

راهنمای جمع آوری، جداسازی، نگهداری و ارسال نمونه جهت تشخیص آزمایشگاهی مولکولی هپاتیت سی

جهت انجام آزمایشات تشخیص مولکولی هپاتیت سی رعایت شرایط الزامی است:

❖ مواد و وسایل مورد نیاز:

۱. فرم مشخصات بیماران

۲. فرم ارسال نمونه به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی

۳. لوله های ۵-۱۰ سی سی حاوی EDTA یا ACD



۴. لوله های استریل گاما در پیچ دار (غیرقابل نفوذ و عاری از RNAase و DNAase)

۵. ظروف جمع آوری نمونه (کلدباکس)، جالوله ای

۶. Ice bag

۷. فریزر

۸. سانتریفیوژ

استفاده از وسایل حفاظت فردی مانند (عینک، دستکش، روپوش مناسب و...) الزامی است.

❖ نحوه نمونه گیری:

۱. ۵-۱۰ سی سی از خون بیمار به تیوپ های حاوی EDTA یا ACD اضافه گردد. (از ضد انعقاد هپارین نبایستی

استفاده شود)

۲. بلافاصله لوله ها را به آرامی ۵-۱۰ بار مخلوط کرده تا با ضد انعقاد ترکیب گردد.

۳. مشخصات بیمار، شماره نمونه و تاریخ نمونه برداری بر روی لوله و فرم مخصوص بیمار ثبت گردد.

۴. نمونه ها پس از جمع آوری تا زمان ارسال به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی در یخچال نگهداری شوند.

❖ جداسازی و نگهداری پلاسما:

۱. حداکثر در فاصله ۴-۶ ساعت پس از خون‌گیری، نمونه‌ها را برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت g ۱۰۰۰-۱۲۰۰ سانتریفیوژ

نمایید. (برای محاسبه نیروی نسبی گریز از مرکز از فرمول $(rpm)^2 * 2 * 10^5 * 1/118 = RCF$ استفاده می‌شود. RCF

نیروی نسبی گریز از مرکز با واحد g ، $10^5 * 1/118$ یک عدد ثابت، r شعاع بر حسب سانتیمتر بوده که فاصله میان محور

چرخش و مرکز لوله سانتریفیوژ است. rpm سرعت چرخش در دقیقه است.)

۲. هر یک از پلاسماهای جدا شده در لوله‌های استریل گاما در پیچ دار تقسیم شود. (لوله‌ها عاری از DNase و RNase

باشد)

↩ حجم پلاسمای نباید از ۱ سی سی کمتر باشد.

۳. با توجه به آسیب پذیر بودن ویروس HCV، به دلیل نوع ساختمان RNA رعایت موارد ذیل در خصوص نگهداری و

انتقال نمونه تاکیداً توصیه می‌گردد:

↩ تا زمان ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه منطقه‌ای، پلاسما جدا شده حتماً در فریزر -20 نگهداری شود، و برای

نگهداری طولانی مدت باید در دمای $(-70^{\circ}C)$ قرار گیرد.

↩ از انجماد و ذوب نمونه‌ها خودداری شود. (دفعات انجماد و ذوب نمونه‌ها بخصوص پلاسما سبب نتایج منفی

کاذب می‌گردد.)

❖ نکات مهم:

↩ خون کامل به هیچ عنوان نباید فریز شود.

↩ به هیچ عنوان نباید از ضد انعقاد هیپارین استفاده شود.

↩ عدم مصرف هیپارین توسط بیمار

↩ بیلیروبین بالا و لیپمیک بودن سبب ایجاد تداخل در آزمایش‌های مولکولی خواهد شد.

↩ وجود همولیز و فیبرین در نمونه‌های ارسال شده سبب نتایج نادرست می‌شود.

↩ از انجماد و ذوب نمونه‌ها خودداری شود. (دفعات انجماد و ذوب نمونه‌ها بخصوص

پلاسما سبب نتایج منفی کاذب می‌گردد.)

↩ پلاسما جدا شده حتماً در فریزر -20 نگهداری شود.

❖ حمل و نقل نمونه های بیولوژیک

برای حمل و نقل نمونه های بیولوژیک، سیستم حمل و نقل سه لایه ای مطابق با استانداردهای آزمایشگاه مرجع سلامت (به پیوست می باشد) توصیه می گردد.

↪ پلاسما در لوله در پیچ دار غیرقابل نفوذ و عاری از RNAase و DNAase منتقل گردد، پس از اطمینان از بسته بودن درب نمونه ها ، لوله های خون را در جالوله های کوچک قرار دهید. در بین نمونه ها جاذب رطوبت قرار دهید.(محفظه اول)

↪ نمونه ها را درون محفظه دوم قرار دهید که باید مقاوم، غیرقابل نشت و غیر قابل نفوذ به مایعات باشد، می بایست مشخصات نمونه روی آن درج گردد.

↪ در مرحله بعد محفظه دوم داخل محفظه سوم قرار داده شود. (کلدباکس) از مقداری یخ خشک و یا Ice bag قرار دهید .

↪ جالوله ای را در کلدباکس قرار داده و در کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی ارسال نمایید

↪ فرم ارسال نمونه به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی در پاکت غیر قابل نفوذ قرار داده شود و همراه با کلدباکس در کوتاه ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال شود .

❖ موارد رد نمونه:

۱. هرگونه نشت به بیرون از لوله
۲. مخدوش بودن مشخصات بر چسب نمونه
۳. عدم همخوانی مشخصات ذکر شده در فرم با مشخصات برچسب و کد نمونه
۴. حجم کم نمونه
۵. جمع آوری نمونه در لوله های نامناسب (دارای ضد انعقاد هپارین)