

اصول کنترل کیفی در بخش بیوشیمی

اساس اقدامات قابل انجام توسط مسئول کنترل کیفی ، در بخش بیوشیمی ، شامل نگرش ، اجرا ، پایش و تحلیل موارد ذیل می باشد :

- ۱- کنترل ظروف نمونه گیری
- ۲- کنترل طریقه نمونه گیری و تخلیه نمونه ها و نیز جدا سازی سرماها
- ۳- کنترل دقت دستگاهها و تستهای انجام شده
- ۴- کنترل صحت دستگاهها و تستهای انجام شده
- ۵- کنترل معرفها و کیتهای تشخیصی
- ۶- بررسی و انجام کالیبراسیون
- ۷- سرویسها و نگهداریهای اتفاقی و دائمی (اقدامات اصلاحی و اقدامات پیشگیرانه)

اینک به طور مختصر به بررسی عوامل ذکر شده می پردازیم :

۱- کنترل ظروف نمونه گیری

با توجه به نوع تست مورد تقاضای بیمار میبایست از ظروف مناسبی استفاده شود . این ظروف میبایست عاری از تداخلات مواد واکنش دهنده باشد . نکته دیگر آنکه ظروف جمع آوری نمونه ها میبایست حجم مناسب داشته و درب آنها به گونه ای باشد که از تبخیرشان جلوگیری به عمل آید .

۲- کنترل طریقه نمونه گیری و تخلیه نمونه ها و نیز جدا سازی سرماها

بسیاری از پارامترهای بیوشیمیایی تحت تاثیر شرایط بیمار در زمانهای مختلف تغییر میکند . زمان ناشتایی در تستهای ویژه و سایر عوامل و پارامترهای موثره که در کیتها بدان اشاره شده است میبایست مد نظر قرار گیرد . طریقه ریختن نمونه باید آرام و از جداره باشد تا منجر به همولیز نگردد .
هنگام جداسازی میبایست نکات زیر مورد توجه قرار گیرد :
- گذشت زمان مناسب جهت لخته شدن خون
- دور مناسب سانتریفوژ جهت جداسازی نمونه ها
- زمان کافی و مناسب جهت جدا شدن سرم از لخته خون
- استفاده از سمپلرهای مناسب جهت جداسازی سرم

۳- کنترل دقت یا بررسی Precision :

در این عمل ما میخواهیم بررسی کنیم که آیا از نمونه های مورد نظر میتوان در تکرارهای پیاپی جوابهای یکسان گرفت یا خیر ؟ به عبارتی میخواهیم بررسی کنیم که آیا جوابهای دستگاه ما تکرار پذیر است یا خیر ؟
در این عمل اثبات میشود که دستگاه موجود صحیح کار میکند یا خیر ؟ چراکه تا دستگاهی تکرار پذیر نباشد نمی توان به آن اعتماد کرد و نسبت به کالیبر کردن آن اقدام نمود . این تست از اهمیت ویژه ای برخوردار است و میبایست در ابتدای خرید و بکارگیری دستگاه به صورت کامل و با ریز بینی بیشتر و تاکیدا هر یک ماه یکبار انجام گردد . چنانچه دستگاهی تکرار پذیر نباشد در ساعات متفاوت بکارگیری از یک نمونه جوابهای متفاوت میدهد . در کاتالوگ هر دستگاه ، پارامترهای کارایی دستگاه ذکر شده است . در آزمایشگاه میبایست این پارامترها مجددا مورد ارزیابی و تصدیق قرار گیرد . بدین منظور سه نمونه خون را ترجیحا با مشخصات ذیل تهیه کنید :

- يك نمونه سرم با پارامترها و يا اندكسهاي خوني کمتر از محدوده نرمال
 - يك نمونه سرم با پارامترها و يا اندكسهاي در محدوده نرمال
 - يك نمونه سرم با پارامترها و يا اندكسهاي بيشتر از محدوده نرمال

سپس از هر نمونه سرم با رعايت اصول انجام تست از قبيل : هموزن كردن يكنواخت ريجنتها ، انجام تست صحيح و در زمان مناسب از نظر صحيح بودن واكنش و ساير موارد اپراتوري صحيح دستگاه ، تعداد دقيقا ده مرتبه تكرار انجام دهيد و نتايج بدست آمده را در ستونهاي مشخص در برنامه وارد كنيد . دقت كنيد اساس محاسبات انجام شده جهت تست دقت در اين برنامه استفاده از سه نمونه سرم و تكرار هر نمونه دقيقا ده مرتبه مي باشد و چنانچه به هر دليلي اعم از انتخاب نكردن سه نمونه ، تكرار نكردن ده مرتبه از هر نمونه و يا ثبت نكردن كامل نتايج بدست آمده پارامترهاي محاسبه شده ناصحيح خواهد بود و لذا مجددا تاكيد بر روي انجام آزمون با روش بيان شده ميشود .

برنامه تهيه شده به گونه اي است كه پس از وارد كردن داده هاي بدست آمده (سي داده از سه نمونه سرم) به صورت اتوماتيك ميانگين داده ها ، SD و CV% را در هر نمونه محاسبه ميكند و در نهايت CV % توتال را اندازه گيري کرده و در رابطه با هر پارامتر نشان ميدهد .

شما ميتوانيد CV% توتال پارامترهاي مندرج در كاتالوگ كيت را در قسمت مربوطه در برنامه وارد كنيد و با اعداد بدست آمده مقايسه كنيد و با توجه به نتايج بدست آمده اقدامات لازمه را انجام دهيد .

به واقع در واژه دقت شما به دنبال بررسي انحراف و يا تغييرات از ميانگين هستيد . به مفهوم رياضي زير توجه كنيد :

$$\text{Deviation from the mean} = d_i = | X_i - \bar{X} |$$

Precision is the closeness of data to other data that have been obtained in exactly the same way .
 Not that deviation from the mean are calculated without regard to sign.

سه واژه عمدتا براي بيان دقت يا Precision در خصوص مجموعه اي از تكرار داده ها بكار برده ميشود كه عبارتند از :

Standard deviation , variance , coefficient of variation

هر سه بيان در مفهوم رياضي به نوعي تغييرات و يا ميزان انحراف از ميانگين را بيان ميکنند .
 براي بررسي بيشتر اين واژه ها ميتوانيد ويرايش هفتم كتاب Analytical Chemistry نوشته Skoog West Holler را مطالعه فرمائيد كه از عبارات و تمثيلهاي بسيار زيبايي براي بيان اين مطالب استفاده کرده است .
 عدم دقت مورد نظر و يا به عبارتي تكرار پذير نبودن دستگاه با مقايسه اعداد بيان شده در كاتالوگ دستگاه و اعداد بدست آمده در آزمون مشخص ميگردد . در اين حالت ممكن است در بعضي محدوده ها به عنوان مثال محدوده هاي پائين يا بالا دستگاه دقت و يا تكرار پذيري قابل قبولي نداشته باشد و در محدوده نرمال خوب عمل كند . اساسا توصيه ميشود در رابطه با دقت حساسيت فوق العاده شديد بوده و با دقت نظر بيشتر به اين تست نگريست ، و چنانچه در هر محدوده اي تست مورد نظر خطايي بيش از آنچه در كاتالوگ بود نشان داد ، توسط سازنده و يا فروشنده دستگاه اين مورد مورد ارزيابي قرار گيرد ، چراكه همواره نتيجه آزمون بيماران خارج از محدوده طبيعي ميباشد .

۴- کنترل صحت يا بررسي Accuracy

در اين عمل ما ميخواهيم بررسي كنيم كه آيا داده هاي بدست آمده ما چه ميزان به داده مورد انتظار نزديك هستند . به عنوان مثال اگر نتيجه مورد انتظار ما از يك آزمون Urea عدد 45 است ميخواهيم ببينيم كه دستگاه ما اين پارامتر را چند ميخواند . در بعضي كتب از داده مورد انتظار به عنوان واقعي ، و يا داده واقعي و يا مقدار واقعي ياد ميکنند ، كه اين واژه ها در اصل صحيح نميباشد چراكه به دليل عوامل Absolute error و Relative error همواره خطايي هرچند بسيار ناچيز در تمامي خوانش ها و داده هاي بدست آمده وجود دارد . لذا بكاربردن واژه " داده مورد انتظار " صحيحتر به نظر ميرسد .

هر چه ميزان دخالت اين عوامل (Absolute error و Relative error) در اندازه گيريهاي پايه (به عنوان مثال براي تهيه سرم كنترل توسط كارخانه توليد كننده) کمتر باشد ، داده ارائه شده در سرم كنترل به واقعييت نزديكتر خواهد بود و ميتوان بيشتر به آن اعتماد كرد و سعي بر آن كرد كه داده دستگاه هر چه بيشتر و بيشتر با آن همسو و نزديك شود . به اين دليل در بازار تجارت عموما دو نوع سرم كنترل به فروش ميرسد : سرم كنترلهاي ارزيابي دقت و سرم كنترلهاي ارزيابي صحت . در سرم كنترلهاي صحت تعداد تكرارها بسيار زياد و ميزان خطاي در تعيين مقدار به حداقل ممكن رسيده است .

به واقع در واژه صحت شما به دنبال بررسي انحراف و يا تغييرات از داده مورد انتظار هستيد . داده شما همواره تحت تاثير خطاها قرار دارد و ميبايست با شناسايي عوامل بوجود آورنده اين خطاها همواره به صحيحترين داده نزديك شد . در ذيل به صورت اجمالي و در قالب اصول رياضي عوامل فوق الذكر را شرح ميدهيم :

Absolute error :

The absolute error is the difference between an experimental result and the accepted value including its sign.

The absolute error E in the measurement of a quantity X_i is given by the equation :

$$E = X_i - X_t$$

Where X_t is the true , or accepted , value of the quantity .

Relative error :

The relative error E_r of a measurement is the absolute error divided by the true value .

$$E_r = (X_i - X_t) / X_t$$

Accuracy :

is the closeness of a result to its true or accepted value .

در کنترل صحت در بخش بیوشیمی میتوان از تکنیکهای زیر بهره جست :

الف - استفاده از خون کنترل و رسم منحنی لوی جنینگ مربوط به هر داده یا پارامتر .

در استفاده از این روش جهت بررسی صحت ، بکارگیری حداقل دو نمونه خون کنترل لازم است تا بتوان تفسیر مناسبی را بر داده های بدست آمده اعمال کرد . در ابتدای کار از هر نمونه با دستگاهی که از کالیبر بودن آن اطمینان داریم ، تعداد بیست تکرار (هرچه تکرار بیشتر باشد آمار حاصله به واقعیت نزدیک و نتایج مطلوبتری بدست می آید) به دستگاه داده و نتیج را در ستون مربوطه قسمت داده های اولیه ثبت میکنیم . نرم افزار مقدار عددی میانگین X و تغییرات $1SD$ ، $2SD$ و $3SD$ را به طور عددی و نیز روی منحنی نشان میدهد . این بستر پایه ثابت جهت وارد کردن داده های ماه اول میباشد . سپس میتوان در Sheet مربوط به داده های ماه اول تاریخ و داده را ثبت کرد و با توجه تغییرات داده ها در روزهای مختلف نسبت به کالیبراسیون یا هرگونه تصمیم دیگر اقدام کرد .

چنانچه بخواهیم از قوانین وست گارد و تفاسیر مربوطه استفاده کنیم میبایست با واژه های ذیل آشنا شویم :

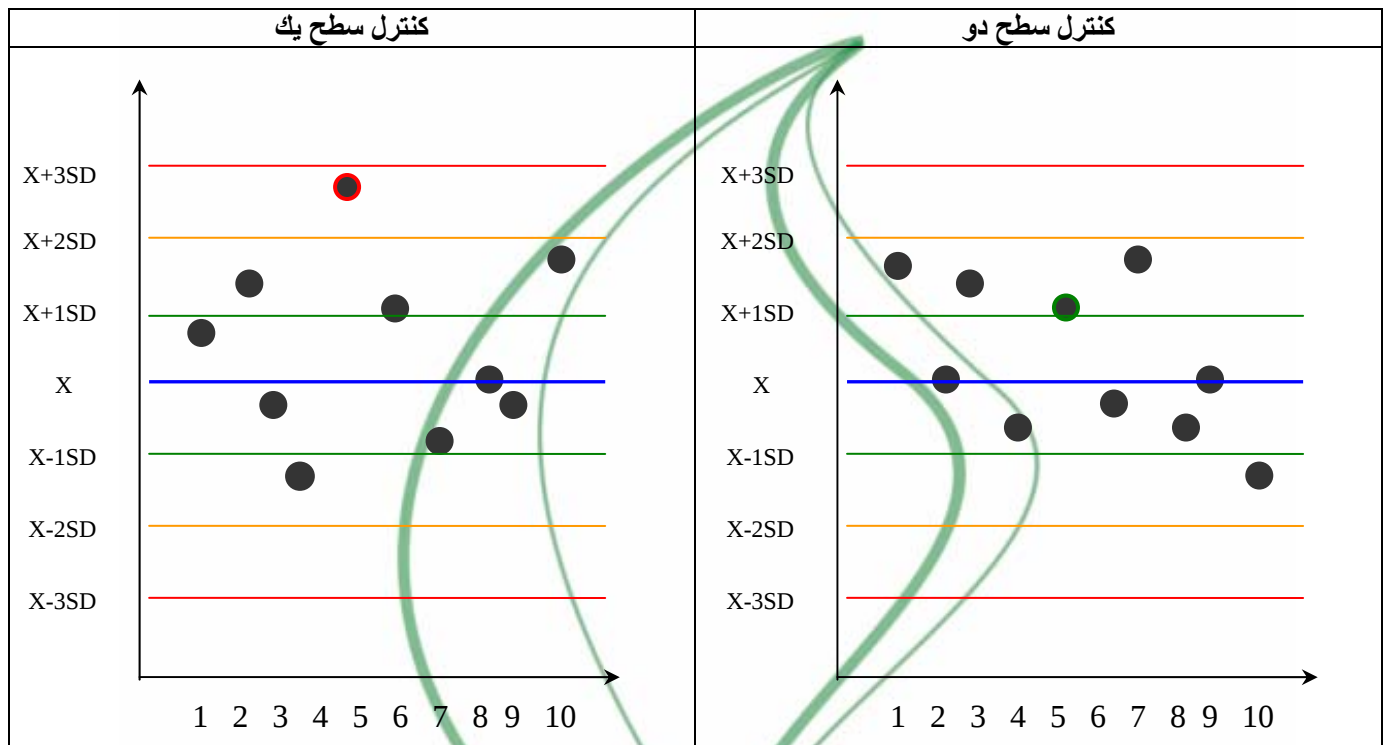
- جابجایی Shift : اگر ۶ الی ۷ نتیجه کنترل در روزهای متوالی همگی بالا و یا پائین خط میانگین قرار گیرند ، الگوی مربوطه جابجایی خوانده میشود . اساسا جابجایی به دلیل خطای سیستماتیک بوجود می آید .

- گرایش Trend : اگر ۶ الی ۷ نتیجه کنترل در روزهای متوالی سیر صعودی و یا نزولی داشته باشند ، الگوی مربوطه گرایش خوانده میشود . گرایش نیز به دلیل خطاهای سیستماتیک به وجود می آید . اما این نوع خطا بسیار آهسته بروز میکند .

قوانین وست گارد در تفسیر منحنیهای لوی جنینگ :

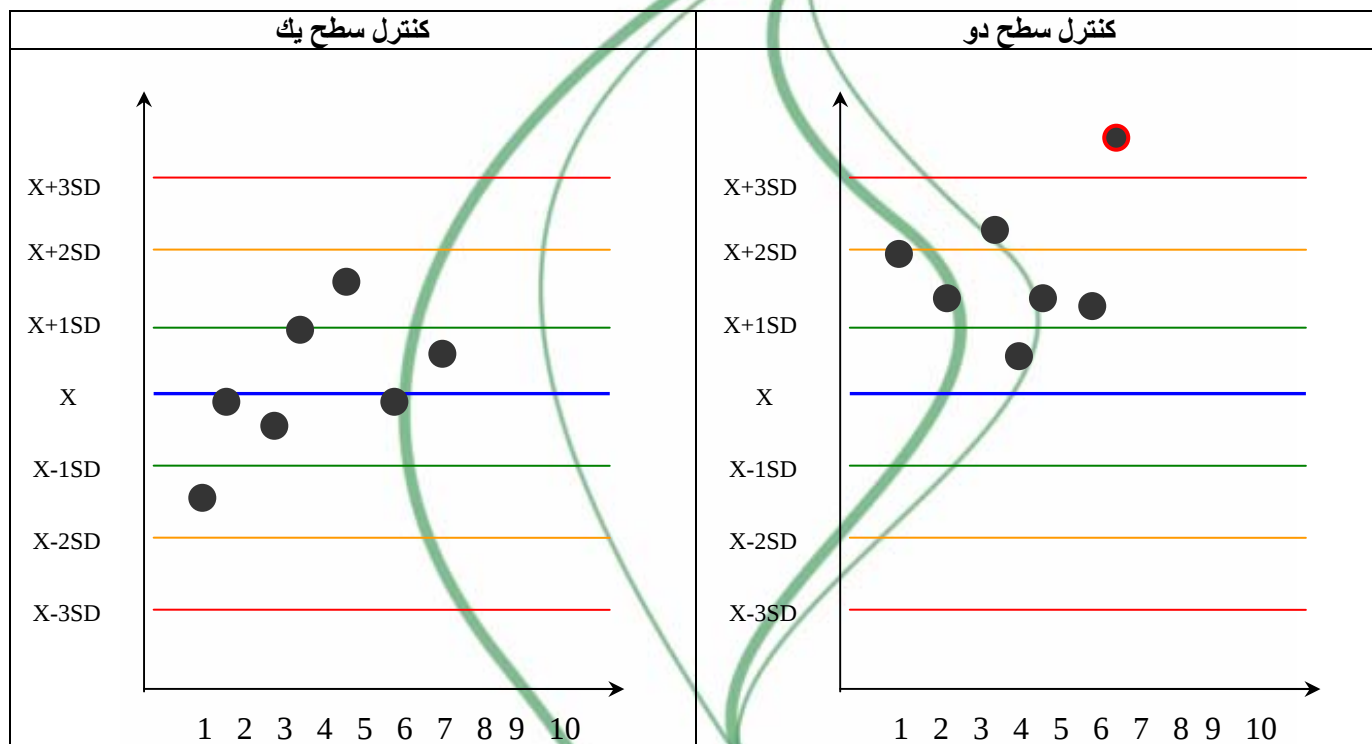
در سال ۱۹۸۱ وست گارد مجموعه ای از قوانین کنترل کیفی را جهت تفسیر نتایج آزمایشگاه تشخیص طبی پایه ریزی نمود که در ذیل به شرح آنها میپردازیم :

♦ **قانون هشدار یا قانون $2s$** ۱ : این قانون هنگامی نقض می‌گردد که پاسخ یکی از دو کنترل از محدوده $\pm 2SD$ خارج باشد . وقتی این قانون نقض شد باید دیگر قوانین بررسی گردند . اگر نتایج کنترل کیفی قوانین دیگر را نقض نکند با وجود نقض قانون $2s$ ۱ در یکی از نمونه های کنترلی ، نتایج قابل قبول است . به همین دلیل قانون $2s$ ۱ تنها نقش هشدار دهنده دارد . به مثال زیر توجه کنید :



در روز پنجم نتیجه کنترل سطح يك از $+2SD$ تجاوز نموده است . اما در محدوده $+3SD$ واقع است . پاسخ مربوط به سطح دو کنترل در محدوده $\pm 2SD$ قرار دارد . چون یکی از این دو نتیجه کنترل کیفی از $2SD$ تجاوز نموده است لذا قانون $2s$ ۱ نقض شده اما به دلیل اینکه تا آن روز قانون دیگری نقض نشده سری تستها مورد قبول است و جوابهای بیماران را میتوان گزارش نمود .

♦ **قانون ۳_s ۱ :** هنگامی قانون ۳_s ۱ نقض میشود که نتیجه یکی از دو کنترل خارج از محدوده $\pm 3SD$ باشد. همانطور که گفته شد حدود ۹۹٪ از تمامی نتایج باید در محدوده $\pm 3SD$ نسبت به میانگین باشند. بنابراین اگر یک نتیجه خارج از $\pm 3SD$ قرار گیرد احتمال صحیح بودن این پاسخ کمتر از ۱٪ میباشد. چون شانس صحیح بودن پاسخی در ورای محدوده $\pm 3SD$ بسیار ناچیز (کمتر از ۱٪) است هر پاسخ کنترلی که این قانون را نقض نماید نتایج غیر قابل قبول بوده و سری آزمایش خارج از کنترل میباشد. قانون ۳_s ۱ معمولاً به دلیل خطای اتفاقی نقض میگردد. لذا نمونه کنترل مجدداً باید مورد آنالیز قرار گیرد و اگر با آزمایش مجدد مشکل بر طرف شود و قوانین دیگر هم نقض نگردد جواب بیماران قابل گزارش است. به مثال زیر توجه کنید :

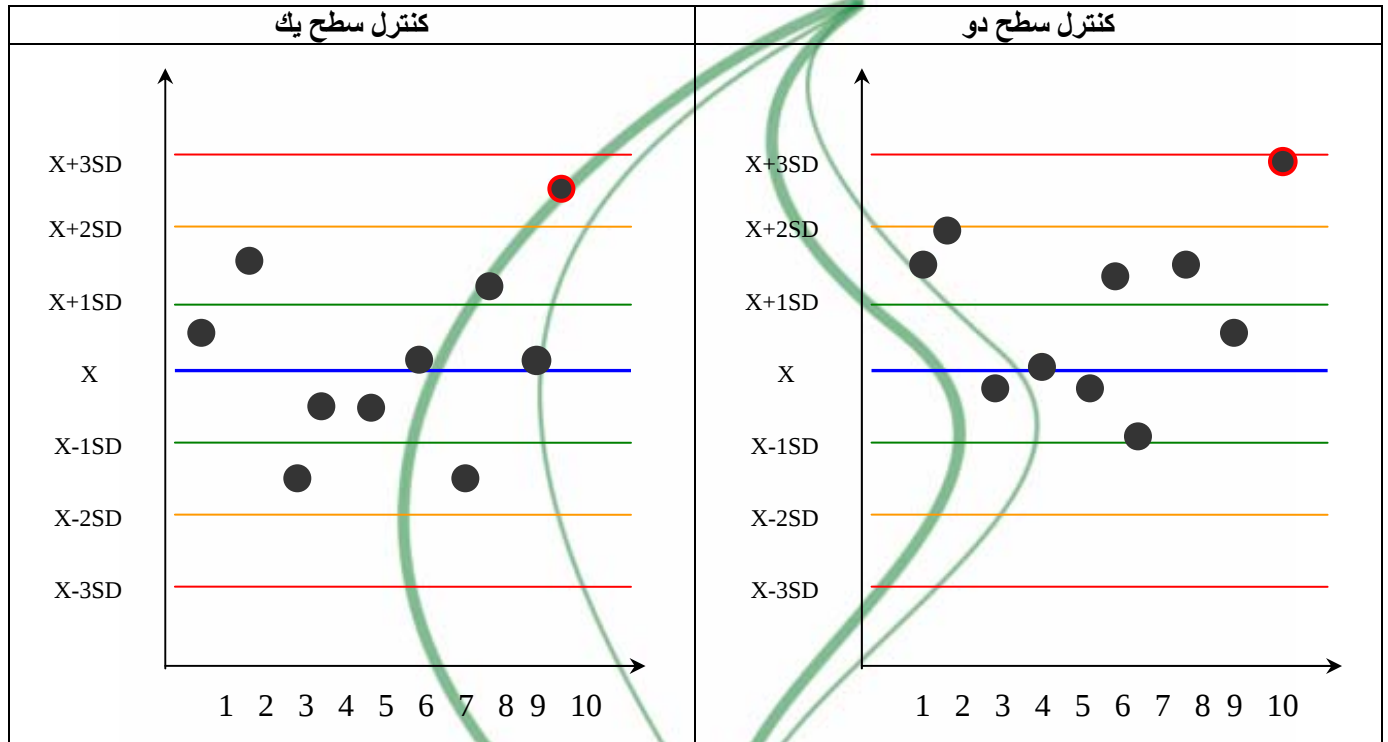


در روز هفتم نتیجه یکی از کنترلها از $+3SD$ خارج گشته است. لذا باید از اعلام نتایج مربوط به سری آزمایش خودداری کرد. در این حالت مجدداً نمونه کنترلی تکرار میشود. چون دلیل نقض این قانون خطای اتفاقی است.

♦ قانون ۲_s : این قانون به دو صورت نقض میگردد :

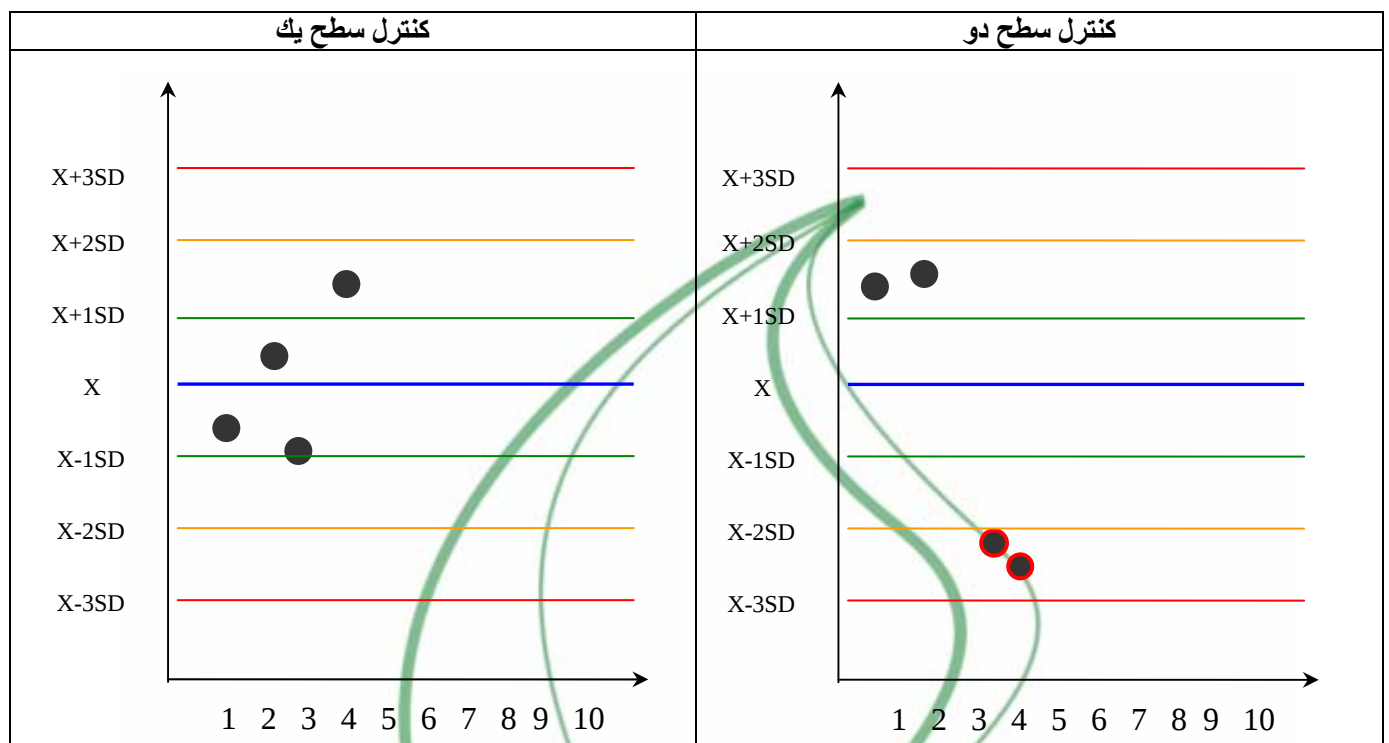
الف - هر دو پاسخ کنترل بیشتر یا کمتر از 2SD نسبت به میانگین باشند .

ب- اگر پاسخ نمونه کنترل در يك سطح و يك سري آزمایش قبلا از 2SD تجاوز کرده در آنالیز مجدد و سري جدید نیز همانگونه باشد . مثلا نمونه کنترلي در بار اول در حدود +2.2SD و با آزمایش مجدد نیز بیش از 2SD باشد . در این حالت قانون ۲_s نقض شده است . به مثالهاي زیر توجه کنید :



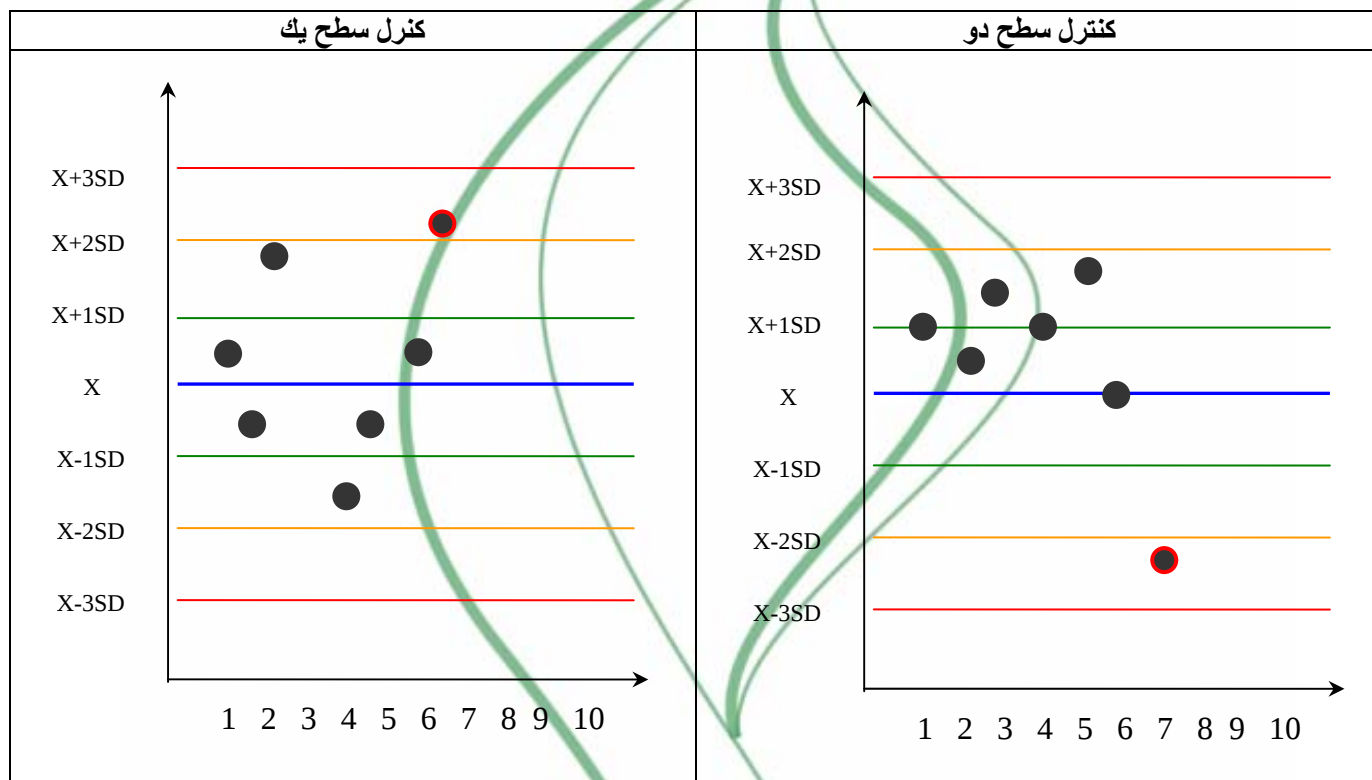
در روز دهم نتایج مربوط به کنترل هر دو سطح بیش از 2SD می باشند. بر اساس قوانین وست گارد در این روز قانون هشدار دهنده یا ۱_s نقض شده است . در این حالت باید قوانین دیگر را پیگیری کرد . قانون بعدی ۳_s ۱ میباشد که هیچکدام از پاسخهای کنترل این قانون را نقض نکرده اند و بعد نوبت قانون ۲_s ۲ میباشد . هر دو نمونه کنترل این قانون را نقض کرده اند . هیچ قانون دیگری هم نقض نشده است . نقض قانون ۲_s ۲ به دلیل يك خطاي سیستماتيك در روش انجام آزمایش است . علت این خطا باید جستجو و رفع گردد . هیچ پاسخی از آزمایشهای مربوط به بیماران تا هنگامی که خطا اصلاح نشده و نتایج کنترل کیفی مناسب بدست نیامده قابل گزارش نیست .

به مثال ديگري توجه كنيد :



در روز سوم پاسخ کنترل سطح دو وراي $-2SD$ قرار دارد . لذا قانون ۲_s ۱ نقض شده که دليل موجهي براي ارزيابي ديگر قوانين است که البته در آن روز در کنترل سطح يك موردي وجود ندارد لذا ميتوان جوابها را گزارش کرد . در روز چهارم مجددا اشکال قبلي يعني نقض قانون ۲_s ۱ تکرار شده است . لذا در روز چهارم قانون ۲_s ۲ نقض ميشود و جواب بيماران نبايست گزارش گردد .

♦ **قانون $R_{\bar{X}}$** : این قانون هنگامی نقض میگردد که تفاوت بین پاسخ دو نمونه کنترل در یک سری آزمایش بیش از $4SD$ باشد . به عنوان مثال اگر پاسخی از سطوح کنترل در فاصله $-2.2SD$ نسبت به میانگین واقع شود و پاسخ سطح دیگر $+2SD$ نسبت به میانگین باشد چون قدر مطلق جمع فواصل $4.2SD$ است قانون $R_{\bar{X}}$ نقض میگردد . قانون $R_{\bar{X}}$ هنگامی نقض میشود که پاسخی دو سطح کنترل قانون $\bar{X}$ را در دو جهت مخالف هم نقض نمایند . قانون $R_{\bar{X}}$ معمولاً به دلیل خطای اتفاقی نقض میگردد . پاسخهای سری آزمایش با وقوع این خطا قابل قبول نیستند و تا موقعیکه روش انجام آزمایش در محدوده کنترل قرار نگیرد قابل گزارش نمیباشند . کاربرد این قانون در حین انجام یک سری آزمایش است و نقشی در بررسی موارد بین دو سری آزمایش ندارد . به مثال زیر توجه کنید :



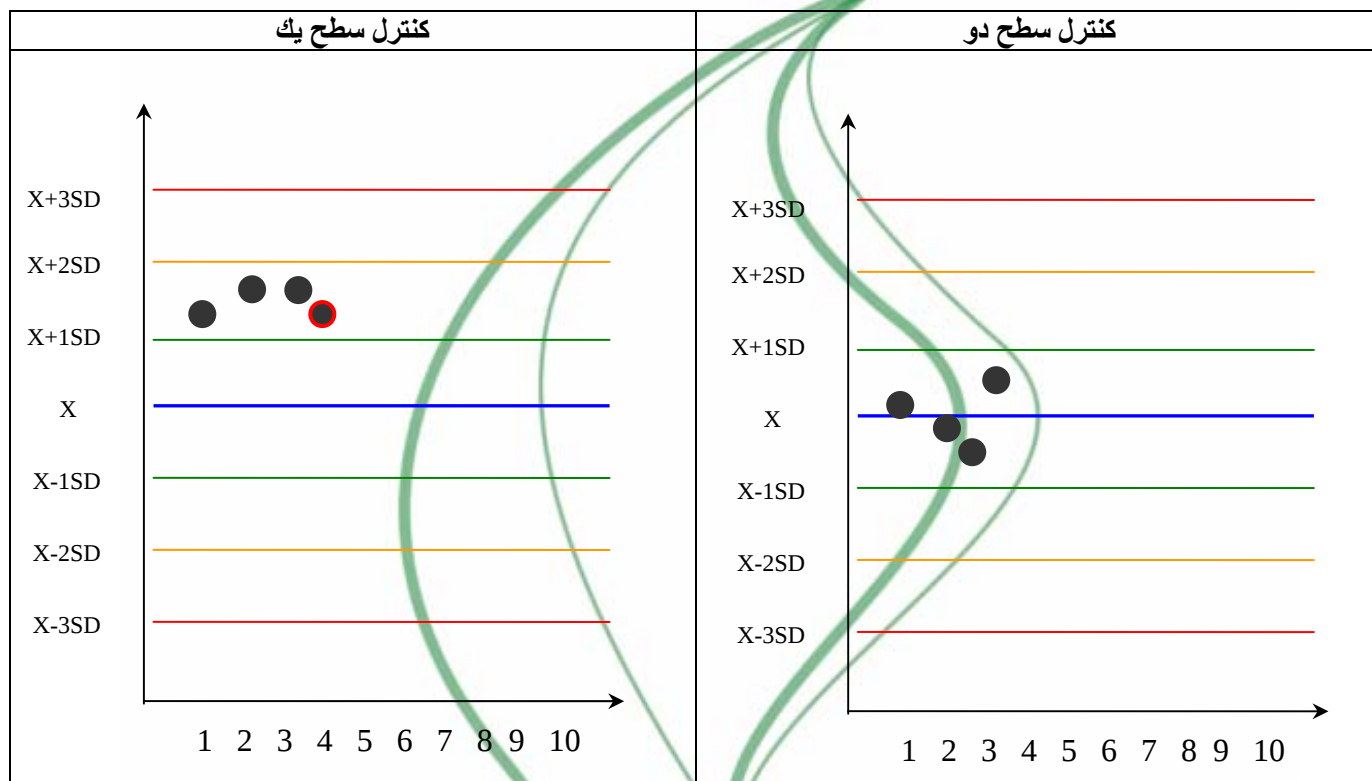
در روز هفتم نتیجه کنترل مربوط به سطح یک در $+2.1SD$ نسبت به میانگین قرار دارد که قانون $\bar{X}$ را نقض میکند . این حالت دلیل موجهی جهت بررسی قوانین دیگر است . کنترل سطح دو در این روز $-2.2SD$ زیر میانگین میباشد . جمع قدر مطلق فاصله بین این دو کنترل 4.3 میباشد . لذا قانون $R_{\bar{X}}$ نقض میگردد و نبایست جواب بیماران را گزارش کرد .

♦ قانون ۱s ۴ : این قانون به دو صورت نقض میشود :

الف - چهار پاسخ پی در پی مربوط به يك سطح از نمونه كنترلي در يك سوي ميانگين قرار گرفته و از $+1SD$ و يا $-1SD$ نسبت به ميانگين فراتر باشند.

ب- هر دو سطح كنترل از يك انحراف معيار در دو روز متوالي فراتر باشند .

این قانون مشابه قانون جابجایی است . اهمیت آن نه تنها به دلیل بررسی خطاهای آنی در نتایج کنترل بلکه جهت پیگیری نتایج قبلی نیز مفید است . به مثال زیر توجه کنید :



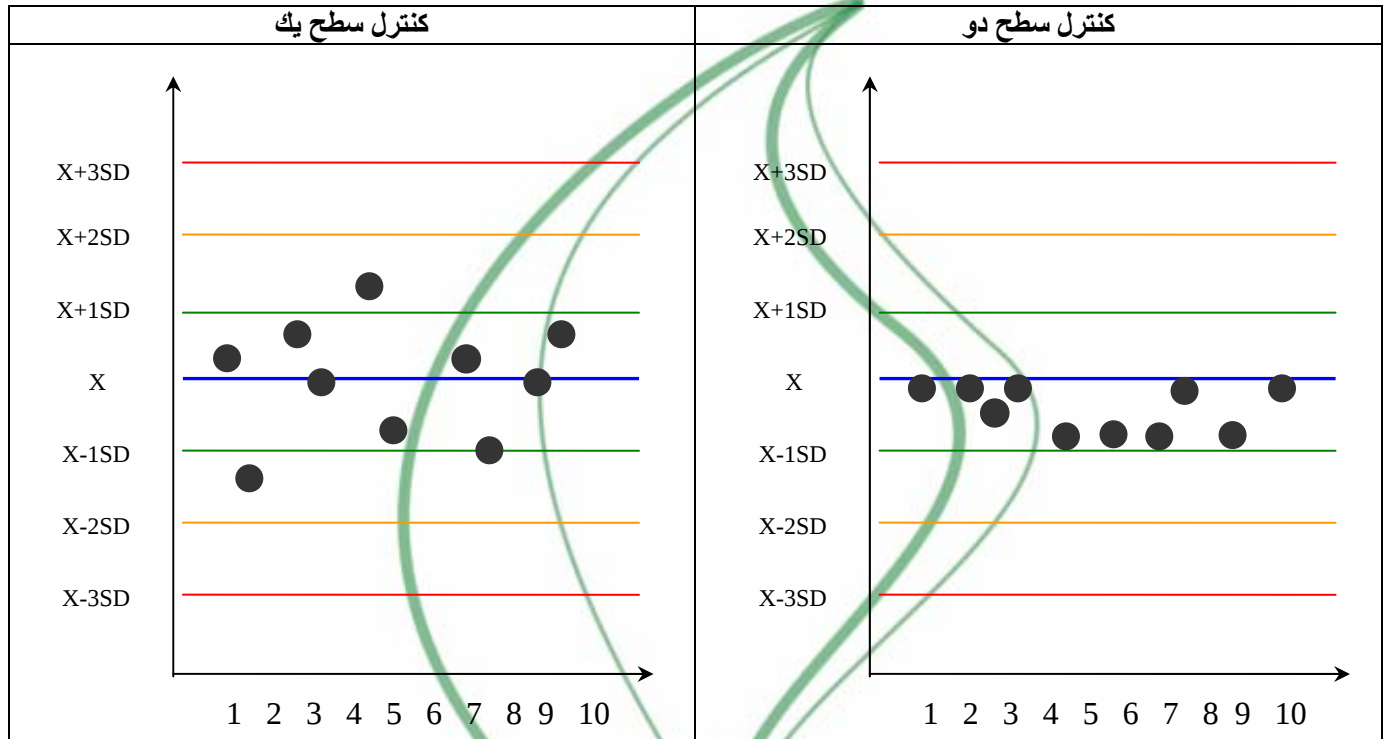
نتیجه روز پنجم کنترل سطح يك قانون ۱s ۴ را نقض میکند . در این روز چهارمین پاسخی که بین $+1SD$ و $+2SD$ قرار میگیرد بدست آمده است . شایعترین دلیل این وضعیت خطای سیستماتیک میباشد و پاسخ سری آزمایشات قابل قبول نیست و باید بعد از رفع اشکال آزمایشها تکرار گردند .

♦ قانون $\bar{x}_{10}$: این قانون به دو صورت نقض میگردد :

الف - نتایج ده پاسخ پی در پی مربوط به یکی از سطوح کنترل در یک سوي میانگین قرار گیرند .

ب- پنج پاسخ پی در پی در مورد هر دو سطح کنترل در یک سوي میانگین قرار گیرند .

قانون $\bar{x}_{10}$ جهت تشخیص جابجایی ارزشمند است و به دلیل خطای سیستماتیک بروز میکند . در صورت وقوع مشابه موارد قبلی تا رفع اشکال پاسخها قابل گزارش نخواهند بود . به مثال زیر توجه کنید :



همانطور که ملاحظه میشود کنترل سطح دو در روز دهم قانون $\bar{x}_{10}$ را نقض نموده است . در حالیکه کنترل سطح یک هیچگونه قانونی را نقض نکرده است . این بیانگر آن است که خطای سیستماتیک در مورد کنترل سطح دو به وقوع پیوسته و نتایج بیماران تا رفع عیب و آزمایش مجدد قابل گزارش نیست .

ب- استفاده از آزمون کنترل دابل (Duplicate test)

در این آزمون که توصیه می‌گردد به طور روزانه و رندوم و نیز در تمامی بیمارانی که نتیجه تست آنها بالاتر از محدوده نرمال قرار دارد انجام گیرد . روش انجام به این صورت است که نمونه بیمار را به دو قسمت تقسیم میکنند (یا نمونه ای را که انجام شده در شرایط مناسب نگهداری میکنند) و در ابتدا و انتهای کار آنرا مورد سنجش قرار میدهند چنانچه اختلاف بین اعداد بدست آمده کمتر از 2SD باشد میتوان گفت که نتایج بدست آمده صحیح بوده و گزارش آن مقبول است .

۵- کنترل معرفها و کیت‌های تشخیصی

در بخش بیوشیمی میبایست نسبت به ساخت ، نگهداری و کنترل معرفها و کیتها و خصوصا سرم کنترلها و استانداردها دقت خاصی داشت . معرفها در اثر نگهداری ناصحیح ناپایدار و تغییر رنگ میدهند و کیتها با توجه به نوع کیت فعالیتشان محدود میشود . مخلوط کردن ریجنتها در کیت‌های چند ریجنته و نیز هموژن شدن آنها بسیار حائز اهمیت است و میبایست درج شود . وضعیت ظاهری و تغییرات کیتها میبایست ثبت شده و نگهداری استانداردها میبایست به گونه ای باشد که تاریخ انقضاء ، عدم تبخیر و حجم آنها در نظر گرفته شود . معرفهای ساخته شده در آزمایشگاه میبایست دارای فرمولاسیون مشخص ، تاریخ ساخت و نیز نام سازنده باشند .

۶- بررسی و انجام کالیبراسیون

هرگاه سیستم نیاز به کالیبراسیون داشته باشد میبایست توسط استانداردها و یا کالیبراتورهای صحتی این کار انجام شود . توصیه می‌گردد همواره حداقل دو سرم کنترل در سطوح متفاوت (پائین ، طبیعی و بالا) بکار رود و عملکرد دستگاه در سطوح مختلف بررسی شود . در خصوص کالیبراسیون میبایست نسبت به محلولهای تست مربوطه دقت نظر بیشتری داشت و از سلامت و هموژن شدن کامل آن اطمینان حاصل کرد .

۷- سرویسها و نگهداریهای اتفاقی و دائمی (اقدامات اصلاحی و اقدامات پیشگیرانه)

در رابطه با کلیه سیستمها میبایست رویه های کاملاً مشخص جهت سرویس و نگهداریهای ادواری در نظر گرفته شود و نسبت به انجام سرویسهای دوره ای و منظم اقدامات لازمه اتخاذ و سوابق آن مشخص ، ثبت و نگهداری شود . ضمناً لیست کامل از مشکلات بوجود آمده در سیستم و نیز راه حل برطرف کردن آنها میبایست در دسترس و رویه های آن مکتوب باشد .