غنی کننده جهت ویبریو ها می توان استفاده نمود. همچنین از سایر محیط های ترانسپورت مانند Stuart، Amies برای انتقال نمونه مدفوع می توان استفاده کرد. کشت های مدفوع نظارتی ممکن است در پیوند مغز استخوان و دیگر بیماران دچار نقص ایمنی جهت تشخیص رشد بیش از حد فلور نرمال توسط استاف اورئوس، مخمر، و یا یک باسیل گرم منفی درخواست گردد. اگر مشکوک به باکتری ویبریو هستید، کشت مدفوع Vibrio/VIBC درخواست نمایید. کشت مدفوع برای پاتوژن های روده در بیماران بستری در بیمارستان برای بیش از ۳ روز مفید نیست زیرا راندمان تشخیصی نمونه ها از این بیماران بسیار پایین است. کلستریدیوم دیفیسیل (علت عمده اسهال بیمارستانی) و *Escherichia coli* O157:H7 توسط آزمون کشت مدفوع سنتی تشخیص داده نشده است. جهت تشخیص این دو باکتری از روش های مولکولی (PCR) به سموم این باکتریها قابل انجام است. از سایر روش های متداول در تشخیص پاتوژن های روده ای می توان به آزمایش مستقیم، بیوشیمیایی و سرولوژیک اشاره کرد.

شایع ترین باکتریهای پاتوژن مشاهده شده در مدفوع عبارتند از:

سالمونلا، اغلب در تخم مرغ خام (حتی تخم مرغ ضد عفونی شده) و مرغ خام یافت میشود. در حیوانات خانگی، مانند مارمولک و لاک پشت ممکن است سالمونلا را در روده خود حمل کنند بدون اینکه خودشان بیمار شوند. برخی از انسانها ممکن است حامل سالمونلا باشند. سالمونلا از فرد به فرد ممکن است انتقال یابد.

شیگلا، از مواد غذایی آلوده و آب، و از شخص آلوده به فرد دیگر زمانی که بهداشت رعایت نشده باشد.

کمپیلوباکتر، از مرغ خام یا نپخته. از شایعترین علل اسهال باکتریال است. ممکن است بسیار جدی باشد به خصوص اگر به جریان خون گسترش یابد، و گاهی اوقات باعث عوارض دراز مدت از جمله آرتريت و سندرم گیلن باره میشود.

اشریشیا کلی ۰۱۵۷ H7: و سایر توکسین های تولیدکننده اشریشیا کلی) اکثر سویه های *E. coli* فلور نرمال در نظر گرفته می شوند. (موجود در همبرگر / گوشت گاو خام یا خوب پخته نشده، اسفناج، سبب اسهال خون یمیشود و ممکن است منجر به سندرم همولیتیک اورمیک شود.

سایر باکتری ها که ممکن است موجب اسهال می گردد عبارتند از: استافیلوکوکوس اورئوس، کلستریدیوم دیفیسیل، یرسینیا انترولیتیکا، ویبریوکلرا و دیگر گونه های ویبریو.