

عنوان دستورالعمل :

نحوه انجام آزمایشات هماتولوژی

کد: WIC 13-09	شماره ویرایش: ۱۱	تاریخ تصویب و ابلاغ: ۱۴۰۵/۲/۲۰
حوزه تولید: آزمایشگاه	تعداد صفحه ها: ۹	تاریخ آخرین ویرایش: ۱۴۰۵/۲/۱۷
هدایت کننده: سوپروایزر آزمایشگاه		تاریخ بازبینی بعدی: ۱۴۰۶/۲/۲۰

اهداف:

معرفی اقدامات لازم برای انجام نمونه های هماتولوژی از نمونه گیری تا انجام کامل آن آزمایشهای هماتولوژی عبارتند از:

۱. CBC
۲. رنگ آمیزی لام با دستگاه رنگ آمیزی
۳. بررسی لام خون محیطی
۴. شمارش سلولی مایعات بدن
۵. آزمایش ESR
۶. شمارش میزان رتیک (Retic)
۷. بررسی انگل مالاریا و بورلیا
۸. آزمایش LE Cell

تعریف واژگان و کلمات کلیدی:

CBC=Complete BloodCount

SOP=Standard operation procedure

ESR =Erythrocyte sedimentation rate

LE Cell=Lupus Erythematosus cell

RBC=Red Blood cell

Hb=Hemoglobin

Hct=Hematocrit

WBC=White blood cell

روش انجام کار :

۱. CBC

۱.۱. تحویل گیرنده نمونه هادربخش هماتولوژی نمونه هارا از جهت معیار رد یا قبول نمونه، نام و نام خانوادگی، کد بیمار، وجود لخته و عدم همولیز بررسی کند.

۱.۲. مسئول ثبت نمونه ها ، نمونه هارا از جهت درخواست کامپیوتری بررسی می کند (تمامی نمونه های ارسالی باید دارای درخواست باشند در صورت عدم وجود درخواست در مورد نمونه های سرپایی به پذیرش سرپایی و در مورد بخش های بستری با بخش جهت ثبت درخواست تماس گرفته می شود).

۱.۳. مسئول تحویل گیرنده نمونه ها بعد از صحت معیارهای رد یا قبول فوق دفتر ارسال نمونه را امضاء می کند.

۱.۴. مسئول ثبت نمونه ها لیست کاری را اخذ می کند.

۱.۴.۱. برنامه مدیریت خدمات بیماران را باز کرده وارد پاراکلینیک ۳ می شویم محل سرویس را لابراتوارها، آزمایشگاه سرپایی را انتخاب کرده و در گروه آزمایشات هماتولوژی را انتخاب کنید.

۱.۴.۲. در قسمت وسط صفحه ساعت را تنظیم کنید.

شیفت صبح ۰۶:۰۰ - ۱۳:۳۰

شیفت عصر و شب بنابه ساعت شیفت مربوطه

۱.۴.۳. در قسمت وضعیت سرویس سمت راست و پایین صفحه گزینه درخواست شده را انتخاب کنید.

۱.۴.۴. از قسمت نوار منوی بالای صفحه ابزار را انتخاب کنید و جستجو را کنیم یا کلید f1

۱.۴.۵. ابتدا بر روی دایره سفید کلیک کنید بیماران مورد نظر را از لیست کلی انتخاب کرده (√ زده) و از قسمت نوار منوی بالای صفحه قسمت گزارش گیری گزینه ثبت لیست کاری در فایل را انتخاب کنید دو پیام ظاهر می شود که به نوبت هریک را تایید کنید

۱.۴.۶. برقراری سیستم اتصال دستگاه به کامپیوتر

۱.۴.۶.۱. بر روی آیکون lab link در صفحه desk top کلیک کرده وارد برنامه شوید.

۱.۴.۶.۲. در قسمت بالا و سمت راست دستگاه مورد نظر را انتخاب کرده و پنجره ای باز میشود که ابتدا شماره دستگاه و بعد شماره نمونه اول را وارد کرده و اینتر کنید.

۱.۴.۶.۳. با کلیک کردن روی شکل فلایی در قسمت پایین (Task bar) لیست مورد نظر با OK کردن پنجره باز شده Save خواهد گردید.

۱.۴.۶.۴. با کلیک  Pld پورت دستگاه را باز میکنیم

۱.۵. نمونه های بیمار را براساس شماره موجود در لیست کاری از شماره ۱ به ترتیب دستگاههای زیر شماره گذاری شود .

۱.۵.۱. در بخش هماتولوژی ۵ دستگاه خوانش نمونه وجود دارد. دستگاه CELL TAC F و دستگاه Cell TacES و

سیسمکس XP300, Ruby, zybion

۱.۶. مسئول دستگاه در بخش مربوطه پس از حصول اطمینان از صحت کارکرد دستگاهها (با اعمال کنترل کیفی دستگاهها طبق دستورالعمل کنترل کیفی بخش هماتولوژی نمونه های CBC و مایعات سروزی راطبق شماره به دستگاه خوانش نمونه هاداده و در صورت نیاز به تهیه لام و شمارش سلولی بررسی کنید.

۱.۶.۱. طرز کار با دستگاه CELL TAC ES

۱.۶.۱.۱. حصول اطمینان از کافی بودن محلول ها

۱.۶.۱.۲. اطمینان از روشن بودن دکمه (ON) سوئیچ دستگاه

- ۱.۶،۱،۳ فشار دادن دکمه Power روی بدنه دستگاه
- ۱.۶،۱،۴ بعد از مدت ۱۶ دقیقه (زمان شستشوی داخلی دستگاه به صورت خودکار) ظاهر شدن پیام ok و تایید ok جهت شروع کار
- ۱.۶،۱،۵ دادن خون کنترل بعد از شیک به مقدار کافی و رسیدن به دمای محیط و **ثبت در نرم افزار تریتا**
- ۱.۶،۱،۶ انتخاب شماره نمونه روی صفحه مانیتور
- ۱.۶،۱،۷ انتخاب نوع (CBC) یا (CBC + DIFF)
- ۱.۶،۱،۸ شیک نمونه ها
- ۱.۶،۱،۹ دادن نمونه از طریق نیدلی که در قسمت پایین سمت راست دستگاه قابل مشاهده می باشد.
- ۱.۶،۱،۱۰ در صورت لزوم به برگه پرینت جواب روشن نمودن دکمه سمت چپ قسمت پایین دستگاه (بالای پرینتر)
- ۱.۶،۱،۱۱ بعد از اتمام کار فشار دادن دکمه Power روی بدنه دستگاه جهت خاموش شدن دستگاه

۱.۶،۲ • طرز کار با دستگاه XP300

۱. بررسی اولیه تمامی اتصالات، محلول ها و کاغذ
۲. روشن کردن دستگاه ها (دکمه ON و OF در سمت راست دستگاه می باشد)
۳. دستگاه به صورت خودکار مراحل Start Up را انجام می دهند (Back ground & Auto Rinse)
۴. چک کردن Back ground دستگاه
۵. بعد از نمایش کلمه Ready روی مانیتور، دستگاه آماده به کار است.
۶. امکان نمونه دهی به دستگاه در حالت Ready مسیر است. (در صورت عدم استفاده از به مدت ۱۵ دقیقه دستگاه به صورت اتوماتیک کمپرسور را خاموش کرده و پیام Not Ready (PU Steep) اعلام می گردد)
- جهت خارج شدن از وضعیت PU Sleep یک بار دکمه Start (دکمه سبز رنگ) را می زنیم.
۷. شماره نمونه در کادر Sample ID وارد می کنیم و Enter می کنیم.
۸. پس از قرار دادن نمونه در زیر نیدل، دکمه سبز Start را فشار می دهیم.
۹. به محض شنیدن ۲ بوق ممتد یا پررنگ شدن مثلث اول (روبروی صفحه مانیتور) یا تبدیل شدن نوشته Apirating به نوشته Running، نمونه را از زیر نیدل خارج می کنیم.

۱۰. جایگزینی محلول ها:

- کانکتور محلول مورد نظر را در ظرف محلول قرار می دهیم.
- وارد برنامه CHg. Reag در قسمت Menu می شویم
- نوع محلول را در انتهای صفحه مانیتور انتخاب میکنیم (S.lyser یا Cellpack)
- در کادر بارکد مرتبط با محلول را اسکن می کنیم و دکمه OK را می زنیم
- سپس کلید Execute را فشار دهید و مراحل جایگزینی محلول شروع خواهد شد.

۱۱- تنظیم ارتباط با کامپیوتر دستگاه:

- در قسمت setting دستگاه وارد Host Out Put می شویم
- گزینه Auto Output را روی حالت Enable قرار می دهیم

۱۲- تنظیم پرینتر دستگاه:

- در قسمت Setting دستگاه وارد Printer می شویم

- گزینه Int. Printer: Internal Printer را انتخاب می کنیم
- با انتخاب Ip Auto Pri و انتخاب All data می توانیم از جواب نمونه ها پرینت بگیریم.

۱,۶,۳ طرز کار با دستگاه CELLTAC F

۱. بررسی اولیه تمامی اتصالات، محلول ها
۲. روشن کردن دستگاه (دکمه ON و OF در سمت چپ و پشت دستگاه می باشد)
۳. فشار دادن دکمه Power روی بدنه دستگاه
۴. دستگاه به صورت خودکار مراحل Start Up را انجام می دهد.
۵. چک کردن Back ground دستگاه
۶. بعد از نمایش کلمه Ready در قسمت چپ و بالای مانیتور، دستگاه آماده به کار است.
۷. دادن خون کنترل بعد از شیک به مقدار کافی و رسیدن به دمای محیط و ثبت در نرم افزار تریتا
۸. شماره نمونه اول را در قسمت ASSIGN ID وارد کرده و دکمه OK را بزنید .
۹. دکمه RESET دستگاه را بزنید .
۱۰. با استفاده از دکمه EJECT سینی مخصوص رک دستگاه بیرون می آید.
۱۱. نمونه ها را به خوبی تکان داده و در رک مخصوص قرار می دهید .
۱۲. دکمه Start دستگاه را فشار دهید و دستگاه شروع به خوانش می کند.
۱۳. برای ارسال مجدد جواب ها از دستگاه بعد اتمام خوانش و مراحل شستشو وارد قسمت MENU شوید و به قسمت DATA بروید و ID مورد نظر را انتخاب کنید و به قسمت Detail بروید و کلید print را بزنید .

۱,۶,۴ طرز کار با دستگاه Ruby ۱

- بررسی اولیه
- صحت کلی دستگاه، اتصالات، کابل ها و قطعات جانبی را چک کنید.
- ۲. روشن کردن دستگاه
- دکمه روشن/خاموش (Power) را فشار دهید (در سمت راست ، کنار دستگاه) تا دستگاه روشن شود
- ۳. بعد طی مرحله . ، دکمه F12 (prime) را بزنید .
- ۴. راه اندازی خودکار (Startup)
- دستگاه به طور خودکار مراحل Background, Startup را اجرا می کند
- ۵. بررسی Background
- پس از اتمام Background, Startup را چک کنید.
- مطمئن شوید نتایج Background در محدوده مجاز و بدون خطا است .
- ۶. دادن خون کنترل بعد از شیک به مقدار کافی و رسیدن به دمای محیط و ثبت در نرم افزار تریتا
- ۷. با استفاده از دکمه select close , mode دستگاه را عوض کرده و به حالت closed تغییر میدهیم .
- ۸. پس از قرار دادن نمونه در جا لوله ای های مخصوص دستگاه و رک را در جایگاه مخصوص قرار میدهیم (بارکد رک های نمونه به سمت بیرون دستگاه باشد) ، دکمه loader start را فشار میدهیم . و دستگاه شروع به کار می کند
- ۹. در صورت عدم ارسال جواب به lablink به قسمت Data log بروید و شماره مورد نظر را انتخاب کنید و گزینه transmit را بزنید

۱۰. جایگزینی محلول ها: - کانکتور محلول مورد نظر را در ظرف محلول قرار می دهیم. - وارد قسمت reagent در نوار بالای دستگاه می شویم. - گزینه new entry را بزنید. - نوع محلول را انتخاب کرده و exp date و lot no را وارد کرده و دکمه ok را میزنیم.

۱.۶.۵ طرز کار با دستگاه zybion z50

۱. بررسی اولیه

- صحت کلی دستگاه، اتصالات، کابل ها و قطعات جانبی را چک کنید.

۲. روشن کردن دستگاه

- دکمه روشن/خاموش (Power) را فشار دهید تا دستگاه روشن شود

۳. ورود به سیستم

- نام کاربری (USER): ADMIN

- رمز عبور (PASSWORD): ADMIN

- اطلاعات را وارد کنید و تأیید نمایید

۴. راه اندازی خودکار (Startup)

- دستگاه به طور خودکار مراحل Background, Startup را اجرا می کند

۵. بررسی Background

- پس از اتمام Background, Startup را چک کنید.

- مطمئن شوید نتایج Background در محدوده مجاز و بدون خطا است

۶. دادن خون کنترل بعد از شیک به مقدار کافی و رسیدن به دمای محیط و ثبت در نرم افزار تریتا

۷. ورود به قسمت analyse و از قسمت next sample شماره نمونه اول وارد کرده و ok را میزنیم

۸. پس از قرار دادن نمونه زیر نیدل، دکمه آبی start را فشار می دهیم

۹. در صورت عدم ارسال جواب به lablink به قسمت review بروید و شماره مورد نظر را انتخاب کنید و گزینه comm رو بزنید

۱۰. جایگزینی محلول ها: - کانکتور محلول مورد نظر را در ظرف محلول قرار می دهیم. - وارد قسمت reagent در نوار سمت چپ دستگاه

می شویم. - نوع محلول را انتخاب کرده و کارت محلول را روی کارت خوان قرار می دهیم و دکمه card reading را میزنیم.

۱.۱. مسئول ثبت نتایج آزمایشات CBC و مایعات سروزی و سدیمان را با سوابق بیمار چک می کند.

۱.۲. مسئول ثبت نتایج آزمایشات CBC (شمارش کامل خون)، مایعات سروزی (مانند پلور، آسیت، پریکارد و CSF) و سدیمان

(ESR) باید سوابق قبلی بیمار را بررسی کرده و Delta Check (بررسی تغییرات معنی دار نسبت به نتیجه قبلی) را انجام

دهد تا از صحت نتایج اطمینان حاصل شود.

حدود مجاز Delta Check (تغییرات قابل قبول در ۲۴ ساعت) برای پارامترهای اصلی CBC:

- هموگلوبین (Hb): افزایش یا کاهش بیش از ۱.۵ گرم بر دسی لیتر (g/dL) در ۲۴ ساعت → نیاز به بررسی مجدد (فلگ می شود).

- هماتوکریت (Hct): افزایش یا کاهش بیش از ۵٪ (مطلق) در ۲۴ ساعت → نیاز به بررسی مجدد.

- WBC (گلبول های سفید): افزایش یا کاهش بیش از ۴۰٪ نسبت به مقدار قبلی در ۲۴ ساعت → نیاز به بررسی مجدد.

- PLT (پلاکت): افزایش یا کاهش بیش از ۴۰٪ نسبت به مقدار قبلی در ۲۴ ساعت → نیاز به بررسی مجدد.

• RBC (گلبول‌های قرمز): افزایش یا کاهش بیش از $0.5 \times 10^6 / \mu L$ (یا حدود ۱۰٪ در مقادیر نرمال) در ۲۴ ساعت

→ نیاز به بررسی مجدد.

۱،۳. مسئول ثبت و پیگیری جوابها، موارد عدم انطباق را تلفنی به بخش پذیرش (بیماران سرپائی) و یا بخش بستری بیمار گزارش کرده و در دفتر عدم انطباق همراه با نام و نام خانوادگی کد پذیرش و بخش بستری و ساعت و تاریخ گزارش و نام فرد گزارش گیرنده و گزارش دهنده ثبت گردد. و در صورت نیاز با نمونه مجدد تمامی مراحل بالاتکرار گردد.

۲. رنگ آمیزی لام با دستگاه رنگ آمیزی

۲،۱. کلید ON و OFF را روشن کنید. (پشت دستگاه)

۲،۲. اطمینان از داشتن مواد درون ظروف

۲،۳. تیوب ها را درون ظروف قرار دهید.

۲،۴. دکمه سبز را فشار دهید تا مواد به سطح پلیت منتقل شود

۲،۵. دکمه سبز را خاموش کرده و سطح پلیت را تمیز نمایید

۲،۶. لام ها را در شیار های باریک که در سمت راست دستگاه قرار دارند به طور منظم قرار دهید

۲،۷. پس از اتمام کار تیوب رنگ را در متانول قرار داده و دکمه قرمز را روشن نمایید تا مسیر رنگ کاملاً تمیز شود

۲،۸. کلید ON و OFF را خاموش کنید

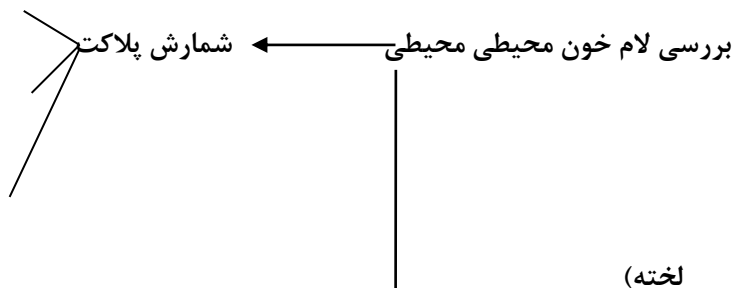
۳. بررسی لام خون محیطی

۳،۱. بعد از رنگ آمیزی لام خون محیطی، لام را زیر میکروسکوپ قرار دهید و از جهت مشکل مورد نظر بررسی کنید.

بیش از ۴۵۰ هزار : بررسی با عدسی ۱۰۰

کمتر از ۱۳۰ هزار : بررسی با عدسی ۱۰۰

بررسی با عدسی ۴۰ (از نظر تجمع پلاکتی و



بیش از ۱۵ هزار : بررسی با عدسی ۴۰ شمارش افتراقی

کمتر از ۳۵۰۰ : بررسی با عدسی ۴۰ (شمارش WBC در ۱۰ شان، عدد

حاصله $200 \times$)

MXD بیشتر از ۱۵٪ شمارش افتراقی سلولها

برای افراد بالای ۱۴ سال $Lymphocyte > Neutrophil$ شمارش افتراقی

۴. شمارش سلولی مایعات بدن

۴،۱. شمارش گلبول سفید مایعات:

۴،۱،۱. دریک لوله تمیز مقدار ۲۰ لاندا مایع بریزید.

۴،۱،۲. میزان ۴۰۰ لاندا مارکانو اضافه کنید.

۴،۱،۳. میکس کردن مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) انکوبه کنید

۴،۱،۴. سپس مقدار ۱۰۰ لاندا از آن را بر روی لام نئوبار ریخته و در خانه های مربوط به شمارش گلبول سفید سلولها را شمارش

کنید. تعداد سلول شمارش شده در ۴ مربع مربوط به گلبول سفید را در عدد ۵۰ ضرب مینمائیم

۴،۱،۵. سپس نیمی محتویات ویال نمونه را به درون یک لوله ریخته و مدت ۵ دقیقه سانتیفریژ مینمائیم .

۴،۱،۶. پس از آن مایع رویی را برداشته و از رسوبات آن لام تهیه کرده و بارنگ آمیزی رایت رنگ کنید.

۴،۱،۷. لام را مانند یک اسلاید خون محیطی بامیکروسکوپ دیف کنید .

۴،۱،۸. نیمه ی باقیمانده محلول را به مدت ۱ ماه بایگانی کنید.

۴،۲. در صورت نیاز به اندازه گیر ی Hct و Hb مایع را همانند یک نمونه CBC به دستگاه داده و جوابها را ثبت کنید.

۵. آزمایش ESR

۵،۱. نمونه ها را درون شیکر قرار دهید (به مدت ۵ دقیقه) یا در صورت نبودن یاخرابی شیکر، نمونه ۱۲ بار سر و ته شود.

۵،۲. نمونه را از نظر حجم (باید زیر خط نشانه ی لوله باشد. در صورتیکه حجم نمونه خیلی کم باشد ، خطای ERL روی نمایشگر

دستگاه ظاهر می شود. در صورتیکه حجم نمونه بالای خط نشانه باشد دستگاه هیچ خطایی را نشان نمی دهد و باعث افزایش

کاذب ESR می شود.) و محل لیبل (در بالاترین قسمت لوله) بررسی گردد.

۵،۳. دکمه ON پشت دستگاه را بزنید و تا ظاهر شدن خطوط کانال ها صبر کنید.

۵،۴. نمونه را در دستگاه قرار دهید و مجدد تا ظاهر شدن دکمه RUN صبر کنید.

۵،۵. بعد از اتمام زمان خوانش ، عدد را خوانده و روی لیبل لوله می نویسیم.

۶. شمارش میزان رتیک

۶،۱. ابتدا در درون ویال CBC ۵-۲/۳ میلی لیتر از خون بیمار بریزید.

۶،۲. مقدار مساوی و حداقل ۵۰ لاندا خون و ۵۰ لاندا رنگ رتیک درون یک لوله تمیز بریزید.

۶،۳. به آرامی تکان دهید.

۶،۴. لوله را در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۰ دقیقه قرار دهید.

۶،۵. سپس آن لوله را مجدداً تکان دهید

۶،۶. استفاده از اپلیکاتور یک قطره از مخلوط رنگ و خون را بر روی یک اسلاید قرار داده و فروتنی تهیه کنید.

۶،۷. پس از خشک شدن فروتنی با استفاده از روغن ایمرسیون و عدسی شماره ۱۰۰ میکروسکوپ، تعداد ۱۰۰۰ عدد گلبول قرمز را

شمارش نموده و در آن میزان رتیک را نیز بشمارید و سپس در صد گرفته و جواب را بصورت درصد گزارش نمایید.

۷. روش انجام آزمایش بررسی انگل خونی مالاریا و بورلیا

۷،۱. بررسی انگل خونی مالاریا

۷،۱،۱. نمونه خون تازه و در زمان تب بیمار باشد

۷،۱،۲. گسترش خون معمولی (Thin Smear) تهیه کنید.

۷،۱،۳. گسترش خونی ضخیم به نام Tick Smear نیز تهیه شود (روی لام یک قطره خون را بصورت دایره ای پخش می کنیم

سپس بعد از حصول اطمینان از خشک شدن لام چند قطره آب مقطر روی آن ریخته و کاملاً روی نمونه پخش می کنیم

تا RBC ها لیز گردد)

۷،۱،۴. بعد از خشک شدن با روش رنگ آمیزی گیمسا لام را رنگ کنید

۷،۱،۵. حداقل ۱۰ تا ۱۵ دقیقه لام های خون محیطی را با میکروسکوپ بررسی کنید

۷،۲. برای بررسی بورلیا در خون محیطی می توان از روش Thin smear استفاده نمود وبقیه مراحل مشابه مراحل انجام آزمایش

مالاریا میباشد.

۸. آشنایی با روش انجام آزمایش LE Cell

۸،۱. ۲ سی سی خون را داخل ظرف مناسب بریزید

۸،۲. به آن پرل شیشه ایی یا سوزن یا خرده لام اضافه نموده بصورت حرکت دورانی و چرخشی به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه مخلوط

کنید. (در آخر موقع چرخش صدای پرل یا سوزن شنیده نشود)

۸،۳. سپس به مدت ۱ الی ۲ ساعت در ۳۷ درجه قرار داده شود

۸،۴. سپس با کمک لوله موینه همتوکریت کشیده شود

۸،۵. از قسمت بافی کوت لوله موینه شکسته شده و لام خون تهیه شود(به این صورت که قسمت غلیظ بافی کوت روی یک لام و با

یک لام دیگر روی آن کشیده شود).

۸،۶. برای دیدن سلول LE حداقل ۱۵ تا ۲۰ دقیقه با بزرگ نمایی ۱۰۰ بررسی انجام گردد.

نام و نام خانوادگی تهیه کنندگان و سمت :

- دکتر کامبیز مظفری- مسئول فنی بخش هماتولوژی

- هادی خلج :سوپروایزر آزمایشگاه

- سمیرا کریمی:مسئول بخش هماتولوژی

منابع وامكانات لازم:

- ۱- نیروی انسانی
- ۲- دستگاه‌های Cell counter بنام ، CELL TAC ES - سیستم‌کس Ruby, zybio, -XP300
- ۳- مواد و ملزومات مورد نیاز بخش

مراجع:

- بروشور دستگاه‌ها
- کتاب هماتولوژی دیویدسون
- کتاب هماتولوژی عملی - انتشارات علوم پزشکی اصفهان
- کتاب مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی - آزمایشگاه مرجع سلامت
- تجربیات بیمارستانی

نام و امضاء تایید کننده رئیس بخش آزمایشگاه تشخیص طبی: دکتر سیامک میراب سمیعی	نام و امضاء سرپرست تهیه کنندگان: مسئول فنی بخش هماتولوژی: دکتر کامبیز مظفری
نام و امضاء تصویب و ابلاغ کننده رئیس انستیتو: دکتر فریدون نوحی	مهر و امضاء دفتر بهبود کیفیت دکتر بهزاد مومنی