

نشریه علمی آزمایشگاه - نوبت دوازدهم (مرداد ماه 1403)

مدیریت امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

مقدمه :

فرآیند کل انجام آزمایش (Total testing process) و گزارش نتیجه در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی را می‌توان به سه مرحله تقسیم نمود:

1- مرحله قبل از آزمایش Pre-Analysis

2- مرحله انجام آزمایش Analysis

3- مرحله بعد از انجام آزمایش Post-Analysis

در مرحله پیش از آزمایش باید مجموعه‌ای از دستورات و استانداردها اجرا و رعایت شود تا از بروز خطا در جواب آزمایش و نیز تفسیر اشتباه پزشک از نتیجه گزارش شده جلوگیری گردد. با پیشرفت تکنولوژی و تولید تجهیزات پیشرفته در حوزه آزمایشگاه و نیز اجرای برنامه‌های پایش کیفیت در مرحله انجام آزمایش، در حال حاضر میزان خطاهای رخ داده در این مرحله کاهش یافته و موجب شده تا خطاهای مربوط به مرحله قبل از آزمایش درصد بیشتری از کل اشتباهات بروز کرده در آزمایشگاه‌های تشخیص پزشکی را تشکیل دهند. بر اساس مطالعات اخیر هم اکنون خطاهای مربوط به مرحله پیش از آزمایش عامل 32 تا 75 درصد از کل گزارشات اشتباه آزمایشگاه می‌باشند. متأسفانه اهمیت مرحله قبل از آزمایش در فرآیند کل آزمایش، توسط افراد مرتبط شامل پرسنل آزمایشگاه، پرستاران، پزشکان و بیماران به خوبی پذیرفته و درک نشده است. **بر اساس سند ایزو 15189 آزمایشگاه‌های**

پزشکی در قبال مدیریت و تضمین کیفیت مرحله پیش از

آزمایش مسئول می‌باشند. بنابراین آشنایی کارکنان و مسئولین

آزمایشگاه‌های تشخیص پزشکی با منابع خطا و نیز استانداردهای آماده سازی بیمار و نمونه برای انجام فرآیند آزمایش، ضرورتی انکار ناپذیر است. بر همین اساس سعی ما بر این است که در چند شماره آتی نشریه، به بحث و بررسی در مورد این مرحله از فرآیند کل انجام آزمایش در آزمایشگاه‌های پزشکی بپردازیم.

برای مدیریت کیفیت مرحله پیش از آزمایش موارد زیر ضروری است:

1- اهمیت این مرحله در کل فرآیند انجام آزمایش به خوبی پذیرفته و درک شود.

2- تمامی فاکتورها و منابع تاثیرگذار و نیز نوع اثرگذاری آن‌ها در این مرحله شناسایی شود.

3- دستورالعمل و گایدلاین‌هایی برای نحوه برخورد با این منابع تاثیرگذار تهیه و مستند گردد.

4- پایش کیفیت این مرحله به صورت مستمر اجرا و در صورت نیاز بازنگری انجام شود.

پایش کیفیت مرحله پیش از آنالیز را می‌توان با تعیین شاخص‌های مرتبط و تفسیر آماری نتایج آن‌ها در یک بازه زمانی تعریف شده مورد سنجش قرارداد. به عنوان مثال چند نمونه از این شاخص‌ها در زیر بیان شده است:

- تعداد نمونه‌های خون لیز شده
- تعداد نمونه‌های با برچسب مشخصات اشتباه
- تعداد تکرار نمونه‌گیری مجدد به دلیل عدم رعایت شرایط توسط بیمار
- تعداد تکرار کشت‌های ادرار مثبت به دلیل آلودگی نمونه
- تعداد نمونه‌های CBC لخته شده

با مقایسه این شاخص‌ها در بازه‌های زمانی تعریف شده می‌توان کارایی برنامه مدیریت کیفیت اجرا شده و میزان پیشرفت و یا افول آن را سنجش نموده و در صورت لزوم اقدام به بازنگری در آن نمود.

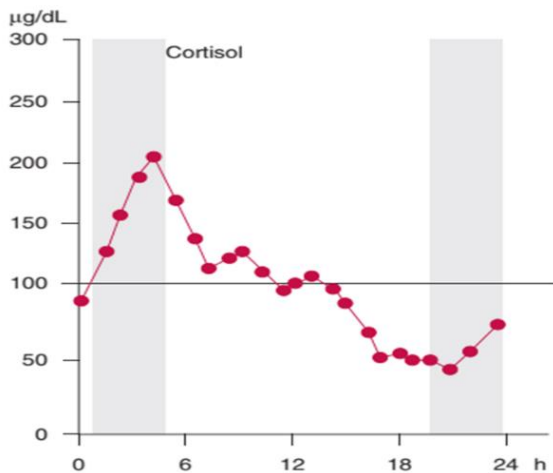
No result is always better than

a wrong result

به طور کلی عوامل موثر و دخیل در مرحله پیش از آزمایش را می‌توان در دو گروه قرار داد:

زمان نمونه گیری:

عدم نمونه گیری و انجام ندادن آزمایش به مراتب بهتر از نمونه گیری آن در زمان نامناسب می باشد! توصیه کلی برای زمان نمونه گیری بجز در موارد خاص بین ساعت 7 تا 9 صبح است. سطح بسیاری از آنالیت‌ها در بدن در زمان‌های مختلف تفاوت داشته و ممکن است از یک الگوی مشخص تبعیت نمایند. شکل زیر الگوی تغییرات کورتیزول سرم را نشان می دهد. بیشترین سطح خونی کورتیزول بین ساعات 4 تا 8 صبح بوده و غلظت آن در ساعت 8 شب تا 50٪ کمتر از ساعت 8 صبح می باشد.



سطح خونی هورمون‌های ACTH, Insulin, Aldosterone و Renin شب‌ها پایین‌تر است و میزان هورمون رشد و اسیدفسفاتاز در ساعات بعد از ظهر و عصر بیشتر می باشد.

سطح پرولاکتین خون بیشترین مقدار را بین ساعات 4 تا 8 صبح و نیز 8 تا 10 شب دارد.

برخلاف تصورات قبلی و توصیه به نمونه گیری در اول صبح، مطالعات اخیر نشان می دهد که میزان سطح خونی آهن تا ساعت 3 بعد از ظهر تقریباً ثابت بوده و پس از آن شروع به تغییر می کند.

بعضی از تغییرات مربوط به سیکل‌های فیزیولوژیک بدن و یا تغییرات فصلی می باشد. مثلاً سطح ویتامین D در تابستان بیشتر و سطح

1- فاکتورهای تاثیرگذار (Influencing Factors): اثر این فاکتورها در بیشتر موارد در داخل بدن بیمار (in vivo) رخ می دهد و منجر به کاهش و یا افزایش غلظت آنالیت می شود. در حقیقت غلظت ماده مورد اندازه گیری به دلیل تاثیر این فاکتورها به صورت واقعی تغییر پیدا می کند. فاکتورهایی مثل سن بیمار، نوع تغذیه و زمان نمونه گیری از این دسته می باشند.

2- فاکتورهای مداخله‌گر (Interference Factors): این فاکتورها معمولاً در محیط خارج از بدن (in vitro) اثر گذاشته و غلظت آنالیت تحت تاثیر آنها به صورت کاذب پایین تر و یا بالاتر از مقدار واقعی اندازه گیری می شود. فاکتورهایی مثل لیز یا لیپمیک بودن نمونه، وجود لخته در نمونه و یا تهیه نمونه از IV Line تزریق سرم در این گروه قرار می گیرند.

نکته: گاهی ممکن است عامل تاثیرگذار (Influencing) مربوط به محیط خارج از بدن باشد (مثل کاهش قند در نمونه خون به دنبال مصرف توسط سلول‌های خونی در صورت تاخیر در جداسازی سرم از لخته) و بر عکس عامل مداخله‌گر (Interference) در داخل بدن ایجاد شده باشد (مثل نمونه ایکتر که باعث تداخل در خوانش تست‌ها می شود).

نکته: تغییر نتیجه آزمایش ناشی از فاکتورهای تاثیرگذار وابسته به نوع روش اندازه گیری نیست و مقدار آنالیت به صورت واقعی تغییر می کند. در حالی که میزان اثرگذاری عوامل مداخله‌گر کاملاً وابسته به نوع روش اندازه گیری، کیت و یا دستگاه مورد استفاده دارد.

- در این شماره سعی می کنیم مروری اجمالی بر Influencing Factor های با اهمیت داشته باشیم و در شماره‌های آتی نشریه به عوامل مداخله‌گر مهم و شایع اشاره خواهیم نمود.

فاکتورهای تاثیرگذار (Influencing Factor)

این فاکتورها را می توان به دو دسته کلی متغیرهای قابل کنترل و غیرقابل کنترل تقسیم نمود.

متغیرهای مهمی که قابل کنترل هستند شامل:

هورمون T3 در زمستان افزایش می‌یابد. سطح آهن و فسفر در زمان قاعدگی کاهش و سطح آلدوسترون و رنین کمی قبل از تخمک گذاری افزایش دارد.

موارد فوق نمونه‌هایی از اهمیت زمان نمونه‌گیری و اطلاع از تغییرات غلظت آنالیت مورد اندازه‌گیری در زمان‌های مختلف می‌باشد. اگر چه در بسیاری از موارد ممکن است این تغییرات ناچیز بوده و تاثیری در تفسیر آن توسط پزشک نداشته باشد ولی در سطوح غلظتی مهم برای تصمیم‌گیری یا مقایسه تغییر غلظت آنالیت در آزمایشات متوالی بر روی یک فرد و نیز در مورد بعضی از آنالیت‌هایی که اختلاف سطح خونی بسیار فاحشی را در زمان‌های مختلف نشان می‌دهند (مثل کورتیزول) اطلاع از زمان نمونه‌گیری و اهمیت آن و نیز رعایت همسان بودن ساعت نمونه‌گیری ضروری است.

اقدامات درمانی و تشخیصی:

موارد زیر نمونه‌هایی از تاثیر اقدامات درمانی و تشخیصی بر نتیجه آزمایش است:

♣ پلاکت فرزیس و تزریق حجم زیاد خون: کاهش کلسیم یونیزه و منیزیم خون

♣ تزریق سالین هیپرتونیک (در افزایش فشار داخل جمجمه): افزایش سدیم خون

♣ داروی آزیتروماسین: کاهش پلاکت

♣ داروهای دیورتیک تیازیدی: کاهش منیزیم و افزایش کلسیم در خون

♣ داروی تری متوپریم: افزایش (برگشت پذیر) کراتینین سرم و بروز اشتباه در محاسبه E-GFR

♣ عرقیات گیاهی: افزایش آنزیم‌های کبدی

♣ داروهای حاجب اشعه دارای ید: اختلال عملکرد تست‌های تیروئیدی

♣ داروهای حاجب اشعه مورد استفاده در آنژیوگرافی: اختلال در تست‌های انعقادی و مارکرهای التهابی

به عنوان یک توصیه کلی، نمونه‌گیری آزمایش از بیمار باید قبل از مصرف دارو و با انجام اقدامات تشخیصی دیگر انجام گیرد.

تغذیه:

اثرات دراز مدت:

* تغذیه با پروتئین بالا: افزایش کراتینین، اوره، اورات و آمونیوم خون

* تغذیه با چربی بالا: کاهش اورات سرم و در صورت مصرف چربی‌های غیراشباع کاهش کلسترول، LDL، HDL

* کربوهیدرات بالا: کاهش پروتئین و چربی خون

* پورین بالا: افزایش اورات در خون

* رژیم گیاهخواری: کاهش کلسترول، تری گلیسرید، LDL، کراتینین، ویتامین B12 و PH بالای ادرار

* سوء تغذیه: کاهش پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها

* الکل: افزایش اورات، لاکتات، HDL، TG، آنزیم‌های کبدی، MCV، رنین و آلدسترون

تعداد وعده‌های غذایی هم اهمیت دارد مثلاً با تقسیم میزان ثابتی از غذا به وعده‌های بیشتر سطح کلسترول کاهش می‌یابد.

اثرات حاد:

تاثیر حاد مصرف غذا بر روی آزمایشات به نوع ترکیب غذا، زمان مصرف و فاصله زمانی آن با زمان نمونه‌گیری و نیز خصوصیات فردی بیمار (مثل سن، جنس، نژاد، میزان فعالیت فیزیکی و...) بستگی دارد. جدول زیر نمونه‌ای از این اثرات می‌باشد (بر اساس مطالعه Bajana, 2019).

Bajana, 2019 ⁶⁷	
Type of meal	Andean breakfast, containing standardized amounts of carbohydrates, protein, and lipids.
Blood collection time points	Baseline and 1 h, 2 h, 4 h after the meal
Analyte	
Triglycerides	85%
CRP	6%
Urea	26%
Creatinine	33%
AST	5%
ALT	4.3%
Albumin	4.4%
Bilirubin (total)	-29%
Bilirubin (direct)	-29%
Calcium	4%
Magnesium	9%
Iron	-35%
Potassium	3%
Uric acid	-3.6%
TSH	27%
fT4	6.6%
Cortisol	-29%

میوه جاتی مثل موز، آناناس و گوجه فرنگی که سروتونین بالایی دارند باعث دفع 5-HIAA در ادرار می شوند.

مصرف نوشیدنی‌ها نیز می تواند در نتیجه آزمایش تاثیرگذار باشد. نوشیدنی های کافئین دار مثل قهوه، چای و نوشابه منجر به افزایش کاتکولامین ها، فعالیت رنین، کورتیزول آزاد، 5-HIAA و دفع ادراری آب و الکترولیت ها (کلسیم، منیزیم، سدیم، کلر، پتاسیم) می شود. مصرف الکل نیز به صورت حاد سبب کاهش قند و افزایش لاکتات، اسیداوریک، TG، GGT و نیز بروز اسیدوز متابولیک می شود.

مصرف سیگار:

اثرات حاد: افزایش اپی نفرین، آلدوسترون، کورتیزول، TG، کلسترول و کاتکولامین های ادرار

اثرات دراز مدت: افزایش CEA، WBC، RBC، Hb، MCV، سرب، لاکتات، انسولین، GH، IgE و کاهش ACE، پرولاکتین،

همانطور که مشاهده می شود تاثیر مواد غذایی بر نتیجه برخی از آزمایشات می تواند قابل توجه باشد.

موارد زیر مثال هایی از میزان اثرگذاری حاد مصرف غذا در نتیجه برخی از آزمایشات (در سطوح غلظتی با اهمیت بالینی) بر اساس مطالعه فوق می باشد:

- ♣ Creatinine: 1.3 → → 1.7
- ♣ Urea: 42 → → 53
- ♣ Iron: 20 → → 13
- ♣ TSH: 4.5 → → 5.7
- ♣ Cortisol: 30 → → 21
- ♣ Neutrophil: 60% → → 76%

ترکیب ماده غذایی نیز در نوع تاثیرگذاری اهمیت دارد. برای مثال مصرف گوشت، ماهی، قرص آهن و بیسموت می تواند باعث مثبت کاذب شدن تست خون مخفی در مدفوع شود و مصرف

به طور کلی توصیه این است که خون‌گیری بعد از 15 دقیقه استراحت در وضعیت نشسته و یا خوابیده انجام گرفته و از تورنیکت بیش از **1 دقیقه** استفاده نشود.

فعالیت فیزیکی:

انجام فعالیت فیزیکی هم به صورت حاد قبل از نمونه‌گیری و هم در دراز مدت بر نتیجه آزمایشات تاثیر می‌گذارد. انجام فعالیت شدید قبل از نمونه‌گیری مسبب افزایش مارکرهای قلبی و تخریب عضلانی (لاکتات، AST، LD، CK)، تیروکسین، TSH، آلدوسترون، GH، پرولاکتین، کورتیزول، تستوسترون، HCG، انسولین، ACTH، کاتکولامین‌ها، تجمع پلاکتی، لکوسیتوز و کاهش توانایی لخته شدن خون می‌باشد.

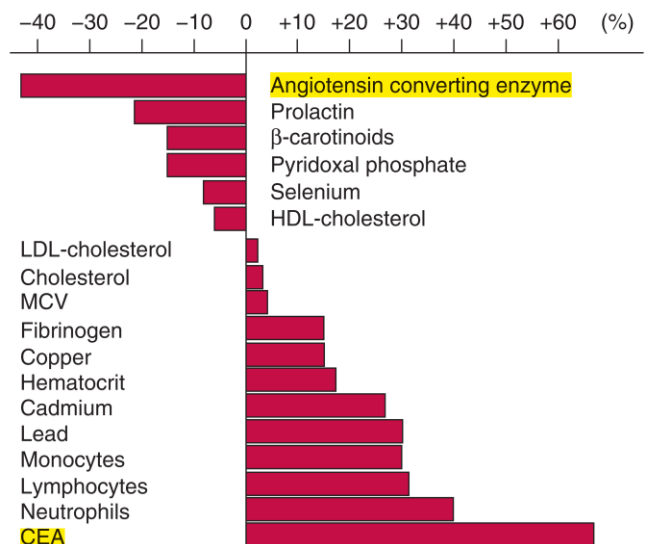
انجام فعالیت‌های ورزشی سنگین در طولانی مدت ممکن است موجب بالا بودن پایدار سطح LD، CK، CK-MB، AST، ALT، Aldolase و پرولاکتین و پایین بودن سطح گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های استروئیدی جنسی در خون شود.

استرس:

استرس بیمار در زمان نمونه‌گیری می‌تواند منجر به افزایش ACTH، کورتیزول، کاتکولامین‌ها، پرولاکتین، GH، توتال کلسترول، لاکتات، لکوسیتوز و pH (به دلیل هیپرونتیلیسیون) و نیز کاهش سطح HDL شود. بنابراین آرامش دادن به بیمار و موکول کردن نمونه‌گیری به پس از آرام شدن فرد تاثیر بسزایی در کاهش اثر استرس بر نتایج آزمایشات دارد.

مجموعه عوامل قابل کنترل فوق موجب تغییر میزان آنالیت مورد اندازه‌گیری شده و عدم اطلاع از وضعیت بیمار و متغیرهای ذکر شده احتمالاً باعث تفسیر غلط نتایج آزمایشگاه و در نهایت خطا در تشخیص پزشک خواهد شد. بنابراین ضرورت دارد که آزمایشگاه‌ها از شرایط بیمار در زمان نمونه‌گیری اطلاع داشته باشند و برای استاندارد و یکسان کردن وضعیت بیماران در زمان نمونه‌گیری دستوالعمل‌هایی تهیه و به کار گرفته شود. برای مثال گروه کاری مرحله پیش از آزمایش (WG-PRE) انجمن بیوشیمی و طب

Vit B12، IgA، IgM، IgG و اسپرم (کاهش تعداد، حرکت و اشکال نرمال).



اثر تورنیکت و وضعیت بدن:

افزایش فشار هیدرواستاتیک در نتیجه وضعیت قرارگیری عضو در زمان خون‌گیری و یا طولانی بودن زمان بستن تورنیکت به دلیل خروج مایع از جدار مویرگ‌ها سبب افزایش تعداد سلول‌ها، مقدار مولکول‌های بزرگ و نیز غلظت آنالیت‌های متصل به پروتئین (که امکان خروج از جدار مویرگ را ندارند) در داخل رگ می‌شود. سلول‌های خونی، پروتئین، آلبومین، بیلی روبین، لاکتات، هورمون‌های متصل به پروتئین‌ها، فیبرینوژن و... از این دسته هستند. برعکس سطح آنالیت‌های کوچک و آزاد با خروج از جدار مویرگ کاهش خواهد یافت.

ممکن است این مسئله منجر به اشتباه در تشخیص پزشک شود. برای مثال تفاوت هموگلوبین بیماری که به صورت سرپایی به اورژانس مراجعه کرده و بلافاصله نمونه‌گیری شده است با هموگلوبین همان فرد پس از بستری و البته دریافت سرم که این بار در وضعیت خوابیده نمونه‌گیری شده است موجب شک به وجود خونریزی داخلی در بیمار می‌گردد (به دلیل کاهش Hb).

2- مدت ناشتایی 12 ساعت و تنها مصرف آب در این مدت مجاز می باشد.

3- از مصرف الکل از 24 ساعت قبل از نمونه گیری باید پرهیز شود.

4- در صبح نمونه‌گیری از استعمال دخانیات و مصرف نوشیدنی های کافئین دار خودداری شود.

آزمایشگاه اروپا (EFLM) در جهت کنترل خطاهای این مرحله توصیه‌های **عمومی** زیر را در ارتباط با رعایت ناشتایی در زمان نمونه گیری دارد:

1- ترجیحا نمونه‌گیری خون بین ساعت 7 تا 9 صبح انجام شود.

توصیه عمومی در مورد آزمایشات روتین ، عدم نمونه گیری در صورت فراهم نبودن شرایط بیمار است.

- در مورد **متغیرهای غیرقابل کنترل** همانند سن، جنس، نژاد و ارتفاع که یکسان کردن وضعیت بیماران در زمان نمونه گیری غیرممکن است، آزمایشگاه باید در تعریف دامنه مقادیر نرمال مناسب برای آزمایشات و نیز تفسیر نتایج تست ها دقت و توجه لازم را داشته باشد. جدول زیر (برگرفته از کتاب تیتز) اشاره ای به تاثیر مهم‌ترین این متغیرها در نتیجه آزمایشات دارد:

TABLE 5.5 Unavoidable Influences on Laboratory Results

Influence (Reference)	Examples of Analyte Concentrations Changed	Remarks
Age ¹¹⁸⁻¹²⁰	ALP, LDL cholesterol, hormones, creatinine, total WBC count, WBC subpopulations, RBC, hemoglobin, hematocrit, RBC indices, VWF, AT, PC, PS, plasminogen.	Provide age-dependent reference intervals
Race ¹¹⁹⁻¹²³	CK higher in black than in white males. Creatinine higher in black than in white males. Granulocytes higher in white than in black males. Hematocrit, hemoglobin, and MCV lower in African Americans than Caucasians. Hematocrit, hemoglobin, MCH, MCHC, and MPV lower in Asians than Caucasians.	Provide race-specific reference intervals
Gender ^{118,124,120}	ALT, γ -GT, creatinine, hemoglobin, hematocrit, RBC, WBC, PLT	Provide gender-specific reference intervals
Pregnancy ^{26,64,125}	Triglycerides \uparrow , homocysteine \downarrow , WBC \uparrow , d-dimers \uparrow , PT \uparrow , fibrinogen \uparrow	Document months of pregnancy with laboratory results
Altitude ^{64,120}	CRP \uparrow , hemoglobin \uparrow , hematocrit \uparrow , RBC \uparrow , transferrin \downarrow	Consider weeks of adaptation, when coming from or going to high altitude

ALP, Alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; AT, antithrombin; CK, creatine kinase; CRP, C-reactive protein; γ -GT, gamma-glutamyltransferase; LDL, low density lipoprotein; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; MPV, mean platelet volume; PC, protein C; PLT, platelets; PS, protein S; PT, prothrombin time; RBC, red blood cell; VWF, von Willebrand Factor; WBC, white blood cell.

منابع:

1. Tietz Text Book of Laboratory Medicine, Seventh Edition
2. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Twenty-Fourth Edition

همانطور که قبلا بیان شد موارد فوق مربوط به تاثیرات فاکتورهای مختلف (Influencing Factors) بر میزان آنالیت مورد بررسی و تغییر واقعی سطح آن در بدن فرد (فارغ از نوع روش اندازه گیری) بود. در شماره های آتی به تاثیر عوامل مداخله‌گر مهم همانند لیز، لیپمیک و ایکتریک بودن نمونه بر نتایج آزمایشات و نحوه برخورد با آنها خواهیم پرداخت.