



عنوان سند:

دستورالعمل نمونه‌گیری خون مویرگی و خون وریدی
آزمایشگاه‌های شناسایی و تشخیص بیماری‌های متابولیک ارثی و تشخیص ژنتیک

شماره سند:

HD-GO-00-LA-WI-001-01

تاریخ	ویرایش	شرح اقدام	تهیه کننده	تایید کننده	تصویب کننده
۱۳۹۴/۱۲/۱۲	00	تدوین کلی دستورالعمل	نام: دکتر صغری روحی سمت: عضو کمیته تضمین کیفیت تشخیص ژنتیک	نام: دکتر سعید طالبی سمت: دبیر کمیته تضمین کیفیت تشخیص ژنتیک	نام: دکتر اشرف سماوات سمت: رئیس اداره ژنتیک
			امضا	امضا	امضا
۱۳۹۷/۰۱/۲۵	01	بازنگری کلی سند و تکمیل آن طبق مصوبات جلسه کمیته تضمین کیفیت اداره ژنتیک مورخ ۱۳۹۸/۱/۱۸	نام: دکتر صغری روحی سمت: عضو کمیته تضمین کیفیت تشخیص ژنتیک نام: دکتر کتابون خداوردیان سمت: مدیر اداره آزمایشگاه‌های بهداشتی آزمایشگاه مرجع سلامت	نام: دکتر سعید طالبی سمت: دبیر کمیته تضمین کیفیت تشخیص ژنتیک نام: دکتر اشرف سماوات سمت: رئیس اداره ژنتیک	نام: دکتر سیامک میراب سمیعی سمت: مدیر کل آزمایشگاه مرجع سلامت
			امضا	امضا	امضا
			نام: سمت:	نام: سمت:	نام: سمت:
			امضا	امضا	امضا
			نام: سمت:	نام: سمت:	نام: سمت:
			امضا	امضا	امضا



(۱) **هدف از ایجاد:** هدف از تدوین این سند در کمیته تضمین کیفیت تشخیص ژنتیک، تشریح نحوه انجام نمونه‌گیری خون مویرگی و خون وریدی در آزمایشگاه‌های تشخیص بیماری‌های متابولیک ارثی و ژنتیک جهت انجام آزمایش است.

(۱-۱) بازنگری این سند طبق نظر هریک از کارکنان ذی‌صلاح و با تایید مقام ذی‌صلاح امکان‌پذیر است.

(۲) **دامنه کاربرد:** کاربرد این سند در آزمایشگاه‌های بیماری‌های متابولیک ارثی و ژنتیک جهت نمونه‌گیری خون کاربرد داشته و کارکنان بخش نمونه‌گیری ملزم به رعایت آن هستند.

(۳) **منابع:** در تدوین این دستورالعمل از منابع ذیل استفاده شده است:

(۳-۱) استاندارد INSO-ISO-15189

(۳-۲) کتاب "مجموعه‌ای از مستندات سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه پزشکی" (آزمایشگاه مرجع سلامت- انجمن آسیب شناسی ایران)، چاپ دوم، سال ۱۳۹۱.

(۳-۳) آیین نامه مستندسازی، شماره‌گذاری، کنترل مدارک، بازنگری و نحوه صدور به شماره HD-GO-00-MN-RE-001

(۳-۴) اینترنت <http://www.amosbat.com/SN431.aspx>

(۴) تعاریف:

(۴-۱) **روش اجرایی:** سندی که در آن نحوه و چگونگی انجام کار با تعیین مسئولیت‌های انجام کار شرح داده شده است.

(۴-۲) **دستورالعمل کاری:** سندی که در آن جزییات انجام کار به طور دقیق شرح داده شده و جنبه دستور کار را برای مجری دارد.

(۴-۳) **آیین نامه:** سندی که ضوابط کلی و مقررات تعیین شده برای موضوعات مختلف سازمانی را مشخص کرده به طوری که در تدوین روش‌ها و دستورالعمل‌های کاری این چارچوب‌ها لازم‌الاجرا است.

(۴-۴) **استانداردهای داخلی:** اسنادی که برای انجام کار در سازمان به صورت قطعی تعیین شده است.

(۴-۵) **کمیته تضمین کیفیت تشخیص ژنتیک:** کمیته‌ای است که به منظور استقرار و حفظ سیستم مدیریت کیفیت بر اساس استانداردهای مورد نیاز از سوی معاونت بهداشت تشکیل شده و در این سند به اختصار کمیته عنوان می‌شود.

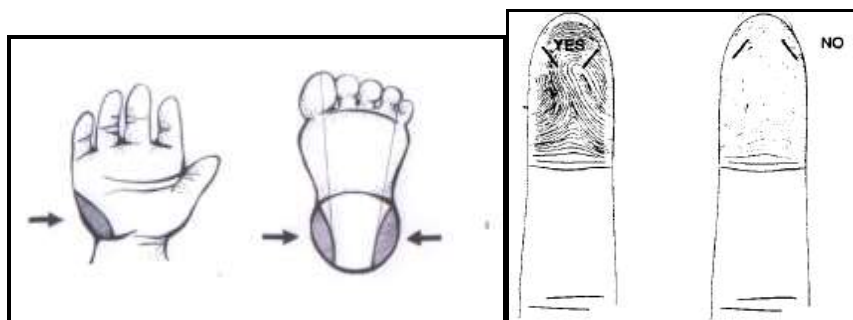
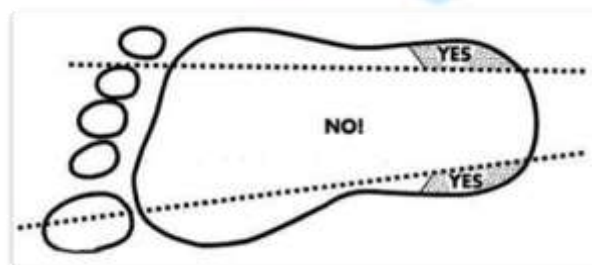
۵) شرح اقدامات:**کلیات؛ مدیریت نمونه‌گیری خون مویرگی و خون وریدی در آزمایشگاه**

نتایج آزمایش‌ها تحت تاثیر متغیرهای گوناگونی است که شناسایی آنها و به دنبال 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 هستند در سال‌های اخیر با توجه به تاکید بر اجرای روش‌های کنترل کیفی در کلیه بخش‌های آزمایشگاه در مرحله حین آزمایش و به دنبال 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 لزوم ایجاد نظام مناسب برای حمل و نقل امن و ایمن نمونه‌های با کیفیت مناسب جهت کسب نتایج صحیح و به هنگام و با توجه به اهمیت مدیریت متغیرهای قبل از آزمایش، در این دستورالعمل الزامات نمونه‌گیری خون مویرگی در بند ۵-۱ و الزامات نمونه‌گیری خون وریدی در بند ۵-۲ به طور عمومی شرح داده شده است.

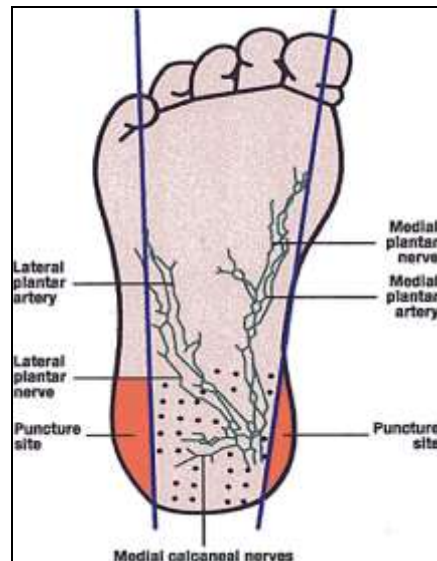
بدیهی است هر آزمایشگاه یا مرکز بهداشتی که مقرر است نمونه ارسال نماید باید در هماهنگی با آزمایشگاه منتخب شرایط اختصاصی از جمله کاغذ مناسب، لوله مناسب و ماده ضدانعقاد مناسب را برای تهیه مقدار مناسب از نمونه خون برای آزمایش در آزمایشگاه منتخب ایجاد نماید.

۵-۱) جمع‌آوری نمونه خون مویرگی بر روی کاغذ مخصوص نمونه برداری (DBS):

۵-۱-۱) روش توصیه شده برای نمونه برداری در غربالگری بیماری‌های متابولیک ارثی نوزادان، روش خون‌گیری از پاشنه پای نوزاد و انتقال مستقیم بر روی کارت نمونه‌برداری (Heel Stick with direct application onto paper filter)، طبق توصیه کمیته ملی استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی (CLSI) است. بدیهی است در کودکان بالاتر از یک سال امکان نمونه‌گیری از نرمه دست و در بالغین امکان نمونه‌گیری خون مویرگی از انگشتان دوم و سوم دست نیز وجود دارد.



توجه: به علت عبور اعصاب از سایر نقاط پا و نزدیک بودن استخوان در قسمت مرکزی پاشنه پا به پوست، زدن لانست فقط به نواحی دو طرف کف پا که در عکس زیر به رنگ قرمز نشان داده شده است مجاز است.



۲-۱-۵) زمان مناسب جهت نمونه برداری: بهترین زمان جهت نمونه برداری در غربالگری بیماری‌های متابولیک ارثی نوزادان بین ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از تولد نوزاد (۲ تا ۳ روزگی) است زیرا در این زمان با توجه به تغذیه کافی نوزاد با شیر مادر، تعادل لازم بین برقراری مسیرهای متابولیکی در بدن نوزاد و افزایش متابولیت‌های قابل اندازه‌گیری، با اجتناب از تاخیر در تشخیص بیماری و بروز علائم برقرار است. البته مناسب‌ترین زمان که اجماع نظر کارشناسان روی آن وجود دارد ۷۲ ساعت پس از تولد (۳ روزگی) است اما برخی از پزشکان برای تشخیص سریع‌تر بیماری‌های متابولیک ارثی اعتقاد به نمونه‌گیری پس از ۲۴ ساعت از تولد نوزاد دارند. در حال حاضر قواعد زیر طبق تصمیم‌گیری‌ها در کمیته کشوری برای نمونه‌گیری از نوزادان جهت غربالگری استفاده می‌شود:

۱-۲-۱-۵) در مورد نوزادان طبیعی زمان نمونه‌گیری می‌تواند حداقل ۳۶ ساعت پس از تولد (۱/۵ روزگی) و حداکثر ۱۲۰ ساعت پس از تولد (۵ روزگی) نوزاد باشد.

۲-۲-۱-۵) از نوزادان نارس (با وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم) باید یک نمونه در روزهای سوم تا پنجم و یک نمونه در یک ماهگی (با وزن بیشتر از ۲ کیلوگرم) گرفته شود.

۳-۲-۱-۵) از نوزادان بیمار (بستری در بیمارستان به هرعلتی) باید یک نمونه در روزهای سوم تا پنجم و یک نمونه در زمان ترخیص از بیمارستان (در شرایط بهبود) گرفته شود.



۳-۱-۵) نگهداری کاغذهای مخصوص نمونه‌گیری قبل از استفاده جهت غربالگری در انبار: بهتر است بسته‌های کاغذ مخصوص نمونه‌گیری از پهلوی در کنار یکدیگر قرار گیرند و از روی هم قرار دادن بسته‌های کاغذ اجتناب شود مخصوصاً زمانی که تعداد زیادی از این کارت‌ها ذخیره می‌شوند، زیرا وزن این کارت‌ها بر روی همدیگر باعث تراکم در بافت فیبری کارت شده و باعث کاهش در ظرفیت پذیرش خون در کارت می‌شود.

۱-۵-۴) وسایل مورد نیاز جهت نمونه برداری از پاشنه پای نوزاد:

- ۱) لانتست یک بار مصرف (1.0mm deep by 2.5mm long)
- ۲) پد الکلی (ایزوپروپیل الکل ۷۰٪ یا اتیل الکل ۷۰٪)
- ۳) گاز استریل
- ۴) کارت مخصوص نمونه برداری (Whatman Protein Saver Card #903) مورد تایید وزارت بهداشت و درمان دارای نام تولید کننده، شماره ساخت و تاریخ انقضاء.
- ۵) دستکش بدون پودر
- ۶) کیسه آب گرم یا حوله گرم مرطوب
- ۷) رک مخصوص خشک کردن افقی کارت‌ها پس از نمونه‌گیری خون مویرگی
- ۸) بالشتک رطوبت‌گیر
- ۹) کارت نشانگر رطوبت
- ۱۰) کیسه پلاستیکی درب زیپ‌دار
- ۱۱) فرم‌ها و پرسشنامه‌های مربوطه

۵-۱-۵) اقدامات قبل از نمونه برداری: پس از انجام مرحله پذیرش، نوزاد جهت نمونه‌گیری خون مویرگی به بخش نمونه‌گیری هدایت شده و مراحل ذیل طی گردد.

۱-۵-۵-۱) انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات نوزاد: در این مرحله فرد نمونه‌گیر موظف است اطلاعات ثبت شده در برگه درخواست آزمایش نظیر نام، نام خانوادگی نوزاد را از همراه نوزاد پرسیده و با مشخصات ثبت شده فرد در کارت شناسایی معتبر مطابقت دهد. در صورت عدم تطابق مشخصات در این مرحله نمونه‌گیر موظف است نوزاد را جهت کنترل و اعلام نظر به بخش پذیرش یا سوپروایزر راهنمایی نماید. در صورتی که اطلاعات مورد نظر با کارت شناسایی تطابق داشت مسئول نمونه‌گیری موظف است طبق بند ۱-۵-۲ عمل نماید.

۲-۵-۱-۵) کامل نمودن اطلاعات درخواستی بر روی کارت و فرم مخصوص غربالگری: فرد نمونه‌گیر موظف است با توجه به متفاوت بودن میزان اطلاعات درخواستی بر روی کارت‌های مختلف، حداقل

فیلدهای مربوطه بر روی کارت‌ها را با توجه به موارد زیر به صورت کامل و خوانا با خودکار روی سطح صاف تکمیل نماید. اکیدا از به کار بردن مداد، خودنویس، روان‌نویس و ماژیک خودداری گردد.

اطلاعات درخواستی شامل موارد زیر است که باید روی کاغذ درج گردد:

(۱) نام و نام خانوادگی نوزاد

(۲) جنسیت

(۳) تاریخ و ساعت تولد

(۴) تاریخ و ساعت نمونه برداری

(۵) نام و نام خانوادگی مادر نوزاد

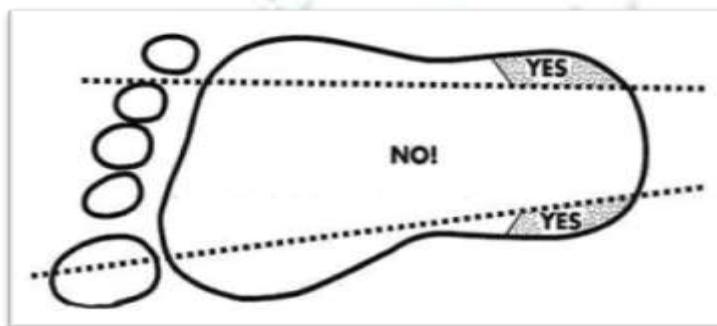
(۶) نام بیمارستان محل تولد

سپس طبق بند ۵-۱-۳-۵ مراحل کار ادامه یابد.

توجه: فرم مخصوص نمونه‌گیری (پرسشنامه) باید ابتدا و قبل از نمونه‌گیری به‌طور کامل و با جزئیات درج شده تکمیل شود قبل از شروع نمونه‌گیری شماره‌های پرسشنامه و کارت خونی را تطبیق داده و از یکسان بودن آنها مطمئن شوید. اطمینان از یکسان بودن شماره‌ها بسیار مهم است.

۱-۳-۵) **انتخاب محل مناسب برای نمونه برداری از پاشنه پا:** فرد نمونه گیر موظف می باشد برای نمونه گیری از قسمت های کناری کف پا استفاده نماید.

توجه: در نوزادان از نواحی مانند نرمه گوش، ناحیه مرکزی پاشنه پا، انگشتان دست و پا و نواحی متورم یا نواحی که قبلا سوراخ شده اند نباید خونگیری صورت گیرد. فرد نمونه‌گیر موظف است برای نمونه‌گیری از قسمت‌های کناری کف پا استفاده نماید.



۶-۱-۵) مراحل تهیه نمونه خون مویرگی از پاشنه پا:

نکات مهم قابل توجه قبل از شروع نمونه‌گیری

نکته مهم ۱) فرد نمونه‌گیر به یاد داشته باشد که در هنگام آزمایش، توسط یک پانچ، حلقه‌ای با قطر مشخص از فیلتر جدا شده و در بافر مناسب حل می‌گردد. اگر نمونه به طریقه مناسب روی کارت نمونه‌گیری گذاشته شده باشد، قطر حلقه جدا شده متناسب با حجم معینی از خون خواهد بود. در صورتی که نمونه‌گیری به درستی انجام نشود، میزان نمونه برداشت شده معادل مقدار مورد نیاز نبوده و در نتیجه در محاسبات اختلال ایجاد خواهد شد، بنابراین هنگام نمونه برداری از موارد زیر اجتناب کنید:

- ۱) استفاده از یک قطره خون پاشنه پا برای بیشتر از یک دایره روی کارت،
- ۲) استفاده از چند قطره خون برای یک دایره،
- ۳) استفاده از قطرات بزرگ خون که باعث تداخل دایره‌های روی کارت با یکدیگر شود.
- ۴) استفاده از کاغذ فیلتری که دست با آن تماس پیدا کرده است و یا به مواد خارجی آغشته شده است.

ویژگی‌های نمونه مناسب:

- ۱- شکل نمونه باید به صورت دایره باشد.
 - ۲- قطر لکه خون بیش از ۵ میلی‌متر باشد.
 - ۳- لکه خون از دو طرف همسان دیده شود.
 - ۴- دو لکه روی هم نباشد.
 - ۵- در یک دایره بیش از یک لکه نباشد.
 - ۶- کاغذ فیلتر نمونه‌گیری آغشته به مواد خارجی نباشد.
 - ۷- لکه‌های خون بدون اثرات انگشت نمونه‌گیر باشند.
- در صورتی که نمونه فاقد ویژگی‌های ذکر شده باشد آزمایشگاه باید نمونه دیگری درخواست کند.



**نکته مهم (۲) مدیریت استرس نوزاد در هنگام نمونه‌گیری:**

اقدامات ذیل حین نمونه‌گیری می‌تواند باعث کم شدن استرس در نوزادان و راحتی نمونه‌گیری شود:

(۱) ماساژ آرام پاشنه پا قبل از نمونه‌گیری

(۲) مکیدن پستانک در حین نمونه‌گیری توسط نوزاد

(۳) شیر دادن حین نمونه‌گیری

(۴) قنداق کردن نوزاد در حین نمونه‌گیری

توجه ۱: از گرم‌های موضعی ضد درد استفاده نشود زیرا موجب بی‌اعتمادی به جواب‌های حاصله خواهد شد.

توجه ۲: تب ناشی از واکسیناسیون مانع از انجام نمونه‌گیری نیست.

توجه ۳: جهت نمونه‌گیری برای غربالگری، ناشتا بودن نوزاد لازم نیست. اما برای آزمایش فنیل‌آلانین در زمان کنترل درمان، رعایت ۳ تا ۴ ساعت ناشتایی برای کودکان زیر یک سال و ۱۲ ساعت ناشتایی برای افراد بالاتر از یک سال ضروری است.

مراحل عملی نمونه‌گیری:

۱-۶-۱-۵) بهتر است نمونه‌گیری در یک اطاق مجزا و کم رفت و آمد واجد دستشویی برای شست و شوی دست‌ها در فواصل نمونه‌گیری از یک نوزاد به نوزاد دیگر باشد. در صورت عدم دسترسی به آب، باید محلول‌های ضدعفونی‌کننده دست موجود باشد. لذا ابتدا باید دست‌ها را به خوبی شسته/ ضدعفونی کرده و پس از خشک کردن دستکش یک بار مصرف بدون پودر بیوشید.

۲-۶-۱-۵) قبل از نمونه‌گیری، پاشنه پای نوزاد به مدت ۳ دقیقه کمی گرم شود. (با استفاده از حوله گرم مرطوب با دمای کمتر از ۴۲ درجه سلسیوس)

۳-۶-۱-۵) قسمت مورد نظر را با پد یا پنبه الکلی (ایزوپروپیل الکل ۷۰٪ یا اتیل الکل ۷۰٪) به صورت دایره‌وار و از مرکز به سمت خارج به دقت ضدعفونی نموده و اجازه دهید محل انتخاب شده جهت نمونه‌گیری در مجاورت هوا خشک شود.

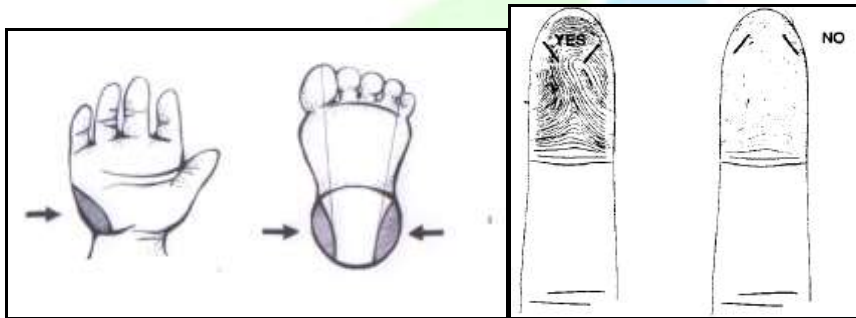
توجه: الکل باعث همولیز گلبول‌های قرمز می‌شود و در اطراف نمونه بر روی کاغذ فیلتر حلقه سرمی ظاهر می‌گردد.

۴-۶-۱-۵) محل خون‌گیری می‌بایست از سطح قلب پائین‌تر باشد. در صورت داشتن اسکار، بریدگی، تورم و راش از نمونه‌گیری در آن محل خوداری گردد. ناحیه مورد نظر را با لانست استریل مورد تایید (با حداکثر طول سوزن ۲ میلی‌متر) سوراخ نمایید (عمق سوراخ ایجاد شده حدود ۲ میلی‌متر باشد). اولین قطره خون را با گاز استریل پاک کنید زیرا حاوی مایع میان‌بافتی و نمونه رقیق شده است. سپس اجازه دهید یک قطره بزرگ از خون تشکیل شود. جهت تسریع در تولید قطره می‌توانید اندکی پاشنه پای نوزاد را به صورت متناوب بفشارید.

۱-۴-۶-۵) در صورتی که نمونه‌گیری از محل برخورد لانتست با پوست، انجام نشد از زدن لانتست مجدد در همان محل خودداری و محل مناسب دیگری را جهت نمونه‌گیری انتخاب نمایید. در صورت نیاز به نمونه‌گیری مجدد از محل دیگر، استفاده از بسته جدید نمونه‌گیری شامل: لانتست استریل، باند، پد الکلی و چسب مخصوص ضدحساسیت الزامی است.

۲-۴-۶-۵) به هر دلیلی که امکان خون‌گیری از پاشنه پا وجود نداشته باشد، از نرمه کناری دست خون‌گیری را انجام دهید. توجه شود که حاشیه کناری پاشنه پا و نرمه دست مطمئن‌ترین محل در نوزادان و اطفال است در بالغین از سطح داخلی انگشت دست (بند آخر انگشتان میانه و یا چهارم) نیز استفاده می‌گردد (شکل‌های زیر).

توجه شود به ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان با لانتست ضربه زده نشود زیرا استخوان خیلی به پوست نزدیک است زیرا احتمال عفونت استخوان وجود دارد.



۳-۴-۶-۵) از جمع‌آوری نمونه خون وریدی (با استفاده از سرنگ) و انتقال قطره خون از این نوع نمونه بر روی کاغذ فیلتر، برای غربالگری نوزادان نباید استفاده کرد ولی روش مذکور در انجام آزمایش در زمان کنترل درمان بیماران قابل استفاده است.

۵-۴-۶-۵) کارت نمونه‌گیری را به قطره خون نزدیک کرده، به آهستگی اولین دایره روی کاغذ را با قطره بزرگ خون تماس دهید. تا خودبه‌خود جذب مرکز دایره فیلتر شده و پشت و روی آن را به صورت یکنواخت بپوشاند و آن را اشباع کند. با یک تکنیک صحیح می‌توان ۵ دایره نمونه خون روی کاغذ فیلتر به روش ذکر شده تهیه کرد. توجه نمایید عمل تماس با سطح کاغذ برای هر دایره تنها یک بار صورت گیرد. کاغذ صافی را به پاشنه پا تماس ندهید فقط به قطره خون نزدیک کنید. غلظت مناسب خون را می‌توانید از آغشتگی پشت کاغذ صافی تخمین بزنید.

توجه: قطر ایده‌آل لکه خون قابل مشاهده به صورت یکنواخت از دو روی کاغذ ۱۰ میلی‌متر معادل ۱ سانتی‌متر است. حداقل قطر قابل قبول برای لکه خون ۵ میلی‌متر است.

۶-۴-۶-۵) دایره‌های باقیمانده را به طریق مشابه پر کنید. به یاد داشته باشید که هر دایره باید فقط با یک قطره خون پر شود.

۷-۶-۱-۵) از تماس دست با دایره‌های روی کارت پرهیز نموده و مراقب باشید که با سطوح مختلف تماس نداشته باشد.

توجه: کارت‌های واجد هر گونه خراشیدگی در سطح منطقه نمونه‌گذاری را از گردش کار خارج کرده به هیچ عنوان استفاده نکنید.

۸-۶-۱-۵) پای نوزاد را بالاتر از بدنش نگه دارید و با یک گاز استریل موضع را تا بند آمدن خون (حدود ۵ دقیقه) بفشارید. سپس محل نمونه‌گیری را با چسب زخم مناسب ضدجسایت پانسمان نمایید.

۹-۶-۱-۵) لانست و تمام وسایل استفاده شده را به شکل بهداشتی معدوم نمایید. پسماندهای تیز مانند لانست را در safety box (ظرف ایمن) جمع‌آوری نموده، پس از آلودگی‌زدایی به طریقه بهداشتی دفع نمایید.

۷-۱-۵) مراحل پس از نمونه‌گیری:

۱-۷-۱-۵) کاغذهای مخصوص نمونه‌گیری و لکه‌گذاری شده با خون نوزاد/بیمار را بر روی رک مخصوص خشک کردن کارت در دمای محیط $18-25^{\circ}\text{C}$ در یک فضای تمیز و خشک (رطوبت کمتر از ۳۰٪)، دور از گرد و غبار، جریان هوای آلوده و نور مستقیم خورشید و همواره به صورت افقی به مدت ۳ الی ۴ ساعت در رک مخصوص خشک کنید. از لوازمی نظیر سشوار، انکوباتور و یا دیگر وسایل گرم‌کننده استفاده نکنید.

۱-۷-۱-۱-۵) در مناطقی که درصد رطوبت هوا بالا است ممکن است زمان خشک شدن بیشتر طول

بکشد. در این مناطق باید تمهیداتی به منظور تنظیم دما و رطوبت فضایی که کاغذهای لکه‌گذاری

شده باید خشک شوند در نظر بگیرید. توجه شود که کاغذها باید بدون تاخوردگی و یا چروک باشد.

۲-۷-۱-۵) پس از خشک شدن نمونه‌ها در مجاورت هوا، هر کاغذ لکه‌گذاری شده با خون نوزاد/بیمار را به و کاملاً خشک شده را در یک پاکت کوچک قرار داده به همراه یک عدد بالشتک رطوبت گیر و پرسشنامه مربوط به نمونه در یک کیسه پلاستیکی درب زیپ‌دار قرار داده و بلافاصله به آزمایشگاه منتخب جهت انجام آزمایش‌های غربالگری متابولیک ارسال کنید. نمونه‌ها باید حداکثر ظرف مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه منتخب پذیرش شوند.

(توجه شود که بسته بندی هر نمونه باید جداگانه انجام شود.)

۳-۷-۱-۵) نگهداری و انتقال نمونه‌ها باید بدون فشار و آسیب به آن‌ها صورت گیرد. مواد شیمیایی و سایر نمونه‌های بیولوژیک نباید در ظرف حمل کارت‌های خونی بسته‌بندی شوند.

۴-۷-۱-۵) اگر ارسال فوری نمونه به آزمایشگاه منتخب امکان پذیر نبود، نمونه را تا زمان ارسال به آزمایشگاه منتخب در یخچال $2-8^{\circ}\text{C}$ قرار داده و در اسرع وقت و اولین فرصت ممکن شرایط انتقال را در دمای مناسب؛ طبق الزامات آزمایشگاه منتخب، فراهم آورده، نمونه را به آزمایشگاه منتخب ارسال نمایید.

۲-۵) جمع‌آوری نمونه خون وریدی:

۲-۵-۱) نمونه‌گیری باید در یک محل مجزا، تمیز و ساکت صورت گیرد.

توجه: بهتر است این اتاق مجهز به دستشویی بوده و در صورت عدم دسترسی به آب، باید محلول‌های تمیزکننده دست موجود باشد.

۲-۵-۱-۱) قبل از شروع به نمونه‌گیری وسایل لازم را آماده و کنترل کنید.

وسایل مورد نیاز جهت نمونه‌گیری خون وریدی عبارت هستند از:

۱) صندلی نمونه‌برداری؛ این صندلی باید دارای دسته قابل تنظیم باشد به طوری که بیمار بتواند در راحت‌ترین وضعیت جهت نمونه‌گیری روی صندلی بنشیند. همچنین صندلی باید دارای حفاظ ایمنی جهت جلوگیری از افتادن بیمار باشد.

۲) تخت معاینه

۳) سینی جمع‌آوری ظرف‌های نمونه

۴) دستکش

توجه: در صورت آلودگی و یا در فواصل نمونه‌گیری‌ها دستکش را تعویض کنید.

۵) سوزن (19-23G)



۶) سرنگ یا نگهدارنده مخصوص (holder) جهت استفاده از لوله‌های خلاء (evacuated tube)

۷) انواع لوله‌ها (بدون یا با ماده ضدانعقاد مناسب کار) یا لوله‌های خلاء

۸) بازوبند یا رگ‌بند (tourniquet)

۹) یخچال یا یخ باید در دسترس باشد

۱۰) ضدعفونی کننده‌ها:

• ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪

۱۱) گاز پارچه‌ای در ابعاد ۵ در ۵ سانتی‌متر یا ۷/۵ در ۷/۵ سانتی‌متر

توجه: استفاده از پنبه پیشنهاد نمی‌گردد. باند و گاز را جهت پانسمان در دسترس قرار دهید.

۱۲) ظروف مخصوص دفع سوزن‌های آلوده (Puncture Resistant Disposal Container)

۱۳) فهرست انواع آزمایش‌ها و درج مقدار خون لازم برای هر آزمایش و نوع لوله مورد استفاده

۱۴) روتاتور جهت مخلوط نمودن لوله‌های محتوی خون با ماده ضدانعقاد

۵-۲-۲) مراحل نمونه‌گیری خون وریدی

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

۵-۲-۲-۱) انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار

۵-۲-۲-۲) اطمینان از رعایت رژیم غذایی و سایر دستورات پیش از نمونه‌گیری

۵-۲-۲-۳) انتخاب وسایل مورد نیاز

توجه: سرنگ و سرسوزن مناسب یا لوله خلاء براساس نوع آزمایش انتخاب شود. به‌طورکلی توصیه می‌گردد به‌دلیل رعایت اصول ایمنی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و سیستم خون‌گیری با لوله‌های خلاء جایگزین آن گردند.

۵-۲-۲-۴) استفاده از دستکش مناسب ترجیحاً لاتکس بدون پودر

۵-۲-۲-۵) وضعیت بیمار هنگام نمونه‌گیری

- ۱) بیمار بر روی صندلی نمونه‌گیری نشسته و دست خود را به منظور برجسته شدن وریدها مشت نماید.
- ۲) بیمار باید به نحوی دست خود را روی دسته صندلی نمونه‌برداری قرار دهد که بازو تا مچ دست در یک خط مستقیم قرار گیرند.



۵-۲-۲-۶) بستن رگ‌بند یا 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.

نکته مهم: در مواردی نظیر اندازه‌گیری لاکتات خون نباید تورنیکه بسته شود.

توجه: رگ‌بند یا گارو را ۷/۵ تا ۱۰ سانتیمتر بالای ناحیه نمونه‌گیری ببندید. گارو نباید بیش از یک دقیقه بر روی بازوی بیمار بسته بماند. در صورتی که پیدا کردن رگ به طول انجامید، رگ‌بند (گارو) را باز کرده چهار الی پنج دقیقه صبر کنید تا جریان خون طبیعی شود سپس مجدداً گارو را بسته و خون‌گیری را انجام دهید.

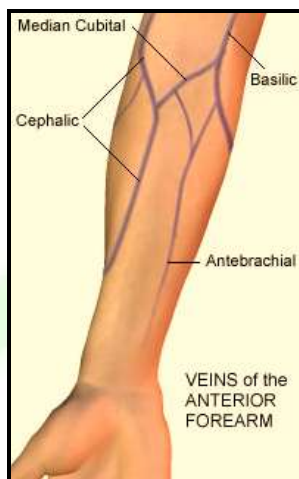
توجه: بیمار نباید مشت خود را باز و بسته نماید زیرا باز و بسته کردن مشت باعث تغییر بعضی مواد در خون می‌شود.



۵-۲-۲-۷) انتخاب ورید مناسب :

نکات مهم در انتخاب ورید مناسب برای خون‌گیری

- (۱) اغلب موارد نمونه‌گیری خون از وریدهای مدین کوبیتال (اولویت اول) و سفالیک (اولویت دوم) انجام می‌شود (به شکل زیر توجه شود).



- (۲) ورید مدین کوبیتال به دلیل سطحی بودن، درد کمتر و بهتر ثابت شدن در هنگام ورود سوزن و احتمال آسیب کمتر به عصب البته در صورت قرارگیری نادرست سوزن در رگ، ارجحیت دارد.
- (۳) به دلیل نزدیکی ورید بازیلیک (اولویت سوم) به شریان براکیال و عصب مدین، فقط در صورت عدم دسترسی به سایر وریدها باید مورد استفاده قرار گیرد. توجه: برخلاف وریدها، شریان‌ها دارای نبض بوده و دارای دیواره ضخیم و خاصیت ارتجاعی بیشتر هستند.
- (۴) وریدهای پشت دست نیز قابل قبول هستند ولی وریدهای سطح داخلی مچ نباید مورد استفاده قرار گیرد.
- (۵) ضروری است ورید موردنظر لمس شده و مسیر آن توسط انگشت سبابه جهت تعیین محل خون‌گیری مشخص شود.



- (۶) وریدهای ترومبوز شده که حالت ارتجاعی خود را از دست داده‌اند و طنابی شکل شده و به راحتی می‌غزند را به هیچ عنوان برای خون‌گیری در نظر نگیرید.

۵-۲-۲-۸) تمیز کردن محل نمونه‌گیری

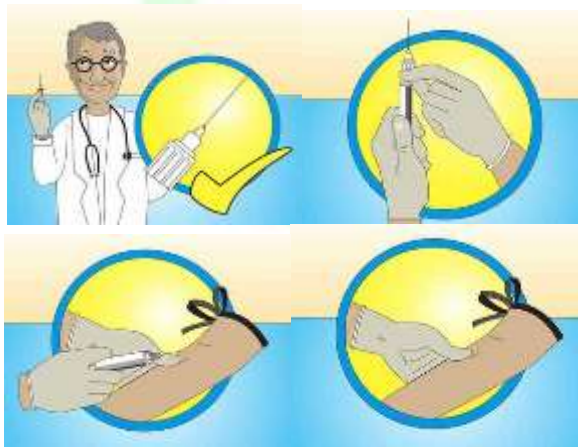
ناحیه نمونه‌گیری را به کمک گاز آغشته به ایزوپروپیل الکل یا اتیل الکل ۷۰٪ به صورت حرکت دورانی از داخل به خارج تمیز کنید.

توجه: به منظور جلوگیری از همولیز و کاهش سوزش ناشی از تماس نوک سوزن با الکل و پوست، پس از خشک شدن موضع در هوا، نمونه‌گیری را انجام دهید.

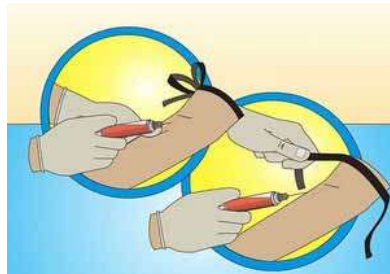


۵-۲-۲-۹) نمونه‌گیری

سرسوزن را در حالی که قسمت مورب نوک آن به سمت بالا است، با زاویه ۳۰ درجه یا کمتر وارد وریدی نمایید که از پایین آن را ثابت کرده‌اید.



* به محض ورود خون به داخل سرنگ یا لوله خلاء رگ‌بند (گارو یا تورنیکه) را باز کنید.
* پس از جاری شدن روان خون به داخل سرنگ یا لوله‌های خلاء بیمار باید مشت خود را باز کند.



در صورت استفاده از لوله خلاء 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 ضدانعقاد و خون باید بلافاصله پس از پرشدن با ۵ تا ۱۰ مرتبه سروته نمودن مخلوط شوند.
- توجه: جهت جلوگیری از همولیز نباید لوله‌ها به شدت مخلوط گردند.

۵-۲-۲-۱۰) دفع سرسوزن

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



۵-۲-۲-۱۱) تخلیه خون

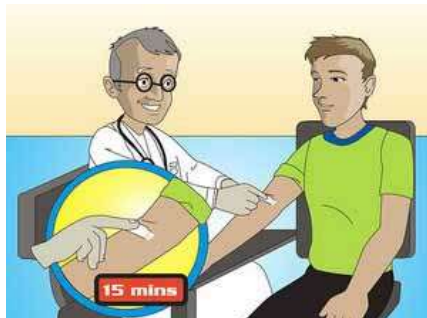
نمونه‌ها را در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد بریزید. سپس بلافاصله و به آرامی ۵ تا ۱۰ بار مخلوط نمایید. اگر به سرم خون برای آزمایش نیاز دارید نمونه خون را در لوله بدون ماده ضدانعقاد، به آرامی و در جدار داخلی لوله تخلیه نمایید.

- نمونه مناسب برای کارهای ملکولی ژنتیک، نمونه خون حاوی ماده ضدانعقاد $EDTA-K_2$ (۱-۲ میلی‌گرم $EDTA-K_2$ در ازای هر میلی‌لیتر خون) است. برای تعیین مقدار خون مورد نیاز به دستورالعمل آزمایشگاه منتخب مراجعه نمایید.

- مقدار و نوع ماده ضدانعقاد جهت آزمایشات تکمیلی مربوط به تشخیص بیماری‌های متابولیک ارثی مانند آنالیز اسیدهای آمینه و اسیل کارنیتین‌ها و یا سایر آزمایشات مورد درخواست مثل لاکتات و پیرووات را از دستورالعمل آزمایشگاه منتخب تعیین و نمونه مناسب برای انجام آزمایش تهیه نمایید.

۵-۲-۲-۱۲) اقدامات پس از نمونه‌گیری

پس از خاتمه نمونه‌گیری، باید موضع از نظر بند آمدن خونریزی و یا به وجود آمدن هماتوم کنترل گردیده، در صورت امکان با جیب ضد حساسیت پانسمان شود.



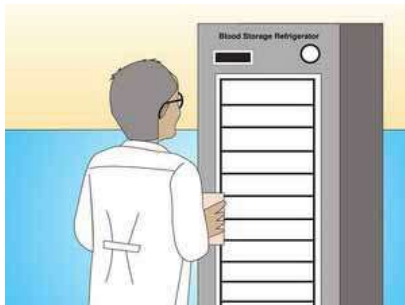
۵-۲-۲-۱۳) برچسب‌گذاری لوله‌ها و ظروف حاوی نمونه

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 دقیق نمونه‌گیری (در صورت ضرورت)،
- نام فرد خون‌گیر.

۵-۲-۲-۱۴) نگهداری نمونه‌ها در شرایط مناسب طبق معیارهای تعریف شده

نمونه‌ها را در شرایط مناسب محیطی قرار دهید. حتی الامکان معیارهای اعلام شده جهت حفظ ماهیت نمونه تا زمان آزمایش که از طرف آزمایشگاه منتخب اعلام شده است را رعایت نمایید.



۵-۲-۲-۱۵) نظافت محل خون‌گیری و وسایل

محل خون‌گیری و همچنین وسایل را توسط مواد ضد میکروبی و مواد ضد عفونی‌کننده مناسب در دسترس مثل آب ژاول ۱۰ درصد یا محلول دکونکس تمیز کنید..



۵-۳) نکات ایمنی

- ۱-۳-۵) هنگام کار از وسایل حفاظت شخصی خصوصا دستکش لاتکس بدون پودر استفاده نمایید.
- ۲-۳-۵) کلیه نمونه‌های خون، بالقوه آلوده‌کننده فرض می‌شوند لذا رعایت نکات ذکر شده در دستورالعمل‌های ایمنی جهت حفظ سلامت کارکنان در آزمایشگاه الزامی است.
- ۳-۳-۵) در صورتی که نمونه‌گیر دچار حادثه نیدل استیک شد بلافاصله به مسئول ایمنی/ مسئول فنی اطلاع دهد تا اقدامات لازم طبق دستورالعمل مربوطه در آزمایشگاه برای وی انجام شود.
- ۴-۳-۵) برای حفظ سلامت مراجعین و کارکنان، محل خون‌گیری و همچنین وسایل را توسط مواد ضد میکروبی و مواد ضد عفونی‌کننده مناسب در دسترس مثل آب ژاول ۱۰ درصد یا محلول‌های تجاری مثل دکونکس تمیز کنید.
- ۵-۳-۵) در صورتی که بیماری در هنگام نمونه‌گیری دچار شوک و از حال رفتگی شد و یا اظهار کرد که دچار سرگیجه شده است، بلافاصله خون‌گیری را قطع و وی را به حالت درازکش در آورده، پاها را کمی بالاتر از عرض شانه‌ها قرار دهید به طوری که خون‌رسانی به مغز افزایش یابد. بلافاصله پزشک مرکز و یا مسئول فنی را مطلع نمایید تا سایر اقدامات کمکی در صورت لزوم انجام شود.

۶) مستندات:

۱-۶) دفتر/نرم‌افزار پذیرش آزمایشگاه