

Título: El método de Passing & Bablok como solución al problema de la comparación de métodos analíticos.

Autores:

Dr. Ariel Delgado Ramos
Dr. Sergio Santana Pórben

RESUMEN

Se realizó un estudio de evaluación de tecnología con el objetivo de determinar qué lugar ocupa el método de regresión de Passing & Bablok dentro del problema de la comparación de métodos analíticos en relación con el método de Mínimos Cuadrados, solución tradicional a este problema. Para ello se diseñó un estudio experimental en el que se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos: modelo experimental, especificaciones de desempeño y ensayo de simulación, donde se definieron las características de la generación de los números (pseudo)aleatorios y se determinaron los escenarios de simulación y el cálculo de los indicadores de desempeño.

Se determinó mediante el estudio que el método de Mínimos Cuadrados no era una solución adecuada a este problema en ninguno de los escenarios propuestos, mientras el método de Passing & Bablok solo fue óptimo cuando los errores analíticos de los métodos en comparación eran iguales. Se concluyó además que, cuando el rango de concentración es estrecho, no deben emplearse ninguno de los métodos evaluados en el estudio.

INTRODUCCIÓN

En la investigación clínica y de laboratorio es frecuente preguntarse si dos procedimientos analíticos A y B son equivalentes en los resultados que emiten. En este contexto se desea evaluar la equivalencia de los resultados emitidos por ambos métodos, asumiendo que la veracidad del procedimiento A está exhaustivamente documentada y el mismo puede representar un procedimiento físico, inmunológico, biológico o químico con un rendimiento analítico conocido. Por su parte, el procedimiento B representa aquel cuya veracidad se desea verificar por contrastación con el procedimiento A. Para dar respuesta a esta pregunta es necesario conducir el siguiente diseño experimental:

- (1) Se tienen N muestras biológicas frescas.
- (2) Cada muestra se divide en dos alícuotas.
- (3) La primera de las alícuotas se ensaya mediante el procedimiento A.
- (4) La segunda alícuota se ensaya mediante el procedimiento B.
- (5) Sea X: resultados obtenidos mediante el procedimiento A.
Y: resultados obtenidos mediante el procedimiento B.

La serie de valores generados de esta manera: (X,Y), se somete a un proceder estadístico particular que deberá constatar si ambas determinaciones son en esencia equivalentes o no.

Para dar respuesta a esta pregunta se han empleado diferentes métodos estadísticos. En primer lugar, la solución de Mínimos Cuadrados; posteriormente el análisis de regresión de mínimos cuadrados ponderados^(1,2). Deming⁽³⁾ propuso una solución que minimiza simultáneamente la suma de cuadrados de los residuos en un ángulo entre los ejes X, Y; a la misma se le realizaron modificaciones surgiendo la solución Deming ponderado^(4,5). York (1966)^(6,7) presentó una solución general al problema de la comparación de métodos analíticos cuando ambas variables están sujetas a error.

En el campo de la regresión no paramétrica, Passing & Bablok⁽⁸⁻¹⁰⁾ desarrollaron un método basado en el principio de los rangos u ordenamientos, que también toma en cuenta los errores aleatorios de ambos métodos, en este caso de forma parcial. La pendiente de la línea de regresión es calculada como la mediana de todas las posibles pendientes. El método que los autores utilizan para estimar estos parámetros se deriva de la regresión no paramétrica de Theil⁽⁸⁻¹²⁾. Este principio de estimación es un procedimiento robusto a los valores extremos o *aberrantes*. Refiriéndonos a las estadísticas no paramétricas, no podemos dejar de referirnos a la técnica desarrollada por Bland & Altman^(13,14), la cual por la sencillez de su formulación, método gráfico, resulta atractiva.

Cualquiera de estas recomendaciones está muy lejos de ser una solución universal al problema de la comparación de métodos analíticos, a pesar de lo expuesto por los propios autores. La razón para ello puede ser lo inadecuado de aplicar una técnica estadística diseñada para medir el comportamiento de una variable a partir de otra que se mide sin error, o más concretamente, por no definir de forma más específica los escenarios o situaciones de la práctica clínica analítica donde aplicar cada técnica. Se ha demostrado que las peculiaridades de cada prueba estadística pueden influir en la exactitud de la estimación de los parámetros, y por lo tanto, incurrir en crasos errores a la hora de escoger una técnica analítica de laboratorio.

Entre los trabajos publicados sobre este tema, resultan significativos los de Westgard & Hunt⁽¹⁵⁾, Wakkers y col.⁽¹⁾, Passing & Bablok⁽⁸⁻¹⁰⁾, Hartman & Massart⁽¹⁷⁾ y Bland & Altman⁽¹³⁻¹⁴⁾. Más recientemente, Tholen⁽¹⁸⁾ y Ludbrook⁽¹⁹⁾ publicaron técnicas alternativas para evaluar la linealidad, y revisaron ampliamente las técnicas empleadas para estos fines. En cuanto al desarrollo de sistemas para la evaluación de equivalencia de los métodos analíticos sólo hemos evaluado el propuesto por Passing & Bablock, realizado en lenguaje de programación Pascal para MS-DOS. Con una interfaz extremadamente complicada para el usuario, viene siendo más bien un programa de trabajo. No se encuentran referencias de otro sistema en la literatura.

OBJETIVO GENERAL

Determinar qué lugar ocupa la solución de Passing & Bablok dentro del problema de la comparación de métodos analíticos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar el rendimiento del método de Passing & Bablok como solución al problema de la comparación de métodos analíticos.
- 2) Establecer en qué escenarios de la práctica clínica la solución de Passing & Bablok tiene un mejor desempeño.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio experimental con el objetivo de determinar qué lugar ocupa la solución de Passing & Bablok dentro del problema de la comparación de métodos analíticos. Para darle salida a los objetivos de la investigación se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

1. Modelo experimental.

2. Especificaciones de desempeño.

3. Ensayo de simulación.

✍ ✍ **Características de la generación de los números (pseudo)aleatorios.**

✍ ✍ **Definición de los escenarios de simulación.**

4. Cálculo del indicador de desempeño.

1. Como modelo experimental se asumió siempre que $Y = X$, esto es, $\rho = 1$, $\rho = 0$.

2. Se tuvieron en cuenta dos especificaciones en cuanto al desempeño de la técnica estadística.

✍ ✍ Sesgo en la estimación de la pendiente: El método debe devolver estimados insesgados de la pendiente, esto es, que no sean significativamente diferentes de 1.

✍ ✍ Sensibilidad de la prueba estadística: El método estadístico sostenga el modelo experimental escogido bajo H_0 : $\rho = 1$.

3. El ensayo de simulación se diseñó de la siguiente manera:

Características de la generación de los números (pseudo)aleatorios

Se generaron N parejas (X,Y) con la media de los duplicados de números (pseudo)aleatorios bajo el modelo experimental escogido.

Simulación.

1. Se genera un número x_1 que se distribuya uniformemente en el rango de posibles valores.
2. Se obtiene un número y_1 bajo el modelo experimental.
3. El número x_1 se deforma por adición de un componente de error aleatorio que se distribuye normalmente. El tamaño del componente aleatorio que se le adiciona al número x_1 está determinado por la desviación estándar del método analítico que "supuestamente" genera los valores de x .
4. El número y_1 se deforma por adición de un componente de error aleatorio que se distribuye normalmente. El tamaño del componente aleatorio que se le adiciona al

número y_1 está determinado por la desviación estándar del método analítico que "supuestamente" genera los valores de y .

5. Se genera x_2 : el duplicado de x_1 , por adición de la distancia permisible para el duplicado:

$$\text{Distancia} = \text{Desviación estándar (Método 1)} * \sqrt{2}$$

$$x_2 = x_1 + \text{Distancia}$$

6. El número x_2 se deforma por la adición de un componente de error aleatorio. El tamaño del componente aleatorio que se le adiciona al número x_2 está determinado por la desviación estándar del método analítico que "supuestamente" genera los valores de x .
7. Se genera y_2 : el duplicado de y_1 , por adición de la distancia permisible para el duplicado.

$$\text{Distancia} = \text{Desviación estándar (Método 2)} * \sqrt{2}$$

$$y_2 = y_1 + \text{Distancia}$$

8. El número y_2 se deforma por la adición de un componente de error aleatorio. El tamaño del componente aleatorio que se le adiciona al número y_2 está determinado por la desviación estándar del método analítico que "supuestamente" genera los valores de y .

En cada k -ésimo paso de la simulación se obtienen:

$$\begin{aligned} \overline{X}_k &= (x_{1k} + x_{2k}) / 2 & \overline{Y}_k &= (y_{1k} + y_{2k}) / 2 \\ S_{xk}^2 &= (x_{1k} - x_{2k})^2 / 2 & S_{yk}^2 &= (y_{1k} - y_{2k})^2 / 2 \end{aligned}$$

Definición de los escenarios de simulación.

Tamaño de muestra

Se generaron 30, 50 y 100 parejas de valores.

$N = 1 \dots 30$

$N = 1 \dots 50$

$N = 1 \dots 100$

Rango de valores posibles.

Se escogieron los siguientes rangos de valores posibles para la simulación de los números x_k, y_k como representación de la práctica clínica.

1. El 25 % de los valores se encontró en la mitad inferior del rango.
2. El 75% de los valores se encontró en la mitad inferior del rango.

Tamaño de la desviación estándar analítica.

Se asumió que la desviación estándar analítica era constante en el rango de posibles valores, relacionándose a continuación los valores de estas.

	MÉTODOS	ERRORES IGUALES	ERRORES DIFERENTES
Sodio	Método 1	1.355	1.355
	Método 2	1.355	2.033
Albúmina	Método 1	1.275	1.275
	Método 2	1.275	2.55
Glucosa	Método 1	0.7	0.7
	Método 2	0.7	1.05

En cada escenario se realizaron 500 ensayos de simulación. En cada w-ésima vuelta del ensayo se aplicó el método de Passing & Bablok a la serie de valores generados. Se estimaron la pendiente, el intercepto, el intervalo de confianza (conservativo) para la pendiente. También se aplicó el método de mínimos cuadrados a la serie de valores generados. Se estimaron la pendiente, el intercepto y el error estándar de estimación de la pendiente.

La hipótesis: $H_0: \beta = 1$ se docimó según el proceder estadístico correspondiente. En el caso del método de mínimos cuadrados, mediante un test basado en la distribución t de Student, mientras que en el caso del método de Passing & Bablok, si el 1 quedaba incluido en el intervalo de confianza calculado para la pendiente.

4. Cálculo del indicador de desempeño.

Al término del ensayo de simulación se calculó el siguiente indicador.

Factor / razón de rechazos: Número de veces en que se falla al sustentar $H_0: \beta = 1$. Se expresa como el cociente del número de rechazos de $H_0: \beta = 1$ respecto del número permisible de rechazos para un tamaño especificado del error de tipo I.

$$F = \frac{\text{rechazos observados}}{\text{rechazos esperados}} = \frac{\text{rechazos observados}}{W * 0.05}$$

Siendo W : número de iteraciones del ensayo de simulación (W = 500)

Error de tipo I = 0.05

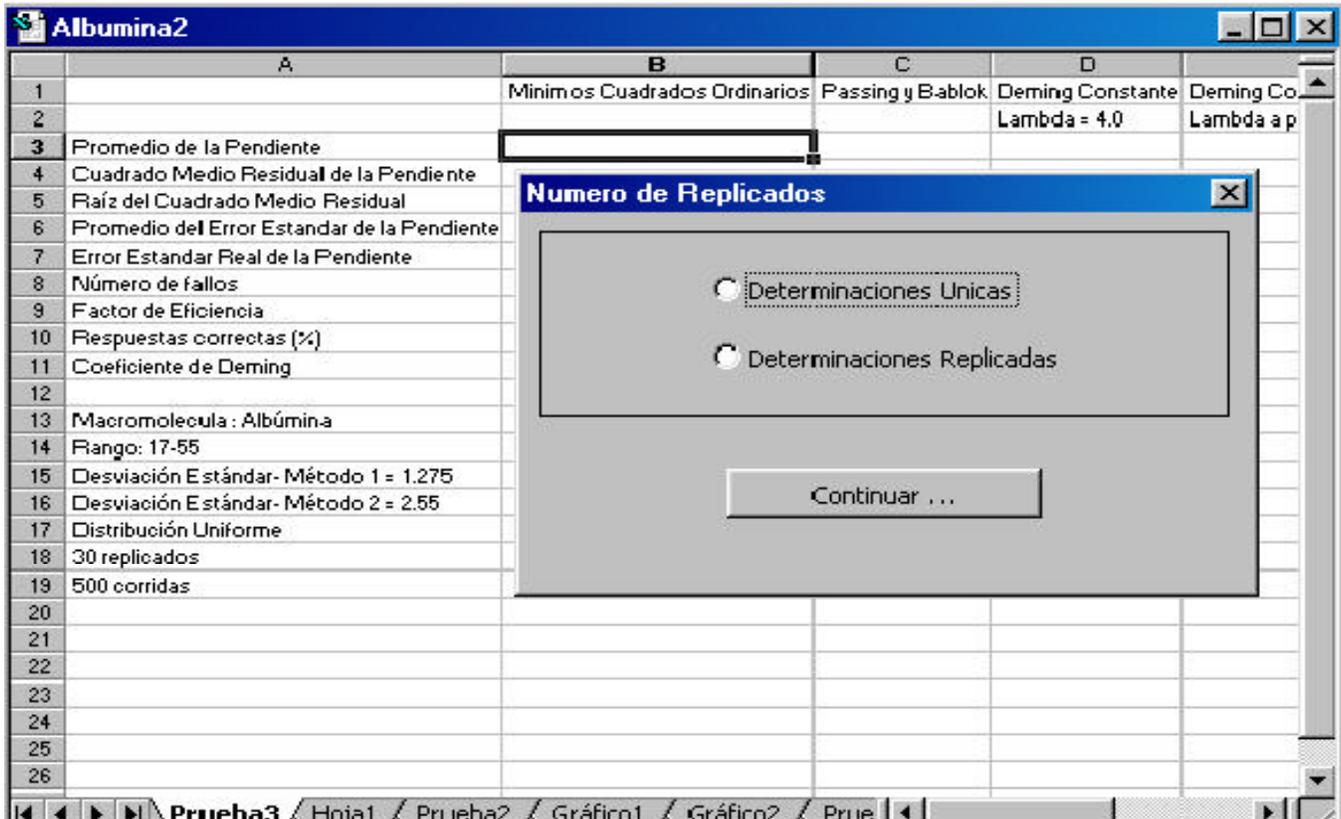
Mediante la razón de rechazos se evaluó el desempeño de los métodos de mínimos cuadrados y de Passing & Bablok. El valor ideal del factor es 1. Sería deseable que este valor fuera igual o menor que la unidad si la técnica estadística en estudio pretende tener un desempeño aceptable en las situaciones definidas en la simulación. Se determinó adecuado el empleo de una técnica estadística en la solución al problema de la comparación de métodos analíticos si realizaba estimados insesgados de la pendiente y el factor de rechazo se encontraba por debajo de la unidad, inadecuada en caso contrario y por último dudosa en caso de una combinación de los criterios antes expuestos.

Para dar cumplimiento a los objetivos propuestos se realizó una revisión bibliográfica y documental, así como consultas a expertos. El programa de simulación fue desarrollado

en el editor de Visual Basic para Microsoft Excel. El procesamiento estadístico de la información obtenida se hizo con el sistema ESTATISTICA (versión 7.5) y Microsoft Excel 97 (Microsoft, EEUU). Se escogió un nivel crítico del 5% como de significación estadística.⁽²³⁾

RESULTADOS

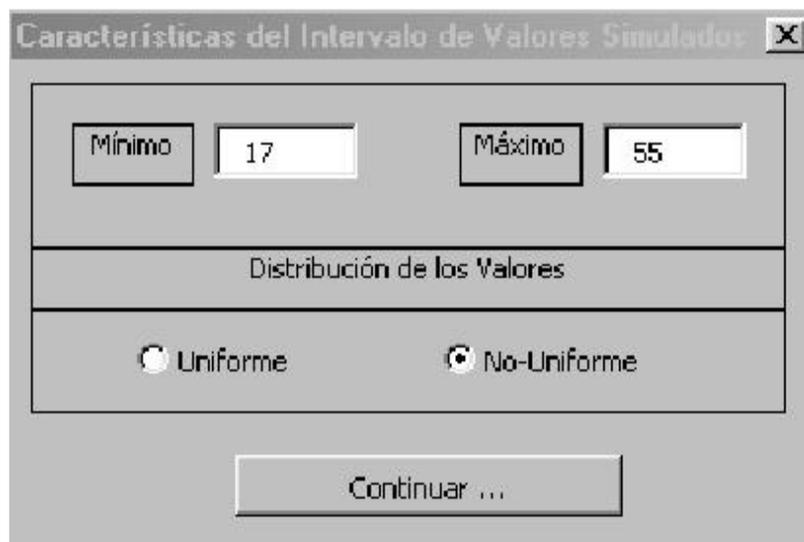
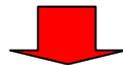
Secuencia de pasos del programa de simulación.



The screenshot shows the 'Albumina2' spreadsheet with a dialog box titled 'Numero de Replicados'. The spreadsheet contains the following data:

	A	B	C	D	E
1		Minimos Cuadrados Ordinarios	Passing y Bablok	Deming Constante	Deming Co
2				Lambda = 4.0	Lambda a p
3	Promedio de la Pendiente				
4	Cuadrado Medio Residual de la Pendiente				
5	Raíz del Cuadrado Medio Residual				
6	Promedio del Error Estandar de la Pendiente				
7	Error Estandar Real de la Pendiente				
8	Número de fallos				
9	Factor de Eficiencia				
10	Respuestas correctas (%)				
11	Coefficiente de Deming				
12					
13	Macromolecula : Albúmina				
14	Rango: 17-55				
15	Desviación Estándar- Método 1 = 1.275				
16	Desviación Estándar- Método 2 = 2.55				
17	Distribución Uniforme				
18	30 replicados				
19	500 corridas				
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					

The 'Numero de Replicados' dialog box has two radio buttons: 'Determinaciones Unicas' (unselected) and 'Determinaciones Replicadas' (selected). A 'Continuar ...' button is at the bottom.



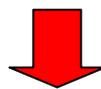
The 'Características del Intervalo de Valores Simulados' dialog box shows the following settings:

- Mínimo: 17
- Máximo: 55
- Distribución de los Valores:
 - Uniforme
 - No-Uniforme
- Continuar ... button

Características de los Errores analíticos

<input checked="" type="radio"/> Errores Constantes	DS Método 1	1.275
	DS Método 2	2.55
<input type="radio"/> Errores Proporcionales	CV Método 1	
	CV Método 2	

Continuar ...

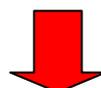


Estimación del Coeficiente Lambda

Formas de Estimación del Coeficiente Lambda

- Definido por el Usuario
- A partir de las varianzas de los duplicados
- A partir de las varianzas de las series

Aceptar



Punto de Corte del Intervalo

- 25 : 75 (Albúmina)
- 75 : 25 (Glucosa)

Aceptar

Condiciónes de la Simulación

Número de Iteraciones: 500

Tamaño de la Corrida

- N = 30
- N = 50
- N = 100

Continuar ...



Algoritmos de Tratamiento Matemático-Estadíst...

- Regresión Ordinaria de Mínimos Cuadráticos
- Regresión de Passing y Bablok
- Regresión de Deming - Errores Constantes
- Regresión de Deming - Errores Proporcionales

Ejecutar ...



SimulacionMetodos

	Minimar Cuadraticar Ordinariar			Passing & Bablok			Domingo Cantante : Lambda 1			Domingo Cantante : Lambda 2	
	Pendiente b	Intercepto a	Error Pendiente	Pendiente b	Intercepto a	Error Pendiente	Pendiente b	Intercepto a	Error Pendiente	Pendiente b	Intercepto a
1	0,96146131	1,974303722	0,045375369	0,99589723	0,69066632		0,97282493	1,502737352	0,056855064	0,976101041	1,3668
2	1,09913826	-3,389497757	0,068470061	1,14106703	-4,7629557		1,12738526	-4,57999182	0,081350319	1,121046901	-4,31
3	0,93208253	3,583616495	0,053011812	0,96672195	2,05124116		0,94734859	2,925837278	0,045599289	0,951624334	2,7416
4	0,96994007	2,48121047	0,064986929	1,07207406	-1,8324654		0,9936111	1,462466836	0,071916692	1,012067914	0,6681
5	1,00701547	0,068227015	0,048564836	1,02142143	-1,2148981		1,02041912	-0,52835327	0,04005563	1,040654778	-1,429
6	0,91522461	5,287724018	0,064457715	0,97191274	2,59366655		0,93767828	4,346326351	0,079282127	0,93634753	4,3062
7	1,03327549	-0,555053592	0,07304322	1,105317	-4,4388218		1,06445622	-1,92018688	0,070637934	1,060718298	-1,756
8	1,04496539	-1,306407571	0,06536562	1,12311661	-4,1364508		1,06997597	-2,38547683	0,058326125	1,071067214	-2,432
9	1,00895035	0,021800745	0,051577911	1,03966391	-1,2507902		1,02410614	-0,62731993	0,034219339	1,022187233	-0,545
10	0,94947785	3,356990814	0,072794847	1,06837714	-1,3292096		0,97894347	2,142778397	0,080191582	0,994106352	1,5179
11	1,04864788	-0,770963371	0,052278586	1,12083697	-4,0104284		1,06457067	-1,4430064	0,056984246	1,056145191	-1,087
12	1,05725765	-1,877519608	0,064478986	1,11339676	-4,3799973		1,08173943	-2,9078753	0,051914003	1,084137917	-3,008
13	0,93906313	4,154201508	0,045288317	0,96733767	2,73886275		0,95021737	3,698131561	0,038802352	0,948590696	3,7646
14	1,04986703	-2,01356101	0,053451002	1,12302667	-4,8899307		1,06653178	-2,71652508	0,06934303	1,065443754	-2,67
15	1,07084762	-1,415688028	0,084327519	1,22245421	-8,9122496		1,11254828	-3,29298854	0,093535244	1,126951932	-3,882
16	1,05165339	-0,682095289	0,057488289	1,0841558	-2,2131586		1,07098627	-1,51919711	0,059101332	1,0743469	-1,664
17	1,02333617	-0,012593151	0,049867906	1,07707298	-2,1888456		1,03760958	-0,6234892	0,066126429	1,036841154	-0,590
18	0,98598075	1,820065856	0,039293457	1,01741254	0,7313099		0,99461383	1,454593062	0,042271718	1,000891566	1,1888
19	0,88423175	5,162365437	0,049772017	0,96556324	0,9857105		0,89721507	4,612276077	0,070155784	0,898050725	4,5768
20	0,97821786	2,663847923	0,058038477	0,99178886	2,2333014		0,99722111	1,891451955	0,06808728	1,001085758	1,7335

1) Errores analíticos iguales.

El factor de rechazo, que no expresa más que el cociente entre los valores esperados y observados de rechazo bajo un determinado nivel de significación para cada uno de los rangos de concentración simulados (Sodio, Albúmina y Glucosa), es uno de los indicadores empleados en nuestra investigación (tabla No. 1). En condiciones ideales, debe ser igual o menor que 1 (para un error del tipo I = 5%). El factor de rechazo obtenido con el método de mínimos cuadrados fue siempre superior al valor nominal de 1. Se observó un deterioro progresivo de este indicador para los tres rangos de concentración a medida que se incrementaba el tamaño de la muestra. Por el contrario, el método de Passing & Bablok mostró siempre valores de este indicador cercanos del valor nominal (e incluso por debajo de éste).

Tabla No. 1
Factor de rechazo en las pruebas estadísticas evaluadas en los diferentes rangos de concentración y errores analíticos iguales.

ERRORES IGUALES	TAMAÑO DE MUESTRA (n)					
	30		50		100	
	M.C*	P&B**	M.C*	P&B**	M.C*	P&B**
SODIO	2.84	1.28	4.92	0.68	7.92	1.2
ALBUMINA	1.56	0.68	1.6	0.92	3.12	0.76
GLUCOSA	1.64	1.12	2.08	1.16	2.76	0.48

Leyenda: * Método de los mínimos Cuadrados

** Método de Passing & Bablok
W=500 (W: número de corridas del programa de simulación).

2) Errores analíticos diferentes.

El factor de rechazo (tabla No. 4) superó la unidad, tanto para el método de mínimos cuadrados como para el de Passing & Bablok. Para ambos métodos se observó que, a cualquier rango de concentración, a medida que se incrementa el número de observaciones, se deteriora el factor de rechazo.

Tabla No. 2
Factor de rechazo en las pruebas estadísticas evaluadas en los diferentes rangos de concentración.

ERRORES DIFERENTES	TAMAÑO DE MUESTRA (n)					
	30		50		100	
	M.C*	P&B**	M.C*	P&B**	M.C*	P&B**
SODIO	2.16	1.2	3.52	1.12	5.16	2.48
ALBUMINA	3.6	1.24	1.36	1.76	1.88	4.24
GLUCOSA	0.76	0.48	1.72	1.16	2.08	1.76

Leyenda: * Método de los mínimos Cuadrados

** Método de Passing & Bablok

W=500 (W es el número de corridas del programa de simulación).

CONCLUSIONES

1. El método de mínimos cuadrados en ningún escenario simulado fue óptimo y siempre se caracterizó por un elevado número de rechazos.
2. El método de Passing & Bablok solo fue óptimo cuando los errores analíticos de los métodos en comparación eran iguales.
3. Cuando el rango de concentración es estrecho, no deben emplearse las técnicas estadísticas evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wakkers PJM, Hallendoorn HBZ, Op De Weegh GJ, Hørspink W. Applications of statistic in clinical chemistry. A critical evaluation of regression lines. **Clin Chem Acta** 1975; 64: 173-84.
2. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods, 6th ed., Iowa State University Press 1967.

3. Kendall MG, Stuart A, The advanced theory of statistics. London, Charles Griffin & Co 1973; 2: 393-7.
4. Linnet K. Estimation of the linear relationship between the measurements of two methods with proportional errors. **Stat Med** 1990; 9:1463-73.
5. Mandel J. The statistical analysis of experimental data. New York, J Wiley ? S 1964
6. York D. Practical statistics for analytical chemists. **Can J Phys** 1966; 44: 1079-86.
7. Williamson J H. Statistical analysis in chemistry and the chemical industry. **Can J Phys** 1968; 46: 1845-47.
8. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. **J Clin Chem Biochem** 1983; 21: 709-20.
9. Passing H, Bablok W. Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample sizes. **J Clin Chem Biochem** 1984; 22: 431-45.
10. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. A general regression procedure for method transformation. **Clinical Chemistry** 1993; 39(3): 431.
11. Theil H. A rank-invariant method of linear and polynomial regression analysis. Proc Kon Ned Akad v Wetensch 1950; 53: 386-92.
12. Hollander M, Wolfe DA. Non parametric statistical methods. New York, J Wiley ? S 1973.
13. Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. **Statistical** 1983; 32: 307-17.
14. Altman DG, Bland JM. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The lancet** 1986; 307-10.
15. Westgard JO, Hunt MR. Use and interpretation of common statistical test in method comparison studies. **Clin Chem** 1973; 19: 49.
16. Linnet K. Evaluation of regression procedures for methods comparison studies. **Clin Chem** 1993; 39: 424-32.
17. Hartman C, Massart DL. Display for visual Comparison of the results of two measurement method. **Clinical Chemistry** 1994; 41(5): 624-35.
18. Tholen DW. Alternative statistical techniques to evaluate linearity. **Arch Pathol Lab Med** 1992; 116: 746-56.
19. Ludbrook J. Comparing methods of measurements., Clin. Exp. Pharmacol. **Physiol** 1997; 24: 193-203.
20. Schmidt HH, Genschel JC, Wagner S, Manns MP. Relevance of lipoprotein (Lp(a)) in the genesis of premature coronary artery disease. **Eur J Clin Chem Clin Biochem** 1996; 34(2): 119-24.
21. Lippi G, Brentegani C, Mazzi C, et al. Evaluation of five new liquid stable application on the roche cobas integra. **Eur J Clin Chem Clin Biochem** 1997; 35(11): 877-80.
22. Stockl D, Dewitte K, Thienpont LM. Validity of linear regression in method comparison studies: Is it limited by the statistical model or the quality of the analytical input data. **Clin Chem** 1998; 44(11): 2340-6.
23. Martínez C, Santana S. Manual de procedimientos estadísticos. Editorial de Ciencias Médicas, La Habana 1990.

RECIBIDO: JUNIO 2003

REVISADO: JULIO 2003