

مدیریت نمونه در آزمایشگاه های پزشکی

مقدمه

نتایج آزمایشها تحت تاثیر متغیرهای گوناگونی است که شناسایی آنها و بدنبال آن استاندارد نمودن روشهای آزمایشگاهی جهت تفسیر و استفاده بهینه از دادههای آزمایشگاهی ضروری است. این متغیرها شامل مراحل قبل از، حین و پس از آزمایش میباشند. در سالهای اخیر با توجه به تاکید بر اجرای روشهای کنترل کیفی در کلیه بخشهای آزمایشگاه در مرحله حین آزمایش و بدنبال آن برگزاری دورههای آموزشی در این خصوص، خطاهای حین آزمایش به حداقل رسیده است و لذا تاثیر متغیرهای قبل و بعد از آزمایش بسیار پررنگ شده است.

با توجه به اهمیت متغیرهای قبل از آزمایش در این فصل سعی شده است مجموعهای از دستورالعملهای کاربردی در خصوص مدیریت نمونه بیان گردد که این موارد شامل: نحوه جمعآوری انواع نمونههای بالینی، شامل خون و سایر مایعات بدن، آمادهسازی نمونه، جابجایی و نقل انتقال نمونه، شرایط نگهداری و موارد رد نمونه می باشد. بدیهی است رعایت موارد ذکر شده در این مجموعه در به حداقل رساندن عواملی که می تواند نتایج آزمایش را تحت تاثیر قرار دهد، کمک شایانی خواهد نمود.

تجهیزات لازم جهت اتاق نمونه برداری

نمونه گیری باید در یک محل مجزا، تمیز و ساکت صورت گیرد. این اتاق بهتر است مجهز به دستشویی بوده و در صورت عدم دسترسی به آب، باید محلولهای تمیزکننده دست موجود باشد.

۱- صندلی نمونه برداری: باید دارای دسته قابل تنظیم باشد به طوری که بیمار بتواند در راحت ترین وضعیت جهت نمونه گیری روی صندلی بنشیند. هم چنین صندلی باید دارای حفاظ ایمنی جهت جلوگیری از افتادن بیمار باشد.

۲- تخت معاینه

۳- سینی جمع آوری ظرفهای نمونه

۴- دستکش

• دستکش در صورت آلودگی و یا در فواصل نمونه گیری ها باید تعویض گردد.

۵- سوزن (19-23G)

۶- سرنگ یا نگه دارنده مخصوص (holder) جهت استفاده از لوله های خلاء (evacuated tube)

۷- نیشتر یکبار مصرف

۸- انواع لوله ها و ظروف در پیچ دار یا لوله های خلاء

۹- بازوبند (tourniquet)

۱۰- یخچال یا یخ باید در دسترس باشد

۱۱- ضد عفونی کننده ها:

•• ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪

•• محلول povidone – iodine ۱۰-۱٪ یا کلر هگزیدین گلوکونات جهت کشت خون

۱۲- گاز پارچه ای در ابعاد ۵×۵ cm یا ۷/۵×۷/۵ cm (استفاده از پنبه پیشنهاد نمی گردد). باند و گاز باید جهت پانسمان در دسترس باشد.

۱۳- ظروف مخصوص دفع سوسوزنهای آلوده (Puncture Resistant Disposal Container)

۱۵- فهرست انواع آزمایشها و درج مقدار خون لازم برای هر آزمایش و نوع لوله مورد استفاده

۱۶- روتاتور جهت مخلوط نمودن لوله های محتوی خون

نمونه‌گیری وریدی

مراحل نمونه‌گیری

خون‌گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت توأم 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 باید ۱۰-۷/۵ سانتی‌متر بالای ناحیه نمونه‌گیری بسته شود و نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند.

۷- انتخاب ورید مناسب

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

۸- تمیز کردن محل نمونه‌گیری

ناحیه نمونه‌گیری به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪ 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.

۹- نمونه‌گیری

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

* به محض ورود خون به‌داخل 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 پر شدن مخلوط شوند (با ۱۰-۵ مرتبه سروته نمودن). جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله‌ها به شدت مخلوط گردند.

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

۱۰- دفع سر سوزن

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

۱۱- تخلیه خون

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

۱۲- اقدامات پس از نمونه‌گیری

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

۱۳- برچسب‌گذاری ظرف حاوی نمونه

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

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

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

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

• نواحی مناسب جهت سوراخ کردن پوست و جمع‌آوری نمونه:

- بند انتهای انگشتان دست

- سطح داخلی و خارجی پاشنه پا

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

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

از نواحی زیر نباید خون‌گیری صورت گیرد:

(۱) نرمة گوش

(۲) ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان

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

نواحی متورم یا مناطقی که قبلاً جهت نمونه‌گیری سوراخ شده‌اند (به دلیل تجمع مایع بافتی)

• روش کار

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

آماده‌سازی نمونه خون

سرم یا پلاسما باید در کوتاه‌ترین زمان به دنبال 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 در خصوص 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 ($22-25^{\circ}\text{C}$) پس از ۳۰-۶۰ 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 ($2-8^{\circ}\text{C}$) 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 فعال کننده یا تسریع‌کننده عمل لخته شدن باشد استفاده نمود. به‌طور مثال لوله‌های حاوی افزودنی نظیر سم مار، زمان تشکیل لخته را به ۲-۵ دقیقه، ترومبین به ۵ دقیقه، سیلیکا و پارتیکل‌های شیشه به حدود ۳۰-۱۵ دقیقه می‌رسانند. (استفاده از پلیکاتور 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 ۳-۴ 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 سریعاً 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 کاملاً 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 $2-8^{\circ}\text{C}$ قرار گیرد.

نمونه خون جهت اندازه‌گیری ترکیباتی نظیر کاتکول آمین‌ها، آمونیاک، اسید لاکتیک، پیرووات، 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 گلوکز را در حضور سلول‌های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق ($22-24^{\circ}\text{C}$) و تا ۴۸ ساعت در دمای یخچال ($2-8^{\circ}\text{C}$) پایدار نگه‌دارند. به‌دلیل حساسیت اندازه‌گیری گلوکز در نوزادان و اطفال می‌توان از مواد افزودنی آنتی گلیکولیتیک استفاده نمود. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری لاکتات باید از فلوراید سدیم یا اگزالات پتاسیم استفاده نمود.

انتقال

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

* جمع آوری 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 22°C است از اهمیت زیادی برخوردار است.

•• وضعیت لوله: نمونه‌های خون باید در لوله‌های در پوش‌دار و در وضعیت قائم نگهداری گردند. این امر سبب تسریع فرایند انعقاد و هم‌چنین کاهش به هم خوردگی محتوی لوله می‌گردد و احتمال ایجاد همولیز را نیز کاهش می‌دهد.

•• درپوش: نمونه‌ها باید در طول مدت انتقال و نگهداری در ظروف درپوش‌دار قرار گیرند. عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به‌دلیل از دست دادن دی‌اکسید کربن و افزایش PH نظیر کلسیم یونیزه و اسید فسفاتاز (افزایش می‌یابند) می‌گردد. هم‌چنین وجود درپوش خطر ایجاد آئروسول، تبخیر نمونه و آلودگی را نیز کاهش می‌دهد.

•• همولیز: حمل و نقل نمونه باید به آرامی صورت گیرد تا امکان آسیب به گلبول‌های قرمز را به حداقل رساند. وجود همولیز در نمونه سبب تداخل با عملکرد برخی دستگاه‌هایی می‌شود که به روش نوری پارامترها را اندازه‌گیری می‌کنند. ترکیبات زیادی در سرم و پلاسما تحت تاثیر همولیز (با منشا خارجی) قرار می‌گیرند که نمونه‌هایی از آن به شرح زیر است:

- پارامترهایی که شدیداً تحت تاثیر همولیز قرار گرفته و افزایش می‌یابند شامل: هموگلوبین پلاسما، آسپارژین امینو ترانسفراز (AST)، پتاسیم، لاکتات دهیدروژناز می‌باشند.
- پارامترهایی که به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر همولیز قرار می‌گیرند شامل: آهن، آلانین امینو ترانسفراز (افزایش می‌یابند) و T4 (کاهش می‌یابد) هستند.
- پارامترهایی که کمتر تحت تاثیر همولیز قرار گرفته ولی امکان افزایش آن‌ها به‌دنبال همولیز وجود دارد شامل: فسفر، پروتئین توتال، آلومین، منیزیم، کلسیم، و اسید فسفاتاز می‌باشند.

قابل ذکر است پلاسما حاوی ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر هموگلوبین، به رنگ صورتی روشن و پلاسما 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 آلومینیوم پیچیده شده یا در ظرف شیشه‌ای قهوه‌ای نگهداری شوند.

* جمع آوری نمونه خارج از محل آزمایشگاه

در صورتی که در مرکزی فقط نمونه‌گیری انجام گیرد، نمونه‌های خون باید حداکثر تا دو ساعت پس از نمونه‌گیری با رعایت تمهیدات لازم نظیر شرایط پایداری متغیرهای مورد آزمایش و رعایت اصول ایمنی، در دمای اتاق (مگر در موارد خاص که نیاز به زنجیره سرد دارد) به آزمایشگاه منتقل شوند. در صورتی که نتوان در محدوده زمانی فوق، نمونه خون را ارسال نمود باید پس از جداسازی سرم و پلاسما، آن را در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ نگهداری و با رعایت پایداری نمونه به آزمایشگاه ارسال کرد.

* دریافت نمونه

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

جهت اندازه‌گیری بعضی متغیرها در خون نظیر سرب، سیکلوسپورین و هموگلوبین گلیکوزیله، خون کامل مورد استفاده قرار می‌گیرد. ولی اگر نمونه اشتباه 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 ($2-8^{\circ}\text{C}$) 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
- نشئت نمونه به خارج از ظرف
- استفاده از لوله نامناسب جمع‌آوری نمونه
- ضد انعقاد نامناسب (مثلاً 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 آئروسول صورت گیرد. همچنین باید در تمام مراحل جداسازی نمونه، رعایت اصول ایمنی و استفاده از وسایل حفاظت فردی صورت گیرد. قابل ذکر است که درب لوله‌ها در طی سانتریفیوژ حتماً 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.

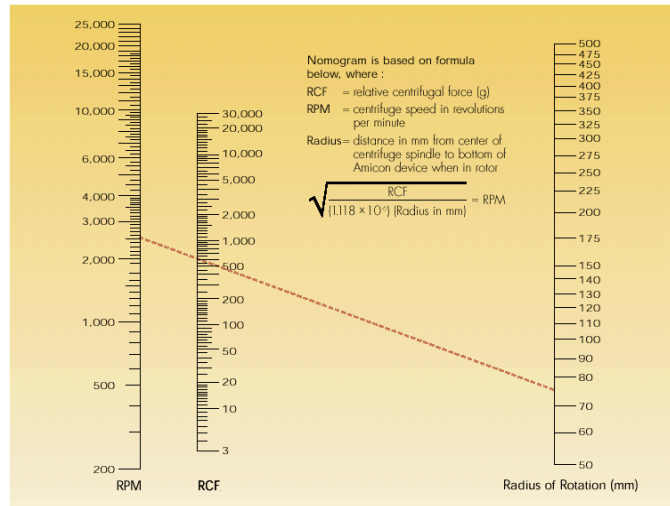
$$\text{RCF} = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times (\text{RPM})^2$$

r : شعاع گردان (سانتی متر)

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

RPM : سرعت گردان (تعداد دور در دقیقه)

می‌توان برای محاسبه نیروی نسبی سانتریفیوژ 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: نمودار تعیین نیروی نسبی سانتریفیوژ به کمک شعاع و میزان دور (PPM)

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

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

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

* زمان مورد نیاز جهت سانتریفیوژ نمونه

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

➤ تهیه پلاسما جهت آزمون های انعقادی: نمونه در ظرف درپوش دار باید به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰ سانتریفیوژ گردد.

➤

● مرحله پس از سانتریفیوژ

➤ نگهداری نمونه

پلاسما و سرم حداکثر تا ۸ ساعت پس از جداسازی در دمای اتاق قابل نگهداری است. در صورتی که سنجش مورد نظر تا ۸ ساعت صورت نگیرد نمونه باید در یخچال نگهداری گردد.

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

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

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

➤ در صورت استفاده از 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 4°C نگهداری نمود، ولی باید قوام ژل به‌طور چشمی نیز بررسی گردد.

تداخلات:

از لوله‌های جمع‌آوری خون حاوی ژل جداکننده جهت اندازه‌گیری میزان پروتسترون، داروهای سه حلقه‌ای ضدافسردگی، اندازه‌گیری سطح دارویی و آزمون‌های ایمنوهماتولوژی (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 نمونه‌گیری تهیه گردد.

● گسترش ضخیم

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

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

۳- با گوشه یک لام دیگر یا اپلیکاتور قطره خون را به‌طور یکنواخت پخش کرده تا دایره‌ای به قطر حدود ۱ سانتی‌متر ایجاد شود. گسترش باید به سرعت و با ضخامت یکنواخت تهیه گردد.

۴- لام را در وضعیت افقی قرار داده تا در حرارت محیط (25°C) خشک شود. برای تسریع در عمل خشک شدن نباید از شعله یا منبع دیگر حرارتی استفاده نمود.

نکته:

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

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

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

● گسترش نازک

۱- یک قطره خون (حدود 0.05 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 $40-45^{\circ}\text{C}$ با حرکت سریع بر روی قطره خون موجود بر روی لام اول کشیده شود (نظیر تهیه گسترش خون در آزمون CBC).

۴- گسترش باید سریعا در حرارت محیط خشک شود.

۵- گسترش خشک شده باید در محلول متانول به مدت چند ثانیه تثبیت گردد.

۶- گسترش نازک باید به گونه‌ای تهیه شود که در یک انتها ضخیم و در انتهای دیگر به حدی نازک باشد تا گلبول‌های قرمز با هم همپوشانی نداشته باشند.

نکته:

- باید از لام شیشه‌ای تمیز، بدون گرد و غبار و عاری از چربی استفاده نمود. علت ایجاد ناهمواری و یا حفراتی در گسترش چرب بودن لام یا کثیف بودن یا ناهموار بودن لبه لام دوم می‌باشد.
- هر دو گسترش نیز می‌تواند بر روی یک لام تهیه گردد، در این صورت باید فضایی بین دو گسترش وجود داشته باشد به طوری که بتوان گسترش نازک را بدون آن که گسترش ضخیم را متاثر سازد تثبیت نمود.
- مشخصات بیمار باید با مداد سربی یا ماژیک غیر قابل شست‌وشو در ناحیه ضخیم گسترش نازک نوشته شود.
- برای تسریع در عمل خشک شدن می‌توان از پنکه استفاده نمود (نباید از شعله یا منابع دیگر حرارتی استفاده شود).
- در مناطقی که رطوبت بالا است استفاده از گرمخانه 25°C جهت خشک نمودن لام‌ها پیشنهاد می‌گردد.

ادرار

نمونه ادرار برای بررسی‌های شیمیایی، سلول‌شناسی و میکروبی‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نحوه نمونه‌گیری و ظروف جمع‌آوری ادرار از عوامل مهم در کیفیت نمونه می‌باشد. نمونه ادرار باید در ظرف تمیز دهان گشاد با قطر حداقل ۱۰ سانتی‌متر، با اندازه مناسب و غیر قابل نشت، جمع‌آوری گردد. بهتر است ظرف جمع‌آوری ادرار یک‌بار مصرف بوده و در غیر این صورت عاری از هرگونه آلودگی با مواد شوینده باشد. قابل ذکر است که نمونه ادرار نباید به مدفوع آلوده باشد. 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 400g سانتریفیوژ گردد.

در بررسی‌های میکروبیولوژیک در صورتی که نتوان نمونه را به سرعت به آزمایشگاه منتقل نمود و آزمایش کرد می‌توان آن را به مدت ۲۴ ساعت در دمای $8-2^{\circ}\text{C}$ نگهداری کرده و یا می‌توان از نگه‌دارنده‌های باکتریواستاتیک نیز استفاده نمود. ظرف محتوی نمونه باید به‌درستی برچسب‌گذاری شود، اطلاعات مورد نیاز شامل: نام بیمار، زمان نمونه‌گیری، نام نگه‌دارنده، در موارد خاص ذکر نوع نمونه (کاتتر) می‌باشد. همچنین در صورتی که نمونه از محل دیگری ارسال گردد باید نحوه نگه‌داری و زمان دریافت نیز ذکر گردد.

حداقل حجم مورد نیاز جهت بررسی‌های معمول کمی و کیفی ادرار به‌طور متوسط ۱۲ میلی‌لیتر است، البته در اطفال و نوزادان ممکن است حجم کمتر نیز مورد بررسی قرار گیرد، ولی باید حتما در برگه گزارش ذکر گردد.

• انواع مختلف جمع‌آوری ادرار و موارد استفاده آن

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

* ادرار اتفاقی

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

* ادرار صبح‌گاهی (ادرار ۸ ساعته)

این نمونه معمولاً در اول صبح پس از بیدار شدن فرد جمع‌آوری می‌گردد. این نمونه جهت بررسی پروتئین‌وری 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، مثلاً نمونه ناشتا، دو ساعت پس از غذا یا بلافاصله پس از مساز پروستات

* ادرار ۲۴ ساعته

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

●● جمع‌آوری نمونه: ظرف نمونه باید پلاستیکی و 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 به طوری 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 نمونه‌گیری نیز یادداشت گردد و در صورت استفاده از ماده نگه‌دارنده درج نام ماده نیز ضروری است.

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

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

* ادرار تمیز

جهت بررسی‌های باکتری‌شناسی از نمونه ادرار تمیز استفاده می‌شود.

●● نحوه جمع‌آوری نمونه

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

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

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

● مواد نگهدارنده ادرار

مواد نگهدارنده جهت نگهداری ادرار بیش از ۲ ساعت، بررسی ترکیبات ناپایدار در ادرار و پایداری نمونه جهت مطالعات میکروبیولوژیک کاربرد دارد.

نگهدارنده‌های رایج اسید استیک، اسید بوریک و اسید کلریدریک ۶ نرمال می‌باشند. این ترکیبات توکسیک بوده و دارای خطر زیستی می‌باشند. همچنین به دلیل امکان پاشیده شدن ادرار به هنگام تخلیه در ظرف، بهتر است ابتدا نمونه در ظرف دیگری جمع‌آوری شده و سپس به ظرف اصلی حاوی ماده نگهدارنده منتقل گردد.

➤ نگهداری و انتقال نمونه

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

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

در موارد اسهال ناشی از باکتری‌های مهاجم مانند شیگلا، ساییدن سوپا به مخاط انتهایی روده جهت جمع‌آوری نمونه بسیار مهم است.

* **سوپا مدفوع:** در صورت لزوم به نگهداری نمونه مدفوع بیش از ۲ ساعت، مقدار اندکی از مدفوع و هرگونه بلغم یا تکه‌های مخاط پوششی روده را با فروکردن سوپا سر پنبه‌ای یا سر پلی‌استری به‌درون مدفوع سریعاً 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 بیافند نباید از این محیط استفاده گردد). محیط فوق در دمای ۴°C تا ۶ ماه قابل نگهداری است.

•• **سالیین گلیسرول بافره (Buffered Glycerol Saline=BGS):** این محیط برای شیگلا مورد استفاده قرار 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 نمونه گیری کشت داد، باید در محیط انتقالی قرار داده و سریعاً در یخچال نگهداری نمود.
- محیط انتقالی حاوی سوپا مدفوع یا مقعد را می‌توان حداکثر ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۴°C نگهداری کرد. در غیر این صورت این محیط می‌بایست ترجیحاً 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 آبی 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 ارگانسیم‌های دارای زندگی آزاد شود. ادرار نیز سبب تخریب تروفوزوئیت‌ها می‌شود. ترجیحا نباید نمونه از کاسه توالت جمع آوری 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.

مایع مغزی نخاعی (CSF) Cerebro-Spinal Fluid

جمع‌آوری مایع مغزی نخاعی توسط پزشک و به روش پونکسیون نخاعی (Lumber Puncture=LP) و به صورت کاملا استریل انجام می‌گیرد.

معمولا مایع جهت آزمون‌های شیمیایی، میکروبیولوژیک و آنالیز سلولی در ۳ تا ۴ لوله جمع آوری می‌شود. جهت آزمون‌های باکتری‌شناسی نمونه باید در لوله درپوش‌دار و استریل جمع‌آوری گردد. لوله‌ها بر اساس ترتیب جمع‌آوری برچسب‌گذاری می‌شوند (لوله شماره ۱ جهت آزمایش‌های بیوشیمیایی، لوله شماره ۲ جهت آزمایش‌های میکروبی‌شناسی، لوله شماره ۳ جهت بررسی سلولی).

جهت جمع‌آوری نمونه نیازی به ماده ضد انعقاد نمی‌باشد زیرا مایع مغزی نخاعی لخته نمی‌شود، مگر آن که نمونه‌گیری همراه با صدمه باشد (نمونه‌گیری تروماتیک).

الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع مغزی نخاعی در جدول ۱-۳ بیان شده است.

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

| ملاحظات | حجم مورد نیاز | ضد انعقاد | نوع بررسی |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------|------------------------------------|
| لوله شماره ۱ در صورت نمونه‌گیری تروماتیک شمارش سلولی نیز از لوله شماره ۱ صورت می‌گیرد. | ۳-۵ | - | آزمون بیوشیمیایی (پروتئین، قند...) |
| لوله شماره ۲ | ۳-۵ | - | کشت و رنگ‌آمیزی گرم |
| لوله شماره ۳ یا ۴ | ۳-۵ | - | شمارش سلولی و تشخیص افتراقی |
| لوله شماره ۴ | ۳-۵ | - | سایر بررسی‌ها (سیتولوژی) |

نمونه باید در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال گردد. دژنراسیون سلولی در طی یک ساعت اتفاق می‌افتد، لذا حداکثر زمان گردش کاری نباید بیش از ۱ ساعت به طول انجامد. نقل و انتقال نمونه در دمای اتاق صورت می‌گیرد. جهت آزمون‌های باکتریولوژیک نباید نمونه در یخچال نگه‌داری شود. از قرار دادن نمونه در معرض نور خورشید و گرما باید خودداری نمود. در صورت نیاز به حمل نمونه تا مسافت دور، استفاده از یخدان ضروری است. در این صورت نمونه تا ۳ ساعت پایدار می‌باشد.

جهت نگهداری طولانی مدت، نمونه ابتدا سانتریفیوژ شده پس از جداسازی سلول‌ها، مایع‌رویی در ظرف درپوش‌دار شیشه‌ای یا پلی‌پروپیلن در دمای (-70°C) قابل نگهداری است. جهت مطالعات سیتولوژیک رسوب CSF باید بلافاصله پس از جمع‌آوری به‌وسیله سانتریفیوژ مخصوص (۲۰ دقیقه در 180g) تهیه و به آزمایشگاه ارسال شود.

مایع سروز

مایعات سروزی نظیر مایع جنب و صفاقی را می‌توان در یک لوله جمع‌آوری و سپس در محل نمونه‌گیری یا آزمایشگاه به لوله‌های مختلف و با حجم‌های کمتر تقسیم نمود. قابل ذکر است که نمونه قبل از تقسیم و شمارش سلولی باید کاملاً مخلوط گردد. EDTA ضد انعقاد پیشنهادی در خصوص شمارش و افتراق سلولی است. جهت شمارش و افتراق سلولی، نمونه‌ها تا ۲۴ ساعت در دمای 6°C -۲ قابل نگهداری هستند. در خصوص بررسی‌های میکروبی نمونه باید در ظرف استریل جمع‌آوری گردد. جهت بررسی سیتولوژی ممکن است نمونه در حجم‌های متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردد (۱۰۰-۱۵ میلی‌لیتر) ولی حجم پیشنهادی ۵۰ میلی‌لیتر است و نیاز به استفاده از لوله‌های استریل و ماده ضد انعقاد نیز نمی‌باشد. البته می‌توان از هپارین و EDTA هم استفاده کرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه و آزمایش بر روی مایع سروز در جدول ۲-۳ بیان شده است.

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

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

مایعات سروزی باید در اسرع وقت و در دمای اتاق به آزمایشگاه منتقل شوند. بررسی‌های سیتولوژی نیز باید هر چه سریع‌تر صورت گیرند، و در صورت نیاز می‌توان نمونه را در دمای 4°C و بدون ماده تثبیت کننده تا چند روز نگهداری نمود.

مایع سینوویال

حجم نمونه جهت بررسی‌های آزمایشگاهی بسته به اندازه مفصل و نوع مایع تجمع یافته در مفصل متفاوت است. معمولاً حجم ۳-۵ میلی‌لیتر ایده‌آل است. در مفاصل کوچک ممکن است این مقدار نمونه قابل تهیه نباشد، لذا حجم کمتر نیز قابل قبول است. قابل ذکر است که نمونه قبل از بررسی‌های آزمایشگاهی باید به‌خوبی مخلوط گردد. در بعضی از مراجع ذکر شده که ضد انعقاد لیتیم هپارین و EDTA به‌دلیل ایجاد کریستال در نمونه و امکان اشتباه با کریستال‌های پاتولوژیک، نباید مورد استفاده قرار گیرد. نقل و انتقال نمونه باید در دمای اتاق صورت گیرد. الزامات مورد نیاز جهت تهیه نمونه مایع سینوویال در جدول ۳-۳ بیان شده است.

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

| نوع بررسی | ضد انعقاد | حجم مورد نیاز (میلی لیتر) | ملاحظات |
|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------|
| شمارش سلولی و تشخیص افتراقی، کریستال‌ها، انکلوژیون‌ها | هپارین-EDTA | ۳-۵ | بر روی حجم کمتر (چندین قطره) نیز قابل انجام است |
| گلوکز پروتئین | فلوراید یا بدون ضد انعقاد بدون ضد انعقاد | ۳-۵ ۳-۵ | ترجیحاً ۸ ساعت ناشتایی |
| CH50 | بدون ضد انعقاد | ۳-۵ | در صورت عدم انجام سریع آزمایش نمونه منجمد گردد. |
| C3, C4 | بدون ضد انعقاد یا EDTA | نیاز به ۱ میلی‌لیتر نمونه است. | |
| کشت | SPS، بدون ضدانعقاد یا ضد انعقاد بدون اثرباکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی | ۳-۵ | نیاز به لوله استریل است. |

نمونه‌های دستگاه تنفسی

بهترین زمان جمع‌آوری نمونه در اکثر عفونت‌های تنفسی در طول ۳ روز اول ایجاد علائم بیماری می‌باشد. نمونه‌ها بسته به محل عفونت، از قسمت فوقانی و تحتانی دستگاه تنفسی جمع‌آوری می‌شوند. عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی فوقانی (ویروسی و باکتریایی) در نمونه‌های گرفته شده از قسمت نازوفارنژیال گلو و عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی تحتانی در نمونه خلط قابل بررسی هستند. کشت ارگانیس‌هایی نظیر لژیونلا مشکل است لذا بهتر است که تشخیص بر اساس شناسایی

آنتی‌ژن‌های جدا شده از ادرار باشد. در صورت شک به التهاب حاد اپیگلوت، نمونه‌گیری از گلو یا فارنژیال نباید صورت گیرد زیرا استفاده از این شیوه ممکن است سبب انسداد شدید تنفسی شود. معمولاً التهاب اپیگلوت به وسیله رادیوگرافی گردن تایید می‌گردد ولی عوامل اتیولوژیک ایجاد کننده آن ممکن است از کشت خون هم جدا گردند.

● دستگاه تنفسی فوقانی

●● نمونه‌برداری از گلو و لوزه‌ها

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

●● نمونه‌برداری از انتهای بینی و نازوفارنکس

به وسیله یک سواب انعطاف‌پذیر استریل وارد سوراخ بینی شده و از نازوفارنکس نمونه تهیه گردد. سر بیمار باید کمی به عقب برده شود. در افراد بالغ سواب را حدود ۵-۶ سانتی‌متر وارد بینی کرده تا مطمئن شوید که سواب وارد ناحیه خلفی فارنکس

شده است، در همان وضعیت سواب را چند ثانیه نگه‌داشته و سپس به آرامی بچرخانید. از هر سوراخ بینی دو سواب گرفته می‌شود که یکی جهت گسترش مستقیم و دیگری جهت کشت استفاده می‌گردد.

➤ آسپیراسیون نازوفارنکس

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

● دستگاه تنفسی تحتانی

➤ روش جمع‌آوری خلط

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

●● زمان نمونه‌گیری

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

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

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

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

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

➤ نحوه نمونه‌گیری

بیمار صبح ناشتا در فضای باز ابتدا یک نفس عمیق کشیده و با سرفه‌های عمیق خلط را درون ظرف (در حالی که ظرف نزدیک لب‌های بیمار قرار دارد) تخلیه می‌کند. سپس درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار می‌دهد. بهتر است حجم خلط بین ۳-۵ میلی‌لیتر باشد.

در صورتی که بیمار نتواند با سرفه کردن برای انجام آزمایش، نمونه خلط بدهد باید به روش زیر عمل شود:

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

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

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

●● نمونه‌های باکتریایی تا مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و ویروس‌ها در محیط انتقالی مناسب در دمای ۴-۸°C قابل انتقال می‌باشند.

جمع‌آوری نمونه چشم

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

روش جمع‌آوری سواپ‌های ملتحمه

مراحل جمع‌آوری سواپ‌های ملتحمه به شرح زیر است:

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

• نقل و انتقال نمونه

نمونه جهت شناسایی باکتری‌های پاتوژن در دمای محیط، در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند. نمونه جهت شناسایی ویروس‌های پاتوژن در دمای 4°C – 8°C در محیط انتقالی مناسب انتقال داده می‌شوند. گسترش‌های تهیه شده در هوا خشک شده و در دمای محیط در جعبه لام منتقل می‌شوند.

تهیه نمونه جهت کشت خون

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

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

• حجم خون مورد نیاز

- کودکان: حجم ۳-۱ میلی‌لیتر خون کافی می‌باشد. این مقدار خون در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت خون رقیق می‌گردد.
- بزرگسالان: حجم خون جمع‌آوری شده به میزان ۱۰-۵ میلی‌لیتر است که در ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت خون رقیق می‌گردد.

• روش خنثی‌سازی عوامل ضد میکروبی در خون

با اضافه نمودن مهار کننده‌های شیمیایی نظیر سدیم پلی آنتول سولفانات (SPS) 0.05% – 0.25% به محیط کشت و رقیق سازی خون، ویژگی‌های باکتریسیدال خون و آنتی بیوتیک‌های احتمالی خنثی می‌گردد. قابل ذکر است که سدیم پلی آنتول

سولفات (SPS) فعالیت‌های ضد فاگوسیتی، ضد کمپلمانی، ضد انعقادی و ضد لیزوزمی دارد و اگر این ماده در مقادیر خیلی بالا استفاده شود، اثر مهارکنندگی در رشد میکروب‌ها خواهد داشت.

● کشت مجدد

شیشه‌های کشت خون را ظرف ۶-۲۴ ساعت (صرف نظر از وجود علائم رشد) کشت مجدد داده و سپس تا هفت روز هر روز بررسی کنید. هر نوع کدورت یا لیز گلبول‌های قرمز ممکن است نشانگر رشد میکروبی باشد و به‌طور حتم باید بلافاصله کشت مجدد انجام شود.

قابل ذکر است که ممکن است علی‌رغم عدم وجود کدورت، رشد میکروبی وجود داشته باشد، لذا ضروری است در فواصل ۶-۲۴ ساعت اولیه بعد از تلقیح، راس ۴۸ ساعت و نیز در روز هفتم نیز کشت مجدد صورت گیرد.

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

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

نمونه‌برداری از مجاری ادراری تناسلی مردان

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

در صورتی که آزمایش با تاخیر انجام گیرد، سواپ باید در محیط انتقالی نگهداری شود.

نمونه‌برداری از دهانه رحم - ترشحات واژن

جهت نمونه‌گیری ابتدا سرویکس با کمک اسپیکولوم که با آب گرم مرطوب شده مشاهده می‌شود (بدون استفاده از مواد Lubricant). قبل از نمونه‌گیری باید تمامی ترشحات از دهانه خارجی رحم پاک شود. با یک سواپ استریل تا حدود ۲-۳ سانتی‌متر درون دهانه رحم وارد شده و چند ثانیه در محل چرخانده شود تا ترشحات جذب سواپ گردد سپس بدون تماس با سطح واژن سواپ باید خارج شده و در لوله درپوش‌دار استریل قرار گیرد. سواپ باید فوراً در محیط کشت مناسب کشت داده شود و یا به کمک محیط انتقالی به آزمایشگاه ارسال گردد. جهت تهیه گسترش مستقیم با سواپ استریل دیگری به روش ذکر شده نمونه‌گیری صورت می‌گیرد.

ترشحات واژن با استفاده از اسپیکولوم (بدون استفاده از مواد Lubricant) و سواپ استریل از فورنیکس خلفی گرفته می‌شود. نمونه با سه سواپ گرفته می‌شود، یکی را جهت تهیه گسترش مرطوب در لوله درپوش‌دار محتوی سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و دو تای دیگر جهت کشت و تهیه گسترش مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرند.

در صورت مشکوک بودن به نایسریا نمونه پس از تهیه سریعاً در دمای اتاق به آزمایشگاه ارسال می‌شود. سواپ‌های آلژینات کلسیم و بعضی سواپ‌های پنبه‌ای مهارکننده نایسریا بوده، لذا بهتر است از سواپ داکرون یا ریون استفاده شود.

جمع‌آوری نمونه جهت ضایعات پوستی

در اکثر ضایعات پوستی تشخیص ممکن است بر اساس مشاهده ظاهری و تاریخچه‌ی بیماری بدون جمع‌آوری نمونه‌های تشخیصی صورت گیرد. در مشاهده ظاهری ضایعه، نکات مهمی از قبیل نوع ضایعه پوستی (اریتماتوس، ماکولار، پاپولار، ماکولوپاپولار، وزیکولار، بولوس، پتشیال، پورپوریک و غیره) و نحوه پراکندگی آناتومیک ضایعه (مرکزی، محیطی منتشر و غیره) باید در نظر گرفته شود. در مواردی با تشخیص نامعلوم، غیرمعمول و نادر ممکن جمع‌آوری نمونه از راش‌ها یا ضایعات پوستی نیاز باشد. در موارد راش‌های وزیکولار، نمونه‌ها جهت بررسی میکروسکوپی و کشت نمونه مستقیماً از وزیکول‌ها تهیه

می‌گردد. در خصوص سایر ضایعات اگزانتوماتو (ماکولار یا پاپولار) ممکن است تشخیص بیشتر بر پایه سایر روش‌ها، نظیر کشت خون و سرولوژی صورت گیرد.
در موارد مشکوک به آنتراکس پوستی یا ضایعات خیارکی ممکن است نمونه‌ها از زخم‌های پوستی و هم‌چنین نمونه برای کشت خون تهیه شود.

• روش جمع‌آوری

* راش‌های وزیکولو - پوستولار (جهت تشخیص عفونت‌های ویروسی)

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

وزیکول: سرنگ توپرکولین با سوزن ۲۷-۲۶ را در حالی که سر سوزن آن به سمت بالا قرار دارد، در پایه وزیکول وارد کنید. مایع را آسپیره نموده و سریعاً و با دقت به داخل ظرف حاوی ۱-۲ میلی‌لیتر محیط انتقال ویروسی تخلیه نمایید (یک‌بار سرنگ را با محیط انتقالی شست‌وشو دهید).

زخم: پوسته زخم را بالا آورده و به کمک سوآپ استریل داکرونی بر روی پایه زخم بمالید (سوآپ آلژینات کلسیم نباید استفاده شود). سپس سوآپ به سرعت در ظرف حاوی محیط انتقال قرار گیرد.

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

* نمونه کبره

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

* آسپیراسیون آبسه‌ها

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

• انتقال نمونه

نمونه‌ها جهت بررسی باکتریولوژیک باید در محیط آستورت یا آمیس و سوآپ‌های مشکوک به عوامل ویروسی در محیط انتقالی ویروس منتقل گردد.

در صورتی که نتوان نمونه‌ها را تا مدت ۲ ساعت بررسی نمود، نمونه‌های باکتریایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قابل نگهداری هستند. نمونه‌ها جهت جداسازی عوامل ویروسی در محیط انتقالی مناسب در دمای $4-8^{\circ}\text{C}$ قابل نگهداری بوده و در اسرع وقت باید به آزمایشگاه منتقل گردد.

نگهدارنده‌ها، ضد انعقادها و مواد افزودنی

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

• ضد انعقادهای رایج جهت نمونه خون

ضد انعقادهای رایج مورد استفاده جهت نمونه خون شامل موارد زیر می‌باشند:

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

• نگاه‌دارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع

- انواع نگاه‌دارنده‌ها در خصوص نمونه‌های ادرار و مدفوع به شرح زیر می‌باشد:
- جهت کشت ادرار و شمارش کلنی اسید بوریک مناسب می‌باشد. با استفاده از نگاه‌دارنده نمونه ادرار تا ۲۴ ساعت در دمای اتاق جهت بررسی باکتریولوژیک قابل نگهداری است.
 - نمونه مدفوع جهت کشت عوامل باکتریایی را در صورتی که نتوان سریعاً به آزمایشگاه ارسال نمود تا ۲ ساعت در دمای ۴°C قابل نگهداری است، در غیر این‌صورت نمونه‌ها را می‌توان در محیط‌های نگاه‌دارنده 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 سوپ‌های پنبه‌ای، که بازدارنده ارگانسیم‌های سخت رشد نظیر نایسریا گونه‌ها و بوردتلا پرتوسیسی می‌باشند را جذب نمود.
 - مدفوع از نظر توکسین کلستریدیوم دیفیسیل باید بدون مواد نگاه‌دارنده 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.
 - نگاه‌دارنده مناسب جهت تخم انگل، تروفوزیت و کیست تک یاخته فرمالین ۱۰٪، پلی وینیل الکل و سدیم استات فرمالین (Sodium Acetate Formalin = SAF) است.

• مواد ضد انعقاد در بررسی‌های میکروبیولوژی

- جهت جلوگیری از ایجاد لخته در نمونه‌های خون، مغز استخوان و مایع سینوویال از مواد ضد انعقاد استفاده می‌شود. باند شدن میکروارگانسیم‌ها به لخته، شناسایی آن‌ها را مشکل می‌سازد، لذا استفاده از ضد انعقاد ضروری است. انتخاب نوع و غلظت ضد انعقاد به‌دلیل اثر ضد میکروبی بعضی از آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است.
- سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) معمول‌ترین ضد انعقاد مورد استفاده جهت نمونه‌های میکروبی می‌باشد. غلظت مورد استفاده نباید بیشتر از ۰/۰۲۵ (وزنی/حجمی) باشد. گونه‌های نایسریا و بعضی باکتری‌های بی‌هوازی به غلظت‌های بالای سدیم پلی آنتول سولفات (SPS) حساس هستند. نسبت نمونه به ضد انعقاد سدیم پلی آنتول سولفات بسیار مهم است، لذا لازم است حجم‌های متفاوت از ضد انعقاد در لوله با سایز بزرگ (جهت نمونه بزرگسال) و کوچک (جهت نمونه اطفال) و هم چنین جهت مقادیر کم ارگانسیم در نمونه‌های مغز استخوان و مایع سینوویال موجود باشد.
 - هپارین دیگر ماده ضد انعقاد متداول می‌باشد و اغلب جهت کشت ویروسی و جداسازی گونه مایکوباکتریوم از خون مورد استفاده قرار می‌گیرد. البته هپارین مهارکننده رشد باکتری‌های گرم مثبت و قارچ هاست.
- سیترات سدیم و EDTA جهت نمونه‌های میکروبیولوژیک نباید مورد استفاده قرار گیرد.

نگهداری نمونه

در صورتی که نتوان نمونه‌ها را در اسرع وقت پس از دریافت نمونه مورد بررسی قرار داد، باید آن‌ها را در شرایط مناسب نگه داری کرد. دماهای متفاوت مورد استفاده، دمای اتاق (22°C)، دمای یخچال (4°C)، دمای بدن (37°C) و دمای فریزر (20°C - 70°C -) می‌باشند که بسته به نوع محیط انتقالی (در صورت استفاده) و عامل اتیولوژیک عفونت متفاوت است. بعضی نمونه‌ها نظیر ادرار، مدفوع، نمونه جهت بررسی عوامل ویروسی، خلط، سوپ‌ها (به‌غیر از عوامل بی‌هوازی)، وسایل خارجی نظیر کاتتر را می‌توان در دمای 4°C نگهداری نمود.

- پاتوژن‌هایی که به سرما حساسند باید در دمای اتاق نگهداری شوند. این عوامل ممکن است در نمونه‌هایی که حاوی باکتری‌های بی‌هوازی بوده و همچنین در اکثر مایعات استریل بدن، نمونه‌های ژنیتال، سوپ گوش و چشم نیز موجود باشند.
- سرم جهت بررسی‌های سرولوژیک تا یک هفته در دمای 20°C قابل نگهداری است.
- نگهداری طولانی مدت بافت‌ها یا نمونه‌ها در دمای 70°C - صورت می‌گیرد.
- مایع مغزی نخاعی در صورتی که سریعاً مورد بررسی قرار نگیرد تا ۶ ساعت در دمای 35°C قابل نگهداری است. جدول ۳-۴ شرایط نگهداری نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۳-۴: شرایط نگهداری نمونه

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

موارد رد نمونه

- موارد رد نمونه به شرح زیر بیان می‌گردد:
- عدم هم‌خوانی اطلاعات برگه درخواست آزمایش و برجسب روی نمونه
 - استفاده از محیط انتقالی نامناسب
 - جمع‌آوری نمونه در ظرفی که دارای نشت است
 - نمونه ناکافی
 - زمان انتقال بیش از ۲ ساعت در نمونه‌های بدون 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 منشأ از یک مریض در همان روز (به‌غیر از موارد کشت خون)

- نمونه سوپا با درخواست‌های متعدد برای ارگانسیم‌های مختلف
 - نمونه خلط که در رنگ‌آمیزی گرم کمتر از ۲۵ سلول سفید و بیش از ۱۰ سلول اپی‌تلیال در بزرگ نمایی پایین داشته باشد.
- در جدول ۳-۵ تحت عنوان مدیریت نمونه و راهنمای برخورد با آن به‌طور خلاصه مباحث این فصل بیان گردیده است.

راهنمای نمونه‌گیری

راهنمای نمونه‌گیری شامل مجموعه دستورالعمل‌های خون‌گیری وریدی، مویرگی و یا انواع دیگر نمونه‌گیری در آزمایشگاه است.

این دستورالعمل‌ها باید حاوی کلیه اطلاعات مورد نیاز جهت نمونه‌گیری باشد و برای هرکدام از آزمایش‌ها یا گروهی از آزمایش‌ها که در یک بخش فنی و با خصوصیات مشابه انجام می‌گیرند، به‌طور جداگانه تهیه شود.

این اطلاعات عبارتند از:

- ۱- تعریف شرایط مربوط به آماده‌سازی بیمار قبل از نمونه‌گیری مثل ناشتا بودن یا ضرورت رعایت یا پرهیز از رژیم غذایی یا دارویی بخصوص یا رعایت زمان‌بندی خاص برای نمونه‌گیری (مانند آزمایش GTT)
- ۲- چگونگی ثبت ساعت، تاریخ و نام فرد انجام دهنده نمونه‌گیری
- ۳- وسایل و مواد مورد نیاز جهت نمونه‌گیری (الکل، سرنگ، سوپا، لوله، تورنیکه و غیره) و ویژگی‌های مربوط به ظروف جمع‌آوری نمونه (جنس ظرف، اسیدواش بودن و غیره)
- ۴- نحوه جمع‌آوری نمونه، با در نظر گرفتن محل آناتومیک نمونه‌گیری، نوع نمونه، سن و غیره
- ۵- حجم نمونه مورد نیاز برای انجام هر آزمایش
- ۶- نوع ضدانعقاد یا نگه‌دارنده مورد نیاز (در موارد مقتضی)
- ۷- الزامات مربوط به نحوه انتقال نمونه از نظر درجه حرارت، زمان، ظرف، در نظر گرفتن فاصله و غیره
- ۸- الزامات مربوط به شرایط نگه‌داری نمونه قبل از انجام آزمایش (مثلاً محل نگه‌داری نمونه، درجه حرارت، حداکثر فاصله زمانی قابل قبول بین جمع‌آوری نمونه تا انجام آزمایش و غیره)
- ۹- ملاحظات ایمنی حین جمع‌آوری و انتقال نمونه
- ۱۰- ثبت نحوه انجام کار و مسئول مربوطه در زمان نمونه‌گیری بر بالین بیمار

۱- تعریف شرایط مربوط به آماده‌سازی بیمار قبل از نمونه‌گیری
الف - آزمایش‌هایی که انجام آن‌ها الزاماً نیاز به ناشتا بودن بیمار دارد:

ACTH, Plasma (ناشتایی از نیمه شب)
Alkaline Phosphatase, Serum
 α 1-Acid Glycoprotein, Serum
Amino Acids, Plasma (شیرخواران چهار ساعت ناشتایی ولی کودکان و بزرگسالان ۱۲ ساعت)
Ascorbic Acid, Serum
Calcitonin, Serum or Plasma
Ceruloplasmin, Serum or Plasma
FBS
Folic Acid, Serum
Glucagon, Plasma
HDL و LDL
Iron, Serum
Lactose Tolerance Test
Leptin, Serum (۱۲ ساعت ناشتایی)
Lipase, Serum
PTH, Serum (ولی آب می‌تواند بنوشد)
Schilling Test
Transthyretin, Serum
Triglycerides, Serum or Plasma (۱۰ تا ۱۴ ساعت)
Vitamin A, Serum or Plasma (حداقل هشت ساعت)

ب - آزمایش‌هایی که بیمار باید ترجیحاً ناشتا باشد:

Acid Phosphatase, Serum
 α 1-Antitrypsin, Serum
Amylase, Urine (قبل از جمع‌آوری، ناشتایی از ساعت ده شب تا شش صبح توصیه می‌شود)
Androstenedione, Serum
ApoA-I, Serum
Apolipoprotein B-100, Serum
Calcium, Serum
Cholesterol, Total, Serum or Plasma
Cobalamin, Serum
C-Peptide, Serum
Cryoglobulin, Qualitative, Serum
FTA-ABS, Serum
Glucose Tolerance Test (GGT), Serum

Homocystine, Plasma
IGF-1, Serum or Plasma
Insulin, Serum
5-Nucleotidase, Serum
Osmolality, Calculated, Serum or Plasma
Phosphorus, Serum
PSA, Serum

پ- آزمایش‌هایی که انجام آن‌ها نیازمند رعایت رژیم غذایی خاصی است:

- ◀ Fat, Semi quantitative, Stool: یک فرد بزرگسال باید تحت رژیم حاوی حدود ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم چربی یا 60 g/m^2 در روز برای حدود یک هفته قبل و در طی انجام آزمایش باشد و از مصرف غذاهای پرفیبر برای چند روز قبل از انجام آزمایش پرهیز نماید. پیش از جمع‌آوری نمونه نیز بیمار نباید از شیاف یا مواد روغنی استفاده کرده باشد. از یک هفته قبل بیمار نباید بیسموت، روغن کرچک، یا روغن معدنی مصرف کرده باشد.
- ◀ Fecal Fat, Quantitative, 72 Hour Collection: رعایت رژیم حاوی چربی به میزان ۱۵۰-۱۰۰ گرم در روز از سه روز قبل و در طی ۷۲ ساعت جمع‌آوری نمونه.
- ◀ HDL و LDL: جهت حصول بهترین نتیجه، بیمار باید به مدت سه هفته یک رژیم ثابت غذایی و وزن بدن ثابت داشته باشد و حداقل ده ساعت ناشتا باشد.
- ◀ Urine 5-HIAA: برای حداقل ۷۲-۴۸ ساعت قبل از نمونه‌گیری و در طی جمع‌آوری نمونه بیمار می‌بایست از مصرف انبه، موز، طالبی، شکلات، خرما، بادمجان، گریپ‌فروت، گردو، کیوی، هندوانه، خربزه، آجیل، آناناس، بارهنگ، گوجه سبز و گوجه‌فرنگی پرهیز نماید.
- ◀ Hydroxyproline, Total, Urine: بیمار باید از مصرف غذاهای حاوی ژلاتین (کلاژن پخته) و گوشت و داروهای حاوی آسپرین حداقل ۲۴ ساعت قبل و در طی جمع‌آوری ادرار منع شود.
- ◀ Metanephrines, Urine or Plasma: تمامی غذاهای حاوی متیل‌گزانتین به مدت ۲۴ ساعت نباید مصرف شوند.
- ◀ Newborn Screen For Phenylketonuria: نوزاد باید تغذیه مطلوب با شیر (پروتئین) به مدت ۴۸ ساعت قبل از آزمایش داشته باشد. نمونه باید حتی‌المقدور در زمان ترخیص نوزاد از بیمارستان گرفته شود.
- ◀ Phenylalanine, Blood: نوزاد باید تغذیه مطلوب با شیر (پروتئین) به مدت ۴۸ ساعت قبل از آزمایش داشته باشد. نمونه باید حتی‌المقدور زمان ترخیص نوزاد از بیمارستان گرفته شود. برای نوزادان با وزن تولد کم (Low Birth Weight=LBW) نمونه‌گیری در روزهای چهارم تا دهم پس از تولد پیشنهاد می‌شود.
- ◀ Triglycerides, Serum or Plasma: بیمار باید از سه هفته قبل رژیم غذایی ثابت داشته باشد و از سه روز قبل از نمونه‌گیری الکل مصرف نکرده و حداقل از ۲۴ ساعت قبل نیز ورزش سنگین انجام نداده باشد.

ت- آزمایش‌هایی که انجام آن‌ها نیازمند رعایت رژیم دارویی است:

- Aldosterone, Serum or Urine: قبل از انجام آزمایش باید هیپوکالمی اصلاح گردد و در صورت استفاده از داروهای ضد فشار خون و دیورتیک، حداقل از دو هفته قبل (ترجیحاً چهار تا شش هفته قبل) از انجام آزمایش با نظر پزشک قطع گردند.
- Aluminum, Serum or Urine: بیمار نباید از ۲۴ ساعت قبل از آنتی‌اسیدهای حاوی آلومینیوم مانند آمفوژل یا سوکرافیت استفاده نماید.
- ACE, Serum: داروهای کاپتوپریل و انالاپریل باعث کاهش مقادیر سرمی ACE می‌گردند.
- Plasma ADH: بیمار باید از مصرف موادی مانند نیکوتین، الکل، کافئین و دیورتیک‌ها که با ترشح ADH تداخل می‌نمایند، طی هفته قبل از آزمایش خودداری نماید.
- Bleeding Time: بیمار باید از مصرف آسپرین و داروهای مشابه در طی هفته قبل از انجام آزمایش منع گردد.
- Catecholamines Fractionation, Plasma: مصرف داروهایی مانند متیل‌دوپا و پروپرانولول که شبیه به اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین هستند باید یک هفته قبل از انجام آزمایش قطع گردند.

- Cortisol, Serum or Urine: بیمار باید از مصرف داروهای اسپیرونولاکتون یا کیناکرین اجتناب کرده و بدون استرس باشد.
- Ferritin, Serum: هنگامی که بیمار تحت درمان با آهن است، تعیین فریتین سرم چندان قابل اعتماد نخواهد بود.
- Glucose Tolerance Test (GTT), Plasma: بسیاری از داروها مثل استروئیدها، دیورتیک‌ها، داروهای ضد تشنج، داروهای سایکواکتیو، داروهای ضد اسهال و ضد التهاب تداخل ایجاد می‌کنند.
- Urine 5-HIAA: برای حداقل ۷۲-۴۸ ساعت قبل از نمونه‌گیری و در طی جمع‌آوری نمونه بیمار می‌بایست از مصرف داروهای استامینوفن، سالیسیلات‌ها، فنانستین، شربت سرفه حاوی گلیکولات گلیسرین، ناپروکسن، متوکاربامول، ایمی پرامین، ایزونیازید، مهارکننده‌های منوآمین اکسیداز (MAOI)، متنامین، متیل دوپا، رزپین و فنوتیازین‌ها اجتناب نماید.
- Homovanillic Acid (HVA), Urine: بیمار باید حتی‌المقدور ۴۸ ساعت پیش از جمع‌آوری نمونه داروهای آسپرین، دی سولفیرام، رزپین و پیریدوکسین مصرف نکرده باشد. لوودوپا هم باید تا دو هفته قبل مصرف نشده باشد.
- Intrinsic Factor Blocking Antibody: بیمار در یک هفته اخیر نباید تزریق ویتامین B12 انجام داده باشد.
- Oxalate, Urine: از ۲۴ ساعت قبل از جمع‌آوری نمونه از مصرف ویتامین C اجتناب شود.
- Stool PH: روش‌های تشخیصی با باریوم و مصرف مسهل تا یک هفته قبل نباید انجام شده باشد.
- Platelet Aggregation: بیمار از هفت روز قبل از انجام آزمایش نباید آسپرین دریافت کرده باشد و باید از مصرف داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) یا سایر عوامل مهارکننده پلاکت هم اجتناب کند.
- Protein C: در مورد مصرف ضد انعقاد خوراکی توسط بیمار سؤال شود چرا که سطوح پروتئین C با مصرف داروی وارفارین کاهش می‌یابد و تا زمانی که بیمار حداقل به مدت ده روز مصرف وارفارین را متوقف نکرده نباید آزمایش انجام شود.
- Protein S: سطوح پروتئین S با مصرف استروژن یا وارفارین رابطه و در طی حاملگی کاهش می‌یابد و تا زمانی که بیمار حداقل به مدت ده روز مصرف وارفارین را متوقف نکرده نباید آزمایش انجام شود.
- PT و PTT: هرچند که هپارین PTT را طولانی می‌کند ولی به مقادیر کمتر می‌تواند PT را هم طولانی کند. هیرودین و آرگاتروبان PT و PTT را طولانی می‌کنند. بنابراین بهتر است که نمونه مربوط به آزمایش‌های انعقادی مستقیماً از یک ورید محیطی گرفته شود و خون‌گیری از بازویی که هپارین، هیرودین یا آرگاتروبان تزریق می‌شود، صورت نگیرد.
- Protoporphyrin, Free Erythrocyte (FEP): بیمار باید در ۲۴ ساعت گذشته الکل مصرف نکرده باشد و حالت مطلوب اینکه در یک هفته گذشته هیچ دارویی مصرف نکرده باشد.
- Schilling Test: بیمار از سه روز قبل از انجام آزمایش نباید ویتامین‌های گروه B را دریافت کرده باشد.
- Vasoactive Intestinal Peptide (VIP), Plasma: بیمار باید از ۲۴ ساعت قبل آنتی اسید مصرف نکرده باشد و تمامی درمان‌های دارویی باید از ۲۴ تا ۴۸ ساعت قبل قطع شوند.

ث- آزمایش‌هایی که انجام آن‌ها نیاز به رعایت زمان‌بندی خاص دارد:

- aPTT: در بیماران تحت درمان با هپارین بهترین زمان نمونه‌گیری ۳۰ دقیقه تا یک ساعت قبل از دوز بعدی هپارین است.
- ACTH, Plasma: جهت اندازه‌گیری‌های متوالی لازم است نمونه‌گیری در روزهای مختلف و در یک ساعت ثابت انجام شود. هم‌چنین نمونه‌هایی که برای اثبات وجود ریتم شبانه‌روزی طبیعی گرفته می‌شوند، باید بین شش و ده صبح و بین نه شب تا نیمه شب باشند.
- Serum AFP: جهت غربالگری نشانگان داون زمان مطلوب هفته ۱۶ تا ۱۸ حاملگی است.
- Androstenedione, Serum: در زنان نمونه باید یک هفته قبل یا بعد از زمان قاعدگی گرفته شود.

- Estriol, Unconjugated, Serum or Plasma or Urine: جهت غربالگری نشانگان داون و نشانگان ادوارد، زمان مطلوب هفته ۱۶ تا ۱۸ حاملگی است.
- GTT, Plasma: بیمار حین آزمایش نباید فعالیت داشته باشد و از سه روز قبل غذای کافی با کربوهیدرات کافی (حداقل ۱۵۰ گرم کربوهیدرات در روز) دریافت نموده و از ۱۲ ساعت قبل از انجام آزمایش نیز ناشتا باشد.
- Glycated Hemoglobin (HbA1c), Blood: در بیماران مبتلا به دیابت نوع اول آزمایش با فاصله سه ماه توصیه می شود. در مبتلایان به دیابت نوع دوم در هنگام تشخیص بیماری و هر شش ماه یا هرگاه که نظارت خوب بر بیماری مورد نیاز باشد درخواست می شود.
- Serum Inhibin A: اندازه گیری فقط بعد از هفته ۱۴ حاملگی توصیه می شود.
- Iron, Serum: به علت تاثیرات ریتم شبانه روزی آهن و این که سطح آهن سرم در عصر پایین تر است، نمونه باید در حالت ناشتا و صبح گرفته شود.
- Lithium, Serum: نمونه را ۱۲ ساعت پس از مصرف آخرین دوز دارو بگیرید.
- Urobilinogen, 2-Hour Urine: از آنجایی که یک پیک واضح در طی روز در دفع آن وجود دارد، بنابراین حالت مطلوب، یک نمونه عصرگاهی خواهد بود.

ج- آزمایش هایی که انجام آن ها نیاز به رعایت مواردی خاص دارد:

- ❖ Acid Phosphatase, Serum or Plasma: نمونه گیری بلافاصله پس از معاینه رکتال (Digital Rectal Examination=DRE)، بافت برداری پروستات و ماساژ پروستات نباید انجام گردد.
- ❖ ALT و AST: فعالیت بدنی شدید سبب افزایش میزان این دو آنزیم می گردد و باید از آن اجتناب شود.
- ❖ Albumin, Serum: بستن تورنیکه به مدت طولانی می تواند سبب افزایش آلبومین سرم به صورت کاذب گردد.
- ❖ Calcium, Ionized, Serum: بیمار باید برای مدت ۳۰ دقیقه قبل از نمونه گیری فعالیت نداشته باشد.
- ❖ CSF Glucose: برای اندازه گیری گلوکز CSF نیاز به انجام آزمایش گلوکز پلاسما نیز هست و حالت مطلوب آن است که دو ساعت قبل از انجام آزمایش بر روی CSF، نمونه پلاسما گرفته شود.
- ❖ Fat, Urine: از آلودگی نمونه با روغن ها و لوبریکانت ها، صابون ها و پودر دست کش اجتناب شود.
- ❖ Occult Blood, Stool: این مبحث در مجموعه راهنمای آماده سازی مراجعان آزمایشگاه شرح داده شده است.
- ❖ Oxalate, Urine: بیمار باید ترجیحا در منزل بوده و مایعات و غذای معمولی مصرف کند.
- ❖ Serum PSA: بیمار نباید اخیرا معاینه رکتال (DRE) و یا بافت برداری سوزنی پروستات شده باشد. انزال ممکن است سبب افزایش موقت و جزئی آن شود.
- ❖ Renin Plasma Activity (RPA): متغیرهای قبل از تحلیل (preanalytic) که می بایست تحت نظارت باشند عبارتند از تعادل سدیم، وضعیت قرارگیری بیمار، داروهای ضد فشار خون و زمان نمونه گیری.
- ❖ Semen Analysis: دو تا سه روز قبل از نمونه گیری نباید انزال رخ داده باشد (ولی نه بیشتر از هفت روز).
- ❖ Thyroglobulin, Serum: آزمایش نباید خیلی زود پس از انجام بافت برداری سوزنی، جراحی تیروئید یا درمان با ید رادیواکتیو انجام شود.

چ - آزمایش هایی که انجام آن ها در ادرار حتما نیاز به جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته دارد:

(برای تشخیص فنوکروموسیتوما جمع آوری شبانه ادرار توصیه می شود)

Catecholamines
Citrate
Cortisol, Free
(ALA) 5δ-Aminolevulinic Acid
17 Hydroxycorticosteroids
HIAA-5
Hydroxyproline
5-Ketosteroids
LH (Luteinizing Hormone)
Magnesium
Mercury
Metanephrines

Protein Electrophoresis
Protein, Quantitative
Schilling test
Transthyretin
Zn

ح - آزمایش‌هایی که انجام آن‌ها در ادرار ترجیحا نیاز به جمع‌آوری ادرار ۲۴ ساعته دارد:

Calcium

Creatinine Clearance (استفاده از دو کلیرانس متوالی دو ساعته هم قابل قبول است)

Homovanillic Acid (جمع‌آوری‌های کمتر از ۲۴ ساعت هم قابل قبول است)

Manganese (ادرار راندوم هم قابل قبول است)

Microalbuminuria (از نمونه‌ای که در مدت شب (۱۲ ساعت) جمع‌آوری شده و نیز نمونه

راندوم برای تعیین نسبت به کراتینی‌ن می‌توان استفاده کرد)

Mucopolysaccharides

Oxalate (غلظت اگزالات ادرار ابتدای صبح هم ممکن است مشابه نمونه ۲۴ ساعته باشد)

Pyridinolines

نکته: برای اندازه‌گیری آمیلاز ادرار، نمونه ادرار دو ساعته بدون اضافه کردن نگه‌دارنده ارجح است.

۲- چگونگی ثبت ساعت، تاریخ و نام فرد انجام دهنده نمونه‌گیری

بر روی هر یک از نمونه‌ها باید علاوه بر نام و نام خانوادگی بیمار، ساعت و تاریخ نمونه‌گیری و نام فرد نمونه‌گیر بطور کامل و خوانا نوشته شود به گونه‌ای که قابل پاک‌شدن نباشد و در حین سانتریفیوژ نمونه و یا سایر اقدامات از روی ظرف جدا یا پاک نگردد.

۳- وسایل و مواد مورد نیاز جهت نمونه‌گیری و ویژگی‌های مربوط به ظروف جمع‌آوری نمونه

وسایل و مواد مورد نیاز جهت نمونه‌گیری و ویژگی‌های مربوط به ظروف جمع‌آوری نمونه بسته به نوع نمونه و آزمایش مورد نظر متفاوت بوده و دارای تنوع فراوان است که در این بخش به نکات مهم در رابطه با هر آزمایش اشاره می‌گردد.

- ◆ Activated Clotting Time (ACT): یک لوله محتوی فعال‌کننده تماسی انعقادی مانند سلیت (celite)، کاتولین یا پارتیکل‌های شیشه‌ای مورد نیاز است. در روش‌هایی که به جای لوله از کارتریج استفاده می‌شود، می‌توان خون کامل را داخل یک لوله یا سرنگ پلاستیکی جمع‌آوری نمود و سپس سریعاً آن را به کارتریج منتقل کرد.
- ◆ Plasma ACTH: از سرنگ سرد شده (chilled) و دو لوله پلاستیکی درب بنفش (EDTA) که از قبل در یخ سرد شده‌اند استفاده نمایید. ACTH جذب شیشه می‌شود.
- ◆ Aluminum, Serum or Urine: نمونه سرم در لوله‌های عاری از فلز جمع‌آوری گردد. نمونه ادرار در ظرف‌هایی که با اسید شسته شده‌اند جمع‌آوری شود.
- ◆ Plasma ADH: از لوله درب بنفش (EDTA) از قبل سرد شده استفاده نمایید.
- ◆ Brucellosis, Culture: بهتر است خون در بطری‌های بای فزیک کشت خون (محیط کاستاندا) جمع‌آوری گردد.
- ◆ Calcium, Urine: از ظروف جمع‌آوری پلاستیکی یا بطری شیشه‌ای شسته شده با اسید استفاده نمایید.
- ◆ CSF: از لوله‌های سترون استفاده شود.
- ◆ Copper, Serum, Urine, CSF: از لوله‌های فاقد عناصر کمیاب و بدون ضدانعقاد استفاده نمایید. برای ادرار از ظرف پلاستیکی و ترجیحاً پلی‌اتیلن شسته شده با اسید استفاده شود.
- ◆ Cryofibrinogen, Plasma: در صورت لزوم ممکن است لوله‌ها قبل از نمونه‌گیری تا 37°C گرم شوند.
- ◆ Cryoglobulin, Serum: لوله‌ها باید قبل از نمونه‌گیری تا 37°C گرم شده باشند.
- ◆ Delta (5)- Aminolevulinic Acid, Urine: جمع‌آوری ادرار باید در ظرف تیره رنگ انجام شود.
- ◆ Fecal fat, Quantitative, 72 Hour Collection: از ظرف پلاستیکی که از قبل وزن آن تعیین شده استفاده گردد.
- ◆ Glucagon, Plasma: خون را درون لوله درب بنفش (EDTA) از قبل سرد شده بریزید و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال نمایید.
- ◆ Hemosiderin Stain, Urine: در صورتی که بررسی ابتدایی جهت تفسیر با مشکل روبرو شود از ظرف و لوله‌های سانتریفیوژ عاری از آهن استفاده شود.
- ◆ Homovanillic Acid, Urine: از ظرف پلاستیکی استفاده شود.
- ◆ Iron, Serum: از لوله درب قرمز (لخته) شسته شده با اسید استفاده شود.
- ◆ Lead, Blood: از لوله‌های مخصوص فاقد سرب (lead-free) استفاده شود.
- ◆ Lead, Urine: از ظرف ادرار پلاستیکی (ترجیحاً پلی‌اتیلن) شسته شده با اسید (نیتریک) که با آب دیونیزه به قدر کافی شسته شده باشد استفاده گردد.
- ◆ Magnesium, Manganese, Mercury, Urine: از ظرف ادرار پلاستیکی شسته شده با اسید استفاده نمایید.
- ◆ Manganese, Serum or Blood: از لوله‌های مخصوص فاقد فلز (lead-free) استفاده شود.
- ◆ Myoglobin, Qualitative, Urine: از ظرف ادرار تمیز و فاقد مواد شیمیایی و ترجیحاً پلاستیکی استفاده شود.

- ◆ Porphyrins, Quantitative, Urine: از ظرف تیره رنگ یا فویل پیچ شده استفاده نمایید.
- ◆ Pulmonary Surfactant, Amniotic Fluid: از لوله‌های سیلیکونی استفاده نکنید.
- ◆ Schilhing Test: از ظرف بزرگ ترجیحا پلاستیکی که قابل اندازه‌گیری بوده و فاقد آلودگی با مواد رادیواکتیو باشد استفاده نمایید.
- ◆ Semen Analysis: از ظرف شیشه‌ای یا پلاستیکی تمیز، خشک و با دهانه گشاد استفاده کنید که در دمای $20-40^{\circ}\text{C}$ گرم شده باشد و ضمنا فاقد ترکیبات دترژانت یا سایر مواد سمی باشد.
- ◆ Zn, Serum or Plasma: از لوله‌های فاقد فلز استفاده نمایید.
- ◆ Zn, Urine: از ظرف پلاستیکی شسته شده با اسید استفاده نمایید.

۴- نحوه جمع آوری نمونه با در نظر گرفتن محل آناتومیکی نمونه‌گیری، نوع نمونه، سن و غیره

◀ دستورالعمل نمونه‌گیری آزمایش‌های انعقادی شامل:

Activated PTT, Activated Protein C Resistance (APCR), Antiplasmin, Antithrombin, D-Dimers, FDP, Factor XIII, Fibrinogen, Heparin, Neutralization, HMWK, Mixing Studies, Plasminogen, PAI-1, Prekallikrein, Protein C, Protein S, PT, Reptilase Time, Thrombin Time, Von Willebrand Factor

به شرح زیر است:

خون‌گیری وریدی معمول. اگر قرار است آزمایش‌های متعددی انجام شود ابتدا لوله درب قرمز و سپس لوله درب آبی (سیترات) و نهایتاً لوله‌های درب بنفش (EDTA)، درب سبز (هیپارین) و درب خاکستری (اگزالات/فلوراید) پر شوند. بلافاصله پس از خون‌گیری لوله را به آرامی و حداقل چهار مرتبه سرو ته نمایید. لوله‌ها باید به اندازه مناسب و تعیین شده پر و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شوند.

◀ Acid Fast, Stain: بیمار ابتدا دهان خود را با آب شسته و سرفه‌هایی عمیق انجام دهد. خلط صبحگاهی که با تحریک سرم نمکی فیزیولوژیک و از طریق بخور تهیه می‌گردد برای آزمایش مناسب‌تر است. از اسپیره معده، برونکیال یا نای نیز می‌توان به عنوان نمونه استفاده نمود. بهتر است نمونه خلط در سه ظرف جداگانه و در سه روز متوالی (صبح‌ها) جمع آوری گردد.

◀ Plasma ACTH: نمونه‌هایی که برای اثبات وجود ریتم شبانه‌روزی گرفته می‌شوند باید بین شش و ده صبح و بین نه شب تا نیمه شب باشند. سطوح همزمان کورتیزول هم ممکن است کمک‌کننده باشند.

◀ Amino Acids, Plasma: به دلیل اینکه میزان اسیدهای آمینه پس از یک وعده غذایی پر پروتئین بالا می‌رود، نمونه‌های ناشتا ارجح هستند، البته در مواقع غربالگری آمینواسیدی، نمونه‌هایی که بلافاصله پس از صرف غذا گرفته می‌شوند، ارجحیت دارند زیرا افزایش اسیدهای آمینه در این هنگام در حد بالایی است.

◀ Bilirubin, Serum: نمونه را در اطفال می‌توان از پاشنه پا گرفت. اگر نمونه توسط نیشتر مویرگی (capillary puncture) گرفته می‌شود باید از چلانیدن (squeeze) بیش از حد اجتناب شود چرا که موجب همولیز و رقیق شدن با مایعات بافتی می‌شود.

◀ Brucellosis, Culture: در صورت امکان نمونه‌گیری پیش از شروع درمان آنتی‌میکروبیال صورت گیرد.

◀ Calcium, Ionized, Serum: بهتر است نمونه در لوله‌های اسید واش گرفته شود و از تورنیکه استفاده نشود.

◀ Catecholamines Fractionation, Plasma: بیمار باید ناشتا بوده و حداقل به مدت چهار ساعت سیگار نکشد و به مدت ۳۰ دقیقه قبل از گرفتن نمونه روی تخت دراز بکشد و فعالیت بدنی نداشته باشد.

◀ Clonidin Suppression Test (برای کاتکول آمین‌های پلاسما): شب قبل از آزمایش بیمار ناشتا می‌ماند و در صبح روز آزمایش در حالی که حالت درازکش دارد یک نمونه پایه جهت اندازه‌گیری میزان کاتکول آمین پلاسما گرفته می‌شود و پس از آن $4/3 \mu\text{g}/\text{kg}$ کلونیدین خوراکی به بیمار داده و پس از سه ساعت نمونه مجدد گرفته می‌شود. در طول این مدت بیمار به آرامی روی تخت دراز می‌کشد.

- ◀ Cold Hemolysin Test: دو لوله لخته هفت میلی متری را یکی تا 37°C گرم نموده و دیگری را تا 4°C سرد کرده و از بیمار دو نمونه تهیه نمایید. برای کنترل منفی نیز دو نمونه مشابه از یک فرد سالم تهیه کنید.
- ◀ Cortisol, Free, Urine: هنگام ارزیابی کامل بودن جمع‌آوری ادرار باید کمتر از ۱۰٪ اختلاف در غلظت‌های کراتینین هر نمونه ۲۴ ساعته وجود داشته باشد. اختلاف بیشتر از ۱۰٪ بیانگر جمع‌آوری ناقص است.
- ◀ Cortisol, Serum or Plasma:
- ✦ کورتیزول منفرد نیمه شب و هنگام خواب: در این پروتکل که برای بیماران بستری در بیمارستان استفاده می‌شود بیمار در ساعت ۱۱ شب خوابیده و یک ساعت بعد به آرامی بیدار می‌شود تا خون‌گیری صورت گیرد.
- ✦ آزمایش سرکوب دگزامتازون در طی شب: به بیمار یک میلی‌گرم دگزامتازون خوراکی در ساعت ۱۱ شب داده می‌شود و نمونه خون در هشت صبح فردای آن روز گرفته می‌شود.
- ✦ آزمایش سرکوب دگزامتازون با دوز کم: نمونه ادرار ۲۴ ساعته در چهار روز متوالی جمع‌آوری می‌شود. از هشت صبح روز دوم ۰/۵ میلی‌گرم دگزامتازون خوراکی هر شش ساعت به بیمار داده می‌شود (در مجموع هشت دوز). نمونه‌های خون در هشت صبح و هشت شب روز اول و مجدداً هشت صبح روز پنجم برای اندازه‌گیری کورتیزول گرفته می‌شوند. در هر نمونه ادرار هم کورتیزول و هم کراتینین اندازه‌گیری می‌شود.
- ✦ آزمایش سرکوب دگزامتازون با دوز بالا: نمونه ادرار ۲۴ ساعته در چهار روز متوالی جمع‌آوری می‌شود. از هشت صبح روز دوم به بیمار دو میلی‌گرم دگزامتازون خوراکی هر شش ساعت داده می‌شود (در مجموع هشت دوز). نمونه‌های خون در هشت صبح و هشت شب روز اول و مجدداً هشت صبح روز پنجم برای اندازه‌گیری کورتیزول گرفته می‌شوند. در هر نمونه ادرار هم کورتیزول و هم کراتینین اندازه‌گیری می‌شود.
- ◀ Creatinine Clearance, Urine: به بیمار آموزش داده می‌شود تا ادرار خود را ساعت هشت صبح تخلیه کرده و دور بریزد. سپس تمامی ادرار از جمله نمونه آخر که هشت صبح فردای آن روز می‌شود را داخل ظرف تخلیه کند. در طی دوره جمع‌آوری، نمونه درون یخچال قرار داده شود.
- ◀ Cryofibrinogen, Plasma: بلافاصله پس از نمونه‌گیری می‌بایست لوله‌ها را در آب گرم قرار دهید.
- ◀ Cryoglobulin, Serum: بلافاصله پس از نمونه‌گیری می‌بایست لوله‌ها را در آب گرم قرار دهید.
- ◀ Digoxin Serum: نمونه خون باید حداقل شش ساعت پس از تجویز آخرین دوز گرفته شود. معمولاً پنج روز پس از شروع درمان، دارو به وضعیت ثابت (steady state) می‌رسد. پس از این زمان بهترین ارزیابی وضعیت ثابت انجام نمونه‌گیری درست قبل از دوز بعدی دارو است.
- ◀ Estriol Unconjugated, Serum or Plasma: از آنجایی که استریول دارای ریتم شبانه‌روزی است، نمونه‌گیری‌های متوالی باید در یک ساعت ثابت از شبانه‌روز انجام شوند.
- ◀ Gastrin, Serum و پروتکل secretin challenge test: به دنبال تزریق سکرترین پورسین (porcine) به میزان ۲ واحد/کیلوگرم نمونه‌ها بعد از ۲، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ دقیقه گرفته می‌شوند.
- ◀ FBS: برای تمامی گروه‌های سنی نمونه‌های وریدی توصیه می‌شود به غیر از نوزادان که ممکن است نمونه از پاشنه پا گرفته می‌شود.
- ◀ GCT: بیماران حامله: نیازی به ناشتایی ندارند. ۵۰ گرم گلوکز به صورت خوراکی مصرف و بعد از یک ساعت نمونه خون گرفته می‌شود و در صورتی که نتیجه بیشتر از 140 mg/dl باشد آزمایش غربالگری دیابت حاملگی مثبت تلقی می‌گردد و آزمایش اضافه‌تر (Plasma و Glucose post glucose load) انجام می‌شود (100 g load و نمونه‌گیری‌های ناشتا، یک، دو و سه ساعت پس از بلع گلوکز).
- ◀ CTT: بعد از یک نمونه‌گیری ناشتا محلول گلوکز مصرف می‌شود (۷۵ گرم در بالغین و $1/75$ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در اطفال) و یک و دو ساعت بعد نمونه‌گیری صورت می‌گیرد. بیمار باید در وضعیت نشسته قرار گیرد و به غیر از آب چیزی مصرف نکند. فعالیت فیزیکی باید حداقل باشد و بعضی پیشنهاد می‌دهند بیمار در حالت خوابیده بماند. استفراغ یا اسهال ممکن است نتایج آزمایش را تغییر دهد.
- ◀ Growth Hormone, Serum (GH):

■ آزمایش سرکوب گلوکز (شک به GH بالا):

بیمار در طول شب ناشتا بوده و برای انجام آزمایش در رختخواب باقی می ماند. ابتدا یک نمونه خون گرفته می شود و بعد از بلع محلول حاوی ۱۰۰ گرم گلوکز نیز نمونه گیری صورت می گیرد.

■ شک به فقدان GH: این آزمایش به طرق مختلف انجام می پذیرد:

♣ ورزش: ورزش شدید به مدت ۲۰ دقیقه و سپس نمونه گیری

♣ خواب: بیمار در وقت معمول به رختخواب می رود و یک ساعت پس از شروع خواب عمیق (اثبات با EEG) نمونه گیری صورت می گیرد.

♣ آرژینین: تزریق آرژینین هیدروکلراید داخل وریدی به میزان ۰/۵ g/kg به صورت داخل وریدی و نمونه گیری بعد از یک تا دو ساعت

♣ گلوکاگون: تزریق داخل وریدی یا عضلانی گلوکاگون به میزان ۰/۰۳mg/kg (نه بیشتر از ۱ mg) و نمونه گیری بعد از دو تا سه ساعت

♣ ال - دوپا: مصرف خوراکی ال - دوپا به میزان ۰/۵g/۱/۷۳m² همراه با نهار و نمونه گیری بعد از نیم تا دو ساعت

♣ کلونیدین: مصرف کلونیدین به صورت خوراکی به میزان ۰/۱۵mg/m² و نمونه گیری بعد از ۹۰ دقیقه

♣ دیازپام: مصرف دیازپام به صورت خوراکی به میزان ۰/۱۵mg/m² و نمونه گیری بعد از ۶۰ دقیقه

♣ پنتاگاسترین: تجویز پنتاگاسترین داخل وریدی به میزان ۱/۵mg/kg/hour در عرض ۷۵ دقیقه و سپس نمونه گیری
Hemoglobin: از سوزن درجه-۱۸ که لوله القای تزریق به آن متصل است استفاده کنید. تورنیکه را به آرامی، بالای بازو ببندید. با حداقل ترومای ممکن ورید antecubital را سوراخ نمایید. به محض دیدن جریان خون تورنیکه را آزاد کنید. ابتدا ۳ میلی لیتر خون درون لوله درب قرمز و سپس ۵ml در لوله درب سبز (هیپارین) جمع آوری نمایید. درب لوله سبز را گذاشته و به آرامی سه تا پنج مرتبه مخلوط نمایید و از آن برای تعیین Hb پلاسما استفاده کنید.

Iron, Serum: خونگیری باید قبل از سایر نمونه هایی که احتیاج به لوله های ضد انعقاد دارند انجام شود.

Kidney Stone Analysis: نمونه می بایست از خون و بافت پاک و در یک ظرف خشک و تمیز قرار داده شود. در صورت لزوم می توان ادرار را جهت پیدا کردن سنگ ریزه ها یا سنگ از فیلتر عبور داد. برای تمیز کردن هیچگاه از پارچه یا دستمال استفاده نکنید چرا که الیاف موجود در آن ها در روش اسپکتروسکوپی مادون قرمز تداخل ایجاد می کند.

Lactic Acid, Blood or Plasma: بیمار مشت خود را گرہ نکند و در صورت امکان از تورنیکه استفاده نشود. استفاده از تورنیکه یا مشت کردن و باز کردن آن منجر به افزایش کاذب پتاسیم و لاکتات می شود.

Lactose Tolerance Test: برای بزرگسالان از ۵۰ گرم لاکتوز در ۲۰۰ml آب با طعم لیمو و برای اطفال ۲ g/kg تا نهایتاً ۵۰ گرم لاکتوز استفاده می شود. بیمار تشویق شود تا در مدت انجام آزمایش مقادیر متوسطی (یک تا دو لیوان) آب بنوشد. بیمار باید خوابیده یا نشسته باقی بماند. نمونه خون را در حالت ناشتا و ۱۵ دقیقه، ۳۰ دقیقه، ۴۵ دقیقه، ۶۰ دقیقه و ۹۰ دقیقه پس از دوز لاکتوز در لوله درب خاکستری (فلوراید) بگیرید. علائم بیمار به خصوص کرامپ ها، تهوع و اسهال آبی را یادداشت کنید.

Leukocyte Alkaline Phosphatase: شش عدد گستره (اسمیر) بر روی لام (اسلاید) از خون نوک سرانگشت تهیه نمایید. لام ها را در هوا خشک کرده و در عرض ۳۰ دقیقه به آزمایشگاه خون شناسی ارسال نمایید.

Metanephrines, Plasma: بیمار حداقل ۲۰ دقیقه در حالت خوابیده به پشت استراحت کرده و سپس اقدام به خون گیری شود. خون گرفته شده به لوله حاوی EDTA که از قبل سرد شده منتقل و در عرض ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شود.

Methamphetamine, Morphine, opiates, Urine: در صورتی که انجام آزمایش جنبه پزشکی قانونی دارد باید نمونه گیری با احتیاط و مراقبت های ویژه انجام گیرد.

Methionine Loading Test: بیمار پس از ده تا ۱۲ ساعت ناشتا بودن، ۱۰۰mg/kg ال - متیونین بلع کرده و یک نمونه خون گرفته می شود. نمونه های خون ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد تکرار می گردند تا سطوح ویتامین های B و اسیدهای آمینه در پلاسما مقایسه گردند.

Myco bacterial Culture, Sputum در روش‌های غربالگری جدید دو نمونه ابتدای صبح در دو روز متوالی پیشنهاد می‌شود. باید به بیمار آموزش داده شود تا دندان‌های خود را مسواک کرده و دندان‌های مصنوعی خود را بردارد و سپس دهان خود را به خوبی با آب بشوید تا احتمال آلودگی نمونه کاهش پیدا کند و بعد عمیقاً سرفه نماید. بعد از گرفتن نمونه باید آن را بررسی کرد تا مطمئن شد که مقدار آن کافی (حداقل ۵ml) و موکوس (و نه بزاق) باشد.

Neisseria Gonorrhea Culture & Smear

ترشحات پیشابراه مرد: جمع‌آوری ترشحات پیشابراه مرد توسط سواب داخل پیشابراهی و پس از حرکت دادن به سمت سوراخ خروجی جهت ظاهر شدن آگزودا صورت می‌گیرد.

سواب رکتال: نمونه‌های آنورکتال از کریپت‌ها درست بعد از حلقه مقعدی و توسط سواب گرفته می‌شود. مشاهده مستقیم از طریق آنوسکوپی مفید خواهد بود. بعد از داخل شدن سواب آن را چرخانده و ۱۵-۳۰ ثانیه بعد خارج نمایید.

کشت پیشابراه یا واژن: در زنانی که انجام کشت اندوسرویکس امکان‌پذیر نیست اندیکاسیون دارد.

پیشابراه زن: پیشابراه را در مقابل سمفیس پوبیس ماساژ داده تا ترشح نمایان شود، یا از سواب داخل پیشابراهی استفاده شود.

واژن: نمونه از vaginal vault گرفته شود. سواب را ۱۵-۳۰ ثانیه نگه‌داشته و بعد خارج کنید.

اندوسرویکس / سرویکال: سرویکس را به آرامی بین لبه‌های اسپکولوم فشار داده تا آگزودای اندوسرویکس نمایان شود. سپس با سواب و حالت چرخش دادن نمونه را بردارید.

غده بارتولین: آگزودا را از مجرا خارج کرده، آبه‌ها باید توسط سرنگ و سوزن آسپیره شوند.

نمونه‌های اوروفارنژیال و لوزه‌ای از طریق سواب و ترجیحاً با دید مستقیم گرفته می‌شوند.

Newborn Screen for Phenylketonuria or Galactosemia

تولد و از حاشیه کناری پاشنه پای نوزاد به ترتیب زیر انجام می‌گیرد. پاشنه پا را با یک دستمال یا حوله گرم (۴۱°C-۴۰) گرم کنید تا جریان خون در محل افزایش یابد. محل فرو کردن لانتست (نیستر) و اطراف آن را با ایزوپروپانول ۷۰٪ به خوبی پاک کرده و صبر کنید تا توسط جریان هوا کاملاً خشک شود. با استفاده از دستکش سترون شده یک‌بار مصرف و به کمک نیستر که طول سوزن آن حداکثر ۲/۴ میلی‌متر باشد، ضربه یکنواخت و آرامی به محل خون‌گیری وارد کنید تا خون به راحتی جریان یابد. قطره اول را با گاز سترون شده تمیز کرده و سپس با فشارهای متناوب و مختصری که به پاشنه وارد می‌کنید قطره بزرگی شکل می‌گیرد. کاغذ صافی را به قطره خون نزدیک کرده و آن را به مرکز دایره بچکانید. با یک تکنیک صحیح می‌توان چهار دایره موجود بر روی کاغذ صافی را پر نمود. توجه کنید سطح دوایر خونی به هیچ‌وجه با دست، حتی دستکش با دستکش لمس نشود. هم‌چنین مراقب باشید تا در هنگام خون‌گیری هیچ خراش یا پارگی روی کاغذ به وجود نیاید. کارت خونی را به‌صورت افقی روی پایه‌ای مسطح قرار دهید به طوری که خون با جایی تماس پیدا نکند. تقریباً سه ساعت وقت لازم است تا لکه های خون در دمای ۱۵-۲۵°C اتاق کاملاً خشک شود.

Occult Blood, Stool (FOBT)

ازمایش ندارند یا قادر به همکاری نیستند. باید مراقب بود تا خون احتمالی ادرار یا قاعدگی موجب آلوده شدن مدفوع نشود.

pH, Blood

چرا که این کار موجب تولید لاکتات می‌شود. نمونه‌ای که با سرنگ هپارینه گرفته شده را فاقد حباب کرده و بلافاصله سر آن را کاملاً مسدود نمایید. برای نمونه‌گیری وریدی پوست منطقه مورد نظر باید به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه گرم شده باشد و سوراخ کردن باید به قدری عمقی باشد که جریان آزاد خون برقرار شود.

- Potassium, Serum or Plasma: در صورت امکان از سوزن‌های خیلی کوچک استفاده نشود. از استاز و در صورت امکان استفاده از تورنیکه اجتناب شود. بیمار مشت خود را گره نکند چرا که باعث افزایش پتاسیم می‌شود. اگر تورنیکه استفاده می‌شود نمونه خون را یک تا دو دقیقه بعد از این که دست آزاد شده و تورنیکه برداشته شده، بگیرید. خون به آرامی به داخل لوله آزمایش تخلیه گردد تا سبب لیز نشود.
- Prolactin, Serum: نمونه را در لوله‌های از قبل سرد شده و بین هشت تا ده صبح بگیرید.
- Protein, Semi quantitative, Urine: برای بدست آوردن حداکثر غلظت ادرار هنگامی که ردیابی زنجیره سبک ایمونوگلوبولین (پروتئین بنس جونز) اهمیت دارد و هنگامی که پروتئینوری ارتواستاتیک باید رد شود نمونه اول صبح پیشنهاد می‌شود. برای سایر بیماری‌های کلیوی، ادرار طی روز مطلوب و حتی ترجیح داده می‌شود.
- Renin Plasma Activity (RPA): نمونه را با سرنگی که از قبل سرد شده گرفته و در لوله درب بنفش (EDTA دار) از قبل سرد شده بریزید. درب لوله را بسته، مخلوط کرده و بلافاصله روی یخ قرار داده و به آزمایشگاه ارسال نمایید. وضعیت قرارگیری بیمار حین نمونه‌گیری حتما ثبت گردد.
- Schilling Test: بیمار یک دوز ویتامین B₁₂ نشاندار شده با ید رادیواکتیو را بلع نموده و یک تزریق داخل عضلانی B₁₂ را نیز دریافت می‌کند سپس ادرار بیمار به مدت ۲۴ ساعت جمع‌آوری می‌گردد.
- Semen Analysis: کیفیت نمونه‌هایی که در مطب یا آزمایشگاه گرفته می‌شوند بهتر است در غیر اینصورت، می‌توان نمونه را در منزل توسط masturbation گرفت و حداکثر تا یک ساعت به آزمایشگاه رساند. نمونه‌گیری در طی مقاربت و با استفاده از یک وسیله جمع‌آوری منی ممکن است سبب کیفیت بالاتر آن شود (Silastic condom- seminal pouch type). از کاندوم‌های معمولی لاتکس به علت تداخل احتمالی با قابلیت حیات اسپرم‌ها نباید استفاده کرد. از مقاربت وقفه ای (coitus interruptus) هم نباید استفاده شود. بخش ابتدایی انزال معمولاً شامل بیشترین اسپرم است. نمونه مایع منی باید کامل گرفته شود.
- Urinalysis: معمولاً یک نمونه voided مناسب خواهد بود. اگر احتمال می‌رود نمونه با ترشح (Discharge) یا خونریزی واژینال آلوده شده باشد یک نمونه clean catch مطلوب است. زمان نمونه‌گیری با مقصود آزمایش فرق می‌کند. اگر cast یا توانایی تغلیظ کلیه را بررسی می‌کنید یا اهداف غربالگری دارید نمونه ابتدای صبح ارجح است.
- Urobilinogen, 2-Hour Urine: بیمار در ساعت دو بعد از ظهر ادرار خود را دور می‌ریزد. به بیمار ۵۰۰ میلی‌لیتر آب داده تا یک جا بنوشد. تمامی ادرار را از ساعت دو تا چهار بعد از ظهر جمع کرده و سریع به آزمایشگاه بفرستد. اوروبیلی نوژن به دمای اتاق و نور حساس است. لذا باید ظرف نمونه‌گیری پوشیده شود یا تیره رنگ باشد.

۵- حجم نمونه مورد نیاز برای انجام هر آزمایش

به طور کلی حجم مورد نیاز برای انجام آزمایش باید به اندازه‌ای باشد که انجام آزمایش و تکرار احتمالی آن به راحتی امکان پذیر باشد. این حجم برای نمونه‌های سرم یا پلاسما حداقل ۲-۳ میلی‌لیتر است.

برای سایر نمونه‌ها و همچنین موارد خاص نکات زیر را باید در نظر داشت:

- ❖ **Body Fluid Chemical Analysis:** از آنجایی که آزمایش مایعات بدن معمولاً در بخش‌های مختلف آزمایشگاه انجام می‌گیرد، یک اشتباه شایع فرستادن مقادیر ناکافی از مایع بدن به آزمایشگاه است. برای این منظور حجم ۵۰ میلی‌لیتر مطلوب خواهد بود که باید به صورت منقسم در ظرف‌های مناسب ارسال شود.
- ❖ **CSF Analysis:** معمولاً ۱-۳ml کفایت می‌کند.
- ❖ **IgG CSF/Albumin Ratio:** حداقل ۰/۱-۰/۵ میلی‌لیتر و ترجیحاً ۳ میلی‌لیتر مورد نیاز است.
- ❖ **Chloride, Sweat:** در صورت جمع‌آوری نمونه با گاز یا کاغذ صافی حداقل ۷۵ میلی‌گرم عرق مورد نیاز خواهد بود. در صورت استفاده از میکروتیوب حداقل حجم قابل قبول ۱۵ میکرولیتر است.
- ❖ **Cold Hemolysin Test:** دو لوله لخته هفت میلی‌لیتری مورد نیاز خواهد بود.
- ❖ **Cryoglobulin, Serum:** حداقل ۵ میلی‌لیتر سرم (۱۵ میلی‌لیتر خون وریدی)
- ❖ **Endomysial Antibodies:** برای نمونه‌های اطفال حداقل ۲ میلی‌لیتر سرم مورد نیاز خواهد بود.
- ❖ **Gliadin IgG/IgA Antibodies:** برای نمونه‌های اطفال حداقل ۲ میلی‌لیتر سرم مورد نیاز خواهد بود.
- ❖ **HPV DNA Test:** اندازه نمونه بیوپسی باید بین ۰/۲ تا ۰/۵ سانتی‌متر باشد.
- ❖ **Hypertonic Cryohemolysis Test:** حداقل ۳ میلی‌لیتر خون کامل تازه مورد نیاز خواهد بود.
- ❖ **Mycobacterial Culture, Ascitis Fluid:** برای تامین حساسیت ۰/۸٪، حدود یک لیتر نمونه مورد نیاز است.
- ❖ **Mycobacterial Culture, CSF:** حداقل حجم قابل قبول ۵ میلی‌لیتر بوده ولی حجم مطلوب ۱۰ میلی‌لیتر است.
- ❖ **Mycobacterial Culture, Sputum:** حداقل حجم قابل قبول ۵ میلی‌لیتر است.
- ❖ **Mycobacterial Culture, Urine:** حداقل حجم قابل قبول ۴۰ میلی‌لیتر ادرار ابتدای صبح است.
- ❖ **Osmolality, Urine:** حداقل ۱ میلی‌لیتر ادرار مورد نیاز است.
- ❖ **Pulmonary Surfactant, Amniotic Fluid:** حداقل یک میلی‌لیتر مایع آمینوتیک مورد نیاز است.
- ❖ **Rubella Culture, Urine:** ۱۰ml ادرار مورد نیاز است.
- ❖ **Skin Biopsy, Immunofluorescence (IF):** سه میلی‌متر مکعب از بافت‌برداری منگنه‌ای (پانچ بیوپسی) پوست مورد نیاز است.
- ❖ **Specific Gravity, Urine:** رفاکتومتر فقط احتیاج به چند قطره ادرار دارد، در حالی‌که سایر روش‌ها به میزان بیشتری از ادرار نیاز دارند.

۶- نوع ضد انعقاد یا نگه‌دارنده مورد نیاز

الف - ضد انعقاد EDTA:

ACTH
ADH
APOE
B- Type Natriuretic Peptide
C1 Esterase Inhibitor
CBC (K2-EDTA) (به میزان ۲/۲-۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)
Cyclosporine
Glucagon
HbA1c
Ham Test
Hb electrophoresis, HbA2
HbF
Unstable Hb
Hct-Hb
Cryohemolysis Test Hypertonic
Kleihauere – Betke
Mercury-
Metanephrines-
PTH- Related Protein
Peripheral Blood: Differential Leukocyte Count
Platelet Count–WBC count
RBC Indices
Renin activity, plasma (RPA)
Sickle Cell Tests

ب - ضد انعقاد سیترات:

aPTT (Activated Partial Thromboplastin Time)
APCR (Activated Partial C Resistance)
Antiplasmin
Antithrombin
D-Dimer
FDP
Factor XIII
Fibrinogen
Heparin Neutralization
HMWK
Lupus Anticoagulant
Mixing Studies

Plasminogen
PAI-1
Platelet Aggregation
Prekallikrein
Protein C
Protein S
PT
Reptilase Time
Sugar Water Test
Thrombin Time
Von Willebrand Factor

پ- ضد انعقاد هپارین:

Amino Acids, Plasma
Chromosome Analysis

Hb, Plasma
Methemoglobin
NBT
pCo2 Blood
PH, Blood
Phenylalanine
Tartrate Resistant leukocyte Acid Phosphatase

ت- ضد انعقاد هپارین یا EDTA:

Body Fluid
Fractionation Plasma, Catecholamines
Lead
Osmotic Fragility
PNH Test by Flow Cytometry
Reticulocyte Count

ث- نمونه لخته یا ضد انعقاد EDTA:

Apo A-I
Apo B
CEA
Cholesterol
DHEA
HDL
HIV Serology
17-Hydroxyprogesterone
IGF-1
LDL
Platelet Antibodies
Rh Genotype
Testosterone Total & Free
TG
VIP
Vitamin B6
Warfarin

ج- نمونه لخته یا ضد انعقاد هپارین:

Aldolase
ALT

Amylase
 Anion Gap
 AST
 Body Fluid Analysis
 Calcitonin
 Calcium Ionized
 Chloride, Serum or Plasma
 Cortisol
 CK-MB
 Creatinine
 Estriol, Unconjugated, Serum or Plasma
 Ethylene Glycol, Serum or Plasma
 Follicle Stimulating Hormone (FSH)
 Keton Bodies, Blood
 Lactate Dehydrogenase (LDH)
 Leptin, Serum or Plasma
 Myoglobin
 Osmolality, Calculated
 Phosphorus
 Potassium
 Protein, Total, Serum
 Sodium (لیتیم هیپارین و نه سدیم هیپارین)
 Urea Nitrogen (BUN)
 Valproic Acid
 Vitamin A
 Vitamin D
 Vitamin E

چ - سایر موارد:

- aPTT و PT: لوله‌های درب آبی حاوی سیترات سدیم. غلظت ۳/۲٪ سیترات سدیم بر غلظت ۳/۸٪ ارجحیت دارد.
- Acid Phosphatase: استفاده از ضدانعقاد EDTA ارجح است اما می‌توان از لوله لخته نیز استفاده نمود.
- Aldosterone: در صورت انجام آزمایش رنین و آلدوسترون فقط می‌توان از لوله درب بنفش (EDTA) استفاده کرد ولی در صورتی که فقط سنجش آلدوسترون مدنظر باشد می‌توان از لوله‌های حاوی هیپارین، EDTA، سیترات و یا لخته استفاده کرد.
- α1-Antitrypsin: لوله لخته جهت جمع‌آوری سرم و لوله درب بنفش (EDTA) برای آزمایش مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرد.
- Red Cell Antibody Detection / Identification: یک لوله درب قرمز (لخته) و یک لوله درب بنفش (EDTA) مورد نیاز است.
- Cryofibrinogen: دو لوله درب آبی (سدیم سیترات) یا درب بنفش (EDTA) مورد نیاز است.
- G6PD: لوله درب بنفش (EDTA) یا درب سبز (هیپارین) یا درب زرد (اسید سیترات- دکستروز، ACD) مورد نیاز است.
- 2hpp, BS, FBS: لوله درب خاکستری (فلورید سدیم یا یدواستات) ترجیح داده می‌شود؛ استفاده از لوله درب سبز (هیپارین) و درب قرمز به شرط جداکردن سریع گلبول‌های قرمز و بررسی سریع قابل قبول خواهد بود.
- GTT: لوله درب خاکستری (سدیم فلوراید یا یدواستات).
- HLA-Typing: لوله درب بنفش (EDTA) برای DNA Testing؛ لوله درب زرد (ACD) برای سرولوژی و DNA Testing مورد استفاده قرار می‌گیرد.
- Homocysteine: بهترین ضد انعقاد EDTA است ولی استفاده از سیترات یا هیپارین هم قابل قبول است.

- Lactic Acid: لوله درب خاکستری (سدیم فلوراید)؛ سرنگ هپارینه؛ لوله حاوی هپارین مورد نیاز است.
- Lactose Tolerance Test: لوله درب خاکستری (سدیم فلوراید) قابل قبول است.
- Sedimentation Rate, Erythrocyte (ESR): لوله درب بنفش (EDTA) یا پلاسمای سیتراته به نسبت چهار به یک (چهار حجم خون به یک حجم تری سدیم سیترات ۱۰۹ mmol/L) مورد نیاز است.
- T3 Uptake: لوله لخته ولی ضد انعقاد EDTA و هپارین هم قابل قبول است.

ح- مواد نگهدارنده ادرار

- Aldosterone: از اسیدبوریکی یا اسیداستیک ۵۰٪ به عنوان نگهدارنده استفاده می‌گردد تا PH=۲-۴ باشد.
- Catecholamines, Fractionation, Urine: ۲۵ میلی‌لیتر اسیداستیک ۵۰٪ برای بالغین و ۱۵ میلی‌لیتر برای بچه‌های زیر پنج سال مورد نیاز است تا pH بین دو تا چهار حفظ شود.
- Cortisol, Free, Urine: قبل از شروع به جمع‌آوری نمونه، ۲۵ میلی‌لیتر اسیداستیک ۵۰٪ یا ده گرم اسیدبوریکی به ظرف اضافه نمایید. در صورت عدم استفاده از ماده نگهدارنده، نگهداری نمونه در یخچال در طی جمع‌آوری آن ضروری خواهد بود.
- Cystine: ۲۰ میلی‌لیتر تولوئن قبل از شروع به جمع‌آوری یا اسیدی کردن نمونه تا PH=۲-۳ پس از جمع‌آوری آن مورد نیاز است.
- 5-HIAA: معمولا بدون ماده نگهدارنده ولی می‌توان از ۱۵-۱۰ گرم اسیدبوریکی یا ۱۵ میلی‌لیتر اسید استیک یا اسید هیدروکلریک استفاده کرد تا pH مناسب نمونه حفظ گردد.
- Hydroxyproline: ۳۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک شش نرمال یا ۱۵-۱۰ گرم اسیدبوریکی به ظرف اضافه نمایید.
- 17-Ketosteroids: ۱۵ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال
- Lead: ۲۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک شش نرمال (بر اساس بعضی منابع احتیاج به ماده نگهدارنده ندارد)
- Luteinizing Hormone (LH): ۱۵-۱۰ گرم اسید بوریکی
- Metanephrines: ۲۵ میلی‌لیتر اسید استیک ۵۰٪ در ابتدای جمع‌آوری به ظرف اضافه شود ولی برای کودکان زیر پنج سال ۱۵ml کفایت می‌کند.
- Oxalate: ۲۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک شش نرمال برای جلوگیری از کریستالیزه شدن اگزالات و جلوگیری از تبدیل آسکوربات به اگزالات
- Porphyrins: معمولا پنج گرم سدیم کرینات پیش از جمع‌آوری به ظرف اضافه می‌شود.
- Pregnanetriol: ۱۵-۱۰ گرم اسید بوریکی یا ۱۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال
- Uric Acid: ۱۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسیدسدیم (۱۲/۵M) برای جلوگیری از رسوب پیش از جمع‌آوری به ظرف اضافه شود.
- VMA: اسید هیدروکلریک یا اسید استیک قبل از جمع‌آوری به ظرف اضافه شود.
- Zn: ۱۰ml: اسید هیدروکلریک غلیظ

خ- مواردی که جمع‌آوری ادرار نیاز به نگهدارنده ندارد:

Amino Acids
 Amylase
 Chloride
 Citrate (بعضی پروتکل‌ها قابل به استفاده از ماده نگهدارنده هستند)
 FSH
 Immunofixation Electrophoresis
 Magnesium
 Manganese

Microalbumin
Mercury
Mucopolysaccharides
Potassium
Protein Electrophoresis
Protein, Quantitative
Sodium
Schilling Test

۷- الزامات مربوط به نحوه انتقال نمونه از نظر درجه حرارت، زمان، ظرف، فاصله و...
الف - نمونه‌هایی که باید بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شده و مورد آزمایش قرار گیرند:

Activated Clotting Time (ACT)
Ammonia, Plasma
Acid Phosphatase, Serum or Plasma
Bilirubin, Urine
CSF
Ketones, Urine
Nitrite, Urine
Nitro Blue Tetrazolium Test (NBT)
PCo₂, Blood
PH, Urine
Synovial Fluid Analysis

ب - نمونه‌هایی که باید در اولین فرصت ممکن سرم و یا پلاسما جدا گردند:

aPTT, PT
Aldolase, Plasma or Serum
Angiotensin Converting Enzyme (ACE)
Antidiuretic Hormone (ADH)
Antiphospholipid Antibody
Antiplasmin
Antithrombin
Apolipoprotein A-I
Apolipoprotein B-100
Calcitonin
D-Dimer
DHEA, DHEA-S
Factor XIII
FDP
Fibrinogen
FSH
Hemoglobin, Plasma
Heparin Neutralization
HMWK
Insulin, Serum
Luteinizing Hormone (LH)
Mixing Studies
PTH
Phosphorus, Serum
PAI-1, Plasminogen
Potassium
Prekallikrein
Protein C
Protein S
Reptilase Time
Thrombin Time
Vasoactive Intestinal Peptide (VIP)
Von Willebrand Factor

پ- نمونه‌هایی که برای جداکردن هر چه سریع‌تر سرم یا پلاسما نیاز به سانتریفیوژ یخچال‌دار است:

Antidiuretic Hormone (ADH)
ACTH
Calcitonin
C-peptide
Gastrin
IGF-1
Lecithin: Sphingomyelin Ratio, Amniotic Fluid
Prolactin
Renin Plasma Activity (RPA)

ت- مواردی که حمل و جا به جایی نمونه حتما باید بر روی یخ صورت گیرد:

Aldosterone, Serum or Plasma
Carcinoembryonic Antigen (CEA)
Methemoglobin, Whole Blood & PCO₂, Blood PH (در مخلوط آب و یخ)

ث - مواردی که باید انتقال نمونه به صورت فریز (منجمد) شده صورت گیرد:

ADH
CA19-9
Hepatitis B, C & D, Serology

ج- سایر موارد:

- ✦ Calcium, Ionized, Serum: انتقال نمونه باید در شرایط بی‌هوازی صورت گیرد.
- ✦ Cryoglobulin & Cryofibrinogen: بلافاصله نمونه‌ها را در آب گرم قرار داده و به آزمایشگاه ارسال نمایید.
- ✦ Semen Analysis: به بیمار آموزش دهید که نمونه را در عرض ۶۰-۳۰ دقیقه پس از گرفتن و با حفظ در دمای ۳۷°C به آزمایشگاه برساند که راحت‌ترین کار چسبانیدن نمونه به بدن است. دمای پایین در حین انتقال به آزمایشگاه ممکن است میزان حرکت اسپرم را کاهش دهد.

۸- الزامات مربوط به شرایط نگهداری نمونه قبل از انجام آزمایش
الف - مواردی که می‌توان نمونه را در یخچال (۲-۸°C) نگهداری کرد:

Amylase, Urine
C1 Esterase Inhibitor, Serum
Calcium, Serum
Catecholamines, Fractionation, Urine
Chloride, Serum or Plasma
Cortisol, Serum (تا هفت روز)
Creatine Kinase, Serum
CK-MB
Creatinine Clearance, Urine
Digoxin, Serum
Drugs of Abuse Testing, Urine
Erythrocyte Sedimentation Rate (حداکثر ۱۲ ساعت)
Ferritin, Serum
HbA1C (تا هفت روز)
TIBC & Iron (تا هفت روز)
Jo-1 Antibody
Leukocyte Esterase, Urine
Lithium, Serum
Magnesium, Serum or Urine
Metanephrines, Urine
Methadone, Serum or Urine
Methamphetamine, Qualitative, Urine
Morphine, Urine
Mycobacteria by DNA Probe
Mycobacterial Culture, Sputum
Myoglobin, Serum or Plasma
Opiates, Qualitative, Urine
Osmolality, Serum
Osmotic Fragility
Peripheral Blood, Red Blood Cell Morphology
Phosphorus, Serum
Porphyrins, Quantitative, Urine
Potassium, Urine
(PAPP) Pregnancy-Associated Protein A, Serum
Protein Electrophoresis, Serum or Urine
Protein, Quantitative, Serum or Urine
Reducing Substances, Urine
Schilling Test
Specific Gravity, Urine
T3 Uptake
Triglycerides, Serum or Plasma
Zn, Urine
Hb Electrophoresis, Hb A2 (تا هشت روز)

ب - مواردی که باید نمونه را در فریزر (-20°C) نگهداری نمود:

α - Fetoprotein (AFP), Serum
B-Type Natriuretic Peptide (BNP)
CA19-9
Calcitonin, Serum
Ceruleplasmin, Serum or Plasma
Coagulation Assays, Plasma (حداکثر دو هفته)
Cobalamin, Serum
C-Peptide, Serum
Dihydrotestosterone, Serum
Glucagon, Plasma
Hemoglobin, Plasma
Hepatitis A, B, C, D, Serology
Insulin, Serum
Metanephrines, Plasma
Mucopolysaccharides, Urine
PTH, Serum
Prolactin, Serum
Renin Plasma Activity (RPA)
Testosterone, Serum or Plasma
Thyroglobulin, Serum

ب- عمده آزمایش‌های انعقادی خصوصاً PT و aPTT می‌بایست در عرض ۴ ساعت پس از جداسدن پلاسما انجام شوند.

در غیر این صورت می‌توان، پلاسما را در دمای 20°C (تا دو هفته) و یا 70°C (تا شش ماه) نگهداری نمود. (بهتر است پلاسما از سلول‌های خونی در عرض یک ساعت جدا شود)

Antiplasmin
Antithrombin
Factor XIII
HMWK
Mixing Studies
Plasminogen and PAI-1
Prekallikrein
Protein C & Protein S
Thrombin Time
Von Willebrand Factor

ت - سایر موارد:

- ❖ Acid Phosphatase, Serum or Plasma: به علت حساسیت آنزیم به حرارت و pH، حداکثر یک ساعت فرصت دارید تا آزمایش را انجام دهید.
- ❖ aPTT: در صورت تاخیر در جدا کردن پلاسما و انجام آزمایش، تخریب سریع فاکتور هشت ممکن است به طور کاذب PTT را بالاتر از حد واقعی نشان دهد. همچنین در بیماران تحت درمان با هپارین، به دلیل آزاد شدن فاکتور چهار پلاکتی که هپارین را خنثی می‌کند، ممکن است PTT به طور کاذب پایین‌تر از حد واقعی سنجیده شود. پلاسما را می‌توان پیش از آزمایش به مدت چهار ساعت در لوله در بسته در دمای اتاق یا 4°C - 2°C نگهداری نمود. در صورت عدم امکان آزمایش در زمان یادشده پلاسما به مدت دو هفته در فریزر 20°C - قابل نگهداری است.
- ❖ Activated protein C Resistance (APCR): در مورد کاوش بر اساس زمان تشکیل لخته و در صورتی که آزمایش ظرف مدت چهار ساعت پس از خون‌گیری انجام شود، می‌توان پلاسما را در حرارت 4°C یا دمای اتاق نگهداری نمود در غیر این صورت باید نمونه را منجمد نمود. در مورد کاوش بر اساس DNA، نمونه را در دمای اتاق یا 4°C نگهداری نمایید.
- ❖ ADA, Body Fluids: نمونه را در دمای محیط سانتیفریوژ نموده و مایع رویی آن را تا زمان آنالیز در 20°C - نگهداری نمایید.

- ❖ ACTH: پلازما در دمای 70°C - و در لوله‌های پلاستیکی منجمد شود. جهت نگهداری طولانی مدت به نمونه، آپروتینین به میزان 500ku/ml اضافه شود.
- ❖ ALT: در نمونه خون کامل به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت پایدار است اما بعد از آن به علت آزاد شدن آنزیم از گلبول‌های قرمز به تدریج افزایش پیدا می‌کند. ALT در سرم و در درجه حرارت یخچال تا سه هفته پایدار است ولی در صورت منجمد کردن کاهش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد.
- ❖ Aldolase: سرم را تا زمان انجام آزمایش در 20°C - نگهداری کنید. اضافه نمودن اسیدبوریک باعث ثبات آلدولاز می‌گردد.
- ❖ Alkaline Phosphatase: نمونه باید در یخچال نگهداری شود. به هنگام ذخیره‌سازی، آلکالن فسفاتاز سرم به آهستگی افزایش می‌یابد، به طوری که افزایش ۱۰-۵ درصد در کمتر از چهار ساعت در حرارت 4°C قابل انتظار است. به همین علت بهتر است آزمایش هر چه سریع‌تر انجام گردد.
- ❖ $\alpha 2$ -Macroglobulin: نمونه را می‌توان به مدت ۷۲ ساعت در 4°C ذخیره نمود و پس از این زمان باید در 20°C - ذخیره گردد و فقط یک‌بار قبل از انجام آزمایش ذوب گردد.
- ❖ Amylase, Serum: آمیلاز به مدت یک هفته در درجه حرارت 25°C و حداقل شش ماه در درجه حرارت 4°C پایدار باقی می‌ماند.
- ❖ Anticardiolipin Antibody: از منجمد و ذوب کردن مکرر سرم اجتناب نمایید چرا که پایداری آن را تغییر می‌دهد.
- ❖ ADH: پلازما را داخل لوله پلاستیکی ریخته و در درجه حرارت 20°C - منجمد نمایید و به آزمایشگاه مرجع ارسال کنید.
- ❖ Anti-DNA: نمونه باید هر چه سریع‌تر داخل یخچال قرار گیرد. نمونه را می‌توان به مدت ۷۲ ساعت در یخچال 4°C و به مدت طولانی در 20°C - یا سردتر نگهداری نمود.
- ❖ ANA: نمونه سرم را می‌توان در دمای 4°C یا 20°C - به مدت ۷۲ ساعت بدون انجام انجماد و ذوب نگهداری کرد. همچنین می‌توان نمونه را در 70°C - به مدت طولانی‌تر نگهداری کرد.
- ❖ Antiphospholipid Antibody: سرم را در صورت قرار دادن روی یخ می‌توان به مدت چهار ساعت نگهداری کرد در غیر این صورت باید منجمد گردد.
- ❖ AST: نمونه به مدت سه روز در درجه حرارت 25°C ، سه هفته در 4°C و به مدت طولانی‌تر در فریزر قابل نگهداری است.
- ❖ $\beta 2$ -Microglobulin, Urine: در صورت کاهش pH ادرار به کم‌تر از ۵/۵ ناپایدار می‌گردد.
- ❖ Bilirubin, Serum: نمونه باید دور از نور نگهداری گردد.
- ❖ Calcium, Ionized, Serum: نمونه را در شرایط بی‌هوازی می‌توان به مدت ۴۸ ساعت در 4°C و ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری نمود.
- ❖ CEA: نمونه سرم به مدت ۲۴ ساعت در یخچال و در صورت نگهداری به مدت طولانی‌تر در 20°C - قابل نگهداری است.
- ❖ Cobalamin, Serum: نمونه باید دور از نور نگهداری گردد.
- ❖ β -HCG: سرم به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق، چهار روز در 4°C و به مدت طولانی‌تر در 20°C - پایدار باقی می‌ماند.
- ❖ Complement Components: اجزا کمپلمان نسبت به حرارت حساس هستند و نمونه باید به مدت ۳۰-۱۵ دقیقه در حرارت اتاق و سپس به مدت ۶۰-۳۰ دقیقه در 4°C نگهداری گردد. برای نگهداری طولانی مدت نیز باید در حرارت 70°C - قرار داده شود.

- ❖ CBC: نمونه‌ها حداکثر ظرف مدت چهار ساعت پس از نمونه‌گیری و نگهداری در دمای اتاق باید مورد آزمایش قرار گیرند. در صورتی که در دمای 4°C نگهداری گردند حداکثر به مدت ۲۴ ساعت انجام آزمایش امکان‌پذیر است. گستره خونی می‌بایست بلافاصله پس از خون‌گیری تهیه شود.
- ❖ CRP: سرم باید تازه بوده یا حداکثر ۷۲ ساعت در 4°C نگهداری شده باشد. نمونه در 20°C - به مدت شش ماه پایدار خواهد بود.
- ❖ Cryoglobulin: خون را به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در دمای 37°C نگهدارید تا لخته تشکیل شود. جدا کردن لخته باید در دمای 37°C صورت گیرد و در صورت امکان انجام سانتریفیوژ نیز در دمای 37°C باشد. نمونه را در یخچال قرار نداده و منجمد نکنید.
- ❖ D-Dimer و FDP: پلاسما در دمای اتاق تا هشت ساعت و روی یخ تا ۲۴ ساعت قابل نگهداری است. در غیر این صورت منجمد شود. در صورت استفاده از سرم برای انجام آزمایش FDP می‌توان آن را تا یک هفته در یخچال نگهداری کرد.
- ❖ DHEA و DHEA-S: سرم یا پلاسما به مدت ۲۴ ساعت در 4°C قابل نگهداری است و بیش‌تر از این زمان باید منجمد شود.
- ❖ Estradiol, Serum: نمونه سرم در یخچال تا ۲۴ ساعت و در 20°C - تا دو ماه پایدار خواهد بود.
- ❖ Estriol, Unconjugated: نمونه در یخچال تا ۲۴ ساعت و در 20°C - به مدت طولانی پایدار خواهد بود.
- ❖ Fibrinogen: پلاسما در دمای اتاق تا دو ساعت و در 8°C - تا چهار ساعت قابل نگهداری است. در غیر این صورت به شکل منجمد نگهداری شود.
- ❖ Folic Acid: در صورت نگهداری سرم در دمای اتاق و در معرض نور حدود ۱۹ - ۱۲٪ فولات از بین می‌رود. سرم در دمای 4°C برای ۲۴ ساعت پایدار است در غیر این صورت منجمد نمایید و نمونه دور از نور نگهداری شود.
- ❖ FSH: سرم در 25°C - ۴ به مدت چهار ساعت، در 20°C - به مدت دو هفته و در 70°C - به مدت سه ماه پایدار خواهد بود. در ادرار نیز به مدت سه ماه در 20°C - پایدار می‌ماند. از چرخه‌های انجماد/ذوب مکرر اجتناب شود.
- ❖ GGT, Serum: نمونه به مدت یک ماه در 4°C و یکسال در 20°C - پایدار خواهد بود.
- ❖ Gastrin: سرم به مدت چهار ساعت در 4°C و یک ماه در 20°C - پایدار خواهد بود. سرم‌هایی که ۴۸ ساعت در دمای 4°C بوده‌اند تا ۵۰٪ کاهش فعالیت را نشان می‌دهند.
- ❖ G6PD: با استفاده از ضدانعقادهای مناسب، آنزیم گلوبول‌های قرمز در 4°C حداقل شش روز و در 25°C حداقل ۲۴ ساعت پایدار خواهد بود.
- ❖ GTT, 2hpp, BS, FBS: گلوکز در خون تام در هر ساعت 10mg/dl - ۵ کاهش می‌یابد مگر این‌که در لوله با درب خاکستری (حاوی فلوراید) نگهداری شده باشد. در صورتی که لازم است سرم به مدت بیش‌تر از ۳۰ دقیقه در مجاورت سلول‌ها باشد باید یک ماده نگهدارنده مانند فلورید سدیم که از گلیکولیز جلوگیری می‌کند به نمونه اضافه شود. گلوکز سرم یا پلاسما تا ۴۸ ساعت در یخچال پایدار است ولی نگهداری نمونه به مدت طولانی‌تر حتی در 20°C - سبب کاهش واضح و پیش‌رونده میزان گلوکز خواهد شد.
- ❖ GH: نمونه سرم چهار ساعت در دمای اتاق و یک سال در 20°C - پایدار خواهد بود.
- ❖ Hematocrit: در صورتی که بیش‌تر از چهار ساعت تاخیر در انجام آزمایش باشد نمونه در یخچال نگهداری شود. روش دستی باید در عرض شش ساعت پس از جمع‌آوری خون انجام شود. اگر خون در حرارت اتاق نگهداری شود تورم گلبول‌های قرمز در عرض ۶-۲۴ ساعت سبب بالا رفتن کاذب هماتوکریت و MCV خواهد شد.
- ❖ HBeAg: سرم باید در عرض سه ساعت از لخته جدا شده و در یخچال و یا به صورت منجمد نگهداری شود چرا که HBeAg به گرما حساس است.
- ❖ Hepatitis B DNA Detection: سرم باید در 20°C - و بافت‌ها در 70°C - منجمد بمانند.
- ❖ Hepatitis C RNA Detection: سرم باید در 20°C - و بافت‌ها در 70°C - منجمد بمانند.

- ❖ HDL: بهترین حالت، اندازه‌گیری بلافاصله پس از نمونه‌گیری است. نمونه سرم یا پلاسما به مدت ۷-۱ روز در 4°C یا هفته‌ها به صورت منجمد نگهداری شود.
- ❖ HLA-Typing: جهت آزمایش سرولوژی نمونه در دمای اتاق نگهداری شود. جهت آزمایش‌های مبتنی بر DNA، نمونه در یخچال نگهداری گردد.
- ❖ Homocysteine, Plasma: در صورتی که جدا کردن سلول‌ها از پلاسما یا سرم به تاخیر بیافتد، Homocysteine پلاسما به علت رهایی از گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد. نگهداری نمونه در دمای اتاق به مدت یک ساعت، حدود ۱۰٪ Homocysteine پلاسما را افزایش می‌دهد و در صورتی که نمونه روی یخ قرار داده شود این روند آهسته می‌شود.
- ❖ HVA, Urine: حجم ادرار ۲۴ ساعته را اندازه‌گیری نموده، حدود ۱۰۰ ml از نمونه را با PH بین دو تا چهار برداشته و در یخچال قرار دهید. نمونه تا هفت روز در 4°C پایدار خواهد بود.
- ❖ 17-Hydroxycorticosteroids, Urine: در طی زمان جمع‌آوری نمونه در یخچال نگهداری شود. پس از جمع‌آوری نیز در یخچال قرار داده یا منجمد کنید. در صورتی که نمونه اسیدی (با اضافه کردن ۱۵ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال) و در یخچال قرار داده شود تا ۴۵ روز پایدار خواهد ماند.
- ❖ 5-HIAA, Urine: در صورتی که نمونه اسیدی شود تا ۱۴ روز در یخچال پایدار خواهد بود. اسیدی شدن با اسید هیدروکلریک یا اسید بوریک انجام می‌شود. بهتر است از اسید استیک به علت این که باز یافت 5-HIAA را پایین می‌آورد استفاده نشود.
- ❖ 17-Hydroxyprogesterone: سرم یا پلاسما برای چهار روز در 4°C و برای یک ماه در -20°C پایدار خواهد بود.
- ❖ Immunoglobulins, Serum: اگر شک بالینی به کرایوگلوبولینمی یا وجود ماکروگلوبولین‌ها وجود دارد نمونه باید در 37°C قرار داده شود. این گونه نمونه‌ها تا پیش از جدا کردن سرم از لخته نمی‌بایست در یخچال گذاشته شوند. نمونه‌های سرم ممکن است تا پنج روز در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ قابل نگهداری باشند. در صورت نگهداری طولانی‌تر نمونه‌ها باید در دمای -20°C منجمد شوند.
- ❖ LDH, Serum: سرم در دمای اتاق به مدت دو تا سه روز پایدار است. منجمد کردن نمونه ممنوع است.
- ❖ Leukocyte Alkaline Phosphatase (LAP): لام‌ها را باید با متانول فرمالین سرد ۱۰٪ یا استون بافرسیترات، ثابت، و سپس در هوا خشک کرده و در عرض هشت ساعت (ترجیحاً ۳۰ دقیقه) بعد از گرفتن خون منجمد شوند. می‌توان بعد از ثابت کردن، گستره‌ها را تا هشت هفته قبل از رنگ‌آمیزی نگهداری کرد. در بعضی موارد ممکن است فعالیت آنزیمی تا یک سال در دمای -20°C پایدار بماند.
- ❖ Lipase: در سرم تا هشت روز در 25°C (دمای اتاق) و دو هفته در 4°C پایدار است.
- ❖ LH: در سرم در دمای $4-25^{\circ}\text{C}$ تا دو هفته پایدار خواهد بود.
- ❖ Microalbuminuria: در یخچال قرار دادن و منجمد کردن معمولاً قابل قبول است ولی قبل از انجام آزمایش باید به دمای اتاق رسانده شود.
- ❖ Myoglobin, Qualitative, Urine: اگر PH ادرار به ۸-۹/۵ رسانده شود به مدت ۱۲ روز پایدار خواهد بود.
- ❖ Neisseria Gonorrhoea Culture: نمونه‌ها نباید در یخچال قرارداده شوند یا در معرض محیط سرد قرار گیرند.
- ❖ Newborn Screening For Phenylketonuria or Galactosemia: از قرار دادن کارت‌های خونی در جریان هوای آلوده به دود و گرد و غبار و همچنین از گذاشتن آن‌ها در معرض حرارت و تابش مستقیم خورشید جدا خودداری نمایید. کارت‌های خونی را می‌توان به مدت یک هفته در پاکت‌های مقاوم به رطوبت نگهداری کرد. لکه‌های خون در پاکت‌های پلاستیکی زیپ‌دار حاوی سیلیکاژل در دمای $4-8^{\circ}\text{C}$ یخچال تا دو ماه و در حالت انجماد (-20°C) به مدت طولانی پایدار خواهد ماند.
- ❖ Occult Blood, Stool: تاخیر در آزمایش می‌تواند تاثیر منفی بر نتایج آزمایش گایاک داشته باشد.
- ❖ Platelet Aggregation: نمونه را در دمای اتاق نگهداشته و آزمایش را بلافاصله یا در عرض دو ساعت انجام دهید. نمونه را در یخچال قرار نداده و یا منجمد نکنید.

- ❖ **PNH Test by Flow Cytometry:** برای حاصل شدن نتایج مطلوب، آنالیز باید در عرض ۲۴ ساعت پس از گرفتن نمونه انجام شود. آزمایش ممکن است بر روی نمونه‌های ۴۸ تا ۷۲ ساعت قبل هم قابل انجام باشد. نمونه را در دمای اتاق نگهداری کنید. در یخچال قرار دادن نمونه ممکن است موجب از دست رفتن آنتی‌ژن سطحی سلول شود.
- ❖ **Progesterone:** سرم در دمای ۴°C به مدت ۴ روز و در ۲۰°C- به مدت سه ماه پایدار است.
- ❖ **PSA:** سرم در یخچال تا ۴۸-۲۴ ساعت پایدار است. برای نگهداری بیشتر از این زمان در ۲۰°C- نگهداری شود.
- ❖ **PT:** پلاسما یا نمونه سانتریفیوژ نشده در لوله در بسته، در دمای اتاق یا دمای ۴°C- تا ۲۴ ساعت قابل نگهداری است، در غیر این صورت به شکل منجمد نگهداری شود.
- ❖ **Red Blood Cell Indices:** در صورتی که نمونه بیشتر از ده ساعت در دمای اتاق یا بیشتر از ۱۸ ساعت در ۴°C نگه داری شده باشد نمی‌توان از آن استفاده کرد. نمونه نباید منجمد شود.
- ❖ **Reticulocyte:** خون حاوی EDTA در دمای اتاق تا شش ساعت و در دمای ۴°C تا ۷۲ ساعت قابل نگهداری است.
- ❖ **Synovial Fluid Analysis:** در اکثر موارد به فاصله کوتاهی پس از دریافت نمونه، آزمایش‌ها باید آغاز گردند. در عرض شش ساعت پس از دریافت نمونه، حدود ۴۰٪ کاهش در شمارش گلبول سفید محتمل خواهد بود. کریستال‌های کلسیم پیروفسفات در عرض چند روز کاهش می‌یابند، در حالی که تعداد، اندازه و birefringence کریستال‌های منوسدیم اورات (MSU) در روزهای اول ثابت مانده و پس از چند هفته افت می‌کند.
- ❖ **Tartarate Resistant Acid Phosphatase (TRAP):** در صورتی که لام‌های شیشه‌ای بلافاصله پس از تهیه ثابت شده باشند حداقل تا یک هفته قابل نگهداری هستند.
- ❖ **TSH:** در سرم تا چهار روز در ۴°C پایدار خواهد بود.
- ❖ **Thyroid Peroxidase Antibody (TPO):** در سرم تا ۷۲ ساعت در ۴°C پایدار خواهد بود.
- ❖ **Thyroxin, Free, Serum:** سرم تا دو هفته در ۴°C پایدار خواهد بود.
- ❖ **Thyroxin, Serum:** سرم تا یک هفته در ۲۵°C پایدار خواهد بود.
- ❖ **(T3), Serum Triiodothyronine:** سرم را در عرض ۴۸ ساعت جدا نمایید. سرم در ۲۵°C تا یک هفته و در ۲۰°C- حداقل تا یک ماه پایدار خواهد ماند.
- ❖ **Troponins:** در سرم در ۴°C تا چهار روز پایدار خواهد بود.
- ❖ **Blood Urea Nitrogen (BUN):** در سرم یا پلاسما یک روز در دمای اتاق، سه روز در ۴-۸°C و سه ماه در ۲۰°C- پایدار است.
- ❖ **Urinalysis:** در صورتی که بلافاصله بر روی نمونه آزمایش نمی‌شود، باید در یخچال گذاشته شود. نگهداری در یخچال از المان‌های تشکیل شده در ادرار محافظت می‌کند ولی ممکن است کریستال‌هایی رسوب کنند که به صورت واقعی وجود ندارند. بهترین حالت آزمایش بر روی نمونه تازه و گرم است.
- ❖ **Uric Acid, Serum:** اورات در سرم برای سه روز در دمای اتاق، ۳-۷ روز در دمای ۴°C و ۱۲-۶ ماه در ۲۰°C- پایدار خواهد ماند.
- ❖ **Uric Acid, Urine:** نمونه را در یخچال قرار ندهید. تا حدود سه روز در دمای اتاق پایدار خواهد بود.
- ❖ **VMA:** پس از اسیدی کردن نمونه جمع‌آوری شده، تا دو هفته در یخچال پایدار خواهد بود.
- ❖ **Vitamin D:** سه روز در ۴-۲۵°C پایدار است. سرم تا ماه‌ها در ۲۰°C- پایدار بوده و نسبتاً به چرخه‌های انجماد / ذوب مقاوم است.

۹- ملاحظات ایمنی حین جمع‌آوری و انتقال نمونه

جمع‌آوری نمونه در مواردی که احتمال آلودگی بیمار یا نمونه وجود دارد مثل خلط بیمار مشکوک به TB یا خون فرد مبتلا به هیپاتیت و ایدز باید با رعایت کامل اصول ایمنی و پیشگیرانه انجام پذیرد و هنگام جابجایی و انتقال نمونه نیز باید این موارد کاملا رعایت گردند.

۱۰- ثبت نحوه انجام کار و مسئول مربوطه در زمان نمونه‌گیری بر بالین بیمار
چنانچه نمونه‌گیری در بالین بیمار انجام می‌شود باید علت آن ذکر شده و فرد نمونه‌گیر پس از احراز هویت بیمار نسبت به
نمونه‌گیری اقدام نماید.

۱۱- معیارهای رد نمونه‌های مختلف به ویژه در مورد نمونه‌های پذیرش شده از خارج از آزمایشگاه

به طور کلی در صورتی که از ضد انعقاد صحیح استفاده نشده باشد یا بیمار آمادگی‌های لازم را نداشته باشد و یا پروتکل نمونه‌گیری و یا طریقه نگهداری نمونه رعایت نشده باشد، نباید نمونه را پذیرش کرد. همچنین اگر روش Radioimmuno assay (RIA) برای انجام آزمایش استفاده می‌شود بیمار نباید در یک هفته اخیر در معرض رادیوایزوتوپ قرار گرفته باشد یا آن را به هر شکلی دریافت کرده باشد. سایر علل به شرح ذیل است:

الف - مواردی که همولیز نمونه موجب رد شدن آن می‌گردد:

Alkaline Phosphatase, Serum
Antibody Detection / Identification, Red Cell
Antiglobulin Test, Direct & Indirect (Coombs)
Bilirubin, Serum
Creatinine, Serum or Plasma
Digoxin, Serum
Ham Test
Haptoglobin, Plasma
Hemoglobin, Plasma
Hypertonic Cryohemolysis
Keton Bodies, Blood
LDH, Serum
Magnesium, Serum
Osmolality, Calculated, Serum or Plasma
Phosphorus, Serum
Pseudocholinesterase, Serum
Rh Genotype
Sugar Water Screen

ب - مواردی که همولیز یا لخته بودن نمونه سبب عدم پذیرش آن خواهد شد:

CBC
Hematocrit
Hemoglobin
Kleihauer – Betke
Peripheral Blood, Red Blood Cell Morphology
Renin Plasma Activity (RPA)
Reticulocyte Count
Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)
Sickle Cell Tests

پ- مواردی که همولیز یا لیپمیک بودن نمونه موجب عدم پذیرش آن می‌گردد:

α 1-Acid Glycoprotein, Serum

α 2-Macroglobulin, Serum
Transthyretin, Serum, CSF, Urine

ت- مواردی که استفاده از لوله یا ظرف معمولی به جای ظروف **metal - free** و شسته شده با اسید موجب عدم پذیرش می‌گردد:

Aluminum, Serum or Urine
Iron, Serum
Lead, Serum or Urine
Magnesium, Urine
Zn, Serum or Urine

ج- آزمایش‌های انعقادی:

در عمده آزمایش‌های انعقادی نمونه‌ای که بیشتر از چهار ساعت پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه رسانده شده باشد، لوله تا حد مشخص پر نشده باشد و نمونه‌های حاوی لخته موجب عدم پذیرش نمونه می‌گردد. این آزمایش‌ها عبارتند از:

Activated Protein C Resistance (APCR)
Antiplasmin
Antithrombin
Factor XIII
Fibrinogen
Heparin Neutralization
HMWK
Lupus Anticoagulant
Mixing Studies
Plasminogen
Prekallikrein
Protein C
Protein S
Reptilase Time
Thrombin Time
Von Willebrand Factor

نکته: در **aPTT** و **PT** علاوه بر سه علت ذکر شده، همولیز واضح نیز موجب عدم پذیرش نمونه خواهد بود.

چ- علل رد در سایر موارد:

- ◀ Amino Acid, Urine: در صورتی که وزن مخصوص ادرار کمتر از ۱/۰۱۰ باشد، نمونه پذیرش نشود.
- ◀ ACE: استفاده از ضد انعقاد EDTA چرا که سبب مهار آنزیم می‌گردد.
- ◀ ADH: نمونه به صورت منجمد
- ◀ CSF Protein Electrophoresis, CSF IgG/ Albumin Ratio, Glycine: آلوده شدن نمونه CSF با خون (پونکسیون تروماتیک)
- ◀ Cold Agglutinin Titer: در صورتی که لخته در 4°C تشکیل نشده باشد و یا قبل از جدا کردن سرم آن را داخل یخچال قرار داده باشند.
- ◀ CBC: استفاده از لوله نامناسب، نمونه لخته شده، نمونه همولیز، رقیق شدن خون با مایعات داخل وریدی
- ◀ Cryofibrinogen: استفاده از لوله نامناسب، بیشتر از دو ساعت تاخیر در انتقال نمونه به آزمایشگاه، عدم ارسال نمونه در آب گرم
- ◀ Cryoglobulin: عدم استفاده از لوله یا سرنگ از قبل گرم شده، بیشتر از دو ساعت تاخیر در انتقال نمونه به آزمایشگاه، عدم ارسال نمونه در آب گرم
- ◀ Folic Acid: نمونه‌هایی که بیشتر از هشت ساعت در معرض نور بوده‌اند، نمونه همولیز

- ◀ Gastrin, Serum: نمونه‌گیری با ضد انعقاد
- ◀ Homocysteine, Plasma: جدا نکردن پلاسما از سلول‌ها در عرض یک ساعت
- ◀ HPV DNA Detection: بافت‌برداری‌های بزرگ‌تر از ۰/۵ سانتی‌متر
- ◀ Iron Stain, Bone Marrow: مغز استخوان به دست نیامده باشد (dry tap) یا در گستره‌ها هیچ پارتیکلی از مغز استخوان وجود نداشته باشد.
- ◀ Lactic Acid, Whole Blood or Plasma: نمونه‌ای که روی یخ دریافت نشده باشد.
- ◀ Lecithin: Sphingomyelin Ratio, Amniotic: آلوده بودن نمونه مایع آمنیوتیک با خون
- ◀ Leukocyte Alkaline Phosphatase: خون گرفته شده با ضد انعقاد EDTA، زمان انتقال به آزمایشگاه بیش‌تر از ۳۰ دقیقه، تعداد نوتروفیل کم‌تر از $1000/mm^3$ در خون محیطی
- ◀ Lithium, Serum: نمونه‌هایی که با ضد انعقاد هپارین لیتیم گرفته شده باشند و نمونه‌های همولیز
- ◀ Lymphocyte Transformation Test: نمونه کهنه، نمونه فاقد لنفوسیت‌های زنده، نمونه‌هایی که در یخچال قرار داده شده یا منجمد شده‌اند.
- ◀ Mycobacteria by DNA Probe: ظروفی که دارای سطح خارجی آلوده باشند، نمونه‌هایی که بیشتر از ۱۲ ساعت در دمای اتاق مانده باشند چرا که سایر باکتری‌ها رشد می‌کنند.
- ◀ NBT: انتقال نمونه به آزمایشگاه بیش‌تر از یک ساعت طول کشیده باشد.
- ◀ Osmotic Fragility: همولیز، نمونه لخته، بیش‌تر از شش ساعت از نمونه‌گیری گذشته باشد، استفاده از ضد انعقاد اگزالات یا سیترات
- ◀ PH & Pco2, Blood: نمونه دارای لخته و حباب‌های هوا یا عدم ارسال بر روی یخ، سوزن‌هایی که درب آن‌ها محکم بسته نشده باشند.
- ◀ Platelet Aggregation: نمونه‌ای که از گرفتن آن بیش‌تر از دو ساعت گذشته باشد، نمونه لخته، نمونه‌ای که روی یخ ارسال شده باشد.
- ◀ PNH Test by Flow Cytometry: نمونه‌های کهنه و یا نگهداری شده در دمای پایین چرا که می‌تواند موجب نتایج مثبت کاذب شود.
- ◀ Potassium, Serum or Plasma: نمونه همولیز، جدا نکردن سرم از لخته در بیمارانی که تعداد پلاکت آن‌ها بالاست.
- ◀ Pregnancy Test, Urine: نمونه ادراری که به طور واضح آلوده شده باشد، وزن مخصوص پایین ادرار و پروتئینوری
- ◀ Pregnancy Test, Serum: لیپمی واضح یا توربید بودن سرم
- ◀ Protein Electrophoresis, Urine: پروتئین توتال به قدری کم باشد که نتوان اندازه‌گیری کرد یا نتوان یک الگوی الکتروفورزی قابل استفاده ارایه کرد.
- ◀ Semen Analysis: نمونه‌ای که بیش‌تر از دو ساعت مانده باشد.
- ◀ TRAP: گستره‌های ثابت نشده و خونی که تازه نباشد.
- ◀ Urinalysis: تاخیر در انتقال نمونه، آلودگی نمونه با مدفوع و رشد بیش از حد باکتری
- ◀ VDRL: نمونه پلاسما

اقتباس از کتاب " اصول مستندسازی و مستندات در آزمایشگاه پزشکی "