



به نام خدا

عنوان دوره آموزشی

کنترل کیفی در بیوشیمی خون

بهار 1403



گروه هدف:

کارکنان رشته علوم آزمایشگاهی وزارت بهداشت و درمان در مقاطع مختلف:

فوق دیپلم

کارشناسان

کارشناسان ارشد

مدت ساعت دوره: ۱۰ ساعت

نوع آموزش (حضوری / غیر حضوری): غیر حضوری

اهداف آموزشی

آشنایی کارکنان و دست اندر کاران آزمایشگاه با اتوآنالایزرهای بیوشیمی خون

شناسایی انواع خطاهای آزمایشگاهی و چگونگی رفع آنها

انجام آزمایش ها به منظور دادن جواب آزمایش هرچه دقیق تر و صحیح تر بیماران

روش آزمون: الکترونیکی

صفحه	فهرست
۵	کیفیت
5	کنترل کیفیت
6	پیشینه کنترل کیفی
8	تضمین کیفیت
9	اهمیت کنترل کیفی در آزمایشگاه
10	معیارهای اطمینان دهنده علمی
12	اصول صحیح کنترل کیفی
۱۴	شش سیگما
17	کنترل کیفی قبل انجام آزمایش.
18	کنترل کیفی متغیرهای حین انجام آزمایش
28	خطای مجاز
31	کلیات نمودار کنترلی
34	تفسیر چارت کنترلی با قوانین چندگانه وستگارد
39	خلاصه ای از قوانین وستگارد به شکل نمودار
39	قوانین WHO
41	انواع خطا
44	آزمایشهای مضاعف در آزمایشگاه
45	دلتا چک با نتایج قبلی
45	Limit Checks
46	روش تهیه سرم کنترل

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 9000 ، کیفیت عبارت است از ویژگی ذاتی کالا یا خدمتی که با نیاز مشتری تطابق دارد.

کنترل کیفیت

کنترل کیفیت، هسته مرکزی مدیریت کیفیت و تضمین کیفیت است. این بحث فرآیندی است که در آن عملکرد یک اپراتور که مشغول تولید یک نتیجه آزمایش است را مانیتور و پایش می کند و سپس خطاهای عملیات فاز انجام آزمایش شناسایی می شود. کنترل کیفیت می بایست به صورت کاملاً تخصصی و 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. هر جا امکان خطا وجود دارد باید برنامه کنترل کیفی نیز وجود داشته باشد و برنامه های کنترل کیفی میزان بسیار کم خطا را قابل قبول 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 نمونه گیری، انتقال، انجام آزمایش و ارائه جواب باید تحت نظارت سیستم کنترل کیفی باشد.

پیشینه کنترل کیفی

اساس کنترل کیفی حدود 85 سال پیش در صنعت پایه گذاری شد چراکه مشاهدات نشان میدادند بعضی از محصولات کیفیت مناسب را ندارند. در سال 1931، شوارت - Shewarts با معرفی تستهای آماری و چارتهای مربوطه به کنترل کیفی جنبه علمی داد. در سال 1950، کنترل کیفی وارد آزمایشگاههای تشخیص طبی شد. با ارسال نمونه ها به آزمایشگاههای مختلف به همراه کنترل کیفی داخلی، Grannis در سال 1977 روند کنترل کیفی را دنبال کرد. امروزه کنترل کیفی توسعه و تکامل زیادی پیدا کرده، صرفا به معنای کنترل مراحل انجام آزمون نبوده، بلکه به معنای کنترل تمام مراحل، از مراجعه بیمار به آزمایشگاه تا دریافت جواب است.

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

۱. افزایش اعتماد و اعتقاد به پاسخ های گزارش شده

۲. افزایش دقت و صحت

۳. شناسایی مسائل و خطاهای ایجاد شده در روند آزمایش و روش های کاهش آن

۴. افزایش سرعت کار

۵. حل اختلافات و اشتباهات

۶. کاهش هزینه ها

۷. آرامش فکری کارکنان و مسئولان آزمایشگاه

۸. سرویس دهی با کیفیت مناسب به بیماران و پزشکان

9. 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 هزینه بر است	کیفیت باعث کاهش هزینه ها 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.

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 مراجعه کننده خود را از دست ندهید. به عبارت دیگر تضمین کیفیت احتمال بروز خطا را که موجب ایجاد ضرر برای آزمایشگاه و مراجعه کننده 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 نشان دهنده اهمیت کار آزمایشگاه در ارتباط با معالجه بیمار توسط پزشک است. کارکنان آزمایشگاه در کنار پزشکان در 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 مستحکم تری 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 برنامه های 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 تاکیددی 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.

معیارهای اطمینان دهنده علمی

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

- **دقت (Precision):** در واقع همان قابلیت تکرارپذیری (Repeatability) آزمایش است که قابلیت

تکرارپذیری هم عبارت است از دقت نتایج حاصله از چند اندازه گیری 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 ترجیحا 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 اندازه گیری یک ماده خاص

به میزان واقعی آن ماده است یا به بیان دیگر میزان توافق مقادیر اندازه گیری شده با مقادیر واقعی. البته

تعریف درست دیگری از صحت نیز عبارت است از : میزان نزدیک بودن میانگین نتایج پاسخهای بدست

آمده از اندازه گیری یک ماده به ارزش واقعی آن ماده. به طور کلی در انتخاب یک روش آزمایشگاهی باید هر دو عامل دقت و صحت در کنار هم وجود داشته باشند. در غیاب یکی از این دو عامل نتایج حاصل از آزمایشات چندان ارزشی نخواهد داشت. با کنترل کیفیت میتوان صحت و دقت نتایج گزارش شده را مورد ارزیابی قرار داده و مناسب بودن دستگاهها و وسایل مورد نیاز، مناسب بودن 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 کاملا اختصاصی برای از بین بردن اثرات تداخلی مشخص میشود. به توانایی یک روش آزمایشگاهی در عدم اندازه گیری 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 اندازه گیری و یا ردیابی یک ماده و یا عامل خاص تداخل ایجاد کنند. به صورت ایده آل 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 اندازه گیری 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 ایده آل حساسیت یک تست خوب باید 144 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

2- مواد مداخله گر مثل داروها

۳- متغیرهای پیش از انجام آزمایش (Preanalytic) مانند جمعآوری، انتقال، آماده سازی و نگهداری نمونه

ها

۴- متغیرهای حین انجام آزمایش (Analytic)

۵- متغیرهای پس از انجام آزمایش (Postanalytic)

تمامی این فعالیتها بایستی طوری انجام شود که سه بخش پیش از انجام آزمایش (Preanalytic) و

حین انجام آزمایش (Analytic) و پس از انجام آزمایش (Postanalytic) را شامل گردد.

بسیاری از مشکلات مهمی که در آزمایشگاهها رخ میدهد در بخش پیش از انجام آزمایش (Preanalytic) ایجاد میشود که مثالهایی از آن عبارتند از: درخواست آزمایش نامناسب، آماده نبودن بیمار برای انجام آزمایش (عدم رعایت رژیم غذایی خاص، فعالیت بدنی زیاد یا کم، مصرف داروها و ...)، رعایت نکردن دستورهای لازم برای آزمایش مانند مواردی که در مورد جمع آوری نمونه ادرار 20 ساعته یا آزمایش خون مخفی در مدفوع به بیمار توصیه میشود (نمونه گیری ناصحیح) ظرف یا نگهدارنده نامناسب، آلودگی در زمان نمونه گیری، بستن تورنیکه به مدت طولانی، اندازه سوزن، شرایط خوابیده و ایستاده و ...، برچسب گذاری غلط، آماده سازی و نگهداری نامناسب، سانتیفریوژ یا دمای نامناسب نگهداری،....

برای اینکه از بروز اینگونه خطاها جلوگیری نماییم بایستی دستورالعملهای پذیرش، نمونه گیری، 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 برگه های 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.

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.

شش سیگما چیست ؟

سیگما یکی از حروف الفبای یونانی است که در آمار ریاضی برای تعریف انحراف معیارمتوسط 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 (مثلا میانگین) خود منحرف شده است.

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

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

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

کلمه “سیگما” یک نشانه یونانی است که برای یک اصطلاح آماری مورد استفاده قرار می‌گیرد و به ما نشان می‌دهد که یک فرایند معین تا چه اندازه از کمال (انحراف معیارها) فاصله دارد. هرچه عدد سیگما بیشتر باشد، ما به کمال نزدیکتر هستیم. یک سیگما، خیلی خوب نیست؛ اما در شش سیگما فقط ۳,۴ نقص در هر میلیون تعریف شده است. ایده اصلی شش سیگما این است که اگر بتوانید تعداد “نقص‌های یک فرآیند را اندازه‌گیری کنید، به طور نظام‌مند می‌توانید بفهمید که چگونه آنها را برطرف کنید. بنابراین تقریباً می‌توانید به “نقص صفر” برسید.

سیگما	% خوب	% نقص‌ها	DPMO
۱	۳۰,۹٪	۶۹,۱٪	۶۹۱,۴۶۲
۲	۶۹,۱٪	۳۰,۹٪	۳۰۸,۵۳۸
۳	۹۳,۳٪	۶,۷٪	۶۶,۸۰۷
۴	۹۹,۳۸٪	۰,۶۲٪	۶,۲۱۰
۵	۹۹,۹۷۷٪	۰,۰۲۳٪	۲۳۳
۶	۹۹,۹۹۹۷٪	۰,۰۰۰۳۴٪	۳,۴

اهداف شش سیگما

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

کنترل متغیرها در بخش مرحله انجام آزمایش

کنترل کیفی قبل از انجام آزمایش

شامل مواردی همچون ناشتا بودن، نمونه گیری، همولیز، ایکتریک و لیپمیک، زمان جداسازی نمونه، داروها، تغییرات شبانه روزی، فعالیت شدید بدنی و استرس و زمان آزمایش بعد از جداسازی سرم و نگهداری مطالبی است که باید بدان توجه زیادی اعمال گردد که خارج از حوصله این مطالب خواهد بود.

کنترل کیفی متغیرهای حین انجام آزمایش

۱- کیت های بیوشیمی:

در ابتدا قبل از نصب هر کیت بر روی اتوانالایزر باید به موارد دیگری توجه داشت:

پارامترها: مشخصات و اطلاعات هر کیت بیوشیمی با توجه طول موج، حجم محلول ها و یا حجم نمونه و نسبت بین آنها، محدوده طبیعی تست ها، واحد اندازه گیری، زمان، نوع واکنش، روش محاسبات و زمان انکوباسیون و زمان قرائت را باید در نرم افزار دستگاه اتوانالایزر پیاده سازی نمود.

موضوعات مهم:

- ✓ موضوع مهم تاریخ مصرف کیت های بیوشیمی است و باید همیشه به تاریخ روی ظرف محلولها توجه شود
- کیت های یخچالی باید در حرارت ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شده و زنجیره سرد رعایت شده باشد.
- ✓ معرف ها در روی دستگاه که دارای سیستم cold plate بوده در ظرف های پلاستیکی ۱۰ تا ۱۰۰ میلی لیتر نگهداری می گردد.
- ✓ تعداد محلول های یک کیت با توجه به روش های آزمایش از یک تا دو محلول می باشد که در هنگام آماده سازی یا مخلوط کردن دو محلول برداشت حجم ها با دقت صورت گیرد و همچنین دوام معرف ها مخلوط شده کم بوده و باید با توجه به نیاز تهیه شود در هنگام انتقال معرف ها به ظرف های اتوانالایزر ظرف مربوط برای همان کیت و کمپانی سازنده باشد و باید دقت شود حباب هوا و کف روی سطح محلول ایجاد نشود.
- ✓ از کیت های که تغییرات رنگ غیر طبیعی آنها بوجود آمده حدالمقدور استفاده نگردد. متاسفانه در برخی مواقع یک کیت تازه هم از کارایی مطلوبی برخوردار نیست. ظرف های محلول دستگاه هر ماه کاملاً با آب

مقطر چند بار شستشو داده و با ریجنت حجم کم تمیز شود و در مورد کیت های اندازه گیری یونها کلسیم ، فسفر، آهن، منیزیم و کلر محلولهای مخلوط شده بهتر است محلول باقیمانده که حجم کم دارد دور ریخته شود.

۲ – استانداردها (کالیبراتور و کنترل ها)

کالیبراتور: محلول استاندارد حاوی غلظت مشخصی از یک ماده خالص که در حلال آب مقطر خالص بر پایه سرمی است که دستگاه اتوآنالایزر کالیبر خواهد نمود و با استفاده از جذب نوری کالیبراتور در واکنش با ریجنت ها دستگاه برای هر کیت فاکتور جداگانه بدست می آورد.

❖ نکته مهم: از کالیبراتورهای تجاری معتبر و با دقت آماده سازی بالا طبق دستورالعمل کمپانی بکار گرفته شود.

سرم کنترل: جهت ارزیابی میزان اطمینان به یک روش و تعیین میزان صحت و دقت آن از سرم کنترل استفاده می شود. در واقع برای کنترل عملی آزمایشات استفاده از سرم کنترلی اجباری است. از آنجایی که سرم کنترل را مانند نمونه های بیماران مورد آزمایش قرار می دهند، بنابراین هر نوع اختلالی که در تجهیزات و معرفها و افراد آزمایش کننده وجود داشته باشد، روی نتایج بدست آمده از سرم کنترل نیز اعمال می شود. با رسم روزانه این تغییرات، کل سیستم در عرض مدت زمانی مشخصی (مثال یک ماه) کنترل می شود. در هنگام استاندارد کردن اتوآنالایزر ها باید با استفاده از سرم کنترل نرمال به همراه سرم کنترل High یا Low همزمان از کالیبراسیون دستگاه اطمینان حاصل کرد همچنین به منظور کنترل کیفی صحت نتایج روزانه با مقادیر مورد انتظار با معیارهای عملی تا محدوده $1 SD$ استفاده کرد.

▪ تفاوت کالیبراتور و کنترل: کالیبراتور یک ویال لیوفریزه ای که دارای غلظت مشخصی بوده و برای راه اندازی و کالیبر تست بکار می رود ولی کنترل دارای محدوده مشخصی بوده و برای کنترل محلول و دستگاه بکار می

رود. هرگز از سرم کنترل به جای کالیبراتور و یا برعکس به منظور استاندارد نمودن دستگاه استفاده نکنید چون هر کدام دارای تعریف ویژه و برای اهداف خاصی طراحی شده اند. کالیبراتور حتماً تازه تهیه گردد و هیچگاه برای کالیبره کردن اتوآنالایزر از کالیبراتور فریز شده استفاده نشود و همچنین سعی شود از کنترل و کالیبراتور پیشنهادی توسط کمپانی سازنده همان کیت برای کنترل کیفی صحت نتایج بکار گرفته شود. کالیبراتور ها و سرم کنترل های با منشاء غیر انسانی دقیق نیستند.

۳- کنترل کیفی دقت : کنترل کیفی دقت شامل کنترل Within Run Precision و کنترل between Run Precision است که با یک سرم کنترل معتبر تکرار پذیری دستگاه با اندازه گیری یک تست را ده بار بر روی یک نمونه مشخص اجرا کرد و میانگین انحراف معیار و درصد آن (Mean ,SD,CV%) تعیین گردد. قابل قبول برای $Within\ Run < 2.5$ و $Between\ Run < 5$ می باشد.

۴- کنترل کیفی صحت : بکار بردن روش های استاندارد برای اعتماد یا اطمینان به نتایج و نزدیک بودن ارزش بدست آمده به ارزش واقعی است که این کنترل شامل سه مرحله است.

الف - خطی بودن : Lincarity: روش اجرا استفاده از یک سرم کنترل معتبر بالا High با رقت های متناسب ۱/۲ ، ۱/۴ ، ۱/۸ ، ۱/۱۶ تهیه می کنیم و تست مربوطه را روی آنها انجام می دهیم و از نتایج بدست آمده منحنی کالیبراسیون را رسم می نمائیم این عدد مقدار قابل اندازه گیری یک تست را توسط یک معرف را در محدوده خطی بیان می کند حداکثر عدم خطی بودن در هر غلظت ۲٪ ± است.

ب - تست بازیابی (Recovery test): برای انجام آن از دو سرم کنترل Low و High را به نسبت مساوی با سمپلر دقیق ترکیب می کنیم و غلظت آن را قرائت می نمائیم به عنوان مثال X_1 مقدار سرم کنترل Low ۹۰ باشد و X_2 مقدار سرم کنترل High ۲۳۰ باشد انتظار این است که مقدار ترکیب آن ها $X = (X_1 + X_2) / 2 = 165$

یعنی غلظت میانگین قرائت شود اما در عمل ۱۶۰ قرائت شده است که bias محاسبه شده برای این مثال ۳٪ بوده که غیرقابل قبول است . حداکثر Bias مجاز ۲٪ \pm است.

میزان Recovery مجاز باید بالاتر از ۹۸٪ باشد.

ج- تعیین bias : روش اجرا با استفاده از سرم کنترل معتبر یک تست را ۵ بار انجام می دهیم سپس میانگین جوابهای بدست آمده را تعیین می کنیم و در رابطه زیر قرار می دهیم.

$\times 100$ (مقدار مورد انتظار / مقدار مورد مشاهده - مقدار مورد انتظار : Bias

۵- کنترل و کالیبراسیون قسمت های سخت افزاری دستگاه اتوآنالایزر ها :

اجزای تشکیل دهنده اتوآنالایزر عبارت اند از سیستم فتومتر، بردها و مدارت الکترونیکی، موتورها، پمپ ها، سرنگ ها، پروب ها، سیستم های انتقال نیرو، لامپ ها و قسمت های دتکتور و کنترل دما و سیستم های هیدرولیکی و شیلنگ های سیلیکونی را می توان نام برد و درباره هر کدام جداگانه مورد بررسی قرار داد.

ارزیابی سیستم های مکانیکی دستگاه اتوآنالایزر

- بررسی هیدرولیک دستگاه :

برای بررسی این سیستم از یک تستی که بیشترین حجم معرف و کمترین حجم نمونه را داشته باشد استفاده می کنیم مانند تست آلبومین یا پروتئین توتال .چند بار ۱۰ الی ۱۵ بار تست را با دستگاه خوانده و پراکندگی نتایج را با استفاده از محاسبه ضریب تغییرات بدست می آوریم در حالت قابل قبول باید مقدار ضریب تغییرات کمتر از ۳٪ باشد.

- ارزیابی سیستم هیدرولیک :

تست آلبومین برای ارزیابی دقت دستگاه فقط در مقادیر پائین نمونه (۲ و ۵ میکرولیتر) خوب است ولی اطلاعاتی در مقادیر بالا ۱۵ میکرولیتر و بالاتر به شما نمی دهد (مثال بالا) آزمون آلبومین ممکن است نرمال باشد ولی خطا در مقادیر بالا وجود دارد.

- ارزیابی سیستم مخلوط کردن یا میکسینگ:

از یک تست با حجم نهایی بالا استفاده می شود که روتین ترین تست موجود در اکثر آزمایشگاهها تست کراتینین است . برای این ارزیابی یک نمونه انتخاب کنید و چندین بار (حداقل ۱۰ بار) اندازه گیری کنید و مقدار ضریب تغییرات سنجش ها را محاسبه کنید که باید کمتر از مقدار ضریب تغییرات مجاز باشند.

- ارزیابی دمای محفظه واکنش:

کنترل حرارت محفظه واکنش که تاثیر بسیار زیادی در جلوگیری از خطا دارد. تستی را که به حرارت حساس است مانند آنزیم ها بخصوص آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز انتخاب کرده و ۱۰ الی ۱۵ بار با دستگاه قرائت کرده و مقدار ضریب تغییرات محاسبه می شود که باید کمتر از ۰.۵٪ باشد در غیر اینصورت دمای محفظه واکنش پایدار نیست در برخی مراجع مقدار را کمتر از ۰.۷٪ میدانند .

۶- کنترل کیفی **Carry Over** : شامل موارد زیر می باشد .

✓ **Sample Carry Over**: (انتقال ناخواسته نمونه):

✓ انتقال ناخواسته یعنی اثر یک نمونه یا انتقال یک نمونه به روی نمونه بعدی، در عمل از آنجایی که قرائت نمونه ها در یک مسیر و بصورت متوالی انجام می گیرد ممکن است موجب بروز تداخلاتی در نمونه های پشت سرهم گردد.

روش اجرا: راه های متعددی وجود دارد ولی ساده ترین راه این است که کاپهایی سرم کنترل با غلظت بالا را به صورت یک درمیان با آب مقطر قرار داده و سپس تست اجرا شود، هرگونه افزایش جواب برای کاپه های آب مقطر به دلیل انتقال ناخواسته بوده و درصد آن را میتوان حساب نمود. که هر اختلاف بین خوانش های لوله اول و سوم نشانه انتقال ناخواسته نمونه است.

روش دوم: این است که نمونه با غلظت بالا را در جایگاه های ۱ و ۲ و ۳ قرارداده (H1, H2, H3) و در جایگاه های چهارم تا ششم نمونه با غلظت پائین را قرار دهید (L3, L2, L1) پس از سنجش با استفاده از فرمول انتقال ناخواسته مقدار آن محاسبه می شود که باید کمتر از ۱٪ باشد.

تفسیر **Sample Carry-Over**: باید کمتر از ۱٪ باشد. انتقال ناخواسته را باید تا حد امکان پائین نگه داشت. در صورت انجام صحیح پروسه، وجود انتقال ناخواسته در دستگاه نشانگر عدم شستشوی کافی، باقیمانده نمونه قبل بوده و ممکن است به دلیل جرم گرفتگی داخل پروب ایجاد شده باشد و یا اینکه مدت زمان و فشار کافی (به دلیل صاف شدن فشار هیدرولیک شستشو) باشد.

بنابراین اگر سوزن نمونه معیوب نباشد باید توسط شرکت پشتیبان مدت زمان شستشوی سوزن نمونه برداری افزایش یابد و یا اینکه فشار لازم برای شستشو توسط بخش هیدرولیک تامین شود. امروزه در دستگاههای اتوآنالایزر جدید با افزایش شستشوی بیش از ۶ مرحله کووت ها و خشک کردن آن و استفاده از جنس های مرغوب پروب ها و مواد پوشاننده سطح داخل و خارجی آنها و افزایش تعداد پروب ها تا ۳ عدد یک عدد نمونه و دو عدد ریجنت و حذف حباب هوا و همچنین به کمک روشهای نوین نرم افزاری و تکنولوژی جدید بخوبی موارد **Carry over** حذف یا قابل بررسی و پیگیری است.

✓ Reagent Carry Over:

✓ برای این منظور با توجه به نوع تولید کیت های افزایش دهنده و کاهش دهنده جذب نوری می توانید از دو تست کراتین کیناز (CK) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) یا (SGPT) استفاده نمائید.

روش کار: در مرحله اول سه بار متوالی کراتین کیناز اندازه گیری می شود و به دنبال آن یک بار مقدار آلانین آمینو ترانسفراز همان نمونه اندازه گیری می شود که این پرپود ده بار اتفاق می افتد در نهایت ۳۰ بار کراتین

کیناز اندازه گیری شده که در میان هر سه اندازه گیری کراتین کینازیک بار آلانین آمینو ترانسفراز قرار گرفته است.

در مرحله دوم همین نمونه ۳۰ بار متوالی فقط کراتین کیناز اندازه گیری می شود.

تفسیر: برای ارزیابی مقدار انتقال ناخواسته معرف از مقادیر فقط کراتین کیناز در هر دو سری جداگانه ضریب تغییرات محاسبه می شود و اگر مقدار ضریب تغییرات در حالت اول بیشتر از مقدار ضریب تغییرات حالت دوم (اندازه گیری کراتین کیناز به تنهایی) باشد انتقال محلول وجود دارد.

در روش دیگر مقدار واریانس دو نمونه را محاسبه کرده و مقدار F را محاسبه می نمایند اگر مقدار F از مقدار F Critical یا بحرانی کمتر باشد مقدار انتقال نمونه ناچیز بوده و قابل قبول است در غیر اینصورت انتقال نمونه باید بررسی شود.

✓ Independent Carry Over: (آزمون انتقال ناخواسته غیر وابسته) یکی از آزمون هایی است که به دو منظور استفاده می شود و شاید یکی از آزمون هایی است که خیلی شناخته شده نیست.

- مهمترین استفاده این آزمون تشخیص ترتیب چینش تست ها به دنبال هم در سینی اتوانالایزر کاربرد دارد هرچند برخی شرکت های تولید کننده دستگاه های اتوانالایزر در کتابچه آموزشی جایگاه ها را برای تعریف تست های مختلف مشخص می کنند ولی اکثریت اتوانالایزر ها این ترتیب را یا مشخص نمی کنند و یا اگر مشخص کرده اند شرکت های نصب مورد توجه جدی قرار نمی دهند. اگر چینش تست ها به صورت صحیح انجام نشود محلول های برخی تست ها بر روی واکنش تست های دیگر اثر نامطلوب دارند. و تست ها بسیار جواب های نامتعارف خواهند داشت.

- بهترین آزمون برای بررسی شستشوی صحیح کووت ها است که اگر شستشوی کووت ها به طور صحیح و درست انجام نشود به راحتی با انجام این آزمون می توان تشخیص دارد. مثال در نرم افزار برای انجام این آزمون از دو تست مانند تری گلیسرید و آلبومین استفاده می شود. بدین صورت که ۱۴ لوله برای اندازه گیری یک نمونه تری

گلیسرید (از جایگاه A_1 تا A_5 و A_{10} تا A_{14} و ۴ لوله از نمونه مورد نظر برای اندازه گیری آلبومین (جایگاه) B_1 و B_2, B_3, B_4 به شکل و ترتیب فوق در اتوآنالایزر چیده می شود. پس از اندازه گیری و محاسبات لازم SD نمونه های A_1 تا A_5 و A_{10} تا A_{14} محاسبه می شود که مقادیر هر کدام از نمونه های A_6 تا A_9 مقدار تری گلیسرید نباید بیشتر از میانگین نمونه ای A_1 تا A_5 و A_{10} تا A_{14} بعلاوه منهای SD ۲ باشد. اگر این مقدار بیشتر از مقدار ذکر شده باشد $carry over$ اتفاق افتاده است و در چیدمان تست ها برای دستگاه از پشت سر هم گذاشتن این تست ها باید خودداری کرد و همینطور ممکن است شستشوی ناکافی بوده و یا همزن دستگاه باعث آلودگی تست ها می شود. در کنترل کیفیت آماری، نمونه کنترلی (بعنوان نماینده یک گروه از نمونه های بیماران) مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج آن با مقدار مورد انتظار که اغلب بصورت یک محدوده تعریف شده، مقایسه می گردد. اگر نتیجه آزمایش نمونه کنترلی، در محدوده مورد انتظار قرار بگیرد، پاسخهای آزمایش بیماران نیز قابل قبول شناخته می شوند و برعکس اگر خارج از محدوده مورد انتظار قرائت شود، احتمال وجود خطا در سیستم آزمایش مطرح شده و طبیعتاً پاسخهای بیماران نیز غیرقابل قبول شناخته میشوند.

انتخاب مواد کنترلی :

در انتخاب مواد کنترلی موارد زیر باید مورد توجه قرار گیرند:

۱. پایداری :

کنترل می بایست برای مدت طولانی پایدار و در عین حال فاقد مواد نگهدارنده مداخله گر باشد. در این حالت مصرف کننده این امکان را دارد که مواد کنترلی مورد نیاز خود را برای مدت مشخص، یکجا تهیه نماید. (بهتر است کنترلها برای مصرف یکسال، خریداری شوند.

۲. مشابهت با نمونه انسانی مورد آزمایش:

بهتر است کنترل با توجه به نمونه انسانی مورد آزمایش انتخاب گردد. بعنوان مثال کنترل‌های با پایه سرم، ادرار، خون، CSF و.... کنترل‌های با پایه انسانی ارجح می باشند ولی به علت احتمال آلودگی با عوامل بیماریزا بعضا کنترل‌های با پایه سرم گاوی نیز مورد استفاده قرار میگیرند.

۳. یکنواختی:

ویالهای مختلف کنترل باید هموزن و یکنواخت بوده و غلظت آنالیت‌های موجود در آنها یکسان باشد.

۴. عدم وجود اثرات زمینه ای: (effect Matrix)

برای انتخاب سرم کنترل باید همخوانی آن با معرف‌های مورد استفاده در نظر گرفته شده واز عدم وجود اثرات زمینه ای اطمینان حاصل گردد.

۵. بسته بندی مناسب:

ویال بدون نشتی بوده و به حجم رساندن و نگهداری کنترل به سهولت انجام شود.

۶. قیمت ارزان و تعداد زیاد مصرف کنندگان

۷. عاری از عوامل بیماریزا : مثل باکتری ، قارچ، ویروس و پریون

هر دو نوع کنترل‌های لیوفیلیزه یا کنترل‌های مایع قابل استفاده می باشند اما در زمان انتخاب باید مزایا و معایب هر یک در نظر گرفته شود. بعنوان مثال خطا در به حجم رساندن کنترل‌های لیوفیلیزه ممکن است منجر به بروز مشکلاتی شود در حالی که کنترل‌های مایع، آماده مصرف هستند. در عین حال مواد موجود در کنترل‌های مایع ممکن است در برخی روشها تداخل نموده و باعث خطا شوند. برای کنترل داخلی کیفیت، بهتر است حتی امکان دو غلظت مختلف از کنترل استفاده شود. انتخاب غلظت‌های نزدیک به محدوده تصمیم گیری بالینی (level Decision) ارجح می باشد. مانند غلظت ۱۲۶ و ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر برای

گلوکز. برخی پیشنهاد می نمایند غلظت کنترلها طوری انتخاب شوند که محدوده گزارش دهی روش آزمایشگاهی (range Reportable) را پوشش دهند. بعنوان مثال اگر بنا بر ادعای سازنده، محدوده گزارش دهی کیت اندازه گیری گلوکز، ۳۰ تا ۴۰۰ میلی گرم در دسی لیتر است، می توان کنترلهایی با غلظت تقریبی ۴۰ و ۳۸۰ میلیگرم در دسی لیتر را انتخاب نمود. مواد کنترلی به دو شکل دارای مقادیر مشخص (assayed) و فاقد مقادیر مشخص (unassayed) موجود و هر دو نوع آنها برای بررسی دقت (precision) قابل استفاده می باشند.

نکته ۱: مواد کنترلی نمی توانند بعنوان جایگزین کالیبراتور استفاده شوند. کالیبراتورمادهای است که برای کالیبراسیون روش آزمایشگاهی بکار می رود و دارای مقدار مشخص است درحالی که ماده کنترلی برای کنترل کیفیت روش آزمایشگاهی بکار می رود و اغلب دارای محدوده غلظتی میباشد.

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

نکته ۳: به حجم رساندن مواد کنترلی لیوفیلیزه می بایست با وسایل حجمی مناسب و طبق دستور سازنده صورت پذیرد.

خطای مجاز

اولین قدم در اجرای فرآیند کنترل داخلی کیفیت در بخش آنالیتیک، تعیین خطای مجاز می باشد. علیرغم تمامی تلاشها، وجود خطا در آزمایشگاهها حتی در بهترین شرایط اجتناب ناپذیرمی باشد. بطوری که حتی 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 بنظر می رسد. پس مسئول آزمایشگاه می بایست 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 (برحسب % CV یا SD) و عدم صحت (برحسب Bias) و یا مجموعاً خطای کلی مجاز خود را مشخص نماید. بعنوان مثال اگر عدم دقت مجاز بر ای کلسترول و بر حسب % CV معادل ۲٪ در نظر گرفته شود، میزان پراکندگی نتایج برای غلظت 200dL/mg به شکل زیر محاسبه می گردد.

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

از محاسبات بالا نتیجه میگیریم، به احتمال ۹۵٪ اگر کلسترول یک نمونه با غلظت واقعی 200 dL/mg چند بار اندازه گیری شود، نتایج در محدوده 200 dL/mg ± 8 یعنی mean ± 2SD قرار خواهد گرفت. خطای مجاز باید واقع بینانه و بر اساس شرایط آزمایشگاه، بصورتی انتخاب شود که بتواند میزانی از خطا، که تصمیم گیری بالینی را متاثر میسازد، شناسایی نماید. در عین حال آن قدر کوچک نباشد که باعث رد کاذب مکرر نتایج گردد. بعنوان مثال اگر آزمایشگاهی میزان % CV مجاز خود را برای اندازه گیری گلوکز ۸٪ تعریف نماید و نمونه های با غلظت واقعی 126dL/mg داشته باشد، در ۹۵٪ موارد احتمال دارد نتایجی در محدوده 106-146 dL/mg ارائه دهد که این طیف غلظتی وسیع، مشخصاً باعث اشتباه در تصمیم گیری پزشک خواهد شد. اگر این آزمایشگاه میزان % CV مجاز خود را به ۱٪ تغییر دهد در غلظت 126 dL/mg نتایجی بین 123-129 dL/mg خواهد داشت که اگرچه برای پزشک مطلوب است، ولی باعث می شود سری های کاری مکرر و بطور کاذب مردود (rejection False) شناخته شوند. این امر خود منجر به افزایش دفعات تکرار آزمایش، صرف هزینه و خستگی کارکنان می گردد. روشها و فرضیه های مختلفی که برای تعیین مقادیر خطای مجاز استفاده گردیده ذیلاً به طور مختصر معرفی شده است.

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

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

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

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

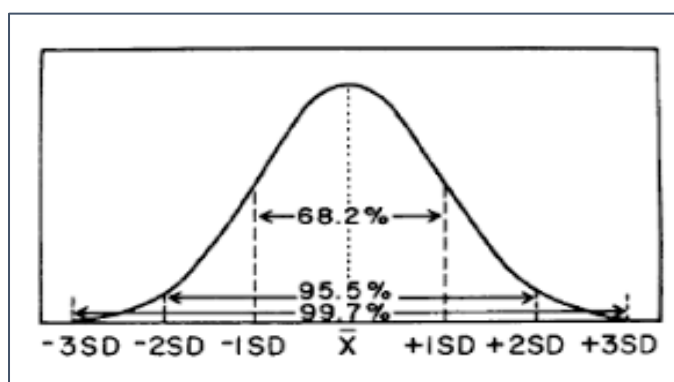
۳. شرایط موجود: در این روش از نتایج آزمون مهارت (testing Proficiency) و مقادیر عدم دقت و عدم صحت متدهای موجود برای تعیین خطای مجاز استفاده می شود. در قوانین CLIA با این روش مقادیر خطای مجاز برای حدود ۸۰ کمیت تعیین شده است.

۴. نظریه افراد و گروههای کارشناس: در مورد برخی پارامترها، گروههای کارشناس مقادیر CV و Bias مجاز را تعیین نمودند.

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

کلیات نمودار کنترلی :

رایجترین روش برای مقایسه نتایج آزمایش نمونه های کنترل با مقدار مورد انتظار، استفاده از نمودار کنترلی است. در نمودار کنترلی، غلظت حاصله از آزمایش سرم کنترل، روی نموداری با محدوده مشخص، علامتگذاری و بصورت گرافیکی و ساده نمایش داده می شود. اگر نتایج درون محدوده مشخص شده قرار گیرد، شرایط تحت کنترل و عملکرد سیستم مناسب تشخیص داده می شود. مشاهده نتایج خارج از محدوده نشانگر بروز مشکل بوده و لزوم بررسی عملکرد سیستم را مطرح می سازد. برای بدست آوردن محدوده نمودار، نمونه کنترلی به دفعات با استفاده از روش مورد استفاده آزمایشگاه، آزمایش و سپس میانگین و انحراف معیار نتایج حاصله، محاسبه میگردد. همانطور که در شکل مشاهده می شود، بطور معمول در صورتی که نمونه ای مکررا آزمایش شود انتظار می رود نتایج حاصله، از توزیعی نرمال (توزیع گوسین) برخوردار باشند. در یک توزیع نرمال ۹۵٪ خواننده ها در محدوده $\pm 2SD$ و ۹۹/۷٪ خواننده ها در محدوده $\pm 3SD$ قرار می گیرند. پس احتمال این که خواننده ای بطور اتفاقی خارج از محدوده $\pm 2SD$ قرار گیرد حدود ۵٪ به عبارتی (۱ نتیجه بین ۲۰ خواننده) و در مورد محدوده $\pm 3SD$ تمی باشد



منحنی توزیع نرمال

برای اینکه نمودار کنترلی مقدار و محدوده مناسبی داشته باشد می بایست تاثیر نتایج پرت (Outliers) را به حداقل رساند. زیرا وجود حتی یک خواننده پرت می تواند میانگین را جابجا نموده و محدوده چارت را بسیار وسیع نماید.

اجرای گام به گام کنترل داخلی کیفیت

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

۲. نمونه های کنترلی مناسب را حتی امکان در دوغلظت انتخاب کنید.

۳. نمونه های کنترلی را به یکی از راههای زیر، ۲۰ بار آزمایش نمائید تا ۲۰ خوانده بدست آید:

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

ب: روش دیگر، انجام آزمایش بصورت دوتایی در ۱۰ روز کاری است.

پ: در صورت عدم امکان اجرای روشهای فوق می توان در ۵ روز کاری، نمونه کنترلی را ۴ بار در هر روز آزمایش نمود.

طولانی شدن این مرحله و آزمایش نمونه کنترلی در روزهای کاری مختلف، باعث می شود با تاثیر متغیرهایی که بطور معمول در آزمایشگاه وجود دارند، نتایج واقعی تری بدست آید. هر چه این مرحله کوتاهتر شود تاثیر متغیرها کمتر شده و نتایجی نزدیک به هم حاصل می گردند. بدیهی است در این شرایط محدوده چارت بسیار کوچک و غیر واقعی شده و طبیعتا در مراحل بعدی موارد رد کاذب نتایج rejection False افزایش می یابد.

۴. میانگین، انحراف معیار و ضریب انحراف را براساس فرمولهای زیر محاسبه نمائید

$$mean = \frac{\sum x_i}{n}$$

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

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

CV : ضریب انحراف (Coefficient of variation)

SD : انحراف معیار

mean : میانگین

n : تعداد خوانده‌ها

x_i : هر تک خوانده

انحراف معیار با استفاده از ماشین حساب یا برنامه های نرم افزاری یا به روش دستی قابل محاسبه است.

۵. قابلیت تکرارپذیری SD یا CV% بدست آمده را با عدم دقت مجازی که قبلا تعیین نموده اید، مقایسه نمایید. اگر نتایج در محدوده خطای مجاز قرار داشت، کار را طبق بند ۶ ادامه دهید. در غیراین صورت عوامل ایجاد خطا را جستجو و پس از رفع مشکل، مجددا مراحل ۱ تا ۴ را اجرا نمایید. در صورتیکه علیرغم بررسی متغیرها ، مشکل رفع نشده باشد با تولیدکننده فرآورده یا دستگاه تماس بگیرید.

۶. برای هر غلظت از نمونه کنترلی، با استفاده از میانگین و انحراف معیار، چارت کنترلی را مانند شکل زیر ترسیم نمایید

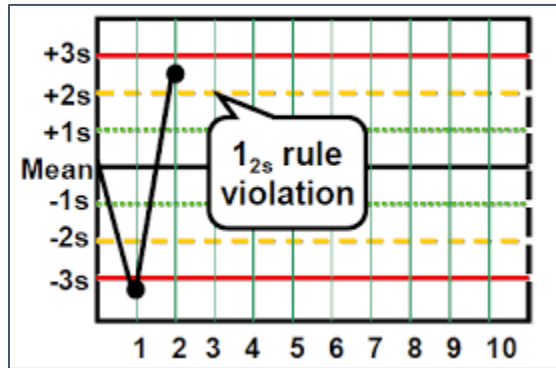


تفسیر چارت کنترلی با قوانین چندگانه وستگارد

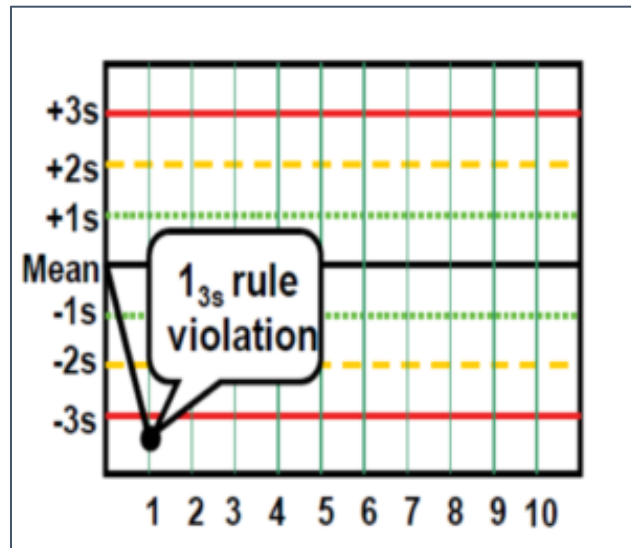
به منظور احتمال تشخیص خطا و کاهش دادن موارد رد کاذب نتایج، قوانین چندگانه توسط وستگارد و همکارانش مطرح گردید. این قوانین طوری طراحی شده است که ضمن حساس بودن به خطاهای تصادفی و سیستماتیک، میزان رد کاذب نتایج را به کمتر از ۰/۱٪ می‌رساند. برای اینکه از این قوانین استفاده نماییم بایستی نمونه کنترلی را ۲۰ بار آزمایش نموده و میانگین و انحراف معیار را محاسبه کنیم (بر طبق مراحل 1 تا 8 اجرای کنترل داخلی کیفیت) سپس در هر سری کاری نمونه های کنترلی را آزمایش نمایید. تا زمانی که کنترلها در محدوده $\pm mean$ قرار دارند، نتایج بیماران قابل گزارش می باشد ولی به محض اینکه یکی از کنترلها از محدوده $\pm mean$ خارج گردید، کار را متوقف نموده و نتایج کنترلها را از نظر وجود یکی از این قوانین مورد بررسی قرار

دهید

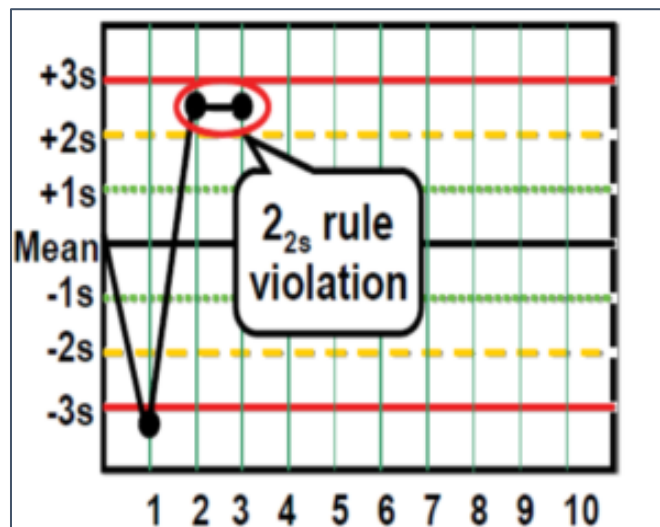
قانون 1 2s: این قانون با چارت لووی و جینینگ به کار می‌رود، به قانون هشدار معروف است و زمانی استفاده می‌شود که یک کنترل خارج از محدوده $\pm 2s$ قرار بگیرد. عموماً حدود 4.5٪ از نتایج کنترل در محدوده بین $2s$ و $\pm 3s$ قرار می‌گیرند. این قانون صرفاً فقط هشدار می‌دهد که در سیستم آزمایش ممکن است خطای سیستماتیک یا خطای راندوم وجود داشته باشد، در این حالت بایستی رابطه بین این نتیجه کنترل را با نتایج کنترل قبلی و حال حاضر مقایسه کرده و چنان چه رابطه‌ای یافت نشد و یا علل شناسایی نشد چنین نتیجه‌گیری می‌شود که یک خطای راندوم بوده و نتایج بیماران قابل گزارش است.



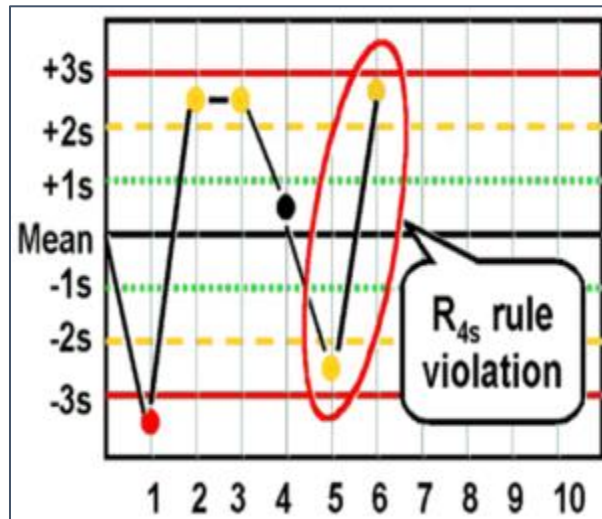
قانون 1_{3s}: این قانون با چارت لووی جینینگ به کار می‌رود و نشان می‌دهد که اگر یک کنترل خارج از محدوده $\pm 3s$ قرار گرفته باشد باعث رد نتایج شده و نشان‌دهنده خطای رانوم و یا شروع خطای سیستماتیک است.



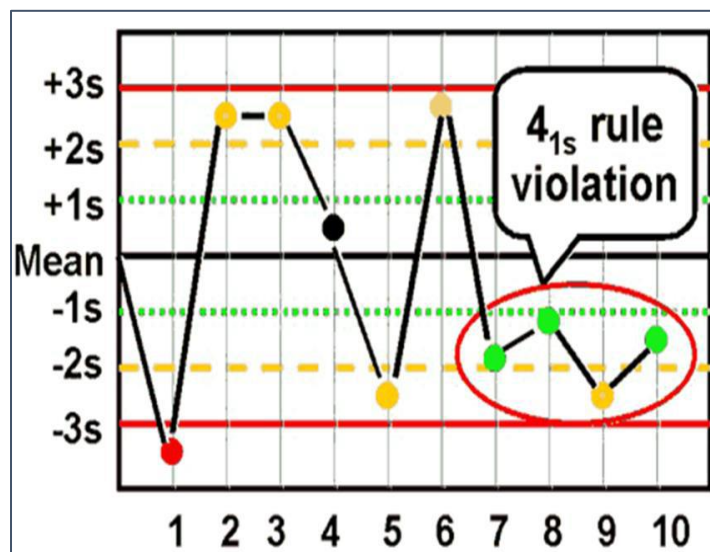
قانون 2_{2s}: این قانون نشان‌دهنده خطای سیستماتیک است و زمانی باعث رد نتایج می‌شود که اولاً دو نتیجه از نمونه کنترل به صورت متوالی بزرگ‌تر از $\pm 2s$ باشند و ثانیاً این دو نتیجه نمونه کنترل در یک سمت میانگین قرار بگیرند



قانون R_{4s} : این قانون نشان‌دهنده خطای راندام بوده و زمانی استفاده می‌شود که در یک سری کاری اختلاف بین دو نتیجه کنترل حداقل $4s$ باشد، به عنوان مثال نتیجه نمونه کنترل نرمال در محدوده $+2s$ و نتیجه نمونه کنترل غیرنرمال در محدوده $-2s$ قرار گرفته باشد.

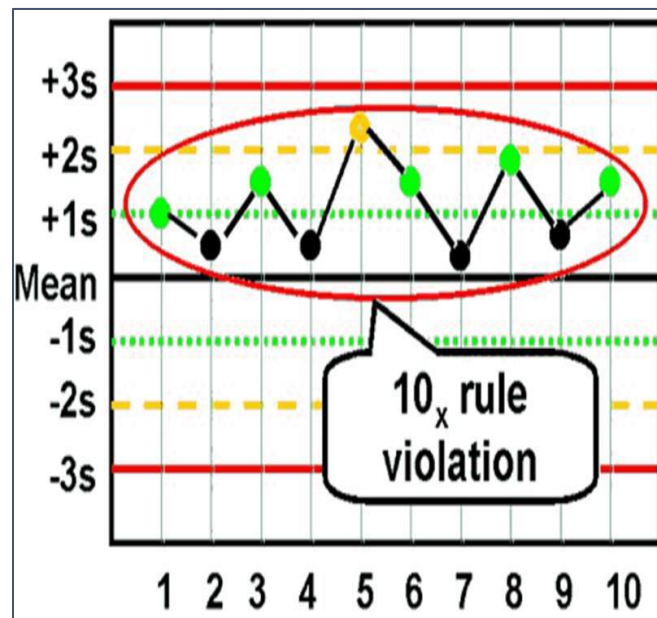


قانون 4_{1s} : وقتی نتایج نمونه کنترل چهار بار به صورت متوالی در یک سمت میانگین قرار گرفته و فراتر از محدوده $+1s$ یا $-1s$ باشد از این قانون استفاده کرده و باعث رد نتایج می‌شود.

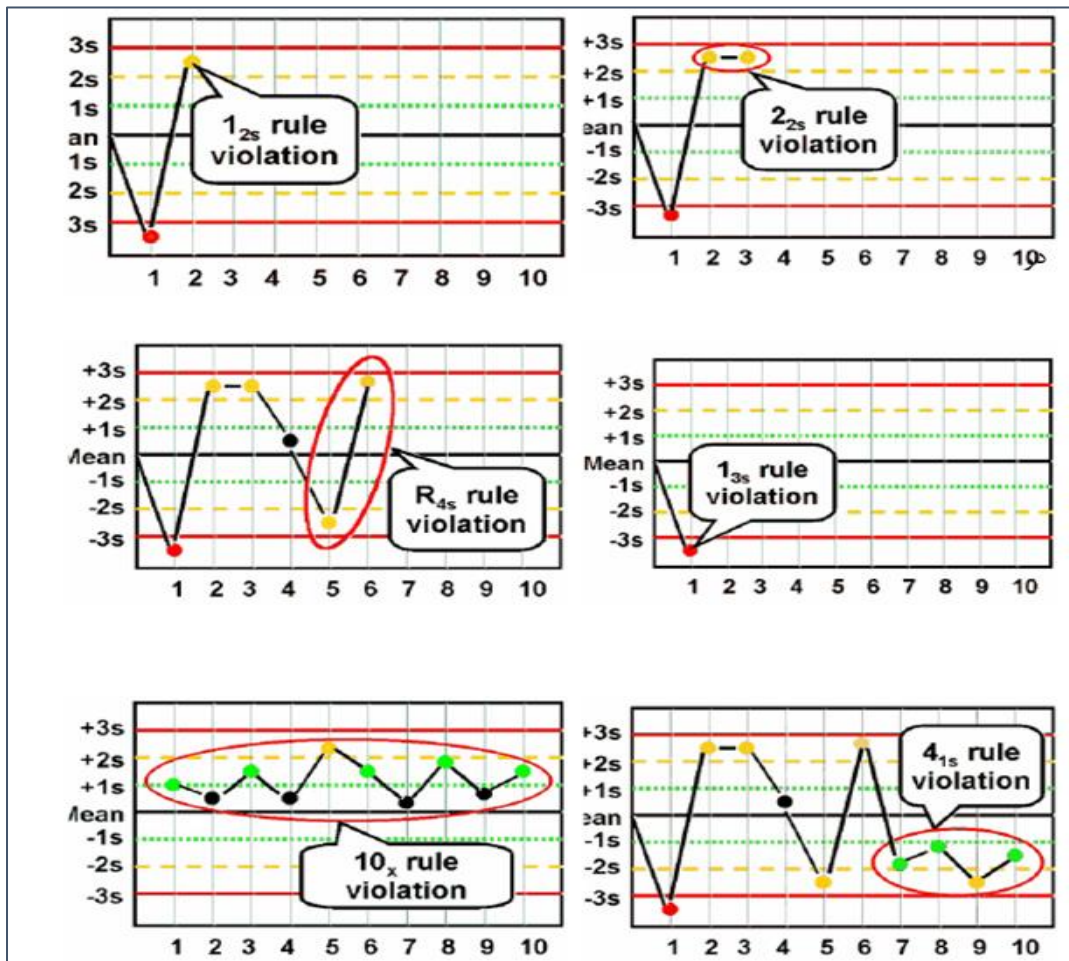


قانون 8X: هشت خوانده متوالی در یک سمت میانگین قرار گرفته باشد از این قانون استفاده کرده و باعث رد نتایج می شود.

قانون 10X: وقتی ده خوانده متوالی در یک سمت میانگین قرار گرفته باشد از این قانون استفاده کرده و باعث رد نتایج می گردد.



خلاصه ای از قوانین وستگارد به شکل نمودار آورده شده است:



قوانین WHO

- ❖ وقتی پراکندگی نتایج نزدیک به میانگین و در اطراف آن باشد، عملکرد سیستم قابل قبول است
- ❖ وجود یک خوانده خارج از محدوده $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ نشان دهنده 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.

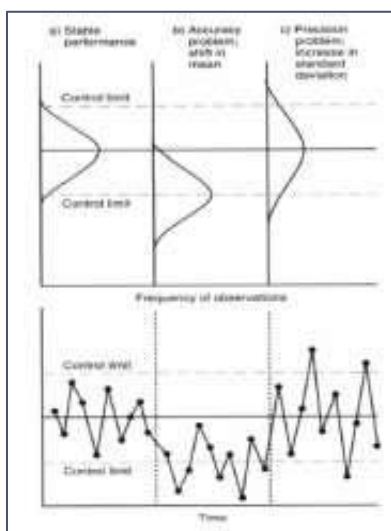
تفسیر نمودار کنترل توسط سازمان بهداشت جهانی بر اساس رفرنس WHO/LAB/1998	
خطا	تفسیر
نتیجه یک خوانش از خون کنترل خارج از $\pm 2SD$	هشدار
نتیجه یک خوانش از خون کنترل خارج از $\pm 3SD$	رد نتایج بیماران (خطای سیستماتیک یا راندوم)
دو نتیجه متوالی و همسو خارج از $\pm 2SD$	رد نتایج بیماران (خطای سیستماتیک)
چهار نتیجه متوالی و همسو خارج از $\pm 1SD$	رد نتایج بیماران (خطای سیستماتیک)
شش نتیجه نمونه کنترل در یک طرف میانگین	هشدار (احتمال خطای سیستماتیک)

انواع خطا

در شرایط عادی با تکرار آزمایش انتظار می رود 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 می یابد.

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)



مثالهایی از عوامل ایجاد خطا به تفکیک نوع خطا، ذیلا 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 شیشه‌های مورد استفاده، نوک سمپلر و...

-آلودگی نمونه کنترلی ، معرف و...

-اشکال در سیستم قرائت کننده

خطای سیستماتیک

- اشکال در کالیبراسیون مانند در نظر گرفتن ارزش 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

آزمایشهای مضاعف (duplicate) در آزمایشگاه

برای این کار نمونه ها در دو لوله ریخته شده و دوبار آزمایش می شوند. این روش در مواردی که کنترلهای پایدار تجاری در دسترس نمی باشد و یا بعنوان مکمل روشهای معمول کنترل کیفیت کاربرد دارد با انجام آزمایشهای مضاعف در یک آزمایشگاه می توان عدم دقت نتایج را بررسی نمود اما اگر این بررسی در دو آزمایشگاه انجام شود، خطای سیستماتیک نیز در آن دخیل و تفسیر آن مشکل می شود. برای بررسی در یک آزمایشگاه، تعدادی نمونه بصورت دابل آزمایش، اختلافات (d) آنها محاسبه و به توان دو رسانیده می شود (d^2) سپس انحراف معیار اختلافات بر اساس فرمول زیر بدست می آید.

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

هر جفت جوابی که بیشتر از 2SD با هم اختلاف داشته باشند غیر قابل قبول شناخته می شود

دلتا چک با نتایج قبلی

اگر نتایج جدید هر بیمار با نتایج قبلی مقایسه شود، برخی خطاها مانند جابجایی نمونه یا جواب، شناسایی می‌گردد. اساس این روش بر این موضوع استوار است که مقادیر آنالیتها 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

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

روش تهیه سرم کنترل (serum Pooled) در آزمایشگاه بیوشیمی

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

سرم های ذخیره شده روزانه را تا رسیدن به حجم مورد نظر را جمع آوری میکنیم. ایده ال ترین حجم برای نیاز یک سال و حداقل حجم برای نیاز ۶ ماه جمع آوری شود. به طور متوسط روزانه 2.5 میلی لیتر سرم کنترل برای بخش های مختلف آزمایشگاه مورد نیاز می باشد. این حجم برای یک هفته 15 میلی لیتر، برای هر ماه 60 میلی لیتر، برای شش ماه 360 میلی لیتر و برای یک سال 720 میلی لیتر می باشد.

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

سرم ها را خوب مخلوط کرده و حجم آن را مشخص کرده و مجدداً به فریزر منتقل میکنیم. انجماد به مدت یک ماه در 20- درجه انجام می شود

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

15% از حجم روی سرم را بداشته (بدون اینکه تکان بدهیم یا مخلوط کنیم) و آن را دور می ریزیم و به جای حجم دور ریخته شده به همان حجم اتیلن گلیکول اضافه میکنیم

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

منابع:

- ۱- تکنیک های عملی آزمایشگاه تشخیصی جلد ششم: کنترل کیفی مواد و تجهیزات آزمایشگاهی PAS
- ۲- ماهنامه مهندس پزشکی ش ۴۴ سال چهارم آذر ۸۳ صفحه ۶۰
- ۳- کتاب بیوشیمی تیتز ۱۹۹۶
- ۴- کنترل کیفیت در آزمایشگاه های پزشکی دکتر فریده رضی، آزمایشگاه مرجع سلامت
- ۵- کتاب بیوشیمی هنری دیویدسون، ۲۰۰۷۲۰۱۱
- ۶- کتاب جامع تجهیزات آزمایشگاه، حمیدرضا سقا
- ۷- تضمین کیفیت در آزمایشگاه های تشخیص طبی و کنترل کیفی آزمایش ها و تجهیزات (سیما ذوالفقاری انارکی، نشر طبیب
- ۸- برنامه کنترل کیفی تریتا
- ۹- کتاب مدیریت کنترل کیفیت متعادل برای آزمایشگاه های تشخیص پزشکی. دکتر اکبر ملک پور، دکتر شکوه یوسفی
- ۱۰- کتاب آشنایی با مفاهیم پایه و آمار کاربردی، صحنه گذاری روش ها و عدم قطعیت در آزمایشگاه پزشکی. دکتر حسین دارآفرین و همکاران
- ۱۱- استاندارد آزمایشگاه های بالینی امریکا 2006, clsi