



# دستور العمل ارزیابی کیفیت دستگاه‌های اندازه گیری ESR

دکتر پریسا داهیم – فریبا سبزوئی

آزمایشگاه مرجع سلامت

پاییز 90



## روش ارزیابی کیفیت دستگاه ESR

پروتکل زیر جهت بررسی روش اندازه گیری ESR بر اساس روش مرجع اندازه گیری ESR مندرج در جزوه شماره H2-A5 NCCLS (CLSI) می باشد.

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

### بررسی مشخصات دستگاه

الف : مشخصات شناسنامه ای :

دستگاه می بایست دارای مشخصات شناسنامه ای شامل نام و مدل دستگاه ، نام کمپانی سازنده ، نام کشور سازنده ، شماره سری ساخت، اطلاعات الکتریکی و هشدارهایی که دستگاه قادر به شناسایی و اعلام آنها است، باشد.

ب) همراه داشتن دستورالعمل کاربری و نگهداری

ج) اعلام نوع و حجم نمونه مورد نیاز و ضد انعقاد

د) به همراه داشتن لوله های مخصوص جهت جمع آوری نمونه

ه) دارا بودن حافظه جهت نگهداری نتایج بیماران

و) همراه داشتن روتاتور مخصوص لوله های دستگاه

## بررسی عملکرد دستگاه

پیش از آغاز روند بررسی می بایست از مناسب بودن لوله های دستگاه (از نظر اندازه ، حجم و ثابت بودن لوله در محل قرار گرفتن لوله ها در دستگاه) و ضد انعقاد مناسب (سیترات سدیم 3/2%) و درستی نسبت ضد انعقاد موجود در لوله ها و درستی نمونه گیری، اطمینان حاصل نمود .

نکات بسیار مهم:

- آزمایش باید در دمای 25-18 درجه سانتی گراد انجام شود و نمونه حداکثر تا 4 ساعت بعد از نمونه گیری در این دما پایدار است.
- سایز لوله های سدیمان باید 120\*8 میلی متر ( 8 میلی متر قطر لوله و 120 میلی متر طول لوله ) باشد.
- در صورت نگهداری نمونه در یخچال (دمای 4 درجه سانتی گراد) تا 12 ساعت پس از نمونه گیری امکان انجام آزمایش وجود دارد. قبل از انجام آزمایش دمای نمونه باید به دمای اتاق برسد.
- لوله حاوی نمونه سیترا ته پیش از انجام آزمایش باید حداقل 12 بار سروته شود.
- حتماً از لوله های شیشه ایی به دلیل داشتن شفافیت بالا و همچنین کشش سطحی مناسب با گلبول قرمز های خون، استفاده شود.
- به دلیل اینکه پس از رسوب بار اول ، جاذبه مولکولی گلبول قرمز ها کم شده و برای رسوب بار دوم انتظار رسوب اول را نمی توان داشت، در نتیجه برای مقایسه دقیق تر حتماً از هر مریض، دو عدد نمونه گرفته شود تا یکی برای دستگاه و دیگری برای روش دستی مورد استفاده قرار گیرد و همزمان تست ها شروع به کار شود.
- به ازاء انحراف 3 درجه پیپت ، جواب نهایی سدیمان 30% افزایش پیدا می کند.
- ارتعاش ایجاد شده روی میز آزمایش در حین تست، باعث افزایش سدیمان می گردد.
- افزایش درجه حرارت از طریق افزایش رولکس، باعث افزایش سدیمان می گردد.
- تغییر شکل گلبول ها مانند اسفروسیتوز و داسی مانند مانع ایجاد رولکس شده و سرعت را کاهش می دهد.
- هپارتین با ایجاد تغییر در پتانسیل زتا و ایجاد چروکیدگی در گلبول ها، موجب افزایش سرعت رسوب می گردد.

### ✓ بررسی عدم دقت Imprecision

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

برای این کار حین خونگیری از یک فرد، با 10 لوله سدیمان مخصوص دستگاه، نمونه تهیه کرده و این نمونه ها توسط دستگاه آزمایش شده و نتایج آن ها ثبت می گردد. با 10 نتیجه حاصله میانگین، انحراف معیار SD و ضریب انحراف معیار CV محاسبه می گردد. این CV، عدم دقت یک سری کاری Within Run CV نام دارد. اینکار باید برای حداقل 10 فرد مختلف با ESR در دامنه های طبیعی و غیرطبیعی انجام شود .

(SD(Standard Deviation و CV را بر اساس فرمول زیر محاسبه نمایید.

$$mean = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - mean)^2}{n - 1}}$$

$$CV\% = \frac{SD * 100}{mean}$$

**CV:** ضریب انحراف (Coefficient of variation)

**$X_i$ :** هر تک خوانده

**SD:** انحراف معیار (Standard deviation)

**mean:** میانگین

**n:** تعداد خوانده‌ها

اگر CV% های بدست آمده کمتر یا معادل عدم دقت مجاز آزمایشگاه برای آزمایش ESR یا ادعای سازنده مندرج در دستورالعمل دستگاه بود، تکرار پذیری دستگاه مناسب تلقی گردیده و بررسی عدم صحت انجام میشود حداکثر میزان قابل قبول عدم دقت CV=6% پیشنهاد می شود.

**2- کنترل عدم صحت دستگاه Inaccuracy:**

**روش مرجع Reference Method**

توضیح: در روش مرجع، نمونه باید مانند نمونه های CBC با ضد انعقاد Na2EDTA.2H2O یا K2EDTA.dH2O و یا K3EDTA با غلظت 1-2 mg/ml تهیه شود و PCV(Packed Cell) Volume (هماتوکریت) نمونه ها کمتر از 0/35 باشد.

نمونه ها باید با روش وسترگرین (Westergren method) و با پیپت های استاندارد مورد آزمایش قرار گیرند.

**پیپت استاندارد**

پیپت های مخصوص آزمایش سدیمان باید:

- بی رنگ و مدور باشند.
- 200 میلی متر طول داشته باشند و از صفر تا 200 به فاصله های یک میلی متری تقسیم شده باشد.
- قطر پی پتها کمتر از 2/55 میلی متر نباشد.
- عاری از هرگونه ترک خوردگی و شکستگی باشند و هیچگونه نشتی (Leakage) نداشته باشند.

در این روش حداقل 40 نمونه که ESR بین 105-15 میلی متر و PCV(Packed Cell Volume) (هماتوکریت) کمتر از 0/35 داشته انتخاب می شوند.

اگر PCV نمونه ای بالاتر از 0/35 بود به روش زیر میتوان آن را تصحیح کرد :

ابتدا نمونه را در دو لوله جداگانه بصورت مساوی تقسیم نموده و یکی از آنها را ساتتریفیوژ کرده تا پلاسما جدا شود

اگر حجم نمونه های تقسیم شده در هر لوله 3/5 میلی لیتر باشد مقدار پلاسما مورد نیاز بر حسب میلی لیتر که می بایست به لوله ساتتریفیوژ نشده اضافه نمود تا هماتوکریت آن کمتر یا مساوی 0/35 تنظیم شود با استفاده از فرمول زیر محاسبه می گردد.

$$\text{مقدار پلاسما مورد نیاز بر حسب میلی لیتر} = 3.5 - 3.5 \times \left( \frac{\text{نمونه PCV}}{0.35} \right)$$

### انجام آزمایش

در این مرحله 40 فرد با ESR بین 105-15 میلی متر را انتخاب کرده و از هر شخص سه سری نمونه ESR جمع آوری میشود.

- 1- یکسری بر روی لوله های مخصوص دستگاه که حاوی سیترات 3/2% باشند برای اندازه گیری با دستگاه .
- 2- یک سری بر روی EDTA بدون تهیه رقت با سیترات برای روش مرجع
- 3- یک سری با ضد انعقاد سیترات سدیم برای روش معمول وسترگرین (روش دستی)

**نکته:** قبل از انجام آزمایش سدیماتتاسیون، با اندازه گیری هماتوکریت نمونه ها، باید از تنظیم شدن هماتوکریت به میزان کمتر یا مساوی 0/35 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 25-18 درجه سانتیگراد انجام شده و پی پت ها در حالت عمودی و بدون لرزش قرار میگیرند. نتایج در زمان  $60 \pm 1$  خوانده می شوند. نتایج حاصله از روش دستگاهی و روش مرجع با استفاده از جدول زیر مقایسه می گردند.

به عنوان مثال اگر سدیمان یک نمونه در روش مرجع 20 بود بر طبق جدول می بایستی عدد حاصل از روش دستگاهی بین 17-5 باشد.

در این روش در صورتی که 95% جوابها در محدوده تعیین شده باشد نتایج قابل قبول می باشد. حداکثر میزان قابل قبول عدم صحت Bias=5% پیشنهاد می شود.

روش دستگاہی محدوده	روش مرجع	روش دستگاہی محدوده	روش مرجع	روش دستگاہی محدوده	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

#### - روش انتخاب شده توسط NCCLS Selected Method

در این مرحله بر اساس پیشنهاد NCCLS باید حداقل برای 40 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 نمود. هم خوانی نتایج حاصل از روش وسترگرین با روش دستگاهی باید از طریق آزمون آماری (T TEST(Paired Result) که در نرم افزار آماری SPSS نیز وجود دارد محاسبه 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. بطور مثال برای 10 نمونه عدد T باید کمتر از 2/26 باشد.