

به نام خدا

دستورالعمل نمونه‌گیری در آزمایشات غربالگری نوزادان و چالش‌های آن

گردآوری کنندگان:

دکتر سیمین حسینی

علیرضا کرامتی

پرویز علائی

آزمایشگاه مرکز بهداشت استان گیلان ۱۳۹۱

هدف: اجرای کلیه برنامه‌های غربالگری نوزادان برای بیماریهای TSH, PKU در سطح کشور و اهمیت اجرای استانداردهای آزمایشگاهی یکسان، در همه آزمایشگاههای فعال در این زمینه و یا برنامه‌های آتی آنها با توجه به ورود از فاز استقرار برنامه کشوری غربالگری هیپو تیروئیدی به فاز گسترش و کنترل کیفی و نیز ورود به فاز گسترش فنیل کتون یوریا در آزمایشگاههای غربالگری نوزادان.

در نوزادان تحت درمان تا سه سالگی هر ماه باید مقدار فنیل آلانین چک شود و میزان شیر و تغذیه آنها را کنترل کرد و نیز در مواردی که مقادیر فنیل آلانین بیش از cut off باشد پزشک بیمار را هر هفته تحت نظر دارد.

- ❖ اجرای طرح آموزش-نظارت در برنامه بیماری‌های تحت مراقبت غیر واگیر
- ❖ برگزاری دوره برنامه تضمین کیفیت در آزمایشگاههای غربالگری نوزادان: تکثیر و ارسال جزوه اصول تضمین کیفیت در آزمایشگاههای غربالگری نوزادان، چالش‌های موجود در تکنیک‌های عملی نمونه‌گیری و انجام آزمایشات غربالگری نوزادان
- ❖ تهیه چک لیست پایش و نظارت مراکز نمونه‌گیری نوزادان و قرار دادن آنها در سایت آزمایشگاه مرجع سلامت

تضمین کیفیت:

تضمین کیفیت در مراحل قبل، انجام و پس از انجام آزمایش دارای اهمیت است.

Quality Assurance

تضمین کیفیت

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| ❖ Pre analytical Errors | خطاهای قبل از آزمایش |
| ❖ Analytical Errors | خطاهای حین انجام آزمایش |
| ❖ Post analytical Errors | خطاهای بعد از انجام آزمایش |

- ❖ استقرار برنامه تضمین کیفیت می‌بایست در قسمتهای قبل از آزمایش، حین انجام آزمایش و پس از آزمایش در آزمایشگاهها صورت گیرد.

Preanalytic

- | | |
|-----------------------|----------------|
| • Patient Assessment | ارزیابی بیمار |
| • Test Request | درخواست آزمایش |
| • Specimen Collection | جمع‌آوری نمونه |

Postanalytic

- | | |
|-----------------------|-----------------|
| • Results Report | گزارش نتایج |
| • Test interpretation | تفسیر نتایج |
| • Specimen Management | مدیریت نمونه‌ها |
| • Specimen Transport | انتقال نمونه‌ها |
| • Specimen Receipt | پذیرش نمونه‌ها |

➤ دریافت نمونه های فیلتر پیپر (DBS) توسط آزمایشگاهها

➤ پذیرش (نرم افزار پذیرش و جوابدهی)

➤ انجام آزمایش

➤ جوابدهی (نرم افزار پذیرش و جوابدهی)

ملزومات نمونه برداری:

Sampling

- | | |
|-----------------------------|--|
| • A separate room | فضای فیزیکی جداگانه |
| • Specimen collection table | تخت ویژه نمونه گیری نوزاد |
| • Lancet | لانست |
| • Sterile gauze | گاز استریل |
| • Isopropanol ۷۰٪ | الکل ایزوپروپانل ۷۰ درصد |
| • Filter paper | کاغذ فیلتر (گاتری) |
| • Hot water bath | بن ماری |
| • Stand rack | رک ایستاده (نگهداری نمونه ها برای خشک شدن) |
| • Computer & Printer | کامپیوتر و پرینتر |
| • Refrigerator | یخچال |

Specimen collection روند نمونه گیری از نوزادان

- آموزش کارکنان بخش نمونه گیری و پیگیری آن در جهت اجرای صحیح و اصولی نمونه گیری، وجود پرسنل ثابت و جانشین ذیصلاح
- روند نمونه گیری: نوزاد در فاصله ۳ تا ۵ روز بعد از تولد
- استفاده از کاغذ فیلتر ۹۰۳ مورد تأیید وعدم بکارگیری فیلترهای دیگر
- نگهداری صحیح نمونه و انتقال آن در اسرع وقت
- پر کردن فرم نمونه گیری: قبل از شروع نمونه گیری شماره های پرسشنامه و کارت خونی را تطبیق داده و از یکسان بودن آنها مطمئن شوید اطمینان از یکسان بودن شماره ها بسیار مهم است .
- آماده کردن نوزاد: گرم کردن پاشنه پا با یک گاز یا حوله ولرم به مدت ۳ دقیقه تا جریان خون در محل افزایش یابد (حرارت ۴۱-۴۰ درجه سانتیگراد باعث افزایش جریان خون در موضع می شود).
- تمیز کردن با الکل ایزو پروپانول
- نمونه گیری از نوزاد:
 - لانست زدن
 - پاک کردن قطره اول خون
 - قرار دادن قطرات بعدی روی فیلتر

- مراقبت از زخم

- پاک کردن محل زخم
- پوشاندن محل با چسب بتا اید

نمونه تجهیزات لازم جهت نمونه گیری (لانتست استریل با نوک حدود ۲ میلی متری، پد الکل، گاز

استریل، کارت گاتری، دستکش، فرم ثبت نمونه گیری)



1. Necessary equipment: sterile lancet with tip approximately 2.0 mm, sterile alcohol prep, sterile gauze pads, soft cloth, blood collection form, gloves.



2. Complete all information. Do not contaminate filter paper circles by allowing the circles to come into contact with spillage or by touching before or after blood collection. Keep "submitter copy" if applicable.



3. Hatched area (//////) indicates safe areas for puncture site.

مناطق مناسب از پاشنه پا جهت زدن لانس با رنگ خاکستری تیره مشخص شده است.



4. Warm site with soft cloth, moistened with warm water up to 41°C, for three to five min.

گرم کردن پاشنه پا با حوله گرم شده در بن ماری



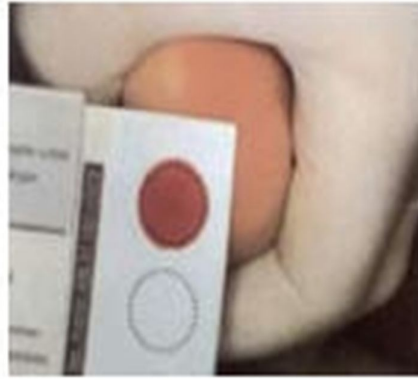
5. Cleanse site with alcohol prep. Wipe dry with sterile gauze pad.

پاک کردن ناحیه مورد نظر قبل از لانست زدن با پد الکل و خشک کردن با گاز استریل



6. Puncture heel. Wipe away first blood drop with sterile gauze pad. Allow another large blood drop to form.

زدن لانست و پاک کردن قطره اول خون با گاز استریل

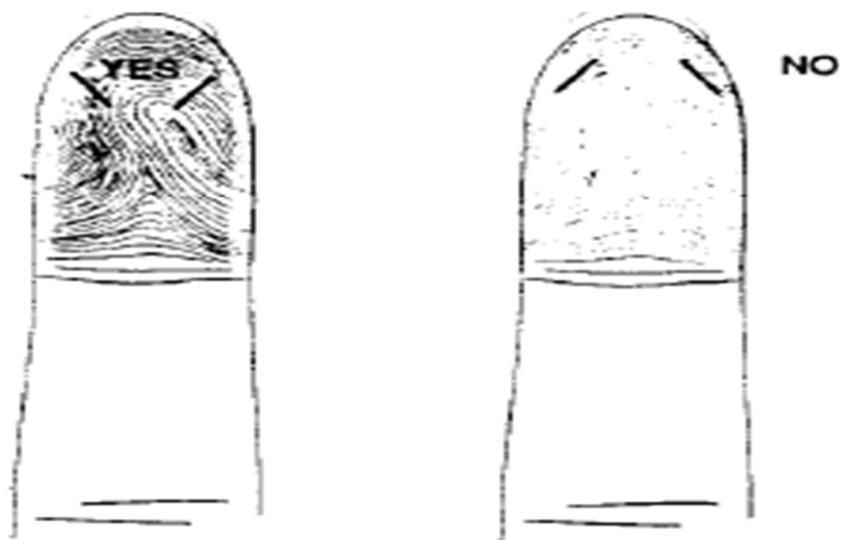
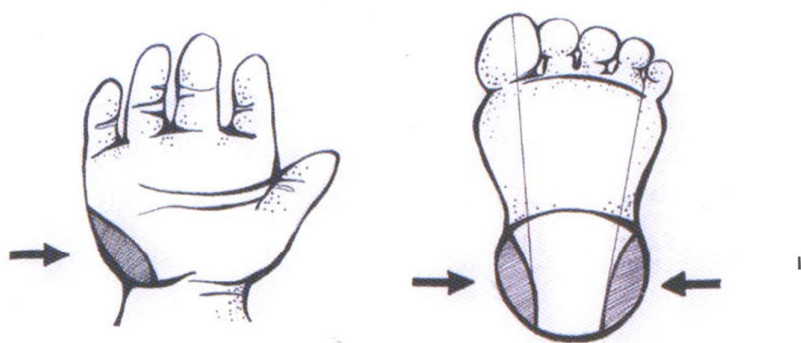
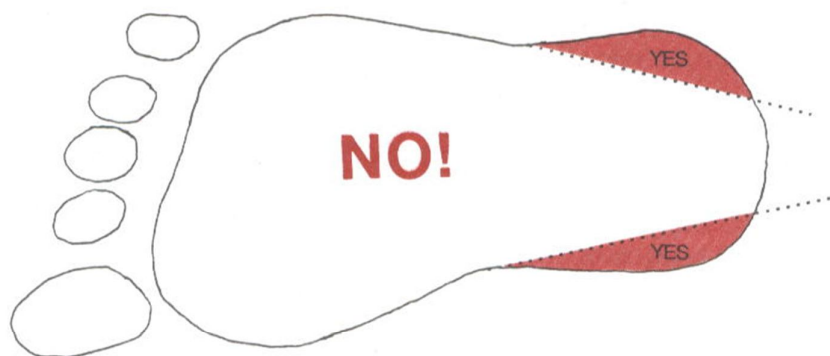


7. Lightly touch filter paper to large blood drop. Allow blood to soak through and completely fill circle with single application of large blood drop. (To enhance blood flow, very gentle intermittent pressure may be applied to the area surrounding the puncture site). Apply blood to one side of filter paper only.

تماس کاغذ فیلتر با قطره بزرگ خون (اجازہ دهید قطره خون بطور کامل جذب کارت گردد و دایره روی کارت را پر کند)
قطرات باید جداگانه باشد و نہ بصورت جریان خون – از فشار دادن بیش از حد ناحیہ زدن لانسٹ خودداری شود.



8. Fill remaining circles in the same manner as step 7, with successive blood drops. If blood flow is diminished, repeat steps 5 through 7. Care of skin puncture site should be consistent with your institution's procedures.



در صورتیکه نتوان به هر دلیل از پاشنه پا نمونه گیری کرد باید از نرمه کناری دست برای نمونه گیری استفاده نمود.

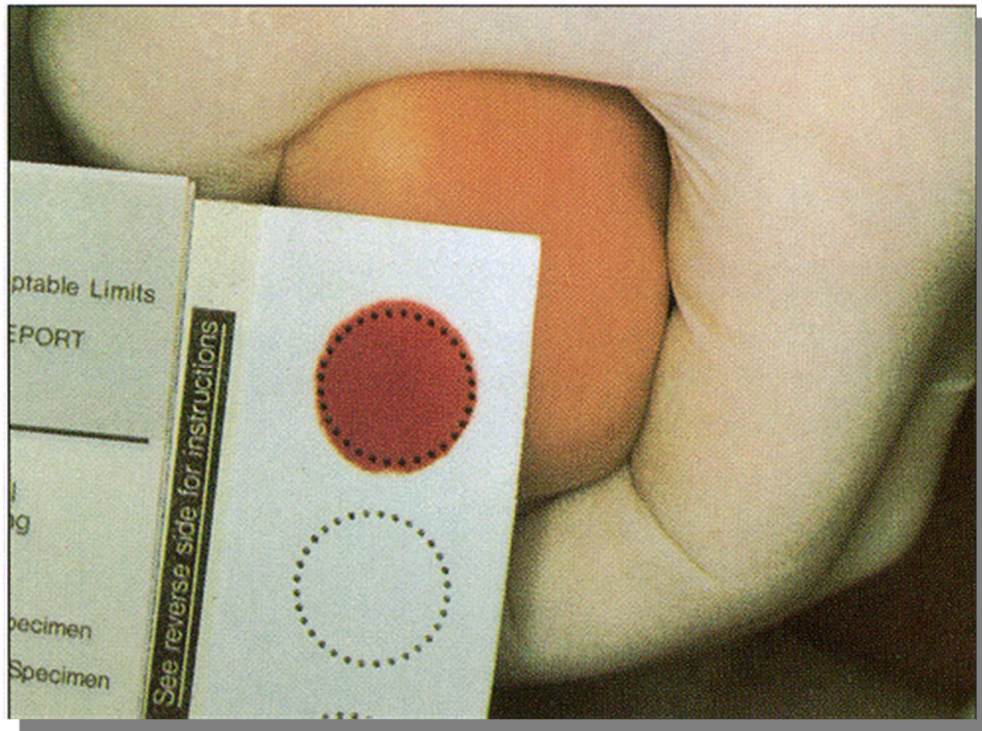
● نکات مهم در نمونه گیری:

- ❖ نوع وضخامت فیلتر پیپر
- ❖ حجم خون و یا سایز لکه خونی (تعیین کننده غلظت)
- ❖ کم بودن حجم نمونه گرفته شده برروی فیلتر کاغذی و بصورت پرنشدن دایره یا عدم اشباع فیلتر کاغذی یکی از رایجترین منابع ایجاد خطا در بخش قبل از تجزیه و با توجه به اینکه قطر پانچ در اندازه گیری فنیل آلانین ۵ میلیمتر می باشد، پرکردن دایره از خون بسیار مهم و ضروری است کوچک بودن لکه خون منجر به اخذ نتیجه کمتر از مقدار واقعی می شود.
- ❖ نحوه تلقیح خون بر روی فیلتر پیپر
- ❖ همو لیز(نمونه ای با گلبولهای لیز شده دارای مقادیر بیشتری فنیل آلانین از نمونه لیز نشده دارد)
- ❖ کنترل رطوبت اتاق
- ❖ بدون چروک و یا تاخوردگی کارت های نمونه گیری
- ❖ پیگیری جهت نمونه گیری مجدد نمونه هایی با کیفیت نامناسب
- ❖ ثبت زمان ارسال نمونه واستفاده از شماره گذاری متمایز در ارسال مجدد کارتهای خونی

● ویژگی های نمونه مناسب

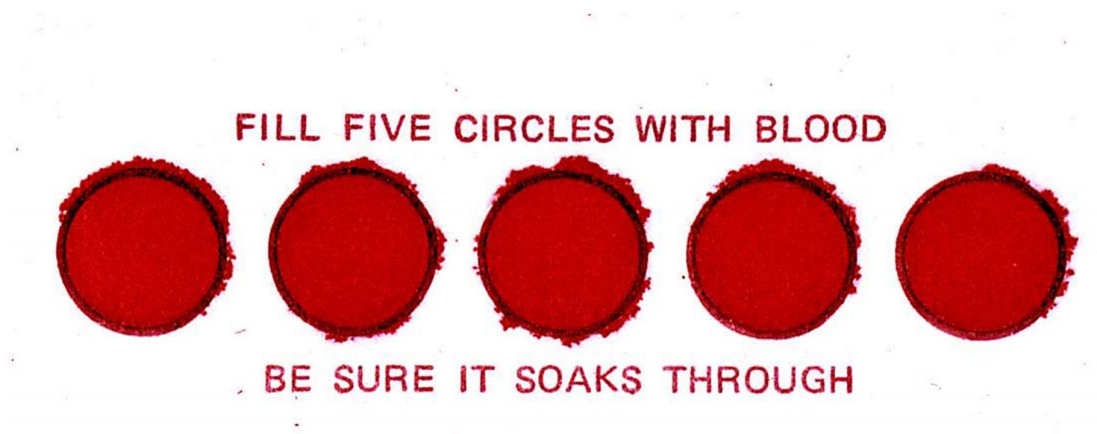
- ۱- شکل نمونه باید بصورت دایره باشد.
- ۲- قطر لکه خون بیش از ۵ میلی متر باشد.
- ۳- لکه خون از دو طرف همسان دیده شود.
- ۴- دو لکه روی هم نباشد.
- ۵- در یک دایره بیش از یک لکه نباشد .
- ۶- کاغذ فیلتر نمونه گیری آغشته به مواد خارجی نباشد.
- ۷- لکه های خون بدون اثر انگشت باشند .

Specimen Collection

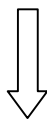


یک نمونه صحیح و کامل بدین شکل می باشد.

Properly collected specimen



نمونه صحیح جهت انجام آزمایش



Valid specimen:



Allow a sufficient quantity of blood to soak through to completely fill the preprinted circle on the filter paper. Fill all required circles with blood. Do not layer successive drops of blood or apply blood more than once in the same collection circle. Avoid touching or smearing spots.

نمونه فاقد کیفیت برای انجام آزمایش



Invalid specimen and possible causes:

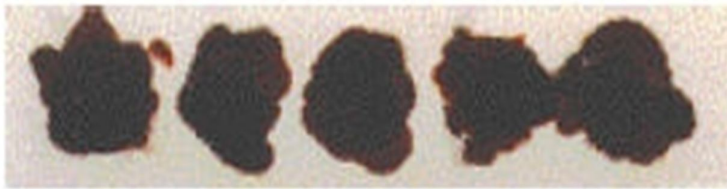


1. Specimen quality insufficient for testing.

Possible causes:

- Removing filter paper before blood has completely filled circle or before blood has soaked through to second side.
- Applying blood to filter paper with a capillary tube.
- Allowing filter paper to come into contact with gloved or ungloved hands or substances such as hand lotion or powder, either before or after blood specimen collection.

تماس ناکافی کاغذ فیلتر با قطره خون (قبل از جذب کامل)، قرار دادن قطره روی کاغذ فیلتر با استفاده از وسیله رابط (مثل لوله مویین)، تماس کاغذ فیلتر با دستکش یا با دست یا سایر موارد آلوده کننده میتواند از دلایل بروز چنین وضعی در نمونه گیری باشد.



2. Specimen appears scratched or abraded.

Possible causes:

- Applying blood with a capillary tube or other device.

کشیده شدن نمونه روی کاغذ فیلتر در اثر استفاده از لوله موئین یا وسیله دیگر جهت انتقال نمونه روی کاغذ فیلتر ایجاد می شود.



3. Specimen not dry before mailing.

Possible causes:

- Mailing specimen before drying for a minimum of four hours.

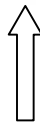
کارتهای خونی قبل از ارسال حتما باید کاملا در هوای آزاد (به دور از گرد و غبار) و در سطح مسطح خشک شوند.



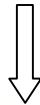
4. Specimen appears supersaturated.

Possible causes:

- Applying excess blood to filter paper, usually with a device.
- Applying blood to both sides of filter paper.

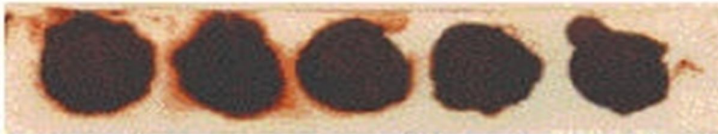


نمونه کارت خونی زمانیکه با قطرات خون اشباع شده باشد (فاقد کیفیت)



نمونه کارت خونی خیس یا آلوده شده با مایعات دیگر (فاقد کیفیت)

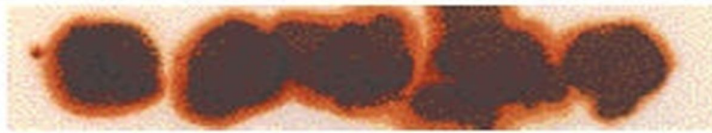
Invalid specimen and possible causes:



5. Specimen appears diluted, discolored or contaminated.

Possible causes:

- Squeezing or "milking" of area surrounding the puncture site.
- Allowing filter paper to come into contact with gloved or ungloved hands or substances such as alcohol, formula, antiseptic solutions, water, hand lotion or powder, etc., either before or after blood specimen collection.
- Exposing blood spots to direct heat.



6. Specimen exhibits serum rings.

Possible causes:

- Not wiping alcohol from puncture site before making skin puncture.
- Allowing filter paper to come into contact with alcohol, hand lotion, etc.
- Squeezing area surrounding puncture site excessively.
- Drying specimen improperly.
- Applying blood to filter paper with a capillary tube.

نمونه کارت خونی که هاله ای از سرم اطراف لکه های خونی ظاهر می گردد. (زمانیکه به هر دلیل ناحیه نمونه گیری ، کارت یا دستهای نمونه گیر به موادی چون الکل یا لوسیون و... آلوده باشد)



7. Specimen appears clotted or layered.

Possible causes:

- Touching the same circle on filter paper to blood drop several times.
- Filling circle on both sides of filter paper.

نمونه کارت خونی که لایه لایه یا توه ای می باشد(فاقد کیفیت) این وضعیت در اثر چند بار تماس یک دایره با قطره خون یا تماس از دو طرف کاغذ فیلتر با قطره خون ایجاد می شود.



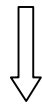
8. No blood.

Possible causes:

- Failure to obtain blood specimen.



کارت فاقد خون



نمونه کارت خون که قطرات خارج از دایره ها و با هم تماس دارند.

Folds and creases through
the blood circles

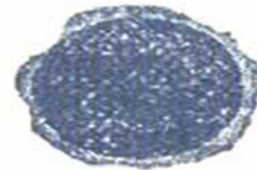




کوچک و تکراری

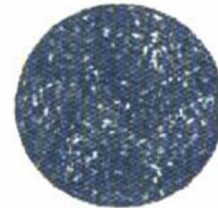


لایه لایه

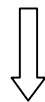


همراه مایع داخل نسجی

نمونه‌های نامناسب

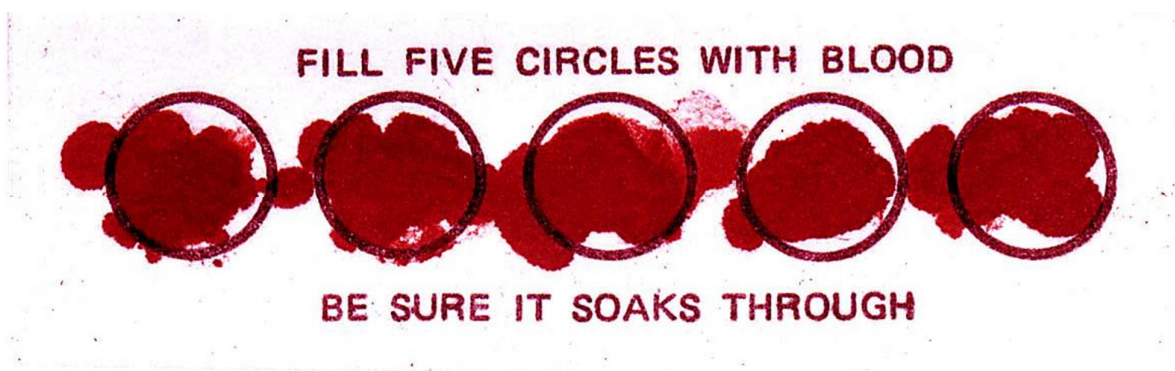


نمونه مناسب



نمونه کارت خونی که به درستی درون دایره ها پر نشده باشد.

Circles not filled



شرایط نگهداری و انتقال نمونه

- بصورت افقی روی راک مخصوص : تقریباً ۳ ساعت وقت لازم است تا لکه های خون در حرارت اتاق (۱۵-۲۵ درجه سانتی گراد) کاملاً خشک شود.
- در زمان خشک شدن از قرار دادن کارت های خونی در جریان هوای آلوده به دود و گردوغبار جداً خودداری شود از گذاشتن کارت های خونی در معرض حرارت و تابش مستقیم نور خورشید اکیدا پرهیز شود.
- هر یک از نمونه های کاملاً خشک شده را جداگانه و به ضمیمه فرم مشخصات نوزاد در پاکت مجزا و یا کاغذ شیشه نما مابین کارتهای خونی قرار دهید.
- احتیاط کنید که خون یک نمونه با خون نمونه دیگر در تماس نباشد.
- جابجائی و حمل و نقل نمونه های خون به آزمایشگاه بدون آسیب دیدگی (فشار به فیلتر پیپر وارد نگردد) و انتقال نمونه ها در حدود ۲۴ ساعت بعد از گرفتن نمونه انجام گیرد. در صورت تعطیلی آخر هفته آزمایشگاه نمونه ها باید در یخچال نگهداری شود مواد شیمیایی و انواع دیگر نمونه ها نباید در ظرف حمل کارتهای خونی بسته بندی شوند

Appendix D. Blood Spot Drying Device

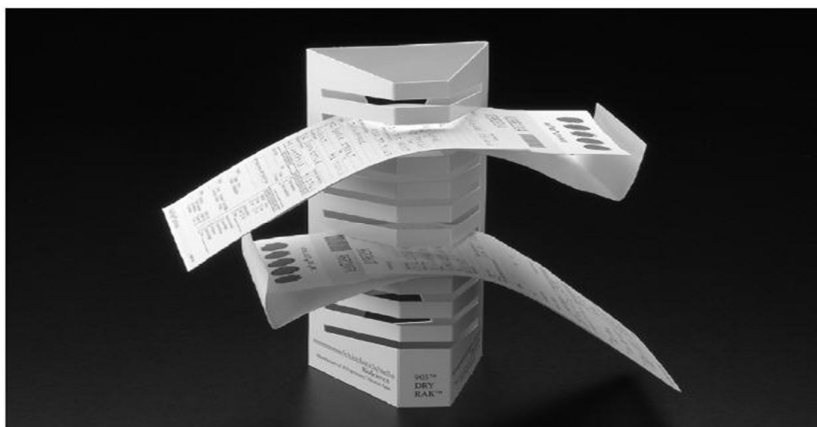


Figure reprinted with kind permission of Schleicher & Schuell BioScience, Inc.

- کارت های حاوی لکه های خون در پاکت های پلاستیکی زیپ دار و حاوی سیلیکاژن در حرارت (۴) درجه یخچال و میزان رطوبت کمتر از ۳۰ درصد تا (۲ سال) و در فریزر منهای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت طولانی (بیش از ۲ سال) پایدار می ماند در مناطقی با رطوبت بیشتر از ۳۰ درصد بعلت اثر

- نامساعد رطوبت بر میزان جذب نوری حتماً در انتقال نمونه ها و نگهداری آنها باید رطوبت محیط توسط کارتهای معرف کنترل گردد. چراکه رطوبت بر روی پایداری نمونه نقش تعیین کننده دارد
- نمونه های اخذ شده در اسرع وقت به آزمایشگاه غربالگری مرجع در مرکز استان ارسال شوند.
- **بازدید:**
- وجود معیارهای قابل قبول یا رد نمونه بصورت مکتوب در آزمایشگاه و مراکز نمونه گیری
- گزارش درصدی ماهیانه نمونه های نامناسب DBS
- استفاده از پرسنل ثابت
- نگهداری سوابق بیماران
- تهیه گزارش کامپیوتری پذیرش و جوابدهی (تدوین برنامه چگونگی انتقال اطلاعات پذیرش و جوابدهی آزمایشگاههای غربالگری نوزادان از محیط به ستاد بر اساس سیستم پرتال با همکاری مرکز مدیریت بیماریهای غیرواگیر و خاص (دسترسی روزانه به اطلاعات)



9. Dry blood spots on a dry, clean, flat, non-absorbent surface for a minimum of 4 h.



10. Mail completed form to testing laboratory within 24 h of collection.

کارت‌های خونی جمع آوری شده باید در سطح مسطح و تمیز و به دور از آلودگی حداقل به مدت ۴ ساعت خشک شوند و حداکثر ظرف مدت ۲۴ ساعت به آزمایشگاه غربالگری ارسال گردند.

کنترل کیفی فیلتر پیپر

- ❖ نوع فیلتر پیپر ۹۰۳ دارای شماره ساخت، تاریخ انقضاء و Certificate
- ❖ یکسان سازی فیلترپیپر ها (تهیه آنها از یک منبع)
- ❖ جهت صحت فیلتر پیپر و برای دسترسی به جذب یکنواختی در آن از روش ایزوتوپیک استفاده می گردد. و نمونه خون تام انسانی در این روش مورد استفاده قرار می گیرد.
- Appendix C. Filter Paper Specifications
- (۱) Filter paper should be made of ۱۰۰% pure cotton
- (۲) Basis weight should be ۱۱۰ lb $\pm$ ۵% per ream (۱۷۹ g/m² $\pm$ ۵%). A ream is defined as ۵۰۰ sheets
- ۲۴" x ۳۶" (ASTM D۶۴۶-۹۶).
- (۳) The pH should be ۵.۷ to ۷.۵ (Test method ISO ۶۵۸۸:۱۹۸۱).
- (۴) Ash %: ۰.۱% maximum (Test method A of ASTM D۵۸۶-۹۷a)
- Whatman ۹۰۳ Typical Properties: Basis Weight (g/m²) Range: ۱۷۰ – ۱۸۸
- Serum Uptake Intact Red Blood Cells (μ l ۱/۸" disc) Range: ۱.۳۷ – ۱.۷۱
- Blood Spot Diameter (mm/۱۰۰ μ l) ۱۵ – ۱۷
- Blood Absorption Time (seconds/۱۰۰ μ l) ۵ – ۳۰

تضمین کیفیت فیلتر پیپر پس از چاپ

- طبق برنامه های استاندارد CLSI چاپ نامناسب اطلاعات دموگرافیک بیمار روی فیلتر پیپر باعث فشار خیلی زیاد به کاغذو باعث زمانهای جذب طولانی غیر قابل قبول ونیز باعث لایه لایه شدن لکه خونی می شود.
- استفاده از یک شماره ساخت و یک تولید کننده ، تاثیر بالقوه فیلتر پیپر بر روی آزمایش در تمامی نمونه ها و کالیبراتورها به حداقل می رسد
- جوهر چاپ نباید در روش آزمایش تداخل کندونیز اطلاعات قابل دسترس در مورد سازگاری تست با جوهر چاپ وجود داشته باشد. جوهر اختصاصی باید برای چاپ بکار رود
- در چاپ از ماشین تایپ یا پرینتر استفاده نگردد چون باعث فشار به کاغذ میشود.
- تولید کننده باید لیست اطلاعات لازم جهت تایید هموژن بودن یک شماره ساخت (از یک لکه تا لکه دیگر و از یک شیت به شیت دیگر) را بدهد
- هر تکنیکی که امکان خراش، فشار و دنداندار کردن کاغذ شود نباید بکار رود.
- قبل از چاپ فشار به فیلتر پیپر وارد نگرددو هر ماده شیمیایی که مورد استفاده قرار می گیرد نباید تداخل در روشهای آزمایش گردد
- در پروسه چاپ کاغذ را تحت فشار غلتک جهت صاف شدن نباید قرارداده این دلیل از تیغ گیوتین استفاده گردد ویا هر وسیله ای که فشار به کاغذ وارد نگردد.
- چاپ لیتوگراف متد قابل قبول برای فیلتر پیپر نیست.
- نیمه عمر کارتهای غربالگری نوزادان چاپ شده ۲ سال می باشد واین کاغذ فاقد کربن حساس به تغییرات درجه حرارت می باشد.
- هنگامیکه کارتها از کارتن حمل و نقل خارج می شودباید در بسته بندی اصلی ذخیره شوند و بسته بندی فیلتر پیپر ها نباید باعث فشار روی آنها گردد چون فشار زیاد باعث تغییر مشخصات عملکرد آنها می گردد .
- نوع جوهر و چاپ کارتهای خونی وبسته بندی کارتهای خونی نباید ایجاد یک مرز نشت ناپذیر (غیر قابل نفوذ) درگسترش خون و فشار به فیلتر پیپر شود.

تعیین آزمایشگاههای همکار در تایید آزمایشات تاییدی

- ❖ میزان جمعیت و پراکندگی آن، تعداد شهرستانهای تابعه استان، میزان فراخوان و فاصله شهرستانها از استان و یا شهرستان مجاور، تعداد مثبت نمونه های DBS و مسافت بین شهرها
- ❖ نظارت مستمر بر عملکرد آزمایشگاههای تاییدی (تکمیل چک لیست و آنالیز اطلاعات)
- سهولت دسترسی و کیفیت عملکرد آزمایشگاه انتخاب شده مهم است امکانات موجود در آزمایشگاهها بر اساس معیارهای تعیین شده آزمایشگاه مرجع سلامت (تهیه چک لیست آزمایشگاههای تاییدی)
- آموزش set up دستگاه HPLC و نظارت بر کلیه آزمایشگاههای دارای این دستگاه (برگزاری دوره آموزشی بر اساس استفاده از یک پروتکل در تایید تشخیص و کنترل درمان بیماران فنیل کتون اوری

• نمونه گیری از ورید

• ناشتا

- نمونه مورد نیاز سرم یا پلاسما (ضد انعقاد هپارین)
- جداسازی پلاسما از خون تام باید حداکثر در مدت یک ساعت انجام گردد. پلاسمای بالای بافی کوت (لیز پلاکت و لکوسیت ها باعث افزایش غلظت فنیل آلانین می گردد) باید برداشته شود و اگر تا زمان انجام آزمایش مدت زیادی (بیش از ۲۴ ساعت) طول می کشد در دمای منهای ۲۰ درجه فریز شود
- اندازه گیری پرولاکتین در پی کی یو غیر کلاسیک

میزان تولید و ترشح پرولاکتین از عوامل گوناگونی اثر می پذیرد پس در اندازه گیری آن دقت زیادی باید به کار برده شود :

- بیمار نباید هیچ گونه دارویی مصرف کرده باشد .
- خونگیری ساعت ۸ صبح و به صورت ناشتا انجام گیرد
- آزمایش معمولاً ۲ - ۳ ساعت پس از بیدار شدن از خواب انجام می شود.
- نظر به اینکه نیمه عمر پرولاکتین ۳۰ دقیقه و ترشح آن به شدت از تنش (استرس) اثر می پذیرد ، پیش از خونگیری ، بیمار به مدت نیم ساعت در محل آزمایشگاه استراحت کند.
- تحریک پستان ها به هر دلیلی باعث افزایش پرولاکتین می شود . ۳۶-۲۴ ساعت قبل تحریک نوک پستان انجام نشود.
- هنگام خونگیری سعی شود رگ مناسبی انتخاب گردد. چون با چند بار ورود سوزن به رگ یا عضله، بیمار دچار تنش می شود و سطح هورمون افزایش می یابد .
- قبل از آزمایش از استرس شدید روانی و فیزیکی پرهیز شود استرس از بیمار شدن، تروما به قفسه سینه، کار و مشکلات پرسنلی و حتی ترس از داشتن تست خون باعث افزایش متوسطی در پرولاکتین می گردد.
- مقدار پرولاکتین در طول روز متغیر است بالاترین مقدار در ضمن خواب و بعد از بیدار شدن مختصراً مقدار آن بالایی رود.

- واکنش تداخلی: استرس، حاملگی، خواب، تحریک نوک پستان و شیر دهی افزایش دهنده پرولاکتین می باشند

Post analytical

جوابدهی

- ❖ پاسخ مثبت آزمایشات غربالگری تلفنی و بسیار فوری (فراخوان موارد مشکوک با E.mail)
- ❖ گزارش کامپیوتری نتایج آزمایشگاه
- ❖ بایگانی مناسب نتایج آزمایشگاه و بایگانی نتایج سرمی آزمایشات تاییدی به روش سرمی و مقایسه آن با مقادیر روش غربالگری (از گروه بیمارها درخواست شود)
- ❖ مدت زمان جوابدهی ۴۸ ساعت از زمان تحویل نمونه به آزمایشگاه غربالگری
- ذخیره کارتهای خونی فیلتر پیپر پس از انجام آزمایشات غربالگری در فریزر منهای ۲۰ درجه سانتی گراد
- تهیه بانک نمونه DBS جهت کنترل کیفی در غلظت های مختلف
- ❖ تفاوت در نحوه گزارش دهی میزان فنیل آلانین با روش HPLC از نظرواحد جواب آزمایش و میزان نرمال آن
- مواردی که آزمایش باید دوباره تکرار شود باید مورد توجه و مشخص گردد
- شرایط نگهداری و انتقال نمونه و... را آشکار می سازد. (جدول ۱ در حدود ۴۲٪ موارد جوابدهی مثبت اولیه ظرف مدت ۹۶ ساعت تحقق یافته است و ۵۸٪ پاسخ های اولیه پس از ۴ روز دریافت شده اند (جدول شماره ۲) حدود ۳۳٪ از موارد بالای ۲۰ فنیل آلانین ظرف مدت ۷۲ ساعت تعیین تکلیف شده اند. (جدول ۵)

جدول ۲ - جوابدهی مثبت اولیه طی ۴ روز

کل		زمان دریافت جواب مثبت از آزمایشگاه				دانشگاه
		بعد از 4 روز		طی 4 روز		
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
100	23	30	7	70	16	تهران
100	63	89	56	11	7	بهشتی
100	212	96	204	4	8	ایران
100	339	34	114	66	225	مازندران
100	41	66	27	34	14	بابل
100	28	11	3	89	25	شیراز
100	706	58	411	42	295	کل

زمان صرف شده در آزمایشگاه برای انجام آزمایش تأیید (روز)			فاصله بین نمونه گیری و دریافت پاسخ اولیه (روز)			دریافت جواب مثبت اولیه از آزمایشگاه طی 4 روز			دانشگاه
میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر				
2	1	4	4	2	9	70%	70%	70%	تهران
7	0	43	13	2	72	11%	11%	11%	شهید بهشتی
داده های مربوطه در اختیار دانشگاه قرار ندارد			11	1	43	4%	4%	4%	ایران
4	0	19	4	0	12	66%	66%	66%	مازندران
2	1	7	5	2	10	34%	34%	34%	بابل
داده های مربوطه در اختیار دانشگاه قرار ندارد			2	0	10	89%	89%	89%	فارس

اختلاف واحدهای گزارش دهی

- واحد وزن در سیستم (SI system Internationale) مول است برای تبدیل میلی گرم در دسی لیتر به میکرو مول کافی است از فرمول زیر استفاده گردد
- $\text{mg/dl} \times 0.06 \text{ (فاکتور)} = \text{مقدار (میکرو مول در لیتر)}$ در واحدهای SI
- $\mu\text{mol/L} = \text{mg/dL} \times 0.06$
- تفاوتی در گزارش مقادیر نرمال در افراد تحت درمان با موارد تشخیص اولیه بیماری فنیل کتون اوری وجود دارد
- در گزارش نتایج آزمایش فنیل آلانین ضریب تبدیل واحدهای $\mu\text{mol/L}$ و mg/dl ذکر شود.
- قابلیت عملکرد کیت خصوصا میزان تکرارپذیری و درستی نتایج که برحسب $\text{CV}\%$ و $\text{Bias}\%$ بیان می شود، از موارد دیگری است که حتما آزمایشگاهها باید در نظر داشته باشند. براساس مراجع بین المللی مقدار خطای مجاز برای اندازه گیری فنیل آلانین 21.6% می باشد (۸)، این مقدار خطا بدین معناست که اگر مقدار واقعی فنیل آلانین در نمونه ای 10 mg/dl باشد، در بهترین شرایط که تمامی منابع ایجاد خطا تحت کنترل است، نتایج ممکن است در محدوده $8-12 \text{ mg/dl}$ قرائت گردد. کارکنان آزمایشگاه غربالگری می بایست از میزان خطای موجود در آزمایشگاه مطلع باشند و این اطلاعات را در اختیار پزشکان و کارشناسان تغذیه قرار دهند.