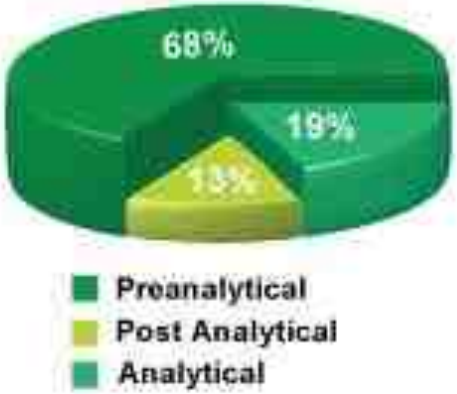
کنترل کیفی در آزمایشگاه هماتولوژی

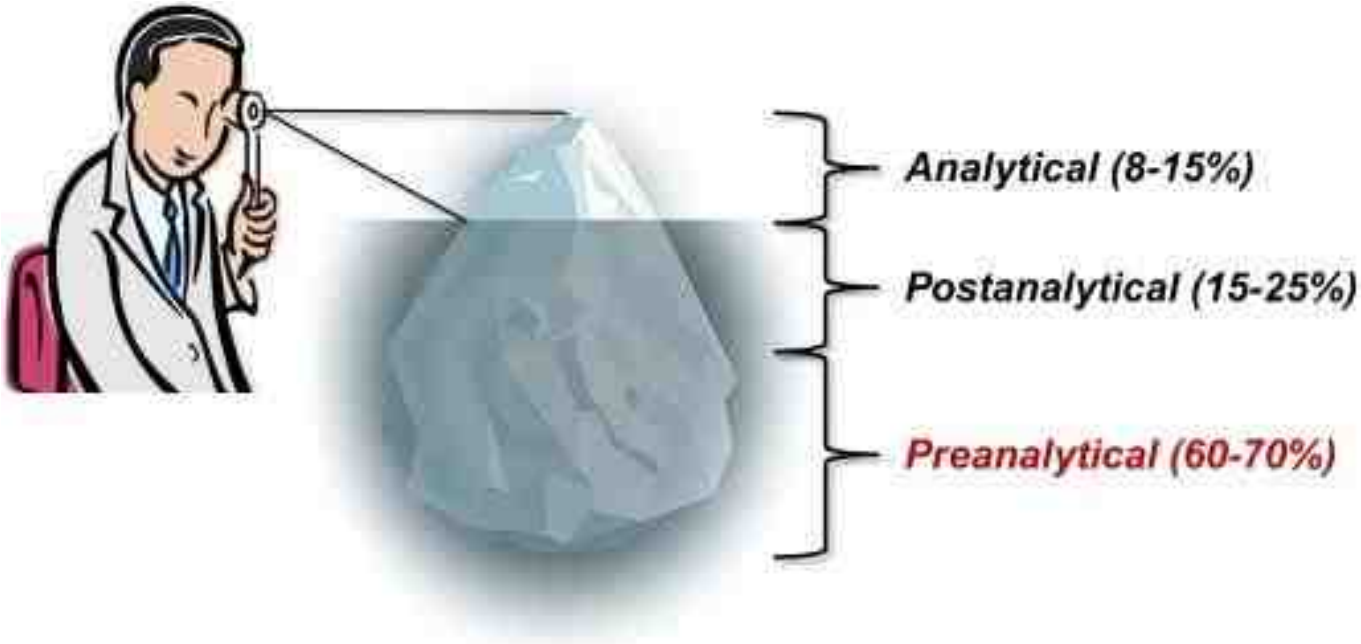
نادر وظیفه شیرانی (Hematologist:PhD)

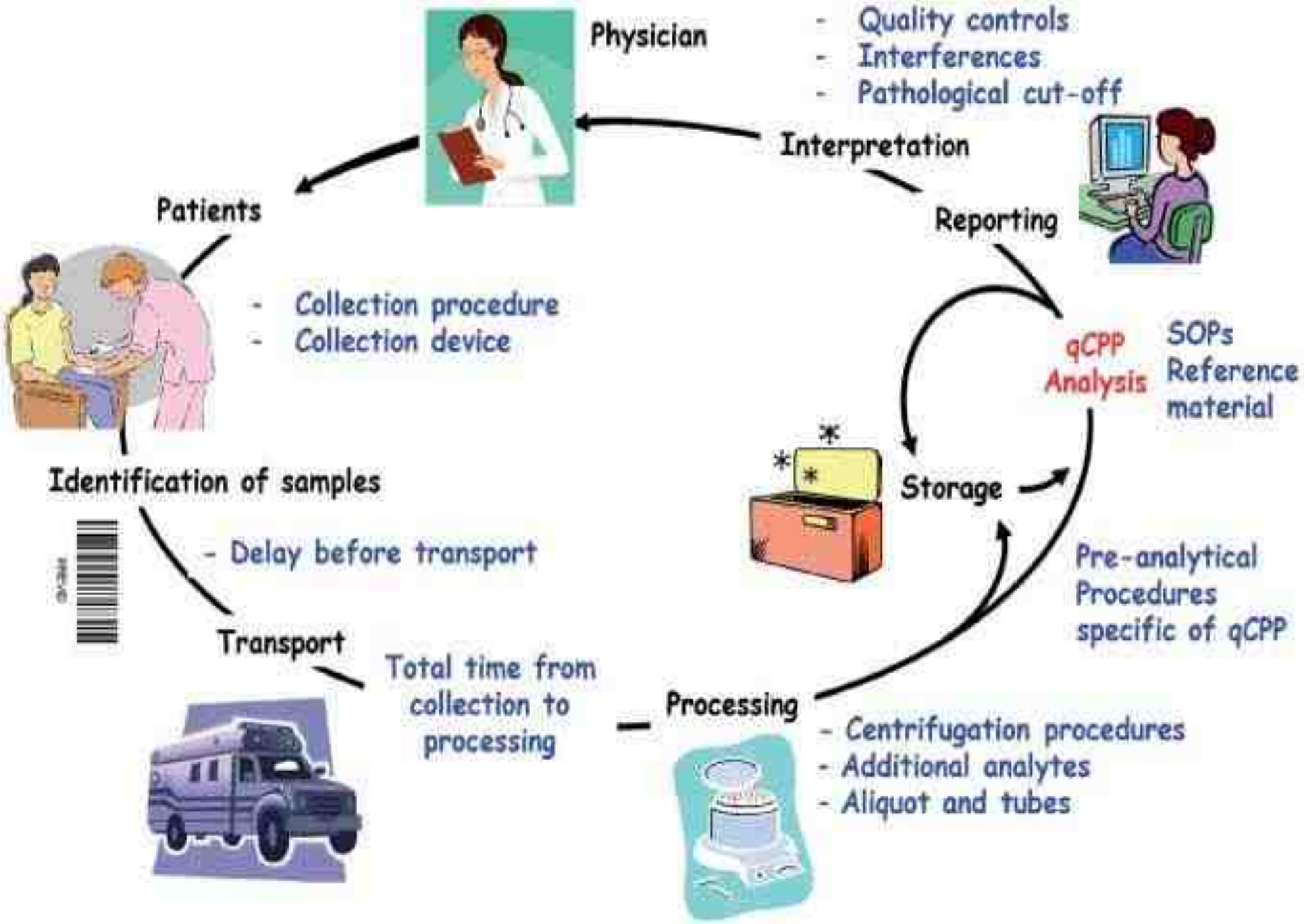
Pre Analytical

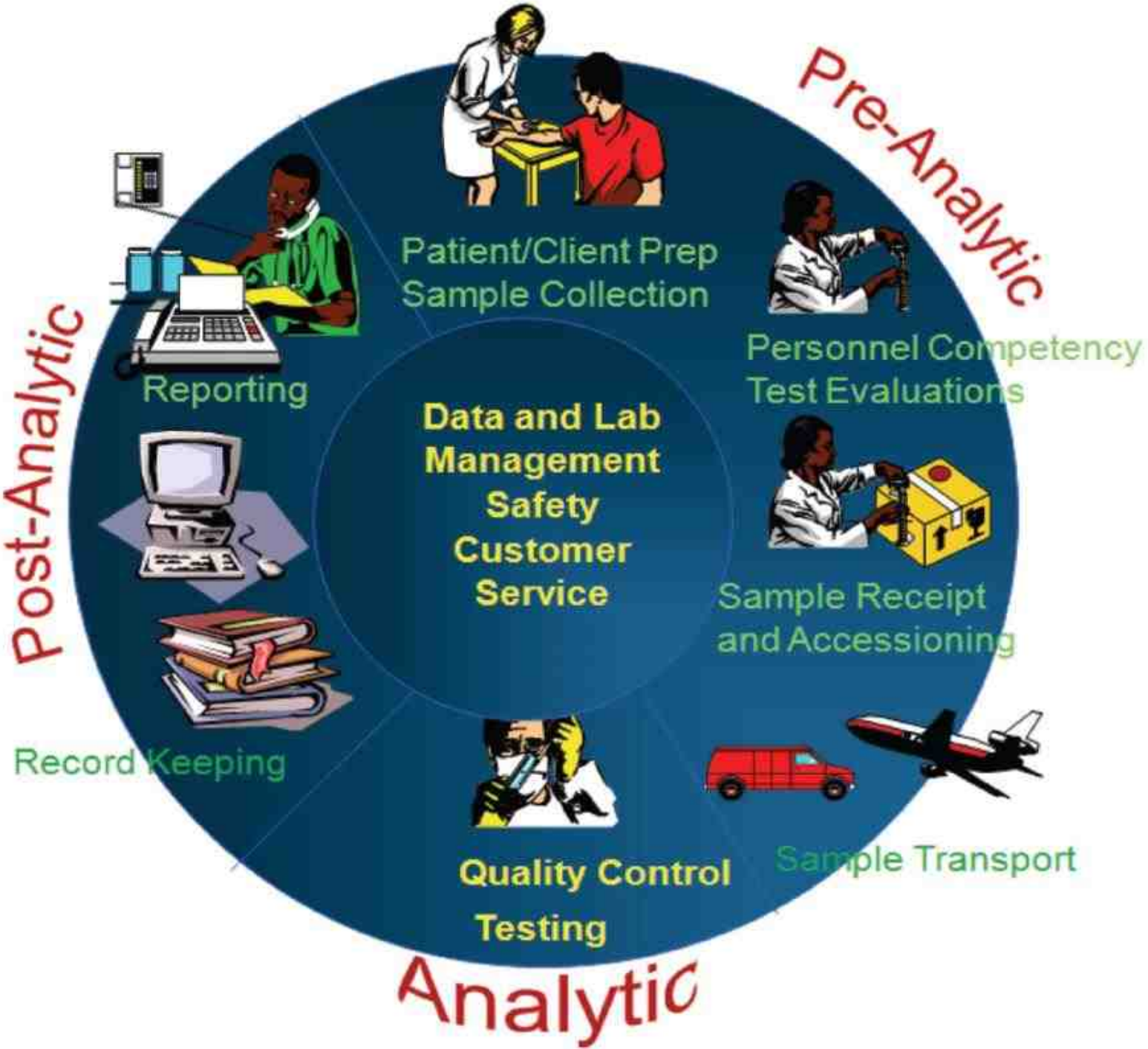
Analytical

Post Analytical

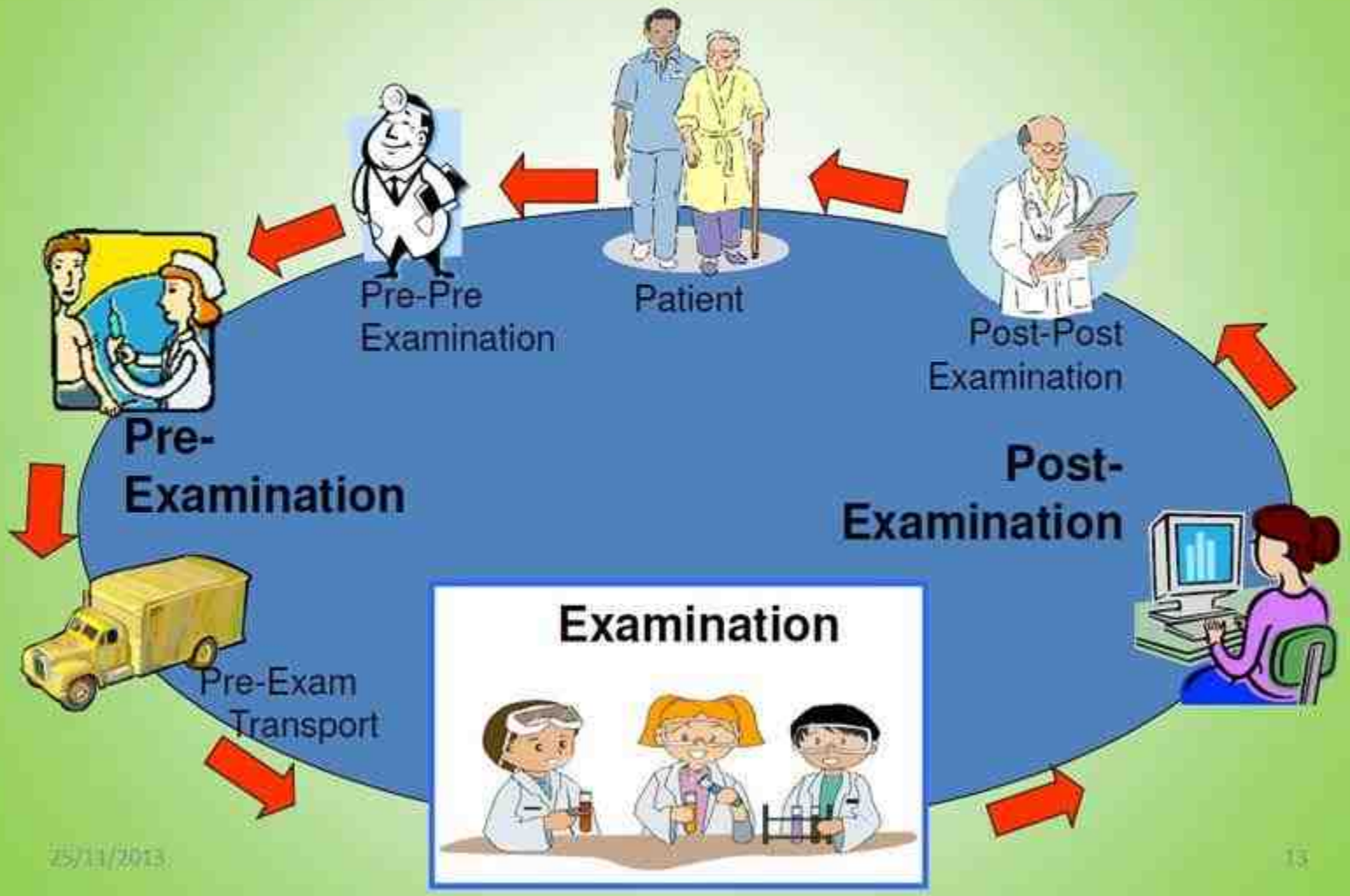





Physician
- Quality controls
- Interferences
- Pathological cut-off
Interpretation
Reporting
Patients
- Collection procedure
- Collection device
qCPP
Analysis
SOPs
Reference
material
Storage
Identification of samples
- Delay before transport
Pre-analytical
Procedures
specific of qCPP
Transport
Total time from
collection to
processing
Processing
- Centrifugation procedures
- Additional analytes
- Aliquot and tubes


Pre-Analytic
Patient/Client Prep
Sample Collection
Personnel Competency
Test Evaluations
Sample Receipt
and Accessioning
Sample Transport
Analytic
Quality Control
Testing
Record Keeping
Reporting
Post-Analytic
Data and Lab
Management
Safety
Customer
Service

The Laboratory Cycle



"Pre-pre" and "post-post" analytical error: high-incidence patient safety hazards involving the clinical laboratory

Michael Laposata[a,*] and Anand Dighe[a]

Department of Pathology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Abstract

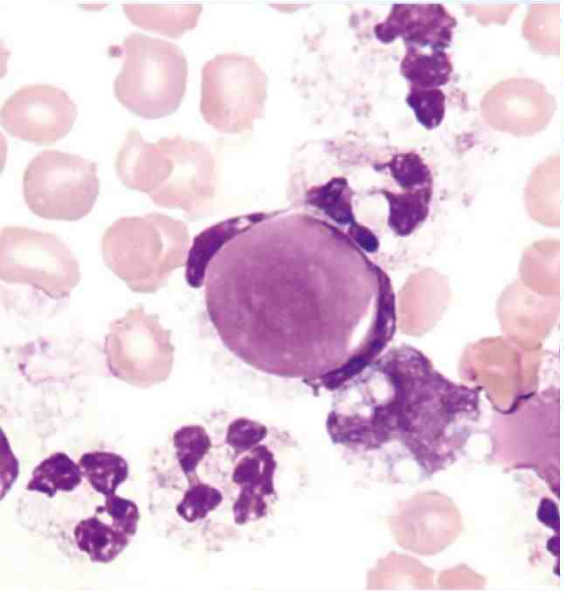
Data from recent studies suggest that the highest incidence of laboratory-related errors occurs in the pre-analytical phase of laboratory testing. However, few studies have examined the frequency of errors in laboratory test selection and interpretation. A survey of physicians who use our clinical laboratory demonstrated that the largest number of test ordering errors appear to involve physicians simply ordering the wrong test. Diagnostic algorithms providing guidance for test selection in specific disorders are also used as the basis for the establishment of reflex protocols in the clinical laboratory. The provision of an expert-driven interpretation by laboratory professionals resulted in improvements both in the time to and the accuracy of diagnosis. A survey of our physician staff has shown that in the absence of such an interpretation, for patients being assessed for a coagulation disorder, approximately 75% of the cases would have involved some level of test result misinterpretation.

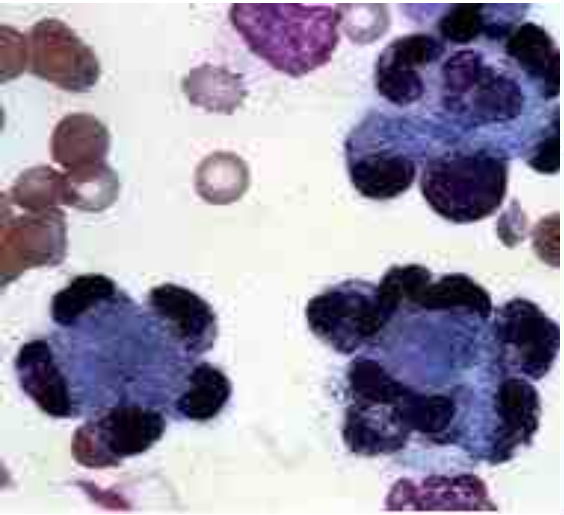
Clin Chem Lab Med 2007;45:712–9.

Keywords: diagnostic algorithms; laboratory errors; patient safety; post-analytical phase; pre-analytical phase; test interpretation; test selection.

involving errors in clinical laboratories, mistakes are commonly identified and quantitated in the pre-analytical, analytical and post-analytical phases of laboratory testing. The data from these studies suggest that the highest incidence of laboratory-related errors occurs in the pre-analytical phase of laboratory testing (3). However, few studies have examined the frequency of errors in laboratory test selection and interpretation.

Every day, physicians order and interpret large numbers of laboratory tests to diagnose and monitor their patients, and the complexity of these tests has been increasing substantially in recent years. This very large and growing test menu has introduced two service problems for the clinicians ordering the tests: selecting the correct laboratory test and correctly interpreting the test results (4, 5). These errors involve the clinical laboratory, but to date neither the clinical laboratory nor the ordering physicians have assumed the responsibility for addressing these high-prevalence mistakes in test ordering and result interpretation. These mistakes are commonplace but difficult to identify (e.g., did the doctor really want a factor V instead of a factor V Leiden?) and therefore difficult to quantitate. We have designated the error in selecting the wrong tests as "pre-pre-analytical error", because it effectively occurs within the brain of the ordering clinician, before the blood sample is ever collected, and before the opportunity for the classically described pre-analytical error (e.g., specimen collection error). The error of misinterpreting the test results we have called "post-post-analytical error" because it occurs after reporting of the results by the laboratory, after the post-analytical phase.





ویژگی	شیوع در دیگر بیماریها	شیوع در لوپوس اریتماتوسیستمیک	آنتی ژن شناخته شده	همراهی کلینیکی
DNA	خیلی غیر رایج	٪۵۰-٪۶۰	Ds DNA	همراه با نفریت شدید لوپوس، بیماری شدید
Sm	خیلی غیر رایج	٪۳۰-٪۴۰	μ۲ و μ۱	بیماری بینابینی ریه
Sn RNA	٪۱۰۰ در بیماران با بیماری بافت پیوند مختلط(MCTD)	٪۳۰-٪۴۰	Sn RNA 1μ	علائم Overlap SLE و PM/DM و PSS
(RO (SS-A	٪۷۰شوگرن	٪۲۵-٪۳۰	kd RNA bindin protein-۶۰	لوپوس جلدی تحت حاد ، لوپوس مادرزادی
(LA (SS-B	٪۶۰ شوگرن	٪۱۰-٪۱۵	kd RNA bindin protein -۵۰	
Histon-۷۰	٪۹۵ موارد لوپوس دارویی	٪۵۰-٪۷۰	پروتئین هیستون H1,H2A,H2B,H3,H4	همچنین رایج در لوپوس اریتماتوسیستمیک
SCL – ۷۰	٪۴۰-٪۷۰ اسکلروز سیستمیک پیش رونده(منتشر)PSS	کمتر از ٪۵	توپوایزومراز ۱	
سانترومر Kinetochore (پاترن رنگ آمیزی)	۷۰ الی ٪۸۵ در اسکلرودرمی سیستمیک محدود (CREST)	کمتر از ٪۵	پروتئین های هسته ای KD -70/13	پدیده رینود
Jo-1	٪۲۰ پلی میوزیت / درماتومیوزیت	کمتر از ٪۵	Histydyl tRNA Synthe tase	میوزیت -بیماری بینابینی -ریه ، آرتریت

SLE , systemic lupus erthematosus , ds DNA: double stranded DNA , Sn RNA small nuclear ribonuclear proteins , MCTD : Mixed connective tissue disase (see P.243) ,DM : dematomyosisis , PM : polymyosi ,PSS: Progressive systemic sclerosis

شکل ۱: مقایسه بخش بستری (ونوس) با آزمایشگاه (مریخ) و تفاوت بنیادین بخشی که پزشک در آنجا تخصص یافته با بخشی که یک آزمایشگاهی در آنجا تخصص یافته است.

جدول ۲-۵: نتایج هماتوکریت دستی در سنین مختلف زندگی

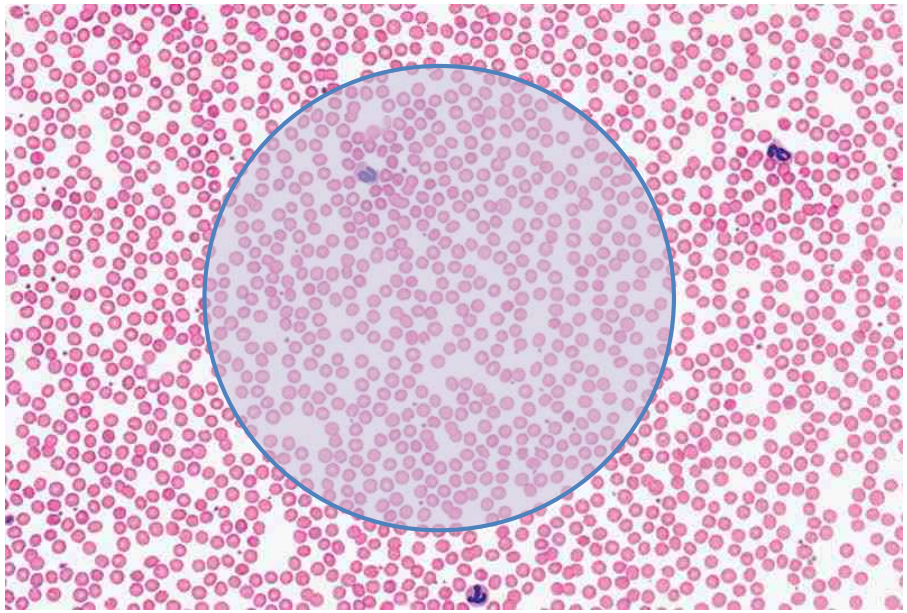
ایام	روز ۱	روز۴	ماه ۱	ماه ۲	ماه ۴	سال ۴	سال ۱۴	سال ۲۴	سال ۵۴	سال ۶۴	سال ۷۴
هماتوکریت	٪۵۶/۶	٪۵۶/۱	٪۴۴/۶	٪۳۸/۹	٪۳۲/۵	٪۳۶/۱	٪۴۴/۱	٪۴۷	٪۴۷	٪۴۳	٪۴۰

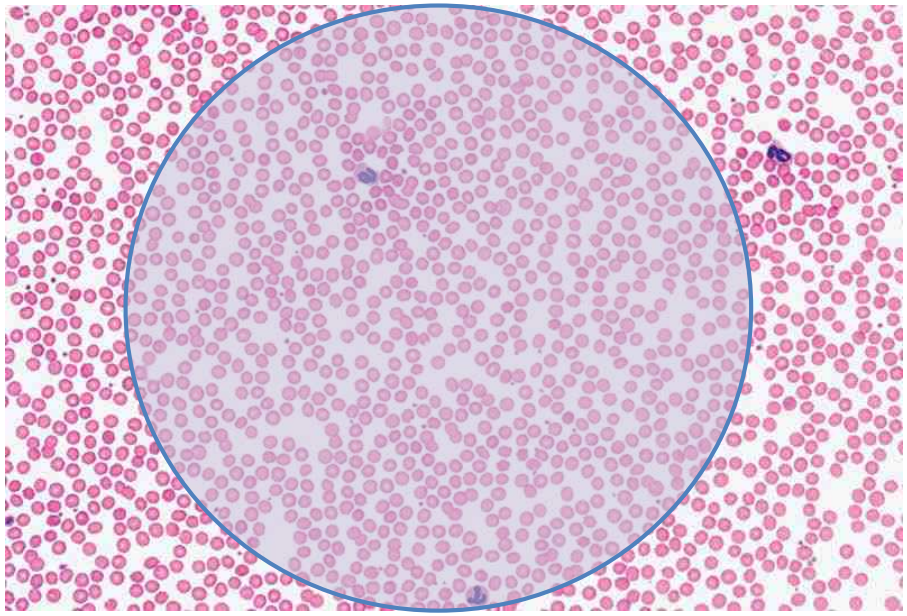
Age	WBC						RBC							
Parameters	WBC	PMN	Lymph	Mono	Eo	Baso	RBC	Hb	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
Cord Blood	9.9-30.1	6.1-26 41-81%	2.0-11.1 20-36%	0.1-2.0 0.4-10%	0.02-1.0	0.01-0.6	4.5-6.5	13.7-18.8	47-65	98-125	31-37	33.9-36	13.3-18.2	180-428
1-7days	9.1-34	1.5-10.5 35-75%	2.1-17 21-41%	0.1-1.8 4-13%	0.02-2.0 2-6%	0.01-0.6 0-1%	3.9-6.2	13.5-22	42-60	93-125	31-37	33.9-38	13.3-18.2	180-550
8-14days	5.9-23	1.1-9.5 25-55%	2.1-16.5 28-47%	0.1-1.8 6-19%	0.1-0.94 2-6%	0.01-0.6 0-1%	3.6-6.0	11.5-20.5	39-60	86-120	31-37	33.9-36	13-17.6	180-550
15-30 days	5.1-21.9	1.0-8.9 18-50%	2.5-16.5 31-56%	0.2-1.1 6-18%	0.1-0.99 2-7%	0.01-0.6 0-1%	3.3-5.5	10.5-20.2	31-55	85-112	25-34	33.9-35.3	15-17.6	210-640
2-4 months	5.1-15.9	1.0-8.5 14-51%	3.2-13.5 41-71%	0.30-1.1 4-11%	0.1-0.84 2-7%	0.01-0.6 0-1%	3.1-4.5	9.8-14.1	28-42	77-110	25-33	33.9-35.5	14.6-16.2	210-580
5-12 months	5.6-13.5	1.0-5.5 17-45%	4.0-10.5 44-77%	0.25-1.1 4-11%	0.1-1.0 2-6%	0.01-0.2 0-1%	3.6-5.1	10.5-13.9	33-42	74-92	25-31	33.9-35.5	14.6-16.2	210-560
1-2 years	5.2-13	1.2-7.5 15-45%	1.5-8.5 44-74%	0.15-1.2 4-10%	0.1-1.19 2-4%	0.02-0.2 0-1%	3.7-5.2	10.9-14.1	33-43	74-89	24-30	33.9-35.2	14.6-16.2	210-560
3-5 years	4.9-12.5	1.5-7.2 25-57%	1.5-7.5 35-65%	0.15-1.2 4-9%	0.1-1.4 2-4%	0.01-0.2 0-1%	3.9-5.2	10.9-14.8	33-43	74-88	24-30	34.2-35.7	13-15.5	200-500
6-7 years	4.4-12	1.5-7.9 31-68%	1.5-6.0 25-54%	0.15-1.2 4-9%	0.08-1.10 2-4%	0.01-0.2 0-1%	3.9-5.3	11.8-15.4	35.8-43	75-90	25-33	34.2-35.7	13-15.5	180-480
8-14 years	3.9-11.5	1.8-8.0 38-70%	1.4-5.5 28-48%	0.15-1.2 4-9%	0.08-1.01 2-4%	0.01-0.2 0-1%	3.9-5.4	12.8-16	37-46	77-92	25-34	34.2-35.7	13-15.5	170-450
14-18 boy 14-18 Girl	3.5-11.0	1.7-5.7 43-77%	1.2-5.2 25-45%	0.15-1.2 4-9%	0.04-0.76 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	4.3-5.8 3.9-5.4	13.0-17 12.3-15.4	37-49 35-46	81-92 79-92	25-34 25-33	32.4-35.6 32.4-35.6	13-15.5 13-15.5	183-345 160-400
18-49 (M)	3.5-10.5	1.7-6.1 43-78%	1.0-3.2 15-45%	0.2-0.9 4-9%	0.06-0.46 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	4.3-5.7	13.5-17.5	38-51	81-95	27-33	32-36	11.5-15.6	145-420
18-49(F)	3.9-11.1	1.7-7.5 43-78%	1.0-3.2 15-45%	0.2-0.9 4-9%	0.06-0.46 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	3.9-5.1	11.8-15.5	35-46	81-98	27-33	31.6-36	11.5-15.5	155-440
50-69 (M)	3.9-11.0	2.2-6.3 43-78%	1.0-2.8 15-45%	0.2-0.6 4-9%	0.1-0.5 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	3.7-5.4	11.7-16.6	34-48	79-98	27.7-34	31-36	11.5-15.6	125-385
50-69(F)	3.2-11.5	2.0-7.7 43-78%	1.0-3.0 15-45%	0.2-0.6 4-9%	0.1-0.5 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	3.4-5.2	10.5-15.3	31-45	80-100	27.6-35	31-36	11.5-15.5	145-440
70-90 (M)	4.1-10.5	2.2-6.3 43-78%	1.0-2.7 15-45%	0.3-0.7 4-9%	0.2-0.6 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	3.0-5.3	9.6-15.9	27-46	82-101	27-36	31-36	11.5-15.6	85-385
70-90(F)	4-10.8	2.0-7.7 43-78%	1.0-2.9 15-45%	0.2-0.6 4-9%	0.2-0.6 1-7%	0.01-0.3 0.3-1.3%	2.9-5.3	9.0-14.9	25-45	78-102	26-35.5	31-36	11.5-15.5	117-390

اندکس	فرمول و مثال	β-Thal minor	(IDA)	٪ صحت Child/Adult
England and Fraser Index (EFI) (1973)	MCV-RBC-5Hb-K (K=3.4)	<0 or (-)	=>0 or (+)	51/78
Mentzner Index (MI) Hermiston and Mentzer (1973)	MCV/RBC	<13.3 M/11.2 F Mean (12.5M/F)	≥13.3 M/11.2 F (12.5M/F)	81/ 71
Bevington-Srivastava Index (BSI) (1973)	MCH/RBC	<3.8	=>3.8	57/ 63
Shine-Lal Index (S&LI) (1977)	$MCV^2 \times MCH/100$ $MCV^2 \times MCH \times 0.01$	< 1530	≥1530	10/ 91
Ricerca Index (RI) (1987)	RDW/RBC	<4.4	≥4.4	14/66
RDW Index (RDWI) 1987	MCV×RDW/RBC	<220	≥220	75/ 78
Green &King Index (G&KI) Or Discriminant Factor (DF) (1989)	$MCV^2 \times RDW/Hb \times 100$	<65	≥65	56/ 83
MDHL Index* (1999)	MCHD×RBC (MCH×RBC/MCV) (MCHD **= MCH/MCV)	M<10y:>1.75±0.12 F<10y: >1.98±0.11 M>10y:>1.81±0.12 F>10y:>1.76±0.11	M<10y:≤1.75 F<10y: ≤1.98 M>10y:≤1.8 F>10y:≤1.76	34/ 54
Kerman Index 1 (KI-1) (1996)	MCV×MCH/RBC (Mentzer× MCH)	<300 300-400→IDA+Thal	>400	65/ 73
Kerman Index 2 (KI-2) (1997)	KI-1×10/MCHC	<85 85-105→IDA+Thal	≥107	71/ 76
Bordbar Index (2003)	(80-MCV)×(27-MCH)	≥44.76	<44.76	72/78
Ehsani Index (EI) (2015)	MCV-(10×RBC)	<15	≥15	68/76
Bessman index (BI) (2006)	RDW_{cv}	<16	≥16	10/15
Sirdah Index (SI) (2007)	MCV-RBC-3Hb	<27	≥27	65/64
RBC Index (RI)	RBC	>5	<5	65/77

*Mean Density of Hb/Liter of Blood (MDHL) Index, **Mean Cell Hb Density

Pl 10x/18
E-Pl 10x/20
E-Pl 10x/20
E-Pl 10x/25
Pl 10x/25
Pl 10x/25

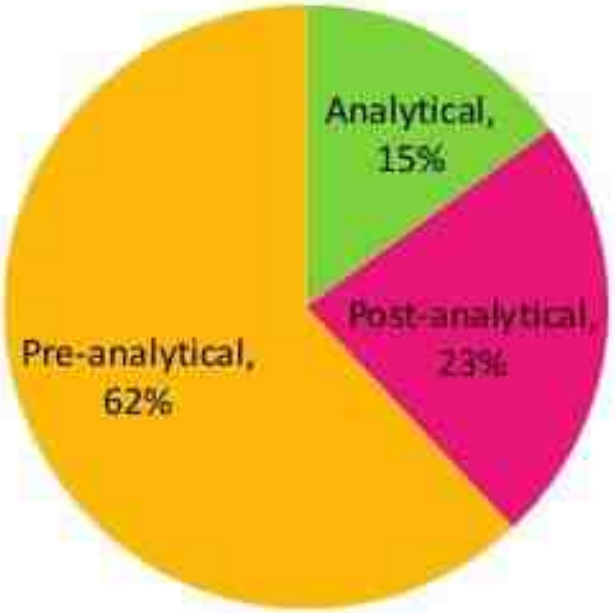




theranos

Sources of Laboratory errors

Laboratory Errors

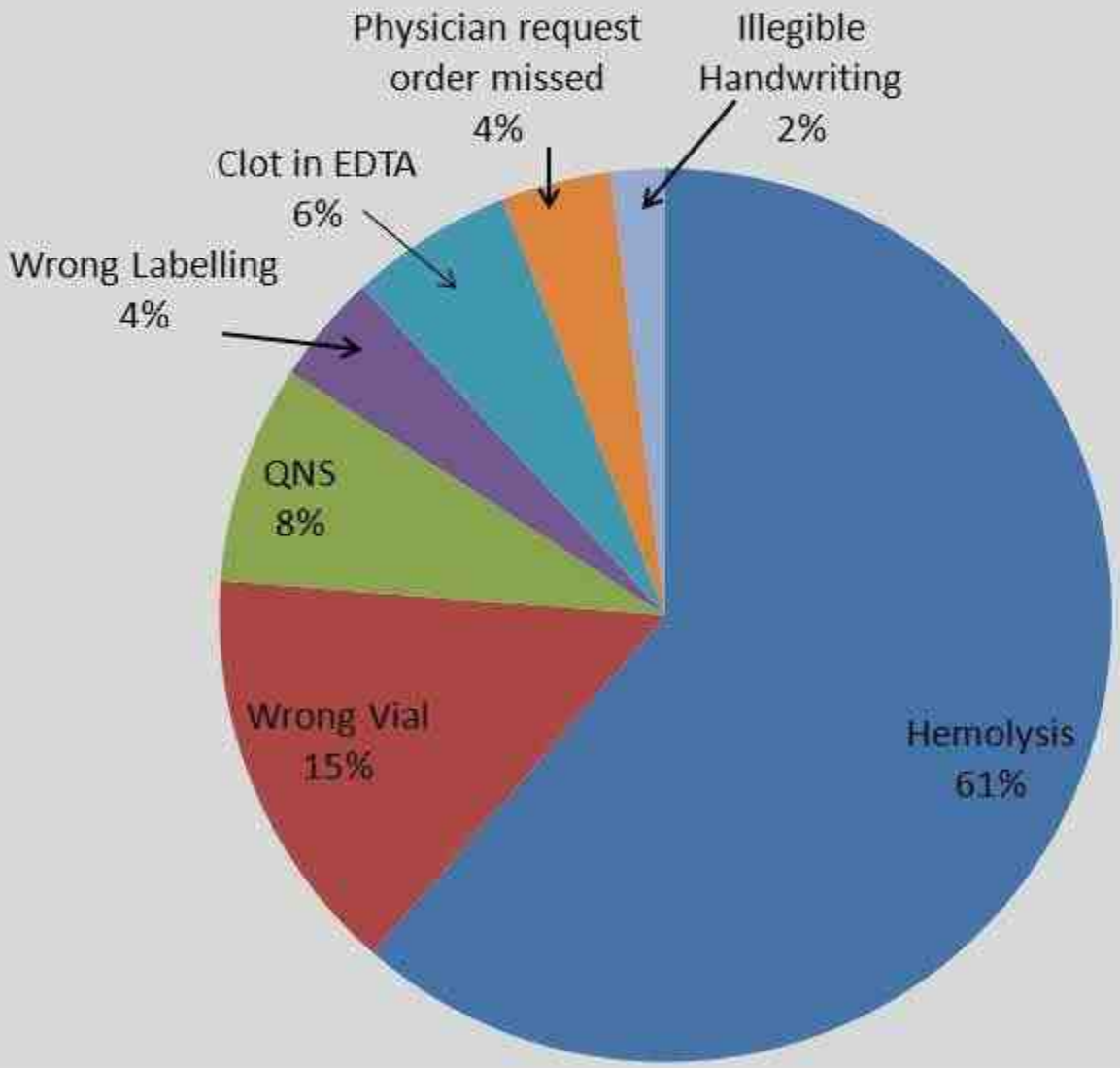


Top Pre-analytical Errors (62%)

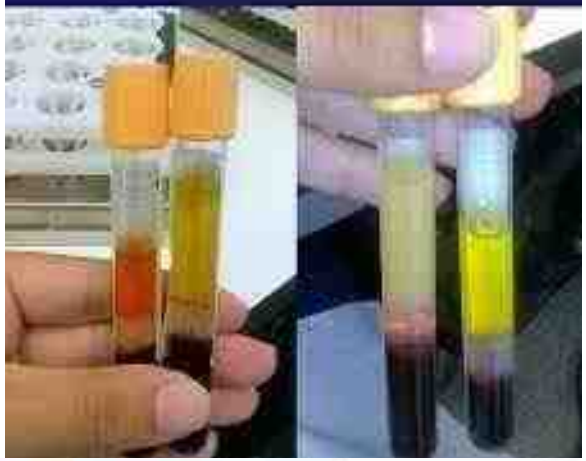
- Specimen collection tube not filled properly – 13%
- Patient ID error – 9%
- Inappropriate specimen collection tube/container – 8%
- Test request error – 7%
- Empty collection tube – 7%
- Others – 18%

Source: Carraro P, Plebani M. *Errors in a stat laboratory: Types and frequencies 10 years later. Clin Chem. 2007;53:1338–1342*

Pre Analytical Errors



Pre-analytical errors



nomal + ++ +++
(Hemolysis sample)

nomal abnomal
(Lipemic sample)

Preanalytical errors in clinical chemistry laboratory

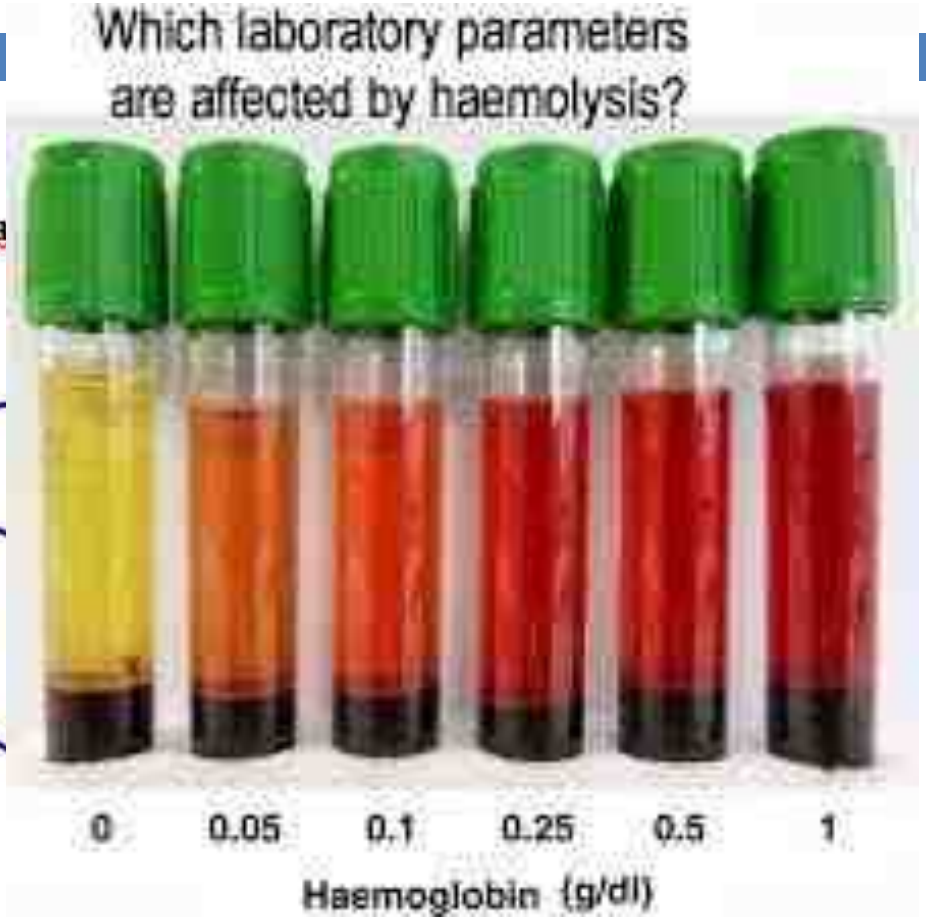
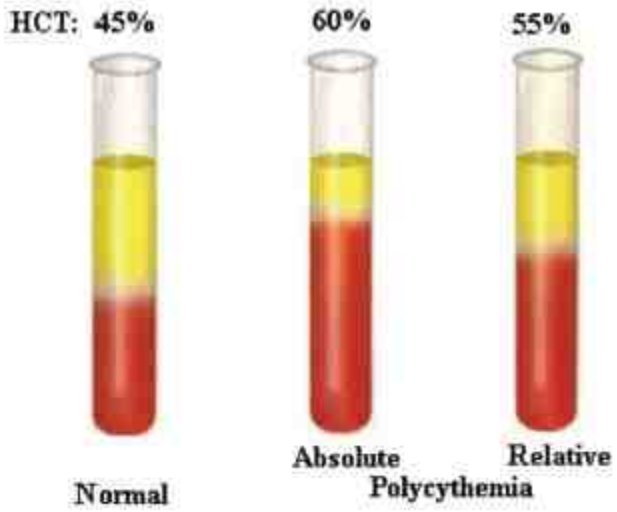
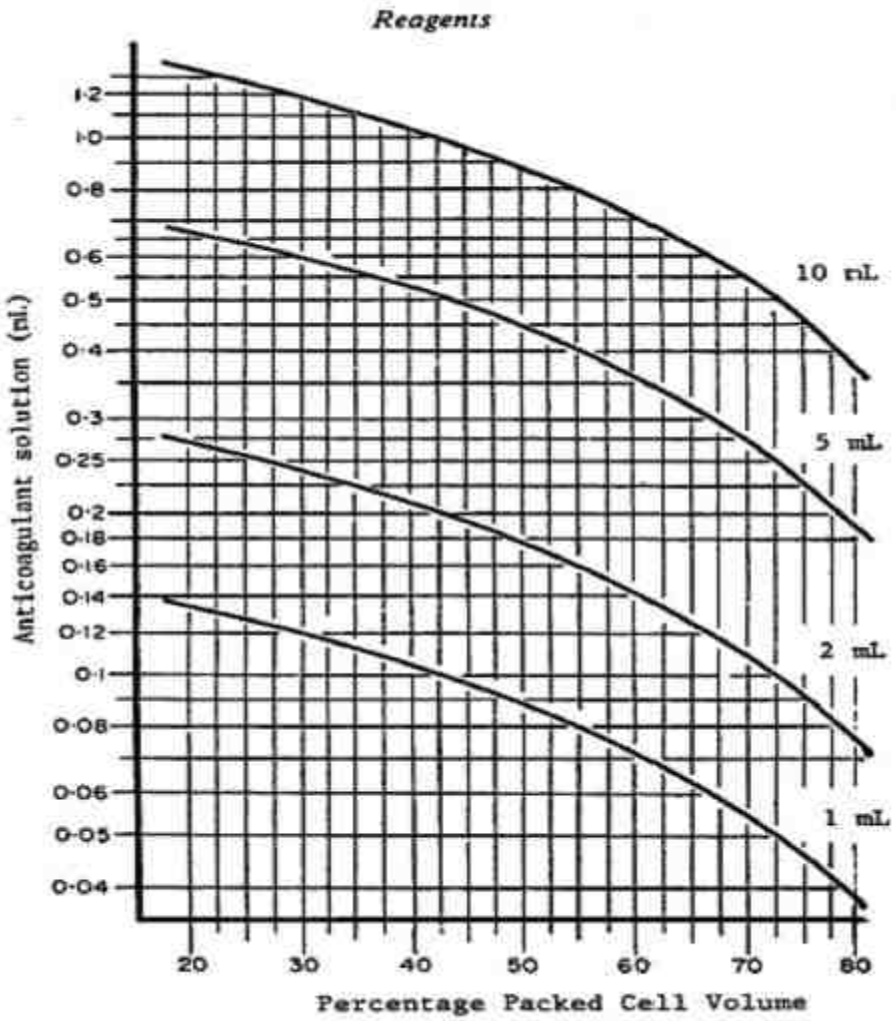


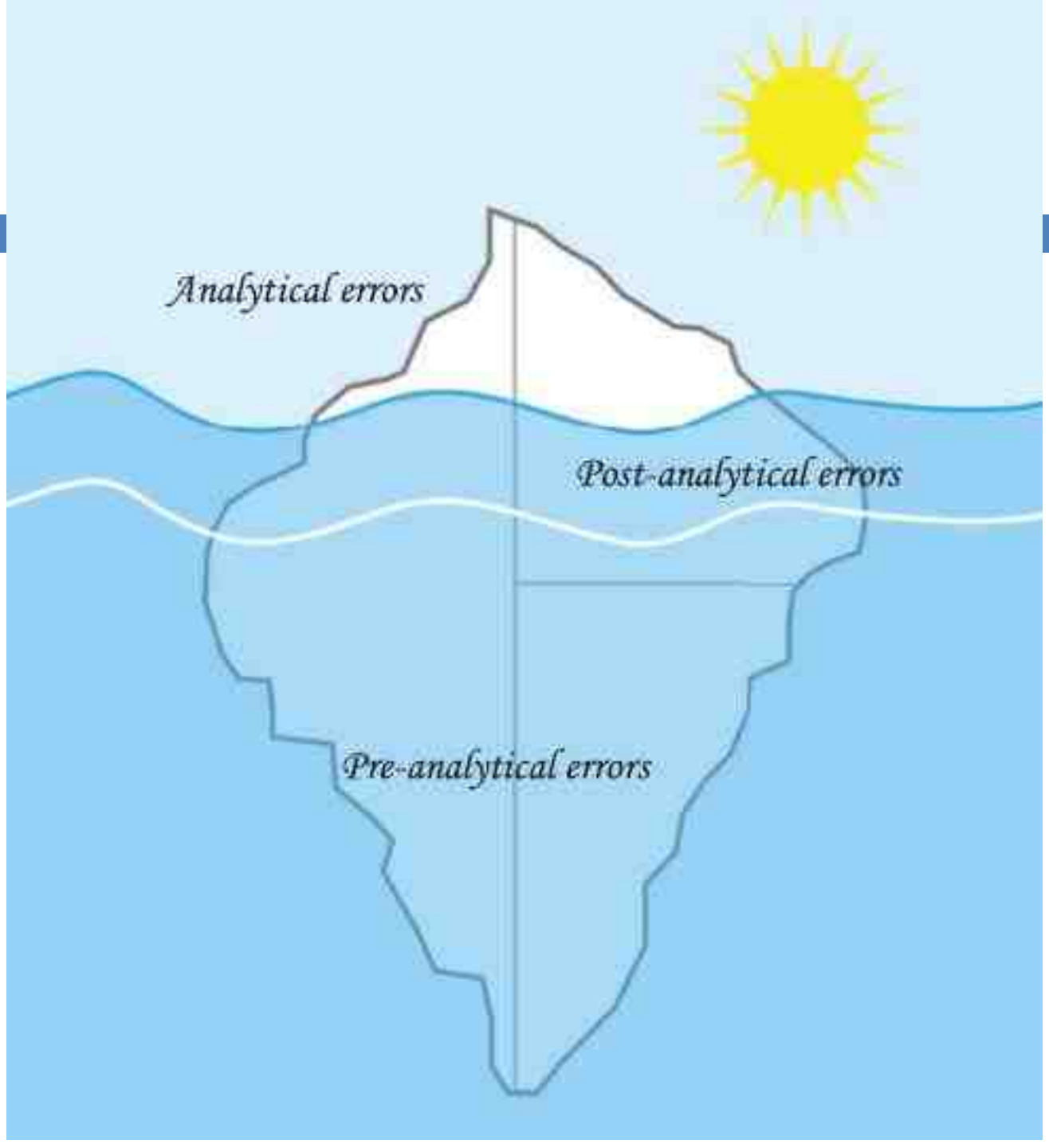
Table 1 Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. Differences are given as absolute values and percentage relative bias (mean ± SD) from the baseline sample (no lysis). Values are compared with current analytical quality specifications for desirable bias (15). Statistically significant differences were evaluated by Student's paired t-test ([a]$p < 0.05$; [b]$p < 0.01$). Results with hemolysis-induced variations exceeding the relative desirable bias are marked in bold.

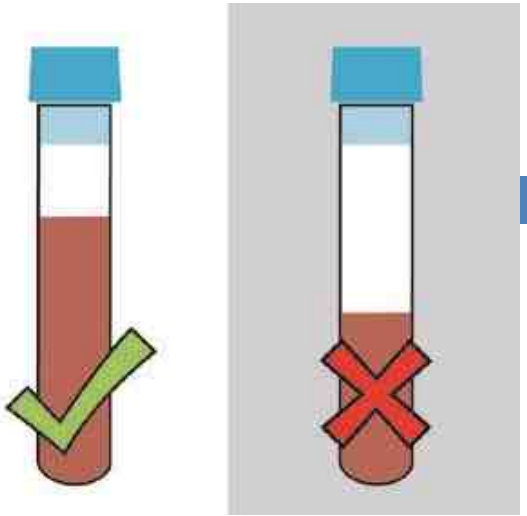
Analyte	Desirable bias, %	Free serum hemoglobin								
		No lysis	0.16 g/L	0.3 g/L	0.6 g/L	1.3 g/L	2.6 g/L	5.1 g/L	10.3 g/L	20.6 g/L
Albumin, g/L	±1.3	44.9±1.1	44.8±1.0 (−0.1±0.4%)	44.6±1.3 (−0.5±0.9%)	44.5±1.1 (−0.8±0.4%)	44.3±1.0 (−1.1±0.7%)	**44.3±1.2 (−1.3±0.8%)**	**44.2±1.1 (−1.4±0.7%)**	**43.7±1.1 (−2.5±0.4%)**	**42.2±1.1 (−5.9±1.0%)**
Alkaline phosphatase, U/L	±6.4	52±8	52±8 (0.0±1.0%)	52±7 (−0.4±1.6%)	51±8 (−1.4±2.1%)	50±7[b] (−3.0±1.4%)	**47±7[b] (−9.2±2.0%)**	**43±7[b] (−18.0±2.3%)**	**36±7[b] (−31.4±3.6%)**	**24±6[b] (−53.7±5.3%)**
Alanine aminotransferase, U/L	±12.0	20±13	20±13 (+1.6±2.8%)	20±13 (+2.2±8.0%)	20±13 (+2.3±7.2%)	20±13 (+2.9±7.8%)	22±13[a] (+10.2±11.9%)	**23±13[b] (+18.2±11.6%)**	**26±13[b] (+37.1±16.3%)**	**32±13[b] (+73.8±28.2%)**
Aspartate aminotransferase, U/L	±5.4	22±4	23±4[b] (+4±3%)	**25±4[b] (+12±5%)**	**27±4[b] (+24±7%)**	**31±4[b] (+42±9%)**	**40±5[b] (+84±14%)**	**59±7[b] (+169±25%)**	**95±11[b] (+336±48%)**	**169±22[b] (+677±87%)**
Bilirubin (total), μmol/L	±10.0	20.8±10.3	20.8±10.4 (−0.1±0.8%)	20.6±10.4 (−1.1±2.9%)	20.6±10.0 (−0.3±2.2%)	20.4±10.8 (−4.0±5.9%)	20.4±10.9 (−4.2±7.4%)	20.3±10.2 (−2.8±4.9%)	20.3±9.6 (−0.6±7.7%)	20.2±9.3 (−1.3±9.2%)
Calcium, mmol/L	±0.8	2.40±0.09	2.40±0.10 (+0.1±0.9%)	2.40±0.09 (+0.1±0.5%)	2.40±0.09 (+0.1±0.7%)	2.41±0.09 (+0.3±0.5%)	2.41±0.09 (+0.4±0.8%)	2.42±0.09 (+0.6±0.7%)	2.42±0.10 (+0.6±0.7%)	2.40±0.09 (−0.1±0.7%)
Chloride, mmol/L	±0.5	105.5±1.9	105.5±1.9 (0.0±0.0%)	**105.0±1.7 (−0.5±0.5%)**	**104.8±1.6 (−0.7±0.6%)**	**104.6±1.5 (−0.8±0.6%)**	**104.3±1.3 (−1.2±0.6%)**	**104.0±1.5 (−1.4±0.8%)**	**103.6±1.9 (−1.8±0.7%)**	**102.5±1.6 (−2.8±0.9%)**
Creatine kinase, U/L	±11.5	118±46	120±47[a] (+2±2%)	121±47[b] (+3±2%)	125±47[b] (+7±4%)	**131±48[b] (+13±4%)**	**145±47[b] (+27±10%)**	**175±47[b] (+56±22%)**	**240±50[b] (+120±46%)**	**380±55[b] (+259±102%)**
Creatinine, μmol/L	±3.4	81±10	82±11 (+0.2±1.8%)	82±11 (+0.3±2.3%)	82±10 (+0.4±2.0%)	83±10[a] (+1.5±1.4%)	**85±11[b] (+4.4±2.4%)**	**86±10[b] (+5.8±2.4%)**	**86±10[b] (+6.3±2.3%)**	**87±9[b] (+7.5±3.6%)**
γ-Glutamyltransferase, U/L	±10.8	17±8	16±8[a] (−4.7±4.6%)	16±8[b] (−6.0±3.9%)	16±8[b] (−6.4±3.7%)	16±8[b] (−7.8±3.1%)	**15±8[b] (−11.1±5.3%)**	**15±8[b] (−14.5±5.7%)**	**14±7[b] (−18.3±5.4%)**	**12±7[b] (−35.5±9.7%)**
Glucose, mmol/L	±2.2	5.02±0.66	5.02±0.68 (−0.2±0.6%)	5.02±0.66 (−0.1±0.4%)	5.02±0.64 (0.0±0.8%)	5.02±0.64 (0.0±0.5%)	5.02±0.64 (−0.1±0.3%)	5.01±0.64 (−0.2±0.9%)	4.97±0.65[b] (−1.0±0.4%)	4.95±0.65[b] (−1.4±1.0%)
Iron, μmol/L	±8.8	18.4±5.8	18.4±5.8 (+0.1±0.9%)	18.6±5.6 (+1.5±2.1%)	18.6±5.7[b] (+1.5±1.3%)	18.8±5.8[b] (+2.1±0.6%)	19.2±5.7[b] (+4.7±2.0%)	**20.1±5.8[b] (+10.6±3.9%)**	**22.2±5.9[b] (+23.1±8.3%)**	**27.3±6.1[b] (+53.1±16.0%)**
Lactate dehydrogenase, U/L	±4.3	338±37	**369±36[b] (+9±2%)**	**397±38[b] (+17±2%)**	**451±39[b] (+34±4%)**	**550±42[b] (+63±7%)**	**746±52[b] (+122±13%)**	**1203±69[b] (+259±34%)**	**1906±116[b] (+470±69%)**	**3804±140[b] (+1039±132%)**
Lipase, U/L	±10.1	28±6	28±6 (0.0±0.0%)	29±6 (+0.5±1.3%)	29±5 (+2.2±4.0%)	31±5[a] (+8.2±7.8%)	**35±6[b] (+23.1±7.7%)**	**39±5[b] (+38.0±9.9%)**	**43±5[b] (+53.1±12.7%)**	**45±5[b] (+60.7±15.9%)**
Magnesium, mmol/L	±1.8	0.92±0.04	0.92±0.04 (0.0±0.4%)	0.92±0.04 (0.0±0.8%)	0.92±0.03 (+0.4±2.1%)	0.93±0.03[b] (+1.5±2.1%)	**0.94±0.04[b] (+2.3±0.7%)**	**0.95±0.03[b] (+3.5±1.0%)**	**0.98±0.04[b] (+6.8±1.6%)**	**1.02±0.03[b] (+11.6±2.3%)**
Phosphorus, mmol/L	±3.2	1.17±0.12	1.17±0.11 (+0.1±1.3%)	1.17±0.11 (+0.6±1.3%)	1.18±0.12 (+0.8±1.0%)	1.18±0.11 (+1.4±1.6%)	1.20±0.11[b] (+2.9±1.7%)	**1.23±0.11[b] (+5.5±2.0%)**	**1.29±0.11[b] (+10.9±3.4%)**	**1.42±0.11[b] (+22.1±7.4%)**
Potassium, mmol/L	±1.8	4.12±0.22	4.15±0.22[a] (+0.7±0.7%)	4.18±0.23[b] (+1.5±0.8%)	**4.25±0.21[b] (+3.2±1.2%)**	**4.37±0.22[b] (+6.1±1.1%)**	**4.65±0.24[b] (+12.9±1.4%)**	**5.22±0.25[b] (+26.7±1.6%)**	**6.36±0.30[b] (+54.4±3.1%)**	**8.78±0.42[b] (+113.2±5.6%)**
Sodium, mmol/L	±0.3	140.1±1.5	**139.6±1.1[a] (−0.4±0.4%)**	**139.3±1.0[b] (−0.6±0.4%)**	**138.9±0.8[b] (−0.9±0.6%)**	**138.6±0.9[b] (−1.1±0.5%)**	**138.3±1.2[b] (−1.3±0.5%)**	**137.9±1.4[b] (−1.6±0.5%)**	**136.5±0.9[b] (−2.6±0.5%)**	**133.5±1.0[b] (−4.7±0.8%)**
Urea nitrogen, mmol/L	±5.5	6.3±1.2	6.3±1.1 (−0.4±2.3%)	6.3±1.0 (−0.4±2.6%)	6.3±1.1 (−0.6±2.3%)	6.3±1.1 (−0.5±1.5%)	6.4±1.1[a] (+1.4±1.6%)	6.5±1.1[a] (+3.0±2.4%)	6.6±1.2[b] (+3.9±2.2%)	**6.8±1.1[b] (+8.9±2.6%)**
Uric acid, μmol/L	±4.8	305±89	303±89 (−0.6±1.0%)	303±89 (−0.8±1.1%)	303±88 (−0.9±1.1%)	302±89 (−1.0±1.1%)	301±89 (−1.3±1.1%)	296±89 (−3.2±1.4%)	**290±87 (−5.1±2.0%)**	**275±86 (−10.3±2.4%)**

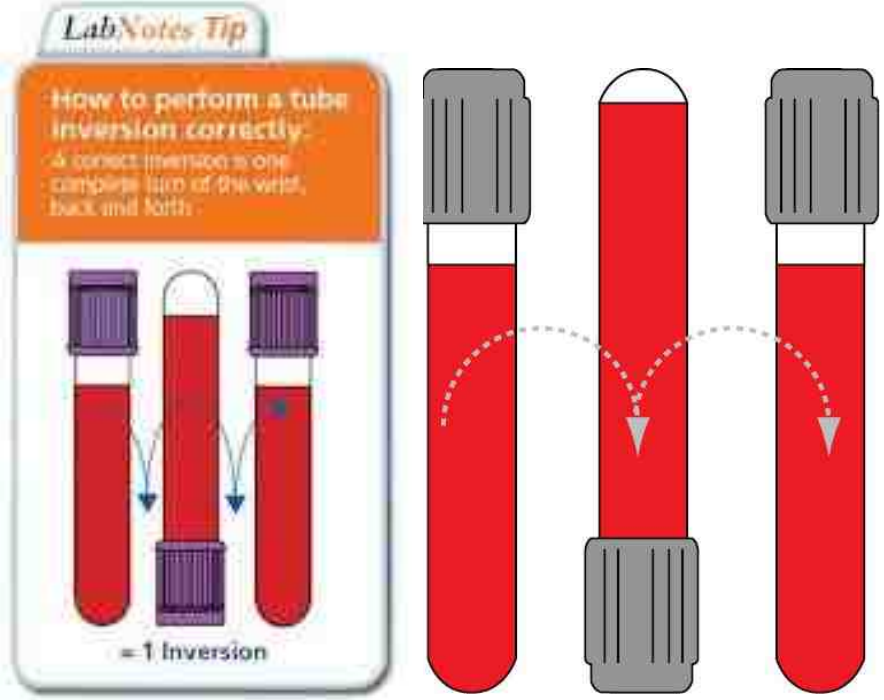




شکل ۱۰-۳: نمودار تخمین میزان سیترات سدیم ۳/۲٪ جهت خونگیری در حجم‌های ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر


Analytical errors
Post-analytical errors
Pre-analytical errors





Order of Draw Band

با توجه به موارد فوق، خطاها را می‌توان به چندین روش طبقه‌بندی نمود:

۱) خطاهای سیستمیک و رندوم

۲) خطاهای قبل آزمایش، حین آزمایش و بعد آزمایش

۳) خطاهای با علت معلوم و علت مجهول

۴) خطاهای غیرقابل اجتناب و خطاهای قابل اجتناب

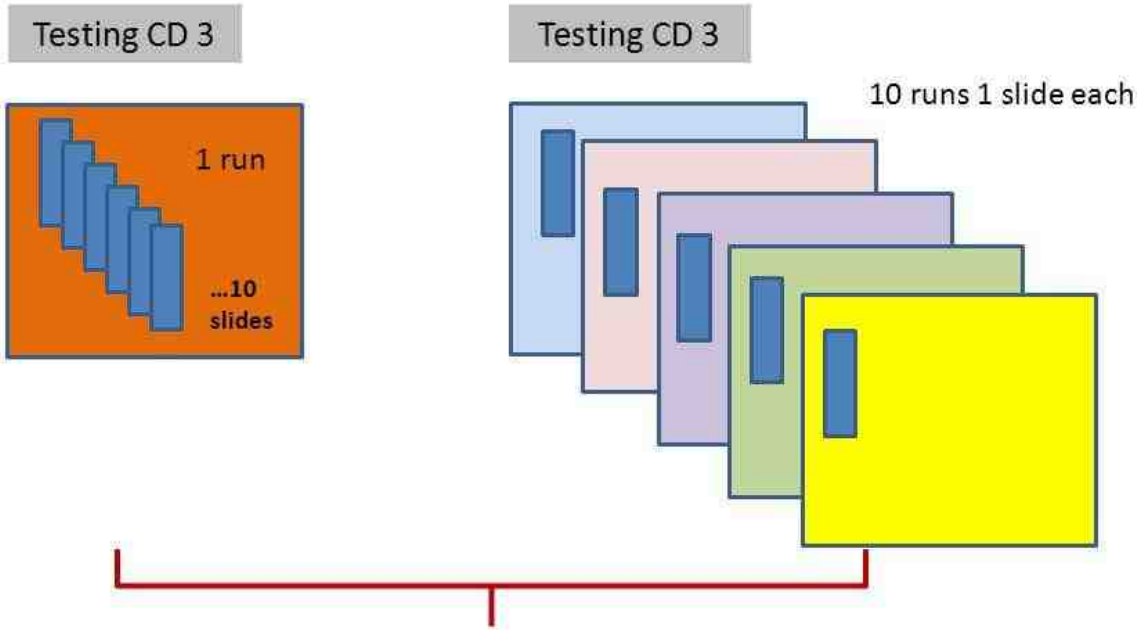
۵) خطاهای ناشی از تغییرات فیزیولوژیک

۶) خطاهای ناشی از تغییرات بین فردی[1] و درون فردی[2]:

تغییرات بین فردی: به تفاوت ایجاد شده در نتایج آزمایشگاهی افراد مختلف به‌دلیل عواملی مثل جنسیت، نژاد، ژنتیک، ... اطلاق می گردد.

تغییرات درون فردی: به تفاوت ایجاد شده در نتایج آزمایشگاهی یک فرد بدلیل عواملی مثل افزایش سن، رژیم غذایی، ورزش، وضعیت روحی و روانی، داروهای مصرفی، وضعیت فرد به هنگام نمونه‌گیری، طولانی شدن زمان بسته بودن گارو، ... اطلاق می‌شود.

Intra run vs Inter run Validation



similar ***staining pattern*** and ***intensity*** of all slides

Inter Vs. Intra

- inter: between or among
- intra: within or inside of

شکل ۲-۱۳: از راست به چپ: ۱)عدم صحت/عدم دقت، ۲) عدم صحت/وجود دقت، ۳) وجود صحت/وجود دقت

صحت (Accuracy) : میزان نزدیکی بین مقدار به‌دست آمده از فرآیند اندازه‌گیری به مقدار واقعی همان متغیر است که به‌صورت کیفی بیان می شود.

عدم صحت (Inaccuracy): اختلاف بین مقدار به‌دست آمده از فرآیند اندازه‌گیری با مقدار واقعی است که به‌صورت کمّی بیان می شود.

درستی (Trueness): میزان نزدیکی میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های مکرر برروی یک نمونه به مقدار واقعی همان نمونه است که به‌صورت کیفی بیان می‌شود.

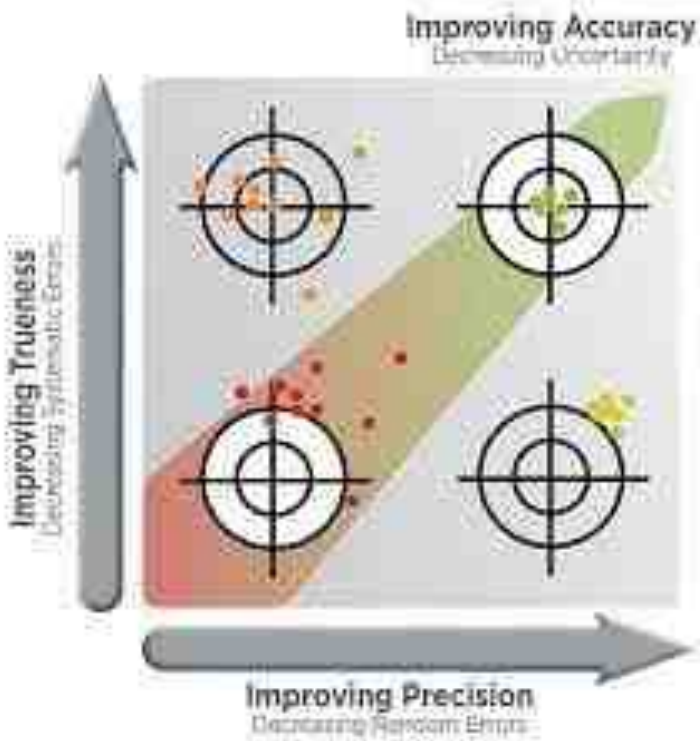
تورش (Bias): اختلاف بین میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های مکرر بر روی یک نمونه با مقدار واقعی همان نمونه است که به‌صورت کمّی بیان می‌شود.

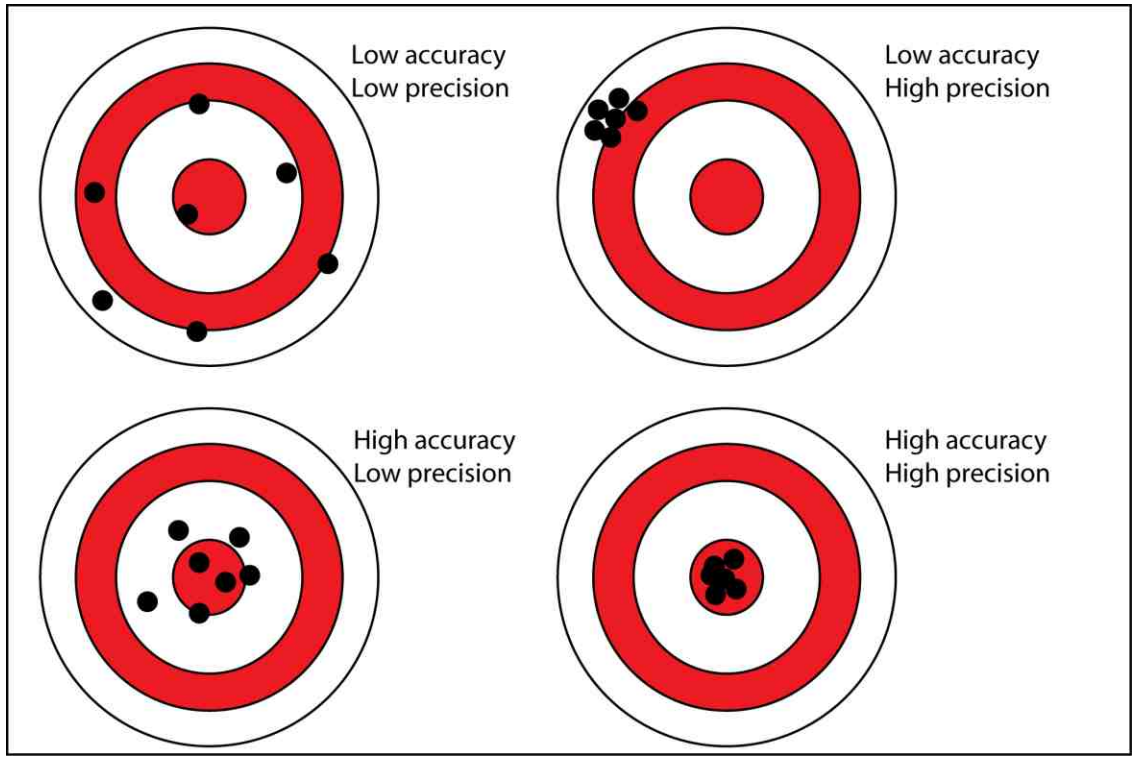
دقت (Precision): میزان نزدیکی نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری‌های مکرر بر روی یک نمونه به یکدیگر است که به‌صورت کیفی بیان می شود.

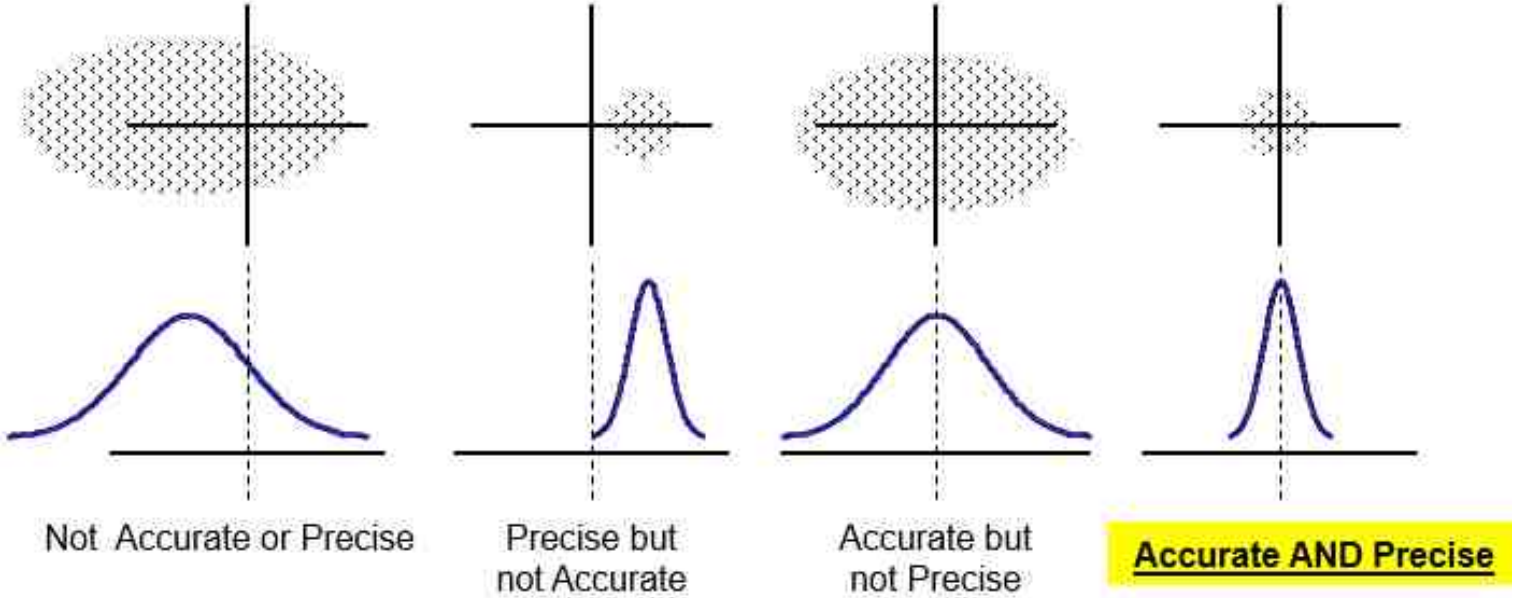
عدم‌دقت (Imprecision): اختلاف بین نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری‌های مکرر برروی یک نمونه است که به‌صورت کمّی بیان می‌شود.

تکرار پذیری (Repeatability): به میزان نزدیکی نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری‌های مکرر بر روی یک نمونه، تحت شرایط ثابت اندازه‌گیری گفته می‌شود.

تجدیدپذیری (Reproducibility): به میزان نزدیکی نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری‌های مکرر بر روی یک نمونه، تحت شرایط متفاوت اندازه‌گیری گفته می‌شود.

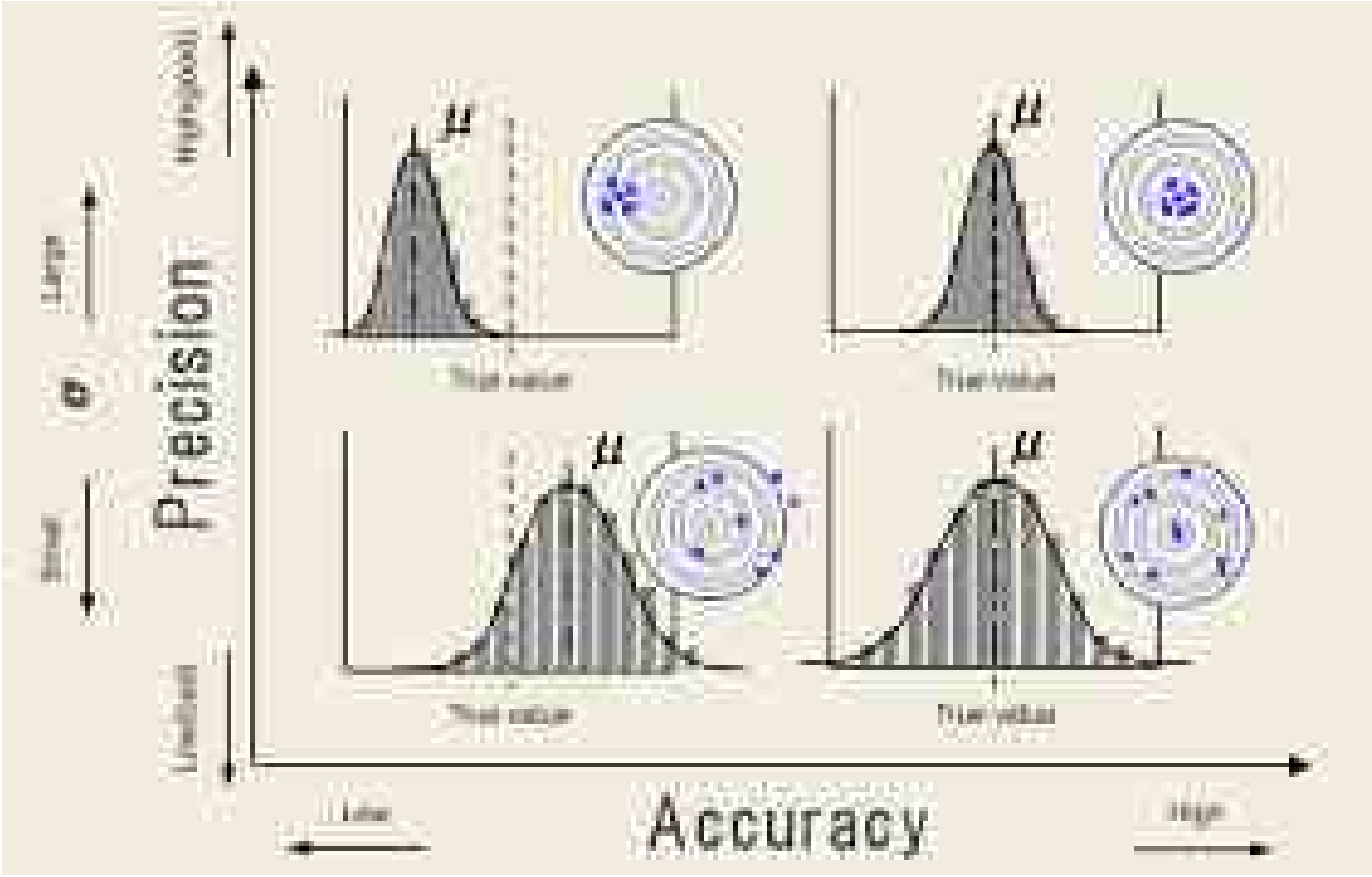

Improving Accuracy
Decreasing Uncertainty
Improving Trueness
Decreasing Systematic Error
Improving Precision
Decreasing Random Error

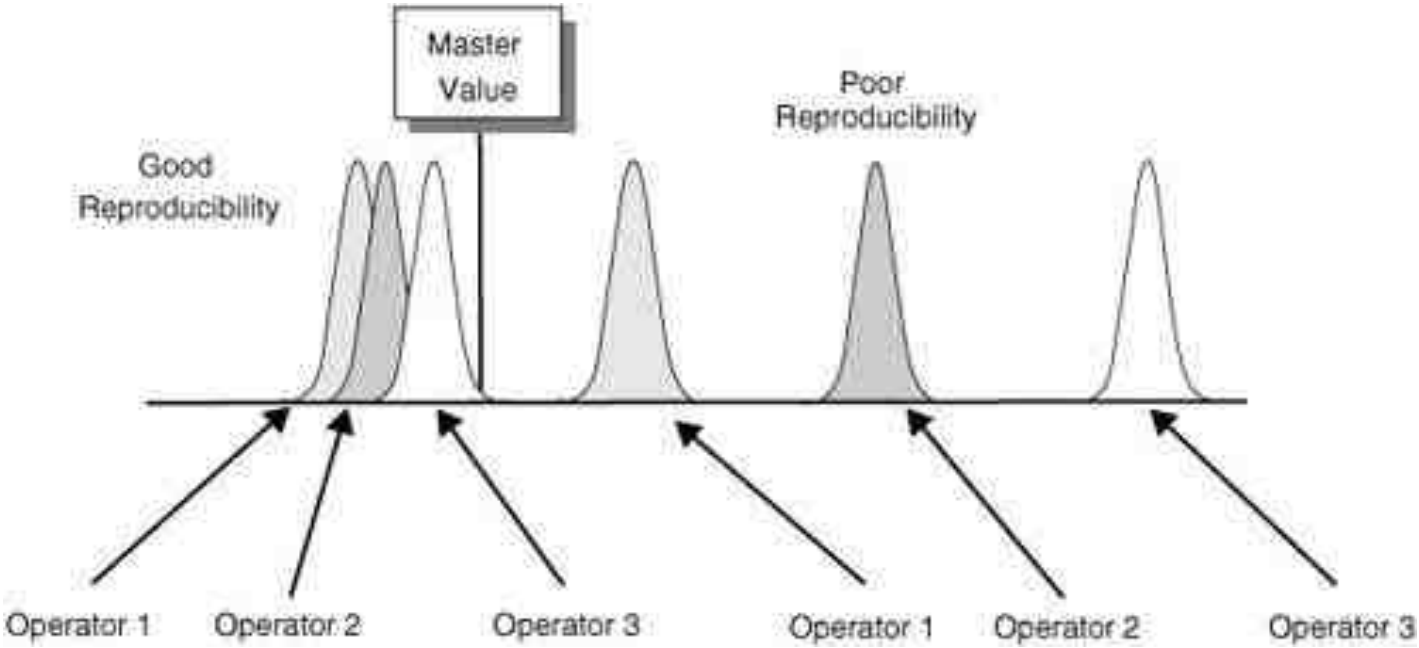

Low accuracy
Low precision
Low accuracy
High precision
High accuracy
Low precision
High accuracy
High precision

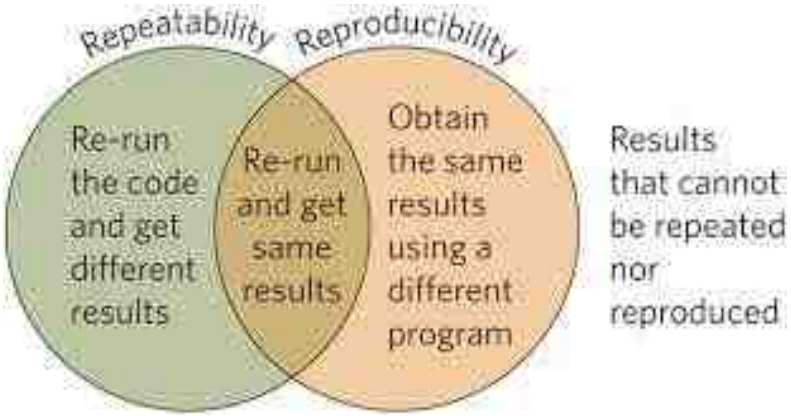

Not Accurate or Precise
Precise but not Accurate
Accurate but not Precise
Accurate AND Precise

Accuracy and Precision

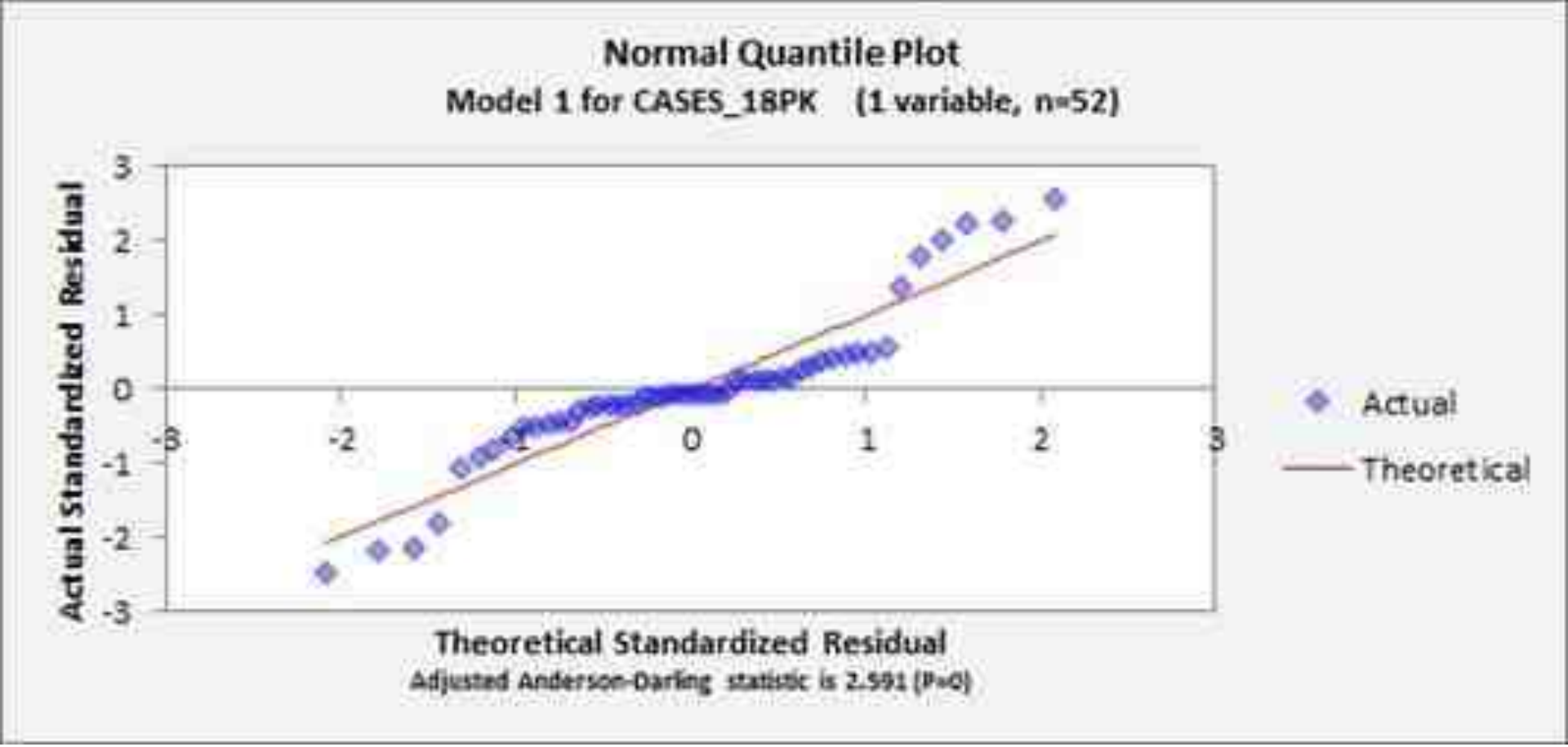
- Accuracy = the degree of closeness of measurements of a quantity to the actual (or accepted) value
- Precision (repeatability) = the degree to which repeated measurements show the same result




Master Value
Good Reproducibility
Poor Reproducibility
Operator 1
Operator 2
Operator 3
Operator 1
Operator 2
Operator 3


Repeatability
Reproducibility
Re-run the code and get different results
Re-run and get same results
Obtain the same results using a different program
Results that cannot be repeated nor reproduced

Repeatability
Reproducibility
Under identical conditions
Obtain SAME results
Under slightly different conditions



خطی بودن (Linearity): به محدوده‌ای از نتایج که روش اندازه‌گیری بتواند بدون خطا آن را اندازه گیری نماید، محدوده خطی بودن روش گفته می‌شود. برای تعیین میزان خطی بودن روش اندازه‌گیری، نیاز به نمونه‌ای با غلظت بالا است که از این نمونه حداقل باید ۵ رقت (بهترین حالت ۱۰ رقت) تهیه شود. برای حذف خطای رقت، از هر رقت حداقل سه بار تهیه کرده و برای حذف خطای دقت نیز، هر رقت سه بار مورد آزمایش قرار می گیرد. در نهایت میانگین و انحراف معیار هر رقت محاسبه می‌شود. البته CV هر رقت نباید از CV آزمایش بیشتر باشد (آزمون صحت اندازه گیری ها). میانگین هر رقت در مرحله بعد برای محاسبات تعیین محدوده خطی بودن مورد استفاده قرار می‌گیرد.

انحراف (Drift): عملاً دستگاهی که بتواند به‌طور ۲۴ ساعته در آزمایشگاه کار کند وجود ندارد و هر دستگاهی پس از مدتی کار کردن، به اصطلاح گرم می‌شود و لازم است دستگاه خاموش شده و برای مدتی استراحت نماید. البته برخی تجهیزات اورژانسی به دلیل نوع فعالیتی که دارند، لازم است تمام مدت روشن باشند. در این دستگاه‌ها برای از بین بردن خطای انحراف، از کالیبراسیون های متعدد در فواصل زمانی نسبتاً کوتاه استفاده می‌شود.

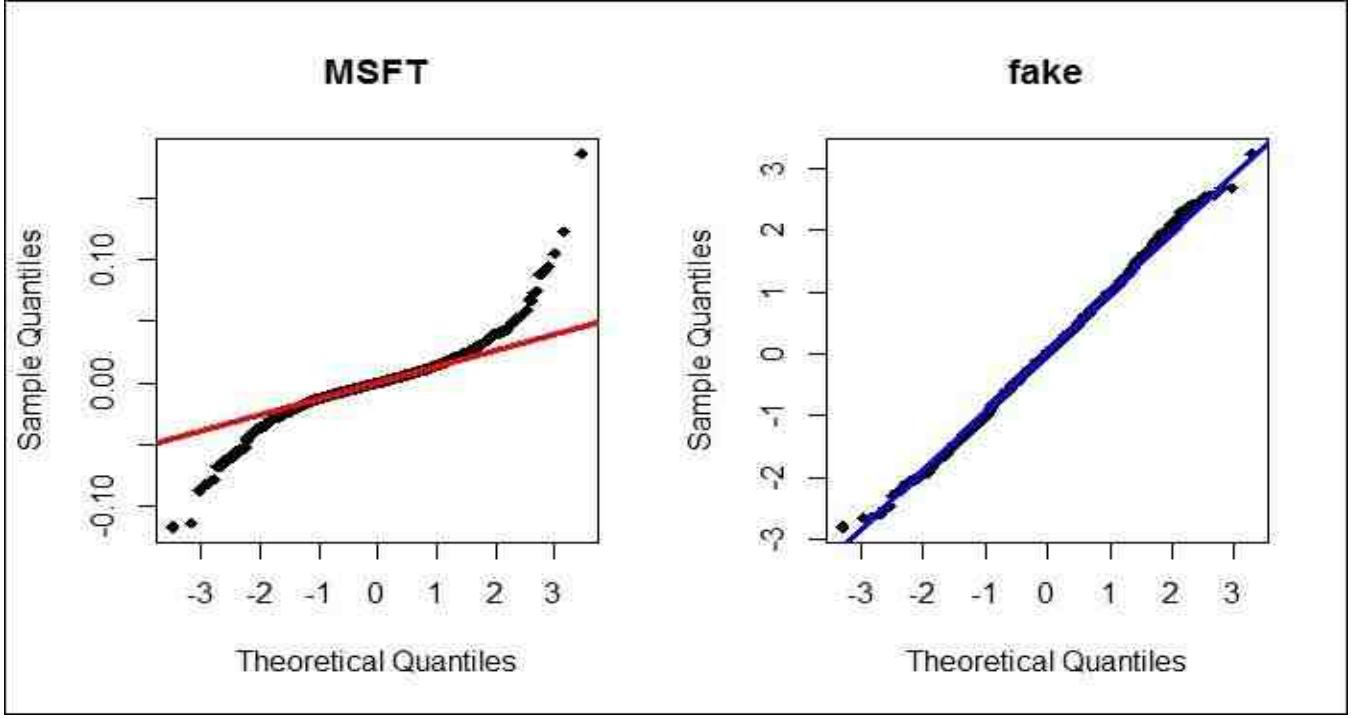
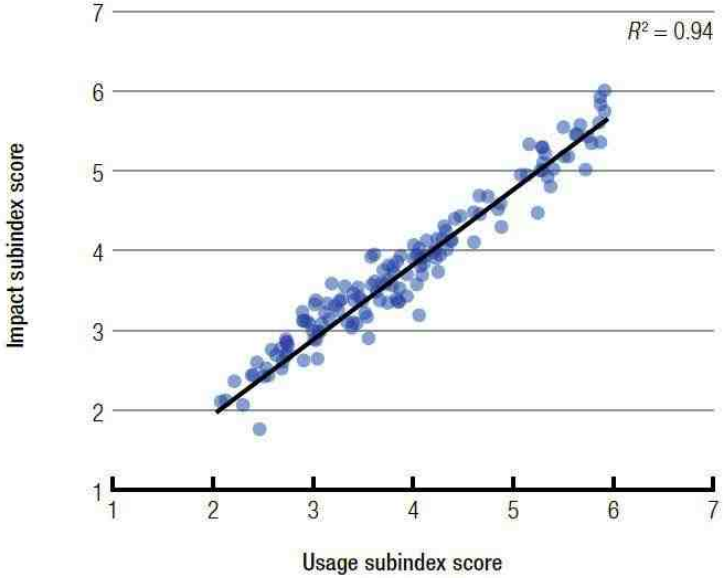
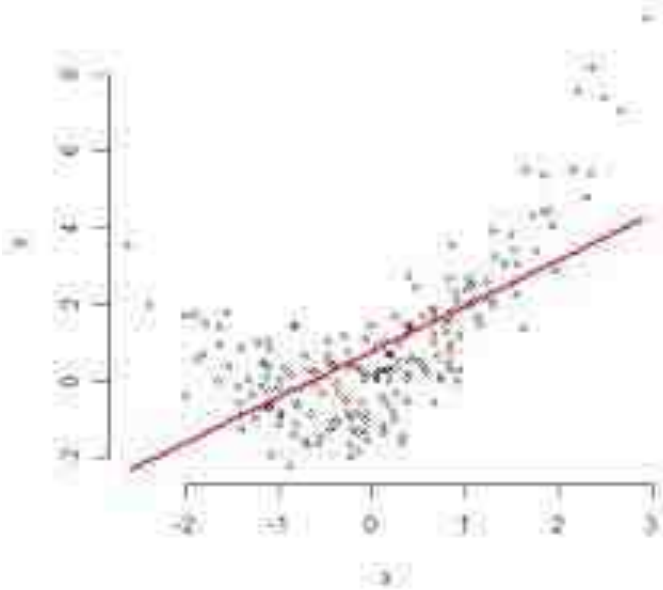


Figure 13: Usage and impact





Sources: World Economic Forum; World Bank 2015.
Note: $N = 138$ economies.

حساسیت و اختصاصیت دستگاه:

حساسیت یک دستگاه نسبت موارد مثبت واقعی و اختصاصیت نسبت موارد منفی واقعی را مورد سنجش قرار می‌دهد. در علم آمار خطاها به دو دسته i) خطاهای α یا موارد مثبت کاذب و ii) خطاهای β یا منفی کاذب تقسیم می‌شوند.

$$\textbf{Sensitivity} = \frac{\text{number of True Positives}}{\text{number of True Positives} + \text{number of False Negatives}}$$

$$\textbf{Specificity} = \frac{\text{number of True Negatives}}{\text{number of True Negatives} + \text{number of False Positives}}$$

		Condition (as determined by "Gold standard")		
		Positive	***Negative***	
Test outcome	***Positive***	True Positive	False Positive (Type I error, P-value)	→ Positive predictive value
	Negative	False Negative (Type II error)	True Negative	→ Negative predictive value
		↓ Sensitivity	↓ Specificity	

حساسیت (Sensitivity): کمترین مقدار قابل اندازه‌گیری توسط یک روش یا سیستم اندازه‌گیری را حساسیت روش یا سیستم اندازه‌گیری می‌گویند. به عبارت دیگر روش باید بتواند تمامی موارد مثبت واقعی (افراد بیمار) را به درستی شناسایی نماید.

اختصاصیت (Specificity): یک روش یا سیستم اندازه‌گیری باید بتواند کمیت مورد نظر را بدون تأثیر عوامل تداخل‌گر اندازه‌گیری نماید. به عبارت دیگر روش یا سیستم اندازه‌گیری باید بتواند تمامی موارد منفی واقعی (افراد سالم) را شناسایی و از افراد مثبت (بیمار) افتراق بدهد.

		Condition (as determined by "Gold standard")		
		Positive	*Negative*	
Test outcome	*Positive*	True Positive	False Positive (Type I error, P-value)	→ Positive predictive value
	Negative	False Negative (Type II error)	True Negative	→ Negative predictive value
		↓ Sensitivity	↓ Specificity	

$$\text{Sensitivity} = \left[\frac{\text{true positive}}{(\text{true positive} + \text{false negative})}\right] \times 100 \qquad \text{Specificity} = \left[\frac{\text{true negative}}{(\text{true negative} + \text{false positive})}\right] \times 100$$

$$\text{PPV} = \frac{\text{true positive}}{(\text{true positive} + \text{false positive})} \times 100 \qquad \text{NPV} = \frac{\text{true negative}}{(\text{true negative} + \text{false negative})} \times 100$$

positive predictive value (PPV)
negative predictive value (NPV)

$$\text{Youden's index} = (\text{sensitivity} + \text{specificity}) - 100.$$

Indices	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	Youden's index
Red blood cell (RBC) count					
IDA	91.0	86.0	86.6	90.5	77.0
β-TT	86.0	91.0	90.5	86.6	
RBC distribution width (RDW)					
IDA	99.0	6.0	51.2	85.7	5.0
β-TT	6.0	99.0	85.7	51.2	
Mentzer index (MI)					
IDA	68.0	82.0	79.0	71.9	50.0
β-TT	82.0	68.0	71.9	79.0	
Shine and Lal (S&L) index					
IDA	97.0	91.0	91.5	96.8	88.0
β-TT	91.0	97.0	96.8	91.5	
England and Fraser (E&F) index					
IDA	100.0	78.0	81.9	100.0	78.0
β-TT	78.0	100.0	100.0	81.9	
Srivastava (S) index					
IDA	44.0	74.0	62.8	56.9	18.0
β-TT	74.0	44.0	56.9	62.8	
Green and King (G&K) index					
IDA	100.0	83.0	85.4	100.0	83.0
β-TT	83.0	100.0	100.0	85.4	
RBC distribution width index (RDWI)					
IDA	95.0	83.0	84.8	94.3	78.0
β-TT	83.0	95.0	94.3	84.8	
Ricerca (R) index					
IDA	68.0	98.0	97.1	75.3	66.0
β-TT	98.0	68.0	75.3	97.1	

حال مثال فوق را در مورد ۱۰۰ بیمار مشکوک به اعتیاد در نظر بگیرد که پلیس نمونه آنها را به دو آزمایشگاه مرجع و آزمایشگاه ABC ارسال نموده است. آزمایشگاه مرجع نتیجه آزمایش ۵ نفر را مثبت و ۹۵ نفر را منفی گزارش می‌کند. در حالی که آزمایشگاه ABC ۳ نفر را مثبت و ۹۷ نفر را منفی گزارش می‌کند. به‌عبارتی این آزمایشگاه ۲ نفر معتاد را سالم (منفی کاذب) گزارش نموده است. این آزمایشگاه مثبت کاذب نداشته و لذا اختصاصیت ۱۰۰٪ دارد ولی به دلیل ۲ نمونه منفی کاذب، حساسیت آن (S=۳/(۳+۲)=۳/۵٪) حدود ۶۰٪ می‌باشد. همان‌طوری‌که مشهود است نتیجه واقعی تست و مبنای قضاوت در این فرمول‌ها، نتیجه آزمایشگاه مرجع می‌باشد.

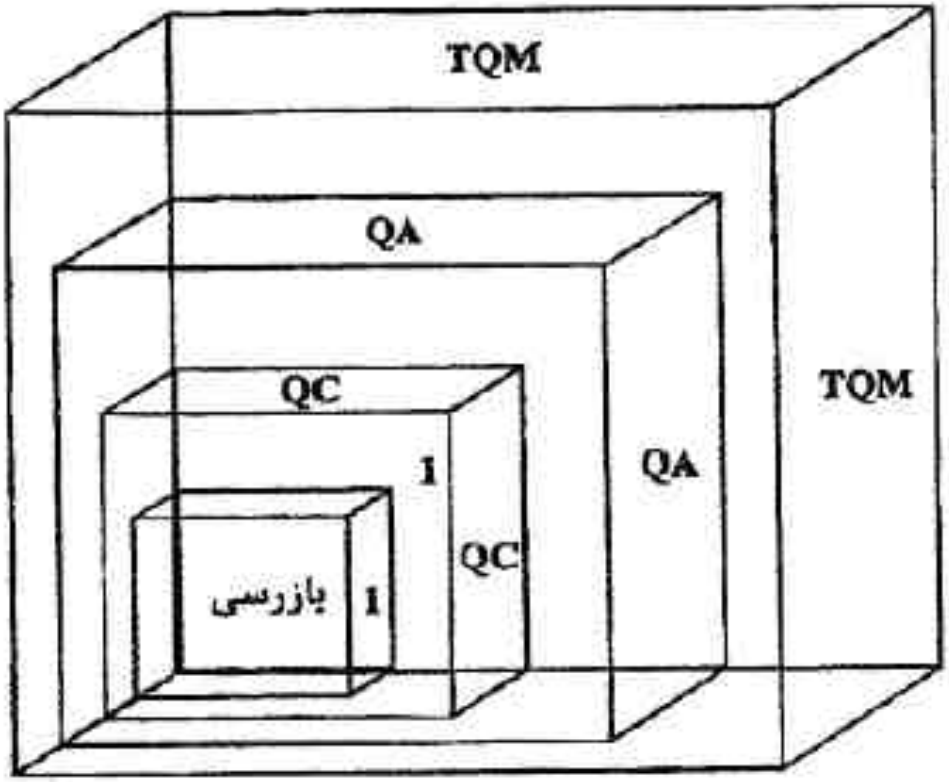
وضعیت / نتیجه تست	معتاد (بیمار): ۵	سالم: ۹۵
مثبت	۳	خطای نوع اول یا α (۰ نفر)
منفی	خطای نوع دوم یا β (۲ نفر)	عدم خطا (۹۵)

همان‌طوری‌که اشاره شد، به دلیل این‌که آزمایش در آزمایشگاه تشخیص طبی انجام شده و نتایج آن در اختیار پزشک یا مردم قرار می‌گیرد، لذا یک نوع خدمت محسوب می‌شود و هر نوع خدمتی به دلیل اینکه با مشتری سر و کار دارد، لذا می‌بایست کیفیت داشته باشد. کیفیت نیز دو ویژگی دارد: i) انطباق کالا یا خدمات با نیاز مشتری (پزشک و بیمار) و ii) انطباق کالا یا خدمات با استانداردها که از جمله استانداردهای مهم در مورد علوم آزمایشگاهی می‌توان به ISO-17025 (استاندارد مدیریت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون)، ISO-15189 (استاندارد مدیریت آزمایشگاه‌های تشخیص طبی)، CLIA-88 (استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی)، ICSH (استاندارد آزمایش‌های هماتولوژی) و ISO-3534-1 (استاندارد آزمایشگاه تشخیص طبی) اشاره نمود. البته استانداردها به چندین نوع بین المللی، منطقه‌ای، ملی و خصوصی[۳] نیز تقسیم می‌شوند که بر اساس موقعیت یک آزمایشگاه و سطح آن (بین المللی، منطقه‌ای و یا استانی) مدیریت آن می‌بایست از یک یا چند نوع از استانداردهای مذکور تبعیت کند. همان‌طوری‌که از نوع استانداردها نیز معلوم است، دقت و یا کیفیت یک آزمایشگاه به نوع کاربری آن نیز ارتباط داشته و به‌عنوان مثال کیفیت، دقت، حساسیت و اختصاصیت آزمایشگاه آموزشی (دانشگاهی)، آزمایشگاه غربال‌گری، آزمایشگاه تشخیص طبی و آزمایشگاه تحقیقاتی با یکدیگر فرق دارند. این قانون در مورد نوع آزمایش نیز صادق بوده و کیفیت یک تست MRD (حداقل بقایای بیماری)، تست تعیین پیش‌آگهی، تست تعیین سطح دارویی و یا تست غربال‌گری متفاوت از یکدیگر هستند.

۲۰۲ ISO-15189 استاندارد مدیریت آزمایشگاه تشخیص طبی، ISO-17025 استاندارد مدیریت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون، ISO-3534-1 استاندارد آمار، لغات، ترمینولوژی و سمبل‌ها، ISO-15489 استاندارد ا اطلاعات، اسناد و مستندسازی، ISO-15223 و ISO-13485 استاندارد تجهیزات پزشکی و لیبلینگ آن، ISO-14001 استاندارد مدیریت محیط، ISO-3166 استاندارد اسامی کشورها و استان‌ها و شهرها و ISO-9001 استاندارد کنترل مدیریت جامع می‌باشد که ISO-15189 بر اساس دو ایزوی ۱۷۰۲۵ و ۹۰۰۱ تدوین شده است (نمره: ۸۰). الف

- کنترل کیفیت (Quality Control): QC روشی برای کسب اطمینان از کیفیت کالا یا خدمت می‌باشد که عموماً از طریق محاسبات آماری بر روی یک سری اندازه گیری یا اندازه‌گیری‌ها (برای یافتن خطا های احتمالی) صورت می‌گیرد، اطلاق می‌شود. وظیفه QC شناسایی، اصلاح و پیش‌گیری خطاهای سیستمیک و رندوم مرحله آزمایش بوده و قادر به شناسایی اشتباهات نیست.
- تضمین کیفیت (Quality Assurance): QA روشی است که کیفیت خدمات یا کالا را در تمامی مراحل از فرآیند تولید آن مورد بررسی قرار می دهد. همان‌طوری‌که اشاره شد، خطا در آزمایشگاه می تواند در مرحله قبل، حین و یا پس از اندازه‌گیری (آزمایش) رخ دهد که کنترل کیفیت (QC) خطاها را در مرحله اندازه‌گیری (حین آزمایش) بررسی می‌کند در حالی‌که تضمین کیفیت خطاها را در تمامی مراحل مورد بررسی و شناسایی قرار می‌دهد.
- بهبود کیفیت (Quality Improvement): QI به‌جز شناسایی خطا، امکان اصلاح و بهبود کیفیت را نیز فراهم می‌آورد. QI در بهبود کیفیت QC و QA اهمیت ویژه داشته و در آن تیمی از کارشناسان خبره برای اصلاح و برطرف کردن خطاهای شناسایی شده توسط QC و یا QA تشکیل می‌شوند که اجرای تصمیمات این تیم ضروری می‌باشد. این تیم وضعیت بهبود کیفیت را طی یک دوره ۱۲-۶ ماهه پایش نموده و آن را با نتایج دوره‌های قبل مقایسه می‌کند و بدین ترتیب نقاط مثبت را تقویت و نقاط ضعف را اصلاح می‌کند. این فرآیند نیاز به مشارکت تمامی اعضای آزمایشگاه داشته و لذا یک کار تیمی است که QC و QA را نیز پوشش می‌دهد و نیازمند برنامه‌ریزی کیفیت می‌باشد.
- برنامه ریزی کیفیت (Quality Planning): در این سطح از کیفیت، برنامه‌ای برای تولید کالا یا خدمت با کیفیت قابل قبول، بر اساس خط مشی یا سیاست کیفیت آزمایشگاه[1] طراحی می‌شود. این برنامه باید دارای دستور کار برای پیش‌گیری از بروز خطا و همچنین بهبود مستمر کیفیت پس از شناسایی خطا باشد و وظایف هر یک از کارکنان در این فرآیند مشخص شده باشد.
- مدیریت کیفیت (Quality Management): مدیریت کیفیت از چهار زیر مجموعه QC، QA، QI و QP تشکیل شده و علاوه بر مسائل مطرح شده به عواملی مثل مدیریت منابع انسانی، مدیریت منابع مالی، مدیریت زمانی، تسریع زمان پاسخ‌دهی و آموزش پرسنل که به‌طور غیرمستقیم روی نتایج آزمایشگاهی اثر می‌گذارند نیز می‌پردازد. این سطح از کیفیت نیاز به جلسات متناوب و منظم مدیران، افسران کنترل کیفی، مسئولین بخش و پرسنل دارد.

- مدیریت جامع کیفیت (Total Quality Management): در این مبحث علاوه بر موضوعات طرح شده، به پدیده جهانی شدن نیز پرداخته می شود تا کالا یا خدمت ارائه شده بتواند در سطح جهانی به رقابت بپردازد. در این بخش علاوه بر سطوح کیفی فوق به استانداردهای بین المللی مانند ISO-9000، ISO-17025 و ISO-15189 نیز توجه می شود. TQM بالاترین سطح کیفیت است که تمامی سطوح QC، QA، QI و QM را پوشش می‌دهد. از این رو مواردی مثل رضایت مشتری و پرسنل (مشتری مداری)، منابع مالی، کاهش هزینه‌های جاری، منابع نیروی انسانی، امور پرسنل، آموزش مدون پرسنل، برقراری آزمون‌های داخل آزمایشگاهی پرسنل (تست‌های مهارت سنجی PT[۲])، زمان پاسخ دهی، پایش طولانی مدت کیفیت و ارزیابی سالیانه، شناسایی، پیش‌گیری و اصلاح خطاها، برقراری ارتباط با دیگر آزمایشگاه‌ها و آزمایشگاه مرجع، کنترل کیفی خارجی (EQA)، مستند سازی، دفع استاندارد و بهداشتی پسماندهای و قرارداد با شهرداری را رعایت می‌کند. TQM در نگاه اول و در نگرش کوتاه مدت بسیار پرهزینه بوده ولی بازده دراز مدت و چشم‌انداز چندساله آن پرسود و درآمدزا بوده و باعث افزایش اعتبار آزمایشگاه و جذب مشتری می‌شود.



شکل ۶-۱۳: سطوح مختلف کیفیت و سلسله مراتب اهمیت و ارتباط آنها با یکدیگر

کنترل کیفی و بررسی صحت و دقت دستگاه با استفاده از خون طبیعی بیماران

iv) رپلیکیت تست (تکرار تست):

این روش نیز روی یک نمونه ولی به تعداد ۱۱ بار انجام شده و عمدتاً تکرارپذیری و دقت دستگاه یا روش را مورد بررسی قرار می‌دهد. این روش برای ارزیابی برتری و مزیت یک روش یا دستگاه و همچنین برای بررسی پایداری و عدم نوسان نتایج آنها نیز به‌کار می‌رود ولی از آنجایی که تمامی تست‌ها در یک زمان و با یک پی‌پت یا یک محلول انجام می‌گیرد، لذا قدرت تشخیص خطاهای آنها را ندارد. با توجه به بررسی تکرارپذیری، به شرط کالیبره بودن دستگاه از این روش برای بررسی تکرارپذیری یک نمونه خون کنترلی نیز می‌توان استفاده نمود و هنگام ساخت خون کنترل نیز می‌بایست با همین روش CV و SD آن را محاسبه نمود.

با انجام این تست درحقیقت CV یک دستگاه یا روش نیز سنجیده می‌شود و بدین وسیله امکان مقایسه دقت آن با یک دستگاه یا روش دیگر نیز فراهم می‌شود. به‌عنوان مثال اگر CV سنجش هموگلوبین برای یک نیاز بالینی ۱۰٪ باشد، CV آن برای یک آزمایشگاه روتین می‌بایست ۳-۲٪، برای آزمایشگاه تخصصی ۱/۵٪ و برای مراکز تحقیقاتی و استاندارد جهانی زیر ۱٪ باشد و این رقم با رپلیکیت تست محاسبه می‌شود. پس اگر CV یک آزمایشگاهی ۱۰٪ باشد، این آزمایشگاه چیزی برای گفتن به پزشک نخواهد داشت، چراکه دقت هردوی دقت بالینی و آزمایشگاهی آنها برابر می‌باشد. در حقیقت میزان مطلوب CV و SD برای یک تست می‌بایست به قدری پایین باشد که تفسیر بالینی آن را تحت تأثیر قرار ندهد و در شرایط بوردرلاین و لب مرزی، نمونه نرمال را غیرنرمال و بالعکس نشان ندهد.

جدول ۲-۱۳. مقدار CV قابل قبول برای نیازهای مختلف بالینی و آزمایشگاهی در سه تست Hb، RBC و WBC

نوع نیاز	Hb	RBC	WBC
مراکز تحقیقاتی و استاندارد جهانی	<1	1	1-2
آزمایشگاه تخصصی	1.5	2	3
آزمایشگاه روتین	2-3	3	5-6
نیاز بالینی	5-10	5	10-15

Quantifying Errors

Reportable Range Calculator: Recording Results

Dispersion Calculator and Critical Number of Test Samples

ONLINE STORE

Nothing but the Truth Manual

$120.00

Add to Cart

"Westgard Rules" and Levey-Jennings Charts Short Course

$75.00

Note on abbreviations:
CVw = within-subject biologic variation
CVg = between-subject biologic variation
I = desirable specification for imprecision
B = desirable specification for inaccuracy
TE = desirable specification for allowable total error

	Analyte	Number of Papers	Biological Variation		Desirable specification		
			CVw	CVg	I(%)	B(%)	TE(%)
S-	11-Desoxycortisol	2	21.3	31.5	10.7	9.5	27.1
S-	17-Hydroxyprogesterone	2	19.6	50.4	9.8	13.5	29.7
U-	4-hydroxy-3-methoximandelate (VMA)	1	22.2	47.0	11.1	13.0	31.3
S-	5' Nucleotidase	2	23.2	19.9	11.6	7.6	26.8
U-	5'-Hydroxyindolacetate, concentration	1	20.3	33.2	10.2	9.7	26.5
S-	α1-Acid Glycoprotein	3	11.3	24.9	5.7	6.8	16.2
S-	α1-Antichymotrypsin	1	13.5	18.3	6.8	5.7	16.8
S-	α1-Antitrypsin	3	5.9	16.3	3.0	4.3	9.2
S-	α1-Globulins	2	11.4	22.6	5.7	6.3	15.7
U-	α1-Microglobulin, concentration, first morning	1	33.0	58.0	16.5	16.7	43.9
P-	α2-Antiplasmin	1	6.2	—	3.1	—	—
S-	α2-Globulins	2	10.3	12.7	5.2	4.1	12.6
S-	α2-Macroglobulin	4	3.4	18.7	1.7	4.75	7.56
U-	α2-Microglobulin output, first morning	1	29.0	32.0	14.5	10.8	34.7

Looking back, Thinking ahead, Making Choices

Thinking Fast and Slow about Risk QC

Quality Requirements

Minimum analytical quality requirements

Minimum Specifications from Biological Variation database

Optimal Biological Variation database specifications

Rilibak - German Guidelines for Quality

Biological Variation in Patients with Disease

CLIA Requirements for Analytical Quality

❖ جدول Biodatabase:

در این جدول مقادیر نوسان زیستی و محدوده‌های خطای مجاز که بر اساس نوسان زیستی محاسبه شده است ارائه شده است.

	Analyte	Number of Papers	Biological Variation		Desirable specification		
			CVw	CVg	I(%)	B(%)	TE(%)
S-	11-Desoxycortisol	2	21.3	31.5	10.7	9.5	27.1
S-	17-Hydroxyprogesterone	2	19.6	50.4	9.8	13.5	29.7

این جدول biodatabase هست که در آن خطاهای مجاز آورده شده است.

۱. آن قسمت که زیر آن با قرمز خط کشیدم مقدار%cv مجاز است

۲. آبی مقدار %bias مجاز است

۳. زرد مقدار توتال ارور مجاز است

#جدولRCPA:

در این جدول نیز محدوده های مجاز برای خطای کل فهرست شده اند . در ستون Lower goal خطای مجاز به صورت ثابت برای غلظت های پایین و در ستون upper goal برای غلظت های بالا امده است.

#جدولbiodatabase

بر اساس نوسان های زیستی ، مقادیر نوسان زیستی و خطای مجاز تعریف شده است. این جدول ۸ ستون دارد که به ترتیب از راست به چپ:

☆ ستون های یک تا سوم نوع نمونه (سرم ، پلاسما و ...) ، نام تست یا همان آنالیت و مقدار مقالات است

☆ ستون چهارم CVw نوسان زیستی درون فردی است

☆ ستون پنجم CVg نوسان زیستی بین افراد

☆ستون ششم I% مقدار cv مجاز ارایه شده است

☆ستون هفتم B% است که همان عدم صحت قابل قبول است

☆ ستون هشتم TE خطای کل مجاز است که ترکیب دو ستون قبل است

	Analyte	Number of Papers	Biological Variation		Desirable specification		
			CVw	CVg	I(%)	B(%)	TE(%)
B-	Hematocrit	11	2.7	6.41	1.35	1.74	3.97
B-	Hemoglobin	13	2.85	6.8	1.43	1.84	4.19
B-	Hemoglobin A1 C	8	1.9	5.7	0.9	1.5	3.0
B-	Hemoglobin A2	1	0.7	7.7	0.35	1.93	2.51
B-	Red cell distribution wide (RDW)	4	3.5	5.7	1.8	1.7	4.6
S-	Reticulocyte highly fluorescent, count	1	10.0	62.0	5.0	15.7	24.0
S-	Reticulocyte low fluorescent, count	1	1.6	4.9	0.8	1.3	2.6
S-	Reticulocyte medium fluorescent, count	1	13.0	33.0	6.5	8.9	19.6
S-	Reticulocyte, count	1	11.0	29.0	5.5	7.8	16.8
P-	Plasminogen	1	7.7	—	3.9	—	—
B-	Platelets, count	7	9.1	21.9	4.6	5.9	13.4
B-	Platelet distribution wide	2	2.8	—	1.4	—	—
B-	Plateletcrit	2	11.9	—	6.0	—	—
B-	Leukocytes count	8	11.4	21.3	5.73	6.05	15.49
S-	Lipase	3	32.2	31.8	16.1	11.31	37.88
(B)Erythr-	Mean corpuscular hemoglobin (MCH)	4	1.4	5.2	0.7	1.35	2.5
(B)Erythr-	Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)	5	1.06	1.2	0.53	0.4	1.27
(B)Erythr-	Mean corpuscular volume (MCV)	7	1.4	4.65	0.7	1.26	2.42
(B)Plat-	Mean platelet volume (MPV)	3	4.3	8.1	2.15	2.29	5.84
B-	Neutrophyles, count	5	17.1	32.8	8.55	9.25	23.35

	A	B	C
1	12		
2	12.1		
3	12.1		
4	12.1		
5	12.2		
6	12		
7	12.1		
8	12.1		
9	12.2		
10	12.2		
11	12.1		
12	12.1		
13	12.1		
14	12.2		
15	12.1		
16	12.1		
17	12		
18	12.1		
19	12.2		
20	12.2		
21	12.115	Mean	
22	0.067082	SD	
23	0.553711	CV	
24			
25	Hb Control	12.1	

$$\text{Bias} = \frac{\text{Lab mean - Target Control X100}}{\text{Target Control}}$$

Bias= 12.11 - 12.1 x100/12.1=0.082

TE Lab=K CV%+Bias%

TE = 1.7 X 0.55 + 0.079 = 0.935+0.082 = 1.017

مقادیر خطای مجاز برای تست هموگلوبین شامل موارد زیر است:

Cv(imp) = 1.43
Bias = 1.84
TE = 4.19

و دیتاهای آزمایشگاه به شرح زیر است :

CV=0.55 Yes
Bias=0.082 Yes
TE=1.017 Yes

	A	B
1	92	
2	90	
3	86	
4	87	
5	91	
6	90	
7	87	
8	88	
9	90	
10	89	
11	91	
12	86	
13	91	
14	92	
15	90	
16	90	
17	88	
18	89	
19	88	
20	87	
21	89.1	Mean
22	1.889026	SD
23	2.12012	CV
24		
25	Glc Contro	93

$$\text{Bias} = \frac{\text{Lab mean - Target Control X100}}{\text{Target Control}}$$

Bias= 93-89.1x100/93=4.19

TE Lab=K CV%+Bias%

TE=1.7x2.1 + 4.19 = 7.76

مقادیر مجاز در جدول بایولوژیکال

Cv (imp) = 2.8
Bias = 2.34
TE= 6.96

که باید با داده های آزمایشگاه مقایسه شود
و داده های آزمایشگاه به شرح زیر است:

CV= 2.1 Yes
Bias= 4.19 NO
TE= 7.76 NO

	A	B	C
1	41	41	
2	42	42	
3	42	42	
4	41	41	
5	40	40	
6	40	41.2	
7	40	0.83666	
8	41	2.030728	
9	41		
10	40		
11	40		
12	41		
13	41		
14	40		
15	39		
16	42		
17	41		
18	42		
19	41		
20	40		
21	42		
22	41		
23	41		
24	41		
25	39		
26	0.879394	40.76	
27	2.157492		

	S1	S2	S3	S4	S5	Mean	SD	CV-I
Day1	41	40	40	42	42	41	1.0	2.43
Day2	42	4	41	41	41	41	0.7	1.7
Day3	42	41	41	42	41	41.2	0.54	1.31
Day4	41	41	40	41	41	40.8	0.44	1.07
Day5	40	40	39	40	39	39.6	0.54	1.36
Mean	41.2	40.4	40.2	41.2	40.8			
SD	0.83	0.54	0.83	0.83	1.09			
CV-B	2.01	1.33	2.06	2.01	2.67			

tools.westgard.com/qccalculator.html

Note that the graphics generated will "pop up" - you will need to allow pop up windows in your browser.

Please let us know what you think of them.

- **Monthly Mean, Standard Deviation, CV Calculator**
- **Cumulative Mean, Standard Deviation, CV Calculator**
- **Control Limit Calculator**

See QC - The Calculations for an explanation and equations for these calculations.<
See QC Calculator Problem Set if you want to work with some sample data.
NOTE: These Javascript Calculators only work on browsers that support Javascript!

Fill these blanks in if you want to print out a hard copy of your data after you enter it	
Analyst	
Test	
Control Material	
Month	

Monthly Mean, Standard Deviation & CV

Enter up to 40 measurements, then click the buttons to obtain the calculated values for the mean, standard deviation, and CV. Blank entry boxes are not included in the calculations but zeros are.

1	32	32	36	28	55	34	35	31	33	36
11	35	36	36	34	30	37	36	33	34	37
21										
31										

Load Example Of 20 Values | Reset

Calculate Control Mean: 35

Calculate Standard Deviation: 5.29

Calculate Coefficient of Variation, CV: 15.12

CLIA Requirements for Analytical Quality

Routine Chemistry	
Test or Analyte	Acceptable Performance
Alanine aminotransferase	Target value ± 20%
Albumin	Target value ± 10%
Alkaline phosphatase	Target value ± 30%
Amylase	Target value ± 30%
Aspartate aminotransferase (AST)	Target value ± 20%
Bilirubin, total	Target value ± 0.4 mg/dL or ± 20% (greater)
Blood gas p02	Target value ± 3 SD
Blood gas pCO2	Target value ± 5 mm Hg or ± 8% (greater)
Blood gas pH	Target value ± 0.04
Calcium, total	Target value ± 1.0 mg/dL
Chloride	Target value ± 5%
Cholesterol, total	Target value ± 10%
Cholesterol, high dens. lipoprotein	Target value ± 30%
Creatine kinase	Target value ± 30%
Creatine kinase isoenzymes	MB elevated (present or absent) or Target value ± 3 SD Creatinine
Creatinine	Target value ± 0.3 mg/dL or ± 15% (greater)
Glucose	Target value ± 6 mg/dL or ± 10% (greater)
Iron, total	Target value ± 20%
Lactate dehydrogenase	Target value ± 20%

Note: Analytical Quality Requirements are a plus/minus percentage. Some browsers may not display the plus/minus character (it should appear right here, ±. If it does not, your browser does not support this character).

Hematology	
Test or Analyte	Acceptable Performance
Cell identification	90% or greater consensus on identification
White cell differentiation	Target ± 3 SD based on percentage of different types of white cells
Erythrocyte count	Target ± 6%
Hematocrit	Target ± 6%
Hemoglobin	Target ± 7%
Leukocyte count	Target ± 15%
Platelet count	Target ± 25%
Fibrinogen	Target ± 20%
Partial thromboplastin time	Target ± 15%
Prothrombin time	Target ± 15%

Note: Analytical Quality Requirements are a plus/minus percentage. Some browsers may not display the plus/minus character (it should appear right here, ±. If it does not, your browser does not support this character).

Biogenic Amines		
Test or Analyte	Lower Goal	Upper Goal
Adrenaline	± 50 nmol/day ≤ 150 nmol/day	± 33% > 150 nmol/day
Dopamine	± 0.25 umol/day ≤ 1.0 umol/day	± 25% > 1.0 umol/day
5HIAA	± 20 umol/day ≤ 100 umol/day	± 20% > 100 umol/day
HMMA	± 20 umol/day ≤ 100 umol/day	± 20% > 100 umol/day
HVA	± 8 umol/day ≤ 32 umol/day	± 25% > 32 umol/day
Metanephrine	± 0.5 umol/day ≤ 1.5 umol/day	± 33% > 1.5 umol/day
Noradrenaline	± 50 nmol/day ≤ 500 nmol/day	± 10% > 500 nmol/day
Normetanephrine	± 1.0 umol/day ≤ 3.0 umol/day	± 33% > 3.0 umol/day
Serotonin	± 0.3 umol/day ≤ 1.0 umol/day	± 30% > 1.0 umol/day

Back to top

Note: Analytical Quality Requirements are a plus/minus percentage. Some browsers may not display the plus/minus character (it should appear right here, ±. If it does not, your browser does not support this character).

Blood Gas		

RCPA Allowable Limits of Performance for Biochemistry

Royal College of Pathologists of Australasia Analytical Quality Requirements

Alcohol/Ammonia		
Test or Analyte	Lower Goal	Upper Goal
Alcohol	± 2.2 mmol/L ≤ 21.7 mmol/L	± 10% > 21.7 mmol/L
Ammonia	± 3 umol/L ≤ 30 umol/L	± 10% > 30 umol/L

Back to top

Note: Analytical Quality Requirements are a plus/minus percentage.Some browsers may not display the plus/minus character (it shouldappear right here, ±. If it does not, your browser doesnot support this character).

Antibiotics		
Test or Analyte	Lower Goal	Upper Goal
Amikacin	± 2.0 mg/L ≤ 20.0 mg/L	± 10% > 20.0 mg/L
Gentamicin	± 0.5 mg/L ≤ 5.0 mg/L	± 10% > 5.0 mg/L
Tobramycin	± 0.5 mg/L ≤ 5.0 mg/L	± 10% > 5.0 mg/L

برای انجام رپلیکیت تست، یک نمونه را ۱۱ بار به دستگاه داده و میانگین، SD و CV آن را محاسبه می‌کنیم که CV و SD اندکس‌هایی از بیان دقت محسوب می‌شوند. در مثال زیر CV هموگلوبین آزمایشگاه مربوطه ۲/۳٪ محاسبه شده است که این رقم برآیندی از CV دستگاه، محلول‌ها، روش تست و خطاهای غیرقابل کنترلی است که در آن آزمایشگاه وجود دارد و چون این رقم کمتر از CV نیاز بالینی هموگلوبین (۱۰-۵٪) می‌باشد، پس نتایج آزمایشگاه قابل قبول می‌باشد.

No.	Measurement	$d = (x - \bar{x})$	$d^2 = (x - \bar{x})^2$
1	142	2.6	6.76
2	141	3.6	12.96
3	146	1.4	1.96
4	144	0.6	0.36
5	143	1.6	2.56
6	140	4.6	21.16
7	146	1.4	1.96
8	150	5.4	29.16
9	150	5.4	29.16
10	143	1.6	2.56
11	146	1.4	1.96

$$\text{Mean } (\bar{x}) = \frac{1591}{11} = 144.6$$

$$\sum d^2 = 110.56$$

$$SD = \frac{\sum d^2}{n - 1} = 11.05$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}} = \sqrt{11.05} = 3.32$$

$$CV = \frac{3.32 \times 100}{144.6} = 2.30, \text{ i.e. } 2.3\%$$

i) داپلیکیت تست[1] (آزمون مضاعف یا دوتایی):

برای کنترل کیفی دستگاه سل‌کانتر یا بخش هماتولوژی که در آن کار می‌کنیم، بسته به زمان شروع کنترل کیفی داخلی شرایط مختلفی داریم. از آنجایی که انجام QC روزانه و انتقال آن به نمودار لوی-جنینگ یا کیوسام نیاز به وجود داده‌های حداقل ۲۰ روز کاری می‌باشد، لذا ساده‌ترین کار برای شروع کنترل کیفی از روز اول، انجام داپلیکیت تست (آزمون مضاعف یا دوتایی) است. این روش تنها می‌تواند عدم دقت (و نه عدم صحت) دستگاه را نشان دهد و در عین حال وقت‌گیر است که به علت بار کاری زیاد آزمایشگاه، انجام آن در آزمایشگاه‌های شلوغ کمتر امکان‌پذیر می‌باشد.

برای انجام این روش، نمونه‌های ۱۰ یا ۲۰ نفر از بیماران یک ران کاری را به‌صورت رندوم انتخاب کرده و هر کدام را به‌طور متوالی دوبار به سل‌کانتر می‌دهیم. سپس اختلاف بین دو نتیجه را به‌عنوان عدد d محاسبه نموده و انحراف معیار مقادیر بدست آمده را با استفاده از معادلهٔ زیر محاسبه می‌کنیم:

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

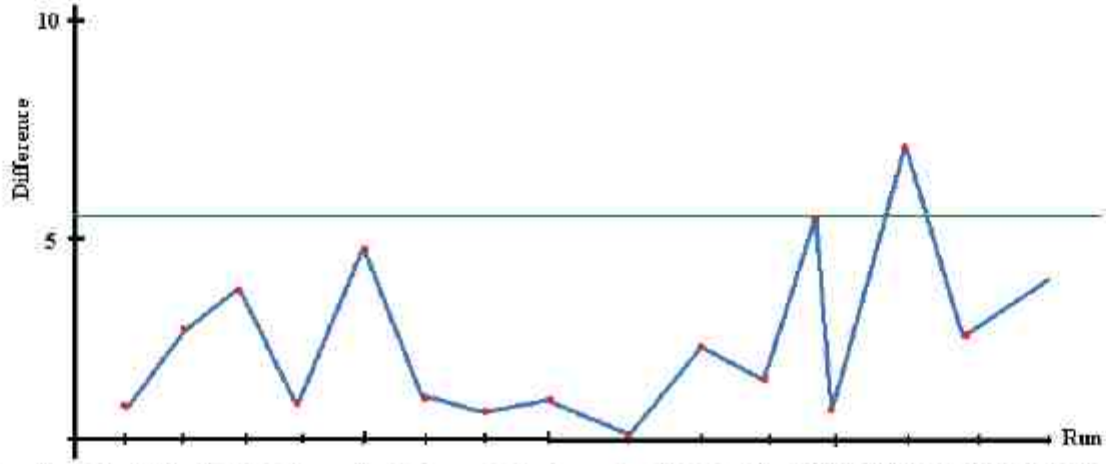
بعد از محاسبه SD، عدد d هیچکدام از آزمایش‌های مضاعف نباید بیش از 2SD باشد و اگر چنین بود، می‌بایست آزمایش آن تکرار شود. استفاده از این روش مشروط به کالیبره بودن دقیق سل‌کانتر بوده وگرنه مقدار SD به‌قدری بزرگ می‌شود که حساسیتی جهت این آزمون نخواهد داشت. این روش نسبت به shift، Trend، کالیبر غلط، اشکالات تدریجی و خطاهای سیستمیک نیز غیرحساس است. به مثال زیر توجه فرمایید.

MCV (fl)

شماره	نوبت اول	نوبت دوم	d	d^2
۱	۸۳	۸۵	-۲	۴
۲	۸۴	۸۲	۲	۴
۳	۸۸	۹۱	-۳	۹
۴	۹۲	۹۰	۲	۴
۵	۸۹	۹۵	-۶	۳۶
۶	۶۸	۷۱	-۳	۹
۷	۷۰	۷۳	-۳	۹
۸	۸۷	۸۵	۲	۴
۹	۱۰۰	۱۰۱	-۱	۱
۱۰	۹۵	۹۵	۰	۰

$$\sum d^2=80 \rightarrow n=10 \rightarrow SD=\sqrt{\sum d^2/2n}=\sqrt{80/20}=2 \rightarrow 2SD=\pm 4$$

با توجه به مقدار 2SD پاسخ MCV، نمونهٔ پنجم قابل قبول نبوده و باید تکرار شود زیرا اختلاف آن (d) خارج از محدودهٔ ±2SD می‌باشد. پس از محاسبهٔ انحراف معیار به طریق فوق، می‌توان از هر ۲۰ نمونه که به دستگاه داده می‌شود، یکی را به‌صورت مضاعف به دستگاه داد که اختلاف نتایج مضاعف برای پارامتر موردنظر نباید از ±2SD بیشتر باشد. برای راحتی کار می‌توان برای داپلیکیت تست، نموداری بر پایه قدر مطلق d ترسیم نمود که به آن نمودار DCC[2] گفته می‌شود. برای این منظور از قدر مطلق dها میانگین گرفته و عدد حاصل را در ۲/۴۵ ضرب کرده و محدوده بالای ۹۵٪ اطمینان را بدست می‌آوریم. سپس عدد حاصله را به محور عمودی یا Y یک محور مختصات منتقل نموده و نمودار DCC آن را رسم می‌کنیم. حال روزانه از هر ۲۰ تست انجام شده یکی را به‌طور رندوم انتخاب کرده و دو بار به دستگاه می‌دهیم و سپس قدرمطلق d آن را به نمودار برده و آن را بررسی می‌کنیم که اگر از محدوده اطمینان بالاتر بود، نشان‌گر عدم دقت بوده و می‌بایست تکرار شود. همان‌طوری‌که اشاره شد، این روش قادر به تشخیص خطای سیستمیک نمی‌باشد.



شکل ۷-۱۳: نمودار DCC از یک آزمایش MCV که نتایج آزمایش ۱۵ بیمار بر روی آن ترسیم شده است و بیمار شماره ۱۳ به دلیل عدم دقت می‌بایست تکرار شود.

1 Duplicate Test
2 Duplicate Control Chart (DCC)

حل مسئله: اگر نتایج WBC داپلیکیت تست ۱۰ نمونه به صورت زیر باشد، نتیجه کدام تست می‌بایست مجدداً تکرار شود؟[1]

Specimen	1st count	2nd count	d	d^2
1	5.4	5.8	0.4	0.16
2	8.3	10.5	2.2	4.84
3	17.2	18.0	0.8	0.64
4	5.4	5.4	0	0
5	12.2	11.8	0.4	0.16
6	14.3	13.8	0.5	0.25
7	6.2	6.4	0.2	0.04
8	8.2	8.6	0.4	0.16
9	7.3	7.5	0.2	0.04
10	5.4	5.9	0.5	0.25

$$\sum d^2 = 6.54$$

$$\frac{d^2}{2n} = \frac{6.54}{20} = 0.327$$

$$\sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = 0.5718$$

Therefore SD = 0.57 2SD = 1.14

ii) روش چک تست (آزمون بازبینی):[۲]

این روش نیز مشابه آزمون داپلیکیت است با این تفاوت که به‌جای آزمایشات همان ران، آزمایش‌های انجام شده در ران قبلی (نمونه‌های دوره کاری قبلی، شیفت قبل و یا روز قبل) را مورد آزمایش قرار داده و نتایج تکرار شده را با نتایج ران قبلی مقایسه می‌کنند. برای انجام این روش ۵-۴ نمونه از ران قبلی را مجدداً مورد ارزیابی قرار داده و اختلاف نتایج (d) را مورد محاسبه SD یا |d| قرار می‌دهند. در این روش توصیه می‌شود که همان نمونه‌های مورد استفاده برای آزمون داپلیکیت را بلافاصله در یخچال ۴^{oC} قرار گرفته و روز بعد از آنها جهت چک تست استفاده شود. در این روش نیز نتایج بدست آمده بایستی در محدودهٔ ±2SD همدیگر قرار بگیرند و چنان‌چه SD چک تست بزرگ‌تر از SD محاسبه شده برای آزمون داپلیکیت باشد (به شرط نگهداری نمونه‌ها در شرایط مناسب)، خرابی نمونه‌ها و یا اشکال در عملکرد سل‌کانتر مسجل و امکان جابه‌جایی نمونه‌ها رد می‌شود. به‌عبارتی دیگر، از چک تست می‌توان برای شناسایی فساد معرف‌ها، خرابی اپرچور یا خرابی سل‌کانتر در فاصله زمانی بین انجام دو آزمایش استفاده نمود. لازم به ذکر است، اطمینان از شرایط مطلوب نگهداری نمونه‌ها امری ضروری است که در غیر این‌صورت تغییرات رخ داده قابل تفسیر نخواهند و اگر از فاصله زمانی بین دو ران کاری بیش از ۶ ساعت گذشته باشد، چک تست برای کنترل RBC و Hb مناسب، برای کنترل WBC و Plt کمتر مناسب و برای کنترل HCT نامناسب خواهد بود.

مثال: نتایج اندازه‌گیری هموگلوبین ۵ نمونه توسط سل‌کانتر در دو شیفت صبح و عصر به شرح زیر است:

هموگلوبین (g/L) در نوبت صبح	هموگلوبین (g/L) در نوبت بعدازظهر	d	d^2
۱۲۰	۱۲۱	-۱	۱
۱۶۱	۱۵۹	۲	۴
۱۱۰	۱۱۲	-۲	۴
۱۴۰	۱۴۰	۰	۰
۱۳۴	۱۳۵	-۱	۱

$$\sum d^2=10 \rightarrow n=5 \rightarrow SD=\sqrt{\sum d^2/2n}=\sqrt{10/10}=1 \rightarrow 2SD=\pm 2$$

با توجه به آن‌که هیچ‌یک از اختلافات نتایج دو بار آزمایش روی یک نمونه، از ±2SD بیشتر نیست، عملکرد دستگاه قابل قبول است.

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

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

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} \qquad t_n = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

d - اختلاف دو روز $\bar{d}$ - میانگین اختلاف دو روز

۵) روش کنترلی بریتین (Britin Method):

براساس مشاهدات بریتین، ۷ پارامتر مهم آزمون CBC یعنی RBC، WBC، Hb، HCT، MCV، MCH و MCHC در خون حاوی ضد انعقاد EDTA به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال پایدار هستند. در روش کنترلی بریتین که به آن آزمون پایداری کالیبراسیون هم گفته می‌شود، از روش آماری t- استودنت (آزمون گوست) استفاده می‌شود. برای انجام روش بریتین به ترتیب زیر عمل می‌شود:

تعداد ۵ نمونه یا ترجیحاً ۱۰ نمونه خون بیمار که مقادیر پارامترهای آنها در محدودهٔ طبیعی است را به سل‌کانتر داده و مقادیر آنها را یادداشت کنید. نمونه‌ها را در یخچال قرار داده و روز بعد آنها را پس از آنکه به دمای اتاق رسیدند مجدداً توسط سل‌کانتر آزمایش می‌کنیم. برای بررسی همخوانی پاسخ‌های هر یک از پارامترها از رابطهٔ زیر استفاده می‌کنیم:

$$SD=\sqrt{\frac{\sum d^2-\frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} \qquad t_n=\frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

d = اختلاف دو روز $\qquad$ $\bar{d}$ = میانگین اختلاف دو روز

در صورتی‌که t_n بدست آمده برای ۵ نمونه بیشتر از ۲/۷۷۶ (عدد بحرانی برای ۵ نمونه در جدول t- استودنت) باشد، با ۹۵٪ اطمینان می‌توان گفت اختلاف معنی‌داری بین دو روز متوالی در پارامتر سنجش شده وجود دارد. در این حالت دستگاه کالیبره نبوده و باید اقدام به رفع اشکال در کانال مربوط به آن پارامتر نمود. در صورتی‌که t_n محاسبه شده کوچک‌تر از عدد بحرانی باشد، تفاوت معنی‌داری بین نتایج دو روز دیده نمی‌شود. این حالت از نظر کنترل کیفی وضعیت مطلوبی به‌شمار رفته و در پی آن می‌توان شروع به انجام آزمایش نمونه‌های بیماران نمود.

جدول ۳-۱۷: مقادیر بحرانی آزمون t-student در جدول t

t Table	Confidence Level										
	0%	50%	60%	70%	80%	90%	95%	98%	99%	99.8%	99.9%
cum. prob	$t_{.50}$	$t_{.75}$	$t_{.80}$	$t_{.85}$	$t_{.90}$	$t_{.95}$	$t_{.975}$	$t_{.99}$	$t_{.995}$	$t_{.999}$	$t_{.9995}$
two-tails	**1.00**	**0.50**	**0.40**	**0.30**	**0.20**	**0.10**	**0.05**	**0.02**	**0.01**	**0.002**	**0.001**
df											
1	0.000	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.71	31.82	63.66	318.31	636.62
2	0.000	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.327	31.599
3	0.000	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.215	12.924
4	0.000	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173	8.610
5	0.000	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.893	6.869
6	0.000	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208	5.959
7	0.000	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785	5.408
8	0.000	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501	5.041
9	0.000	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297	4.781
10	0.000	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144	4.587
11	0.000	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025	4.437
12	0.000	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930	4.318
13	0.000	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852	4.221
14	0.000	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787	4.140
15	0.000	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733	4.073
16	0.000	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686	4.015
17	0.000	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646	3.965
18	0.000	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.610	3.922
19	0.000	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579	3.883
20	0.000	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552	3.850
21	0.000	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527	3.819
22	0.000	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505	3.792
23	0.000	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485	3.768
24	0.000	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467	3.745
25	0.000	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450	3.725
26	0.000	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435	3.707
27	0.000	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421	3.690
28	0.000	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408	3.674
29	0.000	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396	3.659
30	0.000	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385	3.646
40	0.000	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307	3.551
60	0.000	0.679	0.848	1.045	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.232	3.460
80	0.000	0.678	0.846	1.043	1.292	1.664	1.990	2.374	2.639	3.195	3.416
100	0.000	0.677	0.845	1.042	1.290	1.660	1.984	2.364	2.626	3.174	3.390
1000	0.000	0.675	0.842	1.037	1.282	1.646	1.962	2.330	2.581	3.098	3.300
z	0.000	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090	3.291

مثال: درصورتی که نتایج اندازه‌گیری هموگلوبین ۵ نمونهٔ خون با استفاده از یک سل‌کانتر در دو روز متوالی مطابق زیر باشد، عملکرد دستگاه به روش بریتین به صورت زیر بررسی می‌شود:

مقدار هموگلوبین روز اول (g/L)	مقدار هموگلوبین روز دوم (g/L)	d	d^2
123	120	3	9
135	133	2	4
171	170	1	1
155	150	5	25
142	138	4	16

$$\sum d = 15$$
$$\left(\sum d\right)^2 = 225$$
$$\sum d^2 = 55$$
$$\bar{d} = \frac{\sum d}{5} = \frac{15}{5} = 3$$

$$SD = \sqrt{\frac{55 - \frac{225}{5}}{4}} = 2.5$$
$$t_n = \frac{3\sqrt{5}}{2.5} = 2.67$$

از آنجا که t_n محاسبه شده کوچکتر از عدد بحرانی (۲/۷۷۶) است، تفاوت معنی‌داری بین نتایج دو روز دیده نمی‌شود و نتایج هموگلوبین دستگاه قابل قبول است.

iii) دلتا تست یا دلتا چک:

بعد از داپلیکیت تست و چک تست، روش دیگر کنترل آسان و ساده سل‌کانتر، استفاده از پاسخ‌های قبلی بیماران می‌باشد. در این روش نتایج کنونی حاصل از آزمایشات یک بیمار با نتایج قبلی وی (حدود ۳-۲ هفته قبل) مقایسه می‌شود. در بیمارستان‌ها هم که نتیجه امروز بیمار با نتایج دیروز و یا روزهای قبل بیمار چک می‌شود، نوعی دلتا تست انجام می‌شود که اگر نتیجه امروز با نتیجه قبلی همبستگی داشته باشد، نتیجه گزارش شده و در غیراین صورت تست تکرار می‌شود. توجه داشته باشید که در این روش، برخلاف چک تست، همان نمونه قبلی بیمار کنترل نمی‌شود، بلکه جواب نمونه‌های قبلی از نمونه‌گیری-های متفاوت مورد بررسی قرار می‌گیرند.

در این روش فاصلهٔ زمانی بین دو آزمایش نباید بیش از دو تا سه هفته باشد و در عین حال، می‌بایست به نکاتی مثل تغییرات فیزیولوژیک طبیعی و روزانهٔ پارامترهای خونی و همچنین به مواردی مثل ابتلای فرد به بیماری و یا استفاده از دارو به دلایل مختلف که باعث تغییر شمارش سلول‌ها می‌شوند، توجه داشت. به عبارتی دیگر، با توجه به تغییرات روزانه و طبیعی پارامترهای خونی در یک فرد، تنها وجود اختلافات واضح بین مقادیر به دست آمده، نشان‌دهندهٔ بروز خطا خواهد بود و چنانچه اختلاف بین دو پاسخ متوالی، از یک محدودهٔ مشخص بیشتر باشد نمونهٔ بیمار جهت بررسی بیشتر کنار گذاشته می‌شود. نکته دیگر این‌که، برای بررسی دلتا چک، حداقل نیاز به دوسری آزمایش از یک بیمار می‌باشد و در عین حال، ثبت کامپیوتری نتایج قبلی بیماران نیز الزامی است، چراکه در این روش نتایج فعلی بیمار با نتایج گذشته وی مقایسه می‌شوند و وجود یک بایگانی کامپیوتری از نتایج قبلی تمامی بیماران کمک زیادی به کنترل کیفی داخلی آزمایشگاه خواهد نمود. طبق مطالعات انجام شده، اختلاف در دلتا چک عمدتاً در اثر خطاهای تکنیکی و یا اختلالات دستگاه‌ها ایجاد شده و در عین حال به خطاهای نمونه‌گیری نیز بسیار حساس می‌باشد، در نتیجه پاسخ، لیبل، نمونه‌گیری و یا نمونه جابجا به راحتی توسط این روش شناسایی می‌شوند. گاهی در شرایط بالینی و هماتولوژیکی بیمار تغییرات زیادی ایجاد می‌شود که در چنین حالتی نمی‌توان از روش دلتاچک استفاده نمود. مثلاً در بخش هماتولوژی، تغییرات Hb، HCT، شمارش RBC، WBC و Plt در خونریزی‌ها و تزریق خون بسیار زیاد است، از این رو در بیماران لوسمیک و تالاسمیک نمی‌توان از این روش کنترلی استفاده نمود. به‌طور کلی نیز در موارد زیر استفاده از روش دلتاچک جهت کنترل کیفی امکان-پذیر نیست:

- بیمارانی که فقط یک بار به آزمایشگاه مراجعه می‌کنند و یا فواصل زمانی مراجعهٔ آنها بسیار طولانی است.
- بیمارانی که تحت درمان فعال بوده و به آن پاسخ مناسب نیز می‌دهند.
- بیمارانی که سیر بیماری در آنها فعال بوده و باعث تغییر روزانه در پاسخ‌های آنها می‌شود.

در این روش داشتن محدودهٔ تغییرات یا محدودهٔ دلتا ضروری است که از تغییرات فیزیولوژیک و ضریب تغییرات (CV) محاسبه می‌شود. در مورد تست CBC، محدودهٔ دلتای نمونه‌های یک بیمار که در دو تاریخ مختلف سنجش شده‌اند، نباید از مقادیر ذکر شده در جدول ۱-۱۳ فراتر باشد که به صورت زیر محاسبه می‌شود:

پاسخ دوم /۱۰۰(پاسخ دوم-پاسخ اول)= ٪ دلتا

مقادیر قبلی- مقادیر کنونی= اختلاف دلتا

جدول ۱-۱۳. مقادیر دلتا برای برخی از پارامترهای آزمایش CBC

پارامتر	مقدار دلتا
Hb	۲g/dL (<٪۱۰)
HCT	<٪۵
MCV	<۶ fl
MCH	<۵ pg
WBC	طبیعی به غیر طبیعی یا غیرطبیعی به بسیار غیرطبیعی (۲۵-۲۰ درصد)
PLT	افزایش یا کاهش به میزان بیش از ٪۵۰
RBC	<٪۱۰

و) پایش عملکرد آنالیزرها با استفاده از آزمون میانگین متحرک یا الگوریتم X_B:

یکی دیگر از روش‌های ارزیابی عملکرد سل‌کانترها با استفاده از نمونه‌های بیماران، استفاده از روش آماری میانگین متحرک یا الگوریتم X_B یا الگوریتم بول است. این روش کنترلی که تنها در بخش هماتولوژی آزمایشگاه قابل اجرا است، براساس ثبات و پایداری اندکس‌های اریتروسیتی (اندکس‌های MCV، MCH و MCHC) در جمعیت مراجعین به آزمایشگاه طراحی شده است. مکانیسم‌های فیزیولوژیک دقیقی در بدن وجود دارند که مسئول کنترل و حفظ اندازهٔ سلولی (MCV) و غلظت هموگلوبین در اریتروسیت‌ها (MCHC) بوده و باعث ثبات این پارامترها در یک محدودهٔ کنترلی باریک می‌شوند. انحراف قابل توجه از این محدوده‌ها تنها زمانی رخ می‌دهد که وضعیت بیماری چنان شدید باشد که بر مکانیسم‌های فیزیولوژیک مذکور غلبه نموده و آنها را از انجام وظایف خود باز دارد. شاخص‌های اریتروسیتی وینتروب (MCV، MCH و MCHC) وابسته به دو متغیر اندازه سلولی و غلظت هموگلوبین سلولی بوده و غالباً در افراد مختلف مشابه هستند. بنابراین در هر آزمایشگاه مقدار متوسط این شاخص‌ها که از گروه‌های بزرگی از افراد سالم و بیمار به‌دست می‌آید، از یک روز به روز دیگر مشابه و یکسان خواهد بود. همین امر به آزمایشگاه اجازه می‌دهد که از شاخص‌های اریتروسیتی جمعیت بیماران خود به‌عنوان یک استاندارد داخلی جهت پایش کالیبراسیون آنالیزرهای هماتولوژی استفاده نماید.

براساس این واقعیت بول و همکاران الگوریتم ویژه‌ای جهت کنترل کیفی داخلی سل‌کانترهای هماتولوژی ارائه نمودند که تحت عنوان آزمون آماری میانگین متحرک یا الگوریتم بول یا آنالیز X_B خوانده می‌شود. این آزمون در آزمایشگاه‌هایی که تقریباً دارای مراجعه‌کنندگان ثابتی هستند و روزانه تعداد زیادی بیمار پذیرش می‌کنند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. به عنوان مثال مراجعه کنندگان یک آزمایشگاه خصوصی تقریباً همیشه بیماران سرپایی هستند که با مشکلات جدی روبرو نیستند (مشروط بر اینکه آزمایشگاه در روزهای بخصوصی بیماران ویژه‌ای را پذیرش نکند).

اگرچه آزمون میانگین متحرک کاربرد گسترده‌ای در آزمایشگاه‌ها ندارد، اما به دلیل وجود نرم‌افزارهای رایانه‌ای، استفاده از آن در بیشتر آزمایشگاه‌ها قابل دستیابی می‌باشد. همچنین این آزمون به‌عنوان بخشی از برنامه نرم‌افزاری سل‌کانترهای بزرگ تولیدی شرکت‌های کولتر، زیمنس و سیسمکس وجود داشته و بدین‌ترتیب در چنین مواردی به آسانی می‌توان آن را مورداستفاده قرار داد.

ارزیابی کلی روش کنترلی میانگین متحرک:

این روش نیاز به کنترل سلولی را کاهش داده و روشی کار آمد به‌شمار می‌رود، اما چند محدودیت اساسی نیز دارد. نخست آن‌که این روش زمانی در پایش کیفیت عملکرد سل‌کانترها قابل اجرا است که سل‌کانتر دارای یک نرم‌افزار یا محاسبه‌گر قابل برنامه‌ریزی باشد و یا اینکه برنامهٔ این روش در بخش کنترل کیفی سل‌کانتر تعبیه شده باشد. افزون براین، به‌کارگیری این روش نیاز به استفاده از کنترل‌های سلولی را کاهش می‌دهد ولی این نیاز را به‌طور کامل بر طرف نمی‌سازد. همچنین این روش را نمی‌توان برای دیگر پارامترهای خونی نظیر شمارش پلاکتی و لکوسیتی به‌کار گرفت. به‌دلیل آنکه الگوریتم محاسبه‌ای مذکور (فرمول بول) به هنگام محاسبهٔ میانگین، خیلی از پاسخ‌های افراطی را خنثی می‌کند، این روش نسبت به تغییرات ناگهانی در عملکرد آنالیزر حساس نیست. نکتهٔ دیگر آن است که استفاده از میانگین شاخص‌ها جهت ارزیابی خطاهای سیستماتیک طراحی شده و بنابراین در پایش صحت عملکرد سل‌کانتر به‌کار می‌رود و نسبت به خطاهای تصادفی که باعث کاهش دقت می‌شوند، حساس نمی‌باشد. در نهایت، متغیر بودن جریان بیماران ممکن است آنالیز آماری را از تنظیم خارج کرده و همین امر اشتباهاً به عملکرد نامناسب دستگاه نسبت داده شود. به همین دلیل روش میانگین متحرک نیاز به یک جمعیت عمومی از بیماران و نیز بار کاری حداقل ۶۰ بیمار در ۲۴ ساعت دارد. در نتیجه عوامل فوق، بسیاری از آزمایشگاه‌ها ترجیح می‌دهند تا از خون کنترل‌های تجارتی و یا خون کامل تازه برای پایش کالیبراسیون سل‌کانتر استفاده کنند و از آزمون میانگین متحرک تنها به عنوان یک روش کمکی در پایش‌های روزانه استفاده نمایند.

برقراری روش میانگین متحرک در آزمایشگاه:

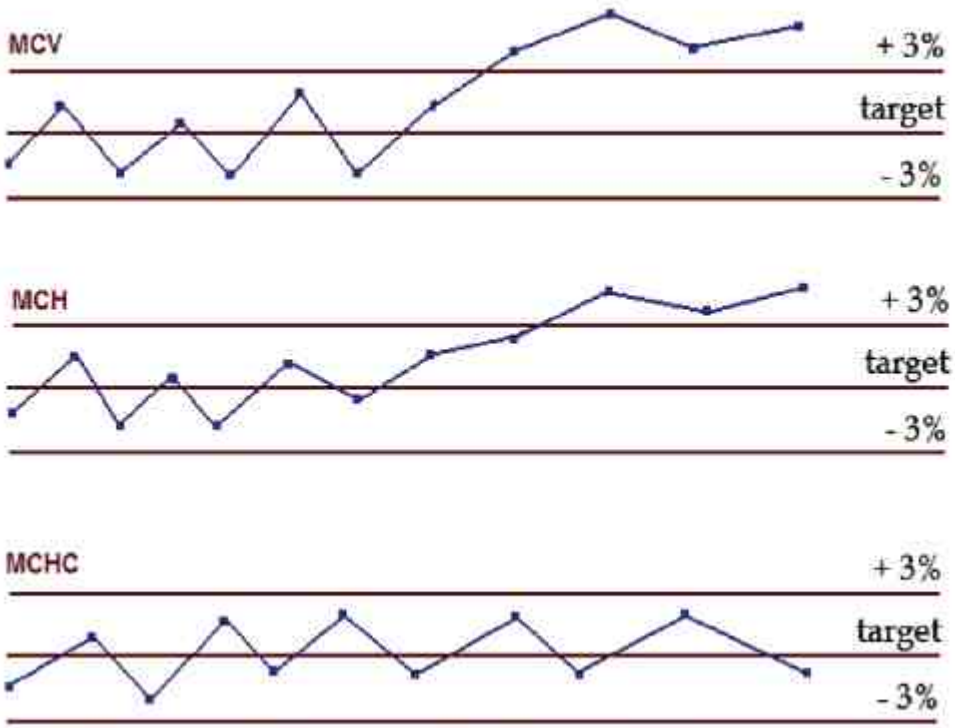
چنانچه نرم‌افزار سل‌کانتر مجهز به سیستم کنترلی $\overline{x}_B$ باشد به ترتیبی که در کتابچه راهنمای دستگاه گفته شده است، عمل می‌کنیم ولی اگر سل‌کانتر فاقد این سیستم باشد به روش دستی و به ترتیب زیر اقدام می‌نماییم:

برای اجرای این روش با یک سل‌کانتر کالیبره شده، اندیس‌های مختلف اریتروسیتی ۶۰۰ نمونهٔ بیمار را اندازه‌گیری کرده و میانگین آنها را بدست می‌آوریم. در این مرحله حداقل تعداد نمونه‌های بیمار باید ۲۵۰ مورد باشد و در صورت امکان بهتر است از ۱۰۰۰ نمونهٔ بیمار استفاده شود (حداقل نمونه، ۲۵۰ مورد، تعداد معمول ۶۰۰ مورد و تعداد ایده‌آل، ۱۰۰۰ مورد). همچنین می‌توان میانگین پاسخ‌های ۱۰ روز کاری متوالی را نیز مورداستفاده قرار داد (۶۰ نمونه در روز به مدت ۱۰ روز). توصیه می‌شود در محاسبه این میانگین، اعداد انحرافی (اعداد بسیار پایین و یا بسیار بالا) حذف شوند. پس از محاسبهٔ

میانگین مذ
میانگین جم
به آنمی یا ل
سل‌کانتر آ
چنانچه مقاد
سل‌کانتر ته
کالیبراسیون
نمونه‌ها، بیش

$$\text{درصد انحراف} = \frac{\text{MCHC بدست آمده} - \text{MCHC پایه}}{\text{MCHC پایه}} \times ۱۰۰$$

دودهٔ ۱٪
و یا مبتلا
ط دستگاه
، عملکرد
و بایستی
، دیگر از



شکل ۲۴-۱۳. نمونه‌ای از نمودار کنترلی میانگین متحرک. افزایش همزمان MCV و MCH احتمالا به علت گرفتگی روزنه امپدانس سل‌کانتر با مواد پروتئینی است.

vii) بررسی و پایش عملکرد سل‌کانترها با استفاده از خون کنترل:

مواردی که تاکنون مورد بحث قرار گرفتند، همگی بر پایه نمونه‌های خود بیماران بود و لذا هزینه کمتری نیز داشتند ولی در عین حال توانایی تشخیص همزمان خطاهای سیستمیک و رندوم را نداشتند، قادر به تشخیص تغییرات تدریجی ایجاد شده در محلول‌ها و دستگاه نبودند، به‌صورت ماهانه بررسی نمی‌شدند، محاسبات آماری آنها کمتر مورد تفسیر قرار می‌گرفت، امکان قضاوت آنها براساس داده‌های ماه‌های قبل وجود نداشت و حتی در مورد دلتاچک، شرط اولیه بر این بود که بیش از ۳-۲ هفته از آخرین نتایج بیمار نگذشته باشد. با توجه به ضعف روش‌های کنترل کیفیت فوق، در روش‌های جدید ترسیم نمودار ماهانه، کنترل مقادیر قرائت شده و مقایسه آماری آن با محدوده کنترل و تفسیر نتایج نیز انجام می‌گیرد.

برای انجام این نوع از روش‌ها از خون کنترل استفاده می‌شود که به صورت تجاری یا به روش آزمایشگاهی تهیه می‌شوند و CV و محدوده ±2SD مشخصی دارند که در خون کنترل‌های تجاری طبق جدول خاصی، محدوده ±2SD آن برای سل‌کانترهای مختلف محاسبه و نشان داده شده است. در مورد خون کنترل‌های آزمایشگاهی نیز خود آزمایشگاه طبق روش استانداردی آن را تهیه کرده و بعد از انجام تست رپلیکیت ۲۰ تایی، CV و X±2SD آن محاسبه می‌شود که در انتهای فصل در مورد روش تهیه آن به‌طور کامل بحث شده است.

از خون کنترل‌ها به شیوه‌های مختلفی می‌توان جهت کنترل کیفیت سل‌کانترها استفاده نمود که از مقایسه ساده پاسخ‌های به‌دست آمده با جدول پاسخ‌های مورد انتظار نمونه کنترلی تا به‌کارگیری قوانین چندگانه وستگارد و نمودار کیوسام را شامل می‌شوند:

- مقایسه پاسخ‌های بدست آمده با پاسخ‌های موردانتظار برای هر سطح کنترلی (Low، normal و High)
- استفاده از محدوده‌های کنترلی نمودار لوی ـ جنینگ
- ارزیابی نمودار لوی ـ جنینگ از نظر الگوهای احتمالی پراکندگی، جابه‌جایی و گرایش
- ارزیابی نمودار لوی ـ جنینگ با استفاده از قوانین چندگانه وستگارد
- استفاده از نمودار کیوسام یا نمودار مجتمع فراوانی
- استفاده از نمودار یودن
- مقایسه پاسخ‌های بدست آمده با پاسخ‌های آزمایشگاه‌های دیگر که از همان نمونه کنترلی استفاده می‌کند (نوعی کنترل کیفی خارجی یا EQA).

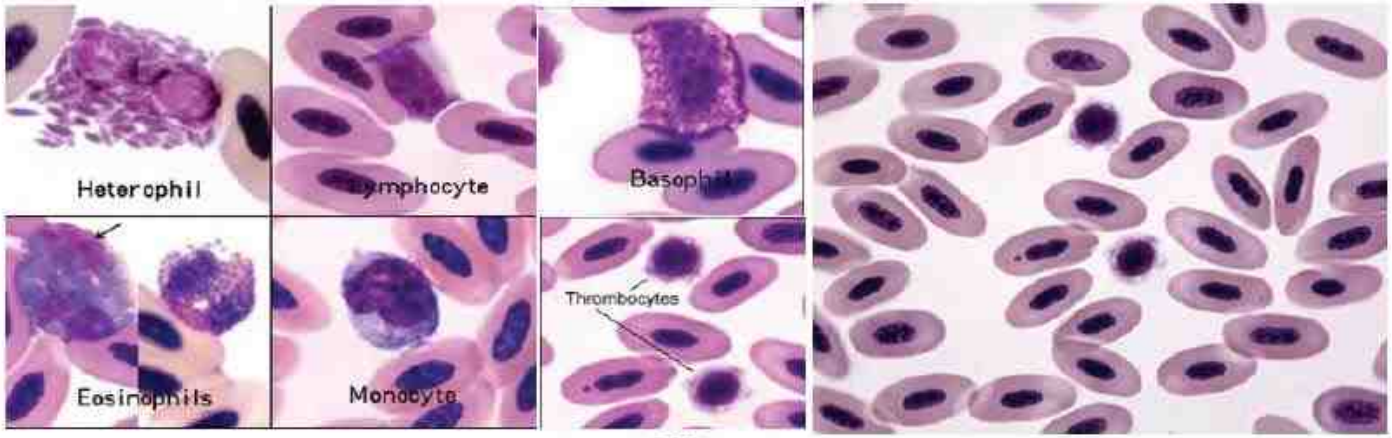
تهیه خون حاوی مواد نگهدارنده (روش پیشنهادی WHO):

یک کیسه خون کامل تازه که در ضدانعقاد CPD جمع‌آوری شده است را به مدت ۵-۴ روز در یخچال نگهداری کنید تا سلول‌ها متحمل تغییرات مورفولوژیک ناشی از سرما، عدم جریان خون و برخورد با مواد موجود در داخل کیسه شده و تقریباً به فرم ثابت در بیایند. سپس خون حاصله را به مدت ۲۰ دقیقه در دور g ۳۰۰۰ سانتریفوژ کنید تا پلاسما و بافی کوت آن جدا شود. بخش پلاسمایی کیسه را نگهداری کرده و بخش بافی کوت آن را دور بریزید. کنسانتره گلبول‌های قرمز فشرده را نیز به یک ظرف شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل کنید. در ادامه حدود ۳۰۰ml از کنسانتره گلبول‌های قرمز را با ۱۵۰ml سرم فیزیولوژی ۰/۱۵۴mol/L رقیق کرده و سوسپانسیون سلولی حاصله را به مدت ۲۰ دقیقه در دور g ۳۰۰۰ سانتریفوژ کنید. مایع رویی (سوپرناتانت) و لایه بالایی بخش اریتروسیتی را که حاوی سلول‌های چروکیده و لاشه سلولی است را از طریق پی‌پت پاستور برداشته و دور بریزید. مرحله رقیق سازی و شستشو با نرمال سالین را ۳ تا ۵ بار دیگر تکرار کنید.

در ادامه پلاسمایی که از کیسه جدا و نگهداری کرده بودید را به نسبت ۲/۵ حجم پلاسما و ۱ حجم سرم فیزیولوژی رقیق کرده و به سوسپانسیون حاصله آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (علیه باکتری‌های گرم منفی) و پنی‌سیلین (علیه باکتری‌های گرم مثبت) اضافه کنید (۱gr استرپتومایسین و ۱ مگاواحد پنی‌سیلین به ازاء هر ۱۵۰ml پلاسما). سوسپانسیون حاصله را به آرامی و در حال مخلوط شدن به پک‌سل شسته شده اضافه کرده و بعد از هموژن شدن در شیشه‌های درب‌دار استریل به میزان موردنیاز تقسیم و پس از بستن درب آنها، در دمای 4^{oC} نگهداری می‌کنیم. این فرآورده جهت کنترل شمارش RBC و نیز اندازه‌گیری میزان هموگلوبین، هماتوکریت و اندکس‌های MCV، MCH و MCHC به‌کار می‌رود (نه WBC و Plt) و چنانچه در شرایط مناسبی نگهداری شود به مدت حداقل ۲ هفته پایدار خواهد بود. با این روش و با استفاده از خون اسب نیز می‌توان این خون کنترل را ساخت. مدت پایداری خون اسب حدود ۲ ماه در دمای یخچال است. در روش بالا جهت کاهش بیشتر لکوسیت‌های خون (علاوه بر جداکردن بافی کوت)، می‌توان کیسه خون را از فیلترهای لکوتراپ لکوسیت نیز عبور داد تا لکوسیت‌ها کمترین تداخل را در شمارش RBC و Hb داشته باشد. خون تهیه شده یکی از ویال‌ها را ۱۰ بار متوالی به سل‌کانتر داده و سپس میانگین و SD هرکدام از پارامترها را محاسبه کرده و به‌عنوان مقادیر بالا و پایین آن پارامتر یادداشت می‌کنیم. نمونه را به‌طور همزمان می‌توان به چند نوع سل‌کانتر دیگر نیز داده و محدوده ±2SD پارامترها را برای آنها نیز محاسبه نمود. چنان‌چه ذکر شد فرآوردهٔ فوق جهت کنترل RBC، Hb و HCT به‌کار می‌رود و چنان‌چه بخواهیم جهت کنترل شمارش لکوسیتی نیز از آن استفاده نماییم باید به آن فرآورده‌هایی نظیر گلبول-های قرمز ثابت شده مرغ، بوقلمون و... نیز اضافه نماییم که به دلیل هسته‌دار بودن این نوع از اریتروسیت‌ها، به‌عنوان WBC شمارش می‌شوند. لازم به ذکر است که پس از ۱۰ مرتبه سنجش پارامترهای WBC، RBC، Hb و Hct می‌بایست میزان CV کمتر از ۴٪ باشد.

شکل ۳۳-۱۳: وسایل مخصوص تهیه خون کنترل (کیسه‌های فیلتردار، دستگاه دستی اکستراکتور پلاسما، دستگاه اتوماتیک اکستراکتور، لوله‌های دربدار)

شکل ۳۵-۱۳. خون کنترل‌های تجاری 4C PLUS و کنترل شمارش رتیکولوسیت در سه سطح پایین، نرمال و بالا.



شکل ۳۲-۱۳: نمونه خون یک طوطی که از RBCهای هسته‌دار و بیضی برخوردار هستند.

تهیه خون کنترل با پایداری بیش از ۱۰ سال (روش پیشنهادی WHO):

در مرحله اول، ۴/۵ حجم خون تازه را با ۱ حجم ضدانعقاد ACD مخلوط کرده و سپس الیکوت‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری از این خون را در یک ظرف ۲۵۰ میلی‌لیتری استریل ریخته و در سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ کنید. در مرحله بعد، مایع رویی را خارج کرده و خون پک‌سل را با سرم فیزیولوژی استریل و سرد (۴ درجه) ۵-۴ بار شستشو دهید. پس از آخرین شستشو، مایع رویی را خارج و سلول‌ها را با نسبت ۱ حجم سلول و ۹ حجم محلول فیکساتیو به‌صورت سوسپانسیون در آورید (فیکساتیو فرمالدهید: ۱۹gr استات سدیم بدون آب + ۵۰ml فرم آلدئید ۳۸٪ + آب مقطر تا حجم نهایی۱۰۰ ml). سوسپانسیون را در دمای RT به مدت ۳ ساعت توسط شیکر مکانیکی به شکلی ملایم مخلوط کرده و سپس سوسپانسیون حاصل را تا ۱۲ ساعت در یخچال قرار دهید تا سلول‌ها رسوب کنند. در ادامه مایع رویی را خارج کرده و به اندازه حجم پک‌سل (نسبت ۱ به ۱)، محلول فیکساتیو تازه به آن اضافه کرده و سوسپانسیون حاصله را بعد از ۳ ساعت شیک آرام مجدداً یک شب دیگر در یخچال قرار دهید تا سلول‌ها رسوب کنند. پس از خارج کردن سوپرناتانت، دوباره هم حجم سلول‌ها محلول فیکساتیو تازه به آن اضافه کرده و سوسپانسیون را مخلوط کنید. سوسپانسیون حاصل را دوبار در هفته به مدت دو هفته به شکلی آرام شیک کنید تا در این مدت حداکثر مقدار تغییرات مورفولوژی ایجاد شده و سلول‌ها دیگر نتوانند در آینده دچار تغییر شوند. پس از این مدت، سوسپانسیون را در یک محل ثابت قرار دهید تا سلول‌ها رسوب کنند. سپس مایع رویی آن را خارج و مجدداً هم حجم سلول‌ها، محلول فیکساتیو تازه به آن اضافه کرده و مخلوط کنید. به ازاء هر لیتر سوسپانسیون سلولی، ۵۰ml گلیسرول (به نسبت ۲۰ به ۱) نیز به آن اضافه کنید که گلیسرول سوسپانسیون شدن سلول‌ها را تسهیل می‌نماید.

سوسپانسیون به‌دست آمده را به مدت ۶ ساعت در دمای RT قرار داده و سپس توسط فیلتر شیشه‌ای 4G برای حذف پارتیکل‌ها فیلتر کنید. سپس به سوسپانسیون فیلتر شده، مقدار مناسبی از محلول فیکساتیو اضافه کنید تا تقریباً تعداد RBCها به ۴×۱۰^{۱۲}/L برسد. در ادامه به ویال‌های شیشه‌ای ۵ میلی‌لیتری مقدار ۳ml-۲ از این سوسپانسیون نهایی را ریخته و در آنها با استفاده از درب‌های محکم لاستیکی پوشیده از سیلیکون مسدود کنید. ویال‌های حاوی اریتروسیت‌های پایدار را می‌توان بدون آن‌که تغییری در خون کنترل ایجاد گردد، در دمای RT و به مدت بیش از ۱۰ سال نگهداری نمود. لازم به ذکر است، MCV اریتروسیت‌های پایدار شده به روش فوق به حدود ۷۰ fl کاهش می‌یابد.

روش ذکر شده در بالا روشی وقت‌گیر و طولانی بوده و نیاز به وسایل خاصی دارد که شاید فراهم‌سازی آنها در هر آزمایشگاه امکان‌پذیر نباشد. روش‌های دیگری نیز جهت تهیه اریتروسیت‌های پایدار شده پیشنهاد شده که نسبتاً ساده‌تر و سریع‌تر بوده و امکان انجام آنها در آزمایشگاه‌های کوچک‌تر نیز فراهم می‌باشد. در ادامهٔ مطالب به یک روش دیگر تهیه اریتروسیت‌های فیکس شده اشاره می‌شود که مدت پایداری آن کوتاه‌تر از روش پیشنهادی بالا است.

تهیه خون کنترل پایدار با پایداری حدود ۶ ماه:

یک کیسه خون تازه (کمتر از ۴۸ ساعت از زمان خون‌گیری) حاوی ضدانعقادACD یا CPD را با یک فیلتر ۴۰µ فیلتر کرده و سپس حجم آن را اندازه می‌گیریم. به ازاء هر ۵۰ حجم نمونهٔ خون، یک حجم از محلول پایدارکننده اضافه کرده و سپس سوسپانسیون را کاملاً مخلوط می‌کنیم (محلول پایدار کننده: ۶/۷۵ml فرمالید ۳۸٪ + ۰/۷۵ml گلوتارآلدهید ۵۰٪ یا ۱/۵ml گلوتارآلدهید ۲۵٪+ ۲۶gr سیترات‌تری سدیم + آب مقطر تا ۱۰۰ میلی‌لیتر). به ازاء هر ۵۰۰ml خون نیز یک ویال پنی‌سیلین ۸۰۰۰۰۰ واحدی و یک گرم استرپتومایسین اضافه کرده و به خوبی مخلوط می‌کنیم. اضافه کردن سیکلوهگزامید نیز به نگهداری بیشتر این فرآورده کمک می‌کند. خون کنترل را حداقل به مدت یک ساعت در دمای RT و توسط روتاتور مخلوط کرده و سپس آن‌را در دمای 4^{oC} یخچال به مدت ۷ روز نگهداری می‌کنیم و هر روز نیز به مدت یک ساعت آن‌را بیرون آورده و توسط روتاتور مخلوط می‌کنیم و مجدداً در یخچال قرار می‌دهیم. پس از یک هفته خون را کاملاً مخلوط کرده و آن‌را در ویال‌های ۳-۲ میلی‌لیتری می‌ریزیم. پایداری این خون کنترل در دمای یخچال حدود ۶-۴ ماه است.

الف) استفاده از خون کنترل‌های تجارتی و مقایسه نتایج با جدول پاسخ‌های مورد انتظار آن (بروشور شرکت):

در شکل زیر نمونه‌ای از جدول پاسخ‌های مورد انتظار سه سطح کنترلی غیرطبیعی پایین، طبیعی و غیرطبیعی کنترل سلولی 4C PLUS (ساخت شرکت کولتر) برای سل‌کانتر $A^{C}T$-Diff نشان داده شده است. به‌عنوان مثال سطح طبیعی این خون کنترل را به سل‌کانتر مربوطه داده و پاسخ آن را دریافت می‌نماییم. طبق جدول "پاسخ‌های موردانتظار"، عدد درنظر گرفته شده جهت شمارش WBC در محدوده کنترل نرمال می‌بایست برابر $۸/۷\times۱۰^{۳}$ باشد که با توجه به ±2SD اعلام شده ۰/۷±، دامنهٔ مورد انتظار شمارش WBC بین $۸-۹/۴\times۱۰^{۳}$ خواهد بود. حال اگر سل‌کانتر نتیجه شمارش WBC را به‌صورت $WBC= ۹/۲\times۱۰^{۳}$ گزارش کند، از آنجا که این پاسخ در محدودهٔ $۸-۹/۴\times۱۰^{۳}$ قرار می‌گیرد، لذا پاسخ حاصله در دامنهٔ موردانتظار قرار داشته و عملکرد سل‌کانتر به‌صورت In Control می‌باشد. در حالت In Control، حداقل ۹۵٪ پاسخ‌ها می‌بایست در محدودهٔ مورد انتظار قرار بگیرند مگر آنکه خون‌کنترل ایراد داشته باشد و یا آنکه سل‌کانتر کالیبره نباشد. حال اگر سل‌کانتر نتیجه شمارش WBC را به‌صورت $WBC =۹/۷\times۱۰^{۳}$ گزارش کند، از آنجا که این پاسخ در محدودهٔ مورد انتظار $۸-۹/۴\times۱۰^{۳}$ قرار نمی‌گیرد، لذا عملکرد سل‌کانتر به‌صورت Out of Control خواهد بود. چنانچه پاسخ حاصل از هر سه سطح خون کنترل (L، N و H) در محدودهٔ موردانتظار باشد، می‌توان نمونه‌های خونی بیماران را به دستگاه داده و نتایج آنها را گزارش نمود، اما چنانچه پاسخ یکی از سطوح خون کنترل خارج از محدودهٔ موردانتظار باشد، تا زمانی که علّت این امر مشخص نشده و مشکل آن برطرف نگردد، نباید هیچ آزمایشی روی نمونه‌های بیماران انجام گیرد و می‌بایست خون‌کنترل یا سل‌کانتر و محلول‌های آن مورد بررسی قرار بگردند. نکته قابل ذکر آنکه، این روش، ابتدایی‌ترین شیوه کنترل کیفی با استفاده از خون کنترل‌های تجارتی است و درحقیقت اکتفای به آن به هیچ وجه قابل قبول نیست. همچنین استفاده از میانگین و دامنهٔ مندرج در بروشور برای رسم نمودار توصیه نمی‌شود، بلکه هر آزمایشگاه باید خود نسبت به تعیین میانگین و دامنه برای رسم نمودار اقدام نماید [۶].

4C® PLUS
COULTER® Cell Control

ABNORMAL LOW | NORMAL | ABNORMAL HIGH

TABLE OF EXPECTED RESULTS
SOLLWERTTABELLE
TABLEAU DES VALEURS CIBLES
TABLA DE VALORES ESPERADOS
TAVOLA DEI VALORI ATTESI

Unit Format/Einheiten Unité e/Unidades EE.UU./Formato Unità /	Open Vial Limit/Mind haltbar nach Öffnung/ Flacons ouverts ne pas utiliser après/ Caducidad del vial después de abierto/ Limite di utilizzo per fiala aperta/
U.S.	35 Days/Tage/Jours/Días/Giorni**

Abnormal Low/Abnormal Niedrig/ Anormal Bas/Anormal Bajo/ Patologico Basso/	Normal/Normal/Normal/ Normale/	Abnormal High/Abnormal Hoch/ Anormal Haut/Anormal Alto/ Patologico Alto/	
060602	078002	080302	Lot No./Lot-Nr./No. de Lot/N mero de Lote/Numero di Lotto/
05OCT99	04OCT99	30SEP99	Exp. Date/Verfallsdatum/Date de p remption/ Fecha de caducidad/Data di scadenza/

For In Vitro Diagnostic Use
Nur f r den diagnostischen Gebrauch in vitro
Pour Usage Diagnostique In Vitro
Para Ser Utilizada en Diagnostico "In Vitro"
Per Uso Diagnostico In Vitro

A²+T™ 8/10*	A²+T diff™*	A²/T diff²™*	A²+T Series*	A²+T 8/10*	A²+T diff*	A²/T diff²*	A²+T Series*	A²+T 8/10*	A²+T diff*	A²/T diff²*	A²+T Series*	U.S.	Parameters	Parameter	Paramètres	Parámetros	Parametro	
4.0	4.0	4.0	± 0.5	8.7	8.7	8.7	± 0.7	17.5	17.6	17.4	± 1.2	x 10³/µL	WBC	LEU	Lkc	LEUC	WBC	WBC
2.48	2.47	2.47	± 0.25	4.20	4.16	4.16	± 0.25	5.45	5.37	5.37	± 0.30	x 10⁶/µL	RBC	ERY	Erc	ERIT	RBC	RBC
7.0	6.9	6.9	± 0.7	12.7	12.8	12.7	± 0.9	17.7	17.9	17.7	± 0.9	g/dL	Hgb	HGB	Hb	Hgb	Hgb	Hgb
19.8	19.8	19.8	± 2.7	37.0	36.6	36.6	± 3.0	51.9	50.5	50.5	± 4.0	%	Hct	HKT	Ht	Hct	Hct	Hct
80.0	80.0	80.0	± 4.0	88.1	88.1	88.1	± 4.5	95.3	94.1	94.1	± 5.0	fL	MCV	MCV	VCM	VCM	MCV	MCV
28.2	27.9	27.9	± 3.0	30.2	30.8	30.5	± 3.3	32.5	33.3	33.0	± 3.6	pg	MCH	MCH	TCMH	HCM	MCH	MCH
35.4	34.8	34.8	± 3.4	34.3	35.0	34.7	± 3.7	34.1	35.4	35.0	± 3.6	g/dL	MCHC	MCHC	CCMH	CHCM	MCHC	MCHC
	14.7	14.7	± 2.5		13.0	13.0	± 1.5		13.5	13.5	± 2.0	%	RDW	EVB	IDC	ADE	RDW	RDW
75†	75†	75	± 2.0	22.9	225	225	± 40	434	414	422	± 60	x 10³/µL	Plt	THR	Plt	PLA	Plt	Plt
	9.7	9.7	± 1.5		10.2	10.2	± 2.0		10.3	10.3	± 2.0	fL	MPV	MTV	VPM	VPM	MPV	MPV
	0.073	0.073	± 0.030		0.230	0.230	± 0.050		0.426	0.435	± 0.060	%	Pct	TKT	Tct	Tct	Pct	Pct
	13.7	13.7	± 2.0		13.7	13.7	± 2.0		13.7	13.7	± 2.0	ratio	PDW	TVB	IDP	ADP	PDW	PDW
25.1	28.5	29.5	± 7.0	34.6	42.4	42.4	± 5.0	38.1	47.4	47.4	± 5.0	%	LY %	LY %	LY %	LINF %	LY %	LY %
	11.3	10.3	± 4.0		10.2	9.8	± 4.0		14.6†	14.6	± 5.0	%	MO %	MO %	MO %	MONO	MO %	MO %
	60.2	60.2	± 6.0		47.4	47.8	± 6.0		38.0	38.0	± 5.0	%	GR %	GR %	GR %	GRA N %	GR %	GR %
1.0	1.1	1.2	0.5 ±	3.0	3.7	3.7	± 0.8	6.7	8.3	8.3	± 1.5	x 10³/µL	LY #	LY #	LY #	LINF #	LY #	LY #
	0.5	0.4	± 0.3		0.9	0.9	± 0.5		2.6†	2.5	± 1.2	x 10³/µL	MO #	MMO #	MO #	MO #	MO #	MO #
	2.4	2.4	± 0.6		4.1	4.1	± 0.9		6.7	6.6	± 1.4	x 10³/µL	GR #	GR #	GR #	GRA N #	GR #	GR #

7504518-A R 11-98

*Applicable only for parameters measured by the instrument/Anwendbar nur f r Parameter, die mit dem Gerät gemessen werden/Concernant uniquement les paramètres mesurés par l'instrument/Aplicable solo para parámetros medidos por el instrumento/Applicabile solo per parametri misurati dallo strumento.

† Assume that the instruction in Section of the package insert is performed at a maximum of 31 times within 35 days/Es wird angenommen, daß die Kontrolle maximal 31 mal innerhalb von 35 Tagen durchgeführt wird/Supposant que l'utilisation du produit se fait au maximum de 31 fois en 35 jours/Vamos a suponer que la Sección de las instrucciones del prospecto del producto se ejecuta un máximo de 31 veces en 35 días/Viene assunto che la sezione istruzioni dell'inserto del prodotto venga eseguita un massimo di 31 volte entro 35 giorni.

** Flags for plasma, MON O % and MON O # parameters confirm that distribution criteria are not met. Refer to the Product Manual for flag criteria.

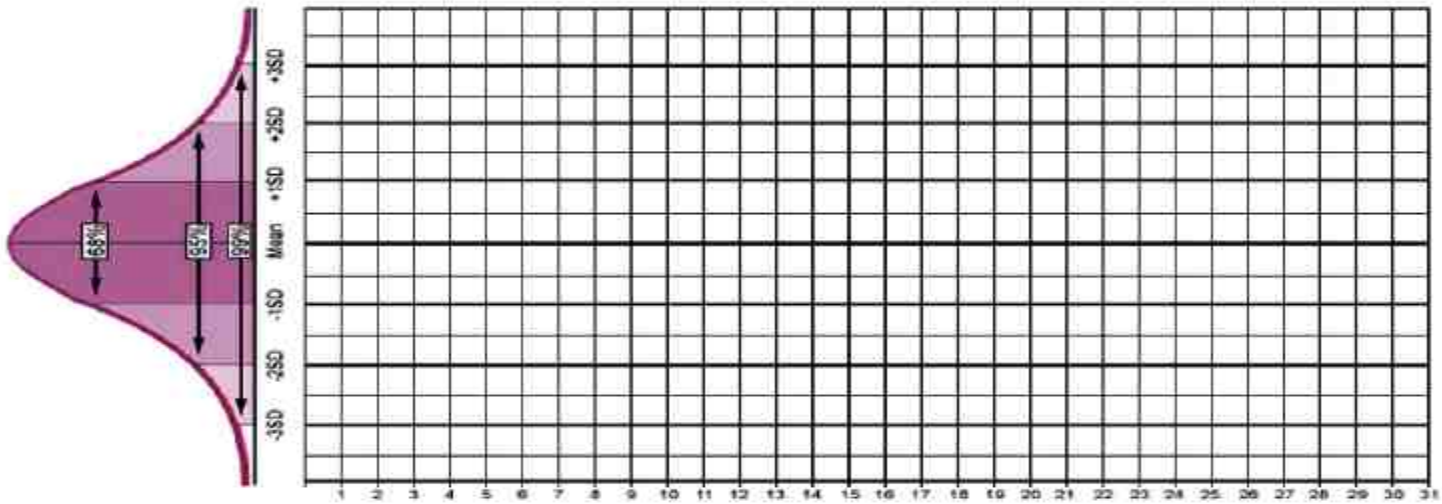
COULTER and 4C are trademarks of COULTER CORPORATION
Copyright © COULTER CORPORATION 1996
All Rights Reserved PN 7508054-A R 9-96

COULTER

شکل ۸-۱۳: بروشور چون کنترل 4PLUS که برای سل کاترهای کولتر و در سه سطح H و N و L طراحی شده‌اند در کنار هر مقدار میانگینی که در جدول نشان داده شده است، مقدار SD آن نیز مشخص شده است. البته در برخی از بروشورهای محدوده بالا و پایین هر پارامتر نیز مشخص شده است.

ب) استفاده از نمودارهای کنترل کیفی:

استفاده از نمودارهای کنترل کیفی ازجمله متداول‌ترین روش‌های آماری تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده از خون کنترل‌ها است. با در دست داشتن میانگین و انحراف معیار می‌توان نمودارهای کنترل کیفی را رسم نمود که نمودار لوی ـ جنینگ (L-J) و کیوسام دو نمونه رایج از آنها می‌باشند. در سال ۱۹۵۰ لوی و جنینگ استفاده از نمودار کنترل در آزمایشگاه بالینی را پیشنهاد کردند. در این نمودار میانگین و انحراف معیار بر روی محور عمودی (Y) مختصات یک کاغذ شطرنجی واقع می‌شوند. سپس بر روی این محور محدوده‌های کنترلی X±2SD و X±3SD مشخص می‌شوند. در واقع در این نمودار، میانگین با یک خط پررنگ تیره در مرکز و محدوده‌ها با خطوط کم رنگ‌تر (نقطه چین) در دو طرف آن رسم می‌شوند. تعداد دفعاتی که خون کنترلی به سل‌کانتر داده می‌شود (هر سری یا ران آزمایش) (n) نیز بر روی محور افقی (محور X) مختصات مشخص می‌شوند. در واقع هر چه n (دفعات آزمایش نمونهٔ کنترل) بیشتر باشد، میانگین و انحراف معیار به میزان حقیقی نزدیک‌تر هستند. چنانچه برای هر پارامتر بیش از یک سطح کنترلی مورداستفاده قرار بگیرد (مثلاً استفاده از خون‌کنترل با سه غلظت بالا، طبیعی و پایین)، برای هر سطح می‌بایست یک نمودار مجزا رسم گردد.



شکل ۹-۱۳. نمایش میانگین و محدوده‌های کنترلی کنترلی بر روی نمودار لوی ـ جنینگ (L-J).

اگر نتایج بدست آمده در محدودهٔ موردانتظار باشند، عملکرد سل‌کانتر تحت کنترل بوده (In Control) و نتیجه آزمایشات بیماران گزارش می‌گردند، ولی اگر نتایج بدست آمده در خارج از محدودهٔ موردانتظار باشند، عملکرد سل‌کانتر خارج از کنترل بوده (out of control) و پاسخ‌های بیماران تا زمان رفع اشکال گزارش نمی‌شوند. مزیت نمودارهای کنترل کیفی در این است که از طریق مقایسه مقادیر بدست آمده با مقادیر محدوده‌های کنترلی می‌توان به سرعت وجود احتمالی خطا را تشخیص داد.

۱) ارزیابی نمودار لوی ـ جنینگ از نظر الگوهای پراکندگی، جابه‌جایی و گرایش:

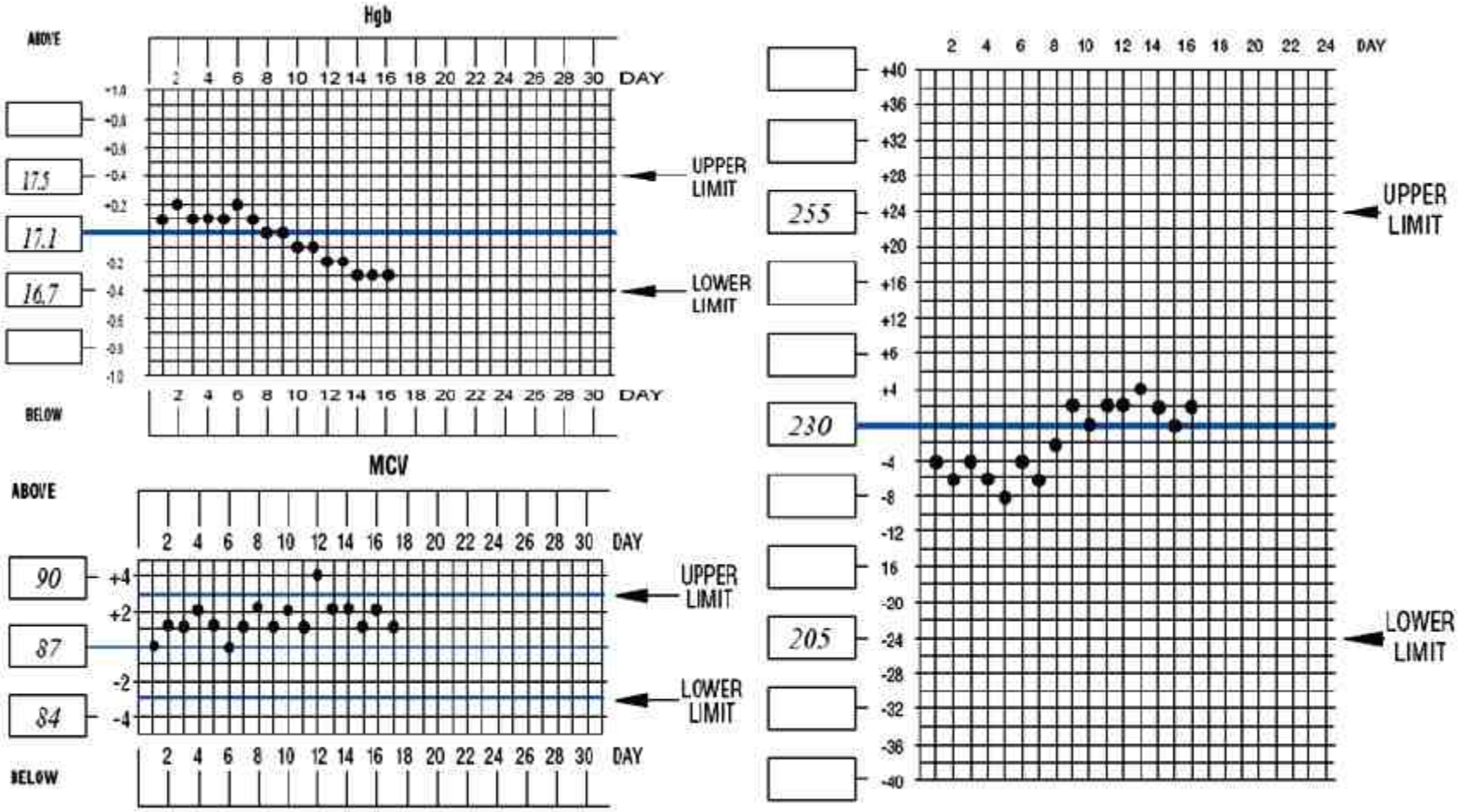
به هنگام استفاده از محدوده‌های کنترلی نمودار L-J، تنها هنگامی که پاسخ‌ها خارج از محدودهٔ 2SD قرار گیرند، به وجود خطا پی خواهیم برد، اما گاهی با وجود آنکه پاسخ‌ها در محدوده‌های کنترلی قرار دارند، ارزیابی روند آنها می‌تواند برخی از خطاهای سیستماتیک را آشکار نماید. از جملهٔ این حالت‌ها می‌توان به الگوهای، پراکندگی (dispersion) جابه‌جایی (Shift) و گرایش یا تورش (Trend) در نمودار L-J اشاره نمود (شکل ۱۰-۱۳).

الگوی پراکندگی یا پاسخ‌های خارج از محدوده نشان‌دهنده عدم دقت در آزمایش‌های انجام شده است. چنانچه پاسخی خارج از محدودهٔ 2SD واقع شود به منزله دقت پایین اندازه‌گیری است. در شکل زیر با بررسی نمودار می‌توان فهمید که MCV اندازه‌گیری شده در روز دوازدهم خارج از محدوده است که علت آن ممکن است تصادفی باشد. در واقع خطاهای تصادفی باعث پراکندگی غیرمنتظره نتایج خون کنترل و خارج از محدوده شدن آنها می‌شوند.

الگوی گرایش یا ترند در نمودار L-J زمانی رخ داده که حداقل پنج نتیجه متوالی سیر صعودی و یا نزولی داشته باشند. در واقع این نتایج متوالی به‌صورت تدریجی به یک طرف خط میانگین سیر صعودی یا نزولی خواهند داشت. در شکل ۱۰a-۱۳ اگر چه هیچ یک از پاسخ‌ها در خارج از محدودهٔ کنترلی نیستند ولی با بررسی نمودار به‌وجود یک مشکل پی می‌بریم. مشکل مذکور، کاهش تدریجی نتایج هموگلوبین خون کنترلی است که در واقع از روز ۶ به بعد شروع شده است. الگوی گرایش به خطاهای سیستماتیک حساس بوده و آنها را آشکار می‌سازد. عوامل مختلفی باعث الگوی گرایش می‌شوند که از جملهٔ آنها می‌توان ناپایداری معرف‌ها، کاهش شدت نور منابع فتومتریک، رسوب تدریجی پروتئین در روزنه سیستم‌های امپدانسی و... را نام برد.

الگوی جابه‌جایی یا شیفت در نمودار L-J زمانی رخ می‌دهد که پشت سر هم قرار گرفتن نتایج در یک طرف خط میانگین بدنبال یک تغییر ناگهانی به طرف دیگر خط میانگین منتقل گردد. به تعبیری دیگر اگر هفت نتیجه متوالی در یک طرف خط میانگین و هفت نتیجه متوالی بعدی در طرف دیگر خط میانگین قرار گیرند الگوی جابه‌جایی رخ داده است. چنانکه از شکل ۱۰-۱۳ برمی‌آید در طی روزهای هفتم تا نهم یک تغییر ناگهانی در شمارش پلاکتی نمونه کنترلی رخ داده و باعث جابه‌جایی پاسخ‌ها از پایین خط میانگین به بالای خط میانگین شده است.

مشاهدهٔ شیفت در پاسخ‌ها همیشه به معنی وجود مشکل نیست. چنان‌چه پیش از دادن نمونهٔ کنترلی به آنالیزر، دستگاه کالیبره شود ممکن است الگوی شیفت روی دهد. از دیگر عوامل ایجادکننده شیفت می‌توان تغییر معرف مصرفی، تعویض برخی قسمت‌های دستگاه نظیر لامپ کالریمتریک و... را نام برد.

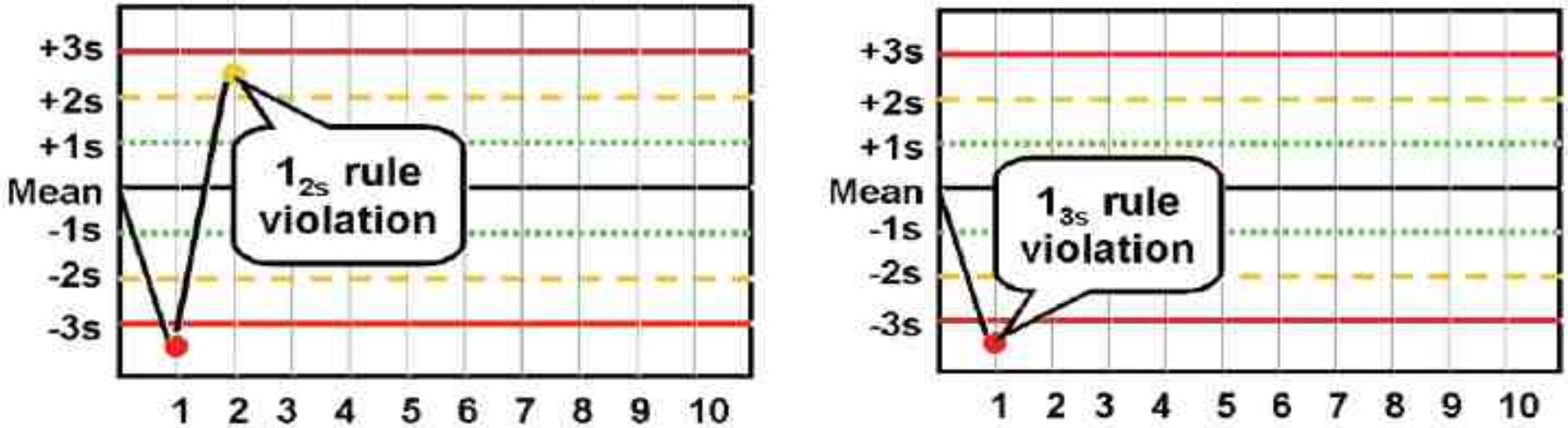


شکل ۱۰-۱۳. الگوهای Trend (چپ-بالا)، پراکندگی (چپ-پایین) و جابجایی (راست) در نمودار L-J

۲) کنترل کیفی با استفاده از قوانین چندگانه وستگارد:

این قوانین که در سال ۱۹۸۱ توسط وستگارد و همکاران پیشنهاد شد که شامل ترکیبی از قواعد آماری و معیارهای تصمیم‌گیری بوده و جهت قضاوت در مورد تحت کنترل بودن یا خارج از کنترل بودن یک ران آنالیتیک به‌کار گرفته می‌شوند. بدین ترتیب احتمال تشخیص خطاهای آنالیتیک (خطاهای تصادفی یا سیستماتیک) به میزان چشم‌گیری افزایش می‌یابد. قواعد چندگانه وستگارد نخستین بار برای ارزیابی نتایج حاصل از یک سطح کنترلی (مثل سطح نرمال) طراحی شدند ولی با توجه به توصیه‌هایی که جهت استفاده از دو و یا سه سطح کنترلی به عمل آمد، قواعد مذکور با تغییرات اندکی برای این سطوح کنترلی نیز طراحی شدند. شایان ذکر است که توصیه به استفاده از بیش از یک سطح کنترلی توجیه آماری دارد، زیرا چنان‌چه فرض شود که از هر ۲۰ بار سنجش نمونهٔ کنترل، احتمالاً یکی از آنها از محدودهٔ 2SD خارج باشد، با استفاده از دو نمونهٔ کنترلی مختلف، احتمال آن‌که پاسخ‌های بدست آمده هر دو خارج از محدودهٔ 2SD باشند، برابر ۱ به ۴۰۰ بوده و به‌علاوه احتمال هم سو بودن این خروج نیز بسیار کمتر از این خواهد بود، لذا از تکرار بی‌مورد آزمایش‌ها به شکل چشم‌گیری کاسته می‌شود.

شکل ۱۱-۱۳: دکتر جیمز وستگارد و نمونه‌های خون کنترل در سه سطح Low، Normal و High



شکل ۱۲-۱۳. نقض قانون 1:3S و قانون 1:2S

چنان‌چه نتایج یک کنترل خارج از محدوده ±2SD باشد، قانون 1:2S نقض می‌شود. این قانون به‌عنوان هشداری برای شروع سایر قوانین وستگارد تلقی می‌شود، یعنی هنگامی که این قانون نقض شد، بررسی سایر قوانین وستگارد آغاز می‌گردد که اگر نتایج کنترل کیفی، دیگر قوانین وستگارد را نقض نکند، با وجود نقض قانون 1:2Sدر یکی از نمونه‌های کنترلی، نتایج آن ران قابل قبول بوده و می‌توان آنها را گزارش نمود. به همین دلیل قانون 1:2S تنها نقش هشداردهنده دارد. در واقع از هر ۲۰ مرتبه اندازه‌گیری خون کنترل، یکی از پاسخ‌ها ممکن است خارج از محدوده 2SD ± واقع شود (خطای تصادفی).

قانون 1:3S:

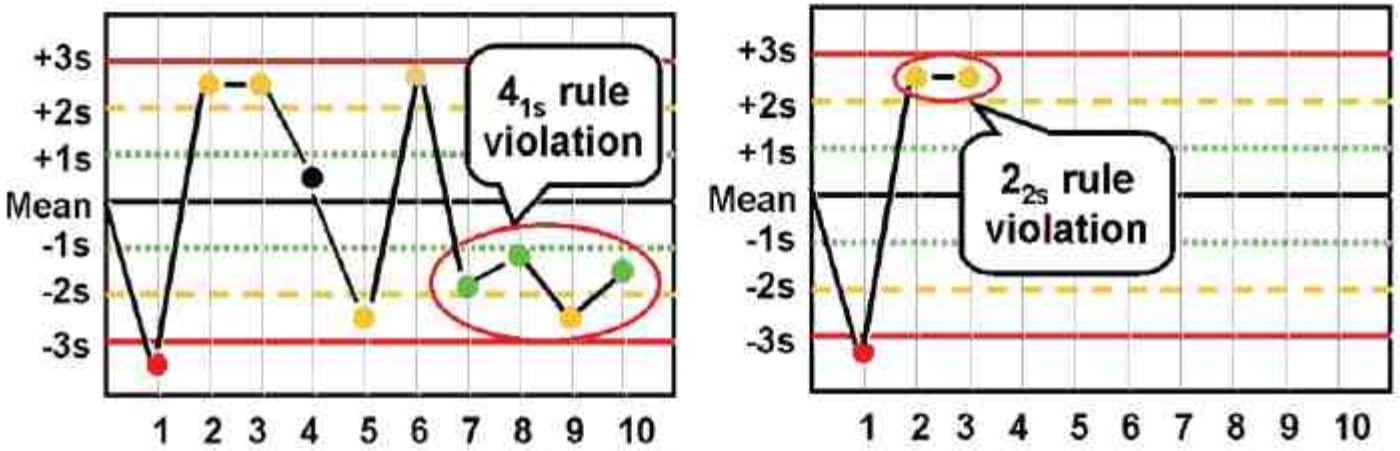
چنان‌چه یک کنترل خارج از محدوده ±3SD قرار گیرد، قانون 1:3S نقض شده (Violation) و در نتیجه پاسخ نمونه‌های آن ران غیرقابل قبول خواهند بود. براساس قوانین آماری و نظریه پراکندگی طبیعی، بیش از ۹۹٪ تمامی نتایج کنترل‌ها می‌بایست در محدوده 3SD نسبت به میانگین قرار بگیرند، بنابراین اگر نتیجه کنترل یک ران کاری خارج از این محدودهٔ قرار بگیرد، احتمال صحیح بودن این پاسخ به کمتر از ۱٪ کاهش یافته و سری آزمایشات آن ران Out of Control می‌شوند. قانون 1:3S نسبت به خطاهای تصادفی (RE) یا پراکنده (کم دقت) حساس بوده و آنها را آشکار می‌سازد. به هنگام وقوع این حالت نمونهٔ کنترل باید مجدداً مورد آزمایش قرار بگیرد که اگر با آزمایش مجدد مشکل برطرف شود و قوانین دیگر هم نقض نشده باشند، جواب بیماران قابل گزارش خواهد بود.

قانون 4:1S:

چنان‌چه چهار پاسخ پیاپی نمونهٔ کنترل در یک طرف خط میانگین و خارج از محدودهٔ 1SD(فراتر از 1SD+ یا فروتر از 1SD-) قرار گیرند و یا پاسخ‌های هر دو سطح کنترلی در دو دوره کاری متوالی (دو روز پیاپی) خارج از محدودهٔ 1SD باشند، قانون 4:1S وستگارد نقض شده و پاسخ‌های بیماران قابل گزارش نخواهند بود. این قانون نسبت به خطاهای سیستماتیک حساس بوده و به نوعی Shift را نشان می‌دهد.

قانون 2:2S:

قرار گرفتن دو پاسخ متوالی از یک سطح کنترل در بالاتر 2SD+ یا پایین‌تر 2SD- دلیل بر پذیرفته نشدن پاسخ‌ها می‌باشد. این قانون نسبت به خطاهای سیستماتیک حساس است. حالت دیگر نقض این قانون آن است که پاسخ‌های هر دو سطح کنترل، هر دو بالاتر از 2SD+ و یا هر دو پایین‌تر از 2SD- نسبت به میانگین واقع شوند.



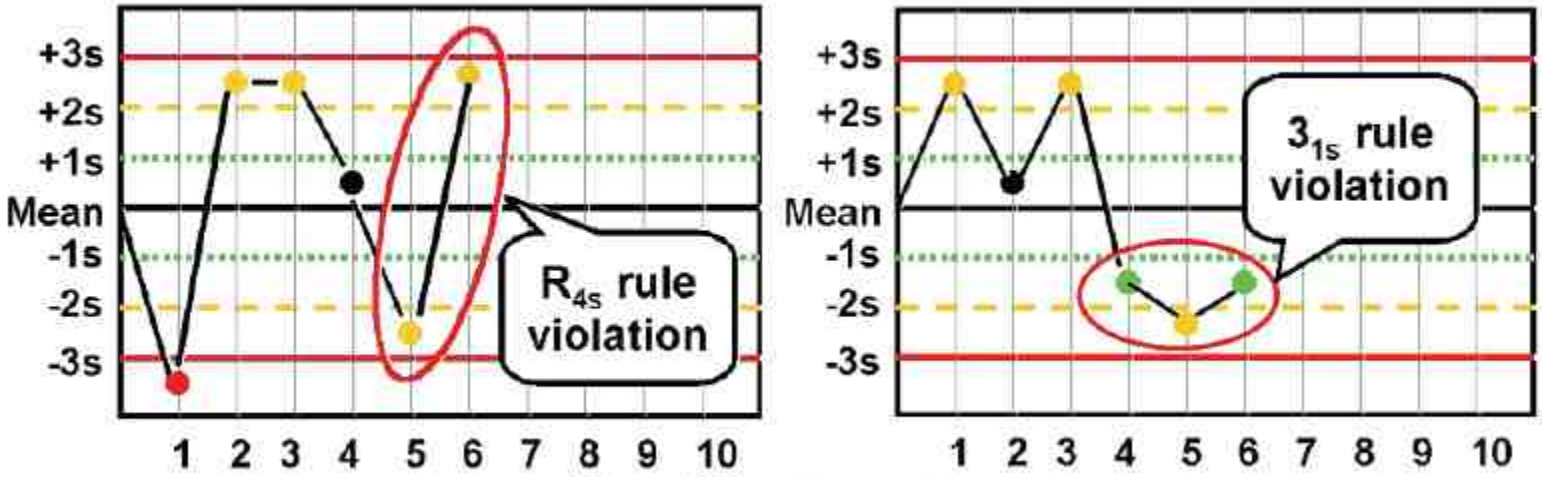
شکل ۱۳-۱۳. نقض قانون 2:2S و قانون 4:1S

قانون R:4S:

هنگامی که دو پاسخ پیاپی خون کنترل یکی بالاتر از 2SD+ و دیگری پایین‌تر از 2SD- قرار گرفته و با همدیگر 4SD فاصله بگیرند، نقض قانون R:4S وستگارد رخ داده است. این قانون نسبت به خطاهای تصادفی (RE) یا عدم دقت حساس است. به هنگام نقض قانون R:4S پاسخ‌های بیماران در آن ران کاری قابل قبول نبوده و تا زمان رفع مشکل و قرار گرفتن مجدد پاسخ کنترل‌ها در محدوده‌های کنترلی، هیچ یک از پاسخ‌های بیماران نباید گزارش شوند.

قانون 3:1S:

قرار گرفتن سه پاسخ پیاپی یک خون کنترل در بالاتر از 1SD+ یا پایین‌تر از 1SD− (به‌صورت هم‌جهت) حاکی از نقض قانون 3:1S و عدم پذیرش پاسخ-ها می‌باشد. حالت دیگر نقض این قانون زمانی است که پاسخ‌های هر سه سطح کنترل در یک ران به‌صورت هم‌جهت و بالاتر از 1SD+ یا پایین‌تر از 1SD- قرار می‌گیرند. قانون ۳:۱ S نسبت به خطاهای سیستماتیک (SE) حساس است.



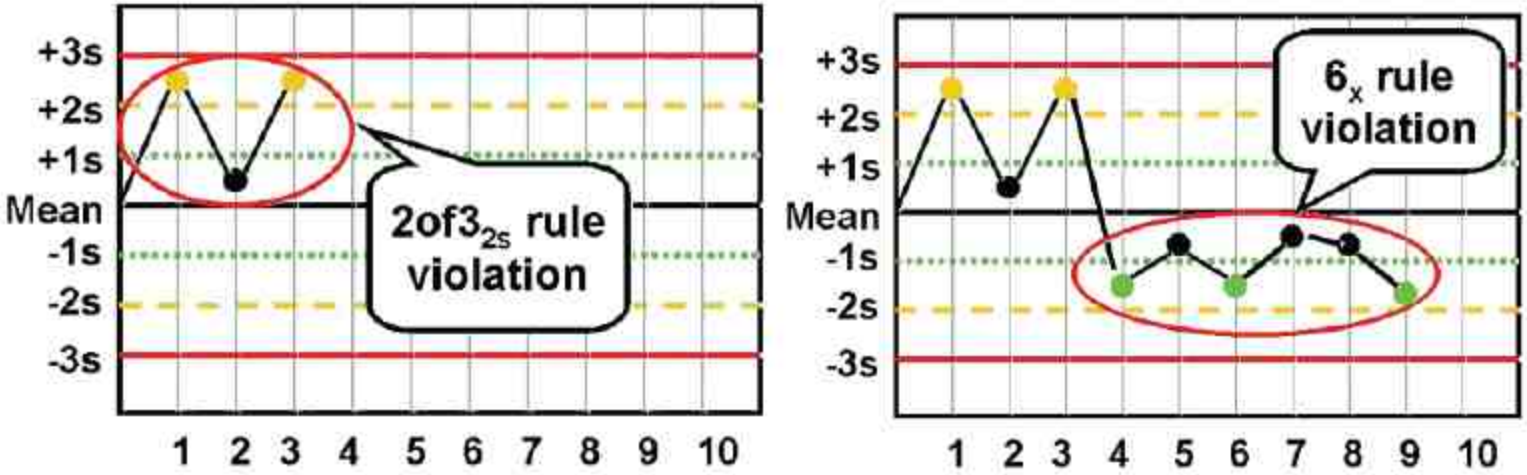
شکل ۱۴-۱۳. نقض قانون R:4S و قانون 3:1S

قانون $2of3_{2S}$:

این قانون زمانی نقض می‌شود که دو مورد از نتایج سه سطح کنترل، بیرون از محدودهٔ 2SD و در یک جهت باشند. به هنگام نقض قانون $2of3_{2S}$، پاسخ‌های بیماران قابل گزارش نیستند. این قانون نسبت به خطاهای سیستماتیک حساس است.

قانون 6:X:

این قانون زمانی نقض می‌شود که ۶ پاسخ پیاپی یک سطح کنترلی در یک طرف خط میانگین قرار گیرد (بدون توجه به میزان انحراف). حالت دیگر نقض این قانون زمانی است که دو نتیجه متوالی در هر سه سطح کنترل به‌صورت هم‌جهت در یک طرف میانگین واقع شوند. این قانون نسبت به خطاهای سیستماتیک حساس است.



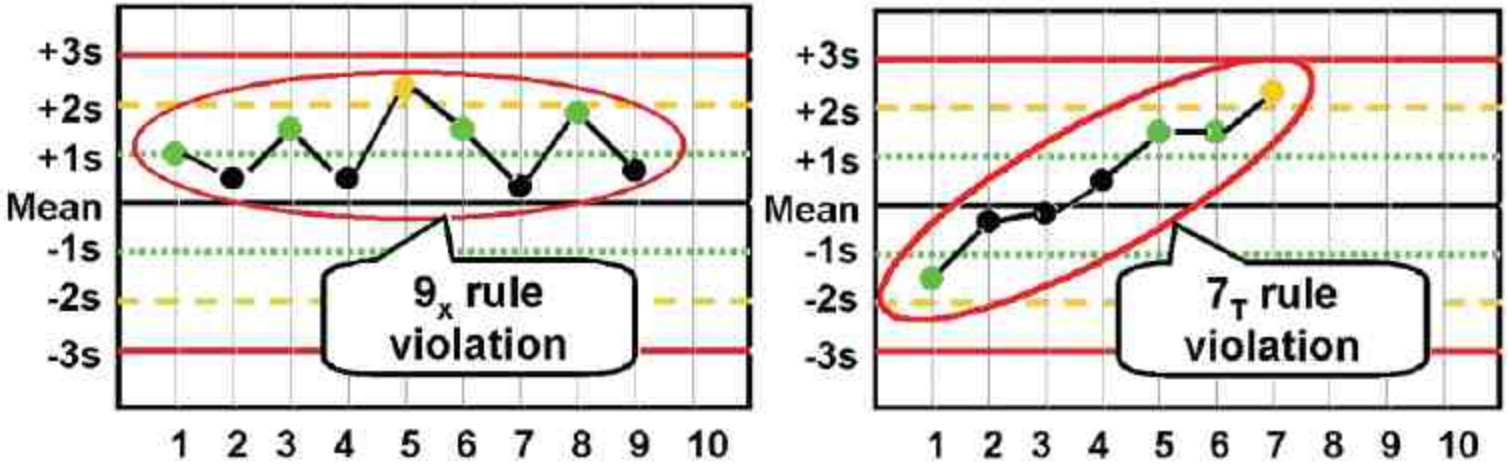
شکل ۱۵-۱۳. نقض قانون 12:X و قانون 2of3:2S

قانون 9:X :

به هنگام استفاده از سه سطح مختلف کنترلی، می‌توان به جای قانون 6:X از قانون 9:X استفاده نمود. این قانون که همانند قانون 6:X نسبت به خطاهای سیستماتیک حساس است، زمانی نقض می‌شود که ۹ پاسخ پیاپی از یک سطح کنترل در یک سمت میانگین واقع شوند. حالت دیگر این نقض قانون هنگامی است که سه پاسخ متوالی از هر سه سطح کنترل به‌صورت هم‌جهت در یک سوی خط میانگین واقع شوند. نقض این قانون در واقع نوعی Shift می‌باشد.

قانون 7:T:

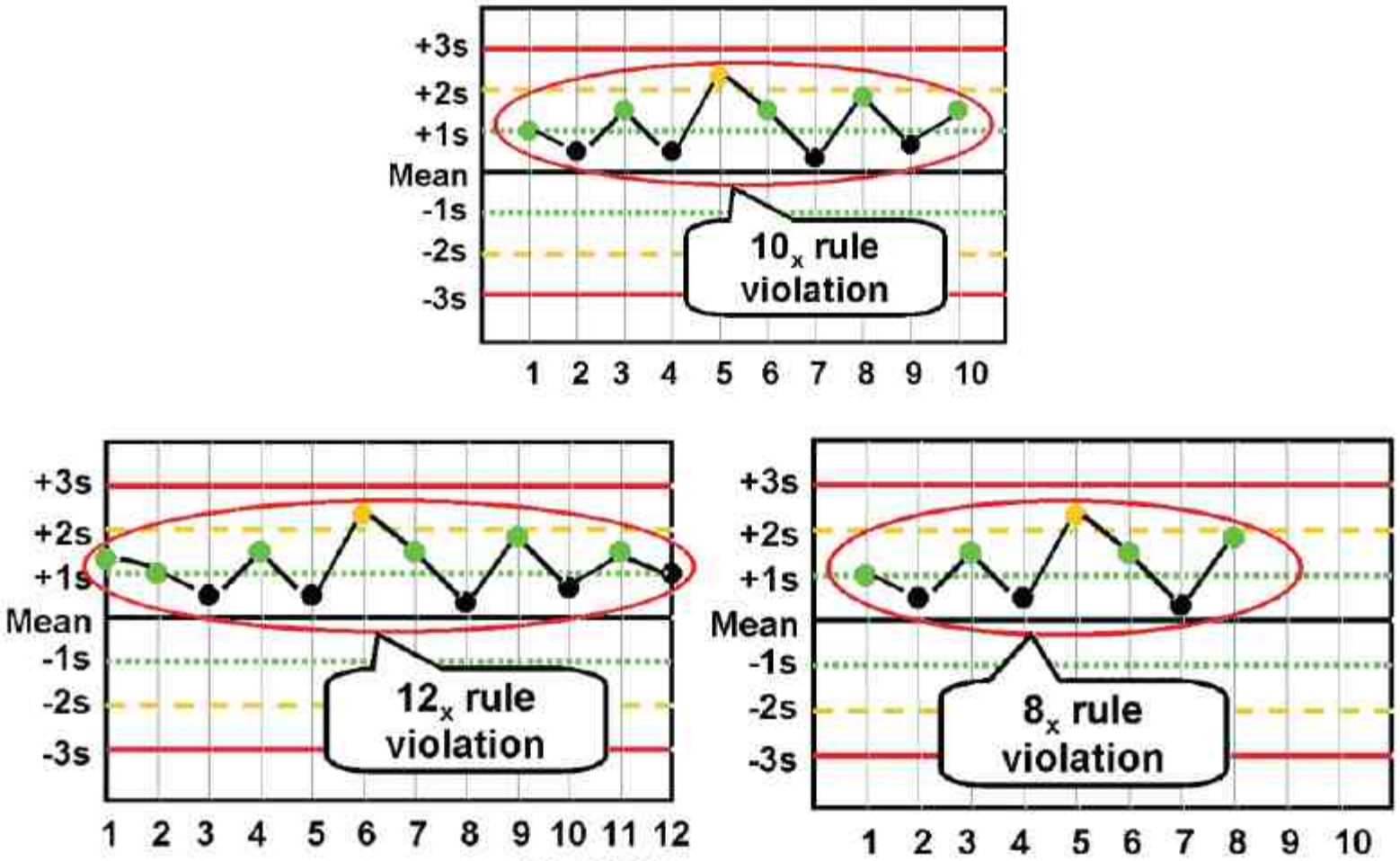
قانون کنترلی دیگر که در برخی کشورهای اروپایی مورداستفاده قرار می‌گیرد، قانون 7:T است که جهت آشکار ساختن گرایش یا Trend در پاسخ آزمایش‌ها به‌کار می‌رود. این قانون که به هنگام استفاده از کنترل‌های با دو سطح یا سه سطح مختلف (هر دو) به‌کار گرفته می‌شود بدین شرح می‌باشد که اگر نتایج حاصل از ۷ بار سنجش متوالی نمونهٔ خون کنترل، یک روند پیشروندهٔ افزایشی و یا کاهشی را نشان دهند، نقض قانون 7:T رخ داده است. ظهور این حالت که نشان‌دهندهٔ گرایش در پاسخ‌ها و وقوع خطای سیستماتیک است، به معنی عدم مقبولیت پاسخ‌های بدست آمده می‌باشد.



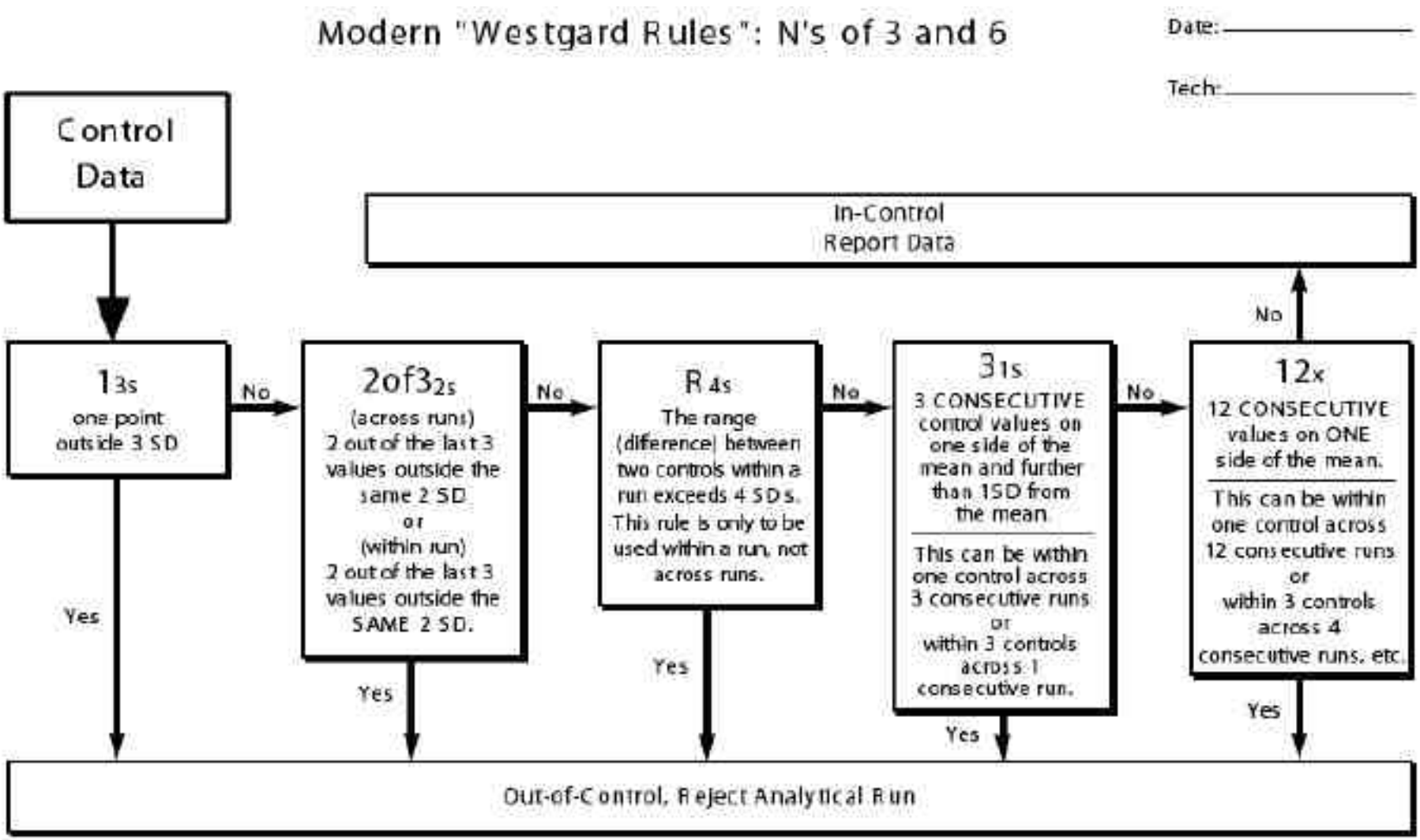
شکل ۱۶-۱۳. نقض قانون 9:X و قانون 7:T

قانون 10:X:

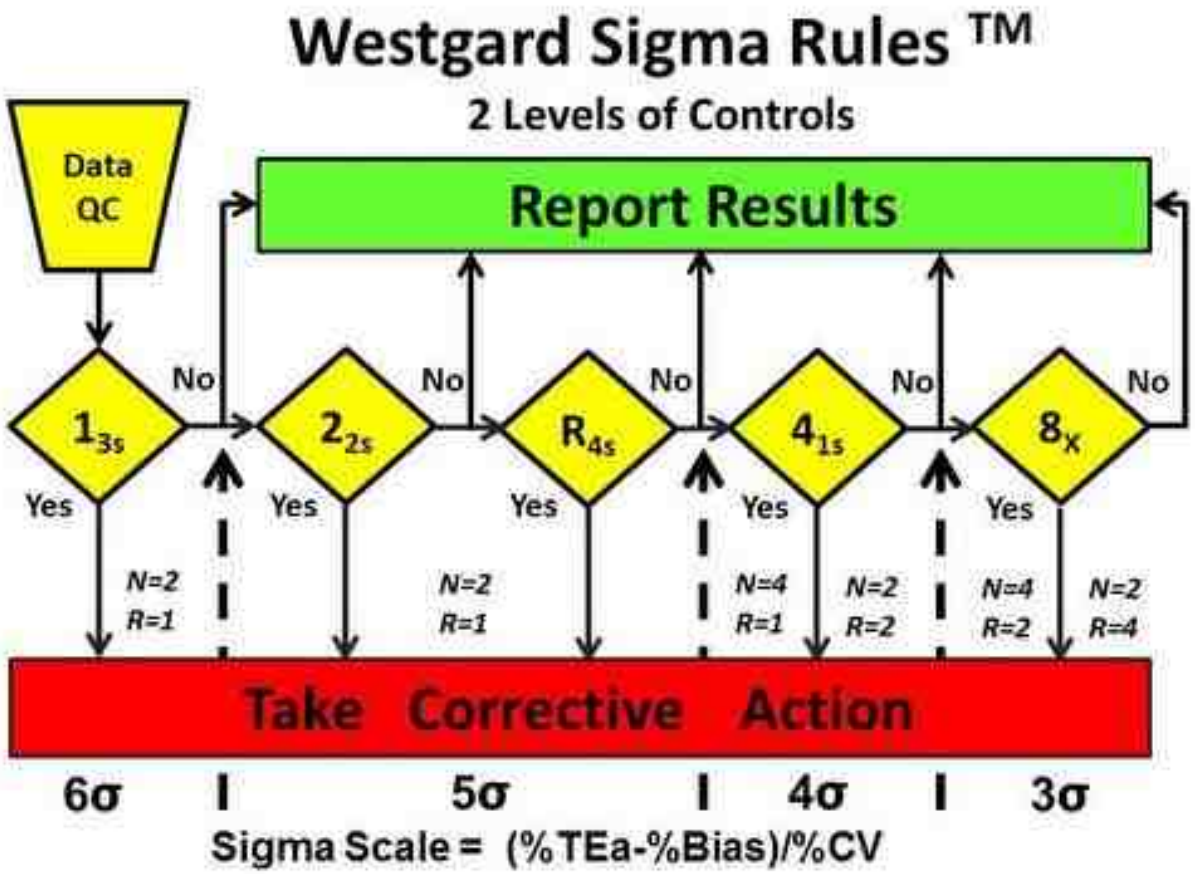
قرار گرفتن ۱۰ پاسخ پیاپی یکی از سطوح کنترل در یک طرف خط میانگین (بالا یا پایین) بدون توجه به مقدار انحراف، دلیل بر نقض قانون 10:X و قابل قبول نبودن پاسخ‌ها می‌باشد. حالت دیگر نقض این قانون زمانی است که پنج پاسخ پیاپی هر دو سطح کنترل به‌صورت هم‌جهت در یک طرف میانگین قرار



شکل ۱۷-۱۳. نقض قوانین 10:X، 8X و 12X

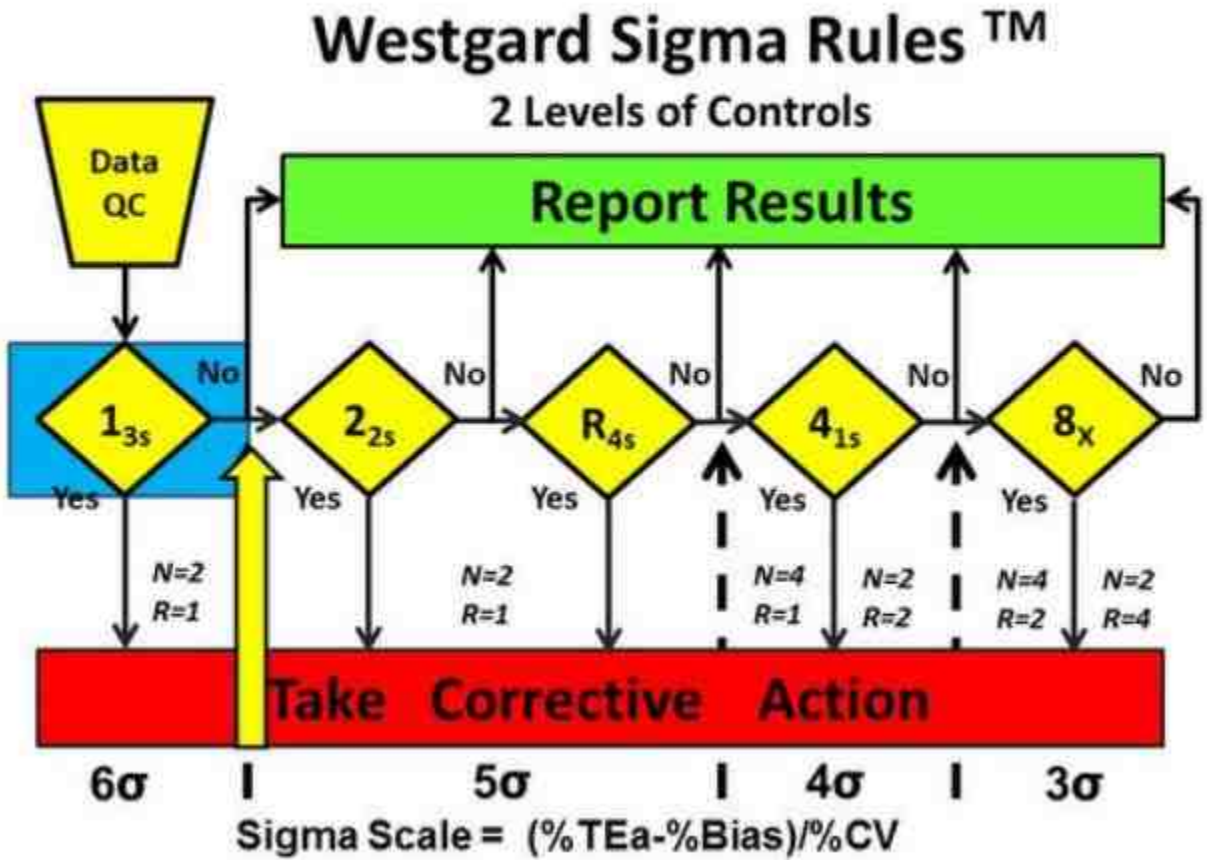


شکل ۱۹-۱۳. فلوچارت بررسی قوانین کنترل کیفی با استفاده از سه سطح کنترل

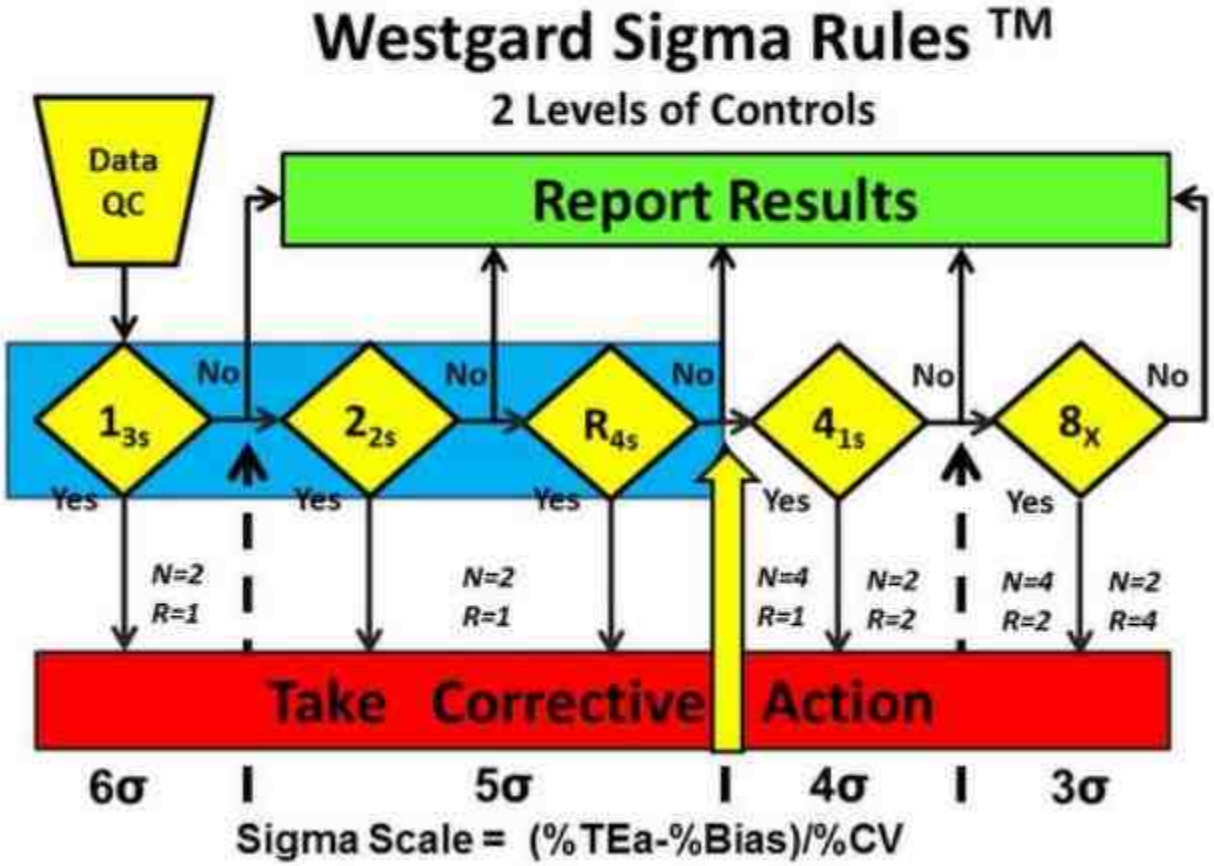


On first glance, it looks just like the Westgard Rules diagram **except there is no 2 SD warning rule**. That is an important distinction, but the most important change is the **Sigma-scale** at the bottom of the diagram. That scale provides guidance for which rules should be applied based on the sigma quality determined in your laboratory.

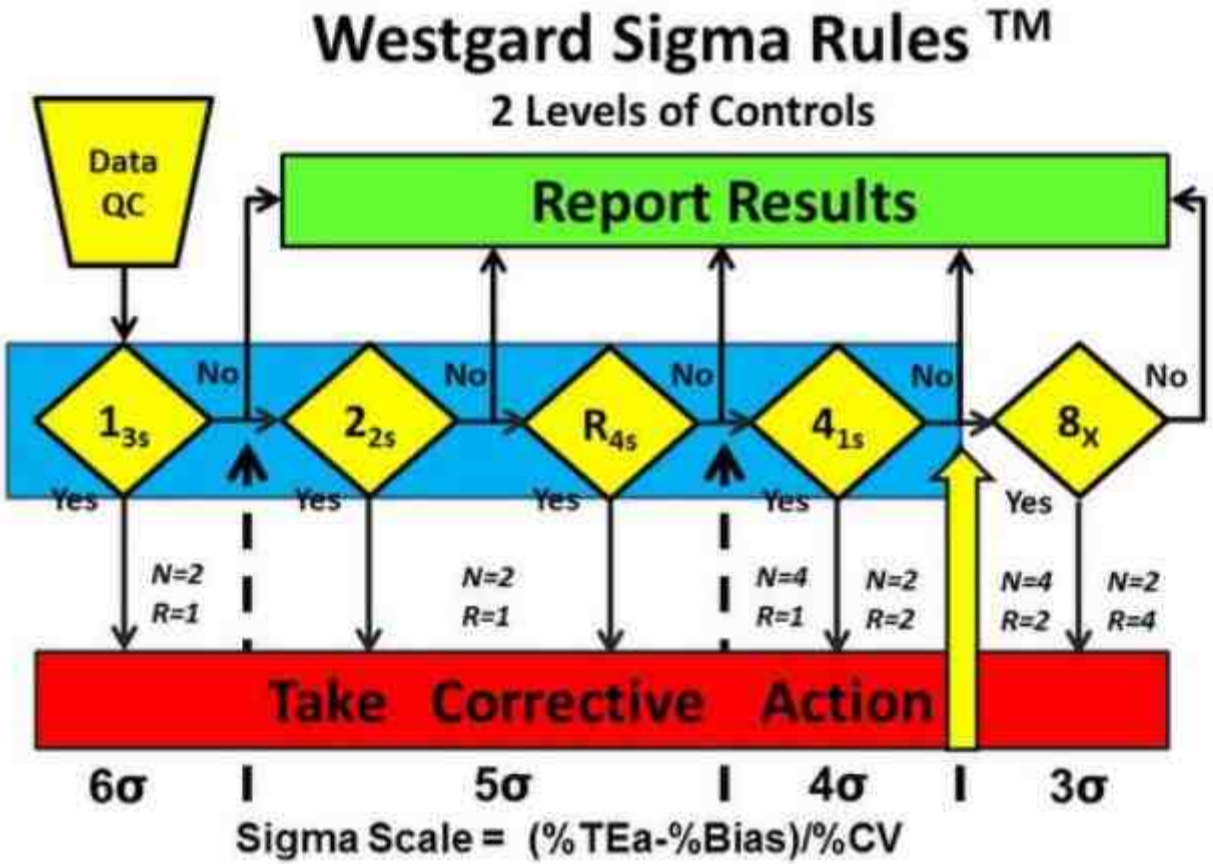
- 6-sigma quality requires only a single control rule, 1_{3s}, with 2 control measurements in each run one on each level of control). The notation N=2 R=1 indicates that 2 control measurements are needed in a single run. See Figure 2.



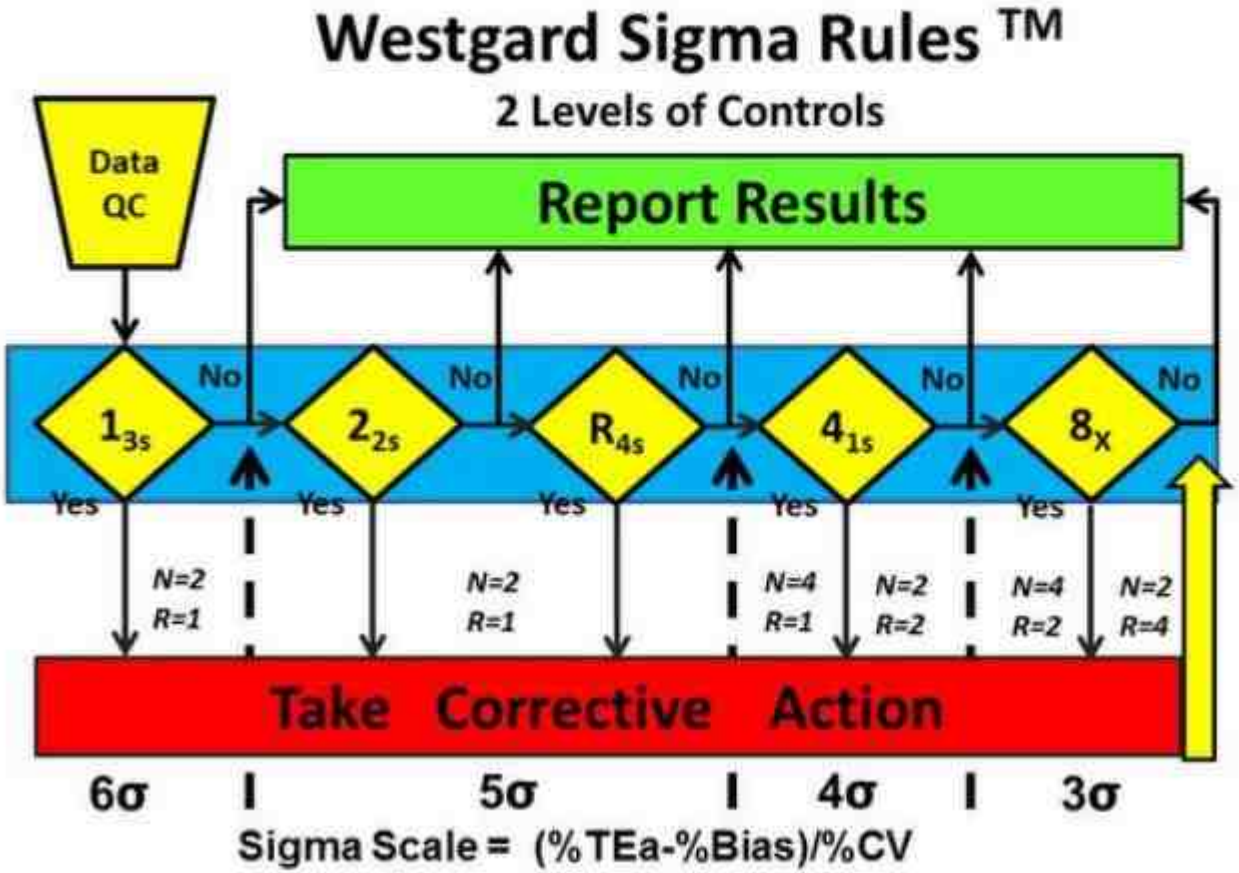
- 5-sigma quality requires 3 rules, $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$, with 2 control measurements in each run (N=2, R=1). See Figure 3.



- 4-sigma quality requires addition of a 4th rule and implementation of a $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}$ multirole, preferably with 4 control measurements in each run (N=4, R=1), or alternatively, 2 control measurements in each of 2 runs (N=2, R=2), using the 4_{1s} rule to inspect the control rules across both runs. This 2nd option suggests dividing a day's work into 2 runs and monitoring each with 2 controls. See Figure 4.



- <4-sigma quality requires a multirule procedure that includes the 8x rule, which can be implemented with 4 control measurements in each of 2 runs (N=4, R=2) or alternatively with 2 control measurements in each of 4 runs (N=2, N=4). The first option suggests dividing a days' work into 2 runs with 4 control measurements per run, whereas the second option suggests dividing a day's work into 4 runs and monitoring each with 2 controls. See Figure 5.



چ) استفاده از نمودار کیوسام (CUSUM) در ارزیابی عملکرد سل‌کانترها:

یک روش کمّی و دقیق در ارزیابی خطاهای سیستماتیک، نمودار کیوسام است که اکنون در برخی آزمایشگاه‌های تشخیص طبّی مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش کیوسام جمع جبری (تجمعی) تفاوت بین نتایج به‌دست آمده و میانگین‌های هدف را در هر ران کاری محاسبه نموده و از کلمه Cumulative Sum مشتق می‌شود. این نمودار جهت تشخیص خطاهایی است که به تدریج باعث افزایش یا کاهش پاسخ‌ها می‌شوند و نشان‌دهندهٔ خرابی مواد، معرف‌ها و یا دستگاه می‌باشد. روش کیوسام به دلیل حساسیت پائینی که نسبت به خطاهای تصادفی دارد، نباید به تنهایی جهت آشکارسازی خطاها مورداستفاده قرار بگیرد ولی استفاده همزمان آن با روش L-J بسیار سودمند خواهد بود. در نمودار کیوسام خطاهای تصادفی همدیگر را حذف می‌کنند و بنابراین خطاهای سیستماتیک با وضوح بهتری مشخص می‌شوند. چنان‌چه پراکندگی نتایج در دو طرف میانگین تقریباً یکسان باشد نمودار کیوسام به شکل یک خط افقی در می‌آید ولی گرایش یا Trend نتایج باعث می‌شود که این نمودار خیلی زود از خط مستقیم خارج شده و شیب پیدا کند که اندازهٔ این شیب با اندازهٔ خطای سیستماتیک متناسب می‌باشد. این تکنیک هنگامی که از برنامهٔ کنترل کیفی کامپیوتری در آزمایشگاه استفاده می‌شود بسیار سودمند می‌باشد، لذا توصیه می‌شود در یک آزمایشگاه همزمان از هر دو نمودار (L-J و کیوسام) استفاده شود.

طریقه به‌کارگیری روش کیوسام به قرار زیر است:

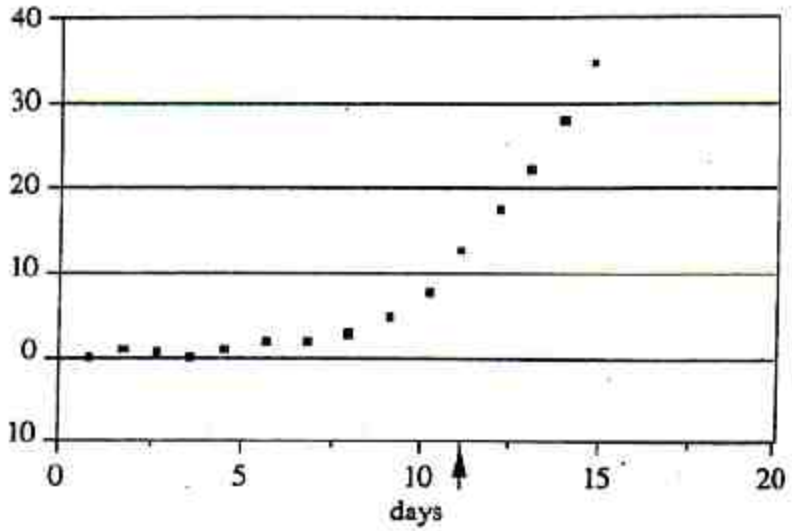
خون کنترل را حداقل برای ۲۰ روز کاری به دستگاه سل‌کانتر داده و مقادیر میانگین (X) و انحراف معیار (SD) آن را تعیین می‌کنیم. سپس محور مختصات نمودار کیوسام را رسم می‌کنیم که در آن محور عمودی (Y) کیوسام از 10SD- تا 10SD+ با فاصله 1SD تقسیم‌بندی می‌شود. سپس یک خط افقی از نقطهٔ صفر محور Y به سمت راست رسم می‌کنیم که در بالا و پایین این خط محدوده‌های 10SD± قرار می‌گیرند. در محور افقی (X) نیز تعداد ران‌های کاری ثبت می‌شود. در هر ران کاری یک نمونهٔ کنترل به همراه نمونه‌های بیماران به دستگاه داده شده و به‌عنوان مثال نتایج Hb آنها ثبت می‌شود. در ادامه نتیجه کنترل آن ران (به‌عنوان مثال ۱۴۴mg/dl) را از میانگین محاسبه شده (به‌عنوان مثال ۱۴۴mg/dl) کم کرده و عدد حاصل (یعنی صفر) را روی نمودار منتقل می‌کنیم. در ران بعد، مجدداً کنترل را به دستگاه داده و نتیجه آن را به‌دست آورده (به‌عنوان مثال ۱۴۵mg/dl) و از میانگین کم می‌کنیم، سپس عدد به‌دست آمده (۱+) را با عدد دیروز (۰) جمع جبری کرده و عدد حاصل را (۱+ = ۱+۰) به نمودار منتقل می‌کنیم. در ران سوم، مجدداً کنترل را به دستگاه داده و نتیجه آن را به‌دست آورده (به‌عنوان مثال ۱۴۴mg/dl) و از میانگین کم می‌کنیم، سپس عدد بدست آمده (۰) را با عدد دیروز (۱+) جمع جبری کرده و عدد حاصل را (۱+ = ۱+۰) به نمودار منتقل می‌کنیم. این کار تا آخر ماه تکرار شده و همواره جمع جبری نتایج به نمودار منتقل می‌شود، در

نتیجه اگردر یک روز پاسخ کنترل یک واحد بیشتر و در روزی دیگر، یک واحد کمتر قرائت شود، این دو رقم یکدیگر را خنثی نموده و نمودار کیوسام حالت صعودی پیدا نمی‌کند ولی اگر در سه روز پیاپی خطای مشابه وجود داشته باشد و در هر سه روز به‌عنوان مثال عدد ۱۴۵ mg/dl قرائت شود، جمع جبری آن یعنی عدد ۳ به نمودار منتقل می‌شود و لذا نمودار کیوسام حالت صعودی به خود گرفته و به راحتی خطاهای سیستمیک و به‌خصوص Trendها را شناسایی می‌کند. در بررسی نهایی نمودار نیز، شیب منحنی کیوسام ارزیابی می‌شود که هرگونه شیب بالا رونده و یا پایین رونده به‌معنی وجود خطای سیستماتیک خواهد بود و اندازه شیب منحنی نیز به اندازه خطای سیستماتیک بستگی پیدا می‌کند.

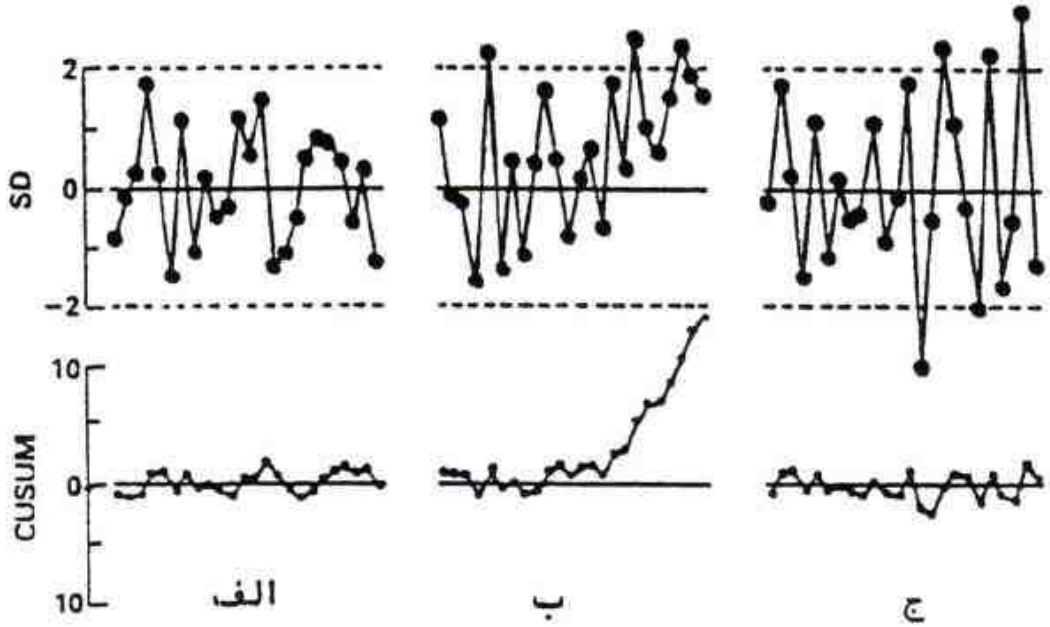
مثال: چنان‌چه میانگین هموگلوبین خون کنترلی برابر ۱۴۴ g/L و نتایج ۱۵ روز پیاپی اندازه‌گیری هموگلوبین این خون کنترل به شرح زیر باشد، نمودار کیوسام را می‌توان به شکل زیر رسم نمود:

Mean Hb on control material = 144 g/L.

Day	Hb g/L			CUSUM
1	144	144-144=0	0+0=0	0
2	145	145-144=1	+1+0=+1	+ 1
3	144	144-144=0	0+1=+1	+ 1
4	143	143-144=-1	-1+1=0	0
5	145	145-144=1	+1+0=+1	+ 1
6	145	145-144=1	+1+1=+2	+ 2
7	144	144-144=0	0+2=+2	+ 2
8	145	145-144=1	+1+2=+3	+ 3
9	146	146-144=2	+2+3=+5	+ 5
10	147	147-144=3	+3+5=+8	+ 8
11	148	148-144=4	+4+8=+12	+12
12	149	149-144=5	+5+12=+17	+17
13	150	150-144=6	+6+17=+23	+23
14	150	150-144=6	+6+23=+29	+29
15	150	150-144=6	+6+29=+35	+35



شکل ۲۰-۱۳. نمودار کیوسام جهت هموگلوبین خون کنترلی در ۱۵ ران کاری که از ران ۹ به بعد یک منحنی صعودی با شیب تند ایجاد می‌شود.



۲۱-۱۳. مقایسه نمودار L-J و کیوسام در نتایج روزانه یک نمودار کنترلی. الف ـ براساس هر دو نمودار نتایج روزانه در محدودهٔ کنترل قرار دارند. ب ـ با وجودی‌که نمودار L-J همچنان دقت پاسخ نمونه‌های خون کنترل را در محدودهٔ کنترل نشان می‌دهد، ولی نمودار کیوسام گرایش آنها به سمت بالا را بسیار بهتر نشان می‌دهد. ج ـ نیمی از نتایج کنترل در محدوده و نیم دیگر در خارج محدوده پراکنده شده‌اند که حاکی از کاهش دقت می‌باشد. این درحالی است که نمودار کیوسام به دلیل ضعف در شناسایی خطاهای رندوم قادر به نشان دادن دقیق آن نیست.

در روش غیرکامپیوتری، حدآستانه یعنی X±1SD و محدودهٔ کنترل یعنی 2.7SD نیز محاسبه شده و در نتیجه محدوده آستانه و محدوده کنترل بدست می‌آید. هنگامی‌که پاسخ خون کنترل به حدآستانه کیوسام می‌رسند، پی‌گیری آن از روی جدول آغاز و با بازگشت مجدد نتایج به پایین حد آستانه، پی‌گیری متوقف می‌شود. زمانی هم که پاسخ‌های خون کنترل از محدودهٔ کنترلی موردنظر خارج می‌شوند، نتایج خارج از کنترل می‌شوند.

فرض کنید نتایج Hb یک خون کنترل به مدت ۹ روز کاری به سل‌کانتر داده شده و نتایج زیر حاصل شده‌اند. اگر میانگین نتایج، ۱۰۵g/l و SD=۵ باشد، محدوده آستانه (X±1SD) یعنی URV (حد بالای مقدار رفرانس) و LRV (حد پایین مقدار رفرانس) را به‌دست می‌آوریم:

$$Ku(URV)=X+1SD=110 \quad Ki(LRV)=X-1SD=100$$

سپس محدوده کنترل (±2.7SD) را نیز به‌دست می‌آوریم:

$$hu=+2.7SD=+13.5 \quad hi=-2.7SD=-13.5$$

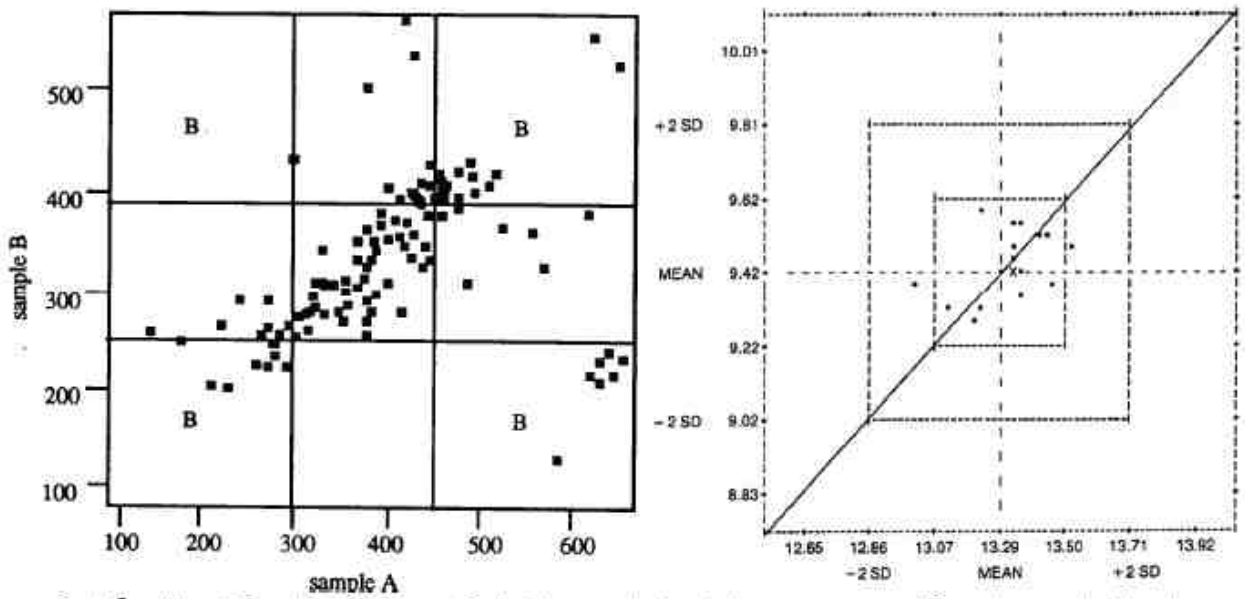
حال اگر کیوسام به 1SD یعنی ۵ برسد، پی‌گیری شروع می‌شود و اگر به زیر آن برسد، متوقف می‌شود. همچنین با رسیدن کیوسام به بالای ۱۳/۵، کنترل دستگاه Out of control می‌شود.

عملکرد کیوسام	عدد کیوسام	$Di=X-\bar{X}$	مقادیر کنترل	روز کاری
شروع کیوسام	+۵	+۵	۱۱۰	۱
-	۰	-۵	۱۰۰	۲
-	+۳	+۳	۱۰۸	۳
-	+۳	۰	۱۰۵	۴
-	+۳	۰	۱۰۵	۵
خاتمه کیوسام	-۱	-۴	۱۰۱	۶
شروع مجدد	+۵	+۶	۱۱۱	۷
-	+۸	+۳	۱۰۸	۸
خروج از کنترل	+۱۶	+۸	۱۱۳	۹

د) استفاده از نمودارهای Youden (نمودارهای نسبت XY) در ارزیابی عملکرد سل‌کانترها:

هنگامی که دو نمونهٔ کنترلی در دو سطح مختلف به‌کار گرفته شوند، می‌توان چارت یودن را رسم نمود. این نمودار یک روش کارآمد در افتراق خطاهای تصادفی از انحراف ثابت پاسخ‌ها (خطاهای سیستماتیک) می‌باشد. با قرار دادن محدوده‌های X±2SD از نمونه کنترل غیرطبیعی در محور عمودی و نیز محدوده‌های X±2SD از نمونهٔ کنترل طبیعی در محور افقی، چارت یودن طراحی می‌شود. سپس با متصل کردن نقاط 2SD به هم (چهار نقطه ±2SD) یک مربع حاصل می‌شود و خط موربی که نقطهٔ -2SD را به نقطهٔ +2SD وصل می‌کند، در حقیقت مسیر پراکندگی نرمال را مشخص می‌نماید. در شرایط طبیعی داده‌های حاصل از کنترل‌ها بر روی این خط و یا اطراف آن واقع خواهند شد، یا این‌که به‌صورت دسته‌ای بسیار نزدیک به هم در اطراف نقطهٔ مرکزی تجمع می‌کنند. پراکندگی نابه‌جای داده‌ها در گوشه‌های مربع مذکور نشان‌دهندهٔ شیفت به بالا یا پایین در پاسخ‌ها می‌باشند و نقاطی که خارج از این مربع قرار می‌گیرند، نشان می‌دهند که کنترل‌ها خارج از محدودهٔ ±2SD قرار دارند.

به‌منظور تفسیر بهتر نمودار یودن به شکل زیر توجه فرمایید. در این نمودار نتایج مطلوب آنهایی هستند که در مربع مرکزی واقع شده‌اند و پاسخ‌هایی که در مربع‌های B قرار می‌گیرند دارای انحراف ثابت (خطای سیستماتیک) هستند. این انحراف ممکن است مثبت (مربع B2) و یا منفی (مربع B1) باشد. پاسخ‌هایی که در نقاط دیگر نمودار واقع می‌شوند نشان‌دهندهٔ وقوع خطاهای تصادفی می‌باشند.



شکل ۲۲-۱۳. تصویر سمت راست) نمودار یودن برای هموگلوبین، تصویر سمت چپ) تفسیر نمودار یودن: پاسخ‌هایی که در مربع مرکزی قرار می‌گیرند، مطلوب، آنهایی که در مربع‌های B1 و B2 واقع می‌شوند دارای خطای سیستماتیک و آنهایی که در مکان‌های خارج از مربع‌های ذکر شده قرار می‌گیرند دارای خطای تصادفی می‌باشند.

نیاز به کالیبراسیون:

- ۱- مشاهده خطاهای سیستمیک وابسته به دستگاه
- ۲- کالیبراسیون منظم سالانه
- ۳- داشتن DI>2.5 در EQA
- ۴- داشتن T-britin، T-student یا F ratio بالای حد مجاز
- ۵- جابجایی، تعمیرات و تعویض قطعات سل کانتر

۵) روش کنترلی بریتین (Britin Method):

براساس مشاهدات بریتین، ۷ پارامتر مهم آزمون CBC یعنی RBC، WBC، Hb، HCT، MCV، MCH و MCHC در خون حاوی ضد انعقاد EDTA به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال پایدار هستند. در روش کنترلی بریتین که به آن آزمون پایداری کالیبراسیون هم گفته می‌شود، از روش آماری t- استودنت (آزمون گوست) استفاده می‌شود. برای انجام روش بریتین به ترتیب زیر عمل می‌شود:

تعداد ۵ نمونه یا ترجیحاً ۱۰ نمونه خون بیمار که مقادیر پارامترهای آنها در محدودهٔ طبیعی است را به سل‌کانتر داده و مقادیر آنها را یادداشت کنید. نمونه‌ها را در یخچال قرار داده و روز بعد آنها را پس از آنکه به دمای اتاق رسیدند مجدداً توسط سل‌کانتر آزمایش می‌کنیم. برای بررسی همخوانی پاسخ‌های هر یک از پارامترها از رابطهٔ زیر استفاده می‌کنیم:

$$SD=\sqrt{\frac{\sum d^2-\frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} \qquad t_n=\frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

d = اختلاف دو روز $\qquad$ $\bar{d}$ = میانگین اختلاف دو روز

در صورتی‌که t_n بدست آمده برای ۵ نمونه بیشتر از ۲/۷۷۶ (عدد بحرانی برای ۵ نمونه در جدول t- استودنت) باشد، با ۹۵٪ اطمینان می‌توان گفت اختلاف معنی‌داری بین دو روز متوالی در پارامتر سنجش شده وجود دارد. در این حالت دستگاه کالیبره نبوده و باید اقدام به رفع اشکال در کانال مربوط به آن پارامتر نمود. در صورتی‌که t_n محاسبه شده کوچک‌تر از عدد بحرانی باشد، تفاوت معنی‌داری بین نتایج دو روز دیده نمی‌شود. این حالت از نظر کنترل کیفی وضعیت مطلوبی به‌شمار رفته و در پی آن می‌توان شروع به انجام آزمایش نمونه‌های بیماران نمود.

مثال: درصورتی که نتایج اندازه‌گیری هموگلوبین ۵ نمونهٔ خون با استفاده از یک سل‌کانتر در دو روز متوالی مطابق زیر باشد، عملکرد دستگاه به روش بریتین به صورت زیر بررسی می‌شود:

مقدار هموگلوبین روز اول (g/L)	مقدار هموگلوبین روز دوم (g/L)	d	d^2
123	120	3	9
135	133	2	4
171	170	1	1
155	150	5	25
142	138	4	16

$$\sum d = 15$$
$$\left(\sum d\right)^2 = 225$$
$$\sum d^2 = 55$$
$$\bar{d} = \frac{\sum d}{5} = \frac{15}{5} = 3$$

$$SD = \sqrt{\frac{55 - \frac{225}{5}}{4}} = 2.5$$
$$t_n = \frac{3\sqrt{5}}{2.5} = 2.67$$

از آنجا که t_n محاسبه شده کوچکتر از عدد بحرانی (۲/۷۷۶) است، تفاوت معنی‌داری بین نتایج دو روز دیده نمی‌شود و نتایج هموگلوبین دستگاه قابل قبول است.

EQA

الف ـ روش تطبیق پاسخ‌ها:

در این روش نمونه‌های کنترلی یکسان (مثلاً جهت اندازه‌گیری هموگلوبین) به تمامی آزمایشگاه‌ها فرستاده شده و پاسخ‌های آنها دریافت می‌گردد. سپس میانگین ($\bar{x}$) و انحراف معیار (SD) این پاسخ‌ها تعیین می‌شود. در مرحله بعد، آن دسته از نتایجی که در خارج از محدودهٔ ±2SD باشند، حذف شده و از مابقی نتایج میانگین سنجیده یا وزین[1] ($\bar{x}_g$) و انحراف معیار سنجیده[2] (SD-g) بدست آمده و شاخص انحراف از استاندارد یا SDI[3] از رابطهٔ زیر محاسبه می‌گردد:

$$SDI=\frac{\text{میانگین سنجیده - جواب آزمایشگاه}}{\text{SD سنجیده}}=\frac{X-\bar{X}g}{SDg}$$

چنان‌چه میزان SDI<0.5 باشد، نمره آزمایشگاه عالی است ولی اگر SDI بین 0.5-1 باشد، پاسخ‌ها رضایت‌بخش، اگر بین ۲-۱ باشد، هنوز قابل قبول و چنان‌چه بیش از ۲ باشد، غیرقابل قبول بوده و باید کالیبراسیون آنالیزر بررسی شود. در حالت SDI>3 یک نقص جدی وجود داشته و باید علت آن مشخص شود.

ب ـ روش ارزش اختصاص داده شده:

در این روش ابتدا میزان واقعی پارامترهای خون کنترل با روش‌ها، مواد و سل‌کانتر مرجع تعیین می‌گردد. سپس این نمونهٔ کنترلی به آزمایشگاه‌های شرکت‌کننده فرستاده شده و پاسخ‌های آنها دریافت می‌گردد. این پاسخ‌ها را می‌توان با میزان انحراف معیار از میانگین اختصاص داده شده قضاوت نمود. چنانچه نتایج آزمایشگاه‌ها کوچک‌تر از 1SD باشد، پاسخ‌ها عالی محسوب می‌شوند. نتایج بین 1SD-2SD نیز رضایت‌بخش هستند، اما اگر نتایج آزمایشگاه‌ها بین 2SD-3SD باشند، پاسخ‌ها دارای نقص بوده و نیاز به دقت دارند و چنانچه نتایج بیشتر از 3SD باشند، پاسخ‌ها غیرقابل قبول بوده و علت امر می‌بایست بررسی شود.

ز) ارزیابی صحت یک روش یا دستگاه از طریق مقایسه آن با یک روش مرجع:

تمامی روش‌هایی که تاکنون بحث شدند، دقت و تکرارپذیری یک سل‌کانتر را مورد ارزیابی قرار داده و حتی بروز خطاهای مختلف سیستمیک یا رندوم را نیز شناسایی و پیش‌بینی می‌کردند ولی صحت نتایج را تا زمانی که پاسخ‌ها در محدوده پاسخ‌های خون کنترل قرار داشته و نقض قوانین وستگارد نیاز به انجام یک کالیبراسیون را اعلام نکرده باشند، مورد ارزیابی قرار نمی‌دادند. از طرفی دیگر، در بررسی موارد فوق اغلب از نمونه خون بیمار یا خون کنترل استفاده می‌شد که دامنه تغییرات بالایی داشته و مثلاً Hb نمونه از مقدار 145g/l تا 155g/l در محدوده قابل قبول قرار می‌گرفت حال آنکه عدد واقعی و صحیح همواره می‌بایست یک عدد واحد مثل 140g/l باشد. اینجا است که تفاوت یک خون کنترل با یک کالیبراتور مشخص می‌شود، در واقع محدوده پاسخ‌های قابل قبول یک کالیبراتور بسیار کم بوده و SD± آن حداقل مقدار ممکن می‌باشد (مثل Hb:140±2g/l) ولی در خون کنترل این محدوده بسیار بزرگتر بوده (مثل Hb:140±10g/l) و لذا با احتمال کمتری می‌تواند صحت واقعی یک پاسخ را مشخص سازد. به‌هرحال در بررسی دقت و تکرارپذیری یک دستگاه، مشاهده خطاها، Trendها و Shiftها ما را به این شک می‌اندازد که آیا دستگاه نیاز به کالیبراسیون دارد یا نه؟

در اولین اقدام می‌توان یک نمونه خون کالیبراتور را به دستگاه داده و به‌عنوان مثال نتیجه Hb دستگاه را با جواب بروشور کالیبراتور مقایسه نمود که در اینجا برخلاف خون کنترل محدوده پاسخ قابل قبول بسیار پایین بوده و لذا صحت دستگاه یا اختلاف بین پاسخ مشاهده شده با مقدار واقعی دستگاه مشخص می‌شود که به آن بایاز دستگاه گفته می‌شود.

در روش دوم نمونه خون ۱۰ نفر از مراجعین نرمال را همزمان به دو دستگاه مختلف داده و آنها را با یکدیگر مقایسه می‌کنیم ولی با این شرط که از کالیبره بودن دستگاه دوم مطمعن باشیم و صحت کاری آن توسط یک شرکت یا موسسه معتبر تأیید شده باشد. در مرحله بعد نتایج را با یکی از چند روش زیر مقایسه و تحلیل می‌کنیم:

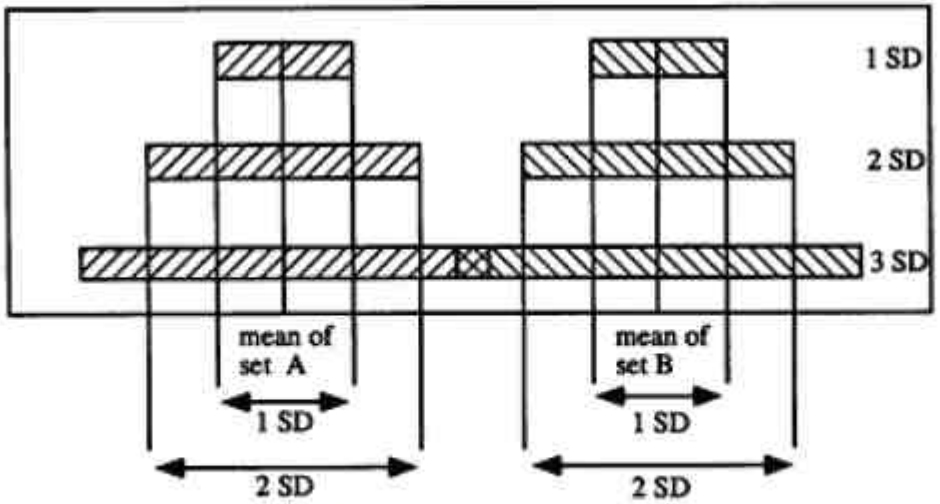
۱- **مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها با روش T-test (روش Gaussian یا t-student):**

۲- **روش F-Ratio test**

۳- **روش Chi-Squared (X^2) test یا مجذور کا.**

۱) اختلاف بین میانگین‌ها:

ساده‌ترین روش جهت ارزیابی دو مجموعه از داده‌ها از نظر همخوانی و یا عدم همخوانی؛ محاسبهٔ میانگین و انحراف معیار آنهاست که اگر دامنه‌های X±SD آنها روی هم قرار نگیرد و بین آنها همپوشانی وجود نداشته باشد، این دو مجموعه دارای اختلاف معنی‌دار خواهند بود و لذا دستگاه کالیبره نمی‌باشد. نکته دیگر این‌که، چنان‌چه دو مجموعه با هم تفاوت داشته باشند، میزان اختلاف آنها بستگی به آن دارد که در ±3SD از هم جدا باشند (با احتمال ۹۹/۷٪)، یا در ±2SD (با احتمال ۹۵٪) و یا ±1SD (با احتمال ۶۸٪) که در کنترل کیفی هماتولوژی اغلب از احتمال ۹۵٪ و محدوده ±2SD استفاده می‌شود.



شکل ۲۵-۱۳: انحراف دو سری از داده‌ها که در دامنه 3SD با همدیگر همپوشانی داشته ولی شامل دامنه‌های 2SD و 1SD نمی‌شود.

همان‌طوری‌که اشاره شد، روش مطمئن برای اینکه تفاوت دو مجموعه از نظر معنی‌دار بودن با همدیگر مقایسه گردد، استفاده از خطای استاندارد اختلاف بین میانگین‌ها (SEdiff)[1] است. در این روش اختلاف بین دو مجموعه وقتی اهمیت دارد که اختلاف میانگین این دو مجموعه از یکدیگر بیشتر از SEdiff باشد که SEdiff از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$\text{Standard error of difference in means (SE diff)} = \sqrt{\frac{(SD_1)^2}{n_1} + \frac{(SD_2)^2}{n_2}}$$

در اینجا SD1 و SD2 به ترتیب انحراف معیار مجموعه‌های ۱و ۲ بوده و n1 و n2 نیز تعداد داده‌های مجموعه‌های ۱ و ۲ می‌باشند. مورداستفاده فرمول SEdiff در آزمون آماری t است که در مواردی که بخواهیم i) صحت یک روش جدید را با روش مرجع مقایسه کنیم یا ii) کالیبراسیون سل‌کانتر خود را با خون تازه در دو روز متوالی بررسی کنیم و یا آن‌که iii) صحت پاسخ‌های یک سل‌کانتر را با سل‌کانتر دیگری که کالیبره است، ارزیابی کنیم، از روش آماری t-test یا t- استیودنت استفاده می‌شود. آزمون آماری t به دو روش محاسبه می‌شود:

الف ـ اختلاف بین میانگین‌ها

ب ـ اختلاف بین یک جفت از نتایج

۱-۲) محاسبهٔ t-test با به‌کارگیری اختلاف بین میانگین‌ها:

برای درک این روش مثال زیر را در نظر بگیرید که در آن شمارش WBC از ۲ سل‌کانتر (کالیبره و مجهول) برای ۱۰ نمونه یکسان نشان داده شده است. در این روش ابتدا از فرمول SEdiff استفاده شده و سپس SEdiff وارد فرمول t=(X2-X1)/SE diff می‌شود. سپس عدد t حاصل شده را بر اساس درجه آزادی df=n-1 به جدول T برده و با ضریب اطمینان ۹۵٪ یا ضریب خطای ۰/۰۵ (ستون هفتم) مورد بررسی قرار می‌دهیم که عدد ۲/۲۶۲حاصل می‌شود.

حال با توجه به اینکه عدد t محاسبه شده ۱/۷۲۸ بوده و از عدد بحرانی جدول t، یعنی ۲/۲۶۲ کمتر می‌باشد، پس تفاوت آماری معنی‌داری بین پاسخ شمارش‌های WBC این دو سل‌کانتر وجود نداشته و دستگاه ما از کالیبراسیون خارج نشده است، ولی اگر عدد محاسبه شده از ۲/۲۶۲ بالاتر بود، سل‌کانتر نیاز به کالیبراسیون داشت. مورد دیگر این‌که، چون عدد ۱/۷۸ بین ضریب اطمینان‌های ۹۰-۸۰٪ قرار دارد، پس ۲۰-۱۰٪ این احتمال وجود دارد که اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های این دو سل‌کانتر وجود نداشته باشد.

	COUNTER I	COUNTER II
1	12.0	11.5
2	12.5	12.0
3	13.0	12.0
4	13.0	11.8
5	11.5	11.0
6	12.0	11.4
7	12.8	12.0
8	11.6	10.6
9	10.0	11.5
10	12.0	11.0
Mean ($\bar{x}$)	12.04	11.48
Variance (s^2)	0.81	0.24
SD (= $\sqrt{s^2}$)	0.9	0.49

Difference between means $(\bar{x}_I - \bar{x}_{II}) = 12.04 - 11.48 = 0.56$

$$\text{SE diff} = \sqrt{\frac{(SD_I)^2}{n} + \frac{(SD_{II})^2}{n}} = \sqrt{\frac{(0.9)^2}{10} + \frac{(0.49)^2}{10}}$$

$$= \sqrt{0.081 + 0.024} = 0.324$$

Therefore

$$t = \frac{x_{II} - x_{II}}{\text{SE diff}} = \frac{0.56}{0.324} = 1.728$$

شکل ۲۶-۱۳: شمارش ۱۰ نمونه WBC از یک خون تازه واحد که در دو سل کانتر کالیبره و سل‌کانتر مجهول انجام شده است.

جدول ۳-۱۷: مقادیر بحرانی آزمون t-student در جدول t

t Table	Confidence Level										
	0%	50%	60%	70%	80%	90%	95%	98%	99%	99.8%	99.9%
cum. prob	$t_{.50}$	$t_{.75}$	$t_{.80}$	$t_{.85}$	$t_{.90}$	$t_{.95}$	$t_{.975}$	$t_{.99}$	$t_{.995}$	$t_{.999}$	$t_{.9995}$
two-tails	**1.00**	**0.50**	**0.40**	**0.30**	**0.20**	**0.10**	**0.05**	**0.02**	**0.01**	**0.002**	**0.001**
df											
1	0.000	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.71	31.82	63.66	318.31	636.62
2	0.000	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.327	31.599
3	0.000	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.215	12.924
4	0.000	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173	8.610
5	0.000	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.893	6.869
6	0.000	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208	5.959
7	0.000	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785	5.408
8	0.000	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501	5.041
9	0.000	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297	4.781
10	0.000	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144	4.587
11	0.000	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025	4.437
12	0.000	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930	4.318
13	0.000	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852	4.221
14	0.000	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787	4.140
15	0.000	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733	4.073
16	0.000	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686	4.015
17	0.000	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646	3.965
18	0.000	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.610	3.922
19	0.000	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579	3.883
20	0.000	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552	3.850
21	0.000	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527	3.819
22	0.000	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505	3.792
23	0.000	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485	3.768
24	0.000	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467	3.745
25	0.000	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450	3.725
26	0.000	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435	3.707
27	0.000	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421	3.690
28	0.000	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408	3.674
29	0.000	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396	3.659
30	0.000	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385	3.646
40	0.000	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307	3.551
60	0.000	0.679	0.848	1.045	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.232	3.460
80	0.000	0.678	0.846	1.043	1.292	1.664	1.990	2.374	2.639	3.195	3.416
100	0.000	0.677	0.845	1.042	1.290	1.660	1.984	2.364	2.626	3.174	3.390
1000	0.000	0.675	0.842	1.037	1.282	1.646	1.962	2.330	2.581	3.098	3.300
z	0.000	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090	3.291

۲-۲) محاسبهٔ آزمون آماری t با به‌کارگیری اختلاف یک جفت نتایج:

در این روش می‌توان یکی از دو فرمول زیر را به‌کار برد:

A) با استفاده از روش واریانس و B) با استفاده از روش انحراف معیار:

$$\text{A} \quad t=\frac{\bar{d}}{\sqrt{\frac{(SD)^2}{n}}} \qquad \bar{d}=\frac{\sum d}{n} \qquad (SD)^2=\frac{\sum(d-\bar{d})}{n-1}$$

$$\text{B} \quad t=\frac{\bar{d}}{SD\sqrt{n}} \qquad t=\frac{\bar{d}}{SD}\sqrt{n}$$

با توجه به مثال صفحه قبل، ابتدا میانگین اختلاف دو دستگاه را محاسبه و سپس $\sum(d-\bar{d})^2$ ، SD^2 و SE diff را به‌دست می‌آوریم. در نهایت نیز عدد t به‌دست آمده را با عدد بحرانی که از جدول t و با درجهٔ آزادی (n-1) بدست می‌آید، مقایسه می‌نماییم که اگر عدد t کوچک‌تر از عدد بحرانی باشد با اطمینان ۹۵٪ می‌توان گفت که اختلاف معنی‌داری بین دو روش وجود ندارد و بالعکس.

	COUNTER I	COUNTER II	d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$
1	12.0	11.5	0.5	-.36	.1296
2	12.5	12.0	0.5	-.36	.1296
3	13.0	12.0	1.0	.14	.0196
4	13.0	11.8	1.2	.34	.1156
5	11.5	11.0	0.5	-.36	.1296
6	12.0	11.4	0.6	-.26	.0676
7	12.8	12.0	0.8	-.06	.0036
8	11.6	10.6	1.0	.14	.0196
9	10.0	11.5	1.5	.64	.4096
10	12.0	11.0	1.0	.14	.0196
Mean ($\bar{x}$)	12.04	11.48	$\bar{d}$ 0.86	$\sum(d - \bar{d})^2$	1.044
Variance (s^2)	0.81	0.24			
SD (= $\sqrt{s^2}$)	0.9	0.49			

$$\text{Variance } s^2 = \frac{1.044}{9} = 0.116$$

$$\text{SE diff} = \sqrt{\frac{s^2}{n}} = 0.1077$$

$$t = \frac{\bar{d}}{\text{SE diff}} = \frac{0.86}{0.1077} = 7.985$$

حال با توجه به این‌که عدد t محاسبه شده ۷/۹۸۵ بوده و از عدد بحرانی جدول t، یعنی ۲/۲۶۲ بیشتر می‌باشد، پس تفاوت آماری معنی‌داری بین پاسخ شمارش‌های WBC این دو سل‌کانتر وجود داشته و دستگاه ما از کالیبراسیون خارج شده و نیاز به کالیبراسیون دارد. مورد دیگر این‌که، چون عدد ۷/۹۸ بالاتر از ضریب اطمینان‌های ۹۹/۹٪ قرار دارد، پس ۰/۱٪ این احتمال وجود دارد که اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های این دو سل‌کانتر وجود نداشته باشد.

۳) مقایسه پاسخ‌های آنالیزر با یک آنالیزر کالیبره شده (آزمون F):

چنان‌چه از کالیبراسیون یک سل‌کانتر اطمینان داشته باشیم، می‌توانیم با استفاده از پاسخ‌های آن، کالیبراسیون دستگاه‌های دیگر را ارزیابی نماییم. در این موارد، برای مقایسه سل‌کانتر مجهول با روش مرجع اغلب از نسبت F استفاده می‌شود که واریانس دو روش را با هم مقایسه می‌کند. حال اگر اختلاف آنها از لحاظ آماری معنی‌دار باشد،کالیبراسیون و دقت سل‌کانتر جدید قابل قبول نخواهد بود. همان‌طوری‌که اشاره شد، آزمون F، واریانس دو سنجش را با هم مقایسه می‌کند و این نسبت نباید کمتر از ۱ باشد. بنابراین مجموعه‌ای را که واریانس بزرگ‌تری دارد در صورت کسر قرار می‌دهیم. از آنجایی هم که واریانس برابر SD^2 است، بنابراین نسبت F برابر خواهد بود با:

$$F=\frac{\text{واریانس مجموعه A}}{\text{واریانس مجموعه B}}=\frac{V_1}{V_2}=\frac{(SD_1)^2}{(SD_2)^2}$$

نتایج حاصل از نسبت F با عدد بحرانی موجود در ضریب اطمینان ۹۵٪ (P=0.05) در جدول F (با درجه آزادی n-1) مقایسه می‌گردد. البته نتایج حاصل از نسبت F را می‌توان با عدد بحرانی موجود در ضریب اطمینان ۹۹٪ (P=0.01) در جدول F (با درجه آزادی n-1) نیز مقایسه نمود. در صورتی‌که نسبت F کوچک‌تر از عدد بحرانی باشد، اختلاف واریانس‌ها معنی‌دار نبوده و سل‌کانتر دوم کالیبره می‌باشد، ولی چنان‌چه نسبت F بزرگ‌تر از عدد بحرانی موجود در جدول F باشد، اختلاف واریانس‌ها معنی‌دار و سل‌کانتر غیرکالیبره می‌باشد که در این حالت نیاز به کالیبراسیون جدید دارد. از آنجایی که واریانس برابر SD^2 می‌باشد، بررسی نسبت F، میزان دقت یا خطای اتفاقی را نیز نشان می‌دهد، درحالیکه در روش t-test وجود خطای سیستماتیک یا صحت روش را با مقایسه معدل آنها بررسی می‌کنند. برای مشاهده عدد بحرانی در نمودار F که به F cutt-off value نیز معروف است، محل تلاقی دو ستون افقی و عمودی را در محل df پیدا کرده و عدد مربوطه را با نسبت F محاسبه شده مقایسه می‌کنند. اگر df دقیق وجود نداشت، می‌توان نزدیک‌ترین df به آن را انتخاب نمود.

	COUNTER I	COUNTER II
1	12.0	11.5
2	12.5	12.0
3	13.0	12.0
4	13.0	11.8
5	11.5	11.0
6	12.0	11.4
7	12.8	12.0
8	11.6	10.6
9	10.0	11.5
10	12.0	11.0
Mean ($\bar{x}$)	12.04	11.48
Variance (s^2)	0.81	0.24
SD ($= \sqrt{s^2}$)	0.9	0.49

Mean ($\bar{x}$)	12.04	11.48
$\sum(x - \bar{x})^2$	7.28	2.156
Variance (s^2) $= \frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}$	0.81	0.24

$$\text{F-ratio} = \left[\frac{s^2 \text{ Set A}}{s^2 \text{ Set B}}\right] = 3.37$$

عدد بحرانی براساس جدول F با درجه آزادی ۹ به احتمال ۹۵٪ برابر ۳/۱۸ خواهد بود و از آنجا که این عدد کوچک‌تر از ۳/۳۷ است بنابراین اختلاف پاسخ‌های دو دستگاه معنی‌دار بوده و دستگاه می‌بایست کالیبره شود.

جدول ۴-۱۳: مقادیر بحرانی نسبت F برای ضریب اطمینان ۹۵٪ ولی با آلفای بیشتر

Table 2A: F-ratio values at a probability level of P=0.05 for selected degrees of freedom

ν_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.64
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.00	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.40	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.45	1.39	1.32	1.22	1.00

روش کالیبراسیون و تعیین CF

بررسی دقت یا تکرارپذیری سل‌کانتر:

به‌منظور ارزیابی دقت عملکرد آنالیزر، سه نمونهٔ خون تازه حاوی EDTA را انتخاب کرده و هر کدام را سه بار به دستگاه می‌دهیم. سپس برای هر یک از پارامترهای موردنظر میزان انحراف معیار (SD) و ضریب تغییرات (CV) را از طریق روابط زیر محاسبه می‌نماییم:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} \qquad CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

در صورتی‌که ضریب تغییرات (CV) پارامترها در محدوده‌های ذکر شده در جدول ۶-۱۳ باشد، تکرارپذیری دستگاه قابل قبول خواهد بود و چنان‌چه ضریب تغییرات بالاتر از مقادیر یاد شده باشد، پیش از اقدام به کالیبراسیون، نخست باید مشکل تکرارپذیری دستگاه را برطرف نمود که این کار از طریق اعمالی نظیر شستشوی مکرر آنالیزر، بررسی فنی‌دستگاه و... انجام می‌گیرد.

جدول ۶-۱۳. مقادیر قابل قبول ضریب تغییرات (CV) برای پارامترهای ارائه شده توسط سل‌کانترهای همانولوژی

پارامتر	دامنه
RBC	<2%
MCV	<2%
HCT	<3%
Hb	<2%
WBC	<3%
PLT	<5%

کالیبراسیون با استفاده از خون کامل تازه:

در صورتی که کالیبراتور تجارتی و یا ساخته شده در آزمایشگاه، در دسترس نباشد و یا آن‌که در اعتبار آنها شکی وجود داشته باشد، می‌توان از خون کامل و تازه جهت کالیبراسیون استفاده نمود. بدین منظور ۱۰ و یا ترجیحاً ۲۰ نمونهٔ خون تازه جمع‌آوری شده بر روی ضدانعقاد EDTA که پارامترهای آنها در محدودهٔ طبیعی باشد (مثلاً Hb>10 g/dL و ۵۵٪ >HCT> ۳۵/۵٪) را انتخاب می‌نماییم. سپس هر یک از پارامترهای این نمونه‌ها را سه بار با روش‌های مرجع و به ترتیب زیر اندازه‌گیری کرده و میانگین آنها را به‌دست می‌آوریم.

- هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین (HiCN) و با استفاده از یک روش استاندارد تضمین شده و فتومتر تعیین می‌شود.

- هماتوکریت نمونه‌ها به روش میکروهماتوکریت اندازه‌گیری می‌شود. در صورت تمایل می‌توان هماتوکریت را اصلاح نمود که با کاستن میانگین پلاسمای بدام افتاده از آن (۳-۱/۵٪) که در هماتوکریت افراد طبیعی یافت می‌شود، این کار صورت می‌گیرد. به عنوان مثال چنان‌چه برای هماتوکریت ۰/۴۴ فاکتور تصحیحی معادل ۳٪ استفاده شود، هماتوکریت تصحیح شده برابر ۰/۴۲۷=۰/۰۱۳-۰/۴۴خواهد شد. به‌هر حال بنابر پیشنهاد ICSH ، نیازی به تصحیح پلاسمای بدام افتاده بدین منظور نمی‌باشد.

- شمارش گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید با استفاده از سل‌کانترهای تک کاناله (مثل کولتر مدلZ) انجام می‌گیرد. در مورد RBC یک رقت ۱۵۰/۰۰۰ به‌صورت تک مرحله‌ای تهیه می‌شود (۲ میکرولیتر خون و۱۰۰ میلی‌لیتر ایزوتون). برای شمارش گلبول‌های سفید نیز رقت ۱ به ۵۰۰۰ (۲۰ میکرولیتر خون با ۱۰ میلی‌لیتر معرف لیزکننده) تهیه می‌شود. سپس رقت‌های تهیه شده برای RBC و WBC را به سل‌کانتر تک کاناله داده و شمارش این سلول‌ها را به‌دست می‌آوریم. پس از بدست آوردن مقادیر RBC، Hb و HCT ، می‌توانیم اندیس‌های اریتروسیتی را نیز محاسبه نماییم.

لازم به ذکر است، سل‌کانترها از نظر پارامترهای قابل کالیبراسیون توسط کاربر (نه شرکت)، متفاوت از یکدیگر هستند، به‌طوری‌که در برخی از این دستگاه‌ها پارامترهای متعدی مثل MCV، Hb، RBC، PLT، WBC و حتی MPV قابل کالیبره هستند ولی در برخی دیگر (نظیر مدل‌های K دستگاه‌های سیسمکس) تنها دو پارامتر HCT و Hb می‌توانند توسط کاربر کالیبره شوند و کالیبراسیون دیگر پارامترها تنها از طریق کارخانه سازنده یا شرکت پشتیبان قابل انجام می‌باشد.

جهت انجام کالیبراسیون به روش دستی نیاز به محاسبهٔ ضریب یا فاکتور کالیبراسیون (فاکتور تصحیح) داریم. فاکتور کالیبراسیون عددی است که به‌صورت درصد محاسبه می‌شود و در حقیقت ضریبی است که به مقادیر اندازه‌گیری شده داده می‌شود تا آنها را به مقادیر واقعی نزدیک نماید. این فاکتور در روش اتوماتیک کالیبراسیون توسط خود دستگاه محاسبه شده و در کالیبراسیون اعمال می‌گردد. چندین روش جهت محاسبه فاکتور کالیبراسیون (فاکتور تصحیح) وجود دارد که بسته به دستورالعمل کالیبراسیون دستگاه می‌توان یکی از آنها را به‌کار گرفت.

تعداد ۲۰-۱۰ نمونه خون تازه و نرمال را انتخاب کرده و هر کدام را سه بار به سل‌کانتر مرجع (یا با روش مرجع) و سه بار به سل‌کانتر غیرکالیبره می‌دهیم. سپس از هر سه بار تکرار یک میانگین گرفته و نتایج را به فرمول زیر می‌بریم و برای هر ۲۰-۱۰ نمونه، یک CF به‌دست می‌آوریم (CF1, CF2, ...)

برخی دستگاه‌ها پس از آنکه میانگین ۲۰-۱۰ نمونه از هر یک از پارامترها به روش مرجع و نیز اندازه‌گیری توسط سل‌کانتر کالیبره شونده بدست آمد، با استفاده از رابطهٔ زیر فاکتور تصحیح برای هر یک از پارامترها محاسبه می‌گردد:

$$\text{فاکتور تصحیح (CF)} = \frac{\text{میانگین سه تکرار دستگاه مرجع یا دستی} - \text{میانگین سه تکرار دستگاه غیرکالیبره}}{\text{میانگین سه تکرار دستگاه غیرکالیبره}} \times ۱۰۰$$

یک فاکتور تصحیح مثبت نشان می‌دهد که نتایج بدست آمده از سل‌کانتر پایین‌تر از روش‌های دستی یا سل‌کانتر مرجع است و بالعکس. برای هر پارامتر از ۱۰ یا ۲۰ نمونه خون، ۱۰ تا ۲۰ فاکتور CF بدست می‌آید که میانگین CFها برای هر پارامتر حساب شده و جهت اصلاح دستگاه به‌کار گرفته می‌شود.

$$\text{میانگین فاکتور تصحیح} = (CF1+CF2+CF3 \ldots +CF20)/20$$

میانگین CFها (CFm) می‌تواند عددی مثبت، منفی و یا صفر باشد که اگر مثبت باشد، به مفهوم آن است که دستگاه پاسخ‌ها را به اندازه CFm پایین‌تر از روش مرجع بدست می‌آورد و بالعکس. چنانچه این میانگین صفر باشد دستگاه نیازی به کالیبراسیون ندارد. لازم به ذکر است در غالب سل‌کانترهای نو، CF اولیه‌ای که به هر یک از پارامترها اختصاص داده می‌شود، رقم ۱۰۰٪ است که این عدد می‌تواند در محدودهٔ ۱۲۵٪-۷۵٪ توسط کاربر دستگاه تغییر پیدا کند.

مثال: برای کالیبراسیون هماتوکریت در یک سل‌کانتر مجهول، ۱۰ نمونه خون را با دو سل‌کانتر مرجع و سل‌کانتر مجهول انجام داده و نتایج آنها در جدول زیر نشان دادیم. آیا دستگاه نیاز به کالیبراسیون دارد یا خیر؟ میزان CF دستگاه چه مقدار می‌بایست تغییر کند؟

جدول ۷-۱۳: نتایج هماتوکریت ۱۰ نمونه که هرکدام سه بار با دو سل‌کانتر مرجع و سل‌کانتر مجهول انجام شده و سپس میانگین و CF هر نمونه نیز مشخص شده است.

نمونه	مرجع ۱	مرجع ۲	مرجع ۳	میانگین مرجع	دستگاه ۱	دستگاه ۲	دستگاه ۳	میانگین دستگاه	CF
1	48	46	47	47	47	45	46	46	2.1
2	51	49	50	50	50	48	49	49	2
3	36	38	36	36.6	34	33	33	33	10.9
4	42	42	41	41.6	38	39	40	39	6.6
5	33	31	33	32.3	34	33	33	33.3	-3
6	39	39	38	38.6	38	36	35	36.3	6.3
7	45	47	44	45.3	43	42	42	42.3	7
8	52	53	54	53	51	50	48	49.6	6.8
9	35	37	36	36	35	33	33	33.6	7.1
10	44	46	47	45.6	44	40	41	41.6	9.6

با محاسبه CFm عدد ۵/۵۴+ حاصل می‌شود که علامت مثبت این عدد به مفهوم آن است که سل کانتر مجهول میزان هماتوکریت نمونه‌ها را ۵/۵٪ کمتر از روش مرجع گزارش می‌کند و باید هماتوکریت بیمار را ۵/۵۴٪ بالا برد یا این‌که نتایج نهایی را در ۱/۰۵۵۴ ضرب نمود. برای این منظور یک نمونه اختیاری از بیمار را به سل‌کانتر داده و سپس نتیجه هماتوکریت آن را در ۱/۰۵۵ ضرب می‌کنیم که هماتوکریت واقعی آن مشخص می‌شود. در ادامه هماتوکریت دستگاه را بر روی عدد به‌دست آمده تنظیم می‌کنیم. به‌عنوان مثال اگر ٪۴۱ =HCT باشد، HCT اصلاح شده ۴۳/۲۵٪ خواهد بود.

راه حل دوم تغییر CF دستگاه با CFm جدید است که در منوی کالیبراسیون دستی سل‌کانتر انجام می‌گیرد. به‌عنوان مثال اگر CF اولیه دستگاهی ۱۰۰/۵٪ باشد، برای اصلاح فوق می‌بایست آن را به ۱۰۶/۴= ۵/۵۴ + ۱۰۰/۵ افزایش بدهیم.

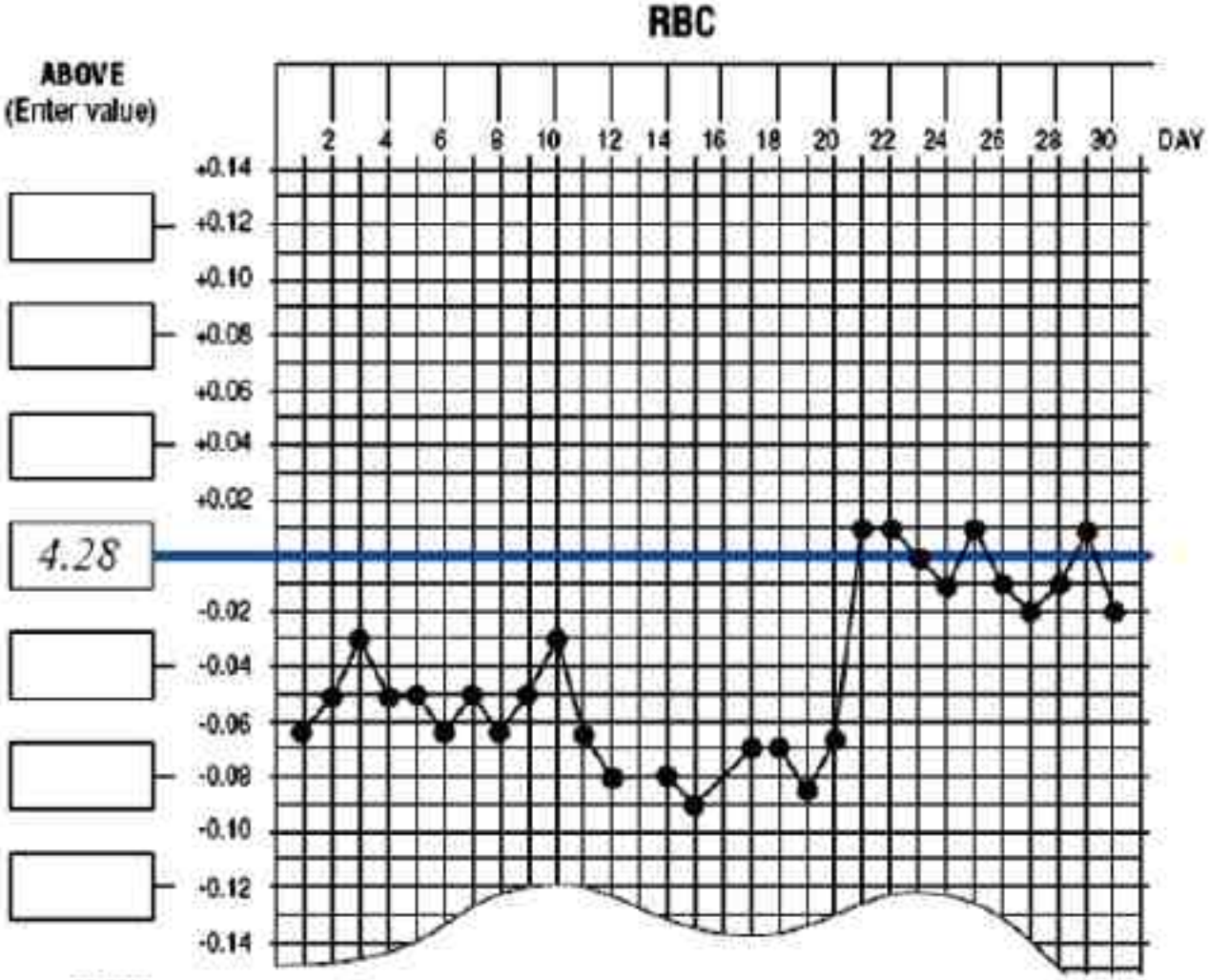
علاوه بر روشی که بدان اشاره شد (محاسبه فاکتور تصحیح)، می‌توان فاکتور جدید کالیبراسیون را به روش زیر نیز محاسبه نمود که در واقع با جایگزینی آن به جای فاکتور قبلی کالیبراسیون، به تنظیم دستگاه پرداخت. همانند روش قبلی پس از آن‌که فاکتور CF مثلاً برای ۱۰ مورد هماتوکریت محاسبه شد، می‌توان پس از حذف بالاترین و پایین‌ترین CF، از باقیمانده CFها میانگین جدید گرفت که این عدد با نماد A در فرمول پایین مشخص شده است. در این فرمول حرف B جهت نشان دادن ضریب کالیبراسیون قبلی دستگاه و حرف C نمایانگر ضریب کالیبراسیون جدید دستگاه است.

$$C=B\times(1+\frac{A}{100})$$

در مثال فوق ابتدا CF3=۱۰/۹۰ (بالاترین) و CF5= -۳ (پایین‌ترین) را حذف و میانگین ۸ مورد باقی‌مانده را به‌دست می‌آوریم $CFm_2(A)$= ۵/۹۸ که با اعمال آن در فرمول فوق باز هم عدد ۱۰۶/۵ حاصل می‌شود.

روند کالیبراسیون آنالیزرها به روش اتوماتیک:

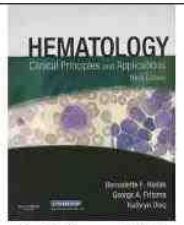
در روش اتوماتیک، خود سل‌کانتر اقدام به محاسبه و اعمال فاکتور جدید کالیبراسیون می‌کند، از این رو انجام آن ساده‌تر از روش دستی می‌باشد. برای انجام کالیبراسیون نخست از منوی کالیبراسیون دستگاه، برنامهٔ Auto Calibration (کالیبراسیون اتوماتیک) را انتخاب کنید. در این مرحله معمولاً پنجره‌ای ظاهر می‌شود که حاوی مکان‌هایی برای ثبت اطلاعاتی نظیر تاریخ، شماره سریال کالیبراتور، پارامترهای قابل کالیبراسیون، مقادیر مرجع هر یک از



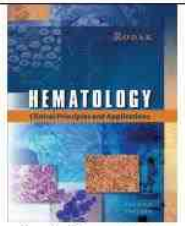
شکل ۳۱-۱۳: کالیبراسیون سل‌کانتر از روز بیستم باعث ایجاد یک شیفت به جایگاه واقعی شمارش RBC شده است.

پارامتره نور را بسته به نوع سل اپراتور، روند کالیبراس

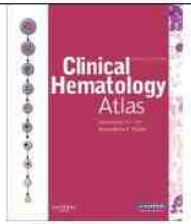
چنان‌چه سخ‌ها مشاهده شود. این به دلیل وجود یک shift بعد، شمارش RBC د



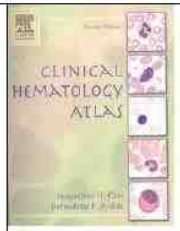
هماتولوژی روداک ۲۰۰۷



هماتولوژی روداک ۲۰۰۲



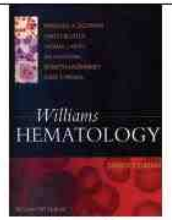
اطلس هماتولوژی روداک



اطلس هماتولوژی روداک

اطلس هماتولوژی روداک

برنادت روداک



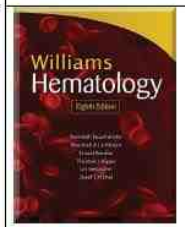
هماتولوژی ویلیامز
چاپ ۲۰۰۶

دکتر ویلیام ویلیامز
مولف اصلی کتاب ویلیامز

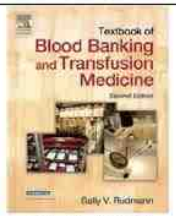
مارشال لیچمن
از مولفین کتاب ویلیامز

ارنست بوتلر
از مولفین کتاب ویلیامز

کنت کوشانسکی
از مولفین کتاب ویلیامز

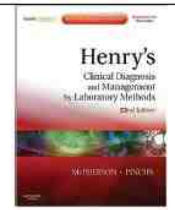


هماتولوژی ویلیامز
چاپ ۲۰۱۰



بانک خون سالی رادمن
چاپ ۲۰۰۵

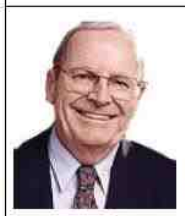
سالی رادمن
مولف کتاب بانک خون



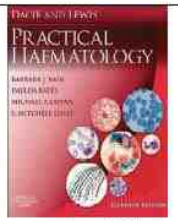
کتاب تشخیص بالینی و مدیریت
روش‌های آزمایشگاهی هنری
چاپ ۲۰۱۱

ریچارد مک فرسون
از مولفین کتاب هنری

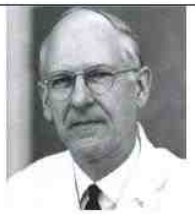
متیو پینکوس
از مولفین کتاب هنری



جان هنری
مولف اصلی کتاب هنری

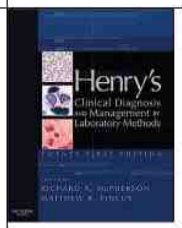


هماتولوژی عملی دیسی
چاپ ۲۰۰۵



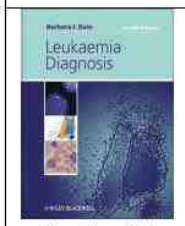
جان دیسی
از مولفین کتاب دیسی

س-ام لوئیس
از مولفین کتاب دیسی



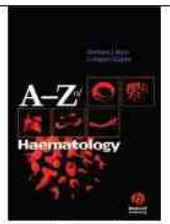
هنری
چاپ ۲۰۰۷

باربارا جی بین
مولف کتاب لوسمی‌ها

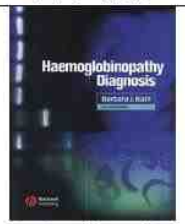


تشخیص لوسمی‌ها
۲۰۱۱

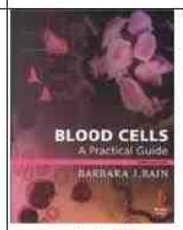
باربارا جی بین
مولف کتاب‌های ردیف



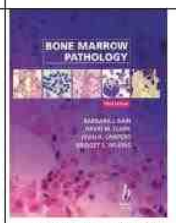
الفبای هماتولوژی
۲۰۰۳



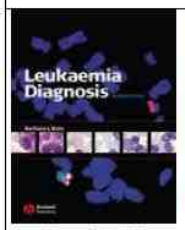
تشخیص هموگلوبینوپاتی‌ها
۲۰۰۶



سلول‌های خونی
۲۰۰۶



پاتولوژی مغزاستخوان
۲۰۰۴



تشخیص لوسمی‌ها
۲۰۰۶