



عنوان دوره آموزشی

اصول تضمین کیفیت در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

بهار ۱۴۰۱

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

کیفیت	۶
پیشینه کنترل کیفی	۷
اهداف کلی کنترل کیفیت	۷
برخی تعارف:	۸
اهمیت کنترل کیفی در آزمایشگاه	۱۰
سطوح برنامه‌های کنترلی در آزمایشگاه	۱۳
معیارهای ارزیابی در کنترل کیفی	۱۵
اصول صحیح کنترل کیفی	۱۷
شنش سیگما	۱۹
مفهوم شنش سیگما	۲۳
اصل اساسی شنش سیگما	۲۶
اهداف شنش سیگما	۲۷
ابزار و روش‌های مدیریت کیفیت در شنش سیگما	۲۸
اتوانالایزر در آزمایشگاه بیوشیمی	۲۹
انواع اتوانالایزر	۲۹
کنترل متغیرها در بخش مرحله انجام آزمایش	۳۳
کنترل کیفیت آماری	۳۳
انتخاب مواد کنترلی	۳۳
خطای مجاز	۳۶
روشهای تعیین مقادیر خطای مجاز:	۳۸
نمودار کنترلی	۳۹
اجرای کنترل داخلی کیفیت	۴۱
تفسیر نتایج	۴۳
چارت کنترلی Levey-Jenning	۴۴
۲- تفسیر چارت کنترلی با قوانین چندگانه وستگارد	۴۵
قوانین WHO	۵۲
انواع خطا	۵۴
اقدامات اصلاحی	۵۵
خطای راندوم	۵۵

خطای سیستماتیک	۵۶
چارت کنترل تجمعی Cumulative Sum (Cusum) Control chart	۵۶
کنترل کیفیت بر اساس نتایج آزمایش بیماران	۵۹
روشهای آماری برای پایش میانگین نتایج بیماران	۶۲
بررسی هماهنگی نتایج آزمایشگاه با تشخیص نهایی	۶۳
اصول کنترل کیفی در آزمایشگاه خونسناسی	۶۳
برنامههای دائمی:	۶۳
برنامههای روزانه:	۶۳
اصول کار با دستگاههای سلکانتر	۶۴
محلولهای سلکانتر	۶۵
کالیبراسیون و کنترل کیفیت سلکانتر	۶۵
کالیبراسیون	۶۵
کنترل کیفیت	۶۷
دستگاه میکرو هماتوکریت	۷۲
کنترل کیفی و بررسی کالیبراسیون دستگاه میکرو هماتوکریت	۷۳
کنترل کیفی آزمایشات انعقادی	۷۴
اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشگاه میکروبیشناسی	۷۶
تهیه و کنترل کیفیت محیط های کشت	۷۶
نکات عمومی در مورد محیط های کشت:	۷۶
موارد استثناء:	۸۰
کنترل کیفی محیط های کشت میکروبی:	۸۱
اصطلاحات مربوط به سویه های میکروبی کنترل	۸۱
منبع سویه های کنترل:	۸۲
روش انجام آزمون کنترل کیفیت محیط های کشت	۸۲
بررسی آزمایشهای عملکردی محیط کشت (Performance testing)	۸۳
کنترل محیط های ساخته شده تجاری (آماده مصرف):	۸۴
بررسی آلودگی محیط های کشت (استریل بودن محیط های کشت):	۸۴
تفسیر نتایج:	۸۵
سایر معیارهای تضمین کیفیت:	۸۵
اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشات کیفی:	۸۸

۸۹.....	تفسیر نتایج برنامه کنترل کیفی خارجی
۹۳.....	مراحل کار تفسیر نتایج EQA :
۹۵.....	منابع

کیفیت

در خصوص تعریف کیفیت لازم به ذکر است که صفات و مشخصاتی که یک محصول در ارتباط با برآوردن نیاز مشخصی از یک گروه مصرف کننده دارا است، کیفیت نام دارد. همچنین طبق تعریف ایزو ۹۰۰۰، کیفیت عبارت است از ویژگی ذاتی کالا یا خدمتی که با نیاز مشتری تطابق دارد.

کنترل کیفیت

کنترل کیفیت، هسته مرکزی مدیریت کیفیت و تضمین کیفیت است. این بحث فرآیندی است که در آن عملکرد یک اپراتور که مشغول تولید یک نتیجه آزمایش است را مانیتور و پایش می کند و سپس خطاهای عملیات فاز انجام آزمایش شناسایی می شود. کنترل کیفیت می بایست به صورت کاملاً تخصصی و حرفه ای در سطوح مختلف کاری به افراد شاغل در آزمایشگاه، آموزش داده شود و هر فرد نسبت به کنترل کیفیت آزمایشاتی که انجام می دهد، آگاهی کاملی داشته باشد. در یک جمله کنترل کیفی به معنی مطالعه خطاهای آزمایشگاهی و روش های تشخیصی و اتخاذ تدابیر لازم جهت به حداقل رساندن آن ها است. وقتی صحبت از کنترل کیفی می شود، بیشتر فعالیت ها حول محور انجام آزمایش متمرکز می شود، اما محدوده کنترل کیفی بسیار وسیع تر است. هر جا امکان خطا وجود دارد باید برنامه کنترل کیفی نیز وجود داشته باشد و برنامه های کنترل کیفی میزان بسیار کم خطا را قابل قبول می دانند. به نوعی دیگر می توان گفت که حد مجاز یا قابل قبول خطا مقداری است که اهمیت بالینی پاسخ ها را تحت تاثیر قرار ندهد.

در چرخه مراجعه بیمار به آزمایشگاه تا گرفتن نتیجه، کلیه مراحل نمونه گیری، انتقال، انجام آزمایش و ارائه جواب باید تحت نظارت سیستم کنترل کیفی باشد.

پیشینه کنترل کیفی

اساس کنترل کیفی حدود ۸۵ سال پیش در صنعت پایه گذاری شد چراکه مشاهدات نشان می دادند بعضی از محصولات کیفیت مناسب را ندارند. در سال ۱۹۳۱، شوارت - Shewarts با معرفی تست های آماری و چارت های مربوطه به کنترل کیفی جنبه علمی داد. در سال ۱۹۵۰، کنترل کیفی وارد آزمایشگاه های تشخیص طبی شد. با ارسال نمونه ها به آزمایشگاه های مختلف به همراه کنترل کیفی داخلی، Grannis در سال ۱۹۷۷ روند کنترل کیفی را دنبال کرد. امروزه کنترل کیفی توسعه و تکامل زیادی پیدا کرده، صرفاً به معنای کنترل مراحل انجام آزمون نبوده، بلکه به معنای کنترل تمام مراحل، از مراجعه بیمار به آزمایشگاه تا دریافت جواب است.

اهداف کلی کنترل کیفیت

برخی اهداف اجرای منظم برنامه های کنترل کیفی به قرار زیر هستند:

۱. افزایش اعتماد و اعتقاد به پاسخ های گزارش شده
۲. افزایش دقت و صحت
۳. شناسایی مسائل و خطاهای ایجاد شده در روند آزمایش و روش های کاهش آن
۴. افزایش سرعت کار
۵. حل اختلافات و اشتباهات
۶. کاهش هزینه ها
۷. آرمش فکری کارکنان و مسئولان آزمایشگاه
۸. سرویس دهی با کیفیت مناسب به بیماران و پزشکان
۹. کمک در داوری صحت روش های مختلف آزمایشگاهی به طوری که بتوان در انتخاب یک روش برتر موفق بود.

برای رسیدن به اهداف فوق، علاوه بر تسلط بر روش های عملی آزمایشگاهی، آشنایی با روش های آماری نیز ضرورت دارد که بدین منظور در ادامه و در قسمت های بعد به این روش ها می پردازیم.

تفاوت‌های مدیریت کیفیت سنتی و مدیریت کیفیت جامع	
مدیریت کیفیت سنتی	مدیریت کیفیت جامع
کیفیت هزینه‌بر است	کیفیت باعث کاهش هزینه‌ها می‌شود
متمرکز بر کیفیت قابل قبول است	متمرکز بر کیفیت بدون خطا است
متمرکز بر بخش است	متمرکز بر سازمان است
متمرکز بر بازرسی است	متمرکز بر پیشگیری است
نقائص توسط کارکنان ایجاد می‌شوند.	نقائص ناشی از سازمان است
مدیریت کارکنان را کنترل می‌کنند	به کارکنان قدرت و اختیار داده می‌شود
مشکلات توسط مدیرات حل می‌شود.	مشکلات توسط گروه‌ها حل می‌شود.

برخی تعارف:

میزان درست (Value True): میزان واقعی یک آنالیت در نمونه که با روش قطعی تعیین می‌شود.

میزان هدف (Value Target): میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری مطلوب یک آنالیت که جایگزینی قابل دسترسی برای میزان درست در آزمایشگاه است.

میزان اندازه‌گیری شده (Value Measured): میزان اندازه‌گیری یک آنالیت با یک روش معمول آزمایشگاهی

درستی (Trueness): نزدیکی میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های تکراری یک آنالیت و میزان درست آن

تورش (Bias): تفاوت بین این میزان متوسط و میزان درست را تورش گویند که انعکاسی از میزان خطای نظام مند (SE) روش اندازه‌گیری می‌باشد.

*در عمل معمولاً امکان دسترسی به میزان کاملاً درست وجود ندارد و به جای آن یک میزان مرجع مورد قبول (value reference Accepted) مورد توجه است که میزان درستی است که در عمل قابل تعیین است.

صحت (Accuracy): صحت اشاره به نزدیکی نتیجه حاصل از یکبار اندازه گیری آنالیت و غلظت درست آن آنالیت دارد. صحت تحت تاثیر هر دو خطای نظام مند و تصادفی قرار می گیرد و در نتیجه انعکاسی از خطای آنالیتیکال کل (TAE) می باشد. صحت بطور معکوس با عدم قطعیت (Uncertainty) ارتباط دارد. مفهوم عدم قطعیت برای استفاده کننده نهایی نتایج می باشد که نگران خطای کل آزمایش فارغ از تصادفی یا نظام مند بودن آن هستند.

دقت (Precision): میزان نزدیکی نتایج حاصل از آزمایش های تکراری اندازه گیری یک آنالیت در یک نمونه با یک روش و در شرایط مشخص می باشد.

عدم دقت (Imprecision): برای بیان دقت یک روش معمولاً از معیارهای آماری عدم دقت شامل انحراف معیار (SD) یا درصد ضریب تغییرات (CV) استفاده می شود. عدم دقت انعکاسی از خطای تصادفی (RE) است.

علت های خطای تصادفی:

(۱) پی پت کردن

(۲) زمانبندی

(۳) هم زدن

(۴) تشکیل حباب

(۵) نور

(۶) دمای پیرامون

(۷) تغییر کاربر

تضمین کیفیت (QA): در آزمایشگاه یک سیستم بازبینی درونی و بیرونی ممیزی است که توسط افراد متخصص در حوزه آزمایشگاه صورت می‌پذیرد. در بسیاری از اوقات QA فقط در مورد محصول نهایی و پایان فرایند بکار می‌رود، اما یک برنامه تضمین کیفیت موثر و کارا باید تمام مراحل اعم از برنامه ریزی و گام های کنترل کیفیت (QC) را مورد ارزیابی قرار می‌دهد.

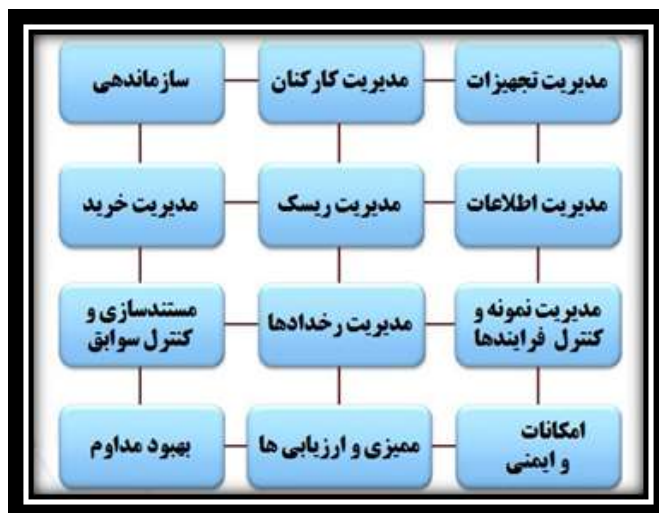
تضمین کیفیت را با کنترل کیفیت نباید اشتباه کرد. کنترل کیفیت به کیفیت خدمات مربوط می‌شود. تضمین کیفیت، سیستم کنترلها بر اساس مستندات در داخل سیستم است به طوری که هیچگاه مراجعه‌کننده خود را از دست ندهید. به عبارت دیگر تضمین کیفیت احتمال بروز خطا را که موجب ایجاد ضرر برای آزمایشگاه و مراجعه‌کننده می‌شود را از بین می‌برد.



اهمیت کنترل کیفی در آزمایشگاه

گزارش‌های آزمایشگاه تشخیص طبی بخش مهمی از اطلاعاتی است که پزشک بر مبنای آن بیماری را تشخیص داده و به مداوای بیمار می‌پردازد. ارتباط بیمار، آزمایشگاه و پزشک غیرقابل تفکیک بوده و نشان‌دهنده اهمیت کار آزمایشگاه در ارتباط با معالجه بیمار توسط پزشک است. کارکنان آزمایشگاه در کنار پزشکان در اتخاذ

تصمیمات درمانی نقش بسزایی دارند. به خاطر داشته باشیم که بسیاری از این تصمیمات فوری و غیرقابل برگشت است. هر تصمیم غلط یا با تاخیر، ممکن است به قیمت به خطر افتادن یک زندگی تمام شود. در این ارتباط پزشک با آگاهی از علایم بالینی و تاریخچه بیماری و نیز استفاده از سایر خدمات پاراکلینیکی نظیر رادیولوژی، سونوگرافی و غیره در موقعیت مستحکمتری قرار دارد درحالی که آزمایشگاه باید متکی بر قدرت ابزار، کارایی معرفها و ... باشد و این موقعیتی بس دشوار است. وظیفه آزمایشگاه ارائه اطلاعات دقیق تشخیصی به پزشک است. این اطلاعات دقیق جز با آموزش صحیح و دقیق پرسنل، اجرای برنامه‌های کنترل کیفیت، استفاده از مواد و روش‌های دقیق و روش‌های اتوماتیک حاصل نمی‌شود. به کارگیری روش‌های اتوماتیک در انجام آزمایش‌ها افزایش بازدهی و کاهش خطاها را به دنبال دارد. با این وجود علی‌رغم تاکیدی که بر استفاده از روش‌های اتوماتیک صورت می‌گیرد، هرگز نمی‌توان باور داشت که بدون نیروی انسانی کارآمد و مجرب بتوان به نتیجه یک آزمایش اطمینان داشت. در حقیقت با ارزش‌ترین سرمایه آزمایشگاه نیروی انسانی متفکر، آگاه و کارآمد است. برای این که نتایج آزمایشگاهی در تشخیص و درمان بیماری به بهترین وجه قابل استفاده باشد، آزمایش‌ها بایستی با صحت هرچه بیشتر انجام شود. رسیدن به این هدف نیاز به روش‌های صحیح و دستگاه‌های معتبر و از همه مهم‌تر پرسنلی آگاه و ورزیده دارد.

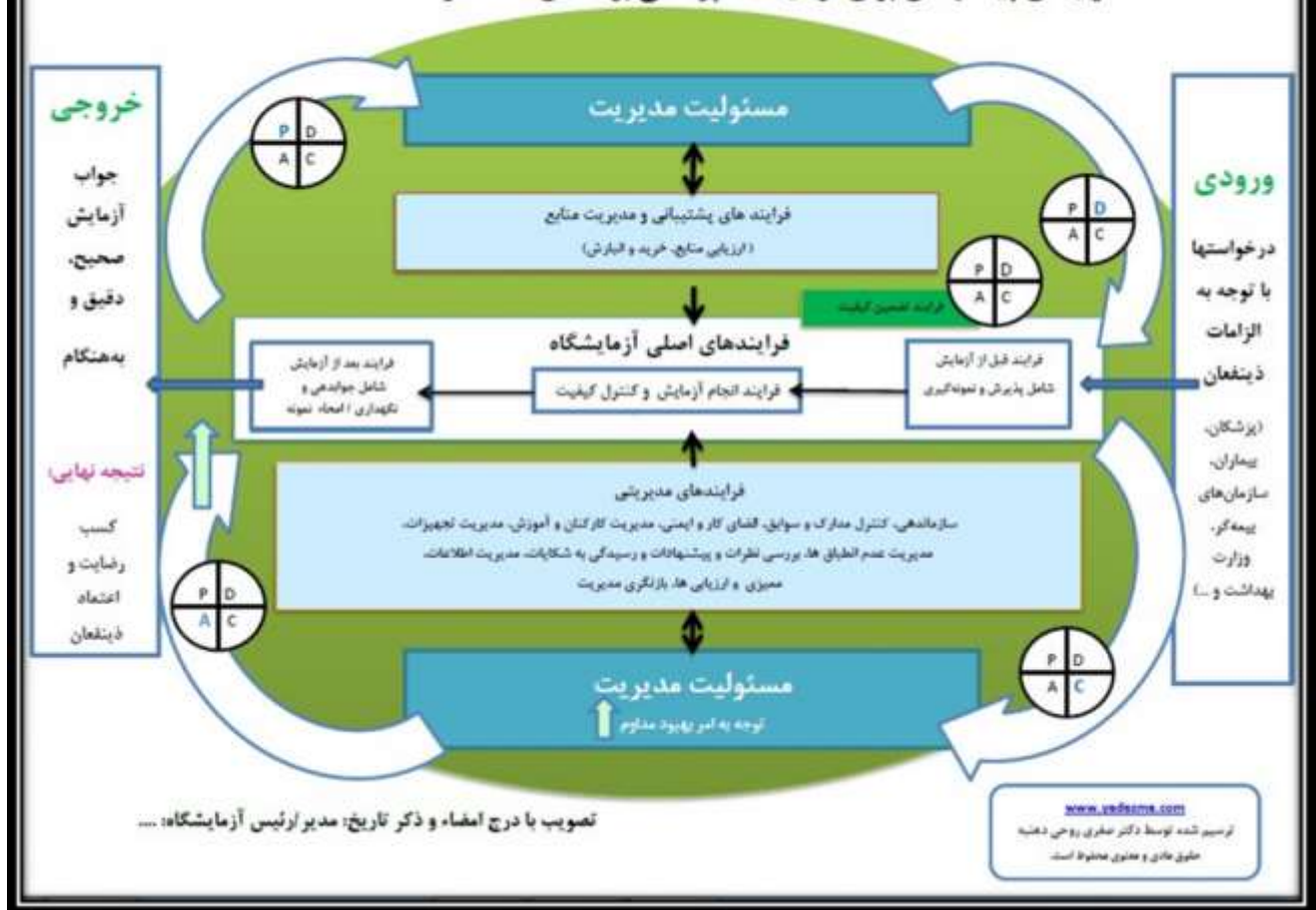


این ارکان سنگ زیربنای فرایند اصلی آزمایشگاه است.

نگرش سیستمی و در دل آن نگرش فرایندی در آزمایشگاه پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

به نقشه فرایندی سیستم مدیریت کیفیت که در شکل زیر نمایش داده شده است توجه فرمایید.

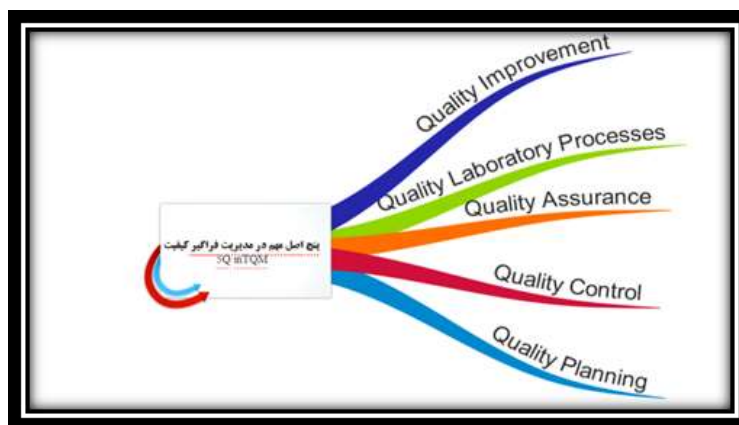
نقشه فرایندی پیشنهادی برای آزمایشگاه پزشکی بر اساس استاندارد INSO-ISO 15189



تعهد مدیریت و مشارکت کارکنان لازمه دستیابی و بقاء سیستم مدیریت فراگیر کیفیت (TQM) در هر سازمانی است.

**همه کارکنان آزمایشگاه
در قبال کیفیت خدمات مسئولیت دارند.**

برقراری سیستم مدیریت فراگیر کیفیت با داشتن طرح کیفیت برای کل آزمایشگاه و درک اصول ۵ Q توسط همه کارکنان در جای جای آزمایشگاه امکان پذیر خواهد بود.



سطوح برنامه‌های کنترلی در آزمایشگاه

علاوه بر این که پیش‌تر به آن اشاره شد، کنترل کیفی یا QC در آزمایشگاه بدین معنی است که پاسخ‌های گزارش شده علاوه بر سرعت در انجام، کاملاً صحیح بوده و در تکرارهای مجدد تغییر چشمگیری مشاهده نشود. مگر آن که تغییرات مربوط به شرایط بیمار باشد.

اعتقاد به اینکه آزمایشگاه وظیفه دارد پاسخ‌های کامل و بی نقصی را ارائه دهد و نیز پزشک و بیمار حق دارند بهترین نتیجه ممکن را دریافت کنند، موجب طراحی برنامه‌هایی شده که به طور اثر بخشی باعث ارتقاء کیفیت خدمات آزمایشگاه و کاهش خطاها و معضلات برای پزشکان و بیماران شده است. این برنامه‌ها در ابتدا ساده و دارای اثربخشی پایین بودند ولی بتدریج اصلاح و کامل‌تر شدند. در ادامه به شرح سطوح برنامه‌های کنترل در آزمایشگاه می‌پردازیم.

- **برنامه بازرسی مستقیم:** در این شیوه نتایج نهایی ارزیابی شده و چنانچه خطا و یا انحرافی وجود داشته باشد، ثبت و پیگیری می‌شود. شناسایی اشکالات، دسته‌بندی و رتبه‌بندی موارد اشکال، از دیگر ویژگی بازرسی است.
- **کنترل کیفیت:** علاوه بر آنچه در این خصوص ذکر شد، کنترل کیفیت فرآیندی است که برای کسب اطمینان از کیفیت کالا یا خدمت است که عموماً از طریق محاسبات آماری روی یک سری اندازه‌گیری‌ها (برای یافتن خطا احتمالی) صورت می‌پذیرد و از خروج جواب ناصحیح جلوگیری می‌کند و شامل مراحل

است که جهت ارزیابی روش و نحوه انجام آزمایش‌ها و نیز برای شناسایی منابع خطا، تخمین میزان خطا و هشدار به پرسنل نسبت به بروز خطا به کار می‌رود.

• **برنامه تضمین کیفیت:** در تضمین کیفیت علاوه بر این‌که مرحله آنالیز مورد توجه است، مراحل یا

متغیرهای پیش و پس از آن نیز مورد توجه قرار می‌گیرند. متغیرهای مربوطه عبارتند از :

متغیرهای پیش از آزمایش: درخواست آزمایش، آماده سازی بیمار، شناسایی بیمار، نمونه گیری، حمل و نقل، پردازش و آماده سازی نمونه، تقسیم نمونه ها و لیست کاری.

متغیرهای حین انجام آزمایش: روش آزمایش، استانداردها، کالیبراسیون، ثبت روش‌ها و دستورالعمل‌ها، کنترل معرف‌ها و تجهیزات.

متغیرهای پس از انجام آزمایش: وارد کردن پاسخ‌ها، بایگانی پاسخ‌ها، کنترل کیفیت آزمایش، روش‌های آماری و نمودارهای کنترلی و ضبط و بایگانی آن‌ها.

در حقیقت تضمین کیفیت به معنی اعمال سیستم کارآمد جهت شناسایی، جلوگیری و اصلاح خطاهای انجام شده از زمان درخواست آزمایش توسط پزشک تا خروج جواب‌ها از آزمایشگاه است.

برنامه بهبود کیفیت مستمر (Quality Continuous Improvement): در این برنامه با تکیه بر نقاط قوت برنامه تضمین کیفیت در دوره‌ای طولانی مدت، سیستم پایش می‌شود. نقاط قوت و ضعف شناسایی شده و مستند سازی می‌شوند. مسئول اجرای برنامه بهبود کیفیت مستمر موظف است در دوره‌های زمانی مشخص، ارزیابی دقیقی از سطوح کیفیت کار آزمایشگاه از بعد خدمات را در مقایسه انجام دهد و بهبود عملکرد آزمایشگاه با دوره های قبل با تدوین راهکارهای عملی مسجل سازد. در این برنامه بر مشارکت نیروی انسانی به طور گسترده و همچنین بر برنامه‌ریزی پیشرفته کیفیت تاکید می‌شود، بر روش‌های آماری تاکید بیشتری شده و به خواست مشتریان اهمیت فراوان داده می‌شود.

برنامه مدیریت کیفیت فراگیر (Management Quality Total)

در این روش با نگرشی سیستمیک به آزمایشگاه توجه می‌شود. اعتقاد بر این است که تمام عوامل اثرگذار بر آزمایشگاه و تمام فرآیندها از ابتدا تا انتها مورد پایش قرار گیرند. تاکید بر فرآیند آموزش حین خدمت، تاکید بر خواسته‌های مشتری، توجه به تحولات علمی و تکنیکی، مطالعه مداوم و هوشیاری نسبت به سیستم و پیگیری انحرافات در زمان وقوع و بسیاری نکات دیگر از مشخصات این برنامه است. در واقع مدیریت کیفیت فراگیر را می‌توان نهادینه سازی برنامه بهبود مستمر کیفیت دانست.

معیارهای ارزیابی در کنترل کیفی

برخی معیارهایی که برای ارزیابی کیفیت در نظر گرفته می‌شود عبارتند از:

• معیارهای عملی

این معیارها به شرایط و نحوه انجام آزمایش وابسته است و پس از ارزیابی‌های اولیه و با به دست آوردن یک سری اطلاعات، درباره عملی بودن و امکان استفاده از یک روش و یا دستگاه نتایج مفیدی در اختیار ما قرار می‌دهد. معیارهای عملی شامل: قیمت، سرعت، ایمنی، نیروی متخصص، و دستگاه‌های مورد نیاز است.

- **قیمت:** در این قسمت قیمت معرف ها، استهلاک دستگاه‌های مورد استفاده در هر آزمایش، هزینه دستمزد پرسنل مربوطه و به طور کل بهای تمام شده هر آزمایش دقیقاً محاسبه می‌شود. روش‌هایی مطلوب تر هستند که قیمت کمتری داشته باشند.

- **سرعت:** در این قسمت می‌بایست زمان مورد انتظار برای انجام هر آزمایش از زمان دریافت نمونه تا هنگام ارائه پاسخ محاسبه و سنجیده شود. با توجه به زمان لازم جهت انجام مراحل مختلف آزمایش، باید سعی کرد آزمایش‌ها در حداقل زمان و با سرعت کافی انجام شود. اگر زمان لازم برای هر کدام از مراحل آزمایش متغیر است، لازم است اثر زمان بر روی صحت و دقت نتایج ارزیابی شود.

- **ایمنی:** در این قسمت مواردی نظیر ایمنی الکتریکی و مکانیکی، خطرات شیمیایی یا مسمومیت، خطر مواد رادیواکتیو، خطرات احتمالی ناشی از ریختن محلول‌های اسیدی بر روی اشخاص مورد بررسی قرار گرفته و می‌بایست امکاناتی را که برای مقابله و پیشگیری با آن موارد مورد نیاز است فراهم شود.
- **نیروی متخصص:** گاهی برای انجام برخی از آزمایش‌ها و یا راه اندازی یک سیستم نیازمند حضور نیروی متخصص هستیم، لذا این امر باید از پیش بررسی و نوع تخصص مورد نظر تامین شود.
- **دستگاه‌های مورد نیاز:** این مورد شامل پیش‌بینی و تامین دستگاه‌های مورد نیاز آزمایشگاه و همچنین در نظر گرفتن شرایط نگهداری و اقدامات پیشگیرانه برای عملکرد مطلوب دستگاه و افزایش بهره‌وری آن‌ها می‌شود.

• معیارهای اطمینان دهنده علمی

اگرچه معیارهای عملی کمک مناسبی می‌کنند ولی معیارهای علمی تعیین کننده‌تر است و چنانچه فاکتورهای علمی قابل قبول نباشد، جواب‌های حاصله قابل اطمینان نیست. این معیارها شامل: دقت، صحت، اختصاصیت و حساسیت است.

- **دقت (Precision):** درواقع همان قابلیت تکرارپذیری (Repeatability) آزمایش است که قابلیت تکرارپذیری هم عبارت است از دقت نتایج حاصله از چند اندازه‌گیری در طی یک مدت کوتاه که بدون تغییر در سیستم، روش کار و شرایط آزمایشگاهی بوسیله یک شخص و یا یک آزمایشگاه انجام می‌شود. به بیان دیگر مشابه و ترجیحاً یکسان بودن نتایج به دست آمده از تکرار یک آزمایش نشان‌دهنده دقت روش به کار رفته خواهد بود. واضح است که روش آزمایشی قابل قبول است که از دقت بالینی برخوردار باشد. عدم دقت یا نبود آن از طریق محاسبه شاخصی آماری بنام انحراف معیار به دست می‌آید که در قسمت‌های بعد به این موضوع و مسائل آماری پرداخته می‌شود.

- **صحت (Accuracy):** صحت بیانگر درجه نزدیکی نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری یک ماده خاص به میزان واقعی آن ماده است یا به بیان دیگر میزان توافق مقادیر اندازه‌گیری شده با مقادیر واقعی. البته تعریف درست دیگری از صحت نیز عبارت است از: میزان نزدیک بودن میانگین نتایج پاسخ‌های بدست

آمده از اندازه‌گیری یک ماده به ارزش واقعی آن ماده. به طور کلی در انتخاب یک روش آزمایشگاهی باید هر دو عامل دقت و صحت در کنار هم وجود داشته باشند. در غیاب یکی از این دو عامل نتایج حاصل از آزمایشات چندان ارزشی نخواهد داشت. با کنترل کیفیت می‌توان صحت و دقت نتایج گزارش شده را مورد ارزیابی قرار داده و مناسب بودن دستگاه‌ها و وسایل مورد نیاز، مناسب بودن معرف‌های مصرفی و دقت شخص آزمایش‌کننده را سنجید.

- **اختصاصیت (Specificity):** از آنجایی که بسیاری از مواد غذایی و یا دارویی می‌تواند در نتایج آزمایشات ایجاد تداخل کرده و موجب افزایش و یا کاهش کاذب پاسخ‌ها شود، ضرورت دستیابی به روش‌های کاملاً اختصاصی برای از بین بردن اثرات تداخلی مشخص می‌شود. به توانایی یک روش آزمایشگاهی در عدم اندازه‌گیری و یا ردیابی مواد و یا عوامل مشابه، اختصاصیت یا ویژگی آن آزمایش گویند به نحوی که مواد و یا عوامل مشابه نتوانند در نتیجه اندازه‌گیری و یا ردیابی یک ماده و یا عامل خاص تداخل ایجاد کنند. به صورت ایده‌آل آزمایشی مناسب است که اختصاصیت آن زیاد باشد. اختصاصیت آزمایشی بیشتر است که جواب مثبت کاذب (جواب مثبتی که جواب واقعی نیست و دلیل آن موادی است غیر از ماده موردنظر که در آزمایش دخالت کرده و نتیجه را مثبت می‌نماید) کمتری داشته باشد.

- **حساسیت:** حساسیت یک روش آزمایش عبارت است از حداقل میزان ماده مورد اندازه‌گیری که می‌توان آن را با روش مورد استفاده تحت سنجش قرار داد. آزمایشی حساس‌تر است که جواب‌های منفی کاذب (در پاره‌ای از مواقع جواب منفی بدست آمده جواب واقعی نیست و به عنوان منفی کاذب تلقی می‌شود) کمتری داشته باشد. در شرایط ایده‌آل حساسیت یک تست خوب باید ۱۰۰ درصد باشد.

اصول صحیح کنترل کیفی

هدف از درخواست آزمایش توسط پزشک برای بیمار، بررسی وضعیت پاتوفیزیولوژیک وی به منظور تشخیص علت بیماری و پیگیری درمان وی می‌باشد. نتایج آزمایش وقتی می‌تواند به پزشک در این موارد کمک نماید که خطا در انجام آزمایشات وجود نداشته و یا به حداقل رسیده باشد و یا تاثیر این خطاهای احتمالی بر نتیجه نهایی ناچیز بوده و پاسخ آزمایش تنها نشان‌دهنده وضعیت بیولوژیک بیمار باشد. برای رسیدن به نتیجه درست و

قابل قبول و به حداقل رسانیدن خطاهای آزمایشگاه، یک و روش صحیح برای برنامه تضمین کیفیت ضروری است. تضمین کیفیت طیف وسیعی از فعالیت‌ها را در برمی‌گیرد که اجرای آن‌ها در یک قالب منسجم برای رسیدن آزمایشگاه به کیفیت مطلوب لازم می‌باشد.

عوامل بسیاری عملکرد آزمایشگاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند که برخی از آن‌ها عبارتند از:

(۱) تغییرات بیولوژیک / فیزیولوژیک در بدن فرد

(۲) مواد مداخله‌گر مثل داروها

(۳) متغیرهای پیش از انجام آزمایش (Preanalytic) مانند جمع‌آوری، انتقال، آماده‌سازی و نگهداری نمونه‌ها

(۴) متغیرهای حین انجام آزمایش (Analytic)

(۵) متغیرهای پس از انجام آزمایش (Postanalytic)

تمامی این فعالیت‌ها بایستی طوری انجام شود که سه بخش پیش از انجام آزمایش (Preanalytic) و حین انجام آزمایش (Analytic) و پس از انجام آزمایش (Postanalytic) را شامل گردد.

بسیاری از مشکلات مهمی که در آزمایشگاه‌ها رخ می‌دهد در بخش پیش از انجام آزمایش (Preanalytic) ایجاد می‌شود که مثال‌هایی از آن عبارتند از: درخواست آزمایش نامناسب، آماده نبودن بیمار برای انجام آزمایش (عدم رعایت رژیم غذایی خاص، فعالیت بدنی زیاد یا کم، مصرف داروها و ...)، رعایت نکردن دستورهای لازم برای آزمایش (مانند مواردی که در مورد جمع‌آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته یا آزمایش خون مخفی در مدفوع به بیمار توصیه می‌شود)، نمونه‌گیری ناصحیح (ظرف یا نگهدارنده نامناسب، آلودگی در زمان نمونه‌گیری، بستن تورنیکه به مدت طولانی، اندازه سوزن، شرایط خوابیده و ایستاده و ...)، برچسب‌گذاری غلط، آماده‌سازی و نگهداری نامناسب (سانتریفیوژ یا دمای نامناسب نگهداری، ...).

برای این‌که از بروز این‌گونه خطاها جلوگیری نماییم بایستی دستورالعمل‌های پذیرش، نمونه‌گیری، انتقال و نگهداری نمونه به تفکیک نوع آزمایش (یا گروهی از آزمایش‌ها که شرایط مشابهی دارند) تهیه و در ضمن این‌که به کارکنان آموزش داده می‌شود در اختیار آن‌ها نیز قرار گیرد. ثبت غلط نتیجه آزمایش در برگه‌های جوابدهی و

جایابی نتایج از خطاهایی هستند که در بخش پس از انجام آزمایش (Postanalytic) رخ می‌دهند و با آموزش کارکنان و کنترل نتایج به حداقل رسانیده می‌شود.

خطاهایی که در قسمت حین انجام آزمایش (analytic) صورت می‌گیرد مواردی مانند کالیبراسیون نامناسب سیستم، اشکال در روش آزمایشگاهی مورد استفاده و ... می‌باشد.

موضوع اصلی که در این دستورالعمل‌ها مورد توجه قرار می‌گیرد روش‌های شناسایی و نحوه برخورد با این خطاها می‌باشد.



شش سیگما

شش سیگما^۱ یک راهبرد (استراتژی) تحول سازمانی است که موجب توسعه و گسترش متدهای مدیریتی، آماری و در نهایت حل مشکلات شده و به کمپانی امکان جهش و تحول را می‌دهد. شرکت موتورولا^۲، در سال‌های دهه ۱۹۸۰ برای نخستین بار شش سیگما را رایج ساخت. شرکت آلاید سیگنال^۳ در اوایل دهه ۱۹۹۰ آن را به کار بست و شرکت جنرال الکتریک^۴ آن را به پرطرفدارترین فلسفه مدیریتی تاریخ تبدیل نمود.

فازهای مختلف اجرای شش سیگما:

- فاز تعریف^۵

- فاز اندازه گیری^۶

^۱ Sixsigma

^۲ Motorola Company

^۳ Allied Signal Company

^۴ General Electric Company

^۵ Define

- فاز آنالیز^۷

- فاز بهبود^۸

- فاز کنترل^۹

در مرحله اول یعنی تعریف، کار گروه پروژه تشکیل شده و مشتریان، نیازها و الزامات آنها تعیین می‌شود و نقشه سطح بالا تهیه می‌گردد.

در مرحله اندازه‌گیری ضمن آنکه عملکرد سیگمایی موجود فرآیند (تعداد خطاها در یک میلیون فرصت) تعیین می‌شود و برنامه جمع آوری داده‌های تولید شده حین فرآیند و شیوه اجرای برنامه طرح‌ریزی می‌شود.

مرحله سوم تجزیه و تحلیل است که طی آن کارگروه پروژه، داده‌های تولید شده و فرآیند را تجزیه و تحلیل می‌کند و عوامل ایجاد عملکرد سیگمایی ضعیف در فرآیند را مشخص می‌کند. به عبارتی عواملی که باعث افزایش تعداد خطاها می‌شود را تعیین می‌کنند.

مرحله چهارم بهبود است که در این مرحله کارگروه، مجموعه‌ای از راه‌حل‌ها و نتایج حاصله را بررسی و منافع منتج از آن را ارزیابی می‌کند.

آخرین مرحله، مرحله کنترل است که در این مرحله مجموعه‌ای از روش‌ها و ابزارها برای فرآیند بهبود یافته جدید بکار برده می‌شود بطوریکه در نهایت عملکرد سیگمایی در طی زمان بهبود یابد.

تعریف عملی و کلاسیک

شش سیگما یک نگرش منضبط، داده محرک و روشی برای حذف عیب‌ها در هر فرایند و محصول می‌باشد. این فرایند از ساخت تا فروش را در برمی‌گیرد و شامل همه محصولات و خدمات ارائه شده از سوی یک سازمان می‌گردد.

^۶ Measure

^۷ Analyse

^۸ Improvement

^۹ Control

شش سیگما چیست ؟

سیگما یکی از حروف الفبای یونانی است که در آمار ریاضی برای تعریف انحراف معیار^{۱۰} (متوسط دوری یا نزدیکی از معیار تمرکز) به کار می‌رود. در واقع سیگما مقیاسی برای سنجش انحراف است و نشان می‌دهد که یک فرآیند چه اندازه از حالت مطلوب (مثلاً میانگین) خود منحرف شده است.

شش سیگما فرآیندی است بسیار منظم که به سازمان کمک می‌کند تا به طور مستمر با توسعه و تولید تقریباً عالی محصولات و خدمات، نیازهای مشتریان خود را برآورده سازد.

از دید آماری شش سیگما به این معناست که کیفیت تولید و فرآیند با حدود اطمینان ۹۹/۹۹۹۶۶ درصد بدون اشتباه باشد.

تننت^{۱۱} واژه شش سیگما را معادل پاره‌ای از مفاهیم همچون چشم‌انداز، یک فلسفه، یک سمبل و نماد، یک مقیاس و سنج (متریک) ، یک هدف و یک متدولوژی و روش شناسی میداند. تننت برخلاف سایر رویکردهای کیفیت، شش سیگما را تنها یک روش و رویه ندانسته بلکه معتقد است که یک چشم‌انداز^{۱۲}، هدف و سمبل را نیز در بردارد . در نهایت وی شش سیگما را براساس سه محور زیر تعریف می‌کند:

- تمرکز بر مشتری و سودآوری سازمان

- مجموعه‌ای از فنون و سنج‌های آماری

- یک روش شناسی (متدولوژی) برای بهبود فرآیند

بریفوگل^{۱۳}، شش سیگما را تلفیقی از دانش و آگاهی سازمان با فنون کارای آماری در جهت بهبود کارایی و اثربخشی اثربخشی سازمان و همچنین برآورد سازی الزامات حقیقی مشتری می‌داند .

^{۱۰} Standard Deviation

^{۱۱} Tennant

^{۱۲} Vision

^{۱۳} Forrest W. Breyfogle

پند و نیومن^{۱۴} شش سیگما را به این صورت تعریف می‌کنند: « شش سیگما، یک سیستم جامع و انعطاف پذیر برای کسب موفقیت در کسب و کار، حفظ موقعیت و حداکثر کردن آن است. شش سیگما با درک دقیق خواسته‌های مشتری، به‌کارگیری منسجم حقایق و داده‌ها، تحقیق آماری، تمرکز بر شناخت، مدیریت، بهبود و یا طراحی مجدد فرآیندهای کسب و کار محقق می‌شود. ».

از نظر برآوردها^{۱۵}، شش سیگما، سطحی از عملکرد فرآیند و معادل سه چهارم خطا در یک میلیون فرصت یا عملیات است.

هم چنان که سیگما از یک سطح به سطح بالاتر افزایش می‌یابد، هزینه‌ها کاهش پیدا می‌کند، زمان چرخه فرآیند کمتر و رضایت مشتری بیشتر می‌شود.

شش سیگما مجموعه‌ای از اصول کیفی اثبات شده و فنون آماری است که به کمک آن می‌توان به سطح مطلوبی از کیفیت ارائه خدمات دست یافت؛ به عبارتی یک روش تحلیلی برای بهینه‌سازی با استفاده منظم از وقایع، داده‌ها، تحلیل‌های آماری، داده‌های مدیریت و فرآیندهای بهینه‌سازی است.

شش سیگما، روشی مبتنی بر داده‌ها برای بهبود کیفیت با حذف نقایص و ریشه‌های آن‌ها در فعالیت کسب و کار و ارائه خدمت است.

به طور کلی شش سیگما از طریق موارد زیر به اهداف بهینه سازی مستمر در سازمان نائل می‌گردد:

۱. ایجاد تغییر در فرهنگ و رویه سازمان
۲. شناسایی، بهبود و یا طراحی مجدد کلیه فرآیندهای سازمان
۳. تمرکز بر مشتری و به‌کارگیری سنجش‌های پایش مشتری
۴. آموزش کارکنان سازمان، ایجاد انگیزه در آن‌ها، برای مشارکت و کار گروهی

^{۱۴} Peter S. Pande, Robert P. Neuman

^{۱۵} Estimates

شش سیگما یک فلسفه بهبود مستمر است که به سمت «عالی شدن در همه کارها» پیش می‌رود و به‌عنوان یک سیستم تعیین می‌کند کجا قرار گرفته‌ایم؟ می‌خواهیم در کجا قرار بگیریم؟ چگونه به آن مقصد می‌رسیم؟ و چگونه در طول راه پیشرفت می‌کنیم؟

شش سیگما یک ابزار است که برای میزان‌سازی دقیق ماشین فرآیند بکار می‌رود و این کار را از طریق مشتری مداری (جامعه محوری)، بهبود مستمر و درگیر گردن و مشارکت همه اعضا در داخل و خارج سازمان انجام می‌دهد.

شش سیگما به دلیل تأکید عمیق بر روی تحلیل‌های آماری، مقیاس‌های ارزیابی، تولید محصول یا ارائه خدمت و یا فعالیت‌های متمرکز در حیطه مشتری‌گرایی قادر است احتمال بروز خطا در محصولات و خدمات را به میزان بی‌سابقه‌ای کاهش دهد.

بنابراین شش سیگما یک روش‌شناسی راهبرد محور است که با استفاده از ابزارهای کیفی مناسب در یک سیستم جامع و فرآیندگرا با بهره‌گیری از تیم‌ها و گروه‌های کاری آموزش دیده و با تمرکز بر فرآیندهای مشتری مدار باعث حداکثر کردن رضایت مشتریان و سودآوری سازمان در زمینه کسب و کار می‌شود.

مفهوم شش سیگما

آنچه در مفهوم شش سیگما مستتر است، به طور خلاصه عبارت است از:

- هوشمندانه کار کردن، نه فقط سخت کار کردن
- بهبود کیفیت و کاهش هزینه‌ها
- ابزاری برای کاهش نوسانات (تغییرات)
- چشم‌اندازی برای محصولات و خدمات عالی
- تکریم ارباب رجوع

شش سیگما تلفیقی از مدیریت کیفیت و مهندسی سیستم‌هاست که اصول فوق را پوشش می‌دهد. هنگامی که سازمان با استفاده از ابزارهای مختلف کیفیتی مانند کنترل کیفیت، اقدامات اصلاحی و پیشگیرانه مشکلاتی را در

سطوح پایین (از نظر امکان شناسایی و قابلیت برطرف کردن و غیره) شناسایی و رفع کرد. برای حل مشکلات ریشه‌ای و مزمن از روش‌شناسی شش سیگما استفاده می‌شود. هر چه سطح سیگما بالاتر می‌رود، افزایش‌نمایی (صعودی با سرعت بالا) در کاهش نقص‌ها ضروری است، به طوری که با رفع مشکلات محدود و ریشه‌ای که با ابزارهای ساده کیفی قابل شناسایی و حل نیستند، سطح سیگما افزایش می‌یابد .

رسیدن به سطح شش سیگما یک چشم‌انداز است و هنوز شرکت‌های مطرح در استفاده از این روش، قادر به دستیابی به سطح شش سیگما نبوده‌اند . در هر حال افزایش سطح سیگما به ایجاد بهبودهای چشمگیر در افزایش کیفیت و کاهش هزینه‌های سازمان می‌انجامد و بهبود مستمر را به نحوی مطمئن پایه‌ریزی می‌کند. سیگما به عنوان معیاری برای محک زدن میزان پراکندگی جامعه شناخته شده و اساس فلسفه شش سیگما بر کاهش نوسانات و تغییرات استوار است.

یکی از معیارهای که طی مراحل اجراء تیم شش سیگما از آن به عنوان شاخص استفاده می‌کند مقدار سیگمای فرآیند^{۱۶} است که در اینجا نحوه محاسبه این شاخص را بررسی می‌کنیم.

در توضیح عملکرد سیگمایی باید گفت که سطح ۱ سیگما بیشترین مقدار ضایعات را در برمی‌گیرد که جمع عظیمی از هزینه‌های اضافی را به سازمان تحمیل می‌کند و در صورت عدم رسیدگی و کشف علت و حذف محصولات معیوب و تحویل آن به مشتری نه تنها هزینه تولید هدر رفته است بلکه هزینه گزاف ناراضایتی مشتری را بدنبال خواهد داشت .

در حالتی که درصد ضایعات بالاست (عملکرد سیگمایی ضعیف) بازرسی سخت‌گیرانه تنها مانع خروج محصول معیوب می‌شود نه تولید نامرغوب و به نظر می‌رسد اقدام اصلی جهت کاهش ضایعات، افزایش رضایت مشتری، حفظ منابع انسانی و اصلاح فرآیندهای تولید، روش شش سیگما است . جدول زیر مقادیر مختلف ضایعات (محصول خارج از حدود کنترل فرآیند) را به ازای سطوح مختلف عملکرد سیگمایی نمایش می‌دهد.

^{۱۶} Sigma Level

مقادیر مختلف ضایعات و سطوح عملکرد سیگمایی		
سطوح عملکرد سیگمایی	تعداد ضایعات (خطا) در یک میلیون (فرصت)	درصد ضایعات
۱ سیگما	۶۹۱۴۶۲	۶۹/۱۴۶۲
۲ سیگما	۳۰۸۵۳۸	۳۰/۸۵۳۸
۳ سیگما	۶۶۸۰۷	۶/۶۸۰۷
۴ سیگما	۶۲۱۰	۰/۶۲۱۰
۵ سیگما	۲۳۳	۰/۰۲۳۳
۶ سیگما	۳/۴	۰/۰۰۰۳۴

برای محاسبه سطح عملکرد سیگمایی از رابطه زیر استفاده می شود (: اکس، ترجمه ملکزاده،) ۱۳۸۴

تعداد نمونه‌ها × تعداد فرصتها / ۱۰۰۰۰۰۰ × تعداد خطاها = تعداد خطاها در یک میلیون فرصت

که در آن منظور از خطا، محصول یا خدمت نامناسب (با توجه به استانداردهای تعیین شده) و تعداد فرصتها، بازاء هر یک از عواملی که خطا نامیده می‌شود یک فرصت در نظر می‌گیرند و تعداد نمونه‌ها، تعداد مواردی است که خطای آن را اندازه‌گیری می‌کنند. سپس با استفاده از جدول "قابلیت فرایند و تبدیل سیگما" سطح عملکرد سیگما را تعیین می‌کنند.

تفاوت با دیگر روش‌های بهبود سازمانی

همه افراد یک سازمان بدون توجه به موقعیت سازمانی باید در پیاده‌سازی شش سیگما مشارکت داشته و از آن تأثیر پذیرند. برخلاف دیدگاه بسیاری از افراد که شش سیگما را مجموعه‌ای از راز و رمزهای مهارتی معرفی می‌کنند که تنها قابل دسترسی برای افراد با تحصیلات بالای دانشگاهی است، شش سیگما برای تمامی افراد سازمان قابل فهم است؛ به گونه‌ای که در پایان اجرای آن در یک سازمان، همه افراد مهارت‌های خاصی را به دست خواهند

آورند. شش سیگما سیستمی است شامل مجموعه از تکنیک‌ها و ابزارهای بهبود مستمر برای تمرکز بر فرایندها، تحلیل و مقایسه آن‌ها و تخصیص منابع به فرایندهایی که نیازمند توجه بیشتر هستند.

وجه مشترک فرایندهای مختلف یک سازمان این است که کلیه فرایند در معرض وقوع خرابی هستند. تمام فرایندها خرابی ایجاد می‌کنند و این خرابی‌ها باعث دوباره‌کاری اتلاف هزینه و نیروی انسانی می‌شود. شش سیگما با تعریف معیارهایی که نشان‌دهنده میزان خرابی در فرایند هستند، امکان مقایسه وضعیت عملکردی فرایندهای مختلف را فراهم می‌آورد و به سازمان برای تصمیم‌گیری در مورد محل تمرکز منابع جهت عملکرد بهتر کمک می‌کند.

از روی عملکرد فرایندهایی که در سطح جهانی فعالیت می‌کنند و تحلیل‌های آماری انجام شده از روی فرایندهای واقعی، فرایندهایی که در سطح شش سیگما فعالیت می‌کنند، نیازهای مشتری را بهتر برآورد می‌سازند. فرایندهای پنج سیگما نیازهای مشتری را برآورد نمی‌سازند و فرایندهای هفت سیگما نیز ارزش افزوده زیادی ایجاد نمی‌کنند؛ بنابراین، شش سیگما انتخاب شده‌است. عدد سه چهارم مردودی در یک میلیون فرصت خرابی، نزدیک به خرابی صفر است و در عین حال قابل حصول بوده و می‌تواند به عنوان یک هدف واقعی مطرح باشد.

اصل اساسی شش سیگما

به عنوان اصل و شالوده خود، شش سیگما به تمام افراد سازمان می‌آموزد که کارآمد و مفیدتر باشند و ایرادات و اشکالات سیستماتیک یا ... را به حداقل رسانند و به نوعی تدارک ببینند که دیگر هرگز اتفاق نیفتد.

مفهومی که از ۶ سیگما می‌توان خروجی گرفت این است که احتمال اشتباه یا خطا را به کمتر از یک در یک میلیون برسانیم و ۶ سیگما به نوعی نماینده ۶ عدد صفری است که جلوی یک، در عدد یک میلیون وجود دارد.

مؤلفه‌های اصلی شش سیگما

برای رسیدن به اثربخشی و کارآمدی بالاتر با استفاده از روش شش سیگما، سه مؤلفه اصلی مطرح است:

مؤلفه اول مربوط به راهبرد شش سیگما است. این مؤلفه راهبردی، مسئولیت مدیر اجرایی است.

مؤلفه دوم شش سیگما مربوط به تدابیری است که چگونگی عملکرد گروه‌های پروژه در بهبود یک فرایند نیمه‌کاره را نشان می‌دهد. این مؤلفه از روش‌شناسی مشابه با روش علمی که در مدارس آن را آموخته‌اید استفاده می‌کند. روش علمی به تعریف و تبیین یک مسئله، تحلیل علل ریشه‌ای آن و آزمودن تئوری‌های بهبود مربوط می‌شود. در اصل، این روشی است که به منظور بهبود اثربخشی و کارایی در شش سیگما به کار می‌رود.

دیگر مؤلفه کلیدی شش سیگما، مسائل فرهنگی است که با استفاده از آن‌ها در سازمان خود، می‌توانید شش سیگما را به چیزی فراتر از مجموعه‌ای از تدابیر و روش‌ها بدل سازید.

اهداف شش سیگما

- کاهش نوسانات و تغییرات
- کاهش ایرادات
- بهبود بازدهی فرایندها
- افزایش رضایت مشتری
- کاهش هزینه‌ها
- بهبود کیفیت
- روشی سیستماتیک جهت حل مسائل
- تقویت بنیه رقابتی سازمان
- کاهش سیکل زمانی (تحويل به موقع)

متدهای شش سیگما

هدف بنیادی روش شش سیگما اجرای راهبردی مبتنی بر اندازه‌گیری عملکرد است و از طریق اجرای پروژه‌های بهبود دهنده، شش سیگما سعی در کاهش نوسانات فرایند و بهبود آن دارد. این کار به کمک دو روش فرعی در شش سیگما انجام می‌شود: DMAIC که به صورت " $\langle d\lambda 'meɪ ɪk \rangle$ " "duh-may-ick" تلفظ می‌شود و DMADV که به صورت " $\langle d\lambda 'mæd vi \rangle$ " "duh-mad-vee" تلفظ می‌شود دو متد شش سیگما هستند.

فرایند DMAIC یک سامانه بهبوددهنده برای بهبود فرایندهایی است که در حال حاضر خارج از مشخصات عملکردی خواسته شده از سوی مشتری یا مدیریت ارشد سازمان هستند. فرایند DMADV یک سامانه بهبود دهنده برای ایجاد فرایند یا محصولات جدیدی است که می‌خواهیم سطح کیفیت آن‌ها شش سیگما باشد. البته زمانی که نتوان عملکرد فرایند موجود را بیش از سطح فعلی بهبود داد باز از این روش می‌توان بهره جست. هر دوی این روش‌ها توسط افراد کارآموده آشنا با شش سیگما اجرا می‌شوند.

ابزار و روش‌های مدیریت کیفیت در شش سیگما

بجز دو متد یادشده شش سیگما از ابزار و روش‌های دیگری نیز بهره می‌برد. در بین متدهای زیر گسترش عملکرد کیفیت (QFD) از پرکاربردترین روش‌ها است.

مدل QFD یک رویکرد در طراحی است که در سال ۱۹۹۶ توسط آکائی در ژاپن معرفی شد. این رویکرد نخست در کارخانه کشتی سازی کوبه میتسوبیشی در سال ۱۹۷۲ مورد استفاده قرار گرفت. سپس در سال ۱۹۸۳ وارد آمریکا شد و اکنون در کشورهای بسیاری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

از QFD می‌توان به عنوان ماشین مترجم «نیازمندی‌های مشتریان» به «مشخصات فنی و مهندسی» یا به عبارتی مبدل تقاضاهای مشتریان به ویژگی‌های کیفیت و آماده‌ساختن یک طرح کیفیت برای محصول نهایی از طریق گسترش سیستماتیک روابط بین درخواست‌های مشتری و ویژگی‌های کیفیت محصول، تعریف نمود. این

فرایند به طور معمول با کیفیت اجزای عملکردی آغاز گشته و سپس به کیفیت همه قسمت‌ها و فرآیندها گسترش می‌یابد.

تکنیک QFD با این هدف توسعه یافته است که محصول و خدمات به نحو اثربخش‌تر و کاراتری به مشتری عرضه گردد. در واقع با به کارگیری این روش، صدای مشتری در کل زنجیره تولید شنیده می‌شود.

QFD ابزار طراحی TQM و یک فرایند سیستماتیک برای ایجاد تمرکز بر مشتریان است. همچنین روشی است که به سازمان‌ها کمک می‌کند تا بتوانند محصولات رقابتی را در زمان کوتاه‌تر و هزینه کمتر تولید نمایند. به‌واقع QFD یکی از ابزار طرح‌ریزی کیفیت است.

گام نخست برای اینکه از تجهیزات آزمایشگاه به نحو احسن استفاده نماییم، مطالعه کاتالوگ‌ها و انجام دستورالعمل‌های نگهداری و کنترل کیفیت مندرج در آن می‌باشد و مطالبی که در ذیل آورده می‌شود جنبه عمومی داشته و به هیچ عنوان جایگزین دستورالعمل سازنده آن تجهیز نمی‌شود.

اتوآنالایزر در آزمایشگاه بیوشیمی

اتوآنالایزر در بیوشیمی بالینی ابزارهایی هستند که در بررسی بیوشیمیایی کمیت‌ها را با حداقل دخالت اپراتور انجام می‌دهد.

انواع اتوآنالایزر

اتوآنالایزر بر اساس ماهیت معرف مورد استفاده به اتوآنالایزرهای با معرف مایع و بدون معرف مایع مانند سیستم‌های Kodak, Ektachem, Vitros, Opus تقسیم‌بندی می‌شوند. سیستم‌های با معرف مایع در ایران رایج‌تر بوده و به همین علت در این دستورالعمل مورد بحث قرار گرفته‌اند.

ساختمان کلی اتوآنالایزرهای با معرف مایع، شامل قسمت‌های زیر می‌باشد:

منبع نوری، مونوکروماتور، محفظه کووت، انکوباتور برای ایجاد دمای مناسب واکنش، بازوی مکنده معرف، بازوی مکنده نمونه Sample/Reagent Prob، دتکتور و واحد اطلاعات و پردازش این اطلاعات.

این اتوآنالایزرها بر اساس روش انتقال نمونه به دو دسته Continuous flow و Discrete Analyzer تقسیم می‌شوند. در اتوآنالایزر خودکار Continuous flow نمونه از طریق بازوی مکنده نمونه (Sample Probe) به جریان مداوم معرف وارد می‌شود ولی در سیستم‌های Discrete Analyzer نمونه توسط Probe به محفظه واکنش خاص انتقال می‌یابد.

نکات مهم در مورد استفاده از اتوآنالایزر بیوشیمی

- ✓ آشنایی کامل با دستگاه قبل از شروع به کار
- ✓ ایجاد شرایط الزامی برای عملکرد صحیح دسته به‌طور مثال برق مناسب و یا آب با خلوص خاص.
- ✓ استفاده از دستورالعمل اختصاصی ارائه شده توسط سازنده کیت برای دستگاه مورد نظر
- ✓ عدم استفاده از کنترل به جای کالیبراتور در عمل کالیبراسیون، در کالیبراسیون کمیت‌ها باید به غلظت مناسب کالیبراتور نیز توجه داشت به‌طور مثال برای کالیبراسیون HDL بایستی از کالیبراتور مخصوص همین کیت استفاده نمود، نه از کالیبراتور کلسترول توتال.
- ✓ استفاده از کالیبراتور و کنترل‌های مورد توصیه سازنده کیت یا استفاده از کالیبراتور و کنترل‌های هماهنگ.
- ✓ عدم تغییر فاکتور اعلام شده سازنده کیت برای آنزیم، این عمل که ممکن است به منظور تصحیح کنترل قرائت شده صورت گیرد مشکلات احتمالی از قبیل عدم کفایت، ناپایداری معرف و امکان تداخل زمینه سرم کنترل با معرف و یا اشکال در دمای انکوباتور سیستم را پوشانیده و مانع یافتن خطای واقعی می‌گردد.

نگهداری و کنترل کیفیت اتوآنالایزر

- برای حفظ کیفیت عملکرد اتوآنالایزر لازم است کلیه موارد یادشده در دستورالعمل همراه جهت نگهداری و سرویس دستگاه رعایت شود.
- برای سرویس کالیبراسیون سیستم، برنامه زمان‌بندی شده تهیه و سوابق مکتوب انجام آن نگهداری شود.
- برای بررسی عملکرد دستگاه بعد از هر سرویس و کالیبراسیون انجام تست‌های زیر توصیه می‌شود.

سنجش عملکرد پروب‌ها:

تست‌هایی انجام می‌شود که برای انجام آن‌ها کمترین و بیشترین حجم نمونه لازم باشد (مانند تست پروتئین در سیستم‌های RA) سپس یک نمونه کنترل ۳۰ بار مورد اندازه‌گیری پروتئین قرار می‌گیرد و پراکندگی نتایج حاصل بر حسب CV% نباید بیش از مقدار خطای مجاز ادا شده توسط سازنده کیت باشد.

دمای انکوباتور:

برای بررسی پایداری دمای انکوباتور دستگاه تستی انجام می‌گیرد که به تغییرات دما حساس است مثل اندازه‌گیری تست ALT. سپس یک نمونه کنترل ۳۰ بار مورد اندازه‌گیری ALT قرار می‌گیرد و پراکندگی نتایج حاصل بر حسب CV% نباید بیش از مقدار خطای مجاز ادا شده توسط سازنده کیت باشد.

انتقال ناخواسته (Carry Over):

در دستگاه اتوآنالایزور ممکن است نمونه یا معرف بطور ناخواسته انتقال یابند. برای بررسی انتقال ناخواسته معرف بایستی از دو تستی که NADH را اندازه‌گیری می‌کنند استفاده نمود. به‌طور مثال LDH و ALT که یکی افزایش و دیگری کاهش NADH را اندازه‌گیری می‌کند. بدین ترتیب که بر روی یک نمونه کنترل در یک سری کار و به ترتیب زیر، ۳۰ بار آزمایش LDH و ۱۰ بار ALT انجام می‌شود.

LDH	ALT
LDH	-
LDH	-
LDH	ALT
LDH	-
LDH	-
LDH	ALT
LDH	-

میزان پراکندگی نتایج اندازه‌گیری LDH بر حسب CV اندازه‌گیری می‌شود.

سپس در یک سری کاری ۳۰ بار LDH به تنهایی (بدون همراهی با ALT) اندازه‌گیری و میزان

پراکندگی نتایج اندازه‌گیری LDH بر حسب CV محاسبه می‌شود.

CV% در در حالت اول (آزمایش LDH و ALT) باید معادل یا کمتر از حالت دوم (اندازه‌گیری LDH

به تنهایی) باشد.

انتقال ناخواسته نمونه با انجام آزمایش بر روی نمونه‌های با غلظت بالا و پایین کمیت‌های انتخابی، به-

طورمتموالی بررسی می‌شود. به‌طور مثال گلوکز با غلظت‌های ۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم درصد و یا ALT در غلظت‌های بالا

و پایین انتخاب شده به‌طور متناوب هر یک از نمونه‌های با غلظت‌های پایین (L) و بالا (H) سه بار مورد آزمایش

قرار می‌گیرد.

H-H-H-L-L-L-H-H-H-L-L-L-...

پراکندگی نتایج غلظت‌های پایین مورد محاسبه قرار می‌گیرد.

سپس در یک‌سری کاری مجزا، نمونه با غلظت پایین به تنهایی و به دفعات اندازه‌گیری و میزان پراکندگی

نتایج حاصله بر حسب CV% محاسبه می‌شود.

پراکندگی نتایج حاصله بر حسب CV% در حالت اول نباید بیش از پراکندگی حاصله از تکرار همین نمونه

به تنهایی و در سری کاری مجزا باشد. در غیر این‌صورت تداخل در برداشت نمونه وجود داشته است.

اجرای برنامه کنترل داخلی کیفیت Internal Quality Control برای کلیه کمیت‌هایی که اندازه‌گیری

می‌شود با دستگاه جهت بررسی قابلیت تکرار و عضویت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت EQAS جهت بررسی

صحت عملکرد دستگاه اتوآنالیزر الزامی می‌باشد.

برای بررسی کاملتر عملکرد دستگاه‌های اتوآنالیزر می‌توان به دستورالعمل‌های ECCLS و CLSI رجوع

نمود.

کنترل متغیرها در بخش مرحله انجام آزمایش

متغیرهای مرحله انجام آزمایش را می‌توان به دو روش تحت کنترل قرار داد.

(۱) استفاده از نمونه کنترل و تعمیم نتایج آن به جواب آزمایش‌های بیماران.

(۲) استفاده از نتایج بیماران (دلتا چک، آزمایش‌های مضاعف و ...).

کنترل کیفیت آماری

در کنترل کیفیت آماری نمونه کنترلی به‌عنوان نماینده‌ای از یک گروه از نمونه‌های بیماران مورد آزمایش قرار می‌گیرد و نتایج آن با مقادیر مورد انتظار که اغلب به‌صورت یک محدوده بیان می‌گردد، مقایسه می‌گردد. اگر نتایج آزمایش نمونه کنترل در این محدوده باشد نتایج آزمایش‌های بیماران نیز قابل قبول می‌باشد ولی اگر نتیجه نمونه کنترلی در این محدوده قرار نگیرد جواب‌های بیماران نیز مورد اعتماد نبوده و این نتایج هم قابل قبول نیست.

انتخاب مواد کنترلی

در انتخاب مواد کنترلی بایستی موارد زیر مورد توجه قرار گیرد.

(۱) **پایداری:** بایستی این مواد برای مدت طولانی پایداری داشته باشند و در عین حال فاقد مواد نگهدارنده

مداخله کننده باشد. این ویژگی به آزمایشگاه اجازه می‌دهد تا مواد کنترلی مورد نیاز خود را برای مدت مشخص، یک‌جا تهیه نماید (بهتر است مواد کنترلی برای مصرف یک‌سال، خریداری شود).

(۲) **مشابهت با نمونه انسانی مورد آزمایش:** بهتر است کنترل با توجه به نمونه انسانی مورد آزمایش انتخاب

شود. به‌عنوان مثال کنترل‌های با پایه سرم، ادرار، خون، CSF و

(۳) **عدم وجود اثرات زمینه‌ای (Matrix effect):** برای انتخاب سرم کنترل باید همخوانی آن با معرف‌های

مورد آزمایش در نظر گرفته شود و از عدم وجود اثرات زمینه‌ای اطمینان حاصل شده باشد.

(۴) **یکنواختی:** ویال‌های مختلف کنترل بایستی هموزن بوده و غلظت متغیرهای موجود در آن‌ها یکسان

باشد.

(۵) **بسته‌بندی مناسب:** ویال بدون نشستی بوده و به حجم رسانیدن و نگهداری کنترل با سهولت انجام شود.

۶) قیمت ارزن و تعداد زیاد مصرف کنندگان.

۷) فاقد عامل بیماری‌زا: مثل باکتری، قارچ، ویروس و پرپون.

برای استفاده هم می‌توان از کنترل‌های لیوفیلیزه و هم می‌توان از کنترل‌های مایع استفاده نمود. ولی وقتی می‌خواهیم یکی از آن‌ها را انتخاب نماییم بایستی معایب و مزایای هر کدام را در نظر داشته باشیم. به‌طور مثال خطا در به حجم رسانیدن کنترل‌های لیوفیلیزه ممکن است منجر به بروز مشکلاتی شود درحالی‌که کنترل‌های مایع آماده مصرف هستند. در عین حال موادی که در کنترل‌های مایع وجود دارند ممکن است در برخی روش‌ها تداخل نموده و باعث خطا شود.

برای کنترل داخلی کیفیت، بهتر است حداقل امکان دو غلظت مختلف از کنترل استفاده شود. انتخاب غلظت‌های نزدیک به محدوده تصمیم‌گیری بالینی (Decision level) ارجح می‌باشد. مانند غلظت ۱۲۶ و ۲۰۰ میلی-گرم در دسی‌لیتر برای گلوکز. برخی پیشنهاد می‌نمایند غلظت کنترل‌ها طوری انتخاب شود که محدوده قابل گزارش در روش آزمایشگاهی (Reportable range) را پوشش دهد. برای مثال اگر سازنده ادعا کرده است که محدوده گزارش‌دهی کیت اندازه‌گیری گلوکز ۳۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است می‌توان کنترل‌هایی با غلظت تقریبی ۴۰ و ۳۸۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر را انتخاب نمود.

مواد کنترلی به دو شکل دارای مقادیر مشخص (assayed) و فاقد مقادیر مشخص (unassayed) موجود است و هر دو نوع آن‌ها را می‌توان در بررسی دقت (Precision) استفاده نمود.

نکته ۱: مواد کنترل‌ها را نمی‌توان به‌عنوان کالیبراتور استفاده شود. کالیبراتور ماده‌ای است که برای کالیبراسیون روش‌های آزمایشگاهی به‌کار می‌رود و دارای مقدار مشخصی است درحالی‌که مواد کنترلی برای کنترل کیفیت روش‌های آزمایشگاهی به‌کار می‌رود و اغلب دارای محدوده غلظتی می‌باشد

نکته ۲: در خرید کالیبراتور و مواد کنترلی به همخوانی معرف با کالیبراتور و کنترل تجاری توجه داشته باشید. این موضوع را می‌توانید از شرکت پشتیبان کیت و معرف استعلام نمایید.

نکته ۳: برای به حجم رسانیدن مواد کنترلی لیوفیلیزه از وسایل حجمی مناسب و طبق دستور سازنده

استفاده کنید.

برخی مواد کنترلی که جهت کنترل آزمایشات استفاده می شود عبارتند از :

بلانک (Blank): در آزمایشات مختلف بلانک‌های گوناگون به کار می رود.

Water blank: برای تنظیم صد در صد عبور نور (Transmittance) و یا صفر کردن جذب نور (Optical Density Absorbance) دستگاه اسپکتروفتومتر از بلانک آبی زمانی استفاده می شود که معرف‌ها بدون رنگ باشند.

Serum blank: در پاره‌ای از موارد سرم کدر بوده و کدورت سرم موجب تیره شدن لوله آزمایش و در نتیجه افزایش کاذب جذب نوری می شود. در بعضی از مواقع نیز رنگ سرم به دلایلی چون افزایش بیلی‌روبین، غیرطبیعی بوده و این مهم باعث افزایش کاذب جذب نوری می‌شود. به منظور از بین بردن این اثرات از بلانک سرمی استفاده می‌کنند. بلانک سرمی لوله‌ای است که گرچه همچون لوله تست دارای حجم مشخص از سرم است اما فاقد سوبسترا بوده و هم حجم سوبسترا به آن آب مقطر اضافه می‌کنند.

استاندارد Standard : محلول‌های استاندارد محلول‌های تجارتي آماده‌ای است که دارای مقادیر مشخصی از ماده‌ای است که باید اندازه‌گیری شود. از این محلول‌ها برای کالیبر کردن دستگاه‌ها استفاده می‌شود. درواقع محلول استاندارد پایه‌ای است برای مقایسه و اندازه‌گیری یک یا چند ماده در نمونه بیماران.

طبق پیشنهاد فدراسیون بین المللی بیوشیمیست‌های بالینی (IFCC) استانداردها به دو دسته کلی

تقسیم می‌شود:

محلول استاندارد اولیه یا ذخیره (Standard Primary): این محلول را با استفاده از ماده خالصی که در حلال خالصی حل شده باشد تهیه می‌کنند.

محلول استاندارد ثانویه (Standard Secondary): استاندارد است که غلظت ماده مورد نظر در آن را با روش‌های رفرانس و با استفاده از استانداردهای اولیه تعیین می‌نمایند.

سرم کنترل : جهت ارزیابی میزان اطمینان به یک روش و تعیین میزان صحت و دقت آن از سرم کنترل استفاده می‌شود. درواقع برای کنترل عملی آزمایشات استفاده از سرم کنترلی اجباری است. از آنجایی که سرم کنترل را مانند نمونه‌های بیماران مورد آزمایش قرار می‌دهند، بنابراین هر نوع اختلالی که در تجهیزات و معرف‌ها و افراد آزمایش کننده وجود داشته باشد، روی نتایج بدست آمده از سرم کنترل نیز اعمال می‌شود. با رسم روزانه این تغییرات، کل سیستم در عرض مدت زمانی مشخصی (مثال یک ماه) کنترل می‌شود.

برای پیاده سازی یک سیستم کنترل کیفی می‌بایست موارد زیر رعایت شوند:

۱. استفاده از دستورالعمل‌های مورد اشاره در راهنمای نگهداری دستگاه‌ها توسط سازنده و پیاده سازی آن.
۲. بالا بردن دانش کارکنان با مطالعه بروشورها و نشریات علمی و برگزاری کارگاه‌ها و دوره های آموزشی مرتبط و مفید.
۳. استفاده از روش‌های نام‌گذاری استاندارد برای مواد و محللول‌های مورد استفاده.
۴. تهیه مواد کالیبراسیون، مرجع و کنترل که به طور یکسان در دسترس تمام آزمایشگاه‌ها گذاشته شود.
۵. اجرای برنامه های ارزیابی و برآورد آماری داده ها جهت کنترل تغییرات نتایج به دست آمده.

خطای مجاز

تعیین خطای مجاز برای اجرای فرایند کنترل داخلی کیفیت در بخش آنالیتیک اولین قدم می‌باشد. با وجود تمامی تلاش‌ها، وجود خطا در آزمایشگاه‌ها اجتناب ناپذیر می‌باشد. به‌طوری‌که اگر در یک آزمایشگاه، 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 می‌رسد. پس مسئول آزمایشگاه می‌بایست با در نظر گرفتن مجموع شرایط آزمایشگاه (نوع دستگاه یا معرف مورد استفاده ، تجربه کارکنان و ...) و نیز با توجه به سطح کیفیت مورد نیاز خود،

میزان عدم دقت (بر حسب CV% یا SD) و عدم صحت (بر حسب Bias یا Bias%) و یا در مجموع خطای کلی مجاز خود را مشخص نماید.

به عنوان مثال عدم دقت مجاز برای کلسترول و بر حسب CV% معادل ۲٪ در نظر گرفته شود، میزان پراکندگی نتایج برای غلظت ۲۰۰mg/dl به شکل زیر محاسبه می گردد.

$$CV\% = \frac{SD * 100}{mean} \quad 2\% = \frac{SD * 100}{200} \quad SD = 4$$

از محاسبات بالا نتیجه می گیریم، به احتمال ۹۵٪ اگر کلسترول یک نمونه با غلظت واقعی ۲۰۰mg/dl چند بار اندازه گیری شود، نتایج در محدوده 200 ± 8 mg/dl یعنی $mean \pm 2SD$ قرار خواهد گرفت.

خطای مجاز بایستی به صورت واقع بینانه و براساس شرایط آزمایشگاه طوری انتخاب شود که بتواند میزانی از خطا، که تشخیص و تصمیم گیری بالینی برای بیمار را تحت تاثیر قرار می دهد، شناسایی نماید و در عین حال آن قدر کوچک نباشد که باعث رد کاذب مکرر نتایج گردد.

به عنوان مثال اگر آزمایشگاهی میزان CV% مجاز خود را برای اندازه گیری گلوکز ۸٪ تعیین نماید و نمونه ای با غلظت واقعی ۱۲۶mg/dl داشته باشد، در ۹۵٪ موارد احتمال دارد نتایجی در محدوده ۱۴۶mg/dl - ۱۰۶ ارائه دهد که این طیف غلظتی وسیع به طور واضح باعث اشتباه در تصمیم گیری پزشک خواهد شد. اگر این آزمایشگاه میزان CV% مجاز خود را برای اندازه گیری گلوکز به ۱٪ تغییر دهد، در غلظت ۱۲۶mg/dl نتایجی بین ۱۲۹mg/dl - ۱۲۳ خواهد داشت که اگرچه برای پزشک مطلوب است ولی باعث می شود سری های کاری مکرراً و به طور کاذب مردود (False rejection) شناخته شود. این موضوع خود باعث افزایش دفعات تکرار آزمایش، صرف هزینه و خستگی کارکنان می گردد.

روش‌های تعیین مقادیر خطای مجاز:

۱- استفاده از محدوده مرجع (Reference Interval): این فرضیه در سال ۱۹۶۳ توسط Tonks مطرح گردید. در این روش با استفاده از فرمول زیر میزان خطای کلی و CV محاسبه می‌گردد.

$$\text{Allowable error} = 2CV = \frac{1/4 \text{ reference interval}}{\text{Mean of interval}} \times 100$$

از آنجایی که محدوده مرجع تحت تاثیر عوامل مختلفی مثل گروه مورد بررسی، مشخصات روش آزمایشگاهی و غیره قرار دارد، این روش امروزه کمتر استفاده می‌شود.

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 (Proficiency testing) و مقادیر عدم دقت و عدم صحت bias متدهای موجود برای تعیین خطای مجاز استفاده می‌شود.

در قوانین CLIA (Clinical Laboratory Improvements Amendments) با این روش مقادیر خطای مجاز برای حدود ۸۰ کمیت تعیین شده است.

۴- نظریه افراد و گروه‌های کارشناسی: در مورد بعضی پارامترها، گروه‌های کارشناسی مقادیر CV و Bias مجاز را تعیین نمودند. مثال مشخص نمودن خطای مجاز HDL, TG, LDL, COL توسط (NCEP) National cholesterol education program می‌باشد. مقادیر حاصل از این روش برای تعداد محدودی از آزمایش‌ها قابل دستیابی می‌باشد.

۵- تغییرات بیولوژیکی: در این روش تغییرات یک پارامتر در مدت زمانی مشخص در بدن یک فرد و افراد مختلف اندازه‌گیری و بر اساس ضریب انحراف درون فردی within subject و بین افراد مختلف between subject مقادیر CV و Bias مجاز را تعیین می‌کند.

مقادیر خطای مجاز برای هر یک از پارامترها متفاوت بوده و آزمایشگاه بایستی قبل از اجرای کنترل کیفیت با استفاده از یکی از روش‌های فوق عدم صحت و عدم دقت مورد نیاز خودش را تعیین کند.

در جدول زیر عدم دقت مجاز برای لیپیدها بر حسب CV% نشان داده شده است.

Test	NCEP	Biologic variation
Chol	۳٪	۳٪
HDL	۴٪	۳,۶٪
LDL	۴٪	۴,۲٪
TG	۵٪	۱۰,۵٪

همان طور که در جدول نشان داده شده است حتی برای یک کمیت هم مقادیر خطای مجاز متفاوتی مطرح شده است. برای همین هر آزمایشگاه بایستی بر اساس نیازها و امکانات خود از آن ها استفاده کند.

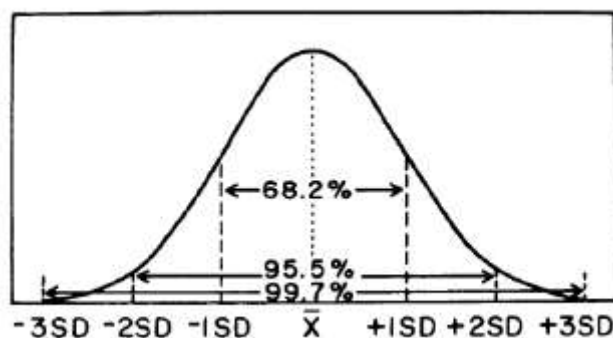
نمودار کنترلی

متداول ترین روش برای مقایسه نتایج آزمایش نمونه های کنترل استفاده از نمودارهای کنترلی می باشد. در نمودارهای کنترلی، غلظت بدست آمده از سرم کنترل روی نموداری با محدوده مشخص، علامت گذاری شده و بصورت تصویری و ساده نمایش داده می شود. اگر نتایج در داخل محدوده قرار داشته باشند، شرایط آزمایش تحت کنترل بوده و اطمینان داده می شود که سیستم درست کار می کند. ولی اگر نتایج در داخل محدوده قرار نگرفته باشد نشان دهنده مشکل دار بودن سیستم بوده و بایستی عملکرد سیستم بررسی شود.

برای محاسبه و به دست آوردن این محدوده، نمونه کنترل بایستی به دفعات با این روش آزمایش، مورد بررسی قرار گیرد و سپس با استفاده از این اطلاعات میانگین و انحراف معیار محاسبه شده و توسط اطلاعات به دست آمده این محدوده تعیین می شود.

همان طوری که در شکل زیر مشاهده می شود، اگر یک نمونه به طور مکرر آزمایش شود، توزیع نتایج به دست آمده به صورت نرمال (توزیع گوسین) خواهد بود. در توزیع های نرمال ۹۵٪ مقادیر در محدوده $\pm 2SD$ و ۹۹/۷٪

مقادیر در محدوده $\pm 3SD$ قرار می‌گیرند. سپس احتمال اینکه یک خواننده به‌طور اتفاقی خارج از محدوده $\pm 2SD$ قرار گیرد حدود ۰.۵٪ (۱ نتیجه بین ۲۰ خواننده) می‌باشد و در مورد محدوده $\pm 3SD$ تنها ۰.۳٪ (۳ نتیجه بین ۱۰۰۰ خواننده) می‌باشد.



برای به‌دست آوردن نمودار کنترلی و محدوده مناسب می‌بایست تاثیر نتایج پرت (Outliers) را به حداقل ممکن برسانیم. زیرا وجود این خواننده‌های پرت باعث جابجایی شدید در مقدار میانگین می‌شود حتی اگر تعداد این خواننده‌ها بسیار کم و حتی یک عدد باشد.

برای اینکه این اثر نامطلوب را حذف نماییم نتایج خارج از محدوده $\text{mean} \pm 3SD$ را حذف می‌نماییم (این محدوده بستگی به تعداد خواننده‌ها داشته و با افزایش تعداد خواننده‌ها افزایش می‌یابد به‌طوری‌که برای تعداد ۳۰ خواننده محدوده $\text{mean} \pm 3.14 SD$ و برای ۴۰۰ خواننده محدوده $\text{mean} \pm 3.83 SD$ به عنوان محدوده قابل قبول شناخته می‌شود و نتایج خارج از این محدوده به عنوان نتایج پرت در نظر گرفته می‌شود).

چون احتمال به‌دست آوردن یک نتیجه خارج از محدوده $\text{mean} \pm 3SD$ فقط ۰.۰۰۳٪ (۳ نتیجه بین ۱۰۰۰ نتیجه) می‌باشد لذا حتی یک نتیجه پرت احتمال وجود مشکل را در پروسه مطرح می‌کند و اقدامات پیگیرانه را در این زمینه الزامی می‌کند.

اجرای کنترل داخلی کیفیت

۱- مشخص نمودن عدم دقت مجاز با توجه به شرایط آزمایشگاه بر حسب CV%.

۲- انتخاب نمونه کنترلی مناسب حتی‌المکان در دو غلظت

۳- خوانش نمونه کنترلی به تعداد ۲۰ بار به یکی از طرق زیر:

(a) این تعداد خوانش بهتر است در مدت ۲۰ روز کاری و با تکرار آزمایش بدست آمده باشد (در مدت ۴ هفته).

(b) انجام آزمایش به صورت دوتایی در ۱۰ روز کاری

(c) در صورت عدم امکان روش‌های فوق می‌توان در ۵ روز کاری با ۴ بار تکرار در روز این مقادیر را به دست آورد.

۴- محاسبه میانگین، انحراف معیار و ضریب انحراف بر اساس فرمول‌های زیر

$$\text{mean} = \frac{\sum x_i}{n}$$
$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \text{mean})^2}{n-1}}$$
$$CV\% = \frac{SD * 100}{\text{mean}}$$

CV : ضریب انحراف (Coefficient of variation)

SD: انحراف معیار

mean: میانگین

n: تعداد خوانده‌ها

x_i : هر تک خوانده

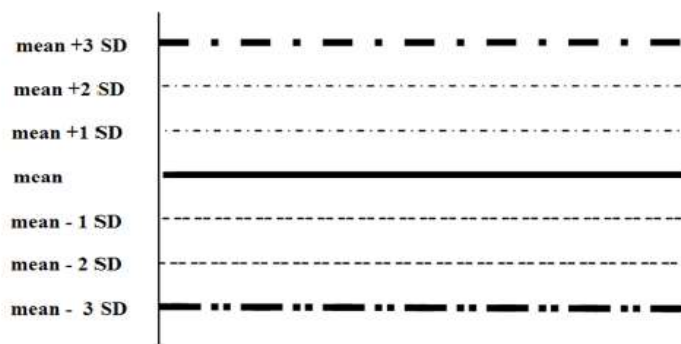
۵- قابلیت تکرارپذیری (SD یا CV%) بدست آمده را با عدم دقت مجازی که قبلاً تعیین نموده‌اید، مقایسه

نمایید. اگر نتایج در در محدوده خطای مجاز قرار داشت، کار را طبق بند ۶ ادامه داده می‌شود در غیر این-

صورت عامل ایجاد خطا بایستی شناسایی شده و پس از رفع مشکل، مجدداً مراحل ۱ تا ۴ اجرا خواهد شد

در صورتی که مشکل رفع نشد با تولیدکننده فراورده و یا دستگاه تماس گرفته می‌شود.

۶- برای هر غلظت از نمونه کنترلی با استفاده از میانگین و انحراف معیار، چارت کنترلی مثل نمونه زیر رسم می‌شود.



۷- در هر سری کاری دو نمونه کنترلی در دو غلظت متفاوت آزمایش می‌شود و مقادیر آن در روی منحنی مربوطه علامت‌گذاری می‌شود.

بر طبق تعریف CLSI(NCCLS) سری کاری به مدت زمان یا تعداد نمونه‌ای گفته می‌شود که طی آن صحت و دقت سیستم اندازه‌گیری ثابت باشد.

تعداد دفعاتی که پارامترهای نمونه کنترل آزمایش می‌شود به عوامل مانند پایداری روش و سیستم مورد استفاده بستگی دارد. اگر یک سیستم برای مدت زمان مشخصی یا تعداد آزمایش معین پایدار است، در این فاصله یک‌بار آزمایش نمونه کنترلی کافی است.

نکته: برای ترسیم چارت کنترل کیفی نباید از محدوده‌های که در بروشور کیت‌ها نوشته شده استفاده نمود. این محدوده توسط آزمایش نمونه‌های کنترلی در آزمایشگاه‌های مختلف تهیه شده است و متغیر مختلفی مثل اختلاف دستگاه‌ها، شماره ساخت مختلف کیت و کالیبراتور روی آن تاثیر می‌گذارند. در نتیجه محدوده نوشته شده در کیت‌ها بسیار بزرگتر از محدوده بدست آمده در یک آزمایشگاه می‌باشد. البته در شروع کار که هنوز تعداد نتایج حاصل از نمونه کنترلی کافی نیست، این محدوده قابل استفاده است. البته حتی در شروع کار هم فقط زمانی می‌توان از محدوده نوشته شده در بروشور کیت نمونه کنترلی استفاده نمود که کنترل با روش آزمایشگاهی مورد استفاده سازگار باشد و این موضوع را سازنده معرف یا دستگاه تایید کرده باشد.

بایستی توجه داشت که به کار بردن تعداد زیاد نمونه‌های کنترلی در هر سری کاری تاثیر مثبتی در روند کار ندارد بلکه باعث افزایش میزان رد کاذب و افزایش هزینه می‌گردد. لذا پیشنهاد می‌شود در هر سری کاری یک یا دو کنترل آزمایش شود.

مثال:

آزمایشگاهی برای اندازه‌گیری کلسترول کیت جدیدی خریداری نموده و برای ترسیم چارت کنترل کیفیت CV% مجاز را بر اساس نظر NCEP ۳٪ انتخاب و دو سرم کنترل با غلظت‌های نزدیک به غلظت تصمیم‌گیری (Decision level) را طی ۵ روز کاری، ۲۰ بار آزمایش نموده است که نتایج آن به‌قرار زیر است.

کنترل ۱					کنترل ۲				
205	190	207	200	روز اول	257	261	263	247	روز اول
205	204	197	205	روز دوم	258	254	251	250	روز دوم
197	196	209	196	روز سوم	256	239	260	255	روز سوم
196	204	200	202	روز چهارم	249	236	253	243	روز چهارم
198	200	196	190	روز پنجم	257	250	244	254	روز پنجم

میانگین و انحراف معیار را برای سهولت کار، گرد و CV% را به‌شرح زیر تعیین نموده است:

	mean (mg/dL)	SD(mg/dL)	CV%
کنترل ۱	200	5	2.5 %
کنترل ۲	252	7	2.8 %

چون CV% حاصله در محدوده خطای مجاز تعیین شده (۳٪) قرار دارد، می‌توان چارت را ترسیم و نتایج

کنترل‌ها را روی آن مشخص نمود.

تفسیر نتایج

معیارها و قوانین مختلفی برای تفسیر نتایج چارت کنترل کیفیت توسط سازمان‌ها یا کارشناسان وضع

شده‌است که بر اساس آن‌ها نتایج "تحت کنترل" یا "خارج از کنترل" در نظر گرفته می‌شود. Levey-Jenning

، و ستگارد، WHO نمونه‌هایی هستند که در این مجموعه مورد بحث قرار خواهند گرفت.

انتخاب هر کدام از این قوانین توسط آزمایشگاه اختیاری می‌باشد.

چارت کنترلی Levey-Jenning

چارت‌های کنترلی برای اولین بار در سال ۱۹۵۰ توسط Levey و Jenning به آزمایشگاه‌ها معرفی گردید. آن‌ها نشان دادند که روش‌هایی که توسط Shewhart برای استفاده در صنعت مطرح شده بود، می‌تواند در آزمایشگاه‌ها نیز مفید باشد.

مراحل ترسیم و استفاده از چارت Levey-Jenning

۱- بعد از آزمایش نمونه‌های کنترلی حداقل به تعداد ۲۰ بار میانگین و انحراف معیار را محاسبه کنید (مطابق مراحل ۱ تا ۵ در بخش اجرای کنترل داخلی کیفیت).

۲- به‌طور دستی یا نرم‌افزار یک چارت کنترل کیفی رسم نمایید به‌طوری‌که محور $\bar{y}$ ها مقادیر نمونه کنترلی بوده و محدوده $\bar{x} \pm 4SD$ را دربرگیرد.

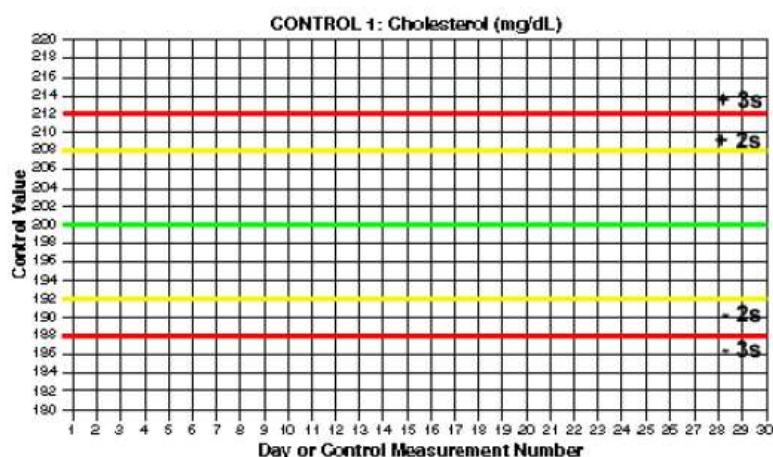
۳- اگر تعداد کنترل‌هایی که در سری کاری استفاده می‌شود ۲ یا بیشتر باشد محدوده $\bar{x} \pm 3SD$ را به-عنوان محدوده قابل قبول انتخاب نمایید اما اگر در سری کاری فقط یک نمونه آزمایش می‌شود محدوده $\bar{x} \pm 2SD$ را ملاک قرار دهید.

۴- میانگین و محدوده مورد قبول خود را به‌صورت خطوط افقی ترسیم نموده و خطوط عمودی را زمان انجام آزمایش در نظر بگیرید. در هر سری کاری کنترل‌ها را آزمایش نموده و نتایج را روی چارت علامت‌گذاری نمایید.

۵- تا زمانی که نتایج مورد انتظار $\bar{x} \pm 3SD$ یا $\bar{x} \pm 2SD$ (با توجه به محدوده انتخاب شده) قرار داشته باشند، نتایج تحت کنترل بوده و اگر نتایج از این محدوده خارج شد نتایج خارج از کنترل در نظر گرفته می‌شود.

مثال چارت کنترلی Levey-Jenning در مورد کلسترول با میانگین ۲۰۰ و انحراف معیار ۴ میلی‌گرم در

دسی‌لیتر



به علت اینکه استفاده از چارت Levey-Jenning ساده است اکثر آزمایشگاه‌ها از این چارت استفاده می‌شود ولی استفاده از هر کدام از این محدوده‌های $\text{mean} \pm 3\text{SD}$ یا $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ دارای معایبی می‌باشد اگر محدوده $\text{mean} \pm 3\text{SD}$ انتخاب شود امکان تشخیص خطا کاهش می‌یابد. در حالی که رد کاذب (False rejection) کمتر از ۰.۵٪ است. اگر محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ انتخاب گردد، احتمال تشخیص خطا افزایش یافته ولی میزان رد کاذب (False rejection) افزایش می‌یابد.

با افزایش تعداد کنترل‌ها در هر سری کاری (n)، میزان رد کاذب افزایش می‌یابد. در صورت استفاده از یک کنترل (n=1) رد کاذب ۰.۵٪ است ولی این میزان برای دو کنترل (n=2) به ۰.۹٪ و برای ۴ کنترل (n=4) به ۱.۸٪ می‌رسد.

به عنوان مثال اگر آزمایشگاهی در هر سری کاری دو غلظت نمونه کنترلی را به صورت دابل آزمایش نماید در واقع در هر سری کاری ۴ کنترل را آزمایش کرده و رد کاذب نتایج این آزمایشگاه به ۱.۸٪ می‌رسد.

۲- تفسیر چارت کنترلی با قوانین چندگانه وستگارد

به منظور احتمال تشخیص خطا و کاهش دادن موارد رد کاذب نتایج، قوانین چندگانه توسط وستگارد و همکارانش مطرح گردید. این قوانین طوری طراحی شده است که ضمن حساس بودن به خطاهای تصادفی و سیستماتیک، میزان رد کاذب نتایج را به کمتر از ۰.۰۱٪ می‌رساند.

برای این که از این قوانین استفاده نماییم بایستی نمونه کنترلی را ۲۰ بار آزمایش نموده و میانگین و انحراف معیار را محاسبه کنیم (بر طبق مراحل ۱ تا ۵ اجرای کنترل داخلی کیفیت) سپس در هر سری کاری نمونه-های کنترلی را آزمایش نمایید.

تا زمانی که کنترل ها در محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ قرار دارند، نتایج بیماران قابل گزارش می باشد ولی به محض این که یکی از کنترل ها از محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ خارج گردید، کار را متوقف نموده و نتایج کنترل ها را از نظر وجود یکی از این قوانین مورد بررسی قرار دهید.

۱_{rs} یک کنترل خارج از محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ به معنی هشدار بوده و لازم است سایر قوانین بررسی گردند.

۱_{rs} یک کنترل خارج از محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ باعث رد نتایج شده و می تواند نشان دهنده خطای راندوم یا شروع خطای سیستماتیک باشد.

۲_{rs} دو خواننده متوالی همسو و خارج از محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ باعث رد نتایج شده و به خطای سیستماتیک حساس می باشد.

R_{rs} یک خواننده خارج از محدوده $\text{mean} + 2\text{SD}$ و دیگری خارج از محدوده $\text{mean} - 2\text{SD}$ باعث رد نتایج شده و نشان دهنده خطای راندوم می باشد.

۴_{1s} دو خواننده متوالی همسو و خارج از محدوده $\text{mean} \pm 1\text{SD}$ باعث رد نتایج شده و به خطای سیستماتیک حساس می باشد.

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

لازم به توضیح است که قوانین چندگانه و ستگارد بین سری های کاری مختلف و نیز بین دو غلظت نمونه کنترلی نیز قابل استفاده می باشد به طور مثال در مورد قانون ۲_{rs} ممکن است یک خواننده در روز قبل و یک خواننده

امروز، همسو و خارج از محدوده $\text{mean} + 2\text{SD}$ بوده و یا در یک سری کاری، یک خواننده در کنترل ۱ و خواننده دیگر در کنترل ۲ (نتایج هر دو کنترل) خارج از محدوده $\text{mean} + 2\text{SD}$ قرائت کردند.

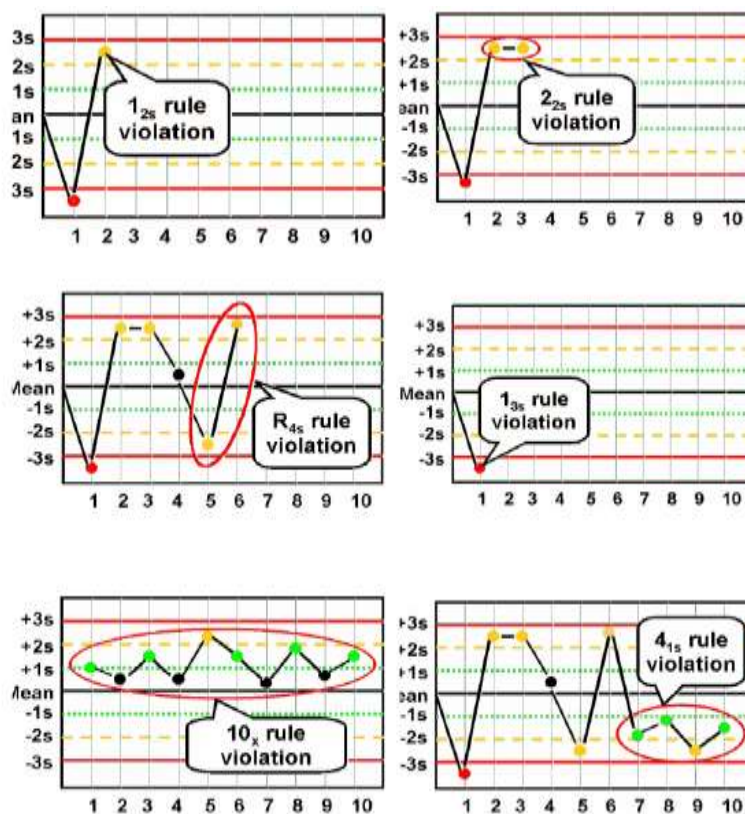
مورد استثنا قانون R_{fs} می باشد که باید در آن دو خواننده به دست آمده از یک سری کاری با یکدیگر 4SD فاصله داشته باشند. اگر در دو سری کاری متفاوت، نتایج با هم 4SD فاصله داشته باشند، در این مورد قانون R_{fs} کاربردی ندارد.

در سال ۲۰۰۶ با توجه به پیشرفت های تجهیزات و نیز رایانه ای شدن بسیاری از برنامه ها، در قوانین وستگارد دو تغییر ایجاد شد. اول اینکه قانون 1_{rs} به عنوان هشدار حذف شد و پیشنهاد گردید قوانین 1_{0x} و 4_{1s} حتی در شرایطی که نتایج در محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ قرار دارند اعمال شود. این امر باعث شناسایی سریع تر خطا می شود ولی از طرف دیگر انجام آن در مواردی که چارت توسط روش دستی ترسیم شده است، بسیار مشکل است. همچنین با توجه به شرایط کنونی برخی آزمایشگاه ها، ممکن است استفاده و تفسیر به درستی انجام نشود و هزینه اجرای برنامه کنترل کیفی را بالا ببرد. برای همین هم توصیه شده است چنانچه چارت به روش دستی ترسیم شده است، مطابق با روش قبلی وستگارد، قوانین وقتی بررسی شوند که حداقل یک نتیجه خارج از محدوده 2SD $\text{mean} \pm$ وجود داشته باشد.

تغییر دوم که در قوانین وستگارد ایجاد شده است این است که در صورت استفاده از ۳ یا ۶ کنترل در هر سری کاری (مضرب ۳) قوانین تفسیر قدری متفاوت می باشند.

برای اینکه اطلاعات بیشتری در مورد این تغییرات به دست آورید می توانید به سایت وستگارد مراجعه نمایید.

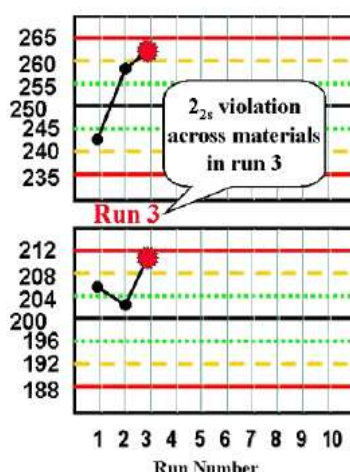
در نمودارهای زیر قوانین وستگارد با یک نمونه کنترلی در هر سری کاری نمایش داده شده است.



در چارت‌های زیر قوانین وستگارد با دو نمونه کنترلی در هر سری کاری نمایش داده شده است.

در سری کاری سوم هر دو نمونه کنترلی خارج از محدوده $\pm 2SD$ هستند. پس براساس قانون 2_{2s}

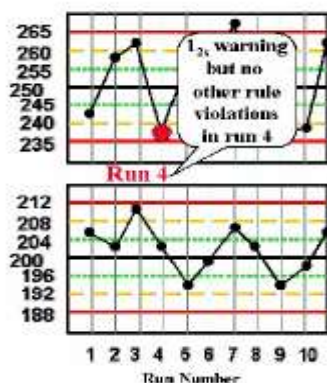
نتایج این سری کاری رد می‌شود و به احتمال زیاد یک خطای سیستماتیک در این محدوده غلطی وجود دارد.



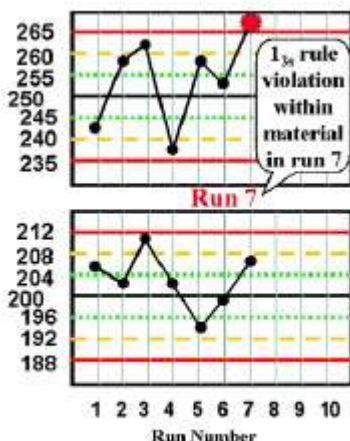
در سری کاری چهارم کنترل با غلطی‌های بالا، خارج از محدوده $\pm 2SD$ قرار گرفته است و احتمال خطا

وجود دارد. از آنجایی که سری کاری قبلی (سری سوم) رد شده است فقط سری چهارم از نظر وجود قوانین 1_{3s} و

$\bar{X}_{RS}$ و R_{RS} بررسی می‌گردد. با توجه به به عدم وجود ۳ قانون نامبرده، این سری کاری قبول می‌شود ولی باید به هشدار توجه نمود.



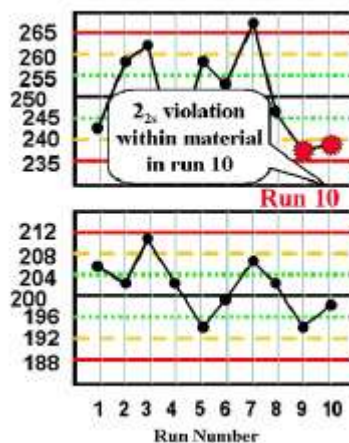
در سری کاری هفتم نتیجه کنترل با غلظت بالا خارج از محدوده $\pm 3SD$ قرار گرفته که باعث رد این سری کاری می‌شود و به احتمال زیاد یک خطای راندوم وجود دارد.



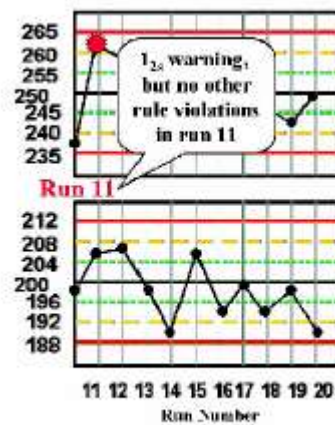
در سری کاری نهم کنترل با غلظت بالا خارج از محدوده $2SD$ قرار گرفته است و احتمال خطا وجود دارد. چارت از نظر وجود قوانین 1_{RS} و 2_{RS} و R_{RS} بررسی می‌شود. با توجه به عدم وجود ۳ قانون مذکور، این سری کاری قبول می‌شود ولی باید به هشدار توجه نمود.



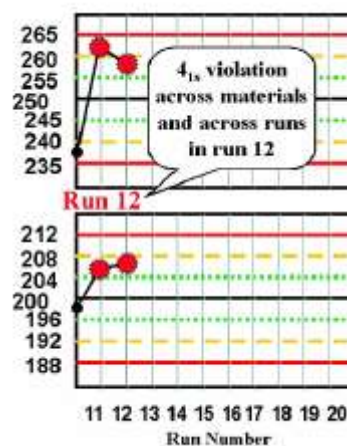
در سری کاری دهم در نمودار کنترل با غلظت بالا ، دو خوانده متوالی در دو سری کاری متوالی، خارج از محدوده $2SD$ - قرار گرفته است که با توجه به قانون $2s$ باعث رد سری دهم می‌شود و به احتمال زیاد یک خطای سیستماتیک وجود دارد.



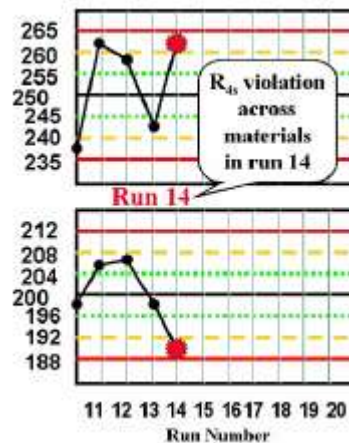
در سری کاری یازدهم کنترل با غلظت بالا ، خارج از محدوده $2SD$ + قرار دارد و احتمال خطا وجود دارد و بایستی نمودار را از نظر مطابقت با قوانین $1s$ و $2s$ و $R_{\bar{s}}$ بررسی نمود. با توجه به عدم وجود ۳ مذکور، این سری کاری قبول می‌شود ولی باید به هشدار توجه نمود.



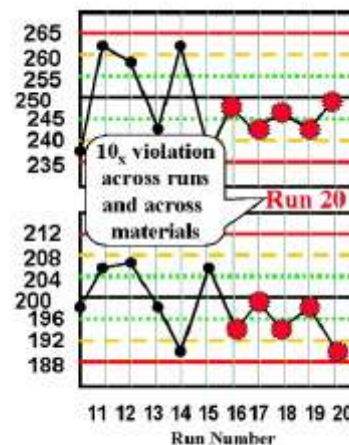
در سری کاری دوازدهم در نمودار هر دو کنترل، دو خوانده متوالی در دو سری کاری متوالی، خارج از محدوده $+1SD$ قرار گرفته با اعمال قانون در هر دو غلظت مشاهده می‌گردد که ۴ خوانده متوالی خارج از محدوده $+1SD$ وجود دارد. علیرغم وجود قانون 4_{1s} ، چون در سری کاری دوازدهم هیچ کدام از نتایج خارج از محدوده $\pm 2SD$ نبودند، سری کاری تایید می‌گردد اما باید احتمال وقوع یک خطای سیستماتیک را در نظر داشت.



در سری کاری چهاردهم، کنترل با غلظت بالا، خارج از محدوده $+2SD$ و کنترل دیگر خارج از محدوده - $2SD$ قرار گرفته پس توسط قانون R_{4s} سری کاری رد می‌شود.



در سری کاری بیستم بررسی نتایج سری‌های کاری قبلی نشان می‌دهد که ۵ نتیجه در غلظت بالا و ۵ نتیجه در غلظت پایین در یک طرف میانگین قرار گرفته که با قانون 10_x باعث رد سری بیستم می‌گردد و به احتمال زیاد یک خطای راندم وجود دارد.



قوانین WHO

در مراجع رفرانس‌های مختلف که با موضوع تضمین کیفیت در آزمایشگاه توسط سازمان جهانی بهداشت چاپ گردیده است به روش‌های مختلف تفسیر چارت‌های کنترلی برخورد می‌کنیم که دو نمونه آن در ذیل آمده است.

Basic Quality assurance for intermediate and peripheral Laboratories (۲۰۰۲)

✓ زمانی که پراکندگی نتایج نزدیک به میانگین و در اطراف آن باشد، عملکرد سیستم قابل قبول است.

- ✓ وجود یک خوانده خارج از محدوده $\pm 2SD$ mean نشان‌دهنده این مطلب است که سیستم از کنترل خارج شده و برای شناسایی خطا بایستی اقدامات فوری انجام گیرد.
- ✓ هفت خوانده متوالی با سیر صعودی یا نزولی (حتی اگر از میانگین عبور کنند) نشانگر یک اتفاق تدریجی در سیستم می‌باشد که بایستی شناسایی و اصلاح گردد.
- ✓ پراکندگی زیاد نتایج در اطراف میانگین نشان‌دهنده دقت نامناسب اندازه‌گیری است که نیاز به اصلاح دارد.

Quality assurance in Hematology WHO/LAB/۱۹۹۸

یک خوانده خارج از محدوده $\pm 2SD$ mean	هشدار
یک خوانده خارج از محدوده $\pm 3SD$ mean	غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک یا راندوم)
دو خوانده متوالی خارج از محدوده $\pm 2SD$ mean	غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک)
یک خوانده متوالی خارج از محدوده $\pm 1SD$ یا $-1SD$	غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک)
شش خوانده متوالی در یک طرف میانگین	هشدار (خطای سیستماتیک)

هر آزمایشگاه می‌تواند بر اساس شرایط و سطح کیفیت مورد نیاز خود از هر یک از این روش‌های تفسیر Westgrad یا WHO را انتخاب کرده و استفاده نماید.

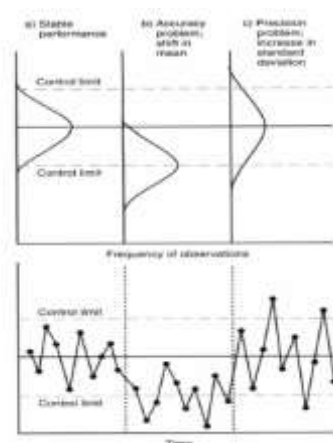
چارت‌های کنترل کیفی بصورت ماهانه بررسی شده و تمام مقادیر^{۱۷} معتبر برای محاسبه میانگین و انحراف معیار ماه بعدی به کار می‌رود.

انواع خطا

در شرایط عادی با تکرار آزمایش انتظار می‌رود که نتایج در دو طرف میانگین، پخش شده و پراکندگی مناسب داشته باشند (a)

اگر نتایج بصورت ثابتی بیشتر یا کمتر از میانگین، قرائت شوند (b) خطای سیستماتیک رخ داده است که در نتیجه آن میانگین نتایج نیز تغییر می‌یابد.

اگر علیرغم ثابت ماندن میانگین، پراکندگی نتایج افزایش یابد، خطای راندم یا تصادفی اتفاق افتاده است. این خطا با افزایش یافتن انحراف معیار مشخص شده و و منحنی به جای شکل زنگوله‌ای، نمای پهنی پیدا می‌کند (c).^{۱۸}



۱۷ مقادیر معتبر: مقادیری از کنترل می‌باشد که بر اساس روش تفسیر بکار رفته، قابل قبول بوده و بر اساس آن نتایج بیماران گزارش شده است.

۱۸ خطاهای ذکر شده در طول زمان روی منحنی پایینی هم نشان داده شده است.

بدون توجه به نوع روشی که برای تفسیر نتایج بکار می‌بریم ، برخورد با نتایجی که خارج از محدوده مورد انتظار هستند نشان‌دهنده این است که نتایج بیماران از کیفیت مناسبی برخوردار نیست و نباید گزارش شوند و قبل از هر چیزی بایستی مشکل را جستجو کرده و آنرا برطرف نماییم.

در بسیاری از رفرانس‌های علمی، اذعان شده است که در برخورد با نتایج خارج از محدوده مورد انتظار و احتمال خطا، عامل ایجاد کننده آنرا جستجو نموده و پس از رفع، اقدام به آزمایش مجدد کنترل نمود. با وجود این آزمایشگاه‌ها اولین کاری که انجام می‌دهند این است که یک کنترل تجاری را به حجم رسانیده و آزمایش با نمونه کنترلی را تکرار می‌نمایند. زیرا این احتمال وجود دارد که خطای موجود، در اثر مشکلاتی در خود کنترل تجاری ایجاد شده است مثل : افت غلظت، آلودگی، تبخیر یا مسائلی از این دست. در مراحل بعدی با توجه به نوع خطا (راندوم یا سیستماتیک) سایر موارد ایجاد کننده خطا بررسی و جستجو می‌شود.

مثال‌هایی از عوامل ایجاد کننده خطا، در زیر آمده است.

خطای راندوم

- دمای ناپایدار
- نوسانات جریان الکتریکی دستگاه قرائت کننده
- وجود حباب هوا در زمان انتقال نمونه یا معرف
- عدم رعایت حجم برداشتی از نمونه یا معرف
- عدم رعایت زمان انکوباسیون
- ناپایداری معرف
- عدم رعایت شرایط نگهداری نمونه
- آلودگی ظروف شیشه‌ای مورد استفاده ، نوک سمپلر و ...
- آلودگی نمونه کنترلی، معرف و ...

- اشکال در کالیبراسیون مانند در نظر گرفتن مقادیر نادرست برای کالیبراتور، تهیه نامناسب، آلودگی، افت، تغلیظ، تغییر شماره ساخت و ...
- عوض کردن معرف بدون تغییر در کالیبراسیون
- تخریب تدریجی معرف
- عدم رعایت دستورالعمل سازنده برای تهیه معرف
- تغییر در دمای انکوباسیون
- خطای ثابت در وسایل انتقال دهنده نمونه یا معرف مانند سمپلر
- ...

چارت کنترل تجمعی Cumulative Sum (Cusum) Control chart

Cusum روشی است که جمع جبری اختلاف نتایج آزمایش نمونه کنترلی را با میانگینی که در ابتدا تعیین شده است، بررسی می‌نماید و به خطای سیستماتیک حساس می‌باشد. در حالت عادی نتایج کنترل‌ها در اطراف میانگین (بالا تر و پایین تر) قرائت می‌شوند اما اگر نتایج سیر نزولی یا صعودی پیدا کنند، جمع جبری اختلافات نتایج با میانگین، افزایش یافته و احتمال بروز خطای سیستماتیک مطرح می‌گردد.

روش‌های مختلف برای اجرای و تفسیر چارت Cusum:

۱. V-mask

۲. محدوده تصمیم‌گیری (decision limit)

چون روش محدوده تصمیم‌گیری ساده‌تر بوده و در کامپیوتر نیز قابل اجرا می‌باشد در اینجا در مورد این روش توضیح داده خواهد شد.

۱- کنترل را ۲۰ بار آزمایش نموده و میانگین و انحراف معیار آن را محاسبه می‌نماییم (مطابق مراحل ۱ تا ۵ در بخش اجرای کنترل داخلی کیفیت).

۲- چارت کنترلی را رسم نموده و که در آن محور y نشان‌دهنده Cusum و خط مرکزی آن Cusum صفر باشد.

۳- برای تفسیر Cusum به روش محدوده تصمیم‌گیری باید دو محدوده را مشخص نمایید.

➤ K_u و K_l که بطور معمول $\pm 1SD$ mean در نظر گرفته می‌شود.

➤ h_u و h_l که محدوده کنترل است و اغلب $\pm 2,7 SD$ برای آن در نظر گرفته می‌شود.

۴- در هر سری‌کاری یک نمونه کنترل آزمایش و نتیجه آن را با محدوده $\pm 1SD$ mean مقایسه کنید تا زمانی که نتیجه در این محدوده قرار داشته باشد Cusum را اجرا نکنید. در این مرحله علامت‌گذاری چارت انجام نمی‌شود.

۵- به محض اینکه کنترل از محدوده $\pm 1SD$ mean خارج شد اختلاف نتیجه مشاهده شده را با (K_l) یا $1SD - mean$ یا $(K_u) + 1SD$ محاسبه نمایید (این اختلاف در مثال زیر d_i نشان داده شده است). Cusum در هر سری‌کاری از جمع جبری اختلاف جدید (d_i) با جمع جبری قبلی (C_{si}) بدست می‌آید. عدد بدست آمده روی منحنی علامت‌گذاری می‌شود.

۶- Cusum بر اساس شیب منحنی پیگیری می‌شود تا وقتی که :

➤ جهت منحنی تغییر کند بدین معنی که علامت جمع جبری از مثبت به منفی یا برعکس از منفی به مثبت تغییر یابد، که در این جا شرایط تحت کنترل قرار گرفته است.

➤ مقدار جمع جبری از $(\pm 2,7 SD)$ h_u و h_l بیشتر شود که در این شرایط از کنترل خارج شده است و Cusum تا زمانی که عوامل ایجاد کننده خطا شناسایی نشده‌اند متوقف می‌شود.

مثال:

آزمایشگاهی تری گلیسرید را در نمونه کنترلی اندازه‌گیری نموده و میانگین ۱۰۰ و انحراف معیار ۵ را

بدست آورده است و مطابق موارد ذکر شده در بند ۳ محدوده‌های کاری خود را محاسبه نموده است.

K_L	mean - 1SD	$100 - 5 = 95$
K_U	mean + 1SD	$100 + 5 = 105$
h_L	-2.7SD	$-2.7 \times 5 = -13.5$
h_U	+2.7SD	$+2.7 \times 5 = +13.5$

سپس در هر سری کاری، نمونه کنترل را آزمایش و نتایج را در جدول زیر درج نموده است. اختلاف هر روز

با K_L و K_U بصورت d_i و جمع جبری با (Csi) نمایش داده شده است.

Example Cusum Calculations and Tabular Record for Decision Limit Cusum (for Control Material with $\bar{x} = 100$, $s = 5.0$; for Control Chart with $k_U = 105$, $k_L = 95$, $h_U = 13.5$, $h_L = 13.5$)

Control Observation Number	Control Value	d_i	CS_i	Comment
1	110	+5	+5	Start cusum calculation
2	100	-5	0	
3	108	+3	+3	
4	105	0	+3	
5	105	0	+3	End cusum calculation
6	101	-4	-1	
7	96			
8	105			
9	101			Start cusum calculation
10	101			
11	111	+6	+6	
12	102	-3	+3	
13	110	+5	+8	
14	107	+2	+10	
15	107	+2	+12	
16	107	+2	+14	

همانطور که مشاهده می‌شود در روز اول نتیجه کنترل ۱۱۰ قرائت شده است که ۵ واحد از K_U (۱۰۵)

بیشتر است لذا Cusum شروع شده و اختلاف d_i بصورت +۵ نشان داده شده است. روز دوم کنترل ۱۰۰ خوانده

شده که ۵ واحد کمتر از K_U (۱۰۵) می‌باشد بنابراین مقدار d_i برابر ۵+ جمع جبری (دو عدد داخلی) و

(Csi) مساوی صفر می‌شود. هنوز علامت (Csi) عوض نشده است پس Cusum ادامه می‌یابد.

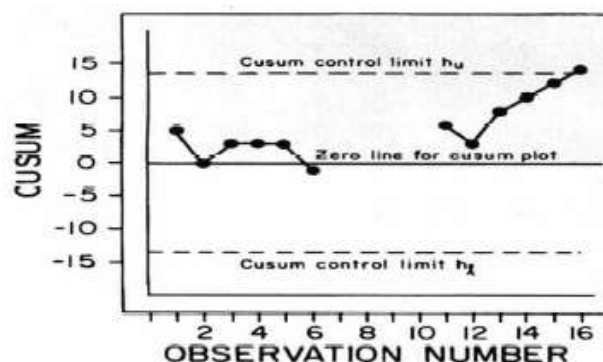
Cusum در دو حالت متوقف می‌شود:

وقتی علامت (Csi) تغییر یابد. در روز ششم مثال فوق، علامت (Csi) از مثبت به منفی تغییر یافته که

نشان می‌دهد شرایط تحت کنترل درآمده است.

وقتی مقدار (Csi) از حد K_1 یا K_u خارج شود. مثال این مورد در روز ۱۶ که در آن (Csi) به ۱۴ رسیده است که بیش از K_u یعنی ۱۳/۵ است. در این حالت شرایط از کنترل خارج شده است. بنابراین باید خطا شناسایی شده و رفع گردد.

مثال فوق در منحنی زیر نشان داده شده است.



Cusum نسبت به چارت Levey-Jenning حساسیت بیشتری در مورد شناسایی خطای سیستماتیک دارد. این برتری در مورد قوانین چندگانه و ستگارد، صادق نمی‌باشد زیرا قوانین مختلف و ستگارد طوری طراحی شده‌اند که خطای سیستماتیک و راندوم را شناسایی می‌کنند.

کنترل کیفیت بر اساس نتایج آزمایش بیماران

روش‌های کنترل کیفی بر اساس نتایج بیماران اغلب به عنوان مکملی برای روش‌های معمول کنترل کیفیت، طراحی می‌شود اگر چه این روش‌ها زمان‌بر است و اهداف کنترل کیفی را بطور کامل تامین نمی‌نماید ولی گاهی موفق به شناسایی خطاهایی می‌شود که در روش‌های معمول کنترل کیفی قابل تشخیص نیستند. برای این امر هر بیمار بطور انفرادی و نیز نتایج یک گروه از بیماران مورد بررسی قرار می‌گیرند.

نتایج هر بیمار بطور انفرادی

نتیجه آزمایش هر بیمار محصول نهایی عملکرد آزمایشگاه است ولی متأسفانه بررسی نتیجه تک تک بیماران شاخص حساسی برای شناسایی خطاها نمی‌باشد.

برای بررسی نتایج هر بیمار از روش‌های زیر استفاده می‌شود.

هماهنگی با علائم بالینی

مقایسه نتایج آزمایشگاهی با علائم بالینی بیمار در آزمایشگاه‌هایی که تعداد زیادی از بیماران را پذیرش می‌کنند، تقریباً غیر ممکن است. مضاف بر اینکه افراد مختلف در زمان ابتلا به بیماری واحد، نتایج آزمایشگاهی یکسانی نداشته و الزاماً همیشه علائم بالینی با نتایج آزمایشگاهی هماهنگی کامل ندارد.

این عوامل ارزش این روش را محدود کرده و به موارد واضحی مثل کسب جواب بی‌لی‌روبین نرمال در افراد ایاکتر محدود می‌کند.

چون پزشکان بطور مرتب با این مسائل مواجه هستند، باید ترتیبی اتخاذ شود که پزشکان با آزمایشگاه تعامل نزدیکی داشته و این موارد و مشکلات توسط پزشک به آزمایشگاه منتقل شود.

هماهنگی با سایر نتایج آزمایشگاهی

اگر یک گروه از آزمایش‌ها در زمان و مکان واحد انجام شود، مسئول آزمایشگاه می‌تواند ارتباط آن‌ها را با هم بررسی نماید. مانند ارتباط میزان TSH و ، T₄.

آزمایش‌های مضاعف (duplicate) در آزمایشگاه

برای این کار بایستی نمونه‌ها در دو لوله ریخته شده و دو بار آزمایش شود. این روش در مواردی که کنترل‌های پایدار تجاری در دسترس نمی‌باشند و یا به عنوان مکمل روش‌های 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 مختلف انجام گردد، خطای سیستماتیک هم در آن تاثیر کرده و تفسیر آنرا مشکل می‌کند.

برای بررسی در یک آزمایشگاه، تعدادی نمونه بصورت دبل آزمایش، اختلافات (d) آن‌ها محاسبه و به توان دو رسانیده می‌شود (d²). سپس انحراف معیار اختلافات بر اساس فرمول زیر بدست می‌آید.

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

هر جفت جوابی که بیشتر از ۲SD با هم اختلاف داشته باشند غیر قابل قبول شناخته می‌شود.

دلتا چک با نتایج قبلی

در این روش نتایج جدید هر بیمار با نتایج قبلی همان بیمار مقایسه می‌شود. برخی خطاها مانند جابجایی نمونه یا جواب شناسایی می‌گردد. اساس این روش بر این موضوع استوار است که مقادیر پارامترها 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 پارامترها بررسی نمود. که در جدول زیر آمده است.

Recommended Limits for Delta Checks	
Test	Delta Check Limit
Albumin	20%
Bilirubin, 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%

From Ladenson JH. Patients as their own controls: Use of the computer to identify "laboratory error." Clin Chem 1975;21:1648-53.

Limit checks

در این روش آزمایشات مربوط به بیمارانی که مقادیر برخی پارامترهای آنها در محدوده‌ای قرار دارد که در شرایط فیزیولوژیک امکان ندارد، دوباره انجام می‌گردد.

مثل مواردی که در جدول زیر به آنها اشاره شده است.

Recommended Ranges for Line Checks		
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)	2	1200
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	30
Uric acid (mg/dL)	1.0	12.0

*Units are method dependent.

From Whitehead F, Dillman TV, Bevilacqua C. Evaluation of discrepancies in patients' results: An aspect of computer-aided quality control. Clin Chem 1975;1:87-91.

۱- کنترل کیفیت بر اساس نتایج بیماران متعدد

بررسی آماری نتایج گروهی بیماران در تشخیص خطاهای سیستماتیک (shifts and drifts) مفید می-باشد. ولی نمی‌تواند خطاهای راندوم را تشخیص دهد به همین دلیل نمی‌تواند جایگزین روش‌های معمول کنترل کیفی با مواد پایدار کنترلی شود. مقادیر حاصل از نتایج هر بیمار علاوه بر متغیرهای بخش آنالیتیک، تحت تاثیر متغیرهای متعددی مانند شرایط دموگرافیک، بیولوژیک، پاتولوژیک، پره‌آنالیتیک قرار می‌گیرد. این مسئله باعث می‌شود که کنترل کیفیت بر اساس نتایج بیماران متعدد و محاسبه میانگین نتایج آنها، نسبت به بررسی نتایج انفرادی هر بیمار ارجحیت داشته باشد.

اندازه تغییرات میانگین در یک گروه بیمار با شاخص آماری انحراف معیار از میانگین (Standard error of mean) یا به اختصار SEM بیان می‌شود که از تقسیم انحراف معیار نتایج یک گروه بیمار بر مجذور تعداد آنها بدست می‌آید.

استفاده از نتایج بیماران می‌تواند به عنوان مکملی مناسب برای سایر روش‌های کنترلی استفاده گردد.

روش‌های آماری برای پایش میانگین نتایج بیماران

یکی از راه‌های استفاده از نتایج بیماران، محاسبه میانگین نرمال (average of normal (AON) یا mean of normal است و از میانگین نتایج نرمال بدست می‌آید پس باید ابتدا نتایج غیر طبیعی را بر اساس محدوده مرجع حذف و سپس میانگین را محاسبه نمود.

اگر این میانگین بعد از گروه‌بندی افراد بر اساس شرایط، انجام شد weighted mean نامیده می‌شود.

الگوریتم Bulls که امروزه جهت پایش دستگاه‌های سل کانتر استفاده می‌شود، از میانگین متحرک (moving average) برای ارزیابی اندکس‌های خونی استفاده می‌نمایند.

بررسی میانگین نتایج بیماران در فواصل زمانی مشخص و مقایسه آن با نتایج قبلی در تشخیص خطاهای سیستمیک به آزمایشگاه کمک می‌کند.

بررسی هماهنگی نتایج آزمایشگاه با تشخیص نهایی

این مطالعات اغلب بصورت گذشته‌نگر انجام گرفته و میزان موارد منفی و مثبت کاذب نتایج آزمایشگاهی را بر اساس تشخیص نهایی بررسی می‌کند. این روش کنترل کیفیت نتایج آزمایشگاه را در دراز مدت، کنترل می‌کند.

اصول کنترل کیفی در آزمایشگاه خون‌شناسی

آزمایش‌های هماتولوژی نیز مثل سایر تست‌های آزمایشگاهی نیاز دارند برنامه‌های تضمین کیفیت برایشان در نظر گرفته شود و چون اکثر آزمایش‌های هماتولوژی، کمی quantitative می‌باشند، می‌توان از موارد ذکر شده در قسمت‌های قبلی برای کنترل کیفیت آن‌ها استفاده نمود.

بر اساس توصیه WHO هر آزمایشگاه هماتولوژی با توجه به شرایط موجود مثل تعداد پرسنل، تعداد نمونه‌ها، تجهیزات بکار رفته، تنوع آزمایش‌ها و ... بایستی جهت اجرای برنامه تضمین کیفیت از تعدادی از روش‌های زیر استفاده نماید.

برنامه‌های دائمی:

➤ مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با گسترش خون محیطی

➤ مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با وضعیت بالینی بیمار

برنامه‌های روزانه:

✓ استفاده از نمونه کنترل در هر سری کاری

✓ رسم نمودار کنترل با استفاده از نمونه کنترل

✓ انجام آزمایش‌های مضاعف یا دوتایی duplicate بر روی تعدادی از نمونه‌های بیماران (معمولاً ۳-۴ نمونه در هر سری کاری)

✓ انجام آزمایش بازبینی (Check test) بر روی تعدادی از نمونه‌های بیماران (آزمایش ۳-۴ نمونه از سری- کاری قبلی)

✓ بررسی تفاوت نتایج یک بیمار با آزمایش قبلی خودش (Delta check)

✓ محاسبه میانگین اندکس‌های خونی MCHC، MCH، MCV در صورت استفاده از سل کانتر

✓ محاسبه میانگین MCHC در صورت استفاده از روش‌های دستی

اصول کار با دستگاه‌های سل کانتر

۱- نحوه کار با دستگاه سل کانتر مثل روشن کردن، توجه به gaugeهای فشار (بر حسب نوع دستگاه و در صورت نیاز)، نگهداری دستگاه (شستشوی روزانه، هفتگی، ماهانه و سایر موارد لازم)، خاموش کردن آن و ... می‌بایست بطور کامل مطابق کاتالوگ دستگاه یا آموزش کارشناسان شرکت پشتیبان صورت گیرد. تاریخ و شرح آموزشی که کارشناسان شرکت پشتیبان این آموزش‌ها را ارائه داده‌اند بایستی بطور مستند موجود باشد.

در صورتی که کاربر دستگاه عوض شود، بایستی آموزش‌های مذکور در مورد روش کار با دستگاه، نحوه نگهداری و اصول کنترل کیفی به کاربر جدید هم داده شود.

۲- کلیه موارد مربوط به نگهداری دستگاه، مانند تاریخ شستشوی لازم، تعمیر، سرویس و یا تعویض محلول‌ها باید ثبت و نگهداری گردد.

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

۴- در صورتی که نمونه در آزمایشگاه زیاد باشد بهتر است در فواصل کاری و بین آزمایش‌ها، دستور شستشو انجام گیرد.

۵- هر شش ماه یکبار دستگاه‌های سل کانتر احتیاج به کالیبراسیون دارند ولی در ابتدای راه‌اندازی، پس از هر بار تعمیر یا سرویس، قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه، تعویض محلول‌ها (در صورتی که باعث تغییر محسوس در نتایج خون کنترل و یا نمونه بیماران شده باشد) نیز ضروری است.

۶- هر روز قبل از شروع کار بر روی نمونه‌ها، بایستی نمونه خون کنترل با تاریخ انقضاء معتبر با دستگاه انجام گردد و پس از اطمینان از قابل قبول بودن نتایج آن با استفاده از نمودار کنترل، نسبت به آزمایش نمونه مراجعین اقدام شود.

۷- در صورت عدم وجود خون کنترل و یا برای کامل شدن ارزیابی عملکرد دستگاه، باید روزانه از آزمون آماری T-Brittin استفاده شود.

۸- بررسی میزان عدم دقت و عدم صحت دستگاه بطور منظم انجام شود.

جهت رعایت اصول ایمنی و جلوگیری از ایجاد مشکلات مربوط به نوسانات برق، استفاده از سیم اتصال به زمین و تثبیت کننده نوسانات برق ضروری می‌باشد.

محلول‌های سل کانتر

۱- محلول‌ها بایستی سری ساخت مشخص از شرکت پشتیبان و یا سایر شرکت‌های معتبر خریداری شود.

۲- وجود ذرات اضافی و نامحلول در این محلول‌ها باعث تداخل در شمارش سلول‌های خونی به ویژه پلاکت می‌شود.

۳- هنگام تعویض هر محلول تاریخ شروع استفاده، روی آنها ثبت شود.

۴- هیچ‌گاه ته‌مانده محلول قبلی را روی محلول جدید اضافه ننمایید.

کالیبراسیون و کنترل کیفیت سل کانتر

کالیبراسیون

جهت کالیبراسیون سل کانترها کالیبراتورهای تجاری موجود است که مقادیر مورد نظر در آنها با روش‌های

مرجع کالیبره شده‌اند که در صورت داشتن تاریخ انقضاء معتبر و تاییدیه‌های لازم و با رعایت دستورالعمل‌های

کارخانه سازنده برای کالیبراسیون دستگاه‌ها مناسب می‌باشند. صحت انجام کالیبراسیون را می‌توان با آزمایش نمونه کنترل، مقایسه نتایج دستگاه‌ها با انجام روش‌های مرجع بر روی چند نمونه خون و کنترل دقیق میانگین‌های متحرک در مورد اندکس‌های گلبولهای قرمز تایید نمود.

در صورتی که کالیبراتورهای تجاری مناسب در اختیار نبود و یا نسبت به اعتبار آنها شکی وجود داشت می‌توان از خون کامل طبیعی تازه برای این منظور استفاده نمود. برای انجام این کار بایستی پارامترهای حداقل ۳ نمونه را دو بار با روش‌های مرجع دستی و دو بار با سل کانتر اندازه گیری نموده و پس از محاسبه میانگین هر پارامتر با روش دستی و دستگاهی، با استفاده از فرمول زیر فاکتور کالیبراسیون دستگاه‌ها را در صورت نیاز تصحیح نمود. برای بالا رفتن دقت این کار از نمونه‌های بیشتری می‌توان استفاده کرد.

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

پارامتر	روش مرجع
هموگلوبین	سیانمت هموگلوبین
هماتوکریت	میکرو هماتوکریت
تعداد گلبولهای سفید	هماسیتومتر با درجه‌بندی اصلاح شده

اخیراً در برخی کتب رفرانس کولترهای تک کاناله به‌عنوان روش مرجع برای شمارش RBC، WBC، PLT، قید شده است که به دلیل عدم دسترسی به این وسایل در کشور ما هنوز از روش هماسیتومتر با درجه‌بندی اصلاح شده استفاده می‌شود ولی به علت میزان خطای بالا در مورد پارامترهای RBC و PLT بهتر است کالیبراسیون این موارد توسط شرکت پشتیبان انجام گیرد.

مثال: اگر میانگین اندازه‌گیری هموگلوبین به روش دستی ۱۴۰ gr/L و با سل‌کانتر ۱۴۵gr/L باشد،

فاکتور تصحیح کالیبراسیون بدین صورت محاسبه می‌شود.

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

پس طبق نتیجه فوق ضریب کالیبراسیون بایستی ۳/۴۴٪ کاهش یابد. برای مثال اگر ضریب کالیبراسیون

قبلی ۱۰۰ بوده، می‌بایست ۳/۴۴٪ کاهش یابد و روی ۹۶/۵۶ تنظیم گردد.

در برخی سل‌کانترها مثل سیسمکس ضریب کالیبراسیون جدید با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌گردد.

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

کنترل کیفیت

۱- برای این کار می‌توان از نمونه کنترل خون‌های تجاری که در بازار موجود می‌باشد استفاده نمود و هر روز

صبح و به فواصل در طول روز کاری استفاده کرده و نتایج حاصله را در روی نمودار ثبت نمود. برای رسم

نمودار بایستی نمونه خون کنترل به فواصل آزمایش گردد تا حداقل ۲۰ خوانده برای هر متغیر بدست آید.

پس از محاسبه میانگین و انحراف معیارهای $\pm 1SD$ و $\pm 2SD$ و $\pm 3SD$ برای هر متغیر، مقادیر آن‌ها را

بر روی محور عمودی و روزها را بر روی محور افقی ثبت می‌گردد و تفسیر این نمودار همانطور که قبلاً

اشاره شد توسط قوانین لوی‌جنینگ، وستگارد یا WHO صورت می‌گیرد.

تفسیر نمودار کنترل توسط سازمان بهداشت جهانی WHO/LAB/۱۹۹۸

نتیجه یک کنترل خارج از $\pm 2SD$	هشدار
نتیجه یک کنترل خارج از $\pm 3SD$	رد نتایج بیماران (خطای سیستماتیک یا راندوم)
دو نتیجه متوالی و همسو خارج از $\pm 2SD$	رد نتایج بیماران (خطای سیستماتیک)
چهار نتیجه متوالی و همسو خارج از $1SD - 1SD$ یا $1SD +$	رد نتایج بیماران (خطای سیستماتیک)
شش نتیجه نمونه کنترل در یک طرف میانگین	هشدار (خطای سیستماتیک)

۲- در صورتی که نمونه خون کنترل در دسترس نباشد و یا برای کامل شدن روند کنترل کیفیت سل کانتر می-توان از نمونه خون بیماران استفاده نمود. با توجه به اینکه پارامترهایی مثل WBC، RBC، Hb، HCT و اندکس‌های خونی در نمونه خون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد، می‌توان در روز اول حداقل ۵ و ترجیحاً ۱۰ نمونه با مقادیر نرمال را بعد از انجام آزمایش در یخچال نگهداری نمود و در روز بعد مجدداً مورد آزمایش قرار داد و وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر نمونه‌های جفت را با استفاده از آزمون آماری T-Brittin محاسبه نمود.

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

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

n تعداد جفتهای مورد بررسی

d اختلاف بین دو خوانده (روز به روز)

SD انحراف معیار اختلافات

مقدار t برای هر متغیر محاسبه شده و اگر مقادیر آن برای ۵ نمونه از ۲/۷۸ و برای ۱۰ نمونه ۲/۲۶ بیشتر باشد، با اطمینان ۹۵٪ می‌توان بیان نمود که بین مقادیر بدست آمده در دو روز اختلاف معنی‌دار وجود دارد و بیانگر این است که در روند کار احتمال وجود یک مشکل است که بایستی شناسایی و رفع گردد.

مثال: اگر نتایج حاصل از اندازه‌گیری Hb ۵ نمونه خون با استفاده از یک دستگاه سل کانتر در دو روز

متوالی مطابق جدول زیر باشد عملکرد دستگاه با کمک فرمول T-Brittin به صورت زیر بررسی می‌گردد.

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

$$SD = \sqrt{\frac{91 - \frac{9}{5}}{4}} = 4.72$$

$$m = \frac{0.6\sqrt{5}}{4.72} = 0.28$$

در مثال بالا چون عدد t بدست آمده از ۲/۷۸ (مقدار t برای ۵ نمونه) کمتر است لذا نتایج Hb دستگاه

قابل قبول است.

۳- بررسی عدم دقت دستگاه به دو روش انجام می‌شود.

(a) با استفاده از نمونه کنترل: با استفاده از نمونه کنترل در روزهای متوالی که توسط دستگاه آزمایش شده

است، CV هر پارامتر را محاسبه می‌نمایند.

(b) بدون استفاده از نمونه کنترل: در این روش از نمونه‌های خون روزانه برای این کار استفاده می‌شود. بدین

صورت که در هر ماه حدود دو نمونه را حداقل ۱۰ بار با سل کانتر آزمایش نموده و از نتایج حاصل CV هر

پارامتر را محاسبه نموده و با CV ادعا شده توسط شرکت سازنده که در کاتالوگ دستگاه وجود دارد

مقایسه نموده و در صورت عدم تطابق با آن با شرکت پشتیبان کننده تماس گرفته می‌شود.

بررسی عدم دقت دستگاه خصوصاً هنگام نصب و راه‌اندازی با استفاده از نمونه‌های طبیعی و غیر طبیعی

ضروری است.

مثال: اگر نتایج شمارش WBC یک نمونه توسط دستگاه سل کانتر به قرار زیر باشد، میزان عدم دقت

دستگاه برای شمارش پارامتر مذکور به روش زیر محاسبه می‌شود.

WBC $\times 10^3/L$	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$	$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$ $SD = \sqrt{0.201 / 9} = 0.148$ $CV \% = \frac{SD \times 100}{\bar{x}}$ $0.148 / 7.63 \times 100 = 1.9\%$
7.6	-0.03	0.0009	
7.5	-0.13	0.017	
7.8	0.17	0.029	
7.6	-0.03	0.0009	
7.5	-0.13	0.017	
7.9	0.27	0.073	
7.5	-0.13	0.017	
7.6	-0.03	0.0009	
7.5	-0.13	0.017	
7.8	0.17	0.029	
$\Sigma x = 76.3$ $\bar{x} = 7.63$		$\Sigma (x - \bar{x}) = 0.201$	

۴- در صورتی که امکان انجام تمامی آزمایش‌ها بصورت دوتایی وجود نداشت بایستی در هر سری کاری حداقل ۲ تا ۳ نمونه بصورت دوتایی (Duplicate) انجام گیرد تا با بررسی اختلاف خوانده‌ها از طریق آماری، خطاهای تصادفی قابل شناسایی باشد. افزایش اختلاف بین دو خوانده بیش از ۲SD، احتمال وجود خطای تصادفی را مطرح می‌سازد. فرمول زیر روش محاسبه SD نمونه‌های دوتایی را نشان می‌دهد.

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

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

می باشد :

اندازه گیری اول (g/L)	اندازه گیری دوم (g/L)	d	d ²
۱۲۰	۱۲۲	۲	۴
۱۶۱	۱۶۳	۲	۴
۱۱۰	۱۰۰	۱۰	۱۰۰
۱۴۰	۱۴۰	۰	۰
۱۳۴	۱۳۲	۲	۴
			۱۱۲

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

اختلاف بیشتر از ۲SD بین دو نتیجه آزمایش در نمونه سوم، نشان‌دهنده ایجاد خطای تصادفی و لزوم

تکرار آزمایش بر روی همان نمونه می‌باشد.

۵- روش دیگر در اجرایی کردن کنترل کیفیت، آزمایش بازبینی (Check test) است که در صورت نگهداری صحیح نمونه‌ها در یخچال قابل انجام می‌باشد. بدین صورت که در ابتدای سری کاری حداقل ۲ - ۳ نمونه پس از انجام آزمایش بصورت در بسته در یخچال نگهداری شود و در انتهای سری کاری مجدداً مورد آزمایش قرار گیرد و نتایج حاصل از این دو نوبت آزمایش با استفاده از فرمول Duplicate test مورد بررسی قرار گرفته تا اختلاف نتایج در محدوده $\pm 2SD$ قابل قبول است. در صورت نگهداری صحیح نمونه‌ها، مشاهده اختلاف نتایج خارج از محدوده $\pm 2SD$ ، نشان‌دهنده اشکال در عملکرد دستگاه و یا معرف‌ها می‌باشد. این روش برای بررسی Hb مناسب بوده و در مورد WBC و RBC کاربرد کمتری دارد ولی برای Hct اگر فاصله زمانی بین نمونه‌گیری و انجام آزمایش بیشتر از ۶ ساعت باشد کاربردی ندارد.

۶- در مراکزی که تعداد بیماران زیاد است (حداقل روزانه ۱۰۰ بیمار) می‌توان از میانگین اندکس‌های گلبولی (MCV, MCH, MCHC) جهت ارزیابی کیفیت عملکرد دستگاه‌ها استفاده نمود چون در جمعیت میزان میانگین اندکس‌های گلبولی ثابت می‌باشد.

در این روش میانگین و $\pm 2SD$ اندکس‌های گلبولی (MCV, MCH, MCHC) حداقل ۳۰۰ - ۵۰۰ بیمار توسط سل کانتر محاسبه و نمودار رسم می‌گردد و در روزهای بعد نمونه‌های بیماران بصورت تصادفی به گروه‌های ۲۰ تایی تقسیم شده و هر گونه اختلاف بین انحراف از مقادیر مجاز، به سهولت شناسایی می‌شود. فقط بایستی به خاطر داشت که انتخاب نمونه‌ها لازم است بصورت تصادفی بوده و بیشتر از ۷ نمونه در یک گروه در شرایط کلینیکی یکسانی نباشند. این روش در حال حاضر بصورت برنامه‌های نرم افزاری بر روی بسیاری از سل کانترها نصب شده است.

۷- روشی دیگر برای کنترل کیفیت، مقایسه کردن نتایج آزمایش یک فرد با نتایج قبلی همان فرد (Delta check) مشروط به اینکه تغییرات فیزیولوژیکی و روزانه پارامترهای خونی، درمان شدن بیمار به هر دلیل و تغییرات بالینی که باعث تغییر شمارش سلول‌ها می‌گردد را در نظر داشته باشیم. لازم به توضیح است که استفاده از این روش در صورتی که فاصله دو آزمایش بیشتر از ۲ تا ۳ هفته باشد توصیه نمی‌شود.

مقادیر زیر مقدار مجاز تغییرات پارامترها در این روش به عنوان مثال آورده شده است.

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

۸- مقایسه نتایج دستگاه سل کانتر با گسترش لام خون محیطی: در این روش نتایج حاصل از شمارش پلاکت و گلبولهای سفید توسط سل کانتر با تعداد سلولهای که در گسترش لام خون محیطی شمارش شده مقایسه می‌گردد. در جدول زیر ارتباط بین میانگین سلولهای شمارش شده در گسترش لام خون محیطی با تعداد تخمینی سلولها نشان داده شده است.

تعداد تخمینی پلاکتها ($\times 10^9$)	میانگین تعداد پلاکتهای شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد (دید روغن $\times 100$)	تعداد تخمینی گلبولهای سفید ($\times 10^9/L$)	میانگین تعداد گلبولهای سفید شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد ($\times 40$)
۵۰-۱۰۰	۲-۳	۳-۷	۲-۳
۱۰۰-۱۵۰	۴-۶	۷-۱۰	۴-۶
۱۵۰-۲۵۰	۷-۱	۱۰-۱۳	۷-۱
۲۵۰-۵۰۰	۱۱-۲۰	۱۳-۱۸	۱۱-۲۰

دستگاه میکرو هماتوکریت

دستگاه میکرو هماتوکریت باید دارای مشخصات زیر باشد.

شعاع چرخش بیشتر از ۸ سانتیمتر باشد

توانایی رسیدن به حداکثر سرعت در عرض ۳۰ ثانیه.

توانایی ایجاد RCF حدود ۵ تا ۱۰ هزار g در محیط به مدت حداقل ۵ دقیقه بدون افزایش دما از ۴۵

درجه سانتیگراد.

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

RCF (Relative Centrifugal Field): میدان نسبی سانتریفوژ

RPM (Revolution Per Minute): دور در دقیقه

$$RCF = 1,118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$$

کنترل کیفی و بررسی کالیبراسیون دستگاه میکرو هماتوکریت

برای کنترل کیفی دستگاه ضروری است به نکات زیر توجه شود.

a. سرعت سانتریفوژ (بررسی توسط تاکومتر)

b. زمان سنج دستگاه (بررسی توسط کورنومتر)

c. حداکثر توان در تجمع سلول‌ها

برای بررسی حداکثر توان در تجمع سلول‌ها می‌توان از روش زیر استفاده نمود.

- دو نمونه خون تازه که دارای ضد انعقاد K₂EDTA است به خوبی میکس نموده و نمونه‌ها را به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ و مقادیر بدست آمده را یادداشت می‌نماییم. سپس هر ۳۰ ثانیه، زمان سانتریفوژ را افزایش داده و این کار را تا زمانی که مقادیر دو هماتوکریت بدست آمده بدون تغییر باقی بماند ادامه می‌دهیم. این زمان به عنوان حداقل زمان لازم جهت متراکم کردن گلبولهای قرمز در نظر گرفته می‌شود. این آزمایش بهتر است حداقل با یک نمونه دارای هماتوکریت ۰/۵ یا بیشتر نیز انجام گیرد.

مثال برای بررسی حداکثر توان در تجمع سلول‌ها:

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

همانطوری که در جدول فوق مشاهده می‌شود زمان لازم جهت به متراکم نمودن گلبولهای قرمز برای دستگاه میکروهماتوکریت و هماتوکریت کمتر از ۵۰٪ حدود ۳/۵ دقیقه و برای هماتوکریت بیشتر از ۵۰٪ حدود ۴/۵ دقیقه می‌باشد.

- در صورتی که ارزیابی عملکرد دستگاه میکروهماتوکریت بصورت مستقیم میسر نباشد می‌توان از روش توصیه شده WHO جهت بررسی توان دستگاه به روش زیر استفاده نمود.

چند نمونه خون با هماتوکریت کمتر از ۵۰٪ را بخوبی میکس نموده و بصورت دوتایی به مدت ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۱ دقیقه سانتریفوژ و نتایج ثبت می‌گردد. اگر توان دستگاه مناسب باشد (g) نتایج حاصل از دقیقه ۵ به بعد بدون تغییر خواهد بود.

جهت بررسی خط‌کش هماتوکریت می‌توان نمونه‌ای که هماتوکریت آن با خط‌کش هماتوکریت ۵۰٪ قرائت شده است طوری در لوله موئینه پر نمود که طول قسمت پر شده دقیقاً ۵ سانتیمتر باشد و بعد از سانتریفوژ ابتدای قسمت گلبولهای قرمز را روی نقطه صفر خط‌کش قرار داده و انتهای ستون سلول و پلاسما روی سانتیمتر ۵ قرار می‌گیرد. قرار گرفتن انتهای بالای ستون سلول بر روی خط ۲/۵ سانتیمتر نشان‌دهنده صحت کار خط‌کش هماتوکریت می‌باشد.

کنترل کیفی آزمایشات انعقادی

برای انجام آزمایشات انعقادی نیز مانند سایر آزمایشهای کمی بایستی در هر سری کاری از نمونه پلاسمای کنترل و یا در صورت عدم دسترسی بودن پلاسمای کنترل از Pooled Plasma که از مخلوط پلاسمای افراد طبیعی بدست آمده است استفاده نمود.

نمونه پلاسمای کنترل بایستی همان ویژگی‌هایی که در مورد نمونه کنترلی، قبلاً ذکر شد را داشته باشد. البته استفاده از دو نمونه کنترل در دو سطح متفاوت بیشتر توصیه شده است.

اگر پلاسمای کنترل تجاری در دسترس نبود بایستی بدلیل اختلاف غلظت فاکتورهای انعقادی در افراد مختلف و با توجه به لزوم فعالیت انعقادی ۱۰۰٪ برای تهیه این نمونه باید پلاسمای ۲۰ مرد و زن طبیعی (غیر حامله که OCO نیز مصرف نمی‌کنند) با هم مخلوط شود. پس از اطمینان از عدم آلودگی نمونه می‌توان نمونه را در لوله‌های پلاستیکی کوچک تقسیم نموده و در دمای زیر ۲۰ درجه سانتیگراد (ترجیحاً زیر ۵۰ درجه سانتیگراد) نگهداری نمود.

برای تعیین محدوده نمونه Pooled Plasma، نمونه را ۲۰ بار آزمایش نموده و میانگین و انحراف معیار را محاسبه می‌شود. محدوده مورد انتظار $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ می‌باشد. در هر سری کاری نمونه کنترل یا Pooled Plasma همراه نمونه‌های بیماران آزمایش شود و نتایج آن با محدوده مورد انتظار مقایسه گردد. میزان مجاز پراکندگی نتایج بر حسب CV حداکثر ۵٪ می‌باشد.

آزمایش‌های انعقادی بویژه به روش دستی بایستی بصورت دوتایی انجام گیرند و برای مورد قبول واقع شدن نتایج بایستی به تفاوت نتایج جفت آزمایش‌های دوتایی توجه نمود. بدین صورت که اگر این دو نتیجه حداکثر اگر ۱۰٪ با هم متفاوت باشند قابل قبول است در غیر این صورت آزمایش بایستی تکرار شود.

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

اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشگاه میکروبی شناسی

تهیه و کنترل کیفیت محیط های کشت

نکات عمومی در مورد محیط های کشت:

آب:

کیفیت محیط های کشت بطور مستقیم بستگی به کیفیت مواد خام مورد استفاده در تهیه آن ها دارد. آب یکی از مهمترین موادی است که در تهیه محیط های کشت بکار می رود. سه معیار مهم برای آب مورد استفاده در تهیه محیط های کشت شامل وجود یونهای مس، قدرت هدایت الکتریکی و pH می باشد. در شرایط ایده آل یون های مس بدلیل خاصیت مهارکنندگی برای اغلب میکروارگانیسم ها نباید در آب مورد استفاده جهت تهیه محیط های کشت وجود داشته باشد. قدرت هدایت الکتریکی آب باید کمتر از ۱۵ میکرو زیمنس باشد همچنین pH آب مورد استفاده بهتر است کمی اسیدی باشد ولی نباید کمتر از ۵/۵ باشد.

توزین محیط کشت و افزودن آب:

طبق دستورالعمل تهیه محیط کشت که بر روی قوطی نصب گردیده است، مقدار مناسبی از پودر محیط کشت را با دقت وزن نمایید. ظرف محیط کشت را دور از کوران هوا و رطوبت باز کنید. از استنشاق پودرها به خصوص آنهایی که دارای مواد سمی هستند و تماس طولانی مدت آنها با پوست اجتناب کنید. پودر را به سرعت، به دقت و بدون ایجاد توده ای از غبار وزن کنید. هرچه زودتر درب ظرف را ببندید.

نصف حجم آب مورد نیاز را داخل ظرف بریزید. سپس مقدار وزن شده محیط کشت را به آن اضافه نمایید. برای چند دقیقه به تندی تکان دهید. باقیمانده آب را به دیواره ظرف بریزید تا ذرات محیط کشت چسبیده به دیواره نیز وارد محلول شوند. این مرحله بسیار مهم است، چون پودر خشک محیط کشت در بالای سطح آب، ممکن است در اتوکلاو استریل نشود و منبع آلودگی گردد.

حل کردن محیط کشت:

محیط‌های کشت بدون آگار، معمولاً با تکان دادن آهسته و ملایم حل خواهند شد. اما محیط‌های کشت حاوی آگار باید قبل از حرارت دادن به مدت چند دقیقه با آب مخلوط شوند. سپس حرارت داده شوند تا آگار قبل از اتوکلاو کردن، حل شود. محیط‌های کشت را بجوشانید بدون آنکه بسوزند.

محیط‌های کشتی که نباید اتوکلاو شوند، بعد از این مقدار حرارت دادن، برای تقسیم داخل پلیت‌ها یا ظروف دیگر آماده خواهند بود. اکثر محیط‌های کشت به استریلیزاسیون نهایی (در دمای 121°C به مدت ۱۵ دقیقه) نیاز خواهند داشت.

اندازه‌گیری و تنظیم pH

محیط‌های کشت دهیدراته اگر بطور مناسب تهیه شوند نیازی به تنظیم pH ندارند. pH نهایی محصول استریل شده را می‌توان روی پلیت یا بطری اندازه‌گیری کرد، اما باید آنها را بعد از سنجش pH دور ریخت. بنابراین بعد از استریل شدن و خنک شدن محیط کشت تا دمای 25°C ، مقدار pH را در حد مورد نظر (± 0.2) تنظیم نمایید. تنظیم pH معمولاً با استفاده از هیدروکسید سدیم ۴۰ گرم در لیتر (تقریباً "یک مولار") و یا با استفاده از اسید کلریدریک ۳۶/۵ گرم در لیتر (تقریباً یک مولار) انجام می‌شود.

توزیع:

محیط کشت را در ظرفی مناسب با حجم ۲ تا ۳ برابر حجم محیط کشت بریزید تا بتوانید آنرا به خوبی تکان دهید و مخلوط کنید.

استریلیزاسیون:

بعضی از محیط‌های کشت به استریلیزاسیون با اتوکلاو احتیاجی نداشته و با جوشاندن استریل می‌شوند که دستور ساخت آنها بر روی برچسب قوطی محیط کشت قید گردیده است. استریلیزاسیون سایر محیط‌های کشت توسط حرارت مرطوب یا صافی غشایی انجام می‌گردد که این موارد نیز بر روی برچسب قوطی محیط کشت قید گردیده است.

الف) استریلیزاسیون با حرارت مرطوب:

استریلیزاسیون محیط کشت تا حجم یک لیتر، در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای 121°C (فشار $1/2$ کیلوگرم بر سانتیمترمربع) انجام می‌گیرد. برای حجم‌های بیشتر از یک لیتر باید چرخه استریلیزاسیون را بطور مناسب تغییر داد. اما چون اکثر مشکلات در استریلیزاسیون محیط‌های کشت وقتی رخ میدهد که مقادیر بیشتر از دو لیتر محیط کشت باید استریل شود، لذا توصیه می‌شود که مقادیر زیاد محیط کشت را در حجم‌های کوچکتر تقسیم نمایید.

کنترلی کیفی اتوکلاو، کنترل دما و فشار اتوکلاو بایستی بطور مداوم انجام گردد. برای کنترل اتوکلاو از اندیکاتورهای شیمیائی TST استفاده می‌کنند. از اندیکاتورهای بیولوژیکی که جهت کنترل کارائی اتوکلاو استفاده می‌کنند اسپور *Bacillus Stearothermophilus* را می‌توان نام برد که بصورت تجاری قابل دسترس می‌باشد.

ب) استریلیزاسیون با صافی غشایی:

از صافی غشایی برای استریل کردن محیط‌های کشت و ترکیبات حساس به حرارت استفاده می‌شود. استریلیزاسیون بوسیله صافی غشایی تحت شرایط خلاء یا افزایش فشار انجام می‌پذیرد. از غشاء ها و صافی‌های با قطر منفذ $0/22$ یا $0/45$ میکرومتر استفاده نمایید. این فیلترها باید قبل از استفاده، در اتوکلاو استریل شوند. در مورد غشاء ها و صافی‌هایی که در بسته‌بندیهای استریل به فروش می‌رسند، به دستورالعمل سازنده مراجعه نمایید. قسمت‌های مختلف دستگاه صافی را با صافی یا بدون صافی در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 121°C استریل نمایید.

آماده سازی جهت مصرف:

بعد از استریلیزاسیون، اجازه دهید دمای محیط کشت به حدود 50°C برسد، سپس با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم نمایید. هیچ وقت محیط کشت را در دمای بالاتر از 50°C تقسیم نکنید. مکمل‌های حساس به گرما و حرارت باید بعد از این که دمای محیط کشت به حدود 50°C رسید، به آن اضافه شوند.

اجازه دهید دمای مکمل (ساپلمنت) استریل قبل از این که به محیط کشت اضافه شود، به دمای اتاق برسد. سپس مکمل را با رعایت شرایط آسپتیک به محیط کشت اضافه نموده، خوب مخلوط کنید و در ظروف نهایی که از قبل استریل شده اند، تقسیم نمایید.

پتری دیش:

کیفیت پتری دیش‌های مورد استفاده در تهیه محیط نیز اهمیت دارد. معمولاً پتری دیش‌ها را با اتیلن اکساید و یا اشعه گاما استریل می‌کنند. در صورت استفاده از پتری دیش‌هایی که با اتیلن اکساید استریل شده باشند بایستی از نظر وجود بقایای این ماده بررسی شود زیرا اتیلن اکساید دارای خاصیت مهارکنندگی برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و می‌توان آن را با روش کروماتوگرافی اندازه گرفت.

در صورت استفاده از پتری دیش‌های شیشه‌ای بایستی از پتری دیش‌هایی از جنس بروسیلیکات استفاده کرد. استفاده از پتری دیش‌هایی از جنس پلیانی ممکن است موجب آزادسازی قلیا در داخل محیط کشت گردد.

پارامترهای فیزیکی:

محیط کشت‌های تهیه شده باید قبل از استفاده، از لحاظ فیزیکی و ظاهری نیز بررسی شوند. معیارهای ظاهری قابل بررسی شامل وجود حباب، حفره، ناصافی سطح محیط، ترک خوردگی، یخ زدگی می‌باشد. ضخامت محیط نیز اهمیت دارد. ضخامت محیط‌های کشت پلیتی نباید کمتر از ۳ میلی‌متر باشد.

نگهداری محیط‌های کشت تهیه شده:

طول عمر محیط‌های کشت تهیه شده بستگی به نوع اجزاء تشکیل دهنده محیط، نحوه نگهداری و ذخیره کردن آنها دارد. تمامی محیط‌های کشت باید دور از نور نگهداری شوند. تابش نور به محیط‌های کشت موجب تشکیل مواد باکتریوستاتیک و باکتریوساید مانند پراکسیداز می‌گردد. طول عمر اغلب محیط‌های کشت پلیتی در دمای ۴ درجه سانتیگراد یک هفته می‌باشد ولی اگر در داخل کیسه‌های پلاستیکی بسته بندی شوند بطوری که هوا داخل آنها نفوذ نکند تا ۳-۴ هفته قابل مصرف هستند. طول عمر محیط‌های کشت حاوی آنتی بیوتیک بستگی به پایداری آنتی بیوتیک موجود در آن دارد. در مجموع محیط‌های حاوی آنتی بیوتیک را در مدت یک هفته باید مصرف کرد. از سوی دیگر با گذشت زمان این‌گونه محیط‌های کشت رطوبت خود را از دست داده، بدلیل افزایش

غلظت آنتی بیوتیک قدرت انتخابی آنها افزایش می‌یابد. پلیت‌ها را باید قبل از مصرف به دمای اتاق رساند. اگر پلیت محیط کشت بیش از ۸ ساعت در دمای اتاق باقی بماند برای مصرف مناسب نمی‌باشد. محیط‌های کشت لوله‌ای در مقایسه با محیط‌های کشت پلیتی عمر طولانی‌تری دارند. اغلب این محیط‌های کشت اگر در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شوند ۳-۶ ماه قابل مصرف می‌باشند.

موارد استثناء:

تایوگلیکولات براث، اندول نیترا براث و SIM فقط به مدت یک‌ماه قابل نگهداری می‌باشند. محیط‌های CTA Medium و OF Medium حاوی کربوهیدرات و مولر هینتون براث فقط به مدت ۶ هفته قابل نگهداری می‌باشند.

اشکالات و علل رایج در محیط‌های کشت

اشکال	علت
نرم بودن آگار	حرارت بیش از حد، pH پایین که موجب هیدرولیز اسید در محیط کشت می‌گردد، توزین یا مخلوط نکردن درست، حل نشدن کامل آگار، حجم نادرست آب، رقیق سازی زیاد با مایع تلقیح یا مکمل‌ها و ذخیره سازی طولانی در دمای ۵۰ °C
pH نامناسب	استفاده از شیشه‌های قلیائی، آب ناخالص، حرارت بیش از حد، آلودگی شیمیائی، اندازه گیری pH در دمای نامناسب، استفاده از pH متر غیرکالیبره، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، ذخیره سازی نادرست محیط کشت دهیدراته و کیفیت پایین آب یا ظروف
رنگ یا تیرگی غیرطبیعی	ناخالص بودن آب، استفاده از شیشه آلات کثیف، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، حرارت دادن بیش از حد، pH نامناسب، حل

نشدن کامل محیط کشت و ذخیره سازی طولانی در دمای 50°C	
سمیت	حرارت دادن بیش از حد (سوزاندن محیط)، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، قرارگیری در معرض مستقیم نور خورشید و حجم نادرست مکمل اضافه شده
رشد ضعیف ارگانیسم یا داشتن خاصیت ضعیف انتخابی و یا افتراقی	استفاده از آب و یا شیشه آلات آلوده، استفاده از پودرهای محیط کشت خراب شده، توزین یا مخلوط نکردن درست، حرارت بیش از حد، ذخیره سازی طولانی محیط کشت، خشک شدن، تیرگی و تغییر pH محیط کشت
لخته یا کواگوله شدن محیط کشت	حرارت بیش از حد محیط در هنگام افزودن مکمل به آن
رگه رگه شدن محیط کشت	رگه رگه سیاه: نیم سوز شدن آگار رگه رگه روشن: سرد شدن آگار موقع افزودن مکمل
ایجاد رسوب یا کدورت	pH نامناسب، ناخالص بودن آب، استفاده از شیشه آلات کثیف، حل نشدن محیط کشت، کیفیت پایین آب یا ظروف، حرارت بیش از حد و ذخیره سازی طولانی در دمای 50°C

کنترل کیفی محیط های کشت میکروبی:

اصطلاحات مربوط به سویه های میکروبی کنترل

- سویه کنترل (Control Strain): میکروارگانیسمی که برای ارزیابی عملکرد میکروبی محیط کشت استفاده می شود.

- سویه مرجع (Reference Strain): میکروارگانیسمی که حداقل تا سطح جنس و گونه شناسایی شده و بر اساس ویژگی ها و ترجیحاً منشأ آن، فهرست‌بندی و تعریف شده است.
- ذخیره‌های مرجع (Reference Stocks): کشت‌های بدست آمده از پاساژ سویه مرجعی که از مراکز بین‌المللی تهیه شده است.
- ذخیره‌های کاری (Working Stocks): کشت مجددی که از کشت های ذخیره جهت کنترل کیفیت محیط‌های کشت استفاده می‌شود.

منبع سویه‌های کنترل:

همه سویه‌های کنترل که در جدول از آنها نام برده شده‌است، ATCC می‌باشند (American type culture collection) این سوش‌ها، حداقل سوش‌هایی هستند که باید برای ارزیابی هر محیط کشت استفاده شوند. ارگانیسیم‌های مورد استفاده برای اهداف کنترل کیفی می‌تواند از سویه‌های National collection باشد. سویه‌های دیگری نیز ممکن است توسط سازنده محیط کشت به کار رود که شامل مجموعه‌ای از سویه‌های وحشی (Wild strain) یا بدست آمده از نمونه‌های بیمار می‌باشد که مختص هر آزمایشگاه بوده و برای انجام آزمایش‌های بیشتر به کار می‌روند.

روش انجام آزمون کنترل کیفیت محیط‌های کشت

تهیه سوسپانسیون میکروبی:

یک کشت از ارگانیسیم کنترل کیفی روی پلیت بلاداآگار تهیه کنید. بعد از انکوباسیون پلیت ۳-۵ کلنی ایزوله را در مقدار کمی تریپتیکس سوی براث (TSB) استریل حل نمایید تا سوسپانسیون میکروبی حاصل شود و آن را برای چهار یا پنج ساعت انکوبه نمایید. سپس کدورت آن را با استاندارد نیم مک فارلند تنظیم کنید. (استاندارد نیم مک فارلند در طول موج ۶۲۵ nm، دارای جذب ۰/۰۸ تا ۰/۱ ناتومتر می‌باشد)

به جای این روش می‌توان مستقیماً از کلنی های ایزوله روی پلیت، سوسپانسیون میکروبی مطابق با کدورت نیم مک فارلند تهیه کرد. بدین ترتیب که ۳-۵ کلنی ایزوله روی پلیت ۲۴ ساعته را در ۳-۵ میلی لیتر سرم

فیزیولوژی استریل حل کرده و کدورت آن را با نیم مک فارلند تنظیم نمایید. با هر روشی که این سوسپانسیون میکروبی تهیه شود، باید کدورتی حاوی 10^7-10^8 CFU/ml کلنی داشته باشد. (مطابق با استاندارد نیم مک فارلند).

بررسی آزمایش‌های عملکردی محیط کشت (Performance testing)

۱- آزمایش ظرفیت مغذی بودن (Nutritional activity) محیط های کشت پلیتی مانند بلاد آگار

سوسپانسیون اولیه را به نسبت ۱ به ۱۰۰ در نرمال سالین یا آب مقطر استریل رقیق نموده و مقدار $10 \mu\text{l}$ یا 0.1 ml سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح کنید. تعداد کلنی‌های مورد انتظار در هر پلیت (CFU/plate) 10^3-10^4 می‌باشد. برای اجتناب از رشد زیاد باکتری در بعضی از محیط‌های کشت انتخابی ممکن است نیاز باشد که سوسپانسیون را ده بار رقیق‌تر تهیه نمایید.

۲- آزمایش ظرفیت مهارکنندگی محیط های کشت انتخابی پلیتی مانند مکانکی آگار

سوسپانسیون اولیه را به نسبت ۱ به ۱۰ در نرمال سالین یا آب مقطر استریل رقیق نموده و مقدار $10 \mu\text{l}$ یا 0.1 ml سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح کنید. تعداد کلنی‌های مورد انتظار در هر پلیت (CFU/plate) 10^4-10^5 می‌باشد. برای اجتناب از رشد زیاد باکتری در بعضی از محیط‌های کشت انتخابی ممکن است نیاز باشد که سوسپانسیون ده بار رقیق‌تر تهیه شود.

۳- آزمایش محیط های کشت لوله ای

هر لوله باید با $10 \mu\text{l}$ یا 0.1 ml از سوسپانسیون اولیه تهیه شده مطابق با نیم مک فارلند (بدون رقیق سازی) تلقیح شود. گاهی ممکن است به تلقیح کمتر یا بیشتر نیاز باشد.

محیط مورد آزمون را بعد از تلقیح تحت شرایطی که در جدول آمده است، انکوبه نمایید. به طور نرمال زمان انکوباسیون، ۱۸-۲۴ ساعت یا ۲۴-۴۸ ساعت در دمای $35 \pm 2^\circ\text{C}$ می‌باشد. محیط شکلات آگار و سایر

محیط‌های کشت برای جداسازی انتخابی گونه های نیسریای بیماریزا باید در ۱۰-۵٪ CO₂ انکوبه شوند و در فواصل زمانی ۱۸-۲۴ ساعت و سپس ۲۴-۴۸ ساعت بررسی گردند.

برای باکتری‌های بی‌هوازی، کشت‌ها عموماً به حداقل ۴۸ ساعت انکوباسیون در شرایط بی‌هوازی و غنی از CO₂ نیاز دارند.

در مورد کمپیلوباکتر آگار، پلیت‌ها باید در ۴۲ °C در شرایط میکروآئروفیلیک غنی از CO₂ به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شوند.

۴- کنترل محیط‌های کشت برای آزمایش‌های بیوشیمیایی

از سوسپانسیون میکروبی رقیق نشده برای کنترل این محیط‌ها استفاده می‌کنیم.

پس از تلقیح، تمام کشت‌ها را در شرایط لازم (از نظر CO₂، رطوبت و یا شرایط بی‌هوازی و درجه حرارت مناسب) قرار داده و پس از طی مدت زمان لازم (۲۴ تا ۴۸ ساعت) آنها را مورد بررسی قرار می‌دهیم. محیط‌های مناسب دارای رشد کافی از کلنی‌های باکتریهای مورد نظر می‌باشند و در مورد محیط‌های انتخابی مهار میکروارگانیزم‌های مورد نظر باید مشخص باشد.

کنترل محیط‌های ساخته شده تجاری (آماده مصرف):

۱- رطوبت: محیط‌های کشت باید بدون هر گونه رطوبت اضافی بوده، همچنین هیچ نشانه‌ای از خشک شدن اطراف محیط کشت نباید مشاهده گردد.

۲- سترون بودن: محیط‌های کشت باید عاری از آلودگی باشند.

رنگ: محیط‌های کشت آگار خون‌دار نباید هیچ نشانه‌ای از همولیز داشته باشند و محیط‌های کشت دیگر نباید هیچگونه تغییر رنگ غیر طبیعی داشته باشند.

بررسی آلودگی محیط‌های کشت (استریل بودن محیط‌های کشت):

در صورتی که تعداد پلیت یا لوله تهیه شده در هر سری ساخت یا Lot، ۱۰۰ عدد یا کمتر باشد، باید به تعداد ۵-۳٪ محیط‌های تهیه شده را در دمای ۳۷-۳۵ °C به مدت ۵-۲ روز انکوبه نمود. برای Lot‌های با تعداد

بیش از ۱۰۰، باید به تعداد ۱۰ پلیت یا لوله را به طور تصادفی برداشته و در شرایط فوق انکوبه نمود. بعد از انکوباسیون هیچ گونه رشد میکروبی نباید مشاهده شود.

تفسیر نتایج:

یک محیط کشت زمانی قابل قبول می باشد که با همه سویه های پیشنهادی برای آزمون محیط کشت که در جدول زیر مشخص شده است، رشد کافی داشته و خصوصیات مورفولوژیکی کلنی ها بارز باشد. در مورد محیط های انتخابی، رشد بعضی از ارگانیسیم های خاص مهار می شود، ضمن اینکه اجازه رشد کافی به سایر ارگانیسیم می دهد. در بعضی موارد، واکنش های رنگی خاص یا همولیز همچنانکه در جدول آمده است، باید ایجاد شود. مثلاً در مورد کشت بلاآگار ایجاد همولیز مناسب ضروری است و یا برای محیط مکانکی آگار ایجاد واکنش های رنگی برای سویه های میکروبی مشخص ضروری می باشد.

سایر معیارهای تضمین کیفیت:

محیط های کشت آماده مصرف باید از نظر موارد زیر نیز بررسی شوند:

- شکستگی ظروف پتری
- پر شدن ناصاف پلیت ها
- ترک خوردگی محیط کشت در پلیت ها
- وجود همولیز (برای بلا آگار)
- یخ زدگی
- وجود مقدار زیاد حباب یا حفره در سطح محیط کشت

محیط کشت	زمان انکوباسیون	ارگانیسم های کنترلی	نتیجه قابل انتظار
بایل اسکولین آگار	۲۴ ساعت	استرپتوکوک فکالیس <i>S. faecalis</i> استرپتوکوک پایوژنز <i>S. pyogenes</i>	رشد مثبت، محیط سیاه رنگ می شود رشد منفی
بلاد آگار جار شمع دار CO ₂	۲۴ ساعت	استرپتوکوک پایوژنز <i>Streptococcus pyogenes</i> استرپتوکوک پنومونیه <i>S. pneumoniae</i>	رشد مثبت دارای همولیز بتا رشد مثبت دارای همولیز آلفا
شکلات آگار	۲۴ ساعت	هموفیلوس آنفلوانزا <i>Haemophilus influenzae</i>	رشد مثبت
لایزین دکربوکسیلاز (محیط بوسیله روغن استریل پوشانده میشود)	۴۸ ساعت	سالمونلا تایفی موریوم <i>S. typhimurium</i> شیگلا فلکسنری <i>Shigella flexneri</i>	مثبت (بنفش رنگ می شود) منفی (بدون تغییر رنگ)
اورنیتین (دکربوکسیلاز)	۴۸ ساعت	سالمونلا تایفی موریوم <i>S. typhimurium</i> کلبسیلا پنومونیه K. <i>pneumoniae</i>	مثبت منفی
آرژنین (دی هیدرولاز)	۴۸ ساعت	سالمونلا تایفی موریوم <i>S. typhimurium</i> پروتئوس میرابیلیس <i>Proteus mirabilis</i>	مثبت منفی
ژلاتیناز	۲۴ ساعت	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> باسیلوس سوبتیلیس <i>Bacillus subtilis</i>	منفی مثبت
کلائیگر آیرون آگار	۲۴ ساعت	سیتروباکتر فروندی <i>Citrobacter freundii</i> سالمونلا تایفی موریوم <i>S. typhimurium</i> شیگلا فلکسنری <i>Sh. flexneri</i> اسینتوباکتر کالکوستیکوس <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	گاز + A/A, SH ₂ گاز یا بدون گاز + K/A, SH ₂ K/A تغییر نمی کند
مک کانکی آگار (همراه با کریستال ویوله)	۲۴ ساعت	اشرشیا کلی <i>E. coli</i> پروتئوس میرابیلیس <i>Proteus mirabilis</i> استرپتوکوک فکالیس <i>S. faecalis</i>	کلنی های قرمز رنگ کلنی های بیرنگ، بدون سوارمینگ (خزش) رشد منفی

منفی (سبز رنگ)	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	مالونات
مثبت (آبی رنگ)	کلبسیلا پنومونیه <i>K. pneumonia</i>	۲۴ ساعت	مانیتول سالت آگار
کلنی های زرد رنگ	استافیلوکوک اورئوس <i>S. aureus</i>	۲۴ ساعت	مانیتول سالت آگار
کلنی های قرمز رنگ	<i>S. epidermidis</i> استافیلوکوک اپیدرمیدیس	۲۴ ساعت	مانیتول سالت آگار
رشد منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	مانیتول سالت آگار
MR مثبت - VP منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۴۸ ساعت	MRVP
MR منفی - VP مثبت	کلبسیلا پنومونیه <i>K. pneumonia</i>	۴۸ ساعت	MRVP
به جدول میزان هاله عدم رشد قابل قبول در بخش آنتی بیوگرام مراجعه شود	استافیلوکوک اورئوس <i>S. aureus</i> ATCC ۲۵۹۲۳ سودوموناس آنروژینوزا <i>P. aeruginosa</i> ATCC ۲۷۸۵۳ اشرشیا کلی <i>E. coli</i> ATCC ۲۵۹۲۲	۲۴ ساعت	مولر هینتون آگار
مثبت	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	نیترا ت برات
منفی	اسینتوبا کتر کالکوستیکوس <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	۲۴ ساعت	نیترا ت برات
مثبت	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	آب پپتونه (اندول)
منفی	کلبسیلا پنومونیه <i>K. pneumoniae</i>	۲۴ ساعت	آب پپتونه (اندول)
منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	فنیل آلانین دامیناز
مثبت	پروتئوس میرابیلیس <i>P. mirabilis</i>	۲۴ ساعت	فنیل آلانین دامیناز
منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۲۴ ساعت	سالمونلا شینگلا آگار (S.S) یا دزوکسی کلات سیترا ت آگار
کلنی های بیرنگ	سالمونلا تایفی موریوم <i>Salmonella typhimurium</i>	۲۴ ساعت	سالمونلا شینگلا آگار (S.S) یا دزوکسی کلات سیترا ت آگار
کلنی های بیرنگ	یرسینیا انتروکولیتیقا <i>Yersinia enterocolitica</i>	۲۴ ساعت	سالمونلا شینگلا آگار (S.S) یا دزوکسی کلات سیترا ت آگار
کلنی های بیرنگ	شیگلا فلکسنری <i>Shigella flexneri</i>	۲۴ ساعت	سالمونلا شینگلا آگار (S.S) یا دزوکسی کلات سیترا ت آگار
بعد از کشت مجدد رشد می کند	سالمونلا تایفی موریوم <i>S. typhimurium</i>	۲۴ ساعت	سلنیت برات (SF)

بعد از کشت مجدد رشد نمی کند	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>		
رشد منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>	۴۸ ساعت	سیمون سبترات (در لوله های با دریچ شل در انکوباتور گذاشته شود)
رشد مثبت - رنگ آبی	کلبسیلا پنومونیه <i>K. pneumoniae</i>		
کلنی های زرد رنگ	<i>Vibrio SPP</i>	۲۴ ساعت	TCBS آگار
رشد مثبت	نایسریا مننژیتیدیس <i>Neisseria meningitidis</i> (CO ₂)		
رشد مثبت	نایسریا گونورهه <i>N. Gonorrhoeae</i>	۲۴ ساعت	تایر مارتین
رشد منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>		
رشد مثبت	باکترئیدس فراجیلیس <i>Bacteriodes fragilis</i>	۲۴ ساعت	تایوگلیکولات برات <i>Thioglycollate</i> <i>broth</i>
گاز + <i>A/A, SH₂</i>	سیتروباکتر فروندی <i>Citrobacter frundii</i>		
گاز یا بدون گاز + <i>K/A, SH₂</i>	سالمونلا تایفی موریوم <i>S. typhimurium</i>	۲۴ ساعت	TSI عمق محیط باید ۳ سانتی متر باشد (با دریچ شل اتوو گذاری شود)
<i>K/A</i>	شیگلا فلکسنری <i>Sh. flexneri</i>		
تغییر نمی کند	اسینتوباکتر کالکوستیکوس <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		
منفی	اشرشیا کلی <i>E. coli</i>		
مثبت، صورتی	پروتئوس میرابیلیس <i>P. mirabilis</i>	۲۴ ساعت	محیط اوره

اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشات کیفی:

- در هر سری کاری بایستی از نمونه های کنترلی مثبت و منفی استفاده گردد. بهتر است علاوه بر کنترل هایی که داخل کیت وجود دارد، نمونه های مثبت و منفی دیگر (نمونه کنترل تجاری یا نمونه انسانی) نیز آزمایش شوند.

- در مورد استفاده از کیت و شرایط نگهداری و استفاده از آن بایستی بطور کامل از دستورالعمل سازنده آن تبعیت نمود.
- عواملی که در واکنش اتصال آنتی ژن و آنتی بادی دخالت دارند، مانند PH محیط، بافر مناسب، دما، حرکت مناسب (Shaking) و نسبت معرف ها و نمونه ها رعایت شوند.
- احتمال بروز Hook effect ، Prozone در نظر گرفته شود.
- به مختصات کیت مانند Detection limit توجه شود.
- معرف ها بصورت تازه تهیه شوند.
- معرف ها از نظر اتواگلوتیناسیون و تغییر رنگ بررسی شوند.
- نمونه گیری و نگهداری نمونه بر اساس نوع آزمایش به نحو مناسب انجام گردد.
- در مورد آزمایش IFA از کونژوگه مناسب استفاده و نتیجه نهایی بر اساس نظر دو نفر اعلام شود.

تفسیر نتایج برنامه کنترل کیفی خارجی

آزمایشگاه ها همانند کارخانه های تولیدی هستند که مواد اولیه را به محصولات مورد نظر تبدیل می کنند. با این تفاوت که مواد اولیه در آزمایشگاه های بالینی، نمونه های بیماران بوده و محصول نتایج آزمایش ها می باشد. کیفیت نتایج آزمایش، وابسته به عملکرد پرسنل، تجهیزات و معرف هایی است که در این فرایند مورد استفاده قرار می گیرد. علاوه بر این ها عوامل درون فردی نیز در کیفیت نمونه تهیه شده از بیمار تاثیر می گذارد. پس عوامل موثر در نتایج آزمایش را میتوان همانند متغیرهایی در نظر گرفت که به انواع مربوط به بیمار، پرسنل، تجهیزات و معرف ها قابل تقسیم هستند. برای بدست آوردن نتایج آزمایش با کیفیت بالا، باید تمامی این عوامل تحت کنترل قرار داشته باشند.

اساس کنترل کیفیت روش های آماری در آزمایشگاه های بالینی، بررسی دوره ای یک روش اندازه گیری در جهت تصدیق اجرای آن بر اساس مشخصات تعیین شده می باشد. برای این منظور معمولاً از نمونه کنترل کیفی (QC) و محاسبات آماری استفاده می شود. بر اساس منبع تهیه نمونه QC، روش های 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 این صورت 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 IQC و EQA یکسان می‌باشد، ولی در جزئیات تفاوت‌های زیادی وجود دارد. از آنجایی‌که در مطالب فوق در مورد IQC به تفصیل توضیح داده شده است لذا در این بخش فقط در مورد EQA مطالبی ذکر خواهد شد.

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 افتاده‌ها 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.

- i. تعداد اعضاء هر گروه یا همگروه کم نباشد تا آزمون آماری معتبر باشد. (حداقل ۱۰ و ترجیحاً ۲۰ آزمایشگاه)
- ii. درصد زیادی از شرکت کنندگان بایاس آنالیتیکال قابل توجه نداشته باشند.

یکی از مسائل مطرح در بحث 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

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 می‌باشد و اختلاف این دو روش فقط انتخاب میزان SD می‌باشد که در مورد VIS از قبل تعیین شده است (بر اساس $CCV\%$ مورد استفاده) ولی در مورد DI بر اساس SD هم گروه می‌باشد. عدم انتخاب SD مناسب سبب می‌شود که سیستم کنترلی نتواند سیگنال را از نویز تشخیص دهد. استفاده از یک دامنه ثابت مثل $X \pm 5mg/dl$ یا $X \pm 10\%$ نیز توسط مراجع بین‌المللی مطرح گردیده است ولی هنوز در ایران مورد استفاده قرار نگرفته‌اند.

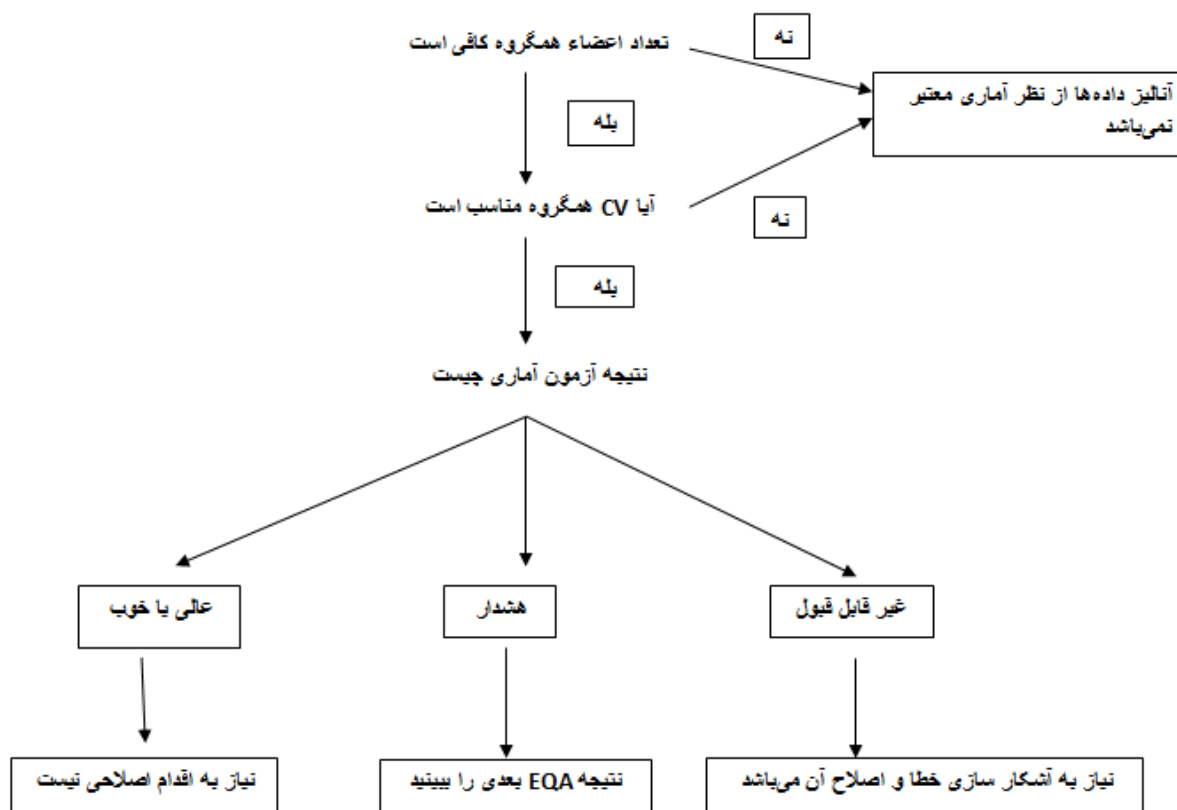
۳- تعیین قواعدی برای تفسیر نتایج

همانند قواعدی مثل وستگارد که در IQC مورد استفاده قرار می‌گیرد قواعدی برای تفسیر نتایج EQA

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 اندازه‌گیری گروه‌بندی می‌شوند. کل گروه‌ها (Total

groups) شامل مجموع آزمایشگاه‌هایی می‌باشد که در اندازه‌گیری یک آنالیت خاص شرکت کرده‌اند 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 اندازه‌گیری یک آنالیت از یک نوع کیت و از یک روش استفاده می‌کنند در یک گروه به نام هم‌گروه

(Total group) 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 $\pm 2SD$ وجود داشته باشد این نتایج به‌عنوان 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 $\pm 2SD$ وجود نداشته باشد ادامه می‌دهم و میانگین به دست آمده تحت عنوان

میانگین وزن‌دار شده (Weighted Mean) نامیده می‌شود.

VIS پارامتری است که برای ارزیابی عملکرد عضو هر گروه مورد استفاده قرار می‌گیرد. هر چه میزان VIS کمتر

باشد، عملکرد عضو بهتر می‌باشد. بر اساس میزان VIS اعضاء به گروه‌های زیر تقسیم می‌شوند.

- $VIS < 50$ نشاندهنده عملکرد عالی است.
- $50 < VIS \leq 100$ نشاندهنده عملکرد مطلوب است.
- $100 < VIS \leq 150$ نشاندهنده عملکرد قابل قبول است.
- $150 < VIS \leq 200$ نشاندهنده عملکرد هشدار دهنده است.
- $VIS > 200$ 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 صورتی که نتیجه گزارش شده عضو خارج از محدوده $X \pm 2,5SD$ همگروه یا کل گروه باشد، در

محاسبات منظور نشده و عبارت « $\geq 2,5SD$ » در مقابل VIS نوشته می شود.

(۲) گزارش نتایج بیوشیمی خون در دو جدول و دو نمودار گزارش می شود

جدول ۱ مروری کلی بر تمامی آنالیت ها 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 می باشد.

جدول ۲ هم گروه های مربوط به یک آنالیت خاص را فهرست نموده و تعداد، میانگین و $CV\%$ هر همگروه

را نشان می دهد. در انتهای سمت راست موقعیت عضو در همگروه به همراه نتیجه گزارش شده عضو و VIS مربوطه آورده می شود 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 می دهد که بر روی آن محدوده های مربوط به VIS های مختلف (با رنگ) و موقعیت نتیجه گزارش شده عضو با ستاره مشخص می شود.

نمودار امتیاز شاخص بایاس (BIS, Bias Index Score) جهت ارزیابی نتایج عضو برای یک آنالیت

خاص در دوره های مختلف می باشد. در این نمودار میزان VIS هر دوره برای یک آنالیت خاص با توجه به علامت منفی یا مثبت آن تحت عنوان BIS دوره های مختلف عملکرد خود را ارزیابی نماید.

۱. کتاب بیوشیمی بالینی و عملی، حسین پیری
۲. کتاب کنترل کیفیت در آزمایشگاه هماتولوژی، علی ملکی - دکتر سعید کاویانی
۳. کتاب تجهیزات آزمایشگاهی، اصول فنی و نگهداری و روش های کنترل کیفی - مهندس سید بهزاد سیدعلیخانی - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴. کتاب مقدمات، آشنایی و اصول کلی آزمایشگاه تشخیص طبی - سعید طهماسبی
۵. کتاب کنترل کیفی مواد و تجهیزات آزمایشگاهی - دکتر امیر سیدعلی مهبد
۶. دستورالعمل برخی استانداردهای ملی و بین المللی
۷. اکس، جورج (۱۳۸۴) " ، شش سیگما برای همه "، ترجمه مهندس غلامرضا ملکزاده، مشهد، انتشارات جهان فردا .
۸. یزدانی، امیر علی و محبی، امیرحسن، (۱۳۸۴) " شش سیگما همگام با نرم افزار MINITAB "، انتشارات ماهتاب .
۹. www.6Sigma.com
۱۰. www.iie.ir
۱۱. www.isixsigma.com
۱۲. www.mafakheri.com/6sigma.ppt
۱۳. www.sixsigma.ir
۱۴. www.andishehgostar.com
۱۵. www.isigma.com