



## آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک کاوش

### دستورالعمل مدیریت نمونه و انجام آزمایشات برای غربالگری ناهنجاری های کروموزومی جنین با استفاده از آزمایشهای بیوشیمیایی

مقدمه:

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 میباشند. 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 اهمیت متغیرهای قبل از آزمایش در اینجا سعی شده است مجموعههای از دستورالعملهای کاربردی در خصوص مدیریت نمونه بیان گردد که این موارد شامل: نحوه جمع آوری انواع نمونه های بالینی، شامل خون و سایر مایعات بدن، آماده سازی نمونه، جابجایی و نقل و انتقال نمونه، شرایط نگهداری و موارد رد نمونه میباشد

بدیهی است رعایت موارد ذکر شده در این مجموعه، در به حداقل رساندن عواملی که میتواند نتایج آزمایش را تحت تاثیر قرار دهد، کمک شایانی خواهد نمود. کیفیت نتایج آزمایشهایی که در آزمایشگاه انجام میشود، هم ارزش نمونه هایی است که مورد آزمایش قرار می-گیرند.

مدیریت نمونه های آزمایشگاهی به عنوان بخشی از فرآیند قبل و پس از انجام آزمایش تاثیر به سزایی در تشخیص، پیگیری و درمان بیماران داشته و در حوزههای زیر قابل بحث میباشد:

**\*\*نقش کلیدی در صحت تشخیص آزمایشگاهی**

**\*\*تأثیر در روند مراقبت از بیمار**

**\*\* تأثیر در تصمیم گیری بالینی پزشک**

**\*\* تأثیر در مدت زمان بستری شدن بیمار در بیمارستان و به دنبال آن، هزینه های بستری و آزمایشگاه**

**\*\* تأثیر بر کارایی آزمایشگاه**

اثرات ناشی از نمونه های نامناسب و عدم صحت نتایج آزمایش بر روی این نمونه ها:

**\*\* تاخیر در گزارش نتایج آزمایش ها**

**\*\* نمونه گیری های غیر ضروری**

**\*\* کاهش رضایت مندی مراجعین**

**\*\*افزایش هزینه بیمار، آزمایشگاه و بیمارستان**

**\*\* تشخیص ها و درمان غلط، طوالتی شدن مدت بستری**

**\*\*آسیب و احتمال مرگ**

مدیریت نمونه های آزمایشگاهی در فرآیند قبل از انجام آزمایش:

درخواست آزمایش، شناسایی بیمار، نحوه جمعآوری انواع نمونههای کلینیکی، آمادهسازی نمونه، جابجایی و نقل انتقال نمونه، معیارهای رد نمونه، شرایط نگهداری و ارجاع نمونه در فرآیند بعد از انجام آزمایش، نگهداری نمونه پس از انجام آزمایش و امحاء نمونه را شامل میشود.



## آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک کاوش

◆ فرآیند قبل از آزمایش

● درخواست آزمایش / شناسایی بیمار

درخواست آزمایش باید از نظر قابلیت پذیرش و انجام بررسی شود. هر آزمایشگاه باید فهرست آزمایشهای قابل انجام خود را تهیه و در اختیار مسئول پذیرش قرار دهد. همچنین باید از هویت بیمار قبل از پذیرش، اطمینان حاصل گردد و انطباق مشخصات برگه درخواست آزمایش با مشخصات بیمار صورت گیرد.

● نحوه جمع آوری انواع نمونه های کلینیکی

هر آزمایشگاه با توجه به دامنه فعالیت خود باید دستورالعمل نحوه جمع آوری نمونه های کلینیکی را تهیه و در اختیار کارکنان آزمایشگاه قرار دهد. این دستورالعمل شامل موارد زیر میباشد:

\*\*نحوه اطمینان از هویت بیمار

\*\*شرایط مربوط به آماده سازی بیمار قبل از نمونه گیری

\*\*نمونه مورد نیاز در خصوص انواع آزمایشها

\*\*ظروف جمع آوری نمونه، نوع ضد انعقاد، حجم نمونه

\*\* مشخصات برچسب نمونه، همچنین برچسب گذاری باید به نحوی باشد که امکان ردیابی نمونه به سهولت امکان پذیر باشد.

\*\* شرایط نگهداری نمونه قبل از انجام آزمایش

\* ردیابی نمونه

اطلاعات زیر جهت ردیابی کامل نمونه در آزمایشگاه مورد نیاز است که به صورت دستی یا نرمافزاری باید ثبت شود:

\* شماره آزمایش

\* نام و نام خانوادگی بیمار

\* زمان نمونه گیری: روز - ساعت - دقیقه

\* نوع نمونه

\* آزمایشهای انجام شده

\* نام پزشک

\* بخش موقعیت بیمار: بخش - کلینیک ....

\* نتایج آزمایشها

\* تاریخ و ساعت جواب آزمایش

\* ذخیره سازی نمونه

نوع نمونه :

نمونه مورد نیاز جهت انجام آزمایشات غربالگری جنین (AFP, PAPP-A, Free BHCG, uE3, Inhibin A) نمونه سرم می باشد. حداقل مقدار مورد نیاز 1ml که در لوله تمیز و دارای درپوش ارسال می گردد. به همراه نمونه ارسالی نتیجه سونوگرافی و فرم تکمیلی مربوط به اطلاعات مادر باردار ارسال می گردد.



## آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک کاوش

تدوین سیاست آزمایشگاه در مورد ذخیره سازی نمونه شامل موارد زیر است:

\* تعیین نمونه هایی که باید نگه داری شوند.

\* مدت زمان نگه داری

\* محل نگه داری

\* شرایط مناسبی که نمونه باید در آن نگه داری شود (درجه حرارت مناسب)

\* کنترل مرتب نمونه ها از نظر تعداد موارد یخ زدن/ آب کردن (thaw/Freeze) نمونه

\* چیدمان منظم نمونه ها در محل مورد نگه داری (پخچال) مثال بر اساس شماره پذیرش یا روز پذیرش نمونه ها

\* برنامه زمان بندی جهت کنترل دوره ای نمونه ها

\* برقرار نمودن روشی جهت ردیابی نمونه

نحوه نقل و انتقال و جابه جایی نمونه:

انتقال نمونه های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه کاری در آزمایشگاه میباشد.

در آزمایشگاه باید شرایط انتقال نمونه از نظر درجه حرارت، ظروف مورد استفاده، حداکثر زمان مجاز جهت انتقال نمونه، نحوه انتقال نمونه با درخواست اورژانس و ملاحظات ایمنی تعریف، مکتوب و کارکنان مرتبط از آن اطلاع داشته باشند.

بسته بندی کلیه نمونه ها باید به روش استاندارد و با استفاده از سه محفظه صورت گیرد. با توجه به نوع نمونه ای که منتقل می شود، اطلاعات روی برچسب الصاق شده روی محفظه خارجی نمونه متفاوت است.

رد نمونه:

دستورالعمل معیارهای رد و قبول انواع نمونه های کلینیکی و نحوه برخورد با آن باید تدوین شده و به کارکنان مرتبط در این خصوص آموزشهای لازم داده شود. گاهی موارد "رد نمونه" مشکل است، اما باید به خاطر داشت که نمونه فاقد شرایط استاندارد از نظر کیفیت و کمیت نتایج صحیح نمی دهد.

ارجاع نمونه:

در روند ارجاع یکی از مهمترین فرآیندهایی که باید مد نظر گرفته شود، مدیریت نمونه است که شامل کلیه اقداماتی است که جهت حفظ تمامیت و کیفیت نمونه از زمان جمع آوری و طی مراحل نگهداری و انتقال نمونه صورت گیرد. مدیریت فرآیند پس از انجام آزمایش، نحوه گزارشدهی و ارسال نتایج و نگهداری سوابق مربوطه در آزمایشگاه ارجاع و ارجاع دهنده نیز باید طبق ضوابط مشخصی صورت گیرد.



## آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک کاوش

### انتقال نمونه:

انتقال نمونه های بیولوژیک نظیر خون، ادرار و سایر مایعات بدن از محل نمونه گیری به آزمایشگاه جزء مهمی از چرخه کاری در آزمایشگاه میباشد.

نمونه ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاهترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال گردند. انتقال نمونه ها می بایست در شرایط دمای اتاق صورت گیرد، به جز نمونه هایی که باید با حفظ زنجیره سرد نگهداری و منتقل شوند.

انتقال سریع نمونه از محل نمونه گیری به آزمایشگاه در شرایطی که دمای محل نمونه گیری بالاتر از 22 درجه سانتیگراد است از اهمیت زیادی برخوردار است.

وضعیت لوله: نمونه های خون باید در لوله های در پوش دار 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: نمونه ها باید در طول مدت انتقال و نگهداری در ظروف درپوش دار قرار گیرند. عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیرها به دلیل از دست دادن دی اکسید کربن و افزایش PH میگردد.

همچنین وجود درپوش خطر ایجاد آئروسل، تبخیر نمونه و آلودگی را نیز کاهش میدهد.

انتقال نمونه ها پس از نمونه گیری حداکثر 48 ساعت بعد باید انجام گردد.

### نگهداری نمونه پس از انجام آزمایش:

آزمایشگاه باید سیاست خود را در خصوص نگهداری انواع نمونه های کلینیکی با در نظر گرفتن ملاحظات زیر به صورت دستورالعمل مکتوب تعریف نماید. مکان و دمای نگهداری نمونه های کلینیکی، حداکثر زمان نگهداری، نحوه بی خطر سازی و امحاء نمونه ها.

در برنامه غربالگری جنین مدت زمان نگهداری نمونه ها 10-7 روز در دمای 20- درجه سانتیگراد (فریزر) می باشد. (با توجه به حجم نمونه ها این مدت زمان از حداقل 7 روز تا بیشتر از 10 روز متغیر می باشد).

### دریافت نمونه:

نمونه ها از آزمایشگاه های ارجاع دهنده به چند روش تحویل آزمایشگاه ارجاع می شود:

- 1- تحویل نمونه به بخش جداسازی توسط رابط آزمایشگاه ارجاع دهنده
- 2- تحویل نمونه به نماینده آزمایشگاه در محل آزمایشگاه ارجاع دهنده و انتقال نمونه به آزمایشگاه با رعایت زنجیره سرد و دستورالعمل مربوط به نحوه انتقال نمونه های بیولوژیک
- 3- ارسال نمونه به آزمایشگاه از طریق شرکت های معتبر حمل و نقل نمونه های آزمایشگاهی

در تمام موارد پس از دریافت نمونه در بخش جداسازی ضمن بررسی صحت نمونه از نظر کیفیت، نشستی، حجم نمونه، رعایت زنجیره سرد، مطابقت مشخصات برچسب روی لوله با فرم ها و سایر معیار های رد نمونه مورد بررسی قرار می گیرد و در صورت وجود هر یک از نواقص، مورد در سابقه پذیرش بیمار ثبت می گردد و یا در صورت غیر قابل استفاده بودن بلافاصله از طریق پرسنل مسئول رابط آزمایشگاه به آزمایشگاه های ارجاع دهنده اطلاع رسانی می گردد.



## آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک کاوش

معیارهای رد نمونه در برنامه غربالگری جنین:

- \* نامشخص بودن مشخصات نمونه
- \* حجم کم نمونه
- \* عدم رعایت شرایط استاندارد انتقال نمونه
- \* عدم رعایت زنجیره سرد
- \* همولیز شدید نمونه
- \* مقدار CRL گزارش شده در برگه سونوگرافی در سه ماه اول بارداری خارج از محدوده 45 تا 84 میلی متر باشد.
- \* مراجعه مادر باردار یا ارجاع نمونه خارج از محدوده زمانی مشخص شده بارداری (11 تا 13 هفته و شش روز برای سه ماه اول و 15 تا 16 هفته و شش روز برای سه ماه دوم بارداری) باشد.
- \* اطلاعات کلیدی در برگه سونوگرافی ناقص باشد.
- \* عدم رعایت زنجیره سرد در هنگام انتقال نمونه (بالا رفتن دما باعث نامعتبر شدن نتیجه تست Free BHCG می شود).
- \* نگهداری بیش از یک هفته سرم در یخچال.
- \* نمونه لپیمیک باشد.
- \* نمونه در لوله حاوی ضد انعقاد جمع آوری شده باشد (پلازما).
- \* اطلاعات ثبت شده در سامانه با مشخصات نمونه یا خاتم باردار یکی نباشد.
- \* مشخصات روی برچسب مخدوش باشد.
- \* ظرف حاوی نمونه شکسته یا نشستی داشته باشد.

### چرخه کاری آزمایش غربالگری جنین:

چرخه کاری این آزمایشات اگر بیمار در آزمایشگاه و حضوری نمونه دهد از زمان نمونه گیری تا آماده شدن نتیجه حداکثر ظرف 72 ساعت می باشد.  
برای نمونه های ارجاع داده شده 24 ساعت پس از دریافت نمونه می باشد.

### انجام آزمایش :

برای انجام آزمایشات غربالگری (AFP, PAPP-A, Free BHCG, uE3) از کمی لومینیسانس ایمولایت 2000 شرکت زیمنس و کیت های ایمولایت و برای Inhibin A از کیت Beckman به روش الایزا استفاده می شود.

برای کنترل کیفی داخلی کیت های مورد استفاده از دوسطح کنترل جهت اجرای کنترل کیفی داخلی و رسم نمودار لویجینینگ و برای تفسیر نمودار از قوانین وستگارد استفاده می شود.  
سیستم پشتیبان جهت انجام آزمایشات غربالگری SIEMENS Centaur CP می باشد.  
نرم افزار مورد استفاده برنامه غربالگری Benetech بوده که بطور مرتب پشتیبانی و به روز رسانی می گردد.  
جهت مقایسه بین آزمایشگاهی و کنترل کیفیت خارجی نیز سالانه در ..... نوبت در دوره های کنترل کیفیت پیشگام ایرانیان شرکت می گردد.

### اطلاعات مورد نیاز جهت محاسبه ریسک در نرم افزار غربالگری :

- سن مادر باردار یا سن اهداء کننده تخمک
- وزن
- سن بارداری
- تاریخ سونوگرافی
- هفته انجام سونوگرافی
- تعداد قل



## آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک کاوش

- مصرف سیگار
  - ابتلا به دیابت
  - بارداری طبیعی یا IVF
  - اندازه CRL,NT,NB
  - برای دابل مارکز نتیجه PAPP-A و Free BHCG
  - برای آلفا فیتو نتیجه AFP
  - برای تریپل مارکر نتیجه UE3,AFP,BHCG
  - برای کوادمارکر نتیجه UE3,AFP,BHCG,Inhibin A
- مورد نیاز می باشد.