

العنوان:	دراسة مقارنة بين الطريقتين اللونية والحركية لقياس أنظيمات الفسفاتاز القلوي (AP) وناقلة الاسبارتان (AST) وناقلة الالانين
المؤلف الرئيسي:	زيتوني، داليا
مؤلفين آخرين:	الخطيب، حسين، بازرباشي، محمد بديع(مشرف)
التاريخ الميلادي:	2000
موقع:	حلب
الصفحات:	1 - 97
رقم MD:	582512
نوع المحتوى:	رسائل جامعية
اللغة:	Arabic
الدرجة العلمية:	رسالة ماجستير
الجامعة:	جامعة حلب
الكلية:	كلية الطب
الدولة:	سوريا
قواعد المعلومات:	Dissertations
مواضيع:	أمراض الدم، المختبرات الطبية ، التشخيص، الفسفاتاز القلوي
رابط:	http://search.mandumah.com/Record/582512



جامعة حلب
كلية الطب
قسم الطب المخبري

دراسة مقارنة بين الطريقتين اللونية والحركية لقياس
إنزيمات الفسفاتاز القلوية (AP) وناقلة الأسبارتات (AST)
وناقلة الألائين (ALT)

رسالة قدمت لنيل شهادة الدراسات العليا في الطب المخبري

أعدتها طالبة الدراسات العليا

الدكتورة داليا زيتوني

بإشراف

الأستاذ الدكتور محمد بديع بازرباشي

أستاذ أمراض الدم في قسم الأمراض الباطنة

كلية الطب البشري - جامعة حلب

الدكتور حسين الخطيب

مدرس الكيمياء السريرية

كلية طب الأسنان - جامعة البعث

١٤٢١ هـ

٢٠٠٠ م

جامعة حلب
كلية الطب
قسم الطب المخبري

دراسة مقارنة بين الطريقتين اللونية والحركية لقياس
إنزيمات الفسفاتاز القلوية (AP) وناقلة الأسبارتات (AST)
وناقلة الألاتين (ALT)

رسالة قدمت لنيل شهادة الدراسات العليا في الطب المخبري

أعدتها طالبة الدراسات العليا

الدكتورة داليا زيتوني

بإشراف

الأستاذ الدكتور محمد بديع بازرباشي

أستاذ أمراض الدم في قسم الأمراض الباطنة

كلية الطب البشري - جامعة حلب

الدكتور حسين الخطيب

مدرس الكيمياء السريرية

كلية طب الأسنان - جامعة البعث

قدمت هذه الدراسة استكمالاً لمتطلبات نيل شهادة الدراسات العليا في الطب المخبري

من كلية الطب البشري بجامعة حلب

١٤٢١ هـ

٢٠٠٠ م

شهادة

أشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث قامت به المرشحة الدكتورة داليا زيتوني طالبة الدراسات العليا في قسم الطب المخبري في كلية الطب بجامعة حلب بإشراف الأستاذ الدكتور محمد بديع بازرباشي أستاذ أمراض الدم في قسم الأمراض الباطنة في كلية الطب البشري بجامعة حلب والدكتور حسين الخطيب مدرس الكيمياء السريرية بكلية طب الأسنان بجامعة البعث .
وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع هو موثق في النص .

المرشحة

المشرفان على الدراسة

الدكتورة داليا زيتوني

الدكتور حسين الخطيب

الأستاذ الدكتور محمد بديع بازرباشي

تصريح

أصرح بأن هذا البحث : "دراسة مقارنة بين الطريقتين اللونية والحركية لقياس إنزيمات الفسفاتاز القلوية (AP) وناقلة الاسبارتات (AST) وناقلة الألاين (ALT)" لم يسبق أن قبل لأي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أخرى .

المرشحة

الدكتورة داليا زيتوني

نوقشت هذه الرسالة بتاريخ — / / ٢٠٠٠ م
وأجيزت .

المشرفان على الدراسة

الدكتور حسين الخطيب الأستاذ الدكتور محمد بديع بازرباشي

كلمة شكر

أتوجه بالشكر وأنا في هذه المرحلة إلى أساتذتي الكرام الذين أفادوني بعلمهم وخبراتهم خلال سنوات دراستي.
وأخص بالشكر والتقدير والامتنان

الأستاذ الدكتور محمد بديع بازرباشي
والدكتور حسين الخطيب

الذين تفضلاً بالإشراف على هذا البحث وتابعاه خطوة خطوة وكانوا خير معينين وموجهين لي.

كما أتوجه بالشكر إلى كل من كان له الفضل في إغناء معلوماتنا وخبراتنا طوال فترة الدراسة .

كما أتوجه بالشكر إلى الأستاذ محمود فاخوري الذي تكرم بتدقيق الرسالة لغوياً .

د. داليا زيتوني

فهرس المحتويات

الموضوع	الصفحة
الباب الأول : مراجعة الأدبيات الطبية	١
الفصل الأول: لمحة عن المقاييس الإنظمية	١
الفصل الثاني: العوامل والمواصفات التي يجب توافرها عند اختيار الطريقة القياسية	٤
١ - الدقة Accuracy	٥
٢ - تطابق التكرارية Precision	٥
٣ - النوعية Specificity	٦
٤ - الحساسية Sensitivity	٦
٥ - الفعالية Efficiency	٧
الفصل الثالث : الاختبارات والعمليات التي تقيم الطرائق المخبرية	٨
الفصل الرابع : الفسفاتازات وطرائق مقياستها	١٧
الفصل الخامس : الترانس أميتاز وطرائق مقياستها	٢٠
الباب الثاني : العينات وطرائق البحث	٢٤
الفصل الأول : مواد البحث	٢٤
أ - المصول العيارية:	٢٤
ب - عينات مرضى المشفى:	٢٤
الفصل الثاني : طرائق البحث	٢٧
شرح الطرائق اللونية التي استخدمناها في القياس	٢٧
شرح الطرائق الحركية التي استخدمناها في القياس :	٣١
الفصل الثالث : بعض المفاهيم الإحصائية والطرائق والمعادلات المستخدمة	٣٦
الباب الثالث : النتائج	٣٨
الفصل الأول : نتائج تطابق التكرارية في كل طريقة قياسية	٣٨

٤٣	الفصل الثاني : نتائج الدقة في كل طريقة قياسية.....
٤٨	الفصل الثالث : مقارنة النتائج.....
٤٨	١ - مقارنة نتائج تطابق التكرارية :
٤٩	٢ - مقارنة نتائج الدقة :
٥٠	الفصل الرابع: نتائج عينات المرضى
٥٠	أولاً : نتائج العينات الطبيعية :
٥٠	١ - نتائج قياس الـ AST
٥٥	٢ - نتائج قياس الـ ALT
٥٩	٣ - نتائج قياس الـ AP
٦٤	ثانياً : نتائج العينات المنحلة :
٦٤	١ - نتائج قياس الـ AST
٦٦	٢ - نتائج قياس الـ ALT
٦٨	٣ - نتائج قياس الـ AP
٧٠	ثالثاً : نتائج العينات اليرقانية :
٧٠	١ - نتائج قياس الـ AST
٧٢	٢ - نتائج قياس الـ ALT
٧٤	٣ - نتائج قياس الـ AP
٧٦	رابعاً : نتائج العينات الشحمية :
٧٦	١ - نتائج قياس الـ AST
٨٠	٢ - نتائج قياس الـ ALT
٨٤	٣ - نتائج قياس الـ AP
٨٨	الباب الرابع : المناقشة والتوصيات
٨٨	المناقشة.....
٩٢	التوصيات..... ٥٣-٩٤٥
٩٣	مقارنة نتائج الدراسة مع دراسات مماثلة أخرى.....
٩٥	الخلاصة.....
٩٦	المراجع.....
1	SUMMARY

فهرس الجداول

الصفحة

الجدول

- الجدول رقم (١) يظهر الخطأ المسموح به عند قياس AP ، ALT ، AST ١٠
- الجدول رقم (٢) يبين تطابق التكرارية بالنسبة لقياس AST بالطريقة اللونية ٣٨
- الجدول رقم (٣) يبين تطابق التكرارية بالنسبة لقياس AST بالطريقة الحركية ٣٩
- الجدول رقم (٤) يبين تطابق التكرارية بالنسبة لقياس الـ ALT بالطريقة اللونية ٤٠
- الجدول رقم (٥) يبين تطابق التكرارية بالنسبة لقياس ALT بالطريقة الحركية ٤١
- الجدول رقم (٦) يبين تطابق التكرارية بالنسبة لقياس الـ AP بالطريقة اللونية ٤٢
- الجدول رقم (٧) يبين تطابق التكرارية بالنسبة لقياس AP بالطريقة الحركية ٤٢
- الجدول رقم (٨) يبين الدقة عند قياس الـ AST بالطريقة اللونية ٤٣
- الجدول رقم (٩) يبين الدقة عند قياس الـ AST بالطريقة الحركية ٤٤
- الجدول رقم (١٠) يبين الدقة عند قياس الـ ALT بالطريقة اللونية ٤٥
- الجدول رقم (١١) يبين الدقة عند قياس الـ ALT بالطريقة الحركية ٤٦
- الجدول رقم (١٢) يبين الدقة عند قياس الـ AP بالطريقة اللونية ٤٦
- الجدول رقم (١٣) يبين الدقة عند قياس الـ AP بالطريقة الحركية ٤٧
- الجدول رقم (١٤) يبين مقارنة نتائج تطابق التكرارية بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP ، ALT ، AST ٤٨
- الجدول رقم (١٥) يبين مقارنة نتائج الدقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP ، ALT ، AST ٤٩
- الجدول رقم (١٦) يبين قيم عينات AST السوية في المصل الطبيعي حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية.... ٥١

- الجدول رقم (١٧) يبين قيم عينات AST المرتفعة في المصل الطبيعي حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية. ٥٣
- الجدول رقم (١٨) يبين قيم عينات ALT السوية في المصل الطبيعي حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية.. ٥٦
- الجدول رقم (١٩) يبين قيم عينات ALT المرتفعة في المصل الطبيعي حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية ٥٨
- الجدول رقم (٢٠) يبين قيم عينات AP السوية في المصل الطبيعي حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية.... ٦٠
- الجدول رقم (٢١) يبين قيم عينات AP المرتفعة في المصل الطبيعي حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية... ٦٢
- الجدول رقم (٢٢) يبين قيم AST في العينات المنحلة حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٦٤
- الجدول رقم (٢٣) يبين قيم ALT في العينات المنحلة حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٦٦
- الجدول رقم (٢٤) يبين قيم AP في العينات المنحلة حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٦٨
- الجدول رقم (٢٥) يبين قيم AST في العينات اليرقانية حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٧٠
- الجدول رقم (٢٦) يبين قيم ALT في العينات اليرقانية حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٧٢
- الجدول رقم (٢٧) يبين قيم AP في العينات اليرقانية حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٧٤
- الجدول رقم (٢٨) يبين قيم AST في العينات الشحمية حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٧٨
- الجدول رقم (٢٩) يبين قيم ALT في العينات الشحمية حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٨٢
- الجدول رقم (٣٠) يبين قيم AP في العينات الشحمية حسب ترتيب أخذها بالطريقتين اللونية والحركية..... ٨٦
- الجدول رقم (٣١) يبين مقارنة بين نتائج بحثنا وبحث جامعة اندبره..... ٩٣
- الجدول رقم (٣٢) يبين مقارنة بين نتائج بحثنا وبحث GRONINGEN..... ٩٤
- الجدول رقم (٣٣) يبين مقارنة بين نتائج بحثنا وبحث IZQUIERDO JM..... ٩٤

- المخطط رقم (١٦) يبين العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AST في العينات المنحلة حسب ترتيب أخذها ٦٥
- المخطط رقم (١٧) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AST في العينات المنحلة ٦٥
- المخطط رقم (١٨) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس ALT في العينات المنحلة حسب ترتيب أخذها ٦٧
- المخطط رقم (١٩) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس ALT في العينات المنحلة ٦٧
- المخطط رقم (٢٠) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP في العينات المنحلة حسب ترتيب أخذها ٦٩
- المخطط رقم (٢١) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP في العينات المنحلة ٦٩
- المخطط رقم (٢٢) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AST في العينات اليرقاتية حسب ترتيب أخذها ٧١
- المخطط رقم (٢٣) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AST في العينات اليرقاتية ٧١
- المخطط رقم (٢٤) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس ALT في العينات اليرقاتية حسب ترتيب أخذها ٧٣
- المخطط رقم (٢٥) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس ALT في العينات اليرقاتية ٧٣
- المخطط رقم (٢٦) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP في العينات اليرقاتية حسب ترتيب أخذها ٧٥
- المخطط رقم (٢٧) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP في العينات اليرقاتية ٧٥
- المخطط رقم (٢٨) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AST في العينات الشحمية حسب ترتيب أخذها ٧٩
- المخطط رقم (٢٩) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AST في العينات اليرقاتية ٧٩
- المخطط رقم (٣٠) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس ALT في العينات الشحمية حسب ترتيب أخذها ٨٣
- المخطط رقم (٣١) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس ALT في العينات الشحمية ٨٣
- المخطط رقم (٣٢) يوضح العلاقة بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP في العينات الشحمية حسب ترتيب أخذها ٨٧
- المخطط رقم (٣٣) يوضح الارتباط بين الطريقتين اللونية والحركية عند قياس AP في العينات الشحمية ٨٧

المقدمة

من خلال تأمل مسيرة الإنسان، نجد أنه ينتقل دائما من تطور إلى آخر وبسرعة كبيرة وخاصة خلال القرن السابق، والهدف كان دائما تحقيق الإنجازات الأفضل التي تخدم البشرية، وشمل هذا التطور السريع كافة المجالات.

نتوقف في بحثنا هذا عند العلوم الطبية ولا سيما التحليل والطرائق المخبرية، فلقد زاد الاعتماد على طلب الاختبارات المخبرية من أجل التوصل إلى تشخيص أو متابعة المرض وأصبح الاعتماد على مخابر التحليل أمرا واقعا في الممارسة الطبية، ثم أصبح هذا الاعتماد يتزايد كل يوم مع ظهور التقنيات الجديدة، وتطورت الطرائق المخبرية تطورا متزايدا مماشية بذلك تزايد الاعتماد عليها، بهدف أن تحقق إجراء التحليل بأسرع ما يمكن مع المحافظة على دقة النتائج حتى يمكن إيصالها إلى الأطباء السريريين لإجراء ما يجدونه مناسباً.

في هذه الدراسة المتواضعة حاولنا تسليط الضوء على الطريقة الحركية التي تعتمد على حساب مقدار التفاعل في الوحدة الزمنية، وأجرينا مقارنة بشكل علمي وعملي بالطريقة اللونية أو ما تسمى بتقنية نقطة النهاية لأننا في نهاية التحليل نكون قد حولنا جميع المادة المراد قياسها إلى المركب الملون الذي يمكن قياسه، وذلك لتقييم كفاءة الطريقة الحركية ودقتها وسرعتها.

ولقد تمت مقارنة الطريقتين اللونية والحركية مستخدمين معايرة الإنزيمات: الفسفاتاز القلوية، وناقلاات الأمين AST و ALT نظرا لأهمية تغيرات المستويات المصلية لهذه الإنزيمات حيث يشكل نسبة كبيرة من العمل الإنزيمي الروتيني في كثير من المخابر، لذلك كان لا بد من توفر تقنيات مناسبة لسد هذا الكم من العمل.

هدف البحث

إن هدف البحث هو إجراء مقارنة بين الطريقتين اللونية والحركية لقياس إنزيمات الفسفاتاز القلوية (AP) وناقلة الأسبارتات (AST) وناقلة الألانين (ALT) وتقييم مدى دقة وكفاءة كل من الطريقتين وذلك لبيان ما يلي :

- ١- إجراء قياس كل من إنزيمات الفسفاتاز القلوية (AP) وناقلة الأسبارتات (AST) وناقلة الألانين (ALT) بالطريقتين اللونية والحركية.
- ٢- تقدير مدى دقة هذه القياسات.
- ٣- معرفة تطابق تكرارية النتائج.
- ٤- التعرف على الفروق بين الطريقتين ومعرفة أهمية استخدام الطريقة الحركية في بعض الحالات .

أ- مرحلة التسطح lag phase:

يكون هناك تغير بسيط في الامتصاصية مع الزمن حيث تندمج المتفاعلات وتصل إلى التوازن الحركي والحراري. تستبعد هذه المرحلة من زمن المقايسة .

ب- المرحلة الخطية Linear phase:

هي الفترة التي يكون فيها مقدار فاعلية الإنزيم ثابتاً بشكل خطي لتركيز الركيزة خلال فترة زمنية معينة ويمكن إجراء القياس في أي زمن خلال هذه المرحلة وتستمر حتى مرحلة نضوب الركيزة.

ج- مرحلة نضوب الركيزة Substrate depletion phase:

تكون فاعلية الإنزيم مرتفعة بشكل كبير مما يؤدي لنضوب الركيزة قبل أن يتم القياس ففي هذه الحالة نمدد العينة ضعفين أو ثلاثة أضعاف بالسائل الفيزيولوجي أو الماء المقطر.

في المقايسات الإنزيمية هناك ثلاث أساليب للقياس :

١- الطريقة البسيطة:

وذلك حينما تكون NAD^+ أو $NADP^+$ أو شكلهما المرجع تميمة لانزيم مطلوب قياس فعاليته، حيث تجري التفاعل الأصلي باستخدام الركيزة والإنزيم والتميمة الإنزيمية في الكفيسيت ونراقب تغير الامتصاصية (كما في معايرة LDH).

٢- الاستعانة بجملة إنزيمية مشعرة indicator-Reaction:

عندما لا يتفاعل الإنزيم المطلوب قياسه مع NAD^+ أو $NADP^+$ يمكننا أحياناً أن نستعين بجملة دهيدروجيناز (تفاعل مشعر) كما في معايرة AST و ALT.

٣- الاستعانة بتفاعل مساعد وجملة إنزيمية مشعرة:

لا يمكننا أحياناً قياس نواتج التفاعل للإنزيم المجهول (نواتج التفاعل الأصلي) بشكل مباشر أو بواسطة جملة إنزيمية مشعرة indicator-Reaction، إلا بعد مشاركته بجملة إنزيمية أخرى تقوم بدور الوسيط (تفاعل مساعد Auxiliary Reaction). مثل معايرة CPK (١٨٠١٧٠١٥٠٦٠٤٤٢).

الفصل الثاني:

العوامل والمواصفات التي يجب توافرها عند اختيار الطريقة القياسية

عندما يطلب الطبيب السريري تحليلاً ما لمريض فإنه يتوقع الحصول على معلومات محددة تمكنه من الإجابة على مجموعة من الأسئلة أهمها:

١- هل هناك إصابة مرضية ولكنها غير ظاهرة؟ نتبين من هذا السؤال أهمية استخدام الاختبارات الماسحة (Screening Tests).

٢- إذا كان المرض ظاهراً فما هي طبيعته وما هو العضو المصاب؟ أي يشير هذا السؤال إلى قدرة المعلومة المخبرية للإشارة إلى التغير المرضي الحاصل ونوعيته وحساسيه الطريقة لإظهار التغير.

٣- هل يمكن إثبات التشخيص المبدي؟ أي هل يقدم التحليل معلومات تؤكد التشخيص.

٤- ما هي شدة الإصابة؟ أي يشير إلى قدرة التحليل على تقييم المرض وتحديد الإنذار.

٥- هل حدثت تغييرات في التقييم الأخير للمرض؟ وهو يتضمن سير المرض والعلاج.

يعتبر دور الاختبار التحليلي مهماً من حيث قدرته على الإجابة عن واحد أو أكثر من هذه الأسئلة، فمثلاً يؤثر تطابق التكرارية على إمكانية التمييز بين النتائج الطبيعية والمرضية أو تحديد ما إذا كانت التغيرات في النتيجة من يوم لآخر ذات مدلول أم لا.

لذلك لابد من توافر مجموعة من الشروط والأهداف في الطريقة التحليلية حتى تؤدي دورها في تقديم المعلومات المخبرية الدقيقة التي تمكن من الإجابة عن الأسئلة السابقة والوصول لمعرفة أفضل للحالة المرضية التي تقابلها.

وهذه الأهداف هي مجموعة عوامل ومواصفات يجب أن تتوفر في الطريقة التي تستخدمها حتى نحكم من خلالها على الطريقة بأنها ذات فعالية مقبولة وموثوق بها.

وهذه الأهداف هي:

١ - الدقة Accuracy:

ونعني بها دقة النتيجة أي مدى صحة النتيجة وتطابقها مع القيمة الحقيقية المقاسة لا يوجد قيمة رقمية للدقة ولكن نعبر عنها بمصطلح دقيق **accurate** أو غير دقيق **in-accurate**. فنقول إن طريقة ما غير دقيقة عندما يكون هناك فرق أكبر من المسموح به بين القيمة الحقيقية **true value** وبين متوسط مجموعة القيم، عند إجراء القياس عدة مرات على نفس العينة.

ويعبر عن هذا الفرق سواء كان إيجابياً أو سلبياً إما بوحدات القياس الكمية المستخدمة للمادة المقاسة أو بالنسبة المئوية للفرق مقسوماً على القيمة الحقيقية.

ونستخدم الانحياز **Bias** أو الخطأ النظامي للتعبير عن الدقة إحصائياً.

٢ - تطابق التكرارية Precision:

ونعني بها مدى تطابق النتائج إذا كررنا القياس مرات متعددة لعينة واحدة وبطريقة واحدة وتحت ظروف معينة غير متغيرة دون اعتبار لصحة النتائج.

ويمكن أن تبدي طريقة ما تكرارية ملموسة لكن دقتها أو ضبطها سيئ أما العكس فغير صحيح، وتعتبر التكرارية من أهم الضوابط اللازم إجراؤها لتقييم كفاءة الطرائق المخبرية.

نحدد تطابق التكرارية لطريقة ما بتجارب التكرار على نفس العينة لعدة مرات (عادة ما يجرى على الأقل ١٠ - ٢٠ قياس). ويمكن إجراء تجارب التكرارية بعدة طرائق:

١- تطابق التكرارية ضمن الخط التحليلي الواحد **Within run precision**: حيث يعاد تحليل نفس العينة ضمن الخط التحليلي الواحد لعدة مرات. تعطينا هذه الطريقة أفضل تقييم لتطابق التكرارية لطريقة تحليلية لأنها تقلل من تغيير ظروف التحليل خلال الزمن بين تكرار قياس العينات.

٢- تطابق التكرارية خلال اليوم الواحد **Within day precision**: أي بين الخطوط التحليلية حيث يكرر قياس نفس العينة عدة مرات في عدة خطوط وهنا تزداد الفرصة لتأثير تغيير الظروف في التجارب ضمن الخط الواحد.

٣- تطابق التكرارية من يوم لآخر **Day to day precision**: وهنا يكرر تحليل العينة نفسها خلال عدة أيام حيث يزداد دور المتغيرات بشكل أكبر في التأثير على تطابق التكرارية، إلا أنها تعتبر التقييم الأكثر واقعية لفعالية الطريقة بالنسبة للسريري الذي يستخدم نتيجة الاختبار المجرى بهذه الطريقة.

يعبر عن تطابق التكرارية إحصائياً بمعامل التغير **Coefficient of variation** والانحراف المعياري للناتج σ_x ، ولكن معامل التغير أفضل في التعبير لأنه يعطي بالنسبة المثوية وبالتالي يلغي دور الوحدات وحجم الاختلاف المطلق في الحكم على تطابق التكرارية.

٣ - النوعية Specificity:

وتعني قدرة الطريقة التحليلية على قياس مركب ما دون التداخل مع مركبات أخرى.

تتعلق النوعية بدقة القياس. وأهم أمثلة النوعية هو وجود تفاعل متصالب مع مركبات قريبة من المادة المراد قياسها - أما المثال الأكثر شيوعاً فهو كثرة حدوث المشكلات في قراءة العينات نتيجة لوجود بعض المواد التي تؤثر على قراءة المادة المقيسة، ومن هذه المواد البيلروبين - الشحوم - الخضاب.

٤ - الحساسية Sensitivity:

وهي قياس لقدرة الطريقة التحليلية على كشف أقل كمية من المادة المراد قياسها، ويعبر عنها بمصطلح حد الكشف **Detection Limit** وهو أقل نتيجة يمكن تمييزها عن الكفئ (blank) المناسب.

ترتبط الحساسية بتطابق التكرارية، فعندما نركز اهتمامنا على تقييم فعالية الطريقة عند تركيز معين من المادة المقيسة والذي يكون أعلى من حد الكشف فمن الأفضل تحديد تطابق التكرارية عند هذا التركيز الذي غالباً ما يكون مستوى التركيز لأخذ القرار الطبي **Medical decision level**.

تتعلق الحساسية بشكل خاص، وفعالية الطريقة بشكل عام بقراءة الكفى إذ يفضل أن تكون قراءة الكفى منخفضة لأنها تزيد من دقة وتطابق تكرارية الطريقة، إلا أن وجود قراءة عالية للكفى -ولكنها ثابتة وتحقق تطابق تكرارية جيداً- لا يؤثر على فعالية الطريقة.

٥- الفعالية Efficiency:

لها مرادفات عدة منها درجة الثقة بالطريقة Reliability أو إنجاز الطريقة performance of method وهي تشمل كل ما ذكرنا من مواصفات الطريقة والأهداف المتوخاة فيها من دقة وحساسية ونوعية وتطابق تكرارية وقراءة الكفى ومواصفات أخرى مثل المردود Recovery والتداخل interterence ومجال الخطية Linear range وثباتية الكشف.

ولكي نحكم على طريقة ما بأنها فعالة وموثوقة ويمكن استخدام نتائجها في الممارسة الطبية لابد من توافر المواصفات السابقة الذكر بالدرجات المقبولة طبياً. (٢٢،١٩،١٥،١١،١٠،٢)

الفصل الثالث

الاختبارات والعمليات التي تقيم الطرائق المخبرية

حتى يصل استخدام طريقة تحليلية ما إلى غايته في تقديم نتيجة أدق للسريري، فإنه يمر بعدة محطات: الأولى هي الصانع أو مكتشف الطريقة والثانية هي المخبر والثالثة الطبيب السريري الذي يستفيد من نتيجة التحليل. وسنشرحها باقتضاب:

١ - المصنع:

عندما يطور المصنع طريقة تحليلية جديدة، ويعدها للتسويق فإنه مطالب بأن يكون مستوى فعالية طريقته مقبولاً في معظم المخابر التي تستخدمها، لذلك فإن المؤسسات المسؤولة عن مراقبة المنتجات مثل منظمة الغذاء والدواء تطالبه بتقديم عرض عن فعالية طريقته وبخاصة تطابق التكرارية Precision ودقة النتائج accuracy فيها. ويجب أن يدعم هذا العرض ببيانات تجريبية تؤكد صحة ادعائه.

وقد قدم المجمع العالمي للقياسات المخبرية السريرية بروتوكولات خاصة بالمصنعين لاتباعها في الاختبارات التجريبية للطرائق وفي المعالجة الإحصائية للمعلومات حتى يقدموا عرضاً منافساً وقوي الحجة عن فعالية طريقته.

كما قدم أيضاً بروتوكولات خاصة بالمستخدم تتضمن تجارب بسيطة سنذكرها لاحقاً تمكنه من التأكد من صحة ما يدعيه المصنع لأن إعادة التجارب الخاصة بالمصنع مكلفة جداً وتحتاج لإمكانات تخصيصية كبيرة. حيث تجري هذه التقييمات لمعرفة ما إذا كان إنجاز الطريقة يوافق متطلبات التطبيق الطبي الذي يقصده المستخدم.

٢ - المخبر المستخدم لهذه الطريقة:

لقد طورت إلى جانب الطرائق الموجودة طرائق تحليل جديدة لتحسين الدقة والتكرارية، ومن أجل الاستخدام الآلي وإنقاص كمية الكواشف أو كلفة العمل أو لقياس تحليل جديد.

على كل حال يجب التأكد تجريبياً من الإنجاز التحليلي للطريقة الجديدة في المخبر السريري حتى لو اعتقد بأن الطريقة الجديدة أفضل من الطرائق السابقة.

فيقوم المخبر المستخدم بدراسة هذه الطريقة قبل استخدامها لإثبات ما إذا كانت تتناسب مع حاجاته الخاصة بمخبره، ويمكن تلخيص هذه الحاجات فيما يلي:

أ- فعالية هذه الطريقة:

- دقة نتائجها.

- تطابق التكرارية فيها.

- حساسيتها.

- نوعيتها.

ب- مجال الاستقامة: **Linearity**.

ج- ثباتية الكواشف.

د- طريقة القياس فيها أي استخدامها للتفاعلات النهائية أم للتفاعلات الحركية.

هـ- إمكانية استخدام العينات للمراقبة النوعية لها.

و- مواصفات التطبيق العملي لها: التكلفة الاقتصادية - حجم العينة - الوقت المستهلك -

نوع العينة - المساحات المخبرية التي تحتاجها - عوامل الأمان والخطر فيها - إمكانية

استخدامها آلياً - ألفة الطريقة بالنسبة للعاملين في المخبر.

فكل هذه الأمور يجب دراستها بشكل جديد من قبل المخبر قبل استخدامه لأي طريقة.

٣ - المتطلبات الطبية في الطريقة:

إن قرار قبول أو رفض طريقة ما، مخبرية مرشحة، يجب أن يعتمد على مقدرة الطريقة على تلبية متطلبات المستخدم أو الطبيب الذي يفسر نتائج الاختبار المخبري على المريض.

تعرف هذه المتطلبات بأنها حاجة السريري لنتيجة تحليلية لا يتجاوز الخطأ المرتكب فيها المجال المسموح به طبيياً حتى لا تضلل هذه النتيجة التشخيص وخاصة عند مستوى التركيز الذي يسمى مستوى التركيز لأخذ القرار الطبي (XC)، فإذا زاد خطأ الطريقة عن الخطأ المسموح به فإن أداء الطريقة غير مقبول، ويقبل الأداء إذا كان الخطأ مسموحاً به.

لقد تعددت الآراء في تحديد مقدار الخطأ الطبي المسموح به لكل مادة فمثلاً الباحث Ehrmeyer اقترح أن يكون ثلث المجال المحدد من قبل هيئة المخابر لتقييم و تصنيف معايير عمل الاختبارات Commission on Office Laboratory Assessment Performance testing grading criteria, 1991-1992 (COLA) أما Barnett و Westgard اقترحا أن يكون ربع المجال المحدد من قبل هيئة تحسين تعديلات المخابر السريرية Clinical Laboratory Improvement Amendment ,1988 (CLIA) ، وهناك جداول للخطأ المسموح به، ونورد بعض الأمثلة:

المادة المقيسة	تركيز القرار الطبي XC	COLA	CLIA	Barnett	Fraser
AP	U/L ١٥٠	٤٢	٤٥		٥,١
ALT	U/L ٥٠	١٦	١٠		٦,٨
AST	U/L ٣٠	٦	٦		٢,٢

الجدول رقم (١) : يظهر الخطأ المسموح به عند قياس AP ، ALT ، AST

يبين هذا الجدول بعض المعلومات التي وضعها مجموعة من الباحثين في مجال الكيمياء السريرية حول مستوى التركيز لأخذ القرار الطبي XC لمجموعة من المواد.

فمثلاً حدد الـ XC لـ AP U/L ١٥٠، وحدد COLA الخطأ المسموح به عند هذا التركيز بـ U/L ٤٢ و U/L fraser ٥,١ (٢٢,١٩,١٥,١١,١٠,١).

التقييم المخبري للطرائق:

تتضمن عملية التقييم المخبري للطرائق مجموعة كبيرة من التجارب والعمليات، غايتها تحديد مقدار الخطأ التحليلي المرتكب في الطريقة، ومقارنته بالخطأ المسموح به، للحكم على الطريقة بأنها مقبولة أم لا، وتتضمن العمليات الإحصائية للتجارب المجرأة مع ربط نتائجها مع آراء السريريين.

تنتج أخطاء الطريقة عن مجموعة من العوامل والمتغيرات التي تؤثر على فعالية ونتائج الطريقة وتشمل هذه العوامل:

ألفة الطريقة بالنسبة للعاملين بها، الاستقامة **Linearity**، ثباتية الكواشف والعيارات والكونتروليات المستخدمة، تغيرات الحرارة وخاصة في التفاعلات الإنزيمية، الاختلافات في التقنيات اليدوية كالممص والمزج والتوقيت، وأخيراً الاختلافات في العاملين بالمخبر.

لذلك لابد من ضبط هذه العوامل حتى نحصل على أعلى فعالية للطريقة.

ألفة الطريقة بالنسبة للعاملين بها Familiarization:

من الضروري أن يتألف العاملون في الطريقة مع خطواتها، ويحتاجون لفترة من الزمن تتناسب مع درجة تعقيدها حتى يألفوها، وبالتالي تقلل من الأخطاء الشخصية الناجمة عنهم، ويمكن أن تشمل التدريب من قبل المصنع.

ثباتية الكواشف والعيارات والكونتروليات المستخدمة Stability:

يمكن أن يكون التحقق من ثباتية الكواشف والعيارات ومواد الكونترول، وخاصة المحضرة في المخبر، عملية طويلة جداً. تم تبسيط هذا الأمر بشكل واضح بالنسبة للمواد المتوفرة تجارياً حيث يمكن استخدام تاريخ الصلاحية المحدد من قبل المصنع خلال عملية تقييم الطريقة لأنه سيتم الكشف عن مشكلات مهمة للثباتية من خلال الإنجاز التحليلي غير المقبول للطريقة.

يجب إجراء دراسات مبدئية مع تحاليل لمقارنة النتائج للعياري الطازج والقديم باستخدام كواشف طازجة لاختبار ثباتية العياري ويجب إجراء ذلك عدة مرات.

كما يجب التأكد من فترة صلاحية الكواشف التي حددتها الشركة المصنعة بإجراء بعض التجارب البسيطة التي غالباً ما نستخدمها في تقييم ثباتية الكواشف المحضرة داخلياً، وتتلخص هذه التجارب بما يلي:

نقوم بإجراء القياسات بكواشف قديمة حضرت قبل يوم أو أسبوع أو شهر أو عدة أشهر ثم نقارن نتائج هذه القياسات بنتائج القياس بكواشف حضرت حديثاً، ونتبين من خلال هذه المقارنة ما إذا كان هناك نقص في الفعالية أو عدم ثبات في الكواشف.

الاستقامة Linearity:

تُعرّف بأنها مجال التراكيز الذي عنده يمكن تطبيق الطريقة بدون تعديلات، أو يمكن تعريفه، بشكل عملي أكثر، بأنه مجال التراكيز التي ترتبط بشكل خطي مع الامتصاصية حسب قانون بيير Beer's Law.

يمكن دراسة الاستقامة بقياس المادة المراد تحليلها بالطريقة المختبرة في عدة محاليل عيارية ذات تراكيز تغطي مجال الاستقامة المعطى أو بشكل أبسط بأخذ عينة ذات تراكيز عالية تتجاوز حدود الاستقامة، وإجراء عدة تمديدات حجمية فيها وقياسها بالطريقة المختبرة على الأنجري التمديد بشكل متتال لأنه يفاقم الخطأ المرتكب بأحدها وإنما يحصل على كل تمديد من العينة الأساسية مباشرة، وإن دقة التمديدات الحجمية مهم جداً.

تغيرات الحرارة:

وخاصة في التفاعلات الإنزيمية، لذلك لا بد من استخدام المحمات الحرارية ذات النوعية الجيدة، ولا بد من ضبط حرارتها بشكل مستمر.

الاختلافات في التقنيات اليدوية:

كالسحب بالممصات والمزج والتوقيت، لذلك لا بد من استخدام أدوات أخذ الحجم الموثوق بها.

الاختلاف في الأشخاص العاملين في المخبر:

من حيث المهارة والعدد والسوية العلمية. إذ لا بد من توفير الوقت الكافي للعاملين للتدرب بشكل جيد على التقنيات المخبرية على أسس علمية. (٢٢،١٩،١٥،١٤،١١).

الأخطاء التحليلية المرتكبة في الطريقة المخبرية:

هناك عدة أنواع لهذه الأخطاء التحليلية بسبب تنوع مسبباتها، ويكشف عن كل منها بتجارب خاصة. وبشكل عام تصنف الأخطاء التي تؤثر على دقة الإجراء التحليلي إلى أخطاء عشوائية وأخطاء نظامية.

انحرافين معياريين).

نقارن هذا الخطأ المرتكب بالخطأ المسموح به طبيًا وتحكم على الطريقة من خلال هذه المقارنة.

ب- تجربة التكرار بين الأيام: تعتبر هذه التجربة امتداد لتجربة التكرار ضمن الخط الواحد إلا أنها تحتاج لوقت أطول وتعطينا معلومات أدق عن فعالية الطريقة لفترة طويلة لأن هذه التجربة تستمر لعدة أيام ولفترة طويلة.

وكذلك نقوم بتحديد الخطأ العشوائي المرتكب في انحرافين معياريين ونقارنه بالخطأ المسموح به.

ب- الخطأ النظامي (S.E): Systemic Error

وهي الأخطاء التي تقع بشكل منتظم باتجاه واحد بالنسبة إلى القيم الحقيقية True Value (أكبر أو أقل). والأسباب هنا كثيرة وكشفها ليس دوماً بالمسألة السهلة. من هذه الأسباب خطأ في المحاليل المعيارية (عدم دقة الوزن المأخوذة) أو استخدام مواد غير نقية بشكل كاف أو تغير في الكواشف المستخدمة أو المحاليل المعيارية لأسباب فيزيائية كيميائية (الأكسدة - تأثير الضوء...).

ومن أمثلة هذا الخطأ: الاختلاف في نتائج قياس السكر بين الطريقتين الإرجاعية والإنظيمية حيث نشاهد أن القيم بالطريقة الإرجاعية أعلى بقليل من القيم المقابلة في الطريقة الإنظيمية نتيجة لتداخل بعض المواد المرجعة في التفاعل. هذا الفرق في القيم نسميه الخطأ النظامي الثابت المرتكب.

- إذا كان الخطأ النظامي ذا قيمة ثابتة زيادة أو نقصاناً وغير مرتبط بالتركيز فنسميه بالخطأ النظامي الثابت Constant S.E.

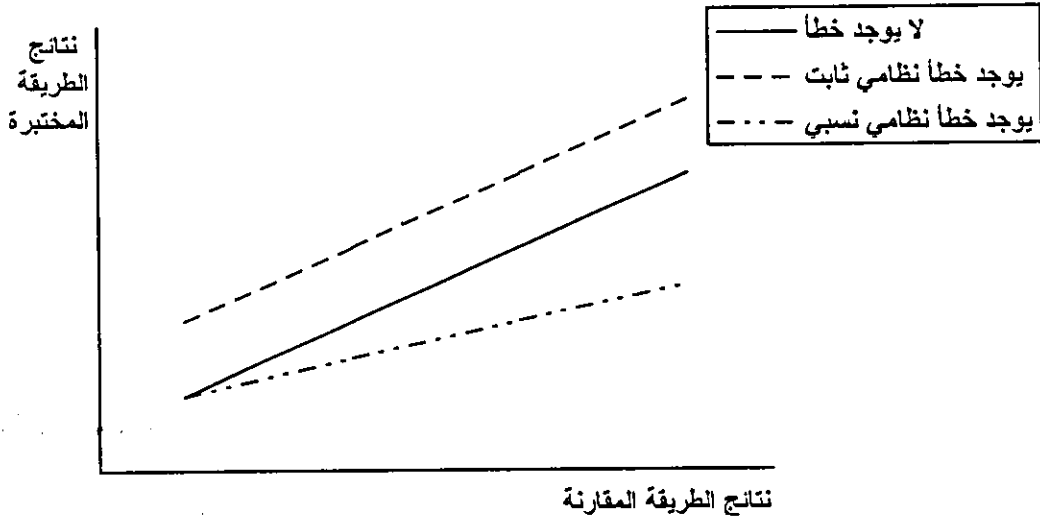
- أما إذا كان الخطأ النظامي متناسباً مع التركيز فنسميه بالخطأ النظامي النسبي Proportional S.E.

يمكن للخطأ النظامي النسبي أن ينتج عن:

١- الحساب غير الدقيق لكمية المادة المقيسة.

٢- حدوث تفاعلات جانبية للمادة المقيسة إذ تتناسب كمية المادة المتفاعلة جانبياً مع معدل حدوث الخطأ النظامي النسبي.

كما يمكن إيضاح مفهوم الخطأ النظامي المرتكب بالشكل البياني التالي الذي يمثل مستقيم الانحدار بين نتائج الطريقة المختبرة والطريقة المقارنة:



المخطط رقم (٣) : يبين الخطأ النظامي الثابت والنسبي

التجارب المستخدمة لتحديد الخطأ النظامي من دراسات التداخل:

هناك العديد من المواد التي تتداخل في الطريقة التحليلية وأكثرها تردداً ومصادفة هي

ثلاث مواد:

- وجود الخضاب في المصل الناتج عن انحلال العينة.
- وجود الشحوم بقيمتها المرتفعة.
- وجود البيلروبين بقيمه العالية.

• لكي نبين تأثير انحلال العينة في إحداث الخطأ الثابت، نقوم بأخذ عينة دم ثم نقسمها إلى قسمين: الأول ننقله ثم نجري عليه القياس بالطريقة المختبرة أما القسم الثاني فنقوم بتخريب الكريات الحمر فيه فيزيائياً لكي نحصل على قيمة عالية من الخضاب في المصل ثم ننقله ونجري عليه التحليل فإذا كان هناك اختلاف بين النتيجةين فيعزى ذلك لتأثير الانحلال.