دروس عملی بیولوژی کلینیکی

Enseignement Pratique de Biologie clinique

برای دکتوران معالج، فارمسستان و تکنیشن های لابراتوار

Cours destinés aux médecins cliniciens, aux pharmaciens et aux techniciens de laboratoire

پروفیسور ژان پییر ایور
پروفیسور کرستیان کولومبل

با همکاری
آقای علی سجاد و آقای حسین زاده

دانشگاه لیون (فرانسه)

Professeur Jean-Pierre YVERT
Professeur Christian COLLOMBEL
Avec le concours de
Monsieur Ali Sadjad et Monsieur Hussein Zada

Université de Lyon (France)

Traduction écrite assurée par le Dr Latif Shabdiz Déliri
ترجمه تحریری توسط: داکتر شاه عبداللطیف شبدیز- دلیری

Avril 2005

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

به کمک سفارت فرانسه درافغانستان
Avec le soutien de l'Ambassade de France en Afghanistan

پیشگفتار

هدف از این تدریس برای تکنیشن های لابراتوار مرکزی کابل، لابراتوار های شفاخانه های تدریسی کابل و لابراتوار های پوهنحی فارمسی کابل، همانا مرور مبانی و اساساتی میباشد که لابراتوار ها بطور عموم، باید در مورد شناخت کامل داشته و بطور روزمره آن را مورد تطبیق قرار دهند.

در واقع، باید تکنیشن های لابراتوار بالعموم، توانمندی ارزیابی موارد ذیل را داشته باشند:

- خصوصیات کلیه تجهیزاتی را که از آن ها استفاده می نمایند (اسپکتروفوتومتر، کولورومتر، پیپت ها، ترازو و...)
- دقت عمل ریجنت هایی که در لابراتوار در دست رس دارند (قابلیت ایجاد دوباره «Reproductibilité»، قابلیت تکرار دوباره «Répétibilité»، خطی بودن «Linéarité»، قدمه اکتشاف و...)
- کیفیت و کوالیتی ریجنت هایی که قرار است خریداری گردند (با ملاحظه دقت عمل اعلان شده بر پشت قطی ها)

ضمنا"، به کمک کوالیتی کنترول درونی (در داخل لابراتوار)، بتوانند موارد ذیل را تطبیق نمایند:

- بررسی و بهبود بخشی کار های عملی روزمره،
- مراقبت جدی از نتایجی که بدست آورده اند، تا بتوانند دقیق ترین نتایج را ارایه داشته و راپور بدهند،
- تا بیشترین حد امکان، سهم گیری در تشخیص و تداوی امراض.

مجموع این عملکرد ها و فعالیت ها، بایستی یک کنترول داخل لابراتواری و متعاقبا" یک کنترول بیرونی بین الابراتواری را در قبال داشته باشد.

پروفیسور کریستیان کولومبل و پروفیسور ژان پل ایور
کابل، اپریل 2005

INTRODUCTION

Le but de cet enseignement est de rappeler aux techniciens du Laboratoire Central d'Analyses Médicales de Kaboul, des laboratoires des hôpitaux universitaires de Kaboul et des laboratoires de la faculté de pharmacie de Kaboul ; les notions de base que tout analyste doit connaître parfaitement pour les appliquer en routine.

Tout technicien de laboratoire doit en effet pouvoir vérifier :

- Les spécificités des équipements qu'il utilise (spectrophotomètre, colorimètre, pipettes, balance…)
- Les performances des réactifs mis en œuvre au laboratoire (reproductibilité, répétabilité, linéarité, seuil de détection…)
- La qualité des réactifs dont l'achat est envisagée (performances annoncées).

Il doit également, grâce au contrôle interne de qualité :

- vérifier et améliorer son travail au quotidien.
- veiller à rendre des résultats d'analyses les plus justes possible,
- contribuer le mieux possible au diagnostic et au traitement des pathologies.

L'ensemble de ces actions doit rapidement déboucher sur une mise en place volontaire d'un contrôle de qualité intra laboratoire et ultérieurement inter laboratoire.

Les techniciens ayant suivi cette formation seront désormais des collaborateurs de choix indispensables à la réussite du projet.

Christian Collombel et Jean-Pierre Yvert
Kaboul avril 2005.

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

5 اپریل 2005

ارزیابی دقت و صحت کارکرد یک پیپت

Vérification de l'exactitude d'une pipette

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

I- یاد اوری:

A- انواع مختلفه پیپت ها:

انواع مختلف پیپت ها وجود دارند که میتوان بور شیماتیک انها را به قرار ذیل صنف بندی نمود:

پیپت های درجه دار (pipettes graduées):

- پیپت های درجه دار با جریان (پر و خالی سازی) تام و کامل؛
- پیپت های درجه دار با جریان (پر و خالی سازی) مواد بین هر دو خط؛

این نوع پیپت ها اساسا" برای کار روی محلولات و ریجنت های معمولی استفاده شده، ولی هرگز برای محلولات استاندارد یا معیار (étalon) و یا محلولات تیتراژ شده کار برد ندارند.

پیپت های ژوژه (pipettes jaugées):

- پیپت های یک خطه نوع ژوژه، با جریان و پر و خالی سازی کامل؛
- پیپت های دو خطه نوع ژوژه؛

این نوع پیپت ها که بسیار دقیق میباشند، اساسا" جهت کار روی محلولات استاندارد (étalon) و یا محلولات تیتراژ شده مورد استفاده قرار میگیرند و برای محلولات و ریجنت های عادی کار برد ندارند.
هنوز امتیاز پیپت هایی که دارای فقط یک خط اندازه گیری هستند، همانا دقت خفیفا" بیشتر شان، نظر به پیپت های درجه دار میباشد، و این موضوع در صورتی صادق است که قواعد استفاده از آن ها بطور دقیق و درستی مراعات شده باشد.

مایع داخل این نوع پیپت ها به ساده گی، با عین سرعت تخلیه شده میتواند و بنا" خطر اشتبأه صرفا" در سویه همان یک خط نشانی وجود دارد که باید محدب ترین قسمت مایع، فقط با همین یک خط نشانی مماس قرار گیرد. در حالیکه در پیپت های دو خطه، این نکته را باید دوبار (در سویه هر دو خط) مد نظر گرفت و به همین دلیل، برای اینکه از خط دومی، در هنگام تخلیه تجاوز نکرده باشیم و یا بر عکس، باید سرعت تخلیه را دقیقا" تحت کنترول داشته باشیم.

پیپت های اتوماتیک:

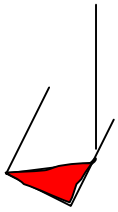
- دارای حجم ثابت توزیع بوده و فقط همان حجمی را که قبلا" در نظر گرفته شده است، توزیع مینمایند (مثلا": فقط 50µl را)؛
- دارای حجم ثابت و قابل تنظیم توزیعی میباشند (چندین حجم مختلف را که از قبل تنظیم شده اند؛ مثلا": 100، 200، 500، 1000 مایکرو لیتر را رها کرده و توزیع میدارند).
- دارای حجم قابل تنظیم میباشند (حجم هایی را که بین دو قیمت مختلف قرار داشته باشند؛ مثلا" احجام بین 1µl الی 1000µl را)، مایکرو لیتر به مایکرولیتر رها کرده و توزیع میدارند.

این ها عبارت از پیپت هایی اند که دارای فقط یک مخروطک تخلیه میباشند که استفاده «یکبار مصرف» دارند. بسیار دقیق بوده و برای تیتراژ هر نوع محلولات بکار گرفته میشوند. از جانب دیگر این پیپت ها ار بروز هر گونه آلوده گی جلو گیری به عمل می آورند، زیرا پس از هر بار استفاده از یک محلول و شروع استفاده از محلول دیگر، این مخروطک های تخلیوی شان تبدیل میگردند.
این پیپت ها پس از هر بار استفاده، به پاک کاری های مکرر نیاز ندارند.

B- احتیاط های لازم در موقع استفاده:

در زمان استفاده از هر نوع پیپتی که باشد، باید نکات ذیل را مراعات نمود:

در هر بار پیپتاژ (پیپت نمودن) همیشه باید با به تماس قرار دادن نوک پیپت روی جدار داخلی تیوب (به یک زاویه حدودا" 30±10°)، بگذاریم تا مایع، خود به جریان بیفتد!



هیچ گاهی از آن عده از تیوب های شیشه ای که لبه شان پریده گی داشته باشد، استفاده نکنید!
همیشه یک مقدار کم مایع در نوک پیپت و یا در نهایت (نوک) مخروطک تخلیه باقی میماند؛ بنا":
هرگز نباید همین مقدار کم باقی مانده مایع را، غرض تخلیه شدن، یف نکنید!
هرگز نباید یک پیپت را، با کش کردن مستقیم بوسیله دهن پر ننمایید
همیشه بایستی از یک پروپیپت (pro pipette) استفاده نمایید!

پیپت های کلاسیک:

این نوع پیپت ها را پس از استفاده، بایستی همیشه، یا آبکش کنید و یا هم اینکه در بین یک ظرف حاوی یک ماده دیترژانت (پاک کننده)، به یک وضعیت مناسب قرار دهیدغ

- به منظور اجتناب از پریدن و شکستن لبه های نوک های پیپت، یک پلاستیک ملایم را در عمق ظرف قرار دهید؛

پیپت های اتوماتیک:

پس از هر بار استفاده، مخروطک تخلیوی مخصوص همین نوع پیپت ها را تبدیل نمایید؛

- این نوع پیپت ها را پس از استفاده، جدا از مخروطک های تخلیوی، در وضعیت عمودی، قسمی که نوک شان به سمت پایین قرار داشته باشد، استاک نمایید؛
- لا اقل سالانه یکبار و یا اینکه پس از هر بار مداخله کردن، حجم آزاد شده توسط این نوع پیپت ها را کنترول و چک نمایید؛
- پس از هر 2 الی 3 سال واشل پیستون این نوع پیپت ها را تبدیل کنید.

C- پاک کاری و حفظ و مراقبت پیپت ها:

هر نوع پیپت شیشه ای:

- این نوع پیپت ها را، به منظور پاک نمودن، بایستی ابتدأ در داخل یک ظرف حاوی ماده détergente (ماده پاک کننده) و یا در صورتیکه بسیار آلوده شده باشد، در بین یک مخلوط sulphochromique مغطوس نوده و بعدا" آن ها را پاک کنید؛
- در آخر آن ها را با آب مقطر آبکش نمایید؛
- بگذارید تا در **هوای محیط** بخودی خود خشک گردند.

هرگز نباید تیوب های شیشه ای را در بین اتیو (Etuve) خشک نمایید، زیرا حرارت باعث توسع آن ها شده که باره هرگز بحالت اولیه خود بر نمیگردند.

II- پروتوکول های کنترول حجم توزیع شده:

A- پرنسیپ (اصول): اصولا"، در شرایط دقیق گرما و فشار، 1 لیتر آب در یک درجه حرارت 4°C، دقیقا" 1 کیلو گرام، 1 میلی لیتر آب، 1 گرام و 1 مایکرو لیتر آب، 1 میلی گرام وزن دارد. بنا" کافیست تا مقدار آب رها و آزاد شده توسط یک پیپت را، روی یک ترازوی حساس توزین نمود، تا از روی آن حجم آزاد شده مربوطه را مشخص و تعیین نمود. یک محاسبه احصاییوی برای ما این اجازه را میدهد تا دریابیم که آیا ایکارت تیپ (تیپ انحراف) ما که بطور تجربی دریافت کرده ایم، در قلمرو و نورم های قابل قبولی که از طرف کمپانی اعلان شده است، قرار داشته و با آن مطابقت دارد و یا خیر.

B- تحقق کنترول: تجربه ما، مطلقا" بایستی روی آبی که در حرارت 4 درجه سانتی گرید قرار داشته باشد، تحقق یابد. در غیر آن حتمی است تا نتیجه حاصله را اصلاح نمود. در چوکات این دروس، به منظور تحقق هداف عملی، تجبه ما میتواند در درجه حرات اتاق (درجه حرارت محیط) اجرأ گردد. اصلاح در اینجا بسیار خفیف بوده و در محاسبه شامل نمیگردد.
ضمنا" باید توجه داشت و بررسی نمود تا ترازوی حساس مورد استفاده ما دقت عمل داشته باشد.

a- آماده سازی ترازو:

ترازو را روشن کنید
آنرا روی «صفر» عیار نمایید
یک بیکر 50 الی 100 میلی لیتره را روی پله آن قرار دهید
در صورتیکه مقصد کنترول تان پیپت هایی با حجم کم بوده باشد (کمتر از 1ml)، در آنصورت، در بین بیکر تان، یک تست تیوب دارای حجم کافی (که لا اقل دارای یک حجم 12 مراتبه بیشتر از حجم پیپت مورد تجربه تان باشد)، قرار بدهید. این موضوع باعث میشود تا سطح مایع کوچک تر گردیده و در نتیجه خطر تبخیر مایع، که برای احجام کوچک همیشه متصور است، محدود تر گردد.
برای احجام بزرگ تر (مثلا": 5ml و یا بیشتر از آن)، این جانب احتیاط حتمی نمیباشد و شما میتوانید تا این مقدار مایع را مستقیما" در داخل خود بیکر تان - البته در صورتیکه دهن بیکر کوچک و تنگ باشد- بریزید.
ترازو را روی «صفر» عیار سازید.
از ثبات بر روی نقطه «صفر» خود تان را مطمین سازید!

b- اندازه گیری:

حالا با پیپتی که مورد تجربه تان قرار دارد، حجم مورد نظر را پیپتاژ نمایید. حجم پیپتاژ شده را دقیقا" اجست نمایید. آنگاه بگذارید تا مایع پیپتاژ شده در بین بیکر و یا تست تیوب روی ترازو، بریزد.
وزن آنرا هم در 10mg، هم در 1mg وهم در 1 /10mg با دقت الی 3 رقم پس از اعشاریه، تعیین نمایید.
این عمل را لااقل برای 10 مراتبه تکرار نمایید (n = 10) و قبل از هر بار علاوه نمودن، ترازو را روی «صفر» عیار نمایید.

c- تفسیر نتایج:

تمامی نتایج بدست آمده و حاصله را جمع آوری نموده و یک محاسبه احصاییوی را انجام دهید،
در روی یک جدول، تمامی قیمت های تجربی دریافت شده را درج نمایید: p1 – p2…..p10
اوسط این اعداد و قیمت ها را دریافت بدارید: اوسط مساوی است به حاصل جمع (pm) هر 10 قیمت تجربی از p1 الی p10.
حالا برای هر اندازه گیری تجربی اجرأ شده تان (از p1 الی p10)، تفاوت یا اختلاف Δ را به قرار ذیل محاسبه نمایید:

$Pm - p1 = \Delta_1$
$Pm - p2 = \Delta_2$
$Pm - p3 = \Delta_3$
…….
$Pm - p10 = \Delta_{10}$

حالا مربع هر Δ (یعنیΔ^2) را به قرار ذیل محاسبه کنید:

$(\Delta_1)^2 = \Delta_1 \times \Delta_1$

$(\Delta_2)^2 = \Delta_2 \times \Delta_2$

....

$(\Delta_{10})^2 = \Delta_{10} \times \Delta_{10}$

حاصل جمع تمامی (Δ^2) را محاسبه کنید: $\Sigma(\Delta)^2$

انحراف یا واریانسσ^2 (Variance σ^2) را به قرار ذیل حساب نمایید: $\sigma^2 = \Sigma(\Delta)^2/n-1$ (با n = 10)

ایکارت تیپ (ET) را حساب و محاسبه کنید: ET عبارت از انحراف استاندارد یا σ میباشد:

$$E.T = \sqrt{\frac{\Sigma(\Delta)^2}{n-1}}$$

ضریب انحراف (C.V.%) را اینچنین محاسبه نمایید:

$$C.V\ \% = \frac{E.T.}{Pm} \times 100$$

حالا pm + 1 ET و pm + 2ET را محاسبه کنید:

Pm-1 E.T et Pm-2 E.T.

C- **مثالی از محاسبه:** (برای یک پیپت 5 میلی لیتره)

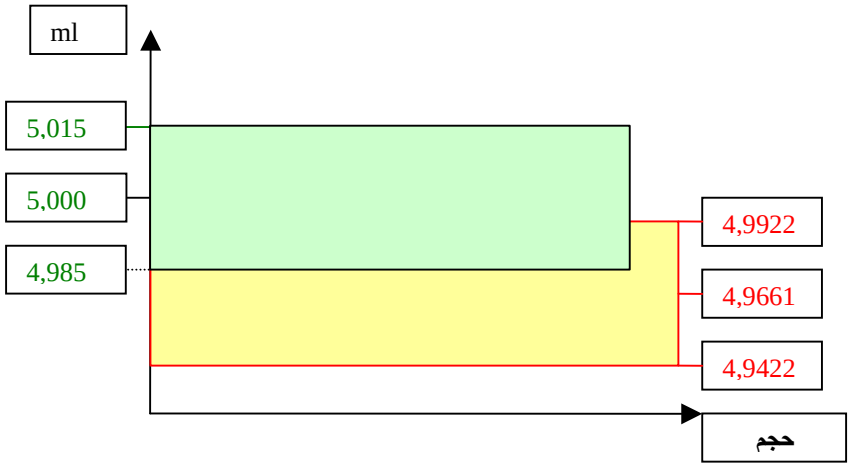
N°	وزن بر حسب گرام	اختلاف (Pm-p=Δ)	$(Pm-p)^2=\Delta^2$
1	4,9777	-0,0086	0,00007
2	4,98539	-0,0163	0,00027
3	4,9765	-0,0074	0,00006
4	4,9518	0,0173	0,00030
5	4,9636	0,0055	0,00003
6	4,9833	-0,0142	0,00020
7	4,9515	0,0176	0,00031
8	4,9513	0,0178	0,00032
9	4,9774	-0,0083	0,00007
10	4,9723	-0,0032	0,00001
مجموعه	49,69079		0,00163
اوسط	4,9691		
Variance			0,00018
E,T			0,01346
C V %			0,27
Pm-2ET			4,9422
Pm-1ET			4,9556
Pm+1ET			4,9825
Pm+2ET			4,9960

حالا می بینیم که پیپت تست شده و تجربه شده ما، بطور اوسط دارای دقت عمل 4.9691 +/- 0.01346 ml (با علاوه نمودن به ایکارت تیپ) میباشد. ویا اینکه برای دو ایکارت تیپ، محدوده قابل قبول آن بین 4.9422ml و 4.9960ml میباشد.

D- تفسیر: تمامی نتایج دریافت شده را با دقت عملی که از جانب کامپانی اعلان شده است، مقایسه نمایید (این دقت عمل، معمولا" بر روی پیپت ها درج میباشند)

در مثال ما، کمپانی یک دقت عمل 0.015ml +/- 5ml را اعلان نموده است. بدین معنی که کمپانی این موضوع را تضمین و گرانتی مینماید که حجم آزاد و رها شده از پیپت ساخت خودش، همیشه بین 4,985 ml و 5,015 ml میباشد.

حالا برای این محاسبه تان، گراف نتایج تان را (g versus ml)، با نشان دادن زون قیمت های تیوریکی (برنگ سبز) و زون قیمت های تجربی (برنگ زرد)، ترسیم کنید:



- این دو زون، یکی بالای دیگری واقع نشده اند،
- پیپت مطالعه و تست شده، مطابق به نورم های اعلان شده از طرف کامپانی نمیباشد!
- و یا شاید این پیپت، به عوض اینکه در حرارت محیط خشک شده باشد، در بین اتیو (Etuve) گذاشته شده و خشک شده باشد!

***

تاریخ ترجمه : 27 اپریل 2005
داکتر شبدیز - دلیری

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

5 اپریل 2005

بررسی نمایش طول موج یک اسپکتروفوتومتر

ارزیابی خطی بودن (Linearity) یک اسپکتروفوتومتر

Vérification de l'affichage de la longueur d'onde d'un spectrophotomètre
Vérification de la linéarité d'un spectrophotomètre

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1- پروبلم :
آیا طول موجی که توسط اسپکتروفوتومتر به نمایش در آمده است، دقیقا" با طول موجی که حقیقتا" در جریان اندازه گیری استفاده میگردد، مطابقت دارد و یا خیر؟ آیا جواب ماشین یا آله اسپکتروفوتومتر یک جواب خطی میباشد؟ یعنی اینکه آیا عمل انجذاب، مستقیما" متناسب است با غلظت محلول و یا خیر؟
مثال: پرده اسپکتروفوتومتر یک طول موج به اندازه 550nm را به نمایش گذاشته میتواند. آیا طیف نوری که از بین تشتک اندازه گیری عبور مینماید، دقیقا" همان طیفی است که طول موج آن 55nm میباشد؟ آیا در یک طول موج 550nm ، جواب یک جواب خطی خواهد بود؟

2- حل پروبلم :
جهت حل این معضله، میتوان از دو عنصر عمده ذیل استفاده نمود :

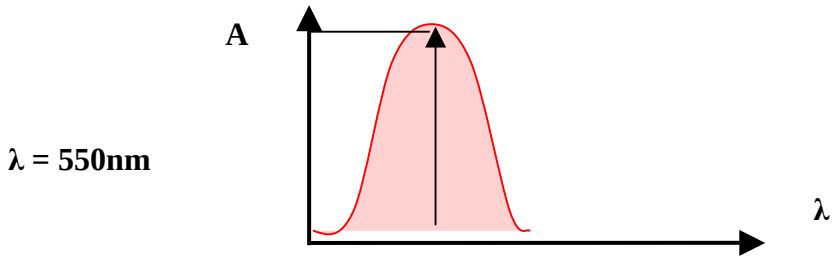
از خواص نوری بعضی از محلولات املاح فلزی از قبیل نایتریت نیکل، نایتریت کوبالت، بی کرومات پتاسیوم (bichromate de potassium) که به شکل محلول، در تحت شرایط یک pH خاص، و غلظت خاص مورد استفاده قرار میگیرند؛

- از قانون Beer – Lambert که روی محلولات رقیق ساخته شده مورد تطبیق قرار میگیرد : به کمک این قانون، قیمت انجذاب (A) و یا کثافت نوری یک محلول، با استفاده از فارمول ذیل ثابت شده و نشان داده میشود :

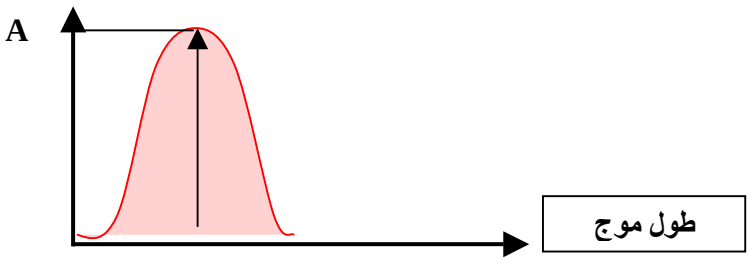
$$A = \varepsilon l c$$

ε = ضریب انجذاب خطی مولار (L mol-1 cm-1)؛
l = ضخامت تشتگ اندازه گیری که ضمنا" به نام «مسیر نوری» هم یاد شده و بر حسب سانتی متر (cm) نمایش داده میشود؛
c = غلظت محلول (بر حسب mol/l).

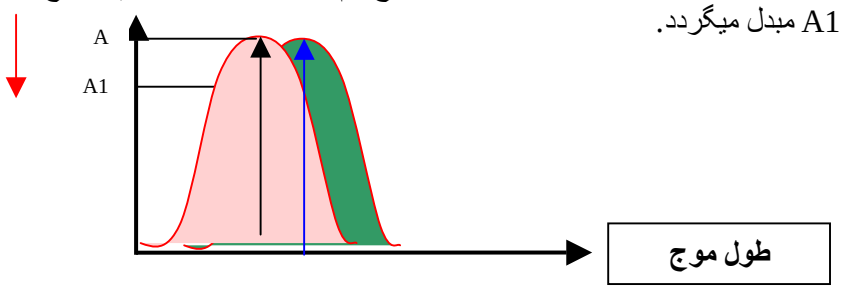
بدین ترتیب، در تحت شرایط خاص در دست داشته (pH، غلظت و طول موج) هر یک از محلولاتی که فوقا" از آن ها اسم برده شد، از طریق جذب مطلقا" شناخته شده؛ مثلا" در صورت یک حد اعظمی انجذاب، توصیف گردیده و مشخص ساخته میشوند.



بنا"، در صورتیکه محلولی داشته باشیم که کاملا" با خواص (pH، غلظت) قبلی مطابقت داشته باشد، و بخواهیم ضریب انجذابش را، روی عین طول موج اندازه گیری نماییم، در آنصورت بایست دقیقا" همان منحنی قبلی را بدست بیاوریم؛ زیرا هر دو منحنی باید دقیقا" یکی روی دیگری قرار گرفته و با همدیگر خویش منطبق گردند.



اما، در صورتیکه یکی از فکتور ها، بالاخص طول موج، مشابه به طول موج قبلی نباشد، در آنصورت طیف نوری خفیفا" تغییر مکان کرده و بیجا میگردد و در مورد طول موج هم، قیمت انجذاب از آنچه توقع میرود، متفاوت خواهد بود : یعنی A به A1 مبدل میگردد.



3- <u>تحقق و تطبیقات عملی :</u>

a- ریجنت ها:

R1 (ریجنت اولی): اسید سلفوریک 0.01N
R2 (ریجنت دومی): اسید نیتریک 0.1N

R3 (ریجنت سومی): محلول سلفردار بیوکرومات پتاسیوم:

بیوکرومات پتاسیوم (که برای 12 ساعت به حرارت 130°C خشک شده است) 300mg

- اسید سلفوریک 0.01N QSP 1000ml

R4 (ریجنت چهارم): محلول نایتریت دار نایتریت کوبالت:

نایتریت کوبالت، $6H_2O$، 17,80g

- اسید نیتریک 0.1N QSP 100ml

R5 (ریجنت پنجم): محلول نیتریک نایتریت نیکل:

- نایتریت نیکل، $6H_2O$، 17,458g
- اسید نیتریک0.1N QSP 100ml

b- <u>طرز العمل:</u>

در بین تیوب های تجربه (تست تیوب ها) و یا در داخل فیول ژوژه (fiole jaugée) های دارای ظرفیت 20ml ، رقاقت های ذیل بیوکرومات پتاسیوم را تهیه بدارید:

محلولات رقیق ساخته شده بیوکرومات پتاسیوم		
ریجنت **R1**	ریجنت **R2**	محلول
19	1	1
18	2	2
16	4	3
14	6	4
12	8	5
10	10	6
8	12	7
6	14	8
4	16	9
2	18	10

محلولات رقیق ساخته شده نایتریت کوبالت و یا نایتریت نیکل		
ریجنت R1	ریجنت **R4** و **R5**	محلول
19	1	1
18	2	2
16	4	3
14	6	4
12	8	5
10	10	6
8	12	7
6	14	8
4	16	9
2	18	10

4- اندازه گیری ها و محاسبات :

a- <u>صحت و دقت اندازه طول موج:</u>

در قدم اول، اسپکتروفوتومتر باید روی طول موج مطابق به حد اعظم جذب محلول مورد مطالعه، عیار ساخته شود؛ یعنی:

340 نانومتر برای محلول بیوکرومات پتاسیوم؛

- 510 نانومتر برای محلول نایتریت نیکل؛
- 395 نانومتر برای محلول نایتریت کوبالت

بعدا" قیمت انجذاب هر یک از محلولات را، مطابق با طول موج مربوطه شان اندازه گیری نموده و البته کار تان را از رقیق ترین و کم غلظت ترین محلول تهیه شده شروع نمایید و در هر باری که میخواهید قیمت انجذاب محلول تازه ای را آغاز نمایید، بایستی تشتک اندازه گیری را، دو مرتبه با خود همان محلول آبکش کنید.

سپس تشتک اندازه گیری را خشک نمایید.

آنگاه قیمت هر یک از انجذاب ها را با استفاده از ریفرنس های ذیل یادداشت نمایید:

اسید سولفوریک 0.01N برای محلولات بیوکرومات پتاسیوم،

- اسید نیتریک 0.1N برای محلولات کوبالت و نیکل

10 مراتبه اندازه گیری تان را الی محلول شماره 10، ادامه دهید (n = 10)

قیمت ها را یاد داشت کنید،

یک محاسبه احصاییوی نتایج را انجام دهید :

- روی جدولی که دیگر با طرز اجرأی آن بلدیت پیدا کرده اید؛
- کلیه قیمت ها ی تجربوی تان را از m1 الی m10 گزارش دهید؛
- قیمت اوسط را محاسبه نمایید = اوسط هر 10 قیمت تجربوی (از m1 الی m10)

حاصل تفریق یا افتراق فی مابین هر یک از اندازه گیری ها و قیمت های دریافت شده تجربوی تان (m1…m2…m10) ، یعنی Δ را به قرار ذیل محاسبه نمایید :

$$Mm - m1 = \Delta 1$$
$$Mm - m2 = \Delta 2$$
$$Mm - m3 = \Delta 3$$
$$\ldots\ldots\ldots$$
$$Mm - m10 = \Delta 10$$

حالا مربع هر یک از این Δ ها (حاصل تفریق ها) را محاسبه نمایید = Δ^2

$$(\Delta_1)^2 = \Delta_1 \mathbf{x} \Delta_1$$
$$(\Delta_2)^2 = \Delta_2 \mathbf{x} \Delta_2$$
$$\ldots\ldots\ldots$$
$$(\Delta_{10})^2 = \Delta_{10} \mathbf{x} \Delta_{10}$$

حالا مربع تمامی Δ های بدست آمده؛ یعنی $(\Delta)^2$ را مجموعه یا جمع کنید:

$$(\Delta)^2 = \sum (\Delta)^2$$

اختلاف یا واریانس (Variance)؛ یعنی σ^2 را به قرار ذیل محاسبه نمایید:

$$\sigma^2 = \sum (\Delta)^2 / n - 1$$
$$(n = 10)$$

انحراف استاندارد یا ایکارت تیپ (Ecart Type = E.T) = انحراف استاندارد، σ) را به قرار ذیل محاسبه کنید:

$$E.T = \sqrt{\frac{\Sigma(\Delta)^2}{n-1}}$$

حالا ضریب اختلاف (C.V.) را بر حسب فیصد (%)، به قرار ذیل حساب نمایید:

Mm + E.T و Mm – E .T را هم محاسبه کنید.

حالا قیمت های دریافت شده را با قیمت های موجود در جدول ذیل به مقایسه بگیرید:

تعداد محلولات	انجذاب بی کرومات 340nm	انجذاب کوبالت 510nm	انجذاب نیکل 395nm	انجذاب نیکل 660nm
1	0 ,150	0 ,150	0 ,150	0,055
2	0,300	0,300	0,300	0,111
3	0,600	0,600	0,600	0,222
4	0,900	0,900	0,900	0,333
5	1,200	1,200	1,200	0,444
6	1,500	1,500	1,500	0,555
7	1,800	1,800	1,800	0,666
8	2,100	2,100	2,100	0,777
9	2,400	2,400	2,400	0,888
10	2,700	2,700	2,700	0,999
محلول ابتدایی	3,000	3,000	3,000	1,100

b- کنترول خطی بودن (Linearity) انجذاب:

روی عین صفحه کاغذ گراف دارای خطوط میلی متری، منحنی های ذیل را ترسیم نمایید:

منحنی تکاثفات نوری (DO) تجربوی را بر حسب غلظت های مختلفه؛

(محور عمودی = تکاثف نوری «DO» و محور افقی = غلظت ها)

منحنی تکاثف نوری (DO) تیوریک را بر حسب غلظت های مختلفه:

(محور عمودی = تکاثف نوری «DO» و محور افقی = غلظت ها)

سپس هر دوی این منحنی را ترسیم شده را با همدیگر به مقایسه بگیرید:

- آیا این منحنی ها راست و مستقیم به نظر میرسند؟
- آیا این دو منحنی، یکی بالای دیگری قرار داشته و منطبق میباشد؟
- آیا خطی بودن **(Linearity)** منحنی تجربوی تان تام است و یا قسمی؟ در همچو شرایطی، آیا محدوده و لیمت های استفاده از ماشین تان در حدود چند میباشد؟

در صورت موجودیت تفاوت های واضح و آشکار، آیا فکر نمیکنید که اشتباهی در عملیه و طرز اجرأی تان وجود داشته است؟

c- تفسیر :

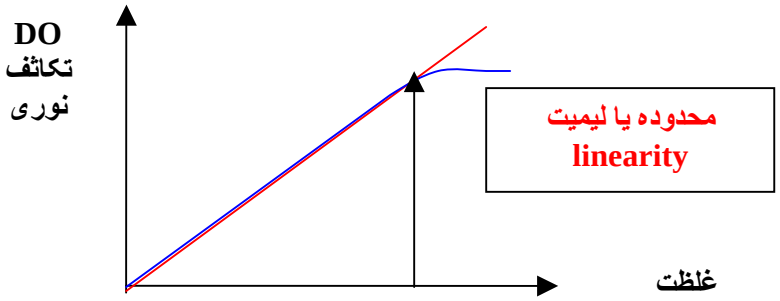
در صورتیکه منحنی های بدست آمده تان روی هم قرار گرفته و با هم انطباق داشته باشند:

- پس میتوان گفت که:

طول موج ترسیم شده توسط اسپکترو فوتومتر دقیق، درست و صحیح میباشد!

- اسپکتروفوتومتر شما الی قیمت تکاثف نوری (DO) مربوط به آخرین محلول مورد مطالعه تان، خطی (Linear) بوده است!

همراه با بعضی از ماشین ها ، یک طول موج دقیق و صحیح و یک خطی بودن متناقص را میتوان ملاحظه نمود؛ بنأ بر آن خط ترسیمی ما روند ذیل را بخود اختیار میکند:

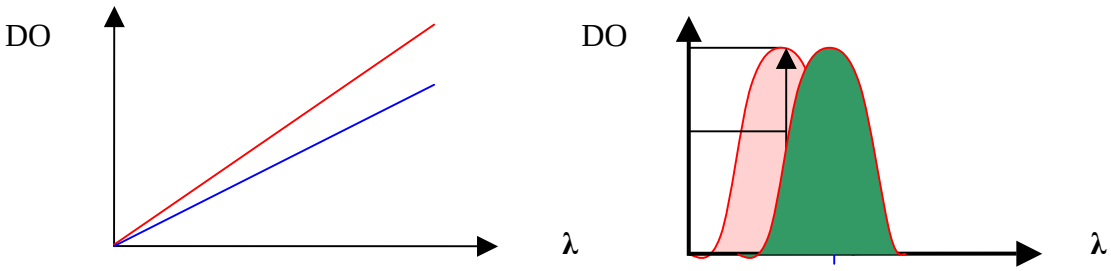


در خارج از زون و قلمرو Linearity، اندازه گیری های تان از دقت کامل برخوردار نمی باشند! در بیولوژی، جهت حل این معضله، جدا" توصیه میگردد تا محلول نمونه خود را رقیق ساخته و تجربه خود را سر از نو آغاز کرده و از سر بگیرید!

در صورتیکه منحنی های تان روی هم قرار نداشته و با همدیگر خود انطباق نداشته باشند:

- پس میتوان گفت که:

طول موج ترسیم شده توسط آله اسپکتروفوتومتر دقیق، درست و صحیح نمی باشد! در اینصورت یک انحراف و جدا شده گی (فاصله) فی مابین خطور ترسیمی منحنی ها وجود دارد که میتوان این انحراف و جدا شده گی یا فاصله را با مطالعه طیف های انجذاب خود، مشخص و معین ساخت.



- اسپکتروفوتومتر شما میتواند کاملا" و یا قسما" (بطور نسبی) خطی (Linéaire) باشد.

مودل یک ورقه محاسباتی:

تعیین غلظت یک محلول و محدوده های قابل قبول

شماره	نتایج m	$(Mm - m) = \Delta$	$(Mm - m)^2 = \Delta^2$
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
Total =			$\sum (\Delta)^2$
(Mm) اوسط		Variance = σ^2	
		E.T =	
		CV% =	

برگردان : دکتور شاه عبداللطیف شبدیز دلیری

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

6 اپریل 2005

تهیه قلمروی از محلولات استاندارد یا معیار

تطبیق روی دوزاژ پروتیین های خون
کنترول خطی بودن متود دوزاژ

Préparation d'une gamme d'étalonnage
Application au dosage des protéines sanguines
Contrôle de la linéarité de la méthode

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1- هدف:

تهیه و ترتیب یک سری از محلولات معیار، از روی یک محلول مادری غلیظ.
تعیین گرافیک زون خطی بودن (یک بعدی بودن) متود دوزاژ.

2- پرنسیپ:

در یک محیط قلوی، پروتیین ها، به همراه آیون های مسی ریجنت Gornall، یک مغلق ملونه برنگ سرخ را به وجود می آورند، که با داشتن یک رابطه پیتیدیک، که انجذاب آن به طول موج 547nm تعیین و اندازه شده است، مشخص میگردد.

3- اجراآت عملی:

a- ریجنت ها:

ریجنت اولی (R1) = ریجنت Gornall:

کاپر سلفیت (سلفیت مس) متبلور (کریستال شده) در $5\ H_2O$	1,50g
• تارتریت سودیوم و پتاشیم در $4\ H_2O$	6,877g
• سودیوم هایدروکساید به شکل قرص	30g
• پتاشیم آیوداید	1g
• آب مقطر	QSP 1000ml

این ریجنت را باید در بین بوتل های شیشه ای و یا بوتل های پولی پروپیلن،که سر آن محکم و بدون منفذ کیپ گردد، نگهدارین موده و از مواجه شدن با نور و روشنایی محفوظ داشته باشید.
ریجنت دومی (R2) = محلول آبی سودیوم کلورایید با غلظت 9g/l :

b- آماده سازی و تهیه نمونه ها:

هر نمونه را با رقاقت $1/21^e$، به کمک و توسط ریجنت دوم (R2)، تهیه بدارید:

نمونه	250µl
ریجنت دومی (R2)	5ml

c- دوزاژ:

این نمونه های رقیق ساخته شده با ریجنت دومی را، در بین یک تست تیوب، با ریجنت اولی (R1) یکجا نمایید:

نمونه رقیق ساخته شده 1ml

- ریجنت اولی R1 (Gornall) 4ml

هر تیوب تهیه شده را خوب تکان داده و بهم بزنید.
بعد ان ها را، در تاریکی، در همان درجه حرارت لابراتوار، برای نیم ساعت نگهدارید.

d- <u>محلول معیار یا استاندارد:</u>

حالا سری محلولات استاندارد تان را به قرار جدول ذیل تهیه بدارید:

محلولات معیار (استاندارد)	محلول مادری پروتیین ها à 11 g/l بر حسب ml	محلول سودیوم کلورایدClNa 9 g/l بر حسب ml	مطابقت به g/l با در نظر داشت رقاقت (1/21) بر حسب ml
E1	0	خالص	0
E2	1	9	23,1
E3	2	8	46,2
E4	2,5	7,5	57,8
E5	3	7	69,3
E6	3,5	6,5	80,8
E7	4	6	92,4
E8	4,5	5,5	104
E9	5	5	115,5
E10	6	4	139
E11	7	3	162
E12	8	2	185
E13	9	1	208
E14	خالص	0	231

هر تیوب را خوب بهم بزنید!

یادداشت:

غلظت های نهایی پروتیین ها، از محاسبه ای که در آن اولین رقاقت نمونه (1/21) مد نظر گرفته شده باشد و با در نظر داشت رقاقتی که در زمان تهیه سری محلولات استاندارد بدست می آید، ناشی میگردد؛ مثلا":
محلول پروتیین به 11g/l تیتر شده است؛
پس:

E2=11x21x(1/10)=23,1 g/l
E8 = 11x21x(4,5/10)= 104 g/l
E13 = 11x21x(9/10)= 208 g/l
E14 = 11x 21=231 g/l

دوزاژ را به طریق ذیل اجرأ دارید:

محلولات استاندارد	استاندارد بر حسب ml	محلول Gornall بر حسب ml
E1	1	4
E2	1	4
E3	1	4
E4	1	4
E5	1	4
E6	1	4
E7	1	4
E8	1	4
E9	1	4
E10	1	4
E11	1	4
E12	1	4
E13	1	4
E14	1	4

هر تیوب را خوب بهم بزنید.
آن ها را در همان درجه حرارت لابراتوار تان، در یک گوشه تاریک، قرار داده و مدت 30 دقیقه نگهدارید.

e- <u>اندازه گیری:</u>

حالا تکاثف نوری (DO) هر تیوب را به طول موج 547 nm ، در برابر یک ریجنت بلانک، که به قرار ذیل میتوانید آنرا تهیه دارید، تعیین کنید (دوزاژ، محلول استاندارد و محلول بلانک):

* سودویم کلوراید 9mg/l (R2)	1ml
* ریجنت Gornall (R2)	4ml

تمامی قیمت ها را یاد داشت کنید.

3- <u>تفسیر:</u>

منحنی استاندارد را روی ورق میلی متر دار، از روی قیمت های تجربی دریافت شده تان، ترسیم نمایید.
خطی بودن منحنی را ارزیابی کنید.
اگر این خط، در تمامی مسیر خویش، مستقیم نباشد، در آنصورت زون غلظتی را که خطی بودنش را ارزیابی کرده اید، بطور گرافیک تیین نمایید که این عمل را به منظور استنباط و فهمیدن موارد ذیل، اجرأ میکنید:

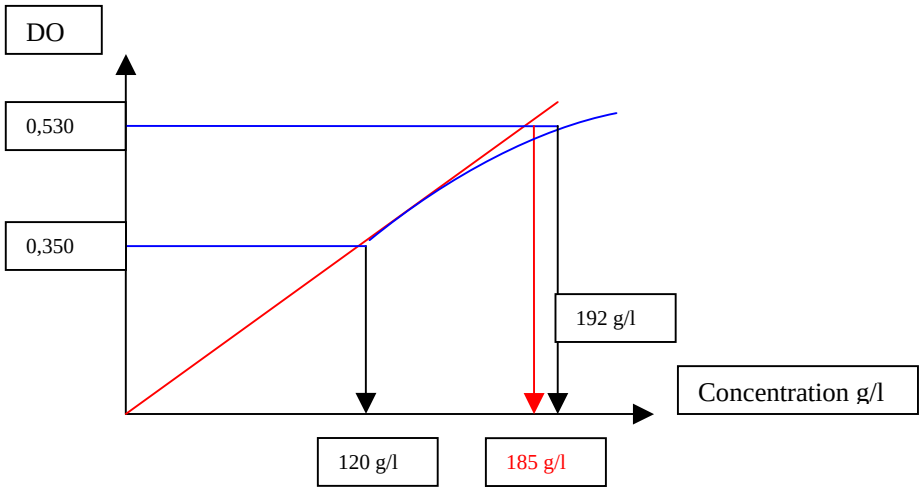
به منظور استنباط نحوه و طرز استفاده از متود دوزاژ؛

- به منظور استنباط محدوده های استفاده.

4- <u>مثالی از نتایج بدست آمده:</u>

محلولات استاندارد	غلظت ها g/l	DO تجربی
E1	0	
E2	23,1	0,068
E3	46,2	0,130
E4	57,8	0,165
E5	69,3	0,198
E6	80,8	0,231
E7	92,4	0,267
E8	104	0,297
E9	115,5	0,329
E10	139	0,387
E11	162	0,449
E12	185	0,512
E13	9	0,559
E14	231	0,604

این نتایج بدست آمده در جریان دروس عملی ما، برای ما ترسیم گراف ذیل را اجازه میدهد:



تجزیه و تحلیل این گرافیک، برای ما نشان میدهد که :

محدوده خطی متود ما نزدیک به غلظت 120g /l قرار داشته، و بالا تر از آن، منحنی دیگر خطی نمیباشد!

در DO = 0.530، اشتباه اندازه گیری 4% است؛ یعنی:7g/l میباشد (اختلاف فی مابین قیمت های تجربی و تیوریک برای تکاثف نوری = 0.530)

اما، بر روی گراف نظری یا تیوریک ما، تکاثف نوری = 0.530 ، به غلظت 185g/l مطابقت دارد.

5- <u>نتیجه گیری:</u>

این متود در یک ساحه و محدوده (قلمرو) بین غلظت های 0 الی 120g/l قابل استفاده میباشد.

در صورتیکه نتایج بدست آمده ما بلند تر از این غلظت ها باشند، در آنصورت غلظت نمونه های ما بایستی رقیق ساخته شوند و تجربه ما سر از نو ، روی محلولات نمونه رقیق ساخته شده، اجرأ و انجام گردد.

***

ترجمه تحریری : داکتر شاه عبداللطیف شبدیز دلیری

تاریخ ترجمه : 28 اپریل 2005

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

<u>میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل</u>

9 - 10 اپریل 2005

تهیه قلمروی از محلولات استاندارد یا معیار

تطبیق روی دوزاژ پروتیین های خون
کنترول خطی بودن متود دوزاژ

<u>Préparation d’une gamme d’étalonnage</u>
<u>Application au dosage des protéines sanguines</u>
<u>Contrôle de la linéarité de la méthode</u>

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1 - هدف

تهیه نمودن یک قلمرواز محلول های معیار توسط محلول مادری غلیظ
ترسیم نمودن زون(ساحه) خطی گراف متود دوزاژ

2 - پرنسیپ

تحت عمل کتالیتیک(تخریبی) انزایم گلوکوز اکسیداز و در موجودیت آکسیژن وآب، گلوکوزخون به اسید گلوکونیک تبدیل میشود و هایدروژن پر اکساید(H_2O_2) را آزاد میسازد واین اسید گلوکونیک در موجودیت 4-aminbophenazone ودر موجودیت Phenol تحت عمل انزایم Peroxydase ، به یک مشتق برنگ سرخ مایل به بنفش (Quinoneimine) تبدیل میشود که انجذاب آن در طول موج 500 nm اندازه میشود.

3 - تهیه نمودن عملی

a - ریجنت

Kit Randox Glucose-GOD/PAP 2623

R1 محلول آبی گلوکوز به غلظت 50 گرام فی لیتر

- Glucose anhydre دقیقا" 5 گرام
- سودیم کلورایید 9g/l QSP 100ml

از یک محلولی که تازه تهیه شده است، استفاده نمایید .
محلول را در یخچال محافظت نمایید .
مدت محافظت آن حد اعظم 5 روز میباشد.

b - محلول های معیار

- یک قلمرواز محلول های معیار به غلظت های ذیل تهیه نمایید:

Solutions Etalons	Glucose g/l
E1	0,400
E2	0,600
E3	0,800
E4	1,00
E5	1,50
E6	2,00
E7	5,00
E8	10,00
E9	20,00
E10	30,00
E11	40,00
E12	50,00

از هریک این محلولات به قدر 10 ملی لیتر تهیه نمایید.

C - دوزاژ

دوزاژ را به طریق ذیل انجام دهید:
در یک تست تیوپ مقادیر ذیل را بگنجانید:

- محلول مورد مطالعه 2O µl

- رجنت دوزاژ گلوکوز 2 ml

هریک از تیوپ هارا خوب شور دهید.
بمدت 20 دقیقه در حرارت لابراتوار بگذارید.

در کادر و چوکات درسی خود، اینطور قبول کرده بودیم که:

محلولات استاندارد	استاندارد بر حسب µl	ریجنت دوزاژ بر حسب ml
0,400	20	2
0,600	20	2
0,800	20	2
1,00	20	2
1,50	20	2
2,00	20	2
5,00	20	2
10,00	20	2
20,00	20	2
30,00	20	2
40,00	20	2
50,00	20	2

هریک از تیوب هارا خوب بهم بزنید!
بمدت 20 دقیقه در حرارت لابراتوار بگذارید.

تبصره ای مهم :

رعایت نمودن زمان تفریخ برای هر تیوپ مهم میباشد (نمونه، معیارها، بلانک). عین زمان تفریخ برای هریک از تیوب ها(یعنی 20 دقیقه) رعایت گردد.
برای این کار بعد از هریک دقیقه رجنت را بالای هریک از تیوب هاعلاوه نمایید و در ختم مدت تفریخ بعد از هر یک دقیقه کثافت اوپتیک را برای هریک از تیوب ها در سپکترو فوتومتر مطالعه نمایید.

d - اندازه گیری کثافت اوپتیک

کثافت اوپتیک هریک از تیوپ ها (دوزاژ، معیارهاو بلانک) را در طول موج 500nm اندازه نمایید که درین حالت رجنت بلانک را تشکیل میدهد.

4 . تفسیر نتائج

بالای یک ورق گراف ملی متری ، ارقام دریافت شده را در محور های مربوطه درج نمایید . با وصل نمودن نقاط تقاطع گراف را ترسیم نمایید. شکل خطی یا مستقیم گراف رابررسی نمایید. اگر گراف در تمام طول خود خطی نمی باشد،آن ساحه یا قلمرو گراف را که خطی میباشد تعیین نمایید .
از متود نتیجه گیری نمایید :

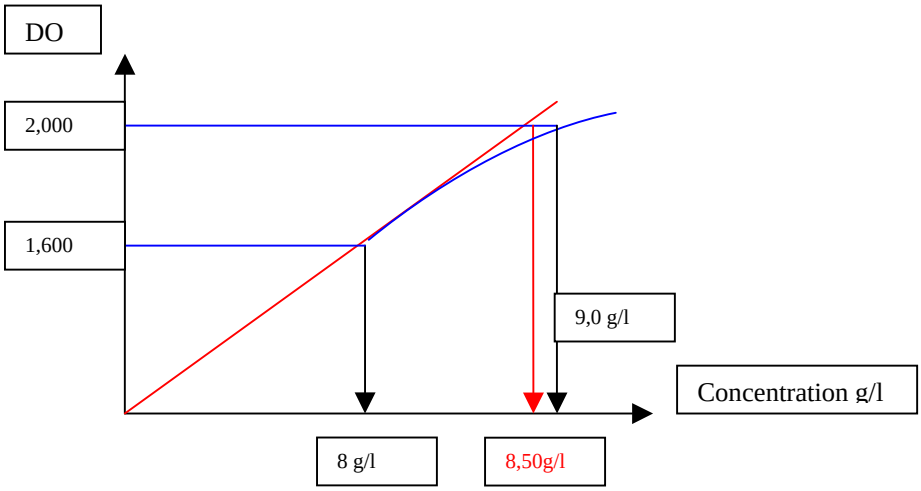
- چکونگی استفاده ا ز این متود دوزاژ چنین میباشد
- این متود دوزاژ دراین محدوده های غلظت خطی بوده وبنابرین قابل استفاده میباشد.

5 . جدول ارقام بد ست آمده

Solutions Etalons	D.O
0,400	0,105
0,600	0,150
0,800	0,180
1,00	0,265

1,50	0,378
2,00	0,529
5,00	1,215
10,00	2,107
20,00	2,301
30,00	2,436
40,00	2,498
50,00	2,613

معرفی گرافیک:



گراف بدست آمده چنین تفسیر وبررسی میگردد:

- حد خطی این متود در مجاورت 8,0 گرام فی لیتر میباشد. بالا تر ازین غلظت گراف شکل خطی نمی داشته باشد.
- در کثافت اوپتیک 2,000 : اشتباه اندازه گیری در حدود 10,8 % یعنی 0,9 گرام می باشد(تفاوت بین قیمت تیوریکی وقیمت تجربوی در کثافت 2,001)
- در گراف نظری کثافت اوپتیک 200 مطابقت دارد به غلظت 8,3 گرام فی لیتر.

6 . نتیجه

قلمرو قابل استفاده ازاین متود بین 0 الی 8,0 گرام فی لیتر میباشد.
اگر نتایج بدست آمده در قلمرو غلظت بلند تر یعنی قلمرو غیر قابل استفاده گراف قرار گیرد، درین صورت باید که نمونه گیری ها رقیق گردیده واین نمونه گیری های رقیق شده دوباره انالیز گردند.

تهیه محلولات معیار (استاندارد)

شماره	غلظت محلول های معیار بر حسب g/l	مقدار محلول استاندارد مادر، با غلظت **50g/l** بر حسب ml	مقدار Nacl 9g/l بر حسب ml	ظروف لابرتواری
E11	40	8	2	تست تیوب
E10	30	6	4	
E9	20	4	6	
E8	10	2	8	
E7	5	5	45	بالون ژوژه به ظرفیت 50ml

شماره	غلظت محلول های معیار بر حسب g/l	مقدار محلول استاندارد مادر با غلظت **5g/l** بر حسب ml	مقدار Nacl g/l بر حسب ml	ظروف لابرتواری
E6	2	4	6	تست تیوب
E5	1,5	3	7	
E4	1,0	10	40	بالون ژوژه به ظرفیت 50ml

شماره	غلظت محلول های معیار بر حسب g/l	مقدار محلول استاندارد مادر با غلظت **1g/l** بر حسب ml	مقدار Nacl g/l بر حسب ml	ظروف لابرتواری
E3	0,8	8	2	تست تیوب
E2	0,6	6	4	
E1	0,4	4	6	بالون ژوژه به ظرفیت 50ml

***

ترجمه : داکتر حسین زاده

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

11 اپریل 2005

معیارات انتخاب یک جعبه ریجنت

کنترول «اختصاصیت» یک جعبه ریجنت
مطالعه قابلیت تکرار (Repeatability)
تطبیق روی دوزاژ گلوکوز خون

Critères de choix d'un coffret réactif
Contrôle des spécificités d'un coffret réactif

Etude de la répétabilité
Application au dosage du glucose sanguin

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1- هدف:

مطالعه مبانی قابلیت تکرار عین نتایج تست «Répétabilité»،
ارزیابی خواص اعلان شده و العان نا شده از طرف کمپانی، برای جعبه ریجنت،
کسب تسلط و حاکمیت یافتن در شناخت معیارات انتخاب یک جعبه ریجنت،
نگرش سیستم کیفیت عمل لابراتوار های انالیز طبی

2- پرنسیپ و اصول:

در بیولوژی، انتخاب یک متود تعیین دوز (دوزاژ)، روی معیارات متعددی تکیه دارد که از جمله، یکی هم معیار قابلیت تکرار (Répétabilité) میباشد.
به کمک معیار قابلیت تکرار «REPETABILITY»، میتوان فهمید که آیا متود مورد مطالعه ما، بطور احصاییوی، **در یک مدت زمان معین (**مثلا" در طول همین امروز**) و روی عین نمونه** (مثلا" سیروم کنترولی و یا محلول کنترولی)، **عین نتیجه** را بدست میدهد و یا خیر!
این پر واضح است که این موضوع باید روی تمامی غلظت ها صدق نماید: روی غلظت های کمتر از حد نورمال (غلظت پایین)، روی غلظت های نورمال (غلظت متوسط) و هم چنان روی غلظت های بیشتر از حد نورمال (غلظت بلند).
در حقیقت، کنترول تمامی غلظت ها غیر ممکن میباشد (بسیار گران تمام شده و وقت زیادی را ضایع میکند)، به همین دلیل است که تجربه خویش را تنها روی زون غلظت های ضعیف (غلظت پایین)، نورمال (غلظت متوسط) و قوی (غلظت بلند)، عملی میسازیم.

3- متودولوژی یا طرز اجرأ:

مثال یک جعبه ریجنت دوزاژ گلوکوز خریداری شده از بازار و استفاده شده در لابراتوار، برای غلظت های ضعیف، غلظت های نورمال و غلظت های بلند گلوکوز و همچنان برای غلطت هایی که کمپانی نتایجی را اعلان نکرده است.

a- وسایل مورد ضرورت:

جعبه ریجنت مورد مطالعه (Kit Randox Glucose – GOD/PAP 2623)
تست تیوب ها
کالوریمتر (و یا اسپکتروفوتومتر)
محلول کنترول (سیروم کنترول) با غلظت بلند (غلظت قوی) گلوکوز (مثلا": 2,50g/l).
محلول کنترول (سیروم کنترول) با غلظت نورمال گلوکوز (مثلا":1,00g/l).
محلول کنترول (سیروم کنترول) با غلظت ضعیف گلوکوز (مثلا": 0,60g/l).
ورقه جمع آوری نتایج یا جدول محاسبه (مراجعه شود به ضمیمه این فصل)

b- تحقق و اجرأی تست:

تجربه روی هر یک از محلولات کنترولی (غلظت های بلند، نورمال و ضعیف)، باید انجام گیرد که آنرا 10 بار در یک سری واحد، بواسطه ریجنت تحت مطالعه خود (ریجنت دوزاژ گلوکوز) تعیین دوز مینماییم.

در بین یک تست تیوب محلولات ذیل را به قرار ذیل علاوه نمایید:
* یک برای محلول نمونه 20µl
* ریجنت دوزاژ 2µl
هر دو تیوب را خوب بهم بزنید.
بعد آن ها را مدت 30 دقیقه در درجه حرارت لابراتوار نگهدارید.

یادداشت مهم:

مهم است تا برای برای تمامی تیوب ها، عین مدت نگهداری در حرارت اتاق لابراتوار (مدت تفریخ) را مراعات نمایید (30 دقیقه برای تمامی تیوب ها)
برای تحقق این امر، بطور مثال، ریجنت دوزاژ کننده را، رآس هر دقیقه، در بین هر یکی از تیوب ها ریخته و تکاثف نوری آن ها را در ختم مدت تفریخ ، با عیار سازی و یا جابجا سازی هر یک از اندازه گیری های اسپکتروفوتومتریک عین همان زمان (یک دقیقه)، بخوانید.

c- اندازه گیری:

تکاثف نوری (DO) هر تیوب (تیوب دوزاژ، تیوب محلول معیار یا استاندارد و تیوب محلول بلانک) را در طول موج 500nm ، در برابر ریجنت دوزاژ کننده که منحیث محلول بلانک قبول میشود، تعیین نمایید.
هر قیمت را درج کرده و یاداشت نمایید.

نتایج هر 3 سری 10 دوزاژ را (که مجموعا" 30 نتیجه میشود)، در جدول محاسبه، که هر سه نوع محلولات کنترولی (قوی، نورمال و ضعیف) را یکجا جمع دارد، برسانید.
محاسبات را طبق محاسبات قبلی انجام دهید.

یاداشت:
☜ در این مثال، ما تنها در یک محدوده و سری دارای 10 نمونه قرار داریم، در حالیکه دانشمندان علم احصاییه یا استاتیستیک، برای تهیه آمار احصاییوی، روی یک سری دارای 30 محلول نمونه کار میکنند.)
در این جا هدف، فقط تعیین و بررسی دقت عمل کرد یک جعبه ریجنت شناخته شده تجارتی، از طرف خود شما میباشد.

4- بررسی و تفسیر آمار و ارقام:
یک محاسبه احصاییوی را روی 3 سری قیمت ها انجام دهید.
برای هر یک از غلظت های گلوکوز:
در یک جدول از نوع جدولی که در ضمیمه این بخش برای تان پیشنهاد شده است، برسانید.
تمامی قیمت های تجربی m1, m2…..m10 را راپور دهید.

قیمت اوسط (Mm) را محاسبه نمایید = اوسط هر 10 قیمت تجربوی (از m1 الی m10)
حاصل تفریق یا افتراق فی مابین هر یک از اندازه گیری ها و قیمت های دریافت شده تجربوی تان (m1…m2…m10) ، یعنی Δ را به قرار ذیل محاسبه نمایید :

$$Mm - m1 = \Delta 1$$
$$Mm - m2 = \Delta 2$$
$$Mm - m3 = \Delta 3$$
$$\ldots\ldots\ldots$$
$$Mm - m10 = \Delta 10$$

حالا مربع هر یک از این Δ ها (حاصل تفریق ها) را محاسبه نمایید = Δ^2

$$(\Delta_1)^2 = \Delta_1 \times \Delta_1$$
$$(\Delta_2)^2 = \Delta_2 \times \Delta_2$$
$$\ldots\ldots\ldots$$
$$(\Delta_{10})^2 = \Delta_{10} \times \Delta_{10}$$

حالا مربع تمامی Δ های بدست آمده؛ یعنی $(\Delta)^2$ را مجموعه یا جمع کنید:

$$(\Delta)^2 = \sum (\Delta)^2$$

اختلاف یا واریانس (Variance)؛ یعنی σ^2 را به قرار ذیل محاسبه نمایید:

$$\sigma^2 = \sum (\Delta)^2 / n - 1$$
$$(n = 10)$$

انحراف استاندارد یا ایکارت تیپ (Ecart Type = E.T) = انحراف استاندارد، σ را به قرار ذیل محاسبه کنید:

$$E.T = \sqrt{\frac{\Sigma(\Delta)^2}{n-1}}$$

حالا ضریب اختلاف (C.V.) را بر حسب فیصد (%)، به قرار ذیل حساب نمایید:

$$C.V\ \% = \frac{E.T.}{Mm} \times 100$$

Mm + 2ET و Mm + 1E.T
و Mm – 1E .T و Mm – 2ET را هم محاسبه کنید.

5- مثال محاسبه:
(برای محلول 1g/l گلوکوز)

N°	اندازه گیری های انجام شده بر حسب g/l	افتراق یا فرق (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1	1,01	-0,0060	0,00004
2	1,02	-0,0160	0,00026
3	0,99	0,0140	0,00020
4	1,02	-0,0160	0,00026
5	1	0,0040	0,00002
6	1,01	-0,0060	0,00004
7	1,02	-0,0160	0,00026
8	0,99	0,0140	0,00020
9	1	0,0040	0,00002
10	0,98	0,0240	0,00058

Total	10,04		0,00184
Moyenne	1,0040		
Variance			0,00020
E,T			0,01430
C V %			1,42

جعبه ریجنت تست شده بطور اوسط برای غلظت 1g/l گلوکوز یک ایکار تیپ (ET) 0,014g/l را ارایه میدهد.

6- تفسیر نتایج:
ضریب اختلاف، متود اجرأییوی را دقیق بر آورد و ارزیابی می نماید. هر قدر که این ضریب کوچکتر باشد، به همان تناسب متود ما دقیق تر خواهد بود.
ارزیابی ، بر آورد و ارزش ضریب اختلاف، میتواند بر حسب دقت جستجو شده ما، بسیار متفاوت دریافت گردد. در بیولوژی، این ارزش با تجربه و یا انالیز ما و همچنان با غلظت ماده ای که در خون جستجو میشود، در ارتباط میباشد.
بطور عموم، موارد ذیل را قبول داریم:

- که یک CV% < 5% بیانگر یک متود خوب است.
- که یک CV% < 3% بیانگر یک متود بسیار خوب است.
- که یک CV% < 2% بیانگر یک متود عالی است.

در صورتیکه بخواهیم دقت بیشتر از این داشته باشیم، سفارش و توصیه میگردد تا از جداولی که قیمت های قابل قبولی را برای بسیاری از پارامتر های بیوشیمی بدست میدهند، استفاده نماییم.

یاد داشت:
در برخی از واقعات خاص، به ویژه وقتی که:

- دوزاژ ماده بسیار مشکل بوده باشد (مثلا": تعامل بیار حسحس نباشد، ماده ای که دوزاژ میگردد، بسیار شکنن بوده و زود از بین برود و ثبات نداشته باشد)،
- مقدار و سویه ماده ای دوزاژ میگردد، بسیار کم و ناچیز بوده باشد،

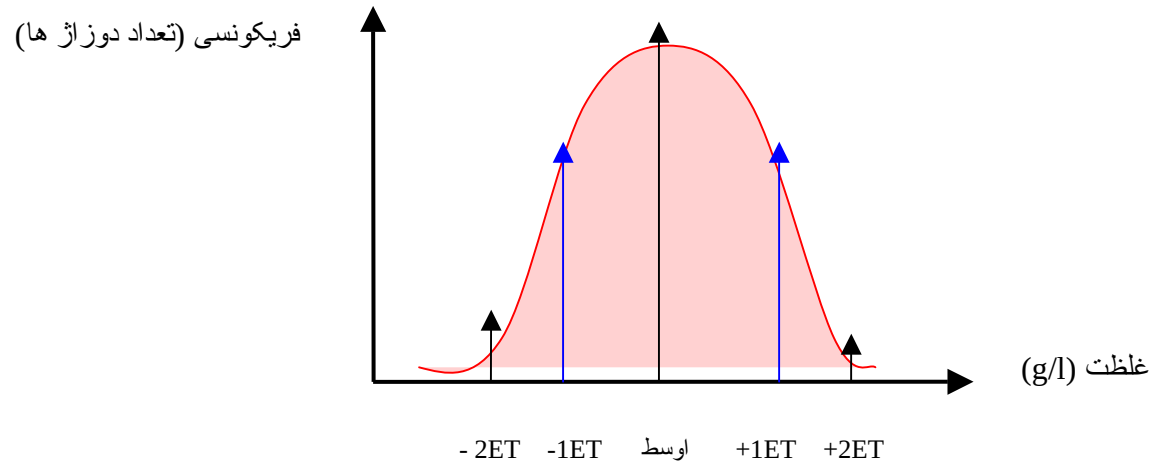
که این، حالات معمولا" در زمان دوزاژ هورمون ها، ادویه جات، ویتامین ها، برخی از متابولیت ها و یا مواد پیشقدم شان، اتفاق افتاده و به نظر میرسد، در آنصورت CV% قابل قبول میتواند بسیار بلند تر آنچه دریافت گردد که قبلا" تذکار یافتند.
نظر به واقعه، ممکن است یک CV% الی 10% و یا بیشتر از آنرا هم قبول نموده و بپذیریم.

حالا CV های تجربی را با CV های اعلان شده از طرف کمپانی مقایسه نمایید. CV هایی که از طرف فابریکه اعلان میشوند، معمولا" در رگلام داخل قطی یا جعبه در ج میباشند. در صورتیکه اعلان نشده باشند، باید خود آنرا از کمپانی تهیه کننده ریجنت درخواست نماییم که او هم مجبور خواهد بود تا آنرا در اختیار شما قرار بدهد.

حدود و قلمرو قابل قبول:

ما ثابت ساختیم که پس از 30 بار دوزاژ نمودن، تقسیمات و توزیع قیمت های هر دوزاژ، بطور سیستیماتیک در محور قیمت اوسط دوزاژ قرار میگیرد. بنا" گفته میشود که تقسیم و توزیع قیمت های نتایج ما در قلمرو Gauss قرار دارد (یعنی Gaussienne) است.

ضمنا" نشان میدهیم که از جمله این 30 قیمت نتایج، 96% شان در زون مربوط به قیمت های اوسط + 2ET و قیمت اوسط - 2ET (Mm +2ET, Mm – 2ET) (که در شیمای ذیل برنگ سرخ نشان داده شده اند) قرار دارند (یعنی نتایج تقریبا" 29 تست از جمله 30 تست).



ملاحظات:

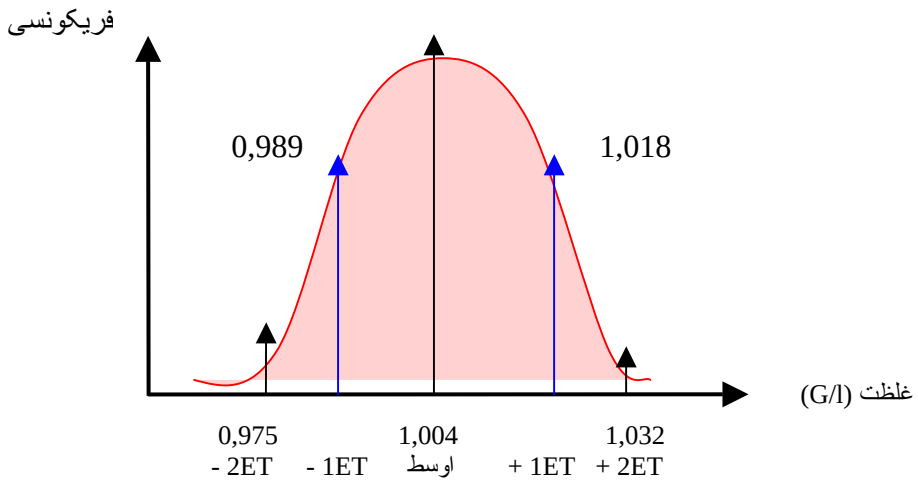
در بیولوژی، این محدوده ها یا قلمرو ها (قیمت اوسط + 2 ایکار تیپ و قیمت اوسط – 2 ایکار تیپ)، از طرف تمامی بیولوژیست ها، منحیث قیمت قابل قبول شاخته شده و تلقی میگردند.

زمانیکه ریجنت ها بسیار پر قیمت بوده و گران تمام گردند، و یا اینکه مقدار بسیار کمی از ریجنت را برای مطالعه و معاینه کنترولی در اختیار داشته باشیم، در آنصورت میتوان فقط 20 و یا حتی 10 تست کنترولی را (به عوض 30 تست) انجام بدهیم. باید بسیار محتاط بود و این مطلب را دانست که در اینصورت، صد البته، نتایج دریافت شده، به مراتب دقت کمتری خواهند داشت. ولی یک موضوع را باید به خاطر داشت و آن اینکه، دلیل هر چه باشد، نباید برای کنترول، کمتر از 10 تست انجام گردد!

به هیچ وجه نباید کمتر از 10 دوزاژ کنترولی انجام گردد!

در مثال ما، در صورتیکه Mm +/- 2ET (96%) دقت، صحت و اطمینان) را منحیث قلمرو و محدوده اساس قرار داده ایم، دراینصورت 96% نتایج دوزاژ های ما، که روی محلول گلوکوز دارای غلظت 1g/l انجام گردیده اند، در بین غلظت های 0,9754 g/l و 1,032 g/l واقع خواهند شد.

CV% در اینصورت 1, 42 خواهد بود که یک نتیجه بسیار خوب تلقی میگردد.



در این شکل، CV به مراتب بزرگ تر میباشد که دلیل آن میتواند موجودیت کدام مشکل در آله (ثبات کولوریمتری و یا ثبات اسپکتروفوتومتر)، وسایل (از قبیل پیپت، ظرف کوچک اسپتروفوتومتر یا کیووت) بوده و یا هم اینکه ممکن است نقصی در کار تکنیشن وجود داشته است (مثلا": پیپتاژ کردن غلط، مطالعه غلط و اشتباه آمیز نتایج، اشتباهات محاسباتی و غیره .....)

7- نتیجه گیری از تست انجام شده:
(در مثال پیشنهاد شده بالا)

معاینه CV%، در غلظت 1g/l ، بیانگر آنست که ، جعبه ریجنت ما یک جعبه دارای کیفیت عالی میباشد.
در غلظت 1 g/l، جعبه ریجنت گلوکوز با توقعات فعلی ما مطابقت داشته و از دقت عمل مطابق به آنچه که روی قطی اعلان شده است، برخوردار میباشد.

***

ترجمه تحریری: داکتر شاه عبداللطیف شبدیز دلیری
تاریخ ترجمه: 3 اپریل 2005

مثال نتایجی که در جریان درس ما بدست امده و حاصل گردیدند
(Glucose 2,50 g/l)

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
1	0,536	0,07	0,00510	0,695	0,06	0,00371	0,776	0,01	0,00011	0,260	0,04	0,00141
2	0,479	0,13	0,01649	0,788	-0,03	0,00103	0,778	0,01	0,00007	0,287	0,01	0,00011
3	0,394	0,21	0,04554	0,737	0,02	0,00036	0,777	0,01	0,00009	0,345	-0,05	0,00225
4	0,679	-0,07	0,00513	0,790	-0,03	0,00116	0,788	0,00	0,00000	0,282	0,02	0,00024
5	0,658	-0,05	0,00256	0,773	-0,02	0,00029	0,802	-0,02	0,00024	0,301	0,00	0,00001
6	0,663	-0,06	0,00309	0,766	-0,01	0,00010	0,796	-0,01	0,00009	0,288	0,01	0,00009
7	0,667	-0,06	0,00355	0,768	-0,01	0,00015	0,789	0,00	0,00001	0,283	0,01	0,00021
8	0,671	-0,06	0,00404	0,774	-0,02	0,00033	0,785	0,00	0,00000	0,346	-0,05	0,00234
9	0,665	-0,06	0,00332	0,718	0,04	0,00144	0,791	0,00	0,00002	0,287	0,01	0,00011
10	0,662	-0,05	0,00298	0,750	0,01	0,00003	0,783	0,00	0,00001	0,297	0,00	0,00000
Total	6,074		0,09180	7,559		0,00860	7,865		0,00065	2,976		0,00679
Moyenne	0,607	Variance	0,01020	0,76	Variance	0,00096	0,787	Variance	0,00007	0,30	Variance	0,00075
		E,T	0,101		E,T	0,031		E,T	0,008		E,T	0,027
		C V %	16,63		C V %	4,09		C V %	1,08		C V %	9,23
M-2ET	0,4054			0,6941			0,7695			0,2427		
M-1ET	0,5064			0,7250			0,7780			0,2701		
M+1ET	0,7084			0,7868			0,7950			0,3251		
M+2ET	0,8094			0,8177			0,8035			0,3525		

مثال نتایجی که در جریان درس ما بدست امده و حاصل گردیدند
(Glucose 1,00 g/l)

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
1	0,048	-0,0196	0,000384	0,063	-0,0013	0,000002	0,074	0,0021	0,000004	0,388	-0,0020	0,000004
2	0,056	-0,0276	0,000762	0,063	-0,0013	0,000002	0,077	-0,0009	0,000001	0,380	0,0060	0,000036
3	0,026	0,0024	0,000006	0,066	-0,0043	0,000018	0,076	0,0001	0,000000	0,392	-0,0060	0,000036
4	0,012	0,0164	0,000269	0,062	-0,0003	0,000000	0,077	-0,0009	0,000001	0,386	0,0000	0,000000
5	0,060	-0,0316	0,000999	0,038	0,0237	0,000562	0,075	0,0011	0,000001	0,382	0,0040	0,000016
6	0,006	0,0224	0,000502	0,062	-0,0003	0,000000	0,076	0,0001	0,000000	0,391	-0,0050	0,000025
7	0,014	0,0144	0,000207	0,062	-0,0003	0,000000	0,075	0,0011	0,000001	0,386	0,0000	0,000000
8	0,021	0,0074	0,000055	0,065	-0,0033	0,000011	0,076	0,0001	0,000000	0,388	-0,0020	0,000004
9	0,026	0,0024	0,000006	0,068	-0,0063	0,000040	0,078	-0,0019	0,000004	0,387	-0,0010	0,000001
10	0,015	0,0134	0,000180	0,068	-0,01	0,000040	0,077	-0,0009	0,000001	0,380	0,0060	0,000036
Total	0,284		0,003368	0,617		0,000674	0,761		0,000013	3,86		0,000158
Moyenne	0,028	Variance	0,000374	0,06	Variance	0,000075	0,076	Variance	0,000001	0,386	Variance	0,000018
		E,T	0,019		E,T	0,009		E,T	0,001		E,T	0,004
		C V %	68,12		C V %	14,03		C V %	1,57		C V %	1,09
M-2ET	-0,0103			0,0444			0,0737			0,3776		
M-1ET	0,0091			0,0530			0,0749			0,3818		
M+1ET	0,0477			0,0704			0,0773			0,3902		
M+2ET	0,0671			0,0790			0,0785			0,3944		

مطالعه قابلیت تکرار (répétabilité = Repeatability)

پارامتر

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
Total												
Moyenne		Variance			Variance			Variance		0,386	Variance	
		E,T			E,T			E,T			E,T	
		C V %			C V %			C V %			C V %	
M-2ET												
M-1ET												
M+1ET												
M+2ET												

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

12 اپریل 2005

معیارات انتخاب یک جعبه ریجنت

کنترول اختصاصیت (Specificity) یک جعبه ریجنت

مطالعه قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج قبلی (Reproducibility)

تطبیق بالای دوزاژ پروتیین های خون

Critère du choix d'un coffret réactif

Contrôle des spécificités d'un coffret réactif

Etude de la reproductibilité

Application au dosage des protéines sanguines

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1- هدف:

* مطالعه مبانی قابلیت ایجاد دو باره عین نتایج (Reproductibilité = Reproducibility).
* بررسی دقت عمل کرد (دقت کاری) ریجنت، العلان شده از طرف کمپانی، از طریق اجرأی تجارب عملی،
* کسب مهارت در جهت تعیین معیارات، برای انتخاب یک جعبه ریجنت،
* نگرشی بر سیستم کوالیتی لابراتوار انالیز طبی،

مثال: کنترول غلظت های ضعیف، نورمال و قوی پروتیین توسط یک جعبه ریجنت دوزاژ پروتیین که از بازار خریداری شده و در لابراتوار ما وجود دارد و از آن استفاده صورت میگیرد.

2- پرنسیپ و اصول کاری:

در بیولوژی، انتخاب یک متود دوزاژ روی معیارات متعدد و مختلفی استوار میباشد که از جمله، یک هم تعیین قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج یا Reproducibility تست میباشد که در لسان فرانسوی به آن Reproductibilité میگویند.
قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج تست، این موضوع را مورد بررسی قرار میدهد که در حالیکه همه شرایط ثابت بوده و تغییر نکرده باشند، « آیا متود مورد مطالعه ما، **در جریان یک مدت زمان نسبتا" دوامدار و طولانی** (مثلا": 10 روز، 20 روز و حتی 1 ماه)، در صورتیکه از عین امکانات (عین وسایل، عین پیپت، عین محلول کنترولی و عین تکنیشن یا شخص) استفاده صورت گرفته باشد و در صورتیکه تست را روی **عین نمونه یا سمپل** (سیروم کنترولی یا محلول کنترولی) اجرأ نماییم، از نظر احصاییوی، **عین نتایج قبلی** بدست خواهند آمد و یا خیر؟ »
قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج قبلی (Reproducibility) از قابلیت تکرار نتایج (repeatability) فرق دارد. زیرا قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج تست نگرش دینامیک یا پویایی یا پر تحرک (dynamique) دقت کاری متود میباشد (زیرا در جریان یک مدت زمان نسبتا" طولانی چندین روزه اجرأ میگردد)، در حالیکه قابلیت تکرار نگرش استاتیک یا ایستایی یا ساکن و راکد (Statique) دقت کاری است (زیرا در یک مدت زمان مشخص کوتاه اجرأ میگردد)

واضح است که قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج، بایستی برای تمامی غلظت ها؛ یعنی غلظت های پایین (ضعیف)، متوسط (نورمال) و بلند(قوی) مورد بررسی قرار گیرد.

در حقیقت، کنترول تمامی غلظت ها غیر ممکن میباشد (بسیار گران تمام شده و وقت زیادی را ضایع میکند)، به همین دلیل است که تجربه خویش را تنها روی زون غلظت های ضعیف (غلظت پایین)، نورمال (غلظت متوسط) و قوی (غلظت بلند)، عملی میسازیم.
مثلا": برای انواع پروتیین، غلظت حدود 50 g/l را یک غلظت پایین، غلظت حدود 75 g/l را یک غلظت نورمال یا متوسط و غلظت حدود 100g /l را یک غلظت بلند یا قوی قبول میکنیم.

3- متودولوژی یا طرز اجرأی کار:

a- وسایل مورد ضرورت:

جعبه ریجنت رقیق ساخته شده (Kit Randox Proteines – 2623)
تست تیوب ها
کالوریمتر (و یا اسپکتروفوتومتر)
محلول کنترول (سیروم کنترول) با غلظت بلند (غلظت قوی) پروتیین (مثلا": 110 g/l).
محلول کنترول (سیروم کنترول) با غلظت نورمال پروتیین (مثلا":73 g/l).
محلول کنترول (سیروم کنترول) با غلظت ضعیف پروتیین (مثلا": 44 g/l).
ورقه جمع آوری نتایج یا جدول محاسبه (مراجعه شود به ضمیمه این فصل)

b- تحقق و اجرأی تست:

طرز اجرای تست ما مشابه به طرز کار روی تست Repeatability بوده، ولی چون هدف ما در اینجا جستجو و کنترول قابلیت اندازه گیری کلیه زون های ریجنت، در یک مدت زمان نسبتا" طولانی تر میباشد، بنا" دوزاژ هر یک از محلول های کنترولی با غلظت های مختلفه بلند، متوسط و پایین را، نه فقط در یک مراتبه و بر روی یک سری واحد، بلکه لا اقل برای 10 روز، منتهی روز یک مراتبه انجام میدهیم (اما اگر برای 20 روز متواتر، روزانه یک بار باشد، بهتر خواهد بود!)

نتایج هر بار دوزاژ نمودن (n dosages) را (قیمت n ، برای 10 روز عدد 10 و برای 20 روز، عدد 20 خواهد بود)، روی جدول محاسبه خویش درج میکنیم.

از آنجایی که در گادر این دروس خویش ما نمیتوانیم برای کسب نتیجه، 10 روز یا 20 روز انتظار بکشیم، بنا" هر میز کار لابراتوار را بدو قسمت تقسیم نموده و اینطور فرض میکنیم که نیمه میز کار ما، در یک روز جداگانه و مختلف این تجربه را انجام داده است. از طرف دیگر، در هر یک از همین نیمه میز ها، دوزاژ بر روی 2 سری ، از طرف اشخاص مختلف انجام میگردد.

بدین ترتیب، 16 گروپ مختلف خواهیم داشت و فرض میکنیم که هر یک از این گروپ ها، در یک روز جداگانه تجربه را انجام داده است!

1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
13	14	15	16

هر گروپ، هر یک از محلولات کنترولی (با غلظت بلند، متوسط و پایین) را، همراه با ریجنت رقیق شده (ریجنت دوزاژ پروتیین)، **فقط یکبار** تعیین دوز می نماید.
بدین ترتیب، 16 نتیجه از محول کنترولی بدست خواهد آمد.

c- آماده سازی و تهیه نمونه ها :

هر نمونه را به رقاقت $1/21^{e}$ (یک بر بیست و یکم) رقیق بسازید.
در یک بالون 25 میلی لیتره، محلولات ذیل را علاوه نمایید:

* محلول کنترول	1ml
* سودیوم کلورایدg/l 9	20ml

بالون را خوب بهم بزنید.

d- دوزاژ:

در بین یک تست تیوب، محلولات ذیل را از این قرار علاوه نمایید:

* محلول کنترول با رقاقت 1/21	1ml
* ریجنت دوزاژ کننده	4ml

تیوب را خوب بهم بزنید.
بعد آنرا برای مدت 25 دقیقه، در یک گوشه تاریک لابراتوار، در درجه حرارت محیط نگهدارید.

e- اندازه گیری:

تکاثف نوری (DO) هر یک ار تیوب ها را در طول موج 547 nm، در برابر محلول بلانک تعیین نمایید.
در بین یک تست تیوب، محلولات ذیل را بدین قرار علاوه کنید:

* محلول سودیوم کلوراید 9 g/l	1ml
* ریجنت دوزاژ کننده	4ml

هر قیمت بدست آمده را با دقت یادداشت نمایید.

4- پرداخت به آمار و ارقام:
یک محاسبه استاتیستیک را روی 3 سری از قیمت ها انجام بدهید.
برای هر یک از غلظت های پروتیین:
در یک جدول از نوع جدولی که در ضمیمه این بخش برای تان پیشنهاد شده است، برسانید.
تمامی قیمت های تجربی m1, m2…..m16 را راپور دهید.

قیمت اوسط (Mm) را محاسبه نمایید = اوسط هر 16 قیمت تجربوی (از m 1 الی m 16)
حاصل تفریق یا افتراق فی مابین هر یک از اندازه گیری ها و قیمت های دریافت شده تجربوی تان (m1…m2…m16) ، یعنی Δ را به قرار ذیل محاسبه نمایید :

$$Mm - m1 = \Delta 1$$
$$Mm - m2 = \Delta 2$$
$$Mm - m3 = \Delta 3$$
$$\ldots\ldots\ldots$$
$$Mm - m10 = \Delta 16$$

حالا مربع هر یک از این Δ ها (حاصل تفریق ها) را محاسبه نمایید = Δ^2

$$(\Delta_1)^2 = \Delta_1 \times \Delta_1$$
$$(\Delta_2)^2 = \Delta_2 \times \Delta_2$$
$$\ldots\ldots\ldots$$
$$(\Delta_{16})^2 = \Delta_{10} \times \Delta_{16}$$

حالا مربع تمامی Δ های بدست آمده؛ یعنی $(\Delta)^2$ را مجموعه یا جمع کنید:

$$(\Delta)^2 = \sum (\Delta)^2$$

اختلاف یا واریانس (Variance)؛ یعنی σ^2 را به قرار ذیل محاسبه نمایید:

$$\sigma^2 = \sum (\Delta)^2 / n - 1$$
$$(n = 16)$$

انحراف استاندارد یا ایکارت تیپ (Ecart Type = E.T) = انحراف استاندارد، σ) را به قرار ذیل محاسبه کنید:

$$E.T = \sqrt{\frac{\Sigma(\Delta)^2}{n-1}}$$

حالا ضریب اختلاف (C.V.) را بر حسب فیصد (%)، به قرار ذیل حساب نمایید:

$$C.V\ \% = \frac{E.T.}{Mm} \times 100$$

حالا:
Mm + 1E.T و Mm + 2ET
و Mm – 1E .T و Mm – 2ET را هم محاسبه کنید.

5- مثال محاسبه:
(برای محلوللات پروتیین با غلظت 70 g/l):

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-,)^2=\Delta^2$
1	70,9	-0,0313	0,00098
2	72	-1,1312	1,27973
3	73	-2,1312	4,54223
4	74	-3,1312	9,80473
5	71	-0,1312	0,01723
6	72	-1,1312	1,27973
7	72	-1,1312	1,27973
8	72	-1,1312	1,27973
9	70	0,8688	0,75473
10	71	-0,1312	0,01723
11	70	0,8688	0,75473
12	68	2,8688	8,22973
13	69	1,8688	3,49223
14	69	1,8688	3,49223
15	70	0,8688	0,75473
16	70	0,8688	0,75473

Total	1133,9		37,73438
Moyenne	70,8688		
Variance			2,51563
E,T			1,58607
C V %			2,24

Mm-2ET			67,6966
Mm-1ET			69,2827
Mm+1ET			72,4548
Mm+2ET			74,0409

جعبه ریجنت تست شده ما، بطور اوسط برای یک غلظت 70,9 g/l پروتیین ها ، یک ایکار تیپ 1,6 g/l را ارایه میدهد.

6- تفسیر نتایج:

ضریب اختلاف، متود اجرأییوی را دقیق بر آورد و ارزیابی می نماید. هر قدر که این ضریب کوچکتر باشد، به همان تناسب متود ما دقیق تر خواهد بود.

ارزیابی ، بر آورد و ارزش ضریب اختلاف، میتواند بر حسب دقت جستجو شده ما، بسیار متفاوت دریافت گردد. در بیولوژی، این ارزش با تجربه و یا انالیز ما و همچنان با غلظت ماده ای که در مایعات بیولوژیک جستجو میشود، در ارتباط میباشد.

بطور عموم، موارد ذیل را قبول داریم:

- که یک CV% < 7% بیانگر یک متود خوب است.
- که یک CV% < 5% بیانگر یک متود بسیار خوب است.
- که یکCV% < 2% بیانگر یک متود عالی است.

در صورتیکه بخواهیم دقت بیشتر از این داشته باشیم، سفارش و توصیه میگردد تا از جداولی که قیمت های قابل قبولی را برای بسیاری از پارامتر های بیوشیمی بدست میدهند، استفاده نماییم.

یاد داشت:

در برخی از واقعات خاص، به ویژه وقتی که:

- دوزاژ ماده بسیار مشکل بوده باشد (مثلا": تعامل بیار حسحس نباشد، ماده ای که دوزاژ میگردد، بسیار شکنن بوده و زود از بین برود و ثبات نداشته باشد)،

- مقدار و سویه ماده ای دوزاژ میگردد، بسیار کم و ناچیز بوده باشد،

که این، حالات معمولا" در زمان دوزاژ هورمون ها، ادویه جات، ویتامین ها، برخی از متابولیت ها و یا مواد پیشقدم شان، اتفاق افتاده و به نظر میرسد، در آنصورت CV% قابل قبول میتواند بسیار بلند تر آنچه دریافت گردد که قبلا" تذکار یافتند.

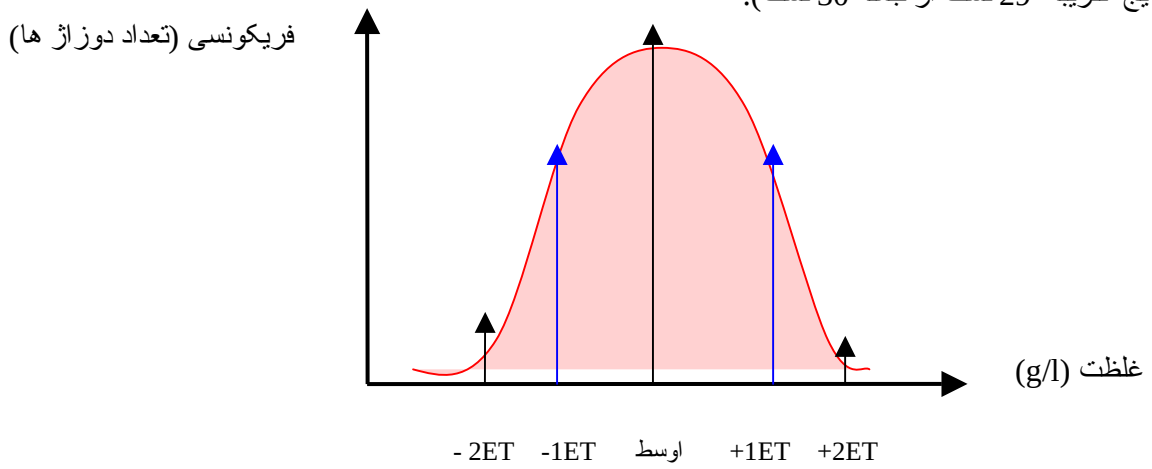
نظر به واقعه، ممکن است یک CV% الی 10% و یا بیشتر از آنرا هم قبول نموده و بپذیریم.

حالا CV های تجربی را با CV های اعلان شده از طرف کمپانی مقایسه نمایید. CV هایی که از طرف فابریکه اعلان میشوند، معمولا" در رگلام داخل قطی یا جعبه درج میباشند. در صورتیکه اعلان نشده باشند، باید خود آنرا از کمپانی تهیه کننده ریجنت درخواست نماییم که او هم مجبور خواهد بود تا آنرا در اختیار شما قرار بدهد.

حدود و قلمرو قابل قبول:

ما ثابت ساختیم که پس از 30 بار دوزاژ نمودن، تقسیمات و توزیع قیمت های هر دوزاژ، بطور سیستیماتیک در محور قیمت اوسط دوزاژ قرار میگیرد. بنا" گفته میشود که تقسیم و توزیع قیمت های نتایج ما در قلمرو Gauss قرار دارد (یعنی Gaussienne) است.

ضمنا" نشان میدهیم که از جمله این 30 قیمت نتایج، 96% شان در زون مربوط به قیمت های اوسط + 2ET و قیمت اوسط - 2ET (Mm +2ET, Mm – 2ET) (که در شیمای ذیل برنگ سرخ نشان داده شده اند) قرار دارند (یعنی نتایج تقریبا" 29 تست از جمله 30 تست).



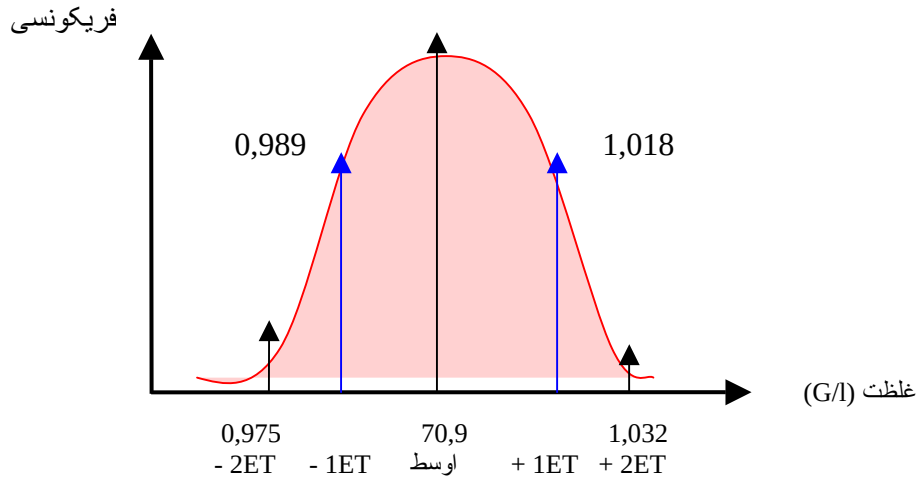
ملاحظات:

در بیولوژی، این محدوده ها یا قلمرو ها (قیمت اوسط + 2 ایکار تیپ و قیمت اوسط – 2 ایکار تیپ)، از طرف تمامی بیولوژیست ها، منحیث قیمت قابل قبول شاخته شده و تلقی میگردند.

یک موضوع را باید به خاطر داشت و آن اینکه، دلیل هر چه باشد، برای کنترول قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج (Reproducibility)، نباید کمتر از 10 تست انجام گردد! (یعنی تست کنترول قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج، نباید یک موعد کمتر از 10 روز را در بر بگیرد؛ به عباره دیگر، باید لااقل روزانه یک تست، برای 10 روز متواتر اجرأ نمود!)

در مثال ما، در صورتیکه Mm +/- 2ET (96%) دقت، صحت و اطمینان) را منحیث قلمرو و محدوده اساس قرار داده ایم، دراینصورت 96% نتایج دوزاژ های ما، که روی محلول پروتیین دارای غلظت 70 g/l انجام گردیده اند، در بین غلظت های 67,7 g/l و 74 g/l واقع خواهند شد.

CV% در اینصورت 2, 24 % خواهد بود که یک نتیجه بسیار خوب تلقی میگردد.



در این شکل، CV به مراتب بزرگ تر میباشد که دلیل آن میتواند موجودیت کدام مشکل در آله (ثبات کولوریمتری و یا ثبات اسپکتروفوتومتر)، وسایل (از قبیل پیپت، ظرف کوچک اسپتروفوتومتر یا کیووت) بوده و یا هم اینکه ممکن است نقصی در کار تکنیشن وجود داشته است (مثلا": پیپتاژ کردن غلط، مطالعه غلط و اشتباه آمیز نتایج، اشتباهات محاسباتی و غیره .....)

7- نتیجه گیری از تست انجام شده:
(در مثال پیشنهاد شده بالا)

معاینه CV%، در غلظت 70 g/l ، بیانگر آنست که ، جعبه ریجنت ما یک جعبه دارای کیفیت عالی میباشد.
در غلظت 70 g/l، جعبه ریجنت پروتیین با توقعات فعلی ما مطابقت داشته و از دقت عمل مطابق به آنچه که روی قطی اعلان شده است، برخوردار میباشد.

***

ترجمه تحریری : داکتر شاه عبداللطیف شبدیز دلیری
تاریخ ترجمه: 4 اپریل 2005

مثال نتایج دریافت شده در جریان تدریس

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
	0,114	-0,0036	0,00001	0,190	0,0005	0,00000	0,248	0,027	0,001
2	0,111	-0,0006	0,00000	0,190	0,0005	0,00000	0,249	0,026	0,00070
3	0,111	-0,0006	0,00000	0,188	0,0025	0,00001	0,246	0,029	0,00087
4	0,112	-0,0016	0,00000	0,189	0,0015	0,00000	0,249	0,026	0,00070
5	0,113	-0,0026	0,00001	0,194	-0,0035	0,00001	0,295	-0,020	0,00038
6	0,111	-0,0006	0,00000	0,195	-0,0045	0,00002	0,291	-0,016	0,00024
7	0,111	-0,0006	0,00000	0,194	-0,0035	0,00001	0,290	-0,015	0,00021
8	0,114	-0,0036	0,00001	0,197	-0,0065	0,00004	0,293	-0,018	0,00031
9	0,109	0,0014	0,00000	0,190	0,0005	0,00000	0,286	-0,011	0,00011
10	0,111	-0,0006	0,00000	0,185	0,0055	0,00003	0,282	-0,007	0,00004
11	0,108	0,0024	0,00001	0,188	0,0025	0,00001	0,288	-0,013	0,00016
12	0,101	0,0094	0,00009	0,186	0,0045	0,00002	0,286	-0,011	0,00011
13	0,109	0,0014	0,00000	0,192	-0,0015	0,00000	0,271	0,004	0,00002
14	0,111	-0,0006	0,00000	0,194	-0,0035	0,00001	0,275	0,000	0,00000
15	0,110	0,0004	0,00000	0,191	-0,0005	0,00000	0,280	-0,005	0,00002
16	0,111	-0,0006	0,00000	0,185	0,0055	0,00003	0,278	-0,003	0,00001
Total	1,767		0,00014	3,048		0,00020	4,407		0,00463
Moyenne	0,11044	Variance	0,00001	0,19050		0,00001	0,2754		0,00031
		E,T	0,0030			0,0036			0,0176
		C V %	2,73			1,91			6,38

M-2ET	0,1044	0,18323	0,240
M-1ET	0,1074	0,18687	0,258
M+1ET	0,1134	0,19413	0,293
M+2ET	0,1165	0,19777	0,311

Reproducibility مطالعه

پارامتر:

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1				1				1			
2				2				2			
3				3				3			
4				4				4			
5				5				5			
6				6				6			
7				7				7			
8				8				8			
9				9				9			
10				10				10			
11				11				11			
12				12				12			
13				13				13			
14				14				14			
15				15				15			
16				16				16			
Total				Total				Total			
Moyenne				Moyenne				Moyenne			
Variance				Variance				Variance			
E,T				E,T				E,T			
C V %				C V %				C V %			

Mm-2ET		Mm-2ET		Mm-2ET	
Mm-1ET		Mm-1ET		Mm-1ET	
Mm+1ET		Mm+1ET		Mm+1ET	
Mm+2ET		Mm+2ET		Mm+2ET	

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

13 اپریل 2005

معیارات انتخاب یک جعبه ریجنت

کنترول اختصاصیت (Specificity) یک جعبه ریجنت

تعیین قدمه اکتشاف و بازیابی بیولوژیکی یک تخنیک

تطبیق بالای دوزاژ پروتیین های خون

Critère du choix d'un coffret réactif

Contrôle des spécificités d'un coffret réactif

Détermination du seuil de détection biologique d'une technique

Application au dosage des protéines sanguines

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1- تعیین قدمه اکتشاف و بازیابی بیولوژیکی یک تخنیک:

1) هدف:

* بررسی و یا برقرار سازی قدمه (آستانه) پایینتر از حد اندازه گیری یک تخنیک،
* بررسی و ارزیابی دقت عمل اعلان شده از طرف کمپانی تولید کننده جعسه ریجنت با اجرای تست های تجربی،
* کسب مهارت در باره شناخت معیارات انتخاب یک جعبه ریجنت،
* نگرشی بر یستم کیفیت کار یک لابراتوار انالیز طبی،

مثال: کنترول محدوده (لیمت) های استفاده از ریجنت خریداری شده از بازار، برای تعیین غلظت های ضعیف پروتیین ها.

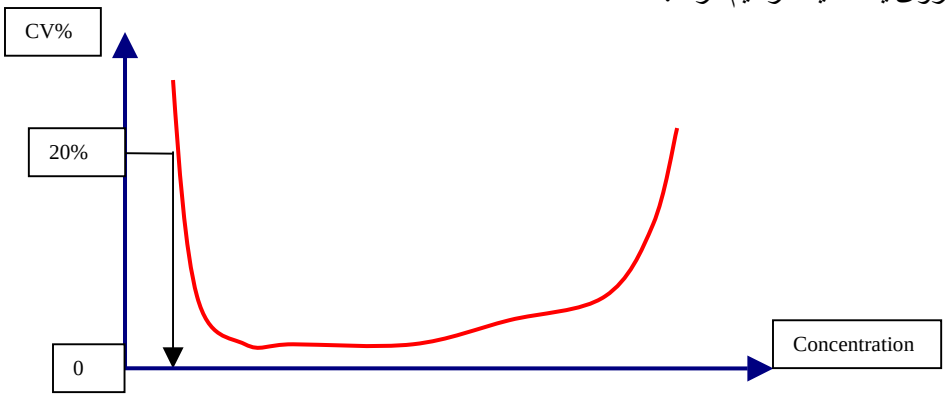
2) پرنسیپ و اصول کاری:

تست ما مبتنی بر تعیین کمترین مقدار یک ماده در خون و یا در یک مایع بیولوژیکی دیگر (مثلا" پروتیین ها در این مثال)، میباشد که دوزاژ و اندازه گیری آن امکان پذیر بوده میتواند.

برای رسیدن بدین منظور، محلولاتی از نمونه خود را تهیه میداریم که درهر کدام، بتدریج، غلظت پروتیین را کم و کمتر ساخته میسازیم قسمی که غلظت پروتیین در این سری از محلولات، به طرف «صفر» تقرب نماید.

در واقع، زمانیکه غلظت ماده در نمونه یا سمپل بطرف صفر تقرب نماید، اندازه گیری آن، به تدریج مشکل تر شده ولی دقت دوزاژ شان، به تدریج افزایش می یابد که این موضوع، با بلند رفتن شدید CV مشخص شده و ترجمه میگردد.

تغییرات و اختلافات CV بر حسب غلظت ماده انالیت (Analyte = ماده ای که میخواهیم آنرا تعیین دوز نماییم) میتواند به قرار ذیل روی یک شیما ترسیم گردد:



بیولوژیست ها، در عمل این امر را می پذیرن که: هر گاه CV به 20% برسد، انازه گیری، دیگر قابل اعتماد نخواهد بود!
غلظت ماده انالیتی که یک CV = 20% را نشان بدهد، به نام «لیمت یا محدوده اکتشاف بیولوژیکی» مسمی میباشد.
جهت تعیین این قیمت، سیرومی را که غلظت آن شناخته شده باشد، انتخاب کرده و رقاقت های مختلف پیشرونده از ان تهیه میداریم (یعنی به تدریج آنرا در تیوب های متعدد، بیشتر و بیشتر رقیق میسازیم)، تا اینکه غلظت ماده انالیت ما به تدریج در این سری از رقاقت ها، به طرف «صفر» تقرب نماید.
ماده انالیت ما باید در هر یک از این رقاقت ها، 3 مراتبه تعیین دوز گردد (با دو بار تعیین دوز نمودن، به اشتباه خواهیم افتاد).
با مطالعه ارقام و قیمت های دریافت شده، محدوده یا لیمت اکتشاف را چنین تعیین میداریم:
یا از طریق محاسبه (به کمک کمپیوتر و سافت وییر های مخصوص)
- یا هم از طریق ترسیم گراف، که این متود، برای کار های عملی روزمره در بیولوژی کافی تلقی میگردد.

یادداشت:
این محدوده، ضمنا" بر حسب پروسیجری که بنام «پروفیل دقت» یاد میگردد، تعیین شده میتواند. این متود مبتنی بر مطالعه کلیه دوزاژ غلظت های بسیار ضعیف و پایینی که در لابراتوار بدان ها مواجه میشویم، میباشد. هر نمونه یا سمپل، ابتدآ تعیین دوز شده و بعد اوسط هردو نتیجه حاصله، همراه با عدم دقت 2ET- و 2ET+ آن، بر حسب CV% شان، روی یک گراف ترسیم میگردد. منحنی زمانی ترسیم شده میتواند که تعداد ارقام یا قیمت های دریاف شده بسیار زیاد باشد (50 الی 60 قیمت). سپس با تحلیل و ارزیابی این منحنی، قیمت محدوده یا لیمت را دریافت میداریم.

3) متودولوژی یا طرز اجرأی تجربه:
a) وسایل مورد نیاز:
- جعبه ریجنت مورد مطالعه و یا تخنیک همراه با ریجنت Gornall
- تست تیوب ها
- کالوریمتر (ویا اسپکتروفوتو متر)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 3 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 2 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 1 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 0.5 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 0.4 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 0.3 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 0.2 g/l)
- محلول پروتیین (مثلا": دارای غلظت 0.1 g/l)

ورقه جمع آوری نتایج (مراجعه شود به ضمیمه این بخش)

b) نتایج تست:
تست ما مبتنی بر منحنی **هر یک از محلولات** پروتیینی، دارای غلظت های شناخته شده میباشد.
هر میز کار لابراتوار دوزاژ یک سری مکمل حاوی 8 محلول پروتیینی با غلظت های شناخته شده را انجام میدهد.

یادداشت:
به دلیل مشکلات لوژستیکی، ما در اینجا، برای هر یک از محلولات پروتیینی، فقط دوزاژ های دو گانه (دوبار دوزاژ نمودن) را اجرأ میداریم. اما باید دانست که در اصل، بایستی دوزاژ های سه گانه و حتی چهار گانه را اجرأ کرد.

سری 1 Série
سری 2 Série

سری 3 Série
سری 4 Série

c) تهیه نمونه ها:
* نمونه ای وجود ندارد؛ زیرا محلولات ما از قبل رقیق ساخته شده اند.
d) دوزاژ:
در یک تست تیوب، محلولات ذیل را بدین قرار علاوه میداریم:
* محلول مورد مطالعه 1ml
* ریجنت برای دوزاژ (ریجنت Gornall) 4ml
حالا تیوب را خوب بهم بزنید.

سپس آنرا برای مدت 25 دقیقه، در یک گوشه تاریک لابراتوار، به همان درجه حرارت محیط نگهدارید.

e) **اندازه گیری:**
تکاثف نوری (DO) هر تیوب را روی طول موج 547nm ، در برابر محلول بلانک از این قرار تعیین نمایید:
در یک تست تیوب محلولات ذیل را از این قرار علاوه دارید:

* محلول سودیوم کلورایید با غلظت 9 g/l	1ml
* محلول ریجنت دوزاژ (gornall)	4ml

هر قیمت دریافت شده را با دقت تمام یادداشت نمایید.

4) **پرداخت به آمار و ارقام:**
هر یک از غلظت های پروتیینی را:
* در یک جدول از نوع جدولی که در ضمیمه این بخش برای تان پیشنهاد شده است، برسانید.
* یک مطالعه استاتیستیک یا احصاییوی را روی هر یک از دوزاژ های دو گانه تان انجام دهید.
* گراف CV تان را، بر حسب قیمت اوسط جواب های دریافت شده دو گانه و یا چنانچه در این درس مثال داده شده است، روی 8 نقطه ترسیم نمایید.

a) پرداخت استاتیستیک یا احصاییوی ارقام دریافت شده تجربی:
تمامی قیمت های تجربی m1 و m2 تان را روی جدولی که نمونه آن در ضمیمه این درس آمده است، درج نمایید.
قیمت اوسط (Mm) را محاسبه نمایید = اوسط هر 2 قیمت تجربوی (m 1 الی m 2)
حاصل تفریق یا افتراق فی مابین هر یک از دو اندازه گیری و قیمت های دریافت شده تجربوی تان (m1 و m2) ، یعنی Δ را به قرار ذیل محاسبه نمایید :

$$Mm - m1 = \Delta 1$$
$$Mm - m2 = \Delta 2$$

حالا مربع هر یک از این Δ ها (حاصل تفریق ها) را محاسبه نمایید = Δ^2

$$(\Delta_1)^2 = \Delta_1 \times \Delta_1$$
$$(\Delta_2)^2 = \Delta_2 \times \Delta_2$$

حالا مربع تمامی Δ های بدست آمده؛ یعنی $(\Delta)^2$ را مجموعه یا جمع کنید:

$$(\Delta)^2 = \sum (\Delta)^2$$

اختلاف یا واریانس (Variance)؛ یعنی σ^2 را به قرار ذیل محاسبه نمایید:

$$\sigma^2 = \sum (\Delta)^2 / n - 1$$
$$(n = 2)$$

انحراف استاندارد یا ایکارت تیپ (Ecart Type = E.T) = انحراف استاندارد، σ) را به قرار ذیل محاسبه کنید:

$$E.T = \sqrt{\frac{\Sigma(\Delta)^2}{n-1}}$$

حالا ضریب اختلاف (C.V.) را بر حسب فیصد (%)، به قرار ذیل حساب نمایید:

$$C.V\ \% = \frac{E.T.}{Mm} \times 100$$

حالا:
$Mm + 1E.T$ و $Mm + 2ET$
و $Mm - 1E .T$ و $Mm - 2ET$ را هم محاسبه کنید.
b) مثال محاسبه:
نتایج بدست آمده در جریان تدریس عملی.

(محلول پروتیینی با غلظت 0.1 g/l)

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-,)^2=\Delta^2$
	0,005	0,0005	0,00000025
	0,006	0;0005	0,00000025
Total	0,0110		0,00000050
Moyenne	0,0055		
Variance			0,00000050
E,T			0,00070711
C V %			12,86
Mm-2ET			0,00408
Mm-1ET			0,00493
Mm+1ET			0,00621
Mm+2ET			0,00691

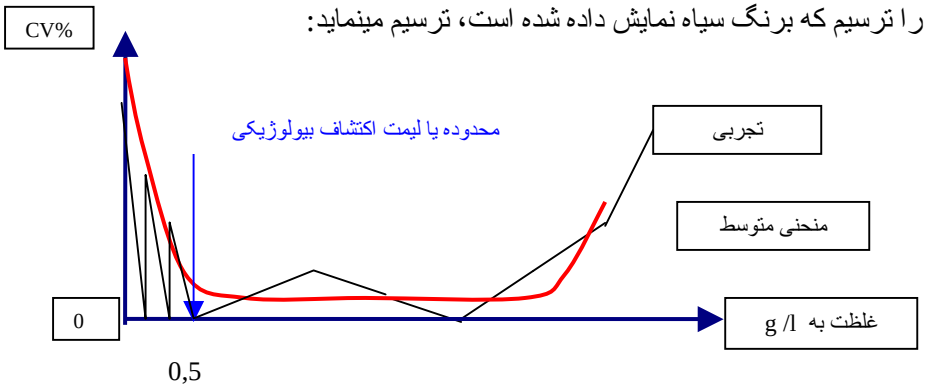
(محلول پروتیینی با غلظت 0.2 g/l)

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-,)^2=\Delta^2$
	0,110	0,0015	0,00000225
	0,113	0,0015	0,00000225
Total	0,223		0,00000450
Moyenne	0,1115		
Variance			0,00000450
E,T			0,00212
C V %			1,90
Mm-2ET			0,10725
Mm-1ET			0,10938
Mm+1ET			0,11362
Mm+2ET			0,11574

جعبه ریجنت تست و آزمایش شده ما بطور اوسط، برای غلظت های 0.1 g.l و 0.2 g/l پروتیین، قیمت های قابل قبول ذیل را ارایه میدارد: CV% 12.86 و غلظت 1,9 g/l

5) معرفی گرافیک:

CV های مختلفی که از روی قیمت های تجربی 8 محلول کنترولی استفاده شده در جریان تجربه ما دریافت شده اند، گراف ذیل را ترسیم که برنگ سیاه نمایش داده شده است، ترسیم مینماید:



b) منحنی متوسط:

منحنی فوق، به ویژه آن منحنی که در جوار عدد «صفر» قرار دارد، معمولا" شکل دندانه اره را داشته و به همین دلیل بسیار مشکل خواهد بود تا آنرا مورد بهره برداری و استفاده قرار داد.

جهت بهتر ساختن این امر، بایستی منحنی متوسط را به شکلی ترسیم نمود که مثلا" منحنی سرخ ترسیم شده است.

برای رسیدن بدین هدف، به طریقه ذیل میتوان عمل نمود:

یا با دست بر اساس تجربه این عمل را انجام میدهیم.

- یا از روی تعیین حدود ابهام هر یک از نقاط دست به این عمل میزنیم که این متود، دقیق تر از اولی میباشد.

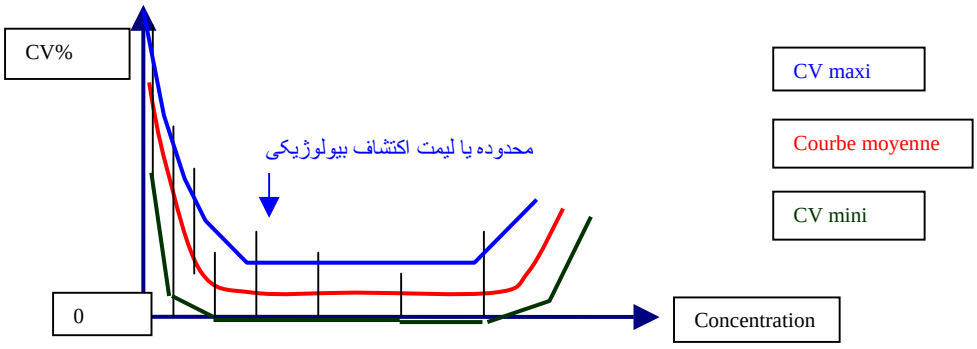
حدود ابهام، با محاسبه ذیل، بر روی هر یک از محلولات مطالعه شده، تعیین میگردد:

$$CV\%\ minimum = CVmin = \frac{E.T}{M+2\ E.T} \quad و \quad CV\%\ maximum = CVmaxi = \frac{E.T}{M-2\ E.T}$$

این قیمت های در یافت شده شده برای%CV، روی گراف نقطه گذاری شده و بعد منحنی های شان ترسیم میگردد. این منحی ها، از یکطرف از نقاط ماکسیموم (نقاط حد اعظم) (برنگ آبی) و از طرف دیگر از نقاط مینیموم (نقاط حد اصغر) (برنگ سبز) ، چنانچه در گراف ذیل به ملاحظه میرسد، عبور مینمایند.

منحنی اوسط (که برنگ سرخ نشان داده شده است)، در بین این دو منحنی اعظمی و اصغری قرار دارد.

مجموع این هر سه گراف، یک «بسته» و یا یک زون وسطی یا میانی را، در بین آنچه که باید برای تمامی قیمت های دوزاژ شده دریافت گردند، تشکیل میدهد.



6) تفسیر نتایج:

انالیز و تحلیل نتایج مختلفه، یک اختلاف بسیار شدید قیمت ها را، در زون 0 الی 0.5g /l نشان میدهد که با افزایش قیمت CV مربوطه شان، مترافق و توأم میباشد، معذالک، به هیچ وجه قیمت CV از 20% تجاوز نمیکند.

از آن به بعد، قیمت های CV، پایین بوده و بسیار ثابت میباشند که این موضوع، نشان میدهد که نتایج تری ما فوق العاده متجانس میباشند.

در غلظت های پایین تر از 0.5 g/l، قیمت های دریافت شده ما غیر قابل کنترول بوده که در علم بیولوژی، مورد استفاده و توجه نمیباشند.

این غلظت با محدوده یا لیمت اکتشاف بیولوژیکی متود ما، مطابقت دارد. در غلظت های پایینتر از 0.50 G/l، نتایج ما غیر دقیق و یا حتی غلط و اشتباه خواهند بود.

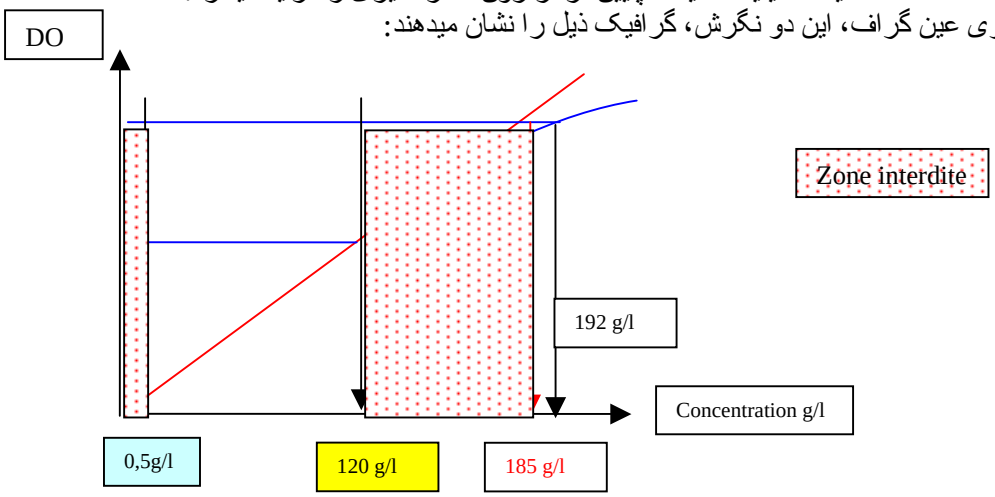
در عمل، قدمه اکتشاف بیولوژیکی بایستی با نتایج تست خطی بودن، نزدیک باشند.

مجموع شان، زون اندازه گیری تخنیکی را تثبیت مینمایند:

خطی بودن، محدوده یا لیمت بالاتر از زون اندازه گیری را بدست میدهد.

قدمه حساسیت انالیتیک، قیمت پایین تر از زون اندازه گیری را ارایه میدارد.

بر روی عین گراف، این دو نگرش، گرافیک ذیل را نشان میدهند:



7) نتیجه گیری از تست اجرأ شده:

محدوده یا لیمت اکتشاف بیولوژیکی متود مطالعه شده، در شرایط و مثال درس ارایه شده ما، عبارت از غلظت 0.50 g/l میباشد. در مجموع، متودی که ما برای دوزاژ پروتیین، مورد مطالعه قراردادیم، در انتروال یا فاصله بین غلظت های 0.5g/l و 120g/l قابل استفاده میباشد. برای تمامی قیمت های کمتر یا پایین تر از 0.5g/l، این متود ما، نتیجه درست ارایه نمیدهد، زیرا در این زون، متود ما دقیق و قابل قبول نخواهد بود.

برای تمامی آنعده از قیمت هایی که بالاتر از 120g/l دریافت گردد، باید دوزاژ خود را، **روی یک سمپل رقیق ساخته شده تازه** دوباره اجرأ نماییم؛ زیرا:

به هیچ وجه نباید وسط تعاملی ملونه خود را مستقیما" رقیق بسازیم !

***

ترجمه تحریری داکتر شبدیز – دلیری

تاریخ ترجمه: 05 اپریل 2005

مثال نتایج دریافت شده در جریان تدریس

قدمه اکتشاف بیولوژیکی

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1	0,004	0,0005	0,00000025		0,008	0,0005	0,00000025	1	0,016	0	0
2	0,005	-0,0005	0,00000025		0,009	-0,0005	2,5E-07	2	0,016	0	0
Total	0,0090		0,00000050	Total	0,0170		0,00000050	Total	0,0320		0,00000000
Moyenne	0,0045			Moyenne	0,0085			Moyenne	0,016		
Variance			0,00000050	Variance			0,00000050	Variance			0,00000000
E,T			0,00070711	E,T			0,00070711	E,T			0
C V %			15,71	C V %			8,319	C V %			0,00
Mm-2ET			0,00308579	Mm-2ET			0,00708579	Mm-2ET			0,016
Mm-1ET			0,00379289	Mm-1ET			0,00779289	Mm-1ET			0,016
Mm+1ET			0,00520711	Mm+1ET			0,00920711	Mm+1ET			0,01600000
Mm+2ET			0,00591421	Mm+2ET			0,00991421	Mm+2ET			0,016
		CV min	11,96			CV min	7,13			CV min	0,00
		CV max	22,91			CV max	9,98			CVmax	0,00

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
	0,020	0,0015	2,25E-06		0,029	-0,0005	0,00000025		0,055	0	0
	0,023	-0,0015	0,00000225		0,028	0,0005	0,00000025		0,055	0	0
Total	0,0430		0,00000450	Total	0,0570		0,00000050	Total	0,1100		0,00000000
Moyenne	0,0215			Moyenne	0,0285			Moyenne	0,055		
Variance			0,00000450	Variance			0,00000050	Variance			0,00000000
E,T			0,00212132	E,T			0,00070711	E,T			0,00000000
C V %			9,87	C V %			2,48	C V %			0,00
Mm-2ET			0,01725736	Mm-2ET			0,02708579	Mm-2ET			0,05500000
Mm-1ET			0,01937868	Mm-1ET			0,02779289	Mm-1ET			0,05500000
Mm+1ET			0,02362132	Mm+1ET			0,02920711	Mm+1ET			0,05500000

Mm+2ET			0,02574264	Mm+2ET			0,02991421	Mm+2ET			0,05500000
		CV min	8,24			CV min	2,36			CV min	0,00
		CVmax	12,29			CVmax	2,61			CVmax	0,00

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1	0,112	0,0005	0,00000025		0,170	-0,0015	0,00000225			0	0
2	0,113	-0,0005	0,00000025		0,167	0,0015	0,00000225			0	0
Total	0,2250		0,00000050	Total	0,3370		0,00000450	Total			0,00000000
Moyenne	0,1125			Moyenne	0,1685			Moyenne			
Variance			0,00000050	Variance			0,00000450	Variance			0,00000000
E,T			0,00070711	E,T			0,00212132	E,T			0
C V %			0,63	C V %			1,26	C V %			#DIV/0!
Mm-2ET			0,11108579	Mm-2ET			0,16425736	Mm-2ET			0
Mm-1ET			0,11179289	Mm-1ET			0,16637868	Mm-1ET			0
Mm+1ET			0,11320711	Mm+1ET			0,17062132	Mm+1ET			0,00000000
Mm+2ET			0,11391421	Mm+2ET			0,17274264	Mm+2ET			0
		CV min	0,62			CV min	1,23			CV min	#DIV/0!
		CV max	0,64			CV max	1,29			CV max	#DIV/0!

مطالعه قدمه (آستانه) اکتشاف بیولوژیکی

پارامتر:

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1				1				1			
2				2				2			
Variance				Variance				Variance			
E,T				E,T				E,T			
C V %				C V %				C V %			

Mm-2ET		Mm-2ET		Mm-2ET	
Mm-1ET		Mm-1ET		Mm-1ET	
Mm+1ET		Mm+1ET		Mm+1ET	
Mm+2ET		Mm+2ET		Mm+2ET	

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1				1				1			
2				2				2			
Variance				Variance				Variance			
E,T				E,T				E,T			
C V %				C V %				C V %			

Mm-2ET		Mm-2ET		Mm-2ET	
Mm-1ET		Mm-1ET		Mm-1ET	
Mm+1ET		Mm+1ET		Mm+1ET	
Mm+2ET		Mm+2ET		Mm+2ET	

مطالعه قدمه (آستانه) اکتشاف بیولوژیکی (ادامه)

پارامتر:

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1				1				1			
2				2				2			
Variance				Variance				Variance			
E,T				E,T				E,T			
C V %				C V %				C V %			

Mm-2ET		Mm-2ET		Mm-2ET	
Mm-1ET		Mm-1ET		Mm-1ET	
Mm+1ET		Mm+1ET		Mm+1ET	
Mm+2ET		Mm+2ET		Mm+2ET	

N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$	N°	Mesures en g/l	Différence (Mm-m=Δ)	$(Mm-m)^2=\Delta^2$
1				1				1			
2				2				2			
Variance				Variance				Variance			
E,T				E,T				E,T			
C V %				C V %				C V %			

Mm-2ET		Mm-2ET		Mm-2ET	
Mm-1ET		Mm-1ET		Mm-1ET	
Mm+1ET		Mm+1ET		Mm+1ET	
Mm+2ET		Mm+2ET		Mm+2ET	

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

14 اپریل 2005

مبانی کوالیتی کنترول داخلی

Notion de contrôle interne de qualité

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1) مبانی کنترول داخلی کیفیت معاینات (کوالیتی کنترول در داخل لابراتوار):

برای اینکه، لابراتوار ها، مخصوصا" لابراتوار های بیولوژی طبی، بتوانند ادعا داشته باشند که لابراتواردقیقی بوده و دقت عمل دارند، بایستی یک سیستم کوالیتی کنترول را در لابراتوار خود مستقر ساخته و داشته باشند.
سیستم کوالیتی یک لابراتوار بیولوژی طبی میتواند مجموعه ای باشد از کار های عملی که جهت کسب اطمینان از کوالیتی و کیفیت معاینات طبی، در یک لابراتوار انجام میپذیرد.
کوالیتی کنترول اجرأ شده در یک لابراتوار انالیز طبی، اصولا" پروسیجر های عملی ای را، در مورد کیفیت کار یکی از عناصر ذیل، مورد ارزیابی و کنترول قرار میدهد:

- دقت کار کرد وسایل و تجهیزات لابراتواری،
- دقت عمل تخنیک های دوزاژ نمودن،
- دقت اجرأی معاینات از طرف پروسونل.

نظر به اینکه این کنترول در داخل خود لابراتوار اجرأ میگردد و یا در یک ارگانیزم خارجی - چه رسمی و چه غیر رسمی - دیگر، کوالیتی کنترول، اصطلاحا" اسم «کوالیتی کنترول داخلی یا درونی = CIQ» و «کوالیتی کنترول کنترول بین الابراتواری (از یک لابراتوار به لابراتوار دیگر)، یا کوالیتی کنترول خارجی یا بیرونی = CEQ» را بخود اختیار میکند.

2) کوالیتی کنترول داخلی یا درونی:

این نوع کوالیتی کنترول، از طرف خود لابراتوار تحقق می پذیرد. این کوالیتی کنترول در بر گیرنده تمامی پرسونل لابراتوار بوده و باید کلیه پرسونل همان لابراتوار در آن شرکت داشته باشند. ضمنا" حتمی است تا این نوع کوالیتی کنترول با تحقق دهی کوالیتی کنترول های خارجی یا بیرونی تعقیب گردیده و دنبال شود.
در این درس ما از کنترول کیفیت پرسونل صحبت نمی کنیم؛ زیرا ارتقأی سویه عمل و کار کرد پرسونل چیزسیت که بایستی اساسا" از طرف شخص مسوؤل لابراتوار، با ارایه ترینینگ ها و تعلیمات مستمر تدمین گردد.
بر عکس میخواهیم، اهمیت کوالیتی کنترول داخلی را، در اینجا، روی تعیین دقت عمل وسایل و تعیین دقت عمل تخنیک و متود اجرأییوی، با ارایه چند مثال عینی و ملموس واضح سازیم؛ زیرا این عمل، این اطمینان و این باور را تقویت بخشیده و زنده میسازد که داکتر و مریض، همیشه به لابراتوار وابستگی دارند.

a- تطبیق و اجرأی کوالیتی کنترول درونی، روی تخنیک دوزاژ:

این اقدام، دنباله منطقی انچیزیست که قبلا" بار ها از آن متذکر شده ایم. در واقع، ما تا حال، دقت های عملی را که در مورد یک ریجنت، از طرف کمپانی تذکر رفته و اعلان شده اند، و ما آنرا از بازار تجارت خرید نموده ایم، مورد کنترول و ارزیابی قرار دادیم (از طریق تعیین قابلیت تکرار دوباره عین نتایج، قابلیت ایجاد دوباره عین نتایج و دریافت خطی بودن متود...)
حالا میخواهیم بدانیم و ارزیابی نماییم که آیا، در در صورت استفاده معمول از یک تخنیک کاری یا یک متود اجراییوی معمول، در لابراتوار خویش، با گذشت زمان، باز هم مثل همیشه، نتایج دلخواه و مطلوبی را که انتظار داریم و میتوانیم بدان اعتماد و باور داشته باشیم، بدست خواهیم آورد و یا خیر؟

برای دریافت پاسخ بدین سوال، بایستی بدان چه که مراجعه کرده، بدان عمل می نماییم، و به راهی که در ان روان هستیم، اعتماد و باور داشته و از آن، علایم و نشانه های مثبت و قابل اطمینانی در دست داشته باشیم!

در بیولوژی، برای دریافت هر پارامتری که باشد، این علامه اطمینانیه اساسا" همانا محلول و یا سیروم کنترول همان ماده ای است که میخواهیم آنرا تعیین دوز نماییم. این محلول کنترول، محلولی است که غلظت دقیق و همچنان محدوده

های جوابیه قابل قبول آنرا از قبل میدانیم و آنرا همه روزه، روی تمامی سری های مریضان خویش، در شرایط معمول کاری مورد استفاده قرار میدهیم.
سپس میبینیم که آیا نتایج بدست آمده توسط این کنترول، دقیقا" در زون قابل قبولی که از طرف کمپانی اعلان شده اند، قرار دارد و یا خیر؟
در عمل، به منظور کنترول تخنیک کار در عرصه اندازه گیری قابل مشاهداتی که اغلب در نزد مریضان اجرأ میگردن، از انواع مختلف و متعدد متود های کنترولی استفاده به عمل می آید. بدین ترتیب میتوان کنترول خویش را روی غلظت های ضعیف، متوسط یا نورمال و قوی نمونه ها انجام داده و تحقق ببخشیم (سیروم کنترولی با غلظت ضعیف، متوسط یا نورمال و قوی). برای تعیین بسیاری از پارامتر ها، سیروم کنترولی متوسط با غلظت متوسط بیشترینه با قیمت ها یا نتایج بدست آمده از معایناتی که در نزد اشخاص سالم انجام میدهیم، همخوانی دارد.

یاداشت ها:
بعضی از لابراتوار ها از سیروم های کنترولی تایتر شده استفاده نه نموده، بلکه بر عکس، سیروم های کنترولی غیر تیتر شده (سیرومی که غلظت آن از قبل مشخص نشده است) را مورد استفاده قرار میدهند. بنا" این لابراتوار ها، قبل از اینکه از این نوع سیروم ها استفاده نمایند، خود بایستی غلظت ها و محدوده ها یا لیمت های قابل قبول سیروم های غیر تیتر شده شان را، از طریق اجرأی تست Reproducibility، که در جریان یک موعد و مدت زمان کافی و طولانی (20 الی 30 روز) اجرأ شده باشد، تعیین نموده و مشخص گردانند!

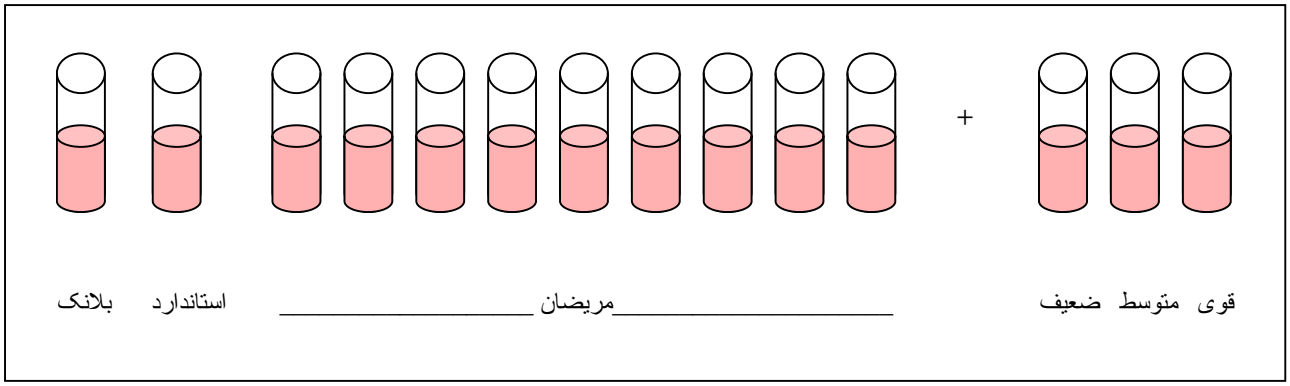
برای ایجاد تسهیلات در کار این کنترول، اکیدا" توصیه میگردد که از سیروم های کنترولی ای که در بازار تجارت قابل دریافت هستند، استفاده نمود. این مواد یا محلولات کنترولی، در واقع، امتیازات ذیل را میداشته باشند:
این سیروم های کنترولی، مخصوصا" غلظت هدف و محدود های قابل قبول نتایج شان، از طرف کمپانی تضمین شده میباشد.

- ثابت و پایدار میباشند و البته این چیزیست که نگهداری شان را آسان تر و ساده تر میسازد (این نوع سیروم های کنترولی در ترکیب شان دارای مواد محافظتی مختلف و انزایم ها Antiprotease از نوع Inhiprol, Azide de sodium 0.1% و غیره ... میباشند).

b- اجرأی عملی یک کوالیتی کنترول داخلی:
مثال در مورد کلوگوز خون:
<u>وسایل مورد ضرورت:</u>
در این جا ما از 3 سیروم کنترولی ای که از بازار خریداری شده و کمپانی خصوصیات آنرا طور ذیل اعلان نموده است، استفاده میکنیم:

غلظت قوی یا بالا	غلظت متوسط یا نورمال	غلظت ضعیف یا پایین	گلوکوز
2,59 (2,44-2,74)	1,03 (0.95-1.11)	0,65 (0,59-0,71)	غلظت ه g /l محدوده ها یا لیمت قابل قبول (+/- 2ET)

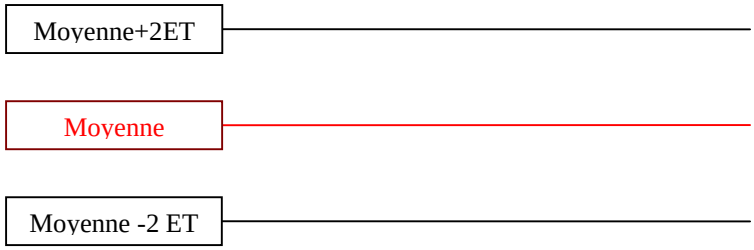
<u>پروسیجر کاری (طرز العمل):</u>
<u>مرحله 1: تعیین مرز های قابل قبول متود اجراییوی کار:</u>
کافیست تا در یک سری از انالیز ها یا معاینات مریضان، به غلظت های قوی، متوسط و ضعیف، طی مدت 30 یوم برسیم.
هر یک از سری های ما، مثلا" دارای غلظت های ذیل میباشند:



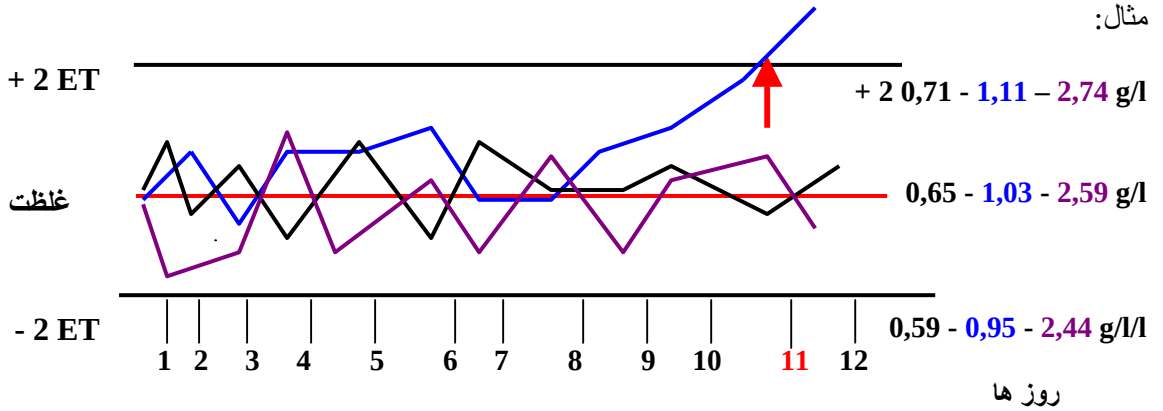
اجرأی دوزاژ هایمربوطه روی تمامی تیوب های سری.
محلول بلانک، جهت تنظیم و عیار سازی کولوریمتر ویا اسپکتروفوتومتر، روی صفر نوری بکار میرود.

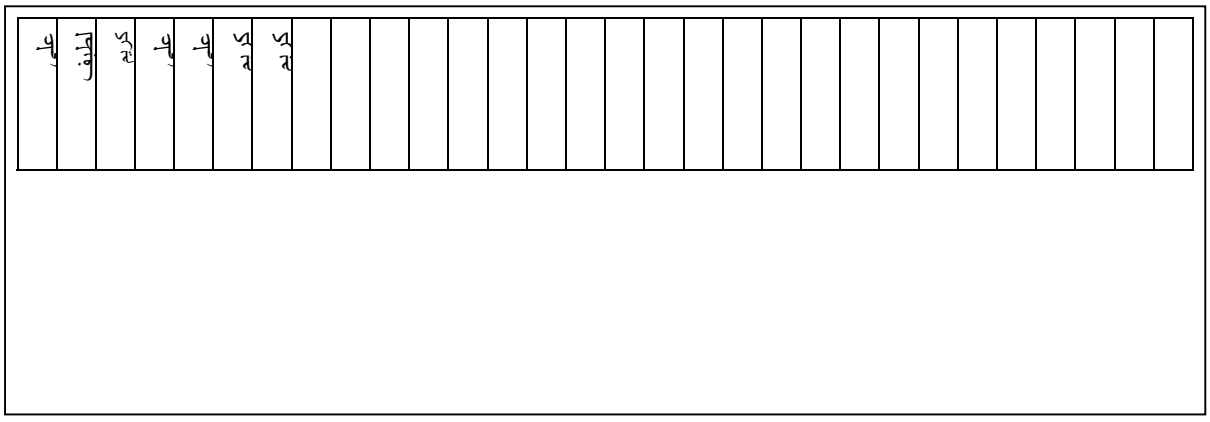
محلول استاندارد برای محاسبه غلظت گلوکوزی که در هر نمونه یا سمپل ما وجود دارد، استفاده میگردد.
کنترول های (غلظت بلند، متوسط و پایین) و غلظت استاندارد، جهت ارزیابی ثبات مجموع این محلولات، به کمک یک دیاگرام از نوع Levey-Jennings بکار میرود.

در ختم پریود یا موعد 30 روز:
تمامی نتایج مربوط به محلولات کنترولی مختلفه (غلظت بلند، متوسط و پایین) و هچنان غلظت محلول استاندارد تان را جمع آوری و یاد داشت نمایید. سپس برای هر کدام از آن ها، قیمت های تجربوی را احصاییه گرفته و قیمت اوسط و ایکار تیپ (ET) را دریافت نمایید.
آنگاه روی ورقه گراف میلی متر شده، قیمت های اوسط، اوسط جمع 2 ایکار تیپ (Moyenne + 2ET) و اوسط منفی 2 ایکار تیپ (Moyenne – 2 ET) را ترسیم نمایید؛ مثلا":



مرحله دوم: ساختار دیاگرام Levey-Jennings:
تعقیب کار ساده است. فقط کافیست اگر همه روزه قیمت های کنترولی (غلظت های قوی، متوسط و ضعیف) را و قیمت محلول استاندارد را که در هر یک از سری ها قرار دارد، روی دیاگرام Levey-Jennings ترسیم نماییم.
ضمنا" روی این دیاگرام، بایستی تمامی انومالی های کار کرد، تغییرات Lot number، مداخلات و دست کاری روی آلات و گلیه آنچه را که ما را در راه رسیدن به یک فهم و درک درست از انحراف نتایج کمک میکند، هم یادداشت نمود.
مثال:





مرحله سوم: تعقیب کیفیت یا کوالیتی تخنیک : تفسیر
تمامی محلولات کنترولی (باغلظت های بلند، متوسط و پایین)، الی روز یازدهم دارای قیمت هایی میباشند که در مرز های قابل قبولی که از طرف کمپانی اعلان شده است، واقع شده اند.

در روز یازدهم، قیمت محلول کنترول دارای غلظت متوسط، از زون قابل قبول خارج شده است، در حالیکه محلولات کنترولی با غلظت های ضعیف و قوی، در زون و محدوده قابل قبول همچنان باقی هستند. این انومالی بیانگر آنست که قیمت همین محلول کنترولی، مرتبا" در روز های قبلی و گذشته، رو به افزایش بوده است.

مرحله سوم: نتیجه گیری و اتخاذ تصمیم:

ثابت میشود که روی محلول با غلظت متوسط، یک غلطی یا انومالی رخ نموده است (آلوده شده گی محلول، غلظت غیر دقیق و اشتباه.....)

در این حالت نباید که نتیجه معاینه مریض برای داکتر راپور داده شود، مگر اینکه قبلا" تخنیک خود را با یک بوتل تازه محلول کنترولی با غلیت متوسط، دوباره چک نکرده باشیم.

در صورتیکه باز هم انحراف یا اشتباه دوام نموده و رفع نگردد، بایستی تخنیک خود را نکته به نکته مورد ارزیابی قرار دهیم تا منشأی اشتباه را دریافت نماییم. باید دانست که دوزاژ های گلیسیمی که در جریان این چک و ارزیابی بدست می آیند، هم نباید گزارش داده شوند. تا زمانی که انومالی مرفوع نشده باشد، باید از تخنیک های دیگری غرض تعیین دوز همان پارامتر اشتباه، استفاده گردد.

بنا" کوالیتی کنترول داخلی اجازه میدهد تا از انومالی هایی که روی پارامتر های تحت مطالعه ما بروز مینمایند، مطلع گردیم. به همین دلیل است که بایستی این کنترول را، همیشه و روی تمامی معایناتی که در لابراتوار شما اجرأ میگردند، انجام بدهید. فقط همین ارزش است که لابراتوار شما را یک لابراتور مطمین و دقیق شهرت میبخشد!

یادآوری و ملاحظات:

به منظور اطمینان از عملی شدن و تطبیق اهتمامات اتخاذ شده برای حصول کیفیت کاری، لازم است تا تمامی اسناد «کوالیتی کنترول» شما به امضأی شف سرویس رسیده و بعدا" لااقل برای مدت 5 سال آرشیف گردند.

یک ورقه مودل، برای همین منظور در اخیر این بخش، ضم گردیده است.

(3 کوالیتی کنترول خارجی یا بیرونی لابراتوار:

کوالیتی کنترول خارجی یا بیرونی لابراتوار، بر عکس کنترول داخلی، از طرف یک ارگانیسم (رسمی و یا غیر رسمی) خارج از لابراتواری که در آن کار میکنیم، تنظیم ، سازماندهی و اجرأ میگردد.

هدف از این کنترول، هم آهنگ سازی تخنیک ها و نتایج، بدین منظور است تا بدانیم که آیا عین نمونه خونف در تمامی لابراتوار هایی که از عین تخنیک معاینه استفاده میکنندف عین نتیجه را بدست میدهد و یا خیر؟

این امر، تأکید بر این دارد تا یک سمپل مشابه که غلظت پارامتر های مختلفه آن برای خود لابراتوار فرستنده کاملا" شناخته شده بوده ولی برای لابراتوار های دریافت کننده، ناشناس می باشد، برای تمامی لابراتوار های مشترک در این چینل، جهت کنترول فرستاده شود. این موضوع در فرانسه، جهت کوالیتی کنترول ملی، یک امر حتمی و اجباری میباشد.

پس از اجرای انالیز یا معاینه، کلیه نتایج، همراه با طرز اجرأ و خصوصیات تخنیکی که مورد استفاده قرار گرفته است، برای ارگانیسمی که این کنترول را اداره نموده و مورد مطالعه و تفسیر قرار میدهد، فرستاده میشود.

پس از مطالعه احصاییوی نتایج، سندی برای لابراتوار اولی (فرستنده) ارسال میگردد که در آن از کیفیت و کوالیتی کاری و دقت عمل کردش، برایش معلومات ارایه شده است و در صورت وجود اشتباهات از وی خواسته میشود تا در رفع و اصلاح این اشتباهاتش اقدامات لازم را به عمل آورد.

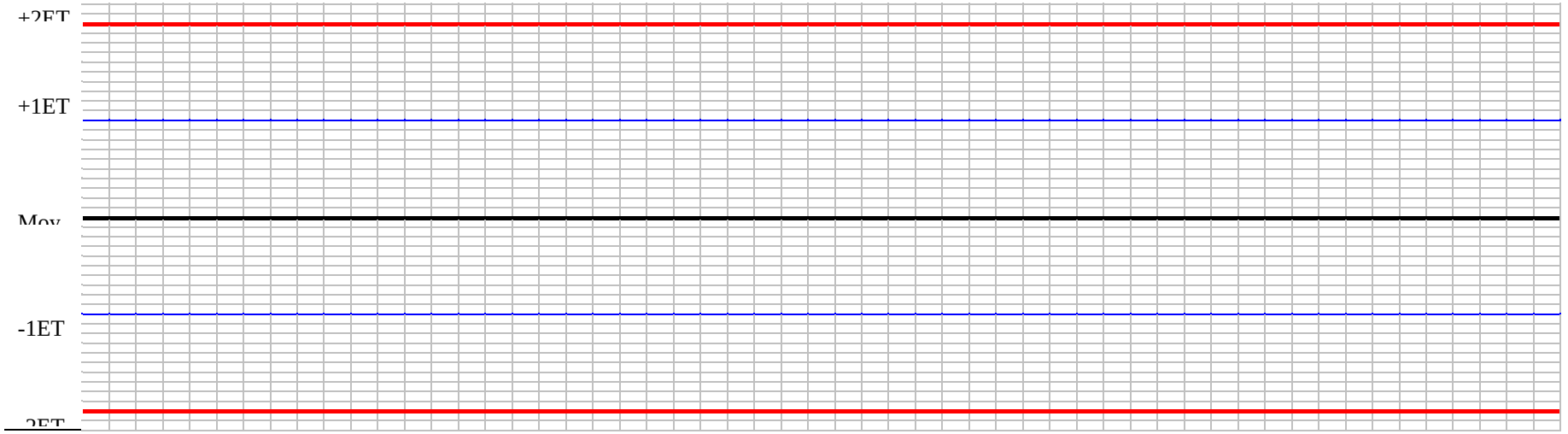
***

ترجمه تحریری داکتر شاه عبداللطیف شبدیز - دلیری (پروژه صحی سفارت فرانسه)

تاریخ ترجمه: 19 می 2005

کنترول کیفیت

پارامتر: **سال:**



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31

Observations : (incidents susceptibles d’affecter les dosages ou les réactifs, numéros de lots des réactifs).

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

16 اپریل 2005

معیارات انتخاب یک جعبه ریجنت
کنترول اختصاصیت (Specificity) یک جعبه ریجنت

کوالیتی کنترول درونی یا داخلی لابراتوار
تهیه و استفاده از دیاگرام Levey-Jennings

Critère du choix d'un coffret réactif
Contrôle des spécificités d'un coffret réactif

Contrôle interne de qualité
Construction et utilisation du diagramme de Levey-Jennings

Pr. JP. Yvert – Pr. C. Collombel

1) هدف و مقصود:

بطور روزمره بایستی ثبات یک متود دزاژی را در لابراتوار مورد استفاده قرار میگیرد، مورد مراقبت و ارزیابی قرار داد.

- تطبیق و بکار گیری اندیکاتور ها یا معرف هایی که بتوانند به اسرع وقت نکته و محل اشتباه و عدم کار آرایی را مشخص سازد.
- بهبود بخشی کوالیتی نتایج ارایه شده از طرف لابراتوار.
- بلند بردن «مقبولیت» لابراتوار.

2) اصول و پرنسیپ:

هدف از اجرأی این عملیه به کمک یک دیاگرام مخصوص برای دوزاژ های مطالعه شده، ارزیابی این مطلب است که بدانیم، آیا قیمت های سیروم های کنترولی ما (با غلظت های قوی، غلظت های متوسط یا نورمال و غلظت های ضعیف)، که همه روزه در هر یک از سری های دوزاژ، تعیین دوز شده اند، در داخل مرز ها و محدوده های قابل قبولی که از طرف کمپانی اعلان شده اند، واقع میباشد و یا خیر؟

این عمل، باعث میشود تا ثبات متود کاری خود را برای یک موعد طولانی چندین هفته ای و یا چندین ماهه، تعقیب نموده و به اسرع وقت، از عدم کار آرایی ها و انومالی هایی که در جریان کار، برای چند ساعتی به میان آمده و تبارز مینماید، مطلع گردیده و سر فرصت آنرا مرفوع سازیم.

این پروسیجر ها، امرزه، در تمامی لابراتوار ها مورد تطبیق قرار گرفته و ضامن کیفیت نتایج ارایه شده، برای درخواست کننده گان و تضمین کننده حس قدر دانی از مهارت ان هایی که معاینات لابراتواری را انجام میدهند، خواهد بود.

برای اینکه کار تان کاملا" مؤثر بوده باشد، این کنترول بایستی روی تمامی معایناتی که در لابراتوار تان انجام می پذیرد، تحقق یابد.

مجموع این اجراآت، کوالیتی کنترول درونی یا داخلی لابراتوار را تشکیل میدهد.

3) تطبیق و راه اندازی:

تطبیق کنترول داخلی امری ساده میباشد؛ اما نظر به نوعیت محلولی که بکار گرفته میشود، از هم تفاوت دارد:

محلولات تیتر شده تجارتی،

- محلولات غیر تیتر شده تجارتی.

a) محلولات تیتر شده تجارتی:
زمانیکه از محلولات تیتر شده تجارتی استفاده به عمل می آید، اجرأی کوالیتی کنترول درونی در داخل لابراتوار امری ساده بوده و ضرورت به کدام آماده گی خاص قبلی ندارد. فقط کافی خواهد بود تا همه روزه، لا اقل روزانه یکبار، دوزاژ سیروم های کنترولی با غلظت های پایین (ضعیف)، متوسط (نورمال) و بلند (قوی) مورد استفاده را انجام داده و قیمت های دریافت شده را روی دیاگرام Levey-Jennings گزارش نمود.

b) محلولات غیر تیتر شده تجارتی:
زمانیکه محلولات تیتر نا شده تجارتی را مورد استفاده قرار میدهیم، بایستی در جریان یک مطالعه احصاییوی، محدوده ها یا لیمت های قابل قبول را ارزیابی نمود.
جهت عملی شدن این منظور، یک تست قابلیت ایجاد دوباره (Reproducibility) (برای یک موعد لا اقل 30 روز)، بایستی اجرأ گردد. در جریان این مدت، همه روزه، سیروم های کنترولی با غلظت های پایین، متوسط و بلند، روزانه یک مرتبه، تعیین دوز میگردند.
در طی مدت این 20 روز (و یا 30 روز)، نتایج را جمع آوری نمایید که بعدا"، غرض اجرای یک مطالعه احصائیوی، جهت تعیین شاخص های ذیل بکار میروند : حد اوسط (m)، ایکار تیپ (ET)، CV%، m-2ET و m+2ET.

c) واقعات خاص سیروم های استاندارد :
قابل دلچسبی خواهد بود اگر ثبات این محلولات استاندارد را ، به مرور زمان، تعیین نماییم، زیرا این موضوع یک علامت بسیار خوب و خوب، برای کوالیتی یا کیفیت و همچنان برای تعیین ثبات سیستم کار ما خواهد بود.
سرویلانس و ارزیابی استاندارد ها، کار چندان مشکلی نیست. این سیروم ها در واقع، عبارت از سیروم های کنترول غیر تیتر شده میباشند (مراجعه شود به آنچه قبل از این آمده است).

ملاحضات و یادداشت ها:
استفاده از سیروم های کنترول غیر تیتر شده، مستلزم یک مهارت و تجربه کافی تخنیکی دوزاژ ها (تعیین دوز ها) بوده و و یک عمل قاطعانه اجرای آمار گیری هایا حصائیوی نمونه های ما را ایجاب میکند. این نوع کار، فقط برای آنعده از لابراتوار هایی ریزرف شده و در نظر گرفته میشوند که در استفاده از این مواد عادت داشته و تجربه کار داشته باشند.
در پرکتیک روزمره بایستی از اجرأی این متود، استفاده صورت نگیرد!

4) تحقق و اجراآت عملی :
در کادر و چوکات این دروس، فرضا" چنین قبول میکنیم که :
لابراوار ما از محلولات کنترولی تیتر شده ای که از بازار تجارت خریداری شده اند، استفاده میکنند و فرضا" هم، تولید کننده ماده، برای این محلول خودش یک محدوده قابل قبول را مشخص ساخته و آنرا در بروشور داخل قطی درج نموده است و بایستی از سیروم های استاندارد برای کنترول آن استفاده گردد.
- و باز هم فرض میکنیم که هر یک از تیوب های ما مربوط برای یک روز جداگانه میباشد.
- در این جا، به دلیل اینکه اجرأآت روی 30 تیوب (30 روز) عملی نمیباشد، ما اجراآت خویش را صرفا" روی 15 تیوب (15 روزه - از قرار یک تیوب در یک روز) محدود میسازیم. (فرض کردیم که هر یک از تیوب های ما برای یک روز جدا گانه میباشد).

تحقق عملی کار، بسیار ساده است. فقط کافی خواهد بود تا روزانه لااقل یک تیوب از سیروم های نمونه و سیروم های کنترول (با غلظت های پایین، متوسط و بلند) خود را، (روی هریک از سیری های دوزاژ خود)، تعیین دوز نموده و قیمت های دریافت شده را روی دیاگرام مربوطه درج نماییم.
آنچه که مربوط به محلول و یا محلولات استاندارد ما میباشند، این محلولاتف در هر یک از سیری های مریضان ما، مدغم شده و تعداد شان ممکنست زیاد باشد. قیمت دریافتی ما، یکی از قیمت های دریافت شده ، در یکی از سیری هایی که بطور تصادفی تیتر شده است، خواهد بود.

a- طرز العمل :

تطبیق روی دوزاژ پروتیئین های سیروم.
هر یک از گروپ ها یک سیروم استاندارد مختلف را مورد مطالعه قرار خواهد داد.
محلول استاندارد آبی رنگ — استاندارد سرخ رنگ
محلول استاندارد سبز رنگ — استاندارد با غلظت 60g/l
بنا" هر یک از گروپ ها، یک مجموعه ای متشکل از 6 تیوب را دریافت خواهد نمود که مربوط به 6 دوزاژ، در جریان یک هفته میباشد (اجرای یک دوزاژ در روز).

b- تعین دوز (دوزاژ):

در بین یک عدد تست تیوب، مواد ذیل را علاوه نمایید :

* محلول کنترول کننده 100 مایکرولیتر
* ریجنت برای دوزاژ نمودن 2ml

تیوب ها را خوب بهم بزنید.
برای مدت 25 دقیقه، آنها را در حرارت محیط لابراتوار به حال خود بگذارید.

c- اندازه گیری ها :

تکاثف نوری (DO) هر یک از تیوب ها را روی طول موج 547 nm ، در برابر محلول بلانک، که به قرار ذیل تهیه شده است، تعیین نمایید :

- H_2O g/l 100 microlittres
- ریجنت برای دوزاژ 2 ml

حالا هر یک از تیوب ها را خوب بهم بزنید.
برای مدت 25 دقیقه در حرارت محیط لابراتوار قرار بدهید.
قیمت ها را به دقت مطالعه نمایید!

d- چگونگی نگرش و پردازش به آمار و ارقام:

در یک جدول، از نوع جدولی که در ضمیمه این فصل برای تان پیشنهاد شده است، هر یک از قیمت های دریافت شده تجربی سیروم های غیر تیتر شده تان را درج نمایید : m1,m2 …….m30
قیمت اوسط (Mm) را محاسبه نمایید = اوسط هر 30 قیمت تجربی دیافت شده (m 1 الی m 30)
حاصل تفریق یا افتراق فی مابین هر کدام از اندازه گیری ها و قیمت های دریافت شده تجربوی تان (m1 الی m30) ، یعنی Δ را به قرار ذیل محاسبه نمایید :

$$Mm - m1 = \Delta 1$$
$$Mm - m2 = \Delta 2$$
$$Mm - m3 = \Delta 3$$
$$\cdots\cdots$$
$$Mm - m16 = \Delta 30$$

حالا مربع هر یک از این Δ ها (حاصل تفریق ها) را محاسبه نمایید = Δ^2

$$(\Delta_1)^2 = \Delta_1 \times \Delta_1$$
$$(\Delta_2)^2 = \Delta_2 \times \Delta_2$$
$$\cdots\cdots$$
$$(\Delta_{30})^2 = \Delta_{30} \times \Delta_{30}$$

حالا مربع تمامی Δ های بدست آمده؛ یعنی $(\Delta)^2$ را مجموعه یا جمع کنید:

$$(\Delta)^2 = \sum (\Delta)^2$$

اختلاف یا واریانس (Variance)؛ یعنی σ^2 را به قرار ذیل محاسبه نمایید:

$$\sigma^2 = \sum (\Delta)^2 / n - 1$$
$$(n = 30)$$

انحراف استاندارد یا ایکارت تیپ (Ecart Type = E.T) = انحراف استاندارد، σ) را به قرار ذیل محاسبه کنید:

$$E.T = \sqrt{\frac{\Sigma(\Delta)^2}{n-1}}$$

حالا ضریب اختلاف (C.V.) را بر حسب فیصد (%)، به قرار ذیل حساب نمایید:

$$C.V\ \% = \frac{E.T.}{Mm} \times 100$$

حالا:
Mm + 1E.T و Mm + 2ET
و Mm – 1ET و Mm – 2ET را هم محاسبه کنید.

e- مثالی از محاسبه :

(کنترول گلوکوز دارای غلظت 100mg /dl)

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
1	100	0,33	0,11111111
2	101	-0,67	0,44444444
3	100	0,33	0,11111111
4	102	-1,67	2,77777778
5	102	-1,67	2,77777778
6	101	-0,67	0,44444444
7	100	0,33	0,11111111
8	99	1,33	1,77777778
9	100	0,33	0,11111111
10	101	-0,67	0,44444444
11	98	2,33	5,44444444
12	101	-0,67	0,44444444
13	99	1,33	1,77777778
14	100	0,33	0,11111111
15	101	-0,67	0,44444444
16	101	-0,67	0,44444444
17	102	-1,67	2,77777778
18	102	-1,67	2,77777778
19	101	-0,67	0,44444444
20	98	2,33	5,44444444
21	99	1,33	1,77777778
22	100	0,33	0,11111111
23	101	-0,67	0,44444444
24	102	-1,67	2,77777778
25	99	1,33	1,77777778
26	100	0,33	0,11111111
27	103	-2,67	7,11111111
28	99	1,33	1,77777778
29	101	-0,67	0,44444444
30	97	3,33	11,1111111
Total	3010		56,6666667
Moyenne	100,33	Variance	1,9540

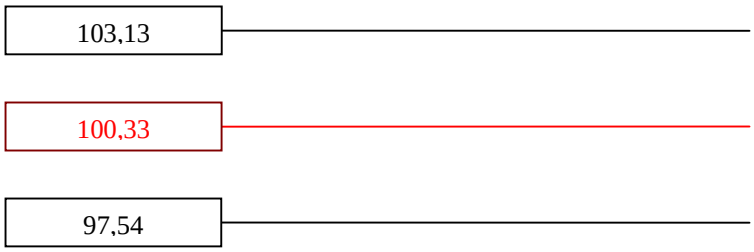
		E,C	1,40
		C V %	1,39
		97,54	M-2ET
		98,94	M-1ET
		101,73	M+1ET
		103,13	M+2ET

جعبه ریجنت تست شده ما، بطور اوسط، یک غلظت 100.33g/l پروتیئین ها و یک ایکار تیپ ET=1.4g/l را بدست میدهد.

5) دیاگرام Levey-Jennings:

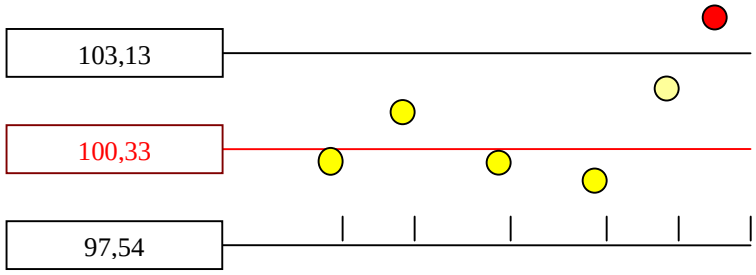
نتایجی که از طریق مطالعه آمار و ارقام یا قیمت های احصائیوی بدست آمده اند، روی ورقه گراف میلیمتر شده، درج شده و دیاگرام Levey-Jennings از آن حاصل میگردد.

با استفاده از مثالی که در فوق ذکر کردیم، جنین دیاگرامی بدست خواهد آمد :



ملاحظه :
در عمل، در داخل یک لابراتوار، دیاگرامی را بر حسب پارامتر ها تهیه دیده و ثبات سیروم های کنترولی را بطور ماهانه در آن تعقیب مینماییم (در مجموع 12 ورق برای هر پرامتر، در یک سال)

6) موقعیت و موضع گیری قیمت ها ی دریافت شده در جریان یک هفته:



7) تفسیر:
مطالعه و معاینه دیاگرام ما، نمایانگر این مطلب است که برای 5 روز اول، نتایج دوزاژ محلولات کنترولی مطالعه شده، دقیقا" در قلمرو و محدوده دیاگرام قرار دارند. ضمنا" گفته میتوانیم که تخنیک ما یک تخنیک ثابت میباشد (ریجنت ها، وسایل، خود تکنیشن ها و..).
در اینصورت، بدون کدام ریسکی، میتوان نتایج معاینات را برای دکتوران بفرستیم، زیرا اط نظر احصائیه، چانس اینکه که نتایج غلط و اشتباهی را راپور داده باشیم، بسیار کم است.
سر از روز ششم، دیگر این موضوع صادق نمیباشد. یعنی، قیمت های دریافت شده از روز ششم به بعد، واضحا" از قلمرو و محدوده دیاگرام ما خارج شده و تجاوز کرده اند. این موضوع بیانگر آنست که در جریان مراحل مختلفه عملیات دوزاژ ما، کدام انومالی اتفاق افتاده است.
در این صورت، راپور دادن نتایج اجازه نمیباشد؛ زیرا به یقین که این نتایج (نتایجی که از روز ششم به بعد دریافت شده اند) ، نتایج اشتباه و غلط میباشند.

حالا، در صورت بروز یک انومالی چکارباید کرد؟
در قدم اول باید معاینات را تکرارا" اجرأ نمود تا مطمئین شد که آیا این انومالی دوباره تکرار میشود و یا خیر.
در صورتیکه باز هم این انومالی تکرار شود، در آنصورت باید اهتمامات امنیتی ذیل را روی دست گرفت :
معاینات را با استفاده از کدام متود دیگر که قابلیت اعتماد ان مورد ارزیابی قرار گرفته باشد، تکرار نمایید!

- علت بروز انومالی را که در جریان اجرای متود اولی به ظهور رسیده است، جستجو کنید!
- در آینده، تا آن زمانی که با استفاده از متود اولی، دوباره نتایج قناعت بخشی را بدست نیاورده اید؛ یعنی تا زمانی که نتایج شما دوباره در محدوده و قلمرو دیاگرام شما داخل نشده است، به هیچ وجه استفاده نکنید!

مثالی از نتایج بدست آمده در جریان دروس عملی

دوزاژ پروتیئین های خون دیاگرام Levey-Jennings

	سطح یاسویه پایین			سطح یا سویه متوسط			سطح یا سویه بلند		
N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
1	0,521	0,0136	0,00018	0,875	0,0080	0,00006	1,220	-0,001	0,000
2	0,559	-0,0244	0,00060	0,860	0,0230	0,00053	1,268	-0,049	0,00237
3	0,545	-0,0104	0,00011	0,886	-0,0030	0,00001	1,332	-0,113	0,01270
4	0,548	-0,0134	0,000180	0,883	0,0000	0,00000	1,214	0,005	0,00003
5	0,557	-0,0224	0,000502	0,886	-0,0030	0,00001	1,202	0,017	0,00030
6	0,538	-0,0034	0,000012	0,897	-0,0140	0,00020	1,204	0,015	0,00023
7	0,533	0,0016	0,000003	0,865	0,0180	0,00032	1,210	0,009	0,00009
8	0,532	0,0026	0,000007	0,860	0,0230	0,00053	1,183	0,036	0,00132
9	0,53	0,0046	0,000021	0,888	-0,0050	0,00002	1,224	-0,005	0,00002
10	0,543	-0,0084	0,000071	0,892	-0,0090	0,00008	1,219	0,000	0,00000
11	0,504	0,0306	0,000936	0,889	-0,0060	0,00004	1,221	-0,002	0,00000
12	0,483	0,0516	0,002663	0,896	-0,0130	0,00017	1,217	0,002	0,00001
13	0,539	-0,0044	0,000019	0,883	0,0000	0,00000	1,246	-0,027	0,00071
14	0,535	-0,0004	0,000000	0,893	-0,0100	0,00010	1,212	0,007	0,00005
15	0,552	-0,0174	0,000303	0,892	-0,0090	0,00008	1,118	0,101	0,01029
Total	8,019		0,005604	13,245		0,00215	18,290		0,02812
Moyenne	0,53460	Variance	0,000374	0,88300		0,00014	1,2193		0,00187
		E,T	0,019328			0,0120			0,0433
		C V %	3,62			1,36			3,55
M-2ET	0,4959			0,85904			1,133		
M-1ET	0,5153	vert		0,87102	rouge		1,176	bleu	
M+1ET	0,5539			0,89498			1,263		
M+2ET	0,5733			0,90696			1,306		

ترجمه داکتر شاه عبداللطیف شبدیز دلیری

تاریخ ترجمه : 13 جون 2005

دروس عملی بیولوژی کلینیکی

میشن صحی 04 الی 18 اپریل 2005 – کابل

17 اپریل 2005

کنترول سطح دانش و آگاهی شرکت کننده گان این کورس

Contrôle des connaissances

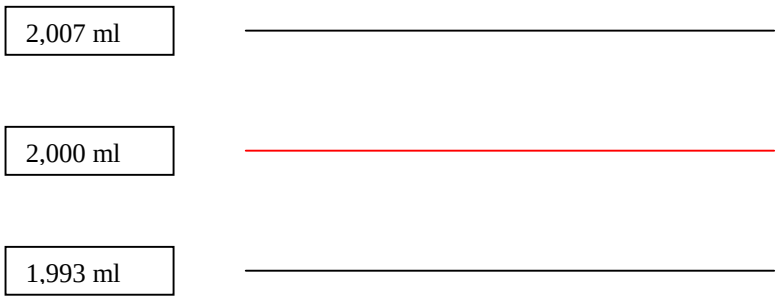
سوال اول (متروولوژی):
کنترول دقت عمل یک پیپت ژوژه دارای ظرفیت 2ml ، که با توزین آن پیپت بر روی یک ترازوی حساس صورت گرفته است ، پس از 10 بار وزن کردن پی هم، قیمت های ذیل را برای ما ارایه داده است ک

وزن اوسط یا میانگین = 2,001g

- ایکار تیپ (ET) = 0,0028g

فرضا" میدانیم که خصوصیات پیپت که از طرف کمپانی اعلام شده است، از این قرار باشد : 2ml +/- 0,007ml
حالا شما نظر و نتیجه گیری تان را در مورد کیفیت و کار آیی این پیپت ارایه بدارید.

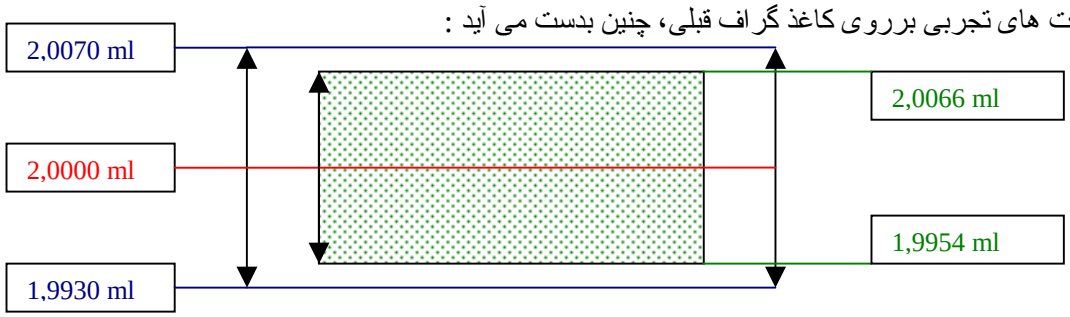
جواب سوال اول :
کمپانی این موضوع را گرانتی کرده است که پیپت ساخت وی، همیشه یک حجم بین 2,000+0,007ml و 2,000-0,007ml و یا یک حجم بین 2,0070ml و 1,9930ml را افراز و توزیع میدارد. اگر این حجم افراز شده را بطور گرافیک مطرح بسازیم، چنین میشود :



با در نظر داشت این مطلب که 1 میلی لیتر آب مقطر دارای وزن 1,000g(یک گرام) میباشد، کنترولی که از طرف لابراتوار ما انجام پذیرفته است، بیانگر و نمایانگر این مطلب است که پیپت مذکور یک حجم 2,001+/-2ET را افراز و توزیع میکند.
از آنجائیکه میدانیم، 1ET=0,0028g میباشد، پس حجم توزیع شده از طرف پیپت، بین احجام ذیل میباشد :

2,0010+0,0056 = 2,0010-0,0056 = 1,9954 ml

با درج قیمت های تجربی برروی کاغذ گراف قبلی، چنین بدست می آید :



معاینه گرافیک نشان میدهد که زون قابل قبول کار این پیپت، که بطور تجربی بدست آمده است، کاملا" مطابق به آنچه میباشد که قبلا" از طرف کمپانی اعلام شده است.
نتیجه : کار پیپت ما دقیق میباشد!

سول دوم (منحنی ایتالوناژ – استاندارد سازی) :

به تعقیب تسلیم دهی یک لات نمبر جدید ریجنت تعیین دوز کننده گلوکوز، خون، در لابراتوار خویش، تصمیم میگیرید تا یک منحنی جدید ایتالوناژ را، که با لات نمبر جدید تان مطابقت نماید، بدست بیاورید.

فرضا"، نتایجی بدست آمده روی 10 نقطه ، به قرار ذیل دیافت شده باشند :

(صفر، برروی ریجنت بلانک قرار دارد)

Tube	C en g/l	D.O.
1	0,2	0,038
2	0,4	0,070
3	0,6	0,101
4	0,8	0,143
5	1,0	0,175
6	1,5	0,272
7	2	0,358
8	2,5	0,429
9	3	0,530
10	3,5	0,625
11	4	0,719
12	4,5	0,800

حالا منحنی ایتالوناژ تان را روی کاغذ گراف، ترسیم نمایید.

جواب سوال دوم :

فقط کافی است تا برروی یک کاغذ گراف، منحنی غلظت های تان را بر حسب تکاثف نوری (DO)، از روی قیمت های تجربی که در مثا ل شما داده شده اند، ترسیم نمایید.

جدول گرافیک :

محور طولی یا افقی (محور X) : 5cm = 1g/l

محور عمودی (محور Y) : 2cm = DO = 0,100

در اینصورت یک خط مستقیم بدست می آید. (مراجعه شود به گراف اخیر همین بخش)

سوال سوم (کوالیتی کنترول):

فرضا" تصمیم میگیرید تا در داخل لابراتوار خویش، کوالیتی کنترول داخلی یا درونی را ، در مورد پارامتر های پروتیین ها انجام بدهید.

جهت اجرأ و تحقق این عمل، برای 30 روز متواتر ، روزانه یک دوزاژ را روی غلظت های پایین، متوسط و بلند انجام میدهید.

و باز فرض کنیم که نتایج مربوط به کنترول غلظت متوسط، بر حسب mg/l به قرار ذیل دریافت گردند :

حالا دیاگرام Levey-Jennings را ترسیم نمایید.

سیروم کنترولی که در جریان هفته مورد استفاده بوده است، فرضا" نتایج ذیل را، بر حسب mg/l بدست داده باشند: 101, 104, 99.

این قیمت های دریافت شده روی دیاگرام تان برسانید. بعد ببینید که آیا برای هریک از آن ها، دوزاژ تان قابل قبول میباشد و یا خیر (با «آره یا بلی» و «نخیر» گفتن جواب ارایه دارید)

بعد بگویید که آیا سیری دوزاژ مریضان، برای هر یک از آن ها قابل راپور دادن میباشد و یا خیر (با «آره یا بلی» و «نخیر» گفتن جواب ارایه دارید)

برای ارایه پاسخ، از تابلوی صفحه بعدی استفاده نمایید:

N°	Résultats			
1	100			
2	101			
3	100			
4	102			
5	100			
6	101			
7	100			
8	99			
9	100			
10	101			
11	100			
12	101			
13	99			
14	100			
15	100			
16	101			
17	101			
18	102			
19	101			
20	100			
21	99			
22	100			
23	101			
24	102			
25	100			
26	100			
27	101			
28	99			
29	101			
30	100			

دوزاژ کنترول اوسط	قبول شده		دوزاژ هایی که برای داکتر راپور داده شوند	
101	نخیر	بلی	نخیر	بلی
104	نخیر	بلی	نخیر	بلی
99	نخیر	بلی	نخیر	بلی

جواب های اشتباه و غلط را نشانی کنید.

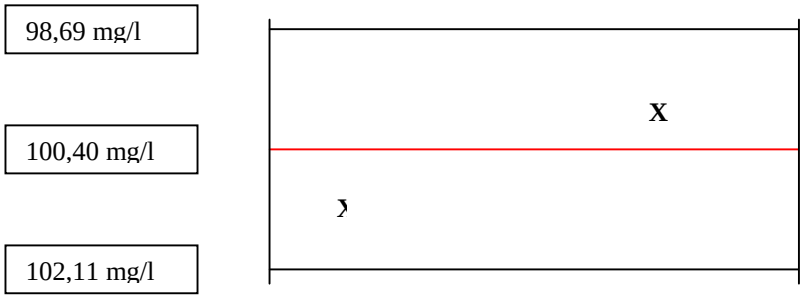
جواب سوال سوم :

دیاگرام ما بر زوی قیمت هایا وسطی و اوسط +/-2 ایکارتیپ (Mm+/-2ET) به میان می آید. این قیمت ها، بر اساس مطالعه استاتیستیک یا احصئیه 30 معاینه متواتر روزمره تهیه شده اند.

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage)2
1	100	0,40	0,16
2	101	-0,60	0,36
3	100	0,40	0,16
4	102	-1,60	2,56
5	100	0,40	0,16
6	101	-0,60	0,36
7	100	0,40	0,16
8	99	1,40	1,96
9	100	0,40	0,16
10	101	-0,60	0,36
11	100	0,40	0,16
12	101	-0,60	0,36
13	99	1,40	1,96
14	100	0,40	0,16
15	100	0,40	0,16
16	101	-0,60	0,36
17	101	-0,60	0,36
18	102	-1,60	2,56
19	101	-0,60	0,36
20	100	0,40	0,16
21	99	1,40	1,96
22	100	0,40	0,16
23	101	-0,60	0,36
24	102	-1,60	2,56
25	100	0,40	0,16
26	100	0,40	0,16
27	101	-0,60	0,36
28	99	1,40	1,96
29	101	-0,60	0,36
30	100	0,40	0,16
Total	3012		21,20
Moyenne	100,40	Variance	0,7310
		E,C	0,86
		C V %	0,85

98,69	M-2ET
99,54	M-1ET
101,26	M+1ET
102,11	M+2ET

دیاگرام Levey-Jennings و توضع هر سه نقطه بر روی کاغذ گراف، از قرار ذیل است:



معاینه و مطالعه گرافیک، این نکته را روشن میسازد که :

از جمله این سه نقطه، دو تای آن قابل قبول میباشند (101 و 99). نتایج این دو، میتوانند راپور داده شوند.

- نقطه باقی مانده سومی (104) از محدوده و قلمرو قابل قبول ما خارج شده و نتیجه آن نباید گزارش گردد.

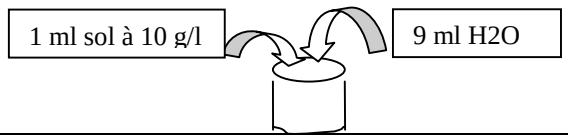
دوزاژ کنترول اوسطی	قبول شده		دوزاژ هایی که برای داکتر راپور داده شوند	
101	بلی	~~نخیر~~	~~نخیر~~	بلی
104	~~بلی~~	نخیر	نخیر	~~بلی~~
99	بلی	~~نخیر~~	~~نخیر~~	بلی

سوال چهارم (رقاقت) :

جهت تحقق کنترول خطی بودن، فرضا" از محلول مادری ای که دارای غلظت 62g/l میباشد، استفاده می نمایید و نتایج ذیل را، منحیث رقاقت های دختری، با غلظت های ذیل بدست آورید :

0.2g/l, 0.5g/l, 0.75 g/l, 1.0 g/l, 1.5 g/l, 2.0 g/l, 3.0 g/l, 5.0 g/l, 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40g/l

میخواهید تا لااقل 10ml از هر یک از این محلولات را داشته باشید. جهت دریافت ان چکار باید بکنید؟ و ضمنا" با ترسسیم یک شیما یا یک رسم، در چوکات ذیل ، آنرا تشریح نمایید، مثال :

1,0	

غلظت بر حسب g/l	
0,2	
0,5	
0,75	
1,0	
1,5	
2,0	
3,0	
5,0	
10	
20	
30	
40	

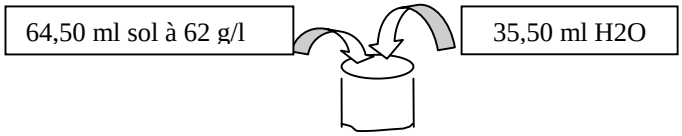
جواب سوال چهارم :

جهت حل این معضله، امکان این وجود دارد تا شیما های بسیاری را ترسیم نمود که یکی از این شیما ها را ذیلا" مشاهده میکنید :

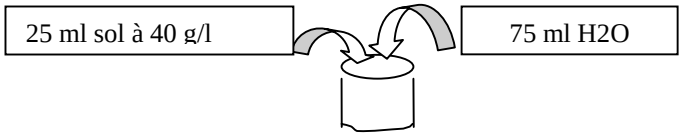
از روی محلول اولی یا مادری، محلولات دختری ذیل را تهیه بدارید :

40g/l, 10g/l, 1.0g/l

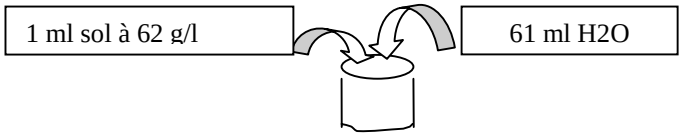
Solution 40g/l



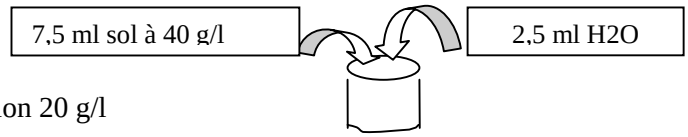
Solution 10g/l



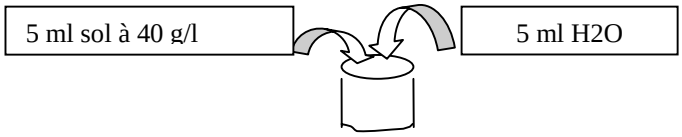
Solution 1g/l



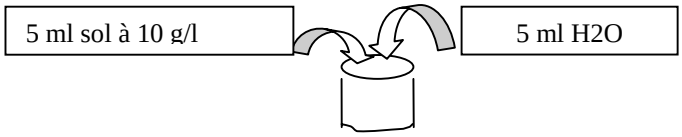
"بعدا : solution 30 g/l



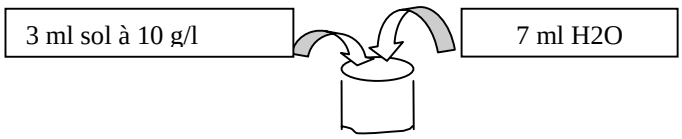
سپس : solution 20 g/l



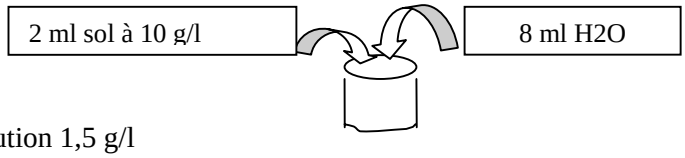
آنگاه : solution 5 g/lg/l



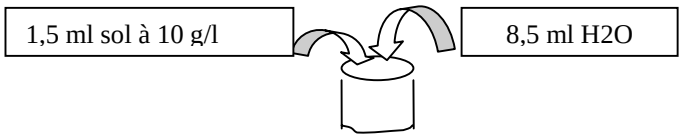
سپس : solution 3 g/lg/l



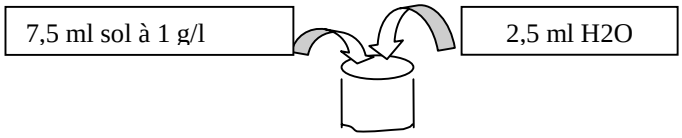
آنگاه : solution 2 g/l



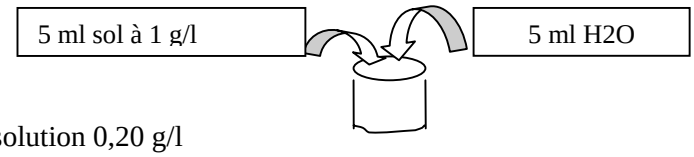
"متعاقبا : solution 1,5 g/l



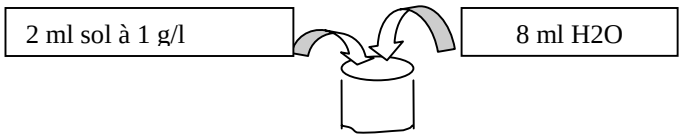
"بعدا : solution 0,75 g/l



متعاقبا" : solution 0 ;50 g/l



و در آخر : solution 0,20 g/l



ترجمه داکتر شاه عبداللطیف شبدیز دلیری
تاریخ ترجمه : 14 جون 2005

DO
le 16/04/2005
0,100
0,200
0,300
0,400
0,500
0,600
0,700
0,800
0,900
0,2 0,4 0,6 0,8 1 1,5 2 2,5 3,0 3,5 4,0 4,5
GLYCEMIE
Lot AB 692

Ambassade de France en Afghanistan | **Japanese International Cooperation Agency** | **Ministry of Public Health** | **Université Claude Bernard de Lyon** | **Faculté de Pharmacie de Lyon**

Nous, soussignés Docteur Temory, Responsable national de la Transfusion Sanguine et des Laboratoires du Ministère de la Santé Publique, et Docteur Sharifi, Directeur des laboratoires centraux, attestons que le dénommé :

مایان هر یک، پوهنمل دکتور شاه آقا تیموری، مسوؤل ملی نقل الدم ولابراتوار های وزارت صحت عامه و داکتر غلام ایشان شریفی، رییس لابراتوار های مرکزی وزارت صحت عامه، که امضای مان در ذیل درج میباشد، تصدیق میداریم اینکه موصوف ذیل:

- -

a suivi la formation pratique sur « La bonne exécution des analyses en biologie clinique » organisée du 4 au 17 avril 2005 au laboratoire de chimie analytique de la faculté de pharmacie de Kaboul, par les Professeurs Christian Collombel et Jean Pierre Yvert de la faculté de pharmacie de Lyon, avec le soutien de l'Ambassade de France et de JICA.

یک دوره ترینینگ عملی را در مورد " اجرای درست معاینات، در بیولوژی کلینیکی" تعقیب نموده است که از تاریخ 4 الی 17 اپریل 2005 ، توسط پروفیسور کریستیان کولومبل و پروفیسور ژان پل ایور، از پوهنحی فارمسی لیون، با همکاری سفارت فرانسه در افغانستان و آژانس همکاریهای بین المللی جاپان «جایکا»، در لابراتوار شیمی انالیتیک پوهنحی فارمسی کابل تنظیم وراه اندازی گردیده بود.

داکتر غلام ایشان شریفی
رییس لابراتوار های مرکزی

پوهنمل دکتور شاه آقا « تیموری »
مسوؤل ملی نقل الدم