

Ocena merilne negotovosti nekaterih hematoloških parametrov analizatorja Sysmex XN-L 550

Estimation of measurement uncertainty of some hematological parameters on Sysmex XN-L 550 analyzer

Sebastijan Božič, Milka Ogrin, Polona Likar, Minka Lužovec, Marija Prezelj
Zdravstveni dom Vrhnika

Avtor za korespondenco:

Dr. Marija Prezej, spec. med. biokem.

Zdravstveni dom Vrhnika, Cesta 6. maja 11, 1360 Vrhnika

e-pošta: doda.prezelj@gmail.com

POVZETEK

Merilna negotovost (angl. *uncertainty of measurement*) je parameter, ki je povezan z rezultatom meritve, in označuje območje raztrosa vrednosti, ki jih je mogoče upravičeno pripisati merjeni veličini. Znotraj tega območja se z določeno stopnjo verjetnosti nahaja prava vrednost rezultata. Namen našega dela je bil, da ocenimo merilno negotovost koncentracije hemoglobina, številčne koncentracije levkocitov, eritrocitov in trombocitov, ki jih določamo s hematološkim analizatorjem Sysmex XN-L 550. Za ovrednotenje merilne negotovosti smo uporabili šestmesečne podatke o notranji kontroli in zunanji oceni kakovosti ter računalniški program MUkit, katerega osnova je postopek Nordtest. Ovrednotene komponente merilne negotovosti smo primerjali z vrednostmi priporočljive nenatančnosti in odstopanja (angl. *bias*) analiznih rutinskih postopkov v medicinskih laboratorijih, kot jih predlaga RiliBÄK. Primerjali smo jih tudi s specifikacijami kakovosti merilnega postopka, povezanega z biološko variabilnostjo po priporočilih delovne skupine za biološko variabilnost EFLM.

Vrednosti izračunane razširjene merilne negotovosti (U) za hematološke parametre vseh treh koncentracijskih nivojev so bile: za hemoglobin med 2,40 % in 2,79 %, za eritrocite med 2,10 % in 2,43 %, za levkocite med 4,52 % in 5,63 % in za trombocite med 8,93 % in 11,69 %. Vrednosti nenatančnosti in biasa za trombocite so odvisne od koncentracije in se povečujejo, ko se njihova koncentracija zmanjšuje, in s tem se povečuje tudi merilna negotovost.

Ključne besede: merilna negotovost, hematološki parametri, specifikacija kakovosti, biološka variabilnost

ABSTRACT

Measurement uncertainty is a parameter that is related to the measured result and indicates the range of scatter of values that can be justifiably attributed to the measured »

quantity. Within this range, the true value of the result is found with a certain degree of probability.

The purpose of our work was to estimate the measurement uncertainty of hemoglobin concentration, leukocyte, erythrocyte and platelet count determined by the Sysmex XN-L 550 hematology analyzer. The measurement uncertainty was calculated using six months data on internal quality control and external quality assessment and the MUKit program, which is based on the Nordtest method. The evaluated components of measurement uncertainty were compared with the values of recommended imprecision and bias of analytical routine procedures in medical laboratory, as proposed by RiliBÄK. They were also compared with the analytical performance specifications of the measurement

procedure related to biological variability according to the EFLM Working Group on Biological Variability.

The values of the calculated extended measurement uncertainty (U) for the hematological parameters of all three concentration levels were; for hemoglobin between 2.40 % and 2.79 %, for erythrocytes between 2.10 % and 2.43 %, for leukocytes between 4.52 % and 5.63 % and for platelets between 8.93 % and 11.69 %. The imprecision and bias values for platelets are concentration-dependent and increase as their concentration decreases, thus increasing measurement uncertainty.

Key words: measurement uncertainty, hematological tests, analytical performance specifications, biological variability

UVOD

Rezultati merilnih postopkov medicinskega laboratorija so v veliko pomoč pri postavitvi diagnoze ter pri spremljanju bolezni in so koristni za nadaljnje klinične odločitve. Laboratorij mora zagotoviti, da so rezultati merilnih postopkov zanesljivi za klinične namene in tudi primerljivi z vrednostmi rezultatov, dobljenih v različnih obdobjih.

Ustrezna ocena merilne negotovosti v laboratorijski medicini je eden najpomembnejših dejavnikov pri interpretaciji rezultatov (1). Veliko število standardov in smernic kaže na potrebo po uvedbi negotovosti merilnih rezultatov v rutinsko laboratorijsko prakso.

V standardu ISO 15189 je v poglavju "Preiskovalni procesi" navedeno, da mora laboratorij za vsak merilni postopek določiti merilno negotovost (2). Trenutno še ni soglasja glede načina izračuna merilne negotovosti, obstajata pa dva splošna pristopa: izvirni model, imenovan pristop od spodaj navzgor (angl. "bottom-up approach") in model od zgoraj navzdol (angl. "top-down approach"). Ovrednotenje merilne negotovosti od spodaj navzgor zaradi kompleksnosti in zahtevnosti postopka pogosto ni izvedljivo (3, 4). Pristop od zgoraj navzdol je enostavnejši, ker za ovrednotenje merilne negotovosti uporablja podatke o rezultatih kontrolnih vzorcev (notranje in zunanje kontrole), pridobljenih ob vodenju kakovosti dela v laboratoriju. Pristop od zgoraj navzdol je zato bolj primeren in ga je lažje uporabiti predvsem za merilne postopke, ki se izvajajo v vsakodnevni rutini. Vendar tudi pri tem pristopu ni soglasja o postopku izračuna merilne negotovosti. Večina smernic priporoča uporabo naj-

manj šestmesečnih podatkov in ločen izračun merilne negotovosti za različne koncentracijske nivoje (1, 5).

V prispevku smo predstavili izračun merilne negotovosti koncentracije hemoglobina in številčne koncentracije levkocitov, eritrocitov ter trombocitov s pristopom od zgoraj navzdol. Analitično nenatančnost hematoloških parametrov smo ovrednotili s podatki dnevni kontrolnih vzorcev treh koncentracijskih nivojev. Analitična nenatančnost se razlikuje glede na koncentracijo parametra in ima zato merilna negotovost tudi različne vrednosti. Analitična nenatančnost in s tem tudi merilna negotovost je večja pri koncentracijah spodnje in zgornje meje določanja. Odstopanje (bias) merilnega postopka smo ovrednotili s podatki, dobljenimi pri sodelovanju v medlaboratorijski primerjavi. Merilno negotovost smo izračunali s pomočjo računalniškega programa MUKit (Measurement Uncertainty Kit), katerega osnova je postopek Nordtest, in je bil razvit za okoljske laboratorije v Skandinaviji (6,7). Dobljene ocene merilne negotovosti smo nato primerjali z dovoljenimi vrednostmi, ki jih navaja nemška zdravniška zbornica v smernici za zagotavljanje kakovosti medicinskih laboratorijskih preiskav RiliBÄK, (Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen) (8). Ocenjene vrednosti negotovosti smo primerjali tudi z zelenimi cilji specifikacije kakovosti analiznih postopkov, ki jo je objavila delovna skupina za biološko variabilnost pri Evropskem združenju za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EFLM) (9).

»

MATERIALI IN METODE

Instrument in material

S hematološkimi analizatorjem Sysmex XN-L 550 (Sysmex Co., Kobe, Japonska) smo izvedli meritve za določitev številčne koncentracije levkocitov ($\times 10^9/L$), eritrocitov ($\times 10^{12}/L$) in trombocitov ($\times 10^9/L$) ter koncentracijo hemoglobina (g/L). Uporabljeni reagenti in kontrolni vzorci treh nivojev XN-L (Lot 01851 in 02691) so bili pridobljeni od proizvajalca Sysmex. Povezava hematološkega analizatorja v program Sysmex SNCS service IQAS nam omogoča vpogled v mesečno statistično obdelane rezultate kontrolnih vzorcev. Za ovrednotenje prispevka nenatančnosti k merilni negotovosti smo v šestmesečnem obdobju od julija do decembra 2020 uporabili 1440 rezultatov notranje kontrole. Prispevek biasa je bil izračunan na osnovi podatkov, ki so bili pridobljeni pri sodelovanju medlaboratorijske primerjave hematološkega programa RIQAS (RANDOX International Quality Assessment Scheme).

Ovrednotenje prispevka nenatančnosti oziroma obnovljivost znotraj laboratorija (angl. *within-laboratory reproducibility, R_w*)

Za oceno nenatančnosti je priporočena uporaba ene same serije kontrolnega vzorca. Ker pa so se serije hematoloških kontrolnih vzorcev menjale vsake tri mesece, smo za dve različni seriji kontrolnih vzorcev za vsak nivo izračunali združeni koeficient variacije (angl. *pooled CV*) po Enačbi 1 (6,10-13). V Enačbi 1 predstavljata CV_{L1} in CV_{L2} koeficient variacije za Lot 1 in Lot 2 kontrolnega vzorca za posamezen koncentracijski nivo, n_{L1} in n_{L2} pa število kontrolnih vzorcev v Lot1 in Lot2. Dobljeno vrednost združenega CV smo nato pri nadaljnjih izračunih upoštevali kot nenatančnost merilne negotovosti $u(R_w)$ (Enačba 2).

$$\text{združeni CV} = \sqrt{\frac{CV_{L1}^2 (n_{L1}-1) + CV_{L2}^2 (n_{L2}-1)}{n_{L1} + n_{L2} - 2}} \quad \text{Enačba 1}$$

$$\text{združeni CV} = R_w = u(R_w) \quad \text{Enačba 2}$$

Ovrednotenje prispevka merilne negotovosti zaradi odstopanja (angl. *bias*)

Metoda Nordtest pri izračunu merilne negotovosti upošteva tudi bias analiznega postopka, ki smo ga ocenili s pomočjo podatkov, pridobljenih v udeležbi medlaboratorijske primerjave. Ovrednoteni sta bili obe komponenti biasa:

- RMS_{bias} (angl. *Root mean square of the bias*) je koren kvadrata povprečne vrednosti posameznih vrednosti odstopanja ($bias_i$) od dodeljene vrednosti. V spodnji enačbi predstavlja n_1 število udeležb laboratorija v zunanji shemi kakovosti ($n_1=6$).

$$RMS_{bias} = \sqrt{\frac{\sum(bias_i)^2}{n_1}} \quad \text{Enačba 3}$$

- $u(Cref)$ je povprečna standardna negotovost pripisane ciljne vrednosti. Izračuna se po spodnji enačbi, kjer je CV_i dobljen iz rezultatov medlaboratorijske primerjave in n_i število laboratorijev znotraj skupine, ki uporabljajo isto metodo in analizator.

$$u(Cref) = \frac{CV_i}{\sqrt{n_i}} \quad \text{Enačba 4}$$

Bias merilnega postopka se nato izračuna po naslednji formuli:

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(Cref)^2} \quad \text{Enačba 5}$$

Izračun kombinirane standardne merilne negotovost (angl. *combined standard uncertainty, u_c*)

Kombinirana standardna negotovost rezultata je kvadratni koren vsote kvadratov posameznih negotovosti; obnovljivosti znotraj laboratorija (R_w) in biasa. Izračuna se po Enačbi 6.

$$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} \quad \text{Enačba 6}$$



Razširjena negotovost (angl. *expanded uncertainty, U*)

Razširjena negotovost je interval, v katerem je rezultat z določeno stopnjo zaupanja in jo dobimo z množenjem kombinirane standardne negotovosti s faktorjem pokritja k (angl. *coverage faktor, k*) po spodnji enačbi. Faktor pokritja 2 je izbran za 95-odstotni interval zaupanja v primeru normalne porazdelitve.

$$U = k \times u_c \quad \text{Enačba 7}$$

Ocena merilne negotovosti z zaželenimi cilji kakovosti analiznega postopka

Dobljene rezultate smo primerjali z zaželenimi specifikacijami, povezanimi z biološko variabilnostjo, ki določajo največjo nenatančnost in bias analiznih rutinskih postopkov v medicinskih laboratorijih (15). Zaželeni analitični cilje za nenatančnost, ki temeljijo na intraindividualni biološki variabilnosti, smo izračunali z Enačbo 8. Zaželeni analitični cilje za bias, ki temeljijo na intraindividualni in interindividualni biološki variabilnosti, pa smo izračunali z Enačbo 9. Za izračun celokupne analitične napake (angl. *Total Analytical Error, TAE*) smo upoštevali Enačbo 10.

Nenatančnost metode:

$$CV_{\text{imp}} < 0,5 CV_I \quad \text{Enačba 8}$$

Bias metode:

$$CV_{\text{bias}} < 0,25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} \quad \text{Enačba 9}$$

Celokupna analitična napaka:

$$TAE = (1,65 \times 0,5 CV_I) + 0,25 \times (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} \quad \text{Enačba 10}$$

V zgornjih treh enačbah so posamezne oznake za: CV_{imp} – koeficient variacije nenatančnosti metode določevanja; CV_{bias} – koeficient variacije biasa metode določevanja; CV_I – koeficient variacije intraindividualne biološke variabilnosti; CV_G – koeficient variacije interindividualne biološke variabilnosti in TAE – celokupna analitična napaka (Total Analytical Error).

Statistična analiza

Rezultate merilne negotovosti za navedene hematološke parametre smo izračunali s podatki, dobljenimi iz notranje kontrole in zunanje ocene kakovosti ter programske opreme MUKIT, ki statistično obdela podatke v skladu z vodilom Nordtestom TR537 (13). Programsko opremo so razvili za kemijske laboratorije na finskem inštitutu za okolje SYKE (Suomen ympäristökeskus) in je na spletu dostopna brezplačno (7).

REZULTATI

Rezultati komponente nenatančnosti merilne negotovosti

V Tabeli 1 so navedeni rezultati nenatančnosti R_w notranje kontrole treh koncentracijskih nivojev za hematološke parametre. Iz Tabele 2 je razvidno, da je prispevek nenatančnosti merilne negotovosti $u(R_w)$ za hemoglobin med 0,50 % in 0,86 %, za eritrocite med 0,60 % in 0,85 %, za levkocite med 1,50 % in 2,25 %, in za trombocite med 1,60 % in 4,40 %.

Rezultati komponente odstopanja (bias) merilne negotovosti

Izračuni RMS_{bias} so bili, kot je razvidno iz Tabele 3, za hemoglobin 1,093 %, za eritrocite 0,857 %, za levkocite 1,675 % in za trombocite 3,838 %. Vrednosti $u(C_{\text{ref}})$ pa so bile za hemoglobin 0,065 %, za eritrocite 0,071 %, za levkocite 0,197 % in 0,248 % za trombocite. Vrednosti $u_{\text{(bias)}}$ za hemoglobin so bile 1,095 %, za eritrocite 0,857 %, za levkocite 1,686 % in za trombocite 3,846 %. Kombinirane standardne negotovosti pa so bile za hemoglobin med 1,20 % in 1,39 %, za eritrocite med 1,05 % in 1,21 %, »

za levkocite med 2,26 % in 2,81 % ter za trombocite med 4,17 % in 5,84 %. V Tabeli 4 je naveden povzetek poročila organizatorja zunanje sheme kakovosti za izračun biasa za hemoglobin, eritrocite, levkocite in trombocite. Organizator zunanje sheme kakovosti v svojem poročilu zagotovi podatke o številu sodelujočih laboratorijev (n_i), ki so jih upoštevali pri izračunu povprečne vrednosti kontrolnega vzorca in CV.

Vrednosti razširjene merilne negotovosti

Vrednosti izračunane razširjene merilne negotovosti (U) so bile; za hemoglobin med 2,41 in 2,79 %, za eritrocite med 2,10 in 2,43 %, za levkocite med 4,52 in 5,63 % ter za trombocite med 8,34 in 11,69 % (Tabela 3).

Tabela 1: Podatki hematoloških parametrov kontrolnih vzorcev notranje kontrole treh koncentracijskih nivojev za izračun nenatančnosti v pogojih obnovljivosti znotraj laboratorija (R_w).

Table 1: Internal quality control data of hematological parameters of control samples three concentration levels for calculation within-laboratory reproducibility (R_w).

	Kontrolni vzorec nivo 1		Kontrolni vzorec nivo 2		Kontrolni vzorec nivo 3	
	Lot.1851 401	Lot. 2691 401	Lot. 0017 402	Lot. 0101 402	Lot. 0017 403	Lot. 0101 403
Hemoglobin (g/L)	n =58	n =62	n =62	n =59	n =59	n =60
x_{povp}	61	60	122	120	164	156
SD	0,6	0,5	0,6	0,6	1,9	0,8
CV (%)	1,0	0,7	0,5	0,5	1,1	0,5
R_w (%)	0,858		0,50		0,852	
Eritrociti ($10^{12}/L$)	n=58	n=62	n=62	n=59	n=59	n=60
x_{povp}	2,3	2,3	4,2	4,1	5,2	4,9
SD	0,02	0,02	0,03	0,03	0,05	0,03
CV (%)	0,8	0,9	0,6	0,6	0,9	0,6
R_w (%)	0,853		0,60		0,763	
Levkociti ($10^9/L$)	n= 62	n=58	n=62	n=59	n=59	n=60
x_{povp}	2,47	2,47	6,89	6,86	16,45	16,24
SD	0,06	0,04	0,10	0,10	0,31	0,30
CV (%)	2,6	1,8	1,5	1,5	1,9	1,9
R_w (%)	2,249		1,50		1,625	
Trombociti ($10^9/L$)	n=58	n=62	n=62	n=59	n=59	n=60
x_{povp}	61	60	234	239	542	524
SD	2,7	2,7	3,9	5,0	8,9	8,4
CV (%)	4,4	4,4	1,7	2,1	1,6	1,6
R_w (%)	4,40		1,905		1,60	

n – število meritev; x_{povp} – povprečna vrednost meritev; SD – standardni odmik;

CV – koeficient variacije;

R_w – obnovljivosti znotraj laboratorija (*within-laboratory reproducibility*).

Tabela 2: Merilna negotovost obnovljivosti znotraj laboratorija ($u(R_w)$) za hemoglobin, eritrocite, levkocite in trombocite v primerjavi z zaželeno specifikacijo analitične učinkovitosti.

Table 2: Measurement uncertainty of within-laboratory reproducibility ($u(R_w)$) for hemoglobin, erythrocytes, leukocytes and platelets in comparison to desirable analytical performance specification.

	Konc. nivo	x_{povp}	$u(R_w)$ (%)	CV_{imp} zaželene (%)	%U _(max) RiliBÄK	SZKKLM (%)
Hemoglobin (g/L)	1	60,5	0,86	1,36	4,0	1,0
	2	121	0,50			
	3	160	0,85			
Eritrociti ($10^{12}/L$)	1	2,32	0,85	1,40	4,0	1,1
	2	4,16	0,60			
	3	5,07	0,76			
Levkociti ($10^9/L$)	1	2,47	2,25	5,05	6,5	6,0
	2	6,88	1,50			2,5
	3	16,35	1,63			1,5
Trombociti ($10^9/L$)	1	60,5	4,40	3,55	13,5	4,5
	2	2,37	1,91		8,5	3,0
	3	533	1,60		7,5	5,0

x_{povp} – povprečna vrednost meritev;

$u(R_w)$ – negotovost obnovljivosti znotraj laboratorija (within-laboratory reproducibility);

CV_{imp} – koeficient variacije zaželene natančnosti metode po evropskem združenju za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EFLM);

%U_(max) – dovoljeno odstopanje po RiliBÄK (Richtlinie der Bundesaerztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen), SZKKLM – Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino. »

Tabela 3: Vrednosti komponent negotovosti, povezani z biasom ($u_{(\text{bias})}$), kombinirane standardne negotovosti u_c , razširjene negotovosti (U) za hemoglobin, eritrocite, levkocite in trombocite, v primerjavi z želenimi specifikacijami analitične učinkovitosti.

Table 3: Uncertainty components associated to the bias ($u_{(\text{bias})}$), combined standard uncertainty (u_c) and expanded uncertainty (U) for hemoglobin, erythrocytes, leukocytes and platelets in comparison to the desirable analytical performance specification.

	Nivo	$u(R_w)$	$u(\text{Cref})$	RMS_{bias}	$u_{(\text{bias})}$	u_c	U (%) (k=2)	$\text{CV}_{\text{bias zaželeno}}$	$\%U_{(\text{max})}$ RiliBÄK	TAE (%)
Hemoglobin (g/L)	1	0,86	0,065	1,093	1,095	1,39	2,79	1,66	6,0	3,9
	2	0,50				1,20	2,41			
	3	0,85				1,39	2,78			
Eritrociti ($10^{12}/\text{L}$)	1	0,85	0,071	0,857	0,857	1,21	2,43	1,72	8,0	4,03
	2	0,60				1,05	2,10			
	3	0,76				1,15	2,31			
Levkociti ($10^9/\text{L}$)	1	2,25	0,197	1,675	1,686	2,81	5,63	4,83	18,0	8,96
	2	1,50				2,26	4,52			
	3	1,63				2,34	4,69			
Trombociti ($10^9/\text{L}$)	1	4,40	0,248	3,838	3,846	5,84	11,69	4,41	18,0	10,3
	2	1,91				4,29	8,95		15,0	
	3	1,60				4,17	8,34		13,0	

$u(R_w)$ – negotovost obnovljivosti znotraj laboratorija; $u(\text{Cref})$ in RMS_{bias} sta komponenti $u_{(\text{bias})}$;

$u_{(\text{bias})}$ – negotovost biasa; u_c – kombinirana standardna negotovost;

U – razširjena negotovost;

CV_{bias} – koeficient variacije zaželenega biasa analiznega postopka po evropskem združenju za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EFLM);

$\%U_{(\text{max})}$ – dovoljeno odstopanje po RiliBÄK (Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen);

TAE – celokupna analitična napaka.

»

Tabela 4: Rezultati medlaboratorijske primerjave za izračun prispevka biasa merilne negotovosti za hemoglobin, eritrocite, levkocite in trombocite.
Table 4: Results of interlaboratory comparison for assessment of bias component for hemoglobin, erythrocytes, leukocytes, and plateletes.

	Vzorec	Povprečna vrednost	Dobljena vrednost	CV (%)	n_i	Bias (%)	$u_{(Cref)}$
Hemoglobin (g/L)	13/7	131,931	132	1,1	308	0,05	0,063
	13/8	62,338	63	1,4	327	1,06	0,077
	13/9	148,900	149	1,0	331	0,07	0,055
	13/10	137,071	138	1,1	317	0,68	0,062
	13/11	152,624	151	1,1	340	-1,06	0,060
	13/12	62,313	61	1,4	344	-2,11	0,075
Eritrociti ($10^{12}/L$)	13/7	4,494	4,49	1,1	283	-0,09	0,065
	13/8	2,044	2,04	1,4	310	-0,19	0,080
	13/9	5,050	4,97	1,2	321	-1,58	0,067
	13/10	4,502	4,48	1,2	303	-0,49	0,069
	13/11	5,022	4,99	1,2	308	-0,64	0,068
	13/12	2,002	1,980	1,4	326	-1,10	0,078
Levkociti ($10^9/L$)	13/7	9,318	9,37	2,2	129	0,55	0,19
	13/8	2,369	2,40	2,8	146	1,29	0,23
	13/9	15,862	16,34	2,0	148	3,02	0,16
	13/10	8,898	9,11	2,5	157	2,39	0,20
	13/11	21,190	21,20	2,2	151	0,05	0,18
	13/12	2,335	2,34	2,7	161	0,20	0,21
Trombociti ($10^9/L$)	13/7	239,347	243,0	3,5	271	1,53	0,21
	13/8	120,591	129,0	4,4	285	6,97	0,26
	13/9	216,227	206,0	4,3	297	-4,73	0,25
	13/10	235,066	238,0	3,8	295	1,25	0,22
	13/11	415,892	414,0	3,5	296	-0,45	0,20
	13/12	115,780	120,0	6,0	310	3,65	0,34

n_i - število sodelujočih laboratorijev upoštevanih pri izračunu;

$u_{(Cref)}$ – povprečna standardna negotovost pripisane ciljne vrednosti;

CV – koeficient variacije obnovljivosti meritve, sporočen v poročilu organizatorja sheme skupaj s povprečno vrednostjo vsakega kontrolnega vzorca. »

RAZPRAVA

Ocena merilne negotovosti bistveno pripomore pri presoji primernosti metode za klinično uporabo in za primerjavo rezultatov podobnih metod. Obstajajo številne smernice in predpisi, ki pojasnjujejo pomen ocenjevanja merilne negotovosti v kliničnem laboratoriju in predlagajo različne pristope izračuna (1–4). Večina teh dokumentov predlaga pristop “od zgoraj navzdol”.

Temeljita ocena posameznih komponent, ki prispevajo k merilni negotovosti, nam lahko razkrije, kam je treba usmeriti pozornost, da bi izboljšali točnost meritve preiskovalnega postopka.

Za vsak hematološki parameter smo skrbno pregledali povezavo med nenatančnostjo in biasom za vse tri merjene koncentracijske nivoje. Retrospektivne podatke iz mesečnega poročila notranjih kontrolnih vzorcev smo uporabili za izračun prispevka nenatančnosti (within-laboratory reproducibility, R_w). Iz Tabele 2 je razvidno, da so rezultati u_{R_w} za hemoglobin, eritrocite, levkocite in trombocite v mejah zaželenih nenatančnosti (CV_{imp}), kot jo navaja delovna skupina za biološko variabilnost pri EFLM, razen za trombocite nizke številčne koncentracije (Nivo 1). Izračunana vrednosti u_{R_w} trombocitov nivoja 1 je 4,40 % in je večja od predlaganega kriterija zgornje zaželeni meje nenatančnosti 3,55 %. Ob znižanju kriterija nenatančnosti za trombocite pa je dobljena vrednost še v dovoljeni meji minimalnih zahtev vrednosti, ki je 5,33 % (Minimum: $CV_{imp} \leq 0,75 CV_{intra}$). Predlogi delovne skupine za biološko variabilnost pri EFLM so nekoliko strožji, kot je navedeno v bazi podatkov za biološko variabilnost na spletu, ki pa se tudi redno posodablja (15,16).

Medtem ko delovna skupina za biološko variabilnost postavlja enotne kriterije za nenatančnost za vse koncentracijske nivoje tako za hemoglobin, levkocite, eritrocite in trombocite, pa se zahteve RiliBÄK za trombocite razlikujejo glede na njihovo številčno koncentracijo (Tabela 2). In po njihovih kriterijih je nenatančnost rezultatov trombocitov vseh treh koncentracijskih nivojev v sprejemljivih mejah.

V mesečnih kumulativnih poročilih notranje kontrole Monthly Lot Report smo opazili, da je za kontrolne vzorce trombocitov (Nivo 1) znotraj iste skupine, ob velikem številu udeležencev ($n > 400$), koeficient variacije med 6,35 % in 8,65 % in je višji od našega, ki je 4,40 %.

Analitična nenatančnost se razlikuje glede na koncentracijo analita in je večja pri nizkih in visokih vrednostih. Razlika med vrednostmi analitične nenatančnosti posameznih koncentracijskih nivojev hemoglobina, levkocitov in eritrocitov ni bil izrazita, in bi lahko CV vseh treh koncentracijskih nivojev združili in izračunali v samo eno u_{R_w} po zgoraj omenjeni Formuli 1 (12–14). Pri nizki številčni koncentraciji trombocitov pa je CV izrazilo odstopal, zato je bilo smiselno, da izračunamo prispevek nenatančnosti k merilni negotovosti za vsak nivo posebej.

Dobljena vrednost nenatančnosti R_w za levkocite nivoja 3 (1,63 %) je višja od kriterija 1,5 %, kot ga navaja Delovna skupina za laboratorijsko hematologijo pri SZKKLM v predlogu Overjanje hematološkega analizatorja ob uvedbi v rutinsko delo (Tabela 2). Nekoliko višja vrednost je verjetno zaradi časovno daljšega izvajanja notranje kontrole (6 mesecev), kot pa traja sam predlagan postopek overjanja (meritev petih vzorcev in pet zaporednih dni) (17).

Bias, ki označuje sistematično napako merilnega postopka, predstavlja odmik rezultata od pričakovane vrednosti. Obe komponenti biasa, tako RMS_{bias} in $u(Cref)$ sta bili izračunani s pomočjo podatkov, pridobljenih v medlaboratorijski primerjavi v časovnem obdobju, tako kot navajajo priporočila (6- do 12-mesečno sodelovanje) (6,11–12). Pri medlaboratorijski primerjavi (Tabela 4) so bile vrednosti CV za trombocite med vsemi hematološkimi parametri najvišje in je bil zato tudi prispevek odstopanja u_{bias} za trombocite velik (3,85 %), medtem ko je bila za hemoglobin 1,095 %, za eritrocite 0,86 % in za levkocite; 1,69 % (Tabela 3). Ti izračuni kažejo, da obe komponenti biasa, tako $u(Cref)$ in RMS_{bias} lahko pomembno prispevata k merilni negotovosti. Najmanjši vpliv k celotni merilni negotovosti je predstavljala negotovost pričakovane vrednosti zunanega kontrolnega vzorca. Podobne rezultate so dobili tudi drugi avtorji (18–20).

Da dobimo odgovor, ali je izračunana vrednost razširjene merilne negotovosti (U) sprejemljiva, jo je treba primerjati s kriterijem za največjo dovoljeno razširjeno negotovost (U_{max}). Vrednost U je sprejemljiva, če je nižja od predhodno izbranega U_{max} s strani laboratorija ali enaka. Kako in katere meje izbrati, trenutno še ni določeno, na splošno pa veljajo in se tudi najširše uporabljajo meje, izpeljane iz biološke variabilnosti (21–23). Izbira sprejemljive vrednosti je tako lahko odvisna od samega kliničnega laboratorija,

razen če meje temeljijo na zakonskih meroslovnih zahtevah, kot jih navaja npr. nemški RiliBÄK. Po njihovih zahtevah so vse naše dobljene vrednosti razširjenih negotovosti v dovoljenih mejah (Tabela 3).

Izračun za celokupno analitično napako (TAE), ki upošteva intraindividualne in interindividualne biološke variabilnosti, pa ponovno pokaže previsoko odstopanje za nizko številčno koncentracijo trombocitov. Formula za izračun celokupne analitične napake je enostavna za uporabo, vendar je treba koncept TAE uporabljati previdno (24–29).

Podatek o nenatančnosti številčne koncentracije trombo-

citov kontrolnega vzorca z nizkim številom trombocitov je zanimiv ne samo za laboratorij, da bomo v bodoče pozorno spremljali tako nenatančnost kot tudi bias za trombocite za vsak koncentracijski nivo posebej, ampak tudi za proizvajalce *in vitro* diagnostike (IVD), da raziščejo in odpravijo ugotovljeno težavo ter si prizadevajo za izboljšanje kakovosti delovanja analiznega testa (14, 19, 23).

Kadar bodo vrednosti nenatančnosti posameznih koncentracijskih nivojev analita podobne, bomo izračunavali združeno nenatančnost in bo s tem še poenostavljeno ovrednotenje merilne negotovosti.

ZAKLJUČEK

Za celovito zanesljivost merilnih postopkov je pomembno, da poleg rednega spremljanja vrednosti kontrol kakovosti, v najmanj šestmesečnem intervalu ovrednotimo tudi merilno negotovost, ki nam omogoča, da lahko postavimo cilje za izboljšavo analiznih postopkov v medicinskem laboratoriju.

V prispevku smo predstavili praktični primer, kako lahko z razpoložljivimi podatki v medicinskem laboratoriju na razmeroma enostaven način ovrednotimo merilno negotovost rutinskih hematoloških parametrov s pomoč-

jo računalniškega programa MUKit, katerega osnova je postopek Nordtest 537, ki je namenjen za izračun merilne negotovosti okoljskih laboratorijev. S tem zagotovimo zahtevam standardov, da mora laboratorij pri interpretaciji izmerjenih vrednosti analiznih postopkov upoštevati merilno negotovost, in da mora na zahtevo uporabnikov laboratorijskih storitev nuditi svoje ocene merilne negotovosti. Upamo, da bo ta prispevek spodbuda laboratorijem, da ovrednotijo merilno negotovost rutinskim laboratorijskim analizom.



LITERATURA

1. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Expression of measurement uncertainty in laboratory medicine; approved guideline. CLSI EP29-A. Wayne, PA: CLSI, 2012.
2. Slovenski Inštitut za standardizacijo (SIST). International Organization for Standardization (ISO). Medicinski laboratoriji - Zahteve za kakovost in kompetentnost. SIST EN ISO 15189. Slovenija, SIST, marec 2013.
3. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM). Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. 3rd edition. JCGM 100. [Internet]. Sèvres, France: JCGM; 2008. [Dostop 22. maj 2020]. Dostopno na: <https://www.bipm.org/en/committees/jc/jcgm/publications>
4. EURACHEM/CITAC, Guide CG4: Quantifying uncertainty in analytical measurement [Internet]. 3er ed. Eurachem, 2012; [Dostop 20. maj 2019]. Dostopno na: <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/quam>
5. Singapore Accreditation Council (SAC). Technical Guide 4. A Guide on Measurement Uncertainty in Medical Testing [Internet]. Singapore 2019; [Dostop 3. julij 2020] Dostopno na: <https://www.sac-accreditation.gov.sg/files/documents/laboratory-accreditation/medical-testing-and-medical-imaging-documents/medical-testing-field/Technical-Guide-4-29-Mar-19.pdf>
6. Magnusson B, Naykki T, Hovind H, Krysell M, Sahlin E. Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories, Nordtest Report 537. [Internet] Nordic Innovation Center, 2017 Ed 4.1. [Dostop 23. marec 2019]. Dostopno na: <http://www.nordtest.info/wp/2017/11/29/handbook-for-calculation-of-measurement-uncertainty-in-environmental-laboratories-nt-tr-537-edition-4/>
7. Virtanen A, Naykki T, Varkony E. Mukit – Measurement uncertainty kit [Internet]. SYKE, Nordic Innovation Center, Helsinki 2019. [Dostop 13. april 2020] Dostopno na: https://www.syke.fi/en-US/Services/Quality_and_laboratory_services/Calibration_services_and_contract_laboratory/MUKit__Measurement_Uncertainty_Kit

8. Bundesärztekammer. Neufassung der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – RiliBÄK“. Deutsches Ärzteblatt [Internet]. Berlin, dec 2019. [Dostop 14. januar 2020]. Dostopno na: https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/QS/Rili_BAEK_Qualitaetssicherg_laboratoriumsmedUntersuchungen_2019.pdf
9. Coskun A, Braga F, Carobene A, Ganduxe XT, Aarsand AK, Fernandez-Callea P, et al. Systematic review and meta-analysis of within-subject and between-subject biological variation estimates of 20 haematological parameters. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2019 Sept 19 [Dostop 2. marec 2021];58(1):25-32. Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2019-0658/html>
10. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2019-0658/html>
11. Slovenska akreditacija. Smernice ILAC-G17:01/2021 za merilno negotovosti pri kvantitativnem preskušanju. Dokument OAI10, 2021.
12. Slovenska akreditacija. Merilna negotovost pri vzorčenju in kemijskem preskušanju [Internet]. 2019, Izdaja 4, Dokument AO3 [Dostop 3. marec 2021]. Dostopno na: <https://www.slo-akreditacija.si/wp-content/uploads/2016/06/OA03-izdaja5-slo.pdf>
13. Magnusson B, Hovind H, Krysell M, Lund U, Makinen. Handbook for Chemical laboratories. Internal quality control. Nordtest Report 569. [Internet] Nordic Innovation Center, 2018. [Dostop 22. marec 2019]. Dostopno na: http://www.nordtest.info/wp/wp-content/uploads/2018/04/NT_TR_569_cd5_1_Internal_Quality_Control_English.pdf
14. Ceriotti F. Deriving proper measurement uncertainty from Internal Quality Control data: An impossible mission? *Clin Biochem*. 2018 Mar 30;57:37-40.
15. Rigo-Bonnin R, Diaz-Troyano N, Garcia-Tejada L, Galindo-Marce A, Asensio-Valbuena M, Canalias F. Estimation of measurement uncertainty and practical suggestion for the description of the metrological traceability in clinical laboratories. *Biochem Med* [Internet]. 2021 feb 15 [Dostop 20. marec 2021];31:1. Dostopno na: <https://doi.org/10.11613/BM.2021.010501>
16. Aarsand AK, Fernandez-Callea P, Webster C, Coskun A, Gonzales-Lao E, Diaz-Garzon J, et al. The EFLM Biological Variation Database. European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine [Internet]. [Dostop 20. marec 2020]; Dostopno na: <https://biologicalvariation.eu/>
17. Badrick T. Biological variation: Understanding why it is important? *Pract Lab Med* [Internet]. 2021 Jan 4 [Dostop 20. marec 2020];23:e00199. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352551720301621>
18. Podgornik H, Trampuš-Bakija A, Uljarević P, Berce K, Božnar-Alič E. Predlog poenotenja navodil za overjanje hematološkega analizatorja ob uvedbi v rutinsko delo. [Internet]. Slovenija, Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino; 2018 [Dostop 4. maj 2019]. Dostopno na: https://www.szkkml.si/assets/images/upload/Predlog_overjanja_hematoloskega_analizatorja.pdf
19. Padoan A, Antonelli G, Aita A, Sciacovelli L, Plebani M. An approach for estimating measurement uncertainty in medical laboratories using data from long-term quality control and external quality assessment schemes. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2017 Feb 28 [Dostop 21. marec 2020];55(11). Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2016-0896/html>
20. Braga F, Panteghini M. The utility of measurement uncertainty in medical laboratories. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2020 Mar 3 [Dostop 21. dec 2020];58:1407-13. Dostopno na: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1336>
21. Cui M, Xu L, Wang H, Ju S, Xu S, Jing R. Combining Nordtest method and bootstrap resampling for measurement uncertainty estimation of hematology analytes in a medical laboratory. *Clin Biochem* [Internet]. 2017 dec [Dostop 2. dec 2019]; 18. Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/tjb-2020-0357/html>
22. Yavuz HB
23. Karahan SC, Yaman H, Orem A, Aliyazicioglu. Two approaches for uncertainty estimation: which role for bias? Complete blood count experience. *Turk J Biochem* [Internet]. 2021 maj. [Dostop 2. dec 2019]; Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/tjb-2020-0357/html>
24. Braga F, Panteghini M. Performance specifications for measurement uncertainty of common biochemical measurands according to Milan models. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2021 Mar 17. [Dostop 3. dec 2021]; Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2021-0170/html>
25. Braga F, Pasqualetti, Panteghini M. The role of external quality assessment in the verification of in vitro medical diagnostics in the traceability era. *Clin Biochem* [Internet]. 2018 julij [Dostop 2. dec 2019];57:23-28. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912018300031?via%3Dihub>
26. Johnson P, Shahram S, Astle R. Managing biological variation data: modern approaches for study design and clinical application. *Crit Rev in Clin Lab Sci* [Internet]. 2021 15. jun [Dostop 2. feb 2021];58(7) 493-512. Dostopno na: <https://doi.org/10.1080/10408363.2021.1932718>
27. Farrance I, Badrick T, Frenkel R. Uncertainty in measurement and total error: different roads to the same quality destination? *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2018 Jun 27 [Dostop 3. nov 2019];56(12). Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2018-0421/html>
28. Oosterhuis WP, Teodorsson E. Total error vs. measurement uncertainty: revolution or evolution? *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2015 Nov 5 [Dostop 3. nov 2019];54(2):235-9. Dostopno na: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2015-0997/html>
29. Oosterhuis WP, Bayat H, Armbruster D, Coskun A, Freeman KP, Kallner A, Koch D, et al. The use of error and uncertainty methods in the medical laboratory. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2018 [Dostop 2. dec 2019]; 56(2):209–19. Dostopno na: <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0341>
30. Westgard JO. Error Methods Are More Practical, But Uncertainty Methods May Still Be Preferred. *Clin Chem* [Internet]. 1. april 2018 [Dostop 3 nov 2019];64(4):636-638. Dostopno na: [Dostop 3. dec 2020] <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.284406>
31. Miller WG, Schimmel H, Rej R, Greener N, Ceriotti F, Burns C, et al. IFCC Working Group Recommendations for Assessing Commutability Part 1: General experimental design. *Clin Chem* [Internet]. 2018 marec 1 [Dostop 3. nov 2019];64(3):47-54. Dostopno na: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.277525>