



بیوشیمی بالینی

(از منظر آزمایشگاه)

مترجمین

ریمانه ابراهیمی علیرضا بمیرائی

فوزیه سلیمی ندا مشای

آرش مرادی سعیده فرومدی

هیمن مرادی سرده

زیر نظر

پروفسور محمدتقی گودرزی



موسسه علمی انتشاراتی سنا

فصل ۱: مروری بر بیوشیمی بالینی	۵
فصل ۲: ارزیابی کیفی	۴۳
فصل ۳: تکنیک‌های آزمایشگاهی و دستگاه‌ها	۸۳
فصل ۴: دیابت و اختلالات دیگر کربوهیدرات‌ها	۱۵۴
فصل ۵: ستنز هموگلوبین (اختلالات و آزمایش‌ها)	۱۸۷
فصل ۶: بررسی عملکرد کلیه	۲۱۱
فصل ۷: ارزیابی عملکرد کبد	۲۴۴
فصل ۸: ارزیابی اختلالات قلب و عروق	۲۸۰
فصل ۹: ارزیابی اختلالات تنفسی	۳۱۶
فصل ۱۰: ارزیابی تغذیه و عملکرد گوارشی	۳۴۹
فصل ۱۱: عملکرد و اختلالات اندوکراین	۳۸۸
فصل ۱۲: ارزیابی جنین و غدد درون ریز تولیدمثل	۴۴۶
فصل ۱۳: اختلالات بدخیم و تست‌های آن	۴۸۹
فصل ۱۴: پایش (مانیتورینگ) داروهای درمانی و توکسیکولوژی (سم‌شناسی)	۵۲۹
لغت‌نامه	۵۶۹

فصل اول: مروری بر بیوشیمی بالینی

بیوشیمی بالینی یک خدمت و یک صنعت است.

اهداف

پس از اتمام این فصل، دانشجو قادر است تا:

دستورالعمل‌های نظارتی که فعالیت بیوشیمی بالینی در ایالات متحده را تعریف می‌کنند شرح دهد.

مقیاس‌های لازم برای اطمینان از صلاحیت متخصصان آزمایشگاه بالینی را شرح دهد.

شاخص‌های بیوشیمیایی خاص بیماری، از جمله کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و هورمون‌ها را شرح دهد.

شاخص‌های بیوشیمیایی بیماری را به عضو یا بافت محل بیماری ربط دهد.

دستورالعمل‌های قانونی

آزمایشگاه‌های بیوشیمی بالینی بر اساس معیارهای نتیجه‌گیری قضاوت می‌شوند. آشکارترین نتیجه کار یک آزمایشگاه، گزارش تستی است که در آزمایشگاه انجام شده است. اطلاعاتی که در این گزارش به پزشکان ارائه می‌شود، باید دقیق، به موقع و مرتبط باشد.

دولت به‌عنوان شخص ثالث پرداخت‌کننده هزینه مراقبت‌های بهداشتی نیاز به اطمینان از کیفیت نتایج آزمایشگاهی دارد. اصلاحات بهبود آزمایشگاه بالینی (CLIA) در سال ۱۹۸۸ حداقل الزامات موردنیاز آزمایشگاه بالینی برای دریافت وجوه دولتی را مشخص کرد. CLIA-88 آزمایشگاه بالینی را به‌طور گسترده‌ای تعریف می‌کند. یک آزمایشگاه بالینی به‌عنوان: هر تسهیلاتی که تست‌های آزمایشگاهی را بر روی نمونه‌های انسانی به‌منظور ارائه اطلاعات برای تشخیص، پیشگیری، یا درمان بیماری، یا اختلال یا ارزیابی سلامتی انجام می‌دهد، تعریف شده است. مکان‌هایی مانند بیمارستان‌ها، درمانگاه‌ها، مطب‌های پزشکی، خانه‌های سالمندان و مراکز دیالیز که در آن تست‌های آزمایشگاهی انجام می‌شوند، زیر نظر دستورالعمل‌های نظارتی CLIA به‌عنوان آزمایشگاه‌های بالینی نام برده شده‌اند. با توجه به پیچیدگی تست‌هایی که در آزمایشگاه انجام می‌شود، دو سطح از مقررات، یعنی waived و Nonwaived مشخص شده است. علاوه بر این، آزمایشگاه‌هایی که در آن کارکنان سلامت و بهداشت نمونه را به‌طور مستقیم از طریق میکروسکوپ بررسی می‌کند، به‌عنوان یک طبقه جداگانه، یعنی آزمایشگاه‌های مخصوص کار با میکروسکوپ در نظر گرفته شده‌اند. تست‌های waived آزمایش‌های ساده‌ای هستند که توسط اداره غذا و داروی ایالات متحده (FDA) برای استفاده در منزل در نظر گرفته می‌شوند. آنها دارای روش‌هایی هستند که به اندازه کافی ساده و دقیق‌اند که احتمال نتایج اشتباه آنها ناچیز است و اگر تست نادرست انجام شود، هیچ خطری قابل توجهی صدمه به بیمار ایجاد نمی‌کند. از تست‌های waived می‌توان تست آنتی ژن استرپتوکوک و تست خون مخفی در مدفوع را مثال زد. تست‌های Nonwaived تست‌های متوسط و یا بسیار پیچیده‌ای هستند که به مهارت انجام دهنده تست، آماده‌سازی معرف و مرحله دشوار تفسیر نتایج نیاز دارند.

با پیچیده‌تر شدن تست، ملزومات تست هم دقیق‌تر باید باشند. آزمایشگاه‌هایی که تست‌های nonwaived انجام می‌دهند تحت دستورالعمل‌هایی قرار می‌گیرند که کیفیت استاندارد برای آزمون مهارت (PT)، مدیریت آزمایش بیمار، کنترل کیفی، شایستگی پرسنل و تضمین کیفیت را فراهم می‌کنند. فرایند تنظیم و کنترل در جهت نتیجه است، همان‌طور که PT به‌عنوان معیار اصلی نتیجه در نظر گرفته می‌شود. برای هر تست که آزمایشگاه ارائه می‌دهد، معیار PT متشکل از پنج چالش سه باره در سال می‌باشد. تا به حال چندین سازمان دولتی، شرایط وضعیت تضمین شده برای تأیید برنامه‌های PT را دریافت کرده‌اند. اگرچه مجازات‌های خاصی برای عدم انجام چالش‌های PT وجود دارد، اما هدف آموزشی و نه مجازات می‌باشد تا وضعیت آزمایشگاه‌های پزشکی بهبود یابند. علاوه بر این، آزمایشگاه‌ها ممکن است برای کنترل کیفی مورد بررسی قرار بگیرند. آزمایشگاه‌ها ممکن است توسط سازمان نظارت دولتی و یا نماینده‌ای که وظیفه بازرسی وضعیت موردنظر را دارد، بررسی شوند. کنترل کیفی روزانه و مستندسازی ارزیابی‌های کیفی، زمینه‌های کلیدی برای این بررسی‌ها است. ۸۸-CLIA دستورالعمل‌هایی برای هم کنترل کیفی و هم تضمین کیفیت سیستمی روزانه مراحل آزمایش از مرحله مرتب‌سازی آزمایش تا گزارش آن دارد. داده‌ها نشان می‌دهد که ۸۸-CLIA برای بهبود کیفیت آزمایش در ایالات متحده کمک کرده است. بازبینی داده‌های PT نشان می‌دهد که میزان اشتباه کاهش یافته است. ارزش آموزش PT در آزمایشگاه‌ها بیشترین نیروی مؤثر برای تغییر بوده است.

مورد بالینی ۱-۱ کلاس جدید

کلاس جدید در مورد مسائل ایمنی بحث می‌کنند.

استاد علوم آزمایشگاهی بالینی پرسید که آیا کسی درباره نگرانی‌های ایمنی برای کار در آزمایشگاه‌های پزشکی سؤال دارد؟ جیمز نگرانی‌های بخصوصی در مورد کار با خون و معرف‌هایی مانند اسید داشت چرا که درباره کارکنان آزمایشگاه که مجروح یا بیمار شده بودند، شنیده بود.

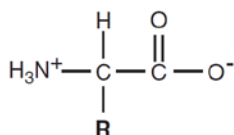
قوانین ایمنی

در آزمایشگاه بیوشیمی بالینی، مقررات محلی و ایالتی، ازجمله قانون ایمنی و بهداشت شغلی (OSHA)، دستورالعمل‌هایی را در مراحل آزمایش برای عملکرد ایمن ارائه می‌دهد. این مقررات شامل استفاده از تجهیزات ایمنی و شناسایی، کنترل و ذخیره مواد شیمیایی خطرناک است. جدول ۱-۱ انواع تجهیزات ایمنی که ممکن است برای انجام ایمن یک آزمایش بالینی لازم باشد را نشان می‌دهد.

جدول ۱-۱: وسایل ایمنی

وسایل	توضیحات	کاربرد
تجهیزات حفاظت شخصی		
عینک	محافظ چشم غیر شکستنی که ناحیه چشم را می پوشاند.	محافظت از پوست و لباس هایی که در خارج از آزمایشگاه پوشیده می شوند.
محافظ کار	حفاظت پوست در برابر اسپری و مواد پاشیدنی	
دستکش	پوشش لاتکسی یا وینیلی برای دست	
کت و یا پیش بند	پوشش برای لباس هایی که در خارج از آزمایشگاه قرار می گیرند.	
هود گازهای شیمیایی	سیستم تهویه است که در ۱۰۰ تا ۱۲۰ فوت بر دقیقه عمل می کند، سیستم باید به طور منظم بررسی شود.	خطر استنشاق مواد شیمیایی را کاهش می دهد. زمانی که هودهای فوم در دسترس نیستند، ماسک های با فیلترهای HEPA ممکن است استفاده شوند
انبارهای ذخیره سازی		
یخچال های ضد انفجار	یخچال هایی که می توانند حاوی نیروی انفجار شیمیایی باشند.	کاهش خطر واکنش های شیمیایی ناخواسته؛ کاهش خطر آسیب ناشی از واکنش های شیمیایی
ذخیره ساز گاز فشرده	استفاده از تسمه یا زنجیرهایی قوی برای نگهداری ظروف دارای گاز فشرده به صورت عمودی	
کابینت های ذخیره سازی	کابینت جداگانه برای ذخیره سازی؛ جامدات قابل اشتعال، اسیدهای آلی، اکسیدکننده ها، مواد واکنش دهنده با آب	
کپسول های آتش نشانی		
کلاس A	آب تحت فشار	چوب، کاغذ، پارچه آتشزا
کلاس B	دی اکسید کربن	مایع قابل اشتعال، رنگ، نفت آتشزا
کلاس C	ماده شیمیایی خشک	آتش سوزی برق
کلاس ABC	ماده شیمیایی خشک	همه آتش سوزی ها
دوش ایمنی	دوش ایمنی برای شستشو	حذف و پاک سازی مواد شیمیایی ریخته شده روی لباس، پوست، یا چشم
چشم شوی اضطراری	شیر آبی که می تواند برای شستشوی چشم استفاده شود.	
کیت های مخصوص مواد اضافه	کیت های تجاری که ممکن است برای جمع آوری مواد خاص مانند اسید یا جیوه مورد استفاده قرار بگیرند.	محدود کردن نشت مواد به یک منطقه موضعی؛ جمع آوری نشت در یک ظرف امن برای دفع

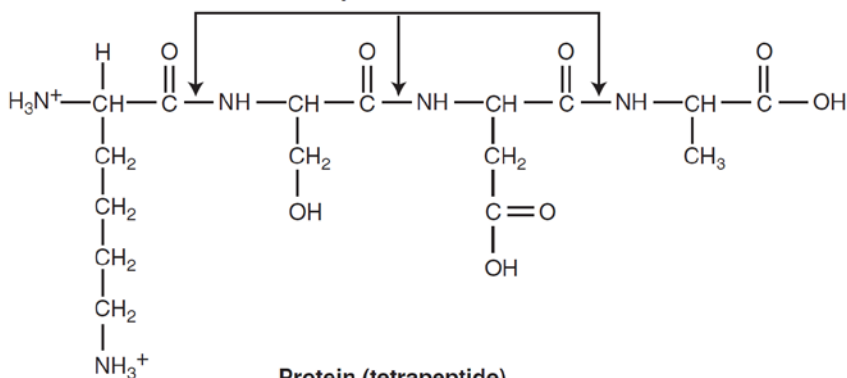
Amino Acid and Protein Structure



Amino acid

(R = unique portion of molecule
for each amino acids)

Peptide bond



Protein (tetrapeptide)

شکل ۶-۱. ساختمان‌های آمینو اسید و پروتئین

انتهای کربوکسیل وقتی یک یون هیدروژن از دست می‌دهد، ممکن است باردار شود. این در حالی است که انتهای آمین نیز وقتی یک یون هیدروژن به دست می‌آورد ممکن است شارژ شود. پیوند پپتیدی متشکل از ارتباط کووالانسی یک گروه آمین از یک اسید آمینه و یک گروه کربوکسیل از اسید آمینه دیگر است. پروتئین‌ها آمفولیت هستند، یعنی آن‌ها در محلول‌های آبی ممکن است بارهای مثبت و منفی بر روی مولکول یکسانی داشته باشند. از این ویژگی پروتئین‌ها برای جدا کردن این مولکول‌ها در الکتروفورز استفاده می‌شود. غلظت یون هیدروژنی یا همان pH یک محلول، بار خالص یک مولکول را تعیین می‌کند.

در محیط‌هایی با pH مختلف، انتهاهای کربوکسیل و آمین گروه‌های عملکردی R آمینواسیدها می‌توانند یون‌های هیدروژن را از دست بدهند و یا به دست بیاورند. از آنجا که پروتئین‌ها از اسیدهای آمینه متفاوتی تشکیل می‌شوند، پروتئین‌های مختلف در محیط‌هایی با pH متفاوت یون‌های هیدروژنی را به دست آورده و یا از دست می‌دهند. هر پپتید دارای یک pH است که در آن از دست دادن و به دست آوردن خالص یون هیدروژن باهم برابر است. این pH به نام PI یا نقطه ایزوالکتریک معروف است و برای هر پروتئین منحصر به فرد است. این PI برای هر پروتئین منحصر به فرد است زیرا هر پروتئین یک ساختار و یک ترکیب شیمیایی منحصر به فرد دارد.

خلاصه

آزمایشگاه بیوشیمی بالینی تحت مقررات و دستورالعمل‌های محلی، کشوری عمل می‌کند. کارکنان آزمایشگاه ممکن است مجوز و یا گواهی داشته باشند که سطح فعالیت آنها را بر اساس استانداردهای دولتی یا حرفه‌ای تعریف می‌کند. آنالیت‌های شیمیایی که برای اندازه‌گیری در آزمایشگاه بالینی انتخاب شده‌اند، موادی هستند که در تحقیقات نشان داده شده است با یک بیماری یا خطر یک بیماری خاص ارتباط دارند. آزمایش‌های بیوشیمی بالینی به دقت انتخاب می‌شوند تا اطلاعات تشخیصی، پیش‌آگهی و درمانی مناسبی برای تصمیم‌گیری پزشکی ارائه دهند. پرسنل آزمایشگاه باید درک بیوشیمی و آناتومی یک بیماری را برای ارائه اطلاعات حساس و خاص در جهت تصمیم‌گیری پزشکی داشته باشند.

تمرین‌های فصل

همان‌طور که موارد بالینی ارائه شده در این فصل را در نظر می‌گیرید، به سؤالات زیر پاسخ دهید:

۱- فهرست مقرراتی که راهنمای عمل تست‌های آزمایشگاهی بیوشیمی بالینی است را نام ببرید.

۲- هدف از کنترل کشوری تست‌های آزمایشگاه بالینی چیست؟

۳- برای تضمین صلاحیت یک کارشناس آزمایشگاهی بالینی چه اقداماتی استفاده می‌شود؟

۴- پنج نمونه از دستگاه‌های ایمنی که در آزمایشگاه بیوشیمی بالینی یافت می‌شود را نام برده و شرح دهید.

۵- چه اطلاعاتی در MSDS یافت می‌شود؟

۶- چه اطلاعاتی توسط safety diamond ارائه شده است؟

۷- موارد زیر چگونه به‌عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی بیماری استفاده می‌شوند؟

کربوهیدرات‌ها

لیپیدها

کل پروتئین سرم / پلاسما و آلبومین پلاسما

آنزیم‌ها

مارکرهای ژنتیکی

۸- عملکردهای موارد زیر را توضیح دهید:

دستگاه گردش خون

دستگاه تنفسی

کبد

دستگاه کلیوی

دستگاه گوارش

سیستم غدد درون ریز

استخوان

سیستم عصبی مرکزی

درپوش پوشیده باشد، حفظ کرد. نگهدارنده‌ها اغلب همراه با ضد انعقادها اضافه می‌شوند تا به حفظ مواد شیمیایی خاص کمک کنند. گلوکز در هر ساعت، به اندازه ۱۲ درصد (۵-۷ درصد در غلظت‌های کم- نرمال) کاهش می‌یابد، اگر از سلول‌های خونی جدا نباشد و یا حفظ شود. علاوه بر این، در عرض ۴ ساعت، خطای ۵۰ درصدی می‌تواند در نتایج آزمایش‌هایی مانند دی‌اکسید کربن، سدیم، اوره، آلکالین فسفاتاز و دیگر آنزیم‌های سرمی به وجود بیاید. قرار گرفتن در معرض هوا و تخییر آب از لوله نمونه دربار می‌تواند اشتباهات جدی آزمایشی در بسیاری از آنالیت‌های معمول بیوشیمیایی بالینی مانند آنزیم‌ها و الکترولیت‌ها و همچنین اشتباه در محاسبه اسمولالیت به دنبال داشته باشد. بنابراین، سرم یا پلاسما در عرض چند ساعت بعد از دریافت و جدا شدن از سلول‌ها باید استفاده شود مگر در صورتی که شرایط خاصی محیا شود. سدیم فلوراید با مهار آنزیم‌های گلیکولیتیک موجود در اریتروسیت‌ها اغلب برای حفظ سطوح لاکتات و گلوکز استفاده می‌شود. آزمایشگاه برای حفظ ثبات آنالیت‌های بیوشیمیایی بالینی نیاز به ایجاد روش‌های خاصی دارد.

مواد افزودنی به خون

استفاده از مواد افزودنی اشتباه و یا مقدار اشتباهی از مواد افزودنی می‌تواند باعث اثرات بدی بر روی نمونه‌های خون باشد. به عنوان مثال، سدیم اگزالات، سدیم فلوراید یا سدیم هپارین برای نمونه‌هایی که جهت آزمایش سدیم مورد استفاده قرار می‌گیرند، نمی‌تواند مناسب باشند زیرا آن‌ها سطح سدیم را افزایش می‌دهند. به همین ترتیب، هپارین آمونیوم نباید برای نمونه‌هایی که جهت آزمایش آمونیاک یا اوره در نظر گرفته شده‌اند، مورد استفاده قرار گیرد به دلیل اینکه سبب افزایش این مواد شیمیایی می‌شود. سدیم فلوراید برای آزمایش نمونه‌های آنزیمی نیز استفاده نمی‌شود چون فلوراید به عنوان مهارکننده فعالیت اکثر آنزیم‌ها عمل می‌کند. سدیم سیتрат، EDTA و سدیم اگزالات، کلسیم و منیزیم را حذف می‌کنند، بنابراین نمی‌توان در نمونه‌هایی که برای آنالیز مواد معدنی استفاده می‌شود از آن‌ها استفاده کرد. افزایش نسبت ضد انعقاد به نمونه سبب رقیق شدن نمونه شده و تأثیر مهمی بر روی الکترولیت‌ها، مواد معدنی و pH دارد. جدول ۲-۲ نمونه‌های بیوشیمیایی بالینی معمول به همراه مراحل مورد نیاز آنالیز آن‌ها را آورده است.

جدول ۲-۲: نگهداری نمونه‌های بیوشیمیایی بالینی معمول

آنالیت	ضد انعقاد	نگهداری اختصاصی
استون	ندارد (سرم)	استفاده از درپوش، درجای خنک نگه داشتن
الکل	ندارد (سرم)	استفاده از درپوش
بیلیروبین	ندارد (سرم)	محافظت از نور
کراتینین	ندارد (سرم)	درجای خنک نگه داشتن
گلوکز	ندارد (سرم)	جداسازی سریع یا جمع‌آوری در NaF / اگزالات (۲ mg/dl)
آلکالین فسفاتاز	ندارد (سرم)	استفاده از درپوش، درجای خنک نگه داشتن، جلوگیری از همولیز
کلسترول لیوپروتئین با چگالی بالا	پلاسما در لوله EDTA (۲ mg/dl)	درجای خنک نگه داشتن
منیزیم	سرم	جلوگیری از همولیز، جداسازی سریع
پتاسیم	سرم یا پلاسما ی هپارینه (۲/۳ mg/dl)	جلوگیری از همولیز، جداسازی سریع
رنین	پلاسما در لوله EDTA (۲ mg/dl)	طول جمع‌آوری و سانتریفوژ خنک بماند
پروتئین تام و بخش‌های الکتروفورز	سرم	یخچال (تا ۱ ماه)، درجای خنک نگه داشتن

همچنین بسیار مهم است تا حمل مایعات بر طبق دستورالعمل‌های سازنده‌ها باشد. در ارتباط با پیپت‌های جابه‌جایی مثبت، آنها را باید داخل مایع رقیق‌کننده فرو برد تا نمونه به‌طور کامل در آن تخلیه شود. برای پیپت‌های جابه‌جایی هوایی باید بین مرحله تخلیه و همچنین تخلیه قطره آخر مایع به ظرف موردنظر فاصله‌ای وجود داشته باشد. در این موارد بسیار اهمیت دارد تا مایع به انتهای ظرف موردنظر تخلیه شود تا پاشیده شدن آن به حداقل برسد.

۱- اگر نوک پیپت یک‌بار مصرف لازم است، آن را بر روی پیپت قرار دهید.

۲- پیستون یا دکمه مکش را فشار دهید. اگر این پیپت دو مرحله‌ای است، این دکمه به سمت بالا قرار دارد.

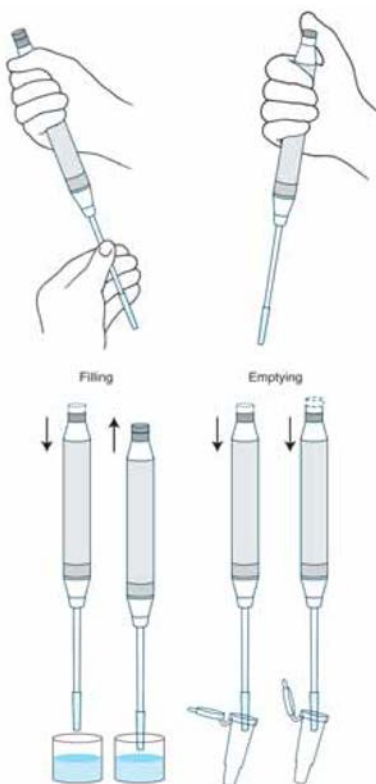
۳- درحالی‌که دکمه مکش را نگه داشته‌اید، نوک پیپت را به داخل مایع فرو کنید تا حدی که مایع و نه حباب هوا را بکشد.

۴- به آرامی دکمه مکش را رها کنید به‌طوری‌که مایع بدون ورود حباب‌های هوا به نوک پیپت وارد شده باشد.

۵- مایع اضافی را با توجه به دستورالعمل‌های لازم از اطراف نوک پیپت حذف کنید.

۶- با فشار دکمه مکش به پایین، مایع را درون ظرف تخلیه کنید. اگر این پیپت دو مرحله‌ای است، این در انتها قرار دارد.

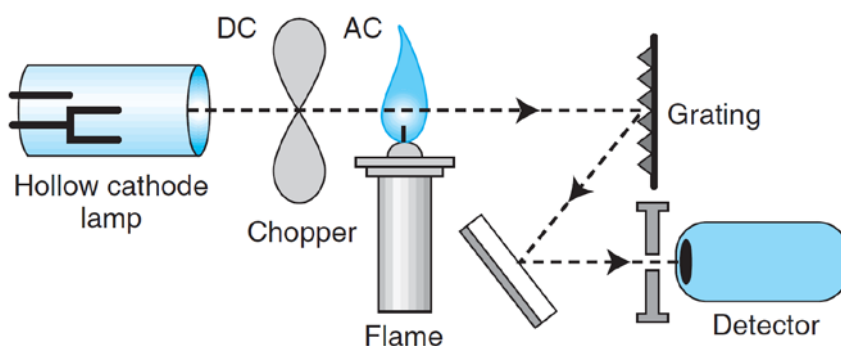
۷- در پیپت یک مرحله‌ای، فرآیند مشابه است به جز اینکه تنها یک دکمه برای کشیدن و تخلیه کردن مایع وجود دارد.



شکل ۵-۳. استفاده صحیح از یک میکروپیپت دو مرحله‌ای

مونوکروماتور برخلاف اسپکتروفتومتر ساده بعد از کووت قرار می‌گیرد. وجود یک مونوکروماتور، بین شعله و دستگاه ثبت‌کننده نور سبب حذف طول موج‌های اضافه نوری منتشر شده از شعله قبل از آنکه به دستگاه ثبت‌کننده نور برسند، می‌شود. بدین طریق اطمینان حاصل می‌گردد که تنها یک نور از لامپ منتشر شده و نه توسط نمونه جذب شده، تشخیص داده می‌شود. شکل ۳-۱۱ اجزای یک اسپکتروفتومتر جذب اتمی را نشان می‌دهد.

اسپکتروفتومتر جذب اتمی برای اندازه‌گیری فلزات سمی بسیار حساس است. این روش برای فلزاتی که در غلظت‌های بالاتری در پلاسما یافت می‌شوند، سدیم یا پتاسیم کاربرد ندارد. موانع در روش اسپکتروفتومتر جذب اتمی شامل مداخله شیمیایی، یونیزاسیون و ماتریکس می‌باشند.



شکل ۱۱-۳. اجزای یک اسپکتروفتومتر جذب اتمی

فلوسایتومتري و کمي لومينسانس

در آزمایشگاه بیوشیمی، اسپکتروفتومتر برای سال‌های زیادی مورد استفاده قرار گرفته است. این روش بیشتر در سیستم‌های ایمنونواسی خودکار برای اندازه‌گیری آنالیت‌های دارویی، هورمون‌ها و دیگر مواد شیمیایی منحصربه‌فرد به کار می‌رود. روش فلوسایتومتري روشی برای اندازه‌گیری فلورسانس است. این روش نوعی لومینسانس می‌باشد. که در آن الکترون‌ها در یک ماده شیمیایی برای جذب نور تحریک شده و به مرحله بالاتری از انرژی دست پیدا می‌کنند. در نتیجه طول موجی با انرژی کم را به سرعت (10^{-8} ثانیه) منتشر می‌کنند. اجزای فلوسایتومتر مشابه با یک اسپکتروفتومتر ساده است به جز آنکه لامپ برانگیزاننده آن اغلب یک لامپ هالوژنی، زنون و یا لامپ لیزری می‌باشد. همچنین اسپکتروفلورومتر دارای مجموعه دومی از مونوکروماتورها، فیلترهای نشری می‌باشد که در یک زاویه ۹۰ درجه نسبت به لامپ برانگیزاننده اما در راستای دستگاه ثبت‌کننده نور قرار گرفته‌اند. این ترتیب اطمینان می‌دهد که تنها نور منتشر شده از نمونه برانگیخته به دستگاه ثبت‌کننده نور می‌رسد و نورهای اضافی از لامپ حذف می‌شوند. شکل ۱۲-۳ اجزای معمول یک دستگاه فلوسایتومتري و ترتیب دو مجموعه فیلترها، کووت نمونه و دستگاه ثبت‌کننده نور را نشان می‌دهد.

آنالیزورها قادر به انجام دسته‌ای از یک نوع آزمایش بودند. سپس، بعد از مرحله شستشو و تنظیم، دسته جدیدی از آزمایش‌های متفاوت قادر به انجام بود. تمام نتایج آزمایش بیمار برای یک دسته مشخص به صورت یک باره گزارش می‌شد.

آنالیزورهای جریان پیوسته

این آنالیزورها هنوز هم در بعضی از آنالیزورهای چند کاناله که از الکتروشیمی استفاده می‌کنند، کاربرد دارد. چراکه این فرآیند راه سریعی جهت وارد کردن نمونه به الکترودهای انتخاب یونی می‌باشد. فرآیند انتقال به حداقل می‌رسد چراکه محصولات الکتروشیمی به جای مقادیر بزرگی از کرومژن، یون‌هایی با غلظت کم می‌باشند. هرچند که در این روش نیز مایعات شستشو برای حذف باقی‌مانده‌های نمونه قبل از آزمایش بعدی لازم می‌باشند. جریان پیوسته در بعضی از دستگاه‌های اسپکتروفتومتری که واکنش شیمیایی در یک واکنش تک کاناله رخ می‌دهد و سپس شسته شده تا برای نمونه بعدی که می‌تواند ماده شیمیایی کاملاً متفاوتی باشد، مجدداً مورد استفاده قرار بگیرد، هم کاربرد دارد. از آنجایی که این روش معرف‌های مایع به جای یک‌بار مصرف استفاده می‌شوند، هزینه هر آزمایش کم است. انتقال نمونه با استفاده از یک ماده پوشش‌دهنده خنثی که یک کپسول واکنشی را می‌سازد، به حداقل می‌رسد.

آنالیزورهای گسسته

این روش نیز در بسیاری از انواع آنالیزورهای بیوشیمی بالینی استفاده می‌گردد. واکنش‌های نمونه با استفاده از کووت‌ها، سلول‌ها، اسلایدها و یا چاهک‌های جداگانه به صورت گسسته انجام می‌گیرند. این شرایط حمل و نقل نمونه و واکنش را به حداقل می‌رساند اما به خاطر محصولات یک‌بار مصرف هزینه آزمایش افزایش پیدا می‌کند. در این روش لایه‌های مختلفی از معرف خشک به داخل لایه‌های ژل تعبیه می‌شود در این صورت تنها از نمونه بیمار مایع وارد شده و اگرچه این روش به علت اجزای یک‌بار مصرف گران‌تر است، تنها زباله خشک تولید می‌کند. بعضی از سیستم‌های گسسته از طریق شستشو با آب خالص و خشک کردن آن بین نمونه‌های بیمار از یک کووت واکنشی دوباره استفاده می‌کنند. این تکنیک به حداقل رساندن هزینه از طریق محدود کردن اجزای یک‌بار مصرف و همچنین کاهش انتقال آزمایش و نمونه، کمک می‌کند.

شناسایی نمونه

دستگاه‌های اتوماتیک با روش‌های مختلفی مراحل آزمایش نمونه را کنترل می‌کنند. مخزن نمونه چه یک کاپ باشد یا لوله اصلی، باید به درستی برچسب‌گذاری شود تا دوباره به نمونه اصلی بیمار بازگردانده شده و به اطلاعات شناسایی بیمار و فرم درخواست آزمایش مرتبط باشد. جهت تسهیل شناسایی و جفت کردن مناسب نتایج با نمونه، برچسب‌های بارکد می‌توانند بر لوله‌های نمونه قرار داده شوند. اگر نمونه‌های لوله‌آزمایشی برای انجام آزمایش موردنیاز باشند، باید هر لوله را به درستی با یک شناسه برچسب‌گذاری کرد تا بتواند با نمونه اصلی بیمار و نتایج آزمایش همسان باشد. به حداقل رساندن زمان آزمایش بسیار اهمیت دارد چراکه لوله حاوی نمونه در باز در معرض هوا می‌تواند تحت تأثیر تغییراتی بر الکترولیت‌ها و دیگر نتایج آزمایش قرار بگیرد. بعضی از آنالیزورها از پوششی استفاده می‌کنند که تمام نمونه‌های بیماران را قبل و بعد از آزمایش پوشش می‌دهد. اگر آنالیزور پوششی فراهم نیاورد، کارکنان آزمایشگاه برای حفظ پایداری آنالیت‌های شیمیایی باید پوششی را قرار دهند.

فصل پنجم: سنتز هموگلوبین (اختلالات و آزمایش‌ها)

سنتز هموگلوبین یک فرآیند حیاتی است که می‌تواند توسط بسیاری از جنبه‌ها از جمله عوامل محیطی تحت تأثیر قرار بگیرد و اغلب علائم بالینی از جمله تغییرات نتایج آزمایشگاهی ایجاد می‌کند.

در این فصل، ما سنتز هموگلوبین، شرایطی که بر تشکیل هموگلوبین طبیعی اثر می‌گذارد و نحوه تشخیص این شرایط از طریق آزمایشگاه را مورد بحث قرار خواهیم داد. چهار مورد بالینی در این فصل آمده است که نشان‌دهنده ارتباط مقادیر آزمایشگاه با اختلالاتی از جمله کم‌خونی فقر آهن، مسمومیت با سرب و پورفیریهای ارثی می‌باشد. با تمرین مسائل آمده، دانشجو درباره آزمایش‌های آهن، فریتین، سرب، پورفیرین، پورفوبیلینوژن و هموگلوبین گلیکوزیله بر اساس شرایط پیش از آزمایش و آزمایش خواهد آموخت.

اهداف فصل

پس از اتمام این فصل، دانشجو باید بتواند:

سه عملکرد فیزیولوژیک آهن در بدن را ذکر کند.

روشن‌های رایج اندازه‌گیری، تعیین endpoint، الزامات کنترل و جمع‌آوری نمونه و منابع خطا برای آهن، TIBC، سرب تام خون و هموگلوبین گلیکوزیله را شرح دهد.

نتایج آهن سرم، TIBC، ترانسفرین و درصد اشباع را در مقایسه با محدوده مرجع ارزیابی کند و با آنمی فقر آهن، کم‌خونی ناشی از بیماری‌های مزمن و هموسیدروز ارتباط دهد.

ساختارهای اوروپورفیرین I و III، کوپروپورفیرین I و III، پروتوپورفین III (IX) و دلتا آمینولولینیک را مشخص کند.

اثر سرب در سنتز هم را شرح دهد.

سطح سرب خون تام را ارزیابی کرده و منابع احتمالی مسمومیت نام ببرد.

نقص‌های آنزیمی را در پورفیریا حاد متناوب و کوپروپورفیریا ارثی توصیف کند.

اصول، جمع‌آوری نمونه و کنترل موردنیاز و تداخل گرهای آزمایش واتسون-سولارز و آزمایشات پورفیرین شرح دهد.

مورد بالینی ۱-۵. مورد کم‌خونی فقر آهن: خون فقیر از آهن

آزمایشگاه یک CBC معمولی برای یک زن ۴۰ ساله که برنامه عمل جراحی داشت، انجام داد. مقادیر زیر به دست آمد:

ترانسفرین به کمتر از ۱۶٪ برای تشخیص کمخونی آهن استفاده می‌شد. اما روش‌های جدید امروزی میزان تداخل مس در آزمایشات را کاهش داده و از طرف دیگر میزان درصد اشباع ترانسفرین را برای تشخیص فقر آهن به ۱۰ تا ۱۲٪ رسانده است. تشخیص کمخونی فقر آهن در افراد مسن مانند ضوابط حاکم بر بالغین است ولی باید برخی از نکات را زیر نظر داشت به ویژه آنکه در تشخیص فقر آهن با میزان فریتین سرم حساسیت بیشتری نشان دهیم (به این علت که در التهاب میزان آن افزایش می‌یابد) و همچنین میزان هموگلوبین در افراد مسن ممکن است کمتر از افراد ۱۸ تا ۴۴ سال باشد.

ارتباط بالینی: آنمی همولیتیکی همراه با کاهش آهن سرم نمایان می‌شود که نتیجه تخریب گلبول‌های قرمز است. زمانی که کمخونی شدن گرفت میزان TIBC هم کاهش می‌یابد.

ارتباط بالینی: Hemochromatosis همراه با افزایش آهن سرم، نرمال یا افزایش TIBC و کاهش فریتین سرم است که علت آن افزایش جذب و کاهش تولید فریتین می‌باشد.

ارتباط بالینی: هپاتیت با افزایش آهن سرم و TIBC ارتباط دارد چرا که انتشار آهن و فریتین از اشکال ذخیره افزایش می‌یابد.

ارتباط بالینی: در سیروز، آهن سرم، TIBC و فریتین سرم به خاطر کاهش تولید پروتئین کاهش می‌یابند.

ارتباط بالینی: در سندروم نفرتیک، آهن سرم و TIBC به خاطر دفع بیشتر آهن و پروتئین کاهش می‌یابند.

ارتباط بالینی: در مسمویت با سرب آهن سرم به خاطر تغییر شکل گلبول‌های قرمز کاهش می‌یابد.

مورد بالینی ۱-۵. مورد کمخونی فقر آهن: خون فقیر از آهن

ادامه...

نتایج هماتولوژی و سطوح فریتین و آهن سرم در مورد فقر آهن پایین هستند، درحالی‌که TIBC بالا می‌باشد. این نتایج نشان‌دهنده کمخونی فقر آهن می‌باشند چراکه سطح آهن در ذخیره و جریان خون کم بوده اما ظرفیت اتصال بیشتر آهن به پروتئین ترانسفرین زیاد می‌باشد.

ارتباط بالینی: در بدخیمی‌ها، آهن سرم به علت اختلال آزادسازی از ذخایر کاهش می‌یابد، درحالی‌که در حاملگی افزایش نیاز به ذخایر آهن سبب کاهش آهن سرم در صورت عدم مصرف مکمل‌های آهن می‌گردد.

فقر آهن

ویژگی‌های آزمایشگاهی فقر آهن شامل مجموعه‌ای از یافته‌های هماتولوژی می‌باشند. فقر آهن منجر به ایجاد گلبول‌های قرمز کوچک (میکروسیتیک) با هیپوکرومی در اندازه‌های مختلف (آنیزوسیتوز) و شکل‌های عجیب (پوکیوسیتوز) می‌شود.

خلاصه

عملکرد کلیه را از طریق آنالیز کلیرانس کراتینین، کراتینین سرم، BUN، الکترولیت‌ها و سایر تست‌های آزمایشگاهی ارزیابی کرد. این اطلاعات برای پزشکان و سایر مددکارانی که بیماری کلیه و پاسخ به درمان را در بیمارانشان کنترل می‌کنند، ارزش زیادی دارد. مشکلات ارائه شده در این فصل فرصتی را برای خواننده فراهم می‌کند تا با عملکرد و آناتومی کلیه و نیز بیماری‌های سیستم کلیوی و اثر آنها روی شاخص‌های آزمایشگاهی آشنا شود. همچنین خواننده با روش‌های آزمایشگاه بالینی برای اندازه‌گیری این آنالیت‌ها از جمله اصول آنالیز و منابع خطا آشنا می‌شود. همانند اعضای تیم مراقبت‌های بهداشتی، کارکنان آزمایشگاه بالینی اطلاعات عینی برای تصمیم‌گیری پزشکی را در اختیار می‌گذارند.

تمرینات فصل

با در نظر گرفتن موارد بالینی ارائه شده در این فصل، به سؤالات زیر جواب دهید:

- ۱- منابع فیزیولوژیک کراتینین، اوریک اسید و اوره چیست؟
- ۲- چه ملاحظات باید برای جمع‌آوری نمونه و کار با نمونه‌ها برای آزمایش سدیم، پتاسیم و کراتینین سرم و کراتینین ادرار صورت گیرد؟
- ۳- چگونه می‌توان نتایج کلیرانس کراتینین را در تشخیص افتراقی علل نارسایی کلیه در یک بیمار استفاده کرد؟
- ۴- نتایج آزمایشگاهی شاخص نارسایی کلیه در مقابل سندرم نفروتیک تمیز دهید.
- ۵- دو منبع خطای قبل از آزمایش که باید برای اندازه‌گیری صحیح کراتینین اجتناب شوند را نام ببرید.
- ۶- معرف اصلی که با اوره واکنش داده و تشکیل یک محصول قابل اندازه‌گیری می‌دهد، چیست؟
- ۷- دو منبع خطای قبل از آزمایش که باید برای اندازه‌گیری صحیح اوره اجتناب شوند را نام ببرید.
- ۸- اصول روش الکترودهای انتخابی یون برای آنالیز سدیم، پتاسیم، کلر و دی اکسید کربن تام چیست؟
- ۹- سه منبع خطای قبل از آزمایش که باید برای اندازه‌گیری صحیح الکترولیت‌ها اجتناب شوند را نام ببرید.
- ۱۰- نتایج آزمایشگاهی زیر چه آنیون گپی ارائه می‌دهند؟ (برحسب mmol/L نشان داده شده‌اند).

۱۰ = tCO₂ ؛ ۱۰۰ = Cl ؛ ۴/۵ = K ؛ ۱۲۵ = Na

- ۱۱- در یک بیمار زن بزرگسال نتایج مربوط به الکترولیت به‌صورت زیر است. کدامیک در محدوده مرجع قرار دارد؟

۱۴۸ mmol/L Na

۳/۳ mmol/L K

۱۰۰ mmol/L Cl

۳۵ mmol/L CO₂

۱۱/۱ mg/dL توتال کلسیم

۳/۸ mmol/L منیزیم

- ۱۲- رایج‌ترین فرمول استفاده شده برای محاسبه اسمولالیتیه چیست؟

- ۱۳- شرایطی که ایجاد نفرولیتیاژیس (سنگ‌های کلیوی) را افزایش می‌دهند، توضیح دهید.

- ۱۴- چرا برای اوریک اسید روش اوریکاز را به روش فسفوتنگستیک اسید ترجیح می‌دهند؟

ارتباط بالینی: از دست دادن پروتئین به دلیل اتروپاتی به از دست دادن نامعمول پروتئین به داخل لوله گوارشی گفته می‌شود. هر بیماری که در مخاط روده زخم و آسیب ایجاد کند، می‌تواند این عارضه را ایجاد نماید. نفروپاتی یک بیماری کلیوی است که ممکن است شامل التهاب و تخریب و آسیب‌های سخت شونده در کلیه باشد. این بیماری با کاهش پروتئین‌ها، از جمله آلبومین، ترانسفرین و TBPA (ترانس تیرتین) همراه است، زیرا در این بیماری دفع غیرطبیعی پروتئین‌ها از کلیه وجود دارد.

بهترین رویکرد برای ارزیابی وضعیت تغذیه، سنجش چند فاکتور مختلف (فرضاً دور کمر، BMI، مارکرهای بیوشیمیایی) است. آلبومین، ترانسفرین، ترانس تیرتین، نیتروژن اوره ادرار و مارکرهای ایمنی سنجشی کمی از وضعیت تغذیه در اختیار می‌گذارند. جدول ۲-۱۰ شامل لیستی از پروتئین‌هایی است که با وضعیت تغذیه مرتبط هستند. جدول ۳-۱۰ لیستی از بازه‌های مرجع برای بیومارکرهای تغذیه‌ای را نشان می‌دهد.

جدول ۲-۱۰: پروتئین‌های پلاسمايي که نشان‌دهنده وضعیت تغذیه هستند.

پروتئین پلاسما	نیمه عمر	عملکرد
آلبومین	۱۸ تا ۲۰ روز	فشار اسمزی را ایجاد می‌کند، حامل مولکول‌های آگزیز در پلاسما است.
ترانسفرین	۸ تا ۹ روز	پروتئین ناقل آهن در پلاسما
ترانس تیرتین (پره آلبومین متصل شونده به تیروکسین، پره آلبومین)	۲ تا ۳ روز	پروتئین ناقل هورمون‌های تیروئیدی در پلاسما، ناقل پروتئین متصل شونده به رتینول
پروتئین متصل شونده به رتینول	۱۲ ساعت	ویتامین A را به پره آلبومین به صورت غیر کووالان اتصال می‌یابد.
فاکتور رشد شبه انسولین، سوماتواستاتین	۲ تا ۶ ساعت	اثرات متابولیک مشابه انسولین دارد؛ به تغییرات تغذیه‌ای حساس است و از التهاب تأثیر نمی‌گیرد.

جدول ۳-۱۰: بازه‌های مرجع بیومارکرهای نشان‌دهنده وضعیت تغذیه

بیومارکر	بازه
پروتئین‌ها	
آلبومین	۳/۵-۵/۲ g/dL
ترانسفرین	۲۰۰-۳۶۰ mg/dL
ترانس تیرتین	۲۰-۴۰ mg/dL
پروتئین متصل شونده به رتینول	۳/۰-۶/۰ mg/dL
فاکتور رشد شبه انسولین I	۱۳۵-۴۴۹ ng/mL
ویتامین‌ها	
ویتامین A	۳۰-۶۰ μg/dL
ویتامین D	25(OH)D: ۱۰-۶۵ pg/mL 1,25(OH)D: ۱۵-۶۰ pg/mL