مبانی خون گیری

قبل از اقدام به خون گیری باید سعی شود عواملی که بر روی مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی تاثیر میگذارند به حداقل رسانده شوند.

این عوامل شامل: تغییرات روزانه، ورزش، ناشتا بودن، مصرف الکل، سیگار، دارو و وضعیت بدن میباشد.

تغییرات روزانه در مقدار کورتیزول، آهن و تعداد نوتروفیل ها تاثیر دارد.

فعالیت بدنی منجر به افزایش فعالیت آنزیم های CK، AST، LD و همچنین افزایش سطح آلانین، لاکتات و هورمون های جنسی میشود.

نمونه گیری برای تعیین مقدار گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول، الکترولیت ها و بسیاری از ترکیبات دیگر باید در وضعیت ناشتا صورت گیرد. مصرف غذا با توجه به محتوای آن منجر به تغییر در سطح بسیاری از پارامترها ی بیوشیمیایی میگردد. به علاوه پس از صرف غذا افزایش شیلو میکرون ها در پلاسما منجر به کدورت آن اختلال در اندازه گیری جذب توسط دستگاه اسپکترو فوتومتری میگردد. به عنوان مثال: رژیم حاوی گوشت و پروتئین زیاد منجر به افزایش اسید اوریک، اوره و آمونیاک میگردد. موز، آناناس و گوجه فرنگی باعث افزایش میزان سروتونین میشود. نوشیدنی های حاوی کافئین زیاد منجر به افزایش شطح اسید های چرب و کاکتول آمین ها میشود.

مصرف اتانول باعث افزایش غلظت لاکتات، اسید اوریک و تری گلیسیرید پلاسما میشود.

تداخل دارویی به دو قسمت INVITRO و INVIVO تقسیم میشود.

تداخلات INVIVO شامل تاثیر دارو بر میزان پارامترهای بیوشیمیایی در بدن میباشد.

تداخلات INVITRO شامل تاثیر دارو یا متابولیست آن در واکنش های انجام شده در آزمایشگاه، جهت اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی میباشد.

بستن طولانی مدت تورنیکه و تغییر وضعیت بدن از حالت خوابیده به ایستاده منجر به افزایش فشار هیدروستاتیک عروق و خروج آب به مایع میان بافت میشود؛ که این امر منجر به افزایش غلظت پروتئین ها و ترکیبات متصل به پروتئین مثل: کلسیم، بیلی روبین، کلسترول، تری گلیسیرید، داروها و هورمون ها میشود.

به طور کلی بیمارانی که در برنامه ی خون گیری هستند ۲۴ ساعت قبل از نمونه گیری باید از فعالیت شدید بدنی، مصرف الکل، دارو و مواد مخدر خودداری کنند و بیمار طبق روال هر شب به بستر برود و حداقل یک ساعت پس از بیدار شدن، از وی خون گیری شود.

خون گیری از ورید با استفاده از یک سرنگ با یک لوله ی تخلیه شده از هوا با یک سرپوش پلاستیکی (لوله ی ونوجکت) انجام میشود. رنگ سرپوش لاستیکی لوله نشان دهنده ی ماده ی ضد انعقاد با نگاه دارنده ی داخل آن است؛ به عنوان مثال: رنگ قرمز نشان دهنده ی این است که لوله بدون ضد انعاد میباشد.

بنفش حاوی EDTA ، سبز حاوی هپارین، آبی حاوی بافر سیترات و ..... میباشد.

خون گیری توسط لوله ی ونوجکت، امکان انتشار و بیرون ریختن خون را کاهش داده و نمونه گیری توسط آن بسیار آسان میباشد.

۳ روش نمونه گیری خون عبارتند از:

۱ .خون گیری از ورید

۲ .خون گیری از شریان

۳ .خونگیری از پوست

خون شریانی ترکیبی یکسان در سراسر بدن دارد. ولی ترکیب خون وریدی با توجه به بافت مربوط و فعالیت متابولیکی آن بافت ترکیبات متفاوتی در نواحی مختلف بدن دارد. خون پوستی که به اشتباه خون مویرگی نامیده میشود، مخلوطی از خون سرخرگ، سیاهرگ، مویرگ و همچنین حاوی مایعات داخل سلولی و بینابینی میباشد.

خون گیری از ورید:

۱ .نام و مشخصات بیمار روی برچسب نمونه یادداشت شود.

۲ .در مورد ناشتا بودن و دیگر عوامل موثر بر سطح پارامترهای بیوشیمیایی از بیمار سوال شود.

۳ .برای کاهش اضطراب بیمار باید با بیمار صحبت کرد و در مورد هویت خود و کاری که میخواهید انجام دهید برای او توضیح دهید.

۴ .برای دسترسی به سیاهرگ حفره ی آرنج، بیمار را در وضعیت مناسب قرار دهید.

۵ .وسایل مورد نیاز از جمله، لوله ی نمونه گیری، سرنگ، الکل و ..... را از قبل تهیه کنید.

۶ .برای اینکه ورید ها بیشتر قابل لمس باشند از بیمار بخواهید دست خود را مشت کند.

۷ .ورید مناسب برای خون گیری را انتخاب کنید. معمولا وریدهای حفره ی آرنج ترجیح داده میشوند؛ ولی از وریدهای مچ دست و پا و پشت دست نیز میتوان استفاده کرد. اگر به یک بازو سرم وصل شده باشد باید از بازوی دیگر خون بگیریم.

۸ .محل خون گیری توسط پنبه ی آغشته به الکل ایزو پروپانول ۷۰٪ و یا محلول اشباع ید تمیز کنیم.

۹ .یک تورنیکه را چند سانتی متر بالاتر از محل خون گیری ببندید. حداکثر زمان استفاده از تورنیکه یک دقیقه میباشد.

۱۰ .ورید را محکم از قسمت بالا و پایین محل ورود سوزن ثابت نگاه دارید.

۱۱ .سوزن را با زاویه ی تقریبا ۱۵ درجه به بازو در حالی که دهانه ی باز سوزن رو به بالاست وارد رگ کنید. در صورت استفاده از سرنگ، پیستون را با فشار متعادل و به آرامی همزمان با ورود خون به عقب بکشید تا از همولیز جلوگیری شود.

۱۲ .وقتی خون جریان پیدا کرد تورنیکه را باز کنید. هرگز سوزن را بدون باز کردن تورنیکه خارج نکنید. پس از اتمام خون گیری از بیمار بخواهید مشت خود را باز کند. پنبه ی الکلی را روی سوزن قرار داده و به آرامی سوزن را بیرون بکشید.

۱۳ .با وارونه کردن لوله به آهستگی خون را با ماده ی ضد انعقاد مخلوط کنید. در صورت ناتوانی در خون گیری بعد از دو بار تلاش، باید یک فرد دیگر اقدام به خون گیری کند.

خون گیری از پوست:

اگر مقدار کمی خون احتیاج باشد میتوان از خون پوستی استفاده کرد. برای بالا بردن جریان خون محل مورد نظر را با پارچه ی گرم و مرطوب ماسا دهید سپس محل مربوطه را با الکل تمیز کرده و توسط یک لانست سوراخی حداکثر به عمق ۵/۲ mm ایجاد کنید. اولین قطره ی خون را پاک کرده و قطرات بعدی را در یک لوله ی آزمایش کوچک (میکروتیوب) جمع آوری کنید. خون پوستی از سر انگشت و یا در نوزادان از پاشنه ی پا گرفته میشود. غلظت ترکیبات در خون پوستی به خون شریانی نزدیکتر از خون وریدی است.

مواد ضد انعقاد و نگهدارنده :

در آزمایشگاه به ندرت از خون تام برای آزمایش های بیو شیمی استفاده میشود. تنها در دو مورد یعنی تجزیه ی گازهای خون و اندازه گیری لاکتات از خون تام استفاده میشود. معمولا در شرایط اور انسی به دلیل اینکه جداسازی پلاسما نیاز به صرف زمان برای لخته شدن خون ندارد از یک ماده ی ضد انعقاد استفاده میشود. با این وجود تشکیل لخته های فیبرینی در اثر نگهداری پلاسما در فریزر و گرفتگی لوله های دستگاه اتو آنالیزر معمولا استفاده از پلاسما را تا اندازه ای محدود میکند.

انواع مواد ضد انعقاد :

هپارین

هپارین به علت تغییرات کمی که ایجاد میکند به طور وسیع در آزمایشگاه بیوشیمی و خون شناسی استفاده میشود. این ترکیب ضد انعقاد با جلوگیری از تبدیل پروترومبین به ترومبین و ممانعت از تشکیل فیبرین از فیبرینوژن، مانع لخته شدن خون میشود. با توجه به نوع آزمایش باید نوع نمک هپارین به کار رفته تعیین شود. مثلا: برای اندازه گیری سدیم و پتاسیم در پلاسما از نمک لیتیوم یا آمونیوم، هپارین استفاده میشود.

EDTA یا اتیلن دی آمین ترا استیک اسید

EDTA یک ماده ی شلاته کننده ی کلسیم است و با اتصال به کلسیم و خارج کردن آن از محیط از انعقاد خون جلوگیری میکند. EDTA یک ضد انعقاد خوب برای آزمایش های خون شناسی است؛ زیرا تاثیری در مورفولوژی سلول های خونی ندارد.

فلورور سدیم (NAF) یا سدیم فلوراید

این ماده یک ضد انعقاد ضعیف میباشد و بیشتر به عنوان محافظ گلوکز در پلاسمای خون از آن استفاده میشود. سدیم فلوراید با مهار آنزیم های مسیر گلیکولیز، مانع از مصرف گلوکز توسط سلول های خون شده و سطح گلوکز خون را ثابت نگاه میدارد. سدیم فلوراید مهار کننده ی قوی آنزیم اوره آز نیز میباشد. بنابراین در شرایطی که از روش اوره آز برای اندازه گیری اوره استفاده میشود؛ نباید از فلورور سدیم به عنوان ماده ی محافظ گلوکز استفاده کنیم.

یدو استات سدیم

یدو استات سدیم مهارکننده ی آنزیم های گلیکولیز و یک محافظ برای گلوکز به شمار میرود. به دلیل اینکه این ترکیب اثری روی فعالیت آنزیم اوره آز ندارد؛ میتوان از آن به عنوان محافظ گلوکز در نمونه هایی که آزمایش گلوکز و اوره را به طور همزمان دارند استفاده کرد. یدو استات سدیم فعالیت آنزیم کراتین کیناز را مهار میکند.

جداسازی سرم و پلاسما:

حداکثر زمان مجاز برای جداسازی سرم یا پلاسما دو ساعت میباشد. برای جداسازی سرم ابتدا خون را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه و یا ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار داده میشود تا لخته تشکیل شود. سپس توسط یک میله ی شیشه ای یا سوآب، لخته از جدار لوله ی آزمایش به آرامی جدا میشود.

سپس به مدت ۱۰ دقیقه در نیروی 1000 g سانتریفیوژ شود. در این صورت سلول های خون ته نشین شده و محلول رویی سرم نام دارد. جداسازی پلاسما همانند سرم میباشد ولی نیاز به مرحله ی لخته شدن خون ندارد.

در مرحله ی سانتریفیوژ باید نیروی گریز از مرکز و زمان سانتریفیوژ مشخص شود.

$$RCF = 1/118 \cdot 10\text{-}5 \cdot r \cdot (rpm)2$$

در فرمول فوق، نیروی نسبی گریز از مرکز ((g، r)) شعاع سر سانتریفیوژ یا روتور (فاصله ی میان محور چرخش و مرکز لوله ی سانتریفیوژ است) و سرعت چرخش در دقیقه (rpm) است.