

به نام خدا

از سری نوشته های "برای آزمایشگاهیان نوشته ام" ۱۱

۱۴۰۰/۱۰/۱۱

بازنگری شده در تاریخ ۱۴۰۲/۰۴/۰۹

حقوق مادی و معنوی این نوشتار برای نویسنده محفوظ است.



صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

منبع تصاویر: اینترنت یا ترسیم شده توسط نویسنده

به قول شاعر

نامی از خویش در جهان بگذار زندگانی برای مردن نیست

ناظم هروی

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

مقدمه

در مقاله

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

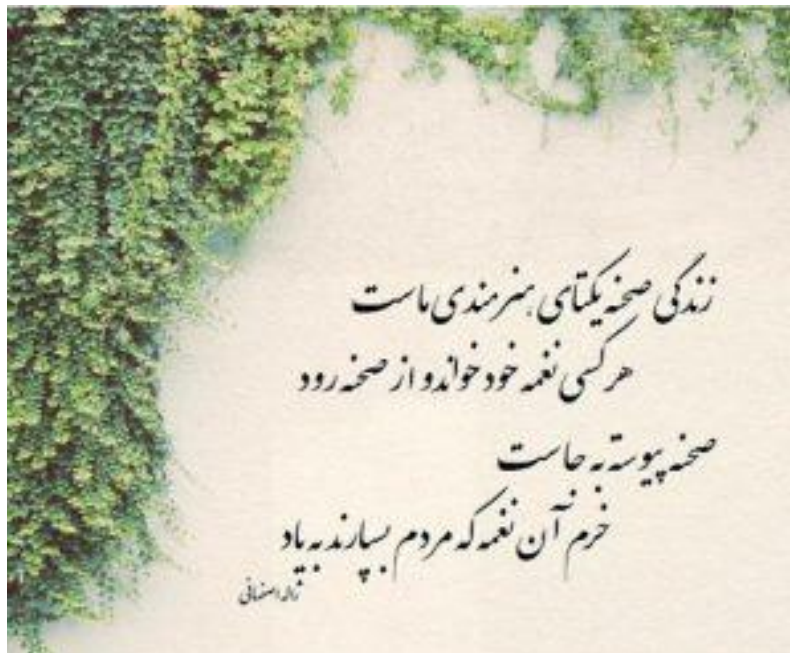
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

نویسنده به معرفی گام های متوالی و متعامل

برای تصدیق کیت های آزمایشگاهی برای انجام آزمون های کمی

بر اساس بند ۵-۵-۱-۲ استاندارد INSO-ISO 15189

پرداخته است.



صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits
نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه
www.yadazma.com

سخن نویسنده

با توجه به اهمیت گام ۲۲ از

چهل گام تا استقرار سیستم مدیریت کیفیت بر اساس استاندارد ۱۵۱۸۹

و قول داده شده در انتهای مقاله فوق

" برای آزمایشگاهیان نوشته ام ۱۰ " ،

اکنون در مقاله "برای آزمایشگاهیان نوشته ام ۱۱" به موضوع

"گام های صحه گذاری؛ در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی، برای انجام آزمون های کمی" پرداخته ام.

مطالعه این مطلب کاربردی به مدیران کیفیت و مسئولین کنترل کیفی آزمایشگاه های پزشکی توصیه می شود

تا با کمک این مطالب که با گوییش ساده بیان شده است آن قدر توانمند شوید تا روش اجرایی و دستورالعمل مربوطه را در آزمایشگاهتان بنویسید و سپس با مشارکت همکاران آزمایشگاه، آن را در آزمایشگاه اجرا نمایید.

با آرزوی موفقیت برای همه

دکتر صغری روحی

درخت توگر بار دانش بگیرد

به زیر آوری چرخ نیلوفری را

ناصر خسرو

تصدیق (VERIFICATION) یا تایید (VALIDATION)؟

هر آزمایشگاه دارای بخش های آزمایشگاهی متعددی است به همین دلیل

هر بخش آزمایشگاهی باید طرح کیفیت خود را داشته باشد

یکی از قسمت ها در طرح کیفیت هر بخش آزمایشگاه در کنار

اطمینان از عملکرد تجهیزات و

انجام امور مرتبط با مصادیق کنترل کیفی حین انجام آزمایش و

تضمین کیفیت نتایج، توجه به تصدیق (VERIFICATION) یا تایید (VALIDATION)

روش های آزمایشی است که برای آزمایش به کار گرفته می شوند.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

تعاریف

- **Validation:** Documenting in vitro diagnostic device performance in your lab

• مفهوم صحه گذاری در حد Validation شامل مستندات عملکرد تجهیزات IVD شامل دستگاه ها و کیت ها در آزمایشگاه شما
• انجام می شود برای تأیید ادعای سازنده

- **Verification:** An ongoing demonstration of the vendor's performance claims using a variety of tools

• مفهوم صحه گذاری در حد Verification شامل مستندات عملکرد کیت در زمان استفاده از ابزارهای متنوع
• انجام می شود برای تصدیق ادعای سازنده

Ref this slide:
Thomas Navicki Ph.D. D(ABMM)
Marshfield Clinic
Marshfield WI

**توجه: دو واژه با مفهوم تقریباً نزدیک
یکی برای تایید و دیگری برای تصدیق**

در این میان روش های اجرایی انجام آزمایشی وجود دارد که
در شرکت های آزمایشگاهی مورد صحه گذاری واقع شده و
به صورت **کیت** برای انجام آزمایش به آزمایشگاه های پزشکی معرفی شده و

بدون تغییر و تعدیل جهت کار در آزمایشگاه استفاده می شوند .

بررسی ویژگی های عملکردی این کیت ها در حد **تصدیق (VERIFICATION)**

در بخش های آزمایشگاهی که اقدام به اندازه گیری های کمی می نمایند
اهمیت ویژه ای داشته،

نیازمند برنامه ریزی جهت تامین کیت به اندازه کافی و

همکاری گسترده مسئول فنی، مدیر کیفیت، مسئول کنترل کیفی و کارشناسان آزمایشگاه هایی مانند

بخش های بیوشیمی، هورمون شناسی و ایمنی شناسی است.

لازم به ذکر است در این بخش ها است که اقدام به تعیین مقادیر کمی آنالیت ها می شود .

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

بند ۵-۵-۱-۲ استاندارد INSO-ISO 15189 را در زیر مطالعه کنید

کاربران باید بدانند چه هدفی را دنبال می کنند.

۵-۵-۱-۲ تصدیق روش‌های آزمایش

روش‌های اجرایی صحه گذاری شده آزمایش در صورتیکه بدون تغییر و تعدیل استفاده شوند، قبل از اینکه به طور روتین به کار گرفته شوند باید به طور مستقل توسط آزمایشگاه تصدیق شده باشند. برای تایید ویژگی‌های عملکردی روش اجرایی، آزمایشگاه باید اطلاعات را از سازنده/طراح روش اخذ نماید. تصدیق توسط آزمایشگاه از طریق کسب شواهد غیبی باید تایید کند که ادعاهای عملکردی تولید کننده در مورد ویژگی‌های عملکردی روش‌های آزمایش برآورده شده‌اند. ادعاهای عملکردی برای روش‌های آزمایش که طی فرایند تصدیق مورد تایید قرار گرفته اند، باید مرتبط با کاربرد مورد نظر از نتایج آزمایش باشند. آزمایشگاه باید روش اجرایی مورد استفاده برای تصدیق را بدون و نتایج به دست آمده را ثبت نماید. کارکنان با اختبارات مرتبط باید نتایج تصدیق را بازنگری کنند و نتایج بازنگری را ثبت نمایند.

جمله مهم انگیزشی:

عزیزان مطالعه کننده این مقاله، توجه داشته باشید

گام های صحه گذاری در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی کمی پرزحمت است

اما با انجام آن شکوفه های اطمینان خاطر نسبت به نتایج روش آزمایش در ذهن جوانه می زند.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation)؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

روش اجرایی

صحه گذاری روش آزمایش یک فرایند است لذا پس از کسب اطمینان از:

- (۱) مناسب بودن تجهیزات و کالیبره بودن آن ها و
 - (۲) اطمینان از تسلط کافی اپراتور برای انجام آزمون و
 - (۳) اطمینان از وجود کیت و معرف های آزمایشگاهی؛ تهیه شده از شرکت های آزمایشگاهی معتبر به میزان کافی و
 - (۴) وجود دستورالعمل های معتبر آزمایش؛ بروشور کیت یا
 - (۵) وجود دستورالعمل های معتبر آزمایش؛ متون درج شده در کتب معتبر و
 - (۶) معیارهای مشخص پذیرش روش آزمایش،
- می توان جهت صحه گذاری روش آزمون در حد تصدیق اقدام نمود.

برای این کار طبق

روش اجرایی مدون صحه گذاری روش آزمایش آزمایشگاه

شاخص های زیر به ترتیب بررسی می گردد:

۱. دقت روش (تکرار پذیری درون دور کاری و بین دورهای کاری)
۲. بررسی صحت روش آزمایش
۳. تعیین محدوده اندازه گیری روش (Analytical Measuring Range (AMR شامل بررسی خطی بودن و بررسی حد آشکارسازی و حد تشخیص؛ در واقع تعیین LOD و تعیین LOQ
۴. تخمین عدم قطعیت اندازه گیری های کمی متاثر از ضریب انحراف و بایاس برای بررسی درستی روش آزمایش
۵. تصدیق محدوده مرجع اعلام شده در بروشور کیت

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

www.yadazma.com

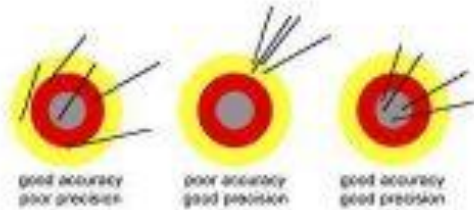
بررسی شاخص اول:

دقت روش (تکرار پذیری و دقت درون آزمایشگاهی)

بررسی دقت از طریق آزمون تکرار پذیری
PRECISION

هدف از انجام کار:

تخمین میزان عدم دقت یا خطای راندوم (اتفاقی) آزمایش



آزمایشگاه باید ادعای سازنده کیت در زمینه دقت روش را با آزمایش ۲۰ بار از یک نمونه

در دو یا سه سطح غلظتی؛

ترجیحا در سطوح تصمیم گیری بالینی،

به صورت بررسی دقت درون دور کاری و دقت بین دوره های کاری

اثبات کند .

به این ترتیب که بعد از آزمایش، از خواننده ها میانگین گرفته، انحراف معیار خواننده ها را به دست آورده

با کمک این دو عدد درصد ضریب انحراف را محاسبه می نمایند .

تفسیر: این مقادیر باید از درصد ضریب انحراف ادعایی سازنده و

در بهترین حالت از ضریب انحراف مجاز ذکر شده در جداول بین المللی پایین تر باشد.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

بررسی دقت از طریق آزمون تکرارپذیری PRECISION

محاسبات آماری

* خطای راندمان از طریق محاسبه انحراف معیار و ضریب انحراف و با استفاده از فرمول های زیر بدست می آید.

$$mean = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - mean)^2}{n-1}}$$

* CV : ضریب انحراف (Coefficient of variation)

* \bar{x} : هر تک میانگین

* SD: انحراف معیار (Standard deviation)

* \sum : میانگین

* n: تعداد خوانده ها

* با توجه به این که میزان انحراف معیار تابعی از عظمت نمونه مورد بررسی می باشد، به طور معمول CV% شاخص بهتری از عدم دقت سیستم اندازه گیری ارائه می دهد.

$$CV\% = \frac{SD * 100}{mean}$$

* توجه: برای عملیاتی تر شدن محاسبات آماری علاوه بر ماشین حساب از برنامه EXCEL و ابزار سایت پروفیسور و دستگیره www.wedgari.com نیز می تواند استفاده کرد.

رفرانس این تصویر: کتاب خانم دکتر رضی

توجه :

انجام روش فوق برآورد دقت را امکان پذیر می کند.

بهتر است

برای انجام یک کار بهتر و دقیق تر یعنی

تصدیق دقت

از روش گفته شده در آخرین ویرایش سند

از سری اسناد منتشره توسط CLSI

یعنی

CLSI EP15-A3

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

استفاده شود.

یعنی انجام آزمایش با حداقل دو یا بیشتر نمونه بیمار یا

هر نمونه دیگر مشابه ماتریکس نمونه انسانی یا

نمونه سازگار با روش آزمایش

که تمامی بازه غلظت ادعایی سازنده را پوشش دهد

در ۵ روز کاری هر یک روزانه ۵ تکرار و

بررسی آماری و

مقایسه تکرارپذیری (Repeatability) و

دقت درون آزمایشگاهی (Within Lab Percision)

با مقادیر ادعایی کیت برای تصدیق دقت روش آزمایش.

نکته مهم:

روش فوق ساده و

در صورت استفاده از مواد دارای غلظت مشخص،

اجرای همزمان

تصدیق دقت و برآورد عدم صحت

امکان پذیر می شود.

هشدار؛

یک نکته مهم و قابل توجه:

فقط و حتما اگر مرحله تکرارپذیری پاس شد

سراغ مرحله بعدی یعنی بررسی صحت روش آزمایش بروید.

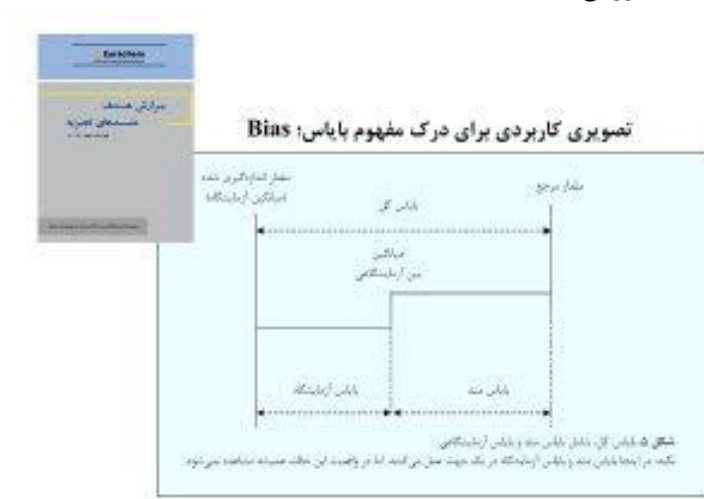
صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits
نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه
www.yadazma.com

بررسی شاخص دوم:

بررسی صحت روش آزمایش

برای بررسی صحت روش آزمایش از سه روش می توانید استفاده کنید:

۱. آزمایش کنترل صحت
۲. استفاده از روش بازبایی
۳. استفاده از روش مقایسه روش ها



با توجه به این که صحت قابل اندازه گیری نیست
در آزمایشگاه به تعیین عدم صحت (بایاس یا نامیزانی) پرداخته می شود.
برای تعیین درصد بایاس یا نامیزانی،
قابل اعتمادترین روش "استفاده از کنترل صحت" است
اما با توجه به عدم دسترسی به کنترل صحت برای بسیاری از موارد آزمایش
می توان از یکی از
"روش های بازبایی"
یا
"مقایسه روش ها"
استفاده کرد.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
 گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
 برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

www.yadazma.com

در این مقاله به توضیح "مقایسه روش ها" پرداخته می شود.
 در این روش، نتایج روش تحت آزمون
 با نتایج روش مناسب دیگری (ترجیحا مرجع) مقایسه می گردد.
 برای این مقایسه باید ۴۰ نمونه در سه سطح غلظتی که گستره کاری را پوشش می دهند
 آزمایش شوند.
 برای به حداقل رساندن خطای سیستماتیک، آزمایش ترجیحا
 در ۵ روز انجام شده و هر روز ۸ نمونه آزمایش می شود.
 برای تفسیر نتایج اقدام به رسم **Difference Plot** و **Comparison Plot** نمایید.

تفسیر نتایج

بررسی Bias

- اساس ترین روش تحلیلی رسم نمودار مقایسه نتایج و بررسی همبستگی اختلافات بین نتایج دو روش است. در صورت روتنهایی که انتظار می رود اشتباهی نقطه به نقطه نباشد بلکه ، نمودار تفاوت ها **Difference Plot** مورد استفاده قرار می گیرد.



- در این نمودار هر نقطه نشانگر تفاوت نتایج دو روش مختلف در آزمایش یک نمونه و محور عمود نشاندهنده عدم اختلاف نتایج دو روش می باشد. به عبارتی وقتی تفاوت بین محور عمود صفر یا در دو طرف محور صفر و با حاصله کم نسبت به آن قرار گیرند بدین معنایست که نتایج حاصل از دو روش با هم اختلاف کمی دارند. وجود هر یک از این دو نقطه نشان دهنده تفاوت نتایج آزمایش حاصل از آزمایشگر می باشد. هر یک از این دو روش باید به جهت اطمینان از آن، چندین تست نمونه انجام بررسی شود.

- هرگاه در مورد روش هایی که با هم مقایسه می شود انتظار تطابق نقطه به نقطه نباشد باشیم می باید از نمودار **Comparison Plot** استفاده نمود که سوال آن پاکش های آزمایش می باشد. همچنین برای اطمینان ضمن بررسی و استفاده از راه ساده تر
- در این نمودار محور X نشانگر روش مقایسه ای و محور Y نشانگر نتایج روش تحت بررسی می باشد. تفاوت نتایج حاصل از دو روش مقایسه ای نشان داده و بهترین خط از بین نقاط ترسیم می شود.
- هدف اصلی این نمودار تشخیص توری نقاط دور افتاده می باشد. از بیان با زمانی که نمونه ها در دسترس هستند ، بررسی مجددی روی آنها صورت داد.



رفرانس این تصویر: کتاب خانم دکتر رضی

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

توجه:

حداقل نمونه قابل قبول

به شرط رعایت قانون انتخاب سه سطح غلظتی که گستره کاری را پوشش می دهند

۲۰ نمونه

است.

برای ادامه کار باید نسبت به تعیین فرمول خط نیز اقدام نمود.

هر چقدر دو روش با هم سازگارتر باشند

شیب منحنی (Slope) و عدد رگرسیون R^2 (ضریب تعیین) به عدد 1 نزدیک تر خواهند بود .

اگر عدد رگرسیون R^2 (ضریب تعیین) کمتر از 0.975 باشد

یا باید تعداد نمونه بیشتری آزمایش شود و

یا باید از آزمون های آماری دیگر مانند paired T test

برای مقایسه نتایج استفاده شود.

توجه : عدد رگرسیون r (ضریب همبستگی) بایستی بالاتر از 0.99 باشد.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation)؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

www.yadazma.com

بررسی شاخص سوم:

تعیین محدوده اندازه گیری روش (AMR) شامل بررسی خطی بودن و

بررسی حد آشکارسازی و حد تشخیص؛ در واقع تعیین LOD و تعیین LOQ

بررسی محدوده گزارشدهی (آزمون خطی بودن Linearity)

• هدف از انجام کار:

بررسی خطی بودن یک روش آزمایشگاهی، به منظور بررسی محدوده گزارشدهی به کار می‌رود. با انجام این آزمایش می‌توان محدوده غلظتی را که با استفاده از روش مورد نظر به طور قابل اعتماد قابل گزارش می‌باشد، تعیین کرد. در این آزمون یک سری از نمونه‌ها با غلظت مشخص و یا نمونه‌های رقیق شده، آزمایش و نتایج آنها پس از نمایش روی نمودار، به صورت چشمی بررسی می‌گردد.

• چه نمونه‌هایی می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند:

- بسیاری از تولیدکنندگان سری محلول های استاندارد با غلظت های مختلف و مشخص تولید می‌کنند که می‌توانند برای کنترل خطی بودن به برونند.
- نمونه‌های بیماران یا غلظت های بالا می‌تواند رقیق شده و برای بررسی خطی بودن به کار رود.

• تعداد آزمایش:

رقت های تهیه شده و نمونه‌های رقیق نشده (L و H) به صورت دوتایی (در مراجع ۳ تا ۴ تایی) آزمایش می‌شوند و میانگین نتایج به عنوان نتیجه نهایی، قرار می‌گیرد.

رفرانس این تصویر: کتاب خانم دکتر رضی

پس از سه بار آزمایش هر رقت از نمونه، از نتایج میانگین گرفته و با حاصل میانگین نتیجه برای هر رقت با کمک

برنامه اکسل نسبت به رسم خط و به دست آوردن فرمول خط اقدام نمایید.

$$Y=bX+a$$

b: Slope

a: Intercept

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کتی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

www.yadazma.com

نحوه تهیه و تعیین خلقت نمونه ها برای تایید و تعیین محدوده خطی بودن و حساسیت روش آزمون در آزمایشگاه غربالگری

* ۷ تا ۹ سطح رقت از استاندارد با خلقت مشخصی که هر یک ۳ بار آزمایش شود.

توجه: ۷ تا ۹ سطح رقت هم می تواند کلی باشد.



صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
 گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
 برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

www.yadazma.com

چطور نمونه با غلظت های مختلف بسازیم؟

رقیق کننده‌ها:

برای رقیق سازی باید با توجه به تاریخکس نمونه، از رقیق کننده مناسب استفاده شود. برخی از اوقات هاین بوشمن یا غیرهوان آب یا سالین رقیق نمودن کیتها را از آن جهت بزرگ با غلظت بسیار کم از جلد مورد بررسی به عنوان رقیق کننده استفاده کردند. در هر حال برای انتخاب رقیق کننده اولین انتخاب توصیه ما نموده است.

نظریه:

اگر ۱۱ به عنوان نمونه با غلظت ۱ (CS) و ۱ به عنوان نمونه با غلظت ۵ (CS) (در نظر گرفته شود) می توان رقیق سازی را به شکل زیر انجام داد:

- ۳ قسمت ۱۱ و ۱ قسمت ۵ (رقیق ۱٪)
- ۲ قسمت ۱۱ و ۳ قسمت ۵ (رقیق ۲٪)
- ۱ قسمت ۱۱ و ۴ قسمت ۵ (رقیق ۳٪)

جواب مخلوط کرده از تغییر و ستای شرایطی که بر کیفیت نمونه تاثیر می گذارد محافظت کردند با توجه با برای می توان رقت های دیگری نیز تهیه نمود. غلظت ها را از فرمول زیر محاسبه کنید:

$$\text{Concentration} = \frac{c_1v_1 + c_2v_2}{v_1 + v_2}$$

برای نمونه با غلظت ۱ می توان نمونه ۱ و ۲ را که در کیت ارائه شده است به نسبت مساوی مخلوط نمود.

و با برای نمونه با غلظت ۲ می توان نمونه ۱ و ۲ را که در کیت ارائه شده است به نسبت مساوی مخلوط نمود.

فرانس این تصویر: کتاب خانم دکتر رضی

توجه:

حداقل تعداد رقت قابل قبول

۴ تا ۵ رقت

است.

پس از سه بار آزمایش هر رقت از نمونه، از نتایج میانگین گرفته و با حاصل میانگین نتیجه برای هر رقت با کمک برنامه اکسل نسبت به رسم خط و به دست آوردن فرمول خط اقدام نمایید.

$$Y = bX + a$$

b: Slope

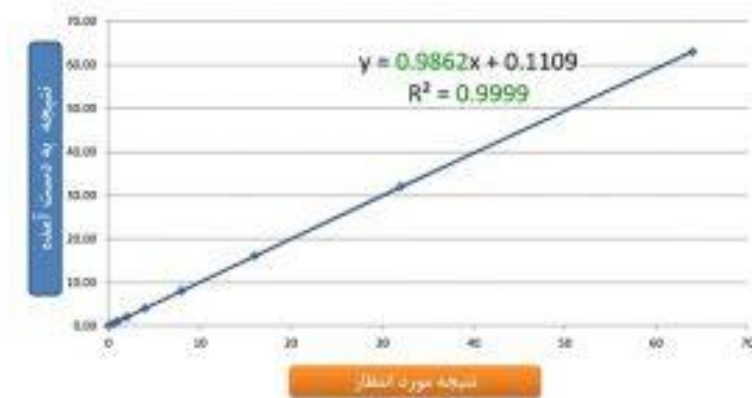
a: Intercept

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

$$Y=bX+a \longrightarrow (\text{slope}=b:0.9-1.1 \& R^2 \geq 0.99)$$



اگر شرایط بالا حاکم باشد یعنی slope یا شیب منحنی بین 0.9 تا 1.1 و R^2 بالای 0.975

و خطای کل پایین تر از خطای کل مجاز بود

نیاز به اقدام دیگری وجود نداشته

روش آزمایش تا بالاترین سطح غلظتی مورد آزمایش خطی بوده،

بنابراین در زمان آزمایش تا این سطح غلظتی نیاز به رقیق کردن سرم بیماران وجود ندارد.

به دست آوردن R مساوی یا بالاتر از 0.99 بسیار ایده آل و حاکی از همبستگی نقاط است.

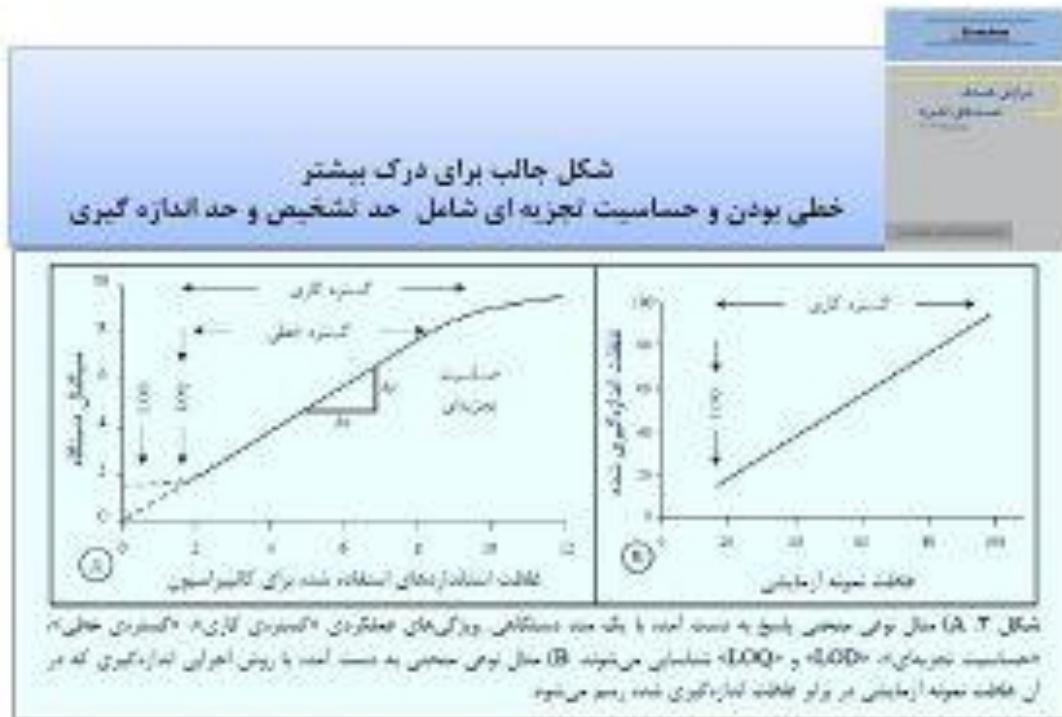
اگر شرایط ذکر شده در تصویر حاکم نبود یعنی slope کمتر از 0.9 و یا R^2 کمتر از 0.975 بود

باید منطقه خطی بودن روش آزمایش با حذف غلظت های بالاتر و رسم مجدد خط تعیین شود.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمتی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنبه

www.yadazma.com

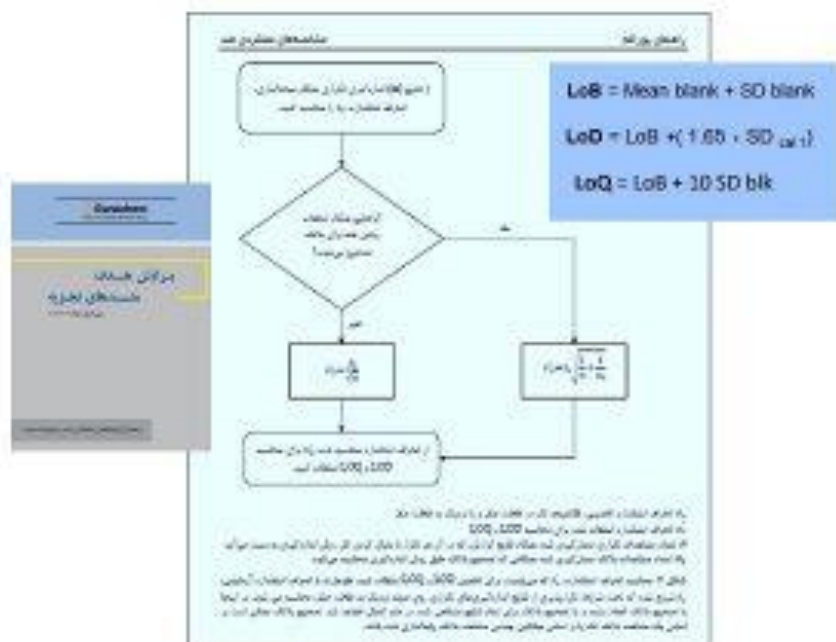


برای تعیین LOD و LOQ می توانید از راهنمای یوروکم و یا سند CLSI EP17 و فرمول های معرفی شده در آنها استفاده کنید.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
 گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
 برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com



برای درک بهتر مطلب، مطالعه صفحات ۱۷۱ تا ۱۸۲ کتاب "مدیریت کیفیت در بیوشیمی"

تالیف آقای دکتر رضا محمدی استاد گرانقدر علم بیوشیمی

که به زبان ساده و سلیس موضوع را توضیح داده است، توصیه می گردد.

در این کتاب آمده است که نقطه LOQ جایی است که

درصد ضریب انحراف حاصل از ۲۰ تکرار از آزمایش نمونه فاقد آنالیت

با حدود اطمینان ۹۵٪، معادل نصف خطای کل مجاز به شرط بایاس صفر باشد.

$$LOQ = (SD / (\%TEa / 2)) * 100$$

در ارزیابی روش ها، تعیین LOB و LOD برای آزمایش هایی مهم است

که وجود یا عدم وجود آنالیت اهمیت دارد .

تعیین LOQ برای آزمایش های مربوط به اندازه گیری قابل اعتماد مقادیر کم آنالیت هایی مانند

هورمون ها اهمیت دارد.

از سری نوشته‌های "برای آزمایشگاهیان نوشته‌ام" ۱۱

۱۴۰۰/۱۰/۱۱

بازنگری شده در تاریخ ۱۴۰۲/۰۴/۰۹

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

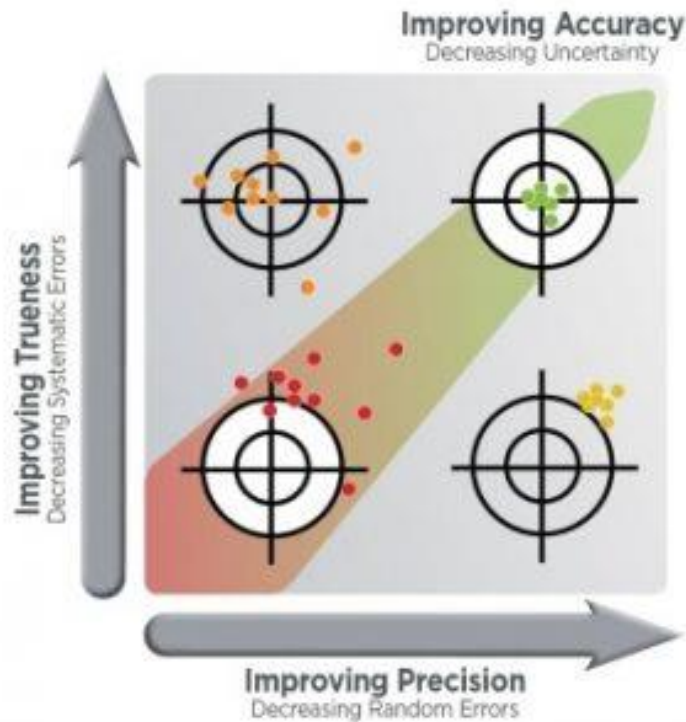
www.yadazma.com

بررسی شاخص چهارم:

بررسی درستی روش آزمایش

عدم قطعیت اندازه گیری های کمی در آزمایشگاه تشخیص پزشکی

متاثر از ضریب انحراف و بایاس است.



:Reference of this picture

https://www.artel.co/learning_center/defining-accuracy-precision-and-trueness

برای تخمین عدم قطعیت به استاندارد **ISO-TS 20914** رجوع نمایید.

این استاندارد به تخمین عدم قطعیت در آزمایشگاه های پزشکی

با استفاده از رویکرد بالا به پایین

پرداخته است.

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛

گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)

برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی

Method validation

Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

بررسی شاخص پنجم:

تصدیق محدوده مرجع اعلام شده در بروشور کیت

طبق مطلب ارائه شده در کتاب بیوشیمی Tietz 2018 ، برای تصدیق دامنه مرجع در نظر گرفته شده در بروشور کیت، ابتدا ۲۰ نفر جمعیت طبیعی و سالم از نظر سن و جنس برای هر آزمایش را انتخاب کرده و سپس نمونه آنان را با روش صحه گذاری شده در آزمایشگاه آزمایش نمایید.

• **تفسیر:** اگر برای هر آزمایش در هر گروه، مقادیر نتیجه آزمایش برای بیش از دو نفر خارج از دامنه پیشنهادی اعلام شده قرار گرفت، دامنه مرجع اعلام شده تصدیق نمی شود. در غیر این صورت دامنه مرجع اعلام شده تصدیق می شود.

در صورت عدم تصدیق دامنه مرجع در مرحله اول، طبق توصیه کارشناسان باید این کار برای ۲۰ نفر دیگر انجام شود اگر مجدداً نتیجه آزمایش برای بیش از دو نفر خارج از دامنه پیشنهادی اعلام شده برای روش آزمایش قرار گرفت، دامنه مرجع اعلام شده تصدیق نشده و باید برای روش مورد استفاده در آزمایشگاه محدوده مرجع جدید تعیین گردد.

به پایان آمد این دفتر حکایت همچنان باقی

به صد دفتر نشاید گفت حسب الحال مشتاقی

سعدی

برای تهیه طرح کیفیت آزمایشگاه و راه اندازی فرایند صحه گذاری ،

به شکل اصولی و صحیح با ما تماس بگیرید .

همراهتان هستیم همراهان باشید

www.yadazma.com

برای استقرار سیستم مدیریت کیفیت به شکل اصولی و صحیح در آزمایشگاهتان با ما تماس بگیرید.

همراهتان هستیم همراهان باشید.

از سری نوشته‌های "برای آزمایشگاهیان نوشته‌ام" ۱۱

۱۴۰۰/۱۰/۱۱

بازنگری شده در تاریخ ۱۴۰۲/۰۴/۰۹

صحه گذاری روش های کمی در آزمایشگاه (Method Validation) ؛
گام های در حد تصدیق کیت های آزمایشگاهی (Method Verification)
برای انجام آزمون های کمی در آزمایشگاه های تشخیص پزشکی
Method validation
Method verification steps for quantitative methods by IVD kits

نویسنده: دکتر صغری روحی دهنیه

www.yadazma.com

با توجه به اهمیت موضوع مدیریت عدم انطباق بر اساس استاندارد ۱۵۱۸۹

در مطلب

" برای آزمایشگاهیان نوشته ام ۱۲ "

به موضوع

"مدیریت عدم انطباق، انجام اقدامات اصلاحی و پیشگیرانه "

پرداخته خواهد شد.

مطالعه این مطلب کاربردی به شما عزیزان آزمایشگاهی توصیه می شود.

سلسله مطالب " برای آزمایشگاهیان نوشته ام "

برای افزایش آگاهی و شروع بهبود در آزمایشگاه های پزشکی

این سلسله مطالب مفید را

در سایت یادآزما

دنبال کنید ...

www.yadazma.com