

# „Za hranice nejistoty“ – použití techniky one-way ANOVA současně pro odhad nejistoty měření a k verifikaci preciznosti měřicího postupu

Ambrožová J.

Oddělení klinické biochemie Nemocnice Prachatic, a.s.

## SOUHRN

*Cíl:* předvést praktické použití softwarové techniky určené k analýze variance - one-way ANOVA - ke dvěma účelům verifikačního procesu: k odhadu nejistoty analytické metody dle dokumentu CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) C51-A Vol. 32 No. 4 „Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine, Approved Guideline“, 2012 [1] a současně ke zjednodušení postupu verifikace preciznosti měřicího postupu dle CLSI EP15-A2 Vol. 25 No.17 „User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline, Second Edition“ [2].

*Výsledky:* aplikace obou normativních postupů je předvedena v praktickém příkladu odhadu nejistoty jedné koncentrační hladiny látkové koncentrace urey v lidském séru (měřená veličina) a současně ke zjednodušenému postupu verifikace preciznosti tohoto měřicího postupu. Verifikační experiment odpovídá dokumentu EP15-A2 a měření se prováděla na jedné koncentrační hladině měřené veličiny vždy ve třech opakováních v průběhu pěti dní.

*Cíl - diskuse:* předvést možnost zjednodušení verifikačního postupu.

*Závěr:* Pomocí techniky one-way ANOVA lze současně provést výpočet nejistoty měření i mezilehlé (celkové) preciznosti.

*Klíčová slova:* CLSI C51-A [1], CLSI EP15-A2 [2], nejistota měření, preciznost, one-way ANOVA.

## SUMMARY

**Ambrožová J.: “Beyond uncertainty “ - one-way ANOVA applied to the measurement uncertainty estimation and to the precision measuring procedure verification**

*Objective:* To demonstrate the practical use of the „one-way ANOVA“ technique for the expression of measurement uncertainty in laboratory medicine as well as to simplify the process of the user verification of performance for precision according, according to documents CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), titled as C51-A Vol.32 No.4 „Expression of Uncertainty in Measurement Laboratory Medicine, Approved Guideline“, 2012 [1], next only the C51-A, and according to CLSI EP15-A2 Vol. 25 No.17 document titled as „User verification of Performance for Precision and trueness; Approved Guideline, Second Edition“ [2], hereinafter EP15-A2.

*Results:* The application of both normative practices is demonstrated in the practical example use for the uncertainty method estimation on one concentration level of the urea molar concentration in the human serum (measurand), together with the simplified procedure of the user verification of the method performance for the precision. The verification experiment matches the document EP15-A2, i.e. one measurand level running in 3 replicates on each of the 5 days. The calculation of the measurement uncertainty and the intermediate precision is processed by analyzing components of the variability in the „one-way ANOVA“ technique.

*Objective - Discussion:* to demonstrate the possibility of simplifying the verification process

*Conclusion:* the evaluation using one-way ANOVA technique to estimate the method uncertainty and the user verification of the method performance for the precision as well

*Keywords:* CLSI C51-A [1], CLSI EP15-A2 [2], measurement uncertainty, precision, one-way ANOVA.

## Úvod, vysvětlení pojmů

Prezentuji postup, jenž byl inspirován praktickým použitím dvou rozdílných dokumentů CLSI, a sice C51-A „Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine, Approved Guideline“, dále jen C51-A, a dokumentem CLSI EP15-A2 „User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-Second Edition“, dále jen EP15-A2. V tomto postupu se pomocí vhodné softwarové techniky současně plní dva rozdílné úkoly verifikačního postupu: výpočet resp. odhad nejistoty měření a verifikace preciznosti měřicího postupu.

Dokument CLSI C51-A je normativní návod určený pro odhad nejistoty **měření v klinických laboratořích** a jako takový předkládá více způsobů výpočtů od-

hadu nejistoty měření. Výpočet nejistoty měření je vždy odhadem infinitivním, tj. je vždy spojen s jistou mírou neurčitosti, jejíž velikost úzce souvisí s hodnotou měřené veličiny a matricí, v níž se stanovuje. Česká veřejnost již z mnoha předchozích velmi zasvěcených sdělení dobře zná termín „Top Down“ přístup. Ten představuje řešení problému, kterým se v i tomto sdělení rozumí zjednodušený odhad nejistoty měření a jehož cílem je z opakovaných měření vybraných vzorků zjistit celkovou rozšířenou kombinovanou standardní nejistotu měření použitelnou pro běžně měřené hladiny. Jedná se o postup zvláště vhodný pro uzavřené měřicí systémy, a proto se využívá především v rutinních zdravotnických laboratořích. Výhodou „Top Down“ přístupu pro jeho uživatele je jeho jednoduchost a s tím související menší finanční zátěž. Zjednodušený postup ale nemů-

že uživatele vést k lepšímu pochopení důležitých zdrojů nejistoty, k posouzení jejich skutečného příspěvku ke kombinované nejistotě, tím méně k rozkrýví možnosti jejich redukce či úplné eliminace. Odlišný, tzv. „Bottom-Up“ přístup si naopak klade za cíl předložit tzv. úplný nejistotní rozpočet, který právě výše uvedený zjednodušený „Top Down“ přístup neposkytuje.

Způsobům ověřování **preciznosti měřicích postupů** se rovněž věnuje obsáhlá literatura – viz odkazy. Čtenář v ní zjišťuje, že termín „preciznost“ je mírou pravého opaku, tj. nepreciznosti měření [3]. Bez ohledu na zbytečné spekulace, proč je nutno v odborné literatuře používat absurdní antonyma, faktem zůstává, že tato provozní charakteristika měřicího postupu nemá být například při verifikaci uživatelem IVD (in vitro diagnostických) systémů posuzována jen na základě pouhého testování opakovatelnosti měření (preciznosti v sérii), ale současně jako tzv. mezilehlá preciznost, kterou právě protokol EP15-A2 označuje jako preciznost celkovou resp. intra-laboratorní. Dvě zmíněné provozní charakteristiky metody, opakovatelnost a mezilehlou (celkovou) preciznost, již výrobci IVD uvádějí ve shodě s terminologií EP15-A2.

**Dokument C51-A** mj. popisuje, jak pro výpočet odhadu nejistoty měření použít analýzu variance jednoduchého třídění, techniku běžně v praxi známou jako one-way ANOVA, která se v českých překladech někdy označuje jako jednofaktorová resp. jednocestná ANOVA. Jedná se o základní softwarovou techniku analýzy rozptylu dat seskupených do sérií, provádí-li se opakovaná měření jedné a více hladin (hodnot) měřené veličiny ze stejného vzorku ve více sériích měření.

**Dokument EP-15-A2** uvádí postupné kroky výpočtů určených k verifikaci různých provozních charakteristik metody a způsoby výpočtů lze s jistou nadsázkou označit za „manuální“. Jejich cílem je mj. odhad preciznosti měřicího postupu, tedy nejen opakovatelnosti (preciznosti v sériích), ale také preciznosti mezilehlé (celkové). Aplikaci techniky one-way ANOVA doporučenou v protokolu C51-A pro výpočet odhadu nejistoty měření lze současně použít i pro výpočet preciznosti měřicího postupu. Cílem tohoto sdělení je právě předvést, že základní postup uveřejněný v C51-A, byť tento slouží jinému cíli, lze aplikovat na účel, který obsáhle krokově řeší protokol EP15-A2. Níže je uveden příklad takového víceúčelového použití techniky one-way ANOVA, tedy nejen k odhadu nejistoty měření dle C51-A, ale primárně k odhadu preciznosti měřicího postupu, čímž je demonstrováno možné zjednodušení postupu prezentovaného v EP15-A2.

## Postup

Budiž preciznost v rámci série měření (opakovatelnost) označena v souladu s EP15-A2 jako  $s_r$  a budiž dále preciznost mezi sériemi měření označeno jako  $s_b$ . Pak celková preciznost měření je označena jako  $s_i$ . Necht' dále  $u_c$  je kombinovaná standardní nejistota, která zahrnuje jak intra- tak inter- sériové složky nejistoty měření.

Výpočet **preciznosti v sériích** dle **EP15-A2** se provádí dle rovnice:

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{i=1}^n (x_{di} - \bar{x}_d)^2}{D(n-1)}} \quad (1)$$

kde:

D = celkový počet dní (5)

n = celkový počet opakování za den (3)

$x_{di}$  = výsledek i-tého opakování dne d

$\bar{x}_d$  = průměr všech opakování/replikátů dne d

Výpočet **preciznosti mezi sériemi** dle **EP15-A2** se provádí dle rovnice:

$$s_b = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D (\bar{x}_d - \bar{x})^2}{D-1}} \quad (2)$$

kde:

D = celkový počet dní

$\bar{x}_d$  = průměrná hodnota všech výsledků dne d

$\bar{x}$  = průměrná hodnota všech výsledků

**Mezilehlá (celková) preciznost** dle **EP15-A2** se počítá dle rovnice:

$$s_i = \sqrt{\frac{n-1}{n} s_r^2 + s_b^2} \quad (3)$$

kde n = počet měření v sérii.

Software one-way ANOVA označuje průměrný čtverec uvnitř sérií jako  $MS_{wth}$  a průměrný čtverec mezi sériemi  $MS_{btw}$ . Mezivýsledky představují jednak součet všech čtverců (**SS**) a počet stupňů volnosti (**df**) a hodnoty **F** a **P** poskytují měřítko významnosti rozdílů mezi sériemi měření.

Necht' SD (směrodatná odchylka) uvnitř série je v souladu s C51-A označena  $s_{wth}$  a v této podobě představuje **míru nepreciznosti v sériích** čili **průměrnou preciznost v sériích** a odpovídá tedy termínu **opakovatelnosti měření**, pak odhad opakovatelnosti se dle C51-A provádí přímo z hodnoty  $MS_{wth}$  následovně:

$$s_{wth} = \sqrt{MS_{wth}} \quad (1^*)$$

V níže uvedeném příkladu bude dále dokázáno, že obě rovnice, (1) a (1\*), poskytují stejný výsledek, tj. že:

$$s_{wth} = s_r$$

Necht' SD mezi sériemi  $s_{btw}$  představuje **míru nepreciznosti mezi sériemi** čili **průměrnou preciznost mezi sériemi**, pak **odhad preciznosti mezi sériemi**  $s_{btw}$  se dle C51-A provádí z hodnot uváděných pod označením  $MS_{btw}$ ,  $MS_{wth}$  a hodnoty  $n_0$  odpovídající počtu hodnot dostupných v každé sérii ze všech **m** zahrnutých sérií měření dle následujícího vztahu:

$$s_{btw} = \sqrt{MAX\left(0, \frac{MS_{btw} - MS_{wth}}{n_0}\right)} \quad (2^*)$$

kde MAX(a,b) je funkce „vyber maximální hodnotu z hodnot **a** a **b**“. Odtud, je-li  $MS_{btw} < MS_{wth}$ , pak  $s_{btw} = 0$ . V takových, byť zcela výjimečných případech se  $s_{btw}$  v souladu s EP15-A2 počítá následovně:

$$s_{btw} = \sqrt{\frac{MS_{btw}}{n_0}} \quad (2^{**})$$

Poznámka: tuto nepřijemnou, byť ověřitelně ojedinělou eventualitu resp. případ kdy  $MS_{btw} < MS_{wth}$  prakticky odstraňuje zvýšení počtu opakování měření ze tří na pět!

V příkladu níže bude dále dokázáno, že obě rovnice (2) a (2\*) neposkytují stejný výsledek, tj. že:

$$s_{btw} \neq s_b$$

Tedy že  $s_b$  dle EP15-A2 se od  $s_{btw}$  dle C51-A liší, a to tak, že výpočet  $s_b$  dle EP15-A2 poskytuje hodnotu vyšší nebo rovnou, neboť v hodnotě  $s_b$  je zahrnuta i  $s_r$ .

V C51-A není uveden adekvátní výpočet **mezilehlé (celkové) preciznosti**, označované v EP15-A2 jako  $s_i$ , ale v příkladu bude dokázáno, že tato odpovídá výpočtu dle rovnice (3\*):

$$s_i = \sqrt{s_{wth}^2 + s_{btw}^2} \quad (3^*)$$

Cílem příkladu je tedy poskytnut důkaz o tom, že výsledky obou výpočtů  $s_i$  (3) a (3\*) **jsou stejné!**

Ve výjimečných případech, kdy hodnota  $MS_{btw} < MS_{wth}$ , se  $s_i$  v souladu s EP15-A2 počítá následovně:

$$s_i = \sqrt{\frac{2}{3} \cdot s_{wth}^2 + s_{btw}^2} \quad (3^{**})$$

Pozn.: Mají-li všechny série stejný počet datových hodnot, pak datový soubor nazýváme **vyvážený** a  $n_0$  je počet dat v každé takové sérii. Není-li tomu tak, pak se počet  $n_0$  počítá následovně:

$$n_0 = \frac{N^2 - \sum_{j=1}^m (n_j)^2}{N \cdot (m-1)} = \bar{n} - \frac{s_n^2}{N} \quad (4)$$

kde  $m$  = počet skupin,  $N$  = celkový počet pozorování,  $n_j$  je počet dat v  $j$ -té skupině,  $n_j$  je počet výsledků v  $j$ -té skupině,  $\bar{n}$  je aritmetický průměr počtu výsledků v každé sérii, a  $s_n$  je SD  $n_j$  hodnot. Hodnota  $n_0$  se musí pohybovat v rozmezí mezi nejmenší a největší hodnotou  $n_j$ . Je-li rozdíl mezi počty pozorování v každé skupině malý, představuje  $\bar{n}$  obecně jejich adekvátní aproximaci.

### Příklad aplikace techniky one-way ANOVA pro odhad preciznosti měřicího postupu a pro odhad nejistoty měření dle C51-A

Látková koncentrace urey v séru (S-Urea, mmol/l) byla měřena ve smíšeném lidském séru na přístroji Olympus AU 640, vždy ve třech opakovaných měřeních v každé sérii po dobu pěti dní (postup dle EP15-A2) (tabulka 1.). Získaný odhad celkové kombinované rozšířené nejistoty měření je vhodný pro následující jednotlivá měření stejné měřené veličiny ve stejném materiálu.

**Table 1.** shows 15 values of the urea molar concentration (in mmol/L) in the human serum (Olympus AU 640) followed with the application of the one-way ANOVA technique on these data

Replicate	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Total Mean
1	9.78	9.68	9.72	10.05	9.77	
2	9.99	9.78	9.91	10.08	9.63	
3	9.89	9.55	9.74	9.77	9.93	
<b>D. Mean</b>	<b>9.887</b>	<b>9.670</b>	<b>9.790</b>	<b>9.967</b>	<b>9.777</b>	<b>9.818</b>

#### One-way ANOVA (according to C51-A)

Faktor

Groups	Count	Sum	Average	Variance
1	3	29.66	9.886667	0.0110
2	3	29.01	9.6700	0.0133
3	3	29.37	9.7900	0.0109
4	3	29.90	9.9667	0.0292
5	3	29.33	9.7767	0.0225
Mean		<b>29.454</b>		<b>0.0174</b>

#### ANOVA

Source of Variation	SS	Df	MS	F	P-Value	F krit
Between run	<b>0.15364</b>	<b>4</b>	<b>0.03841</b>	<b>2.20741</b>	<b>0.14129</b>	3.478049691
Within run	0.174	<b>10</b>	<b>0.0174</b>			
<b>Total</b>	<b>0.32764</b>	14				

$$s_{wth} \quad \mathbf{0.13191}$$

$$0.02101$$

$$0.007$$

$$0.007$$

$$s_{btw} \quad \mathbf{0.08369}$$

$$s_i \quad \mathbf{0.15622}$$

$$\sqrt{MS_{wth}}$$

$$MS_{btw} - MS_{wth}$$

$$(MS_{btw} - MS_{wth})/3$$

$$\text{MAX}\left(0, \frac{MS_{btw} - MS_{wth}}{3}\right)$$

$$\sqrt{\text{MAX}\left(0, \frac{MS_{btw} - MS_{wth}}{3}\right)}$$

$$\sqrt{s_{wth}^2 + s_{btw}^2}$$

## Komentář výpočtů

Průměrný čtverec mezi sériemi  $MS_{btw} = 0,03841$  a průměrný čtverec uvnitř sérií  $MS_{wth} = 0,0174$ , kde  $n_0 = 3$  je počet měření v sérii.

- a) Odtud **opakovatelnost**  $s_{wth}$  dle **C51-A** počítaná podle rovnice (1\*) činí:

$$s_{wth} = \sqrt{0,0174} = 0,13191 \text{ mmol/l}$$

a  $s_r$  dle **EP15-A2** počítaná dle vztahu (1) a celý výpočet viz tabulka č. 2

$$s_r = \sqrt{\frac{0,174}{10}} = 0,13191 \text{ mmol/l}$$

Odtud vyplývá, že:  $s_{wth} = s_r$

- b) **Preciznost mezi sériemi**  $s_{btw}$  dle **C51-A** se počítá podle rovnice (2\*)

$$s_{btw} = \sqrt{MAX\left(0, \frac{0,03841 - 0,0174}{3}\right)} = 0,08369 \text{ mmol/l}$$

**Preciznost mezi sériemi**  $s_b$  dle **EP15-A2** počítaná podle rovnice (2) činí:

$$s_b = \sqrt{\frac{0,05121}{4}} = 0,11315 \text{ mmol/l}$$

Odtud je zřejmé že  $s_b \geq s_{btw}$

- c) **Mezilehlá (celková) preciznost**  $s_i$  se dle **EP15-A2** počítá podle rovnice (3):

$$s_i = \sqrt{\frac{2}{3} \cdot 0,13191^2 + 0,131152^2} = 0,15622 \text{ mmol/l} \Rightarrow \text{CV} = 1,59\%$$

a  $s_i$  počítaná podle rovnice (3\*):

$$s_i = \sqrt{0,13191^2 + 0,08369^2} = 0,15622 \text{ mmol/l} \Rightarrow \text{CV} = 1,59\%$$

**Oba výpočty (3) a (3\*) se liší, ale konečný výsledek  $s_i$  je stejný a postup ANOVA celý výpočet velmi zjednodušuje!**

## Nejistota měření

Dle nastavení experimentu platí, že  $s_{wth}$  a  $s_{btw}$  jsou vzájemně nezávislé proměnné. Pro kombinovanou nejistotu jednotlivého měření daného materiálu pak dle C51-A platí:

$$u_c = \sqrt{s_{wth}^2 + s_{btw}^2} \quad (5)$$

a pro celkovou rozšířenou kombinovanou nejistotu, kde  $k$  je koeficient rozšíření ( $k=2$ ), platí:

$$u_t = k \sqrt{s_{wth}^2 + s_{btw}^2} \quad (6)$$

## Doplnění odhadu nejistoty měření o nejistotu plynoucí z korekce bias

**Bias** představuje numerické vyjádření **pravdivosti** stejně jako **nepreciznost** numerické vyjádření **preciznosti**. Každý odhad hodnoty bias je současně nevyhnutelně nejistý. Každá korekce měřené hodnoty o bias proto přispívá ke kombinované nejistotě. **Korekce** o známý bias tedy zlepšuje pravdivost vydaného výsledku, ale zvyšuje jeho nejistotu.

**Z formálního úhlu pohledu platí, že přímou korekci potenciálního bias poskytuje při kalibraci použití komutabilního referenčního materiálu s udanou pravdivou hodnotou, uvedenou nejistotou a návazností.** Přesto jsou výsledky měření v praxi ovlivňovány mnohými faktory, které sebelepší kalibrátory nemohou zcela vyřešit. Je proto nutno použít dodatečných způsobů odhadu bias, například vzájemné porovnávání výsledků vzorků pacientů stanovených buď různými metodami nebo přístroji či laboratořemi. Postupy odhadu bias jsou diskutovány v různých dalších dokumentech CLSI např., EP07 [3], EP09 [4] a EP15 [2]. Bias takto stanovený nemusí být sice shledán signifikantním, přesto nejistota plynoucí z jeho korekce, má být zahrnuta do kalkulace nejistoty výsledku. Na její odhad nejistoty typu A nebo B existují různé postupy, viz např. GUM [5]. Vztah, z něhož se vypočítává celková rozšířená kombinovaná nejistota včetně nejistoty zahrnující korekci bias je v tomto sdělení následující:

$$u_t = k \sqrt{s_{wth}^2 + s_{btw}^2 + s(\bar{b})^2} \quad (7)$$

Bias ( $b$ ) je odhadován jako rozdíl mezi výsledky měření stanovenými testovanou a referenční metodou,  $b_i = x_i - x_{\text{reference}}$  a je uváděn (stejně jako nejistota související s jeho korekcí) v jednotkách odpovídajících měření.

$$\text{Odhad bias} \quad \bar{b} = \sum_{i=1}^n b_i / n \quad (8)$$

$$\text{Výpočet SD rozdílů} \quad s(b) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (b_i - \bar{b})^2 / n} \quad (9)$$

Výpočet SD odhadu nejistoty plynoucí z korekce bias jako střední chyby průměru (střední kvadratické chyby):

$$s(\bar{b}) = s(b) / \sqrt{n} \quad (10)$$

Pozn.: S pomocí techniky one-way ANOVA lze rovněž přímo provést odhad nejistoty průměrné hodnoty opakovaných měření například certifikovaného referenčního materiálu (CRM)  $\bar{x}$ , která může posloužit jako adekvátní součást odhadu nejistoty měření odpovídající korekci bias. Platí, že je-li  $s_{btw} > 0$ , nejistota průměru měření  $u_c(\bar{x})$ , činí:

$$u_c(\bar{x}) = \sqrt{\frac{MS_{btw}}{n_{\text{total}}}} \quad (11)$$

kde  $n_{\text{total}}$  = celkový počet měření použitých v analýze. V případě, že  $s_{btw} = 0$  nelze postup one-way ANOVA k výše uvedenému účelu použít. Pak postupujeme podle alternativního vztahu, který odpovídá vztahu (9):

$$u_c(\bar{x}) = s(\bar{x}) = \frac{s(x)}{\sqrt{n_{\text{total}}}} \quad (11^*)$$

**Odhad celkové kombinované nejistoty měření dle C51-A** z výše uvedeného příkladu (S-Urea; látková koncentrace v mmol/l) se počítá podle rovnice (5):

$$u_c = \sqrt{0,13191^2 + 0,08369^2} = 0,15622 \text{ mmol/l}$$

⇒ a odtud **odhad celkové rozšířené kombinované nejistoty měření** podle rovnice (6):

$$u_t = 2 \cdot \sqrt{0,13191^2 + 0,08369^2} = \\ = \underline{\underline{0,3120 \text{ mmol/l}}} \Rightarrow \underline{\underline{3,18\%}}$$

Poznámka:

- ✓  $u_c$  je odhadem nejistoty jednotlivého měření tohoto konkrétního materiálu za stejných podmínek
- ✓  $u_i$  je odhad celkové rozšířené nejistoty bez nejistoty korigovaného bias, kde koeficient rozšíření = 2

Podle rovnice (7) lze provést odhad celkové kombinované nejistoty doplněný o nejistotu korigovaného bias výsledku testované metody, konkrétní příklad viz níže:

Předpokládejme, že počet měření cílených na pravdivost metody činil  $n = 4$  a dále, že  $s(b)$  dle rovnice (9) je roven 1,24 mmol/l a odtud pak dle rovnice (10)  $s(\bar{b}) = 1,24 / \sqrt{4} = 0,62$  mmol/l. Pak výpočet  $u_t$  resp. odhad nejistoty měření doplněný o nejistotu plynoucí z korekce bias dle rovnice (7) poskytne následující výsledek:

$$u_t = 2 \cdot \sqrt{0,13191^2 + 0,08369^2 + 0,62^2} = \\ = \underline{\underline{1,28 \text{ mmol/l}}} \Rightarrow \underline{\underline{13,0\%}}$$

### Nejistota měření, která nevyhovuje deklaraci výrobce IVD

Nesetká-li se odhad nejistoty měření konkrétního měřicího postupu získaný pomocí „Top-Down“ přístupu s očekávanými hodnotami předem pro daný postup

specifikovanými výrobcem IVD nebo zjištěný odhad nejistoty měření nespňuje zamýšlený účel výsledků [1], je nutné provést systematický přezkum zdrojů složek této nejistoty. V úvahu přichází způsob stanovení nejistoty měření označený jako „Bottom-Up“ přístup, který takové strukturované přezkoumání měřicího systému nabízí tím, že individuálně posuzuje jednotlivé komponenty přispívající k nejistotě měření. Pakliže však hodnota odhadu nejistoty měření vychází dle přístupu „Bottom-Up“ menší než dle přístupu „Top-Down“, měl by si uživatel provést řádnou revizi svého modelu vycházejícího z přístupu „Bottom-Up“ zacílenou dodatečně především na identifikaci možných, nezachycených či nedostatečně vyhodnocených složek nejistoty.

### Závěr

Zabývám se problematikou odhadu nejistoty měření již řadu let a z ryze praktického hlediska si dovoluji tvrdit, že jedinou možností, jak mohou akreditované zdravotnické laboratoře zajistit svou povinnost zjišťovat a ověřovat nejistotu měření co nejjednodušším a postačujícím způsobem, je následovat výše uvedený postup dle „Top-Down“ přístupu. Pomocí analýzy variance (rozptylu) dat založené na technice one-way ANOVA lze provádět nejen výpočet odhadu nejistoty měření, ale i odhad preciznosti metody. Porovnáváním postupů dle dokumentů CLSI EP15-A2 a C51-A bylo shledáno,

**Table 2.** Sample Data Recording Sheet- Precision Experiment. Measurand according to EP15-A2: Molar concentration of urea in human serum [mmol/L], Olympus AU 640

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	
<b>Day/ Operator</b>						
<b>Replicate 1 (<math>x_1</math>)</b>	9.78	9.68	9.72	10.05	9.77	$\bar{x}$
<b>Replicate 2 (<math>x_2</math>)</b>	9.99	9.78	9.91	10.08	9.63	<b>9.818</b>
<b>Replicate 3 (<math>x_3</math>)</b>	9.89	9.55	9.74	9.77	9.93	
$\sum_{i=1}^3 x_i = x_1 + x_2 + x_3$	29.66	29.01	29.37	29.90	29.33	
$\bar{x}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 x_i}{3}$	9.887	9.670	9.790	9.967	9.777	
$(x_1 - \bar{x}_d)$	-0.107	0.010	-0.070	0.083	-0.007	
$(x_1 - \bar{x}_d)^2$	<b>0.01138</b>	<b>0.00010</b>	<b>0.0049</b>	<b>0.00694</b>	<b>0.00004</b>	
$(x_2 - \bar{x}_d)$	0.103	0.110	0.120	0.113	-0.147	
$(x_2 - \bar{x}_d)^2$	0.01068	0.01210	0.01440	0.01284	0.02151	
$(x_3 - \bar{x}_d)$	0.003	-0.120	-0.050	-0.197	0.153	
$(x_3 - \bar{x}_d)^2$	0.00001	0.01440	0.00250	0.03868	0.02351	
$\sum_{i=1}^3 (x_i - \bar{x}_d)^2 = (x_1 - \bar{x}_d)^2 + (x_2 - \bar{x}_d)^2 + (x_3 - \bar{x}_d)^2$	0.022067	0.02660	0.02180	0.058467	0.045067	$sd_{run}^2$
$sd_{run}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (x_i - \bar{x}_d)^2}{2}$	0.011033	0.01330	0.01090	0.029233	0.022533	<b>0.0174</b>
$\bar{x}_d - \bar{x}$	0.06867	-0.14800	0.02800	0.14867	-0.04133	
$(\bar{x}_d - \bar{x})^2$	0.00472	0.02190	0.00078	0.02210	0.00171	
$s_r = \sqrt{sd_{run}^2}$	<b>0.13191</b>	⇒ Repeatability				
$s_b^2 = \frac{\sum_{d=1}^3 (\bar{x}_d - \bar{x})^2}{4}$	0.01280	$s_b = 0.11315$		⇒ Between-run Precision		
$s_t = \sqrt{\frac{n-1}{n} \cdot s_r^2 + s_b^2}$	<b>0.15622</b>		⇒ Total Precision			

že „manuální“ postup výpočtu odhadu preciznosti dle EP15-A2 lze významně urychlit a zjednodušit použitím techniky one-way ANOVA, jehož aplikace je, byť pro jiný účel, uvedena v C51-A.

Závěrem děkuji RNDr. Zdeňku Kubičkovi za velice podnětné odborné připomínky, které, jak doufám, zlepšily významně nejen jazykovou a stylistickou úroveň mého sdělení.

4. *CLSI EP07-A2*, Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline, Second Edition, 2005
5. *CLSI EP09-A2-IR*, Method Comparison and Bias Estimation Using patient Samples, Approved Guideline, Second Edition, 2010
6. GUM 1995 with Minor Corrections: Evaluation of measurement data - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, JCGM 100:2008

Do redakce došlo 17. 9. 2012

## Literatura

1. *CLSI C51-A*, Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine, Approved Guideline, Vol. 32 No. 4, 2012
2. *CLSI EP15-A2*, User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline, Second Edition, Vol. 25, No.17, 2006
3. **Friedecký, B., Šprongl, L., Kratochvíla, J., Plzák, Z.**, Doporučení k provádění validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích, *Klin. Biochem. Metab.*, 2011, roč. 19 (BCB40) č. 1, s. 36-43

*Adresa pro korespondenci:  
MUDr. Jaroslava Ambrožová  
Oddělení klinické biochemie a hematologie  
Nemocnice Prachatice, a.s.  
Nebahovská 1015  
383 01 Prachatice  
e-mail: ambrozova@nempt.cz*