



# Návaznost a nejistota

**Nejistota je parametr spojený s výsledkem měření, popisující rozptyl hodnot, který může být právoplatně přiřazen k měřené veličině. (EURACHEM / CITAC Guide: quantifying Uncertainty in Analytical Measurement)**

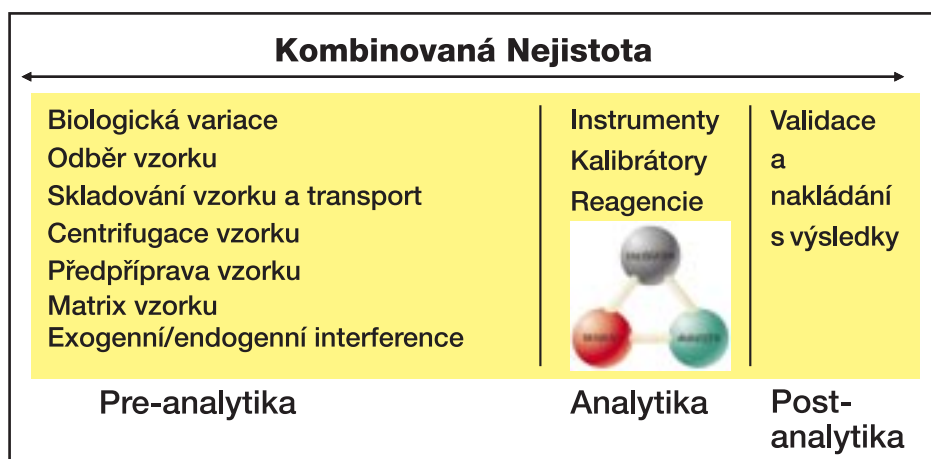
Bylo by krásné, kdyby všechny laboratoře mohly stanovit požadovanou veličinu ve shodném vzorku shodně. I při zachování všech pravidel a maximální pečlivosti to není možné. I kdyby všechny laboratoře používaly stejné systémy, stejné reagentie a stejné kalibrátory - tedy známý trojúhelník požadovaný IVDD, budou se jejich výsledky lišit. Sám výrobce je schopen přenést na komerční kalibrátor hodnotu daného parametru z primárního nebo referenčního kalibrátoru, resp. referenční metody s určitou chybou, která se zvyšuje s počtem kroků, potřebných k tomuto přenosu. Tuto chybu výrobce pro daný systém (analyzátor-reagentie-kalibrátor) definuje jako nejistotu hodnoty komerčního kalibrátoru.

Celková kombinovaná nejistota stanovení je dána kombinací všech činitelů, které mohou mít vliv na konečný výsledek. Tyto vlivy jsou shrnuty v následující tabulce (obr. 1).

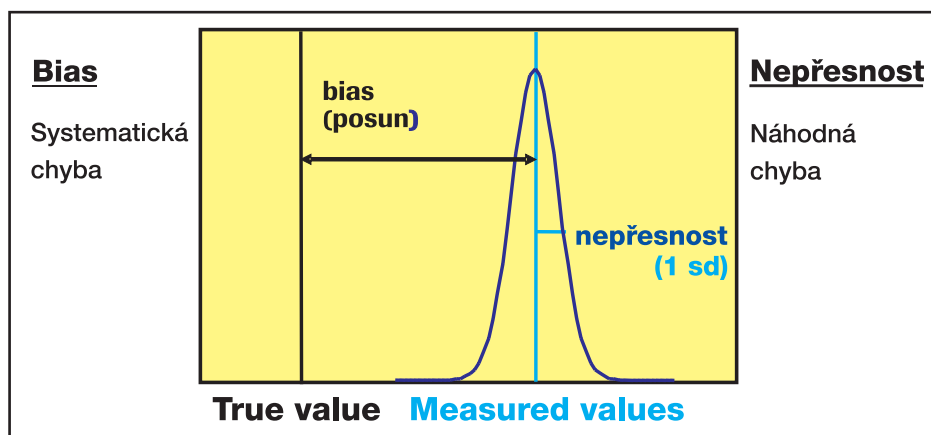
Z tohoto schématu je zřejmé, že nejistota, která je plně závislá na laboratoři, se týká analytiky a proto se nazývá analytická nejistota. Ta je součtem bias, tedy posunu nebo systematické chyby a nepřesnosti stanovení, tedy náhodné chyby (obr. 2).

Správná hodnota se tedy pohybuje se stejnou pravděpodobností uvnitř „okna“ nebo „krabice“, která je vymezena naměřenou hodnotou a analytickou nejistotou (obr. 3).

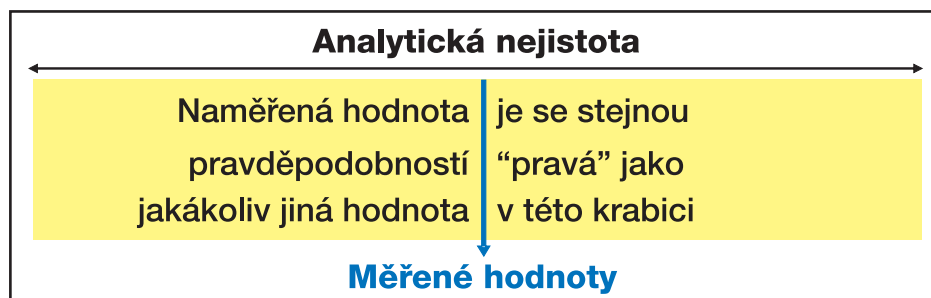
Pro posouzení toho, zda se kontrola nachází v požadovaném rozmezí, resp. jestli je výsledek pacienta v referenčním



Obr. 1.



Obr. 2.

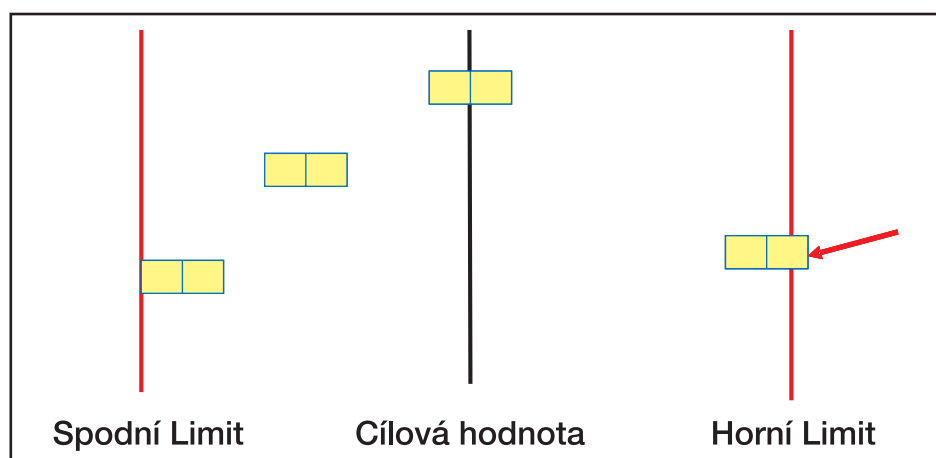


Obr. 3.

rozmezí, je nutno brát v úvahu tuto analytickou nejistotu. Aby se „vešel“ do požadovaného rozmezí, musí se tam vejít celá krabice. Přesahuje-li krabice toto rozmezí, může být výsledek se stejnou pravděpodobností uvnitř nebo vně (obr. 4).

rolních materiálů ovlivňuje jednotlivé šarže reagensů různě, a proto se mohou cílové hodnoty jednotlivých šarží reagensie v rámci jedné šarže kontroly lišit. To pak celou záležitost výpočtu komplikuje.

tato studie měla pokrývat minimálně tři šarže reagensií. Pro rychlý odhad nejistoty lze použít i jiné modely. Jeden z nich vám předkládáme. Důležité je, že pro něj lze použít informace, které můžete získat v dostupných dokumentech firmy Roche.



Obr. 4.

Je proto zřejmé, že analytická nejistota pro daný parametr je důležitá veličina. Pro její výpočet doporučuje firma Roche dva modely založené na krátkodobé a dlouhodobé nepřesnosti. Všechny tři členy známého trojúhelníku kalibrátor-reagensie-systém ovlivňují analytickou nejistotu.



### Kalibrátor

Firma Roche uvádí pro všechny své kalibrátory a kontrolní materiály vypočítané nejistoty v dokumentu „Traceability and Uncertainty“ pro každý kalibrační resp. kontrolní materiál. Nejistoty jsou vypočítány pro typickou hodnotu a jsou platné pro tento materiál bez ohledu na šarži.



### Reagensie

Příspěvek reagensie založený na krátkodobé nepřesnosti musí být odhadnut.

Příspěvek nejistoty z reagensie založený na dlouhodobé nepřesnosti bude zahrnut v dlouhodobé nepřesnosti kontroly nebo poolu pokrývající alespoň tři šarže reagensií.

Použití směsného poolu založeného na lidském séru se preferuje na heterogenní imunoanalýzu, protože matrix efekt objevující se především u uměle připravených kont-



### Přístroj

Příspěvek přístroje založený na krátkodobé nepřesnosti musí být odhadnut. Příspěvek nejistoty založený na dlouhodobé nepřesnosti bude zahrnut v dlouhodobé nepřesnosti kontrolního vzorku nebo stabilního poolu, pokud jsou prováděny na daném přístroji všechny předepsané údržbové kroky.

Model výpočtu analytické nejistoty založený na datech dlouhodobé nepřesnosti je jednodušší, protože jak je uvedeno výše, jsou příspěvky reagensie a přístroje zahrnuty v datech nepřesnosti za předpokladu, že byly použity alespoň 3 šarže reagensií a na přístroji byla prováděna pravidelně předepsaná údržba:

$$U_{\text{analytical}}(y) = \sqrt{\text{Cal}^2 + \text{Impr}^2}$$

kde  $U_{\text{analytical}}(y)$  je analytická nejistota,  $\text{Cal}$  je nejistota kalibrátoru pro hodnotu ( $y$ )

$\text{Impr}$  je dlouhodobá nepřesnost

Pro výpočet dlouhodobé nejistoty existují různá doporučení a rozhodně se necítím být odborníkem na posuzování jejich vhodnosti. Jak napovídá název, jedná se o dlouhodobou záležitost, protože by

$$U_{\text{analytical}}(y) = \sqrt{\text{Cal}^2 + \text{Impr}^2 + \text{Instr}^2 + \text{Reag}^2}$$

kde  $U_{\text{analytical}}(y)$  je analytická nejistota,  $\text{Cal}$  je nejistota kalibrátoru pro hodnotu ( $y$ )

$\text{Impr}$  je krátkodobá nepřesnost\*

$\text{Instr}$  je variace přístroje

$\text{Reag}$  je variace reagensie

\* data z celkové nepřesnosti laboratoře, nebo z příbalového letáku.

V následující části je uveden příklad výpočtu analytické nejistoty pro ALT s aktivitou 0,70  $\mu\text{kat/l}$ , s použitím běžně dostupných údajů z materiálů firmy Roche. Tato data se samozřejmě týkají systémů, reagensií a kalibrátorů firmy Roche při zachování všech doporučení včetně pravidelně předepsané údržby přístrojů.

$U(\text{CfaS}; 1,57 \mu\text{kat/l})$  0,0190  
*Dokument Traceability and Uncertainty (obr. 5)*

$U(\text{Cal}; 0,70 \mu\text{kat/l})$  0,0190  
*předpokládáme stejnou hodnotu jako CfaS (obr. 6)*

Nepřesnost při 0,70  $\mu\text{kat/l}$  0,0616  
*2 SD z příbalového letáku (obr. 7)*

Variace přístroje  $\mu\text{kat/l}$  0,035  
*odhad 5%*

Variace reagensie  $\mu\text{kat/l}$  0,021  
*odhad 3%*

$$U_{\text{analytical}}(y) = \sqrt{\text{Cal}^2 + \text{Impr}^2 + \text{Instr}^2 + \text{Reag}^2} = \sqrt{0,019^2 + 0,0616^2 + 0,035^2 + 0,021^2}$$

**Analytická nejistota při 0,70  $\mu\text{kat/l}$  je  $U_{\text{analytical}} = 0,076 \mu\text{kat/l}$ ,  $k = 2$**

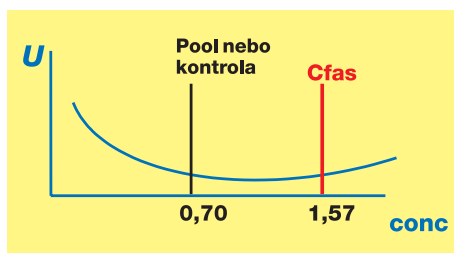
SD vypočítáno jako průměr  $\times$  %VK  
(0,70  $\mu\text{kat/l} \times 0,044 = 0,0308 \mu\text{kat/l}$ )

Stejným způsobem lze vypočítat nejistoty i pro ostatní parametry včetně parametrů heterogenní imunoanalýzy.

Tento článek je pokusem o přetlumo-

Roche Method/ Roche/Hitachi System	Reference Method	Reference Material	Substrate Measurement Parameters	Calibrator Value	Uncertainty *	Unit
ALT (ALAT / EPT) Alanine Aminotransferase IFCC / SRIC / SIOC with pyridoxal-phosphate 27°C	Original formula: IFCC [1995], manual measurement			84.1 1.67	1.14 0.0100	U/L µkat/l
ALT (ALAT / EPT) Alanine Aminotransferase IFCC / IFCC modified without pyridoxal-phosphate 37°C	Original formula: IFCC [1995], manual measurement			81.1 1.52	1.20 0.0090	U/L µkat/l
ALT (ALAT / EPT) Alanine Aminotransferase DGRC (1995) 37°C			Roche reagent, manual measurement	80.0 1.61	3.32 0.027	U/L µkat/l
AMYL α-Amylase IFCC Apaf IFCC/IFCC reagent 37°C	Roche reagent according to IFCC (1995), manual measurement			192 5.21	4.12 0.0080	U/L µkat/l
AMYL-P Pancreatic α-amylase Liquor 37°C			Roche reagent, manual measurement	195 5.36	1.36 0.0096	U/L µkat/l

Obr. 5.



Obr. 6.

Vzorek	V sérii			Mezi sériemi		
	Průměr		%VK	Průměr		%VK
	U/l	µkat/l		U/l	µkat/l	
Lidské sérum	42	0.70	1.6	42	0.70	4.4
Precinorm U	59	0.98	2.9	55	0.92	3.7
Precipath U	129	2.15	0.7	130	2.17	3.3

Obr. 7.

čení přednášky kolegyně Yvonne Coucher a Brit-Marie Ödlund z Roche Diagnostics Scandinavia AB, kterou mi laskavě poskytly, a kterou jsem pro nedostatek času nemohl proslovit na našem setkání se zákazníky v loňském roce v Jindřichově Hradci. Tam jsem slíbil, že se pokusím převést tuto prezentaci do psané formy, o což jsem se tímto článkem pokusil.

Hlavním důvodem mého výletu na pro mě trochu nejistou půdu bylo pokusit se informovat naše zákazníky, že firma Roche poskytuje všechny důležité informace související s IVDD a hlavně kde se tyto údaje dají získat.

Je samozřejmé, že tyto údaje jsou validní pouze pro uživatele kompletních systémů (stále dokola citovaný trojúhelník

kalibrátor-reagencie-přístroj), tak jak to definuje IVDD. Pro ně jsme pro snazší dostupnost připravili CD s kompletními dokumenty pro klinickou chemii („Traceability and Uncertainty“ všech kalibračních a kontrolních materiálů Roche a všechny příbalové letáky v českém jazyce). Kolegové, kteří mají na starost heterogenní imunoanalýzu, takovéto informace dodávají průběžně v tištěné formě - jsou součástí pravidelných aktualizací Aplikačního manuálu.

Nový koncept přístrojů cobas, jehož první představitel řada cobas 6000 pro střední laboratoře bude uvedena na trh

v tomto čtvrtletí, zajistí kromě aplikací a hodnot všech aktuálních kalibrátorů a kontrol všechny tyto dokumenty prakticky „on-line“ prostřednictvím Cobas Link. Naši uživatelé budou mít díky „e-library“, která je součástí Cobas Link všechny dokumenty potřebné pro takovéto výpočty k dispozici kdykoliv a v aktuální podobě.

## Nový test pro lepší detekci virů HIV a hepatitid v dárcovské krvi získal značku CE

Roche Diagnostics automatizuje a zjednodušuje PCR skrining dárcovské krve, namísto 3 testů zavádí 1, přičemž později mohou být do systému přidány další testy.

3. března 2006 obdržela společnost Roche Diagnostics CE značku na test Cobas TaqScreen MPX, který umožňuje simultánní detekci několika virů v dárcovské krvi. CE značka dává Roche možnost prodávat tento test v zemích Evrop-

ské Unie. Test usnadňuje práci v laboratoři a zlepšuje bezpečnost krevních transfúzí, protože umožňuje krevním bankám nahradit 3 různé PCR testy (HIV-1, Hepatitis B, Hepatitis C) jedním testem k detekci HIV-1, HIV-2, hepatitidy B a C. Test se může použít na plnou krev, plazmu, orgány a tkáň živých dárců.

Test Cobas TaqScreen MPX je prvním z několika testů speciálně vyvinutých k použití na novém analyzátoru Cobas S 201, který plně automatizuje všechny kroky ve skriningovém procesu, zlepšuje efektivitu laboratoře a redukuje potenciální lidskou chybu při manuální práci. Modulární design Cobasu S 201 nabízí krevním bankám flexibilitu při personalizaci přístrojového vybavení.