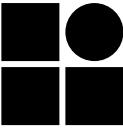


صفحه 1 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

## مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی

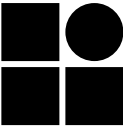
### مقدمه

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 دستورالعمل-های 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 می باشد.

بدیهی است رعایت موارد ذکر شده در این مجموعه در به حداقل رساندن عواملی که می تواند نتایج آزمایش را تحت تاثیر قرار دهد، کمک شایانی خواهد نمود.

### تجهیزات لازم جهت اتاق نمونه برداری

- نمونه گیری 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 نمونه برداری: باید دارای دسته قابل تنظیم باشد به طوری که بیمار بتواند در راحت ترین وضعیت جهت نمونه گیری روی صندلی بنشیند. همچنین صندلی باید دارای حفاظ ایمنی جهت جلوگیری از افتادن بیمار باشد.
  - ۲- تخت معاینه
  - ۳- سینی جمع آوری ظرفهای نمونه
  - ۴- دستکش
- دستکش در صورت آلودگی و یا در فواصل نمونه گیریها باید تعویض گردد.
- ۵- سوزن (19-23G)
  - ۶- سرنگ یا نگه دارنده مخصوص (holder) جهت استفاده از لوله های خلاء (evacuated tube)
  - ۷- نیشتر یک بار مصرف
  - ۸- انواع لوله ها و ظروف در پیچ دار یا لوله های خلاء
  - ۹- بازوبند (tourniquet)
  - ۱۰- یخچال یا یخ باید در دسترس باشد
  - ۱۱- ضد عفونی کننده ها:
- ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪
  - محلول povidone – iodine ۱۰-۱٪ یا کلر هگزیدین گلوکونات جهت کشت خون
- ۱۲- گاز پارچه ای در ابعاد ۵×۵ cm یا ۷/۵×۷/۵ cm (استفاده از پنبه پیشنهاد نمی گردد). باند و گاز باید جهت پانسمان در دسترس باشد.
  - ۱۳- ظروف مخصوص دفع سرسوزن های 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 لوله های محتوی خون

صفحه 2 از 23	<b>دستور العمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

## نمونه گیری وریدی

### مراحل نمونه گیری

خون گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت توأم دارد. جهت جمع آوری نمونه خون وریدی، خون گیر کار آزموده باید مراحل زیر را پی گیری نماید:

۱- انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار

۲- اطمینان از رعایت رژیم غذایی پیش از نمونه گیری

۳- انتخاب وسایل مورد نیاز

سرنگ و سرسوزن مناسب یا لوله خلاء براساس نوع آزمایش انتخاب می شود.

**\* به طور کلی توصیه می گردد به دلیل رعایت اصول ایمنی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و لوله های خلاء جایگزین آن گردند.**

۴- استفاده از دستکش

۵- وضعیت بیمار هنگام نمونه گیری

بیمار بر روی صندلی نمونه گیری نشسته و دست خود را به منظور برجسته شدن وریدها مشت کرده و به نحوی روی دسته صندلی نمونه برداری قرار می دهد 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 می شود.

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 لوله های خلاء از رگ بند (تورنیکه) استفاده می شود (قابل ذکر است در مواردی نظیر اندازه گیری لاکتات خون نباید تورنیکه بسته شود).

رگ بند باید ۱۰-۷/۵ سانتی متر بالای ناحیه نمونه گیری بسته شود و نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند.

۷- انتخاب ورید مناسب

در اغلب موارد نمونه گیری از وریدهای Median cubital و Cephalic صورت می گیرد. خون گیری از وریدهای پشت دست نیز قابل قبول است، ولی وریدهای سطح داخلی مچ نباید مورد استفاده قرار گیرند.

۸- تمیز کردن محل نمونه گیری

ناحیه نمونه گیری به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪ به صورت حرکت دورانی از داخل به خارج تمیز می شود. نمونه گیری 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 می گیرد.

۹- نمونه گیری

باید سر سوزن در حالی که قسمت مورب نوک آن به سمت بالا است، با زاویه  $30^{\circ}\text{C}$  یا کمتر وارد ورید شود.

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

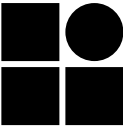
در صورت استفاده از لوله خلاء باید تمهیدات زیر صورت گیرد :

•• حتی الامکان سوزن در رگ ثابت نگه داشته شده و اولین لوله با فشار به سوزن مرتبط شود.

•• لوله ها باید تا خاتمه مکش از خون پر شوند. پس از وقفه جریان خون اولین لوله از سوزن جدا شده و لوله های بعدی به سوزن متصل می شوند.

•• لوله های حاوی ماده ضد انعقاد و خون باید بلافاصله پس از پرشدن مخلوط شوند (با ۱۰-۵ مرتبه سروته نمودن). جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله ها به شدت مخلوط گردند.

پس از جاری شدن روان خون به داخل سرنگ یا لوله های خلاء بیمار باید مشت خود را باز کند.

صفحه 3 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

۱۰- دفع سر سوزن

سر سوزن های آلوده بدون گذاشتن درپوش سرسوزن باید در ظروف ایمن، دفع گردند. سپس نمونه خون به آرامی در ظروف مربوطه تخلیه شود.

۱۱- تخلیه خون

نمونه هایی که در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد ریخته می شوند باید بلافاصله و به آرامی ۵ تا ۱۰ بار مخلوط شوند. در صورتی که نمونه در لوله بدون ماده ضد انعقاد ریخته می شود باید به آرامی در جدار داخلی لوله تخلیه گردد.

۱۲- اقدامات پس از نمونه گیری

پس از خاتمه نمونه گیری، باید موضع از نظر بند آمدن خون ریزی و یا به وجود آمدن هماتوم کنترل گردد.

۱۳- برچسب گذاری ظرف حاوی نمونه

بلافاصله پس از اتمام نمونه گیری باید برچسب دارای اطلاعات زیر را بر روی لوله ها و ظروف حاوی نمونه خون بیمار الصاق نمود:

- نام، نام خانوادگی بیمار، شماره شناسایی، تاریخ، زمان نمونه گیری (بخصوص در آزمایش های ردیابی دوز درمانی داروها (TDM)، نام فرد خون گیر

### خون گیری مویرگی - نمونه گیری از طریق سوراخ کردن پوست (Skin Puncture)

خون گیری 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 ویژه ای برخوردار است.

#### • نواحی مناسب جهت سوراخ کردن پوست و جمع آوری نمونه:

- بند انتهای انگشتان دست

- سطح داخلی و خارجی پاشنه پا

➤ در نوزادان کمتر از یک سال معمولاً خون گیری از پاشنه پا انجام می گیرد.

➤ در اطفال و بزرگسالان معمولاً از سطح داخلی بند آخر انگشتان (انگشت سوم یا چهارم) خون گیری صورت می گیرد. سطح جانبی و نوک انگشتان مناسب نمی باشند.

از نواحی زیر نباید خون گیری صورت گیرد:

(۱) نرمه گوش

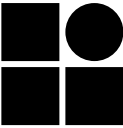
(۲) ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان

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

نواحی متورم یا مناطقی که قبلاً 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 لانس استریل انجام می شود. قابل ذکر است که باید اولین قطره خون را به وسیله گاز پاک کرده و از قطرات بعدی استفاده نمود.

صفحه 4 از 23	<b>دستور العمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

## 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.

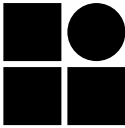
●● تهیه سرم: نمونه خون پس از جمع آوری (در ظروف در بسته)، باید جهت جداسازی و سانتریفیوژ مراحل لخته شدن را طی نماید که بهتر است این مرحله با طی زمان و به طور خودبخود صورت گیرد. عمل لخته شدن به طور طبیعی در دمای اتاق ( $22-25^{\circ}\text{C}$ ) پس از ۶۰-۳۰ دقیقه کامل می گردد. در صورتی که بیمار داروهای ضد 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 ۴-۳ 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، پیرووات، گاسترین، هورمون پاراتیروئید، فعالیت رنین پلاسما و اسید فسفاتاز، باید پس از جمع آوری در سرما نگهداری شود.

صفحه 5 از 23	<b>دستور العمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

●● نگه‌دارنده‌ها و مهارکننده‌های متابولیک: بعضی افزودنی‌ها می‌توانند از تغییرات غلظت مواد در نمونه با گذشت زمان جلوگیری نمایند. مواد آنتی گلیکولیتیک نظیر فلوراید می‌توانند گلوکز را در حضور سلول‌های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۲-۲۴°C) و تا ۴۸ ساعت در دمای یخچال (۲-۸°C) پایدار نگه‌دارند. به دلیل حساسیت اندازه‌گیری گلوکز در نوزادان و اطفال می‌توان از مواد افزودنی آنتی گلیکولیتیک 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 چرخه کاری در آزمایشگاه می‌باشد. در مورد نمونه‌های خون روند انتقال ۱/۳ زمان چرخه کاری را شامل می‌شود.

### \* جمع‌آوری نمونه در محل آزمایشگاه

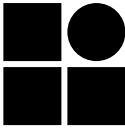
●● زمان: نمونه‌ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال گردند. انتقال نمونه‌ها می‌بایست در شرایط دمای اتاق صورت گیرد، به‌جز نمونه‌هایی که باید با حفظ زنجیره سرد نگه‌داری و منتقل شوند. انتقال سریع نمونه از محل نمونه‌گیری به آزمایشگاه در شرایطی که دمای محل نمونه‌گیری بالاتر 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.

●● درپوش: نمونه‌ها باید در طول مدت انتقال و نگه‌داری در ظروف درپوش‌دار قرار گیرند. عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به دلیل از دست دادن دی اکسید کربن و افزایش PH نظیر کلسیم یونیزه و اسید فسفاتاز (افزایش می‌یابند) می‌گردد. هم‌چنین وجود درپوش خطر ایجاد آئروسول، 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، آسپارژین 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: سفر، پروتئین توتال، آلومین، منیزیم، کلسیم، و اسید فسفاتاز می‌باشند.
- قابل ذکر است پلاسما حاوی ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر هموگلوبین، به رنگ صورتی روشن و پلاسما حاوی ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر هموگلوبین، به رنگ قرمز است. بالا رفتن بیلی‌روبین در پلاسما ممکن است وجود هموگلوبین

صفحه 6 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

را بپوشاند به طور مثال غلظت ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر هموگلوبین ممکن است با چشم غیر مسلح با وجود بیلی-روبین ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر قابل رویت نباشد.

وجود همولیز در نمونه خون کامل ممکن است با چشم قابل رویت نباشد لذا پیشنهاد می گردد در مواردی که نتایج متغیر مورد اندازه گیری بالاتر از محدوده مرجع آن می باشد، نمونه مورد آزمایش از نظر وجود همولیز نیز بررسی گردد. (با سانتیفریوژ 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 بیلی روبین، ویتامین A و B6 و بتا کاروتن بسیار اهمیت دارد. ظرف حاوی این نمونه ها جهت محافظت از نور باید در پوششی از کاغذ آلومینیوم پیچیده شده یا در ظرف شیشه ای قهوه ای نگه داری شوند.

#### \* جمع آوری نمونه خارج از محل آزمایشگاه

در صورتی که در مرکزی فقط نمونه گیری انجام گیرد، نمونه های خون باید حداکثر تا دو ساعت پس از نمونه گیری 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  $2-8^{\circ}\text{C}$  نگه داری و با رعایت پایداری نمونه به آزمایشگاه ارسال کرد.

#### \* دریافت نمونه

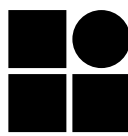
نمونه خون پس از دریافت و کامل شدن مرحله لخته، جهت سانتیفریوژ آماده می گردد. در صورتی که خون در لوله فعال کننده لخته جمع آوری شده باشد در طی مدت ۳۰-۵ دقیقه پس از نمونه گیری می تواند سانتیفریوژ گردد. نمونه در لوله حاوی ماده ضد انعقاد سریعاً قابل سانتیفریوژ می باشد.

جهت اندازه گیری بعضی متغیرها در خون نظیر سرب، سیکلوسپورین و هموگلوبین گلیکوزیله، خون کامل مورد استفاده قرار می گیرد. ولی اگر نمونه اشتباها سانتیفریوژ 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 ( $2-8^{\circ}\text{C}$ ) تا آماده شدن جهت سانتیفریوژ باید در این درجه حرارت باقی بمانند. سانتیفریوژ 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
- نشد نمونه به خارج از ظرف
- استفاده از لوله نامناسب جمع آوری نمونه
- ضد انعقاد نامناسب (مثلاً 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

صفحه 7 از 23	<b>دستور العمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

•• 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. همچنین باید در تمام مراحل جداسازی نمونه، رعایت اصول ایمنی و استفاده از وسایل حفاظت فردی صورت گیرد. قابل ذکر است که درب لوله‌ها 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 نمی‌شود و نیروی نسبی سانتریفیوژ (Relative Centrifugal Force) یا RCF جایگزین آن شده است.

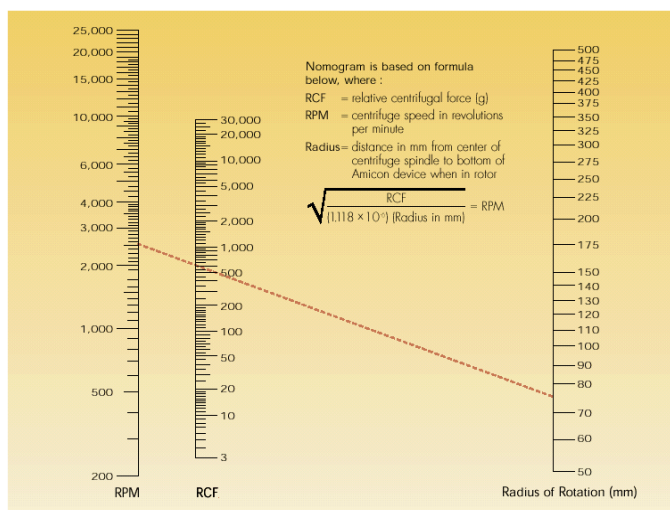
$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times (RPM)^2$$

r : شعاع گردان (سانتی متر)

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

RPM : سرعت گردان (تعداد دور در دقیقه)

می‌توان 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.

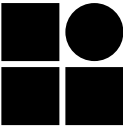


نمودار ۱-۳: نمودار تعیین نیروی نسبی سانتریفیوژ به کمک شعاع و میزان دور (PPM)

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 اندازه‌گیری 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 پایین‌تر از ۱۵°C سبب افزایش کاذب پتاسیم پس از ۲ ساعت می-گردد). لازم به ذکر است جهت اندازه‌گیری پتاسیم نمونه نباید بیش از یک بار سانتریفیوژ گردد.

صفحه 8 از 23	<b>دستور العمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

\* زمان مورد نیاز جهت سانتریفیوژ نمونه

➤ تهیه سرم و پلاسما: نمونه در ظرف درپوش دار باید به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰g-۱۰۰۰g 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 برق 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 ۸°C-۲ 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 ۱۰-۵ 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:

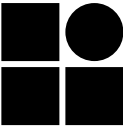
از لوله های جمع آوری خون حاوی ژل جداکننده جهت اندازه گیری میزان پروتسترون، داروهای سه حلقه ای ضد افسردگی، اندازه گیری سطح دارویی و آزمون های ایمونوهماتولوژی (بانک خون) نباید استفاده شود.

### 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 می گیرد.

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



صفحه 9 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

**• 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**

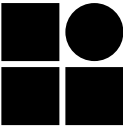
- ۱- یک قطره خون (حدود ۰/۰۵ میلی‌لیتر) به فاصله حدود ۲ سانتی‌متر از انتهای لام قرار داده شود. باید توجه شود که لام با پوست دست بیمار تماس پیدا نکند.
- ۲- لام بر روی سطح افقی و صاف قرار داده می‌شود.
- ۳- با یک لام تمیز دیگر (ترجیحا لام صیقلی) با زاویه ۴۵-۴۰°C با حرکت سریع بر روی قطره خون موجود بر روی لام اول کشیده شود (نظیر تهیه گسترش خون در آزمون CBC).
- ۴- گسترش باید سریعا 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.

**ادرار**

نمونه ادرار برای بررسی‌های شیمیایی، سلول‌شناسی و میکروب‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نحوه نمونه‌گیری و ظروف جمع‌آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه می‌باشد. نمونه ادرار باید در ظرف تمیز دهان گشاد با قطر حداقل ۱۰ سانتی‌متر، با اندازه مناسب و غیر قابل نشت، جمع‌آوری گردد. بهتر است ظرف جمع‌آوری 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.

صفحه 10 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

جهت کشت ادرار ظرف نمونه باید حتما استریل باشد. برای نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه‌های ادراری استفاده شود.

جهت بررسی‌های معمول و میکروبیولوژیک نمونه ادرار باید حداکثر تا دو ساعت پس از جمع‌آوری (در دمای اتاق) مورد بررسی قرار گیرد. پس از این مدت ترکیبات شیمیایی ادرار تغییر کرده و عناصر تشکیل دهنده آن شروع به تخریب می‌کنند. سیلندرها، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید در نمونه‌های با وزن مخصوص پایین و PH قلیایی بسیار مستعد لیز هستند.

هنگامی که ارزیابی سلولی سدیمان ادراری مدنظر است باید مراحل آماده‌سازی ادرار هرچه سریع‌تر صورت گیرد. جهت تهیه رسوب ادرار باید نمونه در ظروف درپوش‌دار به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰g سانتریفیوژ گردد. در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی که نتوان نمونه را به سرعت به آزمایشگاه منتقل نمود و آزمایش کرد می‌توان آن را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸-۲°C نگهداری کرده و یا می‌توان از نگهدارنده‌های باکتریواستاتیک نیز استفاده نمود.

ظرف محتوی نمونه باید به‌درستی برچسب‌گذاری شود، اطلاعات مورد نیاز شامل: نام بیمار، زمان نمونه‌گیری، نام نگهدارنده، در موارد خاص ذکر نوع نمونه (کاتتر.....) می‌باشد. همچنین در صورتی که نمونه از محل دیگری ارسال گردد باید نحوه نگهداری و زمان دریافت نیز ذکر گردد.

حداقل حجم مورد نیاز جهت بررسی‌های معمول کمی و کیفی ادرار به‌طور متوسط ۱۲ میلی‌لیتر 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 جمع‌آوری ادرار و موارد استفاده آن

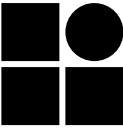
- ۱- ادرار اتفاقی جهت بررسی شیمیایی کیفی و نیمه کمی
- ۲- اولین ادرار صبحگاهی (ادرار ۸ ساعته) جهت بررسی اجزای سلولی، سیلندر و کست
- ۳- دومین ادرار صبحگاهی (۷-۱۰ صبح) جهت بررسی‌های کمی
- ۴- ادرار با زمان مشخص مثلا ادرار ۲۴ ساعته جهت بررسی‌های کمی
- ۵- ادرار تمیز (ادرار میانی، کاتتر و سوپراپوبیک)

#### \* ادرار اتفاقی

این نمونه جهت آزمون غربالگری روزمره مورد استفاده قرار می‌گیرد و در هر موقع از روز قابل جمع‌آوری می‌باشد، ولی زمان نمونه‌گیری باید روی ظرف درج گردد. بهتر است قبل از جمع‌آوری ادرار فرد چند ساعت ادرار خود را تخلیه نکرده باشد. برای این منظور اولین ادرار صبحگاهی به‌دلیل غلظت مناسب و PH پایین مناسب‌تر است.

#### \* ادرار صبح‌گاهی (ادرار ۸ ساعته)

این نمونه معمولا در اول صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد. این نمونه جهت بررسی پروتئین‌آوری اورتواستاتیک مناسب است. ابتدا شب قبل از خواب ادرار تخلیه شده و نمونه صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد. در صورت تخلیه ادرار در طول شب، باید در ظرف جمع‌آوری نمونه ریخته شود.

صفحه 11 از 23	<b>دستورالعمل</b>	
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	آزمایشگاه مرجع سلامت

#### \* ادرار زمان دار

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

#### \* ادرار ۲۴ ساعته

به دلیل تغییرات دوره‌ای ترشح مواد در ادرار، در بعضی مواقع نیاز است که ادرار ۲۴ ساعته جمع‌آوری گردد. به عنوان نمونه می‌توان از کاتکول آمین‌ها، ۱۷ هیدروکسی استروئید و الکترولیت‌ها نام برد که پایین‌ترین غلظت آن‌ها در صبح و بالاترین غلظت این ترکیبات در ظهر یا کمی پس از آن می‌باشد.

#### •• جمع‌آوری نمونه: ظرف نمونه باید پلاستیکی و دهان‌گشاد به گنجایش تقریبی ۳ لیتر باشد.

جهت جمع‌آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته ابتدا اولین ادرار صبحگاهی دور ریخته شده و در طی ۲۴ ساعت بعدی ادرار در ظرف نمونه‌گیری جمع‌آوری می‌شود به طوری که آخرین نمونه جمع‌آوری شده، اولین نمونه صبحگاهی روز بعد (در همان ساعت اولین نمونه تخلیه شده روز قبل) باشد.

بر روی برجسب 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.

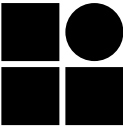
•• ادرار تهیه شده توسط کاتتر و فوق‌عانه (سوپرا پوبیک) نیز از روش‌هایی هستند که جهت جمع‌آوری ادرار استریل در مواقع خاص و با درخواست پزشک تهیه می‌شوند.

•• 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 پرینه‌آل 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.

صفحه 12 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

### ➤ نگاه‌داری و انتقال نمونه

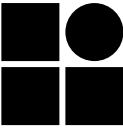
- جهت انتقال نمونه باید درب ظرف کاملا محکم باشد تا امکان نشت نمونه به خارج از ظرف و محیط اطراف به حداقل برسد (در صورت امکان جهت انتقال می‌توان ظرف نمونه را درون ظرفی دیگری قرارداد).
- نمونه ادرار باید در سریع‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و حداکثر در ظرف ۲ ساعت در دمای اتاق بررسی گردد. در غیر این‌صورت باید نمونه پس از جمع‌آوری در یخچال نگاه‌داری شود (دمای  $8^{\circ}\text{C}$ -).
- 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  $8^{\circ}\text{C}$ - تا قبل از کشت نگاه‌داری نمود.
- •• می‌توان قسمتی از نمونه ادرار را جهت بررسی‌های بیوشیمیایی در ظرف دیگری که حاوی نگه‌دارنده باکتریو استاتیک است، نگاه‌داری 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.
- •• در نوزادان و اطفال می‌توان از سواب رکتال در محیط انتقالی استفاده نمود ولی این کار معمولا برای تشخیص ویروس‌ها و عوامل انگلی پیشنهاد نمی‌شود.

### ● نمونه‌گیری جهت عوامل باکتریایی مولد اسهال

- \* نمونه مدفوع: حداقل ۵ گرم مدفوع باید در ظرف در پیچ‌دار تمیز، عاری از مواد ضدعفونی‌کننده و یا شوینده جمع‌آوری گردد.
- \* سواب مقعدی: سواب را با فروربردن در محیط انتقالی سترون، مرطوب کرده به اندازه ۲-۳ سانتی‌متر در داخل اسفنگتر رکتوم فرو برده و بچرخانید. سواب را بیرون کشیده پس از اطمینان از آغستگی به مدفوع، سریعا به داخل محیط انتقال (کری بلر) فرو برید. سپس لوله‌های انتقال را در یخچال یا یخدان قرار دهید.
- در موارد اسهال ناشی از باکتری‌های مهاجم مانند شیگلا، ساییدن سواب به مخاط انتهایی روده جهت جمع‌آوری نمونه بسیار مهم است.

صفحه 13 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

\* سوپ 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 سوپ 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، علائم 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.

•• **سالین 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. همچنین تا ۱ ماه پس از تهیه قابل استفاده است.

#### ➤ نگه داری:

•• 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 سوپ 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 پیچدار تمیز و خشک مورد نیاز است (در صورت آبیکی 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.

صفحه 14 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

- 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. ترجیحا 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.

#### ➤ نگاه داری

- نمونه باید هر چه سریع تر به آزمایشگاه ارسال گردد. در صورت تاخیر بیش از ۲ ساعت، نمونه در محل خنک (ترجیحا در یخچال) نگاه داری 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 (Lumber 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 میکروبی شناسی، لوله شماره ۳ جهت بررسی سلولی).

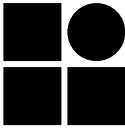
جهت جمع آوری نمونه نیازی به ماده ضد انعقاد نمی باشد زیرا مایع مغزی نخاعی لخته نمی شود، مگر آن که نمونه گیری همراه با صدمه باشد (نمونه گیری تروماتیک).

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

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

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 نگاه داری 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 نگاه داری 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 نگاه داری است.

صفحه 15 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

جهت مطالعات سیتولوژیک رسوب CSF باید بلافاصله پس از جمع‌آوری به وسیله سانتریفیوژ مخصوص (۲۰ دقیقه در ۱۸۰g) تهیه و به آزمایشگاه ارسال شود.

### مایع سروز

مایعات سروزی نظیر مایع جنب و صفاقی را می‌توان در یک لوله جمع‌آوری و سپس در محل نمونه‌گیری یا آزمایشگاه به لوله‌های مختلف و با حجم‌های کمتر تقسیم نمود. قابل ذکر است که نمونه قبل از تقسیم و شمارش سلولی باید کاملاً مخلوط گردد. EDTA ضد انعقاد پیشنهادی در خصوص شمارش و افتراق سلولی است. جهت شمارش و افتراق سلولی، نمونه‌ها تا ۲۴ ساعت در دمای ۲-۶°C قابل نگهداری هستند. در خصوص بررسی‌های میکروبی نمونه باید در ظرف استریل جمع‌آوری گردد. جهت بررسی سیتولوژی ممکن است نمونه در حجم‌های متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردد (۱۰۰-۱۵ میلی‌لیتر) ولی حجم پیشنهادی ۵۰ میلی‌لیتر است و نیاز به استفاده از لوله‌های استریل و ماده ضد انعقاد نیز نمی‌باشد. البته می‌توان از هیپارین و EDTA هم استفاده کرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروز در جدول ۲-۳ بیان شده است.

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

نوع بررسی	ضد انعقاد	حجم مورد نیاز (میلی لیتر)
اندازه‌گیری پروتئین توتال، لاکتات، دهیدروژناز، گلوکز و آمیلاز	هیپارین یا بدون ضد انعقاد	۵-۸
کشت و رنگ‌آمیزی گرم	سدیم پلی سولفانات (SPS) یا بدون ضد انعقاد یا ضدانعقاد بدون اثر باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۸-۱۰
شمارش سلولی (گلبول 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 سروزی باید در اسرع وقت و در دمای اتاق به آزمایشگاه منتقل شوند. بررسی‌های سیتولوژی نیز باید هر چه سریع‌تر صورت گیرند، و در صورت نیاز می‌توان نمونه را در دمای ۴°C و بدون ماده تثبیت کننده تا چند روز نگهداری نمود.

### مایع سینوویال

حجم نمونه جهت بررسی‌های آزمایشگاهی بسته به اندازه مفصل و نوع مایع تجمع یافته در مفصل متفاوت است. معمولاً حجم ۳-۵ میلی‌لیتر ایده‌ال 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 بررسی‌های 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 کریستال‌های 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.

# دستورالعمل



آزمایشگاه مرجع سلامت

## مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی

صفحه 16 از 23

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 پروتئین	فلوراید یا بدون ضد انعقاد بدون ضد انعقاد	۳-۵ ۳-۵	ترجیحا ۸ ساعت ناشتایی
CH50	بدون ضد انعقاد	۳-۵	در صورت عدم انجام سریع آزمایش نمونه منجمد گردد.
C3,C4	بدون ضد انعقاد یا EDTA		نیاز به ۱ میلی لیتر نمونه است.
کشت	SPS، بدون ضدانعقاد یا ضد انعقاد بدون اثرباکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی	۳-۵	نیاز به لوله استریل است.

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

#### نمونه های دستگاه تنفسی

بهترین زمان جمع آوری نمونه در اکثر عفونت های تنفسی در طول ۳ روز اول ایجاد علائم بیماری می باشد. نمونه ها بسته به محل عفونت، از قسمت فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی جمع آوری می شوند. عوامل بیماری زای دستگاه تنفسی فوقانی (ویروسی و باکتریایی) در نمونه های گرفته شده از قسمت نازوفارنژیال گلو و عوامل بیماری -زای دستگاه تنفسی تحتانی در نمونه خلط قابل بررسی هستند. کشت ارگانسیم هایی نظیر لژیونلا مشکل است لذا بهتر است که تشخیص بر اساس شناسایی آنتی ژن های جدا شده از ادرار باشد. در صورت شک به التهاب حاد اپیگلوت، نمونه گیری 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 می گردد ولی عوامل اتیولوژیک ایجاد کننده آن ممکن است از کشت خون هم جدا گردند.

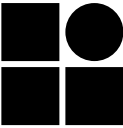
#### ● دستگاه تنفسی فوقانی

#### ●● نمونه برداری از گلو و لوزه ها

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

جهت تهیه گسترش مستقیم با سوپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه گیری صورت می گیرد.



صفحه 17 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

### ●● نمونه برداری 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 سانتی متر 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 می شود که یکی جهت گسترش مستقیم و دیگری جهت کشت استفاده می گردد.

#### ➤ آسپیراسیون نازوفارنکس

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

### ● دستگاه تنفسی تحتانی

#### ➤ روش جمع آوری خلط

یک نمونه خلط مناسب حاوی مواد ترشحاتی حاصل از ریه ها پس از سرفه عمیق است (نمونه حاوی آب دهان، ترشحات حلق و بینی مناسب نمی باشد).

### ●● زمان نمونه گیری

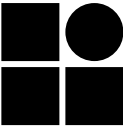
به دلیل این که تعداد باسیل سل دفع شده در زمان های مختلف متفاوت می باشد، آزمایش یک نمونه خلط برای تشخیص کفایت نمی کند و حتما باید سه نمونه تهیه گردد. برای تهیه نمونه بیمار باید ناشتا باشد. در خصوص تعداد نمونه جمع آوری شده جهت سایر عوامل باکتریایی یک نمونه کفایت می کند ولی در صورت شک به وجود عوامل قارچی و عفونت مایکوباکتریوم سه نمونه جداگانه صبحگاهی مناسب می باشد. نمونه اول: در اولین مراجعه بیمار به واحد درمانی تهیه می گردد و ظرف جهت نمونه گیری دوم نیز تحویل داده می شود.

نمونه دوم: خلط صبحگاهی که بیمار قبل از برخاستن از جای خود و به صورت ناشتا در منزل تهیه می نماید. نمونه سوم: خلط صبحگاهی که همزمان با مراجعه بیمار برای تحویل نمونه دوم از بیمار گرفته می شود. نمونه باید در ظرف دهان گشاد از جنس پلاستیک قابل سوختن شفاف و محکم با قطر حدود ۷-۵ سانتی متر جمع آوری گردد (نمونه داخل آن از نظر مقدار و کیفیت قابل رویت بوده و هم چنین 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 می توان از ظروف شیشه ای دهان گشاد در پیچدار استفاده نمود (با رعایت اصول استریلیزاسیون).

#### ➤ نحوه نمونه گیری

بیمار صبح ناشتا در فضای باز ابتدا یک نفس عمیق کشیده و با سرفه های عمیق خلط را درون ظرف (در حالی که ظرف نزدیک لب های بیمار قرار دارد) تخلیه می کند. سپس درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار می دهد. بهتر است حجم خلط بین ۳-۵ میلی لیتر 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 پایین تر از سینه قرار گیرد. سپس پس از دم عمیق نفس خود را نگاه داشته با یک بازدم محکم خلط را خارج کند. این عمل باید تا تهیه نمونه کافی از خلط ادامه یابد.

صفحه 18 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

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

- همه نمونه های تنفسی به جز خلط، باید در محیط کشت انتقالی مناسب باکتری ها/ ویروس ها منتقل گردند.
- نمونه های باکتریایی تا مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و ویروس ها در محیط انتقالی مناسب در دمای  $4-8^{\circ}\text{C}$  قابل انتقال می باشند.

### جمع آوری نمونه چشم

سواپ ها و گسترش های قرنیه و ملتحمه نمونه های معمول جهت تشخیص کونژکتیویت حاد ناشی از عوامل باکتریایی و ویروسی می باشند. تمام نمونه های گرفته شده از ترشحات قرنیه و ملتحمه باید از نظر این که از چشم چپ یا راست تهیه شده، برچسب گذاری گردند. جهت جمع آوری این نمونه ها باید شرایط استریل رعایت گردد. قبل از نمونه برداری بیمار نباید دارو یا قطره های استفاده کرده باشد. قابل ذکر است که نمونه برداری از تراشه های قرنیه باید توسط پزشک متخصص چشم صورت گیرد.

### روش جمع آوری سواپ های ملتحمه

مراحل جمع آوری سواپ های ملتحمه به شرح زیر است:

- ۱- پوست اطراف چشم را با یک ماده ضد عفونی کننده ملایم تمیز کنید.
- ۲- سواپ استریل آلژینات کلسیم یا نخی را در سرم استریل مرطوب کرده و به طور دورانی بر روی ملتحمه بمالید.
- ۳- سواپ را در لوله در پیچدار حاوی محیط انتقالی مناسب قرار دهید.
- ۴- بر روی لوله مذکور علاوه بر نام بیمار، نوع نمونه و زمان جمع آوری نمونه نیز ذکر گردد.
- ۵- از سواپ ملتحمه نیز دو گسترش بر روی یک لام تهیه می گردد. این کار بهتر است در محل نمونه برداری صورت گیرد. جهت شناسایی کلامیدیا مهم است که گسترش ها در محل نمونه برداری و قبل از انتقال تهیه شود. گسترش ها برچسب گذاری شده و نباید در دمای یخچال نگهداری شده یا منجمد گردند.

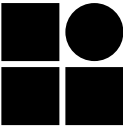
### • نقل و انتقال نمونه

- نمونه جهت شناسایی باکتری های پاتوژن در دمای محیط، در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می شوند.
- نمونه جهت شناسایی ویروس های پاتوژن در دمای  $2-8^{\circ}\text{C}$  در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می شوند.
- گسترش های تهیه شده در هوا خشک شده و در دمای محیط در جعبه لام منتقل می شوند.

### تهیه نمونه جهت کشت خون

ضروری است دقت بیشتری جهت ضد عفونی کردن محل نمونه گیری صورت گیرد. ابتدا موضع با الکل ۷۰٪ تمیز شده سپس با محلول povidne-iodine ۱۰-۱٪ (یا کلرهگزیدین گلوکونات) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن موضع مجدداً جهت حذف ید و کلرهگزیدین با الکل تمیز می گردد. کلرهگزیدین گلوکونات جهت نوزادان دو ماهه و بزرگ تر و هم چنین بزرگسالان دارای حساسیت نسبت به ید پیشنهاد می گردد. به دنبال خون گیری باید خون در عرض ۱ دقیقه به محیط کشت تلقیح شود. درب شیشه های کشت خون نیز باید قبل از تلقیح با الکل ۷۰٪ و سپس با محلول povidne-iodine ۱۰-۱٪ (بتادین) ضد عفونی گردد.

محیط کشت تلقیح شده را چندین بار تکان داده، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و در انکوباتور  $35^{\circ}\text{C}$  قرار داده شود.

صفحه 19 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

• **حجم خون مورد نیاز**

- کودکان: حجم ۱-۳ میلی لیتر ختون کافی می باشد. این مقدار خون در ۲۰ میلی لیتر محیط کشت خون رقیق می گردد.
- بزرگسالان: حجم خون جمع آوری شده به میزان ۵-۱۰ میلی لیتر است که در ۵۰ میلی لیتر از محیط کشت خون رقیق می گردد.

• **روش خنثی سازی عوامل ضد میکروبی در خون**

با اضافه نمودن مهار کننده های شیمیایی نظیر سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) ۰.۰۵٪-۰.۲۵٪ به محیط کشت و رقیق سازی خون، ویژگی های باکتریسیدال خون و آنتی بیوتیک های احتمالی خنثی می گردد. قابل ذکر است که سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) فعالیت های 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**

- شیشه های 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 گلبول های قرمز ممکن است نشانگر رشد میکروبی باشد و به طور حتم باید بلافاصله کشت مجدد انجام شود.
- قابل ذکر است که ممکن است علی رغم 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 ۰/۵ میلی لیتر از نمونه را به محیط آگار انتخاب شده منتقل کنید.

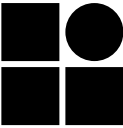
**نمونه برداری از مجاری ادراری تناسلی مردان**

با دو سواپ استریل از ترشحات چرکی نمونه برداری کنید. یکی از سواپها جهت تهیه گسترش و دیگری جهت کشت مورد استفاده قرار می گیرد. در صورتی که ترشحاتی مشهود نباشد با سواپ نازک به اندازه ۲-۳ سانتی متر 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.

**نمونه برداری از دهانه رحم - ترشحات واژن**

جهت نمونه گیری ابتدا سرویکس با کمک اسپیکولوم که با آب گرم مرطوب شده مشاهده می شود (بدون استفاده از مواد Lubricant). قبل از نمونه گیری باید تمامی ترشحات از دهانه خارجی رحم پاک شود. با یک سواپ استریل تا حدود ۲-۳ سانتی متر 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 درپوش دار 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 نمونه گیری صورت می گیرد.

ترشحات واژن با استفاده از اسپیکولوم (بدون استفاده از مواد Lubricant) و سواپ استریل از فورونیکس خلفی گرفته می شود. نمونه با سه سوآپ گرفته می شود، یکی را جهت تهیه گسترش مرطوب در لوله درپوش دار

صفحه 20 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

محتوی سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و دو تای دیگر جهت کشت و تهیه گسترش مستقیم مورد استفاده قرار می گیرند.

در صورت مشکوک بودن به نایسریا نمونه پس از تهیه سریعاً در دمای اتاق به آزمایشگاه ارسال می شود. سوآپ های آلژینات کلسیم و بعضی سوآپ های پنبه ای مهار کننده نایسریا بوده، لذا بهتر است از سوآپ داکرون یا ریون استفاده شود.

### جمع آوری نمونه جهت ضایعات پوستی

در اکثر ضایعات پوستی تشخیص ممکن است بر اساس مشاهده ظاهری و تاریخچه بیماری بدون جمع آوری نمونه های تشخیصی صورت گیرد. در مشاهده ظاهری ضایعه، نکات مهمی از قبیل نوع ضایعه پوستی (اریتماتوس، ماکولار، پاپولار، ماکولوپاپولار، وزیکولار، 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 جمع آوری نمونه از راش ها یا ضایعات پوستی نیاز باشد. در موارد راش های وزیکولار، نمونه ها جهت بررسی میکروسکوپی و کشت نمونه مستقیماً از وزیکول ها تهیه می گردد. در خصوص سایر ضایعات اگزانتوماتو (ماکولار یا پاپولار) ممکن است تشخیص بیشتر بر پایه سایر روش ها، نظیر کشت خون و سرولوژی صورت گیرد. در موارد مشکوک به آنتراکس پوستی یا ضایعات خیارکی ممکن است نمونه ها از زخم های پوستی و همچنین نمونه برای کشت خون تهیه شود.

### • روش جمع آوری

\* راش های وزیکولو - پوستولار (جهت تشخیص عفونت های ویروسی)

زخم یا وزیکول تازه و رسیده را با اتانول ۷۰٪ تمیز نمایید. وزیکول: سرنگ توپرکولین با سوزن ۲۷-۲۶ را در حالی که سر سوزن آن به سمت بالا قرار دارد، در پایه وزیکول وارد کنید.

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 سوآپ استریل داکرونی بر روی پایه زخم بمالید (سوآپ آلژینات کلسیم نباید استفاده شود). سپس سوآپ به سرعت در ظرف حاوی محیط انتقال قرار گیرد.

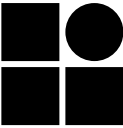
تهیه گسترش: پایه زخم به کمک اسکالپل یا کورت تراشیده شده و سوسپانسیونی از ضایعات در دو تا سه قطره از محیط انتقالی تهیه نمایید. از سوسپانسیون فوق دو تا سه قطره بر روی لام بگذارید. پس از خشک شدن در هوا در استون سرد فیکس نمایید.

### \* نمونه کبره

- به وسیله لانتست و فورسپس یک بار مصرف، کبره ها را از محل خودش جدا نمایید.
- ۵-۱۰ لایه کبره را برداشته و در ظرف پلاستیکی در پیچ دار قرار دهید.
- اگر مشکوک به آنتراکس جلدی هستید، مایع وزیکولی زیر محل زخم نمونه تشخیصی بهتری نسبت به تکه های زخم می باشد.

### \* آسپیراسیون آبسه ها

- 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 می گردد.

صفحه 21 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

•• نمونه را به طریق آسپتیک به لوله استریل حاوی محیط انتقالی منتقل کنید.

#### • انتقال نمونه

نمونه‌ها جهت بررسی باکتریولوژیک باید در محیط آستوارت یا آمیس و سواب‌های 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  $4-8^{\circ}\text{C}$  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)، سیترات سدیم، هپارین، سدیم پلی سولفانات (SPS)، فلوراید سدیم و اسید سیترات 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 خون‌شناسی، بیوشیمی و بانک خون می‌باشد. جهت شمارش سلول‌های خونی و تشخیص افتراقی نمک پتاسیک آن توصیه می‌گردد.

•• سیترات 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 سولفانات به‌عنوان ضد انعقاد جهت شیشه‌های کشت خون استفاده می‌گردد.

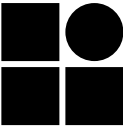
•• اسید سیترات دکستروز به‌عنوان ماده ضد انعقاد در کیسه‌های خون در انتقال خون کاربرد دارد.

#### •• 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  $4^{\circ}\text{C}$  قابل نگهداری است، در غیر این‌صورت نمونه‌ها را می‌توان در محیط‌های نگهدارنده و انتقالی نظیر استوارت، آمیس و کری‌بلر منتقل نمود. در بعضی مواقع می‌توان با اضافه نمودن زغال به محیط استوارت و آمیس اسیدهای چرب موجود در سواب‌های پنبه‌ای، که بازدارنده ارگانسیم‌های سخت رشد نظیر نایسریا گونوره و بوردتلا پرتوسیسی می‌باشند را جذب نمود.

صفحه 22 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

•• مدفوع از نظر توکسین کلستریدیوم دیفیسیل باید بدون مواد نگهدارنده جمع‌آوری گردد و این نمونه تا ۴۸ ساعت در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  قابل نگهداری است. در صورت تاخیر بیشتر، نمونه باید در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  - 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 بررسی های میکروبیولوژی

جهت جلوگیری از ایجاد لخته در نمونه های خون، مغز استخوان و مایع سینوویال از مواد ضد انعقاد استفاده می شود. باند شدن میکروارگانیسم ها به لخته، شناسایی آن ها را مشکل می سازد، لذا استفاده از ضد انعقاد ضروری است. انتخاب نوع و غلظت ضد انعقاد به دلیل اثر ضد میکروبی بعضی از آن ها از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) معمول ترین ضد انعقاد مورد استفاده جهت نمونه های میکروبی می باشد. غلظت مورد استفاده نباید بیشتر از ۰/۰۲۵ (وزنی/ حجمی) باشد. گونه های نایسریا و بعضی باکتری های بی هوازی به غلظت های بالای سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) حساس هستند. نسبت نمونه به ضد انعقاد سدیم پلی آنتول سولفات بسیار مهم است، لذا لازم است حجم های متفاوت از ضد انعقاد در لوله با سایز بزرگ (جهت نمونه بزرگسال) و کوچک (جهت نمونه اطفال) و همچنین جهت مقادیر کم ارگانیسم در نمونه های مغز استخوان و مایع سینوویال موجود باشد.

•• هپارین دیگر ماده ضد انعقاد متداول می باشد و اغلب جهت کشت ویروسی و جداسازی گونه میکوباکتریوم از خون مورد استفاده قرار می گیرد. البته هپارین مهارکننده رشد باکتری های گرم مثبت و قارچ هاست. سیترات سدیم و EDTA جهت نمونه های میکروبیولوژیک نباید مورد استفاده قرار گیرد.

#### نگهداری نمونه

در صورتی که نتوان نمونه ها را در اسرع وقت پس از دریافت نمونه مورد بررسی قرار داد، باید آن ها را در شرایط مناسب نگهداری کرد. دماهای متفاوت مورد استفاده، دمای اتاق ( $22^{\circ}\text{C}$ )، دمای بخچال ( $4^{\circ}\text{C}$ )، دمای بدن ( $37^{\circ}\text{C}$ ) و دمای فریزر ( $20^{\circ}\text{C}$  -  $70^{\circ}\text{C}$  -) می باشند که بسته به نوع محیط انتقالی (در صورت استفاده) و عامل اتیولوژیک عفونت متفاوت است.

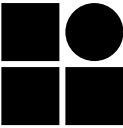
بعضی نمونه ها نظیر ادرار، مدفوع، نمونه جهت بررسی عوامل ویروسی، خلط، سوپ ها (به غیر از عوامل بی هوازی)، وسایل خارجی نظیر کاتتر را می توان در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری نمود.

•• پاتوژن هایی که به سرما حساسند باید در دمای اتاق نگهداری شوند. این عوامل ممکن است در نمونه هایی که حاوی باکتری های بی هوازی بوده و همچنین در اکثر مایعات استریل بدن، نمونه های ژنیتال، سوپ گوش و چشم نیز موجود باشند.

•• سرم جهت بررسی های سرولوژیک تا یک هفته در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - قابل نگهداری است.

•• نگهداری طولانی مدت بافت ها یا نمونه ها در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  - صورت می گیرد.

•• مایع مغزی نخاعی در صورتی که سریعاً مورد بررسی قرار نگیرد تا ۶ ساعت در دمای  $35^{\circ}\text{C}$  قابل نگهداری است. جدول ۳-۴ شرایط نگهداری نمونه های مختلف را نشان می دهد.

صفحه 23 از 23	<b>دستورالعمل</b>	 آزمایشگاه مرجع سلامت
	<b>مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی</b>	

**جدول ۳-۴: شرایط نگهداری نمونه**

دمای اتاق (۲۲-۲۶°C)	دمای ۴°C
آبسه- زخم- ضایعه	نوک کاتتر (IV)
مایعات بدن	مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی ویروس
مایع مغزی نخاعی جهت شناسایی باکتری	گوش خارجی
گوش داخلی	مدفوع (بدون نگهدارنده)
مدفوع (با ماده نگهدارنده)	مدفوع جهت توکسین کلستریدیوم دیفیسیل تا ۳ روز (بیشتر از ۳ روز نگهداری در ۷۰°C-)
تناسلی	خلط
بینی- نازوفارنکس - گلو	ادرار (بدون نگهدارنده)
بافت	
ادرار (با ماده نگهدارنده)	

**موارد رد نمونه**

موارد رد نمونه به شرح زیر بیان می گردد:

- عدم همخوانی اطلاعات برگه درخواست آزمایش و برچسب روی نمونه
  - استفاده از محیط انتقالی نامناسب
  - جمع آوری نمونه در ظرفی که دارای نشت است
  - نمونه ناکافی
  - زمان انتقال بیش از ۲ ساعت در نمونه های بدون مواد نگهدارنده
  - انتقال نمونه در دمای نامناسب
  - خشک شدن نمونه
  - دریافت نمونه در محلول فیکساتیو نظیر فرمالین (نمونه مدفوع مستثنی می باشد)
  - درخواست کشت بی هوازی بر روی نمونه هایی که باکتری های بی هوازی فلور طبیعی آنهاست. (مثل واژن، دهان)
  - نمونه حاصل از کاتتر فولی
  - بیش از یک نمونه با یک منشا از یک مریض در همان روز (به غیر از موارد کشت خون)
  - نمونه سواپ با درخواست های متعدد برای ارگانسیم های مختلف
  - نمونه خلط که در رنگ آمیزی گرم کمتر از ۲۵ سلول سفید و بیش از ۱۰ سلول اپی تلیال در بزرگ نمایی پایین داشته باشد.
- در جدول ۳-۵ تحت عنوان مدیریت نمونه و راهنمای برخورد با آن به طور خلاصه مباحث این فصل بیان گردیده است.