مقدمه ای براصول کنترل کیفی در آزمایشگاه خونشناسی

آزمایشهای هماتولوژی مانند سایر تستهای آزمایشگاهی نیاز به برنامه‌های تضمین کیفیت مناسب دارند. از آنجائیکه بسیاری از آزمایشهای هماتولوژی ، کمیquantitative می‌باشند ، می‌توان از موارد ذکر شده در فصل دوم این مجموعه برای کنترل کیفیت آنها استفاده نمود.

در این فصل ضمن مرور مطالب گذشته ، موارد خاص مربوط به آزمایشهای هماتولوژی مطرح می‌شود.

بنابه توصیه سازمان جهانی بهداشت هر آزمایشگاه هماتولوژی متناسب با شرایط موجود نظیر تعداد کارکنان، تعداد نمونه ها ، تجهیزات بکار رفته، تنوع آزمایشها و... می بایست جهت اجرای برنامه تضمین کیفیت از تعدادی از روشهای کنترل کیفی زیر استفاده نماید:

برنامه های دائمی:

- مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با گسترش خون محیطی
- مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با وضعیت بالینی بیمار

برنامه های روزانه:

- استفاده از نمونه کنترل در هر سری کاری
- رسم نمودار کنترل با استفاده از نمونه کنترل
- انجام آزمایشهای مضاعف یا دوتایی duplicate برروی تعدادی از نمونه های بیماران (معمولا ۳-۴ نمونه در هر سری کاری)
- انجام آزمایش بازبینی (Check Test) برروی تعدادی از نمونه های بیماران (آزمایش ۳-۴ نمونه از سری کاری قبلی)

- بررسی تفاوت نتایج یک بیمار با آزمایشهای قبلی خودش (delta check)
- محاسبه میانگین اندکسهای خونی MCV ، MCH ، MCHC در صورت استفاده از سل کانتر
- محاسبه میانگین MCHC در صورت استفاده از روشهای دستی

اصول کار با دستگاههای شمارشگر سلولی اتوماتیک (سل کانتر)

۱- کار با دستگاه سل کانتر نظیر روشن کردن دستگاه ، توجه به گیجهای (gauge) فشار (برحسب نوع دستگاه و در صورت نیاز) ، نگهداری دستگاه (شستشوهای روزانه ، هفتگی ، ماهیانه و سایر موارد لازم) ، خاموش کردن آن و ... می‌بایست بطور کامل مطابق کاتالوگ دستگاه یا آموزش کارشناسان شرکت پشتیبان صورت گیرد . تاریخ وشرح آموزش توسط شرکت پشتیبان می بایست بصورت مستند موجود باشد .

درصورت تعویض کاربر دستگاه ، می بایست از آموزش وی در مورد چگونگی کار با دستگاه و نحوه نگهداری و اصول کنترل کیفی اطمینان حاصل نمود .

۲- کلیه موارد مربوط به نگهداری دستگاه ، از قبیل تاریخ انجام شستشوهای لازم ، تعمیر ، سرویس ویا تعویض محلولها می‌بایست ثبت ونگهداری شوند.

۳- هر روز شمارش زمینه یا Back ground دستگاه ارزیابی و در صورت امکان ثبت و نگهداری شود .

۴- در صورت وجود نمونه به تعداد زیاد بهتر است در فواصل آزمایشها ، دستور شستشوی دستگاه اجرا شود.

۵- بطور کلی دستگاههای سل کانتر هر شش ماه یکبار می بایست کالیبر شوند ولی انجام این امر در مواردی مانند ابتدای راه‌اندازی، پس از هر بار تعمیر یا سرویس ، قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه ، ویا تعویض محلولها (در صورتیکه موجب تغییر مشخص در نتایج خون کنترل و یا نمونه بیماران شده باشد) نیز ضروری می‌باشد.

۶- هر روز قبل از شروع آزمایش بر روی نمونه ها ، می‌بایست نمونه خون کنترل با تاریخ انقضای معتبر با دستگاه آزمایش شده و پس از اطمینان از قابل قبول بودن نتایج آن با استفاده از نمودار کنترل ، نسبت به آزمایش نمونه مراجعین اقدام نمود . (توضیح در مبحث کنترل کیفیت سل کانتر آمده است .)

۷- در صورت عدم وجود خون کنترل و یا برای کامل کردن ارزیابی عملکرد دستگاه ، می‌بایست روزانه از آزمون آماری T-Brittin استفاده شود . (توضیح این روش در مبحث کنترل کیفیت سل کانتر آمده است .)

۸- بررسی میزان عدم دقت وعدم صحت دستگاه بطور منظم انجام گردد.(در مبحث کالیبراسیون و کنترل کیفیت سل کانتر آمده است .)

نکته :جهت رعایت اصول ایمنی و جلوگیری از بروز اشکالات مربوط به نوسانات برق وجود سیم اتصال به زمین و تثبیت کننده نوسانات برق برای سل کانتر ضروری می باشد .

محلول های سل کانتر

۱- محلولهای دستگاه می بایست با تاریخ انقضا و سری ساخت مشخص از شرکت پشتیبان ویا سایر شرکتهای معتبر تهیه شوند

۲- وجود ذرات اضافی و نامحلول در این محلولها باعث تداخل در شمارش زمینه (Background) و خطا در شمارش سلولهای خونی خصوصا پلاکت می گردد.

۳- هنگام تعویض هر محلول تاریخ بازشدن روی آنها ثبت گردد.

۴- هیچگاه ته مانده محلول قبلی به محلول جدید اضافه نشود .

کالیبراسیون و کنترل کیفیت سل کانتر

کالیبراسیون

جهت کالیبراسیون سل کانترها کالیبراتورهای تجارتی وجود دارد که مقادیر هدف یا مورد نظر درآنها با روشهای مرجع کالیبر شده‌اند . این سوسپانسیون سلولهای خونی درصورت داشتن تاریخ انقضای معتبر وتاییدیه های لازم و بشرط رعایت دستورالعملهای کارخانه سازنده برای کالیبراسیون دستگاهها مناسب می باشند .موفقیت روند کالیبراسیون را می توان بوسیله آزمایش نمونه کنترل ، مقایسه نتایج دستگاه با انجام روشهای مرجع بر روی چند نمونه خون و کنترل دقیق میانگینهای متحرک در مورد شاخصهای گلبولهای قرمز تایید نمود .

درصورت عدم دسترسی به کالیبراتورهای تجارتی یاوجود هرگونه شکی نسبت بـه اعتبـار آن استفاده ازخون کامل جهت کالیبراسیون ضروری می باشد . برای کالیبراسیون باید از خـون طبیعی تازه ، استفاده کرد. برای اینکار پارامترهای حداقل ۳ نمونه خون کامل طبیعی دو بار بـا روشهای مرجع دستی و دو بارنیز با سل کانتر اندازه‌گیری شده و پس از محاسبه میـانگین هـر پارامتر با روش دستی و دسـتگاهی، بـا اسـتفاده از فرمـول زیـر فـاکتور کالیبراسـیون تعیـین می گردد. برای افزایش دقت این امر می توان از تعداد نمونه های بیشتری استفاده نمود.

$$(\text{Calibration Factor}) = \frac{\text{میانگین روش دستگاهی} _ \text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times 100$$

لازم به ذکر است روشهای مرجع برای انداره گیری هموگلـوبین ، هماتوکریـت و شـمارش گلبولهای سفید به ترتیب سیان‌مت‌هموگلوبین ، میکروهماتوکریت و استفاده از هماسیتومتر (با درجه بندی نئوبار اصلاح شده) می‌باشند . اخیرا در کتب مرجع کولترهای تک کاناله ،به عنوان روش مرجع برای شمارش گلبولهای سفید ، گلبولهای قرمز و پلاکتها عنوان شده اند کـه بعلـت عدم دسترسی به این تجهیزات در کشور ما کماکـان از هماسـیتومتر بـرای شـمارش سـلولهای خونی استفاده می شود ولی بعلت خطای زیاد در شـمارش گلبولهـای قرمـز و پلاکتهـا بـا ایـن روش ، بهتر است کالیبراسیون این دو پارامتر توسط شرکت پشتیبان صورت گیرد.

مثال: اگر میانگین اندازه گیری هموگلوبین به روش دستی ۱۴۰ گرم در لیتر وبا سل کانتر ۱۴۵ گرم در لیتر باشد، فاکتور تصحیح کالیبراسیون دستگاه با استفاده از فرمول زیـر محاسـبه می گردد:

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

در نتیجه ضریب کالیبراسیون دستگاه برای هموگلوبین می بایست ۳/۴۴ ٪ کاهش یابـد. بعنوان مثال اگر ضریب کالیبراسیون دستگاه قبلا ۱۰۰ بوده می‌بایست ۳/۴۴ ٪ کاهش یافتـه و روی ۹۶/۵۶ تنظیم گردد.

در بعضی از انواع سل کانترها مثل گروه سیسمکس ضریب کالیبراسیون جدید با استفاده از فرمول کالیبراسیون مندرج در کاتالوگ ، مستقیما به ترتیب زیر محاسبه می شود:

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

کنترل کیفیت

۱- از نمونه‌های کنترل سلولهای خونی که بطور تجارتی دردسترس می باشند می توان هرروز صبح و به فواصل درطی روزاستفاده و نتایج حاصله را بر روی نمودار ثبت نمود . برای رسم نمودار، می بایست نمونه کنترل ، به دفعات و درفواصل مختلف با دستگاه آزمایش شود تا حداقل ۲۰خوانده برای هر پارامتر حاصل گردد .پس ازمحاسبه میانگین و انحراف معیار های ± 1SD ، ± 2SD و ± 3SD برای هر پارامتر مقادیر آنها بر روی محور عمودی و روزها بر روی محور افقی ثبت می‌گردد . همانطور که در فصل دوم توضیح داده شد ، تفسیرنمودار کنترل کیفیت با استفاده از قوانین لوی جنینگ ، وستگارد یا WHO صورت می گیرد .

تفسیرنمودار کنترل (توصیه سازمان جهانی بهداشت) *WHO/ LAB/1998*

(1) One control value outside the mean ± 2SD
Warning
(2) One control value outside the mean ± 3SD
Reject:SE or RE
(3) 2 consecutive controls exceed mean ±2SD
Reject:SE
(4) 4 consecutive controls exceed mean +1SD or mean -1SD
Reject:SE
(5)6 consecutive controls on one side of the mean
Warning:SE

SE=Systematic error
RE=Random error

۲- در صورت فقدان خون کنترل و یاجهت کامل شدن روند کنترل کیفیت سل کانترمی توان از نمونه های خون بیماران استفاده نمود .باتوجه به پایداری پارامترهایی نظیرRBC،WBC، HCT،Hb و اندکس‌های خونی درنمونه خون به مدت ۲۴ ساعت دردمای ۴ درجه سانتیگراد، میتوان در روز اول حداقل ۵ وترجیحا" ۱۰ نمونه که دارای مقادیر طبیعی می‌باشند را پس از آنالیز

دریخچال نگهداری نموده ودر روز بعد مجددا" مورد آزمایش قرار داد و وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر نمونه های جفت را با استفاده از آزمون آماری T-Brittin محاسبه نمود

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

$$tn = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

n تعداد جفتهای مورد بررسی

d اختلاف بین دو خوانده (روز به روز)

SD انحراف معیار اختلافات

مقدار t برای هر متغیر محاسبه گشته که اگر مقدار آن برای ۵ نمونه از ۲/۷۸ و برای ۱۰ نمونه از ۲/۲۶ بیشتر باشد ، با اطمینان ۹۵٪ می توان گفت که بین مقادیر شمارش شده در دو روز ، اختلاف معنی دار وجود دارد . وجود اختلاف معنی دار برای یک متغیر بیانگر اشکال احتمالی بوده که در صورت تداوم آن جهت رفع اشکال می‌بایست اقدام مناسب صورت گیرد.

جدول ۱-۳ مثال: در صورتیکه نتایج حاصل از اندازه گیری هموگلوبین ۵ نمونه خون با استفاده از یک دستگاه سل کانتر در دو روز متوالی مطابق جدول زیر باشد، عملکرد دستگاه با کمک فرمول T-Brittin به صورت زیر بررسی می گردد:

جدول ۱-۳

مقدار هموگلوبین روز اول g/L	مقدار هموگلوبین روز دوم g/L	d	d^2
123	120	-3	9
135	139	4	16
176	181	5	25
155	150	-5	25
142	138	-4	16
$\Sigma d = -3$	$(\Sigma d)^2 = 9$		
$\Sigma(d^2) = 91$	$\bar{d} = \Sigma d / 5 = 3/5 = 0.6$		

$$SD = \sqrt{\frac{91 - \frac{9}{5}}{4}} = 4.72 \qquad tn = \frac{0.6\sqrt{5}}{4.72} = 0.28$$

چون عدد t بدست آمده از ۲/۷۸ (مقدار t برای ۵ نمونه)کمتر است ، نتایج هموگلوبین دستگاه قابل قبول می باشد .

۳- بررسی عدم دقت (CV) دستگاه بدو صورت انجام می شود .در صورت استفاده از خون کنترل ، می توان با استفاده از نتایج حاصله از نمونه کنترل که طی روزهای متوالی با دستگاه آزمایش شده، CV هر پارامتر را محاسبه نمود ودر صورت عدم دسترسی به خون کنترل ، می بایست از نمونه های روزانه برای اینکار استفاده کرد بدین ترتیب که هر ماه دو یا بیشتر نمونه را حداقل ده بار با سل کانتر مورد آزمایش قرار داده و از نتایج بدست آمده CV هر پارامتر را محاسبه نمود . در صورت عدم مطابقت CV هر پارامتر با ادعای دستگاه که در کاتالوگ مربوطه آمده است تماس با شرکت پشتیبان ضروری می باشد. بررسی عدم دقت دستگاه خصوصاً هنگام نصب و راه اندازی با استفاده از نمونه های طبیعی و غیرطبیعی الزامی می باشد.

جدول ۲-۳ مثال : اگرنتایج شمارش گلبولهای سفید یک نمونه توسط دستگاه سل کانتری به قرار زیر باشد ، میزان عدم دقت دستگاه برای شمارش مورد فوق به روش زیر محاسبه می گردد :

جدول ۲-۳

WBC × ۱۰^۹/L	$(x-\bar{x})$	$(x-\bar{x})^2$
7.6	-0.03	0.0009
7.5	-0.13	0.017
7.8	0.17	0.029
7.6	-0.03	0.0009
7.5	-0.13	0.017
7.9	0.27	0.073
7.5	-0.13	0.017
7.6	-0.03	0.0009
7.5	-0.13	0.017
7.8	0.17	0.029
Σx=76.3 $\bar{x}=7.63$		$\Sigma(x-\bar{x})$= 0.201

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

$SD = \sqrt{0.201 / 9} = 0.148$

$$CV\% = \frac{SD\times 100}{\bar{x}}$$

$0.148/ 7.63\times 100=1.9\%$

۴- درصورت عدم امکان انجام تمامی آزمایشها بصورت دوتایی (Duplicate) می بایست درهرسری کاری حداقل ۲-۳ نمونه به صورت مضاعف (Duplicate) آزمایش شوند تا با بررسی اختلاف خوانده ها از طریق محاسبات آماری از وجود خطاهای تصادفی آگاه شویم . افزایش اختلاف بین دو خوانده بیش از 2SD ، احتمال وجود خطای تصادفی را مطرح می نماید. فرمول زیر طریقه محاسبه SD نمونه های دو تایی را نشان می دهد:

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

مثال : مقدار هموگلوبین ۵ نمونه در دو بار اندازه گیری (Duplicate) به شرح زیر می باشد :

اندازه گیری اول (g/L)	اندازه گیری دوم (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

$$SD=\sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{\frac{112}{10}} =3.34 \qquad 2SD=6.7$$

تفاوت بیشتر از2SD بین دو نتیجه آزمایش در نمونه سوم ، نمایانگر بروز خطای تصادفی و لزوم تکرار آزمایش برروی همان نمونه می باشد.

۵- یکی دیگر از روشهای کنترل کیفیت آزمایش بازبینی (Check Test) است که در صورت نگهداری نمونه ها در دمای مناسب (یخچال) قابل اجرا می باشد .بدین ترتیب که در ابتدای سری کاری یا صبح حداقل ۲-۳ نمونه پس از آزمایش با درب بسته در یخچال نگهداری شده و در انتهای سری کاری و یا بعداز ظهر مجددا مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج حاصل از این دو آزمایش با استفاده از فرمول Duplicate test مورد بررسی قرار گرفته که اختلاف نتایج

در محدوده 2SD قابل قبول می باشد .اگر نمونه ها درست نگهداری شده باشند هرگونه تغییری در نتایج خارج از این محدوده نشاندهنده اشکال درعملکرد دستگاه ویامعرفها می باشد. این آزمایش برای بررسی هموگلوبین مناسب بوده و به میزان کمتر برای شمارش گلبولهای قرمز و سفید کاربرد دارد ولی برای هماتوکریت بخصوص اگر فاصله زمانی آزمایش نمونه ها بیش از ۶ ساعت باشد کارایی ندارد.

بهتر است نمونه هایی که برای آزمایش های بازبینی و مورد استفاده قرار می گیرند، یکسان باشند.

۶- در مراکز آزمایشگاهی با پذیرش بیمار زیاد (حداقل روزی ۱۰۰ بیمار)، بدلیل ثابت بودن مقادیر میانگین شاخصهای گلبولی (MCHC, MCH, MCV) در فواصل روزها و هفته ها، می توان از این شخصها جهت ارزیابی کیفیت عملکرد دستگاه استفاده نمود. در صورتیکه نمونه های مورد آزمایش در روزهای مختلف از نظر میزان اندکسهای خونی تفاوت مشخصی با یکدیگر نداشته باشند که منجر به تأثیر بارز بر روی میانگین ها گردد هر گونه تغییر مشخص در میانگین اندکسها نشاندهنده تغییر در کالیبراسیون یا اختلال عملکرد دستگاه می باشد. در این روش، میانگین و ± 2 SD اندکسهای MCHC, MCH, MCV حداقل ۳۰۰-۵۰۰ بیمار توسط سل کانتر محاسبه شده و نمودار رسم می گردد. سپس روزانه نمونه های بیماران را به گروه های ۲۰ تایی تقسیم نموده و روزانه با ثبت نتایج میانگین اندکسهای هر ۲۰ نمونه بر روی نمودار، هر گونه انحراف از مقادیر مجاز به سهولت شناسایی شده که می تواند نمایانگر عملکرد نامناسب دستگاه باشد. لازم به ذکر می باشد جهت اطمینان از قابل قبول بودن این روش، در انتخاب نمونه های ۲۰ تایی، باید این نکته را به خاطر داشت که نمونه ها بصورت اتفاقی انتخاب شده باشند و در هر دسته نیز بیش از ۷ نمونه دارای شرایط کلینیکی یکسان نباشند. این روش در حال حاضر بصورت برنامه نرم افزاری بر روی بسیاری از سل کانترها نصب می باشد.

۷- مقایسه مقادیر بدست آمده از یک نمونه با نتایج قبلی نمونه همان فرد (Delta check) به شرط درنظرداشتن نکاتی نظیر تغییرات فیزیولوژیک و روزانه پارامترهای خونی ، تحت درمان قرارگرفتن فرد به هر دلیل و تغییرات بالینی که باعث تغییرشمارش سلولها می گردند ، بعنوان روشی جهت کنترل کیفی بکار می رود . باتوجه به تغییرات روزانه طبیعی مقادیر خون در یک فرد ، وجود اختلافات واضح بیش از مقادیر ذکر شده در زیر نشان دهنده خطا می باشد . لازم به ذکر است استفاده از این روش در صورتیکه فاصله بین دو آزمایش بیش از ۲-۳ هفته باشد ، توصیه نمی گردد.

Hb	2	g/dL
PCV	0.05	
MCV	>6	fL
MCH	> 5	Pg
WBC	Normal to abnormal	
Platelets	Reduced or increased by more than 50%	

۸- مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با گسترش خون محیطی : در این روش نتایج حاصله از شمارش پلاکت و WBC توسط سل کانتر با تعداد سلولهایی که در لام خون محیطی شمارش شده، مقایسه می‌گردد. در جدول زیر ارتباط میانگین تعداد سلولهای شمارش شده در گسترش خون محیطی با تعداد تخمینی سلولها نشان داده شده است. بعنوان مثال اگر درگسترش خون محیطی با عدسی شیئی(۴۰×) ۶-۳ گلبول سفید دیده شود ، تعداد گلبولهای سفید بین ۱۰-۷ هزار خواهد بود.

جدول ۳-۳ کنترل کیفی میکروسکوپی شمارش سلولهای خونی با استفاده از یک گسترش خونی مناسب

میانگین تعداد گلبولهای سفید شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد (۴۰×)	تعداد تخمینی گلبولهای سفید ($\times 10^9 \backslash L$)	میانگین تعدادپلاکتهای شمارش شده در هر میدان دیدبا بزرگنمایی زیاد(دید روغن ۱۰۰×)	تعداد تخمینی پلاکتها ($\times 10^9$)
۲-۳	۳-۷	۲-۳	۵۰-۱۰۰
۴-۶	۷-۱۰	۴-۶	۱۰۰-۱۵۰
۷-۱	۱۰-۱۳	۷-۱	۱۵۰-۲۵۰
۱۱-۲۰	۱۳-۱۸	۱۱-۲۰	۲۵۰-۵۰۰

دستگاه میکرو هماتوکریت

دستگاه میکروهماتوکریت می بایست دارای مشخصات زیر باشد:

۱- شعاع چرخش بیشتر از ۸ سانتی متر ،

۲- توانایی رسیدن به حداکثر سرعت در عرض ۳۰ ثانیه،

۳- توانایی ایجاد RCF حدود ۱۰-۱۵ هزار g در محیط بمدت حداقل ۵ دقیقه بدون افزایش دما از ۴۵°C.

۴- داشتن زمان سنج اتوماتیک (با قابلیت تنظیم حداقل ۳۰ ثانیه)

RCF=میدان نسبی سانتریفوژ

RPM=دور در دقیقه

RCF= Relative Centrifugal Field
RPM = Revolution Per Minute
$RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$

کنترل کیفی و بررسی کالیبراسیون دستگاه میکروهماتوکریت

برای کنترل کیفی دستگاه توجه به موارد زیر ضروری می باشد:

- سرعت سانتریفوژ
- زمان سنج دستگاه
- حداکثر توان در تجمع سلول ها

سرعت سانتریفوژ(دوردقیقه) وزمان سنج دستگاه بترتیب با تاکومتر کالیبره و کرونومتر قابل بررسی میباشند.

برای بررسی حداکثر توان تجمع سلولی می توان از روش زیر استفاده نمود:

دو نمونه خون تازه حاوی ضد انعقاد K2EDTA که به خوبی مخلوط شده اند انتخاب می‌گردد. نمونه ها به مدت دو دقیقه سانتریفوژ شده و مقادیر آنها ثبت میشود، سپس هر ۳۰ ثانیه ، زمان سانتریفوژ را افزوده تا زمانیکه میزان دو هماتوکریت اندازه گیری شده پی در پی بدون تغییر بماند. این زمان به عنوان حداقل زمان لازم جهت متراکم نمودن گلبولهای قرمز در نظر گرفته می شود. این آزمایش بهتر است حداقل با یک نمونه دارای هماتوکریت ۰/۵ یا بیشتر نیز انجام شود. جدول ۴-۳ نمایانگر ارزیابی دستگاه میکروهماتوکریت جهت بررسی حداکثر توان تجمع سلولی می باشد.

جدول ۴-۳

Time	PCV	
	Sample 1	Sample 2
2.0	0.40	0.59
2.5	0.39	0.58
3.0	0.38	0.57
3.5	0.38 (minimum packing time)	0.56
4.0	-	0.55
4.5	-	0.55 (minimum packing time)

یافته‌های موجود در جدول بالا نشان میدهد زمان لازم جهت متـراکم نمـودن گلبولهـای قرمز برای دستگاه میکروهماتوکریت مورد آزمایش، در نمونه ای با میزان هماتوکریـت کمتـر از ۰/۵، ۳/۵ دقیقه وبرای نمونه ای با مقدار هماتوکریت بیشتر از ۰/۵، ۴/۵ دقیقه می باشد.

در صورتیکه ارزیابی عملکرد دستگاه میکروهماتوکریت بصورت مستقیم امکانپذیر نباشـد می‌توان از روش توصیه شده سازمان بهداشـت جهـانی جهـت بررسـی تـوان دسـتگاه بـه روش زیراستفاده نمود:

چند نمونه خون با هماتوکریت کمتر از ۰/۵ و حاوی ضدانعقادK2 EDTA (۱/۵میلی گرم برای هر میلی لیتر خون) پس از بیست بار سروته نمودن به صورت دوتایی به مدت ۳ ، ۵ ، ۷، ۹ و ۱۱ دقیقه سانتریفوژ و نتایج ثبت میگردد که در صورت مناسـب بـودن تـوان دسـتگاه (g) نتایج حاصله از دقیقه ۵ به بعد می بایست بدون تغییر باقی بماند .

جهت بررسی ابزار قرائت هماتوکریت می‌توان نمونه‌ای کـه هماتوکریـت آن بـا خـط‌کـش میکروهماتوکریت ۰/۵ قرائت گردیده و طول ستون سلول و پلاسمای حدود ۵ سانتی‌متر دارد را انتخاب کرده و روی خط‌کش معمولی طوری قرار داد که ابتدای ستون گلبول قرمـز روی خـط صفر خط‌کش و انتهای ستون سلول و پلاسما روی ۵ سانتی‌متر قرار گیرد. قرار گـرفتن انتهـای بالای ستون سلول بر روی خط ۲/۵ سانتی‌متر نـشاندهنده صـحت قرائـت توسـط ابـزار قرائـت هماتوکریت مورد استفاده می‌باشد.

کنترل کیفیت آزمایشهای انعقادی

برای انجام آزمایشهای انعقادی مانند سایر آزمایشهای کمی در هر سری کاری می بایست از نمونه پلاسما کنترل ودر صورت عدم دسترسی به پلاسما کنترل از مخلـوط پلاسـمای افـراد طبیعی pooled plasma استفاده نمود.

نمونه کنترلی باید حتی‌الامکان معیارهای مندرج در فصل دوم همین مجموعـه (انتخـاب مواد کنترلی) را اخذ نماید. استفاده از دو کنتـرل در دو سـطح مختلـف مـورد توصـیه مراجـع بین‌المللی می‌باشد.

در صورت عدم دسترسی به کنترل تجاری، می‌تـوان از مخلـوط پلاسـمای افـراد طبیعـی pooled plasma استفاده نمود.نظر به اختلاف غلظت فاکتورهای انعقادی در افراد مختلف و با

توجه به لزوم وجود فعالیت انعقادی ۱۰۰٪ ، برای تهیه این نمونه می‌بایست پلاسمای حداقل ۲۰ مرد و زن طبیعی (غیر حامله که OCP نیز مصرف نمی‌کنند) با هم مخلوط شود. پس از اطمینان از عدم آلودگی می‌توان نمونه را در لوله‌های پلاستیکی کوچک تقسیم و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد (دمای کمتر از ۵۰- درجه سانتی گراد ارجح می‌باشد) نگهداری نمود.

برای تعیین محدوده pooled plasma ، نمونه تهیه شده ، ۲۰ بار آزمایش و سپس میانگین و انحراف معیار نتایج محاسبه می‌شود. محدوده مورد انتظار mean ± 2SD می‌باشد.

در هر سری کاری می بایست نمونه کنترل یا pooled plasma مانند نمونه بیمار آزمایش و نتیجه آن با محدوده مورد انتظار مقایسه گردد. میزان مجاز پراکندگی نتایج برحسب CV حداکثر ۵٪ می‌باشد.

آزمایشهای انعقادی خصوصاً با روش دستی می بایست بصورت دوتایی انجام شوند. میزان تفاوت دونتیجه حاصله معیاری برای قابل قبول بودن نتایج است. برای این امر میانگین نتایج آزمایشهای دوتایی محاسبه شده و دو نتیجه‌ای که حداکثر به اندازه ۱۰ ٪ میانگین با هم فاصله داشته باشند، قابل قبول تلقی می‌شود و در غیر این صورت تکرار آزمایش ضروری می باشد .

جدول ۵-۳ میزان حداکثر تفاوت قابل قبول بین نتایج آزمایشهای دوتایی بر روی یک نمونه را بر حسب نتیجه آزمایش نشان می دهد.

جدول ۵-۳

نتیجه آزمایش (ثانیه)	حداکثر تفاوت قابل قبول بین نتایج دو آزمایش(ثانیه)
۰-۲۰	۱-۲
۲۱-۶۰	۲-۶
۶۱- ۱۰۰	۶-۱۰
>۱۰۰	۱۰-۲۰