

• کنترل کیفی در آزمایشهای PT و APTT

• تاریخچه

• بقراط: اولین رفرانس انعقاد خون قبل از میلاد مسیح

• ارسطو Celsus, و Gallens اولین بار موفق به کشف بیماریهایی با تمایل به خونریزی شدند .

• مانیتورینگ آنژی کوآگولانت تراپی (وارفارین) PT - (هپارین) APTT)

• اطمینان به نتایج تست :

• متغیرهای پرآنالیتیکال

• آنالیتیکال

• پست آنالیتیکال

• مطالعه ۴۰۰۰۰ گزارش آزمایش انعقادی:

• 68 % پرآنالیتیکال

• 13% آنالیتیکال

• 18% پست آنالیتیکال

• پر آنالیتیکال (مربوط به بیمار):

• سن

• گروه خونی

• زمان خونگیری (صبح - سرما)

• الکل-سیگار

• آسپرین

• حاملگی-قرص ضدحاملگی-منوپوز-زمان mens

• ورزش

• آنمی شدید - پلی سیتی-همولیز

• تصحیح سیرات سدیم $HCT < 20, HCT > 55$:

$$\bullet X = (100 - PCV) / (595 - PCV)$$

$$\bullet X = (100 - 55) / (595 - 55) = 0.08$$

• برای یک میلی خون باید ۰.۰۸ میلی سیرات و ۰.۹۲ میل خون ریخت

• پر آنالیتیکال (مربوط به خونگیری):

• خون وریدی در ظرف nonactivated

• پلاستیکی

• شیشه ای سیلیکونیزه

• محلول ۲٪ سیلیکون (Dimethyldichlorosilamine) در حلال لوله ها را بخیسانید (استفاده از دستکش و هود) سپس با

آب شسته و ۱۰ درجه ۱۰ دقیقه یا یک شب تا صبح بماند

- سوزن G 23-21 و بچه ها ۱۹-۲۲
- سرنگ کوچکتر از ۲۰ میلی انتخاب شود
- 30-15 دقیقه استراحت قبل از خونگیری
- همیشه در یک وضعیت ثابت
- تورنیکه کمتر از یک دقیقه
- خونگیری طولانی یا سخت نشود
- لوله به اندازه پر شود
- از محل ست تزریق وریدی نباشد
- مخلوط شدن مناسب خون و ضد انعقاد
- ضد انعقاد مناسب ۳.۲٪ با نسبت ۹/۱
- غلظت مناسب سیترات سدیم ۳.۲-۳.۳۱٪ میباشد
- اسمولاریته ۳/۲٪ به اسمولاریته پلاسما نزدیکتر است
- 3.2 دارای غلظت کمتری است و در هماتوکریت بالا کمتر تست را تغییر می دهد
- سازندگان کیت PT میزان ISI را با سیترات ۳/۲ ارائه میدهند
- سیترات 3.8% باعث بالارفتن INR میشود
- طرز تهیه سیترات سدیم:

مقدار مصرف	وزن مولکولی	تری سدیم سیترات
gr ۲۸	۲۵۸.۱	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇
gr ۳۰	۲۷۶.۱	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ,H ₂ O
gr ۳۲	۲۹۴.۱	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ,2H ₂ O
gr ۳۹	۳۵۷.۱۶	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ,5.5H ₂ O
gr ۴۹.۶	۴۵۶.۱	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ,11H ₂ O

- در یک لیتر آب حل کرده و به حجمهای ۱۰ میلی لیتری تقسیم کنید سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۱ درجه اتوکلاو شود
- در دمای ۴ درجه یخچال تا چند ماه پایدار است
- در صورت مشاهده کپک یا کدورت دور ریخته شود
- موارد عدم پذیرش نمونه:
- لوله ای که به اندازه کافی پر نشده باشد (کمتر از ۹۰٪)
- وجود لخته میکروسکوپی
- بعد از سانتریفوژ باید $Plt < 10^9 / l$
- معمولاً 1500 g به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت اتاق
- بهتر است سانتریفوژ swing out باشد
- اگر بعد از سانتریفوژ همولیز داشت
- نمونه ابکتریک، لیپمیک با اپتیکال آزمایش نشود
- پره آنالیتیکال (حمل و نقل نمونه):

• گذشت زمان به علت حساسیت فاکتورهای ۵، ۸

• افزایش دما منجر به افزایش تخریب

• سرما فاکتور ۷ را فعال می کند و PT کاهش می یابد .

• مدت زمان پایداری: PT, PTT

• PT تا ۲۴ ساعت دمای ۲۴-۱۸ یا ۴-۲ درجه سانتیگراد

• سانتریفیوژ شده یا سانتریفیوژ نشده با درب بسته و پلازما روی سلولها بماند.

• APTT : تا ۴ ساعت با همان شرایط بالا ایده آل تا ۲ ساعت است.

* در صورتیکه نمونه agitate شود مثلاً جای دیگری آزمایش شود پلازما ظرف یک ساعت جدا شده و تا ۴ ساعت آزمایش شود

* پلازما تا دو هفته در ۲۰- درجه و تا ۶ ماه در دمای ۷۰- پایدار است

• تجهیزات:

• بن ماری

• $37 \pm 5^{\circ} C$

• با آب مقطر پر شود

• یخچال و فریزر

• 4 ± 2 و $20 - \pm$

• در طول روز ری چک شود

• سانتریفیوژ

• تمیز باشد

• به صورت چشمی از نظر وجود ترک چک شود

• کنترل کیفی انجام شود

• لوله

• اندازه 75×10 mm برای انجام آزمایش شیشه ای

• برای رقیق سازی و نگهداری و تهیه محلول پلاستیکی

• بهتر است یکبار مصرف باشد یا اسید کرومیک شسته شود

• پی پت

• دقت و صحت آن کنترل شده باشد

• موقع کار دقت کرد مایع به خوبی کشیده و تخلیه شود

• کورنومتر (کنترل شده)

• زمان نمونه گیری

• فعالیت فیبرینولیتیک دارای الگوی سیکادین است و در ۶ صبح به حداقل میرسد

• در ارتباط با زمان تجویز دارو

• انتقال به آزمایشگاه

• هرچه زودتر انجام شود

• برای تهیه PPP بهتر است دو بار سانتریفوژ کرد یا با فیلتر ۰.۲ میکرومتری صاف کرد

• آنالیتیکال:

• کنترل کیفی

• کنترل کیفی داخلی هر روز انجام شود (Shift, trend, out of control) توسط فرد با تجربه تفسیر شود (

• نگهداری دستگاه و کیت مطابق بروشور سازنده

• SOP مطابق بروشور

• هر ماه یکبار نتایج QC دیده شود و تغییرات longterm

• شماره ساخت و تاریخ انقضا و تاریخی که معرف باز شده را ثبت نمود طوری که برای هر تست قابل ردیابی باشد

• در هر ران کاری کنترل نرمال و غیر نرمال گذاشته شود (غیر نرمال به تغییرات حساستر است)

• در شروع هر شیفت کاری و در آزمایشگاههای شلوغ هر ۴۰ تست

• در صورتیکه کنترل آب شده نمیتوان آن را فریز و دوباره استفاده کرد مگر به توصیه سازنده

• برای رسم منحنی:

9 ران طی ۳ روز و میانگین گرفته شود

SD قبلی استفاده شود

• هر ماه SD محاسبه شود

• هر چند وقت یکبار میانگین را با داده های جدید محاسبه کرد

• پلاسما نباید بیشتر از ۱۰ دقیقه در ۳۷ درجه Prewarm شود

• کلرید کلسیم گرم شده در پایان روز دور ریخته شود و دوباره استفاده نشود

• آب مقطر گرید ۱ برای معرف استفاده شود

• در مورد APTT زمان تماس معرف و پلاسما مهم است

• لوله شیشه ای باشد و در ۳۷ درجه Prewarm شود

• ترومبوپلاستین نباید بیشتر از یک ساعت در گرما بماند

• حرکت لوله برای قرائت به شکل سه تکان ۹۰ درجه ای در هر ۵ ثانیه باشد

• آزمایش هر بیمار دوپلیکیت گذاشته شود

• تفاوت آنها نباید از ۱۰٪ میانگینشان بیشتر باشد در غیر اینصورت خطای تصادفی است

(Test Time(sec	• Max. acceptable Difference between Duplicates(sec
۰-۲۰	۱-۲
۲۱-۶۰	۲-۶
۶۱-۱۰۰	۶-۱۰
>۱۰۰	۱۰-۲۰

• Postanalytical:

• 1 ISI = International Sensitivity Index.

- ISI is assigned by the manufacturer for each lot of reagent using reference material traceable to WHO

- The lower the ISI the more sensitive the Reagent
 - ISI of 1.8 to 2.4 = Low sensitivity
 - ISI of 1.4 to 1.8 = Average sensitivity
 - ISI 1.0 to 1.4 = High Sensitivity

• INR با PT ratio نسبت لگاریتمی دارد

• هر قدر ISI کمتر باشد اگر PT بیمار تغییر زیادی نکند INR تغییر زیادی نمی کند بنابراین اگر تولید کننده در محاسبه

ISI اشتباهی نکند در INR فرق زیادی نمیکنند

• نسبت $PT = 2$ در صورتیکه اختلاف $\pm 5\%$ در زمان PT باشد

• ISI=2 INR=3.7-4.3 ISI=1 INR=1.9-2.1

• بنابراین توصیه WHO (1.7-0.9) و ترجیحاً کمتر از ۱.۵ باشد

• توصیه CAP هم $ISI > 1.7$

• تعیین دامنه مرجع

20 • فرد سالم زن و مرد ۸۰-۲۰ سال و ترجیحاً ۱۰۰-۵۰ فرد باشد

• Geometric Mean محاسبه شود

• زمان خونگیری برای هپارین تراپی ۶ ساعت بعد از تزریق هر دوز است یعنی بین دو تزریق آزمایش شود چون دو

بار در روز تزریق انجام میشود

• دستگاهها:

(• برای هر دستگاه باید دامنه مرجع خودش را تعیین کرد)

• الکترومکانیکال

• فتوآپتیکال زمان کوتاهاتر از الکترونیکال است

• الکتروکمیکال

• برخی کیتها

• پلاسما گرم شود

• Amax

• Fisher

• Human

• فقط کلرید کلسیم

• انتقال خون

• بیونیک

• Biolabo

• Stago

• معرف گرم شود

• Dade

• Hemolience

• Amax

- Diamed
- Ortho
- Sigma
- Bahar afshan
- **PT**

• نگهداری

2 • ساعت اطاق یا ۴ ساعت یخچال

• سانتریفوژ

5 • دقیقه ۳۵۰۰

15 • دقیقه ۳۰۰۰-۲۰۰۰

• نگهداری نمونه در کیت‌های مختلف

• **APTT**

2 • ساعت اطاق و ۴ ساعت یخچال

•