



**Payvand**

Clinical Specialty Lab.



# Hematology Workshop

## Quality Assurance with emphasis on IQC of Cell Counters Day 1

**Behzad Poopak, DCLS PhD**

Head Payvand Clinical & Specialty Lab.

1392

# Objectives – Day 1

- **At the end of this workshop, participants will be able to define, describe ,explain, compare show and Do :**
- **Quality System, Quality Assurance & Quality Control in Hematology**
- **Pre-analytical, Analytical & Post-analytical phases of hematologic tests and parameters affect them**
- **Principle of QA program in Hematology**
- **Statistic methods and parameters for IQC**
- **Criteria for selection of cell counters**
- **Baseline parameters for cell counters including Precision, Accuracy, Calibration, Linearity check and carry over**

# Hematology Checklist

| ● دستگاه شمارنده سلولی خودکار (سل کانتر) |   |
|--|---|
| ۵  | آیا دستگاه شمارنده سلولی خودکار دارای تاییدیه های معتبر داخلی یا بین المللی است؟  |
| ۶  | آیا سوابق کالیبراسیون دستگاه شمارنده سلولی هنگام راه اندازی توسط شرکت پشتیبان موجود است؟  |
| ۷  | آیا سوابق نگهداری ، سرویس و تعمیر در دسترس بوده و قابل استفاده برای پرسنل فنی که با دستگاه کار می کنند می باشد ؟                      |
| ۸  | آیا پس از هر بار تعمیر ، سرویس و یا قابل قبول نبودن نتایج کنترل روزانه ، بررسی کالیبراسیون دستگاه انجام می گیرد و سوابق آن موجود است؟ |
| ۹  | آیا سوابق کالیبراسیون دوره ای دستگاههای شمارنده سلولی هر ۶ ماه موجود می باشد؟   |
| ۱۰                                       | آیا سوابق بررسی عدم دقت دستگاه شمارنده سلولی به طور ماهیانه موجود است ؟   |

# Hematology Checklist-2

| کنترل کیفیت   |    |
|---|----|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• شمارش سلول های خونی با استفاده از سل کانتر</li> </ul>  |    |
| <p>آیا در صورت عدم استفاده از کالیبراتور جهت کالیبراسیون اولیه از نمونه خون تازه ( حداقل ۳ نمونه ) ، استفاده شده است ؟</p>  | ۱۸ |
| <p>آیا برای کنترل کیفی روزانه از خون کنترل استفاده می گردد؟</p>   | ۱۹ |
| <p>آیا نمودار کنترل کیفی دستگاه به منظور تشخیص و رفع اشکال در عملکرد به طور مناسب ثبت یا رسم می گردد ؟</p>  | ۲۰ |
| <p>در صورت عدم دسترسی به خون کنترل از روش های زیر جهت کنترل کیفی دستگاه استفاده می گردد؟</p> <p>Check test - T-Britin -</p> <p>Delta Check - Duplicate test -</p> <p>Patient Mean -</p> | ۲۱ |

# Hematology Checklist-3

|    |  |
|----|--|
| ۲۲ | آیا سوابق اقدام اصلاحی در صورتی که نتایج کنترل کیفی خارج از محدوده مورد انتظار باشد، موجود می باشد؟  |
| ۲۳ | آیا در صورت وجود گلبول های قرمز هسته دار به تعداد زیاد ، روش مکتوبی برای اصلاح شمارش گلبول های سفید با دستگاه ، وجود دارد ؟  |
| ۲۴ | آیا روش اجرایی مناسب جهت شناخت و برخورد با نتایج غیر طبیعی که ناشی از خطاهای کاذب دستگاه است ، وجود دارد؟ ( مانند ماکروسیتوز کاذب ناشی از رولفورمیشن یا آگلوتیناسیون که منجر به کاهش کاذب تعداد گلبول های قرمز شده، یا لکوسیتوز شدید که باعث ایجاد خطا در اندازه گیری میزان هموگلوبین می گردد) |
| ۲۵ | آیا برای جلوگیری از گزارش خطاهای کاذب ناشی از شمارش دستگاهی ، هم خوانی نتایج غیر طبیعی با استفاده از بررسی میکروسکوپی گسترش خونی انجام می گیرد و سوابق انجام آن موجود است ؟  |
| ۲۶ | آیا نتایجی که خارج از محدوده های بالا و پائین تعریف شده برای هر پارامتر در دستگاه قرار می گیرند، قبل از گزارش بررسی و تایید می شوند ؟  |
| ۲۷ | آیا در صورتیکه در آزمایشگاه بیش از دو دستگاه سل کانتر وجود دارد نتایج آنها به طور دوره ای با یکدیگر مقایسه می گردد ؟   |

# Laboratory test results

(Good laboratory practice, GLP)



**Clinical diagnosis**



**Patient management**

# چرا کیفیت؟



# Peter Drucker :

“The first duty of business is to survive, and the guiding principle of business economics is not the maximization of profit , it is the avoidance of loss”



**The purpose of a business is to create a customer.**



امروزه با سخت شدن شرایط رقابت و پیچیدگی روزافزون  
فعالیت‌های تجاری شرایط حساسی برای بقا سازمانها ایجاد شده  
است.



- ✓ افزایش دانش و آگاهی گیرندگان خدمت
- ✓ افزایش تعداد و تنوع ارائه دهندگان خدمت
- ✓ ارتقاء سطح استاندارد های ارائه خدمت
- ✓ وضع قوانین و مقررات سخت گیرانه تر
- ✓ توجه افکار عمومی و رسانه های جمعی
- ✓ افزایش سرعت ارتباطات و مبادله اطلاعات



افزایش قدرت انتخاب و تصمیم گیری مشتریان

**The ultimate goal of quality system is to obtain test results that are Reliable, relevant, reproducible & as accurate as possible**

**TOTAL QUALITY**

## **Laboratory Quality Management**

Coordinated activities to direct and control an organization with regard to quality

ISO 9000:2000

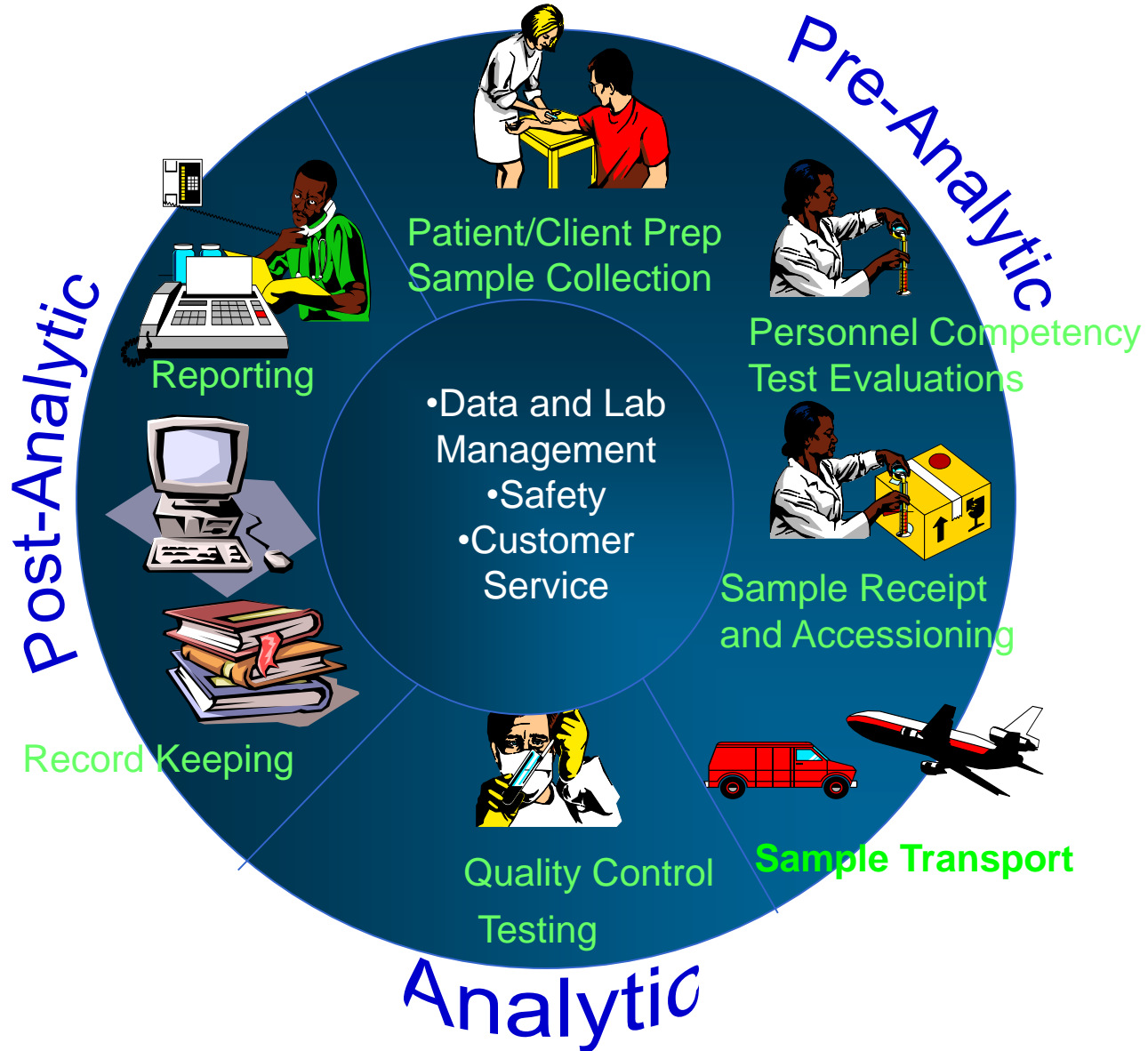
# **Quality Control vs. Quality Assurance**

**Quality Control is method control**

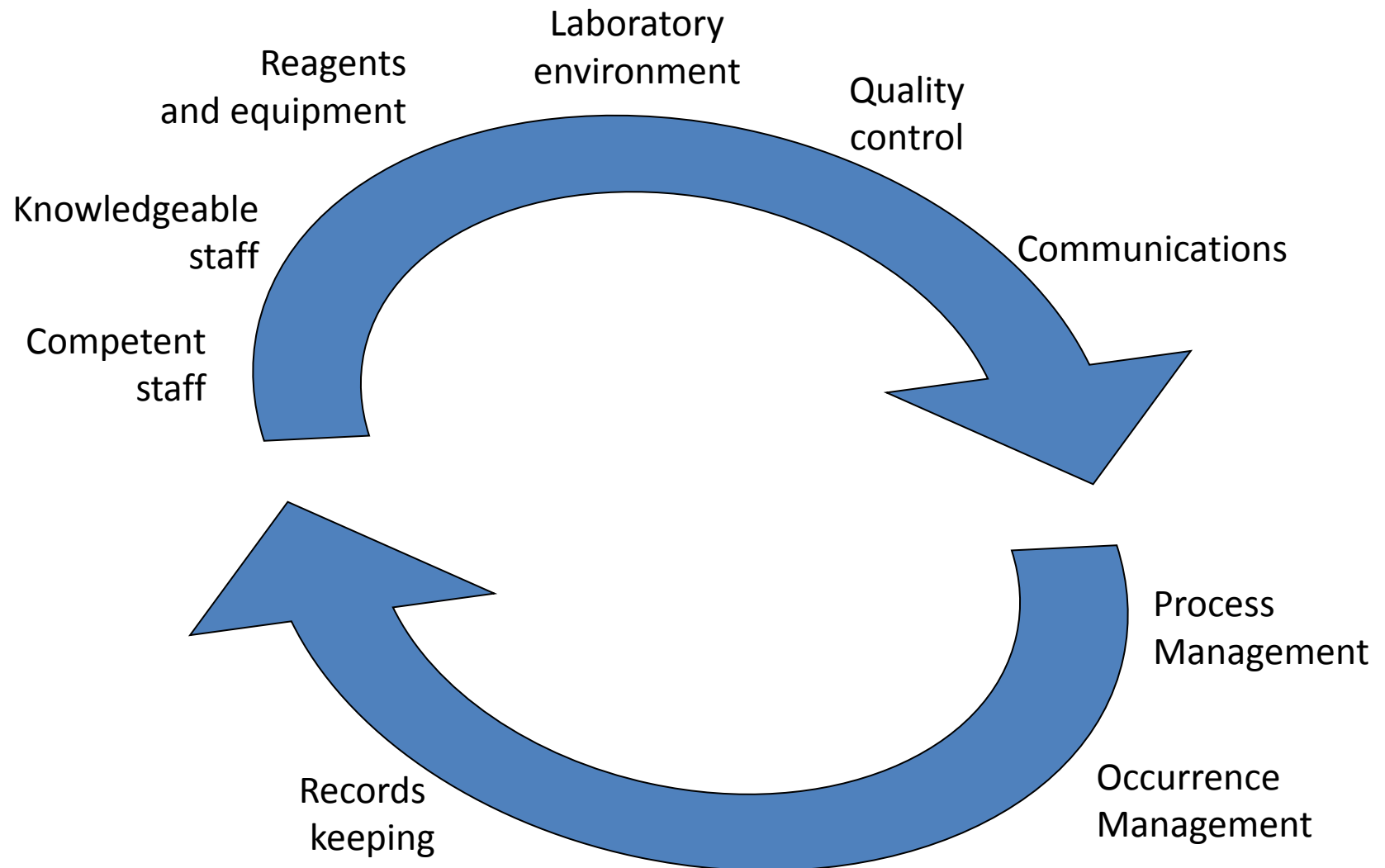
**Quality Assurance is process control**

**Quality System is the process of building quality into the entire system**

# The Quality Assurance Cycle



There are many factors that influence whether laboratory tests to be performed accurately and in a timely manner.



## Twelve Quality System Essentials

### Quality system essentials

Set of coordinated activities that function as building blocks for quality management.



# Good Laboratory Practice

Quality can be assured at

- Pre-analytical stage
- Analytical stage
- Post-analytical stage

آیا تمامی نمونه های دریافتی توسط بخش مورد  
ارزیابی قرار می گیرد؟ آیا برنامه ای برای تکرار  
نمونه و یا تست وجود دارد؟

- **Group Discussion**



# علل عدم پذیرش نمونه در بخشهای مختلف

## الف: معیارهای مشترک بین تمام بخش ها:

- ۱- نمونه هایی که بدون درخواست یا بدون ثبت در نرم افزار آزمایشگاه به بخش ارسال شده باشند.
- ۲- نمونه فاقد مشخصات یا دارای مشخصات ناقص باشد.  
(منظور از مشخصات، شامل: نام و نام خانوادگی، شماره پذیرش، تاریخ، ساعت، پذیرش، سن بیمار می باشد)
- ۳- خوانا نبودن اطلاعات و مستندات
- ۴- کافی نبودن حجم نمونه
- ۵- عدم استفاده از ضد انعقاد-نگهدارنده مناسب
- ۶- شکسته بودن ظرف یا لوله حاوی نمونه یا آغشته بودن خارج لوله
- ۷- نمونه هایی که بعد از ۴۵ دقیقه از زمان نمونه برداری به بخش ها تحویل گردد.

## ب: معیارهای اختصاصی بخش هماتولوژی:

- ۱- نمونه در بررسی ماکروسکوپی (با لوله inversion) وبا استفاده از اپلیکاتور دارای لخته باشد.
- ۲- نوع و حجم ضد انعقاد رعایت نشده باشد. به خصوص در آزمایش CBC، حجم کم نمونه و در آزمایشهای انعقادی حجم کم و زیاد نمونه

# Sample receiving

- Laboratory checks
  - quantity,
  - quality,
  - labeling,
  - request forms,
  - clot presence etc.

**If the required criteria are not met than the samples may be rejected**

# Example # 1

## Quantity not sufficient

- The effect of **fill volume** on coagulation results also depends on the **reagent** used for testing, **size** of the evacuated collection tube, and **citrate concentration**.
- **A minimum of 90% fill is recommended**; testing on samples with less than 90% fill should be validated by the laboratory.



# Example # 2

**Sample hemolysed /  
lipemic**



**QC at Pre-analytical stage**

# Example # 3

Name on vacutainer and name on the requisition form do not match



**X**

DEPARTMENT OF HAEMATOLOGY  
REQUISITION FOR HAEMATOLOGY

Case No. CV13442      Requisition No. AUZZ/HL/10012661      Date: 01/11/2016  
Name: **Maar MOBIN KAHR SUTAR**      Time: 10:33:21AM  
Sex/Age: M/2      Memo No.      NOCI  
Status: 1827 Out Patient  
Modality: HAEMATOLOGY  
Referring Doctor/Service: A K DECRUZ  
Clinical History:  
Provisional Diagnosis:  
Collection Time/Date:

Kharghar, Navi Mumbai - 410 210      PHONE : (022) 27405000, 64510372      FAX : (022) 27412894  
Email : mail@actrec.gov.in      Website : www.actrec.gov.in

# Example # 4

Outside of  
container  
contaminated by  
specimen



# Example # 5

Sample partially / fully clotted



# Example



Sample received without  
requisition form

DEPARTMENT OF HAEMATOLOGY  
REQUISITION FOR HAEMATOLOGY

|                          |                                       |                          |              |          |            |
|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--------------|----------|------------|
| Case No.                 | CP/2001                               | Requisition No.          | AD/24/100500 | Date     | 24/11/2011 |
| Sex/Age                  | M/18                                  | Referring Doctor/Service | DMG - BOM    | Memo No. | NOCI       |
| Status                   | NC/Out Patient                        | Modality                 | HAEMATOLOGY  |          |            |
| Referring Doctor/Service | DMG - BOM                             | Clinical History         |              |          |            |
| Provisional Diagnosis    |                                       | Collection Time/Date     |              |          |            |
| Nature of Material       | 1. Haemogram (Hb, TLC, DLC, Platelet) |                          |              |          |            |

Page 1 of 1

Kharghar, Navi Mumbai - 410 210. PHONE : (022) 27405000, 64510372 FAX : (022) 27412894  
Email : mail@actrec.gov.in Website : www.actrec.gov.in

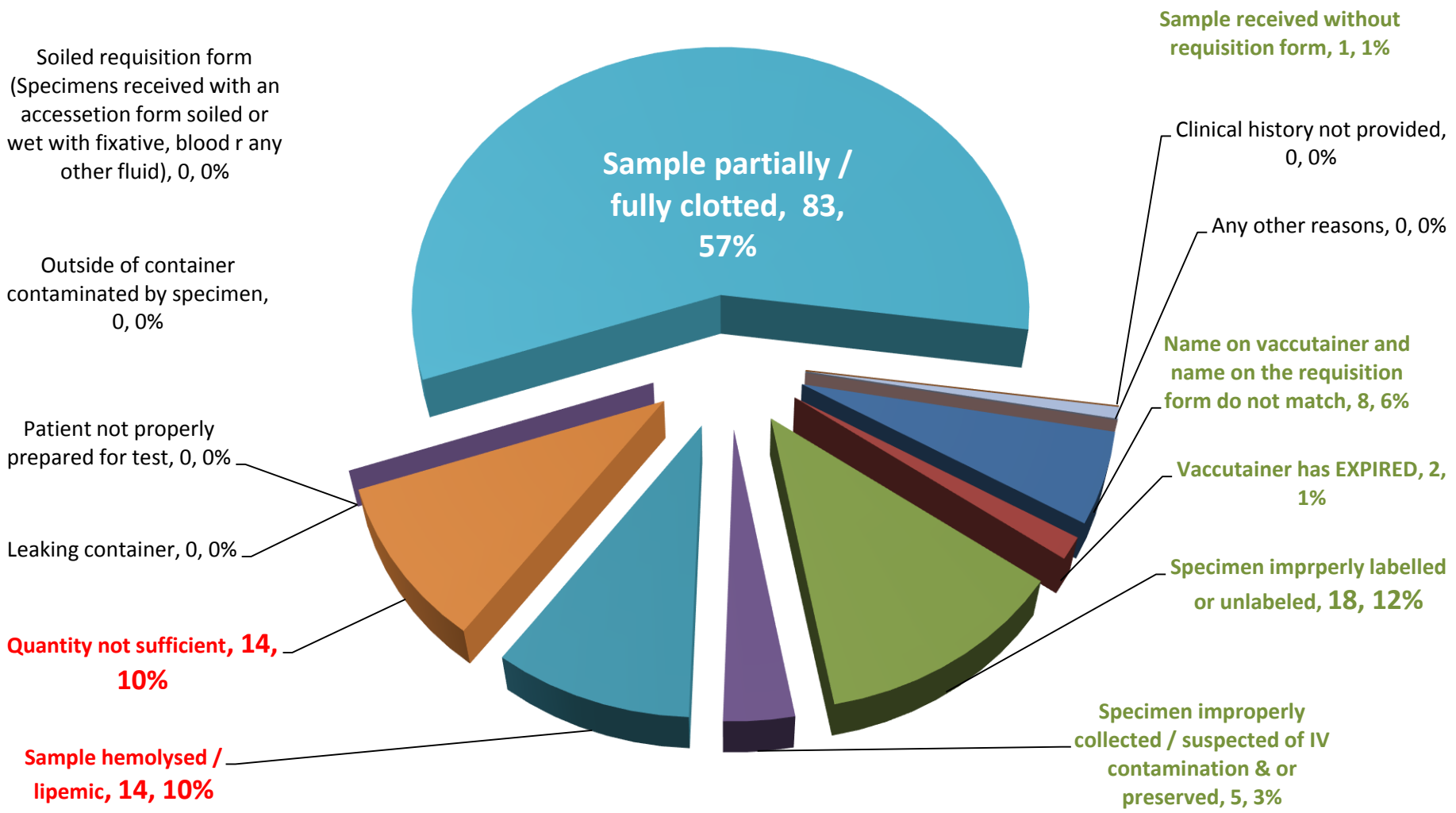
Kharghar, Navi Mumbai - 410 210. PHONE : (022) 27405000, 64510372 FAX : (022) 27412894  
Email : mail@actrec.gov.in Website : www.actrec.gov.in

A large red 'X' is drawn over the center of the form, indicating that the sample was received without a requisition form.

QC at Pre-analytical stage



# Analysis # 1



# Sample rejection analysis

A feedback of this kind to the concerned ward of the hospital may enhance **a positive attitude** towards quality improvement at pre-analytical stage

**Quality Indicator**

**Rejection analysis**

helps in  
**'Continual improvement'**

# اشکالات مربوط به نمونه

## Analyte instability

- Progressive temperature & time-dependent
- Unidirectional change in results
- Not affecting all analytes equally
- Least likely in stabilized blood prep.
- Over-vigorous mixing may also play a role
- Viral disease may cause reduced lymphocyte count due to cell fragility
- Cold agglutination may affect platelets as well as red cells

## اشکالات مربوط به نمونه

### Analyte non-uniformity

- Usually caused by *inadequate mixing*
- Fresh blood is less susceptible to this error than stabilized blood but is less able to withstand the mechanical stresses of mixing
- Mixing causes frothing should be avoided.

# اشکالات مربوط به نمونه

## Analyte non-uniformity

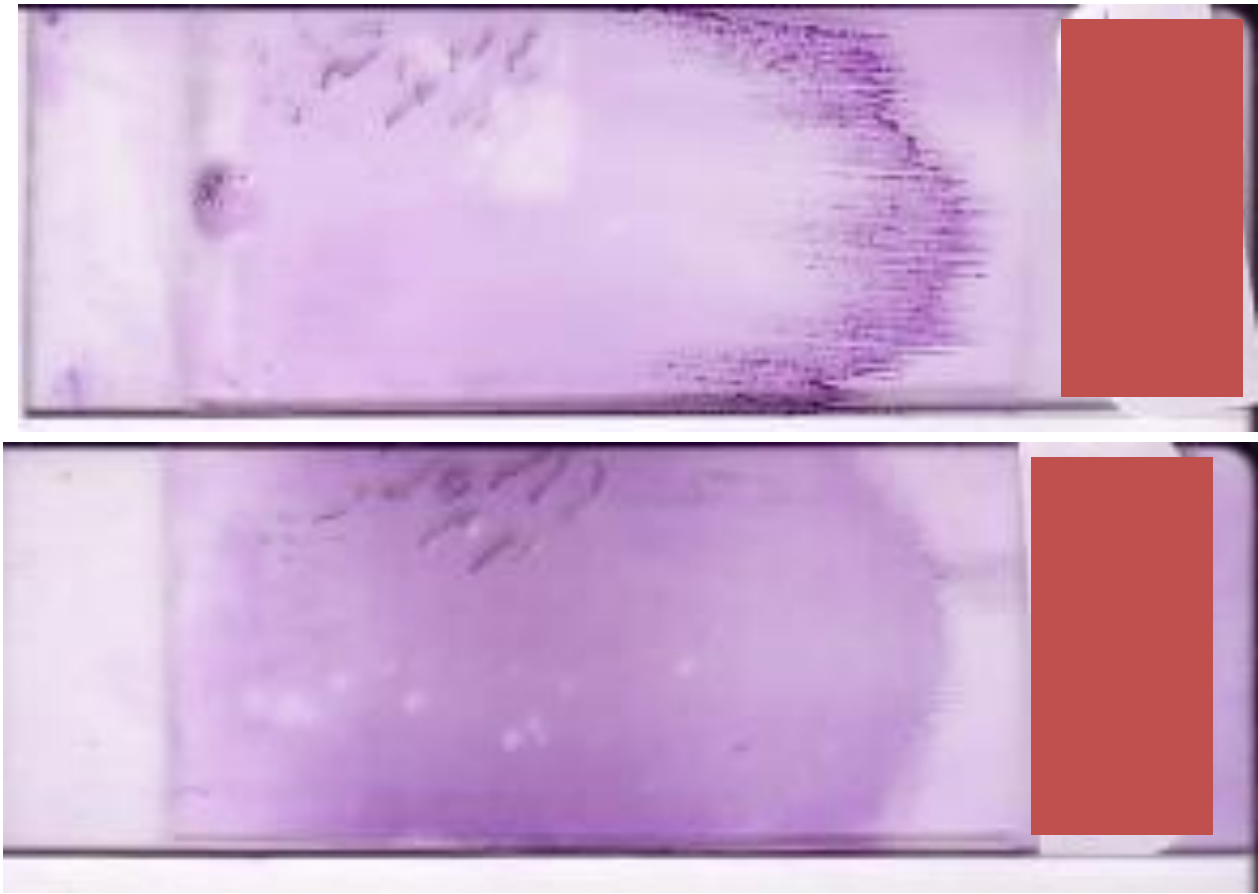
- **Two components of nonuniformity:**
  1. Nonuniform dispersion of the total cell mass throughout the plasma
  2. Nonuniform distribution of different cell types with respects to each other.
- To achieve *uniformity* of a WB suspension, make an *initial 10 complete inversions* of specimen container.
- A completely filled container gives poor mixing, an air bubble must be present
- If the specimen has been stored for **2-5** minutes, **3** additional inversions should proceed the assay.

# اشکالات مربوط به نمونه

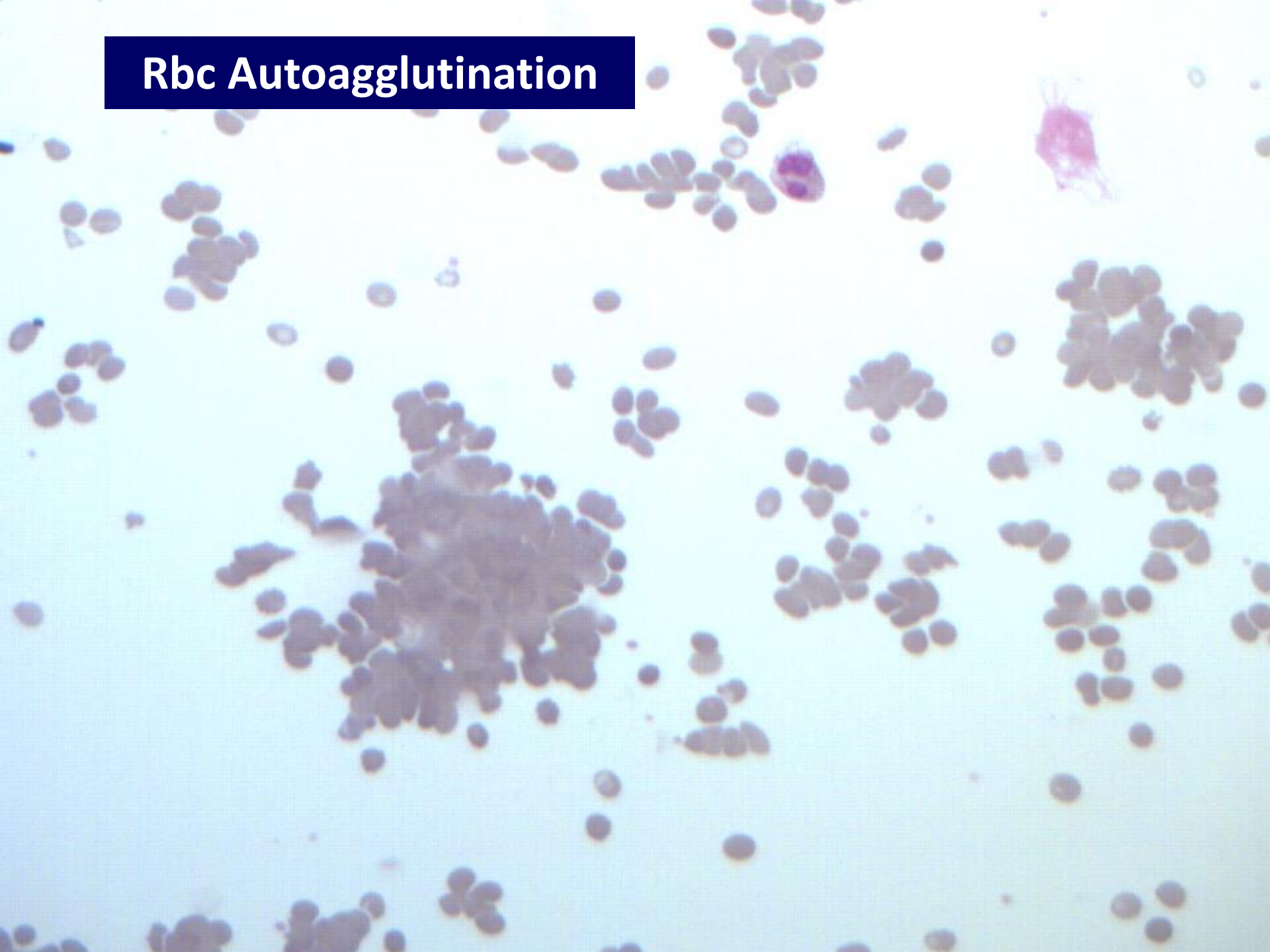
## Auto-agglutination

- Is a cause of unstable suspensions
- If not visible to the eye, **autoagg.** or **rouleaux** should be suspected if :
  1. **RBC ↓ with elevated MCHC**
  2. **MCV may be slightly to markedly increased**
  3. **The rule of thumb “  $3 \times \text{Hb} = \text{Hct}(\%) \pm 3$  ” is not met**
- Its presence can usually be confirmed by microscopy, but be aware that a warm slide may cause autoagglutinates to dissociate.
- Refrigerated specimens should be brought to RT before analysis

Please compare two smears



# Rbc Autoagglutination





# Approach to PB with Cold Auto-Ab

- The results obtained from the warmed specimen are reportable **unless**:
  - ***PLT decreases by > 50000/cumm***
- Occasionally warming the specimen will cause loss of platelets, **report the original PLT.**
- In presence of strong cold agglutinin titer ,the results may not correct after extended warming. ( **manual Hct, original WBC, Hb & PLT**)

# اشکالات مربوط به نمونه

## Anti-coagulant effect

- Fresh blood is more susceptible than preserved blood
- Insufficient blood to EDTA may cause shrinkage of all cell types, but rbc usually become restored (osmotic equilibrium with diluent)
- Leukocytes, rbc & platelets may be irreversibly changed & cause errors in the differential count & platelet count & MCV.

• در هنگام خرید و تحویل سل کانتربه شما چه  
فعالیتی انجام می دهید؟

**Group Discussion**

# حداقل اطلاعات موجود در شناسنامه

- Lab name & address
- Manufacturer name & address
- Model type & serial number
- Date of installation
- Identification of person involved in the installation
- Narrative of specific installation problems including solutions.
- Dated & signed documentation of final installation status
- Dated & signed log of system updates
- Dated & signed log of repairs, including description of parts replaced
- Dated & signed log of analyzer problems & description of steps required for resolution
- Name(s) & qualifications of key operator(s)

# کنترل کیفی سل کانتر تعیین پارمترهای پایه

- Provide **reference levels** for judging the performance of the analyzer subsequent to their measurement.
- Should be *established or verified* when a **new analyzer** is installed.
- Should be established or verified when a **modification or repair** is made that could significantly affect the analyzer performance.

# کنترل کیفی سل کانتر عدم دقت پایه

- Described by the ***SD*** of replicate assays of the same specimen
- Fresh blood or stabilized blood
- Should be made at ***high, normal & low*** analyte levels
- With fresh blood, ***low values*** can be made by dilution with its own plasma
- ***High values*** of concentration dependent analytes can be made by sedimentation with the specimen tube at a ***45° angle for two hours***, removal of one half the plasma & remixing.
- Analytes that are not conc. dependent ,e.g., MCV,MCH,MCHC,RDW,MPV & PDW may require a search for unique specimens.

# اندازه گیری عدم دقت پایه

- Make n consecutive assays
- Well mixed fresh or stabilized blood
- Preferred **n : 31**
- Fewer repeated assays (n=**10**) may be used
- If this is done, convert **SD** to confidence limits (**CL**)

**Table 1. Suggested Layout of Results from Measurement of Imprecision by Replicate Assays**

| Date ../../.. Time started ..... : ..... am/pm Time completed ..... : ..... am/pm |          |     |    |     |     |
|---|----------|-----|----|-----|-----|
| Technologist.....   |          |     |    |     |     |
| Material source. Fresh blood ID..... Stabilized blood Lot#.....Exp date.....      |          |     |    |     |     |
| Assay #   | Analytes |     |    |     |     |
|   | WBC      | RBC | Hb | MCV | Plt |
| 1   |          |     |    |     |     |
| 2   |          |     |    |     |     |
| 3   |          |     |    |     |     |
| 4   |          |     |    |     |     |
| 5,6,7, etc.   |          |     |    |     |     |
| 30  |          |     |    |     |     |
| 31  |          |     |    |     |     |
| Mean  |          |     |    |     |     |
| SD  |          |     |    |     |     |
| CV  |          |     |    |     |     |



# محاسبه انحراف معيار

This is the square root of variance, where variance ( $s^2$ ) is calculated from the formula:

$$\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1} \quad \text{where "x" = individual measurement and "}\bar{x}\text{" = mean, and}$$

$n$  = the number of measurements

Thus  $SD = \sqrt{s^2}$  or  $\sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$  It may also be expressed as  $\sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}}$  as  $d$  is sometimes used instead of  $(x - \bar{x})$  to describe the differences of each individual result from the mean.

| Test No. | x    | (x - $\bar{x}$ ) | (x - $\bar{x}$ ) <sup>2</sup> |
|----------|------|------------------|-------------------------------|
| 1        | 155  | +4               | 16                            |
| 2        | 148  | -3               | 9                             |
| 3        | 152  | +1               | 1                             |
| 4        | 147  | -4               | 16                            |
| 5        | 150  | -1               | 1                             |
| 6        | 156  | +5               | 25                            |
| 7        | 156  | +5               | 25                            |
| 8        | 157  | +6               | 36                            |
| 9        | 153  | +2               | 4                             |
| 10       | 150  | -1               | 1                             |
| 11       | 150  | -1               | 1                             |
| 12       | 147  | -4               | 16                            |
| 13       | 144  | -7               | 49                            |
| 14       | 152  | +1               | 1                             |
| 15       | 157  | +6               | 36                            |
| 16       | 152  | +1               | 1                             |
| 17       | 147  | -4               | 16                            |
| 18       | 152  | +1               | 1                             |
| 19       | 145  | -6               | 36                            |
| 20       | 150  | -1               | 1                             |
| 20       | 3020 |                  | 292                           |

$$\sum x = 3020; \quad \bar{x} = \frac{3020}{20} = 151.$$

$$\text{Thus SD} = \sqrt{\frac{292}{19}} = \sqrt{15.36} = 3.9192.$$

Thus, SD = 3.9, or practically 4 g/L.

# Coefficient of Variation, CV

This relates the SD to the actual measurement so that measurements at different levels can be compared:

CV (as a percentage) is calculated by  $\frac{SD}{\text{mean}} \times 100$ .

Thus, using the example given above,  $CV = \frac{3.9}{151} \times 100 = 2.58\%$ .

In another situation, for example, if the mean Hb = 60 g/L and SD = 3.9, then

$CV = \frac{3.9}{60} \times 100 = 6.5\%$ ; thus, at this level, the test is being performed with a much lower precision.

When the mean Hb is 60 g/L, to obtain a CV of 2.5%, the SD must not exceed 1.5 g/L.

# ارزیابی عدم دقت پایه

- May be stated as **SD** or **CL<sub>95%</sub>**
- In comparison made bet. *SD from different sources* convert SD to CL<sub>95%</sub> as follows:
- Multiply each SD by the value of *t* for (n-1)
- eg.: Lab N:31 ; manufacturer's labeled SD is based on n=16
- Therefore , multiply the lab SD by 2.0423 & manufacturer's SD by 2.1315.
- This will convert both SD's to CL<sub>95%</sub> ,making it possible to compare them

**Appendix.  $t$  Factors to Convert Standard Deviation to 95% Confidence Limits as a Function of  $n$**

| No. of assays ( $n$ ) | $t$ for 95% limits | No. of assays ( $n$ ) | $t$ for 95% limits |
|-----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| 1                     | 12.7062            | 17                    | 2.1098             |
| 2                     | 4.3027             | 18                    | 2.1009             |
| 3                     | 3.1824             | 19                    | 2.0930             |
| 4                     | 2.7764             | 20                    | 2.086              |
| 5                     | 2.5706             | 21                    | 2.0796             |
| 6                     | 2.4469             | 22                    | 2.0739             |
| 7                     | 2.3646             | 23                    | 2.0687             |
| 8                     | 2.306              | 24                    | 2.0639             |
| 9                     | 2.2622             | 25                    | 2.0595             |
| 10                    | 2.2281             | 26                    | 2.0555             |
| 11                    | 2.2010             | 27                    | 2.0518             |
| 12                    | 2.1788             | 28                    | 2.0484             |
| 13                    | 2.1604             | 29                    | 2.0442             |
| 14                    | 2.1448             | 30                    | 2.0423             |
| 15                    | 2.1315             | 31                    | 2.0395             |
| 16                    | 2.1199             | 32                    | 2.0369             |

| Parameter | Condition                           | Whole Blood Reproducibility CV /<br>absolute deviation d* |
|-----------|-------------------------------------|---|
| WBC       | $(4.0 \sim 15.0) \times 10^9/L$     | $\leq 2.5\%$  |
| Neu%      | 50.0%~60.0%                         | $\pm 5.0\%$   |
| Lym%      | 25.0%~35.0%                         | $\pm 3.0\%$   |
| Mon%      | 5.0%~10.0%                          | $\pm 2.0\%$   |
| Eos%      | 2.0%~5.0%                           | $\pm 1.5\%$   |
| Bas%      | 0.5%~1.5%                           | $\pm 0.8\%$   |
| RBC       | $(3.50 \sim 6.00) \times 10^{12}/L$ | $\leq 1.5\%$  |
| HGB       | (110~180) g/L                       | $\leq 1.5\%$  |
| MCV       | (80~110) fL                         | $\leq 1.5\%$  |
| PLT       | $(100 \sim 500) \times 10^9/L$      | $\leq 4.0\%$  |
| P-LCR     | $\geq 20\%$                         | $\leq 8.0\%$  |
| P-LCC     | $30 \sim 90 \times 10^9/L$          | $\leq 8.0\%$  |

# ارزیابی عدم دقت پایه

- The laboratory CL should not be greater than the manufacturer's SD
- If this condition meets this requirement, **calibration** may proceed
- If not ,there should be an investigation to determine the cause of the increased imprecision
- Corrective action should be taken before proceeding with calibration

# Accuracy at time of installation

- **Calibration**
- **Carry Over check**
- **Linearity check**



# ارزیابی صحت پایه

- Defined as the starting point against which future bias control information will be compared
- Verification of accuracy must be made immediately (<15 min.) after calibration or as directed by manufacturer.
- If delayed may be contaminated by drift or other analyzer error

***Zero bias means that any difference bet. the calibrator assigned values & the results of calibrator assay is due only to analytical imprecision***

# مشخصات کالیبراتور و راه حل در محدودیت

- تعریف : کالیبراسیون به مجموعه فعالیتهایی اطلاق می گردد که ارتباط میان مقادیر اندازه گیری شده یک ماده استاندارد یا کالیبراتور توسط یک دستگاه یا روش آزمایشگاهی را با مقادیر واقعی آن ماده که توسط روشهای مرجع اندازه گیری شده است مشخص می نماید.
- مواد کنترلی نمی توانند بعنوان جایگزین کالیبراتور استفاده شوند .
- کالیبراتور ماده ای است که برای کالیبراسیون روش آزمایشگاهی بکار می رود و دارای مقدار مشخص است درحالی که مواد کنترلی برای کنترل کیفیت روش آزمایشگاهی بکار می رود و اغلب دارای محدوده غلظتی می باشد

- Assigned values
- Stability
- Labeling

Reference assayed whole blood calibration

Rarely used today in medical institution but in IRAN it should done or calibration be done using results of calibrated cell counters

# Control material

- A device, solution, or lyophilized preparation intended for use in the quality control process.
- It should be similar to & analyzed along with, patient specimens.
- Control materials may or may not have known analyte concentrations (i.e., assigned values) within specified limits (target value  $\pm$  SD)
- Control materials are not used for calibration purposes.
- Used to measure precision.

**RD**  
SYSTEMS

**EuroCell**  
INTEGRATED

5800

**CBC-5DMR**

**CONTROL**

**LOT**

BC309

4



2013-11-05

ASSAY VALUES AND EXPECTED RANGES  
VALEURS CIBLES ET INTERVALLES DE VARIATIONS

QCP Data Months : September, October

Mois de Contrôle : Septembre, Octobre

Instruments : MINDRAY "QC MODE"

| Instrument | Parameter / Paramètre |  | CONTROL L      |                  | CONTROL N      |                  | CONTROL H      |                  |
|------------|-----------------------|--|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|
|            |                       |  | LOT BC309L     |                  | LOT BC309N     |                  | LOT BC309H     |                  |
|            |                       |  | Mean<br>Cibles | Limit<br>Limites | Mean<br>Cibles | Limit<br>Limites | Mean<br>Cibles | Limit<br>Limites |
| MINDRAY    | WBC/GB                | 10 <sup>9</sup> /µL & 10 <sup>9</sup> /L | 3,50           | + 0,50           | 8,20           | + 1,00           | 18,60          | + 2,50           |
|            | NEUT#                 | 10 <sup>9</sup> /µL & 10 <sup>9</sup> /L | 1,80           | + 0,35           | 4,63           | + 0,70           | 11,81          | + 1,35           |
|            | LYMPH#                | 10 <sup>9</sup> /µL & 10 <sup>9</sup> /L | 1,37           | + 0,35           | 2,50           | + 0,70           | 3,81           | + 1,15           |
|            | MONO#                 | 10 <sup>9</sup> /µL & 10 <sup>9</sup> /L | 0,14           | + 0,11           | 0,45           | + 0,35           | 1,30           | + 0,95           |
|            | EO#                   | 10 <sup>9</sup> /µL & 10 <sup>9</sup> /L | 0,18           | + 0,15           | 0,57           | + 0,45           | 1,58           | + 1,15           |
|            | BASO#                 | 10 <sup>9</sup> /µL & 10 <sup>9</sup> /L | 0,02           | + 0,02           | 0,04           | + 0,04           | 0,09           | + 0,09           |
|            | NEUT%                 | %  | 51,5           | + 9,0            | 56,5           | + 8,0            | 63,5           | + 7,0            |
|            | LYMPH%                | %  | 39,0           | + 9,0            | 30,5           | + 8,0            | 20,5           | + 6,0            |
|            | MONO%                 | %  | 4,0            | + 3,0            | 5,5            | + 4,0            | 7,0            | + 5,0            |
|            | EO%                   | %  | 5,0            | + 4,0            | 7,0            | + 5,0            | 8,5            | + 6,0            |
|            | BASO%                 | %  | 0,5            | + 0,5            | 0,5            | + 0,5            | 0,5            | + 0,5            |



CALIBRATION VALUES AND ACCEPTABLE RANGE  
VALEURS DE CALIBRATION ET LIMITES

Use Month: **May**

Mois d'utilisation: **Mai**

**Instruments : MINDRAY**

| Instrument  | Parameter / Paramètre                                  | CAL  |  |               |
|---|--|--|--|---------------|
|   |  | LOT  | PLUS053                                      |               |
|   |  | Calibration Values<br>Valeurs de Calibration       | Acceptable Range<br>Limites                  |               |
| <b>MINDRAY</b><br><br><b>BC-2800, BC-2600</b><br><b>BC-2800Vet, BC-2600Vet</b><br><br>(Software version 2.0 or higher)<br>(Version supérieure ou égale à 2.0) | WBC/CB   | $10^9/\mu\text{L} \text{ \& } 10^9/\text{L}$       | 9,5  | 9,3 - 9,7     |
|   | RBC/GR   | $10^{12}/\mu\text{L} \text{ \& } 10^{12}/\text{L}$ | 4,54   | 4,46 - 4,62   |
|   | Hgb  | g/dL   | 13,9   | 13,7 - 14,1   |
|   |  | g/L  | 139  | 137 - 141     |
|   | Hct  | mmol/L   | 8,63   | 8,51 - 8,75   |
|   |  | %  | 40,6   | 39,7 - 41,5   |
|   |  | L/L  | 0,406  | 0,397 - 0,415 |
|   | MCV/VGM  | fL   | 89,5   | 87,5 - 91,5   |
|   | Plt  | $10^9/\mu\text{L} \text{ \& } 10^9/\text{L}$       | 240  | 228 - 252     |
|   | <b>MINDRAY</b><br><br><b>BC-5800</b><br><b>BC-5600</b> | WBC/CB   | $10^9/\mu\text{L} \text{ \& } 10^9/\text{L}$ | 9,40          |
| RBC/GR  |  | $10^{12}/\mu\text{L} \text{ \& } 10^{12}/\text{L}$ | 4,56   | 4,48 - 4,64   |
| Hgb   |  | g/dL   | 13,6   | 13,4 - 13,8   |
|   |  | g/L  | 136  | 134 - 138     |
| Hct   |  | mmol/L   | 8,45   | 8,33 - 8,57   |
|   |  | %  | 40,8   | 39,9 - 41,7   |
|   |  | L/L  | 0,408  | 0,399 - 0,417 |
| MCV/VGM   |  | fL   | 89,5   | 87,5 - 91,5   |
| Plt   |  | $10^9/\mu\text{L} \text{ \& } 10^9/\text{L}$       | 259  | 247 - 271     |
| <b>MINDRAY</b><br><br><b>BC-3600</b><br><b>BC-3300</b>  |  | WBC/CB   | $10^9/\mu\text{L} \text{ \& } 10^9/\text{L}$ | 9,3           |
|   | RBC/GR   | $10^{12}/\mu\text{L} \text{ \& } 10^{12}/\text{L}$ | 4,66   | 4,58 - 4,74   |
|   | Hgb  | g/dL   | 13,7   | 13,5 - 13,9   |
|   |  | g/L  | 137  | 135 - 139     |
|   | Hct  | mmol/L   | 8,51   | 8,39 - 8,63   |
|   |  | %  | 40,3   | 39,4 - 41,2   |
|   |  | L/L  | 0,403  | 0,394 - 0,412 |
|   | MCV/VGM  | fL   | 86,5   | 84,5 - 88,5   |
|   | Plt  | $10^9/\mu\text{L} \text{ \& } 10^9/\text{L}$       | 259  | 238 - 282     |

High     Low     Normal نوع خون کنترل

| Parameter  | WBC                       | RBC                       | HGB         | HCT         | MCV         | MCH         | MCHC        | PLT                       |
|--|---------------------------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------------------|
| Unit   | $\times 10^3/\text{mm}^3$ | $\times 10^6/\text{mm}^3$ | g/dl        | %           | fL          | pg          | g/dl        | $\times 10^3/\text{mm}^3$ |
| <b>Instrument</b>                                |                           |                           |             |             |             |             |             |                           |
| <b>Sysmex XT-1800i</b>                           | <b>5.6</b>                | <b>4.30</b>               | <b>13.3</b> | <b>38.0</b> | <b>88.5</b> | <b>31.0</b> | <b>35.1</b> | <b>283</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.1                       | 4.10                      | 12.4        | 36.0        | 84.1        | 29.0        | 32.9        | 238                       |
| Upper Limit                                      | 6.1                       | 4.50                      | 14.2        | 40.0        | 92.9        | 33.0        | 37.3        | 328                       |
| <b>Sysmex KX21 &amp; K4500</b>                   | <b>5.3</b>                | <b>4.2</b>                | <b>13.0</b> | <b>37</b>   | <b>88.1</b> | <b>31.2</b> | <b>35.4</b> | <b>275</b>                |
| Lower Limit                                      | 4.8                       | 4.0                       | 12.1        | 35          | 83.1        | 29.2        | 33.2        | 235                       |
| Upper Limit                                      | 5.8                       | 4.4                       | 13.9        | 39.0        | 92.5        | 33.2        | 37.6        | 315                       |
| <b>Sysmex K1000 &amp; K800</b>                   | <b>5.5</b>                | <b>4.24</b>               | <b>12.7</b> | <b>37.5</b> | <b>88.5</b> | <b>30.0</b> | <b>34</b>   | <b>272</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.0                       | 4.0                       | 11.8        | 35.5        | 84.1        | 28.0        | 31.8        | 232                       |
| Upper Limit                                      | 6.0                       | 4.4                       | 13.6        | 39.5        | 92.9        | 32.0        | 36.2        | 312                       |
| <b>Sysmex XS800i</b>                             | <b>5.6</b>                | <b>4.23</b>               | <b>12.9</b> | <b>39.1</b> | <b>92.5</b> | <b>30.5</b> | <b>33.0</b> | <b>232</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.1                       | 4.03                      | 12.0        | 37.1        | 88.1        | 28.5        | 30.8        | 192                       |
| Upper Limit                                      | 6.1                       | 4.43                      | 13.8        | 41.1        | 96.8        | 32.5        | 35.2        | 272                       |
| <b>Coulter</b>                                   | <b>4.9</b>                | <b>4.24</b>               | <b>12.8</b> | <b>37.5</b> | <b>88.5</b> | <b>30.2</b> | <b>34.1</b> | <b>249</b>                |
| Lower Limit                                      | 4.4                       | 4.04                      | 11.9        | 35.5        | 84.1        | 28.2        | 31.9        | 204                       |
| Upper Limit                                      | 5.4                       | 4.44                      | 13.7        | 39.5        | 92.9        | 32.2        | 36.3        | 294                       |
| <b>Hycell</b>                                    | <b>5.1</b>                | <b>4.17</b>               | <b>12.6</b> | <b>35.9</b> | <b>86.2</b> | <b>30.2</b> | <b>35.0</b> | <b>384</b>                |
| Lower Limit                                      | 4.6                       | 3.97                      | 11.7        | 33.9        | 81.8        | 28.2        | 32.8        | 339                       |
| Upper Limit                                      | 5.6                       | 4.37                      | 13.5        | 37.9        | 90.6        | 32.2        | 37.2        | 429                       |
| <b>Cobas</b>                                     | <b>6.0</b>                | <b>4.61</b>               | <b>13.0</b> | <b>41.2</b> | <b>89.4</b> | <b>28.2</b> | <b>31.6</b> | <b>282</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.5                       | 4.4                       | 12.1        | 39.2        | 85.0        | 26.2        | 29.4        | 242                       |
| Upper Limit                                      | 6.5                       | 4.8                       | 13.9        | 43.2        | 93.8        | 30.3        | 33.8        | 322                       |
| <b>Mindray 3200</b>                              | <b>5.4</b>                | <b>4.44</b>               | <b>13.0</b> | <b>39.1</b> | <b>88.2</b> | <b>29.2</b> | <b>33.1</b> | <b>258</b>                |
| Lower Limit                                      | 4.9                       | 4.2                       | 12.1        | 37.1        | 83.8        | 27.2        | 30.9        | 218                       |
| Upper Limit                                      | 5.9                       | 4.6                       | 13.9        | 41.1        | 92.5        | 31.2        | 35.3        | 298                       |
| <b>Diatron</b>                                   | <b>5.5</b>                | <b>4.01</b>               | <b>12.3</b> | <b>37.7</b> | <b>94.0</b> | <b>30.8</b> | <b>32.8</b> | <b>255</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.0                       | 3.8                       | 11.4        | 35.7        | 89.6        | 28.8        | 30.6        | 215                       |
| Upper Limit                                      | 6.0                       | 4.2                       | 13.2        | 39.7        | 98.4        | 32.8        | 35.0        | 295                       |
| <b>ABX Micros 60</b>                             | <b>5.6</b>                | <b>4.03</b>               | <b>11.9</b> | <b>34.7</b> | <b>88.5</b> | <b>29.5</b> | <b>33.3</b> | <b>254</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.1                       | 3.83                      | 11.0        | 32.7        | 84.1        | 27.5        | 31.1        | 209                       |
| Upper Limit                                      | 6.1                       | 4.23                      | 12.8        | 36.7        | 92.9        | 31.5        | 35.5        | 299                       |
| <b>Mindry BC-5800</b>                            | <b>5.7</b>                | <b>4.24</b>               | <b>12.7</b> | <b>39.2</b> | <b>92.6</b> | <b>29.9</b> | <b>32.3</b> | <b>301</b>                |
| Lower Limit                                      | 5.2                       | 4.0                       | 11.8        | 37.2        | 88.2        | 27.9        | 30.1        | 261                       |
| Upper Limit                                      | 6.2                       | 4.44                      | 13.6        | 41.2        | 97.0        | 31.9        | 34.5        | 341                       |
| <b>Nihon Kohden(Celltac <math>\alpha</math>)</b> | <b>5.3</b>                | <b>4.26</b>               | <b>12.7</b> | <b>39.3</b> | <b>92.2</b> | <b>29.8</b> | <b>32.4</b> | <b>366</b>                |
| Lower Limit                                      | 4.8                       | 4.06                      | 11.8        | 37.3        | 87.8        | 27.8        | 30.2        | 321                       |
| Upper Limit                                      | 5.8                       | 4.46                      | 13.6        | 41.3        | 96.6        | 31.8        | 34.6        | 411                       |
| <b>Excell 22 &amp; 18</b>                        | <b>5.3</b>                | <b>4.29</b>               | <b>12.6</b> | <b>38.5</b> | <b>89.8</b> | <b>29.4</b> | <b>32.7</b> | <b>274</b>                |
| Lower Limit                                      | 4.8                       | 4.09                      | 11.7        | 36.5        | 85.4        | 27.4        | 30.5        | 229                       |
| Upper Limit                                      | 5.8                       | 4.49                      | 13.5        | 40.5        | 94.2        | 31.4        | 34.9        | 319                       |
| <b>Technicon H1</b>                              | <b>4.1</b>                | <b>4.13</b>               | <b>12.7</b> | <b>35.3</b> | <b>85.5</b> | <b>30.7</b> | <b>35.9</b> | <b>261</b>                |
| Lower Limit                                      | 3.6                       | 3.93                      | 11.8        | 33.3        | 81.1        | 28.7        | 33.7        | 216                       |
| Upper Limit                                      | 4.6                       | 4.33                      | 13.6        | 37.3        | 89.9        | 32.7        | 38.1        | 306                       |

# Frequency of Use

- Decide how many assays should separate controls.
- This decision should be made on the basis of **work load and experience with the drift characteristics** of the analyzer(s).
- The fewer the control assays relative to patient specimens, the greater will be the number of assumed invalid results in the event of an out-of-control condition.
- ***As a minimum***, assays of normal and abnormal levels of control material should be made ***at the beginning of each run*** and ***one assay of normal level control made at the end of the run*** to ensure that patient results have been satisfactory.

# کالیبراسیون

- **دفعات کالیبراسیون**

- تمامی دستگاههای سل کانتر می بایست ابتدای راه اندازی کالیبر شده و از نظر میزان عدم دقت نیز مورد بررسی قرار گیرند.
- این امر می بایست توسط شرکت پشتیبان انجام شده و مستندات آن در آزمایشگاه نگهداری شود.
- کالیبراسیون دستگاه پس از نصب ، هر 6 ماه یکبار می بایست بررسی گردد و انجام آن پس از هر بار تعمیر یا سرویس ، قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه ، و یا تعویض محلولها (در صورتیکه موجب تغییر مشخص در نتایج خون کنترل و یا نمونه بیماران شده باشد ) نیز الزامی می باشد.

- **Iteration of calibrator assays**

1. The number of assays will influence the precision of the calibration factor
2. Greater assay iteration will result in a lower SEM
3. Excessive mixing associated increased replication may damage cells & introduce other errors
4. 10 consecutive assays of the calibrator will give a satisfactory result



# کالیبراسیون سل کانتر

- جهت کالیبراسیون سل کانترها کالیبراتورهای تجارتي وجود دارد که مقادير هدف يا مورد نظر در آنها با روشهای مرجع کالیبر شده‌اند .
- این سوسپانسیون سلولهای خونی در صورت داشتن تاریخ انقضای معتبر و تاییدیه 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 .

# کالیبراسیون سل کانتر

- در صورت عدم دسترسی به کالیبراتورهای تجارتي یا وجود هرگونه شکی نسبت به اعتبار آن استفاده از خون کامل جهت کالیبراسیون ضروری می باشد .
- برای کالیبراسیون باید از **خون طبیعی تازه** ، استفاده کرد. برای اینکار پارامترهای **حداقل ۳ نمونه خون** کامل طبیعی **دو بار** با روشهای مرجع دستی و دو بار نیز با سل کانتر اندازه گیری شده و پس از محاسبه میانگین هر پارامتر با روش دستی و دستگاهی، با استفاده از فرمول زیر فاکتور کالیبراسیون تعیین می گردد (برای افزایش دقت این امر می توان از تعداد نمونه های بیشتر استفاده نمود ).

میانگین روش دستگاهی - میانگین روش دستی : اصلاح فاکتور

کالیبراسیون

میانگین روش دستگاهی

# کالیبراسیون سل کانتر - مثال

- اگر میانگین اندازه گیری هموگلوبین به روش دستی ۱۴۰ گرم در لیتر و با سل کانتر ۱۴۵ گرم در لیتر باشد ، فاکتور تصحیح کالیبراسیون دستگاه با استفاده از فرمول زیر محاسبه می گردد:

$$\text{اصلاح فاکتور کالیبراسیون} = \frac{140 - 145}{145} \times 100 = -3.44\%$$

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

# کالیبراسیون سل کانتر- دستگاه های سیسمکس

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

$$\text{فاکتور کالیبراسیون قبلی} \times \frac{\text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} : \text{فاکتور کالیبراسیون}$$

# Calibration

- **Pre-calibration check**
  - Total maintenance of the instrument
  - Reagents (replenish or replace)
  - Calibrator (Check for expiry)
- **Calibration procedure**
  - Precision check
  - Carryover check
  - Do Calibration
- **Post-calibration validation**
  - Run calibrator as samples
  - Run 3 level controls

# CARRY OVER

- Carryover is defined as a number of cells **remaining behind** following the cycling of a blood sample.
- This test is performed to determine if one **sample interferes** with the accurate analysis of the next sample.
- Ideally, carryover shall **be very low**.

Measure a specimen with a high concentration in triplicate, immediately followed by a specimen with a low concentration in triplicate.

$$\text{Carry over (\%)} = \frac{l_1 - l_3}{h_3 - l_3} \times 100$$

Where  $l_1$  and  $l_3$  are the results of the first and third measurements of the samples with a low concentration and  $h_3$  is the third measurement of the sample with a high concentration.

# Carry Over

- Carryover was determined for each instrument system by analyzing 2 normal patient specimens followed by 3 replicates of diluent.
- Percentage carryover was calculated as follows for each of the directly measured CBC parameters on each system:
- **$\% \text{ carryover} = \{(\text{diluent 3} - \text{diluent 1}) / \text{sample 2}\} \times 100$**

# Acceptable Carry Over Level

| Parameter | Carryover     |
|-----------|---------------|
| WBC       | $\leq 0.5 \%$ |
| RBC       | $\leq 0.5 \%$ |
| HGB       | $\leq 1.0 \%$ |
| HCT       | $\leq 0.5 \%$ |
| PLT       | $\leq 1.0 \%$ |



# Linearity (Reportable Range)

- Instruments are calibrated for each analyte with a range that is clinically relevant.
- With concentrations above or below the reportable range or Linearity range, the result does not correspond with the calibration curve in linear fashion.
- Results outside of linearity are **NOT** acceptable.
- Linearity ranges vary by instrument.

– Example:

| Parameter | Coulter STKS                    | Advia                          |
|-----------|---------------------------------|--------------------------------|
| WBC       | 0.0 -99.9 X 10 <sup>3</sup> /μL | 0.02-400 X 10 <sup>3</sup> /μL |



**Table 1. Recommended Minimum Ranges for Analytic Linearity**

| <b>Analyte</b> | <b>Units</b> | <b>Low Limit</b> | <b>High Limit</b> |
|----------------|--------------|------------------|-------------------|
| WBC            | $10^9/L$     | 0.1              | 100.0             |
| RBC            | $10^{12}/L$  | 1.50             | 7.0               |
| Hb             | g/L          | 20.0             | 200.0             |
| Hct            | L/L          | 0.33             | 0.54              |
| MCV            | fL           | 50.0             | 130.0             |
| Plt            | $10^9/L$     | 5.0              | 1,500             |