

Kultivace výpočtu nejistot měření analytů klinické biochemie pomocí biologických variací a vnitřní kontroly kvality

Friedecký B.

SOUHRN

Nejistota měření je klíčový indikátor analytické kvality v klinických laboratořích. Prezentace hodnot nejistot je pro klinické laboratoře vyžadována akreditační normou ISO 15189:2022. Sdělení ukazuje zcela nevyhovující stav výpočtů a prezentace nejistot měření analytů klinické biochemie v českých klinických laboratořích. Sdělení dále obsahuje informace, které by měly pomoci tento stav významně zlepšit. Zejména pak s využitím databáze EFLM biologických variací.

Klíčová slova: nejistota měření, ISO 15189, biologické variace, EFLM, milánský model.

SUMMARY

Friedecký B.: Cultivating the calculation of clinical biochemistry analyte measurement uncertainties using biological variation and internal quality control

Measurement uncertainty is key parameter for assessment of analytical quality and also requirement for laboratory accreditation according to ISO 15189:2022. This publication shows very poor state of situation in the level of calculation and presentation measurement uncertainty values in Czech republic. This work deals with current possibilities to elevate and harmonize these situation. Namely the recently created EFLM database of biological variation is recommended for using this purpose.

Keywords: measurement uncertainty, ISO 15189, biological variation, EFLM, milano model.

Z normy ISO 15189:2022 plyne pro klinické laboratoře povinnost vyhodnocovat, aktualizovat a dokumentovat nejistoty měření [1]. Dále jsou laboratoře povinny konfrontovat získané hodnoty s požadavky a specifikacemi na ně kladenými, zejména při verifikacích a validacích (odstavec 7.3.4.). Nejistota měření hraje roli [2]:

- dominantního kritéria jeho kvality
- charakteristického znaku měřících systémů a výrobků IVD
- kritéria klinické efektivity měření jednotlivých analytů (outcome)

Výpočet hodnot nejistot měření je obtížný, výsledky, dosažené pomocí různých přístupů vykazují významné

odchyly a jejich objektivní hodnocení je nesnadné. Cílem prezentace je přispět k mezilaboratorní harmonizaci procesu aplikací soudobých literárních zdrojů.

Zdroje dat

Hodnoty EFLM (Evropská federace laboratorní medicíny) jsou převzaty z databáze biologických variací [3], hodnoty SEKK z dat účastníků EHK, hodnoty U_{crm} a U_{nist} z certifikátů kontrolních materiálů SEKK a z certifikovaných referenčních materiálů SRM-NIST a ERM (evropské referenční materiály)

Table 1. Main EQA studies using commutable control materials in last five years

EFLM BV desirable	$U = 2 \times 0.5 \times CV_i$
EFLM BV optimal	$U = 0.25 \times CV_i$
EFLM BV minimal	$U = 2 \times 0.75 \times CV_i$
SEKK mean	mean of uncertainty in survey AKS1/2023
SEKK minimal	minimal uncertainty in survey AKS 1/2013
SEKK maximal	maximal value of uncertainty in survey AKS 1/2023
U_{crm}	expanded uncertainty of target value of control material AKS 1/2023
U_{nist}	expanded uncertainty from certificate of SRM - NIST or ERM - DA, (proteins) ERM AD (enzymes)

Legend: EFLM BV - European Federation of Laboratory Medicine biological variation database, CV_i % Intra-individual biological variation

Table 2. Expanded uncertainties of EFLM, participants of SEKK program and certificates of reference materials

	EFLM BV*	EFLM BV**	EFLM BV***	SEKK	SEKK _{min}	SEKK _{max}	U _{crm}	U _{nist}	Braga
ALT	10.1	5.1	15.1	5.35	0.3	14.0	2.4		9.3
AMY	6.6	3.3	9.9	4.40	0.3	20.0	2.8	2.6	6.3
Ca	1.8	0.9	2.7	3.20	1.5	6.5	1.6	1.1	1.8
Chol	5.3	2.6	7.9	3.65	0.2	8.7	1.2	1.2-2.2	6.0
Krea	4.5	2.3	6.8	4.75	2.1	11.0	1.2	2.1-2.9	4.4
GGT	9.1	4.5	13.6	4.65	1.0	14.0	2.6	2.1	8.9
Glu	5.0	2.5	7.5	3.30	1.1	7.8	1.0	1.4	4.0
HbA _{1c}	1.6	0.8	2.4	4.70	1.9	15.0	0.9		6.0
IgA	5.7	2.9	8.6	6.30	0.01	14.0		2.8	5.0
IgG	3.5	1.8	5.3	5.10	0.02	14.0		2.0	4.4
IgM	5.9	3.0	8.9	6.80	0.01	17.0		3.7	5.9
LD		5.2	2.6-7.8	5.35	1.9-15.0			2.4	5.2
P		7.8	3.9-11.7	4.05	1.4-14.0				
K		4.1	2.0-6.1	2.45	0.02-6.10		1.5	1.6	4.0
TP		2.6	1.3-3.9	3.45	1.0-8.8		2.1	1.9	1.6
TAG		19.1	9.9-29.8	4.30	0.6-12.0				19.8

Legend: EFLM BV*- desirable values, EFLM BV**- optimal values, EFLM BV***- minimal values, Braga uncertainty calculated by mean of milan model

Určení hodnot nejistot

V EFLM databázi jsou hodnoty kombinovaných rozšířených nejistot ($k = 2$) určeny jak násobek hodnot individuálních biologických variací, zjištěných u souborů pacientů bez symptomů choroby ve studiích EuBIVAS (European Biological Variation Study). Souhrn výsledků řady těchto studií lze nalézt v práci [4]. Hodnoty nejistot (MAU-maximum allowable uncertainty), uveřejněné v této databázi jsou diferencované na žádoucí, optimální a minimálně požadované v souladu s milánským modelem specifikace požadavků na kvalitu [5] - viz Tabulka 2.

Hodnoty nejistot účastníků programu EHK-SEKK jsou monitorované a vyhodnocované již řadu let. Od roku 2021 mají účastníci k dispozici i doporučený postup výpočtu [7]. Nejistoty účastníků programu EHK-SEKK jsou publikovány u několika kontrolních programů (analyty séra, HbA_{1c}, proteiny) již řadu let, v současnosti 1x ročně. Jsou uvedeny údaje laboratoří (jejich průměry, minimální a maximální hodnoty).

Komentář hodnot a jejich intervalů

Hraniční meze pro reálně možné kalkulované hodnoty nejistot jsou $\leq U_{\text{crm}}$ pro dolní mez při teoretické situaci hodnoty $CV\% = 0$ a $\geq APS (D_{\text{max}})$, kontrolní limit) programu EHK pro horní mez, která ještě dovolí vyhovět jeho požadavkům. Nejistoty nižší, než nejistota certifikovaného referenčního materiálu a vyšší, než APS-EHK nelze považovat za reálně, ale apriori za chybné.

Výsledky účastníků SEKK jsou publikovány v hodnotících komentářích kontrolních programů formou

tabulek a graficky. U nejistot, vykalkulovaných účastníky programů SEKK jsou v Tabulce 2 uvedeny i jejich minimální a maximální uváděné výsledky. Asi 25-30 % výsledků je zjevně chybných a zpětná vazba ani zlepšování nejsou v průběhu řady let pozorovatelné. Sledování v čase ukazuje, že žádné úsilí napravit neúnosnou situaci ISO 15189 neexistuje. Momentálně jsou hodnoty nejistot jako kritéria kvality a laboratorních akreditací podle této nespolehlivosti jejich stanovení de facto ignorované. V období, kdy koncepce nejistot se stává podle EFLM a milánského modelu osou sledování kvality a harmonizace měření, to není dobrá zpráva.

Tabulka 2 umožňuje porovnání nejistot účastníků programů SEKK s hodnotami nejistot, odvozených z biologických variací EFLM [3].

U hodnot EFLM jsou uvedena kromě středních (žádoucích-desirable hodnot) rozmezí, odpovídají intervalům optimálních a minimálních požadovaných hodnot. Diference mezi hodnotami průměrů kalkulovaných nejistot v SEKK a hodnotami EFLM existují, ale nejsou zdaleka tak dramatické jako ty mezilaboratorní v programech SEKK.

U analytů s patřičnou úrovní standardizace jsou v Tabulce 2 uvedeny i hodnoty nejistot, odečtené z certifikátů referenčních materiálů. Ty reprezentují při výpočtu kombinované nejistoty dílčí nejistotu bias [2,8].

Hodnoty nejistot klíčových analytů klinické biochemie a jejich souvislost s biologickými variacemi a milánským modelem byly ověřovány Bragou a spol. [12,16]. Jsou téměř totožné s nejistotami z EFLM databáze (viz poslední sloupec Tabulky 2).

Nejistota vs celková chyba v programech EHK

K výpočtům nejistot se používá obecně algoritmu součtu druhých mocnin diferencí od střední (vztažné) hodnoty. Postup GUM (Guide to the uncertainty in measurement) je detailně uveden v materiálech BIMP (Mezinárodní úřad pro míry a váhy) v publikovaném znění [9] a přeložen do českého jazyka (Sborník technické dokumentace UNMZ 2012). Jde tedy o materiál, který by měl být v laboratořích a při jejich hodnocení brán velmi vážně.

V hodnocení analytické kvality měření v klinických laboratořích je však řadu let zaveden klasický lineární postup výpočtu celkové chyby měření (koncept celkové chyby).

Existuje významná kontroverze mezi oběma (lineárním a kvadratickým) přístupy, zejména pak v otázce, který z nich by měl dominovat při hodnocení programů EHK.

Westgard a spol. zůstávají až do současnosti věrní lineárního konceptu (s návazností na sigmometrií), jak je zřejmé z publikace [10], Oosterhuis a spol. se snaží o kompromis mezi nejistotou, která by dominovala u validací a verifikací a celkovou chybou jako nástroje pro EHK.

Další skupina dává přednost jednoznačně koncepci nejistoty i pro programy EHK, zejména jejich APS (analytical performance specification) hodnotám [12,13].

Databáze biologických variací, jakožto nástroje milánského modelu, recentně prosazovaného úspěšně ve světě, volí kompromis a operuje jak s nejistotou (hodnota MAU), tak i s celkovou chybou (TAE).

Návrh pracovní skupiny EFLM pro praktickou aplikaci nejistoty

Pracovní skupina EFLM pro praktickou aplikaci nejistoty měření u vědomí komplikovanosti problému publikovala recentně návrh jednoduchého, všeobecně akceptovatelného přístupu k nejistotám [8]. Tento návrh současně zohledňuje nejen obtíže s výpočty, ale i s komutabilitou a s omezeným počtem přístupných dat o nejistotách hodnot referenčních materiálů (U_{cm}).

Schéma návrhu je následující:

- Použít laboratorní vnitřní kontroly kvality (IQC)
- Hodnotit nejistotu vždy pro jednu šarži kontrolního materiálu
- Použít více než 300 výsledků měření téže šarže
- Změna šarže znamená rekalkulaci nejistoty
- Číselnou hodnotou standardní nejistoty (u) je hodnota mezilehlé preciznosti za výše uvedených podmínek
- Výslednou hodnotou je rozšířená nejistota $U=2 \times u$
- Ke stanovení nejistot se může použít software vnitřní kontroly kvality

Simplifikace postupu by za cenu určitého snížení exaktnosti mohla významně přispět k vyřešení dilematu mezi povinností a dosavadními obtížemi její praktické realizace. Nejistoty, udávané v databázi EFLM bio-

gických variací [1] by mohly pak sloužit jako reference a uvedená databáze by mohla naplnit i svou praktickou funkci.

Shrnutí

Monitorování nejistot v programu SEKK ani vytvoření dokumentu s popisem exaktního postupu stanovení nezaručilo potřebnou a požadovanou úroveň jejich výpočtu, prezentace a dokumentace. Široká publikace milánského modelu analytické kvality, vytvoření a využití databáze EFLM biologických variací a návrh konsensu jednoduchého výpočtu na bázi vnitřní kontroly kvality otevírá snadnější cestu klinickým laboratořím k zvládnutí tohoto problému na úroveň vyžadovanou pro dosažení potřebné klinické efektivity (outcome).

Autor prohlašuje, že není ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 5. 1. 2024

Adresa pro korespondenci

RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
Střelnická 1680, 182 00 Praha 9
friedecky@sekk.cz

Literatura

1. **ISO 15189:2022** [odkaz]
2. **Braga, F., Panteghini, M.**, The utility of measurement uncertainty in medical laboratories. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2020, 58(9), 1407-1413. [odkaz]
3. EFLM Biological Variation Database. dostupné z: [odkaz]
4. **Carobene, A. et al.** The European Biological Variation Study (EuBIVAS): a summary report. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 60(4), 505-517. [odkaz]
5. **Sandberg, S. et al.** Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53(6), 833-835. [odkaz]
6. **ISO/TS 20914:2019** [odkaz]
7. **Bartoš, V., Budina, M., Friedecký, B., Kratochvíla, J. et al.** Recommendations on uncertainty quantitative results in medical laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, 29(50), 84-93. [odkaz]
8. **Coscun, A. et al.** Measurement uncertainty for practical use. *Clin. Chim. Acta*, 2022, 531, 352-360. [odkaz]
9. Guide to the expression of uncertainty in measurement. JCGM 100:2008 [odkaz]
10. **Westgard, J. O.** Managing quality vs. measuring uncertainty in the medical laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2010, 48, 31-40. [odkaz]
11. **Oosterhuis, W. P. et al.** The use of error and uncertainty methods in the medical laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, 56, 209-219. [odkaz]
12. **Braga, F. et al.** Performance specifications for measurement uncertainty of common biochemical measurands according to Milan models. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, 59(8), 1362-1368. [odkaz]
13. **Braga, F. et al.** Definition and application of performance specifications for measurement uncertainty of 23 common laboratory tests: linking theory to daily practice. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, 61(2), 213-223. [odkaz]