

کنترل کیفیت در بخش هماتولوژی



ESR

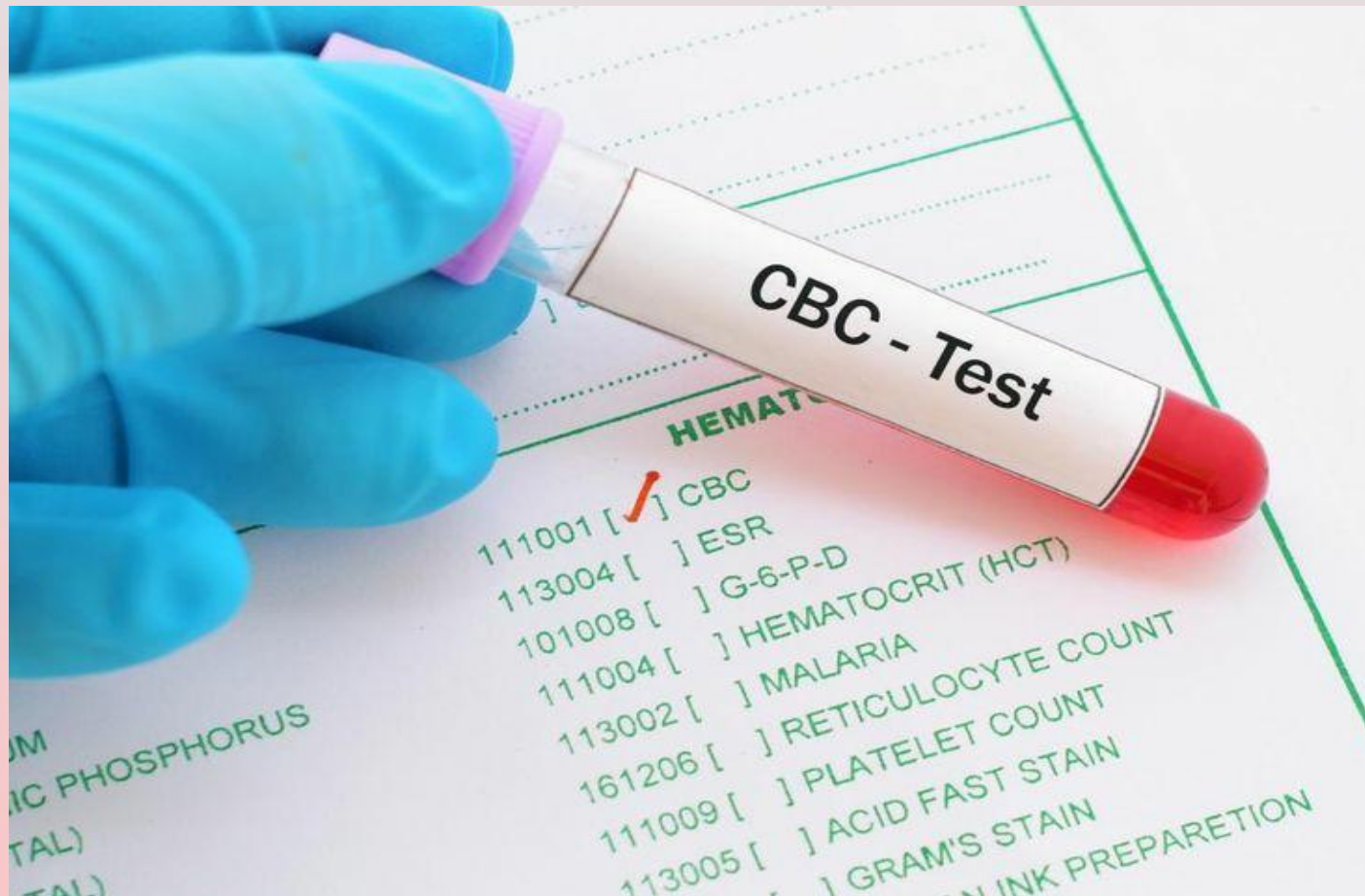


انعقاد



CBC

CBC



□ نمونه گیری

✓ پودری - لوله ی پلاستیکی

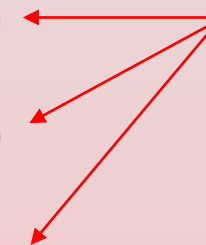
مایع - لوله ی شیشه ای

به دلیل رقت نمونه

K2

K3

• ضد انعقاد مورد نیاز ← EDTA

1. آموزش کار با دستگاه به صورت مکتوب توسط شرکت پشتیبان
2. ثبت و نگهداری کلیه موارد مربوط به نگهداری (تاریخ انجام شستشوها، تعویض محلول ها، تعمیر، سرویس و غیره)
3. ارزیابی روزانه شمارش زمینه (Background)
4. اجرای دستور شستشو در فواصل مورد نیاز در صورت تعداد بالای نمونه (روزانه، هفتگی و ماهانه)
5. کالیبراسیون دستگاه هر 6 ماه یکبار

 - نصب و راه اندازی / تعمیر یا سرویس
 - قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه
 - تعویض محلول ها در صورتی که منجر به تغییر نتایج خون کنترل یا نتایج بیماران گردد
6. استفاده از خون کنترل معتبر تجاری و تفسیر نتایج کنترل قبل از صدور گزارش نتایج بیماران

 - در صورت عدم دسترسی به خون کنترل انجام آزمون های دوپلیکیت، چک تست و دلتا چک
7. بررسی میزان عدم دقت و عدم صحت دستگاه
8. انجام Repeatability ماهانه با حداقل 2 نمونه در دو سطح

➤ بررسی Background :

- پس از روشن نمودن دستگاه، قبل از شروع به کار، پس از شست و شوی دستگاه، قبل از انجام اقدامات کنترل کیفی
- در صورت وجود نمونه به تعداد زیاد بهتر است در فواصل آزمایش ها نیز، دستور شست و شوی دستگاه و بررسی شمارش زمینه مجدداً انجام شود.
- مقادیر مربوط به شمارش زمینه هر دستگاه در دستورالعمل آن ارائه شده است. سازمان جهانی بهداشت نیز در این رابطه معیارهایی ارائه نموده است. ← سوابق ثبت و نگهداری گردد
- x در صورت خطای بک گراند : تعویض محلول – شست و شوی دستگاه – تماس با شرکت پشتیبان

➤ کالیبراسیون

✓ کالیبراتور تجاری

✓ تایید موفقیت روند کالیبراسیون

خون کنترل

مقایسه ی نتایج دستگاه با روش های مرجع بر روی چند نمونه خون

میانگین متحرک در خصوص شاخص های RBC

✓ در صورت عدم دسترسی به کالیبراتور تجاری

بیش از 3 نمونه خون طبیعی ← حداقل 2 بار با روش مرجع دستی و حداقل 2 بار با سل کانتر سنجش شود ←

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{میانگین روش دستگاهی} + \text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times 100$$

مثال: میانگین Hb دستی 140 g/L

میانگین Hb دستگاهی 145 g/L

$$\frac{140 - 145}{145} \times 100 = -3.44\%$$

96.56 → کاهش درفاکتور 100

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times \text{فاکتور کالیبراسیون قبلی}$$

□ روش های مرجع

پارامتر Hb : میان مت هموگلوبین

پارامتر Hct : میکروهماتوکریت

پارامتر WBC، RBC و PLT : کولترهای تک کاناله

عدم دسترسی

لام نئوبار

نکته: به علت خطا در پارامتر های RBC و PLT
ترجیحا کالیبر توسط شرکت های پشتیبان انجام گردد.

استفاده از خون کنترل

➤ کنترل کیفیت

کنترل کیفیت بر پایه نمونه بیماران

نمونه کمتر از 12 ساعت – روز بعد توصیه نمی کنند

□ استفاده از خون کنترل

- ✓ آزمایشگاه های بیمارستانی، آزمایشگاه های ارجاع و آزمایشگاه های مرجع باید حداقل از دو سطح نمونه کنترل استفاده نمایند.
 - ✓ ترجیحا در هر نوبت یا سری (Run) کاری همراه با نمونه بیماران
- Run: مدت زمان و یا تعداد نمونه ای است که شرایط سیستم اندازه گیری در آن مدت و یا طی آزمایش آن تعداد نمونه، از نظر صحت و دقت ثابت می ماند. ← حداقل در هر شیفت کاری
- ✓ اطمینان از ثبات و پایداری سیستم طی یک نوبت کاری ← به ازای هر 50 نمونه یک بار ← قرار دادن نمونه کنترل
- بین نمونه های بیماران و یا سایر روش ها بر اساس صلاحدید مسئول فنی و با توجه به منابع معتبر علمی (مانند دوپلیکیت)

■ Westgard rules

- حداقل 20 داده جهت محاسبه ی میانگین و SD

1_{2S} Warning

2_{2S} Reject / SE

1_{3S} Reject / SE-RE

4_{1S} Reject / SE Please note: this rule should only be interpreted within-run, not between-run

R_{4S} Reject / RE

$8_X - 10_X - 12_X$ Reject / SE

2 of 3_{2S} Reject / SE

7_T Reject / SE trend in the same direction

• خون کنترل تجاری :

✓ حتما به شکل وارونه روی میز قرار داده شود

✓ اصلا از روتاتور استفاده نشود

✓ حتما نیدل دستگاه تمیز شود

✓ قبل از استفاده حتما به دمای محیط رسانده و خوب میکس شود

✓ در صورت لزوم از ویال خون کنترل مجزا در شیفیت های مختلف استفاده گردد و یا ویال

تقسیم گردد

"خیلی از سلول ها سنتتیک و ساختنی هستند و به علت استفاده از نگهدارنده ها به شدت شکننده می باشند"

• خون کنترل تجاری :

- خوب میکس نکردن ← Shift میانگین به سمت پایین

بعد از آن میکس شود ← Shift میانگین به سمت بالا

Plt ↑↑ - WBC ↑ : OverMix -

Plt ↓ - WBC ↓ : UnderMix -

MCH و MCV ، Hb ، Plt ↑ : دمای بالا -

MCH و MCV ↑ و RBC ↓ : دمای پایین -

کنترل کیفیت بر پایه نمونه بیماران

1) آزمون T-Brittin یا T-test

✓ جهت اطمینان از پایداری کالیبراسیون

✓ استفاده از نمونه های خون تازه طبیعی

✓ تاثیر زیاد خطاهای قبل از انجام آزمایش ← کاهش ارزش تست ← در بیشتر منابع ذکر شده زیر 12 ساعت انجام شود

✓ بررسی نمونه در سطوح مختلف بالینی به صورت جداگانه

- مقایسه t بدست آمده با t critical :

t برای 5 نمونه > 2/78

t برای 10 نمونه > 2/26

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} \quad t_n = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

(2) بررسی عدم دقت (CV)

A- خون کنترل روزانه محاسبه CV و مقایسه با CV مجاز

B- تکرارپذیری ماهانه (Repeatability) – با 2 نمونه یا بیشتر



هنگام نصب، راه اندازی و پس از سرویس دستگاه سل کانتر الزامی می باشد

(3) آزمون Duplicate (مضاعف یا دوتایی)

جهت بررسی خطاهای تصادفی حین کار

در هر سری کاری – فاصله کم بین دو نمونه – خطای قبل از انجام آزمایش کمتر



4) آزمون *Check test* (بازبینی)

از سری کاری قبلی

در صورت نگهداری نمونه ها در شرایط مناسب (یخچال)

آنالیز آماری با
استفاده از فرمول
Duplicate

ابتدای ران کاری حداقل 5 نمونه پس از انجام در یخچال قرار داده می شود
ابتدای ران کاری بعد نمونه مجدد توسط دستگاه سل کانتر آنالیز می شود

نکته 1: اگر فاصله زمانی بیش از 6 ساعت باشد برای پارامتر Hct کاربردی ندارد.

نکته 2: بیشترین کاربرد این تست برای Hb می باشد.

• ارزیابی آزمون Duplicate و Check test :

ا. بدون داده های اولیه ← فقط محاسبه SD

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

اا. با استفاده از داده های اولیه ← محاسبه SD و CV

بر اساس برنامه کنترل کیفی آزمایشگاه در دوره زمانی مشخص یا بعد از کالیبراسیون و یا سرویس، ابتدا حداقل 30 نمونه به صورت دوتایی به دستگاه داده می شود و از فرمول زیر SD و CV به دست می آید:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} \quad CV = \frac{SD}{\sum x / 2n} \longrightarrow d < 2 SD \text{ و } 2CV$$

دامنه های مختلف - اعتبار و اطمینان بیشتر

5) آزمون میانگین متحرک

برای مراکز با پذیرش بالا (حداقل روزی 100 بیمار)

جهت پارامترهای ثابت MCV، MCH و MCHC

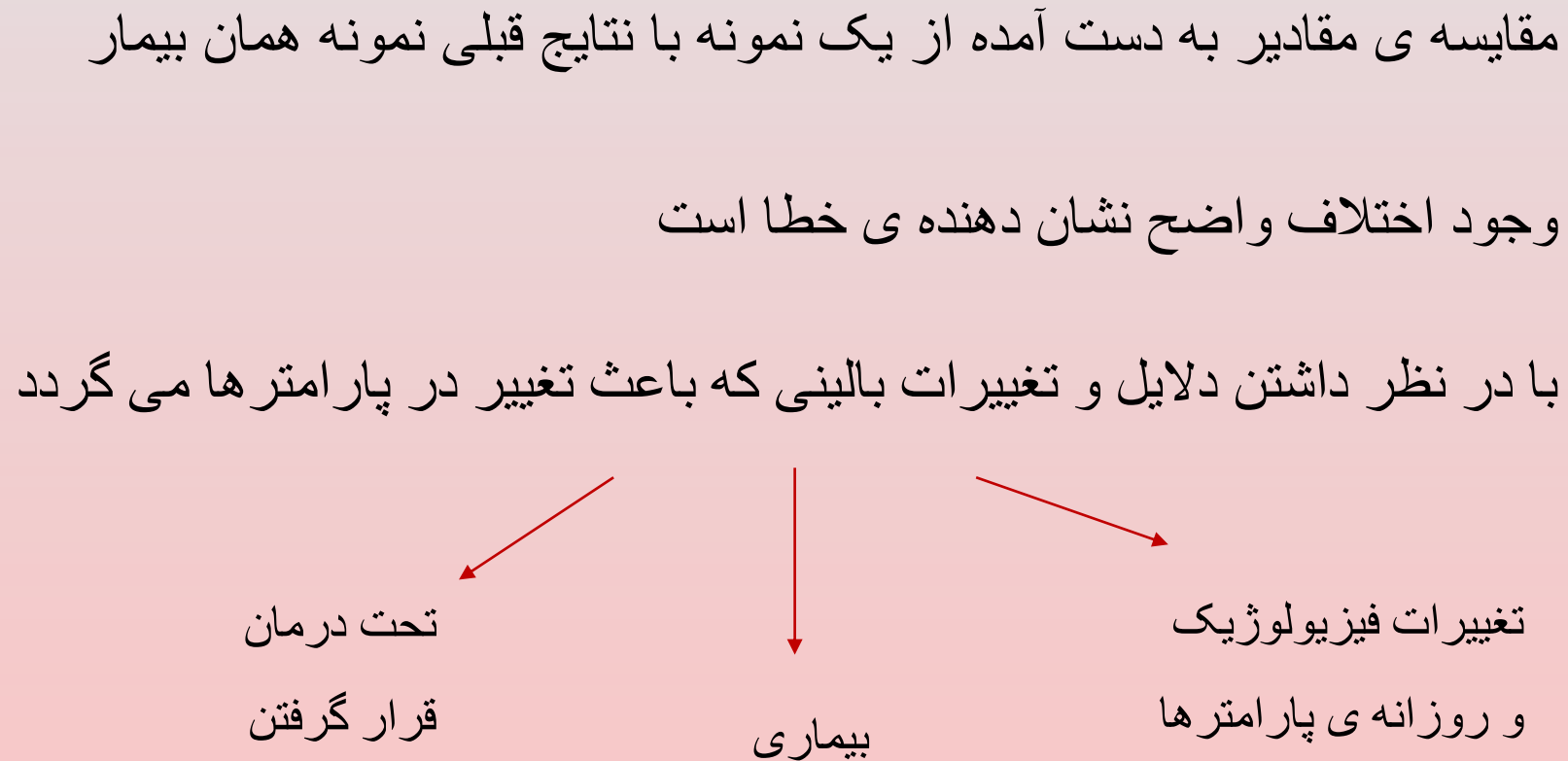
محاسبه میانگین و SD برای 300 تا 500 بیمار و رسم نمودار

(حذف نمونه های بیماران با بیماری های خاص مانند تالاسمی، IDA و غیره)

انتخاب تصادفی 20 بیمار به صورت روزانه و ثبت میانگین آن ها روی نمودار

هرگونه انحراف از مقادیر مجاز نمایانگر عملکرد نامناسب دستگاه (خطای سیستماتیک) می باشد

Delta check (6)



توصیه: فاصله ی بین دو آزمایش کمتر از 2 - 3 هفته باشد

Hb	2	g / dl
MCV	> 6	fl
MCH	> 5	pg
WBC	Normal to Abnormal	
Plt	Reduced or increased by more than 50%	

7) مقایسه ی بین دستگاهی

انتخاب یک دستگاه به عنوان رفرانس (دستگاهی در کنترل کیفی خارجی شرکت می کند)

ارزیابی نتایج با رگرسیون بین دستگاهی

(8) مقایسه ی نتایج دستگاه با گستره ی خون محیطی

پارامتر پلاکت - با عدسی $\times 100$

پارامتر WBC - با عدسی $\times 40$



❖ قوانین کلی تهیه گستره ی خون محیطی

برای دستگاه های هماتولوژی

Three Part Diff □

گزارش شمارش افتراقی گلبول های سفید و مورفولوژی سلول های خونی،
از طریق بررسی میکروسکوپی گستره های خونی

✓ نمونه های کنترل تجاری مخصوص شمارش افتراقی دستگاهی

✓ ارزیابی همخوانی (درصدی/تعدادی) نتایج دستگاهی با شمارش
دستی (به صلاحدید مسئول فنی)

✓ نمونه هایی که نتایج غیر طبیعی دارند و یا توسط دستگاه
نشانداز (Flag) می شوند.

Five Part Diff □

نکته: با توجه به این که انجام و گزارش شمارش افتراقی بخشی از شناسنامه آزمایش CBC در کتاب ارزش نسبی خدمات سلامت

می باشد، برای کلیه درخواست های آزمایش CBC باید شمارش افتراقی سلولی انجام و نتیجه گزارش شود.

انعقاد



✓ پلاسما کنترل

توصیه: آزمایشگاههای بیمارستانی، آزمایشگاههای مرجع و ارجاع که آزمایش های انعقادی برای بیماران با ریسک بالا انجام میشود ← دو سطح پلاسما کنترل (طبیعی و غیر طبیعی)

✓ Pooled Plasma

- در صورت عدم دسترسی به پلاسما کنترل

- با توجه به لزوم وجود فعالیت انعقادی 100% و اختلاف غلظت فاکتورهای انعقادی در افراد مختلف

حداقل 20 نمونه – مرد و زن طبیعی (غیر حامله که OCP مصرف نمی کنند)

تهیه به روش استاندارد

اطمینان از عدم آلودگی

نگهداری در -20 (ترجیحا کمتر از -50)

تعیین محدوده (20 بار آزمایش و محاسبه میانگین و SD)

✓ آزمایش انعقادی به روش دستی

- به صورت 2 تایی

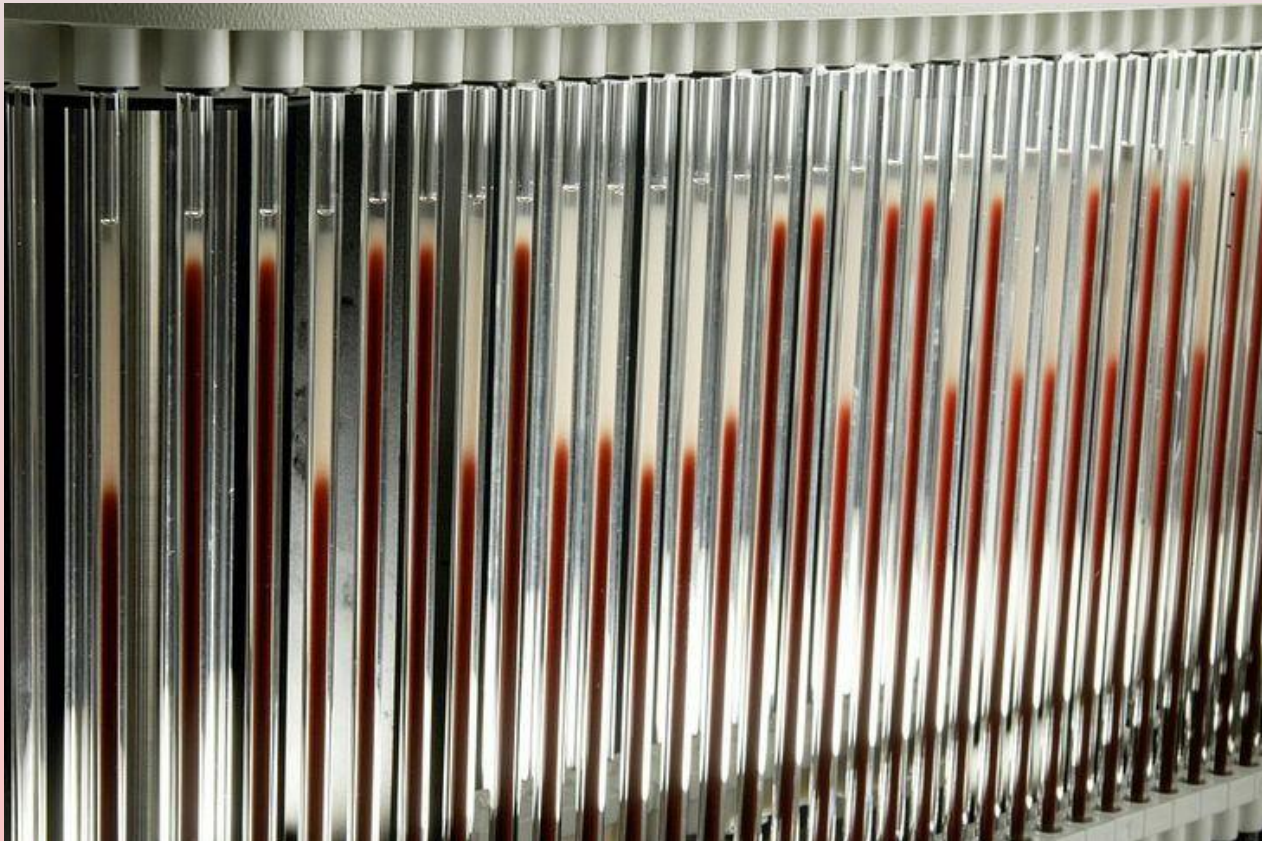
- محاسبه ی میانگین دو روش

- اختلاف دو نتیجه کمتر از 10% میانگین ← قابل قبول ✓

← در صورت فعال بودن دو روش در آزمایشگاه ← رگرسیون روش دستی با دستگاهی

← در صورت وجود دو دستگاه در آزمایشگاه ← رگرسیون بین دو دستگاه

ESR



❖ خطاهای تکنیکال ESR :

1. ماندن بیش از حد نمونه: حداکثر 4 ساعت – تبدیل RBC ها از حالت دیسکوئید به کروی ← ESR ↓

2. وجود ریز لخته در نمونه ← ESR ↑

3. عدم هموژنیزاسیون ← ESR ↑

4. ضد انعقاد زیاد ← ESR ↑

5. استفاده از لوله های پلاستیکی ← ESR ↑

6. موارد بیولوژیکی و داروها

↑ ESR { مصرف هپارین
مصرف داروهای ضد بارداری

7. بیماری ها

↓ ESR ← افزایش Hct ← دخانیات

❖ خطاهای تکنیکال ESR دستی - وسترگرین:

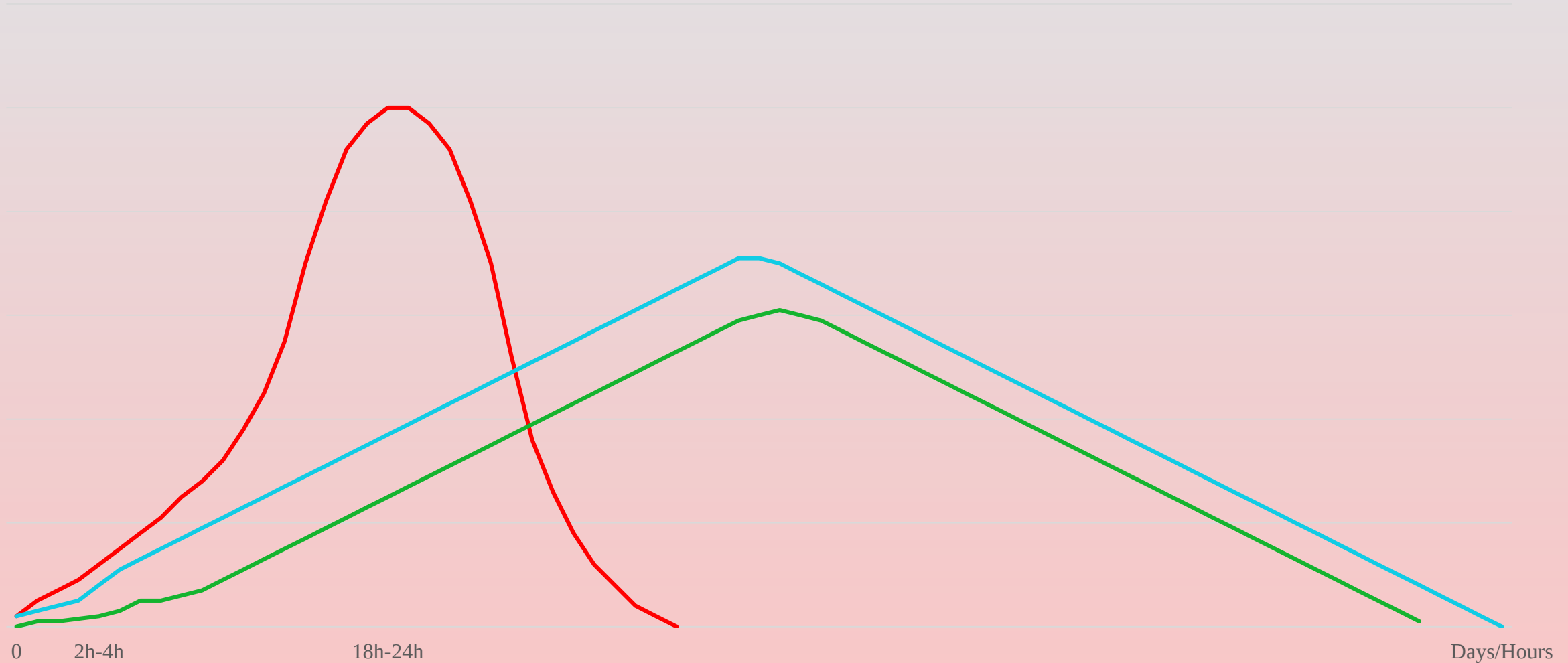
• شرایط لوله ها ← تمیز - فاقد آب - به دمای محیط برسد - فاقد حباب

• زاویه لوله ← 3 درجه انحراف باعث افزایش کاذب تا 30%

• مکان انجام تست ← سطح صاف - بدون لرزش - عدم تابش مستقیم نور خورشید ← ESR ↑

دمای محیط 20-25 درجه
↑ ESR ← بالاتر
↓ ESR ← پایین تر

C-Reactive-Protein : CRP ❖



ESR همزمان با Fibrinogen کاهش می یابد

By M.Eghdami

CRP کاهش سریع تر از ESR

فاز اولیه ی بیماری (فاز حاد بیماری) - غلظت خون (پلی سیتی)

(positive) CRP

(normal) ESR

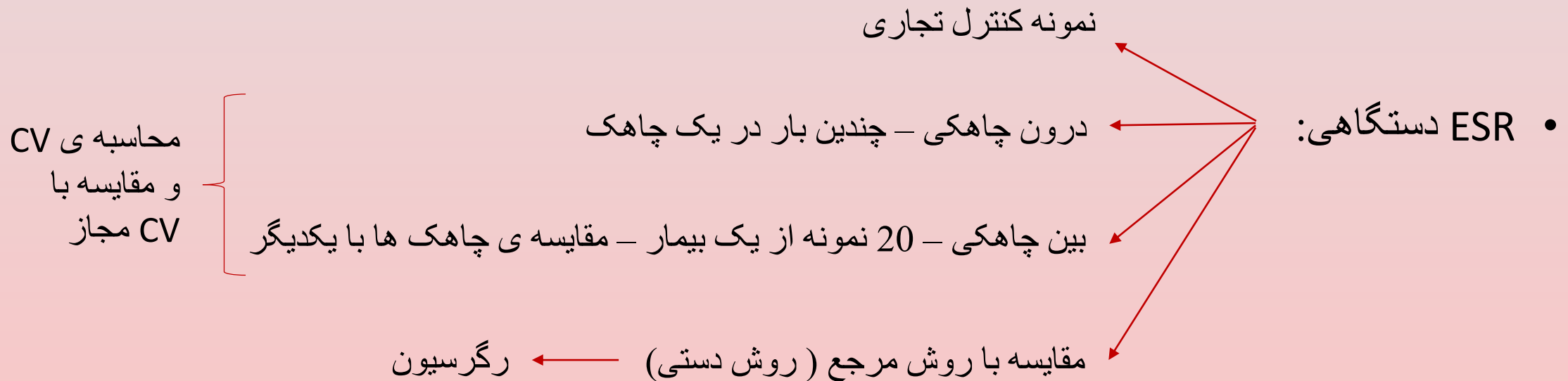
فاز نقاهت یا پایان بیماری - سرطان - کم خونی - بارداری

(negative) CRP

(positive) ESR

❖ کنترل کیفی ESR

- ESR دستی: چک لوله های وسترگرین از نظر کیفیت (تمیزی، عاری از هرگونه شکستگی و ترک خوردگی، عدم وجود قطرات آب در لوله و غیره) - زاویه لوله ها - دمای محیط و غیره



✓ بررسی عدم دقت روزانه دستگاه با جدول مخصوص دستگاه

جدول رابطه بین ارتفاع پلاسما داخل لوله و وسترگرین

no	Plasma length in tube	Westergren
۱	۵	۱۰
۲	۱۰	۲۳
۳	۱۵	۳۷
۴	۱۷	۴۳
۵	۲۰	۵۳
۶	۲۳	۶۳
۷	۲۵	۷۰
۸	۲۸	۸۲
۹	۳۰	۸۹
۱۰	۳۳	۱۰۲
۱۱	۳۵	۱۱۱
۱۲	۳۸	۱۲۴
۱۳	۴۰	۱۳۳
۱۴	۴۲	۱۴۳

کنترل کیفیت خارجی
مقایسه ی بین آزمایشگاهی

❖ ارزیابی صحت نتایج

❖ برنامه ارزیابی کیفیت خارجی

1. $DI < 1$: نتیجه مناسب

2. $1 < DI < 2$: قابل قبول اما بینابینی

3. $2 < DI < 3$: نیاز به بررسی روش آزمایش و یا کالیبراسیون

4. $DI > 3$: نیاز به اقدام فوری

- وجود علایم جبری مثبت و منفی در کنار مقدار کمی DI نشان دهنده پایین بودن یا بالا بودن نتایج آزمایشگاه نسبت به میانگین آزمایشگاه ها است.