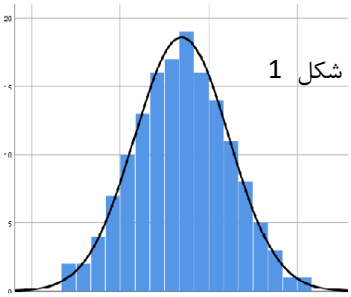
مدیریت امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان دانشگاه علوم پزشکی اردبیل نشریه علمی آزمایشگاه – نوبت نهم (اردیبهشت 1402)

مبانی اولیه کنترل کیفی داخلی (بخش اول)

اهمیت و جایگاه: اصطلاح کنترل کیفی داخلی که statistical process control نیز نامیده می شود برای توصیف بخش کنترل کیفی آماری در آزمایشگاه به کار می رود. کنترل کیفی داخلی (آماری) تنها بخشی از سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه (TQM) می باشد. در طی این فعالیت در فواصل زمانی مشخص آنالیت های مختلف در یک نمونه کنترل (به عنوان جانشین نمونه بیماران) مورد آزمایش قرار می گیرند. هدف از این کار اطمینان از ثبات عملکرد روش اندازه گیری و تجهیزات مورد استفاده مطابق با استانداردهای تعریف شده و در نتیجه اطمینان از درستی نتایج گزارش شده بیماران است. برای اجرای صحیح کنترل کیفی داخلی نیاز به آشنایی با بعضی از مفاهیم وجود دارد.

تعاریف:

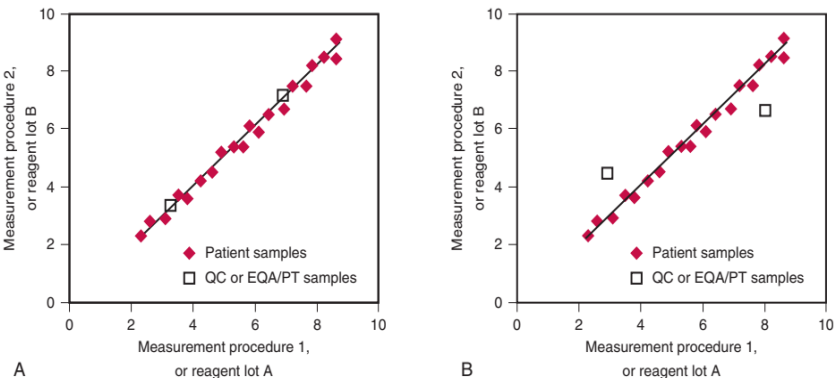
توزیع نرمال normal distribution (Gaussian): اکثریت پارامتر های مورد اندازه گیری در آزمایشگاه پزشکی از توزیع نرمال پیروی می کنند. منظور از توزیع نرمال این است که اگر یک آزمایش به دفعات زیاد بر روی یک نمونه تکرار گردد با توجه به ماهیت ذاتی هر روش اندازه گیری، نتایج به دست آمده یکسان نبوده و از نظر توزیع فراوانی شبیه به شکل 1 خواهند بود. در این نمودار محور افقی نشانگر مقادیر به دست آمده از تکرار آزمایش و محور عمودی فراوانی هر نتیجه می باشد.



شکل 1

نمونه کنترل: نمونه ای است که به عنوان جانشین (SURROGATE) نمونه انسانی برای پایش عملکرد روش ها و تجهیزات مورد استفاده در آزمایشگاه مورد آزمایش قرار می گیرد. این نمونه در فواصل تعیین شده بین نمونه های بیماران و در همان شرایط مورد آزمایش قرارگرفته و داده های بدست آمده مورد آنالیز آماری قرار می گیرند. باید دقت کرد که تقریبا تمامی کنترل های تجاری موجود در بازار ایران اولا کنترل دقت (precision based) هستند (در مقابل کنترل های صحت) و کاربرد آنها بیشتر برای بررسی تکرارپذیری است و ثانیا غیر هم رفتار (non-commutable) با نمونه بیمار می باشند (در مقابل کنترل های commutable). نمونه هم رفتار نمونه ای است که نتایج بدست آمده از اندازه گیری آنالیت با تغییر روش، دستگاه، کیت، معرف و... رفتاری کاملا مشابه نمونه انسانی دارد. برعکس در نمونه غیر هم رفتار با تغییر در نوع روش یا دستگاه، کیت و حتی سری ساخت همان کیت نتایج متفاوتی بدست آمده و رفتاری شبیه به نمونه های واقعی بیماران ندارد.

شکل 2



در شکل شماره 2، A نمونه کنترل هم رفتار و B نمونه کنترل نا هم رفتار است که یک آنالیت در آنها با دو روش (یا معرف) مختلف اندازه گیری شده است. بر خلاف نمونه هم رفتار A که نتایج بدست آمده در غلظت های مختلف با هر دو روش 1 و 2 یکسان می باشد، در نمونه B نتایج بدست آمده از آنالیز نمونه کنترل غیر هم رفتار در غلظت های پایین با روش اندازه گیری 1 کمتر از روش 2 و نتایج بدست آمده در غلظت های بالا بیشتر از روش 2 می‌باشد. علت این تفاوت رفتار، اثر ماتریکسی می باشد که در نتیجه ایجاد تغییر و یا اضافه کردن موادی برای پایداری بیشتر آنالیت ها در نمونه کنترل به وجود می آید.

نکته: در هنگام خرید نمونه کنترل باید نیاز حداقل یک تا دو سال آزمایشگاه (از یک لات) را تهیه نمود تا نیاز به محاسبات آماری مجدد نباشد.

میانگین(Mean): از تقسیم کردن حاصل جمع نتایج به دست آمده از اندازه گیری یک آنالیت در یک نمونه بر تعداد دفعات تکرار انجام آزمایش میانگین (حسابی) به دست می آید و فرمول محاسبه آن به صورت $\mathbf{Mean = [(x1 + x2 + \dots xn) \div n]}$ می باشد. در یک توزیع نرمال مقدار میانگین در وسط دامنه نتایج قرارگرفته و برابر با (median = میانه) و (mode = بیشترین نتیجه) می باشد.

عدم دقت (ANALYTIC IMPRESSION): پراکندگی نتایج حاصل از اندازه گیری می باشد و با انحراف معیار (standard deviation) سنجیده می شود.

هر چه SD بیشتر باشد تکرار پذیری تست و دقت آن کمتر است.

فرمول محاسبه SD به صورت زیر می باشد.

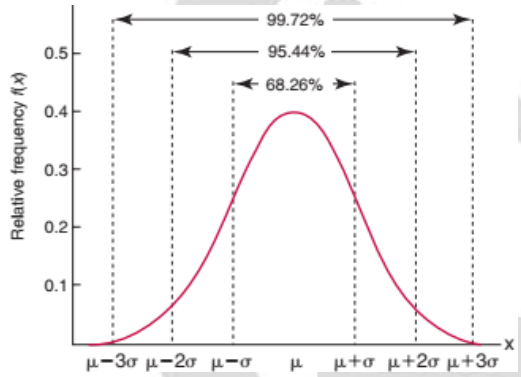
$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma(x_i - \overline{x})^2}{n-1}}$$

در این محاسبه در حقیقت با به توان رساندن اختلاف نتایج از میانگین قدرت تشخیص پراکندگی و عدم دقت در نتایج افزایش یافته است.

برای اینکه بتوان میزان عدم دقت را بین تست های با مقادیر و واحدهای مختلف مقایسه کرد از ضریب تغییرات Coefficient Of Variation (CV) استفاده می شود. ضریب تغییرات از تقسیم میزان SD بر میانگین برحسب درصد بدست می آید.

در پارامترهای دارای توزیع نرمال (شامل اکثریت تستهای کمی آزمایشگاه) 95 ٪ نتایج در محدوده دو SD از دو طرف میانگین قرار می گیرند. شکل 3:

شکل 3



بر اساس توصیه CLSI برای محاسبه SD وCV تست با یک روش اندازه گیری باید حداقل 20 بار آزمایش را برروی نمونه مورد نظر تکرار کرد.

نکته: استفاده از مقادیر موجود در بروشور نمونه کنترل برای محاسبه SD مناسب نیست و تنها با تکرار متوالی تست بر روی نمونه در آزمایشگاه، SD تست برای همان روش (دستگاه) و در همان آزمایشگاه محاسبه می شود.

نکته: SD یک تست در آزمایشگاه در صورتی که از روی نتایج بدست آمده در مدت 6 ماه تا یکسال محاسبه شود به واقعیت نزدیک تر و قابل اعتمادتر می باشد.

تورش(ANALYTIC BIAS): اختلاف بین میانگین نتایج بدست آمده از تکرار یک تست با مقدار واقعی آن می باشد. مقدار واقعی یک آنالیت را تنها می توان با روشهای پیچیده و مرجع و در آزمایشگاه های خاص به دست آورد و عملا آزمایشگاه های طبی امکان انجام آن و یا دسترسی به نمونه ای با مقدار واقعی آنالیت را ندارند. در آزمایشگاه های طبی برای مقایسه نتایج و کشف بروز Bias (خطا) از مقدار هدف (Target value) استفاده می شود. بر اساس توصیه CLSI برای محاسبه مقدار هدف از میانگین نتایج حاصل از حداقل 10 بار تکرار آزمایش که در 10 روز متوالی بر روی نمونه مورد نظر بدست آمده استفاده می شود.

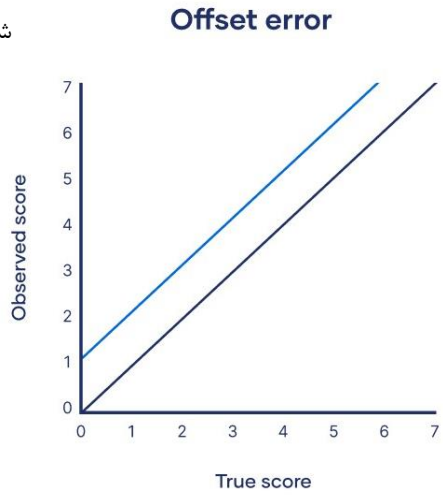
نکته: کنترل های موجود در ایران کنترل دقت هستند و عدد گزارش شده در بروشور آن را نمی توان به عنوان Target Value استفاده کرد. تنها با تکرار متوالی تست بر روی نمونه در آزمایشگاه و با شرط کالیبر بودن دستگاه TV محاسبه می شود.

خطای راندوم یا اتفاقی: خطایی است که رخ دادن آن از قاعده مشخصی پیروی نمی‌کند. مثل نمونه گیری اشتباه از فرد دیگر، نوسان برق، انسداد ناگهانی نیدل دستگاه توسط فیبرین و ...

خطای سیستماتیک: خطایی است که رخ دادن و میزان آن بطور نسبی قاعده مشخصی داشته و تا حدودی نتایج قابل پیش بینی می باشد. مثل افت مقدار آنالیت اندازه گیری شده به دلیل خراب شدن تدریجی معرف، کالیبر نبودن دستگاه، افت تدریجی کیفیت لامپ دستگاه...

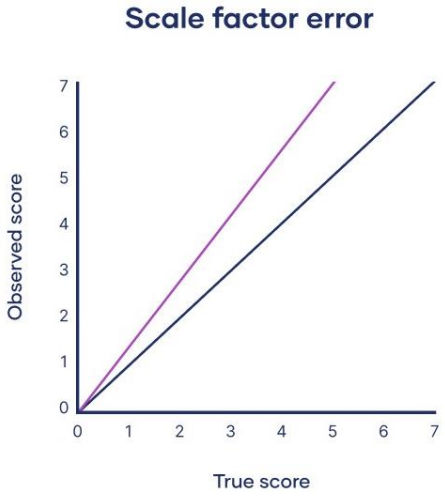
دو نوع خطای سیستماتیک وجود دارد: ثابت و نسبی. در خطای سیستماتیک ثابت (CONSTANT) نتایج به دست آمده به میزان ثابت و مشخصی از مقدار واقعی متفاوت می باشد. برای مثال به دلیل کالیبر نبودن اتوآنالایزر بیوشیمی مقادیر گزارش شده گلوکز 10 واحد بیشتر از مقدار واقعی باشد. شکل 4:

شکل 4



در خطای سیستماتیک نسبی (PROPORTIONAL) نتایج به دست آمده با یک ضریب مشخص از مقدار واقعی اختلاف خواهند داشت (شکل 5). برای مثال به دلیل کیفیت پایین کیت مورد استفاده در اندازه گیری گلوکز مقدار گزارش شده 10٪ بیشتر از مقدار واقعی باشد.

شکل 5



ممکن است خطای سیستماتیک مشاهده شده ترکیبی از نوع ثابت و نسبی باشد. در این حالت علاوه بر اینکه نتایج گزارش شده به میزان ثابتی کمتر و یا بیشتر از مقدار واقعی است بر حسب میزان

غلظت آنالیت با یک ضریب مشخص نیز از مقدار واقعی اختلاف خواهد داشت.

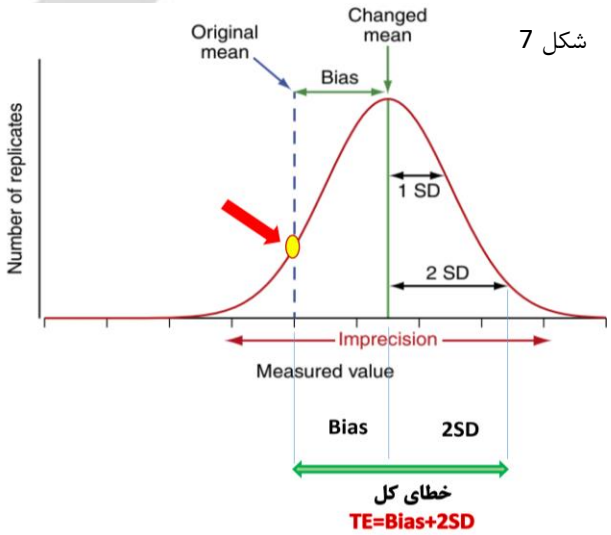
شکل 6

خطای کل(TE) آزمایشگاه برای یک تست: بدلیل این که در یک بار اندازه گیری یک آنالیت میزان خطای موجود در نتیجه بدست آمده هم مربوط به BIAS روش و هم وابسته به عدم دقت روش و یا دستگاه می باشد، از فرمول زیر برای محاسبه آن استفاده می شود:

Total Error = Bias + 2CV

در فرمول فوق واحد مقادیر درصد می باشد.

شکل 7

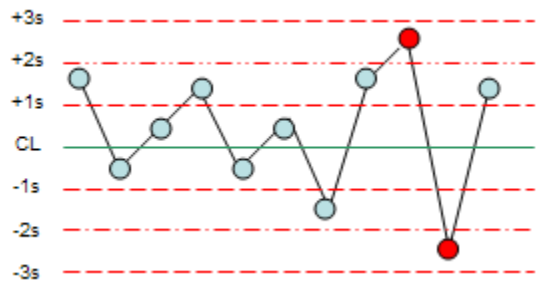


نکته: همانطورکه در شکل 7 مشخص می باشد با یک بار انجام تست بدلیل وجود پراکندگی نتایج امکان دارد علیرغم وجود Bias نتیجه بدست آمده کاملا مطابق با مقدار هدف (TV) باشد (فلش قرمز). برای مثال در مقایسه بین دو دستگاه (یا دو آزمایشگاه) برای یک تست اگر به نتیجه یکبار آزمایش بسنده کنیم ممکن است علیرغم وجود Bias نتیجه بدست آمده یکسان بوده و متوجه وجود خطای سیستماتیک در روش (دستگاه) مورد بررسی نشویم.

خطای کل مجاز (TEa): حداکثر مقدار خطای اندازه گیری یک آنالیت در آزمایشگاه که از نظر بالینی موجب بی ارزش شدن آن تست نمی شود و آسیب بزرگی در فرآیند تشخیص و یا درمان بیماری ایجاد نمی کند محدوده خطای مجاز تست نامیده می شود. برای اطلاع از مقادیر خطای مجاز هر تست می توان از رفرانس های معتبر موجود و در دسترس مثل CLIA، IFCC، CAP، RCPA، WLASH و ... استفاده نمود. برای مثال خطای مجاز تست گلوکز بر اساس توصیه CLIA برابر 8 ٪ می باشد.

نمودار لوی جنینگ: ابزار مناسبی برای پایش ثبات عملکرد روش (دستگاه) اندازه گیری می باشد. در این نمودار نتایج بدست آمده از آزمایش بر روی نمونه کنترل براساس میزان اختلاف از میانگین (برحسب SD) نشانگر ثبات عملکرد دستگاه و یا برعکس پیدایش خطای غیرقابل قبول می باشد. شکل 8:

شکل 8



برای تصمیم گیری در مورد قابل قبول و یا غیرقابل قبول بودن نتایج نمونه کنترل و امکان آنالیز و گزارش نتایج بیماران بطور معمول از قوانین وستگارد استفاده می شود:

قانون	مفهوم
1_{2S}	یک داده کنترل بیش از 2SD باشد. این قانون هشدار کاذب زیادی دارد و توصیه نمی شود (بجز مواردی که سیگمای تست پایین است).
1_{3S}	یک داده کنترل بیش از 3SD
2_{2S} ($2_{2.5S}$)	دو داده متوالی برای یک کنترل یا 2 داده برای 2 نمونه کنترل با سطوح متفاوت در یک ران کاری بیش از 2_{2S} ($2_{2.5S}$) باشد.
2 of 3_{2S}	نتیجه 2 نمونه کنترل از 3 کنترل استفاده شده در یک ران کاری بیش از 2SD در یک جهت (+ یا -) باشد. این قانون زمانی استفاده می شود که از 3 نوع کنترل استفاده شود.
R_{4S}	اختلاف بین 2 نمونه کنترل متوالی بیش از 4SD باشد. یا اختلاف مقادیر 2 نمونه کنترل متفاوت در یک ران کاری بیش از 4SD باشد.
10_X یا 10_m	ده داده متوالی برای یک نمونه کنترل در یک سمت میانگین می باشد. این قانون به دلیل بالا بودن رد کاذب نتایج توصیه نمی شود.
8_{1S} ($8_{1.5S}$)	8 داده متوالی برای یک نمونه کنترل بیش از 1SD (یا 1.5SD) در یک جهت میانگین باشد.

برخی از این قوانین به خطاهای راندوم (R_{4S})، برخی به خطای سیستماتیک (2_{2S}) و برخی نسبت به هر دو نوع این خطاها حساس می باشند. با به کارگیری چند قانون وستگارد براساس میزان ثبات روش اندازه گیری و سیگمای تست می توان هم حساسیت مناسب برای تشخیص بروز خطا را موجب شد (به طور ایده آل بیش از ٪90) و هم سیگنال های کاذب بروز خطا و رد جواب را به کمتر از ٪5 (ایده آل) رساند. برای مثال در تستی با سیگمای 6 (مفهوم سیگما و نحوه محاسبه آن برای یک تست در شماره بعدی نشریه شرح داده خواهد شد) به کار بردن قانون 1_{3S} با 2 نمونه کنترل در هر ران کاری کفایت می نماید درحالی که در تستی با سیگمای 4 باید از 4 نمونه کنترل در هر ران و قوانین 4_{1S}، R_{4S}، 2_{2S}، 1_{3S} برای اطمینان از ثبات روش و عدم گزارش جواب اشتباه استفاده نمود.

هرچه سیگمای تست بیشتر باشد، به دلیل کمتر بودن احتمال بروز خطای بیش از خطای مجاز نیاز به کنترل و قوانین کمتر و سهل گیرانه تری خواهد بود.

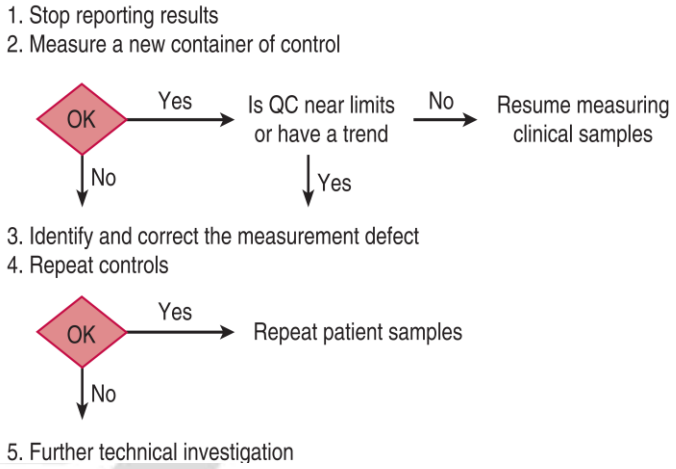
CUSUM و EWMA: روش ها و محاسباتی هستند برای تشخیص خطاهای سیستماتیک و حساسیت و دقت بیشتری برای کشف این نوع خطا نسبت به نمودار لوی جنینگ دارند. مطالعه شرح جزییات نحوه عملکرد و بکارگیری آنها از کتاب های مرجع توصیه می شود.

نحوه برخورد با جواب غیرقابل قبول نمونه کنترل:

اگر جواب بدست آمده از آزمایش برروی نمونه کنترل براساس معیارهای وستگارد قابل قبول نباشد اولین اقدام انجام تست برروی ویال جدید کنترل می باشد (احتمال خراب بودن نمونه کنترل). اگر

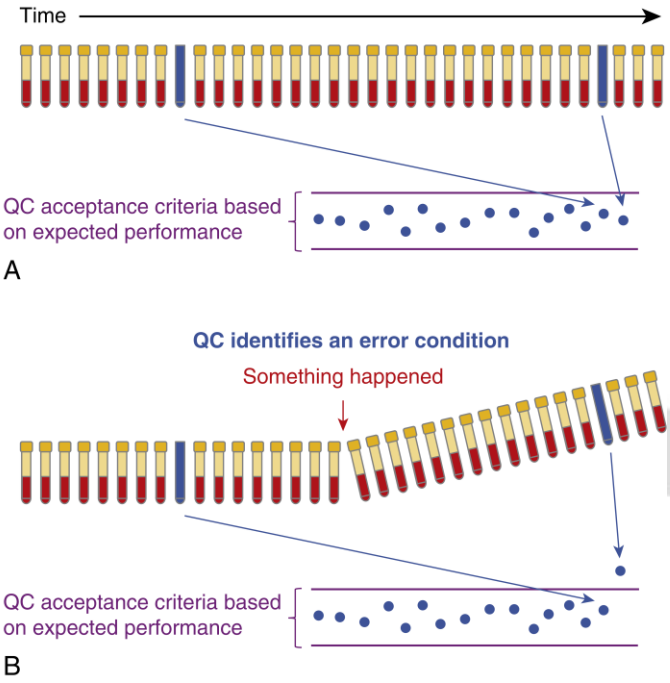
جواب آزمایش برروی نمونه جدید قابل قبول باشد می توان نمونه بیماران را آنالیز و گزارش نمود. ولی اگر نتیجه آزمایش برروی ویال جدید کنترل غیرقابل قبول باشد و یا حتی نزدیک به حدود غیر قابل قبول باشد (جواب لبه مرزی) باید آنالیز نمونه بیماران و گزارش نتایج متوقف شده و نقص موجود در روش و دستگاه مورد نظر بررسی و برطرف شود. پس از رفع نقص نمونه کنترل مجددا مورد آنالیز قرار گرفته و در صورت قابل قبول بودن، آنالیز نمونه بیماران و گزارش نتایج می تواند ادامه یابد. شکل 9.

شکل 9



نکته: درصورتی که نتایج نمونه کنترل غیرقابل قبول باشد باید از صحت نتایج کل بیماران آنالیز شده از نمونه کنترل قبلی (با جواب قابل قبول) تا نمونه کنترل فعلی، از طریق تکرار تست (پس از رفع عیب) اطمینان حاصل شود مگر اینکه از زمان دقیق بروز نقص در روش آزمایش مطمئن باشیم که در این صورت تنها آزمایش بیماران آنالیز شده پس از بروز نقص نیاز به تکرار خواهند داشت.

شکل 10



نکته: نمونه کنترل را باید در شروع روز و یا ران کاری به دستگاه داد و تنها درصورتیکه نتایج به دست آمده با استفاده از نمودار (لوی جنینگ) و معیارهای وستگارد و... مورد قبول باشد اقدام به آنالیز نمونه بیماران نمود.

نکته: حداقل تعداد نمونه کنترل 2 نمونه و ترجیحا با غلظت های متفاوت در هر 24 ساعت می باشد. ولی باید دقت کرد که این کمترین مقدار بوده و برای آزمایشگاهی است که تست مورد نظر 6 سیگما یا بیشتر بوده، تنها یک ران کاری با تعداد محدود نمونه داشته و شواهدی از تغییر شرایط (مثل تغییر اپراتور، معرف، کیت، اجرای دستورات نگه داری، تعمیر و...) در طول ران کاری رخ نداده باشد.

در شماره بعدی نشریه مفهوم سیگما و نحوه محاسبه آن، نمونه کنترل کیفی خارجی و ... مورد بحث قرار خواهد گرفت.