خطاهای شایع در تست های انعقادی

مدیریت امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان دانشگاه علوم‌پزشکی اردبیل

نشریه علمی آزمایشگاه- نوبت سوم (آبان ماه 1402)

انعقاد خون فرآیندی است که با فعال شدن فاکتورهای انعقادی، لخته تشکیل می‌شود. این فرآیند از دو مسیر داخلی و خارجی اتفاق می‌افتد و محصول نهایی، تولید فیبرین از فیبرینوژن می‌باشد تا از بروز خونریزی یاگسترش آن جلوگیری شود. تست هایی که با عنوان تست های انعقادی شناخته می‌شوند طیف وسیعی از آزمایشات مثل PT، PTT، BT، CT، پروتئین C و S، فیبرینوژن، FDP، D-Dimer و ... راشامل شده و علاوه بر بررسی مسیرهای انعقادی، مسیر فیبرینولیتیک و اندازه‌گیری غلظت فاکتورهای انعقادی را نیز شامل می‌شوند.

بروز خطا در انجام تمامی تست‌های آزمایشگاهی محتمل می باشد و تست‌های انعقادی نیز از این قاعده مستثنی نیستند. جهت اطمینان از حصول نتایج صحیح باید شناخت کافی از منابع خطاهای احتمالی در سطوح مختلف وجود داشته باشد. به همین منظور در اینجا به بررسی این خطاها پرداخته شده است.

در مجموع، تمامی خطاهای آزمایشگاهی به 3 دسته کلی تقسیم می‌شوند:

الف- خطاهای پیش از انجام آزمایش

ب- خطاهای حین انجام آزمایش

ج- خطاهای بعد از انجام آزمایش

خطاهای شایع قبل از انجام آزمایش:

1- خطا در شناسایی و تعیین هویت بیمار: برای رفع این خطا باید بیمار نام و تاریخ تولد خود را به نمونه‌گیر بگوید و در صورتی که توان پاسخگویی ندارد، فردی باید هویت بیمار را تایید نماید.

2- خطا در شناسایی محل آناتومیک مناسب جهت نمونه‌گیری تست انعقادی: محل نمونه‌گیری **نباید** تروماتیک، دارای هماتوم و هرگونه آسیب موضعی باشد. همچنین تا جای ممکن بهتر است از وریدی با قطر مناسب استفاده شود. نمونه‌گیری از IV line در بیماران بستری احتمال آلودگی نمونه به هپارین را افزایش می‌دهد.

3- خطا در نحوه کاربرد تورنیکه و توزیع خون: تورنیکه نباید بیش از **یک دقیقه** بر روی بازو بسته باشد.

از نظر اولویت توزیع خون در ویال‌ها، ویال تست‌های انعقادی باید در اولویت اول باشد تا از هرگونه آلودگی نمونه به سایر ضدانعقادها مثل EDTA جلوگیری شود.

4- خطا در جمع‌آوری حجم استاندارد خون/خطا در حجم و غلظت ضد انعقاد سیترات مورد استفاده: ضدانعقاد مناسب سیترات سدیم 3.2٪ می‌باشد و نسبت ضدانعقاد به خون 1 به 9 است. همچنین بهتر است نمونه ناشتا تهیه شود یا اینکه توصیه شود بیمار غذای پرچرب مصرف نکند زیرا ممکن است باعث افزایش کاذب فعالیت فاکتورهای انعقادی II، IX، VI، VIIa و XIIa شود.

5- خطا در مخلوط کردن نمونه انعقادی: نمونه ها باید 3 تا 6 بار به آرامی سر و ته شوند تا خون و ضدانعقاد به خوبی مخلوط شود. اختلاط شدید ممکن

است منجر به همولیز و یا فعال شدن پلاکت‌ها شود.

6- خطای ناشی از همولیز نمونه انعقادی: تا جای ممکن بهتر است نمونه‌گیری با سرنگ انجام نشود تا احتمال همولیز به حداقل برسد. در صورت استفاده از سرنگ هرگز نباید خون را با شدت و سرعت داخل لوله ریخت زیرا باعث فعال شدن پلاکت و انعقاد می‌گردد.

7- خطای نگهداری نمونه انعقادی: بهتر است نمونه تست‌های انعقادی به محض جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل شود و زمان ایده‌آل برای انجام این تست‌ها تا یک ساعت بعد از خونگیری می‌باشد اما بازه زمانی مجاز برای انجام هرتست متفاوت بوده وباید رعایت شود.برای مثال نمونه PT، 8-6 ساعت و D-Dimer، 6 ساعت در دمای اتاق پایدار است، اما انجامaPTT نباید به بیش از چهار ساعت پس از نمونه‌گیری موکول شود. پایداری پلاسمای سیتراته در دمای یخچال 4-2 ساعت نسبت به دمای اتاق افزایش می‌یابد و تا 4 هفته در دمای 20°C- قابل نگهداری است.

8- خطای مراحل جداسازی نمونه انعقادی: جهت جداسازی پلاسما از خون باید نمونه 15-10 دقیقه با دور 1500 g سانتریفیوژ شود. این کار باعث می‌شود که میزان پلاکت در پلاسما به حداقل برسد و تداخلی در تست‌های انعقادی نداشته باشد.

9- خطای ناشی از انتخاب سوزن نامناسب و لوله آزمایش نامناسب: بهتر است از سرنگ لوله خلا برای نمونه‌گیری استفاده شود. در صورت استفاده از سرنگ معمولی، سرسوزن 23G -21 مناسب می‌باشد. همچنین قبل از انجام سانتریفیوژ باید ازعدم وجود لخته خون با استفاده از اپلیکاتور اطمینان حاصل شود.

10- خطای ناشی از عدم تنظیم میزان ماده ضدانعقاد در هماتوکریت‌های بالا(55 درصد) یا پایین: در هماتوکریت بالا به دلیل پلاسمای کمتر و عدم تناسب ضدانعقاد به خون، زمان تستهای PT و aPTT به طور کاذب افزایش می‌یابد ودرآنمی های شدید عکس این حالت رخ می دهد. به همین منظوردرصورت لزوم باید با استفاده از فرمول زیر حجم ضدانعقاد تصحیح شود :

= حجم ضدانعقاد تصحیح شده بر حسب µl یا λ

$$(\text{حجم خون})(100 - \text{HCT})(1.85 \times 10^{-3})$$

خطاهای شایع حین آنالیز در تست های انعقادی:

1- دستورالعمل کاری نامناسب تست انعقادی:

در صورتی که فرد انجام دهنده آزمایش طبق پروتکل موجود در کیت عمل کند و استانداردهای لازم را مطابق با دستورالعمل های صحیح انجام دهد از بروز چنین خطایی جلوگیری می‌شود.

2- وجود تداخلات موثر در نتیجه آزمایش:

سه ماده تداخلی اصلی که ممکن است نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهند عبارتند از هموگلوبین بدون سلول (مانند نمونه های همولیز شده)، کدورت (بیشتر مربوط به لیپیدها) و بیلی روبین (مانند ایکتروس). در حالی که کدورت و ایکتروس اصولاً باعث درجات مختلفی از تداخل نوری می شوند اما مشکلات ناشی از همولیز کاذب نمونه های خون بدتر است. در واقع، نه تنها به دلیل افزایش جذب نوری هموگلوبین ، تداخل اسپکتروفتومتری را به دنبال دارند، بلکه تداخل بیولوژیکی ناشی از آزادسازی فسفولیپیدها و مواد شبه ترومبوپلاستین را نیز شامل می‌شود که در نهایت باعث تاثیر کاذب بر نتیجه تست‌های انعقادی می‌شود.

3- اپراتور فنی کم تجربه یا بی تجربه:

+ ماندن طولانی مدت نمونه‌ها در دمای 37°C

+ ماندن طولانی مدت معرف‌ها در دمای 37°C

+ یکدست نبودن نمونه‌های ذوب شده ای که در فریزر جمع‌آوری شده‌اند.

+ بالا رفتن یا پایین آمدن دمای بن‌ماری و عدم توجه کاربر به این مسئله

4-استفاده از معرف فاسد و تاریخ گذشته

منابع خطای شایع پس از آنالیز در تست های انعقادی:

1- خطاهای ناشی از اشتباه تایپی

2- تحویل جواب های غیرنرمال بدون داشتن شرح حال دارویی

3- تحویل جواب بیماران سابقه دار بدون دلتا چک نتایج

نکته: آزمایش زمان پروترومبین به کاهش فاکتورهای 5 و7 و 10 حساس است و معمولا کاهش شمارش پلاکت روی نتایج زمان پروترومبین بی تاثیر است لذا تکرار تست PT نرمال در افراد با ترومبوسیتوپنی ضرورتی ندارد.

طولانی شدن کاذب زمان لخته شدن
• بالا بودن نسبت ضدانعقاد به خون • پلی‌سیتمی • آلودگی خون با ضدانعقاد هنگام نمونه گیری از کاتتر
کوتاه شدن کاذب زمان لخته شدن
• پایین بودن نسبت ضدانعقاد به خون • خونگیری تروماتیک • پلاسمای کدر (هیپرلیپمی، هیپربیلی‌روبینمی) در روش های نورسنجی • آنمی
کوتاه شدن کاذب زمان aPTT در بیماران تحت درمان با هپارین
• تاخیر در جداسازی پلاسما از پلاکت • افزایش فاکتور VIII (پروتئین فاز حاد)
افزایش کاذب زمان TT
• دیس‌فیبرینوژنمی • افزایش سطح FDP و پاراپروتئین • آمیلوئیدوز • هپارین و ضدانعقاد ضدپروترومبین • ضدانعقادهای شبه هپارین (در بدخیمی)
افزایش کاذب D-Dimer و FDP
• روماتوئید فاکتور، لیپمیک بودن ، همولیز
عملکرد کاذب غیرطبیعی پلاکت
• لیپیدمی • همولیز • ترومبوسیتوپنی
کاهش کاذب سطح فاکتورها/ مثبت کاذب در تست های آنتی کوآگولانت لوپوس
• هپارین • ضدانعقاد Argatroban ، Lepirudin • ضدانعقاد Danaparoid