



PRECIZNOST BIOHEMIJSKIH ANALIZATORA I IMUNOANALIZATORA U
MEDICINSKIM LABORATORIJAMA

THE ACCURACY OF BIOCHEMICAL ANALYZERS AND IMMUNOANALYZERS IN
MEDICAL LABORATORIES

Ivan Lažetić, Platon Sovilj, *Fakultet tehničkih nauka, Novi Sad*

Oblast – ELEKTROTEHNIKA I RAČUNARSTVO

Kratak sadržaj – U ovom radu je prikazan postupak provere preciznosti rada laboratorijskih analizatora u okviru automatizovanog procesa ispitivanja humanog biološkog materijala u laboratorijskoj dijagnostici. Radi postizanja maksimalne pouzdanosti rezultata ispitivanja, neophodno je nadgledanje svih aktivnosti i elemenata analitičkog procesa.

Ključne reči: laboratorijski analizator, preciznost, pouzdanost rezultata

Abstract – This paper presents the procedure for establishing the accuracy of laboratory analyzers within the automated process of testing human biological materials in laboratory diagnostics. To achieve the maximum reliability of test results, it is necessary to monitor all activities and elements of the analysis process.

Keywords: laboratory analyzer, precision, reliability of the results

1. UVOD

Laboratorije su nezamenjiv deo medicinske dijagnostike i kliničke medicine. Nezavisno od toga, koja vrsta laboratorijske analize je u pitanju, za nesmetano funkcionisanje celokupnog, veoma složenog sistema, neophodna je potpuna usklađenost svih resursa.

Nadzor sistema vrše, pored stručnjaka medicinske struke i eksperti iz raznih nemedicinskih profesija, uglavnom inženjera biomedicine, biohemije, elektrotehnike i računarstva.

Sinhronizacija svih segmenata postupka se postiže potpunom automatizacijom analize humanog biološkog materijala, uz upotrebu fabrički izrađenih reagenasa i kalibratora koji obezbeđuju veliku tačnost i pouzdanost. Nove tehnike molekularne dijagnostike, pojava biočipova, kao i nove generacije sekvencioniranja, takođe doprinose efikasnom radu laboratorija. Korišćenjem moderne, automatizovane opreme, dijagnostičke procedure postaju brže, a kvalitet pružanja usluga ujednačeniji.

Kontinualna provera ispravnosti rada analizatora, tačnosti i preciznosti merenja, kao i ispravnog tumačenja rezultata su osnovni preduslovi za nesmetan rad celokupnog

NAPOMENA:

Ovaj rad proistekao je iz master rada čiji mentor je bio dr Platon Sovilj, red. prof.

laboratorijskog sistema i donošenja ispravnih odluka pri lečenju pacijenata.

Cilj ovog rada jeste da se predstavi postupak koji se primenjuje pri proveru preciznosti rada laboratorijskih analizatora u procesu analize humanog biološkog materijala u laboratorijskoj dijagnostici, koja se sprovodi u potpuno automatizovanom okruženju. Ispravnost rada svakog segmenta automatizovane linije unutar laboratorije doprinosi produktivnosti rada, kvalitetu izvođenja i tumačenja testova, a time i smanjenju pogrešno donetih dijagnoza.

U okviru rada, na konkretnom primeru je prikazana procedura testiranja analizatora sa aspekta preciznosti. Testiranje je izvršeno na integrisanom sistemu biohemijske analize i imunoanalize, pod nazivom Alinity ci, kompanije Abbott Laboratories.

2. LABORATORIJSKE ANALIZE

U mnogim složenim zdravstvenim institucijama se u okviru jedne integrisane laboratorije odvijaju različite dijagnostičke procedure, od hematoloških, seroloških, bakterioloških, hemostaznih do virusoloških, endokrinoloških, imunometrijskih, radioizotopnih analiza sve do klasičnih metoda medicinske biohemije, koje su ujedno i najzastupljenije. Da bi se dijagnostički proces nesmetano odvijao, od zahteva lekara prema laboratoriji do dobijanja traženog izveštaja o izvršenim merenjima, neophodno je obezbediti nesmetan rad laboratorijskih uređaja i efikasnu komunikaciju sa različitim jedinicama Klinika i Instituta preko savremenih informacionih sistema [1].

Efikasnost rada laboratorija se naglo povećala, uvođenjem laboratorijske automatizacije, pri kojem jedan ili više laboratorijskih analizatora izvršava određen broj analiza, pri čemu je broj laboratorijskog osoblja sveden na minimum. Laboratorijska automatizacija se postepeno usavršavala razvojem tehnologije i korak po korak preuzimala pojedine faze kompletne laboratorijske analize. U laboratorijskoj automatizaciji se desio veliki iskorak u trenutku kada su proizvođači laboratorijske opreme, pojedine standardizovane delove analizatora međusobno povezali pomoću pokretnih traka. Priključivanje kompletnog sistema na računarsku mrežu je uokvirio ceo sistem u jednu zatvorenu, funkcionalnu celinu.

Laboratorijski uređaji, nezavisno od vrste uzoraka koje analiziraju, su veoma kompleksne celine, sastavljene od većeg broja različitih podsistema. Mnogi od njih treba da budu priključeni na kompletnu infrastrukturu (električnu

energiju, vodu, kanalizaciju) ali i da predstavljaju deo modernog informatičkog sistema. Da bi laboratorijske analize mogle nesmetano da se izvršavaju, timovi inženjera raznih profila neprestano nadgledaju i prate proces rada svakog segmenta celokupnog sistema i po potrebi interveniše u otklanjanju njihovih disfunkcija.

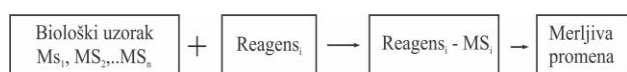
Elektroinženjeri su zaduženi za instalaciju i osposobljavanje novih analizatora za rad, obezbeđivanje ispravnosti rada elektromehaničkih celina, senzora, aktuatora, napajanja kao i besprekornog funkcionisanja mrežne komunikacije. Takođe, njihov zadatak je da isprate održavanje kvaliteta analitičkih postupaka, kao i ispravnost rada korišćenih metoda i analizatora.

Svaka faza automatizovane laboratorijske analize je značajna, pri čemu je centralni deo svakako očitavanje uzoraka. U procesu automatske analize uzoraka, koristi se nekoliko tehnika očitavanja uzoraka, od kojih su najrasprostranjenije *fotometrijska, potenciometrijska i hemijsko-svetlosna analiza* [2].

3. MERENJA U MEDICINSKOJ BIOHEMIJI

Osnovni zadatak svih metoda medicinske biohemije je da se odredi sastav ili koncentracija određenih materijala u biološkim uzorcima, sa ciljem da se otkriju poremećaji koji se javljaju kao posledica disfunkcije organizma, tj. bolesti. Hemijski sastav zdravog organizma je stalan, pošto ga mnogi regulacioni mehanizmi drže u homeostaznim okvirima. Kada organizam oboli, skoro pri svim bolestima dolazi do promena u hemijskom sastavu telesnih tečnosti, koje se raznim metodama medicinske biohemije, relativno lako mogu detektovati.

U svakodnevnoj praksi se sastojci biološkog uzorka određuju i mere uz pomoć određenih reagensa bez da se izvrši izolacija merenog sastojka (MS). Shematski prikaz analitičkog postupka prikazan je na slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz hemijske reakcije reagens - analiziran uzorak

Biološki uzorak, najčešće je to uzorak krvnog seruma koji sadrži veoma velik broj hemijskih sastojaka ($MS_1 - MS_n$) se dovodi u kontakt sa reagensom koji se spaja samo sa određenim sastojkom (MS_i), dovodeći do određenih promena (najčešće promene boje reagensa) koje se mogu meriti. Ako postoji proporcionalnost između veličine merene promene i količine merene materije taj reagens može da se iskoristi za određivanje njene koncentracije u biološkim uzorcima.

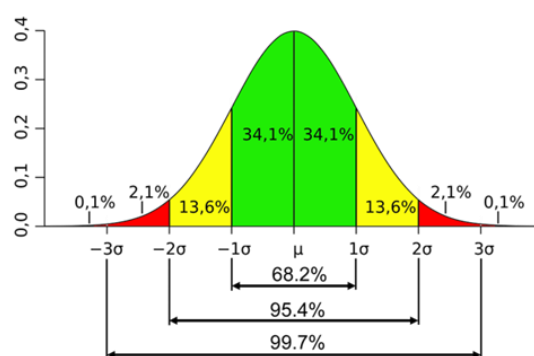
3.1. Interpretacija rezultata biohemijskih merenja

Najveći deo dijagnostičkih testova spadaju u biohemijske testove, koji nakon primene odgovarajućih analitičkih metoda za analizu hemijskog sastava bioloških uzoraka izračunava njihovu koncentraciju i uz primenu kontrole kvaliteta, odgovarajućim statističkim metodama procenjuje dobijeni rezultat.

Osnovno pitanje nakon kvantitativnog merenja i dobijanja rezultata biohemijskih analiza je: da li dobijen rezultat odgovara zdravoj ili bolesnoj osobi? Da bi se dobio odgovor na dato pitanje, vrši se određivanje koncentracije

ispitivane materije istom metodom i sa istim reagensom na velikoj grupi sigurno zdravih osoba. Naravno, skoro nikad se ne može dobiti ista vrednost, pošto se meri pojava koja podleže biološkoj varijabilnosti.

Statistička obrada izmerenih vrednosti grupe zdravih osoba ukazuje da rezultati podležu Gausovoj raspodeli (najveći broj osoba ima vrednosti oko aritmetičke sredine, \bar{x} određene za grupu, a broj pojedinaca sa nižim i višim vrednostima opada). Raspon referentnih vrednosti (RV) predstavlja interval poverenja od tri standardne devijacije, $3\sigma = 3SD$, što znači da se oko 99.7% dobijenih vrednosti nalazi u intervalu od plus-minus tri standardne devijacije, kao što je prikazano na slici 2 [3]. Drugim rečima, dozvoljene su samo tri do četiri greške u procesu rada na milion uzoraka. Tako strog kriterijum provere ispravnosti je rasprostranjen pod nazivom metoda šest sigma (six sigma method) i obezbeđuje visok kvalitet pruženih usluga u svim sferama u kojima se primenjuje [4].



Slika 2. Raspodela rezultata merenja po Gausovoj raspodeli

Srednja vrednost, standardna devijacija i referentna vrednost se izračunavaju pomoću sledećih formula:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i, \sigma = \left(\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right)^{0.5}$$

$$RV = \bar{x} \pm 3\sigma. \quad (1)$$

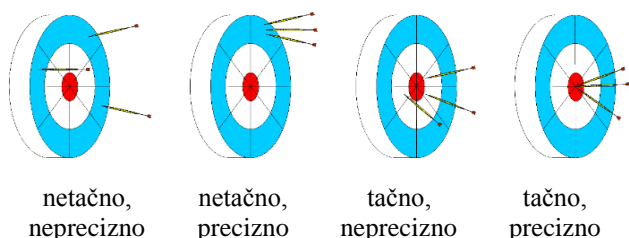
Svaka laboratorija ima definisan raspon referentnih vrednosti kao i pokazatelje *merne nesigurnosti, tačnosti i preciznosti* korišćenih biohemijskih metoda. Merna nesigurnost predstavlja kvantifikaciju sumnje u tačnost rezultata merenja. Što je merna nesigurnost manja, kvalitet mernog rezultata je veći. Tačnost, kao kvalitativan pojam za bliskost slaganja rezultata merenja i stvarne vrednosti nije isti pojam kao i preciznost.

Preciznost ukazuje npr. na varijaciju nekog merenja pri ponovnim određivanjima istog uzorka i predstavlja važan pokazatelj za svakog lekara, pošto mu pokazuje sa kojom sigurnošću može primenom određene metode da prati razvoj patoloških promena ili ozdravljenje pacijenata. Pri maloj preciznosti, porast neke vrednosti može da se tumači kao napredovanje patološkog procesa ali i kao promena do koje dovodi nepreciznost metode.

Preciznost laboratorijske metode se određuje izvršavanjem iste analize istom metodom na istom uzorku. U medicinskoj biohemiji se koriste samo one metode, čija je preciznost ispod 5%.

Tačnost predstavlja meru odstupanja izmerene vrednosti od stvarne vrednosti. Tačnost se u biohemijskim analizama određuje tako, što se izmeri koncentracija biološkog uzorka koji ima deklarisanu koncentraciju tzv. kontrolnog seruma, pa se izrazi odstupanje dobijenog merenja od deklarisanе vrednosti, kao njegov procenat. Tačnost može da ima oba znaka i ne sme da pređe vrednost $\pm 10\%$ [2].

Razlika u pojmovima tačnost i preciznost se najbolje uočava posmatranjem pogodaka strelca u metu, prikazanu na slici 3:



Slika 3. *Tačnost nije preciznost*

Postoje još dva parametra koja ukazuju na kvalitet i upotrebljivost neke biohemijske analize. To su *reproducibilnost*, koja predstavlja meru rasipanja rezultata merenja istog uzorka u različitim terminima, npr. testovi danas-sutra. *Osetljivost* metode ukazuje na najmanju koncentraciju neke materije koju data metoda može da detektuje, a da je ne izjednači sa nulom, sa verovatnoćom većom od 0,95.

3.2. Analizatori iz familije Abbott Laboratories

U svetu postoji velik broj proizvođača medicinske laboratorijske opreme. Jedan od njih je Abbott Laboratories, koji proizvodi širok spektar medicinskih uređaja, u koji spadaju i dijagnostički uređaji pod zajedničkim nazivom ALINITY (ALignment, INnovation, UnITY). Potreba za analizatorima velikih kapaciteta i širokog dijapazona analiza je dovela do pojave kombinovanih analizatora, kao što je i model ALINITY *ci* koji predstavlja integrisan sistem kliničko-hemijske (biohemijske) analize i imunoanalize.

Prilikom instalacije pojedinih modula i njihovom spajanju, treba ispratiti unapred definisane procedure, opisane u internim dokumentima ISA 210-001 za Alinity *c* modul i ISA 205-001 za Alinity *i* modul. Predviđeno vreme kompletne instalacije jednog modula je 21,5 čas.

Pre puštanja u rad analizatora, neophodno je izvršiti sve kalibracije u okviru sistema. Prvo se vrši kalibracija glavnog robota RSM (Reagent Sample Manger) koji prenosi nosače sa uzorcima između aparata i koji dozira i izbacuje reagens. Nakon toga se kalibrišu pipete koje uzimaju deo uzoraka iz epruveta i pipete koje dodaju reagens. U sledećem koraku se vrši kalibracija mešača na Alinity *c* modulu, kalibracija ICT (Integrated Chip Technology) modula i kalibracija zona za pranje i ispiranje testova u Alinity *i* modulu. Neophodno je proveriti temperaturu u hladnjaku za reagens kao i temperaturu u delu gde se vrše testovi u inkubacionom periodu. Za ispravan rad sistema treba da se izvrši i provera ispravnosti pumpi za pranje pipeta i špriceva za aspiraciju reagenasa, a zatim i da se inicira dnevno čišćenje aparata. Potrebno je instalirati i testove za različite analize, podesiti vrednosti kalibratora i

kontrolnih jedinica za analize, postaviti sve module u mod za analizu testova, u takozvani running status, i dodati reagens, koji se očitavaju putem bar koda. Na kraju postupka treba nasuti i kalibracione tečnosti.

Proces kompletne analize na *c* modulu po uzorku traje oko 20 minuta, a na *i* modulu oko 40 minuta. Nakon završene kalibracije, rade se testovi za preciznost; oko 20 uzoraka po svakom nivou kontrolne supstance (niske, normalne i visoke vrednosti). Nakon izvršenih kontrolnih testova i na osnovu dobijenih rezultata, proračunavaju se srednje vrednosti, kao i odstupanja. Na osnovu datih vrednosti, odlučuje se da li je validacija kompletirana, tj. da li je aparat spreman za korisnika [5].

Celokupnim sistemom upravlja softver (Alinity PRO), razvijen u kompaniji Abbott koji povezuje analizator, preko računarske mreže bolnice sa medicinskim osobljem koji tumači rezultate analiza u samoj bolnici ili u nekom drugom udaljenom medicinskom centru. Dat program upravlja i nesmetanim protokom reagenasa, njihovim doziranjem kao i automatskom kalibracijom u unapred definisanim vremenskim razmacima. Ovaj softver omogućava i monitoring rada uređaja preko interne Abbott mreže, dobijajući adekvatne informacije o radu sistema i predikciju potencijalnih zastoja i kvarova.

Ceo softverski upravljački sistem predstavlja deo jedinstvenog IT sistema bolnice, i podleže ISO sertifikatima za bezbedan protok poverljivih medicinskih informacija.

4. REZULTATI

Najvažniji cilj svakog laboratorijskog ispitivanja jeste, da svi dobijeni rezultati budu pouzdani, u skladu sa svim propisanim normativima. Poverenje u kvalitet rezultata je preduslov za stabilan rad svake laboratorije.

Kvalitet analitičke prakse predstavlja skup karakteristika jedne procedure, tj. postupka koji kao izlaznu veličinu daje analitički rezultat koji pokriva sve očekivane i propisane zahteve korisnika tih rezultata. Da bi se proverio kvalitet nekog postupka ili rezultata, neophodno je stalno ponavljanje datog postupka i dodatna matematičko statistička obrada rezultata [6].

Postupak kojim se proveravaju tehničke karakteristike nekog instrumenta, da bi se dobili pouzdani analitički podaci, naziva se *validacija*. Validacija se sprovodi uvek prilikom instalacije novog sistema, nakon svakog servisa ali i na početku svakog radnog dana. Najčešće se proveravaju tačnost i preciznost metode ispitivanja.

Kao primer provere preciznosti rada uređaja iz Alinity *ci* serije, biće prikazan standardni postupak koji se primenjuje u te svrhe. Po protokolu, na početku radnog vremena, za proveru preciznosti rada uređaja vrši se testiranje nad kontrolnim uzorkom. U aparat se postavlja po 20 uzoraka, za sva tri definisana nivoa rezultata (donja granica intervala, srednja vrednost i gornja granica intervala), posebno za biohemijske analize, posebno za imunoanalize i posebno za proveru elektrolita natrijuma, kalijuma i hlora, tj 3×20 provera po tipu analize. Na osnovu rezultata merenja, određuje se srednja vrednost i standardna devijacija po svakom uzorku. Izmerene vrednosti se unose u tabelu (označene oznakom +). Podatke o očekivanoj srednjoj vrednosti i standardnoj

devijaciji obezbeđuje proizvođač uređaja. Za prikazan test, te vrednosti iznose

$$\mu = 25,0000 \text{ mIU/mL} \text{ i } \sigma = 4,5000 \text{ mIU/mL}.$$

Izmerene vrednosti, za jedan set uzoraka, pri proveri donjeg nivoa intervala rezultata, za imunoanalize, prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1. Rezultati merenja

Rezultat mIU/mL	-3 σ	-2 σ	-1 σ	μ	+1 σ	+2 σ	+3 σ
25,57				+			
26,12				+			
26,32				+			
26,26				+			
26,51				+			
25,65				+			
26,52				+			
25,24				+			
25,58				+			
25,78				+			
25,23				+			
25,45				+			
25,84				+			
26,18				+			
26,70				+			
25,57				+			
25,26				+			
25,43				+			
25,06				+			
26,30				+			

Srednja vrednost dobijenih podataka, navedenih u tabeli 1 iznosi $\bar{x} = 25,8285 \text{ mIU/mL}$, dok standardna devijacija, ima vrednost $SD = 0,49794 \text{ mIU/mL}$, računata na osnovu formula iz (1).

Na osnovu položaja izmerenih vrednosti (oznake + u tabeli) se vidi, da su sva odstupanja sa istim znakom, u okviru odstupanja do +1 σ , na osnovu čega se donosi odluka a analizator precizno radi i da je spreman za analiziranje pravog biološkog materijala za taj dan.

Svakodnevno praćenje izmerenih vrednosti i tendencije odstupanja obezbeđuje blagovremeno reagovanje na otklanjanje neispravnosti rada analizatora i obezbeđivanje ispravnosti rezultata laboratorijskih analiza.

5. ZAKLJUČAK

Današnja savremena medicinska istraživanja se velikim delom oslanjaju na rezultate analiza sprovedenih na automatizovanim sistemima laboratorijskih analizatora. Osnovni i najbitniji parametar svakog laboratorijskog analizatora je njegova sposobnost da daje pouzdane rezultate, koji treba da budu transparentni i dostupni širem krugu zainteresovanih strana.

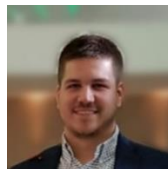
Opšte prihvaćena metoda provere performansi laboratorijskih uređaja je široko prihvaćena šest sigma metoda, koja predstavlja metodologiju kontrole kvaliteta dugi niz godina.

Na primeru provere rada analizatora Alinity *ci*, prikazan je postupak donošenja odluke o preciznosti rada uređaja i njegovog bezbednog korišćenja pri sprovođenju imunoloških analiza, koji se na isti način može primeniti i na drugim testovima iz posmatrane grupe analizatora.

6. LITERATURA

- [1] F. Dujmović, M. Đerić, Z. Stošić, "Laboratorijska medicina danas", *Med Pregl* 2007, LX (11-12), pp. 543-548, 2007.
- [2] J. Borota, "Praktikum medicinske biohemije i hemije", Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, 2011.
- [3] I. Lažetić, "Probabilističke osnove uputstva za izražavanje nesigurnosti u merenju (GUM)", Diplomski rad, Fakultet tehničkih nauka Novi Sad, 2017.
- [4] *Six Sigma-based quality control – Learning guide series*, Abbott Diagnostics, Corelaboratory.Abbott, 2018.
- [5] S. Westgard, V. Petrides, Sh. Schneider and al. "Assessing precision, bias and sigma-metrics of 53 measurands of the Alinity *ci* system", *Clinical Biochemistry*, 50, Vol. 18, pp. 1216-1221, 2017.
- [6] M.B. Rajković, M. Mitrović, S. Antić-Mladenović, "Obezbeđenje poverenja u kvalitet rezultata hemijskih metoda ispitivanja", *Zaštita materijala* 60, Vol. 4, pp. 342-359, 2019.

Kratka biografija:



Ivan Lažetić rođen je 1992. god u Novom Sadu. Master rad na Fakultetu tehničkih nauka iz oblasti Elektrotehnike i računarstva – Merni sistemi odbranio je 2021.god.
kontakt: lazeticivan@gmail.com



Platon Sovilj je doktorirao 2010. godine na Fakultetu tehničkih nauka. Redovni je profesor i šef Katedre za električna merenja. Oblast interesovanja su biomedicinska merenja, metrologija i merno-informacioni sistemi .