درخواست خدمات آزمایشگاهی

دکتر مرضیه شاکری

بسم الله الرحمن الرحيم

Pre analysis

خطاهای **Pre analysis** : 32-75 درصد تمام خطاهای آزمایشگاهی را شامل می شود.

یک منبع اصلی خطاها و متغیرها ← تاثیر چشم گیر روی نتایج

فاکتورهای پره آنالیز : متغیرهای وابسته به بیمار مانند رژیم غذایی، سن، جنس

جمع آوری نمونه، تکنیک **labeling** ، ضد انعقادها

نگه داری و حفظ نمونه ، انتقال نمونه

Processing ، ذخیره نمونه

منابع بالقوه خطا پره آنالیز :

تست درخواست شده نامناسب

زمان نمونه گیری نامناسب

شناسایی اشتباه نمونه

ناشتایی نادرست

نسبت نامناسب آنتی کواگولان به خون

مخلوط کردن نادرست نمونه

ترتیب نادرست خونگیری

نمونه همولیز (باعث scattering و کاهش نور عبوری) یا لیپمیک (باعث کدورت و ↓ نورعبوری(T))

شایعترین خطا پر کردن نادرست لوله نمونه

قرار دادن نمونه در لوله نامناسب یا نگه دارنده نامناسب

انتخاب تست های غلط

قبل از جمع آوری نمونه

1 درخواست اشتباه آزمایش

2 آماده سازی نادرست بیمار (عدم ناشنایی، مصرف غذای سنگین، نمونه لیپمیک)

3 زمان بندی نادرست مثل زمان سنجش سطح دارو

4 شناسایی نادرست بیمار

در حین جمع آوری نمونه

1) ظرف اشتباه / افزودنی (additive) اشتباه

2) حجم کم نمونه / نسبت غلط ضد انعقاد به خون

3) Hemoconcentration بعلت بستن طولانی تورنیکه

4) همولیز به دلیل تکنیک غلط (پر یا خالی کردن با فشار خون از طریق سوزن، خون گرفتن از آنژیوکت مثل Intra venus device)

بعد از جمع آوری نمونه

1) مخلوط کردن ناکافی خون / وجود لخته

2) انتقال نامناسب به آزمایشگاه ← در معرض نور، دمای پایین یا بالا، تاخیر در تحویل نمونه

3) برچسب اشتباه روی نمونه

4) خطاهای proccessing : سانتریفیوژ ناقص، اشتباه وارد کردن به سیستم، نگه داری یا تقسیم نامناسب نمونه قبل از آنالیز

تکنیک صحیح جمع آوری نمونه در حداقل آسیب به نمونه گیرنده و به بیمار بسیار حیاتی و ضروری است.

جمع آوری نمونه یک بخش بسیار مهم آزمایشگاه است.

متغیرهای پیش از جمع آوری نمونه

فاکتورهای فیزیولوژیک (مربوط به بیمار) :

تغییرات روزانه **Diurnal variation**

اهمیت : آزمایشات هورمونی، آهن، اسید فسفاتاز، دفع ادراری الکترولیتها

کورتیزول: پیک در 4-6am - کمترین در 8-12pm - 8 am > 50% 8pm - استرس موجب افزایش سطوح کورتیزول میشود.

آدرنوکورتیکوتروپین (EP-Nepi): شب کاهش، استرس افزایش

آلدوسترون و انسولین : شب کاهش

Renin plasma activity : شب کاهش - ایستاده > خوابیده

تیروکسین : با ورزش افزایش

پرولاکتین : افزایش در 4-8am و 8-10pm - با استرس افزایش

آهن : پیک در صبح - طی روز تا ۳۰٪ کاهش (مهم)

هورمون رشد و اسید فسفاتاز : بعد از ظهر و غروب افزایش

کلسیم : حالت خوابیده 4% کاهش

فسفر ونوتروفیل : غروب کمتر

ورزش

تغییرات موقت : یک کاهش اولیه و سپس افزایش در **FFA** (اسید چرب آزاد)

لاکتات ممکن است تا ۳۰۰٪ افزایش

ممکن است افزایش LD AST CK

ممکن است فعال کردن لخته سازی ، فیبرینولیز ، پلاکتها

تاثیرات طولانی مدت : ممکن است افزایش CK ، الدولاز، LD ،AST

آنزیمهای عضلانی در ورزش هوازی کمتر تحت تاثیراند

کاهش گنادوتروپین و هورمون جنسی استروئیدی در ورزش دو استقامتی اما Prolactin افزایش

رژیم غذایی

بعد از خوردن غذا : افزایش گلوکز و TG

بسته به میزان چربی **:** افزایش **K, TG, Alp, 5HIAA** و کاهش **P**

تستهای نیاز به ناشتایی : **Glu, Alp, P, plasma K, LDL, 5HIAA, TG**

T.chol و **HDL** میتوان روی نمونه غیر ناشتا انجام داد.

بعد از ۴۸ ساعت ناشتایی : افزایش **Bili**

بعد از ۷۲ ساعت ناشتایی : کاهش گلوکز در زنان سالم تا **45mg/dL**

در مردان افزایش TG ، گلیسرول ، FFA ، بدون تغییر در Chol

جهت اندازه گیری گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول و الکترولیتها باید جمع آوری خون در basal state صورت گیرد.

ادامه رژیم غذایی

تاثیر رژیم روی stool occult blood با ارزیابی Hem : مصرف گوشت، ماهی، آهن، ترب کوهی Horse radish، أنتي

اسید حاوی بیسموت (پتوبیسمول) : (+) کاذب

هایپرشیلومیکرونمی : افزایش کدورت سرم یا پلاسما ← تداخل با آنالیز

رژیم های غذایی خاص

گیاه خواری طولانی مدت : کاهش LDL, VLDL, Total Fat, Phospholipid, Chol, TG و کمبود Vit B12 در صورت عدم مصرف مکمل

رژیم پرگوشت و پرپروتئین : افزایش اوره سرم، آمونیاک، اورات

رژیم پر پروتئین و کم کربوهیدرات (مثل **Atkin**) **:** افزایش کتون ادرار و **BUN** سرم

میزان بالای چربی غیر اشباع نسبت به اشباع : کاهش کلسترول سرمی

غذای غنی از پورین : افزایش اورات

آناناس، موز، گوجه فرنگی، آووکادو : افزایش سروتونین ← افزایش **5HIAA** ادراری

آبجوی کافئین دار : افزایش FFA و ترشح کاته کولامین از مدولای آدرنال و مغز

الکل ← افزایش TG، لاکتات، اورات

سوء مصرف مزمن الکل : افزایش HDL, GGT، اورات و MCV (ماکروسیتیک)

چاقی مهم *

ارتباط با APO B LIP، Chol TG

افزایش LD ، ساخت کورتیزول ، گلوکز

افزایش غلظت انسولین ولی اختلال تحمل گلوکز

مردان چاق : کاهش تستوسترون(مهم)

استرس جسمی و روحی

تحریک تولید ACTH کورتیزول، کاته کولامین

استرس خفیف : افزایش کلسترول تام ، کاهش 15% HDL

هایپرونتیلاسیون

اثر روی تعادل اسید و باز + افزایش لکوسیت ، لاکتات ، FFA

وضعیت بدن **Posture**

وضعیت ایستاده آفزایش فشار هیدروستاتیک و کاهش حجم پلاسما ← ↑ غلظت **Pr** و **Alb** و **Ca**

تاثیر روی **Albumin**، **Total pr**، آنزیم، کلسیم ، **TG Bil** و **Chol** ، داروهای متصل به **Pr**

تورنیکه طولانی و مشت کردن دست

افز ایش لاکتات، آنزیم سرمی ، Pr ، مواد باند به Pr مثل Ca، TG chol و Hemoconcentration

بستری شدن در بیمارستان

کاهش کاذب Hb نسبت به زمان پذیرش ← شک کاذب به خون ریزی و همولیز، بعلت دریافت مایعات وریدی

تاکید به بیماران ← 24 ساعت قبل از انجام آزمایش خون از هر گونه تغییرات رژیم

غذایی ، مصرف الکل و فعالیت سنگین خودداری کنند.

سن

چهار گروه سنی : نوزادی کودکی تا بلوغ، بزرگسالی، پیری

عمده **Hb** نوزادی HbF و بزرگسالی HbA

Bil بعد از تولد افزایش و Peak تا ۵ روزگی و در HDFN (بیماری همولیتیک نوزادی) پیوسته افزایش

گلوکز در نوزادان < بزرگسالان

با افزایش رشد افزایش **ALP** و **کراتینین**

اسید اوریک سطح بالا در نوزادان ← ۱۰ روز اول کاهش← تا ۱۶ سالگی افزایش بخصوص در پسران ، اوج UA در مردان ۲۰ سالگی و زنان در میانسالی

بسیاری از اجزای سرمی در دوران بزرگسالی تا شروع یائسگی در زنان و میانسالی مردان ثابت

افزایش (0.05mmol/L) 2mmg/dL در هر سال **Total chol** و افزایش (0.02mmol/L) 2mg/dl در هر سال در **TG** تا میانسالی

Post menopause در زنان : افزایش **chol** (بخاطر کاهش استروژن)

افراد پیرتر : 3PTH T ، الدسترون، کورتیزول

بعد از ۵۰ سالگی در مردان کاهش ترشح و غلظت تستوسترون

در زنان : افزایش FSH

جنس

بعد از سن بلوغ **مردان > زنان** : AST، ALP و CK، ALT ، الدولاز

در زنان پایینتر : Ferritin serum Fe Hb Alb Mg, Ca

مصرف تنباکو (افراد سیگاری) (مهم)

افزایش کربوکسی Hb ، کاته کولامین پلاسما ، کورتیزول سرم

↑FFA. Monocyte .Neut ↑, EOS↓

اثرات مزمن : ↑ **MCV RBC Hb،WBC**

کاهش B12← با تیوسیانات نسبت عکس

↑ لاکتات پلاسما ،انسولین، اپی نفرین ،GH، ترشح ادراری SHIAA

↓IgG-IgM, ↑ IgE

↓ تعداد و حرکت اسپرم + ناهنجاری مورفولوژیک اسپرم

متغیرهای جمع آوری نمونه مربوط به آزمایشگاه

همولیز

باعث scattering و کاهش نوری عبوری

علت :

فشار مستقیم روی رگ در پیدا کردن رگ - سوزن بسیار کوچک

کشیدن پیستون سرنگ با فشار زیاد به عقب

وارد کردن خون با فشار به لوله

تکان دادن یا مخلوط کردن شدید لولهها

خون گیری قبل از خشک شدن الکل در محل نمونه گیری

نشانه : سرم یا پلاسمای صورتی رنگ

موجب ↑ کاذب : Total Pro, Ammonium, P, LD, Fe, Mg, K

بسیار مهم : تغییرات متعاقب لیز RBC

کاهش گلوکز و سدیم (مهم)

افزایش به ترتیب شدت : LD(1 AST(2 ALT(3 K(4 P(5 , Ca

نکته کمترین اثر همولیز در کل روی Na و Ca

بیشترین اثر : LDH و AST

نکات مربوط به K

هایپرکالمی کاذب : همولیز ، فاز حاد یا **accelerated** لوکمی (بلاست فراوان)

پسودوهایپوکالمی : WBC بالا با جمع آوری خیلی آرام و آهسته

چنین نمونههایی روی یخ منتقل شوند تا جذب **K** با واسطه آنزیم کاهش یابد.

در کل **K** سرم > پلاسما (بخاطر آزادسازی از پلاکت حین لخته شدن)

مشکلات **hemodilution** و **hemoconcentration**

بیمار در وضعیت طاق باز به مدت 15-20 min قبل از نمونه گیری بخوابد

جلوگیری از بستن طولانی مدت تورنیکه

لوله های خونگیری

اهمیت ترتیب درست پر کردن لوله ها

مخلوط کردن کافی و آرام خون با ضد انعقاد در صورت وجود لخته کوچک اختلال در CBC و انسداد و اختلال در اتوآنالیزر

سرم ایکتریک یا لیمبیک

بسیار مهم Bill>25mg/dl موجب :

تداخل در سنجش Alb (به روش HABA) کلسترول (با مصرف کلرید آهن فریک) ، توتال Pr (روش بیوره)

افزایش TG>400mg/dl (توربیدیتی) :

افزایش کاذب مقادیر بر مبنای جذب نوری، مهار سنجش آمیلاز ،اورات ،اوره CK،Total Pr Bili

اثرات دارویی

اسید اسکوربیک (VitC)

(+) یا (-) کاذب ← تداخل (+) در روشهای احیا مواد و تداخل (-) در متدهای آنزیماتیک

تداخل در روشهای بر مبنای اکسیداسیون و احیا

تداخل در تستهای شیمیایی سرم با اتوآنالیزر و بررسی گلوکز در تست ادراری

تست occult blood

STAT : بلافاصله

پراکسیداز گوشت (میوگلوبولین) ، گیاهان (ترب کوهی) (+) کاذب

روش برمبنای گایاک : یدین یا کلرین موضعی (بتادین) (+) کاذب

جمع آوری نمونه

زمان نمونه گیری

نمونه های stat : بلافاصله جمع آوری و آنالیز - در بالاترین اولویت در آزمایشگاه - درخواست معمولاً از اورژانس و ICU

as soon as possible : ASAP

پایش دارودرمانی

Trough specimen پایین ترین سطح دارو در خون، حدود 30 min قبل از تزریق دارو (مصرف دوز بعدی)

نمونه **Peak** حداکثر غلظت دارویی، اندکی بعد از تزریق دارو، متفاوت بین داروها

فاصله زمانی جمع آوری نمونه پایه و حداکثری توسط تولیدکنندگان دارو باید مشخص شود.

علل **Specimen Rejection** دلایل رد نمونه *مهم*

همولیز یا لیپیمی (نمونه ایکتریک جز دلایل رد نمونه نمی باشد)

لخته در نمونه حاوی ضد انعقاد

نمونه غیر ناشتا جهت تست نیازمند ناشتایی

لوله نامتناسب برای خونگیری

مقدار کم نمونه ، حجم اشتباه نمونه (short drow, wrong volum)

شرایط انتقال نامناسب (یخ جهت ABG)

تفاوت میان درخواست و برچسب روی نمونه

نمونههای unlabeled یا mislabeled

نمونه آلوده شده / نشست کردن از ظرف نمونه

جمع آوری نمونه خون

لوله های آزمایشگاهی با درپوش رنگی که شده ← نشانه وجود یک ضد انعقاد یا افزودنی ویژه با بدون هیچ افزودنی

اینکه چطور لوله به صورت شیمیایی تمیز شده اهیت دارد ← مثلاً جهت اندازه گیری Fe یا سرب ← حتماً اسیدواش شده

ضد انعقاد : فراهم کردن پلاسما (حاوی فیبرینوژن، جداسازس توسط سانتریفیوژ) یا whole blood

عدم وجود ضد انعقاد : نمونه سرم (فقدان فیبرینوژن)

order of draw ترتیب خونگیری با روش سرنگ و evacuated tube (بسیار مهم)

(۱) لوله کشت خون BC درب زرد

(۲) لوله کواگولاسیون (آزمونهای انعقادی) حاوی سیترات سدیم درب آبی

(۳) لوله سرم فاقد ضد انعقاد **gel separator** یا **clot activator** درب قرمز

(۴) لوله هپارین با یا بدون **gel** درب سبز

(5) لوله **EDTA** درب بنفش (**lavender**)

(۶) لوله حاوی مهارکننده گلیکولیز (سدیم فلوراید) جهت قند درب خاکستری

تغییر در لولههای شیشه ای به پلاستیکی نیازمند تغییر در ترتیب خونگیری است

نکته مهم در کل پر کردن لوله های شیشه ای یا پلاستیکی حاوی مواد additive شامل gel tube باید بعد از لوله های حاوی سیترات (درب آبی) انجام شود جهت جلوگیری از تداخل با آزمایشات انعقادی

اما لوله های سرم پلاستیکی یا شیشه ای بدون **clot activator** یا **gel separator** طبق دستور **CLSI** ممکن است قبل از لوله کواگولاسیون (انعقادی) پر شود چون ضد انعقاد ندارد.

ضد انعقادها و افزودنیها Anti couagulant additives * بسیار مهم *

EDTA : ضد انعقاد انتخابی جهت CBC و مورفولوژی سلولی

لوله درب بنفش (lavender) به صورت مایع EDTA 3 یا اسپری خشک (dryied spray) از K2 EDTA

K2 EDTA در لوله پلاستیکی به شکل اسپری خشک

K3EDTA در لوله شیشه ای به شکل مایع ← باعث ۲-۱ درصد رقیق شدن نمونه

لوله درب صورتی (**Pink**) حاوی **K2 EDTA** به صورت اسپری خشک

جهت ایمنوهماتولوژی (بانک خون) با یک برچسب اختصاصی cross match + آزمایشات مولکولی

لوله درب سفید حاوی **EDTA** + ژل :

پلاسما جهت تست تشخیص مولکولی ← نوکلئیک اسید/ PCR

سیترات سدیم : لوله با درب آبی روشن (light blue) جهت تستهای انعقادی (کواگولاسیون) PT, PTT,...

نکته : سیترات حفظ و نگهداری فاکتورهای انعقادی ناپایدار

غلظت مناسب : 3.2% (0.105 M) یا 3.8% (0.129 M)

نسبت صحیح خون به ضد انعقاد 9 به ۱ یعنی 4.5cc به 0.5cc حتماً لوله به میزان کافی کافی پر شود.

حجم خون ناکافی خون نسبت به ضد انعقاد : ↑ کاذب زمان لخته

نکته مهم در پلی سایتمی (↑ HCT) حتی در لوله با حجم کافی پر شده، ↑ کاذب PT، PTT دیده می شود

باید نسبت ضد انعقاد به خون کاهش یابد با فرمول 100-HCT/595-HCT = میزان ضد انعقاد به cc خون

هپارین : لوله های درب سبز (**Green**) جهت بیوشیمی (شیمیایی)

به صورت لیتیم هپارین (LiHep)

سدیم هپارین در درمان ضدانعقاد این فرم هست.

مزیت نسبت به EDTA : عدم تاثیر روی سطح یونها مثل Ca, Mg, P....

×× تداخل : روشهای ایمنواسی - روشهای مولکولار (PCR) ، مهار DNA پلی مراز

xx ممنوع: جهت تستهای هماتولوژی یا انعقادی (↑ PTT, PT)

پلاسمای هپارینه جهت اندازه گیری **+K** ترجیح داده میشود **(**بدلیل ترشح پتاسیم از پلاکت در سرم لخته**)**

LiHep : ممنوع جهت سطح فولات و لیتیم

مناسب برای تستهای شیمیایی اکثرا این فرم هپارین

NaHep : توصیه برای عناصر کمیاب ، سرب ، توکسیکولوژی (سم شناسی)

هپارین جهت سایتوژنتیک و کاریوتیپ ضد انعقاد انتخابی است

هپارین جهت فلوسیتومتری ترجیح داده می شود

سدیم فلوراید : یک glycolytic inhibitor تا سه روز (در سپتی سمی باکتریایی عدم تاثیر در مهار گلیکولیز)

لوله با درب خاکستری

جهت اسید لاکتیک ← لوله فلوراید اگزالات

جهت اندازه گیری قند

لوله درب قرمز :بدون additive ← نمونه لخته یا سرم

شیشه ای : هیچ افزودنی ندارد

پلاستیکی : حاوی clot activator

لوله حاوی Gel separator :

مزایا

1) استفاده آسان

2) زمان processing کوتاه بخاطر clot activation (فعالسازی لخته)

3) محصول سرمی بیشتر

4) نیاز به تنها یک مرحله سانتریفیوژ

5) حداقل آزادسازی آئروسل با پتانسیل ایجاد خطر

6) استفاده از یک نمونه برای بیمار

7) استفاده از یک برچسب منفرد

مزیت ویژه : انتقال نمونه های سانتریفیوژ شده بدون هیچ خللی در جداسازی

• لوله حاوی Gel separator + Clot activator

لوله های طلایی و قرمز - خاکستری ← سیلیکونی

زرد خاکستری / نارنجی ← حاوی ترومبین

Serum separation tubes : SST.

زمان لخته شدن در لوله حاوی gel separator : 30 min

در لوله حاوی clot activator مثل ترومبین 5 min

لوله ساده با درب قرمز بدون افزودنی 60 min

کاربرد : تستهای شیمیایی

نکات مهم :

1) نمونه های پایش دارویی نباید در لوله حاوی **gel separator** آنالیز شود : موجب کاهش فنی توئین، فنوباربیتال ، لیدوکائین ، کوینیدین، کاربامازپین / به دلیل جذب دارویی به ژل

عدم تغییر تئوفیلین و سالیسیلات

نمونه در لوله های vacutainer با درب قرمز استاندارد بدون ژل تاثیری روی دارو ندارد

ژلهای اکریلیک مشکلات جذبی مرتبط با ژلهای سیلیکونی و پلی استری را ندارد

2) نمونه جهت بانک خون یا تستهای ایمنولوژیکی نباید از لوله حاوی ژل استفاده شود.

Tube Color and Anticoagulant/Additive

Stopper Color Anticoagulant/Additive Specimen Type/Use Mechanism of Action

Red (glass) none Serum/chemistry and serology n/A

Red (plastic/Hemogard) Clot activator Serum/chemistry and serology Silica clot activator

Lavender (glass) K3EDTA in liquid form Whole blood/hematology Chelates (binds) calcium

Lavender (plastic) K2EDTA/spray-dried Whole blood/hematology Chelates (binds) calcium

Pink Spray-dried K2EDTA Whole blood/blood bank and

molecular diagnostics

Chelates (binds) calcium

White EDTA and gel Plasma/molecular diagnostics Chelates (binds) calcium

Light blue Sodium citrate Plasma/coagulation Chelates (binds) calcium

Light blue Thrombin and soybean trypsin inhibitor Plasma/coagulation Fibrin degradation products

Black Sodium citrate Plasma/sed rates—hematology Chelates (binds) calcium

Light green/black Lithium heparin and gel Plasma/chemistry Inhibits thrombin formation

Green Sodium heparin, lithium heparin Plasma/chemistry Inhibits thrombin formation

Royal blue Sodium heparin, K2EDTA Plasma/chemistry/toxicology Heparin inhibits thrombin formation

na2EDTA binds calcium

Gray Sodium fluoride/potassium oxalate Plasma/glucose testing Inhibits glycolysis

yellow Sterile containing sodium

polyanetholesulfonate

Serum/microbiology culture Aids in bacterial recovery by

inhibiting complement,

phagocytes, and certain antibiotics

yellow Acid citrate dextrose Plasma/blood bank, HLA phenotyping,

and paternity testing

WBC preservative

Tan (glass) Sodium heparin Plasma/lead testing Inhibits thrombin formation

Tan (plastic) K2EDTA Plasma/lead testing Chelates (binds) calcium

yellow/gray and orange Thrombin Serum/chemistry Clot activator

Red/gray and gold Clot activator separation gel Serum/chemistry Silica clot activator

اثر ضد انعقادها روی آزمایشها بسیار مهم *

: EDTA

مهار **LAP, CK, ALP**

کاهش **Ca & Fe**

افزایش **Na, K, PT, PTT**

مهار تجمع پلاکتی

نکته سطح K ↑ ↑ و Ca ↓ ↓ در لوله درب قرمز ← نشانه خطای آلودگی با EDTA

اگزالات :

مهار اسید فسفاتاز ALP ،آمیلاز ,LD/ کاهش Ca ، افزایش Na, k

تخریب مورفولوژی سلولی ، قطعه قطعه شدن هسته

نمیتواند جهت هماتوکریت بکار رود

ترکیب آمونیوم / پتاسیم اگزالات فقدان اثر روی HCT

سیترات :

مهار Alp ALT AST / افزایش آمیلاز و Na, K, Ca / تحریک اسید فسفاتاز ،

هپارین :

(Na Hep) Na ↑

(Li Hep) Li ↑

, PTT, PT, T4 , T3 ↑

و

در رنگ آمیزی رایت باعث زمینه آبی می شود.

فلوراید سدیم :

کاهش اسید فسفاتاز ،ALP، آمیلاز، ALT ،CK و AST (تمامی آنزیم ها)

تخریب مورفولوژی سلولی

مهار گلیکولیز بواسطه تشکیل کمپلکس یونی با 2Mg ← مهار آنزیم وابسته به Mg یعنی انولاز

اثرات ذخیره سازی و نگهداری خون

تغییر آنالیتها در نتیجه فرآیندهای :

جذب توسط لوله پلاستیکی یا شیشه ای، تجزیه پروتئین ، تبخیر ترکیبات ،فرار جابجایی مایع بدرون سلولها و در نتیجه Hemoconcentration سرم و پلاسما فعالیت متابولیکی مداوم لکوسیت و اریتروسیتها

نکته مهم : جداسازی سریع سرم و پلاسما ← پایداری و ثبات آنالیتها

جلوگیری از تغییر گلوکز

کاهش گلوکز در سرم و پلاسمای جدا نشده به سرعت در عرض 24 ← سپس سرعت کاهش کمتر

کاهش در پلاسما واضح تر

رویکرد جهت حل مشکل

1) جداسازی سریع سرم یا پلاسما از RBC

2) Preservative : جمع آوری در لوله سدیم فلوراید مهار گلیکولیز تا 72

برروی گلیکولیز در ساعات اولیه نگهداری اثر اندکی دارد و ممکن است تا **4 h** هم کاملاً مهار نشود . در نمونه های حاوی فلوراید که بلافاصله جدا نشود کاهش، گلوکز به میزان **0.39mmol/l** نیز دیده شده است.

تغییر دیگر آنالیتها طی نگه داری

لاکتات : ↑ ، افزایش در پلاسما بیشتر از سرم است serum <P

کلراید و CO2 تام : یکنواخت تا 56h serum <P

پتاسیم : تا ۲۴ ساعت پایدار ← سپس ↑ سریع serum <P

مهم سرم و پلاسمای جدا نشده ↑↑ Alb, Total pr - اوره ، نیتروژن - بیلی روبین توتال - Ca و Mg و Na

حداقل پایداری در سرمی که در مدت 30min جدا نشده است : K و P و گلوکز(↓)

ناپایداری در صورتی که بعد از 6 سرم جدا نشده : Alb, HCO3, Cl, C -Peptid, Total Pro, Fe, HDL, LDL

سرم و پلاسمای جدا نشده :

Chol و آنزیم ها ↑ Serum <P

LD ↑ مداوم تا 56h

AST, ALT, CK پایدار تا 56h

GGT پلاسما با یا بدون جدا شدن از سلولها در 0.5 ساعت اول serum >27%

اگرچه در مواجه طولانی با سلولها به صورت یکنواخت افزایش یافته

Cr ↑ تا ۱۱۰% در پلاسما و تا 60% در serum بعد از 72-48

نتایج متفاوت سرم و پلاسما مثلاً : **PTH** پلاسمای **Serum <EDTA** (حدودا 19%)

مهم نمونه خون **CBC** و مورفولوژی تا **24h** در یخچال قابل نگه داری است.

تکنیکهای جمع آوری خون

نمونه گیری خون وریدی

نواحی که نباید سوزن زده شود سمتی که ماستکتومی شده و نواحی ادم، نواحی سوخته، زخم و اسکار

قبل از نم,نه گیری بستن تورنیکه + بیمار دست خود را مشت کند بدون اینکه مشت را محکم باز و بسته کند.

تمیز کردن محل خونگیری: الکل ایزوپروپیل ۷۰٪ + صبر کنید تا محل خشک شود.

وارد کردن سوزن در زاویه 30 درجه نسبت به بازو + سوراخ نوک سوزن رو به بالا باشد

در صورت استفاده از سرنگ: عقب کشیدن پیستون به آرامی و یکنواخت. هرگز با سرعت و فشار شدید به عقب نکشید ←

جلوگیری از همولیز یا کلاپس وریدی

زمانیکه خون شروع به حرکت کرد تورنیکه را باز کنید .

مخلوط کردن به آرامی لوله های حاوی ضد انعقاد (به آرامی سروته کنید ، تکان شدید ندهید)

Labeling لوله ها قبل از اینکه بیمار محل را ترک کند شامل نام و نام خانوادگی شماره شناسنامه، تاریخ نمونه گیری و زمان نمونه گیری و نام و مشخصات شخص نمونه گیر

خونگیری Arterial (شریانی ← بیشتر جهت ABG)

انتخاب شریان به ترتیب اولویت (۱) رادیال (۲) براکیال (۳) فمورال

قبل از خونگیری از شریان رادیال مچ دست حتماً Modified Allen test انجام شود :

نتیجه (+) ← نشانه خونرسانی کافی و (-) نباید خونگیری شود

عوارض اصلی ترومبوز ، خونریزی ،عفونت ، هماتوم

نواحی غیر قابل قبول ← خراشیده ، ادم ، نزدیک زخم ، نزدیک یک شانت یا فیستول شریانی وریدی

ضد عفونی کردن محل ← (۱) محلول آبکی (aqueous) ایزوپروپانول ۷۰% سپس ← (۲) iodine (بتادین)

سوزن شماره : 18-20g برای شریان براکیال و 23-25g برای رادیال

زاویه ورود سوزن : 45-60 درجه ، برای فمورال 90 درجه

ضد انعقاد : **Heparin 0.05ml** مایع **IU/mL** 1000 به ازای هر **ml** خون

رایج ترین خطای پره آنالیز در **ABG** = استفاده بیش از حد هپارین

انتقال نمونه در ظرف یخ دمای مناسب نگه داری 5-1 درجه سانتیگراد

خونگیری از پوست انگشتان دست یا پاشنه پا (خون مویرگی)

کاربرد:

کودکان و نوزادان ترجیحا پوست پاشنه پا و کودکان بزرگتر پوست انگشتان

بزرگسالان : چاقی شدید، سوختگی شدید، زمینه ترومبوز، تستهای بر بالین بیمار **point of care** و تستهای درخانه مثل قند خون

در بیماران سالخورده ترجیح داده می شود.

تکنیک :

ناحیه مناسب نوزادان کمتر 12 ماه : سطح Lat یا Med کف پاشنه پا

کودکان >12 ماه و بزرگسالان : سطح palmar بند دیستال انگشت 2، 3 و 4

ناحیه ممنوع انگشت 5 و شست ، ادم، سوراخ شدگی قبلی

گرم کردن محل خونگیری با حوله گرم و مرطوب کمتر از 42 درجه یا 5-10min در آب گرم کمتر 42 درجه

تمیز کردن محل : ایزوپروپانول ۷۰٪ ← خشک شود.

عدم لمس ناحیه با هیچ شیء غیر استریل

سوراخ کردن پوست با یک حرکت آرام عمود به سطح پوست

قرار دادن انگشت اشاره روی قوس کف پا و انگشت شست روی مچ پا در prox ناحیه

در حین خونگیری پاشنه را محکم نگه دارید

نکته : پهنای تیغ > 2cm نباشد ← احتمال آسیب به استخوان پاشنه

اولین قطره خون با پاک کردن با یک پد استریل و دور ریخته شود.

<u>تنظیم جریان خون با فشار آرام انگشت شست ندوشید ← باعث همولیز و مایع بافتی زیاد می شود</u>

سیستمهای جمع آوری close جهت جمع آوری خون بدون ضد انعقاد و با افزودنی جهت whole blood در دسترس است

میکروپیپت شیشه ای یکبار مصرف با سوراخ باریک و انتهای باز اغلب تا حجم 200 میکرولیتر قابل استفاده است و هم هپارینه و هم غیر هپارینه در دسترس است.

نکته : حتماً در report ذکر شود که نتایج حاصل خونگیری پوست هستند.

بهترین روش جمع آوری خون جهت ABG نوزادان ← کاتتر شریان نافی

تکنیک نمونه گیری از CVA (کاتتر)

5cc ابتدایی مایع داخل وریدی دور ریخته شود ← پاک کردن هپارین که جهت باز نگه داشتن ورید استفاده می شود.

PTT, PT و TT (انعقادی) نسبت به تداخل هپارین بسیار حساس اند حجم بیشتری از خون دور ریخته شود.

نمونه از CVP احتمال آلودگی کمتر است

تشخیص آلودگی کاتتر از عفونت واقعی نیازمند آنالیز چندین نمونه از کاتتر و خون محیطی است.

ترتیب خونگیری از **catheter lines**(مهم)

1) در یک سرنگ پر کنید و دور بریزید

2) خون جهت BC (کشت خون)

3) خون جهت لوله های حاوی ضد انعقاد (بنفش سبز، آبی و ...)

4) خون جهت clot tube (لخته) (قرمز ، SST و ...)

جمع آوری نمونه ادرار و دیگر مایعات

ادرار

چندین روش جمع آوری : 24h، timed، clean catch، random و catheterized

نمونه random هر زمانی گرفته، اما نمونه اول صبح بهتر است (غلیظ تر و PH کمتر)

در یک ظرف غیر آلوده به مواد شیمیایی، شیشه ای یا پلاستیکی

نمونه Clean catch نمونه با دقت خاص وسط ادرار

نمونه مشابه جهت UC : نمونه گیری در لوله درب خاکستری حاوی 3.335mg/l سدیم فومارات و 6.7mg/l بوریک اسید

نمونه Timed جمع آوری در بازه زمان خاص

مثل اوروبیلینوژن ساعت 2-4pm مناسب

نمونه 24h ظرف غیرقابل شکستن ، حجم حدود 4L، پلاستیکی، از نظر شیمیایی تمیز، نگه دارنده مناسب از قبل به آن اضافه شده

حین تحویل نمونه از بیمار حتماً حجم ادرار وی ثبت شود.

نمونه کاملاً مخلوط شده و یک حجم کوچک آن حدود 4ml جهت آنالیز برداشته شود

ارزیابی کفایت حجم نمونه ← آیا جمع آوری کامل است یا خیر با اندازه گیری Cr نمونه ← مقایسه با تولید کراتینین روزانه در هر فرد :

Men Cr = 28 – 0.2 Age * Kg/24h urine volume (dl) = urine Cr/dl/day

Women Cr = 28.3 – 0.17 Age * Kg/24h urine volume (dl)

نگه داری و ذخیره ادرار

نگه داری : بلافاصله بعد از نمونه گیری وارد یخچال یا اضافه کردن preservative

در صورت اضافه کردن یک preservative به یک ظرف خالی نمونه گیری ← حتماً یک برچسب هشدار روی ظرف چسبانده شود

(مخصوصاً اگر اسیدی باشد)

میتوان در مورد ادرار **24** ساعته ← به بیمار گفته شود که ادرار را در طی ۲۴ ساعت در یخچال بگذارد و به محض تحویل نمونه، نگه دارنده مناسب اضافه شود.

Bili ادرار ← جمع آوری حتماً در ظرف پلاستیکی با رنگ تیره

جهت **WBC , RBC, Cast** ادرار تازه و تغلیظ شده استفاده شود

در صورت ماندن در دمای اتاق و ↑ PH (ادرار قلیایی) یا ↓ SG (هایپوتونیک < 1.015) عناصر (WBC, RBC, Cast) تجزیه می شوند.

Bili و اوروبیلینوژن ← در معرض نور : ↓

کتون و گلوکز در ادرار مانده مخصوصاً در آلودگی باکتریایی : ↓

ادرار مانده : ↑ PH و تشکیل رسوب و کدورت و تغییر رنگ ادرار

ایده آل : آنالیز طی hl بعد از نمونه گیری

ممکن است فریز شود ← فقط جهت آنالیز شیمیایی

تغییر تستهای ادراری در صورت تاخیر در انجام

تغییر رنگ و بو - افزایش کدورت - ↑ PH یا ↓ PH کاذب

منفی کاذب : گلوکز ،کتون، بیلی روبین، اوروبیلینوژن

نیتریت : + و - کاذب

افزایش باکتری ادرار

از دست دادن سلول و کست (تجزیه)

Preservative ادرار (بسیار مهم)

سدیم فلوراید

جهت گلوکز ادرار 24 ساعته

مهار گلیکولیز سلولی + مهار رشد باکتری/ عدم تاثیر در مهار رشد قارچ و مخمر

اضافه کردن 0.5gr به 3-4L ادرار

نکته : مهار تست نواری قند ← (-) کاذب

بوریک اسید

- با غلظت 1g/dL، به میزان 10gr جهت ادرار 24h (3-4L ادرار)

حفظ **استروژن و استرادیول ، آلدوسترون و کورتیزول** تا ۷ روز

حفظ PH در حد ۶- حفظ پروتئین و عناصر شکل گرفته، بدون تداخل با تستهای روتین بجز PH

یک ترکیب باکتریواستاتیک (نه باکتریوسیدال) – عدم مهار رشد مخمر

تداخل با آنالیز داروها و هورمونها

اسید کلریدریک **(HCL)**

اضافه کردن 6 HCl 10mL نرمال به 3-4 لیتر ادرار

ایجاد PH حدود 3 که جهت بررسی شیمیایی مناسب است اما موجب تخریب عناصر شکل گرفته و ↑ رسوبات اسید اوریک شده

جهت کاته کولامین، **5HIAA, HVA, VMA** سیستین / هیدروکسی پرولین، متانفرین، اگزالات

بررسی سیتولوژی ادرار

اگر تاخیر> 24h ← میزان برابر الکل 50%، فیکساتور ساکومانوز و surepath یا preserve CT

****مهم: اندازه گیری های ادرای که نیاز به نگه دارنده ندارد فقط سرد کردن در یخچال :**

آمینواسید، آمیلاز، کلسیم سیترات، کلراید، مس، کراتینین، ALA، گلوکز، 5HIAA، عناصر سنگین، آرسنیک، سرب و جیوه، هیستامین، ایمنوالکتروفورز، لیزوزیم، منیزیم، متیل مالونیک اسید، میکروآلبومین، موکوپلی ساکاریدوز، فسفر، پورفوبیلینوژن، پورفیرین، پتاسیم، پروتئین، الکتروفورز، پروتئین، سدیم، اوره، اسید اوریک و تست تحمل گزیلوز

مایع CSF

ممنوعیت انجام LP :

1) Tonsilar Herniation & ↑ ICP

2) تومور طناب نخاعی(مگر LP به نفع بهبود درمان یا پیش آگهی باشد)

3) نوزادان ← موجب خفگی / با احتیاط انجام شود

4) عفونت ناحیه کمری (پوستی، سلولیت، آبسه اپی دورال)

فشار CSF

قبل از جمع آوری باید 90-180mmHg باشد.

علل ↑> 180 : نگه داشتن تنفس، CHF، التهاب مننژ، انسداد سینوس وریدی داخل مغزی، ضایعات Mass، ادم مغزی

در صورت فشار نرمال 20ml نمونه گرفته شود

پایان کار فشار باید حدود 10-30mmHg کاهش یابد

کاهش واضح فشار به دنبال **LP** : نشانه فتق تونسیلار یا فشار روی طناب نخاعی / **CSF** اضافی نباید گرفته شود.

کاهش فشار< 80 : در بیماران بلوک نسبی یا کامل نخاع با خارج کردن **CSF 1mL** فشار به صفر میرسد (نباید **CSF** بیشتری گرفت)

در صورت P>200 باشد نباید< 2ml مایع گرفت

ترتیب لوله ها (مهم)

لوله های جداگانه استریل برچسب دار با نام تاریخ ترتیب نمونه گیری :

1) شیمی (آنالیز قند و Pr یا سرولوژی / ایمنولوژی)

2) میکروبیولوژی (گرم و کشت)

3) شمارش سلولی (هماتولوژی)

*** اختصار جهت بخاطر سپردن : شمس

مایع سینوویال

یک پلاسمای اولترافیلتره + هیالورونیک اسید در حفره سینوویال

تکنیک : آرتروسنتز

یک سرنگ آغشته به آنتی کواگولان ← ۲۵ واحد هپارین سدیم به ازای هر **ml** مایع سینوویال

ضد انعقاد ممنوع : اگزالات، هپارین لیتیم، EDTA پودری (K2)

سه لوله

لوله استریل (کشت و گرم) ← میکروبیولوژی

لوله EDTA یا هپارین (شمارش سلولی) ← هماتولوژی

لوله لخته (درب قرمز) ← بیوشیمی

5 تا 10ml مایع به ازای هر لوله

برخی بیمارستانها برای میکروبیولوژی انتقال مایع به بطری BC هوازی و بیهوازی

مایع پریکارد ، پلور و پریتوئن

حفره پلور : حدود 1-10ml مایع طبیعی - تکنیک توراسنتز

حفره پریکارد و پریتوئن : طبیعی< 50ml مایع - تکنیک پریکاردیوسنتز و پریتونئوسنتز

نمونه گیری با یک سرنگ 50ml - شرایط کاملاً استریل

ارسال جهت آزمایشات بیوشیمی، میکروبیولوژی سیتولوژی

جهت نمونه باکتریولوژی و سیتولوژی : EDTA یا سدیم هپارین استریل

جهت ارزیابی شیمیایی : بدون افزودنی

انتقال نمونه

اجتناب از تکان دادن شدید خون (همولیز) - دور از نور مستقیم (**Bili**)

مهم آنالیتهایی که باید بلافاصله بعد از جمع آوری روی آب یخ منتقل و در **C°4** نگهداری شوند **:** آمونیاک، فعالیت رنین پلاسما ، اسید فسفاتاز، اسید لاکتیک (لاکتات)- **Ca** یونیزه، **ACTH** پلاسمایی

ظرف ادراری : کودکان کیسه های پلی اتیلن انعطاف پذیر

ظروف معمول نمونه : پلی اسیترن یا پلاستیک فشرده

نگه داری در یخچال دمای 2-10

نمونه مدفوع : درون ظرف مقوایی و داخل یک کیسه پلی اتیلن

انتقال نمونه در شرایط یخ زده : CO2 جامد (یخ خشک) در کنار نمونه – حفظ دما تا 70 -

پردازش نمونه سه فاز

قبل از سانتریفیوژ

سانتریفیوژ : جزء مهم پره آنالیز

بعد از سانتریفیوژ

ایده آل تمام اندازه گیریها باید 45min-1h بعد از نمونه گیری انجام شوند

به استثنای ABG و آمونیاک : اکثر تستهای بیوشیمیایی روی سرم یا پلاسمای وریدی انجام می شود.

در بیوشیمی، در اکثر آنالیزها سرم یا پلاسما قابل جایگزینی با یکدیگرند

سرم : الکتروفورز Pr و ایمنوفیکساسیون

پلاسما : فیبرینوژن و آزمایشات انعقادی

پلاسما ← آمونیاک - لاکتات

سرم شایعترین نمونه

پلاسما : در اورژانسهای پزشکی که نیاز به لخته شدن ندارد.

حجم بیشتری از نمونه از پلاسما نسبت به سرم از خون کامل به دست می آید.

نکته : برای بیماران بستری در بیمارستان که هپارین دریافت می کنند جمع آوری نمونه در لوله Hep و تستهای بیوشیمیایی روی پلاسمای Hep انجام شود.

جهت تولید پلاسما : در مدت 1h بعد از نمونه گیری، سانتریفیوژ 10min در CRF: 850-1000g

در صورت تاخیر در آنالیز سرم و پلاسمای جدا شده> 4h ← نگه داری یخچال 4-6 درجه

بسیاری از آزمایشگاهها نگه داری نمونه ها در کل تا ۷ روز ← زیرا ممکن است تست اضافی درخواست شود.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING FOR DIAGNOSIS OF INFECTIOUS DISEASES

کلیات

زمان جمع آوری نمونه :

زمان بیشترین احتمال **detection** عامل مشکوک ویروس ها : فاز حاد بیماری

باکتری ها : قبل از شروع درمان

جمع آوری نمونه :

نمونه با سواب :

حجم بسیار کم

نباید جهت جمع آوری استفاده شود مگر از گلو، سرویکس ، محل با دسترسی مشکل

جنس پلاستیک با سر الیاف پارچه پلی استر : مناسب برای اکثر ارگانیسمها

سوآب نامناسب در کل برای بیهوازی، مایکوباکتریوم یا قارچ

ممنوع بسیار مهم

سواب جنس کلسیم آلژینات برای ویروس

کتان برای گنوره

میله چوبی برای کلامیدیا

نمونه ارجح :

بافت واقعی یا آسپیره مایع

جمع آوری نمونه از محل عفونت با حداقل آلودگی بافت اطراف یا ترشحات بافت ها

جمع آوری نمونه در یک ظرف استریل به استثناء (مدفوع)

Label ظرف نمونه شامل ← نام، کد شناسایی، منبع نمونه ، زمان و تاریخ جمع آوری نمونه

انتقال نمونه

در ظرف دربسته مخصوص مواد با خطر زیستی (بیوهازارد)

انتقال سریع

در صورت تاخیر در انتقال (مهم)

نگهداری در یخچال : ادرار، خلط، تنفسی، مدفوع

بررسی ویروس و کلامیدیا

نگهداری در دمای اتاق : CSF، مایعات بدن، خون

بررسی نایسریا گنوره هموفیلوس و بیهوازی

بسیار مهم : نمونه های غیر قابل قبول نامناسب برای کشت

نمونه در فرمالین

خلط 24 ساعته

Leak نمونه از ظرف نمونه به بیرون

نمونه تلقیح شده به plate آگار خشک شده یا تاریخ گذشته

نمونه ادرار از tip کاتتر فولی

نمونه آلوده با باریوم، رنگ شیمیایی یا مواد روغنی

نمونه دریافت شده دو مرتبه طی 24 ساعت (به استثناء **BC** (کشت خون))

Tip کاتتر خون ارسال شده برای بیمار بدون کشت خون مثبت همزمان

بسیار مهم نمونه هایی که برای کشت بیهوازی باید رد شوند

نمونه شست و شوی معده

نمونه ادرار بغیر از آسپیره سوپراپوبیک

خلط

سوآپ از محل ایلئوستومی یا کولستومی

نمونه سطحی پوست

نمونه مدفوع (به استثناء کلستریدیوم جهت مطالعات اپیدمیولوژی یا تشخیص باکتریهای مسمومیت غذایی)

نمونه اورفارنکس (به استثناء نمونه بافت عمقی از طریق پروسه جراحی)

احتیاط های استاندارد جهت محافظت کارکنان از مواد عفونی بدن

احتیاط ویژه :

کار با خون

کار با تمام مایعات بدن و ترشحات و مواد دفعی به استثناء عرق (صرف نظر از اینکه حاوی خون قابل مشاهده باشند)

پوست ناسالم

غشاهای مخاطی

ظروف باید زیر هود بیولوژیک ایمنی باز شوند :

به صورت ایده آل تمام ظرف های حاوی نمونه یا حداقل ظرف حاوی ترشحات تنفسی مخصوصاً جهت شناسایی مایکوباکتریوم یا

قارچ

نمونه های جهت جداسازی ویروس

آزمایشهای ارجاعی **referral testing**

دستورالعمل ارسال و حمل مواد خطرناک جهت بسته بندی :

حجم نمونه ها نباید بیشتر از 40ml باشد.

کشت قارچ و باکتری رشد یافته روی محیط جامد در لوله در پیچ دار

1) درپوش ظروف اولیه (لوله یا ویال) محکم با نوار ضد آب بسته شود

2) اطراف ظرف با مقدار کافی مواد جاذب قادر به جذب تمام حجم نمونه یا محیط در صورت نشت یا شکستن ظرف، پوشیده شود.

3) در یک ظرف ثانویه قرار داده شود و در پوش ظرف ثانویه بسته شود.

4) داخل ظرف حمل و نقل از جنس پلاستیک سخت یا تخته فیبر شیاردار قرار داده شود.

5) یک لیست جزء به جزء از محتویات، بین ظرف ثانویه و بسته بندی خارجی قرار داده شود.

ظروف ثانویه و ظروف حمل و نقل خارجی جهت تحمل شرایط دمایی و فشار هوا به اندازه کافی محکم باشد.

اگر نمونه بایستی روی یخ خشک انتقال یابد، روی آن عنوان : یخ خشک، نمونه پزشکی منجمد برچسب زده شود.

یخ خشک در بیرون ظرف ثانویه قرار داده با مواد بسته بندی پوشیده شود (در صورت آب شدن نشت نکند).

تمام نمونه های بسته های حمل و نقل عفونی با برچسب رسمی شامل محتویات، آدرس، نام و شماره تلفن شخص مسئول محموله