ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΟΥ BIAS ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

Παπανδρέου Α., Κούρτη Ν., Λυκόκα Ε., Πιπεράκη Κ. και Πουλάκη Ε.

Βιοχημικό Εργαστήριο Γ.Α.Ο.Ν.Α. ¨ο Άγιος Σάββας»

e-mail: zispap@tee.gr

Περίληψη

Η αυτοματοποίηση και γενικότερα οι τεχνολογικές εξελίξεις στο χώρο της Κλινικής Χημείας έχουν βελτιώσει σημαντικά την απόδοση των μεθόδων σε χαρακτηριστικά όπως η επαναληψιμότητα, η αναπαραγωγιμότητα ή το όριο ανίχνευσης. Ωστόσο, ο περιορισμός του bias μεταξύ των διαφόρων συστημάτων μέτρησης παραμένει η μεγαλύτερη πρόκληση, καθώς συνδέεται με τη δυνατότητα σύγκρισης αποτελεσμάτων που έχουν προκύψει με διαφορετικές μεθοδολογίες, σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κάτι που αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη σωστή ερμηνεία τους.
Στην παρούσα εργασία γίνεται μια επισκόπηση των παραγόντων που συμμετέχουν στη διαμόρφωση του bias στην κλινική χημεία από το προαναλυτικό στάδιο μέχρι την κυρίως αναλυτική διαδικασία καθώς και των μεθόδων που εφαρμόζονται για την εκτίμηση της τιμής του. Ο προσδιορισμός του bias δε συνεπάγεται οπωσδήποτε και τη διόρθωση του, ακόμα κι αν η τάξη μεγέθους του είναι συγκρίσιμη με την αβεβαιότητα. Υπάρχει μια σειρά από τεχνικά κριτήρια τα οποία λειτουργούν ως προϋποθέσεις για να προχωρήσει με ασφάλεια η διόρθωση, όμως μια τέτοιου είδους διερεύνηση συχνά ξεπερνάει τις οικονομικές και τεχνικές δυνατότητες ενός κλινικού εργαστηρίου ρουτίνας. Στην εργασία αυτή επίσης θα γίνει αναφορά στις διαφορετικές προσεγγίσεις που προτείνονται στη βιβλιογραφία για την παρουσίαση των αποτελεσμάτων, όταν το bias δεν είναι δυνατό να εκτιμηθεί με ακρίβεια ή να διορθωθεί.

Λέξεις-Κλειδιά: *bias, κλινική χημεία, διόρθωση bias*

Abstract

Automation in clinical chemistry has reduced method repeatability and reproducibility to a great extent. Bias was less affected by the technological improvements and it still remains a considerable challenge in clinical chemistry as its regulation is essential for result comparability. The present study gives an overview of the several causal factors that contribute to the systematic error. It also presents the main methods of bias determination for a measurement procedure. The case for correcting for bias is discussed as well as some different approaches to the treatment of the uncorrected bias.

Keywords: *bias, uncorrected bias, clinical chemistry, uncertainty*

1. Εισαγωγή

Η αβεβαιότητα των μετρήσεων στο χώρο της Κλινικής Χημείας έχει μειωθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες εξαιτίας της αυτοματοποίησης αλλά και της ανάπτυξης συστημάτων αναφοράς υψηλής ποιότητας. Η βελτίωση επικεντρώνεται κυρίως σε παραμέτρους που

σχετίζονται με την πιστότητα (επαναληψιμότητα, αναπαραγωγιμότητα). Το bias, αν και μειώθηκε σε κάποιο βαθμό, παραμένει το μεγαλύτερο πρόβλημα γιατί επηρεάζει, εκτός των άλλων, και τη συγκρισιμότητα των αποτελεσμάτων των μετρήσεων ιδιαίτερα στις ανοσοχημικές τεχνικές.
Η διόρθωση του αποτελέσματος μιας μέτρησης για όλες τις συστηματικές αποκλίσεις θεωρείται ως προϋπόθεση για την εφαρμογή των οδηγιών του GUM. Αυτό σημαίνει πως κατά την εφαρμογή μιας μεθόδου, είναι αναγκαίο να διερευνηθούν όλες οι πιθανές πηγές συστηματικών σφαλμάτων και να ποσοτικοποιηθεί η επίδρασή τους. Στην πράξη, μια τέτοιου είδους ανάλυση δεν είναι πάντοτε εφικτή για τεχνικούς και, συνηθέστερα, για οικονομικούς λόγους, τουλάχιστον στο επίπεδο των κλινικών εργαστηρίων. Έτσι, το θέμα της διόρθωσης εκκρεμεί και στη θέση του εμφανίζονται διαφορετικές προσεγγίσεις για τη συμμετοχή του bias στη διαμόρφωση της τιμής της αβεβαιότητας (Haesselbarth, 2004)
Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται μια επισκόπηση των παραγόντων που είναι υπεύθυνοι για την εμφάνιση του bias, καθώς και των μεθόδων προσδιορισμού του στα εργαστήρια κλινικής χημείας. Επίσης, παρουσιάζεται ο προβληματισμός γύρω από την ενδεχόμενη διόρθωση των αποτελεσμάτων, όταν είναι δυνατή η ακριβής εκτίμηση του bias, καθώς και οι εναλλακτικές προσεγγίσεις που προτείνονται στις περιπτώσεις που δε γίνεται διόρθωση.

2. Χαρακτηριστικά του bias

Το bias είναι η ποσοτική εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος και ορίζεται ως η διαφορά του μέσου όρου μιας μεγάλης σειράς μετρήσεων της μετρούμενης ποσότητας από μια τιμή αναφοράς (JCGM, 2012).
Στον ορισμό αυτό, ενώ η τιμή αναφοράς είναι καλά καθορισμένη και δεδομένη, τα αποτελέσματα της σειράς των μετρήσεων εξαρτώνται από τις συνθήκες. Έτσι, για παράδειγμα, αν οι μετρήσεις γίνουν σε συνθήκες επαναληψιμότητας, προσδιορίζεται το bias που σχετίζεται με το συγκεκριμένο πείραμα, το εργαστήριο και τη μέθοδο. Αν οι συνθήκες μετατραπούν σε συνθήκες αναπαραγωγιμότητας, οπότε οι μετρήσεις επεκτείνονται χρονικά και πραγματοποιούνται σε περισσότερα εργαστήρια, αλληλοαναιρείται τόσο το εντός σειράς bias όσο κι αυτό που οφείλεται στο εργαστήριο, με αποτέλεσμα να παραμένει ως μοναδικό συστατικό, το bias της μεθόδου των μετρήσεων.
Η μεταβλητότητα του bias και η εξάρτησή του από τις συνθήκες πρέπει να ληφθεί υπ' όψη όταν θα αντιμετωπιστεί το ζήτημα της διόρθωσης των αποτελεσμάτων και του υπολογισμού της αβεβαιότητας, ώστε να συμπεριληφθούν όλες οι παράμετροι που συμβάλλουν.

3. Αιτίες του bias

Οι αιτίες εμφάνισης bias στην κλινική χημεία είναι ποικίλες κι έχουν να κάνουν τόσο με την ίδια την αναλυτική διαδικασία, όσο και με τα προαναλυτικά στάδια, των οποίων ο έλεγχος δεν είναι πάντοτε εύκολος. Μερικές τυπικές αιτίες μπορεί να είναι:
α) η κατάσταση και η προετοιμασία του ατόμου από το οποίο λαμβάνεται το δείγμα.
β) η αστάθεια του δείγματος κατά τη μεταφορά ή την αποθήκευσή του σε ακατάλληλες συνθήκες.
γ) η απώλεια μέρους του δείγματος ή η επιμόλυνση, όταν είναι απαραίτητο να προηγηθεί της ανάλυσης κάποια κατεργασία.
δ) ο τρόπος ορισμού της μετρούμενης ποσότητας, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση των ανοσοχημικών αναλύσεων, στις οποίες διαφορετικά αντισώματα αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους ενός μακρομορίου.
ε) η ποιότητα του βαθμονομητή η οποία σχετίζεται με χαρακτηριστικά όπως η ομοιότητά του με τα βιολογικά δείγματα αλλά και με τον τρόπο προετοιμασίας του.

στ) η παρουσία στο δείγμα ουσιών που παρεμβάλλονται στη διαδικασία της μέτρησης, όπως π.χ. η αιμοσφαιρίνη στα αιμολυμένα δείγματα ή η χολερυθρίνη στα ικτερικά.

4. Εκτίμηση του bias

Η μέθοδος που θα ακολουθηθεί για την ποσοτική εκτίμηση του bias εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα κατάλληλων υλικών αναφοράς ή αντιστοίχων μεθόδων αναφοράς. Το ιδανικό υλικό αναφοράς έχει σύσταση παρόμοια με των βιολογικών δειγμάτων, η συγκέντρωση της μετρούμενης ποσότητας είναι γνωστή, με χαμηλή τιμή αβεβαιότητας και καλύπτει την περιοχή συγκεντρώσεων που είναι σημαντική από κλινική άποψη. Επίσης, για ένα αξιόπιστο αποτέλεσμα, πολύ ουσιαστική είναι η επιλογή του χρονικού πλαισίου στο οποίο θα καταγραφούν οι παρατηρήσεις αλλά και το ίδιο το πλήθος των παρατηρήσεων.
Ο προσδιορισμός του bias είναι δυνατό να επιτευχθεί εφαρμόζοντας μια ή περισσότερες από τις παρακάτω πρακτικές:
α) Συγκρίνοντας τη συγκέντρωση ενός πιστοποιημένου υλικού αναφοράς (CRM), που αναλύεται στις συνθήκες του εργαστηρίου, με την ονομαστική τιμή της συγκέντρωσης που αντιστοιχεί σ' αυτό.
β) Αναλύοντας μια σειρά βιολογικών δειγμάτων με μια μέθοδο υψηλότερης μετρολογικής τάξης παράλληλα με την εξεταζόμενη μέθοδο.
γ) Συμμετέχοντας σε διεργαστηριακά σχήματα ελέγχου ποιότητας ή προγράμματα ελέγχου ικανότητας.
δ) Υπολογίζοντας την ανάκτηση της μετρούμενης ουσίας σε εμβολιασμένα φυσικά δεί-γματα.
Η χρήση των CRM αποτελεί την καλύτερη εκδοχή, είναι όμως προβληματική στην εφαρμογή της επειδή είναι πολύ δύσκολο να βρεθούν υλικά αναφοράς που να έχουν κατάλληλη σύσταση, για την πλειονότητα των παραμέτρων που αναλύονται στην κλινική χημεία. Επιπλέον, μαζί με τη δεύτερη πρακτική, που παρουσιάζει ανάλογους περιορισμούς καθώς προϋποθέτει την πρόσβαση σε μεθοδολογίες αναφοράς, έχουν και το υψηλότερο κόστος.
Στα διεργαστηριακά προγράμματα ελέγχου ποιότητας, σε ελάχιστες περιπτώσεις η συγκέντρωση της μετρούμενης ουσίας έχει καθοριστεί με μέθοδο αναφοράς. Συνήθως, το μέτρο σύγκρισης είναι ο συμφωνημένος μέσος όρος των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων, οπότε το υπολογιζόμενο bias είναι φαινομενικό αφού δείχνει απλώς την απόκλιση από μια μέση τιμή που, ίσως, διαφέρει από την «αληθινή».
Τέλος, η πολύπλοκη σύνθεση των βιολογικών δειγμάτων που αναλύονται στα κλινικά εργαστήρια, κάνει πολύ δύσκολη από τη μια, τη δημιουργία τυφλών δειγμάτων και από την άλλη, την εισαγωγή της αναλυόμενης ουσίας σε κατάσταση ίδια με αυτή που βρίσκεται στα φυσικά δείγματα.

5. Διόρθωση για το bias

Σύμφωνα με το GUM (GUM 3.2.4) μια στατιστικά σημαντική συστηματική απόκλιση στη μέτρηση μιας ποσότητας πρέπει να διορθώνεται. Στην κλινική χημεία και γενικότερα στην εργαστηριακή ιατρική οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε διάφορα επίπεδα των συστημάτων υγείας, από μεγάλα νοσοκομειακά εργαστήρια στα οποία διεκπεραιώνονται από εξειδικευμένο προσωπικό μέχρι σε παρά τη κλίνη συσκευές οι οποίες χρησιμοποιούνται κατ' οίκον από τους ίδιους τους ασθενείς. Έχει λοιπόν ιδιαίτερη σημασία να οριστούν κάποια κριτήρια που θα τεκμηριώνουν επιστημονικά τη διόρθωση του bias (Magnusson and Ellison, 2008.)
Σε πρώτη φάση, η απόκλιση πρέπει όχι μόνο να είναι στατιστικά σημαντική, αλλά και να υπάρχει η δυνατότητα να αναπαραχθούν τα αποτελέσματα στο ίδιο ή διαφορετικά συστήματα

καθώς και να εντοπιστεί η αιτία της απόκλισης. Ένα κρίσιμο ερώτημα που τίθεται σ' αυτήν τη φάση είναι πόση σημασία έχει από κλινική άποψη η συγκεκριμένη τιμή του bias, καθώς υπάρχει διαφορετική βιολογική διακύμανση για κάθε παράμετρο κι επιπλέον, οι απαιτήσεις ποικίλουν ανάλογα με το αν το αποτέλεσμα πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για διαγνωστικούς σκοπούς ή για παρακολούθηση.
Η δυνατότητα ακριβούς εκτίμησης της τιμής του bias είναι το επόμενο τεχνικό κριτήριο. Στην ιδανική περίπτωση είναι δυνατό να καθοριστεί η ποσοτική σχέση ανάμεσα στον παράγοντα που προκαλεί την απόκλιση και την ίδια την απόκλιση, σε όλη την περιοχή των μετρήσεων. Συνηθέστερα, με τα δεδομένα της πειραματικής διαδικασίας γίνεται ένας «εμπειρικός» προσδιορισμός της επίδρασης πάνω στο αποτέλεσμα, χωρίς αντίστοιχο θεωρητικό υπόβαθρο. Τελευταίο κριτήριο για την αποδοχή της διόρθωσης είναι η όλη διαδικασία να καταλήγει σε μείωση της αβεβαιότητας του αποτελέσματος.
Στην πράξη, είναι πολύ σπάνιες οι περιπτώσεις στις οποίες όλα τα παραπάνω κριτήρια καλύπτονται ώστε να δικαιολογείται η διόρθωση για το bias. Οπωσδήποτε όμως η παρουσία της συστηματικής απόκλισης πρέπει με κάποιο τρόπο να καταγραφεί στο παρουσιαζόμενο αποτέλεσμα. Καθώς στον GUM δεν προβλέπονται εναλλακτικές λύσεις όταν δεν υπάρχει δυνατότητα διόρθωσης, αρκετές διαφορετικές προσεγγίσεις έχουν προταθεί για να καλυφθεί το κενό (Magnusson et al, 2012)
Σε ανάλογες περιπτώσεις χημικών αναλύσεων υπάρχουν δύο γενικές επιλογές για την έκφραση αποτελεσμάτων στα οποία δεν είναι δυνατό να γίνει διόρθωση (Thompson et al. 1999):
i) Το αποτέλεσμα και η αβεβαιότητά του αναφέρονται μαζί με την εκτίμηση για το bias και την αντίστοιχη αβεβαιότητα που συνδέεται με τον προσδιορισμό του. Αυτή η επιλογή δεν υπονομεύει καθόλου την ακρίβεια της μέτρησης και παρέχει σ' αυτόν που θα χρησιμοποιήσει το αποτέλεσμα όλες τις απαραίτητες πληροφορίες. Όμως ταυτόχρονα του μεταθέτει το βάρος της ερμηνείας του αποτελέσματος με όλα τα προβλήματα που αυτό συνεπάγεται.
ii) Το αποτέλεσμα παρουσιάζεται χωρίς διόρθωση με μια εκτίμηση για την αβεβαιότητα που είναι κατάλληλα προσαρμοσμένη ώστε να καλύψει την επίδραση της συστηματικής απόκλισης. Όταν ακολουθείται αυτή η στρατηγική το εργαστήριο επιλέγει τον τρόπο με τον οποίο θα ενσωματώσει την απόκλιση στην αβεβαιότητα, ανάλογα με τις δυνατότητές του από τη μια και τις απαιτήσεις των πελατών του από την άλλη (Barwick and Ellison 1999, Maroto et al 2002)

6. Συμπεράσματα

Η εξάλειψη του bias στην κλινική χημεία μπορεί να επιτευχθεί μόνο με την ανάπτυξη κατάλληλων υλικών και μεθόδων αναφοράς (Armbruster and Miller, 2007). Σε διεθνές επίπεδο, υπάρχουν επιστημονικές επιτροπές και εταιρείες όπως πχ η JCTLM (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine) οι οποίες αναδεικνύουν το πρόβλημα, αλλά η λύση φαίνεται να είναι ακόμη μακριά εξαιτίας της ιδιαιτερότητας των τεχνικών που εφαρμόζονται στην κλινική χημεία, ειδικά αυτών που βασίζονται σε ανοσοχημικές αντιδράσεις.
Τα εργαστήρια ρουτίνας έρχονται και θα εξακολουθήσουν και στο άμεσο μέλλον να έρχονται αντιμέτωπα με το πρόβλημα της διαχείρισης συστηματικών αποκλίσεων που δεν είναι δυνατό να αφαιρεθούν για να διορθωθεί το αποτέλεσμα. Είναι απαραίτητο λοιπόν να υπάρξει πιο συγκεκριμένη καθοδήγηση από κατάλληλους φορείς σχετικά με το bias έτσι ώστε και τα εργαστήρια να διευκολυνθούν στο έργο τους αλλά και να ελαχιστοποιηθούν οι διαφορές στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων που οφείλονται σε διαφορετικές προσεγγίσεις για την ενσωμάτωση του bias στο αποτέλεσμα.

7. Βιβλιογραφία

Armbruster D, Miller RR *"JCTLM: A global approach to promote standardization of clinical laboratory results"* The Clinical Biochemist Reviews 28(3):105-113, 2007

Barwick VJ, Ellison SLR *"Measurement uncertainty: Approaches to the evaluation of uncertainties associated with recovery"* Analyst 124:981-990, 1999

Haesselbarth W *"Accounting for bias in measurement uncertainty estimation"* Accreditation and Quality Assurance 9:509-514, 2004

JCGM *International Vocabulary of Metrology-Basic and general concepts and associated terms 3rd edition*, 2012

Magnusson B, Ellison SLR *"Treatment of uncorrected measurement bias in uncertainty estimation for chemical measurements"* Analytical and Bioanalytical Chemistry 390:201-213, 2008

Magnusson B, Naykki T, Hovind H, Krysell M *Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories* NT Technical Report 537 edition 3.1, 2012

Maroto A, Boque R, Riu J, Rius X "Should non-significant bias be included in the uncertainty budget?" Accreditation and Quality Assurance 7:90-94, 2002

Thompson M, Ellison SLR, Fajgeli A, Willetts P. Wood R *"Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement"* (1999) Pure and Applied Chemistry 71: 337-348, 1999