

عنوان دستورالعمل:

نحوه انجام آزمایشات بیوشیمی ادرار و انگل شناسی

کد: WIC 13-13	شماره ویرایش: ۱۱	تاریخ تصویب و ابلاغ: ۱۴۰۵/۲/۲۰
حوزه تولید: آزمایشگاه	تعداد صفحه ها: ۵	تاریخ آخرین ویرایش: ۱۴۰۵/۲/۱۷
هدایت کننده: مسئول فنی آزمایشگاه		تاریخ بازبینی بعدی: ۱۴۰۶/۲/۲۰

اهداف:

معرفی اقدامات لازم برای انجام آزمایشات کنترل کیفی آنالیز ادرار و انگل شناسی
روش انجام کار عبارتند از:

۱. آزمایش تجزیه کامل ادرار

۲. روش انجام آزمایش پروتئین ادرار به روش اسید سولفوسالسیلیک (کیفی)

۳. آزمایش بررسی کامل مدفوع (Stool Exam)

۴. آزمایش خون مخفی

۵. آزمایش پروتئین بنس جونز

۶. آزمایش تکمیلی و تائیدی بیلی روبین ادرار

۷. آزمایش تکمیلی و تائیدی اوروبیلینوژن ادرار

۸. آزمایش تاییدی قند ادرار

۹. تعیین کیفی آنتی ژن هلیکوباکتر از مدفوع

تعریف واژگان و کلمات کلیدی:

RBC = Red Blood Cell

WBC=White Blood Cell

Ep= Epithelial

روش انجام کار:

۱. آزمایش تجزیه کامل ادرار:

۱.۱. درخواست و نام روی نمونه ها در سیستم چک میشود و جواب ها در هنگام آماده شدن که معمولاً ۳-۴ ساعت است در سیستم وارد خواهند شد و در دفتر مخصوص ثبت می شوند.

۱.۲. آزمایش کامل ادرار توسط پرسنل فنی آزمایشگاه در دو مرحله ماکروسکوپی و میکروسکوپی انجام می گیرد.

در مرحله ماکروسکوپی نمونه های ادرار شماره گذاری می شوند و سپس حدود ۵ سی سی از ادرار در لوله های شیشه ای ۱۰۰*۱۶ ریخته می شود. شاخص های فیزیکی و شیمیایی ادرار شامل بررسی نمای ظاهری ادرار؛ وزن مخصوص و یکسری از آیتم های شیمیایی با کمک نوار ادرار ۱۰ یا ۱۱ پارامتری اندازه گیری می شود.

۱.۳ در مرحله میکروسکوپی پرسنل فنی آزمایشگاه بعد از سانتریفوژ نمونه ادرار و تهیه غلظت یک دوازدهم از آن ، نمونه ها را با بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰ (برای گزارش Cast) میکروسکوپ بررسی کرده و سپس گزارش می نماید. جهت رویت جزئیات مراحل ماکروسکوپی و میکروسکوپی به دستورالعمل آزمایش کامل ادرار مراجعه گردد. (صفحه ۱ تا ۵)

۲. روش انجام آزمایش پروتئین ادرار به روش اسید سولفوسالسیلیک (کیفی):

۲.۱ پرسنل آزمایشگاه بعد از سانتریفوژ نمونه های ادرار به میزان ۲ سی سی اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ بدان اضافه میکنیم و بعد از ۱۰ دقیقه و درمقابل نور معمولی و در حرارت اتاق آن را قرائت می نمایند .

۲.۱.۱ با توجه به جدول مربوط به این آزمایش مقدار پروتئین ادرار بصورت کیفی گزارش می نماید. (رجوع شود به دستورالعمل آزمایش پروتئین ادرار به روش اسید سولفوسالسیلیک صفحه ۳ ، SOP آنالیز ادرار).

۳. آزمایش بررسی کامل مدفوع (Stool Exam) :

۳.۱ پرسنل فنی آزمایشگاه ابتدا نمونه مدفوع را از نظر ظاهری و ماکروسکوپی بررسی کرده و مشخصات آن در دفتر مربوطه یادداشت میگردد. مشخصات ظاهری مدفوع شامل رنگ آن که : قهوه ای -زرد- سیاه - سبز- بی رنگ و...و قوام مدفوع شامل : طبیعی (Normal) - شل (Loose) - سفت (firm) - نرم (Soft) - آبکی (watery) می باشد، بررسی می گردد.

۳.۲ سپس از نمونه مدفوع در لوگل سوسپانسیون تهیه شده و زیر میکروسکوپ از نظر کیست و تخم انگل و تک یاخته و دیگر عناصر (RBC, WBC, Yeast, Ep) بررسی و گزارش میگردد .

۳.۳ همزمان با تهیه اسمیر مرطوب از مدفوع با لوگل اسمیر مرطوب از مدفوع با سرم فیزیولوژی جهت یافتن تروفوزئیت ها تهیه شود.

۴. آزمایش خون مخفی:

۴.۱ ابتدا پرسنل فنی آزمایشگاه درون لوله آزمایش کریستالی یکبار مصرف (۱۰۰*۱۶) مقدار ۵ سی سی آب مقطر (با پیپتور) میریزد ،

۴.۲ سپس حدود یک گرم مدفوع با اپلیکاتور چوبی برداشت کرده خوب در آن مخلوط میکنیم و ۵ قطره، معرف مایر بدان اضافه می نماید، چند لحظه صبر کرده و بعداً ۳ قطره آب اکسیژنه ۳٪ بدان میافزاییم .

۴.۳ ظهور رنگ صورتی تا قرمز پس از ۲ تا ۳ دقیقه نشانه مثبت بودن خون مخفی از Trace تا ۴+ است . در موارد شدیداً مثبت (۴+) حتی حباب در بالای سوسپانسیون دیده میشود.

۵. آزمایش بنس جونز پروتئین

۵.۱ برای انجام تست پروتئین بنس جونز ابتدا تست اسید سولفوسالسیلیک به عنوان یک تست غربالگر برای تمام پروتئین ها انجام شود. اگر نتیجه منفی بود پس پروتئین بنس-جونز وجود ندارد اما اگر نتایج مثبت به دست آمد آنگاه تست های بیشتری لازم است تا مشخص کند که آیا رسوب مربوط به پروتئین بنس- جونز است یا مربوط به سایر پروتئین ها می باشد. بهترین روش برای شناسایی حضور این زنجیره های سبک، انجام الکتروفورز پروتئین و ایمونوالکتروفورز با استفاده از آنتی سرم های اختصاصی بر روی نمونه ادراری است که قبلاً توسط دیالیز به خوبی تغلیظ شده باشد.

۵.۲ ساده ترین راه تشخیص پروتئین بنس جونز استفاده از روش حرارتی است ولی این روش قابل اعتماد نبوده و در ۲۰ درصد موارد نتایج مثبت کاذب نشان میدهد. بهتر است با سایر روشها مثل ایمونوالکتروفورز و الکتروفورز پروتئین ادرار تأیید شود.

۵.۳ روش آزمایش "روش حرارتی" بدین صورت است که ابتدا پرسنل فنی آزمایشگاه در یک لوله آزمایش بلند ۴ سی سی ادرار شفاف (که قبلاً سانتریفوژ شده) را با ۱ سی سی بافر استات (تامپون) مخلوط کرده تا PH آن اسیدی گردد . سپس لوله را در بن ماری ۵۶ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار میدهد .

۵,۴. در صورت عدم وجود کدورت جواب منفی است ولی اگر کدورت ایجاد شده دمای بن ماری را به ۱۰۰ درجه سانتیگراد (جوش) رسانده اگر رسوب یا کدورت کمتر شود وجود پروتئین بنس جونز تایید میگردد ولی در صورت افزایش یا عدم کاهش کدورت یا رسوب جواب منفی بوده و این کدورت مربوط به پروتئین های دیگر بنس جونز پروتئین است.

۶. آزمایش تکمیلی و تأییدی بیلی روبین ادرار :

- ۶,۱. این آزمایش با استفاده از محلول ید ۰/۷ درصد انجام میگردد.
- ۶,۲. ابتدا پرسنل فنی آزمایشگاه پنج سی سی ادرار اسیدی را در لوله ریخته و روی آن ۲ سی سی محلول ید (ید ۰/۷ درصد در الکل ۹۵ درصد میریزیم.
- ۶,۳. ایجاد حلقه زرد متمایل به سبز رنگ در محل اتصال در مایع دلیل بر بیلی روبین مثبت است نتایج بصورت مثبت و منفی گزارش میگردد.

۷. آزمایش تکمیلی و تأییدی اوروبیلینوژن:

چهار سی سی ادرار را در لوله ریخته و روی آن ۴ قطره معرف ارلیخ اضافه کرده در صورت مثبت بودن بلافاصله تغییر رنگ به سمت طیف قرمز رنگ را داده که شدت آن نشانه مثبت بودن اوروبیلینوژن از محدوده Trace تا ۴+ است.

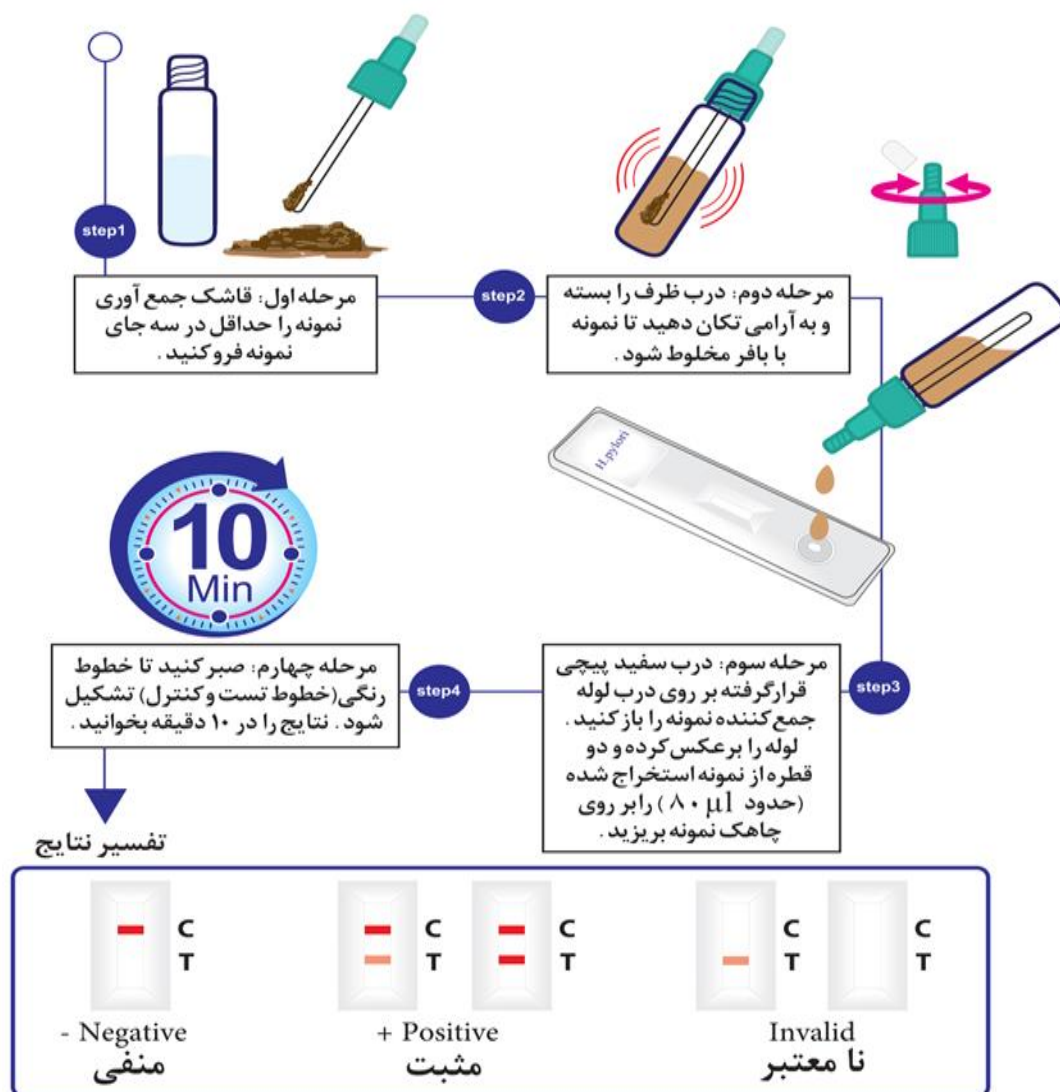
۸. آزمایش تأییدی قند در ادرار:

در صورتیکه با بررسی ماکروسکوپی اویه با نوار ادرار ۱۰ یا ۱۱ پارامتری مشخص شود که قند ادرار بالاتر از حد نرمال (از trace یا تا ۴+) می باشد لازم است که میزان قند ادرار با یک نوار تک قند هم مجدد از ظرف اصلی ادرار چک شود. علاوه بر آن باید بیمار از نظر داشتن سابقه قند خون هم چک شود. در آن صورت هست که میزان قند ادرار گزارش می شود و یا درخواست تکرار نمونه ادرار داده می شود.

۹. آزمایش تعیین آنتی ژن هلیکوباکتر در مدفوع:

قبل از انجام آزمایش باید کاست از یخچال درآمده و به دمای محیط برسد. بهترین سنجش در زمان ۶ ساعت بعد از جمع آوری نمونه صورت میگردد ولی نمونه را می توان تا سه روز در دمای یخچال نگهداری کرد. پس از درمان های خاص آنتی بیوتیکی غلظت آنتی ژن ها ممکن است به زیر سطح حداقل قابل شناسایی توسط این تست برسند. بنابراین در طول درمان آنتی بیوتیکی باید گزارش با احتیاط صورت بگیرد. مانند سایر تست های تشخیصی تمامی نتایج با دیگر اطلاعات بالینی در اختیار پزشک معالج قرار باید بگیرد. لازم به ذکر است که آلودگی با ادرار اثر جانبی بر روی تست ندارد ولی ممکن است بر اثر رقیق شدن مدفوع جواب منفی کاذب ایجاد شود.

- ۱- آماده سازی نمونه: درب لوله جمع کننده نمونه را باز کنید و میله جمع کننده نمونه را در ۳ جای مختلف از نمونه مدفوع فرو کنید. به نحوی که فقط میله به نمونه آغشته شود (از برداشتن نمونه بوسیله میله اجتناب کنید). سپس میله آغشته به مدفوع را وارد ویال بافر نموده و درب لوله را محکم ببندید و لوله را تکان دهید تا نمونه با بافر استخراج موجود در لوله به خوبی مخلوط گردد. نمونه آماده شده را می‌توان تا ۶ ماه در دمای 20°C - نگهداری کرد.
- ۲- تست را از بسته بندی خارج کنید.
- ۳- درب پیچی سفید قرار گرفته بر روی درب لوله جمع کننده نمونه را باز کنید. لوله را بر عکس کرده و دو قطره از نمونه استخراج شده (حدود $80\ \mu\text{l}$) را بر روی چاهک نمونه بریزید. در این زمان تایمر را روشن کنید.
- ۴- صبر کنید تا خطوط رنگی (خطوط تست و کنترل) تشکیل شود. نتایج را در ۱۰ دقیقه بخوانید. نتایج بدست آمده بعد از ۱۵ دقیقه قابل استناد نیست.



نام و نام خانوادگی تهیه کنندگان و سمت :

- هادی خلج :سوپروایزر آزمایشگاه
- هنگامه صعودی: مسئول بخش میکروبیشناسی و آنالیز ادرار و انگل شناسی
- فاطمه رحیمی: بخش آنالیز ادرار

منابع و امکانات لازم:

- ۱- نیروی انسانی
- ۲- هود شیمیایی
- ۳- سانتریوفوز
- ۴- رفراکتومتر
- ۵- مواد و ملزومات مورد نیاز بخش

مراجع:

- ۱- Henry JB Clinical diagnosis and management by laboratory methods 21 st ed 2007/chapter 18 pag(367 to 401)
- ۲- Ringsrud k ,line J urinalysis and body fluids st ed 1995 /chapter 2,3,4,5,6 pag 21 to 178
- ۳- کتاب آزمایش کامل ادرار همراه با تضمین کیفیت درآزمایشگاه تجزیه ادرار فصل سوم ص ۲۹الی ص ۴۰ فصل چهارم ص ۴۱الی ص ۶۸
- مولفان : دکتر صدیقه شمس -دکتر فریده جلیلیان -دکتر محمود ظهوری نیا چاپ اول ۱۳۸۱
- ۴- مقاله نحوه آزمایش با نوارهای ادرار و منابع خطای آنها - مجله پاتولوژی ص ۱۲ الی ص ۲۱ خرداد و تیر ۱۳۸۸
- دکتر کامبیز مظفری - امارتی
- ۵- کتاب انگل شناسی پزشکی و روش های تشخیص در انگل شناسی مؤلف :لین -س.گارسیا و دیوید .آ.بروکنر ترجمه : دکتر محمد فلاح -۱۳۷۱- دانشگاه علوم پزشکی همدان
- فصل ۲۴ صفحه ۴۰۸ الی ۴۱۲
- فصل ۳۴ صفحه ۴۸۳ الی ۴۸۶
- ۶- کارگاه کنترل کیفیت درآزمایشگاه انگل شناسی ۱۳۸۸/۱۱/۱۲
- ۷- کارگاه آموزشی کنترل کیفی انگل شناسی دکتر اور مزدی - دکتر اخلاقی -دکتر شکرابی ۱۳۷۸/۱۰/۸
- ۸- کتاب اصول تشخیص آزمایشگاهی - انگل شناسی - اقتباس از کتاب سازمان جهانی بهداشت-دکتر محمد جواد غروی
- ۹- بروشور کیت پارازیت تست شرکت کاراطب نور
- ۱۰- 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:دکتر کامبیز مظفری
نام و امضاء تصویب و ابلاغ کننده رئیس انستیتو: دکتر فریدون نوحی	مهر و امضاء دفتر بهبود کیفیت دکتر بهزاد مومنی