

# راهنمای فنی روشهای کسب اطمینان از اعتبار نتایج آزمایشگاهی

## (مرحله انجام آزمایش و کنترل کیفیت نتایج)

### مقدمه:

آزمایشگاه محل انجام آزمایش بر روی مواد بدست آمده از بدن انسان، به منظور فراهم کردن اطلاعات مورد نیاز جهت پیشگیری، تشخیص، درمان و مدیریت بیماریها یا ارزیابی سلامت افراد می باشد. جهت حصول اطمینان از اعتبار نتایج و اطلاعات آزمایشگاهی، لازم است علاوه بر کنترل دقیق مراحل اصلی چرخه آزمایش، بویژه فرآیندهای قبل از آزمایش، انتخاب و صحت گذاری روش های انجام آزمایش و فرآیند پس از آزمایش، ارکان سیستم مدیریت کیفیت نیز در آزمایشگاه استقرار پیدا کنند.

این راهنما با هدف حصول اطمینان از اعتبار نتایج در مراحل انجام آزمایش و کنترل کیفیت و نیز تعیین چهارچوبی جهت هماهنگی روند اجرا و نظارت بر فرایندهای یاد شده و نهایتاً کاهش ریسک ناشی از ارائه داده ها یا اطلاعات نادرست آزمایشگاهی برای بیماران و نظام سلامت، تدوین گردیده است. تدوین این سند به استناد مراجع معتبر علمی و همچنین نظرات صاحب نظران حوزه کنترل کیفیت کمیته های تخصصی آزمایشگاه مرجع سلامت صورت گرفته است.

اجرای مندرجات این راهنما، در کلیه آزمایشگاههای پزشکی اعم از دولتی و غیردولتی در حوزه های بهداشتی و درمانی الزامی می باشد. در قسمت هایی از این راهنما که از واژه "ترجیحا" و یا عبارت "به صلاحدید مسئول فنی" استفاده شده و یا اقداماتی به صورت توصیه یا پیشنهاد مطرح گردیده، بر عهده مسئول فنی است، تا با در نظر گرفتن نوع آزمایش، کاربرد بالینی آن، احتمال بروز خطا و شدت آسیب بالقوه به بیمار در صورت خطا در نتیجه آن آزمایش، در مورد اجرای توصیه یا پیشنهاد ارائه شده و یا روش کنترل کیفیت تصمیم گیری نماید. بدیهی است تصمیم مسئول فنی و روشی که بکار می گیرد باید منطقی و مستدل باشد و ریسک خطای آزمایشگاهی و اشتباه در تشخیص و درمان بیمار را به حداقل برساند.

در آزمایشگاههای مراکز تشخیصی درمانی و بیمارستانها، آزمایشگاههایی که تعداد مراجعه کننده زیاد دارند، آزمایشگاههای ارجاع (که نمونه های بالینی به آنها ارجاع میشود) و همچنین آزمایشگاههای مرجع کشوری یا استانی بیماریهها، با توجه به این که نتیجه آزمایشگاهی نادرست ریسک بیشتری در روند مراقبت از بیماران ایجاد می کند، لازم است اقدامات کامل تری جهت کنترل کیفیت به اجرا درآید، که در متن به آنها اشاره شده است. تاکید می گردد که این آزمایشگاهها اجرای موارد ترجیحی، توصیه ای و پیشنهادی را بیشتر مورد توجه قرار دهند.

اطمینان از اجرای این الزامات در آزمایشگاه، در دامنه وظایف و مسئولیت های مدیریت آزمایشگاه با محوریت مسئول فنی آن می باشد. مسئول فنی و گروه مدیریتی آزمایشگاه، مسئولیت انتخاب و بکارگیری روش های معتبر آزمایش، انجام برنامه های کنترل کیفیت داخلی و تفسیر نتایج آنها، شرکت در برنامه های کنترل کیفیت خارجی و مهارت آزمایی، شناسایی و ریشه یابی خطاها و تشخیص دلایل احتمالی بروز آنها جهت انجام اقدامات اصلاحی متناسب را برعهده دارند. مسئول فنی آزمایشگاه موظف است مستقیماً بر برنامه های کنترل کیفیت در بخش های مختلف آزمایشگاه نظارت داشته باشد.

چنانچه یک آزمایشگاه به هر دلیل امکان اجرای الزامات برنامه کنترل کیفیت برای تامین اعتبار داده ها و اطلاعات مورد نیاز بیماران و مراجعین خود برای یک آزمایش را نداشته باشد، لازم است از انجام آن آزمایش خودداری نموده و با رعایت مفاد مندرج در "دستورالعمل ارجاع نمونه های بالینی در آزمایشگاههای پزشکی"، نمونه ها را به آزمایشگاه مورد تایید دیگر ارسال کند.

لازم به تاکید است کسب اطمینان از تحقق الزامات مندرج در این سند بر عهده ارزیابان و کارشناسان فنی سیستم نظارتی دانشگاههای علوم پزشکی می باشد.

این سند دارای چند بخش است. بخش اول به انتخاب و اعتبارسنجی روش های انجام آزمایش اختصاص داده شده و در ادامه، در مورد کنترل کیفیت داخلی آزمایش ها (با استفاده از نمونه ها و مواد کنترلی و همچنین از طریق آنالیز نتایج آزمایش بیماران) و برنامه ارزیابی خارجی کیفیت و سایر روشهای ارزیابی صحت نتایج، الزامات و توصیه هایی ارائه گردیده است. شایان ذکر است جهت کسب اطمینان از اعتبار نتایج آزمایشگاهی، لازم است مجموعه ای از روش های مختلف کنترل کیفیت شامل کنترل کیفیت داخلی و کنترل کیفیت خارجی بکار گرفته شود. بنابر این باید توجه داشت که روش های اشاره شده جایگزین یکدیگر نبوده و تکمیل کننده می باشند.

در این راهنما به الزامات کنترل کیفیت مربوط به بخش میکروبی شناسی، که قبلاً از طریق چک لیست و دستورالعمل های مرتبط ابلاغ شده، و نیز الزامات مربوط به اطمینان از اعتبار نتایج آزمایشهای آسیب شناسی تشریحی، تشخیص مولکولی، سیتوژنتیک و پیوند پرداخته نشده است.

با توجه به بکارگیری طیف وسیعی از تجهیزات آزمایشگاهی مدرن، سیستم های بسته و روش های آزمایشگاهی متنوع، ممکنست آزمایشگاه نیازمند برنامه ریزی ویژه جهت کنترل کیفیت تجهیز، روش یا تکنولوژی خاصی باشد که در این راهنما به این روش های تخصصی اشاره نمی شود.

## **انتخاب روش های انجام آزمایش و کسب اطمینان از اعتبار آنها**

روش انجام هر آزمایش، با توجه به کاربرد بالینی و هدف از درخواست آن آزمایش برای بیمار، انتخاب می شود. به عبارت دیگر انتخاب روش انجام هر آزمایش بر اساس ویژگی های عملکردی (Performance characteristic) (شامل دقت، صحت، خطی بودن، محدوده قابل گزارش، حد تشخیص، حساسیت و اختصاصی بودن تشخیصی و بالینی و غیره) و با در نظر گرفتن کاربرد آن آزمایش برای بیماران صورت می گیرد. لذا لازم است در آزمایشگاه برای اطمینان از انتخاب روش معتبر برای انجام آزمایش، ویژگی های عملکردی آن روش مد نظر قرار گیرد و این ویژگی ها ارزیابی شده و تایید گردد، یا به عبارت دیگر روش های انجام آزمایش مورد صحت گذاری (Validation) و یا تصدیق (Verification) قرار گیرند.

صحت گذاری (Validation): به معنای تأیید وجود تمامی ویژگی های عملکردی روش آزمایش، با توجه به کاربرد بالینی و هدف از انجام آن آزمایش برای برآوردن نیازهای بالینی است. برای اطمینان از اعتبار نتایج آزمایشگاهی، همه روشهای آزمایش که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می گیرند باید صحت گذاری شده باشند. کیت های تجاری مورد تأیید وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، که قبلاً توسط تولید کننده کیت صحت گذاری شده و ویژگی های عملکردی آن تعیین گردیده است، چنانچه بدون هیچگونه تغییر یا تعدیلی در آزمایشگاه مورد استفاده قرار گیرد، نیاز به صحت گذاری مجدد ندارند. برای روش های طراحی و راه اندازی شده توسط خود آزمایشگاه و همچنین در مواردی که تغییری در روش انجام آزمایش با کیت های آماده مصرف تجاری، که قبلاً توسط سازنده صحت گذاری شده اند، اعمال گردد (مثلاً کوتاه یا طولانی کردن زمان انکوباسیون، تغییر حجم نمونه یا حجم معرف های مورد استفاده)، باید مجدداً صحت گذاری در آزمایشگاه انجام شود.

تصدیق روش (verification): به معنای ارزیابی بخشی از ویژگی های عملکردی آن روش (مثلاً دقت، صحت، خطی بودن و غیره)، که مرتبط با کاربرد بالینی آزمایش برای بیماران و مراجعین یک آزمایشگاه است، می باشد. چنانچه کیت های صحت گذاری شده و آماده مصرف تجاری بدون هیچ گونه تغییر یا تعدیلی مورد استفاده قرار گیرند، کافی است در آزمایشگاه مراحل تصدیق روش (verification) برای آنها انجام شود.

در صورت تغییر نوع کیت و یا شماره ساخت کیت، که ویژگی های عملکردی آن تصدیق شده، باید توافق نتایج حاصل از اندازه گیری نمونه های بیماران با کیت قدیم و جدید و یا شماره ساخت قدیم و جدید مورد ارزیابی قرار گیرد و توافق این نتایج با استفاده از آزمون های آماری مناسب تأیید شود. روش پیشنهادی، ارزیابی توافق نتایج مربوط به حداقل ۱۰ نمونه از بیماران از طریق آزمون رگرسیون (بصورت دستی و یا با استفاده از نرم افزارهای موجود در بازار) می باشد. لازم به تأکید است که نمونه های انتخاب شده بیماران باید محدوده غلظتی پایین، طبیعی و بالا را پوشش دهند. روش پیشنهادی دیگر این است که حداقل ۵ نمونه بیمار در غلظت های مختلف، با کیت و یا شماره ساخت قدیم و جدید مورد آزمایش قرار گیرند، اختلاف خوانده های مربوط به هر نمونه محاسبه شده و با خطای مجاز کلی (TEa) یا CV مجاز مقایسه گردد. در این حالت اختلاف بین دو خوانده باید کمتر از نصف خطای مجاز کلی (TEa) یا کمتر از CV مجاز باشد.

در مواردی که از دو یا چند روش یا تجهیز مختلف برای سنجش یک آنالیت در آزمایشگاه استفاده می شود، تطابق نتایج حاصل از اندازه گیری نمونه بیماران با روش ها و یا تجهیزات مختلف، باید با استفاده از آزمون های آماری مناسب بررسی گردد. به این منظور باید حداقل ۵ نمونه (ترجیحاً ۱۰ نمونه) در سطوح غلظتی مختلف، با روش ها یا تجهیزات مورد نظر بطور همزمان آزمایش شده و همخوانی نتایج بدست آمده از طریق آزمون های آماری مثل رگرسیون و مقایسه اختلاف نتایج حاصله با خطای مجاز کلی، تأیید گردد. در آزمایشگاههای بیمارستانی، آزمایشگاههای ارجاع و آزمایشگاههای مرجع باید از ۱۰ نمونه بیمار جهت ارزیابی همخوانی استفاده شود. مقایسه و ارزیابی همخوانی روش های انجام آزمایش و یا تجهیزات مختلف باید بطور دوره ای (به صلاحدید مسئول فنی) انجام گردد.

## **کنترل کیفیت مرحله انجام آزمایش**

### **۱- کنترل کیفیت داخلی**

برنامه های کنترل کیفیت داخلی در آزمایشگاه، از طریق الف) بررسی نتایج آزمایش روی مواد و نمونه های کنترلی و ب) ارزیابی نتایج آزمایش نمونه بیماران انجام می شود. کنترل کیفیت داخلی با بررسی نتایج آزمایش روی مواد و نمونه های کنترلی، عمدتاً دقت نتایج آزمایشگاهی را مورد ارزیابی قرار می دهد.

کنترل کیفیت داخلی نتایج آزمایشگاهی شامل مراحل زیر می باشد:

- برنامه ریزی و انتخاب روش های اجرای برنامه کنترل کیفیت،
- اجرای روش های کنترل کیفیت،
- تعیین قواعد مناسب جهت تفسیر نتایج بدست آمده،
- انجام اقدامات لازم در صورت شناسایی موارد خارج از کنترل

برنامه ریزی کلی جهت انتخاب روش های اجرای برنامه کنترل کیفیت، به اهداف و سطح کیفیت مورد نظر در آزمایشگاه، نوع آزمایش، روش انجام آزمایش، کیفیت و پایداری سیستم انجام آزمایش و همچنین ریسکی که نتیجه اشتباه آزمایش می تواند برای بیمار ایجاد کند، بستگی دارد و به صلاحدید مسئول فنی و گروه مدیریتی آزمایشگاه تعیین می شود. لذا نمی توان یک برنامه خاص برای کنترل کیفیت را بهترین برنامه برای همه آنالیت ها، تجهیزات یا روش ها در نظر گرفت.

قواعد مربوط به تفسیر نتایج کنترل کیفی لازم است به نحوی انتخاب شوند که در عین شناسایی خطاها به نحو موثر، بطور کاذب میزان موارد خارج از کنترل را بالا نشان ندهند. از مهمترین پارامترهایی که مسئول فنی بر اساس آن در مورد قواعد تفسیر کنترل کیفی تصمیم گیری می کند، کیفیت، پایداری و عیار سیگمای سیستم انجام آزمایش است. در مواردی که سیستم انجام آزمایش کیفیت یا پایداری کمتر و عیار سیگمای پایین تری دارد، لازم است قواعد سخت گیرانه تری جهت تفسیر نتایج کنترل کیفی اعمال شود. برعکس چنانچه سیستم انجام آزمایش عملکرد مطلوب و عیار سیگمای بالا داشته باشد، قواعدی که برای تفسیر نتایج کنترل

کیفی انتخاب می شود می تواند کمتر سخت گیرانه باشد چون در غیر این صورت، موارد خارج از کنترل بطور کاذب زیاد نشان داده می شوند.

روش های کنترل کیفیت آزمایش های کمی، کیفی و نیمه کمی نیز متفاوت است. برای اطمینان از کیفیت نتایج آزمایش های کمی که بصورت مقادیر عددی بدست می آیند، بطور معمول از روش های کنترل کیفیت آماری (Statistical Quality Control) یا به عبارتی تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش روی مواد و نمونه های کنترلی استفاده می شود. در روش های کیفی و نیمه کمی، برای ارزیابی کیفیت انجام آزمایش، عمدتاً نمونه های کنترل مثبت و منفی و نیز نمونه های شناخته شده بیماران مورد بررسی قرار می گیرند.

### **الف) کسب اطمینان از اعتبار نتایج از طریق آزمایش روی مواد کنترل**

مواد کنترل مورد استفاده برای ارزیابی روشهای کمی، موادی هستند که دارای محدوده غلظتی مشخصی از آنالیت مورد اندازه گیری بوده و به منظور ارزیابی اعتبار سیستم انجام آزمایش، همراه نمونه بیماران مورد آزمایش قرار می گیرند. این مواد در فواصل کاری معین، به تعداد و غلظت های مشخص آزمایش می شوند. مواد کنترل همچنین بعد از هر نوبت کالیبراسیون تجهیزات، به منظور تصدیق کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرند.

ویژگی های مواد کنترلی ایده آل:

- محدوده غلظتی ماده کنترلی، دامنه اندازه گیری آنالیت بویژه مقادیر تصمیم گیری بالینی را پوشش دهد.
- به لحاظ ماتریکس و زمینه مشابه نمونه مورد آزمایش باشد. همخوانی آن با معرفهای مورد استفاده در نظر گرفته شود و از عدم وجود اثرات زمینه ای (Matrix effect) اطمینان حاصل گردد.
- هموزن و یکنواخت بوده و غلظت آنالیت های موجود در ویال ها یکسان باشد.
- برای مدت مشخص (و تا حد امکان طولانی) پایدار و در حجم زیاد در دسترس باشند.
- به حجم رساندن، تقسیم به قسمتهای کوچکتر و نگهداری آنها به سهولت انجام شود.
- عاری از عوامل بیماریزا مثل باکتری، قارچ، ویروس و پرپون باشد.
- قیمت آن مقرون به صرفه باشد.

انواع مختلفی از نمونه های کنترل موجود و در دسترس آزمایشگاهها است:

- مواد کنترلی داخل کیت که شرکت تولید کننده کیت، آن را برای ارزیابی عملکرد سیستم آزمایش خود می سازد و داخل بسته بندی کیت قرار دارد.
- مواد کنترلی که شرکت تولید کننده کیت، برای سیستم آزمایش خود، ساخت آن را به شرکت سازنده دیگر سفارش داده است.
- مواد کنترلی که توسط شرکت تولید کننده ثالث ساخته شده است و مستقل بوده و ارتباط مستقیمی با هیچیک از شرکت های تولید کننده کیت یا روش های آزمایشگاهی ندارند. این نمونه ها در بیشتر مواقع از ماتریکس انسانی نظیر سرم، خون، پلاسما یا ادرار تولید، و برای ایجاد پایداری و غلظت مناسب تغییراتی در آنها داده شده است.
- نمونه های پولد شده (Pooled Specimen) که از طریق جمع آوری و روی هم اضافه کردن نمونه بیماران مختلف ساخته می شوند. از مشکلات نمونه های پولد می توان به عدم یکنواختی نمونه ها، ناپایداری برخی آنالیتها در آنها، دشواری تهیه آنها با غلظت هایی در سطح تصمیم گیری بالینی و مخاطرات کار با این نمونه ها به لحاظ ایمنی اشاره نمود.

نکته: کالیبراتورها که اصطلاحاً به آن "استاندارد" هم گفته می شود، موادی هستند که حاوی غلظت معینی از آنالیت (و نه محدوده غلظت) هستند و برای تنظیم یا کالیبراسیون تجهیزات و وسایل تشخیصی استفاده می شوند. ماتریکس کالیبراتورها ممکنست مشابه

نمونه بیمار نباشد. کاربرد کالیبراتورها نباید با نمونه های کنترلی اشتباه شود. کالیبراتورها معمولاً توسط تولیدکنندگان تجهیزات و وسایل تشخیصی تولید و در دسترس آزمایشگاهها قرار می گیرند. کالیبراتوری که برای تنظیم یا کالیبراسیون یک سیستم استفاده شده، نباید به عنوان نمونه کنترل برای آن سیستم مورد استفاده قرار گیرد.

### - کنترل کیفیت آزمایش های کمی با استفاده از نمونه کنترل:

برای حصول اطمینان از اعتبار نتیجه آزمایش های کمی (شامل آزمایش های بخش بیوشیمی و بسیاری از آزمایش های بخش ایمونولوژی، هماتولوژی و سنجش های تشخیص مولکولی)، از روش های کنترل کیفیت آماری (Statistical Quality Control) استفاده می شود. در این روش ها، آزمایش بر روی نمونه های کنترلی معتبر انجام شده و نتایج بدست آمده به نمونه بیماران تعمیم داده می شود. به عبارتی اگر نتیجه آزمایش نمونه کنترلی قابل قبول باشد، نتایج بیماران قابل قبول در نظر گرفته میشود.

نکته: همانطور که در بالا اشاره شد منظور از نمونه های کنترلی معتبر، نمونه های کنترلی تجاری معتبر مثل سرم کنترل، خون کنترل، پلاسما کنترل و همچنین نمونه های پولد مثل پلاسما و پولد سرم می باشد

انجام برنامه کنترل کیفیت با استفاده از روشهای آماری جهت کسب اطمینان از اعتبار نتایج آزمایش های کمی، الزامی است.

۱- برای اطمینان از اعتبار نتایج آزمایش های کمی، باید همراه با نمونه بیماران، نمونه های کنترلی معتبر مورد آزمایش قرار گیرند. سطوح غلظتی نمونه های کنترل: نمونه های کنترل ترجیحاً در دو یا سه سطح، و حداقل باید در یک سطح غلظتی (در محدوده تصمیم گیری بالینی و یا به صلاحدید مسئول فنی) مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج به دست آمده ثبت گردد. آزمایشگاههای بیمارستانی، آزمایشگاههای ارجاع و آزمایشگاههای مرجع باید حداقل از دو سطح نمونه کنترل استفاده نمایند. دفعات (فرکانس) استفاده از نمونه کنترل: نمونه های کنترل، ترجیحاً در هر نوبت یا سری (Run) کاری همراه نمونه بیماران مورد آزمایش قرار گیرند. منظور از نوبت یا سری کاری، مدت زمان و یا تعداد نمونه ای است که شرایط سیستم اندازه گیری در آن مدت و یا طی آزمایش آن تعداد نمونه، از نظر صحت و دقت ثابت می ماند. بنابر این دفعات استفاده از نمونه های کنترل به ثبات سیستم انجام آزمایش بستگی دارد. در صورتیکه ثبات عملکرد سیستم اندازه گیری تصدیق شده و شواهد و مستندات مربوطه موجود باشد، نمونه کنترل را می توان به دفعات کمتر مورد آزمایش قرار داد ولی از آنجا که حصول اطمینان از ثبات سیستم اندازه گیری معمولاً کار دشواری است، باید حداقل در هر شیفت کاری، یک بار نمونه کنترل مورد آزمایش قرار گیرد.

لازم به تاکید است، چنانچه تعداد نمونه در یک نوبت کاری زیاد باشد نیز، باید از ثبات و پایداری سیستم طی آن نوبت کاری اطمینان حاصل شود. این کار می تواند از طریق قرار دادن دو یا چند نمونه کنترل (بسته به نوع آنالیت و روش آزمایش) بین نمونه های بیماران در آن نوبت کاری، و یا سایر روش ها مثل چک تست (بر اساس صلاحدید مسئول فنی و با توجه به منابع معتبر علمی) صورت گیرد.

نکته: چنانچه سازنده سیستم آزمایش در مورد سطوح، دفعات و یا تعداد نمونه های کنترل توصیه دیگری داشته باشد، باید مطابق با آن عمل شود.

۲- در مواردی که آزمایشگاه جهت کسب اطمینان از اعتبار نتایج منحصراً از نمونه کنترل تولید شده توسط سازنده که در داخل کیت قرار دارد (و یا نمونه کنترل خارج از کیت که سازنده ساخت آن را به شرکت دیگری سفارش داده است) استفاده می کند، برای کاهش ریسک بروز خطا، ترجیحاً کنترل های مستقل از کیت یا روش را مورد آزمایش قرار دهد. در هر حال مسئولیت نتایج اشتباه احتمالی ناشی از عدم استفاده از کنترل های مستقل متوجه مسئول فنی آزمایشگاه می باشد.

۳- در شرایط خاص که نمونه های کنترل معتبر تجاری موجود و یا در دسترس نیست، آزمایشگاه ممکن است از نمونه های پولد (مخلوط نمونه های جمع آوری شده از بیماران) به جای نمونه کنترل استفاده کند. در این حالت نمونه پولد باید مطابق با روش های معتبر تهیه شود و حداقل پایداری، یکنواختی و عدم آلودگی آن به عوامل عفونی قابل انتقال، به روش های معتبر مورد تصدیق قرار گیرد. همچنین لازم است میانگین و محدوده قابل قبول نمونه پولد با استفاده از روش مورد استفاده در همان آزمایشگاه تعیین شود.

۴- نتایج بدست آمده از آزمایش روی نمونه های کنترل، باید ثبت و تفسیر شوند. نتایج هر بار آزمایش بر نمونه های کنترل، روی نمودار مربوط به هر آنالیت ثبت شده و سپس بر اساس قواعد معتبر کنترل کیفیت (مثل لوی جینینگ، وستگارد، قوانین پیشنهادی سازمان جهانی بهداشت و غیره به صلاحدید مسئول فنی)، مورد تجزیه و تحلیل قرار می گیرد. نمودار کنترل کیفیت هر آنالیت کمی، سابقه ای است که نوسان ها و تغییرات نتایج آزمایش بر نمونه های کنترل را نشان داده و آنالیز این نتایج را امکانپذیر می نماید. لازم به تاکید است که نتایج مربوط به بیماران باید پس از تجزیه و تحلیل و صرفا در صورت قابل قبول بودن نتایج نمونه کنترل، گزارش شوند.

۵- باید توجه داشت که برای هر آنالیت باید عدم دقت (CV) مجاز تعیین شده باشد. منظور از عدم دقت (CV) مجاز، محدوده قابل قبول عدم دقت برای یک آنالیت است. CV مجاز نشان می دهد که دامنه تعیین شده برای نمودار کنترل کیفی یک آنالیت، قابل قبول است یا خیر.

CV مجاز برای آنالیت های مختلف با توجه به جمعیت تحت پوشش مراجعین و سطح کیفیت مورد نظر در آزمایشگاه، به صلاحدید مسئول فنی و با در نظر گرفتن مراجع علمی معتبر (مانند RCPA, CLIA, وستگارد و غیره) تعیین می شود. نکته: در صورت در دسترس نبودن عدم دقت مجاز برای آنالیت مورد نظر در مراجع معتبر فوق الذکر، بر اساس عدم دقت ادعا شده توسط سازنده کیت و با در نظر گرفتن محدوده های تصمیم گیری بالینی، عدم دقت مجاز آن آنالیت به صلاحدید مسئول فنی تعیین می گردد.

۶- پراکندگی و عدم دقت نتایج خوانده شده نمونه های کنترل باید به طور دوره ای (ماهانه یا چند ماهه) محاسبه و با عدم دقت مجاز تعیین شده توسط آزمایشگاه، مقایسه شود. عدم دقت محاسبه شده، نباید بیشتر از عدم دقت مجاز تعیین شده آزمایشگاه باشد. (به عبارت دیگر CV داده های حاصل از آزمایش بر روی نمونه های کنترل، نباید از CV مجازی که از پیش تعیین شده است بزرگتر باشد).

ترجیحا خطای کلی (TE) برای هر آنالیت بطور دوره ای محاسبه و با خطای مجاز کلی آزمایشگاه (TEa) که برای هر آنالیت از پیش تعیین شده، مقایسه، و اطمینان حاصل شود که خطای کلی (TE) محاسبه شده آن آنالیت، از خطای مجاز کلی (TEa) از پیش تعیین شده، بیشتر نمی باشد. تعیین خطای مجاز کلی بطور ویژه در آزمایشگاههای مراکز تشخیصی درمانی و بیمارستانها، آزمایشگاههایی که تعداد مراجعه کننده زیاد دارند، آزمایشگاههای ارجاع (که نمونه های بالینی به آنها ارجاع میشود) و همچنین آزمایشگاههای مرجع کشوری یا استانی بیماریها، توصیه می گردد.

نکته: در مورد اندازه گیری دوره ای عدم دقت یا خطای کلی یک آنالیت، لازم به تاکید است هر چه محاسبه عدم دقت یا خطای کلی آنالیت، مربوط به مدت زمان طولانی تری باشد، تاثیر عوامل مختلف بر دقت و خطای کلی سنجش آن آنالیت، بهتر نشان داده می شود.

۷- در مورد آزمایش های کم درخواست که فرکانس انجام آنها در آزمایشگاه کم و فاصله بین سری های کاری طولانی است، و یا در شرایط خاص (مثلا تغییر مداوم روش، تغییر مداوم نوع و یا سری ساخت کیت یا معرف، تغییر مداوم نوع یا شماره ساخت نمونه کنترل و غیره) که امکان رسم نمودار کنترل کیفی و ارزیابی سری کاری از طریق تفسیر نمودار کنترل کیفی وجود ندارد، باید

به منظور بررسی اعتبار نتایج، نمونه کنترل معتبر (در محدوده تصمیم گیری بالینی) در هر سری کاری مورد آزمایش قرار گرفته و نتیجه خوانده شده نمونه کنترل، با محدوده قابل قبول اظهار شده توسط سازنده نمونه کنترل، مقایسه شود.

**نکته اول:** در این شرایط دامنه عدم دقت (CV) ادعا شده توسط سازنده نمونه کنترل نباید بزرگتر از عدم دقت (CV) مجاز تعیین شده توسط آزمایشگاه باشد.

**نکته دوم:** توصیه می شود آزمایش های کم درخواست و کم فرکانس که امکان انجام کنترل کیفی آماری، رسم نمودار و ارزیابی اعتبار نتایج با توجه تفسیر نمودار برای آنها وجود ندارد، به آزمایشگاه معتبر دیگری که شرایط مطلوب برای انجام کنترل کیفی آماری را دارند ارجاع داده شوند.

۸- برای کنترل کیفیت آزمایش های کمی به روش الیزا نیز باید از نمونه های کنترلی (کنترل های داخل کیت و ترجیحا کنترل های مستقل) استفاده شود. ارزیابی نتیجه آزمایش روی نمونه های کنترل، باید مطابق بندهای ۴ و ۵ و ۶ انجام شود. (تعیین عدم دقت مجاز، رسم نمودار کنترلی و تفسیر نتایج بر مبنای تجزیه و تحلیل آماری) لازم به تاکید است در زمان راه اندازی روش یا در شروع استفاده از کیت، رسم منحنی کالیبراسیون باید بر اساس دستورالعمل تولید کننده و با استفاده از تمامی استانداردها/کالیبراتورهای موجود در کیت انجام شود. همچنین در هر نوبت کاری باید منحنی استاندارد با استفاده از کلیه استانداردها/کالیبراتورهای موجود در کیت رسم گردد و نتایج آزمایش در هر سری کاری بر اساس منحنی جدید محاسبه شود.

۹- برای اطمینان از اعتبار نتایج شمارش سلولهای خونی، باید حداقل یک سطح غلظتی خون کنترل (بطور معمول سطح غلظتی نرمال) در هر شیفت کاری مورد آزمایش قرار گیرد. خون کنترل، ترجیحا در هر سری کاری و ترجیحا در دو یا سه سطح غلظتی آزمایش شود. ارزیابی نتیجه آزمایش خون کنترل باید مطابق بندهای ۴ و ۵ و ۶ انجام گردد. (تعیین عدم دقت مجاز، رسم نمودار کنترلی و تفسیر نتایج بر مبنای تجزیه و تحلیل آماری)

در صورتیکه تعداد نمونه ها در یک سری کاری زیاد باشد، به منظور اطمینان از پایداری سیستم، باید به ازای هر ۵۰ نمونه یک بار نمونه کنترل مورد آزمایش قرار گیرد و یا چک تست انجام شود.

**نکته اول:** آزمایشگاه لازم است هنگام تهیه و خرید خون کنترل به این نکته توجه نماید که تعداد نمونه خون کنترل خریداری شده با توجه به تاریخ اعتبار آن، به اندازه ای باشد که امکان رسم و تفسیر نمودار را تا پایان زمان پایداری نمونه کنترل فراهم نماید.

**نکته دوم:** در شرایط اضطراری که موقتا وقفه در دسترسی به نمونه خون کنترل اتفاق می افتد، برای اطمینان از اعتبار نتایج باید از روشهای کنترل کیفی با استفاده از نتایج بیماران نظیر دوپلیکیت تست، چک تست و ارزیابی میانگین متحرک استفاده شده و نیز همخوانی نتایج دستگاه با اسمیر خون محیطی، علائم بالینی و سابقه بیمار مورد ارزیابی قرار گیرد. لازم به تاکید است که این روش ها فقط در شرایط خاص و بطور موقت می توانند برای ارزیابی اعتبار نتایج شمارش سلولهای خونی مورد استفاده قرار گیرند. به عبارت دیگر روش های اشاره شده صرفا تکمیل کننده برنامه کنترل کیفیت با استفاده از خون کنترل بوده و هیچگاه جایگزین نمونه خون کنترل نمی باشند.

۱۰- برای حصول اطمینان از اعتبار نتایج شمارش افتراقی گلبولهای سفید و مورفولوژی سلولهای خونی باید به موارد زیر توجه شود:

- در صورت استفاده از دستگاههای شمارشگر سلولی **Three Part Diff.** گزارش شمارش افتراقی گلبول های سفید و مورفولوژی سلولهای خونی، باید از طریق بررسی میکروسکوپی گستره های خونی انجام شود.
- در صورت استفاده از دستگاههای شمارشگر سلولی اتوماتیک **Five Part Diff.** یا بیشتر که شمارش افتراقی و گزارش مورفولوژی توسط دستگاه انجام می شود، برای حصول اطمینان از اعتبار نتایج، ترجیحا از نمونه های کنترل تجاری مخصوص شمارش افتراقی دستگاهی، استفاده شود. در صورت عدم دسترسی به نمونه کنترل تجاری، باید از طریق ارزیابی همخوانی درصدی/تعدادی (به صلاحدید مسئول فنی) از نتایج دستگاهی با شمارش دستی، از اعتبار نتایج اطمینان حاصل گردد.

• در صورت استفاده از دستگاههای شمارشگر سلولی اتوماتیک **Five Part Diff**، گستره های رنگ آمیزی شده نمونه هایی که نتایج غیر طبیعی دارند و یا توسط دستگاه نشاندار (**Flag**) میشوند باید مورد بررسی میکروسکوپی قرار گیرد و نتیجه آن در گزارش آزمایش منعکس شود. همچنین علاوه بر توصیه های سازنده دستگاه برای موارد بازبینی و اقدامات اضافی، سایر معیارها جهت بازبینی و بررسی میکروسکوپی گستره های خونی برای دستگاههای **Five Part Diff** باید به صلاحدید مسئول فنی مشخص گردد.

بررسی میکروسکوپی گستره های خونی تعدادی از نمونه های طبیعی (که بطور تصادفی انتخاب شده اند) نیز باید بطور دوره ای (به صلاحدید مسئول فنی) انجام شود.

نکته: با توجه به این که انجام و گزارش شمارش افتراقی بخشی از شناسنامه آزمایش **CBC** در کتاب ارزش نسبی خدمات سلامت می باشد، برای کلیه درخواست های آزمایش **CBC** باید شمارش افتراقی سلولی انجام و نتیجه گزارش شود.

۱۱- برای کنترل کیفیت آزمایش های انعقادی باید از پلاسما کنترل تجاری و یا در صورت عدم دسترسی، از پولد پلاسما استفاده شود. بدلیل مخاطرات ناشی از خطا در آزمایش های انعقادی برای بیماران، در هر سری کاری باید پلاسما کنترل یا پولد پلاسما به همراه نمونه بیماران مورد آزمایش قرار گیرد. برای تهیه پولد پلاسما باید به نکات مندرج در بند ۳ توجه گردد. نمودارهای کنترل کیفی باید برای پلاسما کنترل و/یا پولد پلاسما رسم شود و در هر نوبت کاری، خوانده به دست آمده از انجام آزمایش بر پلاسما کنترل و/یا پولد پلاسما، روی نمودار کنترل کیفی مربوطه ثبت گردد. تعیین عدم دقت مجاز، رسم نمودار کنترلی و تفسیر نمودار بر مبنای تجزیه و تحلیل آماری برای نمونه پلاسما کنترل/پولد پلاسما، باید مطابق بندهای ۴ و ۵ و ۶ انجام شود. پراکندگی و عدم دقت نتایج خوانده شده نمونه های پلاسما کنترل و یا پولد پلاسما باید به طور دوره ای (ماهانه یا چند ماهه) محاسبه و با عدم دقت مجاز تعریف شده در آزمایشگاه مقایسه شود. (عدم دقت محاسبه شده نباید بزرگتر از عدم دقت مجاز آزمایشگاه باشد).

در آزمایشگاههای بیمارستانی، آزمایشگاههای مرجع و ارجاع که آزمایشهای انعقادی برای بیماران با ریسک بالا انجام میشود، باید از دو سطح پلاسما کنترل طبیعی و غیرطبیعی (درحدود تصمیم گیری بالینی) استفاده شود.

تاکید می گردد برای آزمایشهای انعقادی اختصاصی نیز باید در هر سری کار از نمونه کنترل استفاده شود و مطابق با بندهای ۴ و ۵ و ۶ عمل گردد (تعیین عدم دقت مجاز، رسم نمودار کنترلی و تفسیر نتایج بر مبنای تجزیه و تحلیل آماری).

نکته: در آزمایشگاههایی که آزمایشهای انعقادی در آنها به روش دستی انجام میشود، همه نمونه ها باید به صورت دوتایی آزمایش شوند. چنانچه دو نتیجه بدست آمده بیشتر از ۱۰٪ تفاوت نداشته باشند، میانگین نتایج به عنوان نتیجه نهایی آزمایش گزارش شود.

۱۲- برای کنترل کیفیت آزمایش اندازه گیری سدیمانتاسیون گلبولهای قرمز، از نمونه کنترل تجاری و در صورت عدم استفاده از نمونه کنترل تجاری، همخوانی نتایج آزمایش ها با یک روش مرجع مانند روش استاندارد دستی وسترگرین (مطابق با مراجع معتبر) مورد ارزیابی قرارگیرد.

### **– کنترل کیفیت آزمایش های کیفی و نیمه کمی با استفاده از نمونه کنترل:**

آزمایشهای کیفی و نیمه کمی نیز همچون آزمایشهای کمی باید با استفاده از نمونه کنترل مورد ارزیابی قرار گیرند ولی از آنجا که نتایج آزمایش های نیمه کمی و کیفی به صورت عددی به دست نمی آید، نمی توان از روش های آماری (که در بالا به آنها اشاره شد) برای تجزیه و تحلیل نتایج استفاده نمود. برای حصول اطمینان از کیفیت نتایج آزمایش های کیفی و نیمه کمی، از ارزیابی نتایج نمونه های کنترلی مثبت و منفی و همچنین نمونه های شناخته شده بیماران به عنوان نمونه کنترل و یا سایر روش ها، بسته به نوع آزمایش، استفاده می شود.



۱۳- برای اطمینان از اعتبار نتایج آزمایش های کیفی و نیمه کمی باید در هر سری کاری از نمونه های کنترلی مثبت و منفی استفاده شود. نمونه های کنترلی مثبت و منفی همراه نمونه بیماران و با همان روش آزمایش می شوند.

کنترل های مثبت و منفی در اغلب موارد توسط تولید کننده در بسته بندی کیت یا وسایل تشخیصی عرضه می شوند. ترجیحا علاوه بر کنترل هایی که داخل کیت وجود دارد، در هر سری کاری کنترل های مستقل تجاری و نیز نمونه های مثبت و منفی شناخته شده بیماران مورد آزمایش قرار گیرند.

۱۴- در صورت تغییر نوع وسیله تشخیصی یا کیت و یا تغییر سری ساخت آن، باید حداقل یک نمونه منفی و یک نمونه مثبت شناخته شده (مربوط به بیماران قبلی)، همراه با نمونه های کنترلی مثبت و منفی داخل کیت و ترجیحا نمونه های کنترلی تجاری مستقل از کیت (در صورتیکه در دسترس باشد) برای ارزیابی کیفیت مورد استفاده قرار گیرد.

۱۵- در روش های نیمه کمی، نمونه کنترلی مثبت و یا نمونه بیماران مثبت شناخته شده ترجیحا نزدیک به cut-off value انتخاب شود تا اطمینان حاصل گردد که واکنش های مثبت ضعیف قابل شناسایی هستند.

۱۶- برای روش های کیفی مبتنی بر آگلوتیناسیون باید کنترل مثبت (ترجیحا مثبت ضعیف) و کنترل منفی، هر دو، مورد آزمایش قرار گیرند.

۱۷- در صورت دسترسی به کنترل مثبت قوی میتوان از رقت های مختلف آن برای ارزیابی میزان حساسیت آنالیتیک آزمایش استفاده نمود.

نکته: در آزمایش هایی که امکان بروز پدیده پروزون وجود دارد، با توجه به نتیجه آزمایش و شرایط بیمار و به صلاحدید مسئول فنی، باید برای شناسایی این پدیده، نمونه رقیق شده بیمار مورد آزمایش قرار گیرد.

### **ب) کسب اطمینان از اعتبار نتایج آزمایش از طریق ارزیابی نتایج به دست آمده از نمونه بیماران:**

از ارزیابی نتایج آزمایش روی نمونه یک بیمار و یا گروهی از بیماران، جهت کنترل کیفیت و کشف خطاهای موردی و یا سیستماتیک انجام آزمایش استفاده می شود. با توجه به نوع آنالیت، و به صلاحدید مسئول فنی روش های زیر می توانند بکار گرفته شوند:

۱۸- انجام آزمایش ها به صورت دوتایی (Duplicate test) و بررسی اختلاف خوانده ها، جهت بررسی عدم دقت نتایج استفاده می شود. نمونه بصورت دوتایی آزمایش شده و هر جفت جوابی که بیش از  $2SD$  (محاسبه شده از فرمول دوپلیکیت تست) با هم اختلاف داشته باشند غیرقابل قبول در نظر گرفته می شوند.

۱۹- آزمایش بازبینی (Check test) که طی آن، تعدادی از نمونه هایی که در سری کاری، شیفیت کاری یا روز کاری قبل آزمایش شده اند، به شرط اطمینان از پایداری آنالیت، مجددا مورد آزمایش قرار می گیرند. هر جفت جوابی که بیش از  $2SD$  (SD محاسبه شده از فرمول دوپلیکیت تست) با هم اختلاف داشته باشند غیرقابل قبول در نظر گرفته می شوند.

۲۰- مقایسه نتایج آزمایش جدید با آزمایش قبلی همان بیمار (Delta check). مقادیر آنالیت های مختلف در بدن هر فرد طی یک مدت زمان مشخص معمولا در محدوده معینی (بسته به نوع آنالیت) تغییر می کند.

۲۱- بررسی قرارگیری نتایج آزمایش ها در محدوده ای که با شرایط فیزیولوژیک بدن انسان منافات دارد (Limit check). این روش برای شناسایی خطاهای موردی و یا اشتباهات تاییبی کمک کننده است.

۲۲- آنالیز آماری نتایج نمونه بیماران مانند محاسبه میانگین نتایج آزمایش بیماران برای هر آنالیت به طور دوره ای و بررسی تغییرات میانگین (Moving average)، محاسبه درصد نتایج بیماران که بالاتر یا پایین تر از یک حد/مقدار مشخص بوده و یا با تشخیص بالینی خاصی همراهی دارند. این روش در آزمایشگاههایی که تعداد پذیرش بالایی دارند می تواند به شناسایی خطاهای سیستماتیک کمک کند.

۲۳- بررسی همخوانی نتایج آزمایش هر بیمار با علائم بالینی و سایر آزمایش های همان بیمار ( Correlation check)، شایان ذکر است که برای حصول اطمینان از اعتبار نتایج غیرطبیعی CBC، انجام correlation check و مقایسه همخوانی نتیجه با سایر آزمایشها، علایم بالینی بیمار و میکروسکوپی گسترش خونی، از اهمیت بسزایی برخوردار است.

نکته: بازخورد پزشکان و کارکنان بالینی در مورد نتایج آزمایشگاهی، یکی از روش های موثر جهت ارزیابی اعتبار و کیفیت نتایج می باشد.

## **۲- برنامه ارزیابی خارجی کیفیت و بررسی صحت نتایج:**

اجرای برنامه کنترل کیفیت داخلی عمدتاً دقت نتایج آزمایشگاهی را مورد ارزیابی قرار می دهد، با این حال ممکن است، ایده ای از صحت نتایج آزمایش نیز ارائه دهد. ارزیابی صحت نتایج آزمایشگاهی عمدتاً از طریق شرکت آزمایشگاه در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت و مقایسه های بین آزمایشگاهی صورت می گیرد. چنانچه برنامه ارزیابی خارجی کیفیت برای بعضی پارامترها در دسترس نباشد، باید برای ارزیابی صحت نتایج از روش های جایگزین استفاده شود.

۲۴- آزمایشگاه با شرکت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت یا مهارت آزمایی می تواند عملکرد خود را از طریق مقایسه نتایج آزمایش بر روی نمونه های مجهول، که توسط برگزار کنندگان برنامه دریافت می کند، با نتایج بدست آمده از انجام آزمایش همان نمونه ها توسط سایر آزمایشگاهها، مورد ارزیابی قرار دهد. لازم است مسئول فنی و گروه مدیریتی آزمایشگاه از نحوه تفسیر و ارزیابی اعتبار نتایج آزمایشگاه، با استفاده از برنامه ارزیابی خارجی کیفیت آگاهی کافی داشته باشند. (از طریق مطالعه مراجع معتبر و یا مشاوره با برگزار کنندگان برنامه ارزیابی خارجی کیفیت)

۲۵- روش دیگر ارزیابی خارجی کیفیت، برنامه مقایسه بین آزمایشگاهی (Interlaboratory comparison) است. آزمایشگاههایی که از روش آزمایشگاهی و مواد کنترلی یکسان یا مشابه استفاده می کنند، می توانند نتایج بدست آمده از آزمایش روی نمونه کنترلی در آزمایشگاه خود را مرتباً با سایر آزمایشگاههای همتا (peer group) مقایسه کنند.

۲۶- سایر روش های بررسی صحت نتایج آزمایشگاهی:

- روش بهینه ارزیابی صحت نتایج آزمایشگاهی، مقایسه نتایج بدست آمده از آزمایش روی نمونه تازه بیمار با استفاده از روش اندازه گیری آزمایشگاه، با یک روش اندازه گیری مرجع می باشد.
- در صورت عدم دسترسی به روش مرجع، نتایج آزمایشگاه را می توان با یک روش اندازه گیری معتبر یا مورد اعتماد دیگر مقایسه کرد. مثلاً ارسال نمونه به آزمایشگاهی که سیستم اندازه گیری معتبری دارد (Split sample) و مقایسه همخوانی نتایج
- در صورت دسترسی به مواد مرجع (Reference material) و یا نمونه های با مقادیر مشخص و تصدیق شده (منظور نمونه هایی که قبلاً با روش های معتبر آزمایش شده اند و یا نمونه های برنامه های ارزیابی خارجی کیفیت که مقادیر مشخص دارند)، با اندازه گیری این مواد یا نمونه ها با روش اندازه گیری مورد استفاده در آزمایشگاه، می توان تخمینی از عدم صحت نتایج بدست آورد.

نکته: صرفاً مقایسه نتایج آزمایشگاه با روش اندازه گیری مرجع یا مواد مرجع، میزان عدم صحت واقعی را نشان می دهد. سایر روش ها مانند ارزیابی خارجی کیفیت و مقایسه های بین آزمایشگاهی فقط تخمینی از صحت بدست می دهند. چنانچه سیستم ها و روش های اندازه گیری در آزمایشگاه کالیبر شده باشند، می توان عدم صحت نتایج آزمایشگاهی را معادل صفر، و خطای مجاز کلی (TEa) را دو برابر عدم دقت (CV) مجاز در نظر گرفت.