



Slovensko združenje
za klinično kemijo
in laboratorijsko
medicino



**PRIPOROČILA ZA OVERJANJE
(verifikacijo) MERILNEGA
POSTOPKA IN INSTRUMENTA
V KLINIČNEM LABORATORIJU**

**12
2017**

Marija Prezelj



Ta priporočila izdaja in priporoča Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (SZKKLM). Priporočila so v skladu s predpisi Republike Slovenije, priporočili Mednarodnega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (IFCC-International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

Uredniški odbor: Saša Bratož (predsednica)
Pika Meško Brguljan
Evgenija Homšak

PRIPOROČILA ZA OVERJANJE (verifikacijo) MERILNEGA POSTOPKA IN INSTRUMENTA V KLINIČNEM LABORATORIJU

Priprava: Marija Prezelj

Zbirka: Priporočeni postopki, številka 12

Izdalo: Slovensko združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino (SZKKLM)

Recenzent: Joško Osredkar

Lektorica: Darja Homšak

Tisk: Demago d. o. o.

Naklada: 500

Predstavitev priporočenih postopkov za delo v klinično kemijskih laboratorijih Republike Slovenije ima namen, da se z obvezno uporabo le-teh doseže visoka stopnja kakovosti dela, upoštevajoč sistematizacijo dela, pribora in prostorov.

Priporočila za overjanje (verifikacijo) merilnega postopka in instrumenta v kliničnem laboratoriju so namenjena vsem sodelavcem v klinično kemijskih laboratorijih, zdravstvenim delavcem ter študentom in učencem zdravstvenih šol.

Priporočila je pregledal in odobril Razširjeni strokovni kolegij za laboratorijsko diagnostiko pri Ministrstvu za zdravje Republike Slovenije in se uporablja za delo v vseh medicinskih laboratorijih ter pri ostalih izvajalcih laboratorijske medicine, ki niso organizirani kot laboratoriji in za izvajanje preiskav ob preiskovancu (pacientu) – POCT

**PRIPOROČILA ZA OVERJANJE (verifikacijo)
MERILNEGA POSTOPKA IN INSTRUMENTA
V KLINIČNEM LABORATORIJU**

Doc. dr. Mainja Prezelj

Beseda recenzenta

V predstojećem tekstu z naslovom "Priporočila za overjanje (verifikacijo) merilnega postopka in instrumenta v kliničnem laboratoriju" doc.dr. Marija Prezelj, spec.med.biok. podaja priporočila, ki predstavljajo minimalne zahteve za oceno natančnosti in pravilnosti našega dela.

V kliničnih laboratorijih uporabljamo pri rutinskem delu predvsem analizne postopke, aparate in reagenčne komplete, ki so jih razvili proizvajalci in-vitro diagnostike (IVD) in so po mednarodni zakonodaji (standard ISO 15189) odgovorni za njihovo validacijo. Uporabniki pa moramo izvesti verifikacijo (overjanje) in s tem preveriti ali je mogoče značilnosti prikazane med validacijo uspešno ponoviti tudi v rednem rutinskem delu. Zanesljivost laboratorijskih rezultatov je pomembna za oskrbo pacienta. Rezultati morajo biti točni, se pravi morajo biti pravilni in natančni, da omogočajo ob znani biološki variabilnosti pravilno klinično interpretacijo in da je lahko pravilna primerjava s prejšnjimi ali kasnejšimi rezultati ter rezultati med laboratoriji. Kvantitativna ocena točnosti rezultata je bistvena za stopnjo zaupanja, ki jo ki jo je mogoče vložiti v rezultat in s tem posledično zanesljivost odločitve, ki temelji na tem rezultatu.

V praksi je verifikacija običajno omejena na oceno netočnosti in določitev nenatančnosti, preverjanje linearnosti in občasno potrditve referenčnih vre-

dnosti. Predstavljen načrt verifikacije predstavlja za uporabnika kompromis med stroški, ki so povezani s časom in materiali ter tveganjem za pridobitev ustreznih ocen analiznega postopka.

Ponovljivost in vmesno natančnost lahko ocenimo z ločenima eksperimentoma kakor tudi z integriranim pristopom, ki ponuja pomembne prednosti v smislu učinkovitosti. Z vidika modernega razmišljanja v meroslovju moramo poleg tradicionalnega "koncepta napake" poznati tudi novejši "koncept merilne negotovosti".

V zadnjem času se soočamo z nekaterimi ključnimi vprašanji glede razlik v filozofiji meroslovja in opisu merjenja. Očitna je preusmeritev iz klasičnega pristopa "napake" (ali pristopa resnične vrednosti) v pristop "negotovosti". V pristopu napake je cilj merjenja čim boljši približek resnični vrednosti. Pri tem obravnavamo dve napaki kot ločljivi: naključno napako in sistematično napako. V praksi ni opredeljenih pravil, kako skupaj tvorita celotno (totalno) napako. V pristopu negotovosti ni cilj čim natančnejša določitev resnične vrednosti, saj sloni princip na izhodišču, da meritev omogoča samo določitev intervala vrednosti merjenja ob predpostavki, da ni bilo napak pri izvedbi meritve. Tako v nobenem primeru ne moremo priti do ene same vrednosti, kar nam daje merilno negotovost. Komponente merilne negotovosti lahko grupiramo na osnovi metode ovrednotenja v kategorijo tipa A (statistično ovrednotenje) in v katego-

rijo B (drugi načini vrednotenja). Sam besednjak ne daje prednosti enemu ali drugemu pristopu meroslovja, je pa preusmeritev v praksi posledično povzročila nekatere razlike v uporabi pojmov med drugo in tretjo verzijo besednjaka. Ker se nekateri pojmi vzajemno uporabljajo pri obeh pristopih z nekoliko različnimi pomeni, je smiselno poznati pri njihovi uporabi tudi teoretično ozadje različnih pristopov meroslovja.

Komu je knjižica namenjena?

Predstavitev verifikacije je namenjena izvajalcem laboratorijske medicine večjega ali manjšega laboratorija, primerna in dovolj preprosta je za dejavnost POCT kakor tudi laboratorije zdravniške ambulante. Predstavitev bo lahko tudi v pomoč pri dokazovanju sprejemljive učinkovitosti, po sprejetju korektivnega ukrepa, ko npr. rezultat v programu medlaboratorijskih primerjav in/ali v zunanji oceni kakovosti ni v dovoljenih mejah.

Kaj bomo pridobili s to knjižico?

- Obrazložene so ključne merilne komponente merilne negotovosti, to je natančnosti in pravilnosti.
- Seznanimo se boste s priporočili kako verificirati merilni postopek v medicinskem laboratoriju.
- Spoznamo kako pridobiti dokaze, da so rezultati testov zanesljivi in da uspešnost delovanja izpolnjuje minimalne zahteve kakovosti.
- Predstavljeno je enotno izrazoslovje s področja meroslovja, ki je ključnega pomena za razumevanje dobljenih rezultatov merjenja. (VIM International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms) in velja tudi za laboratorijsko medicino.

Prof.dr.Joško Osredkar, mag.farm.,
spec.med.biokem., višji svetnik

KAZALO

1. UVOD	7
2. NAMEN	7
3. ZAHTEVE ZA OVERJANJE (verifikacijo)	8
3. 1. Osnovne zahteve za overjanje	8
3. 2. Seznanitev z merilnim postopkom in/ali instrumentom	9
3. 3. Kriteriji sprejemljivosti lastnosti merilnega postopka	10
4. DEFINICIJE	11
5. TERMINOLOGIJA	15
5. 1. Validacija in overjanje (verifikacija)	15
5. 2. Opis lastnosti preiskovalnega postopka	17
6. MERILNA NATANČNOST	20
6. 1. Postopek za oceno nenatančnosti (imprecision)	20
6. 2. Eksperimentalni model 5×5	22
7. MERILNO ODPSTOPANJE	23
7. 1. Postopek z referenčnim materialom	25
7. 2. Referenčni postopek	26
7. 3. Sodelovanje v programu zunanje ocene kakovosti	26
7. 4. Standardni dodatek referenčnega materiala v naravnem vzorcu	27
7. 5. Ocena odstopanja (bias) s serumii pacientov	27
8. LINEARNOST	28
8. 1. Koncentracija merjenca je višja od vrednosti, za katero proizvajalec ne priporoča redčenja	29
8. 2. Koncentracija merjenca je v mejah merilnega intervala	30
9. ZAKLJUČEK	30
10. LITERATURA	31
11. PRILOGI	35
11.A Odkrivanje rezultata, ki odstopa	35
11.B Merilna negotovost	36

1. UVOD

V kliničnih laboratorijih uporabljamo pri rutinskem delu predvsem instrumente, reagenčne komplete in analizne postopke, ki so jih razvili proizvajalci *in-vitro* diagnostike (IVD). V Evropski uniji področje *in vitro* diagnostičnih medicinskih pripomočkov ureja Direktiva 98/79/ES Evropskega parlamenta in sveta (1). Po tej zakonodaji so proizvajalci odgovorni za validacijo, mi uporabniki pa moramo izvesti overjanje (anglosaški izraz za overjanje je “verifikacija”) in potrditi, da značilnosti, prikazane med validacijo, lahko uspešno ponovimo tudi v praktični klinični situaciji. V standardu ISO 15189 je prav tako navedeno, da moramo uporabniki izvesti overjanje, podrobnosti pa niso predpisane (2).

Uporaba komercialno dostopnih merilnih instrumentov in metod je obsežna in še raste. Za postopek overjanja potrebujejo laboratoriji splošno sprejete, učinkovite in cenovno sprejemljive protokole. Pomembno je, da z optimiziranim postopkom overjanja pridobimo čim več koristnih podatkov.

2. NAMEN

Priporočila so namenjena vsem, ki so odgovorni za kakovostno delo v kliničnih laboratorijih. Navedene so minimalne zahteve za preverjanje merilnega postopka in/ali instrumenta pred njegovo uvedbo v redno rutinsko delo medicinskega laboratorija. Besedilo nam lahko pomaga tudi pri dokazovanju sprejemljive učinkovitosti po sprejetju korektivnega ukrepa, ko npr. rezultat v programu medlaboratorijskih primerjav in/ali v zunanji oceni kakovosti ni v specifikiranih mejah.

Priporočila lahko uporabljamo v medicinskih laboratorijih zdravstvenih ustanov, tako v bolnišnicah kot v primarnem zdravstvu, primerna in dovolj preprosta pa so tudi za laboratorijsko dejavnost testiranja ob pacientu (POCT Point of Care Testing). Prikazan postopek overjanja je hkrati dovolj strog, da lahko s statističnim izračunom zagotovimo pomembne odločitve.

V Priporočilih smo upoštevali trenutno sprejeto mednarodno terminologijo (3, 4) in smernice postopkov za overjanje v klinični kemiji (5, 6). V Priporočilih so navedene minimalne zahteve za oceno nenatančnosti in pravilnosti; oboje podpira tudi dostopna programska oprema (7). Postopki določajo vrsto vzorca in potrebne meritve, da s statističnimi izračuni pridobimo numerične rezultate in grafične prikaze.

Predpostavljamo, da imajo bralci Priporočil nekaj osnovnega znanja o statističnih metodah, npr. o analizi regresije in temeljni analizi variacije (analysis of variance, ANOVA), ter dostop do statističnega programskega paketa, ki omogoča grafični prikaz razlik.

3. ZAHTEVE ZA OVERJANJE (verifikacijo)

3.1. Osnovne zahteve za overjanje

Pred začetkom overjanja preiskovalnega postopka in/ali instrumenta morajo biti izpolnjene naslednje zahteve:

- Za overjanje je odgovoren vodja laboratorija, ki mora zagotoviti, da je postopek overjanja primeren v okviru razpoložljivih pripomočkov, sredstev in znanja o merilni negotovosti; ta je pomembna za interpretacijo veljavnosti in/ali uporabo rezultatov.
- Merilni postopek mora biti v celoti razvit in optimiziran. Priporočila temeljijo na predpostavki, da merilni postopek v laboratoriju deluje pravilno.
- Na voljo mora biti standardni operativni postopek za metodo.
- Proizvajalec mora laboratoriju na njegovo zahtevo izročiti podatke in eksperimentalni načrt, ki ga je uporabljal pri oblikovanju in postavitvah svojih zahtev za delovanje preiskovalnega postopka.
- Koristno je, da so laboratoriju na voljo podatki o analitični občutljivosti in selektivnosti, meji zaznavnosti, merilnem intervalu, linearnosti in vplivu motenj ter profil negotovosti.

- Proizvajalec mora validacijo izpeljati s postopki, ki jih priznavajo ustrezni regulatorni organi, npr. standardi ISO, CEN (Comite Europeen de Normalisation, Evropski komite za standardizacijo), IFCC (International Federation for Clinical Chemistry, Mednarodno združenje za klinično kemijo in laboratorijsko medicino) ali smernice CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, Institut za klinične in laboratorijske standarde). Ti postopki so običajno zahtevnejši in upoštevajo več spremenljivk, kot jih zahteva overjanje uporabnika v laboratoriju (8). Če je bil uporabljen drug postopek za overjanje, potem mora biti eksperimentalni načrt poskusa opisan v celoti.
- Merilni instrumenti, ki jih uporabljamo, morajo biti redno tehnično nadzorovani in vzdrževani.
- Na voljo morajo biti ustrezni kalibratorji. Za notranjo kontrolo kakovosti morajo biti na voljo primerni stabilni materiali z vsaj dvema nivojema koncentracij analita, priporoča se, da vsaj za 1 leto.
- Končni uporabnik mora dobro vedeti, za kakšen namen se uporabljajo metode in/ali instrument.
- Končni uporabnik mora biti seznanjen z zahtevami standardnih varnostnih ukrepov za zdravje.

3. 2. Seznanitev z merilnim postopkom in/ali instrumentom

Pred overjanjem je pomembno, da se uporabniki podrobneje seznanimo z delovanjem instrumenta in postopkom merjenja. Pomembno je tudi, da poznamo nadzorne funkcije instrumenta, postopke za vzdrževanje instrumenta, pripravo vzorca in kalibracijo. Čas, potreben za seznanitev, je odvisen od zahtevnosti instrumenta oziroma pripomočka in naj traja 1 do 5 dni. Usposabljanje uporabnika (operaterja), ki ga mora organizirati proizvajalec, naj bi bilo zaključeno, ko uporabnik lahko samostojno upravlja instrument. Če uporabnik pred začetkom overjanja ni imel priložnosti, da se seznanj z instrumentom in meritvami, so lahko prvi izračuni overjanja bolj nenatančni in lahko bolj odstopajo (6, 9).

Med seznanjanjem uporabljamo vzorce pacientov in pregledamo tudi kontrolni material, ki ga nameravamo uporabljati pri kasnejšem postopku overjanja. Pomembno je, da preverimo, ali je instrument pod nadzorom in v skladu s specifikiranimi zahtevami proizvajalca, kar dokažemo s kontrolnimi postopki, ki jih priporoča proizvajalec. Ocenjenega standardnega odmika (SD) ne smemo uporabiti za določitev dovoljenih odmikov pri notranji kontroli kakovosti.

3. 3. Kriteriji sprejemljivosti lastnosti merilnega postopka

Vsako kvantitativno vrednotenje merilnega postopka zahteva kriterije sprejemljivosti, ki temeljijo na analizi podatkov. Laboratorij mora pred izbiro in pred začetkom overjanja merilnega postopka postaviti minimalne specifikirane kriterije sprejemljivosti delovanja in jih dokumentirati (9, 10). Minimalne kriterije sprejemljivosti za izvajanje posameznih merilnih metod pogosto določajo nacionalne ali mednarodne organizacije, ki jih navajajo v dostopni literaturi. V Priporočilih je opisan protokol overjanja že validiranega merilnega postopka, za katerega je proizvajalec definiral sprejemljive kriterije. Uporabniki upoštevamo mejne vrednosti, na osnovi katerih se odločamo o skladnosti s specifikacijo.

Pri kvantitativnih preskusnih metodah običajno preverimo naslednje lastnosti izvedbe:

1. Natančnost

Laboratorij mora za vsak koncentracijski nivo testiranega analita zagotoviti mejno vrednost kot maksimalno dovoljen standardni odklik (SD) in/ali koeficient variacije (KV), izražen kot odstotek (% KV), da lahko nato izračunane SD primerja s postavljenimi proizvajalčevimi. Idealno bi bilo, če bi laboratorij lahko izbral merilni postopek, za katerega so proizvajalčeve ugotovitve o natančnosti znotraj mejnih vrednosti sprejemljivosti, ki jih vnaprej specifikira laboratorij. Če proizvajalčeve trditve o natančnosti presega zahtevke laboratorija za določene kriterije uspešnosti, potem protokol teh Priporočil za preverjanje natančnosti ni primeren. V tem primeru lahko uporabnik izbere obširnejši program preverjanja merilnega postopka (8).

2. Pravilnost (odstopanje)

Mejna vrednost odstopanja mora biti navedena za vsako koncentracijo analita, ki se testira. Navedena mora biti kot največje dovoljeno odstopanje z opredeljeno stopnjo zaupanja (praviloma 95 %). Največje dovoljeno odstopanje se lahko izrazi v absolutnem ali relativnem smislu. Izrazi se kot odmik v enotah koncentracije ali kot odstotek odmika. Navaja se lahko bodisi kot absolutna koncentracija ali kot odstotek koncentracije.

3. Linearnost

Je pomembna lastnost preiskovalnih postopkov. Poznati jo moramo, zato da preiskovalni postopek uporabljamo le v določenem območju vrednosti.

4. DEFINICIJE

Termini, uporabljeni v Priporočilih, so pojasnjeni z definicijami iz Mednarodnega slovarja o osnovnih in splošnih terminih s področja meroslovja (International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) (3)). VIM je normativna referenca številnih mednarodnih standardov in navodil, na primer standardov, ki podpirajo laboratorijske akreditacije, kot sta ISO/IEC 17025 (11) in ISO/IEC 17043 (12), in mednarodnih vodnikov. Definicije iz druge izdaje VIM so navedene tudi v standardu ISO 15189. Naj opozorimo, da so bili nekateri termini spremenjeni:

- *točnost v pravilnost*,
- *analit v merjenec*,
- *analitska metoda v merilni postopek*,
- *skupna napaka v napako (meritve)* in
- *natančnost v nenatančnost* (če je izražena količinsko).

Analit (analyte) je komponenta, opisana (zastopana) v imenu merjenja (merilne veličine).

Analitična občutljivost (analytical sensitivity) je razmerje med spremembo odziva merilnega sistema in ustrezno spremembo vrednosti merjene veličine (npr. koncentracije).

Analitična selektivnost (analytical selectivity) je lastnost merilnega sistema, da lahko v vzorcu pri izbranih pogojih preskušanja določimo samo izbrani analit v prisotnosti drugih komponent. Uporabe termina *specifičnost* IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) ne priporoča in ni definiran v VIM-u.

Certificirani referenčni material (CRM) (certified reference material, CRM) je referenčni material s priloženim certifikatom; ena ali več vrednosti določene lastnosti referenčnega materiala je certificiranih s postopkom, ki vzpostavlja sledljivost do točne realizacije enote, v kateri so vrednosti te lastnosti izražene in pri kateri vsako certificirano vrednost spremlja negotovost z navedeno stopnjo zaupanja.

Kombinirana standardna negotovost (combined standard uncertainty, uc) rezultata je standardni odmik, enak kvadratnemu korenu celotne variance, ki ga dobimo s kombinacijo vseh komponent negotovosti, ovrednotenih z upoštevanjem zakona o širjenju negotovosti (law of propagation of uncertainty).

Linearnost (linearity) je lastnost metode, da so rezultati preskušanj proporcionalni koncentraciji analita.

Medlaboratorijska primerjava (interlaboratory comparison) je organiziranje, izvedba in ovrednotenje meritev ali preskusov, ki jih na istih ali podobnih preskušancih oziroma vzorcih opravita dva ali več laboratorijev skladno z vnaprej določenimi pogoji.

Meja zaznavnosti (limit of detection, LOD) je najnižja vrednost analita v vzorcu, ki jo je z določeno zanesljivostjo mogoče razlikovati od vrednosti, ko je analit odsoten (slepa vrednost).

Merilna negotovost (uncertainty of measurement) je nenegativni parameter, povezan z merilnim rezultatom. Označuje raztros vrednosti, ki jih je mogoče upravičeno pripisati merjencu.

Merilni postopek (measurement procedure) je izčrpno opisana meritev glede na enega ali več merilnih principov in glede na dano

merilno metodo. Merilni postopek se včasih imenuje SOP (standard operating procedure).

Meritev, merjenje (measurement) je niz postopkov, katerih cilj je določiti vrednost izbrane veličine.

Merjena veličina (measurand) je določena veličina, ki jo merimo. V tem besedilu iz praktičnih razlogov namesto tega termina uporabljamo termin merjenec.

Merjenec (measurand) je izbrana veličina, ki jo merimo. Merjenec je opredeljen z naslednjimi parametri:

- analit, ki ga merimo, npr. protein, natrijev ion, holesterol, hemoglobin, levkociti itd.,
- sistem, npr. serum, urin, venska kri, plevralna tekočina itd.,
- enota, npr. koncentracija snovi (mmol/L), masna koncentracija (g/L), aktivnost katalizatorja (nkat/L), itd.,
- merilni postopek.

Napaka (error) je razlika med rezultatom meritve in pravo vrednostjo merjenca. (Ker prave vrednosti ni mogoče določiti, v praksi uporabljamo dogovorjeno pravo vrednost.)

Natančnost (precision) je ujemanje med izmerjenimi vrednostmi, dobljenimi s ponovitvami meritev na istem predmetu ali na podobnih predmetih pod specificiranimi pogoji. Merilna natančnost je običajno izražena številčno z merjenjem nenatančnosti, kot je standardni odmik, varianca ali koeficient variacije, pod specificiranimi pogoji merjenja. Specificirani pogoji so lahko npr. ponovljivi pogoji merjenja, vmesni pogoji natančnosti merjenja ali obnovljivi pogoji merjenja.

Obnovljivost (reproducibility) je natančnost, določena pri pogojih obnovljivosti, tj. pri pogojih, pri katerih so bili rezultati preskušanja pridobljeni po isti metodi, na identičnem vzorcu, v različnih laboratorijih, z različnimi izvajalci in z različno opremo.

Odstopanje (bias) je razlika med pričakovanim rezultatom preskušanja in sprejeto referenčno vrednostjo. Označuje sistematično napako danega analiznega postopka in predstavlja odmik (pozitiven ali negativen) rezultata od prave vrednosti.

Overjanje (verification) je potrditev na podlagi stvarnega dokaza, da so specificirane zahteve izpolnjene.

Ponovljivost (repeatability) je merilna natančnost, določena pri ponovljivih pogojih, pri katerih je bil neodvisen rezultat dobljen po isti metodi, na istem preskušancu, v istem laboratoriju, z istim izvajalcem, z isto opremo, v kratkem časovnem intervalu.

Pravilnost (trueness) je tesnost ujemanja med povprečjem neskončnega števila ponovljenih vrednosti merjenja in referenčno vrednostjo. Daje informacijo o sistematični napaki.

Preiskava (examination) je niz postopkov, katerih cilj je določiti vrednost ali značilnosti posamezne lastnosti. Laboratorijske preiskave se pogosto imenujejo tudi testi ali preskusi.

Primernost za uporabo (fitness for purpose) je stopnja, do katere podatki, dobljeni s postopkom merjenja, omogočijo uporabniku, da se tehnično in upravno pravilno odloči.

Razširjena negotovost (expanded uncertainty, U) je interval, v katerem se nahaja rezultat z določeno stopnjo zaupanja. U dobimo z množenjem kombinirane standardne negotovosti s faktorjem pokritja k . Izbira faktorja k je odvisna od stopnje zaupanja (za stopnjo zaupanja 95 % je v primeru normalne porazdelitvene funkcije $k = 2$).

Referenčni material (reference material, RM) je definiran kot material ali snov, ki je dovolj homogena in katere ena ali več lastnosti je dovolj dobro ugotovljenih, da se lahko uporablja za umerjanje aparature, ocenjevanje merilne metode ali pripisovanje vrednosti materialom.

Rezultat merjenja (result of measurement) je z merjenjem dobljena vrednost, ki jo pripišemo merjencu. Merilni rezultat je popoln, če ima podano pripadajočo merilno negotovost.

Sledljivost (traceability) je lastnost merilnega rezultata, ki omogoča navezavo rezultata na referenco po dokumentirani neprekinjeni verigi umeritev, od katerih vsaka prispeva k merilni negotovosti.

Standardna negotovost (standard uncertainty, u) je negotovost rezultata meritve, izražena kot standardni odmik.

Standardni odmik (standard deviation, SD) je merilo raztrosa vrednosti meritev okoli povprečne vrednosti.

Točnost (accuracy) je ujemanje med izmerjeno in pravo vrednostjo merjenca. Ima dve komponenti: natančnost (precision) in pravilnost (trueness). Daje informacijo o sistematični in naključni napaki. Točnost se običajno izraža z merilno negotovostjo.

Validacija (validation) je potrditev na podlagi stvarnih dokazov, da so zahteve za specifično nameravano uporabo ali aplikacijo izpolnjene.

Vmesna natančnost (intermediate precision) je natančnost meritve, določena z nizom vmesnih natančnih pogojev merjenja.

Vrednost (value) je velikost določenega merjenca, ki je izražena kot merska enota, pomnožena s številom.

5. TERMINOLOGIJA

5.1. Validacija in overjanje (verifikacija)

Termina validacija in verifikacija se pogosto uporabljata kot sopomenki. To je razumljivo, saj se oba uporabljata za potrditev dokazov. Toda mednarodni standardi in priporočila oba termina jasno opredeljujejo in bi ju zato morali vsi uporabljati v enakem pomenu (2, 3, 4, 5, 13, 14).

V medicinskih laboratorijih prednostno izbiramo uveljavljene preiskovalne postopke, ki jih je za nameravano uporabo validiral proizvajalec *in-vitro* diagnostike (IVD), mi pa jih uporabljamo nespremenjene. Le malo je postopkov, ki smo jih zasnovali in razvili sami ali naknadno spremenili proizvajalčeve. V takem primeru moramo v laboratoriju izvesti validacijo, saj standard ISO 15189 določa, da je treba dokazati, da je preiskovalni postopek primeren za predvideno uporabo, ne glede na to, kdo ga razvije ali spremeni.

Validacija mora biti dovolj obsežna in mora z objektivnimi dokazi potrditi zmogljivosti in omejitve preiskave ter ugotoviti vplive, ki lahko spremenijo njene lastnosti. Da so izpolnjene specifične zahteve za predvideno uporabo preiskave, potrdi validacija s preverjanjem na-

slednjih lastnosti preiskovalnega postopka: merilne pravilnosti, merilne točnosti, merilne natančnosti (merilne ponovljivosti in vmesne merilne natančnosti), merilne negotovosti, analitične selektivnosti skupaj z motečimi snovmi, analitične občutljivosti, mejo zaznavnosti in mejo določljivosti, merilnim intervalom ter diagnostične specifičnosti in občutljivosti (11, 14).

Vsak laboratorijski postopek mora biti pred uporabo za klinična testiranja validiran. Validacija je potrebna tudi, ko se izvedejo večje tehnične spremembe obstoječih metod ali če je učinkovitost obstoječih metod nezadovoljiva (8, 15). Laboratorij mora zagotoviti, da se pomanjkljiva oprema ne uporablja, dokler ni popravljena in se z overitvijo dokaže, da izpolnjuje specificirane kriterije sprejemljivosti.

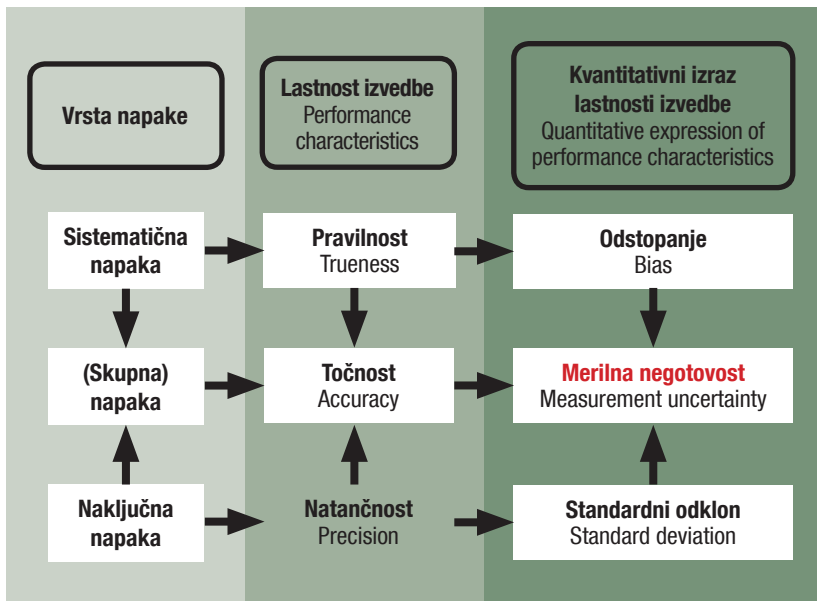
Validacija, ki zahteva, da so izpolnjene specifične zahteve za nameravano uporabo preiskave, potrebuje obširnejši potrditveni dokaz, kot je overjanje (verifikacija), ki le potrjuje, da so specifične zahteve izpolnjene. Verifikacija je zato omejena na primerjavo preiskovalnega postopka za oceno netočnosti oziroma odstopanja, ponovitve meritev za določitev nenatančnosti in preverjanje linearnosti. Občasno naj bi se preverilo tudi referenčno območje preiskovalnega postopka.

Standard ISO 15189 navaja, da mora laboratorij validirane preiskovalne postopke, ki se uporabljajo nespremenjeni, pred vključitvijo v rutinsko uporabo neodvisno overiti. Laboratorij mora z neodvisno overitvijo na podlagi pridobitve objektivnih dokazov (v obliki lastnosti izvedbe) potrditi, da so izpolnjene zahteve glede delovanja preiskovalnega postopka. Zahteve za delovanje preiskovalnega postopka, ki so bile potrjene v procesu overjanja, morajo ustrezati nameravani uporabi rezultatov preiskave. Za potrditev lastnosti o izvedbi postopka mora laboratorij pridobiti informacije od proizvajalca oziroma tistega, ki je metodo razvil.

Laboratorij mora dokumentirati pri validaciji/overjanju uporabljeni postopek, dobljene rezultate pa mora pregledati pooblaščen osebje in izdelati zapis. Če se validirani/overjeni preiskovalni postopek spremeni, je treba vpliv takih sprememb dokumentirati in izvesti novo validacijo/overjanje.

5. 2. Opis lastnosti preiskovalnega postopka

Enotna uporaba terminologije je osnova za razumevanje dobljenih rezultatov merjenja. Leta 2008 je Mednarodni odbor za smernice v meroslovju (Joint Committee for Guides in Metrology, JCGM), izdal Mednarodni slovar osnovnih in splošnih terminov s področja meroslovja (International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) (3, 4). Pri nastajanju in posodobitvah VIM-a sodeluje tudi IFCC, zato ga moramo uporabljati v našem strokovnem jeziku. Med najpomembnejšimi koncepti v terminologiji so tisti, ki opisujejo merilno napako (napako merjenja), merilno negotovost in njihove komponente.



Slika 1: Povezave med vrsto napake, kvalitativno lastnostjo izvedbe in kvantitativnim opisom izvedbe (z dovoljenjem Založbe Springer)

Na sliki 1, ki jo je leta 2007 pripravil Mendito s sodelavci, so nazorno predstavljeni glavni pojmi, ki se uporabljajo pri validaciji in overjanju preiskovalnega postopka (16). Ti pojmi so neposredno popolnoma

skladni z mednarodno sprejeto terminologijo VIM-a. Prikazan je tudi odnos med vrsto napake, ki vpliva na analizo meritev, ustreznim *kvalitativnim* konceptom lastnosti izvedbe in njegovim *kvantitativnim* izražanjem. S slike je razvidno naslednje:

1. **Napaka** (error) je sestavljena iz naključnih in sistematičnih napak. Ti dve komponenti napake lahko kvalitativno opišemo kot natančnost in pravilnost in ju izmerimo oziroma kvantitativno izrazimo kot standardni odmik in odstopanje (bias).
2. **Pravilnost** (trueness) je kvalitativni pojem, ki opisuje “tesnost ujemanja srednje vrednosti večjega števila rezultatov preskušanja merjenja z referenčno vrednostjo” in jo kvantitativno ovrednotimo kot odstopanje (bias). Pravilnost nam daje informacijo o sistematičnih napakah; je obratno sorazmerna z merilnim odstopanjem in obsegom sistematične napake. Merilne točnosti ne smemo zamenjevati z merilno pravilnostjo in obratno.
3. **Natančnost** (precision) je kvalitativni pojem, ki opisuje ujemanje med izmerjenimi vrednostmi, dobljenimi s ponovitvami meritev na istem ali podobnih predmetih pod specificiranimi pogoji. Kvantitativno jo lahko izrazimo le kot njeno nasprotje, tj. kot nenatančnost. Natančnost nam daje informacijo o naključnih napakah in jo običajno navedemo kot standardni odmik (SD) več ponovljenih meritev z uporabo iste metode. SD pogosto izrazimo kot relativni SD/KV [$KV \% = (SD/\bar{x}) \times 100$]. Natančnost razdelimo glede na to, kako izvajamo ponovitve meritev:
 - a. **Ponovljivost** (repeatability) se nanaša na ujemanje rezultatov testa, dobljenih po isti metodi, z istim analitikom, na istem instrumentu, pod istimi pogoji (v eni seriji, “within-run precision”) in na isti lokaciji. Ponovitve izvedemo v kratkem času (8 ur). Ponovljivost predstavlja natančnost, ko so dovoljene najmanjše spremembe. Ker ponovljivost meritve odraža le variacije rezultatov v kratkem času, je verjetno, da se podcenjuje spremenljivost dobljenih rezultatov, kadar se postopek meritve uporablja rutinsko.

b. **Vmesna natančnost** (intermediate precision) se nanaša na ujemanje rezultatov, ki jih dobimo z istim postopkom merjenja v enem samem laboratoriju v daljšem obdobju. Pri tem upoštevamo običajna nihanja delovnih okoliščin, kot so različni tehniki, različna oprema in različni dnevi. Ponovitve meritev vključujejo tudi spremembe zaradi novih kalibracij, novih serijskih števil v proizvodnji reagentov. Vmesna natančnost je torej “within-laboratory, between-run precision” in je tudi pomembno merilo pri overjanju.

Oceno o ponovljivosti merjenja in oceno vmesne natančnosti pridobimo v enem samem laboratoriju.

c. **Obnovljivost** (reproducibility) se nanaša na ujemanje rezultatov, ki jih dobimo po isti metodi; pri tem se upošteva najširše število spremenljivk, s katerimi se srečujemo v realnih laboratorijskih pogojih, tudi z merjenjem v različnih laboratorijih. Obnovljivost torej predstavlja “medlaboratorijsko natančnost”.

4. **Merilna točnost** (accuracy) je kvalitativni pojem, ki opisuje “ujemanje med izmerjeno vrednostjo merjenca in njegovo pravo vrednostjo”. Vključuje tako komponento sistematične in naključne napake. Meritev je bolj točna, če ima manjšo (skupno) napako, bolj pravilna, če je odstopanje manjše, in bolj natančna, če je naključna napaka majhna. Kvantitativni izraz za točnost je **merilna negotovost** in opisuje “razpršenost vrednosti, ki lahko upravičeno prispeva k merjencu”. Merilna negotovost je torej kvantitativni izraz za kakovost merjenja.

Cilj merjenja po “pristopu napake” je, da določimo oceno prave vrednosti, ki je čim bližje eni sami pravi vrednosti. Odklon od prave vrednosti je sestavljen iz naključnih in sistematičnih napak. Napake iz obeh skupin se razlikujejo, zato jih je treba obravnavati drugače. “Pristop napake” pa ne omogoča izpeljave pravila, kako se napake iz obeh skupin v danem merilnem rezultatu združujejo v skupno napako. Ponavadi se oceni le zgornja meja absolutne vrednosti skupne napake (16, 17, 18).

Cilj merjenja po “pristopu negotovosti” pa ni, da merjencu določimo čim bolj pravo vrednost, ampak da mu na podlagi podatkov meritev dodelimo interval razumnih vrednosti. Ta interval temelji na predvidevanju, da je bila meritev izvedena po predpisih. Tudi z najbolj rafinirano meritvijo pa zaradi končnega števila podrobnosti pri definiciji merjenja, intervala ne moremo skržiti na eno samo vrednost (13, 19, 20, 21, 22).

6. MERILNA NATANČNOST

Merilna natančnost je ena pomembnejših meroslovnih lastnosti, ki jo moramo poznati in upoštevati pri izbiri in izvedbi postopka merjenja v kliničnem laboratoriju. Razumevanje te lastnosti preiskovalnega postopka je bistvo pri vpeljavi dovoljenih mej odstopanja notranjih kontrol; te so pomembne za objektivno razlago sprememb med dvema zaporednima vrednostma in izračun negotovosti. Čeprav je ocena odstopanja koristna, pa je odstopanje le ena od komponent merilne negotovosti in ne daje nobenega podatka o tem, kako razpršeni so ponovljeni rezultati. Razpršenost, ki jo imenujemo natančnost in jo lahko merimo le kot **nenatančnost**, nam pokaže, kako dober predstavnik je posamezni rezultat metode pri številnih ponovitvah. Nenatančnost, ki jo običajno izražamo kot standardno deviacijo rezultatov ponovljenih meritev istega vzorca po isti metodi, bolj informativno opišemo z **intervalom zaupanja** pri povprečnem rezultatu.

6. 1. Postopek za oceno nenatančnosti (imprecision)

Pred začetkom preverjanja natančnosti moramo dobro poznati merilni postopek in imeti ustrezne izkušnje z upravljanjem instrumenta. Zagotoviti moramo zadovoljivo kalibracijo merilnega sistema in preveriti, ali je reagentom potekel čas uporabnosti.

Za določitev natančnosti oziroma nenatančnosti lahko uporabimo zbir (pool) vzorcev pacientov ali referenčni material. Če je klinična odločitev blizu meje zaznavnosti (npr. troponin, TSH ali PSA), pa moramo uporabiti zbir vzorcev pacientov. Vzorci morajo biti v času trajanja študije obstojni. Analiziramo jih v dvojniku.

- Zbrane vzorce pacientov pripravimo v dveh ali več klinično pomembnih koncentracijah merjenca. Izključiti moramo vzorce, ki vsebujejo snovi (npr. metaboliti zdravil, hemoglobin pri hemolizi), za katere proizvajalec navaja moteč vpliv. Vzorce shranjujemo v hladilniku, če stabilnost merjenca to omogoča, oziroma po navodilih proizvajalca in se izogibamo zaporednemu zamrzovanju in odmrzovanju.
 - Referenčni material, ki ga uporabljamo za notranjo kontrolo, mora imeti koncentracijo merjenca v dveh ali več klinično pomembnih območjih. Ena vrednost merjenca naj bo v fiziološkem območju, druga naj ima patološko vrednost. Komercialni kontrolni vzorci morajo imeti enake lastnosti kot vzorec pacienta, če je to le mogoče. Proizvajalec mora zamenljivost med referenčnim materialom in vzorci bolnikov predstaviti in dokumentirati.
- a) **Ponovljivost** določimo, ko rezultate meritev pridobimo v eni seriji, v zelo kratkem času, brez kalibracij med meritvami in pod enakimi pogoji ponovljivosti, to pomeni: isti vzorci, isti operater, iste komponente merilnega sistema. Za izpolnjevanje zadovoljivih statističnih kriterijev moramo izvesti najmanj 20 meritev v dvojniku (7, 8, 14, 23). Če dobljeni rezultati za nenatančnost v seriji niso skladni s prejšnjimi rezultati ali rezultati, ki jih navaja proizvajalec, ali rezultati, omenjenimi v literaturi, moramo študijo prekiniti ter najti in odpraviti vzroke neskladja.
- b) **Vmesno natančnost** običajno določimo s pomočjo stabilnih kontrolnih materialov v dveh različnih koncentracijah, rutinsko vsak dan v daljšem času, tj. vsaj v enem letu, po možnosti pa v 2–3 letih. Bistveno je, da v vmesno nenatančnost vključimo čim več virov variacij, tudi reagente različnih serijskih števil, vključenih v zadostnem oziroma ustreznem številu pojavljanj.

Predno izračunamo povprečno vrednost rezultatov, standardni odklik in koeficient variacije rezultatov, moramo ugotoviti prisotnost morebitnih ubežnikov. Rezultata, ki odstopa, ne bomo upoštevali, če

je povezan z dokumentiranimi napakami ali če se je pokazal kot statistični ubežnik. Po odstranitvi ubežnikov, če sploh so, izračunamo nenatančnost. Da ima ocena nenatančnosti večjo moč, lahko izvedemo še dodatne serije, po možnosti v dodatnih dnevih, z enim ali več vzorcev. Možno je tudi, da izvedemo le štiri ponovitve vsakega vzorca v sedmih dneh in tako dobimo nekoliko bolj zanesljivo oceno ponovljivosti v internem laboratoriju.

6. 2. Eksperimentalni model 5 × 5

V dobro zasnovanem modelu poskusa lahko hkrati raziskujemo ponovljivost in vmesno natančnost (6, 7). Model, ki vključuje pet dni in eno serijo na dan ter pet ponovitev v seriji, naj bi prinesel skupaj 25 rezultatov za vzorec. Priporočljivo je, da imamo za vsako koncentracijo na voljo dovolj zbranega materiala in pripravljenih alikvotov. Vzorce moramo pripraviti in shranjevati tako, da je med študijo zagotovljena njihova stabilnost. Pomoč pri tem modelu lahko najdemo na spletni strani www.acb.org.uk/An%20Ver/Measurement%20verification_final_090608.pdf.

- V najmanj petih dnevih izmerimo koncentracijo ene serije vzorcev na dan. Serijo moramo pripraviti iz petih paralelnih vzorcev v dveh ali več koncentracijah. Zaželeno je, da je vzorec istega materiala v petih različnih posodicah. Če moramo serijo zaradi operativnih težav zavriniti, moramo okoliščine zapisati, podatke zavreči in izvesti dodatne serije.
- Analitični pogoji merjenja (npr. serijska številka reagenta ali kalibratorja) se med serijami lahko spreminjajo ali pa ne; s tem simuliramo običajne rutinske operativne postopke. Ko ocenjujemo nenatančnost med serijami pri različnih analitičnih pogojih, določujemo vmesno nenatančnost.
- S pomočjo statističnega programa in uporabe analize variance (ANOVA) ocenimo netočnost v seriji in med serijami. Upoštevati moramo, da so bile proizvajalčeve trditve lahko pridobljene v obsežnejši študiji (8). Za boljšo oceno nenatančnosti lahko izvedemo še dodatne serije, po

možnosti v dodatnih dnevih, z enim ali več vzorcev. V tem eksperimentalnem modelu ne sme biti manj kot pet dni na vzorec. Če uporabljamo iste vzorce in poskus za istočasno oceno natančnosti in odstopanje, potem moramo izvesti pet ponovitev v vsaki seriji.

Če v opisanem modelu 5×5 za oceno natančnosti uporabljamo referenčni material, lahko istočasno določimo tudi odstopanje. To pomeni, da z analiziranjem referenčnega materiala v petih ali več (ne nujno zaporednih) dneh, z eno serijo na dan in petimi ponovitvami v seriji dobimo skupaj 25 rezultatov na vzorec, ob predpostavki, da ni manjkajočih vrednosti in se rezultati ne obravnavajo kot statistični ubežniki. Za ocenjevanje odstopanja pa moramo poznati dva podatka, povprečno vrednost in povprečje merilne negotovosti.

7. MERILNO ODSSTOPANJE

Za oceno točnosti kvantitativnega merilnega postopka moramo ovrednotiti dve komponenti; pravilnost in natančnost. Merilna pravilnost izraža hipotetično sposobnost merilnega postopka, da dobimo rezultat blizu prave, referenčne vrednosti, npr. vrednosti referenčnega materiala (RM). Pravilnost je v obratnem sorazmerju s sistematično napako merjenja, ki jo lahko ocenimo kot odstopanje. Ocena odstopanja (razlike med izmerjeno in pravo vrednostjo) je eden najtežjih elementov overjanja in validacije merilnega postopka.

Razlogov za odstopanje je v klinični kemiji lahko več in se razlikujejo tudi med merilnimi metodami (24). Vzroki so lahko:

- nepravilen odvzem vzorca, nestabilnost vzorca med transportom ali shranjevanjem, napake pri pripravi kalibratorja, uporaba kalibratorja z matriksom, ki se razlikuje od matriksa vzorcev (npr. liofilizirani stabilni materiali za notranjo kontrolo kakovosti ali programe medlaboratorijskega testiranja);
- vpliv motečih snovi v vzorcu, npr. hemoglobina in bilirubina, ali prisotnost velikih koncentracij proteinov ali lipidov v vzorcu: Proizvajalci za študij validacije pogosto uporabljajo

vzorci zdravih preiskovancev in pravi vplivi motečih snovi so popolnoma razvidni šele, ko so metode v celoti uvedene v rutinsko delo in pri spremljanju hudo bolnih pacientov;

- v vzorcu prisotne molekule, ki med merjenjem interferirajo z reagenti; tako se npr. heterofilna protitelesa pogosto uporabljajo v imunokemijskih reakcijah.

Ko ocenjujemo odstopanje, je pomembno, da imamo na razpolago primeren referenčni material v zadostni količini in po razumni ceni! Referenčni material mora obvezno:

- imeti znano koncentracijo merjenca z dovolj majhno merilno negotovostjo,
- pokrivati klinično pomembno koncentracijsko območje in
- imeti primeren matriks za metodo, ki se preverja.

Za oceno odstopanja merilnega postopka moramo dobljeno povprečno vrednost primerjati s pravo vrednostjo. V kliničnem laboratoriju kot pravo vrednost uporabljamo predvsem:

- vrednost, pripisano referenčnem materialu,
- dogovorno vrednost, sprejeto s soglasjem (konsenzom) v programu zunanje ocene kakovosti,
- vrednost, pridobljeno s postopkom referenčne meritve.

Merilno odstopanje lahko ocenimo s pomočjo vzorcev z znano pravo vrednostjo. Ocenimo ga lahko z referenčnim materialom (RM), z naravnimi vzorci pacienta (npr. plazma, serum ali urin), merjenimi z referenčno metodo, ali z naravnim vzorcem, ki smo mu dodali znano koncentracijo analita (25).

Referenčni standardi spadajo med standarde z največjo meroslovno kakovostjo, priznavajo jih strokovne organizacije, npr. IFCC, Inštitut za referenčne materiale in meritve (Institute for Reference Materials and Measurement, IRMM), Nacionalni inštitut za standarde in tehnologijo (National Institute of Standards and Technology, NIST) ter Skupni odbor za sledljivost v laboratorijski medicini (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine, JCTLM). JCTLM,

ustanovljen leta 2002, objavlja seznam referenčnih materialov višjega razreda, referenčne metode in referenčne laboratorije <http://www.bipm.org/jctlm/>. Cilj JCTLM je podpirati primerljivosti, zanesljivost in enakovrednost rezultatov meritev v kliničnih laboratorijih za izboljšanje zdravstvenega varstva v svetovnem obsegu.

Certificirani referenčni materiali (CRM), ki imajo enake lastnosti kot vzorec pacienta, so na voljo le za omejeno število analitov, na primer CRM 470 za proteine. Vrednosti, pripisane nekaterim referenčnim materialom, lahko štejemo kot dogovorjene prave vrednosti.

Nekatera podjetja ponujajo materiale, ki niso certificirani, imajo pa nominalno pripisano vrednost in negotovost. Večina referenčnih materialov za rutinsko uporabo v laboratoriju ni primerna zaradi nestabilnosti, razpoložljivosti, visoke cene in zamenljivosti materiala.

Proizvajalec referenčnega materiala mora uporabniku posredovati in zagotavljati podatke o vrednosti analita, njegovi sledljivosti in merilni negotovosti (26, 27, 28, 29, 30). Skupaj z vrednostjo negotovosti, ki je izražena kot standardna ali razširjena negotovost, mora opredeliti tudi uporabljeni faktor zajetja (20, 22).

Referenčni material, ki ga uporabimo za oceno odstopanja, mora biti povsem neodvisen od materiala, ki ga uporabljamo za kalibracijo instrumenta/metode!

Za oceno odstopanja lahko uporabimo enega ali več načinov.

7. 1. Postopek z referenčnim materialom

V laboratoriju lahko ocenimo odstopanje merilnih rezultatov z RM, ki ga pripravijo meroslovni inštituti ali druge organizacije z visoko stopnjo meroslovne pristojnosti. Pomembno je, da uporabljamo ustrezen referenčni material glede na matriks in koncentracijsko območje. Proučiti moramo najmanj dve različni koncentraciji, ki sta po možnosti blizu klinično pomembnih vrednosti odločanja. Vrednosti referenčnih materialov izmerimo večkrat pod ponovljivimi pogoji ali po vmesnih pogojih natančnosti in izračunamo povprečne vrednosti. Ocena odstopanja je potem razlika med pridobljeno povprečno vre-

dnostjo in referenčno vrednostjo. Upoštevati moramo, da bo merilna negotovost povezana z vrednostjo odstopanja zaradi negotovosti srednje in referenčne vrednosti.

- Koncentracijo analita izmerimo v dvojniku ob treh do petih različnih priložnostih.
- Izračunamo srednjo vrednost in standardni odklon vseh meritev.
- Primerjamo z vrednostjo referenčnega materiala in ocenimo odstopanje.
- S Studentovim t-testom ocenimo statistično pomembnost razlike.

7. 2. Referenčni postopek

Koncentracije analita v vzorcih pacienta (npr. plazma, serum ali urin), izmerjene v laboratoriju z našim postopkom, primerjamo s koncentracijami, dobljenimi v istih vzorcih, s sledljivo referenčno metodo. Zaradi stroškov ali tehničnih omejitev je referenčnih metod na voljo le malo, predvsem so v univerzitetnih laboratorijih ali v velikih komercialnih laboratorijih.

7. 3. Sodelovanje v programu zunanje ocene kakovosti

Odstopanje lahko določimo tudi z merjenjem koncentracije ustreznih analitov v vzorcih za zunanjo oceno kakovosti (external quality assessment, EQA). Cilj zunanje ocene kakovosti je, da ocenimo točnost našega rezultata s primerjanjem rezultatov različnih laboratorijev. Večina programov EQA uporablja kontrolne vzorce, ki so modificirani in niso vedno zamenljivi s kliničnimi vzorci (29, 30). Prave vrednosti v številnih vzorcih EQC so največkrat dogovorne privzete vrednosti, dobljene iz rezultatov sodelujočih laboratorijev. To včasih privede do navidezno napačnih rezultatov za posamezni laboratorij. Bolje je, da EQA uporablja kontrolne vzorce, katerih vrednosti temeljijo na primerjavi z referenčnimi metodami (27, 28, 29).

- Laboratoriji v kontrolnem vzorcu programa EQC izmerimo koncentracijo analita v dvojniku. Organizator programa zbere rezultate laboratorijev in nato statistične izračune posreduje

sodelujočim laboratorijem. Poznati moramo standardni odklon, ki označuje raztros rezultatov med sodelujočimi laboratoriji. Na splošno velja, da naj bo v skupini minimalno 10 udeležencev, zaželeno je, da jih je 20 ali več (24, 31, 32).

- Odstopanje ocenimo v kontrolnih vzorcih z različnimi koncentracijami, najmanj 7–10 udeležb v EQA. Odstopanje ocenimo z izračunom razlike povprečja med našo metodo in povprečjem vrednosti rezultatov, izmerjenih v primerjalni skupini laboratorijev EQA.

7.3.1 Postopek za oceno odstopanja z uporabo kontrolnih vzorcev iz shem za zunanjo oceno kakovosti

Od organizatorjev zunanje ocene kakovosti lahko pridobimo vzorce s pripadajočimi rezultati. Srednja vrednost, standardna napaka povprečja in podrobnejši opis metod morajo biti priloženi.

7. 4. Standardni dodatek referenčnega materiala v naravnem vzorcu

Naravnemu vzorcu dodamo analit znane koncentracije. Nato izmerimo koncentracijo analita v vzorcu z dodatkom in brez njega; primerjamo dobljene vrednosti in izračunamo izkoristek. Postopek je tehnično zelo zahteven, uporabljajo ga predvsem proizvajalci (33).

7. 5. Ocena odstopanja (bias) s serumi pacientov

Merjenje odstopanja meritev glede na prejšnjo ali alternativno laboratorijsko metodo moramo izvesti s primerjavo vzorcev bolnikov v dvojniku. S tem pristopom ne dobimo informacije, katera od obeh metod glede na referenčno metodo je boljša (34, 35).

- Pridobimo vsaj 20 vzorcev bolnikov s koncentracijami v klinično pomembnem koncentracijskem območju v merilnem intervalu metode. Vzorce, ki vsebujejo snovi, za katere proizvajalec navaja, da so moteči (npr. metaboliti zdravil, hemoglobin), moramo izključiti.

- Meritev koncentracije v vzorcu izvedemo po možnosti v dvojniki, tako s testnim kot tudi primerjalnim postopkom. Meritve moramo opraviti v kratkem časovnem intervalu, ob upoštevanju stabilnosti merjenca pri zahtevah za shranjevanje. Priporočljivo je, da za meritve v dvojniki nalijemo vsak vzorec v ločeni posodici; instrument naj ne vzame vzorec dvakrat iz iste posodice.
- Izračunamo srednjo vrednost meritev dvojnika in jo uporabimo pri primerjavi.
- Med dvema uporabljenima metodama pripravimo diagram razlik.
- Izračunamo, ali med metodama obstaja statistično pomembna razlika.
- Če dokažemo pomembno odstopanje, potem ocenimo njegovo klinično pomembnost na ustreznih ravneh odločanja. Klinično pomembno odstopanje moramo potrditi z dodatnimi podatki o primerjavah bolnikov pri drugih uporabnikih ali proizvajalcu. Odstopanje lahko potrdimo z razširjeno študijo s 40 vzorci, merjenimi v dvojniki. Tako pridobljene informacije lahko uporabljamo za odločitev, ali bomo spremenili referenčni interval.

8. LINEARNOST

Preverjanje linearnosti preiskovalnega postopka ni zahteva za overjanje, je pa priporočljivo, da potrdimo proizvajalčeve navedbe o koncentraciji, do katere redčenje ni potrebno. Pri večini merilnih postopkov je razmerje med koncentracijo in odzivom aparata linearno, vendar je preverjanje linearnosti še posebej pomembno pri imunokemijskih postopkih za analite, ki občasno presegajo merilni interval, npr. hormoni, tumorski označevalci in encimi. Pri zelo velikih koncentracijah analita se lahko pojavi prozonski učinek; v reakciji ostaja višek analita, ki ni vstopil v kompleks analit-protitelo. Posledica je lažno zmanjšana vrednost preiskovanega analita, ki je lahko celo znotraj referenčnih vrednosti.

Nelinearnost lahko povzroči velike napake predvsem zaradi napačne nastavitve programske opreme ali uporabe neprimernih razredčil. Preverjanja izvedemo pod rutinskimi pogoji ob predvidevanju, da je linearnost merjenja v intervalu, ki ga je določil proizvajalec. Na voljo moramo imeti natančen postopek razredčevanja vzorcev, ustrezen diluent in razmerja redčenja (33, 36).

8. 1. Koncentracija merjenja je višja od vrednosti, za katero proizvajalec ne priporoča redčenja

- Poiščemo pacientov vzorec v katerem je koncentracija merjenja večja od vrednosti, za katero proizvajalec priporoča redčenje, in manjša od vrednosti, pri kateri se pojavi prozonski učinek.
- Na instrumentu postavimo nastavitve, da izvede tri različne razredčitve, in izmerimo koncentracijo v dvojniku.
- Po priporočilih proizvajalca z umerjeno pipeto simuliramo razredčitve vzorcev, kakor bi jih naredil instrument. Umerjene pipete, ki jih uporabljamo za prenos volumna, manjšega od 25 μL , lahko prispevajo k negotovost pri ročnem redčenju.
- V dvojniku izmerimo koncentracijo ročno razredčenega vzorca po postopku, kot ga priporoča proizvajalec.
- Koncentracije, dobljene z ročnim redčenjem, definiramo kot “pričakovane”, razredčitve, ki jih naredi instrument, pa kot “opazovane”. Primerjamo razliko dveh srednjih vrednosti na vsakem koncentracijskem nivoju: $\% \text{ razlike} = \left[\frac{\text{pričakovana konc.} - \text{dobljena konc.}}{\text{pričakovana konc.}} \right] \times 100$.
- Če povprečja med seboj niso manjša kot 15 %, moramo poiskati vzrok in postopek po potrebi ponoviti. Če je ponovitev potrebna, se o rezultatu pogovorimo s proizvajalcem.

Če v obdobju overjanja nimamo na voljo ustreznih vzorcev bolnikov, lahko postopek odložimo, dokler med običajnim delovanjem ne nalletimo na tak vzorec.

8. 2. Koncentracija merjenca je v mejah merilnega intervala

Potrebujemo najmanj pet vzorcev, še bolje deset, s koncentracijo analita v razponu merilnega intervala. V vsakem vzorcu naredimo pet ponovitev. Vzorec z veliko koncentracijo analita serijsko razredčimo z vzorcem, ki ima ustrezen matriks. Za ta namen lahko uporabimo komercialno dostopne vzorce. Za začetno oceno linearnosti pripravimo razsewni diagram in linearno regresijo odziva v odvisnosti od koncentracije. Pripravimo tudi diagram razlik (Bland-Altmanov diagram) (33, 14).

9. ZAKLJUČEK

Zanesljivost laboratorijskih rezultatov je za oskrbo pacienta izredno pomembna. Rezultati morajo biti pravilni in natančni, da omogočajo pravo klinično interpretacijo in pravilno primerjavo s prejšnjimi ali kasnejšimi rezultati ter rezultati med laboratoriji zdravstvenih ustanov. Kvantitativna ocena točnosti rezultata je bistvena za stopnjo zupanja vanj, od tega pa je odvisna zanesljivost odločitve, ki temelji na tem rezultatu.

Preden uvedemo preiskovalni postopek in aparat v redno rutinsko delo kliničnih laboratorijev, moramo izvesti overjanje. Podatke, dobljene v postopku overjanja, moramo primerjati s proizvajalčevimi trditvami in zahtevami ter tako preveriti, ali je mogoče izvedbo uspešno ponoviti. S tem preverimo, ali uspešnost delovanja izpolnjuje minimalne zahteve o kakovosti.

Prikazani načrt študije overjanja je za uporabnika kompromis med stroški, ki so povezani s časom in materiali, ter tveganjem za pridobitev izračuna neustrezne ali zavajajoče ocene analiznega postopka. Ponovljivost in vmesno natančnost lahko ocenimo z ločenima eksperimentoma ali z integriranim pristopom; ta pri oceni ponovljivosti ponuja pomembne prednosti v smislu učinkovitosti, računske strogoosti in robustnosti. Oceno odstopanja, ki je eden najtežjih elementov overjanja, najenostavneje pridobimo iz rezultatov in podatkov EQC.

Laboratorij mora imeti dokaze, da so rezultati testov zanesljivi in da obstajajo trditve o pravilni izvedbi. Temeljita dokumentacija, ki jo mora med postopkom overjanja voditi laboratorij, je zato pomembna zlasti med postopkom akreditacije in za pridobitev dovoljenja za delo.

Če bomo na področju klinične kemije v celoti sprejeli in dosledno upoštevali sporazume in temeljne dokumente o meroslovju, bomo naredili velik korak naprej.

V medicinskih laboratorijih nam postopki overjanja omogočajo načrtovanje izboljšave kakovosti našega dela in s tem varno obravnavo pacientov.

10. LITERATURA

1. Uradni list Evropske unije. Direktiva 98/79/ES Evropskega parlamenta in sveta z dne 27. oktobra 1998 o *in vitro* diagnostičnih medicinskih pripomočkih. Dosegljivo na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/?uri=celex:31998L0079>. Dostop: 15. januar 2016.
2. SIST EN ISO 15189 Medicinski laboratoriji – Zahteve za kakovost in kompetentnost (ISO 15189:2012).
3. JCGM. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM 3): Bureau International des Poids et Mesures, 3rd ed. 2012. Dosegljivo na: http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf. Dostop: 15. januar 2015.
4. Magnusson B, Oernmark U. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Available from www.eurachem.org. Eurachem 2014.
5. Burnett D. Measurement verification in the clinical laboratory: A guide to assessing analytical performance during the acceptance testing of methods (quantitative examination procedures) and/or analysers. London: The Association for Clinical Biochemistry 2010. Dosegljivo na: www.acb.org.uk/An%20Ver/David%20Burnett%20Editorial.pdf. Dostop: 15. januar 2016.
6. CLSI. User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
7. Khatami Z, Hill R, Sturgeon C, Kearney E, Breadon P, Kallner A. Measurement verification in the clinical laboratory: A guide to assessing analytical per-

formance during the acceptance testing of methods (quantitative examination procedures) and/or analysers. London: The Association for Clinical Biochemistry. Dosegljivo na: <http://www.acb.org.uk/docs/default-source/committees/scientific/guidelines/>. Dostop: 15. januar 2015.

8. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
9. CLSI. Training and Competence Assessment; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document QMS03-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
10. CLSI. A Framework for using CLSI Documents to Evaluate Clinical Laboratory Measurement Procedures. 2nd ed. CLSI report EP19. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
11. ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (ISO/IEC 17025:2005).
12. ISO/IEC 17043:2010. Conformity assessment – General requirements for proficiency testing (ISO/CASCO 17043:2010).
13. Topić E, Nikolac N, Panteghini M, Theodorsson E, Salvagno GL, Miler M, Simundić A, Infusino I, Nordin G, Westgard S. How to assess the quality of your analytical method? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1707–19.
14. Theodorsson E. Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry. *Bioanalysis* 2012;4:305–20.
15. Berwouts S, Morris MA, Dequeker E. Approaches to quality management and accreditation in a genetic testing laboratory. *Eur J Hum Genet.* 2010;18:1–19.
16. Menditto A, Patriarca M, Magnusson B. Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. *Accredit Qual Assur* 2007;12: 45–7.
17. CLSI. Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Measurements Procedures; Approved Guideline-Third Edition, CLSI document EP10-A3-AMD. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
18. CLSI. Evaluation of Total Analytical Error for Quantitative Medical Laboratory Measurement Procedures. 2nd ed. CLSI guideline EP21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.
19. Dybkaer R. From total allowable error via metrological traceability to uncertainty of measurement of the unbiased result. *Accredit Qual Assur* 1999;4:401-5.
20. CLSI. Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline. CLSI document EP29-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

21. Panteghini M. Application of traceability concepts to analytical control may reconcile total error with uncertainty of measurement. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:7–10.
22. JCGM. Evaluation of measurement data. Guide to the expression of uncertainty in measurement. JCGM 100:2008, GUM 1995 with minor corrections. Available at: http://www.bimp.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf Joint Committee for Guides in Metrology; 2008. Dostop 15. januar 2016.
23. Alvarez SI, Bernabeu AF. Procedures for Validation of Diagnostic Methods in Clinical Laboratory Accredited by ISO 15189. In: Eldin AB, editor. *Modern Approaches To Quality Control*, 2011;209-29. Dosegljivo na: <http://www.intechopen.com/books/modern-approaches-to-quality-control>. Dostop: 15. januar 2016.
24. Theodorsson E, Magnusson B, Leito I. Bias in clinical chemistry. *Bioanalysis* 2014;6: 2855–75.
25. Fuentes-Arderiu X, Rigo-Bonnin R. Metrological reference values for estimating measurement bias in clinical laboratory sciences. *Accred Qual Assur* 2012;7:549–51.
26. Siekmann L. Metrological traceability – a concept for standardization in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:953–7.
27. Braga F, Infusino I, Panteghini M. Role and responsibilities of laboratory medicine specialists in the verification of metrological traceability of *in vitro* medical diagnostics. *J Med Biochem* 2015;34:282–7.
28. Panteghini M. Traceability as unique tool to improve standardization in laboratory medicine. *Clin Biochem* 2009;42:236–40.
29. CLSI. Evaluation of Commutability of Processed Samples; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP14-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
30. Miller WG, Myers GL, Rej R. Why commutability matters. *Clin Chem* 2006;52:553–4.
31. Friedecky B, Kratochvila J, Budina M. Estimation of trueness of measurement results obtained in external quality assessment. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:489–90.
32. Dallas Jones GR. Analytical performance specifications for EQA schemes-need for harmonisation. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:919–24.
33. CLSI Establishing an Extended Measuring Interval Through Sample Dilution and Spiking (Proposed Draft). CLSI guideline EP34. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

34. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
35. CLSI. Using Proficiency Testing and Alternative Assessment to Improve Medical Laboratory Quality; Third Edition-Draft Guideline. CLSI document GP27 (Proposed Draft). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
36. Kallner A. Laboratory Statistics: Handbook of Formulas and Terms, 1st ed. Amsterdam: Elsevier, Netherlands 2014:xiv,139.
37. Grubbs FE. *Procedures for Detecting Outlying Observation in Samples. Technometrics. 1969;11:1–21.*
38. Dixon WJ. Analysis of extreme values. *Ann Math Stat* 1950; 21: 488–506.
39. Lee JH, Choi JH, Youn JS, Cha YJ, Song W, Park AJ. Comparison between bottom-up and top-down approaches in the estimation of measurement uncertainty. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1025–32.
40. Slovenska akreditacija. Smernice EA za izražanje merilne negotovosti pri kvantitativnem preskušanju: prevod EA- 4/16, 2007. Dokument OA10. Slovenska akreditacija, 2007.
41. White GH. Basics of Estimating Measurement Uncertainty. *Clin Biochem Rev.* 2008;29:53–60.

11. PRILOGI

11.A Odkrivanje rezultata, ki odstopa

Pred statistično obdelavo rezultatov moramo ubežnike ali napačne rezultate, ki signifikantno odstopajo od preostalih, odkriti in jih izločiti, ker lahko zelo vplivajo na izračun točnosti in natančnosti meritev. V idealnih razmerah jih odkrijemo že pri zbiranju podatkov in z grafičnimi prikazi.

Obstaja več primernih statističnih testov, s katerimi lahko za neki rezultat potrdimo, da je ubežnik (36, 37, 38). Smernice CLSI predlagajo Grubbsov test, imenovan tudi ESD-test (extreme studentized deviate). Ta test temelji na predvidevanju, da je porazdelitev podatkov normalna (po Gaussu), zato moramo pred njegovo uporabo najprej preveriti, ali je ta pogoj izpolnjen. Normalnost porazdelitve lahko preverimo grafično in s statističnimi testi.

Z Grubbsovim testom določimo z enkratnim izračunom le enega ubežnika; tega izbrišemo iz nabora podatkov in test ponovimo. Statistično analizo podatkov moramo izvesti dvakrat, pred izločitvijo rezultata, ki ga obravnavamo kot statističnega ubežnika, in potem.

Možno je, da nam na videz ekstremni rezultat predstavlja uspešnost preizkusa. Ta rezultat ne bi bil tako neskladen, če bi ga gledali v porazdelitvi obsežnejše študije. Če ubežnika ohranimo, lahko tvegamo, da dobimo pri izračunu napihnjene ocene nenatančnosti, z njegovo izključitvijo pa tvegamo izračun s pretirano optimistično oceno.

Grubbsov test izvedemo s pomočjo statističnega programa, ki je dostopen na spletu: <http://graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>.

- Izberemo stopnjo zaupanja, ki se uporablja za odkrivanje ubežnikov. Značilni vrednosti sta 0,05 ali 0,01.
- Iz porazdelitve diagrama podatkov in pregleda nabora podatkov ugotovimo morebitni zmotni rezultat. Kot ubežnike lahko označimo do 5 % rezultatov vzorcev. Pri izračunu števila potencialnih ubežnikov v višini stopnje 5 % zaokrožimo dobljeno število vedno navzdol na celo število, npr. pri 44 vzorcih bo število ubežnikov enako 2, pri 113 vzorcih pa 5.

- Če opazimo več ubežnikov, moramo študijo preverjanja natančnosti oziroma odstopanja ponoviti in se za podporo obrniti na proizvajalca.
- Kakšna je naša odločitev o rezultatu, ki odstopa, moramo dokumentirati v poročilu.

11.B Merilna negotovost

Glavni dokument o merilni negotovosti (measurement uncertainty) je Vodilo za izražanje merilne negotovosti (Guide to the expression of uncertainty in measurement, GUM) (22). Dokument je bil objavljen leta 1993 po dolgoletnih razpravah in posvetovanjih različnih mednarodnih organizacij za standardizacijo in meroslovje. Pri nastajanju vodila je sodeloval tudi IFCC. Obvezna je za referenčne merilne laboratorije za pridobitev in/ali ohranitev akreditacije po standardih ISO 17025:2003 in ISO 15195:2005 in za klinične laboratorije za pridobitev akreditacije po standardu ISO 15189:2012 (11). Mednarodni slovar za meroslovje (VIM) definira merilno negotovost kot “nenegativen parameter, povezan z merilnim rezultatom, ki označuje raztros vrednosti, ki jih je mogoče upravičeno pripisati merjencu”. Ocena merilne negotovosti pri kvantitativnem preskušanju mora biti skladna z vodilom GUM. Merilna negotovost je lastnost merilnega rezultata in ne metode.

Na rezultat merjenja vplivajo vsi viri pred meritvijo in tudi po njej. K negotovosti rezultata prispevajo zbiranje in priprava vzorcev, kalibratorji ali referenčni materiali, razmere v okolju, stabilnost vzorca in različni izvajalci meritve. Negotovosti pred meritvijo in po njej težko pravilno obravnavamo in ocenimo, zato jih moramo zmanjšati s strogim upoštevanjem standardiziranih postopkov (npr. priprava bolnika, usposabljanje osebja, zbiranje, transport in shranjevanje vzorca ter termini za merjenje). V merilno negotovost moramo vključiti edino vire negotovosti, ki se strogo nanašajo samo na merilni proces (analitično fazo), ko se vzorec da v analizo in konča z izmerjeno vrednostjo merilnega rezultata. Opozoriti je treba, da koncept merilne negotovosti predvideva, da se meritve izvajajo v skladu z ustreznim postopkom in brez zmot ali drugih tehničnih neskladnosti.

Obstajata dva pristopa za oceno merilne negotovosti, t. i. pristop “od spodaj navzgor” (**bottom-up**) in pristop “od zgoraj navzdol” (**top-down**).

- Pristop “od spodaj navzgor”, predlagan v vodilu GUM, je matematično zapleten model, ki temelji na obširnem razrezu merilnega postopka. Pri tem se vsak potencialni vir negotovosti ugotovi, opredeli in ovrednoti s standardnim odmikom oziroma standardno negotovostjo. Standardna negotovost (standard uncertainty, u) je po definiciji negotovost rezultata meritve izražena kot standardni odmik. Standardne negotovosti vseh posameznih virov negotovosti se nato združijo v skladu s primernimi pravili (zakon o širjenju negotovosti, law of propagation of uncertainty), tako da dajo kombinirano standardno negotovost (combined standard uncertainty, u_c) (22). Ta model so v celoti sprejele mednarodne meroslovne organizacije in dobavitelji referenčnih materialov (4). Uporabljajo ga za referenčne merilne postopke v akreditiranih laboratorijih. Metodologija je pogosto primerna za proizvajalce, ki želijo posamezne vire odstopanja identificirati, oceniti in zmanjšati njihov vpliv k odklonom.
- Uporaba GUM-a pri rutinskih merilnih postopkih v medicinskih laboratorijih ni enostavna, ocenitev negotovosti je lahko zelo zahtevna, zato je naletela na številne praktične probleme in nasprotovanja (39, 40). Poleg tega morajo biti težavnost, zapletenost in stroški pridobivanja ocene merilne negotovosti sorazmerni z zahtevami kakovosti, ki veljajo za klinično uporabnost rezultatov. Merilne instrumente in reagente za laboratorijsko medicino običajno zasnujejo proizvajalci kot “črne skrinjice” in s tem izključijo končnega uporabnika, da bi nadzoroval ali meril posamezne komponente, ki vplivajo na postopek merjenja, in jih združeval po pristopu od spodaj navzgor. V medicinskih laboratorijih lahko za oceno merilne negotovosti rezultatov uporabljamo t. i. princip od zgoraj navzdol, ki ga je potrdil tudi GUM.

Merilna negotovost je relativno nov model kvantifikacije merilne variabilnosti v medicinskih laboratorijih. Določa nekoliko drugačno gledanje na merilni rezultat kot tradicionalni “model napak”.

Obe komponenti skupne napake, sistematično in naključno napako, lahko kvalitativno opišemo kot natančnost in pravilnost in ju izmerimo oziroma kvantitativno izrazimo kot standardni odmik in odstopanje (bias). V “modelu napake” sta obe vrsti napake definirani z enim terminom, znanim kot skupna napaka (total error). Model “napake” tako v svojih izračunih vključuje odstopanje.

Merilna negotovost pa na drugačen način kombinira sistematične in naključne napake. Osrednje načelo pristopa merilne negotovosti je, da če je odstopanje (bias) znan in pomemben, potem ga mora laboratorij odpraviti ali zmanjšati. Obstaja več postopkov, po katerih bi to dosegli: ali s ponovnim umerjanjem, dodajanjem korekcijskega faktorja ali s konstanto ob rezultatu. Nasprotno od pristopa napake pa pristop po merilni negotovosti priznava, da je pravo vrednost odstopanja nemogoče določiti. Če je odstopanje veliko in se popravi, potem pristop merilne negotovosti določa, da se mora oceniti tudi negotovost, povezana s popravkom odstopanja, in jo je treba dodati h kombinirani negotovosti. To pa poveča negotovost rezultata, vendar ostaja sporočeni rezultat nespremenjen.

Podatke o oceni odstopanja kontrolnega vzorca in referenčnega materiala lahko uporabimo za določitev merilne negotovosti rezultata. Velja, da lahko rezultat merjenja obsega dve negotovosti: negotovost zaradi naključnih učinkov ($u_{\text{nenatančnost}}$) in negotovost zaradi eventualnega popravka odstopanja ($u_{\text{odstopanje}}$). Obe negotovosti sta izraženi kot SD, ki v kombinaciji zagotavljata kombinirano standardno negotovost merilnega postopka (u_{postopek}). Kombinirana standardna negotovost (combined standard uncertainty, u_c) rezultata je standardni odmik, enak kvadratnemu korenu celotne variance, ki ga dobimo s kombinacijo vseh komponent negotovosti, ovrednotenih z upoštevanjem zakona o širjenju negotovosti (law of propagation of uncertainty). Da dobimo razširjeno merilno negotovost (expanded uncertainty, U), ki je po definiciji interval, v katerem se nahaja rezultat z določeno stopnjo zaupanja, moramo kombinirane standardne negotovosti pomnožiti s faktorjem pokritja k . Izbira faktorja k je odvisna od stopnje zaupanja (za stopnjo zaupanja 95 % je pri normalni porazdelitveni funkciji $k = 2$).

Merilna negotovost nam tako omogoča kvantitativno oceno zanesljivosti rezultata.

