Η ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟΥ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

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

Βιοχημικό Εργαστήριο 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 και το όριο ανίχνευσης. Ωστόσο, ο περιορισμός των συστηματικών αποκλίσεων (bias) μεταξύ των διαφόρων μεθόδων μέτρησης δεν έχει ακολουθήσει ανάλογη πορεία επειδή η ιδιαιτερότητα των προσδιοριζόμενων μορίων λειτουργεί ανασταλτικά στην ανάπτυξη κατάλληλων συστημάτων αναφοράς.
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 δεν συνεπάγεται οπωσδήποτε και τη διόρθωσή του, ακόμα κι αν η τάξη μεγέθους του είναι συγκρίσιμη με την αβεβαιότητα. Υπάρχει μια σειρά τεχνικών κριτηρίων που 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. Για τις περιπτώσεις που το bias δεν μπορεί να εκτιμηθεί με ακρίβεια ή να διορθωθεί θα αναφερθούν οι εναλλακτικές προσεγγίσεις που προτείνονται στη βιβλιογραφία για την παρουσίαση των αποτελεσμάτων.

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

Abstract

Automation in clinical chemistry has reduced method repeatability and reproducibility to a great extent. Systematic error (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 compensate for the uncorrected bias in the laboratory test results.

Keywords: *bias, uncorrected bias, clinical chemistry*

1. Εισαγωγή

Οι τεχνικές εξελίξεις στο χώρο της Κλινικής Χημείας έχουν οδηγήσει στη βελτίωση των παραμέτρων που σχετίζονται με την πιστότητα των μετρήσεων όπως είναι η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα. Η έρευνα για την ανάπτυξη συστημάτων αναφοράς υψηλής ποιότητας δεν έχει ακολουθήσει τους ίδιους ρυθμούς, με αποτέλεσμα οι συστηματικές αποκλίσεις (bias) μεταξύ διαφορετικών μεθόδων να είναι συχνό φαινόμενο.

Το bias μπορεί να μετατραπεί σε αληθινό πρόβλημα, με σοβαρές συνέπειες στην κλινική πράξη αφού αφαιρεί τη δυνατότητα σύγκρισης και ερμηνείας αποτελεσμάτων που έχουν προκύψει από διαφορετικές τεχνικές.
Από την άλλη, η διόρθωση του αποτελέσματος μιας μέτρησης για όλες τις συστηματικές αποκλίσεις θεωρείται ως προϋπόθεση για την εφαρμογή των οδηγιών του GUM, όταν πρόκειται να γίνουν οι υπολογισμοί για την αβεβαιότητα. 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. Αιτίες του bias

Οι παράγοντες που διαμορφώνουν το bias στις αναλύσεις της κλινικής χημείας ποικίλουν. Σε γενικές γραμμές θα μπορούσαν να ομαδοποιηθούν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το αν σχετίζονται με την μετρούμενη ποσότητα, το δείγμα, ή την αναλυτική διαδικασία
Ο ορισμός της μετρούμενης ποσότητας δεν είναι πάντοτε εύκολος κι επιπλέον, μετρούμενη ποσότητα και προς προσδιορισμό ουσία δεν είναι σε όλες τις περιπτώσεις έννοιες ταυτόσημες (De Bièvre,2013). Τα βιολογικά δείγματα είναι πολύπλοκα συστήματα και, συχνά, τα συστατικά τους βρίσκονται μέσα σ' αυτά δεσμευμένα με τη μορφή πρωτεϊνικών ή άλλων συμπλόκων. Έτσι, για παράδειγμα, η συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου στην υδατική φάση του ανθρώπινου ορού είναι διαφορετική από τη συγκέντρωση των ιόντων αυτών στον ορό και μάλιστα, η απόκλιση δεν είναι σταθερή επειδή επηρεάζεται από τη σύσταση του ορού. Ένα ακόμα συνηθισμένο φαινόμενο, που παρουσιάζεται κατά την εφαρμογή μεθόδων που βασίζονται σε ανοσοχημικές αντιδράσεις, είναι οι μεγάλες διαφορές που παρατηρούνται στα αποτελέσματα των μετρήσεων του ίδιου παράγοντα εξαιτίας της διαφορετικής ειδικότητας και συγγένειας των αντισωμάτων.
Η ποιότητα του δείγματος καθορίζεται από τις συνθήκες παραλαβής, μεταφοράς και αποθήκευσής του καθώς και από ενδεχόμενη κατεργασία του πριν την ανάλυση. Μια ξεχωριστή παράμετρος, που είναι δυνατό να έχει καταλυτική επίδραση στο αποτέλεσμα της μέτρησης, είναι η προετοιμασία του ατόμου από το οποίο θα ληφθεί το δείγμα.
Τέλος, το bias που οφείλεται στην αναλυτική διαδικασία μπορεί να προέρχεται από την εφαρμογή ή τους περιορισμούς της μεθόδου. Συγκεκριμένα, στο πλαίσιο της εφαρμογής, η ποιότητα του βαθμονομητή είναι ο καθοριστικός παράγοντας. Η ποιότητα σχετίζεται με κάποια πάγια χαρακτηριστικά του βαθμονομητή όπως η σταθερότητα, η σχέση του με υλικά αναφοράς και η ομοιότητά του με τα βιολογικά δείγματα αλλά και με τον τρόπο προετοιμασίας του.
Όσον αφορά στους περιορισμούς της μεθόδου, αυτοί κατά κύριο λόγο έχουν να κάνουν με την ικανότητά της να ανιχνεύει αποκλειστικά τον προσδιοριζόμενο αναλύτη ακόμα κι όταν στο δείγμα υπάρχουν παρεμβάλλουσες ουσίες όπως πχ η αιμοσφαιρίνη ή τα ετεροφιλικά αντισώματα.

3. Εκτίμηση 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).
Όπως φαίνεται από τον ορισμό του, πρόκειται για μια σχετική ποσότητα και γι αυτό και η τιμή του διαφοροποιείται ανάλογα με την επιλεγόμενη κατάσταση αναφοράς και τις συνθήκες διεξαγωγής των μετρήσεων. Έτσι υπάρχει bias σε σχέση με κάποιο υλικό αναφοράς, bias από το μέσο όρο των μετρήσεων μιας ομάδας εργαστηρίων, bias μεταξύ δυο ίδιων αναλυτών σε ένα εργαστήριο, bias για τις μετρήσεις του ίδιου αναλύτη με διαφορετικές μεθόδους, bias μεταξύ παρτίδων του ίδιου αντιδραστηρίου κ.ο.κ.
Σε ένα εργαστήριο κλινικής χημείας η πιο απαιτητική διαδικασία είναι ο προσδιορισμός του bias μεθόδου ή/και εργαστηρίου για τις αναλύσεις που πραγματοποιεί γιατί προϋποθέτει τη διαθεσιμότητα υλικών ή μεθόδων αναφοράς. Για το σκοπό αυτό είναι δυνατό να εφαρμοστεί μια ή περισσότερες από τις παρακάτω πρακτικές:
α) Σύγκριση της ονομαστικής τιμής της συγκέντρωσης ενός πιστοποιημένου υλικού αναφοράς (CRM) με την τιμή που αποδίδεται στην συγκέντρωσή του όταν αναλύεται στις συνθήκες του εργαστηρίου. Το ιδανικό υλικό αναφοράς για αυτού του είδους τη σύγκριση πρέπει έχει σύσταση παρόμοια με αυτή των βιολογικών δειγμάτων και να καλύπτει την περιοχή συγκεντρώσεων που είναι σημαντική από κλινική άποψη. Αυτός ακριβώς είναι και ο λόγος για τον οποίο είναι προβληματική η εφαρμογή αυτής της πρακτικής καθώς για την πλειονότητα των παραμέτρων που αναλύονται στην κλινική χημεία δεν υπάρχουν υλικά με τέτοια χαρακτηριστικά.
β) Ανάλυση μιας σειράς βιολογικών δειγμάτων με μια μέθοδο υψηλότερης μετρολογικής τάξης παράλληλα με την εξεταζόμενη μέθοδο. Και σ' αυτήν την περίπτωση, για πολλούς αναλύτες της κλινικής χημείας δεν υπάρχουν μεθοδολογίες αναφοράς και όταν υπάρχουν, δεν είναι εύκολη η πρόσβαση σ' αυτές από πρακτική άποψη αλλά και για οικονομικούς λόγους
γ) Εμβολιασμός φυσικών δειγμάτων με γνωστή ποσότητα της προς μέτρηση ουσίας και υπολογισμός της ανάκτησης. Εδώ η πρόκληση βρίσκεται στο σχεδιασμό του πειράματος. Η επιλογή του αρχικού δείγματος, η μορφή με την οποία θα εμβολιαστεί η ουσία ώστε να προκύψει δείγμα που θα είναι αντιπροσωπευτικό ενός βιολογικού, καθώς και η διαθεσιμότητα των υλικών αναφοράς καθορίζει την ποιότητα του προσδιορισμού του bias (Barwick and Ellison, 1999).
Με δεδομένους τους περιορισμούς των τεχνικών που ήδη αναφέρθηκαν ο πιο δημοφιλής τρόπος για να αποκτήσει ένα εργαστήριο στοιχεία για την απόκλιση των μεθόδων του είναι η συμμετοχή του σε διεργαστηριακά προγράμματα ελέγχου ποιότητας. Σ' αυτά τα προγράμματα, το μέτρο σύγκρισης είναι, συνήθως, ο συμφωνημένος μέσος όρος των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις η τιμή αναφοράς προέρχεται από την εφαρμογή μιας μεθόδου αναφοράς. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων καθορίζεται, κυρίως, από την ποιότητα των διακινούμενων δειγμάτων και συγκεκριμένα από την ομοιότητά τους με αληθινά βιολογικά δείγματα (Koerbin et al, 2014).

4. Διόρθωση του bias

Σύμφωνα με τον GUM (GUM 3.2.4) μια στατιστικά σημαντική συστηματική απόκλιση στη μέτρηση μιας ποσότητας πρέπει να διορθώνεται. Επειδή στο χώρο της Κλινικής Χημείας, οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε διάφορα επίπεδα των συστημάτων υγείας, από μεγάλα νοσοκομειακά εργαστήρια όπου το προσωπικό είναι εξειδικευμένο μέχρι σε

παρά τη κλίνη συσκευές οι οποίες χρησιμοποιούνται κατ' οίκον από τους ίδιους τους ασθενείς, τα κριτήρια για τη διόρθωση του bias θα πρέπει να τεκμηριώνονται επιστημονικά (Magnusson and Ellison, 2008).

Κατ' αρχήν η δυνατότητα ακριβούς εκτίμησης της τιμής του bias είναι η βασικότερη απαίτηση πριν οποιαδήποτε συζήτηση για διόρθωση. Το ιδανικό είναι να μπορεί να εντοπιστεί ο παράγοντας (ή οι παράγοντες) που προκαλεί την απόκλιση και να καθοριστεί η ποσοτική σχέση ανάμεσα σ' αυτόν και την ίδια την απόκλιση, σε όλη την περιοχή των μετρήσεων. Συνηθέστερα όμως, με τα δεδομένα της πειραματικής διαδικασίας γίνεται ένας «εμπειρικός» συσχετισμός της επίδρασης πάνω στο αποτέλεσμα, χωρίς θεωρητικό υπόβαθρο, με κίνδυνο το μοντέλο να μη μπορεί να ανταποκριθεί με ακρίβεια στην πολυπλοκότητα των βιολογικών δειγμάτων (Fillée C. et al.).

Η αξιολόγηση της τιμής του bias δεν σταματά στον χαρακτηρισμό του ως στατιστικά σημαντικό. Ένα στατιστικά σημαντικό bias μπορεί να είναι ασήμαντο στην κλινική πράξη, οπότε οι παράμετροι που κρίνουν το αν θα προχωρήσει η διόρθωση ή όχι είναι η βιολογική διακύμανση της μετρούμενης ουσίας, το πλαίσιο στο οποίο πραγματοποιούνται οι μετρήσεις (διάγνωση ή παρακολούθηση) και ο ιατρικός κίνδυνος τον οποίο συνεπάγεται ο λανθασμένος προσδιορισμός της συγκέντρωσης της ουσίας.

Τέλος, ακόμα κι αν ο υπολογισμός του bias γίνει με ικανοποιητική ακρίβεια, το αποτέλεσμα είναι έγκυρο για περιορισμένο χρονικό διάστημα, πάνω κάτω όσο διαρκούν οι μετρήσεις. Στη συνέχεια η τιμή του διαφοροποιείται, καθώς αλλάζουν αντιδραστήρια, βαθμονομητές και γενικότερα οι συνθήκες της ανάλυσης.

Έτσι, στην πράξη, πολύ σπάνια προκρίνεται η διόρθωση του bias. Όμως, ακόμα κι αν δε γίνει διόρθωση, η συστηματική απόκλιση 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)

5. Συμπεράσματα

Ο περιορισμός του bias στην Κλινική Χημεία μπορεί να επιτευχθεί μόνο με την ανάπτυξη κατάλληλων υλικών και μεθόδων αναφοράς για την προτυποποίηση ή την εναρμόνιση των μεθόδων (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.

6. 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

De Bièvre P *"Analyte" is frequently used as synonym for "measurand": is that correct?* Accred Qual Assur 18:71-72, 2013

Fillée C, Vranken G, Othmane M, Philippe M, Allaeys JM, Courbe A, Ruelle JL and Peeters R *"Results of the recalibration of creatinine measurement with the modular Beckman Coulter Jaffe creatinine method"*Clin Chem Lab Med 49(12):1987-1999, 2011

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

Koerbin G., Tate J.R, Ryan J., Jones G.RD, Sikaris K., Kanowski D., Reed M., Gill J., Koumantakis G., Yen T., St John A., Hickman P., Simpson A. and Graham P. *"Bias Assessment of General Chemistry Analytes using Commutable Samples"* Clin Biochem Rev 35(4):203-211, 2014

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