

بسمه تعالی			
شماره سند فرم: DI-LA-12		❖ عنوان سند : نحوه انجام آزمایشات در آزمایشگاه هماتولوژی ❖ نوع سند: دستورالعمل	
تاریخ بازنگری:	تاریخ ابلاغ :	تعداد صفحات	دامنه کاربرد:
_____	مهر ۱۴۰۳	۱۸	پرسنل آزمایشگاه
هدف : یکپارچه سازی روند انجام آزمایشات در بخش هماتولوژی			
تعاریف: CBC : تست شمارش سلول های خونی RETIC : رتیکولوسیت ها در واقع گلبولهای قرمز خون تازه تولید شده نسبتاً نابالغ هستند. سل کانتر : دستگاه شمارش سلول های خونی ESR : تست رسوب گلبول های قرمز BG RH : تعیین گروه خونی			

بسمه تعالی

دستورالعمل اجرایی بخش هماتولوژی

دستورالعمل: CBC

جمع آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش خون تهیه شده با ضد انعقاد EDTA است این نمونه همانند CBC تهیه می شود یعنی تقریباً ۲cc خون را در شیشه حاوی یک قطره EDTA باغلظت ۱۰٪ بریزید. که بعد از نمونه گیری به دستگاه سل کانتر داده می شود .

که در این آزمایشگاه دو عدد سل کانتر موجود می باشد.

پایداری نمونه ها در دمای ۸-۲ به مدت یک هفته می باشد.

روش کار با دستگاه سل کانتر **Mythic ۱۸**

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۱

الف) کنترل‌های قبل از روشن کردن دستگاه:

اطمینان از وجود محلول در ظروف مخصوص دستگاه (ایزوتون، کلین، لایز) و خالی بودن ظرف Waste و همچنین کنترل اتصالات آنها به دستگاه.

ب) هنگام روشن کردن دستگاه

۱. دستگاه‌های جانبی از قبیل پرینتر، نرم افزار را روشن نمایید.

۲. دکمه پاور دستگاه را فشار داده و مدتی تامل نموده تا دستگاه روشن گردد.

۳. روی صفحه ای که نمایش داده می شود دکمه ok را انتخاب کنید.

۴. صفحه اصلی که باز می شود گزینه start up را انتخاب کنید تا دستگاه شستشوی روزانه را شروع کند.

۵. در پایان برنامه شستشو اگر دستگاه پیغام start up failed را نمایش داد مجدد به شماره ۴ مراجعه نمایید.

۶. با اتمام برنامه start up جهت نمونه دادن به دستگاه گزینه Run Sample را انتخاب کنید.

۷. در پنجره باز شده در پایین صفحه گزینه A..Z را انتخاب کنید.

۸. در پنجره باز شده مشخصات بیماران را وارد نموده و برای ذخیره شدن اطلاعات هر بیمار گزینه valid را انتخاب کنید.

۹. با وارد کردن اطلاعات بیمار و ذخیره کردن آن وارد منوی اصلی می شود.

۱۱. نمونه را با پایین آمدن پروپ طوری نگه می داریم که پروپ کاملاً داخل نمونه قرار گیرد و همزمان دکمه start را فشار داده تا

دستگاه نمونه را کشیده و پروپ به بالا حرکت نماید.

۱۱. برای نمونه های بعدی مطابق برنامه ۷ تا ۱۱ عمل نمایید.

۱۲. در پایان کار با دستگاه برنامه shut down را اجرا کرده تا دستگاه پروسه خاموش شدن را انجام دهد

نگهداری دستگاه :

روزانه :

Cover Cleaning

Shut down process

Automatic Cleaning

Start up

Reagent levels

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۲

Concentrate cleaning

کنترل کیفی قبل از انجام کار و حین کار :

۱-اطلاع از نمونه گیری صحیح از بیماران

۲-استفاده از ویال های مناسب

۳-عدم همولیز و لخته در نمونه

۴-چک کردن ظرف فاضلاب

۵-چک کردن محلول ایزوتون

۶-چک کردن محلول Rinse

۷-چک کردن محلول لایز WBC

۸-چک کردن اتصالات و شیلنگ ها

۹-قرار دادن نمونه ها بر روی میکسر بمدت حداقل ۵دقیقه

RETIC

جمع آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش خون تهیه شده با ضد انعقاد EDTA است این نمونه همانند CBC تهیه می شود یعنی تقریباً ۲cc خون را در شیشه حاوی یک قطره EDTA باغلظت ۱۰٪ بریزید.

پایداری نمونه ها در دمای ۲-۸°C به مدت یک هفته می باشد.

مواد و معرف های مورد نیاز :

۱- متیلن بلو ۱gr

۲- سیترات سالین سولوشن (۲۰cc) سیترات سدیم ۳۰gr/Litr و ۸۰cc کلورسدیم ۹gr/Litr) مواد ۱و ۲ را با هم مخلوط کرده و بعد فیلتر می نمائیم.

۳- رنگ آماده و تجاری رتیک

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۳

لوازم مورد نیاز :

۱- بن ماری ۳۷ درجه

۲- لام

۳- میکروسکپ

روش انجام آزمایش :

نمونه CBC بیمار را به نسبت مساوی با رنگ متیلن بلو (یا رنگ تجاری رتیک آماده) مخلوط می کنیم (مثلاً ۵۰ لاندامتیلن بلو با ۵۰ لاندازنمونه CBC بیمار) سپس ۱۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه می گذاریم بعد از ۱۵ دقیقه یک قطره از آن را روی اسلاید ریخته و از آن گسترش تهیه می کنیم و بعد در زیر میکروسکپ مطالعه می کنیم برای شمارش آن باید ۱۰۰۰ تا سلول RBC شمارش شوند و در نهایت با توجه به تعداد سلول های RETIC موجود در بین این ۱۰۰۰ سلول درصد آن محاسبه شود.

شمارش رتیلولوسیت:

گسترش خونی رنگ آمیزی شده را با استفاده از روغن ایمرسون با درجه ۱۰۰ میکروسکوپ بررسی می کنیم رشته های رتیلولین به رنگ آبی تیره و گلبول های قرمز طبیعی به رنگ سبز کمرنگ نمایان می گردند. برای شمارش تعداد آنها ۱۰۰۰ گلبول قرمز مشخص کرده و بر عدد ۱۰ تقسیم می کنیم عدد به دست آمده درصد رتیلولوسیت را در خون محیطی مشخص می کند. به طور کلی در هر شان میکروسکوپی تعداد کل گلبول های قرمز و رتیلولوسیت را به طور مجزا شمارش کرده و در مجموع از ۱۰ شان میکروسکوپی استفاده می شود که فرمول محاسبه به قرار زیر است:

$$\text{Retic \%} = \frac{\text{تعداد رتیک شمارش شده}}{\text{تعداد کل گلبول های قرمز و رتیک}} \times 100$$

حدود طبیعی رتیلولوسیت

در بالغین ۰.۵-۱.۵ درصد می باشد.

در نوزادان ۶-۲/۵ درصد می باشد

ESR

جمع آوری نمونه :

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد؛

لوله‌های مخصوص ESR حاوی ۴۰۰ لاند سدیم سیترات ۳.۲٪ می باشند که باید تا حد علامت روی لوله به آن خون اضافه نمائید (حجم نهایی خون وسیترات ۲CC است) سپس درب آنرا بسته و چند بار لوله را تکان دهید تا خوب مخلوط شود و لی سعی کنید حباب تشکیل نشود.

خوانش نمونه‌ها :

قبل از اینکه نمونه‌ها را در دستگاه بگذارید آنها را با زاویه ۴۵ درجه تکان بدهید تا اینکه خوب مخلوط شوند سپس نمونه‌ها را در جایگاه بگذارید تا زمانی که دستگاه علامت F به معنی پایان کار را نشان بدهد جهت اطلاعات بیشتر به دستورالعمل فنی دستگاه Zyngi ZT9912 مراجعه نمائید.

نحوه کنترل کیفی :

روزانه ESR ۲ نفر از بیماران را پس از اتمام خوانش دستگاه به صورت دستی کشیده و تحت کنترل قرار دهید.

نکته (۱) : جواب هر نمونه در ورک کاری گرفته شده یادداشت می گردد.

نکته (۲) : پس از پایان کار تعداد ESR های موجود در دفتر شمارش شده و با لوله‌های ESR موجود مقایسه شوند و در صورت هماهنگی بین تعداد نمونه‌ها عدد مربوطه با خود کار قرمز در دفتر یادداشت شود این کار برای جلوگیری از جا افتادن نمونه‌ها هنگام وارد کردن جواب‌ها در دفتر می‌باشد.

BG.Rh

جمع‌آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش خون تهیه شده با ضد انعقاد EDTA است این نمونه همانند CBC تهیه می‌شود یعنی تقریباً ۲CC خون را در شیشه حاوی یک قطره EDTA باغلظت ۱۰٪ بریزید. پایداری نمونه‌ها در دمای ۸-۲°C به مدت یک هفته می‌باشد.

مواد و معرف‌های مورد نیاز :

کیت حاوی آنتی A آنتی B و آنتی D

لوازم مورد نیاز :

۱- اسلاید مخصوص تعیین گروه خون

۲- اپلیکاتور

۳- سمپلر

روش انجام آزمایش :

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد

برای انجام آزمایش ابتدا باید کیت را به دمای اتاق برسانید سپس نمونه را روی شیکر بگذارید تا کاملاً مخلوط شود حال از نمونه موردنظر سه قطره جداگانه بر روی یک لام بریزید وبعد ابتدا یک قطره آنتی D بر روی یکی از قطرات ریخته و توسط اپلیکاتور به خوبی مخلوط نمائید اگر آگلوتیناسیون مشاهده شد که Rh بیمار مثبت است ولی اگر آگلوتیناسیون مشاهده نشد Rh منفی می باشد پس از تعیین Rh به دو قطره خون دیگر که بر روی لام ریخته بودید از هر کدام از آنتی بادی های A , B یک قطره اضافه نمائید و مجدداً توسط اپلیکاتور هم بزنید، اگر آگلوتیناسیون فقط در قطره خونی که با آنتی بادی A مخلوط شده مشاهده شد گروه خونی فرد A است، اگر فقط با B واکنش داد گروه خونی فرد B است، اگر با هر دو آنتی بادی واکنش داد گروه خونی شخص AB و اگر با هیچ کدام آگلوتیناسیون نداد گروه خونی فرد O می باشد.

نحوه کنترل کیفی :

در مواقعی که تعداد نمونه های گروه خون از یکی بیشتر است باید به نکات زیر به دقت عمل شود

***نکته (۱) : نمونه ها باید یکی یکی انجام شوند به هیچ عنوان همه نمونه ها را روی لام نریزید و بعد همزمان به آنها آنتی بادی اضافه کنید.

***نکته (۲) : پس از انجام هر نمونه گروه خون مربوطه روی برچسب بیمار یادداشت شود.

***نکته (۳) : پس از انجام هر نمونه گروه خون مربوطه از روی برچسب بیمار در دفتر هما تولوژی وارد شود و پس از آن گروه خون دوم انجام شود و به همین ترتیب الی آخر.

***نکته (۴) : در پایان یک بار دیگر برای جلوگیری از اشتباهات احتمالی جواب ها با لام ها تطبیق داده شوند.

تعیین Rh خون به روش لوله

جمع آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده در این آزمایش خون تهیه شده با ضد انعقاد EDTA است این نمونه همانند CBC تهیه می شود یعنی تقریباً ۲cc خون را در شیشه حاوی یک قطره EDTA با غلظت ۱۰٪ بریزید. پایداری نمونه ها در دمای ۸-۲۰C به مدت یک هفته می باشد.

مواد و معرف های مورد نیاز :

۱- کیت حاوی آنتی A آنتی B و آنتی D

۲- سرم فیزیولوژی

لوازم مورد نیاز :

۱- لوله

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۶

۲- سانتریفوژ

۳- میکروسکوپ

روش انجام آزمایش :

۱- ابتدا باید از نمونه خون موردنظر که می خواهید Rh آن را تعیین کنید یک سوسپانسیون ۵-۲ درصد در سرم فیزیولوژی تهیه نمائید برای تهیه سوسپانسیون مقداری از خون بیمار را در یک لوله تمیز بریزید سپس آن را ۳ مرتبه با سرم فیزیولوژی بشوئید پس از آخرین مرحله شستشو به سلول های باقیمانده سرم فیزیولوژی اضافه کنید و آنرا هم بزنید و با اضافه کردن سرم فیزیولوژی به میزان لازم سوسپانسیون ۵-۲ درصد تهیه نمائید.

۲- یک قطره آنتی D در یک لوله تمیز که علامت گذاری شده است بریزید (لوله تست)

۳- یک قطره از محلول کنترل در لوله دیگری که علامت گذاری شده است بریزید (لوله کنترل)

۴- به هر لوله یک قطره از سوسپانسیون ۵-۲ درصد گلبول های قرمز اضافه کنید

۵- لوله ها را خوب مخلوط کرده و با نیروی ۱۰۰۰ g برای مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ کنید

۶- لوله ها را از سانتریفوژ بیرون آورده و به آرامی تکان دهید تا گلبول های ته نشین شده به آرامی از ته لوله ها جدا شوند

تفسیر: حضور آگلوتیناسیون در لوله تست و منفی بودن واکنش در لوله کنترل بیانگر اره اش مثبت است.

چنان چه واکنش در هر دو لوله منفی باشد، باید اقدام به انجام تست Du کرد و در صورت منفی بودن این تست گروه خونی اره اش منفی است.

نحوه کنترل کیفی : همزمان با انجام نمونه بیمار از کنترل استفاده نمائید.

اندازه گیری Hb به روش دستی

اساس روش :

اساس این روش به این صورت است که با استفاده از یک محلول Diluent که در این جا محلول Drabkin است رقت های مختلفی از استاندارد Hb تهیه نموده سپس جذب نوری آنها را با استفاده از فتومتر خوانده و روی کاغذ میلیمتری در یک سمت میزان جذب نوری و در سمت دیگر ارزش استاندارد را وارد نمائید ، پس از آن هر بار که بخواهید مقدار هموگلوبین نمونه ای را تعیین نمائید با استفاده از محلول Drabkin آن را رقیق نموده بعد با فتومتر جذب نوری آنرا اندازه گیری کرده و روی نمودار ببرید. این نمودار باید هر سه ماه یک بار با محلول های جدید تهیه شود.

جمع آوری نمونه :

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۷

نمونه مورد استفاده خون تام با ضد انعقاد EDTA می باشد در این روش باید از ضد انعقاد خشک استفاده شود در غیر این صورت باید ضریب رقت در محاسبه منظور گردد. تهیه نمونه همانند تهیه نمونه برای آزمایش CBC است یعنی تقریباً مقدار ۲cc خون را در شیشه CBC حاوی EDTA ریخته و به خوبی مخلوط نمائید.

مواد و معرف های مورد نیاز :

کیت حاوی مواد زیر :

۱- RGT₁ (Stock Drabkins reagent) ۲ ویال

۲- RGT₂ (Stock Cyanide reagent) ۲ ویال

۳- RGT₃ (استاندارد Hb ۲۰ g/dl) ۲ ویال

آماده سازی محلول ها :

ابتدا باید محلول درابکین را آماده نمائید برای آماده کردن محلول درابکین محتویات یک ویال از معرف RGT₁ و RGT₂ را با هم مخلوط نموده و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ ml برسانید. چون این محلول در حرارت آزمایشگاه فقط ۳ ماه پایدار است پس از پایان ۳ ماه باید دو ویال باقیمانده را با هم مخلوط نمائید و هر بار هم که از کیت و یا فتومتر جدید استفاده می کنید باید رسم منحنی را تجدید نمائید.

لوازم مورد نیاز :

۱- سمپلر

۲- لوله

۳- فتومتر

۴- کاغذ میلی متری

ترسیم منحنی :

استاندارد هموگلوبین را از یخچال بیرون آورده و به دمای اتاق برسانید سپس با استفاده از ۵ لوله به ترتیب زیر عمل کنید

شماره لوله	استاندارد هموگلوبین	محلول آماده درابکین	ارزش استاندارد (گرم در صد)
۱	۰	۵	۰
۲	۲ میلی لیتر	۳	۸

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۸

۳	۳ میلی لیتر	۲	۱۲
۴	۴ میلی لیتر	۱	۱۶
۵	۵ میلی لیتر	۰	۲۰
مخلوط کرده بعد از ۵ دقیقه جذب آنها را مقابل بلانک (لوله شماره ۱) در ۵۴۰ نانومتر قرائت نمائید. روی کاغذ میلیمتری در محور افقی ارزش استاندارد و بر محور عمودی جذب را درج نمائید.			

طرز انجام آزمایش:

جهت انجام آزمایش به تعداد نمونه‌ها لوله تهیه نمائید سپس در هر لوله مقدار ۵ میلی لیتر محلول درابکین بریزید پس از آن از هر نمونه مقدار ۲۰ لاندرا داشته ابتدا نوک سر سمپلر را پاک نمائید و بعد نمونه را به لوله اضافه نمائید باید داخل سر سمپلر را چند بار داخل لوله بشوئید تا کاملاً نمونه خالی شود سپس آنها را خوب مخلوط کرده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق بگذارید بماند پس از اتمام ۵ دقیقه جذب نوری هر کدام از نمونه‌ها را در مقابل محلول درابکین در طول موج ۵۴۰ نانومتر بخوانید سپس این اعداد را روی نمودار برده و غلظت هموگلوبین هر نمونه را تعیین نمائید.

مقادیر نرمال :

زنان : ۱۶ - ۱۲

مردان : ۱۸ - ۱۲

- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می باشد ۹

نحوه کنترل کیفی : درهرسری کاری از نمونه‌های با Hb مشخص استفاده نمائید .

اندازه‌گیری HCT به روش دستی:

جمع‌آوری نمونه :

نمونه مورد استفاده خون تام با ضدانعقاد EDTA می‌باشد در این روش باید از ضد انعقاد خشک استفاده شود در غیر این صورت باید ضریب رقت در محاسبه منظور گردد. تهیه نمونه همانند تهیه نمونه برای آزمایش CBC است یعنی تقریباً مقدار ۲cc خون را در شیشه CBC حاوی EDTA ریخته و به خوبی مخلوط نمائید.

لوازم موردنیاز :

۱- لوله کاپیلاری غیر هپارینه

۲- سانتریفوژ هماتوکریت

۳- خط کش هماتوکریت

روش کار :

به تعداد نمونه‌ها لوله کاپیلاری (غیر هپارینه) آماده نمائید سپس درب نمونه را باز کرده و درحالی که با انگشت سبابه یک سرلوله را مسدود نموده‌اید یر دیگر لوله را در نمونه قرار دهید و با کج کردن لوله اجازه دهید که نمونه با استفاده ازخاصیت لوله‌های موئین وارد لوله شود ولی لوله را پر نکنید اجازه دهید تقریباً دو سانتیمتر از لوله خالی بماند سپس درحالیکه سر لوله را محکم با انگشت مسدود کرده‌اید انتهای دیگر لوله را چند باردر خمیر مخصوص فرو نمائید تا ته لوله مسدود شود سپس لوله‌ها را درسانتریفوژ میکروهماوکریت به صورتیکه خمیرها به سمت محیط دایره باشند گذاشته و به مدت ۵ دقیقه نمونه‌ها را سانتریفوژ کنید پس از آن نمونه‌ها را از سانتریفوژ خارج کرده و با استفاده از خط کش مخصوص هماتوکریت بخوانید.

خواندن نمونه‌ها :

خط کش دارای یک محور افقی در پائین، یک محور عمودی در سمت چپ که اعداد را از روی آن قرائت می‌نمائید، یک محور کج در قسمت بالا و یک محور متغیر که با یک دستگیره حرکت می نماید است برای خواندن نمونه‌ها ابتدا لوله را در شیار روی خط کش که جایگاه قرار دادن نمونه است به صورتی قرار دهید که حدفاصل بین نمونه و خمیر با محور افقی پائین خط کش و قسمت محدب پلاسمی جداشده با محور کج بالایی مماس باشند سپس با استفاده ازدستگیره محور متغیر را درحدفاصل بین پلاسمای جداشده وسلول های ته نشین شده قرار دهید انتهای این محور برروی یکی ازاعداد محور عمودی سمت چپ قرار می گیرد که این عدد نشان دهنده HCT نمونه است.

مقادیر نرمال :

زنان : ۴۸ - ۳۶ مردان : ۵۴ - ۳۹

نحوه کنترل کیفی :

در هر سری کاری از نمونه‌های CBC با هماتوکریت مشخص استفاده نمائید.

شمارش تصحیح شده WBC : Corrected Leukocyte count

محلول‌های رقیق کننده که جهت شمارش WBC ها به کار می‌رود همه گلبول‌های فاقد هسته را لیز می‌نماید در بعضی از بیماریها گلبول‌های قرمز هسته دار (NRBC) نیز در خون محیطی به چشم می‌خورند و چون این سلول‌ها دارای هسته از گلبول‌های سفید تشخیص داده نمی‌شود در نتیجه سالم باقی می‌مانند که به هنگام شمارش با گلبول‌های سفید، تداخل نموده و باعث ایجاد خطا می‌گردد؛ بنابراین هر گاه به هنگام شمارش افتراقی گلبول‌های سفید بر روی گسترش خون محیطی تعداد NRBC، از ۵ عدد در هر ۱۰۰ WBC بیشتر باشد.

شمارش مطابق فرمول زیر باید تصحیح شود.

$$\text{WBC شمارش تصحیح شده} = \frac{100 \times \text{تعداد گلبول‌های سفید شمرده شده}}{100 + \text{درصد گلبول‌های قرمز هسته دار}}$$

چنانچه تعداد گلبول‌های سفید یک شخص ۱۲۰۰۰ mc و در روی لام گسترش همان فرد ۲۰٪ NRBC شمارش گردد شمارش تصحیح شده گلبول‌ها سفید به صورت زیر خواهد بود.

$$\text{Corrected WBC count} = \frac{12000 \times 100}{20 + 100} = 10000$$

محفظه مخصوص شمارش (هموسیتوتر)

یک لوله شیشه‌ای ضخیم است که جهت شمارش سلول‌های خونی بکار می‌رود روی این لام یک مربع قرار دارد که طول و عرض آن هر کدام ۳mm می‌باشد که جمعاً دارای مساحت معادل $9mm^2$ می‌شود این مربع ۹ میلی متر به ۹ مربع یک میلیمتری تقسیم شده است وقتی لام را روی نئوبار قرار می‌دهیم ارتفاع که بین لام و لامل ایجاد می‌گردد دقیقاً ۰.۱mm می‌باشد بنابراین گنجایش هر یک از مربع‌های ۴ میلی ۹ گانه معادل $0.1mm^3$ خواهد بود یعنی $1mm \times 1mm \times 0.1mm = 0.1mm^3$.

شمارش سلول‌های خونی مایعات بدن

مایعات بدن : مایع نخاع

مایع نخاع طبیعی شفاف و بی‌رنگ بوده و میزان چسبندگی آن مانند آب است ایجاد کدورت در مایع نخاع می‌تواند دلایل ذیل می‌باشد:

۱- تعداد لکوسیت‌ها بیش از ۲۰۰ عدد در میکرولیتر

۲- تعداد گلبول قرمز بیش از ۴۰۰ عدد در میکرولیتر

۳- وجود میکرو ارگانیسم‌ها (باکتری، قارچ، آسیب)

۴- مواد رادیوگرافیک

۵- چربی اپی دو رال

۶- افزایش پروتئین

جهت بررسی ظاهر مایع نخاع آن را در برابر نور مستقیم خورشید گرفته با زاویه ۹۰ درجه به آن نگاه کنید وجود بین از ۵۰ سلول در میکرولیتر نمایش شبیه به دانه‌های برف یا ذرات براق در مایع نخاع ایجاد می‌کند. در موارد ذیل ممکن است در مایع نخاع لخته مشاهده شود.

۱- جراحت ناشی از نمونه‌گیری Traumatic tap

۲- انسداد کامل نخاع سندرم (فریون Froin) ۳- مننژیت چربی یا سعی وجود گلبول‌های قرمز در مایع نخاع رنگ آن را به سمت صورتی یا قرمز سوق می‌دهد چنانچه تعداد گلبول‌های قرمز از ۶۰۰ عدد در میکرولیتر باشد نمای مایع نخاع کاملاً خون آلوده جلوه می‌کند.

گزانتوکرومی Xanthochromia

مایع نخاع را سانتر یفوژن‌نموده مایع با لایی را بررسی می‌کنیم چنانچه به رنگ صورتی، نارنجی یا زرد باشد آن را گزانتوکروم می‌نامیم.
- این سند بدون وجود همه صفحات فاقد ارزش می‌باشد ۱۲

علل گزانتو کرومی:

۱- ماندن مایع نخاع خون آلود در خارج از یخچال به مدت بیش از یک ساعت

۲- وجود بیلی رو بین ۳- بالا بودن پروتئین مایع نخاع بیش از ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر ۴- رنگدانه‌های کار و تنوید، ملانین، وریفایپین تعیین منشأ، خون آلود بودن مایع نخاع بسیار با اهمیت است که مشخص شود خون آلود بودن مایع نخاع ناشی از جراحی نمونه برداری است و یا بواسطه خونریزی مغزی.

۱- در خونریزی ناشی از جراحی نمونه برداری بتدریج در لوله‌های دوم و سوم مقدار خون کمتر می شود.

۲- گزانتو کرومی، مشاهده میکروسکوپی اریتروفاگوسیتوز و ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین نشانگر خونریزی هستند بشرط آنکه قبلاً جراحی ناشی از نمونه‌گیری وارد نشده باشد بعد از جراحی نمونه‌گیری ۲-۱ ساعت طول می کشد تا گلبول‌های قرمز لیز شوند و لذا باید سریعاً نمونه آزمایش شود.

آزمایش میکروسکوپی: شمارش گلبول سفید نمونه را مستقیماً به لام شمارش منتقل نموده و گلبول‌های سفید را در چهارخانه مخصوص شمارش آنها می‌شماریم و نتیجه را به صورت زیر محاسبه می‌کنیم.

$$\text{تعداد گلبول شمارش شده} \times 10 = \text{WBC} \quad \text{تعداد خانه شمارش شده}$$

اگر تعداد RBC ها در حدی باشد که در شمارش گلبول‌های سفید اختلال ایجاد کند به روش ذیل آنها را لیز کرده و حذف می‌کنیم برای این منظور از مار کانو جهت شمارش WBC ها استفاده می‌کنیم هرچه تعداد گلبول‌ها بیشتر باشد به نسبت بیشتری مایع را رقیق می‌کنیم و بعد از شمارش به وسیله لام نئوبار از فرمول زیر جهت محاسبه استفاده می‌کنیم.

$$10 \times \text{ضریب رقت} \times \text{تعداد شمارش شده} = \text{تعداد WBC} \quad \text{تعداد خانه های شمارش شده}$$

شمارش گلبول‌های قرمز :

شمارش گلبول های قرمز در مایع نخاع فی نفسه فاقد اهمیت بالینی است ولی از آن می توان پی به میزان آلوده شدن مایع نخاع با خون و در نتیجه تصحیح لکوسیت های مایع نخاع نمود.

شمارش افتراقی :

مایع نخاع را ۱۵min بادرور پایین (۲۰۰۰ دور) سانتریفوژ کرده و از رسوب آن گسترش تهیه نموده با رنگ گیسماپارایت رنگ می کنیم و شمارش افتراقی روی آن انجام می دهیم.

توزیع سلول ها در مایع نخاع طبیعی :

Lymphocytes	62 ± 36
Monocytes	36 ± 20
Neutrophils	2 ± 5

پروتئین: مقدار طبیعی پروتئین مایع نخاع ۱۵-۴۵ mg/dl است که در نوزادان :

۱۵۰ mg/dl و در نوزادان نارس تا ۵۰۰ mg/dl هم مشاهده می شود استفاده از معرف های اسیدسولفوسالسیلیک و تری کلرواستیک در اندازه گیری پروتئین مایع نخاع معمول است برای انجام آزمایش یک سرم کنترل با مقدار معلوم پروتئین را به نسبت یک به صد $\left(\frac{1}{100}\right)$ رقیق نموده از آن به عنوان استاندارد استفاده می نماییم و طبق جدول ذیل عمل می کنیم.

مایع نخاع	تست ml/۵	استاندارد ml	بلانک ml	به وسیله سر و ته کردن لوله را مخلوط نموده و ۱۰ دقیقه
استاندارد	۰/۵	-	-	در دمای اتاق باقی می گذاریم و در طول موج ۶۳۰ nm
SSA%۳TCA	۲	۲	۲/۵	درمقابل بلانک جذب نوری را اندازه می گیریم.

ODT

$$\text{mg/dl پروتئین} = \text{ضریب استاندارد} \times$$

ODST

گلوکز : میزان کلوگز مایع نخاع حدود $\frac{2}{3}$ مقدار آن در سرم استدر مننژیت‌های باکتریال احتمالاً کاهش گلوکز مایع نخاع وجود دارد.

منابع و امکانات :دستگاه سل کانتر سیسمکس و نیهون دستگاه ESR، روتاتور، پرینتر، لام و لامل ، میکروسکوپ

کارکنان مرتبط: مسئول فنی آزمایشگاه، کلیه پرسنل آزمایشگاه

امکانات و ملزومات و منابع :		
منابع و مراجع: کتاب کنترل کیفیت در آزمایشگاه پزشکی، آزمایشگاه مرجع سلامت	صاحبان فرایند: مسئول فنی آزمایشگاه، کارکنان آزمایشگاه -مسئول فنی بیمارستان	
	ذینفعان :	
ابلاغ کننده : دکتر ثمانه میرزاحسینی سمت : رئیس بیمارستان	تایید کننده :دکتر امیرحسین محمودی سمت : مدیر بیمارستان	تهیه کننده : دکتر منصوره توکلی (مسئول فنی آزمایشگاه) امیرهانی کریمی پور (سوپروایزر آزمایشگاه)

--	--	--