عنوان دوره آموزشی

کنترل کیفی در بخش بیوشیمی

تابستان ۹۷

بسم الله الرحمن الرحيم

گروه‌های هدف:

تکنسین کاردان و کارشناس آزمایشگاه تشخیص طبی

اهداف آموزشی

هدف کلی: افزایش دانش و آگاهی پرسنل درخصوص کنترل کیفی در بخش هماتولوژی

روش و نحوه اجرای آموزشی

کتابخوانی

مدت دوره آموزشی: ۱۸ ساعت

ارزشیابی : در پایان دوره به منظور ارزیابی میزان حصول موفقیت و دستیابی به اهداف آموزشی و بررسی آگاهی، نگرش و عملکرد آموزش گیرندگان و بهبود مستمر فرایند یک ارزشیابی از شرکت کنندگان به صورت تست‌های چهارگزینه‌ای به عمل خواهد آمد.

فهرست:

کنترل کیفی در بخش بیوشیمی ۱

خطا در آزمایشگاه بیوشیمی : ۵

انواع خطا : ۶

راه های کنترل و کاهش خطا در آزمایشگاه: ۸

روش تهیه سرم کنترل (Pooled serum) در آزمایشگاه بیوشیمی : ۱۰

منابع : ۶۷

مقدمه: کیفیت در علوم مختلف اگر چه مفهوم مشخصی دارد ، در کتب رفرنس رشته علوم آزمایشگاهی مفهوم ان دستخوش تغییراتی شده است. قبلا کیفیت در زبان ساده ترکیبی از دقت و صحت بود اما امروزه روز واژه سرعت هم وارد تعریف کیفیت شده است. و به نظر میرسد اکنون مفهوم بهتری نسبت به گذشته دارد. جواب آزمایشی که با تاخیر تحویل بیمار میشود به نحوی که در چالش درمانی وی تاثیری در سرنوشت تشخیصی نداشته باشد و نوش دارویی بعد مرگ سهراب باشد به هیچ دردی نمیخورد. علی الحساب سرعت در انجام کار و آماده سازی جواب آزمایشات همراه با دقت و صحت نتایج چیزی است که امروزه روز در سیستم های پیشرفته مورد تاکید اصحاب آزمایشگاهی و دانشمندان مربوطه می باشد. کنترل کیفیت در آزمایشگاه بیوشیمی نیز از این مقوله مستثنی نبوده و با تاکید بر دقت و صحت و سرعت خدمات آزمایشگاه بیوشیمی وارد بحث در این مقوله میشویم. برای شروع بحث یک دیدگاه جالب و موکد این می باشد که کاهش خطا در آزمایشگاه همواره مولود کیفیت در آزمایشگاه خواهد بود. با این دیدگاه بتدا به شناخت خطا و نوع آن می پردازیم و در ادامه وارد بحث های داغ نحوه کنترل کیفیت در آزمایشگاه بیوشیمی خواهیم شد.

خطا در آزمایشگاه بیوشیمی :

تعریف خطا: یک تصمیم یا رفتار نامناسب که از یک فرد سر می زند و این تصمیم یا رفتار نامناسب بر اثر بخشی، ایمنی یا عملکرد سیستم اثر نامطلوب میگذارد.

سوالی که در رابطه با خطا میتوان مطرح کرد این است که چه ضرورتی برای شناسایی خطا و اقدام اصلاحی در آزمایشگاه وجود دارد؟ و اینکه چه مقدار خطا در آزمایشگاه برای ما قابل قبول می باشد؟

جواب این سوال با کمی تعمل واضح و مبرهن است. اگر خطا در آزمایشگاه شناسایی و رفع نگردد با توجه به جایگاه مهم ان در تشخیص بیماری، اثرات و لطمات جبران ناپذیری در سیستم های درمانی اتفاق خواهد افتاد . جهت مشخص شدن جایگاه تشخیصی آزمایشگاه در فرایند درمان مطابق کتب رفرنس ، تشخیص آزمایشگاهی دارای نقش ۳۳ درصدی در تشخیص های پاراکلنیک در فرایند درمان بیماران دارد. این درحالی است که در

مجموع هزینه های درمان ۵ درصد کل هزینه ی درمان را تشخیص آزمایشگاهی به خود اختصاص میدهد.و این اطلاعات اماری نشان از بهره وری بالای تشخیص آزمایشگاهی در سیستم های درمانی می باشد. در مرود اینکه چه میزان از خطا در آزمایشگاه قابل قبول می باشد کتب مرجع آزمایشگاهی و همچنین مراجع علمی این رشته ی حساس پزشکی در سطح جهان مقادیری از خطا را برای روش های ازمایشگاهی و آزمایشات مختلف مشخص نموده اند. و در واقع خطا هرگاه از این محدوده مجاز بیشتر باشد میبایست به رفع سریع ان پرداخت.در ادامه در این مقوله مباحث بیشتری مطرح خواهد شد.

انواع خطا :

خطای اتفاقی

خطای سیستماتیک

خطای اتفاقی بر روی یک آزمایش یا تعدادی از آنها اثر نامطلوب می گذارد و مقدار آن متغیر است. خطای سیستماتیک خود انواع مختلف دارد: الف: سیستماتیک ثابت که نتایج آزمایشات به مقدار ثابت بالاتر یا پایین تر از مقادیر واقعی می باشد ب: سیستماتیک تناسبی که نتایج دائما با یک درصد ثابت بالاتر یا پایین تر از مقادیر طبیعی افزایش یا کاهش خواهد داشت. از انجایی که مقدار خطای اتفاقی متغیر است شناسایی خطاهای اتفاقی یا رندوم بسیار دشوار تر از خطاهای سیستماتیک میباشد.

مثال هایی از خطاهای اتفاقی یا رندوم:

- دمای نا پایدار
- نوسانات جریان الکتریکی دستگاه قرائت کننده
- وجود حباب هوا در زمان انتقال و مکش نمونه یا معرف توسط دستگاه قرائت کننده

- عدم رعایت حجم برداشتی از نمونه یا معرف
- نا پایداری معرف
- عدم رعایت شرایط نگهداری نمونه
- آلودگی ظروف شیشه ای مورد استفاده، نوک سمپلر و...
- آلودگی نمونه کنترلی، معرف و...
- اشکال در سیستم قرائت کننده
- عدم رعایت زمان انکوباسیون

مثال هایی از خطاهای سیستماتیک

- اشکال در کالیبراسیون : در نظر گرفتن ارزش نادرست برای کالیبراتور، تهیه نا مناسب کالیبراتور، آلودگی، افت ، تغلیظ، تغییر شماره ساخت و ...
- عوض کردن معرف بدون تغییر در کالیبراسیون
- تخریب تدریجی معرف
- عدم رعایت دستور العمل سازنده برای تهیه معرف
- تغییر در دمای انکوباسیون
- خطاهای ثابت در وسایل انتقال دهنده نمونه یا معرف مانند سمپلر

راه های کنترل و کاهش خطا در آزمایشگاه:

- آموزش
- برنامه ریزی جهت پایش و کنترل کالیبراسیون
- استفاده از مواد کنترلی

انتخاب مواد کنترلی

سوال این است که چه نوع سرم کنترلی را تهیه یا خریداری کنیم؟ در انتخاب مواد کنترلی باید موارد زیر مورد توجه قرار گیرند

- پایداری : کنترل باید برای مدت طولانی پایدار و در عین حال فاقد مواد نگهدارنده مداخله گر باشد

نکته: بهتر است کنترل ها برای مصرف یک سال تهیه یا خریداری شود.

- مشابهت با نمونه انسانی:بهتر است کنترل ها با پایه سرم، ادرار، خون، CSF و ... انتخاب شود.
- یکنواختی : ویال های مختلف کنترل باید هموژن و یکنواخت بوده و غلظت آنالیتهای موجود در آنها یکسان باشد.
- عدم وجود اثرات زمینه ای (Matrix effect): برای انتخاب سرم کنترل باید همخوانی آن با معرف های مورد استفاده در نظر گرفته شده و از عدم وجود اثرات زمینه ای اطمینان حاصل گردد.
- بسته بندی مناسب : ویال بدون نشتی بوده و به حجم رساندن و نگهداری کنترل به سهولت انجام شود.
- قیمت ارزان و تعداد زیاد مصرف کنندگان
- عاری از عوامل بیماریزا : مثل باکتری، قارچ، ویروس

کنترل لیوفیلیزه بهتر است یا کنترل های مایع ؟

هر دو نوع قابل استفاده می باشد. اما باید در زمان انتخاب مزایا و معایب هر یک در نظر گرفته شود. خطا در به حجم رساندن کنترل های لیوفیلیزه ممکن است منجر به بروز مشکلاتی شود، در حالی که کنترل های مایع ، آماده مصرف هستند. در عین حال مواد موجود در کنترل های مایع ممکن است در برخی روش ها تداخل نموده و باعث خطا شود.

نکته۱: برای کنترل داخلی کیفیت، بهتراست حتی الامکان دو غلظت مختلف از کنترل استفاده شود.

نکته ۲: انتخاب غلظت های نزدیک به محدوده تصمیم گیری بالینی (Decision level) ارجح می باشد.

نکته ۳ : مواد کنترلی برای بررسی دقت قابل استفاده می باشند.

آیا می توان از سرم کنترل به جای کالیبراتور استفاده کرد؟

نکته ۴ : مواد کنترلی نمی توانند به عنوان جایگزین کالیبراتور استفاده شوند.

نکته ۵ : کالیبراتور ماده ای است برای کالیبراسیون روش آزمایشگاهی و دارای مقدار مشخص است، در حالی که ماده کنترلی برای کنترل کیفیت روش آزمایشگاهی بکار میرود و اغلب دارای محدوده غلظتی می باشد.

نکته ۶ : به حجم رساندن مواد کنترلی لیوفیلیزه می بایست با وسایل حجمی مناسب و طبق دستور سازنده صورت پذیرد.

روش تهیه سرم کنترل (Pooled serum) در آزمایشگاه بیوشیمی:

۱. سرم های اهدا کنندگانی را که ایکتریک، سپتیک و همولیز نبوده و آزمایشات HCV Ab و HBS Ag و HIV Ab انها منفی باشد در پایان هر روز در ظرف پلاستیکی استریل جمع آوری و در فریزر نگهداری میکنیم

۲. سرم های ذخیره شده روزانه را تا رسیدن به حجم مورد نظر را جمع آوری میکنیم. ایده ال ترین حجم برای نیاز یک سال و حداقل حجم برای نیاز ۶ ماه جمع آوری شود. به طور متوسط روزانه ۲,۵ میلی لیتر سرم کنترل برای بخش های مختلف آزمایشگاه مورد نیاز می باشد. این حجم برای یک هفته ۱۵ میلی لیتر، برای هر ماه ۶۰ میلی لیتر، برای شش ماه ۳۶۰ میلی لیتر و برای یک سال ۷۲۰ میلی لیتر می باشد.

۳. بعد از جمع اوری مقدار سرم مورد نظر سرم ها را از فریزر خارج و در دمای اتاق ذوب میکنیم و سپس سانتریفیوژ کرده و از صافی عبور می دهیم.

۴. سرم ها را خوب مخلوط کرده و حجم ان را مشخص کرده و مجددا به فریزر منتقل میکنیم. انجماد به مدت یک ماه در ۲۰- درجه انجام می شود.

۵. سرم پولد شده را از فریزر خارج کرده و در دمای اتاق ذوب می کنیم. در این مرحله سرم باید کاملا بی حرکت روی میز آزمایشگاه قرار بگیرد.

۶. ۱۵٪ از حجم روی سرم را بداشته (بدون اینکه تکان بدهیم یا مخلوط کنیم) و آن را دور می ریزیم و به جای حجم دور ریخته شده به همان حجم اتیلن گلیکول اضافه میکنیم.

۷. سرم را خوب مخلوط کرده و میتوان با اندازه گیری برخی پارامتر ها و افزودن مقادیر دلخواه تغییراتی را در غلظت برخی از آنالیت ها در آن ایجاد کرد.

خطای مجاز :

اولین قدم در اجرای فرایند کنترل داخلی کیفیت در بخش آنالیتیک، تعیین خطای مجاز می باشد. علی رغم تمامی تلاش ها، وجود خطا در آزمایشگاه ها حتی در بهترین شرایط اجتناب ناپذیر می باشد. اگر در یک آزمایشگاه بیوشیمی ، یک کارشناس، آزمایش ثابتی را با دستگاه و معرف مشخص بر روی نمونه واحد، به دفعات انجام دهد، اخذ نتایج مشابه و یکسان در تمامی موارد بعید به نظر می رسد. پس مسئول آزمایشگاه می بایست با در نظر گرفتن مجموع شرایط ازمایشگاه (نوع دستگاه یا معرف مورد استفاده ، تجربه کارکنان و ...) و نیز با توجه به سطح کیفیت مورد نیاز خود، میزان عدم دقت (بر حسب SD یا CV%) و عدم صحت (بر حسب Bias) و یا مجموعا خطای کلی مجاز خود را مشخص نماید. روش ها و فرضیه های مختلفی که برای تعیین مقادیر خطای مجاز استفاده میگردد در ادامه به طور مختصر معرفی خواهد شد

۱. استفاده از محدوده مرجع (Reference Interval):

برای محاسبه CV مجاز در یک سری از آزمایشات از فرمول Tonks استفاده میکنیم

خطای مجاز 0.25 = (2cv) x طیف مرجع / 100 x میانگین طیف مرجع

- مثال : خطای مجاز برای کلسیم که طیف مرجع آن 9.5 to 10.5 mg/dl است را حساب میکنیم.

خطای مجاز (2cv) = 0.25 x 1 x 100/ 10 = 2.5 %

Cv = 1.25%

۲. نظریه پزشکان :

در اواسط دهه ۱۹۶۰ ، Barnett با نظر سنجی از پزشکان، خطای مجاز را تعیین نمود.

۳. شرایط موجود : در این روش از نتایج آزمون مهارت و مقادیر عدم دقت و عدم صحت متد های موجود برای تعیین خطای مجاز استفاده می شود. درقوانین CLIA (Clinical Laboratory Improvments Amendment) با این روش مقادیر خطای مجاز برای حدود ۸۰ کمیت تعیین شده است

۴. نظریه افراد و گروه های کارشناس : در مورد برخی از پارامتر ها، گروه های کارشناس (NCEP) مقادیر CV و Bias مجاز را تعیین نموده اند.مقادیر حاصل از این روش برای تعداد محدودی از آزمایشها قابل دستیابی می باشد.

۵. تغییرات بیولوژیک :در این روش تغییرات یک پارامتر در مدت زمانی مشخص، در بدن یک فرد و افراد مختلف اندازه گیری و بر اساس ضریب انحراف درون فردی و بین افراد مختلف، مقادیر CV و bias محاسبه می گردد. مقادیر خطای مجاز برای هریک از کمیت ها متفاوت بوده و آزمایشگاه باید قبل از اجرای کنترل کیفیت، با استفاده از یکی از مراجع فوق مقادیر عدم دقت مجاز مورد نیاز خود را تعریف نماید.

اجرای گام به گام کنترل داخلی کیفیت در بخش بیوشیمی

۱. با توجه به شرایط آزمایشگاه عدم دقت مجاز بر حسب CV% را مشخص نمایید.

۲. نمونه های کنترلی مناسب را حتی المقدور در دو غلظت انتخاب کنید.

۳. نمونه های کنترلی را به یکی از راه های زیر، ۲۰ بار آزمایش نمایید تا ۲۰ خوانده بدست آید.

الف: بهتراست این تعداد خوانده از تکرار آزمایش در ۲۰ روز کاری (۴ هفته) حاصل گردد.

ب: انجام آزمایش بصورت دوتایی در ۱۰ روز کاری

ج: در ۵ روز کاری، نمونه کنترلی را ۴ بار در هر روز آزمایش نمود

نکته: آزمایشگاه می بایست بر اساس نیاز ها و امکانات خود از خطای مجاز برای آزمون های خود استفاده کند.

برای اجرای ۲۰ بار آزمایش بر روی نمونه کنترل، کدام یک از راه کار های گفته شده بهتر است؟

طولانی شدن مرحله ۳ و آزمایش نمونه کنترلی در روز های کاری مختلف باعث می شود با تاثیر متغیر هایی که به طور معمول در آزمایشگاه وجود دارند، نتایج واقعی تری بدست آید. هر چه این مرحله کوتاه تر شود تاثیر متغیر ها کمتر شده و نتایج نزدیک به هم حاصل می گردند. بدیهی است در این شرایط محدوده چارت بسیار کوچک و غیر واقعی شده و طبیعتا در مراحل بعدی موارد رد کاذب نتایج (False rejection) افزایش می یابد.

۴. میانگین، انحراف معیار و ضریب انحراف بر اساس فرمول های مشخص برای ۲۰ داده محاسبه می شود.

۵. قابلیت تکرار پذیری CV% بدست آمده را با عدم دقت مجازی که قبلا تعیین نموده اید، مقایسه نمایید. اگر نتایج در محدوده خطای مجاز قرار داشت، کار را طبق بند ۶ ادامه دهید. در غیر این صورت عوامل ایجاد خطا را جستجو و پس از رفع مشکل، مجدد مراحل ۱ تا ۴ را اجرا نمایید. در صورتی که علی رغم بررسی متغیر ها،مشکل رفع نشده باشد با تولید کننده فرآورده یا د ۶. برای هر غلظت از نمونه کنترلی، با استفاده از میانگین و انحراف معیار، چارت کنترلی L.j رسم کنید.

۷. در هر سری کاری حتی المقدور دو کنترل در دو غلظت مختلف را مورد آزمایش قرار داده و نتیجه را روی منحنی مربوطه علامتگذاری کنید.

۸. نتایج را براساس قوانین موجود (وست گارد ، WHO) تفسیر نموده و از اطلاعات بدست امده جهت حصول اطمینان از دقت نتایج و یا بهبود مستمر استفاده کنید.

تعریف سری کاری :

نکته ۱ : بر اساس تعریف CLIA سری کاری به مدت زمان یا تعداد نمونه ای اطلاق میشود که طی آن صحت و دقت سیستم اندازه گیری ثابت باشد.

نکته ۲ : تعداد دفعات آزمایش سرم کنترل به مواردی مانند پایداری روش و سیستم مورد استفاده بستگی دارد.اگر سیستمی برای مدت زمان مشخص یا تعداد آزمایش معین پایدار است، در این فاصله یکبار آزمایش نمونه کنترلی کافی است.

آیا از محدوده ای که در بروشور کنترل های تجاری درج شده می توان برای ترسیم نمودار L . J استفاده کرد؟

محدوده ای که در بروشور کنترل های تجاری درج شده نباید برای ترسیم چارت کنترل کیفیت استفاده شود. محدوده مندرج در بروشور بسیار بزرگتر از محدوده حاصل از عملکرد یک آزمایشگاه می باشد. البته در شروع کار تا زمانی که تعداد نتایج به حد مطلوب نرسیده، محدوده سرم کنترل قابل استفاده می باشد.

چه تعداد کنترل در هر سری کاری استفاده کنیم؟

برای مشخص شدن اینکه چه تعداد کنترل در هر سری کاری مورد استفاده قرار بگیرد می بایست سیگمای آزمایش محاسبه گردد. قدم اول در تعیین سیگما مشخص کردن خطای مجاز کل (Available Total Error = ATE) می باشد . آزمایشگاه میتواند بسته به سطح کیفیت خود یکی از مراجع CLIA یا Biological Reference و یا هر مرجع معتبر جهانی را استفاده کند. قدم بعد مشخص کردن Bias و CV آزمایش می باشد. سپس با فرمول زیر میتوان به محاسبه سیگمای روش آزمایش اقدام کرد.

Sigma = (ATE – B) / CV

مثال : به طور فرض خطای مجاز آزمایش کلسیم بر اساس مرجع معتبر ۸ ٪ مشخص شده است . هر گاه CV بدست امده از روش انجام ازمایش 1 ٪ و Bias بدست امده از یک کنترل CRM برابر ۵ ٪ باشد. سیگمای روش آزمایش را مشخص کنید.

در ابتدا خطای انالیتیکال روش را با خطای مجاز کل مقایسه می کنیم . خطای انالیتیکال کل باید از خطای مجاز کل کمتر باشد. برای محاسبه خطای آنالیتیکال از فرمول زیر استفاده میکنیم:

(Total Analytical Error) TAE = B + 2CV

= 5 + 2(1) = 7

چون 8 >7 می باشد پس خطای آنالیتیکال کل را قبول میکنیم. قدم بعدی سیگمای روش را مشخص میکنیم.

Sigma = (ATE – B) / CV

Sigma = 1.5 % - 5% / 1 % = 3.5

در مثال بالا سیگمای روش ۳,۵ مشخص گردید. باید بدانیم هر چه مقدار سیگما بیشتر باشد سطح کیفیت روش آزمایش انقدر بالاتر است و بر عکس. حد Cut off سیگما که کوچکتر از آن غیر قابل قبول می باشد سیگمای ۳ می باشد. وقتی سیگای روش ۳ باشد تعداد کنترل هایی که در هر ران کاری باید اعمال کرد ۹ عدد می باشد! بهترین مقدار سیگما که در کلاس جهانی می باشد مقدار ۶ میباشد. برای دانستن تعداد اعمال کنترل بر اساس سیگما از طریق زیر عمل میکنیم:

میزان کیفیت	میزان سیگما
ضعیف	2
سرمرزی	3
خوب	4
عالی	5
کلاس جهانی	≥ 6

- کیفیت بیش از ۶ سیگما: ۱ کنترل در روز
- کیفیت ۴ تا ۶ سیگما: ۲ کنترل در روز
- کیفیت ۳ تا ۴ سیگما: ۴ کنترل در روز
- کیفیت کمتر از ۳ سیگما: ۹ کنترل در روز؛ نمونه‌های بیماران دوبار آزمایش شود و میانگین گرفته شود.

رسم نمودار Levey-Jenning بر اساس اطلاعات سرم کنترل

۱.داده های ۲۰ خوانش از سرم کنترل را گرد آوری میکنیم.

۲.مقادیر دور افتاده اعداد بدست آمده از سرم کنترل در هنگام محاسبه میانگین و SD را باید کنار گذاشت. برای پیدا کردن و حذف رقم مشکوک به صورت ذیل عمل می کنیم

SD/ میانگین – رقم مشکوک

عدد بدست آمده باید کمتر از ۲,۷۵ باشد. در صورت بالاتر بودن آن رقم مشکوک بایستی حذف شده و در محاسبه میانگین و ... بکار نرود .

۳. میانگین را محاسبه می کنیم

میانگین $= \dot{X}$تعداد داده ها / مجموع داده ها

۴. عدد خوانده شده را از میانگین کم کرده و در ستونی می نویسیم.

$(X - \dot{X})$

۵. $(X - \dot{X})$ را به توان ۲ رسانده و مجموع آنها را جمع می کنیم.

$\sum (X - \dot{X})^2$

۶. با فرمول های زیر واریانس و انحراف استاندارد را محاسبه می کنیم.

واریانس $(V) = \sum (X - \dot{X})^2 / n-1$

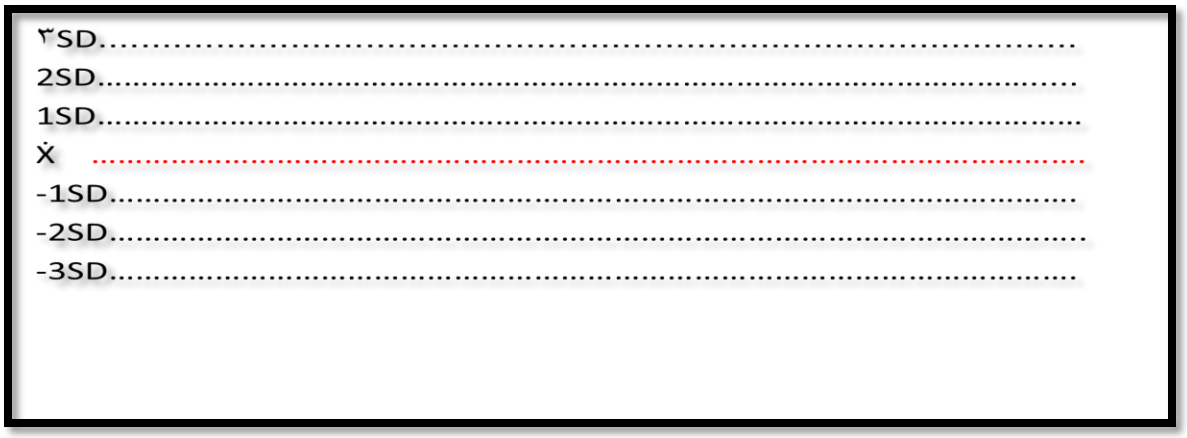
$$\text{انحراف معیار } (SD) = \sqrt{\sum (X - \dot{X})^2 / n - 1}$$

ضریب تغییرات (%CV) (Coeficient of variation) را با فرمول زیر محاسبه کرده و اگر مقدار بدست آمده از خطای مجاز تعیین شده کمتر باشد، میتوان از میانگین و انحراف معیار بدست آمده جهت ترسیم نمودار L. J استفاده کرد.

$$CV = SD/\dot{X} * 100$$

(CV = Co eficient of Variation)

نمودار لوویجینینگ :



بعد از محاسبات میانگین و انحراف معیار استاندارد و CV با توجه به مقادیر میانگین و انحراف میانگین استاندارد مثل نمودار بالا را ترسیم کرده و نقاط بدست امده از خوانش کنترل در روزهای بعد را در آن جایگزاری میکنیم.و بر اساس قوانین وستگارد یا WHO نتایج را تفسیر میکنیم:

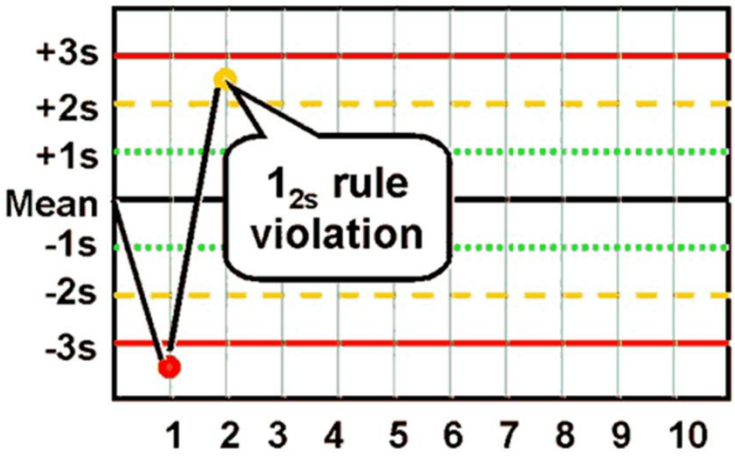
- به منظور افزایش احتمال تشخیص خطا و کاهش موارد رد کاذب نتایج، قوانین چند گانه توسط وستگارد و همکاران ارائه گردید.

- این قوانین طوری طراحی شده اند که ضمن حساس بودن به خطاهای اتفاقی و سیستماتیک، میزان رد کاذب نتایج را به کمتر از 0.01 می رساند.

- مادامی که کنترل ها در محدوده Mean + or - 2SD قرار دارند، نتایج بیماران قابل گزارش است، اما به محض اینکه یکی از کنترل ها از محدوده Mean + or - 2SD خارج شد، کار را متوقف و نتایج کنترل ها را از نظر وجود یکی از قوانین زیر بررسی نمایید.

- قانون 1: 2SD

یک کنترل خارج از حدوده 2SD-+ باشد، به معنی هشدار بوده و لزوم بررسی سایر قوانین را مطرح می سازد.



- قانون 1: 3SD

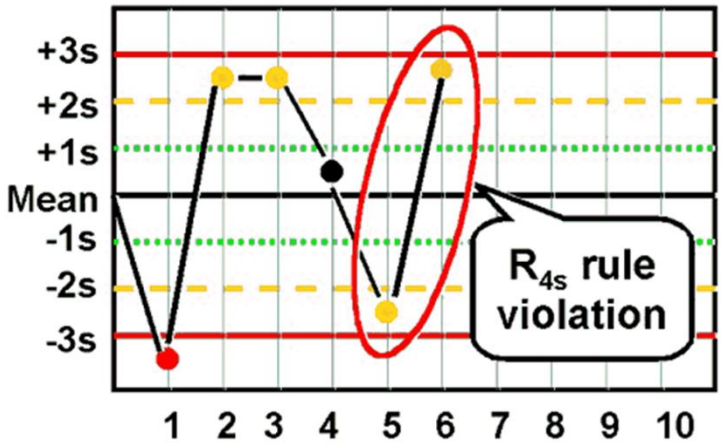
یک کنترل خارج از محدوده 3SD - + باعث رد نتایج شده و می تواند نشاندهنده خطای راندوم یا شروع خطای سیستماتیک باشد.

- قانون 2: 2SD

دو خوانده متوالی همسو و خارج از محدوده 2SD - +، باعث رد نتایج شده و به خطای سیستماتیک حساس می باشد.

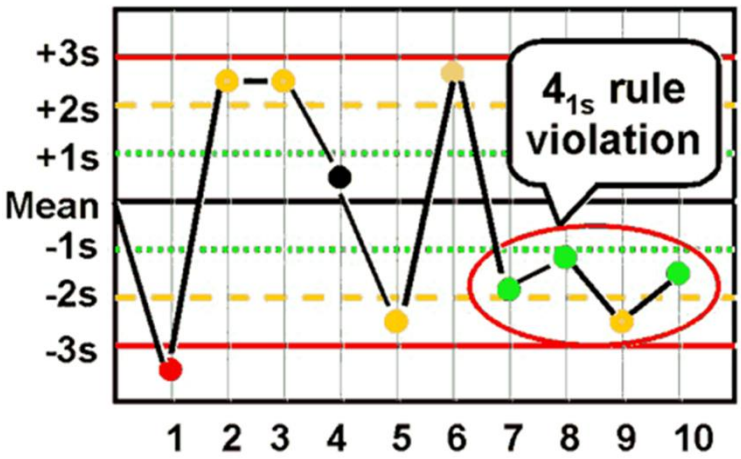
- قانون R:4SD

یک خوانده خارج از محدوده 2SD+ و دیگری خارج از محدوده 2SD- باعث رد نتایج گردیده و نشانگر خطای اتفاقی یا رندوم میباشد.



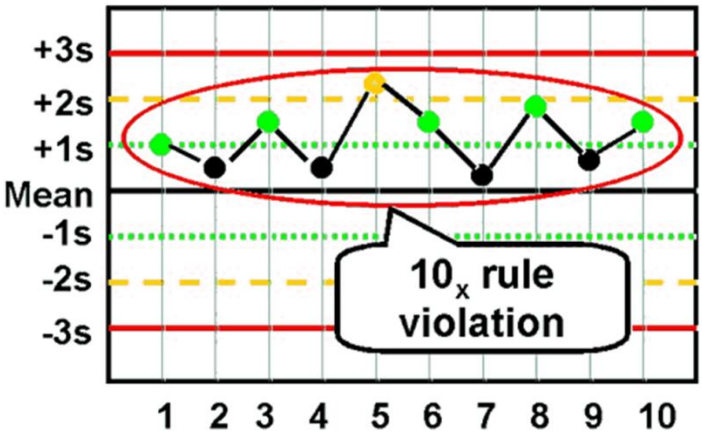
- قانون 4:1SD

۴ خوانده متوالی و همسو، خارج از محدوده 1SD+ یا 1SD- باعث رد نتایج می شود و به خطای سیستماتیک حساس می باشد.



- قانون 10X

۱۰ خوانده متوالی در یک طرف میانگین (بالا یا پایین میانگین و بدون توجه به اندازه انحراف) باعث رد نتایج می شود و به خطای سیستماتیک حساس می باشد.



نکته ۱ : لازم به ذکر است که قوانین چند گانه وستگارد بین سریهای کاری مختلف و نیز بین دو غلظت نمونه کنترلی نیز قابل استفاده می باشند.

به عنوان مثال در مورد قانون 2:2SD ممکن است یک خوانده دیروز و یک خوانده امروز ، همسو و خارج از محدوده 2SD قرار گرفته باشد یا در یک سری کاری ، یک خوانده در کنترل ۱ و خوانده دیگر در کنترل ۲ (نتایج هر دو کنترل) خارج از محدوده 2SD قرائت گردند.

نکته ۲ : (استثنا) قانون R4SD که در ان باید دو خوانده بدست امده از یک سری کاری با یکدیگر 4SD فاصله داشته باشند. اگر در دو سری کاری متفاوت، نتایج با هم4SD فاصله داشته باشند، این قانون کاربرد ندارد.

نکته ۳ : در سال ۲۰۰۶ با توجه به پیشرفت تجهیزات و نیز کامپیوتری شدن بسیاری از برنامه ها، دو تغییر در قوانین وستگارد ایجاد شد.

اول اینکه قانون 1:2SD به عنوان هشدار حذف گردید و پیشنهاد شد قوانین 10X و 4:1SD حتی در شرایطی که نتیجه در محدوده mean + or – 2SD قرار دارد، اعمال شود.

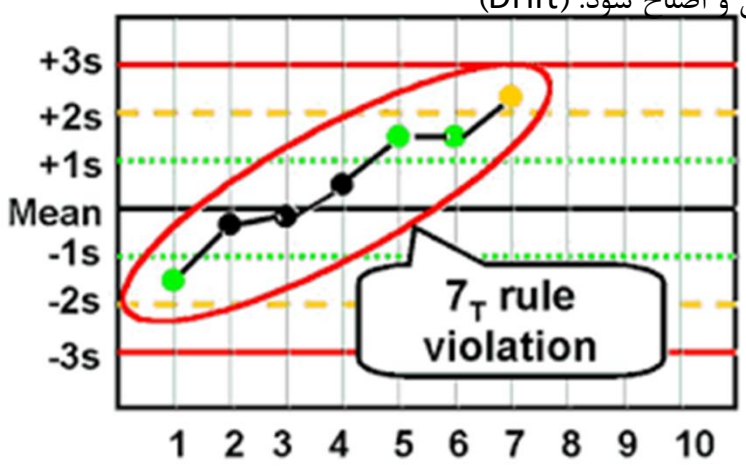
مطابق نظر تیتز چنانچه چارت بصورت دستی ترسیم میشود، مطابق با قوانین قبلی وستگارد ، قوانین زمانی بررسی شوند که حداقل یک نتیجه خارج از محدوده mean + or – 2SD قرائت شده باشد.

تغییر دوم اینکه در صورت استفاده از ۳ یا ۶ کنترل در هر سری کاری (مضرب ۳) ، قوانین تفسیر تا حدی متفاوت می باشند. جهت اطلاع از آن میتوان به سایت www.westgard.com مراجعه نمود.

نکته ۴ : احتمال اینکه خوانده ای بطور اتفاقی خارج از محدوده mean + or – 2SD قرار بگیرد حدود 5% (به عبارتی ۱ نتیجه بین ۲۰ خوانده) و در مورد محدوده mean + or – 3SD قرار بگیرد تنها 0.3% (۳ نتیجه بین ۱۰۰۰ خوانده) می باشد.

قوانین WHO

- وقتی پراکندگی نتایج نزدیک به میانگین و در اطراف آن باشد، عملکرد سیستم قابل قبول است.
- وقتی پراکندگی نتایج نزدیک به میانگین و در اطراف آن باشد، عملکرد سیستم قابل قبول است.
- وقتی پراکندگی نتایج نزدیک به میانگین و در اطراف آن باشد، عملکرد سیستم قابل قبول است.
- هفت خوانده پیاپی با سیر صعودی یا نزولی (حتی اگر از میانگین عبور کنند) نشانگر یک اتفاق تدریجی در سیستم بوده که باید شناسایی و اصلاح شود. (Drift)



- تغییر ناگهانی به یک سمت میانگین و ثابت ماندن داده ها در یک سمت میانگین نشان دهنده این است که سیستم از کنترل خارج شده و برای یافتن خطا باید اقدام فوری به عمل آید.
- مشاهده یک سری از خوانده ها بطور پیاپی و ثابت در یک طرف میانگین نشانگر وجود bias می باشد که باید شناسایی و اصلاح گردد.

- پراکندگی زیاد نتایج در اطراف میانگین نشانگر دقت نا مناسب اندازه گیری است که نیاز به اصلاح دارد (خطای اتفاقی). (Dispersion)

- یک خوانده خارج از محدوده mean + or – 2SD ⟵ هشدار
- یک خوانده خارج از محدوده mean + or – 3SD ⟵ غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک یا رندوم)
- دو خوانده پیاپی خارج از محدوده mean + or – 2SD ⟵ غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک)
- ۴ خوانده متوالی خارج از محدوده mean + or – 1SD ⟵ غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک)
- ۶ خوانده متوالی یک طرف میانگین ⟵ هشدار (خطای سیستماتیک)

نکته ۱ : آزمایشگاه می تواند بر اساس شرایط و سطح کیفیت مورد نیاز خود هر یک از روش های تفسیر L.J ، وستگارد و WHO را انتخاب کند.

نکته۲: به طور معمول چارت های کنترلی هر ماه بازبینی و تمام مقادیر معتبر برای محاسبه میانگین و انحراف معیار ماه بعد لحاظ می شود.

معمولا از هر ۴ سری کاری، یک بار در سری آزمایشات کنترل معلوم العیاری که برای فرد آزمایش کننده نا شناخته و نا معلوم می باشد قرار داده می شود.

از چه قوانین کنترلی در تفسیر نمودار های لویجینینگ بر اساس سیگمای روش آزمایش میبایست استفاده کرد:

❖ ۶ سیگما:

- N = 2
- معیار: 3.5s یا 3.s

❖ ۵ سیگما:

- N = 2
- معیار : 3s برای بالای ۵ سیگما و 2.5s برای زیر ۵ سیگما

❖ ۴ سیگما:

- N = 4
- معیار : 2.5s یا «چندقانونی»؛ چندقانونی بهتر است و می‌توان از مزیت افزودن قانون "پس‌نگر" نیز بهره‌مند شد.

❖ زیر ۴ سیگما:

- حداکثر QC ممکن:

N=6; 1:3s/2ofs:2s/R4s/3:1s/6X; Pfr=6-7%

- حداکثر نگهداری پیشگیرانه
- بررسی‌های اختصاصی دستگاه و کارکرد
- باتجربه‌ترین کارمند

کنترل صحت

اگر شخص انجام دهنده جواب صحیح بدست نیاورد یک خطای سیستماتیک در سیستم وجود دارد. یعنی برخی از نتایج اشتباها خارج از طیف نرمال و برخی نیز سهوا طبیعی بدست آورده می شوند. برای محاسبه درصد عدم صحت یا Bias از فرمول زیر استفادخ می شود.

Bias مقدار مورد انتظار/ مقدار مورد مشاهده - مقدار مورد انتظار =

برای ارزیابی صحت چندین راهکار وجود دارد. ساده ترین آنها این است که آزمایشگاه باید یا از کنترل های CRM استفاده نماید و یا از نتایج کنترل کیفی خارجی به عنوان معیاری برای ارزیابی صحت استفاده نماید.

چارت کنترلی تجمعی Control chart (Cusum)

Cusum روشی است که جمع جبری اختلافات نتایج آزمایش نمونه کنترلی را با میانگین که در ابتدا تعیین شده بود، بررسی می نماید و به خطاهای سیستماتیک حساس می باشد. در شرایط معمول، نتایج کنترل ها در اطراف میانگین (بالاتر و پایین تر) قرائت می شوند، اما اگر نتایج سیر نزولی یا صعودی پیدا کنند، جمع جبری اختلافات نتایج با میانگین، افزایش یافته و احتمال بروز خطای سیستماتیک مطرح می شود.

- برای اجرا و تفسیر چارت Cusum دو راه وجود دارد

- V-mask
- محدوده تصمیم گیری (Decision limit)

از آنجایی که روش محدوده تصمیم گیری ساده تر بوده و قابلیت اجرای کامپیوتری نیز دارد، در اینجا به توضیح این روش پرداخته می شود.

۱. کنترل را ۲۰ بار آزمایش و میانگین و انحراف معیار آن را محاسبه نمائید.

۲. چارت کنترلی ترسیم کنید که محورY آن نشانگر Cusum و خط مرکزی آن Cusum صفر باشد.

۳. رای تفسیر Cusum به روش محدوده تصمیم گیری (decision limit) باید دو محدوده را مشخص نمائید.

- Kl و Ku که به طور معمول mean+- 1 SD در نظر گرفته می شود.
- hl و hu که محدوده کنترل است و اغلب 2.7SD-+ برای آن در نظر گرفته می شود.

۴. در هر سری کاری یک نمونه کنترل آزمایش و نتیجه آن را با محدوده mean +- 1SD مقایسه کنید. مادامیکه نتیجه در این محدوده قرار داشتCusum را اجرا نکنید. در این مرحله علامت گذاری چارت انجام نمی شود.

۵. به محض اینکه کنترل از محدوده mean +- 1SD خارج شد، اختلاف مشاهده شده را با Kl(mean - 1SD) یا Ku(mean +1SD) محاسبه نمایئد.

نکته: Cusum در هر سری ، از جمع جبری اختلاف جدید (di) با جمع جبری قبلی (Csi) بدست می آید. عدد بدست آمده روی منحنی علامتگذاری میشود.

۶. cusum بر اساس شیب منحنی پیگیری می شود تا زمانیکه جهت منحنی عوض شود، یعنی علامت جمع جبری از مثبت به منفی یا بر عکس از منفی به مثبت تغییر یابد، که در اینجا شرایط تحت کنترل قرار گرفته است.

مقدار جمع جبری از hl(+-2.7 SD) و hu فراتر رود که در این حالت شرایط از کنترل خارج شده است. لذا Cusum تا زمان شناسایی عوامل ایجاد خطا قطع می گرد

مثال :

تری گلسیرید را در نمونه کنترلی اندازه گیری نموده و میانگین ۱۰۰ و انحراف معیار ۵ بدست آورده ایم و مطابق بند ۳ محدوده کاری را محاسبه میکنیم

Kl : mean – 1SD : 100-5=95

Ku: mean + 1SD : 100+5=105

hl -2.7 SD : -2.7x5= -13.5

hu +2.7SD : +2.7x5= +13.5

در ادامه در هر سری کاری، نمونه کنترل را آزمایش و نتایج را در جدولی مطابق زیر درج می نماییم. اختلاف هر روز با kl یا ku بصورت di و جمع جبری به صورت Csi نمایش می دهیم.

Control Abservation number	Control value	di	Csi	Comment
1	110	+5	+5	Start cusum calculation
2	100	-5	0	
3	108	+3	+3	
4	105	0	+3	
5	105	0	+3	
6	101	-4	-1	End cusum calculation
7	96			
8	105			
9	101			
10	101			
11	111	+6	+6	Start cusum calculation
12	102	-3	+3	
13	110	+5	+8	
14	107	+2	+10	
15	107	+2	+12	
16	107	+2	+14	

همانطور که مشاهده می شود در روز اول، نتیجه کنترل قرائت شده ۱۱۰ می باشد که ۵ واحد بیش از Ku (۱۰۵) می باشد. لذا Cusum شروع شده و اختلاف di بصورت +۵ نمایش داده شده است.

روز دوم کنترل ۱۰۰ خوانده شده که ۵ واحد کمتر از Ku (۱۰۵) می باشد. پس مقدار di برابر -۵ بوده که با جمع جبری و Csi صفر بدست می اید. هنوز علامت Csi عوض نشده پس Cusum ادامه می یابد.

Cusum در دو حالت متوقف می گردد

۱. وقتی علامت Csi تغییر یابد. در روز ۶ ام مثال فوق، علامتCsi از مثبت به منفی تغییر یافته که نشان می دهد شرایط تحت کنترل در آمده است.
۲. وقتی مقدار Csi از حد h1 یا hu خارج شود. مثال این مورد روز ۱۶ام است که در ان Csi به ۱۴ رسیده که بیش از hu یعنی ۱۳,۵ است. در این حالت شرایط از کنترل خارج شده است.پس باید خطاهای احتمالی شناسایی و رفع گردد.

نکته : Cusum نسبت به چارت کنترلی L.j حساسیت بیشتری نسبت به خطاهای سیستماتیک دارد.

این برتری در مورد قوانین چند گانه وستگارد، صادق نمی باشد زیرا قوانین مختلف وستگارد طوری طراحی شده اند که خطای سیستماتیک و راندوم را شناسایی نمایند

کنترل کیفی بر اساس نتایج آزمایش بیماران

مکانیسم کنترل کیفی بر اساس نتایج بیماران اغلب به عنوان مکملی برای روش های معمول کنترل کیفیت، طراحی می گردد.

اگر چه این روش ها وقت گیر بوده و مقاصد QC را بطور کامل تامین نمی نمایند، اما بعضا موفق به یافتن خطاهایی میشوند که در تکنیک های معمول QC قابل تشخیص نیستند. برای این امر نتایج هر بیمار به طور انفردای و نیز نتایج یک گروه از بیماران مورد بررسی قرار میگیرند.

نتایج هر بیمار به صورت انفرادی

نتیجه آزمایش هر بیمار محصول نهایی عملکرد آزمایشگاه است ولی متاسفانه بررسی نتیجه تک تک بیماران شاخص حساسی برای شناسایی خطا ها نمی باشد. برای بررسی نتایج هر بیمار از روش های زیر استفاده می شود.

هماهنگی با علائم بیماری:

مقایسه نتایج آزمایشگاهی با علایم بالینی بیمار در آزمایشگاه های که تعداد زیادی از بیماران را پذیرش میکنند، تقریبا غیر ممکن است. ضمن اینکه افراد مختلف در زمان ابتلا به بیماری واحد، نتایج آزمایشگاهی یکسانی نداشته و الزاما همیشه علائم بالینی با نتایج آزمایشگاهی هماهنگی کامل ندارد. این مشکلات، ارزش این روش را محدود به موارد مشخص و واضح و منوط به اخذ شرح حال مناسب از بیمار هنگام پذیرش وی می نماید.

هماهنگی با سایر نتایج آزمایشگاهی

اگر یک گروه از آزمایشها در زمان و مکان واحد انجام شود، مسئول آزمایشگاه میتواند ارتباط آنها را بررسی نماید. مانند ارتباط میزان تری گلیسیرید با آنزیم های کبدی در بیماری کبد چرب

آزمایشهای مضاعف (Duplicate) در آزمایشگاه

برای این کار نمونه ها در دو لوله ریخته شده و دوبار آزمایش می شوند. این روش در مواردی که کنترل های پایدار تجاری در دسترس نمی باشد و یا به عنوان مکمل روش های معمول کنترل کیفیت کاربرد دارد.

با انجام آزمایشهای مضاعف در یک آزمایشگاه میتوان عدم دقت نتایج را بررسی نمود، اما اگر این بررسی در دو آزمایشگاه انجام شود، خطای سیستماتیک نیز در آن دخیل و تفسیر آن مشکل می شود.

برای این بررسی در یک آزمایشگاه، تعدادی نمونه بصورت دوبل آزمایش، اختلاف (d) آنها محاسبه و به توان ۲ رسانده می شود (d^2). سپس انحراف معیار اختلافات بر اساس فرمول زیر بدست می آید.

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

هر جفت جوابی که بیش از **2SD** *با هم اختلاف داشته باشند، غیر قابل قبول شناخته می شند.*

دلتا چک با نتایج قبلی

اگر نتایج جدید هر بیمار با نتایج قبلی مقایسه شود، برخی خطا ها مانند جابجایی نمونه یا جواب، شناسایی میگردد.

اساس این روش براین موضوع استوار است که مقادیر آنالیت ها در بدن یک فرد در مدت زمانی مشخص، در محدوده مشخصی تغییر میکند.

- Ladenson دلتا چک را در مدت زمانی ۳ روز برای تعدادی از آنالیت ها بررسی نموده که در جدول زیر به ان اشاره می شود.

Recommended limits for Delta checks

Test	Delta Check limit
Albumin	20%
Blilirubin, total	50%
Calcium, total	15%
Creatine Kinase	99%
Creatinine	50%
Phosphorus	20%
Potassium	20%
Protein, total	20%
Sodium	5%
Thyroxine	25%
Urea nitrogen	50%
Uric acid	40%

Limit checks

آزمایش بیمارانی که نتایج آنها در محدوده ای قرار گرفته که با شرایط فیزیولوژیک منافات دارد باید از نظر اشتباهات تایپی مانند قرار دادن ممیز در محل اشتباه، بررسی گردد. مقادیر این محدوده بستگی به متد مورد استفاده دارد.

Test	Low Warning	High Warning
Acid Phosphatase (U/L)	0.1	10
Albumin (g/dL)	1.5	6
Alkaline phosphatase (U/L)	5	300
Amylase (U/L)	20	1000
Bilirubin (mg/dL)	0.2	10.0
Calcium (mg/dL)	6.5	13.0
Creatine kinase (U/L)	5	1500
Creatinine (mg/dL)	0.3	7.5
Phosphorus (mg/dL)	1.0	8.0
Potassium (mmol/L)	3.0	6.0
Sodium (mmol/L)	120	150
Urea nitrogen (mg/dL)	3	50
Uric acid (mg/dL)	1.0	12.0

Recommended Ranges for Limit Checks

کنترل کیفیت بر اساس نتایج بیماران متعدد

مطالعات آماری نتایج بیماران بصورت گروهی، در تشخیص خطاهای سیستماتیک (shift and Drift) مفید می باشد.اما توانایی شناسایی خطاهای راندوم را نداشته و نمی تواند جایگزین روش های معمول کنترل کیفیت با مواد پایدار کنترلی گردد.

مقادیر حاصله از نتایج هر بیمار علاوه بر متغیر های بخش آنالیتیک، تحت تاثیر متغیر های متعددی مانند شرایط دموگرافیک، بیولوژیک، پاتولوژیک و پرآنالیتیک قرار دارد. این مسئله باعث می شود کنترل کیفیت بر اساس نتایج بیماران متعدد و محاسبه میانگین نتایج آنها، نسبت به بررسی نتایج انفرادی هر بیمار ارجحیت داشته باشد.

میزان تغییرات میانگین یک گروه بیمار با شاخص آماری انحراف معیار از میانگین (standard error of mean) یا به اختصار SEM بیان می شود.SEM نتیجه تقسیم انحراف معیار نتایج یک گروه بیمار بر مجذور تعداد آنان می باشد. هر چه تعداد بیماران مورد بررسی افزایش یابد، میانگین نتایج، متحمل تغییرات کمتری خواهد بود. مقادیر میانگین تابعی از مشخصات مراجعین به آزمایشگاه مانند نسبت زن به مرد، نسبت بیماران بستری در بیمارستان، ارجاع از کلینیک های تخصص و همچنین متغیر های پرآنالیتیک مانند بسته بودن تورنیکه و نحوه نگهداری نمونه می باشد و با تغییر هر یک از این موارد دستخوش تغییر می شود.

از انجایی که هیچ یک از این پارامترها در برنامه معمول QC با کنترل های پایدار قابل برسی نیستند، استفاده از نتایج بیماران می تواند به عنوان مکملی مناسب برای سایر تکنیک های کنترلی باشد.

روش های آماری برای پایش میانگین نتایج بیماران

یکی از راه های استفاده ار نتایج بیماران، محاسبه میانگین نرمال می باشد. همانطور که از نام آن مشخص است، از میانگین نتایج نرمال بدست می آید، پس باید ابتدا نتایج غیر طبیعی را بر اساس محدوده مرجع حذف و سپس میانگین را محاسبه نمود.

همچنین میتوان پس از گروه بندی افراد بر اساس شرایط، اقدام به محاسبه میانگین نمود که بنام weighted mean شناخته شده و شاخص حساستری برای شناسایی خطا ها خصوصا برای تست هایی مانند اندازه گیری پروتئین و آلبومین می باشد.

بررسی هماهنگی نتایج آزمایشگاه با تشخیص نهایی

این مطالعات اغلب به صورت گذشته نگر انجام شده و میزان موارد منفی و مثبت کاذب نتایج آزمایشگاه را در دراز مدت، کنترل می کند.

(t- test) Student t-test

برای تعیین نزدیکی و دوری میانگین اندازه گیری ها از مقدار واقعی، از محاسبه آماری t- test استفاده می شود. برای مقایسه بین میانگین های حاصل از دو روش آزمایش یا دو سیستم اندازه گیری برای یک ماده از t- test استفاده میشود. این تست، به طور دقیق نشان می دهد که اختلاف بین دو میانگین، از نظر آماری قابل چشم پوشی می باشد یا نه .این تست، نوع خطاهای بین دو روش یا دو سیستم را مشخص میکند.

مقایسه دو میانگین، معمولا دو حالت مختلف دارد

در حالت اول : میانگین حاصل از آزمایش، با مقدار واقعی آن که از طرف استاندارد و ... مشخص شده است، سنجیده میشود.

در حالت دوم، میانگین حاصل که از دو روش آزمایشگاهی یا دستگاه های مختلف اندازه گیری، با یکدیگر مقایسه می سوند.

برای هر یک از این دو حالت، فرمول محاسبه ای خاص برای t بکار میرود.

در حالت اول که به آن single sample t-test گفته می شود:
مقدار t، با فرمول زیر محاسبه می شود.

$$t = \frac{|\bar{X} - \mu|\sqrt{n}}{SD}$$

$\dot{X}$ میانگین اندازه گیری ها
μ مقدار واقعی
n تعداد نمونه های اندازه گیری شده
SD انحراف معیار

در حالت دوم که به آن paired-sample t-test می گویند،
مقدار t از طریق فرمول زیر محاسبه میشود.

$$t = \frac{|\bar{X} - \bar{y}|\sqrt{n}}{SD_{xy}}$$

$\dot{X}$ میانگین اندازه گیری های حاصل از روش و یا دستگاه اول
$\bar{y}$ میانگین اندازه گیری های حاصل از روش رفرانس
n تعداد نمونه های اندازه گیری شده
SD_{xy} انحراف معیار کل

بعد از محاسبه t، مقدار آن را، با درصد احتمال و در نظر گرفتن مقدار (degree of freedom) با مقدار t موجود در جدول مخصوص t- test مقایسه میکنیم، اگر مقدار t به دست آمده، بزرگتر از t جدول باشد، اختلاف

بین دو میانگین، از نظر آماری قابل گذشت نیست و بر عکس اگر مقدار t به دست آمده، کوچکتر از t جدول باشد، اختلاف بین دو میانگین، از نظر آماری قابل گذشت می باشد.

نکته : مقدار t برای جفت نمونه به تعداد ۵ تا با اطمینان ۹۵٪ از روی جدول ۲,۷۸ و برای ۱۰ جفت نمونه ۲,۲۶ می باشد.

نکته مهمی که در جدول t دیده میشود، این است که هر چه (df= n-1) کوچکتر باشد، مقدار t بزرگ تر می شود. به همین دلیل، وقتی تعداد آزمایش ها کم باشد، باید آزمایشات با دقت کافی انجام شود تا خطای سیستماتیک کمتر شود.

نکته: در اندازاه گیری مواد مداخله گر در آزمون یا آزمایش Recovery، به همین منظور برای مقایسه دو روش یا دو دستگاه، حداقل تعداد n را برابر ۴۱ میگیرند تاdf= 40 و مقدارt با احتمال ۹۵٪ برابر با ۰۲/۲ شود.

نکته: اگر مقدار t به دست آمده، بیشتر از این مقدار باشد، نتایج حاصله نیز خطای سیستماتیک دارند .

اما اگر t، کوچکتر ازt جدول باشد، بدیهی است که در نتایج آزمایش، خطای سیستماتیک مهمی وجود ندارد. برای ارزیابی یک روش آزمایشگاهی جدید با روش رفرانس، اغلب، تغییرات دو روش را با هم مقایسه می کنند . اگر اختلاف آن ها، از نظر اماری مهم باشد، آن را نپذیرفته و به اصطلاح Reject میکنند.از آنجا که واریانس با sd به توان ۲ برابر می باشد $V=sd^2$، بررسی این نوع تغییرات، میزان دقت یا خطای اتفاقی را نشان میدهد.در حالی کهt- test وجود خطای سیستماتیک یا صحت روش ها را با مقایسه معدل آن ها بررسی میکند.

F- test :

محاسبات آماری نظیر F-test و t-test را تست های significance نیز می نامند. زیرا در این گونه محاسبات، اختلاف بین دو سری از آزمایش ها را مقایسه کرده و نتیجه میگیرند که این اختلاف آیا از نظر آماری با اهمیت (significant) هست یا خیر؟

- برای انجام F-test، مقدار واریانس دو روش را محاسبه کرده و با فرمول زیر مقدار F را بدست می آوریم.

$$F = \frac{V_1}{V_2} = \frac{(sd_1)^2}{(sd_2)^2} = \frac{\text{واریانس روش مورد آزمایش}}{\text{واریانس روش رفرانس}} = \frac{\text{واریانس بزرگتر}}{\text{واریانس کوچکتر}}$$

اگر روش جدیدی برای مقابله با روش روزانه آزمایشگاه مورد قیاس قرار گیرد، مقدار واریانس بزرگ تر در صورت و واریانس کمتر را در مخرج کسر قرار می دهند. پس از محاسبهF ، از جدول آن، مقدار F را بر اساس df صورت و مخرج کسر پیدا کرده و مقایسه می کنند. اگر مقدار F به دست آمده، از مقدار F جدول کمتر باشد (Null Hypothesis) را می پذیرند، در غیر این صورت ، میگویند اختلاف از نظر آماری مهم می باشد.

از نظر تجربی هر چه مقدار F بدست آمده به واحد، نزدیک تر باشد، بیانگر آن است که خطای اتفاقی دو آزمایش، قابل چشم پوشی است واگر مقدار F از مقدار F جدول بیشتر باشد، بیانگر این است که روش جدید – روشی که واریانس ان در صورت کسر قرار دارد، با روش رفرانس تفاوت داشته و مقدار خطای اتفاقی آن بیشتر است.

علل شایع خطا در آزمایشگاه بیوشیمی

برای آشنایی با خطای رایج در بخش بیوشیمی و جهت صحولت تفکیک خطا، آن را در سه فرایند قبل از انجام آزمایش، حین انجام آزمایش و پس از انجام آزمایش بررسی خواهیم کرد.

خطاهای قبل از انجام آزمایش

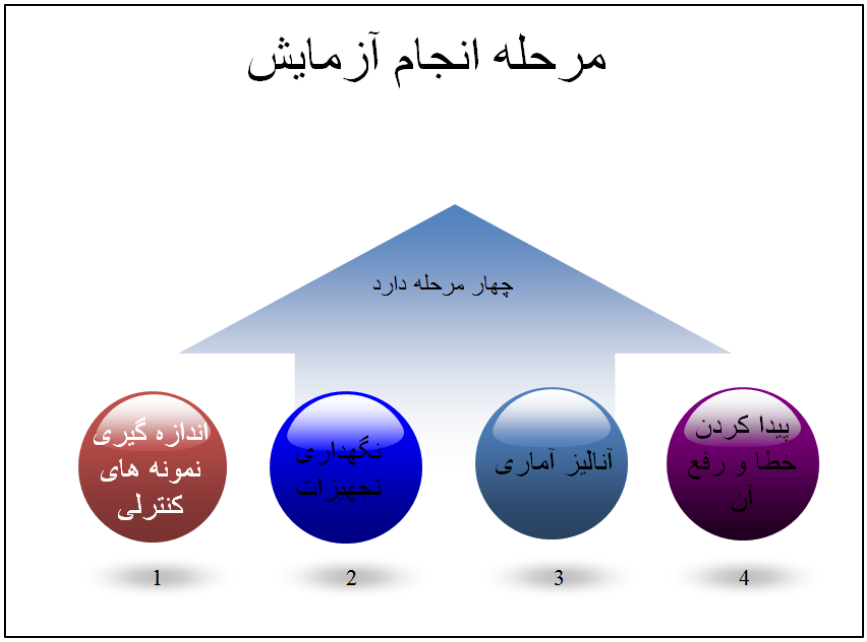
- درخواست آزمایش از طرف پزشک ممکن اشتباه باشد
- بیمار آمادگی مناسب نداشته باشد (ناشتا بودن – عدم مصرف دارو)
- جمع آوری ناصحیح نمونه توسط بیمارمثلا برای اندازه گیری های ادرار ۲۴ ساعته
- روش های جمع آوری نمونه توسط نمونه گیر صحیح نباشد
- عدم رعایت استاندارد ها در حین نمونه گیری مانند بسته بودن تورنیکت به مدت طولانی
- جابجا شدن نمونه بیماران بعلت عدم توجه به بر چسب ظرف نمونه
- نگهداری ناصحیح نمونه از زمان نمونه گیری تا انجام که سریعا سانتریفوژ و در یخچال انگهداری شود
- دور سانتریفوژ برای جدا سازی سرم و پلاسما مناسب نباشد

گاهی لازم است جهت انجام آزمایش نمونه بیمار به آزمایشگاه ارجاع ارسال شود. لذا رعایت روش های صحیح جهت انجام درست کار الزامی است . برخی خطاهایی که در زیر به آنها اشاره میشود خطاهای شایع این قسمت می باشند:

۱. عدم رعایت زنجیره سرد از زمان نمونه گیری تا حمل به آزمایشگاه ارجاع
۲. سر ریز شدن نمونه ها به دلیل عدم بسته بندی مناسب آنها
۳. عدم ارسال به موقع و سریع نمونه ها به آزمایشگاه ارجاع

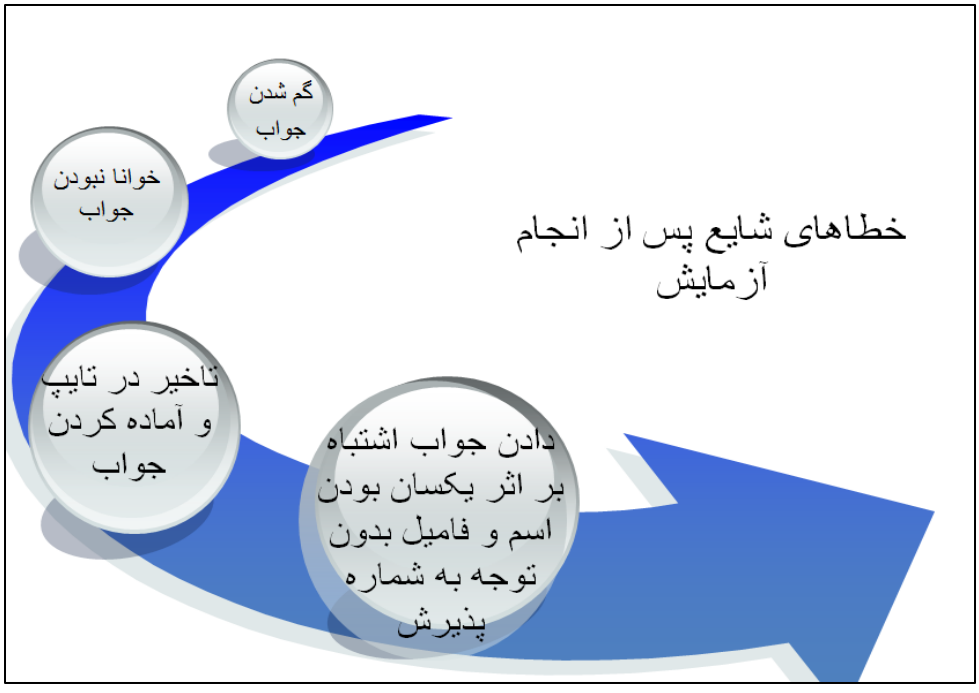
خطاهای حین انجام آزمایش

خطاهای این قسمت ممکن است به دلایلی مختلفی مربوط شود. کلا فرایند انجام آزمایش به چهر بخش اصلی تقسیم میشود . برای این تفقسیم بندی به شکل زیر توجه شود:



خطاهای فرایند پس از انجام آزمایش

خطاهای پس از انجام آزمایش نسبت به فرآیند قبل از انجام آزمایش مشکلات کمتری دارند مشکلاتی که ممکن در این بخش پیش بیایید در شکل زیر نشان داده شده است.



شرایط خاص برای آزمایشات مختلف بخش بیوشیمی

گلوکز :

- بیمار حتما باید ناشتا باشد
- نمونه وریدی برای همه گروه سنی ترجیح دارد مگر در نوزاد اگر مشکل دارد خونگیری از پاشنه پا
- نمونه سرم یا پلاسما (ضد انعقاد هپارین)

کلسترول:

- بیمار الزاما ناشتا باشد.
- نمونه سرم یا پلاسما (هپارین EDTA)
- تا ۵۰۰ میلی گرم معمولا آزمون خطی است
- برای مدت کوتاه در یخچال و زمان بیشتر در فریز قابل نگهداری است.

تری گلسرید:

- حداقل ۱۴ ساعت ناشتا باشد)) بیمار الزاما ناشتا باشد
- بهتر است بیما ر ۳ هفته رژیم غذایی ثابت و از سه روز قبل الکل مصرف نکرده باشد ۲۴ ساعت قبل از انجام نمونه گیری ورزش سنگین انجام نداده باشد
- نمونه : سرم – پلاسما (هپارین EDTA)
- معمولا تا ۷۰۰ میلی گرم در دسی لیتر آزمون خطی است
- سرم قابل نگهداری در یخچال می باشد

اسید اوریک

- بیمار ناشتا باشد
- نمونه : سرم – پلاسما (هپارین EDTA)
- سه روز یخچال ۳ ماه فریز پایدار است
- معمولا تا ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر خطی است
- برای اسید اوریک ادرار : جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته با اضافه کردن ۱۰ میلی لیتر سود ۱۲,۵ مول در لیتر به ظرف ادرار جهت جلوگیری از رسوب . نمونه ادرار در یخچال قرار نگیرد و قبل ازبرداشت از ظرف ۲۴ ساعته کاملا مخلوط شود.

کراتی نین

- بیمار الزاما یا ترجیحا نیازی به ناشتایی ندارد
- نمونه : (سرم یا پلاسما هپارین)
- همولیز باعث رد نمونه می شود
- معمولا تا ۶ میلی گرم در دسی لیتر خطی است
- محلول روزانه درست شود
- برای کراتینین ادرار بهتر است نمونه ۱/۵۰ رقیق شود
- جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته نیاز به نگهدارنده نیست
- ظرف ادارار در زمان جمع آوری در یخچال نگهداری شود

کلسترول LDL-HDL

- ناشتا بودن بیمار الزامی است

- نمونه : سرم – پلاسما
- جهت حصول بهترین نتیجه بیمار باید به مدت ۳ هفته یک رژیم غذایی متعادل داشته باشد
- حداقل ۱۲ ساعت ناشتا باشد.

ALT و AST

- ناشتایی لازم نیست
- نمونه : سرم - پلاسما با هپارین
- فعالیت شدید بدنی سبب افزایش این دو آنزیم می شود و باید اجتناب کرد
- در نمونه خون کامل این دوآنزیم تا ۱۲ ساعت پایدار است
- زمان بیشتر باعث آزاد سازی این دو آنزیم از گلبول قرمز می شود
- در یخچال تاسه هفته پایداراست فریز باعث کاهش فعالیت می شود
- لیز شدید باعث رد نمونه می شود

ALP

- الزاما بیمار باید ناشتا باشد
- هرچه زودتر آزمایش انجام شود چون حتی در یخچال در عرض ۴ ساعت ۱۰- ۵ درصد فعالیت آن افزایش می یابد
- همولیز باعث رد نمونه می شود
- در صورت استفاده از روش تک محلول آماده سازی محلول بر حسب نیاز روزانه باشد.

آهن سرم

- بیمار الزاما باید ناشتا باشد

- به علت تاثیر ریتم شبانه روزی آهن نمونه گیری در صبح انجام شود
- تا ۷ روز در یخچال پایدار است
- همولیز باعث رد نمونه می شود.

کلسیم

- بیمار ترجیحا ناشتا باشد
- نمونه :سرم
- پایداری کلسیم در یخچال تا ۳ هفته ودر فریز تا ۸ ماه است
- معمولا تا ۱۶ میلی گرم در دسی لیتر خطی است
- برای کلسیم ادرار بهتر است ادرار ۲۴ ساعته جمع آوری شود
- ظرف پلاستیکی یا شیشه ای تمیز
- PH ادرار ۲۴ ساعته باید ۵ باشد اگر بالاتر بود با اسید کلریدریک ۰,۱ نرمال به ۵ برسد سپس کاملا مخلوط و نمونه از آنگرفته شود .

فسفر

- ترجیحا بیمار ناشتا باشد
- نمونه : سرم – پلاسمای هپارین
- در اولین فرصت سرم یا پلاسما جدا شود
- معمولا تا ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر خطی است
- تا ۷ روز در یخچال پایدار است
- همولیز باعث رد نمونه می شود

- برای جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته برای فسفر به ظرف ۱۰ سی سی اسید کلرید ریک ۱۰ گرم در صد اضافه شود
- در زمان انجام آزمایش فسفر ادرار نمونه ۱/۱۰ رقیق شود.

Hb A1C

- در بیماران مبتلا به دیابت نوع اول آزمایش هر سه ماه و در نوع دوم هنگام تشخیص و هر ۶ ماه در خواست می شود
- نمونه : خون کاملEDTA دار
- تا هفت روز در یخچال پایدار است نباید فریز شود.

LDH

- نمونه سرم – پلاسما ی هپارین
- در دمای اتاق ۳-۲ روز پایدار است
- نباید منجمد شود
- همولیز باعث رد نمونه می شود
- اگر از روش تک محلوله استفاده می شود بهتر است روزانه محلول درست شود.

لیتیوم

- نمونه باید ۱۲ ساعت از مصرف آخرین دوز دارو گرفته شود
- سرم در یخچال هم قابل نگهداری است
- پلاسمای حاوی هپارین لیتیوم و لیز باعث رد نمونه می شود

میکرو آلبومین ادرار

- ترجیحا ادرار ۲۴ ساعته جمع آوری شود
- نمونه قابل نگهداری در یخچال و فریز است
- نمونه های بالاتر از ۱۵۰ میلی گرم با اضافه کردن اسید کدر می شود
- جواب حقیقی موقعی بدست می آید که به میزان خطی بودن تست توجه و در مقادیر بالا نمونه رقیق و تکرار شود.

آمیلاز

- بیمار ترجیحا ناشتا باشد
- نمونه : سرم – پلاسمای هپارینه
- برای آمیلاز ادراری از ۱۰ شب تا ۶ صبح ناشتا باشد .

بیلی روبین

- نمونه : سرم – در نوزادان می شود از پاشنه پا هم نمونه گرفت ولی باید مواظب بود که آب میان بافتی وارد خون نشود یا همولیز صورت نگیرد
- همولیز باعث رد شدن نمونه می شود
- نمونه خون یا سرم تا موقع آزمایش در تاریکی نگهداری شود.

کنترل کیفی ابزار پایه بخش بیوشیمی

سمپلر:

نکات مهم در کار با سمپلر

۱. اطمینان از اتصال کامل نوک سمپلربه سمپلر
۲. عمود نگهداشتن سمپلر
۳. تخلیه محلول با تماس نوک سمپلربه جداره ظرف تحت زاویه ۱۰ تا ۴۰ درجه
۴. رها کردن آرام دکمه در زمان پر یا خالی کردن محتویات نوک سمپلر
۵. کشیدن کناره های خارجی نوک سمپلر پس از انجام مکش به جداره های فوقانی لوله به منظور حذف قطرات خارجی نوک سمپلر یا در صورت نیاز خشک کردن قطرات باقی مانده در بخش خارجی آن به کمک پارچه ای بدون پرز
۶. هنگام تخلیه محلول پس از توقف اول باید کمی تامل و سپس دکمه را تا توقف دوم پائین آورد
۷. حجم های کمتر از ۱۰ میکرولیتر بهتر است فقط یک بار برداشت انجام و اطراف سمپلر تمیز و در محلول موجود شسته شود

کنترل کیفیت سمپلر

به دو روش توزین و رنگ سنجی انجام می شود . بررسی دقت وصحت سمپلر بهتر است ۴-۳ بار در سال انجام شود

در روش رنگ سنجی از رنگ سبز خوراکی یا پارانیتروفنل استفاده می شود.درکتاب کنترل کیفیت در آزمایشگاه پزشکی دقیقا روش ساخت محلولها برای بررسی دقت و صحت آمده است

سمپلر ها به سه گروه تقسیم شده اند

الف ۱۰۰۰-۱۰۰

ب- ۱۰۰-۱۰

ج- کمتر از ۱۰

برای هر گروه غلظت محلول برای دقت و صحت مشخص شده است. برای هر سمپلر میزان محلول رقیق کننده مشخص شده است . با هر سمپلر از محلول مربوطه ۱۰ بار برداشته ود ر محلول رقیق کننده خودش می ریزیم کاملا مخلوط و با اسکپتوفتومتر یا فتومتر می خوانیم.

گروه سمپلر	حجم سمپلر بر حسب میکرولیتر	حجم آب مقطر یا سود ۰.۰۱ نرمال بر حسب میلی لیتر	حجم رنگ برداشتی توسط سمپلر
گروه ج	۵	۵	۵
گروه ب	۱۰	۱	۱۰
گروه ب	۲۰	۲	۲۰
گروه ب	۲۵	۲.۵	۲۵
گروه ب	۵۰	۵	۵۰
گروه ب	۱۰۰	۱۰	۱۰۰
گروه الف	۲۰۰	۲	۲۰۰
گروه الف	۵۰۰	۵	۵۰۰
گروه الف	۱۰۰۰	۱۰	۱۰۰۰

OD	اختلاف میانگین و هر جذب	مجذور اختلاف میانگین و هر جذب	
0.5878	0.01443	0.000208	
0.5492	-0.05303	0.002812	
0.5679	0.03433	0.001179	
0.5492	-0.05303	0.002812	
0.5505	-0.05173	0.002676	
0.5878	0.01443	0.00208	
0.5485	-0.05373	0.002887	
0.5684	0.03383	0.001144	SD=0.00979
0.5491	-0..05313	0.002823	CV=1.7
0.5500	-0.05223	0.002728	BIAS=2.19
0.56084 میانگین		0.002164 =جمع ستون	

حداکثر میزان قابل قبول عدم دقت : تا ۲٪ میابشد. (CV)

حداکثر میزان قابل قبول برای عدم صحت : تا ۳ ٪ می باشد (BIAS)

اگر سمپلر دقت داشته باشد ولی صحت نداشته باشد با استفاده از بروشور آن وتغییر تنظیم می توان به صحت مورد قبول رسید ولی اگر دقت نداشته باشد باید به شرکت مربوطه ارسال و با تعویض قطعات اصلاح شود.

اسپکتروفتومتر و فتومتر

مواردی که در این دو دستگاه بررسی میشود

- خطی بودن
- صحت فتومتریک
- صحت طول موج

- رانش
- نورهای ناخواسته

Linearity خطی بودن

هدف از این آزمون تعیین محدوده ای که در آن ارتباط خطی بین نور جذب شده و خوانش فتومتر وجود دارد

محلولهای مورد استفاده سیان مت هموگلوبین طول موج ۵۴۰، پارانیتروفنل طول موج ۴۰۵، دی کرومات پتاسیم طول موج ۳۴۰،

میزان عدم صحت مجاز در هر رقت حداکثر ۵٪ است

صحت فتومتریک

برای فتومتر با محلول دی کرومات پتاسیم صحت فتومتر ی قابل اجرا نیست چون طول موج ۳۵۰ لازم می باشد .

50میلی گرم دی کرومات پتاسیم در یک لیتر اسید سولفوریک ۰,۰۱ نرمال

جذب در طول موج ۳۵۰ مقدار ۰,۵۳۶ با حداکثر ۰,۰۰۵ بالاتر یا کمتر قابل قبول میباشد.

صحت طول موج

راحترین محلول سیان مت هموگلوبین است ۲۰ لاندا خون با ۵ میلی لیتر درابکین مخلوط و در طول موج های ۵۳۰-۵۳۵-۵۴۰-۵۴۵-۵۵۰ ابتدا در هر طول موج با درابکینز دستگاه را صفر کرده و سپس جذب را می خوانیم

اگر اسپکتروفتومتر صحت طول موج داشته باشد حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۴۰ خواهد بود. با این روش بررسی صحت طول موج برای فتومتر عملی نمی باشد.

رانش فتومتری

برای بررسی فرسودگی منبع نوری محلول سیانمت هموگلوبین را داخل کووت ریخته با پارافیلم درب آن را بسته و هر ۵ ت ۱۵ دقیقه تا یک ساعت جذب آن را در طول موج ۵۴۰ می خوانیم .حداکثر تغییر مجاز در جذب ۰,۰۰۵ می باشد.

نورهای ناخواسته

نورهای نا خواسته نورهایی هستند که غیر از نور عبور داده شده از منوکروماتور به نمونه تابیده می شود 50گرم نیتریت سدیم در یک لیتر آب در طول موج ۳۰۰ تا ۳۸۵ کل نور را جذب می کند.

بررسی عملکرد دستگاه پس از هر سرویس و کالیبراسیون:

با توجه به قوانین و استاندارد های ایزو ۱۵۱۸۹ بعد از هر بار سرویس و تعمیر باید تست های ارزیابی دقت و صحت انجام شود. با توجه به شرایط کنونی آزمایشگاه های بیوشیمی سطح کشور، این آزمون های فرض دشوار به نظر می رسد. با توجه به شرایط کنونی انجام تستهای زیر توصیه می شود.

سنجش عملکرد پروبها :

تستی انتخاب شود که کمترین حجم نمونه و بیشترین حجم معرف داشته باشد. مثلا آزمایش پروتئین ۲۰ بار انجام و CV گرفته شود. مقدار بدست آمده نباید از خطای مجاز آن تست بیشتر باشد.

دمای انکوباتور

از یک تست حساس به دما مانندALT استفاده شود. ۲۰ بار آزمایش انجام و CV محاسبه گردد. مقدار CV بدست آمده می بایست کنتر از CV مجاز آن باشد.

CARRY OVER (انتقال نا خواسته) :

از دو تستی که یکی NADH را افزایش و دیگری کاهش میدهد برای ارزیابی Carry over استفاده میکنیم. مانند دو تست ALTوLDH . ابتدا بر روی یک نمونه ۲۰بار LDH را اندازه گیری کرده و CV را محاسبه میکنیم. سپس بر روی دو نمونه با ریتم اول LDH و سپس ALT ۲۰ بار آزمایش را انجام داده و دوباره از نتایج LDH، CV را محاسبه می کنیم. CV در دو حالت نباید اختلاف بیش از ۵ درصد داشته باشد.

یک روش دیگر با آزمایش روی نمونه های بالا و پایین از یک تست انجام می شود مانند گلوکز ۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر به صورت سه تایی زیر

HHH-LLL-HHH-LLL-HHH-LLL

CVدر دوحالت بالا باید نزدیک به هم باشد.

نکات مهم در کار با اتوآناالایزر

۱. آشنایی کامل با دستگاه قبل از شروع کار
۲. ایجاد شرایط الزامی برای عملکرد دستگاه مانند برق – آب مقطر با کیفیت – سیستم ارت
۳. استفاده از برنامه اختصاصی ارائه شده سازنده کیت برای دستگاه مورد نظر
۴. عدم استفاده از کنترل به جای کالیبراتور در عمل کالیبراسیون
۵. زمانبندی سرویس و کالیبراسیون و سوابق انجام آنها مکتوب باشد

ارزیابی خارجی کیفیت در آزمایشگاه بیوشیمی

اساس کنترل کیفیت روش‌های آماری در آزمایشگاه‌های بالینی، بررسی دوره‌ای یک روش اندازه‌گیری در جهت تصدیق اجرای آن بر اساس مشخصات تعیین شده می‌باشد. برای این منظور معمولاً از نمونه کنترل کیفی (QC) و محاسبات آماری استفاده می‌شود. بر اساس منبع تهیه نمونه QC، روش‌های کنترل کیفیت به دو دسته داخلی و خارجی تقسیم می‌شوند. کنترل کیفیت داخلی(IQC) برای پایش روزانه دقت و صحت روش اندازه‌گیری است. در حالی‌که روش‌های ارزیابی کنترل کیفیت خارجی (EQA) برای حفظ صحت طولانی مدت روش‌های آزمایش مهم می‌باشد. در عمل IQC و EQA مکمل یکدیگر می‌باشند.

یکی از مسائلی که برای انتخاب یک سیستم کنترلی مناسب هم برای کنترل کیفیت داخلی و هم کنترل کیفیت خارجی باید مد نظر قرار داشته باشد تمایز سیگنال‌های مربوط به خطا در روش آنالیز و گزارش‌دهی از نویزهای مربوط به نوسانات ذاتی روش‌ها می‌باشد. وقتی یک خطا در سیستم رخ دهد بایستی زنگ خطر به صدا درآید (احتمال نزدیک به ۱۰۰٪ آشکارسازی خطا) و در مواقع وجود نداشتن خطا زنگی به صدا درنیاید (احتمال رد کاذب نزدیک به صفر). در غیر این‌صورت به دلیل کاهش احتمال آشکارسازی خطا و یا افزایش رد کاذب، بتدریج میزان اعتماد به سیستم کنترلی کاهش می‌یابد.

عوامل موثر در تمایز بین خطا و نوسانات ذاتی روش و در نتیجه تفسیر نتایج کنترل کیفیت را میتوان به سه دسته تقسیم نمود:

۱. تعیین میزان هدف نمونه
۲. تعیین دامنه قابل قبول نتایج
۳. تعیین قواعدی برای تفسیر نتایج

اساس توجه به عوامل فوق در کنترل داخلی کیفیت و (کنترل خارجی کیفیت) EQA یکسان میباشد، ولی در جزئیات تفاوتهای زیادی وجود دارد.

۱. تعیین میزان هدف نمونه)برآوردی از میزان واقعی نمونه)

دو روش برای این کار وجود دارد

A : استفاده از میزان مشترک چندین آزمایشگاه

B : میزان مشترک شرکت کنندگان: که میزان میانگین شرکت کنندگان بعد از حذف بیرون افتاده ها میباشد که

به آن میزان میانگین پیراسته یا میزان میانگین وزن دار شده اطلاق میشود. تجربیات نشان میدهد که این

مقدار به میزان واقعی نمونه بسیار نزدیک میباشد ولی برای این منظور بایستی دو خصوصیت را مورد توجه

قرار دهیم.

الف: تعداد اعضاء هر گروه یا همگروه کم نباشد تا آزمون آماری معتبر باشد. حداقل ۱۳ و ترجیحاً ۲۳ آزمایشگاه

ب: درصد زیادی از شرکت کنندگان تورش یا Bias آنالیتیکال قابل توجه نداشته باشند.

یکی از مسائل مطرح در بحث کنترل کیفی خارجی (EQA) دسته بندی آزمایشگاهها بر اساس روش آزمایشگاه میباشد. هیچ شکی وجود ندارد که برای رسیدن به اهداف EQA این دسته بندی ضروری است زیرا بر حسب استفاده از روشهای مختلف نتایج بدست آمده میتواند تفاوت قابل توجهی داشته باشند و این موضوع عدم دسته بندی، گاهی در مورد آنالیتهای غیر آنزیمی نظیر گلوکز و کلسترول مطرح میگردد که در این مورد هم دسته بندی کردن آزمایشگاهها بر اساس روش آزمایش سبب رسیدن به میزان مشترکی میشود که برای آزمون آماری در هر گروه مناسبتر است.

۲. تعیین دامنه قابل قبول نتایج

برای تعیین دامنه قابل قبول روشهای مختلفی وجود دارد که هر کدام دارای محاسن و معایب خود میباشند. ولی دو روشی که در کشور ما بیشتر استفاده میشود استفاده از VIS و DI میباشد. اساس هر دو

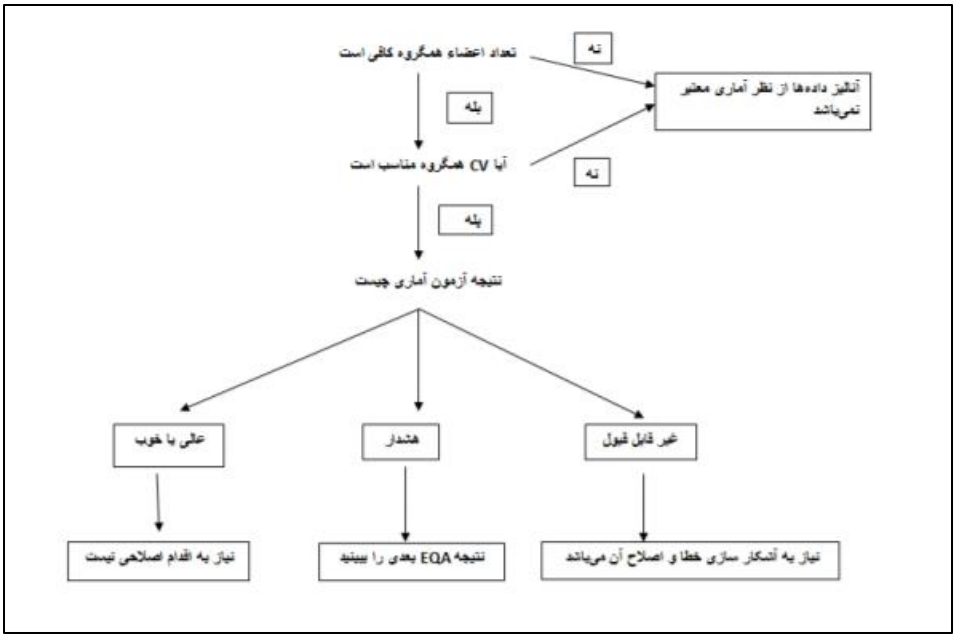
روش یکسان میباشدو اختلاف این دو روش فقط انتخاب میزان SD میباشد که در مورد VIS از قبل تعیین شده است (براساس CCV% مورد استفاده)ولی در مورد DI بر اساس SD همگروه میباشد. عدم انتخاب SDمناسب سبب میشود که سیستم کنترلی نتواند سیگنال را از نویز تشخیص دهد. استفاده از یک دامنه ثابت مثل X±dl/5mg یا٪۱۰±X نیز توسط مراجع بین المللی مطرح گردیده است ولی هنوز در ایران مورد استفاده قرار نگرفته اند.

۳. تعیین قواعدی برای تفسیر نتایج

همانند قواعدی مثل وستگارد که در کنترل کیفی داخلی مورد استفاده قرار میگیرد قواعدی برای تفسیر نتایجEQA

وضع نشده است که مورد قبول اکثر صاحبنظران باشد.

سیستم امتیاز دهی VIS و DI راهکاری است که میتوان برای تفسیر نتایج EQA استفاده نمود. همچنین استفاده از الگوریتم زیر نیز پیشنهاد شده است.



مراحل کار تفسیر نتایج EQA:

۱. آزمایشگاههای شرکت کننده بر اساس نوع آنالیت مورد اندازه گیری گروهبندی میشوند.کل گروهها (Total groups) شامل مجموع آزمایشگاههایی میباشد که در اندازه گیری یک آنالیت خاص شرکت کرده ا ند و به آزمایشگاهها اعضاء گفته میشود.

۲. اعضاء کل گروه بر اساس نوع کیت مصرفی به دو دسته دستی و دستگاهی تقسیم میشوند و اعضایی که

برای اندازه گیری یک آنالیت از یک نوع کیت و از یک روش استفاده میکنند در یک گروه به نام همگروه قرار داده میشوند.

۳. محاسبات آماری برای به دست آوردن مقادیر : میانگین و انحراف معیار انجام میشود. و بعد از تعیین SD ،اگر نتیجه یا نتایجی در خارج از محدوده میانگین ± SD ۲,۵ وجود داشته باشد این نتایج به عنوان نتایج پرت از محاسبه خارج میشود و دوباره میانگین محاسبه میگردد و این کار را تا وقتی که نتیجه یا نتایجی در خارج از محدوده میانگین ± SD 2.5وجود نداشته باشد ادامه میدهم و میانگین به دست آمده تحت عنوانمیانگین وزندار شده (Mean Weighted) نامیده میشود.

VIS پارامتری است که برای ارزیابی عملکرد عضو هر گروه مورد استفاده قرار میگیرد. هر جه میزان VIS کمتر باشد، عملکرد عضو بهتر میباشد. بر اساس میزان VIS اعضاء به گروههای زیر تقسیم میشوند.

- VIS<50 نشاندهنده عملکرد عالی است.
- 50<VIS≤100 نشاندهنده عملکرد مطلوب است.
- 100<VIS≤150 نشاندهنده عملکرد قابل قبول است.
- 150<VIS≤200 نشاندهنده عملکرد هشدار دهنده است.
- 200<VIS نشاندهنده عملکرد غیرقابل قبول است.

اگر به دلایل ذکر شده در زیر امکان تشکیل یک هم‌گروه دیگر وجود نداشته باشد تنها به ذکر میانگین کل گروه و نتیجه عضو اکتفا می‌شود.

- تعداد اعضاء همگروه کمتر از ۱۰ باشد.
- نام کیت و روش دستی و دستگاهی ذکر نشده باشد و یا خوانا نباشد.

۱) در صورتی‌که نتیجه گزارش شده عضو خارج از محدوده X±2.5SD همگروه یا کل گروه باشد، در محاسبات منظور نشده و عبارت «2.5SD±≥» در مقابل VIS نوشته می‌شود.

۲) گزارش نتایج بیوشیمی خون در دو جدول و دو نمودار گزارش می‌شود

جدول ۱ مروری کلی بر تمامی آنالیت‌ها است که توسط آزمایشگاه بر نمونه کنترلی ارسالی انجام شده است. پارامترهای این جدول شامل آنالیت، واحد، نتیجه، تعداد اعضاء همگروه، میانگین همگروه، CV% همگروه و VIS عضو می‌باشد.

جدول ۲ هم‌گروه‌های مربوط به یک آنالیت خاص را فهرست نموده و تعداد، میانگین و CV% هر همگروه را نشان می‌دهد. در انتهای سمت راست موقعیت عضو در همگروه به همراه نتیجه گزارش شده عضو و VIS مربوطه آورده می‌شود و برای هر آنالیت بیوشیمی یک جدول ۲ وجود دارد.

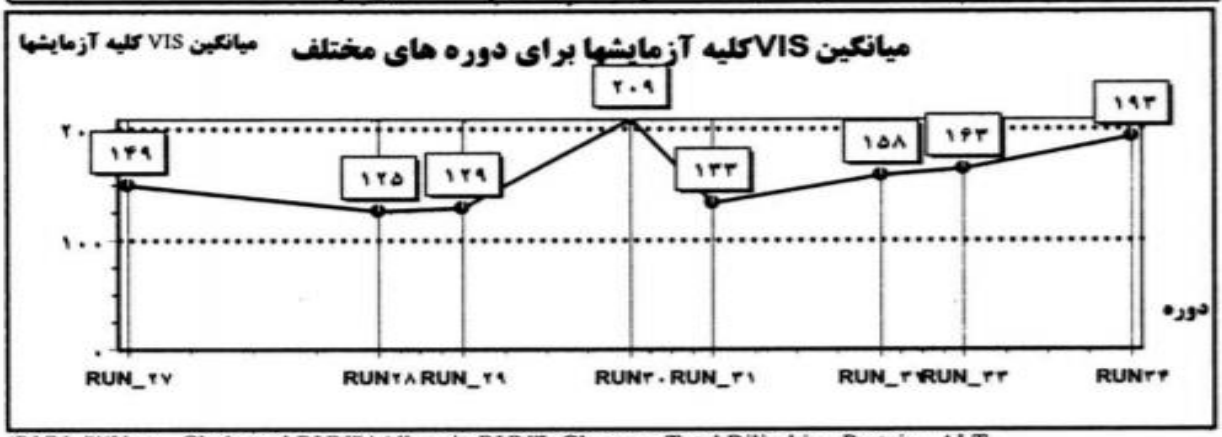
نمودار توزیع فراوانی نتایج گزارش شده (محور عمودی برای فراوانی و محور افقی برای میزان آنالیت) را نشان می‌دهد که بر روی آن محدوده‌های مربوط به VISهای مختلف(با رنگ) و موقعیت نتیجه گزارش شده عضو با ستاره مشخص می‌شود.

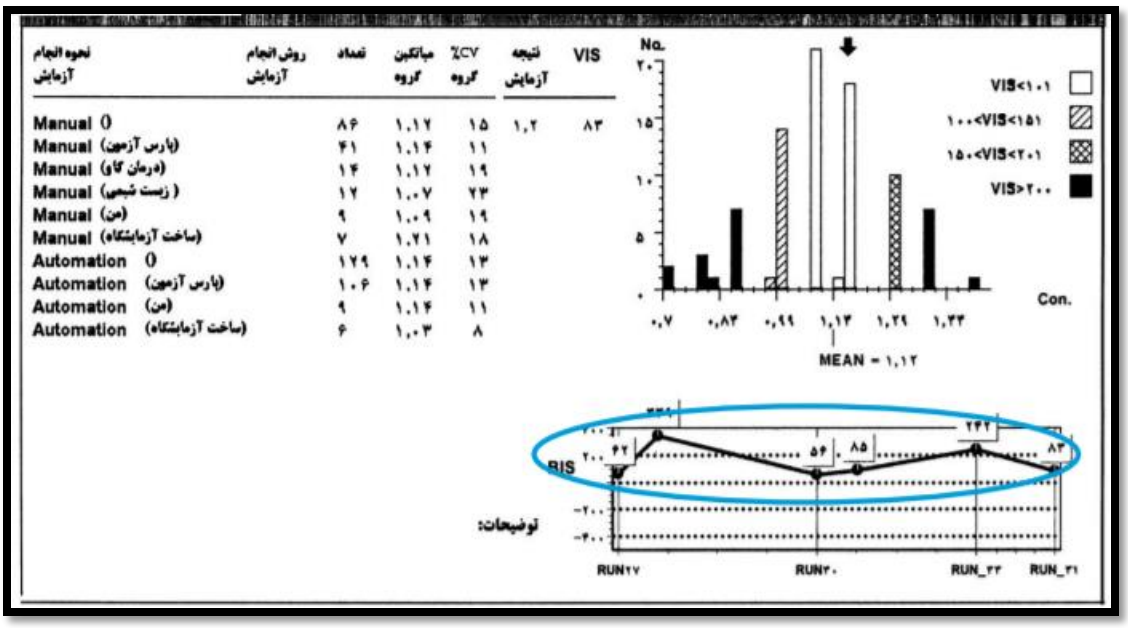
نمودار امتیاز شاخص بایاس (BIS,Bias Index Score) جهت ارزیابی نتایج عضو برای یک آنالیت خاص در دوره‌های مختلف می‌باشد. در این نمودار میزان VIS هر دوره برای یک آنالیت خاص با توجه به علامت منفی یا مثبت آن تحت عنوان BIS دوره‌های مختلف عملکرد خود را ارزیابی نماید.

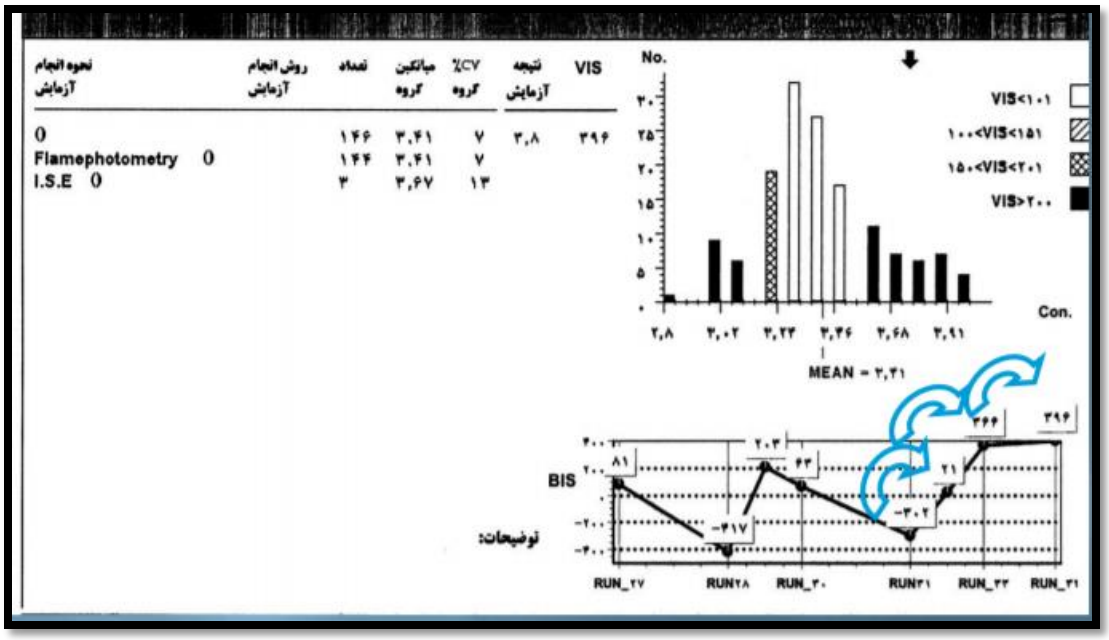
نمودار توزیع فراوانی نتایج گزارش شده (محور عمودی برای فراوانی و محور افقی برای میزان آنالیت) را نشان میدهد که بر روی آن محدوده های مربوط به VIS های مختلف با رنگ و موقعیت نتیجه گزارش شده عضو با ستاره مشخص میشود.

نمونه ای از نتایج کنترل کیفی خارجی بخش بیوشیمی

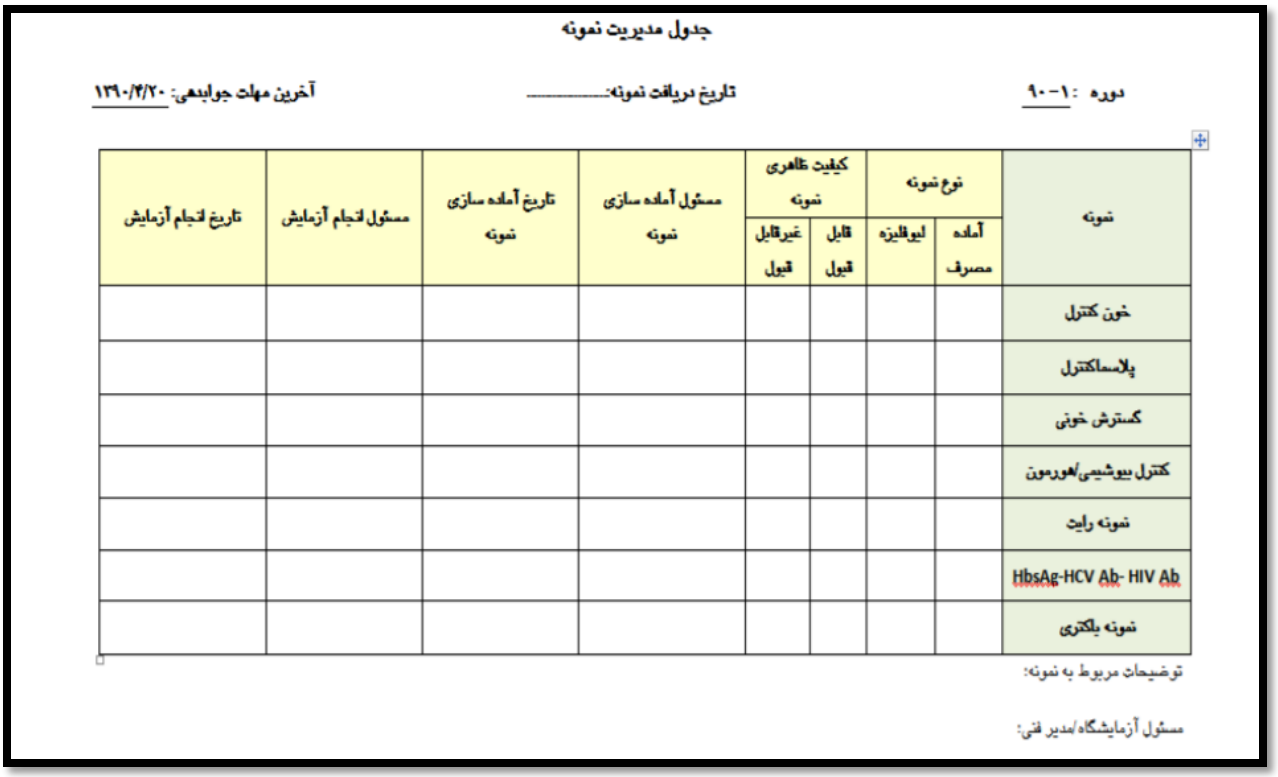
نام تست	واحد	نتیجه	میانگین گروه	CV	VIS
Glucose	mg/dl	۲۹۵	۲۳۲.۷	۱۱	۳۴۸
Urea	mg/dl	۱۵۵	۱۲۶.۸	۱۷	۳۹۰
Uric acid	mg/dl	۱۱	۱۰.۴۰	۹	۷۴
Creatinine	mg/dl	۳.۴	۳.۵۷	۱۲	۵۲
Total Bilirubin	mg/dl	۴.۴	۴.۶۷	۱۹	۳۰
Direct Bilirubin	mg/dl	۲.۹	۱.۷۵	۲۷	۳۴۴
Cholestrol	mg/dl	۱۹۵	۱۹۸.۷	۸	۲۵
Triglyceride	mg/dl	۱۶۰	۱۹۷.۰	۹	۲۴۷
Albumin	g/dl	۲.۶	۳.۰۸	۹	۲۰۸
Protein	g/dl	۴.۶	۵.۱۹	۸	۲۹۱
ALP	U/L	۲۶۹	۴۱۵.۶	۱۲	>۲.۵sd
AST	U/L	۹۰	۱۵۰.۴	۷	>۲.۵sd
ALT	U/L	۸۸	۱۴۰.۱	۱۱	>۲.۵sd
LDH	U/L	۱۹۰	۴۹۱.۵	۱۵	>۲.۵sd
Calcium	mg/dl	۱۲.۸	۱۲.۳۴	۱۰	۱۲
Phosphate	mg/dl	۴.۷	۶.۰۷	۱۰	۲۹۰
Iron(Fe)	ug/dl	۱۲۷	۱۶۴.۴	۱۴	۱۵۲
TIBC	ug/dl	۲۵۸	۳۳۸.۴	۱۵	۱۵۸




نحوه انجام آزمایش
روش انجام آزمایش
تعداد
میانگین گروه
%CV گروه
نتیجه آزمایش
VIS
Manual 0 ۸۶ ۱.۱۲ ۱۵ ۱.۲ ۸۳
Manual (پارس آزمون) ۴۱ ۱.۱۴ ۱۱
Manual (درمان گاو) ۱۴ ۱.۱۲ ۱۹
Manual (زیست شیمی) ۱۲ ۱.۰۷ ۲۳
Manual (من) ۹ ۱.۰۹ ۱۹
Manual (ساخت آزمایشگاه) ۷ ۱.۲۱ ۱۸
Automation 0 ۱۲۹ ۱.۱۴ ۱۳
Automation (پارس آزمون) ۱۰۶ ۱.۱۴ ۱۳
Automation (من) ۹ ۱.۱۴ ۱۱
Automation (ساخت آزمایشگاه) ۶ ۱.۰۳ ۸
No.
VIS<۱۰۱
۱۰۰<VIS<۱۵۱
۱۵۰<VIS<۲۰۱
VIS>۲۰۰
Con.
MEAN = ۱.۱۲
BIS
توضیحات:
RUN۲۷
RUN۳۰
RUN_۳۲
RUN_۳۱


نحوه انجام آزمایش
روش انجام آزمایش
تعداد
میانگین گروه
%CV گروه
نتیجه آزمایش
VIS
0 ۱۴۶ ۳.۴۱ ۷ ۳.۸ ۳۹۶
Flamephotometry 0 ۱۴۴ ۳.۴۱ ۷
I.S.E 0 ۳ ۳.۶۷ ۱۳
No.
VIS<۱۰۱
۱۰۰<VIS<۱۵۱
۱۵۰<VIS<۲۰۱
VIS>۲۰۰
Con.
MEAN = ۳.۴۱
BIS
توضیحات:
RUN_۲۷
RUN۲۸
RUN_۳۰
RUN۳۱
RUN_۳۲
RUN_۳۱

بهتر است جهت مدیریت صحیح نمونه کنترل کیفی خارجی از فرم هایی مانند فرم پیشنهادی زیر استفاده شود.



جدول مدیریت نمونه

دوره : ۱-۹۰ تاریخ دریافت نمونه:..... آخرین مهلت جوابدهی: ۱۳۹۰/۴/۲۰

نمونه	نوع نمونه		کیفیت ظاهری نمونه		مسئول آماده سازی نمونه	تاریخ آماده سازی نمونه	مسئول انجام آزمایش	تاریخ انجام آزمایش
	آماده مصرف	لیوفلیزه	قابل قبول	غیرقابل قبول				
خون کنترل								
پلاسماکنترل								
گسترش خونی								
کنترل بیوشیمی/هورمون								
نمونه رایت								
HbsAg-HCV Ab- HIV Ab								
نمونه باکتری								

توضیحات مربوط به نمونه:

مسئول آزمایشگاه/مدیر فنی:

در مباحث بالا در رابطه با کنترل کیفی داخلی مشتمل بر ارزیابی دقت و صحت، آزمون های فرض مختلف نظیر Fتست ، Tتست و ...، ارزیابی خارجی کیفیت و کنترل کیفی ابزارهای پایه ی بیوشیمی ، خطای مختلف قبل و حین و پس از انجام آزمایش در بخش بیوشیمی، اطلاعات برخی از تست های بیوشیمی سخن به میان آوردیم. در بحث آخر به تست و کالیبراسیون بخش های سخت افزاری (الکترومکانیکی) یک دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمی می پردازیم.

تست و کالیبراسیون بخش های سخت افزاری (الکترومکانیکی) یک دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمی

موتورهای الکتریکی کاربردهای وسیعی در دستگاه های پزشکی و آزمایشگاهی دارند، وظیفه این موتورها در دستگاه های اتوآناالیزر بیوشیمی تولید نیروی لازم جهت حرکت افقی (چرخشی) سینی سمپل، سینی واکنش، سینی معرف ها و نیز حرکت عمودی سوزن های سمپلینگ و مکش و و حرکت پیستون در داخل سرنگ نمونه بردار و به حرکت درآوردن غلطک پمپ های پریستالتیک است. همچنین از این موتورها برای حرکت دورانی چرخ فیلترها (Filter Wheel) در مقابل لامپ دستگاه استفاده است. با توجه به وسیع بودن دامنه استفاده از این موتورها در اتو آنالایزرهای بیوشیمی بسیار مهم است که اپراتور یک دستگاه اتوآناالیزر بیوشیمی حداقل اطلاعاتی در خصوص تنظیم و سرویس های دوره ای آنها داشته باشد.

انتقال نیروی تولید شده توسط موتورهای الکتریکی به اهداف مورد نظر از ۳ طریق صورت می‌پذیرد:

تسمه های انتقال نیرو

این روش انتقال نیرو در قسمت های سینی نمونه ها و سینی کووت های واکنش و بعضاً در حرکت عمودی سوزن های نمونه برداری، مشاهده می شود. طول عمر این تسمه ها به کیفیت جنس آن بستگی داشته و معمولاً پس از اجرای هر ۱۵۰/۰۰۰ الی ۲۰۰/۰۰۰ تست باید تعویض شوند، توجه کنید که این تسمه ها نیاز به هیچ گونه سرویس

دوره ای نظیر تمیز کردن با استفاده از پاک کننده های شیمیایی و یا روان کاری با استفاده از گریس یا روغن روان ساز ندارند.

سیستم انتقال نیروی چرخ دنده ای

از این روش انتقال نیرو در سوزن های نمونه برداری و مکش و همچنین حرکت پیستون در داخل سرنگ سمپلر (مانند سرنگ های هامیلتون) استفاده می شود. طول عمر چرخ دنده ها به کیفیت جنس آنها بستگی دارد و براساس محل مورد استفاده از دو نوع فلزی و پلاستیکی ساخته می شوند. چرخ دنده ها در فواصل کاری معین (پس از انجام هر ۲۵/۰۰۰ تست) نیاز به سرویس دوره ای به صورت زیر دارند:

ابتدا کلیه اتصالات چرخ دنده ای را باز کرده و غلطک ها و چرخ دنده ها را با احتیاط کامل از یکدیگر جدا کنید و سپس آنها را با مواد شوینده و پاک کننده تمیز کرده و پس از خشک کردن با روغن مخصوص روان کاری (مانند روغن های چرخ خیاطی) آنها را پاک کنید و پس از جاگذاری و مونتاژ مجدد قطعات، مجدداً قسمت های درگیر با یکدیگر را با گریس مخصوص چرخ دنده بپوشانید.

سیستم انتقال نیروی مستقیم

در این سیستم نیروی تولید شده توسط موتورالکتریکی مستقیما به وسیله روتور آن به هدف مورد نظر منتقل می شود مانند پمپ های پریستالتیک که غلطک‌های این پمپ به روی روتور الکتریکی آن نصب شده اند و یا چرخ فیلتر که مستقیماً به روتور متصل شده است.

برای تست یک موتور الکتریکی باید آن را به کار انداخت و عمل تعریف شده برای آن موتور را تست کرد. به عنوان مثال اگر یک موتور الکتریکی وظیفه هدایت سوزن نمونه برداری را به داخل کاپ های نمونه به عهده داشته باشد، بای دقیقا سوزن نمونه برداری را به داخل کاپ نمونه ای هدایت کند که به آن دستور داده شده است، یا اگر یک موتور الکتریکی وظیفه هدایت سوزن مکش را به داخل کاپ های معرف به عهده دارد باید دقیقا سوزن مکش را

به داخل همان کاپ ری هدایت کند و اگر یک موتور الکتریکی وظیفه قرار دادن فیلترهای دستگاه را در مقابل منبع نور به عهده دارد باید دقیقا فیلتر تعیین شده را در مقابل منبع نوری دستگاه قرار دهد.

برای کالیبر کردن قسمت های سخت افزاری و مکانیکی که توسط این موتورها کنترل می شوند باید ابتدا نقطه صفر یا مرجع هر قسمت را برای دستاه تعریف کرد، به عنوان مثال باید برای دستگاه، موقعیت اولین کاپ نمونه یا اولین ظرف معرف یا فیلتر شماره یک و ... مشخص باشد، برای این منظور از یک زایده فلزی و یک سنسور حساس به نور استفاده می شود.

تست و کالیبراسیون سرنگ های نمونه برداری

برای تست این سرنگ ها از یک نمونه بردار بسیار دقیق استفاده می شود. برای این منظور ابتدا باید لوله نمونه بردار از جهت عدم وجود قطرات یا مواد خشک شده کنترل شود و نیز از محکم بودن و تمیز بودن سر نمونه بردار اطمینان حاصل شود و سپس به دستگاه دستور داده شود تا ۵ میکرولیتر از یک نمونه برداشته و آن را در یک کاپ خالی تخلیه کند، اکنون با استفاده از نمونه بردار دقیق ۵ میکرولیتری این نمونه را برداشت کرده و از جهت کم یا زیاد بودن کنترل شود. با تکرار متوالی این تست می توان با استفاده از نمونه بردارهای گوناگون میزان دقیق حجم برداشت شده توسط دستگاه را تعیین کرده و سپس نسبت به کاهش یا افزایش دور موتور الکتریکی کنترل کننده این سرنگ (مطابق روش ذکر شده) اقدام کرد.

تست و کالیبراسیون توان ورودی دستگاه

برای تامین برق مورد نیاز مدارات الکترونیکی در دستگاه های پزشکی، یک منبع تغذیه و یک ترانس مبدل در داخل دستگاه قرار داده می شود به نحوی که برق شهری به ورودی این منبع متصل می شود، بنابراین لازم است که سالانه یک بار توان خروجی این منبع تغذیه و ترانس مبدل جریان برق (که در واقع برق ورودی دستگاه است) تست شده و در صورت نیاز تنظیم شود، این کار با استفاده از یک مالتی متر دقیق انجام می شود.

مشخصات لازم برای یک اتوآناالایزر متناسب با آزمایش های مختلف

- تمام اتوماتیک بودن سیستم
- انعطاف پذیری برای اجرای مراحل آزمایش (از پی پت کردن نمونه تا تولید نتایج)
- تعداد معرف های بیشتر در دستگاه قابل پذیرش باشد.
- تعداد نمونه بیشتر در حالت دستیابی تصادفی اجرا شوند.
- ظرفیت Cup یا جایگاه نمونه برداری همچنین تعداد تست ها بالا باشد(بلوک های یک بار مصرف کووت که هر یک برای چند آزمایش طراحی شده باشند)
- تمام جایگاه های بلوک کووت تحت کنترل دمایی باشند.
- جایگاه های نگهداری معرف ها و محلول به راحتی قابل برداشت و نگهداری در یخچال باشند.
- امکانات کنترل کامپیوتری (سیستم هوشمند کنترلی) برای اجرای عملیات وجود داشته باشد. (مانند کنترل سطح مایعات، کنترل وجود کووت و کنترل مراحل عملکرد موتور، اطمینان از اجرای صحیح عملیات در طی جریان آزمایش)
- نرم افزار که به کاربر امکان افزودن نمونه هایی جدید و برداشتن نمونه های انجام شده را در هر زمان بدهد در عین حال روی آزمایش فعال شده دخالتی نداشته باشد.
- در هر زمان پس از افزودن نمونه برنامه سیستم قادر به تشخیص و برآوردن مراحل مورد نیاز برای آزمایش بوده و اطمینان دهد که زمان ایده آل برای انجام آزمایش وجود دارد.
- دو سرنگ مستقل از یکدیگر برای برداشت نمونه و معرف ها که از نظر ایجاد صحت، اطمینان بخش است. همچنین احتمال آلودگی سطح خارجی سرنگ و آلودن معرف ها (carryover) را به صفر می رساند و سرعت پی پت را به حداکثر می رساند (افزایش می دهد)

- سرنگ مربوط به نمونه قادر به برداشت حجم های مختلف نمونه از حداقل ۳ الی ۱۰۰ میکرولیتر باشد (مراحل ۱ میکرولیتری) و سرنگ مربوط به معرف قادر به برداشت حجم ۵۰ الی ۹۰۰ میکرولیتری (در مراحل ۵ میکرولیتری) باشد.
- قابلیت استفاده از معرف های تولید تمام کارخانجات را داشته باشد (سیستم باز یا (Open و بتوان پروتکل های آزمایشات را با استفاده از معرف های مختلف از قبل برنامه ریزی کرد. (وارد کردن پارامترکیت های بیوشیمی)
- موارد کاربردی خاصی که استفاده از بیش از یک معرف مورد نیاز است توسط دستگاه قابل اجرا باشد.
- دستگاه فاقد نیازهای نگهداری بوده (maintenance) و قدرت فوتومتری خطی به حد مطلوب باشد. هر چه کانال های اندازه گیری بیشتر باشند زمان خواندن کوتاه تر می شود. این عمل در عین حال حداکثر انعطاف پذیری و ایمنی اجرا را پدید خواهد آورد.
- حداقل بازده سیستم ۲۴۰ آزمایش در ساعت یا بیشتر باشد (برای آزمایشگاه‌های متوسط تا بزرگ)
- آزمایشات قابل اجرای همزمان (On-board) زیاد بوده و ظروف محتوی معرف در هر زمان قابل سوار کردن باشد.
- افزایش تعداد معرف های (On-board) یا در حال اجرا باعث حذف نمونه برداری زیاد و کاهش زمان خواهد شد.
- کاهش حجم معرف مصرفی باعث افزایش تعداد آزمایشات در هر Pack یا سینی خواهد شد.
- استفاده از سیستم grating باعث اصلاح تفرق نوری و افزایش صحت فتومتر می شود.
- کاربر امکان انتخاب بیش از ۱۲ طول موج از حدود ۳۴۰ نانومتر الی ۷۵۰ نانومتر را داشته باشد

پارامترهای قابل توجه در دستگاه نیمه اتوماتیک

- قدرت اجرای پارامترهای بیوشیمی را داشته باشد. همچنین قدرت انجام پارامترهای مربوط به آزمایش پروتئین های مخصوص، داروهای اعتیاد آور، داروهای درمانی و الکترولیت ها در دستگاه موجود باشد.
- طراحی سیستم نوریSuperior ، صحت بالای نتایج را در شرایط آزمایشگاهی تضمین می کند. (حتی در حجم های کم نمونه، غلظت پایین کدورت سنجی.
- هر چه حجم اندازه گیری کم باشد باعث صرفه جویی در حجم معرف مورد نیاز خواهد شد.
- وجود صفحه نمایشی و صفحه کلید مناسب، عملیات ورود و خروج اطلاعات به دستگاه را فعال می کند و احتمال خطر ورود اطلاعات اشتباه را پایین می آورد. (مشاهده اطلاعات)
- نرم افزار دستگاه با ارایه فهرست عملیات اجرایی، باعث سهولت کاربری خواهد شد.
- نتایج QC در حافظه قابلیت ذخیره داشته و به وضوح در صفحه قابل مشاهده باشند.
- نرم افزار دستگاه باید قدرت محاسبه میانگین انحراف از استاندارد و ضریب انحراف معیار و نمایش منحنی Levey-Jenningرا داشته باشد.
- اطلاعات به دست آمده از اندازه گیری را بتوان به راحتی اصلاح کرد.
- قدرت ذخیره نتایج آزمایشات بیماران به طور اتوماتیک در حافظه دستگاه موجود باشد.
- ارتباط ۲ طرفه بین سیستم و کامپیوتر باعث انتقال و ثبت نتایج، پارامترهای سیستم و ارتقای درجه نرم افزار به کامپیوتر مادر خواهد شد. در سیستم نرم افزاری کامپیوتری امکان اصلاح نتایج بیماران پدید خواهد آمد.

مشخصات لازم برای فوتومترهای اتوماتیک

- فوتومتر باید تا حد امکان تمام اتوماتیک باشد
- قابلیت کنترل با کامپیوتر داشته باشد.

- توانایی انجام آزمایشات بیوشیمی اختصاصی، اورژانسی(STATS)، سنجش‌های ایمنی و سایر اندازه گیری های فوتومتریک را داشته باشد.
- کالیبراسیون منفرد و چندتایی (Single-multi) و ۲ کنترل کیفی برای هر آزمایش ممکن باشد.
- امکان پرینت اطلاعات کنترل کیفی سیستم و مشاهد در صفحه نمایش.

منابع :

- Kanagasabapathy, A.S. and Swaminathan, S. (1989) “Clinical Biochemistry Services in India” in Clinical Chemistry—an overview—Proceedings of the 13th International Congress of Clinical Chemistry held in 1987 in The Haque, The Netherlands, Plenum Press, New York p. 825–832.
- Kanagasabapathy, A.S. and Swaminathan, S. (1992) “External quality assurance programme in India: A ten-year experience”, Proceedings of the 5th Asian-Pacific Congress of Clinical Biochemistry 1991, Kobe, Japan. Progress in Clinical Biochemistry. Elsevier Science Publication, B.V. Amsterdam, 17–20
- Kanagasabapathy, A.S. (1995) “Quality assurance—The laboratory's obligation to the patient” Clinical Lab. Digest 1, 1–10.
- Narayanan, S. (1989) “Preanalytical consideration in Clinical Laboratory” — Symposium on quality assurance in ASEAN Conference in Med. Lab. Technology, Singapore
- Stamm, D. (1981) Guidelines for a basic programme for internal quality control of quantittative analysis in clinical chemistry WHO document LAB/81, 3.
- Westgard, Barry, P.L. and Hunt, M.R. (1981) A multi-rule shewhart chart for quality control in Clinical Chemistry. Clin. Chem. 27, 493–501.
- کتاب کنترل کیفیت در آزمایشگاههای پزشکی، نوشته دکتر فریده رضی، دکتر پریسا داهیم و... انتشارات نوید

  شیراز، سال ۱۳۸۸.
- اصول مدیریت کیفیت در آزمایشگاه بیوشیمی دکتر محمدی- انتشارات تهران