تاریخ اولین ابلاغ:۹۵/۱۰/۱۲
تاریخ آخرین بازنگری:۹۷/۴/۳۰
تاریخ آخرین ابلاغ:۹۷/۵/۱۳
تاریخ بازنگری بعدی: ۹۸/۴/۳۰
ویرایش:01
کد دستورالعمل: 50IN19

مرکز آموزشی درمانی ولیعصر(عج)
بهبود کیفیت و اعتباربخشی
دستورالعمل داخلی

عنوان دستورالعمل: نحوه انجام آزمایش هایی که در آزمایشگاه پاتولوژی انجام می‌شود

مخاطبین: کلیه پرسنل آزمایشگاه

هدف: یکپارچه سازی روش ها و دستورالعمل های انجام آزمایشات و کاهش خطاهای فردی در انجام آزمایشات

این دستورالعمل بایستی توسط پرسنل بخش پاتولوژی آزمایشگاه با نظارت مسئول فنی مربوطه به صورت زیر انجام شود:

معرفی پاتولوژی

پاتولوژی ۴ جنبه مهم از یک بیماری را بررسی می‌کند که عبارت است از:

۱)اتیولوژی (علت شناسی)

۲)پاتوژنز(مکانیسم ایجاد)

۳)مرفولوژی (ریخت شناسی)

۴) اهمیت بالینی

رشته‌های پاتولوژی

۱)پاتولوژی تشریحی(Anatomical)

پاتولوژی تشریحی عبارت است از مطالعه تغییرات ساختمانی اعم از میکروسکوپی و ماکروسکوپی و ضایعات وارده به سلول های بدن است و شامل موارد زیر است.

الف) اتوپسی (نمونه برداری از بافت مرده)،

ب) بیوپسی (نمونه برداری از بافت زنده)

ج) سیتوپاتولوژی (سلول شناسی).

۲) پاتولوژی بالینی(clinical)

پاتولوژی بالینی علایم بیماری را در خون، ادرار، مایع نخاعی، خلط، ترشحات واژن در بخش های مختلف میکروب شناسی، بیوشیمی،سرم شناسی و... بررسی می‌نماید. در واقع هر نوع بافتی که از بدن برداشته می شود مورد آزمایش قرار می گیرد. به این ترتیب که بافت یاد شده بعد از پاس دادن در دستگاه پروسسور قرار می گیرد و نیز بعد از Inbet کردن و برش با رنگ آمیزی های متعدد می توان به نتیجه دست یافت. معمولا"بافتهایی که به بخش پاتولوژی ارسال می شوند از نظر بدخیم بودن مورد آزمایش و بررسی قرار می گیرند به اینگونه که بعد از تشخیص دکتر پاتولوژیست جهت مشخص نمودن نوع درمان IHC یا ایمنوهیستوشیمی برای بافت گذاشته می شود تا هم به درمان و هم به نوع درمان دقیق دست پیدا کرد.

در بعضی مواقع پزشک معالج هنگام جراحی به مواردی بر می خورد که نیاز به تشخیص سریع می باشد که آیا بافت برداشته شده بدخیم است یا خیر. حال نمونه کوچکی از آن به بخش پاتولوژی جهت آزمایش ارسال می گردد که به این نوع نمونه فروزن frozen می گویند در این حالت جواب جراح ظرف مدت ۵ الی ۱۵ دقیقه خواهد شد.

همچنین آسپیراسیون سوزنی و انواع مایعات که از بدن گرفته می شود با عنوان سیتولوژی به این بخش فرستاده می شود که آنها هم بعد از سانتریفوژ و رنگ آمیزی پاپانیکلا بدخیم بودن یا نبودن و یا اینکه چه نوع بیماری است مورد آزمایش و بررسی قرار می گیرند. روش تکنیکی آسیب شناسی (هیستوتکنیک) تمام مراحل کاری از ابتدای پذیرش نمونه درآزمایشگاه پاتولوژی تا آماده سازی لام و بررسی آن در زیر میکروسکوپ به عنوان روش های تکنیکی آسیب شناسی در نظر گرفته می‌شود که شامل هفت مرحله جداگانه است:

۱. فیکساسیون،
۲. نمونه برداری یا پاس دادن،

۳. آبگیری و آغشتگی،
۴. قالب‌گیری،
۵. برش با میکروتوم،
۶. رنگ‌آمیزی،
۷. مونتاژ لام و لامل.

بدیهی است دقت در هر یک از این مراحل همراه با سرعت در کار لازمه تهیه یک برش میکروسکوپی مناسب و لام خوب برای تشخیص دقیق است به طوری که اشکال درهر یک از روش های مختلف به کار گرفته شده می‌تواند سبب کاهش دقت تشخیص بیماری و به دنبال آن ایجاد اشکال در روند درمان بیمار شود.

۱) فیکساسیون(fixation)

این مرحله صرفا"جهت حفظ ساختمان فیزیکی بافت و برای جلوگیری از اتولیز (Autolysis) آن انجام می‌شود. نمونه جراحی شده باید بلافاصله درون ماده فیکساتیو قرار بگیرد. برای این کار باید نوع بافت، درجه حرارت دوران پروسه، زمان فیکساسیون و PH محلول های به‌کار برده شده را در نظر داشت. برای مثال مایع پایدارکننده یا فیکساتیو، باید سلول زنده را هر چه سریعتر کشته و به سرعت در بافت نفوذ نماید و در صورت امکان ساختمان طبیعی سلول و بافت را تغییر ندهد و همچنین بعضی از مواد نیمه مایع و کلوئیدی را با عمل فیکساسیون تبدیل به مواد نیمه جامد (gel) کند. در مجموع ماده فیکساتیو را باید طوری انتخاب کرد که در بافت و همچنین در رنگ‌آمیزی آن خللی ایجاد نکند. برای انجام این کار فیکساتیوهای مختلفی وجود دارد ولی فرمالین ٪۱۰ معمول ترین فیکساتیو به کار گرفته شده است. زمان ماندن نمونه در فرمالین (فرم آلدئید) بستگی به حجم و نوع نمونه دارد به‌طوری‌که هر ۴ ساعت ۲/۷ میلی متر فرمالین داخل بافت نفوذ می‌کند ولی معمولا" نمونه‌ها را ۲۴ ساعت در فرمالین قرار می‌دهند. البته لازم به ذکر است نمونه‌هایی مانند استخوان، دندان و به طور کلی بافت هایی که دارای رسوبات آهکی باشد بایدپیش از فیکساسیون، دکلسیفیه شود تا بتوان آن را برای مراحل بعدی آماده کرد.

۲) دکلسیفیکاسیون

به معنی آزادکردن مواد معدنی (کلسیم) از بافت استخوانی و شامل مراحل زیر است:

الف) تهیه نسوج ،
ب) فیکساسیون،
ج) دکلسیفیکاسیون،
د) خنثی کردن،
ه) شستشو با آب،

- محلول دکلسیفیکاسیون باید دارای خصوصیات زیر باشد:

الف)کلسیم را به طور کلی از بافت آزاد کند،
ب) به بافت اصلی آسیبی وارد نکند
ج)در رنگ‌آمیزی اختلال ایجاد نکند.

۳) نمونه برداری یا پاس دادن

برای اجرای این مرحله، نمونه باید از لحاظ اندازه کاملا" مناسب باشد. چنانچه نمونه بزرگتر از حد معمول باشد مواد آبگیر مانند گزیلول، الکل و ... نمی‌تواند در آن نفوذ کند و چنانچه خیلی کوچک باشد تهیه نمونه و به دنبال آن برش و تهیه لام و... مشکل خواهد شد. برای هر کدام از نمونه‌ها باید مشخصات بافت را به‌طور کامل گزارش کرد. این مشخصات شامل: حالت، ابعاد، ضخامت، رنگ، ترشحات و... است. همین‌طور برای جداکردن نمونه‌ها از یکدیگر و شناسایی آنها باید شماره نمونه همراه با سال نمونه‌برداری را به‌وسیله مداد روی کاغذ نوشته و همراه با بافت داخل ظروف مخصوص گذاشته و نمونه را برای مراحل بعدی آماده کرد.

٤) آبگیری و آغشتگی

این کار توسط دستگاهی به نام تیشو پروسسور (Tissue Processor) انجام می‌شود که شامل دوازده ظرف حاوی محلول های مختلف است.

محلول های آبگیری و آغشتگی سه وظیفه بر عهده دارند:

الف) آبگیری،

ب) شفاف کردن

ج) آغشتگی با پارافین

حجم کلی هر ظرف ۱۰۰۰میلی لیتر است و ترتیب آنها بدین صورت است: ظروف شماره ۱و۲ حاوی فرمالین ٪۱۰ است. نمونه برش داده شده حدود ۳ ساعت در فرمالین قرار می‌گیرد. (چنانچه این زمان بیشتر باشد اشکالی ایجاد نمی‌کند). در بعضی موارد، در ظرف شماره ۲ به جای فرمالین از آب مقطر استفاده می‌شود. مدت زمان قرار گرفتن نمونه در آب مقطر یک ساعت است. ظرف‌های سوم تا ششم شامل الکل (متانول) است، ظرف شماره ۳ الکل ٪۷۰و ظرف شماره ۴ الکل ٪۸۰، ظرف شماره ۵ الکل ٪۹۰ و ظرف شماره ۶ الکل ٪۹۶ است. علت صعودی انتخاب کردن این الکل‌ها این است که آب‌گیری به آرامی انجام شود. زمان قرار گرفتن نمونه در هر کدام از این الکل‌ها یک ساعت است. به طور کلی اتانول بهتر از متانول آبگیری می‌کند ولی به علت هزینه بالاتر، از متانول استفاده می‌شود. در عین حال متانول خاصیت رنگبری هم دارد. این مرحله بسیار مهم است و چنانچه آبگیری با الکل به خوبی انجام نشود مراحل بعدی نیز دچار اشکال شده وسبب چروکیدگی بافت‌ها خواهد گردید. ظروف شماره‌های ۷و۸ حاوی الکل متانول مطلق ٪۱۰۰ استکه در مجموع ۴ساعت آب‌گیری آنها به طول می‌انجامد. ظروف ۹ و۱۰ گزیلول است که وظیفه شفاف‌سازی بافت و خارج کردن الکل از آن را به عهده دارد. ظروف شماره ۱۱و۱۲ حاوی پارافین است.

پارافین در دمای آزمایشگاه جامد است و باید به دمای ذوب (۶۰ درجه سانتی گراد)، برسد برای همین منظور دو ظرف آخر دارای المنتی است که باعث تولید حرارت در ظرف و ذوب شدن پارافین می‌شود. بعد از اینکه نمونه داخل پارافین مذاب قرار گرفت. این ماده داخل بافت نفوذ کرده و بافت به حالت آغشتگی می‌رسد. پارافین در شکاف و درز بافت نفوذ می‌کند و در دمای آزمایشگاه بافت سفت و سخت شده و قابل برش با میکروتوم خواهد شد. لازم به ذکر است که ماده آغشتگی با ماده قالب‌گیری باید یکی باشد. دستگاه تیشو پروسسور مجهز به دکمه‌های خودکار تنظیم زمان (Timer)، دکمه‌های روشن و

خاموش و بالا و پائین و چرخشی و چراغ‌هایی برای اطمینان از روشن بودن دستگاه و همچنین دکمه‌های تنظیم برنامه و تعیین سیکل دستگاه است تا معمولا" حدود ۱۸ ساعت طول می‌کشد که یک سیکل کامل شود.

۵) قالب‌گیری

برای قالب‌گیری باید ماده آغشتگی (پارافین) را در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد داخل فور ذوب کرده و مقداری موم به نسبت ۱ به ۱۰ به آن اضافه کرد. از موم برای قالب‌گیری محکم استفاده می‌شود. در صورتیکه فقط از پارافین استفاده شود قالب‌ها بسیار شکننده خواهند شد. پس از این مرحله کار روی نمونه‌ها وارد مسیر جدیدی می‌شود که شامل قالب‌گیری، برش و رنگ‌آمیزی و در نهایت مونتاژ لام و لامل است. برای قالب‌گیری باید نمونه‌های آبگیری شده را به وسیله پنست داخل ظرف مخصوص قالب‌گیری قرار داده، روی آن محلول موم و پارافین ریخت و بعد از گذشت چند دقیقه شماره نمونه‌ها را روی آن‌ها قرار داد. این عمل در اصطلاح کوله کردن نمونه‌ها نامیده می‌شود و نیاز به دقت کافی دارد. برای کامل‌تر شدن این مرحله قالب‌ها تا شروع زمان برش داخل یخچال قرار می‌گیرد.

٦) برش با میکروتوم

برای شروع این مرحله به چند دستگاه جداگانه نیاز است که این دستگاه‌ها و وسایل شامل: میکروتوم، تیشوفلوت، چراغ مطالعه و قلم الماس است.

▪ **میکروتوم:** دستگاهی است که از آن برای تهیه برش های نازک از بافتی که به صورت بلوک در آمده، استفاده می کنند. این دستگاه دارای توانایی برش بافت در ضخامت‌های گوناگون است و آن را به دو بخش بیرونی و درونی تقسیم می‌کنند. در بخش درونی دستگاه، چرخ دنده‌های مختلفی تعبیه شده است که به وسیله دسته میکروتوم به چرخش در می‌آید و میله تنظیم میکرومتر، درجه تنظیمی را به داخل منتقل می‌کند. با چرخش دسته می‌توان برش هایی به ضخامت ۱ تا ۳۰ میکرون و حتی بالاتر تهیه کرد. قسمت بیرونی دستگاه شامل دسته، گیره بلوک، پیچ تنظیم زاویه بلوک، جای نگهدارنده چاقوی میکروتوم، پیچ تنظیم کننده زاویه تیغ میکروتوم، درجه میکرومتر و پیچ یا دسته جلوبرنده چاقو به وسیله دست است. بر روی دسته، میله‌ای تعبیه شده که به‌وسیله آن می‌توان دسته را قفل نموده تا کاملا ثابت شود و بدین‌وسیله احتمال آسیب به دست یا خراب شدن بلوک کم می‌شود

• **تیشوفلوت:** این دستگاه در واقع ظرفی است که در آن آب ریخته می‌شود و قسمتی در زیر یا اطراف آن تعبیه شده که محل قرارگیری گرمکن دستگاه است و به‌وسیله کلید کنترل کننده، دمای آب به دلخواه تنظیم می‌شود که این دما به پارافین اطراف نمونه بستگی دارد. لازم به توضیح است که داخل ظرف باید تیره باشد. بدین منظور معمولا" به وسیله تفلون یا رنگ کوره ای سیاه پوشانده می‌شود. در واقع این دستگاه برای برطرف کردن چین وچروک بافت های برش خورده است.

▪ **چراغ مطالعه:** این وسیله بر روی میکروتوم و آب و الکل و تیشوفلوت احاطه داشته و نور مناسب و کافی آن از خستگی مفرط چشم جلوگیری می‌کند. قلم الماس: همان‌طور که از نامش پیداست، برای نوشتن به کار می‌رود. نوک قلم باید از الماس باشد تا بتواند شماره نمونه‌ها را به‌طور خوانا روی لام که جنس شیشه دارد حک کند. همانطور که گفته شد مرحله پنجم از هستیوتکنیک برش با میکروتوم است.

در این مرحله نمونه‌های قالب‌گیری شده را به وسیله میکروتوم به ضخامت ۵ میکرون برش می‌دهند. میکروتوم موجود در آزمایشگاه‌ها معمولا" از نوع دواری است که برای برش بهتر لازم است نمونه‌ها را حدود یک دقیقه روی یخ قرار داد؛ البته

بعضی از میکروتوم‌ها ازنوع انجمادی است. طوریکه گاز CO_2 از داخل محفظه ای آزادشده و این گاز ایجاد سرما می‌کند و برش بافتها به طورخود به‌خود در انجماد صورت می‌گیرد.

۷) رنگ‌آمیزی بافت‌ها

این مرحله شامل دو نوع روتین و اختصاصی است:

▪**رنگ‌آمیزی روتین:** روش رنگ‌آمیزی که در آزمایشگاه‌های پاتولوژی به طور معمول و روتین استفاده می‌شود، روش هماتوکسیلین- ائوزین است. با این روش هسته سلول رنگ بنفش و سیتوپلاسم رنگ صورتی به خود می‌گیرد. دراین رنگ‌آمیزی، ابتدا ۳ حمام گزیلول موجود است که برای شفاف سازی و از بین بردن پارافین باقی مانده در اطراف بافت‌ها استفاده می‌شود. نمونه‌ها در هر ظرف گزیلول به مدت ۵ دقیقه قرار داده می‌شود. بعد از گزیلول ۴ ظرف الکل درجه بندی شده قرار دارد. نمونه‌ها را در هر کدام به مدت ۲-۱ دقیقه گذاشته و بعد با آب شستشو داده می‌شود و بعد بلافاصله در ظرف حاوی هماتوکسیلین قرار می‌گیرد. زمان قرار گرفتن در هماتوکسیلین ۱۵-۱۰ دقیقه است که این زمان بستگی به تازه یا کهنه بودن رنگ دارد. لازم است بعد از این مرحله نمونه‌ها با آب شستشو داده شده و بافت های اضافی اطراف آنها پاک شود. بعد از تمیز کردن لام‌ها، آن‌ها را داخل اسید الکل شناور کرده تا رنگ های اضافی داخل بافت از بین برود. بعد از اسید الکل نوبت به کربنات کلسیم می‌رسد. وظیفه این محلول، رنگ‌آمیزی زمینه بافت است و باعث می‌شود هسته آبی به نظر برسد. ظرف بعدی ائوزین است که باعث قرمز شدن سیتوپلاسم می‌گردد. بعد از چند ثانیه که نمونه ها داخل ائوزین قرار گرفت آن‌ها را با آب شستشو داده، بعد به ترتیب داخل ۴ ظرف الکل قرار می‌گیرد. این الکل‌ها هم درجه بندی شده و به ترتیب ۷۰-۸۰-۹۰ و ۹۶درجه است و بافت‌ها در هر کدام، حدود ۵-۳ ثانیه قرار می‌گیرد.

۲ظرف آخر شامل گزیلول است که برای شفاف تر شدن بافت‌ها استفاده می‌شود. زمان قرارگیری نمونه‌ها درگزیلول در حدود ۵-۳دقیقه است.

رنگ‌آمیزی اختصاصی: در این رنگ‌آمیزی هر جزء از سلول رنگ خاصی به خود می‌گیرد. رنگ‌آمیزی اختصاصی شامل:

- رنگ‌آمیزی برش های انجمادی،
- رنگ‌آمیزی بافت همبندی،
- رنگ‌آمیزی نمونه‌های دستگاه عصبی،
- رنگ‌آمیزی برای برخی مواد سیتوپلاسمیک،
- رنگ‌آمیزی برای آنزیم‌ها،
- رنگ‌آمیزی برای میکروارگانیسم‌ها
- رنگ‌آمیزی سیتولوژیک.

رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی دارای روش‌های مختلفی است که هر کدام توسط پزشک معالج درخواست و در آزمایشگاه پاتولوژی بسته به شرایط موجود انجام می‌شود.

۷)مونتاژ لام و لامل : برای این کارابتدا لازم است پشت لام‌ها را خشک کرده و بعد لاملی را که قبلا" روی آن یک تا د و قطره چسب مخصوص ریخته شده، با پنس روی لام قرار داد. بعد اطراف لام را کاملا" تمیز کرده و اجازه داد تا در دمای آزمایشگاه

خشک شود. در آخر شماره نمونه‌ها روی برچسب نوشته شده و با دقت روی لام‌ها چسبانده می‌شود. سپس لام‌ها همراه با برگه درخواست آنها در اختیار پاتولوژیست برای تشخیص نهایی قرار گیرد.

●بررسی پاتولوژیک بافت به روش Frozen Section روشی است که جراح در حین عمل جراحی برای اطلاع از تشخیص سریع و دقیق نوع تومور (بد خیم یا خوش خیم بودن) و تعیین نوع عمل جراحی درخواست می‌کند. بنابراین در این مسیر سرعت عمل نقش بسیارمهمی ایفا می‌کند. Frozen Section در زمینه‌های مختلف مورد استفاده است به عنوان مثال وقتی قسمتی از روده جهت بررسی نوع تومور توسط جراح خارج می‌شود جهت اطمینان از آناستوموز دو انتهای آزاد روده، جراح درخواست آزمایش Frozen می‌دهد. لذا برای جلوگیری از عمل مجدد و صرفه جویی در وقت و هزینه و... از این روش تشخیصی استفاده می‌شود. به طور کلی Frozen Section به مجموعه عملیاتی گفته می‌شود که روند آمادگی بافت جهت تشخیص پاتولوژیک را کوتاه و زمان تشخیص را برای آگاهی جراح سریعتر می‌کند. به علاوه اجزای سلولی مانند چربی‌ها می‌تواند با روش های رنگ‌آمیزی خاص، زیر میکروسکوپ دیده شود.

برای انجام این کار از دستگاهی به نام کرایو استیت (Cryostat) استفاده می‌شود. در این دستگاه میکروتوم، بافت و چاقو همگی در یک اتاقک با کنترل دما که سطح آن با پلی‌اورتان عایق‌بندی شده، قرار دارد. اصول کار بدین صورت است که نمونه‌ای از بافت مورد نظر بیمار جدا شده و بلافاصله از اتاق عمل به آزمایشگاه پاتولوژی فرستاده می‌شود. قطعه مورد نظر توسط پاتولوژیست از بافت جدا وبرای شروع عملیات آماده می‌شود. سپس نمونه در دستگاه قرار داده شده، پس از منجمد شدن برای برش آماده می‌گردد. میکروتوم‌های Cryostat می‌تواند جهت بریدن نمونه‌های بافتی با مقاطعی به ضخامت ۵۰-۱ میکرومتر تنظیم شود. بعد از برش، نمونه برای رنگ‌آمیزی آماده است. برای این کار باید ابتدا نمونه را با الکل ۹۵ درجه فیکس کرد، بعد از گذشت چند ثانیه نمونه در محلول هماتوکسیلین قرار داده می‌شود، زمان برای این محلول ۳-۲دقیقه است .کربنات و ائوزین محلول‌های بعدی است که زمان برای هر کدام از این محلول‌ها حدود ۳-۲ ثانیه است. بعد نوبت به ۴ الکل درجه‌بندی شده (۷۰-۸۰-۹۰-۹۵) می‌رسد. نمونه در هر کدام از این محلول‌ها حدود ۱ تا ۲ ثانیه شناور می‌شود و در نهایت برای شفاف تر شدن، نمونه در دو ظرف گزیلول قرارداده شده و برای مونتاژ و تشخیص آماده می‌شود و در انتها جواب آزمایش توسط پاتولوژیست تلفنی به جراح اطلاع داده می‌شود تا روند صحیح ادامه عمل پیگیری شود.

تفاوت روش روتین با روش Frozen Section در بررسی نمونه‌های بافتی به‌شرح ذیل است:

۱) اختلاف نمای مرفولوژیک از نظر طرح بافتی و نوع سلولی، بین نمونه فروزن و پرمننت وجود دارد که در ارگانهای مختلف شدت این موضوع متفاوت است.

۲) به دلیل افزایش اندازه هسته‌ها و سلول‌ها امکان خطای تشخیص و عدم امکان رسیدن به تشخیص نهایی در روش Frozen بیشتر است.

۳) در این روش ممکن است نوع سلول کاملا شبیه انواع دیگری از سلول‌ها شده و امکان تشخیص دقیق فراهم نباشد، به عنوان مثال ممکن است ماکروفاژ به شکل اپیتلیال دیده شود.

تهیه کننده/ تهیه کنندگان		
دکتر فرامرز دارابی (مسئول کمیته علمی آزمایشگاه)	مهرداد نحوی (سوپروایزر آزمایشگاه)	آذر محمدی (پرسنل پاتولوژی)
دکتر مرضیه میرزایی	الهام مجیدی	

تاریخ اولین ابلاغ:۹۵/۱۰/۱۲
تاریخ آخرین بازنگری:۹۷/۴/۳۰
تاریخ آخرین ابلاغ:۹۷/۵/۱۳
تاریخ بازنگری بعدی: ۹۸/۴/۳۰
ویرایش:01
کد دستورالعمل: 50IN19

مرکز آموزشی درمانی ولیعصر(عج)
بهبود کیفیت و اعتباربخشی
دستورالعمل داخلی

عنوان دستورالعمل: نحوه انجام آزمایش هایی که در آزمایشگاه پاتولوژی انجام می‌شود

مخاطبین: کلیه پرسنل آزمایشگاه

هدف: یکپارچه سازی روش ها و دستورالعمل های انجام آزمایشات و کاهش خطاهای فردی در انجام آزمایشات

(پاتولوژیست)	(پرسنل پاتولوژی)	
تأیید کننده	**تصویب کننده**	**ابلاغ کننده**
دکتر مرضیه میرزایی (پاتولوژیست و مسئول فنی آزمایشگاه)	دکتر مرضیه میرزایی (پاتولوژیست و مسئول فنی آزمایشگاه)	دکتر سید محمد جمالیان (ریاست بیمارستان)