شباهت‌ها و اختلافات بین ISO و CLIA درباره ارزیابی یک روش آزمایشگاهی

دکتر اکبر ملک‌پور

مقدمه:

برای نشان دادن و تأیید کیفیت یک آزمایش از اصطلاحـــــــــــــاتی مثل درستی، دقت، خطای کل، Trueness, Imprecision, Inaccuracy، عدم قطعیت (Uncertainty) و غیره استفاده می‌کنند. CLIA و CLSI در امریکا، امریکای جنوبی، کانادا و بخشی از اروپا و آسیا طرفدار استفاده از خطای راندوم، خطای سیستماتیک و خطای کل مجاز برای ارزیابی یک کیت و یا یک روش آزمایشگاهی بوده و ISO در بعضی از کشورهای اروپایی و آسیایی سعی می‌کند که به فرم دیگر از خطاهای راندوم و Bias نام برده و محاسبه خطای کل را نیز جایز نمی‌داند. با اینکه سالهاست در اروپا مسئله خطای بیولوژیک را مطرح نموده و سعی در ادغام میزان آن در خطای کل یک آزمایش می‌نمایند با این وصف ISO پافشاری در استفاده از محاسبات مخصوص بخود را دارد.

انجمن‌های علمی نظیر IFCC, AACC, CAP و نویسندگان کتاب‌های علمی در قلمرو آزمایشگاهی تبعیت از CLIA می‌نمایند، مع‌الوصف عده‌ای سعی در بکار بردن کلمات جدیدی دارند که مالاً با آنچه که دقت و درستی می‌نامند فرقی نمی‌کند. نگاهی به نظرات همه این ارگان‌ها بهتر می‌تواند زمینه را روشن‌تر و انتخاب را آسان‌تر سازد.

در ارزیابی نتایج کنترل کیفیـــــــــــــــت خارجی در امریکا و اروپا بخصوص از SDI, CVI, ترکیب این دو و 6-Sigma استفاده می‌شود تا قاطع‌تر بتوانند نتایج آزمایشگاه‌های شرکت کننده را بررسی نمایند. در گزارشی که آزمایشگاه‌ها از CAP (برگزار کننده برنامه کنترل کیفیت خارجی امریکا) از چارت مرکب SDI و CVI که همان نماینده دقت و درستی و سرانجام خطای کل آزمایش می‌باشد استفاده می‌شود. مؤسسات BIORAD امریکا و Randox انگلستان همانند CAP از SDI و CVI باضافه 6-Sigma کمک می‌گیرند تا دقیق‌تر کیفیت کاری هر آزمایشگاهی را معلوم سازند. بنظر من محاسبه 6-Sigma بهتر آزمایشگاه‌ها را محک می‌زند.

این مطلب که با استفاده از منابع ذکر شده فوق نوشته شده است نکات مثبت و منفی هر دو ایده ارزیابی روش‌های آزمایشـــگاهی را با آوردن مثال و محاسبه نتایج توضیح داده و سعی دارد که اولاً آگاهی به جوانان و

تازه واردان به آزمایشگاهای بالینی درباره این مقوله داده و ثانیاً برای مجریان کنترل کیفیت آزمایشگاه الگویی برای تصمیم گیری بهتر باشد.

بخش اول ISO

International Organization for Standard یا مؤسسه جهانی استاندارد که بنام ISO معروف می‌باشد اسم خود را از کلمه یونانی ISOS یا برابری (Equal) گرفته و با حذف S به ISO معروف شده است. در سال 1946 نمایندگان بیش از 25 کشور در لندن جمع شدند تا یک مؤسسه جهانی استاندارد را بوجود آورند. امروز بیش از 150 کشور جهان عضو این مؤسسه بوده و از مرکز آن که در ژنو سوئیس قرار دارد وظایف خود را انجام می‌دهد. مؤسسه جدید از سال 1947 شروع بکار کرده است.

هدف اصلی این مؤسسه یکنواخت کردن بیشتر تعاریف علمی و عملی و استاندارد نمودن محصولات در ساخت و کنترل آنها در عرصه جهانی می‌باشد تا بدینوسیله تبادل محصولات بین سازنده و خریدار و همچنین بین کشورهای تولید کننده و کشورهای مصرف کننده به آسانی و اطمینان صورت گیرد.

ISO به دولت‌ها استاندارد و علمی کردن محصولات را آموزش می‌دهد و آگاهی‌های لازم درباره حفظ محیط زیست را به کارگران سازنده و افراد مصرف کننده آموزش می‌دهد. ISO به کشورهای عقب افتاده نیز کمک می‌کند تا سرمایه گذاری‌های خود را در جهت صحیح و قابل رقابت با بازارهای جهانی بکار گیرند.

بطور خلاصه دو هدف اصلی ISO، استاندارد کردن همه فرآورده‌ها و حفظ محیط زیست است که در دو سری از قوانین و مقررات وضع و تبیین شده است. قوانین سری ISO 9000 درباره کیفیت کالاها و محصولات تجاری و قوانین سری ISO 1400 درباره سفارش به سازندگان و سرویس دهندگان کالا می‌باشد تا چگونه از آلودگی محیط زیست جلوگیری نمایند.

ISO با بیشتر ارگان‌های بین‌المللی مانند سازمان ملل متحد و سازمان بهداشت جهانی (WHO) در ارتباط نزدیک بوده و همچنین برای آزمایشگاه‌های پزشکی نیز با IFCC، CAP و سایر ارگان‌های وابسته روابط نزدیکی دارد تا کیفیت کارهای آزمایشگاهی جهان را بهبود بخشیده و به بهداشت و درمان جهان کمک شود. در این زمینه نشریات ISO بخصوص ISO 15189: 2003 راهنمای خوبی برای تنظیم و اجرای برنامه کنترل کیفیت آزمایشگاه‌های پزشکی می‌باشد. این راهنما در واقع مکمل راهنمای ISO 9001: 2000 می‌باشد.

ISO و ارزیابی روش آزمایشگاهی:

یکی از کارهای اولیه و مهم ISO استاندارد کردن تعاریف مربوط به ارزیابی روش‌های آزمایشگاهی بود. این تعاریف در مقاله‌ای که توسط Dr Xaver Fuentes- Arderiu با عنوان Glossary of Iso Metrogical & Related Terms & Definitions Relevent to Clinical Laboratory Sciences آمده که این تعاریف با آنچه که در امریکا تعریف شده است تفاوت دارند.

در آزمایشگاه‌ها مسائل دقت و درستی اهمیت فراوانی دارند، زیرا از سال‌های دور و بخصوص از سال 1960 که دستگاه اتوماتیک اندازه‌گیری وارد آزمایشگاه‌ها شده و نوع آزمایش‌ها اضافه شده است آزمایشگاه قادر نیست تمام نمونه بیماران را بیش از یکبار آزمایش نماید، در حالیکه در کارخانجات مثلاً کارخانه سازنده لامپ برق می‌تواند یک نمونه را چندین بار اندازه‌گیری نموده و در مرحله بعدی درستی و مطابقت آنها را با الگوهای مورد نظر تطبیق و سپس دست به تهیه و تولید صدها و هزاران نوع از آن بزند و هرچند وقت هم یک یا دو نمونه ساخته شده را مجدداً بررسی نمایند تا درستی آن تأیید شود.

بدین ترتیب کارخانجات می‌توانند خطای اتفاقی را به حداقل برسانند در حالیکه در آزمایشگاه‌ها باید همیشه مراقب بود تا دقت آزمایش در بهترین و کمترین حد خود باشد. با این توضیح معلوم می‌شود که خطای اتفاقی برای کارخانجات سازنده و آزمایشگاه‌های بالینی هر دو مقوله یعنی دقت و درستی اهمیت دارند.

کیفیت یک روش آزمایشگاهی با میزان خطای کل، یعنی مجموع خطای دقت و خطای سیستماتیک معلوم می‌شود، زیرا این خطای کل در نتیجه آزمایش نمونه‌های بیمار اثرگذار می‌باشد. با توجه به میزان خطای کل است که نتایج آزمایش‌های مربوط به کنترل کیفیت خارجی که توسط CLIA در امریکا قانونی اعلام شده و چندین دهه است که بوسیله CAP و مؤسسات دیگر انجام و ارزیابی می‌شوند.

در مقابل ISO برای بیان کیفیت یک آزمایش به Trueness، Bias، Precision و Uncertainty تکیه کرده و سعی می‌کند این ترم‌ها را وارد International vocabulary for untis and measurement in metrology و یا VIM نموده و سفارش می‌کند که میزان Uncertainty یک آزمایش را از طریق GUM (Guide for expression of uncertainty of measurement) تعیین و معلوم نمایند. ISO لغت Trueness وUncertainty را در رابطه با ارزیابی یک روش آزمایشگاهی چنین تعریف می‌کند:

Trueness :closeness of agreement between the mean obtained from a large series of results of measurement and a true value

با این تعریف که بیشتر از تفاوت بین میانگین بدست آمده و بر اندازه‌گیری بسیار زیادی از نمونه‌ها و مقدار واقعی تکیه می‌کند نشان می‌دهد که این مقدار همان خطای سیستماتیک (Inaccuracy) و (Bias) می‌باشد که فقط نام آن عوض شده است.

Uncertainty: parameter associated with the result of a measurement that characterizes the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measured

با این تعریف Uncertainty نماینده مقدار انحراف معیار و خطای اتفاقی می‌باشد. ISO درباره خطای کل مجاز تعریفی نداده است. ISO این تعاریف را در VIM ثبت نموده و سفارش نموده است که Uncertainty را با راهنمایGUM (Guide for expression of uncertainty of measurement) محاسبه نمایند. با اینکه بخش 5.5 قانون ISO 15189 می‌گوید که:

“Performance specifications for each procedure used in an examination shall relate to the intended use for that procedure.”

این مطلب نشان می‌دهد که برای ارزیابی یک روش آزمایشی تعیین مقدار دقت و درستی ضروری است یعنی آنچه را که ISO در بخش 5.6 درباره اجراء و قبول برنامه کنترل کیفیت داخلی نظر می‌دهد:

“The laboratory shall design internal quality control system that verify the attainment of the intended quality of results.”

برای رسیدن به کیفیت مورد نظر ISO، راهی جز یافتن خطای کل یک آزمایش نمی‌باشد. این روش مورد تأیید CLIA نیز می‌باشد که راهنمایی‌های این مؤسسه مورد قبول جهان آزمایشگاهی می‌باشد.

قبول خطای کل که برای تعیین کیفیت یک آزمایش در سی سال پیش وارد آزمایشگاه‌ها شده است انقلاب بزرگی در بالا بردن درستی و دقت آزمایش‌ها بوجود آورده است و مورد تأیید همگان در جهان قرار گرفت. قبول این پروسه در حدود 10 تا 15 سال طول کشید. شاید برای قبول Measurement Uncertainty و Trueness نیز باید سال‌ها به انتظار ماند تا جایگزین خطای کل شود.

CLIA یا Clinical Laboratory Improvement Amendment

CLIA، مسئول امتیاز دادن و ممیزی نمودن و بهتر نمودن کار آزمایشگاه‌های امریکا می‌باشد که بنا به مدارک خود بیش از 225,000 آزمایشگاه را زیر نظر دارد. CMS و یا Center For Medicare & Medicaid مقام دولتی آمریکا است که این مقررات را تصویب نموده است. این قانون هر چند سال یکبار بر اساس ضرورت مثل پیدایش آزمایش‌های جدید و ورود دستگاه‌های سریع‌تر و مدرن‌تر به آزمایشگاه‌ها مورد بازدید قرار گرفته و اصلاح می‌شود. در نوامبر 2012 مقررات جدیدی برای کنترل کیفیت آزمایشگاه‌ها بنام مدیریت کنترل کیفیت آزمایشگاه بر اساس ریسک که از طرف CLIS راهنمایی‌های آن نوشته و به تصویب CMS رسیده است در شرف اجرا می‌باشد.

College of American Pathologists (CAP) یا اتحادیه پاتولوژیست‌های امریکا و سایر ارگان‌های دیگر مسئول کنترل کیفیت خارجی آزمایشگاه‌های بالینی امریکا می‌باشند. CAP بزرگترین ارگان مسئول این برنامه در امریکا بوده و در جهان می‌باشد. اکنون CAP علاوه بر بررسی نتایج آزمایش‌های بیوشیمی، سرولژی، ایمنولژی، توکسیکولژی و غیره برنامه‌های دیگر برای ارزیابی Linearity, Calibration, Verification میکروپیپت‌ها و غیره دارد و سال به سال به حجم کار خود اضافه می‌نماید.

CAP و سایر ارگان‌های مشابه در امریکا و بعضی از کشورهای اروپایی و امریکای جنوبی و کانادا نتایج بدست آمده از کنترل کیفیت خارجی آزمایشگاه‌ها با استفاده از دقت، درستی، خطای کل مجاز و بتازگی از چارت SDI و CVI ارزیابی می‌نمایند. استفاده از مقادیر خطای کل مجاز برای ارزیابی آزمایش‌ها سابقه 30 ساله داشته و اصولاً محکی بدست برگزار کنندگان می‌دهد که از نظر علمی و بطور قطعی‌تر از روش‌های دیگر خیال پزشکان را آسوده سازد.

محاسبه خطای کل مجاز (ATe) و بطور کلی خطای کل آزمایش بطور ساده از فرمول زیر بدست می‌آید:

$$ATe = Bias \pm 2\ sd$$

Bias - خطای سیستماتیک و sd خطای راندوم و عدد 2 نماینده مقدار Z است که 95 درصد منحنی نرمال را می‌پوشاند.

محاسبه Uncertainty و یا عدم قطعیت

بطور یقین اندازه‌گیری‌های تکراری از یک نمونه نتایج مختلفی را بدست می‌دهد، گرچه با یک دستگاه بسیار حساس و دقیق آزمایش شده باشد. این پراکندگی که بواسطه Imprecision هر سیستم اندازه‌گیری پیدا می‌شود بطور تقریب میزان پراکندگی نرمال (منحنی Gaussian) را نشان می‌دهد که تقریباً 95 درصد از نتایج بین $\bar{x} \pm 2sd$ قرار می‌گیرند. بدین جهت نتایج هر آزمایشی میزان تقریبی آن نمونه را معلوم می‌کند نه مقدار واقعی و حقیقی آن را و فقط وقتی این نتایج قابل قبول می‌شود که با یک سیستم دقیق‌تر و درست‌تر مورد مقایسه قرار گرفته باشد. بهمین دلیل سالهاست که بیوشیمیست‌ها سعی می‌کنند روش اندازه‌گیری نمونه‌ها را دقیق‌تر نموده تا تفاوت بین مقدار بدست آمده با مقدار واقعی بسیار نزدیک باشد.

در سال 1990 این فکر بوجود آمد که باید بین نتایج آزمایشگاه‌ها و روش‌های آزمایشگاهی یک ایده مشترک جهانی برای محاسبه عدم قطعیت Measurement of Uncertainty (MU) بر اساس راهنمای GUM و یا (Guide for expression of uncertainty of measurement) بوجود آید. این راهنما برای کارخانجات که با اندازه‌گیری‌های فیزیکی سرو کار دارند (نه بیولوژیک) نوشته شده ولی می‌توان آن را برای اندازه‌گیری در آزمایشگاه‌های پزشکی نیز قبول نمـــــود. علم اندازه‌گیری و یا Metrology در International Vocabulary of Basic & General Term in Metrology و یا VIM تعریف شده است.

محاسبه MU بر اساس مقدار sd بنا شده و سمبل U نیز برای Uncertainty.

در عمل می‌توان مقدار Bias را با تکرار آزمایش نمونه کاهش داد ولی نمی‌توان آن را از بین برد. بنابراین خطای کل را نمی‌توان بدرستی معلوم نمود، به همین جهت نتیجه آزمایش یک نمونه را نمی‌توان بطور قطع مقدار واقعی و حقیقی فرض نمود.

اساس MU نیز یر پایه همین فرض استوار است. علاوه بر این MU فرض می‌کند که اگر مقدار واقعی Bias معلوم باشد باز هم باید قدم‌هایی برداشته شود تا آن را کاهش داد (مثلاً با تجدید کالیبراسیون دستگاه). بهرحال چون مقدار Bias وجود داشته و آن را نمی‌توان بطور دقیق پیدا نمود، با بکار بردن عدم قطعیت می‌توان این نقص را تا حدی کاهش داد.

بر اساس MU نتیجه یک اندازه‌گیری با دو مقدار عدم قطعیت بستگی دارد؛ یکی مربوط به اندازه‌گیری Bias و دیگری به مقدار عدم دقت Imprecision دارد که می‌توان هر دوی این عدم قطعیت‌ها را با sd_s یا مجموعه sd که آن را عدم قطعیت مربوط به طرز کار یا procedure می‌نامند بصورت sd_{proc} نشان داد. بر حسب MU

اگر بعنوان مثال مقدار گلوکز به میزان 0/1 ± 5/4 میلی مول در لیتر گزارش شود، مقدار واقعی آن بین 5/3 و 5/5 میلی مول در لیتر با احتمال 95 درصد می‌باشد.

GUM تخمین میزان MU را از پایین به بالا مورد توجه قرار می‌دهد. بدینصورت از ابتدا عواملی که باعث تغییر میزان قطعیت می‌شوند را بررسی می‌کند، مثل وزن کردن، کالیبراسیون، پیپت کردن، درجه حرارت محیط، تغییرات داخلی دستگاه اندازه‌گیری و غیره، این تغییرات بصورت sd محاسبه می‌شوند. ممکن است این sd در آزمایشگاه بدست آمده باشد و یا ممکن است از منابع معتـــــــــــــــبر گرفته شده باشد. سپس Combined Standard Uncertainty محاسبه می‌شود.

مثال: اگر مقدار گلوکز به وزن (w) در حجم معینی از آب حل شده باشد غلظت آن برابرخواهد بود با $C = \frac{w}{v}$ که W نماینده وزن، C نماینده غلظت و V نماینده حجم می‌باشد. در این آزمایش دو مقدار Uncertainty وجود دارد که می‌شود با محاسبه sd_s آنها را معلوم نموده و سپس مجموعه عدم قطعیت غلظت گلوکز را بدست آورد. بر اساس GUM که از پایین به بالا عمل می‌کند دیده می‌شود که اثر خطای راندوم اندازه‌گیری را نیز نمی‌توان ندیده گرفت و باید به این مجموعه اضافه نمود. با در دست داشتن خطای راندوم اندازه‌گیری سرم کنترل روزانه یا Imprecision (U_{imp}) می‌توان این مشکل را حل نمود و از این مقدار استفاده نمود به شرطی که دستگاه اندازه‌گیری گلوکز، محلول گلوکز و سرم کنترل را برای گلوکز یکسان آزمایش نماید.

اگر روش اندازه‌گیری دارای Bias باشد باید مقدار عدم قطعیت آن نیز معلوم شود (U_{Bias}) ، این امر بستگی به مقدار U_{Bias} نسبت به U_{imp} دارد. اگر با t - test این اختلاف معنی‌دار باشد باید U_{Bias} بحساب آورده شود وگرنه آن را می‌توان حذف کرد. در این شرایط مقدار $U_{pro} = U_{imp}$ می‌باشد. همینطور اگر مقدار U_{Bias} معنی‌دار نباشد و یا اصلاً Bias محاسبه نشده باشد در این صورت نیز می‌توان $U_{pro} = U_{imp}$ در نظر گرفت. اگر U_{imp} بطور معنی‌داری با مقدار Reportable Range تفاوت داشته باشد در این صورت باید U دیگری هم بحساب آورد. این عمل که همانند نگاه از بالا به پاییـــــن است مقدار تخمین U_C و یا Combined MU و یا مجموع عدم قطعیت را با استفاده از GUM معلوم نمود.

در آزمایشگاه‌های بالینی محاسبه MU باید با توجه به میزان کیفیت نیاز پزشکی و هزینه آن معلوم شود.

مقدار MU یک آزمایش باید از نظر پزشکی، تغییرات بیولوژیک یک نمونه و هزینه آن قابل قبول باشد.

Measurand

Measurand بر حسب تعریف چیزی است که مقدار آن اندازه‌گیری می‌شود. در آزمایشگاه‌های بیوشیمی آن را بنام Analyte می‌شناسند مثل سدیم، اوره و قند. گاهی نیز فعالیت مولکولی نظیر انزایم را در PH و درجه حرارت مختلف معلوم و یا مقدار هورمون‌ها را در شرایط مخصوص اندازه‌گیری می‌نمایند. چنانکه دیده می‌شود اندازه‌گیری انزایم‌ها و هورمون‌ها چندان آسان نبوده و هر وقت که مقدار آنها گزارش می‌شود باید روش اندازه‌گیری، منبع دریافت نمونه و یا Measurand معلوم شود.

دقت Imprecision

دقت در اندازه‌گیری یک نمونه بستگی به نوع و خلوص کالیبراتور، راکتیوها، نگهداری و مراقبت از دستگاه اندازه‌گیری، فرد آزمایش کننده و محیط کار دارد.

میزان عدم دقت U_{imp} را با sd نشان می‌دهند. sd در واقع نماینده عدم قطعیت در اثر خطای راندوم می‌باشد. بهتر است U_{imp} یا sd در غلظت‌های مختلف یک نمونه (نرمال و غیر نرمال) بخصوص در اطراف دامنه قابل گزارش نتایج، معلوم شوند. اگر Bias روش آزمایش در نظر گرفته نشود $U_{pro} = U_{imp}$ می‌باشد.

Bias – خطای سیستماتیک

GUM فرض می‌کند که اگر Bias یک اندازه‌گیری با تکرار آزمایش از یک ماده رفرانس معلوم باشد بعنوان U_{ref} قابل قبول است و یا با استفاده از فاکتور تصحیح کننده برای یافتن U_{ref} استفاده شده باشد نیز مورد قبول می‌باشد ولی باید توجه داشت، از آنجا که مقدار واقعی Bias هیچگاه معلوم نیست لذا استفاده از هر نوع Bias، خطای آن را کاهش داده ولی از بین نمی‌برد.

برای محاسبه U_{Bias} از U_{ref} (رفرانس) و U_{rep} (آزمایش تکراری یک نمونه) استفاده می‌کنند.

$$U_{Bias} = [(Urep)^2 + (Uref)^2]^{\frac{1}{2}}$$

محاسبه MU

عدم قطعیت کل و یا Combined Uncertainty از مجموع واریانس‌های جزء و با استفاده از فرمول زیر بدست می‌آید:

$$UC = [(UA)^2 + (UB)^2 + \cdots (UX)^2]^{\frac{1}{2}}$$

مثال‌های زیر طرز این محاسبه را نشان می‌دهند:

مثال (1)

الف: در این محاسبه مقدار Bias در نظر گرفته نشده است.

شرح	داده‌ها	محاسبه	نظریه
Measurand (گلوکز) واحد اندازه گیری روش آزمایش تعیین درجه خلوص گلوکز	اندازه‌گیری گلوکز سرم mmol/l Hexokinase Isotop Dilution Mass Spectrometry		
سرم کنترل (1) معدل Sd	 4.8 mmol/l 0.11 mmol/l	n= 317	آزمایش ها با یک محلول، یک فرد و یک دستگاه انجام شدند.
سرم کنترل (2) معدل Sd Bias Uncertainty 4.8 mmol/l 15.7 mmol/l	 15.7 mmol/l 0.38 mmol/l محاسبه نشد U_{proc} $U_{proc}=U_{imp}$= 0.11mmol/l $U_{proc}=U_{imp}$= 0.38mmol/l	n= 320	U_{proc} Considered=U_C

دامنه (Expansion) عدم قطعیت 4.8 mmol/l 15.7 mmol/l دامنه گسترش کل	*U=0.11 × 2=0.22≈0.2 U= 0.38 * 2 = 0.76 ≈0.8 5-10 mmol/l ±0.2mmol/l 10-20 mmol/l ±0.8mmol/l	K = 2	با دامنه 95٪

*After Round off: 0.22≈0.2

مثال (2)

ب: محاسبه MU با محاسبه مقدار Bias طرز اندازه‌گیری

شرح	داده‌ها	محاسبه	نظریه
عدم دقت (U_{IMP}) Bias مقدار CRM خالص Uncertainty CRM	O.11 mmol/l بدست آمده از گلوکز رفرانس گلوکز 6.777 mmol/l U= 0.073 mmol/l $U_{CRM}=\frac{0.073}{2}=0.0365$		از آزمایش قبلی برای گلوکز 4.8 mmol/l Certified Reference Material (CRM)
مقدار CRM بعد از ده بار آزمایش	معدل 6.97 mmol/l Sd 0.149 mmol/l SEM 0.047mmol/l	$SEM=\frac{0.149}{\sqrt{10}}$	SEM: Standard Error of the Mean
آیا Bias اهمیت دارد؟	Bias 0.193 mmol/l U_{Bias} U_{CRM} 0.0365mmol/l t= 3.24	U_{REP} 6.97-6.777=0.193	معدل 10 بار آزمایش منهای مقدار CRM

	0.01<p<0.02	t=Bias/U_{Bias} 0.193/0.0595 d_f=10-1=9	مقدار Bias زیاد است و اهمیت دارد
آیا U_{Bias} اهمیت دارد؟	U_{Bias}/U_{imp}=0.54	$\frac{0.0595}{0.11} = 0.54$	U_{Bias} نیز اهمیت دارد و باید در محاسبه Mu منظور شود
محاسبه عدم قطعیت	$U_{proc}=\sqrt{(UBias)^2 + (UImp)^2}$ $\sqrt{(0.0595)^2 + (0.11)^2}$=0.125		باید مجموعه (combind) عدم قطعیت محاسبه شود
پراکندگی و گسترش U	0.3mmol/l و یا 0.25mmol/l	0.125 ≈ 0.15 mmol/l K=2 2 x 0.125= 0.25 یا 0.3 mmol/l	
دامنه و گسترش عدم قطعیت با 95٪ اطمینان	± 0.3 mmol/l		5 – 10 mmol/l

اگر U_{Bias} از مقدار U_{imp} بیشتر از ده درصد اضافه شده باشد باید از فرمول زیر برای یافتن مقدار U_{pro} استفاده کرد.

$$U_{pro} = [(UBias)^2 + (UImp)^2]^{\frac{1}{2}}$$

مثال (3)

ج- محاسبه MU با استفاده از نتایج آزمایش‌ها

اگر نتیجه از محاسبه نتایج چند آزمایش وابسته بدست آید می‌توان MU نهایی را با Combind نمودن نتایج عدم قطعیت آنها بدست آورد، ولی باید توجه داشت که استفاده از sd و یا CV برای اینگونه محاسبه تفاوت

دارند. اگر Combind حاصل جمع و یا حاصل تفریق باشد از sd و اگر از حاصل ضرب و تقسیم باشد باید از CV استفاده کرد. مثلاً برای محاسبه MU و Anion Gap از حاصل جمع و نتایج sd استفاده می‌شود.

محاسبه Anion Gap

Anion Gap= (Na + K) – (Cl + HCO_3)

Na= 137, K= 4, Cl= 106, HCO_3= 10 میلی مول در لیتر

Anion Gap= (137+ 4) – (106 + 10) = 141 – 116 = 25 میلی مول در لیتر

با محاسبه کلاسیک مقدار Anion Gap برابر 25 mmol/l است.

اگر sd هر کدام از نتایج برابر باشد

Na= 1.48, K= 0.4, Cl= 0.72, HCO_3=0.14

MU= $[(1.48)^2 + (0.4)^2 + (0.72)^2 + (0.14)^2]^{\frac{1}{2}}$=1.85 میلی مول در لیتر

اگر دامنه گسترش (Coverage Factor) 95 درصد و فاکتور آن 2 فرض شود، MU= 1.85 * 2= 3.7. با حذف اعشار غیر مؤثر عدد 3/7 به 4 mmol/l تبدیل و Anion Gap= 25± 4 با 95٪ اطمینان

مثال (4)

د- محاسبه کراتینین کلیرانس

میزان کراتینین کلیرانس با فرمول زیر بدست می‌آید:

$$\frac{Urine\ Creatinine\ (\mu mol/l) * Urine\ Volume\ (L)}{Plasma\ Creatinine\ (\mu mol/l) * Collection\ time}$$

Plasma Creatinine = 92 µmol/l Sd = 2.26 Cv = 0.0246

Urine Creatinine = 2560 µmol/l	Sd = 340	Cv = 0.1328
Urine Volume = 2683 ml	Sd = 25[1]	Cv = 0.0093
Collectin time = 24 hrs, 1440 mi	Sd[2] = 30	Cv = 0.0208

کلیرانس کراتینین = $\frac{2526*2683}{92*1440} = 51.8\,ml/min$

---

1 و 2: چون این مقادیر از حاصلضرب داده‌ها بدست آمده است لذا برای محاسبه MU از CV آنها استفاده می‌شود.

$$U_{CrCl} = [(0.0240)^2 + (0.138)^2 + (0.0093)^2 + (0.0208)^2]^{\frac{1}{2}}$$

Urine Creatinine Clearance (U_{CrCl}) = 0.137

کلیرانس کراتینین × U_{CrCl} = 51.8 * 0.137 = 7.096 ml/min

اگر گسترش (باصطلاح Coverage بر اساس MU) معادل 2 فرض شود:

U_{CrCl} = 7.096 * 2 = 14.192 و یا 14.2 ml/min

با 95 درصد اطمینان نتیجه کلیرانس بیمار = 51.8± 14.2 ml/min

تعریف ارگان‌های مختلف علمی درباره اصطلاحات آزمایشگاهی:

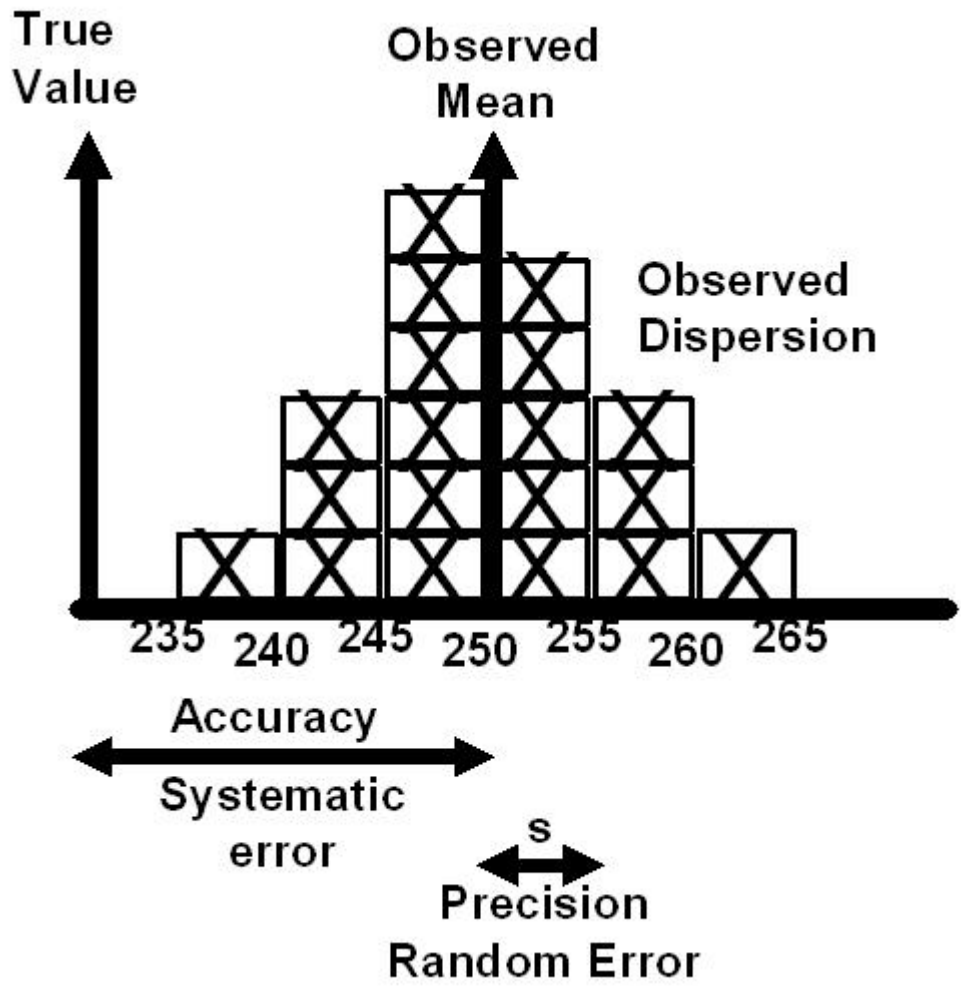
دقت، درستی، خطای کل، MU و غیره

در این قسمت سعی شده است که مفاهیم لغات و اصطلاحات آزمایشگاهی مثل دقت، درستی، عدم قطعیت (Uncertainty)، Trueness و خطای کل مجاز از دیدگاه ارگان‌های مختلف ولی وابسته به آزمایشگاه‌های پزشکی مثل شیمی تجزیه (Analytical chemistry)، بیوشیمی پزشکی (Clinical Chemistry) CLSI.,IFCC (NCCLS سابق) و ISO آورده شوند. و همچنین سعی گردیده است که نظرات موافق و مخالف این ارگان‌ها بخصوص درباره عدم قطعیت (Uncertainty) و خطای کل مورد تحلیل قرار گیرد.

در سال‌های 1950 تا 1960 متخصصین شیمی تجزیه و metrologists معتقد بودند که مقوله درستی از دقت جدا بوده و درستی را بر دقت ترجیح می‌دادند. در همین دوره بیوشیمیست‌های بالینی درستی را هم قدر دقت دانسته و مجموع این خطاها را بنام خطای کل پذیرفته و برای ارزیابی روش‌های آزمایش از این طریق استفاده کرده و هنوز هم می‌نمایند. امروزه عده‌ای از metrologistها معتقدند که عدم قطعیت (Uncertainty) و Trueness که از طرف ISO 15189 برای ارزیابی روش‌ها پیشنهاد شده است (هنوز مورد قبول عامه قرار نگرفته است) باید جایگزین خطای کل مجاز شود. در اینجا نظر ارگان‌های بین‌المللی درباره تعاریف و بهره برداری از این لغات آورده می‌شود.

نظرات متخصصین شیمی تجزیه

همانطوری که توضیح داده شد در سال‌های 1950 و 1960 متخصصین شیمی تجزیه ارزیابی یک روش را با محاسبه خطای سیستماتیک و خطای راندوم معلوم می‌نمودند. این ارزیابی بیشتر به خطای سیستماتیک اهمیت می‌داد تا خطای راندوم زیرا معتقد بودند تکرار آزمایش اهمیت آن را کاهش می‌دهد. شکل (1) مقادیر دقت و درستی را نشان می‌دهد.



شکل (1) نظر متخصصین شیمی تجزیه درباره خطای راندوم و سیستماتیک

نظرات مترولژیست‌ها

نظرات مترولژیست‌ها را می‌توان در مدارک NBS و یا National Bureau Of Standard که حالا بنام NIST و یا National Institute for standard & Technology نامیده می‌شود، پیدا نمود. این نظرات بصورت کلاسیک در راهنمایی‌های این تشکیلات آورده شده‌اند. عدم قطعیت و یا Uncertainty نیز مورد بحث قرار گرفته و NBS نظر داد که این موضوع را می‌توان به 4 صورت مختلف در نظر گرفت.

1- خطای سیستماتیک و دقت را می‌توان در نظر نگرفت.

2- خطای سیستماتیک را قبول و دقت را در نظر نگرفت.

3- خطای سیستماتیک و دقت را در نظر گرفت.

4- خطای سیستماتیک را در نظر نگرفت و خطای راندوم را قبول نمود.

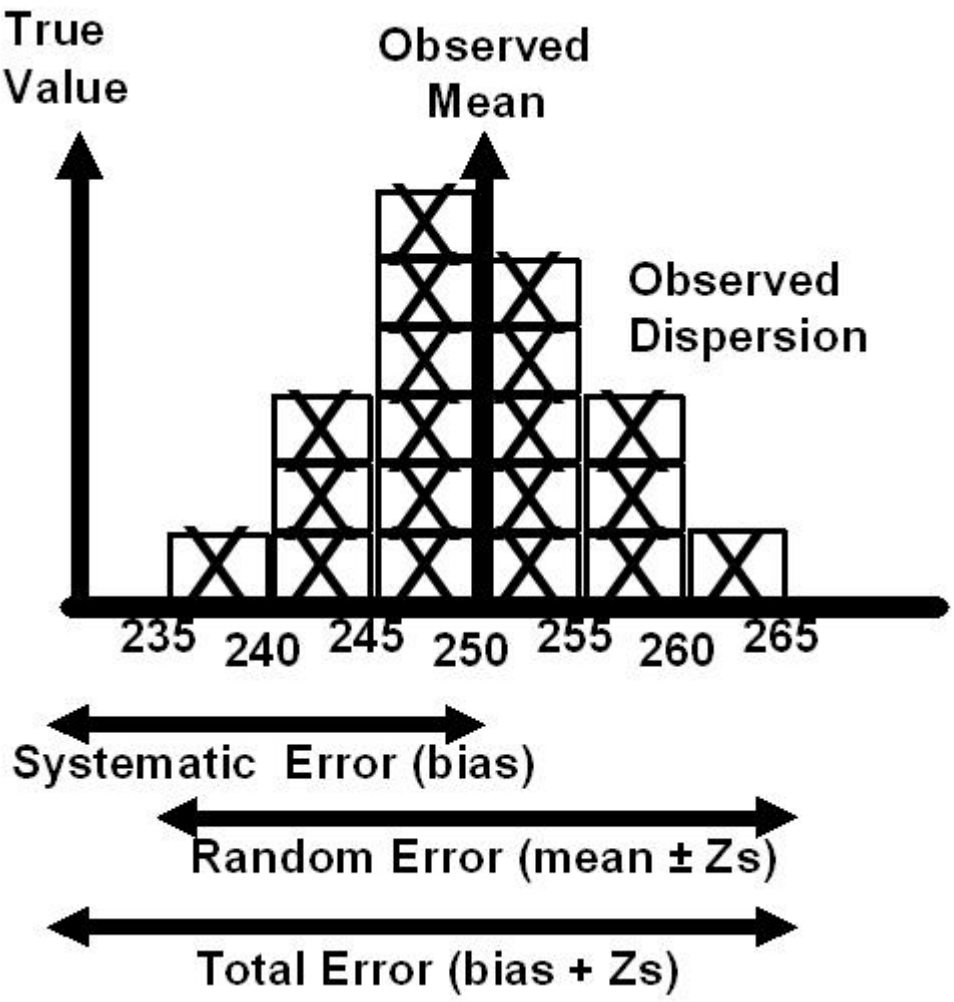
عدم قطعیت بستگی به خطای آزمایش صرفنظر از خطای سیستماتیک و راندوم داشته ولی بیشتر آن را وابسته به خطای راندوم می‌دانند. با این توصیف VIM تعریف روشن و دقیقی درباره این وابستگی و یا عدم آن نداده است.

Quality	the totality of features and characteristics of a product or service that bear on its ability to satisfy stated or implied needs (ISO 1994);
Accuracy	closeness of agreement between a quantity value obtained by measurement and the true value of the measurand;
Error of measurement	difference of quantity value obtained by measurement and the true value of the measurand;
Random error of measurement	difference of quantity value obtained by measurement and average that would ensue form an infinite number of replicated measurements of the same measurand carried out under repeatability conditions;
Systematic error of measurement	difference of average that would ensue from an infinite number of replicated measurements of the same measurand carried out under repeatability conditions and true value of the measurement;
Maximum permissible error	one of the two extreme values of the error of indication permitted by specifications or regulations for a given measuring system;
Error of indication	difference of indication of a measuring system and true value of the measurand.

جدول (1) تعاریف و اصطلاحات بکار برده شده از طرف متخصصین شیمی تجزیه را نشان می‌دهد.

نظرات بیوشیمیست‌های پزشکی:

از آنجا که در آزمایشگاه‌های بالینی نمونه بیماران را نمی‌توان همانند کارخانجات مختلف تکرار نمود، لذا مسئله دقت اهمیت بیشتری از خطای سیستماتیک پیدا می‌کند ولی در حقیقت خطای راندوم و خطای سیستماتیک هر دو از اهمیت بسزایی برخوردارند، بهمین دلیل خطای کل مجاز بوجود آمد تا اثرات هر دو گونه خطا معلوم شود. شکل (2)



شکل (2) ایده بیوشیمیست‌ها درباره خطای راندوم، سیستماتیک و خطای کل مجاز

پزشکان بیشتر توجهشان به دریافت نتیجه آزمایشی است که بدرستی آنها را در تشخیص و درمان بیمار کمک کند. آنها کمتر توجهی به مفهوم دقت و درستی همانند مسئولین و کارکنان آزمایشگاهی دارند، بنابراین چنین بنظر می‌رسد که آنها به خطای کل مجاز و میزان تفاوت بین مقدار واقعی و مقدار بدست آمده توجه دارند. به عبارت دیگر آنها به مجموع خطای راندوم و خطای سیستماتیک قابل قبول اهمیت می‌دهند. مدت 5 تا 10 سال طول کشید که این موضوع یعنی استفاده از خطای کل مجاز در امریکا مورد قبول قرار گیرد، البته سفارشات متعددی در نشریات مربوط به آزمایشگاه‌ها دیده می‌شد که در رابطه با محاسبه و تعیین مقدار آن بحث می‌شده است. در سال 2003 دکتر krouwer که سرپرست کمیته‌ای برای بررسی این مطلب در مؤسسه (CLSI) Clinical Laboratory Standard Institute امریکا بود درباره خطای کل مجاز مقاله‌ای تحت عنوان "Estimation of Total Analytical Error for Clinical Laboratory Method" منتشر کرد. این

راهنما و راهکار از طرف FDA به سازندگان کیت‌ها و دستگاه‌های اندازه‌گیری سفارش شد تا بر مبنای این دستورات فرآورده‌های خود را تهیه نمایند.

این سازمان در تعریف خطای کل مجاز چنین نظر می‌دهد:

Total Analytical Error is used to describe the following concepts :

1- وقتی دامنه اختلاف نتایج یک آزمایش با نتایج روش رفرانس که معمولاً با 90٪، 95٪ و 99٪ سنجیده می‌شود، اگر نتیجه آزمایشی اختلافش با روش رفرانس در حدود 97/2٪ باشد مسلماً قابل قبول بوده زیرا از 95٪ اختلاف مورد نظر بهتر است.

2- اختلاف بین مقدار اندازه‌گیری شده از مقدار واقعی که بر اساس (310- 93) VIM "خطای اندازه‌گیری" نامگذاری شده است، مسلماً شامل خطای راندوم و خطای سیستماتیک بوده و با تعریف خطای کل مجاز دقیقاً هماهنگی دارد. همچنین تعریفی که VIM درباره خطا (Error) نموده است و در جدول (2) دیده می‌شود با خطای کل مجاز همخوانی دارد.

Clinical Chemistry Error Terminology

Accuracy, inaccuracy, precision, imprecision	Same as IFCC definitions.
Random analytical error	An error that can be either positive or negative, the direction and exact magnitude of which cannot be predicted. In contrast, systematic errors are always in one direction.
Systematic analytic error	An error that is always in one direction, in contrast to random errors that may be either positive or negative and whose direction cannot be predicted.
Proportional systematic error	An error that is always in one direction and whose magnitude is a percentage of the concentration of analyte being measured.
Constant systematic error	An error that is always the same direction and magnitude, even when the concentration of the analyte changes.
Total error	The net or combined effect of the random and systematic errors.
Total error specification, allowable total error, TE_a	The total amount of analytical error that can be tolerated without invalidating the medical usefulness of the analytical result. TE_a can be used to decide the acceptability of a measurement procedure in method evaluating testing, or to calculate the size of medically important errors to aid in the selection or design of control procedures. When applied to method evaluation testing, we recommend that TE_a be used as a 99% limit of error so that only 1 sample in 100 will have a greater amount of error; this allows a defect rate of 1% when the analytical process is under stable operation. When applied as a quality specification, we recommend that TE_a be used as a 95% limit of errors, implying a maximum defect rate of 5% when the process experiences unstable operation.

Medically important errors	Those errors that, when added to the inherent imprecision and inaccuracy of a measurement procedure, cause the total error specification to be exceeded.
Medical usefulness	The concept that the requirements for the performance of an analytical process depend on how the analytical results are used and interpreted.

جدول (2) نظرات بیوشیمیست‌های کلینیکی

نظرات و تعاریف IFC:

در سال‌های 1970 سازمان جهانی بیوشیمیست‌های بالینی سفارشات زیادی درباره کنترل کیفیت آزمایشگاه‌های بالینی تهیه و منتشر نمودند. یکی از مهم‌ترین کارهای این سازمان انتشار مقاله‌ای درباره تعاریف لغات مربوط به کنترل کیفیت بود که در سال 1976 منتشر نمود که خلاصه آن در جدول (3) دیده می‌شود. در این مصوبه تأکید شد که بجای Accuracy از Inaccuracy و بجای Precision از Imprecision استفاده شود. از آنجا که به خطای کل مجاز اشاره نشده بود مصداق آن تغییر نکرد و چون گذشته از آن استفاده می‌شود.

Traditional terminology in clinical chemistry [IFCC]	
Analytical method	Set of written instructions which describe the procedures, materials, and equipment, which are necessary for the analyst to obtain a result.
Analytical run	This usually refers to a set of consecutive assays performed without interruption. The results are usually calculated from the same set of calibration standard readings. However, this definition may not be universally applicable, and in those cases the word series should be used after defining it.
Accuracy	Agreement between the best estimate of a quantity and its true value. It has no numerical agreement.
Inaccuracy	Numerical difference between the mean of a set of replicate measurements and the true value. This difference (positive or negative) may be expressed in the units in which the quantity is measured, or as a percentage of the true value.
Precision	The agreement between replicate measurements. It has no numerical value.
Imprecision	Standard deviation or coefficient of variation of the results in a set of replicate measurements. The mean value and number of replicates must be stated, and the design used must be described in such a way that other workers can repeat it. This is particularly important whenever a specific term is used to denote a particular type of imprecision, such as between-laboratory, within-day, or between-day.
Analytical error	Difference between the estimated value of a quantity and its true value. This difference (positive or negative) may be expressed either in units in which the quantity is measured, or as a percentage of the true value.

جدول (3) نظرات انجمن بین‌المللی بیوشیمیست‌های کلینیکی

نظرات و تعاریف CLSI (NCCLS)

در نیمه‌های سال 1970 مؤسسه National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) تأسیس یافت تا به طور کلی کیفیت کار آزمایشگاه‌ها را ارتقاء دهد. یک گروه که مسئولیت بالا بردن کیفیت آزمایشگاه‌ها را بعهده داشتند سعی نمودند تا با تهیه راهنمائی‌های تجربی و آماری، کارآئی آزمایشگاه‌ها را افزایش دهند. NCCLS در سال 1990 National Reference System for Clinical Laboratory (NRSCL) را بوجود آورد. این بخش تأسیس شده کوشش زیادی در تهیه راهنمای آزمایشگاه و تعاریف ترم‌های آزمایشگاهی به کار برد که در جدول (4) آورده شده است. در این جدول Accuracy، Precision، Bias و Error بطور روشنی تعریف شدند. در این راهنما تعاریف لغات Truenessو Uncertainty بر اساس نظرات VIM و ISO آورده شده‌اند. ممکن است این توضیحات برای آشنایی آزمایشگاهیان آمریکایی با این لغات و اصطلاحات باشد.

NCCLS/CLSI terminology for documents and standards [1996]

Accuracy, Measurement accuracy, Result accuracy	Closeness of the agreement between the result of a measurement and a true value of the measurand (VIM93-3.5).
Bias	1. Statistics, the difference between the expected or mean value of an estimator and the value of the parameter it is estimating (RHUD1.7CD); 2. A systematic, as opposed to a random, distortion of a statistic; 3. Analytical science, a signed (+,-) quantitative measure of systematic departure from accuracy under specified conditions of analysis. 4. The systematic deviation of the test results from the accepted reference value (WHO-BS/95.1793); 5. The difference between the expectation of the test results and an accepted reference value (ISO3534-1/93-3. 13); 6. The systematic deviation of test results from the accepted reference value (WHO-BS/95.1793); 7. Inter-instrument bias, the difference observed by comparing two specified instruments under specified conditions of analysis, concentration range, method, etc.; 8. Inter-method bias, the difference observed by comparing two specified methods under specified conditions of analysis; 9. Inter-laboratory bias, the difference observed by comparing two laboratories that perform the measusrement of the same analyte under specified conditions; 10. Result bias, the difference observed between a result and the true or expected value.
Precision	1. The closeness of agreement between independent test results obtained under prescribed conditions (ISO Guide 3); 2. Closeness of agreement between a series of measurements, under specified conditions, of a substance or biological product (WHO-BS/95.1793); 3. The closeness of agreement between independent test results obtained under stipulated conditions (ISO3534-1-3. 140; 4. Agreement between replicate measurements. NOTE: Precision is not typically represented as a numerical value but is expressed quantitatively in terms of imprecision – the SD or the CV of the results in a set of replicate measurements.
Error	1. Deviation from truth or from an accepted, expected true or reference value; 2. Measurement error, result of a measurement minus a true value of a measurand (VIM93-3. 10); 3. Random error, the nondirectional, patternless differences between successive results obtained with an analytical process; 4. Result of a measurement minus the mean that would result from an infinite number of measurements of the same measurand carried out under repeatability conditions.

	NOTE a) **Random error** equals one minus the systematic error (VIM93-3. 14); 5. A directional or patterned difference between the value obtained and that accepted as true or expected. NOTE: d) estimated independently of random error by averaging replicates, it is expressed in the units of the method as a bias, and it is calculated as the average difference between the values expected and obtained, or as a relative bias by dividing the bias by the average of the results; 6. Systematic error, mean that would results from an infinite number of measurements of the same measurand carried out under repeatability conditions, minus a true value of the measurand. NOTES: b) **Systematic error** is equal to error minus random error; c) like true value, systematic error and its causes cannot be completely known (VIM93-3. 14); 7. **Proportional error**, systematic error that is directly proportional to analyte concentration, intensity, or activity.
Trueness	The closeness of agreement between the average value obtained from a large series of test results and an accepted reference value (ISO 3534-1-3. 12)
Uncertainty	1. The stated range on either side of the best estimated of any given value within which that value may be expected to lie with some expressed degree of confidence. 2. **Measurement uncertainty**, **Uncertainty of measurement**, parameter [and/or characteristic], associated with the result of measurement, that characterizes the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand. NOTES: a) The parameter may be, for example, a standard deviation (or given multiple of it), or the half width of an interval having a stated level of confidence; b) uncertainty of a measurement comprises, in general, many components. Some of these components may be evaluated from the statistical distribution of the results of a series of measurements and can be characterized by experimental standard deviations. The other components, which can also be characterized by standard deviations, are evaluated by assumed probability distributions based on experience or other information; c) it is understood that the result of the measurement is the best estimate of the value of the measurand, and that all components of uncertainty, including those arising from systematic effects, such as components associated with corrections and reference standards, contribute to the dispersion (VIM93-3.9).

جدول (4) نظرات و تعاریف CLSI

نظرات و تعاریف ISO

ISO 15189 در سال 2003 منتشر شد تا تعاریف و لغاتی که برای محاسبات آماری کنترل کیفیت آزمایشگاه‌ها وضع شده جهان‌گیر شود. پیش از آن ISO نظراتی مانند ISO 9000 درباره مدیریت کیفیت (Quality Management) و یا ISO 17025 برای موارد خاص اندازه‌گیری در آزمایشگاه‌ها، کالیبراسیون و آزمایش نمودن نمونه‌ها ارائه نموده بود.

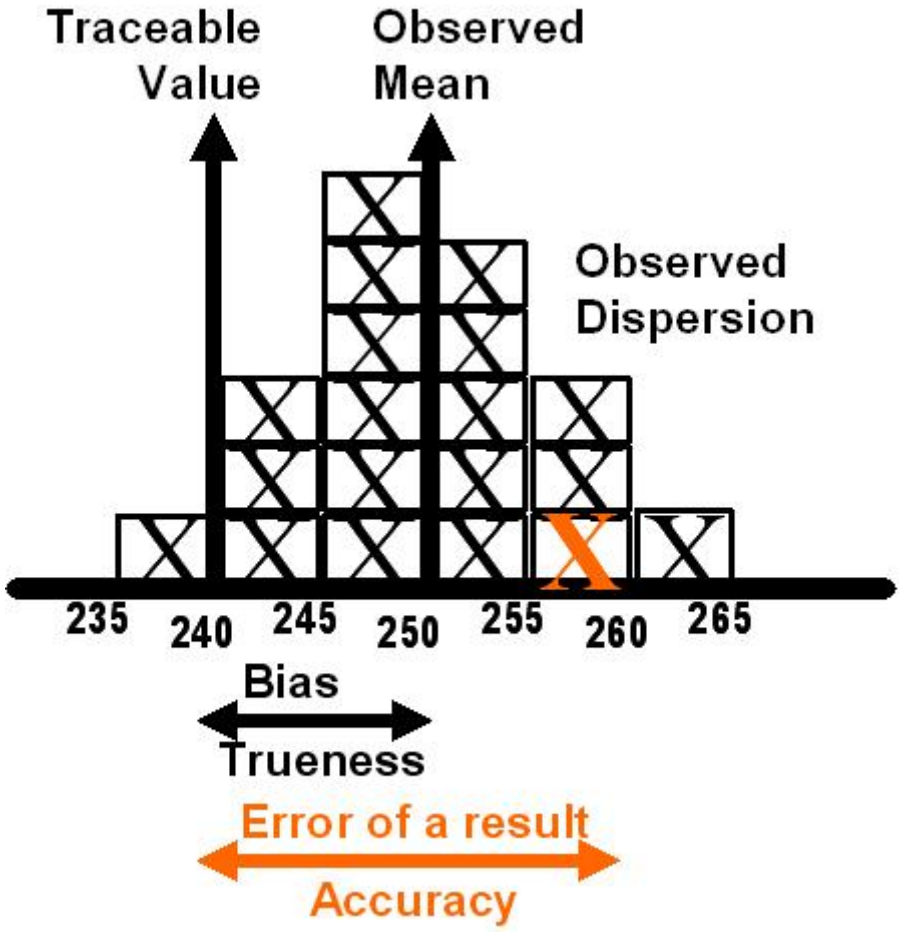
برای درک GUM و استفاده از آن به دو مسئله باید توجه کرد:

اول- وجود هر خطای سیستماتیک باید شناخته و تصحیح شود تا نتایج آزمایش نمونه‌ها در سراسر آزمایشگاه‌های یک منطقه قابل مقایسه شوند. این خطای سیستماتیک نیز وقتی معلوم می‌شود که مقایسه با یک روش رفرانس و کالیبراتور بسیار عالی شود. از آنجا که چنین امکانی برای آزمایشگاه‌های بالینی وجود ندارد، لذا تعیین خطای سیستماتیک دقیق بسیار مشکل می‌شود.

دوم– بر فرض اگر همه خطاهای سیستماتیک تصحیح و مقدار آن ندیده گرفته شود خطای راندوم باقیمانده که با اندازه‌گیری Uncertainty معلوم می‌شود مقدار این خطا باید توسط کمپانی‌ها به

آزمایشگاه‌ها و توسط آزمایشگاه‌ها به پزشکان معالج انتقال یابد تا در معالجه و درمان بیماران مورد توجه قرار گیرد.

در جهان ISO/GUM، Trueness بستگی به Traceable Value دارد که به اصـــطلاح قبلی True Value گفته می‌شد (چون True Value قابل اندازه‌گیری نبود آن را به Traceable Value تغییر دادند). مشکل است که مقدار Traceable Value را نیز دقیقاً اندازه‌گیری و معلوم نمود ولی می‌توان این مقدار را در حد Measurement Uncertainty قبول نمود که در این صورت این تعریف مشابه با Accuracy است که در شکل (3) دیده می‌شود و



شکل (3) مقدار Trueness بعد از اصلاح کردن

مطابقت با خطای کل دارد. در جدولی که ISO جهت تعریف جدید ترم‌هایی که بـرای آزمایشـگاه‌هـای بالینی سفارش کرده است این تعاریف دیده می‌شوند. جدول (5)

ISO terminology for medical laboratories	
Quality	Degree to which a set of inherent characteristics fulfills requirements (ISO 2005);
Measurand	Quantity intended to be measured;
Accuracy of measurement	Closeness of the agreement between the result of a measurand and a true value of the measurand.
Trueness of measurement	Closeness of agreement between the average value obtained from a large series of measurements and a true value.
Precision	Closeness of agreement between quantity values obtained by replicate measurements of a quantity, under specified conditions.
Uncertainty of measurement	Parameter, associated with the result of a measurement, that characterizes the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand
Target measurement uncertainty	Measurement uncertainty formulated as a goal and decided on the basis of a specific intended use of measurement results

جدول (5) تعریف ISO از اصطلاحات آزمایشگاهی

با گسترش ISO 15189 محتوی لغات و اصطلاحاتی که در آزمایشگاه‌های اندازه‌گیری (Metrology Labs) بکار گرفته می‌شد به آزمایشگاه‌های بالینی منتقل گردیده که تعاریف آنها در جـدول (6) دیـده می‌شوند.

Additional GUM/ISO Uncertainty Terms	
Type A uncertainty	An uncertainty component evaluated from a statistical analysis of series of observations (GUM)
Type B uncertainty	An uncertainty component evaluated by means other than the statistical analysis of observations (GUM)
Standard uncertainty	Uncertainty of the results of a measurement expressed as a standard deviation.
Combined standard uncertainty	Standard uncertainty of the result of a measurement when that result is obtained from the values of a number of other quantities, equal to the positive square root of a sum of terms, the terms being the variances or covariances of these other quantities weighted according to how the measurement result varies with changes in these quantities.
Expanded uncertainty	Quantity defining an interval about the result of a measurement that may be expected to encompass a large fraction of the distribution of values that could reasonably be attributed to the measurand; NOTE 1. The fraction may be viewed as the coverage probability or level of confidence of the interval; NOTE 2. To associate a specific level of confidence with the interval defined by the expanded uncertainty requires explicit or implicit assumptions regarding the probability distribution characterized by the measurement result and its combined standard uncertainty. The level of confidence that may be attributed to this interval can be known only to the extent to which such assumptions may be justified; NOTE 3. Expended uncertainty is termed overall uncertainty in paragraph 5 of Recommendation INC-1 (1980). (GUM)

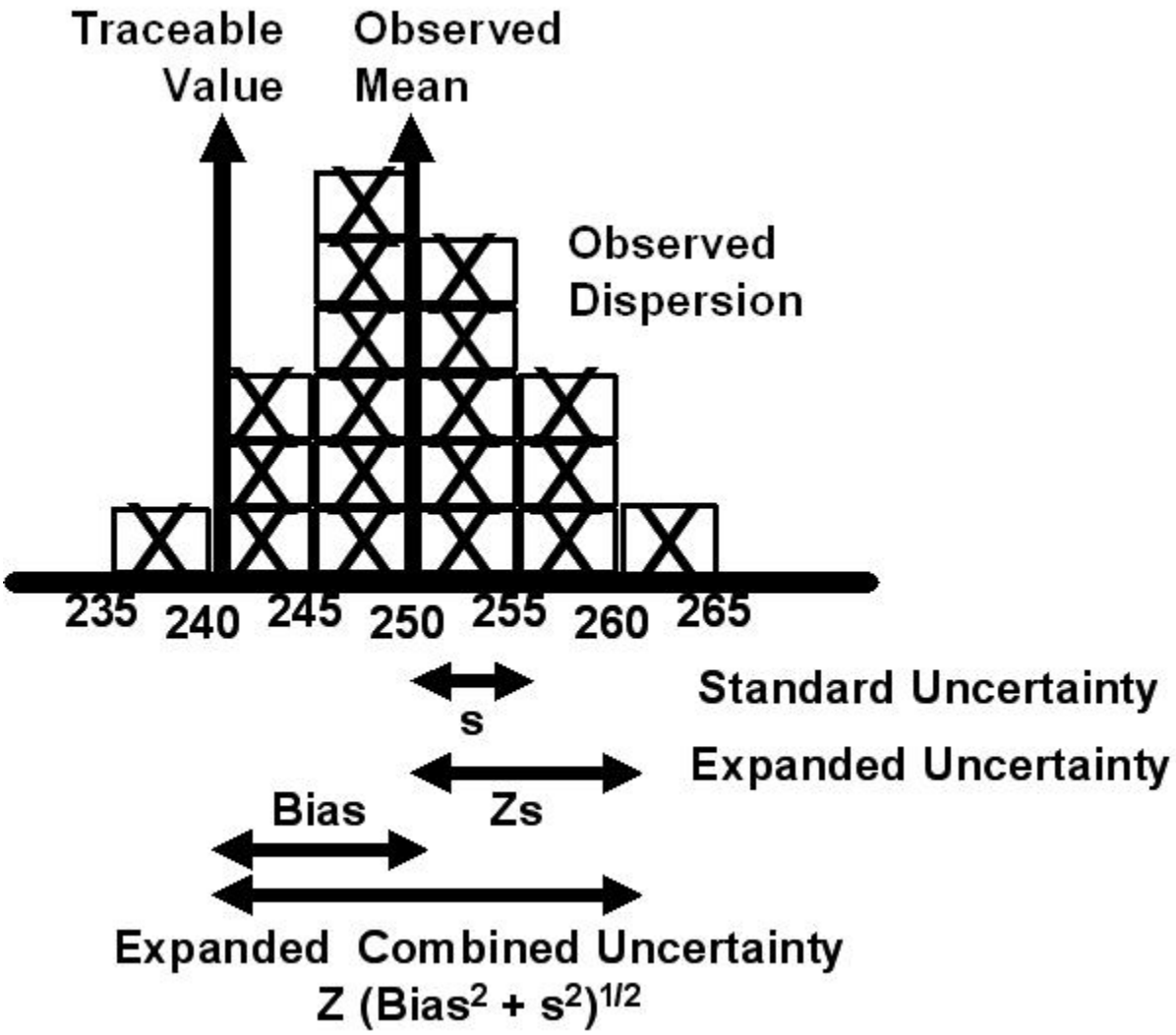
جدول (6) تعریف GUM – ISO از عدم قطعیت

از طرف دیگر CLSI راهنمای مهمی منتشر کرد که بنام EP15- A2 معروف شد. عنوان این راهنما User Verification of Performance for Precision and Trueness بود. CLSI همچنین راهنمای دیگری بنام C51 تحت عنوان "Expression of Uncertainty of Measurement in Clinical Laboratory Medicine" منتشر نمود تا از ترم‌ها و لغاتی که در آزمایشگاه‌ها مصرف می‌شوند استفاده درستی بعمل آید.

برای درک بهتر از این راهنمائی‌ها درباره Uncertainty و غیره لازم است به فرهنگ لغات GUM بخصوص آنهایی که در جدول (6) آورده شده‌اند توجه نمود. با توجه به این جدول دیده می‌شود که Uncertainty اولاً به دو صورت Type A و Type B تغییر یافته و Standard Uncertainty چیزی جز Standard Deviation نمی‌باشد و سرانجام Expanded Combined Uncertainty نیز که با فرمول زیر بدست می‌آید تفاوتی با خطای کل نداشته و در آن Bias و Sd منظور شده‌اند.

$$CU = Z\sqrt{Bias^2 + Sd^2}$$

شکل (4) مقدار Bias و Expanded Combined Uncertainty را نشان می‌دهد.



شکل (4) میزان Bias و Expanded Combined Uncertainty از نظر ISO

مقایسه خطای کل*CU و 6-Sigma آزمایش HbA_1C

اگر کیفیت آزمایشی بطور کمی محاسبه و نشان داده شود بهتر قابل درک و فهم خواهد بود. به عبارت دیگر دقیق‌تر میزان قطعیت و یا عدم قطعیت Uncertainty آن آزمایش معلوم می‌شود. همچنین اگر راه‌های مختلفی برای ارزیابی کیفیت یک روش آزمایشگاهی و یا بطور عموم برای آزمایش‌ها وجود دارد بهتر است آن روش‌ها را با یک روش قابل قبول‌تر مورد مقایسه قرار داد. بنابراین در مقایسه با ارزیابی یک روش آزمایشگاهی با محاسبه خطای کل مجاز و یا با روش ایزو (ISO) بهتر است نتایج آنها را با مقادیر 6-Sigma محک زد.

*CU = Combined Uncertainty

برای این مقایسه نتایج HbA_1C از 19 روش مختلف اندازه‌گیری شده که توسط National Glycohemoglobulin Standardization Program (NGSP) مورد تأیید بوده و بر اساس Diabetic Clinical and Complication Trial (DCCT) نتایج آنها با دقت و درستی بالایی قابل قبول می‌باشند انتخاب شده است. در جدول (7) نتایج این بررسی دیده می‌شود. مقدار تعیین شده HbA_1C بوسیله College of American Pathologist (CAP) برابر 7/6٪ بوده و با راکتیوهای مؤسسه NGSP اندازه‌گیری و تأیید شده بودند.

برای محاسبه زیگما چون از نتایج ملی CAP استفاده شده است لذا آن را اصطلاحاً NMQ یا National Method Quality می‌نامند.

این نمونه‌ها به 2806 آزمایشگاه امریکایی برای شرکت در برنامه کنترل کیفیت خارجی فرستاده شده بود. این آزمایشگاه ها با 16 روش مختلف مقدار HbA_1C نمونه‌ها را اندازه‌گیری نموده و نتایج را به CAP ارائه دادند. CAP براساس روش ارزیابی خود معدل، Bias، Sd، Cv خطای کل و MU آنها را معلوم و Dr Westgard نیز برای مقایسه و بررسی بین خطای کل و MU مقادیر زیگمای آنها را نیز حساب نمود.

ستون اول جدول تعداد گروه‌های شرکت کننده (19 گروه)، ستون دوم تعداد آزمایشگاه‌های شرکت کننده در هر گروه، ستون سوم معدل مقدار HbA_1C هر گروه ،ستون چهارم مقدار Bias ،ستون پنجم مقدارSd، ستون ششم مقدار Cv و ستون هفتم خطای کل، ستون هشتم مقدار MU و ستون آخر مقدار زیگمای هر گروه را نشان داده، در ردیف آخر معدل کل تمام داده‌های فوق آورده شده است.

ستون سوم مقدار میانگین HbA_1C تمام گروه‌ها را نشان می‌دهد. این میانگین برابر با 7/67٪ می‌باشد که بسیار نزدیک به مقداری است که CAP تعیین کرده است. درستی و یا Trueness این نتایج مساوی 7/67-7/6=0/07 می‌باشد که بسیار خوب است.

در ستون هفتم خطای کل روش‌ها که با معادله TE=Bias+2sd حساب شده است بین 0/34 درصد تا 1/48 درصد می‌باشد. کمترین مقدار TE_m مساوی است با $TE_{min} = 0 + 2 \times 0.21 = 0.42$ و بیشترین مقدار $TE_{max} = 0.6 + 2 \times 0.45 = \%1.48$ می‌باشد. میانگین وزنی خطای کل در پایین ستون دیده می‌شود که برابر است با 0/68 درصد.

ستون هشتم مقادیر MU همه گروه‌های شرکت کننده را نشان می‌دهد که دامنه آن بین 0/41 تا 1/48 و میانگین وزنی آنها 0/68 می‌باشد. مقادیر MU از معادله زیر بدست آمده است:

$$MU = 1.96\ [(Trueness)^2 + (Subgroup\ Bias)^2 + (Subgroup\ Precision)^2]^{1/2}$$

$$MU = 1.96\ [(0.7)^2 + (0.1)^2 + (0.17)^2]^{\frac{1}{2}} = 0.41$$

مقادیر زیگما با فرمول $Sigma = \frac{ATe - \%Bias}{CV}$ محاسبه شده است. مثلاً برای گروه اول این مقدار برابر است با:

$$\%Bias = \frac{0.2 * 100}{7.4} = \frac{Bias * 100}{\text{گروه اول } HbA1C} = \%2.7$$

$$Sigma = \frac{ATe - \%Bias}{CV} = \frac{15 - \%2.7}{\%4.1} = 3.1$$

CLIA مقدار *ATe آزمایش HbA_1C را 15 درصد در نظر گرفته است.

در ستون آخر مقادیر Sigma گروه‌های شرکت کننده دیده می‌شود که دامنه آنها بین 1/2 تا 6/62 می‌باشد و میانگین وزنی آنها نیز 4/17 تعیین شده است.

---

*Allowable Total Error = ATe

نگاهی به جدول (7) نشان می‌دهد که دامنه TE و یا خطای کل بین 0/34 تا 1/48 و معدل آن نیز 0/61 می‌باشد. در ستون مجاور آن مقادیر MU و یا Measurment Uncertainty دیده می‌شود که دامنه آن هم بین 0/37 تا 1/48 می‌باشد که بسیار نزدیک بهم می‌باشند. از طرف دیگر مقادیر زیگمای گروه اول (با کمترین خطای کل و MU) برابر با 6/03 و گروه دوم (با بالاترین خطای کل و MU) برابر با 1/2 می‌باشدکه بهترین محک برای جدا کردن روش‌های آزمایش و نشان دادن کیفیت آزمایش‌ها می‌باشد.

توجهی به این ارقام نزدیکی و درستی این محاسبات را نشان می‌دهد زیرا هر دو به شکلی از مقادیر درستی و دقت برای محاسبه این نتایج استفاده کرده‌اند. سرانجام در مقایسه با مقادیر زیگمای بدست آمده از این آمار، که می‌توان آن را یکی از بهترین و دقیق‌ترین محک‌ها برای ارزیابی کیفیت یک

آزمایش دانست به این نتیجه می‌توان رسید که بالاترین رقم زیگما که مساوی با 6/25 می‌باشد (گـروه 15) MU آن برابر با 0/41 و TE آن برابر 0/44 است. همچنین کمتـرین مقـدار زیگمـا برابـر بـا 1/2 (گروه 12) می‌باشد که MU و TE آنها نیز هر دو برابر با 1/48 (بالاترین مقدار) است.

جدول (7) بررسی نتایج $Hb\ A_1c$ بر اساس خطای کل، MU و زیگما

Subgroup	Labs	Mean	Bias	SD	CV	TE	MU	NMQ[1]
1	47	7.4	-0.2	0.3	4.10%	0.79	0.72	3.10
2	33	7.7	0.1	0.4	5.2	0.88	0.82	2.6
3	227	7.4	-0.2	0.2	2.7	0.59	0.57	4.7
4	385	7.3	-0.3	0.34	4.6	0.96	0.89	2.5
5	169	8.1	0.5	0.2	2.5	0.9	1.07	3.16
6	11	7.3	-0.3	0.27	3.7	0.83	0.8	3.11
7	17	7.5	-0.1	0.28	3.7	0.64	0.59	3.75
8	253	7.9	0.3	0.21	2.6	0.7	0.73	4.09
9	95	7.8	0.2	0.18	2.3	0.55	0.54	5.24
10	593	7.6	0	0.21	2.8	0.42	0.44	5.36
11	23	7.7	-0.2	0.57	7.7	1.32	1.19	1.65
12	30	8.2	0.6	0.45	5.5	1.48	1.48	1.2
13	36	7.6	0	0.17	2.3	0.34	0.37	6.52
14	239	7.7	0.1	0.28	3.6	0.64	0.59	3.75
15	72	7.5	-0.1	0.17	2.3	0.44	0.41	6.03

16	63	7.5	-0.1	0.26	3.5	0.61	0.57	3.96

1-NMQ: National Quality Method

برای محاسبه زیگما چون از نتـایج ملـی CAP اسـتفاده شـده لـذا آن را اصـطلاحاً کیفیـت روش ملـی نامگذاری کرده‌اند.

References

1. ISO/FDIS 15189 Medical laboratories-Particular requirements for quality and competence.
   2002 International Organization for Standards, Geneva Swiz.
2. International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (VIM). 3rd ed. Draft April 2004 .Annex A.
3. GUM. Guide to the expression of uncertainty in measurement. ISO, Geneva, 1995.
4. Westgard JO, Berry PL, Cost Effective Quality control: Managing the Quality And Productivity Of Analytical Process AACC Press 1986
5. Graham H.White
   Basic of Estimating Measurement Uncertainty Clin Bioch Rew. 2008 Augt 29 (Supplement $_{(1)}$)
6. Westgard JO Desirable Specification for Total Error.
   Imprecision & Bias, Derived From Biological Variation Data Bases for Goal Setting Westgard.Com
7. IFCC: But Tner J, Boutwell JH, Broughton PMG. International Federation Of Clinical Chemistry Provisional Recommendation On Quality Control In Clinical Chemistry, 1 General Principals And Terminology. Clin. Chem. 1976:22,532-40.
8. NCCLS/CLSI, NRSCL 8 P3, Terminology And Definition For Use In NCCLS Documents Clinical Laboratory Standard Institute Wayne PA 2005

9. CLSI EP21-A Estimation of Total Analytical Error for Clinical Laboratory Methods. Clinical Laboratory Standards Institute Wayne, PA 2003
10. CLSI C24-A3. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline- Third Edition. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2006
11. Fraser C. Biological Variation: From Principles to Practice. AACC Press, 2001
12. The National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory Medicine Practice Guidelines: Guidelines and Recommendation for Laboratory Analysis In The Diagnosis and Management Of Diabetes Mellitus: Update. Draft Guidelines, Version 1107. Accessed At AACC Website Novamber 27, 2007.