

چالش‌های بیوشیمی: EQAP 46

Biochemistry Challenges: EQAP-46

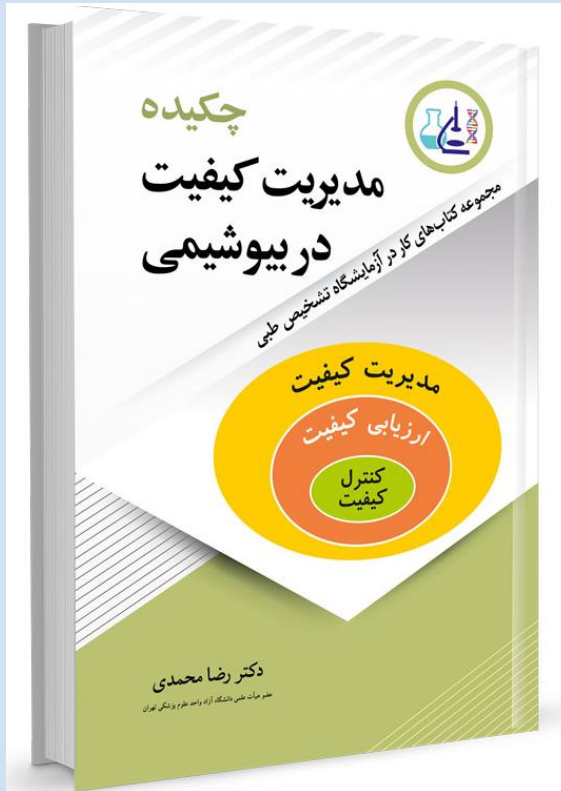
دکتر رضا محمدی *DCLS, PhD*

rmbiolab.com

چالش‌های بیوشیمی: EQAP-46

- مفاهیم پایه
- چالش‌های ثبت اطلاعات
- چالش‌های تفسیر نتایج
- پرسش و پاسخ

مطالعه بیشتر



قسمت اول

مفاهيم پایه

تعاریف و مفاهیم

- روش اجرایی اندازه‌گیری قطعی (Definitive MP)
- روش اجرایی اندازه‌گیری مرجع (Reference MP)
- روش اجرایی اندازه‌گیری مقایسه‌ای (Comparative MP)
- روش اجرایی اندازه‌گیری مورد بررسی (Test MP)

تعاریف و مفاهیم

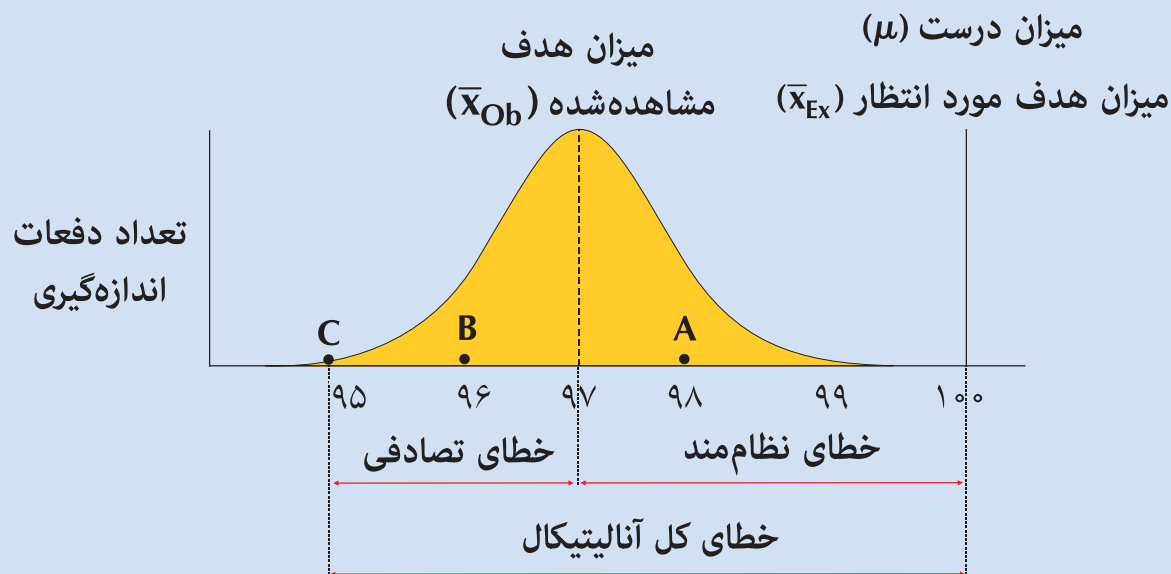
- میزان اندازه‌گیری شده یا مشاهده شده (Measured or Observed Value)
- میزان درست (True Value)
- میزان مرجع (Reference Value)
- میزان هدف (Target Value)
- میزان هدف موردانتظار (Expected Target Value)
- میزان هدف مشاهده شده (Observed Target Value)
- میزان تخصیص یافته یا شناخته شده (Assigned or Known Value)

Analytical Errors

- Imprecision
- Bias

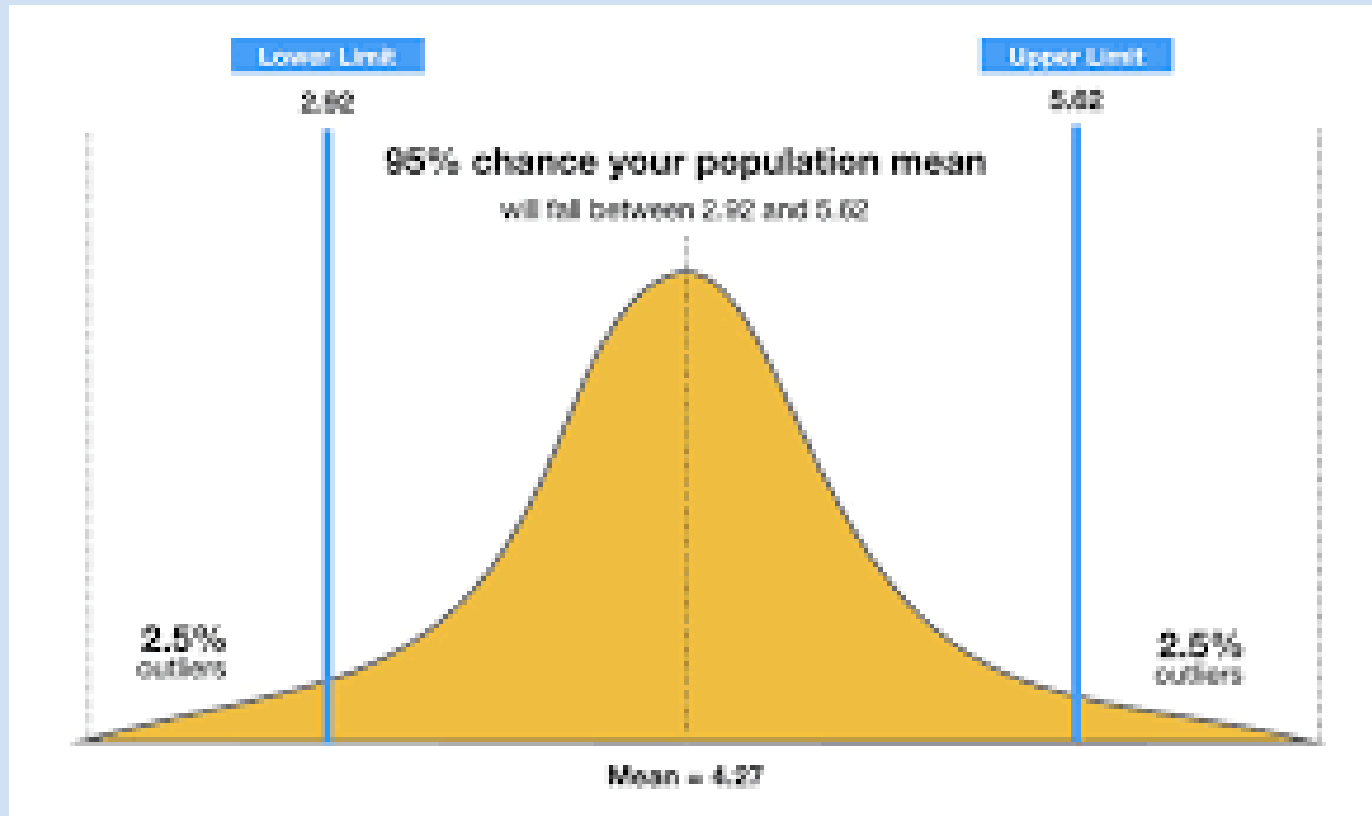
$$\text{TAE\%} = \text{Bias\%} + 2 \text{ CV\%}$$

$$\text{TAE} = \text{Bias} + 2 \text{ SD}$$



شکل ۴-۱

Confidence Interval (CI)



Quality Monitoring

- **Internal Quality Control (IQC)**

Analyzing QC Material

According to Patient Results

- **External Quality Assessment**

Internal Quality Assessment Program (EQAP)

Peer-group (Inter-laboratory) Program

کنترل کیفیت داخلی (IQC)

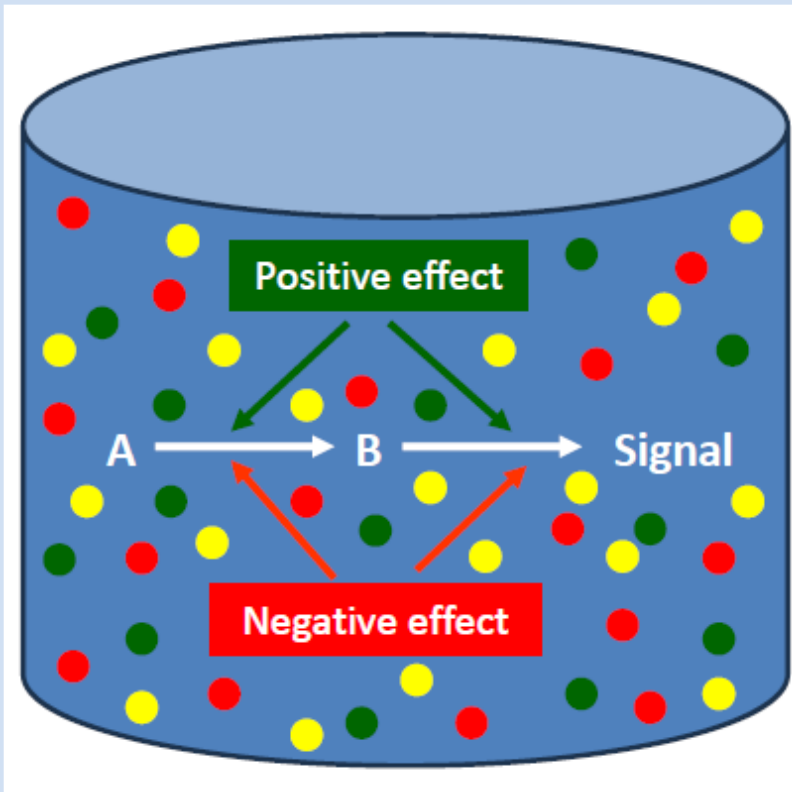
- ضروری برای پایش روزانه دقت و صحت روش اندازه گیری
- فقط تغییرات بین عملکرد جاری و عملکرد پایدار قبلی (پایه) را آشکار می کند
- خطاهای نظام مند موجود در هنگام تعیین مقدار میانگین را آشکار نمی کند

ارزیابی کیفیت خارجی (EQA)

- فرایندی است که از طریق آن آزمایشگاه از یک منبع بی‌تورش برای تصدیق کیفیت نتایج بیماران خود استفاده می‌کند
- به آزمایشگاه این امکان را می‌دهد که توافق نتایج خود با نتایج سایر آزمایشگاه‌های استفاده‌کننده از همان روش یا روش مشابه و در نتیجه استفاده صحیح از این روش اندازه‌گیری را تأیید کند.
- برای حفظ درستی طولانی-مدت روش اندازه‌گیری مهم است.

تثر زمینه‌ای (Matrix Effect)

- در نمونه بیمار
- در نمونه کنترل



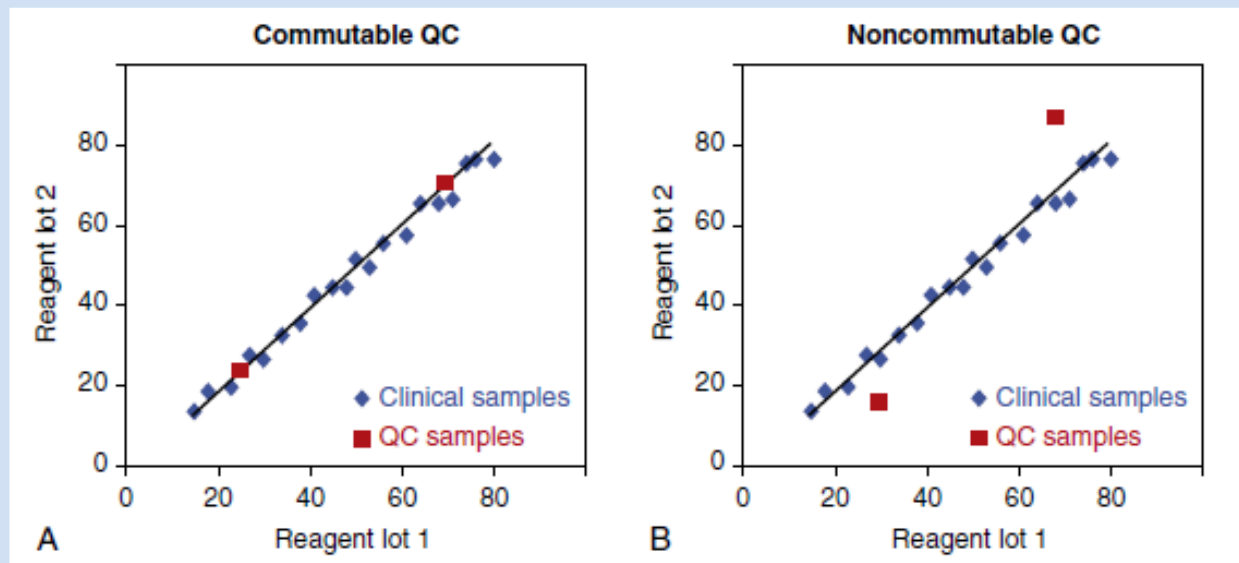
نمونه‌های هم‌رفتار و ناهم‌رفتار

- نمونه هم‌رفتار (Commutable)

نمونه بومی (Native)

- نمونه ناهم‌رفتار (Non-commutable)

نمونه بومی تغییر یافته، نمونه ساختگی



External Quality Assessment

- Lab agreement evaluation
- Lab harmonization
- Lab bias determination
- Kit bias determination

مزایای استفاده از نمونه‌های هم‌رفتار در مقابل ناهم‌رفتار

- امکان ارزیابی توافق (agreement) بین آزمایشگاه
- امکان هماهنگ‌سازی (Harmonization) آزمایشگاه‌ها
- امکان تعیین تورش (Bias) یک روش یا کیت اندازه‌گیری

مشکلات نمونه‌های هم‌رفتار

- مشکلات تهیه نمونه
- مشکلات پایداری آنالیت‌ها

قسمت دوم

چالش‌های ثبت اطلاعات

چالش‌های ثبت اطلاعات

- ثبت نام کیت
- محاسبات و ثبت نتیجه

چالش‌های ثبت نام کیت

- افزایش تعداد کیت‌ها
- تغییر نام تجارتي
- اشتباه در ثبت نام کیت
-

Troponin Kits

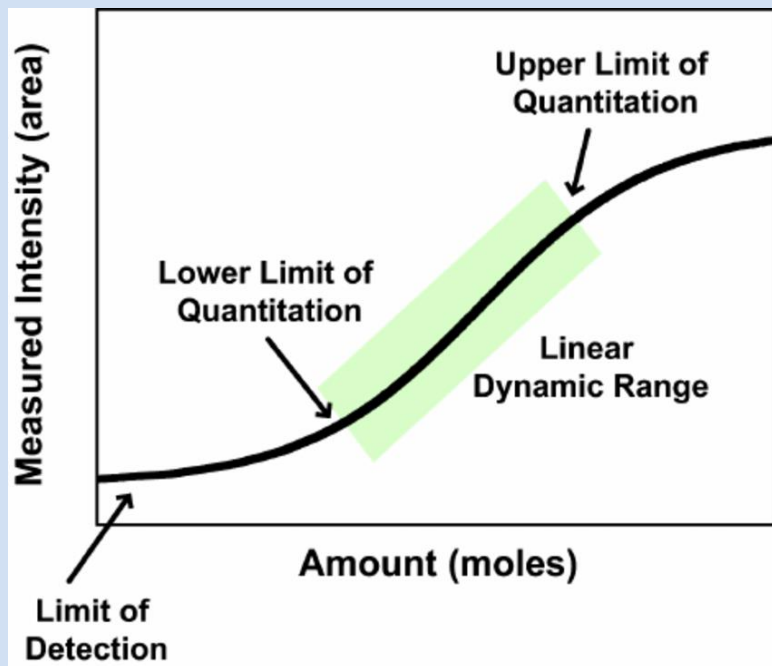
Contemporary Kits	N	Mean (ng/mL)	SD	CV (%)
BioMerieux???	4	0.08	0.15	177.1
Exida	3	0.02	0.02	86.6
Ichroma	4	0.05	0.05	104.56
Immulite	22	0.14	0.09	62.87
Monobind	5	0.21	0.12	56.23
Roche	28	0.08	0.04	48.39
Tosoh	6	0.03	0.01	19.36

High-sensitive Kits	n	Mean (ng/L)	SD	CV
Abbott	10	24.33	2.40	9.85
BioMerieux	62	8.51	1.99	23.35
Roche	3	12.35	5.07	41.08

چالش‌های محاسبات و ثبت نتیجه

- خطاهای محاسباتی
- عدم توجه به واحد درخواستی
-

دامنه اندازه‌گیری و رقیق‌سازی نمونه ادرار



- میزان رقیق‌سازی
- غلظت آنالیت در ادرار دفعی
- دامنه اندازه‌گیری روش مورد استفاده
- رقیق‌کننده
- محاسبات
- واحد گزارش

دامنه اندازه‌گیری و رقیق‌سازی نمونه ادرار

Parameter	Protein	Creatinine	Calcium	Uric Acid
Observed Value	643 mg/L	57 mg/dL	7.5 mg/dL	28 mg/dL
Analytical Range	20 – 1000 mg/L	0.2 – 15 mg/dL	1.0 – 15 mg/dL	1.5 – 13 mg/dL
Calibrator	140 mg/L	3.2 mg/dL	9.8 mg/dL	6.3 mg mg/dL
Control	125 mg/dL	2.7 mg/dL	9.1 mg/dL	5.7 mg/dL
Dilution	?	?	?	?

دامنه اندازه‌گیری و رقیق‌سازی نمونه ادرار

Parameter	Protein	Creatinine	Calcium	Uric Acid
Observed Value	643 mg/L	57 mg/dL	7.5 mg/dL	28 mg/dL
Analytical Range	20 – 1000 mg/L	0.2 – 15 mg/dL	1.0 – 15 mg/dL	1.5 – 13 mg/dL
Calibrator	140 mg/L	3.2 mg/dL	9.8 mg/dL	6.3 mg mg/dL
Control	125 mg/dL	2.7 mg/dL	9.1 mg/dL	5.7 mg/dL
Dilution	No	1/20	No	1/5

ارزیابی نتایج محاسباتی

- نظیر protein mg/24h یا Protein/Creatinine Ratio (mg/g)
- تمرکز اصلی بر نتیجه غیر محاسباتی نظیر Protein (mg/L)
- تفسیر نتایج محاسباتی براساس نتایج حاصل از محاسبات صحیح
- برای مثال در صورتی که میانگین همگروه برای پروتئین و کراتینین به ترتیب 400 mg/L و 50 mg/dL و حجم ادرار ۲۴ ساعته 1500 mL باشد، آنگاه میزان هدف مورد انتظار برای نسبت پروتئین به کراتینین 800 mg/g و غلظت پروتئین ادرار ۲۴ ساعته 600 mg/24h خواهد بود.
- هدف اصلی درخواست نتایج محاسباتی:
افزایش آگاهی از نحوه محاسبات
شناسایی خطاهای احتمالی محاسبات

تفسیر نتایج بیوشیمی ادرار

Analyte	Unit	Lab	Count	Mean	CV%	DI
Creatinine (Random)	mg/dL	48	254	66.13	14.01	2.74
Creatinine (24h)	mg/24h	672	225	933.51	13.64	2.8
Protein (Random)	mg/L	250	143	226.07	15.28	1.06
Protein/Creatinine Ratio	mg/g	520.8	110	304.12	47.35	5.09
Protein (24h)	mg/24h	350	136	318.02	13.68	1.01
Calcium (Random)	mg/dL	5.8	278	6.18	7.26	0.62
Calcium/Creatinine Ratio	mg/mg	0.12	165	0.1	17.35	1.85
Calcium (24h)	mg/24h	81.6	241	86.55	6.87	0.57
Uric acid (Random)	mg/dL	32	207	39.6	12.07	1.92
Uric acid/Creatinine Ratio	mg/mg	0.66	124	0.6	18.96	1.00
Uric acid (24h)	mg/24h	448	195	557.48	12.89	1.96

قسمت سوم

چالش‌های تفسیر نتایج

تعیین مقادیر هدف

- بازیابی
 - میزان مشترک آزمایشگاه‌های ارجاع یا خبره
 - میزان مشترک آزمایشگاه‌های شرکت کننده
- میانگین مشترک (Consensus mean)
- میانگین پیراسته (Trimmed mean)
- میانگین وزن دار شده (Weighted mean)
- میانگین کلی یا میانگین مرتبط با روش

تعیین مقادیر هدف

کادر ۱-۹ رهیافت عمومی برای محاسبه مقادیر مشترک مرتبط با روش

۱. داده‌ها را براساس آنالیت و روش گروه‌بندی کنید. ترجیحاً در هر گروه بیش از ۲۰ نتیجه وجود داشته باشد و این تعداد کمتر از ۱۰ نتیجه نباشد.
۲. داده‌ها را به دقت بررسی و نتایجی که واضحاً اشتباه هستند را رد کنید.
۳. میانگین و انحراف معیار هر گروه را تعیین کنید.
۴. هر نتیجه خارج از دامنه $\pm 3 SD$ را حذف کنید (برای تعداد کمتر از ۲۰، از دامنه $\pm 2 SD$ استفاده کنید).
۵. دوباره میانگین و SD مقادیر باقیمانده را محاسبه کنید.
۶. مراحل ۴ و ۵ را آنقدر تکرار کنید که تمامی مقادیر در داخل میانگین مورد نظر قرار گیرند.
۷. میانگین آخرین گروه (گروه فاقد بیرون‌افتاده)، میزان مشترک مرتبط با روش است.

محدوده قابل قبول : استفاده از SD یا SDI

- استفاده از محدوده $\pm 2SD$ یا $\pm 3SD$
- شاخص یا فاصله انحراف معیار

Standard Deviation Interval or Index (SDI, DI)

$$SDI = \left| \frac{\text{Lab value} - \text{Target value}}{SD} \right|$$

- استفاده از SD همگروه
- استفاده از SD تنظیم شده حاصل از CCV

$$\text{Adjusted SD} = \frac{\%CCV \times \bar{x}}{100}$$

ضریب تغییرات انتخابی

(Chosen Coefficient of Variation; CCV)

Analyte	%CCV	Analyte	%CCV	Analyte	%CCV	Analyte	%CCV
AFP	12	Creatinine	8.9	Iron (Fe)	12	Protein	5
Albumin	6	Ferritin	15	LDH	8	PSA	12
ALP	15.5	Free-bhCG	15	LDL	15	Sodium	2
ALT	10	FSH	12	LH	12	SG	0.2
Amylase	11.5	GGT	11	Lipase	18	T3	12
AST	10	Glucose	6	Lithium	11	T4	12
CA 125	15	HbA1C	8	PAPP-A	15	Total Bili	15
Calcium	5	hCG	15	Phosphate	7.8	Triglyceride	7.6
Cholesterol	6	HDL	12	Potassium	3.5	Troponin I	15
CPK	15	Inhibin A	15	PRL	12	TSH	12

ضریب تغییرات انتخابی (Chosen Coefficient of Variation; CCV)

Analyte	%CCV	Analyte	%CCV
uE3	20	Urine Microalbumin Creatinine Ratio	14
Urea	5.7	Urine protein (mg/24h)	10
Uric acid	7.7	Urine protein (mg/L)	10
Urine Calcium (mg/24h)	10	Urine Protein Creatinine Ratio	14
Urine Calcium (mg/dL))	10	Urine Uric acid (mg/24h)	10
Urine Calcium Creatinine Ratio	14	Urine Uric acid (mg/dL)	10
Urine Creatinine (mg/24h)	10	Urine Uric acid / Creatinine Ratio	14
Urine Creatinine (mg/dL)	10		
Urine Microalbumin (mg/24h)	10		
Urine Microalbumin (mg/L)	10		

تأثير استفاده از SD همگروه

جدول ۱۰-۹ مقایسه نحوه ارزیابی دو همگروه متفاوت براساس SDI					
همگروه B			همگروه A		
SDI عضو	نتیجه گزارش شده	آزمایشگاه عضو	SDI عضو	نتیجه گزارش شده	آزمایشگاه عضو
-۰/۲۶	۸۴	۱	-۰/۰۵	۸۵	۱
۰/۰۷	۸۶	۲	۰/۲۳	۸۹	۲
-۰/۱۰	۸۵	۳	-۱/۴۳	۶۵	۳
۰/۲۳	۸۷	۴	۰/۹۲	۹۹	۴
-۰/۴۳	۸۳	۵	۱/۱۲	۱۰۲	۵
۲/۵۲	۱۰۱	۶	-۰/۸۸	۷۳	۶
۰/۰۷	۸۶	۷	-۱/۲۹	۶۷	۷
۰/۵۶	۸۹	۸	۱/۴۷	۱۰۷	۸
-۱/۷۴	۷۵	۹	۰/۳۰	۹۰	۹
-۰/۹۲	۸۰	۱۰	۰/۸۵	۹۸	۱۰
۰/۰۷	۸۶	۱۱	-۰/۱۲	۸۴	۱۱
-۰/۱۰	۸۵	۱۲	-۱/۱۵	۶۹	۱۲
۸۵/۶		میانگین	۸۵/۷		میانگین
۶/۱		SD	۱۴/۵		SD
٪۷/۱		%CV	٪۱۶/۹		%CV

تأثیر استفاده از SD تنظیم شده

جدول ۹-۱۱ مقایسه نحوه ارزیابی دو همگروه متفاوت براساس SDI معمول و SDI تنظیم شده							
همگروه B				همگروه A			
SDI		نتیجه گزارش شده	آزمایشگاه عضو	SDI		نتیجه گزارش شده	آزمایشگاه عضو
تنظیم شده	معمول			تنظیم شده	معمول		
-۰٫۲۸	-۰٫۲۶	۸۴	۱	-۰٫۱۲	-۰٫۰۵	۸۵	۱
۰٫۰۷	۰٫۰۷	۸۶	۲	۰٫۵۷	۰٫۲۳	۸۹	۲
-۰٫۱۰	-۰٫۱۰	۸۵	۳	-۳٫۶۰	-۱٫۴۳	۶۵	۳
۰٫۲۴	۰٫۲۳	۸۷	۴	۲٫۳۲	۰٫۹۲	۹۹	۴
-۰٫۴۵	-۰٫۴۳	۸۳	۵	۲٫۸۴	۱٫۱۲	۱۰۲	۵
۲٫۶۸	۲٫۵۲	۱۰۱	۶	۲٫۲۱	-۰٫۸۸	۷۳	۶
۰٫۰۷	۰٫۰۷	۸۶	۷	-۳٫۲۶	-۱٫۲۹	۶۷	۷
۰٫۵۹	۰٫۵۶	۸۹	۸	۳٫۷۱	۱٫۴۷	۱۰۷	۸
-۱٫۸۵	-۱٫۷۴	۷۵	۹	۰٫۷۵	۰٫۳۰	۹۰	۹
-۰٫۹۶	-۰٫۹۲	۸۰	۱۰	۲٫۱۴	۰٫۸۵	۹۸	۱۰
۰٫۰۷	۰٫۰۷	۸۶	۱۱	-۰٫۳۰	-۰٫۱۲	۸۴	۱۱
-۰٫۱۰	-۰٫۱۰	۸۵	۱۲	-۲٫۹۱	-۱٫۱۵	۶۹	۱۲
۸٫۵۶		میانگین		۸٫۵۷		میانگین	
۵٫۷۴		SD تنظیم شده		۵٫۷۴		SD تنظیم شده	

محدوده قابل قبول: استفاده از SD یا SDI نتایج

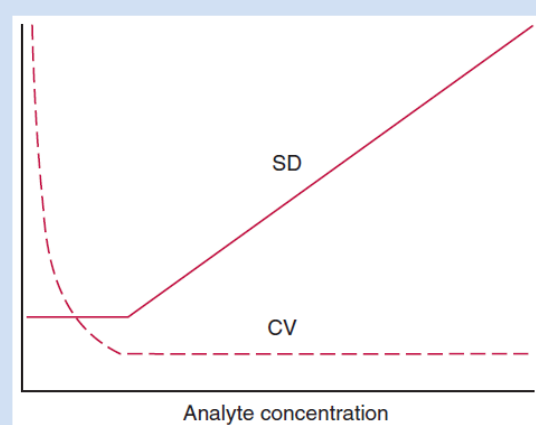
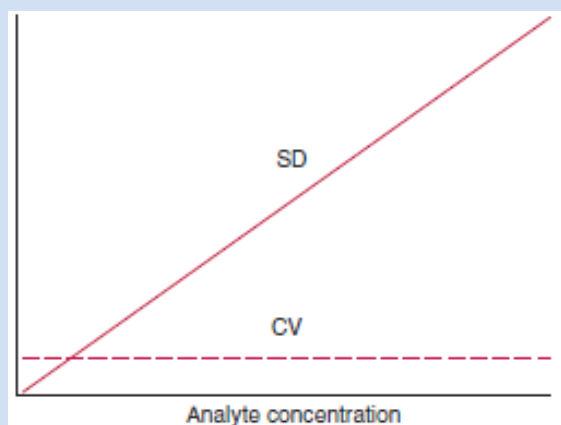
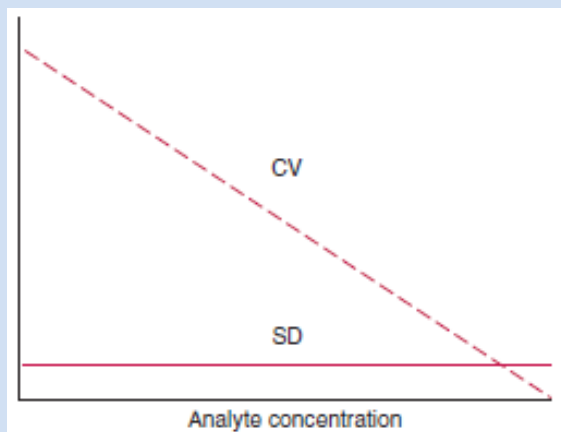
• براساس QMS24 3rd ed

						Limits of Acceptability		
Sample Identification	Laboratory Result	Target Value	Peer Group SD	Laboratory SDI	Laboratories In Peer Group	Lower	Upper	Laboratory Grade
A	3.6	3.1	0.20	2.50	54	2.50	3.70	Acceptable
B	3.4	2.8	0.15	4.00	54	2.35	3.25	Unacceptable
C	5.7	5.4	0.35	0.86	54	4.35	6.45	Acceptable

Abbreviations: SD, standard deviation; SDI, standard deviation Index/standard deviation Interval.

محدوده قابل قبول : استفاده از یک مقدار یا درصد ثابت

- استفاده از یک میزان ثابت
- استفاده از یک مقدار درصدی
- استفاده از معیارهای ترکیبی ثابت و درصدی



Troponin (ng/mL)

Contemporary Kits	N	Mean (ng/mL)	SD	CV (%)
BioMerieux???	4	0.08	0.15	177.1
Exida	3	0.02	0.02	86.6
Ichroma	4	0.05	0.05	104.56
Immulite	22	0.14	0.09	62.87
Monobind	5	0.21	0.12	56.23
Roche	28	0.08	0.04	48.39
Tosoh	6	0.03	0.01	19.36

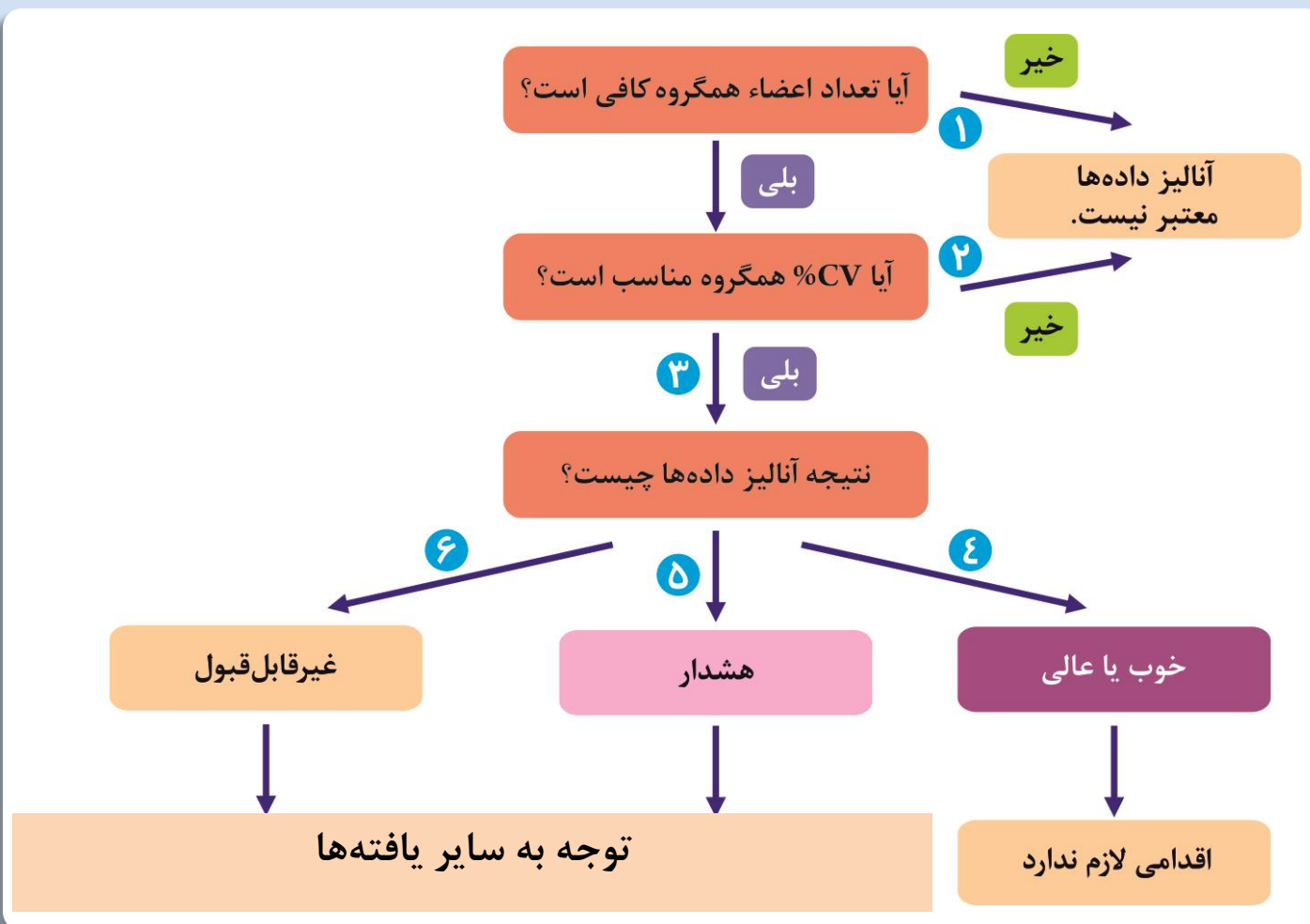
- Allowable Error (CLIA, 2019)
0.9 ng/mL or 30% (greater)

Troponin (ng/L)

High-sensitive Kits	n	Mean (ng/L)	SD	CV
Abbott	10	24.33	2.40	9.85
BioMerieux	62	8.51	1.99	23.35
Roche	3	12.35	5.07	41.08

- **Allowable Error (RCPA, 2014) :**
2 ng/L up to 10 ng/L
20% more than 10 ng/L

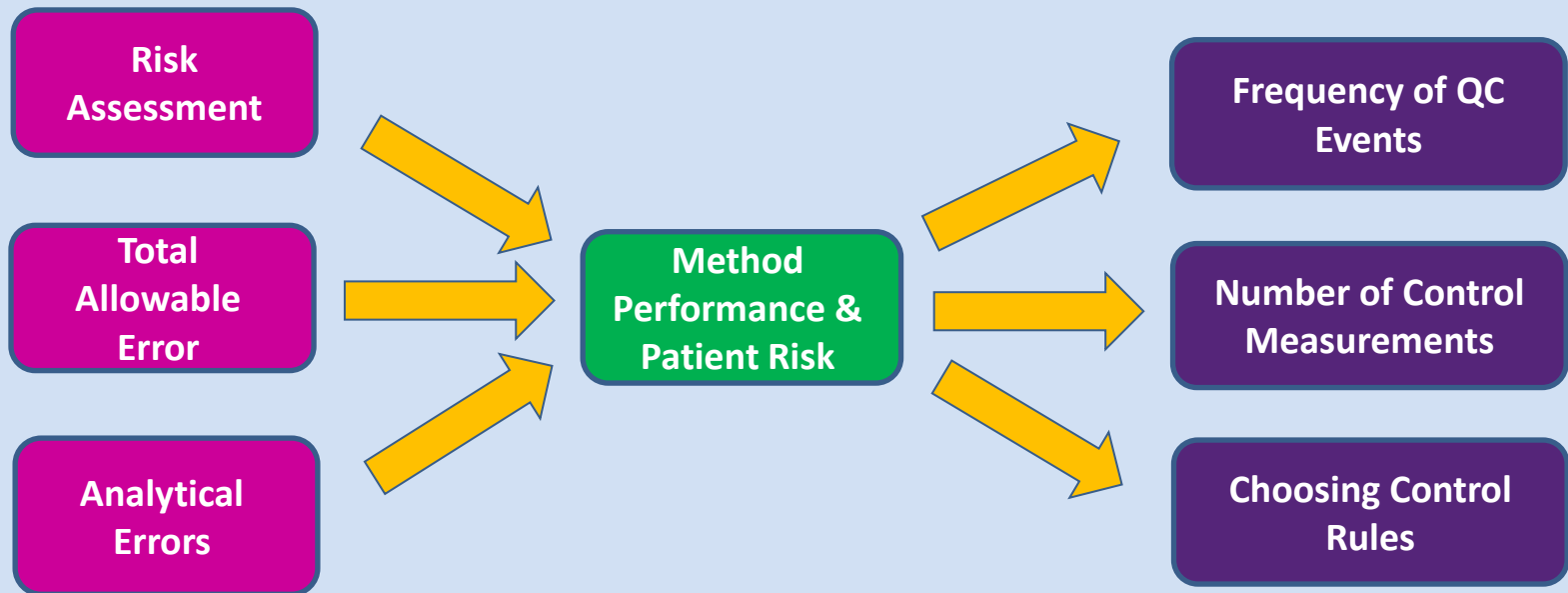
توجه به تعداد اعضاء و CV همگروه



توجه به سایر یافته‌ها

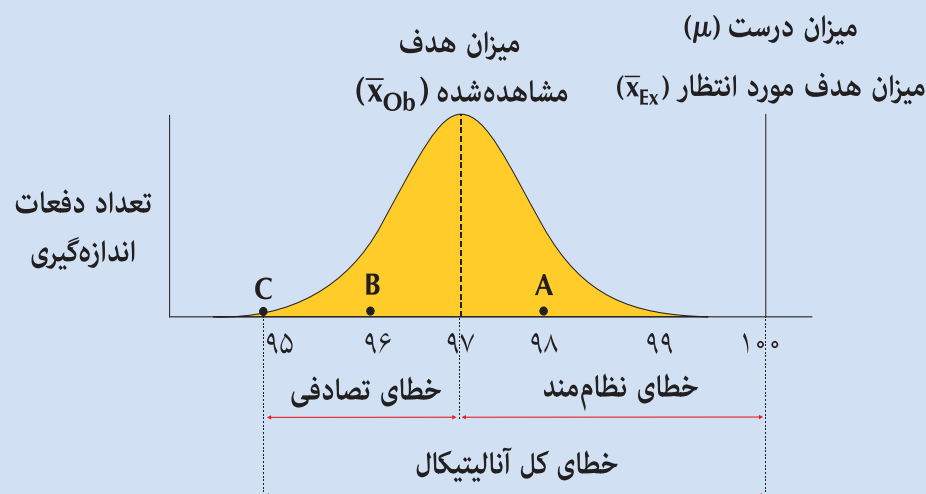
- نتایج کنترل کیفیت داخلی
براساس نمونه QC تجارتي
براساس نتایج بیماران
- نتایج همگروه یا بین-آزمایشگاهی
- نتایج مقایسه روش‌ها

توجه به نتایج IQC



نحوه برآورد بایاس با استفاده از نتایج EQA

trueness (of measurement) – closeness of agreement between the average of an **infinite number** of replicate measured quantity values and a reference quantity value (JCGM 200:2012)¹⁴; **NOTE:** The measure of trueness is usually expressed in terms of **bias** (ISO 5725-1).¹⁷

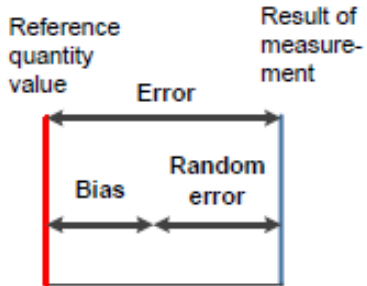


شکل ۴-۱

مفهوم بایاس

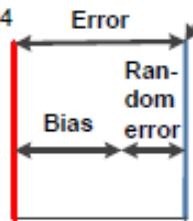
A

$N=1$



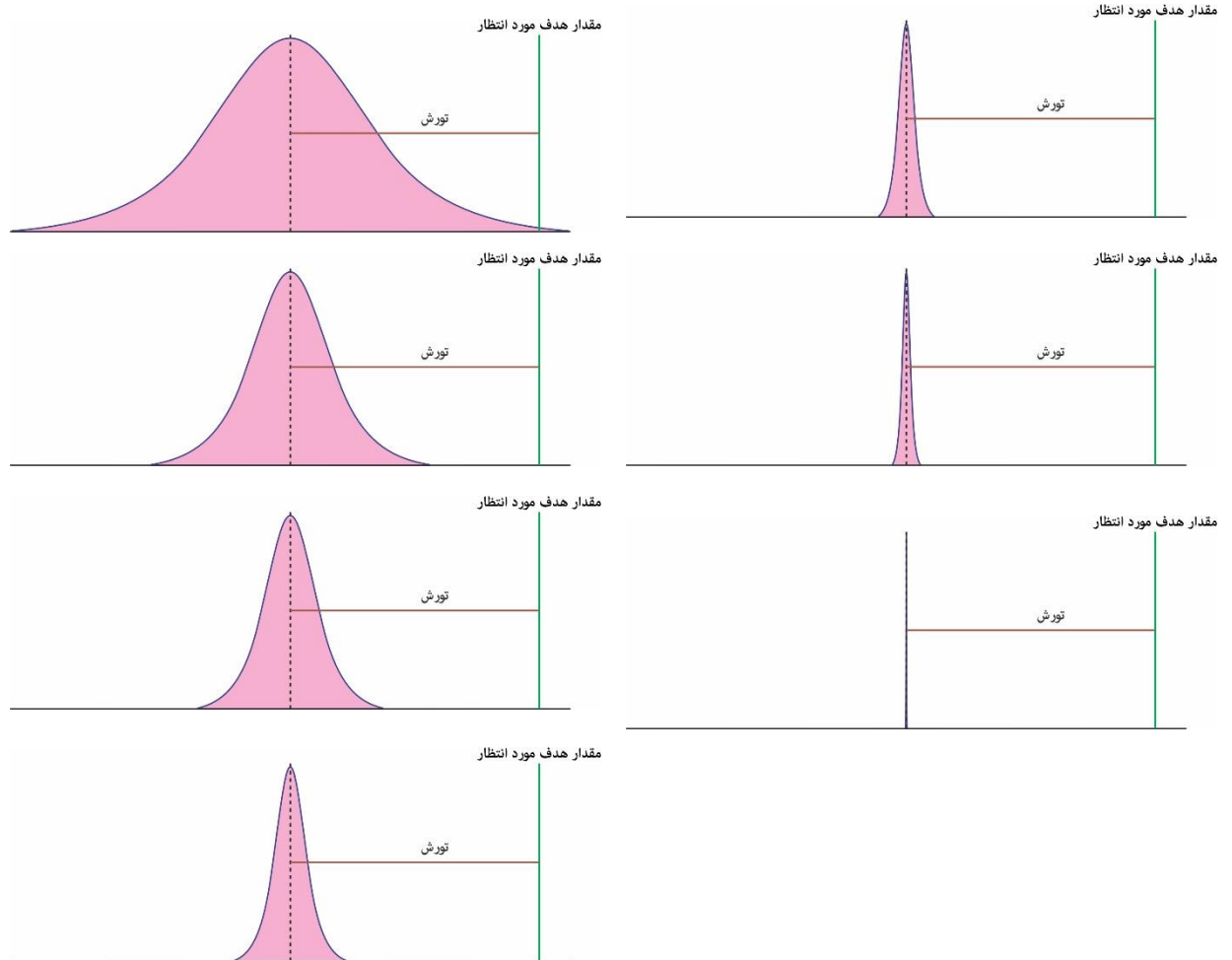
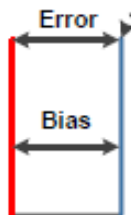
B

$N=4$



C

$N=\text{infinite}$



بر اساس EP09

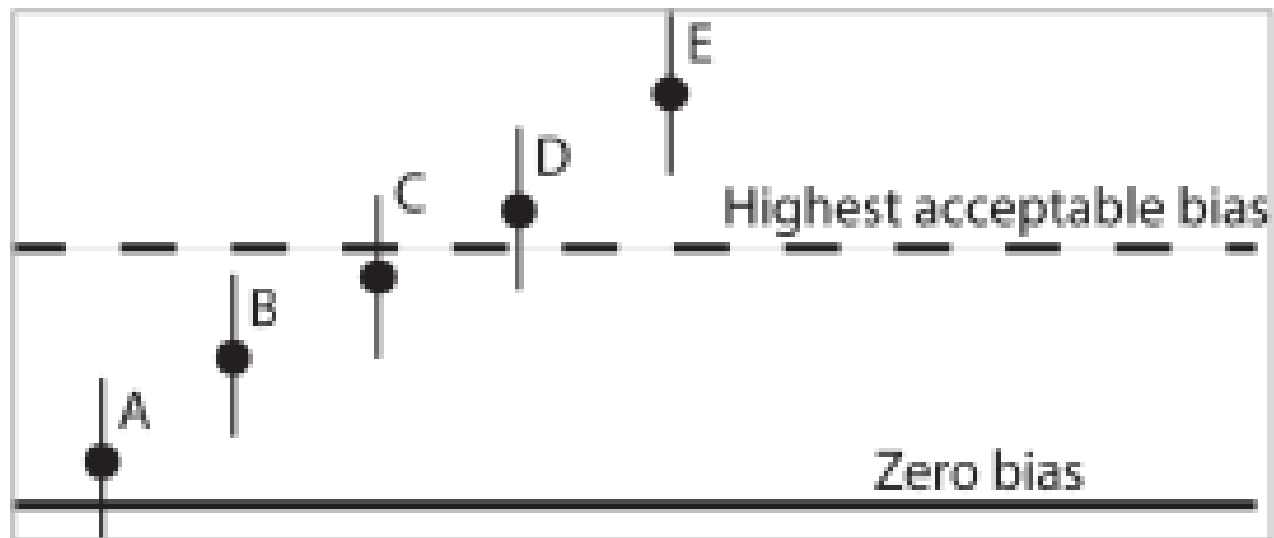


Figure 21. Possible Bias Estimate Outcomes

بر اساس EP09

The computation of the standard error (SE) is needed to determine the CI for this estimate:

$$SE(\bar{d}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (d_i - \bar{d})^2}{N(N-1)}} = \frac{SD}{\sqrt{N}}, \quad (10)$$

in which d_i is the difference between the candidate and comparative measurement procedures for each sample i and \bar{d} is the average of all such differences (see equation 9).

Assuming the differences follow a normal (gaussian) distribution, the CI is computed by multiplying the SE by the factor derived from the confidence desired (typically 95%) and the sample size by using Student t -distribution and adding and subtracting the result from the average estimate. For a sample size N of 20 ($N-1=19$ degrees of freedom), this 95% factor is 2.093, for $N=40$ it is 2.023, and for $N=100$ it is 1.984. In the first case, the 95% CI would be from (average $-2.093SE$) to (average $+2.093SE$).

پیشنهادی

$$\text{TAE\%} = \text{Bias\%} + 2 \text{ CV\%}$$

$$\text{TAE\%} = \text{Bias\%} + \frac{2 \text{ CV\%}}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Bias\%} = \text{TAE\%} - \frac{2 \text{ CV\%}}{\sqrt{n}}$$

قسمت چهارم

پرسش و پاسخ

