

مروری بر صحه گذاری و تصدیق روشهای کمی در آزمایشگاه بالینی

مصطفی آتش بسته
دانش آموخته بیوشیمی بالینی

EP15-A3

User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline—Third Edition



کلمات کلیدی

- عدم صحت (تورش، بایاس)
- عدم دقت درون دور
- عدم دقت بین دور
- عدم دقت بین آزمایشگاهی
- ویژگی های عملکردی
- صحه گذاری روش
- تصدیق روش

تعریف

• عدم صحت (تورش، بایاس):

میزان فاصله میانگین تعداد بی شمار از نتایج (تولید شده با متد) را به مقدار مرجع بیان می کند.

$$b (\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$$

تعریف

عدم دقت:

می‌زان پراکندگی نتایج حاصل از تکرار آزمایش بر روی یک نمونه که بصورت SD و $CV\%$ بیان می‌شود.

انواع عدم دقت:

- 1- عدم دقت درون دور (Repeatability)
- 2- عدم دقت بینابینی (بین دور)
- 3- بین آزمایشگاهی (Reproducibility)

جدول ۱۱-۵ انواع عدم دقت، متغیرهای مربوطه و مقدار مجاز پیشنهادی آنها نسبت به خطای کل مجاز			
عدم دقت	متغیرها	مقدار مجاز	
درون-آزمایشگاهی	درون-دور	عمدتاً معرف و عملکرد دستگاه	
	بین-دور	کارشناس، نمونه، معرف، کالیبراسیون، عملکرد دستگاه، دستورالعمل	
	کل	کارشناس، نمونه، معرف، کالیبراسیون، عملکرد دستگاه، دستورالعمل	
	بین-آزمایشگاهی	علاوه بر متغیرهای فوق، تنوع در دستگاه و نحوه کالیبراسیون	
		یک چهارم	یک سوم
		یک سوم	یک دوم

دقت بینابینی

همانندسازی
Reproducibility

دقت درون
آزمایشگاهی
(درون
دستگاهی)

دقت روز به
روز

دقت دور به
دور

تکرارپذیری
Repeatability

- آزمایشگاه‌های گوناگون
- شماره ساخت‌های گوناگون مواد،
- شماره ساخت‌های گوناگون کالیبراتور
- کاربران مختلف و وسایل مختلف
- زمان طولانی

- یک آزمایشگاه
- زمان معین
- کاربران مختلف
- وسایل یکسان
- شماره ساخت معرف‌ها و کالیبراتورها ممکن است فرق کند

- یک آزمایشگاه
- زمان کوتاه
- یک کاربر
- وسایل یکسان

دقت درون دوری
سابق

دقت کل سابق

عدم دقت درون-دور

• فرمول محاسبه:

$$SD_w = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
$$\%CV_w = \frac{SD_w}{\bar{x}} \times 100$$

• نحوه تصمیم گیری:

$$\%CV_w \leq 0.25 \times \%TEa$$

عدم دقت بین-دور

• فرمول محاسبه:

$$SD_b = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\%CV_b = \frac{SD_b}{\bar{x}} \times 100$$

• نحوه تصمیم گیری:

$$\underline{\%CV_b \leq 0.33 \times \%TEa}$$

عدم دقت کل

$$SD_{\bar{b}}^2 = \frac{\sum ((\bar{x}_d - \bar{\bar{x}})^2)}{N-1}$$

• فرمول محاسبه:

$$SD_B^2 = SD_{\bar{b}}^2 - \frac{SD_w^2}{n}$$

$$SD_T = \sqrt{SD_{\bar{w}}^2 + SD_B^2} \quad \%CV_T = \frac{SD_T}{\bar{\bar{x}}} \times 100$$

• نحوه تصمیم گیری:

$$\underline{\%CV_T \leq 0.33 \times \%TEa}$$

تعریف

ویژگی های عملکردی: (Performance characteristic) :

شامل دقت، صحت، خطی بودن، محدوده قابل گزارش، حد تشخیص، حساسیت و اختصاصی بودن تشخیصی و بالینی و غیره

صحه گذاری (Validation):

در مورد کیت های فاقد تأییدیه، دارای تأییدیه ولی تغییر یافته و رو شهای تولیدی در آزمایشگاه، به معنای تأیید وجود تمامی ویژگی های عملکردی روش آزمایش، با توجه به کاربرد بالینی و هدف ازانجام آن آزمایش برای برآوردن نیازهای بالینی است.

تصدیق روش (verification):

در مورد کیت های معتبر به معنای ارزیابی بخشی از ویژگی های عملکردی روش (مثلا دقت، صحت، خطی بودن و غیره)

منابع اصلي تأثیرگذار بر کیفیت نتایج

- کارشناس فنی

- تجهیزات فنی

- روشهای اندازه گیری

کارشناس فني

- صلاحیت اولیه
- آگاهی از نوع فعالیت و عملکرد
- تصدیق از طریق ارزیابی و آموزش مداوم

ارزیابی و آموزش مداوم

• عملکرد های کارشناس آزمایشگاه می بایست به صورت مداوم تحت نظر گرفته شده و به صورت دوره ای مثلاً از طریق برگزاری آزمون های عمومی و تخصصی دوره ای و یا دادن نمونه های مجهول مورد ارزیابی قرار گیرد.

• درحسب نیاز، دوره های آموزشی تکمیلی جهت ارتقاء عملکرد کارشناسان فراهم گردد.

ارزیابی و آموزش مداوم

۳۷	۲-۶-۱-۵	صلاحیت کارکنان در ضمن خدمت، بطور دوره ای ارزیابی می شود.	ارزیابی صلاحیت دوره ای کارکنان در حین خدمت با توجه به شرح شغل ایشان، به روش های مشخص (مطابق با بند ۲-۶-۱-۵ استاندارد) انجام می گردد.	۴	- مصاحبه با مسئول فنی و گروه مدیریتی آزمایشگاه در مورد روش های ارزیابی صلاحیت ضمن خدمت کارکنان در رده های کاری مختلف - مصاحبه با چند نفر از کارکنان بطور تصادفی در مورد نحوه ارزیابی صلاحیت دوره ای آنها توسط مدیریت آزمایشگاه - بررسی سوابق ارزیابی صلاحیت ضمن خدمت همان کارکنان
۳۸	۷-۱-۵	عملکرد حرفه ای کارکنان مورد ارزیابی قرار می گیرد.	ارزیابی حرفه ای کارکنان در زمینه کارایی، مسئولیت پذیری، وقت شناسی، سازگاری با محیط، ارتباط مناسب با همکاران، رعایت اخلاق حرفه ای، پایبندی به ضوابط آزمایشگاه و غیره بطور دوره ای انجام می شود.	۴	- مصاحبه با مسئول فنی و گروه مدیریتی آزمایشگاه در مورد نحوه ارزیابی کارکنان در رده های شغلی مختلف و معیارهایی که برای ارزیابی مد نظر قرار می گیرد. - مصاحبه با چند نفر از کارکنان و ارزیابی آگاهی آنها از معیارهای ارزیابی - بررسی سوابق ارزیابی دوره ای چند نفر از کارکنان بطور تصادفی

تصدیق عملکرد تجهیزات پس از نصب و سرویس

• کنترل کیفیت عملکرد تجهیز طبق آخرین ویرایش دستورالعمل عملکرد پرو بها؛ انتقال ناخواسته؛ کنترل درجه حرارت، طول موج، خطی بودن و...

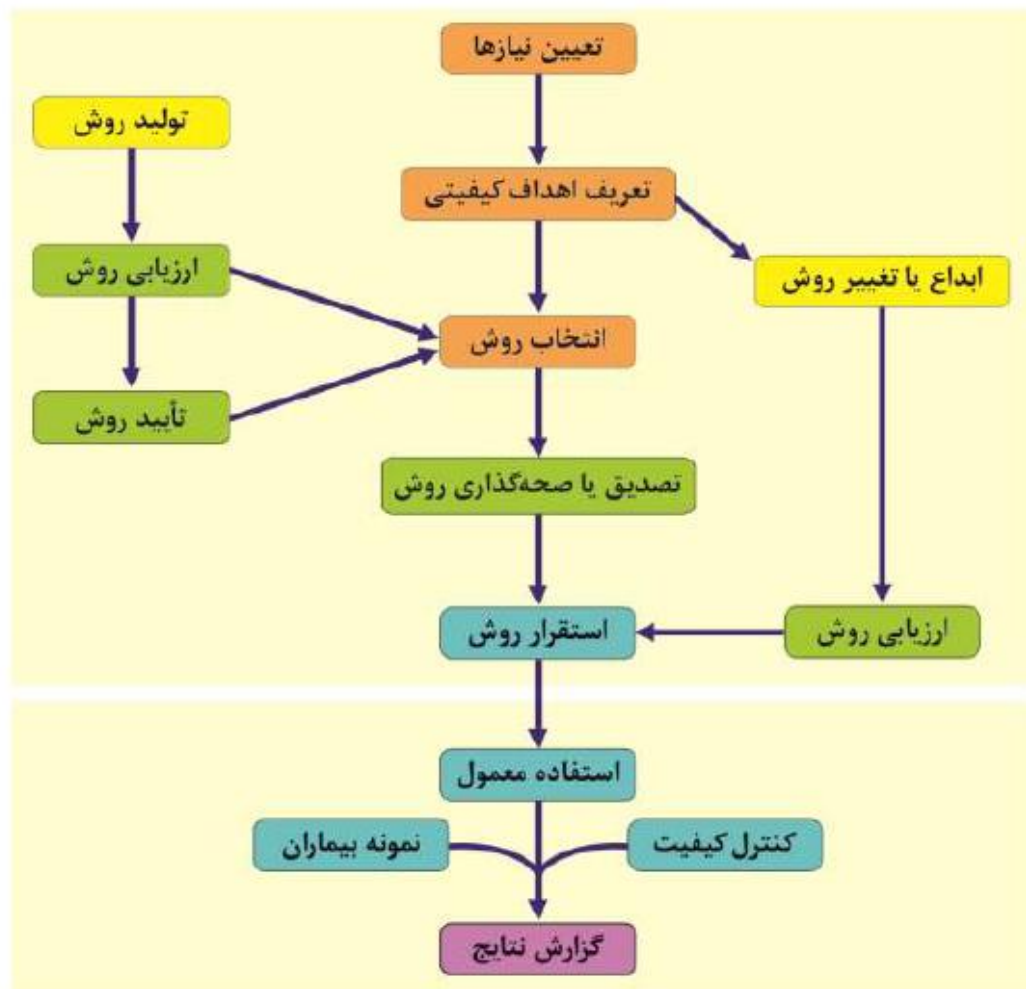
• مقایسه نتایج روشهای دستی و دستگاهی
تعیین Hb و Hct دستی انجام ESR به روش و سترگرین شمارش سلولی به روش دستی و....

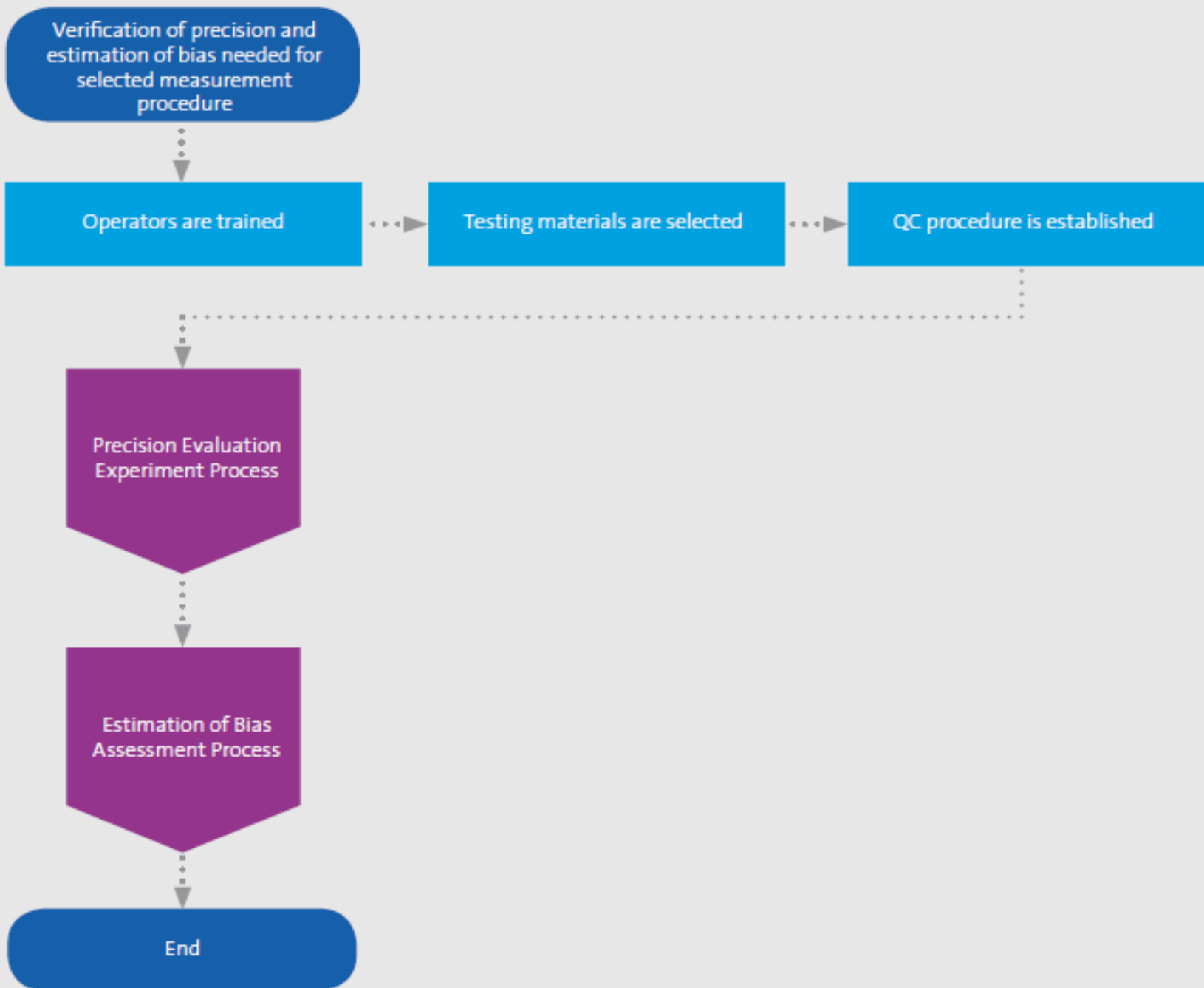
• بررسی صحت و دقت عملکرد پس از نصب و یا سرویس

تصدیق عملکرد تجهیزات پس از نصب و سرویس

۵۳	۲-۱-۳-۵ ۵-۱-۳-۵	پس از جابجایی، سرویس، تعمیر یا در مواردی که تجهیز از کنترل مستقیم آزمایشگاه خارج می شود، و قبل از بازگشت مجدد تجهیز به کار، عملکرد تجهیز مورد بررسی قرار گرفته و تصدیق می شود.	۳ - مصاحبه با چند نفر از کاربران تجهیزات و بررسی آگهی آنان از نحوه ارزیابی و تصدیق عملکرد تجهیزات پس از جابجایی، سرویس یا تعمیر - بررسی سوابق مرتبط با ارزیابی و تصدیق تجهیزات پس از جابجایی، سرویس یا تعمیر
۵۴	۴-۶-۵	از مقایسه پذیری و همخوان بودن نتایج آزمایش هایی که با روش ها و تجهیزات متفاوت در آزمایشگاه انجام می شوند، اطمینان حاصل می گردد.	۵ - مصاحبه با مسئول فنی، گروه مدیریتی و کارکنان آزمایشگاه در مورد نحوه ارزیابی و محاسبه همخوانی نتایجی که با روش ها و تجهیزات مختلف انجام می شوند. - بررسی سوابق ارزیابی همخوانی نتایج روش ها و تجهیزات مختلف

مراحل مختلف انتخاب یک روش





مراحل مختلف صحه گذاری

- تهیه دستورالعمل نحوه کالیبراسیون
- بررسی عدم دقت
- بررسی عدم صحت
- خطی بودن
- شاخصهای حساسیت آنالیتیکی
- بررسی عوامل مداخله گر
- بازیابی
- تعیین محدوده مرجع

مراحل مختلف تصدیق

- بررسی تورش
- بررسی عدم دقت
- خطی بودن
- تصدیق دامنه مقادیر مرجع

بررسی مقایسه عدم دقت دو روش آزمایشگاهی

- مقایسه عدم دقت روش با عدم دقت مجاز
- مقایسه عدم دقت یک روش در آزمایشگاه با نتایج ارائه شده توسط تولیدکننده یا مرکز دیگر با استفاده از آزمون کای دو
- مقایسه عدم دقت دو روش اندازه گیری در یک آزمایشگاه با استفاده از F آزمون

مقایسه عدم دقت دو روش در آزمایشگاه

- انجام N بار تست با دو روش و تعیین واریانس هر دو روش
- انجام تست F و مقایسه با میزان F بحرانی از طریق جدول

جدول ۱۲-۵ میزان بحرانی F در سطح معنی‌دار ۰/۰۵

درجه آزادی صورت					
۲۰	۱۶	۱۴	۱۲	۱۰	
۲,۷۷	۲,۸۲	۲,۸۶	۲,۹۱	۲,۹۸	۱۰
۲,۶۵	۲,۷۰	۲,۷۴	۲,۷۹	۲,۸۵	۱۱
۲,۵۴	۲,۶۰	۲,۶۴	۲,۶۹	۲,۷۵	۱۲
۲,۴۶	۲,۵۱	۲,۵۵	۲,۶۰	۲,۶۷	۱۳
۲,۳۹	۲,۴۴	۲,۴۸	۲,۵۳	۲,۶۰	۱۴
۲,۳۳	۲,۳۹	۲,۴۳	۲,۴۸	۲,۵۴	۱۵
۲,۲۸	۲,۳۳	۲,۳۷	۲,۴۲	۲,۴۹	۱۶
۲,۲۳	۲,۲۹	۲,۳۳	۲,۳۸	۲,۴۵	۱۷
۲,۱۹	۲,۲۵	۲,۲۹	۲,۳۴	۲,۴۱	۱۸
۲,۱۶	۲,۲۱	۲,۲۶	۲,۳۱	۲,۳۸	۱۹
۲,۱۲	۲,۱۸	۲,۲۳	۲,۲۸	۲,۳۵	۲۰

درجه آزادی مخرج

$$F = \frac{SD^2_{Larger}}{SD^2_{Smaller}}$$

مقایسه عدم دقت یک روش در آزمایشگاه با نتایج ادعایی توسط شرکت سازنده

- انجام N بار آزمایش و تعیین واریانس آزمایشگاه
- انجام تست کای دو
- مقایسه میزان محاسبه شده با میزان بحرانی کای - دو حاصل از جدول

$$\chi^2 = \frac{(SD^2_{User})(n - 1)}{SD^2_{Manufacture}}$$

جدول ۱۳-۵ مقادیر بحرانی برای توزیع کای-دو برای ۵٪ رد کاذب

درجه آزادی	۱ (۰٫۹۵۰۰)	۲ (۰٫۹۷۵۰)	۳ (۰٫۹۸۳۳)	۴ (۰٫۹۸۷۵)
۳	۷٫۸۱	۹٫۳۵	۱۰٫۲۴	۱۰٫۸۶
۴	۹٫۴۹	۱۱٫۱۴	۱۲٫۰۹	۱۲٫۷۶
۵	۱۱٫۰۷	۱۲٫۸۳	۱۳٫۸۴	۱۴٫۵۴
۶	۱۲٫۵۹	۱۴٫۴۵	۱۵٫۵۱	۱۶٫۲۴
۷	۱۴٫۰۷	۱۶٫۰۱	۱۷٫۱۲	۱۷٫۸۸
۸	۱۵٫۵۱	۱۷٫۵۳	۱۸٫۶۸	۱۹٫۴۸
۹	۱۶٫۹۲	۱۹٫۰۲	۲۰٫۲۱	۲۱٫۰۳
۱۰	۱۸٫۳۱	۲۰٫۴۸	۲۱٫۷۱	۲۲٫۵۶
۱۱	۱۹٫۶۸	۲۱٫۹۲	۲۳٫۱۸	۲۴٫۰۶
۱۲	۲۱٫۰۳	۲۳٫۲۴	۲۴٫۶۳	۲۵٫۵۳
۱۳	۲۱٫۳۶	۲۴٫۷۴	۲۶٫۰۶	۲۶٫۹۸
۱۴	۲۳٫۶۸	۲۶٫۱۲	۲۷٫۴۸	۲۸٫۴۲
۱۵	۲۵٫۰۰	۲۷٫۴۹	۲۸٫۸۸	۲۹٫۸۴
۱۶	۲۶٫۳۰	۲۸٫۸۵	۳۰٫۲۷	۳۱٫۲۵
۱۷	۲۷٫۵۹	۳۰٫۱۹	۳۱٫۶۴	۳۲٫۶۴
۱۸	۲۸٫۸۷	۳۱٫۵۳	۳۳٫۰۱	۳۴٫۰۳
۱۹	۳۰٫۱۴	۳۲٫۸۵	۳۴٫۳۶	۳۵٫۴۰
۲۰	۳۱٫۴۱	۳۴٫۱۷	۳۵٫۷۰	۳۶٫۷۶

مقایسه درستی روش

- انجام تست T جفت شده

- انجام رگرسیون خطی

- آنالیز خطای نظام مند

- آنالیز خطای نسبی

مقایسه درستی روش

- انجام تست T جفت شده

- انجام رگرسیون خطی

- آنالیز خطای نظام مند

- آنالیز خطای نسبی

آزمون T جفت شده

- برای تعیین تفاوت آماری معنی دار بین میانگین نتایج روش مورد بررسی
- وجود خطای نظام مند را بررسی می کند

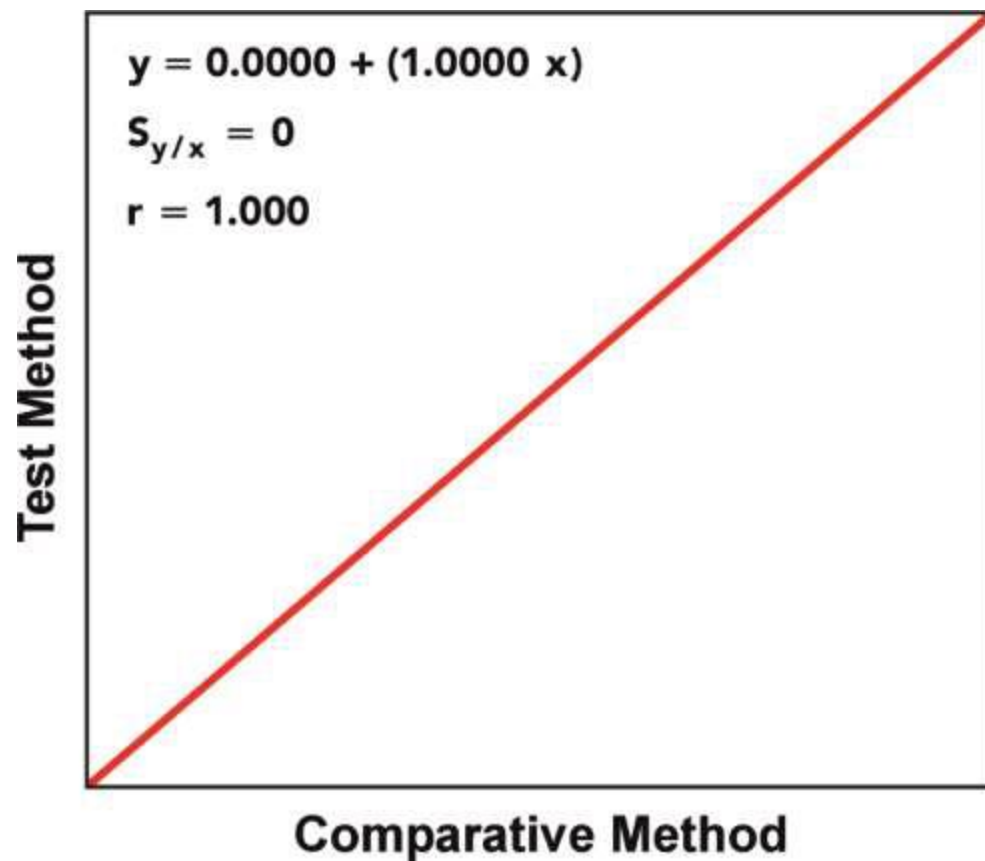
$$t \text{ value} = \frac{Bias \times \sqrt{n}}{SD_d}$$

مقایسه میزان t محاسبه شده با میزان بحرانی t

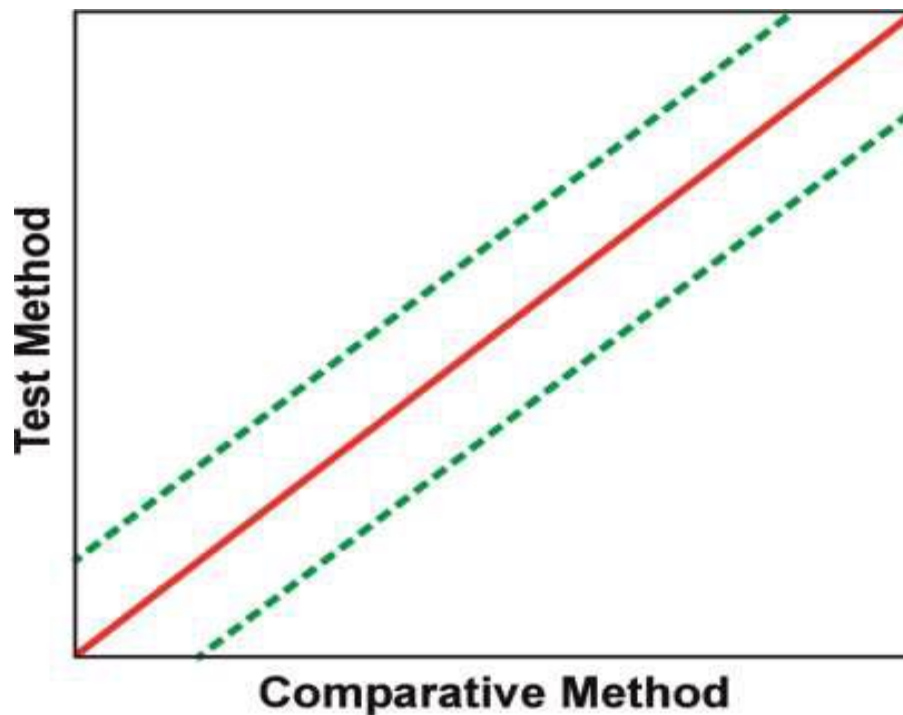
انجام رگرسیون خطی

- بررسی میزان ارتباط بین نتایج جفت شده
- ضریب همبستگی از -1 تا $+1$ متفاوت است
- برای استفاده از رگرسیون خطی نیاز به $r \geq 0.975$
- در صورتی که کمتر از 0.975 باشد:
- افزایش دامنه مقادیر
- کاهش پراکندگی داده ها
- استفاده از رگرسیون دمی‌نگ

انجام رگرسیون

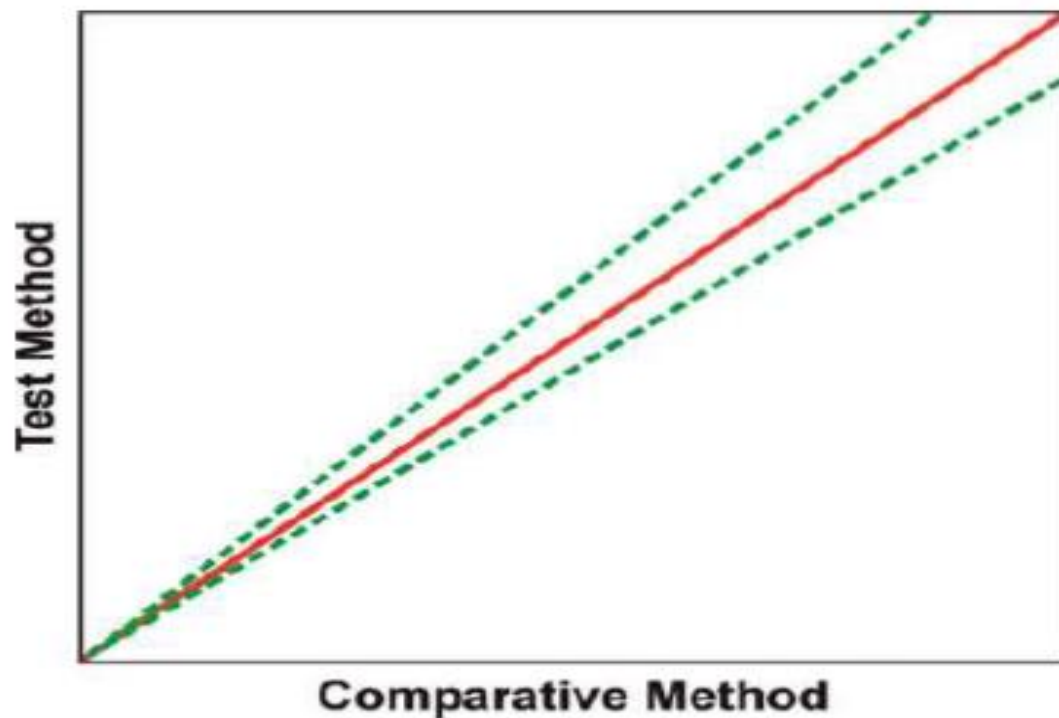


آنالیز خطای نظام مند



$$CI_{95} = y \text{ intercept} \pm (SEM \times 1.96)$$

آنالیز خطای نسبی



$$CI\%95 = \text{Slope} \pm (\text{SEM} \times 1,96)$$

محاسبه خطی بودن

- بررسی میزان خطی بودن یک روش آزمایشگاهی، بمنظور تعیین محدوده غلظتی که با استفاده از روش مورد نظر بطور قابل اعتماد قابل گزارش می‌باشد، به کار می‌رود.
- در این آزمون تعدادی از نمونه‌ها (حداقل ۴ و ترجیها ۵ نمونه) با غلظت های مشخص و یا نمونه‌های رقیق شده، آزمایش و نتایج آنها پس از نمایش روی نمودار بررسی می‌گردد.

محاسبه خطی بودن

No	High	Low	Conc	Assay...	Assay...	Assay...	Mean	TE
1	0.00	800.00	40.00	41	42	41	41.33	7.33
2	200.00	600.00	105.00	104	103	103	103.33	5.59
3	400.00	400.00	170.00	165	166	165	165.33	6.75
4	600.00	200.00	235.00	220	215	214	216.33	11.94
5	800.00	0.00	300.00	271	270	272	271.00	13.67

تصدیق دامنه مقادیر مرجع

- نمونه های 20 نفر از جمعیت مرجع مورد بررسی قرار می گیرد
- اگر حداکثر دو نتیجه خارج از محدوده مرجع قرار گیرد این محدوده قابل قبول است
- اگر بیش از دو نتیجه خارج از محدوده مرجع باشد 20 فرد جدید انتخاب شده و مجددا بررسی می گردند
- اگر مجددا بیش از دو نتیجه خارج از محدوده مرجع باشد یعنی از این محدوده مرجع نمی توان استفاده کرد و بایده محدوده مرجع جدید تعیین گردد



با تشکر از توجه شما