

Nejistota a chyba měření ve zdravotnických laboratořích

Friedecký B.¹, Kratochvíla J.²

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové

²SEKK Pardubice

SOUHRN

Pojednává se o aktuálním stavu názorů na výpočet chyb a použití nejistot měření. Diskutuje se rozdíl mezi celkovou chybou a nejistotou měření ve světle současných názorů, souvislost nejistot s akceptovatelnými limity programů EHK a s hodnotami referenčních změn následných měření (RCV), s hodnotami referenčních intervalů a s hodnotami biologických variabilit. Dále jsou obsahem sdělení souvislosti nejistot měření s hodnotami bias, se stavem metrologické návaznosti a kalibrační hierarchie. Některé názory na problémy stanovení nejistot měření zaznamenaly v poslední době změny. Máme na mysli zejména v jakém vztahu jsou nejistoty k akreditacím laboratoří, jak použít nejistoty k posuzování shody, a zda a nakolik jsou rozdíly mezi celkovou chybou a nejistotami, časté předměty kontroverzí, vůbec významné. Velmi zajímavou otázkou je problém nejistot i celkových chyb u metod bez metrologické návaznosti a harmonizace. Konečně je zmiňován způsob, jak snadno a bez závažných problémů vypočítat nejistoty v rutinních laboratořích z dat analytické kontroly a hodnocení výsledků vnitřní kontroly a externího hodnocení kvality.

Klíčová slova: Nejistota měření, externí hodnocení kvality, vnitřní kontrola kvality, celková chyba měření, RCV, referenční intervaly, bias.

SUMMARY

Friedecký B., Kratochvíla J.: Measurement uncertainty and error in medical laboratories

In our presentation we deal with some recent points of view on the problems of uncertainty measurement in clinical laboratories. Our presentation discusses questions about the differences between uncertainties and total error of measurements. We introduce crucial links among uncertainty and, analytical performance specification of EQAS, biological variation, reference change values and reference intervals. We also introduce relations of uncertainty to metrological traceability and harmonization processes and problems uncertainty calculation in methods with the lack of standardization and harmonization. Also, performance of calculation measurement uncertainty from internal quality and external assessment data are presented.

Keywords: Measurement uncertainty, EQAS, IQC, total error, RCV, reference interval, bias.

Pojmy nejistot a chyb měření

Nejistoty měření jsou integrální součástí procesu metrologické návaznosti, standardizace / harmonizace, kalibrační hierarchie, hodnot certifikovaných referenčních materiálů a patří k základním pilířům zabezpečování kvality výsledků měření VIM3 [1]. Nejistota doprovází každý výsledek měření bez výjimky. Její vyhodnocení není rutinní prací, ani čistě matematickou záležitostí, ale závisí na detailní znalosti měřené veličiny, použité metody a postupu měření. Navzdory jejímu bazálnímu významu dělají její výpočty velké, a jak se někdy zdá, nepřekonatelné problémy pracovníkům zdravotnických laboratoří a výrobcům in vitro diagnostik. Nejistota se principiálně nemůže směřovat s chybou. Nejistota neříká, jakou chybou je zatížen konkrétní výsledek měření. Chyby nemohou být známy exaktně, a proto by se měla vyhodnocovat nejistota, která by se při stabilním měřicím systému mohla přiřadit k výsledku. Problémem vyhodnocení nejistoty je, že její výpočet nemá harmonizovaný algoritmus a v praxi se nedochází k dostatečně srovnatelným výsledkům mezi pracovišti. Nejistotou měření se zabývá i nová norma ČSN EN ISO 17025:2018 [2], která v odstavci 7.6.3. uvádí: „Laboratoř provádějící měření musí vyhodnocovat nejistoty měření. Tam kde zkušební metoda neumožňuje rigo-

rozní vyhodnocení nejistoty měření, musí se provést odhad na základě pochopení teoretických principů metody nebo praktických zkušeností z provádění dané zkušební metody“. Je tedy problém nejistoty problémem znalosti a invence pracovníků laboratoří, což mu přidává na složitosti.

Naše sdělení má za cíl přispět k vyjasnění problémů kolem nejistot a chyb měření. K tomu bylo použito aktuálních prací z období let 2015 až 2018 a zkušeností z výsledků programu externího hodnocení kvality SEKK.

Nejistota, celková chyba a normy kvality

Definice nejistoty je uvedena v odstavci 2.26 Mezinárodního metrologického slovníku (VIM3) jako nezáporný parametr charakterizující rozptýlení hodnot, přiřazených k měřené veličině, které je možné a odůvodněné připsat k hodnotě předmětu měření. Ve vysvětlujících poznámkách k definici jsou zmíněny prvky nejistoty (systematické vlivy, směrodatná odchylka, data reference, složky nejistoty a zdroje náhodných chyb; možnosti vyhodnocení způsobem A či B), ale není uveden žádný doporučený popis a postup výpočtu. Metrologický slovník VIM3 tedy pojem nejistoty měření definu-

je, aniž by zmínil či odkázal na závazný postup jejího stanovení. Norma ČSN EN ISO 15189:2013 výslovně požaduje, aby zdravotnické laboratoře dokumentovaly hodnoty nejistot svých měření, ale opět postup jejich stanovení nespecifikuje [3]. Postup určení nejistoty měření je popsán v dokumentu Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM) a jeho doplňcích [4], ale jeho použití v rutinní zdravotnické laboratoři může být problematické v důsledku jeho složitosti. V praxi se určuje zejména kombinovaná nejistota (u_c), kdy výsledek výpočtu je kombinací dílčích nejistot několika veličin, které přispívají k celkové nejistotě výsledku dle pravidla o propagaci nejistot GUM (5.1.2.). Používají se různé postupy výpočtu (kalkulátory), často poskytující významně odlišné výsledky zejména v důsledku různého počtu veličin, zahrnutých do výpočtu. Ani v textu samotné normy GUM se způsob výpočtu nejistoty měření explicitně neurčuje.

Chyba měření je ve slovníku VIM3 definována jako rozdíl mezi jednotlivým výsledkem měřené veličiny a skutečnou hodnotou měřené veličiny. V praxi je pozorovaná chyba měření dána rozdílem mezi pozorovanou a referenční hodnotou. Chyba je v principu součtem náhodné a systematické chyby měření. V literatuře a praxi se často používá pro takto vypočtenou chybu měření výraz "celková chyba měření" (total error = TE) a obvykle se určuje pro 95% konfidenční interval. Dobře známá a léta propagovaná a realizovaná koncepce hodnocení analytické kvality podle Westgarda je založena právě na lineárním modelu stanovení celkové chyby měření. Je často upřednostňována díky jednoduchosti, a navíc i stavěna do protikladu s koncepcí určení nejistoty podle GUM [5, 6]. Studie pracovní skupiny EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) TFG-TE (Task and finish group on total error) pro problémy celkové chyby měření [7] mnohohlavně srovnává výhody a nevýhody použití konceptu celkové chyby (TE) a nejistoty měření MU (measurement uncertainty). Dochází k (předem tušenému) závěru, že stanovení TE je pro zdravotnické laboratoře jednodušší, protože s daty zdrojů celkové chyby (preciznost a bias) se běžně v zdravotnických laboratořích pracuje. Nejistota se jeví jako postup pro zdravotnické laboratoře složitý až enigmatický. Podle této práce by měl být přístup celkové chyby zachován

hlavně pro externí hodnocení kvality a koncepce nejistoty by měla být simultánně rozvíjena k větší dokonalosti. A skutečně u řady současných mezinárodních studií programů externího hodnocení kvality (EHK) je hodnocení účastníků a metod založeno důsledně na koncepci celkové chyby, respektive jejího přepisu do formy velmi problematického konceptu sigmametrie Six Sigma [8, 9].

Z řady současných sdělení z let 2015 až 2018 zejména australských a italských autorů jsou naopak zcela zřejmá stanoviska, jednoznačně preferující koncepci nejistot před celkovou chybou [5, 10].

Mnoholeté edukační úsilí programů EHK SEKK v této oblasti poskytlo velké množství dat, které jsou dobrou ukázkou, jak málo přátelský je výpočet vlastního odhadu nejistoty pro řadu účastníků (Tabulka 1). Data uvedená v tabulce evidují extrémní rozdíly hodnot nejistot, uváděných účastníky programu EHK a nechybí ani údaje zjevně nesmyslné (nulové hodnoty nejistot), nebo hodnoty nižší než nejistota referenčních hodnot použitých kontrolních materiálů a též hodnoty až téměř dvojnásobně překračující velikost kritéria D_{max} . Je dobře možné, že velikosti nejistot uváděné laboratořemi nejsou ani tak obrazem analytické kvality, ale spíše problémů při jejich výpočtu (např. možných záměn absolutních a relativních jednotek). Ostatně i referenční laboratoře IFCC klinické biochemie, pracující výhradně definovanými referenčními metodami dle odpovídajících norem ISO, nejsou na tom o mnoho lépe a i jejich údaje o nejistotách v programu IFCC RELA (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; External Quality Control for Reference Laboratories), uvedené na webové adrese: <http://www.dgkl-rfb.de:81/index.shtml>, se mezi sebou i několikanásobně liší (Tabulka 1). Přitom text Doporučení ČSKB a kalkulátor nejistot SEKK [11], který je jeho součástí, mohou stanovení realistických hodnot nejistot významně ulehčit, a to pouhou aplikací dat z vnitřní kontroly kvality, z výsledků EHK a z údajů o dílčích nejistotách hodnot použitých referenčních materiálů, která jsou účastníkům volně přístupná. Je vhodné znovu připomenout, že základní mezinárodní normy analytické kvality se aktuálně zcela vzdávají koncepce určování chyby a důsledně aplikují koncept nejistoty měření [2, 3]. Myšlenka údajné slučitelnosti celkové chyby a nejistoty měření je tedy zřejmě principiálně neodůvodněná.

Table 1. Estimation of measurement uncertainty U_c by EQA schema SEKK show big differences of participants (survey AKS 2/2018) in calculation of uncertainties. Results by IFCC reference laboratories in program IFCC-RELA.

Analyte	U_c mean (%) SEKK - 2018	Interval U_c of participants (%)	
		SEKK - 2018	IFCC - RELA 2017
Cholesterol	4.7	0 – 14	0.4 – 3.1
Glucose	4.5	0 – 12	0.3 – 1.9
Potassium	3.7	0 – 8	0.5 – 1.5
Sodium	3.1	0 – 6.2	0.5 – 1.5
Total Protein	4.6	0 – 11	0.5 – 2.3
Creatinine	6.2	0 - 16	0.2 – 3.0

Nejistota, bias, standardizace

Zásadním problémem stanovení nejistoty i chyby měření je hodnota bias (b) a její určení. Vztah pro určení celkové chyby TE (dle Westgarda) je dán vztahy:

$$TE = z \cdot s + |b|$$

resp.

$$TE = z \cdot CV + |b| [\%]$$

kde:

s a CV reprezentuje příspěvek náhodné chyby (směrodatná odchylka a variační koeficient)

b ... bias (vychýlení) reprezentuje příspěvek systematické chyby

z ... statistický násobek, který je roven pro 95% konfidenční interval $z = 1,96$ (a po zaokrouhlení lze položit $z = 2$).

Tento výpočet je zcela empirický a započtení bias je dáno pouhou statisticky nepodloženou konvencí. Při statisticky podložených výpočtech nejistot podle GUM bývá pro laboratoře problémem, že GUM vůbec otázku bias neřeší, ale ve zdravotnických laboratořích není velmi často možné bias korigovat či zanedbat a jeho započtení je pak zásadním problémem celého výpočtu [12-14]. Přístup GUM zdůrazňuje potřebu redukce bias standardizací stanovení na zanedbatelnou velikost. Tento předpoklad je však v zdravotnických laboratořích pouhou chimérou, protože by předpokládal zatím neexistující důslednou standardizaci všech měření.

Bez přiměřené standardizace / harmonizace je tedy obtížné stanovit hodnotu bias dostatečně kvalifikovaně, ale to platí stejně tak i pro výpočet TE. Problém exaktního určení bias k výpočtu TE a MU je tedy v praxi omezen jen na určitý počet analytů a parametrů s dostatečnou mírou standardizace a harmonizace a je kontroverzní tam, kde měření vykazuje silnou závislost na použité metodě. **Nelze tedy důsledně řešit problém nejistoty ani chyby bez kontextu s procesy standardizace / harmonizace.** V programech EHK, kde je nezbytné respektovat hodnocení výsledků účastníků v rámci peer group skupiny, jsou výpočty celkové chyby i nejistoty diskutabilní jak pro laboratoře, tak i pro auditory. Samotná nejistota měření je součástí konceptu metrologické návaznosti, reference a standardizace a mimo její rámec ji lze kvantifikovat pouze v rámci preciznosti měření. Ačkoliv diskuse mezi zastánci TE a MU jsou občas dost ostré, je možné soudit a přesvědčit se, že TE i MU lze někdy oprávněně považovat za možné způsoby vyjádření nejistoty měření s velmi podobnými číselnými výsledky, a to zejména všude tam, kde neexistuje reference a řetězec metrologické návaznosti. Často se soudí, že přístup TE je vhodnější a praktič-

tější pro hodnocení analytické kvality, zejména v programech EHK [7 - 9], přístup nejistoty pak pro klinickou aplikaci výsledků [15 - 17]. V Tabulce 2 je ukázka srovnání číselných hodnot celkových chyb, získaných výpočtem z průměrných hodnot reprodukovatelnosti a bias všech účastníků u cyklu EHK SEKK AKS 2/18 a nejistot, udaných účastníky tohoto cyklu při stanovení stejných analytů. Diference mezi chybami a nejistotami jsou závislé na zvoleném analytu a koeficientu – statistickém násobku z (1,65 nebo 2) ve výpočtu celkové chyby TE a nelze je velmi často zanedbat.

Způsoby výpočtu nejistoty a dostupnost potřebných dat

Ve zdravotnické laboratoři je logické volit ke stanovení nejistoty postup „top-down“, což znamená použití dílčích nejistot, získaných měřeními preciznosti, bias, započtením nejistot referenčních (kalibračních) materiálů a jejich následnou kombinací (propagací dílčích nejistot) do hodnoty celkové kombinované nejistoty. Celková kombinovaná nejistota (u_c) je následně přepočtena na rozšířenou nejistotu (U_c) obvykle koeficientem rozšíření $k = 2$ pro 95% konfidenční interval.

Stručně a jasně je celý postup včetně nepřerušovaného řetězce metrologické návaznosti shrnut v práci italských autorů [16]. V Tabulce 3 je ukázána ekvivalence postupu stanovení nejistot podle Bragy [17] a pomocí kalkulátoru nejistot SEKK [11].

Alternativní postup typu bottom-up, hodnotící celkovou nejistotu jako kombinaci (propagaci) dílčích nejistot dílčích procesů celého měřicího postupu (nejistoty vzorkování, izolace, separace, přístrojových faktorů, analýzy dat atd.), je velmi náročný a těžko aplikovatelný ve zdravotnických laboratořích. Je však používán jako metoda volby při stanovení nejistoty hodnot certifikovaných referenčních materiálů (například v referenčních materiálech NIST SRM).

Co by měl (a doufáme, že v budoucnu bude muset) poskytnout výrobce analytických platform a testovacích souprav klinickým laboratořím podle chystané inovované normy metrologické návaznosti ISO 17511 [18]. Dostatečný popis kalibrační hierarchie při stanovení hodnot jeho kalibrátorů, tedy popis metrologické návaznosti pracovních kalibrátorů, a to důkladnější než doposud, kdy je realizován obvykle jen stručnou slovní deklarací. Dále i hodnoty nejistot pracovních kalibrátorů, což by přineslo zjednodušení a zlepšení výpočtů celkových rozšířených kombinovaných nejistot (U_c) v zdravotnických laboratořích (viz Tabulka 3). Braga a spol.

Table 2. Error versus uncertainty in four analytes with metrological traceability EQA SEKK, survey AKS 2/18

Analyte/participants (n)	TE (%) $z = 2$	TE (%) $z = 1,65$	Mean U_c (n = 123)
Sodium (348)	3.6	3.1	3.1
Potassium (348)	5.8	5.1	3.7
Glucose (357)	6.6	5.8	4.5
Creatinine (358)	10.1	8.5	6.2

U_c - expanded measurement uncertainty reported by participants (mean)

Table 3. Uncertainty measurement budget and web calculator of uncertainties SEKK

F. Braga [17]	Calculator of uncertainties in recommendation of Czech Society of Clinical Biochemistry [11]
Uncertainty of reference	Uncertainty of reference material values*
Precision	Intermediate precision (from internal quality control)
Calibration uncertainty	Bias (from EQA program or from verification results calculated according ISO 13 528)

* Only if available

publikovali [16] informace o tom, jaká data o nejistotách kalibrátorů uvádějí globální výrobci diagnostik IVD pro stanovení kreatininu. Hodnoty standardních nejistot (u_s) komerčních kalibrátorů měly nesmyslně velký rozsah (0,3 až 5,1 %) a certifikované referenční materiály, vrcholy pyramid metrologické návaznosti, nebyly v řadě případů výrobci vůbec specifikovány. Tato data nejsou navíc součástí pracovních návodů a jsou poskytována jen na přímé vyžádání. Stejní autoři studie se pokusili kvantifikovat optimální podíly dílčích nejistot na celkových nejistotách a došli k závěrům, že maximálně 1/3 celkové kombinované nejistoty u_c by měla připadnout na referenční procesy, maximálně 50 % u_c by mělo připadnout na preciznost laboratoře, zbytek by měl být rezervován pro další náhodné efekty, včetně lot-to-lot variabilit při výměnách šarží reagentů a kalibrátorů. Asi nelze očekávat obecný souhlas s těmito číselnými daty, nicméně úzká souvislost mezi referencí, rutinním měřením a stabilitou šarží reagentů a analytických platform je jasná. Kvalita referenčních procesů a stabilita kvality a vzájemná kompatibilita výrobních šarží reagentů a kalibrátorů na analytických platformách výrobců mají spolu s precizností laboratorních měření na celkové nejistotě rutinních měření rozhodující podíl.

Nejistota, biologická variabilita, referenční změny měření, kritéria externího hodnocení kvality.

Velikost nejistoty (vymežující interval, ve kterém se s vysokou pravděpodobností nachází skutečná hodnota) významně ovlivňuje kvalitu a efektivitu klinické interpretace výsledků. Hodnoty nejistot by neměly významně ovlivnit referenční intervaly a měly by být nižší než hodnoty RCV (reference change values - referenční změny po sobě následujících výsledků měření). Italská autoři demonstrují tyto premisy vyhodnocením vlivu nejistot na referenční intervaly a na referenční změny hodnot RCV u dvanácti vybraných analytů [19]. U dvou z testovaných analytů by k negativnímu ovlivnění referenčních intervalů docházet mohlo (sodný kation a celkový protein), zatímco k ovlivnění hodnot RCV vlivem nejistoty nedošlo ani u jednoho testovaného analytu.

Autoři navrhují v případech, kdy neexistuje metrologická návaznost měření, a z toho plynoucí omezení možnosti kvalifikovaného stanovení hodnoty bias, omezit stanovení nejistoty na preciznost a kompletní výpočet kombinované nejistoty ponechat na případy měření s definovanou metrologickou návazností. Samotné stanovení RCV znalost hodnoty bias nepotřebuje; je vypočteno z analytické preciznosti a individuální biologické variability. Uvedené pojetí se snaží diferencovat i mezi výpočtem nejistot k účelům interpretací výsledků pomocí referenčních intervalů a rozdílně pomocí rozhodovacích limitů (Tabulka 4). Tabulka 5 pak jednoduchým způsobem připomíná, jak mohou být rozhodovací limity, známé z mezinárodních lékařských doporučení, ovlivněny podle názoru citovaných autorů nejistotou měření.

V Tabulce 6 jsou uvedeny souvislosti hodnot nejistot s hodnotami kontrolních mezí EHK APS (analytical performance specifications; podle strategické koncepce EFLM) a s hodnotami RCV (kritických rozdílů dvou následných měření) u rutinních analytů krevního séra s existující metrologickou návazností. V tabulce bylo použito aktuálních dat ze studií pracovní skupiny EFLM pro biologickou variabilitu EuBIVAS [20 – 22]. Pojem APS, jak byl definován EFLM v roce 2015 [23] je ekvivalentní pojmu maximální akceptovatelná rozšířená nejistota měření ($U_{c,max}$), jak je definována novou normou metrologické návaznosti i pro prostředky IVD [18]. Hodnoty biologických variabilit jsou v současnosti jediným opěrným bodem, z něhož lze hodnoty APS ($U_{c,max}$) a RCV rozumně odvozovat. Hodnoty APS jsou navíc v australském programu EHK RCPA QAP (The Royal College of Pathologists of Australasia - Quality Assurance Programms) považovány za „momentálně referenční“ pro ostatní programy EHK. Hodnoty U_c účastníků programu SEKK z roku 2018 jsou určeny k posouzení kapacity českých laboratoří splnit klinické požadavky (hodnoty RCV) standardizovaných laboratorních vyšetření základních analytů séra. Z dat Tabulky 6 lze uvést následující závěry:

- Při stanovení elektrolytů jsou většinou hodnoty nejistot vyšší než hodnoty RCV, což může mít za následek komplikace při klinických interpretacích jednotlivých výsledků.

Table 4. Proposal of estimation of uncertainty in relation to performance of clinical interpretation

Monitoring of individual patients	Precision (2 SD)
Interpretation by use of reference intervals in the same method	Precision (2 SD)
Interpretation by use of decision limits in standardized methods	Combined uncertainty from precision, bias and uncertainty of reference material

Table 5. Influence of uncertainty on the decision limits

Analyte	Cut off	U_c	Cut off interval
Glucose	7 mmol/L	0.4 mmol/L (5.7 %)	6.6 - 7.4 mmol/L
Glyk. haemoglobin HbA1c	48 mmol/mol	2 mmol/mol (4.2 %)	46 - 50 mmol/mol
PSA	4 µg/L	1 µg/L (25 %)	3 - 5 µg/L
cTnl	16 ng/L	3 ng/L (19 %)	13 - 19 ng/L

Table 6. RCV and APS values, derived from biological variation according EuBIVAS

Analyte	RCV (%)	APS EuBIVAS (%)	APS EuBIVAS (%)	APS INPUTS (%)	APS RCPA-QAP (%)	U_c (%) SEKK 2018
		$z = 1.65$	$z = 1.96$	$z = 2$		
Sodium	1.6	0.6	0.7	1.1	2	3.1
Potassium	2.5	4.5	5.4	8.4	5	3.7
Calcium	4.8	2.1	2.6	3.8	4	3.9
Phosphate	21	8.9	10.8		8	5.2
Cholesterol	13	7.3	8.8	13.5	6	4.7
Chol-LDL	22.2	12	14.5			
Chol-HDL	14.6	9	10.9	17.4	12	
Triacylglycerides	55	23	29.7		12	5.2
Glucose	11.6	5.7	6.9	10.5	8	4.5
Urea	34.2	15.3	18.6		12	6.1
Uric Acid	19.7	9.9	12		8	4.8
Protein total	6.7	3.1	3.8	3.8	5	4.6
Bilirubin	63	26.4	32		12	7.2
Creatinine -enzymatic	12.7	6.4	7.6		8	6.2
Creatinine -Jaffé	17.8	7.1	8.4			6.2

Notices

APS- analytical performance specifications derived from biological variation [20, 21, 22]

RCV- reference change values in two consecutive measurements derived from analytical precision and intraindividual biological variation

EuBIVAS- working group EFLM for biological variation

RCPA QAP- provider of Australian system in external quality assurance

INPUTS- international survey of EQA in Europe 2017 [9]

- Při stanovení organických substrátů, lipidových analytů a enzymů jsou hodnoty RCV většinou významně vyšší než hodnoty nejistot, což je vhodná situace pro klinickou interpretaci.

Hodnoty APS, principiálně považované za maximální nejistoty měření, jsou v současnosti v závislosti na různých zdrojích významně odlišné, přestože jsou odvozeny pomocí stejného principu biologických variabilit. Příčinou rozdílů jsou často rozdílné hodnoty používaných koeficientů rozšíření (od 1,65 po 2,0) a také kategorizace APS na maximální, ideální (desired) a minimální. Hodnoty APS EuBIVAS jsou definovány jako ideální, hodnoty INPUTS v tabulce jsou minimálními požadavky. Navíc hodnoty APS INPUTS vycházejí z jiné staré databáze biologických variabilit (Ricos/Westgard: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>) než výsledky APS EuBIVAS -EFLM se svou připravovanou novou vlastní databází biologických variabilit).

Výpočty a interpretace chyby a nejistoty vyžadují podstatně vyšší stupeň harmonizace než je dosaženo v literatuře, o praxi v rutinních laboratořích nemluvě.

Zásadní zlepšení harmonizace měření v celosvětovém měřítku je „conditio sine qua non“ pro naléhavě potřebné zvýšení objektivit kritérií analytické kvality.

Nejistota bez standardizace

Padoan [19] a řada dalších autorů včetně doporučení GUM chápou nejistotu měření v kontextu s metrologickou návazností, hodnotami pravdivosti (bias) a standardizací a při absenci standardizace se omezují na vyjádření nejistoty jen pomocí precizností. Činští autoři se pokusili stanovit odhad nejistot podle dat vlastní EHK jen kombinací preciznosti a bias. Hodnoty bias počítají jako rozdíly výsledků laboratoří od průměrů metodických skupin, tedy bez akcentu na metrologickou návaznost [24]. Hodnoty nejistot, získané z výsledků 146 čínských účastníků programu EHK, byly však po přepočtu z dat, autory uvedených, prakticky shodné s hodnotami celkových chyb měření, a navíc závislé na použitých metodách měření. Jedná se o terminologickou nejasnost a přímé směřování pojmů chyby

a nejistoty. Snad bude tento sémantický problém vyřešen již výše zmíněnou inovovanou normou ISO 17511.

Velmi aktuální a nepříliš analyzovaná je otázka určení nejistoty imunochemických měření. Problém určení nejistoty se spatřuje v soulasu s obvyklými názory v nedostatku referenčních materiálů a referenčních metod [25]. U imunochemických stanovení jsou zatím k dispozici pouze referenční materiály pro specifické sérové proteiny (ERM DA 470k/IFCC), cystatin C (ERM DA 471/IFCC) a CRP (ERM DA 472/IFCC). V těchto případech jsou výpočty nejistot shodné s již uvedenými postupy u plně standardizovaných metod. Na závěr je vhodné uvést znovu, že nově připravovaný text normy pro metrologickou návaznost i u in vitro diagnostik ISO FDIS 17511 důsledně používá pouze koncepce nejistot a termín nejistota a pojem celkové chyby vůbec nezná.

Koncepce nejistoty je tak přiřazena ke dvojici základních indikátorů analytické kvality, preciznosti a bias, a vytváří s nimi novou třídu základních indikátorů analytické kvality.

Shrnutí

Není k dispozici celosvětový jednotný a podrobný algoritmus výpočtu nejistot pro zdravotnické laboratoře. Nejlepším způsobem je použití vhodných kalkulátorů, založených na top-down přístupu, tedy na datech vnitřní kontroly kvality, externího hodnocení kvality a nejistotách referenčních (kontrolních nebo kalibračních) materiálů. Nejistota výsledků měření velmi úzce souvisí s jeho metrologickou návazností a standardizací! Velikost nejistoty měření by neměla mít signifikantní vliv na hodnoty referenčních intervalů, rozhodovacích mezí a referenčních změn měření (RCV). U metod bez standardizace je někdy rozdíl mezi hodnotami chyb a nejistot málo významný a obě jsou výrazně závislé na použitých metodách měření. Nové normy ISO 17025 (i nově připravovaná ISO 15189:2020) a doporučení metrologické návaznosti pro IVD prostředky používají výhradně koncepci nejistot a vyhýbají se důsledně pojmu chyba.

Literatura

1. **TNI 01 0115:2009:** Mezinárodní metrologický slovník - Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM 3, UNMZ 2009).
2. **ČSN EN ISO/IEC 17025:2018** Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří. ČAS 2018.
3. **ČSN EN ISO 15189 ed. 2: 2013.** Zdravotnické laboratoře - Požadavky na kvalitu a způsobilost. ČAS 2013.
4. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). ISO, Geneva 1995, ISBN 92-67-10188-9, v roce 2008 znovu vydán s nepodstatnými změnami jako ISO/IEC Guide 98-3:2008, český překlad TNI 01 4109-3:2011 Nejistoty měření – Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM:1995).
5. **Farrance, I., Badrick, T., Frenkel, R.:** Uncertainty in measurement and total error: different roads to the same quality destination? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, 56/12, 2010-2014.
6. **Westgard, J. O., Westgard, S. A.:** Measuring analytical quality. Total analytical error versus measurement uncertainty. *Clin. Lab. Med.*, 2017, 37, 1-13.
7. **Oosterhuijs, W. P., Bayat, H., Ambruster, D., Coskun, A., Freeman, K. P., Kallner, A.** The use of error and uncertainty methods in medical laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, 56/2, 209-219.
8. **The EurA1c Trial Group:** EurA1c: the European HbA1c Trial to Investigate the Performance of HbA1c Assays in 2166 Laboratories across 17 Countries and 24 Manufacturers by Use of the IFCC Model for Quality Targets. *Clin Chem* 2018, 64/8:1183-1192.
9. **Weykamp, C., Secchiero, S., Plebani, M., Thelen, M., Cobbaert, C., Thomas, A.** Analytical performance of 17 general chemistry analytes across countries and across manufacturers with INPUtS project of EQA organizers in Italy, the Netherlands, Portugal, United Kingdom and Spain. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, 55, 203-211.
10. **Farrance, I., Badrick, T., Frenkel, R.** Uncertainty in measurement: A review of the procedures for determining uncertainty in measurement and its use in deriving the biological variation of the estimated glomerular filtration rate. *Pract. Lab. Med.*, 2018, 12, e00097.
11. Kalkulátor nejistot pro zdravotnické laboratoře. Dostupné na: www.sekk.cz/infoservis/2014_nejistoty_doporuceni.pdf
12. **Synek, V.** How to encompass an uncorrected bias into the expanded uncertainty with a fixed coverage probability: calculation procedures. *Accred. Qual. Assur.*, 2017, 2/4, 179-186.
13. **Synek, V., Plzák, Z.** Odhad nejistoty chemických měření se započtením vychýlení. Metodický list 16. Eurachem ČR 2017. Dostupné na www.eurachem.cz
14. **Magnusson, B., Ellison, S. L. R.** Treatment of uncorrected bias in uncertainty estimation for chemical measurements. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, 390, 201-213.
15. **Infusino, I., Panteghini, M.** Measurement uncertainty: friend or foe? *Clin. Biochem.*, 2018, 57, 3-6.
16. **Braga, F., Infusino, I., Panteghini, M.** Performance criteria for combined uncertainty budget in the implementation of metrological traceability. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53, 905-912.
17. **Braga, F., Panteghini, M.** Defining permissible limits for the combined uncertainty budget in the implementation of metrological traceability. *Clin. Biochem.*, 2018, 57, 7-11.
18. **ISO FDIS 17511:2019.** In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples. ISO Geneve (TC 212).
19. **Padoan, A., Sciacovelli, L., Aika, A., Antonelli, G., Plebani, M.** Measurement uncertainty in laboratory reports: A tool for improving the interpretation of test results. *Clin. Biochem.*, 2018, 57, 41-47.
20. **Aarsand, A. K., Diaz-Garzon, J., Fernández-Calle, P., Guerra, E., Locatelli, M.** The EuBIVAS: within and between-subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direct bilirubin and glucose. *Clin. Chem.*, 2018, 64/9, 1380-1393.
21. **Carobene, A., Roraas, T., Solvik, U., Sylte, M. S., Sandberg, S., Guerra, E.** Biological variation estimates obtained from 91 healthy study participants for 9 enzymes in serum. *Clin. Chem.*, 2017, 63, 1141-1150.
22. **Carobene, A., Marino, I., Coskun, A., Serteser, M., Unsal, I., Guerra, E.** The EuBivas project within- and between- subject biological variation data for serum

creatinine using enzymatic and alkaline picrate methods and implications for monitoring. *Clin. Chem.*, 2017, 63/9, 1527-1536.

23. **Sandberg, S., Fraser, C. G., Horvath, A. R., Jansen, R., Jones, G., Oosterhuis, W.** Defining analytical performance specification: Consensus statement from the 1st strategic conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53, 833-836.
24. **Qin, Y., Zhou, R., Wang, W., Yin, H., Yang, Y., Yue, Y.** Uncertainty evaluation in clinical chemistry, immunoassay, hematology and coagulation analytes using only external quality assessment data. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, 56/9, 1447-1457.
25. **Beck, S. C., Lock, R. J.** Uncertainty of measurement:

an immunology laboratory perspective. *Ann. Clin. Biochem.*, 2015, 52, 7-17.

Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 10. 12. 2018

*Adresa pro korepondenci:
RNDr. Bedřich Friedecký Ph.D.
Střelnická 1680
182 00 Praha 8
e-mail: Friedecky@sekk.cz*