



بخش

بیوشیمی خون و ادرار

بسمه تعالی

دستورالعمل آنالیز و گزارش دهی نتایج کمی

براساس دستورالعمل آزمایشگاه مرجع سلامت لازم است گزارش عملکرد آزمایشگاه های شرکت کننده در برنامه های ارزیابی کیفیت خارجی از سال 1392 براساس DI، به جای VIS، صورت گیرد. بر همین اساس تغییراتی در نحوه آنالیز، گزارش دهی و تفسیر نتایج کمی بخش بیوشیمی (شامل نمونه سرم، نمونه مارکرهای قلبی و HbA1c) داده شده است.

1- آزمایشگاه های شرکت کننده بر اساس نوع آنالیت مورد اندازه گیری، گروه بندی می شوند. کل گروه ها (Total groups) شامل مجموع آزمایشگاه هایی می باشند که در اندازه گیری یک آنالیت خاص شرکت کرده اند. به آزمایشگاه ها اعضاء گفته می شود.

2- اعضاء کل گروه ها بر اساس «نوع کیت مصرفی» و انجام آزمایش به صورت «دستی» یا «دستگاهی» گروه بندی می شوند. اعضای که برای اندازه گیری یک آنالیت از یک نوع کیت و یک روش استفاده می کنند، در یک گروه به نام همگروه (Peer Group) قرار داده می شوند.

3- محاسبات آماری مربوط به اعضاء و همگروه شامل تعیین پارامترهای زیر می باشد:

• میانگین ($\bar{X}$; Mean) که متوسط میزان آنالیت به دست آمده هر همگروه می باشد. این پارامتر از تقسیم مجموع (Σ) مقادیر گزارش شده (X_i) به تعداد اعضاء (n) هر همگروه به دست می آید:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

• انحراف معیار (SD; Standard deviation) میزان پراکندگی نتایج در اطراف میانگین را نشان می دهد و با فرمول زیر محاسبه می گردد.

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

• در صورتی که بعد از تعیین $\bar{X}$ و SD، نتیجه یا نتایج گزارش شده ای در خارج محدوده « $\bar{X} \pm 2/5 SD$ » وجود داشته باشد، این نتایج پرت (Outliers) حذف شده و دوباره میزان میانگین، تحت عنوان میانگین وزندار شده (Weighted Mean)، و SD تعیین می شوند. عمل وزندار نمودن آنقدر انجام می شود که دیگر هیچ نتیجه گزارش شده ای در خارج محدوده « $\bar{X} \pm 2/5 SD$ » قرار نگیرد.

- درصد ضریب تغییرات (CV; Coefficient of Variation) راهی برای بیان انحراف معیار بر اساس درصد میانگین می باشد. این پارامتر شاخص دقت همگروه می باشد. درصد ضریب تغییرات به صورت زیر محاسبه می شود:

$$\% CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

- دامنه انحراف معیار ((Standard Deviation Interval) SDI یا DI) هر عضو با استفاده از فرمول ذیل محاسبه می گردد:

$$DI = \frac{|X_i - \bar{X}|}{\text{Adjusted SD}}$$

- که در آن Adjusted SD (انحراف معیار تنظیم شده) براساس فرمول زیر و %CCV پیشنهادی آزمایشگاه مرجع سلامت تعیین می گردد:

$$\text{Adjusted SD} = \frac{\%CCV \cdot \bar{X}}{100}$$

- 4- بر اساس میزان DI، اعضاء به پنج گروه تقسیم می شوند:

- $SDI \leq +/5$ نشان دهنده عملکرد عالی است.
- $+/5 < SDI \leq +/10$ نشان دهنده عملکرد مطلوب است.
- $+/10 < SDI \leq +/20$ نشان دهنده عملکرد قابل قبول است.
- $+/20 < SDI \leq +/30$ نشان دهنده عملکرد هشدار دهنده است.
- $SDI < +/30$ نشان دهنده عملکرد غیر قابل قبول است.

- 5- در صورتی که به یکی از دلایل زیر، امکان تشکیل یک همگروه مجزا وجود نداشته باشد، عضو در همگروه Others قرار می گیرد و تنها به ذکر میانگین کل گروه و نتیجه عضو اکتفا می شود:

- تعداد اعضاء همگروه کمتر از 2 باشد.

- نام کیت یا روش «دستی» یا «دستگاهی» ذکر نشده باشد و یا خوانا نباشد.

- 6- گزارش نتایج بیوشیمی خون با دو جدول و دو نمودار می باشد:

- جدول (1) یک مرور کلی بر روی تمامی آنالیت هایی است که توسط آزمایشگاه بر روی نمونه سرم ارسالی اندازه گیری شده است. پارامترهای این جدول شامل آنالیت، واحد، نتیجه، تعداد اعضاء همگروه، میانگین همگروه، %CV همگروه و DI عضو می باشند.



- جدول (2) همگروه های مربوط به یک آنالیت خاص را فهرست نموده و تعداد، میانگین و $CV\%$ هر همگروه را نشان می دهد. در انتهای سمت راست موقعیت عضو در همگروه به همراه نتیجه گزارش شده عضو و DI مربوطه آورده می شود. برای هر آنالیت بیوشیمی یک جدول (2) وجود دارد.
 - نمودار توزیع فراوانی نتایج گزارش شده (محور عمودی برای فراوانی و محور افقی برای میزان آنالیت) را نشان می دهد که بر روی آن محدوده های مربوط به DI های مختلف (با رنگ) و موقعیت نتیجه گزارش شده عضو با ستاره مشخص میشود. برای هر آنالیت بیوشیمی یک نمودار نمودار توزیع فراوانی وجود دارد.
 - نمودار دامنه انحراف بایاس (BDI؛ Bias Deviation Interval) جهت ارزیابی نتایج عضو برای یک آنالیت خاص در دوره های مختلف می باشد. در این نمودار میزان DI هر دوره برای یک آنالیت خاص با توجه به علامت منفی یا مثبت آن تحت عنوان BDI آورده می شود و عضو می تواند با مقایسه BDI دوره های مختلف عملکرد خود را ارزیابی کند.
- مرجع:

Iran Health Reference Laboratory



دستورالعمل آنالیز و گزارش دهی نمونه های بیوشیمی ادرار

براساس نوع آنالیت. نتایج به گروه های مختلف تقسیم می شوند.

الف) در خصوص آنالیت های کیفی پروتئین، گلوکز، اسید آسکوربیک، بیلی روبین، اوروبیلینوژن، نیتريت، اجسام کتونى و خون ، از روش آماری مقایسه ای رتبه ای (Ordinal) جهت ارزیابی نتایج اعضاء گروه استفاده میشود.

مراحل آنالیز به صورت زیر است:

1- ابتدا نتایج اعضاء به دو دسته کیفی «مثبت» و «منفی» تقسیم میشوند.

2- نتیجه قابل قبول به صورت نتیجه ای تعیین میگردد که حداقل 90٪ اعضاء آن را گزارش کرده اند.

3- در صورتی که این میزان کمتر از 90٪ باشد، نتیجه قابل قبول گزارش نشده و تنها به ذکر درصد موارد مثبت و منفی و نتیجه عضو اکتفا میشود. در صورتی که نتیجه قابل قبول «مثبت» باشد، نتایج بر اساس شدت واکنش (نیمه کمی) به چهار زیر دسته یک مثبت (+) ، دو مثبت (++)، سه مثبت (+++) و چهار مثبت (++++ تقسیم میشوند.

ب) در خصوص دو آزمایش pH و SG (وزن مخصوص) که گزارش عددی (کمی) دارند، ازفاصله انحراف معیار (DI; Standard Deviation Interval) برای ارزیابی نتایج استفاده می شود که با فرمول ذیل محاسبه می گردد.

$$DI = \frac{\text{Laboratory Result} - \text{Peer Group Mean}}{\text{Peer Group SD}}$$

بر اساس میزان DI، اعضاء به پنج گروه تقسیم میشوند:

- $DI \leq +/5$ نشان دهنده عملکرد عالی است.
- $+/5 < DI \leq 1/+$ نشان دهنده عملکرد مطلوب است.
- $1/+ < DI \leq 2/+$ نشان دهنده عملکرد قابل قبول است.
- $2/+ < DI \leq 3/+$ نشان دهنده عملکرد هشدار دهنده است.
- $DI < 3/+$ نشان دهنده عملکرد غیر قابل قبول است.

مرجع:

1. Shauna Anderson & Susan Cockayne. Clinical Chemistry, McGraw-Hill Companies. New York(2003)

2. G. Burtis and E. Ashwood. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Forth Edition. Saunders, USA(2006)

تفسیر نتایج برنامه کنترل کیفیت خارجی (EQAP)

آزمایشگاه ها همانند کارخانه های تولیدی هستند که مواد اولیه را به محصولات مورد نظر تبدیل می کنند. با این تفاوت که مواد اولیه در آزمایشگاه های بالینی، نمونه هایی هستند که از بیماران تهیه می شوند و محصولات نتایج آزمایشی می باشند که برای ارزیابی وضعیت سلامتی یا بیماری افراد مورد آزمایش در اختیار کادر درمانی قرار داده می شوند. همانند هر کارخانه تولیدی، کیفیت محصولات تولیدی وابسته به عملکرد پرسنل، تجهیزات و معرف هایی است که در این فرایند تولیدی بکار گرفته می شوند. علاوه بر اینها، عوامل درون فردی نیز بر کیفیت نمونه تهیه شده از بیمار تأثیر می گذارند. بدین ترتیب عوامل موثر بر نتایج آزمایش را می توان همانند متغیرهایی در نظر گرفت که به انواع مربوط به بیمار، پرسنل، تجهیزات و معرف ها قابل تقسیم هستند و برای حصول نتایج آزمایش با کیفیت می بایست تمامی آنها تحت کنترل قرار گیرند.

اساس کنترل کیفیت روش های آماری در آزمایشگاه های بالینی، بررسی دوره ای یک روش اندازه گیری در جهت تصدیق اجرای آن براساس مشخصات تعیین شده می باشد. برای این منظور معمولاً از نمونه کنترل کیفی (QC) و محاسبات آماری استفاده می شود.¹ براساس منبع تهیه نمونه QC، روش های کنترل کیفیت به دو دسته داخلی و خارجی تقسیم می شوند. کنترل کیفیت داخلی (IQC) برای پایش روزانه دقت و صحت روش اندازه گیری است، در حالیکه روش های ارزیابی کیفیت خارجی (EQA) برای حفظ صحت طولانی مدت روش های آزمایش مهم می باشد.² در عمل IQC و EQA مکمل یکدیگر هستند.²

یکی از مسائلی که باید در انتخاب یک سیستم کنترلی مناسب (هم IQC و هم EQA) مورد توجه قرار گیرد، تمایز **سیگنال های** مربوط به **خطا** در روش آنالیز و گزارش دهی از **نویز های** مربوط به **نوسانات ذاتی** روش ها می باشد. زنگ خطر این سیستم می بایست زمانی به صدا درآید که خطا رخ داده است (احتمال نزدیک به 100٪ آشکارسازی خطا) و در مواقع عدم وجود خطا، زنگی به صدا درنیاید (احتمال رد کاذب نزدیک به صفر). در غیر این صورت به دلیل کاهش احتمال آشکارسازی خطا و یا افزایش رد کاذب، بتدریج میزان اعتماد به سیستم کنترلی کاهش می یابد.^{1,2}

عوامل مؤثر در تمایز بین خطا و نوسانات ذاتی روش و در نتیجه تفسیر نتایج کنترل کیفیت را می توان به سه دسته تقسیم نمود:

الف) تعیین **میزان هدف**¹ نمونه

ب) تعیین **دامنه قابل قبول** نتایج

ج) تعیین **قواعدی برای تفسیر** نتایج

اساس توجه به عوامل فوق در IQC و EQA یکسان می باشد، ولی در جزئیات تفاوت های قابل توجهی وجود دارد. از آنجایی که اغلب همکاران اطلاعات کافی در خصوص IQC را دارند، در اینجا فقط به بررسی این عوامل در EQA می پردازیم.

الف) تعیین میزان هدف نمونه

دو روش عملی برای رسیدن به میزان هدف صحیح یا برآوردی از **میزان واقعی**² وجود دارد:

(1) استفاده از **میزان مشترک چندین آزمایشگاه** ارجاع که با بهترین روش ها و کارشناسان خبره کار می کنند. این روش پرهزینه است و اغلب یافتن یک گروه از این آزمایشگاه ها که مورد قبول تمامی شرکت کنندگان باشد، مشکل و یا حتی غیرممکن است.³ البته در خصوص آنالیت های بیوشیمیایی همچنین باید به این نکته توجه داشت که برحسب روش آزمایش که اساس دسته بندی گروه های آنالیتی به همگروه های مختلف است (قسمت بعد)، برای هر روش آزمایش می بایست یک گروه آزمایشگاهی ارجاع داشته باشیم که قطعاً این روش را غیرعملی می کند.

(2) **میزان مشترک³ شرکت کنندگان** که میزان میانگین شرکت کنندگان بعد از حذف بیرون افتاده ها⁴ می باشد که به آن **میزان میانگین پیراسته⁵** یا **میزان میانگین وزن دارشده⁶** گفته می شود.⁴ تجارب عملی نشان می دهند که میزان مشترک به میزان واقعی بسیار نزدیک است، ولی برای این منظور لازم است دو خصوصیت مورد توجه قرار گیرند: (1) تعداد اعضاء هر گروه یا همگروه کم نباشد تا آنالیز آماری معتبر باشد.¹ لذا باید این تعداد حداقل 10 و ترجیحاً 20 آزمایشگاه باشد.¹ (2) نسبت بزرگی از شرکت کنندگان بایاس آنالیتیکال قابل توجه نداشته باشند¹ که سبب تغییر قابل توجه میزان مشترک نسبت به میزان واقعی می شود.

یکی از مسائلی که همواره در EQA مطرح می باشد، لزوم یا عدم لزوم دسته بندی آزمایشگاه ها براساس روش آزمایش می باشد. هیچ شکی در خصوص لزوم دسته بندی آزمایشگاه ها برحسب روش اندازه گیری برای آنالیت های آنزیمی و همچنین روش های ایمنواسی وجود ندارد، زیرا در این موارد برحسب روش آزمایش و یا نوع آنتی بادی مورد استفاده، نتیجه می تواند تفاوت قابل توجهی داشته باشد. اما در مورد آنالیت های غیرآنزیمی نظیر گلوکز یا کلسترول گاهی عدم لزوم این دسته بندی مطرح می شود. در این خصوص باید توجه داشت که نمونه QC مورد استفاده در برنامه های IQC و EQA نمونه های تجارتي هستند که از نظر ماتریکس (مواد موجود در زمینه نمونه) ممکن است تفاوت قابل توجهی با نمونه های انسانی واقعی داشته باشند. این تفاوت ها عمدتاً ناشی از افزودنی هایی است که یا به عنوان محافظ و یا برای تنظیم غلظت آنالیت های موجود در نمونه (مثلاً برای نمونه های High) اضافه شده اند. لذا بواسطه این افزودنی ها ممکن است تداخلاتی در روش آزمایش رخ دهد که میزان آن وابسته به روش آزمایش می باشد. به همین دلیل دسته بندی آزمایشگاه های آزمایش کننده یک آنالیت خاص به همگروه های مختلف براساس روش آزمایش سبب رسیدن به میزان مشترکی می شود که برای آنالیز آماری در هر همگروه مناسب تر می باشد.⁵

ب) تعیین دامنه قابل قبول

روش های مختلفی برای تعیین دامنه قابل عملکرد یک روش آنالیز وجود دارد که هر کدام از آنها دارای مزایا و معایب خود می باشد. دو



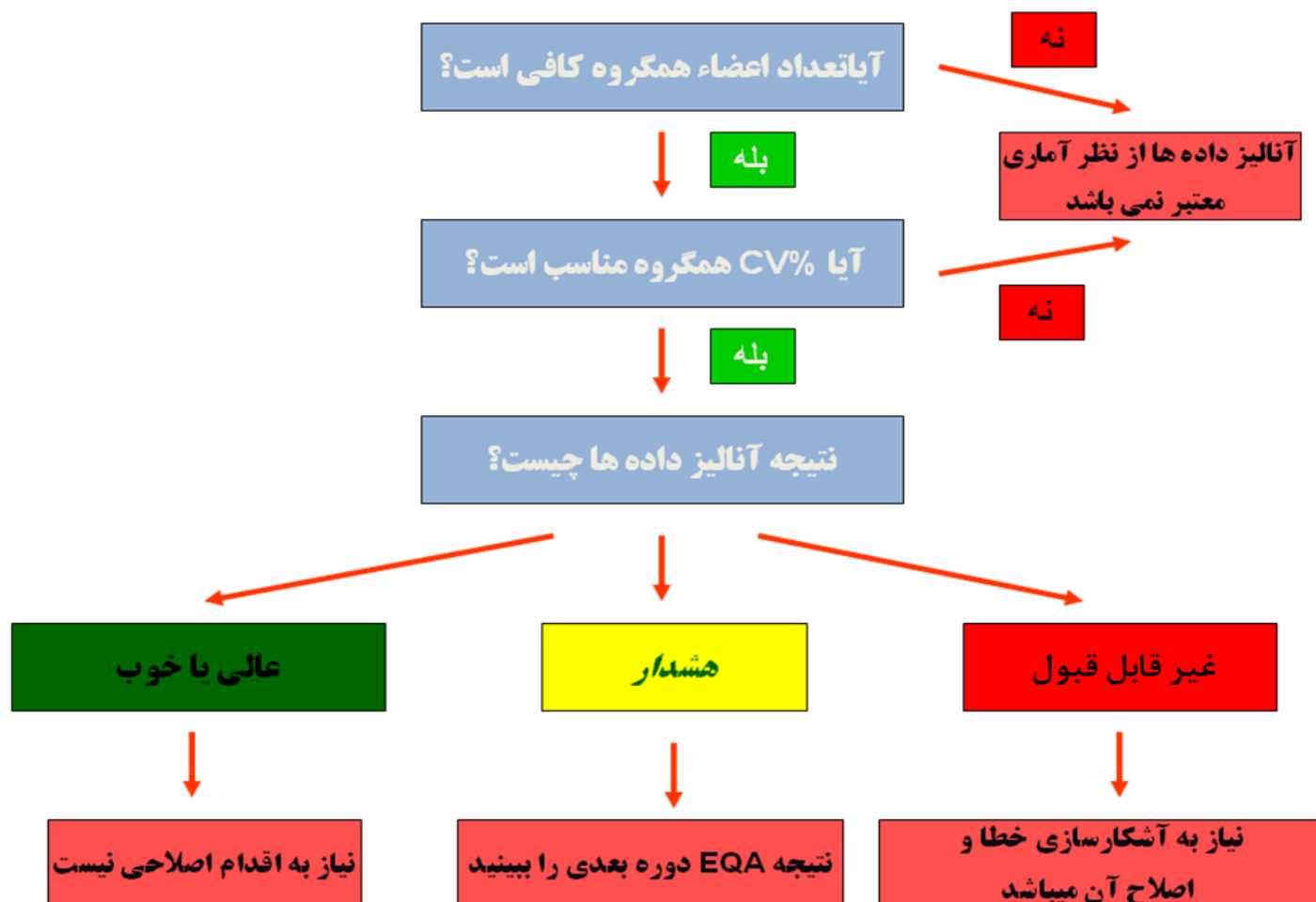
روشی که در ایران بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند و همکاران آشنایی خوبی با آنها دارند، استفاده از **DI** و **VIS** می باشند. اساس هر دو این روش ها یکسان است: **نسبت اختلاف نتیجه آزمایشگاه از میانگین همگروه به انحراف معیار (SD)** محاسبه می شود. اختلاف این دو روش اساساً در انتخاب میزان SD است که در مورد اول از قبل (براساس $CCV\%$ مورد استفاده) تعیین شده است و در مورد دومی براساس SD همگروه می باشد. بدیهی است عدم انتخاب SD مناسب سبب می شود تا سیستم کنترلی بخوبی نتواند سیگنال را از نویز تمایز دهد که در ابتدای بحث به آن اشاره شد. تجارب دوره های قبلی EQAP نشان می دهد که لازم است از این نظر تغییراتی در آنالیز نتایج EQAP داده شود که این تغییرات در حال بررسی هستند و ممکن است در آینده ای نه چندان دور به اجرا گذاشته شوند.

استفاده از **دامنه ثابتی** نظیر $X \pm 5 \text{ mg/dL}$ یا $X \pm 10\%$ نیز توسط مراجع بین المللی نظیر CLIA مطرح شده اند که هنوز در ایران مورد استفاده قرار نگرفته اند، ولی ممکن است در آینده بعد از انجام ارزیابی های لازم مورد استفاده قرار گیرند^{1,2}.

ج) تعیین قواعدی برای تفسیر نتایج

همانند قوانین وستگارد که در برنامه IQC مورد استفاده قرار می گیرند، لازم است قواعدی نیز برای تفسیر نتایج EQA ابداع گردد. برخلاف IQC، تاکنون قواعد جامعی برای تفسیر نتایج EQA ارائه نشده است که مورد پذیرش اکثر صاحب نظران باشد.

سیستم امتیازدهی **VIS** و **DI** راهکاری است که از آن می توان برای تفسیر نتایج EQA استفاده نمود. علاوه بر این، با توجه به مطالب ارائه شده فوق، استفاده از الگوریتم زیر برای تفسیر نتایج EQA پیشنهاد می گردد. در این رهیافت، دو مرحله ابتدایی برای اطمینان از اعتبار آنالیز آماری انجام شده می باشد. همان طور که قبلاً اشاره شد، **تعداد پایین** (کمتر از 10) اعضاء یک همگروه و همچنین وجود **اختلاف قابل توجه بین نتایج** گزارش شده اعضاء که براساس میزان $CV\%$ بالای همگروه نمایان می شود، از دلایل عدم اعتبار آنالیز آماری و نتایج گزارش شده **VIS** یا **DI** می باشند. در صورتی که آنالیز آماری معتبر باشد (وجود **حداقل 10 عضو** در هر همگروه و وجود $CV\%$ مناسب همگروه)، آنگاه می توان براساس امتیاز **VIS** یا **DI** گزارش شده، وضعیت انجام آزمایش را در یکی از سه گروه **عالی** یا **خوب**، **هشدار** و **غیر قابل قبول** قرار داد و در دو مورد آخر اقدامات مربوطه را انجام داد.



¹Target value

²True value

³Consensus value

⁴Outliers

⁵Trimmed mean value

⁶Weighted mean value



مراجع:

- 1) J. Henry. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Twenty second edition, Saunders, Philadelphia (2012).
- 2) C. Burtis and E. Ashwood. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Fourth edition, Saunders, United States of America (2006).
- 3) Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes by Laboratoris-2000. Urachem Nederland task group "Proficiency testing schemes"
- 4) IFCC Fundamental for External Quality Assessment (EQA) Guidelines for Improving Analytical Quality by Establishing and Managing EQA Schemes. Examples from basic chemistry using limited resources
- 5) Wim COUCKE, Contribution to the Statistical Evaluation of Data Obtained in External Quality Assessment Programmes (2012). Faculty Medicine of University of Liege

تهیه و تنظیم:

دکتر رضا محمدی

دبیر بورد بیوشیمی EQAP