



درس دوّم

یاد آوری اساسات فزیکوشیمیک در بیولوژی
مبانی احصاییوی
تأیید تخنیک ها

2^e cours

RAPPELS DES BASES PHYSICO-CIMIQUES EN BIOLOGIE

NOTIONS DE STATISTIQUES
VALIDATION DE TECHNIQUES

پروفیسور ژان پییر ایور

Pr. Jean-Pierre YVERT

ترجمه : حمیرا نوابی و دکتور شبذیز دلیری

Traduction assurée par Homeira Nawabi et le Dr Latif Déliri

خلاصه دروس ارایه شده برای پرسونل انستیتوت ملی لابراتوار های طبی

Résumé de l'enseignement donné aux personnels des établissements de santé

جولای 2004



Liberté • Égalité • Fraternité

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Avec le soutien de l'Ambassade de France en Afghanistan

به کمک سفارت فرانسه در افغانستان

• **رقیق سازی محلولات:**

دو متود بسیار آسان جهت رقیق سازی یک محلول مورد استعمال است:

- رقیق سازی مستقیم
- رقیق سازی تدریجی

• **رقیق سازی مستقیم:**

عبارت است از رقیق نمودن مستقیم یک محلول استاک.

محلول رقیق شده بسیار دقیق تر بوده و وبا سایر محلولات رقیق ساخته شده کدام ارتباطی ندارد. در صورت کدام اشتباه روی یکی از محلولات رقیق ساخته شده، این اشتباه روی سایر محلولات تأثیری ندارد. این متود جهت تهیه یک محلول استاندارد بهترین متود تلقی میشود.

• **رقیق سازی تدریجی و یا پی درپی:**

عبارت است از رقیق سازی درجه به درجه محلولی که قبلاً تهیه شده است. از محلول استاک برای تهیه یک محلول رقیق شده برای اولین مرتبه استفاده میگردد. این محلولات با دقت تام ساخته میشوند و بنا " خیلی دقیق میباشد. بدین ترتیب اگر کدام اشتباهی در ساختن و تهیه اولین محلول صورت گرفته باشد، این اشتباه روی محلولات بعدی منعکس شده و تأثیر می اندازد. از این محلولات در معاینات سیرولوژی زیاد استفاده میگردد؛ مثلاً: " تیتراژ یک انتی بادی. فکتور های رقیق سازی توسط معادله $1/x$ ارایه میگرددند.

یک رقاقت $1/x^e$ (یک بر x حصه) ، بهدین معنی است که در این محلول ماده اولیه 1 حصه مجموع ماده x میباشد. (یعنی در محلول رقیق ساخته شده ما، یک حصه ماده اساسی، در یک مجموعه وکل x حصه وجود دارد).

بدین ترتیب:

در یک رقاقت $1/10^e$ (یک بر دهم) ، ماده اولیه، 1 حصه در 10 حصه مجموع کل موجود است. (یعنی در این محلول رقیق ساخته شده، از 10 حصه، صرف 1 حصه آن محلول اصلی یا محلول استاک می باشد)

در یک رقاقت یا یک محلول رقیق شده $1/25^e$ (یک بر بیست و پنجم) ، بدین معنی است که از 25 حصه محلول، صرفاً 1 حصه آن یک ماده یا محلول استاک میباشد.

در یک رقاقت یا یک محلول رقیق ساخته شده $1/28^e$ (یک بر بیست و هشتم) بدین معنی است که از مجموع 28 حصه محلول صرفاً 1 حصه آن محلول یا ماده استاک میباشد.

یک محلول یا یک رقاقت $1/2$ (یک بر دو) عبارت از محلولی است نصف آن محلول استاک و نصف دیگر آن محلولی میباشد که جهت رقیق سازی بکار برده میشود.

یک محلول رقیق ساخته شده به تناسب $1/3$ عبارت از محلولی است که از مجموع 3 حصه، صرف یک حصه آن محلول استاک یا اصلی میباشد.

یک محلول $1/4$ به معنی اینست که از چهار حصه آن ، یک حصه آن را محلول استاک تشکیل داده است.

A- رقیق سازی مستقیم:

مثال: یک محلول گلوکوز استاندارد را که از 0.10 g/l شروع شده و تا به 0.20 g/l و بالاخره تا به 1 g/l برسد، به کمک یک محلول مادری (محلول استاک) که دقیقاً دارای 1.0 g/l گلوکوز بوده باشد، تهیه بدارید!

وسایل مورد ضرورت:

- محلول مادری یا استاک (مثلاً محلول استاندارد...)
- پپیت دقیق، خشک و پاک از کلاس A (دو خطه) ویا از کلاس B (یک میلی لیتره که الی $1/100^e$ درجه بندی شده است، ویا یک پپیت بسیار دقیق نوع SMI, Socorex, Merck, Prolabo با درجه بندی های از 0 الی 1000 میکرو لیتر)
- تیوب های شیشه ای پاک و خشک

- پمپ کشش (قطره چکان بزرگ)
- پارافلم از نوع 3M جهت تکان دادن تیوب ها.

پروتوکول کاری:

در بین تست تیوب ها، محلول را به قرار ذیل توزیع نمایید:

آب مقطر	استاک [g/l] محلول	
1 حصه	9 حصه	محلول 0.9 گرام فی لیتر
2 حصه	8 حصه	محلول 0.8 گرام فی لیتر
3 حصه	7 حصه	محلول 0.7 گرام فی لیتر
4 حصه	6 حصه	محلول 0.6 گرام فی لیتر
5 حصه	5 حصه	محلول 0.5 گرام فی لیتر
6 حصه	4 حصه	محلول 0.4 گرام فی لیتر
7 حصه	3 حصه	محلول 0.3 گرام فی لیتر
8 حصه	2 حصه	محلول 0.2 گرام فی لیتر

سر هر تیوب را با یک پارچه پارافین مسدود نموده و جهت مخلوط شده آن ها را خوب تکان بدهید.

B- رقیق سازی تدریجی :

مثال:

یک سیروم یا یک سمپل خون را بصورت تدریجی رقیق سازید تا مقدار انتی بادی انتی توکسوپلاسموزیس دریافت گردد.

سامان آلات مورد نیاز:

- پبیپت خشک پاک از کلاس یا نوع B (1ml که الی $1/10^6$ درجه بندی شده است و یا پبیپت دقیق نوع SMI, Socorex, Merck, Prolabo، که حجم ثابتی از 200 الی 500 مایکرولیتر را دارا میباشد.
- تست تی.ب های شیشه ای پاک و خشک
- پمپ کشش
- پارافلم از نوع 3M

پروتوکول:

در بین تیوب های شیشه ای محلولات را به قرار ذیل تقسیمات نمایید:

رقاقت	رقاقت	رقاقت	رقاقت	رقاقت	رقاقت	رقاقت	رقاقت
1/128	1/64	1/32	1/16	1/8	1/4	1/2	
1	1	1	1	1	1	1	محلل
						1	محلول ابتدایی
					1		رقاقت 1/2
				1			رقاقت 1/4
			1				رقاقت 1/8
		1					رقاقت 1/16
	1						رقاقت 1/32
1							رقاقت 1/64

احتیاط : خون میتواند منتن باشد ویا از کدام مریض انتائی اخذ شده باشد. همیشه در زمان اجرای معاینات دسکش پوشید. همیشه از پمپ کشش جهت کش کردن مایع استفاده نماید!

• **اساسات احصاییوی که در بیولوژی کلینیکی کار برد دارند:**

A - مقصد ریسرج و مطالعه:

ابزار های احصاییوی عبارت از ابزار های عمومی اند که بیولوژیست ها و تکنیشن های لابراتوار ها جهت دریافت پاسخ به سوالات مختلفه ای، در ارتباط به کیفیت و بالخصوص سوالات ذیل آنرا بکار میبرند:

- کیفیت ریجنت ها
- کنترل عالی بودن معاینه ...
- تعقیب ثبات یک معاینه
- کیفیت نتایج یک معاینه
- کیفیت کاری اشخاص اجرا کننده معاینات

هم چنان با اجراءت احصاییوی میتوان متود ها را هم با همدیگر شان مقایسه نمود که در نتیجه بیولوژیست ها خواهند توانست تا بهترین متود را دریافت و انتخاب نمایند. این احصاییه گیری یکی از ابزار هایی است که جهت انکشاف یک کنترول کیفیت داخلی لابراتوار و همچنان کنترول کیفیت خارجی لابراتوار کمک میکند.

B- استفاده های احصاییوی در کنترول یک ریجنتی که در لابراتوار ساخته و تهیه میشود:

مثال:

اندازه گیری غلظت یک محلول $CaCl_2$ (کلسیوم کلوراید) که دارای یک غلظت $100mg/l$ کلسیوم میباشد:

- پروسیجر کاری:
- 1- غلظت محلولی را که تهیه نموده اید، باید 30 مرتبه مورد امتحان قرار گیرد (30 عبارت از تعداد اشخاصی است که مورد معاینه قرار میگیرند) و مطابقت به تعداد حد اقل دوزاژ هایی دارد که به منظور اینکه محاسبات الجبری نتایج مطمینی را ارایه بدارند.
- 2- نتایج در یک جدول ، در ستون نتایج درج گردند.
- 3- مجموع نتایج هر 30 دوزاژ را با هم جمع نموده و اوسط آنرا محاسبه نمایید (مجموع اعداد تقسیم بر 30) . سپس نتیجه اوسط دریافت شده را در جدول نتایج درج نموده، برسانید.
- 4- سپس این اوسط دریافت شده را از هر یک از 30 معاینه منفی نمایید. تمامی نتایج را در ستون (M- dosage) درج کنید. به علایم منفی یا مثبتی که بدست می آیند، اهمیت قابل شویید.
- 5- مربع تفاوت را فی مابین اوسط و نتیجه حاصله محاسبه نموده و در ستون $(M-dosage)^2$ برسانید.
- 6- تمامی نتایج $(M-dosage)^2$ را با هم جمع نموده و بعداً " اوسط آنرا دریافت بدارید (جمع نتایج M-dosage تقسیم بر 30) . نتیجه را در ستون 6 جدول نتایج برسانید.
- 7- جهت محاسبه کردن Variance یا تفاوت از فورمول ذیل استفاده نمایید:

$$Variance = \frac{21.20}{30-1} = 0.7310 = (\text{مجموع تفاوت ها})^2 / 1$$

8- جهت محاسبه Ecart Type = ET از فورمول ذیل استفاده کنید:

$$ET = \sqrt{\frac{2}{\text{تعداد معاینات}-1} \times \text{variance}} = \sqrt{0.7310} = 0.855 = 0.86 \text{ تقریباً}$$

9- برای محاسبه ضریب اختلاف (CV%) (Coefficient Variation) ، از فورمول ذیل استفاده میگردد:

$$CV\% = ET / \text{اوسط نتایج} \times 100 = 0.86 / 100.40 \times 100 = 0.85\%$$

10- تحلیل و تجزیه نتایج :

No	نتایج (شماره 2)	(M-dosage) (شماره 4)	(M-dosage) ² (شماره 5)
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	40..1	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
مجموعه	3012	variance	21.2 (شماره 6)
اوسط	100.40 (شماره 3)	Ecart type	0.7310 (شماره 7)
		CV%	0.86 (شماره 8)
			0.85 (شماره 9)

غلظت محلول مطالعه شده:

غلظت محلول مطالعه شده عبارت از 100.40 mg/l میباشد.

ضریب اختلاف (CV%) :

ضریب اختلاف دقت (دقیق بودن) متود را بان میسازد. این ضریب هر قدر کوچک تر باشد، به همان تناسب متود دقیق تر میباشد. ارزیابی CV نظر به دقیق بودن یا دقت معاینه فرق میکند. در بیولوژی این موضوع به معاینه و غلظت مواد در خون ارتباط میگیرد. بصورت عمومی چنین فرض می کنیم که:

اگر $CV < 5\%$ باشد، بدین معنی خواهد بود که متود ما یک متود خوب است.

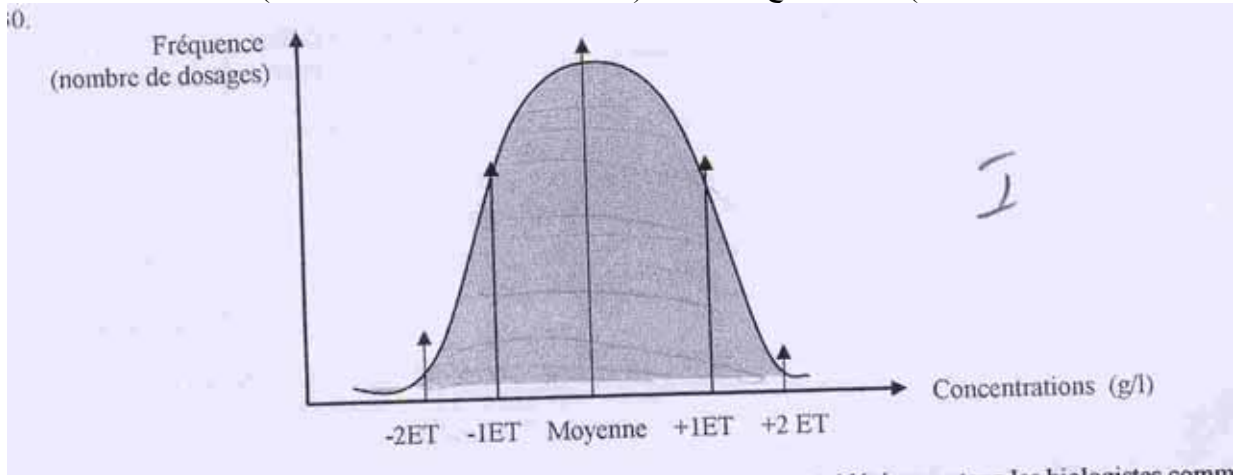
اگر $CV < 3\%$ باشد، بدین معنی خواهد بود که متود ما یک متود بسیار خوب میباشد.
اگر $CV < 2\%$ باشد، متود ما یک متود عالی تلقی خواهد شد!

در مثال ما طوریکه محلول در لابراتوار محل تهیه گردیده است و جون کلسیوم در خون دارای اهمیت زیاد است، از این رو باید $CV < 2\%$ باشد.

در این مثال اگر $CV > 2\%$ ویا بیشتر از آن میبود، در آنصورت علت را باید در عیب سامان آلات (کولوری متر یا اسپکتروفوتو متر) و یا سایر سامان آلات از قبیل پیپت و... و یا هم در کار بد تکنیشن (پیپتاژ خراب، خواندن نادرست نتایج، اشتباهات محاسبه و...) جستجو میکردیم!

• محاسبه سرحد قبولی یک ریجنت:

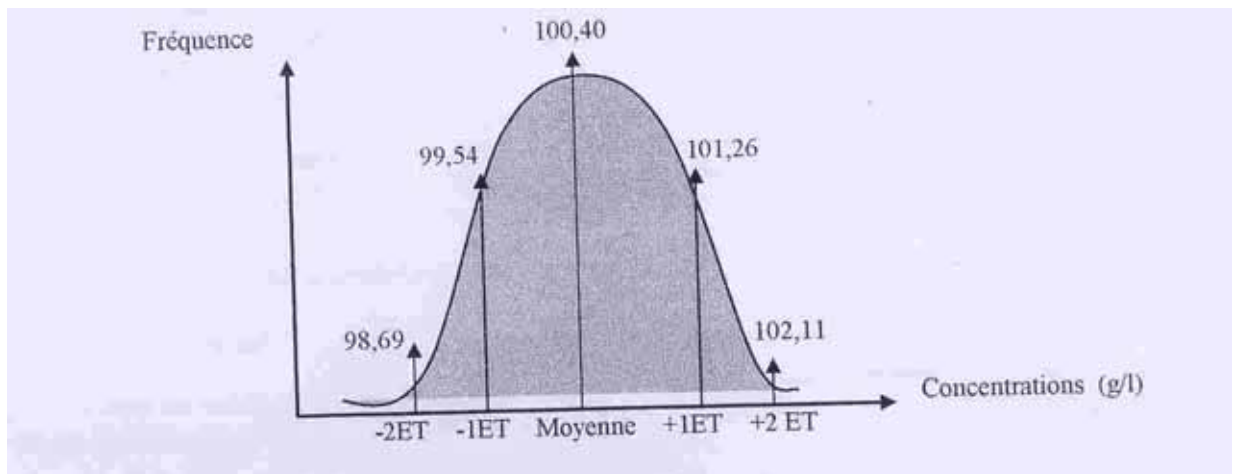
ثابت میشود که از 30 معاینه و یا اضافه تر از آن ، ارزش های هر معاینه بصورت متناظر در اطرف ارزش های وسطی قرار میگیرند. در این حالت گفته میشود که تقسیمات ارزش ها به شکل Gauss میباشند. همچنان ثابت میشود که در ساحه ای که بین ارزش وسطی + 2 ET (Average Value + 2ET) و یا ارزش اوسطی - دو ET (Average Value - 2ET) (ساحات تیره رنگی که در شما نشان داده شده اند) ، 96% نتایج دوزاژ ما (نتیجه 29 معاینه از جمله 30 معاینه) در همین ساحه قرار میگیرد.



در بیولوژی ، سرحدات (اوسط جمع دو ET و اوسط منفی دو ET) به قسم سرحد قابل قبول توسط تمام بیولوژیست ها قبول شده است. در مثال ما این قیمت ها یا ارزش های قابل قبول از قرار ذیل میباشند:

$$\text{غلظت} = 100.40\text{mg/l} \pm 2 \times 0.86 = 100.40\text{mg/l} \pm 1.72$$

بدین معنی که تمامی قیمت ها در بین 48.69mg/l و 102.11mg/l واقع اند.



• تبصره:

اگر ریجنت ها بسیار گران و قیمت باشند، و یا مواد برای معاینه کم باشد، در آنصورت به عوض 30 معاینه صرف میتوان 20 و یا 10 معاینه استفاده نمود. اما در اینصورت نتایج حاصله آنقدر ها دقیق نخواهند بود! به هر صورت نباید به هیچ وجه کمتر از 10 معاینه اجرا گردد!

C- کنترل ریجنت ها یی که از بازار خریداری شده اند و تشریحات قابلیت تکرار (Répétabilité) و قابلیت حصول ویا تولید دوباره نتایج (Reproductibilité):

در معاینات بیولوژیک انتخاب یک متود معاینه به بسیاری از معیارات و از جمله به قابلیت تکرار دوباره و قابلیت تولید دوباره عین نتایج و هم چنان به قرار گرفتن نتایج روی یک خط مستقیم (Linéarité) ، ارتباط میگیرد.

• **قابلیت تکرار (Répétabilité) :** این تست این موضوع را تحت کنترل قرار میدهد که آیا یک متود انتخاب شده معاینه، در یک زمان معین (مثلاً امروز) و بر روی عین نمونه (مثلاً سیروم کنترولی ویا محلول کنترولی) ، در هر بار عین نتیجه را بدست میدهد ویا خیر؟

• **قابلیت تولید دوباره (Reproductibilité) :** این تست این موضوع را تحت کنترل قرار میدهد که آیا متود انتخاب شده ما، در یک زمان نامعین (مثلاً: همه روزه) و بر روی عین نمونه (مثلاً: سیروم ویا محلول کنترولی) عین نتیجه را بدست میدهد ویا خیر؟

این پُر واضح است که این قابلیت تکرار و قابلیت تولید دوباره نتایج روی همه ی غلظت ها ، درست و صحیح بوده باشد: که به نام قیمت ها یا ارزش های کمتر از نورمال، ارزش ها یا قیمت های نورمال و ارزش ها یا قیمت های بلند تر از حد نورمال یاد میشوند. (ارزش های پایین یا ضعیف ، ارزش متوسط و ارزش یا بالا) فرض کنیم که اجرای معاینه روی تمامی غلظت ها ناممکن باشد، زیرا بسیار گران تمام میشود و وقت زیادی را میگیرد) ، از همین سبب تحقیقات را صرفاً در جواب ریجنت در ساحه غلظت ضعیف، نورمال و بلند یا قوی محدود میسازیم.

• **تست تکرار معاینات یا تست قابلیت تکرار:**

هدف از اجرای این عمل اینست که وقتی هر چیز مربوط به معاینه (سامان آلات، پپیست، تکنیشن و سیروم کنترولی و...) بطور عالی تثبیت هستند، در اینصورت ریجنت خریداری شده از بازار عین نتیجه را به طور دقیق و قابل اعتماد ، در یک زمان معین، روی تمامی غلظت ها (چه ضعیف، چه متوسط و چه بالا) بدست میدهد.

مثال:

بطور مثال کنترل یک کیت دوزاژ گلوکوز ، به غلظت های ضعیف، متوسط و بالا که از بازار خریداری شده است و در لابراتوار ما از آن استفاده به عمل می آید، مد نظر داریم.

فابریکه ایکه این کیت را تولید نموده است، برای کیتش اوصافی را بیان کرده است، مثلاً: "قابلیت تکرار... $CV = 2.50\%$ ، برای یک غلظت 5.55mmol/l سامان آلات مورد ضرورت:

- کیت حاوی ریجنت
- تست تیوب های شیشه یی
- کولوریمتر ویا اسپکتروفوتومتر
- محلول ویا سیروم کنترولی با غلظت نورمال گلوکور (مثلاً: 5.60mmol/l)
- محلول ویا سیروم کنترول با غلظت ضعیف گلوکور (مثلاً: 2.4mmol/l)
- ورقه درج نتایج

اجرای تست:

تست بالای هر سیروم کنترول (با غلظت های ضعیف، متوسط و بالا) که در 10 بار معاینه متواتر در یک سیری واحد، ، روی ریجنت مورد مطالعه (ریجنت دوزاژ گلوکور) تحقق می یابد. برای هر غلظت 10 تست اجرا میگردد، یعنی در مجموع 30 تست باید اجرا شود.

محاسبات را طوری که فوقاً ذکر گردید، اجرا بدارید.

تصیر:

در این مثال تنها 10 تست (به عوض 30 تست) برای هر غلظت صورت گرفته ، زیرا در اینجا میخواهیم کیفیت کیت را تست نماییم، نه غلظت محلولی را که در لابراتوار تهیه شده است!

• **تفسیر نتایج:**

جدول خلاصه محاسبات:

N°	نتایج	(M-dosage)	(M-disage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-disage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-disage) ²
1	2.54	0.04	0.00152	5.60	-0.01	0.00014	16.12	0.025	0.00062
2	2.68	-0.10	0.011020	5.65	-0.06	0.00384	16.15	-0.005	0.00002
3	2.59	-0.01	0.00012	5.51	0.08	0.00608	16.22	-0.075	0.00562
4	2.44	0.14	0.01932	5.54	0.05	0.00230	16.01	0.135	0.01822
5	2.62	-0.4	0.00168	5.68	-0.09	0.00846	16.00	0.145	0.02102
6	2.69	-0.11	0.01232	5.59	0.00	0.00000	16.23	-0.085	0.00723
7	2.65	-0.07	0.00504	5.51	0.08	0.00608	16.12	0.025	0.00062
8	2.45	0.13	0.01664	5.47	0.12	0.01392	16.21	-0.065	0.00423
9	2.49	0.09	0.00792	5.64	-0.05	0.00270	16.14	0.005	0.00002
10	2.64	-0.06	0.00372	5.69	-0.10	0.01040	16.25	-0.105	0.01103
مجموعه	25.79		0.07849	55.88		0.05396	161.450		0.06865
اوسط نتایج	2.58	variance	0.00872	5.59	variance	0.00600	16.145	Variance	0.00763
		ET	0.093		ET	0.077		ET	0.087
		CV%	3.62		CV%	1.39		CV%	0.54

نتایج تست:

سه قیمت پارزش CV% که محاسبه شده اند (ضعیف، متوسط وبلند) نشان میدهند که این کیت برای غلظت هایی که بین ساحه وزون نورمال و لااقل 16.12mmol/l قرار دارند، فوق العاده خوب است. این ریجنت برای غلظت های ضعیف در حدود 2.50mmol/l چندان خوب نمیباشد.

چون CV برای غلظت 2.54 mmol/l مساوی به 3.62% میباشد، بنا" این ریسک وجود دارد که برای غلظت های کمتر و ضعیف از 2.54mmol/l این CV% هنوز هم بیشتر افزایش داشته باشد.

این کیت برای غلظت هایی که کمتر از 2.50mmol/l باشند، هیچ دقیق نمی باشد. اما فابریکه ای که این کیت را تولید نموده است، درست تشریح نموده است که این کیت برای غلظت های 5.55mmol/l خوب و دقیق میباشد. بنا" کیت مذکور نباید برای غلظت های کمتر از 2.50 mmol/l گلوکوز مورد استفاده قرار بگیرد.

• **تست قابلیت تولید دوباره (Reproductibilité):**

مقصد از اجرای این تست عبارت است از حصول اطمینان از کیت خریداری شده از بازار، در حالی که گلیه مسایل دیگر ثابت و دقیق میباشدند (سامان آلات، سیروم کنترول، تکنیشن و...) نتایج حاصله در ساحات (ضعیف، متوسط وبلند)، در زمان معاینه دقیق و قابل قبول است.

مثال:

کنترول یک کیت ریجنت دوزاژ گلوکوز که از بازار خریداری شده و در لابراتوار از آن برای تعیین دوزاژ هر سه نوع غلظت ضعیف، متوسط یا نورمال و غلظت های بلند استفاده به عمل می آید.

کامپانی تولید کننده کیت، کیفیت ذیل را برای کیت خودش خاطر نشان ساخته است: قابلیت تولید دوباره در یک CV مساوی به 3.60% عبارت است از 5.55 mmol/l

• سامان آلات مورد ضرورت:

- کیت خریداری شده
- تست تیوب های شیشه ای
- کولرومتر ویا اسپکتروفوتومتر
- محلول کنترل (ویا سیروم کنترل) گلوکوز با غلظت بلند (مثلاً: 16.12 mmol/l)
- محلول کنترل (ویا سیروم کنترل) با غلظت نورمال گلوکوز (مثلاً: 5.60 mmol/l)
- محلول کنترل (ویا سیروم کنترل) با غلظت ضعیف گلوکوز (مثلاً: 2.54 mmol/l)
- ورقه درج نتایج

طرز اجرای تست:

طرز اجرای این تست مشابه به طرز اجرای تست قابلیت تکرار میباشد. به منظور کنترل ریجنت در یک زمان مشخص و معین، برای اندازه گیری یا دوزاژ (تعیین دوز) هر محلول کنترل (چه دارای غلظت ضعیف، چه دارای غلظت نورمال و چه هم دارای غلظت بلند) اجرا میگردد. منتهی چون هدف ما از تعیین قابلیت تولید دوباره نتیجه (reproductibilité) میباشد، پس باید که این تست همه روزه برای مدّت 10 یوم اجرا شود و اگر برای مدّت 20 یوم اجرا شود هنوز هم بهتر خواهد بود! کلیه نتایج باید روی جدول نتایج درج گردد!

• تفسیر نتایج:

جدول خلاصه محاسبات:

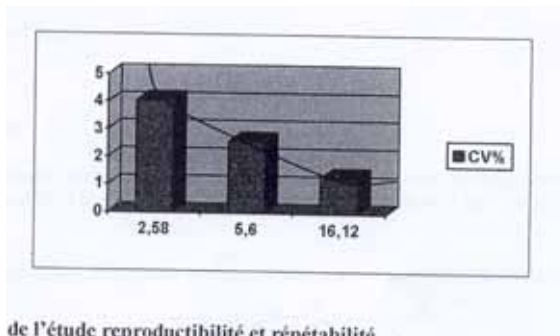
N°	نتایج	(M-dosage)	(M-disage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-disage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-disage) ²
1	2.54	0.04	0.00152	5.60	0.00	0.00002	16.12	0.003	0.00001
2	2.68	-0.10	0.01020	5.68	-0.08	0.00706	16.25	-0.127	0.01613
3	2.59	-0.01	0.00012	5.41	0.19	0.03460	16.28	-0.157	0.02465
4	2.40	0.18	0.03204	5.69	-0.09	0.00884	15.89	0.233	0.05429
5	2.62	-0.04	0.00168	5.45	0.15	0.02132	15.82	0.303	0.09181
6	2.69	-0.11	0.01232	5.72	-0.12	0.01538	16.38	-0.257	0.06605
7	2.65	-0.07	0.00504	5.42	0.18	0.03098	15.85	0.273	0.07453
8	2.45	0.13	0.01664	5.47	0.13	0.01588	16.21	-0.087	0.00757
9	2.49	0.09	0.00792	5.76	-0.16	0.02690	16.08	0.043	0.00185
10	2.68	-0.10	0.01020	5.76	-0.16	0.02690	16.35	-0.227	0.05153
مجموعه	25.79		0.09769	55.96		0.18784	161.230		0.38841
اوسط نتایج	2.58	variance	0.01085	5.60		0.02087	16.123		0.04316
		ET	0.104			0.144			0.208
		CV%	4.04			2.58			1.29

• **نتایج تست:**

ارزش سه CV% ضعیف، متوسط و بلند که محاسبه شده اند، نشان میدهد که این کیت ها برای غلظت های بین زون نورمال الی غلظت لااقل 16.12 mmol/l فوق العاده خوب میباشد. این ریجنت برای غلظت های ضعیف در حدود 2.50 mmol/l چندان خوب نمی باشد.

چون CV برای غلظت 2.58 mmol/l مساوی به 4.04% میباشد، بنا" این ریسک وجود دارد که برای غلظت های کمتر و ضعیف از 2.58 mmol/l این CV% هنوز هم بیشتر افزایش داشته باشد.

کیت مذکور برای غلظت های کمتر از 2.50 mmol/l به هیچ وجه دقیق نمی باشد. اما فابریکه تولید کننده کیت درست تشریح نموده است که کیتش برای غلظت های 5.55 mmol/l خوب و دقیق میباشد. این ریجنت باید برای غلظت های کمتر از 2.50 mmol/l به هیچ وجه مورد استفاده قرار نگیرد!



• **نتیجه گیری عمومی آزمایشات قابلیت تکرار (répétabilité) و قابلیت تولید دوباره نتایج (reproductibilité):**

کیت مورد معاینه ما برای غلظت های متوسط (نورمال) و بلند گلوکوز بسیار عالی است، اما برای غلظت های ضعیف چندان دقیق و خوب نمی باشد! از آنجاییکه نتیجه 2.50 mmol/l در نزد تعداد کمی از مریضان به ملاحظه میرسد، از این رو میتوان با اطمینان و به خوبی از این کیت در لابراتوار خود استفاده نمود.
این پُر واضح است که اگر در لابراتوار ما بیشتر گلاسیمی هایی در حدود 0.5 g/l (معادل 2.5 mmol/l) و یا گلاسیمی هایی کمتر از این مراجعه نمایند، در آنصورت به هیچ وجه از این کیت نباید استفاده به عمل آید!

• **3- مستقیم بودن (linéarité) و عرصه یا ساحه اندازه گیری:**

Linéarité یا خطی بودن نتیجه یک تست ، به منظور چک و کنترل ساحه وزون غلظت صورت میگیرد که در آن ساحه ریجنت یک نتیجه را که مستقیماً متناسب است با غلظت آن، بدست میدهد.

مثال:

خطی بودن ساحه اندازه گیری یک کیت گلوکوز را که از بازار خریداری شده است، برای هر سه غلظت ضعیف، نورمال و بلند گلوکوز تعیین نمایید!

کمپانی ای که این کیت را ساخته است، اظهار میدارد که Linéarité این کیت الی 60 mmol/l میرسد.

- وسایل مورد نیاز:
- کیت مورد نظر
- محلول غلیظ کنترل گلوکوز (100 mmol/l)

باید همیشه غرض اجرای این تست از یک محلول کنترل گلوکوز که غلظت آن یکو نیم الی دو چند بلند تر از غلظت محلول تهیه یا اظهار شده توسط کامپانی بوده باشد، استفاده نمود. این موضوع دارای اهمیت زیادی غرض تعیین ساحه Linéarité و Non linéarité میباشد.

- بیپیت دقیق خشک و پاک از کلاس A ویا B ویا بیپیت دقیق نوع SMI, scorex, Merck, prolabo که از 0 الی 100 microlitres درجه بندی شده است.
- تیوب های شیشه ای پاک و خشک
- پمپ کشش ویا قطره چکان بزرگ
- پارافین (نوع 3M) غرض مسدود نمودن سر تیوب ها و تکان دادن شان.
- کولوریمتر و یا اسپکتروفوتومتر
- کاغذ گراف

• **طرز اجرای تست:**

عملیه روی یک تعداد از رقاقت های محلول کنترل گلوکوز با غلظت 100 mmol/l اجرا میگردد. برای اینکه نتایج ما قابل ارزیابی و تفسیر باشند، باید که رقاقت های مختلفی تهیه گردند تا تمامی زون و ساحه اندازه گیری را از 100 mmol/l الی 0 mmol/l در بر گرفته و پوشانیده باشند!

مثلاً: در مثال گلوکوز، رقاقت ها باید طوری تحقق یافته و تهیه شوند که از 5 تا 5 mmol/l و از 0 الی 100 mmol/l را در بر بگیرند!

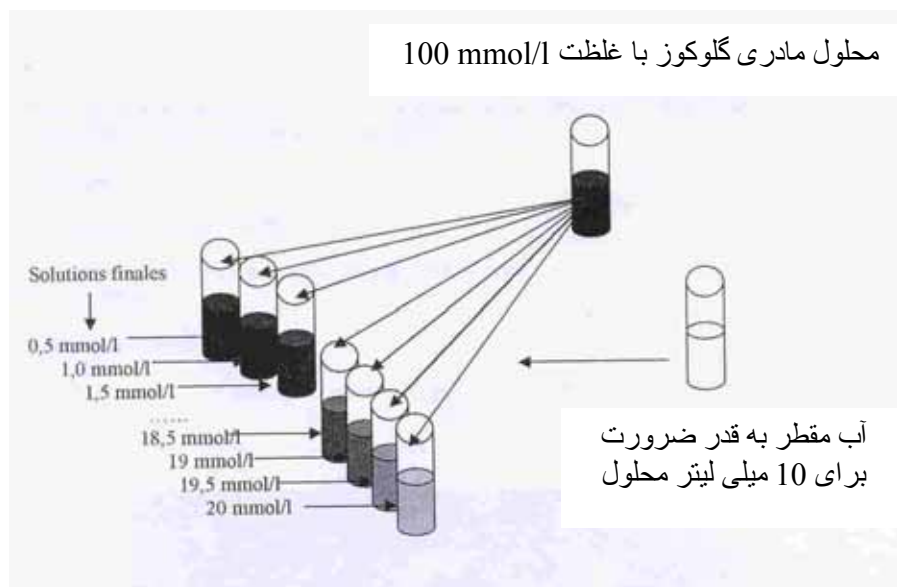
طرز تهیه رقاقت:

جهت ایجاد سهولت در عملیه بیپیتاژ (بیپیت کردن)، 100 میلی لیتر از هر رقاقت تهیه نمایید.

در تیوب های شیشه ای، محلولات را به ترتیب ذیل توزیع یعنی تقسیمات نمایید:

محلولات دختری	محلول با غلظت 100 mmol/l	آب مقطر (برای رقیق ساختن)
محلول با رقاقت یا غلظت 95 mmol/L	0.5 ml	9.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 90 mmol/L	1 ml	9 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 85 mmol/L	1.5 ml	8.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 80 mmol/L	2 ml	8 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 75 mmol/L	2.5 ml	7.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 70 mmol/L	3 ml	7 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 65 mmol/L	3.5 ml	6.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 60 mmol/L	4 ml	6 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 55 mmol/L	4.5 ml	5.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 50 mmol/L	5 ml	5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 45 mmol/L	5.5 ml	4.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 40 mmol/L	6 ml	4 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 35 mmol/L	6.5 ml	3.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 30 mmol/L	7 ml	3 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 25 mmol/L	7.5 ml	2.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 20 mmol/L	8 ml	2 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 15 mmol/L	8.5 ml	1.5 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 10 mmol/L	9 ml	1 ml
محلول با رقاقت یا غلظت 5 mmol/L	9.5 ml	0.5 ml

سر هر بوتل را با پارافین مسدود کنید!
هر تیوب را به منظور مخلوط شدن خوب تکان دهید!



دوزاژ تمامی محلولات رقیق ساخته شده گلوکوز را تعیین نمایید. راپور هایی را که بدست می آیند روی یک ورقه نتایجی که با میلی متر نشانی شده است (همانطوریکه در شیمای بعدی نشان داده شده است) درج نموده و برسانید. بعد گراف را ترسیم کنید!

تفسیر نتایج:

جدول خلاصه نتایج:

تیوب ها	محلولات	غلظت های متوقعه (که انتظار دریافت شان را داریم) بر حسب mmol/l	غلظت های اندازه گرفته شده بر حسب mmol/l
1	محلول با رقاقت یا غلظت 100 mmol/L	100	80.19
2	محلول با رقاقت یا غلظت 95 mmol/L	95	79.31
3	محلول با رقاقت یا غلظت 90 mmol/L	90	78.63
4	محلول با رقاقت یا غلظت 85 mmol/L	85	77.82
5	محلول با رقاقت یا غلظت 80 mmol/L	80	75.01
6	محلول با رقاقت یا غلظت 75 mmol/L	75	72.16
7	محلول با رقاقت یا غلظت 70 mmol/L	70	68.46
8	محلول با رقاقت یا غلظت 65 mmol/L	65	64.30
9	محلول با رقاقت یا غلظت 60 mmol/L	60	59.80
10	محلول با رقاقت یا غلظت 55 mmol/L	55	54.89
11	محلول با رقاقت یا غلظت 50 mmol/L	50	49.94
12	محلول با رقاقت یا غلظت 45 mmol/L	45	44.96
13	محلول با رقاقت یا غلظت 40 mmol/L	40	40.01
14	محلول با رقاقت یا غلظت 35 mmol/L	35	34.95
15	محلول با رقاقت یا غلظت 30 mmol/L	30	29.94
16	محلول با رقاقت یا غلظت 25 mmol/L	25	24.95
17	محلول با رقاقت یا غلظت 20 mmol/L	20	19.98
18	محلول با رقاقت یا غلظت 15 mmol/L	15	14.95
19	محلول با رقاقت یا غلظت 10 mmol/L	10	10.10
20	محلول با رقاقت یا غلظت 5 mmol/L	5	5.04

غلظت تمامی تیوب هایی را که از محلول گلوکوز با غلظت 100 mmol/l تهیه شده اند، میدانیم. در جریان تجربه باید ارزش هر تیوب را دوباره معلوم کنیم. از این رو گفته میشود که این ها ارزش ها یا قیمت هایی اند که قبلاً "تعیین شده اند و ما انتظار داریم که آن ها را دوباره دریابیم : **(ارزش ها یا قیمت های متوقعه)!**

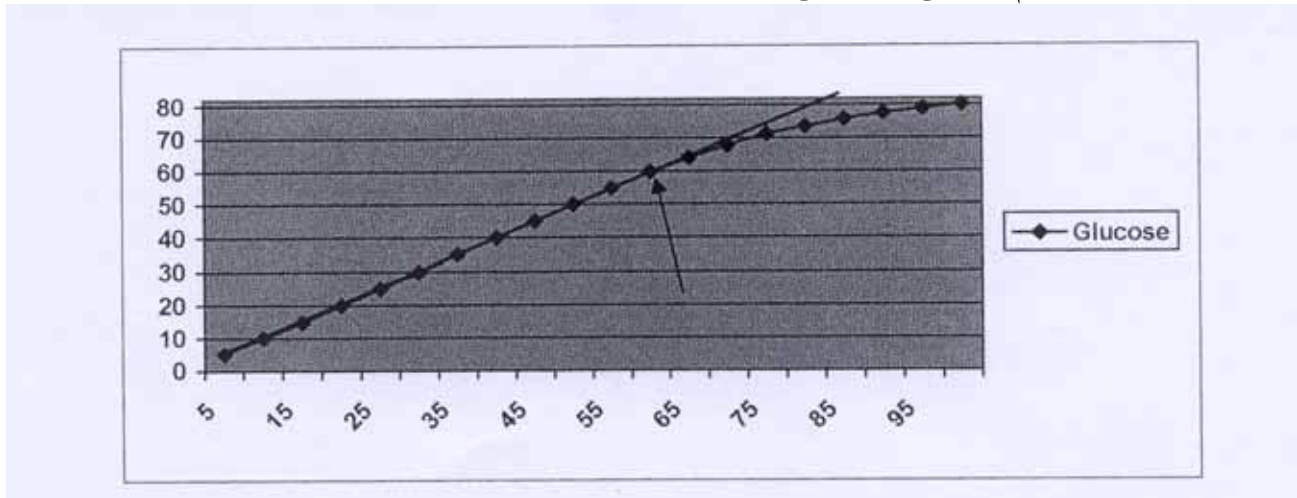
برای هر محلول یک قیمت از قبل تعیین شده و یک قیمت تجربوی بدست می آید. بر خلاف بر عکس دفعه قبل، این ارزش های تجربوی بنام **ارزش ه یا قیمت های اندازه شده** یاد میگردند.

• **گراف:**

بالای کاغذ گراف، گراف ارزش ها را ترسیم نمایید! (خط مستقیمی را که از نقطه اولی (غلظت 5 mmol/l) الی نقطه اعظمی میگذرد، با وصل نمودن نقاط، رسم کنید!)

• **تفسیر نتایج:**

در مثال ما، خط مستقیم از تمامی نقاط که الی 65 mmol/l میرسد، عبور نموده است:



بعد از غلظت 65 mmol/l ، خط مستقیم رسم شده به مسیر مستقیم خود ادامه نمی دهد و یک انحنای پیدا میکند. این تست بطور گرافیک نشان میدهد که این کیت ریجننت مورد معاینه الی غلظت 65 mmol/l ، یعنی بین غلظت 0 و 65 mmol/l خطی (linéaire) میباشد! جواب کیت (رنگ، تکاتف نوری...) مستقیماً متناسب به غلظت گلوکوز است. از قدمه غلظت 65 mmol/l به بعد، دیگر جذاب کیت با غلظت گلوکوز تناسب مستقیم ندارد.

در اینصورت نتیجه نباید برای مریض داده شود. بلکه باید معاینه روی یک سمپل رقیق ساخته شده ، با یک رقاقت 1/3 و یا 1/4 دوباره تکرار گردد!

ضمائم

مودل ورقه محاسبه

تعیین غلظت یک محلول و حدود قابل قبول برای آن

N°	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²
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			
مجموعه			
اوسط		Variance	
		ET	
		CV%	

مودل يك ورقه محاسبه

مطالعه repetibility يك ريچنت

(برای غلظت های پایین، متوسط و بلند)

شماره	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
مجموعه									
اوسط			Variance			Variance			Variance
			ET			ET			ET
			CV%			CV%			CV%
M-2ET									
M-1ET									
M+1ET									
M+2ET									

مودل یک ورقه محاسبه

مطالعه Reproductibilité یک ریجنت

(برای سویه های پایین، متوسط و بلند)

شماره	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²	نتایج	(M-dosage)	(M-dosage) ²
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
مجموعه		Variance			Variance			Variance	
اوسط		ET			ET			ET	
		CV%			CV%			CV%	
M-2ET									
M-1ET									
M+1ET									
M+2ET									

خاتمه
ترجمه : حمیرا نوابی
دکتور : شبدیز - دلیری