

# Doporučení k vyjadřování nejistot kvantitativních výsledků měření ve zdravotnických laboratořích

Verze 2, datum vydání: 10.3.2021

## Obsah

1. Úvod	1
2. Zkratky	2
3. Pojem nejistoty	2
4. Aplikace nejistoty výsledku měření při jeho interpretaci	4
5. Nejistota výsledku výpočtu	4
6. Frekvence zjišťování nejistot	5
7. Zaokrouhlování a počet platných číslic	5
8. Problém nulové nejistoty	6
9. Kolik nejistot zjišťovat pro jedno laboratorní vyšetření	6
10. Jaké zdroje nejistot (dílní nejistoty) zahrnout do výpočtu	6
10.1. Postup určení dílní nejistoty $u_{Rw, rel}$	7
10.2. Postup určení dílní nejistoty $u_{cal, rel}$	8
11. Výpočet kombinované nejistoty	9
12. Jakou nejistotu vybrat a jak ji prezentovat	9
13. Minimální a maximální přípustná velikost nejistoty měření	10
13.1. Minimální přípustné nejistoty	10
13.2. Maximální přípustné nejistoty	10
14. Bias	11
15. Literatura	12

## 1. Úvod

Tento text si klade za cíl poskytnout pracovníkům zdravotnických laboratoří praktický, jednoduchý a přehledný návod k výpočtu nejistoty kvantitativních výsledků měření, a to v nejstručnější možné podobě. Nechce a nemůže být vyčerpávajícím pojednáním o problematice nejistot výsledků (obsáhlý výklad je k dispozici např. v [1, 2, 10]), je zaměřen na rutinní laboratorní vyšetření a na praktické potřeby dané zejména požadavky normy ISO 15189 [5].

Od první verze doporučení z roku 2014 se tento text liší především aplikací dokumentu [2] a následným **podstatným zjednodušením**.

Základní koncept nejistot je velice jednoduchý a elegantní. Bohužel matematický aparát potřebný k úplnému zvládnutí problematiky není triviální (podrobný výklad viz např. [1]), a proto jsme v rámci tohoto doporučení přijali v souladu s [2] zejména tato zjednodušení: naměřené hodnoty získané z opakovaných měření mají normální (Gaussovo) rozložení a dílní nejistoty jsou nekorelované.

**Významná změna, se kterou v této verzi doporučení přicházíme, spočívá v tom, že do nejistoty již žádným způsobem nezapočítáváme bias (vychýlení), tedy předpokládáme, že bias není významný.**

Tento krok má 2 zásadní důvody:

1. Nejenom, že se započtením bias nepočítá GUM [1], ale bias do nejistoty nezahrnuje ani nový dokument ISO/TS 20914 [2] - tento dokument sice o bias hovoří v kapitole 6.6, ale počítá s tím, že významný bias bude korigován, a do nejistoty započítává pouze nejistotu provedené korekce (což se navíc dále komplikuje tím, že korekce může být aditivní nebo multiplikatívni). Dokument [2] nepřipouští alternativu, že v případě zatížení výsledků měření významným bias by byla celková nejistota zvětšena tak, že je do ní bias nějakým způsobem zahrnut, a to namísto korekce naměřené hodnoty na tento poznaný signifikantní bias.
2. Druhý důvod je ryze pragmatický. Není obvyklé, že laboratoř poté, co provede řádnou kalibraci svého analytického měřicího systému za použití kalibrátoru a postupu předepsaného výrobcem, investuje další peníze, čas a úsilí do nákupu komutabilního referenčního materiálu CRM nebo SRM a s jeho použitím zjišťuje, jestli jsou její výsledky měření zatíženy významným bias (v některých případech lze zjistit bias měřením vzorků EQA, takových případů ale je jen zlomek v porovnání s celkovým spektrem rutinně prováděných laboratorních vyšetření). A pokud významný bias zjistí, provádí následnou korekci vydávaných výsledků měření. Protože v rutinních klinických laboratořích není takový postup běžný, považujeme za nadbytečné zatěžovat toto doporučení poměrně komplikovanými úvahami, které se týkají (ne)korigovaného bias.

Skutečnost, že v tomto doporučení nezapočítáváme do celkové nejistoty „složku bias“, nám umožnila celé doporučení podstatně zjednodušit. Domníváme se, že toto zjednodušení není na úkor vypovídací schopnosti výsledných odhadů nejistot měření.

**Pokud jde o bias, naléhavě doporučujeme všem čtenářům, aby se seznámili s kapitolou 14.**

## 2. Zkratky

Symbols a zkratky použité v rovnicích jsou vždy vysvětleny přímo u příslušných výrazů.

CRM	Certifikovaný referenční materiál
CV	Variační koeficient
$D_{max}$	Přijatelný rozdíl (kritérium používané pro hodnocení výsledků v EQA)
EQA	Externí hodnocení kvality (EHK)
k	Koeficient rozšíření
POCT	Point of Care Testing Laboratorní vyšetření prováděná u lůžka nemocného či v prvním kontaktu s ním
RCV	Kritická referenční změna
SD	Směrodatná (standardní) odchylka
SRM	Standardní referenční materiál
IQC	Vnitřní řízení kvality (VKK)
u	Standardní nejistota
$u_{rel}$	Standardní nejistota vyjádřená jako relativní (tj. v %)
U	Rozšířená nejistota
$U_{rel}$	Rozšířená nejistota vyjádřená jako relativní (tj. v %)

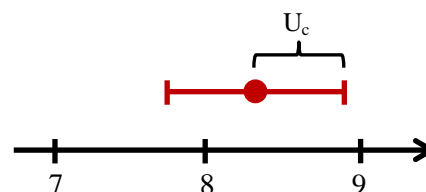
V tomto doporučení **důsledně** označujeme **relativní nejistoty** (vyjadřované v %) dolním indexem **rel** (např.  $u_{cal,rel}$ ), zatímco **absolutní nejistoty** (vyjadřované v jednotce měření příslušného laboratorního vyšetření) jsou bez tohoto indexu (např.  $u_{cal}$ ).

## 3. Pojem nejistoty

Definice nejistoty (dle [6, 7]) zní: "Nejistota je nezáporný parametr charakterizující rozptýlení hodnot veličiny přiřazených k měřené veličině na základě použité informace."

Nejistota je parametr přidružený ke každému výsledku měření a vyjadřuje omezené možnosti (teoretické i praktické) procesu měření. **Absolutně přesný výsledek měření (tj. výsledek s nulovou nejistotou) neexistuje.** S rostoucími investicemi (času, peněz) lze nejistotu zmenšovat, nikdy ji ale nelze zcela eliminovat. Bylo by velkou chybou domnívat se, že naměřená hodnota přesně odpovídá skutečné hodnotě. Naměřenou hodnotu, doprovázenou nejistotou, je nutné **správně interpretovat** takto:

**Skutečná hodnota se s určitou pravděpodobností nachází v okolí naměřené hodnoty (okolí je určeno nejistotou).  
Naměřená hodnota je přitom nejlepším dostupným odhadem skutečné hodnoty.**



Celková nejistota výsledku měření je kombinací řady dílčích nejistot, a proto se označuje jako kombinovaná nejistota ( $U_c$ ). To odpovídá skutečnosti, že proces měření zahrnuje celou řadu kroků a položek, z nichž každá přispívá k celkové nejistotě výsledku měření určitým dílem (na obrázku je nejistota znázorněna ve formě intervalového odhadu – kombinované rozšířené nejistoty).

Nejistota je vždy přiřazena výsledku měření (nikoli metodě, systému apod.), a proto se také označuje jako nejistota měření. To, co výpočty a postupy uvedené v tomto doporučení skutečně zjišťujeme, je kvalifikovaný odhad nejistoty výsledků měření, který platí pro konkrétní laboratoř, laboratorní vyšetření a časový úsek.

Nejistotu můžeme vyjádřit jako absolutní (v jednotce měření) nebo relativní (v %).

Přepočet **absolutní nejistoty na relativní** se provádí dle vztahu:

$$u_{rel} = 100 \cdot \frac{u}{x} \quad [\%] \quad (1)$$

Přepočet **relativní nejistoty na absolutní** se provádí dle vztahu:

$$u = x \cdot \frac{u_{rel}}{100} \quad (2)$$

kde je:  $u_{rel}$  ... nejistota vyjádřená relativně (v %)  
 $u$  ... nejistota vyjádřená absolutně (v jednotce měření)  
 $x$  ... naměřená hodnota

Dle vztahů (1) a (2) můžeme přepočítávat jakýkoli typ nejistoty (standardní, kombinovanou, rozšířenou – viz příklad 1 níže).

Základní hierarchie nejistot, která odpovídá postupu jejich zjišťování, je následující:

**Standardní nejistota** (označuje se  $u$ ) je složka nejistoty, kterou určitá část měřicího procesu přispívá ke kombinované nejistotě výsledku měření a je vyjádřena ve formě směrodatné odchylky (tj.  $u = SD$ ).

**Relativní standardní nejistota** (označuje se  $u_{rel}$ ) je standardní nejistota vyjádřená v % dle vztahu (1) a odpovídá variačnímu koeficientu (tj.  $u_{rel} = CV$ ).

**Relativní kombinovaná nejistota** (označuje se  $u_{c,rel}$ ) se vypočte z dílčích nejistot pomocí vztahu, který popisuje šíření (propagaci) nejistot a v nejjednodušším případě, kdy výsledná (výstupní) měřená veličina je počítána dle multiplikativního matematického vztahu z několika výchozích (vstupních) měřených veličin, se redukuje na vztah:

$$u_{c,rel} = \sqrt{u_{1,rel}^2 + u_{2,rel}^2 + \dots + u_{n,rel}^2} \quad [\%] \quad (3)$$

kde je:  $u_{c,rel}$  ... relativní kombinovaná nejistota  
 $u_{1,rel}$  až  $u_{n,rel}$  ... dílčí relativní standardní nejistoty

**Relativní kombinovaná rozšířená nejistota** (označuje se  $U_{c,rel}$ ) se vypočte dle vztahu:

$$U_{c,rel} = k \cdot u_{c,rel} \quad [\%] \quad (4)$$

kde je:  $U_{c,rel}$  ... relativní kombinovaná rozšířená nejistota  
 $k$  ... koeficient rozšíření - doporučujeme používat hodnotu  $k = 2$ , což odpovídá intervalu pokrytí 95 %  
 $u_{c,rel}$  ... relativní kombinovaná nejistota

Relativní kombinovaná rozšířená nejistota **je cílem**, k němuž by se měla laboratoř na základě tohoto doporučení dopracovat. Je to údaj, který by měl být na vyžádání k dispozici všem příjemcům výsledků měření (klinikům). Je vhodné vždy uvádět, jaká hodnota koeficientu rozšíření byla pro výpočet rozšířené nejistoty použita.

*Výrobce uvádí pro kalibrátor glukózy tyto údaje:*

*hodnota obsahu: 2,61 mmol/L*

*rozšířená nejistota: 0,05 mmol/L*

*koeficient rozšíření: 2*

*Dle symboliky, zavedené v tomto doporučení, máme údaje:  $x_{cal} = 2,61$  a  $U_{cal} = 0,05$  (vše v mmol/L).*

*Dle vztahu (1) pak snadno dostáváme relativní rozšířenou nejistotu:  $U_{cal,rel} = 1,9 \%$*

*Pro další výpočty dle tohoto doporučení (podrobněji viz kapitola 10.2) budeme potřebovat (nerozšířenou) relativní standardní nejistotu, kterou získáme vydělením relativní rozšířené nejistoty  $U$  koeficientem rozšíření  $k$  (vycházíme ze vztahu (4)) a dostaneme:  $u_{cal,rel} = 0,96 \%$*

**Příklad 1**

### Skutečná hodnota

Skutečnou hodnotu lze pomocí naměřené hodnoty a její nejistoty zapsat následujícím vztahem (slovní popis je uveden na začátku této kapitoly):

$$X = x \pm U_c \quad (5)$$

kde je:  $X$  ... skutečná hodnota  
 $x$  ... naměřená hodnota  
 $U_c$  ... kombinovaná rozšířená nejistota ( $k = 2$ )

Vztah (5) znamená, že skutečná hodnota  $X$  leží s 95% pravděpodobností v intervalu:

$$\langle x - U_c; x + U_c \rangle, \text{ což lze také zapsat jako: } x - U_c \leq X \leq x + U_c$$

Výsledek měření C-reaktivního proteinu (CRP) v krevním séru lze včetně nejistoty zapsat několika způsoby:

$$30,0 \text{ mg/L } (U_{c,rel} = 10 \%)$$

$$\text{nebo } 30,0 \text{ mg/L } (U_c = 3,0 \text{ mg/L})$$

$$\text{nebo } 30,0 \pm 3,0 \text{ mg/L}$$

Bez ohledu na způsob zápisu by měl být ještě k dispozici údaj ( $k = 2$ ) a význam sdělení je pak následující: Laboratoř, která provedla měření, prohlašuje, že skutečná koncentrace CRP ve vzorku se s pravděpodobností 95 % nachází v intervalu 27 až 33 mg/L a naměřená hodnota (30 mg/L) je nejlepším odhadem skutečné hodnoty, jaký laboratoř může poskytnout.

Příklad 2

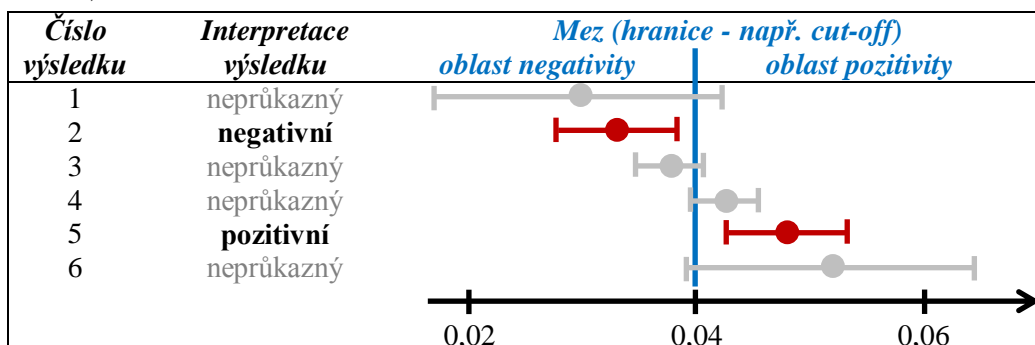
Upozorňujeme v této souvislosti na **nevhodnost vydávání výsledků měření v %** (především proto, že % není SI jednotka, a dále proto, že je velmi matoucí, když SD, CV a absolutní i relativní nejistoty jsou v %). V praxi se však % jako jednotka stále běžně používá (tradice) a vede to bohužel k tomu, že není možné odlišit absolutní a relativní míry pouhým pohledem na jednotku. V těchto případech je nutné typ nejistoty jasně odlišit (např. zápisem  $u_{abs}$  a  $u_{rel}$ ).

**Nedoporučuje se uvádět nejistoty výsledků měření v rutinních laboratorních zprávách, ale mají být k dispozici na vyžádání** ([2], kapitola 1 a 5.6).

## 4. Aplikace nejistoty výsledku měření při jeho interpretaci

Je běžné, že výsledky měření jsou s něčím srovnávány, např. s výsledkem stejné zkoušky z předchozího dne, s referenčním intervalem, s cut-off apod. Pokud výsledek měření interpretujeme tím, že jej porovnáváme s nějakou hraniční hodnotou, je třeba vzít v úvahu, že součástí výsledku je i jeho nejistota.

Následující obrázek ukazuje, že interpretace výsledku závisí nejenom na naměřené hodnotě, ale také na její nejistotě. Mez je označena svislou modrou čarou a z 6 zobrazených výsledků, které jsou uspořádány od nejmenšího k největšímu, je jen jeden negativní (č. 2) a jeden pozitivní (č. 5). Ostatní (šedé) jsou **neprůkazné** (v kontextu nejistotního přístupu je označení *hraniční* nevhodné – tyto výsledky vůbec nemusí ležet „na hranici“).



Je zřejmé, že v případě ignorování existence nejistot by byly výsledky 1 až 3 interpretovány jako negativní a 4 až 6 jako pozitivní. Podrobnější výklad je k dispozici v [4, 12].

## 5. Nejistota výsledku výpočtu

V řadě případů (výsledky laboratorních vyšetření určené přepočtem, výsledky poměrů aj.) jsou výsledky měření dále zpracovávány, např. násobeny konstantou, vzájemně děleny apod. Je tedy na místě otázka, jak se nejistota výsledku měření promítá do výsledku takového aritmetického výpočtu. Základní vztahy pro standardní nejistoty ukazuje následující tabulka, kde A a B jsou výsledky měření,  $u_A$  a  $u_B$  jsou jejich nejistoty vyjádřené absolutně (v jednotce měření) a  $u_{A,rel}$  a  $u_{B,rel}$  jsou jejich nejistoty vyjádřené relativně (v %). C je výsledek příslušné matematické operace a  $u_C$  je nejistota tohoto výsledku vyjádřená absolutně a  $u_{C,rel}$  je jeho nejistota vyjádřená relativně.

Operace s výsledky	Výpočet nejistoty	Poznámka
$C = f \cdot A$	$u_C = f \cdot u_A$ $u_{C,rel} = u_{A,rel}$	Násobení konstantou f.
$C = A + B$ $C = A - B$	$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$	Pozor! Počítá se s absolutními nejistotami!
$C = A \cdot B$ $C = A/B$	$u_{C,rel} = \sqrt{u_{A,rel}^2 + u_{B,rel}^2}$	Pozor! Počítá se s relativními nejistotami!

*Poznámka: S rozšířenými nejistotami se pracuje úplně stejně. V jednom vztahu (výpočtu) ale není možné kombinovat rozšířené a nerozšířené nejistoty – vždy je třeba pracovat s jedním typem nejistot.*

## 6. Frekvence zjišťování nejistot

Nejistotu výsledku měření nelze určit na základě jediného měření, pro získání potřebných dat je vždy nutné provést několik měření.

Avšak situace v rutinních laboratořích je zcela odlišná od situace v kalibračních nebo referenčních laboratořích. V těch je každý vydávaný výsledek doprovázen nejistotou, která byla vypočtena právě pro tento jeden konkrétní výsledek měření, a to na základě série měření.

Naproti tomu v prostředí rutinních laboratoří produkují výkonné automatizované měřicí systémy tisíce výsledků denně a nejistotu nelze vypočítat individuálně pro každý jednotlivý výsledek, protože měření se provádí jen jedno (z důvodů ekonomických, časových i jiných). **Doporučená praxe** je tedy taková, že laboratoř provede pro konkrétní laboratorní vyšetření výpočet nejistoty výsledku měření na svém **stabilním** měřicím systému a předpokládá, že výsledky následně získané na daném systému za srovnatelných podmínek mají nejistotu, která byla získána v rámci úvodního experimentu. Takto odhadnutá nejistota je pak v pravidelných intervalech (např. 1x ročně) nebo při významných změnách v měřicím systému ([2], kapitola 6.8) verifikována. Stabilitu měřicího systému laboratoř monitoruje prováděním IQC a účastí v EQA.

## 7. Zaokrouhlování a počet platných číslic

Při výpočtech se vždy zaokrouhluje až konečný výsledek, nikoli dílčí výsledky, které získáváme v průběhu výpočtu.

Počet platných číslic výsledku měření by měl vždy odpovídat nejistotě výsledku ([2], kapitola 5.4). Ve zdravotnických laboratořích se proto prakticky nesetkáváme s výsledky, které by mělo smysl vydávat na více než 3 platné číslice. Mnohdy postačují i 2 platné číslice, protože platí jednoduché pravidlo:

Rozšířenou nejistotu výsledku (vyjádřenou absolutně, tj. v jednotce měření) zaokrouhlíme na jednu platnou číslici a ve stejném řádu vydáme i výsledek (viz příklad 3).

Tímto postupem oprostíme příjemce informace (klinika) od zbytečné zátěže v podobě mnoha číslic, které přitom představují jen nadbytečný šum.

<i>Výsledky pro kliniku (poslední sloupec) vydáváme v souladu s kapitolou 3 již bez nejistoty.</i>				<b>Příklad 3</b>
<b>Laboratorní vyšetření</b>	<b>Interně v laboratoři</b>		<b>Výsledek měření (vydaný klinikovi)</b>	
	<i>výsledek měření</i>	<i>rozšířená nejistota <math>U_{c,rel}</math> a odpovídající <math>U_c</math></i>		
<i>Aldosteron (sérum)</i>	<i>1,317 nmol/L</i>	<i><math>U_{c,rel} = 15 \%</math>    <math>U_c = 0,2 \text{ nmol/L}</math></i>	<i>1,3 nmol/L</i>	
<i>Fibrinogen (plazma)</i>	<i>2,82 g/L</i>	<i><math>U_{c,rel} = 8,1 \%</math>    <math>U_c = 0,2 \text{ g/L}</math></i>	<i>2,8 g/L</i>	
<i>pH (krev)</i>	<i>7,411</i>	<i><math>U_{c,rel} = 0,19 \%</math>    <math>U_c = 0,01</math></i>	<i>7,41</i>	
<i>Počet bazofilů (krev)</i>	<i><math>0,119 \cdot 10^9/L</math></i>	<i><math>U_{c,rel} = 27 \%</math>    <math>U_c = 0,03 \cdot 10^9/L</math></i>	<i><math>0,12 \cdot 10^9/L</math></i>	

Avšak s ohledem na to, že laboratorní informační systémy (LIS) zpravidla neumožňují nastavit počet platných číslic výsledku v závislosti na nejistotě, **doporučujeme, aby výsledky byly vydávány na 3 platné číslice a nejistoty (poskytované na vyžádání) na 2 platné číslice** ([1], kapitola 7.2.6).

Poznámka: Prosíme, nezaměňujte počet desetinných míst a počet platných číslic. Všechna následující čísla mají 3 platné číslice: 908 90,8 0,908 0,000908

## 8. Problém nulové nejistoty

Existují měřicí systémy, které vydávají naměřené hodnoty zaokrouhlené (např. na 2 platné číslice), což mnohdy dokonale maskuje přítomnost náhodných chyb. V takovém případě může např. série 10 měření, jejichž naměřené hodnoty vyjdou identické, vést k mylnému závěru, že výsledky měření mají nulovou nejistotu. Jde o stav, kdy stupnice ( displej) přístroje neumožňuje zaznamenat data, která by mohla být použita pro výpočet nejistoty (zdání nulové nejistoty je tedy důsledkem nedostatku informací). V takovém případě je třeba převzít údaj o nejistotě z dokumentace výrobce, a pokud takový údaj chybí, určit standardní nejistotu takto ([1], kapitola F.2.2.1).

$$u = \frac{d}{\sqrt{12}} \quad (6)$$

kde je:  $u$  ... standardní nejistota (vyjádřená absolutně, v jednotce měření)  
 $d$  ... nejmenší dílek stupnice přístroje (tj. jednička na posledním místě údaje na displeji)

<p><i>Systém POCT poskytl při 10 měřeních INR (international normalized ratio) ve vzorku krve 10x stejnou naměřenou hodnotu, a to <math>INR = 1,2</math>.</i></p> <p><i>Displej přístroje má jedno desetinné místo.</i></p> <p><i>Nemáme k dispozici žádné jiné údaje o nejistotě měření, a proto standardní nejistotu vypočteme dle vztahu (6): <math>u = 0,29 \cdot 0,1 = 0,029</math></i></p> <p><i>Rozšířenou nejistotu spočteme dle vztahu (4): <math>U = 2 \cdot 0,029 = 0,058</math></i></p> <p><i>Takto určenou absolutní nejistotu převedeme na relativní dle vztahu (1): <math>U_{rel} = 4,8 \%</math></i></p>	<b>Příklad 4</b>
--	------------------

## 9. Kolik nejistot zjišťovat pro jedno laboratorní vyšetření

Otázka, zda pro jedno laboratorní vyšetření experimentálně stanovit jednu nebo více hodnot nejistot (např. pro různé koncentrace, různé hodnoty obsahu, pro různé systémy), je velmi důležitá. Nelze bez důkazu očekávat, že relativní nejistota měření bude konstantní v celém měřicím rozsahu všech měřicích systémů, které laboratoř používá. Na druhé straně existuje řada překážek (finanční, časová a personální náročnost), které podrobný průzkum nejistoty znemožňují. Proto lze doporučit **dvoustupňovou strategii** ([2], kapitola 6.2):

- Základní odhad (ten provést vždy): Využit snadno dostupných dat z IQC a nejistotu vypočítat pro jednotlivé koncentrace/obsahy odpovídající materiálům používaným pro IQC.
- Rozšířený odhad: V závislosti na klinickém významu a charakteru laboratorního vyšetření určit nejistotu ještě v jedné oblasti nebo dvou oblastech (např. cut-off, meze referenčního intervalu nebo 10. a 90. percentil výsledků měření patientských vzorků za uplynulý rok apod.).

*Poznámka: Ideální situace nastává, jestliže máme možnost zvolit koncentrace/obsahy materiálů používaných pro IQC tak, aby byly v blízkosti klinických rozhodovacích mezí.*

Nemá smysl určovat nejistoty v oblastech měřicího rozsahu, ve kterých se výsledky patientských vzorků prakticky nevyskytují.

**Pokud má laboratoř více analytických měřicích systémů (např. rutinní a statimový) pro jedno laboratorní vyšetření, je nezbytné určit nejistotu pro každý systém zvlášť** ([2], kapitola 5.3 a 6.4). Stejně je třeba postupovat v případě, že laboratoř rutinně vydává výsledky jednoho vyšetření stanovené různými metodickými principy (např. imunochemie a HPLC - High Performance Liquid Chromatography).

## 10. Jaké zdroje nejistot (dílní nejistoty) zahrnout do výpočtu

Začneme tím, jaké dílní nejistoty do výpočtu rozhodně nezahrnovat – obecně jde o vše, co leží mimo vlastní analytický proces, který má laboratoř plně pod kontrolou. Jako dílní nejistoty tedy **nezapočítávat**:

- nejistoty spojené s preanalytickou částí měření
- nejistoty spojené s postanalytickou částí měření
- intra- a inter-individuální biologické variability

První 2 body odpovídají požadavku, aby odhad nejistoty byl založen na měření vzorků, které v laboratoři projdou stejnou cestou jako vzorky IQC ([2], kapitola 5.3). Poslední bod uvádíme proto, že lze najít práce, které biologické variability do celkové nejistoty měření zahrnují.

Do výpočtu celkové (kombinované) nejistoty **doporučujeme zahrnout** tyto dvě dílní nejistoty ([2], kapitola 5.3):

- $u_{Rw, rel}$ : nejistota charakterizující mezilehlou preciznost měření ([2], kapitola 6.2)
- $u_{cal, rel}$ : nejistota kalibrátoru ([2], kapitola 6.5)

Do nejistoty nezahrnujeme bias (viz kapitola 1 a kapitola 14).

Postup získávání jednotlivých dílčích nejistot popisuje následující tabulka.

Dílčí nejistota	Činnost laboratoře	Poznámka
$u_{Rw, rel}$	Měření za podmínek mezilehlé preciznosti	Postup je uveden níže v kapitole 10.1. <b>Jde o základní krok, který nelze opominout!</b>
$u_{cal, rel}$	Studium dokumentace dodané ke kalibrátoru	Postup je uveden níže v kapitole 10.2

### 10.1. Postup určení dílčí nejistoty $u_{Rw, rel}$

Dílčí nejistota charakterizující mezilehlou preciznost měření je nejdůležitější složkou kombinované nejistoty, kterou budeme zjišťovat. Tato složka nejistoty v sobě nese informaci o celkovém stupni zvládnutí procesu měření v dané laboratoři. Určí se jako variační koeficient **souboru naměřených hodnot**, které byly získány za následujících **podmínek mezilehlé preciznosti**:

- Měří se stále stejný materiál (vzorek), nejčastěji se bude jednat o vzorek IQC. Matrice měřeného vzorku musí být blízká matici rutinních vzorků (ideálně shodná matrice) - komutabilita.
- Měření probíhá stále na stejném měřicím systému po dostatečně dlouhou dobu tak, aby se mohlo uplatnit co nejvíce dále popisovaných vlivů. Časový úsek měření by měl být co nejdelší (optimálně dny či týdny), záleží na stabilitě měřeného vzorku a vlastnostech měřicího systému.
- Zapnutí, vypnutí a pravidelná (denní, týdenní) údržba měřicího systému.
- Výměna obsluhy.
- Výměna nebo doplnění reagensů a jiných pracovních roztoků či spotřebního materiálu.
- Rekalibrace.
- Další podmínky měření by měly odpovídat rutinnímu provozu laboratoře. Je-li to možné, vzorky IQC by měly být zařazovány do sérií měření patientských vzorků.

**Postup:** Za podmínek uvedených výše provedeme alespoň 15 měření. Ve výjimečných případech (krátká stabilita vzorku, vysoká cena stanovení) lze provést i méně měření, ne však méně než 10. Důležitý je rozšířený časový úsek – **v žádném případě** se nejedná o opakovatelnost, tj. měření v sérii! Takto získáme soubor naměřených hodnot  $x_1, x_2, \dots, x_n$  pro následující výpočty.

$$x_{Rw} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (7)$$

kde je:  $x_{Rw}$  ... aritmetický průměr měření prováděných za podmínek uvedených výše

$n$  ... počet měření

$x_i$  ... jednotlivé naměřené hodnoty

V Excelu jde o funkci PRŮMĚR (AVERAGE).

Standardní nejistotu  $u_{Rw}$  spočteme jako výběrovou směrodatnou odchylku ( $SD_{Rw}$ ):

$$u_{Rw} = SD_{Rw} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - x_{Rw})^2} \quad (8)$$

V Excelu jde o funkci SMODCH.VÝBĚR.S (STDEV.S).

**Relativní standardní nejistotu** ( $u_{Rw, rel}$ ) získáme dosazením  $x_{Rw}$  a  $u_{Rw}$  do vztahu (1).

Skutečnosti, na které je třeba **dávat pozor** (dle [2], článek A.3.1):

- Soubory naměřených hodnot získané v průběhu používání různých šarží materiálu IQC je nutné zpracovávat zvlášť, i když hodnoty koncentrace/obsahu mohou být podobné.

- Nová šarže reagentů by neměla mít vliv ani na výsledky měření vzorků pacientů, ani na měření IQC. Pokud však máme od výrobce informaci, že nová šarže reagentů ovlivní výsledky (nebo když tuto skutečnost zjistíme v rámci IQC a ověříme na vzorcích pacientů), je třeba soubor měření uzavřít a zahájit novou sérii měření.
- Stejně pravidlo jako u reagentů platí také pro nové šarže kalibrátorů.

Pokud máme z výše uvedených důvodů k dispozici více souborů naměřených hodnot (celkem  $h$  souborů), spočítáme pro každý soubor nejistotu dle výše uvedeného postupu, čímž dostaneme nejistoty  $u_{Rw,rel 1}$ ,  $u_{Rw,rel 2}$ , ...  $u_{Rw,rel h}$ . Následně lze provést výpočet jedné průměrné nejistoty:

$$u_{Rw,rel} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^h u_{Rw,rel i}^2}{h}} \quad [\%] \quad (9)$$

kde je:  $u_{Rw,rel i}$  ... relativní standardní nejistoty jednotlivých souborů naměřených hodnot  
 $h$  ... počet souborů naměřených hodnot (šarží materiálu IQC)

Dále již pracujeme s hodnotou  $u_{Rw,rel}$ .

Předpokládá se, že jednotlivé měřené vzorky (šarže materiálu IQC) mají přibližně stejnou hodnotu obsahu měřené složky. Jednotlivé soubory naměřených hodnot by měly být přibližně stejně četné (v opačném případě je třeba ve vztahu (9) použít vážený průměr).

**Pravidlo:** Nemá smysl zpracovávat naměřené hodnoty za enormně dlouhé časové období, maximem by měla být historie 1 roku. Cílem je, aby soubor naměřených hodnot reprezentoval časové období pokrývající podmínky popsané v úvodu kapitoly a abychom měli dostatečně četný soubor (optimálně 100 a více) měření. Jestliže tedy pro konkrétní laboratorní vyšetření shromáždíme za měsíc 100 naměřených hodnot měřením jedné šarže vzorku IQC, je to dostatečný soubor pro výpočet  $u_{Rw,rel}$  a není důvod započítávat data ze starších období/souborů. Jestliže těchto 100 naměřených hodnot shromáždíme za použití 3 šarží materiálů IQC, máme 3 soubory naměřených hodnot, které zpracujeme dle vztahu (9).

*Tento příklad dokumentuje překvapivé výsledky (jde o reálná data) měření počtu leukocytů v krvi v blízkosti meze stanovitelnosti (výrobce systému udává mez stanovitelnosti  $0,01 \cdot 10^9/L$ ). Naměřené hodnoty u vzorku pacienta s nízkým počtem leukocytů, který byl opakovaně měřen 12x s časovým odstupem přibližně 7 minut mezi jednotlivými měřeními, jsou následující:*

Měření	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Výsledek	0,051	0,069	0,093	0,076	0,097	0,079	0,114	0,116	0,098	0,102	0,102	0,122

*Dle výše uvedených vztahů (7) a (8) dostáváme:  $x_{Rw} = 0,0971 \cdot 10^9/L$  a  $u_{Rw} = 0,021 \cdot 10^9/L$*

*Dle vztahu (1) vyjádříme nejistotu jako relativní:  $u_{Rw,rel} = 21,6 \%$*

*A konečně dle vztahu (4) dostáváme rozšířenou relativní nejistotu:  $U_{rel} = 43 \%$*

*Jde o názornou ukázkou toho, že v krajních oblastech měřicího rozsahu může být nejistota překvapivě vysoká (několikanásobek nejistoty měření v oblasti referenčního intervalu). A to přesto, že nebyly naplněny podmínky mezilehlé preciznosti (z důvodu krátké stability vzorku) a nezapočítali jsme žádné další složky nejistoty – uvedená nejistota je tedy bezpochyby podhodnocená.*

Příklad 5

## 10.2. Postup určení dílčí nejistoty $u_{cal,rel}$

Nejistotu kalibrátoru získává laboratoř vždy z dokumentace, která byla dodána ke kalibrátoru, přičemž výrobci jsou povinni sdělovat nejistoty kalibrátorů ([2], kapitola 6.5). Není-li zcela výjimečně tento údaj k dispozici, pak dílčí nejistotu  $u_{cal,rel}$  do výpočtu kombinované nejistoty nezahrneme. Pozornost je třeba věnovat 2 věcem:

1. Výrobci někdy uvádějí nejistotu jako rozšířenou ( $U$ ), my však pro použití ve vztahu (10) potřebujeme znát standardní nejistotu (pak je nutné nejistotu  $U$ , získanou od výrobce, vydělit 2).
2. Výrobci mohou nejistoty uvádět v absolutních jednotkách i v procentech. Pro použití ve vztahu (10) musíme znát relativní standardní nejistotu  $u_{cal,rel}$  - případný přepočet se provádí dle vztahu (1).

Oba výše uvedené kroky ukazuje příklad 1.

Nejistota kalibrátoru, kterou výrobce uvádí, je kombinovaná nejistota hodnoty kalibrátoru (zahrnuje v sobě kombinaci nejistot všech měření v rámci nepřerušovaného řetězce návaznosti, na jehož konci je hodnota kalibrátoru). Laboratoř uvedenou nejistotu již nijak nepřezkoumává ani neverifikuje.

Jestliže byla kalibrace provedena za použití několika kalibrátorů, doporučujeme pesimistický přístup a do výpočtu nejistoty zahrnout nejhorší (tedy největší) nejistotu kalibrátoru.



## 11. Výpočet kombinované nejistoty

Výpočet relativní standardní kombinované nejistoty se provede v souladu s [2] (kapitola 5.3 a 5.5) za předpokladu multiplikativního charakteru obou příspěvků dosazením dílčích nejistot zjištěných v kapitole 10 do vztahu (3) takto:

$$u_{c,rel} = \sqrt{u_{Rw,rel}^2 + u_{cal,rel}^2} \quad [\%] \quad (10)$$

kde je:  $u_{c,rel}$  ... relativní kombinovaná standardní nejistota  
 $u_{Rw,rel}$  ... relativní standardní nejistota určená dle kapitoly 10.1  
 $u_{cal,rel}$  ... relativní standardní nejistota kalibrátoru určená dle kapitoly 10.2

Díky tomu, že nejistoty vyjádřené relativně zpravidla platí pro široký interval hodnot, je i nejistota zjištěná dle vztahu (10) použitelná na široké škále naměřených hodnot.

Nejistota  $u_{c,rel}$ , kterou získáme dle vztahu (10), je standardní nejistota. Pro většinu praktických účelů (sdělování klientům, prezentace, porovnávání nejistot apod.) je třeba ji převést na rozšířenou nejistotu  $U_{c,rel}$  dle vztahu (4):

$$U_{c,rel} = 2 \cdot u_{c,rel}$$

**Toto je finální výsledek, jehož získání je cílem tohoto doporučení.**

Pokud potřebujeme pro konkrétní naměřenou hodnotu ( $x$ ) získat velikost standardní ( $u_c$ ) nebo rozšířené ( $U_c$ ) kombinované nejistoty vyjádřené absolutně (tj. v jednotce měření), snadno ji určíme dosazením do vztahu (2).

Výpočet dle vztahu (10) je velmi jednoduchý, a proto nezařazujeme příklad. Řadu příkladů naleznete v případě zájmu v [2].

## 12. Jakou nejistotu vybrat a jak ji prezentovat

Jestliže bude laboratoř postupovat dle instrukcí uvedených v předchozích kapitolách, lze očekávat, že pro jedno laboratorní vyšetření získá několik odhadů **relativní rozšířené kombinované nejistoty** měření, například:

- Měřicí systém A, měření materiálu IQC1 (získáme nejistotu  $U_{c,rel 1}$ ).
- Měřicí systém A, měření materiálu IQC2 (získáme nejistotu  $U_{c,rel 2}$ ).
- Měřicí systém B, měření materiálu IQC1 (získáme nejistotu  $U_{c,rel 3}$ ).
- Měřicí systém B, měření materiálu IQC2 (získáme nejistotu  $U_{c,rel 4}$ ).

Pokud jde o nejistotu měření, jak laboratoř sama, tak případný žadatel o tuto informaci zvenčí, jistě očekává jeden srozumitelný údaj.

Jestliže mají jednotlivé relativní nejistoty **podobnou velikost**, pak doporučujeme pesimistický přístup, kdy odhad nejistoty pro danou zkoušku určíme jako:

$$U_{c,rel} = \max(U_{c,rel 1}, U_{c,rel 2}, \dots, U_{c,rel n}) \quad [\%] \quad (11)$$

kde je:  $U_{c,rel}$  ... relativní rozšířená kombinovaná nejistota, kterou bude laboratoř prezentovat pro dané laboratorní vyšetření

$\max()$  ... maximum (vybere největší hodnotu ze seznamu v závorce)

$U_{c,rel i}$  ... jednotlivé experimentálně zjištěné relativní rozšířené kombinované nejistoty

Použití vztahu (11) zaručuje, že laboratoř ze všech dostupných nejistot vybere tu nejhorší (tedy největší) a s ní dále pracuje a prezentuje ji navenek.

Pokud jsou jednotlivé relativní nejistoty **velmi rozdílné**, doporučujeme tyto kroky:

- Zkontrolovat výpočty, především konzistentní používání jednotek, možné pomíchání absolutních a relativních hodnot a možné pomíchání standardních a rozšířených nejistot.
- Alespoň zběžně prohlédnout soubory naměřených hodnot zda neobsahují silně odlehlé hodnoty.
- V případě abnormálně velké nebo abnormálně malé nejistoty posoudit, zda může být racionálně vysvětlena. Velká nejistota může být například důsledkem měření v blízkosti meze stanovitelnosti (viz příklad 5). Neočekávaně malá nejistota (nebo dokonce nulová nejistota) může být důsledkem zaokrouhlování (viz kapitola 8).
- Je-li důvod „atypičnosti“ některé nejistoty nalezen, pak je třeba danou nejistotu z výpočtu dle vztahu (11) vynechat. U atypicky velkých nejistot je ale vždy důležité, aby klinici byli obeznámeni se skutečností, že výsledky mohou být v určitých oblastech měřicího rozsahu velmi nepřesné (viz příklad 5, kde rozšířená nejistota dosáhla 43 %, a to se ještě jedná o podhodnocený odhad).
- Ukáže-li průzkum, že nejistota měření se výrazně mění s koncentrací/obsahem měřené položky, pak je vhodné měřicí rozsah rozdělit na části a pro každou z nich deklarovat jinou nejistotu měření.

### 13. Minimální a maximální přípustná velikost nejistoty měření

Laboratoř by měla mít představu o tom, jaká velikost nejistoty měření konkrétního parametru je ještě přijatelná. Pro nalezení takové hodnoty není k dispozici univerzální jednoduchý návod – i dokument [2] se v kapitole 5.2 omezuje jen na obecné fráze, jejichž společným jmenovatelem je bezpochyby pravdivé tvrzení, že: „*maximální přípustná nejistota by měla odpovídat klinickým potřebám*“.

Posouzení, zda je nejistota výsledku měření „přijatelně velká“ vždy závisí na zamýšleném způsobu použití tohoto výsledku (např. jinou nejistotu potřebujeme pro účely diagnostiky a jinou pro účely monitorování). Maximální přípustná nejistota měření se také označuje jako cílová nejistota měření [2, 11].

Laboratoř by se měla vyhnout dvěma extrémům – jak snaze o dosažení co nejmenší nejistoty (nejistotu lze vždy zmenšovat, tedy zlepšovat, avšak od určité hranice již za cenu enormních a neadekvátních finančních i časových investic), tak velké nejistotě. Základní vodítka uvádíme v následujících 2 kapitolách.

#### 13.1. Minimální přípustné nejistoty

- Nulová nejistota je vyloučena, nejistota je vždy větší než nula. *Poznámka: Nulovou nejistotu mají samozřejmě konstanty – např. konstanta 1000, kterou přepočítáme koncentraci uvedenou v mmol/L na  $\mu\text{mol/L}$ , má nulovou nejistotu.*
- Jako základní vodítko pro představu o tom, jakých nejmenších nejistot měření může laboratoř dosáhnout, mohou posloužit nejistoty kalibrátorů a případně i CRM a SRM. CRM není třeba hned kupovat, chceme-li se o nich něco dovědět.

*Příklad: Na stránce <https://www.bipm.org/jctlm> můžeme pro referenční materiál LNE HbA1c 401 najít tyto údaje:  $CRV = 32,5 \text{ mmol/mol}$  a  $U_c = 1,8 \text{ mmol/mol}$  ( $k = 2$ ). Relativní  $U_{c,rel}$  je tedy 5,5 % a další kroky, související s přenosem této hodnoty na kalibrátor dodaný výrobcem do laboratoře a příspěvkem samotné laboratoře k nejistotě ( $u_{Rw,rel}$ ) nejistotu měření vždy jen zvětšují. Proto je nejistota deklarovaná laboratoří pro měření glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> v oblasti 30 mmol/mol vrcholně nevěrohodná a nepravděpodobná, je-li menší než 6 %. Podobně jsou nejistoty referenčních materiálů dostupné na webových stránkách NIST USA.*

Referenční materiály a referenční metody leží na vrcholku pyramidy metrologické návaznosti a v laboratoři se nelze dopracovat nižších nejistot žádným trikem.

#### 13.2. Maximální přípustné nejistoty

Při hledání maximální přípustné velikosti nejistoty měření ( $U_{c,rel \max}$ ) lze použít různé strategie. Každá má svá pozitiva i negativa. Ideální je, když laboratoř dokáže odpovědět na otázku: *Jakou nejistotu potřebujeme, aby naše výsledky vyhovovaly potřebám kliniků?*

Zde je několik možných postupů (nejde o vyčerpávající seznam, v literatuře lze najít řadu jiných strategií):

- Použití hodnot APS (analytical performance specification), odvozených z hodnot biologických variabilit (k dispozici na adrese <https://biologicalvariation.eu>).

Maximální standardní kombinovaná nejistota může být například určena jako **polovina intraindividuální biologické variability**. Při tomto nastavení bude celková nejistota výsledku přibližně o 10 % větší než samotná biologická variabilita. Tuto koncepci lze demonstrovat na příkladu RCV (kritická referenční změna):

$$RCV_{rel} = \sqrt{2} \cdot k \cdot \sqrt{u_{c,rel}^2 + u_{i,rel}^2} \quad [\%] \quad (12)$$

kde je: RCV ... kritická referenční změna (vyjádřená v %)

k ... koeficient rozšíření – stejně jako ve vztahu (4) volíme hodnotu  $k = 2$

$u_{c,rel}$  ... relativní standardní kombinovaná nejistota měření

$u_{i,rel}$  ... relativní nejistota odpovídající intraindividuální biologické variabilitě

*Použijeme-li jako příklad stanovení glukózy v séru (plazmě) a její intraindividuální biologickou variabilitu  $u_{i,rel} = 5 \%$ , dostáváme jako maximum pro nejistotu měření  $u_{c,rel \max} = 2,5 \%$  - při této nejistotě vychází  $RCV_{rel} = 16 \%$ , přičemž laboratoř se na velikosti RCV podílí přibližně jednou desetinou.*

*Kritérium, které si v tomto případě laboratoř stanoví, tedy dle vztahu (4) zní: maximální velikost kombinované rozšířené nejistoty pro měření glukózy v séru (plazmě) je:  $U_{c,rel \max} = 5 \%$ . Vzhledem k tomu, že nejistota referenčních materiálů se zpravidla pohybuje okolo 1,5 %, mělo by toto kritérium být splnitelné.*

**Pozitiva/negativa:** Jde o exaktní metodu bez „subjektivních vlivů“. Určování  $U_{c,rel \max}$  z biologické variability ale může být problematické nejenom proto, že biologické variability nejsou k dispozici pro všechna laboratorní vyšetření, ale i proto, že mnohdy vedou k neadekvátně tvrdým (analyticky nesplnitelným) podmínkám (např. měření středního objemu erytrocytu (MCV), stanovení sodného

kationu aj.), nebo naopak k podmínkám velmi volným a demotivujícím (např. měření C-reaktivního proteinu).

- b) Při hledání maximální přípustné nejistoty lze vycházet z (dokumentovaného) **požadavku kliniků** nebo z literárních dat, případně z údajů uvedených v mezinárodních doporučeních (guidelines). *Uvedme jako příklad měření počtu buněk CD34+ v krvi. Klinická jednotka sdělí, že při skutečném počtu  $5 \cdot 10^6/L$  se na terapii pacienta nic nezmění ať je naměřená hodnota 4 nebo 5 nebo  $6 \cdot 10^6/L$ . Při měření malých počtů je zpravidla vhodné pracovat s nejistotami vyjádřenými absolutně. Pak můžeme pro měření malých počtů deklarovat maximální nejistotu s použitím vztahu (12), kde místo relativních hodnot použijeme absolutní, tak, že položíme  $RCV = 2 \cdot 10^6/L$  a zanedbáme intraindividuální biologickou variabilitu. Dostaneme maximální  $u_{c,max} = 0,72 \cdot 10^6/L$  a odtud dle (4) dostáváme kritérium: maximální velikost kombinované rozšířené nejistoty pro měření malých počtů buněk CD34+ v krvi je:  $U_{c,max} = 1,4 \cdot 10^6/L$ .*

**Pozitiva/negativa:** Výhodou je nesporná vazba na potřeby kliniků. Ale získání věrohodných a kvantifikovatelných klinických požadavků může být nesnadné a časově náročné, je na místě ověření z několika zdrojů.

- c) Dobrý přehled o velikosti nejistot měření ve velkých skupinách laboratoří lze získat ve zprávách poskytovatelů EQA. Pokud účastníci nejistoty uvádějí a pokud poskytovatel data získaná od účastníků zveřejňuje, pak lze v závěrečné zprávě nalézt informace o průměrné velikosti nejistoty měření. Maximální přípustnou nejistotu pak může laboratoř nastavit jako určitý násobek průměrné nejistoty, např. jako **1,5násobek průměrné nejistoty účastníků EQA**.

**Pozitiva/negativa:** Výhodou je „state of the art“ přístup, tedy laboratoř se snaží pracovat podobně kvalitně, jako většina jiných laboratoří. Ale získání odpovídajících dat je v řadě programů EQA nemožné a i tam, kde údaje jsou k dispozici, pak vždy pro omezený počet laboratorních vyšetření.

- d) Z údajů EQA lze vyjít i při jiném způsobu určení maximální přípustné velikosti nejistoty, a sice odvozením od velikosti  $D_{max}$ . Je-li  $U_{c,rel max} = D_{max}$ , pak má účastník 95% šanci, že při jednom měření bez přítomnosti systematické chyby získá očekávaný výsledek a v cyklu, kde jsou použity 2 vzorky má přibližně 90% šanci na úspěch (tj. že uspěje u obou vzorků). Je zřejmé, že kritérium  $U_{c,rel max} = D_{max}$  není příliš ambiciózní a jako vhodnější lze doporučit např.  $U_{c,rel max} = \frac{2}{3} D_{max}$  (poskytuje 90% šanci na úspěch v případě, že systematická chyba měření laboratoře nepřekročí třetinu  $D_{max}$ ).

**Pozitiva/negativa:** Protože kritéria  $D_{max}$  konstruují poskytovatelé EQA zpravidla jako „state of the art“ nebo z biologických variabilit nebo jako konsenzus expertů, je zajištěna rozumná vazba na klinické potřeby i na analytické možnosti. Údaje o  $D_{max}$  jsou obecně dostupnější, než údaje o nejistotách měření účastníků EQA dle bodu c).

## 14. Bias

Skutečnost, že laboratoře jsou schopny určit bias jen u omezeného počtu laboratorních vyšetření, je jedním z podstatných argumentů vedoucích ke zjednodušení, které je popsáno v kapitole 1. Dodavatelé IVD jsou zodpovědní za to, že jimi dodávané měřicí systémy vykazují jen minimální a z medicínského hlediska přijatelný bias ([2], kapitola 6.6). To však v žádném případě neznamená, že by laboratoř měla na snahu o kvantifikaci bias svých výsledků měření rezignovat. Jedná se o zásadní informaci, která může mít přímý vliv na kvalitu péče o pacienty.

Bias se určí tak, že laboratoř provede  $n$  měření (pro  $n$  lze jako minimum doporučit  $n = 5$ , dokument [2] v příkladech uvádí  $n = 10$ ) materiálu s deklarovanou hodnotou obsahu za podmínky opakovatelnosti (měření v sérii). Z těchto měření se vypočítá průměr a směrodatná odchylka. Kritérium pro rozhodnutí o tom, zda je **bias signifikantní** definuje dokument [2] v kapitole C.5.2 takto:

$$|x_{lab} - x_{ref}| > 2 \cdot \sqrt{u_{ref}^2 + \frac{SD^2}{n}} \quad (13)$$

kde je:  $x_{lab}$  ... průměr hodnot naměřených laboratoří (výpočet dle vztahu (7))  
 $x_{ref}$  ... hodnota (koncentrace/obsah) deklarovaná v dokumentaci referenčního materiálu  
 $u_{ref}$  ... standardní nejistota hodnoty referenčního materiálu  
 $SD$  ... směrodatná odchylka měření provedených laboratoří (výpočet dle vztahu (8))  
 $n$  ... počet měření provedených laboratoří

Poznámka: Výraz  $\sqrt{u_{ref}^2 + \frac{SD^2}{n}}$  představuje standardní nejistotu odhadu bias

Jako referenční materiály lze použít jak materiály typu CRM a SRM, tak i vzorky validované v procesu EQA v případě, že jsou k dispozici nejistoty vztažných hodnot. Vždy je třeba dbát na matriční přiměřenost použitého referenčního materiálu.

Když **bias není signifikantní**, není třeba se jím zabývat ani v rámci vydávání výsledků, ani v rámci výpočtu nejistoty.

Když **bias je signifikantní**, měla by laboratoř věnovat maximální úsilí jeho eliminaci a v případě potřeby si vyžádat spolupráci dodavatele měřicího systému. I v případě, že se signifikantní bias nepodaří eliminovat, doporučujeme, aby laboratoř provedla základní odhad nejistoty dle tohoto doporučení (tj. bez započtení bias). V případě, že laboratoř chce do svého odhadu nejistoty zahrnout i složku (signifikantního a nekorigovaného) bias, ocitá se již mimo rámec tohoto doporučení a v takovém případě lze postupovat např. dle dokumentů [3, 8, 9].

## 15. Literatura

- 1 Guide for the expression of uncertainty in measurement. ISO Geneva 1993. (Reprinted 1995: Reissued as ISO Guide 98-3 (2008)).  
Český překlad: TNI 01 4109-3 Nejistoty měření - Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM:1995) (Pokyn ISO/IEC 98-3).
- 2 ISO/TS 20914:2019 Medical laboratories — Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty. ISO 2019.  
ČSN P ISO/TS 20914:2020 Zdravotnické laboratoře - Praktický návod pro odhad nejistot měření. ČAS 2020.
- 3 Synek V.: Attempts to include uncorrected bias in the measurement uncertainty. Talanta 2005, 65: 829-837.
- 4 ILAC-G8:03/2009 - Guidelines on the Reporting of Compliance with Specification. ILAC 2009.
- 5 ČSN EN ISO 15189:2013 ed. 2 Zdravotnické laboratoře - Požadavky na kvalitu a způsobilost.
- 6 TNI 01 0115:2009 Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM).
- 7 Metrologická terminologie 3. Dostupné na: [www.sekk.cz/terminologie](http://www.sekk.cz/terminologie)
- 8 Plzák Z, Synek V.: Odhad nejistoty chemických měření se započtením vychýlení. Metodický list Eurachem ČR 2018. Dostupné na: [www.eurachem.cz](http://www.eurachem.cz)
- 9 Synek V.: How to encompass an uncorrected bias in to the expanded uncertainty with a fixed coverage probability: calculation procedures. Accred Qual Assur 2017, 22/4:179-186.
- 10 Kvalimetrie 19: Stanovení nejistoty analytického měření. Editoři: M. Suchánek a D. Milde. Čtvrté české přepracované vydání, EURACHEM-ČR Praha 2014.
- 11 Kvalimetrie 21. Druhá část: Nastavení a používání cílové nejistoty v chemických měřeních. Editoři: M. Suchánek a D. Milde. EURACHEM-ČR, Praha 2016.
- 12 Nejistota měření - Část 4: Úloha nejistoty měření při posuzování shody. TNI ISO/IEC 98-4. Editoři: A. Zemanová, Z. Plzák, ČAS 2020.

Zpracovali (abecedně):

Ing. Vladimír Bartoš, Ph.D.  
Ing. Marek Budina  
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.  
RNDr. Josef Kratochvíla  
doc. Ing. Drahomíra Springer, Ph.D.  
doc. RNDr. Kristian Šafarčík, Ph.D.

Recenzenti (abecedně):

doc. Ing. Zbyněk Plzák, CSc.  
Ing. Václav Synek, Ph.D.

Editor:

Ing. Marek Budina