

ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ειρήνη Δ. Λεϊμονή

Δρ. Βιολόγος, Υπεύθυνη Ποιότητας, Κεντρικά Εργαστήρια, EUROMEDICA A.E.

Η διασφάλιση ποιότητας των εργαστηριακών διαδικασιών είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την εξαγωγή αξιόπιστων αριθμητικών αποτελεσμάτων, που θα βοηθήσουν τον ιατρό στην εκτέλεση του έργου του. Στη διαδικασία της διαπίστευσης των κλινικών εργαστηρίων κατά ISO 17025 και 15189 η επικύρωση (validation)/επαλήθευση (verification) των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται και η εκτίμηση της συνδυασμένης και διευρυμένης αβεβαιότητας των μετρήσεων αποτελούν αναγκαίες ενέργειες συμμόρφωσης προς τις απαιτήσεις των ανωτέρω προτύπων.

ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ / ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Στη βιβλιογραφία η επικύρωση ορίζεται ως «η επιβεβαίωση ότι ικανοποιούνται οι ιδιαίτερες απαιτήσεις για συγκεκριμένη, σκοπούμενη χρήση, μέσω της εξέτασης και παροχής αντικειμενικών αποδείξεων».

Προκειμένου για μία αναλυτική μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού μίας παραμέτρου, η επικύρωση περιλαμβάνει την αξιολόγηση των παρακάτω χαρακτηριστικών ποιότητας της μεθόδου:

- Γραμμικότητα (linearity)
- Πιστότητα (precision)
- Ακρίβεια (accuracy)
- Ειδικότητα (specificity)
- Όριο Ανίχνευσης (limit of detection)
- Όριο Ποσοτικοποίησης (limit of quantitation) και
- Περιοχή Μέτρησης (range)

Στον τομέα της Κλινικής Χημείας η διαδικασία της επικύρωσης των αναλυτικών μεθόδων, που διενεργούνται στους αυτόματους αναλυτές κυρίως, πραγματοποιείται από τις ίδιες τις κατασκευάστριες εταιρείες των αντιδραστηρίων. Συνεπώς, στο εργαστήριο μένει να επαληθεύσει τις μεθόδους αυτές, δηλαδή να ελέγξει αν δουλεύουν σωστά ή σύμφωνα με τις «προδιαγραφές» της εταιρείας στον δικό τους χώρο. Αυτές τις πληροφορίες ζητά και ο φορέας της Διαπίστευσης από τα υποψήφια κλινικά εργαστήρια. Συγκεκριμένα, ο φορέας της Διαπίστευσης ελέγχει κατ' αρχήν την Πιστότητα (Precision) μίας μεθόδου, όπως αυτή εκφράζεται από την επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητά της. Επιπρόσθετα, ελέγχει την Ακρίβεια (Accuracy) της μεθόδου, όπως αυτή ευρίσκεται από την ανάλυση δειγμάτων ελέγχου (controls) ή την ανάκτηση (recovery) από ενίσχυση δειγμάτων (spiking). Τέλος, ζητά τους υπολογισμούς των ορίων ανίχνευσης (Limit of Detection) και ποσοτικοποίησης (Limit of Quantitation) για κάθε παράμετρο, που θα διαπιστευθεί.

ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ (PRECISION)

Η πιστότητα είναι το πλέον χρησιμοποιούμενο (και μερικές φορές το αποκλειστικό) χαρακτηριστικό ποιότητας μίας αναλυτικής μεθόδου.

Η πιστότητα εκφράζει το βαθμό της συμφωνίας μεταξύ των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων εφαρμογών της μεθόδου υπό ρητά καθορισμένες συνθήκες. Ως μία παράμετρος ποιότητας της ανάλυσης, η πιστότητα μπορεί να περιγραφεί ως η ποσότητα που μετρά τη διασπορά (dispersion) των αποτελεσμάτων, όταν η αναλυτική μεθοδολογία επαναλαμβάνεται σε ένα δείγμα. Η διασπορά αυτή των αποτελεσμάτων μπορεί να προκληθεί από πολλές πηγές. Είναι κοινή πρακτική στην περιγραφή της πιστότητας να λαμβάνουμε υπόψη μόνο τις πηγές που προκαλούν τυχαίες διακυμάνσεις (random fluctuations) στη μεθοδολογία.

Υποσύνολα του όρου πιστότητα είναι οι όροι:

- **Επαναληψιμότητα (repeatability)**
- **Αναπαραγωγιμότητα (reproducibility)**

Με τον όρο επαναληψιμότητα εννοούμε το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών ανεξάρτητων προσδιορισμών στο ίδιο δείγμα, που εκτελούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες, δηλαδή ίδια μέθοδος ελέγχου, ίδια συσκευή, ίδιο εργαστήριο και βραχύ χρονικό διάστημα.

Με το όρο αναπαραγωγιμότητα εννοούμε το μέτρο της διασποράς μεταξύ των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων μετρήσεων, που λαμβάνονται με την ίδια μέθοδο στο ίδιο δείγμα κάτω από διαφορετικές συνθήκες, δηλαδή, διαφορετική συσκευή, ίδιο ή διαφορετικά εργαστήρια, και/ή διαφορετικούς χρόνους. Η **αναπαραγωγιμότητα** διακρίνεται σε **ενδοεργαστηριακή** και **διεργαστηριακή**.

Υπάρχουν επίσης οι όροι:

A) **Επαναληψιμότητα εντός σειράς προσδιορισμών (Within run precision)** που αναφέρεται στην επαναληψιμότητα σειράς μετρήσεων του ίδιου δείγματος.

B) **Επαναληψιμότητα από σειρά σε σειρά προσδιορισμών (Between run precision)** που αναφέρεται στην επαναληψιμότητα σειράς μετρήσεων διαφορετικών τμημάτων (aliquots) του ίδιου δείγματος.

Στα κλινικά εργαστήρια, όπου εφαρμόζονται μέθοδοι ρουτίνας σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων χρησιμοποιούνται οι όροι:

i) **Εντός της ημέρας επαναληψιμότητα (Within a Day precision)**

ii) **Μεταξύ ημερών επαναληψιμότητα (Between Days precision** ή ορθότερα αναπαραγωγιμότητα).

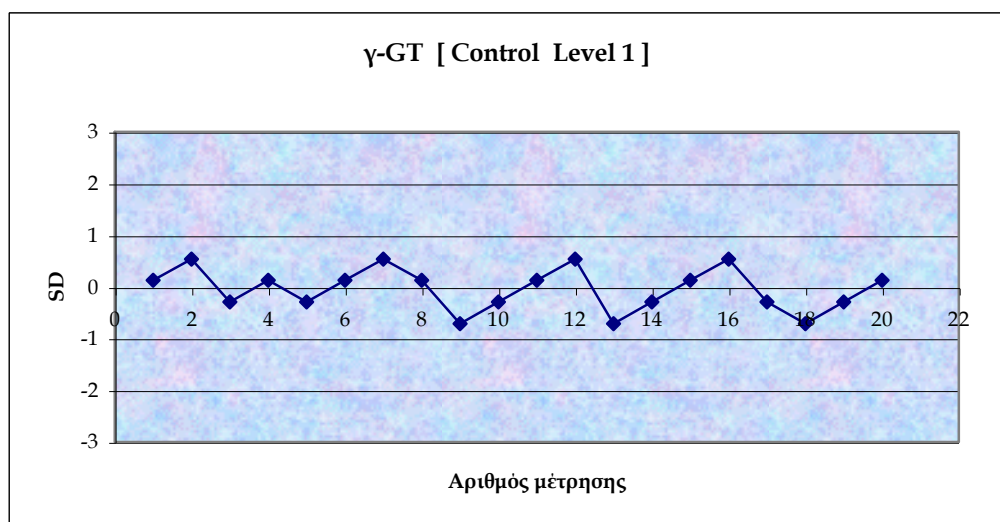
Ως μέτρο της πιστότητας χρησιμοποιείται η τυπική απόκλιση (SD), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD) ή συντελεστής μεταβλητότητας ή διακύμανσης (coefficient of variation, CV), που είναι καθαρός αριθμός:

$$\%RSD = CV = 100 \times \frac{SD}{\bar{x}}$$

Η ποιότητα σχετίζεται και με τον όρο **uncertainty (αβεβαιότητα)**, που χαρακτηρίζει τη διασπορά των τιμών που μπορούν λογικά να αποδοθούν στο προσδιοριζόμενο συστατικό.

Στην πράξη λοιπόν, για τον έλεγχο της πιστότητας των προς επαλήθευση αναλυτικών μεθόδων στο κλινικό εργαστήριο πραγματοποιούνται μεταξύ ημερών (between days) και στη διάρκεια της ίδιας ημέρας (within day) δέκα μετρήσεις διαλυμάτων ελέγχου ή μείγματος (pool) ορών ή γενικότερα βιολογικών υγρών ασθενών δύο και τριών επιπέδων. Από τις μετρήσεις αυτές υπολογίζεται η τυπική απόκλιση (SD) και ο συντελεστής μεταβλητότητας (CV).

Ένας άλλος τρόπος ελέγχου της πιστότητας μίας αναλυτικής μεθόδου μπορεί να βασιστεί στα αποτελέσματα του συστήματος ελέγχου ποιότητας, που καθημερινά λειτουργεί σε ένα κλινικό εργαστήριο. Κάθε ημέρα αναλύονται συνήθως δύο οροί ελέγχου διαφορετικών επιπέδων (εντός και εκτός των ορίων αναφοράς) και οι λαμβανόμενες τιμές αποτυπώνονται σε διαγράμματα Levey-Jennings (Σχήμα 1 και 2).

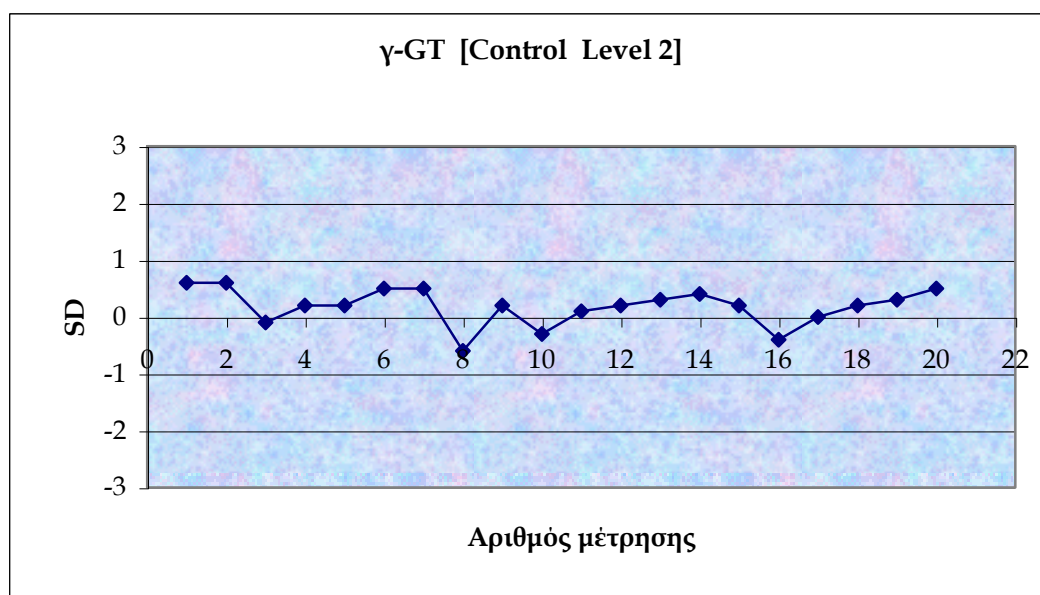


Σχήμα 1. Διάγραμμα Levey-Jennings του διαλύματος ελέγχου, χαμηλού επιπέδου για την ανάλυση γ -GT.

Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται στο εργαστήριο από τη διαδικασία της επαλήθευσης μίας μεθόδου συγκρίνονται με τα υπάρχοντα από την επικύρωσή της από την κατασκευάστρια εταιρεία ή από το πιστοποιητικό των διαλυμάτων ελέγχου ή από βιβλιογραφικά δεδομένα (Σελ.....), ή τέλος από τα δεδομένα των διεργασιολογικών προγραμμάτων ελέγχου ποιότητας. Η επίδοση όμως της μεθόδου περιγράφεται από τα αποτελέσματα της επαλήθευσής της στο χώρο του εργαστηρίου.

Εάν υπάρχουν δύο αναλυτές της ίδιας κατασκευάστριας εταιρείας, του ίδιου τύπου και μοντέλου θα διαφοροποιούνται μεταξύ τους ως προς τον

χαρακτηριστικό αριθμό (serial number). Στην περίπτωση αυτή η διαδικασία της επαλήθευσης θα πρέπει να γίνει χωριστά για καθέναν αναλυτή.



Σχήμα 2. Διάγραμμα Levey-Jennings του διαλύματος ελέγχου, υψηλού επιπέδου για την ανάλυση γ-GT.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ (ACCURACY)

Η έννοια της ακρίβειας είναι ένα από τα πλέον δύσκολα θέματα και αυτό γιατί δεν είναι μόνον ο ορισμός ασαφής και δύσκολος στην ερμηνεία του, αλλά επίσης το θεωρητικό υπόβαθρο των μεθόδων για τον υπολογισμό της ακρίβειας είναι πολύπλοκο, ασαφές και όχι γενικά αποδεκτό. Ένας από τους ορισμούς της ακρίβειας είναι οι εξής:

« Η ακρίβεια αναφέρεται στη διαφορά (σφάλμα, error ή bias) μεταξύ του μέσου όρου \bar{x} (mean), μιας σειράς μετρήσεων και της αληθούς τιμής μ , (true/correct) της μετρούμενης ποσότητας».

Το σφάλμα μίας μέτρησης έχει δύο συνιστώσες:

- A) το τυχαίο σφάλμα ($x_i - \bar{x}$) (random error), όπου x_i μεμονωμένη μέτρηση και
- B) το συστηματικό σφάλμα ($\bar{x} - \mu$) (bias).

Στο κλινικό εργαστήριο χρησιμοποιούνται συνήθως επικυρωμένες μέθοδοι από την κατασκευάστρια εταιρεία. Θεωρητικά, δεν πρέπει να υπάρχει συστηματικό σφάλμα, ωστόσο ένα μικρό συστηματικό σφάλμα είναι συνήθως αποδεκτό.

Ελλείψει συστηματικού σφάλματος η ακρίβεια της μεθόδου εκφράζεται μόνο από το τυχαίο σφάλμα, δηλαδή τον συντελεστή διακύμανσης CV (Πιστότητα). Παρουσία συστηματικού σφάλματος, δηλαδή $(\bar{x} - \mu) \gg SD$, το σφάλμα αποδίδει το μέτρο της Ορθότητας (Trueness) της μεθόδου.

Έτσι, το $(\bar{x} - \mu)$ εκφράζει την ορθότητα της μεθόδου και το $(x_i - \mu)$ την ακρίβεια.

Δηλαδή:

$$\boxed{\text{Σφάλμα μετρήσεως} = \text{τυχαίο σφάλμα} + \text{συστηματικό σφάλμα}}$$

$$(x_i - \mu) = (\bar{x} - \mu) + (x_i - \bar{x})$$

$$\boxed{\text{ΑΚΡΙΒΕΙΑ} = \text{ΟΡΘΟΤΗΤΑ} + \text{ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ}}$$

Είναι προφανές ότι η ορθότητα αναφέρεται στη μέθοδο και στο μέσο όρο σειράς μετρήσεων, όχι όμως σε μία μεμονωμένη μέτρηση ή προσδιορισμό. Είναι επίσης προφανές ότι εάν γίνει ικανοποιητικός αριθμός μετρήσεων/προσδιορισμών το τυχαίο σφάλμα εξαλείφεται και η ακρίβεια συμπίπτει με την ορθότητα.

Είναι τέλος προφανές ότι εάν σε μία μέθοδο δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα, τότε η έννοια της ακρίβειας εκφράζεται από την πιστότητα.

Σήμερα ο όρος αξιοπιστία και αξιόπιστη μέθοδος δεν χρησιμοποιείται μόνο για μόνο για να συνδυάσει τους όρους ακρίβεια και πιστότητα, αλλά και να εκφράσει και άλλα χαρακτηριστικά ποιότητας (ειδικότητα κλπ) έτσι, ώστε με τον όρο αξιόπιστη να υπονοείται μία μέθοδος κατάλληλη για τον σκοπό αυτό.

Αν και η ακρίβεια δεν μπορεί να ποσοτικοποιηθεί παρά μόνο με πολύπλοκους υπολογισμούς, είναι δυνατόν να μετρηθούν κάποιες ιδιότητες που σχετίζονται με την ιδέα της ακρίβειας. Στην ανάλυση συχνά η μόνη απαίτηση για ένα αποτέλεσμα είναι να είναι συγκρίσιμο με άλλα αποτελέσματα. Έτσι, κατά κανόνα τα αποτελέσματα μίας ανάλυσης συγκρίνονται με τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από την ανάλυση προτύπων (standards) ή υλικών αναφοράς (reference materials), δηλαδή υλικών με γνωστές ή αποδεκτές συγκεντρώσεις.

Με την ακρίβεια της αναλυτικής μεθόδου σχετίζεται και η έννοια της **ανάκτησης (recovery)**, η οποία υπολογίζεται με την εφαρμογή της μεθόδου σε εμβολιασμένο (spiked), λευκό ή θετικό δείγμα. Η ανάκτηση υπολογίζεται ως το % κλάσμα $[\Delta C_{\text{ευρεθέν}} / \Delta C_{\text{προσπεθέν}}]$.

Στα κλινικά εργαστήρια για τον προσδιορισμό της ανάκτησης γίνεται ανάμειξη σε ίσες ποσότητες (1:1) ενός δείγματος γνωστής συγκέντρωσης (C_0) ως προς μία παράμετρο με βαθμονομητή υψηλής συγκέντρωσης (C_{ST}) της παραμέτρου αυτής. Στη συνέχεια πραγματοποιείται μέτρηση της συγκέντρωσης ($C_{\text{τελ}}$) της παραμέτρου στο προκύψαν δείγμα. Η ανάκτηση υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{Ανάκτηση} = \frac{C_{\text{τελ.}} - [C_o / 2]}{[C_{\text{st}} / 2]}$$

Άλλος τρόπος εκτίμησης της ακρίβειας των αναλυτικών μεθόδων που εφαρμόζονται σε ένα κλινικό εργαστήριο είναι ο εξής:

Εκτελούνται μεταξύ 10 διαδοχικών ημερών και στη διάρκεια της ίδιας ημέρας 10 μετρήσεις διαλυμάτων ελέγχου (π.χ. ορός ή ούρα) δύο και τριών επιπέδων με γνωστή τιμή - στόχο (μ) και SD. Υπολογίζεται η ανάκτηση με τον μαθηματικό τύπο:

$$\text{Ανάκτηση} = \frac{\bar{x}}{\mu} \times 100$$

Όπου \bar{x} ο μέσος όρος των μετρήσεων.

Για να είναι αποδεκτή η ακρίβεια της αναλυτικής μεθόδου πρέπει να ισχύει:

$$| \bar{x} - \mu | \leq 2 \cdot \text{SD} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow \mu - 2 \cdot \text{SD} < \bar{x} < \mu + 2 \cdot \text{SD}$$

Ως παράδειγμα αναφέρεται ο έλεγχος της ακρίβειας μεθόδου προσδιορισμού προγεστερόνης. Ως πειραματικό υλικό χρησιμοποιείται διάλυμα ελέγχου τριών επιπέδων συγκέντρωσης, διαφορετικής εταιρείας από την κατασκευάστρια. Πραγματοποιούνται 10 μετρήσεις, τόσο στη διάρκεια της ίδιας ημέρας, όσο και μεταξύ 10 διαδοχικών ημερών. Για το μεσαίο επίπεδο συγκέντρωσης υπολογίζονται οι παράμετροι:

\bar{x} :	7,091 ng/ml
μ :	7,3 ng/ml
% ανάκτηση:	97,14
SD διαλύματος ελέγχου:	0,88
z-score:	-0,2

Μία αναλυτική μέθοδος κρίνεται αποδεκτή όταν $| z | \leq 2$. Επομένως η ανωτέρω μέθοδος είναι αποδεκτή.

ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection) ή Αναλυτική ευαισθησία (Analytical Sensitivity) αποτελεί το χαμηλότερο επίπεδο συγκέντρωσης της προσδιοριζόμενης παραμέτρου, που μπορεί να προσδιορισθεί αξιόπιστα.

Το όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantitation) ή Λειτουργική ευαισθησία (Functional Sensitivity) είναι η ελάχιστη συγκέντρωση προσδιοριζόμενης ουσίας, που μπορεί να διακριθεί από τη μηδενική συγκέντρωση.

Συγκεκριμένα, για τις ανοσοχημικές μεθόδους, αραιώνεται ορός ασθενούς με βαθμονομητή μηδενικής συγκέντρωσης ή κατάλληλο αραιωτικό, σε τέτοιο βαθμό, ώστε ο συντελεστής διακύμανσης (CV), ο οποίος προκύπτει από είκοσι μετρήσεις, που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της ίδιας ημέρας να είναι ίσος με την τιμή 20 [1^ο και 17^ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο ΕΕΚΧ-ΚΒ].

Στην πράξη, για τον προσδιορισμό του Ορίου Ανίχνευσης των βιοχημικών κλινικών δοκιμών, των οποίων η καμπύλη βαθμονόμησης είναι γραμμική, χρησιμοποιείται ως πειραματικό υλικό αραιωμένος ορός ελέγχου χαμηλής συγκέντρωσης και εκτελούνται τουλάχιστον 15 μετρήσεις μεταξύ διαδοχικών ημερών. Υπολογίζεται η τυπική απόκλιση των μετρήσεων και το όριο ανίχνευσης (LOD) από τον μαθηματικό τύπο:

(LOD)=3·SD, για στάθμη εμπιστοσύνης 99,87% ή

(LOD)=2·SD, για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) δίδεται από τον τύπο:

$$LOQ=10 \cdot SD$$

Για παράδειγμα, για τον υπολογισμό του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης μεθόδου προσδιορισμού κρεατινίνης σε κλινικό εργαστήριο, χρησιμοποιείται ως πειραματικό υλικό ορός ελέγχου της κατασκευάστριας εταιρείας, αραιωμένος κατάλληλα, ώστε η μετρούμενη συγκέντρωση του παρασκευασθέντος υλικού να πλησιάζει το προτεινόμενο από την κατασκευάστρια εταιρεία όριο ποσοτικοποίησης.

Συγκεκριμένα:

Μέσος όρος:	0,22	mg/dl
SD:	0,025	mg/dl
LOD:	0,08	mg/dl, για στάθμη εμπιστοσύνης 99,87%
LOQ:	0,25	mg/dl

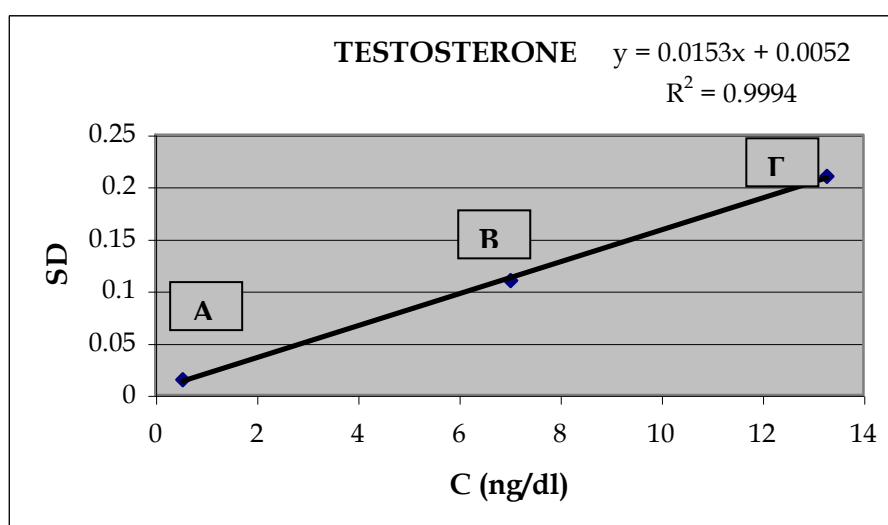
Άλλος τρόπος προσδιορισμού του ορίου ποσοτικοποίησης για τις αναλύσεις που οι καμπύλες αναφοράς τους δεν είναι γραμμικές (π.χ. ανοσοχημικές) είναι ο εξής:

- Πραγματοποιούνται 10 μετρήσεις των παρεχομένων βαθμονομητών, στα χαμηλότερα διαθέσιμα επίπεδα συγκεντρώσεων και υπολογίζεται η μέση τιμή \bar{x} και η τυπική απόκλιση SD ανά επίπεδο.

- Τα αποτελέσματα τοποθετούνται σε διάγραμμα δύο αξόνων. Στον άξονα των x εμφανίζονται οι τιμές των συγκεντρώσεων και στον άξονα των y οι τιμές της τυπικής απόκλισης.

- Υπολογίζεται με τη βοήθεια της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων η εξίσωση γραμμικής καμπύλης της μορφής $y=ax+\beta$ και προσδιορίζεται η τιμή της τυπικής απόκλισης για μηδενική συγκέντρωση ($y=\beta$).
- Το όριο ανίχνευσης προκύπτει από την εξίσωση $LOD=3\cdot SD$, για στάθμη εμπιστοσύνης 99,87% ή $LOD=2\cdot SD$, για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.
- Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) προκύπτει από το μαθηματικό τύπο: $LOQ = 10\cdot SD$.

Αναφέρεται ως παράδειγμα ο προσδιορισμός του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της ολικής τεστοστερόνης (Σχήμα 3).



Σχήμα 3. Υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της ολικής τεστοστερόνης.

Όπου για το βαθμονομητή χαμηλής συγκέντρωσης ο μέσος όρος 10 μετρήσεων είναι 0,548 ng/ml και η τυπική απόκλιση είναι 0,015 ng/ml (Σημείο Α).

Για το βαθμονομητή μεσαίας συγκέντρωσης ο μέσος όρος 10 μετρήσεων είναι 7,02 ng/ml και η τυπική απόκλιση είναι 0,11 ng/ml (Σημείο Β).

Για το βαθμονομητή υψηλής συγκέντρωσης ο μέσος όρος 10 μετρήσεων είναι 13,28 ng/ml και η τυπική απόκλιση είναι 0,21 ng/ml (Σημείο Γ).

Το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής μεθόδου προκύπτει από την εξίσωση της καμπύλης $y=0,0153x+0,0052$, ως το γινόμενο: $(3\times\beta)$, όπου $\beta=0,0052$, δηλαδή $(3\times 0,0052)=0,02$ ng/ml.

Το όριο ποσοτικοποίησης προκύπτει από το γινόμενο: $(10\times\beta)$, δηλαδή $(10\times 0,0052)=0,05$ ng/ml.

Πίνακες με τις τιμές των ορίων ποσοτικοποίησης κάθε κλινικής παραμέτρου αναρτώνται στο εργαστήριο, έτσι ώστε π.χ:

Στον μετα-αναλυτικό έλεγχο που πραγματοποιείται πριν την έκδοση των αποτελεσμάτων πρέπει να αξιολογούνται οι χαμηλές τιμές που λαμβάνονται από τους αυτόματους αναλυτές. Ως παράδειγμα μπορεί να αναφερθεί η περίπτωση του σιδήρου, όπου, σε κλινικό εργαστήριο προσδιορίστηκε το όριο ποσοτικοποίησης της χρησιμοποιούμενης μεθόδου, LOQ = 15μg/dl. Σε αυτή την περίπτωση αποτελέσματα δειγμάτων, που δίδονται από τον αυτόματο αναλυτή με τιμές μικρότερες των 15 μg/dl, κοινοποιούνται στους ιατρούς ως < 15μg/dl.

Τέλος είναι απαραίτητο να σημειωθεί ότι κατά την παρουσίαση των αποτελεσμάτων η άσκοπη χρήση πολλών ψηφίων δεν είναι δήλωση της αξιοπιστίας της αναλυτικής μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε. Αντίθετα, ανάλογα με την κλινική σημασία της προσδιοριζόμενης ουσίας, αλλά και το όριο ποσοτικοποίησής της πρέπει να γίνεται ορθή χρήση των ψηφίων κατά την έκδοση των αποτελεσμάτων, χρησιμοποιώντας τους κανόνες σημαντικών ψηφίων.

Συνήθως η τοπική απόκλιση δίδεται με δύο σημαντικά ψηφία και το μέγεθος της παραμέτρου με τόσα σημαντικά ψηφία, όσα καθορίζει η αβεβαιότητα, δηλαδή ο συντελεστής διακύμανσης CV.

Παραδείγματα:

A) Προσδιορισμός Χοληστερόλης σε ορό.

Έστω ότι η τιμή συγκέντρωσης από την καμπύλη αναφοράς, υπολογισμένη με αριθμομηχανή είναι: 180,267893 mg/dl και η SD=3,2898 mg/dl.

Ο σωστός τρόπος γραφής είναι:

Η SD με δύο σημαντικά ψηφία, δηλαδή: 3,3 mg/dl

Η συγκέντρωση γράφεται με τόσα δεκαδικά ψηφία, όσα έχει η SD, δηλαδή: 180,3 mg/dl

Συνήθως βέβαια, οι αυτόματοι αναλυτές έχουν προγραμματιστεί να δίδουν το σωστό αριθμό δεκαδικών ψηφίων.

B) Προσδιορισμός CA 19-9 σε ορό ασθενούς με κακοήθεια.

Έστω ότι η τιμή συγκέντρωσης από την καμπύλη αναφοράς, υπολογισμένη με αριθμομηχανή είναι: 12.878,2678 IU/ml και η SD=465,2678 IU/ml.

Ο σωστός τρόπος γραφής είναι: Συγκέντρωση: $1,288 \times 10^4$ IU/ml.

SD: $0,046 \times 10^4$ IU/ml.

Δηλαδή στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση είναι της τάξεως των χιλιάδων, εκφράζεται αρχικά, με την ίδια τάξη μεγέθους του 10 με αυτή της SD. Στη συνέχεια, κατά τον γνωστό κανόνα, η SD γράφεται με δύο σημαντικά ψηφία και η συγκέντρωση φέρει τόσα δεκαδικά, όσα έχει η SD.

Το αποτέλεσμα στην περίπτωση αυτή γράφεται ορθά: $1,288 (\pm 0,046) \times 10^4$

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Μ. ΚΟΥΠΠΑΡΗΣ, «ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ-ΧΗΜΕΙΟΜΕΤΡΙΑ», Πανεπιστημιακές Σημειώσεις.
2. ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ, Θ. Π. ΧΑΤΖΗΩΑΝΝΟΥ, Μ. Α. ΚΟΥΠΠΑΡΗΣ, Αθήνα 2003.
3. EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd edition, 2000.
4. ISO GUIDE 43-1, " Development and Operation of Laboratory Proficiency testing", Second Edition, 1997.
5. ISO GUIDE 43-2, "Selection and Use of Proficiency Testing Schemes by Laboratory Accreditation Bodies", First Edition, 1997.
6. «Διεργαστηριακές συγκρίσεις και σχήματα δοκιμών ικανότητας» Ε. Λαμπή, «Μετρολογία-Διαπίστευση Εργαλεία για την Επίτευξη της Εργαστηριακής Αξιοπιστίας», 3^{ος} Κύκλος, Εκπαιδευτικό Σεμινάριο της HellasLab.
7. Statistics for analytical chemistry, J. C. Miller and J. N. Miller.
8. K. Linnet and M. Kondratovich, Clinical Chemistry 2004; 50: 732-740.
9. A. Taylor, J. Angerer, F. Claeys, J. Kristiansen, O. Mazarrasa, A. Menditto, M. Patriarca, A. Pineau, I. Schoeters, C. Sykes, S. Valkonen and C. Weykamp, Clinical Chemistry, 2002; 48: 2000-2007.
10. R. Ekins and P. Edwards, Clinical Chemistry, 1997; 43:1824-1831.
11. H. L. Pardue, Clinical Chemistry, 1997; 43: 1831-1837.
12. Compendium of analytical nomenclature definitive rules, IUPAC, 1987, p. 114-7.