

WYBRANE ZAGADNIENIA OCENY WIARYGODNOŚCI WYNIKU POMIARU W MEDYCZNYM LABORATORIUM DIAGNOSTYCZNYM

Przemysław Otomański
Politechnika Poznańska

1. Wprowadzenie

Poznanie rzeczywistej wartości mierzonej wielkości jest celem, do którego dążymy w trakcie pomiaru. Wielkości tej nigdy nie poznamy dokładnie ze względu na niedoskonałość aparatury pomiarowej lub metod pomiarowych. Otrzymany w wyniku pomiaru rezultat jest pewną oceną wartości prawdziwej. Jest ona tym lepsza, im większa jest dokładność pomiaru. Miara rozbieżności pomiędzy wartością otrzymaną w wyniku pomiaru, a wartością rzeczywistą jest błąd pomiaru. Zgodnie z aktualnie obowiązującym dokumentem [1] błąd pomiaru jest to różnica między wynikiem pomiaru W_o a wartością odniesienia W_u :

$$\Delta = W_o - W_u \quad (1)$$

Wartością odniesienia może być wartość prawdziwa mezurandu, a w przypadku, kiedy jej nie znamy wartość umownie prawdziwa. Ponieważ wartości prawdziwej nigdy nie znamy dokładnie, w praktyce najczęściej posługujemy się wartością umownie prawdziwą. Jest to wartość przypisana wielkości określonej i uznana, niekiedy umownie, jako wartość wyznaczona z niepewnością akceptowalną w danym zastosowaniu.

W przypadku wykonywania serii pomiarów konieczne jest przeprowadzenie analizy statystycznej uzyskanych wyników z wykorzystaniem odpowiednich procedur matematycznych. Przeprowadzając badania należy być pewnym, że zastosowany przyrząd pomiarowy daje wiarygodne wyniki. Urządzenie może być sprawdzone z wykorzystaniem wzorca lub kalibrowane przez szereg wielkości o znanych, ale różnych wartościach.

W warunkach medycznego laboratorium diagnostycznego codziennie wykonywana jest seria oznaczeń kontrolnych mająca na celu sprawdzenie szeregu parametrów, a przede wszystkim odtwarzalności, w trakcie przeprowadzania pomiarów tej samej wielkości. Pod pojęciem odtwarzalności rozumieć należy stopień zgodności wyników pomiarów tej samej wielkości mierzonej, wykonywanej w zmienionych warunkach pomiarowych. Odtwarzalność można wyrażać ilościowo za pomocą charakterystyk rozrzutu wyników pomiarów [1].

Do kontroli laboratoryjnej i międzylaboratoryjnej, celem określenia wiarygodności uzyskiwanych wyników pomiarów, stosowane są w seriach rutynowych oznaczeń dodatkowe próbki, materiał kontrolny, o ściśle określonej wartości badanego parametru. Prawidłowe wyniki tego procesu pomiarowego są istotną częścią procedury akredytacji laboratorium.

Niniejsza praca stanowi próbę wnikliwego spojrzenia, z punktu widzenia metrologa, na stosowane metody i kryteria oceny dokładności fazy analitycznej w medycznym laboratorium diagnostycznym.

2. Metody selekcji i zliczania komórek krwi

Od dawna znana jest i nadal stosowana metoda bezpośrednia polegająca na zliczaniu, z wykorzystaniem mikroskopu, liczby komórek zawartych w określonej objętości zawiesiny. Z czasem wypracowano odpowiednie wyposażenie dodatkowe mikroskopu, tzw. komory mikroskopowe, pozwalające na szybkie, powtarzalne i względnie wygodne zliczanie komórek pod mikroskopem. Metoda zliczania pod mikroskopem, chociaż jest metodą bezpośrednią i dosyć wiarygodną, to jednak posiada szereg uciążliwych wad, do których należy zaliczyć:

- czasochłonność pomiaru,
- duże zmęczenie osób przeprowadzających pomiary,
- mała powtarzalność wyników pomiarów, wzrastająca wraz ze zmęczeniem pracowników wykonujących badania.

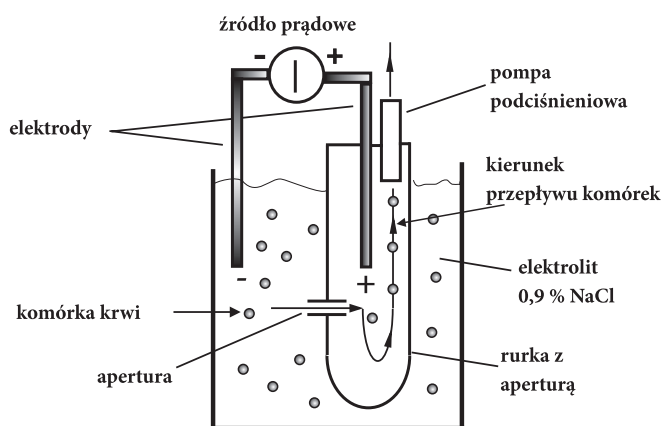
Dlatego też poszukiwano innych metod, z pomocą których można by dokonywać selekcji i zliczania komórek krwi [2].

Współcześnie stosowana aparatura pomiarowa, stosowana w medycznym laboratorium diagnostycznym do badań krwi, powinna umożliwić selekcję komórek krwi i zliczanie ich liczby w jednostce objętości o wymiarze 1 mm^3 . Komórki krwi można podzielić na trzy rodzaje: komórki czerwone (erytrocyty), komórki białe (leukocyty) oraz komórki płytkowe (trombocyty). Średnica komórek czerwonych krwi wynosi od $6 \text{ }\mu\text{m}$ do $9 \text{ }\mu\text{m}$, komórek białych krwi od $6 \text{ }\mu\text{m}$ do $20 \text{ }\mu\text{m}$, a komórek płytkowych od $2 \text{ }\mu\text{m}$ do $3 \text{ }\mu\text{m}$. Niezależnie od zastosowanej metody pomiaru próbka krwi jest rozcieńczana, zwykle w roztworze soli fizjologicznej, i następnie precyzyjnie odmierzona objętość tak przygotowanej próbki krwi jest przepuszczana przez rurkę o bardzo małej średnicy (około $100 \text{ }\mu\text{m}$), dzięki czemu komórki w strumieniu rozcieńczonej próbki układają się jedna za drugą. Zjawisko to nosi nazwę ogniskowania hydrodynamicznego. Strumień próbki krwi przechodzi następnie przez strefę pomiarową, w której układ detekcji wykrywa kolejno przechodzące komórki krwi i przekazuje informację do systemu przetwarzania i akwizycji danych. Stosowanie rozcieńczania krwi jest niezbędną operacją techniczną, gdyż w przeciwnym przypadku może wystąpić jednoczesne przejście więcej niż jednej komórki przez strefę pomiarową, co w rezultacie powoduje błędy zliczania. Zjawiska tego, określanego często, jako efekt koincydencji, pomimo stosowanych środków zapobiegawczych nie można całkowicie wyeliminować.

Wyróżnić można cztery podstawowe metody klasyfikacji i zliczania komórek krwi. Pierwsza z nich metoda hemocytometryczna, czyli ręczna metoda liczenia w preparacie mikroskopowym oraz metoda nefelometryczna są obecnie stosunkowo rzadko stosowane. Dwie pozostałe, współcześnie najczęściej stosowane metody pomiarowe, przeznaczone do zliczania i klasyfikacji komórek krwi to: elektryczna metoda rezystancyjna (metoda Coultera) oraz metoda optyczna [3, 4, 5]. Metoda

Coulter'a polega na pomiarze pojedynczych komórek przepływających przez strefę pomiarową i bazuje na zmianach impedancji, natomiast druga wykorzystuje zasadę rozpraszania promieniowania laserowego.

Metoda rezystancyjna przeznaczona jest do klasyfikacji rozmiarów i zliczania komórek krwi i bazuje na pomiarach zmian rezystancji wytwarzanej przez nieprzewodzące cząstki rozpuszczone w elektrolicie. Na rys. 1 pokazano uproszczony schemat ilustrujący zasadę pomiaru liczby komórek krwi metodą rezystancyjną. Rozcieńczona próbka krwi, mieszanina krwi z antykoagulantem, przemieszcza się z większego pojemnika przez aperturę o średnicy około 100 μm do rurki, w której zamontowana jest pompka podciśnieniowa powodująca efekt zasysania roztworu z pojemnika. W pojemniku zawierającym próbkę rozcieńczonej krwi znajduje się jedna elektroda, a druga elektroda umieszczona jest wewnątrz rurki. Do elektrod dołączone jest źródło prądowe, wywołujące przepływ prądu przez roztwór. W momencie, w którym w obszarze apertury pojawi się komórka krwi, zakłóca ona przepływ prądu, co powoduje, że przewodnictwo gwałtownie ulega zmniejszeniu i w efekcie tego pomiędzy elektrodami wystąpi impuls napięciowy. Liczba impulsów wskazuje na liczbę cząstek, natomiast amplituda wytworzonego impulsu elektrycznego zależy od objętości komórki. Analiza zachowania cząsteczek krwi w szczelinie informuje, że amplituda wytworzonego impulsu elektrycznego, w trakcie przejścia komórki przez strefę pomiarową, jest wartością charakterystyczną, proporcjonalną do objętości komórki krwi. Układ detekcji z nastawioną odpowiednią wartością progu zadziałania pozwala na dyskryminację pomiędzy różnymi rodzajami komórek krwi. Liczba komórek, zliczona tą metodą jest około 100-krotnie większa od liczby uzyskiwanej w metodzie tradycyjnej z wykorzystaniem mikroskopu. Fakt ten w znaczący sposób zmniejsza błąd statystyczny.



Rys. 1. Schemat ilustrujący zasadę pomiaru liczby komórek krwi metodą rezystancyjną

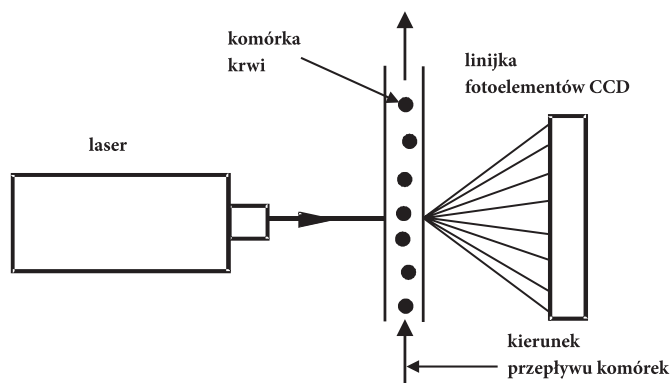
Metoda optyczna wykorzystuje właściwość, że komórka krwi usytuowana w ciekłym medium ma inny współczynnik pochłaniania światła niż antykoagulant, w którym się znajduje. Komórki krwi przemieszczają się w rurce o bardzo małej

średnicy i przechodzą przez strefę pomiarową oświetloną za pomocą źródła światła i obserwowaną przez fotodetektor. Laminarny przepływ mieszaniny krwi i antykoagulantu sprawia, że nie mieszają się one ze sobą, a odczynnik osłonowy w komorze przepływowej formuje strumień próbki w postaci cienkiej wiązki. W chwili, w której komórka krwi przecina wiązkę światła, na wyjściu fotodetektora pojawia się impuls napięciowy. W nowoczesnej aparaturze, najczęściej stosuje się metodę rozproszenia światła do klasyfikacji i zliczania komórek krwi [6].

Komórki są kolejno oświetlane przez wiązkę lasera helowo-neonowego, o następujących parametrach: długość fali $\lambda = 632,8$ nm, moc $P = 5$ mW, średnica $d = 80$ μ m. Promieniowanie takiego lasera charakteryzuje się bardzo dużą stabilnością parametrów emitowanej wiązki. Rozproszone na strukturach pojedynczej komórki światło lasera analizują elementy optoelektroniczne umieszczone w linijce fotodetektorów. Światło pada na te elementy pod różnymi kątami. Sygnały wyjściowe z fotodetektorów są następnie przesyłane do dalszej obróbki. Na rys. 2 przedstawiono uproszczony schemat ilustrujący zasadę pomiaru liczby komórek krwi metodą optyczną.

Istnieje kilka przyczyn wywołujących błędy pomiaru zliczanych i klasyfikowanych komórek, przy czym najważniejsze z nich to:

- obecność zanieczyszczeń,
- nieprawidłowe rozcieńczanie próbki,
- zmniejszenie średnicy apertury spowodowane osadzaniem się zanieczyszczeń,
- nieprawidłowy próg detekcji.



Rys. 2. Schemat ilustrujący zasadę pomiaru rozprośzeniowej metody optycznej do zliczania i klasyfikacji komórek krwi

Należy podkreślić, że nawet przy pełnej idealizacji aparatury pomiarowej, to znaczy w przypadku gdyby założyć, że błąd pomiaru wykorzystywanej do pomiarów aparatury wynosi zero, analizowany materiał biologiczny ze względu na swą niejednorodność powoduje rozrzut wyników pomiaru, a zatem konieczna jest analiza statystyczna wyników pomiaru. Warto zauważyć, że w niektórych przypadkach, zwłaszcza wtedy, gdy komórki krwi mają nietypowe wymiary, praktycznie jedyną skuteczną metodą pomiaru jest tradycyjna metoda, realizowana z wykorzystaniem mikroskopu, przez doświadczonego operatora.

3. Wiarygodność pomiarów w medycznym laboratorium diagnostycznym

Uzyskane wyniki pomiarów przeprowadzane w laboratorium diagnostycznym wymagają interpretacji, która pozwala ustalić czy kontrolowana metoda jest dokładna a wynik jest wiarygodny. Błędy występujące w cyklu diagnostycznym można podzielić na te, które występują w fazie przedanalizycznej, analitycznej jak również poanalizycznej. W niniejszej pracy skoncentrowano się nad zagadnieniem prezentacji mało znanych, a jednocześnie powszechnie stosowanych w praktyce laboratoryjnej, sposobów wyznaczania błędów fazy analitycznej pomiaru parametrów materiału biologicznego. Uwzględniono również pewne próby oceny i komentarzy dotyczące porównania zasad wyznaczania tych błędów ze standardami stosowanymi w metrologii.

W klasycznej teorii pomiarów wykorzystuje się dwa podstawowe parametry służące do oceny jakości rozkładu: wartość oczekiwana, której estymatorem jest najczęściej wartość średnia z populacji, będąca miarą skupienia zmiennej losowej, oraz odchylenie standardowe, będące miarą rozrzutu.

Pojęcie estymacji jest równoznaczne z pojęciem oceny lub oszacowania. Wiadomo, że statystyka matematyczna wskazuje na możliwości wnioskowania o całej populacji na podstawie wyników z próby losowej. Podstawą wnioskowania o populacji na podstawie wyników z próby są wartości pewnych charakterystyk próby, zwanych statystykami z próby. Najbardziej interesujące są te statystyki, które pozwalają na ocenę nieznanymi parametrów populacji, takich jak wartość oczekiwana i odchylenie standardowe.

Jak już wspomniano estymatorem wartości oczekiwanej jest średnia arytmetyczna $\bar{x}$, n zmiennych losowych obserwowanych w próbie, dana zależnością:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (2)$$

Estymatorem odchylenia standardowego z populacji jest wyrażenie określone zależnością:

$$s(x) = \sqrt{\frac{1}{(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

Estymator odchylenia standardowego, dany zależnością (3), jest estymatorem nieobciążonym, ponieważ niezależnie od liczebności próby jego wartość oczekiwana jest równa wartości estymowanego parametru [7].

W obliczeniach praktycznych często wykorzystuje się wartość estymatora odchylenia standardowego dla średniej, danego zależnością:

$$s(\bar{x}) = \sqrt{\frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (4)$$

W przypadku laboratoriów diagnostycznych ze względu na specyfikę badanego materiału biologicznego, a także ze względu na specyfikę rozwiązania technicznego aparatury pomiarowej, stosuje się zmodyfikowaną, w stosunku do standardowych zaleceń metodę oceny wiarygodności pomiaru. W celu określenia jakości danej metody pomiarowej wykorzystuje się znajomość wartości trzech parametrów: arbitralnie dobranego całkowitego dopuszczalnego błędu pomiaru TE_a , nieprecyzyjności oraz obciążenia.

Całkowity dopuszczalny błąd pomiaru (ang. total error allowable TE_a) jest możliwą do zaakceptowania różnicą pomiędzy uzyskanym wynikiem a wartością rzeczywistą wielkości mierzonej. Jest to pojęcie używane w medycznych laboratoriach diagnostycznych dla określenia wymagań, jakie powinna spełniać stosowana metoda pomiarowa by uznać ją za wiarygodną [8], [9]. W sytuacji, gdy błędy pomiarowe, które nieodmiennie towarzyszą procesowi pomiarowemu, nie przekraczają wartości TE_a , można stwierdzić, że uzyskane wyniki pomiaru są wiarygodne. Wartość błędu TE_a pozwala na wyznaczenie przedziału ufności, w którym z założonym prawdopodobieństwem znajdują się uzyskane wyniki pomiaru. Podejście do problemu określenia wartości TE_a jest różne w różnych krajach. W niektórych, np. w USA czy w Niemczech, wielkość tego parametru ustalana jest oficjalnie przez organizacje zajmujące się akredytowaniem laboratoriów medycznych. Opublikowane wartości TE_a są tam konkretnym kryterium, na podstawie którego oceniana jest jakość metod pomiarowych. W innych krajach, również w Polsce, wybór wartości TE_a pozostawiony jest osobom odpowiedzialnym za jakość świadczonych przez laboratoria usług i to one decydują o wartości tego błędu. Określenie konkretnych wartości tego parametru dla poszczególnych mierzonych wielkości pozwala rozstrzygnąć, czy dana metoda, z jej nieprecyzyjnością i obciążeniem, jest metodą wiarygodną [8]. Istnieje wiele opracowań dotyczących ustalenia wartości TE_a , jednakże pomimo wielu starań ujednolicenia postępowania nie udało się, jak dotąd, opracować jednej metody, którą uznawano by za obowiązującą [10].

Błędy przypadkowe, towarzyszące wykonywanym pomiarom sprawiają, że uzyskiwane w trakcie pomiarów tej samej próbki wyniki różnią się pomiędzy sobą. Stopień zgodności pomiędzy niezależnymi wynikami pomiarów w literaturze [8, 9], dotyczącej analizy jakościowej w medycznym laboratorium diagnostycznym, nazywany jest precyzją. Ilościowym wskaźnikiem nieprecyzyjności jest wartość odchylenia standardowego lub współczynnik zmienności CV , określany jako stosunek odchylenia standardowego i wartości średniej, wyrażony w procentach:

$$CV = \frac{s(x)}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (5)$$

Dlatego też niezbędne jest zgromadzenie odpowiednio licznej próby pomiarowej. W praktyce przyjęło się, aby liczność próby, rozumianej jako ilość wyników uzyskanych w tym samym materiale kontrolnym, wynosiła 20. Jednakże wartość ta nie wynika w żaden sposób z formalnych uwarunkowań statystyki, a raczej z tradycji, której początki można znaleźć w pierwszych pracach dotyczących zasad kontroli jakości w laboratorium medycznym.

Poprawność pomiarów, jako cecha jakościowa, jest opisywana za pomocą liczby, jaką jest różnica pomiędzy wartością średnią, otrzymaną na podstawie dużej serii wyników badania, a przyjętą wartością odniesienia. Zgodnie z dokumentem ISO 3534-1 ilościowa informacja o poprawności, przedstawiona w postaci tej różnicy, określana jest jako obciążenie [11]. W zastosowaniach praktycznych za wartość odniesienia najczęściej przyjmuje się wartość średnią z próbki określonej populacji wyników pomiarów, określonej np. w metryce materiału kontrolnego przeznaczonego do kontroli wewnątrzlaboratoryjnej.

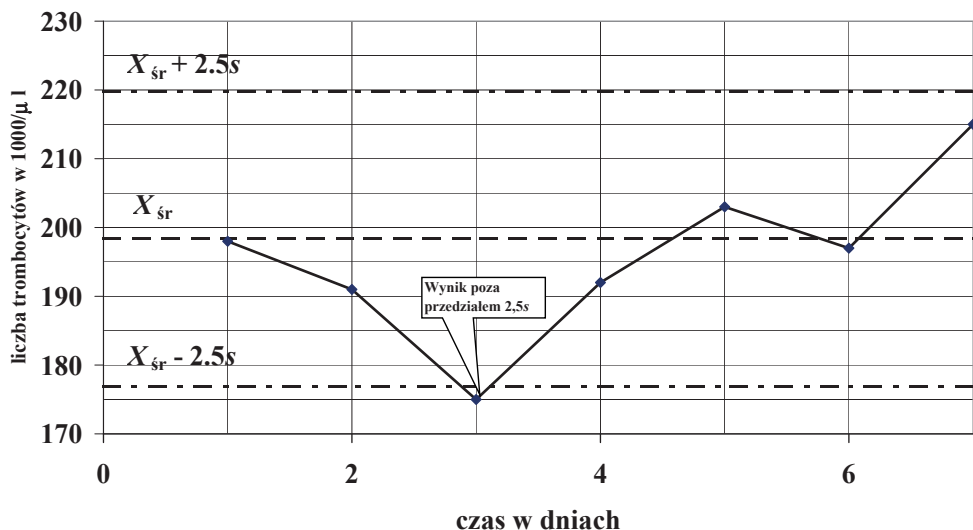
Jedną z najbardziej rozpowszechnionych metod statystycznej kontroli jakości w medycznym laboratorium diagnostycznym jest metoda wykorzystująca kartę kontrolną, na którą nanosi się poszczególne wyniki pomiarów, znana pod nazwą karty Levey'a i Jenningsa. W metodzie tej wykorzystuje się materiał kontrolny jako próbkę, którą analizuje się dla przeprowadzenia kontroli jakości. W tym celu przeprowadza się szereg pomiarów z wykorzystaniem próbek materiału kontrolnego, umieszczonych obok rutynowo badanych próbek od pacjentów. Minimalny okres pomiarów nie powinien być krótszy od 10 dni. Najlepiej jest, gdy okres ten wynosi 20 dni, ponieważ zbyt krótki okres oceny wstępnej jest źródłem niedoszacowania zmienności. Celem przeprowadzania badań wstępnych jest ustalenie własnych granic kontrolnych, dla określonego laboratorium, w oparciu o wyniki badania materiału kontrolnego [12]. Zmienność stabilnie funkcjonującej metody pomiarowej, obserwowana przy kontroli jakości badań laboratoryjnych, prawie w całości jest uzależniona od nieprecyzyjności metody pomiarowej.

Najbardziej istotną kwestią jest interpretacja uzyskanych wyników pomiarów poprzez ustalenie granic dopuszczalnego błędu, którego nie można przekroczyć. W przypadku, gdy wartości wyznaczonych wyników pomiarów przekraczają założone granice, metodę taką uznaje się, jako poza kontrolą. W przeciwnym przypadku, tzn. jeżeli wartości wyników pomiarów znajdują się w założonym zakresie, uznajemy, że metoda jest pod kontrolą, to znaczy, że metoda funkcjonuje prawidłowo. W tym względzie istnieje duża różnorodność oceny czy badana metoda znajduje się w dopuszczalnych granicach bądź nie. Wyróżnić tutaj można reguły proste oraz reguły złożone.

Najprostszym sposobem oceny wyników kontrolnych jest metoda oparta na wykorzystaniu jednej, prostej reguły interpretacyjnej, np. reguły $1_{2,5s}$, gdzie s oznacza wartość odchylenia standardowego eksperymentalnego. W regule tej zakłada się, że metoda pozostaje poza kontrolą w sytuacji, gdy przynajmniej jeden wynik kontrolny uzyskany w serii pomiarowej wykracza poza granice określone przedziałem $\pm 2,5s$, co przedstawiono na rys. 3.

W literaturze związanej z tematyką niniejszej publikacji [13, 14] spotyka się, między innymi, również reguły 1_{2s} , 1_{3s} , $1_{3,5s}$, które różnią się pomiędzy sobą szerokością przedziału, w którym powinny zawierać się wyniki pomiarów, ażeby metodę pomiarową można było uznać za wiarygodną.

Interpretacja wyników pomiarów kontrolnych z wykorzystaniem reguł złożonych polega na stosowaniu kilku reguł równocześnie, co pozwala zwiększyć skuteczność oceny wyników kontrolnych.

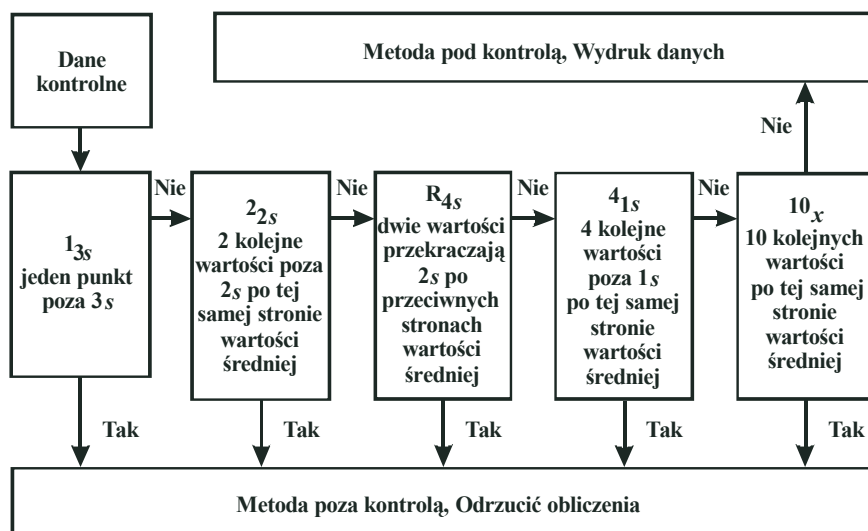
Rys. 3. Rysunek ilustrujący regułę prostą $1_{2,5s}$

Jedną z metod złożonych pozwalającą na wykrycie trendu, polegającego na zawyżaniu lub zaniżaniu wyników, jest reguła 7_T . Zakłada ona, że metoda pomiarowa znajduje się poza kontrolą, jeśli siedem kolejno uzyskanych wyników wykazuje stałą tendencję wzrostową lub malejącą. Reguła 7_T wskazuje na stopniowo nasilające się zmiany w układzie pomiarowym, które mogą wynikać na przykład ze stopniowego rozkładania się stosowanych odczynników lub zmiany w materiale stosowanym do kalibracji układu pomiarowego [12].

Jedną z najbardziej znanych i rozpowszechnionych reguł złożonych jest reguła $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/10_x$ nazywana od nazwiska głównego twórcy, regułą Westgarda [15]. Algorytm tej metody przedstawiono na rys. 4.

W metodzie tej pierwszym elementem jest reguła 1_{3s} , która zakłada, że metoda pomiarowa znajduje się poza kontrolą, kiedy przynajmniej jeden wynik kontrolny uzyskany w serii pomiarowej wykracza poza granice trzech odchyłeń standardowych. Jeżeli taka sytuacja ma miejsce wstrzymujemy wykonywanie badań i odrzucamy obliczenia, ponieważ uznajemy, że taka metoda jest niewiarygodna. Jeżeli wyniki pomiarowe nie przekraczają dopuszczalnego zakresu trzech odchyłeń standardowych przechodzimy do kolejnego etapu algorytmu.

Drugim elementem reguły złożonej jest reguła 2_{2s} . Zgodnie z tą regułą metoda pomiarowa znajduje się poza kontrolą w sytuacji, gdy dwa kolejne wyniki przekraczają wartość dwóch odchyłeń standardowych po tej samej stronie wartości średniej. Regułę tą stosuje się zarówno do wyników kontrolnych w jednej serii pomiarowej, jak również w przypadku wyników uzyskanych w tym samym materiale kontrolnym w dwóch kolejnych seriach. W przypadku, gdy wyniki pomiarów spełniają określone tą regułą wymagania, przechodzimy do następnego etapu algorytmu.

Rys. 4. Algorytm złożonej metody Westgarda $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/10_x$

Trzecim elementem tworzącym regułę złożoną jest reguła R_{4s} , zakładająca, że metoda pomiarowa znajduje się poza kontrolą, gdy dwa wyniki kontrolne uzyskane w serii przekraczają granicę dwóch odchyłeń standardowych po przeciwnych stronach wartości średniej. Dokładniejsza analiza możliwych do napotkania sytuacji spowodowała, że w chwili obecnej regułę R_{4s} stosuje się wyłącznie w odniesieniu do wyników uzyskiwanych w jednej serii pomiarowej.

Kolejnym elementem wchodzącym w skład reguły złożonej Westgarda, gdy dostępne są co najmniej cztery wyniki pomiarów kontrolnych, jest reguła 4_{1s} , która zakłada, że metoda pomiarowa znajduje się poza kontrolą w sytuacji, gdy cztery kolejno uzyskane wyniki przekraczają granicę jednego odchylenia standardowego i znajdują się po tej samej stronie wartości średniej.

Ostatnim składnikiem rozpatrywanej reguły złożonej jest reguła 10_x zakładająca, że metoda jest poza kontrolą, jeżeli dziesięć kolejno uzyskanych wyników układa się po tej samej stronie wartości średniej [15].

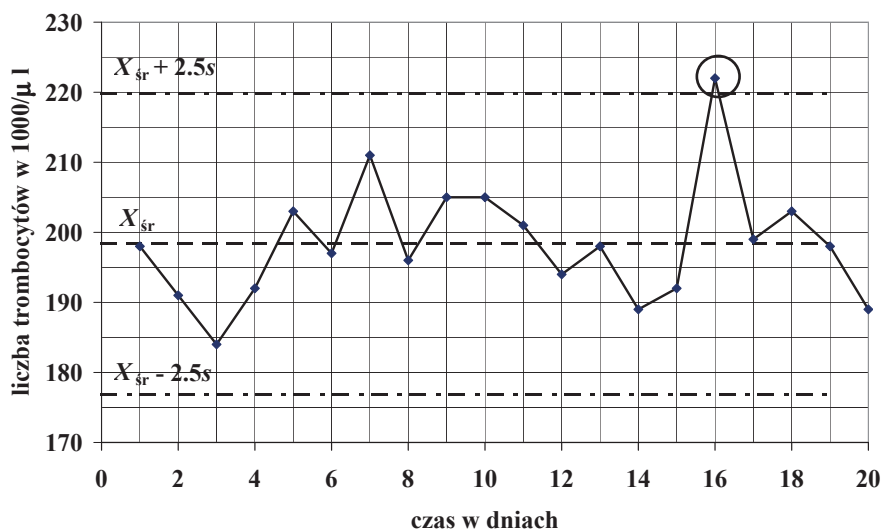
Wymienione powyżej reguły $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/10_x$ tworzą klasyczną regułę złożoną. Różnorodność stosowanych w praktyce rozwiązań sprawia jednak, że zdarzają się sytuacje, w których konieczne staje się nieznaczne modyfikowanie opisanych reguł. Modyfikacje w tej regule mogą polegać, między innymi, na zmianie poszczególnych metod składowych, np. reguła 4_{1s} zostaje zmieniona na regułę 3_{1s} lub 6_{1s} , natomiast reguła 10_x przekształcana jest w regułę 9_x .

W literaturze spotkać można również podejście, polegające na nieco odmiennym sposobie wybierania reguł interpretacyjnych, np. poprzez wprowadzenie specjalnie skonstruowanych kart, zawierających dokładnie sprecyzowane wytyczne dotyczące wyboru reguł w oparciu o znane parametry metody [16]. W pracy [17] zawarto roz-

ważania dotyczące, między innymi, zagadnienia wyznaczania dopuszczalnych wartości błędów, uwzględniając jakość aktualnie stosowanych systemów analitycznych, tzw. „state of the art”.

W celu oceny wiarygodności pomiarów przeprowadzono badania eksperymentalne z wykorzystaniem karty kontrolnej Levey’a i Jenningsa. Na kartę taką nanosi się wyniki pomiarów uzyskanych dla materiału kontrolnego. Według zaleceń Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej – IFCC, materiał kontrolny jest próbką, którą analizuje się wyłącznie w celu przeprowadzenia kontroli jakości. Jeśli materiał kontrolny wykazuje podobieństwo do rutynowo badanych próbek pochodzących od pacjentów, uznać można, że wyniki uzyskiwane dla materiału kontrolnego odzwierciedlają wiarygodność uzyskiwanych równolegle wyników oznaczeń rutynowych [12].

Zgodnie z zaleceniami, o których wspomniano w poprzedniej części pracy, badania te wykonano na przestrzeni 20 dni, analizatorem Sysmex XS-1000i, z wykorzystaniem, jako analitu, komórek płytkowych krwi (trombocytów). Przykładowe wyniki badań przedstawiono w postaci karty kontrolnej na rys. 5.



Rys. 5. Wykorzystanie karty kontrolnej Levey’a-Jenningsa do oceny wiarygodności pomiarów z wykorzystaniem, jako analitu, trombocytów

Na rys. 5 zaznaczono wartość średnią jak również granice dopuszczalnego przebiegu zmienności, wyznaczonego zgodnie z regułą $1_{2,5s}$. Na osi y przedstawiono liczbę trombocytów wyrażonych w powszechnie stosowanej w praktyce laboratoryjnej jednostce, tysiąc na mikrolitr.

Jak można zauważyć jeden z wyników pomiarów wykracza poza założony zakres zmienności. Pozwala to na sformułowanie wniosku, że zastosowana metoda pomiarowa jest poza kontrolą, to znaczy że metoda funkcjonuje nieprawidłowo. Stosując, jednakże dla tej samej serii wyników, złożoną regułę Westgarda $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/10_x$

można sformułować konkluzję, że metoda pomiarowa jest poprawna. Wielość możliwych sposobów interpretacji wyników pomiarów pozwala postawić fundamentalne pytanie: która opcja będzie najodpowiedniejsza, którą regułę wybrać prostą, np. $1_{2,5s}$ czy złożoną? W jaki sposób należy ustalić granice kontrolne?

Zdaniem autora nie można udzielić jednoznacznej odpowiedzi na tak sformułowane pytanie. Olbrzymia rola w tym zakresie przypada osobie z dużym doświadczeniem, nadzorującej i interpretującej uzyskane wyniki pomiarów.

4. Podsumowanie

W pracy przedstawiono wybrane zagadnienia oceny wiarygodności metod pomiarowych stosowanych w medycznych laboratoriach diagnostycznych. Zaprezentowano stosowane metody pomiarowe przeznaczone do pomiaru liczby komórek krwi, jak również główne źródła ich błędów pomiarowych.

Zwrócono uwagę na specyfikę w podejściu do oceny dokładności metody pomiarowej w medycznym laboratorium diagnostycznym. Wskazano na występujące różnice w porównaniu z podejściem klasycznym i formalizmami matematycznymi, znanymi z metrologii i teorii pomiarów.

Niniejsza praca sygnalizuje tylko pewien skromny wycinek problemów dotyczących statystycznej oceny wyników pomiarów trudnych obiektów, jakimi są obiekty biologiczne. Prezentowana tematyka jest niezwykle rozległa i złożona. Dlatego też nie sposób jest, w ramach niniejszej pracy, rozpatrzyć całości zagadnień związanych z oceną wiarygodności wyniku pomiaru w medycznym laboratorium diagnostycznym z punktu widzenia metrologa. Jednym z celów pracy jest zwrócenie uwagi na to, że praktyka pomiarowa, w tym przypadku niezwykle ważna, bo dotycząca zdrowia ludzkiego, tworzy dla własnych potrzeb specyficzne zasady oceny wyniku pomiaru. Zasady te całkiem dobrze sprawdzają się w praktyce, a jednocześnie niekoniecznie precyzyjnie pokrywają się ze standardami zalecanymi w metrologii.

Literatura

- [1] International Vocabulary of Metrology – basic and general concepts and associated terms, VIM, 3rd edition, JCGM 200:2008.
- [2] http://www.chem.pg.gda.pl/Katedry/Leki_Biochemia/dydaktyka/biofizyka/cz7.pdf
- [3] D. Chiappini et al.: Comparability of hematology profile between QBC autoread TM plus system and all electronic cell counting instrument (Coulter Counter STKS). Schweizerische medizinische Wochenschrift vol. 130, pp. 545-550, 2000.
- [4] A. Odon, P. Otomański, B. Krupiński: *Wiarygodność pomiarów w medycznym laboratorium diagnostycznym na przykładzie badań morfologii krwi*. Elektronika nr 6/2008, str. 166-168, 2008.
- [5] P. Otomański, A. Odon: *The evaluation of accuracy of measurement results in medical analytical laboratory*. Proceedings 7th International Conference on Measurement MEASUREMENT 2009, May 20 – 23, Smolenice, Slovakia, pp. 19-22, 2009.
- [6] Ye. Yang et al.: *Blood cell counting and classification by nonflowing laser light scattering method*. Journal of Biomedical Optics, vol. 9, 995, pp. 995-1001, 2004.

- [7] S. Brandt: *Analiza danych*. PWN, Warszawa 1999.
- [8] W. Gernand: *Zrozumieć kontrolę jakości, część 1*. Aktualności bioMerieux, nr 38, s. 12-17, Warszawa 2006.
- [9] W. Gernand: *Podstawy kontroli jakości badań laboratoryjnych*. Centrum Promocji Nauk Medycznych, Lublin, 2000.
- [10] W. Gernand: *Zrozumieć kontrolę jakości, część 2*. Aktualności bioMerieux, nr 39, s. 7-10, Warszawa 2006.
- [11] ISO 3534-1 Statistics – Vocabulary and symbols – Part 1: General statistical terms and terms used in probability, 2006.
- [12] W. Gernand: *Zrozumieć kontrolę jakości, część 3*. Aktualności bioMerieux, nr 40, s. 18-24, Warszawa 2007.
- [13] J. O. Westgard, P. O. Barry: *Cost-effective quality control: managing the quality and productivity of analytical processes*. Washington, DC, 1986.
- [14] G. S. Cembrowski, R. N. Carey: *Laboratory quality management*. Chicago ASCP Press, 1989.
- [15] J. O. Westgard et al.: *A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry*. Clinical Chemistry, vol. 27, no 3, pp. 493-501, 1981.
- [16] J. O. Westgard: *Charts of operational process specifications ("OPSspecs charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria*. Clinical Chemistry, vol. 38, no 7, pp. 1226-1233, 1992.
- [17] G. S. Cembrowski: *Thoughts on quality-control systems: a laboratorian's perspective*. Clinical Chemistry, vol. 43, no 5, pp. 886-892, 1997.