بسم الله الرحمن الرحیم

کنترل و تضمین کیفیت در آزمایشگاه ایمونولوژی و سرولوژی

سمانه خرمی

استادیار ایمونولوژی دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی ایران

1395-2-3

نهمین کنگره بین المللی و چهاردهمین کنگره کشوری

ارتقاء کیفیت خدمات آزمایشگاهی تشخیص پزشکی ایران

نحوه کنترل کیفی یک آزمایش کمّی نظیر الایزا و کمی لومینسانس

مروری بر کنترل کیفی

- **کنترل کیفیت:** سنجش هایی که باید در هر سری کار انجام شود تا تایید کند که آزمون درست انجام شده و نتایج قابل اعتماد است.
- **تضمین کیفیت:** برنامه کلی کار آزمایشگاه که نشان می دهد که در هر مرحله دقت و کنترل های لازم صورت می گیرد تا نتایج نهایی مورد تایید باشند. یعنی نسخه بیمار درست قرائت شده، نمونه درستی اخذ شده، نتیجه آزمایش دستی یا دستگاهی قابل اعتماد بوده و تفسیر درستی از آزمایش صورت گرفته و جواب به خود بیمار یا فرد درستی تحویل داده شده است.
- **سنجش کیفیت:** روشی است جهت سنجش تاثیر برنامه های کنترل کیفی و تضمین کیفیت که می تواند با استفاده از نمونه کنترل های داخلی یا خارجی بررسی شود.

عواملی که روی کیفیت نتایج اثر می گذارند

- زمینه آموزشی اولیه و آموزش های تکمیلی پرسنل
- شرایط اخذ و نگهداری نمونه
- کنترل های مورد استفاده در هر سری کاری
- کیفیت معرف ها
- کیفیت تجهیزات
- ورود نتایج در نرم افزار آزمایشگاه
- تایید نهایی و تفسیر نتایج
- گزارش نهایی

منابع مهم خطا

- **خطا در ورود اطلاعات اولیه به دستگاه:** کالیبراتور، استاندارد یا کنترل کیفیت مناسبی نداشته باشد، فریز دفریز شده باشد، خوب مخلوط نشده باشد، ..... یا فاکتور یا ضریبی که در هنگام کالیبراسیون یا تهیه منحنی به دستگاه داده می شود اشتباه حساب شده یا اشتباه وارد شود.
- **عوامل مداخله گر زیاد باشد یا ماده بصورت غیرمستقیم سنجیده شود:** مثلاً امروزه تست هایی که بر اساس تثبیت کمپلمان یا مهار هماگلوتیناسیون بود محدودتر شده است.

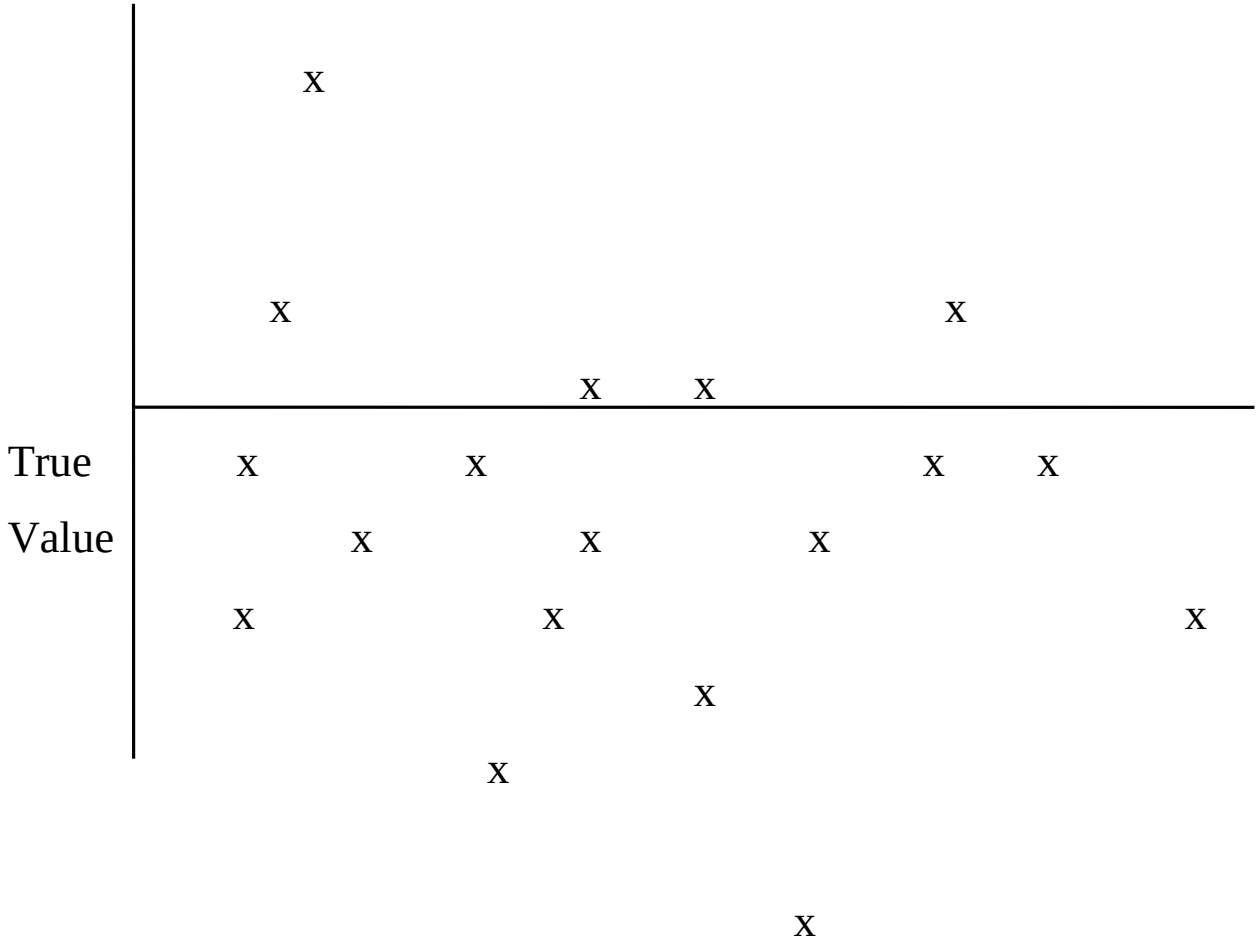
منابع مهم خطا

- کاهش تکرارپذیری تست، بخاطر عدم نگهداری صحیح و کالیبراسیون نامنظم تجهیزات
- خطای دید پرسنل در خواندن شماره بیمار یا ورود نتایج در سیستم کامپیوتری
- تاثیر عوامل محیطی مانند دمای یخچال و محیط کار، نامرتب بودن میزها و سایر استرس های محیطی
- اشتباه در محاسبات یا عدم توجه به واحد و مقادیر مرجع
- عدم تشابه روند کارها در یک روز کاری و بالا بودن حجم کار

خطای تصادفی

- خطای تصادفی یا راندوم خطایی است که قابل پیش بینی نباشد.
- به آن عدم دقت یا عدم تکرار پذیری نیز می گویند
- شک به خطای تصادفی: تکرار آزمایش، ترجیحاً در یک سری کاری دیگر
- معمولاً در هر سری کاری خطای تصادفی علت متفاوتی نسبت به قبل دارد و اغلب بطور کامل قابل حذف نیست.
- رایج ترین خطاهای تصادفی: خطای سمپل کردن، عدم رعایت دقیق زمان های انکوباسیون و عدم استفاده از روش کار استاندارد (SOP)
- بهترین روش کاهش خطاهای تصادفی: آموزش مداوم پرسنل، بکارگیری پرسنل با تجربه و تهیه SOP توسط فرد انجام دهنده آزمایش

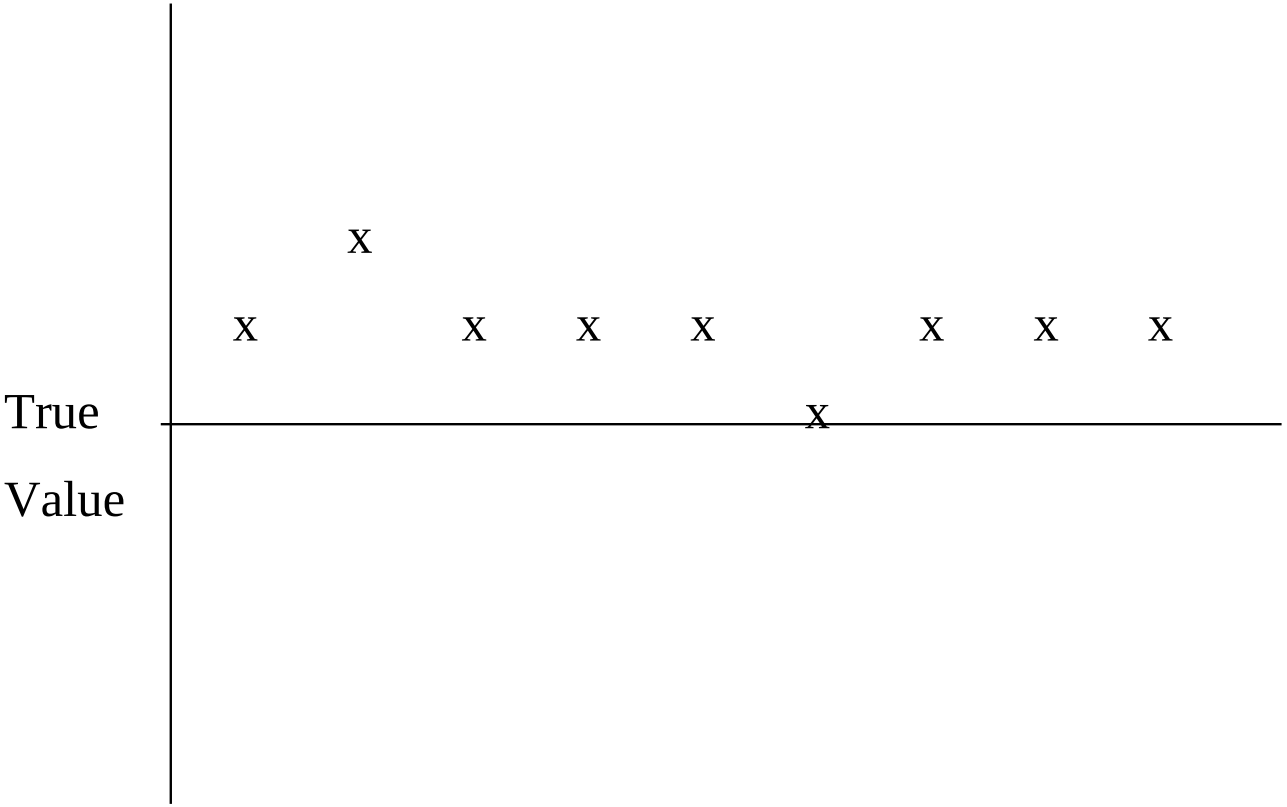
نتیجه خطای تصادفی



خطای سیستماتیک

- خطایی است که اگر آزمایش چندین بار با شرایط همسان انجام گیرد خطای مشابهی را نشان دهد.
- ممکن است تکرار پذیری وجود داشته باشد ولی صحت نداشته باشد
- در حقیقت جوابها Bias یا شیفت دارند و همگی درصدی پایین یا درصدی بالا هستند. گاهی با دادن ضریب می توان جواب ها را اصلاح کرد.
- عامل اصلی این خطا معمولاً تغییرات دما، عدم رعایت زمان انکوباسیون ها، عدم پیروی از روش کار استاندارد، گرفتگی سوزن های مکش، عدم کالیبراسیون سمپلرها، اشکال در محلول سازی یا رقیق سازی، ناکافی بودن شستشوها، استفاده از کالیبراتورهای تاریخ گذشته، تعویض کیت بدون کالیبراسیون مجدد و ... می باشد.

نتیجه خطای سیستماتیک



روش کنترل کیفی برای آزمون های ایمونولوژی

- کنترل کیفی آزمون های کمّی ایمونولوژی با استفاده از سرم کنترل های تجاری یا پول سرم یا کنترل های داخل کیت انجام می شود و نتایج روی نمودار Levey Jennings ترسیم شده و صحت و دقت نتایج با استفاده از قوانین وستگارد و روش های آماری بررسی می شود.

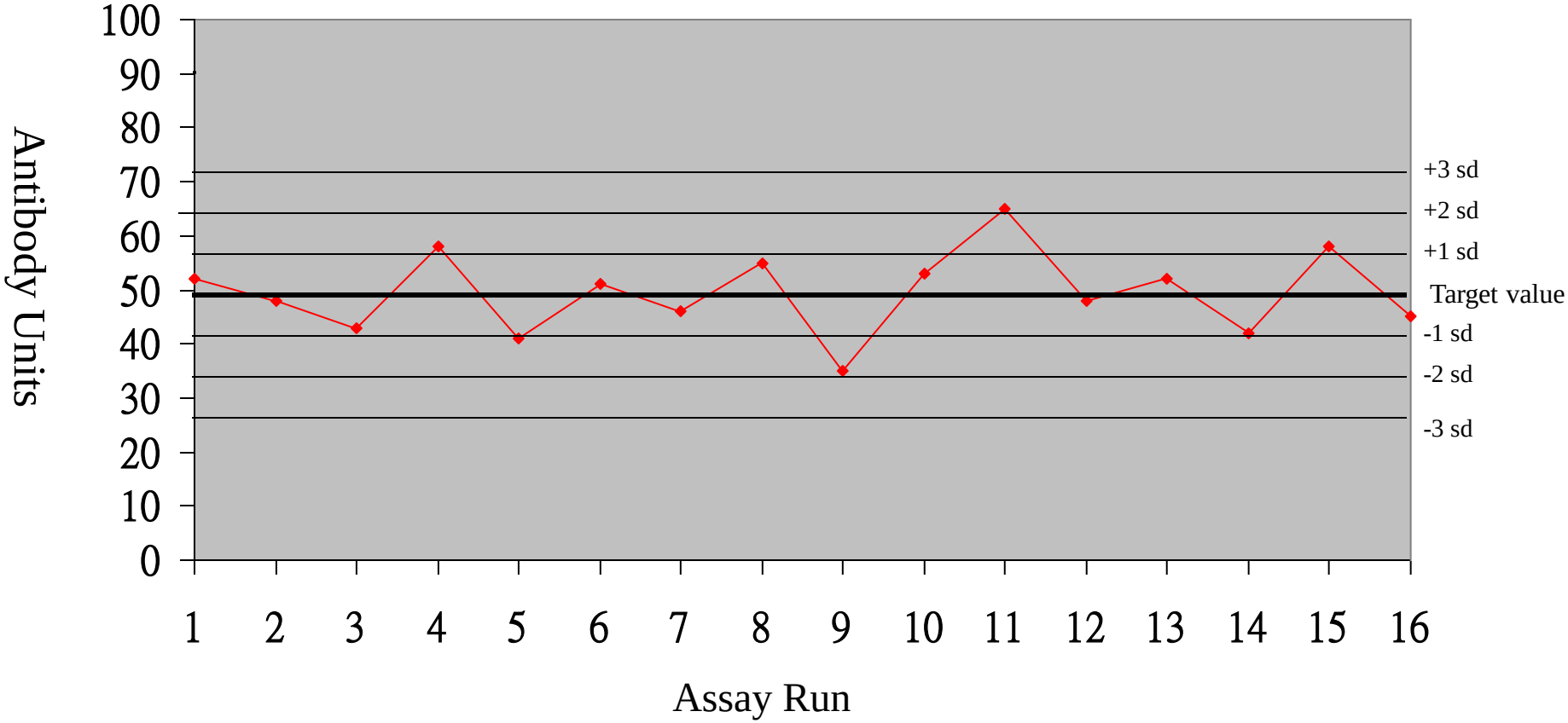
طرز تنظیم نمودار Levey Jennings

- هر کنترل تجاری، میانگین، حداقل و حداکثر مشخص دارد. پس می توان ضریب تغییرات آن را حساب کرد.
- در مورد پول سرم در ۲۰ سری کاری آزمایش را انجام دهید و میانگین و ضریب تغییرات آن را حساب کنید. گاهی لازم است به جذب نوری و محاسبه Cut off یا تیتر آنتی بادی اکتفا کنید.
- شماره سری کاری یا تاریخ انجام تست را در محور افقی بنویسید و میانگین و ۱و۲و۳ واحد SD کمتر و بیشتر از میانگین را در محور عمودی ترسیم کنید.

کاربرد روزمره نمودار Levey Jennings

- بعد از ترسیم نمودار خالی، ارقام بدست آمده از آزمون های روزانه را در آن وارد کرده و مرتب به قوانین وستگارد توجه نموده و علاوه بر تفسیر صحت و دقت نتایج، بطور ماهانه محاسبات آماری شامل میانگین، SD و CV نتایج را انجام می دهیم تا متوجه خطاهای تصادفی و سیستماتیک احتمالی باشیم.

Levey Jennings Chart



Anti-CCP IgG ELISA: Target Value = 49 U/ml

Immunology QC

Test name:
Manufacturer:
Method:

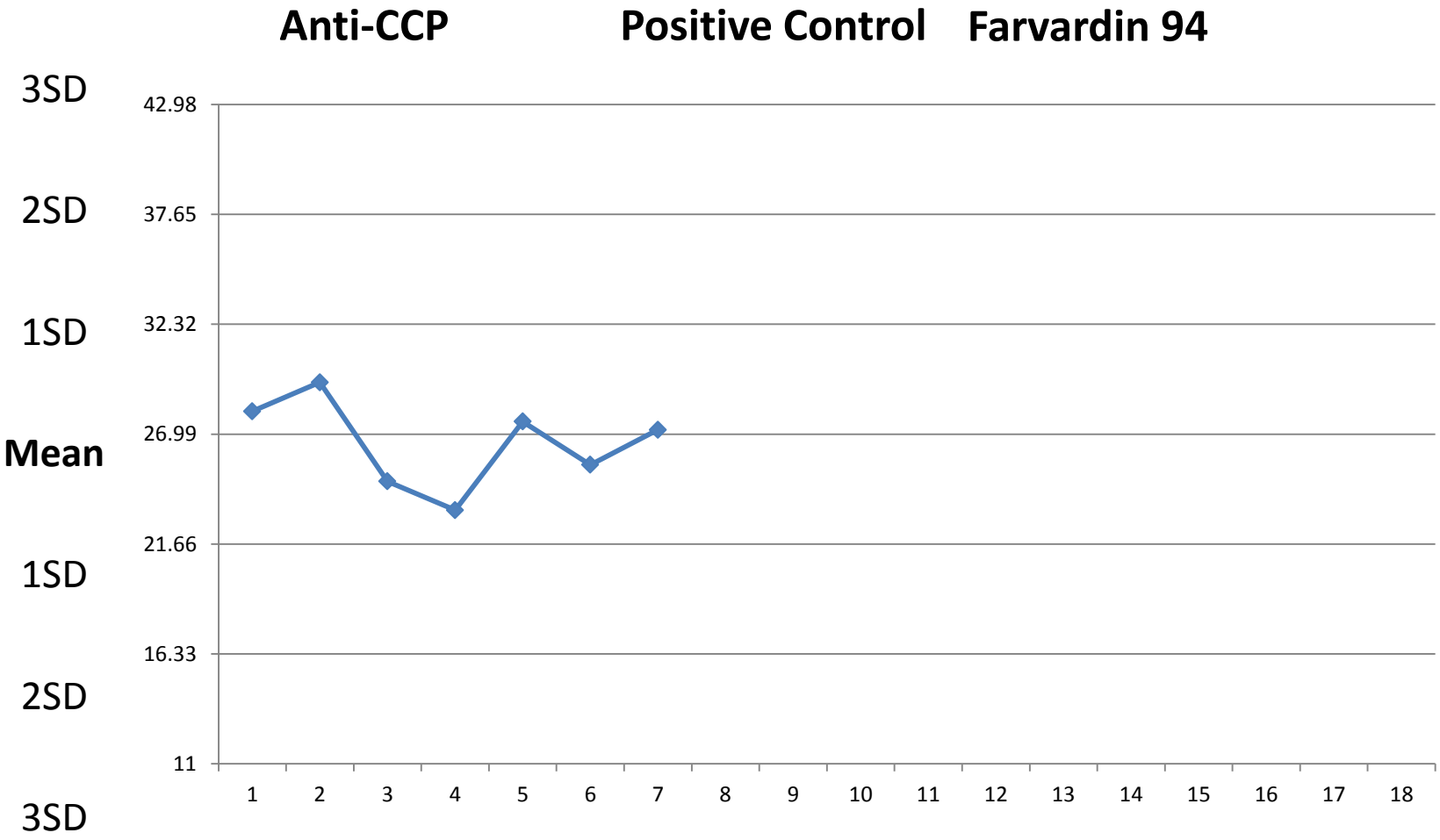
Practitioner:

Section Director:

Unit: RU/mL

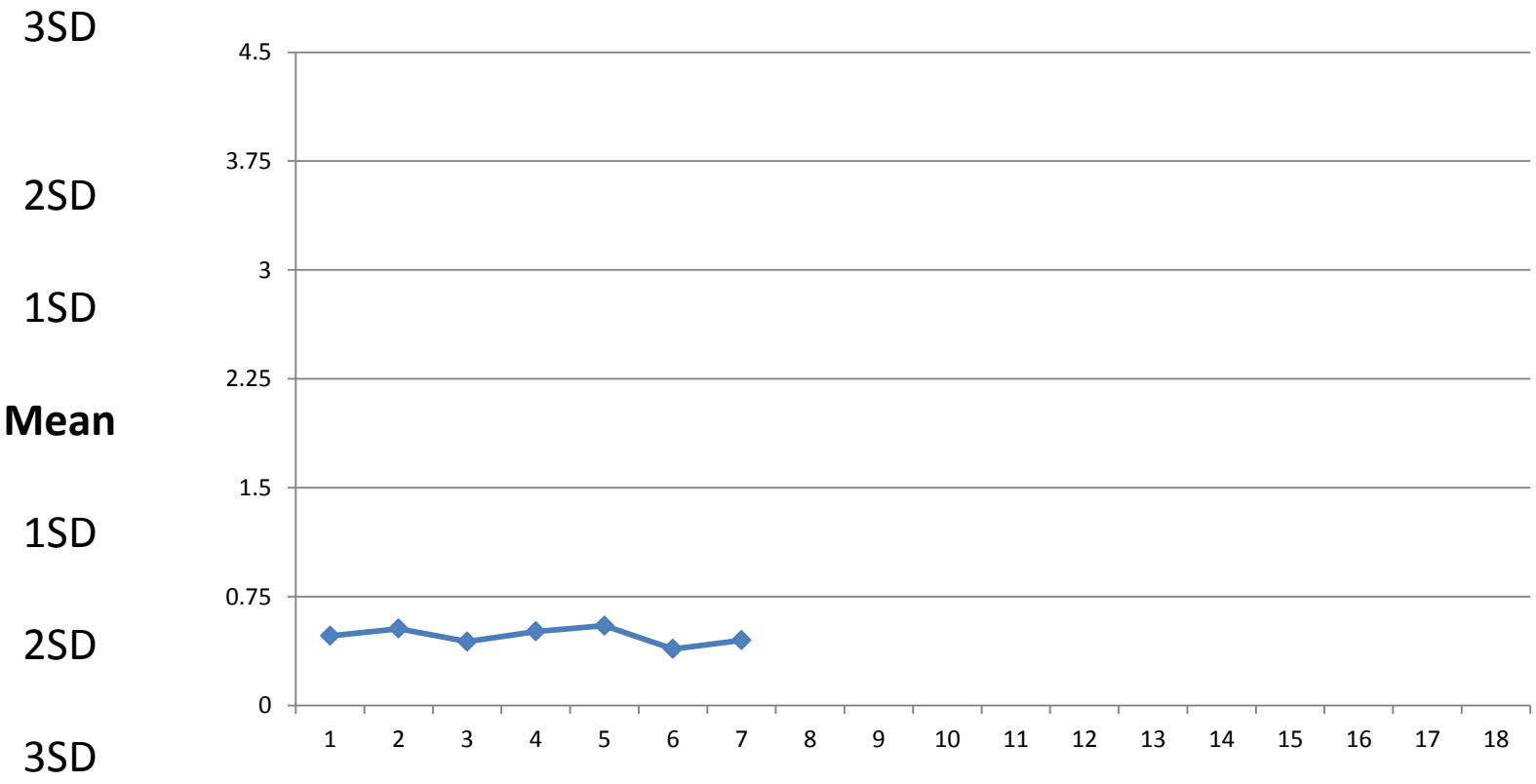
		OD					Concentration	
		Cal 1	Cal 5	Cal 20	Cal 100	Cal 200	Neg Cont	Pos Cont
Valid Range							0 - 4.5	11 - 43
Lot #	Date	0.073	0.289	0.821	2.146	2.71	1	27
E110AW	93.9.1						0.48	28.1
	93.9.5						0.53	29.5
	93.9.10						0.44	24.7
	93.9.15						0.51	23.3
	93.9.20						0.55	27.6
	93.9.25						0.39	25.5
	93.9.30						0.45	27.2
Mean:							0.48	26.56
1SD:							0.06	2.15
2SD:							0.11	4.30
3SD:							0.17	6.45
CV:							11.72	8.09
Min							0.31	20.11
Max							0.65	33.01

Immunology QC



Immunology QC

Anti-CCP **Negative Control** **Farvardin 94**



قوانین وستگارد

- قوانین وستگارد، قوانین قابل استفاده در کنترل کیفی است که برای بررسی قابل قبول بودن نتایج هر سری کار استفاده می شود که آیا داده های بدست آمده تحت کنترل بوده اند یا خارج از کنترل بوده اند. این قوانین هم صحت نتایج و هم دقت نتایج را کنترل می کند. یعنی هم خطاهای تصادفی و هم سیستماتیک را بررسی می کند.

قوانین وستگارد

- از بین این قوانین هفت قانون مهم تر است که بعضی از آنها هشدار دهنده و بعضی از آنها رد کننده نتایج هستند. اگر خطای هشدار دهنده بود روش کار و مواد و تجهیزات را مجدداً بررسی نمایید. اگر رد کننده بود جواب ها قابل اعتماد نیستند و ممکن است نیاز به بازنگری اساسی و تکرار آزمایشات باشد.

قوانین وستگارد

- 1_{2SD} rule
- 2_{2SD} rule
- 4_{1SD} rule
- 1_{3SD} rule
- R_{4SD} rule
- 10_{X} rule
- 7_{T} rule

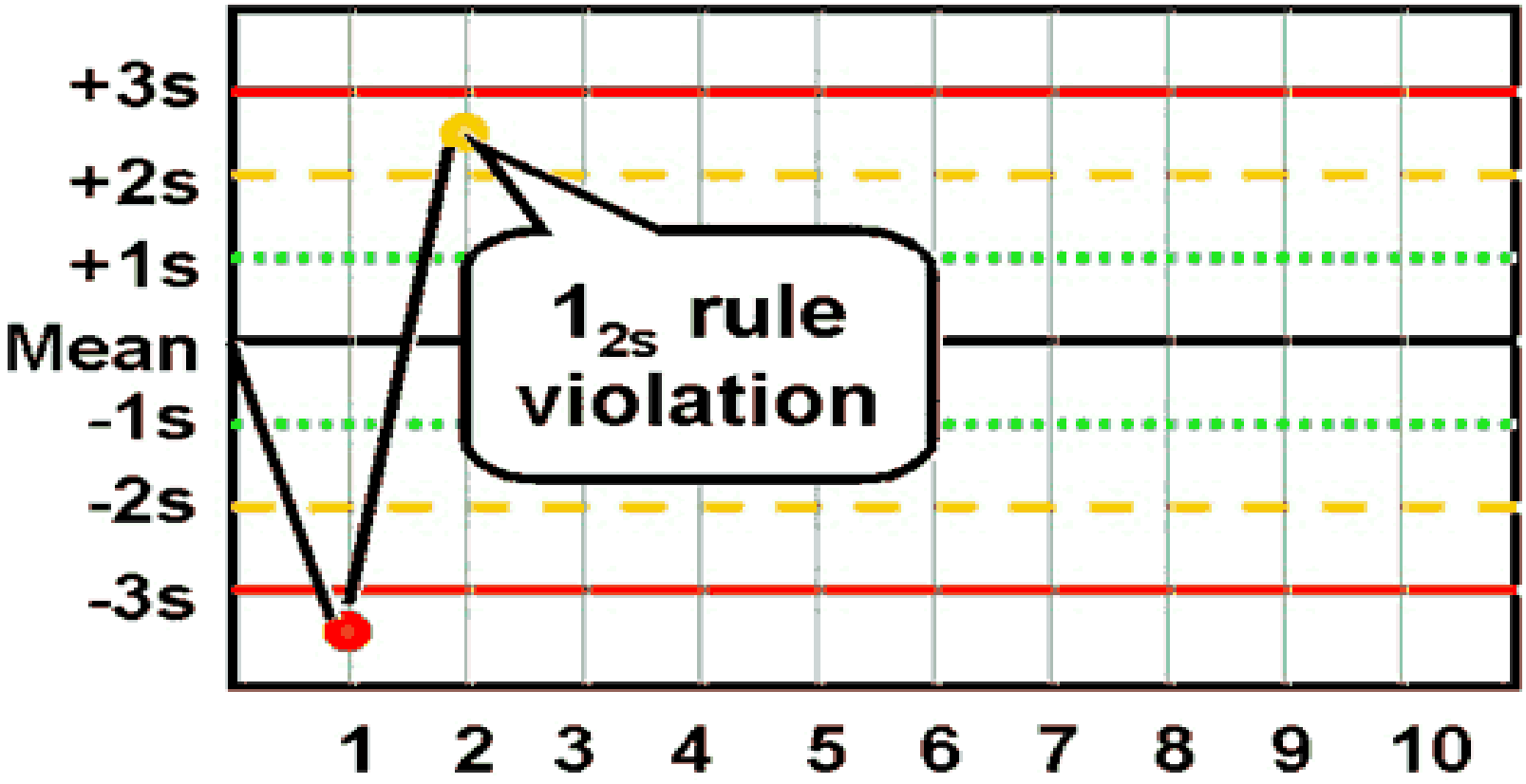
قوانین وستگارد

- 1_{2SD}: وقتی که یکی از کنترل ها به اندازه ±2SD با عدد واقعی اختلاف داشته باشد. این حالت بطور طبیعی در ۵ درصد بهترین شرایط رخ می دهد. نشانه خطای تصادفی است.
- 2_{2SD}: وقتی که یکی از کنترل ها در دو سری کاری پشت سرهم به اندازه ±2SD با عدد واقعی اختلاف داشته باشد. یک هشدار جدی تری است و نشانه شروع یک خطای سیستماتیک است.
- 4_{1SD}: وقتی که یکی از کنترل ها در چهار سری کاری پشت سرهم بیش از ±1SD با عدد واقعی اختلاف داشته باشد و همگی در یک طرف عدد واقعی باشند. نشان دهنده این است که کیت اشکال دارد یا دستگاه نیاز به کالیبراسیون دارد و خطای سیستماتیک رخ داده است.

قوانین وستگارد

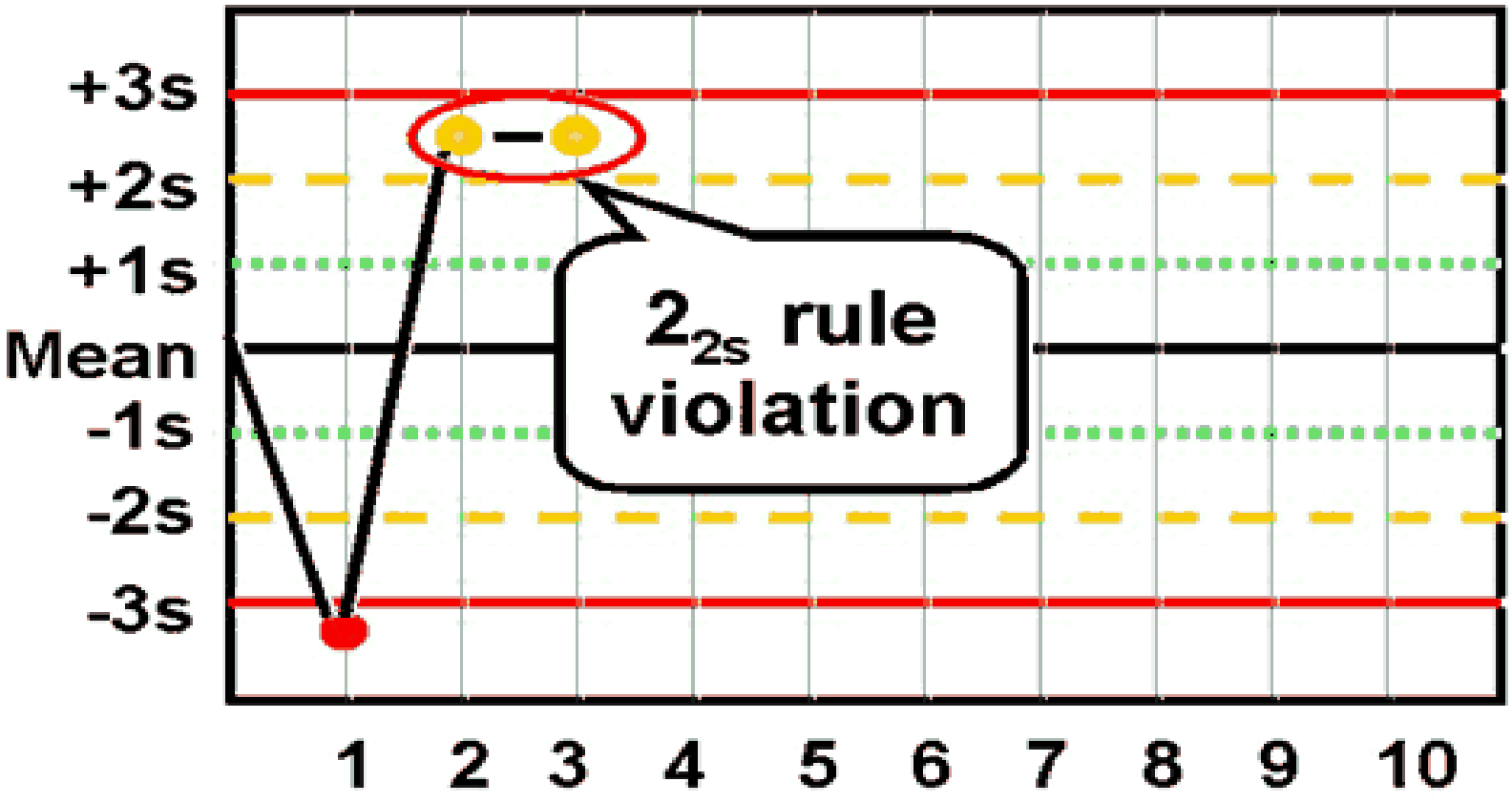
- **1_{3SD}**: وقتی که یکی از کنترل ها به اندازه ±3SD با عدد واقعی اختلاف داشته باشد. نتایج خارج از کنترل محسوب می شوند.
- **R_{4SD}**: وقتی که در یک سری کار، یکی از کنترل ها بصورت دوبله انجام شود و نتایج به اندازه 4SD با هم اختلاف داشته باشد.
- **10x** : وقتی که در ۱۰ سری کاری پشت سرهم نتایج در یک طرف عدد واقعی باشند.
- **7_T** : اگر هفت جواب در یک راستای افزایشی یا کاهشی باشد یک خطای جدی وجود دارد که در مورد ایمونواسی ها اغلب کاهشی است و مربوط به تضعیف عملکرد کونژوگه می باشد.

1_{2S} Rule = A warning to trigger careful inspection of the control data



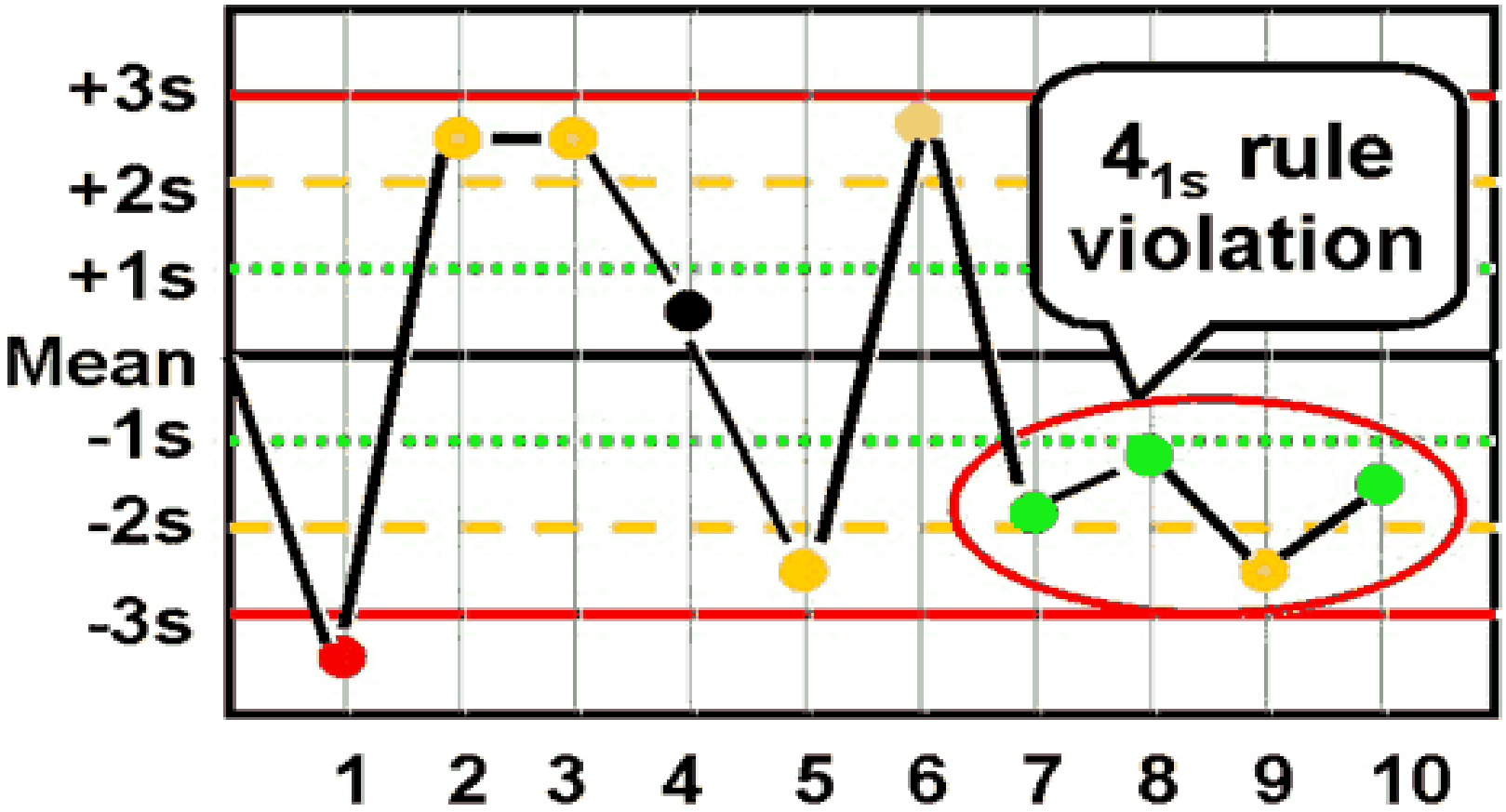
مرجع: تصویر: سایت وستگارد

2_{2S} Rule = reject the run when 2 consecutive control measurements exceed the +2SD or -2SD control limit



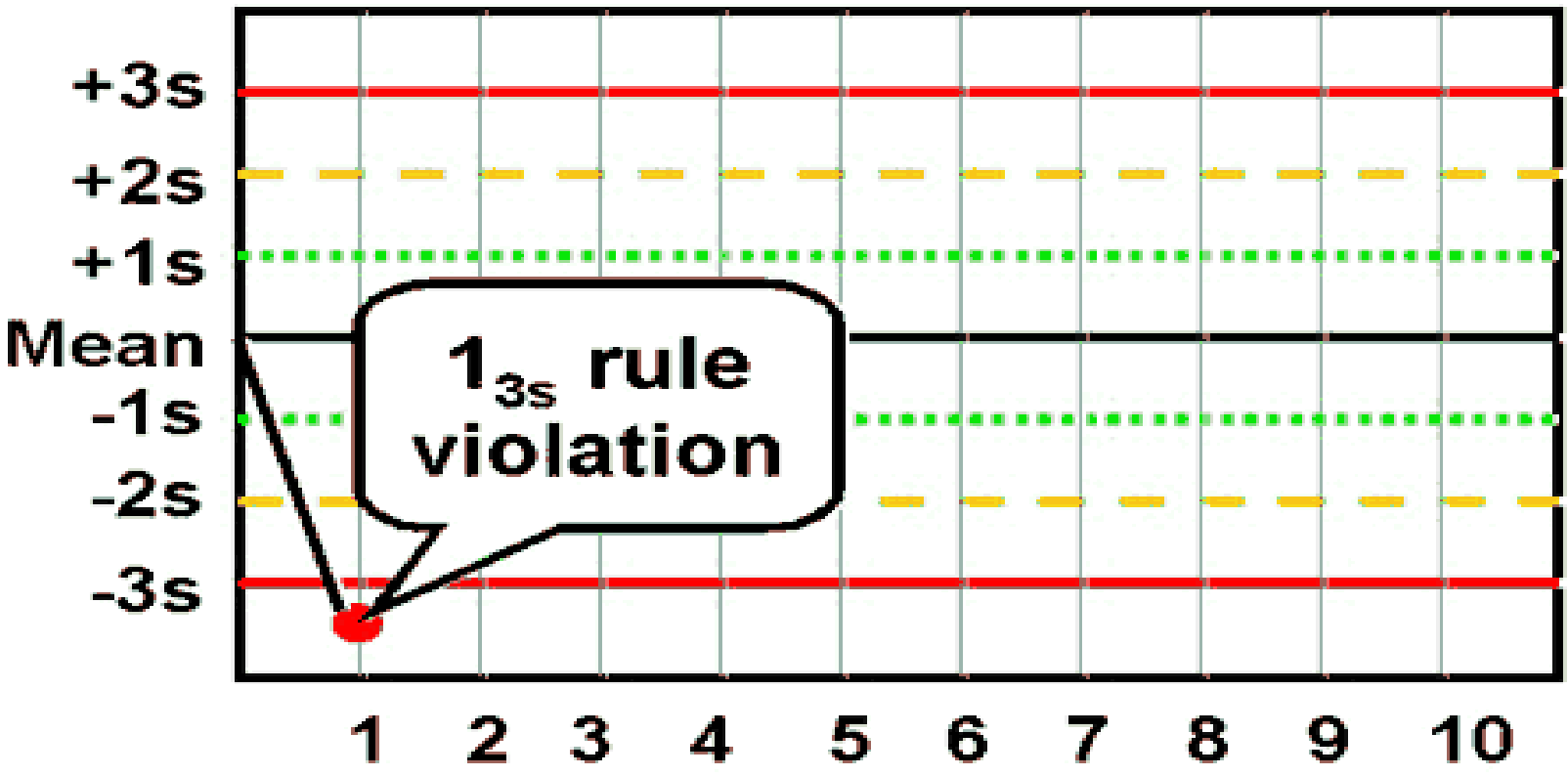
مرجع*d*تصویر: سایت*d*وستگارد

4_{1S} Rule = reject the run when 4 consecutive control measurements exceed the +1SD or -1SD control limit



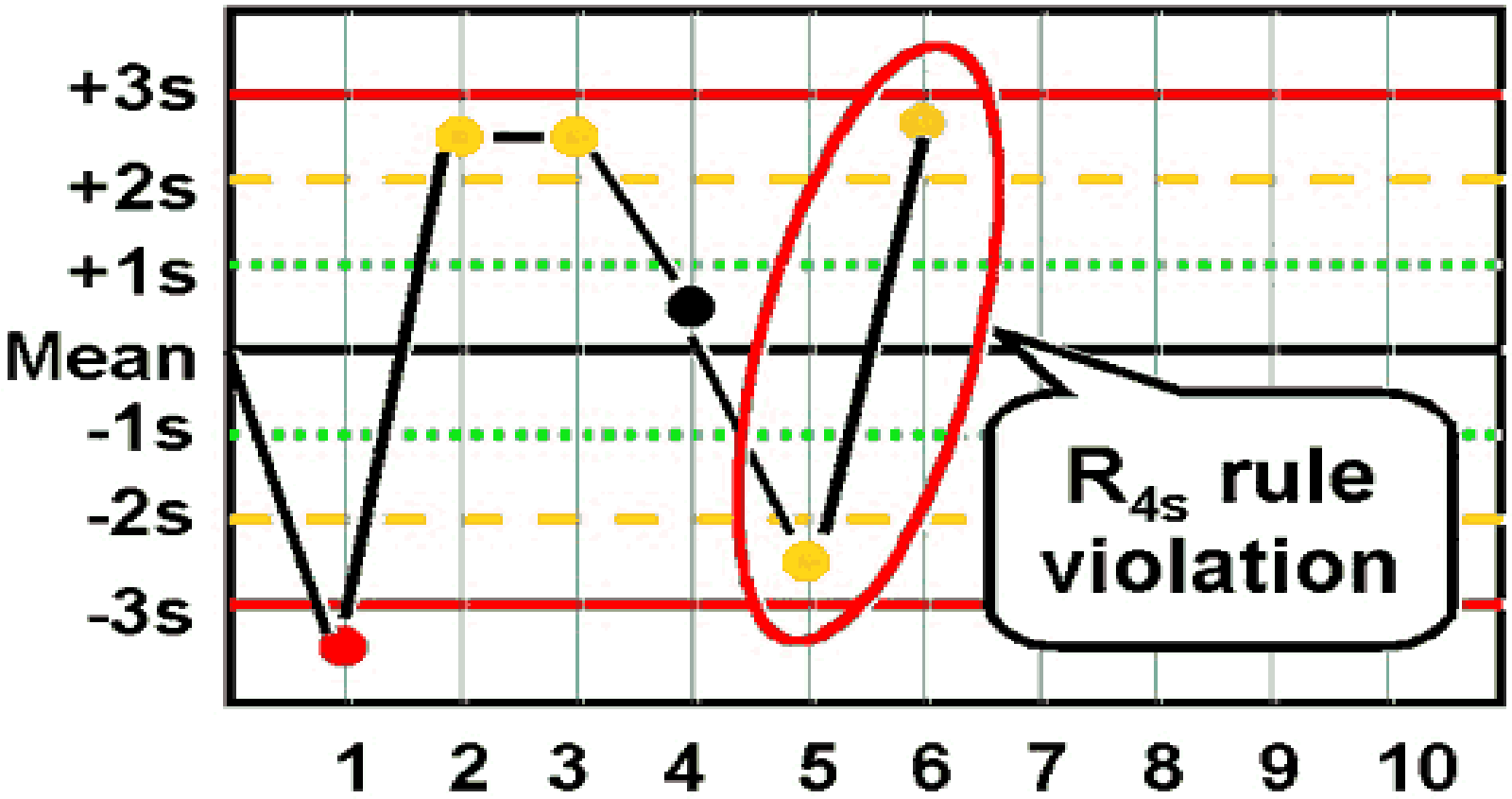
مرجعdتصویر: سایتdوستگارد

1_{3S} Rule = Reject the run when a single control measurement exceeds the +3SD or -3SD control limit



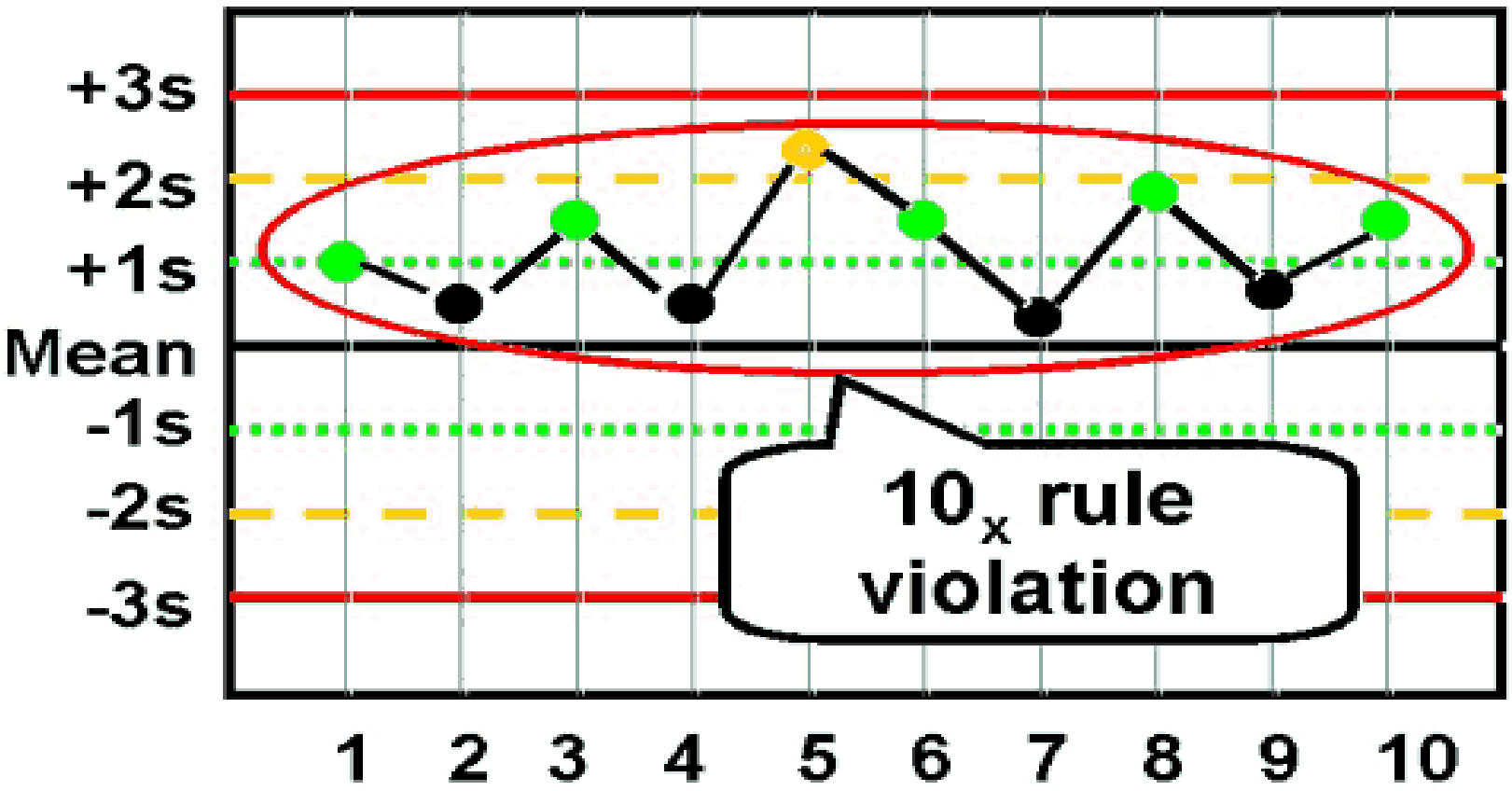
مرجعdتصویر: سایتdوستگارد

R_{4S} Rule = Reject the run when 1 control measurement exceed the +2SD and the other exceeds the -2SD control limit



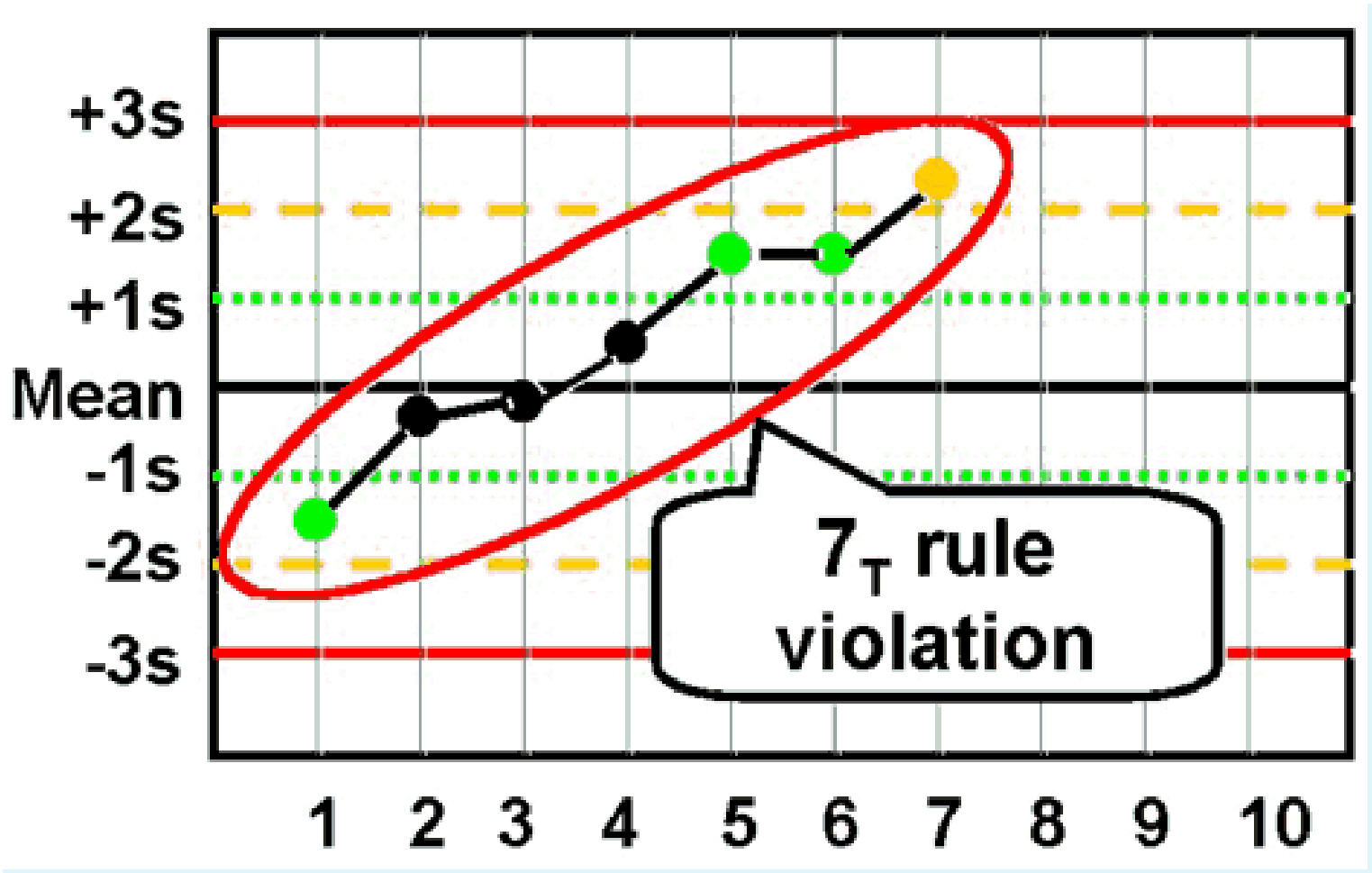
مرجعdتصویر: سایتdوستگارد

10_x Rule = Reject the run when 10 consecutive control measurements fall on one side of the mean



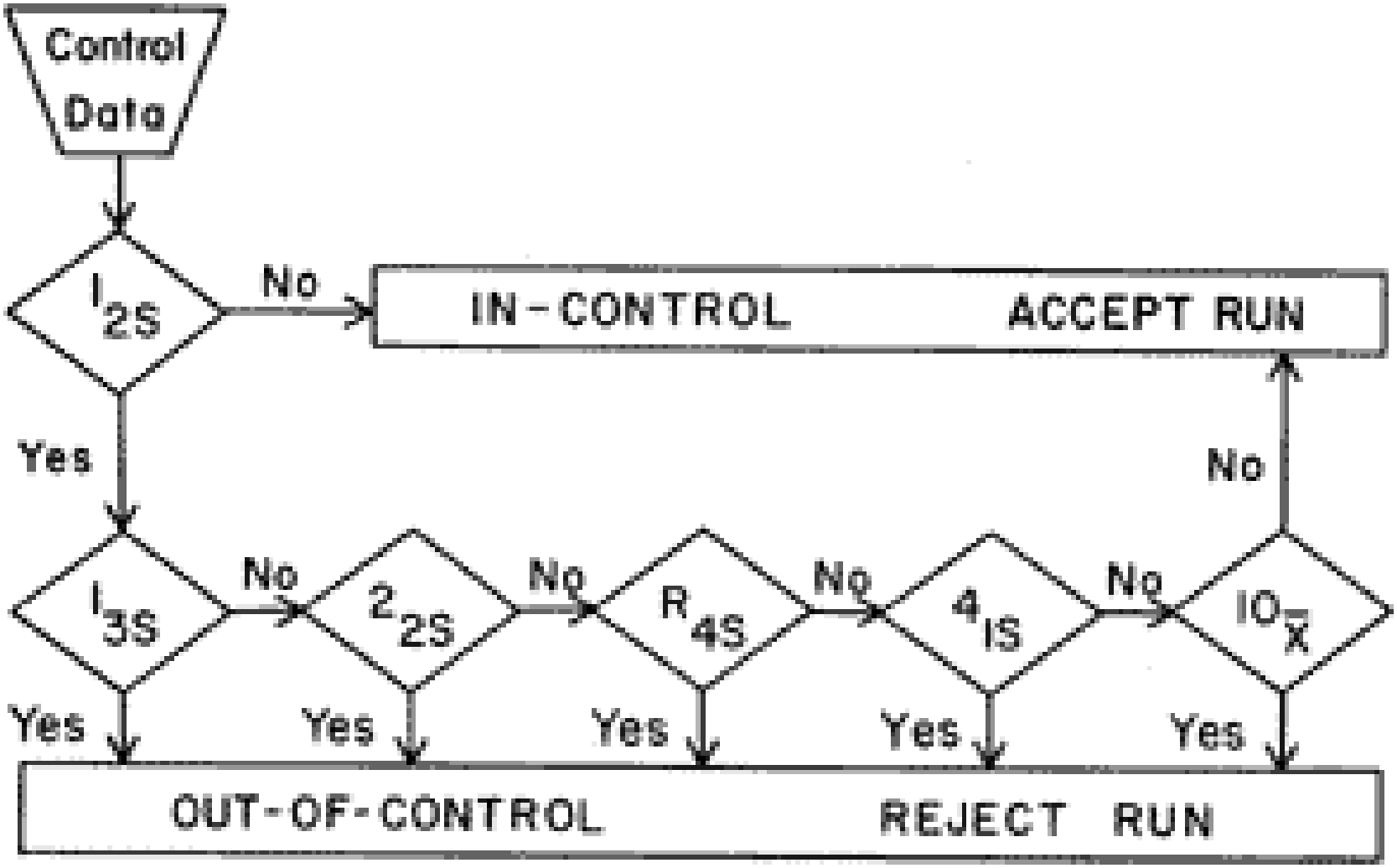
مرجعdتصویر: سایتdوستگارد

7_T Rule - reject when seven control measurements trend in the same direction, i.e., get progressively higher or progressively lower



مرجعdتصویر: سایتdوستگارد

قوانین چندگانه وستگارد



مرجع*d*تصویر: سایت*d*وستگارد

چگونه خطاها را کاهش دهیم؟

- به واحد آزمایشات توجه کنید
- محلول سازی را مطالعه فرمایید
- نکات مربوط به هر تست را در برگه کنترل کیفی یاداشت فرمایید
- برای تست های کمّی منحنی کنترل کیفی ترسیم نمایید
- تا حد امکان نتایج را بصورت کمّی گزارش کنید نه کیفی (کیفی ها را هم تبدیل به کمّی کنید)
- آزمایشات خارج از محدوده را با سرم مادر تکرار کنید نه با سرم موجود
- آزمایشات دو جوابی را نمونه گیری مجدد نمایید
- نتایج بالا را با سایر آزمایشات مرتبط کنترل کنید.

چگونه خطاها را کاهش دهیم؟

- تا حد امکان نمونه ها را در فریز نگهداری کنید و از فریز دفریز کردن بی مورد آنها خودداری کنید. بعد از دفریز کردن سرم را با شیکر لوله بخوبی مخلوط کنید زیرا پروتئین ها رسوب می کنند و محتویات مایع رویی عمدتاً آب است.
- بعد از اتمام خوانش نتایج الایزا، نتیجه پرینت جذب نوری چاهک ها را با مقدار احتمالی آن با روش چشمی مقایسه نمایید. در مواردی که جذب نوری بیش از ۳ باشد گاهی دستگاه آن را حدود صفر گزارش می کند.

چگونه خطاها را کاهش دهیم؟

- اگر نمونه ای جواب بیش از حد داشت، با توجه به اهیمت آزمایش، آن را رقیق نموده و تکرار کنید یا نتیجه را بیش از حد قابل سنجش با روش مذکور گزارش نمایید.

رسیدن به قله های کیفیت
تلاش دائمی لازم دارد

با تشکر از حضور شما در این کارگاه