

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

NCCLS - اطمینان کیفی در آزمایشگاه خونشناسی (Quality Assurance in Hematology)

مقدمه:

برعهده مسئول آزمایشگاه است که مطمئن باشد تست‌های انجام شده به یکدیگر مربوط بوده و نتایج حاصله قابل اطمینان و برطبق معیارهای معمول دقیق باشد.

هدف از انجام آزمایش برآورد کردن منظور درخواست کننده چه برای کمک به پزشک در تشخیص بیماریها و چه هدف بهداشتی جهت جمعیت خاصی را داشته باشد باید نتایج بدون تأخیر به پزشک یا فرد درخواست کننده تحویل گردد. بدیهی است باید اطمینان حاصل کند، نمونه‌ها به محض اینکه به آزمایشگاه برسد با مهارت تکنیکی و با کنترل‌های مناسب و مواد رفرانس مورد آزمایش قرار گیرد و باید بخاطر داشت تغییراتی را که همیشه تحت کنترل او نیستند و ممکن است اثرات قابل توجهی در نتایج آزمایش داشته باشد در نظر گیرد.

این فاکتورها شامل اثرات: ورزش، استرس‌های روانی قبل از گرفتن نمونه، وضعیت بیمار (نشسته، ایستاده و یا خوابیده)، ماندن گارو به مدت طولانی روی دست بیمار قبل از نمونه‌گیری، گرفتن خون مویرگی در مقایسه با خون وریدی در شمارش سلولی و دیگر اجزاء خون می‌باشد. نتایج شمارش سلولی و تست‌های انعقادی و بعضی از تست‌های شیمیایی تحت تأثیر عوامل مختلفی تغییر میکند، از قبیل نوع ماده ضد انعقاد، غلظت کم و زیاد آن، مخلوط نکردن نمونه‌ها به اندازه کافی با مواد ضد انعقاد، تأخیر در ارسال نمونه به آزمایشگاه و نگهداری نمونه در محیط‌های نامناسب مثل هوای گرم، نور مستقیم آفتاب و غیره باید اطمینان داشت که ظروف آزمایشگاه تمیز و عاری از کدورت و هیچگونه نشانی نداشته باشد. زیرا امکان آلودگی پرسنل آزمایشگاه و بخش را بوجود می‌آورد. بعلاوه شیشه‌های بدون درب و یا بدون درب محکم ممکن است باعث تبخیر یا نشست نمونه، مواد خراب شود و یا نسبت آنها تغییر کند مسئول آزمایشگاه باید تماس بیشتری و نزدیکتری با بخش‌های بیمارستان داشته باشد تا مطمئن باشد که این فاکتورها قبل از نمونه‌گیری رعایت می‌شود. برای ادامه کار در سطح مطلوب و تداوم آن لازم است یک برنامه اطمینان کیفی اجرا شود.

چنین برنامه‌ای شامل جنبه‌های گوناگون است از جمله کنترل کیفی داخلی (Control Internal quality) و ارزیابی کیفی خارجی (quality assessment External) و نظارت بر مهارت کاری (Surveillance of Proficiency) و استاندارد کردن (standardization) می‌باشد.

اصیمن جیعی در حوسبناسی

Quality Assurance In Hematology

هدف از کنترل کیفی در آزمایشگاه خونشناسی ایجاد حسن اعتماد بر تست‌های آزمایشگاه بوده و مسئول آزمایشگاه نه تنها به نتایج آزمایش بلکه مواردی نظیر جمع‌آوری نمونه، نامگذاری و برچسب، نگهداری و تحویل نمونه‌ها قبل انجام آزمایش، بایگانی و گزارش نتایج، محافظت پرسنل آزمایشگاه در مورد مسائل بهداشتی، خطرات حمل‌ونقل نمونه‌ها و وسایل را مورد توجه قرار دهد.

برنامه کنترل کیفی داخل براساس مراقبت از روش‌های مختلف معمول در آزمایشگاه خونشناسی و نیز اندازه‌گیری فرآورده‌های مخصوص و اندازه‌گیری فرآورده‌های روتین همراه با بررسی آماری از نتایج حاصل که روزانه انجام می‌شود استوار می‌گردد. کنترل کیفی خارجی نوعی ارزیابی معتبر توسط یک مرکز مستقل از کیفیت کار چند آزمایشگاه بر روی نمونه‌هایی است که باین منظور تهیه گردیده است، می‌باشد. این ارزیابی ممکن است ناحیه‌ای یا ملی باشد. هدف کلی از برنامه کنترل کیفی بدست آوردن صحت و دقت در نتایج بوده که منظور از صحت تطابق نتیجه حاصل از آزمایش با مقدار واقعی آن که آنرا نمی‌توان به صورت عددی نشان داد بلکه عدم صحت یا Inaccuracy است که بصورت درصدی از ارزش واقعی نشان داده می‌شود. صحت یکسری آزمایشات بستگی به کالیبراسیون دستگاهها و استانداردها دارد.

دقت عبارت است از تطابق بین جوابهای مکرر بدست آمده از یک نمونه می‌باشد و بستگی به توانایی بدست آوردن نتایج یکسان (نه الزاما صحت) دارد. دقت نیز بخودی‌خود دارای ارزش عددی نیست و عدم دقت یا Impercision است که پراکندگی نتایج بدست آمده را بصورت عددی با محاسبه انحراف معیار نشان می‌دهد. عدم دقت دارای حد مجاز بوده و اگر دقت حاصل کمتر از حد مجاز باشد در اینصورت دقت تحت کنترل قرار گرفته است. عدم دقت و صحت ممکن است بدلائل مختلف ایجاد گردد از جمله استفاده از استاندارد و معرفهای نامناسب، تکنیک‌های اشتباهی، کالیبره نبودن دستگاهها و نیز استفاده از روشهایی که واکنشهای ناقص یا غیراختصاصی می‌دهد. دقت را می‌توان با تکرار تست‌ها و یا تکرار نمونه‌هایی که قبلاً اندازه‌گیری شده است بررسی نمود. مثلاً وقتی یک نمونه خون را چندین بار شمارش سلولی بطور متوالی و تحت شرایط یکسان انجام می‌دهیم (چه به روش دستی و چه به روش سل کانترالکترونیک) بندرت به جوابهای یکسانی میرسیم و نتایج حاصل دارای پراکندگی می‌باشد که این پراکندگی را با انحراف معیار SD یا Standard deviation نشان میدهند. انحراف معیار هم منعکس کننده خطاهای اتفاقی Random با منابع ناشناخته شده و هم ممکن است مربوط به خطاهای شناخته شده باشد. انحراف معیار را بصورت درصدی از میانگین بیان میکنند که آنرا ضریب انحراف یا ضریب تغییرات (Coefficient of Variation) گویند و نشان دهنده عدم دقت در غلظت‌های مختلف است.

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

اساس و روشهای کنترل کیفی

برای ادامه کار در سطح مطلوب در آزمایشگاههای خونشناسی و ادامه مستمر آن نیاز به یک برنامه اطمینان کیفی می باشد و بدون اجرای این برنامه نمی توانیم به جوابهای حاصل از آزمایشات مطمئن بود. چنین برنامه ای شامل جنبه های گوناگون می باشد که عبارت از کنترل کیفی داخلی (Internal Quality Control) و ارزیابی کنترل کیفی خارجی (External Quality Assurance) و بررسی و نظارت بر مهارت کاری (Surveillance of Proficiency) و روش استاندارد کردن (Standardization) .

۱- کنترل کیفی داخلی (I.Q.C) :

کنترل کیفی داخلی عبارت است از روشهای مختلف معمول در آزمایشگاه و بمنظور کنترل جنبه های مختلف روش های آزمایش که در آزمایشگاه انجام می شود، صورت می گیرد و شامل اندازه گیری مواد یا فرآورده های مخصوصی است که به طریق خاصی تهیه شده و نیز اندازه گیری های مکرر نمونه های روتین و بررسی آماری روز بروز اطلاعات بدست آمده از تست های روتین که در آزمایشگاه انجام شده است در نتیجه بررسی دقت (قابلیت تکرار) و نه الزاماً صحت.

۲- ارزیابی کیفی خارجی (E.Q.C) :

عبارت است از ارزیابی نتیجه آزمایشاتی است که روی یک نمونه خاص که به این منظور تهیه شده است، توسط آزمایشگاههای مختلف صورت می گیرد و منظور مقایسه نتایج و در صورت امکان بررسی صحت می باشد. (در صورتیکه نمونه در یک آزمایشگاه رفرانس با استفاده از روشهای دقیق و مرجع مقدار آن تعیین شده باشد). در واقع ارزیابی متغیر توسط یک مرکز مستقل از کیفیت کار چندین آزمایشگاه بر روی نمونه های خاص که باین منظور تهیه شده است می باشد. و این ارزیابی ممکن است در شهر یا استان یا در سطح ملی و کشوری باشد و حتی ممکن است در سطح بین المللی باشد. مثل ارزیابی خارجی که توسط WHO انجام می شود و کشور ما نیز شامل این ارزیابی می باشد. در طرح ملی یک آزمایشگاه می تواند کار خود را با کار کل کشور و آزمایشگاههای دیگر مقایسه و چک نماید و می تواند پی به اشتباهات خود ببرد.

۳- بررسی مهارت Proficiency Surveillance :

بمفهوم بررسی تمام جنبه های سرویس دهی آزمایشگاه مثل نمونه گیری، برچسب زدن، حمل و ذخیره نمونه قبل از انجام تست، چگونگی ثبت و نتایج گزارش، نگهداری و کنترل وسایل و دستگاههای، آموزش پرسنل، حفاظت پرسنل آزمایشگاه در مقابل خطراتی که سلامتی آنها را تهدید میکند، می باشد. لازمه آن درک اصول مدیریت خوب و مهارت تکنیکی در انجام روشهای آزمایش و آگاهی از دلایل احتمالی عدم صحت و عدم دقت در نتایج آزمایش می باشد.

۱- جمع آوری نمونه: نمونه برداری یکی از مهمترین مسائل در آزمایشگاه هماتولوژی است بیمار ممکن است قبل از نمونه برداری دارای شرایطی باشد که این شرایط ممکن است تأثیر روی مقادیر هماتولوژیکی بگذارد از جمله ورزش که می تواند نتروفیلها را افزایش دهد و ایجاد لکوسیتوز نتروفیلیک نماید، یا اضطراب و استرس و یا از دست دادن آب بدن باعث افزایش کاذب Platelet, RBC, WBC, PCV, HB می شود. یا افرادی که حامله هستند و به آزمایشگاه مراجعه می کنند معمولاً دارای افزایش WBC و کاهش هموگلوبین و هماتوکریت می باشند و ممکن است ESR آنها افزایش یافته و یا فعالیت بعضی از فاکتورهای انعقادی آنها افزایش پیدا کنند. حتی وضعیت خونگیری از حالت نشسته به خوابیده دارای تغییرات هماتولوژیکی است از جمله غلظت هماتوکریت در شرایط خوابیده ۱۰٪ کمتر از شرایط نشسته است. یا ممکن است غلظت بعضی مواد بطور روزانه تغییر نماید. چنانچه غلظت آهن سرم هنگام ظهر بالاتر از هنگام عصر است. همچنین شرایط اقلیمی جغرافیائی باعث تغییرات در میزان RBC می گردد بنابراین باید این شرایط را موقع نمونه برداری مورد توجه قرار داد و می تواند اینها ایجاد خطا نماید. باید توجه داشت که خونگیری مویرگی پشت تحت تأثیر خطاهای تکنیکی قرار می گیرد و برای شمارش پلاکتی خونگیری سیاهرگی ارجح است.

۲- نمونه و ماده ضد انعقاد: لوله نمونه برداری باید استاندارد بوده و از انجام آزمایشات در لوله های غیر استاندارد خودداری نمود چنانچه افزایش قطر لوله در تست های انعقادی باعث افزایش زمان تست می گردد. یا کثیف بودن لوله باعث تغییرات زیادی در مقادیر هماتولوژی می گردد. ماده ضد انعقاد نیز بسیار مهم بوده و افزایش EDTA در آزمایش CBC باعث مچاله یا منقبض شدن RBC می شود و آنرا کاهش می دهد و نیز کاهش EDTA ممکن است ایجاد لخته و یا لخته های بسیار کوچک نماید خصوصاً در شمارشگرهای الکترونیک می توانند نتایج غیر معقولی را (بسته به تعداد لخته های کوچکی که توسط پروب نمونه ها مکیده می شود) ایجاد نماید و در این حالت تمام شمارش ها و نیز میزان هموگلوبین را دستگاه کاهش می دهد. برای تشخیص لخته های کوچک می توان از هیستوگرام سلولهای سفید استفاده نمود زیرا ذرات بزرگ (۱۵۰-۲۰۰ فمتولتری) مربوط به ذرات لخته روی هیستوگرام می باشد.

مطلوبترین ماده ضد انعقاد برای اکثر بررسی های خونشناسی EDTA است که نمکهای گوناگون آن سبب متصل شدن کلسیم شده و کلسیم که در پروسه انعقاد خون ضروری است با خارج کردن آن از محیط واکنش پروسه انعقاد خون (مسیر داخلی و خارجی) را متوقف می کند. در نتیجه تبدیل پروترومیین به ترومیین و عمل ترومیین روی فیبرینوژن جهت تشکیل فیبرین متوقف می شود EDTA جهت آزمایشات CBC، فلوئوسیتومتری و سدیماتاسیون (Modify) قابل استفاده است.

EDTA به صورت اسید آزاد - نمکهای دی سدیم، دی پتاسیم، تری پتاسیم وجود دارد. فقدان حلالیت نوع اسید آزاد در محیط های مانی استفاده از آنرا مشکل می سازد و نمکهای آن به علت حلالیت بیشتر ارجح هستند.

نمکهای دی سدیم و دی پتاسیم آن معمولاً بصورت خشک استفاده می شود ولی EDTA تری پتاسیم برای افزایش فعالیت ضد

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

انعقادی

بصورت مایع مصرف می‌گردد. نوع دی‌پتاسیم آن در اروپا و ژاپن مصرف می‌گردد. نمکهای دی‌پتاسیم آن نسبت به دی‌سدیم از حلالیت بیشتری برخوردار است طبق توجه NCCLS مقدار مصرف آن برحسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر خون مطابق زیر است:

mg	1.4-2	EDTANa ₂ 2H ₂ O
mg	1.5-22	EDTAK ₂ 2H ₂ O
mg	1.5-2.2	EDTAK ₃

بهتر است به صورت کریستالیزه درآید چون با خون بهتر مخلوط می‌گردد. برای بررسی‌های انعقادی از سیترات سدیم ۰/۱۱ مول در لیتر استفاده می‌شود. برای تست‌های PT, PTT و تعیین فاکتورها به نسبت ۱:۴ و برای انجام تست ESR 1:9 استفاده می‌شود.

۳- زمان انتقال و محیط: قرار دادن نمونه‌ها در دمای نامناسب یا نگهداری آنها بمدت طولانی باعث تغییراتی در مقادیر همتولوژیکی می‌شود. در حرارت اطاق نباید بیش از ۴ ساعت از زمان گرفتن خون برداری EDTA گذشته باشد و حرارت ۴ درجه نمی‌توان بیش از ۲۴ ساعت نگهداری نمود. برای اسمیر خونی باید بلافاصله اسمیر تهیه گردد و حداکثر تا یک ساعت از نمونه‌برداری روی EDTA اسمیر باید تهیه شود و بمحض اینکه خون روی لام قرار گرفت بلافاصله اسمیر کشیده شود. هرگونه تأخیر باعث توزیع غیرطبیعی گلبولهای سفید شده و در انتهای نازک اسمیر تجمع پیدا می‌کنند همچنین ممکن است در اثر ماندن گلبولهای قرمز ایجاد رولو نمایند و پلاکتها به صورت Clump درآیند. که در این صورت اگر به سیستم‌های الکترونیک این نمونه‌ها داده شود تعداد پلاکتها پائین‌تر از حد واقعی و برعکس سبب افزایش WBC خواهد شد.

باید توجه کرد کسانی که دچار آگلوتینین‌های سرد هستند نگهداری خون آنها در یخچال ممکن است ایجاد لخته‌های کوچک نماید که در اینصورت در سیستم‌های الکترونیک تعداد RBC ها کمتر از مقدار واقعی نشان می‌دهد و دستگاه ماکروسیتوز غیرواقعی نشان می‌دهد.

۴- مخلوط کردن نمونه: هر نمونه قبل از آنالیز حداقل باید ۱۲ بار سرونه شود (طبق توصیه NCCLS) در غیر اینصورت بسته به اینکه از کجای ویال نمونه برداریم برخی پارامترهای آن تغییر می‌کند. البته موقع ریختن نمونه خون در ویال حاوی EDTA بعثت اینکه EDTA بصورت کریستالیزه در ته ظرف قرار می‌گیرد باید بصورت دورانی مخلوط نمود تا کاملاً خون با ماده ضد انعقاد مخلوط گردد. در اثر تکان شدید ممکن است خون همولیز شود و موجب کاهش غیر واقعی RBC و همتوکریت شده و چون میزان Hb صحیح است افزایش MCH

MCHC مشاهده می‌شود و در سیستم‌های الکترونیک قطعات باقیمانده گلبولی نیز ممکن است بعنوان پلاکت شمارش شوند و سبب بالا رفتن تعداد پلاکتها شود.

۵- نمونه‌برداری اشتباه: ممکن است هنگام نمونه‌برداری لوله‌ها جابجا و یا برچسب آن جابجا نصب گردد، در نتیجه نمونه‌برداری اشتباهی صورت گیرد این خطاها وقتی شناسایی می‌شوند که نتایج بیمار را با نتایج قبلی آنها مقایسه گردد. و اگر بین این دو مقادیر اختلاف فاحشی وجود داشت نباید اطمینان به جواب نمود. اختلاف یک جفت اطلاعات که در دو تاریخ مختلف بدست آمده نباید از محدوده زیر فراتر رود در غیر اینصورت هر دوی آنها مجدداً باید بررسی گردد.

PCV > 2%	Hb > 5%	RBC > 25%	WBC > 50%
	MCV > 2fl	MCH > 2 pg	MCHC > 2% g/l
	PMN > 25%	Eosin, Band, Mono > 30%	Lymphocyte > 25%

۶- خطاهای ناشی از تجهیزات و ابزار و دستگاهها: ابزار و وسایلی که با آن مقادیر همتولوژیکی را تعیین می‌نمایم باید کالیبره بوده و دارای خطاهایی در حد مجاز باشد. بنابراین باید خطاهای هریک از ابزارها را بدانیم. مثلاً در شمارش سلولهای سفید توسط روش دستی که با لام هموسیتومتر انجام می‌شود. هرچه از محل ورود سوپانتسیون سلولی (که در چهار مربعی که برای شمارش سلولهای سفید بکار می‌روند) دورتر می‌شویم تراکم سلولها بیشتر می‌شود. در تجربیات متعددی مشخص شده است مربع‌هایی که به محل پر کردن لام نزدیکترند ۳/۵ درصد کمتر از میانگین چهار مربع سلول دارند و برعکس تعداد سلولها در مربعهایی که از محل پر کردن لام دورتر می‌باشند ۳/۵ درصد بالاتر از میانگین چهار مربع می‌باشد.

این اختلاف توزیع ناشی از حرکت جنبشی و بی‌اراده سلولهاست. بنابراین با توجه باین مطلب وقتی شمارش می‌تواند صحیح باشد که سلولها بطور قرینه در دو طرف وسط اطاقک شمارش شوند. با وجود دقتی که در ساخت لام هموسیتومتر شده است معهذاً در کل هر لام در حدود ۷% خطای حجم دارد.

در شمارنده‌های الکترونیک که بر مبنای امپدانس کار می‌کنند گلبولهای سفید و قرمز را روی هم بعنوان گلبول قرمز می‌شمارد زیرا در افراد نرمال لکوسیتها حداکثر ۰/۲ درصد گلبولهای قرمز می‌باشند و می‌تواند قابل اغماض باشد ولی در بعضی از بیمارها خصوصاً لوسمی‌ها که تعداد WBC آن زیاد است در گلبولهای قرمز با خطا همراه می‌باشد و این خطا را باید در محاسبه منظور نمود و نیز خطاهای فنی از قبیل تنظیم غلط آستانه دستگاه، نشت در سیستم مکنده دستگاه، انسداد روزنه، تداخل نمونه‌های متوالی روی هم، نوسانات جریانات ولتاژ، خراب شدن dilutor وجود Particle در محلولها و نیز گرفتگی لوله‌ها باعث خطا می‌شود.

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

۷- محاسبات اشتباهی: واحدهای توصیه شده توسط ICSH برای مقادیر هماتولوژیکی بقرار زیر است

Hb	g/l
10^9	* RBC
10^9	* WBC
10^9	* Platelet
MCV	fl
MCH	Pg
MCHC	g/l
10^9	* Retic
PCV	L/L

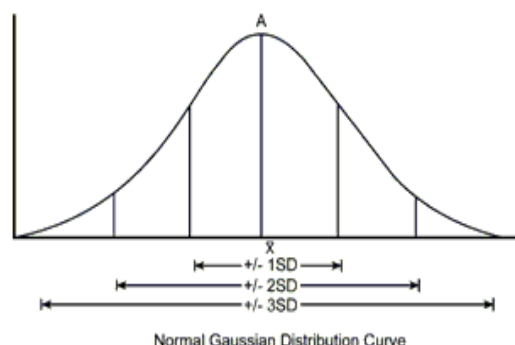
در تبدیل واحدها بعضاً اشتباهاتی صورت میگیرد بنابراین باید برای تبدیل واحدها به بین المللی نهایت دقت را نمود. موارد دیگر از محاسبات اشتباهی تهیه رقت های نامناسب، عدم وجود یک سیستم کنترل کیفی عدم بکارگیری خون کنترلی و استفاده نکردن از مواد رفرانس، ثبت و گزارش نتایج غلط، بکارگیری متدهای غیر صحیح (راکسیون ناکافی) و نیز تفسیر اشتباهی از شرح حال بیمار و غیره.

آمار کنترل کیفی:

روش تعیین مقادیر نرمال

(Method for determining uormal value)

تعداد ۵۰ فرد بظاهر طبیعی و سالم انتخاب کرده و یکی از مقادیر هماتولوژیکی را برای آنها اندازه میگیریم (مثلاً هموگلوبین) سپس یک نمودار رسم میکنیم باین ترتیب که تعداد نمونه ها را روی محور عمودی یا محور Y ها و مقادیر آزمایش را روی محور افقی قرار داده با



وصل کردن نقاط به یکدیگر منحنی آنرا رسم میکنیم وقتی تمامی نتایج متعلق به یک جمع نرمال باشد پراکندگی آنها نسبت به خط میانگین متقارن بوده و تحت عنوان منحنی گوسین خوانده می شود. (Gaussian)

آزمایشاتی که از اینگونه افراد گرفته شده است دارای پراکندگی بوده و این پراکندگی در بالا و پائین خط میانگین می باشد. این پراکندگی با انحراف معیار یا SD نشان داده می شود. سطح زیر منحنی (در قسمت میانی منحنی) در حد $1SD$ می باشد و برابر با ۶۸٪ کل مساحت می باشند. $2SD$ برابر با ۹۵٪ کل مساحت را در بر می گیرد و $3SD$ برابر است با ۹۹/۷٪ کل مساحت یعنی در حدود ۰/۳٪ خارج از $3SD$ است در حدود ۵٪ یا ۱:۲۰ موارد خارج از $2SD$ + می باشد. طیف نرمال برای یک آزمایش مشخص مقادیری است که درون منطقه $2SD$ + قرار داشته باشد و ۹۵٪ جمعیت را شامل شود. مقادیر خارج از $3SD$ بعنوان غیرطبیعی قلمداد می گردد.

محاسبه میانه (Median)

اگر تعدادی خوانده داشته باشیم، میانه این خوانده نقطه ای است که تعداد خوانده دو طرف آن برابر باشند (اگر خوانده ها برحسب صعودی یا نزولی مرتب گردند). در شرایطی که خوانده ها دارای پراکندگی فوق العاده ای باشند میتواند میانه مفید واقع شود. میانه به ترتیب زیر محاسبه می شود:

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

اگر تعداد داده‌ها فرد باشد از رابطه $M = n+12$ می‌توانیم میانه را محاسبه کنیم که در اینجا n تعداد اعداد می‌باشد و M محل عدد مورد نظر می‌باشد. در صورتیکه تعداد داده‌ها زوج باشد به صورت متوسط در اندازگیری در دو طرف نقطه M محاسبه می‌شود.

مثال:

اعداد زیر مقدار همگلوپین خوانده شده می‌باشد که می‌خواهیم میانه آنرا محاسبه کنیم:

۱۰۰ - ۱۵۰ - ۱۲۰ - ۱۴۰ - ۱۳۰ - ۱۳۰ - ۱۱۰ - ۱۴۰ - ۱۵۰ - گرم در لیتر

آنها را بترتیب صعودی مرتب می‌کنیم:

۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶ ۷ ۸ ۹
۱۰۰ ۱۱۰ ۱۲۰ ۱۳۰ ۱۳۰ ۱۴۰ ۱۴۰ ۱۵۰ ۱۵۰

عدد پنجمی میانه ما خواهد بود $M = 9+12 = 5$

یعنی میانه اعداد فوق ۱۳۰ گرم در لیتر است.

اگر تعداد اعداد پدست آمده زوج باشد که متوسط دو عدد وسط را بعنوان میانه انتخاب می‌کنیم

۱۰۰ ۱۱۰ ۱۲۰ ۱۳۰ ۱۴۰ ۱۴۰ ۱۵۰ ۱۵۰

$$M = 1402+130 = 135 \text{ g/L}$$

محاسبه انحراف معیار (Calculation of standard deviation)

انحراف معیار عبارت از جذر یا ریشه دو واریانس که فرمول واریانس عبارت است از:

$$s^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}$$

$$SD = \sqrt{S^2} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$$

می‌توانیم نیز نشان دهیم که در اینجا s اختلاف نتایج از میانگین است می‌توان مستقیماً SD را با ماشین حساب‌های مخصوص محاسبه نمود.

Probability of Rh D-positive genotypes in terms of homozygosity (D/D) or heterozygosity (D/d) in an English population

Reaction with anti-					Probable genotype	% of total giving these results	Next most probable	% of total giving these results	Relative frequency of heterozygous:homozygous amongst samples giving these results
D	C	c	E	e					
+	+	+	-		R ¹ r(D/d)	94	R ¹ R ⁰ (D/D)	6	15:1
+	+	-	-		R ¹ R ¹ (D/D)	96	R ¹ r'(D/d)	4	1:21
+	+	+	+		R ¹ R ² (D/T)	88	R ¹ r''(D/d)	8	1:8
+	-	+	+	+	R ² r(D/d)	93	R ² R ⁰ (D/D)	6	15:1
+	-	+	+	-	R ² R ² (D/D)	86	R ² r'(D/d)	14	1:6
+	-	+	-		R ⁰ r(D/d)	97	R ⁰ R ⁰ (D/D)	3	30:1
+	+	-	+		R ¹ R ² (D/D)	97	R ² r'(D/d)	2	1:41

$$= 5.7 = 66.20$$

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

□ آزمایش روی نمونه ۴ قابل قبول
نیست زیرا $SD > 11.4$ می باشد.

تست های بازبینی یا (Check tests) :

این تست ها شبیه تست های مضاعف می باشد ولی از نمونه هایی انجام می شود که قبلاً انجام شده اند. نتایج باید حداکثر با تفاوتی برابر $SD \times 2$ با هم مطابقت داشته باشند (در صورتیکه نمونه ها در شرایطی قرار گیرند که تغییر نکرده باشند). در صورت تأخیر بیش از ۶ ساعت بین دو تست در حرارت آزمایشگاه این روش جهت همگلوپین و نسبتاً WBC و RBC مناسب است ولی برای هماتوکریت مناسب نیست زیرا

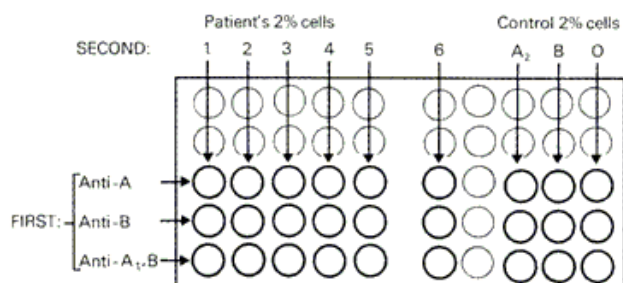
هماتوکریت پس از این مدت کاهش پیدا می کند. از این روش جهت شناسایی فساد معرفها یا خرابی دستگاهها می توان استفاده نمود. تعیین انحراف از معیار شبیه آزمایشات مضاعف می باشد. افزایش SD نشان دهنده خرابی دستگاه یا معرفها می باشد. از این روش تصدیق کالیبراسیون در سل کانترها می توان استفاده نمود.

تست های تکراری روی نمونه های کنترلی

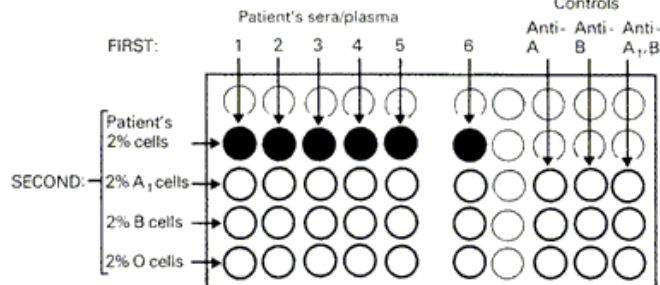
اگر روی یک نمونه تست های تکراری انجام دهیم خطای قابلیت تکرار تعیین می گردد (دقت) این روش برای ارزیابی و کارایی تکنیک و یا نشان دهنده ابزاری است که ثبات ندارند. (زیرا تمامی تست ها با یک نوع ابزار انجام می گیرد). این تست ها می تواند روی هر نمونه خون مناسب انجام گردد ولی بهتر است از خون کنترلی استفاده شود. که در این صورت SD حاصل را بدست آورده سپس چارت کنترلی را رسم می نمایم. برای اندازه گیری همگلوپین از لایزت (Lysate) و یا خونی که حاوی مواد نگهدارنده است استفاده می شود. مثال: یازده بار نمونه کنترلی را جهت همگلوپین تست نمودیم، اعداد زیر حاصل شده است که SD و CV چنین محاسبه می شود

تعداد	مقدار	d	d ^۲
۱	۱۴۲	۲.۶	۶.۷۶
۲	۱۴۱	۳.۶	۱۲.۹۶

CELL GROUPING



SERUM GROUPING



$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

با وجودیکه بین پائین‌ترین و بالاترین اعداد خوانده شده ۱۰ گرم در لیتر اختلاف وجود دارد CV آزمایش در مجموع قابل قبول است. SD و CV نشانه دقت هستند و خطا در دقت باید به اندازه‌ای باشد که تأثیری بر روی دامنه نتایج جامعه سالم نگذارد و در بعضی از تست‌ها مثل شمارش RBC امکان دسترسی به CV مورد نظر نیست معمولاً CV در حدود ۱۰٪ است (روش هموسیئومتری) در حالیکه با استفاده از سل کانتر اتوماتیک برای شمارش RBC در حدود ۲٪ است. به این دلیل ابزارها دارای سطح دقت قابل توجه می‌باشند.

بستگی بین صفات

دو صفت را در صورتی مستقل از یکدیگر گویند که توزیع یکی برحسب مقادیر مختلف از صفت دیگر تغییر نکند. این بستگی دو سونی است یعنی اگر صفت X مستقل از Y باشد صفت Y نیز مستقل از X است مثلاً مقدار هموگلوبین و تعداد گلبولهای قرمز خون وقتی از یکدیگر مستقل هستند که توزیع هموگلوبین بازاء مقادیر مختلف از تعداد گلبول قرمز یکسان باشند، یعنی با تغییر تعداد گلبولهای قرمز میزان هموگلوبین تغییر نکند.

برای اینکه بررسی شدت همبستگی دو صفت را داشته باشیم از ضریب همبستگی پیرسون استفاده می‌کنیم که با علامت نمایش می‌دهیم. برآورد توسط نمونه که معمولاً با r نشان می‌دهند از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$r = \frac{\sum (XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[\sum X^2 - (\sum X)^2/n][\sum Y^2 - (\sum Y)^2/n]}}$$

که اگر $r=1$ باشد وابستگی کامل است و اگر $r=0$ باشد عدم وابستگی وجود دارد. اعداد منفی وابستگی معکوس و اعداد مثبت وابستگی مستقیم دارد و جهت درصد وابستگی وقتی که r بین مقدار ۱ باشد از رابطه زیر بدست می‌آید: $(r \times 100) \%$ مثال: نتایج مشاهده شده مقدار Hb و تعداد گلبولهای قرمز خون می‌باشد. میزان ضریب همبستگی چقدر است.

xy	2 y	2 X	Hb	R.B.C No
۱	۴.۳	۹.۸	۹۶.۰۴	۱۸.۴۹
۲	۵.۹	۱۲.۸	۱۶۳.۸۴	۳۴.۸۱
۳	۵.۳	۱۳.۲	۱۷۴.۲۴	۲۸.۰۹
۴	۶.۰	۱۵.۷	۲۴۶.۴۹	۳۶.۰۰
۵	۴.۹	۱۱.۳	۱۲۷.۶۹	۲۴.۰۱
$100 * \delta y = 26.4 \ r$				
$0.49 = 0.7 * \delta x = 62.8 \ 0.7$				
$49 = 100 * \delta x = 808.3 \ 0.49$				
$\delta xy = 330.19 \ 49\%$				
$\delta y = 141.4$				

$$0.7 = \frac{[2(26.4) - (141.2 * 5)] [2(62.81) - (808.3 * 5)]}{[2(26.4) - (141.2 * 5)] [2(62.81) - (808.3 * 5)]}$$

جارت کنترل Control Chart

جارت کنترلی خطاهای Experimental را مشخص می‌کند. خطاهای ناشی از خرابی مواد و دستگاهها را نشان می‌دهد و معلوم می‌کند که اختلافات قابل قبول روزانه هماتولوژی باید تا چه میزان باشد با استفاده از کاغذ نمودار خطوط عمودی و افقی رسم نموده و مقدار آزمایشات مورد نظر مثلاً $(WBC * 10^9/L)$ را روی محور عمودی و روزهای انجام آزمایش را روی محور افقی یادداشت می‌کنیم میانگین بصورت یک خط افقی رسم می‌شود و دو خط افقی دیگر در طرفین خط میانگین بقاصله $2SD$ رسم می‌نماییم. همانطور که در مورد تست‌های تکراری بیان گردید نمونه خون کنترلی را ده بار متوالی انجام داده پس از تعیین میانگین و SD آن جدول کنترل را مشخص می‌نماییم. سپس روزانه با نمونه‌ها بیماران نمونه کنترلی را نیز انجام داده و در جدول یادداشت می‌نماییم و وضعیت کیفی انجام کار بصورت نمودار مشخص می‌گردد.

Standard Operation Procedures (SOP)

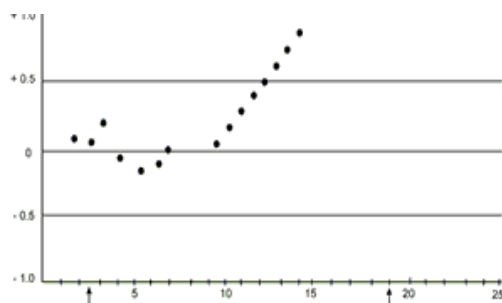
تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

مثال:

نمونه خون کنترلی WBC را ده روز متوالی انجام دادیم و اعداد زیر حاصل شده است:

$$WBC \times 10^9/L$$

تعداد	R.B.C	diff from Mean	۲ d
۱	۵.۱	۰.۱+	۰.۱+
۲	۵	۰	۰.۱+
۳	۵.۱	۰.۱+	۰.۲+
۴	۴.۷	۰.۳-	۰.۱-
۵	۴.۸	۰.۲-	۰.۳-
۶	۵.۰	۰	۰.۳-
۷	۵.۱	۰.۱+	۰.۲-
۸	۵.۲	۰.۲+	۰
۹	۵.۱	۰.۱+	۰.۱+
۱۰	۵.۲	۰.۲+	۰.۳+
۱۱	۵.۱	۰.۱+	۰.۴+
۱۲	۵.۲	۰.۲+	۰.۶+
۱۳	۵.۱	۰.۱+	۰.۷+
۱۴	۵	۰.۱+	۰.۸+
۱۵	۵.۲	۰.۲+	۰.۱+



انحراف میانگین

فلش سمت چپ نشان دهنده پراکندگی مناسب و فلش سمت راست، نشان دهنده افزایش و انحراف تدریجی می‌باشد.

بررسی داده‌های بیماران

در یک آزمایشگاه یا بیمارستان بزرگ که در روز حداقل ۶۰ نمونه CBC وجود دارد نباید تغییرات فاحشی بطور روزانه یا هفتگی در میانگین اندیس‌های (MCV, MCH, MCHC) وجود داشته باشد این روش خوبی برای کنترل کیفی آزمایشگاه‌هایی است که دارای سل کانتور می‌باشند. زیرا هر تغییر مهمی که در این اندیس‌ها ایجاد گردد نشانه تغییری است در کالیبراسیون وسایل یا طرز کار آنها است. چنانچه با روش دستی در این نوع آزمایشگاه‌ها کار می‌شود کافی است مقدار MCHC را تعیین نمایند. و برای این کار میانگین MCHC را در پایان هر روز برای کلیه نمونه‌ها در طول روز محاسبه کرده و اگر تست بصورت رضایتبخش انجام شده باشد نباید میانگین بیشتر از ۲SD در طول روز تغییر نماید بنابراین قبل از انجام این روش باید تعداد ۵۰۰ نمونه یا ده روز کاری متوالی انجام داده، میانگین و SD اندکس‌ها را محاسبه نموده و پایه قرار داد. نتایج وقتی ارزش دارد که افرادی که نمونه‌هایشان بطور عادی به آزمایشگاه می‌رسد تغییر قابل توجهی بطور روزانه نداشته باشند و آزمایشات از افراد بخصوصی بطور انتخابی نباشد. مثلاً: آزمایش روی بیماران سرطانی خاص انجام شود و یا تست‌ها فقط در بعضی روزهای هفته انجام گیرد و یا انجام تست روی بیماران یا فقر آهن انجام شود. یا موارد دیگری که روی MCV, MCH, MCHC اثر بگذارد. اندکس‌های جزء (RBC, Hb, PCV) فقط بصورت غیرمستقیم توسط این روش کنترل می‌شود.

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

مثال: پس از ۱۱ روز کاری هر روز میانگین مجموع MCHC های انجام شده را حساب کردیم شرح زیر بوده است.

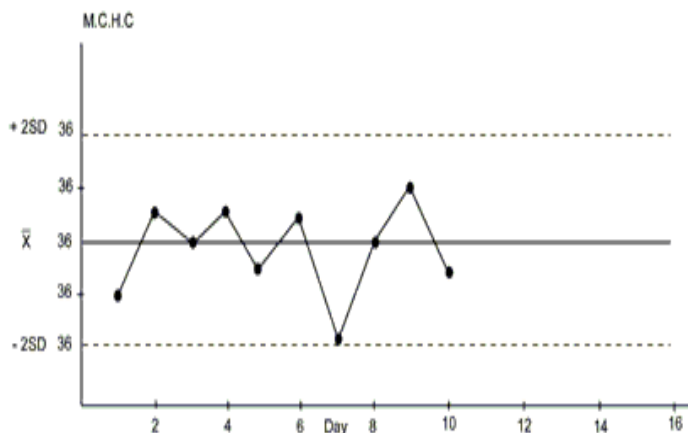
تعداد	Mean of M.C.H.C	d	d ^۲
۱	۳۳	۱-	۱
۲	۳۵	۱+	۱
۳	۳۴	۰	۰
۴	۳۳	۱+	۱
۵	۳۳	۱-	۱
۶	۳۴	۰	۰
۷	۳۳	۱-	۱
۸	۳۵	۱+	۱
۹	۳۴	۰	۰
۱۰	۳۳	۱-	۱
۱۱	۳۶	۲+	۴

$$\bar{d} = \frac{\sum d}{n} = \frac{12}{11} = 1.09$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$$

$$SD = 2.1 \quad \bar{d} = 1.09$$

در چارت، روزانه میانگین MCHC را حساب می‌کنیم و رسم می‌کنیم اگر دقت تحت کنترل باشد هیچکدام از نقاط از $\pm 2SD$ قرار نمی‌گیرند.



بازبینی جهت تطابق جوابها (Correlation check)

منظور از بازبینی جهت تطابق جوابه به این منظور است که اگر جواب آزمایش دور از انتظار باشد باید بررسی گردد که آیا از نظر کلینیکی قابل توجه است و یا آزمایشات قبلی بیمار قابل مقایسه و تفسیر می‌باشد. مثلاً یک هموگلوبین بالا و یا پائین ممکن است باعث تریق خون یا خونریزی باشد و یا یک MCH پائین باید توسط اسمیر خون محیطی مورد مطالعه قرار گیرد. (از نظر هیپوکرومیک بودن) و یا یک MCV پائین باید در اسمیر خون محیطی میکروسیت مشاهده گردد. همچنین لکوسیتوز و لکوپنی یا ترومبوسیتوز و ترومبوسیتوپنی را می‌توان توسط اسمیر خون محیطی مقایسه و مورد تأیید قرار داد ولی باید توجه داشت که اگر اسمیر خون محیطی از کیفیت مناسبی برخوردار نباشد ممکن است گمراه کننده نیز باشد.

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

یادداشت کردن مقدار شمارش‌های خونی روی فرم‌های مخصوص روش خوبی است جهت مقایسه نتایج آزمایشات و جلوگیری از خطاهایی است که بعداً بوجود می‌آید بویژه خطاهای اتفاقی مانند نشانه‌گذاری لوله‌های آزمایش، خوب مخلوط نکردن خون و یا ایجاد لخته‌های کوچک که بعضاً در خون وجود دارد. یکی از راه‌های دقیق برای شناختن نتایج غیر عادی Delta check می‌باشد. پارامترهای خونی نباید اختلافشان با تست‌های بعدی بیشتر از مقدار معینی که شامل CV و تغییرات فیزیولوژیکی است باشد. با شمارشگر الکترونیک این اختلاف شاید برای RBC و Hb بیشتر از ۱۰٪ و برای پلاکت و WBC بیشتر از ۲۰٪ باشد. بشرطی که شرایط کلینیکی مریض دارای تغییرات مهمی نباشد.

ارزیابی خارجی کنترل (External Quality Assessment)

اگر همه احتیاطات لازم توسط کنترل کیفی داخلی جهت دست یافتن به یک نتیجه قابل اعتماد صورت گیرد، خطاهایی ایجاد می‌شود که فقط از طریق کنترل کیفی خارجی مشخص می‌گردد. بعلاوه برای یکسان کردن نتایج بین آزمایشگاه‌ها یک عمل ضروری است و در نتیجه جلوی خطاهای سیستماتیک را می‌گیرد. در آزمایشگاه هماتولوژی چندین تست وجود دارد که می‌توان آن را با چنان اطمینانی بوسیله روش معین و مشخص انجام داد که صحت آن در حد مطلوب باشد و سبب هماهنگی تمام آزمایشگاه‌های تحت کنترل شود. با کنترل کیفی خارجی (توسط یک آزمایشگاه مرکزی یا رفرانس روی شبکه کنترل داخلی آزمایشگاه‌ها انجام می‌گیرد) می‌توان کیفیت و کار آزمایشگاه‌ها را مورد نظر داشت و آنهایی که دارای نتایج مناسبی نیستند مشخص نمود. اصول کار این است که نمونه‌های یکسان از یک مرکز (ناحیه‌ای و ملی) به آزمایشگاه‌های متعدد ارسال می‌گردد و آزمایشگاه‌ها پس از آزمایش نتایج را عودت می‌دهند. سپس در آزمایشگاه مرکزی با تفسیر روی نتایج با روش‌های مختلف وضعیت کار آزمایشگاه‌ها را به آنها اعلام می‌دارد. روش‌های متعددی برای مقایسه جواب‌های آزمایشگاه‌ها وجود دارد که در اینجا چند روش ذکر می‌گردد.

Name رضایی علی					Sex/Age	word	561 No	Dr A.B	diagnosis	hemoglobin
					M/48	-				Anemia
Date	R.B.C	Hb	P.C.V	M.C.H.C	M.C.V	M.C.H	W.B.C	platelet	diff	other
۱۳۷۴	10.2 L/	g/L	L/L	%g	fl	pg	10.9 L/	10.9 L/		
۲۵.۹	۳.۲۸	۱۱۳	۳۴	۳۳	۱۰۵	۳۵	۵.۱	۱۳۳		
۵.۱۰	۳.۲۰	۱۱۱	۳۴	۳۷	۱۰۴	۳۴	۷.۵	۱۳۶		
۱۳.۱۰	۲.۲۷	۷۵	۲۲	۳۳	۹۸	۳۳	۵.۷	۱۴۰		Hemoglobinuria

روش تطبیق دادن جواب‌ها (Consensus Method)

یکی از روش‌هایی است که کیفیت کار آزمایشگاه‌ها و مقایسه آنها را با هم معین می‌کند باین ترتیب که نتایج آزمایشات حاصل از ارسال آزمایشگاه‌ها میانگین و انحراف معیار با استفاده از رابطه زیر تعیین می‌نمایم.

$$SD = \sqrt{\frac{(X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Standard Operation Procedures (SOP)

تضمین کیفیت در بخش خونشناسی

تعداد کلیه نتایج آزمایشگاهها $= n$

نتیجه هر آزمایشگاه $= X$

میانگین نتایج آزمایشگاهها $= \bar{X}$

سپس نتایج را که خارج از $\pm 2SD$ از میانگین می باشد حذف می کنیم و میانگین و SD مجدد (پس از حذف) تعیین نموده که اکنون بنام Weighted نامیده می شود. سپس از رابطه زیر اندکس انحراف (deviation index) یا DI را برای هر آزمایشگاه تعیین می نماییم.

$$DI = \frac{Weighted\ SD}{Weighted\ میانگین} - نتیجه واقعی$$

اگر نتیجه واقعی کوچکتر از میانگین $Weighted$ باشد علامت منها را حذف می کنیم. DI نشان دهنده اختلاف بین نتایج آزمایشگاه فردی و میانگین $Weighted$ می باشد. در آزمایشگاه مرکزی ضمن مقایسه جوابهای آزمایشگاهها با هم، با جواب آزمایشگاه رفرانس نیز مقایسه می گردد. وقتی که پراکندگی بین جوابها بسیار زیاد باشد (اختلاف زیادی بین جوابها وجود داشته باشد) بجای میانگین از میانه (Median) استفاده می شود و DI اینطور محاسبه می شود.

$$DI = \frac{X - m}{Weighted\ SD}$$

امتیاز DI جهت هر تستی بشرح زیر است:

کار بسیار خوب انجام شده است $DI < 0.5$

کار رضایت بخش است $DI = 0.5 - 1$

می تواند قابل قبول باشد (هشدار دهنده) $DI = 1 - 2$

دارای نقص قابل توجه است $DI > 2$

برای اینکه این روش بخوبی انجام شود باید حداقل ۱۵ شرکت کننده در هر بررسی وجود داشته باشد و حداقل نصف کار نسبتاً خوبی در مقایسه با یکدیگر داشته باشند تا از بوجود آمدن یک $(SD) Weighted$ غیر موثر جلوگیری شود.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.