

روش بررسی صحت و دقت

دستگاه سدیمان آنالایزر

پس از نصب و راه اندازی دستگاه سدیمان ریدر در آزمایشگاه و آموزش کاربر مربوطه توسط شرکت پشتیبان مراحل ارزیابی کیفیت به ترتیب زیر انجام می شود:

بررسی عملکرد دستگاه

در دستگاههای پیشرفته سدیمان ریدر خوانش سدیمان بر اساس سنجش سطح گلبولهای قرمز با اشعه مادون قرمز می باشد. دمای مرجع جهت اندازه گیری سدیمان ۱۸ درجه سانتیگراد است.

پیش از آغاز روند بررسی می بایست از مناسب بودن لوله های دستگاه (از نظر اندازه، حجم و ثابت ماندن لوله ها در جایگاه نمونه در دستگاه) و داشتن ضد انعقاد مناسب (سیترات سدیم 3.2%) و درستی نسبت ضد انعقاد موجود در لوله ها و صحت نمونه گیری، اطمینان حاصل نمود.

جهت خوانش سدیمان، در ابتدای آزمایش سطح گلبولها اندازه گیری شده و بعد هر ۴ دقیقه یکبار به مدت ۲۴ دقیقه اندازه گیری تکرار می شود. اگر خوانش دستگاه روی ۴۸ دقیقه تنظیم شده باشد هر ۸ دقیقه یکبار به مدت ۴۸ دقیقه این اندازه گیری انجام می شود.

دستگاه سدیمان ریدر در حین آزمایش به طور خودکار درجه حرارت محیط را اندازه گیری می کند و پس از انجام آزمایش، نتایج را با میزان سطح گلبولهای قرمز در روش وسترگرن مقایسه و بعد از اصلاح، بر اساس درجه حرارت مرجع (جدول ۱) بر روی صفحه مانیتور دستگاه میزان سدیمان (رسوب گلبولها) را نمایش می دهد. در صورتیکه دمای محیط کمتر از ۱۵ یا بیشتر از ۳۰ درجه سانتیگراد باشد دستگاه دمای ۱۵ و ۳۰ را ملاک محاسبه قرار می دهد.

جدول ۱: نحوه اصلاح نتایج تست ESR بر اساس درجه حرارت محیط به دمای مرجع

نتایج دردمای مرجع ۱۸°C	نتایج دردمای ۱۵°C	نتایج دردمای ۱۸°C	نتایج دردمای ۲۰°C	نتایج دردمای ۲۵°C	نتایج دردمای ۳۰°C
۵	۴	۵	۵	۶	۸
۱۰	۹	۱۰	۱۰	۱۲	۱۶
۲۰	۱۸	۲۰	۲۱	۲۵	۳۱
۳۰	۲۷	۳۰	۳۱	۳۷	۴۵
۴۰	۳۶	۴۰	۴۲	۴۹	۵۸
۵۰	۴۶	۵۰	۵۲	۶۰	۷۱
۶۰	۵۵	۶۰	۶۲	۷۱	۸۲
۷۰	۶۳	۷۰	۷۲	۸۲	۹۳
۸۰	۷۲	۸۰	۸۲	۹۳	۱۰۴
۹۰	۸۱	۹۰	۹۳	۱۰۳	۱۱۴
۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۳	۱۱۴	۱۲۵

نکات بسیار مهم:

- آزمایش باید در دمای ۳۰-۱۵ درجه سانتی گراد انجام شود و نمونه حداکثر تا ۴ ساعت بعد از نمونه گیری در این دما پایدار است.
- دقت شود لوله هایی که یک بار رسوب داده شده اند، به دلیل کاهش جاذبه بین گلبول های قرمز دیگر مورد آزمایش قرار داده نشوند.
- برای بررسی تست ESR به روش دستی و دستگاهی، از یک بیمار دو عدد نمونه ESR گرفته، یکی را در دستگاه و دیگری را با روش دستی چک کنید و از انجام یک نمونه هم به روش دستی و هم به روش دستگاهی جداً خودداری کنید.
- لوله حاوی نمونه سیترا ته پیش از انجام آزمایش باید حداقل ۱۰-۱۲ بار سروته شود.
- نمونه های شدیداً همولیز یا لیپمیک برای انجام این آزمایش رد می شوند.
- نمونه هایی با مقدار ESR بالای ۱۴۰ mm/hr باید با علامت >۱۴۰ نشان داده شوند.

فاکتورهای مداخله گر در آزمایش سدیمان

فاکتورها	افزایش ESR	کاهش ESR
پروتئین و چربی	افزایش کلسترول، افزایش فیبرینوژن، افزایش گاماگلوبولین، کاهش آلبومین	افزایش آلبومین، افزایش فسفولیپید، افزایش املاح صفروای
گلبول قرمز	کم خونی - ماکروسیتوز	آکانتوسیت - آنیزوسیت - اسفروسیت - پلی سیتی - داسی شکل - تالاسمی - میکروسیتوز
گلبول های سفید	لوسمی	لکوسیتوز
داروها	دکستران - هپارین - ویتامین A - پروکائین آمید - فنیلین آمین - تئوفیلین	سالیسیلات - کوئینیدین
شرایط بالینی گوناگون	مسمومیت - عفونت - بیماری اتوایمیون - دیابت - نارسایی کلیه - بدخیمی - موآتیپل میلوما - حاملگی - تب روماتیسمی	
شرایط نمونه	نمونه ای که در یخچال نگهداری شده و به حرارت اتاق نرسیده باشد	وجود لخته در نمونه - تأخیر در ثبت نتایج
شرایط انجام آزمایش	افزایش درجه حرارت اتاق - کج بودن لوله - ارتعاش	حباب هوا در لوله - دمای پائین - کاهش قطر لوله

بررسی عدم دقت Imprecision

جهت کنترل قابلیت تکرار پذیری، می بایست عدم دقت دستگاه را محاسبه نمود.

الف) جهت این کار نمونه یک فرد را در ۱۰ لوله سدیمان مخصوص دستگاه، تقسیم می کنیم. نمونه در داخل چاهک های دستگاه قرار گرفته و بعد از خوانش نتایج آن ها را ثبت می کنیم. از ۱۰ نتیجه حاصله میانگین، انحراف معیار SD و ضریب تغییرات CV را محاسبه می نمائیم. این CV، عدم دقت یک سری کاری Within Run CV را به ما نشان می دهد. این عمل باید برای حداقل ۱۰ فرد مختلف با سدیمان های طبیعی و غیرطبیعی انجام شود.

اگر درصد CV های بدست آمده کمتر یا معادل عدم دقت مجاز آزمایشگاه برای آزمایش ESR یا ادعای سازنده مندرج در دستورالعمل دستگاه باشد، تکرار پذیری دستگاه مناسب تلقی گردیده و بررسی عدم صحت انجام می شود. (CV% در حالت نرمال تا رنج سدیمان ۲۵ کمتر از ۱۰٪ می باشد).

ب) از ۵ بیمار هر کدام دو ویال CBC می گیریم. در روز اول ۵ نمونه CBC را به نسبت ۴ به ۱ با سیترات سدیم ۳,۲٪ مخلوط می کنیم یا اینکه به ۲ cc خون EDTA ۰,۵ cc سیترات سدیم یا سرم فیزیولوژی اضافه می نماییم. نمونه ها را داخل لوله های سدیمان دستگاهی (لوله های خالی) ریخته و سدیمان آنها را محاسبه می کنیم.

فردا نیز از ۵ نمونه باقی مانده به همین ترتیب ۵ جواب بدست می آوریم و با استفاده از T-test نتایج را بررسی می کنیم. این اختلاف ها نباید معنی دار باشد.

ج) روزانه از خون کنترل تجاری در دو سطح طبیعی و غیر طبیعی نیز می توانیم استفاده کنیم. نتایج را باید در نرم افزار کنترل کیفی وارد و بررسی نمود.

د) در مراکزی که روزانه بیش از ۱۰۰ نمونه سدیمان اندازه گیری می شود می توان از میانگین روزانه استفاده کرد اگر $CV < 15\%$ باشد عملکرد دستگاه مطلوب می باشد.

کنترل عدم صحت دستگاه Inaccuracy

الف - روش مرجع Reference Method

در روش مرجع، نمونه باید مانند نمونه های CBC با ضد انعقاد Na2EDTA یا K2EDTA و یا K3EDTA با غلظت ۴ به ۱ الی ۲ mg/ml تهیه شود و PCV (Packed Cell Volume) یا (هماتوکریت) نمونه ها کمتر از ۳۵ باید باشد.

نمونه ها باید با روش وسترگرین (Westergren method) و با پیپت های استاندارد مورد آزمایش قرار گیرند. در این روش حداقل ۴۰ نمونه که ESR بین ۱۰۰-۱۵ و هماتوکریت کمتر از ۳۵ داشته باشند انتخاب می شوند.

اگر هماتوکریت نمونه ای بالاتر از ۳۵ بود به روش زیر می توان آن را تصحیح کرد:

ابتدا نمونه را در دو لوله جداگانه بصورت مساوی تقسیم نموده و یکی از آنها را سانتیفریوژ می کنیم تا پلاسما جدا شود. برای اینکه هماتوکریت نمونه کمتر یا مساوی ۳۵ گردد به شرط آنکه حجم نمونه های تقسیم شده در هر لوله ۲ میلی لیتر باشد، با استفاده از فرمول زیر می توان مقدار پلاسمای مورد نیاز بر حسب میلی لیتر که می بایست به لوله سانتیفریوژ نشده اضافه گردد را محاسبه نمود:

حجم پلاسمای مورد نیاز = $۲ - [۰,۳۵ \times (۲ \times \text{هماتوکریت نمونه})]$

هماتوکریت بیمار باید بصورت اعشاری نوشته شود مثلا اگر هماتوکریت ۴۲٪ است در فرمول ۰,۴۲ وارد می شود. بنابراین ۰,۴ سی سی یا ۴۰۰ λ پلاسما به نمونه باید اضافه کرد.

انجام آزمایش:

در این مرحله ۴۰ فرد با سدیمان بین ۱۰۵-۱۵ mm/h را انتخاب کرده و از هر شخص سه سری نمونه سدیمان به شرح زیر جمع آوری می کنیم:

۱- یکسری برای اندازه گیری با دستگاه سدیمان ریدر، داخل لوله های مخصوص دستگاه که حاوی سیترات سدیم ۳/۲% می باشد.

۲- یک سری داخل لوله EDTA دار برای روش مرجع.

۳- یک سری با ضد انعقاد سیترات سدیم، برای روش معمول وسترگرین (روش دستی).

نکته: قبل از انجام آزمایش سدیماتاسیون، با اندازه گیری هماتوکریت نمونه ها، باید از تنظیم شدن هماتوکریت به میزان کمتر یا مساوی ۳۵ اطمینان حاصل نمود.

برای انجام آزمایش، سری اول نمونه ها با دستگاه و سری دوم با روش مرجع آزمایش می شوند. در روش مرجع آزمایش در دمای ۱۸-۲۵ درجه

سانتیگراد انجام شده و پی پت ها در حالت عمودی و بدون لرزش قرار می گیرند. نتایج در زمان یکساعت خوانده می شوند.

نتایج حاصله از روش دستگاهی و روش مرجع با استفاده از جدول زیر مقایسه می گردند.

روش دستگاہی محدودہ	روش مرجع	روش دستگاہی محدودہ	روش مرجع	روش دستگاہی محدودہ	روش مرجع
38-65	73	14-31	39	1-8	5
39-66	74	15-32	40	1-9	6
40-68	75	15-32	41	1-9	7
40-69	76	16-34	42	1-10	8
41-70	77	17-35	43	2-10	9
42-71	78	17-36	44	2-11	10
43-72	79	18-37	45	2-11	11
44-73	80	18-38	46	3-12	12
45-74	81	19-38	47	3-12	13
45-76	82	20-39	48	3-13	14
46-77	83	20-40	49	3-13	15
47-78	84	21-41	50	4-14	16
48-79	85	22-42	51	4-15	17
49-80	86	22-43	52	4-15	18
50-82	87	23-44	53	5-16	19
51-83	88	24-45	54	5-17	20
52-84	89	24-46	55	6-17	21
53-85	90	25-47	56	6-18	22
53-86	91	26-48	57	6-19	23
54-88	92	26-49	58	7-19	24
55-89	93	27-50	59	7-20	25
56-90	94	28-51	60	8-21	26
57-91	95	29-52	61	8-21	27
58-93	96	29-53	62	9-22	28
59-94	97	30-54	63	9-23	29
60-95	98	31-56	64	10-24	30
61-96	99	32-57	65	10-25	31
62-98	100	32-58	66	11-25	32
63-99	101	33-59	67	11-26	33
64-100	102	34-60	68	12-27	34
65-101	103	35-61	69	12-28	35
66-103	104	35-62	70	13-29	36
67-104	105	36-63	71	13-30	37
		37-64	72	14-30	38
*Reference method using EDTA undiluted whole blood (PCV = 0.35) in a standard Westergren tube. † Working method—four parts whole blood to one part citrate. Proposed method valid if 95% of results are within indicated					

به عنوان مثال اگر سدیمان یک نمونه در روش مرجع ۲۰ باشد بر طبق جدول می بایستی عدد حاصل از روش دستگاهی بین ۱۷-۵ خوانده شود. در این روش در صورتی که ۹۵٪ جوابها در محدوده تعیین شده قرار گیرند نتایج قابل قبول می باشند. قابل ذکر است برای مقایسه روش دستی و دستگاهی، برای نمونه های کمتر از ۵۰ اختلافی مابین ± 3 و برای نمونه های بیشتر از ۵۰، ± 5 واحد قابل قبول می باشد.

ب) روش انتخاب شده توسط NCCLS Selected Method

در این مرحله بر اساس پیشنهاد NCCLS باید حداقل برای ۴۰ نمونه با ESR در دامنه های طبیعی و غیر طبیعی آزمایش سدیمان با روش وسترگرین معمول انجام داد و نتایج آن را با روش دستگاهی مقایسه نمود. برای انجام این روش می توان از نمونه های سری سوم که در قسمت روش مرجع راجع به آن توضیح داده شده است استفاده کرد. هم خوانی نتایج حاصل از روش وسترگرین با روش دستگاهی باید از طریق آزمون آماری (Paired Result) T test که در نرم افزار کنترل کیفی نیز وجود دارد بررسی گردد. میزان مجاز T بر اساس تعداد نمونه های آزمایش شده و با استفاده از جدول T که در کتب آماری موجود است تعیین می گردد.

مقادیر طبیعی سدیمان براساس روش Westergren:

مردان: کمتر از ۵۰ سال ۱۵- mm/hr

بالای ۵۰ سال: ۲۰- mm/hr

زنان: کمتر از ۵۰ سال: ۲۵- mm/hr

بالای ۵۰ سال: ۳۰- mm/hr

اطفال: ۱۰- mm/hr

نوزادان: ۲- mm/hr

اکرم فرهادی