

Nejistota měření

- diskusní příspěvek č. 3

Předkládám zájemcům o problematiku určení odhadu nejistoty měření kvantitativních testů k diskusi srovnání dvou oficiálních přístupů, tzv. alternativního „empirického“ s tzv. „modelovým“ dle Technické zprávy Eurolabu č. 1/2007 resp. EURO-LAB Technical Report No 1:2007, March 2007: Measurement uncertainty revised: Alternative approaches to uncertainty evaluation (1), na příkladu výpočtu odhadu nejistoty měření albuminu v séru BCG metodou systémem COBAS Integra 800 (Roche) dvěma zvolenými přístupy.

Klíčová slova: určení nejistoty měření, „modelový“ přístup, „empirický“ přístup, srovnání.

Uncertainty data obtained from two different approaches, „modelling“ and approach using proficiency testing as an „empirical“ alternative, is compared in the example of the BCG method for the albumin measurement in serum (COBAS Integra 800, Roche).

Key words: uncertainty evaluation, modelling approach, empirical approach, comparison.

Dle Technické zprávy Eurolabu č. 1/2007 (1) (dále jen zdrojový text) je obecným rysem dosud vydaných dokumentů pro stanovení odhadu nejistoty měření důraz na zjištění, že v praxi jsou často používány tzv. alternativní „empirické“ přístupy těchto výpočtů. Zdrojový text (1) se zabývá porovnáním v současnosti dostupných postupů vhodných k určení odhadu nejistoty měření kvantitativních testů. Mýlně se dle (1) například obecně míní, že „Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement“ resp. GUM (2), klí-

čový průvodce k porozumění různých přístupů vhodných pro určování odhadu nejistoty měření, prý nepřipouští jiný než tzv. „modelový“ přístup výpočtu nejistoty měření. Ve skutečnosti je tomu jinak: dokument (2) zmiňuje více tzv. alternativních „empirických“ přístupů, které jsou založeny např. na zkoumání tzv. provozních charakteristik metod, přičemž výzkumy určené na jejich ověřování jsou vedeny tak, aby zachytily podstatné vlivy mnoha relevantních zdrojů nejistoty měření. Nejběžněji se pak k určení odhadu nejistoty měření v alternativních „empirických“ přístupech používají data dokumentující variabilitu (přesnost) a správnost (vychýlení) metody. Tyto přístupy lze obecně dělit na **intra-** a **inter-** laboratorní, přičemž první typ vychází z validačních studií provedených konkrétní laboratoří, případně z dat operativního systému řízení kvality, resp. z výsledků interních kontrol kvality laboratoře (dále jen QS, resp. IKK), zatímco ten druhý se zaměřil na využití dat z cílených mezilaboratorních validačních studií, případně z běžných cyklů mezilaboratorního porovnávání vzorků, či chcete-li - z výsledků účasti konkrétní laboratoře v externích kontrolách kvality (MPV, resp. EHK, resp. dle zdrojového textu tedy údaje z tzv. „proficiency testing“- PT).

Podobné alternativní postupy jsou dle (1) plně v souladu s GUM (2) za předpokladu, že je přihlíženo k obecným principům tohoto (2) literárního zdroje.

Vždy je vyžadováno kvalifikované zacházení s údaji, resp. informacemi o zjištěném odhadu nejistoty měření s ohledem na rozsah a formu dat, jichž se údaje týkají. Například výsledky získané v rámci „empirických“ přístupů za normálních podmínek vypovídají dle (1) spíše **o chování objektu měření v obvyklých provoz-**

ních podmínkách specifické metody, zatímco výpočty nejistoty měření získané „modelovým“ postupem obecně vypovídají **o individuálním výsledku měření**.

Shrnutí: At' už je použit způsob výpočtu jakýkoli, žádný bohužel není zcela prost chyb.

Mnoho studií ukázalo, že výpočet nejistoty měření bývá často významně podhodnocen. Tak například v „modelovém“ přístupu mohou v konečném vyhodnocení chybět hlavní příspěvky nejistoty, vstupní nejistoty mohou být špatně zhodnoceny a fakticky existující korelace přehlédnuty. V „empirickém“ přístupu naopak mohou v designu experimentu zaměřeném na konkrétní provozní charakteristiky chybět signifikantní vlivy, např. reálné variace položek nebo podmínek podílejících se na směrodatné odchylce za podmínek obvyklé reprodukovatelnosti, neboť tato variabilita není experimentem věrně reprodukována. Kritickým bodem proto nadále zůstává extrapolace od speciálních umělých podmínek provozních studií do skutečné reality.

Za zvláštní zmínku stojí přístup zdrojového textu (1) k otázce zahrnutí vychýlení (bias): při validaci metody konkrétní laboratoří se při výpočtu odhadu nejistoty měření vedle míry variability (SD, resp. CV) získané za podmínek reprodukovatelnosti též posuzuje správnost metody pomocí vychýlení (bias). Cílem je, aby toto vychýlení bylo **korigováno do největší možné míry (2)** a teprve **poté, co je i po korekci verifikováno jako statisticky významné** {doporučený postup dle 5.5.2. prvku normy ČSN ISO 5725-4 (3)}, aby bylo zahrnuto jako složka do nejistoty měření. **Nejistota vztažená k bias** je zde **odhadem potenciálního reziduálního vychýlení**, které po

korekci zůstává. Zacházení s nekorigovaným vychýlením zůstává dle (1) sporným bodem, vyžadujícím informované posuzování.

Předkládáme k porovnání způsob, jeden z možných „empirických“ přístupů, který zdrojový text (1) v kapitole 2 nazývá „využití dat z MPV pro výpočet nejistoty měření“ a označuje jej v konkrétní podobě v části kapitoly 2.4 jako tzv. „Nordtest Handbook“ přístup, v němž je určení odhadu nejistoty měření **kombinací míry variability** konkrétní laboratoře **za podmínek reprodukovatelnosti** (SD, resp. CV za podmínek reprodukovatelnosti) **s odhadem reziduálního vychýlení** (metody + laboratoře) s použitím dat z MPV.

Nechť

$$U = k * u = k \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2}$$

je vzorec 2.4 dle (1) pro výpočet **rozšířené nejistoty měření**, kde U je rozšířená nejistota, k je faktor pokrytí, u je kombinovaná standardní nejistota, $u(R_w)$ je standardní odchylka laboratoře za podmínek reprodukovatelnosti z údajů IKK a $u(bias)$ je složka nejistoty odvozená ze souhrnného vychýlení daného metodou a laboratoří společně a odhaduje se z dat získaných v MPV.

Nechť pak

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(C_{ref})^2}$$

je vzorec 2.5 dle (1) pro výpočet **nejistoty vztahované k bias**, kde RMS_{bias} je odmocnina průměru čtverců (kořenový střední čtverec tzv. kvadratický průměr) všech hodnot vychýlení a $u(C_{ref})$ je průměrná nejistota stanovené hodnoty, což v „Nordtest Handbook“ přístupu znamená odhad její průměrné hodnoty ze všech zahrnutých cyklů (jestliže se nejčastěji používají relativní standardní nejistoty = průměr odpovídajících variačních koeficientů).

Aplikováno do naší praxe: určení odhadu nejistoty měření veličiny předkládáme na příkladě stanovení albuminu v séru BCG metodou systémem Roche Integra 800, kdy jsme v konkrétním případě použili 10 výsledků získaných v 10 po sobě jdoucích cyklech mezilaboratorního porovnávání vzorků od června 2006 do června 2007 (minimální nezbytný počet účasti

Metoda -název, č. cyklu	SD _R	Result g/l	Mean Target g/l	n	Albumin u(C _{ref}) %	Albumin bias %	Albumin u(R _w) %
1	1,25	28	28,9	60	0,5584	-3,1142	1,09
2	1,99	40,5	41,8	73	0,5572	-3,1100	
3	1,63	37,9	36,7	68	0,5386	3,2698	
4	1,21	24,4	24,5	82	0,5454	-0,4082	
5	1,8	44,2	42,3	86	0,4589	4,4917	
6	1,61	35,7	36,4	92	0,4611	-1,9231	
7	1,11	24,4	24,3	94	0,4711	0,4115	
8	1,28	28,1	28,7	85	0,4837	-2,091	
9	1,34	35,8	36,5	95	0,3767	-1,9178	
10	1,86	41,2	42,3	90	0,4635	-2,6005	
$\bar{u}(C_{ref})$					0,4915	6,9083	
RMS_{bias}						2,6284	

Tabulka č. 1

v MPV činí dle (1) šest cyklů), které nám byly k dispozici v rámci programu Monthly Clinical Chemistry EQAS (Bio-Rad). Tabulka č. 1 uvádí dílčí výsledky potřebné ke konečnému výpočtu nejistoty měření albuminu podle výše uvedené rovnice (vzorec 2.4).

V tabulce jsou ve sloupcích po řadě uvedeny: směrodatné odchylky získané za podmínek reprodukovatelnosti v jednotlivých cyklech EQAS (SD_R), dále pak hodnoty měřené veličiny tj. albuminu v séru stanovené v jednotlivých cyklech naší laboratoří (**Result**) a nakonec tzv. cílové hodnoty příslušné skupiny účastníků cyklu, k nimž je daný parametr v daném cyklu „zacílen“ (**Mean Target**). Hodnota n = uvádí počet účastníků jednotlivých cyklů. Odhad nejistoty konkrétního referenčního materiálu je proveden podle (1) části 2.4.1. ve sloupci označeném jako „Albumin $u(C_{ref})$ “ pro každý cyklus zvlášť jako standardní nejistota v % tj.

$$u(C_{ref}) = \left(\frac{SD_R / \sqrt{n}}{0,01 * Mean Target} \right)$$

a jejich průměrná hodnota uvedená v patě tohoto sloupce je označena jako $\bar{u}(C_{ref})$.

V sloupci označeném jako „Albumin bias“ jsou uvedena data konkrétních vychýlení našich výsledků měření daných cyklů oproti cílovým hodnotám dané metody a cyklu a v patě tohoto sloupce je proveden výpočet RMS_{bias} tj. odmocnina průměru čtverců všech hodnot zahrnutých vychýlení z 10 cyklů EQAS.

Poslední údaj v sedmém sloupci tabulky je průměrný variační koeficient interní kontroly kvality určené ke sledování fyziologického rozmezí měřené veličiny, zjištěný za podmínek reprodukovatelnosti za jedno čtvrtletí sledovaného roku.

V následujícím kroku určení odhadu nejistoty měření jsme provedli dílčí výpočet standardní nejistoty vztahované k reziduálnímu bias (metody & laboratoře) dle vzorce 2.5. (1):

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + \bar{u}(C_{ref})^2} = \sqrt{2,6284^2 + 0,4915^2} = 2,67 \%$$

Posledním krokem určení odhadu nejistoty měření bylo provedení výpočtu rozšířené kombinované nejistoty měření podle vzorce 2.4. (1):

$$U = k * u = k \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 2 \sqrt{1,09^2 + 2,674^2} = 5,78 \%$$

Ve druhé fázi srovnávání uvádíme výsledek určení odhadu nejistoty měření měřené veličiny - albuminu v séru metodou BCG systémem Roche Integra 800 z validační studie provedené v naší laboratoři při zavádění této metody. K odhadu nejistoty **analytické fáze** bylo použito přímého opakovaného měření vhodného certifikovaného materiálu a dále opakovaného měření směšného séra. Tento postup lze do jisté míry považovat za krajně zjednodušený „modelový“ přístup a k určení odhadu nejistoty analytické fáze měření jsme použili námi již dříve publikovaný vzorec (4):

$$U_{r3} = 2 \sqrt{\frac{SD_R^2}{n_1} + \frac{s_r^2}{n_2} + u_{CRM}^2} =$$

$$= 2 \sqrt{0,28^2 + 0,23^2 + 0,64^2}$$

Pozn: SD jako složky nejistoty jsou převedeny na %, resp. vyjádřeny jako CV

pak $U_{r3} = 1,47\%$, z toho kombinovaná nejistota analytické fáze $U_{c3} = U_{r3}/2 = 0,735\%$.

Celková výše nejistoty měření po zahrnutí preanalytické složky ve formě intra-individuální variability albuminu v séru $u_{preanal} = 3,1\%$ dle literárního zdroje (5) a poté rozšířená parametrem pokrytí $k = 2$ pak činí:

$$U_r = 2 \sqrt{u_{preanal} + U_{c3}}$$

$$= 2 \sqrt{3,1^2 + 0,735^2} = 6,37\%$$

Nejistota zjednodušeného „modelového“ přístupu je dále srovnána s předchozím výpočtem dle „empirického“ přístupu vycházejícího z MPV a výsledky uvádí tabulka č. 2:

	Rozšířená kombinovaná nejistota	
Analyt	Modelový přístup	Empirický přístup vycházejícího z MPV
Albumin	6,37 %	5,78 %

Tabulka č. 2

Závěry:

1. Z dobré shody obou odhadů nejistot měření získaných pomocí dvou různých přístupů lze vyvodit, že v našem „modelovém“ přístupu nebyl žádný z významných vlivů přehlédnut.
2. Zatímco v našem „modelovém“ přístupu je hlavní složkou nejistoty intraindividuální variabilita zkoumaného parametru, v jeho alternativní „empirické“ podobě tvoří hlavní složku odhad reziduálního bias (viz konstatování z úvodu tohoto sdělení - o čem vypovídají rozdílné přístupy: o výsledku *versus* o metodě). Za povšimnutí stojí, že celkové vychýlení (dané metody & laboratoře) je typickým příkladem tzv. nekonzistentního vychýlení tj., že se jeho směr cyklus od cyklu liší, na čemž se může významně podílet komutabilita použitých referenčních materiálů. Jiný postup ošetření takového nekorigova-

ného bias lze nalézt na www.nist.gov (5) - v příručce (handbook) zabývající se metrologií, kde se mj. v pěti bodech stanoví nezbytné vlastnosti nejistoty po jejím nastavení zohledňujícím i neodstranitelná vychýlení.

3. Velikost konkrétního vychýlení je závislá na správném určení cílové „stanovené hodnoty“ a při hodnocení cyklů jakéhokoliv MPV, resp. EHK je kriticky svázána s počtem účastníků daného cyklu a jejich poctivým přístupem a to nejen ve smyslu uvádění hodnot výsledků pod správným kódem typu metody, resp. skupiny.
4. Výsledná hodnota odhadu nejistoty měření je v tomto empirickém přístupu závislá také na variabilitě kontrolních materiálů, často významně různé na různých hladinách měřené veličiny. Otázkou zůstává, jak tuto rozdílnou variabilitu jednoduše a vhodně interpolovat do nejistoty konkrétního výsledku při rutinním měření.
5. Průměrná nejistota použitých referenčních materiálů, určená jako průměrná relativní standardní nejistota, činila cca 0,50 % a byla v uvedeném příkladě

v překvapivě dobré shodě s údajem uvedeným výrobcem konkrétního referenčního materiálu použitého v modelovém přístupu (0,64 %), tj. „Nordtest Handbook“ přístup v podstatě umožňuje odhad nejistoty použitých kontrolních materiálů. Do výpočtu průměrné hodnoty je však možno zařadit jen navzájem konsistentní standardní nejistoty zahrnutých cyklů.

6. Určení odhadu nejistoty měření dle našeho „empirického“ přístupu vycházejícího z MPV bylo celkem provedeno u 28 analytů. Dobré shody dvou výše uvedených srovnávaných přístupů, které jsme použili pro určení odhadu nejistoty měření, bylo dosaženo ve 23 případech. Problematickými byl shledán odhad reziduálního bias následujících měřených veličin, resp. analytů: kreatinin, AST, HDL cholesterol, GMT a LD; u každé měřené veličiny byl problém přičítán jinému důvodu: například u kreatininu dával jeden typ kontrol s nízkou stanovenou hodnotou analytu systematicky nižší výsledky, u metody ke stanovení AST byl nízký počet účastníků se shodnou metodou ve sledovaných cyklech a výsledky HDL cholesterolu lze patrně zpochybnit nevhodnou volbou kontrolního materiálu.

Na závěr mi dovoluje poděkovat všem čtenářům a spolupracovníkům za další podněty k práci.

Literatura:

1. Eurolab Technical Report No.1/2007;
2. BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC IUPAP, OIML: Guide to the expression of uncertainty in measurement; 1. vydání. Ženeva; ISO, 1993;
3. ISO: ČSN ISO 5725-4: Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření - Část 4: Základní metody pro stanovení správnosti normalizované metody, ČNI 1996;
4. J. Ambrožová: Nejistota měření - příspěvek k diskusi: Labor Aktuell 3/05;
5. C. G. Fraser: Biological Variation From Principles to Practice, ACC Press, 2001;
6. <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/mpc/section5/mpc58.htm>

