**دستورعمل نمونه گیری خدمات آزمایشگاهی**

**تهیه و تنظیم : گروه کارشناسان دارو و آزمایشگاه مرکز بهداشت استان**

**کارشناسان آزمایشگاه مرکز بهداشت استان آذربایجان شرقی**

**تابستان 1393**

**دستورالعمل خونگیری از ورید**

قبل از خونگیری وریدی ، فرد خونگیر باید از ناشتا بودن بیمار مطمئن شود. انجام آزمایش قند ، کلسترول و تری گلیسرید نیاز به 10 تا 12 ساعت ناشتا بودن بیمار دارد.

هنگام خونگیری بیمار باید حتما با آرامش روی صندلی خونگیری نشسته یا روی تخت معاینه به حالت درازکش باشد.

بازوی بیمار بایستی در یک خط مستقیم از شانه تا مچ کشیده شود. کدام بازو استفاده شود مهم نیست. ورید میانی ساعد در گودی یا خم آرنج ، بهترین محل جهت خونگیری است.

انتخاب ورید برای خونگیری با لمس کردن ورید آسان می شود. قبل از خونگیری ، ناحیه اطراف ورید مورد نظر را با پنبه آغشته به الکل 70% تمیز کنید.

پوست باید در هوا خشک شود ، الکل نباید روی پوست باقی بماند چون ممکن است باعث همولیز خون و بی اعتباری نتایج آزمایش شود.

هنگامی که پوست تمیز شد ، تورنیکت را (8 تا 10 سانتی متر) بالاتر از مکان خونگیری ببندید تا از بازگشت خون وریدی به قلب جلوگیری و در نتیجه ورید متورم شود.

از طرف دیگر ، با مشت کردن دست و افزایش فشار خون می توان تورم ورید را بیشتر کرد.

**تورنیکت نباید بیشتر از یک دقیقه بسته باشد**

قبل از سوراخ کردن ورید ، فرد خونگیر باید حجم خون مورد نیاز و لوله های مناسب را برای پلاسما یا سرم انتخاب و نامگذاری نماید( مشخصات کامل و شماره کد بیمار قبلا روی برچسب لوله و با خط خوانا نوشته شده باشد)

همچنین سوزن مناسب نیز انتخاب شود( اندازه های معمولی مورد استفاده سوزن 19 تا 22 درجه است)

سرنگ ها باید استریل و با تاریخ مصرف قابل قبول باشد.

نباید اجازه دهیم خون با فشار زیاد وارد سرنگ شود چون این عمل باعث می شود نمونه خون همولیز شده و در نتیجه آزمایشات تداخل نماید.

هنگامی که خون داخل سرنگ جاری شد ، تورنیکت را آزاد کنید و سپس ، سوزن را از ورید بیرون آورید و همزمان ، پنبه آغشته به الکل را روی مکان خونگیری قرار دهید. از بیمار برای این کار می توان کمک خواست که تا زمان قطع خونریزی و اطمینان کامل ، پنبه را در محل خونگیری نگه دارد.

نباید سرسوزن بعد از خونگیری درپوش گذاری شود زیرا احتمال فرو رفتن سوزن در انگشت فرد نمونه گیر (Needle stick) افزایش می یابد.

**مواد ضد انعقاد و محافظ خون**

برای انجام آزمایش های هماتولوژی از جمله CBC نیاز به خون تام ( کامل ) است . یکی از بهترین و متداول ترین مواد ضد انعقاد ، نمک ( EDTA ) است زیرا اجزا سلولی خون را به خوبی حفظ می کند .

EDTA به صورت نمک دی سدیم و دی پتاسیم در بازار موجود است که نمک دی پتاسیم آن بسیار مناسب تر است . مقدار 5/1 میلی گرم EDTA به ازای هر میلی لیتر خون برای جلوگیری از انعقاد خون کافی است .

پس از خونگیری ، بدون آنکه سوزن را داخل درپوش قرار دهید ، با روش مناسب ، سوزن را در Safty Box انداخته و حدود دو میلی لیتر خون را داخل وبال CBC ریخته و به آرامی و خوب تکان دهید تا با مخلوط شدن کامل EDTA از لخته شدن خون ، جلوگیری نموده و نمونه مناسبی برای آزمایش CBC تهیه کرده باشید .

ویال حاوی خون CBC را در اولین فرصت ممکن و حداکثر در همان روز و با رعایت زنجیره سرما به آزمایشگاه طرف قرارداد ارسال نمائید.

برای انجام آزمایش PT و PTT وجود لوله یکبار مصرف دارای ماده ضد انعقاد سیترات سدیم الزامی بوده و به مقدار 8/1 سی سی خون اضافه شده و به خوبی مخلوط می گردد .

از زمان اخذ نمونه تا انجام آزمایش نباید بیش از 2 ساعت گذشته باشد .

رعایت زنجیره سرما 8 – 2 درجه سانتیگراد جهت ارسال نمونه الزامی می باشد

**آزمایش FBS و بقیه تستهای بیوشیمیایی(BUN ،Cr ،Tg ،Chol ،AST ،ALT ،Bilirubin و ... ):**

ضمن رعایت 10 تا 12 ساعت ناشتایی باید پس از خونگیری سرسوزن را بطور مناسب جدا کرده و خون را به آرامی از سرنگ داخل لوله های شیشه ای یا یکبارمصرف با حجم مناسب تخلیه کنید(جدا کردن سوزن از سرنگ به علت جلوگیری از لیز شدن خون هنگام تخلیه سرنگ است)

خون باید به آرامی و از دیواره ها وارد لوله شود ، در غیر اینصورت باعث همولیز خون خواهد شد.

* فرصت دهید تا خون کاملا لخته شود(20 تا 30 دقیقه در حرارت اتاق)
* لوله را به مدت 5 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه (3000 rpm) سانتریفوژ کنید
* پس از سانتریفوژ کردن به وسیله سمپلر ، سرم را از لخته خون جدا کرده و در لوله های مخصوص حمل سرم تخلیه نمایید. ( لوله های درب دار )

مطمئن شوید که در لوله انتقال ، بخوبی بسته شده باشد و از نشت سرم جلوگیری می شود. در صورت نیاز و برای اطمینان بیشتر با پارافیلم اقدام به سیل بندی لوله کنید.

* لوله های پلاستیکی درپیچ دار بهترین وسیله برای نگهداری و انتقال نمونه های سرمی است که در دسترس نیز می باشند.
* ذکر مشخصات کامل بیمار و شماره کد آن روی لوله ها و ظرفهای نمونه گیری ، رعایت زنجیره سرما در هنگام انتقال ، همچنین تسریع در ارسال نمونه ها همیشه باید مورد توجه قرار گیرد.
* نکته قابل توجه در تهیه نمونه برای آزمایش بیوشیمی مخصوصا FBS ، جداسازی سریع سرم از لخته می باشد ، که باید طی کمتر از یک ساعت انجام گرفته و تا قبل از انجام آزمایش ، لوله حاوی سرم حتما در یخچال 4 درجه سانتیگراد یا زنجیره سرما قرار گیرد.
* برای جمع آوری سرم در آزمایشهای سرولوژی(CRP ،RF ،Widal ،Wright ،Coombs wright ) از همین روش استفاده می شود.

نکته : می توان جهت جداسازی سریع سرم از خون تام از لوله های ژل دار مخصوص استفاده نمود که در این صورت جداسازی با سرعت بیشتری انجام می گیرد.

در انتقال نمونه بیلیروبین باید دقت نمود نمونه خون اخذ شده و یا سرم جداسازی شده باید داخل لفافه عایق در برابر نور مانند فویل آلومینیمی استفاده نمود زیرا بیلیروبین در مقابل نور تجزیه شده و از بین می رود.

**جمع آوری ادرار:**

برای انجام آزمایش کامل ادرار ، ادرار تمیز صبحگاهی ، بهترین نمونه و غلیظ ترین نمونه برای اندازه گیری مقادیر غیر طبیعی موادی چون پروتئین ، کریستالها و ...... می باشد.

آزمایش باکتریایی ادرار صبحگاهی نیز جهت تشخیص عفونت های مجاری ادرار یا مثانه بسیار مهم است بنابراین ، تهیه نمونه مناسب ادرار خیلی اهمیت دارد.

* قبل از نمونه گیری باید از تمیز و استریل بودن ظرف مخصوص جمع آوری ادرار مطمئن بود.
* به بیمار آموزش دهید: چند قطره از ادرار خود را دور ریخته و سپس مقدار 15 میلی لیتر ادرار را داخل ظرف مخصوص جمع آوری ادرار بریزید ، درب آن را فورا و بخوبی ببندید تا از آلودگی و نشت آن جلوگیری شود و حداکثر ظرف مدت 2 ساعت از تهیه نمونه باید آزمایش های میکروبی روی آن صورت گیرد .
* در صورت ارسال نمونه باید ظرف حاوی نمونه ادرار را در اولین فرصت ممکن و با رعایت زنجیره سرما به آزمایشگاه ارسال نمائید و تا زمان ارسال نمونه ها باید در یخچال نگهداری گردد .

برای نمونه گیری ادرار از خانمها به آنها یادآوری کنید تا قبل از نمونه گیری ، مجرای ادرار خود را با آب فراوان و بخوبی شستشو داده، سپس اقدام به نمونه گیری نماید.

**برای جمع آوری ادرار بچه ها باید به نکات زیر توجه شود :**

* قبل از نصب کیسه پلاستیکی مخصوص ، حتما ناحیه مجرای ادرار را با آب فراوان شستشو دهید.
* کیسه را اطراف دستگاه تناسلی و مجرای ادرار نصب کنید و تا زمان تخلیه ادرار در محل بماند.
* انجام کشت ادرار در کودکان اگر کیسه ادرار بمدت بیش از 20 دقیقه باز بماند باید با کیسه دیگری تعویض شود ، چون احتمال آلوده شدن کیسه وجود دارد. ( فاصله زمانی از باز کردن کیسه ادرار تا جمع آوری نمونه نباید بیش از 20 دقیقه طول بکشد )
* پس از اطمینان از جمع آوری ادرار میزان کافی، (حدود 15 میلی لیتر) کیسه را به آرامی از محل جدا کرده و با رعایت نکات استریل، آن را داخل ظرف مخصوص جمع آوری ادرار بگذارید و خیلی فوری نمونه را ارسال نمائید.

( رعایت زنجیره سرما الزامی می باشد )

**جمع آوری نمونه مدفوع :**

در صورتی که منظور از درخواست مدفوع ، بررسی وجود تخم انگل ها یا خون مخفی در مدفوع است بایستی مقدار کافی ، حدودا 10 تا 15 گرم (به اندازه یک بادام) مدفوع را در داخل ظرف مخصوص گذاشته و آن را به آزمایشگاه ارسال کرد.

برای تشخیص عامل اسهال خونی از جمله آمیب هیستولیتیکا نیاز به بررسی مدفوع و مشاهده تروفوزوئیت آمیب است. بنابراین باید توجه داشت که برای انجام آزمایش نیاز به مدفوع تازه و گرم می باشد . لذا دقت کنید که از زمان نمونه گیری تا زمان آزمایش تنها 30 دقیقه برای مشاهده و تشخیص این آمیب فرصت هست.

برای کشت مدفوع و ادرار رعایت نمونه گیری تمیز و دور از آلودگی و صحیح نمونه مورد نظر است.

* برای انجام آزمایش hCG رعایت زمان نمونه گیری ادرار در زمان 15 روز پس از قاعدگی ضروری است.
* آزمایش CT ، BT باید در محل نمونه گیری انجام شود.
* جهت کشت مدفوع ارسال یک سواپ آغشته به مدفوع از آزمایشگاه مبدا در داخل محیط ( GN) گرم نگاتیو براث به جای نمونه مدفوع کافی است .

**پایش و نظارت بر آزمایشگاه های مجری**

پایش و نظارت بر محل نمونه گیری و ارجاع نمونه به آزمایشگاه طرف قرارداد در خصوص انجام فرآیند های بهداشتی بر اساس چک لیست استاندارد بر عهده گروه کارشناسان دارو و آزمایشگاه مرکز بهداشت استان و کارشناس مسئول آزمایشگاه مرکز بهداشت شهرستان می باشد .

پایش و نظارت بر آزمایشگاه طرف قرارداد بر اساس شرح وظایف آزمایش های حوزه بهداشت و یا درمان که نمونه یا بیمار جهت انجام آزمایش های تخصصی و تکمیلی ارجاع می گردد بر عهده اداره امور آزمایشگاههای تشخیص طبی استان و امور آزمایشگاهی معاونت بهداشتی استان می باشد .

در طی پایش و نظارت موارد زیر بر اساس چک لیست بررسی می گردد :

1. موارد عدم انطباق
2. کنترل کیفی بخش فنی
3. نظارت بر نحوه صحیح ارسال نمونه به آزمایشگاه همکار
4. نحوه کسب نتایج و بایگانی از آزمایشگاه های همکار
5. توان علمی و عملی پرسنل بخش فنی
6. نظارت بر انجام فرآیند های پیشگیری از بیماری های واگیر و غیر واگیر
7. نظارت بر انجام آزمایش های غربالگری
8. میزان شرکت پرسنل بخش فنی در دوره های آموزشی
9. مرتبط بودن مدرک و رشته تحصیلی پرسنل با مسئولیت بر عهده گذاشته شده در بخش های فنی و پذیرش
10. نحوه جوابدهی و پیگیری نتایج در محدوده بحرانی
11. و ....

**نیروی انسانی مورد نیاز برای پذیرش و خونگیری در محل برای ارجاع به آزمایشگاه همکار :**

کاردان یا کارشناس آزمایشگاه با مدرک تحصیلی علوم آزمایشگاهی می باشد .

فضای مناسب جهت اخذ نمونه گیری حداقل 20 مترمربع بوده و رعایت حریم نمونه گیری ( جدانمودن محل خونگیری خواهران و براداران ) الزامی میباشد..

دستشویی و توالت جداگانه برای تهیه نمونه الزامی می باشد .

**تجهیزات مورد نیاز برای خونگیری و ارسال نمونه به آزمایشگاه همکار**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ردیف | نام تجهیز | تعداد |
| 1 | صندلی خونگیری دو بازویی | 2 |
| 2 | کابینت بندی مناسب محل خونگیری | 10 مترمربع |
| 3 | وسایل نمونه برداری مانند سرنگ ، ظرف مخصوص استریل ، ظرف مدفوع ، لوله آزمایش یکبار مصرف و لوله CBC ، ESR و ... | به تعدا کافی |
| 4 | تابوره جک دار | 2 |
| 5 | سطل آشغال دربدار استیل | 2 |
| 6 | سیفتی باکس | به تعداد مصرف روزانه |
| 7 | کلد باکس Cold Box | با سایز مناسب |
| 8 | کیسه یخ | حداقل 50 بسته |
| 9 | سانتریفیوژ 16 شاخه | 2 |
| 10 | سل میکسر | 2 |
| 11 | یخچال و فریزر 16 فوت | 1 |
| 12 | تخت معاینه | 2 |
| 13 | کپسول اکسیژن | 2 |
| 14 | تورنیکه پارچه ای استاندارد | 4 |
| 15 | باکس مخصوص حمل نمونه آزمایشگاهی | 2 |
| 16 | جعبه کمک های اولیه | 1 |
| 17 | سیستم سرمایش و گرمایش مناسب | ----- |
| 18 | تهویه مناسب | ----- |

**نحوه ارسال نمونه آزمایش های روتین به آزمایشگاه ها**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ردیف | نوع آزمایش | نوع نمونه ارسالی | دمای نگهداری | مدت زمان نگهداری | نحوه ارجاع به آزمایشگاه طرف قرارداد |
| 1 | آزمایش های بیوشیمی شامل :   1. FBS 2. GCT 3. GTT75 و 100 4. BUN 5. Uric Acid 6. Cholestrol 7. TG 8. 2hppBS 9. CR- Na-K- SGPT- SGOT-AlP-HDL- LDL – Ca – P- Bill Direct- Bill Total- Serum Iron TIBC | سرم | 8- 4 درجه | 48-24 ساعت | با حفظ زنجیره سرما  (Cold Box ) |
| 2 | آزمایش های هماتولوژی  شامل :   1. CBC 2. ESR 3. HbA1c 4. PT & PTT 5. BG&Rh | خون کامل به همراه ضد انعقاد مناسب | 8- 4 درجه | CBC تا 24 ساعت  ESR تا 24 ساعت  PT & PTT تا 2 ساعت  HbA1c تا 7روز پس از خونگیری  BG&Rh تا 3 روز | با حفظ زنجیره سرما  (Cold Box ) |
| 3 | آزمایش های سرولوژی  شامل :   1. Wright 2. Widal 3. 2ME Wright 4. CRP 5. RPR 6. Indirect Coombs 7. Coombs Wright | سرم | 8- 4 درجه | 48-24 ساعت | با حفظ زنجیره سرما  (Cold Box ) |
| 4 | کشت  شامل :   1. کشت ادرار 2. کشت مدفوع | نمونه ادرار  نمونه مدفوع و یا سواپ در محیط انتقال | 8- 4 درجه | نمونه ادرار تا 2 ساعت  نمونه مدفوع تا 2 ساعت  سواپ در محیط انتقال :  24 ساعت | با حفظ زنجیره سرما  (Cold Box ) |
| ردیف | نوع آزمایش | نوع نمونه ارسالی | دمای نگهداری | مدت زمان نگهداری | نحوه ارجاع به آزمایشگاه طرف قرارداد |
| 5 | * نمونه ادرار * نمونه مدفوع * گایاک | در ظرف دربسته | >25 درجه | 2 ساعت | در دمای >25 درجه |
| 6 | آزمایش های مربوط به الایزا شامل :   1. T4- T3- TSH- T3Ru 2. BHCG 3. HBS Ab 4. HBS Ag 5. HCV Ab 6. HIV | سرم | 8- 4 درجه  20- درجه | 24 تا 48 ساعت  تا یک ماه | با حفظ زنجیره سرما  (Cold Box ) |
| 7 | آزمایش اسمیر خلط از نظر باسیل کخ | خلط | 8- 4 درجه | 24 تا 48 ساعت | در دمای >25 درجه \* |
| 8 | لام خون محیطی | خون | دمای محیط | 24 تا 48 ساعت | دمای محیط \*\* |
| 9 | پاپ اسمیر | نمونه برداری بافت | دمای محیط | 24 تا 48 ساعت | دمای محیط\*\*\* |
| 10 | Fungus Smear | امکان ارسال نمونه وجود ندارد و نمونه باید در محل آزمایشگاه قارچ شناسی برداشته شود | | | |

\*تبصره بند 7 : در مورد آزمایش Tb به دلیل اهمیت موضوع در تشخیص بهتر است نمونه در عرض کمتر از 48 ساعت به آزمایشگاه ارجاع داده شود . در خصوص نحوه انتقال در صورت گرم بودن محیط ( فصل تابستان ) نمونه باید با حفظ زنجیره سرما (Cold Box ) به آزمایشگاه ارسال شود.

\*\* تبصره بند 8 : هنگام تهیه لام خون محیطی ضرورت دارد در زمان خشک شدن لام ، مراقبت لازم از حشرات مانند مگس به عمل آید زیرا اینگونه حشرات با خوردن خون لام موجب اشکال در تشخیص خواهند شد .

لفافه پیچی با کاغذ ( معمولی یا کاهی روغنی ) جهت حفاظت لام از شکسته شدن در زمان انتقال باید انجام گیرد. بهتر است لام درون جعبه مقوایی یا پلاستیکی جهت انتقال قرار داده شود .

\*\*\*تبصره بند 9 : لفافه پیچی با کاغذ ( معمولی یا کاهی روغنی ) جهت حفاظت لام از شکسته شدن در زمان انتقال باید انجام گیرد. بهتر است لام درون جعبه مقوایی یا پلاستیکی جهت انتقال قرار داده شود .

**امور آزمایشگاهی معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تبریز**

**تابستان 93**