

# روش کار حسابگر تداخل

## Interference

### توجه:

(۱) اجرای این حسابگر به ویرایش ۲۰۱۰ یا بالاتر برنامه‌ی Excel نیاز دارد.

(۲) چون این حسابگر در برنامه‌ی Excel تهیه شده است، ممکن است ابعاد صفحه‌ی باز شده همسان با صفحه‌ی نمایشگر نباشد. در این صورت لازم است پس از باز کردن برنامه با کاستن یا افزودن بر اندازه‌ی صفحه آن را طوری تنظیم کرد که مناسب نمایشگر باشد. برای این که هر بار مجبور به این کار نباشیم، می‌توان پیش از باز کردن برنامه، تیک Read-only را برداشت، صفحه را باز و اندازه‌ی آن را تنظیم و ذخیره کرد. پس از بستن صفحه دوباره Read-only را تیک زد.

### ❖ چند نکته در باره‌ی ارزیابی تداخل

- در ارزشیابی روش‌ها، یکی از کارها ارزیابی تاثیر مواد مداخله‌گر احتمالی بر یک روش سنجش است. البته بر اساس الزامات CLIA لازم نیست آزمایشگاه این بررسی را برای روش‌های ساخت شرکت‌ها انجام دهد، اما چنانچه آزمایشگاهی روشی را خودش ساخته است یا اینکه در روش کار و/یا مواد ساخت شرکت تغییری داده است آنگاه باید این بررسی را انجام دهد. به رغم این، گاهی لازم است که آزمایشگاه حتی برای روش‌های ساخت شرکت‌ها که بدون هر گونه تغییری آن‌ها را به کار می‌برد نیز تداخل را بررسی کند. مثلاً در صورتیکه داروی خاصی در یک بیمارستان برای برخی از بیماران استفاده می‌شود و این احتمال مطرح است که شاید آن داروبر روی یک کیت ایمونواسی خاص تداخل داشته باشد، باید پیش از شروع به استفاده از آن کیت برای سنجش نمونه‌های بیماران، اثر تداخلی آن دارو را بر روی آن کیت بررسی کرد.
- برای انجام این بررسی باید یک محلول غلیظ از ماده‌ی مشکوک به تداخل تهیه کرد. یک نمونه‌ای را به دو قسمت تقسیم کرد و حجم معینی محلول غلیظ مداخله‌گر احتمالی را به یک قسمت از نمونه افزود، و همزمان به قسمت دیگر، به همان اندازه‌ی حجم محلول غلیظ، حلال اضافه کرد. پس از انجام آزمایش بر روی هر دو لوله، اختلاف غلظت آن‌ها را بررسی کرد تا روشن شود که آیا ماده‌ی مورد نظر اثر تداخلی داشته است یا نه.
- بررسی را باید دست‌کم با دو نمونه انجام داد. همچنین باید هر یک از لوله‌های دارای مداخله‌گر یا حلال را دست‌کم ۳ بار سنجید و از نتیجه‌ها میانگین گرفت.
- حجم محلول غلیظ افزوده شده به نمونه، باید حداکثر یک دهم حجم نمونه باشد تا زمینه‌ی نمونه عوض نشود. بنا بر این، باید غلظت محلول به اندازه‌ی زیاد باشد که پس از افزودن حجم اندکی از آن به نمونه، غلظت مداخله‌گر در نمونه به بیشترین حدی که ممکن است دیده شود برسد؛ مثلاً برای بررسی اسید آسکوربیک، باید غلظت محلول غلیظ آنقدر باشد که پس از افزودن مقداری از آن به نمونه، غلظت اسید آسکوربیک در نمونه به ۱۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر برسد. برای حساب کردن غلظت محلول مداخله‌گر، باید ضریب رقت نهایی را در غلظت مورد نظر ضرب کرد. مثلاً برای مثال اسید آسکوربیک، چنانچه بخواهیم با افزودن ۵۰ میکرولیتر محلول غلیظ به ۹۵۰ میکرولیتر نمونه (ضریب رقت: ۲۰)، به غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر برسیم باید محلول غلیظ اسید آسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تهیه شود (۲۰ × ۱۵). البته می‌توان از حسابگر "تهیه‌ی محلول غلیظ مداخله‌گر" نیز استفاده کرد. در مورد مثال بالا پس از وارد کردن اعداد مورد نظر در خانه‌های مربوط، نتیجه نمایش داده خواهد شد:

حجم نمونه	حجم محلول مداخله‌گر	غلظت مداخله‌گر در نمونه	غلظت محلول غلیظ مداخله‌گر
950	50	15	300

### ❖ روش استفاده از حسابگر تداخل

روش استفاده از این حسابگر با یک مثال بیان می‌شود. در مثال زیر اثر تداخلی همولیز به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بر روی یک روش سنجش کراتینین بررسی شده است.

همانطور که گفتیم باید دست‌کم دو نمونه را بررسی کرد و دست‌کم هر لوله را ۳ بار سنجید. این حسابگر دارای ۱۰ ردیف برای ۱۰ نمونه، و ۵ ستون برای وارد کردن نتایج تا ۵ بار سنجش است.

در این مثال، ۳ نمونه انتخاب شده است و پس از افزودن همولیزات به لوله‌های اول و آب مقطر به لوله‌های دوم، بر روی هر ۶ لوله سه بار آزمایش کراتینین انجام شده است. در شکل زیر نتایج به دست آمده از سنجش لوله‌های بدون مداخله‌گر و دارای مداخله‌گر در خانه‌های مربوط وارد شده است. در ستون آخر هر قسمت، میانگین نتایج هر ردیف نمایش داده شده است، و در آخرین ستون سمت چپ اختلاف میانگین‌های دو قسمت دیده می‌شود:

ردیف شماره	بدون مداخله‌گر						دارای مداخله‌گر						اختلاف
	سنجش ۱ #	سنجش ۲ #	سنجش ۳ #	سنجش ۴ #	سنجش ۵ #	میانگین	سنجش ۱ #	سنجش ۲ #	سنجش ۳ #	سنجش ۴ #	سنجش ۵ #	میانگین	
1	1.01	1.08	1.19			1.093	1.45	1.46	1.49			1.467	0.37333
2	1.2	1.26	1.22			1.227	1.51	1.55	1.61			1.557	0.33
3	0.95	0.93	1.02			0.967	1.36	1.4	1.39			1.383	0.41667
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													

چنانچه از اختلاف‌های نمایش داده شده میانگین بگیریم تاثیر تداخلی همولیز بر سنجش کراتینین به دست می‌آید؛ در حسابگر تداخل، این محاسبه انجام و نتیجه در جدول سفید طرف راست مقابل عنوان "تداخل" دیده می‌شود:

3	درصد:	TEa
	واحد:	
7	خطای کل مجاز در این سطح:	
	تداخل: 0.373	
	داوری:	

عدد ۰.۳۷۳ در این مثال به این معناست که این مقدار همولیز، به طور متوسط سبب افزایش حدود ۰.۳۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در جواب کراتینین میشود.

برای داوری در باره‌ی این که آیا این مقدار تداخل مهم است یا نه، باید تاثیر آن را در سطوح تصمیم با خطای کل مجاز مقایسه کرد. خطای کل مجاز در جدول CLIA برای کراتینین به صورت زیر بیان شده است:

**Target value  $\pm$  0.3 mg/dL or  $\pm$  15% (greater)**

یعنی در غلظت‌های زیر ۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر خطای کل مجاز ۰.۳ است و برای غلظت‌های بالاتر از ۲ برابر ۱۵٪ است.

در مورد این مثال، همانطور که پیداست برای سطح تصمیم ۰.۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر (حد بالای کراتینین طبیعی نوزادان و شیرخواران) و نیز سطح تصمیم ۱.۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر (حد بالای کراتینین طبیعی بزرگسالان) خطای کل مجاز ۰.۳ است. با توجه به این که تداخل حاصل از همولیز سبب خطایی به بزرگی ۰.۳۷ می‌شود که از خطای کل مجاز بزرگتر است و بنا بر این روش برای سنجش نمونه‌های دارای این مقدار همولیز قابل قبول نیست.

برای این که حسابگر، مقایسه و داوری را برای ما انجام دهد باید جدول سفید رنگ را کامل کرد. در این جدول مقابل عنوان TEa دو گزینه وجود دارد: "درصد" و "واحد". این دو گزینه برای آن است که بتوان خطای کل مجاز را به شکل نظر وارد کرد؛ وقتی خطای کل مجاز به شکل درصد است باید آن را جلوی عنوان "درصد" وارد کرد، و وقتی خطای کل مجاز یک مقدار معین است باید آن را مقابل عنوان "واحد" وارد کرد. در مورد این مثال، برای سطوح تصمیم ۰.۵ و ۱.۵ باید عدد ۰.۳ را که خطای کل مجاز این سطوح است مقابل عنوان "واحد" وارد کرد؛ در آن صورت نمای زیر دیده خواهد شد:

0.3	درصد:	TEa
	واحد:	
	خالی باشد	
0.3	خطای کل مجاز در این سطح:	
	تداخل: 0.3733	
	داوری: <b>ناپذیرفته!</b>	

اگر بخواهیم تاثیر این مقدار تداخل را در سطح تصمیم ۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بررسی کنیم، باید ابتدا خطای کل مجاز را برای این سطح حساب کنیم؛ با توجه به این که برای غلظت‌های بالاتر از خطای کل مجاز ۱۵٪ است:

$$15\% * 3 = 0.45 \text{ mg/dL}$$

خطای کل مجاز برای این سطح ۰.۴۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر می‌شود. چون خطای ناشی از تداخل (۰.۳۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) از خطای کل مجاز در این سطح کمتر است پس می‌توان در صورت وجود این مقدار همولیز به نتایج این کیت برای سنجش کراتینین‌های بالا اعتماد کرد. باز هم برای این که حسابگر، کار محاسبه و داوری را انجام دهد باید جدول سفید رنگ را کامل کرد. برای این مثال، این بار باید برای خطای کل مجاز، عدد ۱۵ را مقابل گزینه‌ی "درصد" وارد کرد. پس از پر کردن این خانه، زیر عنوان TE<sub>a</sub> عنوان "سطح تصمیم" نمایان می‌شود که برای این مثال باید عدد ۳ را در آن وارد کرد. پس از وارد کردن اطلاعات خواسته شده، نمای زیر دیده خواهد شد:

درصد:	15	TE <sub>a</sub>
واحد:		
سطح تصمیم:	3	
خطای کل مجاز در این سطح:		
	0.45	
تداخل:		
	0.3733	
داوری:	پذیرفته	

در پایان بررسی می‌توان با مراجعه به صفحه‌ی گزارش، اطلاعات مربوط به بررسی را تایپ کرد و سپس از آن چاپ گرفت.

#### ❖ نکته

گاهی بیان می‌شود که بررسی تداخل راهی است برای شناسایی خطای سامانمند ثابت (Constant SE). چنین بیانی درست نیست؛ چرا که معنای خطای سامانمند ثابت عبارت است از **اختلاف متوسط** بین نتایج یک روش با نتایج روش مرجع، و این اختلاف مستقل از غلظت آنالیت در سراسر بازه‌ی سنجش به یک مقدار ثابت دیده می‌شود. مثلاً ممکن است یک روش سنجش گلوکز در مقایسه با روش مرجع، همه‌ی جواب‌ها را به **طور متوسط** ۱۰ واحد بالاتر بخواند. این خطا چون رفتاری قابل پیش بینی است و به اصطلاح با برنامه رفتار می‌کند "سامانمند (منظم)" نامیده می‌شود، و چون مستقل از غلظت آنالیت است و در سراسر بازه به یک اندازه است، "ثابت" نامیده می‌شود؛ روی هم می‌شود خطای سامانمند ثابت.

یکی از دلایل خطای سامانمند ثابت می‌تواند این باشد که معرف گلوکز مورد بررسی خودش جذب نوری داشته باشد؛ اگر شاهد معرف (Blank) نگذاریم که این مقدار جذب را از جذب نهایی همه‌ی نمونه‌ها کم کند، آنگاه چنین افزایش جذب ثابتی به افزایش ثابتی در غلظت محاسبه شده برای همه‌ی نمونه‌ها می‌انجامد.

خطای سامانمند ثابت، خطایی است که گریبان همه‌ی نمونه‌های ما را می‌گیرد. اما خطای ناشی از تداخل، رفتاری همه‌ی نمونه‌ها نیست بلکه عامل مداخله‌گر ممکن است تنها در برخی نمونه‌ها وجود داشته باشد. مثلاً بنا نیست همه‌ی نمونه‌های ما همولیز باشد؛ بلکه چون ممکن است گاهی نمونه‌ای همولیز شود باید بررسی کنیم که آیا همولیز می‌تواند بر جواب تاثیر داشته باشد یا نه.

علت این که گاهی بررسی تداخل به عنوان راهی برای بررسی خطای سامانمند مطرح می‌شود آن است که خطای ناشی از مداخله‌گر نیز مستقل از غلظت نمونه است و برای غلظت‌های گوناگون ثابت است؛ یعنی مثلاً اگر ۷۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تری‌گلیسرید سبب افزایش یک نتیجه‌ی HDL از ۳۰ به ۴۵ شود (۱۵ واحد افزایش)، همین مقدار تری‌گلیسرید در نمونه‌ای با غلظت HDL برابر ۵۵ سبب می‌شود که نتیجه‌ی ۷۰ به دست آید (باز هم ۱۵ واحد افزایش). مفهوم "خطای ثابت" در مورد تداخل چنین است که کاملاً با مفهوم خطای ثابت سامانمند فرق دارد. جالب این جاست که خطای ناشی از تداخل به یک مفهوم خطای اتفاقی هم هست چون همانطور که گفته شد به طور اتفاقی گریبان برخی از نمونه‌ها را می‌گیرد و در مقایسه‌ی روش‌ها، سبب افزایش پراکندگی اختلاف نتیجه‌های روش ما با روش مرجع می‌شود. به همین دلیل است که در کتاب Tietz برای خطای ناشی از تداخل عنوان "خطای سامانمند اتفاقی؛ Random Constant Error" به کار گرفته شده است؛ یعنی خطایی که به طور "اتفاقی" در برخی نمونه‌ها دیده می‌شود و سبب افزایش خطای اتفاقی در اختلاف نتیجه‌ها می‌شود اما مقدار آن ثابت و مستقل از غلظت آنالیت مورد سنجش در نمونه است.

---

با احترام،

حسن بیات

۱۳۹۲/۹/۲۸