اصول کنترل کیفی وتضمین کیفیت در بخش هورن درآزمایشگاههای تشخیص طبی

دانشگاه علوم پزشکي اراک
آزمایشگاه مرجع



کنترل کیفیت اجزاء سیستم لازم است ولی کافی نیست

ارتقاء کیفیت از طریق ارتقاء مدیریت یک سازمان و نگاه از بالا به کل سیستم محقق می شود

فرق کنترل کیفی
با
تضمین کیفیت؟

کنترل کیفی: استفاده از روش های استاندارد در جهت حصول نتیجه صحیح و دقیق برای ارائه به بیمار مراجعه کننده(اجرای استاندارد های ایزو۱۵۱۸۹)

تضمین کیفیت: طراحی برنامه های اجرایی جهت حصول اطمینان از اجرای درست استانداردها یا اجرای درست کنترل کیفی است

سیستم مدیریت تضمین کیفیت: مجموعه ای از کنترل کیفیت وتضمین کیفیت است

سنجش کیفیت : شامل دو بخش کنترل کیفی داخلی ، کنترل کیفی خارجی و در نهایت ومهمتر از همه ممیزی داخلی وخارجی است

تنوع زیاد ممکن است باعث خطا شود

- بیش از ۲۰۰ نوع آزمایش در این بخش انجام می شود.
- روش های کاری بسیار متنوع هستند. بعضی از آزمون ها به روش الایزا، کمی لومنسانس، الکتروکمی لومینسانس، ایمونوفلورسانس، راپید و غیره قابل انجام هستند. که این موضوع گاهی باعث سردرگمی در انتخاب روش کار و کیت می شود.
- با توجه به قیمت کیت و آزمایش و اهمیت تشخیصی بعضی از آنها، نیازمند کنترل دقیق تر مراحل کار هستیم تا خطاها کاهش یابند.



kit

water

Elisa reader

Staff

storage

washing

Specimen

control

calibrator

?

?

?

?

?

ردیف	عنوان تست مهارتی	حداکثرامتیاز	متیاز کسب شده	توصیه جهت اقدام اصلاحی
A	مبانی کنترل کیفی داخلی ایمونوسرولوژی			
1	منابع خطا رایج در ایمونواسی/ سرولوژی	30		
2	کالیبراسیون و آماده سازی اولیه	10		
3	سرم کنترل دقت و صحت	10		
4	چارت های کنترل کیفی وستگارد	10		
5	دلتا چک تست	10		
6	تست مضاعف (کنترل دقت)	10		
7	توانائی فرد در مستندسازی شاخص ها	15		
8	مهارت درتحلیل شاخصهای آماری عدم دقت وعدم صحت	15		
9	آشنایی با منابع رایج خطاهای سیستماتیک وراندوم	15		
10	میانگین اطلاعات بیمار	5		
B	مهارت های فردی پرسنل فنی			
11	مهارت در کنترل منابع خطا قبل از آنالیز	20		
12	مهارت در آماده سازی کنترلها و معرف ها	20		
13	سطح مهارت در سمپلینگ و پیپتینگ	20		
14	مهارت در نگاه داری ازتجهیزات ایمونواسی	20		
15	مهارت درتهیه رقت سریال و محاسبه تیتر	20		
16	مهارت کاربردکنترل بیماردر تست رایت/ویدال	20		
17	مهارت در کالیبراسیون دستی ابزارحجمی	20		
18	مهارت درمصرف بهینه معرف ها وکنترل ها	20		
19	توانائی تفسیر تستهای سرولوژی	10		
	جمع کل امتیاز	300		

تاریخ آزمون مهارتی	مکان آزمون مهارتی
تائید آزمون گیرنده	تائید مسئول فنی و مدیر آزمایشگاه

کسب 70-60% امتیاز مجموع (معادل 210-180 امتیاز) حدنصاب و معیار قابل قبول (تائید صلاحیت فنی)
کسب امتیاز 80% - 70% (معادل 240-210 امتیاز)معیار خوب(صلاحیت بالا)
کسب امتیاز بالای 80% (بالای 240 امتیاز)معیار صلاحیت فنی عالی

پیشنهاد :

ارزیابی بهتراست هر سه ماه یکبار به طور داخلی توسط ارزیاب داخلی واجد صلاحیت و سالانه یکبار توسط ارزیاب خارجی انجام گیرد
هر پرسنل فنی که دارای حدنصاب کمتر از حد تعیین شده باشد ملزم است با شرکت در کارگاه های آموزشی تئوری وعملی سطح اطلاعات کاربردی خویش را ارتقا بخشیده و با اعلام آمادگی به مسئول فنی و ارزیاب داخلی مورد آزمون مجدد قرار گیرد تا صلاحیت فنی لازم جهت پذیرش مسئولیت در آن واحد را اخذ نماید.

- عواملی که بر کیفیت نتایج آزمایشات بخش تاثیر دارند
- دسته بندی منابع خطا
- Preanalitical
- Analitical
- analitical Post
- چگونه خطا ها را کاهش دهیم
- اساس تست های ایمونولوژیک

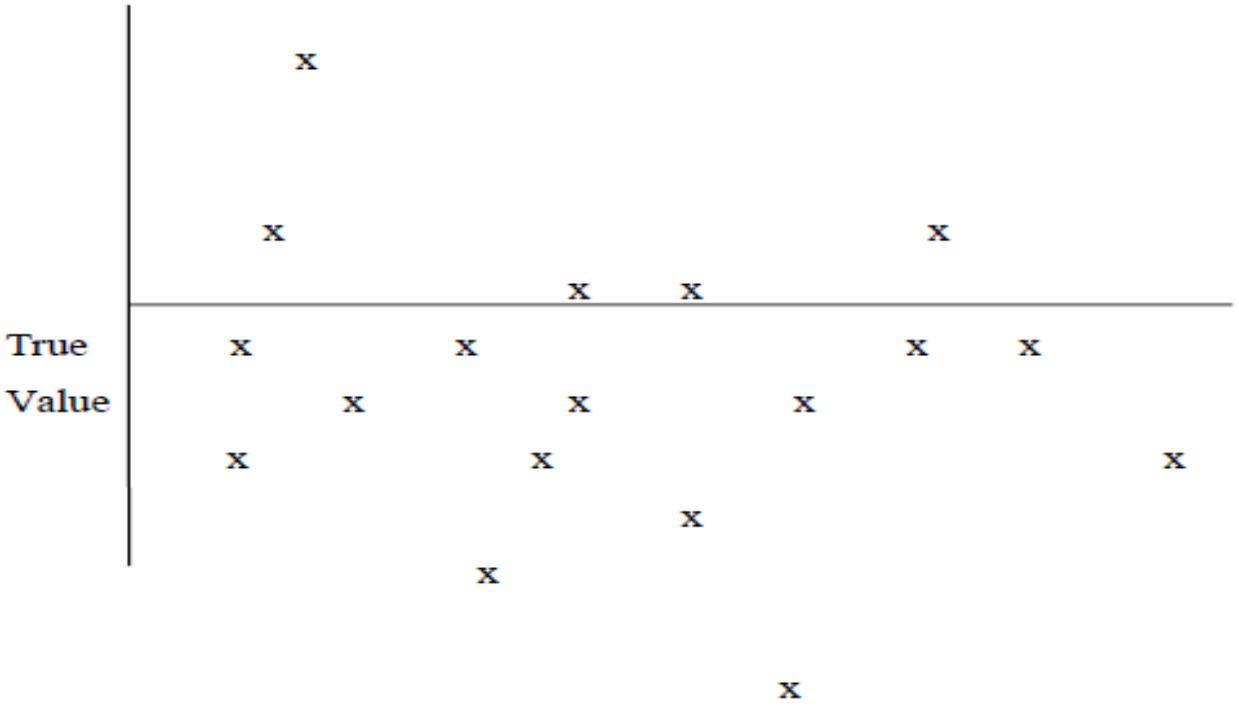
عواملی که روی کیفیت نتایج اثر می گذارند

- زمینه آموزشی اولیه و آموزش های تکمیلی پرسنل
- شرایط اخذ و نگهداری نمونه
- کنترل های مورد استفاده در هر سری کاری
- کیفیت معرف ها
- کیفیت تجهیزات
- ورود نتایج در نرم افزار آزمایشگاه
- تایید نهایی و تفسیر نتایج
- گزارش نهایی

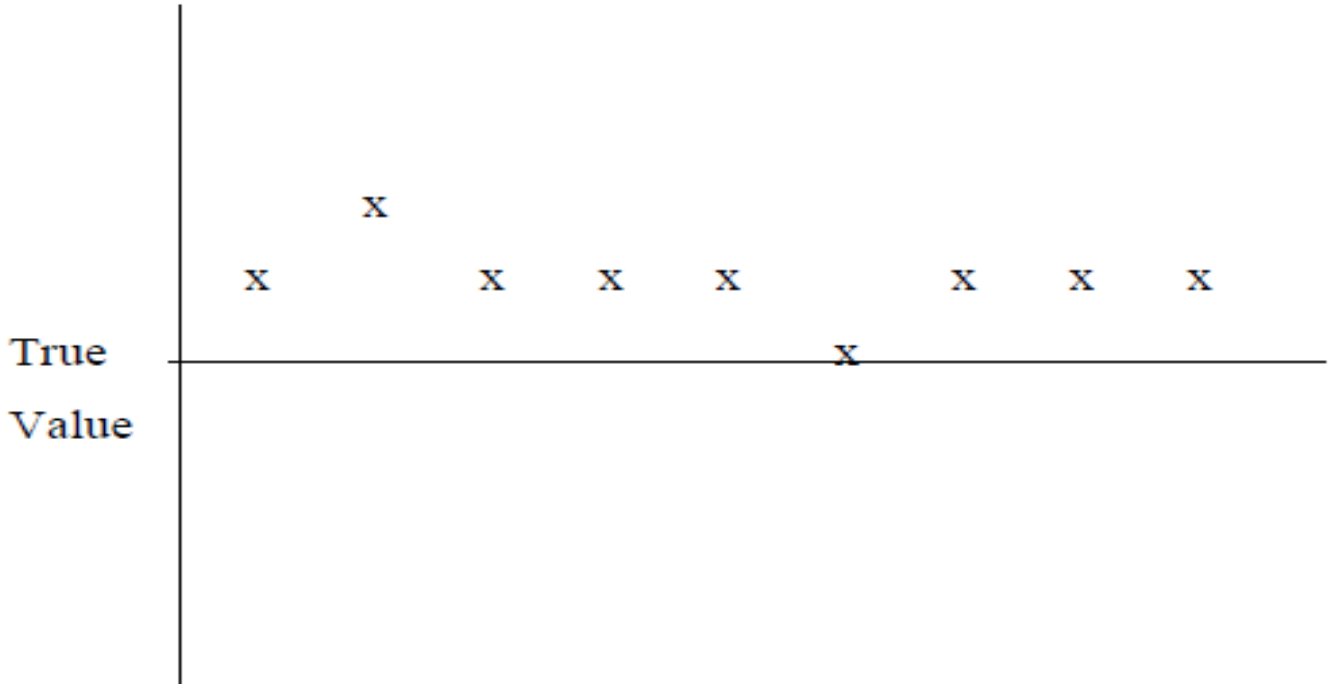
منابع مهم خطا

- قبل از انجام تست
- حین انجام //
- بعد از انجام //

نتیجه خطای تصادفی



نتیجه خطای سیستماتیک



1)خطای قبل از انجام

- خطای پذیرش ولیبل زدن
- خطای نمونه گیری
- نمونه گیری در زمان نامناسب (پرولاکتین)
- نمونه گیری با ضد انعقاد نامناسب
- انتقال نامناسب
- جدا سازی نامناسب
- تقسیم ونگهداری نامناسب
- رقیق سازی

۲- خطاهای در حین آزمایش

- عدم رعایت مراحل کار (SOP)
- عدم داشتن مهارت کافی پرسنل جانشین
- کالیبر نبودن دستگاه و عدم کنترل ها یا تعمیرات دوره ای
- گرفتگی مسیر برداشت نمونه یا معرف، کالیبر نبودن سمپلرها
- عدم شستشوی مسیر و آلودگی کوت‌ها
- تاریخ گذشته بودن معرف‌ها یا کالیبراتورها
- آلودگی معرف‌ها، بخصوص آلودگی میکروبی
- خطا در مسیر خوانش نتایج بخصوص سیستم نوری و دتکتور دستگاه
- خطا در اثر عدم اتصال برق دستگاه به زمین (ارت)
- نوسانات برق، عدم استفاده از تثبیت کننده و UPS برای تجهیزات حساس

۳- خطاهای بعد از آزمایش

- خطا در انتقال اطلاعات از دستگاه به سیستم کامپیوتری
- جابجا وارد کردن جوابها
- تعریف مقادیر مرجع
- تفسیر نتایج

چگونه خطاها را کاهش دهیم؟

- به واحد آزمایشات توجه کنید
- محلول سازی را مطالعه فرمایید
- نکات مربوط به هر تست را در برگه کنترل کیفی یاداشت فرمایید
- برای تست های کمّی منحنی کنترل کیفی ترسیم نمایید
- تا حد امکان نتایج را بصورت کمّی گزارش کنید نه کیفی (کیفی ها را هم تبدیل به کمّی کنید)
- آزمایشات خارج از محدوده را با سرم مادر تکرار کنید نه با سرم موجود
- آزمایشات دو جوابی را نمونه گیری مجدد نمایید
- نتایج بالا را با سایر آزمایشات مرتبط کنترل کنید.

چگونه خطاها را کاهش دهیم؟

- تا حد امکان نمونه ها را در فریز نگهداری کنید و از فریز دفریز کردن بی مورد آنها خودداری کنید. بعد از دفریز کردن سرم را با شیکر لوله بخوبی مخلوط کنید زیرا پروتئین ها رسوب می کنند و محتویات مایع رویی عمدتاً آب است.
- بعد از اتمام خوانش نتایج الایزا، نتیجه پرینت جذب نوری چاهک ها را با مقدار احتمالی آن با روش چشمی مقایسه نمایید. در مواردی که جذب نوری بیش از ۳ باشد گاهی دستگاه آن را حدود صفر گزارش می کند.

چگونه خطا ها را کاهش دهیم

- اگر نمونه ای بیش از حد نرمال بود حتما با تهیه رقت مجددا انجام
- ونتیجه گزارش شود

- کنترل نتایج با تستهای مرتبط مثل فریتین

اساس کلیه تستهای بخش سروایمونولوژی چیست

Ag-Ab

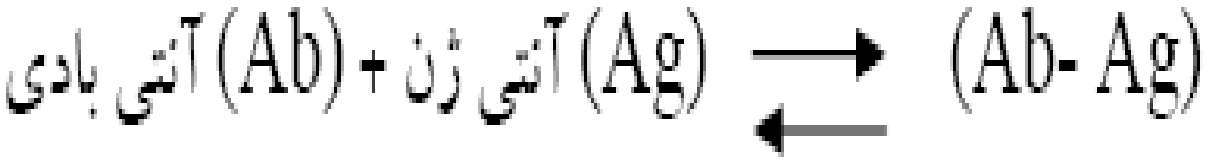
- اساس تمام تست های ایمونولوژیک وسنجش هورمونها واکنش آنتی ژن وآنتی بادی است

- انواع تستهای ایمونولوژیک

- غربالگری
- تشخیص اولیه
- تایید تشخیص

Ag-Ab

- اتصال آنتی بادی به آنتی ژن یک واکنش اختصاصی، دو طرفه و برگشت پذیر می باشد، زیرا در اتصال آنتی بادی به آنتی ژن، پیوندهای ضعیف (پیوندهای هیدروفوب، هیدروژنی، یونی و واندروالس) مشارکت دارند.
-



عوامل مؤثر بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن

c) قدرت اتصال آنتی بادی به آنتی ژن (Avidity-):

- هر چه قدرت اتصال و یا میل پیوندی آنتی بادی به آنتی ژن بیشتر باشد، کمپلکس آنتی بادی و آنتی ژن مشکلتر از یکدیگر جدا می شوند.
- ***۲) pH محیط :***
- مناسبترین pH برای واکنش آنتی بادی و آنتی ژن (واکنشهای سرولوژی)، ۷/۲ یا همان pH فیزیولوژیک بدن انسان می باشد. در pH های بالاتر (بازی) و یا پایین تر (اسیدی)، اتصال آنتی بادی به آنتی ژن ضعیف می باشد. در میان کلاسهای مختلف آنتی بادیها IgD نسبت به pH اسیدی بسیار حساس بوده و در محیط اسیدی، شکل طبیعی خود را از دست می دهد (دناتوره می شود).

عوامل مؤثر بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن

- ۳) *قدرت یونی محیط (Ionic Strength)*
- واکنش آنتی بادی و آنتی ژن در محیط فاقد یون (مانند آب مقطر) صورت نمی گیرد. از طرفی قدرت یونی زیاد هم، باعث رسوب آنتی بادی و آنتی ژن پروتئینی می شود. در این میان معمولاً استفاده از سرم فیزیولوژی ۰/۱۵ مولار یا ۸/۵ gr/Lیاتامپون فسفات نمکی(PBS) با قدرت یونی ۰/۰۲مولار برای رقیق کردن سرم بیمار و واکنشهای سرولوژی، بسیار مناسب است.

عوامل مؤثر بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن

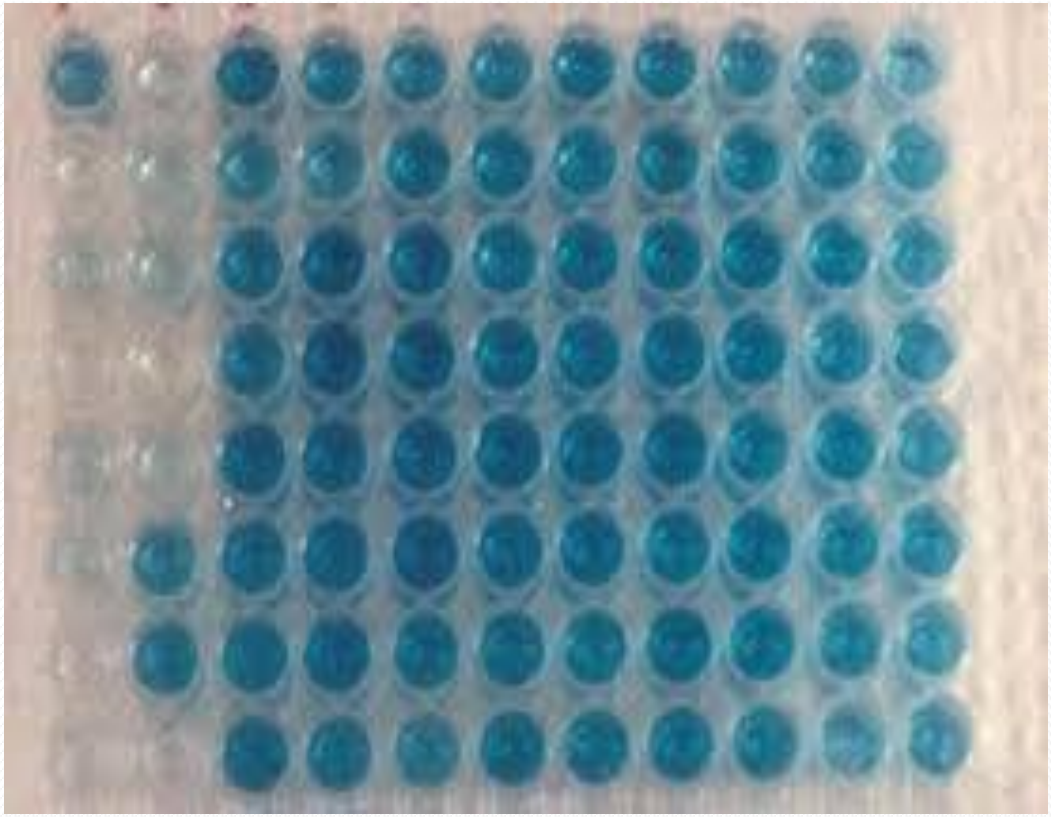
- 4) ***دما (temperature):***
- اکثرا مناسبترین دما برای واکنشهای آنتی بادی و آنتی ژن، دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (دمای فیزیولوژیک بدن انسان) می باشد
- ولی در تستهای ایمونولوژیک دمای آزمایشگاه نیز برای واکنش بین انتی ژن وآنتی بادی مناسب است

Edge effectاثر لبه ای

.

خطای ناشی از شوک حرارتی به پلیت در انزیم ایمونو اسی می باشد که در قسمت مجاور درب انکوباتور۳۷ و در مجاورت پنجره ها بر روی میز کار هورمون شناسی ممکن است بر روی پلیت رخ داده و منجر به ایجاد جذب های غیر یکنواخت در استریپ های شوک خورده و سایر استریپ می گردد(شوک سرمائی یا گرمائی) لذا قابل توصیه می باشد پلیت ها در عمق انکوباتور قرار داده شود و میز کار هورمون در مجاور پنجره یا سیستم های سرمایش و گرمایش نباشد .

Edge effectاثر لبه ای

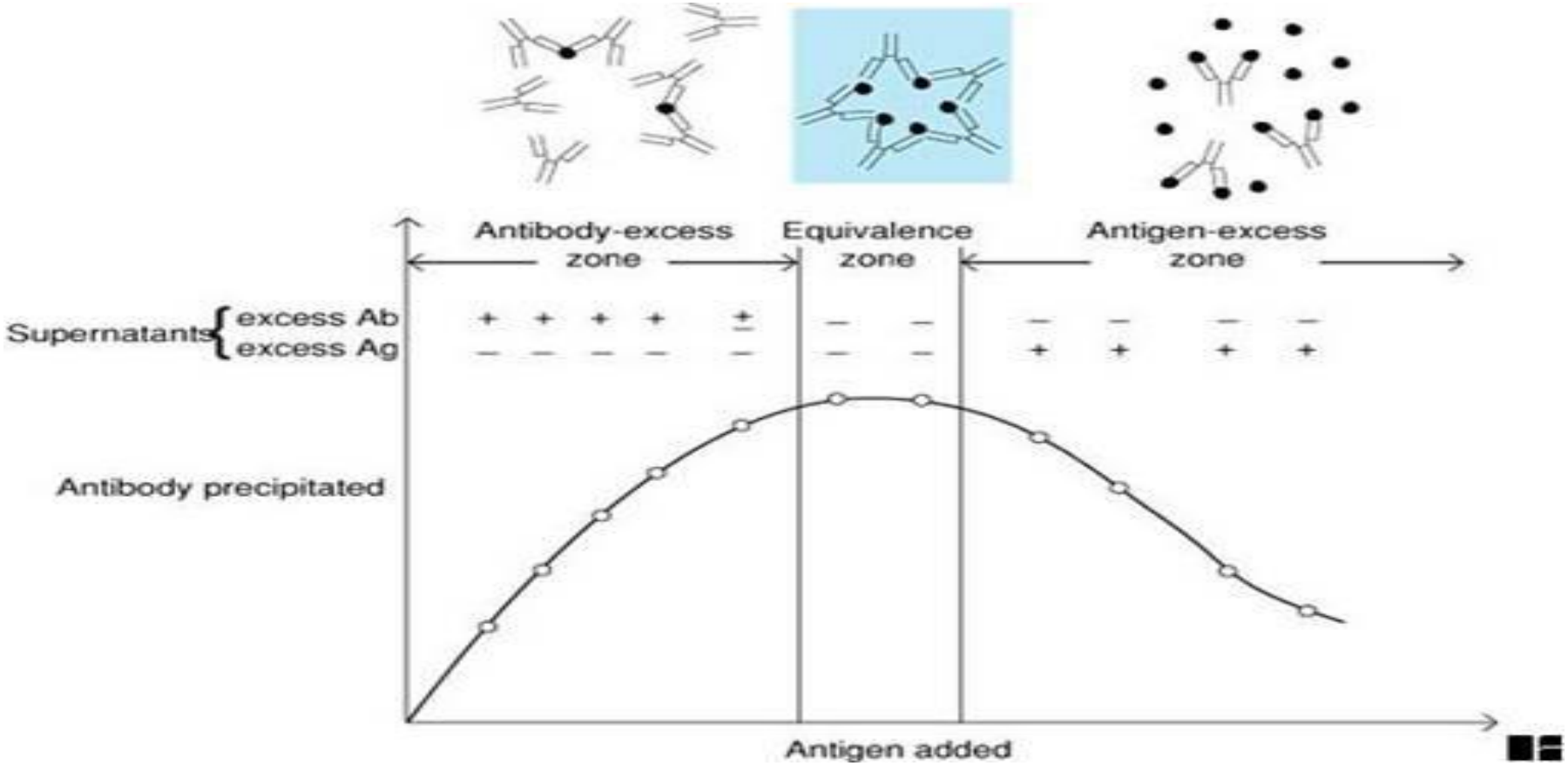


عوامل مؤثر بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن

-) 5- زمان *(Incubation time)* :
- اتصال مولکولهای آنتی بادی به آنتی ژن، معمولاً بسرعت و در عرض چند ثانیه صورت می گیرد، ولی برای تشکیل کمپلکس و دیدن واکنش مدت زمانی وقت لازم است که البته این مدت زمان برای هر آزمایش با توجه به نوع آنتی ژن و کلاس آنتی بادی متفاوت است.

عوامل مؤثر بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن

۶- تاثیر غلظت انتی ژن –آنتی بادی



Hook effect

.

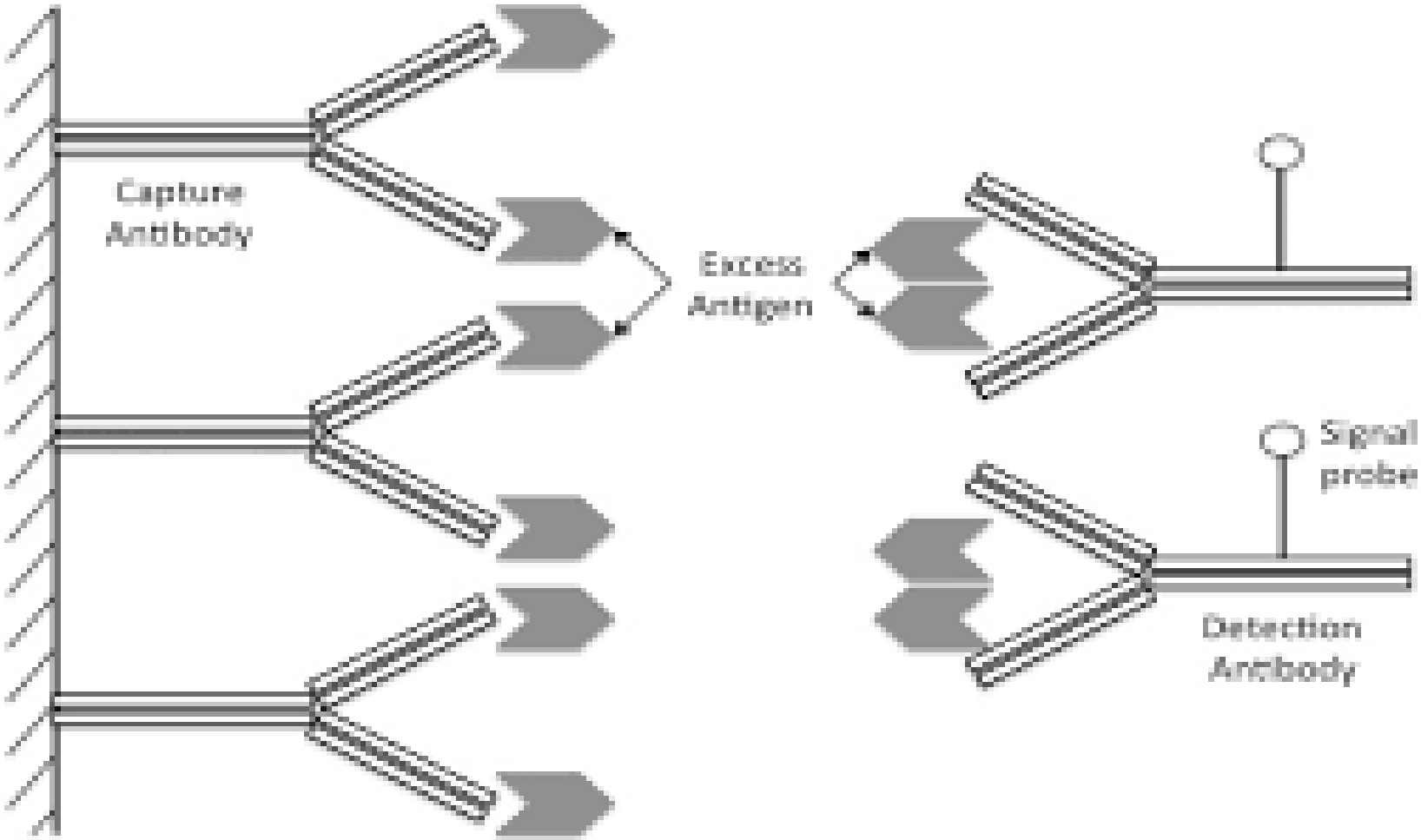
(Hook Effectاثر هوک)

اثر قلابی یا تله ای گاهی در آزمایشات **یک مرحله ای با فرمت ساندویچی** که در نمونه مقدار بسیار زیادی از آنالیت وجود داشته باشد می توان **جواب های منفی** مشاهده نمود که به ان پدیده اثر هوک اطلاق می گردد. مکانیزم این اثر بدین شکل می باشد که در آزمایشات ساندویچی یک مرحله ای با افزودن نمونه و آنتی بادی نشاندار شده به صورت هم زمان بدلیل وجود مقدار بسیار زیاد آنالیت هر دو آنتی بادی (انتی بادی نشاندار در محلول و آنتی بادی موجود در کف چاهک ها) توسط مولکول های انالیت اشغال می گردند و امکان ایجاد پل رابط مابین آنتی بادی موجود در کف چاهک و انتی بادی نشان دار در محلول از بین میرود حاصل این مشاهده نتیجه منفی کاذب در آزمایشات می باشد

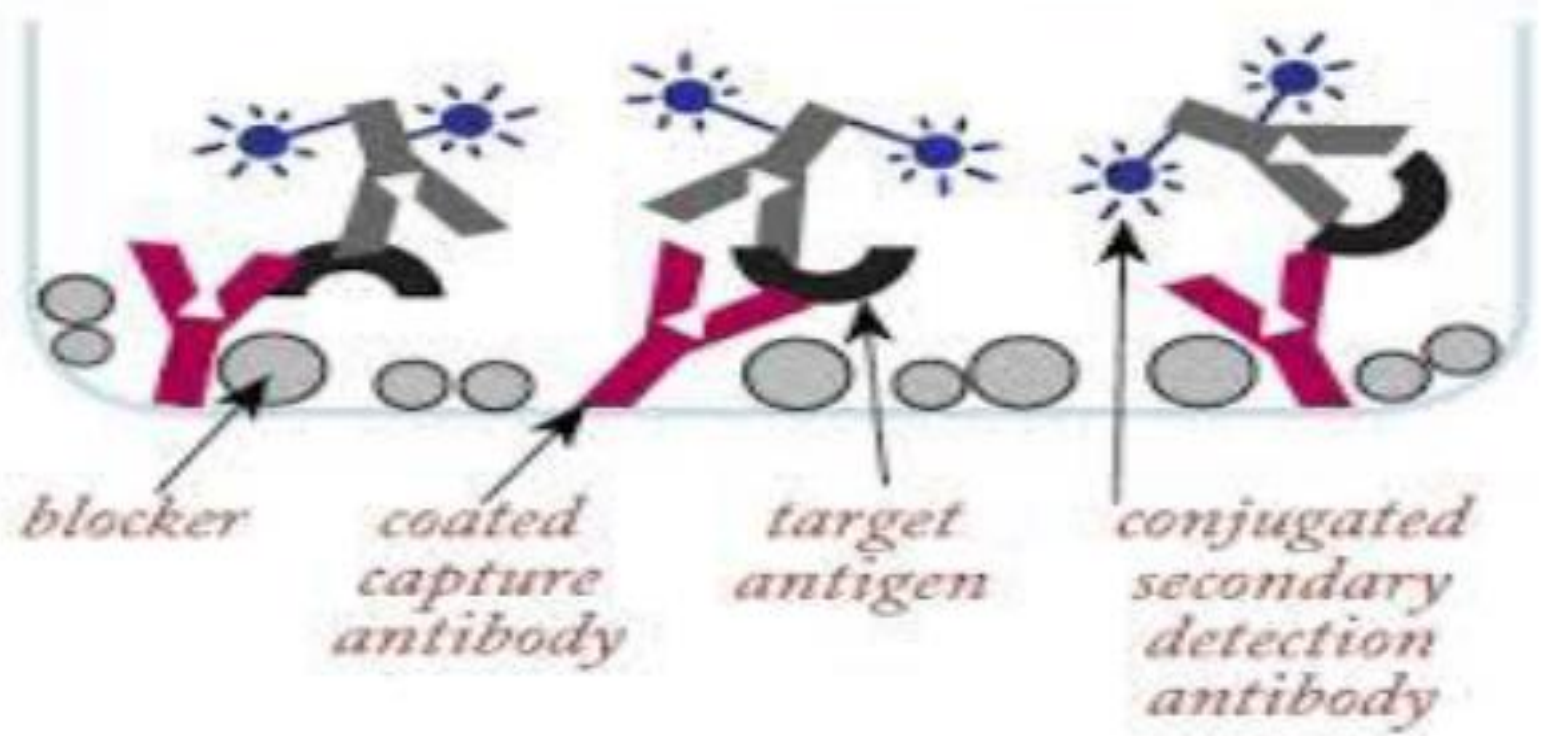
راه پیشگیری از اثر قلابی در کیت های الایزا :

- استفاده اولیه از رقت مناسب برای نمونه های سرم با استفاده از رقیق کننده خود کیت و در صورت عدم دسترسی استفاده از سرم افراد نرمال

Hook effect


Capture
Antibody
Excess
Antigen
Signal
probe
Detection
Antibody

Antibody Sandwich ELISA



عوامل مؤثر بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن

- ۷- اثرحرکت دادن،تکان دادن و سانتریفوژ

- ۸-عوامل مداخله گر موجود در سرم:برخی موادی که به طور طبیعی در سرم می باشند(Bioactive substance) مثل:انترفرون،لیزوزیم،کمپلمان ،

تضمین کیفیت در روش الایزا

- روش استاندارد سازی نمونه گیری
- جدا سازی وانتقال نمونه ها

روش استانداردسازی نمونه گیری تستهای هورمونی

رژیم غذایی عادی

۱. حداقل یکساعت قبل از نمونه گیری از خواب بیدار شده باشد .
۲. قبل از نمونه گیری در آزمایشگاه ۱۵-۱۰ دقیقه با آرامش بنشیند .
۳. زمان بستن تورنیکت حداکثر یک دقیقه است .
۴. گرچه غذا خوردن در بسیاری از تستهای هورمونی تاثیر زیادی ندارد توصیه می شود جهت یکنواختی نمونه ها و شفافیت آنها بیمار حداقل ۶-۴ ساعت قبل از خونگیری ، غذا نخورده باشد .

انتقال نمونه ها

نمونه خون حداکثر پس از نیم ساعت سانتریفوژ شده و سرم آن جدا می شود .

حداکثر زمان مورد قبول جهت جدا کردن سرم برای تستهای هورمونی ۲ ساعت است .

دور و زمان سانتریفوژ باید استاندارد باشد ، سانتریفوژهای رومیزی معمولی معادل ۲۰۰۰-۱۵۰۰ دور در دقیقه (rpm) به

مدت ۵تا۶ دقیقه است.

نگهداری نمونه ها

- در صورتیکه تستهای هورمونی ظرف ۴۸ ساعت پس از جدا کردن سرم انجام گیرد ، نگهداری سرم به صورت در بسته در یخچال (۶-۲ °c) توصیه می شود و نیازی به نگهداری آن در فریزر نیست .
- در صورتیکه زمان نگهداری سرم (یا سایر نمونه ها) طولانی تر است ، نگهداری نمونه به صورت در بسته در فریزر ۲۰- °c توصیه می شود . توجه داشته باشید که فریزر بالای یخچالهای معمولی (یخچالهای یک درب) حداکثر به ۱۰- °c می رسد و قادر به نگهداری و حفظ تمامیت نمونه ها نیست .
- جهت نگهداری طولانی مدت نمونه ها یا نمونه مورد نظر جهت انجام تستهای خاص (رنین پلاسما) استفاده از فریزر ۷۰- °c توصیه می شود .

برای عملکرد صحیح :

باید دستگاه در فضای تمیز و عاری از گرد و غبار باشد و بر روی یک میز ثابت و دور از وسایل ارتعاش‌زا (مانند سانتریفیوژ و ...) قرار گیرد و دستگاه باید سیم اتصال به زمین داشته باشد.

مستندات دستگاه کامل باشد، شناسنامه ،دستورالعمل فنی،گواهی کالیبراسیون ،اخرین سرویس تعمیر،Log book

کنترل کیفی الایزا ریدر

-بررسی تکرار پذیری

-بررسی صحت

-بررسی خطی بودن

-کنترل کالیبر بودن موتور جا بجا کننده پلیت

بررسی تکرار پذیری

یک میکروپلیت مناسب انتخاب کنید، محلول متیل اورنج در 0.1 % توئین 20 را تازه تهیه کرده و رقتهای مختلفی از این محلول را تهیه نمایید و در طول موج 492 نانومتر خوانش کنید. هر رقت را حداقل ده بار خوانده میانگین،انحراف معیارو CVرا بدست آورید

CVبدست آمده باید کمتر از CVمجاز باشد

accepted CV is 3%

نوبت ۱ :	1.193
نوبت ۲ :	1.195
نوبت ۳ :	1.195
نوبت ٤ :	1.192
نوبت ٥ :	1.192
نوبت ٦ :	1.193
نوبت ۷ :	1.187
نوبت ۸ :	1.188
نوبت ۹ :	1.194
نوبت ۱۰ :	1.188
نوبت ۱۱ :	1.195
نوبت ۱۲ :	1.194

%CV = 0.24

مقدار CV% نمونه ها در محدوده مجاز براي پارامتر فوق بوده و دقت دستگاه (پرسنل) قابل قبول مي باشد.

بررسی صحت

هدف تعیین تفاوت جذب واقعی با جذب مشاهده شده می باشد

صحت فتومتری به توانایی لامپ در ارائه حداکثر تابش فتوالکتریک ، نوع و کیفیت منوکروماتور (تک رنگ کننده) بستگی دارد.

این بررسی به سه روش انجام می شود:

الف-در صورت استفاده از محلول رنگی متیل اورنج(متیل اورنج در % 0.1 توئین 20 را تازه تهیه شده) باید ODخوانده شده توسط الایزا ریدربا ODخوانده شده در اسپکتروفتومترمرجع طبق فرمول زیر مقایسه شود و در صد inaccuracyیا Bias مربوطه محاسبه شود

عدم صحت نباید از ۱/۵% بیشتر باشد و یا اختلاف ODدستگاه مورد نظر باید در محدوده 0.001±اسپکتروفتومتر مرجع باشد.

$$\%\text{Inaccuracy} = \frac{OD(\text{instrumant}) - OD(\text{spect})}{OD(\text{spect})} X\ 100$$

نکته: به‌دلیل اختلاف در زاویه تابش نور و نیز اختلاف در کووت اسپکتروفتومتر با میکروپلیت الایزا ریدر، مقایسه OD این دو دستگاه از نظر برخی کارشناسان مورد سوال است.

ب) می‌توان از پلیت‌های کالیبره دارای فیلترهای مشخص استفاده نمود. این پلیت‌ها در مکان‌های تعیین شده دارای فیلترهای مشخصی هستند که بعد از خواندن این پلیت‌ها توسط دستگاه الایزا ریدر می‌توان OD به دست آمده را با OD بروشور پلیت کالیبره مقایسه نمود. در این صورت میزان inaccuracy از روی بروشور پلیت کالیبره محاسبه می‌شود.

ج) استفاده از محلول‌های تجاری مخصوص الایزاریدر و مقایسه OD بدست آمده با OD ارایه شده توسط شرکت سازنده (دارا بودن تاییدیه‌های معتبر بین‌المللی و یا آزمایشگاه مرجع سلامت برای این دسته از محلول‌های تجاری الزامی می‌باشد).

آزمون خطی بودن

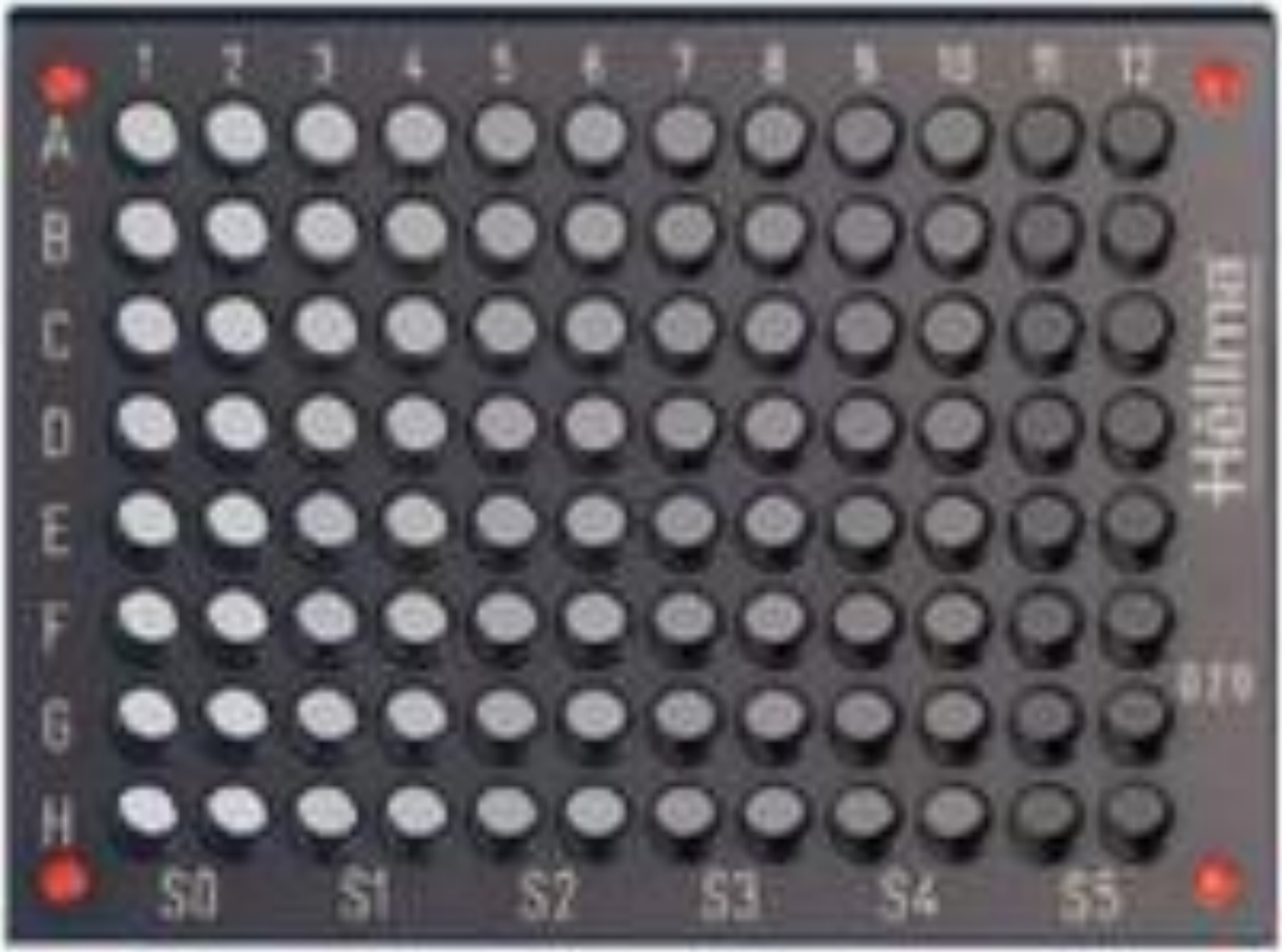
جهت آزمون خطی بودن میتوان از محلول های تجاری با جذب نوری مشخص در طول موجهای مشخص استفاده نمود، در صورتیکه میانگین جذب نوری در رقت های مختلف در محدوده مورد انتظار میباشد که شرکت سازنده ادعا نموده است، تائید خطی بودن دستگاه است.
در غیر این صورت باید با شرکت سازنده تماس بگیرید.

- **کنترل کالیبره بودن موتور جابجا کننده پلیت (Alignment)**

با استفاده از پلیت‌های کالیبره که دارای سوراخ‌هایی در مکان‌های مشخص هستند، صورت می‌پذیرد. این مکان‌ها وضعیت قرارگیری سیستم نوری پلیت ریدر را مشخص می‌نماید. وقتی پلیت کالیبره با بلانک هوا خوانده شود، سوراخ‌های این مکان‌ها، در وضعیت مطلوب، جذبی در محدوده 0.0150± خواهند داشت.

توجه:

همان‌طور که گفته شد، با استفاده از پلیت کالیبره (Check Plate) که دارای جذب نوری مشخص در فیلترهای تعبیه شده در طول موج‌های متفاوت هستند می‌توان آزمون صحت، تکرار پذیری، alignment و خطی بودن را انجام داد. همه این نتایج در صورتی قابل اطمینان هستند که پلیت کالیبره به فواصل منظم توسط یک مرکز قابل اطمینان تایید شده باشد. فیلترهای شیشه ای به کار رفته در پلیت‌های کالیبره، بسیار پایدار می‌باشند، اما به هر حال می‌توانند تحت تاثیر بخارات اسیدها و بازها یا قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراء بنفش به مدت طولانی، آسیب ببینند. خراش شیشه باعث شکست ناخواسته نور شده و مقادیر جذبی (OD) را تغییر می‌دهد. نور ماوراء بنفش به مدت طولانی می‌تواند ترکیب فیزیکی شیشه را تغییر داده و اثر مشابهی ایجاد نماید. به علاوه وجود گرد و غبار، رسوبات و یا روغن بر سطح فیلترها باعث تغییر میزان جذب می‌شود. هم‌چنین پلیت کالیبره دارای سوراخ‌های دقیق Alignment می‌باشد، که ممکن است با افتادن و یا تغییر شکل، محل آن‌ها تغییر کند. عملکرد این سوراخ‌ها نیز توسط روغن یا رسوبات دچار اشکال می‌شود. به دلیل ایجاد این اشکلات، تایید کالیبر بودن این پلیت‌ها هر سال یک‌بار توصیه می‌شود.


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
A
B
C
D
E
F
G
H
S0 S1 S2 S3 S4 S5
Hellma
810

DANESH LABORATORY

Test # : 0
Testname:
Plate ID: Quick Mess
Operator : _____

Date of measurement
Date: 10.02.2011
Time: 13:02

Date of calculation
Date: 10.02.2011
Time: 13:02
Comments : _____

Measfilter: 450 nm
Reffilter : 0 nm

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.001	0.002	overf	overf	overf	overf	2.546	overf	overf	overf	0.002	0.001	A
B	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	1.956	overf	overf	B
C	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	1.621	overf	overf	overf	overf	C
D	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	1.113	overf	D
E	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	0.324	overf	overf	overf	E
F	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	0.134	F
G	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	G
H	0.001	0.005	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	overf	0.005	0.001	H
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

	measuringfilter:۴۹۲												
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	
A	۰,۰۰۱	۰,۰۰۲	overl	overl	overl	overl	۲,۵۴۶	overl	overl	overl	۰,۰۰۲	۰,۰۰۱	A
B	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	۱,۹۵۶	overl	overl	B
C	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	۱,۶۷۱	overl	overl	overl	overl	C
D	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	D
E	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	۰,۵۷۴	overl	overl	overl	E
F	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	۰,۱۴۴	F
G	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	G
H	۰,۰۰۱	۰,۰۰۵	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	overl	۰,۰۰۵	۰,۰۰۱	H
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	

Measuring filter 405 nm

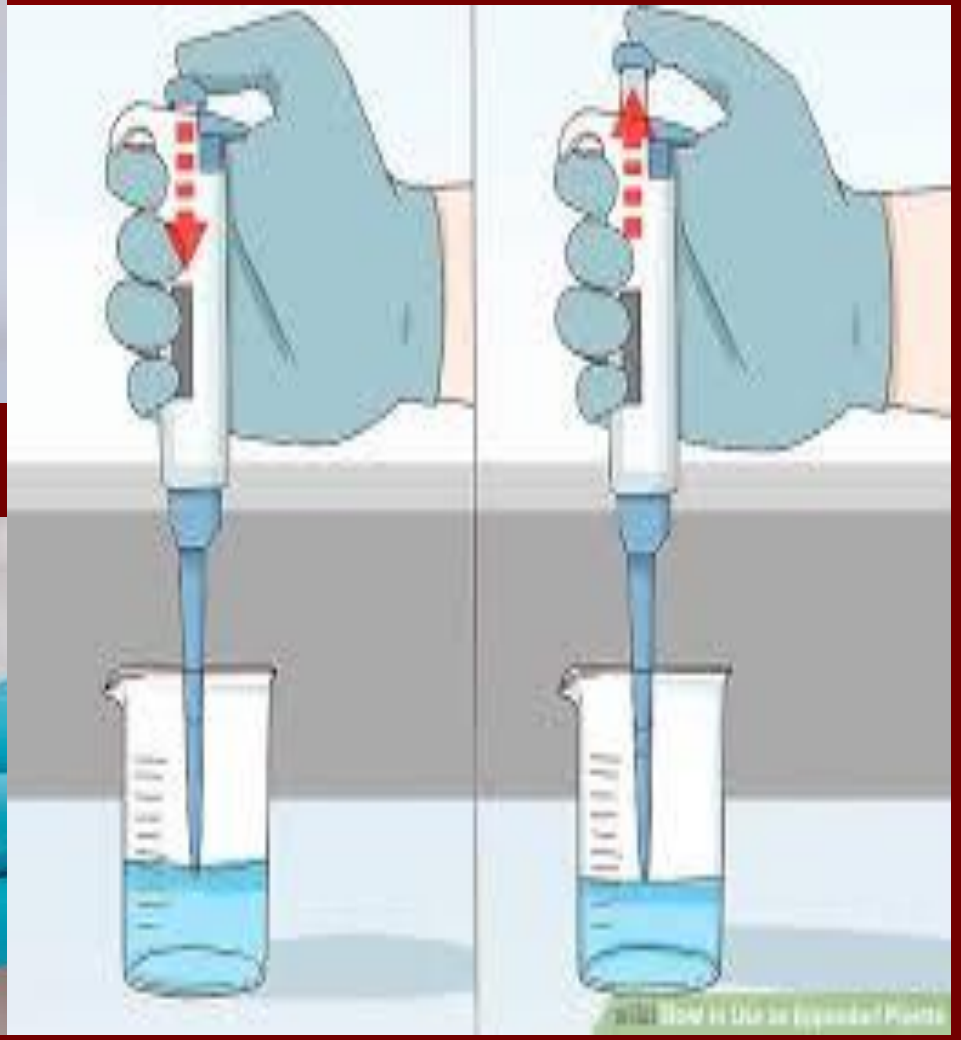
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	**0.001**	*	*	*	*	*	**2.870**	*	*	*	*	**0.001**
B	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**2.202**	*	*
C	*	*	*	*	*	*	*	**1.817**	*	*	*	*
D	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**1.211**	*
E	*	*	*	*	*	*	*	*	**0.619**	*	*	*
F	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**0.151**
G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
H	**0.001**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**0.001**

Elisa plate washer Qc



کنترل کیفی نمونه ها





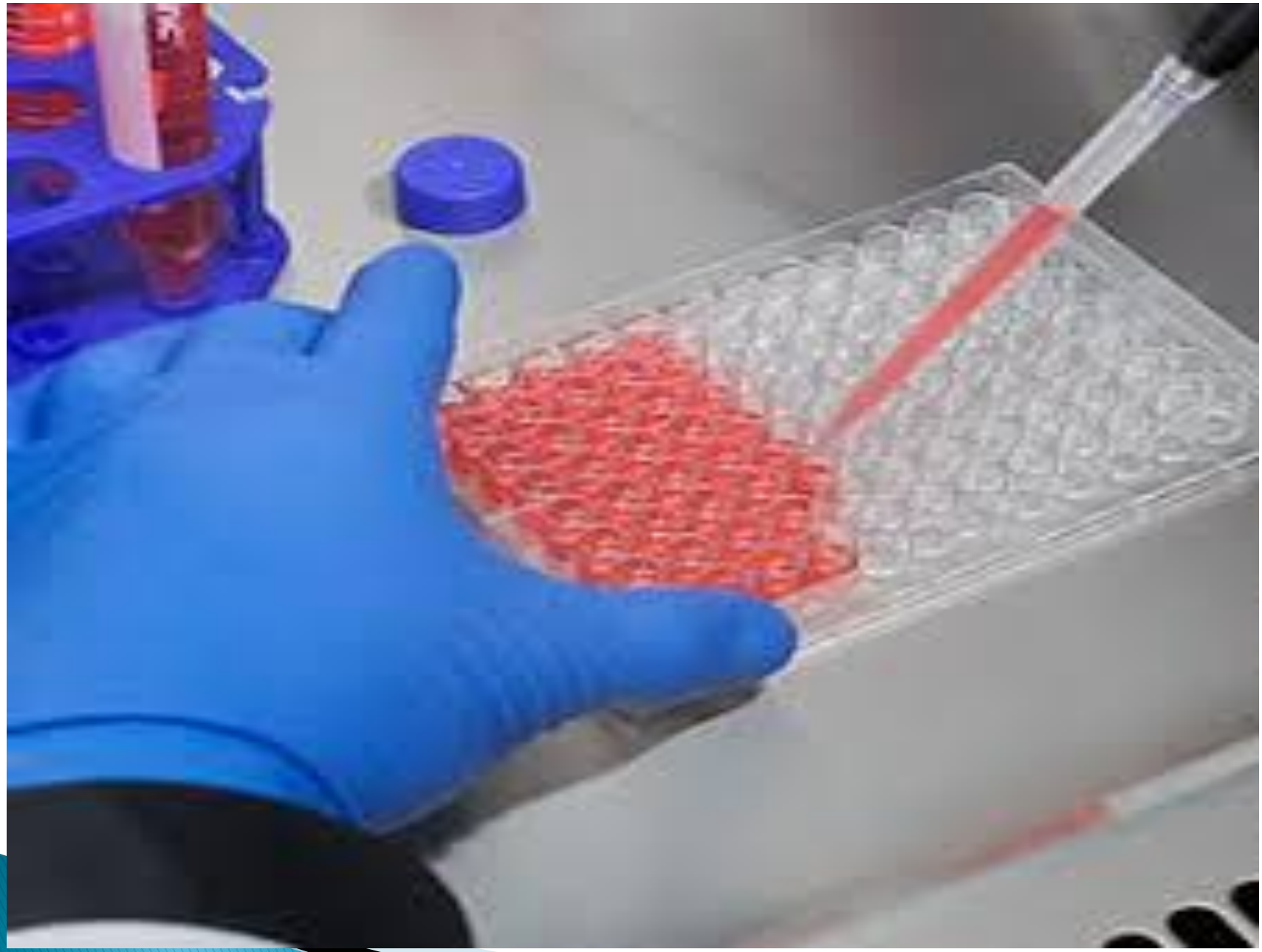


کنترل کیفی نمونه

- در مورد معیارهای غیر قابل قبول بودن نمونه مندرج در بروشور کیت توجه لازم اعمال شود زیرا در غیر این صورت در نتایج بدست آمده ایجاد مشکل خواهند کرد.
-باید نمونه ها قبل از انجام آزمایش کاملا مخلوط شوند .
- در هنگام سمپل کردن به حجم برداشت شده توسط سمپلر توجه شود .
- از عدم وجود حباب در نوک سمپلر حین سمپل کردن اطمینان حاصل نمائید.
- در سمپل های با مقادیر پائین (5λ , 10) نوک سمپلر را تا انتهای لوله در نمونه فرو نبرید و جهت اطمینان از رعایت این موارد در صورت امکان از دستمال نمگیر جهت پاک کردن نوک سمپلر استفاده شود.
- هنگام خالی کردن نمونه یا هر محلول دیگر در درون چاهکها در مراحل مختلف کاری حتما از زاویه کمتر از ۹۰ درجه استفاده شود تا از پاشیدن محلول یا نمونه به چاهکهای مجاور و صورت جلوگیری شود.
- در مورد سمپل نمونه ها با تعداد بالا ، حتما فاصله زمانی سمپل اولین نمونه با آخرین نمونه مورد توجه قرار گیرد در صورت زیاد شدن فاصله زمانی نمونه ها را از نظر تعداد تقسیم کرده و در دو سری کاری جدا از هم با کنترل و کالیبراتورهای مجزا سمپل کنید.
-برای هر نمونه از یک سرسمپلر جداگانه وسمپلر کالیبره استفاده نمایید.
-از ایجاد کف در هنگام افزودن نمونه ها خودداری کنید زیرا مانع اتصال صحیح خواهد شد.
-به مدت زمان نگهداري نمونه قبل و بعد از انجام آزمایش توجه شود.



4 Add fresh solution



کنترل کیت









کنترل کیت:

قبل از انجام آزمایش حتما محتویات کیتها و خود کیت از جهت Lot. No و Exp.Date با بروشور کیت کنترل شود .
استفاده از کنترل هاي Cutoff- Positive- Negative موجود در کیت.(به جذب داده شده در بروشور کیت توجه شود)
از به کار گیری اجزای کیت های که شماره سری ساخت آنها یکی نیست خودداری نمایید .
- از محلول ها و معرف ها پس از انقضاء تاریخ آنها استفاده نکنید .
- قبل از انجام آزمایش تمام مواد مصرفی به دمای ۲۰-25 درجه برسند.
-میکروپلیت ها را به اندازهاي که احتیاج دارید از یخچال خارج کنید.
-درب کلیه ویال هاي کیت پس از استفاده محکم بسته شودتا احتمال آلودگي و تماس با هوا به حداقل برسد.
-همه محلول هاي کیت پس از استفاده بلافاصله داخل یخچال گذاشته شوند تا از فعالیت آنها کاسته نشود.

- رعایت دقیق زمان انکوباسیون ضروری است فاصله بین اضافه کردن سوبسترا ، کروموژن و متوقف کننده به اولین و آخرین چاهک نباید از ۴-۳ دقیقه بیشتر طول بکشد .
-از گذاشتن ریجنتها در معرض نور خودداری شود.

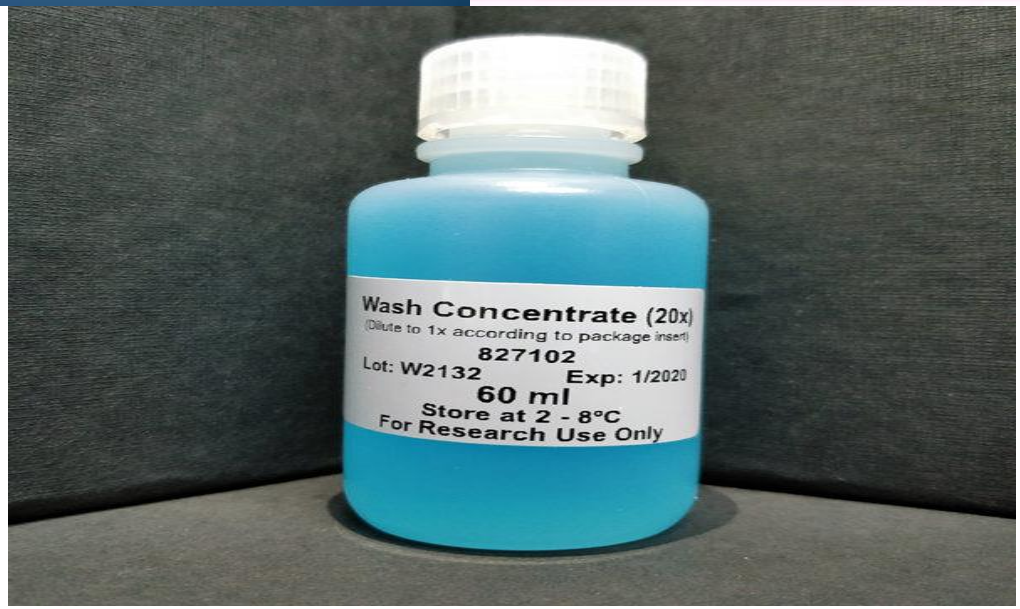
-استرپهای استفاده نشده راهمراه نمگیر به داخل کیسه مخصوص برگردانید ودرب آنرا خوب ببندید.

- صحت محلولها از جهت فقدان آلودگی ، (بخصوص سوبسترا – TMB و کونژوگه) کنترل شوند و از نظر بی رنگ بودن سوبسترا –TMB اطمینان حاصل نمائید.
- برای کنترل صحت کونژوگه می توانید از سوبسترا-TMB کنترل شده و بدون رنگ استفاده نمائید به این منظور محلول سوبسترا- TMB را به کونژوگه اضافه نمائید در صورت فقدان رنگ محلول کونژوگه دچار مشکل می باشد و نباید از آن کیت استفاده شود.

کنترل محلولهای کیت







تهیه محلولهای مورد نیاز تست درکیت

- در مورد کیت هایی که محلول های کنژوگه و سوبسترای آن باید طبق بروشور کیت تهیه شوند رعایت نکات زیر الزامی است.
- ظرف مخصوص تهیه این محلولها ، کاملا تمیز و عاری از هرگونه آلودگی باشد.
- به زمان لازم تهیه این محلولها قبل از مرحله مورد نظر توجه شود چرا که در بعضی از کیتها توصیه می شود که محلول مورد نظر حتما قبل از مصرف در ساعات خاصی آماده شود و تا ساعت و یا زمان خاصی قابل استفاده می باشد.
- در رابطه با کیتهایی که یک یا چند معرف آن لیوفیلیزه می باشند حتما به زمان و شرایط نگهداری آنها که مندرج در بروشور کیت می باشد توجه شود و طبق توصیه کیت آنها را تقسیم نموده و در دمای مورد نظر و زمان لازم نگهداری شود.
  - تهیه محلول شستشو طبق رقت مندرج بر روی ویالهای مربوطه و طبق بروشور کیت باید صورت گیرد.
  - محلول شستشو رقیق شده برای یک ماه دردمای ۸-۲درجه قابل نگهداری است.چنانچه داراي كريستال باشد آنرا در حمام آب ۳۷ c̊قرار دهید تا کریستال ها حل شود
- از آب مقطر یونیزه درجه دو جهت تهیه محلول شستشو استفاده شود.

کنترل کیفی کیتهای کمی

- WHO
- CV% between /within
- Bias or inaccuracy
- linearity

کنترل کیفی کیتهای کمی

کنترل دقت وصحت کیفیت کیت مصرفی کمی توسط سازمان جهانی (WHO) توصیه شده

۱) کنترل دقت

تست با سرم کنترل معتبر یا (pooled serum) , withinrunیا (between run) تکرار می شود و میانگین ، انحراف معیار (SD) و ضریب تغییرات (CV) آن محاسبه و تعیین می گردد :

مقدار قابل قبول عدم دقت (CV) عبارتست از :

within run CV ≥%۲-۳

between run CV ≥%۵

۲) کنترل صحت

تست با سرم کنترل معتبر مخصوص هورمون ۱۰ بار تکرار شده و میانگین بدست آمده با عدد مورد انتظار سرم کنترل مقایسه شده و درصد عدم صحت محاسبه می شود :

$$\%Bias = \frac{\text{میانگین عدد بدست آمده} - \text{عدد مورد انتظار}}{\text{عدد مورد انتظار}} \times 100$$

عدم صحت مجاز کیت ها کمتر از ۲% است .

۳) خطی بودن (linearity)

تست با سرم کنترل معتبر یا پولد سرم مورد نظر با رقت های مختلف (۱ ، ۲/۱ ، ۴/۱ ، ۸/۱ و ...)انجام شده و محدوده خطی بودن کیت تعیین می شود . درصد خطا در هر رقت از مقدار مورد انتظار محاسبه می شود . حداکثر خطای قابل قبول در هر رقت کمتر از ۲%است .

4) حساسیت و محدوده تشخیصی

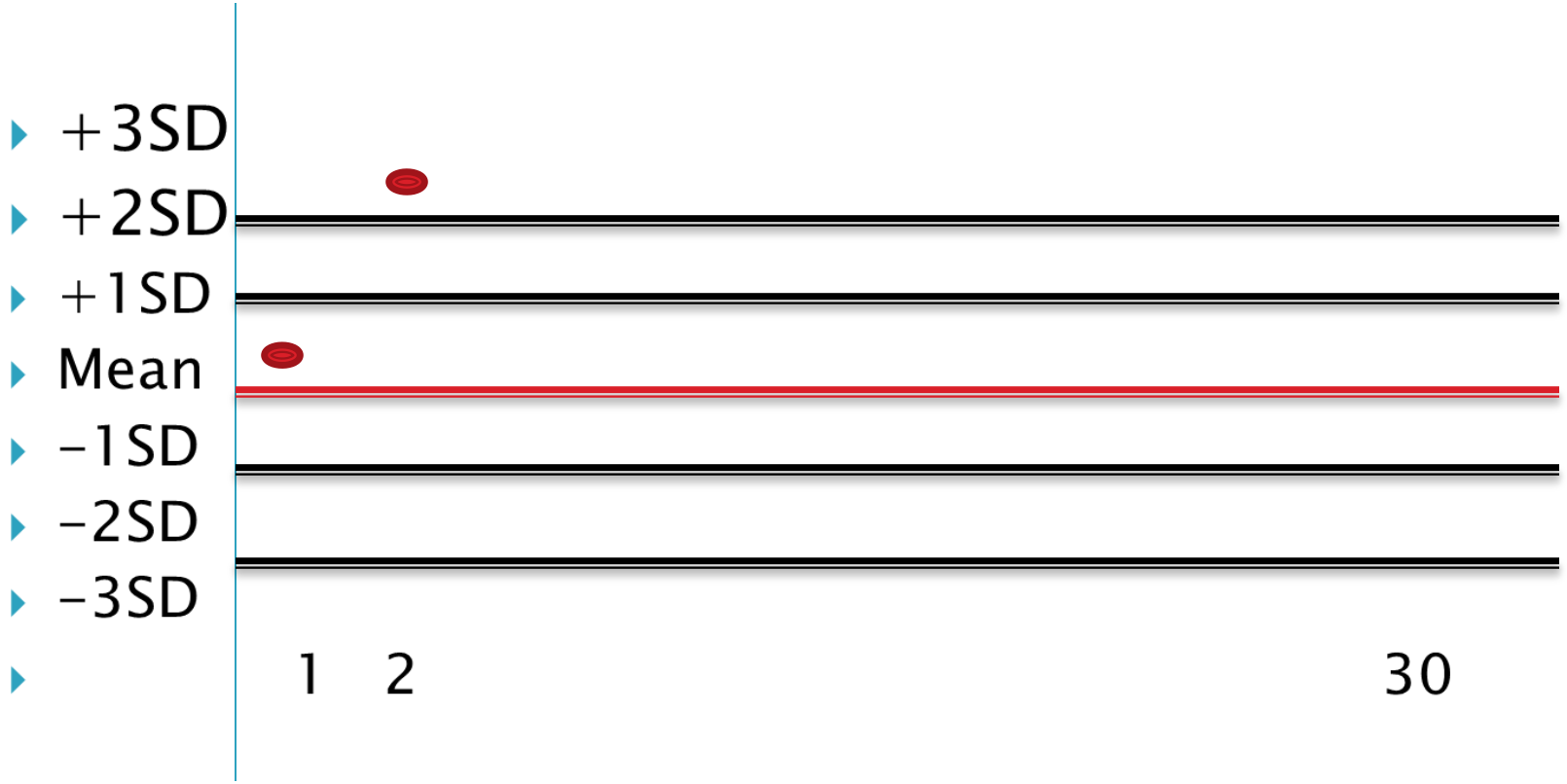
محدوده تشخیصی عبارت از حداقل غلظت آنالیت قابل اندازه گیری با یک کیت می باشد . جهت تعیین محدوده تشخیصی ، سرم کنترل با رقت های متوالی تست می شود تا حدی که آنالیت دیگر قابل اندازه گیری نباشد (مشابه بلانک باشد) و حداقل غلظت قابل اندازه گیری آنالیت توسط کیت مزبور محاسبه می شود .

- 5) پایداری
- با استفاده از سرم کنترل معتبر تست مورد نظر با کیت مزبور انجام شده و تا زمانی که جواب در محدوده قابل قبولی باشد ، کیت پایدار بوده است .
- زمان پایداری ، زمانی است که نتایج در محدوده mean $\pm$2SD (محدوده قابل قبول نتایج سرم کنترل)باشد.

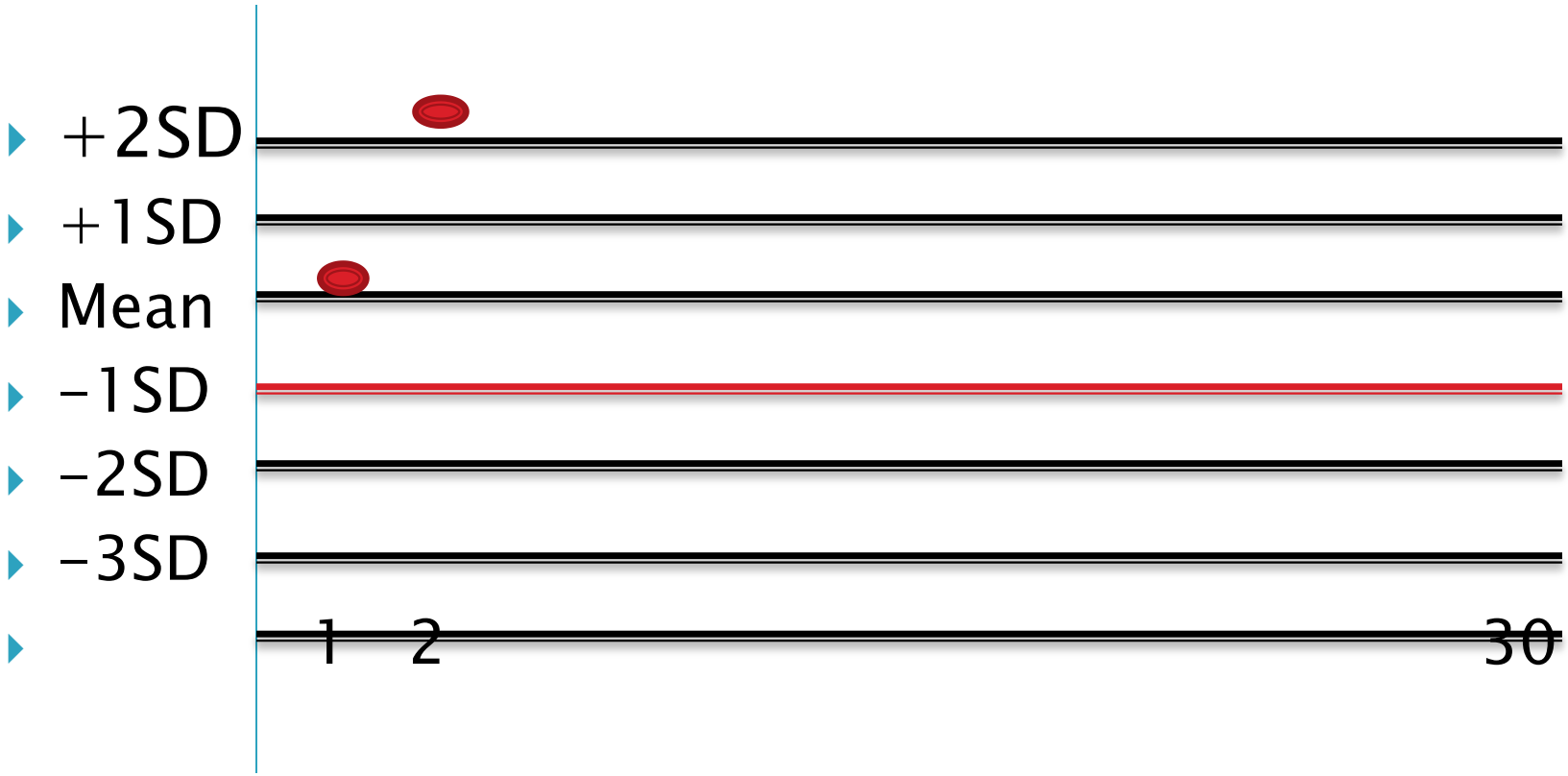
کنترل کیفی پیشنهادی برای بخش هورمون

۱-استفاده از پولد سرم در هر run کاری
۲-استفاده از سرم کنترل های N , L , H در هر run کاری
۳-انجام دوبله (duplication) یک سرم بصورت تصادفی در هر run کاری
استفاده از دو سرم تست شده در run قبلی و قرار دادن این سرم ها در run جدید و مقایسه نتایج آنها
۴-تکرار تمام تستهای غیر طبیعی و خارج از محدوده
۵-رقیق کردن یک سرم با غلظت بالای آنالیت به نسبت 1/2 و انجام تست در run جدید و مقایسه نتایج آنها
۶-تکرار تستهای با نتایج بسیار بالا به روش تهیه رقت
۷-انجام تست بر روی مخلوط سرم نرمال و سرم بالا (تست recovery یا سرم بالا و استاندارد صفر)
توجه : جهت تهیه رقت در همه موارد از استاندارد صفر (فاقد آنالیت) استفاده کنید .

con1
استفاده از ۲ کنترل



con2



Westgard Control Chart

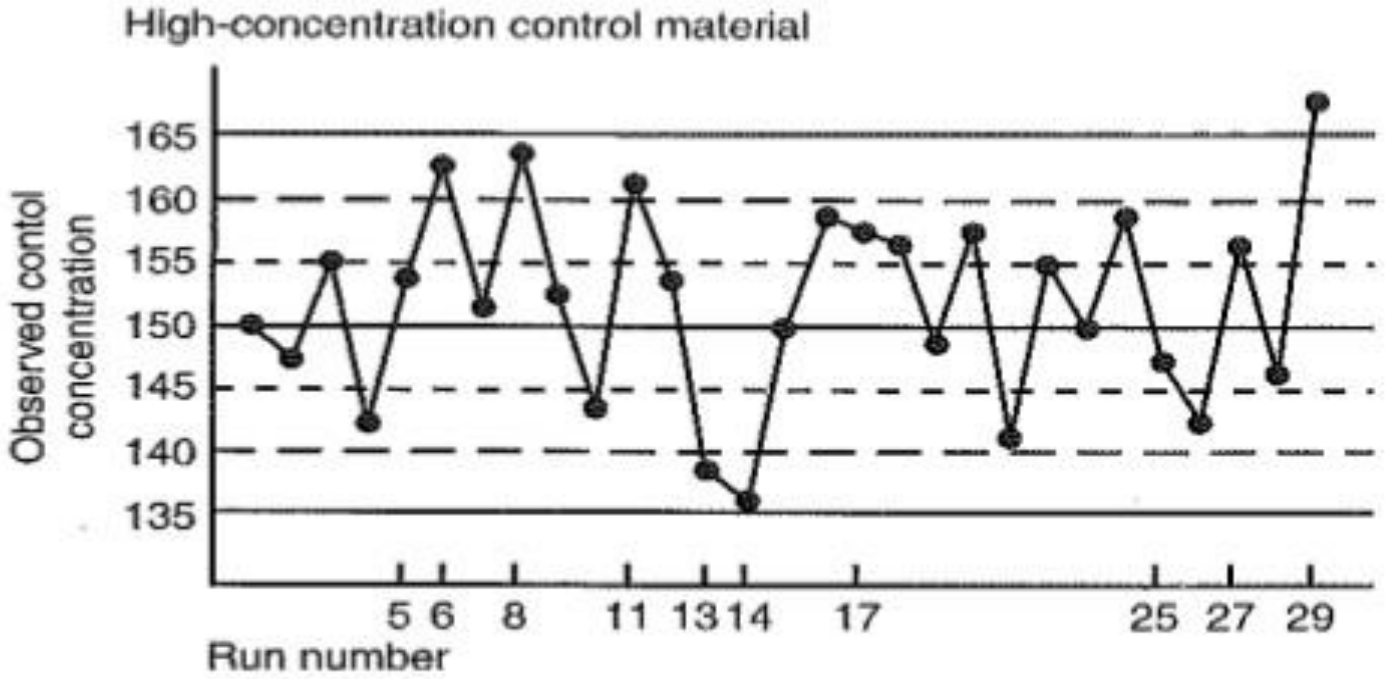


Figure 1.3 Westgard multirule control chart with control limits drawn at the mean ± 1*s*, 2*s*, and 3*s*. Concentration is plotted on the *y*-axis versus time (run number) on the *x*-axis

(Tietz, 2008)

نحوه تعیین حساسیت و اختصاصیت کیتهای کیفی

$$\text{Sensitivity (\%)} = \frac{\text{True positives}}{\text{True positives} + \text{False negatives}} \times 100$$

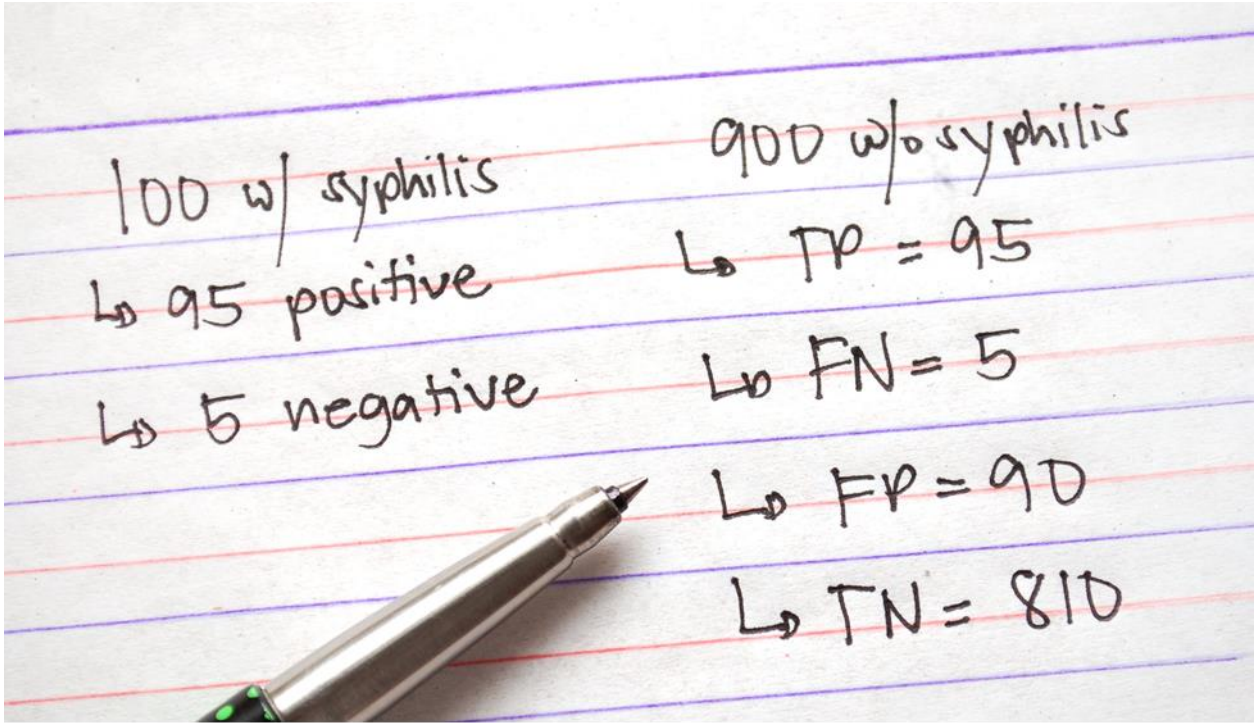
$$\text{Specificity (\%)} = \frac{\text{True negatives}}{\text{False positives} + \text{True negatives}} \times 100$$

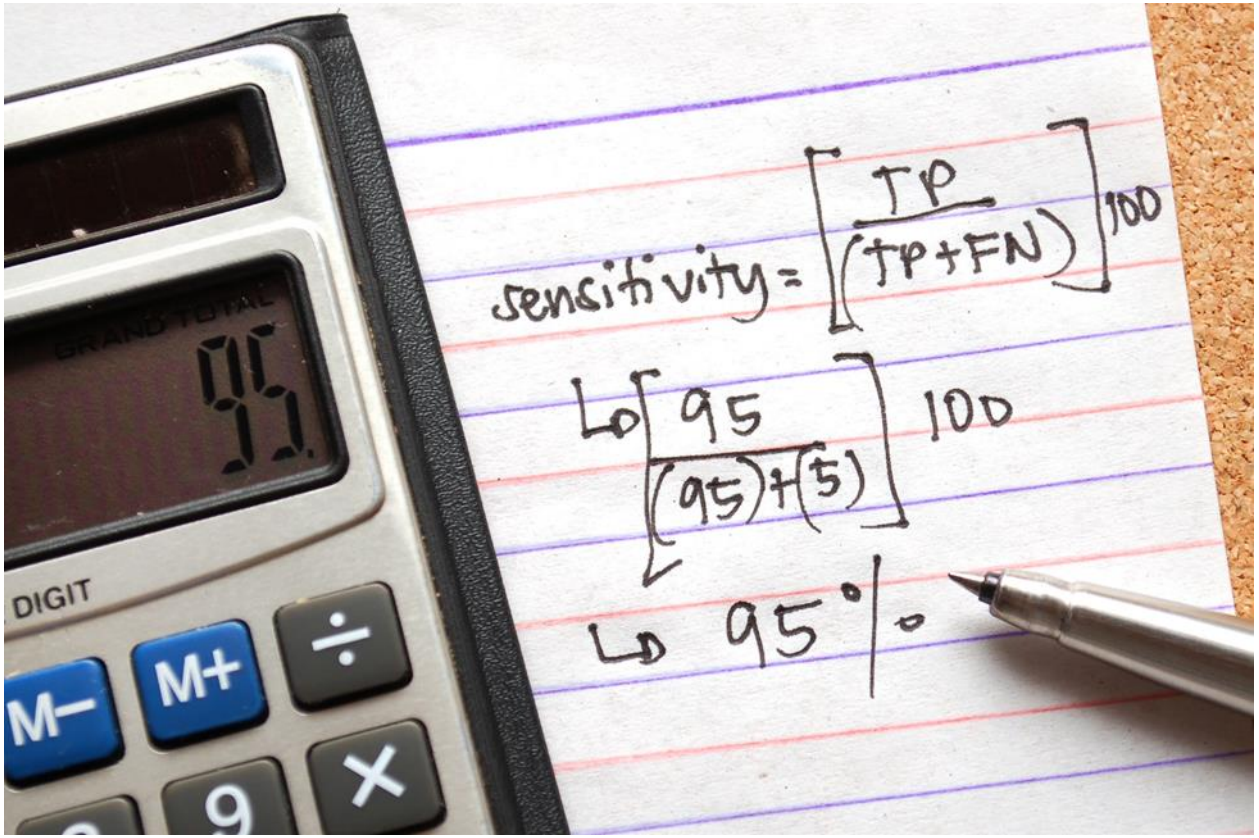

RPR 1000 people

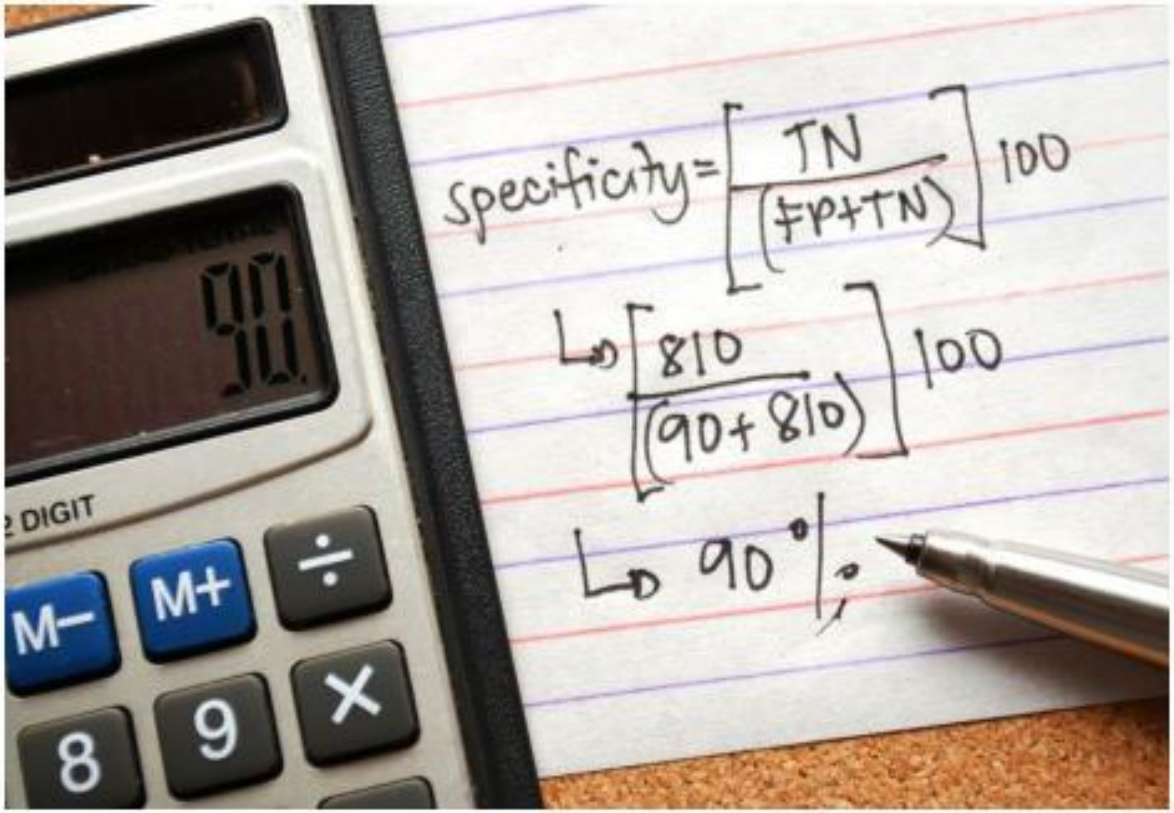
١٠٠٠

+ ٩٠٠

-١٠٠

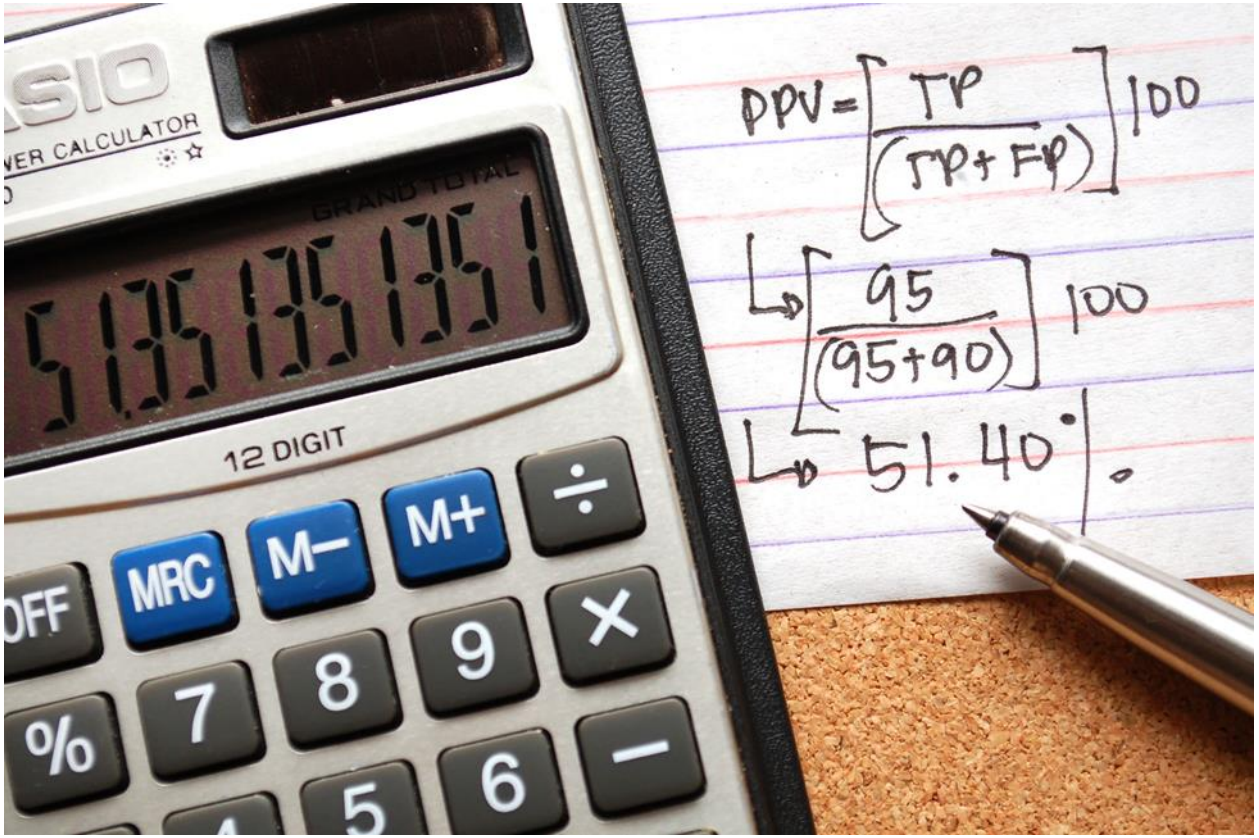

100 w/ syphilis
↳ 95 positive
↳ 5 negative
900 w/o syphilis
↳ TP = 95
↳ FN = 5
↳ FP = 90
↳ TN = 810

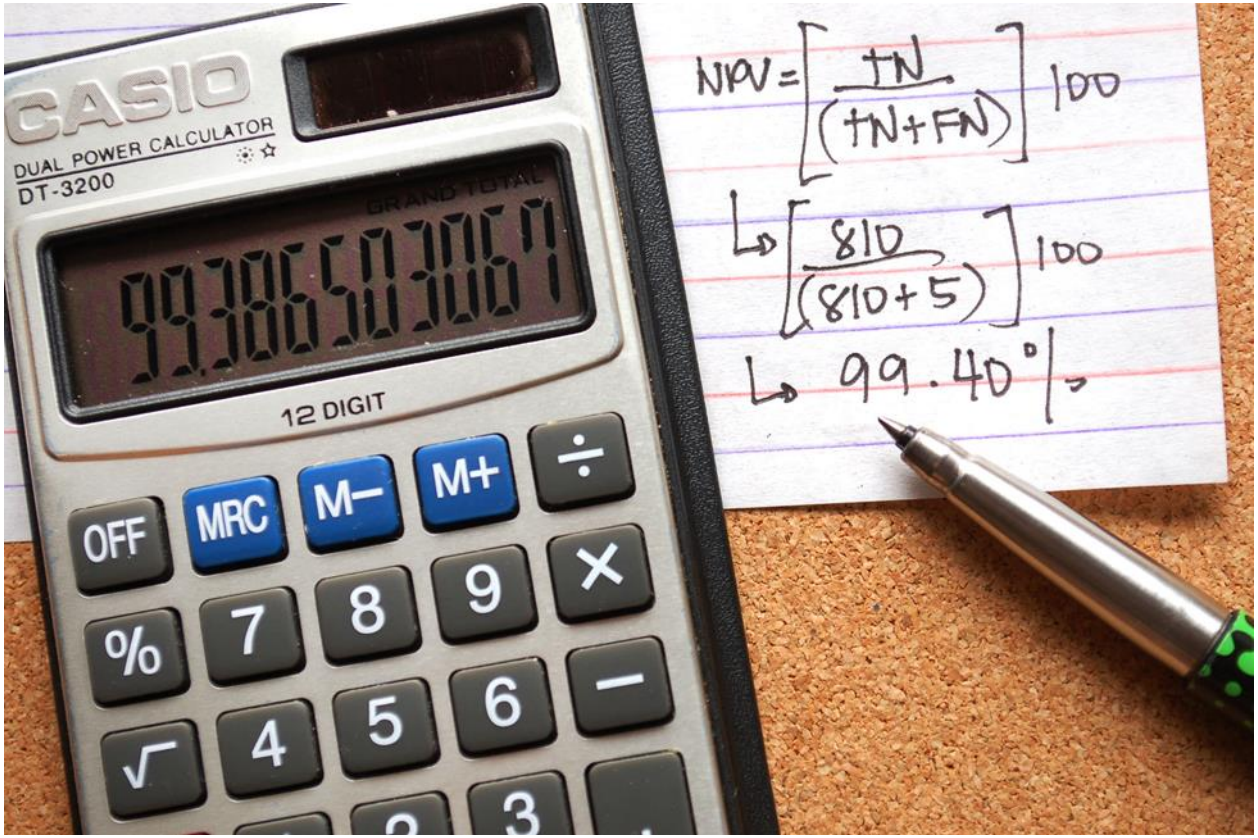

sensitivity = [TP / (TP+FN)] 100
= [95 / (95)+(5)] 100
= 95%
DIGIT
M−
M+
÷
9
×


Specificity = [TN / (FP+TN)] 100
[810 / (90+810)] 100
90%
DIGIT
M−
M+
÷
8
9
×

- حساسیت کیت : کیت قادر به تعیین مقدار حداقل انالیت موجود در سرم
- **وابسته به میزان تستهای مثبت واقعی (TP)**

- اختصاصیت کیت : نداشتن واکنش متقاطع یا cross reaction با سایر انالیت های موجود در سرم
- **وابسته به میزان تستهای منفی واقعی (TN)**


PPV = [TP / (TP + FP)] 100
[95 / (95+90)] 100
51.40%
12 DIGIT
MRC
M−
M+
÷
×
−
%
7
8
9
6
5


CASIO
DUAL POWER CALCULATOR
DT-3200
GRAND TOTAL
99.386503069
12 DIGIT
OFF
MRC
M−
M+
÷
%
7
8
9
×
√
4
5
6
−
3
NPV = [TN / (TN+FN)] 100
↳ [810 / (810+5)] 100
↳ 99.40%

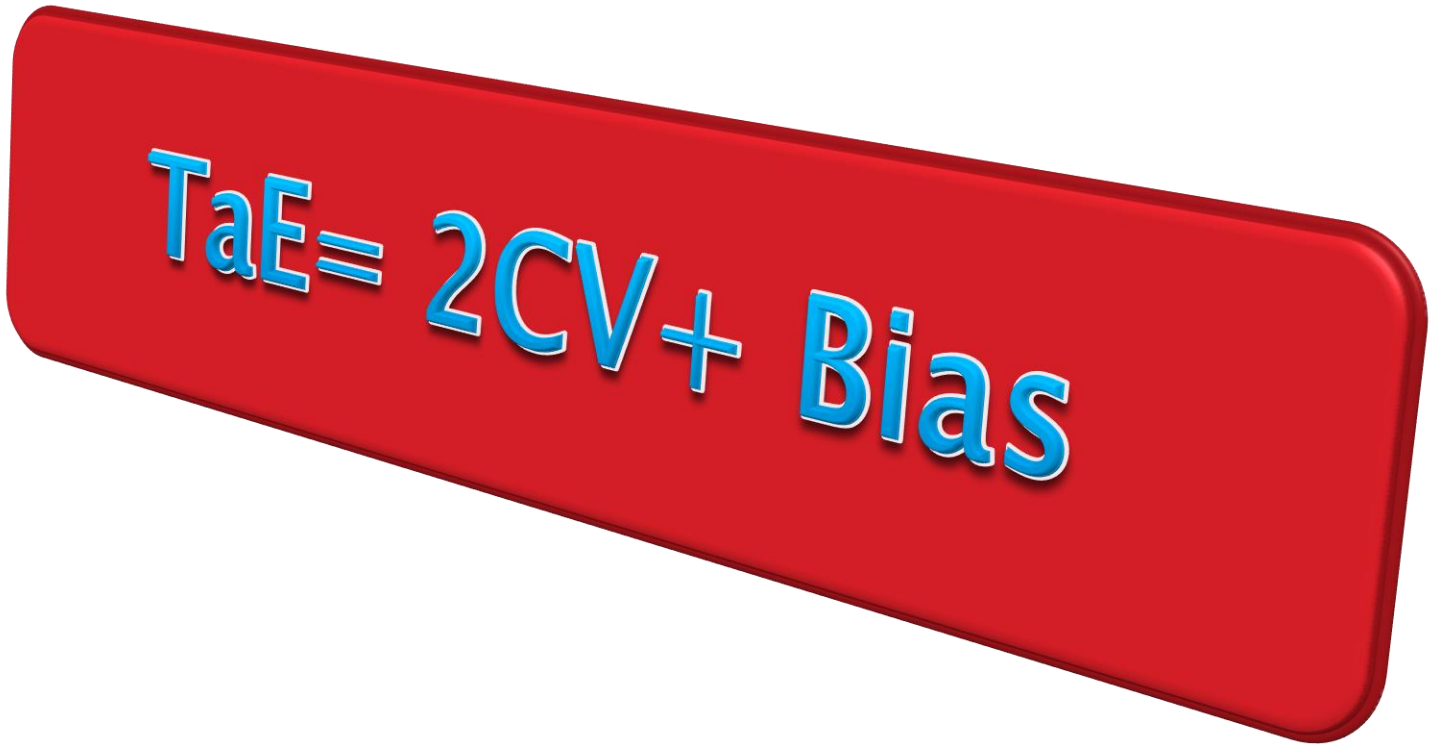
- **To calculate the positive predictive value (PPV), divide TP by (TP+FP).** In the case above, that would be 95/(95+90)= 51.4%. The positive predictive value tells us how likely someone is to have the characteristic if the test is positive. Among all people that test positive, what proportion truly has the characteristic? **51.4% PPV means that if you test positive, you have a 51.4% chance of actually having the disease.**

- **To calculate the negative predictive value (NPV), divide TN by (TN+FN).** In the case above, that would be 810/(810+5)= 99.4%. The negative predictive value tells us how likely someone is to not have the characteristic if the test is negative. Among all people that test negative, what proportion truly does not have the characteristic? **99.4% NPV means that if you test negative, you have a 99.4% chance of not having disease.**

خطای مجاز بخش هورمون

Westgard PT

- EQAP


TaE= 2CV+ Bias

- طبق قانون وستگارد یکی از مهمترین ومتداولترین راههای محاسبه خطای مجازلزوم شرکت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت است

گزارش ارزیابی خارجی کیفیت بیوشیمی

نام تست	واحد	نتیجه	میانگین گروه	CV	VIS
Glucose	mg/dl	۲۲۲	۲۱۴,۵	۴	۴۵
Urea	mg/dl	۸۸	۸۲,۴	۶	۱۱۹
Uric acid	mg/dl	۱۲,۴	۱۱,۸۴	۶	۶۱
Creatinine	mg/dl	۳	۲,۹۸	۹	۸
Total Bilirubin	mg/dl	۴	۴,۲۵	۱۲	۳۰
Direct Bilirubin	mg/dl	۰,۹	۱,۱۰	۱۲	۹۳
Cholestrol	mg/dl	۲۰۷	۲۰۳,۲	۴	۲۵
Triglyceride	mg/dl	۳۹۸	۳۵۷,۴	۷	۱۵۰
HDL	mg/dl	۵۴	۵۴,۲	۱۴	۴
LDL	mg/dl	۱۱۰	۱۱۷,۰	۱۲	۴۰
Albumin	g/dl	۵,۶	۵,۸۲	۶	۵۰
Protein	g/dl	۹,۹	۹,۷۴	۶	۴۳
ALP	U/L	۵۴۲	۵۱۹,۰	۱۲	۲۹
AST	U/L	۱۸۰	۱۷۸,۴	۸	۷
ALT	U/L	۱۴۴	۱۴۶,۵	۸	۱۰
CPK	U/L	۲۶۵	۲۶۲,۸	۱۰	۴
LDH	U/L	۷۴۷	۶۳۰,۱	۸	۲۳۲
Amylase	U/L	۳۹۸	۳۳۷,۲	۷	۱۵۷
GGT	U/L	۱۷۸	۱۴۷,۳	۷	>۲,۵sd
Calcium	mg/dl	۱۲,۳	۱۲,۱۴	۶	۳۳
Phosphate	mg/dl	۱۰	۱۰,۱۴	۷	۱۸
Iron(Fe)	ug/dl	۱۹۶	۱۹۱,۰	۷	۱۷
TIBC	ug/dl	۴۱۱	۴۶۱,۴	۱۲	۷۳
Sodium	meq/l	۱۶۵	۱۶۰,۰	۵	۱۹۶
Potassium	meq/l	۵,۶۷	۵,۷۴	۵	۴۲
Lithium	meq/l	۲,۰۶	۱,۸۸	۱۲	۸۸
T4	ug/dL	۱۶,۷۶	۱۶,۵۶	۱۱	۸
TSH	uU/mL	۹,۱۶	۹,۶۲	۸	۳۲
hCG	U/L	۲۳۹	۲۳۲,۶	۱۰	۲۷

BIAS% یا عدم صحت

$$\text{Bias \%} = \frac{(\text{expected value} - \text{observed value}) * 100}{\text{expected value}}$$

CV هم محا سبه شده در ترسیم چارت ماهیانه

- Expected value

Bias در محاسبه
میانگین همگروه

گزارش ارزیابی خارجی کیفیت بیوشیمی

نام تست	واحد	نتیجه	میانگین گروه	CV	VIS
Glucose	mg/dl	۲۲۲	۲۱۴,۵	۴	۴۵
Urea	mg/dl	۸۸	۸۲,۴	۶	۱۱۹
Uric acid	mg/dl	۱۲,۴	۱۱,۸۴	۶	۶۱
Creatinine	mg/dl	۳	۲,۹۸	۹	۸
Total Bilirubin	mg/dl	۴	۴,۲۵	۱۲	۳۰
Direct Bilirubin	mg/dl	۰,۹	۱,۱۰	۱۲	۹۳
Cholestrol	mg/dl	۲۰۷	۲۰۳,۲	۴	۲۵
Triglyceride	mg/dl	۳۹۸	۳۵۷,۴	۷	۱۵۰
HDL	mg/dl	۵۴	۵۴,۲	۱۴	۴
LDL	mg/dl	۱۱۰	۱۱۷,۰	۱۲	۴۰
Albumin	g/dl	۵,۶	۵,۸۲	۶	۵۰
Protein	g/dl	۹,۹	۹,۷۴	۶	۴۳
ALP	U/L	۵۴۲	۵۱۹,۰	۱۲	۲۹
AST	U/L	۱۸۰	۱۷۸,۴	۸	۷
ALT	U/L	۱۴۴	۱۴۶,۵	۸	۱۰
CPK	U/L	۲۶۵	۲۶۲,۸	۱۰	۴
LDH	U/L	۷۴۷	۶۳۰,۱	۸	۲۳۲
Amylase	U/L	۳۹۸	۳۳۷,۲	۷	۱۵۷
GGT	U/L	۱۷۸	۱۴۷,۳	۷	>۲,۵sd
Calcium	mg/dl	۱۲,۳	۱۲,۱۴	۶	۳۳
Phosphate	mg/dl	۱۰	۱۰,۱۴	۷	۱۸
Iron(Fe)	ug/dl	۱۹۶	۱۹۱,۰	۷	۱۷
TIBC	ug/dl	۴۱۱	۴۶۱,۴	۱۲	۷۳
Sodium	meq/l	۱۶۵	۱۶۰,۰	۵	۱۹۶
Potassium	meq/l	۵,۶۷	۵,۷۴	۵	۴۲
Lithium	meq/l	۲,۰۶	۱,۸۸	۱۲	۸۸
T4	ug/dL	۱۶,۷۶	۱۶,۵۶	۱۱	۸
TSH	uU/mL	۹,۱۶	۹,۶۲	۸	۳۲
hCG	U/L	۲۳۹	۲۳۲,۶	۱۰	۲۷

T4

- آزمایشگاه
- T4 = خوانده شده 16.7
- CV = 1.5%

- میانگین گروه=16.5
- Bias = 16.5-16.7/16.5*100
- Bias = 1.2

- TaE= 2CV + BIAS
- TaE= 2*1.5+1.2=4.2%
- T4=7%خطای مجازبین المللی وستگارد برای

- لزوم مقایسه عدد بدست آمده با جدول خطای مجاز بین المللی وستگارد

- T4=7%

مثال:

-طبق جدول موجود در سایت وستگارد،برای آنالیت TSHمی باشد.

-CVبدست آمده از تکرار پذیری بین رانی برای تست %۹بوده

-Biasبدست آمده از نتایج کنترل کیفی خارجی به شرح زیر می باشد:

میانگین گروه 9.62

نتیجه آزمایشگاه:9.16

درنتیجه بایاس روش عبارت است از۴/۷۸%

مرحله بعد با یک محاسبه ساده باید SD as % of TEa ,Bias as % of TEaمشخص شود

CV/TEA =Allowable imprecision

Bias/TEA =Allowable inaccuracy

9/23.7=%

4.78/23.7=%



Biological Variation Database specifications

	Analyte	Number of Papers	Biological Variation		Desirable specification		
			CV_I	CVg	I(%)	B(%)	TE(%
S-	Thyroxine (T4)	11	4.9	10.9	2.5	3.0	7.0
P-	Thyroxine, free (FT4)	1	7.1	9.1	3.55	2.89	8.74
S-	Thyroxine, free (FT4)	5	5.7	12.1	2.9	3.3	8.0
S-	Thyroxine binding globulin (TBG)	2	0.09	0.06	0.0	0.0	0.1
P-	Tirosine	1	10.5	61.0	5.3	15.5	24.1

- Note on abbreviations:
- CVi= within-subject biologic variation
- CVg = between-subject biologic variation
- i = desirable specification for imprecision
- B = desirable specification for inaccuracy
- TaE = desirable specification for allowable total error

برنامه اجرائی کنترل کیفی داخلی
ایمونولوژی و هورمون

برنامه اجرائی کنترل کیفی داخلی ایمونولوژی و هورمون

۱) کاربرد روزانه سرم کنترل صحت و دقت در ردیف های کاری پانل هورمون و ایمونولوژی (نظیر کنترل صحت Biorad یا SERO) (حداقل دو سطح از سه سطح) و رسم منحني وستگارد مر بوطه جهت تست های کمی واصلی

۲) کنترل روزانه موارد غیر طبیعي (با همان نمونه اول) در الایزا با روش تائیدی ایمونو آنالایزر

Reconfirm of abnormal result of EIISA* method with ELFA (Vidas) or ECL

۳) تکرار نتایج غیر طبیعي با نمونه جدید در موارد عدم همخواني نتایج با شرح حال بیمار و سوابق نتایج قبلي بیمار

Rechecked with new sample

۴) کنترل و تائید نتایج نمونه های بیماران (با نمونه قبلی) : استفاده از نمونه بیماران با نتایج بالا یا پائین به عنوان کنترل بیمار در ردیف کار بعدي با دو هدف کنترل مجدد نتایج قبلی و شناسائی منابع خطا قبل از آنالیز

۱) Rechecked with same sample

برنامه اجرائی کنترل کیفی داخلی ایمونولوژی و هورمون

۵) محاسبه میانگین نتایج بیماران Patient mean control در هر ردیف کاری و محاسبه ضریب تغییرات ماهانه تست ها در ارتباط با برخی تست های با اهمیت و دارای نوسان ازجمله T3 / TSH / Ferritin جهت شناسايي خطاهاي سيستماتيك قبل از آنالیز یا حین آنالیز

۶) دلتا چك نتايج هورمون و ايمونولوژي Delta . Check :

(مقایسه نتایج فعلی بیمار با نتایج قبلی و پرونده بیمار با هدف شناسائی خطا های راندوم)

۷) کنترل روزانه ارتباط تست ها با یکدیگر Correlation . Check :

بررسي ارتباط و همبستگی سطح فريتين سرم با سطح آهن سرم و مرفولوژي گلبولهاي قرمز یا رابطه ANA و RF و...

برنامه اجرائی کنترل کیفی داخلی ایمونولوژی و هورمون

۸) نگاهداری پیشگیرانه تجهیزات بخش هورمون و ایمونواسی
(Daily & weekly & monthly PM) preventive maintenance

نکات کیفی و نگاهداری روزانه الایزا ریدر یا ایمونو آنالایزر یا سایر تجهیزات وابسته به بخش هورمون مطابق جدول نگاه دارنده پیشگیرانه دستگاه ها

۹) تصدیق و صحه گذاری کیت های جدید یا روش های جدید یا تجهیزات جدید :
Verification & validation of new method & equipment

مقایسه دقت و صحت دو روش آزمایشگاهی برای یک نوع آزمایش یا دو کیت از یک نوع آزمایش به شکلی یک شرکت الزاما معتبر و داری تائیدیه کیفی باشد . انجام يك یا چند تست با نتیجه غیر طبیعي با دو کیت الایزا متفاوت جهت مقایسه میزان خطی بودن وهمبستگی نتایج در اعداد بالا و پائین و بررسی مقایسه ای تکرار پذیری و صحت و حساسیت و ویژگي کیت جدید الایزا با کیت معتبر و مرجع الایزا

برنامه اجرائی کنترل کیفی داخلی ایمونولوژی و هورمون

- نکته مهم :
- برای تست های با کاربری زیاد نظیر پانل تیروئید رسم منحنی کنترل کیفی و رعایت قوانین وستگارد در دو سطح کنترل ضروری است ولی برای تست هائی با کاربرد محدود در بخش هورمون قرار دادن یک یا دو سرم کنترل به همراه یک نمونه بیمار از ران قبلی کار کفایت می کند.

برنامه اجرائی کنترل کیفی داخلی ایمونولوژی و هورمون

- نکته مهم ۲:
- توجه به رفرانس رنج
- قبل از ورود هر سری اطلاعات بسیار الزامی و ضروری است .

برنامه اجرایی تضمین کیفیت بخش هورمون

برنامه اجرائی تضمین کیفیت ایمونولوژی و هورمون

۱- آموزش مستمر کارکنان هورمون و ایمونولوژی در حوزه های کاربردی و بر اساس نیاز سنجی آموزشی

۲- ارزیابی صلاحیت کارکنان هورمون و ایمونولوژی متناسب با نوع و حجم کار (بدو خدمت و حین خدمت) در فرکانس زمانی تعریف شده (حداقل سالانه یک بار در حین خدمت) توسط مسئول فنی و سوپر وایزر آزمایشگاه مبتنی بر شواهد عینی حین کار و سوابق کیفی ارائه شده توسط کارکنان

۳- پیگیري و ثبت روزانه عدم انطباق های بخش هورمون و ایمونولوژی در هر سه حوزه مرتبط با بخش میکرب شناسی شامل

قبل از آنالیز(ارسال نمونه معیوب از نمونه برداری نظیر ظرف آلوده به دترژان و حجم ناکافی و...)

حین آنالیز (استفاده از منحنی ذخیره الایزا و عدم استفاده از کالیبراتور ها در هر ردیف کاری ...)

پس از آنالیز(ثبت جابجا نتایج تست ها در لیست کار / نداشتن کامنت های مناسب جهت تفسیر نتایج و ...)

الف) ثبت عدم انطباق ها (خطاهاي) ماژور در فرم عدم انطباق بخش همراه با ثبت الزامي اقدام اصلاحي و پیشگیرانه

ب) ثبت خطاي مینور در فرم عدم انطباق بخش بدون ضرورت ثبت اقدام اصلاحي و پیشگیرانه

۴- برنامه اجرائی کنترل کیفی خارجی هورمون و ایمونولوژی

الف) دریافت ۳ نمونه سرم مجهول از موسسات کنترل کیفی خارجی (موسسات مورد تائید آزمایشگاه رفرانس) در فواصل ۴ ماهه

ب) دریافت و ارسال نمونه های مشکوک یا مجهول از آزمایشگاه های ریفرال و معتبر نظیر ارسال نمونه با جواب مثبت ضعیف (ارزیابی مقایسه ای نتایج مشکوک در بخش هورمون و ایمونولوژی)

1- QC program

2- QA program

3- IQ (improvement of Quality)

4-Continuous improvement of quality

-Continuous improvement of quality •



Audit(internal &External) •



راه کنترل کیفی
پرپیچ و خم است
ولی مطمئنا تاثیرات
زیبای خود را خواهد
داشت.

خطای های روش الایزا

- No Signal or Weak Signal
- High background
- Poor Duplicate
- Standard curve

ویژگی های منحنی استاندارد یا کالیبراسیون

Calibration curve or Dose Response Curve

منحنی استاندارد چون رابطه بین دوز آنالیت و پاسخ (جذب نوری یا سیگنال حاصل) را بیان می نماید به عنوان منحنی دوز – پاسخ نیز نامیده می شود

در شرایط ایده آل منحنی کالیبراسیون یا استاندارد بایستی یکنواخت (منو تونیک) باشد یا به عبارتی منحنی تغییر جهت نداشته باشد (فاقد قله یا دره در میانه منحنی باشد)

منحنی های استاندارد در دو نوع کلی طبقه بندی می گردند:

۱- منحنی شیب مثبت : رابطه دوز و پاسخ (سیگنال) مستقیم است

۲- منحنی شیب منفی : رابطه دوز و پاسخ (سیگنال) غیرمستقیم است

افزایش تعداد استاندارد ها یا کالیبراتور ها منجر به افزایش صحت و کاهش بایاس منحنی کالیبراسیون می گردد

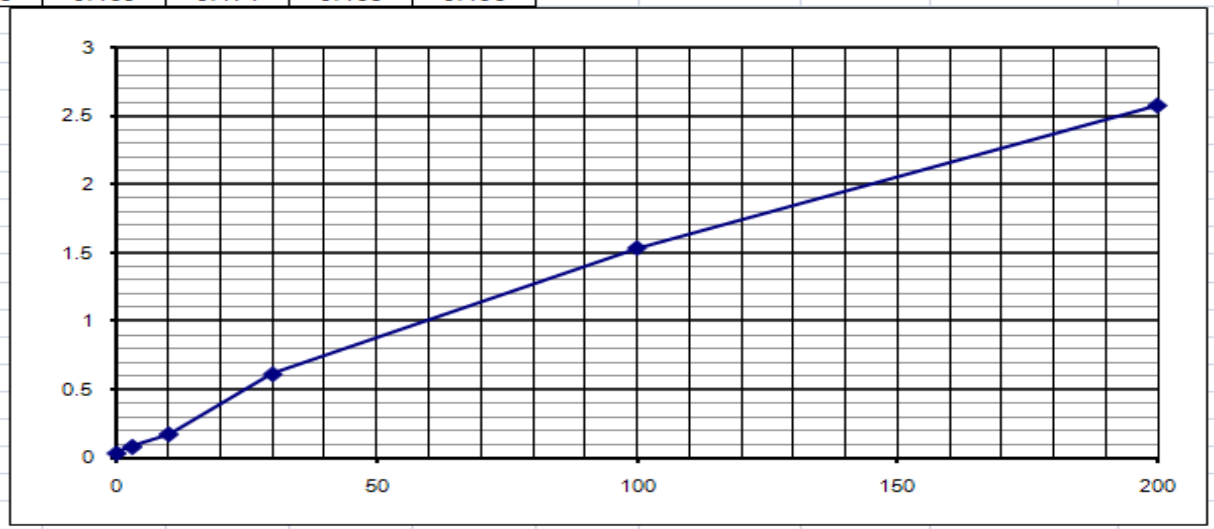
OD:

0.038	0.085	0.177	0.615	1.535	2.574	0.375	1.187
2.403	0.133	0.236	0.156	0.177	0.153	0.251	0.137
0.107	0.324	0.288	0.244	0.087	0.321	0.247	0.161
0.078	0.146	0.258	0.182	0.07	0.106	0.132	0.296
0.363	0.302	0.346	0.217	0.179	0.203	0.17	0.136
0.308	0.545	0.356	0.395	0.203	0.158	0.21	0.307
0.126	0.248	0.207	0.084	0.213	0.092	0.208	0.284
0.244	0.466	0.336	0.474	0.083	0.206	0.204	0.153
0.185	0.193	0.252	0.296	0.319	0.315	0.071	0.257
0.113	0.247	0.196	0.211	0.12	0.162	0.185	0.102
0.175	0.124	0.33	0.287	0.245	0.281	0.16	0.303
0.184	0.167	0.169	0.165	0.169	0.171	0.168	0.196

تاریخ :	Run ۱ (۱– ۷۹)
آنالیت:	INSULIN (Mercodia)
محدوده طبیعی:	2-25 mIU/L

89/5/31 Salimi
1-79 case phase 1

Plot area:	OD	Con
St 1	0.038	**0**
St 2	0.085	**3**
St 3	0.177	**10**
St 4	0.615	**30**
St 5	1.535	**100**
St 6	2.574	**200**
St 7		

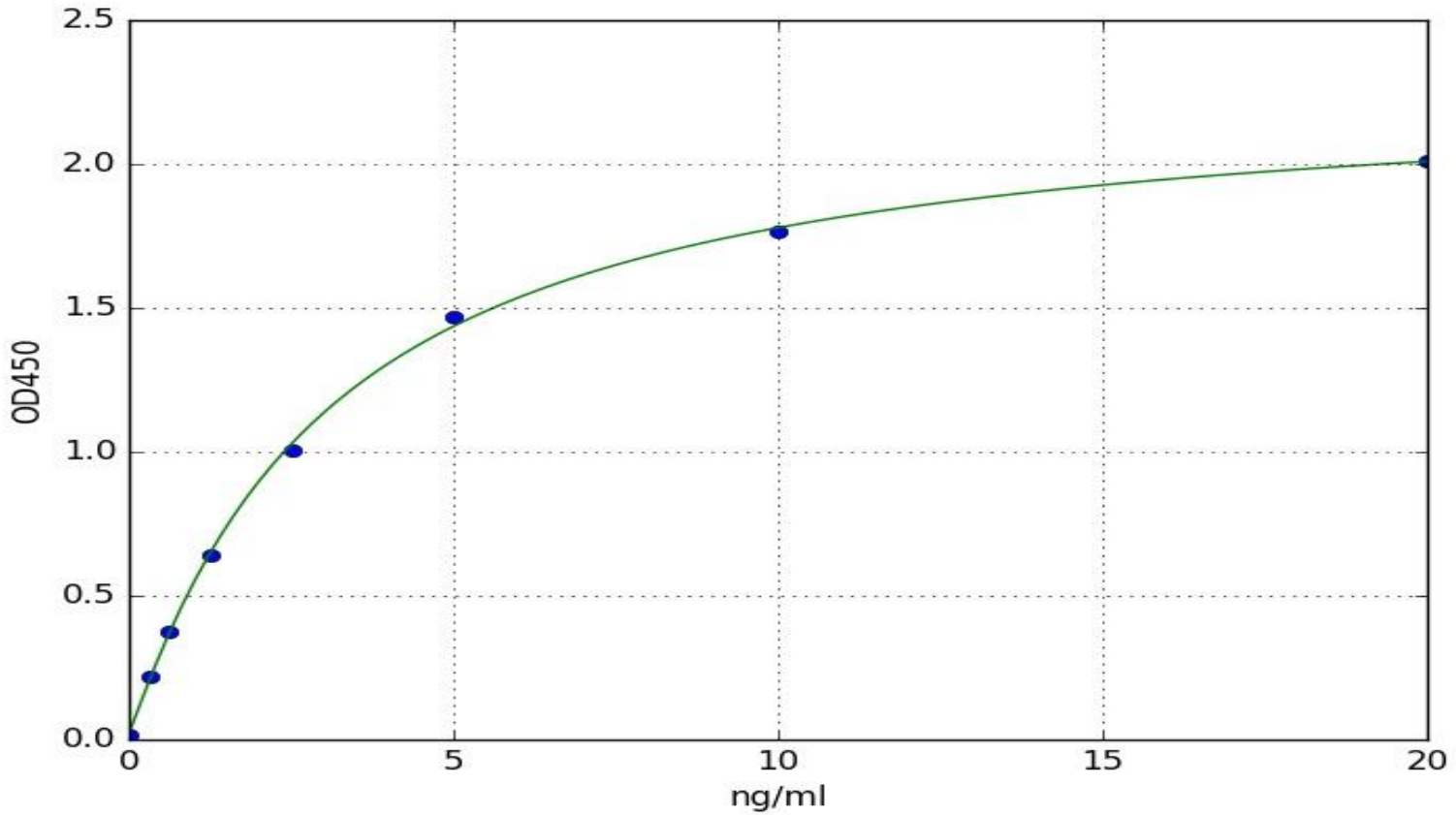


Concentrations:

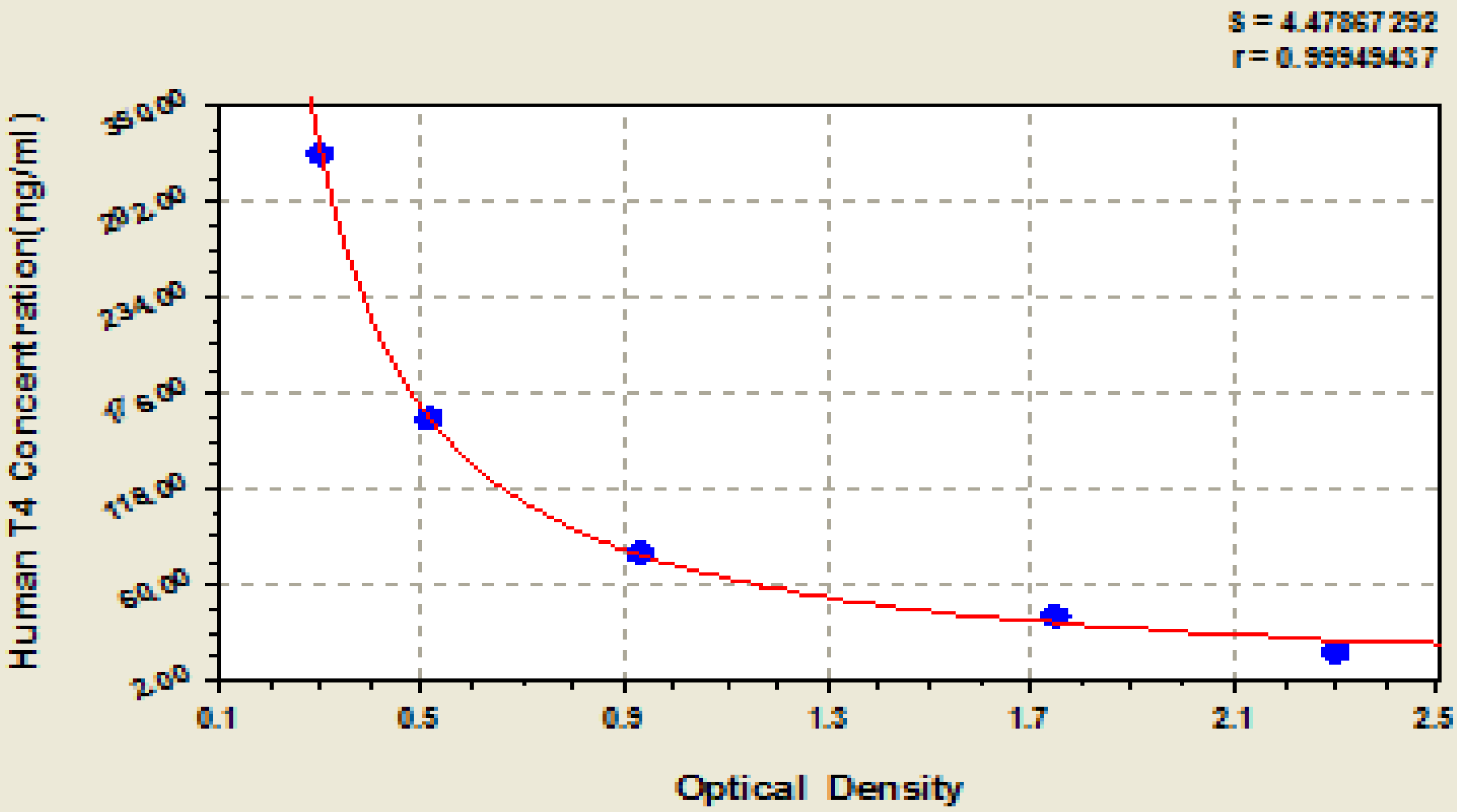
0.00	3.00	10.00	30.00	100.00	Out Range	19.04	73.52
183.54	6.65	12.69	8.40	10.00	8.17	13.38	6.96
4.67	16.71	15.07	13.06	3.15	16.58	13.20	8.78
2.55	7.64	13.70	10.23	2.04	4.60	6.58	15.43
18.49	15.71	17.72	11.83	10.09	11.19	9.47	6.88
15.98	26.80	18.17	19.95	11.19	8.55	11.51	15.94
6.12	13.24	11.37	2.94	11.64	3.53	11.42	14.89
13.06	23.20	17.26	23.56	2.87	11.32	11.23	8.17
10.37	10.73	13.42	15.43	16.48	16.30	2.11	13.65
5.13	13.20	10.87	11.55	5.66	8.86	10.37	4.29
9.85	5.97	16.99	15.02	13.11	14.75	8.71	15.75
10.32	9.24	9.39	9.09	9.39	9.54	9.32	10.87

انجام دهنده آزمایش: 2

منحنی با شیب مثبت



منحنی با شیب منفی



- بیماری (خانم) نتایج زیر را از آزمایشگاه گرفته
- آهن ۱۷۰
- فریتین ۲۵
- هموگلوبین ۱۱
- هماتوکریت ۳۴/۸
- ----------
- خانمی HIVمثبت

- آهن ۵۶
- فریتین ۷۹۲
- همو.گلوبین ۱۳
- هماتوکریت ۴۲
- Dialyse-
- -enffection-acute
- Criticical diseases
- Talasemi major
- ----------

- مردی ۷۵ ساله
- PSA = 0.1

- 0.4 - 6 TSH =6.5
- T4 = 8
- T3 = 1.8

- TSH =0.1
- T4 = 2
- T3 = 0.5

No Signal or Weak Signal

۱- حذف یکی از معرف های کلیدی نظیر کنژوکه در روش اجرائی کار منجر به سیگنال منفی (عدم واکنش) می گردد
افت تیتر کنژوکه غیر فعال شدن کنژوگه

۲- خرابی سوبسترا و کروموژن

۲- خروج از کالیبر ابزار های حجمی برداشت نمونه و استاندارد

۳- خراش در کف پلیت ها می تواند منجر به کاهش سیگنال شود

۴- کاهش زمان انکوباسیون یا دمای انکوباسیون بر خلاف دستور العمل کیت منجر به کاهش سیگنال می گردد که به دلیل کاهش تعداد ترکیب های اتصالی نهائی می باشد

No Signal or Weak Signal

۵- شستشو بیش از تعداد دفعات تعریف شده

۶- کاربرد فیلتر نامناسب در الایزا

۷- شروع انجام تست الایزا بدون انتظار جهت به دمای اطاق رساندن

۸- حرارت پائین محیط کار بخش الایزا (خراب بودن سیستم گرمایش آزمایشگاه)

HIGH BACKGROUND

۱- آلودگی چاهک به چاهک نمونه بیماران
۲- افزایش زمان انکوباسیون یا دمای انکوباسیون

۳- شستشو کمتر از تعداد دفعات تعریف شده نهایتا افزایش سیگنال یا رنگ نهائی می گردد

۴- کاربرد فیلتر نامناسب در الایزا منجر به افزایش سیگنال می گردد
۵- حرارت بالا محیط کار بخش الایزا (خراب بودن سیستم سرمایش آزمایشگاه خصوصا در مناطق گرم و مرطوب شمال یا جنوب کشور)

•

HIGH BACKGROUND

۶- افزایش غلظت و تیتر کنژوکه کیت الایزا به دلیل تبخیر یا تغلیظ

۷- تبخیر و تغلیظ نمونه های استاندارد کیت به دلیل باز ماندن طولانی درب ویال
استاندارد ها در چند نوبت مکرر

۸- آلودگی سوبسترا با معرف کنژوکه / عمدتا به دلیل اشتباه پرسنلی و استفاده
مشترک از یک پیپت است

Poor Duplicate

نمونه مضاعف ضعیف (بدون هم خوانی)

۱- نمونه خوب میکس نشده (نمونه خارج شده از فریزر و دارای شیب غلظتی و رسوب)

۲- خراش زیر پلیت

۳- سمپلینگ نادرست نمونه یا معرف ها در پلیت

۴- اثر لبه ای

۵- چاهک آلوده یا بی اثر

۶- آلودگی چاهک به چاهک

Poor Standard Curve

۱- استفاده از معرف یا استاندارد یک کیت دیگر خصوصا با سری ساخت متفاوت

۲- خطا در حین آماده سازی استاندارد ها ناشی از پیپتینگ نامناسب و ...

۳- اختلاط نامناسب استاندارد ها

۴- خراش و کدورت کف پلیت ها در ناحیه استاندارد ها

۵- کف پلیت کثیف و تمیز نشده

۶- شستشوی نادرست یا ناکافی

ویژگی های منحنی استاندارد یا کالیبراسیون

Calibration curve or Dose Response Curve

منحنی استاندارد چون رابطه بین دوز آنالیت و پاسخ (جذب نوری یا سیگنال حاصل) را بیان می نماید به عنوان منحنی دوز – پاسخ نیز نامیده می شود

در شرایط ایده آل منحنی کالیبراسیون یا استاندارد بایستی یکنواخت (منو تونیک) باشد یا به عبارتی منحنی تغییر جهت نداشته باشد (فاقد قله یا دره در میانه منحنی باشد)

منحنی های استاندارد در دو نوع کلی طبقه بندی می گردند:

۱- منحنی شیب مثبت : رابطه دوز و پاسخ (سیگنال) مستقیم است

۲- منحنی شیب منفی : رابطه دوز و پاسخ (سیگنال) غیرمستقیم است

افزایش تعداد استاندارد ها یا کالیبراتور ها منجر به افزایش صحت و کاهش بایاس منحنی کالیبراسیون می گردد

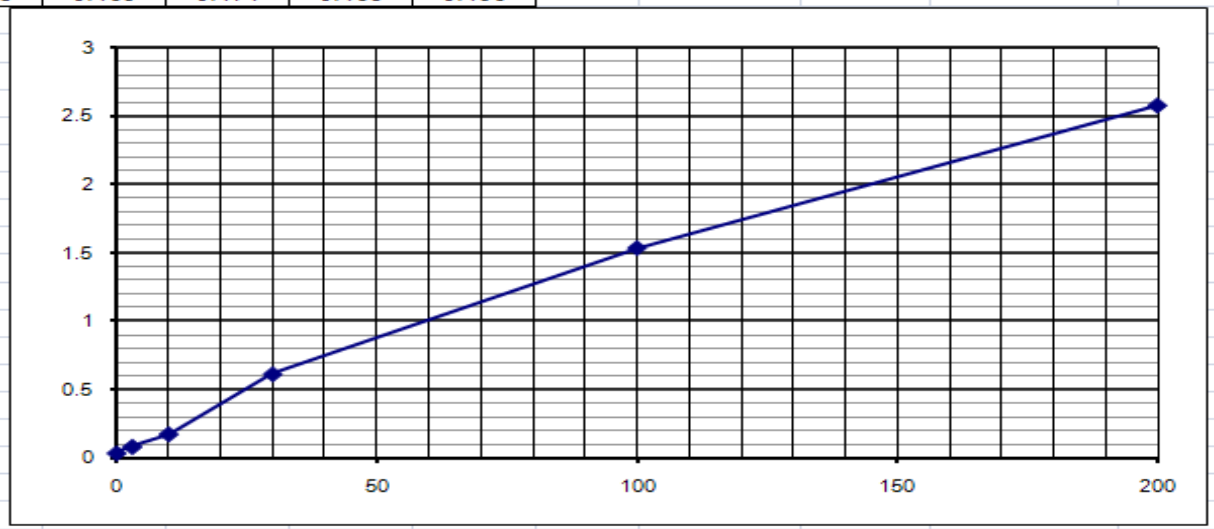
OD:

0.038	0.085	0.177	0.615	1.535	2.574	0.375	1.187
2.403	0.133	0.236	0.156	0.177	0.153	0.251	0.137
0.107	0.324	0.288	0.244	0.087	0.321	0.247	0.161
0.078	0.146	0.258	0.182	0.07	0.106	0.132	0.296
0.363	0.302	0.346	0.217	0.179	0.203	0.17	0.136
0.308	0.545	0.356	0.395	0.203	0.158	0.21	0.307
0.126	0.248	0.207	0.084	0.213	0.092	0.208	0.284
0.244	0.466	0.336	0.474	0.083	0.206	0.204	0.153
0.185	0.193	0.252	0.296	0.319	0.315	0.071	0.257
0.113	0.247	0.196	0.211	0.12	0.162	0.185	0.102
0.175	0.124	0.33	0.287	0.245	0.281	0.16	0.303
0.184	0.167	0.169	0.165	0.169	0.171	0.168	0.196

تاریخ :	Run ۱ (۱– ۷۹)
آنالیت:	INSULIN (Mercodia)
محدوده طبیعی:	2-25 mIU/L

89/5/31 Salimi
1-79 case phase 1

Plot area:	OD	Con
St 1	0.038	**0**
St 2	0.085	**3**
St 3	0.177	**10**
St 4	0.615	**30**
St 5	1.535	**100**
St 6	2.574	**200**
St 7		

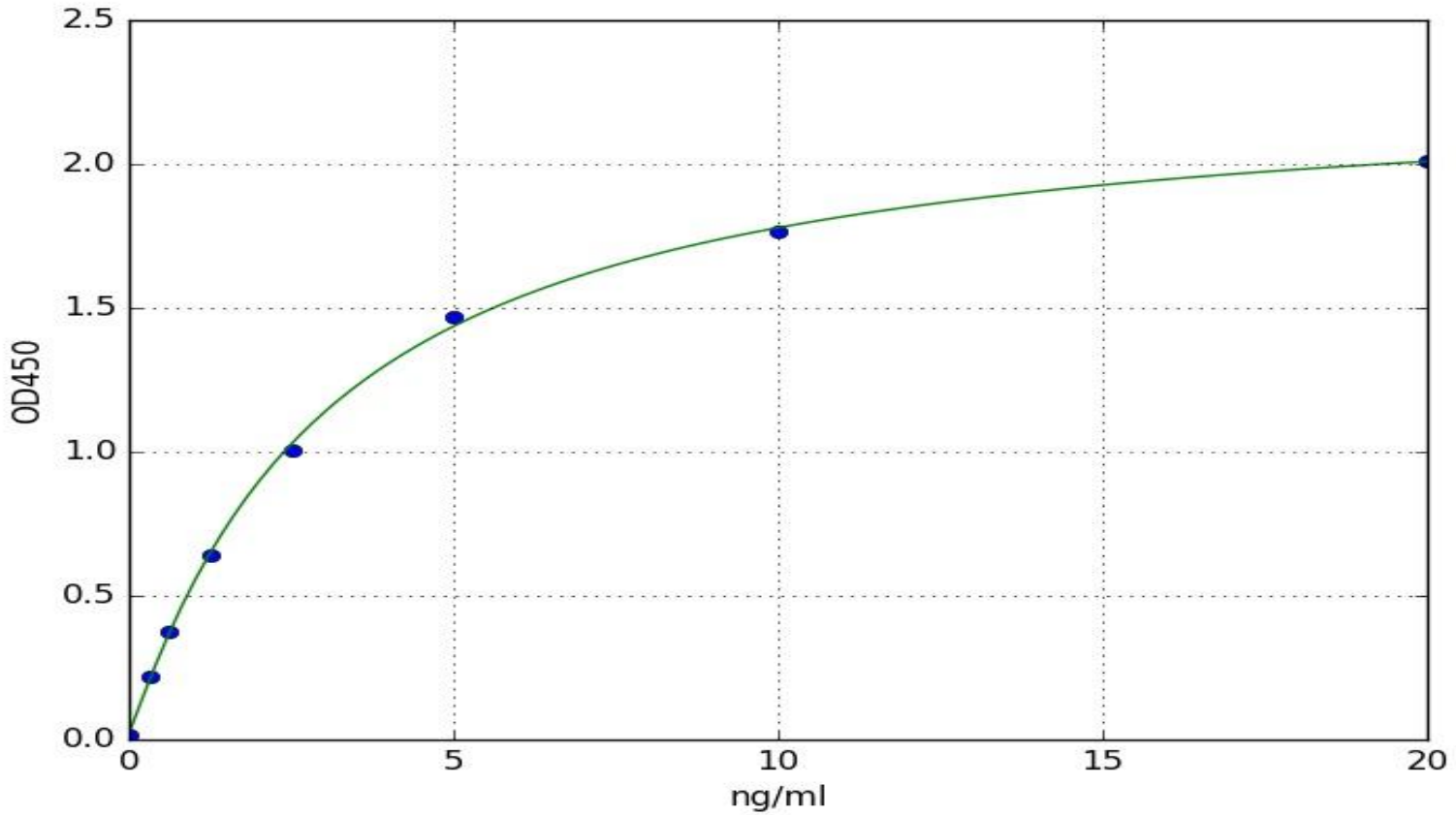


Concentrations:

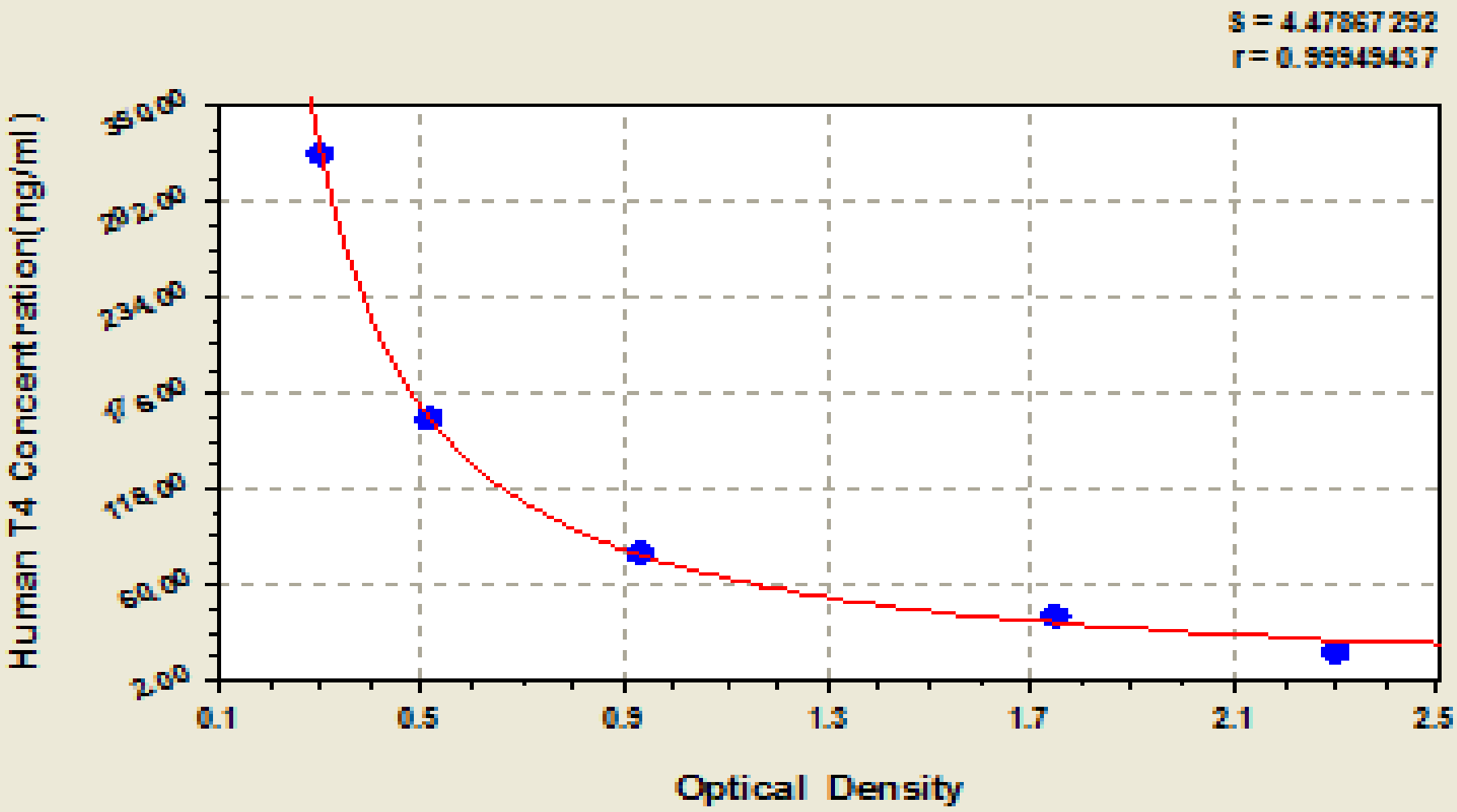
0.00	3.00	10.00	30.00	100.00	Out Range	19.04	73.52
183.54	6.65	12.69	8.40	10.00	8.17	13.38	6.96
4.67	16.71	15.07	13.06	3.15	16.58	13.20	8.78
2.55	7.64	13.70	10.23	2.04	4.60	6.58	15.43
18.49	15.71	17.72	11.83	10.09	11.19	9.47	6.88
15.98	26.80	18.17	19.95	11.19	8.55	11.51	15.94
6.12	13.24	11.37	2.94	11.64	3.53	11.42	14.89
13.06	23.20	17.26	23.56	2.87	11.32	11.23	8.17
10.37	10.73	13.42	15.43	16.48	16.30	2.11	13.65
5.13	13.20	10.87	11.55	5.66	8.86	10.37	4.29
9.85	5.97	16.99	15.02	13.11	14.75	8.71	15.75
10.32	9.24	9.39	9.09	9.39	9.54	9.32	10.87

انجام دهنده آزمایش: 2

منحی با شیب مثبت



منحنی با شیب منفی



جابجائی آشکار نتایج در محدوده مرجع

۱- تعویض تکنسین

۲- تغییر عمده در روش جمع آوری نمونه

۳- تغییر عمده در حرارت و میزان رطوبت آزمایشگاه

۴- کالیبراتور ناپایدار

۵- عدم اطلاع تکنسین از تغییر روش کار متد الایزا

۶- کاربرد منحنی کالیبراسیون ذخیره

۷- نقص در تجهیزات نظیر الیزا ریدر

واستفاده از سمپلر کالیبر نشده ۸- کیت تاریخ گذشته

- بیماری (خانم) نتایج زیر را از آزمایشگاه گرفته
- آهن ۱۷۰
- فریتین ۲۵
- هموگلوبین ۱۱
- هماتوکریت ۳۴/۸
- ----------
- خانمی HIVمثبت

- آهن ۵۶
- فریتین ۷۹۲
- همو.گلوبین ۱۳
- هماتوکریت ۴۲
- Dialyse-
- -enffection-acute
- Criticical diseases
- Talasemi major
- ----------

- مردی ۷۵ ساله
- PSA = 0.1

- 0.4 - 6 TSH =6.5
- T4 = 8
- T3 = 1.8

- TSH =0.1
- T4 = 2
- T3 = 0.5