

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΠΟ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΕΝΔΟ- ΚΑΙ ΔΙΑΤΟΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΟΤΗΤΑΣ

Ειρήνη Δ. Λεϊμονή¹, Μιχαήλ Α. Κουμπάρης²

¹Ευρωιατρική, Τμήμα Ανάπτυξης Κλινικών Εργαστηρίων, Πατρόκλου 1 & Παραδείσου, Μαρούσι, 151 25, irini.leimoni@euromedic.gr, ²Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας Παν/μίου Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 71

Περίληψη

Προκειμένου να γίνει η Δήλωση Καταλληλότητας μιας αναλυτικής μεθόδου στο Κλινικό Εργαστήριο, μετά τη διαδικασία της επαλήθευσης / επικύρωσης, τα χαρακτηριστικά ποιότητας (ακρίβεια, πιστότητα (επαναληψιμότητα, αναπαραγωγιμότητα), όριο ανίχνευσης, όριο ποσοτικοποίησης) που λαμβάνονται στο Εργαστήριο συγκρίνονται με τα υπάρχοντα από την επικύρωσή της από την κατασκευάστρια εταιρεία του εξοπλισμού ή από το πιστοποιητικό των διαλυμάτων ελέγχου ή από βιβλιογραφικά δεδομένα, ή τέλος, από τα δεδομένα των διεργαστηριακών προγραμμάτων ελέγχου ποιότητας.

Η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών ποιότητας των μεθόδων μπορεί και πρέπει να γίνεται και με βάση τη βιολογική μεταβλητότητα (διακύμανση), ενδοατομική και διατομική έτσι, ώστε να αξιολογείται η χρησιμότητα και εφαρμογή των μεθόδων στις ιατρικές ανάγκες (πρόληψη, διάγνωση και αντιμετώπιση ασθενειών). Για το σκοπό αυτό έχει αναπτυχθεί βάση δεδομένων 316 παραμέτρων από βιβλιογραφικές πηγές (Carmen Ricos και οι συνεργάτες της Ισπανικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας). Τα χαρακτηριστικά των κλινικών αναλυτικών μεθόδων που επιλέχθηκαν προς αξιολόγηση είναι: η Πιστότητα (Precision / Imprecision (I)), όπως εκφράζεται από το Συντελεστή Μεταβλητότητας (CV), η Ορθότητα (Trueness), όπως εκφράζεται από το Συστηματικό Σφάλμα (Bias (B)) και η Ακρίβεια (Accuracy), όπως εκφράζεται από το Ολικό Σφάλμα (Total Error (TE)). Οι επιθυμητές τιμές (προδιαγραφές) των παραμέτρων αυτών καθορίζονται από την Ενδοατομική Μεταβλητότητα (Coefficient of Variation – Within (CV_w)) και την Διατομική Μεταβλητότητα (Coefficient of Variation – Between (CV_b)):

$$I < 0,5 \text{ CV}_w$$

$$B < 0,25 \sqrt{\text{CV}_w^2 + \text{CV}_b^2}$$

$$\text{TE} < 1,65 \text{ I} + \text{B} \text{ (95\%)}$$

Θα δοθούν παραδείγματα από την επαλήθευση κλινικών αναλυτικών μεθόδων και την αξιολόγησή τους με βάση όλες τις διαθέσιμες προδιαγραφές. Πρόσφατα, η βιολογική μεταβλητότητα αξιοποιείται και για την αξιολόγηση διεργαστηριακών αποτελεσμάτων.

Λέξεις Κλειδιά: Προδιαγραφές, Βιολογική Μεταβλητότητα, Επαλήθευση Κλινικών Μεθόδων.

Abstract

During the verification / validation of an analytical method in the Clinical Laboratory, we must make the Fitting to Purpose Statement. For this purpose the quality characteristics of the method (accuracy, precision (repeatability, reproducibility), limit of detection, limit of quantitation) obtained in the laboratory are compared with existing data from the manufacturer of the instrumentation and the quality controls, the bibliography, and the inter-laboratories schemes of quality control.

The evaluation of the quality characteristics of the methods can be and should be performed also on the basis of the Biological Variation, intra-individual and inter-individuals, in order to evaluate the usefulness and application of methods in medical needs (prevention, diagnosis and treatment of diseases). For this purpose a Data Base of 316 parameters has been constructed, based on bibliography sources (Carmen Ricos et al, of the Spanish Clinical Chemistry Association). The characteristics of clinical analytical methods chosen for evaluation are: Precision / Imprecision (I), expressed as Coefficient of Variation (CV), the Trueness, expressed as the Systematic Error (Bias, B) and the Accuracy, expressed as the Total Error (TE). The accepted values (specifications) of these characteristics are determined using the Intra-Individual Variation (CV_w) and the Inter-Individuals Variation (CV_b):

$$I < 0.5 CV_w$$

$$B < 0.25 \sqrt{CV_w^2 + CV_b^2}$$

$$TE < 1.65 I + B \text{ (95\%)}$$

Examples will be presented from the verification of clinical analytical methods and their evaluation based on all available specifications. Recently, the Biological Variation has also been made useful in the evaluation of data of Inter-Laboratory Schemes of Quality Control.

Key Phrases: Specifications, Biological Variation Verification of Clinical methods.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το in vivo δείγμα, που αποτελεί το αντικείμενο μελέτης στο Κλινικό Εργαστήριο, παρουσιάζει διακυμάνσεις φυσιολογικών παραμέτρων και χαρακτηρίζεται από διαφορές σε εργαστηριακές μετρήσεις (CV), οι οποίες δεν σχετίζονται με την προ-αναλυτική ή την αναλυτική μεταβλητότητα. Οι διακυμάνσεις αυτές αποτελούν τη «βιολογική μεταβλητότητα», η οποία διακρίνεται σε ενδοατομική και δια-ατομική.

Η διακύμανση που εμφανίζεται σε ένα άτομο καλείται ενδοατομική μεταβλητότητα (**Intra / Within - Individual Biological Variation**) και ο συντελεστής μεταβλητότητάς της συμβολίζεται ως CV_w . Αντίθετα, η διακύμανση που εμφανίζεται σε έναν υγιή πληθυσμό καλείται μεταξύ ατόμων ή δια-ατομική βιολογική μεταβλητότητα (**Inter / Between - Individual Biological Variation**) και ο συντελεστής μεταβλητότητάς της συμβολίζεται ως CV_b . (Υπάρχουν και άλλοι συμβολισμοί στη βιβλιογραφία, όπως CV_i για την ενδοατομική και CV_g για τη διατομική μεταβλητότητα).

Η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών ποιότητας των μεθόδων μπορεί και πρέπει να γίνεται και με βάση τη βιολογική μεταβλητότητα (διακύμανση), ενδοατομική και διατομική έτσι, ώστε να αξιολογείται η χρησιμότητα και εφαρμογή των μεθόδων στις ιατρικές ανάγκες (πρόληψη, διάγνωση και αντιμετώπιση ασθενειών).

Οι προαναλυτικοί βιολογικοί παράγοντες, που επηρεάζουν τα εργαστηριακά αποτελέσματα, ανάλογα με τη δυνατότητα πρόληψής τους, διακρίνονται σε: α) ελεγχόμενους, οι οποίοι μπορούν να αναιρεθούν, πριν από τη λήψη του δείγματος και β) μη ελεγχόμενους, που δεν αναιρούνται, αλλά λαμβάνονται υπόψη στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Επιπλέον, στην τελική αξιολόγηση του αποτελέσματος θα πρέπει να συνεκτιμώνται οι παράγοντες εκείνοι που επισυμβαίνουν κατά τη στιγμή της δειγματοληψίας και οι οποίοι μεταβάλλουν τη σύσταση των βιολογικών δειγμάτων, όπως π.χ. η παρατεταμένη περίδεση κατά τη φλεβοκέντηση, το ψυχρό δέρμα, η σύνθλιψη ιστών κατά το νυγμό, η λήψη αίματος από κεντρικό καθετηριασμό, η αιμόλυση του δείγματος, το stress, ιδίως στα παιδιά κ.λπ.

2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΟΤΗΤΑ

2.1 Βιολογικοί Ρυθμοί

2.1.1 Ημερήσιες διακυμάνσεις: Η βιολογική μεταβλητότητα κατά τη διάρκεια της ημέρας αποτελεί, βασικά, αποτέλεσμα της λειτουργίας του υποθαλαμοϋποφυσιακού άξονα και εξαρτάται, κυρίως, από την περιοδικότητα του ύπνου (κορτιζόλη, TSH). Εκτός όμως από τις συγκεντρώσεις των ορμονών, σημαντικές διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του 24ώρου παρουσιάζουν και αρκετές άλλες παράμετροι. Οι κυριότεροι παράγοντες που συμβάλλουν στην ημερήσια διακύμανση αυτών των παραμέτρων είναι οι μεταβολές της στάσης του σώματος, η φυσική δραστηριότητα, τα γεύματα, το stress και η εναλλαγή της ημέρας με τη νύχτα.

2.1.2 Εποχιακές διακυμάνσεις: Η ηλιοφάνεια είναι γνωστό ότι επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των ουσιών, ο μεταβολισμός των οποίων μεταβάλλεται από τις υπεριώδεις ακτίνες του ηλιακού φωτός, όπως η βιταμίνη D. Η έκθεση στον ήλιο για ένα σαββατοκύριακο, κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, μπορεί να προκαλέσει, τόση αποδόμηση χολερυθρίνης, ώστε η συγκέντρωσή της στον ορό να ελαττωθεί κατά 20 %. Άλλη αιτία εποχιακών διακυμάνσεων είναι οι μεταβολές του διαιτολογίου και της φυσικής δραστηριότητας. Άλλωστε, διάφορες βιολογικές παράμετροι παρουσιάζουν διακυμάνσεις ανάλογα με την εποχή, των οποίων οι αιτίες παραμένουν αδιευκρίνιστες. Για παράδειγμα, η απόκριση της TSH στην εξωγενή TRH είναι μεγαλύτερη το καλοκαίρι, παρά το χειμώνα. Οι ημερήσιες μεταβολές της σύστασης των υγρών του οργανισμού είναι μεγαλύτερες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού.

2.1.3 Κύκλος εμμήνου ρύσεως: Διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου παρατηρούνται, όχι μόνο στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου, αλλά και σε διάφορες άλλες, άσχετες με τον κύκλο, βιολογικές παραμέτρους. Η συγκέντρωση της χοληστερόλης είναι κατά 20% περίπου μικρότερη, κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης του κύκλου, ενώ τα στεροειδή των επινεφριδίων και οι κατεχολαμίνες εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα, κατά την δεύτερη φάση. Η PRL και η PTH έχουν τις υψηλότερες τιμές τους κατά τη διάρκεια της ωοθυλακιορρηξίας. Η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών και της λευκοματίνης ελαττώνεται κατά την ωοθυλακιορρηξία, ενώ το

ινωδογόνο παρουσιάζει σημαντική ελάττωση κατά το χρονικό διάστημα της εμμήνου ρύσεως. Επιπλέον, αύξηση παρατηρείται στους δείκτες CA 125 και CA 19-9.

2.1.4 Ταξίδια: Τα ταξίδια σε περιοχές με μεγάλη διαφορά χρόνου επηρεάζουν τους βιολογικούς ρυθμούς. Η αποκατάσταση του νέου βιολογικού ρυθμού, μετά το ταξίδι μεταξύ χωρών με διαφορά 10 ωρών, απαιτεί περίπου 5 ημέρες. Οι διαφορές που παρατηρούνται στα εργαστηριακά αποτελέσματα αποδίδονται σε μεταβολές της υποφυσιακής και της επινεφριδιακής λειτουργίας. Η απέκκριση των κατεχολαμινών στα ούρα αυξάνεται για δύο ημέρες, ενώ η κορτιζόλη του ορού ελαττώνεται. Κατά τη διάρκεια των πτήσεων, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του σακχάρου και των τριγλυκεριδίων και κατακράτηση ύδατος.

2.2. Κατάσταση υγείας

2.2.1 Κύηση: Η κύηση συνοδεύεται από πλήθος βιολογικών και βιοχημικών μεταβολών. Ο όγκος του πλάσματος μπορεί να αυξηθεί μέχρι 50%, με συνακόλουθη ελάττωση του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης. Το ασβέστιο ελαττώνεται μέχρι και 10% και ο σίδηρος μέχρι 35% με αποτέλεσμα την αύξηση της σιδηροδεσμευτικής ικανότητας μέχρι 50%. Η ενεργότητα της αλκαλικής φωσφατάσης μπορεί να φτάσει τετραπλάσια της φυσιολογικής, λόγω απελευθέρωσης του ενζύμου από τον πλακούντα.

2.2.2 Απώλεια όρασης: Η απώλεια της όρασης συνεπάγεται κατάργηση του φυσιολογικού ερεθίσματος του υποθαλαμοϋποφυσιακού άξονα με αποτέλεσμα την εμφάνιση υπολειτουργίας της υπόφυσης και των επινεφριδίων. Έτσι, στους τυφλούς παρατηρείται ελάττωση της συγκέντρωσης του νατρίου και του χλωρίου. Επιπλέον, σε ορισμένους τυφλούς εξαφανίζονται οι ημερήσιες διακυμάνσεις των συγκεντρώσεων της κορτιζόλης και του σιδήρου.

2.2.3 Οξεία νόσος και πυρετός: Ο πυρετός επάγει πληθώρα ορμονικών αντιδράσεων. Αρχικά, παρατηρείται υπεργλυκαιμία, η οποία διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης. Παρόλα αυτά, το σάκχαρο παραμένει αυξημένο, επειδή ταυτόχρονα υπάρχει αυξημένη έκκριση αυξητικής ορμόνης και γλυκαγόνου. Ως αποτέλεσμα της υπερέκκρισης κορτικοτροπίνης (ACTH), παρατηρείται αύξηση της κορτιζόλης του πλάσματος με ενδεχόμενη κατάργηση της ημερήσιας διακύμανσης της συγκέντρωσής της, καθώς και αυξημένη αποβολή ελεύθερης κορτιζόλης στα ούρα. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις των γοναδοτροπινών (LH-FSH), της αλδοστερόνης, της TSH και της T₃ ελαττώνονται. Ο πυρετός προκαλεί αύξηση του όγκου του αίματος, καθώς και των συγκεντρώσεων του νατρίου, της κρεατινίνης και του ουρικού οξέος.

2.2.4 Τραύμα: Ανεξάρτητα από την αιτιολογία του, το τραύμα, συνοδευόμενο ή όχι, από shock προκαλεί χαρακτηριστικές μεταβολές των βιοχημικών παραμέτρων. Η υπερέκκριση των «ορμονών του stress» έχει ως αποτέλεσμα τον 3-5πλασιασμό της συγκέντρωσης της κορτιζόλης, την αύξηση των επιπέδων της ρενίνης, της αυξητικής ορμόνης, των κατεχολαμινών, του γλυκαγόνου και της ινσουλίνης, καθώς και την κατά 50% αύξηση της T₃. Η συγκέντρωση του σακχάρου αυξάνεται με συνέπεια την ελάττωση της ανοχής στη γλυκόζη.

2.3 Ατομικές συνήθειες

2.3.1 Δίαιτα: Χαρακτηριστικές είναι οι μεταβολές που ακολουθούν τις πλούσιες σε πρωτεΐνες δίαιτες, καθώς και οι συγκεντρώσεις των διαφόρων ουσιών στους συστηματικούς χορτοφάγους. Δίαιτες, στις οποίες όλα τα τρόφιμα αντικαθίστανται με συνθετικά παράγωγα και οι οποίες περιέχουν τις απαραίτητες ποσότητες ιχνοστοιχείων και βιταμινών, έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της συμβολής της διαίτας στη σύσταση του πλάσματος. Το αποτέλεσμα είναι η σημαντική ελάττωση των υγρών του οργανισμού, της ουρίας και της χοληστερόλης, καθώς και πλήρης σχεδόν εξαφάνιση πολλών από τις οργανικές ουσίες που ανιχνεύονται στα ούρα.

2.3.2 Κάπνισμα: Η επίδρασή του στα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων εξαρτάται από τον αριθμό των τσιγάρων που καταναλώνει ο καπνιστής και από την ποσότητα του εισπνεόμενου καπνού.

2.3.3. Καφεΐνη: Η καφεΐνη προκαλεί αύξηση της έκκρισης των κατεχολαμινών, που έχει ως αποτέλεσμα μικρή αύξηση του σακχάρου και μείωση της ανοχής στη γλυκόζη. Επίσης, η κορτιζόλη αυξάνεται και διαταράσσεται η ημερήσια διακύμανση της συγκέντρωσής της. Σημαντική είναι η επίδραση της καφεΐνης στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Μετά από δύο καφέδες, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αυξάνονται μέχρι και 30%. Αύξηση σε μικρότερο βαθμό παρατηρείται στις συγκεντρώσεις των ολικών λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών. Η χρόνια κατανάλωση καφέ προκαλεί μικρή ελάττωση της χοληστερόλης και αύξηση των τριγλυκεριδίων.

2.3.4. Αλκοόλη: Η κατάχρηση αλκοόλης προκαλεί, αρχικά, αύξηση του σακχάρου μέχρι και 20% - 50%. Όμως, ο χρόνιος αλκοολισμός αναστέλλει τη γλυκονογένεση και οδηγεί σε υπογλυκαιμία και κέτωση. Η σεσημασμένη υπερτριγλυκεριδαιμία, μετά από λήψη αλκοόλης, οφείλεται, αφενός στην αύξηση της παραγωγής τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και, αφετέρου σε παρεμπόδιση της απομάκρυνσης των χυλομικρών και των VLDL από την κυκλοφορία. Τοξικές δόσεις αλκοόλης οδηγούν σε αύξηση της κορτιζόλης και σημαντική αύξηση των κατεχολαμινών.

2.3.5 Ναρκωτικά: Στους τοξικομανείς παρατηρείται αύξηση των πρωτεϊνών του πλάσματος, της θυροξίνης και της αμυλάσης και ελάττωση της χοληστερόλης.

2.3.6 Stress: Σημαντική αύξηση των κατεχολαμινών και τροποποιήσεις στη συγκέντρωση TSH και PRL έχουν παρατηρηθεί υπό την επίδραση της αναμονής για απλή αιμοληψία.

2.4 Ιδιοσυγκρασία

2.4.1 Ηλικία-Φύλο-Φυλή: Η προγνωστική αξία μίας εξέτασης μπορεί να είναι πολύ διαφορετική, όταν εφαρμόζεται σε άτομα διαφορετικής ηλικίας, φύλου και γεωγραφικής περιοχής. Παραδείγματα: οι έγχρωμοι άνδρες έχουν πυκνότερα οστά. Τα επίπεδα χοληστερόλης σε έγχρωμους και λευκούς είναι τα ίδια κατά τη γέννηση, αλλά κατά την παιδική ηλικία, οι έγχρωμοι αναπτύσσουν υψηλότερα επίπεδα, ενώ στην εφηβεία οι έγχρωμοι έχουν χαμηλότερα επίπεδα. Τα βιολογικά διαστήματα αναφοράς διαφοροποιούνται για άνδρες, γυναίκες και παιδιά.

2.4.2 Σωματότυπος: Οι διαφορές στα επίπεδα των βιοχημικών παραμέτρων που παρατηρούνται μεταξύ ατόμων με διαφορετικό σωματότυπο, έχουν σχέση με την ποσότητα της μυϊκής μάζας (π.χ. το σωματικό βάρος στον υπολογισμό της κάθαρσης της κρεατίνης – Νομόγραμμα Siersback – Nielsen).

2.5 Περιβάλλον

2.5.1. Υψόμετρο: Το μεγάλο υψόμετρο είναι δυνατόν να προκαλέσει αύξηση της αιμοσφαιρίνης μέχρι και 25% και αύξηση της EPO. Επιπλέον, παρατηρείται μικρή ελάττωση του σακχάρου.

2.5.2 Θερμοκρασία: Η αύξηση της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος προκαλεί αύξηση του όγκου του αίματος μέχρι και 27% και ελάττωση του καλίου μέχρι και 10%. Η έκθεση στο κρύο προκαλεί αύξηση της έκκρισης της TSH μέχρι και 60%, ενώ επάγει τη διούρηση με συνέπεια την απώλεια ηλεκτρολυτών και αντίστοιχη αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών.

2.5.3 Αστικό περιβάλλον και θόρυβος: Η έκθεση στο θόρυβο επηρεάζει τη λειτουργία των επινεφριδίων και προκαλεί την αύξηση των συγκεντρώσεων των κορτικοστεροειδών και της επινεφρίνης.

2.6. Ιατρογενείς παράγοντες

2.6.1 Λήψη φαρμάκων: Τα φάρμακα δρουν, είτε *in vivo* με δράση στα διάφορα όργανα, είτε *in vitro* λαμβάνοντας μέρος σε χημικές αντιδράσεις. Η ενδομυϊκή χορήγηση μπορεί να μεταβάλλει ορισμένες παραμέτρους, όπως π.χ. την αλδολάση. Επίσης, είναι γνωστή πιθανή αναλυτική παρεμπόδιση διαφόρων φαρμάκων στον προσδιορισμό παραμέτρων. Επομένως, η κύρια φαρμακευτική αγωγή πρέπει να αναγράφεται στο παραπεμπτικό για τη σωστή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

2.6.2 Ιατρικές εξετάσεις: Η ψηλάφηση του προστάτη προκαλεί αύξηση του PSA και του PAP.

3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΟΤΗΤΑ

Η ενδοατομική μεταβλητότητα είναι πολύ δύσκολο να προσδιορισθεί μέσα στο εργαστήριο σε βάση ρουτίνας. Για το σκοπό αυτό μπορούν να βοηθήσουν οι πίνακες βιολογικών διακυμάνσεων που δημοσιεύονται σε τακτά χρονικά διαστήματα στον επιστημονικό τύπο, όπως υπολογίσθηκαν από ευρωπαϊκές ομάδες ερευνητών. Σημαντικότερη όλων είναι η ομάδα (Ricos και συν.,) [16, 17] από την Ισπανική Εταιρεία Κλινικής Χημείας. Οι πίνακες περιέχουν την ενδοατομική μεταβλητότητα CV_w και τη μεταβλητότητα μεταξύ ατόμων (δια-ατομική) CV_b υπολογισμένες για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα για κάθε μεταβολίτη, χωριστά (Πίνακας 1). Οι διακυμάνσεις αυτές παρατίθενται και στην ιστοσελίδα του Καθ. *Westgard* (Αγγλικά) [21] και στην ιστοσελίδα της Ισπανικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας (Ισπανικά) [22].

Πίνακας 1. Βιολογική μεταβλητότητα παραμέτρων σε ορό

Εξέταση	Συμβολισμός	CV_w %	CV_b %
Χολερυθρίνη, ολική	TBILI	25,6	30,5
Άμεση χολερυθρίνη	DBILI	36,8	43,2
Αλβουμίνη	ALB	3,1	4,2
Ολική πρωτεΐνη	TP	2,7	4,0

Ασπαραγινική αμινοτρανσφεράση	GPT/AST	11,6	13,6
Αλανίνη αμινοτρανσφεράση	GOT/ALT	11,9	17,9
γ-Γλουταμινική τρανσαμινάση	γGT	12,2	41
Γαλακτική δευδρογονάση	LDH	7,3	18,8
Αλκαλική φωσφατάση	ALP	6,4	24,8
Ασβέστιο	Ca	1,9	2,8
Φώσφορος	Phos	8,5	9,4
Χοληστερόλη	Chol	6	14,9
Τριγλυκερίδια	Trig	20,9	37,2
Κρεατινίνη	Creat	4,3	12,9
Ουρία	Urea	12,3	18,3
Ουρικό οξύ	UA	7,3	18,8
Χλωριούχα	Cl	1,2	1,3
Κρεατινοφωσφοκινάση	CK	22,8	40
Κρεατινοφωσφοκινάση MB (ενεργότητα)	CK MB	19,7	24,3
Κρεατινοφωσφοκινάση MB (μάζα)	CK MB	18,4	61,2
Γλυκόζη	Gluc	4,9	7,7
Χολ/λη συνδ/νη με λιπ/νες υψηλής πυκ/τας	HDL	7,1	19,7
Χολ/λη συνδ/νη με λιπ/νες χαμηλής πυκ/τας	LDL	8,3	25,7
Σίδηρος	Fe	26,5	23,2
Μαγνήσιο	Mg	3,2	5,9
Κάλιο	K	4,8	5,6
Νάτριο	Na	0,7	1,0
α-Αμυλάση	α-AMYL	8,7	28,3
α-Αμυλάση (παγκρεατική)	α-AMYL	11,7	29,9
Χοληνεστεράση	CHE	7,0	10,4
Χοληνεστεράση (ενεργότητα)	CHE	5,4	10,3

Σε επιστημονικό άρθρο των Ricos και συν. [16, 17] αναφέρονται οι κανόνες αξιολόγησης ποιότητας, που προτείνονται για χρήση κυρίως στον Ευρωπαϊκό χώρο, αλλά και στις Η.Π.Α. και συνοψίζονται στα εξής:

- Το CV (το τυχαίο αναλυτικό σφάλμα) κάθε εξέτασης που είναι μέτρο της πιστότητας (Precision / Impresicion (I)) πρέπει να είναι μικρότερο ή ίσο με το ήμισυ της ενδοατομικής βιολογικής μεταβλητότητας (διακύμανσης). Δηλαδή:

$$I \leq 0,5 CV_w \quad (1)$$

όπου CV_w οι τιμές της ενδοατομικής μεταβλητότητας, όπως καταγράφονται στον Πίνακα της Ισπανικής ομάδας.

- Το αναλυτικό συστηματικό σφάλμα ($B=Bias$), που είναι μέτρο της ορθότητας (Trueneess) μίας μεθόδου, πρέπει να είναι:

$$B < 0,25 \sqrt{CV_w^2 + CV_b^2} \quad (2)$$

Όπου CV_w και CV_b η ενδο- και διατομική βιολογική μεταβλητότητα, αντίστοιχα.

- Το ολικό σφάλμα, που είναι μέτρο της ακρίβειας (accuracy) της μεθόδου να είναι:

$$TE < k \times 0,5CV_w + 0,25 \sqrt{CV_w^2 + CV_b^2} \quad (3)$$

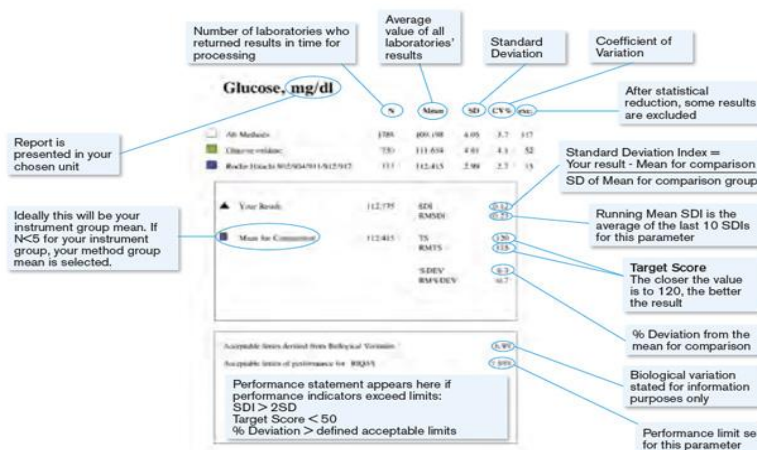
Όπου $k = 1,65$ για επίπεδο εμπιστοσύνης 95% ή πιθανότητα σφάλματος $\alpha = 0,05$ (one- site). Επομένως:

$$\text{Ολικό Σφάλμα} < 1,65 (\text{τυχαίο σφάλμα}) + (\text{συστηματικό}) \quad (4)$$

Μετά την επικύρωση/επαλήθευση των αναλυτικών μεθόδων και την εκτίμηση της συνδυασμένης και διευρυμένης αβεβαιότητάς τους είναι πολύ σημαντικό το εργαστήριο να γνωρίζει τις επιθυμητές προδιαγραφές, ώστε να δηλώσει την καταλληλότητα ή μη, των μεθόδων που επαληθεύτηκαν / επικυρώθηκαν. Κριτήρια της καταλληλότητας μιας μεθόδου αποτελούν τα δεδομένα επικύρωσης από την κατασκευάστρια εταιρεία του εξοπλισμού / αντιδραστηρίων, των πιστοποιητικών των διαλυμάτων ελέγχου (controls), τα οποία, χρησιμοποιήθηκαν ως υλικά αναφοράς κατά τη διαδικασία της επικύρωσης /επαλήθευσης των δοκιμών, τα αποτελέσματα διεργαστηριακών σχημάτων ελέγχου και βιβλιογραφικά δεδομένα, τα οποία αναφέρονται στην ποσοτική εκτίμηση της ενδο-ατομικής και δια-ατομικής βιολογικής διακύμανσης των εργαστηριακών εξετάσεων ρουτίνας.

Η βιολογική μεταβλητότητα αξιοποιείται και για την αξιολόγηση διεργαστηριακών αποτελεσμάτων, όπως αναλύεται στο Σχήμα 1:

Text Section



Σχήμα 1. Παράδειγμα αξιολόγησης Διεργαστηριακών αποτελεσμάτων γλυκόζης με βάση τη βιολογική μεταβλητότητα (<http://www.randox.com>).

Θα δοθούν παραδείγματα από την επαλήθευση κλινικών αναλυτικών μεθόδων και την αξιολόγησή τους με βάση όλες τις διαθέσιμες προδιαγραφές.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Καρκαλούσος Π., «Μέθοδοι εντοπισμού μη αναλυτικών σφαλμάτων στο εργαστήριο κλινικής χημείας», *Εφαρμ. Κλιν. Μικροβ. Εργ. Διαγν.* 9(3), Σελ. 118-119, 2004, Αθήνα.
2. Κουμπάρης Μ., «Διασφάλιση ποιότητας αποτελεσμάτων δοκιμών». 3^{ος} Κύκλος, Εκπαιδευτικό Σεμινάριο της HellasLab, 2005, Αθήνα
3. Κουμπάρης Μ., «ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ-ΧΗΜΕΙΟΜΕΤΡΙΑ», Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, Αθήνα
4. Λαμπή Ε., «Διεργαστηριακές συγκρίσεις και σχήματα δοκιμών ικανότητας». 3^{ος} Κύκλος, Εκπαιδευτικό Σεμινάριο της HellasLab, 2005, Αθήνα.
5. Λυκόκα Ε.Χ., Πουλάκη Ε., Πρίγκος Ν., Πιπεράκη Κ., Σταθάκη-Φερδερίγου Α., «Πιστοποίηση-Διαπίστευση Κλινικών Εργαστηρίων». 1^ο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης – Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας, 25 Φεβρουαρίου 2006, Αθήνα.
6. Ντίνας Χ.Η., «Διασφάλιση Ποιότητας στο Εργαστήριο Κλινικής Χημείας», 14 Δεκεμβρίου 2011, Αθήνα.
7. Χατζιωάννου Θ.Π., Κουμπάρης Μ., ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ, 2003, Αθήνα
8. Ekins R. and Edwards P., *Clinical Chemistry*. 43:1824-1831, 1997.
9. EURACHEM/CITAC Guide, *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 2nd edition, 2000.
10. ISO GUIDE 43-1, “Development and Operation of Laboratory Proficiency testing”, Second Edition, 1997.
11. ISO GUIDE 43-2, “Selection and Use of Proficiency Testing Schemes by Laboratory Accreditation Bodies”, First Edition, 1997.
12. IUPAC, “Compendium of analytical nomenclature definitive rules”, p. 114- 7, 1987
13. Linnet K. and Kondratovich M., *Clinical Chemistry* 2004; 50: p.p. 732-740.
14. Miller J. C. and Miller J. N., *Statistics for analytical chemistry*.
15. Pardue H.L., *Clinical Chemistry*, 1997; 43: 1831-1837.
16. Ricós C., Iglesias N., García-Lario J.-V., Simón M., Cava F., Hernández A, Perich C., Minchinela J., Alvarez V., Doménech M.-V., Jiménez C.-V., Biosca C. and Tena R, *Ann Clin Biochem*, 44:343—352, July 2007.
17. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernadez A, Jimenez CV, Minchinela J., Perich C, Simon M., *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:491-500.
18. Rynning M., Wentzel-Larsen T., Bolla B. J., *Clinical Chemistry Jul*; 53(7);1343-1348, 2007.
19. Taylor A., Angerer J., Claeys F., Kristiansen J., Mazarrasa O., Menditto A., Patriarca M., Pineau A., Schoeters I., Sykes C., Valkonen S. and Weykamp C., *Clinical Chemistry*, 2002; 48: 2000-2007.
20. Westgard JO: *Basic QC Practices. Training in Statistical Quality Control for Healthcare Laboratories*. 2nd Edition, 2002.
21. <http://www.westgard.com>
22. <http://www.rseq.org>