

راهنمای جمع آوری، جداسازی، نگهداری و ارسال نمونه جهت تشخیص آزمایشگاهی مولکولی هپاتیت سی

جهت انجام آزمایشات تشخیص مولکولی هپاتیت سی رعایت شرایط الزامی است:

❖ مواد و وسایل مورد نیاز:

۱. فرم مشخصات بیماران
۲. فرم ارسال نمونه به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی
۳. لوله های ۵-۱۰ سی سی حاوی EDTA یا ACD



۴. لوله های استریل گاما در پیچ دار (غیرقابل نفوذ و عاری از RNAase و DNAase)
۵. ظروف جمع آوری نمونه (کدبکس)، جالوله ای
۶. Ice bag
۷. فریزر
۸. سانتریفیوژ

استفاده از وسایل حفاظت فردی مانند (عینک، دستکش، روپوش مناسب و...) الزامی است.

❖ نحوه نمونه گیری:

۱. ۵-۱۰ سی سی از خون بیمار به تیوپ های حاوی EDTA یا ACD اضافه گردد. (از ضد انعقاد هپارین نبایستی استفاده شود)
۲. بلافاصله لوله ها را به آرامی ۵-۱۰ بار مخلوط کرده تا با ضد انعقاد ترکیب گردد.
۳. مشخصات بیمار، شماره نمونه و تاریخ نمونه برداری بر روی لوله و فرم مخصوص بیمار ثبت گردد.
۴. نمونه ها پس از جمع آوری تا زمان ارسال به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی در یخچال نگهداری شوند.

❖ جداسازی و نگهداری پلاسما:

۱. حداکثر در فاصله ۴-۶ ساعت پس از خون گیری، نمونه ها را برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت $g = 1000-1200$ سانتریفیوژ

نمایید. (برای محاسبه نیروی نسبی گریز از مرکز از فرمول $(rpm)^2 * 2 * 10^5 = 1/118 * RCF$ استفاده می شود. RCF

نیروی نسبی گریز از مرکز با واحد g ، $10^5 * 1/118$ یک عدد ثابت، r شعاع بر حسب سانتیمتر بوده که فاصله میان محور

چرخش و مرکز لوله سانتریفیوژ است. rpm سرعت چرخش در دقیقه است.)

۲. هر یک از پلاسماهای جدا شده در لوله های استریل گاما در پیچ دار تقسیم شود. (لوله ها عاری از DNase و RNase

باشد)

❖ حجم پلاسمای نباید از ۱ سی سی کمتر باشد.

۳. با توجه به آسیب پذیر بودن ویروس HCV، به دلیل نوع ساختمان RNA رعایت موارد ذیل در خصوص نگهداری و

انتقال نمونه تاکیدا توصیه می گردد:

❖ تا زمان ارسال نمونه ها به آزمایشگاه منطقه ای، پلاسما جدا شده حتما در فریزر -20 - نگهداری شود، و برای

نگهداری طولانی مدت باید در دمای $(-70^{\circ}C)$ قرار گیرد.

❖ از انجماد و ذوب نمونه ها خود داری شود. (دفعات انجماد و ذوب نمونه ها بخصوص پلاسما سبب نتایج منفی

کاذب می گردد.)

❖ نکات مهم:

❖ خون کامل به هیچ عنوان نباید فریز شود.

❖ به هیچ عنوان نباید از ضد انعقاد هپارین استفاده شود.

❖ عدم مصرف هپارین توسط بیمار

❖ بیلیروبین بالا و لیپمیک بودن سبب ایجاد تداخل در آزمایش های مولکولی خواهد شد.

❖ وجود همولیز و فیبرین در نمونه های ارسال شده سبب نتایج نادرست می شود.

❖ از انجماد و ذوب نمونه ها خود داری شود. (دفعات انجماد و ذوب نمونه ها بخصوص

پلاسما سبب نتایج منفی کاذب می گردد.)

❖ پلاسما جدا شده حتما در فریزر -20 - نگهداری شود.

❖ حمل و نقل نمونه های بیولوژیک

برای حمل و نقل نمونه های بیولوژیک، سیستم حمل و نقل سه لایه ای مطابق با استانداردهای آزمایشگاه مرجع سلامت (به پیوست می باشد) توصیه می گردد.

↪ پلاسما در لوله دریچ دار غیرقابل نفوذ و عاری از RNAase و DNAase منتقل گردد، پس از اطمینان از بسته بودن درب نمونه ها، لوله های خون را در جالوله های کوچک قرار دهید. در بین نمونه ها جاذب رطوبت قرار دهید. (محفظه اول)

↪ نمونه ها را درون محفظه دوم قرار دهید که باید مقاوم، غیرقابل نشت و غیر قابل نفوذ به مایعات باشد، می بایست مشخصات نمونه روی آن درج گردد.

↪ در مرحله بعد محفظه دوم داخل محفظه سوم قرار داده شود. (کلدباکس) از مقداری یخ خشک و یا Ice bag قرار دهید.

↪ جالوله ای را در کلدباکس قرار داده و در کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی ارسال نمایید

↪ فرم ارسال نمونه به آزمایشگاه قطب منطقه ای اچ آی وی در پاکت غیر قابل نفوذ قرار داده شود و همراه با کلدباکس در کوتاه ترین زمان ممکن به آزمایشگاه ارسال شود.

❖ موارد رد نمونه:

۱. هرگونه نشت به بیرون از لوله
۲. مخدوش بودن مشخصات بر چسب نمونه
۳. عدم همخوانی مشخصات ذکر شده در فرم با مشخصات برچسب و کد نمونه
۴. حجم کم نمونه
۵. جمع آوری نمونه در لوله های نامناسب (دارای ضد انعقاد هپارین)