

بسمه تعالی

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

معاونت درمان

تهیه و تنظیم:

اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت

دستورالعمل:

تضمین کیفیت اندازه گیری سرب خون در آزمایشگاه های بالینی

بوسیله دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی

تابستان ۹۵

فهرست

عنوان	صفحه
۱- مقدمه.....	۳
۲- روشهای اندازه گیری سرب	۴
۳- اهداف اندازه گیری سرب در نمونه های بالینی	۴
الف - مرحله قبل از آزمایش.....	۵
۴- نمونه گیری (خون گیری وریدی و مویرگی).....	۵
۵- حداقل مقدار خون مورد نیاز.....	۵
۶- مواد ضد انعقاد مورد استفاده در اندازه گیری سرب:.....	۵
۷- شرایط نگهداری و انتقال نمونه.....	۶
۸- معیارهای رد نمونه	۷
۹- لوازم شیشه ای و پلاستیکی مورد نیاز برای آزمایش.....	۷
۱۰- مراحل شستشو و اسید شور کردن ظروف نو.....	۷
ب - مرحله آزمایش.....	۸
۱۱- تجهیزات مورد نیاز برای انجام آزمایش.....	۸
۱۲- ارکان مهم برنامه تضمین کیفیت درآزمایشگاه.....	۹
۱۳- کنترل کیفی آزمایشها (دقت، صحت، خطی بودن، ریکالوری، و...).....	۹-۱۲
۱۴- پروتوکل پیشنهادی برای کنترل کیفی در یک سری کاری اندازه گیری سرب.....	۱۲
ج- مرحله بعد از آزمایش و گزارش دهی.....	۱۳
۱۵- گزارش دهی.....	۱۳
۱۶- منابع	۱۴

مقدمه

سرب از عناصر شیمیایی واسطه در جدول تناوبی با نماد شیمیایی Pb (Plumbum) می باشد و در رده فلزات سنگین و سمی قرار دارد. از موارد استفاده از این عنصر می توان در باتری سازی، ساخت اجزای الکترونیکی، روکش کابل، مهمات، سرامیک، شیشه های سرب دار، رنگها، آلیاژها و... نام برد.

مسمومیت با سرب از طریق استنشاق (لحیم کاری، باتری سازی و...) و هم از طریق خوراکی رنگهای صنعتی، رنگ خالکوبی و... ایجاد می شود. سرعت جذب آن از راه تنفس بسیار سریع است و از راه گوارش نیز جذب شده و میزان جذب آن در کودکان بیشتر از بالغین می باشد. مکانیسم توکسیک آن از طریق ترکیب با گروههای سولفیدریل پروتئین ها و بخصوص آنزیمهای دخیل در سنتز مولکول هم، اختلال پمپ $Na-k ATP ase$ در غشاء گلبولهای قرمز و در نتیجه کاهش عمر آنها، نفريت مزمن، میوکاردیت، نورو توكسیك، و... می باشد.

مقدار توکسیک در بدن کودکان و بالغین متفاوت بوده و سرب در هر غلظتی برای افراد مضر است. مقدار مرجع برای سرب خون در کودکان و بزرگسالان بر اساس مطالعات وسیع انجام شده در آمریکا- آلمان- کانادا بدست آمده است. این مطالعات نشان دادند که میانگین غلظت سرب در کودکان ۱ تا ۵ سال وابسته به جنس نبوده و برابر با $5 \mu g / dL$ معادل $0.34 \mu mol / L$ می باشد. هم چنین پیشنهاد شده است که این مقدار غلظت هر ۴ سال یکبار بازبینی شود. مطالعات دیگر نشان دادند که در جمعیت بزرگسالان مردان غلظت سرب خون بالایی نسبت به زنان داشتند و این مقدار در بین افراد سیگاری بیشتر بوده است. از نقطه نظر بالینی غلظت سرب خون بیشتر از $10 \mu g / dL$ معادل با $0.48 \mu mol / L$ مخصوصاً در کودکان سالم "سطح اقدام" برای تعیین منبع مسمومیت محسوب می شود. جهت مطالعه بیشتر به "دستورالعمل برخورد با بیمار مبتلا به مسمومیت با سرب" مراجعه شود (پیوست).

دستورالعمل "تضمین کیفیت اندازه گیری سرب خون در آزمایشگاه های بالینی بوسیله دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی" توسط کارشناسان آزمایشگاه مرجع سلامت، آقای سید علی ناظری و سرکار خانم مهری علی اصغرپور تهیه و تنظیم شده است. در صورت وجود پیشنهادات، نظرات و یا پرسش در این خصوص با تلفن ۸۱۴۵۲۳۸۱ - ۰۲۱ و یا ۰۹۱۲۱۹۶۰۶۹۰ تماس حاصل نمایید.



آزمایشگاه مرجع سلامت

روشهای اندازه گیری سرب

به منظور تعیین سطح خونی سرب روشهای مختلفی در دسترس می باشد. متداولترین آنها روش های جذب اتمی (Atomic Absorption Spectrometry, AAS)، ولتامتری (Anodic Stripping Voltammetry, ASV) و طیفسنجی جرمی- پلاسمای زوج شده القایی (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) هستند. علاوه بر دستگاههای ساده و قابل حمل بر اساس ولتامتری نیز موجود می باشد. این روش ها تفاوت های بارزی از نظر صحت، دقت، حد تشخیص، نحوه آماده سازی نمونه، معرفهای مورد نیاز، کالیبراتورها، کنترلها، قیمت و مهارت کاربر دستگاه با یکدیگر دارند.

آزمایشگاه بسته به هدف از انجام آزمایش و امکانات و شرایط یکی از این روشها را برای اندازه گیری سرب خون انتخاب می نماید. از مهمترین نکاتی که باید قبل از انتخاب روش به آن توجه کرد، حد تشخیص، صحت و دقت، دامنه خطی بودن مورد نیاز و ریکاوری روش می باشد آنچه مهم است این است که آزمایشگاه باید از معتبر بودن نتایج با توجه به برنامه کنترل کیفی مورد استفاده در آزمایشگاه قبل از گزارش نهایی اطمینان حاصل نماید.

"کلیه آزمایشگاههای تشخیص پزشکی، اعم از دولتی یا غیر دولتی، ملزم به استقرار و اجرای استانداردهای آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، و رعایت سایر ضوابط مربوط به آزمایشگاههای پزشکی می باشند."

اهداف اندازه گیری سرب در نمونه های بالینی

- ۱- غربالگری: با استفاده از روشهای ولتامتری قابل حمل میسر است.
- ۲- مسمومیت افراد: در صورتیکه از روشهای ولتامتری قابل حمل استفاده می شود، غلظتهای بالاتر از $10\mu\text{g/dL}$ بایستی با روشهای تشخیصی، ترجیحاً روشهای مرجع نظیر جذب اتمی با کوره گرافیتی (GFAAS)، ICP-MS، دوباره آزمایش شده و تایید شوند.

در حال حاضر روش جذب اتمی با کوره گرافیتی یکی از مرسوم ترین روشها برای اندازه گیری سطح خونی سرب می باشد. می توان تداخلات احتمالی در این دستگاه را با تنظیمات دستگاهی و مدیفیرهای مناسب کاهش داد. نتایج حاصل از مدلهای پیشرفته دستگاهی از صحت و دقت و قابلیت اعتماد خوبی برخوردار هستند.

مراحل کار به شرح زیر می باشد:

الف - مرحله قبل از آزمایش



آزمایشگاه مرجع سلامت

آماده سازی بیمار

آماده سازی خاصی از نظر رژیم غذایی و یا ناشتها بودن برای بیمار وجود ندارد. ولی قبل از نمونه گیری محل خون گیری باید کاملاً تمیز شده باشد.

نمونه گیری (خون گیری وریدی و مویرگی)

خون گیری صحیح نیاز به دانش و مهارت دارد. جهت جمع آوری نمونه خون وریدی و مویرگی به رفرانس شماره ۹ مراجعه شود.

حداقل مقدار خون مورد نیاز

براساس روش انتخابی و تنظیم شده در آزمایشگاه مقدار نمونه مورد استفاده فرق می کند ، ولی همانطور که اشاره شد باید لوله نمونه گیری تا خاتمه مکش از خون پر شوند (حجم اسمی پر شود) و به آزمایشگاه ارسال شود.

مواد ضد انعقاد مورد استفاده در اندازه گیری سرب:

مواد ضد انعقاد مانند هپارین و یا EDTA می تواند مورد استفاده قرار گیرد. EDTA بر هپارین ترجیح داده می شود. اگر غلظت سرب ظرف مدت ۴۸ ساعت تعیین شود می توان از هپارین استفاده کرد. زیرا هپارین پس از ۴۸ ساعت سبب تشکیل لخته های کوچک خون می شود.

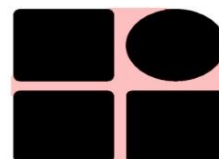
اگر از سرنگ استفاده می شود مقادیر توصیه شده مواد ضد انعقاد در ظروف نگهداری خون وریدی و مویرگی به شرح زیر است:

- EDTA به مقدار 1.5 mg/ml – 1 برای خون کامل.
- هپارین با غلظت 101- 151 mg/ml برای خون کامل.
- استفاده از EDTA مایع می تواند سبب رقیق شدن نمونه خون شود.

نکات مهم:

*لوله ها باید تا خاتمه مکش از خون پر شوند (حجم اسمی پر شود) و پس از وقفه جریان خون اولین لوله از سوزن جدا شده و لوله های بعدی به سوزن متصل می شوند.

*لوله های حاوی ماده ضد انعقاد و خون باید بلافاصله پس از پر شدن مخلوط شوند (با ۱۰-۵ مرتبه سروته نمودن).



آزمایشگاه مرجع سلامت

* باید توجه داشت که خون گیری مویرگی فقط برای اهداف غربالگری قابل قبول است. خون وریدی نمونه قابل قبول برای تأیید تشخیص و مدیریت درمان برای مسمومیت سرب محسوب می شود. برای تأیید مسمومیت سرب در کودکان پس از آزمایش غربالگری تهیه نمونه وریدی نیز الزامی است.

* به طور کلی توصیه می گردد به دلیل رعایت اصول ایمنی و آلودگی از سرنگ و سرسوزن استفاده نشود و لوله های خلاء فاقد سرب جایگزین آن گردند. آلودگی های خارجی در آزمایشهای سرب نقش مهمی دارد، لذا بایستی حد امکان از آن جلوگیری کرد.

شرایط نگهداری و انتقال نمونه

الف - نمونه گیری در آزمایشگاه محل انجام آزمایش اندازه گیری سرب خون:

زمان: نمونه ها باید در ظروف در بسته مناسب در کوتاه ترین زمان ممکن و در دمای محیط به محل انجام آزمایش تحویل شود.
وضعیت لوله: نمونه های خون باید در لوله های در پوش دار و در وضعیت قائم نگهداری شوند.

درپوش: عدم وجود درپوش باعث خطا در نتایج بعضی متغیر ها می گردد. همچنین وجود در پوش خطر ایجاد آئرسول و تبخیر نمونه را کاهش می دهد.

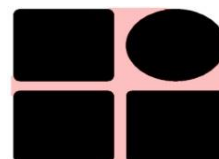
ب- در صورتیکه در مرکزی فقط نمونه گیری انجام و نمونه ارسال می شود:

نمونه بایستی در اسرع وقت با رعایت اصول ایمنی و با حفظ زنجیره سرد (۲-۸ درجه سانتی گراد) به آزمایشگاه انجام دهنده تست ارسال شود.

ج- حداکثر زمان نگهداری نمونه های خون برای اندازه گیری سرب

حداکثر زمان مجاز نگهداری	نگهداری	
۲۴ ساعت ۳۰ روز ۹۰ روز	دمای محیط ۸ تا ۲۰ درجه سلسیوس یخچال ۲ تا ۸ درجه سلسیوس فریزر ۳۰ - تا ۱۰- درجه سلسیوس	EDTA
۸ ساعت ۴۸ ساعت ۳۰ روز	دمای محیط ۸ تا ۳۰ درجه سلسیوس یخچال ۲ تا ۸ درجه سلسیوس فریزر (۱۰-) درجه سلسیوس	Heparin

جدول شماره ۱ - حداکثر زمان نگهداری نمونه های خون همراه با نوع ماده ضد انعقاد



آزمایشگاه مرجع سلامت

معیارهای رد نمونه

به طور کلی در صورتیکه از ضد انعقاد صحیح استفاده نشده باشد، بیمار آمادگی های لازم را نداشته باشد، نمونه شناسایی نشود، پروتکل نمونه گیری و یا طریقه نگه داری نمونه رعایت نشده باشد، لوله های خلاء تا حجم اسمی پر نشده باشند، حجم نمونه برای اندازه گیری و تکرار احتمالی کافی نباشند، و یا نمونه لخته باشد، نباید نمونه را پذیرش کرد.

لوازم شیشه ای و پلاستیکی مورد نیاز برای آزمایش

ظروف شیشه ای شامل بالن ژوژه و بی پت با حجم های مختلف می باشد. ظروف نگهداری محلولها باید پلاستیکی باشد تا از تداخل مواد معدنی در اندازه گیری غلظت ممانعت شود و دارای ویژگی های زیر باشند:

*** بتوان به سهولت قسمتی از نمونه را برداشت کرد

*** دارای درپوش باشند

*** تمامی ظروف شیشه ای- پلاستیکی و سر سمپلرها (یکبار مصرف و بدون رنگ) و کاپ های اتوسمپلر دستگاه (حجم ۰/۵ سی سی) مورد استفاده در روش باید نو و عاری از سرب باشند. همچنین تمامی محلول ها باید در ظروف پلاستیکی در دار نگهداری شوند و فقط هنگام انتقال محلول، به مدت کوتاهی در ظروف باز شود.

مراحل شستشو و اسید شور کردن ظروف نو

-آبکشی با آب معمولی

-آب کشی با آب مقطر یا دیونیزه

-خیساندن ۱-۲ mmol/l محلول هیدروکسید سدیم (NaOH)

-آب کشی با آب مقطر یا دیونیزه

-خیساندن در اسید نیتریک رقیق (۱:۳) یک شبانه روز

-شستشوی کامل با آب دیونیزه

- پس از شستشو و خشک کردن، ظرف های بدون درپوش باید با پارافیلیم پوشانده شوند. توجه به این نکته لازم است که پیپت و بالن ژوژه هرگز نباید در حرارت بیشتر از ۵۰ درجه سانتی گراد درآون خشک شوند.



آزمایشگاه مرجع سلامت

نکات قابل توجه:

- اسید و مواد شیمیایی مورد استفاده برای مراحل مختلف روش اندازه گیری سرب باید خالص و از مرکز معتبر خریداری شده باشند.
- تمام لوله های آزمایش با ظروف جمع آوری نمونه های سرب خون باید از نظر آلودگی احتمالی با سرب کنترل شوند.

ب- مرحله آزمایش

تجهیزات مورد نیاز برای انجام آزمایش:

تجهیزات مورد نیاز به شرح زیر می باشد:

- ۱- دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی
- ۲- کپسول آرگن (۹۹/۹۹۶٪) خالص که مجهز به رگلاتور باشد
- ۳- تثبیت کننده نوسانات جریان برق
- ۴- سیستم خنک کننده (Cooling)

اساس اندازه گیری و مراحل انجام آزمایش در دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی (Graphite Furnace Atomic Absorption, GFAAS)

در دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی، اندازه گیری بر اساس نور تولید شده از منبع نوری لامپ کاتد سرب و جذب نور توسط اتمهای سرب در طول موج 288.3 nm می باشد. حرارت تولید شده توسط جریان الکتریکی به منظور تبخیر و اتمی کردن آنالیت در دماهای بالا تر از 3000°C ایجاد می شود. تمام نمونه ها شامل نمونه های شاهد (بلانک)، خون کنترل، نمونه های بیمار و محلول استانداردهای کاری سرب همه با محلول (Modifier) رقیق و با اسید مورد استفاده استخراج می شود. نمونه به داخل سیلندر کربنی تزریق می شود و غلظت سرب بعد از مراحل: خشک کردن نمونه (Drying)، خاکستر کردن (Ashing) و اتمی کردن (Atomization)، تمیز کردن (Cleaning) و خنک کردن (Cooling)، در این دستگاه که مجهز به سیستم حذف تداخل لامپ دوتریم و یا زیمن می باشد در دما و مدت زمان کنترل شده در هر مرحله که قابلیت برنامه ریزی دارد، اندازه گیری می شود. بدلیل اینکه اتمی شدن نمونه در فضای کوچکی انجام می شود تعداد اتمها در محل اتمی شدن بالا می باشد و حساسیت این روش را بسیار بالا می برد.



آزمایشگاه مرجع سلامت

ارکان مهم برنامه تضمین کیفیت در آزمایشگاه

ارکان تضمین کیفیت در آزمایشگاه تشخیص بالینی شامل کنترل کیفی داخلی و رعایت نکات قبل از آزمایش (Pre-Analytic)، مرحله آزمایش (Analytic) و نکات پس از آزمایش و گزارش دهی (Post Analytic & Reporting) می باشد.

✓ در کنترل کیفی داخلی مواردی از قبیل دقت، صحت، خطی بودن، ریکواری، استفاده از کالیبراتور مناسب، نمونه های بلانک و بررسی تداخلات ضروری می باشد.

✓ در کنترل کیفی خارجی شرکت در برنامه های EQAS و یا استفاده از نمونه های کنترل خارجی ضروری است.

همچنین ساختار و شرح و ظایف، مدیریت کارکنان و آموزش به پرسنل (اولیه و مستمر)، ارزیابی عملکرد، فضای کاری و رعایت نکات ایمنی برای فرد و محیط زیست، مدیریت عدم انطباق، اقدام اصلاحی و اقدام پیشگیرانه، کنترل و کالیبراسیون تجهیزات، خرید و انبارش، مستند سازی (مدارک، سوابق، نگهداری)، مدیریت اطلاعات، ارزیابی و ممیزی داخلی و خارجی، مدیریت نمونه، ارجاع آن و ارتباط با سایر آزمایشگاهها و بهبود مستمر کیفیت مورد توجه می باشد.

کنترل کیفی آزمایشها

از آنجائیکه عملکرد یک روش آزمایشگاهی تحت تأثیر عوامل متعددی مانند شماره ساختهای مختلف کیت، معرف، کالیبراتور، تغییر تأمین کنندگان، اثرات حمل و نقل، نگهداری، شرایط آب و هوایی، کیفیت آب، پایداری جریان برق و طبیعتاً مهارت کاربر می باشد، بعد از خرید و نصب هر دستگاه و قبل از شروع به کار، صحت عملکرد دستگاه و روش باید با استفاده از کنترل های مناسب مورد ارزیابی قرار گیرد. بدیهی است این اقدام به شکل دوره ای به صورت فعالیت های کنترل و نگهداری تجهیزات و هم چنین پس از هر بار تعمیر دستگاه، نیز باید انجام شود. هم چنین، لازم است هر آزمایشگاه برای بررسی روشهای کمی که قبلاً توسط شرکت سازنده مورد ارزیابی قرار گرفته اند قابلیت روش را ارزیابی نماید. این ارزیابی همانطوریکه اشاره شد با ابزار کنترل کیفیت که دو جز اصلی دارد انجام می شود:

۱- کنترل کیفی خارجی: که عملکرد آزمایشگاه توسط سازمانهای معتبر ارزیابی می شود.

۲- کنترل کیفی داخلی: که یک سری ارزیابی های داخل آزمایشگاه مانند بررسی پارامترهای دقت (Precision)، صحت (Accuracy)، و محدوده مرجع (Reference Interval) و ... را شامل می شود. در مورد روشهایی که در آزمایشگاه طراحی و اجرا می شوند و نیز روشهایی که در آزمایشگاه تغییر می یابند علاوه بر موارد فوق می بایست حساسیت و بررسی تداخلات با



آزمایشگاه مرجع سلامت

توجه به روش مورد ارزیابی قرار گیرد. برای این منظور خون های کنترل تجاری کیفی لیوفلیزه تجاری در حجم ها و غلظتهای مختلف و با پایداری طولانی برای سرب و سایر فلزات سنگین در دسترس هستند.

بررسی دقت (تکرار پذیری)

اینکه نمونه ها در چند غلظت و در چه غلظتی مورد بررسی قرار گیرند بستگی به محدوده تصمیم گیری بالینی Decision level دارد. توصیه می شود غلظتهای زیر در مورد تعیین غلظت خونی سرب مورد بررسی قرار گیرند:

- ۱- غلظتی پایین تر از $10\mu\text{g/dL}$,
- ۲- $20-30\mu\text{g/dL}$
- ۳- $50-60\mu\text{g/dL}$
- ۴- $90-100\mu\text{g/dL}$

مدت مطالعه و تعداد دفعات آزمایش :

۱- Inter Assay : بررسی تکرار پذیری با آزمایش نمونه ها با غلظتهای فوق در سری های کاری مختلف (Between run) با ۲۰ بار آزمایش آنها و محاسبه میانگین و انحراف معیار و $CV\%$ هر یک بدست می آید. مدت مطالعه باید به اندازه ای باشد که با تأثیر متغیرهایی که بطور معمول در آزمایشگاه وجود دارند نتایج واقعی تری بدست آید.

** ارجح است این تعداد خوانده از تکرار آزمایش در ۲۰ روز کاری (۴ هفته) حاصل گردد.

** روش دیگر، انجام آزمایش بصورت دوتایی در ۱۰ روز کاری است .

** در صورت عدم امکان اجرای روش های فوق می توان در ۵ روز کاری، نمونه را ۴ بار در هر روز آزمایش نمود.

۲- Intra Assay : بررسی تکرار پذیری با آزمایش نمونه های فوق به صورت کوتاه مدت (مثلاً در یک سری کاری (Within run) انجام می شود. طبیعتاً نتایج نزدیک به هم حاصل می گردند که باعث می شود تخمینی خوش بینانه از میزان عدم دقت بدست آید. بهتر است ۲۰ خوانده از آزمایش هریک از نمونه ها در یک سری کاری بدست آید و محاسبه میانگین و انحراف معیار و $CV\%$ هر یک بدست آید. نتیجه حاصله برحسب $CV\%$ با عدم دقت مجاز آزمایشگاه یا ادعای سازنده کیت با دستگا مقایسه می گردد. $CV\%$ حاصله باید کمتر از یا معادل عدم دقت مجاز باشد.

صحت یک روش آزمایشگاهی از راههای مختلفی بررسی می گردد:

- ۱- یکی از آنها اندازه گیری کمیت مورد نظر در ماده مرجع و مقایسه نتیجه حاصله با مقدار مورد انتظار می باشد برای این منظور غلظتهای مشخصی از استاندارد معتبر را می توان به نمونه بلانک اضافه کرد و نتایج را با دستگاه بدست آورد.
- ۲- روش دیگر برای تعیین صحت استفاده از کنترلهای تجاری که علاوه بر دقت، ارزش صحتی نیز دارند، می باشد.
- ۳- روش بررسی صحت از طریق مقایسه روش ها (Comparisson between methods) ارزش پیدا می کند.

نکات مهم:

- روش مرجع : (Reference Method) درانتخاب روشی که در این ارزیابی به عنوان روش مقایسه ای استفاده می شود، باید دقت کافی مبذول داشت. در صورت امکان بهتر است از روش مرجع (Reference Method) جهت مقایسه استفاده شود. روش اندازه گیری سرب خون با دستگاه جذب دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی به عنوان یک روش مرجع شناخته شده است.
- **تعداد نمونه :** حداقل نمونه که باید توسط هر دو روش بررسی شوند ۴۰ نمونه تعیین شده است. این نمونه ها باید به گونه ای انتخاب شود که محدوده غلظتی قابل اندازه گیری دو روش مورد آزمون و مقایسه ای را پوشش داده و نمونه های با غلظت طبیعی و غیر طبیعی را در بر گیرند. در مورد سرب غلظتهای پایین تر از $10 \mu\text{g/dL}$ ، $20 - 30 \mu\text{g/dL}$ ، $50 - 60 \mu\text{g/dL}$ و $90 - 100 \mu\text{g/dL}$ ضروری می باشد.
- **محدوده زمانی :** برای به حداقل رساندن اثر خطای سیستماتیک ناشی از یک سری کاری، توصیه می شود ارزیابی مقایسه روشها در روزهای مختلف انجام شود. حداقل دوره زمانی ۵ روز تعیین شده است و روزانه ۸ نمونه باید با دو روش آزمایش شود.

بررسی محدوده گزارشدهی از طریق آزمون خطی بودن Linearity

بررسی میزان خطی بودن یک روش آزمایشگاهی، بمنظور بررسی محدوده گزارشدهی بکار می رود. با انجام این آزمایش می توان محدوده غلظتی را که با استفاده از روش مورد نظر بطور قابل اعتماد قابل گزارش می باشد، تعیین کرد.



آزمایشگاه مرجع سلامت

در این آزمون یک سری از نمونه ها باید با غلظت مشخص و یا نمونه های رقیق شده، آزمایش و نتایج نهایی پس از آزمایش روی نمودار بررسی گردد. در مورد سرب خطی بودن بایستی با بررسی ۶-۷ نمونه در محدوده غلظتی $5 - 150 \mu\text{g/dL}$ ، مورد ارزیابی قرار گیرد.

ریکاوری (Recovery)

به منظور تعیین ریکاوری غلظتهای مختلف در محدوده درمانی به نمونه بلانک افزوده می شود. مقادیر مورد انتظار و مقادیر واقعی خوانده شده با هم مقایسه و از تقسیم مقدار واقعی به مقدار بدست آمده، این پارامتر محاسبه می شود.

بررسی حساسیت اندازه گیری دستگاه

روشهای اندازه گیری سرب خون در دستگاه جذب اتمی متعدد می باشد و ممکن است این روشها در آزمایشگاه طراحی و اجرا شوند و یا روشهایی باشند که در آزمایشگاه تغییر یافته و سپس اجرا می شوند. بنابراین علاوه بر موارد فوق می بایست حساسیت اندازه گیری دستگاه و روش نیز با توجه به روش انتخابی آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گیرد این ارزیابی با تعیین کمترین غلظت مورد شناسایی دستگاه (Limit of Detection) صورت می گیرد. پس از کالیبراسیون، غلظت نمونه شاهد (بلانک) حداقل ۱۰ بار خوانده می شود و سه برابر انحراف معیار برابر با حساسیت اندازه گیری دستگاه است.

بررسی حساسیت اندازه گیری روش

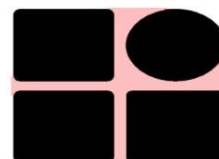
برای تعیین این اندازه گیری، یک نمونه خون باید به قدری رقیق شود تا خوانده به حساسیت اندازه گیری دستگاه برسد. سپس ۱۰ بار تکرار و ۳ برابر انحراف معیار آن به عنوان حساسیت اندازه گیری روش گزارش شود. تعریف یکسان برای این پارامتر وجود ندارد. بعضی مواقع پنج برابر انحراف معیار و یا ده برابر انحراف معیار در نظر گرفته می شود.

پروتوکل پیشنهادی برای کنترل کیفی در یک سری کاری اندازه گیری سرب

با استفاده از روش انتخابی آزمایشگاه و بعد از تأیید ارزیابی عملکرد دستگاه (دقت و صحت)، یک پروتوکل پیشنهادی برای کنترل کیفی مراحل اندازه گیری سرب در نمونه های خون کامل بیماران با دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی به شرح زیر می باشد :

*۳ غلظت از خون کنترل تجاری برای کنترل کیفی روش در هر سری کار مطابق با جدول شماره ۲ استفاده می شود :

غلظت پایین : تقریباً $0.24 \mu\text{mol/L} = 5 \mu\text{g/dL}$



آزمایشگاه مرجع سلامت

غلظت میانه : $0.48 - 0.97 \mu\text{mol/L} = 10 - 20 \mu\text{g/dL}$

غلظت بالا : بیشتر از $2.41 \mu\text{mol/L} = 50 \mu\text{g/dL}$

محل قرار گرفتن در هر سری کار	تعداد	سطح غلظت خون کنترل
بعد از کالیبراسیون	۳	یک عدد از هر غلظت
هر ۱۵ تا ۲۰ نمونه بیمار	۱	یک عدد از هر غلظت (چرخشی)
آخر هر سری کار	۳	یک عدد از هر غلظت

جدول شماره ۲ - محل قرار گرفتن خون کنترل تجاری در یک سری کاری (روزانه)

ج - مرحله بعد از آزمایش

گزارش دهی

بیشتر دستگاه های جذب اتمی با کوره گرافیتی مدرن با نرم افزارهایی کنترل می شوند که محاسبات کالیبراسیون را می تواند انجام دهند. نتایج بیشتر از $60 \mu\text{g/dL} = (2.90 \mu\text{mol/L})$ یا آخرین غلظت استاندارد منحنی کالیبراسیون ، باید رقیق شوند تا در محدوده خطی کالیبراسیون قرار گیرند و سپس نتیجه اعلام شود.

*بیشتر دستگاههای جذب اتمی مدرن قادر به رقیق کردن اتوماتیک نمونه می باشند ولی این روش قابل اطمینان نیست و باید با رقیق سازی دستی مورد تأیید قرار گیرد.

References:

- 1 - CLSI. Producers and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens ; Approved Standard – Sixth Edition. CLSI document GPA2-46 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2008.
- 2 - CLSI . Producers for the Collection of Diagnostic Blood Specimens ; Approved Standard – Sixth Edition. CLSI document GP41-A6 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2007.
- 3 - CLSI Preoaration and testing of reagent water in the clinical laboratory – Approved guideline. 4th edition. GP 40-A4-AMD .2012.
- 4 - CLSI. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory :Approved Guideline. . C28-A2. 20 (13) 2007.
- 5 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Venous and capillary blood – Sampling for determination of lead and cedmiun concetration. No 8015-2002.
- 6 - Miller DT, Paschal DC, Guater EW, Stroud PE, D'Angelo J. Determination of lead in blood using electrothermal atomization atomic absorption spectrometry with a L'vov platform and matrix modifier. Analyst; 112(12):1709-1704.1987.
- 7 - Wang ST, Peter F, The stability of human blood lead in storage J Anal Taxcol 9(2):85-88.1985.
- 8 -WHO, Brief guide to analytical methods for measuring lead in blood. Haeffliger P. et all , This puplication was developed in the IOM context. 2011.

۹- فصل دوم از کتاب " اصول مستند سازی و مستندات در آزمایشگاه پزشکی " ، گرد آوری و تالیف :دکتر حسین دار آفرین ، به سفارش انجمن آسیب شناسی ایران و آزمایشگاه مرجع سلامت ، انتشارات پیام رسان ، مرداد ۱۳۹۱ .