

### 3. Analytické vlastnosti laboratorní metody

Každá metoda má určité analytické vlastnosti, které rozhodují o jejím možném aplikačním rozsahu, o stupni správnosti a specifičnosti získaných výsledků, tedy o její vhodnosti pro uvažovanou aplikaci. Tyto analytické vlastnosti mají být nejen známy, ale jejich splnění je i pravidelně kontrolováno (viz kap. 6.). Pochopení podstaty základních analytických vlastností laboratorních metod je nezbytné pro každého lékaře využívajícího ke své práci výsledky laboratoře. Analytické vlastnosti metod totiž nelze nikdy zcela oddělit od vlastností klinických, jako je např. klinická senzitivita a specifičnost či určení referenčního rozmezí. Oba aspekty se navzájem ovlivňují a doplňují, a tvoří tak vlastně dvě strany jedné mince. Nejvýznamnější analytické vlastnosti jsou probrány v této kapitole.

#### 3.1. Přesnost metody

**Přesnost** (*precision*) metody je definována jako míra shody mezi výsledky získanými opakovanou analýzou téhož vzorku za předem stanovených podmínek. Počet opakování musí být dostatečně velký, aby umožňoval statistické vyhodnocení; obvykle se za dostačující považuje dvacet a více analýz. Podle podmínek, za kterých stanovení probíhá, rozlišujeme:

- **Opakovatelnost** (*repeatability*). Analýzy se provádějí všechny najednou, na témže zařízení s touž obsluhou. Používá se proto označení přesnost v sérii. Tato analytická vlastnost charakterizuje metodu a preciznost jejího provedení v laboratoři.
- **Reprodukovatelnost** (*reproducibility*). Stanovení se provádí postupně, například jednou denně, na témže zařízení, případně i různými pracovní-

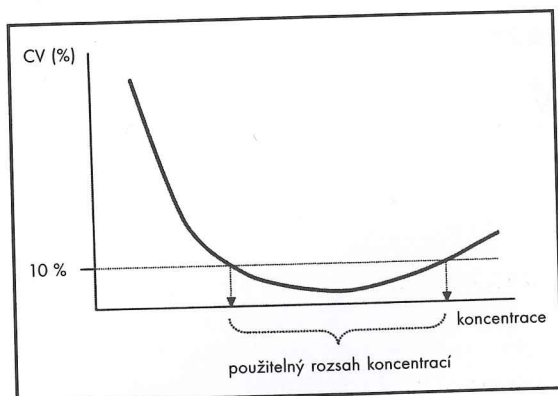
ky. Tím je charakterizována stabilita metody a jejího provádění během celé doby používání; hovoří se o přesnosti v čase. Podmínkou zkoumání přesnosti v čase, která je pro kvalitu laboratorní metody rozhodující, je zajištění stability analytu v kontrolním vzorku po celou dobu měření.

- **Mezilaboratorní reprodukovatelnost**. Měření se provádí na různých zařízeních, s různou obsluhou, na různých místech a zajišťuje srovnání úrovně přesnosti v různých laboratořích.

Přesnost je statistickým vyhodnocením **náhodných chyb** (*random error*), které není možné zcela eliminovat. Náhodné kolísání činnosti přístrojů, pomůcek, teplot atd. vždy způsobuje, že výsledky opakovaných analýz jsou rovnoměrně rozptýleny kolem průměrné hodnoty, přičemž četnost jednotlivých výsledků vykazuje normální rozložení (Gaussova křivka – viz obr. 3.2.). Mírou rozptylu výsledků, tedy nepřesnosti, je **směrodatná odchylka** (*s*, *standard deviation*, *SD*), v současnosti již jednoduše dostupná i bez znalosti příslušného vzorce na běžné kalkulačce. Nižší hodnota směrodatné odchylky (užší a vyšší Gaussova křivka) ukazuje na vyšší přesnost metody, a naopak. Směrodatná odchylka je vyjadřovaná ve stejných jednotkách jako měřená veličina. Závisí na měřené hodnotě, proto se obvykle počítá tzv. **relativní směrodatná odchylka** neboli **variační koeficient** (*coefficient of variation*, *CV*), vyjadřovaný většinou v %.

$$CV (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

Přesnost metody není stejná v celém stanovovaném rozsahu koncentrací, jak ukazuje tzv. **profil přesnosti** (viz obr. 3.1.). Nejlepší přesnost bývá většinou přibližně uprostřed koncentračního rozsahu, směrem k nízkým i vysokým koncentracím se přesnost snižuje. Proto je nezbytné znát hodnoty přes-



Obr. 3.1. Profil přesnosti laboratorní metody

nosti na více hladinách, především kolem důležitých interpretačních bodů, jako jsou mez stanovitelnosti, dolní a horní mez fyziologického rozmezí, rozhodovací limity (>cut-off< hodnoty) apod.

Použitelný rozsah koncentrací (*pracovní rozsah*) se z profilu přesnosti snadno graficky určí tak, že se vybere maximálně akceptovatelná nepřesnost (např. CV = 10 %, viz obr. 3.1.) a promítne se na osu koncentrace. Nejnižší koncentrace, při níž metoda vykazuje ještě akceptovatelnou přesnost (variační koeficient), se někdy nazývá *funkční citlivost* a je často používána např. u imunochemických metod.

S pracovním rozsahem souvisí i další pojmy, především meze stanovitelnosti a oblast linearity, viz obr. 3.6.).

## 3.2. Pravdivost a správnost metody

**Pravdivost metody** (*trueness*) je definována jako těsnost souhlasu mezi průměrnou hodnotou získanou z velkého počtu výsledků měření ( $\bar{x}$ ) a dohodnutou referenční hodnotou ( $x_0$ ). Mírou pravdivosti je velikost *odchyly* – *bias*:

$$\text{bias} = \bar{x} - x_0$$

popřípadě v relativním vyjádření:

$$\text{bias} = \frac{\bar{x} - x_0}{x_0} \cdot 100 (\%)$$

Musí se brát průměr více stanovení, protože jednotlivá hodnota může být zatížena náhodnou chybou (nepřesností). Dohodnutá referenční hodnota zastupuje (aproximuje) skutečnou hodnotu (true value), která je ve skutečnosti vždy neznámá. Získává se pomocí referenčních metod (viz kap. 6.), nejlépe ve velkém počtu různých laboratoří.

Pravdivost metody je dána velikostí *systematické chyby* (*systematic error*), která odchylyje výsle-

dek vždy jedním směrem (kladné bias – pozitivní systematická chyba, záporné bias – negativní systematická chyba). Můžeme se setkat s *konstantní složkou* systematické chyby (výsledek je u různé koncentrace odchylen vždy o stejnou hodnotu) a s *proporcionální složkou* (výsledek se od skutečné hodnoty liší vždy o stejný násobek).

Dříve se místo termínu pravdivost používal termín *správnost* (*accuracy*). Dnes se správností míní kombinace přesnosti a pravdivosti. Matematicky se správnost vyjadřuje *celkovou chybou měření* (*total error, TE*) která se rovná součtu náhodné a systematické chyby měření se zahrnutím 95% intervalu spolehlivosti (proto koeficient 1,96):

$$TE = 1,96 \cdot s + \text{bias}$$

Důležitým pojmem souvisejícím s pravdivostí (správností) výsledku je návaznost.

*Návaznost* (*traceability*) je vlastnost výsledku měření nebo například hodnoty kalibrátoru, kterou může být určen vztah k referenčním metodám a národním nebo mezinárodním referenčním materiálům neporušeným řetězcem porovnávání, jejichž nejistoty jsou známy.

Zjednodušeně lze říci, že pokud je u dané metody realizována a zajištěna návaznost, lze předpokládat, že výsledky vydávané laboratoří jsou srovnatelné s mezinárodně uznávanými výsledky.

Určení návaznosti je nedílnou součástí validace metod (blíže viz kap. 6.). Realizaci návaznosti umožňuje existence hierarchické struktury materiálů a metod:

- *Primární referenční materiály* jsou substance o maximálně dosažitelné čistotě, jejichž navážením nebo odměřením objemu vzniká materializovaná jednotka měření.
- *Sekundární (certifikované) referenční materiály* mají již obvykle maticový charakter (např. u séra obsahují proteinovou matici). Jsou doprovázeny certifikátem uvádějícím jednu nebo více hodnot vlastností, určených postupem, který vytváří návaznost na primární referenční materiály. Tímto postupem je obvykle *referenční metoda*, tj. metoda s nejlépe známými a prostudovanými analytickými znaky a minimální nejistotou výsledků.

Obr. 3.2. Schematické znázornění vlivu chyb na přesnost a pravdivost laboratorního výsledku ( $x_0$  = skutečná hodnota,  $\bar{x}$  = průměr výsledků opakovaných měření)

- *Pracovní kalibrátory*, určené ke kalibraci rutinních metod, jsou většinou dodávány výrobcí analytických setů; jejich hodnoty jsou odvozené od certifikovaných referenčních materiálů. Měly by mít udánu i hodnotu nejistoty (viz kap. 3.4.).

### 3.3. Vztah mezi pravdivostí a přesností

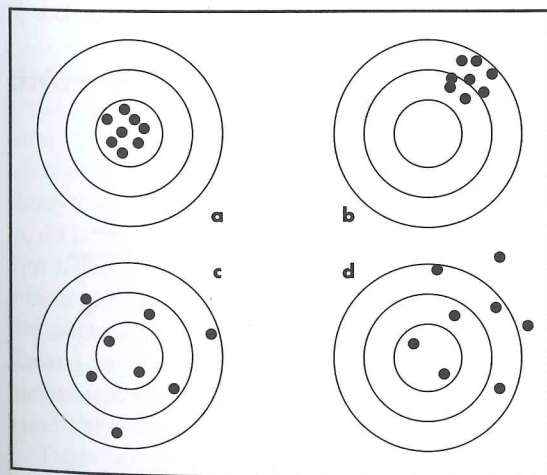
Obrázek 3.2. ukazuje vztah měřeného výsledku ke skutečné hodnotě: systematická chyba způsobuje odchylku jedním směrem, přičemž náhodná složka způsobuje, že se měřený výsledek pohybuje rovnoměrně rozptýlen kolem určité průměrné hodnoty.

Instruktivní je srovnání přesnosti a pravdivosti laboratorní metody se střelbou na cíl (obr. 3.3.). Mohou nastat následující kombinace:

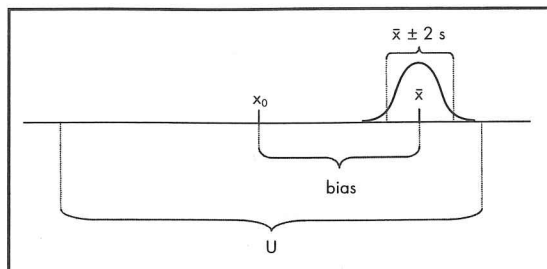
- výsledky jsou přesné a pravdivé (a);
- výsledky jsou přesné, ale nepravdivé (b);
- výsledky jsou nepřesné; v průměru jsou sice pravdivé (průměr by padl doprostřed terče), jednotlivá měření jsou však nepravdivá. Tuto metodu je třeba zamítnout, neboť dostatečně spolehlivé musí být každé měření, nikoli průměr opakovaných stanovení (c);
- výsledky jsou nepřesné i nepravdivé; metoda je nepřijatelná (d).

### 3.4. Nejistota měření

Jak bylo uvedeno v odstavcích 3.1. a 3.2., jsou výsledky analýz vždy zatíženy náhodnými a syste-



Obr. 3.3. Srovnání přesnosti a pravdivosti laboratorní metody se střelbou na cíl (vysvětlení v textu)



Obr. 3.4. Schematické znázornění souvislosti přesnosti, pravdivosti a nejistoty měření ( $x_0$  - skutečná hodnota,  $\bar{x}$  - průměr výsledků opakovaných měření,  $s$  - směrodatná odchylka - charakterizuje přesnost, vliv náhodných chyb, bias - charakterizuje pravdivost, vliv systematických chyb,  $U$  - nejistota - interval, ve kterém může být měřená veličina)

matickými chybami, přičemž tyto chyby nelze nikdy beze zbytku eliminovat. Důsledkem existence chyb je nejistota výsledku měření.

*Nejistota (uncertainty, u)* je definována jako interval hodnot, v němž se výsledek analýzy s určitou pravděpodobností odůvodněně nachází. Zatímco chyba je rozdíl mezi výsledkem a skutečnou hodnotou, nejistota představuje interval, který obklopuje skutečnou hodnotu (obr. 3.4.). Znamená to, že výsledek analýzy ( $x$ ) je vždy odhadem (pokud možno nejlepším) skutečné hodnoty a jeho hodnotu můžeme realističtěji než jedním číslem vyjádřit číselným intervalem  $x \pm u$ .

Nejistota obecně zahrnuje mnoho složek, z nichž nevýznamné se v praxi zanedbávají, významné se vyjadřují formou směrodatných odchylek jako *standardní nejistoty (u)* (*standard uncertainty*). Mezi významné patří například standardní nejistota odpovídající reprodukovatelnosti měření (nejvýznamnější náhodná složka nejistoty) a standardní nejistota hodnoty kalibrátoru (nejvýznamnější systematická složka nejistoty). Jsou-li data o nejistotě získána pomocí laboratorních měření, hovoříme o *nejistotě typu A*, jsou-li získána z dokumentace, údajů výrobce, literatury aj., jedná se o *nejistotu typu B*. Identifikované a vyčíslené standardní nejistoty se převádějí do podoby *kombinované standardní nejistoty (uc)* (*combined standard uncertainty*) podle vzorce:

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + \dots + u_n^2}$$

*Rozšířená nejistota (expanded uncertainty, U)* se získá vynásobením kombinované standardní nejistoty koeficientem rozšíření ( $k$ ), který má pro 95% hladinu spolehlivosti hodnotu 2.

$$U = k \cdot u_c$$

Rozšířená nejistota je tedy statisticky definovaný interval, ve kterém se nalézá skutečná hodnota s určitou spolehlivostí (pravděpodobností).

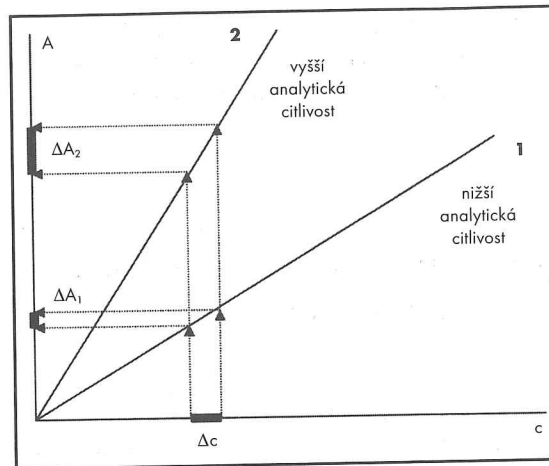
V dosavadní lékařské praxi se uvádějí hodnoty rozhodovacích limitů (např. hranice fyziologického rozmezí) formou pevných čísel, nerespektují se tedy nejistoty měření. Správně by klinické laboratoře měly k výsledku připojovat i údaj o rozšířené nejistotě.

Např.: Mezní hodnota pro nezvýšené riziko ischemické choroby srdeční (ICHS) se u stanovení cholesterolu udává jako 5 mmol/l. Rozšířená nejistota stanovení cholesterolu byla však určena na přibližně 5 %. Správně by se proto měla mezní hodnota udávat ve tvaru  $5,0 \pm 0,25$  mmol/l. O nezvýšeném riziku ICHS by se mělo uvažovat až při hodnotách menších než 4,75 mmol/l, a na druhé straně o zvýšeném riziku až při hodnotách nad 5,25 mmol/l. Nelze tedy v žádném případě provádět klinická rozhodování na podkladě jednoho výsledku, zejména pak ne v případě, kdy výsledek analýzy leží blízko rozhodovacího limitu; obvykle je zapotřebí dvou i více měření. S počtem měření totiž klesá nejistota výsledku.

### 3.5. Analytická citlivost (senzitivita) metody

Znalost analytické citlivosti (*analytical sensitivity*) je důležitá pro určení rozsahu koncentrací, které lze danou metodou stanovit. Citlivost metody je dána především použitým principem. Spektrofotometrické metody, v klinických laboratořích dosud nejrozšířenější, umožňují měřit koncentrace řádově  $10^{-9}$  mol/l (nanomoly), ale existují již metody založené na kombinaci postupů analýz DNA/RNA s použitím luminiscenčních detektorů, které posouvají oblast možného analytického měření až do řádů  $10^{-15}$  až  $10^{-18}$  mol/l (femtomoly až attomoly).

Analytická citlivost je určena směrnicí kalibrační závislosti. Čím je kalibrační závislost strmější (tj.



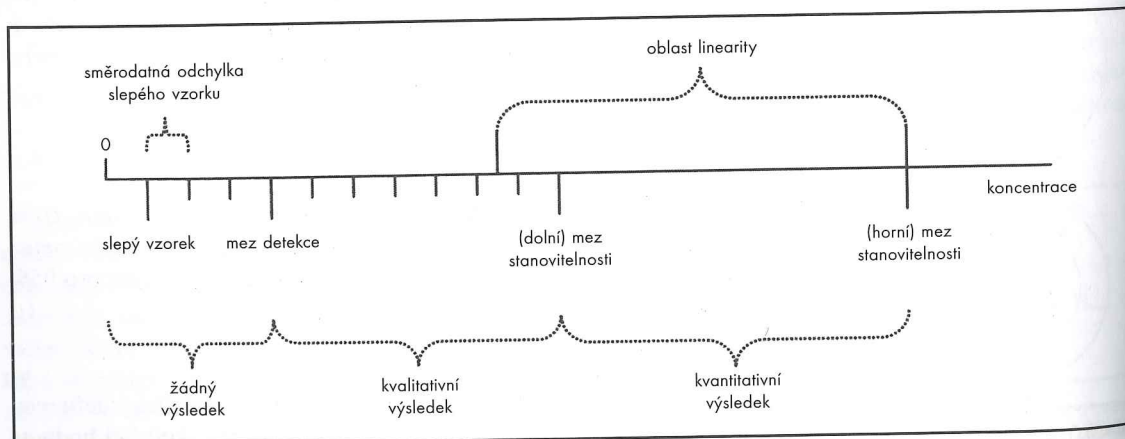
Obr. 3.5. Porovnání citlivosti dvou metod: z průběhu kalibračních přímek je patrné, že metoda 2 je citlivější než metoda 1, neboť stejná změna koncentrace  $\Delta c$  odpovídá větší změna absorpance ( $\Delta A_1 < \Delta A_2$ )

čím větší číselnou hodnotu má její směrnice), tím větší je odezva měřené veličiny (nejčastěji absorpance  $\Delta A$ ) vyvolaná přírůstkem koncentrace měřeného analytu ( $\Delta c$ ); tím je tedy metoda citlivější, protože se měřitelná odezva získá již od menšího přírůstku koncentrace (viz obr. 3.5).

Analytická citlivost je definována jako nejmenší rozdíl koncentrací, který lze ještě s určitou přípustnou nejistotou rozlišit. U málo citlivé metody vyvolá přírůstek koncentrace tak malou změnu odezvy, že ji přístroj nedokáže změřit.

S analytickou citlivostí souvisí důležité analytické znaky (obr. 3.6.):

**Mez detekce (limit of detection)** je definována jako nejmenší množství analytu ve vzorku, které může být detekováno. Většinou se určuje jako průměrná hodnota koncentrace slepého vzorku + tři směrodatné odchylky slepého vzorku. K výsledkům nižším, než je mez detekce, se nelze vůbec vyjádřit, protože je není možné odlišit od náhodného šumu přístroje a metody. Výsledky nad mez detekce je



Obr. 3.6. Schematické znázornění souvislosti pojmů diskutovaných v textu o analytické citlivosti a typy vydávaných výsledků

možné vydat jako kvalitativní, tj. např. pozitivní či negativní.

**Mez stanovitelnosti (limit of determination)** je definována jako nejnižší koncentrace analytu, která může být stanovena s požadovanou hodnotou nejistoty. Určuje se většinou jako průměrná hodnota koncentrace slepého vzorku + 10x směrodatná odchylka slepého vzorku. U koncentrací vyšších než mez stanovitelnosti je možné vydávat kvantitativní výsledek. Lze dále uvažovat o tzv. horní mezi stanovitelnosti, což bývá v praxi horní hladina oblasti linearity.

**Linearita (linearity)** definuje schopnost metody poskytnout v určitém rozmezí koncentrací měřený signál přímo úměrný měřené koncentraci, tj. kalibrační závislost lze znázornit přímkou. Pracovat v oblasti linearity je žádoucí, protože v tom případě stačí provádět jen dvoubodovou kalibraci (slepý vzorek + jedna hodnota kalibrátoru) a kalibrační funkci je možné vyjádřit jediným číslem, tzv. kalibračním faktorem (F):

$$F = \frac{\text{koncentrace kalibrátoru}}{\text{měřená odezva (signál) kalibrátoru}}$$

Koncentraci analytu v měřeném vzorku lze pak jednoduše vypočítat podle vztahu:

$$\begin{aligned} \text{koncentrace ve vzorku} &= \\ &= F \cdot \text{měřená odezva (signál) vzorku} \end{aligned}$$

Koncentraci analytu vyšší než horní mez linearity lze někdy řešit volbou vhodného ředění vzorku či snížením dávkovaného objemu vzorku.

U některých metod je však závislost mezi koncentrací a měřenou odezvou nelineární a k realizaci kalibrační funkce je zapotřebí použít sadu (obvykle šesti) kalibrátorů o různých koncentracích, pokrývajících celý pracovní rozsah metody, tj. všechny očekávané koncentrace.

### 3.6. Analytická specifičnost metody

**Analytická specifičnost** je vlastnost, která vyjadřuje, do jaké míry a jakým způsobem je stanovení určité látky ovlivněno jinými látkami, přítomnými v biologickém materiálu. Protože biologický materiál představuje velice bohatou směs látek různého (často i neznámého) složení, lze očekávat, že s čí-  
nidlem může reagovat nejen stanovovaná látka, ale i jiné látky přítomné v analyzovaném materiálu.

Takovýto vliv jiných látek na výsledek se nazývá **interference**. Může ovlivňovat výsledek směrem kladným i záporným, a to v různé míře. Pro posou-

zení použitelnosti analytické metody v praxi je důležitá nejen míra interference, ale i koncentrace interferující látky, kterou lze v biologickém materiálu očekávat. Příliš specifická metoda bývá obvykle náročná, zdlouhavá a drahá; volíme proto vždy metodu přiměřeně specifickou, kde možná interference je z klinického (interpretačního) hlediska nevýznamná.

Nečekaná interference zhoršuje **pravdivost výsledku**. K velice častým patří ovlivnění výsledku terapií; **interferenci léků** při laboratorních analýzách jsou věnovány rozsáhlé monografie a přehledy.

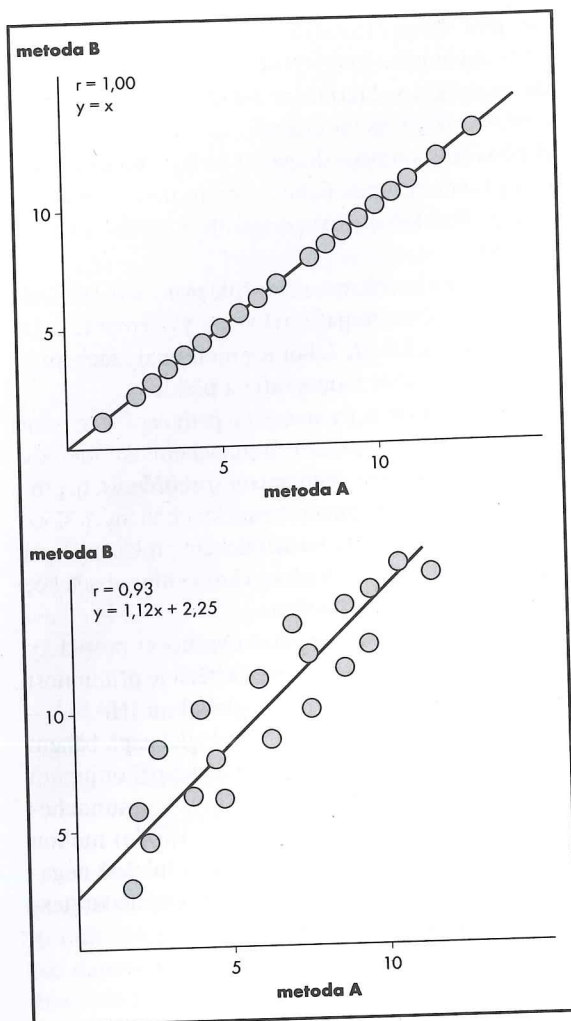
K velmi specifickým metodám patří např. stanovení substrátů pomocí enzymů. Imunochemické metody vykazují obvykle tzv. **skupinovou specifičnost**, tj. protilátka reaguje se skupinou chemicky příbuzných sloučenin. Tak např. při imunochemickém průkazu opiátů reaguje morfin, heroin i kodein, i když citlivost detekce jednotlivých látek je rozdílná.

Některá lidská séra mohou obsahovat protilátky proti zvířecím bílkovinám. Nejčastější je přítomnost protilátek proti myším imunoglobulinu (HAMA – human anti-mouse antibody), vznikající např. během terapeutického či diagnostického užití konjugátů obsahujících myší imunoglobuliny. V imunochemických stanoveních (sendvičová metoda) mohou HAMA vyvolávat falešně pozitivní i falešně negativní výsledek, resp. zvýšení i snížení výsledku testu (záleží na principu stanovení).

### 3.7. Srovnání dvou metod pro stanovení těžé látky

Srovnání dvou metod měření těžé látky je v klinické biochemii velmi časté. Uplatňuje se např. při zavádění nové analytické metody, důležité je však i pro požadující lékaře, např. začnou-li využívat služby jiné laboratoře. Novou metodu je třeba porovnat s metodou dosavadní, aby bylo zřejmé, zda případně nalezená diference hodnoty je skutečně způsobena změnou zdravotního stavu pacienta, a ne tím, že nová metoda produkuje jiné výsledky.

Srovnání dvou metod se provádí tzv. metodou **regresní analýzy**. Soubor vzorků se analyzuje dosavadní i novou metodou a výsledky se zanesou do grafu, kde původní metoda A je na ose x a nová metoda B na ose y (viz obr. 3.7.). V ideálním případě, kdy obě metody poskytují shodné výsledky, tj.  $y = x$ , leží všechny body na přímce půlící úhel mezi osami a procházející počátkem. Ve skutečnosti je však mnohem častější případ, kdy body jsou různě rozptýlené kolem přímky, která má odlišný sklon než 45°, a navíc nemusí procházet počátkem. Vztah



Obr. 3.7. Příklad absolutní shody dvou metod (nahore) a reálného vztahu nalezaného v praxi (dole);  $r$  = korelační koeficient, metoda A = původní, metoda B = nová

mezi výsledky obou metod, posouzený metodou lineární regrese, lze pak popsat obecnou rovnicí *regresní přímky*:

$$y = ax + b$$

kde  $a$  je směrnici přímky a vyjadřuje proporcionální složku systematické chyby a  $b$  značí úsek, který přímka vytíná na ose  $y$ , a je mírou konstantní složky systematické chyby (viz odstavec 3.2.). Rovnice však dovoluje přepočítat výsledky  $x$  získané jednou metodou (A) na výsledky  $y$  získané jinou metodou (B) pouze za předpokladu, že se korelační koeficient blíží hodnotě 1,0.

**Korelační koeficient ( $r$ )** vyjadřuje míru rozptylu bodů kolem regresní přímky. Maximální hodnota korelačního koeficientu je 1,0; v tom případě všechny body leží na přímce dané rovnicí regresní přímky (obr. 3.7. nahore). Při zvyšujícím se rozptylu bodů (obr. 3.7. dole) hodnota korelačního koeficientu klesá. Je třeba si uvědomit, že korelace je měřítkem těsnosti asociace mezi oběma metodami, a ne

shody hodnot produkovaných oběma metodami. Například korelační koeficient může mít hodnotu 1,0, ale nová metoda může přitom dávat např. dvakrát vyšší výsledky než metoda původní apod. Obvykle platí, že větší počet údajů (měření) má tendenci poskytnout vyšší korelační koeficient; naproti tomu i malé množství odlehlých hodnot může vést k výrazně nižšímu korelačnímu koeficientu.

### 3.8. Souvislost mezi analytickými vlastnostmi metod a biologickou variabilitou měřených parametrů

Výsledek laboratorního vyšetření je ovlivněn nejen případnými chybami při analýze, zhoršujícími přesností a pravdivostí (viz výše), ale i biologickou variabilitou měřeného parametru. Vztah mezi těmito parametry není lhostejný: určuje požadavky na analytickou přesnost a pravdivost a uplatňuje se i při hodnocení výsledků při jejich dynamickém sledování.

#### 3.8.1. Požadavky na přesnost a pravdivost z hlediska biologických rozptylů měřené látky

Ideální nepřesnost měření, vyjádřená jako směrodatná odchylka  $s_A$ , je menší nebo rovna polovině individuálního biologického rozptylu  $s_I$ :

$$s_A \leq 0,5 \cdot s_I$$

Protože referenční rozmezí je určeno jako průměrná hodnota  $\pm 2$  směrodatné odchylky, musí být směrodatná odchylka měření  $s_A$  nejméně čtyřikrát menší než příslušné referenční rozmezí vyšetřovaného jedince, aby bylo možno s dostatečnou spolehlivostí odlišit fyziologické a patologické výsledky.

Nejmenší biologickou variabilitu mají sérové koncentrace minerálů (Na, K, Cl aj.) a osmolalita; proto jsou na přesnost těchto stanovení kladeny nej přísnější požadavky.

Ideální bias měření je menší nebo rovna čtvrtině celkového biologického rozptylu  $s_c$ , který zahrnuje intra- i interindividuální rozptyl:

$$\text{bias} \leq 0,25 \cdot s_c$$

Tab. 3.1. Nejmenší významné změny (LSC) dvou po sobě jdoucích měření (95% spolehlivost)

Analyt	Jednotka	Původní koncentrace	Původní koncentrace ± LSC	
			A	B
sodík	mmol/l	135	132-138	129-141
draslík	mmol/l	4,0	3,45-4,55	3,40-4,60
vápník	mmol/l	2,25	2,06-2,44	2,02-2,48
glukóza	mmol/l	7,0	6,1-7,09	5,8-8,1
urea	mmol/l	7,0	4,5-9,5	4,4-9,6
bílkovina	g/l	65	59,5-70,5	58-72
kreatinin	μmol/l	110	95-125	86-134
bilirubin	μmol/l	20	7,4-32,2	7,0-32,6
AST	μkat/l	1,0	0,60-1,40	0,55-1,45
ALT	μkat/l	1,0	0,24-1,76	0,22-1,78
ALP	μkat/l	3,0	2,4-3,6	2,05-3,95

A = změny počítány pro ideální analytickou nepřesnost, B = změny počítány pro soudobou analytickou úroveň dosahovanou v ČR

### 3.8.2. Požadavek na přesnost a pravdivost podle účelu stanovení

Při *monitorování stavu pacienta* je kladen největší důraz na maximální přesnost měření v čase; systematická složka měření (bias) zde ustupuje do pozadí, ovšem za předpokladu, že se během sledování nemění. Z hlediska biologické variability nás zajímá pouze intraindividuální odchylka, tedy kolísání hodnoty u jedince v čase.

Naproti tomu stanovení pro *diagnostické účely* vyžaduje co nejnižší systematickou chybu (bias) a toleruje poněkud větší náhodnou chybu měření (nepřesnost). V tomto případě je relevantní biologická odchylka složena z intra- a interindividuální odchylky.

### 3.8.3. Klinická významnost dvou po sobě následujících měření u jednoho pacienta

Velice často je zapotřebí rozhodnout, zda dva výsledky, získané v určitém časovém intervalu u téhož pacienta, se významně liší a znamenají tedy změnu klinického stavu, nebo zda je rozdíl dán rozptylem, způsobeným analytickou chybou metody ( $s_A$ ) a individuální biologickou variabilitou měřené látky ( $s_I$ ). Tato *nejmenší významná změna* (LSC, least significant change) se pro 95% interval spolehlivosti dá vypočítat podle vzorce:

$$LSC = 2,77 \cdot (s_A^2 + s_I^2)^{1/2}$$

Není-li uvedená hodnota překročena, nelze dvě hodnoty získané od téhož pacienta považovat s dostatečnou významností za odlišné.

Tabulka 3.1. ukazuje příklady nejmenších významných změn běžných analytů, které musí být překročeny, abychom mohli s více než 95% pravděpodobností tvrdit, že dvě po sobě jdoucí hodnoty u téhož pacienta jsou odlišné. V opačném případě nelze vyloučit, že rozdíl je způsoben biologickou a analytickou variabilitou.

### 3.8.4. Požadavky na analytickou spolehlivost z hlediska kontroly kvality

Tyto požadavky budou probrány v kap. 6.2.

#### Doporučená literatura

1. BAREK, J., JÁNOŠ, P., KORUNA, I., et al. *Metrologická terminologie v chemii*. Chem Listy, 2000, 94, s. 439-444.
2. BLAND, JM., ALTMAN, DG. *Statistical methods for assessing agreement between measurements*. Biochim Clin, 1987, 11, p. 399-404.
3. FRIEDECKÝ, B. *Vztah analytických měření a klinických požadavků sledování stavu pacientů, diagnostiky a tvorby obecně platných referenčních intervalů*. Klin Biochem Metab, 1996, 4, s. 237-241.
4. FRIEDECKÝ, B. *Referenční změny měření (kritické diference) a požadavky na jejich nejistotu, odvozené z hodnot biologických rozptylů analytů*. Klin Biochem Metab, 1997, 5, s. 200-203.
5. HOLLIS, S. *Analysis of method comparison studies*. J IFCC, 1997, 9, p. 8-12.
6. KRISTIANSEN, J., CHRISTENSEN, JM. *Traceability and uncertainty in analytical measurements*. Ann Clin Biochem, 1998, 35, p. 371-379.

7. KROLL, MH., EKIN, RJ. *Interference with clinical laboratory analyses*. Clin Chem, 1994, 40, p. 1996–2005.
8. KULHÁNEK, V., DOLEŽALOVÁ, V., FISCHER, J., et al. *Základy metodologie a statistiky pro zdravotní laboranty, díl III*. Brno: Ústav pro další vzdělávání SZP, 1974.
9. MATTHEWS, DE., FAREWELL, VT. *Using and understanding medical statistics*. 3<sup>rd</sup> ed. Karger : Basel, 1996.
10. PARDUE, HL. *The inseparable triad: analytical sensitivity, measurement uncertainty, and quantitative resolution*. Clin Chem, 1997, 43, p. 1831–1837.