

SEED Hematologia



Wprowadzenie do pojęcia spójności pomiarowej i niepewności pomiaru oraz ich zastosowaniu do kalibratorów hematologicznych Sysmex

Ten artykuł zawiera krótkie wprowadzenie do pojęcia spójności pomiarowej i niepewności pomiaru (zwanej dalej „spójnością” i „niepewnością”) dla czytelników, którzy nie są z nimi zaznajomieni. Zawiera również krótki opis niezbędnych etapów oceny niepewności, zgodnie z „Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM)”[1]. W dalszej części artykułu wyjaśniono, w jaki sposób spójność pomiarowa została zapewniona dla kalibratorów hematologicznych Sysmex XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 oraz opisuje, w jaki sposób oceniono niepewność tych kalibratorów.

Ponadto, artykuł ten krótko wyjaśnia jak wykorzystać niepewność wyznaczoną dla kalibratorów w ocenie niepewności wyników próbek pacjentów, zmierzonych na systemach hematologicznych Sysmex.

Wprowadzenie

Spójność pomiarowa oraz niepewność pomiaru są pojęciami ważnymi nie tylko w laboratoriach analitycznych, ale także w codziennym życiu – chociaż nie jesteśmy tego świadomi. Na przykład, jeśli kupimy 200 g sera w supermarkecie to ufamy, że

rzeczywiście otrzymaliśmy 200 g. Zakładamy, że wagi w supermarkecie są prawidłowo skalibrowane i że ich wyniki są spójne z ustalonym standardem. Z drugiej strony, jeśli podejrzewamy, że waga w supermarkecie jest nieprawidłowa, ważymy ser w domu. Założymy, że w domu uzyskaliśmy wagę 202 g. Otrzymując taką wartość intuicyjnie zdecydowalibyśmy, że zgodność między wynikami dwóch zestawów wag jest akceptowalna – bez zastanawiania się nad pojęciem niepewności.

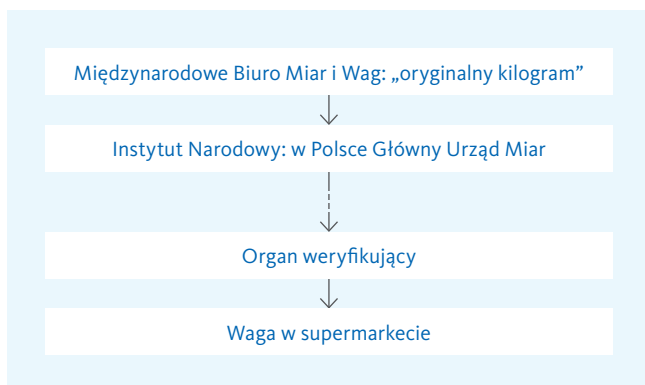
Spójność pomiarowa i niepewność są podstawą zapewnienia wiarygodności i porównywalności wyników pomiarów. Te dwa pojęcia są niezbędne do odpowiedzi na pytania takie jak:

- Czy dwa wyniki uzyskane w różnych laboratoriach są zgodne?
- Czy liczba białych krwinek jest poniżej wartości granicznej?
- Czy ten wynik wykazuje wzrost stężenia hemoglobiny w porównaniu z wartością uzyskaną poprzedniego dnia?

Co oznacza pojęcie spójności pomiarowej?

W przypadku wag w supermarkecie spójność pomiarową można opisać w następujący sposób: wagi są regularnie sprawdzane przez organ weryfikujący (kontrolny), a w razie potrzeby kalibrowane (lub w tym przypadku „weryfikowane”), co jest potwierdzone pieczęcią weryfikacyjną na tabliczce umieszczonej na wadze. Kontrola jest przeprowadzana przez pomiar certyfikowanych odważników (wystandaryzowanej masy), których dokładne masy są ustalane przez właściwy krajowy instytut. Masy są określane przez pomiary porównawcze w stosunku do normy krajowej, której masa z kolei została określona przez pomiary porównawcze w stosunku do normy międzynarodowej. Ten „międzynarodowy prototyp kilograma” – lepiej znany jako „oryginalny kilogram” – znajduje się w „International Bureau of Weights and Measures” (Międzynarodowe Biuro Miar i Wag, BIPM) pod Paryżem, a masa „oryginalnego kilograma” stanowi definicję jednostki znanej jako „kilogram”.

Uproszczony opis (ryc. 1) nie zawiera wszystkich etapów, ale nadal ilustruje jak wynik na wadze w supermarkecie jest porównywany do oryginalnego kilograma, jako międzynarodowo uznanego odniesienia.



Ryc. 1 Łańcuch spójności pomiarowej dla wag sklepowych

„Międzynarodowe słownictwo metrologiczne (VIM)” (“International vocabulary of metrology (VIM)”) [2] definiuje „spójność pomiarową” jako:

„Właściwość wyniku pomiaru, dzięki której wynik można powiązać z odniesieniem poprzez udokumentowany, nieprzerwany łańcuch kalibracji, z których każdy przyczynia się do niepewności pomiaru”.

„Nieprzerwany łańcuch kalibracji” jest znany jako „łańcuch spójności pomiarowej”. To właśnie ten łańcuch jest powiązany z ogólnie uznanym i przyjętym odniesieniem. W naszym przykładzie „oryginalny kilogram” jest odniesieniem, do którego porównywany jest wynik pomiaru wagi w supermarkecie. Odniesienie może być materiałem lub metodą pomiaru.

Każdy krok w łańcuchu spójności pomiarowej wiąże się z niepewnością, którą należy wziąć pod uwagę przy ocenie ogólnej niepewności wyniku. Raport o niepewności stanowi ważną część spójności pomiarowej. Łatwo to zrozumieć, odpowiadając na pytanie, czy można polegać na wadze, która posiada łańcuch spójności pomiarowej z oryginalnym kilogramem, dającej wynik 200 g, ale o niepewności ± 50 g – taka niedokładność byłaby zbyt duża dla wag w supermarketach.

Co oznacza niepewność pomiarowa?

Wynik pomiaru jest często wyrażany jako pojedyncza wartość, ale w rzeczywistości reprezentuje rozkład wartości, które można racjonalnie przypisać wielkości mierzonej. Powodem jest to, że żaden pomiar nie jest absolutnie dokładny, ponieważ na wynik pomiaru wpływają różne czynniki. Oznacza to, że wynik pomiaru może być jedynie oszacowaniem („niepoznawalnej”) prawdziwej wartości* wielkości mierzonej. Niepewność jest zatem przedziałem wokół wyniku pomiaru, który powinien obejmować dużą część rozkładu wartości. Innymi słowy, jest to przedział, w którym z dużym prawdopodobieństwem leży prawdziwa wartość wielkości mierzonej. Innym sposobem interpretacji jest pojmowanie niepewności jako miary możliwego błędu pomiaru. Niezależnie od tego, niepewność jest ilościowym wskazaniem jakości wyniku.

* Pojęcie „prawdziwej wartości” jest przedmiotem ciągłej debaty. Na przykład GUM pomija słowo „prawdziwe” jako zbędne i używa po prostu terminu „wartość wielkości mierzonej”. Niemniej jednak termin „prawdziwa wartość wielkości mierzonej” jest tutaj używany, aby ułatwić zrozumienie.

100,5 g \rightarrow 100,5 \pm 0,3 g ($k=2$)
(Współczynnik pokrycia k zostanie wyjaśniony poniżej.)

Jako przykład można rozważyć niepewność pipetowania. Na pipetowaną objętość wpływa odtwarzalność operacji pipetowania i kalibracja pipety. W naszym przykładzie, kalibracja ta jest osiągnięta poprzez wielokrotne pipetowanie i ważenie wody w warunkach kontrolowanych. Na kalibrację pipety wpływa odtwarzalność operacji pipetowania podczas kalibracji, gęstość wody i kalibracja wagi. Pipetowana objętość zależy od wszystkich powyższych czynników, a niepewność objętości pipetowanej sumuje ich wszystkie pojedyncze błędy (źródła niepewności).

„Międzynarodowe słownictwo metrologiczne (VIM)” [2] definiuje „niepewność pomiaru” jako:

„Nieujemny parametr charakteryzujący rozrzut wartości ilościowych przypisany do wielkości mierzonej, określony na podstawie znanych informacji”.

Dlaczego spójność pomiarowa oraz niepewność pomiaru są tak ważne?

Poprzez identyfikowalność do powszechnie uznanego odniesienia, takiego jak „oryginalny kilogram” lub międzynarodowa metoda referencyjna, wyniki pomiarów są uzyskiwane na ogólnie uznanych zasadach, które stanowią podstawę prawdziwości wyników – ważny element wiarygodności wyników. Połączenie z wspólną podstawą jest ważnym warunkiem wstępnym porównywalności wyników. Łańcuch spójności pomiarowej pokazuje, w jaki sposób wynik jest powiązany z tą podstawą i dlatego dostarcza ważnych informacji o krokach i materiałach, które zapewniają spójność pomiaru.

Niepewność pomiaru określa przedział, w którym prawdziwa wartość wielkości mierzonej leży z określonym, wysokim prawdopodobieństwem. Informacje te są niezbędne, aby móc w sensowny sposób porównywać wyniki ze sobą lub z podaną wartością, lub zakresem wartości (takich jak: wartość graniczna czy zakresy referencyjne). Niepewność pokazuje stopień zgodności, jakiego można się spodziewać między różnymi wynikami. Jest to ważne narzędzie do oceny, czy procedura/pomiar daje wyniki wystarczająco wiarygodne, które mogą spełnić wymagania kliniczne lub czy istnieje potrzeba poprawy.

Znajomość źródeł niepewności i ich względnej wielkości pomaga także wskazać elementy procedury, które można zmodyfikować, celem uzyskania poprawy jakości wyników.

W powszechnym użyciu termin „niepewność” odnosi się do pojęcia „wątpliwość”. Jednak, w przeciwieństwie do tego pojęcia, znajomość „niepewności pomiaru” oznacza większą pewność co do słuszności wyniku pomiaru.

Jak można zapewnić właściwą spójność pomiarową wyników w diagnostyce laboratoryjnej?

W większości procedur pomiaru ilościowego stosowanych w medycynie laboratoryjnej, kalibrację przeprowadza się za pomocą kalibratorów dostarczonych przez producenta. Zgodnie z dyrektywą Unii Europejskiej 98/79/EC w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro („Dyrektywa IVD”) producent musi zapewnić spójność pomiarową wartości przypisanych kalibratorom, z odniesieniem o wyższym poziomie metrologicznym. Międzynarodowa norma ISO 17511 [3] określa procedury zapewniające spójność pomiarową w zależności od rodzaju odniesienia o najwyższym poziomie metrologicznym (pierwotny materiał referencyjny).

W przedstawionym powyżej przykładzie wag w supermarkecie, wynik pomiaru można przypisać do definicji jednostki „kilogram” (tj. „oryginalnego kilograma”), jako odniesienia o najwyższym poziomie metrologicznym - idealnego punktu końcowego łańcucha spójności pomiarowej.

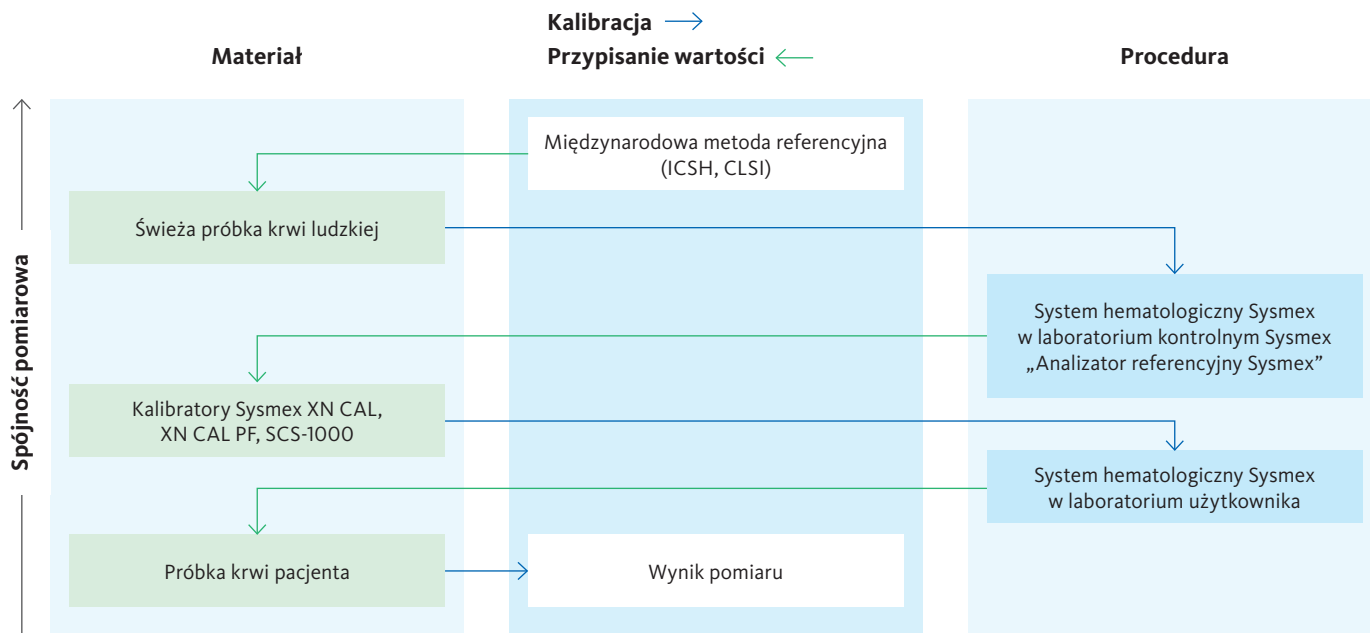
Jednakże, w dziedzinie medycyny laboratoryjnej tylko kilka procedur pomiarowych można przypisać do definicji podstawowych jednostek fizycznych. W wielu przypadkach uznawane na całym świecie materiały referencyjne lub metody referencyjne stanowią punkt końcowy łańcucha spójności pomiarowej - w takich przypadkach odniesienie do najwyższej jakości metrologicznej jest ustalone przez umowy międzynarodowe, tj. zalecenia międzynarodowych organizacji naukowych lub Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Z drugiej strony istnieje również wiele przypadków, w których nie są dostępne materiały referencyjne lub metody referencyjne uznane na poziomie międzynarodowym. W takim przypadku punkt końcowy łańcucha spójności stanowi procedura pomiarowa wybrana przez producenta.

Spójność pomiarowa systemów hematologicznych Sysmex

Kalibratory hematologiczne Sysmex XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 są przeznaczone do kalibracji systemów hematologicznych Sysmex. Przypisane wartości XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 są zgodne z międzynarodowymi metodami referencyjnymi dla WBC, RBC, HGB, HCT i PLT, według zaleceń International Council for Standardization in Haematology (ICSH) oraz Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). W przypadku RET% wykonywane jest manualne zliczanie w obrazie mikroskopowym (zgodnie z opisem w CLSI).*

*** Wyjaśnienie:** Metoda stosowana do RET% (zliczanie manualne) nie jest, ściśle rzecz ujmując, metodą referencyjną ze względu na jej niepozbawioną niedokładność. Niemniej jednak, metoda ta jest stosowana jako metoda porównawcza (na poziomie metody referencyjnej), ponieważ obecnie nie ma dostępnej metody ilościowego określenia retikulocytów, która ma wystarczająco wysoką dokładność, aby można ją było uznać za metodę referencyjną. Łańcuch spójności pomiarowej oparty jest na sekcji 5.4 normy ISO 17511 [3] i jest zilustrowany na ryc. 2. W przeciwieństwie do uproszczonej formy na ryc. 1, użyte materiały pokazano po lewej stronie, a procedury pomiarowe po prawej.

Laboratoria kontrolne Sysmex QC posiadają modele z serii każdego typu systemu hematologicznego Sysmex (dalej zwane jako: „referencyjny analizator hematologiczny Sysmex” lub „analizator referencyjny Sysmex”), które służą do określania wartości przypisanych kalibratorom Sysmex. Tym samym służą jako odniesienie dla użytkowników systemów hematologicznych Sysmex. Łańcuch spójności pomiarowej jest ustalany w następujący sposób: analizatory referencyjne Sysmex są regularnie kalibrowane świeżymi próbkami krwi ludzkiej bezpośrednio w odniesieniu do metod referencyjnych zalecanych przez ICSH i CLSI. Oznacza to, że próbki świeżej krwi są mierzone w laboratoriach Sysmex QC przy użyciu metod referencyjnych i analizatorów referencyjnych Sysmex. Jeśli to konieczne, kalibracja analizatorów referencyjnych Sysmex jest dostosowywana tak, aby wyniki były zgodne z wynikami uzyskanymi zgodnie z metodami referencyjnymi. Przypisane wartości kalibratorów Sysmex XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 są ustalane na analizatorach referencyjnych Sysmex. Następnie kalibrator Sysmex jest mierzony w systemie hematologicznym Sysmex użytkownika, a jeśli to konieczne, regulowana jest kalibracja systemu. Dzięki takiemu łańcuchowi, wyniki próbek pacjentów mierzone w systemie użytkownika, są spójne z międzynarodowo uznanymi metodami referencyjnymi.



Ryc. 2 Łańcuch spójności pomiarowej zgodny z sekcją 5.4 normy ISO 17511 [3]

Jak ocenia się niepewność pomiaru i co oznacza „niepewność rozszerzona”?

Ocena niepewności pomiaru może przebiegać w różny sposób, ponieważ nie ma „jednej, jedynej” metody. Głównym punktem odniesienia dla oceny niepewności jest „Przewodnik wyrażania niepewności pomiaru (Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement) (GUM)” [1]. ISO 17511 [3] przy ocenie niepewności kalibratorów zaleca przestrzegać zasad podanych w GUM. Należy tu podkreślić, że ocena niepewności kalibratorów hematologicznych Sysmex opiera się właśnie na tych zasadach.

W poniższych akapitach ogólnie opisano etapy przedstawione w GUM. Ich zrozumienie dostarcza cennej wiedzy na ten temat, która może być pomocna nawet w przypadkach, gdy ocena niepewności nie jest dokładnie zgodna z podanymi tam etapami.

Pierwszym krokiem w ocenie niepewności jest wyjaśnienie, od których elementów zależy wynik – włączając w to cały łańcuch spójności pomiarowej - oraz jaka jest ich relacja matematyczna.

Drugim krokiem jest określenie wszystkich istotnych źródeł niepewności. Obejmuje to czynniki, które wpływają na sam wynik lub elementy, od których ten wynik zależy. W tym celu należy wziąć pod uwagę wszystkie etapy łańcucha spójności pomiarowej oraz cały obieg próbki. Aby czas oraz wysiłek włożony w ocenę niepewności zachować w rozsądnych granicach, należy pamiętać, że ogólna niepewność jest prawie w całości zależna od głównych składowych, podczas gdy małe składniki praktycznie nie mają wpływu. Oznacza to, że ocena niepewności może być ograniczona do sprawdzenia najważniejszych czynników na nią wpływających. W wyżej wspomnianym przykładzie pipety, mierzy się temperaturę wody i z niej odpowiednio oblicza gęstość. W ten sposób niepewność związana z określeniem gęstości wody jest pomijalnie mała i nie musi być brana pod uwagę przy obliczaniu ogólnej niepewności pipetowanej objętości.

Trzecim krokiem jest oszacowanie ilości czynników wpływających na niepewność. Przykładowo można tego dokonać poprzez analizę statystyczną danych eksperymentalnych (ocena typu A) lub wykorzystując informacje, takie jak specyfikacje producenta, dane świadectw wzorcowania, szacunki oparte na doświadczeniu lub wiedzy eksperckiej na temat materiałów i instrumentów, lub inne (ocena typu B). W wielu przypadkach możliwe będzie wykorzystanie danych z walidacji metody lub kontroli jakości.

Zgodnie z matematyczną koncepcją GUM, wszystkie składniki są opisywane w formie odchyień standardowych („niepewność standardowa”), a w czwartym kroku są łączone zgodnie z prawem propagacji błędów, aby uzyskać „połączoną niepewność standardową”.

Ostatnim krokiem jest obliczenie „niepewności rozszerzonej” przez pomnożenie przez „współczynnik pokrycia k ”. Niepewność rozszerzoną definiuje przedział, w którym z dużym prawdopodobieństwem leży prawdziwa wartość wielkości mierzonej. W większości przypadków stosowany jest współczynnik pokrycia $k = 2$; odpowiada to prawdopodobieństwu (lub „poziomowi ufności”) około 95 % (pod warunkiem, że spełnione są pewne warunki statystyczne). Przy podawaniu niepewności należy również podać współczynnik pokrycia: z jednej strony, aby można było zidentyfikować prawdopodobieństwo bazowe, a z drugiej, aby można było obliczyć niepewność nierozszerzoną (tj. niepewność w postaci odchylenia standardowego), jeśli jest to potrzebne do dalszych obliczeń. Dzieje się tak na przykład, gdy niepewność wartości przypisanej do kalibratora jest wykorzystywana jako wkład w obliczaniu ogólnej niepewności wyników próbek pacjentów.

Metoda modelowania opisana w GUM (oparta na znanej matematycznej zależności między wynikiem, a elementami, od których zależy wynik) nie jest łatwa do zastosowania w laboratoriach medycznych z różnych powodów. Jednym z nich jest to, że systemy pomiarowe – stosowane, np. na analizatorach hematologicznych – są często systemami „zamkniętymi” i nie są „otwarte” na statystyczną ocenę poszczególnych źródeł niepewności. Niemniej jednak można postępować zgodnie z ogólnymi krokami: identyfikować odpowiednie źródła niepewności, określać ilościowo i łączyć główne przyczyny niepewności oraz ostatecznie obliczać niepewność rozszerzoną. Wykorzystanie danych z wewnętrznej kontroli jakości, które podsumowują kilka źródeł niepewności, jako część ogólnej niepewności wyników próbek pacjentów, jest przydatnym narzędziem w analizie medycznej.

Ocena niepewności pomiaru kalibratorów Sysmex

Niepewność wartości przypisanych kalibratorom Sysmex XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 oceniono zgodnie z koncepcją GUM. Uwzględniono niepewność pochodzącą z różnych źródeł, z całego łańcucha spójności pomiarowej, w tym:

- metody referencyjne i pipety używane podczas tych procedur,
- pomiary wykonane w celu skalibrowania referencyjnych analizatorów hematologicznych Sysmex względem metod referencyjnych,
- pomiary wykonane w celu określenia przypisanych wartości na analizatorach hematologicznych Sysmex,
- właściwości kalibratorów (zmienność między fiolkami oraz między seriami, stabilność w czasie itd.).

Niepewność rozszerzona została obliczona przez pomnożenie połączonej niepewności standardowej przez współczynnik pokrycia $k = 2$. Definiuje to przedział z poziomem ufności około 95%.

Ze względu na fakt, że dane zostały zebrane z wielu kalibracji i wielu różnych partii, dane podane dla niepewności przypisanych wartości są ważne dla wszystkich partii określonego kalibratora Sysmex.

W jaki sposób wykorzystać niepewność kalibratorów Sysmex do oceny niepewności wyników próbek pacjentów?

Aby ocenić niepewność pomiaru wyników próbek pacjentów, należy wziąć pod uwagę wszystkie istotne elementy związane z rzeczywistym procesem pomiaru. W przypadku systemów hematologicznych Sysmex i parametrów skalibrowanych za pomocą XN CAL, XN CAL PF lub SCS-1000, obejmuje to:

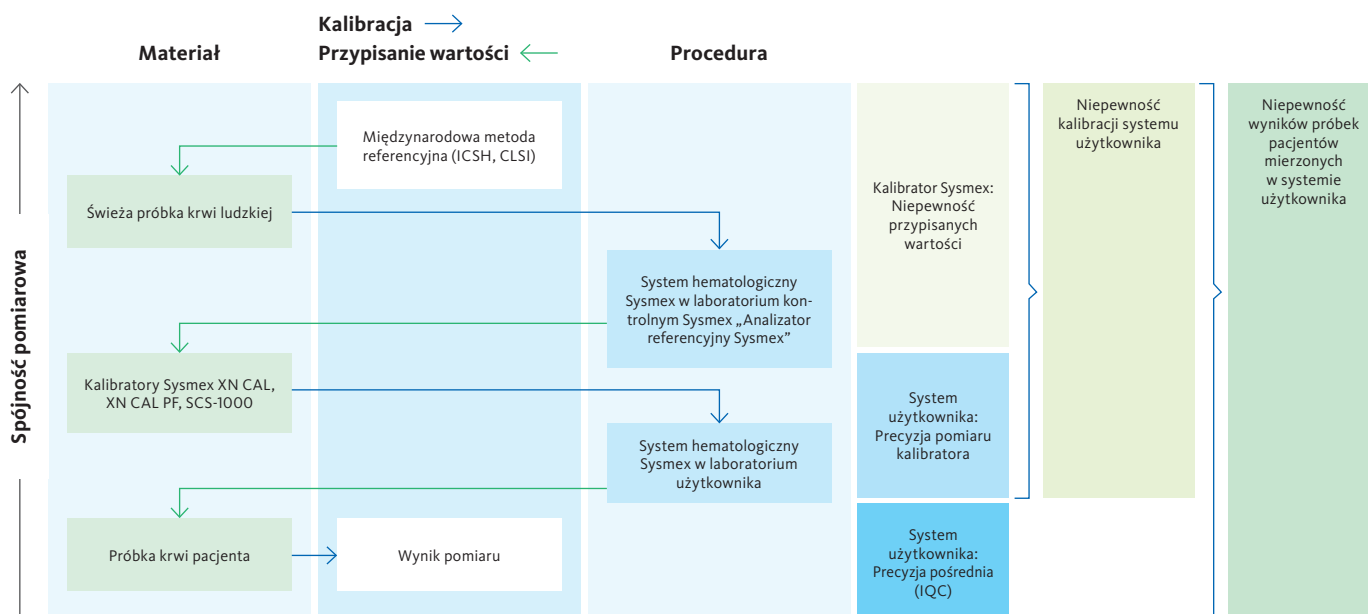
1. niepewność kalibracji systemu użytkownika,
2. czynniki wpływające na precyzję pomiaru i stabilność systemu użytkownika w miarę upływu czasu.

Pierwsza część, niepewność kalibracji, może być obliczona przez połączenie standardowej niepewności przypisanych wartości kalibratora (% wartości, uzyskane przez podzielenie rozszerzonej niepewności przez 2) z nieprecyzyznością pomiaru kalibratora w systemie użytkownika. Aby obliczyć tę nieprecyzyzność, współczynnik zmienności CV (%) pomiarów należy podzielić przez pierwiastek kwadratowy z liczby pomiarów. Ma to na celu uzyskanie średniej wartości CV%.

Czynniki wpływające na precyzję pomiaru i stabilność systemu obejmują różnice w obchodzeniu się z próbką, fluktuacje w działaniu systemu w miarę upływu czasu - spowodowane zmianami elektromechanicznymi, zmianami operatora, wymianami odczynników, konserwacją przeprowadzaną przez użytkownika, zmianami warunków środowiska, itp. Czynniki te można uchwycić dzięki precyzji pośredniej z pomiarów wewnętrznej kontroli jakości (IQC) (wyrażonej jako współczynnik zmienności, CV%).

Połączenie tych dwóch składników – połączonej niepewności standardowej kalibracji i CV% z IQC – daje łączną standardową niepewność dla wyników próbek pacjentów, która obejmuje zarówno niepewność związaną z rzeczywistym pomiarem w systemie użytkownika, jak również niepewność opisującą elementy całego łańcucha spójności (patrz ryc. 3). Jeżeli w łańcuchu spójności pomiarowej pojawia się coraz więcej elementów, niepewność pomiaru wzrasta wraz z każdym krokiem i jest największa dla wyniku próbki pacjenta, ponieważ obejmuje wszystkie składniki niepewności.

Ponownie, w ostatnim etapie oblicza się rozszerzoną niepewność wyników próbek pacjentów przez pomnożenie połączonej niepewności standardowej (uzyskanej jak opisano powyżej) z współczynnikiem pokrycia $k = 2$.



Ryc. 3 Składowe niepewności wzdłuż łańcucha spójności pomiarowej i połączona niepewność wyników próbek pacjentów

Akredytacja

Międzynarodowa norma ISO 15189 [4], która opiera się na międzynarodowych normach ISO 9001 i ISO/IEC 17025, stanowi ogólną podstawę akredytacji laboratoriów medycznych. Norma ta wymaga, aby laboratoria medyczne udokumentowały spójność pomiarową kalibracji urządzeń i określiły niepewność ich wyników.

Kalibratory XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 dla systemu hematologicznego Sysmex oraz dane dostarczone z tymi produktami pomagają w spełnieniu wymagań normy ISO 15189 dotyczącej spójności pomiarowej oraz niepewności: zastosowanie XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 zapewni spójność pomiarową wyników, uzyskiwanych w systemach hematologicznych, z międzynarodowymi metodami referencyjnymi. Niepewność wartości przypisanych tym kalibratorom jest częścią ogólnej niepewności obliczanej dla wyników próbek pacjenta. Dokumenty dotyczące danych spójności pomiarowej i niepewności dla XN CAL, XN CAL PF i SCS-1000 Sysmex udostępni na życzenie klienta.

Źródła

- [1] JCGM 100:2008 Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM).
- [2] JCGM 200:2012 International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM, 3rd edition).
- [3] ISO 17511:2003 In vitro diagnostic medical devices – Measurement of quantities in biological samples – Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials.
- [4] ISO 15189:2012 Medical laboratories – Requirements for quality and competence.