


کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیرک برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

نتایج آزمایش‌ها تحت تاثیر متغیرهای گوناگونی است که شناسایی آن‌ها و بدنبال آن استاندارد نمودن روش‌های آزمایشگاهی جهت تفسیر و استفاده بهینه از داده‌های آزمایشگاهی ضروری است. این متغیرها شامل مراحل قبل از، حین و پس از آزمایش می‌باشند. در سال‌های اخیر با توجه به تاکید بر اجرای روش‌های کنترل کیفی در کلیه بخش‌های آزمایشگاه در مرحله حین آزمایش و بدنبال آن برگزاری دوره‌های آموزشی در این خصوص، خطاهای حین آزمایش به حداقل رسیده است و لذا تاثیر متغیرهای قبل و بعد از آزمایش بسیار پررنگ شده است. با توجه به اهمیت متغیرهای قبل از آزمایش در این فصل سعی شده است مجموعه‌ای از دستورالعمل‌های کاربردی در خصوص مدیریت نمونه بیان گردد که این موارد شامل: نحوه جمع‌آوری انواع نمونه‌های بالینی، شامل خون و سایر مایعات بدن، آماده‌سازی نمونه، جابجایی و نقل انتقال نمونه، شرایط نگهداری و موارد رد نمونه می‌باشد. بدیهی است رعایت موارد ذکر شده در این مجموعه در به حداقل رساندن عواملی که می‌تواند نتایج آزمایش را تحت تاثیر قرار دهد، کمک شایانی خواهد نمود.


تجهیزات لازم جهت اتاق نمونه برداری

- نمونه‌گیری باید در یک محل مجزا، تمیز و ساکت صورت گیرد. این اتاق بهتر است مجهز به دستشویی بوده و در صورت عدم دسترسی به آب، باید محلول‌های تمیزکننده دست موجود باشد.
- ۱- صندلی نمونه‌برداری: باید دارای دسته قابل تنظیم باشد به طوری که بیمار بتواند در راحت‌ترین وضعیت جهت نمونه‌گیری روی صندلی بنشیند. هم‌چنین صندلی باید دارای حفاظ ایمنی جهت جلوگیری از افتادن بیمار باشد.
 - ۲- تخت معاینه
 - ۳- سینی جمع‌آوری ظرف‌های نمونه
 - ۴- دستکش • دستکش در صورت آلودگی و یا در فواصل نمونه‌گیری‌ها باید تعویض گردد.
 - ۵- سوزن (۲۳G-۱۹)
 - ۶- سرنگ یا نگاه‌دارنده مخصوص (holder) جهت استفاده از لوله‌های خلاء (evacuated tube)
 - ۷- نیشتر یک‌بار مصرف
 - ۸- انواع لوله‌ها و ظروف در پیچ‌دار یا لوله‌های خلاء
 - ۹- بازوبند (tourniquet)
 - ۱۰- یخچال یا یخ باید در دسترس باشد
 - ۱۱- ضدعفونی کننده‌ها:
 - ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪
 - محلول povidone – iodine ۱۰-۱٪ یا کلر هگزیدین گلوکونات جهت کشت خون
 - ۱۲- گاز پارچه‌ای در ابعاد ۵×۵ cm یا ۷/۵×۷/۵ cm (استفاده از پنبه پیشنهاد نمی‌گردد). باند و گاز باید جهت پانسمان در دسترس باشد.
 - ۱۳- ظروف مخصوص دفع سرسوزن‌های آلوده (Puncture Resistant Disposal Container)
 - ۱۵- فهرست انواع آزمایش‌ها و درج مقدار خون لازم برای هر آزمایش و نوع لوله مورد استفاده
 - ۱۶- روتاتور جهت مخلوط نمودن لوله‌های محتوی خون

نمونه‌گیری وریدی

مراحل نمونه‌گیری

- خون‌گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت توأم دارد. جهت جمع‌آوری نمونه خون وریدی، خون‌گیر کار آموخته باید مراحل زیر را پی‌گیری نماید:
- ۱- انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار
 - ۲- اطمینان از رعایت رژیم غذایی پیش از نمونه‌گیری
 - ۳- انتخاب وسایل مورد نیاز
 - سرنگ و سرسوزن مناسب یا لوله خلاء براساس نوع آزمایش انتخاب می‌شود.
- * به‌طور کلی توصیه می‌گردد به دلیل رعایت اصول ایمنی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و لوله‌های خلاء جایگزین آن گردند.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیرک برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

۴- استفاده از دستکش

۵- وضعیت بیمار هنگام نمونه‌گیری بیمار بر روی صندلی نمونه‌گیری نشسته و دست خود را به منظور برجسته شدن وریدها مشت کرده و به نحوی روی دسته صندلی نمونه‌برداری قرار می‌دهد که بازو تا مچ دست در یک خط مستقیم قرار گیرند. باید توجه داشت که بیمار نباید مشت خود را باز و بسته نماید زیرا باز و بسته کردن مشت باعث تغییر بعضی مواد در خون می‌شود.

۶- بستن تورنیکه به منظور افزایش پر شدن ورید از خون و برجسته شدن رگ مورد نظر و جهت تسهیل ورود خون به داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء از رگ‌بند (تورنیکه) استفاده می‌شود (قابل ذکر است در مواردی نظیر اندازه‌گیری لاکتات خون نباید تورنیکه بسته شود).
رگ‌بند باید ۱۰-۷/۵ سانتی‌متر بالای ناحیه نمونه‌گیری بسته شود و نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند.

۷- انتخاب ورید مناسب در اغلب موارد نمونه‌گیری از وریدهای Median cubital و Cephalic صورت می‌گیرد. خون‌گیری از وریدهای پشت دست نیز قابل قبول است، ولی وریدهای سطح داخلی مچ نباید مورد استفاده قرار گیرند.

۸- تمیز کردن محل نمونه‌گیری ناحیه نمونه‌گیری به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪ به صورت حرکت دورانی از داخل به خارج تمیز می‌شود. نمونه‌گیری پس از خشک شدن موضع در هوا، به منظور جلوگیری از همولیز و کاهش سوزش ناشی از تماس نوک سوزن با الکل و پوست، صورت می‌گیرد.

۹- نمونه‌گیری باید سر سوزن در حالی که قسمت مورب نوک آن به سمت بالا است، با زاویه 30°C یا کمتر وارد ورید شود.

* به محض ورود خون بداخل سرنگ یا لوله خلاء باید رگ‌بند (تورنیکه) باز شود.

در صورت استفاده از لوله خلاء باید تمهیدات زیر صورت گیرد:

- حتی الامکان سوزن در رگ ثابت نگه‌داشته شده و اولین لوله با فشار به سوزن مرتبط شود.
 - لوله‌ها باید تا خاتمه مکش از خون پر شوند. پس از وقفه جریان خون اولین لوله از سوزن جدا شده و لوله‌های بعدی به سوزن متصل می‌شوند.
 - لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد و خون باید بلافاصله پس از پر شدن مخلوط شوند (با ۱۰-۵ مرتبه سروته نمودن). جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله‌ها به شدت مخلوط گردند.
- پس از جاری شدن روان خون به داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء بیمار باید مشت خود را باز کند.

۱۰- دفع سر سوزن سر سوزن‌های آلوده بدون گذاشتن در پوش سرسوزن باید در ظروف ایمن، دفع گردند. سپس نمونه خون به آرامی در ظروف مربوطه تخلیه شود.

۱۱- تخلیه خون نمونه‌هایی که در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد ریخته می‌شوند باید بلافاصله و به آرامی ۵ تا ۱۰ بار مخلوط شوند. در صورتی که نمونه در لوله بدون ماده ضد انعقاد ریخته می‌شود باید به آرامی در جدار داخلی لوله تخلیه گردد.

۱۲- اقدامات پس از نمونه‌گیری پس از خاتمه نمونه‌گیری، باید موضع از نظر بند آمدن خون‌ریزی و یا به وجود آمدن هماتوم کنترل گردد.

۱۳- برچسب‌گذاری ظرف حاوی نمونه بلافاصله پس از اتمام نمونه‌گیری باید برچسب دارای اطلاعات زیر را بر روی لوله‌ها و ظروف حاوی نمونه خون بیمار الصاق نمود:

- نام، نام خانوادگی بیمار، شماره شناسایی، تاریخ، زمان نمونه‌گیری (بخصوص در آزمایش‌های ردیابی دوز درمانی داروها TDM)، نام فرد خون‌گیر

خون‌گیری مویرگی - نمونه‌گیری از طریق سوراخ کردن پوست (Skin Puncture)

خون‌گیری مویرگی در نوزادان، اطفال و بزرگسالان در شرایط خاص نظیر بیماران با سوختگی وسیع، بیماران بسیار چاق، بیماران مستعد به ترومبوز و بیماران مسن یا سایر بیمارانی که وریدهای سطحی آن‌ها قابل دسترسی نبوده یا بسیار شکننده است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

• نواحی مناسب جهت سوراخ کردن پوست و جمع‌آوری نمونه:


- بند انتهایی انگشتان دست

- سطح داخلی و خارجی پاشنه پا

➤ در نوزادان کمتر از یک سال معمولاً خون‌گیری از پاشنه پا انجام می‌گیرد.

➤ در اطفال و بزرگسالان معمولاً از سطح داخلی بند آخر انگشتان (انگشت سوم یا چهارم) خون‌گیری صورت می‌گیرد. سطح جانبی و نوک انگشتان مناسب نمی‌باشند.

از نواحی زیر نباید خون‌گیری صورت گیرد:

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم ۱۳۹۱ Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

۲) ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان

۳) انگشتان (دست و پا) نوزادان و اطفال کمتر از یک سال

نواحی متورم یا مناطقی که قبلا جهت نمونه گیری سوراخ شده اند (به دلیل تجمع مایع بافتی)

• روش کار

موضع مورد نظر توسط محلول ایزوپروپانول ۷۰٪ (یا اتانول ۷۰٪) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن در مجاورت هوا، خون گیری به وسیله لانتست استریل انجام می شود. قابل ذکر است که باید اولین قطره خون را به وسیله گاز پاک کرده و از قطرات بعدی استفاده نمود.

آماده سازی نمونه خون

سرم یا پلاسما باید در کوتاه ترین زمان به دنبال نمونه گیری از سلول های خونی جدا گردد. حداکثر زمان مجاز جهت جداسازی سرم یا پلاسما ۲ ساعت پس از نمونه گیری پیشنهاد می گردد. قابل ذکر است که در خصوص اندازه گیری ترکیباتی نظیر پتاسیم، هورمون های کورتیکواستروئیدی، کورتیزول، کاتکولامین ها، اسید لاکتیک و هموسیستین این زمان باید کمتر از ۲ ساعت باشد. قابل ذکر است که درجه حرارت محیط نیز بر پایداری برخی مواد تاثیر می گذارد. آماده سازی نمونه در طی سه مرحله انجام می گیرد: مرحله پیش از سانتریفیوژ، مرحله سانتریفیوژ، مرحله پس از سانتریفیوژ.

• مرحله پیش از سانتریفیوژ

برای اکثر روش های اندازه گیری مواد در خون به جز اندازه گیری گازهای خون و آمونیاک، استفاده از سرم یا پلاسما ارجحیت دارد.

•• تهیه سرم: نمونه خون پس از جمع آوری (در ظروف در بسته)، باید جهت جداسازی و سانتریفیوژ مراحل لخته شدن را طی نماید که بهتر است این مرحله با طی زمان و به طور خودبخود صورت گیرد. عمل لخته شدن به طور طبیعی در دمای اتاق ($22-25^{\circ}\text{C}$) پس از ۶۰-۳۰ دقیقه کامل می گردد. در صورتی که بیمار داروهای ضد انعقاد مصرف نماید، زمان لخته شدن طولانی تر بوده و اگر نمونه در شرایط سرما قرار گیرد ($2-8^{\circ}\text{C}$) نیز این عمل به تاخیر می افتد. هم چنین اگر زمان لازم جهت کامل شدن مراحل تشکیل لخته کافی نباشد، تشکیل رشته های ظریف فیبرین ممکن است سبب ایجاد خطا در نتایج بسیاری از دستگاه های خودکار بیوشیمی گردد. جهت تسریع در عمل لخته شدن می توان از لوله های جمع آوری سرم که حاوی فعال کننده یا تسریع کننده عمل لخته شدن باشد استفاده نمود. به طور مثال لوله های حاوی افزودنی نظیر سم مار، زمان تشکیل لخته را به ۵-۲ دقیقه، ترومبین به ۵ دقیقه، سیلیکا و پارتیکل های شیشه به حدود ۳۰-۱۵ دقیقه می رسانند. (استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی گردد)


•• تهیه پلاسما: لوله های حاوی خون به همراه مواد افزودنی به جز سیترات سدیم باید پس از نمونه گیری به آرامی برای حداقل ۱۰-۵ بار جهت مخلوط شدن سر و ته گردند (به جز موارد خاص که باید مطابق دستورالعمل سازنده لوله عمل گردد). لوله های حاوی سیترات سدیم و خون باید ۳-۴ مرتبه سر و ته گردند.

•• سرد نمودن: بعضی نمونه ها باید تا قبل از عمل سانتریفیوژ و جداسازی در سرما نگهداری شوند. سرد کردن نمونه، متابولیسم سلول های خونی را مهار نموده و سبب پایداری اجزای حساس به حرارت می گردد. جهت سرد نمودن، نمونه باید سریعاً در یخ خرد شده یا مخلوطی از آب و یخ قرار گیرد (استفاده از تکه های بزرگ یخ به دلیل تماس ناکافی بین نمونه و یخ قابل قبول نمی باشد). یخ باید کاملاً اطراف سطح خون درون لوله را احاطه کند.

نکته: قرار دادن نمونه خون بیش از دو ساعت در سرما سبب افزایش کاذب پتاسیم می گردد. سرما سبب مهار گلیکولیز شده، لذا انرژی جهت پمپ پتاسیم به داخل سلول ایجاد نمی گردد و بدنبال آن پتاسیم از سلول ها به بیرون نشت می کند. نمونه جهت اندازه گیری الکترولیت ها نیز نباید تا قبل از سانتریفیوژ و انجام آزمایش در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ قرار گیرد.

نمونه خون جهت اندازه گیری ترکیباتی نظیر کاتکول آمین ها، آمونیاک، اسید لاکتیک، پپروات، گاسترین، هورمون پاراتیروئید، فعالیت رنین پلاسما و اسید فسفاتاز، باید پس از جمع آوری در سرما نگهداری شود.

•• نگهدارنده ها و مهارکننده های متابولیک: بعضی افزودنی ها می توانند از تغییرات غلظت مواد در نمونه با گذشت زمان جلوگیری نمایند. مواد آنتی گلیکولیتیک نظیر فلوراید می توانند گلوکز را در حضور سلول های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق ($22-24^{\circ}\text{C}$) و تا ۴۸ ساعت در دمای

تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱	 آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghazem Subspecialty Hospital	کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی
محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری	شرح کلی: مدیریت نمونه	تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲

یخچال (۲-۸°C) پایدار نگه دارند. به دلیل حساسیت اندازه‌گیری گلوکز در نوزادان و اطفال می‌توان از مواد افزودنی آنتی‌گلیکولیتیک استفاده نمود. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری لاکتات باید از فلوراید سدیم یا اگزالات پتاسیم استفاده نمود.

انتقال

انتقال نمونه‌های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه‌کاری در آزمایشگاه می‌باشد. در مورد نمونه‌های خون روند انتقال ۱/۳ زمان چرخه کاری را شامل می‌شود.

* جمع‌آوری نمونه در محل آزمایشگاه


- زمان: نمونه‌ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال گردند. انتقال نمونه‌ها می‌بایست در شرایط دمایی اتاق صورت گیرد، به‌جز نمونه‌هایی که باید با حفظ زنجیره سرد نگهداری و منتقل شوند. انتقال سریع نمونه از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه در شرایطی که دمای محل نمونه‌گیری بالاتر از ۲۲°C است از اهمیت زیادی برخوردار است.
- وضعیت لوله: نمونه‌های خون باید در لوله‌های در پوش‌دار و در وضعیت قائم نگهداری گردند. این امر سبب تسریع فرایند انعقاد و هم‌چنین کاهش به هم خوردگی محتوی لوله می‌گردد و احتمال ایجاد همولیز را نیز کاهش می‌دهد.
- در پوش: نمونه‌ها باید در طول مدت انتقال و نگهداری در ظروف در پوش‌دار قرار گیرند. عدم وجود در پوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به دلیل از دست دادن دی‌اکسید کربن و افزایش PH نظیر کلسیم یونیزه و اسید فسفاتاز (افزایش می‌یابند) می‌گردد. هم‌چنین وجود در پوش خطر ایجاد اتروسل، تبخیر نمونه و آلودگی را نیز کاهش می‌دهد.
- همولیز: حمل و نقل نمونه باید به آرامی صورت گیرد تا امکان آسیب به گلبول‌های قرمز را به حداقل رساند. وجود همولیز در نمونه سبب تداخل با عملکرد برخی دستگاه‌هایی می‌شود که به روش نوری پارامترها را اندازه‌گیری می‌کنند. ترکیبات زیادی در سرم و پلاسما تحت تاثیر همولیز (با منشا خارجی) قرار می‌گیرند که نمونه‌هایی از آن به شرح زیر است:
 - پارامترهایی که شدیداً تحت تاثیر همولیز قرار گرفته و افزایش می‌یابند شامل: هموگلوبین پلاسما، اسپارژین امینو ترانسفراز (AST)، پتاسیم، لاکتات دهیدروژناز می‌باشند.
 - پارامترهایی که به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر همولیز قرار می‌گیرند شامل: آهن، آلانین امینو ترانسفراز (افزایش می‌یابند) و T₄ (کاهش می‌یابد) هستند.
 - پارامترهایی که کمتر تحت تاثیر همولیز قرار گرفته ولی امکان افزایش آن‌ها به دنبال همولیز وجود دارد شامل: فسفر، پروتئین توتال، آلومین، منیزیم، کلسیم، و اسید فسفاتاز می‌باشند.
- قابل ذکر است پلاسما حاوی ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ قرمز است. بالا رفتن بیلی‌روبین در پلاسما ممکن است وجود هموگلوبین را بپوشاند به‌طور مثال غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین ممکن است با چشم غیر مسلح با وجود بیلی‌روبین ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر قابل رویت نباشد. وجود همولیز در نمونه خون کامل ممکن است با چشم قابل رویت نباشد لذا پیشنهاد می‌گردد در مواردی که نتایج متغیر مورد اندازه‌گیری بالاتر از محدوده مرجع آن می‌باشد، نمونه مورد آزمایش از نظر وجود همولیز نیز بررسی گردد. (با سانتریفیوژ و بررسی پلاسما)
- مجاورت با نور: نمونه نباید در مقابل نور خورشید قرار گیرد این امر بخصوص در مورد ترکیباتی که به نور خورشید یا اولترا ویوله بسیار حساس هستند نظیر بیلی‌روبین، ویتامین A و B₆ و بتا کاروتن بسیار اهمیت دارد. ظرف حاوی این نمونه‌ها جهت محافظت از نور باید در پوششی از کاغذ آلومینیوم پیچیده شده یا در ظرف شیشه‌ای قهوه‌ای نگهداری شوند.

* جمع‌آوری نمونه خارج از محل آزمایشگاه

در صورتی که در مرکزی فقط نمونه‌گیری انجام گیرد، نمونه‌های خون باید حداکثر تا دو ساعت پس از نمونه‌گیری با رعایت تمهیدات لازم نظیر شرایط پایداری متغیرهای مورد آزمایش و رعایت اصول ایمنی، در دمای اتاق (مگر در موارد خاص که نیاز به زنجیره سرد دارد) به آزمایشگاه منتقل شوند. در صورتی که نتوان در محدوده زمانی فوق، نمونه خون را ارسال نمود باید پس از جداسازی سرم و پلاسما، آن را در دمای ۲-۸°C نگهداری و با رعایت پایداری نمونه به آزمایشگاه ارسال کرد.

* دریافت نمونه

نمونه خون پس از دریافت و کامل شدن مرحله لخته، جهت سانتریفیوژ آماده می‌گردد. در صورتی که خون در لوله فعال‌کننده لخته جمع‌آوری شده باشد در طی مدت ۳۰-۵ دقیقه پس از نمونه‌گیری می‌تواند سانتریفیوژ گردد. نمونه در لوله حاوی ماده ضد انعقاد سریعاً قابل سانتریفیوژ می‌باشد.

تاریخ ابلاغ : ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱	 آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghazem Subspecialty Hospital	کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی
محدوده توزیع : کمد مستندات نمونه برداری	شرح کلی : مدیریت نمونه	تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲

جهت اندازه گیری بعضی متغیرها در خون نظیر سرب، سیکلوسپورین و هموگلوبین گلیکوزیله، خون کامل مورد استفاده قرار می گیرد. ولی اگر نمونه اشتباه یا سانتریفیوژ شود مشکلی ایجاد نشده و می توان آن را با همان شرایط به بخش مربوطه ارسال نمود. نمونه هایی که باید در شرایط سرما نگه داری شوند (۲-۸°C) تا آماده شدن جهت سانتریفیوژ باید در این درجه حرارت باقی بمانند. سانتریفیوژ یخچال دار در این خصوص پیشنهاد می گردد.

※ معیارهای رد نمونه خون

- مشخصات ناکافی از بیمار یا نوع آزمایش (نظیر عدم وجود برچسب یا برچسب با اطلاعات ناقص)
- حجم ناکافی
- نشست نمونه به خارج از ظرف
- استفاده از لوله نامناسب جمع آوری نمونه
- ضد انعقاد نامناسب (مثلا فلوراید سدیم در اندازه گیری اوره با روش اوره آز تداخل می کند)
- ترتیب نادرست جمع آوری نمونه در صورتی که در طی یک بار نمونه گیری از لوله های متعدد خلاء استفاده شود.
- وجود همولیز یا لیپمی
- نگه داری و انتقال نمونه در دمای نامناسب
- وجود لخته در نمونه های جمع آوری شده با ماده ضد انعقاد
- عدم تطابق برگه درخواست آزمایش با نوع نمونه و مشخصات آن

● مرحله سانتریفیوژ

همان طور که ذکر شد استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی گردد. در صورت استفاده باید احتیاط لازم برای جلوگیری از ایجاد همولیز و تولید آئروسول صورت گیرد. هم چنین باید در تمام مراحل جداسازی نمونه، رعایت اصول ایمنی و استفاده از وسایل حفاظت فردی صورت گیرد. قابل ذکر است که درب لوله ها در طی سانتریفیوژ حتما باید بسته باشد. امروزه با تنوع سانتریفیوژها از نظر قسمت گردان (Rotor)، سر (Head)، شعاع موثر و قطر داخلی دیگر از اصطلاح (Round Per Minute) استفاده نمی شود و نیروی نسبی سانتریفیوژ (Relative Centrifugal Force) یا RCF جایگزین آن شده است.


$$RCF = 1,118 \times 10^{-6} \times r \times (RPM)^2$$

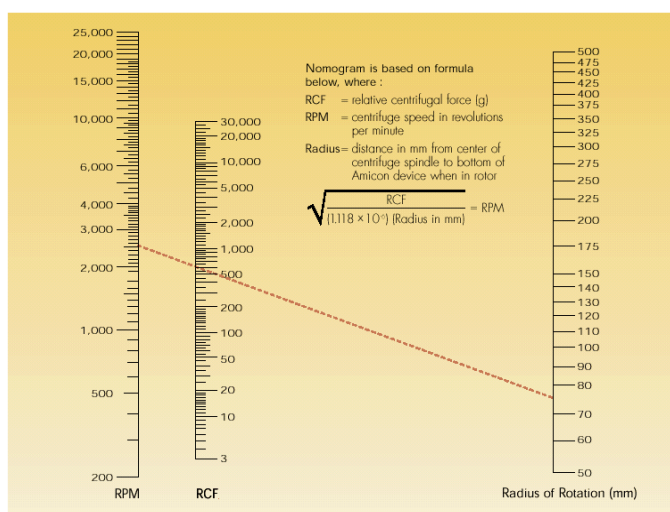
۲ : شعاع گردان (سانتی متر)

شعاع موثر بیشترین فاصله افقی از محور گردان تا انتهای مایع موجود در لوله می باشد.

RPM : سرعت گردان (تعداد دور در دقیقه)

می توان برای محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ به جای استفاده از فرمول بالا با استفاده از نمودار ۱-۳ سانتریفیوژ با توجه به شعاع و میزان دور سانتریفیوژ، نیروی نسبی سانتریفیوژ را به دست آورد.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری



نمودار ۱-۳: نمودار تعیین نیروی نسبی سانتریفیوژ به کمک شعاع و میزان دور (PPM)

برای مطالعه بیشتر به دستورالعمل فنی سانتریفیوژ (فصل دهم - جلد دوم) مراجعه شود.

قابل ذکر است جهت برخی فاکتورها که به دما حساس هستند، باید از سانتریفیوژهایی که دمای آنها قابل کنترل است استفاده نمود. به طور مثال ترکیباتی نظیر ACTH و CAMP به گرما حساس هستند و انتقال و سانتریفیوژ آنها نیز باید در دمای ۴°C صورت گیرد.

نکته: در صورتی که اندازه گیری پتاسیم هم به همراه ترکیباتی که حساس به دما هستند درخواست شده باشد باید توجه نمود که نمونه مذکور سریعاً از سانتریفیوژ خارج شود (دمای پایین تر از ۱۵°C سبب افزایش کاذب پتاسیم پس از ۲ ساعت می گردد). لازم به ذکر است جهت اندازه گیری پتاسیم نمونه نباید بیش از یک بار سانتریفیوژ گردد.

* زمان مورد نیاز جهت سانتریفیوژ نمونه

- تهیه سرم و پلاسما: نمونه در ظرف درپوش دار باید به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰-۱۰۰۰ سانتریفیوژ شود. در صورتی که آزمایش تا ۴ ساعت بعد از جداسازی سرم انجام نگیرد، سرم یا پلاسما باید در دمای ۴-۶°C نگهداری گردد.
- تهیه پلاسما جهت آزمون های انعقادی: نمونه در ظرف درپوش دار باید به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰g سانتریفیوژ گردد.

● مرحله پس از سانتریفیوژ


➤ نگهداری نمونه

پلاسما و سرم حداکثر تا ۸ ساعت پس از جداسازی در دمای اتاق قابل نگهداری است. در صورتی که سنجش مورد نظر تا ۸ ساعت صورت نگیرد نمونه باید در یخچال نگهداری گردد. در صورتی که امکان انجام آزمایش تا ۴۸ ساعت مقدور نباشد یا در صورت نیاز به نگهداری طولانی تر، سرم یا پلاسما باید در دمای ۲۰°C - نگهداری شود. نکته: باید از آب شدن و یخ زدن مکرر نمونه های فریز شده جدا پرهیز گردد، زیرا این امر سبب از بین رفتن بعضی ترکیبات در سرم یا پلاسما می شود. استفاده از فریزرهای بدون برفک نیز جهت نگهداری نمونه پیشنهاد نمی گردد.

در صورت استفاده از مواد آنتی گلیکولیتیک (نظیر فلوراید) گلوکز پلاسما تا ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C و تا ۴۸ ساعت در دمای ۲-۸°C پایدار می ماند. (حتی در صورت عدم جداسازی پلاسما از سلول ها) قابل ذکر است در صورتی که گلبول های قرمز، پلاکت و گلبول های سفید نمونه بالاتر از حد طبیعی باشند، اثر گلیکولیتیک این مواد کاهش می یابد. به دلیل مشکل بودن مهار گلیکولیز در نوزادان، باید پلاسما در اسرع وقت از سلول ها جدا گردد.

➤ در صورت استفاده از لوله های جمع آوری خلاء دارای ژل جداکننده همراه با افزودنی یا فعال کننده لخته، باید ملاحظات زیر صورت گیرد:

- به محض جمع آوری خون جهت سرعت بخشیدن، تکمیل عمل لخته شدن و روند ضد انعقاد، لوله ها باید ۵-۱۰ بار تکان داده شوند.
- نیروی نسبی سانتریفیوژ و زمان لازم جهت جداسازی سرم یا پلاسما بسته به کارخانه سازنده ممکن است متفاوت باشد.
- به طور کلی می توان سرم را در لوله های محتوی ژل تا ۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگهداری نمود، ولی باید قوام ژل به طور چشمی نیز بررسی گردد. تداخلات: از لوله های جمع آوری خون حاوی ژل جداکننده جهت اندازه گیری میزان پروتئین، داروهای سه حلقه ای ضدافسردگی، اندازه گیری سطح دارویی و آزمون های ایمونوهماتولوژی (بانک خون) نباید استفاده شود.

تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱	 آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghazem Subspecialty Hospital	کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدرك برون سازمانی
محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری	شرح کلی: مدیریت نمونه	تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲

اسمیر خون محیطی

تهیه گستره خون محیطی باید توسط کارکنان آموزش دیده صورت گیرد. تهیه گستره با استفاده از نمونه تهیه شده از نوک انگشت، پاشنه پا یا نمونه همراه با ماده ضد انعقاد EDTA صورت می‌گیرد.

در صورت استفاده از نمونه همراه با ماده ضد انعقاد، باید گسترش خون محیطی حداکثر تا یک ساعت پس از نمونه گیری تهیه گردد.

● گسترش ضخیم

- ۱- بند اول انگشت سوم یا چهارم در بزرگسالان و یا پاشنه پا در نوزادان (مراجعه به نمونه‌گیری مویرگی) ضد عفونی شده و با لانست یک‌بار مصرف موضع سوراخ می‌گردد.
- ۲- یک یا دو قطره خون را با مرکز لام مماس می‌کنیم، باید توجه شود که لام با پوست تماس پیدا نکند.
- ۳- با گوشه یک لام دیگر یا اپلیکاتور قطره خون را به‌طور یکنواخت پخش کرده تا دایره‌ای به قطر حدود ۱ سانتی‌متر ایجاد شود. گسترش باید به سرعت و با ضخامت یکنواخت تهیه گردد.
- ۴- لام را در وضعیت افقی قرار داده تا در حرارت محیط (۲۵°C) خشک شود. برای تسریع در عمل خشک شدن نباید از شعله یا منبع دیگر حرارتی استفاده نمود.

نکته:

●● ضخامت گسترش باید به گونه‌ای باشد که نوشته‌های روزنامه از زیر آن به سختی خوانده شود.

●● گسترش ضخیم نباید به وسیله مواد تثبیت‌کننده ثابت گردد.

●● گسترش ضخیم ممکن است از بافی کوت نیز تهیه گردد (با استفاده از نمونه خون در ماده ضد انعقاد)

● گسترش نازک

- ۱- یک قطره خون (حدود ۰/۰۵ میلی‌لیتر) به فاصله حدود ۲ سانتی‌متر از انتهای لام قرار داده شود. باید توجه شود که لام با پوست دست بیمار تماس پیدا نکند.
- ۲- لام بر روی سطح افقی و صاف قرار داده می‌شود.
- ۳- با یک لام تمیز دیگر (ترجیحاً لام صیقلی) با زاویه ۴۵-۴۰° با حرکت سریع بر روی قطره خون موجود بر روی لام اول کشیده شود (نظیر تهیه گسترش خون در آزمون CBC).
- ۴- گسترش باید سریعاً در حرارت محیط خشک شود.
- ۵- گسترش خشک شده باید در محلول متانول به مدت چند ثانیه تثبیت گردد.
- ۶- گسترش نازک باید به گونه‌ای تهیه شود که در یک انتها ضخیم و در انتهای دیگر به حدی نازک باشد تا گلبول‌های قرمز با هم همپوشانی نداشته باشند.

نکته:

●● باید از لام شیشه‌ای تمیز، بدون گرد و غبار و عاری از چربی استفاده نمود. علت ایجاد ناهمواری و یا حفراتی در گسترش چرب بودن لام یا کثیف بودن یا ناهموار بودن لبه لام دوم می‌باشد.

●● هر دو گسترش نیز می‌تواند بر روی یک لام تهیه گردد، در این صورت باید فضایی بین دو گسترش وجود داشته باشد به طوری که بتوان گسترش نازک را بدون آن که گسترش ضخیم را متاثر سازد تثبیت نمود.


●● مشخصات بیمار باید با مداد سربی یا ماژیک غیر قابل شست‌وشو در ناحیه ضخیم گسترش نازک نوشته شود.

●● برای تسریع در عمل خشک شدن می‌توان از پنکه استفاده نمود (نباید از شعله یا منابع دیگر حرارتی استفاده شود).

●● در مناطقی که رطوبت بالا است استفاده از گرمخانه ۲۵°C جهت خشک نمودن لام‌ها پیشنهاد می‌گردد.

ادزار

نمونه ادرار برای بررسی‌های شیمیایی، سلول‌شناسی و میکروبی‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نحوه نمونه‌گیری و ظروف جمع‌آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه می‌باشد.

تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱	 آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghazem Subspecialty Hospital	کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدرك برون سازمانی
محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری	شرح کلی: مدیریت نمونه	تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲

نمونه ادرار باید در ظرف تمیز دهان گشاد با قطر حداقل ۱۰ سانتی متر، با اندازه مناسب و غیر قابل نشت، جمع آوری گردد. بهتر است ظرف جمع آوری ادرار یکبار مصرف بوده و در غیر این صورت عاری از هرگونه آلودگی با مواد شوینده باشد. قابل ذکر است که نمونه ادرار نباید به مدفوع آلوده باشد. جهت کشت ادرار ظرف نمونه باید حتما استریل باشد. برای نمونه گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه های ادراری استفاده شود. جهت بررسی های معمول و میکروبیولوژیک نمونه ادرار باید حداکثر تا دو ساعت پس از جمع آوری (در دمای اتاق) مورد بررسی قرار گیرد. پس از این مدت ترکیبات شیمیایی ادرار تغییر کرده و عناصر تشکیل دهنده آن شروع به تخریب می کنند. سیلندرها، گلبول های قرمز و گلبول های سفید در نمونه های با وزن مخصوص پایین و PH قلیایی بسیار مستعد لیز هستند. هنگامی که ارزیابی سلولی سدیمان ادراری مدنظر است باید مراحل آماده سازی ادرار هرچه سریع تر صورت گیرد. جهت تهیه رسوب ادرار باید نمونه در ظروف درپوش دار به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰g سانتریفیوژ گردد. در بررسی های میکروبیولوژیک در صورتی که نتوان نمونه را به سرعت به آزمایشگاه منتقل نمود و آزمایش کرد می توان آن را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸-۲۰C نگه داری کرده و یا می توان از نگه دارنده های باکتریواستاتیک نیز استفاده نمود. ظرف محتوی نمونه باید به درستی برچسب گذاری شود، اطلاعات مورد نیاز شامل: نام بیمار، زمان نمونه گیری، نام نگه دارنده، در موارد خاص ذکر نوع نمونه (کاتتر) می باشد. همچنین در صورتی که نمونه از محل دیگری ارسال گردد باید نحوه نگه داری و زمان دریافت نیز ذکر گردد. حداقل حجم مورد نیاز جهت بررسی های معمول کمی و کیفی ادرار به طور متوسط ۱۲ میلی لیتر است، البته در اطفال و نوزادان ممکن است حجم کمتر نیز مورد بررسی قرار گیرد، ولی باید حتما در برگه گزارش ذکر گردد.

• انواع مختلف جمع آوری ادرار و موارد استفاده آن

- ۱- ادرار اتفاقی جهت بررسی شیمیایی کیفی و نیمه کمی
- ۲- اولین ادرار صبحگاهی (ادرار ۸ ساعته) جهت بررسی اجزای سلولی، سیلندر و کست
- ۳- دومین ادرار صبحگاهی (۷-۱۰ صبح) جهت بررسی های کمی
- ۴- ادرار با زمان مشخص مثلا ادرار ۲۴ ساعته جهت بررسی های کمی
- ۵- ادرار تمیز (ادرار میانی، کاتتر و سوپراپوبیک)

* ادرار اتفاقی

این نمونه جهت آزمون غربالگری روزمره مورد استفاده قرار می گیرد و در هر موقع از روز قابل جمع آوری می باشد، ولی زمان نمونه گیری باید روی ظرف درج گردد. بهتر است قبل از جمع آوری ادرار فرد چند ساعت ادرار خود را تخلیه نکرده باشد. برای این منظور اولین ادرار صبحگاهی به دلیل غلظت مناسب و PH پایین مناسب تر است.

* ادرار صبحگاهی (ادرار ۸ ساعته)

این نمونه معمولا در اول صبح پس از بیدار شدن فرد جمع آوری می گردد.

این نمونه جهت بررسی پروتئین اوری اورتواستاتیک مناسب است. ابتدا شب قبل از خواب ادرار تخلیه شده و نمونه صبح پس از بیدار شدن فرد جمع آوری می گردد. در صورت تخلیه ادرار در طول شب، باید در ظرف جمع آوری نمونه ریخته شود.

* ادرار زمان دار


این نمونه در یک زمان مشخص در طول شبانه روز تهیه می گردد، مثلا نمونه ناشتا، دو ساعت پس از غذا یا بلافاصله پس از ماساژ پروستات

* ادرار ۲۴ ساعته

به دلیل تغییرات دوره ای ترشح مواد در ادرار، در بعضی مواقع نیاز است که ادرار ۲۴ ساعته جمع آوری گردد. به عنوان نمونه می توان از کاتکول آمین ها، ۱۷ هیدروکسی استروئید و الکترولیت ها نام برد که پایین ترین غلظت آن ها در صبح و بالاترین غلظت این ترکیبات در ظهر یا کمی پس از آن می باشد.

●● جمع آوری نمونه: ظرف نمونه باید پلاستیکی و دهان گشاد به گنجایش تقریبی ۳ لیتر باشد.

جهت جمع آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته ابتدا اولین ادرار صبحگاهی دور ریخته شده و در طی ۲۴ ساعت بعدی ادرار در ظرف نمونه گیری جمع آوری می شود به طوری که آخرین نمونه جمع آوری شده، اولین نمونه صبحگاهی روز بعد (در همان ساعت اولین نمونه تخلیه شده روز قبل) باشد.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم ۱۳۹۱ Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

بر روی برچسب روی ظرف محتوی نمونه علاوه بر نام و نام خانوادگی باید تاریخ، ساعت شروع و پایان نمونه‌گیری نیز یادداشت گردد و در صورت استفاده از ماده نگهدارنده درج نام ماده نیز ضروری است.

در طول مدت جمع‌آوری، ظرف نمونه باید در یخچال یا درون یخ نگهداری شود.

ممکن است جهت ادرار ۲۴ ساعته از مواد نگهدارنده استفاده گردد که با توجه به خطر زیستی این مواد، باید هشدارهای لازم به بیمار داده شود.

* ادرار تمیز

جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی از نمونه ادرار تمیز استفاده می‌شود.

•• نحوه جمع‌آوری نمونه

بیمار ابتدا دست‌های خود را با آب و صابون شسته و سپس ناحیه تناسلی خود را با پنبه آغشته به آب و صابون تمیز می‌نماید، بخش اول ادرار را دور ریخته و بخش میانی ادرار را با رعایت شرایط استریل در درون ظرف جمع‌آوری ادرار می‌ریزد و سپس بقیه ادرار را دور می‌ریزد.

•• ادرار تهیه شده توسط کاتتر و فوق عانه (سوپرا پوبیک) نیز از روش‌هایی هستند که جهت جمع‌آوری ادرار استریل در مواقع خاص و با درخواست پزشک تهیه می‌شوند.

•• جهت نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه جمع‌آوری ادرار استفاده نمود. در صورتی که بیمار در خواست کشت ادرار نیز داشته باشد، باید نواحی شرمگاهی و پرینه آل قبل از وصل کردن کیسه ادرار با آب و صابون شسته شود. قابل ذکر است که کیسه ادرار باید هر ۱۵ دقیقه کنترل شده و پس از جمع‌آوری، ادرار باید در ظرف دیگری نگهداری شود.

• مواد نگهدارنده ادرار


مواد نگهدارنده جهت نگهداری ادرار بیش از ۲ ساعت، بررسی ترکیبات ناپایدار در ادرار و پایداری نمونه جهت مطالعات میکروبیولوژیک کاربرد دارد. نگهدارنده‌های رایج اسید استیک، اسید بوریک و اسید کلریدریک ۶ نرمال می‌باشند. این ترکیبات توکسیک بوده و دارای خطر زیستی می‌باشند. همچنین به دلیل امکان پاشیده شدن ادرار به هنگام تخلیه در ظرف، بهتر است ابتدا نمونه در ظرف دیگری جمع‌آوری شده و سپس به ظرف اصلی حاوی ماده نگهدارنده منتقل گردد.

➤ نگهداری و انتقال نمونه

- جهت انتقال نمونه باید درب ظرف کاملاً محکم باشد تا امکان نشت نمونه به خارج از ظرف و محیط اطراف به حداقل برسد (در صورت امکان جهت انتقال می‌توان ظرف نمونه را درون ظرفی دیگری قرارداد).
- نمونه ادرار باید در سریع‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و حداکثر در ظرف ۲ ساعت در دمای اتاق بررسی گردد. در غیر این صورت باید نمونه پس از جمع‌آوری در یخچال نگهداری شود (دمای $2-8^{\circ}\text{C}$).
- در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی که نتوان نمونه را به آزمایشگاه منتقل نمود و مورد بررسی قرارداد تمهیدات زیر باید صورت گیرد:
- •• نمونه را می‌توان به مدت ۲۴ ساعت در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ تا قبل از کشت نگهداری نمود.
- •• می‌توان قسمتی از نمونه ادرار را جهت بررسی‌های بیوشیمیایی در ظرف دیگری که حاوی نگهدارنده باکتريو استاتیک است، نگهداری نمود.

مدفوع

- مدفوع نمونه مناسبی جهت تشخیص عوامل پاتوژن مولد اسهال باکتریایی، ویروسی و انگلی است. نمونه‌گیری در زمان مناسب (عوامل ویروسی تا ۴۸ ساعت و عوامل باکتریایی تا ۴ روز از زمان شروع اسهال)، نحوه انتقال نمونه و شرایط بیمار در هنگام نمونه‌گیری از عواملی هستند که رعایت آن‌ها در شناسایی عامل پاتوژن بسیار کمک‌کننده است. جهت جمع‌آوری نمونه مدفوع باید مواردی را در نظر داشت که به برخی از آن‌ها در زیر اشاره می‌گردد:
- •• بیمار نباید از ۱۵ روز قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک (نظیر تتراسایکلین و سولفانامید)، داروهای ضد تک‌تاخته، بیسموت، سولفات باریم، ترکیبات کائولین، روغن کرچک، هیدروکسید منیزیم یا هرگونه داروی ملین مصرف کرده باشد.
- •• تعداد دفعات نمونه‌گیری بر اساس درخواست پزشک می‌باشد.
- •• در صورت مشکوک بودن به عوامل باکتریایی سه نمونه در فاصله سه روز و در خصوص عوامل انگلی ۳ نمونه که در طول ۱۰ روز جمع‌آوری شده مناسب است.
- •• نباید در یک روز بیش از یک نوبت نمونه از بیمار گرفته شود.
- •• نمونه‌گیری در بیمارانی که بیش از سه روز بستری شده‌اند توصیه نمی‌شود.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

➤ ●● در نوزادان و اطفال می توان از سوپ رکتال در محیط انتقالی استفاده نمود ولی این کار معمولاً برای تشخیص ویروس ها و عوامل انگلی پیشنهاد نمی شود.

● نمونه گیری جهت عوامل باکتریایی مولد اسهال

* **نمونه مدفوع:** حداقل ۵ گرم مدفوع باید در ظرف در پیچ دار تمیز، عاری از مواد ضد عفونی کننده و یا شوینده جمع آوری گردد.

* **سوپا مقعدی:** سوپا را با فروبردن در محیط انتقالی سترون، مرطوب کرده به اندازه ۲-۳ سانتی متر در داخل اسفنگتر رکتوم فرو برده و بچرخانید. سوپا را بیرون کشیده پس از اطمینان از آغشتگی به مدفوع، سریعاً به داخل محیط انتقال (کری بلر) فرو برید. سپس لوله های انتقال را در یخچال یا یخدان قرار دهید.

در موارد اسهال ناشی از باکتری های مهاجم مانند شیگلا، ساییدن سوپا به مخاط انتهایی روده جهت جمع آوری نمونه بسیار مهم است.

* **سوپا مدفوع:** در صورت لزوم به نگهداری نمونه مدفوع بیش از ۲ ساعت، مقدار اندکی از مدفوع و هرگونه بلغم یا تکه های مخاط پوششی روده را با فروکردن سوپا سر پنبه ای یا سر پلی استری به درون مدفوع سریعاً به لوله حاوی محیط انتقالی تلقیح کنید و در یخچال یا یخدان قرار دهید.

● محیط های انتقالی

●● **کری بلر:** این محیط برای انتقال بسیاری از عوامل بیماری زا کاربرد دارد. این محیط نیمه جامد بوده، حمل و نقل آن آسان و پس از تهیه تا یکسال در دمای اتاق قابل نگهداری است (به شرطی که حجم آن کاهش نیافته، علایم آلودگی و تغییر رنگ در آن مشاهده نگردد).

●● **آب پپتونه قلیایی (Alkalane Peptone Water=APW):** این محیط را می توان را برای انتقال ویبریو استفاده نمود ولی این محیط نسبت به کری بلر برتری ندارد و فقط در صورت عدم دسترسی به محیط کری بلر باید مورد استفاده قرار گیرد (در صورتی که کشت بیش از ۶ ساعت از زمان نمونه گیری به تعویق بیافتد نباید از این محیط استفاده گردد). محیط فوق در دمای ۴°C تا ۶ ماه قابل نگهداری است.

●● **سالیین گلیسرول بافره (Buffered Glycerol Saline=BGS):** این محیط برای شیگلا مورد استفاده قرار می گیرد و برای انتقال ویبریو مناسب نمی باشد. این محیط مایع بوده، لذا در حمل آن باید دقت شود. هم چنین تا ۱ ماه پس از تهیه قابل استفاده است.

➤ نگهداری:

●● نمونه های مدفوع حداکثر تا ۲ ساعت در یخچال قابل نگهداری است. نمونه هایی را که نمی توان به فاصله ۲ ساعت از نمونه گیری کشت داد، باید در محیط انتقالی قرار داده و سریعاً در یخچال نگهداری نمود.

●● محیط انتقالی حاوی سوپا مدفوع یا مقعد را می توان حداکثر ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگهداری کرد. در غیر این صورت این محیط می بایست ترجیحاً در دمای (-۷۰°C) و یا در صورت عدم دسترسی، در دمای (-۲۰°C) قرار داد (یا حداقل در فریزرهای خانگی نگهداری شود).

●● نمونه های مدفوع که از بیماران مبتلا به وبا گرفته می شود و در محیط انتقالی قرار می گیرد نیازی به نگهداری در دمای یخچال ندارند، مگر آن که نمونه ها در معرض دمای بالا (بیش از ۴۰°C) قرار داشته باشند.

● نمونه گیری جهت عوامل انگلی

➤ جمع آوری نمونه

●● برای انجام این آزمایش حداقل ۵ گرم مدفوع در ظرف دهان گشاد در پیچ دار تمیز و خشک مورد نیاز است (در صورت آبی بودن مدفوع معادل ۵ سی سی).


●● در صورتی که نتوان فاصله زمانی مناسب بین جمع آوری نمونه تا انجام آزمایش را رعایت نمود باید نمونه در ماده نگهدارنده جمع آوری شود (یک قسمت مدفوع و سه قسمت ماده نگهدارنده فرمالین ۱۰٪).

●● باید توجه داشت که بررسی خصوصیات ظاهری نمونه در نمونه تازه صورت می گیرد.

●● نمونه مدفوع نباید با گرد و خاک، آب و ادرار آلوده گردد، زیرا آلودگی اتفاقی با خاک و آب ممکن است باعث آلودگی نمونه با ارگانسیم های دارای زندگی آزاد شود. ادرار نیز سبب تخریب تروفوزوئیت ها می شود. ترجیحاً نباید نمونه از کاسه توالت جمع آوری گردد.

●● چون مرحله تروفوزوئیت تک یاخته خیلی زود از بین می رود، ثبت تاریخ و ساعت نمونه گیری ضروری است.

➤ نگهداری

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیرک برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

●● نمونه باید هر چه سریع تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در صورت تاخیر بیش از ۲ ساعت، نمونه در محل خنک (ترجیحا در یخچال) نگهداری شود.

توجه: جهت آزمایش های شیمیایی (مانند خون در مدفوع) به ۵۰ گرم مدفوع نیاز می باشد.

مایع مغزی نخاعی (CSF) Cerebro-Spinal Fluid

جمع آوری مایع مغزی نخاعی توسط پزشک و به روش پونکسیون نخاعی (Lumbar Puncture=LP) و به صورت کاملا استریل انجام می گیرد. معمولا مایع جهت آزمون های شیمیایی، میکروبیولوژیک و آنالیز سلولی در ۳ تا ۴ لوله جمع آوری می شود. جهت آزمون های باکتری شناسی نمونه باید در لوله درپوش دار و استریل جمع آوری گردد. لوله ها بر اساس ترتیب جمع آوری برچسب گذاری می شوند (لوله شماره ۱ جهت آزمایش های بیوشیمیایی، لوله شماره ۲ جهت آزمایش های میکروب شناسی، لوله شماره ۳ جهت بررسی سلولی). جهت جمع آوری نمونه نیازی به ماده ضد انعقاد نمی باشد زیرا مایع مغزی نخاعی لخته نمی شود، مگر آن که نمونه گیری همراه با صدمه باشد (نمونه گیری تروماتیک). الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی نخاعی در جدول ۱-۳ بیان شده است.

جدول ۱-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی - نخاعی

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز	ملاحظات
آزمون بیوشیمیایی (پروتئین، قند...)	-	۳-۵	لوله شماره ۱ در صورت نمونه گیری تروماتیک شمارش سلولی نیز از لوله شماره ۱ صورت می گیرد.
کشت و رنگ آمیزی گرم	-	۳-۵	لوله شماره ۲
شمارش سلولی و تشخیص افتراقی	-	۳-۵	لوله شماره ۳ یا ۴
سایر بررسی ها (سیتولوژی)	-	۳-۵	لوله شماره ۴

نمونه باید در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال گردد. دژنراسیون سلولی در طی یک ساعت اتفاق می افتد، لذا حداکثر زمان گردش کاری نباید بیش از ۱ ساعت به طول انجامد. نقل و انتقال نمونه در دمای اتاق صورت می گیرد. جهت آزمون های باکتریولوژیک نباید نمونه در یخچال نگهداری شود. از قرار دادن نمونه در معرض نور خورشید و گرما باید خودداری نمود. در صورت نیاز به حمل نمونه تا مسافت دور، استفاده از یخدان ضروری است. در این صورت نمونه تا ۳ ساعت پایدار می باشد. جهت نگهداری طولانی مدت، نمونه ابتدا سانتریفیوژ شده پس از جداسازی سلول ها، مایع رویی در ظرف درپوش دار شیشه ای یا پلی پروپیلن در دمای (۷۰°C-) قابل نگهداری است. جهت مطالعات سیتولوژیک رسوب CSF باید بلافاصله پس از جمع آوری به وسیله سانتریفیوژ مخصوص (۲۰ دقیقه در ۱۸۰g) تهیه و به آزمایشگاه ارسال شود.

مایع سروزی

مایعات سروزی نظیر مایع جنب و صفاقی را می توان در یک لوله جمع آوری و سپس در محل نمونه گیری یا آزمایشگاه به لوله های مختلف و با حجم های کمتر تقسیم نمود. قابل ذکر است که نمونه قبل از تقسیم و شمارش سلولی باید کاملا مخلوط گردد. EDTA ضد انعقاد پیشنهادی در خصوص شمارش و افتراق سلولی است. جهت شمارش و افتراق سلولی، نمونه ها تا ۲۴ ساعت در دمای ۶°C-۲ قابل نگهداری هستند. در خصوص بررسی های میکروبی نمونه باید در ظرف استریل جمع آوری گردد. جهت بررسی سیتولوژی ممکن است نمونه در حجم های متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردد (۱۰۰-۱۵ میلی لیتر) ولی حجم پیشنهادی ۵۰ میلی لیتر است و نیاز به استفاده از لوله های استریل و ماده ضد انعقاد نیز نمی باشد. البته می توان از هپارین و EDTA هم استفاده کرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروزی در جدول ۲-۳ بیان شده است.

جدول ۲-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروزی

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیرک برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز (میلی لیتر)
اندازه گیری پروتئین توتال، لاکتات، دهیدروژناز، گلوکز و آمیلاز	هیپارین یا بدون ضد انعقاد	۵-۸
کشت و رنگ آمیزی گرم	سدیم پلی سولفات (SPS) یا بدون ضد انعقاد یا ضدانعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۸-۱۰
شمارش سلولی (گلوبول قرمز و سفید) و تشخیص افتراقی	EDTA	۸-۱۰
کشت باکتری اسید فست	SPS یا بدون ضد انعقاد یا ضد انعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۱۵-۵۰
رنگ آمیزی PAP- بلوک سلولی	بدون ضدانعقاد، هیپارین یا EDTA	۱۵-۵۰

مایعات سروری باید در اسرع وقت و در دمای اتاق به آزمایشگاه منتقل شوند.


بررسی های سیتولوژی نیز باید هر چه سریع تر صورت گیرند، و در صورت نیاز می توان نمونه را در دمای ۴°C و بدون ماده تثبیت کننده تا چند روز نگه داری نمود.

مایع سینوویال

حجم نمونه جهت بررسی های آزمایشگاهی بسته به اندازه مفصل و نوع مایع تجمع یافته در مفصل متفاوت است. معمولا حجم ۳-۵ میلی لیتر ایده-ال است. در مفاصل کوچک ممکن است این مقدار نمونه قابل تهیه نباشد، لذا حجم کمتر نیز قابل قبول است. قابل ذکر است که نمونه قبل از بررسی های آزمایشگاهی باید به خوبی مخلوط گردد. در بعضی از مراجع ذکر شده که ضد انعقاد لیتیم هیپارین و EDTA به دلیل ایجاد کریستال در نمونه و امکان اشتباه با کریستال های پاتولوژیک، نباید مورد استفاده قرار گیرد. نقل و انتقال نمونه باید در دمای اتاق صورت گیرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال در جدول ۳-۳ بیان شده است.

جدول ۳-۳: الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز (میلی لیتر)	ملاحظات
شمارش سلولی و تشخیص افتراقی، کریستال ها انکلوزیون ها	هیپارین- EDTA	۳-۵	بر روی حجم کمتر (چندین قطره) نیز قابل انجام است
گلوکز	فلوراید یا بدون ضد انعقاد	۳-۵	ترجیحا ۸ ساعت ناشتایی
پروتئین	بدون ضد انعقاد	۳-۵	
CH ₅₀	بدون ضد انعقاد	۳-۵	در صورت عدم انجام سریع آزمایش نمونه منجمد گردد.
C ₃ , C ₄	بدون ضد انعقاد یا EDTA	۳-۵	نیاز به ۱ میلی لیتر نمونه است.
کشت	SPS، بدون ضدانعقاد یا ضد انعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۳-۵	نیاز به لوله استریل است.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) 	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

بهترین زمان جمع‌آوری نمونه در اکثر عفونت‌های تنفسی در طول ۳ روز اول ایجاد علائم بیماری می‌باشد. نمونه‌ها بسته به محل عفونت، از قسمت فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی جمع‌آوری می‌شوند. عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی فوقانی (ویروسی و باکتریایی) در نمونه‌های گرفته شده از قسمت نازوفارنژیال گلو و عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی تحتانی در نمونه خلط قابل بررسی هستند. کشت ارگانسیم‌هایی نظیر لژیونلا مشکل است لذا بهتر است که تشخیص بر اساس شناسایی آنتی‌ژن‌های جدا شده از ادرار باشد. در صورت شک به التهاب حاد اپیگلوت، نمونه‌گیری از گلو یا فارنژیال نباید صورت گیرد زیرا استفاده از این شیوه ممکن است سبب انسداد شدید تنفسی شود. معمولا التهاب اپیگلوت به وسیله رادیوگرافی گردن تایید می‌گردد ولی عوامل اتیولوژیک ایجاد کننده آن ممکن است از کشت خون هم جدا گردند.

● دستگاه تنفسی فوقانی

●● نمونه‌برداری از گلو و لوزه‌ها

از بیمار خواسته می‌شود تا دهان خود را باز نماید و با آبسلانگ زبان وی را به پایین فشار داده، برای مشاهده نواحی ملتهب و آگزودا از چراغ قوه استفاده می‌شود. سواب استریل داکرونی یا آلژینات کلسیم را چندین بار بر روی نواحی ملتهب و آگزودای حلق می‌کشیم. باید توجه شود که سواب با سطح داخلی حفره دهانی تماس پیدا نکند. چنانچه سواب در طی ۲-۱ ساعت پس از نمونه‌گیری مورد آزمایش قرار نگیرد در یک لوله استریل درپوش دار حاوی محیط انتقالی باکتریایی یا ویروسی قرار داده می‌شود (انتهای سواب که با دست در تماس بوده باید شکسته شود و درپوش در جای خود قرار گیرد).

جهت تهیه گسترش مستقیم با سواب استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه‌گیری صورت می‌گیرد.

●● نمونه‌برداری از انتهای بینی و نازوفارنکس

به وسیله یک سواب انعطاف پذیر استریل وارد سوراخ بینی شده و از نازوفارنکس نمونه تهیه گردد. سر بیمار باید کمی به عقب برده شود. در افراد بالغ سواب را حدود ۵-۶ سانتی‌متر وارد بینی کرده تا مطمئن شوید که سواب وارد ناحیه خلفی فارنکس شده است، در همان وضعیت سواب را چند ثانیه نگاه داشته و سپس به آرامی بچرخانید. از هر سوراخ بینی دو سواب گرفته می‌شود که یکی جهت گسترش مستقیم و دیگری جهت کشت استفاده می‌گردد.

➤ آسپیراسیون نازوفارنکس

این روش در کودکان و نوزادان از سواب راحت‌تر و کارآمدتر است. با کاتتر سیلیکون ترشحات را آسپیره نمایید.

● دستگاه تنفسی تحتانی

➤ روش جمع‌آوری خلط

یک نمونه خلط مناسب حاوی مواد ترشحاتی حاصل از ریه‌ها پس از سرفه عمیق است (نمونه حاوی آب دهان، ترشحات حلق و بینی مناسب نمی‌باشد).

●● زمان نمونه‌گیری

به دلیل این که تعداد باسیل سل دفع شده در زمان‌های مختلف متفاوت می‌باشد، آزمایش یک نمونه خلط برای تشخیص کفایت نمی‌کند و حتما باید سه نمونه تهیه گردد. برای تهیه نمونه بیمار باید ناشتا باشد. در خصوص تعداد نمونه جمع‌آوری شده جهت سایر عوامل باکتریایی یک نمونه کفایت می‌کند ولی در صورت شک به وجود عوامل قارچی و عفونت مایکوباکتریوم سه نمونه جداگانه صبحگاهی مناسب می‌باشد.


نمونه اول: در اولین مراجعه بیمار به واحد درمانی تهیه می‌گردد و ظرف جهت نمونه‌گیری دوم نیز تحویل داده می‌شود.

نمونه دوم: خلط صبحگاهی که بیمار قبل از برخاستن از جای خود و به صورت ناشتا در منزل تهیه می‌نماید.

نمونه سوم: خلط صبحگاهی که همزمان با مراجعه بیمار برای تحویل نمونه دوم از بیمار گرفته می‌شود.

نمونه باید در ظرف دهان گشاد از جنس پلاستیک قابل سوختن شفاف و محکم با قطر حدود ۷-۵ سانتی‌متر جمع‌آوری گردد (نمونه داخل آن از نظر مقدار و کیفیت قابل رویت بوده و هم‌چنین به راحتی سوزانده و معدوم گردد). جهت جلوگیری از نشت خلط از داخل ظرف به بیرون، باید از ظرف در پیچ‌دار استفاده نمود. در صورت عدم دسترسی به ظرف پلاستیکی با مشخصات فوق می‌توان از ظروف شیشه‌ای دهان گشاد در پیچ‌دار استفاده نمود (با رعایت اصول استریلیزاسیون).

➤ نحوه نمونه‌گیری

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

بیمار صبح ناشتا در فضای باز ابتدا یک نفس عمیق کشیده و با سرفه‌های عمیق خلط را درون ظرف (در حالی که ظرف نزدیک لب‌های بیمار قرار دارد) تخلیه می‌کند. سپس درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار می‌دهد. بهتر است حجم خلط بین ۵-۳ میلی‌لیتر باشد. در صورتی که بیمار نتواند با سرفه کردن برای انجام آزمایش، نمونه خلط بدهد باید به روش زیر عمل شود:

بیمار روی تخت معاینه طوری بخوابد که صورت او رو به پایین بوده و سر او پایین‌تر از سینه قرار گیرد. سپس پس از دم عمیق نفس خود را نگه داشته با یک بازدم محکم خلط را خارج کند. این عمل باید تا تهیه نمونه کافی از خلط ادامه یابد.

➤ **نگهداری:** باید نمونه هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در غیر این صورت در محل خنک (ترجیحاً در یخچال) نگهداری شود.

•• همه نمونه‌های تنفسی به جز خلط، باید در محیط کشت انتقالی مناسب باکتری‌ها/ویروس‌ها منتقل گردند.

•• نمونه‌های باکتریایی تا مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و ویروس‌ها در محیط انتقالی مناسب در دمای $4-8^{\circ}\text{C}$ قابل انتقال می‌باشند.

جمع‌آوری نمونه چشم

سواب‌ها و گسترش‌های قرنیه و ملتحمه نمونه‌های معمول جهت تشخیص کونژکتیویت حاد ناشی از عوامل باکتریایی و ویروسی می‌باشند. تمام نمونه‌های گرفته شده از ترشحات قرنیه و ملتحمه باید از نظر این که از چشم چپ یا راست تهیه شده، برچسب‌گذاری گردند. جهت جمع‌آوری این نمونه‌ها باید شرایط استریل رعایت گردد. قبل از نمونه‌برداری بیمار نباید دارو یا قطره‌ای استفاده کرده باشد. قابل ذکر است که نمونه‌برداری از تراشه‌های قرنیه باید توسط پزشک متخصص چشم صورت گیرد.

روش جمع‌آوری سواب‌های ملتحمه

مراحل جمع‌آوری سواب‌های ملتحمه به شرح زیر است:

- ۱- پوست اطراف چشم را با یک ماده ضد عفونی‌کننده ملایم تمیز کنید.
- ۲- سواب استریل آلژینات کلسیم یا نخ‌ی را در سرم استریل مرطوب کرده و به‌طور دورانی بر روی ملتحمه بمالید.
- ۳- سواب را در لوله در پیچ‌دار حاوی محیط انتقالی مناسب قرار دهید.
- ۴- بر روی لوله مذکور علاوه بر نام بیمار، نوع نمونه و زمان جمع‌آوری نمونه نیز ذکر گردد.
- ۵- از سواب ملتحمه نیز دو گسترش بر روی یک لام تهیه می‌گردد. این کار بهتر است در محل نمونه‌برداری صورت گیرد. جهت شناسایی کلامیدیا مهم است که گسترش‌ها در محل نمونه‌برداری و قبل از انتقال تهیه شود. گسترش‌ها برچسب‌گذاری شده و نباید در دمای یخچال نگهداری شده یا منجمد گردند.

• نقل و انتقال نمونه

نمونه جهت شناسایی باکتری‌های پاتوژن در دمای محیط، در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند.

نمونه جهت شناسایی ویروس‌های پاتوژن در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند.

گسترش‌های تهیه شده در هوا خشک شده و در دمای محیط در جعبه لام منتقل می‌شوند.

تهیه نمونه جهت کشت خون

ضروری است دقت بیشتری جهت ضد عفونی کردن محل نمونه‌گیری صورت گیرد. ابتدا موضع با الکل ۷۰٪ تمیز شده سپس با محلول povidne-iodine ۱-۱۰٪ (یا کلرهگزیدین گلوکونات) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن موضع مجدداً جهت حذف ید و کلرهگزیدین با الکل تمیز می‌گردد. کلرهگزیدین گلوکونات جهت نوزادان دو ماهه و بزرگ‌تر و هم‌چنین بزرگسالان دارای حساسیت نسبت به ید پیشنهاد می‌گردد. به‌دنبال خون‌گیری باید خون در عرض ۱ دقیقه به محیط کشت تلقیح شود. درب شیشه‌های کشت خون نیز باید قبل از تلقیح با الکل ۷۰٪ و سپس با محلول povidne-iodine ۱-۱۰٪ (بتادین) ضد عفونی گردد.


محیط کشت تلقیح شده را چندین بار تکان داده، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و در انکوباتور 35°C قرار داده شود.

• حجم خون مورد نیاز

•• کودکان: حجم ۳-۱ میلی‌لیتر ختون کافی می‌باشد. این مقدار خون در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت خون رقیق می‌گردد.

•• بزرگسالان: حجم خون جمع‌آوری شده به میزان ۱۰-۵ میلی‌لیتر است که در ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت خون رقیق می‌گردد.

• روش خنثی‌سازی عوامل ضد میکروبی در خون

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم ۱۳۹۱ Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

با اضافه نمودن مهار کننده‌های شیمیایی نظیر سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) $0.05\% - 0.25\%$ به محیط کشت و رقیق‌سازی خون، ویژگی‌های باکتریسیدال خون و آنتی بیوتیک‌های احتمالی خنثی می‌گردد. قابل ذکر است که سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) فعالیت‌های ضد فاگوسیتی، ضد کمپلمانی، ضد انعقادی و ضد لیزوزمی دارد و اگر این ماده در مقادیر خیلی بالا استفاده شود، اثر مهارکنندگی در رشد میکروب‌ها خواهد داشت.

● کشت مجدد

شیشه‌های کشت خون را ظرف ۲۴-۶ ساعت (صرف نظر از وجود علائم رشد) کشت مجدد داده و سپس تا هفت روز هر روز بررسی کنید. هر نوع کدورت یا لیز گلبول‌های قرمز ممکن است نشانگر رشد میکروبی باشد و به‌طور حتم باید بلافاصله کشت مجدد انجام شود. قابل ذکر است که ممکن است علی‌رغم عدم وجود کدورت، رشد میکروبی وجود داشته باشد، لذا ضروری است در فواصل ۲۴-۶ ساعت اولیه بعد از تلقیح، راس ۴۸ ساعت و نیز در روز هفتم نیز کشت مجدد صورت گیرد.

● قبل از انجام کشت مجدد شیشه کشت خون باید چند بار تکان داده شود.

● جهت برداشت خون از محیط کشت، درپوش محیط کشت را با الکل و بتادین ضد عفونی کرده و حدود ۵/۰ میلی‌لیتر از نمونه را به محیط آگار انتخاب شده منتقل کنید.

نمونه‌برداری از مجاری ادراری تناسلی مردان

با دو سواپ استریل از ترشحات چرکی نمونه‌برداری کنید. یکی از سواپ‌ها جهت تهیه گسترش و دیگری جهت کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صورتی که ترشحاتی مشهود نباشد با سواپ نازک به اندازه ۳-۲ سانتی‌متر درون مجرا وارد شده و قبل از بیرون آوردن در مجرا چرخانده شود. در صورتی که آزمایش با تاخیر انجام گیرد، سواپ باید در محیط انتقالی نگهداری شود.

نمونه‌برداری از دهانه رحم - ترشحات واژن

جهت نمونه‌گیری ابتدا سرویکس با کمک اسپیکولوم که با آب گرم مرطوب شده مشاهده می‌شود (بدون استفاده از مواد Lubricant). قبل از نمونه‌گیری باید تمامی ترشحات از دهانه خارجی رحم پاک شود. با یک سواپ استریل تا حدود ۳-۲ سانتی‌متر درون دهانه رحم وارد شده و چند ثانیه در محل چرخانده شود تا ترشحات جذب سواپ گردد سپس بدون تماس با سطح واژن سواپ باید خارج شده و در لوله درپوش‌دار استریل قرار گیرد. سواپ باید فوراً در محیط کشت مناسب کشت داده شود و یا به کمک محیط انتقالی به آزمایشگاه ارسال گردد. جهت تهیه گسترش مستقیم با سواپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه‌گیری صورت می‌گیرد. ترشحات واژن با استفاده از اسپیکولوم (بدون استفاده از مواد Lubricant) و سواپ استریل از فورنیکس خلفی گرفته می‌شود. نمونه با سه سوآپ گرفته می‌شود، یکی را جهت تهیه گسترش مرطوب در لوله درپوش‌دار محتوی سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و دو تای دیگر جهت کشت و تهیه گسترش مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند. در صورت مشکوک بودن به نایسریا نمونه پس از تهیه سریعاً در دمای اتاق به آزمایشگاه ارسال می‌شود. سواپ‌های آلژینات کلسیم و بعضی سواپ‌های پنبه‌ای مهار کننده نایسریا بوده، لذا بهتر است از سواپ داکرون یا ریون استفاده شود.

جمع‌آوری نمونه جهت ضایعات پوستی


در اکثر ضایعات پوستی تشخیص ممکن است بر اساس مشاهده ظاهری و تاریخچه‌ی بیماری بدون جمع‌آوری نمونه‌های تشخیصی صورت گیرد. در مشاهده ظاهری ضایعه، نکات مهمی از قبیل نوع ضایعه پوستی (اریتماتوس، ماکولار، پاپولار، ماکولوپاپولار، ویکولار، بولوس، پتشیال، پورپوریک و غیره) و نحوه پراکندگی آناتومیک ضایعه (مرکزی، محیطی منتشر و غیره) باید در نظر گرفته شود. در مواردی با تشخیص نامعلوم، غیرمعمول و نادر ممکن جمع‌آوری نمونه از راش‌ها یا ضایعات پوستی نیاز باشد. در موارد راش‌های ویکولار، نمونه‌ها جهت بررسی میکروسکوپی و کشت نمونه مستقیماً از ویکول‌ها تهیه می‌گردد. در خصوص سایر ضایعات اگزانتوماتو (ماکولار یا پاپولار) ممکن است تشخیص بیشتر بر پایه سایر روش‌ها، نظیر کشت خون و سرولوژی صورت گیرد. در موارد مشکوک به آنتراکس پوستی یا ضایعات خیارکی ممکن است نمونه‌ها از زخم‌های پوستی و هم-چنین نمونه برای کشت خون تهیه شود.

● روش جمع‌آوری

* راش‌های ویکولو - پوستولار (جهت تشخیص عفونت‌های ویروسی)

زخم یا ویکول تازه و رسیده را با اتانول ۷۰٪ تمیز نمایید.

ویکول: سرنگ توپرکولین با سوزن ۲۶-۲۷ را در حالی که سر سوزن آن به سمت بالا قرار دارد، در پایه ویکول وارد کنید.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیر برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج)  بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) Ghavam Subspecialty Hospital	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

مایع را آسپیره نموده و سریعاً و با دقت به داخل ظرف حاوی ۱-۲ میلی لیتر محیط انتقال ویروسی تخلیه نمایید (یک بار سرنگ را با محیط انتقالی شست و شو دهید). زخم: پوسته زخم را بالا آورده و به کمک سوپ استریل داکرونی بر روی پایه زخم بمالید (سوپ آلژینات کلسیم نباید استفاده شود). سپس سوآپ به سرعت در ظرف حاوی محیط انتقال قرار گیرد. تهیه گسترش: پایه زخم به کمک اسکالپل یا کورت تراشیده شده و سوسپانسیون از ضایعات در دو تا سه قطره از محیط انتقالی تهیه نمایید. از سوسپانسیون فوق دو تا سه قطره بر روی لام بگذارید. پس از خشک شدن در هوا در استون سرد فیکس نمایید.

* نمونه کبره

- به وسیله لانتست و فورسپس یک بار مصرف، کبره‌ها را از محل خودش جدا نمایید.
- ۵-۱۰ لایه کبره را برداشته و در ظرف پلاستیکی در پیچ‌دار قرار دهید.
- اگر مشکوک به آنتراکس جلدی هستید، مایع وزیکولی زیر محل زخم نمونه تشخیصی بهتری نسبت به تکه‌های زخم می‌باشد.

* آسپیراسیون آبسه‌ها

- آسپیراسیون آبسه فقط باید توسط پزشک صورت گیرد.
- پوست روی آبسه / خیارک بوسیله ایزو پروپیل الکل ۷۰٪ ضد عفونی شده و مایع به وسیله آسپیراسیون توسط سرنگ استریل جمع آوری می‌گردد.
- نمونه را به طریق آسپتیک به لوله استریل حاوی محیط انتقالی منتقل کنید.

• انتقال نمونه

نمونه‌ها جهت بررسی باکتریولوژیک باید در محیط استوارت یا آمیس و سوآپ‌های مشکوک به عوامل ویروسی در محیط انتقالی ویروس منتقل گردد. در صورتی که نتوان نمونه‌ها را تا مدت ۲ ساعت بررسی نمود، نمونه‌های باکتریایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قابل نگهداری هستند. نمونه‌ها جهت جداسازی عوامل ویروسی در محیط انتقالی مناسب در دمای ۴-۸°C قابل نگهداری بوده و در اسرع وقت باید به آزمایشگاه منتقل گردد.

نگهدارنده‌ها، ضد انعقادها و مواد افزودنی


مواد نگهدارنده جهت نمونه‌های خون، ادرار، مغز استخوان، مدفوع و مایعات بدن استفاده می‌گردند.

• ضد انعقادهای رایج جهت نمونه خون

- ضد انعقادهای رایج مورد استفاده جهت نمونه خون شامل موارد زیر می‌باشند:
- اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، سترات سدیم، هپارین، سدیم پلی سولفات (SPS)، فلوراید سدیم و اسید سترات دکستروز (ACD) می‌باشد.
 - اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) که به اشکال نمک‌های سدیم و پتاسیم و لیتیم موجود است. مورد استفاده آن در بخش‌های خون-سناسی، بیوشیمی و بانک خون می‌باشد. جهت شمارش سلول‌های خونی و تشخیص افتراقی نمک پتاسیک آن توصیه می‌گردد.
 - سترات سدیم جهت آزمون‌های انعقادی و سرعت رسوب گلبولی کاربرد دارد.
 - هپارین به فرم نمک‌های لیتیم و سدیم در اندازه‌گیری بسیاری از پارامترهای خون و بررسی‌های ایمونولوژیک به همراه آزمون مقاومت گلبولی کاربرد دارد.
 - فلوراید سدیم جهت اندازه‌گیری گلوکز کاربرد دارد.
 - سدیم پلی سولفات به عنوان ضد انعقاد جهت شیشه‌های کشت خون استفاده می‌گردد.
 - اسید سترات دکستروز به عنوان ماده ضد انعقاد در کیسه‌های خون در انتقال خون کاربرد دارد.

• نگهدارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع

- انواع نگهدارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع به شرح زیر می‌باشد:
- جهت کشت ادرار و شمارش کلنی اسید بوریک مناسب می‌باشد. با استفاده از نگهدارنده نمونه ادرار تا ۲۴ ساعت در دمای اتاق جهت بررسی باکتریولوژیک قابل نگهداری است.
 - نمونه مدفوع جهت کشت عوامل باکتریایی را در صورتی که نتوان سریعاً به آزمایشگاه ارسال نمود تا ۲ ساعت در دمای ۴°C قابل نگهداری است، در غیر این صورت نمونه‌ها را می‌توان در محیط‌های نگهدارنده و انتقالی نظیر استوارت، آمیس و کری بلر منتقل نمود. در بعضی مواقع می‌توان با اضافه نمودن زغال به محیط استوارت و آمیس اسیده‌های چرب موجود در سوآپ‌های پنبه‌ای، که بازدارنده ارگانسیم‌های سخت رشد نظیر نایسریا گونوره و بوردتلا پرتوسیس می‌باشند را جذب نمود.

کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیرک برون سازمانی	آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) 	تاریخ ابلاغ: ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱
تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی: ۲	شرح کلی: مدیریت نمونه	محدوده توزیع: کمد مستندات نمونه برداری

•• مدفوع از نظر توکسین کلستریدیوم دیفیسیل باید بدون مواد نگهدارنده جمع‌آوری گردد و این نمونه تا ۴۸ ساعت در دمای 4°C قابل نگهداری است. در صورت تاخیر بیشتر، نمونه باید در دمای 70°C - نگهداری گردد.

•• نگهدارنده مناسب جهت تخم انگل، تروفوزیت و کیست تک یاخته فرمالین ۱۰٪، پولی وینیل الکل و سدیم استات فرمالین (Sodium Acetate Formalin = SAF) است.

•• مواد ضد انعقاد در بررسی‌های میکروبیولوژی

جهت جلوگیری از ایجاد لخته در نمونه‌های خون، مغز استخوان و مایع سینوویال از مواد ضد انعقاد استفاده می‌شود. باند شدن میکروارگانیسم‌ها به لخته، شناسایی آن‌ها را مشکل می‌سازد، لذا استفاده از ضد انعقاد ضروری است. انتخاب نوع و غلظت ضد انعقاد به دلیل اثر ضد میکروبی بعضی از آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) معمول‌ترین ضد انعقاد مورد استفاده جهت نمونه‌های میکروبی می‌باشد. غلظت مورد استفاده نباید بیشتر از ۰/۰۲۵ (وزنی/حجمی) باشد. گونه‌های نایسریا و بعضی باکتری‌های بی‌هوازی به غلظت‌های بالای سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) حساس هستند. نسبت نمونه به ضد انعقاد سدیم پلی آنتول سولفات بسیار مهم است، لذا لازم است حجم‌های متفاوت از ضد انعقاد در لوله با سایز بزرگ (جهت نمونه بزرگسال) و کوچک (جهت نمونه اطفال) و همچنین جهت مقادیر کم ارگانیسم در نمونه‌های مغز استخوان و مایع سینوویال موجود باشد.

•• هپارین دیگر ماده ضد انعقاد متداول می‌باشد و اغلب جهت کشت ویروسی و جداسازی گونه میکوباکتریوم از خون مورد استفاده قرار می‌گیرد. البته هپارین مهارکننده رشد باکتری‌های گرم مثبت و قارچ هاست.

سیترات سدیم و EDTA جهت نمونه‌های میکروبیولوژیک نباید مورد استفاده قرار گیرد.

نگهداری نمونه

در صورتی که نتوان نمونه‌ها را در اسرع وقت پس از دریافت نمونه مورد بررسی قرار داد، باید آن‌ها را در شرایط مناسب نگهداری کرد. دماهای متفاوت مورد استفاده، دمای اتاق (22°C)، دمای یخچال (4°C)، دمای بدن (37°C) و دمای فریزر (20°C - 70°C) می‌باشند که بسته به نوع محیط انتقالی (در صورت استفاده) و عامل اتیولوژیک عفونت متفاوت است.

بعضی نمونه‌ها نظیر ادرار، مدفوع، نمونه جهت بررسی عوامل ویروسی، خلط، سوپ‌ها (به‌غیر از عوامل بی‌هوازی)، وسایل خارجی نظیر کاتتر را می‌توان در دمای 4°C نگهداری نمود.

•• پاتوژن‌هایی که به سرما حساسند باید در دمای اتاق نگهداری شوند. این عوامل ممکن است در نمونه‌هایی که حاوی باکتری‌های بی‌هوازی بوده و همچنین در اکثر مایعات استریل بدن، نمونه‌های ژنیتال، سوپ گوش و چشم نیز موجود باشند.


•• سرم جهت بررسی‌های سرولوژیک تا یک هفته در دمای 20°C - قابل نگهداری است.

•• نگهداری طولانی مدت بافت‌ها یا نمونه‌ها در دمای 70°C - صورت می‌گیرد.

•• مایع مغزی نخاعی در صورتی که سریعاً مورد بررسی قرار نگیرد تا ۶ ساعت در دمای 35°C قابل نگهداری است. جدول ۴-۳ شرایط نگهداری نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۳: شرایط نگهداری نمونه

دمای 4°C	دمای اتاق (22°C - 26°C)
نوک کاتتر (IV)	آبسه - زخم - ضایعه
مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی ویروس	مایعات بدن
گوش خارجی	مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی باکتری
مدفوع (بدون نگهدارنده)	گوش داخلی
مدفوع جهت توکسین کلستریدیوم دیفیسیل تا ۳ روز (بیشتر از ۳ روز نگهداری در 70°C -)	مدفوع (با ماده نگهدارنده)
خلط	تناسلی
ادرار (بدون نگهدارنده)	بینی - نازوفارنکس - گلو

تاریخ ابلاغ : ۱۴۰۴/۱۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۶/۱۱/۰۱	 آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی قائم (عج) <small>بیمارستان فوق تخصصی قائم ۱۳۹۱ Ghazem Subspecialty Hospital</small>	کد سند کد سند ۴۰۳/۰۳/۰۲ ن مدیرک برون سازمانی
محدوده توزیع : کمد مستندات نمونه برداری	شرح کلی : مدیریت نمونه	
	تعداد صفحات: ۱۸ تعداد کپی : ۲	

بافت	
ادرار (با ماده نگه‌دارنده)	

موارد رد نمونه

موارد رد نمونه به شرح زیر بیان می‌گردد:

- عدم هم‌خوانی اطلاعات برگه درخواست آزمایش و برجسب روی نمونه
 - استفاده از محیط انتقالی نامناسب
 - جمع‌آوری نمونه در ظرفی که دارای نشت است
 - نمونه ناکافی
 - زمان انتقال بیش از ۲ ساعت در نمونه‌های بدون ماده نگه‌دارنده
 - انتقال نمونه در دمای نامناسب
 - خشک شدن نمونه
 - دریافت نمونه در محلول فیکساتیو نظیر فرمالین (نمونه مدفوع مستثنی می‌باشد)
 - درخواست کشت بی‌هوازی بر روی نمونه‌هایی که باکتری‌های بی‌هوازی فلور طبیعی آنهاست. (مثل واژن، دهان)
 - نمونه حاصل از کاتتر فولی
 - بیش از یک نمونه با یک منشأ از یک مریض در همان روز (به‌غیر از موارد کشت خون)
 - نمونه سواپ با درخواست‌های متعدد برای ارگان‌سیم‌های مختلف
 - نمونه خلط که در رنگ‌آمیزی گرم کمتر از ۲۵ سلول سفید و بیش از ۱۰ سلول اپی‌تلیال در بزرگ‌نمایی پایین داشته باشد.
- در جدول ۳-۵ تحت عنوان مدیریت نمونه و راهنمای برخورد با آن به‌طور خلاصه مباحث این فصل بیان گردیده است.