





### بیایید به حقوق دیگران احترام بگذاریم

دوست عزیز، این کتاب حاصل دسترنج چندین ساله‌ی مؤلف، مترجم و ناشر آن است. تکثیر و فروش آن به هر شکلی بدون اجازه از پدیدآورنده کاری غیراخلاقی، غیرقانونی، غیرشرعی و کسب درآمد از دسترنج دیگران است، نتیجه‌ی این عمل نادرست، موجب رواج بی‌اعتمادی در جامعه و بروز پی‌آمدهای ناگوار در زندگی و محیط ناسالم برای خود و فرزندانمان می‌گردد.

اصول، حفاظت و تجهیزات  
در

# آزمایشگاه تشخیص پزشکی

جلد ۱

مؤلف:

دکتر نادر وظیفه شیران

دکتری تخصصی هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون

هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و مسئول بورد هماتولوژی انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران

ویراستاران:

دکتر علیرضا لطفی کیان

دکتری علوم آزمایشگاهی بالینی و

رئیس دپارتمان آموزش و پژوهش انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران

دکتر شهرزاد همتی

دکتری علوم آزمایشگاهی بالینی و

رئیس انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران

|                     |                                                                                                                                     |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| سرشناسه             | : وظیفه‌شیران، نادر، ۱۳۵۹-                                                                                                          |
| عنوان و نام پدیدآور | : اصول، حفاظت و تجهیزات در آزمایشگاه تشخیص پزشکی / مؤلف نادر وظیفه‌شیران ؛ ویراستاران شهروز همتی، علیرضا لطفی‌کیان.                 |
| مشخصات نشر          | : تهران: آناهید گستر خلیلی، ۱۴۰۳                                                                                                    |
| مشخصات ظاهری        | : ج. : مصور، جدول، نمودار ؛ ۲۲×۲۹ س.م.                                                                                              |
| شابک                | : دوره: 0-36-8348-622-978 ؛ ج. ۱: 2-32-8348-622-978                                                                                 |
| وضعیت فهرست‌نویسی   | : فیپا                                                                                                                              |
| موضوع               | : آزمایشگاه‌های پزشکی -- پیش‌بینی‌های ایمنی -- وسایل و تجهیزات<br>Medical laboratories -- Safety measures -- Equipment and supplies |
| شناسه افزوده        | : همتی، شهروز، ۱۳۴۳-، ویراستار                                                                                                      |
| شناسه افزوده        | : لطفی‌کیان، علیرضا، ۱۳۴۹-، ویراستار                                                                                                |
| رده‌بندی کنگره      | : R۸۶۰                                                                                                                              |
| رده‌بندی دیویدی     | : ۶۱۰/۲۸۴                                                                                                                           |
| شماره کتابشناسی     | : ۹۷۳۶۹۱۰                                                                                                                           |



انتشارات آناهید گستر خلیلی

## نام کتاب: اصول، حفاظت و تجهیزات در آزمایشگاه تشخیص پزشکی (جلد ۱)

مؤلف: دکتر نادر وظیفه‌شیران

ناشر: آناهید گستر خلیلی

نوبت و سال چاپ: اول. ۱۴۰۳

شمارگان: ۱۰۰۰

چاپ: ندای ایران

صحافی: افرا . لیتوگرافی: راد

ناظر فنی چاپ: فرهاد فراهانی‌راد

مدیر تولید: اقبال شرقی

مدیر فنی و هنری: مریم آرده

بهاء: ۷۵۰۰۰۰ تومان

آموزشگاه/فروشگاه: ۰۲۱۶۶۵۶۸۶۲۱

مرکز پخش: ضلع جنوب غربی میدان انقلاب . جنب بانک پارسیان . مجتمع تجاری پارس . طبقه اول

مدیر فروش: ۰۹۹۰۲۱۰۵۲۹۲

مرکز فروش: ۰۲۱۶۶۵۶۹۲۱۶

 agkpublisher@gmail.com

 www.agkins.com

## مقدمه اساتید



### به نام خداوند جان و خرد

علوم آزمایشگاهی رشته پرشاخه با تخصص‌های متعدد و ژرف هست که هر ساله با ورود تکنولوژی، علوم و روش‌های مدرن به این حوزه، ابعاد جدیدی به آن افزوده می‌شود. کتاب حاضر که به همت دکتر نادر وظیفه‌شیران نگارش شده، توانسته است اصول و مقدمات ساختاری، انواع نمونه و نمونه‌گیری، حفاظت و ایمنی پرسنل و همچنین معرفی و عملکرد دستگاه‌ها و تجهیزات یک آزمایشگاه معمولی تا پیشرفته را به قلم برساند. انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی نیز در راستای رسالت آموزشی و صنفی خود و همچنین به موازات دانشگاه‌ها و انجمن‌های تخصصی، وظیفه خود می‌داند تا از نگارش و چاپ چنین کتاب کاربردی و پایه‌ساز حمایت نموده و نواقص تئوری و عملی موجود در عرصه فعالیت دانش‌آموختگان رشته علوم آزمایشگاهی را مرتفع نماید. بدین ترتیب انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی طی جلسات منظم با اعضای کمیته آموزشی و پس از داوری کتاب در دانشگاه علوم پزشکی شهید پزشکی و کمیته آموزشی، تامین بودجه و پشتیبانی کامل از چاپ کتاب "اصول، حفاظت و تجهیزات در آزمایشگاه تشخیص پزشکی" را تصویب و مراحل داوری، ویرایش و چاپ آن را تسریع نمود. در پایان از مولف محترم، انتشارات آناهید گستر خلیلی، کمیته آموزشی و پژوهشی انجمن و تمامی دست‌اندرکارانی که در خلق این اثر زحمت کشیدند، کمال تشکر را دارم و امیدوارم این کتاب مورد توجه جامعه بزرگ آزمایشگاهیان قرار بگیرد.

دکتر شهر روز همتی

دکتری علوم آزمایشگاهی بالینی و

رئیس انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران

دکتر علیرضا لطفی‌کیان

دکتری علوم آزمایشگاهی بالینی و

رئیس دپارتمان آموزش و پژوهش انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران

## پیش‌گفتار مولف



رشته کارشناسی علوم آزمایشگاهی رشته بسیار مهم در علوم پزشکی و نظام سلامت هست که در ایران دچار شرایط خاصی شده است. تا اواسط دهه ۷۰ که دکتری علوم آزمایشگاهی و امکان ادامه تحصیل در این رشته وجود داشت، فرهیختگان این رشته در مقطع دکتری حرفه‌ای، کتاب‌های جامع این رشته را نوشته یا ترجمه کرده و علوم تئوری و کاربردی را به کارکنان آزمایشگاه و مقاطع کاردانی و کارشناسی رشته علوم آزمایشگاهی منتقل می‌کردند. با توقف پذیرش در مقطع دکتری حرفه‌ای، رشته علوم آزمایشگاهی در مقطع کارشناسی ارشد و دکتری تخصصی (PhD) به تک رشته‌های مجزا از هم تفکیک شد و چون این رشته‌ها غالباً پایه‌ای-تحقیقاتی و فارغ از هدف تاسیس و مدیریت آزمایشگاه بودند، لذا جامعیتی برای کل بخش‌های آزمایشگاه، موارد خارج رشته‌ای و بین رشته‌ای و امور جاری در آزمایشگاه نداشتند و از بین رشته‌های بیوشیمی، خون‌شناسی، میکروبی‌شناسی و ژنتیک، کسی متولی تولید علم، گردآوری مطالب و نگارش مقاله یا کتاب در امور کلی و جاری آزمایشگاه نبود. آیین‌نامه‌های تاسیس و مدیریت آزمایشگاه، تضمین کیفیت، اصول مستندسازی، خطاهای قبل، حین و پس از آنالیز آزمایشات، قوانین حقوقی و قضایی، الزامات حاکمیتی، مواد، وسایل و تجهیزات عمومی و تخصصی آزمایشگاه، انبارداری، نرم‌افزارهای آزمایشگاهی، درگاه اینترنتی، فضای مجازی، بازاریابی، امور مالی آزمایشگاهی، مهندسی، معماری، دکوراسیون و تاسیسات آزمایشگاه و تعامل با نهادهای خارج آزمایشگاهی مثل شهرداری، بیمه‌ها، مراکز بهداشت، طب کار و غیره جزء معدود مواردی هستند که در هیچ‌کدام از رشته‌های ارشد و PhD علوم آزمایشگاهی بحث اختصاصی نمی‌شوند و لذا کماکان جای رشته جامع و کاربردی دکتری حرفه‌ای علوم آزمایشگاهی در نظام سلامت کشور حس می‌شود. از سویی دیگر، دانش‌آموختگان رشته پاتولوژی کلینیکال و آناتومی‌کال نیز به دلیل پایه پزشکی عمومی، نگرش بالینی و نداشتن پایه آزمایشگاهی عمدتاً در این حوزه‌ها ورود نکرده و بیش‌تر در مدیریت کلان، تفسیر نتایج، مشاوره علمی و مطالب تخصصی پاتولوژی ایفاء نقش نموده و علاقه‌ای در حوزه تئوری مدیریت خرد، راه‌اندازی آزمایشگاه و نگارش کتب جامع آزمایشگاهی نشان نمی‌دهند. طی چند سال اخیر، دوره فلوشیپ و تکمیلی علوم آزمایشگاهی برای PhDهای دارای نظام پزشکی تدوین شده که امید است بتوانند به دلیل پایه آزمایشگاهی-دانشگاهی و تجارب کار در سطوح مختلف آزمایشگاه، کمبود دکتری حرفه‌ای علوم آزمایشگاهی، مقالات یا کتاب‌های مربوطه را جبران کنند.

کتاب "اصول، حفاظت و تجهیزات در آزمایشگاه تشخیص پزشکی" کتابی جامع و ۸ فصلی در مورد مهندسی و ساختار آزمایشگاه، آیین‌نامه تاسیس و بهره‌برداری آزمایشگاه، ضوابط آزمایشگاهی، اصول کلی نمونه‌گیری از خون و دیگر نمونه‌های بیولوژیکی، اصول ایمنی، حفاظت و ضد عفونی در آزمایشگاه، تجهیزات پایه (عمومی) و پیشرفته (تخصصی) آزمایشگاه و همچنین نگهداشت و مشکل‌یابی آن‌ها می‌باشد که برای سطوح مختلف دانش‌آموختگان و کارکنان آزمایشگاه نگارش شده است. برای این منظور تجربیات حدود ۲۰ سال کار در آزمایشگاه، ۱۵ سال تدریس در مقاطع مختلف رشته علوم آزمایشگاهی، سابقه ۶۰۰۰ صفحه تالیف کتب پزشکی-آزمایشگاهی و تجربه راه‌اندازی، تجهیز و تاسیس آزمایشگاه توسط مولف مورد استفاده قرار گرفته و امید است تا کتاب حاضر مورد توجه مخاطبان عزیز قرار بگیرد. جلد ۲ و ۳ این کتاب نیز با مباحث آزمایشگاه کشت سلولی و آزمایشگاه مولکولی در ادامه این کتاب به صورت سری چاپ خواهد شد. در پایان از مخاطبان عزیز خواشمندم در صورت مشاهده ایرادات علمی، ادبی و نگارشی در کتاب، موارد را به پست اینترنتی [nadershirani@yahoo.com](mailto:nadershirani@yahoo.com) ارسال نمایند تا در چاپ بعدی اصلاحات مربوطه انجام شوند.

دکتر نادر وظیفه‌شیران

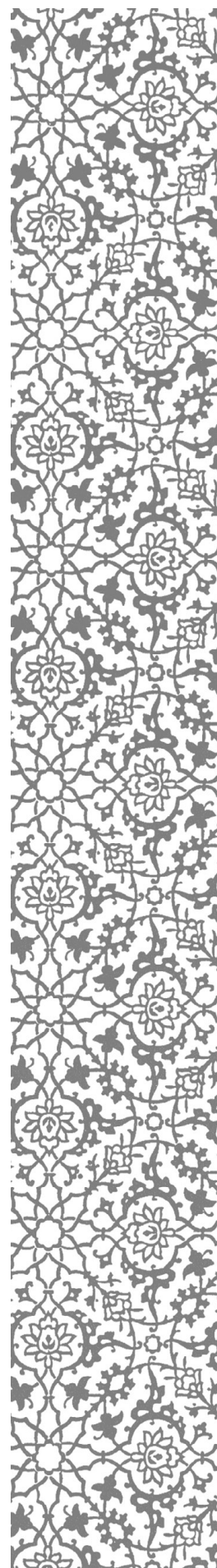
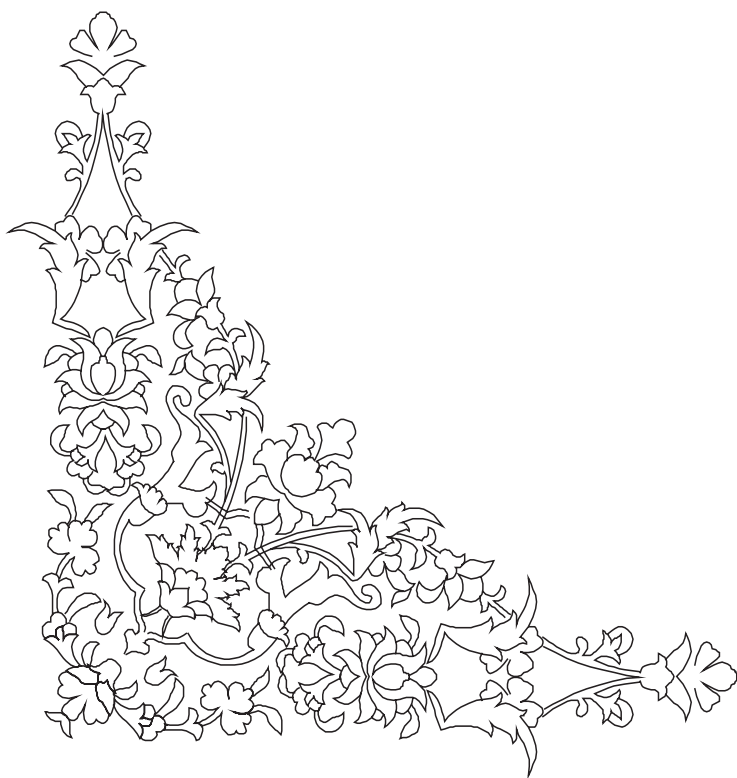
زمستان ۱۴۰۲

## تشکر و قدردانی

این کتاب با پشتیبانی و بودجه انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی، داوری و تایید معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و حمایت فنی آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک آرتا چاپ گردیده است. لذا در این جا لازم می‌دانم تا از جناب آقای دکتر شهروز همتی (ریاست انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی)، دکتر علیرضا لطفی‌کیان (معاون آموزشی - پژوهشی انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی)، دکتر سید جواد سلطانیپور (ریاست آزمایشگاه بیمارستان بقیه الله)، دکتر احمد خلیلی و سرکار خانم ناهید رفیعی (ریاست انتشارات آناهید گستر خلیلی)، تیم مدیریتی آزمایشگاه آرتا، اساتید هماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و همه اساتید، مربیان و معلمان خود به‌خاطر زحمات دلسوزانه، پشتیبانی، آموزش علوم آزمایشگاهی، ویرایش علمی- ادبی، فراهم آوردن امکان داوری و اخذ مجوز چاپ کتاب از انجمن دکتری علوم آزمایشگاهی و دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، کمال تشکر و سپاس را داشته باشم.

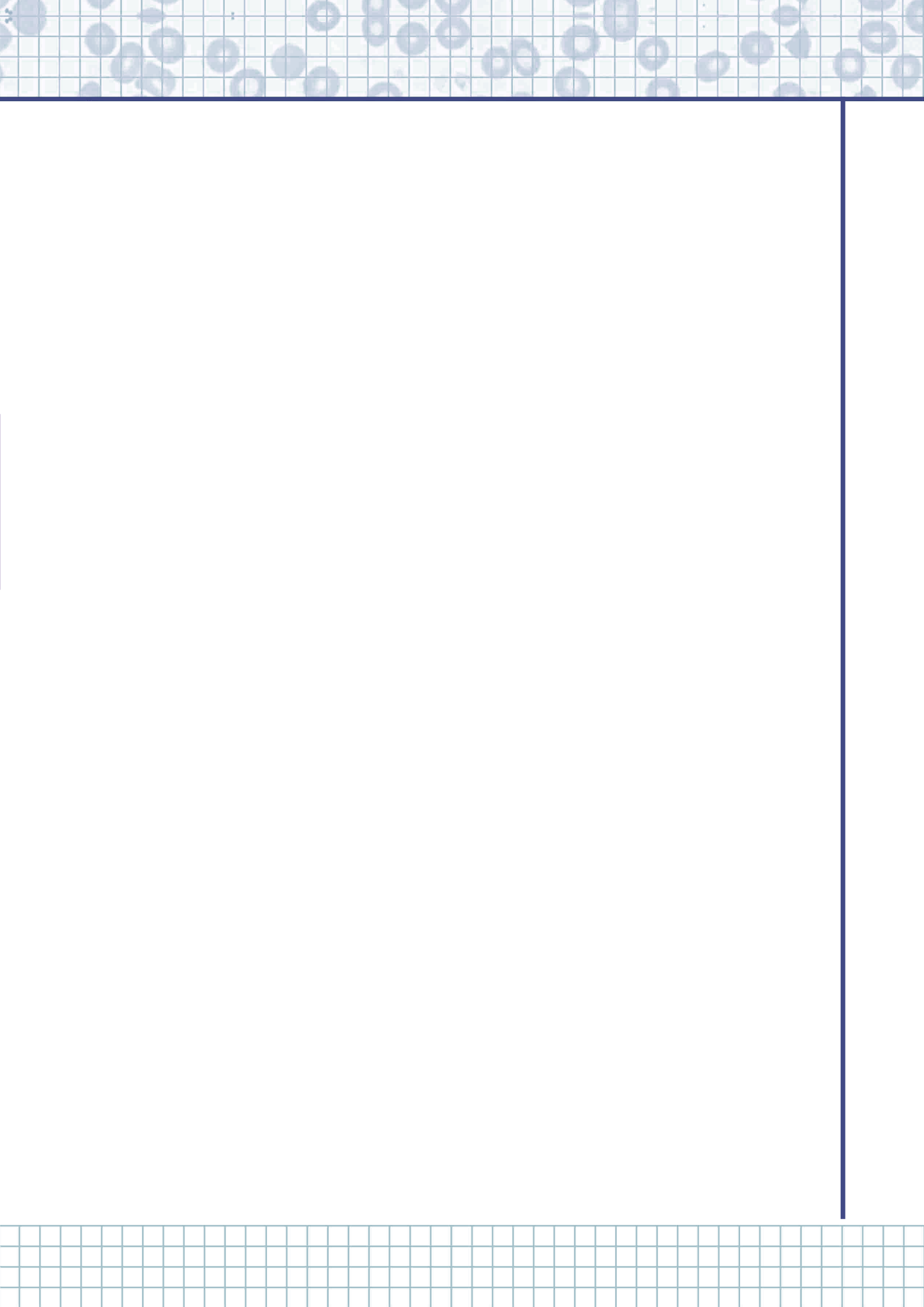
تقدیم به:

پدر زحمت‌کشم که شوق آموختن و کمال را در من پروراند  
مادر مهربان و پرتلاشم که از صمیمانه‌های نگاهش لبریزم  
همسر صبور و فداکارم که همواره مشوق و یاور من بود  
از کیان و رایان، فرزندانم که آینده و نور امید چشمانم هستند  
و تمامی اساتید و آموزگارانم که به من درس علم اخلاق و زندگی را آموختند.



## فهرست «جلد اول»

|   |     |                                             |       |
|---|-----|---------------------------------------------|-------|
| ۱ | ۱۱  | اصول، ساختار و مهندسی آزمایشگاه تشخیص پزشکی | فصل ۱ |
| ۲ | ۱۰۳ | ضدانعقادهای مورد استفاده در آزمایشگاه       | فصل ۲ |
| ۳ | ۱۲۵ | نمونه‌گیری از خون و دیگر مایعات بدن         | فصل ۳ |
| ۴ | ۱۹۷ | اصول، مقدمات و تجهیزات محلول‌سازی           | فصل ۴ |
| ۵ | ۲۵۷ | ضدعفونی، حفاظت و ایمنی در آزمایشگاه         | فصل ۵ |
| ۶ | ۳۰۷ | وسایل و تجهیزات آزمایشگاهی ۱                | فصل ۶ |
| ۷ | ۴۱۹ | وسایل و تجهیزات آزمایشگاهی ۲                | فصل ۷ |
| ۸ | ۵۰۱ | اصول نگهداری تجهیزات آزمایشگاهی             | فصل ۸ |
|   | ۵۷۹ | منابع، واژه‌یاب و واژه‌نامه                 |       |



## فصل

# اصول، ساختار و مهندسی آزمایشگاه تشخیص پزشکی



در این فصل موارد زیر مورد بحث قرار می گیرند:

|         |                                                                                                                                         |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ۱۲..... | معرفی رشته علوم آزمایشگاهی و آزمایشگاه تشخیص طبی.....                                                                                   |
| ۱۳..... | ساختار و مهندسی آزمایشگاه تشخیص طبی.....                                                                                                |
| ۳۲..... | خدمات آزمایشگاه.....                                                                                                                    |
| ۳۳..... | پذیرش، نمونه گیری، ارسال و ارجاع.....                                                                                                   |
| ۴۱..... | بخش های اداری (مدیریت، سوپروایزری، تضمین کیفیت، حسابداری و کارگزینی).....                                                               |
| ۴۲..... | بخش های غیر فنی و پشتیبانی آزمایشگاه.....                                                                                               |
| ۴۹..... | بخش بیوشیمی جنرال و تخصصی (هورمون، TDM، HPLC، سم شناسی، مواد مخدر).....                                                                 |
| ۵۴..... | بخش الکتروفورز و پایش دارو.....                                                                                                         |
| ۵۵..... | بخش میکروب شناسی (باکتری، ویروس، قارچ و انگل).....                                                                                      |
| ۵۶..... | بخش ادرار، مدفوع و آنالیز مایعات بدن.....                                                                                               |
| ۵۷..... | بخش پاتولوژی و IHC (ایمونوهیستوشیمی).....                                                                                               |
| ۶۰..... | بخش هماتولوژی تخصصی.....                                                                                                                |
| ۶۱..... | بخش بانک خون و ایمونوهماولوژی.....                                                                                                      |
| ۶۳..... | بخش فلوسایتومتری و ایمونوفنوتایپینگ.....                                                                                                |
| ۶۴..... | بخش هموستاز (انعقاد).....                                                                                                               |
| ۶۵..... | بخش تست های مولکولی.....                                                                                                                |
| ۶۷..... | بخش HLA-Typing.....                                                                                                                     |
| ۶۹..... | بخش سیتوژنتیک (کاریوتایپ)، کشت سلولی و NIPT.....                                                                                        |
| ۷۰..... | بخش آلرژی و ایمونولوژی (سرولوژی).....                                                                                                   |
| ۷۱..... | بخش تحقیق و توسعه (R&D).....                                                                                                            |
| ۷۱..... | آزمایشگاه شبکه و مگالاب.....                                                                                                            |
| ۷۴..... | آزمایشگاه تحقیقاتی.....                                                                                                                 |
| ۷۴..... | کلین روم (اتاق پاک) و فضای داخلی اتاق کشت.....                                                                                          |
| ۸۲..... | هودهای بیولوژیکی.....                                                                                                                   |
| ۸۶..... | ورک استیشن (کابینت پاک).....                                                                                                            |
| ۸۷..... | مینی لب های شبکه بهداشت.....                                                                                                            |
| ۸۸..... | آزمایشگاه مطبی POL.....                                                                                                                 |
| ۹۰..... | آیین نامه ملی تاسیس آزمایشگاه (شرایط تاسیس، ساختمان آزمایشگاه، وظایف موسس و مسئول فنی، شرایط و ضوابط عمومی نحوه کار در آزمایشگاه و ...) |

## معرفی رشته علوم آزمایشگاهی و آزمایشگاه تشخیص طبی:

رشته‌های پیراپزشکی با پارامدیکال، رشته‌هایی هستند که در کنار رشته پزشکی به بیمار و پزشک در تشخیص، سلامت و درمان کمک می‌کنند. از رشته‌های پیراپزشکی می‌توان به علوم آزمایشگاهی، رادیولوژی، پزشکی هسته‌ای، رادیوتراپی، فیزیوتراپی، اعضای مصنوعی، مهندسی پزشکی، پروتز دندان، گفتار درمانی، کاردرمانی، مددکار اجتماعی، بینایی سنجی، شنوایی سنجی، علوم تغذیه، زیرشاخه پرستاری (پرستاری، مامایی، هوشبری، اتاق عمل)، زیر شاخه بهداشت (عمومی، محیط، حرفه‌ای)، کتابداری پزشکی، مدیریت خدمات بهداشتی درمانی، اداره امور بیمارستان‌ها و فناوری اطلاعات اشاره نمود. کادر پیراپزشکی اغلب تحت نظارت پزشکان فعالیت نموده و عمدتاً تخصص‌های پزشکی مرتبط با رشته‌های پیراپزشکی نیز وجود دارند، به‌عنوان مثال رشته علوم آزمایشگاهی تحت نظارت متخصص پاتولوژی، بینایی سنجی تحت نظارت متخصص چشم، شنوایی سنجی تحت نظارت متخصص گوش، حلق، بینی، رادیولوژی و رادیوتراپی زیر نظر متخصص رادیولوژی، مامایی تحت نظارت متخصص زنان-زایمان و کارشناس هوشبری و اتاق عمل زیر نظر متخصص بیهوشی و جراحان کار می‌کنند. البته برخی رشته‌های پیراپزشکی مثل شنوایی سنجی، بینایی سنجی، مامایی، فیزیوتراپی و پروتز دندان دارای پروانه کسب بوده و مستقل از پزشکان نیز می‌توانند فعالیت شغلی داشته باشند. برخی نیز مثل رشته علوم آزمایشگاهی، خود امکان ادامه تحصیل تا مقطع دکتری علوم آزمایشگاهی، فلوشیپ علوم آزمایشگاهی و Ph.D و امکان اخذ پروانه کسب کار مستقل را دارند ولی با این وجود، هرکدام از رشته‌های PhD علوم آزمایشگاهی ارتباط خود را با یکی از رشته‌های پزشکی حفظ می‌کنند، به عنوان مثال رشته هماتولوژی در ارتباط با پزشکان اونکولوژیست، رشته میکروب-شناسی در ارتباط با پزشکان متخصص عفونی، رشته بیوشیمی در ارتباط با پزشکان متخصص غدد و زنان-زایمان، رشته ایمونولوژی در ارتباط با متخصصان آسم، آلرژی و روماتولوژی و رشته سم شناسی در ارتباط با متخصصین پزشکی قانونی و فارماکولوژیست‌ها فعالیت می‌کنند.

رشته علوم آزمایشگاهی یکی از ارکان مهم تشخیص در پزشکی بوده و در کنار شرح حال و معاینات بالینی پزشک و تصاویر رادیولوژی، مثلث تشخیص پزشکی را تشکیل می‌دهد. به طور متوسط ۷۰ درصد تشخیص بیماری‌ها وابسته به آزمایشگاه می‌باشد که در مورد بیماری‌های بدخیم خون و بیماری‌های ژنتیکی، این رقم به ۹۵ درصد هم می‌رسد. البته هدف از آزمایش الزاماً تشخیص بیماری (نوع، علت، شدت) نبوده و پیش‌بینی، چکاپ، تعیین پیش‌آگهی، مونیتورینگ (پایش)، ارزیابی روند درمان، تعیین سطح سرمی دارو، ارزیابی دهنده و گیرنده پیوندهای بافت (مثل کلیه و مغزاستخوان)، غربالگری بیماری‌های خاص، ارزیابی افراد قبل ازدواج و استخدام و ده‌ها مورد دیگر نیز می‌باشد. آزمایشگاه علاوه بر نتایج عددی و توصیفی، تفسیر آزمایشگاهی، فالوآپ و درخواست تست‌های پیشرفته و تکمیلی را نیز برعهده دارد. به طور کلی خدمات آزمایشگاه شامل پذیرش، احراز هویت، جمع آوری نمونه، آماده‌سازی، طبقه‌بندی آنالیز، صحه گذاری، تفسیر، گزارش، مشاوره و ارسال نتایج می‌باشد. رشته علوم آزمایشگاهی از بُعد تعداد تخصص و ادامه تحصیل در مقطع ارشد و دکتری منحصر به فرد بوده و بالاترین تعداد تخصص را در بین تمامی رشته‌های پزشکی و غیرپزشکی دارد و از ۲۰ رشته تخصصی تشکیل می‌شود. رشته علوم آزمایشگاهی بالاترین تعداد دانشمندان حوزه پزشکی در ایران را تشکیل داده و بیشترین تعداد محققین و Ph.Dهای حوزه پزشکی، دانش-آموختگان این رشته هستند. در دیگر نقاط جهان، رشته بیولوژی این نقش را برعهده دارد ولی از آنجایی که در ایران، رشته بیولوژی در بدنه وزارت علوم قرار داشته و امکان فعالیت‌های بالینی و پزشکی برای آنها فراهم نیست، لذا در حوزه پزشکی چندان موفق نبوده است ولی دانشجویان بیولوژی نیز با تغییر رشته به سمت رشته‌های علوم آزمایشگاهی می‌توانند در وزارت بهداشت فعالیت‌های پزشکی و بالینی انجام دهند.

جدول ۱-۱: رشته‌های تخصصی علوم آزمایشگاهی که موارد ستاره‌دار دارای شماره نظام پزشکی هستند (۱۱).

| گروه    | گروه ۱                                                                          | گروه ۲                                 | گروه ۳                                                                    | متفرقه                                                                                     |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| رشته‌ها | بیوشیمی*<br>ژنتیک*<br>سم شناسی<br>بیوتکنولوژی<br>نانوفناوری پزشکی<br>پروتئومیکس | هماتولوژی*<br>بانک خون*<br>ایمونولوژی* | باکتری شناسی*<br>ویروس شناسی*<br>انگل شناسی*<br>قارچ شناسی*<br>حشره شناسی | مهندسی بافت<br>بیولوژی تولید مثل<br>پزشکی مولکولی<br>آموزش پزشکی<br>سل تراپی<br>واکسن سازی |

در سیستم وزارت بهداشت دو نوع آزمایشگاه (۱) تشخیص طبی و (۲) تحقیقاتی تعریف شده است. آزمایشگاه تحقیقاتی مجوز فعالیت تجاری و گزارش نتایج آزمایش به پزشکان را نداشته و کار تشخیصی انجام نمی‌دهد و اغلب در قالب پروپوزال یا طرح، یک پروژه تحقیقاتی را پیش برده و نتایج نهایی را به صورت چاپ مقاله منتشر می‌کند تا همگان بتوانند از نتایج آنها در کارهای بالینی و آزمایشگاهی استفاده کنند. به عنوان مثال نتایج یک پژوهش می‌تواند به طراحی یک کیت آزمایشگاهی، تعریف یک تست جدید، تعیین محدوده نرمال یا کات آف یک پارامتر آزمایشگاهی، مقایسه یک تست یا روش جدید با تست یا روش قدیمی، مقایسه یک دستگاه جدید با دستگاه قدیم، تعیین اهمیت تشخیصی یا پیش آگهی دهنده یک تست یا پارامتر، نرمالیزه کردن و رفع ایرادات یک تست و ده‌ها کار دیگر منجر شود و در واقع نتایج آزمایشگاه تحقیقاتی در صورت تجاری شدن و کسب مجوز IVD از وزارت بهداشت، امکان استفاده در آزمایشگاه تشخیص طبی را پیدا می‌کنند. در واقع کار این نوع آزمایشگاه، تولید دانش بوده و نیروهای فنی آنها تحت عنوان پژوهش‌گر یا دانشمند در پیشرفت علم ایفاء نقش می‌کنند. آزمایشگاه‌های تحقیقاتی اغلب قسمتی از یک مرکز تحقیقات (مثل مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، مرکز

تحقیقات سلول‌های بنیادی و پیوند مغز استخوان) هستند که در آنها تیمی از پزشکان، اپیدمیولوژیست‌ها، متخصصین آمار، نیروهای آزمایشگاهی (از تخصص‌های مختلف)، پرستاران و افراد متخصص در تولید علم و چاپ مقاله ایفاء نقش می‌کنند. این مراکز اغلب در قسمتی از یک بیمارستان مستقر بوده (مثل مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی) ولی گاهی نیز به صورت یک انستیتو یا مرکز تحقیقات مستقل (مثل انستیتو پاستور یا موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی) زیر نظر وزارت بهداشت یا وزارت علوم فعالیت می‌کنند. مالکیت این نوع از آزمایشگاه‌ها اغلب دولتی بوده ولی امروزه شرکت‌های دانش بنیان و بخش خصوصی نیز فعالیت‌های پیشرفته و مطلوبی را در این حوزه شروع کرده‌اند.



نوع دوم آزمایشگاه‌ها، آزمایشگاه تشخیص طبی هست که اولین بار در سال ۱۹۲۰ به روش دستی در امریکا تاسیس شد و اتوماتیک شدن دستگاه‌ها و تست‌ها از سال ۱۹۶۵ آغاز گردید. آزمایشگاه تشخیص طبی به سه صورت **خصوصی** (حقیقی و حقوقی)، **دولتی** (بیمارستانی و مراکز بهداشت) و **وابسته** (نظامی، تامین اجتماعی، موسسه خیریه، بانک‌ها، وزارتخانه‌ها و انجمن‌های خاص) فعالیت می‌کنند. در آزمایشگاه خصوصی همه بیماران به صورت سرپایی (OP) بوده ولی در آزمایشگاه‌های بیمارستانی، بیماران می‌توانند به سه نوع سرپایی، بستری و اورژانسی باشند که البته آزمایشگاه اورژانس می‌تواند قسمتی از آزمایشگاه مرکزی، مستقر در بخش اورژانس، ICU، اتاق عمل یا در دیگر بخش‌ها باشد. در برخی از بیمارستان‌ها آزمایشگاه‌های تخصصی ABG، نازایی، پیوند، غدد و متابولیسم، آسم و آلرژی و ... نیز به صورت مجزا از آزمایشگاه مرکزی تشکیل می‌شود. در نظام سلامت ایران ۶ نوع آزمایشگاه تشخیص طبی وجود دارد: (۱) **آزمایشگاه کوچک شبکه بهداشت** (با مسئولیت یک کارشناس و پزشک مسئول درمانگاه)، (۲) **آزمایشگاه تشخیص پزشکی** ساده که با مسئولیت فنی دکتری علوم آزمایشگاهی یا متخصص پاتولوژی یا فلوشیپ آزمایشگاه و یا گروه چهار نفره بیوشیمیست، هماتولوژیست، میکروبیولوژیست و ایمونولوژیست اداره شود. (۳) **آزمایشگاه پاتوبیولوژی** (آزمایشگاه آسیب شناسی کلینیکال-سرجیکال/آناتومیال) که فقط می‌تواند توسط مسئول فنی پاتولوژیست اداره شود و (۴) **آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک** که توسط تیم ۲ نفره از متخصص پاتولوژی و ژنتیک یا یک متخصص مولکولار پاتولوژی اداره می‌شود. نوع غیرمرسوم و جدیدی از آزمایشگاه تشخیص طبی نیز شامل ۵- **آزمایشگاه شبکه‌ای** و ۶- **آزمایشگاه مگال** هستند. البته در برخی کشورها، آزمایشگاه POL مستقر در کلینیک یا مطب پزشکان نیز وجود دارد که در ایران فاقد مجوز بوده و در ادامه، بحث خواهند شد. مالکیت آزمایشگاه خصوصی می‌تواند به صورت **حقیقی** (یک نفر دکتری پروانه دار علوم آزمایشگاهی، پاتولوژی و یا دکتری تک رشته آزمایشگاهی) یا به دو صورت **حقوقی** (۱) **تعاونی** (گروه تعاونی متشکل از چندین نفر با ۵۱ درصد لیسانس آزمایشگاهی) و (۲) **سهامی خاص** (شرکت فعال در حوزه سلامت که دارای حداقل یک دکتری پروانه دار) باشد. در برخی از آزمایشگاه‌ها کل بار علمی و فنی آزمایشگاه بر دوش یک نفر مسئول فنی بوده و در برخی آزمایشگاه‌های تخصصی و بزرگ، توسط مجموعه‌ای از متخصصین مشتمل بر پاتولوژیست، هماتولوژیست، بیوشیمیست، ایمونولوژیست، میکروبیولوژیست (متخصص باکتری، ویروس، انگل، قارچ)، متخصص ژنتیک و فلوشیپ علوم آزمایشگاهی اداره می‌گردد که هر کدام مسئولیت بخش‌های تخصصی خود را برعهده دارند. حضور افراد متخصص باعث می‌شود تا بخش‌های تخصصی از صحت، دقت و اعتبار بالایی برخوردار باشند و آزمایشگاه به صورت دپارتمان-های تخصصی فعالیت کند. در آزمایشگاه‌های دولتی مستقر در بیمارستان، مشکلات بزرگی مثل مشتری‌یابی، مارکتینگ، پرداخت مالیات، بروکراسی اداری، مجوزهای مختلف وزارت بهداشت، شهرداری، اداره برق، آب و گاز، مشکلات آپارتمانی، قرارداد بیمه‌ها، برق اضطراری، بودجه‌های کمی، دفع پسماندهای عفونی، کوره زباله سوزی، فضای فیزیکی و ... کم‌رنگ بوده و لذا فعالیت تجاری پر قدرت‌تری دارند. در بخش خصوصی مشکلات فوق برجسته بوده ولی در مقابل امکان تبلیغات، خرید دستگاه‌های دست دوم و ریفربیشد (دستگاه‌های دولتی اجازه خرید دستگاه دست دوم را ندارند)، قرارداد با شرکت‌ها و ارگان‌های مختلف، استخدام تخصصی، چاپک سازی، افزودن بخش‌ها و تجهیزات، تصمیمات سریع، جابه‌جایی ساختمان، قرارداد با پزشکان و ... وجود دارند (۱۲). از نظر عوامل بیولوژیک عفونی و پاتوژن، چهار گروه خطر **سطح BSL-I** (غیرپاتوژن، غیرمسمی، بی‌خطر، بدون خطر فردی و اجتماعی)، **سطح BSL-II** (بیماری‌زایی ساده، کم خطر، قدرت سرایت کم و قابل کنترل، خطر کم فردی و اجتماعی)، **سطح BSL-III** (بیماری‌زایی جدی، پر خطر، قدرت سرایت کم و قابل کنترل، خطر بالای فردی و خطر پایین اجتماعی) و **سطح BSL-IV** (بیماری‌زایی جدی، پر خطر، قدرت سرایت بالا و غیرقابل کنترل و درمان، بدون واکسن، خطر بسیار بالای فردی و اجتماعی) وجود دارند که بر اساس آن، آزمایشگاه‌ها نیز به چهار سطح تقسیم می‌شوند. آزمایشگاه‌های آموزشی و پایه اغلب گروه خطر سطح I را پوشش داده (بدون هود و دارای تهویه معمولی) ولی آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌بایست حداقل سطوح خطر II را پوشش داده (دارای هود کلاس II، اتوکلاو، فشار منفی، وسایل ضد عفونی) و آزمایشگاه‌های تخصصی ویروس و مراکز تحقیقاتی، تا گروه خطر سطح III و IV را نیز پوشش می‌دهند (دارای کلین روم، لباس فشار مثبت و هود کلاس III) که در ادامه به جزئیات آن اشاره خواهد شد.

## ضد انعقادهای مورد استفاده در آزمایشگاه



در این فصل موارد زیر مورد بحث قرار می گیرند:

|          |                                                      |
|----------|------------------------------------------------------|
| ۱۰۴..... | علل لخته نشدن خون در بدن و وظایف ضدانعقادی اندوتلیوم |
| ۱۰۴..... | علل لخته شدن خون در لوله آزمایش.....                 |
| ۱۰۴..... | اساس انعقاد.....                                     |
| ۱۰۶..... | تعریف پلاسما و سرم.....                              |
| ۱۰۷..... | خصوصیات و انواع ضد انعقاد هپارین.....                |
| ۱۰۹..... | خصوصیات و انواع ضد انعقاد اگزالات.....               |
| ۱۰۹..... | خصوصیات و انواع ضد انعقاد سیتрат.....                |
| ۱۱۱..... | خصوصیات و انواع ضد انعقاد EDTA.....                  |
| ۱۱۴..... | نمونه خون دفیبرینه.....                              |
| ۱۱۷..... | خصوصیات و انواع ضد انعقادهای بانک خون.....           |
| ۱۱۹..... | خطاهای پره آنالیتیکال ضدانعقادها.....                |

## ضد انعقاد های مورد استفاده در آزمایشگاه:

خون داخل عروق در حرکت دائم بوده و به دلیل شارژ منفی سلول های خونی (به ویژه پلاکت ها) و سلول های اندوتلیوم و به جهت دافعه ناشی از آنها و همچنین به دلیل وجود سد اندوتلیومی برخوردی با عوامل ترومبوتیک یا لخته کننده ساب اندوتلیوم نداشته و لذا حالت مایع و سیالیت خود را حفظ می کند. حرکت دائم خون و فشار خون ناشی از ضربان قلب و ارتجاعیت عروق باعث ایجاد فشار شار در داخل عروق می شود که این فشار باعث فعال ماندن ضد انعقاد های طبیعی در عروق شده و لذا تا زمانی که خون در حالت ایستا و ساکن نباشد و از عروق خارج نشود، از لخته شدن آن جلوگیری می شود. سلول های اندوتلیوم نیز با تولید ضد انعقاد های طبیعی مانع از لخته شدن خون می شود. از عوامل ضد انعقادی اندوتلیوم می توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱. ایجاد سطحی صاف، صیقلی و غیر چسبنده و سدی در برابر برخورد پلاکت ها و فاکتورها با کلاژن و بافت زیر اندوتلیومی.
۲. ایجاد شارژ منفی و رانش پلاکت.
۳. تولید اسید نیتریک (NO) یا فاکتور شل کننده مشتق از اندوتلیوم (EDRF) از منبع اسید آمینه آرژنین که دو عملکرد دارد:
  - i) باعث گشادی عروق (واژودیلاسیون) و افزایش جریان خون می شود و ii) باعث تحریک آنزیم آدنیلات سیکلاز و افزایش تولید cAMP از منبع ATP می شود. cAMP بالا باعث افزایش مصرف ATP و کاهش منبعی برای تولید ADP شده و در نتیجه کاهش باعث کاهش ریلیز، فعال سازی و اگر گاسیون پلاکتی می شود و در کل باعث مهار پلاکت ها می شود (cAMP عکس ADP عمل می کند).
۴. تولید پروستاگلاندین PG-I<sub>2</sub> که مشابه اسید نیتریک عمل کرده و باعث افزایش cAMP و مهار پلاکت ها می شود. برعکس، پروستاگلاندین یا ترومبوکسان A<sub>2</sub> باعث مهار آدنیلات سیکلاز و کاهش cAMP، افزایش ADP و فعال شدن پلاکت ها می شود.
۵. تولید مبدل یا کانورتاز آنژیوتانسین که مانند PG-I<sub>2</sub> و NO باعث گشادی عروق و مهار پلاکت می شود.
۶. تولید ADPase یا CD39 که باعث تجزیه ADP (آگونیست و فعال کننده پلاکت) به AMP و کاهش فعال سازی پلاکت ها می شود.
۷. تولید آنتی ترومبین III (AT-III)، کوفاکتور II هپارینی (HC-II)، پروتاز نکسین و رسپتور پروتئین C اندوتلیومی (EPCR) که به عنوان ضد انعقاد طبیعی عمل می کنند.
۸. تولید هپاران سولفات که مثل هپارین با افزایش ۱۰۰۰ برابری اثر آنتی ترومبین III باعث تخریب ترومبین، فاکتور X و چند فاکتور فعال دیگر شده و به عبارتی باعث مهار انعقاد می شود.
۹. تولید ترومبومودولین (CD141) که با اتصال به ترومبین ایجاد کمپلکس ضد انعقادی کرده و با فعال کردن Pro-C و ایجاد APC<sup>۱</sup> باعث مهار V و VIII، تعدیل مسیر انعقاد داخلی و فعالیت ضد انعقادی می شود.
۱۰. تولید فعال کننده های پلاسمینوژن از قبیل t-PA، u-PA و گیرنده آن U-PAR که با تبدیل پلاسمینوژن غیر فعال به پلاسمین فعال و لیز فیبرین باعث فعالیت فیبرینولیزی می شود. البته حداکثر فعالیت t-PA در حضور فیبرین و ترومبین بوده و لذا در حالت معمول و در شرایط غیر انعقادی، t-PA در فعال کردن مقادیر کمی از پلاسمین، فقط مانع از ایجاد لخته نابجا شده و عملکرد فیبرینولیزی انجام نمی دهد.
۱۱. تولید α<sub>2</sub> ماکروگلوبولین که با اتصال به ترومبین (فعال کننده اصلی انعقاد) و بلوکه کردن آن، باعث کلیرانس و تجزیه آن می شود.
۱۲. تولید آنزیم ADAMTS13 که باعث تبدیل فرم اولیه و ترومبوتیک VWF به فرم فیزیولوژیک آن می گردد (۴).

## فرآیند لخته شدن خون در لوله آزمایش یا ویال فون گیری:

فاکتورهای انعقادی و پلاکت های موجود در خون با خروج از عروق و برخورد با شیشه لوله آزمایش (از طریق فاکتور XII انعقادی و GP-Ib/V/IX پلاکت)، به دلیل دور شدن از اندوتلیوم ضد انعقادی و به دلیل ساکن شدن خون در لوله آزمایش، فعال شده و با ترشح کلسیم، ADP و TX-A<sub>2</sub> و با فعال سازی دیگر فاکتورهای انعقادی و پلاکت ها باعث لخته شدن خون می شوند. فاکتورهای انعقادی به دلیل ماهیت پروتئینی که دارند، بار منفی داشته و اسید گلوآمیک برخی از آنها مثل II، VII، IX و X طی فرآیندی به نام گاما کربوکسیلاسیون به فرم ۲ بار منفی تبدیل می شود که این فرآیند وابسته به ویتامین K<sub>1</sub> بوده و در کبد انجام می شود. غشاء پلاکت ها نیز طی فعال شدن و به سطح آمدن فسفاتیدیل سرین ۲ بار منفی، بار منفی شدیدی به خود می گیرند که به این حالت، فاکتور ۳ پلاکتی یا PF3 گفته می شود. حین انعقاد و لخته شدن خون، پلاکت ها تولید c-AMP را مهار و طی مسیر سیکلواکسیژناز (COX) تولید TX-A<sub>2</sub> می کنند که در کنار ADP و کلسیم (فاکتور IV) باعث فعال شدن و اگر گاسیون (به هم چسبیدن) دیگر پلاکت های حاضر در خون می شود. در این فرآیند، ADP ها با اتصال به گیرنده های خود در سطح پلاکت های اطراف (P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>، P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> و P<sub>2</sub>X<sub>1</sub>) باعث فعال شدن و اگر گاسیون آنها نیز می شوند. اگر گاسیون پلاکت ها تحت واسطه GP-IIb/IIIa موجود در سطح پلاکت ها می باشد که با اتصال متقابل و همزمان به فاکتور ون ویلبراند (VWF) پلاسمایی باعث اتصال پلاکت ها به یکدیگر می شود. از طرف دیگر، فعال شدن فاکتورهای انعقادی و عملکرد انعقادی آنها نیاز الزامی به اتصال آنها به PF3 دارد که بار منفی و نیروی دافعه بین آنها مانع از این عملکرد می شود، لذا برای غلبه بر این نیروی دافعه، Ca<sup>2+</sup> با بار مثبت واسطه بین PF3 و فاکتورهای انعقادی با بار منفی می شود، در نتیجه مسیر انعقاد شکل گرفته و فاکتورهای انعقادی مختلف با یکدیگر دارند، باعث فعال شدن پروترومبین و تولید ترومبین فعال می شوند. ترومبین نیز در ادامه با فعال کردن فاکتورهای I (فیبرینوژن)، XIII، V و VIII باعث تقویت انعقاد و تشکیل پلی مر فیبرینی یا لخته قرمز

1 Activated Protein C

2 Tissue plasminogen activator (t-PA) and urokinase plasminogen activator (u-PA)

|               |                                                         |                    |                                                              |                        |                                                                                |
|---------------|---------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| درپوش<br>سفید |                                                         | درپوش<br>آبی پررنگ |                                                              | درپوش سبز<br>و لاجوردی |                                                                                |
| افزودنی       | K2-EDTA                                                 | افزودنی            | K2-EDTA                                                      | افزودنی                | K3-EDTA K2-EDTA                                                                |
| عملکرد        | شلاته و حذف کلسیم<br>هپارین باعث تست های مولکولی می شود | عملکرد             | لوله فاقد هر نوع فلزات بیولوژیک                              | عملکرد                 | شلاته و حذف کلسیم<br>درپوش های سبز مایع و درپوش های لاجوردی به صورت لایع هستند |
| کاربرد        | تست های مولکولی و تست لود و پروسی                       | کاربرد             | سنتز عناصر نادر مثل روی، مس، سرب، جیوه<br>و تست های سم شناسی | کاربرد                 | کومیس و بانک خون و CBC و مولکولی<br>پاید A بار سر و ته شود                     |

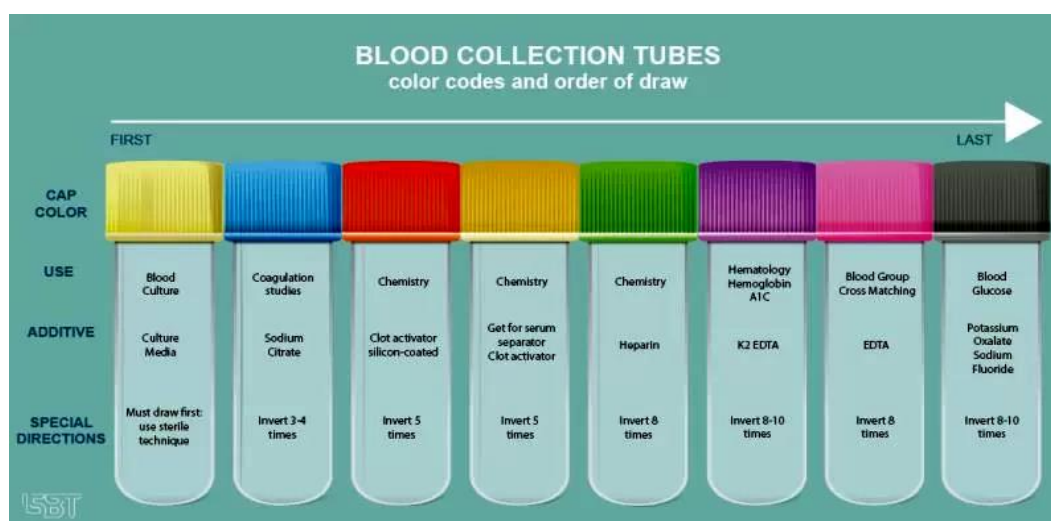


شکل ۱۳-۲: انواع لوله های تجاری حاوی EDTA که بنفش پررنگ، سبز (K3-EDTA) یا بنفش کمرنگ (K2-EDTA) هستند. لوله های سبز حاوی هپارین نیز از این دسته هستند (۴).

### نمونه خون دفیبرینه:

در این حالت از ضدانعقاد استفاده نمی شود ولی با روند دفیبرینیزاسیون، پروتئین های فیبرین و فیبرینوژن محلول در خون را که به عنوان سوبسترای اصلی انعقاد محسوب می شوند را از پلاسما حذف نموده و در نتیجه خون به حالت سیال درمی آید. برای این منظور خون را در لوله های شیشه ای حاوی ۱۰-۲۰ بلور شیشه ای ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه و به آرامی به هم می زنند تا فیبرینوژن و فیبرین جذب بلورها شوند. این روش با همولیز خفیفی همراه می باشد که استفاده از **روش ملایم لوئیس و دیسی** باعث کاهش مقدار همولیز می شود. در این روش خون را در یک ارلن کوچک ریخته و یک آژیتاتور با انتهای مدور متصل به تکه های کوچک شیشه ای را در آن قرار داده و با دور آرام می چرخانند که باعث دفیبریناسیون خون می شود. در این روش حداقل همولیز وجود داشته و مورفولوژی سلول ها نیز دچار تغییر نمی شود.

ترتیب اخذ خون در روش ونوجکت به صورت کشت خون (زرد)، انعقادی سیراته (آبی/بنفش پررنگ)، لخته معمولی یا سریع (قرمز، طلایی، نارنجی)، هپارینه (سبز کمرنگ)، EDTA (لاجوردی یا سبز پررنگ) و اغزالات فلورایددار (خاکستری) می باشد ولی در روش سرنگ، بعد از کشت خون، ابتدا لوله های ضدانعقاد دار سیرات و EDTA و در نهایت لوله های لخته پر می شوند، چرا که آخرین حجم خون که وارد سرنگ می شود، کمترین احتمال آلودگی میکروبی با پوست را دارد و در مقایسه با لخته که گذر زمان برای آن فاقد اهمیت است، نمونه انعقادی و CBC به دلیل جلوگیری از تشکیل لخته (مصرف پلاکت و فاکتور انعقادی) می بایست سریعاً با ضدانعقاد ترکیب و مخلوط شوند.



شکل ۱۴-۳: رنگ بندی کلی و یال ها و ترتیب اخذ خون در روش ونوجکت (۱۰).



| رنگ | رنگ ویال                  | خلأ             | نوع نمونه | محتویات و ویژگی                                                                                                                                                            | تست های مطرح                                                                                                        |
|-----|---------------------------|-----------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | قرمز<br>Red               | خلأ و<br>غیرخلأ | سرم/لخته  | لوله ساده بدون ضد انعقاد و فعال کننده برای تشکیل لخته کامل طی ۶۰ دقیقه (برخی دارای ساچمه آغشته به فعال کننده لخته مثل کاتولین و سیلیت برای لخته ۳۰ دقیقه ای یا کمتر هستند) | تست های بیوشیمی، هورمون، سرولوژی، کومبس غیرمستقیم، بانک خون                                                         |
|     | نارنجی<br>Orange          | خلأ و<br>غیرخلأ | سرم/لخته  | لوله ترومبینه با لخته کامل و بسیار سریع ۵ دقیقه ای                                                                                                                         | سرم برای تست های بیوشیمی اورژانسی                                                                                   |
|     | قهوه ای<br>Tan            | خلأ و<br>غیرخلأ | سرم/لخته  | لوله ساده اسیدوآش                                                                                                                                                          | برای فلزات سنگین مثل سرب، آهن، کادمیوم، روی، کلسیم و ...                                                            |
|     | زرد طلایی<br>Golden       | خلأ             | سرم/لخته  | لوله ژل دار حاوی مواد فعال کننده لخته (طی ۳۰ دقیقه) برای جدا کردن سرم از لخته                                                                                              | تست های بیوشیمی، هورمون، سرولوژی، کومبس غیر مستقیم، بانک خون                                                        |
|     | زرد قناری<br>Yellow       | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | حاوی نسبت ۱ به ۷ از ACD برای حمل نمونه سیترا ته به مسافت های دور (۳-۵ بار سرو ته)                                                                                          | برای حمل خون غیرلخته به شهر دیگر یا مسافت دور (تست فلوسایتومتری یا HLA) و کشت خون                                   |
|     | خاکستری<br>Gray           | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | قدیم پلاسمای اگزالاته (۳-۵ بار سرو ته) امروزه حاوی فلوراید برای مهار گلیکولیز                                                                                              | برای عدم افت قند در صورت تاخیر در جداسازی سرم از سلول های مصرف کننده قند                                            |
|     | مشکی<br>Black             | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | نمونه سیترا ته با نسبت ۱ به ۴ (۳-۵ بار سرو ته)                                                                                                                             | تست ESR یا سدیمان                                                                                                   |
|     | بنفش<br>کمرنگ<br>Lavender | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | نمونه حاوی K2-EDTA پودر یا لعاب یا اسپری (۱۰-۱۵ بار سرو ته)                                                                                                                | برای تست CBC، تعیین گروه خون، کومبس مستقیم، تست های مولکولی، الکتروفورز هموگلوبین، A1C، فلوسایتومتری، ESR رقیق نشده |
|     | صورتی<br>Pink             | غیرخلأ          | پلاسما    | دارای ۲۰۰ uL سیترا ت و دو خط، خط پایین با نسبت ۱ به ۴ و خط بالایی با نسبت ۱ به ۹                                                                                           | خط پایین: تست ESR<br>خط بالا: تست های انعقادی                                                                       |
|     | بنفش<br>پررنگ<br>Purple   | غیرخلأ          | پلاسما    | نمونه سیترا ته با نسبت ۱ به ۹ غیرونجوجکت (۳-۵ بار سرو ته)                                                                                                                  | برای تست های انعقادی (PT، PTT، mix و ...)، VWF، فاکتوراسی، PFA، CBC دارای اگریگاسیون یا ستلایتسم پلاکتی             |
|     | سبز کمرنگ<br>L.green      | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | نمونه هپارینه (۱۰-۸ بار سرو ته)                                                                                                                                            | برای DHR، NBT، OFT و سیتوژنتیک (FISH و کاریوتایپ)                                                                   |
|     | سبز پررنگ<br>D.green      | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | نمونه حاوی K2-EDTA یا K3-EDTA مایع (۵-۸ بار سرو ته)                                                                                                                        | برای تست CBC، تعیین گروه خون، کومبس مستقیم، تست های مولکولی، Hb-elec، A1c، فلوسایتومتری                             |
|     | آبی آسمانی<br>Blue        | خلأ             | پلاسما    | نمونه سیترا ته با نسبت ۱ به ۹ ونوجکت (خلأ) (۳-۵ بار سرو ته)                                                                                                                | برای تست های انعقادی (PT، PTT و ...)، VWF، فاکتوراسی، PFA، CBC دارای اگریگاسیون یا ستلایتسم پلاکتی                  |
|     | سفید<br>Wight             | خلأ و<br>غیرخلأ | پلاسما    | نمونه حاوی K2-EDTA ژل دار (۱۰-۱۵ بار سرو ته)                                                                                                                               | برای تست های مولکولی مثل PCR                                                                                        |

شکل ۱۵-۲: درب ها و لوله های استاندارد نمونه گیری

| BD Vacutainer® Tubes With Hemogard Closure                                                     | BD Vacutainer® Tubes With Conventional Stopper                                                | Additive                                                                                                                                                                                                                                                                          | Inversions at Blood Collection* | Laboratory Use                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  Gold         |  Red/Black   | • Clot activator and gel for serum separation                                                                                                                                                                                                                                     | 5                               | BD Vacutainer® SST™ Tube for serum determinations in chemistry. Tube inversions ensure mixing of clot activator with blood. Blood clotting time: 30 minutes.                                                                                                                          |
|  Light Green  |  Green/Gray  | • Lithium heparin and gel for plasma separation                                                                                                                                                                                                                                   | 8                               | BD Vacutainer® PST™ Tube for plasma determinations in chemistry. Tube inversions prevent clotting.                                                                                                                                                                                    |
|  Red          |  Red         | • None (glass)<br>• Clot activator (plastic)                                                                                                                                                                                                                                      | 0<br>5                          | For serum determinations in chemistry, serology, and immunohematology testing (ABO grouping, Rh typing, antibody screening, red cell phenotyping and DAT testing). Tube inversions ensure mixing of clot activator with blood and clotting within 60 minutes.                         |
|  Orange       |  Gray/Yellow | • Thrombin                                                                                                                                                                                                                                                                        | 8                               | For stat serum determinations in chemistry. Tube inversions ensure complete clotting, which usually occurs in less than 5 minutes.                                                                                                                                                    |
|  Royal Blue   |                                                                                               | • Sodium heparin (glass)<br>• Na <sub>2</sub> EDTA (glass)<br>• No additive (glass serum)<br>• Clot activator (plastic serum)<br>• K <sub>2</sub> EDTA(plastic)                                                                                                                   | 8<br>8<br>0<br>5<br>8           | For trace-element, toxicology and nutritional-chemistry determinations. Special stopper formulation provides low levels of trace elements (see package insert)                                                                                                                        |
|  Green        |  Green       | • Sodium heparin<br>• Lithium heparin                                                                                                                                                                                                                                             | 8<br>8                          | For plasma determinations in chemistry. Tube inversions prevent clotting.                                                                                                                                                                                                             |
|  Gray       |  Gray      | • Potassium oxalate/sodium fluoride<br>• Sodium fluoride/Na <sub>2</sub> EDTA<br>• Sodium fluoride (serum tube)                                                                                                                                                                   | 8<br>8<br>8                     | For glucose determinations. Oxalate and EDTA anticoagulant will give plasma samples. Sodium fluoride is the antiglycolytic agent. Tube inversions ensure proper mixing of additive and blood.                                                                                         |
|  Tan        |                                                                                               | • Sodium heparin (glass)<br>• K <sub>2</sub> EDTA (plastic)                                                                                                                                                                                                                       | 8<br>8                          | For lead determinations. This tube is certified to contain less than .01 µg/mL(ppm) lead. Tube inversions prevent clotting.                                                                                                                                                           |
|  Yellow     |  Yellow    | • Sodium polyanethanol sulfonate (SPS)<br>• Acid citrate dextrose additives (ACD):<br><b>Solution A -</b><br>22.0g/L trisodium citrate,<br>8.0g/L citric acid,<br>4.8g/L dextrose<br><b>Solution B -</b><br>13.2g/L trisodium citrate,<br>4.8g/L citric acid,<br>14.7g/L dextrose | 8<br>8<br>8                     | SPS for blood culture specimen collections in microbiology. Tube inversions prevent clotting.<br><br>ACD for use in blood bank studies, HLA phenotyping, DNA and paternity testing.                                                                                                   |
|  Lavender   |  Lavender  | • Liquid K <sub>2</sub> EDTA (glass)<br>• Spray-coated K <sub>2</sub> EDTA (plastic)                                                                                                                                                                                              | 8<br>8                          | K <sub>2</sub> EDTA for whole blood hematology determination and immunohematology testing (ABO grouping, Rh typing, antibody screening). Tube inversions prevent clotting.                                                                                                            |
|  White      |                                                                                               | K <sub>2</sub> EDTA with gel                                                                                                                                                                                                                                                      | 8                               | For use in molecular diagnostic test methods (such as but not limited to polymerase chain reaction (PCR) and/or branched DNA (bDNA) amplification techniques).                                                                                                                        |
|  Pink       |                                                                                               | • Spray-coated K <sub>2</sub> EDTA                                                                                                                                                                                                                                                | 8                               | For whole blood hematology determinations and immunohematology testing (ABO grouping, Rh typing, antibody screening). Designed with special cross-match label for required patient information by the AABB. Tube inversions prevent clotting.                                         |
|  Light Blue |  Clear     | • Buffered sodium citrate 0.105M (~3.2%)glass<br>0.109M (~3.2%)plastic<br>• Citrate, theophylline, adenosine, dipyrindamole (CTAD)                                                                                                                                                | 3-4<br>3-4                      | For coagulation determinations. NOTE: Certain tests may require chilled specimens. Follow your institution's recommended procedures for collection and transport. CTAD for selected platelet function assays and routine coagulation determination. Tube inversions prevent clotting. |
|  Clear      |                                                                                               | • None (plastic)                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0                               | For use as a discard tube or secondary specimen collection tube.                                                                                                                                                                                                                      |

| Partial-draw Tubes<br>(2ml and 3ml: 13 x 75 mm)                                              | Small-volume Pediatric Tubes<br>(2ml: 10.25 x 47mm, 3ml: 10.25 x 64 mm)           |                                                                                      |        |                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  Red        |  | • None                                                                               | 0      | For serum determinations in chemistry and serology. Glass serum tubes are recommended for blood banking. Plastic tubes contain clot activator and are not recommended for blood banking. Tube inversions ensure mixing of clot activator with blood and clotting within 60 minutes. |
|  Green      |  | • Sodium heparin<br>• Lithium heparin                                                | 8<br>8 | For plasma determinations in chemistry. Tube inversions prevent clotting.                                                                                                                                                                                                           |
|  Lavender   |  | • Liquid K <sub>2</sub> EDTA (glass)<br>• Spray-coated K <sub>2</sub> EDTA (plastic) | 8<br>8 | K <sub>2</sub> EDTA and K <sub>3</sub> EDTA for whole blood hematology determinations and immunohematology testing (ABO grouping, Rh typing, antibody screening). Tube inversions prevent clotting.                                                                                 |
|  Light Blue |  | • 105M sodium citrate (~3.2%)                                                        | 3-4    | For coagulation determinations. Tube inversions prevent clotting. NOTE: Certain tests may require chilled specimens. Follow your institution's recommended procedures for collection and transport of specimen.                                                                     |

شکل ۱۶-۳: راهنمای لوله‌های استاندارد خون‌گیری برای لوله‌های ونوجکت (ستون اول) و لوله‌های معمولی (ستون دوم)، مواد افزودنی داخل هر کدام از آنها (ستون سوم)، تعداد سروته کردن لوله هنگام خون‌گیری (ستون چهارم) و موارد مصرف هر کدام از آنها (ستون پنجم) (۴).

## ۵- ضدانعقادهای مورد استفاده در بانک خون:

در صورت کهنگی و ماندن خون حاوی ضد انعقاد، LDH و پتاسیم پلاسما به دلیل همولیز اریتروسیت‌ها افزایش یافته، تغییرات الکترولیتی و در نتیجه کاهش ATP و انرژی سلولی نیز باعث تغییرات مورفولوژیکی و عملکردی در همه سلول‌ها و به خصوص RBCها می‌شود. در بانک خون و در نگهداری طولانی مدت خون‌های اهدایی این تغییرات فاحش‌تر بوده و در نتیجه نیاز به استفاده از ضدانعقادها جدیدتر احساس می‌شود. ضدانعقادهای بانک خون علاوه بر موارد ضدانعقاد، می‌توانند دارای مواد نگهدارنده، مواد افزودنی AS<sup>۱</sup> و یا مواد جوان‌کننده (Rejuvesol) نیز باشند که بسته به مقدار و نوع ترکیب آنها، خون‌های اهدایی تاریخ مصرف مختلفی می‌توانند داشته باشند (فصل بانک خون). به حداکثر مدت زمان نگهداری هر کیسه خون در شرایط بانک خون (۶-۱ درجه سانتی‌گراد) و براساس نوع ضدانعقاد آن، Shelf life یا عمر نگهداری گفته می‌شود. بعد از این مدت نگهداری، حداقل ۷۵-۷۰ درصد از گلبول‌های قرمز کیسه خون باید بتوانند ۲۴ ساعت بعد از تزریق، در گردش خون بیمار زنده مانده و عملکرد نرمال خود را ادامه دهند. در همه انواع ضدانعقادهای بانک خون، سیتрат با نسبت ۱ به ۷ به‌عنوان ماده اصلی ضدانعقاد بوده و مابقی برای منبع انرژی (گلوکز، آدنین، اینوزین، فسفات و ATP)، منبع بافری، تثبیت‌کننده غشاء و غیره به‌کار می‌روند و از آنجایی که همگی ضدانعقادهای بانک خون علاوه بر سیترات، مواد نگهدارنده دیگری نیز در ترکیب خود دارند، لذا در کل به‌عنوان ضدانعقاد-نگهدارنده مطرح هستند که از آن دسته می‌توان به CPD، ACD، CPD-A1 و CD2D اشاره نمود. فرآورده‌های خونی نیز همانند داروها، مجوز دوره شلف‌لایف خود را از موسسه FDA یا سایر نهادهای معتبر بین‌المللی دریافت می‌کنند. برای گرفتن خون جهت بانک خون هرگز از هپارین (به دلیل نیمه عمر ۸ ساعته)، اگزالات و EDTA (به دلیل تخریب فاکتورهای V و VIII) استفاده نمی‌شود. حداکثر حجم خون قابل خون‌گیری در هر بار اهداء حدود ۱۰/۵ ml/Kg از وزن بدن فرد است. هر ml خون انسان دارای ۱/۰۵۳ گرم وزن است که با این حساب، هر فردی می‌تواند ۱۱/۰۶ گرم خون به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن خود، اهداء کند.

مثال: فردی ۷۰ کیلوگرمی با شرایط نرمال، حداکثر چند گرم خون می‌تواند اهداء کند؟

$$70 \times 10.5 / 0.53 = 774 \text{ gr}$$

## الف) ضدانعقاد-نگهدارنده ACD (اسیدسیتریک، سیترات، دکستروز):

ACD دارای دو فرمول مختلف A (با pH: 4.98) و B (با pH: 5.6) است که در دنیای بانک خون اغلب از فرمول A آن استفاده می‌شود. برای ساخت فرمول A (ACD-A)، ۷/۳g اسید سیتریک با یک مولکول آب (معادل ۴۲mmol/L)، ۲۲g سیترات تری سدیم با دو مولکول آب (معادل ۷۵mmol/L) و ۲۴/۵g دکستروز (معادل ۱۳۹mmol/L) را به حجم یک لیتر می‌رسانیم (Na<sup>+</sup>: 224mEq/L و اوسمولاریته ۴۹۹mOsmol/L). برای ساخت فرمول B (ACD-B)، ۴/۸g اسید سیتریک، ۱۳/۲g سیترات و ۱۴/۷g دکستروز را به حجم یک لیتر می‌رسانیم. پس از حل کامل مواد و تنظیم pH در ۵/۵-۴/۵، ACD را در دمای ۱۲۱°C و فشار 1bar (معادل 10<sup>5</sup> پاسکال) اتوکلاو نموده و بعد از استریلیزاسیون مصرف می‌کنیم (البته امروزه توصیه می‌شود که ACD به جای اتوکلاو، توسط فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل شود). ۷۵ml ACD برای جلوگیری از انعقاد ۵۰۰ml خون کفایت می‌کند (با نسبت ۱/۵ به ۱ یا ۱ به ۷) و باعث نگهداری کیسه‌های خون تا ۲۱ روز می‌شود. ACD اولین بار در سال ۱۹۴۵ و همزمان با جنگ جهانی دوم توسط جان فریمین لوتیت و پاتریک میلسون ابداع و فرمول فوق توسط NIHA (انستیتو بین‌المللی بهداشت آمریکا) تأیید شده است. این ضد انعقاد هنوز هم برای پلاسمافرز و دریافت پلاکت و پلاسمای آفریزس با نسبت ۱ به ۱۵-۱۲ مورد استفاده قرار می‌گیرد (ACD-A یعنی فرمول Aی ACD و نشان‌گر حضور آدنین نیست). اگر به ACD کلرید سدیم هم افزوده شود، محلول Elsevers تهیه می‌شود که از ۰/۵۵ گرم اسید سیتریک، ۸ گرم سیترات سدیم، ۲۰/۵ گرم دکستروز، ۴/۲ گرم کلرید سدیم تهیه می‌شود ولی می‌توان در فرمول اصلاحی به آن ۰/۳۲ گرم کلر آمفینیکل، ۲ گرم اینوزین و ۰/۵ گرم نئومایسین سولفات نیز افزوده و نهایتاً حجم را با DW به یک لیتر و pH را به ۶/۷-۶/۶ رسانده و بعد از فیلتر ۰/۲۲ میکرون مورد استفاده قرار داد. این محلول در سال ۱۹۴۱

## نمونه‌گیری از خون و دیگر مایعات بدن

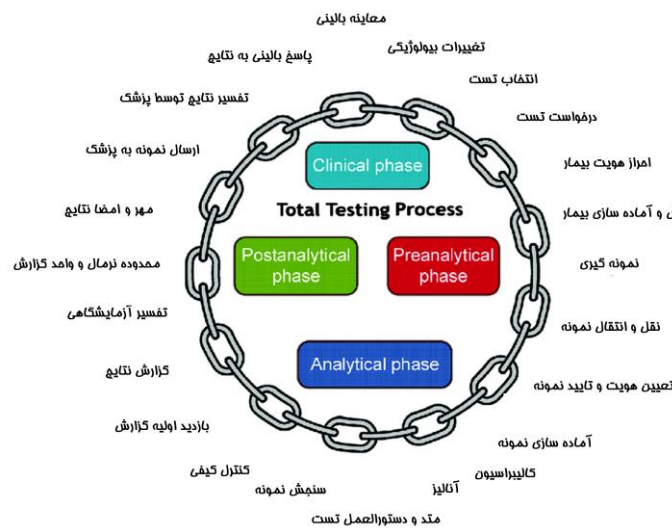


در این فصل موارد زیر مورد بحث قرار می‌گیرند:

|     |                                                                |
|-----|----------------------------------------------------------------|
| ۱۲۶ | متغیرها، اندیکاتورها و خطاهای پره آنالیتیکال در آزمایشگاه..... |
| ۱۳۲ | نرم افزار پذیرش و نسخه خوانی.....                              |
| ۱۳۷ | اصول و قواعد خون‌گیری.....                                     |
| ۱۳۹ | انواع سرنگ‌ها و سرسوزن‌ها.....                                 |
| ۱۴۴ | خون‌گیری مویرگی.....                                           |
| ۱۴۵ | مکان‌های خون‌گیری وریدی.....                                   |
| ۱۴۵ | وریدهای ژوگولار، ساب کلاوین، فمورال و سافنوس.....              |
| ۱۴۷ | خون‌گیری شریانی.....                                           |
| ۱۴۸ | تفسیر تست ABG.....                                             |
| ۱۵۲ | وسایل و مواد مورد نیاز خون‌گیری.....                           |
| ۱۵۳ | دستگاه ورید یاب اتوماتیک.....                                  |
| ۱۵۴ | آمنیوسنتز و نمونه برداری از پرزهای آمنیوتیک.....               |
| ۱۵۵ | خون بند ناف، جداسازی سلول‌های بنیادی و فریز آن.....            |
| ۱۵۷ | نمونه CSF و نمونه‌برداری LP (لامبار پونکسیون).....             |
| ۱۶۱ | نمونه پلور و پریکاردیوم.....                                   |
| ۱۶۲ | نمونه آسیت.....                                                |
| ۱۶۴ | نمونه سینوویال (مایع مفصلی).....                               |
| ۱۶۵ | نمونه ادرار و دستگاه‌های یورین آنالایزر.....                   |
| ۱۶۷ | نمونه پاپ اسمیر و کولپوسکوپی.....                              |
| ۱۷۱ | نمونه‌گیری از مغزاستخوان.....                                  |
| ۱۸۰ | نمونه‌گیری مدفوع، ناخن و پوست.....                             |
| ۱۸۱ | نمونه‌گیری سمن.....                                            |
| ۱۸۲ | نکات نمونه‌گیری.....                                           |
| ۱۸۴ | نمونه‌گیری نازال.....                                          |
| ۱۸۴ | نکات نمونه‌گیری.....                                           |

## متغیرها، اندیکاتورها و فطاهای پره آنالیتیکال در آزمایشگاه:

انجام یک تست آزمایشگاهی وابسته به یک فرایند چند مرحله‌ای است که به‌طور کلی به سه مرحله (۱) پیش‌سنجش، (۲) حین سنجش و (۳) پس‌سنجش تقسیم می‌شود. **مراحل پیش سنجش** (پره‌آنالیتیکال) شامل رویکرد، مصاحبه، معاینه و تشخیص پزشک، انتخاب تست، نسخه نویسی (دستی یا الکترونیکی)، آموزش اولیه بیمار توسط پزشک، نسخه‌خوانی، آمادگی بیمار، احراز هویت بیمار (با کارت شناسایی شناسنامه‌دار)، پذیرش بیمار، تعیین بیمه و هزینه بیمار، لیبل گذاری لوله‌ها، نمونه‌گیری، حمل و نقل نمونه، سانتیفریژ، آماده‌سازی نمونه (جدا کردن سرم و پلاسما)، تقسیم نمونه (مرتب کردن نمونه و تعیین سهم نمونه بر اساس بخش‌ها) و در نهایت تهیه و ثبت لیست کاری از آزمایش‌های مورد نیاز در هر بخش آزمایشگاه، کارهای دفتری، مستندسازی، نگهداری و بایگانی بخش پذیرش می‌باشد. **مراحل حین سنجش** (آنالیتیکال) شامل روش آزمایش، دستورالعمل و SOP آنها، چگونگی استاندارد و کالیبراسیون، مستند سازی، کنترل کیفی معرف‌ها و تجهیزات، تعیین صحت، دقت، حساسیت، اختصاصیت، بایاس، خطای تام و تعیین عدد سیگمای آزمایش‌ها می‌باشند. در نهایت **مراحل پس سنجش** (پست آنالیتیکال) نیز شامل وارد کردن پاسخ‌ها، تایپ و آماده سازی جواب‌ها، تعیین محدوده نرمال، بایگانی پاسخ‌ها، تضمین کیفیت، ارزیابی، تفسیر و امضا آزمایش‌ها، پاکت گذاری، تحویل یا ارسال دستی، پیکی یا مجازی نتایج به بیمار یا پزشک و تفسیر بالینی پزشک می‌باشد.

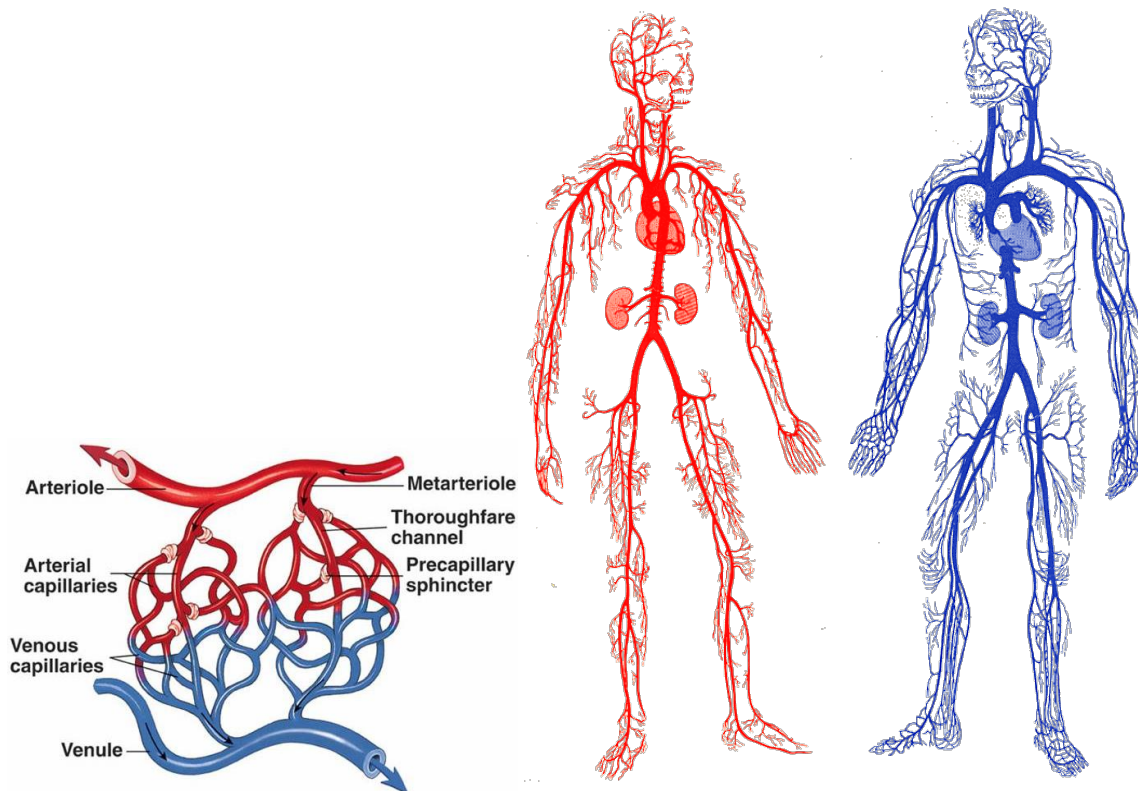


شکل ۱-۳: مراحل مختلف فرایند آزمایش تشخیص طبی (۲۰).

به خطا در هر کدام از مراحل که قبل رسیدن نمونه به بخش آنالیز اتفاق می‌افتد، خطاهای **Pre-Analytical** یا **Pre-Examination** گفته می‌شود که به دو دسته تقسیم می‌شود: (۱) خطاهایی که حتی قبل از ورود بیمار به آزمایشگاه رخ داده و مسبب بروز آنها پزشک معالج می‌باشد و (۲) خطاهایی که بعد از ورود به آزمایشگاه ولی قبل از رسیدن به بخش آنالیز و آزمایش تست رخ داده و مسبب آن کارکنان بخش پذیرش، نمونه‌گیری، جداسازی، تقسیم و انتقال نمونه هستند. به‌دسته اول خطاهای پیش-پیش سنجشی (**Pre-Pre-Analytical**) یا **پیش آزمایشگاهی** (**Pre-Laboratory**) و به‌خطاهای دسته دوم، **خطاهای پیش سنجشی** (**Pre-Analytical**) گفته می‌شود. از خطاهای پیش سنجشی می‌توان به رویکرد، مصاحبه، معاینه و تشخیص غلط پزشک (تشخیص آنمی فقر آهن به‌جای تالاسمی)، انتخاب تست نادرست (درخواست آهن و فریتین بجای الکتروفورز هموگلوبین)، درخواست تست تاریخ گذشته (درخواست تست قدیمی و کم حساسیت LE به‌جای ANA)، درخواست تست در زمان نادرست (درخواست تست G6PD بلافاصله بعد از حمله همولیتیک بجای درخواست تست یک ماه بعد حمله)، نسخه نویسی غلط یا بدخط (درخواست CD مارکرهای لنفوتیدی T سل به‌جای B سل)، عدم آموزش اولیه بیمار (عدم توصیه به مصرف روتین وارفارین از عصر روز قبل آزمایش) یا آموزش غلط توسط پزشک (مثل ناشتایی حتی بدون مصرف آب) اشاره نمود. این عوامل باعث بروز خطا در نتایج آزمایش بدون تقصیر آزمایشگاه می‌شوند، بطوری‌که اغلب ناآگاهی یا بی‌توجهی پزشک معالج یا بیمار باعث بروز آن می‌شود. از خطاهای پیش سنجشی می‌توان به عدم احراز هویت بیمار (به‌خصوص در تست‌های اعتیاد، بارداری، هپاتیت و ایدز)، عدم گرفتن شرح حال یا تشخیص اولیه (به‌خصوص در تست‌های فلوسایتومتری و MRD)، عدم بررسی ناشتایی یا شرایط اولیه خاص (مثل عدم رعایت ناشتایی در تست کلسترول)، عدم بررسی مصرف دارو (مثل CBC بعد از تجویز G-CSF)، عدم دریافت صحیح نمونه ارسالی (مثل دریافت نمونه پلاسما هم محیط برای تست‌های انعقادی)، نمونه‌گیری نادرست (مثل تست LP تروماتیک تپ)، تعیین غلط نوع نمونه بیولوژیکی (مثل گرفتن نمونه حلق یا خلط به‌جای نمونه نازال برای کرونا)، اشتباه در تعیین نوع ویال (مثل استفاده از ویال درب سبز هپارینه برای تست‌های HLA-Typing)، لیبل گذاری غلط ویال (مثل زدن لیبل کومیس مستقیم روی ویال یا درب قرمز، به‌جای درب بنفش)، انتخاب غلط نوع ضد انعقاد (مثل استفاده از EDTA به‌جای هپارین برای تست NBT یا DHT)، تثبیت کننده نادرست (مثل استفاده از فیکساتیو ادراری اسید بوریک بجای فلوراید در تست قند)، زمان، دما و مکان نادرست نگهداری (مثل نگهداری نمونه انعقادی تا ۶ ساعت از نمونه‌گیری و در بن‌ماری ۳۷ درجه)، انتقال نادرست نمونه در مسافت کوتاه و بلند (مثل عدم رعایت زنجیره سرد)، تاخیر در آماده سازی نمونه، تبخیر نمونه، فریز و ذوب مکرر نمونه، لیبل غلط یا ناخوانا، عدم رعایت ترتیب پر کردن ویال‌ها، بستن گارو به مدت طولانی، خون‌گیری از مسیر محلول‌های



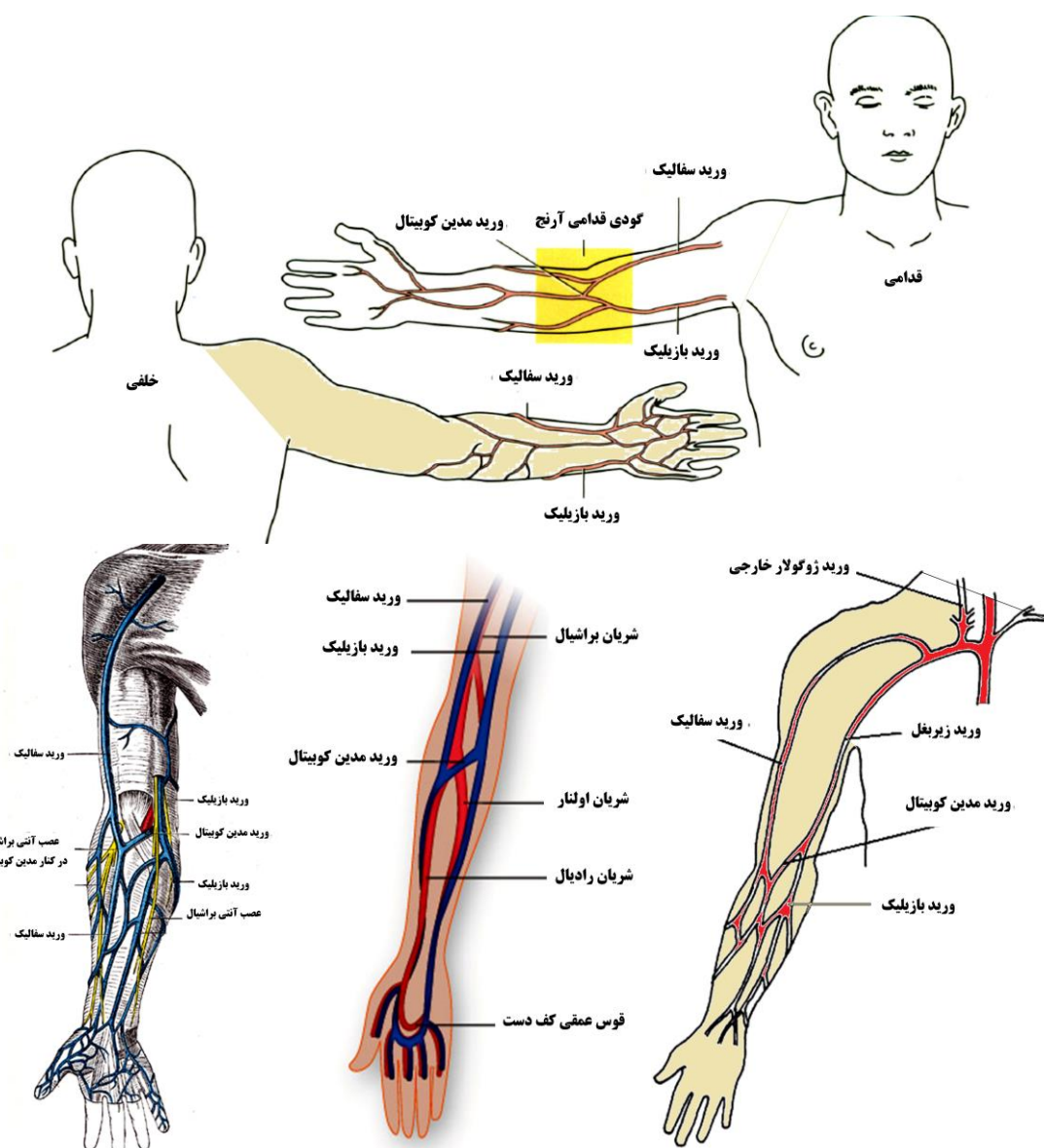
بزرگسالان حاصل شده و لذا احتمال آلودگی با مایع میان بافتی را دارد که این مایع باعث رقت نسبی خون و ورود فاکتور بافتی (TF3) و دیگر عوامل ترومبوژن بافتی به خون می‌شود که با تحریک انعقاد و اگرگاسیون پلاکتی باعث تداخل در شمارش پلاکت خون و اختلال در تست‌های انعقادی می‌شود، لذا هرگز از خون مویرگی نمی‌توان برای انجام تست‌های انعقادی استفاده نمود.



شکل ۱۱-۳: شبکه گسترده وریدی و شریانی در بدن و تبدیل مویرگی ورید به شریان در بافت‌های مختلف بدن (۴).

جهت خون‌گیری از بدن می‌توان از سه منبع ورید، شریان و مویرگ استفاده نمود. خون‌گیری از شریان‌ها و وریدهای بسیار بزرگ مثل آئورت و وناکوا به دلیل فشار بسیار زیاد، عمقی و غیرقابل دسترس بودن آنها و همچنین خطرناک بودنشان هرگز انجام نمی‌شود، خون‌گیری از وریدچه‌ها و شریانچه‌ها نیز به دلیل قطر کم و احتمال پارگی که دارند، به ندرت انجام می‌شود ولی خون‌گیری از وریدهای معمولی مثل وریدهای جلوی آرنج دست<sup>۱</sup> (ورید سفالیک<sup>۲</sup>، بازیلیک<sup>۳</sup> و مدیال کوبیتال<sup>۴</sup>) بیشترین موارد خون‌گیری را تشکیل می‌دهند. بجز وریدهای آرنج دست، از وریدهای فمورال<sup>۵</sup>، ژوگولار<sup>۶</sup>، ساب‌کلاوین<sup>۷</sup>، سافنوس<sup>۸</sup>، وریدهای پشت دست، پا و قوزک پا نیز می‌توان در شرایط خاصی مثل چاقی شدید، سوختگی دست، بد رگ بودن بیمار، خون‌گیری‌های مکرر، سرم داشتن بیمار و ... استفاده نمود. در بین وریدهای دست، **ورید مدیال کوبیتال** که ورید بازیلیک را به ورید سفالیک وصل نموده و از قطر، برجستگی و جایگاه ایده‌آلی برخوردار است، بهترین ورید برای خون‌گیری‌های رایج بوده و حدود ۹۵ درصد خون‌گیری‌های روزمره آزمایشگاه‌ها از طریق این ورید صورت می‌گیرد. همواره برای خون‌گیری از وریدها که خون برگشتی را حمل می‌کنند، بستن یک گارو (تورنیکت) باعث برجستگی بهتر آن و جلوگیری از کلاپس عروق حین خون‌گیری می‌شود ولی می‌بایست دقت نمود که کل مدت زمان بستن گارو نباید بیش از یک دقیقه باشد، چراکه این عمل باعث تغلیظ کاذب خون و اختلال در تست CBC و برخی از تست‌های بیوشیمی می‌شود. برخلاف نواحی پشت آرنج که از درد خون‌گیری ناچیزی برخوردار هستند، وریدهای ساعد و روی دست نرم، فرار، دردناک و کم قطر بوده و به‌جای خون‌گیری، اغلب جهت وصل کردن آنژیوکت و کاتتر به کار می‌روند.

- 1 Ante Cubital Fossa
- 2 Cephalic Vein
- 3 Medial Cubital Vein
- 4 Basilic Vein
- 5 Femoral Vein
- 6 Jugular Vein
- 7 Subclavian Vein
- 8 Saphenous Vein



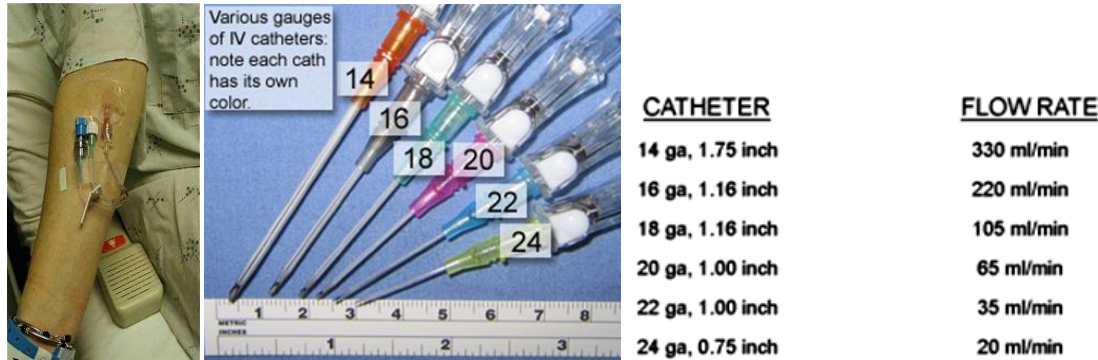
شکل ۱۲-۳: آناتومی عروقی و جایگاه ایده آل خون‌گیری از دست. در تصویر پایین-وسط جایگاه رشته‌های عصبی نیز نشان داده شده که فرد خون‌گیری کننده می‌بایست به آنها نیز توجه کند (۴).

در برخی از بیماران بستری می‌توان به جای خون‌گیری مستقیم از وریدها، از ست آنژیوکت و یا کاتتر داخل وریدی<sup>۱</sup> وصل شده به بیمار برای خون‌گیری استفاده نمود. البته با توجه به این‌که اغلب مایعات و داروهای تزریقی باعث رقت خون، تغییر پارامترهای بیوشیمیایی و الکترولیتی و حتی باعث همولیز کاذب می‌شوند، لذا باید توجه داشت که (۱) جریان سرم یا ماده تزریقی متصل به آن حداقل ۱۰ دقیقه قبل از خون‌گیری قطع شود، (۲) برای اینکه ماده تزریقی باقی مانده در داخل کاتتر حین خون‌گیری وارد نمونه خون بیمار نشود، ۲ml از خون نمونه‌گیری شده در ابتدای سرنگ را دور بریزند یا این‌که بعد از ۲ml خون‌گیری، سرنگ خون‌گیری را تعویض کنند. (۳) اگر به دستی سرم وصل باشد و هدف خون‌گیری از ورید باشد (نه کاتتر)، می‌بایست از دست دیگر بیمار خون‌گیری شود و اگر به هردو دست سرم وصل باشد، می‌بایست سرم یکی از دست‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه قطع نمود. IV-Catheter ها سه فرم **مدادی**، **پروانه‌ای**<sup>۲</sup> و **W-Port** (یا **Cannula**) دارند که برای خون‌گیری از دو فرم اول، ابتدا می‌بایست شلنگ سرم را از کاتتر در آورده و سپس با اتصال سرنگ به کاتتر اقدام به خون‌گیری یا تزریق دارو نمود، یا این‌که شیر ترمینال‌های پلاستیکی سه‌شاخه به انتهای آن اضافه نموده و از طریق آن خون‌گیری یا تزریق نمود. W-Port خود دارای یک مجرای مجزا برای تزریق یا خون‌گیری می‌باشد که می‌توان از طریق آن نمونه‌گیری یا تزریق نمود. سرسوزن کاتترها نیز همانند سرنگ‌ها دارای اندازه‌های استاندارد هستند که از ۱۴G تا ۲۴G تقسیم بندی می‌شوند ولی با این تفاوت که سرسوزن سرنگ-ها از ۱۰G تا ۳۴G تقسیم بندی می‌شوند. در کاتترهای کانولا سرسوزن در داخل یک مجرای پلاستیکی منعطف قرار دارد که پس از ورود به رگ، سرسوزن فلزی آن جدا شده و فقط مجرای پلاستیک آن در داخل رگ باقی می‌ماند که به دلیل نرمی و انعطاف، باعث زخم یا درد عروق نمی‌شوند. گاهی برای برخی

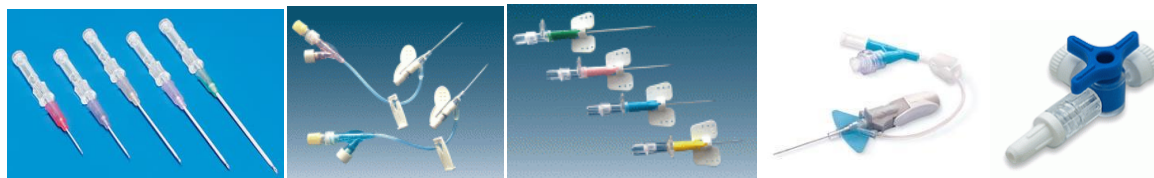
1 IV-Catheter

2 Butterfly, Pen Type & W-Port

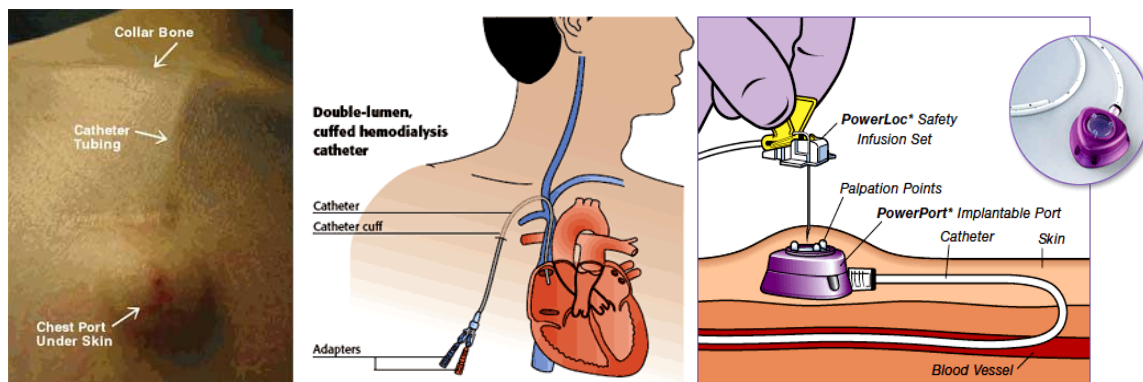
از افراد که مادام‌العمر نیاز به تزریق داخل عروقی هستند (مثل بیماران تالاسمی، هموفیلی، نقص ایمنی و ...)، به‌خاطر جلوگیری از تخریب رگ‌ها از کاتترهای دائمی زیر پوستی استفاده می‌کنند که طی یک عمل جراحی سرپایی و کاشت کاتتر، مجرای پلاستیکی آن در داخل عروق قرار گرفته و ناحیه تزریقی آن نیز به‌صورت برجسته در زیر پوست قرار می‌گیرد و لذا تزریقات مستقیم به این ناحیه انجام می‌شود. گاهی به دلیل پیش‌بینی خون‌گیری یا تزریقات مکرر، حجیم و طولانی در برخی بیماران بستری (مثل بیماران دیالیزی، لوسمیک و ...)، کاتترهایی به نام کاتتر Cuff را مستقیم به وناکاوی فوقانی بیمار متصل می‌کنند تا خون‌گیری و یا تزریقات، مستقیم از طریق دهلیز قلب صورت بگیرند. لازم به ذکر است، از بازویی که حاوی فیستول شریانی-وریدی دیالیزی است، نباید بدون اجازه پزشک خون‌گیری شود.



شکل ۱۳: سایزهای مختلف کاتترها که برای نوزادان زیر ۱ سال از کاتتر 24G، برای کودکان ۸-۱ سال از کاتتر ریز 22G و برای افراد بزرگ‌تر، بسته به سایز ورید از کاتترهای بزرگ‌تر 14-20G استفاده می‌شود (۴).



شکل ۱۴: انواع کاتترهای مدادی، پروانه و کانولا و شیرترمینال‌های متصل شونده به کاتترها (جهت تزریقات یا خون‌گیری همزمان از کاتترها) (۴).



شکل ۱۵: کاتترهای دائمی قابل کاشت در زیر پوست که برای بیماری‌های مزمن با تزریقات طول مدت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴).

سرسوزن سرنگ‌ها نیز دارای رنگ، قطر داخلی، قطر خارجی و طول متفاوت ولی استاندارد هستند که بسته به سن بیمار، حجم خون‌گیری یا تزریق، نوع رگ، نوع سرنگ و اهداف کاربردی از 10G تا 30G تقسیم بندی می‌شوند. اندازه G با قطر سرسوزن رابطه عکس داشته و به‌عنوان مثال سرسوزن انسولین، 30G (زرد کمرنگ)، سرسوزن ۲ میلی‌لیتری، 23-24G (آبی رنگ)، سرسوزن ۵ میلی‌لیتری، 21-22G (سبز و خاکستری رنگ)، سرسوزن ۱۰ میلی‌لیتری، 19-20G (زرد رنگ) و سرسوزن آسپیراسیون مغزاستخوان (سوزن جمشیدی) و سرسوزن تزریق یا اهدای خون موجود در کیسه‌های خون، 16-18G (بی-رنگ) هستند که با توجه به خون‌گیری‌های روتین ۵ml، عمده‌ترین و شایع‌ترین سرسوزن مصرفی 21G می‌باشد. سرسوزن 21G سبز رنگ بوده، قطر داخلی آن 0.5mm، قطر خارجی آن 0.8mm و طول آن ۱-۱/۴ اینچ (۳۸-۲۵mm) می‌باشد. هنگام نمونه‌برداری می‌بایست دقت شود که (۱) قبل از خون‌گیری، مشخصات کامل بیمار، لیبل حاوی بارکد ستونی یا نقطه‌ای بیمار، نام پزشک و بخش بستری و دیگر اطلاعات مورد نیاز آزمایشگاه بر روی لوله آزمایش درج گردد، (۲) هویت بیمار شناسایی و تأیید شود، (۳) سطح پوست تمیز و استریل شود، (۴) حجم خون مورد نیاز برآورد شده و فقط یک‌بار از بیمار خون‌گیری شود، (۵) با توجه به رنگ درب ویال‌های تجاری، لوله و ضد انعقاد مناسبی انتخاب شود (بنفش K-EDTA دار برای CBC، مشکی سیتратه برای ESR، آبی سیتراته برای PT/PTT، زرد ACD دار برای فلو سائتومتتری، قرمز بدون ضدانعقاد برای بیوشیمی، قرمز گرانول‌دار برای بیوشیمی‌های

## اصول، مقدمات و تجهیزات محلول سازی



در این فصل موارد زیر مورد بحث قرار می گیرند:

|     |                                                                                         |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| ۱۹۸ | اصول و مقدمات محلول سازی                                                                |
| ۱۹۸ | آب آزمایشگاهی                                                                           |
| ۲۰۱ | اسمومتری نقطه‌ی انجماد                                                                  |
| ۲۰۶ | کاغذهای صافی واتمن                                                                      |
| ۲۰۹ | وسایل شیشه‌ای آزمایشگاه                                                                 |
| ۲۱۰ | کلاس‌بندی شیشه‌آلات                                                                     |
| ۲۱۳ | پی‌پت آزمایشگاهی                                                                        |
| ۲۱۸ | سمپلر یا میکروپیپت /فین پیپت                                                            |
| ۲۲۰ | روش کار با سمپلر                                                                        |
| ۲۲۸ | کنترل کیفیت سمپلر                                                                       |
| ۲۳۳ | کنترل کیفی پی پت                                                                        |
| ۲۳۶ | ترازو یا بالانس آزمایشگاهی                                                              |
| ۲۳۷ | سیستم وکیوم و دمش هوا                                                                   |
| ۲۳۹ | محلول سازی در آزمایشگاه                                                                 |
| ۲۴۰ | محلول‌سازی از مایعات بر اساس غلظت مولار و نرمال از محلول مادر غلیظ                      |
| ۲۴۱ | رقیق‌سازی از مایعات با درصد وزنی یا درصد خلوص جدید و تهیه درصد حجمی V/V                 |
| ۲۴۲ | محلول‌سازی از جامدات (پودر، گرانول و قرص) بر اساس غلظت مولار و نرمال از محلول مادر غلیظ |
| ۲۴۳ | محلول‌سازی بر اساس غلظت مولال (مولالیته)                                                |
| ۲۴۴ | تهیه درصد جرمی W/W و حجمی V/V و وزنی/حجمی W/V                                           |
| ۲۴۵ | محلول سازی به ppm                                                                       |
| ۲۴۶ | محلول سازی به صورت نسبت                                                                 |
| ۲۴۷ | محلول سازی به صورت رقت سریالی (سریال دایلوژن)                                           |
| ۲۴۹ | آماده‌سازی داروهای مهارگر پروتئازوم برای تیمار با رده‌های سلولی میلوما                  |
| ۲۵۲ | نکات محلول سازی                                                                         |

## اصول و مقدمات محلول سازی:

محلول سازی یعنی حل کردن یک پودر یا محلول غلیظ (ماده حل شونده) در محلول رقیق دیگر (حلال) که در بیشتر موارد، حلال، آب دیونیزه می باشد. این کار با وزن کردن پودر یا برداشتن حجم مشخصی از ماده حل شونده (با فاشق یا اسپاتول) و حل آن در مقدار مشخصی حلال در بشر یا ارلن صورت می گیرد. در حل کردن مواد جامدی که سخت حل می شوند، پودر و حلال را در بشر ریخته و داخل آن میله مغناطیسی (مگنت) قرار داده و بشر روی هات پلیت قرار داده و با چرخش مگنت فرایند حل شدن تسهیل می شود. در پایان کار، برای حذف پارتیکل های حل نشده، محلول از کاغذ صافی یا فیلتر عبور داده شده و صاف یا حتی استریل می شود. لذا برای این منظور باید ترازوی خوب، سمپلرهای دقیق، شیکر، هات پلیت مگنت دار، پی پت، بشر، ارلن، بورت، مزور، قیف، کاغذ صافی، فیلترهای قرقره ای، پی پتور، آب آزمایشگاهی، دستگاه دیونایزر یا آب مقطر گیری، pH متر، اسمومتر، کنداکومتر، سیستم وکیوم (پنوماتیک) و ... نیاز هست. لذا قبل از شروع مباحث اصلی محلول سازی، تجهیزات مرتبط با محلول سازی را مورد بحث قرار می دهیم.



شکل ۱-۴: وسایل حجم سنجی شیشه ای مرسوم در آزمایشگاه (۸)

### ۱) آب آزمایشگاهی:

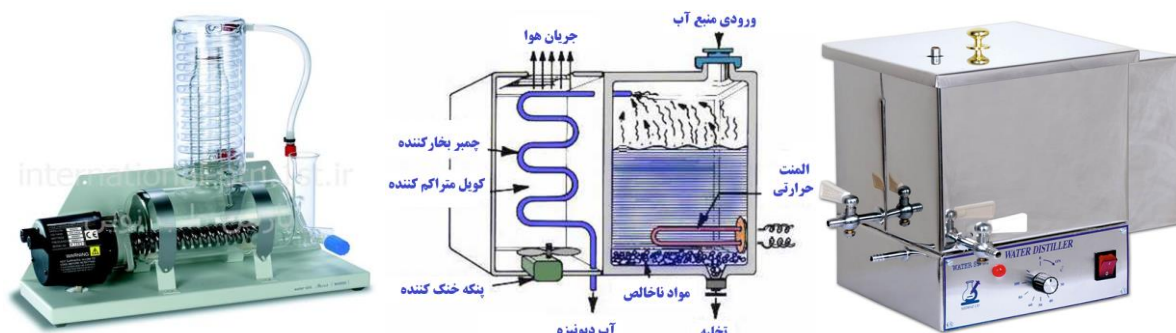
آب مورد استفاده در آزمایشگاه حداقل باید دوبار تقطیر<sup>۱</sup> و دیونیزه (DW) باشد ولی آب مورد استفاده در ساخت محیط کشت باید دارای هدایت یا کونداکتیویته الکتریکی حدود  $2 \mu\text{S}/\text{cm}$ ، مقاومت  $15-5 \mu\text{S}/\text{cm}$ ، اوسمولاریته  $280-320 \text{ mOsmol/L}$ ، محتوی پاتوژنی زیر  $1 \text{ cfu/ml}$ ، میزان کربن آلی یا  $\text{TOC}$  آن زیر  $3 \text{ ppm}$  و حذف سیلیسی  $4 \log$  باشد که به آن **آب آنا** یا **UPW**<sup>۳</sup> گفته می شود. آب خالص بر اساس میزان مقاومت، هدایت الکتریکی، pH، سیلیس، کلریدی، یون های موجود، مواد جامد و اورگانیک و گاز  $\text{CO}_2$  به سه طبقه ۱ تا ۳ (و گاهی ۴) تقسیم می شود که **آب نوع ۱** بلافاصله باید مصرف شود، چرا که در اثر ماندن، جذب  $\text{CO}_2$  و باکتری به آب نوع ۲ تبدیل می شود. آب نوع ۱ در تولید کالبراتور، محلول های استاندارد، داروها، تست اتیمیک ایزورپشن، HPLC، فلیم فوتومتر، اسپکترومتری، آب DNA/RNAase Free و گاهی آزمایش های کشت سلولی حساس (مثل استم سل و iPS) کاربرد دارد. **آب نوع ۲** پرمصرف ترین آب مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلولی و آزمایشگاه تشخیص طبی بوده ولی برای شستشوی ظروف آزمایشگاهی از آب نوع ۳ استفاده می شود. آب نوع ۱ و ۲ به دلیل خلوص بالایی که دارد، از حلالیت، نفوذپذیری و شویندگی بیشتری برخوردار بوده و اغلب توسط دستگاه Millipore-MilliQ تولید می شود. این نوع آب ابتدا با عبور از فیلتر غشایی و سپس فیلتر RO به روش اسمز معکوس دچار خالص سازی اولیه شده و سپس طی عبور از فیلتر چارکول (زغال چوب، خاک رس، سیلیکات و اکسید فلزات)، رزین دیونیزه کننده تعویض یونی (پلیمر فنول فرم آلدهید و رزین های کاتیونی  $\text{SO}_3\text{H}^-$ ،  $\text{CH}_2\text{COOH}^-$  و  $\text{OH}^-$  برای حذف کاتیون های  $\text{H}^+$ ،  $\text{Cu}^{2+}$ ،  $\text{Fe}^{3+}$ ،  $\text{Ca}^{2+}$ ،  $\text{NH}_3^+$  و  $\text{Na}^+$  و فیل دیامین و اوره مثل  $\text{R}_4\text{NOH}^+$  برای حذف آنیون های  $\text{F}^-$ ،  $\text{OH}^-$ ،  $\text{NO}_3^-$  و  $\text{H}_2\text{PO}_3^-$ ) و میکروپور  $0.22 \mu\text{m}$ ، به فرم نهایی و استریل خود تبدیل می شود. آب در ستون RO، چارکول و دیونیزه<sup>۴</sup>، املاح آلی، معدنی، مواد بدبو و همچنین پاتوژن ها، پارتیکل ها و گازهای خود را از دست داده و در مخزن نهایی ذخیره می شود. رزین های دیونیزه برخلاف فیلترهای چارکول باعث حذف مواد آلی نمی شوند. امروزه استفاده از آب مقطر معمولی (درجه ۳) یا دوبار تقطیر (درجه ۲) به دلیل هزینه بالای تبدیل آب به بخار و سپس میعان آن، اتلاف بالای آب، مقادیر بالای گرمای نهان تبخیر، عدم حذف مواد فرار و برخی مواد غیرفرار (مثل آهن، کلسیم،  $\text{CO}_2$ ، کلرین، آمونیاک و منیزیم)، جای خود را به آب دیونیزه داده که در آن برای حذف املاح داخل آب، از سیستم فیلتراسیون و کروماتوگرافی یونی استفاده می شود (۸).

1 Distillation

۲ کربن آلی تام (Total organic carbon) مقدار کربن موجود در یک ترکیب آلی است و اغلب به عنوان یک شاخص غیر اختصاصی کیفیت آب یا تمیزی تجهیزات تولید دارو استفاده می شود. یک تجزیه و تحلیل معمولی برای  $\text{TOC}$  هم کل کربن موجود و هم به اصطلاح کربن معدنی یا غیر آلی (IC) را اندازه گیری می کند، دومی که نشان دهنده محتوای دی اکسید کربن محلول و نمک های اسید کربنیک است. با کم کردن کربن معدنی از کربن تام یا  $\text{TOC}$  حاصل می شود. مقدار  $\text{TOC}$  با دستگاه توکمتر قابل سنجش هست.

3 Ultrapure water (UPW), which demands a 3 or 4 stage process: reverse osmosis + charcoal filtration + deionization + micropore filtration (sterilizing filter)

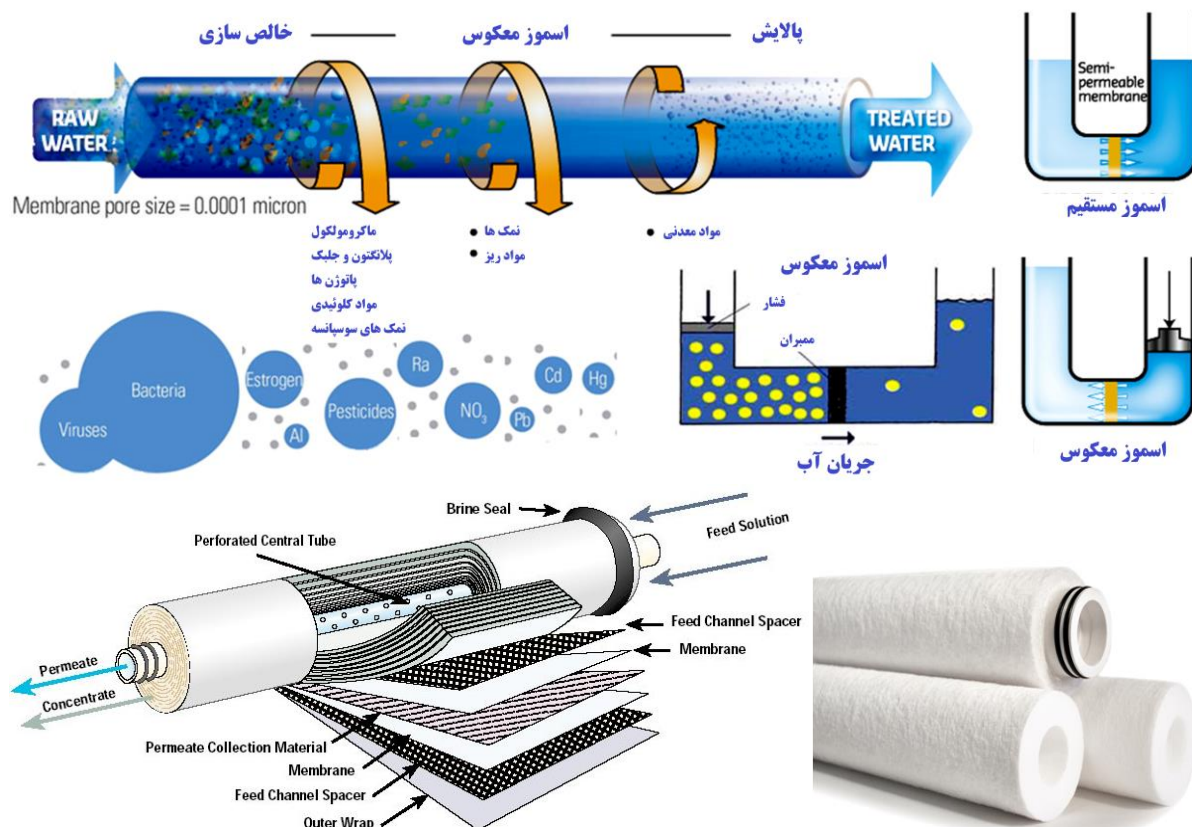
4 electrodeionization (EDI) module, TOC analyzer and ion chromatography



شکل ۲-۴: دستگاه آب مقطر گیری که از اتصال دو دستگاه به هم یا بازگشت مجدد آب مقطر به خود دستگاه جهت تبخیر و میعان مجدد، آب مقطر دوبار تقطیر حاصل می شود (۴۰).



شکل ۳-۴: دستگاه های تهیه آب DW (۴۰)



شکل ۴-۴: اسمز معکوس: فرایندی است که در آن از فشار برای معکوس نمودن جریان اسمزی آب از درون یک غشای نیمه تراوا مثل استات سلولوز استفاده می شود، چرا که در حالت معمولی و طبق خاصیت اسمزی، آب از ناحیه رقیق (شیرین) به سمت غلیظ (شور) حرکت می کند. اگر یک غشای نیمه تراوا بین دو محلول آب خالص و آب ناخالص قرار گیرد آب به گونه ی طبیعی و تحت خاصیت اسمزی از غلظت پایین تر به غلظت بالاتر جریان می یابد. این پدیده تا هنگامی که غلظت، فشار اسمزی و پتانسیل شیمیایی دو طرف برابر گردند ادامه خواهد یافت. در حالت تعادل اختلاف فشار بین دو طرف غشا برابر اختلاف فشار اسمزی است. اگر فشاری برابر با اختلاف فشار اسمزی به محلول غلیظ تر اعمال گردد جریان آب قطع خواهد شد. در صورتی که فشار اعمال شده بیشتر از فشار اسمزی باشد، جهت جریان طبیعی آب، معکوس خواهد گردید. در این روش آب با فشار از میان غشاء گذرانده شده و در نتیجه ۹۹ درصد از مواد جامد، ۹۸ درصد ناخالصی های آلی و ۱۰ درصد ذرات یونیزه و همچنین قسمت عمده ای از کدورت، رنگ، بو، طعم، کلر مازاد، پاتوژن و فیلتر می شوند. نیم تا دو سوم آب پشت این غشا باقی می ماند که به عنوان آب پسمانده دور ریخته می شود. سیستم های اسمز معکوس با کارایی بالا از فشارهای در حد یک میلیون پاسکال استفاده می کنند. در تصویر پایین نیز فیلتر غشایی ابتدایی برای حذف ذرات و آلودگی اولیه نشان داده شده است (۱۶).

جدول ۱-۴: خصوصیات کلاس‌های مختلف آب بر اساس طبقه‌بندی ASTM, ISO-3696<sup>۱</sup>، NCCLS<sup>۲</sup> و فارماکوپئیا (۸)

| Contaminant        | Parameter                                          | ISO 3696 (1987) |         |         | ASTM (D1193-91) |         |          |         | NCCLS (1988) |         |          | Pharmacopoeia |       |
|--------------------|----------------------------------------------------|-----------------|---------|---------|-----------------|---------|----------|---------|--------------|---------|----------|---------------|-------|
|                    |                                                    | Grade 1         | Grade 2 | Grade 3 | Type I          | Type II | Type III | Type IV | Type I       | Type II | Type III | EP (20°C)     | USP   |
| Ions               | Resistivity at 25 °C [MQ·cm]                       | 10              | 1       | 0.2     | 18.2            | 1.0     | 4.0      | 0.2     | >10          | >1      | >0.1     | >0.23         | >0.77 |
|                    | Conductivity at 25 °C [ $\mu$ S·cm <sup>-1</sup> ] | 0.1             | 1.0     | 5.0     | 0.056           | 1.0     | 0.25     | 5.0     | <0.1         | <1      | <10      | <4.3          | <1.3  |
| Acidity/Alkalinity | pH at 25 °C                                        | -               | -       | 5-7.5   | -               | -       | -        | 5-8.0   | -            | -       | 5-8.0    | -             | -     |
| Organics           | Total Organic Carbon/p.p.b.( $\mu$ g/l)            | -               | -       | -       | 50              | 50      | 200      | -       | <50          | <200    | <1000    | <500          | <500  |
| Total Solids       | mg/kg                                              | -               | 1       | 2       | -               | -       | -        | -       | 0.1          | 1       | 5        | -             | -     |
| Colloids           | Silica [ $\mu$ g/ml]                               | -               | -       | -       | <2              | <3      | <500     | -       | <0.05        | <0.1    | <1       | -             | -     |
| Bacteria           | CFU/ml                                             | -               | -       | -       | \-              | -       | -        | -       | <10          | <1000   | -        | <100          | <100  |

اصطلاح **اسمولاریته** غلظت املاح را در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محلول بیان می‌کند در حالی که اصطلاح **اسمولالیت**، غلظت املاح را در ۱۰۰۰ گرم آب بیان می‌کند. در حالت اول یعنی اسمولاریته، دما و مقدار املاح بر میزان اسمولاریته محلول موثر است ولی در حالت دوم یعنی اسمولالیت نه حرارت و نه مقدار املاح بر میزان اسمولالیت تاثیر نداشته و فقط تعداد املاح مهم هستند. واحد SI برای اسمولالیت، مول ماده حل‌شونده به کیلوگرم حلال است و معمولاً به صورت میلی‌مول بر کیلوگرم (mmol/kg) بیان می‌شود. با این حال واحدهای قدیمی‌تر مانند Osm (osmols) که به صورت mOsm/kg بیان می‌شود، هنوز به کار می‌روند. در شرایط پاتولوژیک، خواص Colligative<sup>۳</sup> محلول‌ها می‌تواند برای اندازه‌گیری اسمولالیت استفاده شود؛ زیرا این خواص، متناسب با تغییر osmolal در مایعات بدن تغییر می‌کنند. اسموترهای موجود، اسمولالیت را با استفاده از فشار تبخیر<sup>۴</sup> یا نقطه انجماد تعیین می‌کنند. خواص colligative به صورت ریاضی با تعداد ذرات در محلول ارتباط دارند و بنابراین متناسب با غلظت تغییر می‌کنند. زمانی که یک مول از یک ماده غیریونی‌زده شونده مانند گلوکز به یک کیلوگرم آب افزوده می‌شود، یک محلول ۱ Osm با فشار اسموزی برابر ۱۷۰۰ mmHg ایجاد می‌شود که دمای جوش را تا ۰/۵۲°C و فشار بخار را تا ۰/۳ mmHg افزایش داده و دمای فریز را ۱/۸۶°C- کاهش می‌دهد. بنابراین می‌توان مقدار ذرات حل‌نشده در محلول را با اندازه‌گیری میزان کاهش این خصوصیات، کمی کرد (۸).



شکل ۵-۴: دستگاه Millipore-milliQ برای تخلیص آب جهت ساخت محیط‌های کشت سلولی که شکل وسط هسته مرکزی دستگاه مربوطه را می‌سازد (۲۸).



شکل ۶-۴: دستگاه‌های رومیزی و پرتابل کندانسیتی‌متر که به طریقی، مقاومت سنج هم محسوب می‌شود (۹).

1 American Society for Testing and Materials (ASTM)

2 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)

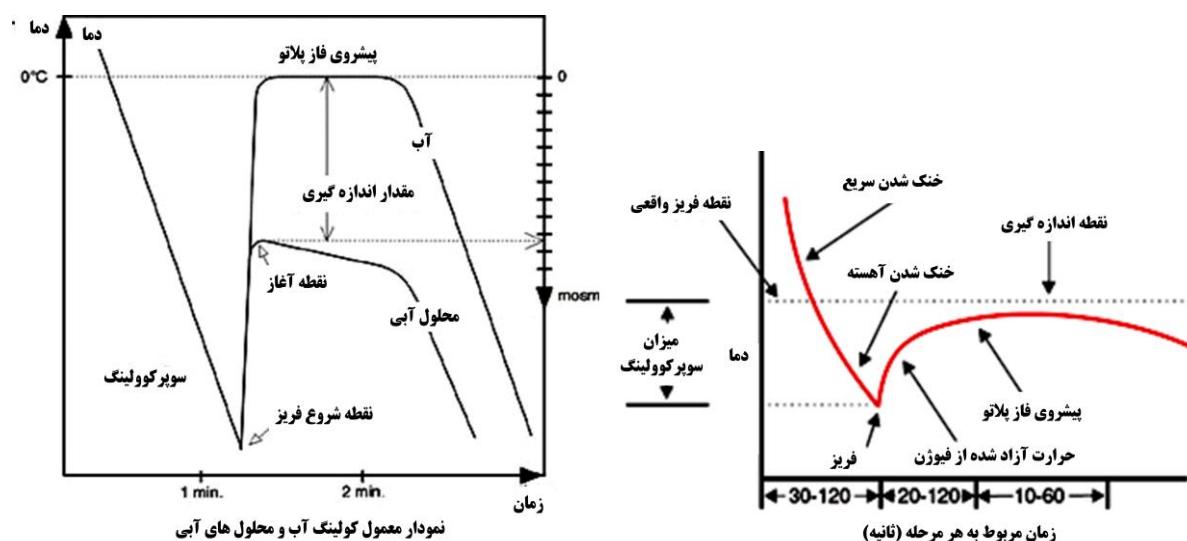
۳ خواص Colligative: به خواص یک محلول که عمدتاً بر اساس تعداد ذرات حل‌شده و مستقل از نوع ذرات تغییر کند، گفته می‌شود. این خواص شامل نقطه انجماد، نقطه ی جوش، فشار بخار و

فشار اسمزی است. ویژگی‌های مشترک خواص Colligative بر اساس دو فرض است: جسم حل‌شده ۱- فرار نیست و ۲- در حلال جامد، حل نمی‌شود.

4 vapor-pressure &amp; Freezing point

## ۲) اسمومتری نقطه‌ی انجماد:

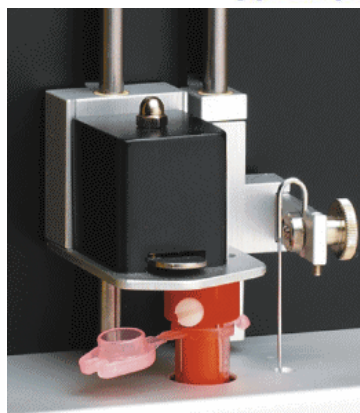
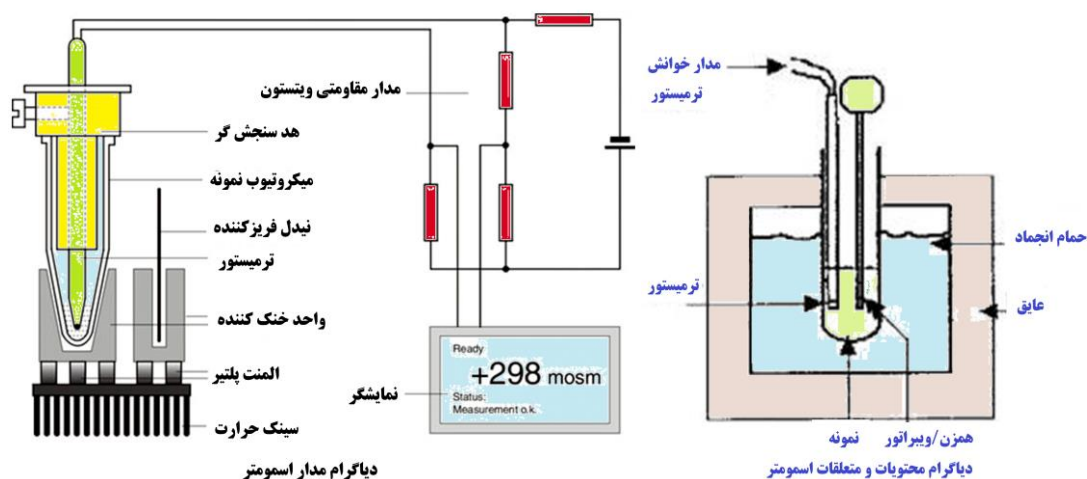
اگر یک ماده خالص به حلال خالصی افزوده شود، متناسب با تعداد ذرات یا یون‌های مجزای هر مولکول (به عنوان مثال برای گلوکز یک، برای NaCl دو و برای  $\text{CaCl}_2$  سه)، نقطه انجماد به صورت خطی کاهش می‌یابد. غلظت این ذرات در محلول را می‌توان با اندازه‌گیری تغییر در خواص colligative مقایسه با حلال‌های خالص یا محلول‌های شناخته شده تعیین نمود. تعیین اسمولالیت یک محلول خالص، مستلزم کم کردن دمای آن است، این کار باید باعث کریستالیزه شدن (انجماد) شود که در حین این فرایند دما ثابت می‌شود. زمانی که محلول، جامد شد، توده کریستالی به سردشدن ادامه می‌دهد تا زمانی که به دمای حمامی که در آن غوطه‌ور است، برسد. حمام یا واحد تبرید<sup>۱</sup> یک محلول اتیلن گلیکول کنترل شده به صورت حرارتی با دمای بین ۶- تا ۹- درجه سانتی‌گراد است. زمانی که نمونه در یک محلول (به عنوان مثال سرم، ادرار و غیره) و نه در یک حلال خالص قرار می‌گیرد، انجماد به صورت متفاوتی رخ می‌دهد. از آنجا که چند ماده بیولوژیکی مختلف در محلول در حال تعامل هستند، لذا دما با سردشدن ترکیب، ثابت نمی‌شود بلکه در ابتدا به صورت ناگهانی و سپس به صورت تدریجی کم می‌شود. برای این که بتوان نقطه انجماد را به صورت پایدار اندازه‌گیری کرد محلول تا چند درجه زیر نقطه انجمادش سرد شده و در این دما نگه داشته می‌شود. در این دما حلال، متراکم شده اما تا زمانی که تحریک نشود، کریستالی نمی‌شود. زمانی که محلول شروع به منجمد شدن کند، حرکت مولکولی ذرات محلول، انرژی را به صورت حرارت از سیستم آزاد می‌کند (گرمای همجوشی). زمانی که گرمای همجوشی آزاد شود، نمونه را تا دمای انجماد بالاتری گرم می‌کند. تا زمانی که بین فازهای مایع و جامد محلول تعادل وجود دارد، دما در این مقدار بالا باقی می‌ماند، بعد زمانی که محلول منجمد می‌شود، دما شروع به کاهش می‌کند. اسمومترهای کاهش نقطه انجماد، شامل یک واحد سردسازی، یک سیستم اندازه‌گیری، یک واحد عملیاتی و یک نمایشگر است. واحد سردسازی توسط یک کمپرسور استاندارد یا یک مازول ترموالکتریک سرد می‌شود. مازول ترمو-الکتریک به قسمت زیرین یک مخزن آلومینیومی حاوی مایع سردکننده متصل می‌شود. این مازول در یک جهت جریان، حرارت را از مخزن گرفته و در جهت دیگر جریان، آن را اضافه می‌کند. همزن کوچکی که با موتور راه اندازی می‌شود، گردش در محفظه را حفظ می‌کند. در برخی از اسمومترهای مربوط به نمونه برداری میکرولیتر، از سیستم خنک کننده با هوا به جای مایع استفاده می‌شود. واحد عملیاتی که متشکل از سیم همزن و پروپ دما است، توسط بازوی متحرکی درون لوله نمونه قرار می‌گیرد. این همزن به شدت ارتعاش می‌کند تا از سردشدن و انجماد نمونه به صورت یکنواخت اطمینان حاصل شود. حجم نمونه برای اسمومتری نقطه انجماد از  $10 \mu\text{l}$  تا  $2 \text{ml}$  متغیر است. پروپ دما، دمای نمونه را با استفاده از یک ترمیستور (عایق حرارتی) حس می‌کند که به یک مدار پل واتستون متصل بوده، مقاومت را اندازه گرفته و امکان تعیین دمای نمونه را فراهم می‌کند. اندازه‌گیری‌های نقطه انجماد بسته به دستگاه به صورت اتوماتیک یا نیمه اتوماتیک انجام می‌شوند. در هر دو حالت، فرایند تحلیلی شامل مراحل زیر است: خنک سازی سریع، خنک سازی کند، انجماد، اندازه‌گیری و توقف اندازه‌گیری. زمانی که لوله‌ی نمونه در حمام قرار داده می‌شود، نمونه با نرخ  $0.5 \text{ mm/s}$  تا  $2 \text{ mm/s}$  با دمای حمام به تعادل می‌رسد و خنک سازی سریع توسط یک دستگاه اندازه‌گیری آنالوگ دنبال می‌شود. زمانی که نمونه به دمای حمام برسد نرخ خنک سازی به مقدار  $0.5 \text{ mm/s}$  کاهش می‌یابد. در یک نقطه از پیش تعیین شده زمانی که supercooling کافی رخ داده است، همزن به شدت ارتعاش می‌کند تا انجماد نمونه شروع شده و گرمای همجوشی آزاد شود. یکی از تولیدکنندگان اسمومترهای نقطه‌ی انجماد برای شروع فرایند انجماد، به جای استفاده از همزن ارتعاشی از یک سوزن ثابت با سر سرد استفاده می‌کند. دلیل این کار این طور بیان شده است که همزن، تولید حرارت کرده و در فرایند انجماد نمونه اختلال ایجاد می‌کند. زمانی که بین انجماد و ذوب تعادل وجود دارد، دما برای یک تا دو دقیقه ثابت می‌ماند که در این مدت اسمولالیت قرائت می‌شود (۸).



شکل ۴-۷: نمودار دمای انجماد آب و حلال‌های آبی که ابتدا از یک شیب تند برخوردار بوده و با آزاد شدن گرمای همجوشی دچار افزایش دما شده و مجدداً با شیب ملایم کاهش می‌یابد (۴۰).



شکل ۸-۴: انواع دستگاه اوسمومتر که بر اساس مقایسه نقطه انجماد و گاهی نقطه جوش و تبخیر مایعات، میزان مول در لیتر و در نتیجه میزان فشار اسمزی آنها را محاسبه می‌کند. از حل شدن یک مول از یک ماده (بر اساس وزن مولکولی آن) در یک کیلوگرم آب، فشار اسمزی برابر ۱۷۰۰ mmHg ایجاد می‌شود که دمای جوش را تا  $0.53^{\circ}\text{C}$  و فشار بخار را تا ۰/۳ mmHg افزایش داده و دمای فریز را  $1/86^{\circ}\text{C}$  کاهش می‌دهد. دمای فریز دمایی است که در آن میزان انجماد با میزان ذوب برابری می‌کند. در مقابل اوسمولاریتی ۲۸۰-۳۲۰ mOsmol/L آب UPW، اوسمولاریتی آب معمولی ۱۰۰۰ mOsmol/L می‌باشد (۸).



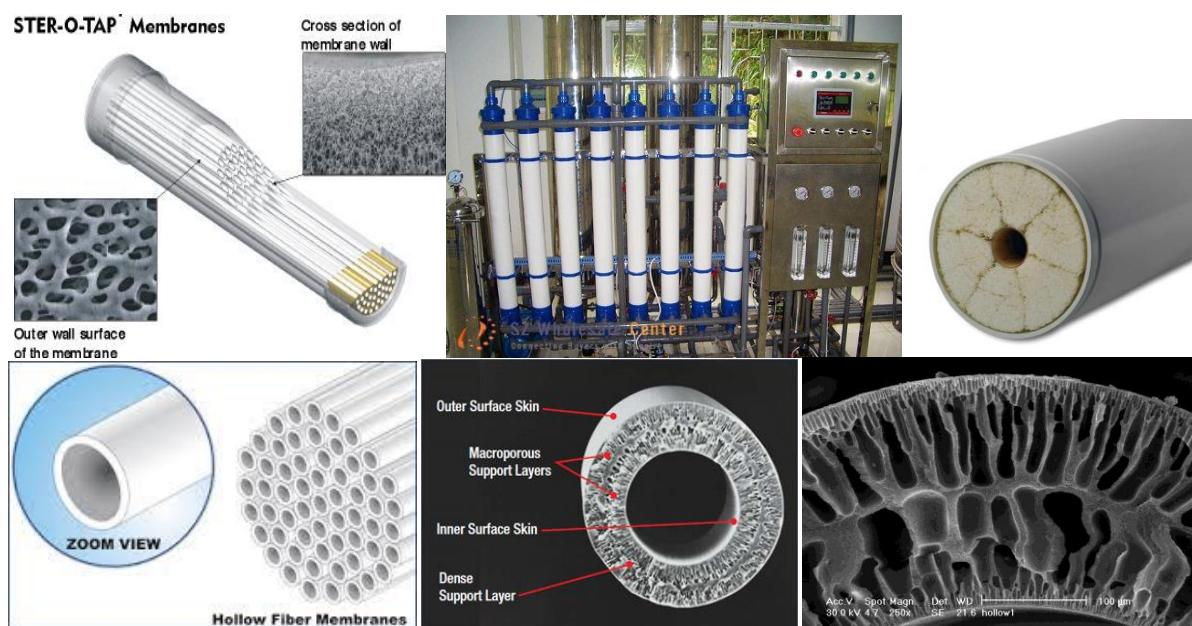
شکل ۹-۴: دیاگرام المنت پلتیر و ترمیستور. در این دستگاه رقت‌های سریالی محلول استاندارد (مثل ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰) در یک میکروتیوب قرار می‌گیرد، سپس پروب دستگاه وارد آن شده و باعث انجماد مایع داخل آن می‌شود، سپس بسته به زمان انجماد هر کدام یک نمودار استاندارد ترسیم شده و نمونه‌های مورد آزمایش بر اساس نمودار مذکور تعیین جواب می‌شوند (۸).

برای کنترل کیفی آب UPW علاوه بر دستگاه اوسمومتر، از آنالایزر TOC نیز برای سنجش کربن آلی آب استفاده می‌شود.



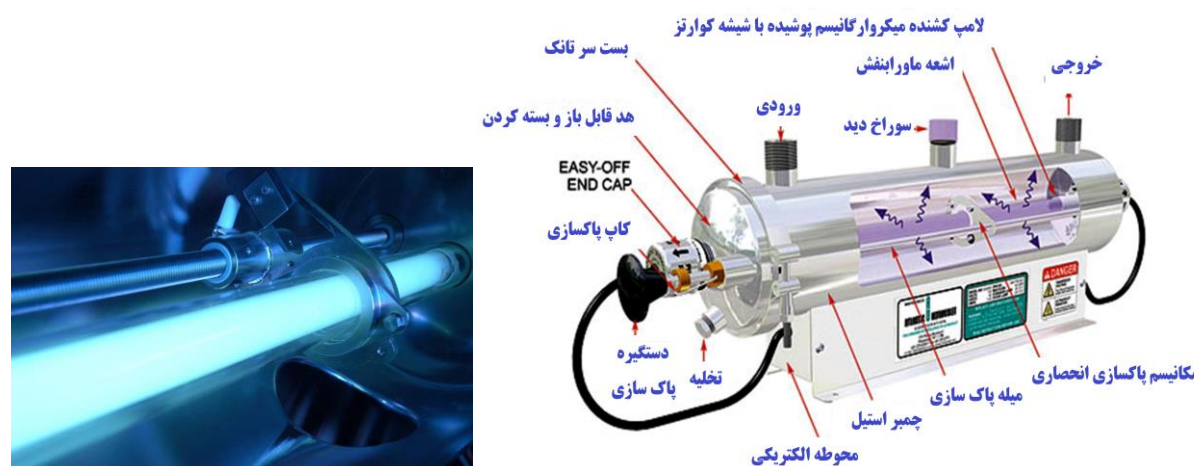
شکل ۱۰-۴: محلول‌های استاندارد اوسمولالیتی و دستگاه سنجش کربن آلی یا TOC meter که با اکسید کردن مواد آلی و سنجش  $\text{CO}_2$  آزاد شده از آن عمل می‌کند (۴۰).

امروزه علاوه بر فیلترهای معمولی، از اولترافیلتراسیون (UF) و نانوفیلتراسیون (NF) نیز برای تخلیص آب استفاده می‌شود. غشاهای نیمه‌تراوا (از جنس پلی‌وینیلیدن فلوراید یا PVDF، پلی‌اکریلونیتریل، پلی‌پروپیلن و پلی‌سولفون‌های متخلخل) در UF علاوه بر غربالگری پارتیکل‌ها و پاتوژن‌ها، باعث جذب املاح و یون‌ها به خود نیز می‌شوند ولی میزان جذب یون‌ها زیاد نبوده و لذا اختلاف فشار دو سمت غشاء خیلی زیاد نبوده و به ۲-۷ Bar می‌رسد. فیلترهای UF همانند یک بسته ماکارونی هستند که از قرار گرفتن این لوله‌های ریز و توخالی در کنار هم (قطر داخلی ۰/۸ و قطر خارجی ۱/۲ میلی‌متر) و در یک لوله بزرگ، ستون‌های UF تشکیل می‌شوند. قابلیت فیلترهای NF به مراتب بیشتر بوده و تمامی یون‌ها، مواد شیمیایی، پاتوژن‌ها، یون‌های چندظرفیتی، فلزات سنگین (مثل آهن و منگنز)، نیترات، نمک‌ها (مثل NaCl و سولفات منیزیم)، آفت‌کش‌های کشاورزی، ویروس‌ها، مواد آلی و هر ماده بالای ۱ nm و وزن بالای ۲۰۰-۴۰۰ D را تا ۹۸ درصد پاک‌سازی می‌کند.



شکل ۱۱-۴: تصویر و ساختار اولترافیلتراسیون‌های مورد استفاده در تخلیص آب. از فیلترهای آب می‌توان به انواع Chamberland (شامل L1, L1a, L2, L3, L5, L7, L9, L11), Berkefeld (شامل W و N, V یا Wenig/Fine و Normal, Veil/Coarse), Doulton (شامل P2, P5 و P11) اشاره نمود که از جنس خاک چینی یا سفالین بوده ولی فیلتر Mandler علاوه بر خاک دیاتمه چینی، دارای پارچه نسوز و گچ یا پلاستر پارسی نیز می‌باشد (۱۸).

یکی از روش‌های استریلیزاسیون و نه خالص سازی آب، استفاده از نور UV با قدرت  $30000 \mu W/S/cm^2$  در ۷۵۰۰ ساعت است که برای این منظور یک لامپ UV پوشش‌دار ۲۵۴nm (مقاوم به آب) در داخل یک سیلندر استیل قرار گرفته و دمای لامپ به  $40^{\circ}C$  افزایش می‌یابد. آب با ورود به این سیلندر و مجاورت با نور UV دچار استریلیزاسیون و نابودی پاتوژن‌های مقاوم به کلر شده (تا ۹۹ درصد) و سپس از سیلندر خارج می‌شود. نور UV باعث می‌شود تا pH و خواص شیمیایی آب تغییر نکند. بهتر است آب کلاس ۱ بلافاصله بعد تولید مصرف شود ولی برای آب کلاس II وجود ظروف بروسلیکات یا اپی‌اتیلن توصیه می‌شود.



شکل ۱۲-۴: دستگاه UV برای استریل کردن آب (۴۰)

جدول ۲-۴: مقایسه روش‌های مختلف تهیه آب خالص از نظر جداسازی ترکیبات و میکروارگانیسم‌های مطابق با استاندارد NCCLS (A)

| اندوتوکسین‌های<br>پیروژن | میکروارگانیسم | مواد خاص | ارگانیک‌های<br>محلول | اجرام یونیزه<br>محلول | گازهای یونیزه<br>محلول | فرایند تخلیص              |
|--------------------------|---------------|----------|----------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------|
| E                        | E             | E        | G                    | G/P                   | E                      | تقطیر                     |
| P                        | P             | P        | P                    | E                     | E                      | دیونیزاسیون               |
| E                        | E             | E        | G                    | P                     | G                      | اسموز معکوس               |
| P                        | P             | P        | E/G                  | P                     | P                      | جذب گرین                  |
| P                        | E             | E        | P                    | P                     | P                      | فیلتراسیون 0.22um         |
| E                        | E             | E        | P                    | P                     | P                      | اولترافیلتراسیون          |
| E                        | E             | E        | G                    | P                     | G/P                    | نانوفیلتراسیون            |
| E/G                      | E/G           | P        | P                    | P                     | P                      | اکسیداسیون<br>شیمی یا ازن |
| P                        | G/P           | P        | G                    | P                     | P                      | * اکسیداسیون با UV        |
| P                        | G             | P        | P                    | P                     | P                      | استریلیزاسیون با UV       |

※ اشعه فرابنفش باعث مرگ میکروارگانیسم‌ها شده ولی آنها را حذف نمی‌کند. لذا برای حذف آنها از دیگر فرایندها استفاده میشود.

E عالی با میزان حذف کامل یا نزدیک کامل  
G خوب با میزان حذف حداکثر  
P ضعیف با قابلیت حذف حداقل یا صفر

جدول ۳-۴: موارد مصرف انواع مختلف آب خالص (A)

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| نوع ۱ | استفاده برای مصرف دستگاه‌های سنجش ابزار دقیق مثل HPLC، الکتروفورز، بلاتینگ، اتمیک ایزورپشن، GC-MAS، تست‌های مولکولی و سیتوژنتیک (PCR)، FISH و ...،<br>ساخت محیط کشت و بافرهای آزمایشگاه کشت سلولی، حل سرم کنترل لیوفیلیزه، آزمایشگاه جنین شناسی، سم شناسی و IVF |
| نوع ۲ | استفاده به عنوان بافر، ساخت محلول‌های pH، ساخت محیط کشت میکروبی، محلول مورد نیاز دستگاه‌های بیوشیمی، هورمون، همتولوژی، استفاده در عموم تست-های آزمایشگاهی، پر کردن مخزن انکوباتور کشت و همچنین آب اولیه دستگاه‌های تولید کننده آب درجه ۱                        |
| نوع ۳ | شستشوی وسایل شیشه‌ای، تجزیه ادرار و مدفوع، پر کردن آب اتوکلاو، بن ماری، انکوباتور و بخور و همچنین آب اولیه دستگاه‌های تولید کننده آب درجه ۱ و ۲                                                                                                                 |

همان‌طور که در مباحث فوق مشاهده گردید، هر تکنیکی دارای مزایا و معایبی است که از تلفیق و ادغام چند مورد آنها با یکدیگر می‌توان آب UPW درجه یک را تهیه نمود. NCCLS خصوصیات هر کدام از روش‌ها را در یک جدول مقایسه نموده و معرفی کرده که برای حذف هر عامل مازادی کدام روش‌ها عالی، کدام خوب و کدام ضعیف عمل می‌کنند. در کنترل کیفی آب، ارزیابی مقاومت یا کندانکتیویته، pH و آلودگی میکروبی الزامی بوده ولی دیگر پارامترها نیز بر اساس برخی از استانداردها مثل NCCLS، ASTM، ISO و فارماکوپه بررسی می‌شوند (البته برای آب درجه I و II سنجش pH الزامی ندارد). به عنوان مثال استاندارد ASTM عواملی مثل سدیم، TOC، کلراید، سیلیکا و در یک متمم الحاقی خود برای آلودگی میکروبی، میزان باکتری‌های هتروکسین و اندوتوکسین را نیز برای ارزشیابی و طبقه‌بندی آب مورد آنالیز قرار می‌دهد. در این سیستم اگر آب نوع II آلودگی میکروبی با تعداد  $10 \text{ cfu/ml}$  هم داشت، به صورت IIB طبقه‌بندی می‌شود. در آب خالص به دلیل کاهش یون‌ها، پارتیکل‌ها و مواد آلی هدایت الکتریکی آب کاهش و برعکس مقاومت الکتریکی آن افزایش می‌یابد، لذا آب درجه یک بالاترین مقاومت ( $18 \text{ M}\Omega\text{-CM}$ ) و کمترین کندانکتیویته ( $0.056 \mu\text{S/cm}$ ) را دارد. به عبارتی دیگر این دو رقم در سه کلاس مختلف I، II و III به ترتیب  $10 \text{ m}\Omega/\text{cm}$  به  $0.1 \mu\text{S/cm}$ ،  $2 \text{ m}\Omega/\text{cm}$  به  $0.5 \mu\text{S/cm}$  و  $0.1 \text{ m}\Omega/\text{cm}$  به  $10 \mu\text{S/cm}$  می‌باشد. در صورت عدم دسترسی به کندانکتومتر یا مقاومت سنج، فارماکوپه روش‌های موقتی خاصی را برای ارزیابی کیفیت آب مطرح کرده است که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ۱- اگر به  $100 \text{ ml}$  آب، ۵ قطره اسیدنیتریک و  $1 \text{ ml}$  نیترات نقره (یا ii)  $1 \text{ ml}$  کلرید باریم، یا (iii)  $2 \text{ ml}$  معرف یدورکلراید<sup>۱</sup>، یا (iv)  $2 \text{ ml}$  اگزالات آمونیوم، یا (v)  $100 \text{ ml}$  هیدروکسید کلسیم اضافه کنیم، نباید کدورتی ایجاد شود. اولی برای بررسی **کلرید** آب، دومی برای **سولفات** آب، سومی برای **آمونیم** آب، چهارمی برای **کلسیم** آب و آخری برای **CO<sub>2</sub>** آب انجام می‌شود. در تست آمونیوم، رنگ زردی ایجاد می‌شود که نباید از رنگ زرد کنترل مثبت (حاوی  $30 \mu\text{g}$  آمونیوم) پررنگ‌تر باشد.

۱۰۱ گرم یدور پتاسیم را در  $10 \text{ ml}$  آب حل کرده و حین مخلوط کردن به آن کلرید جیوه اشباع نیز افزوده می‌شود تا رسوب قرمز روشنی تولید شود. سپس  $30$  گرم هیدروکسید پتاسیم در  $60 \text{ ml}$  آب مخلوط کرده و به قبلی می‌افزاییم و سپس  $1 \text{ ml}$  دیگر از کلرید جیوه اشباع اضافه می‌کنیم. محلول حاصل را با  $200 \text{ ml}$  آب رقیق کرده و می‌گذاریم تا رسوب کند و بعد از صافی استفاده می‌کنیم.