اصول شیمی بالینی و روش‌های تشخیص مولکولی تیتز (جلد ۱)

ویرایش هشتم

تألیف

نادر ریفای

آندرا ریتا هوروث

کارل ویتور

مترجمان:

دکتر زیبا مجیدی

دکتر هوشنگ امیررسولی

دکتر مهشید نیکپور

دکتر سید محمدعلی اسدی

با مقدمهٔ:

دکتر پروین پاسالار

دکترای بیوشیمی بالینی

استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران

زیر نظر:

دکتر هوشنگ امیررسولی

دکترای بیوشیمی بالینی و متخصص آزمایشگاه

دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مدیر گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی

کتاب ارجمند

فهرست

مقدمه ترجمهٔ فارسی ۹
پیش‌گفتار ۱۱

بخش اول: اصول پزشکی مبتنی بر آزمایشگاه

۱. جمع‌آوری نمونه، پردازش، و سایر متغیرهای پیش از آنالیز ۱۳

شناسایی بیمار ۱۵
انواع نمونه ۱۵
نحوهٔ کارکردن با نمونه‌ها برای آنالیز ۲۷
حفظ هویت نمونه‌ها ۲۷
نتیجه ۲۹
سؤالات مروری ۳۰
منابع ۳۱

بخش دوم: آنالیت‌ها

۲. اسید آمینه‌ها، پپتیدها و پروتئین‌ها ۳۳

اسیدآمینه‌ها ۳۵
پپتیدها ۴۲
پروتئین‌ها ۴۵
کاتابولیسم پروتئین ۴۸

۳. آنزیم‌های سرمی ۶۷

مفاهیم پایه ۶۸
آنزیم‌های عضلانی ۶۹
آنزیم‌های کبدی ۷۳
آنزیم‌های پانکراس ۸۱
سایر آنزیم‌های دارای اهمیت بالینی ۸۷
منابع ۹۲

۴. تومور مارکرها ۹۳

سرطان — دید کلی ۹۵
پیشینه تاریخی ۹۶
اصول کلی استفاده از تمام تومور مارکرها ۹۶
الزامات کیفیت برای استفاده از تومور مارکر در بالین ۱۰۲
نتیجه‌گیری ۱۲۹

۵. تست‌های عملکرد کلیوی ۱۳۳

پروتئینوری: پروتئین کل و آلبومین ۱۳۴
کراتینین ۱۳۸
سیستاتین C ۱۴۳
اوره ۱۴۵
اسید اوریک (اورات) ۱۴۷
ارزیابی عملکرد کلیه: سرعت فیلتراسیون گلومرولی ۱۵۱

۶. کربوهیدرات‌ها ۱۵۷

شیمی کربوهیدرات‌ها ۱۵۸
بیوشیمی و فیزیولوژی ۱۶۱
روش‌شناسی آنالیتیک ۱۶۶

۷. لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها، آپولیپوپروتئین‌ها و سایر عوامل خطر قلبی-عروقی ۱۷۷

لیپیدهای اصلی ۱۷۹
لیپوپروتئین‌ها ۱۸۹
آپولیپوپروتئین‌ها ۱۹۱
متابولیسم لیپوپروتئین‌ها ۱۹۲
اهمیت بالینی ۱۹۶
مدیریت اختلالات لیپوپروتئین در بزرگسالان ۲۰۰
آنالیز لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها، آپولیپوپروتئین‌ها ۲۰۵
تست‌های پیشرفته لیپید و لیپوپروتئین برای تعیین احتمال خطر بیماری قلبی عروقی ۲۰۹

۸. الکترولیت‌ها و گازهای خونی ۲۱۳

الکترولیت‌ها ۲۱۵
نمونه‌ها برای تعیین الکترولیت‌ها ۲۱۵
سدیم ۲۱۶
پتاسیم ۲۱۶
روش‌های تعیین سدیم و پتاسیم ۲۱۸
اثر خروج الکترولیت ۲۱۹
روش‌های تعیین کلر در مایعات بدن ۲۲۰
کلر عرق ۲۲۱

بیکربنات (دی‌اکسید کربن تام) ۲۲۳
اصول فشار اسمزی و اسمز ۲۲۴
گازهای خونی و pH ۲۲۶
رفتار گازها ۲۲۷
به کارگیری معادلهٔ هندرسن- هسلباخ در اندازه‌گیری گازهای خونی ۲۲۹
اکسیژن خون ۲۳۰
اشباع هموگلوبین از اکسیژن ۲۳۱
تعیین pCO_2 ، pO_2 و pH ۲۳۳
پایش مداوم و غیرتهاجمی گازهای خونی ۲۳۸

۹. ویتامین‌ها و عناصر کمیاب ۲۴۱

وضعیت ویتامین و عناصر کمیاب ۲۴۲
ویتامین‌ها ۲۴۶
عناصر کمیاب ۲۶۹
بررسی آزمایشگاهی وضعیت عناصر کمیاب ۲۷۰
روش‌های تحلیلی برای اندازه‌گیری عناصر کمیاب ۲۷۱

۱۰. هموگلوبین، آهن، و بیلی‌روبین ۲۸۳

هموگلوبین ۲۸۵
آهن ۲۹۵
بیلی‌روبین ۳۰۵

۱۱. پورفیرین‌ها و پورفیریاها ۳۱۳

شیمی پورفیرین ۳۱۵
بیوسنتز هِم ۳۱۵
تنظیم بیوسنتز هم ۳۱۸
حلالیت و دفع پیش‌سازهای هِم ۳۱۹
پورفیریاها ۳۲۰
تشخیص آزمایشگاهی پورفیریا ۳۲۵
آنالیزهای آزمایشگاهی ۳۲۷

۱۲. پایش دارو درمانی ۳۳۵

اصول بنیادی فارماکوکینتیک کاربردی ۳۳۷
پایش دارودرمانی داروهای مشخص در کاربرد بالینی شایع ... ۳۴۴

۱۳. سم‌شناسی بالینی ۳۶۳

روش‌های غربالگری جهت شناسایی داروها ۳۶۷
فارماکولوژی و آنالیز داروها و سموم خاص ۳۷۰
عواملی که باعث هیپوکسی سلولی می‌شوند ۳۷۰
الکل‌ها ۳۷۲
مواد ضددرد (قابل تهیه بدون نسخه) ۳۷۶
داروهای مرتبط با توکسیدروم آنتی‌کولینرژیک ۳۷۷
آنتی‌هیستامین‌ها ۳۷۸
داروهای مرتبط با توکسیدروم کولینرژیک ۳۷۹
داروهای مورد سوءاستفاده ۳۸۰
جرایم تسهیل‌شده با دارو ۳۹۲
مدیریت درد ۳۹۴
کشف داروهای مورد سوءاستفاده با استفاده از سایر نمونه‌ها .. ۳۹۵

۱۴. فلزات سمی ۳۹۹

مقدمه ۳۹۹
محتوای فصل ۳۹۹
میزان شیوع مسمومیت با فلزات ۴۰۰
تشخیص مسمومیّت ۴۰۰
درمان ۴۰۱
عناصر خاص ۴۰۱

بخش سوم: پاتوفیزیولوژی

۱۵. دیابت ۴۱۷

طبقه‌بندی ۴۱۹
انواع افزایش خطر ابتلا به دیابت ۴۲۱
هورمون‌های تنظیم‌کنندهٔ غلظت گلوکز خون ۴۲۱
اندازه‌گیری انسولین، پروانسولین، پپتید C و گلوکاگون ۴۲۶
روند بیماری‌زایی دیابت شیرین نوع۱ ..... ۴۲۹
روند بیماری‌زایی دیابت شیرین نوع۲ ..... ۴۳۰
تشخیص دیابت ۴۳۲
عوارض مزمن دیابت قندی ۴۳۴
نقش آزمایشگاه بالینی در دیابت شیرین ۴۳۶
پایش قند خون توسط بیمار (SMBG) ۴۳۷
دستگاه‌های جایگزین گلوکزسنج برای پایش گلوکز خون ۴۴۰
اجسام کتونی ۴۴۱
پروتئین‌های گلیکه ۴۴۲
دفع ادراری آلبومین (آلبومینوری) ۴۵۰

۱۶. بیماری‌های قلبی- عروقی ۴۵۵

آناتومی و فیزیولوژی قلب ۴۵۷
بیماری قلبی ۴۵۹
نارسایی احتقانی قلب ۴۶۱
بیومارکرهای قلبی ۴۶۲

۱۷. عملکرد کلیه و بیماری‌های آن ۴۸۱

آناتومی (کالبدشناسی) ۴۸۴
عملکرد کلیه ۴۸۷
فیزیولوژی کلیه ۴۹۱

پاتوفیزیولوژی بیماری‌های کلیوی ۴۹۲
سایر بیماری‌های کلیه ۵۰۰
درمان جایگزینی کلیه ۵۰۸

۱۸. فیزیولوژی و اختلالات آب، الکترولیت‌ها، و متابولیسم اسید- باز ۵۱۹

آب و الکترولیت – ترکیبات مایعات بدن ۵۲۱
بخش‌های خارج سلولی و داخل سلولی ۵۲۲
الکترولیت‌ها ۵۲۳
سدیم ۵۲۳
پتاسیم ۵۲۷
کلرید ۵۲۹
فیزیولوژی اسید- باز ۵۳۰
تعادل اسید – باز و وضعیت اسید – باز ۵۳۰
سیستم‌های بافری و نقش آن‌ها در تنظیم pH مایعات بدن .. ۵۳۱
مکانیسم تنفسی در تنظیم تعادل اسید – باز ۵۳۳
مکانیسم‌های کلیوی تنظیم تعادل اسید- باز ۵۳۳
بیماری‌های مرتبط با وضعیت غیرطبیعی اسید – باز و ترکیب الکترولیت‌های خون ۵۳۴
آلکالوز متابولیک (افزایش اولیهٔ بیکربنات) ۵۳۹
اسیدوز تنفسی ۵۴۱
آلکالوز تنفسی ۵۴۱

۱۹. بیماری‌های کبدی ۵۴۵

کالبدشناسی کبد ۵۴۷
عملکرد بیوشیمیایی کبد ۵۴۹
بیماری‌های کبدی ۵۵۴
پیوند کبد ۵۷۵

۲۰. عملکرد معده، پانکراس و روده ۵۷۷

معرفی آناتومی و فیزیولوژی دستگاه گوارش ۵۷۸
معده: بیماری‌ها و بررسی‌های آزمایشگاهی ۵۸۴
اختلال‌های روده‌ای و بررسی‌های آزمایشگاهی آن‌ها ۵۸۷
بیماری‌های پانکراس و ارزیابی عملکرد قسمت بدون ریزپانکراس ۵۹۵

اطلاعات مرجع مربوط به آزمایشگاه بالینی ۶۰۷

مرور اجمالی ۶۰۷

نمایه ۶۴۹

مقدمهٔ ترجمهٔ فارسی

بی تردید پرداختن به مباحث پایه ای در علوم تجربی از اهمیت والایی برخوردار است و این مهم با کوشش و قلم دانشمندان به جهان علم عرضه می گردد. با توجه به اینکه غالب این متون به زبانهای خارجی منتشر می شود، ترجمه و ویرایش این آثار به زبان فارسی در راستای دسترسی طیف وسیع دانشجویان و دانش پژوهان فارسی زبان ضروری است. بار این زحمات بر دوش مترجمان تخصصی این حوزه می باشد.

درست است که ترجمهٔ کتب دانشگاهی همواره با چالش های ناشی از انتقال مفاهیم میان دو زبان کاملاً متفاوت همراه می باشد و از خطا مصون نیست، اما قدم مهمی در انتقال دانش به جویندگان آن است.

اثر حاضر ترجمهٔ نسخهٔ هشتم (۲۰۱۹) کتاب تیتز بوده و حاوی یافته ها و معلومات پایه ای در رشتهٔ بیوشیمی بالینی می‌باشد. به فراخور نیاز و اهمیت مطالب، ۳۴ فصل از کتاب اصلی در قالب مجموعه ای دو جلدی ترجمه و ارائه گردیده است. جلد اول این مجموعه شامل ۲۱ فصل و جلد دوم شامل ۱۳ فصل از کتاب اصلی می باشد. شمارهٔ فصول کتاب حاضر منطبق با نسخهٔ اصلی نبوده، اما ترتیب پیشرفت فصول و ارائهٔ مطالب بر اساس نسخهٔ اصلی تنظیم گردیده است. گفتنی است که نسخهٔ جدید کتاب تیتز علاوه بر مطالب جدید، تقسیم بندی به نسبت متفاوتی از موضوعات را در مقایسه با نسخهٔ قبلی ارائه نموده تا ضمن حفظ پیوستگی، فهم بهتر مباحث را نیز تسهیل نماید. از این رو خواندن نسخهٔ جدید کتاب درک بهتر و عمیق تر مباحث پایه ای رشتهٔ بیوشیمی بالینی را میسر می نماید.

امید است که این تلاش هرچند کوچک بتواند سهم به سزایی در آموزش دانشجویان و کمک به دانش پژوهان رشتهٔ بیوشیمی بالینی داشته باشد.

دکتر پروین پاسالار
تابستان ۱۳۹۹

پیش گفتار

خوشحالیم که ویرایش هشتم کتاب *اصول شیمی بالینی تیتز* را به شما معرفی می‌کنیم. ما کار خود را بر مبنای تلاش ارزشمند نویسندگان پیشین بنا کرده ایم و از ابزارهای الکترونیکی بهره برده ایم تا کتاب با کیفیتی تهیه کنیم که بتواند مورد استفادهٔ دانشجویان، کارآموزان و دانشمندان آزمایشگاهی و بالینی قرار گیرد.

فصل های کتاب به طور گسترده به روز شده اند و بیش از ۶۰ نویسنده در نگارش مطالب با یکدیگر همکاری کرده و تازه ترین اطلاعات موجود را در هر زمینه گرد آورده اند. قصد ما این بوده است که طرز ارائهٔ مطالب را در تمامی فصل ها یکدست کنیم و در عین حال سبک خاص هر نویسنده را حفظ نماییم، تا بتوانیم متنی آموزنده و قابل فهم به خوانندگان عرضه کنیم.

برخلاف بسیاری از دیگر درس نامه ها، تمامی فصل های این کتاب توسط سه نفر بازبینی شدند: یک منتقد، یک کمک ویراستار و یک ویراستار ارشد. معتقدیم که این تلاش ها منجر به تولید محصول بهتری شده است. به علاوه، تلاش جمعی ما مبنی بر این بود که محصولی بین المللی، و نه صرفاً آمریکایی، خلق کنیم که بتواند فعالیت های علمی سرتاسر جهان را بازتاب دهد؛ برای مثال، تمامی مقیاس های اندازه گیری به دو شکل سنتی و دستگاه بین المللی یکا (SI) ارائه شده است.

علاوه بر نسخهٔ چاپی کتاب، مجموعهٔ ارزشمندی از مطالب آموزشی تکمیلی از جمله مطالعات موردی بالینی، محاسبات بیوشیمیایی، سؤالات چند گزینه ای و منابع در تارنمای Elsevier در دسترس است که می تواند سطح آموزش را ارتقاء دهد.

این پروژه تلاشی جمعی است که اندیشه، دانش و تجربهٔ نزدیک به ۱۲۰ متخصص را از ۱۳ کشور مختلف بازتاب می دهد. امیدواریم این محصول بتواند منبع آموزشی مفیدی برای دانشمندان آزمایشگاهی بالینی در سرتاسر جهان باشد.

نادر ریفای
آندرا ریتا هوروث
کارل تی. ویتور

۱

جمع‌آوری نمونه، پردازش، و سایر متغیرهای پیش از آنالیز

Doris M. Haverstick, Patricia M. Jones

اهداف

۱. اصطلاحات زیر را تعریف کنید:
- ضدانعقاد
- متغیر قابل کنترل پیش از آنالیز
- همولیز
- ترتیب نمونه‌گیری
- خون‌گیری
- پلاسما
- متغیر پیش از آنالیز
- خطای پیش از آنالیز
- سرم
- متغیر غیرقابل کنترل پیش از آنالیز
- سوراخ کردن رگ

۲. دو مثال از خطای پیش از آنالیز و دو مثال از متغییر غیرقابل کنترل پیش از آنالیز بیاورید.

۳. فهرستی از انواع نمونه‌های زیستی که در یک آزمایشگاه بالینی آنالیز می‌شوند را تهیه کنید.

۴. مراحلی که توسط یک خون‌گیر برای گرفتن یک نمونهٔ خونی از طریق سوراخ کردن رگ انجام می‌شود را به صورت خلاصه بیان کنید؛ محل ترجیحی برای جمع‌آوری خون وریدی را بیان کنید، از جمله عملی که در هنگام مشخص بودن خط وریدی انجام می‌شود.

۵. اثرات عمومی بر روی آنالیت‌ها که به دلایل زیر ایجاد شده‌اند را بگویید:
- مشت کردن قبل از سوراخ کردن رگ
- استرس
- ترتیب جمع‌آوری (لولهٔ اول، لولهٔ دوم، غیره)
- زمان جمع‌آوری با توجه به تغییرات روزانه
- انسداد طولانی‌مدت سیاهرگ با یک تورنیکت
- پرنکردن کامل لولهٔ جمع‌آوری

۶. ترتیب نمونه‌گیری برای چند نمونهٔ خون، ازجمله ترتیب مورد نیاز برای جمع‌آوری چند لوله خون، رنگ درب لوله و مادهٔ افزایندهٔ مربوطه، نیاز به پرکردن لوله و سروته کردن آن و دلیل پرکردن لوله‌ها در یک نظم خاص را شرح دهید.

۷. مجموعه تکنیک‌های سوراخ کردن پوست، شامل روش‌های تحریک جریان خون را توضیح دهید؛ دلایل جمع‌آوری یک نمونه با استفاده از سوراخ کردن پوست را بیان کنید؛ و فرآیند جمع‌آوری برای به دست آورن یک لکهٔ خون برای آزمایش ژنتیک مولکولی را شرح دهید.

۸. تفاوت بین سرم و پلاسما را بیان کنید.

۹. در صورت وجود، تفاوت در ترکیبات نمونه‌های سرم و پلاسما آنالیت‌های زیر را مقایسه کنید:
- کلسیم
- کلسترول
- آلبومین
- کراتینین
- پروتئین تام
- گلوکز
- پتاسیم

۱۰. چگونگی ممانعت از انعقاد خون توسط ضدانعقادهای زیر را بیان کنید.
- هپارین
- EDTA
- سیترات
- اگزالات
- یدواستات

۱۱. شرایط آنالیتیکی مناسب برای استفاده از لوله‌های حاوی

افزودنی‌های مختلف را بیان کنید، دلایلی را بیان کنید که چرا خون جمع‌آوری شده در ضدانعقادهای مشابه را نمی‌توان برای آنالیزهای معینی استفاده کرد.

۱۲. توضیح دهید در چه غلظتی از هموگلوبین، همولیز در پلاسما قابل مشاهده است؛ توضیح دهید که چطور همولیز، اندازه‌گیری آنالیت‌های معین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و استفاده از فرآیندهای آنالیتیکی معین را شرح دهید.

۱۳. سه نمونهٔ ادرار و استفاده از آنها در آنالیزهای بالینی را بگویید؛ دو روش نگه‌داری ادرار را بیان کنید و استفاده از هر یک را شرح دهید.

۱۴. فرآیند جمع‌آوری یک نمونهٔ ادراری در وقت معین را به صورت اجمالی بیان کنید.

۱۵. آنالیزهای شیمیایی انجام شده بر روی انواع نمونه‌های زیر و نام فرآیند جمع‌آوری را در صورت وجود بگویید:

- مدفوع
- مایع مغزی‌نخاعی (CSF)
- مایع سینویال
- مایع آمنیوتیک
- پرز کوریونی
- مایع‌های جنب، پری‌کاردیال و آسیت
- بزاق
- سلول‌های دهانی
- مو و ناخن

۱۶. هر یک از چهار جنبهٔ کارکردن با نمونه را به صورت مختصر شرح دهید؛ آنها را در رابطه با شناسایی نمونه در ظرف‌های مختلف شرح دهید، این چهار جنبه عبارتند از سانتریفوژ نمونه‌های خون، نگه‌داری نمونه بر روی یخ یا در ۲۰°C− یا در ۴°C، محافظت در برابر نور، روش انتقال.

واژه‌های کلیدی و تعاریف

مواد افزودنی[1] ترکیباتی که برای جلوگیری از انعقاد یا به منظور نگهداری محتوای نمونه‌های بیولوژیک، به آنها اضافه می‌شود.

مادهٔ ضدانعقاد هر ماده‌ای که از لخته شدن خون جلوگیری کند.

نمونه‌گیری پرز کوریونی یک تست پیش از تولد برای تشخیص نقایص تولد که در مرحلهٔ ابتدایی حاملگی انجام می‌شود و شامل بازیابی و بررسی بافت از روی پرزهای *کوریونی* است. *بیوپسی پرزهای کوریونی* نیز نامیده می‌شود.

انعقاد (لخته شدن) توالی از فرآیندها که طی آن چندین فاکتور انعقادی خون در آبشار انعقادی شرکت می‌کنند و منجر به ایجاد لختهٔ فیبرین نامحلول می‌شوند.

تغییرات شبانه‌روزی تغییراتی که در مقادیر یک ماده در طول یک دورهٔ ۲۴ ساعته اتفاق می‌افتد.

همولیز تجزیه غشای گلبول قرمز که باعث رهاشدن هموگلوبین و سایر اجزای گلبول قرمز می‌شود.

خون‌گیر[2] کسی که فلبوتومی انجام می‌دهد؛ فردی که خون‌گیری می‌کند.

خون‌گیری[3] واردکردن سوزن در یک رگ خونی به منظور جمع‌آوری خون؛ به صورت تحت‌الفظی، "استفاده از خون در درمان بیماری"

پلاسما بخش فاقد سلول کل خون منعقد نشده؛ پلاسما حاوی فاکتورهای انعقادی است.

خطاهای پیش از آنالیز[4] عواملی که قبل از انجام تست، بر روی نمونه‌ها اثر می‌گذارند و آنهایی که در صورت کنترل نشدن می‌توانند منجر به خطا شوند؛ این عوامل به دو دستهٔ قابل‌کنترل و غیرقابل‌کنترل تقسیم می‌شوند.

مواد نگهدارنده[5] ماده‌ای که به منظور جلوگیری از به وجود آمدن تغییر در اجزای سازندهٔ یک نمونه، به آن اضافه می‌شود.

سرم بخش مایع (watery) خون که پس از این‌که انعقاد صورت گرفت باقی می‌ماند؛ سرم بعد از سانتریفیوژ به دست می‌آید.

اشیاء تیز[6] هر چیزی که بتواند به راحتی پوست فرد در هنگام مواجهه با آن را سوراخ کند یا ببرد.

نگهدارندهٔ اشیاء تیز یک محفظهٔ طراحی شده برای دور ریختن اشیاء تیز، که توسط ادارهٔ سلامت و ایمنی حرفه‌ای (OSHA) تنظیم شده و مورد نیاز می‌باشد.

سوزن زدن به پوست[7] جمع‌آوری خون مویرگی که معمولاً در

1. Additives
2. Phlebotomist
3. Phlebotomy
4. Preanalytical errors
5. Preservative
6. Sharps
7. Skin Pancture

کودکان با یک برش نازک در پوست (اغلب پاشنه پا انجام می‌شود).

نمونه نمونه یا بخشی از بافت یا مایع بدن که برای آزمایش، بررسی، یا آنالیز جمع‌آوری می‌شود.

خون‌گیری وریدی[1] تمام مراحل دربرگیرندهٔ گرفتن نمونهٔ خونی مناسب و مشخص از سیاهرگ یک فرد.

انسداد وریدی متوقف کردن موقت بازگشت جریان خون به سمت قلب و تورم سیاهرگ‌ها؛ در فلبوتومی، این پدیده یک انسداد موقت است که با بکارگیری فشار، معمولاً با استفاده از یک تورنیکت ایجاد می‌شود.

جمع‌آوری، پردازش، ذخیره‌سازی و انتقال مناسب انواع نمونه‌های معمول مورد استفاده در آزمایش‌های تشخیصی، برای ارائه نتایج آزمایش‌های کیفی ضروری است. هر گام شامل عوامل مرتبط با بیمار است و می‌تواند منشأ خطاهایی باشد که منجر به نتایج نادرست می‌شوند. به حداقل رساندن این خطاها، منتج به دستیابی به اطلاعات قابل‌اعتماد برای استفاده متخصصان بهداشت و درمان در ارائه خدمات با کیفیت بالا خواهد شد.

این فصل، انواع رایج‌ترین نمونه‌ها را بررسی می‌کند و در مورد چگونگی (۱) جمع‌آوری، (۲) شناسایی، (۳) پردازش، (۴) ذخیره، و (۵) انتقال آنها بحث می‌کند. در این فصل به تفاوت بین جمع‌آوری نمونه‌های مربوط به افراد بزرگسال و اطفال نیز پرداخته شده است.

شناسایی بیمار

قبل از جمع‌آوری هر نمونه، نمونه‌گیر باید هویت بیمار را با استفاده از دو یا سه مشخّصهٔ شناسایی (مانند نام، شماره ثبت پزشکی، تاریخ تولد) تائید کند. در شرایط ویژه، مانند تست تعیین پدر (paternity test) یا سایر تست‌های که از نظر پزشکی قانونی اهمیت دارند، ممکن است ایجاد زنجیرهٔ محافظت از نمونه نیازمند افزودن موارد اضافی برای شناسایی بیمار مانند عکس باشد.

شناسایی باید یک پروسه فعال باشد، بیمار باید نام و نام خانوادگی خود را بیان کند و نمونه‌گیر اطلاعات را یا بر روی مچ‌بند موجود در دست بیمار یا در فرم درخواست تست یا برنامه کامپیوتری تائید کند. در مورد اطفال، والدین یا سرپرست باید حضور داشته باشند و از آنها خواسته شود که به طور فعال شناسایی کودک را انجام دهند به طریقی که از جواب بله و خیر اجتناب شود، مثلاً "لطفاً به من بگویید نام کودک شما چیست."

1. Venipuncture

انواع نمونه

انواع **نمونه‌های** زیستی که در آزمایشگاه‌های بالینی آنالیز می‌شوند عبارت‌اند از: (۱) خون کامل؛ (۲) سرم؛ (۳) پلاسما؛ (۴) ادرار؛ (۵) مدفوع؛ (۶) بزاق؛ (۷) دیگر مایعات بدن مانند مایعات نخاعی، سینوویال، آمنیوتیک، جنبی، پری‌کاردیال، و آسیت؛ و (۸) انواع گوناگون بافت‌های جامد (ازجمله انواع سلول‌های خاص). سازمان جهانی بهداشت و مؤسسهٔ استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی[2] (CLSI) روش‌های متعددی برای جمع‌آوری بسیاری از این نمونه‌ها تحت شرایط استاندارد منتشر ساخته است. (جدول ۱.۱).

خون

خون مورد نیاز برای آنالیز از وریدها، شریان‌ها یا مویرگ‌ها به دست می‌آید. خون وریدی معمولاً نمونهٔ انتخابی است. خون‌گیری شریانی عمدتاً برای آنالیز گازهای خونی استفاده می‌شود. در کودکان و برای بسیاری از تست‌هایی که بر بالین بیمار[3] انجام می‌شود، اغلب از روش سوزن‌زدن به پوست استفاده می‌شود و خون به دست آمده از این طریق عمدتاً خون مویرگی است. فرآیند جمع‌آوری نمونه خون، **خون‌گیری (فلبوتومی)** نامیده می‌شود (از *phleb* به معنی ورید، و *tome* به معنای برش یا بریدن) و باید همیشه توسط یک **خون‌گیر (فلبوتومیست)** آموزش‌دیده انجام شود.

خون‌گیری وریدی

خون‌گیری وریدی به تمام مراحلی گفته می‌شود که در آزمایشگاه بالینی برای به دست آوردن نمونه خون مناسب و مشخص، از ورید یک بیمار انجام می‌شود (CLSI H3-A6، جدول ۱.۱ را ببینید).

مراحل اولیه. قبل از جمع‌آوری، از بیمار باید دربارهٔ آلرژی

2. Clinical and Laboratory Standards Institute
3. Point-of-care tests

به لاتکس سؤال شود و در صورت لزوم نمونه‌گیر باید تجهیزات غیرلاتکس را تأمین کند. هرگونه رضایت‌نامه امضاشده و یا درخواست‌های ویژه نیز باید تکمیل شوند.

قبل از جمع‌آوری، نمونه‌گیر باید تجهیزات حفاظتی شخصی (PPE)، مانند لباس و دستکش به تن داشته باشد. داشتن تجهیزات حفاظتی شخصی و پایبندی به اقدامات احتیاطی استاندارد، گسترش بیماری‌های عفونی را از یک بیمار به دیگران محدود می‌کند و ایمنی نمونه‌گیر را ارتقا می‌دهد. تجهیزات حفاظتی شخصی اغلب در مؤسسات اطفال رنگارنگ است، که در آن کودکان کوچک ممکن است از هرکسی که در یک کت یا لباس سفید هستند، وحشت داشته باشند. هنگام جمع‌آوری نمونه از یک بیمار ایزوله شده در یک بیمارستان، نمونه‌گیر باید اغلب تجهیزات حفاظتی شخصی تخصصی به تن کند. میزان اقدامات احتیاطی مورد نیاز به ماهیت بیماری بیمار و سیاست‌های موسسه و پاتوژن موجود در خون بستگی دارد.

در صورت نیاز، فلبوتومیست باید وضعیت ناشتا بودن بیمار، داروهایی که مصرف کرده و یا در صورت نیاز قطع کرده و به مواردی این‌چنینی رسیدگی کند. بیمار باید راحت باشد، بنشیند یا اگر نشستن مقدور نیست، در حالت طاقباز دراز بکشد و تا قبل از گرفتن نمونه برای مدت زمانی که لازم است در همین وضعیت باشد. هرگز نباید برای بیماری که ایستاده است خون‌گیری وریدی انجام داد.

ممکن است لازم باشد نوزادان و کودکان خردسال برای جلوگیری از حرکت نگهداری شوند. یک کودک خردسال ممکن است در آغوش والدین بنشیند در حالی که والدین کمک کنند و دست و بازوی بیمار را نگه دارند (شکل ۱.۱). برای خون‌گیری از نوزاد اغلب نوزاد در موقعیت خوابیده قرار می‌گیرد و ممکن است نوزاد در یک پتو پوشیده شود یا ممکن است از یک سطح حمل کودک برای جلوگیری از حرکت استفاده شود.

باید بازوهای بیمار در یک خط مستقیم از شانه تا مچ گسترش یابد. باید از بازو با زخم‌های گسترده یا هماتوم در محل جمع‌آوری نمونه اجتناب شود. اگر زنی برداشت سینه (ماستکتومی) داشته باشد، نباید از وریدهای بازوی آن سمت از بدن استفاده شود. اگر زنی ماستکتومی دوطرفه در طی ۶ ماه داشته باشد، باید از یک ورید در پشت دست یا مچ پا استفاده شود. پس از ۶ ماه، خون باید از بازوی سمتی که اولین جراحی انجام شده است، گرفته شود.

فلبوتومیست باید حجم خونی را که قرار است گرفته شود، تخمین بزند و تعداد و انواع مناسب لوله‌های مورد نیاز برای خون را انتخاب کند. این ممکن است توسط معرفی‌نامه جمع‌آوری تهیه شده توسط کامپیوتر تسهیل شود و باید برای جمع‌آوری حداقل مقدار لازم برای آزمایش طراحی شود. تخمین حجم خون برای جمع‌آوری به ویژه در مجموعهٔ کودکان حیاتی است. از آنجا که یک نوزاد به طور متوسط دارای حجم کلی خون تقریباً ۳۵۰ میلی‌لیتر است، جمع‌آوری خون در کودکان خردسال نباید از حجم توصیه‌شده برای وزن کودکان بیمار تجاوز کند. از دست دادن خون وابسته به بیماری‌های ناشی از جراحی یا دارو یا درمان پزشکی منجر به انتقال خون غیرضروری شده و ریسک قرار گرفتن در معرض عوامل پاتوژن خونی را افزایش می‌دهد.

علاوه بر لوله‌ها، یک سوزن مناسب باید انتخاب شود. رایج‌ترین اندازه برای بزرگسالان ۱۹ تا ۲۲ درجه است (شماره

جدول ۱.۱ اسناد مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی مربوط به جمع‌آوری، پردازش و حمل نمونه

Document Name	Document Number
Accuracy in patient and sample identification	GP33-P
Blood collection on filter paper for newborn screening programs	LA4-A5
Body fluid analysis for cellular composition	H56-A
Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assay	H21-A5
Collection, transport, preparation, and storage of specimens for molecular methods	MM13-A
Procedures and devices for the collection of diagnostic capillary blood specimens	H04-A6
Procedures for the collection of arterial blood specimens	H11-A4
Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture	H3-A6
Procedures for the handling and transport of diagnostic specimens and etiologic agents	H5-A3
Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections	M29-A3
Routine urinalysis and collection, transportation, and preservation of urine specimens	GP16-A3
Selecting and evaluating a referral laboratory	GP9-A
Tubes and additives for venous blood specimen collection	H1-A5

شکل ۱.۱ نگهداری کودک برای خون‌گیری وریدی.

سوزن بزرگ‌تر، سوراخ کوچکتر). انتخاب معمول برای یک بالغ با رگ نرمال ۲۰ درجه است. در بیماران کودکان، سوزن‌های ۲۳ تا ۲۵ بیشتر مورداستفاده قرار می‌گیرند، اندازه ۲۳ درجه، اندازه مورد نظر است زیرا رگ‌های نوزاد بسیار کوچک هستند. حتی برای حجم بیشتر خون، به ندرت یک سوزن بزرگ‌تر از ۲۱ درجه استفاده می‌شود چون به آسانی با سیاهرگ سازگار نیست. یک سوزن به طور معمول ۱/۵ اینچ (۳/۷ سانتی‌متر) طول دارد، اما سوزن‌های ۱ اینچ (۲/۵ سانتی‌متر) که به جمع کنندهٔ بالدار یا پروانه‌ای متصل می‌شوند، معمولاً در کودکان و سالمندان مورداستفاده قرار می‌گیرند. در نهایت، فلبوتومیست باید اطمینان حاصل کند که تمام وسایل ایمنی پس از خون‌گیری در دسترس قرار دارند، از جمله دسترسی راحت و ایمن به وسیله‌های دفع مناسب برای سوزن‌های آلوده، وسایل مربوطه و مواد مناسب پس از خون‌گیری (گاز و باند).

محل خون‌گیری. ورید کوبیتال میانی در حفرهٔ جلوی آرنج یا خم آرنج، محل مطلوب برای جمع‌آوری خون وریدی در بزرگسالان است، زیرا این ورید بزرگ و نزدیک به سطح پوست است. سیاهرگ‌ها در پشت دست یا قوزک پا ممکن است مورد استفاده قرار بگیرند، اگرچه از استفادهٔ اینها باید در افراد مبتلا به دیابت یا با جریان خون ضعیف اجتناب شود. با این حال، در نوزادان و کودکان زیر ۲ سال، جمع‌آوری از وریدهای سطحی توصیه می‌شود، و وریدهای پشت دست به ورید کوبیتال میانی ترجیح داده می‌شود. بازوی حاوی کانولا یا فیستول سرخرگی–سیاهرگی نباید بدون اجازه پزشک بیمار استفاده شود.

آماده‌سازی محل. محدوده اطراف محل خون‌گیری باید با پاک‌کنندهٔ تائید شده توسط سازمان مربوطه تمیز شود. مواد معمول استفاده شده یک سواب الکل پیش‌ساخته شده، یک پد گاز با اشباع ۷۰٪ ایزوپروپانول یا یک محلول بنزالکونیم‌کلرید است. تمیز کردن محل خون‌گیری باید با حرکت دایره‌ای از محل خون‌گیری به سمت بیرون انجام شود. باید به پوست اجازه داد تا در معرض هوا خشک شود. هیچ الکل یا پاک‌کننده‌ای نباید بر روی پوست باقی بماند، زیرا مقادیر ناچیز ممکن است ناراحتی بیمار را افزایش دهد و موجب همولیز و نتیجه آزمایشات نامعتبر شود.

زمان‌بندی. زمان خون‌گیری برای آن دسته از اجزای خونی که **تغییرات شبانه‌روزی** دارند (نظیر کورتیکواستروئیدها، آهن) و برای نمونه‌هایی که به منظور پایش دارودرمانی استفاده می‌شوند اهمیت دارند. در هر مورد زمان‌بندی باید با شرایطی منطبق باشد که در آنها محدودهٔ مرجع یا نقاط تصمیم‌گیری بالینی تعیین می‌شوند. علاوه بر این، زمان‌بندی در ارتباط با سنجش الکل یا دارو در نمونه‌ها و در ارتباط با موارد پزشکی قانونی اهمیت دارد.

انسداد وریدی. پس از پاک‌کردن پوست، بازوبند دستگاه فشارسنج یا یک تورنیکه را ۴ تا ۶ اینچ (۱۵–۱۰ cm) بالای محل خون‌گیری (در بزرگسالان دورتر) می‌بندند. این کار، بازگشت خون وریدی به سمت قلب را متوقف می‌کند و باعث بادکردن ورید می‌شود (**انسداد وریدی**). هنگامی که کاف دستگاه فشارسنج مورداستفاده قرار می‌گیرد، معمولاً تا حدود ۶۰ میلی‌متر جیوه (۰/۸ کیلوپاسکال) فشار وارد می‌کند. اگر به ورید پشت دست دسترسی باشد، نیازی به استفاده از تورنیکت نیست. فرد خون‌گیر فشار کافی را برای در دست نگه داشتن مچ دست بیمار و اعمال فشار برای انسداد و بادکردن رگ اعمال می‌کند.

به ندرت لازم است که تورنیکت به مدت بیش از یک دقیقه بعد از دسترسی به ورید بسته باشد اما حتی در این زمان

کوتاه، ترکیب خون تغییر می‌کند. اگرچه تغییر ترکیبات خون در یک دقیقه اندک است، تغییرات چشمگیر پس از ۳ دقیقه در برخی از آنالیت‌های شیمیایی مشاهده می‌شود. ترکیب خونی که در ابتدا کشیده می‌شود بیش از سایر بخش‌های خون نماینده ترکیب خون در حال گردش است و کمتر تحت تأثیر تغییرات مایع قرار می‌گیرد که در آن مولکول‌های متصل به پروتئین و سایر مولکول‌های بزرگ تغلیظ می‌شوند، مولکول‌های کوچکتر محلول در آب مانند الکترولیت‌ها ممکن است کمتر تحت تأثیر قرار بگیرند. بنابراین، نمونه خونی که در ابتدا کشیده می‌شود باید برای آنالیت‌هایی نظیر کلسیم و دیگر آنالیت‌هایی که متصل به پروتئین و وابسته به تصمیم‌گیری‌های پزشکی حیاتی هستند، بکار گرفته شود. بنابراین یک رویه یکنواخت برای ترتیب کشیدن خون برای آزمایش‌ها باید ایجاد شود (بعداً ببینید). اگر امکان جمع‌آوری تنها یک حجم کوچک خون وجود داشته باشد، اولویت تست‌هایی که باید انجام شود، باید توسط مشاوره با پزشک تعیین شود.

دو نکتهٔ ویژه در فرآیند جمع‌آوری خون: (۱) از باز و بسته کردن مشت قبل از خون‌گیری وریدی باید اجتناب شود زیرا باعث افزایش غلظت پتاسیم، فسفات و لاکتات پلاسما می‌شود. افزایش لاکتات باعث کاهش در pH خون و افزایش غلظت کلسیم یونیزه پلاسما می‌شود. (۲) استرس مرتبط با جمع‌آوری خون می‌تواند بر بیماران در هر سنی اثر داشته باشد. بنابراین غلظت پلاسمایی آنالیت‌های تحت تأثیر استرس، مانند کورتیزول، هورمون تحریک‌کننده تیروئید و هورمون رشد، ممکن است افزایش یابد. استرس به ویژه در کودکانی که وحشت‌زده و در حال کش مکش و محدودیت فیزیکی هستند، رخ می‌دهد. جمع‌آوری نمونه در این شرایط می‌تواند باعث تحریک غدهٔ فوق‌کلیه شود که منجر به افزایش غلظت گلوکز پلاسما می‌شود و یا می‌تواند سبب افزایش در فعالیت سرمی آنزیم‌هایی شود که از عضلهٔ اسکلتی منشأ گرفته‌اند.

ترتیب کشیدن خون برای چند نمونهٔ خون. در تعدادی از بیماران به دلیل کاهش فشار وریدی برگشت از لوله‌های خون به رگ‌ها رخ می‌دهد اما اگر دست به سمت پایین نگه داشته شود می‌تواند به حداقل برسد. هنگام جمع‌آوری چندین نمونه با لوله‌های تخلیه‌شده از هوا، یکی از نگرانی‌های اولیه جلوگیری از آلودگی بین لوله‌ها است. برای به حداقل رساندن این و دیگر مشکلات، خون باید در لوله‌ها با ترتیب مشخص شده در جدول ۱.۲ جمع‌آوری شود.

جمع‌آوری با لوله‌های خون تخلیه‌شده از هوا. لوله‌های خون تخلیه‌شده از هوا معمولاً ایمن‌تر، ارزان‌تر، راحت‌تر و آسان‌تر از سرنگ هستند. نوع این لوله‌ها با توجه به **مواد افزودنی** و حجم آنها فرق می‌کند. رنگ درپوش به کار رفته در آنها، ماده افزوده شده را مشخص می‌سازد. کدگذاری رنگی لوله‌های جمع‌آوری نمونه هنوز هماهنگ نشده است و ممکن است مطابق با تولیدکنندگان متفاوت باشد (CLSI H1-A5 جدول ۱.۱ را ببینید). لوله‌های جداکنندهٔ سرم یا پلاسما موجود هستند که حاوی مادهٔ ژل پلیمر ساکنی هستند که مانند یک دیسک بین سلول‌ها و مایع رویی هنگام سانتریفیوژ لوله، قرار می‌گیرند. بنابراین از آزادسازی اجزای داخل‌سلولی به مایع رویی جلوگیری می‌شود. از همه مهم‌تر، این لوله‌های جداکننده ممکن است به عنوان ظروف اولیه مورد استفاده قرار گیرند که در آنها سرم یا پلاسما می‌تواند به طور مستقیم با اجتناب از جداسازی سلول‌های قرمز خون (RBC) یا خطای احتمالی شناسایی بیمار یا نمونه در طی aliquoting با تعدادی از ابزارهای آنالیتیکی جدا شود. به طور فزاینده، لوله‌ها برای کاربردهای خاص مانند استخراج RNA به فروش می‌رسند. همانند تمامی ظروف جمع‌آوری نمونه، این لوله‌های کمتر رایج قبل از استفاده باید توسط هر آزمایشگاهی مورد تائید قرار گیرند در صورتی که توسط تولیدکننده برای آنالیزهای خاص مورد تائید قرار نگرفته باشند.

خون جمع‌آوری شده داخل لولهٔ حاوی یک افزودنی نباید هرگز به لوله‌های دیگر منتقل شود، زیرا افزودنی‌های اولیه ممکن است با تست‌هایی که برای افزودنی متفاوتی مشخص شده است، تداخل داشته باشند. به عنوان مثال، آلودگی اتیلن‌دی‌آمین ترا استیک اسید (EDTA) ممکن است درصورت آنالیز نوع لولهٔ نامناسب باعث گزارش اشتباه افزایش پتاسیم خون یا کاهش کلسیم خون شود.

پس از تمیزکردن پوست، سوزن را باید به آرامی به سمت ورید بیمار هدایت کرد؛ هنگامی که سوزن در جای خود قرار گرفت، لوله را باید به سمت جلو فشار داد تا درپوش سوراخ شود و بدین طریق لوله از حالت خلاء در آید. هنگامی که خون به داخل لوله جریان می‌یابد، باید تورنیکه را بدون حرکت دادن سوزن باز کرد. تا جایی که خلاء وجود داشته باشد، لوله از خون پر می‌شود. پرشدن کامل لولهٔ تخلیه شده از هوا اهمیت بسیار زیادی دارد. بسیاری از مواد افزودنی، به خصوص برای تست انعقاد خون، در غلظت‌های موجود در لوله بر اساس جمع‌آوری "کامل و مناسب" هستند؛ کشیدن خون کم و خیلی زیاد می‌تواند منبع **خطای**

جدول ۱.۲ ترتیب توصیه شده خون‌گیری برای جمع‌آوری نمونه‌های متعدد

رنگ درپوش	محتوا	تعداد دفعات برگرداندن لولهٔ نمونه
زرد	محیط استریل برای کشت خون	۸
آبی سیر	بدون مادهٔ افزودنی	۰
شفاف	بدون مادهٔ افزودنی؛ اگر رنگ آبی سیر استفاده نشده باشد، لوله دور انداخته شود	۰
آبی کم رنگ	سیترات سدیم	۴-۳
طلایی/قرمز	لولهٔ جداساز سرم	۵
قرمز/ قرمز، نارنجی/زرد، آبی سیر	لوله سرم، با یا بدون فعال‌کنندهٔ لخته، با ژل یا بدون ژل	۵
سبز	لوله هپارینه با ژل یا بدون ژل	۸
قهوه‌ای (شیشه‌ای)	سدیم هپارین	۸
آبی سیر	سدیم هپارین، سدیم EDTA (عاری از فلزهای کمیاب)	۸
بنفش کم‌رنگ، سفید مرواریدی، صورتی/ صورتی، قهوه‌ای روشن (لولهٔ پلاستیکی)	لوله‌های EDTA، با ژل یا بدون ژل	۸
خاکستری	مهارکنندهٔ گلیکولیتیک	۸
زرد (لوله شیشه‌ای)	ACD برای بررسی‌های مولکولی و کشت سلولی	۸

پیش از آنالیز باشد، زیرا می‌تواند به طور قابل‌ملاحظه‌ای بر پارامترهای آزمایش تست‌شده که بر مبنای یک نمونهٔ به درستی جمع‌آوری شده هستند، تأثیر بگذارد. لوله‌های خلأ هرگز نباید باز شوند و از سرنگ یا منبع دیگر پر شوند.

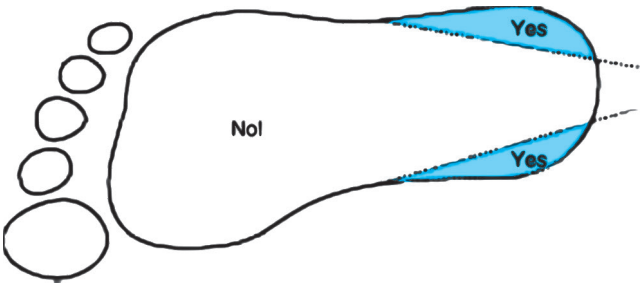
جمع‌آوری خون با سرنگ. سرنگ‌ها به طور معمول برای بیماران با رگ‌های دشوار و برای آنالیز گازهای خونی مورداستفاده قرار می‌گیرند. سرنگ متصل به سوزن باید همراستا با رگ باشد تا بتواند داخل رگ شود و سوزن در یک زاویه برابر با حدود ۱۵ درجه قرار گیرد. هنگامی که بر مقاومت اولیه دیواره ورید غلبه شود، فشار رو به جلو بر روی سرنگ کاهش می‌یابد و خون با آرام کشیدن پیستون سرنگ بیرون کشیده می‌شود.

پس از پر کردن سرنگ و کامل کردن جمع‌آوری، اگر لازم باشد که نمونه به یک لولهٔ تخلیه‌شده از هوا منتقل شود، همان سوزن، سوزن جدید، یا دستگاه انتقال باید برای سوراخ کردن درپوش لوله استفاده شود. لوله باید مجاز باشد تا منفعلانه با استفاده از خلأ پر شود. کشیدن شدید خون به سرنگ در طول جمع‌آوری و یا انتقال با فشار از سرنگ به ظرف گیرنده ممکن است موجب همولیز خون شود و نمونه را برای آزمایش نامعتبر سازد.

اتمام جمع‌آوری. هنگامی که جمع‌آوری خون به اتمام رسید و سوزن از دست بیمار بیرون کشیده شد، باید یک قطعه گاز خشک را بر روی محل خون‌گیری نگه دارد و دست خود را بلند کند تا احتمال نشت خون کاهش یابد و روند لخته شدن ارتقاء یابد؛ پد را می‌توان به صورت محکم با یک باند یا یک نوار غیرچسبنده نگه داشت. توسط یک وسیلهٔ جمع‌آوری، سوزن پوشانده می‌شود و سوزن و نگه‌دارندهٔ لوله بلافاصله درون یک **نگه‌دارندهٔ اشیاء تیز** ریخته می‌شوند. در مواردی که از یک ست بالدار (پروانه‌ای شکل) استفاده می‌شود، بال‌ها به سمت جلو رانده می‌شود تا سوزن را بپوشاند یا در تجهیزات جدید، یک دکمه فشار داده می‌شود که آن نیز فنری را آزاد می‌کند و سوزن را به عقب می‌کشد. تمام وسیله‌های استفاده شده باید در یک ظرف مخصوص زباله‌های خطرناک ریخته شود.

تمام لوله‌ها باید بر طبق خط مشی سازمانی برچسب زده شوند. بیشتر مؤسسات یک دستورالعمل نوشته شده دارند که برچسب زدن قبل از خون‌گیری را منع می‌کند زیرا دیده شده که در این روش احتمال برچسب زدن اشتباه وجود دارد که یکی از متداول‌ترین علل خطاهای قبل از آنالیز است. بعضی مؤسسات پیشنهاد کرده‌اند که لولهٔ برچسب‌دار را برای اطمینان بیشتر از صحت هویت بیمار به او نشان دهند.

خون‌گیری وریدی در کودکان. تکنیک‌های خون‌گیری وریدی از کودکان و بزرگسالان شبیه به یکدیگر است. هر چند در مورد کودکان یک خون‌گیری جایگزین، ازطریق سوراخ‌کردن پوست نیز اغلب استفاده می‌شود. هرچند که یک سرنگ یا یک سیستم لوله انتقال خون تخلیه شده از هوا ممکن است برای جمع‌آوری نمونه‌ها مورد استفاده قرار گیرد، یک سرنگ با ست بالدار پروانه‌ای شکل، بیشتر در کودکان کوچک‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرد. فشار بر روی یک سرنگ نسبت به فشار خلأ در لوله



شکل ۱.۲ محل‌های قابل قبول برای سوراخ کردن پوست به منظور جمع‌آوری خون از پای یک نوزاد.

تخلیه‌شده از هوا به راحتی می‌تواند توسط فلبوتومیست کنترل شود در نتیجه از فشار ناشی از کشیدن رگ‌های کوچک جلوگیری می‌کند. در جمعیت کودکان، مجموعه جایگزین از طریق سوراخ کردن پوست اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرد.

سوراخ کردن پوست

سوراخ‌کردن پوست، یک تکنیک جمع‌آوری باز است که در آن، پوست به وسیله یک لانست سوراخ می‌شود و حجم کمی از خون در داخل یک وسیلهٔ بسیار کوچک جمع می‌شود. این روش عملاً در شرایط زیر مورد استفاده قرار می‌گیرد: جایی که (۱) حجم نمونه محدود است (به طور مثال در کودکان)، (۲) خون‌گیری‌های مکرر از ورید باعث آسیب شدید وریدی شده است، یا (۳) بیمار دچار سوختگی شده باشد یا بانداژ شده باشد و بنابراین وریدها برای خون‌گیری در دسترس نباشند. این تکنیک همچنین هنگامی به کار می‌رود که قرار باشد در شرایط آزمایش بر بالین بیمار، به طور مستقیم در ابزار آزمایشگاهی بکار گرفته شود یا بر روی کاغذ صافی قرار داده شود. این کار اغلب بر روی نوک انگشت یا پاشنهٔ پا نوزادان انجام می‌شود. در نوزاد زیر ۶ ماه، سطح میانی و جانبی کف پا باید برای سوراخ کردن پوست مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۱.۲). این مناطق بخشی از پا در یک نوزاد هستند با بیش‌ترین فاصله بین سطح پوست و استخوان زیرین، که موجب کاهش خطر ضربه به استخوان و ایجاد عفونت استخوان می‌شود. از پشت پاشنه پا و انگشت پا نباید استفاده شود. از جمع‌آوری خون از هر نقطهٔ پا باید در بیماران سرپایی جلوگیری شود؛ در نتیجه زمانی که یک نوزاد شروع به راه رفتن می‌کند، تست ضربه به پاشنه دیگر نباید اجرا شود. لنست‌ها به طور خاص برای ضربه به پاشنه یا انگشت ساخته شده‌اند و نباید به جای یکدیگر به کار برده شوند زیرا آنها طول نوک‌های مختلفی دارند (جدول ۱.۳). روش ضربه به انگشت در نوزادان کمتر از ۶ ماه نباید انجام شود، زیرا هیچ دستگاه تجاری موجود آنقدر کم‌عمق نیست که از آسیب به استخوان‌ها جلوگیری کند. روش اتمام برای جمع‌آوری خون از نوزادان با استفاده از سوراخ کردن پوست در CLSI H04-A6 توصیف شده است (جدول ۱.۱ را ببینید).

برای جمع‌آوری توسط سوراخ کردن پوست، فلبوتومیست ابتدا پوست را با یک محلول تمیزکننده مورد تائید پاک می‌کند، هنگامی که پوست خشک است به سرعت توسط ضربه تیز با یک لانست آن را سوراخ می‌کند. برای به حداقل رساندن احتمال عفونت، برای هر سوراخ باید یک محل متفاوت انتخاب شود. انگشت باید به گونه‌ای نگهداری شود که جاذبه زمین به جمع شدن خون در نوک انگشت کمک کند و لانست را تا حد ممکن عمود بر ناخن به پوست وارد کرد. لازم است از ماساژ انگشت برای تحریک جریان خون اجتناب شود زیرا باعث خروج بقایای بافتی و مایع بافتی می‌شود که ترکیب آنها مشابه پلاسما نیست. برای بهبود گردش خون، انگشت یا پاشنه را می‌توان با استفاده از دستمال کوچک گرم و مرطوب، یا توسط وسیله‌های خاصی مانند گرم‌کنندهٔ پاشنه، به مدت ۳ دقیقه قبل از تمیز کردن و استفاده از لانست، گرم کرد. گرمایش به درستی نه تنها باعث می‌شود که خون مویرگی در جریان باشد و توانایی جمع‌آوری نمونه را بهبود می‌بخشد، بلکه آنالیت‌ها در نمونه نیز به مقادیر خون شریانی نزدیک می‌شوند. در یک پاشنه سرد، مقادیر بیشتر نزدیک به خون وریدی هستند. اولین قطره خون پاک می‌شود و قطره‌های بعدی با تماس ملایم به لوله جمع‌آوری مناسب انتقال می‌یابند. پر کردن باید به سرعت انجام شود تا از لخته شدن جلوگیری شود و از ایجاد حباب‌های هوا باید جلوگیری شود.

انواع متعددی از این گونه لوله‌ها به صورت تجاری برای جمع‌آوری خون مویرگی موجود هستند. نمونه‌ها باید به وسیله چکه یا عمل مویرگی از محل سوراخ کردن در لوله‌های کوچک جمع‌آوری شوند. از جمع‌آوری قطره‌قطره و برداشتن پوست با لبه لوله باید اجتناب شود چرا که هر دو عمل همولیز را افزایش می‌دهد. ترتیب صحیح پر کردن این وسیله‌ها متفاوت از لوله‌های خون تخلیه‌شده از هوا است، زیرا کاربردها متفاوت است. لوله‌های ضدانعقادی، به ویژه لوله EDTA برای شمارش کامل خون (CBC)، ابتدا جمع‌آوری می‌شوند. لوله‌های سرم آخر جمع‌آوری

می‌شوند (جدول ۱.۴).

برای جمع‌آوری نمونه خون بر روی کاغذ صافی به منظور غربالگری دوران نوزادی و آزمایش ژنتیک مولکولی (CLSI LA۴-A۵، جدول ۱.۱)، پوست به همان روش که قبلاً گفته شد تمیز و سوراخ می‌شود. اولین قطرهٔ خون دور ریخته می‌شود و سپس کاغذ صافی به آرامی با یک قطرهٔ درشت خون تماس داده می‌شود تا خون جذب کاغذ شده و دایره علامت‌گذاری شده را پر کند. برای هر دایره تنها یک کاربرد باید در نظر گرفته شود. این فرآیند تکرار می‌شود تا تمام دایره‌ها پُر شوند. فیلتر کاغذی باید قبل از این‌که در یک روش پوشش کاغذی که به طور مناسب برچسب زده شده نگه‌داری شود، معمولاً به مدت ۲ تا ۳ ساعت در معرض جریان هوا خشک شود.

جدول ۱.۳ طول سوزن در وسیله‌های ضربه به پاشنه و انگشت

Collection Type and Age of Use	Tip Length (mm)
Heel stick: premature infants	0.85
Heel stick: term infants to 6 months old	1.25
Heel stick: 6 months to 1 year	1.25
Finger stick: walking to 8 years	1.5
Finger stick: >8 years	1.75–2.2

جدول ۱.۴ ترتیب سوراخ کردن پوست: خون مویرگی

استفاده یا افزودنی	رنگ در لوله
گازهای خونی (هپارین)	لوله‌های میکروهماتوکریت
اتیلن دی آمین تترااستیک اسید	ارغوانی
هپارین	سبز
دیگرافزودنی‌ها	آبی کم‌رنگ، طوسی
بدون افزودنی	قرمز، tiger، زرد

خون‌گیری شریانی

خون‌گیری شریانی نیاز به مهارت قابل توجه دارد و معمولاً باید تنها توسط تکنسین‌ها یا پرستاران آموزش‌دیده یا پزشکان انجام شود. محل‌های ارجح برای خون‌گیری شریانی عبارتند از: (۱) شریان رادیال در مچ دست، (۲) شریان بازویی در آرنج، (۳) شریان فمورال در کشاله ران، اغلب از مکان‌های موجود در دست استفاده می‌شود. تکنیک مناسب برای خون‌گیری شریانی در CLSI H۱۱-A۴ شرح داده شده است (جدول ۱.۱ را ببینید).

ضدانعقادها و نگهدارنده‌ها برای خون

سرم به صورت بخش مایع خون تعریف می‌شود که پس از **انعقاد** باقی می‌ماند و سلول‌ها حذف شده‌اند و نمونهٔ انتخابی برای بسیاری از آنالیزها است. نمونه‌ها در لوله‌های فاقد مادهٔ افزودنی یا دارای یک فعال‌کنندهٔ لخته جمع‌آوری و قبل از انجام فرآیندهای دیگر باید زمان داد تا به طور کامل منعقد شوند. **پلاسما** به صورت جزء بدون سلول خون کامل دارای مادهٔ ضدانعقاد تعریف می‌شود؛ پلاسمای هپارینه شده به طور روز افزون برای تست‌های متداول شیمیایی استفاده می‌شود زیرا نمونه را فوراً می‌توان سانتریفوژ کرد بدون این که نیاز به منتظر شدن برای کاهش لخته شدن در دوره زمانی باشد. با این حال، اختلاف قابل توجهی بین غلظت برخی از آنالیت‌ها (مانند پروتئین کل) در سرم و پلاسما مشاهده می‌شود. برای تشخیص مولکولی، خون کاملِ منعقدشده یا پلاسما نمونهٔ انتخابی برای استخراج DNA ژنومی از سلول‌های سفید خون (WBC) یا شناسایی و اندازه‌گیری ویروسی پلاسمایی است.

برای هرگونه سنجش ارائه شده برای کاربردهای بالینی، تولیدکنندگان نوع نمونه مناسب را مشخص می‌کنند که برای آنها سنجش را تائید کرده‌اند. استفاده از انواع مختلف نمونه باید قبل از استفاده توسط پرسنل آزمایشگاه تائید شود.

هپارین. هپارین گسترده‌ترین مادهٔ **ضدانعقاد** مورد استفاده برای آزمایش‌های شیمیایی است. هپارین به شکل نمک سدیم، پتاسیم، لیتیم و آمونیوم وجود دارد که همه آنها به اندازه کافی جلوی انعقاد را می‌گیرند. این مادهٔ ضدانعقاد فعالیت آنتی‌ترومبین III که ترومبین را بی‌اثر می‌کند، تسریع کرده و بنابراین از تشکیل فیبرین از فیبرینوژن جلوگیری می‌کند. هپارین یک ضدانعقاد طبیعی است و دارای معایبی مانند هزینه‌های بالا و عمل موقتی ضدانعقادی نسبت به مواد شیمیایی است که بعداً مورد بحث قرار خواهند گرفت. استفاده از لیتیم یا آمونیوم‌هپارین به ترتیب برای اندازه‌گیری لیتیم و آمونیاک غیرقابل‌قبول است.

باید توجه داشت هپارین برای بیشتر تست‌های مورد استفاده برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) مناسب نیست زیرا آنزیم پلیمراز توسط این مولکول بزرگ مهار می‌شود. DNA را می‌توان از نمونه‌های دارای هپارین استخراج کرد اما ممکن است تکثیر آن محدود شود و تأثیر هپارین بر روی هر سنجش تشخیصی مولکولی

به عنوان بخشی از مطالعهٔ اعتبارسنجی روش، بررسی شود.

اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA). EDTA یک ماده شلاته‌کنندهٔ کاتیون‌های دوظرفیتی مانند Ca^{2+} و Mg^{2+} است که مخصوصاً برای موارد مذکور مفید است: (۱) آزمایشات هماتولوژیکی شامل کاربردهای پزشکی انتقال خون، (۲) اندازه‌گیری داروهای داخل‌سلولی مانند سیکلوسپورین یا تاکرولیموس، (۳) آنالیز HbA_{1c}، (۴) جداسازی DNA ژنومی و (۵) تعیین کیفی و کمی ویروس با استفاده از تکنیک‌های مولکولی. EDTA به طور معمول به عنوان نمک تری‌پتاسیم مورداستفاده قرار می‌گیرد. EDTA با اتصال به کلسیم، مانع انعقاد می‌شود که وجود کلسیم برای مکانیسم انعقاد ضروری است.

از آنجا که EDTA، کلسیم، منیزیم و آهن را شلاته می‌کند، EDTA برای نمونه‌هایی که این آنالیت‌ها را سنجش می‌کنند مناسب نیست. علاوه بر این EDTA، احتمالاً با شلاته کردن کوفاکتورهای فلزی مورد نیاز، فعالیت آلکالن‌فسفاتاز و کراتین‌کیناز را مهار می‌کند.

فلوراید سدیم. فلوراید سدیم (NaF) یک مادهٔ ضدانعقاد ضعیف است که اغلب به عنوان نگهدارنده گلوکز به خون اضافه می‌شود. این ماده به عنوان یک نگهدارنده، به همراه یک مادهٔ ضدانعقاد دیگر نظیر اگزالات پتاسیم است. این ماده، عمل **نگهدارندگی** خود را با مهار سیستم‌های آنزیمی دخیل در گلیکولیز انجام می‌دهد هر چند چنین مهاری بلافاصله انجام نمی‌شود و مقدار معینی تجزیه در طول ساعت اول پس از جمع‌آوری نمونه اتفاق می‌افتد. بدون یک عامل ضد گلیکولیز، غلظت گلوکز خون تقریباً به ۱۰۰ mg/dL (۰/۵۶ mmol/L) به ازای هر ساعت در ۲۵°C کاهش می‌یابد. سرعت این کاهش در کودک تازه متولد شده سریع‌تر است زیرا فعالیت متابولیکی اریتروسیت‌ها بالا است و در بیماران مبتلا به لوسمی نیز به دلیل فعالیت بالای متابولیکی و تعداد گلبول‌های سفید است. به دلیل تأخیر در شروع عمل، پروتکل‌های جدید توصیه می‌کنند که لوله تا زمانی که نمونه بتواند جداسازی شود روی یخ قرار گیرد تا بتوان اندازه‌گیری دقیق گلوکز را تضمین کرد. فرمولاسیون‌های جدید حاوی NaF و سیترات یا EDTA بلافاصله گلیکولیز را مهار و گلوکز را در نمونه برای حداقل ۲۴ ساعت نگهداری می‌کنند.

سیترات. محلول سیترات سدیم، در نسبت ۱ به ۹ قسمت خون، به طور گسترده‌ای برای مطالعات انعقادی استفاده می‌شود. نسبت صحیح خون به ضدانعقاد برای دستیابی به اندازه‌گیری مناسب انعقاد حیاتی است زیرا اثر ضدانعقادی آن به راحتی با افزودن Ca^{2+} برگشت‌پذیر است که بر اساس حجم جمع‌آوری مناسب است. از آنجا که سیترات کلسیم را شلاته می‌کند، در سنجش کلسیم نمونه‌ها، سیترات ضدانعقاد مناسب نیست. همچنین آمینوترانسفرازها و آلکالین فسفاتاز را مهار می‌کند، اما اسیدفسفاتاز را تحریک می‌کند، در حالی که فنیل فسفات به عنوان سوبسترا استفاده می‌شود.

اسید سیترات دکستروز (ACD). نمونه‌های لازم برای آزمایش‌های تشخیص مولکولی نظیر آزمایش سیتوژنتیک اغلب در داخل مادهٔ ضدانعقاد ACD جمع‌آوری می‌شوند تا هم شکل و هم عملکرد اجزای سلولی را حفظ کنند. دو نوع ماده افزودنی ACD وجود دارد ACDA و ACDB. تنها تفاوت آنها در غلظت مواد افزودنی است. هر دو بقا و بازیافت گلبول‌های سفید را تا چندین روز پس از جمع‌آوری نمونه بالا می‌برند.

اگزالات‌ها. اگزالات‌های سدیم، پتاسیم، آمونیوم، و لیتیم با تشکیل کمپلکس‌های نسبتاً غیرمحلول با یون‌های کلسیم، انعقاد خون را مهار می‌کنند.

اگزالات چندین آنزیم از جمله فسفاتاز اسیدی و قلیایی، آمیلاز و لاکتات دهیدروژناز (LDH) را مهار می‌کند و ممکن است موجب رسوب کلسیم به صورت نمک اگزالات شود.

یدواستات. یدواستات سدیم یک مادهٔ ضدگلیکولیتیک مؤثر است (با اخطارهایی که پیش از این داده شد) و جایگزینی برای فلوراید سدیم است. این ماده کراتین‌کیناز را مهار می‌کند اما اثر ناچیزی بر روی بسیاری از آزمایش‌ها دارد.

تأثیر محل خون‌گیری بر محتوای خون

محتوای خونی که از نقاط مختلف جمع‌آوری می‌شود با یکدیگر فرق دارد. خونی که از سوزن زدن به پوست بدست می‌آید، بیش از آنکه شبیه خون وریدی باشد، به خون شریانی شباهت دارد. بنابراین بین خون شریانی یا خون مویرگی که به راحتی جریان داشته باشند، از نظر بالینی تفاوت چشمگیری بین PO_2، PCO_2، pH، و اشباع اکسیژنی این دو نمونه خون وجود ندارد ولی PCO_2 خون وریدی ۶–۷ mmHg (۰/۸–۰/۹ kPa) بالاتر است. گلوکز خون وریدی تا حد ۷۰ mg/L (۰/۳۹ mmol/L) کمتر از گلوکز خون مویرگی است.

جمع‌آوری خون از خطوط داخل وریدی یا شریانی

هنگامی که خون از کاتتر ورید مرکزی یا خط شریانی جمع‌آوری می‌شود باید اطمینان حاصل شود که ترکیب این نمونه توسط مایعات القاشده به بیمار تحت تأثیر قرار نگرفته باشد. با تائید بالینی، مایع را می‌توان با استفاده از شیر قطع و وصل بر روی کاتتر قطع کرد و ۱۰ میلی‌لیتر خون از طریق شیر عبور می‌کند و قبل از اینکه نمونه خارج شود، دور ریخته می‌شود. در بیماران خردسال، گرفتن ۱۰ میلی‌لیتر خون اغلب امکان‌پذیر نیست، بنابراین حجم کمی گرفته می‌شود، هر چند هدف این است که قبل از جمع‌آوری نمونه برای آزمایش، تقریباً ۳ برابر فضای مرده از خط گرفته شود. کشیدن این خون و پاک کردن خطها برای تشخیص مولکولی و تست انعقاد نیز اهمیت دارد زیرا شیر قطع و وصل اغلب به شدت اشباع شده با هپارین است. در جمع‌آوری نمونه برای نظارت بر دارو نباید از خط مورد استفاده در تزریق، صرف‌نظر از زمان تزریق یا مقدار خون تزریق‌شده، استفاده شود زیرا دارو ممکن است به خط متصل شود و به نمونه جمع‌آوری شده نشت کند.

در تئوری، خون ممکن است از رگ‌های یک بازوی زیر یک خط IV به دست آید، بدون تداخل ناشی از مایعی که تزریق می‌شود چون جریان خون برگشت‌ناپذیر در رگ‌ها اتفاق نمی‌افتد و مایعات تزریق‌شده باید ابتدا از قلب جریان داشته باشند و قبل از رسیدن به محل نمونه‌گیری به بافت‌ها بازگردند. با این حال، جمع‌آوری از بازوی بدون خط IV قویاً توصیه می‌شود.

همولیز

همولیز به عنوان اختلال در غشای RBC تعریف می‌شود که منجر به آزادسازی هموگلوبین می‌شود و ممکن است منجر به وقایع داخل‌عروقی (همولیز in vivo) شود و یا ممکن است به دنبال و یا در حین خون‌گیری (همولیز درون in vitro) رخ دهد. سرم و پلاسما شواهد بصری همولیز را نشان می‌دهند، زمانی که غلظت هموگلوبین از ۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر (۷/۷ میکرومول در لیتر) فراتر رود. همولیز جزئی در بیشتر موارد تأثیر چندانی ندارد، اما همه مقادیر آزمایش را شامل نمی‌شود. تداخل تست در این غلظت ممکن است در ترکیباتی مشاهده شود که در غلظت بالاتر در گلبول‌های قرمز نسبت به پلاسما موجودند، مانند فعالیت یا غلظت LDH، آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، پتاسیم، منیزیم و فسفات. اکثر سازندگان، داده‌هایی از تأثیرات همولیز بر روی کارایی آنالیتیکی تست‌های اختصاصی فراهم کرده‌اند؛ که در گزینشی از روش‌های اختصاصی باید تخمین زده شود. پرسنل آزمایشگاه باید تعیین کنند در چه سطحی از همولیز، نتایج نگهداشته می‌شود و گزارش نمی‌شود، تا از اقدام ضعیف بالینی بر نتایج غیرقابل‌اعتماد تست، جلوگیری شود.

در آزمایشات تشخیصی مولکولی، هموگلوبین می‌تواند با واکنش تکثیر تداخل داشته باشد. در بعضی شرایط، تفکیک اسید نوکلئیک به حدی انتخابی است که هموگلوبین آزاد از سلول‌های تخریب شده حذف می‌شود و مشکلی ایجاد نخواهد کرد. هرچند در خون همولیز شده، روش‌های استخراج جایگزین و یا روش‌های دیگر معمولاً نیاز به اطمینان حاصل کردن از رونویسی کامل و دقیق RNA دارد و این‌که بیشترین تکثیر DNA حاصل شده است.

ادرار

زمان نمونه ادراری که باید جمع‌آوری شود، توسط تستی که قرار است انجام گیرد تعیین می‌شود. نمونه‌های تصادفی یا زمان‌بندی نشده، تنها برای تعدادی از تست‌های شیمیایی مناسب هستند؛ نمونه‌های ادرار معمولاً در طول یک فاصله زمانی از پیش تعیین شده نظیر ۴، ۱۲، یا ۲۴ ساعته جمع‌آوری می‌شود. نمونه ادرار تمیز اول صبح، در حالت ناشتا، معمولاً غلیظ‌ترین نمونه است. و بدین ترتیب برای معاینات میکروسکوپی و برای تشخیص مقادیر غیرعادی اجزایی نظیر پروتئین‌ها، یا ترکیبات غیرمعمول نظیر گنادوتروپین جفتی ترجیح داده می‌شود. نمونه ادرار تمیز زمان‌بندی شده، در زمان‌های مشخصی از روز یا در طول فازهای معینی از عمل ادرارکردن به دست می‌آید. برای تشخیص اورتریت باکتریایی، آزمایش ۱۰ mL اول ادرار، مناسب‌ترین نمونه است. در حالی که نمونه ادرار میانی، بهترین نمونه برای بررسی اختلالات مثانه است. نمونه ادرار مجدد[1]، ادرار دفع شده در طول یک دوره زمانی پس از تخلیه کامل مثانه است؛ که از این نمونه، به طور مثال، برای ارزیابی دفع گلوکز در آزمون تحمل گلوکز استفاده می‌شود. به طور مشابه، در بعضی از اختلالات متابولیک، ادرار را باید در طول بروز نشانه‌های بیماری یا بلافاصله پس از آن جمع‌آوری کرد.

هنگامی که ادرار برای استعمال داروها یا الکل تست می‌شود، نمونه‌های ادرار اغلب تحت شرایط سخت جمع‌آوری می‌شود، که اغلب شامل ارتقاء شناسایی بیمار و جلوگیری از

1. double-voided specimen