خط مشی کیفیت و دستورالعمل های آزمایشگاه‌های بهداشتی استان اصفهان

معاونت بهداشتی اصفهان

اداره امور آزمایشگاهها

زمستان۱۴۰۱

مقدمه :

به نام ایزد یکتا

امروزه نقش بسیار مهم و جایگاه استراتژیک آزمایشگاه های پزشکی در تامین نیازهای سلامت جامعه، بیش از پیش بر همگان روشن گشته است، در همین راستا تلاش برای بروز رسانی و ارتقای کیفی سطح خدمات ارائه شده، می تواند نقش بسیاری موثری در جهت نیل به اهداف نظام سلامت در سایه خدمات تشخیصی داشته باشد. از آنجاییکه اقدام جهت استقرار سیستم مدیریت کیفیت، بیش از هر چیز نیازمند آگاهی از اصول اجرای صحیح فعالیت ها و فرایندهای مرتبط می باشد، اولین نسخه از خط مشی کیفیت و دستورالعمل های آزمایشگاه های بهداشتی بر اساس چک لیست ها و الزامات موجود، به همت همکاران گروه امور آزمایشگاه‌های حوزه معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، تدوین گردید که می تواند راهنمای مناسبی جهت اجرای فرایندهای کیفیت در آزمایشگاه های بهداشتی باشد.

خط مشی کیفیت می بایست در حوزه آزمایشگاه مدون گردد و می تواند به عنوان یک مدرک مستقل ویا جزئی از نظام نامه کیفیت باشد که در حال حاضر به صورت مستقل و خارج از نظام نامه کیفیت در اختیار آزمایشگاه های بهداشتی قرار داده می‌شود.

بازنگری و به روز رسانی این خط مشی با استفاده از تجربیات ارزشمند شما همکاران محترم به صورت سالیانه و بر اساس چک لیست ها و دستورالعمل های ابلاغی انجام خواهد شد.

امید است مطالعه و به کار بستن مطالب مطرح شده در این خط مشی بتواند منجر به بروآرده شدن هر چه موفق تر الزامات و استانداردها و در نهایت یکسان سازی فرایند های ارائه خدمات در کلیه آزمایشگاههای بهداشتی سطح استان گردد.

فریبا مزروعی

رئیس اداره امور آزمایشگاه های معاونت بهداشتی

❖ تهیه مدارک درون سازمانی و برون سازمانی

اهداف :

۱) مشخص شدن انواع مدارک و مستندات موجود در آزمایشگاه
۲) رهگیری بهتر کلیه مدارک و مستندات
۳) جلوگیری از بی نظمی در آزمایشگاه
۴) کمک به ممیزی داخلی و خارجی

دامنه :

آزمایشگاه –کلیه ارگان های طرف قرار داد

سیاست :

به منظور جلوگیری از ایجاد بی نظمی و کمک به بروزرسانی و رهگیری کامل مدارک، می بایست کلیه مدارک و مستدات در دو گروه درون سازمانی و برون سازمانی تقسیم بندی گردند.

روش اجرا :

۱) کلیه مدارک و مستندات موجود در آزمایشگاه می بایست به دو گروه درون سازمانی و برون سازمانی تقسیم و لیست بندی گردند.

- ✓ مدارک و مستندات درون سازمانی: آن دسته از مستنداتی هستند که تدوین و بازنگری آنها در داخل آزمایشگاه انجام میشود، مانند خط مشی، نظامنامه کیفیت، شناسنامه فرایندها، برنامه های کنترل کیفیت و ...
- ✓ مدارک و مستندات برون سازمانی: مدارکی که تهیه و ویرایش آنها در اختیار مدیر و کارکنان آزمایشگاه نمی باشد، مانند دستورالعمل کیت ها، نرم افزار ها، تعمیر و نگه داری تجهیزات و...

۲) تهیه فهرست با کدبندی مشخص، تعیین محل نگه داری، مدت زمان نگه داری و امحاء جهت کلیه مدارک و مستندات اعم از دون سازمانی و برون سازمانی
۳) تهیه فضای مناسب جهت نگه داری کلیه مستدات و مدارک (درصورت نگه داری الکترونیک، تهیه نسخه پشتیان مناسب ضروری می باشد)
۴) بازنگری سالیانه کلیه مدارک

❖ تهیه چارت پرسنلی و ابلاغ شرح وظایف پرسنل

اهداف:

۱) مشخص شدن بخش کاری هر فرد
۲) مشخص شدن وظایف پرسنل در هر بخش
۳) جلوگیری از بی نظمی در آزمایشگاه
۴) کمک به رهگیری و یافتن منشا خطا و موارد عدم انطباق در آزمایشگاه

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور جلوگیری از ایجاد بی نظمی و شرح وظایف افراد، چارت سازمانی می بایست در آزمایشگاه موجود باشد .

روش اجرا:

۱) رسم چارت سازمانی از بالا به پایین (مدیریت –زیر شاخه های مدیریت –مسئول بخش ها)
۲) مشخص بودن جانشین هر فرد، در چارت سازمانی
۳) ابلاغ شرح وظایف و خواسته های مسئول آزمایشگاه از پرسنل به صورت کتبی با امضا طرفین (نگه داری در پرونده پرسنلی)
۴) احراز صلاحیت پرسنل از شرح وظایف خواسته شده به صورت دوره ای توسط مسئول آزمایشگاه

❖ تهیه پرونده پرسنلی

اهداف:

۱) تهیه و بایگانی مدارک شخصی مورد نیاز جهت فعالیت در آزمایشگاه از کلیه پرسنل
۲) بروز بودن اطلاعات آموزشی و سلامت هر فرد
۳) جلوگیری از بی نظمی در آزمایشگاه

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

وجود پرونده پرسنلی جهت بایگانی کلیه مدارک شخصی هر فرد و بروز رسانی دوره ای اطلاعات

روش اجرا:

۱) تهیه پرونده پرسنلی برای هر فرد شامل مدارک شناسایی، مدارک تحصیلی، فرم تعهد اخلاقی آزمایشات سالیانه،کارت واکسن ، ابلاغ شرح وظایف و مسئولیت های واگذار شده، مدارک آموزشی
۲) بروزرسانی اطلاعات به صورت سالیانه
۳) نگه داری پرونده پرسنلی در مکانی دور از دسترس سایر پرسنل و به صورت محرمانه
۴) نگه داری تشویقی ها و توبیخی های هر فرد در پرونده پرسنلی

❖ رعایت ملزومات ایمنی و بهداشت در آزمایشگاه

اهداف:

۱) آشنایی کارکنان با اصول ایمنی و بهداشت
۲) جلوگیری از مخاطرات شغلی و مدیریت حوادث پیش آمده
۳) پیگیری حوادث مخاطره آمیز در آزمایشگاه

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور جلوگیری از حوادث مخاطره آمیز و شناسایی حوادث رعایت کلیه نکات این خط مشی الزامی می باشد.

روش اجرا:

۱) تعیین مسئول ایمنی و بهداشت و جانشین ایشان در آزمایشگاه
۲) تهیه دستورالعمل های به روز ایمنی و بهداشت (شامل کارکنان، محیط کار، حمل و نقل ایمن، حفاظت فردی، دفع پسماند و...)
۳) آموزش پرسنل به صورت دوره ای و اطمینان از رعایت مفاد دستورالعمل ها و همچنین ارزیابی اطلاعات آنها با آزمون های دوره ای
۴) بررسی سلامت پرسنل در بدو استخدام و به صورت سالیانه (انجام آزمایشات PPD در بخش سل، آزمایشات HIV ، HCV ، HBS به صورت سالیانه)
۵) ارزیابی مداوم و برنامه ریزی شده دستگاه هایی نظیر اتوکلاو و فور که در استریلیزاسیون کاربرد دارند

❖ حفظ و نگه داری تجهیزات آزمایشگاه

اهداف:

۱) آشنایی با نحوه فعالیت هر تجهیز
۲) آشنایی با نحوه نگه داری هر تجهیز
۳) آشنایی با نحوه کنترل کیفی هر تجهیز
۴) ارتقا سطح کیفی آزمایشگاه

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور بهره وری بهتر و افزایش طول عمر هر تجهیز، اقدامات این خط مشی انجام میشود.

روش اجرا:

۱) تهیه لیست تجهیزات آزمایشگاه و کدگذاری داخلی در آزمایشگاه بر روی هر تجهیز
۲) تهیه شناسنامه هر تجهیز شامل نام دستگاه، سال خرید و استفاده، شرکت سازنده، شرکت پشتیبان، محل مورد استفاده، شماره تماس با نماینده پشیبان و.. (طبق فرمت استاندارد)
۳) تهیه دستورالعمل فنی جهت هر تجهیز به زبانی ساده (فرآیند کار با هر تجهیز از ابتدا تا انتها)
۴) تهیه دستورالعمل کیفی هر دستگاه (روش کنترل کیفی و کالیبراسیون تجهیز به صورت کامل)
۵) تهیه دستورالعمل حفظ و نگه داری هر تجهیز (کلیه اقداماتی که بایست به صورت روزانه، هفتگی، ماهیانه و سالیانه انجام شود)
۶) تهیه دماسنج کالیبره (دماسنج سالی یک مرتبه می بایست کالیبر گردد) و مقایسه کلیه دماسنج ها با آن و ثبت مستندات

- ✓ پیشنهاد میشود در جدول لیست تجهیزات هر آزمایشگاه، زمان ارزیابی کیفیت هر تجهیز نوشته شود ودر اختیار مسئول هر بخش قرار گیرد و سپس به صورت دوره ای، اقدامات صورت گرفته مورد ارزیابی قرار گیرد.

❖ اجرای صحیح مرحله پذیرش و نمونه گیری

اهداف

۱) پذیرش صحیح و به موقع بیمار
۲) انجام نمونه گیری صحیح
۳) حصول فرآیند تضمین کیفیت در مرحله پیش از آزمایش (Pre analytical)
۴) تکریم ارباب رجوع

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور افزایش میزان رضایت مراجعین از نحوه ارائه خدمات و همچنین ارتقای سطح کیفی آزمایشگاه می بایست مفاد این خط مشی رعایت گردد.

روش اجرا:

۱) مشخص کردن مسئول پذیرش و نمونه گیری و تعیین شرح وظایف آنها
۲) آموزش کامل نسخه خوانی، دستورالعمل های پذیرش، احراز هویت هنگام پذیرش، شرایط استفاده از تعهدات بیمه ای سازمان های بیمه گر جهت بیماران، بیمه های طرف قرار داد و چگونگی پذیرش نسخ آنها، جمع بندی نسخ در پایان هر ماه و اطمینان از اجرای صحیح آنها در پایان هر ماه
۳) تهیه دستورالعمل نمونه گیری شامل نوع نمونه مورد نیاز هر تست، برچسب گذاری مناسب، ضد انعقاد مناسب، نحوه احراز هویت و...
۴) تهیه فرمی جهت ثبت مشخصات فرد پذیرش کننده و فرد نمونه گیر و همچنین ساعت نمونه گیری
۵) تهیه معیارهای رد یا قبول نمونه و در دسترس قرار گرفتن آن در نمونه گیری و بخش های فنی
۶) تهیه دستورالعملی استاندارد جهت رد یا عدم پذیرش نمونه های نامناسب که در خارج آزمایشگاه گرفته شده است.
۷) تهیه فرم ثبت بیمارانی که به صورت شخصی و بدون درخواست پزشک پذیرش می‌شوند.
۸) تهیه فرم علت تاخیر در جواب دهی به بیماران به عنوان مثال تکرار آزمایش (با همان نمونه و نمونه جدید

❖ شرایط مربوط به آمادگی بیمار قبل از نمونه گیری مثل ناشتا بودن، پرهیزغذایی یا داروئی خاص و...

اهداف:

۱) عدم نمونه گیری مجدد
۲) سرعت در امر جوابدهی
۳) افزایش صحت و دقت نتایج آزمایشات

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور رسیدن به نتایج صحیح و عدم تکرار نمونه گیری از بیمار، لازم است شرایط مربوط به آمادگی بیمار قبل از نمونه گیری، به صورت مشخص و مکتوب، در دسترس نمونه گیر و مراجعه کنندگان باشد.

روش اجرا:

۱) دستورالعمل مربوط به شرایط آمادگی بیمار قبل از نمونه گیری در تستهایی با شرایط خاص، در پذیرش و نمونه گیری موجود **باشد.**
۲) در هنگام پذیرش و همچنین نمونه گیری، با سوالاتی از میزان آمادگی وشرایط بیمار آگاهی و اطمینان حاصل گردد.
۳) در صورت عدم وجود شرایط جهت نمونه گیری، لازم است بیمار جهت مراجعه بعدی و با داشتن شرایط مناسب راهنمایی گردد و در صورت اصرار بیمار مبنی بر نمونه گیری، حتما رضایت بیمار در سوابق ایشان ثبت گردد.

❖ *شرایط و روش جمع آوری نمونه های مختلف*

اهداف:

۱) جلوگیری از ایجاد خطا و اشتباه در آزمایشات
۲) افزایش صحت و دقت آزمایشات

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

آگاهی کلیه کارکنان آزمایشگاه از نحوه نمونه گیری، ویژگی ظروف مورد نیاز برای جمع آوری نمونه، حجم مورد نیاز نمونه برای آزمایش های مختلف، ضد انعقاد مورد نیاز و ....

لازم است دستورالعمل هر کدام از موارد زیر در بخش پذیرش و نمونه گیری موجود باشد.

روش اجرا:

۱) تهیه دستورالعمل نحوه نمونه گیری، ظروف مورد استفاده برای هر نمونه، ضد انعقاد و ... و در دسترس قرار گرفتن آنها در آزمایشگاه.
۲) انتخاب لوله و ظروف مناسب و متناسب با تستهای درخواستی توسط نمونه گیر
۳) الصاق مشخصات بیمار بر روی لوله ای مورد نظر
۴) مشخص نمودن نمونه های اورژانسی و ارسال به بخش فنی

❖ آگاهی بیمار از نحوه صحیح جمع آوری نمونه برای آزمایش های خاص مثل ادرار 24 ساعته، اسپرموگرام، خون مخفی در مدفوع...

اهداف:

۱) عدم نمونه گیری مجدد
۲) سرعت در امر جوابدهی
۳) افزایش صحت و دقت نتایج آزمایشات

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور نمونه گیری صحیح و رسیدن به نتایج صحیح در اسرع وقت، دستورالعملهایی برای جمع آوری نمونه های خاص تهیه شده و در اختیار بیماران قرار می گیرد.

روش اجرا

۱) تهیه دستورالعمل های مورد نیاز و قرار دادن آنها در قسمت نمونه گیری جهت ارائه به بیمار
۲) راهنمایی بیمار جهت تهیه نمونه مطابق با دستورالعمل

❖ فهرست آزمایشاتی که توسط آزمایشگاه انجام می شود

اهداف:

۱) جلوگیری از سردرگمی پزشکان و بیماران جهت درخواست آزمایشات
۲) آگاهی همکاران جدیدالورود آزمایشگاه
۳) افزایش سرعت پذیرش بیماران

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

فهرست آزمایشاتی که در آزمایشگاه انجام می شود جهت اطلاع پزشکان، بیماران و همکاران در آزمایشگاه موجود می باشد و بصورت ماهیانه آمار تعداد آزمایشات انجام شد، تهیه می شود.

روش اجرا:

۱) تهیه لیستی مکتوب از آزمایشات مورد پذیرش در آزمایشگاه (به تفکیک قابل انجام در مرکز و ارجاع به آزمایشگاه دیگر) و به روز رسانی آن
۲) ارسال لیست آزمایشات قابل انجام در آزمایشگاه برای پزشکان و مراکز درمانی مورد قرارداد
۳) تهیه و بایگانی آمار آزمایشات انجام شده در آزمایشگاه به صورت ماهیانه

❖ مدیریت نمونه ها

اهداف:

۱) سرعت در امر جوابدهی
۲) رضایت بیماران
۳) افزایش صحت و دقت در انجام آزمایشات

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

دستورالعمل مدیریت نمونه، به منظور افزایش سرعت در امر جوابدهی و عدم نمونه گیری مجدد از بیمار با تامین شرایط لازم جهت حصول بهترین نتیجه، تهیه و مکتوب میگردد.

روش اجرا: تهیه و مکتوب نمودن دستورالعمل مورد نیاز به منظور مدیریت بهینه نمونه های تهیه شده در آزمایشگاه، مطابق با الزامات، استانداردها و سیاست های آزمایشگاه به نحوی که در دسترس کارکنان آزمایشگاه باشد و در بر گیرنده موارد زیر باشد:

۱) نحوه نگهداری نمونه های تهیه شده در بخش نمونه گیری و تعیین بازه زمانی مجاز و همچنین روش انتقال نمونه ها، جهت انتقال نمونه به بخش فنی آزمایشگاه
۲) تعیین روش لیبل گذاری نمونه های اورژانسی جهت ارسال فوری به بخش فنی
۳) مدت زمان مجاز برای انجام تست‌های مختلف، مدت پایداری آنالیت های مورد بررسی، مدت زمان نگهداری نمونه های بررسی شده و شرایط دمایی مورد نیاز در هریک از موارد فوق
۴) فرآیند آلودگی زدایی و امحاء نمونه ها
۵) مستندسازی و بایگانی مستندات مربوط به کلیه موارد فوق

❖ روش انجام آزمایشاتی که در آزمایشگاه انجام می‌شوند

اهداف:

۱) سهولت در انجام آزمایش
۲) افزایش دقت و صحت نتایج و کاهش منابع خطا با هدف تامین تضمین کیفیت در مرحله انجام آزمایش (Analytical)
۳) تسریع در انجام آزمایش
۴) آموزش به پرسنل جدید الورود

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

دستورالعمل نحوه انجام آزمایش هایی که درهر بخش انجام می شود مکتوب بوده و درآن بخش موجود می باشد.

روش اجرا:

۱) نوشتن دستورالعمل انجام هر آزمایش مطابق با استانداردهای موجود و دستورالعمل شرکت سازنده کیت های تجاری و قرار دادن داخل پوشه مخصوص به نحوی که در دسترس کارکنان فنی باشد.
۲) ویرایش دستورالعمل ها به هنگام تعویض کیت ها

❖ فرآیند کنترل کیفیت در همه نوبتهای کاری و تفسیر نتایج آنها

اهداف:

۱) افزایش دقت و صحت نتایج
۲) کاهش منابع خطا در مرحله آزمایش
۳) شناسایی منابع خطا و اقدام جهت برطرف نمودن آنها

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور شناسایی و کاهش منابع خطا های حین آزمایش و جلوگیری از تاثیر آنها بر روی نتیجه نهایی بیمار، لازم است کیفیت تجهیزات، اقلام مصرفی و کیت های مورد استفاده در آزمایشگاه، به صورت مرتب مورد ارزیابی های کیفی قرار گیرد.

روش اجرا:

۱) مواد و محلولهایی که برای اجرای برنامه کنترل کیفی مورد نیاز است خریداری و یا تهیه شوند.
۲) روش انجام برنامه کنترل کیفی و تفسیر نتایج در هر بخش موجود می باشد (در هر بخش می بایست دستورالعمل کیفی جامع که شامل کلیه فعالیت های کنترل کیفی در آن بخش می باشد، مکتوب و در دسترس باشد).
۳) انجام کنترل کیفی داخلی (استفاده از نمونه و یا سرم کنترل استاندارد) در همه نوبت های کاری قبل از انجام آزمایشات بیماران الزامی می باشد.
۴) از نرم افزار کنترل کیفی مناسب و استاندراد جهت رسم منحنی های روزانه و انجام آنالیزهای آماری استفاده گردد.
۵) شرکت حداقل سه مرتبه در سال، در برنامه کنترل کیفی خارجی الزامی می باشد.
۶) کلیه نتایج کنترل کیفی و اقدامات اصلاحی صورت گرفته، بصورت مکتوب و کامل مستندسازی می شود.

❖ صحه گذاری و استفاده از کیت جدید

اهداف:

۱) تهیه و خرید کیت های تشخیصی معتبر
۲) افزایش صحت و دقت نتایج بیماران
۳) ارتقای سطح کیفی خدمات ارائه شده و افزایش رضایت بیماران
۴) کمک به تشخیص صحیح بیماری و جلوگیری از انحراف در مراحل تشخیص و درمان بیمار

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

با توجه به لزوم اطمینان از صحت و دقت نتایج و جلوگیری از گزارش نتایج غیر قابل اطمینان، استفاده از روش های مناسب و استاندراد جهت تایید کیت های خریداری شده با شماره سریال جدید و یا برندهای تجاری جدید، لازم و ضروری می باشد.

روش اجرا:

۱) دستورالعمل استاندارد صحه گذاری و سیاست کلی آزمایشگاه در صورت استفاده از کیت های جدید، مشخص باشد.
۲) کارکنان هر بخش موظف به رعایت دستورالعمل فوق می باشند.
۳) پرسنل می بایست به اصول و نحوه تفسیر نتایج حاصله و چگونگی استفاده از آن در تایید یا رد کیت مورد بررسی آشنا باشند.
۴) در صورت عدم دست یابی به نتایج مورد تایید می بایست نتایج به مسئول آزمایشگاه و مسئول کنترل کیفیت گزارش گردد و اقدامات لازم در خصوص تعویض کیت مورد نظر انجام گردد.
۵) کلیه مستندات لازم است مکتوب و در دسترس باشند.

❖ برنامه منظم و مدون انجام کنترل کیفی در تمام بخش های آزمایشگاهی و همه نوبت ها

اهداف:

۱) افزایش صحت و دقت آزمایشات
۲) کاهش خطاها
۳) اطمینان از اجرای الزامات و برنامه های کنترل و تضمین کیفیت

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور اجرای دقیق و منظم برنامه کنترل کیفی با هدف شناسایی و رفع موار عدم انطباق، سوپروایزر مسئولیت نظارت بر اجرای برنامه ها و میزان تحقق آن ها را برعهده دارد.

روش اجرا:

۱) تهیه برنامه مدون جهت اجرای ممیزی داخلی در آزمایشگاه
۲) کنترل مرتب مستندات کنترل کیفی توسط سوپروایزر آزمایشگاه و مسئول کنترل کیفیت طبق برنامه زمانبندی شده با تایید مستندات
۳) کنترل مستندات کنترل کیفی در آخر هر ماه و بایگانی آنها
۴) مشخص کردن موارد عدم انطباق در آزمایشگاه با اجرای موارد فوق
۵) ارایه پیشنهادات جهت انجام اقدام اصلاحی و پیشگیرانه
۶) تکمیل فرم عدم انطباق
۷) ارائه برنامه عملیاتی جهت تحقق بیشتر اهداف

❖ تعیین محدوده مرجع و رنج نرمال آزمایشات

هدف:

اطلاع پزشکان، بیماران و همکاران از محدوده مرجع هر تست

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

رنج نرمال ومحدوده قابل قبول نتایج آزمایشات که محدوده مرجع نامیده می شود، طبق استانداردها و دستورالعمل شرکت های سازنده کیت های مورد استفاده، برای هر آزمایش تعیین شده و نظارت می شود.

روش اجرا:

۱) محدوده مرجع آزمایشاتی که توسط آزمایشگاه انجام می شود از بروشور کیت ها استخراج شده و در سیستم نرم افزاری آزمایشگاه، توسط سوپروایز و با تایید مسئول فنی ثبت می شود.
۲) محدوده مرجع با تغییر کیت مورد استفاده، بررسی شده و در صورت مغایرت با عدد قبلی تغییر پیدا می کند.

❖ گزارش نتایج موارد بحرانی

اهداف:

۱) شناسایی سریع و زودهنگام بیماران با وضعیت بحرانی و ناخوشایند و اقدام فوری جهت مدیریت وضعیت بیمار توسط پزشک
۲) افزایش میزان اعتماد نظام سلامت و همچنین مراجعه کنندگان به آزمایشگاه

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

جهت جلوگیری از ایجاد هرگونه حوادث ناخوشایند و تهدید کننده حیات برای بیماران، لازم است مقادیر بحرانی هر تست و سیاست مواجهه با آن، مکتوب و در دسترس کارکنان باشد.

روش اجرا:

۱) مشخص کردن فرد مسئول ثبت و پیگیری موارد بحرانی
۲) تهیه لیست مقادیر بحرانی در آزمایشگاه با تایید مسئول فنی یا سوپروایزر آزمایشگاه
۳) دسترسی کارکنان هر بخش به مقادیر بحرانی تستهای مورد نظر
۴) تهیه دستورالعمل برخورد با نتایج بحرانی
۵) الزام پرسنل به رعایت دستورالعمل
۶) ثبت، مستند سازی و بایگانی کلیه اقدامات انجام شده در فرم مخصوص موارد بحرانی

❖ ثبت و رسیدگی به موارد عدم انطباق

اهداف:

۱) جلوگیری از ایجاد خطا
۲) شناسایی منابع خطا
۳) جلوگیری از وقوع مجدد موارد نا منطبق
۴) افزایش سطح ارتقا و کیفیت نتایج

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

جلوگیری از ایجاد موارد نامنطبق و وقوع مجدد آنها جهت ارتقای کیفی آزمایشگاه

روش اجرا:

۱) مشخص کردن مسئول ثبت و پیگیری موارد نامنطبق
۲) تهیه دستورالعمل رسیدگی به موارد نامنطبق و بازدید دوره ای از آزمایشگاه
۳) شناسایی موارد نامنطبق (موارد نا منطبق گاها در حین کار ایجاد میشود مانند شکستن لوله که در برخی موارد با انجام ممیزی داخلی میتوان آنها را یافت)
۴) برگزاری جلسات داخلی به منظور تبادل اطلاعات در مورد موارد عدم انطباق و ارایه راهکار مورد نظر جهت انجام اقدامات فوری، اصلاحی و پیشگیرانه
۵) بررسی میزان اثر بخشی اقدامات انجام گرفته با برگزاری جلسات داخلی و با بررسی مسئول رسیدگی به عدم انطباق و مسئول آزمایشگاه. (اقداماتی موثر است که منجر به حذف یک خطا و مورد عدم انطباق گردد و یا باعث کاهش بسیار زیاد آن گردد).
۶) ثبت کلیه اقدامات و مستند سازی آنها

❖ خرید و انبارش

اهداف:

۱) جلوگیری از پرت منابع مالی
۲) عدم توقف فعالیت آزمایشگاه به دلیل نبودن کیت و تجهیزات
۳) ایجاد نظم در آزمایشگاه
۴) افزایش سطح ارتقا و کیفیت

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور جلوگیری از پرت منابع مالی و همچنین ایجاد نظم در آزمایشگاه، رعایت این دستورالعمل الزامی می باشد.

روش اجرا:

۱) مشخص کردن مسئول خرید و انبارش
۲) تهیه دستورالعمل خرید و تحویل تجهیزات، کیت و اقلام مصرفی مورد نیاز
۳) تهیه نقطه سفارش برای هر یک از اقلام و کیت های آزمایشگاه
۴) چیدمان صحیح بر اساس تاریخ انقضا و اطمینان از رعایت شرایط مورد نیاز برای نگهداری هر کالا، مطابق با دستور العمل کارخانه سازنده و استانداردهای موجود (مانند نور، دما، رطوبت و....)
۵) بازنگری و بازدید مسئول خرید و انبارش از انبار مرکز (هیچگونه کیت و اقلام تاریخ گذشته نباید موجود باشد)
۶) ثبت کلیه اقدامات و مستند سازی آنها

❖ ارتباط با سایر آزمایشگاهها

اهداف:

۱) افزایش سطح کارایی آزمایشگاه
۲) پوشش کامل آزمایشاتی که در آزمایشگاه قابلیت انجام ندارد
۳) ارائه کامل خدمات به مردم در منطقه تحت پوشش
۴) افزایش سطح رضایت و اعتماد در بین گیرندگان خدمت

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور افزایش پوشش آزمایشات و پوشش کامل منطقه، رعایت این دستورالعمل الزامی می باشد.

روش اجرا:

۱) تعیین تستهایی که مطابق با الزامات و یا سیاست آزمایشگاه قابلیت انجام در همان محل را ندارند (تهیه لیست آزمایشات ارجاع)
۲) تعیین آزمایشگاه ارجاع، بازدید و تایید آن توسط مراجع ذیصلاح
۳) عقد قرار داد مشخص با آزمایشگاه ارجاع
۴) مشخص بودن چرخه کاری از پذیرش تا گزارش نتیجه، در آزمایشگاه ارجاع
۵) تهیه دستورالعمل مشخص جهت ارجاع آزمایشات اورژانسی و نحوه دریافت جواب
۶) تهیه دستورالعمل حمل و نقل ایمن نمونه
۷) معرفی نماینده از هردو آزمایشگاه جهت پیگیری موارد مورد نیاز
۸) بایگانی کلیه گزارشات آزمایشگاه ارجاع و برگه درخواست آزمایشات
۹) ثبت کلیه اقدامات و مستند سازی آنها

- ✓ لازم است دستورالعملی جهت ارجاع نمونه ها که در آن کلیه موارد فوق ذکر گردد، تهیه و در آزمایشگاه موجود باشد.

❖ مدیریت آزمایشگاه درحوادث غیر مترقبه، حوادث، اپیدمی ها و شرایط ناخواسته

هدف:

ارائه خدمت سریع و موثر در کوتاه ترین بازه زمانی ممکن، ضمن حفظ ایمنی کارکنان و جلوگیری از کاهش شاخص های کیفی

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

جهت ارتقای توانمندی آزمایشگاه به منظور ارائه خدمات موثر و مطلوب در مواقع بحرانی و حوادث، این دستورالعمل ضروری می باشد.

روش اجرا:

۱) تهیه و مکتوب نمودن برنامه پاسخ سریع به بلایا (EOP) ویژه آزمایشگاه
۲) ایجاد چارت آبشاری کارکنان آزمایشگاه در برنامه فوق با شماره تلفن و آدرس هر فرد و نصب در آزمایشگاه
۳) تعیین نحوه ارتباط موثر بین هر فرد با افراد زیر مجموعه خود مطابق با چارت مذکور
۴) تهیه لیستی از آزمایشات اورژانسی جهت پاسخ دهی در شرایط بحران (در چنین شرایطی آزمایشاتی ازقبیل تست‌های هورمونی غیر اورژانسی و چکاب انجام نمی شود).
۵) در صورت افزایش حجم آزمایشات بیماران بستری، آزمایشات سرپایی پذیرش نخواهد شد.

❖ انجام نظر سنجی از مراجعین و پزشکان

هدف:

۱) یافتن نقاط ضعف و قوت و انجام اقدامات مورد نیاز
۲) ارایه خدمت با کیفیت بالاتر
۳) افزایش میزان رضایت در گیرندگان خدمت

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور جلب رضایت مراجعین و پزشکان، رفع اشکالات موجود و افزایش سطح انگیزه کاری کارکنان، این فرایند اجرا میشود .

روش اجرا:

۱) تهیه فرم نظرسنجی بیماران و پزشکان
۲) تهیه برنامه مدون جهت انجام نظرسنجی از دو گروه فوق (بهتر است فرم نظرسنجی در جایگاهی در دید مراجعین باشد و نظر سنجی از پزشکان به صورت فصلی یا ماهیانه انجام شود)
۳) مطالعه کامل نظر سنجی توسط مسئول آزمایشگاه
۴) ارایه نظرات جمع بندی شده به مسئول بخش های مرتبط
۵) برگزاری جلسات داخلی جهت از بین بردن نقاط ضعف و ارتقا نقاط قوت
۶) در صورت نیاز مذاکره با گیرندگان خدمت
۷) ثبت و نگه داری کامل مستندات

❖ تهیه پرونده ریسک و بیوریسک در آزمایشگاه

اهداف:

۱) مشخص شدن انواع خطا و مخاطرات در آزمایشگاه
۲) تعیین محدوده و تاثیر خطا بر کارکنان و مراجعین
۳) کمک به رهگیری و یافتن منشا خطا
۴) جلوگیری از تاثیرات مخرب و تهدید کننده سلامتی بر کارکنان و مراجعین

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور شناخت کلیه موارد و منابع ایجاد خطا و همچنین رهگیری موثر موارد خطا و ریسک، پرونده ریسک و بیوریسک در آزمایشگاه تهیه می گردد.

روش اجرا:

۱) مسول ایمنی و بهداشت (افسر ایمنی) در آزمایشگاه تعیین میگردد.
۲) مسئول ایمنی به همراه کارکنان هر بخش و با تایید مسئول فنی و یا سوپروایزر آزمایشگاه، کلیه مواردی که ممکن است باعث ایجاد خطر برای پرسنل، مراجعه کننده ویا جامعه شود (به تفکیک) را مشخص می کنند.
۳) کلیه موارد فوق از نظر میزان ایجاد خطر و تاثیر گذاری امتیاز دهی و رتبه بندی می شوند.
۴) پس از تکمیل کلیه بخش های آزمایشگاه، فایل ایجاد شده به عنوان پرونده ریسک در آزمایشگاه نگه داری میشود.
۵) بازنگری دوره ای به‌روی پرونده ریسک و اعمال تغییرات مورد نیاز، صورت می پذیرد.
۶) آموزش کارکنان جهت شناسایی منابع خطر و رعایت اصول ایمنی انجام می‌گیرد.
۷) پرونده ریسک و اصول ایمنی در دسترس کارکنان قرار می گیرد.

❖ آموزش دوره ای پرسنل

اهداف:

۱) شناخت و آشنایی با آخرین به روزرسانی های صورت گرفته در استانداردهای آزمایشگاهی در برنامه های مختلف
۲) مرور، بازآموزی و رفع اشکال در آموزش های پیشین
۳) توانمندسازی کارکنان جهت ارتقای سطح کیفی خدمات

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور افزایش توان علمی و کیفی پرسنل و به روزرسانی مجموعه و همچنین یادآوری برخی مطالب، می بایست آموزش ها به صورت دوره ای در آزمایشگاه انجام شود.

روش اجرا:

۱) تعیین فرد مسئول آموزش در هر آزمایشگاه یا شهرستان
۲) انجام نیازسنجی از پرسنل جهت اجرای برنامه آموزشی در طول سال
۳) برنامه ریزی آموزشی سالیانه و یا فصلی
۴) اجرای برنامه آموزشی

لازم به ذکر است برنامه های آموزشی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به دو صورت میتواند برگزار گردد:

۱) برنامه های دارای امتیاز آموزشی: شامل ارسال فرم بیست و شش نیازسنجی آموزشی از شهرستان ها به معاونت بهداشت استان جهت تایید آن و یا حضور در کارگاههای برگزار شده در حوزه معاونت بهداشت
۲) برنامه های بدون امتیاز آموزش: به صورت جلسات داخلی منظم در آزمایشگاه به منظور تبادل اطلاعات و تجربیات همراه با ثبت مستندات و صورت جلسات (این آموزش جهت افزایش توان علمی و عملی کارکنان بسیار تاثیر گذار خواد بود).

❖ ممیزی داخلی و نظارت در آزمایشگاه

اهداف:

۱) شناخت بهتر مجموعه آزمایشگاه
۲) مشخص شدن موارد خطا و عدم انطباق
۳) اطمینان از رعایت صحیح استانداردها و الزامات کیفی و همچنین اجرای صحیح فرآیندها
۴) جلوگیری از بی نظمی در آزمایشگاه
۵) ایجاد آمادگی جهت هرگونه ممیزی و بازدید خارجی

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور جلوگیری از ایجاد خطا و موارد عدم انطباق و همچنین نظارت بر فعالیت کلیه کارکنان، ممیزی داخلی به صورت دوره ای می بایست در آزمایشگاه انجام شود .

روش اجرا:

۱) تعیین مسئول اجرای برنامه ممیزی داخلی در آزمایشگاه
۲) تهیه برنامه منظم، مدون و مکتوب جهت ممیزی داخلی در آزمایشگاه و دستورالعمل اجرای آن
۳) اجرای مرحله ممیزی داخلی طبق چک لیست های مربوطه و ارائه گزارش مکتوب به سوپروایزر و مسئول فنی آزمایشگاه
۴) بازنگری بر فعالیت های انجام شده و اطمینان از موثر واقع شدن اقدامات انجام شده
۵) مستند و مکتوب بودن کلیه فعالیت ها و قابلیت رهگیری این فعالیت ها

❖ شرکت در برنامه مهارت آزمایی و کنترل کیفی خارجی

اهداف

۱) بررسی صحت و دقت نتایج آزمایشگاه در مقایسه جامعه گسترده از آزمایشگاهها در سطح استان و کشور
۲) امکان ارزیابی کیفیت نتایج در پارامترهایی که دسترسی به کنترل تجاری و قابل تامین در سطح آزمایشگاه ندارد.

دامنه:

آزمایشگاه

سیاست:

به منظور ارتقای سطح کیفی خدمات ارائه شده و ارزیابی مهارت کارکنان و همچنین چگونگی عملکرد آزمایشگاه در مقایسه با سایر آزمایشگاههای سطح استان و یا کشور، لازم است که آزمایشگاههای تشخیصی مطابق با دستورالعمل آزمایشگاه مرجع سلامت حداقل در سه دوره برنامه ارزیابی خارجی کیفیت شرکت کنند.

روش اجرا:

۱) تعیین شرکت مناسب جهت خریداری پنل کنترل کیفی خارجی
۲) برنامه ریزی جهت شرکت در برنامه کنترل کیفی خارجی حداقل سه مرتبه در سال
۳) دریافت کلیه نتایج از شرکت برگزار کننده ارزیابی
۴) تفسیر نتایج کلیه پارامترها و انجام اقدامات اصلاحی در صورت نیاز
۵) مستند و مکتوب بودن کلیه فعالیت ها با قابلیت رهگیری آنها

پیوست شماره یک (تفسیر چارت کنترل کیفی)

قانون هشدار یا 1_{2S}:

قرار گرفتن یک نتیجه کنترل خارج از محدوده **2SD±** به عنوان هشدار است .

وقتی این قانون نقض شد دیگر قوانین باید بررسی شوند اگر نتایج کنترل کیفی قوانین دیگر را نقض نکنندها وجود نقض قانون 1_{2S} در یکی از نمونه هـای کنترلی،نتـایج قابل قبول است به همین دلیل قانون 1_{2S} تنها نقش هشدار دهنده دارد.

قانون 1_{3S}:

قرار گرفتن یک نتیجه کنترل خارج از محدوده **3SD±** دلیل بر نپذیرفتن نتایج است.

قانون 1_{3S} معمولا به دلیل خطاهای اتفاقی (Random Errors) رخ می دهد.

قانون 2_{2S}:

قرار گرفتن دو نتیجه کنترل پشت سر هم،بالای**2SD** + یا زیر **2SD** - دلیل بر نپذیرفتن نتایج است.

قانون 2_{2S} معمولا به دلیل خطاهای اتفاقی (Random Errors) رخ می دهد.

قانون R_{4S}:

قرار گرفتن دو نتیجه خون کنترل پشت سر هم که یکی بیشتر از **2SD** + ودیگری کمتر از **2SD** - دلیل بر نپذیرفتن جواب هاست.

قانون R_{4S} معمولا به دلیل خطاهای اتفاقی (Random Errors) رخ می دهد.

قانون 4_{1S}:

قرار گرفتن چهار خوانده پیاپی از میانگین به اضافه **1SD** یا از میانگین منهای **1SD** تجاوز کند دلیل بر نپذیرفتن جواب هاست.

قانون 4_{1S} نسبت به خطا های سیستماتیک حساس است.

قانون 10_X: (جابجایی یا **Shift**)

قرار گرفتن ۱۰ خوانده پیاپی در طرف خط میانگین(بالا یا پایین)،بدون توجه به مقدار انحراف دلیل بر نپذیرفتن جوابها ست.

این قانون به خطای سیستما تیک حساس است.

Trend: هفت نتیجه متوالی سیر صعودی یا نزولی داشته باشد.

علت خطا	نوع خطا
روش نادرست آزمایش	اتفاقی،سیستماتیک
برداشت نمونه بصورت نادرست	سیستماتیک
اشکال در استاندارد وکالیبراتور	سیستماتیک
کالیبره نبودن طول موج اسپکتروفتومتر	سیستماتیک
نمونه گیری نادرست	اتفاقی
عوامل تداخلی در نمونه بیمار	سیستماتیک
مواد شیمیایی ناخالص	سیستماتیک
تهیه نادرست محلول	سیستماتیک
بد کار کردن دستگاه	اتفاقی
خطای دفتری	اتفاقی
شستشوی نادرست وسایل شیشه ای	اتفاقی

- خطاها به دودسته تقسیم می شوند:

خطاهای اتفاقی(Random Errors):

به علت نوسانات غیر قابل کنترل در دماولتاژ،ظروف،ایجاد می شود.بعضی از این خطاها در جدول روبرو نشان داده شده است.

خطاهای سیستماتیک:

این خطاها به دو دسته تقسیم میشوند:

الف) خطاهای ثابت:نتایج آزمایشها به مقدار ثابت بالاتر یا پایین تر از مقادیر واقعی باشد.این نوع در زمانی رخ می دهد که عامل تداخلی در داخل نمونه مورد آزمایش موجود باشد.

ب)خطاهای تناسبی:هنگامی که نتایج دائما با یک درصد ثابت بالاتر یا پایین تر از مقادیر طبیعی افزایش یا کاهش داشته باشند گفته می شود.

در صورت خارج از کنترل بودن روش براساس قوانین فوق،چه باید کرد؟

۱-تمام محاسبات بررسی شود. ۲- اگر بعد ازبررسی محاسبات باز نتیجه خارج از کنترل بودباید تمام مراحل آزمایش با سرم کنترل تازه ای تکرار شود.

۳-اگر نتیجه حاصل برای این سرم کنترل نیز خارج از محدوده کنترل قرار گیرد،نظافت لوازم شیشه ای،استاندارد،معرف ها،پیپتها،سمپلرها،دستگاهها،شرایط آزمایش مانندPH،دمای انکوباسیون،آب مقطرو..بایستی بررسی شود.

قوانین WHO:

- **قانون اول**

یک کنترل خارج از محدوده ۲SD± می باشد و به معنی هشدار است.

- **قانون دوم**

یک کنترل خارج از محدوده ۳SD±می باشد و باعث رد نتایج شده و می تواند نشان دهنده یک خطای راندوم یا شروع یک خطای سیستماتیک باشد.

- **قانون سوم**

دو کنترل متوالی خارج از محدوده ۲SD± می باشند که باعث رد نتایج شده و حساس به خطای سیستماتیک می باشد.

- **قانون چهارم**

چهار کنترل خارج از محدوده ۱SD قرار دارد و به خطای سیستماتیک حساس است، باعث رد نتایج می - گردد.

- **Shift**

اگر ۷ خوانده متوالی در بالا یا پایین میانگین باشد به معنی هشدار بوده و حساس به خطای سیستماتیک می باشد.

- **Trend**

- اگر هفت خوانده متوالی سیر صعودی داشته باشد، اصطلاحا Positive Trend نامیده می شود ، باعث رد نتایج شده و حساس به خطای سیستماتیک می باشد.

- اگر هفت خوانده متوالی سیر نزولی داشته باشد اصطلاحا Negative Trend نامیده می شود ، باعث رد نتایج شده و حساس به خطای سیستماتیک می باشد.

آزمایشگاه می تواند بر اساس شرایط و سطح کیفیت مورد نیاز خود هر یک از روش های تفسیر -Levey Jenning ,Westgar,WHO را انتخاب نماید.

برخی عوامل ایجاد خطای راندوم:

- نوسانات الکتریکی دستگاه خوانشگر
- وجود حباب در نمونه یا معرف
- عدم برداشت حجم صحیح معرف یا نمونه
- نا پایداری معرف
- عدم رعایت شرایط نگهداری نمونه یا معرف
- آلودگی ظروف نگهداری معرف یا نمونه

برخی عوامل ایجاد خطای سیستماتیک:

- اشکال در کالیبراسیون مانند در نظر گرفتن غلظت نادرست برای کالیبراتور، تهیه نا مناسب کالیبراتور و یا آلودگی، افت و تغلیظ کالیبراتور
- تخریب تدریجی معرف
- تغییر در دمای انکوباسیون

لازم به ذکر است که برخی ایرادات بوسیله آزمایشگاه قابل حل نمی باشد و باید با شرکت پشتیبان دستگاه جهت رفع ایراد تماس گرفت.

- ✓ لازم به ذکر می باشد که در ارزیابی خطا در هر سه تعریف (وستگارد، لوی جنینگ، who)، لازم است ارزیابی خطا بر اساس جمع خطای دو سطح کنترل مورد استفاده صورت پذیرد.
- **به عنوان مثال** اگر در آزمونی ۵ مورد در level 1 و ۵ مورد در level 2 در یک طرف نمودار قرار گیرند، خطای ۱۰X در نظر گرفته می شود.

پیوست شماره دو: نکات مهم در مورد استفاده از اتوآنالایزر بیوشیمی

اصول و شرایط کار با دستگاه اتوآنالایزر

- آشنایی کامل با دستگاه قبل از شروع به کار
- ایجاد شرایط الزامی برای عملکرد صحیح دستگاه، به طور مثال برق مناسب و یا آب با خلوص خاص.
- استفاده از دستورالعمل اختصاصی ارائه شده توسط سازنده کیت برای دستگاه مورد نظر
- عدم استفاده از کنترل به جای کالیبراتور در عمل کالیبراسیون، در کالیبراسیون کیت ها باید به غلظت مناسب کالیبراتور نیز توجه داشت به طور مثال برای کالیبراسیون HDL بایستی از کالیبراتور مخصوص همین کیت استفاده نمود، نه از کالیبراتور کلسترول توتال.
- استفاده از کالیبراتور و کنترلهای مورد توصیه سازنده کیت یا استفاده از کالیبراتور و کنترلهای هماهنگ.
- عدم تغییر فاکتور اعلام شده سازنده کیت برای آنزیم، این عمل که ممکن است به منظور تصحیح کنترل قرائت شده صورت گیرد، مشکلات احتمالی از قبیل عدم کیفیت، ناپایداری معرف و امکان تداخل زمینه سرم کنترل با معرف و یا اشکال در دمای انکوباتور سیستم را پوشانیده و مانع یافتن خطای واقعی میگردد.

نگهدای و کنترل کیفیت اتوآنالیزر

- برای حفظ کیفیت عملکرد اتوآنالیزر لازم است کلیه موارد یاد شده در دستورالعمل همراه دستگاه، جهت نگهداری و سرویس دستگاه رعایت شود.
- برای سرویس کالیبراسیون سیستم، برنامه زمانبندی شده تهیه و سوابق مکتوب انجام آن نگهداری شود.
- برای بررسی عملکرد دستگاه بعد از هر سرویس و کالیبراسیون انجام تستهای زیر توصیه میشود.

۱) سنجش عملکرد پروب ها

توسط تست هایی انجام میشود که برای انجام آنها کمترین حجم نمونه و بیشترین حجم محلول لازم باشد مانند(آلبومین و گلوکز).

- یک نمونه پولد سرم آماده شده ۳۰ بار مورد اندازه گیری قرار میگیرد و پراکندگی نتایج حاصل از این اندازه گیری، بر حسب CV% محاسبه میگردد. این عدد نباید بیش از مقدار خطای مجاز تست باشد .(نمونه باید در سی جایگاه متفاوت قرار داده شود).

۲) دمای انکوباتور

برای بررسی پایداری دمای انکوباتور دستگاه، تستی انجام میگیرد که به تغییرات دما حساس می باشد (تستهای آنزیماتیک)، مثل اندازه گیری مقادیرALT ،CPK وLDH .

- یک نمونه پولد سرم آماده شده و ۳۰ مرتبه مورد اندازه گیری قرار میگیرد، پراکندگی نتایج حاصل از این اندازه گیری بر حسب CV% محاسبه میشود. این مقدار نباید از مقدار خطای مجاز تست، بیشتر باشد (بهتر است از تست CPK استفاده گردد).

۳) انتقال ناخواسته (Carry Over)

در دستگاه اتوآنالایزر ممکن است نمونه یا معرف بطور ناخواسته انتقال یابند. برای بررسی انتقال ناخواسته معرف بایستی از دو تستی کهNADH را اندازه گیری میکنند استفاده نمود، برای مثال CPK و ALT که در یکی افزایش و در دیگری کاهش NADH اندازه گیری میشود.

- بر روی یک نمونه پولد سرم آماده شده، در یک ران کاری ۳۰ بار آزمایش CPK و 10 بارALT انجام می‌شود. میزان پراکندگی نتایج حاصل از اندازه گیریCPK بر حسب CV% محاسبه میشود.
- سپس در یک ران کاری مجددا ۳۰ مرتبه CPK به تنهایی (بدون همراهی باALT) اندازه گیری و میزان پراکندگی نتایج بر حسب CV محاسبه می شود.
- مقدار CV در حالت اول (اندازه گیری CPK به همراه ALT) باید معادل یا کمتر از حالت دوم (اندازه گیری CPK به تنهایی) باشد.
- انتقال ناخواسته نمونه با انجام آزمایش بر روی نمونه هایی با غلظت بالا و پایین کیت های انتخابی، به طور متوالی بررسی می‌شود. به طور مثال گلوکز با غلظتهای 50 و 400 میلیگرم درصد، انتخاب شده و به طور متناوب هر یک از نمونه های با غلظت های پایین (L) و بالا (H) طبق الگوی زیر سه بار مورد آزمایش قرار میگیرد.

H-H-H-L-L-L-H-H-H-L-L-L-…

- پراکندگی نتایج در غلظت پایین مورد محاسبه قرار میگیرد، سپس در یکسری کاری مجزا، نمونه با غلظت پایین به تنهایی و به دفعات اندازه گیری و میزان پراکندگی نتایج حاصله بر حسب CV% محاسبه می شود.
- پراکندگی نتایج حاصله بر حسب CV% در حالت اول نباید بیش از پراکندگی حاصله از تکرار همین نمونه به تنهایی و در سری کاری مجزا باشد. در غیر اینصورت تداخل در برداشت نمونه وجود داشته است و لازم است اقدامات اصلاحی مورد نیاز انجام پذیرد.

پیوست شماره سه (صحه گذاری کیت ها)

دستورالعمل صحه گذاری در کیت های سرولوژی

- کیت از لحاظ مجوز های مورد نیاز، بروشور، تاریخ تولید و انقضا، شماره سریال ساخت (lot number) و وضعیت ظاهری بررسی شود.

نکته: شماره سری ساخت (Lot Number) بر روی تمامی محلول ها باید یکسان باشد.

- بررسی کنترل های درون کیت (مثبت، منفی)
- تعداد ۵ عدد از نمونه های بیماران که توسط کیت قبلی سنجش شده است و نتایج آن مورد تایید می باشد، توسط کیت جدید چک شود.
- با استفاده از ۱ الی ۲ نمونه ی مثبت ضعیف (weakly positive) کیت جدید مورد بررسی قرار گیرد.

فرم ارزیابی کیت های جدید سرولوژی

- **نام کیت:**
- **تاریخ باز شدن کیت:**
- **شماره سریال کیت:**
- **کاربر ارزیابی کننده:**
- **ارزیابی با نمونه های انجام شده با کیت قبلی**

ردیف	شماره پذیرش بیمار	نتیجه تست با کیت قبلی	نتیجه تست با کیت جدید

- **ارزیابی کیت به وسیله نمونه انسانی:**

.....

.....

- **ارزیابی کیت به وسیله کنترل های موجود در کیت:**

.....

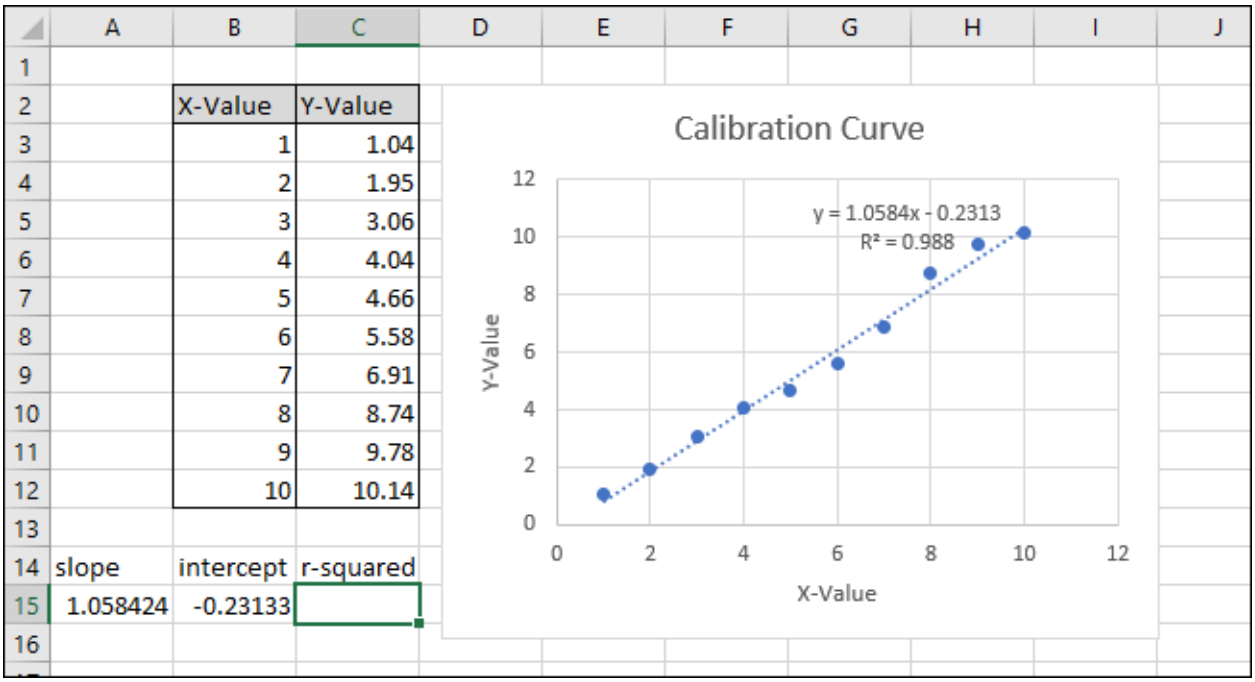
.....

دستورالعمل صحه گذاری کیت های جدید (بیوشیمی و هورمون شناسی)

- **جهت ارزیابی کیت مورد نظر جدید که مشابه با کیت قبلی نمی باشد موارد زیر بررسی می‌گردد:**

- کیت از لحاظ مجوز های مورد نیاز، بروشور، تاریخ تولید و انقضا، شماره سریال ساخت(lot number) و وضعیت ظاهری بررسی شود.
- محدوده مرجع در کیت مشاهده و در سیستم تعریف گردد.
- کیت بر روی دستگاه آنالایزر مورد نظر قرار گیرد و با استفاده از کنترل و کالیبراتور چک شود.
- تعداد ۴۰ نمونه در مقادیر مختلف توسط متد مرجع و یا کیت مورد تایید قبلی، و همچنین کیت مورد مقایسه (کیت جدید) اندازه گیری شود.

- مطابق با دستورالعمل های مرجع، فرمول رگرسیون خطی با تعیین Slope و Intercept استخراج و بر اساس خطای سیستماتیک محاسبه میگردد. (با استفاده از نرم افزار های معتبر و یا استفاده از قابلیت های اکسل میتوان این محاسبات را انجام داد).



	A	B	C
1			
2		X-Value	Y-Value
3		1	1.04
4		2	1.95
5		3	3.06
6		4	4.04
7		5	4.66
8		6	5.58
9		7	6.91
10		8	8.74
11		9	9.78
12		10	10.14
13			
14	slope	intercept	r-squared
15	1.058424	-0.23133	
16			

$$Y = a + bXc$$

$$SE = Yc - Xc$$

- ❖ Y : نتیجه روش مورد بررسی
- ❖ Slope: b
- ❖ Xc : نتیجه روش مقایسه ای در محدوده تصمیم گیری بالینی
- ❖ SE: خطای سیستماتیک
- ❖ Intercept: a

ضریب همبستگی r بمنظور برآورد محدوده مورد بررسی نمونه ها و ارزش رگرسیون خطی استفاده می‌شود. اگر r، معادل یا بیش از ۰/۹۹ باشد، می‌توان از رگرسیون خطی ساده استفاده کرد و هر گاه کمتر از آن بو،د باید نمونه‌های بیشتری آزمایش شود یا از محاسبات آماریT-TEST، F-TEST و یا سایر آزمون‌های آماری پیچیده، جهت تخمین خطای سیستماتیک استفاده شود.

در مقایسه روش‌هایی که دامنه اندازه‌گیری کوچکی دارند مانند سدیم یا کلسیم بهتر است میانگین تفاوت روش‌ها مورد بررسی قرار گیرد که همان تفاوت میانگین نتایج دو روش بوده و به آن تورش یا Bias نیز اطلاق می‌شود. این شاخص از طریق Paired t test تخمین زده میشود. مجموع خطای سیستماتیک و خطای تصادفی باید از خطای مجاز کمتر باشد.

پیوست شماره چهار: برخورد با نتایج غیر طبیعی یا بحرانی

دستور العمل نحوه ی برخورد با نتایج غیر طبیعی (همراه با نتایج بحرانی)

- در صورت یافتن نتایج بحرانی باید در اسرع وقت به مسئول مربوطه اطلاع داده شود. همزمان ازمسئول مربوطه شماره تماس بیمار و پزشک معالج را دریافت کرده و با آن ها تماس گرفته شود.
- در مرحله بعد تکرار آزمایش روی همان نمونه صورت می‌گیرد (نتایج اول و دوم در کنار هم ثبت شود). در صورتی که همان نتیجه مجددا تکرار شد، به عنوان موارد بحرانی پیگیری و ثبت آن حتما در فرم مربوطه انجام و امضا می‌شود.
- در صورتی که در طی تماس با بیمار شخصی جز خود بیمار پاسخگو باشد، باید اطلاعات فردی و نسبت او با بیمار سوال شود.

افراد مسئول در پروسه ی برخورد با موارد بحرانی

- کارشناس بخش و مسئول بخش: جهت بررسی مجدد آزمایش بر روی همان نمونه (طبق فرم پیوست شده)
- مسئول پیگیری موارد بحرانی: جهت ثبت موارد و اطلاع به بیمار و پزشک معالج(طبق فرم پیوست شده)
- مسئول آزمایشگاه: تصمیم گیری جهت بررسی و تکرار مجدد آزمایش با نمونه گیری مجدد از بیمار
- مسئول پذیرش: علاوه بر بررسی سوابق بیمار در سیستم باید سابقه‌ی درستی از بیمار گرفته و در صورت مصرف دارو توسط بیمار دوز دارو و زمان مصرف حتما مورد پرسش قرار گیرد.
  - ✓ **نکته:** در صورتی که به بیمار مشاوره تلفنی داده شود و یا در برگه‌ی جواب برای پزشک معالج کامنت گذاشته شود. جز موارد مشاوره ای محسوب شده و باید در فرم مربوطه (طبق فرم پیوست شده) با موارد مشاوره ای ثبت گردد.

دستورالعمل برخورد با نتایج بحرانی در آزمایشگاه های بهداشتی معاونت بهداشت اصفهان

محدوده بحرانی(Values Critical)

به نتیجه ای اطلاق می شود که گزارش فوری آن ممکن است نقش به سزایی در تفسیر یا ماهیت تشخیص یا پیشگیری از بیماری داشته باشد.

شرح:

در آزمایشگاه، مسئولیت گزارش به موقع نتایج بحرانی بر عهده تمام کارکنان شاغل در بخش های فنی می باشد. محدوده بحرانی در رابطه با تمامی تست های قابل انجام در آزمایشگاه بیان شده است که تمامی کارکنان بخش های فنی می بایست این محدوده ها را بدانند. برای الگو ضمیمه ای از محدوده های بحرانی در جدول پیوست آمده است. پس از اینکه فردی در آزمایشگاه متوجه شد که نتیجه یک تست در محدوده بحران قرار دارد، آنرا در لیست کاری مربوطه مشخص و باید مساله را با مسئول فنی و یا سوپروایزر مطرح نماید. مسئول فنی و یا سوپروایزر با درخواست تکرار آزمایش بر روی همان نمونه به صورت دوتایی و یا در کنار یک کنترل مناسب از نتیجه به دست آمده قبلی اطمینان ایجاد می نمایند .در آزمایشگاه فردی معین گشته است که این گونه موارد را به پزشک و یا بیمار اطلاع دهد. این فرد با پزشک و یا منزل بیمار تماس میگیرد و تاریخچه بیماری وی را جویا می شود. چنانچه تاریخچه بیمار موید صحت نتیجه آزمایش باشد، از وی می خواهد که برای دریافت سریع آزمایش و ارائه به پزشک به آزمایشگاه مراجعه نماید .در غیر این صورت از وی می خواهد که شرایط روز نمونه گیری را تشریح نماید چرا که ممکن است نمونه گیری صحیح نبوده باشد و سپس طریقه صحیح نمونه گیری تست مورد نظر را به طور کامل به بیمار بیان می کند. در برخی موارد الزم است برای این کار حتما بیمار به آزمایشگاه مراجعه نماید و حضوری توضیحات لازم به وی داده شود. کلیه نتایج اقدامات فوق در فرم مربوط به پیگیری نتایج بحرانی ثبت می گردد.

دستورالعمل برخورد با نتایج بحرانی

- لیست مقادیر بحرانی تمامی بخش ها باید در اختیار مسئول بخش قرار بگیرد ویا در مکانی قابل رویت نصب گردد.
- مسئول هر بخش موظف است از مقادیر بحرانی و نحوه برخود با مقادیر بحرانی آگاهی کامل داشته باشد.
- در صورت برخورد با مقادیر بحرانی بلافاصله مسئول آزمایشگاه را مطلع گردد.
- پرسنل بخش موظف است اقدامات لازم را در خصوص تکرار تست با همان روش کار یا درصورت امکان تکرار به روش دیگر انجام دهد.
- درصورت امکان با پزشک بیمار تماس گرفته ونتیجه گزارش گردد و در غیر این با پزشک کشیک موضوع مطرح گردد.
- با بیمار برای گرفتن نتیجه آزمایش تماس حاصل نموده و نتیجه آزمایش به وی تحویل گردد.
- کلیه اطلاعات مربوطه را در فرم ثبت نتایج بحرانی ثبت کرده و مستندات به صورت کامل نگهداری گردد.

پیوست شماره پنج : تفسیر نتایج کنترل کیفی خارجی

تفسیر نمونه های کنترل کیفی خارجی

نتایج حاصل از تفسیر نمونه های کنترل کیفی خارجی با شاخص های DI و SDI مشخص می گردند. بازه ها به صورت ۰/۵≤ ، ۱-۰/۵، ۱-۲، ۲-۳ و ۳≤ می باشد (ممکن است ۱۰≤ نیز ذکر گردد که به صورت Out Of Range می باشد).

- در صورتی که عدد DI در نتایج کنترل کیفی خارجی ۰/۵≤ باشد، نیاز به هیچ گونه اقدامی نداشته و نتایج بسیار خوب است.
- در صورتی که عددDI بین ۵-۰/۱ باشد، نتایج قابل قبول بوده و نیاز به اقدام اصلاحی ندارد.
- در صورتی که عددDI بین ۲-۱باشد، نتایج قابل قبول بوده اما فرآیند های آزمایش و آنالیزهای کنترل کیفی در آینده با حساسیت ودقت بیشتری انجام شوند و زمانی که نتایج کنترل کیفی بعدی آمد باید توجه داشت که هیچ یک از نتایجی که بین ۲-۱ بوده اند از رنج خارج نشده باشند (DI کمتری گرفته باشند و یا DI≥۲ نداشته باشند).
- در صورتی که عدد DI بین۲-۳ باشد، نیاز به کالیبراسیون است و از سوی دیگر باید حتما Total Error گرفته شود. در ارزیابی Total Error میزان Bias از کنترل کیفی خارجی و میزان cv از میزان cv مجاز و کنترل کیفی داخلی محاسبه می‌شود. میزان total error نباید از میزان Error مجاز بیشتر باشد. در صورتی که میزان Total Error از میزان Error مجاز کمتر بود تنها کافی است که کالیبراسیون دستگاه انجام شود. اما در صورتی که میزان Total Error از میزان Error مجاز بیشتر باشد، نیاز به اقدامات بیشتری وجود دارد.
- در صورتی که عدد DI ≥۳ باشد، بدون هیچ گونه محاسبه آماری نتایج غیرقابل قبول بوده و باید اقدامات اصلاحی صورت گیرد.

محاسبه Total Error:

(Total Analytical Error) TAE = bias + 2CV

Bias برابر با اختلاف با کنترل کیفی خارجی (عدد مرجع) است.

$$bias = \frac{\text{(میزان مرجع} - \text{محاسبه شده)}}{\text{میزان مرجع}} \times 100$$

- در صورتی که نیاز به اقدامات اصلاحی باشد، زیر نظر مسِئول بخش مراحل صورت گرفته از پیش از آزمایش تا پس از آزمایش مجددا تکرار گردد. کالیبراسیون دستگاه ها جهت بررسی خطای سیستماتیک باید بررسی شوند و جهت اطمینان از حصول عملکرد باید ارسال آزمایش به آزمایشگاه همکار صورت گرفته و پس از محاسبه رگرسیون تصحیح روش تائید گردد.

از جمله خطاهای راندوم می توان به موارد زیر اشاره کرد :

- در صورتی که برای آب کردن نمونه در مرحله اول از هوای دهان به آن دمیده شود میزان آمیلاز و لیپاز نمونه بالاتر از میزان نرمال خوانده می‌شود.
- در صورتی که مشکل در خوانش اکثریت تست های بیوشیمی باشد اما از سوی دیگر به نتایج کنترل کیفی داخلی اطمینان بالایی وجود داشته باشد، میتواند ایراد از نمونه کنترل کیفی خارجی باشد.
- در صورت ایراد در تست های کلسیم و فسفر می توان به آب مقطر مصرفی شک کرد .
- همچنین اشتباه تایپی می تواند یکی از علل خطای راندوم باشد.

پیوست شماره شش

مدیریت نمونه در آزمایشگاه (دستورالعمل نمونه گیری و انتقال نمونه شامل موارد رد و عدم پذیرش نمونه)

نمونه‌گیری وریدی

مراحل نمونه‌گیری

خون‌گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت توام دارد. جهت جمع‌آوری نمونه خون وریدی، خون‌گیر کار آزموده باید مراحل زیر را پی‌گیری نماید:

۱) انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار

۲) اطمینان از رعایت رژیم غذایی پیش از نمونه‌گیری

۳) انتخاب وسایل مورد نیاز

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

**** به‌طور کلی توصیه می‌گردد به‌دلیل رعایت اصول ایمنی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و لوله‌های خلاء جایگزین آن گردند.***

۴) استفاده از دستکش

۵) وضعیت بیمار هنگام نمونه‌گیری

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

۶) بستن تورنیکه

به منظور افزایش پر شدن ورید از خون و برجسته شدن رگ مورد نظر و جهت تسهیل ورود خون به‌داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء از رگ‌بند (تورنیکه) استفاده می‌شود (قابل ذکر است در مواردی نظیر اندازه‌گیری لاکتات خون نباید تورنیکه بسته شود).

رگ‌بند باید۱۰-۷/۵ سانتی‌متر بالای ناحیه نمونه‌گیری بسته شود و نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند.

۷) انتخاب ورید مناسب

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

۸) تمیزکردن محل نمونه‌گیری

۹) ناحیه نمونه‌گیری به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل۷۰٪ به‌صورت حرکت دورانی از داخل به خارج تمیز می‌شود. نمونه‌گیری پس از خشک شدن موضع در هوا، به‌منظور جلوگیری از همولیز و کاهش سوزش ناشی از تماس نوک سوزن با الکل و پوست، صورت می‌گیرد.

۱۰)نمونه‌گیری

باید سر سوزن در حالی که قسمت مورب نوک آن به سمت بالا است، با زاویه ۳۰°C یا کمتر وارد ورید شود.

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

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

•• حتی‌الامکان سوزن در رگ ثابت نگه‌داشته شده و اولین لوله با فشار به سوزن مرتبط شود.

•• لوله‌ها باید تا خاتمه مکش از خون پر شوند. پس از وقفه جریان خون اولین لوله از سوزن جدا شده و لوله‌های بعدی به سوزن متصل می‌شوند.

•• لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد و خون باید بلافاصله پس از پرشدن مخلوط شوند (با۱۰-۵ مرتبه سروته نمودن). جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله‌ها به شدت مخلوط گردند.

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

۱۱)دفع سر سوزن

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

۱۲)تخلیه خون

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

اقدامات پس از نمونه‌گیری

۱۳)پس از خاتمه نمونه‌گیری، باید موضع از نظر بندآمدن خون‌ریزی و یا به‌وجود آمدن هماتوم کنترل گردد.

۱۴)برچسب‌گذاری ظرف حاوی نمونه

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

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

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

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

- **نواحی مناسب جهت سوراخ کردن پوست و جمع‌آوری نمونه:**

- بند انتهایی انگشتان دست
- سطح داخلی و خارجی پاشنه پا

➢ ***در نوزادن کمتر از یک‌سال معمولا خون‌گیری از پاشنه پا انجام می‌گیرد.***

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

از نواحی زیر *نباید* خون‌گیری صورت گیرد:

۱) نرمه گوش
۲) ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان
۳) انگشتان (دست و پا) نوزادان و اطفال کمتر از یک‌سال

نواحی متورم یا مناطقی که قبلا جهت نمونه‌گیری سوراخ شده‌اند(به‌دلیل تجمع مایع بافتی)

- **روش کار**

موضع مورد نظر توسط محلول ایزوپروپانول ۷۰٪ (یا اتانول۷۰٪) ضد عفونی شده و پس از خشک شدن در مجاورت هوا، خون‌گیری به‌وسیله لانست استریل انجام می‌شود. قابل ذکر است که باید اولین قطره خون را به‌وسیله گاز پاک کرده و از قطرات بعدی استفاده نمود.

آماده‌سازی نمونه خون

سرم یا پلاسما باید در کوتاه‌ترین زمان به‌دنبال نمونه‌گیری از سلول‌های خونی جدا گردد. حداکثر زمان مجاز جهت جداسازی سرم یا پلاسما ۲ ساعت پس از نمونه‌گیری پیشنهاد می‌گردد. قابل ذکر است که درخصوص اندازه‌گیری ترکیباتی نظیر پتاسیم، هورمون‌های کورتیکواستروئیدی، کورتیزول، کاتکولامین‌ها، 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 می‌گذارد.

آماده‌سازی نمونه در طی سه مرحله انجام می‌گیرد: مرحله پیش از سانتریفیوژ، مرحله سانتریفیوژ، مرحله پس از سانتریفیوژ.

•• مرحله پیش از سانتریفیوژ

برای اکثر روش‌های اندازه‌گیری مواد در خون به‌جز اندازه‌گیری گازهای خون و آمونیاک، استفاده از سرم یا پلاسما ارجحیت دارد.

•• تهیه سرم: نمونه خون پس از جمع‌آوری (در ظروف در بسته)، باید جهت جداسازی و سانتریفیوژ مراحل لخته شدن را طی نماید که بهتر است این مرحله با طی زمان و به‌طور خودبخود صورت گیرد. عمل لخته شدن به‌طور طبیعی در دمای اتاق (۲۵-۲۲°C) پس از ۶۰-۳۰ دقیقه کامل می‌گردد. در صورتی که بیمار داروهای ضد انعقاد مصرف نماید، زمان لخته شدن طولانی‌تر بوده و اگر نمونه در شرایط سرما قرار گیرد (۸-°C ۲) نیز این عمل به تاخیر می‌افتد. هم‌چنین اگر زمان لازم جهت کامل شدن مراحل تشکیل لخته کافی نباشد، تشکیل رشته‌های ظریف فیبرین ممکن است سبب ایجاد خطا در نتایج بسیاری از دستگاه‌های خودکار بیوشیمی گردد. جهت تسریع در عمل لخته شدن می‌توان از لوله‌های جمع‌آوری سرم که حاوی فعال‌کننده یا تسریع‌کننده عمل لخته شدن باشد استفاده نمود. به‌طور مثال لوله‌های حاوی افزودنی نظیر سم مار، زمان تشکیل لخته را به ۵-۲ دقیقه، ترومبین به ۵ دقیقه، سیلیکا و پارتیکل‌های شیشه به حدود ۳۰-۱۵دقیقه می‌رسانند. (استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی‌گردد)

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

•• سرد نمودن: بعضی نمونه‌ها باید تا قبل از عمل سانتریفیوژ و جداسازی در سرما نگه‌داری شوند. سرد کردن نمونه، متابولیسم سلول‌های خونی را مهار نموده و سبب پایداری اجزای حساس به حرارت می‌گردد. جهت سرد نمودن، نمونه باید سریعا در یخ خرد شده یا مخلوطی از آب و یخ قرار گیرد (استفاده از تکه‌های بزرگ یخ به‌دلیل تماس ناکافی بین نمونه و یخ قابل قبول نمی‌باشد). یخ باید کاملا اطراف سطح خون درون لوله را احاطه کند.

نکته: قرار دادن نمونه خون بیش از دو ساعت در سرما سبب افزایش کاذب پتاسیم می‌گردد. سرما سبب مهار گلیکولیز شده، لذا انرژی جهت پمپ پتاسیم به داخل سلول ایجاد نمی‌گردد و بدنبال آن پتاسیم از سلول‌ها به بیرون نشت می‌کند. نمونه جهت اندازه‌گیری الکترولیت‌ها نیز نباید تا قبل از سانتریفیوژ و انجام آزمایش در دمای ۸-۲ ℃ قرار گیرد.

نمونه خون جهت اندازه‌گیری ترکیباتی نظیر کاتکول آمین‌ها، آمونیاک، اسید لاکتیک، پیروات، گاسترین، هورمون پاراتیروئید، فعالیت رنین پلاسما و اسید فسفاتاز، باید پس از جمع‌آوری در سرما نگه‌داری شود.

•• نگه‌دارنده‌ها و مهارکننده‌های متابولیک: بعضی افزودنی‌ها می‌توانند از تغییرات غلظت مواد در نمونه با گذشت زمان جلوگیری نمایند. مواد آنتی گلیکولیتیک نظیر فلوراید می‌توانند گلوگز را در حضور سلول‌های

خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۴-۲۲°C) و تا ۴۸ ساعت در دمای یخچال (۸-۲°C) پایدار نگه‌دارند. به‌دلیل حساسیت اندازه‌گیری گلوگز 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 چرخه‌کاری در آزمایشگاه می‌باشد. در مورد نمونه‌های خون روند انتقال ۱/۳ زمان چرخه کاری را شامل می‌شود.

*** جمع‌آوری نمونه در محل آزمایشگاه**

•• **زمان:** نمونه‌ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال گردند. انتقال نمونه‌ها می‌بایست در شرایط 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 نیزکاهش می‌دهد.

•• **درپوش:** نمونه‌ها باید در طول مدت انتقال و نگه‌داری در ظروف درپوش‌دار قرار گیرند. عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به‌دلیل از دست دادن دی اکسید کربن و افزایش PH نظیر کلسیم یونیزه و اسید فسفاتاز (افزایش می‌یابند) می‌گردد.
هم‌چنین وجود درپوش خطر ایجاد آئروسل، 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 شدیدا 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 به‌دنبال همولیز وجود دارد شامل: فسفر، پروتئین توتال، آلبومین، منیزیم، کلسیم، و اسید فسفاتاز می‌باشند.

قابل ذکر است پلاسمای حاوی ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ صورتی روشن و پلاسمای حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ قرمز است. بالا رفتن بیلی‌روبین در پلاسما ممکن است وجود هموگلوبین را بپوشاند به‌طور مثال غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین ممکن است با چشم غیر مسلح با وجود بیلی‌روبین ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر قابل رویت نباشد.

وجود همولیز در نمونه خون کامل ممکن است با چشم قابل رویت نباشد لذا پیشنهاد می‌گردد در مواردی که نتایج متغیر مورد اندازه‌گیری بالاتر از محدوده مرجع آن می‌باشد، نمونه مورد آزمایش از نظر وجود همولیز نیز بررسی گردد. (با سانتریفیوژ و بررسی پلاسما)

•• مجاورت با نور: نمونه نباید در مقابل نور خورشید قرار گیرد این امر بخصوص در مورد ترکیباتی که به نور خورشید یا اولترا ویوله بسیار حساس هستند نظیر بیلی‌روبین، ویتامین A و B6 و بتا کاروتن بسیار اهمیت دارد. ظرف حاوی این نمونه‌ها جهت محافظت از نور باید در پوششی از کاغذ آلومنییوم پیچیده شده یا درظرف شیشه‌ای قهوه‌ای نگه‌داری شوند.

*** جمع‌آوری نمونه خارج از محل آزمایشگاه**

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

*** دریافت نمونه**

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

جهت اندازه‌گیری بعضی متغیرها در خون نظیر سرب، سیکلوسپورین و هموگلوبین گلیکوزیله، خون کامل مورد استفاده قرار می‌گیرد. ولی اگر نمونه اشتباها سانتریفیوژ شود مشکلی ایجاد نشده و می‌توان آن را با همان شرایط به بخش مربوطه ارسال نمود.

نمونه‌هایی که باید در شرایط سرما نگه‌داری شوند (۸-۲°C) تا آماده شدن جهت سانتریفیوژ باید در این درجه حرارت باقی بمانند. سانتریفیوژ یخچال‌دار در این خصوص پیشنهاد می‌گردد.

❋ معیارهای رد نمونه خون

●● مشخصات ناکافی از بیمار یا نوع آزمایش (نظیر عدم وجود برچسب یا برچسب با اطلاعات ناقص)

●● حجم ناکافی

●● نشت نمونه به خارج از ظرف

●● استفاده از لوله نامناسب جمع‌آوری نمونه

●● ضد انعقاد نامناسب (مثلا فلوراید سدیم در اندازه‌گیری اوره با روش اوره‌آز تداخل می‌کند)

●● ترتیب نادرست جمع‌آوری نمونه در صورتی که در طی یک بار نمونه‌گیری از لوله‌های متعدد خلاء استفاده شود.

●● وجود همولیز یا لیپمی

●● نگه‌داری و انتقال نمونه در دمای نامناسب

●● وجود لخته در نمونه‌های جمع‌آوری شده با ماده ضد انعقاد

●● عدم تطابق برگه درخواست آزمایش با نوع نمونه و مشخصات آن

• مرحله سانتریفیوژ

همان‌طور که ذکر شد استفاده از اپلیکاتور چوبی یا پلاستیکی جهت جداسازی لخته از دیواره لوله پیشنهاد نمی‌گردد. در صورت استفاده باید احتیاط لازم برای جلوگیری از ایجاد همولیز و تولید آئروسل 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.

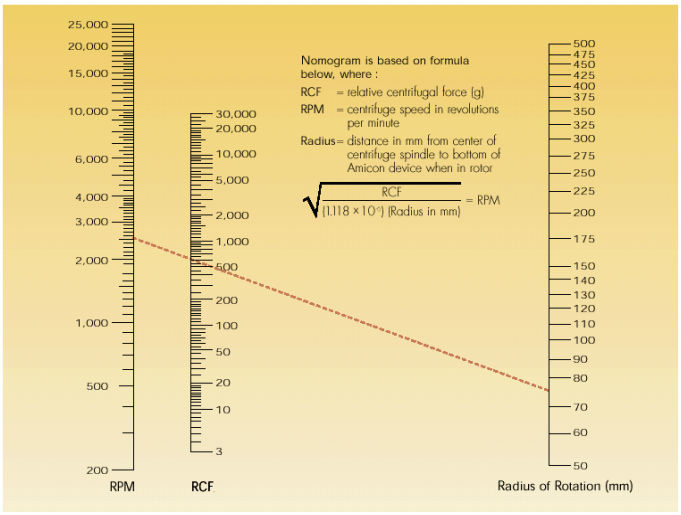
$$RCF= 1.118\times10^{5}\times r\times(RPM)^{2}$$

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 بـرای محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ به‌جای استفاده از فرمول بالا با استفاده از نمودار ۱-۳ سانتریفیوژ با توجه به شعاع و میزان دور سانتریفیوژ، نیروی نسبی سانتریفیوژ را به‌دست آورد.



نمودار ۱-۳: نموگرام 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 سانتریفیوژهایی‌که دمای آن‌ها قابل کنترل است استفاده نمود. به‌طور مثال ترکیباتی نظیر ACTH و cAMP به گرما حساس هستند و انتقال و سانتریفیوز آن‌ها نیز باید در دمای ۴°C صورت گیرد.

نکته: در صورتی‌که اندازه‌گیری پتاسیم هم به همراه ترکیباتی که حساس به دما هستند درخواست شده باشد باید توجه نمود که نمونه مذکور سریعا از سانتریفیوژ خارج شود (دمای پایین‌تر از ۱۵°C سبب افزایش کاذب پتاسیم پس از ۲ ساعت می‌گردد). لازم به ذکر است جهت اندازه‌گیری پتاسیم نمونه نباید بیش از یک‌بار سانتریفیوژ گردد.

*** زمان مورد نیاز جهت سانتریفیوژ نمونه**

- **تهیه سرم و پلاسما:** نمونه در ظرف درپوش‌دار باید به مدت ۱۵-۱۰دقیقه در ۱۰۰۰-۱۲۰۰g سانتریفیوژ شود. در صورتی‌که آزمایش تا ۴ ساعت بعد از جداسازی سرم انجام نگیرد، سرم یا پلاسما باید در دمای ۴°C-۶ نگه‌داری گردد.
- **تهیه پلاسما جهت آزمون‌های انعقادی:** نمونه در ظرف درپوش‌دار باید به مدت ۱۵دقیقه 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 صورتی‌که سنجش مورد نظر تا ۸ ساعت صورت نگیرد نمونه باید در یخچال نگه‌داری گردد.

درصورتی‌که امکان انجام آزمایش تا ۴۸ ساعت مقدور نباشد یا در صورت نیاز به نگه‌داری طولانی‌تر، سرم یا پلاسما باید در دمای ۲۰°C- نگه‌داری شود.

نکته: باید از آب شدن و یخ زدن مکرر نمونه‌های فریز شده جدا پرهیز گردد، زیرا این امر سبب از بین رفتن بعضی ترکیبات در سرم یا پلاسما می‌شود. استفاده از فریزرهای بدون برفک نیز جهت نگه‌داری نمونه پیشنهاد نمی‌گردد.

در صورت استفاده از مواد آنتی گلیگولیتیک (نظیر فلوراید) گلوگز پلاسما تا ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C و تا ۴۸ ساعت در دمای۸ °C -۲ پایدار می‌ماند. (حتی در صورت عدم جداسازی پلاسما از سلول‌ها) قابل ذکر است در صورتی‌که گلبول‌های قرمز، پلاکت و گلبول‌های سفید نمونه بالاتر از حد طبیعی باشند، اثر گلیکولیتیک این مواد کاهش می‌یابد. به‌دلیل مشکل بودن مهار گلیکولیز در نوزادان، باید پلاسما در اسرع وقت از سلول‌ها جدا گردد.

- در صورت استفاده از لوله‌های جمع‌آوری خلاء دارای ژل جداکننده همراه با افزودنی یا فعال کننده لخته، باید ملاحظات زیر صورت گیرد:

•• به محض جمع‌آوری خون جهت سرعت بخشیدن، تکمیل عمل لخته شدن و روند ضد انعقاد، لوله‌ها 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.

•• به‌طور کلی می‌توان سرم را در لوله‌های محتوی ژل تا ۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگه‌داری نمود، ولی باید قوام ژل به‌طور چشمی نیز بررسی گردد.

تداخلات:

از لوله‌های جمع‌آوری خون حاوی ژل جداکننده جهت اندازه‌گیری میزان پروژسترون، داروهای سه حلقه‌ای ضدافسردگی، اندازه‌گیری سطح دارویی و آزمون‌های 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 می‌گیرد.

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

- **گسترش ضخیم**

۱) بند اول انگشت سوم یا چهارم در بزرگسالان و یا پاشنه پا در نوزادان (مراجعه به نمونه‌گیری مویرگی) ضد عفونی شده و با لانست یک‌بار مصرف موضع سوراخ می‌گردد.

۲) یک یا دو قطره خون را با مرکز لام مماس می‌کنیم، باید توجه شود که لام با پوست تماس پیدا نکند.

۳) با گوشه یک لام دیگر یا اپلیکاتور قطره خون را به‌طور یکنواخت پخش کرده تا دایره‌ای به قطر حدود ۱سانتی‌متر 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 به‌وسیله 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 ۴۰°C-۴۵ 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 این‌صورت باید فضایی بین دو گسترش وجود داشته باشد به‌طوری که بتوان گسترش نازک را بدون آن‌که گسترش ضخیم را متاثر سازد تثبیت نمود.

•• مشخصات بیمار باید با مداد سربی یا ماژیک غیر قابل شست‌وشو در ناحیه ضخیم گسترس 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 نمونه-گیری و ظروف جمع‌آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه می‌باشد.

نمونه ادرار باید در ظرف تمیز دهان گشاد با قطر حداقل ۱۰سانتی‌متر، با اندازه مناسب و غیر قابل نشت، جمع‌آوری گردد. بهتر است ظرف جمع‌آوری ادرار یک‌بار مصرف بوده و درغیر این‌صورت عاری از هرگونه آلودگی با مواد شوینده باشد. قابل ذکر است که نمونه ادرار نباید به مدفوع آلوده باشد.

جهت کشت ادرار ظرف نمونه باید حتما استریل باشد. برای 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 صورتی‌که 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 صورتی‌که 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 (۷-۱۰صبح) 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 پروتئین‌اوری 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.

❋ ادرار زمان‌دار

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

❋ ادرار ۲۴ ساعته

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

●● جمع آوری نمونه: ظرف نمونه باید پلاستیکی و دهان گشاد 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 به‌طوری که آخرین نمونه جمع‌آوری شده، اولین نمونه صبحگاهی روز بعد (در همان ساعت اولین نمونه تخلیه شده روز قبل) باشد.
بر روی برچسب روی ظرف محتوی نمونه علاوه بر نام و نام خانوادگی باید تاریخ، ساعت شروع و پایان نمونه-گیری نیز یاداشت گردد و در صورت استفاده از ماده نگه‌دارنده درج نام ماده نیز ضروری است.
در طول مدت جمع‌آوری، ظرف نمونه باید در یخچال یا درون یخ نگه‌داری شود.
ممکن است جهت ادرار ۲۴ ساعته از مواد نگه‌دارنده استفاده گردد که با توجه به خطر زیستی این مواد، باید هشدارهای لازم به بیمار داده شود.

❋ ادرار تمیز

جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی از نمونه ادرار تمیز استفاده می‌شود.

•• نحوه جمع‌آوری نمونه

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

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

•• جهت نمونه‌گیری از نوزادان و اطفال باید از کیسه جمع‌آوری ادرار استفاده نمود. در صورتی‌که 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 به‌دلیل امکان پاشیده شدن ادرار به هنگام تخلیه در ظرف، بهتر است ابتدا نمونه در ظرف دیگری جمع‌آوری شده و سپس به ظرف اصلی حاوی ماده نگه‌دارنده منتقل گردد.

➢ نگه‌داری و انتقال نمونه

- ➢ جهت انتقال نمونه باید درب ظرف 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 نگه‌داری شود (دمای ۲°C-۸).
- ➢ در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی‌که 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 ۲°C-۸ تا قبل از کشت نگه‌داری نمود.
- ➢ •• می‌توان قسمتی از نمونه ادرار را جهت بررسی‌های بیوشیمیایی در ظرف دیگری که حاوی نگه‌دارنده باکتریو استاتیک است، نگه‌داری نمود.

مدفوع

- ➢ مدفوع نمونه مناسبی جهت تشخیص عوامل پاتوژن مولد اسهال باکتریایی، ویروسی و انگلی است. نمونه‌گیری در زمان مناسب (عوامل ویروسی تا ۴۸ ساعت و عوامل باکتریایی تا ۴ روز از زمان

شروع اسهال)، نحوه انتقال نمونه و شرایط بیمار در هنگام نمونه‌گیری از عواملی هستند که رعایت آن‌ها در شناسایی عامل پاتوژن بسیار کمک‌کننده است. جهت جمع‌آوری نمونه مدفوع باید مواردی را در نظر داشت که به برخی از آن‌ها در زیر اشاره می‌گردد:

- •• بیمار نباید از ۱۵ روز قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک (نظیر تتراسایکلین و سولفانامید)، داروهای ضد تک‌تاخته، بیسموت، سولفات باریم، ترکیبات کائولین، روغن کرچک، هیدروکسید منیزیم یا هرگونه داروی ملین مصرف کرده باشد.
- •• تعداد دفعات نمونه‌گیری بر اساس درخواست پزشک می‌باشد.
- •• در صورت مشکوک بودن به عوامل باکتریایی سه نمونه در فاصله سه روز و در خصوص عوامل انگلی ۳ نمونه که در طول ۱۰ روز جمع‌آوری شده مناسب است.
- •• نباید در یک روز بیش از یک نوبت نمونه از بیمار گرفته شود.
- •• نمونه‌گیری در بیمارانی که بیش از سه روز بستری شده‌اند توصیه نمی‌شود.
- •• در نوزادان و اطفال می‌توان از سواپ 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.

*** سواپ مقعدی:** سواپ را با فروبردن 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 آغشتگی 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 سواپ به مخاط انتهایی روده جهت جمع-آوری نمونه بسیار مهم است.

*** سواپ مدفوع:** در صورت لزوم به نگه‌داری نمونه مدفوع بیش از ۲ ساعت، مقدار اندکی از مدفوع و هرگونه بلغم یا تکه‌های مخاط پوششی روده را با فروکردن سواپ سر پنبه‌ای یا سر پلی‌استری به‌درون مدفوع سریعا به لوله حاوی محیط انتقالی تلقیح کنید و در یخچال یا یخدان قرار دهید.

• محیط‌های انتقالی

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

•• **آب پپتونه قلیایی (Alkalane Peptone Water=APW):** این محیط را می‌توان 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 نمونه‌گیری 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 می‌گیرد و برای انتقال ویبریو مناسب نمی‌باشد. این محیط مایع بوده، لذا در حمل آن باید دقت شود. هم‌چنین تا ۱ ماه پس از تهیه قابل استفاده است.

➢ **نگه‌داری:**

•• نمونه‌های مدفوع حداکثر تا ۲ ساعت در یخچال قابل نگه‌داری است. نمونه‌هایی را که نمی‌توان به فاصله ۲ ساعت از نمونه‌گیری کشت داد، باید در محیط انتقالی قرار داده و سریعا در یخچال نگه‌داری نمود.

•• محیط انتقالی حاوی سواپ مدفوع یا مقعد را می‌توان حداکثر ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگه‌داری کرد. در غیر این‌صورت این محیط می‌بایست ترجیحا در دمای (۷۰°C-) و یا در صورت عدم دسترسی، در دمای (۲۰°C-) قرار داد (یا حداقل در فریزرهای خانگی نگه‌داری شود).

•• نمونه‌های مدفوع که از بیماران مبتلا به وبا گرفته می‌شود و در محیط انتقالی قرار می‌گیرد نیازی به نگه‌داری در دمای یخچال ندارند، مگر آن که نمونه‌ها در معرض دمای بالا (بیش از ۴۰°C) قرار داشته باشند.

• نمونه‌گیری جهت عوامل انگلی

➢ **جمع‌آوری نمونه**

•• برای انجام این آزمایش حداقل ۵ گرم مدفوع در ظرف دهان گشاد در پیچ‌دار تمیز و خشک مورد نیاز است (در صورت آبکی بودن مدفوع معادل ۵ سی‌سی).

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

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

•• نمونه مدفوع نباید با گرد و خاک، آب و ادرار آلوده گردد، زیرا آلودگی اتفاقی با خاک و آب ممکن است باعث آلودگی نمونه با ارگانیسم‌های دارای زندگی آزاد شود. ادرار نیز سبب تخریب تروفوزوئیت‌ها می‌شود. ترجیحا نباید نمونه از کاسه توالت جمع‌آوری گردد.

•• چون مرحله تروفوزوئیت تک یاخته خیلی زود از بین می‌رود، ثبت تاریخ و ساعت نمونه‌گیری ضروری است.

➢ **نگه‌داری**

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

توجه: جهت آزمایش‌های شیمیایی (مانند خون در مدفوع) به ۵۰ گرم مدفوع نیاز می‌باشد.

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.

اتیلـن دی آمیـن تتـرا 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 پتاسیم 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 سریعا به آزمایشگاه ارسال نمود تا ۲ ساعت در دمای ۴°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 سواپ‌های پنبه‌ای، که بازدارنده ارگانیسم‌های سخت رشد نظیر نایسریا گونوره و بوردتلا پرتوسیس می‌باشند را جذب نمود.

•• مدفوع از نظر توکسین کلستردیوم دیفیسیل باید بدون مواد نگه‌دارنده جمع‌آوری گردد و این نمونه تا ۴۸ ساعت در دمای ۴°C قابل نگه‌داری است. در صورت تاخیر بیشتر، نمونه باید در دمای ۷۰°C- نگه‌داری گردد.

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

نگه‌داری نمونه

در صورتی‌که نتوان نمونه‌ها را در اسرع وقت پس از دریافت نمونه مورد بررسی قرار داد، باید آن‌ها را در شرایط مناسب نگه‌داری کرد. دماهای متفاوت مورد استفاده، دمای اتاق (۲۲°C)، دمای یخچال (۴°C)، دمای بدن (۳۷°C) و دمای فریزر (۲۰°C- ۷۰°C-) می‌باشند که بسته به نوع محیط انتقالی (درصورت استفاده) و عامل اتیولوژیک عفونت متفاوت است.

بعضی نمونه‌ها نظیر ادرار، مدفوع، نمونه جهت بررسی عوامل ویروسی، خلط، سواپ‌ها (به‌غیر از عوامل بی-هوازی)، وسایل خارجی نظیر کاتتر را می‌توان در دمای ۴°C نگه‌داری نمود.

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

•• سرم جهت بررسی‌های سرولوژیک تا یک هفته در دمای ۲۰°C– قابل نگه‌داری است.

•• نگه‌داری طولانی مدت بافت‌ها یا نمونه‌ها در دمای ۷۰°C- صورت می‌گیرد.

•• مایع مغزی نخاعی در صورتی‌که سریعا مورد بررسی قرار نگیرد تا ۶ ساعت در دمای ۳۵°C قابل نگه‌داری است. جدول ۴-۳ شرایط نگه‌داری نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۳: شرایط نگه‌داری نمونه

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

موارد رد نمونه

موارد رد نمونه به شرح زیر بیان می‌گردد:

- عدم هم‌خوانی اطلاعات برگه درخواست آزمایش و برچسب روی نمونه
- استفاده از محیط انتقالی نامناسب
- جمع‌آوری نمونه در ظرفی که دارای نشت است
- نمونه ناکافی
- زمان انتقال بیش از ۲ ساعت در نمونه‌های بدون مواد نگه‌دارنده
- انتقال نمونه در دمای نامناسب
- خشک شدن نمونه
- دریافت نمونه در محلول فیکساتیو نظیر فرمالین (نمونه مدفوع مستثنی می‌باشد)
- درخواست کشت بی‌هوازی بر روی نمونه‌هایی که باکتری‌های بی‌هوازی فلور طبیعی آنهاست. (مثل واژن، دهان)
- نمونه حاصل از کاتتر فولی
- بیش از یک نمونه با یک منشا از یک مریض در همان روز (به‌غیر از موارد کشت خون)
- نمونه سواپ با درخواست‌های متعدد برای ارگانیسم‌های مختلف
- نمونه خلط که در رنگ‌آمیزی گرم کمتر از ۲۵ سلول سفید و بیش از ۱۰ سلول اپی‌تلیال در بزرگ نمایی پایین داشته باشد.