



ازمایشگاه مرجع سلامت

## راهنمای جمع آوری، جداسازی، نگهداری و ارسال نمونه جهت تعیین بار ویروس اچ‌آی‌وی

### **الف) وسایل مورد نیاز جهت نمونه‌گیری**

۱. خودکار یا ماژیک رنگ ثابت
۲. سوزن و هولدر مخصوص لوله خلاء (برای هر بیمار از سوزن و هولدر یکبار مصرف استفاده شود)
۳. پد الکلی دارای تائیدیه سازمان غذا و دارو
۴. گارو
۵. برچسب
۶. جالوله‌ای پلاستیکی
۷. چسب ضد حساسیت نمونه‌گیری
۸. دستکش لاتکس
۹. سیفتی باکس (ظرف ایمن)
۱۰. لوله خلاء ژل دار بدون ضد انعقاد، ترجیحاً ۸ یا ۹ میلی‌لیتری
۱۱. لوله خلاء حاوی ضد انعقاد EDTA، ترجیحاً ۵ میلی‌لیتری و ژل دار (برای تعیین بار ویروسی باید منحصر از نمونه پلاسما استفاده شود!)
- (صرفاً می‌بایست از لوله‌های تولیدی مربوط به شرکت‌های Becton Dickinson، Klma، Greiner Bio-One و آوا پزشکی که مورد تایید آزمایشگاه مرجع سلامت میباشند استفاده شود)
۱۲. میکروتیوب یا کرایوتیوب درپیچدار، ترجیحاً ۲ میلی‌لیتری عاری از RNase و DNase

❖ استفاده از وسایل حفاظت فردی مانند (عینک، دستکش و روپوش مناسب) و رعایت کامل اصول ایمنی برای فرد نمونه‌گیر در هنگام نمونه‌گیری و جداسازی نمونه الزامی است.

### **ب) روش اجرایی نمونه‌گیری:**

۱. کلیه لوازم مورد نیاز برای خونگیری را از قبل آماده نماید.
۲. دستکش لاتکس را به دست کنید (برای حفظت بیشتر ترجیحاً دو دستکش روی هم بپوشید)
۳. قبل از نمونه‌گیری کد بیمار مندرج در پرونده را بطور دقیق و خوانا بر روی برچسب لوله‌ها نوشته و مطابقت دهید.
۴. سپس فرد را بر روی صندلی مناسب بنشانید و از بیمار بخواهید دست خود را مشت کند. محل مناسب خونگیری در ورید مدین کوبیتال یا سفالیک دست انتخاب کنید. بازوبند یا گارو را ۷/۵-۱۰ سانتی متر بالای محل نمونه‌گیری ببندید. پس از ضدعفونی محل با پد الکلی و خشک شدن الکلی، نمونه‌گیری را در وضعیت نشسته یا خوابیده، هر کدام برای بیمار مناسبتر است، انجام دهید.
- توجه داشته باشید به محض ورود خون بداخل لوله خلاء بازوبند را باید باز کنید. همچنین پس از جاری شدن روان خون بداخل لوله خلاء باید فرد مشت خود را باز کند (بازوبند حداکثر بمدت یک دقیقه می‌تواند در محل بصورت بسته باقی بماند).



## راهنمای جمع آوری، جداسازی، نگهداری و ارسال نمونه جهت تعیین بار ویروس اچ‌آی‌وی

۵. خونگیری ابتدا در لوله ژل دار خلاء بدون ضد انعقاد و به دنبال آن در لوله خلاء حاوی EDTA باید تا پر شدن کامل لوله ها ادامه یابد. لوله حاوی EDTA را بلافاصله پس از پر شدن به آرامی ۵ الی ۱۰ بار با سرو ته کردن مخلوط نمایید.
۶. بعد از خون گیری موضع را از نظر بند آمدن خون کنترل نموده و با چسب ضد حساسیت بپوشانید. وضعیت بیمار خصوصاً هوشیاری و تعادل او را تا زمانیکه از نمونه گیری خارج میشود تحت نظر بگیرید تا ریسکی متوجه او نباشد.
۷. سوزن، هولدر و ملزومات نمونه گیری را پس از تکمیل نمونه گیری در ظروف مقاوم ایمن (Safety Box) دفع نموده و از هرگونه تغییر شکل، بریدن و یا خم کردن سر سوزن ها خودداری نمایید. برای هر بیمار از سوزن و هولدر یکبار مصرف استفاده شود.
۸. برچسب حاوی کد شناسایی بیمار، تاریخ نمونه گیری و نام آزمایشگاه نمونه گیری را بر روی لوله ها نصب و در صورت لزوم با کشیدن چسب شیشه‌ای (چسب اسکاچ) بر روی برچسب آنرا فیکس نمایید.

- ❖ به منظور رعایت اصل محرمانگی از درج نام و نام خانوادگی بیمار بر روی لوله ها خودداری شود.
- ❖ هر گونه رخداد نظیر فرو رفتن سوزن در بدن و ریخته شدن یا پاشیده شدن خون بر روی زمین یا سطوح یا بدن نمونه گیر باید به اطلاع مسئول آزمایشگاه رسیده و مطابق دستورالعملهای ایمنی مدیریت شود.

## جداسازی نمونه ها

۱. لوله خلاء ژل دار بدون ضد انعقاد را حداکثر ظرف یکساعت از خونگیری، به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ تا ۱۲۰۰ سانتریفیوژ کنید. به هیچ عنوان درب آن را باز نکنید. این نمونه پس از مرحله سانتریفیوژ می‌تواند بدون اینکه فریز شود، از طریق زنجیره انتقال سرد (۲ تا ۴ درجه سانتی گراد) در ظرف مدت حداکثر نیم روز از اتمام جداسازی و در ظروف انتقال با رعایت بسته بندی سه لایه استاندارد (مطابق استاندارد آزمایشگاه مرجع سلامت) از آزمایشگاه های اقماری به آزمایشگاه قطب منطقه ایی اچ‌آی‌وی ارسال گردد. در صورتیکه امکان انتقال فوری نباشد میتوان لوله ها را پس از سانتریفیوژ کردن، در منفی ۲۰ درجه یا سردتر منجمد ساخت و به هنگام ارسال نمونه به آزمایشگاه قطب منطقه ایی اچ‌آی‌وی باید شرایط انجماد حفظ شود. لازم به توضیح است این نمونه با هدف ایجاد گنجینه نمونه های مثبت تهیه و نگهداری میشود و نباید متحمل شرایط انجماد و ذوب مکرر شود (این نمونه ها در نهایت جهت ایجاد گنجینه نمونه HIV به سازمان انتقال خون ایران منتقل و در آنجا مورد استفاده قرار می‌گیرند). لازم بذکر است آزمایشگاه های قطب منطقه ایی اچ‌آی‌وی نیز پس از دریافت لوله های ژل دار از آزمایشگاه های اقماری می‌بایست آنها را در منفی ۲۰ یا سردتر منجمد کرده و مطابق برنامه زمانبندی که متعاقباً اعلام می‌شود، از طریق زنجیره انتقال سرد بصورت فریز شده در بسته بندی سه لایه ای مطابق با استاندارد های آزمایشگاه مرجع سلامت به سازمان انتقال خون ایران ارسال نمایند. نشانی و فرد مسئول دریافت نمونه ها متعاقباً اعلام خواهد شد.
۲. لوله خلاء حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) را بدون اینکه درب آن باز شود جهت جدا سازی پلاسما حداکثر تا یکساعت بعد از نمونه گیری به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ تا ۱۲۰۰ سانتریفیوژ نمایید. پس از جدا سازی، پلاسما را در حداقل دو میکروتیوب یا کرایوتیوب ۲ میلی لیتری عاری از RNase و DNase تقسیم کنید (هر کدام از میکروتیوبها باید حداقل حاوی یک میلی لیتر پلاسما باشد). میکروتیوبها باید بلافاصله با همان کد شناسایی بیمار برچسب گذاری شوند. آزمایشگاه های اقماری، پلاسمای تقسیم شده در میکروتیوب ها را تا زمان انتقال به آزمایشگاه قطب منطقه ایی اچ‌آی‌وی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد یا سردتر در آزمایشگاه خود نگهداری میکنند.



آزمایشگاه مرجع سلامت

### راهنمای جمع آوری، جداسازی، نگهداری و ارسال نمونه جهت تعیین بار ویروس اچ آی وی

۳. آزمایشگاه اقماری یکی از میکروتیوبهای حاوی پلاسما را به منظور تعیین بار ویروسی با حفظ زنجیره سرد بصورت فریز شده و در بسته بندی سه لایه ای مطابق با استاندارد های آزمایشگاه مرجع سلامت به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی ارسال مینماید (هر کدام از میکروتیوبها باید حداقل حاوی یک میلی لیتر پلاسما باشد). سایر میکروتیوبهای حاوی پلاسمای بیماران باید در شرایط منفی ۲۰ درجه سانتی گراد یا سردتر تا اعلام بعدی در همان آزمایشگاه اقماری نگهداری شود.

❖ در صورتیکه آزمایشگاه اقماری بتواند میکروتیوبهای حاوی پلاسمای بیماران را در کمتر از نیم روز از زمان نمونه گیری به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی برساند نیازی به منجمد کردن آنها وجود ندارد و نمونه ها میتوانند تا رسیدن به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی در شرایط یخچالی نگهداری و منتقل شود.

۴. آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی باید پلاسمای دریافت شده از آزمایشگاه اقماری را تا زمان انجام آزمایش در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد یا سردتر نگهداری نماید.

❖ اطلاعات کلیه نمونه های ارسالی از آزمایشگاه اقماری به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی می بایست توسط آزمایشگاه اقماری در فرم ارسال نمونه که توسط آزمایشگاه مرجع سلامت و مرکز مدیریت بیماریهای واگیر تهیه شده درج گردد و این فرم باید همراه بسته نمونه ها به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی ارسال شود.

❖ آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی به هنگام دریافت بسته حاوی نمونه ها باید محتویات محموله را با مستندات مطابقت داده و وضعیت بسته بندی، نمونه ها و شرایط حمل را بررسی و گزارش نماید. در صورتیکه یک یا چند نمونه به دلیل عدم انطباق با معیار های پذیرش نمونه قابل آزمایش نباشد، مراتب ثبت و به آزمایشگاه اقماری گزارش میشود. ضمناً نمونه های غیرقابل پذیرش به هیچ عنوان نباید به آزمایشگاه اقماری عودت داده شوند. این نمونه ها باید با رعایت شرایط استاندارد در آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی آلودگی زدایی و امحاء شوند. مهمترین علل عدم پذیرش نمونه به شرح زیر است:

- ✓ هرگونه نشست نمونه به بیرون از لوله
- ✓ مخدوش بودن مشخصات برچسب نمونه
- ✓ عدم همخوانی مشخصات ذکر شده در فرم با مشخصات برچسب و کد نمونه
- ✓ حجم نا کافی نمونه
- ✓ جمع آوری نمونه در لوله های حاوی ضد انعقاد هپارین (ماده ضد انعقاد استفاده شده صرفاً می بایست EDTA باشد)
- ✓ استفاده از لوله نامناسب (بدون درپوش، لوله شیشه ای)
- ✓ استفاده از لوله ها و ملزومات نمونه گیری نامعتبر و بدون تأییدیه آزمایشگاه مرجع سلامت
- ✓ وجود لخته در نمونه های جمع آوری شده با ماده ضد انعقاد
- ✓ وجود همولیز
- ✓ نگهداری و انتقال در دمای نامناسب
- ✓ انجماد و ذوب مکرر نمونه ها

لطفاً سوال یا ابهامات احتمالی را به نشانی [sohrabi58@gmail.com](mailto:sohrabi58@gmail.com) ارسال فرمایید.