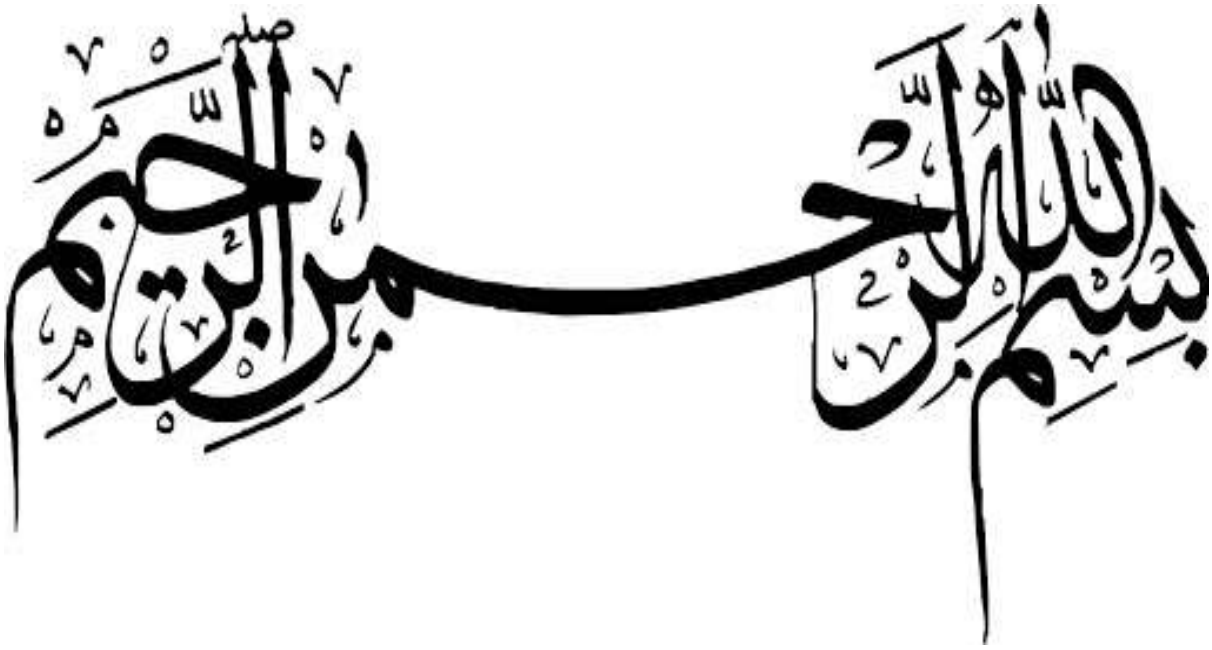
عنوان دوره آموزشی

اصول تضمین کیفیت در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

بهار ۱۴۰۱


بسم الله الرحمن الرحيم
صلى

فهرست

کیفیت ٦
پیشینه کنترل کیفی ٧
اهداف کلی کنترل کیفیت ٧
برخی تعارف: ٨
اهمیت کنترل کیفی در آزمایشگاه ١٠
سطوح برنامههای کنترلی در آزمایشگاه ١٣
معیارهای ارزیابی در کنترل کیفی ١٥
اصول صحیح کنترل کیفی ١٧
شش سیگما ١٩
مفهوم شش سیگما ٢٣
اصل اساسی شش سیگما ٢٦
اهداف شش سیگما ٢٧
ابزار و روشهای مدیریت کیفیت در شش سیگما ٢٨
اتوآنالایزردر آزمایشگاه بیوشیمی ٢٩
انواع اتوآنالایزر ٢٩
کنترل متغییرها در بخش مرحله انجام آزمایش ٣٣
کنترل کیفیت آماری ٣٣
انتخاب مواد کنترلی ٣٣
خطای مجاز ٣٦
روشهای تعیین مقادیر خطای مجاز: ٣٨
نمودار کنترلی ٣٩
اجرای کنترل داخلی کیفیت ٤١
تفسیر نتایج ٤٣
چارت کنترلی Levey-Jenning ٤٤
٢- تفسیر چارت کنترلی با قوانین چندگانه وستگارد ٤٥
قوانین WHO ٥٢
انواع خطا ٥٤
اقدامات اصلاحی ٥٥
خطای راندوم ٥٥

خطای سیستماتیک ٥٦
چارت کنترل تجمعی Cumulative Sum (Cusum) Control chart ٥٦
کنترل کیفیت بر اساس نتایج آزمایش بیماران ٥٩
روشهای آماری برای پایش میانگین نتایج بیماران ٦٢
بررسی هماهنگی نتایج آزمایشگاه با تشخیص نهایی ٦٣
اصول کنترل کیفی در آزمایشگاه خونشناسی ٦٣
برنامههای دائمی: ٦٣
برنامههای روزانه: ٦٣
اصول کار با دستگاههای سلکانتر ٦٤
محلولهای سلکانتر ٦٥
کالیبراسیون و کنترل کیفیت سلکانتر ٦٥
کالیبراسیون ٦٥
کنترل کیفیت ٦٧
دستگاه میکرو هماتوکریت ٧٢
کنترل کیفی وبررسی کالیبراسیون دستگاه میکرو هماتوکریت ٧٣
کنترل کیفی آزمایشات انعقادی ٧٤
اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشگاه میکروبشناسی ٧٦
تهیه و کنترل کیفیت محیط های کشت ٧٦
نکات عمومی در مورد محیط های کشت: ٧٦
موارد استثناء: ٨٠
کنترل کیفی محیط های کشت میکروبی: ٨١
اصطلاحات مربوط به سویه های میکروبی کنترل ٨١
منبع سویههای کنترل: ٨٢
روش انجام آزمون کنترل کیفیت محیطهای کشت ٨٢
بررسی آزمایشهای عملکردی محیط کشت (Performance testing) ٨٣
کنترل محیط های ساخته شده تجاری (آماده مصرف): ٨٤
بررسی آلودگی محیط های کشت (استریل بودن محیط های کشت): ٨٤
تفسیر نتایج: ٨٥
سایر معیارهای تضمین کیفیت: ٨٥
اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشات کیفی: ٨٨

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

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 تضمن 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 می‌بایست به صورت کاملاً تخصصی و حرفه‌ای در سطوح مختلف کاری به افراد شاغل در آزمایشگاه، آموزش داده شود و هر فرد نسبت به کنترل کیفیت آزمایشاتی که انجام می‌دهد، آگاهی کاملی داشته باشد. در یک جمله کنترل کیفی به معنی مطالعه خطاهای آزمایشگاهی و روش‌های تشخیصی و اتخاذ تدابیر لازم جهت به حداقل رساندن آن‌ها است. وقتی صحبت از کنترل کیفی می‌شود، بیشتر فعالیت‌ها حول محور انجام آزمایش متمرکز می‌شود، اما محدوده کنترل کیفی بسیار وسیع‌تر است. هرجا امکان خطا وجود دارد باید برنامه کنترل کیفی نیز وجود داشته باشد و برنامه‌های کنترل کیفی میزان بسیار کم خطا را قابل قبول می‌دانند. به نوعی دیگر می‌توان گفت که حد مجاز یا قابل قبول خطا مقداری است که اهمیت بالینی پاسخ‌ها را تحت تاثیر قرار ندهد.

در چرخه مراجعه بیمار به آزمایشگاه تا گرفتن نتیجه، کلیه مراحل نمونه‌گیری، 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 می‌دادند بعضی از محصولات کیفیت مناسب را ندارند. در سال ۱۹۳۱ ،شوارت - Shewarts با معرفی تست‌های آماری و چارت‌های مربوطه به کنترل کیفی جنبه علمی داد. در سال ۱۹۵۰ ، کنترل کیفی وارد آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شد. با ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه‌های 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 زیرهستند:

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 هزینه‌ها
۷. آرمش فکری کارکنان و مسئولان آزمایشگاه
۸. سرویس دهی با کیفیت مناسب به بیماران و پزشکان
۹. کمک در داوری صحت روش‌های مختلف آزمایشگاهی به طوری که بتوان در انتخاب یک روش برتر موفق بود.

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

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

درستی (Trueness): نزدیکی میانگین نتایج حاصل از اندازه گیری های تکراری یک آنالیت ومیزان درست آن

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

*در عمل معمولا 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 درعمل قابل تعیین است.

صحت(Accuracy): صحت اشاره به نزدیکی نتیجه حاصل از یک‌بار اندازه گیری آنالیت وغلظت درست آن آنالیت دارد. صحت تحت تاثیر هر دو خطای نظام‌مند وتصادفی قرار می‌گیرد و درنتیجه انعکاسی از خطای آنالیتیکال کل (TAE) می‌باشد. صحت بطور معکوس با عدم قطعیت (Uncertainty) ارتباط دارد. مفهوم عدم قطعیت برای استفاده کننده نهایی نتایج می‌باشد که نگران خطای کل آزمایش فارغ از تصادفی یا نظام‌مند بودن آن هستند.

دقت (Precision): میزان نزدیکی نتایج حاصل ازآزمایش‌های تکراری اندازه‌گیری یک آنالیت در یک نمونه با یک روش ودر شرایط مشخص می‌باشد.

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

علت های خطای تصادفی:

۱) پی پت کردن

۲) زمانبندی

۳) هم زدن

۴) تشکیل حباب

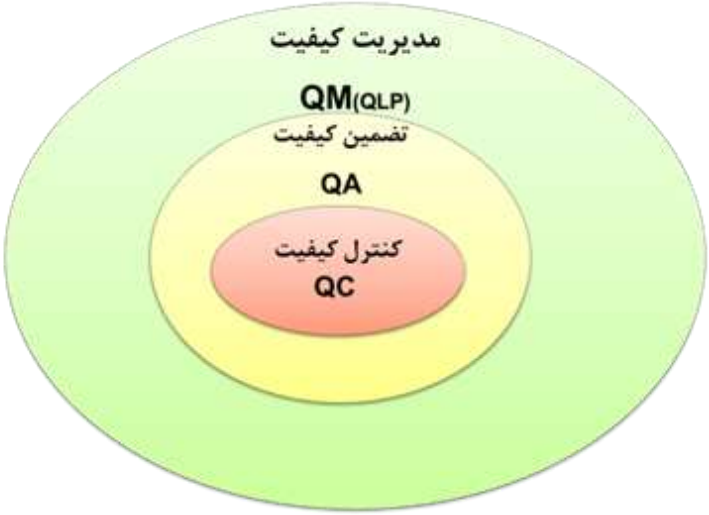
۵) نور

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.

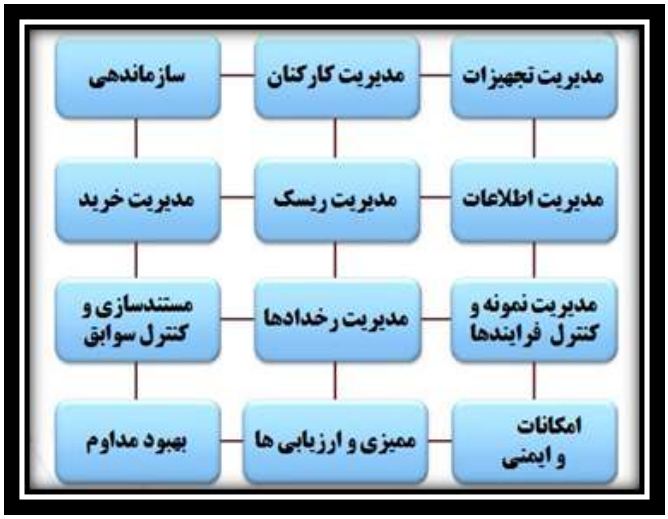
تضمین کیفیت را با کنترل کیفیت نباید اشتباه کرد. کنترل کیفیت به کیفیت خدمات مربوط می‌شود. تضمین کیفیت، سیستم کنترلها بر اساس مستندات در داخل سیستم است به طوری که هیچگاه مراجعه‌کننده خود را از دست ندهید. به عبارت دیگر تضمین کیفیت احتمال بروز خطا را که موجب ایجاد ضرر برای آزمایشگاه و مراجعه‌کننده می‌شود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

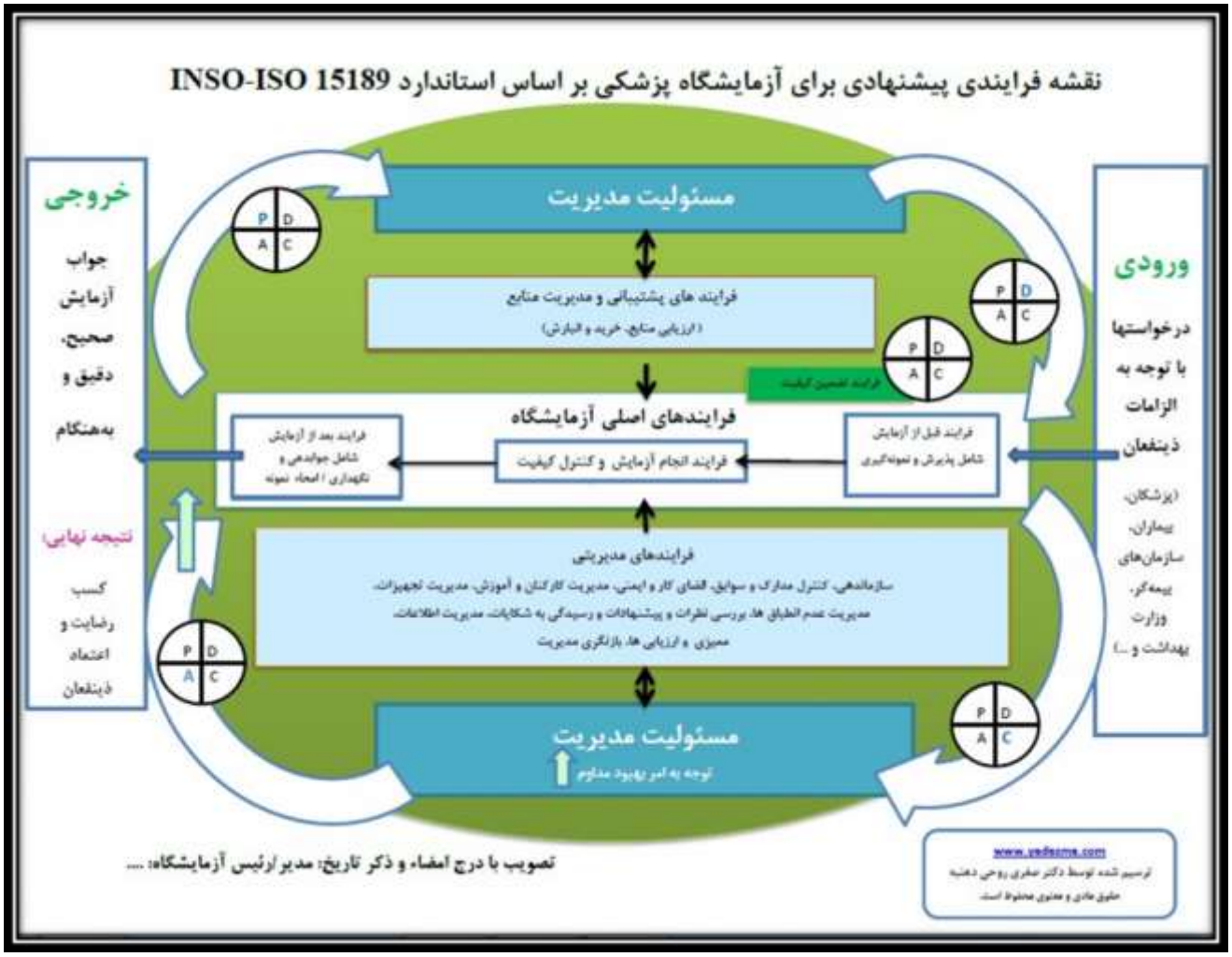
تصمیمات درمانی نقش بسزایی دارند. به خاطر داشته باشیم که بسیاری از این تصمیمات فوری و غیرقابل برگشت است. هر تصمیم غلط یا با تاخیر، ممکن است به قیمت به خطر افتادن یک زندگی تمام شود. در این ارتباط پزشک با آگاهی از علایم بالینی و تاریخچه بیماری و نیز استفاده از سایر خدمات پاراکلینیکی نظیر رادیولوژی، سونوگرافی 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 روش-های اتوماتیک حاصل نمی شود. به کارگیری روش های 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 این‌که 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.

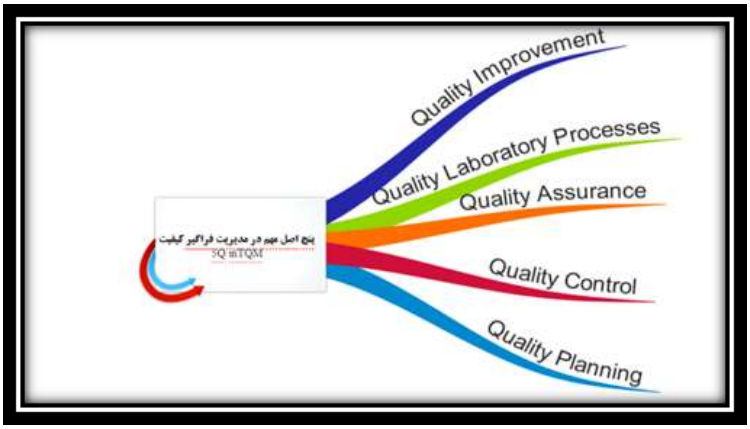
به نقشه فرایندی سیستم مدیریت کیفیت که در شکل زیر نمایش داده شده است توجه فرمایید.



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 جای‌جای آزمایشگاه امکان پذیر خواهد بود.



سطوح برنامه‌های کنترلی در آزمایشگاه

علاوه بر این‌که 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 آن‌که 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 برنامه ها در ابتدا ساده و دارای اثربخشی پایین بودند ولی بتدریج اصلاح و کامل‌تر شدند. در ادامه به شرح سطوح برنامه های کنترل در آزمایشگاه می پردازیم.

- **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 می پذیرد و از خروج جواب ناصحیح جلوگیری می‌کند و شامل مراحلی

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 کیفت 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 پاسخ ها، بایگانی پاسخ ها، 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 می-توان نهادینه سازی برنامه بهبود مستمر کیفیت دانست.

معیارهای ارزیابی در کنترل کیفی

برخی معیارهایی که برای ارزیابی کیفیت درنظر گرفته می شود 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 دستگاه های 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 برروی 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 بهره وری آن‌ها می‌شود.

- **معیارهای اطمینان دهنده علمی**

اگرچه معیارهای عملی کمک مناسبی می کنند 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 طورکلی 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 را مورد ارزیابی قرار داده و مناسب بودن دستگاه‌ها و وسایل مورد نیاز، مناسب بودن معرف های مصرفی و دقت شخص آزمایش کننده 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 پاسخ ها شود، ضرورت دستیابی به روش-های 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) متغییرهای 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 نگهدارنه 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

جابجایی 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 می-شود .

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 برمی گیرد 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 سنجه (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 سنجه‌های 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 کـه بـه کمک آن می‌توان به سطح مطلوبی از کیفیت ارایه خدمات دست یافت؛ به عبارتی یک روش تحلیلی برای بهینه‌سازی با استفاده منظم از وقایع، داده‌ها، تحلیـل‌هـای 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 ارایه خدمت است.

به طورکلی 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 به کارگیری سنجه‌های 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 «عـالی شـدن در همـه کارها» پیش می‌رود و به‌عنوان یک سیستم تعیین می‌کنـد کجـا قـرار گرفتـه‌ایـم؟ می‌خواهیم در کجا قرار بگیریم؟ چگونه به آن مقصـد مـی‌رسـیم؟ و چگونـه در طول راه پیشرفت می‌کنیم؟

شش سیگما یک ابزار است که برای میزان‌سـازی دقیـق ماشـین فرآینـد بکـار می‌رود و این‌کار را از طریق مشتری مداری (جامعـه محـوری) ، بهبـود مسـتمر و درگیر گردن و مشارکت همه اعضاء در داخل و خارج سازمان انجام می‌دهد.

شش سیگما به دلیل تأکید عمیق بر روی تحلیل‌های آماری، مقیاس‌های ارزیابی، تولید محصول یا ارایه خدمت و یا فعالیت‌های متمرکز در حیطه مشتری‌گرایی قـادر است احتمال بروز خطا در محصولات و خدمات را به میزان بی-سـابقه‌ای کـاهش 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 نارضایتی 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 می دهد.

[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 آن‌را 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 ونیروی 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 باشندو 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، مسؤولیت 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 کارآیی 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 (تحویل 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 "duh-may-ick" (<ˌdʌ ˈmeɪ ɪk>) تلفظ می‌شود و DMADV که به صورت "duh-mad-vee" (<ˌdʌ ˈmæd vi>) 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 کارآزموده 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 به‌طور 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 به‌کارگیری 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.

اتوآنالایزردر 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 منظورتصحیح 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.

نگهدای و کنترل کیفیت اتوآنالیزر

برای حفظ کیفیت عملکرد اتوآنالیزر 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 پرکندگی نتایج حاصل بر حسب CV% نباید بیش از مقدار خطای مجاز ادعا 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 پرکندگی نتایج حاصل بر حسب CV% نباید بیش از مقدار خطای مجاز ادعا 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، به‌طورمتوالی 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 Qualit 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 متغییرها در بخش مرحله انجام آزمایش

متغییرهای 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 هموژن بوده و غلظت متغییرهای موجود در آن‌ها یکسان باشد.

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

۶) **قیمت ارزن و تعداد زیاد مصرف‌کنندگان**.

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

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 حداالامکان دو غلظت مختلف از کنترل استفاده شود. انتخاب غلظت-های 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) استفاد نمود.

نکته۱: مواد کنترل‌ها را نمی‌توان به‌عنوان کالیبراتور استفاده شود. کالیبراتور ماده‌ای است که برای کالیبراسیون روش‌های آزمایشگاهی به‌کار می‌رود و دارای مقدار مشخصی است درحالی که مواد کنترلی برای کنترل کیفیت روش‌های آزمایشگاهی به‌کار می‌رود و اغلب دارای محدوده غلظتی می‌باشد

نکته۲: 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.

نکته۳: 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 (Transmitance) 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 درنتیجه 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 تجارتی آماده‌ای است که دارای مقادیر مشخصی از ماده‌ای است که باید اندازه‌گیری شود. از این محلول‌ها برای کالیبرکردن دستگاه ها 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): استانداردی 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 هرنوع 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 برگذاری کارگاه‌ها و دوره های آموزشی مرتبط و مفید.
۳. استفاده از روش‌های نام‌گذاری استاندارد برای مواد و محلول‌های 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 (برحسب Bias یا Bias%) و یا در مجموع خطای کلی مجاز خود را مشخص نماید.

به‌عنوان مثال عدم دقت مجاز برای کلسترول و برحسب CV% معادل ۲٪ در نظر گرفته شود، میزان پراکندگی نتایج برای غلظت ۲۰۰mg/dl به شکل زیر محاسبه می‌گردد.

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

از محاسبات بالا نتیجه می‌گیریم، به احتمال ۹۵٪ اگر کلسترول یک نمونه با غلظت واقعی ۲۰۰mg/dl چند بار اندازه‌گیری شود، نتایج در محدوده ۲۰۰±۸mg/dl یعنی mean± ۲SD قرار خواهد گرفت.

خطای مجاز بایستی به‌صورت واقع‌بینانه و براساس شرایط آزمایشگاه طوری انتخاب شود که بتواند میزانی از خطا، که تشخیص و تصمیم‌گیری بالینی برای بیمار را تحت تاثیر قرار می‌دهد، شناسایی نماید و در عین حال آن‌قدر کوچک نباشد که باعث رد کاذب مکرر نتایج گردد.

به عنوان مثال اگر آزمایشگاهی میزان CV% مجاز خود را برای اندازه‌گیری گلوکز ۸٪ تعیین نماید و نمونه‌ای 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 به‌طور واضح باعث اشتباه در تصمیم‌گیری پزشک خواهد شد. اگر این آزمایشگاه میزان CV% مجاز خود را برای اندازه‌گیری گلوکز به ۱٪ تغییر دهد، در غلظت ۱۲۶mg/dl نتایجی بین ۱۲۹mg/dl – ۱۲۳ خواهد داشت که اگرچه برای پزشک مطلوب است ولی باعث می‌شود سری‌های کاری مکرراً و به‌طور کاذب مردود(False rejection) شناخته شود. این موضوع خود باعث افزایش دفعات تکرار آزمایش، صرف هزینه و خستگی کارکنان می‌گردد.

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 آنجایی‌که 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 Improvments 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٪

همان‌طور 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 آن‌ها استفاده کند.

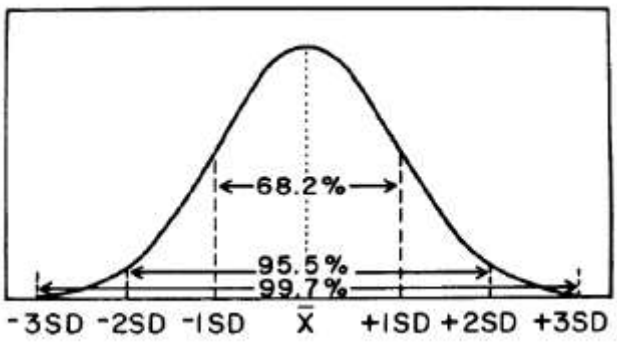
نمودار کنترلی

متداول‌ترین روش برای مقایسه نتایج آزمایش نمونه‌های کنترل استفاده از نمودارهای کنترلی می‌باشد. در نمودارهای کنترلی، غلظت بدست آمده از سرم کنترل روی نموداری با محدوده مشخص، علامت‌گذاری شده و بصورت تصویری و ساده نمایش داده می‌شود. اگر نتایج در داخل محدوده قرار داشته باشند، شرایط آزمایش تحت کنترل بوده و اطمینان داده می‌شود که سیستم درست کار می‌کند. ولی اگر نتایج در داخل محدوده قرار نگرفته باشد نشان‌دهنده مشکل‌دار بودن سیستم بوده و بایستی عملکرد سیستم بررسی شود.

برای محاسبه و به‌دست 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 به‌دست آمده این محدوده تعیین می‌شود.

همان‌طوری‌که در شکل زیر مشاهده می‌شود، اگر یک نمونه به‌طور مکرر آزمایش شود، توزیع نتایج به‌دست آمده به‌صورت نرمال (توزیع گوسین) خواهد بود. در توزیع‌های نرمال ۹۵٪ مقادیر در محدوده ۲SD ± و ۹۹/۷ ٪

مقادیر در محدوده ۳SD ± قرار می‌گیرند. سپس احتمال اینکه یک خوانده به‌طور اتفاقی خارج از محدوده ۲SD ± قرار گیرد حدود ۵٪ (۱ نتیجه بین ۲۰ خوانده) می‌باشد و در مورد محدوده ۳SD ± تنها ۰/۳٪ (۳ نتیجه بین ۱۰۰۰ خوانده) می‌باشد.



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

برای اینکه این اثر نامطلوب را حذف نماییم نتایج خارج از محدوده mean±۳SD را حذف می‌نماییم(این محدوده بستگی به تعداد خوانده‌ها داشته و با افزایش تعداد خوانده‌ها افزایش می‌یابد به‌طوری‌که برای تعداد ۳۰ خوانده محدوده mean±۳,۱۴ SD و برای ۴۰۰ خوانده محدوده mean±۳,۸۳ 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 mean±۳SD 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 به‌صورت دوتایی در ۱۰ روزکاری

c) در صورت عدم امکان روش‌های فوق می‌توان در ۵ روزکاری با ۴ بار تکرار در روز این مقادیر را به‌دست آورد.

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

$$mean = \frac{\sum x_i}{n} \qquad SD = \sqrt{\frac{\sum (xi - mean)^2}{n-1}}$$

$$CV\% = \frac{SD * 100}{mean}$$

CV : ضریب انحراف (Coefficient of variation)

SD انحراف معیار

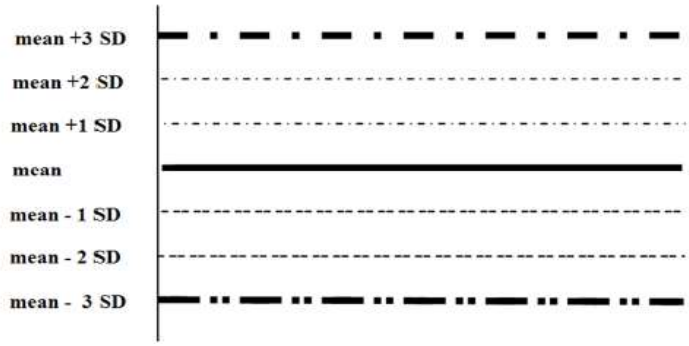
mean : میانگین

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 صورتی‌که 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 سری‌کاری دو نمونه کنترلی در دو غلظت متفاوت آزمایش می‌شود و مقادیر آن در روی منحنی مربوطه علامت‌گذاری می‌شود.

بر طبق تعریف CLSI(NCCLS) سری‌کاری 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 محدوده‌ای که در بروشور کیت‌ها نوشته شده استفاده نمود. این محدوده توسط آزمایش نمونه‌های کنترلی در آزمایشگاه‌های مختلف تهیه شده است و متغییر 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 به‌کار بردن تعداد زیاد نمونه‌های کنترلی در هر سری‌کاری تاثیر مثبتی در روند کار ندارد بلکه باعث افزایش میزان رد کاذب و افزایش هزینه می‌گردد. لذا پیشنهاد می‌شود در هر سری‌کاری 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			
روز اول	200	207	190	205
روز دوم	205	197	204	205
روز سوم	196	209	196	197
روز چهارم	202	200	204	196
روز پنجم	190	196	200	198

	کنترل ۲			
روز اول	247	263	261	257
روز دوم	250	251	254	258
روز سوم	255	260	239	256
روز چهارم	243	253	236	249
روز پنجم	254	244	250	257

میانگین و انحراف معیار را برای سهولت کار، گرد و CV% را بشرح 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 ، وستگارد، 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).

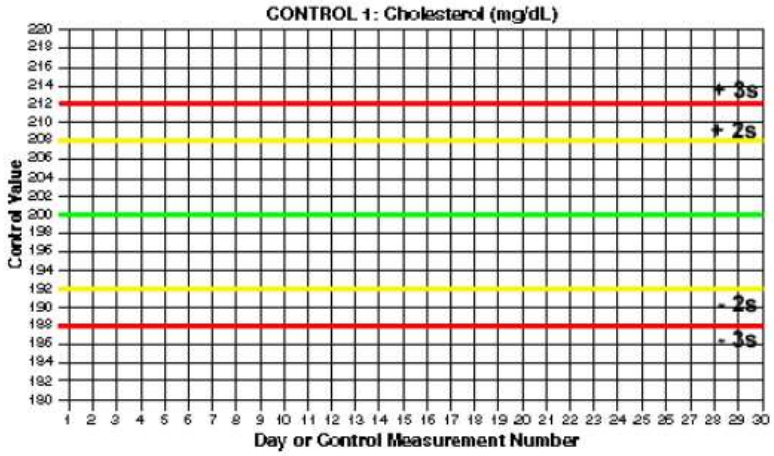
۲- به‌طور دستی یا نرم‌افزار یک چارت کنترل کیفی رسم نمایید به‌طوری‌که محور yها مقادیر نمونه کنترلی بوده و محدوده mean± ۴SD را دربرگیرد.

۳- اگر تعداد کنترل‌هایی که در سری‌کاری استفاده می‌شود ۲ یا بیشتر باشد محدوده mean± ۳SD را به‌عنوان محدوده قابل قبول انتخاب نمایید اما اگر در سری کاری فقط یک نمونه آزمایش می‌شود محدوده mean± ۲SD 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 سری‌کاری کنترل‌ها را آزمایش نموده و نتایج را روی چارت علامت‌گذاری نمایید.

۵- تا زمانی‌که نتایج مورد انتظار mean± ۳SD یا mean± ۲SD (با توجه به محدوده انتخاب شده) قرار داشته باشند، نتایج تحت کنترل بوده و اگر نتایج از این محدوده جارج 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 mean± ۳SD یا mean± ۲SD دارای معایبی می‌باشد اگر محدوده mean± ۳SD انتخاب شود امکان تشخیص خطا کاهش می‌یابد. در حالی‌که رد کاذب (False rejection) کمتر از ۵٪ است. اگر محدوده mean± ۲SD انتخاب گردد، احتمال تشخیص خطا افزایش یافته ولی میزان رد کاذب (False rejection) افزایش می‌یابد.

با افزایش تعداد کنترل‌ها در هر سری‌کاری (n)، میزان رد کاذب افزایش می‌یابد. در صورت استفاده از یک کنترل (n=۱) رد کاذب ۵٪ است ولی این میزان برای دو کنترل (n=۲) به ۹٪ و برای ۴ کنترل (n=۴) به ۱۸٪ می‌رسد.

به عنوان مثال اگر آزمایشگاهی در هر سری‌کاری دو غلظت نمونه کنترلی را به صورت دوبل آزمایش نماید در واقع در هر سری‌کاری ۴ کنترل را آزمایش کرده و رد کاذب نتایج این آزمایشگاه به ۱۸٪ 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 این‌که 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 سری‌کاری نمونه-های کنترلی را آزمایش نمایید.

تا زمانی‌که کنترل‌ها در محدوده mean± ۲SD قرار دارند، نتایج بیماران قابل گزارش می‌باشد ولی به محض این‌که یکی از کنترل‌ها از محدوده mean± ۲SD خارج گردید، کار را متوقف نموده و نتایج کنترل‌ها را از نظر وجود یکی از این قوانین مورد بررسی قرار دهید.

1_{2s} یک کنترل خارج از محدوده mean± ۲SD به معنی هشدار بوده و لازم است سایر قوانین بررسی گردند.

1_{3s} یک کنترل خارج از محدوده mean± ۲SD باعث رد نتایج شده و می‌تواند نشان‌دهنده خطای راندوم یا شروع خطای سیستماتیک باشد.

2_{2s} دو خوانده متوالی همسو و خارج از محدوده mean± ۲SD باعث رد نتایج شده و به خطای سیستماتیک حساس می‌باشد.

R_{4s} یک خوانده خارج از محدوده mean+ ۲SD و دیگری خارج از محدوده mean– ۲SD باعث رد نتایج شده و نشان‌دهنده خطای راندوم می‌باشد.

4_{1s} دو خوانده متوالی همسو و خارج از محدوده mean± ۱SD باعث رد نتایج شده و به خطای سیستماتیک حساس می‌باشد.

10_{x} ده خوانده متوالی در یک طرف میانگین (بالا یا پایین میانگین و بدون توجه به اندازه انحراف) باعث رد نتایج شده و به خطای سیستماتیک حساس می‌باشد.

لازم به توضیح است که قوانین چندگانه وستگارد بین سری‌های کاری مختلف و نیز بین دو غلظت نمونه کنترلی نیز قابل استفاده می‌باشد به‌طورمثال در مورد قانون 2_{2s} ممکن است یک خوانده در روز قبل و یک خوانده

امروز، همسو و خارج از محدوده mean+ ۲SD بوده و یا در یک سری کاری، یک خوانده در کنترل ۱ و خوانده دیگر در کنترل ۲ (نتایج هر دو کنترل) خارج از محدوده mean+ ۲SD قرائت گردند.

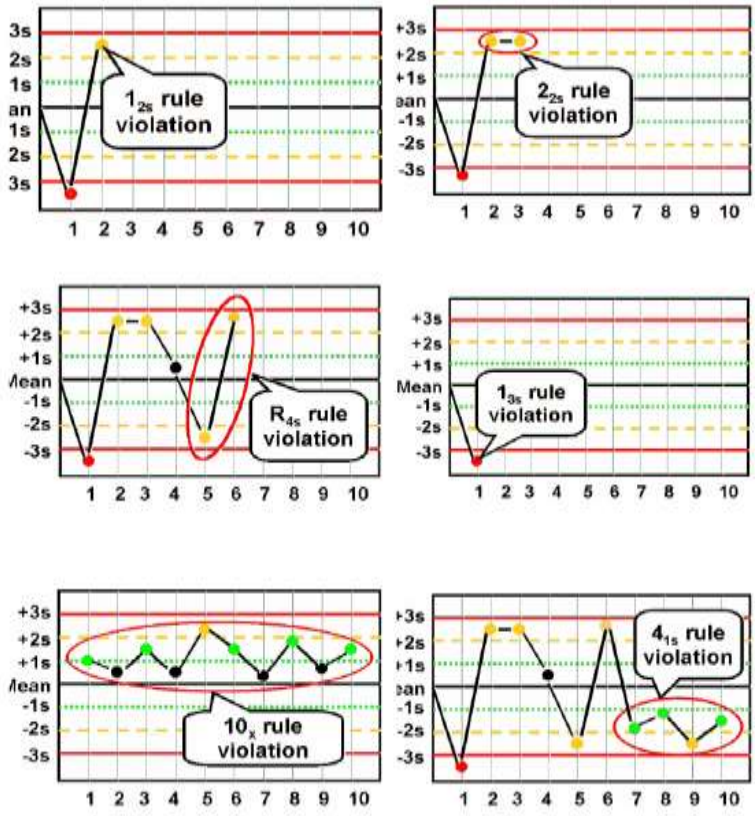
مورد استثنا قانون R_{4s} می‌باشد که باید در آن دو خوانده به دست آمده از یک سری‌کاری با یکدیگر ۴SD فاصله داشته باشند. اگر در دو سری کاری متفاوت، نتایج با هم ۴SD فاصله داشته باشند، در این مورد قانون R_{4s} کاربردی ندارد.

در سال ۲۰۰۶ با توجه به پیشرفت‌های تجهیزات و نیز رایانه‌ای شدن بسیاری از برنامه‌ها، در قوانین وستگارد دو تغییر ایجاد شد. اول اینکه قانون 1_{2s} به‌عنوان هشدار حذف شد و پیشنهاد گردید قوانین 10_x و 4_{1s} حتی در شرایطی که نتایج در محدوده mean± ۲SD قرار دارند اعمال شود. این امر باعث شناسایی سریع‌تر خطا می‌شود ولی از طرف دیگر انجام آن در مواردی که چارت توسط روش دستی ترسیم شده‌است، بسیار مشکل است. همچنین با توجه به شرایط کنونی برخی آزمایشگاه‌ها، ممکن است استفاده و تفسیر به‌درستی 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 ۲SD mean± 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 سری‌کاری (مضرب ۳) قوانین تفسیر قدری متفاوت می‌باشند.

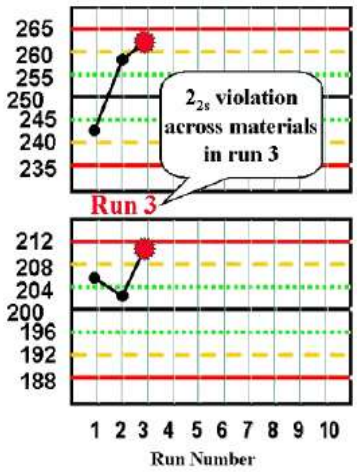
برای اینکه اطلاعات بیشتری در مورد این تغییرات به‌دست آورید می‌توانید به سایت وستگارد مراجعه نمایید.

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



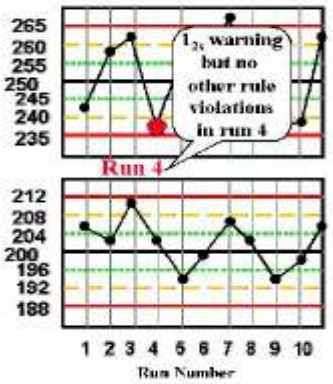
در چارت‌های زیر قوانین وستگارد با دو نمونه کنترلی در هر سری کاری نمایش داده شده است.

در سری‌کاری سوم هر دو نمونه کنترلی خارج از محدوده mean± ۲SD هستند. پس براساس قانون 2_{2s} نتایج این سری‌کاری رد می‌شود و به احتمال زیاد یک خطای سیستماتیک در این محدوده غلطتی وجود دارد.

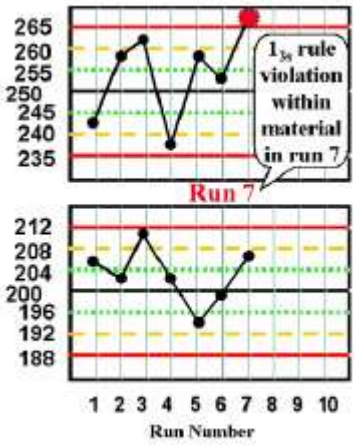


در سری‌کاری چهارم کنترل با غلظت‌های بالا، خارج از محدوده ۲SD– قرار گرفته است و احتمال خطا وجود دارد. از آنجایی که سری‌کاری قبلی (سری سوم) رد شده است فقط سری چهارم از نظر وجود قوانین 1_{3s} و

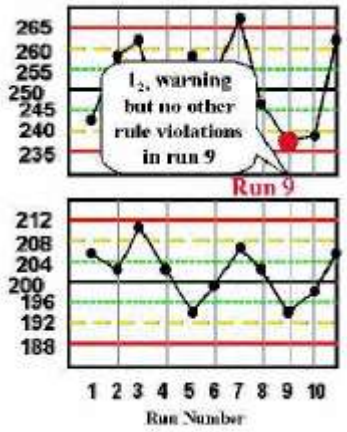
2_{2s} و R_{4s} بررسی می‌گردد. با توجه به به عدم وجود ۳ قانون نامبرده، این سری‌کاری قبول می‌شود ولی باید به هشدار توجه نمود.



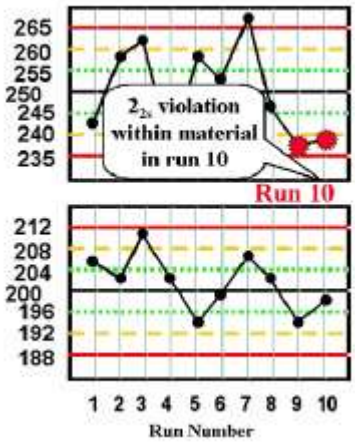
در سری‌کاری هفتم نتیجه کنترل با غلظت بالا خارج از محدوده ±۳SD قرار گرفته که باعث رد این سری‌کاری می‌شود و به احتمال زیاد یک خطای راندوم وجود دارد.



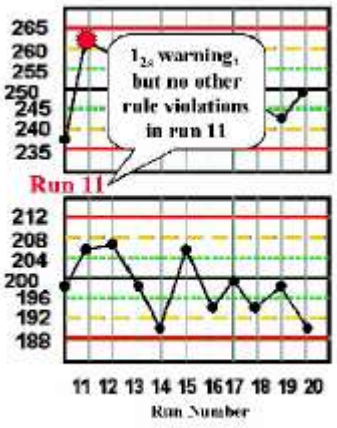
در سری‌کاری نهم کنترل با غلظت بالا خارج از محدوده ۲SD– قرار گرفته است و احتمال خطا وجود دارد. چارت از نظر وجود قوانین 1_{3s} و 2_{2s} و R_{4s} بررسی می‌شود. با توجه به عدم وجود۳ قانون مذکور، این سری‌کاری قبول می‌شود ولی باید به هشدار توجه نمود.



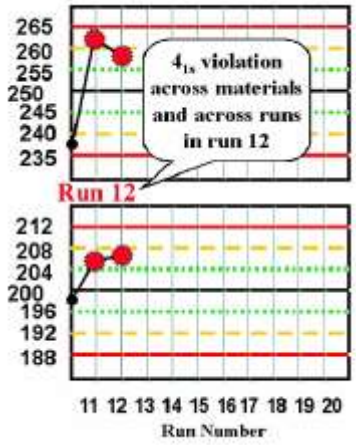
در سری‌کاری دهم در نمودار کنترل با غلظت بالا ، دو خوانده متوالی در دو سری‌کاری متوالی، خارج از محدوده ۲SD– قرار گرفته است که با توجه به قانون $۲_{۲S}$ باعث رد سری دهم می‌شود و به احتمال زیاد یک خطای سیستماتیک وجود دارد.



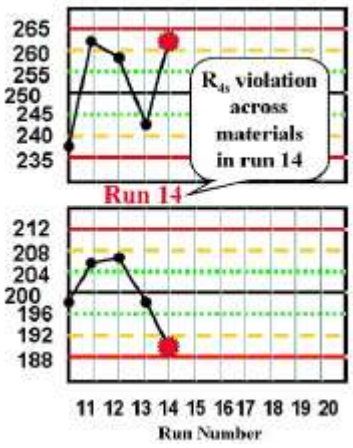
در سری‌کاری یازدهم کنترل با غلظت بالا ، خارج از محدوده ۲SD+ قرار دارد و احتمال خطا وجود دارد و بایستی نمودار را از نظر مطابقت با قوانین $۱_{۳S}$ و $۲_{۲S}$ و $R_{۴S}$ بررسی نمود. با توجه به عدم وجود ۳ مذکور، این سری‌کاری قبول می‌شود ولی باید به هشدار توجه نمود.



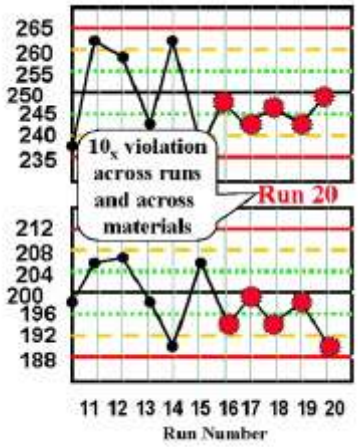
در سری‌کاری دوازدهم در نمودار هر دو کنترل، دو خوانده متوالی در دو سری‌کاری متوالی، خارج از محدوده ۱SD+ قرار گرفته با اعمال قانون در هر دو غلظت مشاهده می‌گردد که ۴ خوانده متوالی خارج از محدوده ۱SD+ وجود دارد. علیرغم وجود قانون 4_{1s} ، چون در سری‌کاری دوازدهم هیچ‌کدام از نتایج خارج از محدوده ۲SD± نبودند، سری‌کاری تایید می‌گردد اما باید احتمال وقوع یک خطای سیستماتیک را در نظر داشت.



در سری‌کاری چهاردهم، کنترل با غلظت بالا، خارج از محدوده ۲SD+ و کنترل دیگر خارج از محدوده -۲SD قرار گرفته پس توسط قانون R_{4s} سری‌کاری رد می‌شود.



در سری‌کاری 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)

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

- ✓ وجود یک خوانده خارج از محدوده mean± ۲SD 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 ۲SD mean±	**هشدار**
یک خوانده خارج از محدوده ۳SD mean±	**غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک یا راندوم)**
دو خوانده متوالی خارج از محدوده ۲SD mean±	**غیر قابل قبول (خطای سیستماتیک)**
یک خوانده متوالی خارج از محدوده ۱SD+ یا ۱SD–	**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 Levey-Jenning و Westgrad یا WHO را انتخاب کرده و استفاده نماید.

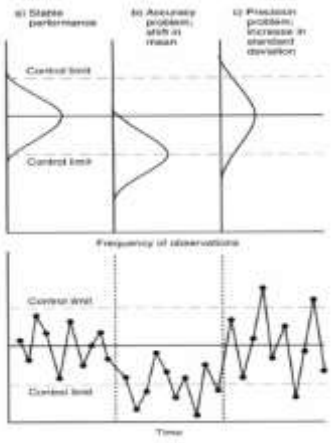
چارت‌های کنترل کیفی بصورت ماهانه بررسی شده و تمام مقادیر[۱۷] معتبر برای محاسبه میانگین و انحراف معیار ماه بعدی به‌کار می‌رود.

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 می-کند(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.

اقدامات اصلاحی

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 ...

خطای سیستماتیک

- 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 (بالاتر و پایین‌تر) 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 آن‌را 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 تصمیم گیری باید دو محدوده را مشخص نمایید.

- $K_۱$ و K_u که بطور معمول mean± ۱SD در نظر گرفته می‌شود.
- $h_۱$ و h_u که محدوده کنترل است و اغلب SD ۲,۷ ± برای آن در نظر گرفته می‌شود.

۴- در هر سری‌کاری یک نمونه کنترل آزمایش و نتیجه آن را با محدوده mean±۱SD مقایسه کنید تا زمانی‌که 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 mean± ۱SD خارج شد اختلاف نتیجه مشاهده شده را با ($K_۱$) ۱SD-mean یا (mean+۱SD (K_u) 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 (Csi) 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 (۲,۷ SD) h۱ و hu بیشتر شود که در این شرایط از کنترل خارج شده است و Cusum تا زمانی‌که 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× 5 = - 13.5
h_u	+2.7SD	+2.7× 5 = + 13.5

سپس در هر سری‌کاری، 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	
6	101	−4	−1	End cusum calculation
7	96			
8	105			
9	101			
10	101			
11	111	+6	+6	Start cusum calculation
12	102	−3	+3	
13	110	+5	+8	
14	107	+2	+10	
15	107	+2	+12	
16	107	+2	+14	

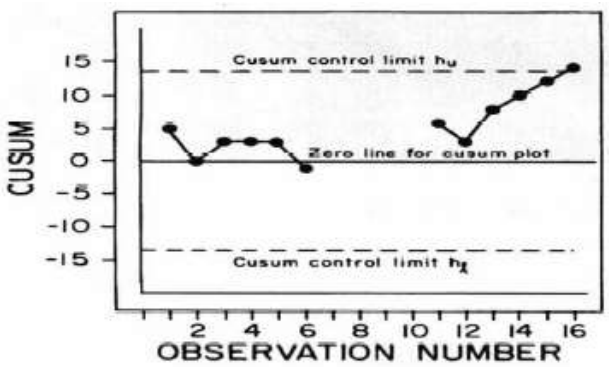
همانطور که مشاهده می‌شود در روز اول نتیجه کنترل ۱۱۰ قرائت شده است که ۵ واحد از K_u (۱۰۵) بیشتر است لذا Cusum شروع شده و اختلاف d_i بصورت ۵+ نشان داده شده است. روز دوم کنترل ۱۰۰ خوانده شده که ۵ واحد کمتر از K_u (۱۰۵) می‌باشد بنابراین مقدار d_i برابر ۵+ جمع جبری (دو عدد داخل بیضی) و (Csi) مساوی صفر می‌شود. 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_l 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 وستگارد، صادق نمی‌باشد زیرا قوانین مختلف وستگارد 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 می‌گیرید.

نتایج هر بیمار بطور انفرادی

نتیجه آزمایش هر بیمار محصول نهایی عملکرد آزمایشگاه است ولی متاسفانه 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 براینکه 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 ایکتر 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 ، T۴ .

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 دوبل آزمایش، اختلافات (d) آن‌ها محاسبه و به توان دو رسانیده می‌شود($d^۲$). 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 Limit Checks

Test	Low Warning	High Warning
Acid phosphatase* (U/L)	0.1	13
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

*Values are method dependent.

From Whitehurst P, Dhillon TV, Bevallian G. Evaluation of discrepancies in patients' results: An aspect of computer-assisted quality control. Clin Chem 1975;21:87-92.

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 متغییرهای بخش آنالیتیک، تحت تاثیر متغییرهای 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 (Stsndard 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 سل‌کانتر 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 quvantitative 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 سری‌کاری

- ✓ 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 سری‌کاری)
- ✓ انجام آزمایش بازبینی (Check test) بر روی تعدادی از نمونه‌های بیماران (آزمایش ۳-۴ نمونه ازسری-کاری قبلی)
- ✓ بررسی تفاوت نتایج یک بیمار با آزمایش قبلی خودش(Delta check)
- ✓ محایبه میانگین اندکس‌های خونی MCV، MCH، MCHC در صورت استفاده از سل‌کانتر
- ✓ محاسبه میانگین MCHC در صورت استفاده از روش‌های دستی

اصول کار با دستگاه‌های سل‌کانتر

۱- نحوه کار با دستگاه سل‌کانتر 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.

درصورتی‌که 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 شستشوهای 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- درصورتی‌که نمونه در آزمایشگاه زیاد باشد بهتر است در فواصل کاری و بین آزمایش‌ها، دستور شستشو انجام گیرد.

۵- هر شش ماه یک‌بار دستگاه‌های سل‌کانتر 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 صورتی‌که 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 سل‌کانتر

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 سل‌کانتر

کالیبراسیون

جهت کالیبراسیون سل‌کانترها 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 این‌کار بایستی پارامترهای حداقل ۳ نمونه را دو بار با روش‌های مرجع دستی و دو بار با سل‌کانتر 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.

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

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 gr/L ۱۴۰ 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 این‌کار می‌توان از نمونه کنترل خون‌های تجاری که در بازار موجود می‌باشد استفاده نمود و هر روز صبح و به فواصل در طول روزکاری 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 متغییر بدست آید. پس از محاسبه میانگین و انحراف معیارهای ±۱SD و ±۲SD و ±۳SD برای هر متغییر، 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 ۲SD ±	**هشدار**
نتیجه یک کنترل خارج از ۳SD ±	**رد نتایج بیماران(خطای سیستماتیک یا راندوم)**
دو نتیجه متوالی و همسو خارج از ۲SD ±	**رد نتایج بیماران(خطای سیستماتیک)**
چهار نتیجه متوالی و همسو خارج از ۱SD - یا ۱SD +	**رد نتایج بیماران(خطای سیستماتیک)**
شش نتیجه نمونه کنترل در یک طرف میانگین	**هشدار(خطای سیستماتیک)**

۲- در صورتی‌که نمونه خون کنترل در دسترس نباشد و یا برای کامل شدن روند کنترل کیفیت سل‌کانتر می‌توان 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 ردجه 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.

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

$$tn = \frac{\overline{d}\sqrt{n}}{SD}$$

n	تعداد جفتهای مورد بررسی
d	اختلاف بین دو خوانده (روز به روز)
SD	انحراف معیار اختلافات

مقدار t برای هر متغییر 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 حاتصل از اندازه‌گیری Hb ۵ نمونه خون با استفاده از یک دستگاه سل‌کانتر 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
$\Sigma d = -3$	$(\Sigma d)^2 = 9$		
$\Sigma (d^2) = 91$	$\bar{d} = \Sigma d / 5 = 3/5 = 0.6$		

$$SD = \sqrt{\frac{91 - \frac{9}{5}}{4}} = 4.72 \qquad m = \frac{0.6\sqrt{5}}{4.72} = 0.28$$

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 این‌کار استفاده می‌شود. بدین صورت که در هر ماه حدود دو نمونه را حداقل ۱۰ بار با سل‌کانتر 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 هنگاه نصب و راه‌اندازی با استفاده از نمونه‌های طبیعی و غیر طبیعی ضروری است.

مثال: اگر نتایج شمارش WBC یک نمونه توسط دستگاه سل‌کانتر به قرار زیر باشد، میزان عدم دقت دستگاه برای شمارش پارامتر مذکور به روش زیر محاسبه میشود.

WBC × ۱۰^{۹}/L	$(x-\bar{x})$	$(x-\bar{x})^2$
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
Σx=76.3 $\bar{x}=7.63$		$\Sigma(x-\bar{x})$= 0.201

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

$SD = \sqrt{0.201 / 9} = 0.148$

$$CV\% = \frac{SD\times 100}{\bar{x}}$$

$0.148/ 7.63\times 100=1.9\%$

۴- درصورتی‌که امکان انجام تمامی آزمایش‌ها بصورت دوتایی وجود نداشت بایستی در هر سری‌کاری 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

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

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. بدین‌صورت که در ابتدای سری‌کاری حداقل ۲ – ۳ نمونه پس از انجام آزمایش بصورت دربسته در یخچال نگهداری شود و در انتهای سری‌کاری 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 ۲SD± قابل قبول است. در صورت نگهداری صحیح نمونه‌ها، مشاهده اختلاف نتایج خارج از محدوده ۲SD± ، 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) می-توان 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 ۲SD± اندکس‌های گلبولی (MCV,MCH,MCHC) حداقل ۳۰۰ – ۵۰۰ بیمار توسط سل‌کانتر 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 سل‌کانترها 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 بیماربه 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 صورتی‌که فاصله دو آزمایش بیشتر از ۲ تا ۳۲ 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 سل‌کانتر با گسترش لام خون محیطی: در این روش نتایج حاصل از شمارش پلاکت و گلبولهای سفید توسط سل‌کانتر با تعداد سلولهایی 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.

میانگین تعداد گلبولهای سفید شمارش شده در هر میدان دید با بزرگنمایی زیاد (×۴۰)	تعداد تخمینی گلبولهای سفید ($\times 10^9$/L)	میانگین تعدادپلاکتهای شمارش شده در هر میدان دیدبا بزرگنمایی زیاد(دید روغن ×۱۰۰)	تعداد تخمینی پلاکتها ($\times 10^9$)
۲-۳	۳-۷	۲-۳	۵۰-۱۰۰
۴-۶	۷-۱۰	۴-۶	۱۰۰-۱۵۰
۷-۱	۱۰-۱۳	۷-۱	۱۵۰-۲۵۰
۱۱-۲۰	۱۳-۱۸	۱۱-۲۰	۲۵۰-۵۰۰

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 به‌مدت حداقل ۵ دقیقه بدون افزایش دما از ۴۵ درجه سانتیگراد.

داشتن زمان‌سنج اتوماتیک (با قابلیت تنظیم حداقل ۳۰ ثانیه).

RCF (Relative Centrifugal Field): میدان نسبی سانتریفوژ

RPM(Revolation Per Minute): دور در دقیقه

$RCF = ۱,۱۱۸ \times ۱۰^{-۵} \times r \times RPM^{۲}$

کنترل کیفی وبررسی 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 $K_۲EDTA$ 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 زمانی‌که 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.

- درصورتی‌که 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 سری‌کاری از نمونه پلاسمای کنترل و یا در صورت عدو در دسترس 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 mean±۲SD می‌باشد. در هر سری‌کاری نمونه کنترل یا Pooled Plasma همراه نمونه‌های بیمارن 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 این‌صورت 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 میکروب‌شناسی

تهیه و کنترل کیفیت محیط های کشت

نکات عمومی در مورد محیط های کشت:

آب:

کیفیت محیط‌های کشت بطور مستقیم بستگی به کیفیت مواد خام مورد استفاده در تهیه آن‌ها دارد. آب یکی از مهمترین موادی است که در تهیه محیط های کشت بکار می‌رود. سه معیار مهم برای آب مورد استفاده در تهیه محیط های کشت شامل وجود یونهای مس، قدرت هدایت الکتریکی و pH می‌باشد. در شرایط ایده آل یون-های مس بدلیل خاصیت مهارکنندگی برای اغلب میکروارگانیسم‌ها نباید در آب مورد استفاده جهت تهیه محیط-های کشت وجود داشته باشد. قدرت هدایت الکتریکی آب باید کمتر از ۱۵ میکرو زیمنس باشد وهمچنینpH 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، معمولا 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. محیط های کشت را بجوشانید بدون آنکه بسوزند.

محیط‌های کشتی که نباید اتوکلاو شوند، بعد از این مقدار حرارت دادن، برای تقسیم داخل پلیت ها یا ظروف دیگر آماده خواهند بود. اکثر محیط‌های کشت به استریلیزاسیون نهایی (در دمای ۱۲۱° C به مدت ۱۵ دقیقه) نیاز خواهند داشت.

اندازه گیری و تنظیم pH

محیط‌های کشت دهیدراته اگر بطور مناسب تهیه شوند نیازی به تنظیم pH ندارند. pH نهایی محصول استریل شده را می توان روی پلیت یا بطری اندازه گیری کرد، اما باید آنها را بعد از سنجش pH دور ریخت. بنابراین بعد از استریل شدن و خنک شدن محیط کشت تا دمای ۲۵° C، مقدار pH را در حد مورد نظر (۰/۲ ±) تنظیم نمایید. تنظیم pH معمولا با استفاده از هیدروکسید سدیم ۴۰ گرم در لیتر (تقریبا" 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 بر چسب 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 ۱۲۱° C (فشار ۱/۲ 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 می کنند اسپور *Bacillus Stearothermophilus* را می‌توان نام برد که بصورت تجاری قابل دسترس می باشد.

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 ۰/۲۲ یا ۰/۴۵ 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 ۱۲۱° C استریل نمایید.

آماده سازی جهت مصرف:

بعد از استریلیزاسیون، اجازه دهید دمای محیط کشت به حدود ۵۰° C برسد، سپس با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم نمایید. هیچ وقت محیط کشت را در دمای بالاتر از ۵۰° C تقسیم نکنید. مکمل-های حساس به گرما و حرارت باید بعد از این که دمای محیط کشت به حدود ۵۰° 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 پتری‌دیش‌های مورد استفاده در تهیه محیط نیز اهمیت دارد. معمولاً پتری‌دیش‌ها را را با اتیلن اکساید ویا اشعه گاما استریل می‌کنند. در صورت استفاده از پتری‌دیش‌هایی 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 پتری‌دیش‌های شیشه‌ای بایستی از پتری‌دیش‌هایی از جنس بروسیلیکات استفاده کرد. استفاده از پتری‌دیش‌هایی از جنس قلیائی 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 محیط های 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 محیط های 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 بطوری‌که هوا داخل آنها نفوذ نکند تا ۴-۳ 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 ۶-۳ ماه قابل مصرف می‌باشند.

موارد استثناء:

تایوگلیکولات براث، اندول نیترات براث و SIM فقط به مدت یک‌ماه قابل نگهداری می‌باشند. محیط های CTA Medium و OF Medium حاوی کربوهیدرات و مولرهینتون 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 مکمل ها و ذخیره سازی طولانی در دمای ۵۰ ºC**
pH نامناسب	**استفاده از شیشه های 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 ۵۰ ºC
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 وتغییر 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 ۵۰ ºC**

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 می‌شود.

- سویه مرجع (Reference Strain): میکروارگانیسمی که حداقل تا سطح جنس و گونه شناسایی شده و بر اساس ویژگی ها و ترجیحاً منشا آن، فهرست‌بندی و تعریف شده است.
- ذخیره‌های مرجع (Reference Stocks): کشت‌های بدست آمده از پاساژ سویه مرجعی که از مراکز بین المللی تهیه شده است.
- ذخیره‌های‌کاری (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. ارگانیسم‌های 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 ارگانیسم کنترل کیفی روی پلیت بلادآگار تهیه کنید. بعد از انکوباسیون پلیت ۵-۳ کلنی ایزوله را در مقدار کمی تریپتیکیس 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 ۵-۳ کلنی ایزوله روی پلیت ۲۴ ساعته را در ۵-۳ 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 CFU/ml $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۸}$ 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 µl ۱۰ یا ml ۰/۰۱ سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح کنید. تعداد کلنی‌های مورد انتظار در هر پلیت (CFU/plate) $۱۰^{۳}$-$۱۰^{۴}$ 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 مهار کنندگی 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 µl ۱۰ یا ml۰/۰۱ سوسپانسیون رقیق شده را به محیط کشت مورد آزمایش تلقیح کنید. تعداد کلنی‌های مورد انتظار در هر پلیت (CFU/plate) $۱۰^{۴}$-$۱۰^{۵}$ 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 µl ۱۰ یا ml ۰/۰۱ 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، ۲۴-۱۸ ساعت یا ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ^{o}C ۲±۳۵ می‌باشد. محیط شکلات آگار و سایر

محیط‌های کشت برای جداسازی انتخابی گونه های نیسریای بیماریزا باید در ۱۰- ۵٪ Co_2 انکوبه شوند و در فواصل زمانی۲۴-۱۸ ساعت وسپس ۴۸-۲۴ ساعت بررسی گردند.

برای باکتری‌های بی‌هوازی، کشت‌ها عموماً به حداقل ۴۸ ساعت انکوباسیون در شرایط بی‌هوازی و غنی از Co_2 نیاز دارند.

در مورد کمپیلوباکتر آگار، پلیت‌ها باید در ۴۲ ^{o}C در شرایط میکروآئروفیلیک غنی از Co_2 به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شوند.

۴- کنترل محیط‌های کشت برای آزمایش‌های بیوشیمیایی

از سوسپانسیون میکروبی رقیق نشده برای کنترل این محیطها استفاده می کنیم.

پس از تلقیح، تمام کشت ها را در شرایط لازم (از نظر Co_2، 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 می دهیم. محیط های مناسب دارای رشد کافی از کلنی های باکتریهای مورد نظر می باشند و در مورد محیطهای انتخابی مهار میکروارگانیسمهای مورد نظر باید مشخص باشد.

کنترل محیط های ساخته شده تجاری (آماده مصرف):

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

۲- سترون بودن: محیطهای کشت باید عاری ازآلودگی 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 محیط های کشت (استریل بودن محیط های کشت):

در صورتی‌که 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 ^{o}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 هیچ‌گونه رشد میکروبی نباید مشاهده شود.

تفسیر نتایج:

یک محیط کشت زمانی قابل قبول می‌باشد 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 ارگانیسم های خاص مهار می‌شود، ضمن اینکه اجازه رشد کافی به سایرارگانیسم می-دهد. در بعضی موارد، واکنش‌های رنگی خاص یا همولیز همچنانکه در جدول آمده است، باید ایجاد شود. مثلاً در مورد کشت بلادآگار ایجاد همولیز مناسب ضروری است و یا برای محیط مکانکی آگار ایجاد واکنش‌های رنگی برای سویه‌های میکروبی مشخص ضروری می‌باشد.

سایر معیارهای تضمین کیفیت:

محیط‌های کشت آماده مصرف باید از نظرموارد زیر نیز بررسی شوند:

- شکستگی ظروف پتری
- پر شدن ناصاف پلیت‌ها
- ترک خوردگی محیط کشت در پلیت‌ها
- وجود همولیز (برای بلاد 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 S. faecalis استرپتوکوک پایوژنز S. pyogenes	رشد مثبت، محیط سیاهرنگ می شود رشد منفی
بلاد آگار جار شمع دار CO_2	۲۴ ساعت	استرپتوکوک پایوژنز Streptococcus pyogenes استرپتوکوک پنومونیه S. pnemoniae	رشد مثبت دارای همولیزبتا رشد مثبت دارای همولیز آلفا
شکلات آگار	۲۴ ساعت	هموفیلوس آنفلوانزا Haemophilus influenzae	رشد مثبت
لایزین دکربوکسیلاز (محیط بوسیله روغن استریل پوشانده میشود)	۴۸ ساعت	سالمونلا تایفی موریوم S. typhimurium شیگلافلکسنری Shigella flexneri	مثبت (بنفش رنگ می شود) منفی (بدون تغییر رنگ)
اورنیتین (دکربوکسیلاز)	۴۸ ساعت	سالمونلا تایفی موریوم S. typhimurium کلبسیلا پنومونیه K. pneumoniae	مثبت منفی
آرژینین (دی هیدرولاز)	۴۸ ساعت	سالمونلا تایفی موریوم S. typhimurium پروتئوس میرابیلیس Proteus mirabilis	مثبت منفی
ژلاتیناز	۲۴ ساعت	اشرشیا کلی E. coli باسیلوس سوبتیلیس Bacillus subtilis	منفی مثبت
کلایگلرآیرون آگار	۲۴ ساعت	سیتروباکتر فروندی Citrobacter frundii سالمونلا تایفی موریوم S. typhimurium شیگلا فلکسنری Sh. flexneri اسینتوباکتر کالکوستیکوس Acinetobacter calcoaceticus	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 E. coli پروتئوس میرابیلیس Proteus mirabilis استرپتوکوک فکالیس S. faecalis	کلنی های قرمز رنگ کلنی های بیرنگ، بدون سوارمینگ (خزش) رشد منفی

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

		اشرشیا کلی E. coli	بعد از کشت مجدد رشد نمی کند
سیمون سیترات (در لوله های با درپیچ شل در انکوباتور گذاشته شود)	۴۸ ساعت	اشرشیا کلی E. coli کلبسیلا پنومونیهK. pneumonia	رشد منفی رشد مثبت- رنگ آبی
TCBS آگار	۲۴ ساعت	Vibrio SPP	کلنی های زرد رنگ
تایر مارتین	۲۴ ساعت	نایسریا مننژیتیدیس Neisseria meningitidis (CO_2) نایسریا گونوره N. Gonorrhoeae اشرشیا کلی E. coli	رشد مثبت رشد مثبت رشد منفی
تایوگلیکولات براث Thioglycollate broth	۲۴ ساعت	باکتروئیدس فراجیلیس Bacteriodes fragilis	رشد مثبت
TSI عمق محیط باید ۳ سانتی متر باشد (با درپیچ شل اتوو گذاری شود)	۲۴ ساعت	سیتروباکتر فروندی Citrobacter frundii سالمونلا تایفی موریوم S. typhimurium شیگلا فلکسنری Sh. flexneri اسینتوباکتر کالکوستیکوس Acinetobacter calcoaceticus	A/A, SH_2 + گاز K/A, SH_2 + گاز یا بدون گاز K/A تغییر نمی کند
محیط اوره	۲۴ ساعت	اشرشیا کلی E. coli پروتئوس میرابیلیس P. mirabilis	منفی مثبت، صورتی

اصول صحیح کنترل کیفی در آزمایشات کیفی:

- در هر سری‌کاری بایستی از نمونه‌های کنترلی مثبت و منفی استفاده گردد. بهتر است علاوه بر کنترل‌هایی که داخل کیت وجود دارد، نمونه‌های 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 آنتی‌ژن و آنتی‌بادی دخالت دارند، مانند PH محیط، بافر مناسب، دما، حرکت مناسب(Shaking) و نسبت معرف‌ها و نمونه‌ها رعایت شوند.
- احتمال بروز Hook effect ، Prozone در نظر گرفته شود.
- به مختصات کیت مانند Detection limit توجه شود.
- معرف‌ها بصورت تازه تهیه شوند.
- معرف‌ها از نظر اتواگلوتیناسیون و تغییر رنگ بررسی شوند.
- نمونه‌گیری و نگهداری نمونه بر اساس نوع آزمایش به‌نحو 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

آزمایشگاه‌ها همانند کارخانه‌های تولیدی هستند که مواد اولیه را به محصولات مورد نظر تبدیل می‌کنند. با این تفاوت که مواد اولیه در آزمایشگاه‌های بالینی، نمونه‌های بیماران بوده و محصول نتایج آزمایش‌ها می‌باشند.کیفیت نتایج آزمایش، وابسته به عملکرد پرسنل، تجهیزات و معرف‌هایی است که در این فرایند مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این‌ها عوامل درون فردی نیز در کیفیت نمونه تهیه شده از بیمار تاثیر می‌گذارد. پس عوامل موثر در نتایج آزمایش را میتوان همانند متغییرهایی در نظر گرفت که به انواع مربوط به بیمار، پرسنل، تجهیزات و معرف‌ها قابل تقسیم هستند. برای بدست آوردن نتاج آزمایش با کیفیت بالا، باید تمامی این عوامل تحت کنترل قرار داشته باشند.

اساس کنترل کیفیت روش‌های آماری در آزمایشگاه‌های بالینی، بررسی دوره‌ای یک روش اندازه‌گیری در جهت تصدیق اجرای آن بر اساس مشخصات تعیین شده می‌باشد. برای این منظور معمولاً از نمونه کنترل کیفی (QC) و محاسبات آماری استفاده می‌شود. بر اساس منبع تهیه نمونه QC، روش‌های کنترل کیفیت به دو دسته

داخلی و خارجی تقسیم می‌شوند. کنترل کیفیت داخلی(IQC) برای پایش روزانه دقت و صحت روش اندازه‌گیری است. در حالی‌که روش‌های ارزیابی کنترل کیفیت خارجی (EQA) برای حفظ صحت طولانی مدت روش‌های آزمایش مهم می‌باشد. در عمل IQC و EQA مکمل یکدیگر می‌باشند.

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

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

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

اساس توجه به عوامل فوق در 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 شرکت‌کنندگان بعد از حذف بیرون افتاده‌ها می‌باشد که به آن میزان میانگین پیراسته یا میزان میانگین وزن‌دار 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 روش-های 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 دسته‌بندی کردن آزمایشگاه‌ها بر اساس روش آزمایش سبب رسیدن به میزان مشترکی می‌شود که برای آزمون آماری در هر گروه مناسب‌تر است.

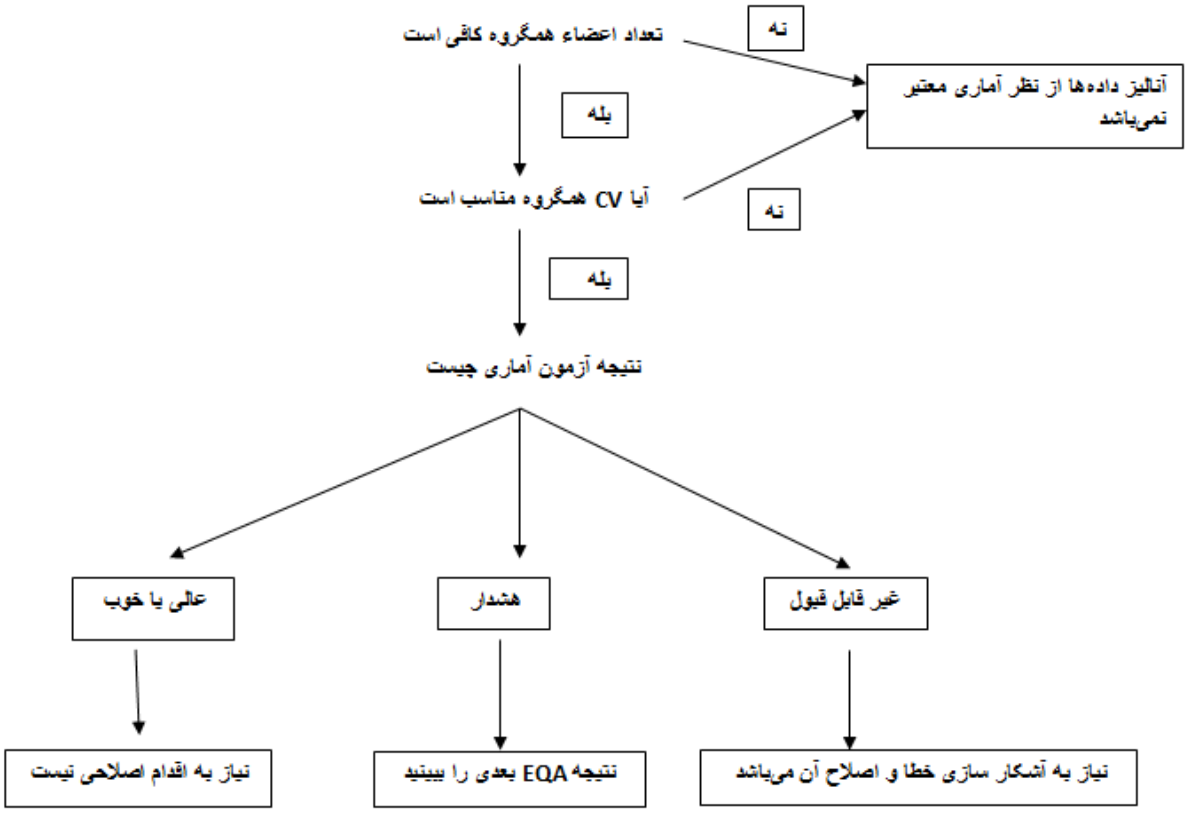
۲- تعیین دامنه قابل قبول

برای تعیین دامنه قابل قبول روش‌های مختلفی وجود دارد که هر کدام دارای محاسن و معایب خود می-باشند. ولی دو روشی که در کشور ما بیشتر استفاده می‌شود استفاده از VIS و DI می‌باشد. اساس هر دو روش یکسان می‌باشدو اختلاف این دو روش فقط انتخاب میزان SD می‌باشد که در مورد VIS از قبل تعیین شده است (بر اساس CCV% مورد استفاده) ولی در مورد DI بر اساس SD هم‌گروه می‌باشد. عدم انتخاب SD مناسب سبب می‌شود که سیستم کنترلی نتواند سیگنال را از نویز تشخیص دهد. استفاده از یک دامنه ثابت مثل X±۵mg/dl یا X±۱۰٪ 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 mean□۲,۵SD 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 mean□۲,۵SD 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<۵۰ نشاندهنده عملکرد عالی است.
- ۵۰<VIS≤۱۰۰ نشاندهنده عملکرد مطلوب است.
- ۱۰۰<VIS≤۱۵۰ نشاندهنده عملکرد قابل قبول است.
- ۱۵۰<VIS≤۲۰۰ نشاندهنده عملکرد هشدار دهنده است.
- ۲۰۰<VIS نشاندهنده عملکرد غیرقابل قبول است.

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

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

۱) در صورتی‌که نتیجه گزارش شده عضو خارج از محدوده X□۲,۵SD همگروه یا کل گروه باشد، در محاسبات منظور نشده و عبارت «≥□۲,۵SD» در مقابل VIS نوشته می‌شود.

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

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

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

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

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

منابع

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 بـرای همـه"، ترجمـه مهنـدس غلامرضا ملکزاده، مشهد، انتشارات جهان فردا .
۸. یزدانی، امیر علی و محبی، امیرحسن، (۱۳۸۴) " شش سیگما همگام بـا نرم افزارMINITAB ،" انتشارات ماهتاب .
۹. www.۶Sigma.com
۱۰. www.iie.ir
۱۱. www.isixsigma.com
۱۲. www.mafakheri.com/۶sigma.ppt
۱۳. www.sixsigma.ir
۱۴. www.andishehgostar.com
۱۵. www.isigma.com