

# ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

## *Εισαγωγή – βασικές αρχές*

Ε. Λιανίδου,

Καθηγήτρια Αναλυτικής Χημείας – Κλινικής Χημείας

[lianidou@chem.uoa.gr](mailto:lianidou@chem.uoa.gr)

# Κλινική Χημεία

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

- «Η εφαρμογή των χημικών μοριακών και κυτταρικών εννοιών και τεχνικών στην κατανόηση και εκτίμηση της υγείας του ανθρώπου»

## CLINICAL CHEMISTRY

- «The application of chemical, molecular and cellular concepts and techniques to the understanding and evaluation of human health»
- με βάση τον ορισμό της *International Federation of Clinical Chemistry IFCC, 1995*

## *Επίσημα Επιστημονικά Περιοδικά*

- *Clinical Chemistry*
- *Clinical Biochemistry*
- *Clinica Chimica Acta*
- *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*
- *Analytical Biochemistry*

# Κλινική Χημεία

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ - Σημαντικές ιστοσελίδες

- Clinical Chemistry: [www.clinchem.org](http://www.clinchem.org)
- Clinical Biochemistry: [www.elsevier.com/locate/clinbiochem](http://www.elsevier.com/locate/clinbiochem)
- Clinica Chimica Acta: [www.elsevier.com/locate/cca](http://www.elsevier.com/locate/cca)
- Medline: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=PubMed>
- [www.pubmed.org](http://www.pubmed.org)
- International Federation of Clinical Chemistry: [www.ifcc.org](http://www.ifcc.org)
- American Association of Clinical Chemistry: [www.aacc.org](http://www.aacc.org)
- Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας-Κλινικής Βιοχημείας:  
<http://www.eekx-kb.gr>

# Αντικείμενο και σκοπός της Κλινικής Χημείας

- Εκτίμηση των λειτουργιών του ενδιάμεσου μεταβολισμού και των διαταραχών του
- Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της καταστροφής καττοιού ιστού
- Παρακολούθηση της πορείας μιας θεραπευτικής αγωγής
- Έγκαιρη ανίχνευση και παρακολούθηση μιας νεοπλασματικής διεργασίας

# Διαταραχή της λειτουργίας του κυττάρου

- Καταστροφή κυττάρου (τραύμα, καταστροφή ιστού)
- Γενετική ανεπάρκεια ενός ζωτικού ενζύμου
- Ανεπαρκής παροχή θρεπτικών συστατικών (πχ αμινοξέα, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία μετάλλων)
- Ανεπαρκής παροχή αίματος
- Ανεπαρκής παροχή οξυγόνου
- Κακοήθεια
- Συσσώρευση άχρηστων προϊόντων του μεταβολισμού
- Αποτυχία ενός συστήματος ελέγχου
- Αδυναμία κυτταρικής αναγνώρισης ορισμένων σημάτων

# Αύξηση της συγκέντρωσης μιας ουσίας μπορεί να οφείλεται σε:

- Αυξημένη πρόσληψη
- Αυξημένη σύνθεση της ουσίας από τον οργανισμό
- Μειωμένη χρησιμοποίηση
- Σοβαρού βαθμού αφυδάτωση
- **ΟΜΩΣ**
- Είναι πολύ πιο εύκολο να ανιχνευθεί η διαταραχή μιας κυτταρικής λειτουργίας παρά να αποκαλυφθεί ή να τεκμηριωθεί η αιτία που την προκάλεσε
- Η διάγνωση της νόσου είναι δύσκολη στα αρχικά στάδια (μικρές μεταβολές στους δείκτες)

# Χώρος διεξαγωγής εργαστηριακών εξετάσεων Κλινικής Χημείας

- Κεντρικό βιοχημικό εργαστήριο νοσοκομείου
- Εξωτερικά ιατρεία
- Διάφορα δορυφορικά εργαστήρια
- Κέντρα υγείας
- Ιδιωτικά διαγνωστικά κέντρα
- Πανεπιστημιακά εργαστήρια
- Ερευνητικά κέντρα
- Ιδιωτικά ιατρεία γιατρών
- Ασθενοφόρα
- Μονάδες εντατικής θεραπείας

# Βιολογικά Δείγματα προς ανάλυση στο εργαστήριο Κλινικής Χημείας

- Αίμα
- Ορός
- Πλάσμα
- Ούρα
- Σίελος
- Ιδρώτας
- Αρθρικό υγρό
- Εγκεφαλονωτιαίο υγρό
- Περιτοναϊκό υγρό
- Γαστρικό υγρό
- Μητρικό γάλα
- Αμνιακό υγρό
- Ιστοί
- Μυελός των οστών κα



# Οι αναλύσεις τους χαρακτηρίζονται από:

- Πολυπλοκότητα (παρουσία πληθώρας χημικών ουσιών και κυτταρικών μορφών)
- Ειδικές συνθήκες δειγματοληψίας
- Ιδιαίτερες συνθήκες φύλαξης
- Ιδιαίτερες συνθήκες κατεργασίας
- Απαραίτητη λήψη ειδικών μέτρων προφύλαξης

# ΟΛΙΚΟ ΑΙΜΑ

- $\approx 6$  L
- αναλύσεις αερίων αίματος
- pH
- Αιμοσφαιρίνη
- ουρία, γλυκόζη, γαλακτικό οξύ
- αιματοκρίτης: ποσοστό έμμορφων συστατικών του ολικού αίματος (ερυθρών αιμοσφαιρίων και λευκοκυττάρων), ως προς το συνολικό όγκο.



# ΠΛΑΣΜΑ

Αποτελεί το υδατικό συστατικό του ολικού αίματος, και λαμβάνεται έπειτα από προσθήκη αντιπηκτικού και άμεση φυγοκέντρηση.

- Κυριότερα αντιπηκτικά

- Οξαλικά

- Φθοριούχα

Δέσμευση  $Ca^{2+}$

- Άλατα EDTA,  $K^+$  ή  $Na^+$

- Κιτρικό νάτριο

- Ηπαρίνη: περιορισμός δράσης της θρομβίνης

- Προβλήματα

- περιέχει ινωδογόνο

- Παρεμπόδιση από τα συστατικά του όπως το ινωδογόνο στον ηλεκτροφορητικό διαχωρισμό

- Η προσθήκη αντιπηκτικών μπορεί να επηρεάσει τον προσδιορισμό

# ΟΡΟΣ

- Αποτελεί το υδατικό συστατικό του ολικού αίματος και λαμβάνεται από το αίμα αφού αφεθεί να πήξει για 30 min και φυγοκεντρηθεί χωρίς να προστεθεί αντιπηκτικό.
- Μειονεκτήματα:
  - απώλεια  $\text{CO}_2$
  - αύξηση pH
  - πιθανότητα αιμόλυσης κατά την παραμονή της πήξης

# Παράγοντες που επηρεάζουν τις τιμές και την επαναληψιμότητα των βιοχημικών προσδιορισμών σε: ΑΙΜΑ – ΟΡΟ - ΠΛΑΣΜΑ

- Δίαιτα
- ώρα της ημέρας που έγινε η δειγματοληψία
- μυϊκή άσκηση (γαλακτικό οξύ)
- θέση σώματος κατά την αιμοληψία
- Παρατεταμένη κατάκλιση
- έμμηνος ρύση ( μεταβολή Fe, ορμονών)
- λήψη φαρμάκων (πχ ασκορβικό οξύ παρεμποδίζει τη σύνθεση του χρωμογόνου κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης)
- ενδογενείς ουσίες
- σημαντική παρεμπόδιση της αιμοσφαιρίνης στο φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό της χολερυθρίνης στο αίμα νεογέννητων

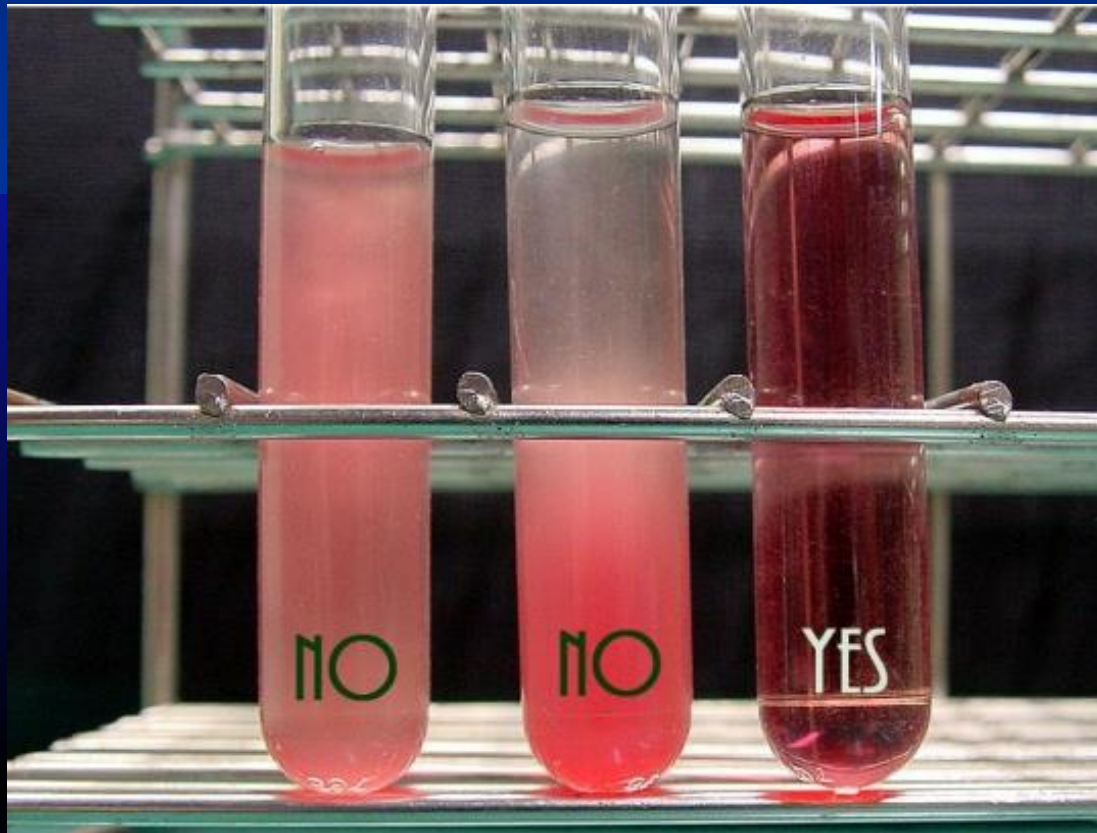
# Αιμόλυση

- διάρρηξη ερυθροκυττάρων του ολικού αίματος που μπορεί να προκληθεί κατά τη διαδικασία της πήξης, της φυγοκέντρωσης ή λόγω παρουσίας υγρασίας
- Αποφεύγεται με συλλογή του αίματος σε ισοτονικό διάλυμα και μετά φυγοκέντρωση
- Αντιστοιχεί : 0.2 % αύξηση του όγκου του πλάσματος
- αιμοσφαιρίνη > 20 mg/dL

**Τα αιμολυμένα δείγματα δίνουν λανθασμένα αποτελέσματα διότι:**

- οι συγκεντρώσεις των συστατικών που προσδιορίζουμε συνήθως βρίσκονται σε διαφορετικά επίπεδα στο πλάσμα και στα ερυθροκύτταρα (πχ LDH: αύξηση ενεργότητας κατά 30% σε αιμολυμένο δείγμα)
- Η αιμοσφαιρίνη των ερυθροκυττάρων έχει μέγιστο απορρόφησης στα 431 nm και στα 555 nm

# Αιμόλυση



# Λιπαιμικά δείγματα

- Λιπαιμικό δείγμα: δείγμα το οποίο λόγω αυξημένης συγκέντρωσης μιας κατηγορίας λιπιδίων παρουσιάζει ορατή θολερότητα
- Κύρια προβλήματα στην ανάλυση λιπαιμικών δειγμάτων:
  - α) φαινόμενο αποκλεισμού ηλεκτρολυτών  
Προσδιορισμός  $K^+$ ,  $Na^+$  στον ορό με φλογοφωτομετρία (όταν απαιτείται αραιώση του δείγματος)
  - β) διαφορετική κατανομή μη πολικών ενώσεων στην λιπιδική φάση (πχ στεροειδείς ορμόνες, φάρμακα φαινυντοΐνη, διγοτοξίνη)
  - γ) σκέδαση φωτός και παρεμπόδιση στις φασματοφωτομετρικές μεθόδους καθώς το μέγεθος των λιποπρωτεϊνών είναι 100 έως 1000 nm προκαλεί μείωση της έντασης της ακτινοβολίας που διαπερνά το διάλυμα κατά την ευθύγραμμη διαδρομή του από τη φωτεινή πηγή στον ανιχνευτή



# Λιπαιμικά δείγματα



Μη-λιπαιμικό δείγμα

Λιπαιμικό δείγμα



# Ικτερικά δείγματα

- Ικτερικό δείγμα: αυξημένη συγκέντρωση χολερυθρίνης
- Κυριότερα προβλήματα:
  - 1) Παρεμποδίσεις σε φασματοφωτομετρικούς προσδιορισμούς λόγω απορρόφησης στα 500 nm
  - 2) αρνητικά σφάλματα στις ενζυμικές μεθόδους που περιλαμβάνουν το σύστημα  $\text{H}_2\text{O}_2$  – υπεροξειδάσης, λόγω αντίδρασης της χολερυθρίνης με το  $\text{H}_2\text{O}_2$

# ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- ορός-πλάσμα:  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ή  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  , για συνηθισμένες βιοχημικές αναλύσεις
- $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  για αναλύσεις RNA
- πλήρες αίμα:  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , δεν καταψύχεται για να αποφευχθεί αιμόλυση ή ανώμαλη κατανομή ορισμένων ιόντων και ενζύμων μεταξύ κυττάρων και ορού
- ιστοί:  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$
- **ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΦΥΛΑΞΗΣ**
- Προσοχή! Κάθε δείγμα πρέπει να θεωρείται ως πιθανή πηγή μόλυνσης και επικίνδυνο για την υγεία
- ιός ηπατίτιδας B, C
- ιός HIV (Human Immunodeficiency Virus)

# ΟΥΡΑ

- ΟΥΡΑ: αποτελούν το προϊόν της νεφρικής απέκκρισης
- 
- pH → 4.7 – 8.0, (εξαρτάται από τη δίαιτα)
- Δειγματοληψία ούρων
- απλή
- ανώδυνη
- ακίνδυνη
- συλλογή ούρων 24ωρου
- προσδιορισμός κρεατινίνης
- Γενική εξέταση ούρων : μακροσκοπική, μικροσκοπική, βιοχημική
- πρωινά ούρα
- πιο όξινα
- πιο σταθερή σύσταση
- σταθερότερο ειδικό βάρος
- εύκολη συλλογή και συντήρηση
- Μειονέκτημα: μπορούν να διαφύγουν περιπτώσεις ελαφράς σακχαροουρίας που εμφανίζεται 2-3 h μετά τη λήψη τροφής
- Παρέχει μια πρώτη αδρή εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας αλλά και διαφόρων άλλων παθολογικών καταστάσεων

# ΣΙΕΛΟΣ

- Εκκρίνεται από τριών ειδών αδένες: τις παρωτίδες, τους σιελογόνους και τους υπογλώσσους αδένες
- Ενήλικες: έκκριση 1000- 1500 ml/ 24 h (ροή: 0.1 mL – 0.9 mL/min)
- pH: 6.0 – 7.9
- Ειδικό βάρος: 1.007
- Σύσταση: μεταβολή από οργανισμό σε οργανισμό
- μεταβολή στον ίδιο οργανισμό κατά τη διάρκεια της ημέρας

# Προθέματα πολλαπλασίων και υποπολλαπλασίων των μονάδων SI.

Πρόθεμα	Σύμβολο	Συντελεστής
εξα	E	$10^{18}$
πετά	P	$10^{15}$
τέρα	T	$10^{12}$
γίγα	G	$10^9$
μέγα	M	$10^6$
χίλιο	K	$10^3$
εκατό*	h	$10^2$
δέκα*	da	$10^1$
		$10^0$
δέκατο*	d	$10^{-1}$
εκατοστό*	c	$10^{-2}$
χιλιοστό	m	$10^{-3}$
μικρό	μ	$10^{-6}$
νάνο	η	$10^{-9}$
πικο	p	$10^{-12}$
φεμπτο	f	$10^{-15}$
αττο	a	$10^{-18}$

# ΕΥΡΟΣ ΤΙΜΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

- Ο όρος «φυσιολογικές τιμές» και «φυσιολογική περιοχή τιμών» (normal range) καλύτερα είναι να αντικατασταθεί από τον πιο ρεαλιστικό «τιμές αναφοράς» (reference values) ή «περιοχή αναφοράς» (reference range).
- τιμές αναφοράς, ορίζονται: το σύνολο των λαμβανομένων αποτελεσμάτων από πληθυσμούς αναφοράς (reference population class).
- Αν από τον πληθυσμό αυτό αποχωριστεί ένα τμήμα αυτού, τότε οι αντίστοιχες τιμές που λαμβάνονται ορίζονται «ως διάστημα αναφοράς» (reference interval).
- τιμή διακρίσεως (discrimination value) για το σημείο συμπτώσεως των καμπυλών κατανομής των υγιών και ασθενών ομάδων.
- Όριο λήψης απόφασης (cut-off value): τιμή που καθορίζουμε για την διάκριση φυσιολογικών παθολογικών τιμών

# εύρος των τιμών αναφοράς συστατικού (Analyte reference intervals)

έχει καθοριστική σημασία μόνο, αν περιγράφονται οι παρακάτω παράγοντες:

- α) Πληθυσμός αναφοράς,
- β) Φυσιολογικές και περιβαλλοντικές συνθήκες του πληθυσμού,
- γ) Τρόπος συλλογής και χειρισμού του δείγματος,
- δ) Χρησιμοποιηθείσα αναλυτική μέθοδος και
- ε) Στατιστικοί υπολογισμοί του πληθυσμού και των τιμών αναφοράς.



# Εύρος τιμών αναφοράς συστατικών αίματος για δύο αξιόπιστα εργαστήρια

Συστατικό	Μονάδες	εργαστήριο α	Εργαστήριο β
Γαλακτικό οξύ αρτηριακού αίματος	mmol.L <sup>-1</sup>	0,36-0,75	0,46-0,87
Γλυκόζη αίματος	mg.L <sup>-1</sup>	690-950	680-920
Πρωτεΐνη ορού	g.L <sup>-1</sup>	60-80	67-87
Ινωδογόνο πλάσματος	g.L <sup>-1</sup>	2-4	2-3
Αζωτο αμμωνίας ορού	g.L <sup>-1</sup>	0,40-1,10	0,50-1,50
Χοληστερόλη ορού (ολική)	g.L <sup>-1</sup>	1,40-2,50	1,38-3,05
Εστέρες χοληστερόλης ορού	% της ολικής	65-75	60-80

# Υπολογισμός του εύρους τιμών αναφοράς

- Προσδιορίζονται οι τιμές συγκεντρώσεως του συστατικού σε 100 τουλάχιστον υγιή άτομα (φοιτητές, προσωπικό νοσοκομείου, αιμοδότες, προτιμότερο υγιής πληθυσμός χωρίς επιλογή) και υπολογίζεται η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση.

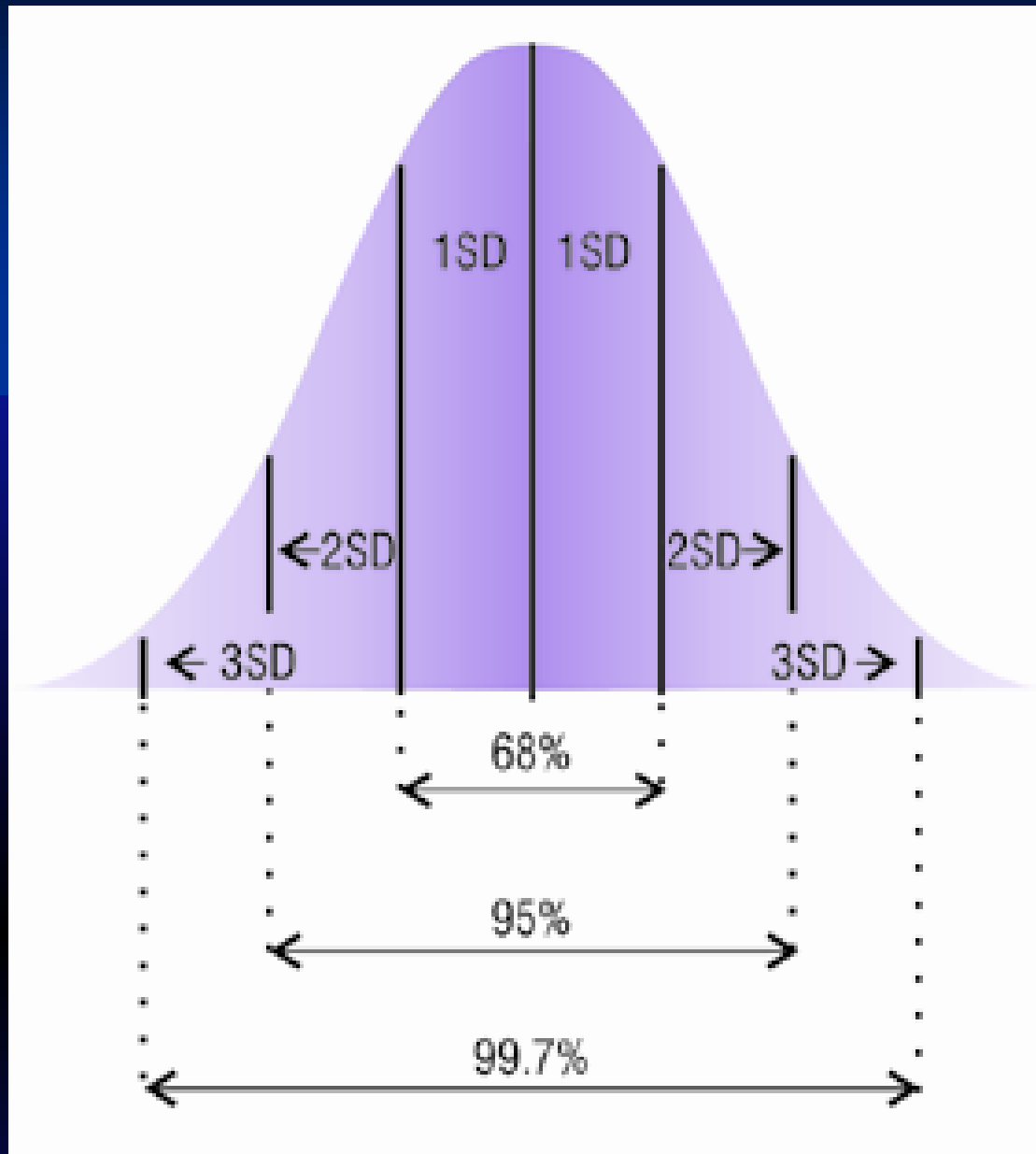
$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

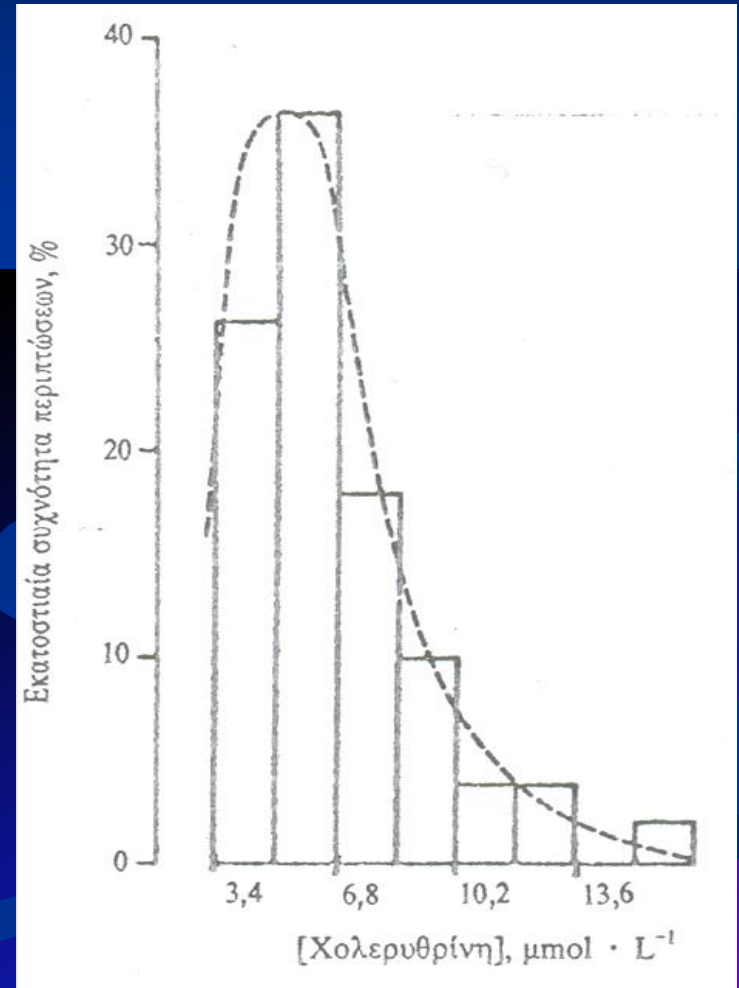
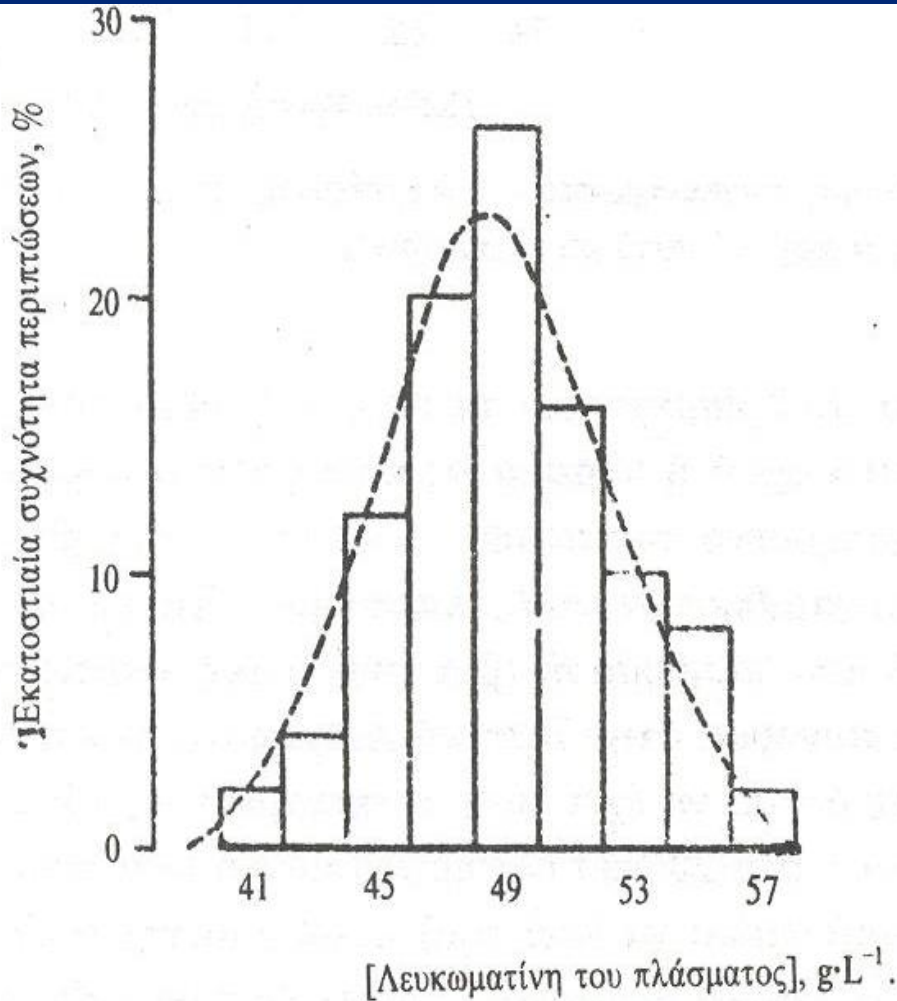
# Υπολογισμός του εύρους τιμών αναφοράς

- Αποτελέσματα με τιμές μικρότερες του  $x-4s$  ή μεγαλύτερες του  $x+4s$  απορρίπτονται.
- Με τις υπόλοιπες τιμές υπολογίζεται πάλι η  $x$  και  $s$ .
- Επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία έως ότου καμία τιμή δεν βρίσκεται έξω από την περιοχή  $x \pm 4s$ .
- Τότε ορίζεται το «φυσιολογικό» εύρος τιμών, που είναι από  $x-2s$  έως  $x+2s$ .
- Μέσα στα όρια αυτά καλύπτονται μόνο το 95% των υγιών ατόμων.
- Άρα υπάρχει ένα 5% του πληθυσμού, που θα είναι απόλυτα υγιές, αλλά θα έχουν τιμές μικρότερες ή μεγαλύτερες από το εύρος των τιμών που καθορίστηκαν.

# Υπολογισμός του εύρους τιμών αναφοράς



# Κατανομές εύρους τιμών αναφοράς



# Υπολογιζόμενα όρια τιμών αναφοράς για τον ορό ή το πλάσμα

Συστατικό	Μονάδα	Όρια	Κατανομή
Νάτριο	mmol/L	136 - 149	κανονική
Κάλιο	mmol/L	3,8 - 5,2	λογαριθμοκανονική
Χλωριούχα	mmol/L	100 - 107	κανονική
Όξινα ανθρακικά	mmol/L	24-30	κανονική
Ασβέστιο	mmol/L	2,15 - 2,65	κανονική
Μαγνήσιο	mmol/L	0,7 - 0,9	κανονική
Φωσφορικά (ανόργανα)	mmol	0,8 - 1,4	κανονική
Ουρία	mmol/L	2,5 - 6,5	λογαριθμοκανονική
Κρεατινίνη	μμοI/L	55 - 125	λογαριθμοκανονική
Χολερυθρίνη	μμοI/L	2- 14	λογαριθμοκανονική
Χοληστερόλη	mmol/L	4,5 - 6,5	λογαριθμοκανονική
Γλυκόζη	mmol/L	3,5 - 5,5	κανονική
Ολική πρωτεΐνη	g/L	65 -80	κανονική
Λευκωματίνη	g/L	35 -55	κανονική
Αλκαλική φωσφατάση	IU/L	20-90	λογαριθμοκανονική
Οξινη φωσφατάση, ολική	IU/L	2-6,5	λογαριθμοκανονική
Αμυλάση	IU/L	<400	λογαριθμοκανονική

# Διακυμάνσεις ορισμένων συστατικών αίματος σε παθολογικές καταστάσεις

Ευστατικό	Παθολογική κατάσταση
Όξινη φωσφοτάση	Υψηλή στο καρκίνωμα του προστάτη
Αλκαλική φωσφοτάση	Υψηλή σε νόσο οστών, στον αποφρακτικό ύστερο και στα παιδιά.
Αμιλάση	Υψηλή στην οξεία παγκρεατίτιδα
Ασπαστική τρανσφεράση	Υψηλή στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, την ηπατίτιδα.
Αλανική Τρανσφεράση	Υψηλή στην ηπατίτιδα.
Γαλακτική αουδρογονάση	Υψηλή στο έμφραγμα του μυοκαρδίου και την ηπατίτιδα.
γ-Γλουταμινική τρανσφεράση	Υψηλή στην ηπατοχολική νόσο.
Σίδηρος	Χαμηλός στην σιδηροπενική αναιμία Υψηλός στην αιμοχρωμάτωση.
Χολερυθρίνη	Υψηλή στον ύστερο
Χοληστερόλη	Υψηλή στον αποφρακτικό ύστερο, το ερωασικό σύνδρομο, το διαβήτη, την εγκυμοσύνη, το μυξοίδημα. Χαμηλή στη θυρεοτοξίκωση.
Κρεατινίνη	Υψηλή στη νεφρική ανεπάρκεια
Ουρία	Υψηλή στη νεφρική ανεπάρκεια, την εντερική απόφραξη, την καρδιακή ανεπάρκεια

# Διατήρηση αξιόπιστων ορίων τιμών αναφοράς του κλινικοχημικού εργαστηρίου

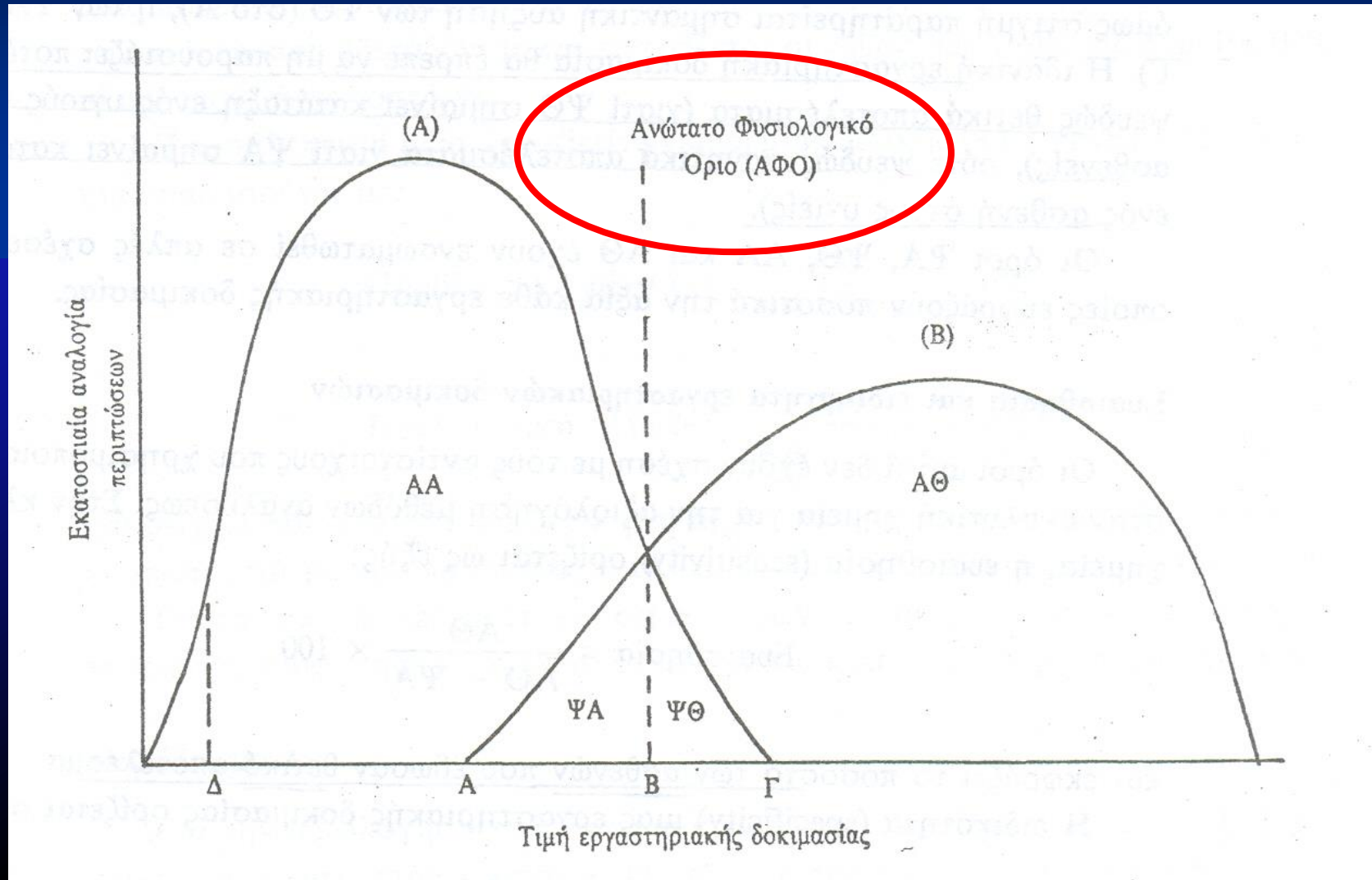
- Η αξία των τιμών αναφοράς και των ορίων του κάθε ΚΧΕ εξαρτάται από την αξιοπιστία των μετρήσεων αυτών, που επιτυγχάνεται στο εργαστήριο.
- Η πείρα έδειξε ότι επανειλημμένες έρευνες που έγιναν με τη διανομή ταυτοσήμων δειγμάτων σε διάφορα εργαστήρια έδωσαν πενιχρά συνολικά αποτελέσματα εργαστηριακής αποδόσεως.

## ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΣΕ ΚΑΘΕ ΚΛΙΝΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ!!!

- πρόγραμμα εσωτερικού ελέγχου ποιότητας των εκτελουμένων μετρήσεων,
- πρόγραμμα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου,
- Διασφάλιση απόκτησης αξιόπιστων αναλυτικών δεδομένων, για να είναι δυνατή η αξιολόγηση αυτών από τον κλινικό γιατρό για τη διάγνωση και πρόγνωση. Για το θέμα της διασφάλισης της ποιότητας των εργαστηριακών αποτελεσμάτων θα γίνει λόγος στα παρακάτω κεφάλαια



# Διάγραμμα κατανομής συχνοτήτων πληθυσμού υγιών (A) και ασθενών (B)



# Αναλυτική και Διαγνωστική ευαισθησία (sensitivity)

- Αναλυτική ευαισθησία :  
η μικρότερη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση ενός δείκτη που ο προσδιορισμός μπορεί να διακρίνει με αξιοπιστία από τη μηδενική συγκέντρωση με εμπιστοσύνη 95%.
- Διαγνωστική ευαισθησία :  
Αναλογία των ασθενών που δίνουν ένα θετικό αποτέλεσμα για το δείκτη
- Διαγνωστική Ευαισθησία :  
 $[ A\Theta / (A\Theta + \Psi A) ] \times 100$ .

# Αναλυτική και Διαγνωστική ειδικότητα (specificity)

- Αναλυτική ειδικότητα: Ικανότητα του προσδιορισμού να προσδιορίζει μόνο τον δείκτη που μας ενδιαφέρει (χωρίς παρεμποδίσσεις); τυπικά εκφράζεται ως % διασταυρούμενη ειδικότητα.
- Διαγνωστική ειδικότητα: Αναλογία των υγιών που δίνουν ένα αρνητικό αποτέλεσμα για το δείκτη
- Διαγνωστική ειδικότητα:  $[ AA / (AA + \Psi\Theta) ] \times 100$ .

# προβλεπτική αξία

- Η πιθανότητα που έχει ένα άτομο με θετική, ή αρνητική εργαστηριακή δοκιμασία, να είναι ασθενής ή υγιής, αντίστοιχα.
- Η πιθανότητα αυτή εξαρτάται:
- (α) από την ειδικότητα και την ευαισθησία της δεδομένης δοκιμασίας και (β) από τον επιπολασμό (prevalence) της νόσου στον μελετούμενο πληθυσμό.
- Ο επιπολασμός ορίζεται ως ο αριθμός των ασθενών που υπάρχει στο σύνολο των ατόμων που εξετάζονται και εκφράζεται συνήθως ως ασθενείς ανά 100.000 πληθυσμού, ή ποσοστό %.

# προβλεπτική αξία

- Προβλεπτική αξία(+) :

$$[ A\Theta / (A\Theta + \Psi\Theta)] \times 100$$

- Προβλεπτική αξία(-) :

$$[ A\Lambda / (A\Lambda + \Psi\Lambda)] \times 100$$

# Υπολογισμός παραμέτρων προγνωστικής σημασίας

Υπόθεση:	επιπολασμός	= 1%
	μελετούμενος πληθυσμός	= 100,000
	αριθμός ασθενών ( $0.01 \times 100,000$ )	= 1,000
	διαγνωστική ευαισθησία	= 95%
	διαγνωστική ειδικότητα	= 95%

---

αποτελέσματα	ασθενείς	υγιείς	σύνολο
θετικά	950 (ΑΘ)	4,950 (ΨΘ)	5,900
αρνητικά	50 (ΨΑ)	94,050 (ΑΑ)	94,100
σύνολο	1,000	99,000	100,000

---

$$\text{Ευαισθησία} = \text{ΑΘ} / (\text{ΑΘ} + \text{ΨΑ}) = 950 / (950 + 50) = 950 / 1,000 = 95\%$$

$$\text{Ειδικότητα} = \text{ΑΑ} / (\text{ΑΑ} + \text{ΨΑ}) = 94,050 / (94,050 + 50) = 94,050 / 94,100 = 99.95\%$$

$$\text{PPV} = \text{ΑΘ} / (\text{ΑΘ} + \text{ΨΘ}) = 950 / (950 + 4,950) = 950 / 5,900 = 16.10\%$$

$$\text{NPV} = \text{ΑΑ} / (\text{ΑΑ} + \text{ΨΑ}) = 94,050 / (94,050 + 50) = 99.95\% \text{ or } \sim 100\%$$

$$\text{Eff} = (\text{TP} + \text{TN}) / \text{Grand Tot} = (950 + 94,050) / 100,000 = 95,000 / 100,000 = 95\%$$

# Επίδραση επιπολασμού της νόσου στην PPV και NPV

επιπολασμός	PPV	NPV
%	%	%
0.1	1.9	99.9
1	16.1	99.9
10	67.9	99.4
50	95	95.0
100	100.0	n.a.

\* για ένα προσδιορισμό με 95% διαγνωστική ευαισθησία και 95% διαγνωστική ειδικότητα; n.a. - not applicable

για τη βελτίωση της PPV μιας εργαστηριακής εξέτασης, οι κλινικοί πρέπει να αυξήσουν τον επιπολασμό της νόσου με κατάλληλη επιλογή των ασθενών για τους οποίους εφαρμόζεται η εξέταση.

# Καμπύλες ROC

## (Receiver Operating Characteristic, ROC Curves )

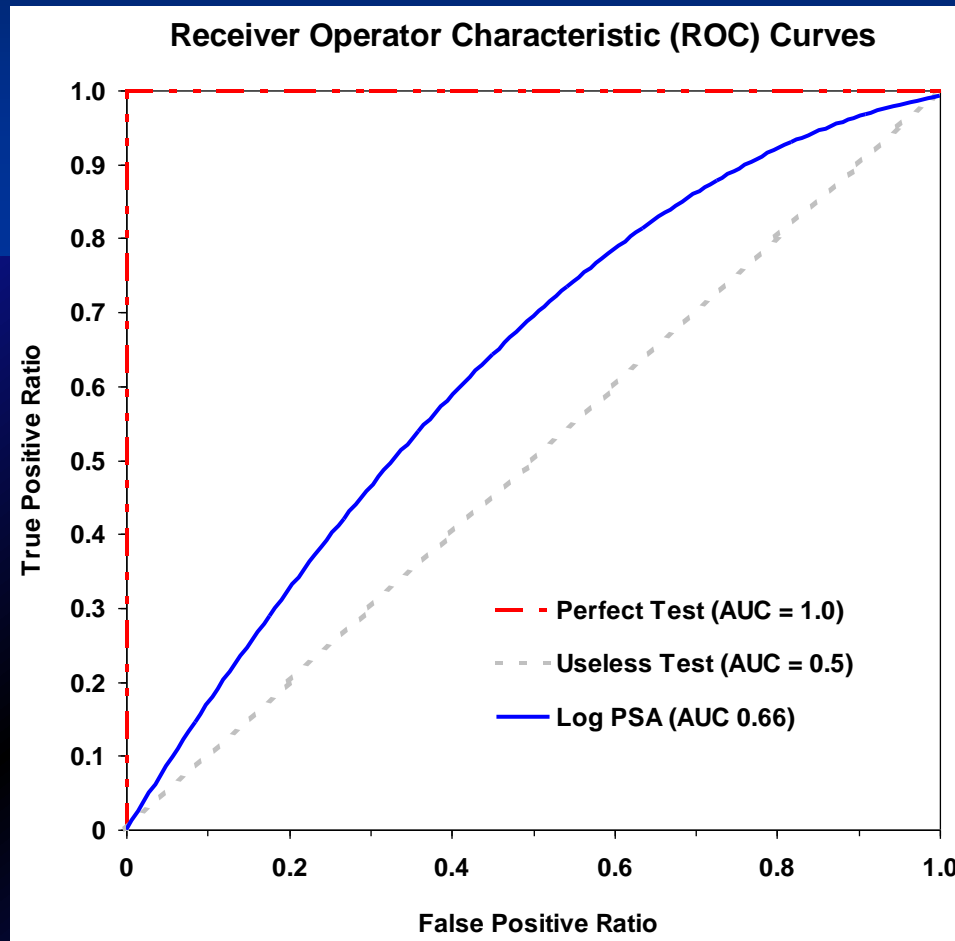
• γραφική παράσταση ευαισθησίας (% αληθώς θετικά ) [y-άξονας] vs (100 - %ειδικότητα) (ψευδώς θετικά) [x-άξονας]

• παρουσιάζει την αποτελεσματικότητα της εξέτασης σε όλη την περιοχή των τιμών cutoff. Μπορούμε να επιλέξουμε εκείνη την τιμή cutoff που μας προσφέρει την επιθυμητή ευαισθησία και ειδικότητα

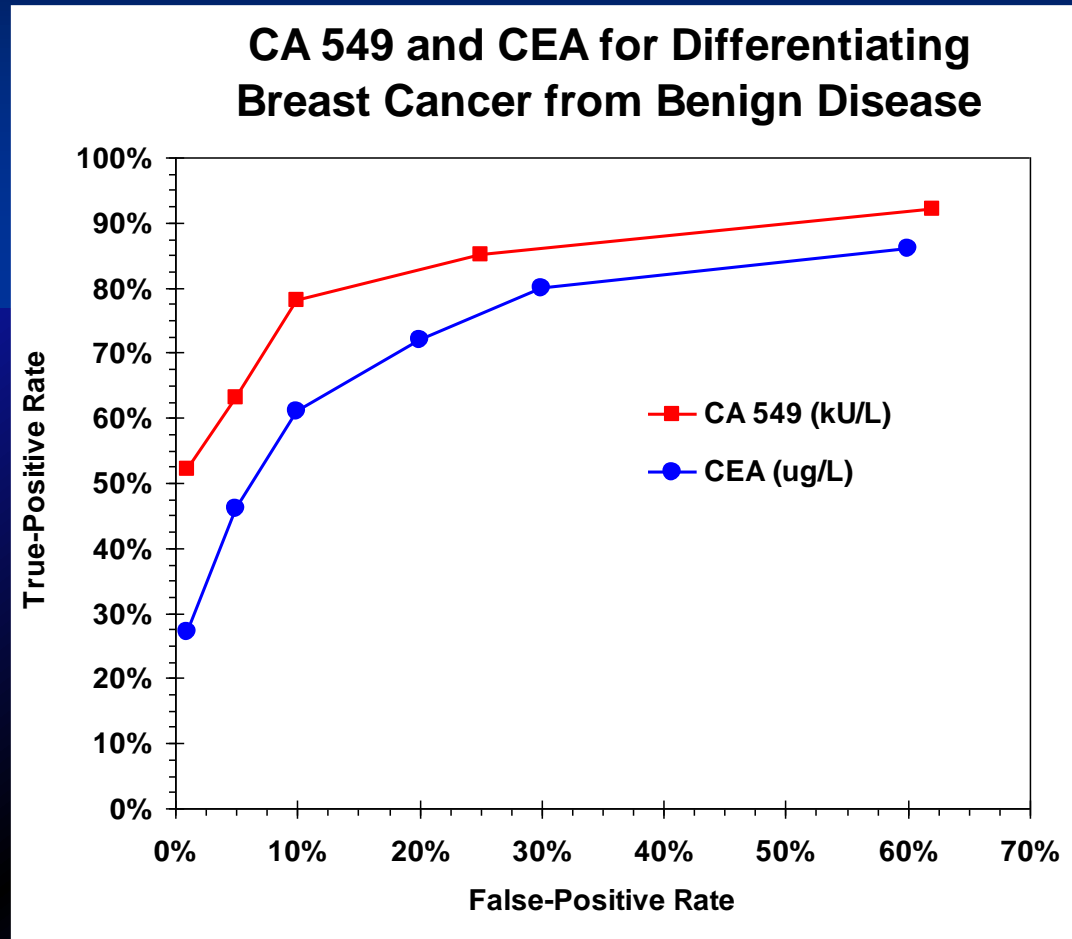
• μπορούμε να συγκρίνουμε την προβλεπτική αξία διαφόρων δεικτών στο ίδιο διάγραμμα.



# Καμπύλες ROC (Receiver Operating Characteristic, ROC Curves )



# Καμπύλες ROC (Receiver Operating Characteristic, ROC Curves )



# ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

- Ο μόνος τρόπος για να διατηρηθεί και να επιτευχθεί η αναλυτική ποιότητα στο κλινικό εργαστήριο είναι:
- ο καθορισμός στόχων ποιότητας για κάθε προσδιορισμό
- η επιλογή κατάλληλων αναλυτικών μεθόδων
- η ύπαρξη ενός συστήματος που θα ελέγχει αν οι στόχοι αυτοί επιτυγχάνονται στην καθημερινή ρουτίνα του εργαστηρίου.

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

## Αποτελέσματα ανάλυσης

Σειρά αριθμητικών δεδομένων, π.χ.

- Απορρόφηση
- Μονάδες φθορισμού
- Συγκέντρωση ουσίας

## Μαθηματική επεξεργασία

- Ποια είναι η καλύτερη εκτίμηση του αληθινού ή πραγματικού μεγέθους που μετρείται?
- Πόσο αξιόπιστος είναι αυτός ο αριθμός ως μέτρο της αληθινής τιμής?

# Χρήσιμοι ορισμοί

Πραγματική τιμή  $\Rightarrow \mu$

Μέση τιμή  $\Rightarrow \bar{x}$  ( $\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_N}{N}$ )

Διάμεση τιμή  $\Rightarrow M$

N περιττός αριθμός  
Μεσαία κατά μέγεθος τιμή

N άρτιος αριθμός  
ημιάθροισμα δύο μεσαίων τιμών

# Χρήσιμοι ορισμοί

## Ακρίβεια (accuracy)

Χαρακτηρίζει => την εγγύτητα της πειραματικής τιμής προς την «αληθινή ή παραδεκτή» τιμή  $\mu$

Εκφράζεται => με το απόλυτο σφάλμα ( $E$ ), διαφορά μεταξύ πειραματικής τιμής και πραγματικής τιμής  $E=x-\mu$

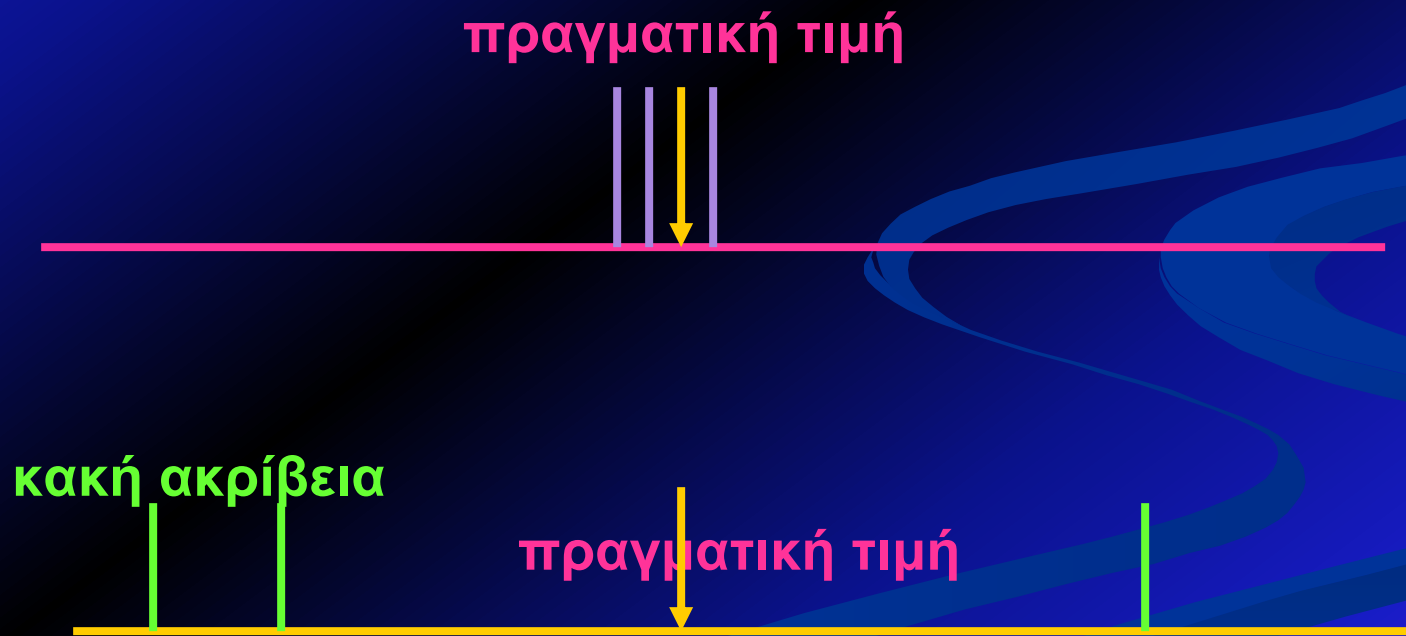
## Επαναληψιμότητα (precision)

Χαρακτηρίζει => τη συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ τους

Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα αποτελούν το μέτρο της αξιοπιστίας ενός αναλυτικού αποτελέσματος ή μιας αναλυτικής μεθόδου

# Ακρίβεια (accuracy)

μας δείχνει πόσο κοντά είναι οι μετρήσεις μας στην σωστή ή πραγματική τιμή  
καλή ακρίβεια



# Επαναληψιμότητα (Precision)

μας δείχνει πόσο συμφωνούν οι μετρήσεις μας μεταξύ τους  
καλή επαναληψιμότητα



κακή επαναληψιμότητα





# Ακρίβεια και επαναληψιμότητα

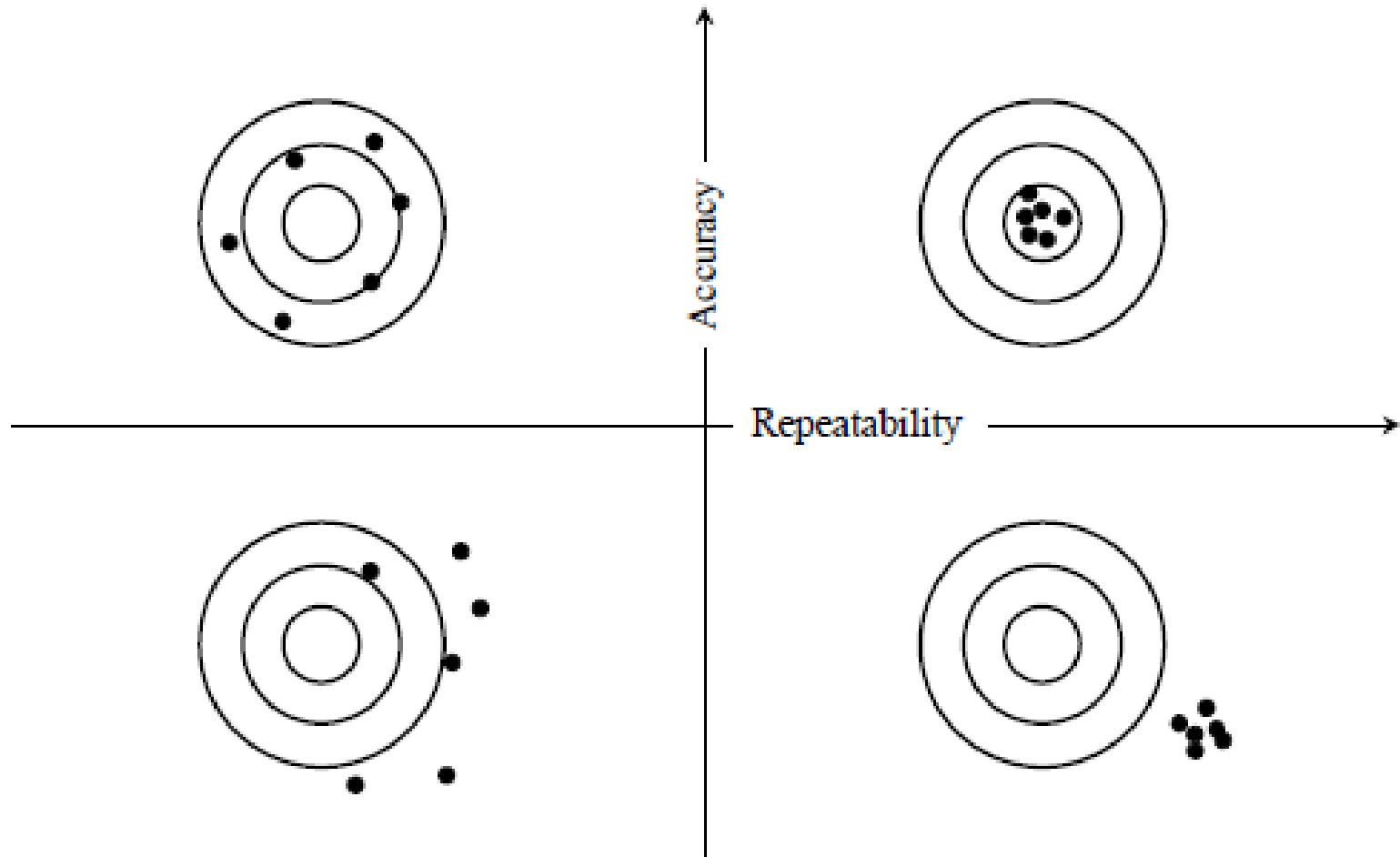


καλή επαναληψιμότητα αλλά κακή ακρίβεια

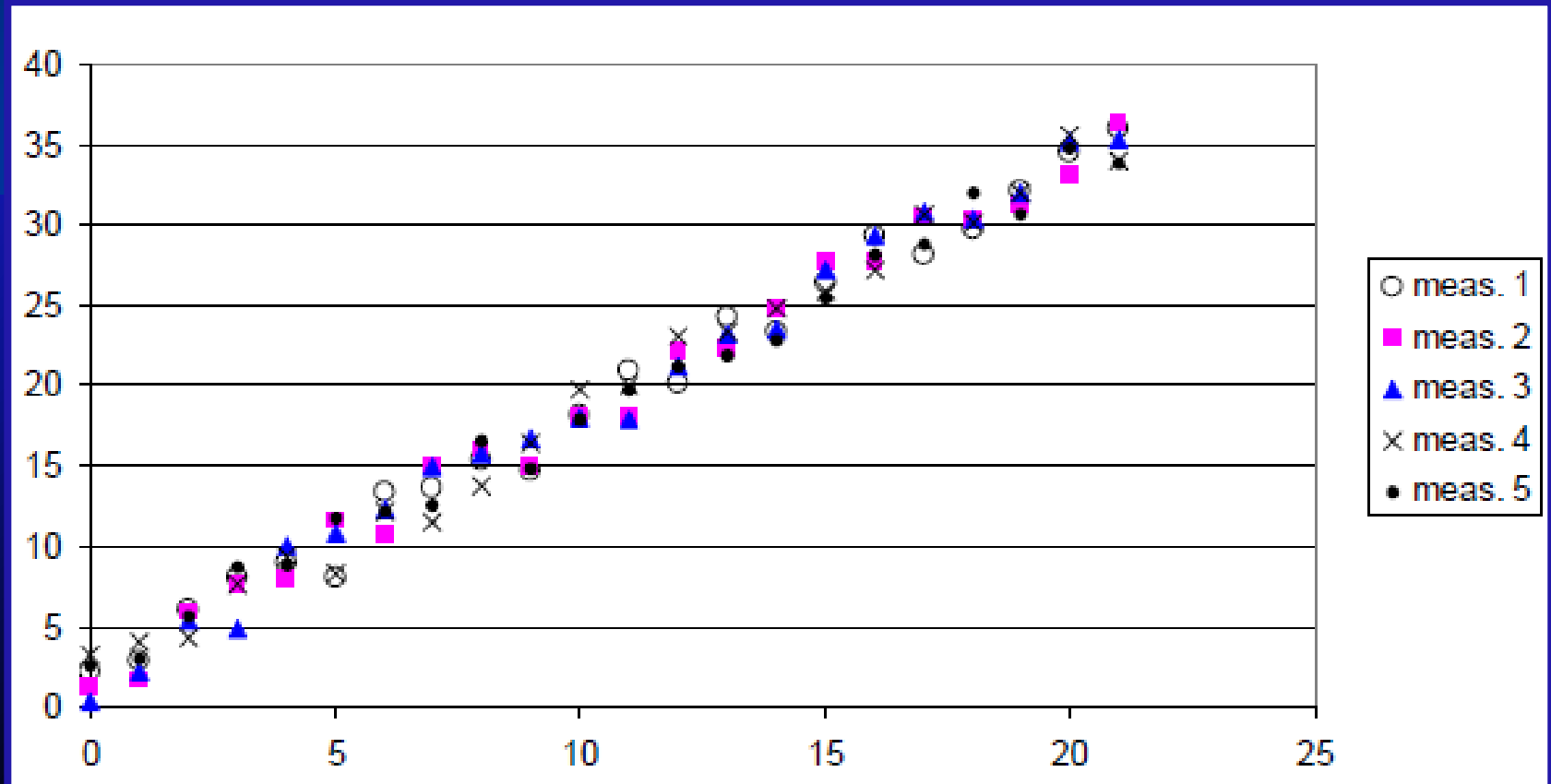


καλή επαναληψιμότητα και καλή ακρίβεια

# Ακρίβεια και επαναληψιμότητα



# Επαναληψιμότητα (Precision)



# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

*Καθορισμένα ή συστηματικά*

Οφείλονται σε  
συγκεκριμένες αιτίες

*τυχαία*

οφείλονται σε μη  
ελεγχόμενες και  
μη μόνιμες αιτίες

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

## Καθορισμένα ή συστηματικά

Μονοκατευθυνόμενα (σταθερά ή αναλογικά)

**Σταθερά** => το απόλυτο μέγεθος του σφάλματος  $E$  είναι το ίδιο σε όλα τα δείγματα ανεξάρτητα από την ποσότητα του προσδιοριζόμενου συστατικού

**Αναλογικά** => το απόλυτο σφάλμα είναι ανάλογο προς την ποσότητα του συστατικού ενώ το σχετικό σφάλμα ( $E/\mu$ ) είναι σταθερό

**Σύνθετα** => συνδυασμός σταθερών και αναλογικών σφαλμάτων

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

## Καθορισμένα ή συστηματικά

καθορισμός είδους και μεγέθους

προσδιορισμός γνωστών προτύπων δειγμάτων μεταβαλλόμενης περιεκτικότητας ( $\mu\text{i}$ )

γραφική παράσταση πειραματικών τιμών  $x_i$  ως προς  $\mu\text{i}$

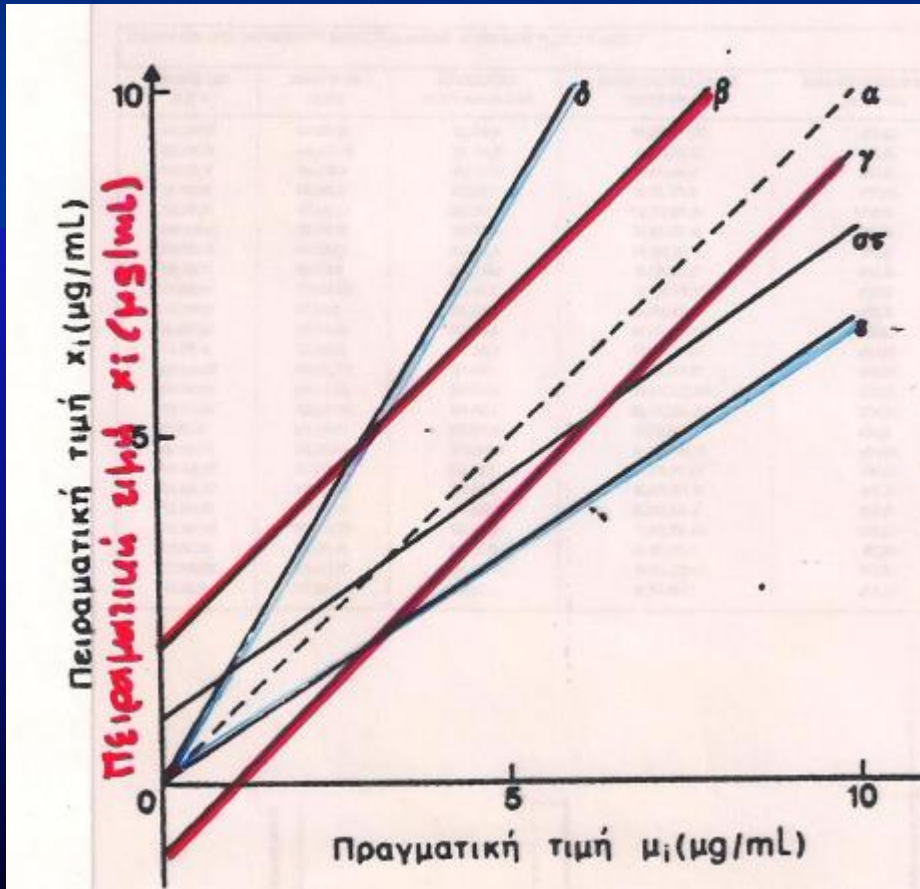
μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων

$x_i = \alpha \mu\text{i} + \beta$ , όπου

$\beta \Rightarrow$  σταθερό καθορισμένο σφάλμα

$(\alpha - 1) \times 100 \Rightarrow$  % σχετικό αναλογικό σφάλμα

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ



- α: απουσία σφάλματος
- β: σταθερό +
- γ: σταθερό -
- δ: αναλογικό +
- ε: αναλογικό -
- στ: σύνθετο

# Εύρεση και διόρθωση συστηματικών σφαλμάτων

- Ανάλυση προτύπων δειγμάτων (standards)
- Ανάλυση γνωστών δειγμάτων (control samples)
- Ανάλυση ενισχυμένων δειγμάτων (spiked samples)



# Κυριότερες μέθοδοι ελάττωσης καθορισμένων σφαλμάτων

- Συχνή βαθμονόμηση βιοχημικών αναλυτών
- Καλή συντήρηση οργάνων
- Μέτρηση τυφλού (blank) => περιέχει ό,τι ακριβώς και τα άγνωστα δείγματα εκτός από το προσδιοριζόμενο συστατικό
- Ανάλυση προτύπων δειγμάτων

# ΤΥΧΑΙΑ ΣΦΑΛΜΑΤΑ

Συνοδεύουν κάθε μέτρηση

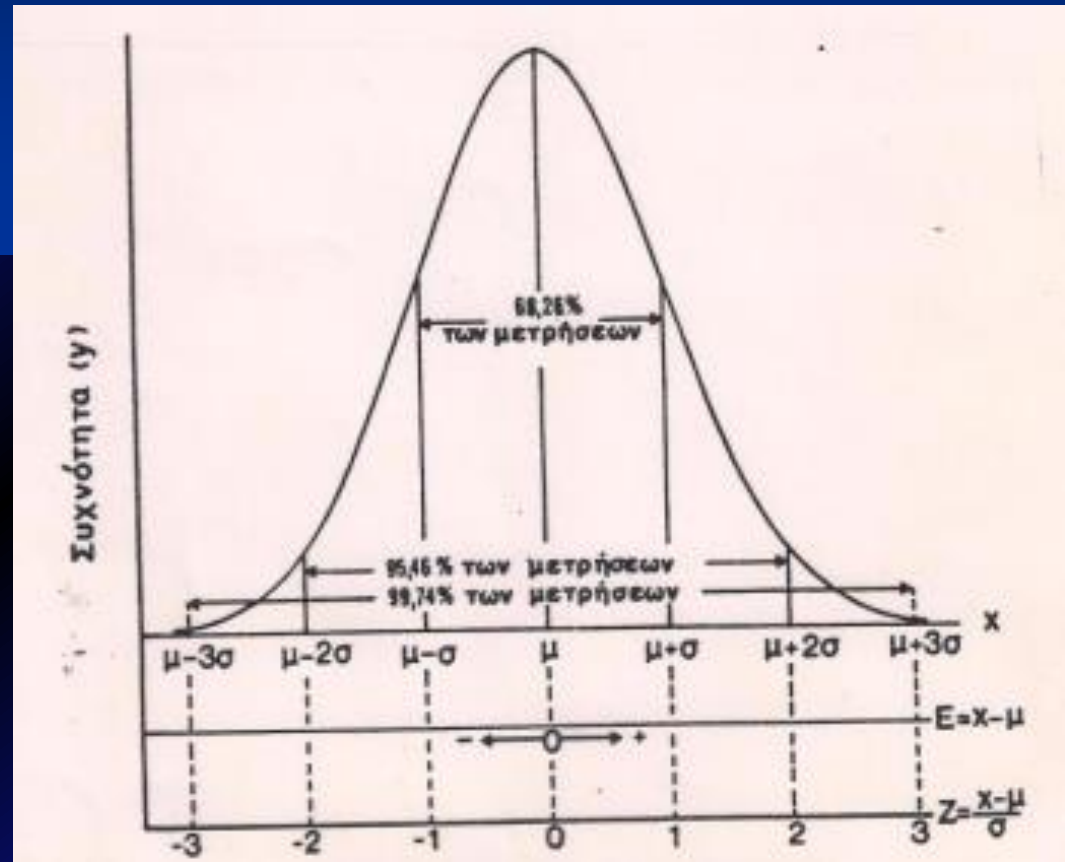
Προέρχονται από μη  
μόνιμες αιτίες

Δικατευθυνόμενα

Επιδρούν ακανόνιστα στο  
αποτέλεσμα

Μείωση μέσω αύξησης  
αριθμού μετρήσεων

Κατανομή κατά Gauss



# αιτίες που προκαλούν συστηματικά σφάλματα:

- προβλήματα των αντιδραστηρίων
- προβλήματα της βαθμονόμησης,
- αλλοίωση των αντιδραστηρίων και των πρότυπων διαλυμάτων,
- ακατάλληλη προετοιμασία των αντιδραστηρίων,
- ακατάλληλη συντήρηση των αντιδραστηρίων
- ακατάλληλη συντήρηση των πρότυπων διαλυμάτων,
- αλλαγή στον όγκο του δείγματος ή του αντιδραστηρίου,
- μεταβολή στη θερμοκρασία της αντίδρασης,
- αλλοίωση στην πηγή φωτός ενός φωτομέτρου.

# αιτίες που προκαλούν τυχαία σφάλματα:

- Τα τυχαία σφάλματα προκαλούνται από παράγοντες που μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια της ανάλυσης όπως:
- μεταβολές στον όγκο του δείγματος ή του αντιδραστηρίου
- μη σωστή ανασύσταση των αντιδραστηρίων
- λανθασμένη ανάμιξη του δείγματος και των αντιδραστηρίων
- διακυμάνσεις στην τάση του ρεύματος

# διαχείριση ολικής ποιότητας

- έλεγχος προ-αναλυτικών φάσεων
- έλεγχος μετα-αναλυτικών φάσεων
- έλεγχος κάθε είδους δραστηριότητας που πραγματοποιείται στο εργαστήριο

# Η διαχείριση ολικής ποιότητας περιλαμβάνει:

- σχεδιασμό ποιότητας
- εργαστηριακές διαδικασίες ποιότητας
- ελεγχο ποιότητας
- αποτίμηση ποιότητας
- πρότυπα ποιότητας που εκφράζουν τους στόχους ποιότητας που πρέπει να επιτευχθούν.

# Αναλυτικός Έλεγχος Ποιότητας

- αποτελεί το σημαντικότερο εφόδιο που διαθέτει το εργαστήριο για τη μελέτη της ποιότητας των αποτελεσμάτων και τη διόρθωση των διαφόρων σφαλμάτων που παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια των αναλύσεων
- εσωτερικός ή ενδο-εργαστηριακός
- εξωτερικός ή δι-εργαστηριακός
- εξωτερική αξιολόγηση ποιότητας ( external quality assessment, EQA )

# Έλεγχος Ποιότητας

- Ο εσωτερικός έλεγχος ποιότητας διασφαλίζει την ακρίβεια και την επαναληψιμότητα μιας αναλυτικής μεθόδου, εντοπίζοντας τα σφάλματα όταν προκύπτουν, και διευκολύνοντας την αναγνώριση της πηγής των σφαλμάτων που εντοπίζονται.
- • Ο εξωτερικός έλεγχος ποιότητας είναι χρήσιμος μόνο σε συνδυασμό με τον εσωτερικό και ελέγχει κυρίως την ακρίβεια ως προς ένα εξωτερικό πρότυπο.