

## Nejistoty imunochemických stanovení

Kvalita diagnostických zdravotnických prostředků *in vitro* (IVD MD) je spolu s cenou jedním z rozhodujících faktorů při výběru poskytovatele zdravotní péče, rozhoduje-li se mezi několika dodavateli. Směrnice 98/79/ES (NV č. 453/2004 Sb.) ukládá výrobcům poskytovat uživateli řadu informací týkajících se tak či onak kvality IVD MD, nicméně orientovat se v nich nemusí být vždy zcela jednoduché, neboť neexistuje ve všech případech jednotný způsob, jak jsou tyto údaje předkládány. Navíc platí, že se jedná o data naměřená za určitých podmínek výrobcem, což znamená, že při jinak vedených experimentech mohou být získány mírně odlišné výsledky. To se týká zejména údajů týkajících se analytické a funkční citlivosti, reprodukovatelnosti a opakovatelnosti, specifity atd.

Je nutné si uvědomit, že výsledky získané pomocí IVD MD jsou, obdobně jako všechna ostatní fyzikální či fyzikálně chemická měření, stanoveny s určitými nejistotami. Vzhledem k tomu, že nejistota představuje interval, v němž se s konkrétní mírou pravděpodobnosti nachází skutečný výsledek měření, jedná se o parametr velmi důležitý, který může být v některých případech pro použitelnost výrobku rozhodující.

Jednotlivé příspěvky k celkové nejistotě měření lze popsat jako příspěvek kalibračního systému, příspěvek vlastního procesu stanovení, příspěvek individuálního vzorku a ostatní příspěvky [1]. Podrobný výklad problematiky nejistot je podán např. v práci Suchánka et al. ([http://www.sekk.cz/Texty/2005\\_Nejistoty.pdf](http://www.sekk.cz/Texty/2005_Nejistoty.pdf)) [2].

**Tabulka 1.** Odhady nejistot

Stanovení	Hladina stanovení	U [%]
Koncentrace fibrinogenu v plazmě [2]	1,8 a 2,9 g.l <sup>-1</sup>	10,8
Počet leukocytů v krvi [2]	2,9, 7,5 a 12,7 n.l <sup>-1</sup>	9,2
Koncentrace glukózy v séru [2]	5,4 a 13,4 mmol.l <sup>-1</sup>	4,2
Katalytická koncentrace AST v séru [2]	2,1 a 3,4 $\mu$ kat.l <sup>-1</sup>	14,6
Koncentrace cholesterolu v séru [3]	4,11 mmol.l <sup>-1</sup>	6,7
Koncentrace c-peptidu v séru* (Immunotech, IRMA) [4]	< 10-1000 pmol.l <sup>-1</sup>	11,4
Koncentrace PSA total v séru* (Immunotech, IRMA) [4]	< 30-3000 pmol.l <sup>-1</sup>	11,6
Koncentrace fT4 v séru* (Immunotech, RIA) [4]	< 1-100 pmol.l <sup>-1</sup>	13,0
Koncentrace TSH v séru (DPC Immulite 2000) [3]	cca 6 pmol.l <sup>-1</sup>	14,4
Koncentrace TSH v séru* (Immunotech, IRMA) [4]	< 1-100 pmol.l <sup>-1</sup>	14,8
Koncentrace ferritinu v séru* (Immunotech, IRMA) [4]	< 10-2000 pmol.l <sup>-1</sup>	15,8
Koncentrace prolaktinu v séru* (Immunotech, IRMA) [4]	< 80-8000 pmol.l <sup>-1</sup>	17,3
Koncentrace kortizolu v séru* (Immunotech, RIA) [4]	< 30-2000 nmol.l <sup>-1</sup>	20,6

\* nejistoty odhadnuty pomocí průměrných nejistot kalibrátorů a hodnot průměrných směrodatných odchylek reprodukovatelnosti

I když si v praxi každá laboratoř musí stanovit nejistoty prováděných stanovení sama, může již při výběru metodiky jejich úroveň relativně dobře odhadnout z údajů poskytovaných výrobcem – nejistoty kalibrátorů (nejistota typu B) a údajů o reprodukovatelnosti metodiky (inter assay) (nejistota typu A).

Jaké jsou tedy odhady, respektive naměřené hodnoty, kombinovaných rozšířených nejistot U (k = 2) některých stanovení běžně prováděných v klinických laboratořích?

Je nutno dodat, že pro zjednodušený odhad nejistot u výrobků Immunotech, a. s. byly použity průměrné hodnoty nejistot kalibrátorů a směrodatných odchylek inter assay se vzorky obsahujícími různé koncentrace analytů.

V praxi jsou samozřejmě jak nejistota konkrétního kalibrátoru, tak směrodatná odchylka inter assay kromě jiného ovlivněny i koncentrací stanovovaného analytu.

Co z uvedených dat vyplývá? Z uvedených příkladů je zřejmé, že nejistoty imunochemických stanovení jsou větší než u biochemických i hematologických metodik. I když to nemusí platit bez výjimky, v zásadě tomu asi skutečně tak bude. Znamená to však, že výrobky pro imunochemická stanovení jsou vyráběny na nižší úrovni či aplikovány hůře než jiné metodiky užívané v klinických laboratořích? Mají pravdu ti, kdo čas od času poukazují na jejich „horší“ výkonnost a kritizují „nečinnost“ výrobců?

Při bližším pohledu je zřejmé, že se zde srovnává nesrovnatelné. Většina imunochemických stanovení pracuje s koncentracemi analytů na úrovni od stovek nmol/l až po méně než 1 pmol/l. To je o několik řádů méně, než je tomu u jiných technik užívaných v klinických laboratořích. Jedná se v pravém slova smyslu o stopovou analýzu, navíc prováděnou v komplikovaných směsích bez použití předseparačních či purifikačních kroků. Tyto směsi navíc obsahují vždy sloučeniny, které jsou svým charakterem stanovované látky velmi blízké. Stačí uvést příklad steroidních hormonů, některých thyroidálních hormonů či proteohormonů. S podobnými hodnotami nejistot se setkáváme i v klasické stopové analýze. Uvědomme si, že kombinovaná rozšířená nejistota (k = 2) pro metodiku, kde jsou jak nejistota kalibrátorů, tak směrodatná odchylka inter assay rovny 5 %, což samo o sobě nejsou hodnoty nijak zarážející, činí 14,1 %. Znamená to, že skutečný výsledek stanovení se s 95% pravděpodobností nachází v intervalu  $\pm 14,1$  % od výsledku měření a to jsme zanedbali všechny ostatní příspěvky k celkové nejistotě.

Je velmi zajímavé, že velikost nejistoty při stanovení TSH analyzátozem Immulite, jak ji určili Friedecký et al. [3], je prakticky totožná s odhadem provedeným v Immunotech, a. s. pro manuální izotopovou soupravu. Co se týče stanovení kortizolu s největší hodnotou nejistoty ze všech příkladů uvedených výše, někteří výrobci v návodech k použití uvádějí, že směrodatná odchylka inter assay může dosahovat 8–10 %. Tyto hodnoty samy o sobě generují kombinovanou rozšířenou nejistotu

( $k = 2$ ) 16–20%, a to bez započtení příspěvku nejistoty kalibrátorů. Je jen těžko představitelné, že by se různí výrobci dopouštěli při vývoji a výrobě imunochemických testů podobných chyb či opomenutí. Spíše si bude nutné přiznat, že se v případě imunochemických stanovení jedná o techniku sice nesmírně citlivou a selektivní, zároveň však ne tak odolnou vůči řadě obtížně postižitelných vlivů, jak bychom si přáli. Tuto skutečnost je třeba mít na paměti při interpretaci výsledků. Jiný nástroj obdobné ceny a výkonnosti pro většinu „imunochemických“ analytů zatím k dispozici není.

Na závěr snad jen poznámku o tom, že publikované hodnoty nejistot je nutno hodnotit kriticky. Exemplární příklad uvádějí Friedecký et al. [3], kdy výrobce uvádí nejistotu kalibrátoru menší, než je nejistota certifikovaného referenčního materiálu, na který je uvedený kalibrátor navázán, což je samozřejmě v rozporu s Gaussovým zákonem o šíření nejistot. Jiným příkladem jsou nejistoty kalibrátorů udávané renomovaným výrobcem, které jsou pro všechny koncentrační úrovně rovny neuvěřitelným 1,5 %, přičemž se jedná o soupravu pro stanovení autoprotilátek!

## Literatura

1. *Estimation of uncertainty of measurement in medical laboratories*. Brusel : EDMA Position Paper 2006.
2. **Suchánek, M., Friedecký, B., Kratochvíla, M., Budina, M., Bartoš, V.** *Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření/klinických testů v klinických laboratořích*. Praha 2005.
3. **Friedecký, B., Kratochvíla, M., Kubíček, Z.** *Metrologie chemických měření v laboratorní medicíně*. Praha : ČSKB ČLS JEP & SEKK 2006.
4. Immunotech, a. s., nepublikované výsledky.

Do redakce došlo 18. 10. 2007.

Adresa pro korespondenci:

Ing. Petr Šmídl, CSc.

Immunotech, a. s.

Radiová 1

102 27 Praha 10

e-mail: psmidl@beckmancoulter.com

# Jan Mach a kolektiv

# ZDRAVOTNICTVÍ

# A PRÁVO

## komentované předpisy

II. vydání



 LexisNexis CZ s. r. o.  
nakladatel řady Orac

Publikace vycházející v druhém, upraveném a rozšířeném vydání, obsahuje komentovaný přehled současné legislativy ve zdravotnictví, který je určen především širokému spektru jeho pracovníků (soukromí lékaři, manažeři nemocnic, distributoři léčiv a podobně), jistě bude ale vhodná i pro advokáty, zabývající se touto oblastí, pracovníky příslušných komor a odborových svazů a další. Novinkou v tomto vydání jsou dva v roce 2004 přijaté zákony o způsobilosti k výkonu zdravotnického povolání.

 LexisNexis CZ s. r. o.

**LexisNexis CZ s. r. o.,**

Limuzská 2110/8

100 00 Praha 10

tel.: 274 013 268

fax: 274 013 256

e-mail: obchod@lexisnexus.cz

www.lexisnexus.cz