بسمه تعالی

کنترل کیفی بخش هماتولوژی

گردآوری

سرکار خانم دهقان

کنترل کیفی آزمایشگاه

۱.در بخش هماتولوژی هم مثل بیوشیمی برای کنترل کیفی از نمونه کنترل استفاده می کنیم. با توجه به اینکه نمونه مورد استفاده در بخش هماتولوژی خون کامل است، در نتیجه نمونه کنترل ، خون کنترل است و با استفاده از آن چارت کنترل را رسم میکنیم و از نظر نقص قوانین وستگارد یا WHO آ ن را بررسی میکنیم.

چه زمانی نمونه خون کنترل را به دستگاه بدهیم؟ روزانه یک نمونه کنترل را در ابتدای کار به دستگاه داده و نتایج را تفسیر میکنیم.(نه در انتهای کار)

در بخش هماتولوژی چند تا کنترل را باید به دستگاه بدهیم؟ طبق توصیه های مراجع معتبر خون شناسی بین المللی برای کنترل کیفی سل کانتر ، استفاده از خون کنترل کیفی در دو دامنه ضروری میباشد اما در کشور ما استفاده از خون کنترل کیفی در یک دامنه نیز کافی به نظر میرسد (نرمال).

چند بار خون کنترل را به دستگاه بدهیم؟ این بستگی به حجم کار آزمایشگاه و کیفیت سل کانتر دارد. اگر آزمایشگاهی باشد که در کل شبانه روز فقط ۳۰ مریض دارد، ۱ بار کنترلرا به دستگاه بدهیم کافیست. اما اگر آزمایشگاهی باشد که ۳۰۰ تا مریض داشته باشد، باید ثبات نمونه چک شود تا بفهمیم به ازای هر چند تا نمونه ممکن است ثبات و تکرارپذیری خوبی نداشته باشیم. نتیجتا نمونه کنترل را به دستگاه داده و بعد ۵۰ تا نمونه بیمار را به دستگاه می دهیم و بعد از ۵۰ تا نمونه ، نمونه اول و دوم این بیماران را که به دستگاه میدهیم و جوابش را چک میکنیم که ایا اختلاف معناداری وجود دارد یا خیر! و دوباره ۵۰ نمونه دیگر را به دستگاه میدهیم و مجددا دو تا نمونه اول سری بعد را به دستگاه جهت بررسی همانند دفعه قبل می دهیم و محددا این روند را تکرار میکنیم و بر این اساس تصمیم میگیریم که تا چند تاا نمونهه دستگاه پایدار است. معمولا گفته میشود که هر ۵۰ تا نمونه یکبار باید نمونه کنترل را به دستگاه بدهیم اما به کیفیت سل کانتر هم بستگی دارد اگر دستگاه ارزانی است معمولا هر ۲۰ نمونه یکبار چک میکنیم.

۲.درصورت عدم دسترسی به خون کنترل: **میتوان از آزمون های آماری استفاده نمود.**

مثال: Check Test, Duplicate test, Delt Check, T.Britin و Patient mean که در بیوشیمی به آن AON و در هماتولوژی به آن الگوریتم بار یا میانیگن متحرک میگویند.

دزصورت عدم دسترسی به خون کنترل استفاده از حداقل دو روش دیگر کنترل کیفی که هم خطای سیستماتیک و هم خطا های تصادفی را مشخص کند ، اجباریست.

نمونه خون کنترل را چگونه تهیه کنیم؟ ۱.تجاری در سه سطح HIGH, NORMAL, LOW که برند های مختلفی نیز جهت استفاده وجود دارد مانند R&D ، بهار افشار و آریا

۲. در آزمایشگاه خودمان تهیه کنیم.

خون کنترل های استوک و Working را باید در یخچال نگهداری کنیم . زیرا خونی که از یخچال خارج شده دوناحیه شده است ، یک قسمت که رسوب کرده است و یک پلاسمای زرد رنگ که روی آن است و بعد از خروج از یخچال باید یک ربع (بستگی به تایمی که در بروشور گفته دارد.) آن را وارونه در محیط قرار دهیم تا با محیط هم دما شود. و توصیه میشود تا آن را بادست شیک دهیم (۹۵ ثانیه) نه روتاتور. چون اگر آن را بعد از خروج از یخچال روی شیکر قرار دهیم باعث آسیب به سلول ها میشود.بعد از شیک کردن آن را بادست بین انگشت شست و اشاره میگیریم و اینورت میکنیم تا خون کنترل مخلوط شود. معمولا ۲۰بار باید این کار را تکرار کنیم. وقتی میخواهیم نمونه را به دستگاه بدهیم هیچگاه نیدل را تا ته وارد ویال نمی کنیم و نه از قسمت روی ویال برداشت نمی کنیم بلکه باید تا نیمه وارد نمونه خون کنترل شویم مثلا اگر 1.5cc خون در ویال بود تا نیمه نیدل را وارد میکنیم.

ما هرروز خون کنترل را از یخچال خارج کرده و در دمای محیط قرار می دهیم.و دوباره آن را به یخچال بر میگردانیم. و حال برای اینکه نمونه را از شوک های حرارتی نجات دهیم ، روش این است که آن را در ویال های کوچکتر دیسپنس میکنیم. یعنی اینکه نمونه را در دو ویال بریزیم یکی برای این هفته و دیگری برای هفته بعد. هرچه از خون کنترل به مرور زمان استفاده کنیم در بالای ظرف O_2 (هوای) بیشتری قرار میگیرد و امکان اکسید شدن وجود دارد پس بهتر است اگر ویال سر ویال لاستیکی است، با سرنگی هوای آن را تخلیه کنیم.

خون کنترل کیفی دارای دو تاریخ Expire است یکی مروبوط به تاریخ کلی قبل از باز شدن در آن (۶ ماه) و دیگری مربوط به بعد از باز شدن درب آن (۱۴ روز) می باشد . (گاهی شرکت میگوید بعد از باز شدن درب ظرف هم تا ۱۵ الی ۱۷ روز اگر آن را به دستگاه بدهیم مشکلی ایجاد نمیشود.) بطور کلی چیزی که اهیمت دارد تاریخ Expire کلی خون کنترل است چون هرچه کمتر باشد باید هربار SD وMean را برای رسم نمودار حساب کنیم.(هزینه کنترل کیفی بالا میرود.

مشکلات :

1. **عدم رسیدن دمای خون کنترل به دمای محیط . عوارض : کاهش میزان PLT,RBC,WBC**
2. **Mix کردن خون کنترل قبل از رسیدن به دمای محیط. عوارض : افزایش Hb , PLT و کاهش RBC**
3. **اگر خون را میکس نکنیم چون RBCها در ته قرار دارند و اگر نیدل را هنگام برداشت تا ته ببریم میزان RBC , HCT , Hb افزایش یافته و میزان PLT , WBC کاهش میابد.**
4. **اگر خون را زیاد میکس کنیم RBC ها آسیب میبینند و میزان PLT بطور کاذب افزایش می یابد.**
5. **خون کنترل به مدت زیاد در دمای اتاق قرار بگیرد، تحت شوک حرارتی قرار بگیرد و یا زنجیره سرد آن رعایت نشود مخصوصا در مناطق جنوبی نتیجتا افزایش MCV در خوانش های نمونه کنترل اتفاق می افتد.**

خون کنترل تجاری :

1. **مخلوط ذرات لاتکس در اندازه های مختلف معادل حجم های گوناگون سلول (۲/۲ میکرومتر (PLT) ، ۴/۸ میکرومتر و ۹/۴ میکرومتر)**
2. **از مخلوط فیکس شده RBC های ماکیان (پرندگان) مثل بوقلمون، شترمرغ و مرغ به عنوان WBC و گلبول قرمز انسان.(*RBC ماکیان هسته دار می باشد.)**

این کنترل ها معمولا ارزان قیمت می باشند و پایداری خوبی هم دارند ولی فقط برای دستگاه ای آمپدانس است چون فقط میخواهند سلول های بزرگ را به عنوان WBC شمارش کنند.اینکه نیاز به هسته – گرانولیتی و.... ندارد و نمیخواهد بین این سلول ها تشخیص افتراقی بدهد.

پس برای دستگاه های فول فیلد نمیتوانیم استفاده کنیم. پس اگر شمارش WBC مد نظر است میتوانیم استفاده کنیم اما برای DIFF زدن استفاده نمیشود.

تهیه خون کنترل در آزمایشگاه :

۱. از خون حاوی EDTA نمیتوانیم استفاده کنیم زیرا پارامتر ها و اندکس ها در خون حاوی EDTA به مدت ۲۴ ساعت پایدار هستند.پس بهتر است از کیسه های خون انتقال خون استفاده کنیم. چون حاوی ضد انعقاد های ACD و CPD هستند و از کیسه هایی استفاده شوند که تازه هستندو بیش از ۴۸ ساعت از خونگیری آنها نگذشته باشد.(نهایتا بیش از ۳ روز از خونگیری نگذرد)
۲. Processing: فیکساتیو و نگهدارنده به آن اضافه می کنیم. به ازای هر ۵۰ میلی لیتر خون یک سی سی فیکساتیو اضافه میکنیم.
تهیه فیکساتیو: فرمالدئید ۳۷ تا ۴۰ درصد به حجم ۶/۷۵ سی سی +گلوتارآلدئید ۵۰ درصد به حجم۰/۷۵ سی سی + سیترات سدیم ۲۶ گرم+ آب مقطر که باید با اب مقطر حجم آن را به حجم ۱۰۰ برسانیم.
۳. یک ویال ۸۰۰ هزار واحدی پنی سیلین و یک ویال ۱ گرمی از استرپتومایسین را به ازای ۵۰۰ سی سی خون کامل اضافه می کنیم. لازم به ذکر است که این مقدار تجربی بوده و قابل تغییر است و حتی میتوان از AB های دیگری نیز استفاده کرد.
خونی که حاوی این مواد است را تا یک هفته نهایتا دو هفته در یخچال نگهداری می کنیم و بعد هرروز به مدت یک ساعت در دمای محیط روی روتاتور میچرخانیم تا Ag های سطحی سلول کارایی خود را از دست بدهد و هر تغییری که میخواهد در این دو هفته اعمال شود اتفاق بیوفتد. (بهتر است از خون هم گروه استفاده شود و خون کامل هم در هنگامی که میخواهند در حجم زیاد برای تجاری سازی استفاده کنند باشد.)

۴.بعد از Processing اگر Hb برابر ۱۶ هم باشد به ۱۲-۱۲/۵ می رسد. پس باید آن را سانتریفیوژ کرده و مقداری از پلاسما را خارج میکنیم تا میزان Hb به حدود ۱۴ برسد و اگر بخواهیم خون کنترل High درست کنیم قطعا مقدار بیشتری پلاسما خارج میکنیم تا به ۱۶ برسد ولی اگر میخواهیم Low بسازیم باید بعد از processing به آن A1B اضافه کنیم تا میزان Ab آن را کاهش دهیم.

۵. آزمایشات ویروسی را روی آن انجام می دهیم تا برای کاربری که میخواد استفاده کند خطری نداشته باشد و چندین بار آن را مورد آزمایش قرار می دهند و محدوده $\pm 2SD$ را برای آن مشخص میکنند و بروشور را می نویسند.

هرروز باید یک نمونه خون کنترل را به دستگاه داده و آن را روی نمودار ببریم.

نمودار لوی ژنینگ (لوی جنینگ) برای کدام اندکس ها و پارامتر ها باید رسم شود؟

۱. برای هر اندکس که مستقل است و از روی محاسبات بدست نمی آید ، رسم نمودار الزامی است. مثل پارامتر های *RBC – WBC – Hb – HCT – PLT*
۲. برای پارامتر هایی نظیر *MCV-MCHC-MCH* نیازی نیست نمودار رسم کنیم.

اقدامات اصلاحی در صورتی که نمونه کنترل از محدوده خارج شد یا یکی از قوانین را نقض کرد:

۱. ابتدا خون کنترل را بررسی میکنیم.
- بررسی ظاهری از لحاظ خراب شدگی یا آلوده شدگی یا لیز شدگی
- عدم وجود لخته در ویال به علت حمل و نقل و انبارش غیر اصولی

- **هماهنگی سریال ساخت ویال با بروشور و چک کردن تاریخ انقضا**
- **نگهداری اصولی و میکس شدن صحیح و کافی**
- **استفاده از ویال دوم و بررسی و مقایسه نتایج دو ویال با یکدیگر. به این صورت که همان نمونه خون کنترل را از دستگاه خارج کرده و به دستگاه می دهیم و اگر مجددا خارج از محدوده بود، ویال دوم را بررسی می کنیم.**
- **اگر بازهم خارج از محدوده بود دو حالت دارد: یا اشکال از نمونه خون کنترل است یا اینکه اشکال از نمونه خون کنترل نیست.**
- **استفاده از ویال سوم خون کنترل اگر همراه با جواب خارج از محدوده باشد (یعنی جواب خطا بدهد) دو حالت دارد : یا مشکل از خون کنترل است یا اینکه تمام ویال ها مشکل دارند.**

**** راه حل : چند تا از نمونه های بیماران را به دستگاه بدهیم و همان نمونه هارا با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه دیگری بفرستیم و بعد جواب هارا با هم مقایسه کنیم و اگر جواب ها مشکلی نداشت متوجه میشویم مشکل از دستگاه نیست بلکه ممکن است مشکل از خون کنترل باشد.**

****راه حل دو: با شرکت پشتیبان تماس می گیریم تا ببینیم از آزمایشگاه های دیگر نیز کسی برای انتقاد تماس گرفته است یا خیر . ممکن است بگویند *Lot* مشکل دارد.**

اگر مشکل از نمونه کنترل نبود:

۲. موارد مرتبط با محلول:

- **چک کردن *Background* محلول ها . به این صورت که فشار دادن دکمه استارت دستگاه بدون دادن نمونه به آن که نتیجتا محلول را مکش کرده و یک نتیجه را به ما می دهدو ما آن را با مقادیر نرمال بررسی میکنیم**
- **بررسی *Lot Number* و تاریخ تعویض محلول ها**
- **میتوان از یک گالن جدید محلول لایز یا ایزوتون استفاده کرد و با استفاده از محلول هایی با سری ساخت جدید به جهت بررسی و مقایسه نتایج دوباره نمونه کنترل را به دستگاه داده و بررسی می کنیم.**

اگر مشکل از محلول هم نبود:

۳. موارد مرتبط با کالیبراسیون:

- **چک کردن تاریخ آخرین کالیبراسیون**
- **ضریب کالیبراسیون دستگاه سیسمکس توسط کاربر قابل تغییر است پس باید یادداشت شود.**
- **توجه به باز بودن ضرایب کالیبراسیون *Hb-HCT* در تمامی سل کانتر ها یکی از دلایل اختلاف خوانش و تغییر مکرر این ضرایب توسط تکنسین می باشد.**

۴. موارد مرتبط با سخت افزار دستگاه :

- **چک کردن تاریخ و صحت *Cleaning* (هفتگی – ماهانه – روزانه) و نگهداری دستگاه**
- **چک کردن آخرین تاریخ تعمیر و سرویس دستگاه**

گرایش:

ممکن است لامپ دستگاه برای خوانش *Hb* مشکل داشته باشد یا نیدل برداشت نمونه به علت رسوب تدریجی پروتئین در روزنه های سیستم های امپدانس مشکل دارد و یا حتی ممکن است که روزنه های خوانش *RBC-WBC* به دلیل رسوب تدریجی دچار مشکل شده اند.

شیفت: بعد از کالیبراسیون نمونه هارا داده ایم و باعث شیفت شده اند / *Lot Number* معرف ها تغییر کرده و باعث شیفت شده است.

۵. **بررسی شرایط محیطی**
- **حرارت و رطوبت به خصوص در شهر های جنوبی**
- **پایداری دمای یخچال:پایش ثبات دمای یخچال در محدوده ۲ تا ۸ درجه**

۶. **اگر نتوانستیم خطا را مشخص کنیم، با شرکت پشتیبان تماس میگیریم و اگر مشکل تلفنی حل نشد کارشناس را اعزام میکنند و با سرویس دستگاه مشکل را برطرف میکنند.**

نمودار کیوسام:

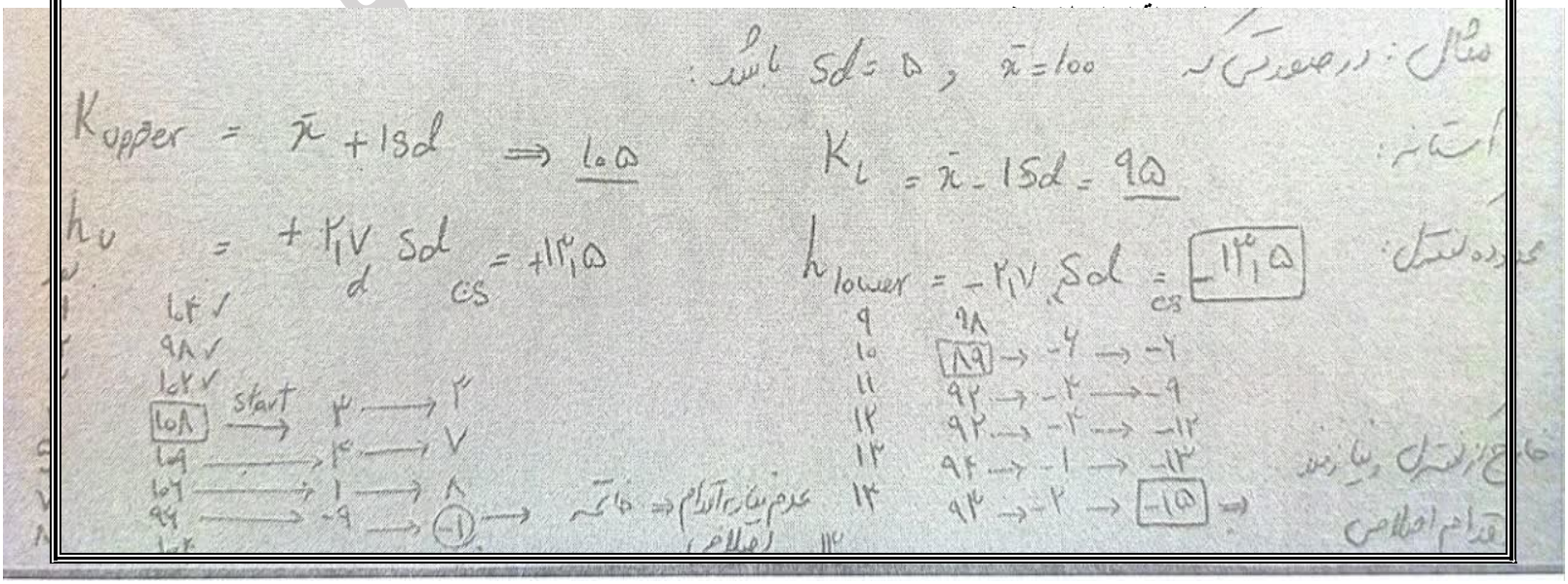
این نمودار به خطا های سیتماتیک حساس است و زودتر از لویژنینگ آنها را شناسایی میکند. پس بهتر است همراه لویژنینگ استفاده شود .

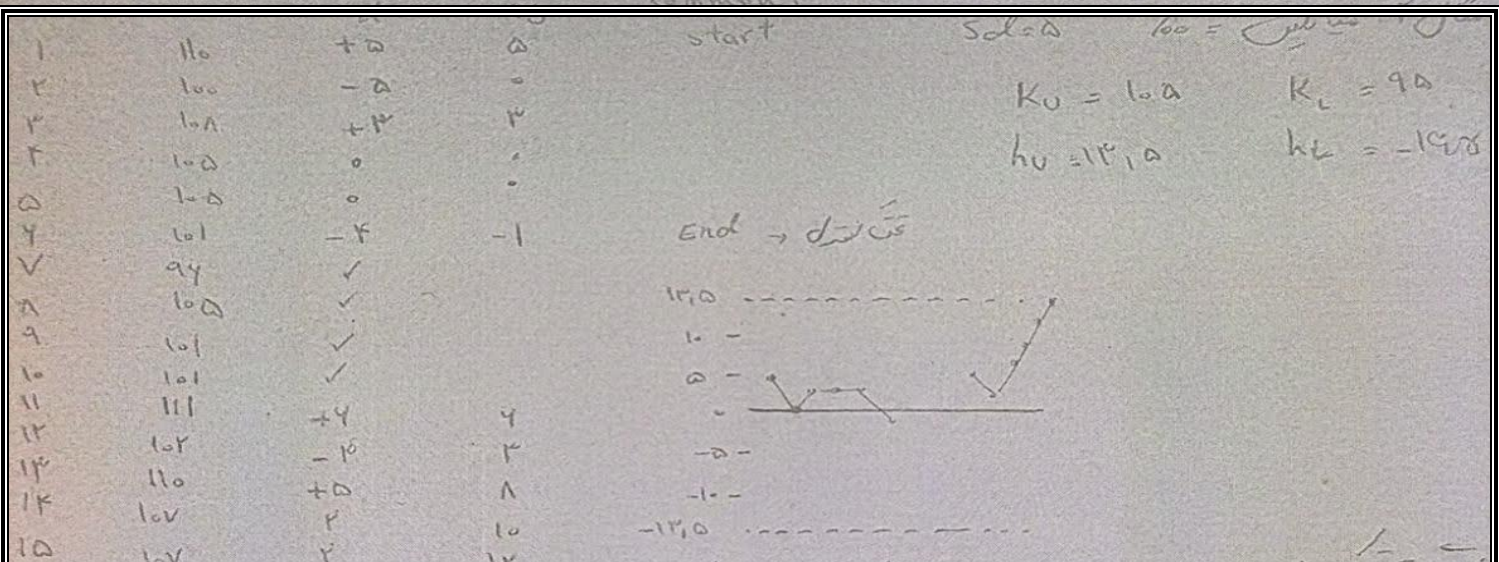
انواع روش های تفسیر و اجرای نمودار کیوسام :

۱. ***V-MASK CUSUM*** **بهترین روش و مبنای بررسی آن شیب خط کیوسام است.**
۲. ***DECISION LIMIT CUSUM*** **محدوده تصمیم گیری**

Decision Limit **(محدوده تصمیم گیری) چون تفسیر آن آسان تر است بهتر است در آزمایشگاه از آن استفاده شود.**

۱. **از این روش از دو پارامتر *k* که مبین حد آستانه و *h* که مبین حد محدوده تصمیم گیری یا محدوده کنترل است استفاده می شود.**
۲. **حد آستانه بالایی و پایینی =** $k = \overline{x} \pm 1Sd$
۳. **محدوده کنترل بالایی و پایینی =** $h = \pm 2.7Sd$
۴. **در روش محدوده تصمیم گیری روش محاسبه کیوسام شروع نمیشود مگر اینکه مقادیر خون کنترل بیش از آستانه *Ku* یا کمتر از آستانه *Kl* باشد. در این صورت تقارن آنها از آستانه محاسبه میشود. پس مثل *Vmax* نیاز به محاسبه روزانه ندارد.**
۵. **این فرآیند ادامه می یابد تا :**
- **کیوسام بیشتر یا کمتر از محدوده تصمیم گیری یا کنترلی شود ، در اینجا عملیات متوقف و متد خارج از کنترل اعلام میشود و نیازمند اقدام اصلاحی است.**
- **زمانی که علامت کیوسام تغییر یابد نیز عملیات متوقف میگردد و متد تحت کنترل است و نیازمند محاسبات**





در نمونه خون کنترل سلول های فیکس شده نسبت به سلول های تازه دارای خواص غشایی متفاوتی هستند پس آن عواملی که باعث آسیب و تغییر غشای RBC تازه بیماران میشود روی نمونه فیکس شده نمیتواند تاثیر بگذارد.پس در صورت فقدان خون کنترل و حتی برای کامل شدن روند کنترل کیفی سل کانتر ما باید از نمونه خون تازه بیماران استفاده کنیم. که یکی از روش های آن

: T.BRITIN

با توجه به اینکه Hb-WBC-RBC و برخی از اندکس های خونی تا ۲۴ ساعت در یخچال پایدار هستند

- **۵ یا ترجیحا ۱۰ نمونه خون که مقادیر پارامتر های آن در محدوده طبیعی است را به دستگاه می دهیم و بلافاصله آن را در یخچال قرار می دهیم و بعد مجددا مورد آزمایش قرار می دهیم.**
- **در نهایت وجود اختلاف معنا دار را بین نمونه های جفت را با آزمون t مورد بررسی قرار میدهیم.**

$$\bar{d} = \frac{\varepsilon d}{n} \qquad SD = \sqrt{\frac{\varepsilon d^2 - \frac{(\varepsilon d)^2}{n}}{n-1}} \qquad t_n = \frac{\bar{d}}{Sd}\sqrt{n}$$

- **مقدارt را باید با مقدار t بحرانی مقایسه کنیم که به صورت ۵ نمونه با درجه آزادی ۴ و اطمینان ۹۵ % برابر با ۲/۷۷۶ و یا ۱۰ نمونه با درجه آزادی ۹ و اطمینان ۹۵٪ برابر با ۲/۲۶**
  اگر t از این دو مقدار کمتر باشد اختلاف معناداری وجود ندارد.

مقدار هموگلوبین روز اول(g/L)	مقدار هموگلوبین روز دوم(g/L)	d	d^2
۱۲۳	۱۲۰	۳	۹
۱۳۵	۱۳۳	۲	۴
۱۷۱	۱۷۰	۱	۱
۱۵۵	۱۵۰	۵	۲۵
۱۴۲	۱۳۸	۴	۱۶

$\Sigma d = ۱۵$

$(\Sigma d)^۲ = ۲۲۵$

$\Sigma d^۲ = ۵۵$

$$\bar{d} = \frac{\Sigma d}{۵} = \frac{۱۵}{۵} = ۳$$

$$SD = \sqrt{\frac{۵۵ - \frac{۲۲۵}{۵}}{۴}} = ۲/۵$$

$$tn = \frac{۳\sqrt{۵}}{۲/۵} = ۲/۶۷$$

چون عدد t به‌دست‌آمده از ۲.۷۸ (مقدار t برای 5 نمونه)کمتر است، نتایج هموگلوبین دستگاه قابل‌قبول است.

T.Britin را برای WBC-RBC-Hb-MCH-MCHC استفادهه میشود ولی برای PLT استفاده نمیکنیم زیرا دما یمناسب برای PLT دمای اتاق است.وقتی خون در یخچال قرار میگیرد MCV آن افزایش میابد و بعد از ۶ ساعت HCT آن تغییر میکند.پس برای اینها هم T.britin استفاده نمیکنیم.

Tتست به خطای تصادفی حساس است یا سیستماتیک؟T.Britin به خطای رندوم حساس نیست پس اگر تکرار پذیری خوب نیست این تست مناسبی برای بررسی خطای عدم دقت نیست.

***وقتی داده ها سیر نزولی داشته باشند Tتست تایید نمیشود.پس به خطای سیتماتیک حساس است.**

****یادآوری : برای تصدیق قبل از کالیبراسیون ، نمونه کالیبراتور را ۱۰ تا ۱۵ بار به دستگاه می دادیم و M میگرفتیم و نباید از میانیگن بروشور و بیش از ۱۰ درصد اختلاف داشته باشد.این نکات مربوط به قبل از کالیبراسیون است**

****بعد از کالیبره کردن:از T.BRITIN که از نمونه های بیماران میگیریم استفاده میکنیم.**

DUPLICATE TEST یا آزمون مضاعف(دوتایی):

یک آزمون آماری دیگر است برای بررسی عدم دقت دستگاه که به دو روش قابل انجام است: ۱.روزانه ۲.دوره ایی

$$SD = \sqrt{\frac{\varepsilon d^2}{2n}}$$

روزانه :تعدادی از نمونه های بیماران را بطور تصادفی انتخاب کرده و آنهارا پشت سر هم به دستگاه می دهیم و بعد از داده ها SD میگیریم و بعد مقدار 2SD را محاسبه میکنیم و برای تفسیر، اختلافات را چک میکنیم که در محدوده $\pm 2SD$ باشد. در نتیجه اگر از محدوده خارج بود یعنی در مورد همان نمونه یک خطای رندوم صورت گرفته است. دوبراه همان نمونه را به دستگاه داده و نتیجه را دوباره چک میکنیم.

دوره ایی: ابتدا دقت و تکرارپذیری دستگاه را چک میکنیمکه ببینیم به چه صورتی است.به این صورت که هر ۶ ماه بعد از سرویس و کالیبراسیون دستگاه ، حداقل ۳۰ تا نمونه را به صورت دوتایی به دستگاه داده و SD و CM آنهارا اندازه میگیریم.

$$SD = \sqrt{\frac{\varepsilon d^2}{2n}} \qquad CM\% = \frac{SD}{\frac{\varepsilon x}{2n}}$$

در اینجا 2n میانگین مجموع نتایج اول و دوم است.

و برای معیار مقایسه ایی از 2CV و 2SD استفاده میکنیم.تا زمانی که دستگاه از کالیبر خارج نشود این CV و SD مبنای مقایسه است . پس از هز سری کاری به ازای هر ۱۰ نمونه حداقل یک نمونه بصورت دو تایی آزمایش شود تا با بررسی اختلاف خوانده ها از طریق محاسبات آماری از وجود خطاهای تصادفی آگاه شویم.

وقتی میخواهیم با SD مقایسه کنیم اختلاف دو داده نباید بیشتر از 2SD شود . $X_1 - X_2 \leq \pm 2SD$

وقتی میخواهیم از CV استفاده کنیم $\frac{2(X_1 - X_2)}{X_1 X_2} X100 \leq \pm 2CV$

کنترل کیفی آزمایشگاه

در صورت نبود امکان انجام تمام آزمایش‌ها به‌صورت دوتایی، باید در هر سری کاری، حداقل 2 تا 3 نمونه به‌صورت دوتایی آزمایش شوند تا با بررسی اختلاف خوانده‌ها از طریق محاسبات آماری، از وجود خطاهای تصادفی آگاه شد .افزایش اختلاف بین دو خوانده بیش از ۲SD محاسبه‌شده، احتمال وجود خطای تصادفی را مطرح می‌کند .فرمول زیر طریقه محاسبه SD نمونه‌های دوتایی را نشان می‌دهد:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

مثال

مقدار هموگلوبین ۵ نمونه در دو بار اندازه‌گیری به شرح زیر است:

مقدار هموگلوبین(g/L)	مقدار هموگلوبین(g/L)	d	d^2
۱۲۰	۱۲۲	−۲	۴
۱۶۱	۱۶۳	−۲	۴
۱۱۰	۱۰۰	۱۰	۱۰۰
۱۴۰	۱۴۰	۰	۰
۱۳۴	۱۳۲	۲	۴
			۱۱۲

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{\frac{۱۱۲}{۱۰}} = ۳/۳۴$$

$$SD = ۶/۷$$

تفاوت بیشتر از ۲SD بین دو نتیجه آزمایش در نمونه سوم (۱۰−d)، نمایانگر بروز خطای تصادفی و لزوم تکرار آزمایش روی همان نمونه است.

اگر در آزمون دوتای متوجه شدیم که مقدار سنجیده شده از مقدار 2SD و 2CV بیشتر بود باید نمونه را دوباره تکرار کنیم چون ممکن است یک خطای تصادفی صورت گرفته باشد.

CHECK TEST (آزمون بازبینی)

آزمونی است که محاسبات آن شبیه آزمون دوتاییست و تنها تفاوتی که دارد در زمان انجام آزمایش است.ما رد ازمون دوتایی نمونه هارا با فاصله کم یا پشت سر هم به دستگاه میدادیم اما در این ازمون نمونه هارا در ابتدای ران کاری و انتهای ران کاری یا در شیفت صبح و شیفت عصر به دستگاه میدهیم .(فاصله زمانی هرروز باید یکسان باشد.)

در آزمون دوتایی مضاعف، خطای تصادفی مربوط به پرسنل و دستگاه به راحتی شناسایی میشد.مثل مخلوط نکردن نمونه به خوبی .اما در چک تست علاوه بر این خطاها،خطا های تصادفی مربوط به گذر زمان هم شناسایی میشود .مثلا معرف به مرور زمان خراب میشود و پایداری دستگاه ثابت نیست یا بر اثر کار مداوم ممکن است در دستگاه خطایی ایجاد شود.پس اشکال در عملکرد دستگاه و یا معرف در فاصله زمانی انجام دو آزمایش شناسایی میشود.

****چک تست بیشتر برای بررسی Hb-RBC-WBC انجام میشود.**

از زمانی که چک تست را گذاشتیم و متوجه اشکال شدیم جواب هارا گزارش نمیکنیم تا مشکل حل شود ونمونه های قبلی هم باید بررسی شود. چک کردن نمودار کنترل -آزمون دوتایی -دفتر Log book و عوض شدن محلول ها و اقدام خاصی که روی دستگاه انجام شده و..... . میتوانیم تصمیم بگیریم که از چه زمانی دستگاه دچار اختلال شده است و باید بعد از رفع مشکل نمونه هارا دوباره اندازه بگیریم و جواب های جدید را گزارش کنیم.

مثال:

نتایج اندازه‌گیری هموگلوبین 5 نمونه توسط دستگاه شمارنده در صبح و بعدازظهر به شرح زیر است:

مقدار هموگلوبین صبح(g/L)	مقدار هموگلوبین بعد از ظهر(g/L)	d	d^2
۱۲۰	۱۲۱	−۱	۱
۱۶۱	۱۵۹	۲	۴
۱۱۰	۱۱۲	−۲	۴
۱۴۰	۱۴۰	۰	۰
۱۳۴	۱۳۵	−۱	۱
			۱۰

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{\frac{10}{10}} = 1$$

$2SD=2$

با توجه به آنکه هیچ‌یک از اختلافات نتایج دو بار آزمایش روی یک نمونه، از 2SD بیشتر نیست، عملکرد دستگاه قابل‌قبول است.

اگر چک تست تایید نشود (اشکال یا یک خطا وجود داشته باشد) ابتدا محلول ها و بعد دستگاه را چک میکنیم.(اختلال در چند؟ و همچنین Hb و منبع نوری).اما اگر چند پارامتر مشکل داشت میگوییم احتمالا مشکل از دستگاه است.(مثلا پمپ به خوبی کار نمیکند.)

DELTA CHECK

رایج ترین روش کنترل کیفی ، استفاده از نتایج نمونه بیماران است. هم در بخش بیوشیمی کاربرد دارد هم در بخش هماتولوژی .

بخش هماتولوژی:

نتایج کنونی آزمایش های بیمار با نتیج قبلی او (حدود ۲ الی ۳) هفته قبل مقایسه می گردد. زمانی که دلتا چک استفاده میشود، باید به مواردی مثل :۱.تغییرات روزانه پارامتر های خونی ۲.ابتلای فرد به یک بیماری خاص ۳.استفاده از دارو هایی که باعث تغییر در شمارش سلولی میگردد توجه کرد.

اگر بیمار این مشکلات را نداشت بر اساس فیزیولوژیک بدن میزان این پارامتر ها کمی تغییر میکند که قابل چشم پوشی است.

در چه مواردی استفاده از دلتا چک امکان پذیر نیست؟

۱.بیمارانی که فقط یکبار به ازمایشگاه مراجعه میکنند

۲.بیمارانی که تحت درمان فعال بوده و به آن پاسخ میدهند (مثل شیمی درمانی)

۳.بیمارانی که سیر بیماری در آنها فعال بوده و باعث تغییر در پاسخ آنها میشود. مانند خونریزی شدید.

در بیوشیمی نتایج را با محدوده دلتا مقایسه میکنیم ولی در هماتولوژی اختلاف بین دو روش محاسبه میشود.

۱.اختلاف درصدی: $\frac{\text{پاسخ اول -پاسخ دوم}}{\text{پاسخ دوم}}$

۲.اختلاف عددی : مقادیر قبلی – مقادیر کنونی

محدوده دلتای برخی پارامترهای هماتولوژی

پارامتر	مقادیر دلتا
Hb	بیشتر از ۱۰٪ $2\ ^{g}/_{dl}$
HCT	بیشتر از ۵٪
MCV	بیشتر از ۶ فمتولیتر
MCH	بیشتر از ۵ پیکو گرم
PLT	تغییرات بیش از ۵۰٪
RBC	بیشتر از ۱۰ %
WBC	۲۰ تا ۲۵ % طبیعی به غیر طبیعی

اگر دلتا چک تایید نشود:

۱.تکرار آزمایش : اگر در تکرار باز همان جواب آمد ،

درخواست سمپل جدید میدهیم.

***دلتا چک به خطا های نمونه گیری از قبیل نمونه جابه جا شده ، برچسب اشتباه -نمونه همولیز-ذرات لخته و.... بسیار حساس است.**

***بخش بیوشیمی وقتی نمونه همولیز باشد LDH و K افزایش می یابد.ولی در بخش هماتولوژی وقتی همولیز باشد روی چه پارامترهایی اثر میگذارد؟ در نمونه همولیز مقدار MCV و PLT تغییر نمیکند.ولی بدلیل لیز و کاهش RBC مقدار MCH و MCHC افزایش عجیبی میابد. در نمونه همولیز شدید بقایایRBC و تکه های آن بجای plt شمارش میشوند.برای همین مقدار PLT خیلی بالا بود و هم خوانی نداشت.**

$MCH = \frac{Hb}{RBC}$ $MCHC = \frac{Hb}{HCT}$

در کسر های خط بالا RBC و HCT کاهش دارند.در بعضی از آزمایشگاه ها این قانون وجود دارد که زمانی که $MCHC < 36\,{}^{g}/_{dL}$ باشد، HCT را دستی انجام میدهیم.و با HCT دستگاه مقایسه میکنیم.

بررسی عدم دقت سل کانتر:

در صورت استفاده از خون کنترل میتوان در پایان هر ماه با استفاده از نتایج حاصله از نمونه کنترل که روز های متوالی،دستگاه آزمایش شده استCV هر پارامتر را حساب کرد و با CV ادعا شده در کاتالوگ دستگاه مقایسه کرد.

همچنین درصورت عدم دسترسی به خون کنترل با استفاده از نمونه های روزانه ، تکرار پذیری دستگاه مورد ارزیابی قرار میگیرد.حداقل نمونه را ۱۰ بار به دستگاه داده و با محاسبه آماری مقدار SD و CV را محاسبه و با مقدار ادعا شده در کاتالوگ مقایسه کرد. نتیجتا اگر مقدار CV از CV ادعایی بیشتر بود تکرارپذیری خوبی ندارد و هرگاه عدم دقت مشاهده شود باید با شرکت پشتیبان تماس گرفت.

مثال : مقادیر قابل قبول CV برایپارامتر ها بر اساس ادعای دستگاه تقسیم بر میزان WBC ۳٪ $SD = \sqrt{\frac{\varepsilon(x-\bar{x})^2}{n-1}}$

$$CV = \frac{Sdx100}{\bar{x}}$$

SD=0.148 و CV=1.9 هردو کمتر از 3% پس نتیجه صحیح است.

پلاکت کمترین تکرار پذیری را دارد.(پس CV آن در جالت مجاز از بقیه بیشتر است.)بصورتی که در کتاب هنری گفته شده است که تکرار پذیری پلاکت در زیر ۷۰۰۰ به حدی کم است که نباید آن را به صورت عددی گزارش داد و باید به صورت کمتر از ۷۰۰۰ گزارش کرد.

کنترل کیفی غیر مستقیم در آزمایشگاه هماتولوژی:

بررسی کارایی دستگاه با بررسی :

۱.محلول های آنالیزور های هماتولوژی

۲.مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با گسترش خون محیطی

۳.قانون ۳ یا قانون روتزکی در نمونه های نرمال

۴.MCHC در کلیه جواب های سل کانتر

محلول های آنالیزور در هماتولوژی که قادرند صحت عملکرد دستگاه را تحت تاثیر قرار دهند عبارتند از:

*محلول های رقیق کننده یا ایزوتون (وظیفه حفظ اندازه سلول و هدایت جریان الکتریسیته)

*معرف های لیز کننده (وظیفه لیز گلبول های قرمز بذای شمارش WBC و اندازه گیری Hb)

*نمونه های بیماران

در بخش هماتولوژی هنگامی که محلول لیز کننده و ایزوتون Lot Number عوض شد یا ازیک برند جدید خریداری شد ، یکسری اقدامات را باید انجام دهیم تا ببینیم نیاز هست که دستگاه را با نمونه های جدید کالیبر کنیم یا خیر.

قبل از تعویض ایزوتون جدید باید ۴ الی ۵ بار دستور WASH به به دستگاه بدهیم و جایگاه های شمارش سلولی را شست و شو بدهیم و بعد معرف را عوض کنیم.

اگر اختلاف فاحشی بین اسمولاریته قبلی و جدید ایزوتون وجود داشته باشد باعث تغییر MCV می شود چون اگر اسمولاریته محلول جدید کمتر از RBC باشد باعث ورود آب به RBC شده و RBC متورم میشود و MCV افزایش می یابد.در نتیجه چند نمونه ایی که با ایزوتون قبلی سنجیده شده است را با ایزوتون جدید مجددا اندازه گیری میکنیم ، یک T.TEST برای اندکس MCV انجام میدهیم اگر از T بحرانی کمتر بود ، نیازمند اقدام خاصی نیست. اما اگر T بدست آمده از مقدار بحرانی بیشتر بود، ما باید با معرف جدید دستگاه را کالیبر کنیم.

زمانی که معرف را عوض میکنیم باید یک شمارش زمینه ایی بگیریم.بدون دادن نمونه به دستگاه ، یک استارت خالی میزنیم(نه تنها بعد از تعویض محلول ها بلکه هرموقع که دستگاه را روشن میکنیم باید این کاررا بکنیم.) و این برگه های Background را نگهداری میکنیم چون ممکن است بازرس از ما بخواهد.

اگر تعداد نمونه ها زیاد بود بهتر است در فواصل آزمایش ها که کارشناس دستگاه مشخص میکند دستور شست و شوی دستگاه و بررسی مجدد شمارش زمینه اجرا شود.

محدوده قابل قبول شمارش زمینه ایی محلول رقیق کننده

RBC	<30000	$\frac{0.03x10^{12}}{l}$
WBC	<40	$\frac{0.04x10^{9}}{l}$
PLT	<5000	$\frac{5x10^{9}}{l}$
Hb	<0.2 $g/_{dl}$	

****هیچ گاه ایزوتون باقی مانده در ته گالن را به ایزوتون جدید اضافه نکنیم چون در ایزوتون مقداری نمک وجود دارد که در اثر ماندن رسوب میکند و باعث خطای زمینه ایی و خطای شمارش PLT می شود.**

***هرچه از زمان مصرف ایزوتون بگذرد و در شرایط دمایی مناسب نباشد باعث یونیزه شدن آن میشود و از مرغوبیت آن کاسته میشود و انتقال الکترون بین دو الکترود سل کانتر تضعیف میشود.**

***اگر دمای کانتینر حمل ایزوتون خوب نباشد از همان ابتدا مشکل دار میشود.**

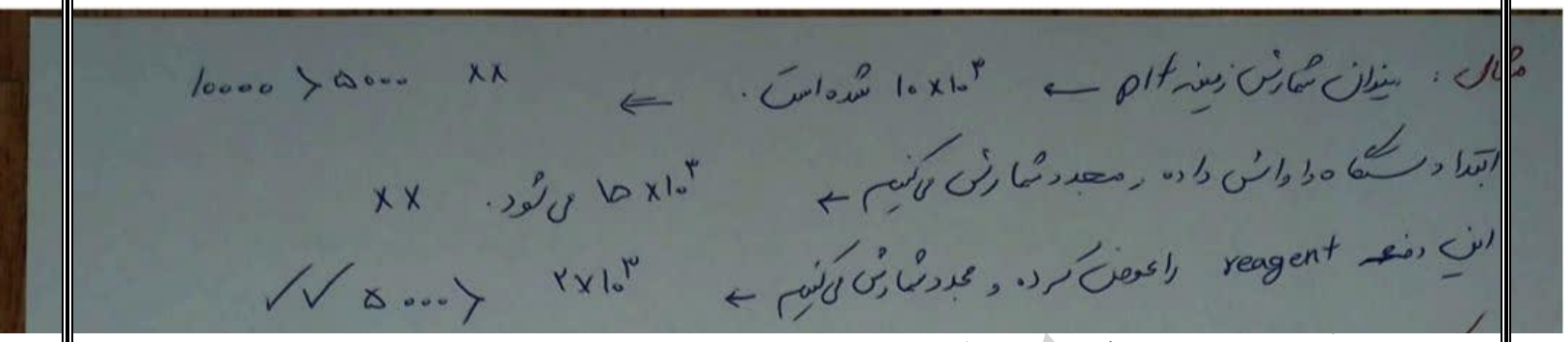
در زمان خطای بک گراند چکار کنیم؟

۱.ابتدا چک میکنیم که Reagent جدیدی به دستگاه وصل شده یا خیر. شاید شلنگ داخل ایزوتون آلوده شده در هنگام تعویض مصرف. و یا شاید حتی هنگام انتقال از انبار به بخش گالن تکان خورده باشد و در آن ایجاد حباب شده باشد ودر نتیجه دستگاه آن را plt بخواند.شاید معرف خشک شده در دهانه ایزوتون وارد محلول شده یا ته مانده معرف قبلی به جدید اضافه شده باشد.

۲.در غیر این صورت به دستگاه دستور شست و شو داده ومجدد شمارش زمینه را انجام میدهیم.

۳.اگر حل شد محلول را عوض میکنیم و مجدد شمارش زمینه ایی میگیریم.

۴.در صورت حل نشدن مشکل با شرکت پشتیبان تماس میگیریم تا مشکل را حل کند.



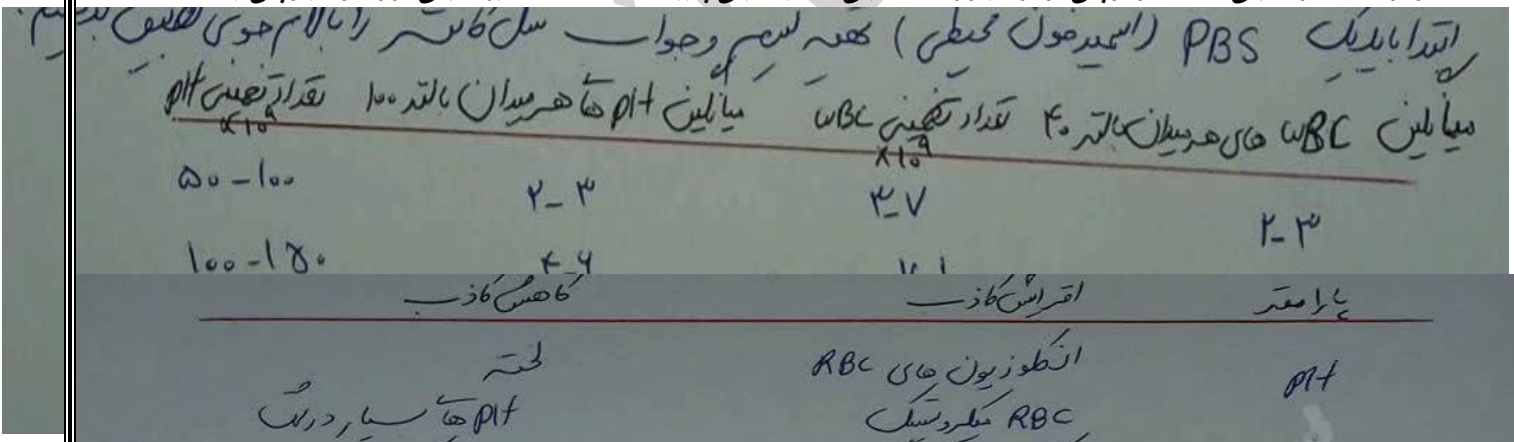
را قبل و بعد از لایز به دستگاه بدهیمو هرگونه اختلاف معنی دار در میزان Hb و میزان لوکوسیت ها را مورد بررسی قرار میدهیم. (لوکوسیت افزایش می یابد.)

***اگر RBC لیز شود ممکن است مکیزان Hb کمتر باشد ولی چون ایجاد کدورت می کند سبب بالاتر خواندن Hb می شود.**

راه حل: یک T.test برای Hb یا WBC انجام میدهیم اگر اختلاف معنی دار بود باید معرف لایز را عوض کنیم یا دستگاه را با آن معرف لایز کالیبر کنیم. همواره باید نمونه خون مخصوصا نوزادان که نمونه گیری طول میکشد را باید یک بررسی چشمی بکنیم یا با اپلیکاتور چک کنیمتا مطمئن شویم لخته نداشته باشدچون نه تنها پارامتر های خونی را تحت تاثیر قرار میدهدکه همچنین موجب انسداد کانال های سل کانتر هم میشود و مشکل تمیز کردن را برای ما بوجود می آورد.

مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با گسترش خون محیطی:

هرگونه اب نرمالیتی مانند: لوکوپنی/لوکوسیتوز/Hb خیلی بالا یا خیلی پایین/اندکس های غیرطبیعی/ترومبوسیتوپنی یا



اگر جواب نمونه از قانون روتزکی پیروی نکند یا نمونه یا دستگاه مشکل دارد . در این صورت باید نمونه های خونی که در ابتدا شیفت که دستگاه سالم بوده را به دستگاه میدهیم.اگر جواب مشابه قبل خوانش شود مشکل از دستگاه نیست و مشکل از نمونه است (مانند لیپمیک/کلد آگلوتیشن/همولیز و....)

اما اگر دستگاه مشکل داشت :۱.ناکافی بودن معرف لایز یا خرابی آن ۲.ناکافی بودن میزان ایزوتون یا انسداد مجاری دستگاه می باشد.

استفاده از پارامتر MCHC در کنترل کیفی داخلی هماتولوژی:

۱.بررسی این پارامتر در هر یک از نمونه های بیماران که کاربردی مانند قانون روتزکی دارد به این شکل است
MCHC=34+1 $^{g}/_{dl}$

از آنجایی که میزان Hb داخل سلولی تعیین کننده MCHC است پس MCHC ویسکوزیته داخلی سلول را منعکس میکند و از لحاظ فیزیولوژیک افزایش میزان آن به بیش از ۴۰٪ امکان پذیر نیست چون نمیتواند در خون گردش داشته باشد.

۳.در حقیقت MCHC به میزان $^{g}/_{dl}$ ۳۷ آخرین حد محلول بودن پروتئین های داخل سلولی Hb بود ه و در مقادیر بالاتر از آن Hb سلولی کریستالیزه میشود.

***تنها در اسفروسیتوز ارثی میزان MCHC افزایش واقعی دارد و شیوع کمی دارد که این پارامتر برای ارزیابی دستگاه استفاده میشود.**

درتمام نمونه هایی که MCHC آنها بیش از ۳۶/۵ گزارش شده است

۱.این حالت به دنبال افزایش کاذب Hb و یا کاهش کاذبHCT -کاهش کاذبMCV یا شمارشRBC رخ داده است.

۲.بررسی نمونه از نظر لیپمی و همولیز و وجود آگلوتینین سرد (MCHC>50) و یا لخته های کوچک

۳.تهیه گسترش خو نمحیطی و ارزیابی سلول ها از نظر اسفروسیتوز

۴.عدم رعایت نسبت خون به ضد انعقاد (به خصوص در CBC نوزادان که به سختی خونگیری انجام میشود.)و یا در حالتی که خون کم باشد و EDTA که نمک است بیشتر است باعث چروکیدگی RBC و کاهش HCT و MCV میشود.

کاهش کاذب MCHC :

۱.انسداد نسبی نمونه شمارش اریتروسیتی به علت رسوب پروتئین های پلاسمایی (افزایش کاذبMCV یا هماتوکریت و کاهش RBC) $^{g}/_{dl}$ Hb: 16.4 افزایش کاذب دارد. HCT:43.5% و $^{g}/_{dl}$ MCHC:37.5

مثال:

انجام هماتوکریت دستی: HCT=44 دستاگه درست است. پس مشکل از Hb است. بیمارانی که نمونه پلاسمالیپیمیک دارند MCHC-MCH-Hb بالا گزارش میشوند یا برای پزشک مینویسیم که این موارد را نمیتوان معالجه کرد یا ویال CBC را در دور بالا سانتریفیوژ کرده و مقداری از پلاسما را برداشته و هم حجم آن نرمال سالین اضافه میکنیم و خوب مخلوط میکنیم و CBC را انجام میدهیم.روش دیگر نیز محاسبه Hb به روش دستی است و بجای بلانک ، از ری ایجنت بلانک استفاده کرد.یعنی مقداری از پلاسما را به بلانک اضافه کنیم تا اثر کدورت حاصل از لیپمیک بودن را خنثی کنیم و درنهایت Hb را به حالت دستی اندازه بگیریم و گزارش کنیم.

***باید جواب MCHC را چک کنیم تا در محدوده ۳۳-۳۵ باشد و اگر نبود حتما به دنبال دلایل باشیم که چرا این اتفاق افتاده است.**

جلسه هفتم کنترل کیفی

کنترل کیفی در هماتولوژی بر اساس:

۱.نمونه کنترل

***تجاری که بهترین و راحتترین حالت ممکن است.**

***در آزمایشگاه بسازیم.**

همچنین رسم نمودار کیوسام و لوی ژنینگ نیاز است.

۲.کنترل کیفی غیر مستقیم : برای اطمینان کارایی دستگاه

۳.کنترل کیفی بر اساس نتیجه بیماران:

***T.test**

***تست مضاعف**

***چک تست**

***دلتا چک**

***میانگین متحرک**

آزمون میانگین متحرک: کنترل کیفیت بر اساس نتایج گروهی از بیماران است که به آن الگوریتم BAL هم میگویند که فقط در بخش هماتولوژی قابل اجراست چون بر اساس ثبات اندیس های اریتروسیتی در جمعیت مراجعه کننده به

آزمایشگاه است. (MCV-MCH-MCHC) چون میانگین این شاخص ها در طول ماه ها ثابت است.پس برای ارزیابی عملکرد دستگاه استفاده میشود.

***به Patient Mean در بیوشیمی، در بخش هماتولوژی Moving Average گفته میشود. / در بخش بیوشیمی از Average on Normal زمانی استفاده میکنیم که تعداد مراجعه کنندگان زیاد بود (۱۰۰ تا ۱۵۰ نفر) / در بخش هماتولوژی هم زمانی کاربرد دارد که روزانه حداقل ۱۰۰ نمونه پذیرش CBC داشته باشیم.و دارای مراجعه کننده ثابتی داشته باشیم(مثل آزمایشگاه خصوصی) البته در بیمارستان ها هم میتوان از MA استفاده کرد به شرطی که افراد تالاسمی – افراد فقر آهن- افراد دیابتی – بیماران بخش پیوند- انکولوژی و دیالیز را میانیگن لحاظ نکنیم.**

***اگر مقدار میانگین MCV-MCHC-MCH تغییر کند نشان دهنده این است که یا در کالیبراسیون دستگاه اختلالی ایجاد شده و یا در عملکرد آن .**

روش اجرایی میانگین متحرک:

***نکته : در بخش بیوشیمی برای شروع کار می توانستیم از بروشور کنترل وابسته برای کنترل کیفی داخلی استفاده کنیم و با استفاده از میانگین و Sd آن نمودار را رسم کنیم تا زمانی که در آزمایشگاه با استفاده از کنترل M وSd را محاسبه کنیم ، حال برای MA هم همین گونه است و میتوانیم شروع کار را با استفاده از مقدار هایی که مورد قبول مراجع بین المللی است مثل $MCV=895\pm3$ - $MCH=30.5\pm1$ – $MCHC=34.0\pm1$ نمودار را رسم کنیم.**

نمودار میانگین متحرک:

۱.در وسط Target که همان میانگین شاخص هاست رسم میشود.

۲.و یک محدوده% $mean\pm3$ هم رسم میشود.

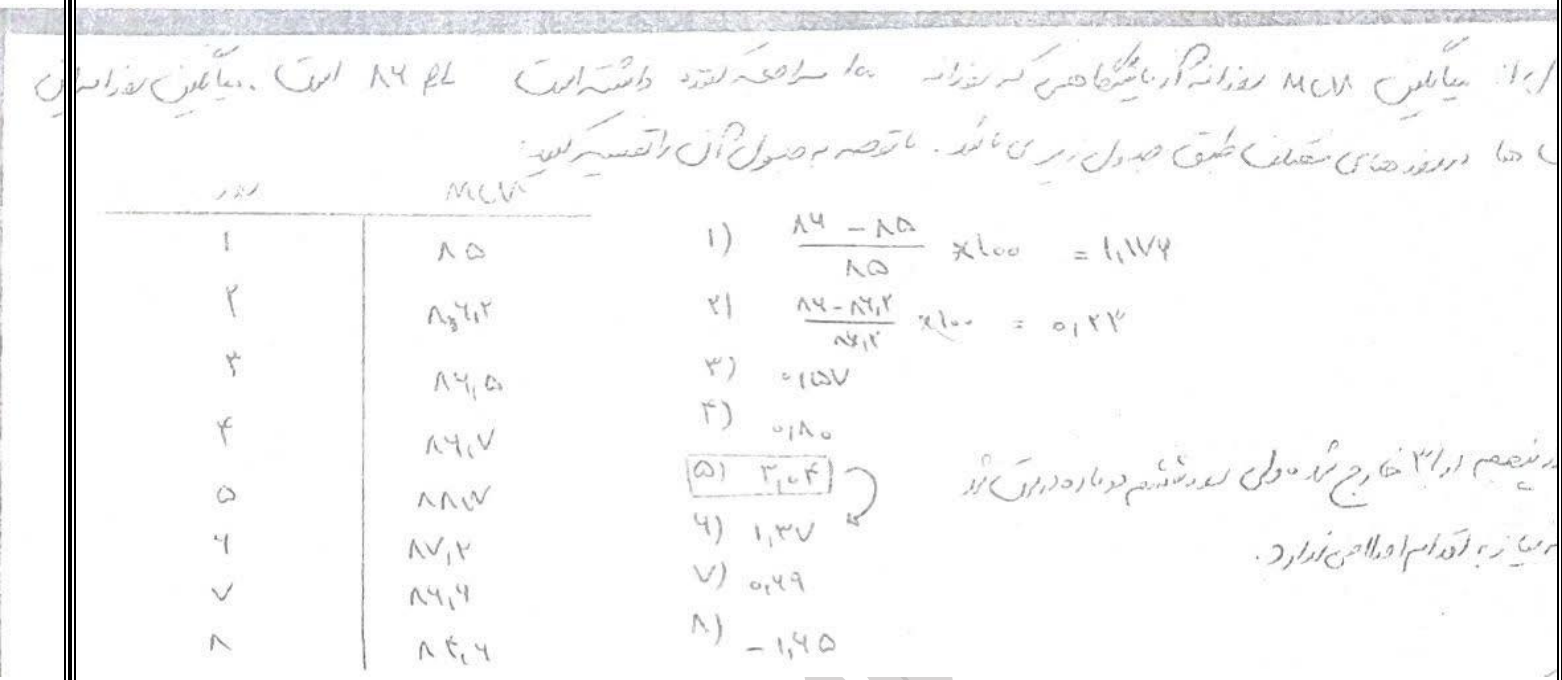
در آزممایشگاهی که روزانه ۲۵۰-۳۰۰ تا نمونه CBC دارد. حداقل از ۱۰۰۰ نمونه CBC برای شاخص های MCV - MCH-MCHC میانگین میگیریم.(اگر آزمایشگاهی روزانه ۱۰۰-۱۵۰ تا پذیرش CBC دارد باید حداقل از ۵۰۰-۶۰۰ تا نمونه میانگین گرفت و اگر تعداد پذیرش CBC ۷۰ تا ۸۰ تا بود بصورت ثابت باید از ۲۵۰ تا نمونه CBC برای این شاخص MEAN گرفت) برای محاسبه این میانگین ها ممکن است یک هفته تا ۱۰ روز زمان مورد نیاز باشد. بعد که mean بدست آمد از داده ها SD گرفته و CV را محاسبه میکنیم و اگر CV برای این شاخص ها کمتر از 1.5 شود مجاز به رسم نمودار هستیم. روزانه بعد از رسم نمودار ، یک دسته از بیماران را بصورت تصادفی انتخاب میکنیم(مثلا در بیمارستان در دسته ۲۰ تایی بیشتر از ۷ مریض از یک بخش در دسته وجود نداشته باشد.)و میانیگن گرفته و روی نمودار می بریم و باید رد محدوده $mean\pm3\%$باشد یا اینکه اصلا نمودار را رسم نمی کنیم و با استفاده از فرمول درصد انحراف را محاسبه میکنیم.x100 $\frac{\text{دسته ۲۰ تایی انتخابی MCHC - بیمار } MCHC\ 1000}{\text{دسته ۲۰ تایی انتخابیMCHC}}$ = درصد انحراف

درصد انحراف را باید با ۳٪ مقایسه کنیم. اگر در آزمایشگاه فقط از *moving Average* استفاده شدبرای کنترل کیفی، چه قوانینی را باید رعایت کنیم؟

۱.قانون یک ۳ درصد: اگر فقط یک دسته ۲۰ تایی خارج از ۳ درصد شد ، نشان دهنده دستگاه خارج شدن دستگاه از کنترل است به دلایل اختلال در دستگاه یا خروج از کالیبراسیون.برای تفسیر باید این قانون را مد نظر قرار بدهیم. ولی با توجه به اینکه *MA* نشان دهنده خطای سیتماتیک است یا ۲ نتیجه خارج از محدوده ۳ % است نمیتوانیم نتیجه بگیریم. در نتیجه ، قبل از اقدام به کالیبراسیون مجدد آنالیزور باید حداقل ۳ دسته ۲۰ تایی دیگر از نمونه ها نیز بیش از ۳٪ درصد از میانگین پایه اختلاف داشته باشد.

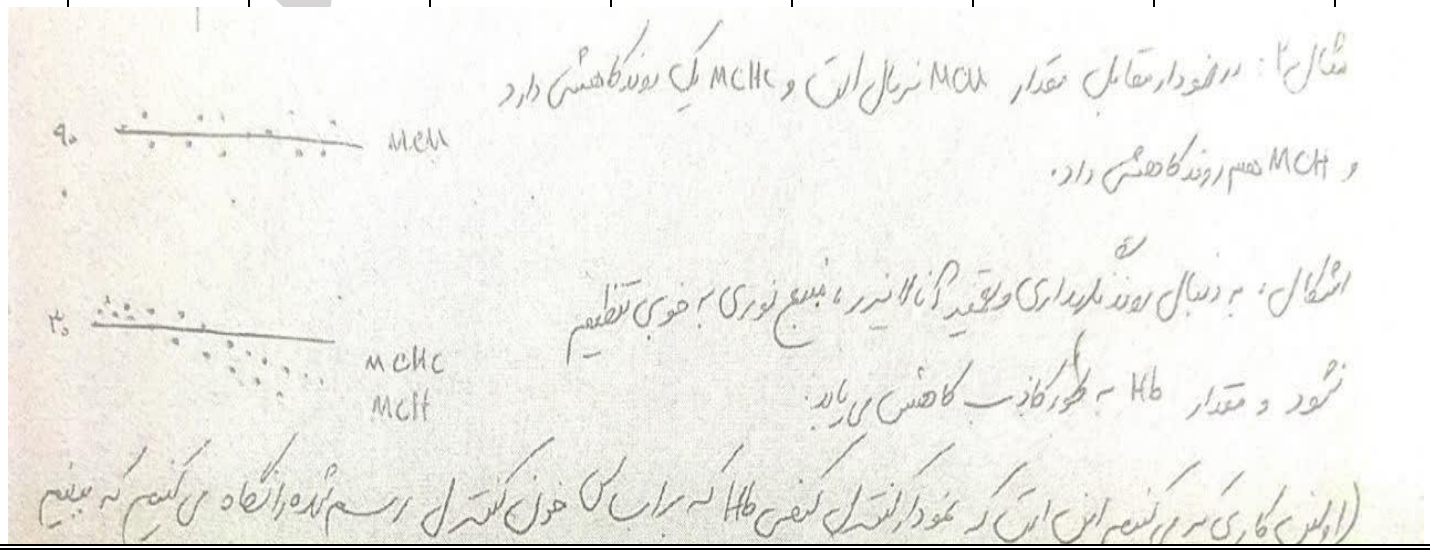
۲.قانون سه ۲ درصد:اگر سه نتیجه متوالی و پشت سرهم (در یک سمت میانگین) خارج از ۲ درصد باشدنشان دهنده اختلال است و ما باید اقدام اصلاحی انجام بدهیم.

در کنار *MA* بهتر است از دیگر روش های کنترل کیفی هم استفاده کرد مثل نمونه کنترل و رسم نمودار /دلتا چک/تست مضاعف/چک تست / *T.test



$$MCV = \frac{HCT}{RBC} \qquad MCH = \frac{Hb}{RBC} \qquad MCHC = \frac{Hb}{HCT}$$

	HCT		RBC		Hb	
تغییرات / اندکس	افزایش	کاهش	افزایش	کاهش	افزایش	کاهش
MCV	بالا	پایین	پایین	بالا	طبیعی	طبیعی
MCH	طبیعی	طبیعی	پایین	بالا	بالا	پایین
MCHC	پایین	بالا	طبیعی	طبیعی	بالا	پایین



کالیبراسیون:

۱.تمام دستگاه های آزمایشگاهی که در آزمایشگاه خریداری میشوند، در ابتدای راه اندازی باید کالیبره شوند و همیشه قبل از اینکه دستگاه را کالیبر کنیم باید میزان عدم دقت دستگاه را در نظر بگیریم . (دستگاه فاقد دقت قابل کالیبر نیست.)

۲.بعد از هر بار تعمیر یا سرویس: همیشه وقتی دستگاهی مثل سل کانتر دچار مشکل شود (در حین کار) ، با شرکت پشتیبان تماس میگیریم .و اگر مشکل تلفنی حل شد نیاز به کالیبر ندارد ولی اگر به شرکت ارسال شود، باید کالیبر شود. و بعد نمونه را به دستگاه داد.

۳.قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه (درصورت اطمینان از خراب نبودن نمونه کنترل)

۴.در زمان تعویض محلول ها (در صورتی که سبب تغییر مشخص در نتایج خون کنترل و یا نمونه بیماران شده باشد.) تعویض ایزوتون و تغییر قابل توجه MCV : باید با تغییر LOT NUM جدید دستگاه را کالیبر کرد.

تعویض محلول لایز: باید چند نمونه قبل و بعد تعویض را به دستگاه بدهیم و میزان Hb آن را می سنجیم و T.Test را محاسبه میکنیم.و اگر معنی دار بود باید با لایز جدید دستگاه را کالیبر کرد.

۵.بطور کلی کالیبراسیون دستگاه هر ۶ ماه یکبار باید انجام شود. (الزامیست) چون هر ۶ ماه یکبار دستگاه سرویس میشود.

انواع روش های کالیبراسیون سل کانتر: ۱. مقایسه ایی ۲.کالیبراتور تجاری ۳. خون تازه

۱. استفاده از خون تازه :

باید ضد انعقاد K_2EDTA استفاده کنیم. و حتما در لوله جمع آوری نمونه باید تا خط نشانه خون جمع آوری شود. همچنین از افرادی باید خونگیری انجام شود که پارامتر ها و اندکس های خونی طبیعی داشته باشند. مثال : هموگلوبین بین ۱۴ تا ۱۶ ، هماتوکریت بین ۳۶ تا ۴۸ و RDW بین ۱۲ الی ۱۴

روش انجام: انتخاب ۵ نمونه با پارامترهای طبیعی و بعد هر نمونه را سه بار به دستگاه می دهیم.(۱۵ جواب). اندازه گیری Hb و هماتوکریت این نمونه ۵ نمونه را سه بار هم با روش مرجع دستی اندازه گیری می کنیم و بعد برای Hb و هماتوکریت فاکتور تصحیح را بصورت جداگانه محاسبه میکنیم. در دستگاه های سیسمکس ، ضریب کالیبراسیون مستقیما محاسبه میشود و دستگاه های غیر سیسمکس مثل کولتر، میندری ، زیمنس و.... باید CF (ضریب تصحیح) را برایشان محاسبه کرد.

دستگاه غیر سیمکس:X100 $CF = \frac{\text{میانگین روش دستگاهی - میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}}$

CF مانند KF در بیوشیمی است که غلظت را با استفاده از ضرب جذب نوری در KF بدست می آورند.

حال اگر CF دستگاه ۹۸ باشد و طبق فرمول بالا محاسبات +۲ بدست بیاید CF=100 جدید است. علت +۲ شدن این است که دستگاه Hb هارا دو واحد کمتر میخوانده است. نکته : محدوده CF در دستگاه ۸۰ تا ۱۲۰ است و هر چه به ۱۰۰ نزدیکتر باشد بهتر است.

نکته : اگر CF بیشتر از ۵ بدست آمد قابل قبول نیست.

برای تغییر CF در دستگاه باید حداکثر دو تا دو تا مجاز به اعمال تغییر هستیم. اگر ۵ بشود مثلا ۹۸-۱۰۰-۱۰۲-۱۰۳ باید در فاصله تغییرات دو تایی یا یک نمونه را به دستگاه بدهیم یا یک استارت خالی بزنیم تا جواب از دستگاه خارج شود.

در دستگاه سیسمکس: ضریب کالیبراسون قبلیx $\frac{\text{روش دستی}MEAN}{\text{روش دستگاهی } MEAN}$ **= ضریب کالیبراسیون جدید**

مستقیما ضریب کالیبراسیون جدید بدست می آید . در اینجا هم ۲تا۲تا مجاز به تغییر هستیم.

	Hb روش دستی			Hb روش دستگاهی			mean روش دستی	mean دستگاهی
	۳	۲	۱	۳	۲	۱		
۱	۱۴	۱۵,۵	۱۵	۱۵	۱۴	۱۴,۵	۱۵,۵	۱۴,۵
۲	۱۷	۱۴	۱۵,۸	۱۴	۱۵,۵	۱۴,۵	۱۴,۲	۱۴
۳	۱۲	۱۱	۱۰,۵	۱۱	۱۲	۱۰,۵	۱۱,۲	۱۱,۵
۴	۱۴	۱۵	۱۴,۴	۱۴	۱۴	۱۴,۵	۱۴,۵	۱۴,۲
۵	۱۱	۹	۱۰	۱۰	۹	۹,۲	۱۰	۹,۴
							۱۴,۴۹	۱۴,۱۲

مثال ۴.

دستگاه غیر سیسمکس

$CF = \frac{\text{Mean دستی} - \text{Mean دستگاهی}}{\text{Mean دستگاهی}} \times 100 \Rightarrow \frac{۱۴,۴۹ - ۱۴,۱۲}{۱۴,۱۲} \times 100 = +۲,۶$

$CF_1 = \frac{۱۵,۵ - ۱۴,۵}{۱۴,۵} \times 100 = ۶,۹\%$ $\quad CF_2 = ۱,۲\%$ $\quad CF_3 = -۲,۶\%$

$CF_4 = ۲,۱$ $\quad CF_5 = ۶,۴\%$ $\quad \text{Mean FC} = \frac{۶,۹ + ۱,۲ + ۲,۶ + ۲,۱ + ۶,۴}{۵} = \frac{۱۴}{۵} = +۲,۸$

و بعد با دستگاه اسپکتروفوتومترOD آن را خوانش میکنیم و برای هرنمونه ما باید ۳ تا لوله بگذاریم. و برای روش دستی هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت استفاده میکنیم.

۲. استفاده از کالیبراتور تجاری برای کالیبراسیون دستگاه : (روش و امتحان)

عدد تارگت بروشور را به عنوان میانگین روش دستی قرار میگیرد

$$\text{ضریب قبلی} x \frac{\text{عدد تارگت بروشور}}{\text{میانگین خواندن ۵ بار کالیبراتور به روش دستگاهی}} = \text{ضریب کالیبراسیون جدید}$$

عیب کالیبراتور: ۱.پایداری خیلی کمی دارد ، بعد از باز شدن یک تا دو ساعت بیشتر پایدار نیست. ۲.هزینه آن هم زیاد است و آزمایشگاه ها هم آن را خریداری نمیکنند و حتی کارشناسان شرکت هم برای کالیبر دستگاه از آن استفاده نمیکنند.و با استفاده از بروشور کنترل دستگاه را تنظیم میکنند.

۳.استفاده از روش مقایسه ایی برای کالیبراسیون دستگاه :

در این حالت میتوان از یک آزمایشگاه مطمئن که با آنالیز و کالیبره ۵ نمونه خون تازه به دستگاه داده اند انتخاب کرد و پارامتر ها و شمارش سلولی نمونه را به عنوان شمارش مرجع فرض کرد و همان ویال هارا با دستگاه خودمان تست و جواب هارا مقایسه کنیم.

آزمایشگاه مطمئن چه آزمایشگاهی است؟ ۱.تعداد مراجعه کنندگانش زیاد باشد. ۲.نمودار کنترل کیفی داخلی آن را چک کنیم. ۳.نتایج کنترل کیفی خارجی آن را چک کنیم. (برای Hb و HCT) بعد از آن اعتماد کنیم.(انتخاب آزمایشگاه در سطح شهر یا استان)

$$\text{ضریب کالیبراسیون قبلی} X \frac{\text{روش دستی MEAN(آزمایشگاه دوم)}}{\text{روش دستگاهی MEAN}} = \text{ضریب کالیبراسیون جدید}$$

*بعد از کالیبر کردن دستگاه همیشه باید یک نمونه را علاوه بر اینکه به دستگاهی میدهیم به روش دستی هم انجام بدهیم و نتایج را مقایسه کنیم تا ببینیم آیا کالیبر شده است یا خیر.

کدامیک از سه روشی که در بالا گفته شد بهتر است ؟ کالیبراتور را که کسی خریداری نمیکند.پس فقط دو روش میماند. در روش اول به علت حساسیت اندازه گیری Hb مشکلاتی دارد. همچنین در روش سوم هم به دلیل عدم قطعیت وجود یک سل کانتر کالیبره مشکلاتی بوجود می آید.

مثلا در روش دستی اندازه گیری سایر وسایل مانند اسپکت سمپلر و... هم کالیبر باشند . / ممکن است ۳-۴ ماه یکبار بخواهیم از میکروهماتوکریت استفاده کنیم پس باید از لحاظ زغال ، دور و زمانش چک شده باشد. نکته دیگر این است که در روش دستی فقط Hb وHCT قابل اندازه گیری است ولی نمیتوانیم WBC,RBC و PLT را اندازه گیری کنیم.از طرفی هم اگر آزمایشگاهی باشیم که افراد تالاسمی و ازدواجی به آن مراجعه میکنند، اگر ۴۰۰ تا ۵۰۰ هزار تا RBC جابجا شود ،روی MCV اثر میکند. پس باید بتوانیم کالیبر بودن این سه مورد را بررسی کنیم. نیاز داریم تا از یک دستگاه در آزمایشگاه دیگری استفاده کنیم ، Hb و HCT هم با همان سل کانتر مقایسه میکنیم و خودمان را به دردسر نمی اندازیم. پس بهترین روش مقایسه ایی این است که سایر پارامتر هارا برای ما مشخص کند.

روش های مرجع:

۱.اندازه گیری Hb به روش سیانو مت هموگلوبین

۲.هماتوکریت:سانتریفیوژ میکروهماتوکریت

۳.شمارش RBC-WBC به سه صورت : کانتر تک کاناله/استفاده از لام نئوبار که البته CVبالایی داشته و توصیه میشود استفاده نشود/شرکت پشتیبان(از روش مقایسه ایی متوجه میشویم یا با استفاده از نمونه خون کنترل متوجه میشویم که آیا از کنترل خارج شده است یا خیر.

۴.پلاکت. استفاده از Ab های مونوکلنال نشانگر یا فلروکروم CD61/CD42A/CD41 که هزینه بالایی دارد. پس همواره RBC/WBC/PLT را شرکت پشتیبان تنظیم میکند.

$$\left[RCF = 1.11 \times 10^{-5} \times R \times RPM^2\right]$$

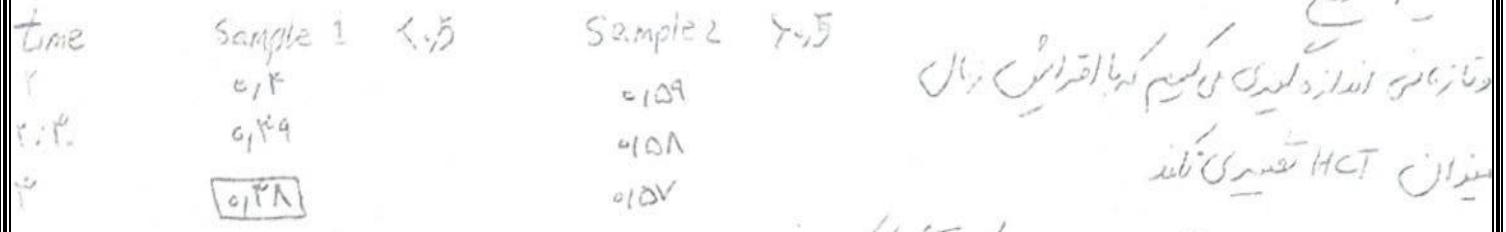
کنترل کیفی دستگاه میکروهماتوکریت :

باید به موارد زیر توجه کنیم:

۱.سرعت سنج سانتریفیوژ(تاکومتر) که ماهیانه بررسی میشود و تا ۵٪ اختلاف قابل قبول است./۲.زمان سنج دستگاه (کورنومتر) که هفتگی بررسی میشود و تا ۱۰ درصد اختلاف بررسی میشود و تا ۱۰ % اختلاف قابل قبول است./حداکثر توان در تجمع سلول ها که با توجه زمان میتوان دور و توان دستگاه را بررسی کرد که مناسب است یا خیر.

حداکثر توان تجمع در سلول ها چگونه محاسبه میشود؟

دو نمونه با هماتوکریت زیر ۵۰ و دیگری بالای ۵۰ را انتخاب می کنیم. اگر دستگاه را می توانستیم ثانیه ایی زمانش را تنظیم کنیم از لوله های مویینه آبی رنگ که فاقد ضد انعقاد هپارینند استفاده میکنیم و سه چهارم لوله را از خون پر میکنیم و انتهای آن را مستقیم حداقل به طول ۴ میلی متر خمیر میزنیم. از زمان دو دقیقه شروع کرده و ۳۰ ثانیه ۳۰ ثانیه به آن اضافه میکنیم وHCT را اندازه گیری میکنیم. (با استفاده از خطکش هماتوکریت)و تا زمانی اندازه گیری میکنیم که با افزایش زمان میزان HCT تغییری نکند.



ولی دستگاه‌های ما قابلیت تنظیم ۳۰ ثانیه‌ای را ندارد، بنابراین WHO می‌گوید: چند نمونهء حاوی ضد انعقاد K2EDTA را بصورت دو تایی به مدت ۳،۵،۷،۹،۱۱ دقیقه سانتریفیوژ کرده و نتایج ثبت شود و در صورت مناسب بودن توان دستگاه نتایج حاصله از ۵ دقیقه به بعد بدون تغییر می‌ماند.
کاری که می‌کنیم: از یک نمونه خون در ۵ لوله نمونه خون می‌کشیم و یک لوله ۳ دقیقه می‌چرخانیم و لوله دوم را ۵ دقیقه و لوله بعدی را ۷ دقیقه و بعدی را ۹ دقیقه و آخرین لوله را ۱۱ دقیقه می‌چرخانیم و HCT را اندازه می‌گیریم و باید بعد از ۵ دقیقه تمام HCT این لوله‌ها مثل هم باشد (توان دستگاه مناسب است)

چون می‌خواهیم برای کنترل کیفی دستگاه‌مان (سل کانتر) هماتوکریت را به روش دستی انجام بدهیم ← یا دو تا ۵ دقیقه دستگاه را می‌چرخانیم یا از اول توی ده دقیقه تنظیم می‌کنیم. (هر نمونه ۳ تا لوله ← ۱۵ لوله را ۱۰ دقیقه می‌چرخانیم.)

علت این است که اگر زغال مشکل داشت و سرعت سانتریفیوژش کند بود بتوانیم با افزایش زمان جبرانش کنیم.

مشکل هماتوکریت دستی چیست؟ حجم پلاسمای به دام افتاده ← وقتی ۱۰ دقیقه می‌چرخانیم حدود ۳-۲ % پلاسمای به دام افتاده داریم که رویه HCT اثر می‌گذارد.

⇐ وقتی HCT این لوله‌ها را محاسبه کردیم باید میانگین بگیریم و حجم پلاسمای به دام افتاده را از آن کم کنیم ← چون نمونه‌های طبیعی انتخاب شده است برای HCT 〈 ۵۰← ٪۲ و برای HCT 〉 ۵۰ ← ٪۳ در نظر گرفته می‌شود.

مثال اگر HCT: ۴۵ خوانده شد ⇐ HCT = ۴۴/۱ =۰/۹-۴۵ ۴۵× $\frac{2}{100}$ =۰/۹

⇐ از عدد ۴۴/۱ برای کنترل کیفی استفاده می‌کنیم.

چه زمانی باید کالیبراسیون میکرو و هماتوکریت را انجام داد؟

۱- پس از خرید و قبل از شروع به کار دستگاه ۲- هر ۶ ماه یکبار برای سرویس دهی

۳- در صورت وجود هر گونه اختلالا هم باید با شرکت پشتیبان تمام گرفت.

بعد انجام آزمایش‌ها به روش دستی و تغییر ضریب کالیبراسیون تا چه زمانی ثابت می‌ماند و نیاز به تغییر ندارد؟ آیا نیاز است که HB و HCT دستی انجام شود. اگر آزمایشگاهی هستیم که با یک شرکت آزمایشگاه مرجع در ارتباط هستیم و در برنامه کنترل کیفی خارجی هم شرکت می‌کنیم و هر روز بر اساس خون کنترل هم، نمونه دار لویژنینگ را رسم می‌کنیم و به خوبی تفسیر می‌کنیم تا هر نوع خطایی هر چند کم هم باشد به خوبی شناسایی شود و MA را هم انجام دهیم.

⇐ ولی باید ماهی یکبار HB و HCT را به روش دستی چک کنیم تا مطمئن بشویم که دستگاه ما از کالیبر خارج نشده است. / اگر تعداد نمونه‌ها زیاد بود و این کار برایمان دشوار بود و با توجه به اینکه HB به راحتی هم از کالیبره خارج نمی‌شود، می‌توانیم ماهیانه چند تا نمونه طبیعی را به روش دستی HCT را اندازه می‌گیریم و ضریب کالیبراسیون را در دستگاه چک می‌کنیم. چون اگر HCT تعییر کند روی MCV هم اثر می‌گذارد.

- ❖ بهتر است ماهیانه هم HB و هم HCT چک شود / ولی اگر سخت بود می‌توانیم هر زمانی که نه خارج شدن HB از کالیبر شک کردیم می‌توانیم 20λ خون را با ۵۰ CC داربکین مخلوط کنیم و در دمای اتاق ده دقیقع بگذاریم و بعد جذب آن را بخوانیم و با دستگاه مقایسه کنیم.
- ❖ اگر بخواهیم برای بررسی اینکه از کالیبر خارج شده Paired t fast انجام بدهیم تست به روش دستی خیلی سخت‌تر است. زمانی که فرد مبتلا به لوسمی است و نمونه را به دستگاه می‌دهیم و مقدار WBC آن را خیلی بالا (۹۰۰۰) می‌خواند در اینجا آیا ما مجاز به گزارش HB یا HCT هستیم یا باید به روش دستی انجام دهیم؟ دستگاه زمانی که می‌خواهد HCT را محاسبه کند، RBC را هم شمارش کرده و در محاسبه استفاده می‌کند ← و از آن جایی که WBCها را هنگام شمارش RBC لیز نمی‌کنیم (در حالت عادی به ازای هر ۵۰۰ تا ۷۰۰ تا WBC یک RBC وجود دارد⇐ تداخلی در شمارش ایجاد نمی‌کند.) و از زمانی که تعداد WBCها زیاد شود، دستگاه آن را به جای RBC شمارش می‌کند و تعداد RBCها خیلی زیاد شمارش می‌شود و هماتوکریت دستگاهی افزایش زیادی نمی‌کند ← پس در یک بیمار لوسمی حتما HCT را باید دستی انجام دهیم.

در مورد HB هم دو روش دستی و دستگاهی بر اساس سیانومت هموگلوبین عمل می‌کند ← ولی در روش دستگاهی برای اندازه گیری HB دستگاه RBC را لیز می‌کند ولی هیچ اقدامی رویه WBCها انجام نمی‌دهد چون در حالت عادی تعدادشان آنقدر زیاد نیست که بخواهد تداخلی ایجاد کند ولی وقتی که فرد مبتلا به لوسمی شد و تعداد WBCهایش افزایش پیدا کرد، باعث کدورت محلول می‌شود و همین عامل باعث می‌شود دستگاه مقدار HB فرد را بالاتر از مقدار واقعی بخواند ← باید به روش دستی انجام دهیم و قبل از خوانش حتما سانتریفیوژ کنیم و رویه محلول بالایی آن اندازه گیری را انجام دهیم.

کنترل کیفی در آزمایشگاه های انعقادی:

تست های انعقادی *PT/PTT* روی پلاسما انجام میشود پس برای کنترل کیفی هم باید پلاسمای کنترل تهیه کنیم.

۱.پلاسمای تجاری: راحتترین کار

۲.*Pooled Plasma*

پلاسمای کنترل: پایداری کمی دارد چون فاکتور هفت تحت تاثیر سرما قرار میگیرد و باعث میشود تست *PT* پایین بیاید پس به محض احیای پلاسمای کنترل سریعا باید تقسیم کرد و در فریزر گذاشت و هرروز که از فریزر خارج میکنیم باید در ۳۷ درجه بگذاریم و تست *PT* را به روش دستی یا دستگاهی انجام می دهیم.

***Pooled Plasma* : جهت تهیه پلاسما را به صورت روزانه حداقل ۵ نمونه پلاسمای سیتراته افرادی که تست *PT* و *PTT* آنها نرمال است را مخلوط می کنیم و به عنوان نمونه کنترل استفاده میکنیم. اگر مقدار زیادی میخواستیم تهیه کنیم باید نمونه حداقل ۲۰ نفر (در محدوده سنی ۲۰ تا ۶۰ سال) زن و مرد به نسبت مساوی استفاده میکنیم و تا زمانی که به حجم مورد نظر برسد در فریزر نگهداری میکنیم.**

۱.افزایش سن موجب افزایش فاکتور های *V/VII/VIII* میشود.

۲.پلاسمای زن حامله و خانمی که قرص ضد بارداری خورده است، استفاده نشود.

۳.نژاد مهم است زیرا فاکتور ۸ در سیاهپوستان بیشتر از سفیدپوستان است.

۴.پلاسمای حیوانات نسبت به انسان فاکتور ۵ و ۸ بالاتری دارد.

۵.از بیماران با بیماری التهابی نمونه گیری انجام نشود.(افزایش سطح فاکتور *I/VIII*)

۶.بعد از ورزش و استرس نمونه گیری انجام نشود. (افزایش سطح فاکتور هشت)

بعد از رسیدن پلاسما به حجم مورد نظر آن را ذوب میکنیم و آن را از صافی عبور و بعد تقسیم بندی میکنیم و در فریزر در -۷۰ درجه تا ۶ ماه و در -۲۰ تا دو هفته پایدار است و میتوانیم استفاده کنیم.

-برای تهیه محدود *pooled plasma* نمونه تهیه شده را در بیست روز متوالی یا پنج روز روزی ۴ بار آزمایش میکنیم و سپس *mean* و *SD* نتایج را محاسبه میکنیم و $Mean \pm 2SD$ را تعیین میکنیم و بروشور آن را می نویسیم تا بتوانیم برای *PT/PTT* نمودار رسم کنیم . بیشتر برای *PT* رسم میشود.البته نیازی بر حسب *INR* نمودار رسم کنیم. یعنی پس از رسم نمودار $Mean \pm 3SD$ ، روزانه نتایج *PT* را روی نمودار برده و بر حسب قوانین وستگارد و *WHO* آن را تفسیر میکنیم.

چند نمونه کنترل باید داشته باشیم؟ مراجع بین المللی می گویند باید ۲ سطح داشته باشیم یکی نرمال و دیگری *LOW* چون فاکتور ها پایین باشد و مقدار *PT/PTT* بالا باشد.اگر مقدور نبود یک کنترل را حتما می خریم و هر هشت ساعت یک کنترل میگذاریم ولی اگر نمونه ها زیاد بودند هر ۴ ساعت و به ازای هر ۴۰ نمونه یک کنترل میگذاریم.

بررسی دقت و صحت *PT/PTT* :

۱.دقت: نمودار را رسم میکنیم/همچنین میتوان از داده های کنترل درون جدول *CV* گرفت و با *CV* مجاز مقایسه کرد./یا اینکه ماهانه نمونه کنترل را ۱۰ بار به دستگاه داده و از داده ها*CV* گرفته و با *CV* مجاز مقایسه کنیم.نتیجتا *CV*قابل قبول ۵٪ است(به این هم بستگی دارد که ازکدام مرجع مجاز *CV* مجاز را برداریم.)

مسئله مهم دیگر در مورد *PT/PTT* :

۱.اندازه گیری پلاکت پلاسما : چون *PLT* هم منبع فسفولیپید و هم گرانول های *Alpha* پلاکت حاوی فاکتور های۴ ،۵ و ۸ است و میتوانند روی *PT/PTT* اثر بگذارند.

هدف از اندازه گیری از *PT/PTT* ، یکسان بودن تمام شرایط است و فقط کمبود فاکتور روی آن اثر بگذارد.

مثال: ۳ بیمار وارفارین دریافت میکنند و یکی پلاکت معادل ۹۴ و بعدی ۹۰ و دیگری ۲۴۰ هزار است.پلاکت هایشان متفاوت است و میتوانند روی *PT/PTT* تاثیر بگذارند . ما دور سانتریفیوژ را روی *PT/PTT* افزایش میدهیم تا پلاکت کمی در پلاسما باشد و باید مقداری *PLT* پلاسما کمتر از ۱۰۰۰۰ باشد هر ۶ ماه یکبار بایدپلاکت پلاسمای *PT* را چک کنیم . پس باید پلاسما را در یک کاپ ریخته و به دستگاه سل کانتری بدهیم تا *PLT* آن را اندازه بگیرد و باید کمتر از ۱۰۰۰۰ باشد.

بررسی صحت *PT/PTT* :

۱.یا در برنامه کنترل کیفی خارجی شرکت میکنیم.

۲.یا *Paired T.TEST* را انجام میدهیم. همچنین مقایسه روش دستی(مرجع) و روش دستگاهی که همان محاسبه پایانیست.

مثال: درروش دستگاهی نتایج کنترل کیفی خارجی میزان *PT* نرمال و *PTT* غیر نرمال است و میخواهیم آن را تفسیر کنیم : وقتی *PT* نرمال است ما نتیجه میگیریم که دستگاه درست است و انکوباتور دستگاه کوآگلومتر درست می باشد و محلول *PT* درست بوده و برای *PTT* به این نتیجه می رسیم که احتمالا محلول *PTT* مشکل داشته که باعث شده تست *PTT* خارج از محدوده باشد . هرگاه نمونه کنترل کیفی خارجی برایمان آوردند و آن را اندازه گیری کردیم مقداری از آن را فریز میکنیم تا وقتی مشکل اینچنینی بوجود آمد به دستگاه بدهیم ببینیم درست میخواند یا خیر.(که نتیجتا ببینیم آیا خطای تصادفی بوده یا خیر.)

میزان *PT/PTT* طبق جدول تغییرات بیولوژیک:

	Impercision	*Bias*	*TEA*
PTT	*1.4*	*2.3*	*4.5*
PT	*2*	*2*	*5.3*

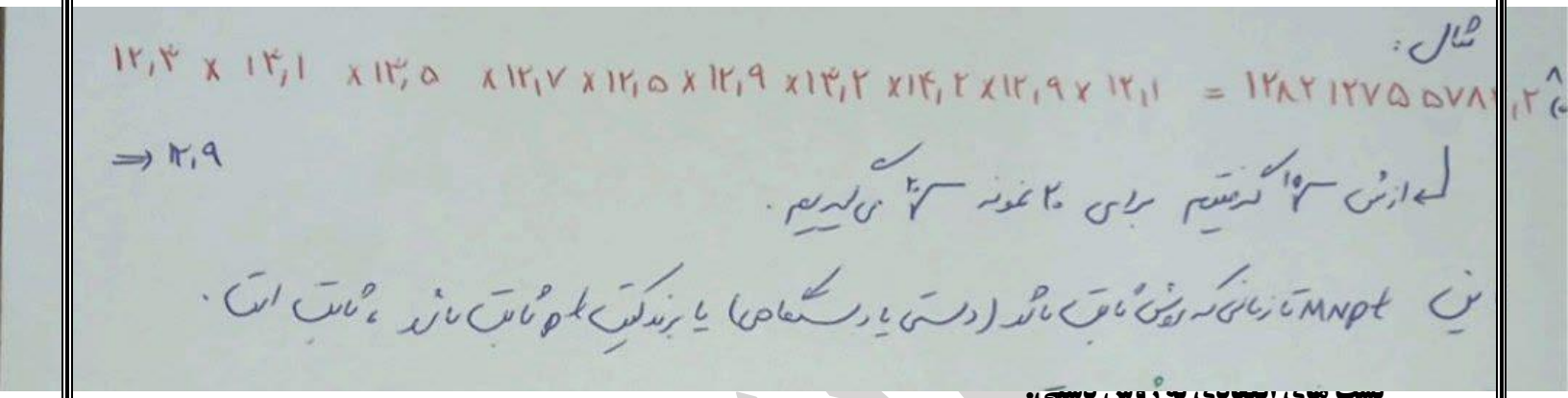
همانطور که مشاهده میشود میزان *CV* از ۵ درصد خیلی پایین تر است . زمانی از این جدول استفاده میشود که در آزمایشگاهی باشیم که در سطح بالای کیفیت کار میکنیم .

برای محاسبه *INR* : نمونه کنترل را هرروز به دستگاه میدهند و بجای رسم نمودار آن عدد را به پذیرش گزارش میکنندو پذیرش هم بروشور کیت *PT* را دارد و جواب *PT* بیمار و کنترل را هم دارد. پس این هارا به هم تقسیم کرده و جواب را به توان *ISI*ی *PT* میرساند و *INR* را گزارش میکند. که این کار اشتباهی است و باید به جای *PT*کنترل *MNPT* (میانگین *PT* نرمال) را در مخرج بگذاریم.

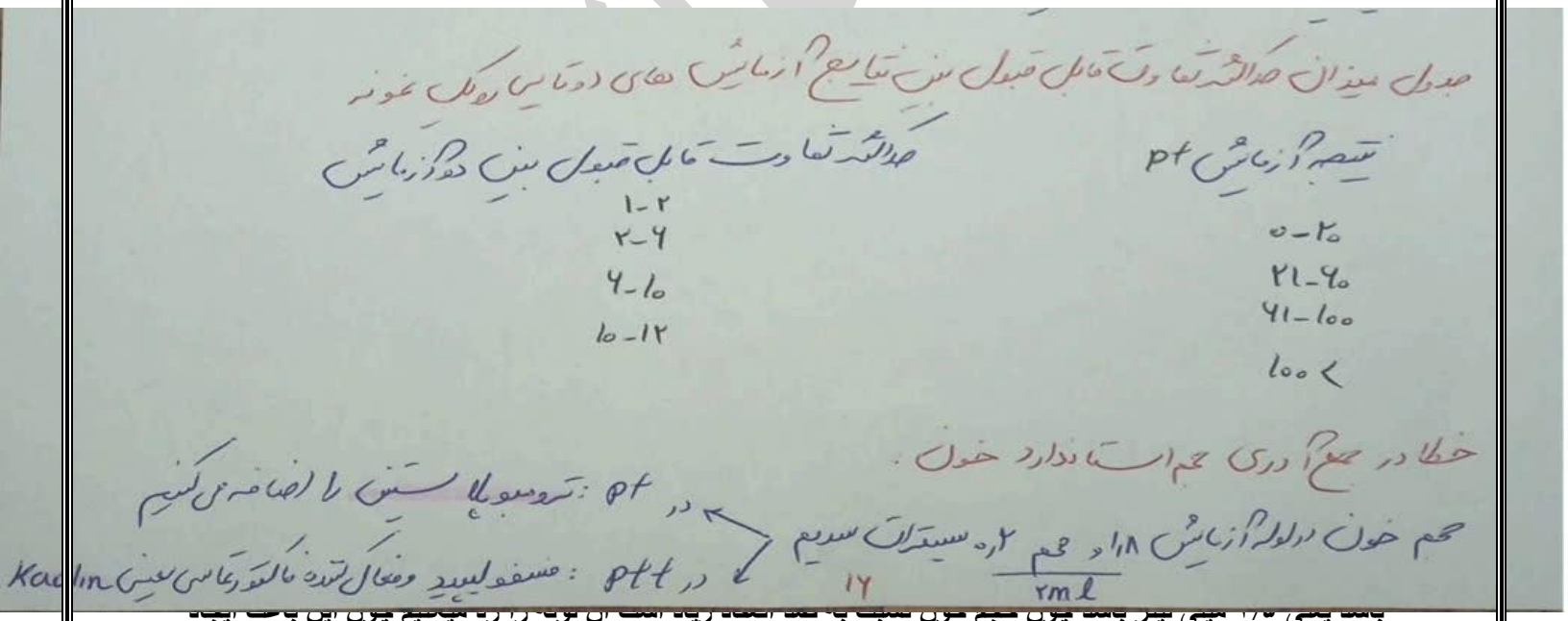
چگونگی محاسبه *MNPT* : همان ۲۰ نمونه ایی که برای درست کردن پلاسمای کنترل استفاده میکردیم هرروز به دستگاه میدهیم و ۲۰ داده بدست می آوریم / یا اینکه ۲۰ نمونه نرمال را بیماران را به دستگاه میدهیم و ۲۰ داده بدست می آوریم (یا میتوانیم ۱۰ نمونه داده و ۱۰ داده داشته باشیم.)

۱.هرداده را باید به توان دو رساند و با هم سری خود جمع کرد و در آخر از آنها جذرگرفت

۲.یا اینکه هم سری داده هارا در هم ضرب کنیم و بعد دکمه $X^{\wedge}Y$ ماشین حساب را فشار دهیم و بعد عدد $\frac{1}{N}$ را که N تعداد نمونه است را تایپ کنیم و جواب *MNPT* بدست می آید.

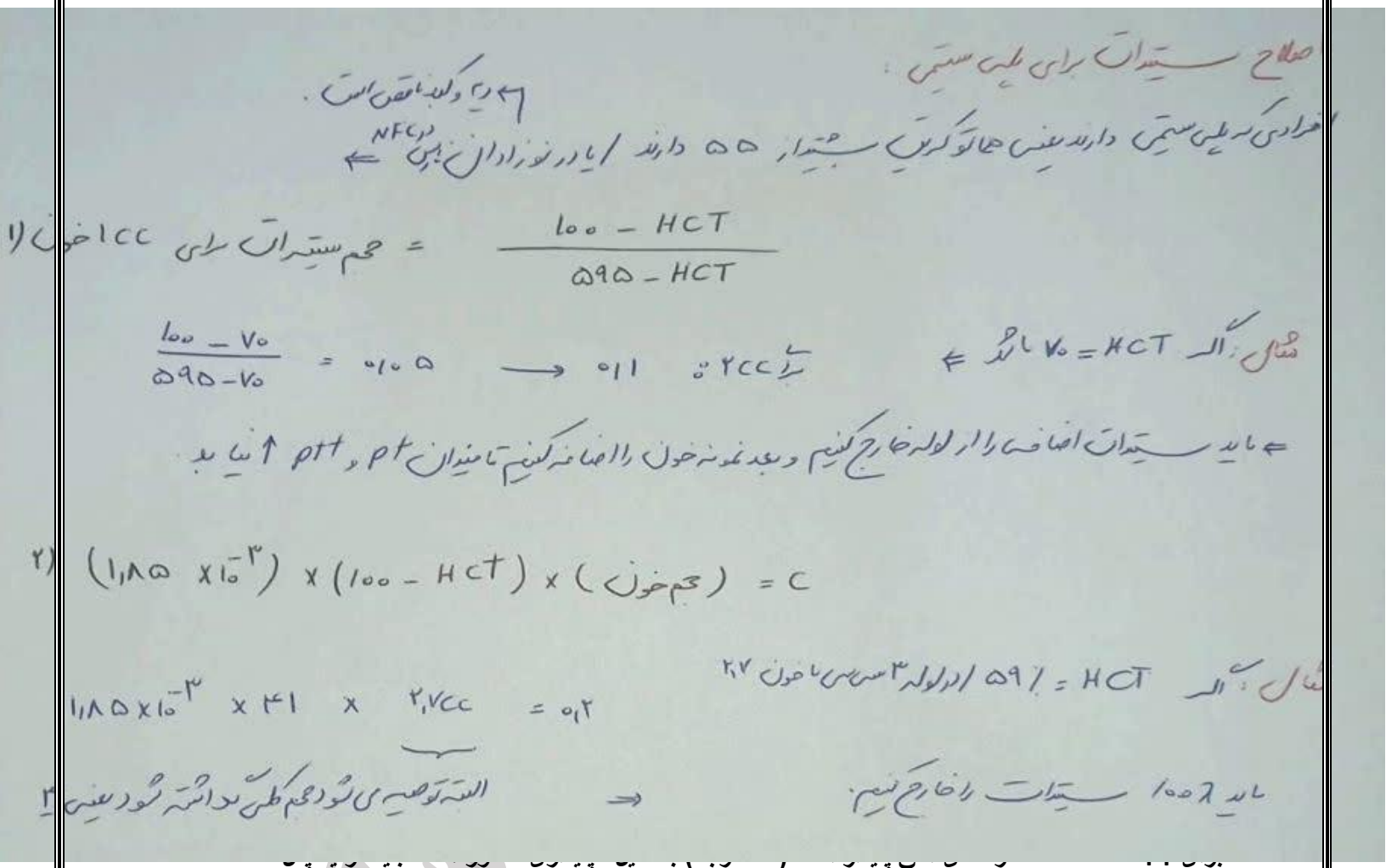


۱.تست های انعقادی خصوصا در روش دستی باید به صورتی دوتایی DUPLICATE انجام شود و میانیگین آنها گزارش شود. و اگر حداکثر به اندازه ۱۰ درصد میانگین این جواب ها با هم تفاوت فاصله داشته باشند قابل قبول است در غیر این صورت تکرار آزمایش ضروری است.



باشد یعنی ۱/۸ میلی لیتر باشد چون حجم خون نسبت به لخته انعقاد زیاد است آن خون را رد میکنیم چون این باعث ایجاد لخته میشود و مصرف فاکتور های انعقادی شده و تست PT/PTT افزایش می یابد. و اگر حجم خون کم باشد، سیترات سدیم با Ca^{2+} باند شده و آن را از دسترس خارج میکندو باعث افزایش PT/PTT میشود.

در نتیجه فقط تا $\pm 10\%$ حجم لوله قابل قبول است. $2CC\ OR\ 2000\lambda \rightarrow \pm 200\lambda$



بگذاریم.(۲تا۸ درجه) و برای PTT تا ۴ ساعت کافیست.همچنین میتوان در یخچال هم گذاشت.

نمونه های PT/PTT در فریزر -۷۰ به مدت شش ماه و در -۲۰ به مدت ۲ هفته پایدارند.

در بندر عباس چون دما بیشتر است حداکثر باید تا ۴ ساعت آزمایش انجام شود.

اگر برای چک وارفارین PT/PTT درخواست دادند باید در عرض ۴ ساعت آزمایش را انجام دهیم . اگر برای PTT از هپارین استفاده شد باید در عرض ۱ ساعت تست انجام شود.

تست ESR که در آزمایشگاه درخواست میشود.

۴ روش برای اندازه گیری ESR :

۱.روش دستگاهی ، ضد انعقاد با سیترات سدیم ۳/۲ درصد

۲.روش وسترگرین با ضد انعقاد سیترات سدیم ۳/۲ درصد

۳.روش تغییر یافته وسترگرین در ضد انعقاد EDTA (هماتوکریت در محدوده ۳۵درصد تنظیم میشود.)

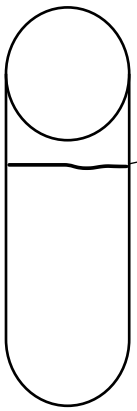
۴.روش مرجع

گاهی نمونه گیری از بیمار سخت است و بر اساس همان نمونه CBC میخواهیم ESR را انجام دهیم. ۴ حجم خون را با یک حجم سیترات یا سرم فیزیولوژی ترکیب ، سپس خون را با این روش رقیق کرده و با روش دستی ESR را انجام میدهیم ولی در روش مرجع این گونه نیست.

کنترل صحت ESR:

۱.چک تیوب صفر(برای هر دستگاهی مخصوص خودش است)را در جایگاه چک تیوب دستگاه قرار میدهیم و باید $\pm 5\%$ خوانده شود.

لوله های ESR را تا خط نشانه از نمونه پر میکنیم و بعد با چسب برق می پوشانیم یا اینکه ماده ضد انعقاد آن را خالی میکنند و درون آن را با پنبه پر میکنیم یا با یک ماژیک آن را کاملا تیره کرده و بجای چک تیوب صفر در خانه های دستگاه میگذاریم و باید عدد ESR را 0 ± 5 بخواند.



یا اینکه چک تیوب های ESR با پایداری خوب خریداری میکنیم و بار ها میتوانیم برای کنترل صحت از آن استفاده کنیم.

۲.*برنامه کنترل کیفی خارجی برای ESR وجود ندارد.

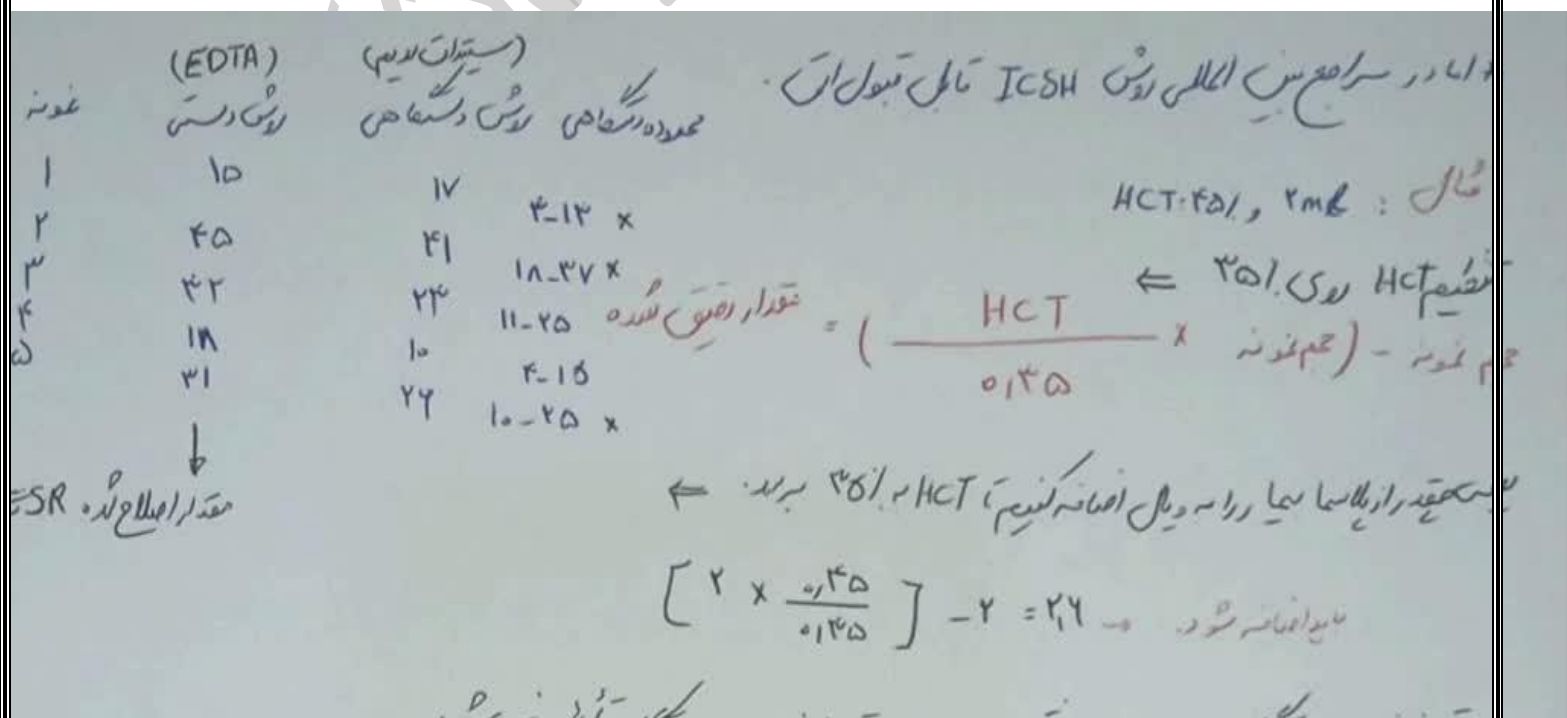
۳.ICSH میگوید هفته ایی یکبار حداقل ۳ نمونه با روش دستگاهی و دستی (وسترگرین تغییر یافته) انجام و با جدول مقایسه کنیم.

در سال ۲۰۰۶ : ۹۵ درصد جواب های دستگاهی باید در محدوده جدول باشند.

در سال ۲۰۱۲: ۹۵ درصد از جواب های روش دستی و دستگاهی نباید بیشتر از ۵٪ اختلاف داشته باشند.

۴.CLST: هفته ایی یکبار حداقل ۳ نمونه را به روش دستگاهی (ضد انقعاد سیترات سدیم) ودستی (وسترگرین تغییر یافته) انجام داده و از آزمون آماری PAIRED T.TEST استفاده کنیم.

***اما در مراجع بین المللی روشICSH قابل قبول است.**



کنترل دقت در دستگاه ESR :

۱.بررسی عدم دقت کلی دستگاه

۲.CV بین کانال ها

۳.CVدرون کانال ها

***۱.کنترل تجاری ترجیحا در دو سطح خریداری میشود و نمودار کنترل کیفی رسم میشود.**

***۲.کاری که در آزمایشگاه روتین است : یک نمونه را ماهانه با دادن حداقل ۱۰ بار به دستگاه و محاسبه CV و مقایسه با CV پیشنهادی شرکت(۴٪) سازنده دستگاه (هم CVدرون کانال و هم بین کانال ها باید از حد مجاز کمتر باشد.) چون گاهی کانال رسوب گرد و خاک میگیرد و ESR را اشتباهی میخوانند و باید از رده خارج شوند . اگر تکرار پذیری بین کانال ها خوب نباشد باید با شرکت پشتیبان تماس گرفت. بدلیل اینکه پس از رسوب بار اول ، جاذبه مولکولی RBC ها کم شده و برای رسوب بار دوم انتظار رسوب را نمیتوان داشت حتما از یک فرد ۱۰ لوله سدیمان گرفته میشود.(یعنی نباید یک لوله سدیمان گرفته و ۱۰ بار تست کرد) در دستگاه های ۲۰ تا ۳۰ کاناله به صورت رندوم ما کانال را انتخاب میکنیم و CV را محاسبه میکنیم./یا یک کانال را انتخاب کرده و نمونه هارا با آن میخوانیم و CV را محاسبه میکنیم.**

۳.روش WHO یک نمونه خون در دو ظرف حاوی EDTA (یک لوله سیترات سدیم رقیق ، روش رایج آزمایشگاه انجام و لوله دوم با روش مرجع دستی)

volum of plasma = $\left(\frac{HCT \times ۲}{۰/۳۵}\right) - ۲$

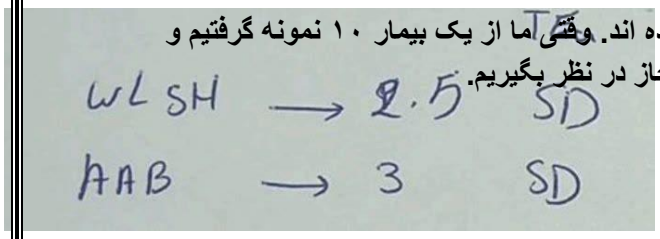
Corrected ESR = (undiluted ESR $\times ۰/۸۶$) -۱۲

برای ESR های زیر ۶۰ ، تا ۱۲ قابل قبول است و برای ESR های بیشتر از ۶۰ تا ۲۰ تا تفاوت بین نمونه A و B قابل قبول است.

***گاهی اگر CV از حد مجاز بیشتر شود. باید دستگاه را به شرکت پشتیبان ارسال کنیم تا سرویس شود یا چاهک هایی را که CV خوبی ندارند را ببندیم و نمونه را بر اساس آنها گزارش نکنیم.**

CV مجاز برای ESR چقدر است؟

۱.در مراجع ESR مجاز را اعلام نکرده و خطای کل را مجاز اعلام کرده اند. وقتی اما از یک بیمار ۱۰ نمونه گرفتیم و CV/SD/MEAN را محاسبه کردیم میتوانیم 1SD را به عنوان CV مجاز در نظر بگیریم.



۲.در اکثر مقالات CV مجاز برای ESR را ۴٪ گرفته اند ماهم همین میزان را میگیریم.

۳.در سال ۱۳۹۰ یک مقاله در مورد کنترل کیفی ESR ، آزمایشگاه مرجع سلامت چاپ کرد که در آن CV مجاز را ۶٪ اعلام کرد و BIAS مجاز را 5% گرفته بود.

روش های پیشنهادی WHO برای کنترل دقت ESR:

از یک بیمار ۲ تا نمونه خون در ظرف های EDTA جمع آوری کرده . یک نمونه را با ۴ حجم خون و یک حجم سیترات سدیم رقیق میکنیم . و ESR را با روش دستگاهی انجام میدهیم. نمونه دوم را ابتدا هماتوکریت آن را محاسبه میکنیم و با افزودن مقداری پلاسمای اتولوگ هماتوکریت آن را به ۳۵درصد میرسانیم (البته برخی رفرنس ها ۳۳درصد را ذکر کرده اند) و سپس با روش رفرنس وسترگرین ESR را انجام میدهیم و جواب ESR بدست آمده به دلیل رقیق نشدن با سیترات اصلاح میکنیم.

تفسیر : در ESR های زیر ۶۰ مقدار عددی ESR نمونه دوم ملاک است و تفاوت تا میزان ۱۲ بین نمونه اول و دوم و در ESR های بالای ۶۰ تفاوت تا میزان ۲۰ مجاز است و نشانه قابل قبول بودن نتایج روش دستگاهی می باشد.