

# POROVNÁNÍ NĚKTERÝCH CHARAKTERISTIK VÝSLEDKŮ ČTYŘ ANALYTICKÝCH SYSTÉMŮ PRO 12 ZÁKLADNÍCH BIOCHEMICKÝCH ANALYTŮ

Dohnal L.(1), Kloudová M.(1), Čechák P.(2)

(1) Referenční laboratoř pro klinickou biochemii MZČR, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1.LF UK a VFN, Praha

(2) Ústav biochemie a pathobiochemie 3. LF UK a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

## SOUHRN

Cíl práce: Porovnání přesnosti (precision) za podmínek opakovatelnosti a reprodukovatelnosti, správnosti a vychýlení (accuracy and bias) na dvou kontrolních materiálech (rekonstituovaných lidských sérech) a zjištění porovnatelnosti výsledků stanovení v séru a plasmě pacientů, to vše na 4 analytických systémech (Kone, Spotchem, Piccolo a Vitros) pro 12 základních biochemických analytů (albumin, ALP, ALT, AMS, AST, bilirubin, močovina, vápník celkový, cholesterol, kreatinin, glukosa, celková bílkovina). Posouzení kompatibility výsledků pocházejících ze systémů různého typu (Piccolo - „mokrý chemie“, menší POCT analyzátor, Spotchem - „suchá chemie“, menší POCT analyzátor, Vitros 950 - „suchá chemie“, analyzátor typický pro statimovou laboratoř, Konelab 60 - „mokrý chemie“, klasický velkokapacitní analyzátor).

Materiál a metody: Stanovení byla provedena pomocí výše uvedených analytických systémů originálními postupy dle výrobce. Za účelem zjištění opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a ve čtyřech případech (vápník celkový, cholesterol, glukosa, kreatinin) též vychýlení byly analysovány komerční kontrolní materiály - rekonstituovaná lyofilisovaná lidská séra. Za účelem posouzení porovnatelnosti (mezi analyzátory i mezi plasmou a sérem) byly analysovány vzorky séra i plasmy od 38 pacientů – tedy celkem 2 x 38 vzorků.

Výsledky: Opakovatelnost jako variační koeficient byla typicky kolem 2,5% s maximem 5% s výjimkou následujících případů. ALP/Spotchem (14,9% a 8,1%) – trend v datech, ALT/Piccolo (18,0%) – odlehlá hodnota, močovina/Piccolo (7,4%)-celkově velký rozptyl, cholesterol/Piccolo (7,6% a 6,0%)-nenormalita dat a odlehlá hodnota. Reprodukovatelnost jako variační koeficient byla typicky do 7%, vyšší (7 až 11%) vykazuje ALT/Piccolo, bilirubin/Kone, močovina/Kone, Ca/Kone, kreatinin/Kone. Vychýlení bylo možno počítat pouze pro vápník, cholesterol, glukosu a kreatinin. Statisticky významné vychýlení (hladina významnosti 0,05) vykazuje Ca/Spotchem (-12% a -15%), cholesterol/Vitros (+5%), glukosa/Kone (+5%), glukosa/Spotchem (-12%), kreatinin/Piccolo (+8%), kreatinin/Vitros (+15% a +14%). Vzájemné porovnání výsledků z plasmy i séra od pacientů na všech analyzátořech je vidět pro všech 12 analytů na obrázcích 3 až 15.

Závěr: Opakovatelnost byla dobrá, výjimky byly způsobeny nejčastěji odlehlými hodnotami a trendy v datech, pouze v jediném případě celkově příliš velkým rozptylem – močovina/Piccolo. Reprodukovatelnost jako variační koeficient byla do 7%, výjimečně do 11%. Z důvodu malého počtu dat (n=3 až 5) je třeba ji posuzovat obezřetně. Každý ze čtyř analytů (celkový vápník, cholesterol, glukosa, kreatinin), pro něž bylo možno hodnotit vychýlení, vykázal alespoň na jednom analyzátoru statisticky významný bias v rozmezí od -15% do +16%. Při vzájemném porovnávání byly nápadně nesrovnatelné výsledky získány v následujících případech: ALT/Piccolo/plasma – proporcionální negativní odchylka (kalibrace?), AMS ve všech pěti případech – celkově špatná srovnatelnost (metodická nejednotnost?), bilirubin ve všech sedmi případech v oblasti 5 až 15  $\mu\text{mol/l}$  celkově špatná srovnatelnost (malá citlivost?), glukosa/Spotchem/plasma i sérum nevelká ale zřetelná záporná aditivní odchylka (blank ?), celková bílkovina/Kone a Vitros v séru vykazuje nevelkou ale zřetelnou zápornou aditivní odchylku vůči hodnotám na Kone a Vitros v plasmě (fibrinogen ?).

Klíčová slova: opakovatelnost, reprodukovatelnost, vychýlení, porovnatelnost, Piccolo, Spotchem, Vitros 950, Konelab 60, suchá chemie, mokrá chemie

## SUMMARY

**Objective:** The aim of the work was the comparison of precision under conditions of repeatability and reproducibility, accuracy and bias at two reconstituted control human materials and finding of comparability of results estimated from serum and plasma of patients from 4 different analytical systems (Kone - Konelab 60, Arkray - Spotchem EZ, Abaxis Piccolo and Ortho-Clinical Diagnostics - Vitros 950). At these analyzers was estimated 12 basic biochemical analytes (albumin, ALP, ALT, AMS, AST, bilirubine, urea, total calcium, cholesterol, creatinine, glucose, total protein). Judgment of comparability of results coming through different analytical systems (two small POCT analyzers: Piccolo - „wet chemistry“ and Spotchem - „dry chemistry“ and two big biochemical analyzers with big capacity: Vitros 950 - „dry chemistry analyzer“ used typically in statim e.g. emergency or routine modus and Konelab 60 – classical „wet chemistry“ analyzer.

**Material and methods:** All estimations were conducted according to producer recommendations and using the original producer recommended reagents. For evaluation of repeatability, reproducibility and in four cases also bias (total calcium, cholesterol, glucose, creatinine) were analyzed commercial control materials (lyophilized human sera after reconstitution). For evaluation of comparability between analyzers and between plasma and serum were analyzed 38 patient's samples.

**Results:** Repeatability expressed as coefficient of variation achieved typical value about 2,5% with maximum 5% with exceptions as follows: ALP/Spotchem (14,9% and 8,1%) - trend in data, ALT/Piccolo (18,0%) - outlier, urea/Piccolo (7,4%) – generally great variance of values, cholesterol/Piccolo (7,6% and 6,0%) - abnormality of data and outlier. Reproducibility expressed as coefficient of variation was typically to 7%, higher values (7%-11%) were found as follows: ALT/Piccolo, bilirubine/Kone, urea/Kone, Ca/Kone, kreatinin/Kone. The bias value was possible count only for calcium, cholesterol, glucose and creatinine. Statistical significant bias (significance level 0,05) indicates Ca/Spotchem (-12% and -15%), cholesterol/Vitros (+5%), glucose/Kone (+5%), glucose/Spotchem (-12%), creatinin/Piccolo (+8%), creatinin/Vitros (+15% and +14%). Results comparison of patient's plasma and serum in all analyzers is demonstrated at Fig.3 up to Fig.15.

**Conclusion:** Repeatability was good, reasons of expectations was caused by outliers and by trends of data. Only in one case (e.g. urea/Piccolo) was generally very large values distribution. Reproducibility as coefficient of variation was found up to 7%, exceptionally up to 11%. Because of the reason of the small cohort of data (n = from 3 to 5) it is necessary to evaluate reproducibility very carefully. Each of four analytes (total calcium, cholesterol, glucose, creatinine) for which was possible to evaluate bias appeared minimally on one analyte, at least in one of four compared analyzers, statistically significant bias in range from -15% up to +16%. In random cross comparison of achieved results were remarkably incomparable results in following cases: ALT/Piccolo/plasma - proportional negative bias (influence of calibration ?), AMS at all 5 cases - generally poor comparability (methods heterogeneity?), bilirubine at all 7 cases - in range from 5 up to 15  $\mu\text{mol/l}$  was generally found bad comparison (low sensitivity?), glucose/Spotchem/plasma and serum - not big but significant negative additive bias (blank?), total protein/Kone and Vitros in serum indicates no big, but significant additive bias against values measured on Kone and Vitros in plasma (influence of fibrinogen?).

**Key words:** repeatability, reproducibility, bias, comparability, Piccolo, Spotchem, Vitros 950, Konelab 60, dry chemistry, wet chemistry

## ÚVOD

Cílem práce bylo zjistit, zda výsledky získané různými měřicími systémy jak u originálního biologického materiálu od pacientů (plasma, sérum) tak také u kontrolních vzorků (rekonstituované lidské sérum) jsou natolik shodné, aby bylo možné je vzájemně zaměnit, jmenovitě zaměnit výsledky „suché“ a „mokré“ chemie. Také jsme byli zvědaví na případné rozdíly mezi výsledky v séru a odpovídající plasmě. Dále nás zajímalo, do jaké míry je možné pro všechny typy sledovaných analyzátorů použít jeden typ kontrolního materiálu. Je známo, že existují systémy externí kontroly kvality, které kontrolují jedním typem kontrolních vzorků „suchou“ i „mokrou“ chemii (např. v Holandsku). Většina systémů externí kontroly však má pro oba „druhy chemie“ kontrolní cykly oddělené.

Abychom předešli eventuelnímu nedorozumění, kterého je na světě více než dost, domluvme se předem na definicích některých použitých pojmů, na něž si činí nárok tu akreditátoři, tu analytici, tu zase metrologové, někdy snad i statistici.

Přesnost (precision) je těsnost souhlasu mezi nezávislými výsledky měření získanými za předem určených podmínek. V našem případě se spokojíme s opakovatelností – přesností za podmínek opakovatelnosti (repeatability, within run) a s reprodukovatelností – přesností za podmínek reprodukovatelnosti (reproducibility, between run).

Správnost (accuracy) je těsnost souhlasu mezi jedním výsledkem měření a dohodnutou referenční hodnotou.

Vychýlení neboli odchylka (bias) je rozdíl mezi střední hodnotou výsledku měření a dohodnutou referenční hodnotou.

## MATERIÁL A METODY

Byly použity čtyři analytické systémy.

a) Menší spektrofotometrický analyzátor POCT Piccolo pracuje na principu „mokré chemie“. Zařízením je možné stanovit najednou až 13 analytů do 15 minut ze 100  $\mu$ l krve, přičemž personál po aplikaci vzorku do přístroje se po celou dobu analýzy může věnovat pacientovi v kritickém stavu.

b) Menší POCT analyzátor Spotchem pracuje na principu „suché chemie“, měří reflektanci, má rovněž předem dané kombinace až 6 analytů. Přístroj lze umístit přímo u lůžka nemocného.

c) POCT analyzátor Vitros 950 pracuje na principu „suché chemie“, měří reflektanci a je vhodný pro statimovou laboratoř.

d) Velkokapacitní spektrofotometrický analyzátor Konelab 60 pracuje na principu „mokré chemie“.

Analysátor Piccolo byl obsluhován zaškolenými zdravotnickými sestrami pracoviště akutní péče Kliniky anesthesiologie a resuscitace FNKV Praha. Analyzátoři Spotchem, Vitros 950 a Konelab 60 byly obsluhovány laboratorním personálem Ústavu biochemie a pathobiochemie 3. LF UK a FNKV.

**PRINCIPIY STANOVENÍ ANALYTŮ NA POROVNÁVANÝCH ANALYSÁTORECH**

Analysátor analyt	KONE	PICCOLO	SPOTCHEM	VITROS
ALT	modifikace IFCC (37° C), bez PDP, kineticky, 340 nm	modifikace IFCC (37° C), bez PDP, kineticky, 340 nm	JSCC *), stand. metoda ****)	modif. IFCC (37° C) s PDP, 340 nm, inkubace 5 min
AST	modifikace IFCC ( 37°C), bez PDP, kineticky, 340 nm	modifikace IFCC (37°C), bez PDP, kineticky, 340 nm	JSCC *), stand. metoda ***)	modif. IFCC (37°C) s PDP, 340 nm, inkubace 5 min.
ALP	modifikace. IFCC ( 37° C) pufr AMP, 405 nm	modif. IFCC a AACCC (37° C) pufr AMP ( s Mg <sup>2+</sup> a Zn <sup>2+</sup> ) , měření z nárůstu rozdílu absorbance při 450 a 500 nm	JSCC *), stand. metoda, substrát p-nitrofenylfosfát, 405 nm	substrát p-nitrofenylfosfát, pufr AMP (s Mg <sup>2+</sup> ), 37°C, 400 nm
AMS	neprovádí se	substrát (CNP3)**, měření: bichromaticky: 450 a 500 nm 37° C	substrát benzyliden-p-nitrofenyl-maltoheptaosid (BG7-PNP), glukoamylasa uvolňuje p-nitrofenol, 405 nm	substrát - barevný amylopektin, 540 nm ,37° C
albumin	neprovádí se	BCP + povrchově aktiv. látky	BCG, 610 nm	BCG, inkubace: 2,5 min., 37° C, 630 nm
celková bílkovina	biuret, 540 nm	biuret-end point, měření: rozdíl abs. při 450 a 850 nm	biuret, 550 nm	biuretová metoda, inkubace 5 min.
celkový bilirubin	diazotovaná sulfanilová kyselina,- souprava kapalných činidel	enzymaticky, bilirubinoxidasa- biliverdin -> fialový komplex, vlastní slepá, měření: 467 a 550 nm	diazotovaná kyselina sulfanilové reaguje v přítomnosti difyllinu #) s nepřímým i přímým bilirubinem v kyselém prostředí za vzniku červeného azobilirubin, 550 nm	difyllin #) s diazoniovou solí. ****), 540 a 460 nm
glukosa	hexokinasová metoda, 340 nm	hexokinasová metoda, 340 nm	GOD-POD, 550 nm	CHOD-POD- červené.zbarvení, 540 nm, inkubace 5 min. 37°C
močovina	ureasa/GLDH, kineticky 340 nm	ureasa/GLDH, 340 a 405 nm	o-ftalaldehyd a N-1-naftyl-N'-dietyletylendiaminošťavelová kyselina, 610 nm	ureasa + barev. indikátor na NH <sub>3</sub> 37° C, 670 nm
kreatinin	Jaffé kineticky	enzymaticky po odečtení endogenního kreatinu a	s kyselinou 3,5-dinitrobenzoovou v alkalickém	enzymaticky - vzniklý endogenní

		kreatinu vzniklého při enzymové reakci, k měření 2 kyvety, vlastní slepá a vzorek při 550 a 630 nm	prostředí, 550 nm	kreatin je v reakci oxidován, měření 2 bodové při 670 nm
cholesterol	chromogenní oxidace - CHOD-PAP – end-point, 500 nm	enzymaticky přeměna NAD <sup>+</sup> na NADH - end-point	cholesteroxidasa/peroxidasa, peroxid reaguje s 4-aminoantipyrinem a DAOS (derivát anilinu) za vzniku modrého chromoforu, 610 nm	chromogenní oxidace (CHOD-PAP), inkubace 5 min., 37 °C, 540 nm
celkový vápník	Arzenazo III, end-point, 650 nm	Arzenazo III, end-point, 600 nm.	o-kresolftaleinkomplexon, 575 nm	Arzenazo III, inkubace 5 min. 37°C, 680 nm

Vysvětlivky:

\*) JSCC – Japonská Společnost klinické chemie

\*\*) CNPG3 - 2-chloro-p-nitro-fenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid

\*\*\*) z L-aspartátu a alfa-ketoglutarátu vzniká za katalysy AST L-glutamát a oxalacetát, z oxalacetátu je pomocí oxalacetátdekarboxylasy odštěpen oxid uhličitý za vzniku pyruvátu. Pyruvát v přítomnosti hořečnatých iontů a thiaminpyrofosfátu reaguje s fosfátem a kyslíkem za vzniku acetylpyrofosfátu, oxidu uhličitého a peroxidu vodíku. Peroxid s pomocí peroxidasy oxiduje a kondensuje 4-aminoantipyrin a DAOS (derivát anilinu) a vzniká modrý chromofor, který se měří při 610 nm. Případná interference askorbátu se předem odstraní askorbát oxidasou.

\*\*\*\*) z L-alaninu a alfa-ketoglutarátu vzniká za katalysy ALT L-glutamát a pyruvát. Pyruvát v přítomnosti hořečnatých iontů a thiaminpyrofosfátu reaguje s fosfátem a kyslíkem za vzniku acetylpyrofosfátu, oxidu uhličitého a peroxidu vodíku. Peroxid s pomocí peroxidasy oxiduje a kondensuje 4-aminoantipyrin a DAOS (derivát anilinu) a vzniká modrý chromofor, který se měří při 610 nm. Případná interference askorbátu se předem odstraní askorbát oxidasou.

\*\*\*\*\*) 4-(N-karboxymetylsulfonyl) benzendiazoniumhexafluorofosfát

#) 1,3-dimetyl-7H-purin-2,6-dion

Dvěma kontrolními materiály, v nichž byly analyty opakovaně stanovovány pro zjištění přesnosti, správnosti a vychýlení, byla rekonstituovaná lyofilisovaná séra. Jednalo se o materiály použité v kontrolním cyklu SEKK spol. s r.o. pro kontrolu „mokré chemie“ a zakoupené od této firmy jako materiály validované pod. č. 0678 a 0679. Jsou jim přiřazeny vztažené hodnoty a jejich 95% intervaly spolehlivosti, které, jak uvádí SEKK spol. s r.o., jsou převzaty z certifikátů materiálů č. 86403 a 86404 Referenčního institutu pro bioanalytiku DGKC v Bonnu. V těchto materiálech byla použitými analytickými systémy provedena stanovení sledovaných analytů za podmínek opakovatelnosti (typicky n=10 nebo n=15) a reprodukovatelnosti (typicky n=3 až 5).

2 x 38 vzorků od pacientů, v nichž byly analyty stanovovány pro zjištění porovnatelnosti, byla nativní séra a nativní Li-heparinátové plasmy. V těchto vzorcích byla použitými analytickými systémy provedena stanovení sledovaných analytů, vždy n=1.

Ke zpracování dat, výpočtům a tvorbě grafů byly použity počítačové programy Statgraphics Plus v. 5.1 (Statistical Graphics Comp.) a Adstat v. 2.0 (Trilobyte s.r.o.).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Přesnost (precision) za podmínek opakovatelnosti

Pro všechny výsledky dvojic analyt – použitý analytický systém v materiálech č. 678 a 679, pro něž byla získána příslušná data, byly vypočteny následující statistiky a provedeny následující testy. Počet výsledků (n), aritmetický průměr (x), směrodatná odchylka (SD), relativní směrodatná odchylka neboli variační koeficient (VK), winsorizovaný průměr ( $x_{winsor}$ ), winsorizovaná směrodatná odchylka ( $SD_{winsor}$ ), winsorizovaná relativní směrodatná odchylka neboli variační koeficient ( $VK_{winsor}$ ), minimum (min), maximum (max), standardizovaná šikmost (StSkew), standardizovaná špičatost (StKurt), hladina významnosti (p-value) testu chí-kvadrát k posouzení normality a hladina významnosti (p-value) Kolmogorova-Smirnova jednovýběrového testu rovněž k posouzení normality. Tyto statistiky společně s rozhodnutím normalita ano/ne a outliers (odlehle body) ano/ne pomocí Grubbsova testu a Dixonova testu na odlehle body na hladině významnosti 0,05 jsou uvedeny v tab. 1 až tab. 12.

Tab. 1 Albumin – precision under repeatability conditions

System	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679
n	15	15	10	10
x (g/l)	43,0	38,4	51,4	41,6
SD (g/l)	0,926	0,986	0,834	0,843
VK (%)	2,2	2,6	1,6	2,0
$x_{winsor}$ (g/l)	42,9	38,4	51,4	41,6
$SD_{winsor}$ (g/l)	0,945	0,6	0,586	0,956
$VK_{winsor}$ (%)	2,2	1,6	1,1	2,3
min (g/l)	42	36	50	41
max (g/l)	45	40	53	43
StSkew	0,985	-0,719	0,502	1,292
StKurt	-0,142	1,348	0,239	-0,430
$\chi^2$ p-value	0,005	0,001	lack of data	lack of data
K-S p-value	< 0.05	< 0.01	< 0.05	< 0.01
normality	no	no	no	no
outliers Grubbs	none	yes	yes	none
outliers Dixon	none	yes	yes	none

Tab.2 ALP – precision under repeatability conditions

System	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679
n	15	15	15	15	10	10
x ( $\mu\text{kat/l}$ )	14,5	8,91	7,38	5,14	7,12	4,73
SD ( $\mu\text{kat/l}$ )	2,148	0,719	0,214	0,089	0,169	0,124
VK (%)	14,9	8,1	2,9	1,7	2,4	2,6
$x_{\text{winsor}}$ (g/l)	14,4	8,91	7,38	5,14	7,12	4,72
$SD_{\text{winsor}}$ (g/l)	1,893	0,822	0,228	0,094	0,155	0,094
$VK_{\text{winsor}}$ (%)	13,1	9,2	3,1	1,8	2,2	2,0
min ( $\mu\text{kat/l}$ )	11,1	7,95	7,12	5,02	6,84	4,53
max ( $\mu\text{kat/l}$ )	18,8	9,92	7,78	5,28	7,4	4,97
StSkew	0.133	0,106	0,862	0,016	-0,004	0,735
StKurt	-0.293	-1,176	-0,805	-1,089	-0,195	0,421
$\chi^2$ p-value	0.189	0,189	0,264	0,135	lack of data	lack of data
K-S p-value	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$
normality	yes	yes	yes	yes	yes	yes
outliers Grubbs	none	none	none	none	none	none
outliers Dixon	none	none	none	none	none	none

Tab.3 ALT – precision under repeatability conditions

System	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679
n	15	15	15	15	10	10
x ( $\mu\text{kat/l}$ )	4,70	1,39	3,21	0,95	3,99	1,22
SD ( $\mu\text{kat/l}$ )	0,146	0,025	0,085	0,171	0,056	0,020
VK (%)	3,1	1,8	2,6	18,0	1,4	1,7
$x_{\text{winsor}}$ (g/l)	4,69	1,39	3,22	0,97	3,99	1,22
$SD_{\text{winsor}}$ (g/l)	0,114	0,023	0,085	0,107	0,057	0,021
$VK_{\text{winsor}}$ (%)	2,4	1,7	2,6	11,0	1,4	1,7
min ( $\mu\text{kat/l}$ )	4,51	1,36	3,05	0,50	3,93	1,18
max ( $\mu\text{kat/l}$ )	5,08	1,44	3,33	1,17	4,08	1,24
StSkew	1,819	0,759	-0,422	-2,099	0,554	-0.698
StKurt	1,627	-0,595	-0,528	1,903	-1,129	-0.320
$\chi^2$ p-value	0,368	0,717	0,368	0,135	lack of data	lack of data
K-S p-value	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$
normality	yes	yes	yes	yes	yes	yes
outliers Grubbs	yes	none	none	yes	none	none
outliers Dixon	yes	none	none	yes	none	none







Tab.8 Ca – precision under repeatability conditions

System	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679
n	15	15	15	15	10	10
x (mmol/l)	2,61	2,04	2,86	2,37	2,93	2,42
SD (mmol/l)	0,074	0,055	0,035	0,048	0,055	0,039
VK (%)	2,8	2,7	1,2	2,0	1,9	1,6
$x_{winsor}$ (g/l)	2,60	2,05	2,86	2,37	2,93	2,42
$SD_{winsor}$ (g/l)	0,068	0,053	0,031	0,048	0,047	0,030
$VK_{winsor}$ (%)	2,6	2,6	1,1	2,0	1,6	1,2
min (mmol/l)	2,49	1,95	2,79	2,3	2,82	2,35
max (mmol/l)	2,75	2,13	2,93	2,45	3,0	2,49
StSkew	0,418	0,056	-0,151	0,129	-0,885	-0,505
StKurt	-0,444	2,678	0,254	-0,684	-0,012	1,606
$\chi^2$ p-value	0,717	0,264	0,264	0,368	lack of data	lack of data
K-S p-value	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$
normality	yes	yes	yes	yes	yes	yes
outliers Grubbs	none	none	none	none	none	none
outliers Dixon	none	none	none	none	none	none

Tab.9 Cholesterol – precision under repeatability conditions

System	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679
n	15	15	15	15	10	10
x (mmol/l)	4,60	3,85	4,39	3,64	5,03	4,03
SD (mmol/l)	0,074	0,085	0,330	0,495	0,067	0,067
VK (%)	1,6	2,2	7,5	13,6	1,3	1,7
$x_{winsor}$ (g/l)	4,59	3,85	4,37	3,71	5,04	4,04
$SD_{winsor}$ (g/l)	0,062	0,079	0,331	0,221	0,059	0,059
$VK_{winsor}$ (%)	1,4	2,1	7,6	6,0	1,2	1,5
min (mmol/l)	4,49	3,71	4,1	2,1	4,9	3,9
max (mmol/l)	4,77	3,99	5,1	4,3	5,1	4,1
StSkew	0,966	-0,347	1,601	-3,362	-0,560	-0,560
StKurt	0,445	-0,636	-0,138	5,585	1,342	-0,183
$\chi^2$ p-value	0,513	0,368	0,026	0,026	lack of data	lack of data
K-S p-value	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,05$
normality	yes	yes	no	no	yes	yes
outliers Grubbs	none	none	none	yes	none	none
outliers Dixon	none	none	none	yes	none	none

Tab.10 Creatinine – precision under repeatability conditions

System	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679
n	15	15	10	10
x ( $\mu\text{mol/l}$ )	214	469	230	517
SD ( $\mu\text{mol/l}$ )	10,6	11,3	3,59	7,76
VK (%)	5,0	2,4	1,6	1,5
$x_{\text{winsor}}$ (g/l)	214	468	230	518
$SD_{\text{winsor}}$ (g/l)	6,84	10,5	3,13	6,05
$VK_{\text{winsor}}$ (%)	3,2	2,2	1,4	1,2
min ( $\mu\text{mol/l}$ )	191	452	224	501
max ( $\mu\text{mol/l}$ )	234	490	236	528
StSkew	-0,188	0,158	0,208	-0,977
StKurt	0,719	-0,351	-0,222	0,787
$\chi^2$ p-value	0,513	0,368	lack of data	lack of data
K-S p-value	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$	$\geq 0,10$
normality	yes	yes	yes	yes
outliers Grubbs	none	none	none	none
outliers Dixon	none	none	none	none

Tab. 11 Glucose – precision under repeatability conditions

System	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	678	679	678	679
n	15	15	15	10	9
x (mmol/l)	5,89	6,61	10,4	6,79	10,5
SD (mmol/l)	0,202	0,074	0,118	0,105	0,153
VK (%)	3,4	1,1	1,1	1,6	1,5
$x_{\text{winsor}}$ (g/l)	5,87	6,61	10,4	6,79	10,5
$SD_{\text{winsor}}$ (g/l)	0,197	0,088	0,125	0,113	0,160
$VK_{\text{winsor}}$ (%)	3,4	1,3	1,2	1,7	1,5
min (mmol/l)	5,7	6,5	10,2	6,65	10,2
max (mmol/l)	6,3	6,7	10,6	6,93	10,6
StSkew	1,214	-0,358	0,510	0,082	-0,660
StKurt	3,422	-0,767	-0,269	-1,144	-0,680
$\chi^2$ p-value	0,189	0,002	0,10	lack of data	lack of data
K-S p-value	$< 0,10$	$< 0,05$	$\geq 0,10$	$> 0,10$	$> 0,10$
normality	no	no	yes	yes	yes
outliers Grubbs	none	none	none	none	none
outliers Dixon	none	none	none	none	none

Tab.12 Total protein – precision under repeatability conditions

System	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679
n	15	15	10	9
x (g/l)	77,2	67,9	78,5	69,1
SD (g/l)	0,861	1,125	1,509	1,754
VK (%)	1,1	1,7	1,9	2,6
$x_{winsor}$ (g/l)	77,1	67,9	78,6	69,2
$SD_{winsor}$ (g/l)	0,879	1,08	1,53	1,90
$VK_{winsor}$ (%)	1,1	1,6	1,9	2,7
min (g/l)	76	66	76	67
max (g/l)	79	70	80	72
StSkew	0,537	0,469	-0,469	1,244
StKurt	-0,088	-0,660	-0,910	-0,025
$\chi^2$ p-value	0,002	0,013	lack of data	lack of data
K-S p-value	<0,01	<0,05	<0,10	<0,05
normality	no	no	yes	no
outliers Grubbs	none	none	none	none
outliers Dixon	none	none	none	yes

Výsledky testů dle Grubbsa a Dixona na odlehle hodnoty (outliers) je nutno posuzovat obezřetně především v případech, kdy bylo na základě hodnot standardizované šikmosti, standardizované špičatosti a výsledků testů  $\chi^2$  a Kolmogorova-Smirnova rozhodnuto, že výsledky nemají normální rozdělení.

Zajímavých jsou případy, kdy variační koeficient přesáhl 5%. U stanovení ALP systémem Spotchem v materiálech č. 678 i 679 je zřejmě příčinou vysokého variačního koeficientu vzestupný trend v datech, jak je zřejmé z obrázků fig. 1 a fig. 2, na nichž je na svislé ose vlevo výsledek stanovení v  $\mu\text{kat/l}$ , na svislé ose vpravo stupnice v násobcích směrodatné odchylky a na vodorovné ose pořadové číslo stanovení. Na fig. 1 je navíc viditelný lokální sestupný trend prvních pěti měření.

U stanovení ALT systémem Piccolo v materiálu č. 679 je zřejmě příčinou velkého variačního koeficientu odlehlý bod, jak vyplývá z testů na normalitu a z porovnání variačního koeficientu a winsorizovaného variačního koeficientu.

U stanovení močoviny systémem Piccolo v materiálu č. 679. mají data zřetelně normální rozdělení a neobsahují odlehle body. Vysoký variační koeficient je tedy bohužel projevem velmi špatné opakovatelnosti stanovení.

U stanovení cholesterolu systémem Piccolo v materiálu č. 678 je patrně příčinou velkého variačního koeficientu nenormalita dat, která však není způsobena odlehlým bodem.

U stanovení cholesterolu systémem Piccolo v materiálu č. 679 je příčinou odlehlý bod, data jsou normální, testy Grubbsův a Dixonův jsou pozitivní a variační koeficient je 13,6%, zatímco winsorizovaný variační koeficient je 6%.

Celkově lze říci, že kromě zmíněných šesti případů je opakovatelnost pro týž analyt mezi jednotlivými systémy srovnatelná. Tady je vhodné připomenout, že exaktnější porovnání opakovatelnosti nelze provést, poněvadž nebyla získána data pro každý analyt a každý analyzovaný materiál od všech čtyř systémů.

Přesnost (precision) za podmínek reprodukovatelnosti

Pro všechny výsledky dvojic analyt – použitý analytický systém v materiálech č. 678 a 679, pro něž byla získána příslušná data, byly vypočteny následující statistiky a provedeny následující testy. Počet výsledků (n), aritmetický průměr (x), směrodatná odchylka (SD), relativní směrodatná odchylka neboli variační koeficient (VK), minimum (min), maximum (max), Tyto statistiky jsou uvedeny v tab. 13 až tab. 24.

Tab. 13 Albumin – precision under reproducibility conditions

System	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	678	679
n	5	5	3
x (g/l)	44,6	49,0	40,0
SD (g/l)	0,548	0,707	1,00
VK (%)	1,2	1,4	2,5
min (gkat/l)	44,0	48,0	39,0
max (gkat/l)	45,0	50,0	41,0

Tab.14 ALP – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	4	5	5	3
x (μkat/l)	7,44	4,97	13,1	8,08	6,34	4,35
SD (μkat/l)	0,369	0,448	0,702	0,288	0,447	0,107
VK (%)	5,0	9,0	5,4	3,6	7,1	2,5
min (μkat/l)	7,15	4,60	12,3	7,72	5,64	4,28
max (μkat/l)	7,98	5,47	13,7	8,42	6,84	4,47

Tab.15 ALT – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	4	5	5	3
x (μkat/l)	4,3	1,3	4,6	3,1	4,0	1,2
SD (μkat/l)	0,202	0,044	0,178	0,222	0,076	0,012
VK (%)	4,7	3,4	3,9	7,1	1,9	1,0
min (μkat/l)	4,06	1,23	4,35	2,82	3,84	1,2
max (μkat/l)	4,49	1,31	4,75	3,4	4,05	1,22

Tab.16 AMS - precision under reproducibility conditions

System	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	678	678	679
n	4	5	5	3
x ( $\mu\text{kat/l}$ )	2,63	3,88	2,59	2,67
SD ( $\mu\text{kat/l}$ )	0,110	0,075	0,083	0,029
VK (%)	4,2	1,9	3,2	1,1
min ( $\mu\text{kat/l}$ )	2,52	3,8	2,51	2,65
max ( $\mu\text{kat/l}$ )	2,75	3,98	2,72	2,7

Tab.17 AST - precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	5	4	5	3
x ( $\mu\text{kat/l}$ )	4,37	5,42	3,92	3,92	3,83	4,49
SD ( $\mu\text{kat/l}$ )	0,096	0,216	0,112	0,103	0,153	0,211
VK (%)	2,2	4,0	2,9	2,6	4,0	4,7
min ( $\mu\text{kat/l}$ )	4,25	5,17	3,79	3,8	3,67	4,29
max ( $\mu\text{kat/l}$ )	4,48	5,57	4,07	4,03	4,0	4,71

Tab.18 Biliubin - precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	3	3	3	4	4	3
x ( $\mu\text{mol/l}$ )	38,4	69,2	29,0	35,0	37,5	74,8
SD ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,09	4,42	1,73	2,31	0,759	2,34
VK (%)	8,0	6,4	6,0	6,7	1,6	3,1
min ( $\mu\text{mol/l}$ )	34,9	64,2	27,0	33,0	36,4	72,3
max ( $\mu\text{mol/l}$ )	40,6	72,5	30,0	37,0	38,1	76,9

Tab.19 Urea - precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	4	5	5	3
x (mmol/l)	20,0	4,83	19,3	20,7	18,6	3,63
SD (mmol/l)	1,78	0,390	1,20	0,472	0,568	0,239
VK (%)	8,9	8,1	6,2	2,3	3,1	6,6
min (mmol/l)	18,7	4,43	18,1	20,1	18,0	3,36
max (mmol/l)	22,6	5,21	20,9	21,3	19,4	3,8

Tab.20 Ca – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	4	5	5	3
x (mmol/l)	2,85	2,37	2,83	2,89	2,86	2,38
SD (mmol/l)	0,280	0,061	0,143	0,076	0,019	0,032
VK (%)	9,8	2,6	5,4	2,6	0,7	1,3
min (mmol/l)	2,48	2,3	2,45	2,83	2,85	2,36
max (mmol/l)	3,16	5,41	2,77	3,01	2,89	2,42

Tab.21 Cholesterol – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	4	5	5	3
x (mmol/l)	4,79	4,01	4,61	4,48	4,66	4,0
SD (mmol/l)	0,184	0,055	0,096	0,311	0,340	0,100
VK (%)	3,8	1,4	2,1	6,9	7,3	2,5
min (mmol/l)	4,61	3,95	4,54	4,2	4,09	3,9
max (mmol/l)	4,97	4,05	4,75	5,0	5,0	4,1

Tab.22 Creatinine – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	679
n	4	3	5	5	3
x ( $\mu$ mol/l)	196	474	214	227	517
SD ( $\mu$ mol/l)	21,1	24,9	10,4	4,44	17,6
VK (%)	10,8	5,2	4,9	2,0	3,4
min ( $\mu$ mol/l)	175	452	202	220	504
max ( $\mu$ mol/l)	217	501	228	232	537

Tab.23 Glucose – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Spotchem	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	678	678	679
n	4	3	4	5	5	3
x (mmol/l)	7,18	11,1	5,88	6,62	6,69	10,5
SD (mmol/l)	0,197	0,099	0,096	0,084	0,109	0,196
VK (%)	2,7	0,9	1,6	1,3	1,6	1,9
min (mmol/l)	6,97	11,1	5,8	6,5	6,51	10,3
max (mmol/l)	7,4	11,3	6,0	6,7	6,8	10,7

Tab.24 Total protein – precision under reproducibility conditions

System	Kone	Kone	Piccolo	Vitros
material	678	679	678	678
n	4	3	5	5
x (g/l)	77,7	67,1	77,0	77,6
SD (g/l)	1,71	0,404	1,0	1,82
VK (%)	2,2	0,6	1,3	2,3
min (g/l)	75,4	66,7	76,0	76,0
max (g/l)	79,2	67,5	78,0	80,0

Počet dat n je malý, pohybuje se mezi 3 až 5. Proto je třeba posuzovat reprodukovatelnost vyjádřenou jako variační koeficient velmi obezřetně resp. tolerantně. Při použití tohoto principu předběžné opatrnosti lze konstatovat, že horší reprodukovatelnost (variační koeficient mezi 7 a 11%) vykazuje Piccolo pro ALT na materiálu č. 678, Kone pro bilirubin na materiálu č. 678, Kone pro močovinu na materiálu č. 678 i 679, Kone pro vápník na materiálu č. 678 a Kone pro kreatinin na materiálu č. 678.

Odchylka neboli vychýlení (bias)

Pro stanovované analyty, pro něž jsme měli k dispozici v kontrolních materiálech č. 678 a 679 referenční hodnoty stanovené Referenčním institutem pro bioanalytiku DGKC v Bonnu (vápník celkový, cholesterol, glukosa, kreatinin), jsou tyto referenční hodnoty a jejich 95% intervaly spolehlivosti uvedeny v tab. 25.

Tab. 25 Reference values a and 95% confidence intervals for materials No. 678 and 679

Analyt	material	reference value	confidence interval	confidence interval $\pm\%$
Ca, total (mmol/l)	678	2,98	2,88-3,08	3,4
Ca, total (mmol/l)	679	2,40	2,30-2,50	4,2
cholesterol (mmol/l)	678	4,68	4,60-4,76	1,7
cholesterol (mmol/l)	679	3,95	3,90-4,00	1,3
glucose (mmol/l)	678	6,71	6,41-7,01	0,9
glucose (mmol/l)	679	10,6	10,5-10,71	1,2
creatinine ( $\mu\text{mol/l}$ )	678	198	193-203	2,6
creatinine ( $\mu\text{mol/l}$ )	679	454	444-464	2,2

Konstatujeme, že intervaly spolehlivosti těchto referenčních materiálů, které jsou dvojnásobkem směrodatných odchylek uvedených ve „Validačním protokolu SEKK spol. s r.o.“ s poznámkou, že „vyjadřují mezilaboratorní reprodukovatelnost“, jsou nepravděpodobně úzké. Nápadné je to především u cholesterolu a glukosy. Pro srovnání uvádíme, že např. v certifikátu NISTu k SRM 965a jsou uvedeny rozšířené kombinované nejistoty certifikované koncentrace glukosy (faktor rozšíření – pokrytí = 2) kolem 1,1% [4].



Dále pro výsledky dvojic analyt – použitý analytický systém, pro něž jsou k dispozici referenční hodnoty v tab. 25, jsou vypočteny následující statistiky. Počet výsledků za podmínek opakovatelnosti ( $n_{within}$ ), jejich aritmetický průměr ( $x_{within}$ ), dvojnásobek směrodatné odchyly jejich průměru ( $2 \times SE_{within}$ ) – viz kapitola „Přesnost (precision) za podmínek opakovatelnosti“. Dále pak počet výsledků za podmínek reprodukovatelnosti s vyloučením eventuelních odlehlých bodů viz kapitola „Přesnost (precision) za podmínek reprodukovatelnosti“ ( $n_{between}$ ), jejich aritmetický průměr ( $x_{between}$ ), dvojnásobek směrodatné odchyly jejich průměru ( $2 \times SE_{between}$ ), střední hodnota (průměr)  $x_{within}$  a  $x_{between}$  (grand mean), odchylna grand mean od referenční hodnoty (bias), dolní mez intervalu spolehlivosti grand mean (lower limit), horní mez intervalu spolehlivosti grand mean (upper limit). Meze jsou spočteny grand mean plus minus dvojnásobek průměru  $SE_{within}$  a  $SE_{between}$ .

Tyto statistiky společně s komentářem, zda odchylna (bias) od referenční hodnoty je statisticky významná na hladině významnosti 0,05 – intervaly spolehlivosti se nepronikají (signif.diff.) – jsou uvedeny v tab. 26 až 29.

Tab. 26 Ca (mmol/l) – bias

System	Kone	Kone	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679	678	679
$n_{within}$	-	-	15	15	15	15	10	10
$x_{within}$	-	-	2,61	2,04	2,86	2,37	2,93	2,42
$2 SE_{within}$	-	-	0,038	0,028	0,018	0,024	0,036	0,024
$n_{between}$	4	3	4	-	5	-	5	3
$x_{between}$	2,85	2,37	2,63	-	2,89	-	2,86	2,38
$2 SE_{between}$	0,28	0,070	0,144	-	0,068	-	0,018	0,038
grand mean	2,85	2,37	2,62	2,04	2,88	2,37	2,90	2,40
bias %	-3,3	-1,3	-12,1	-15,0	-3,4	-1,3	-2,7	0,0
lower limit	2,57	2,30	2,53	2,01	2,84	2,35	2,87	2,37
upper limit	3,13	2,44	2,71	2,07	2,92	2,39	2,93	2,43
signif. diff.	no	no	yes low	yes low	no	no	no	no

Tab.27 Cholesterol (mmol/l) - bias

System	Kone	Kone	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679	678	679
$n_{within}$	-	-	15	15	15	15	10	10
$x_{within}$	-	-	4,60	3,85	4,60	3,64	5,03	4,03
$2 SE_{within}$	-	-	0,038	0,021	0,038	0,255	0,042	0,042
$n_{between}$	4	3	4	-	5	-	5	3
$x_{between}$	4,79	4,01	4,61	-	4,48	-	4,66	4,0
$2 SE_{between}$	0,184	0,064	0,056	-	0,278	-	0,304	0,116
grand mean	4,79	4,01	4,61	3,85	4,54	3,64	4,85	4,15
bias %	+2,4	+1,5	-1,5	-2,5	-3,0	-7,8	+3,6	+5,1
lower limit	4,61	3,95	4,56	3,83	4,38	3,35	4,68	4,07
upper limit	4,97	4,07	4,66	3,87	4,70	3,90	5,02	4,23
signif. diff	no	no	no	yes low	no	no	no	yes hig

Tab.28 Glucose (mmol/l) – bias

System	Kone	Kone	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679	678	679
$n_{\text{within}}$	-	-	15	-	15	15	10	9
$\bar{x}_{\text{within}}$	-	-	5,89	-	6,61	10,4	6,79	10,5
$2 SE_{\text{within}}$	-	-	0,104	-	0,038	0,062	0,066	0,102
$n_{\text{between}}$	4	3	4	-	5	-	5	3
$\bar{x}_{\text{between}}$	7,18	11,1	5,88	-	6,62	-	6,69	10,5
$2 SE_{\text{between}}$	0,198	0,114	0,096	-	0,074	-	0,098	0,226
grand mean	7,18	11,1	5,89	-	6,62	10,4	6,74	10,5
bias %	+7,0	+4,7	-12,2	-	-1,3	-1,9	+0,4	-0,9
lower limit	6,98	10,99	5,79	-	6,56	10,34	6,66	10,34
upper limit	7,38	11,21	5,99	-	6,68	10,46	6,82	10,66
signif. diff.	no	yes hig	yes low	-	no	yes low	no	no

Tab.29 Creatinine ( $\mu\text{mol/l}$ ) – bias

System	Kone	Kone	Spotchem	Spotchem	Piccolo	Piccolo	Vitros	Vitros
material	678	679	678	679	678	679	678	679
$n_{\text{within}}$	-	-	-	-	15	15	10	10
$\bar{x}_{\text{within}}$	-	-	-	-	214	469	230	517
$2 SE_{\text{within}}$	-	-	-	-	5,48	5,84	2,28	4,90
$n_{\text{between}}$	4	3	-	-	5	-	5	3
$\bar{x}_{\text{between}}$	196	474	-	-	214	-	227	517
$2 SE_{\text{between}}$	21,0	28,8	-	-	9,30	-	3,96	20,2
grand mean	196	474	-	-	214	469	229	517
bias %	-1,0	+4,4	-	-	+8,0	+3,3	+15,7	+13,9
lower limit	175	445	-	-	207	463	226	504
upper limit	217	503	-	-	221	475	229	530
signif. diff.	no	no	-	-	yes hig	no	yes hig	yes hig

Statisticky významný bias (hladina významnosti 0,05) je u následujících stanovení:

- vápník systémem Spotchem v obou materiálech (-12%, -15%)
- cholesterol systémem Spotchem v materiálu č. 678 (-3%) – je na hranici statistické významnosti, není významný interpretačně
- cholesterol systémem Vitros v materiálu č. 679 (+5%)
- glukosa systémem Kone v materiálu č. 679 (+5%)
- glukosa systémem Spotchem v materiálu č. 678 (-12%)
- glukosa systémem Piccolo v materiálu č. 679 (-2%) – je na hranici statistické významnosti, není významný interpretačně
- kreatinin systémem Piccolo v materiálu č. 678 (+8%)
- kreatinin systémem Vitros v obou materiálech (+16%, +14%)

## SROVNATELNOST

Původně plánované porovnávání neparametrickým Friedmanovým testem (pořadový test pro několik závislých náhodných výběrů stejného rozsahu) [6] jsme nakonec zamítli, poněvadž takto bychom testovali pouze nulovou hypotézu, že výsledky nejsou závislé na použité metodě stanovení v kombinaci s plasmou nebo sérem.

U žádného z porovnávaných systémů nepředpokládáme, že je „zlatým standardem“, tedy apriorně důvěryhodnější než ostatní. A poněvadž tabelovaná data by nebyla dostatečně názorná a tudíž ani příliš přijatelná pro čtenáře ani pro redakci, rozhodli jsme se je prezentovat pouze graficky. Takové porovnávání je sice náročnější – je nutno vytvořit desítky grafů a rozumným způsobem je zmenšit a uspořádat. Na druhé straně je tento způsob názorný a na pohled srozumitelný bez hlubších statistických úvah a znalostí.

Vzájemné porovnání výsledků stanovení v séru i v plasmě je pro každý analyt v každém systému provedeno pomocí rozdílového grafu, který je zobecněním rozdílového grafu dle Altmana a Blanda [5]. Na vodorovné ose jsou pro jednotlivé vzorky (pacienty) aritmetické průměry z výsledků stanovení daného analytu všemi systémy, na svislé ose pak rozdíly mezi výsledky jednotlivých vzorků (pacientů) a průměry z vodorovné osy. Tyto grafy jsou na obrázcích fig. 3 až fig. 15.

- 1) Albumin na systémech Piccolo (plasma), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost.
- 2) ALP na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost. Na systému Spotchem (plasma, sérum), vykazuje několik vychýlených bodů.
- 3) ALT na systémech Kone (plasma, sérum), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost. Na systému Piccolo (plasma) vykazuje soustavnou proporcionální negativní odchylku.
- 4) AMS na systémech Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) vykazuje špatnou srovnatelnost. Výsledky se slušně shodují pouze v okolí 0,5  $\mu\text{kat/l}$ , ve vyšších hodnotách jsou neporovnatelné.
- 5) AST na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) až na jeden nebo dva vychýlené body vykazuje slušnou srovnatelnost.
- 6) Bilirubin na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) v oblasti 5 až 15  $\mu\text{mol/l}$  vykazuje špatnou srovnatelnost, v oblasti 15 až 20  $\mu\text{mol/l}$  slušnou srovnatelnost.
- 7) Močovina na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) vykazuje ne příliš dobrou srovnatelnost.
- 8) Vápník celkový na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost až na jeden nebo dva vychýlené body u systému Spotchem (plasma, sérum).
- 9) Cholesterol celkový na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost.
- 10) Kreatinin na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Spotchem (plasma, sérum), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost.
- 11) Glukosa na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost. Na systému Spotchem (plasma, sérum) vykazuje nevelkou ale zřetelnou zápornou aditivní odchylku.
- 12) Celková bílkovina na systémech Kone (plasma, sérum), Piccolo (plasma), Vitros (plasma, sérum) vykazuje slušnou srovnatelnost. Zajímavé jsou relace Kone (plasma) vs Kone (sérum) a Vitros (plasma) vs Vitros (sérum). V obou případech vykazují výsledky ze séra nevelkou ale zřetelnou zápornou aditivní odchylku vůči hodnotám z odpovídající plasmu.

## ZÁVĚR

Opakovatelnost je do 5% s následujícími výjimkami.

- 1) ALP, systém Spotchem – variační koeficienty jsou 14,9% a 8,1%. Příčinou jsou trendy v datech.
- 2) ALT, systém Piccolo – variační koeficient je 18,0%. Příčinou je odlehlý bod.
- 3) Močovina, systém Piccolo – variační koeficient je 7,4%. Rozdělení dat je normální a odlehlý bod není přítomen. Jedná se tedy o špatnou opakovatelnost.
- 4) Cholesterol, systém Piccolo – variační koeficienty jsou 7,5% a 13,6%. V prvním případě je příčinou nejspíš nenormalita dat, která není způsobena odlehlým bodem. V druhém případě je příčinou odlehlý bod, data jsou normální.

Reprodukovatelnost, kterou je nutno posuzovat obezřetně pro malý počet dat, je do 7% s následujícími výjimkami.

- 1) ALT, systém Piccolo – variační koeficient 7,1%, materiál č. 678.
- 2) Bilirubin, systém Kone – variační koeficient 8,0%, materiál č. 678.
- 3) Močovina, systém Kone – variační koeficienty 8,9% a 8,1%, materiály č. 678 a 679.
- 4) Vápník celkový, systém Kone – variační koeficient 9,8%, materiál č. 678.
- 5) Kreatinin, systém Kone – variační koeficient 10,8%, materiál č. 678.

Vychýlení neboli bias, které bylo možno zkoumat pouze u čtyř analytů (vápník celkový, cholesterol, glukosa, kreatinin) je statisticky významné na hladině 0,05 v následujících případech.

- 1) Vápník celkový, systém Spotchem, bias -12% a -15%, materiál č. 678 a 679.
- 2) Cholesterol, systém Vitros, bias +5%, materiál č. 679.
- 3) Glukosa, systém Kone, bias +5%, materiál č. 679.
- 4) Glukosa, systém Spotchem, bias -12%, materiál č. 678.
- 5) Kreatinin, systém Piccolo, bias +8%, materiál č. 678.
- 6) Kreatinin, systém Vitros, bias +16% a +14%, materiál č. 678 a 679.

Srovnatelnost pro jednotlivé analyty pomocí grafů.

1) Albumin byl porovnán v rozmezí cca 24 až 44 g/l pro systémy Piccolo/plasma, Vitros/plasma, Vitros/sérum.

Srovnatelnost je dobrá, rozdíly byly nejvyšší cca 5 g/l.

2) ALP byla porovnána v rozmezí cca 0,5 až 4  $\mu\text{kat/l}$  pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Srovnatelnost je dobrá, na Spotchem/plasma a Spotchem/sérum několik vychýlených bodů.

3) ALT byla porovnána v rozmezí cca 0,5 až 8  $\mu\text{kat/l}$  pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Srovnatelnost je dobrá, na systému Piccolo/plasma vykazuje soustavnou proporcionalní negativní odchylku.

4) AMS byla porovnána v rozmezí cca 0 až 4  $\mu\text{kat/l}$  pro systémy Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/sérum. Slušná shoda je pouze v okolí 0,5  $\mu\text{kat/l}$ , ve vyšších hodnotách jsou výsledky neporovnatelné.

5) AST byla porovnána v rozmezí cca 0 až 8  $\mu\text{kat/l}$  pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Až na jeden nebo dva vychýlené body je srovnatelnost dobrá.

6) Bilirubin byl porovnán v rozmezí cca 5 až 20  $\mu\text{mol/l}$  pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. V oblasti 5 až 15  $\mu\text{mol/l}$  je srovnatelnost špatná, v oblasti 15 až 20  $\mu\text{mol/l}$  je srovnatelnost ucházející.

7) Močovina byla porovnána v rozmezí cca 1 až 22 mmol/l pro systémy Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Srovnatelnost není příliš dobrá.

8) Vápník celkový byl porovnán v rozmezí cca 1,9 až 2,6 mmol/l pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Až na jeden nebo dva vychýlené body u Spotchem/plasma a Spotchem/sérum je srovnatelnost dobrá.

9) Cholesterol byl porovnán v rozmezí cca 1,9 až 6,9 mmol/l pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Srovnatelnost je dobrá.

10) Kreatinin byl porovnán v rozmezí cca 50 až 250  $\mu\text{mol/l}$  pro systémy Kone/sérum, Piccolo/plasma, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Srovnatelnost je dobrá.

11) Glukosa byla porovnána v rozmezí cca 5 až 15 mmol/l pro systémy Kone/plasma, Kone/sérum, Piccolo/plasma, Spotchem/plasma, Spotchem/sérum, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Systém Spotchem/plasma a Spotchem/sérum vykazuje nevelkou, ale zřetelnou soustavnou zápornou aditivní odchylku cca -0,4 mmol/l.

12) Celková bílkovina byla porovnána v rozmezí 42 až 82 g/l pro systémy Kone/sérum, Piccolo/plasma, Vitros/plasma, Vitros/sérum. Srovnatelnost je dobrá. Kone/plasma oproti Kone/sérum a rovněž Vitros/plasma oproti Vitros/sérum vykazuje nevelkou ale zřetelnou soustavnou kladnou aditivní odchylku cca 4 g/l.

Ukázalo se, že použité kontrolní materiály – rekonstituovaná lidská séra – jsou použitelné pro všechny typy porovnávaných analyzátorů. Vnitrolaboratorní kontrola pro uvedené analyty a systémy tedy nevyžaduje různé typy kontrolních materiálů pro stejné analyty. Tento nežádoucí v praxi se vyskytující jev komplikuje výstupní kontrolu a z hlediska porovnatelnosti výsledků pro daný analyt v rámci dané laboratoře by měl být pouze nouzovým a krátkodobým řešením. Zcela zřejmé je to v případech, jestliže se týž analyt (např. glukosa) v témže materiálu (např. krev) na témže pracovišti resp. v témže zdravotnickém zařízení analyzuje více než jedním způsobem, např. u lůžka POCT zařízením „suchou chemií“ a v laboratoři velkokapacitním analyzátořem „mokrou chemií“. Stojí za zmínku, že právě výsledky glukosy všemi systémy vykazují dobrou shodu.

## LITERATURA

- 1) Koshin F. et al Statgraphics aneb statistika pro každého. Praha: Grada 1992, 350 s., ISBN 80-85424-70-3
- 2) Meloun, M., Militký, J. Kompendium statistického zpracování dat. Praha: Academia 2002, 764 s., ISBN 80-200-1008-4
- 3) Dempír, J., Dohnal, L. Některé robustní postupy určení střední hodnoty a rozptýlení souboru výsledků a jejich použití. Klin. Biochem. Metab., 2005, roč. 13 (34), č. 3, s. 139-144
- 4) [https://srms.nist.gov/view\\_cert.cfm?srm=965A](https://srms.nist.gov/view_cert.cfm?srm=965A) (29.08.2006)
- 5) Altman, D.G., Bland, J.M. Measurement in medicine: The analysis of comparison studies. Statistician, 1983, roč. 32, s. 307-313
- 6) Kubánková, V., Hendl, J. Statistika pro zdravotníky. Praha: Avicenum 1986, 278 s.

## ADRESA PRO KORESPONDENCI

RNDr Luděk Dohnal

Referenční laboratoř pro klinickou biochemii MZ ČR

Karlovo náměstí 32

121 11 Praha 2

e-mail: [ludek.dohnal@lf1.cuni.cz](mailto:ludek.dohnal@lf1.cuni.cz)

Fig.1 Graph of data for ALP/Spotchem/678

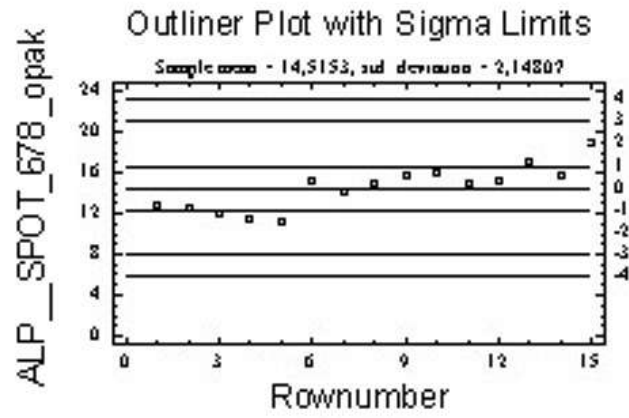


Fig.2 Graph of data for ALP/Spotchem/679

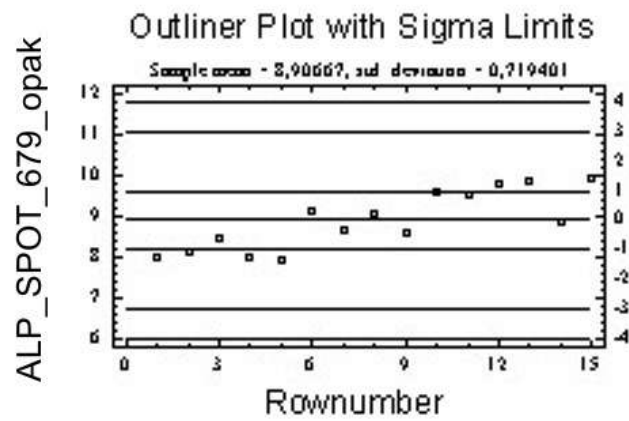


Fig. 3 Difference plots for albumin (g/l)

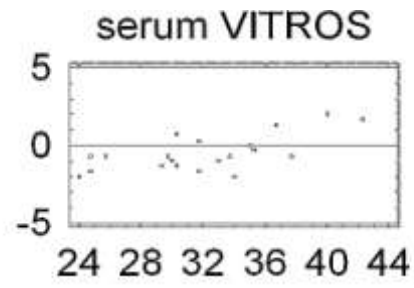
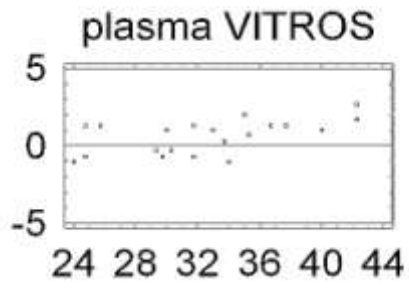
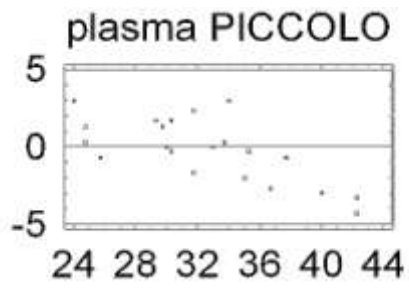




Fig.4 Difference plots for ALP ( $\mu\text{kat/l}$ )

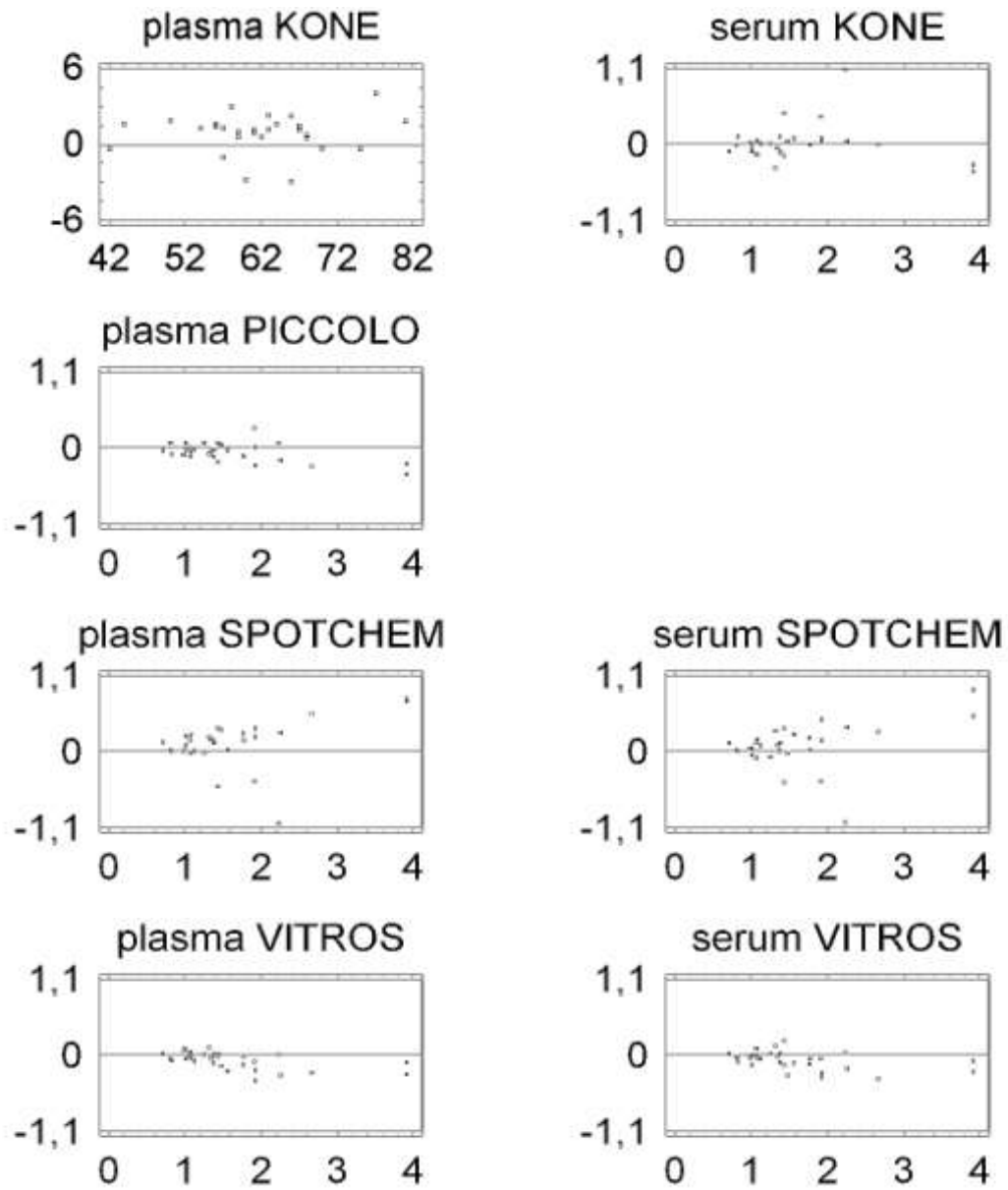


Fig.5 Difference plots for ALT ( $\mu\text{kat/l}$ )

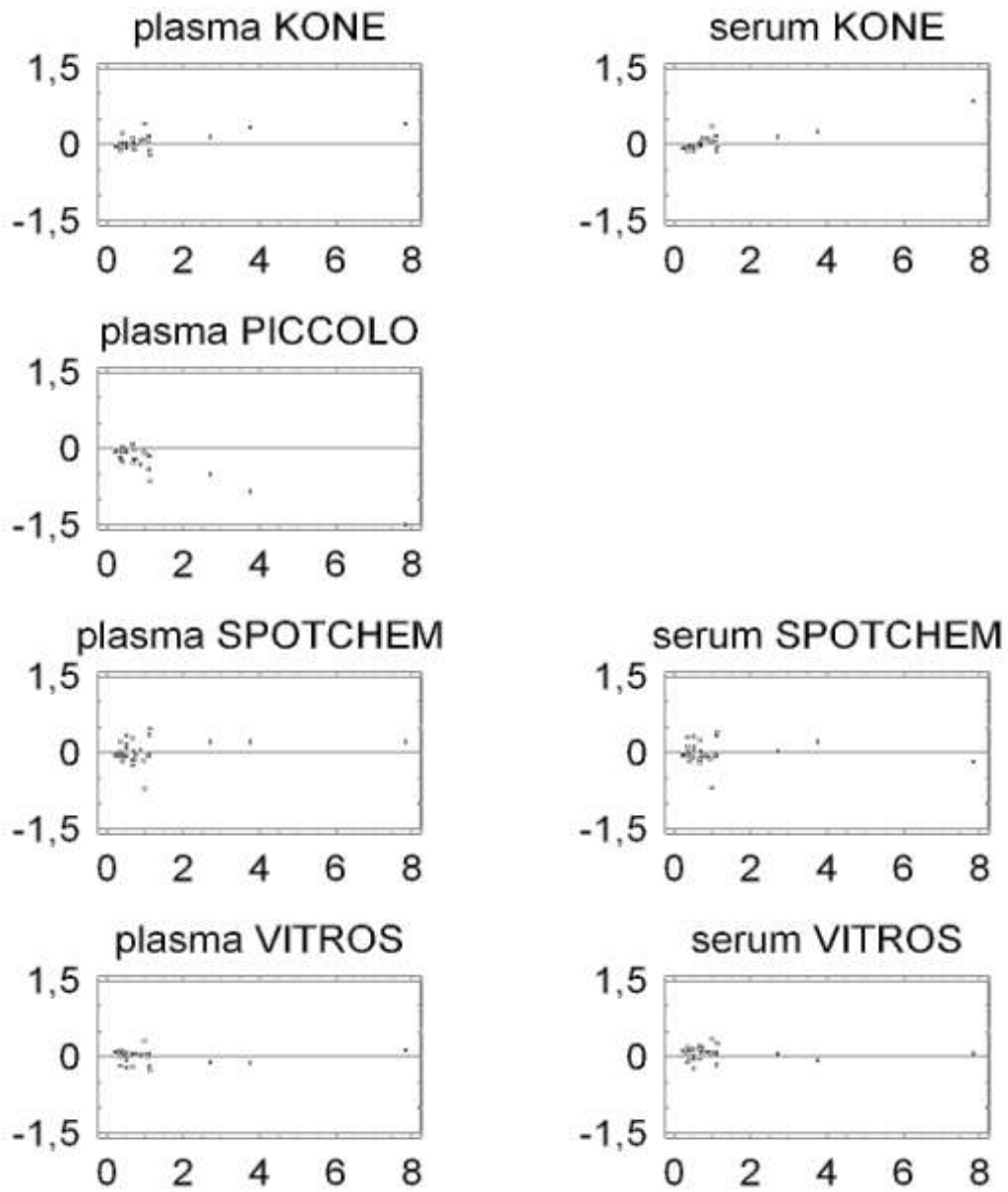


Fig.6 Difference plots for AMS ( $\mu\text{kat/l}$ )

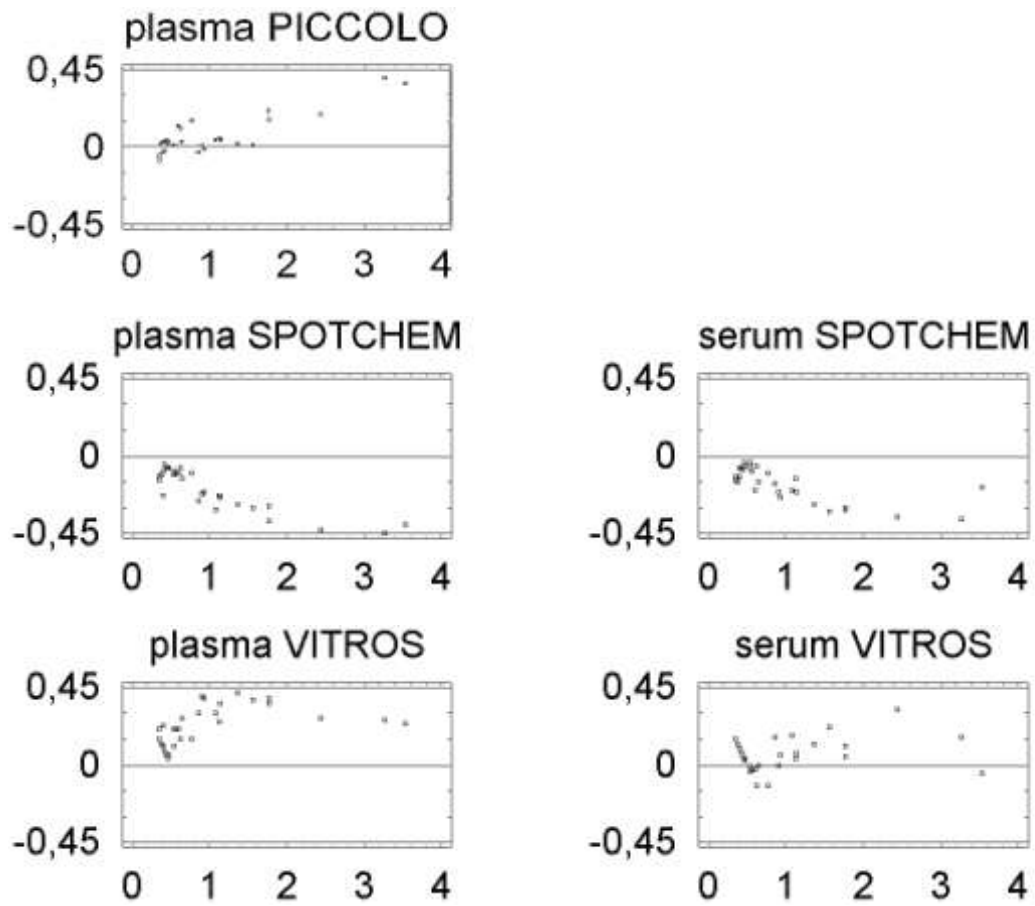


Fig.7 Difference plots for AST ( $\mu\text{kat/l}$ )

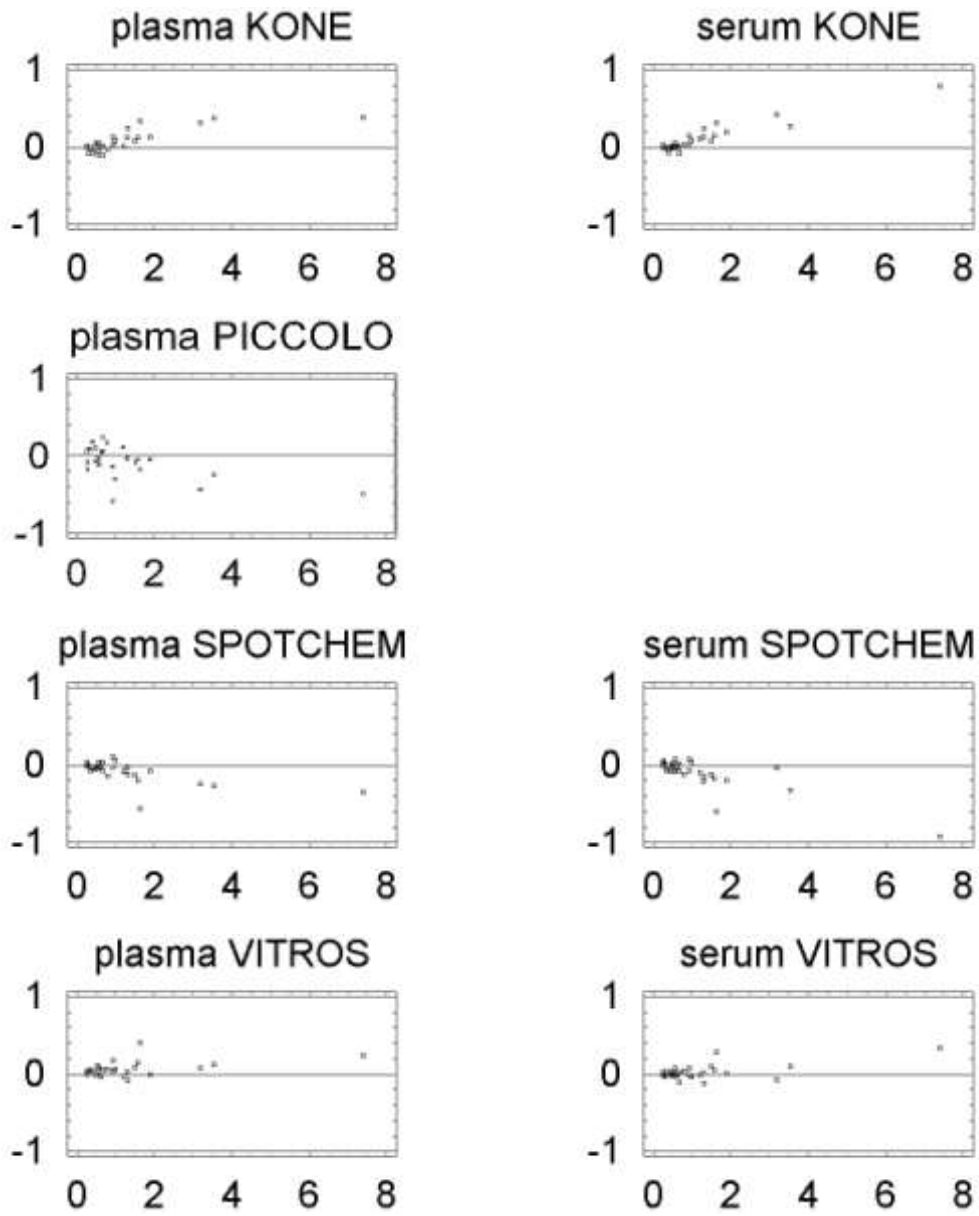


Fig.8 Difference plots for bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )

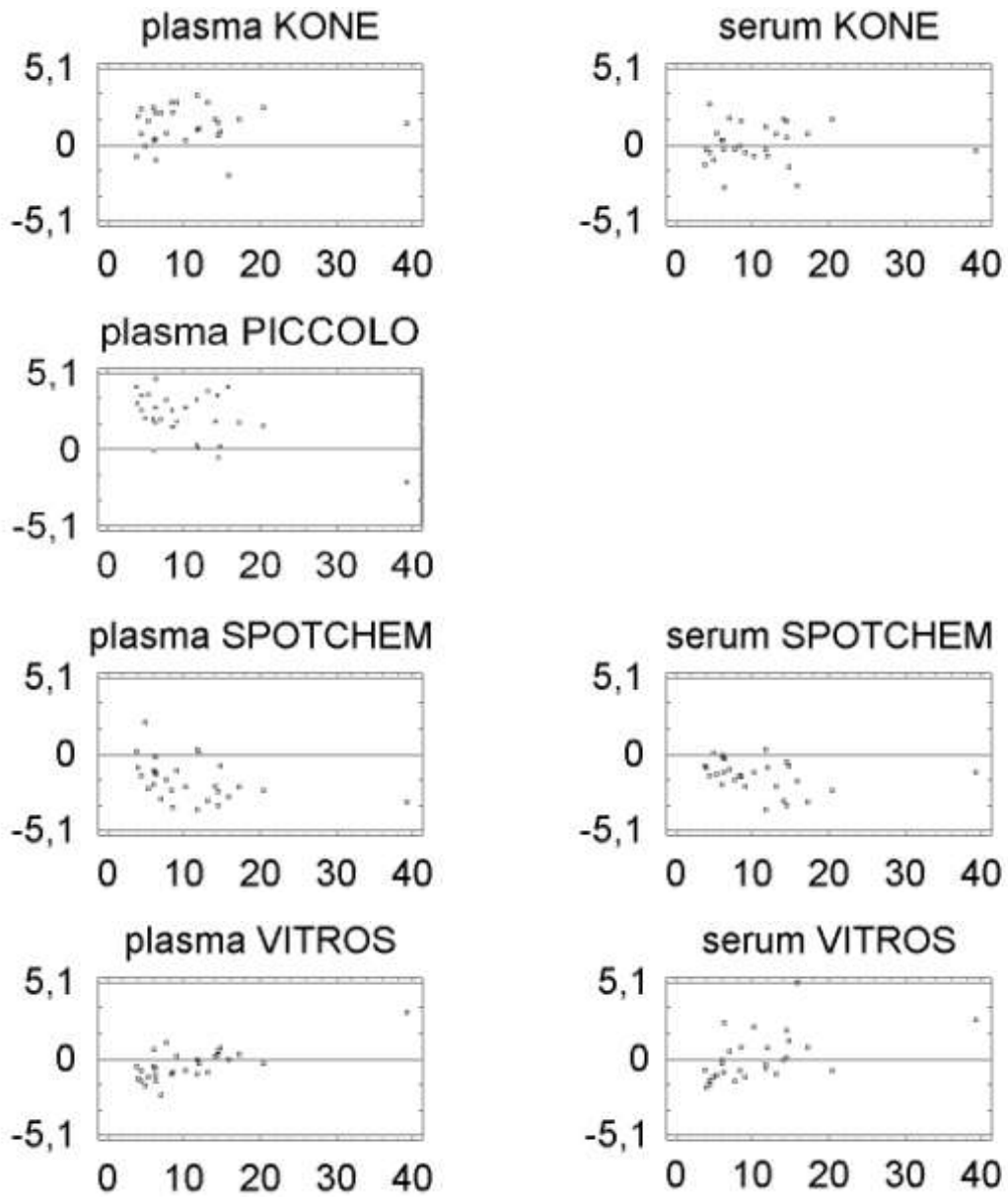


Fig.9 Difference plots for urea (mmol/l)

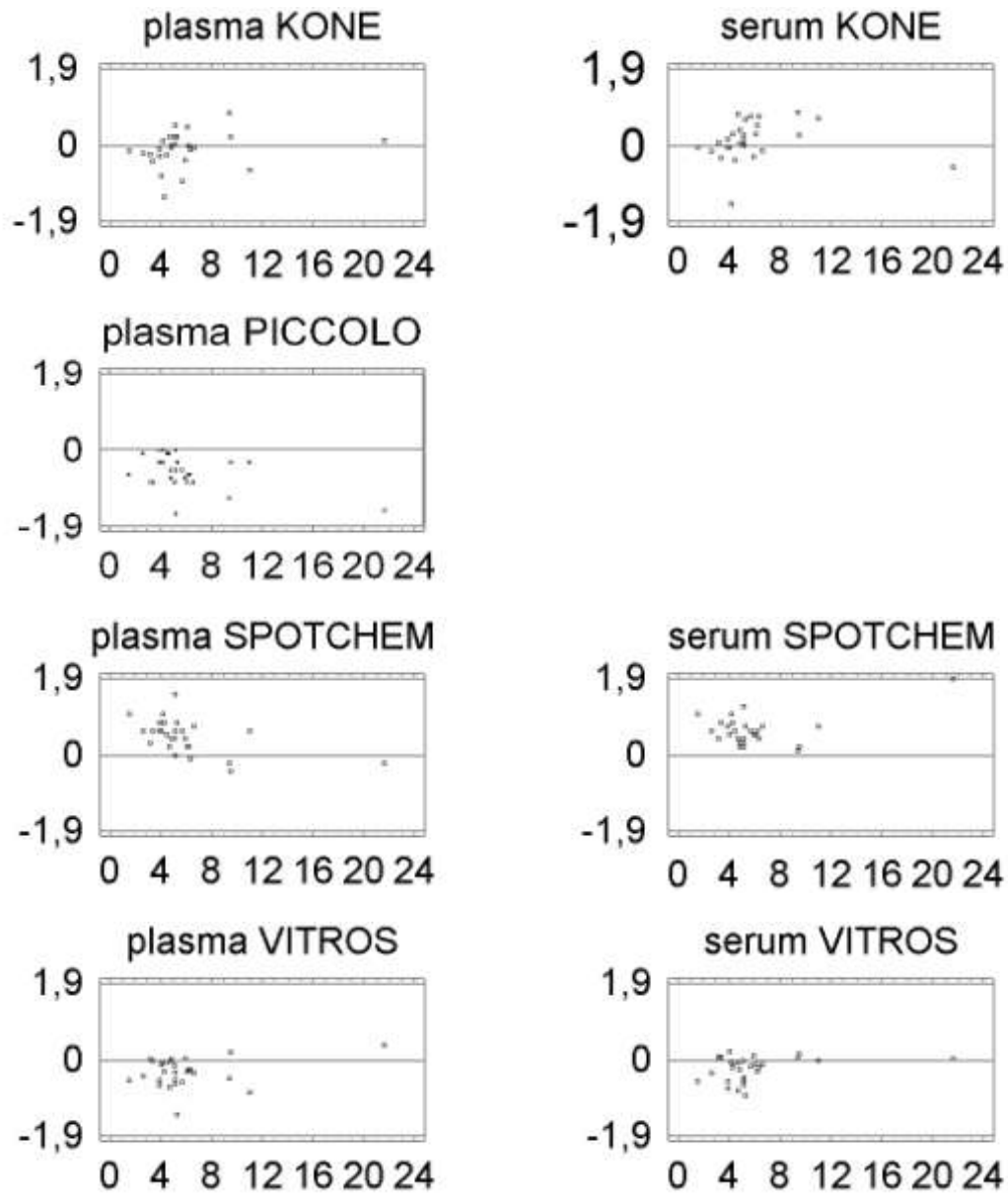


Fig.10 Difference plots for Ca (mmol/l)

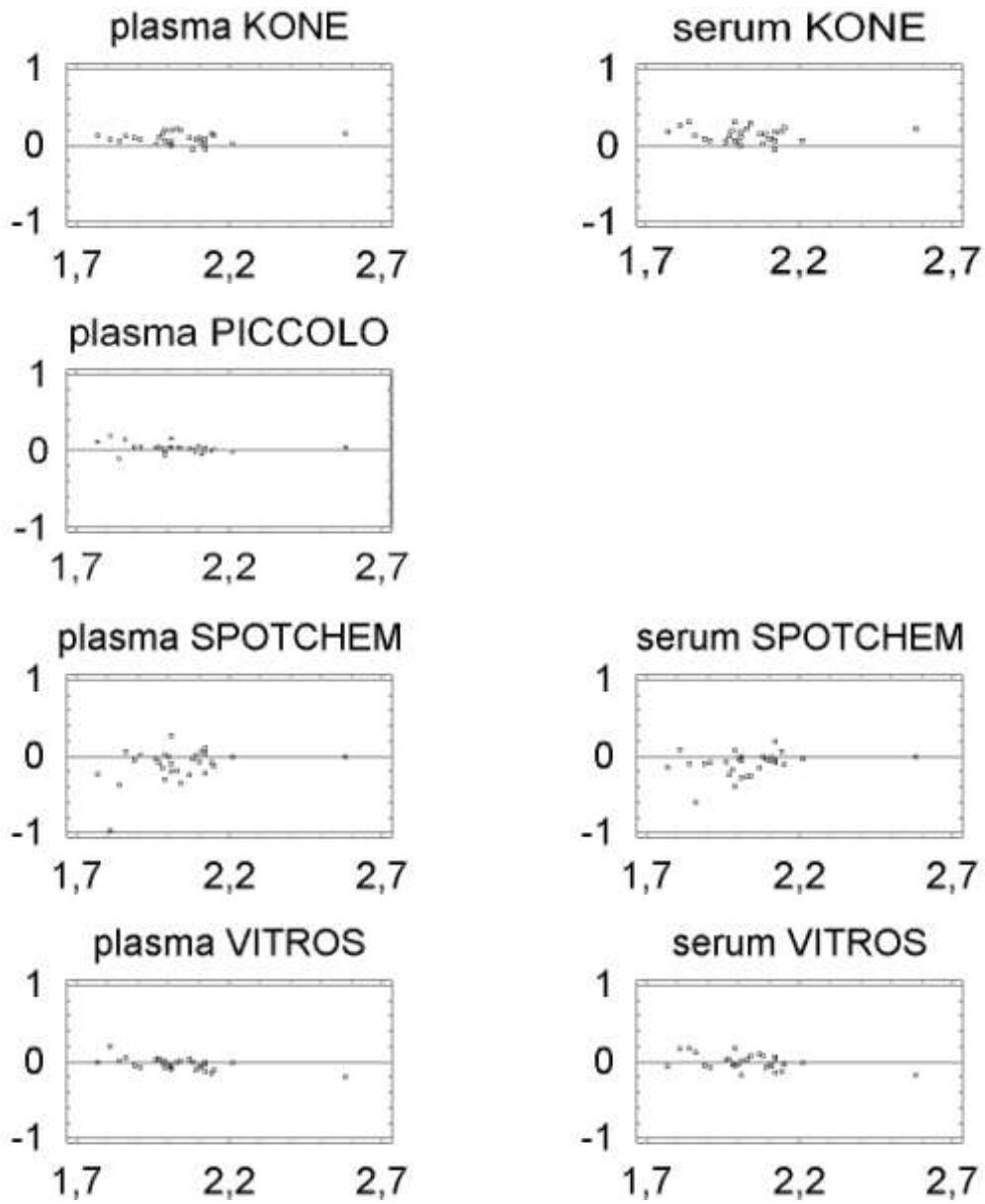


Fig.11 Difference plots for cholesterol (mmol/l)

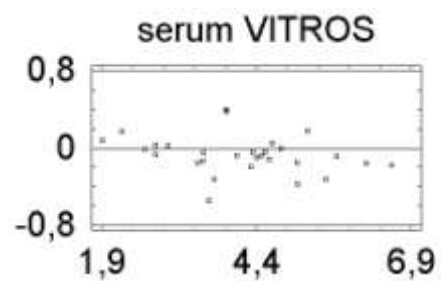
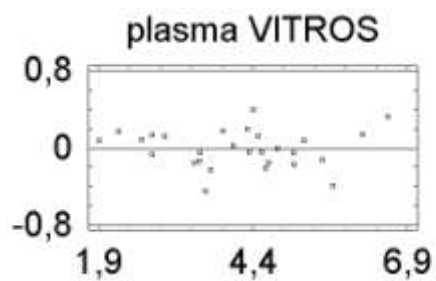
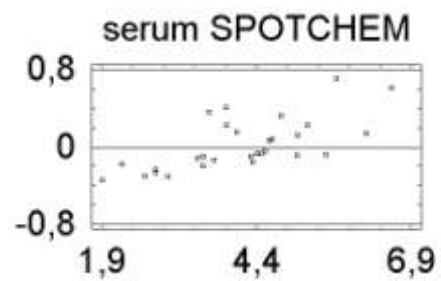
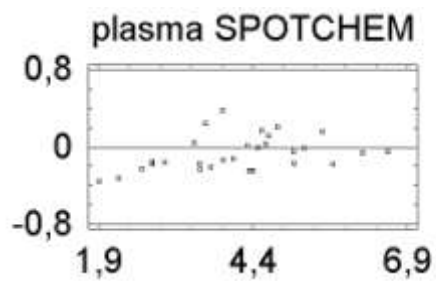
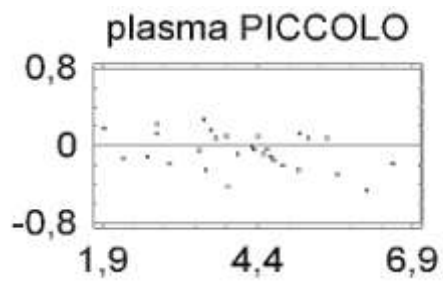
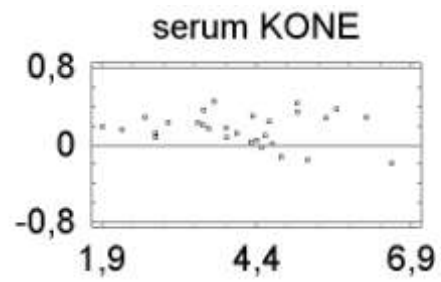
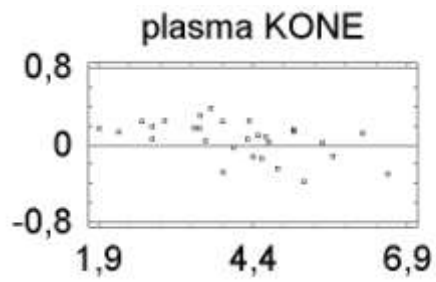




Fig.12 Difference plots for creatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )

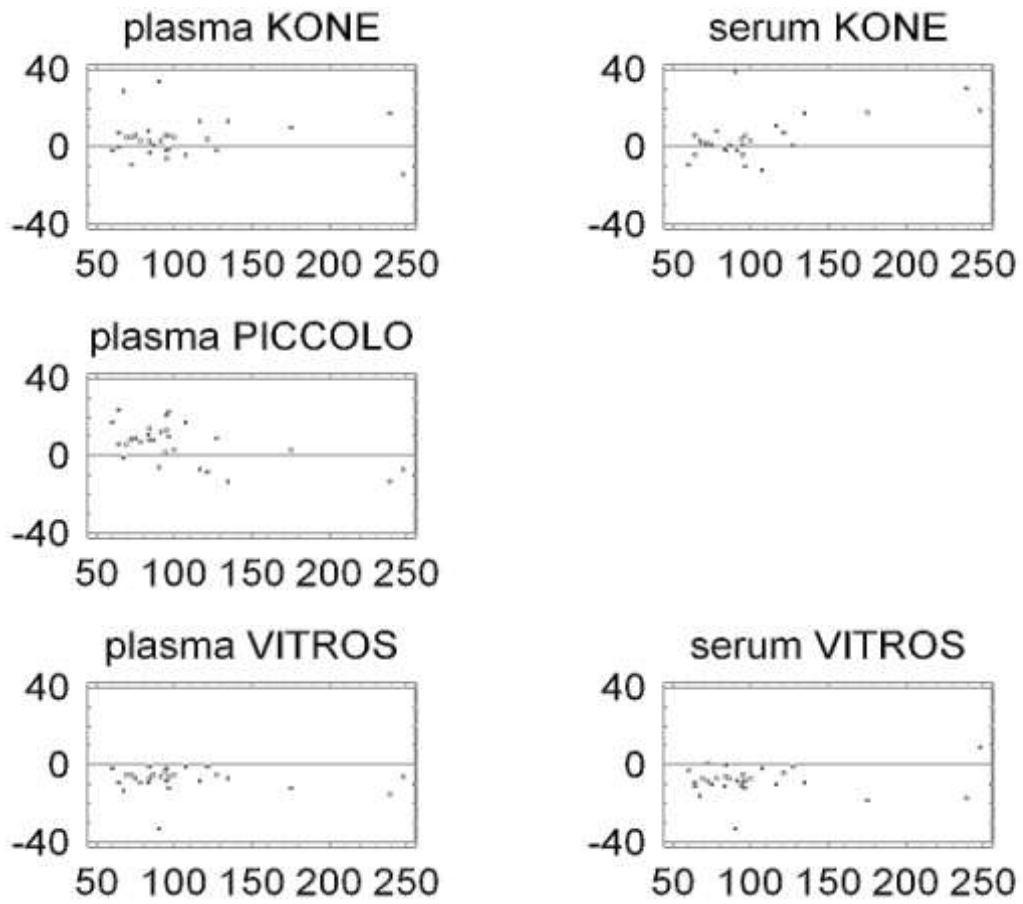


Fig.13 Difference plots for glucose (mmol/l)

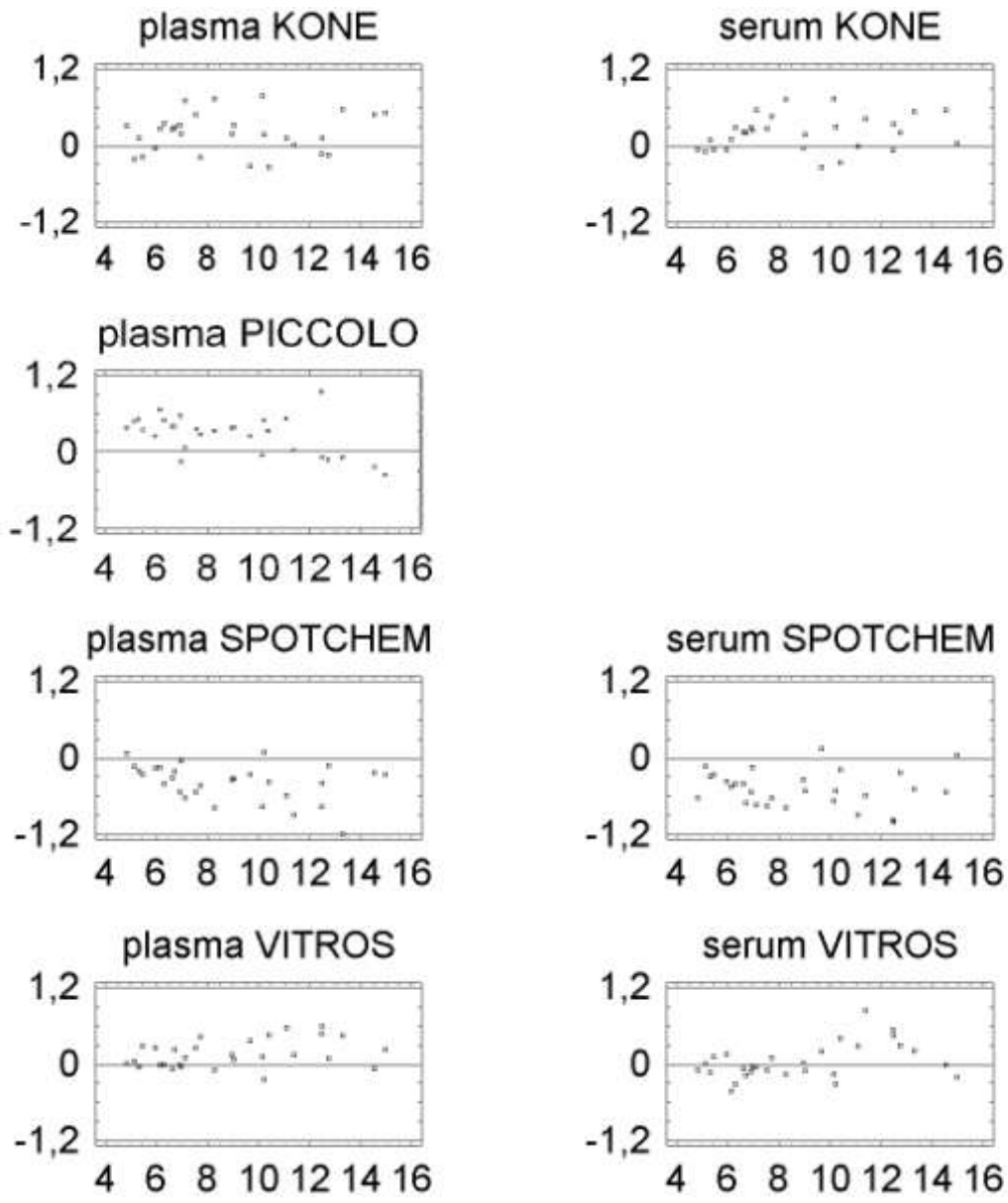


Fig.14 Difference plots for total protein (g/l)

