

Opakovateľnosť a reprodukovateľnosť vyhodnotená v ELISA súpravách firmy BIOGEMA v.d., Košice za rok 2016

Orendáš P., Mihaliková K., Šiváková V., Kankulová M., Hudáková T.,
BIOGEMA v.d., Košice

ELISA súpravy firmy BIOGEMA v.d., Košice sú založené na princípe nepriamej ELISA metódy na stanovenie špecifických protilátok v sére. Získané výsledky sú v laboratórnej medicíne odhadom skutočnej koncentrácie a nemôžu predstavovať vlastnú exaktnú hodnotu bez znalosti pridružených údajov - *neistota výsledku*.

Neistota merania je nezáporný parameter charakterizujúci rozptýlenie hodnôt veličiny priradených k meranej veličine na základe použitej informácie. Jej prítomnosť znamená, že výsledok merania nie je bod (jedna hodnota), ale interval (oblasť, v ktorej sa výsledok merania nachádza s určitou pravdepodobnosťou).

Neistota je kvantitatívnym ukazovateľom výsledku a demonštruje metrologickú kvalitu výsledku merania. Zároveň zlepšuje porozumenie analytického procesu a umožňuje porovnávať výsledky meraní. Bez znalosti neistoty nie je možné odhadnúť spoľahlivosť výsledku pri jeho použití v klinickej praxi.

Cieľ práce:

Informovať o čiastkových neistotách merania v súpravách ELISA firmy Biogema v.d., Košice.

Metóda:

Presnosť stanovenia

Presnosť stanovenia možno definovať ako zhodu výsledkov súboru opakovaných meraní tej istej vzorky. Vyjadruje sa smerodajnou odchýlkou (SD) a variačným koeficientom (CV). Pre výpočet platia vzťahy:

$$SD = \left(\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right)^{1/2} \quad (1) \quad CV = \frac{SD}{\bar{x}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (2)$$

\bar{x} - priemerná hodnota koncentrácie stanovovanej látky vo vzorke vypočítaná z n replikátov tej istej vzorky

x_i - nameraná hodnota koncentrácie stanovovanej látky vo vzorke

Opakovateľnosť (intra assay) - variačný koeficient CV sme vypočítali pre štyri interné kontrolné séra, ktoré sme stanovili v jednej súprave v 16 replikátoch.

Reprodukovateľnosť (inter assay) - variačný koeficient CV sme vypočítali na základe hodnôt štyroch interných kontrolných sér, ktoré sme stanovili v dvoch výstupných kontrolách každej vyrobenej šarže v roku 2016.

Odhad podielu dielčích neistôt sme vypočítali podľa vzorcov:

Na základe vypočítaných hodnôt reprodukovateľnosti sme stanovili $u_{r \text{ repro}}$.

- Na výpočet sme použili variačné koeficienty (2).

$$u_{r \text{ repro}} = \left(\frac{\sum (CV)^2}{n} \right)^{1/2} \quad (3)$$

n – počet stanovení

- Na základe vypočítaných hodnôt opakovateľnosti sme stanovili $u_{r \text{ opak}}$ podľa vzorca (3).

Kombinovaný odhad dielčích neistôt sme vypočítali podľa vzorca:

$$U_{r \text{ tot}} = (u_{r \text{ repro}}^2 + u_{r \text{ opak}}^2)^{1/2}$$

Výsledky:

Tabuľka 1:

Opakovateľnosti a reprodukovateľnosť kvantitatívnych ELISA súprav

	Opakovateľnosť				Reprodukovateľnosť			
Milk IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	22	22	22	22
Priemer U/ml	10,53	22,63	29,88	36,37	9,26	22,89	30,54	42,35
SD U/ml	0,79	1,33	2,25	1,76	1,66	3,67	3,11	4,77
C.V. %	7,55	5,90	7,55	4,83	17,97	16,04	10,18	11,27
Milk IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	22	22	22	22
Priemer U/ml	10,11	21,14	31,45	41,26	10,23	20,71	30,62	44,15
SD U/ml	0,72	1,12	2,32	2,60	1,03	2,26	4,65	6,21
C.V. %	7,11	5,29	7,38	6,31	10,08	10,09	15,20	14,06
Milk IgM	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	10	10	10	10
Priemer U/ml	36,65	26,01	19,84	11,79	40,59	25,44	17,31	10,49
SD U/ml	1,26	1,66	0,99	0,43	3,22	2,07	0,94	0,67
C.V. %	3,42	6,40	4,97	3,66	7,93	8,15	5,45	6,37
Gliadín deamid. IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	17	17	17	17	14	14	14	14
Priemer U/ml	9,06	13,70	25,26	38,97	9,53	13,35	24,75	42,11
SD U/ml	0,38	0,60	0,64	1,58	0,37	0,57	1,21	2,13
C.V. %	4,25	4,35	2,50	4,04	3,87	4,29	4,91	5,06
Gliadín deamid. IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	18	18	18	18	14	14	14	14
Priemer U/ml	9,79	21,96	26,72	38,94	9,71	20,29	26,34	37,02
SD U/ml	0,38	1,77	1,47	3,28	0,49	1,05	1,60	2,60
C.V. %	3,92	8,04	5,50	8,44	5,02	5,16	6,09	7,01
Gliadín IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	14	14	14	14
Priemer U/ml	9,75	15,84	31,14	41,66	8,68	15,60	30,59	41,86
SD U/ml	0,81	0,49	2,74	2,56	0,79	1,10	2,32	6,10
C.V. %	8,26	3,10	8,81	6,14	9,12	7,04	7,58	14,57
Gliadín IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	14	14	14	14
Priemer U/ml	27,90	12,97	16,54	9,99	30,17	13,54	17,01	9,9
SD U/ml	2,18	1,04	1,37	0,82	3,78	0,81	1,70	1,00
C.V. %	7,83	7,99	8,28	8,24	12,54	6,01	10,01	7,07

	Opakovateľnosť				Reprodukovateľnosť			
ASCA IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	16	16	16	16
Priemer U/ml	14,64	23,63	32,23	39,53	16,60	27,55	36,05	45,52
SD U/ml	0,69	1,44	2,38	1,54	1,61	2,28	2,98	4,03
C.V. %	4,74	6,10	7,40	3,90	9,68	8,28	8,26	8,85
ASCA IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	16	16	16	16
Priemer U/ml	45,79	16,50	21,59	27,42	41,33	16,78	21,66	27,06
SD U/ml	1,69	0,88	1,09	1,79	5,82	1,47	2,25	2,86
C.V. %	3,69	5,35	5,06	6,54	14,08	8,76	10,38	10,59
ASCA IgM	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	10	10	10	10
Priemer U/ml	17,76	32,64	27,69	45,68	18,06	31,02	25,48	40,61
SD U/ml	1,14	2,02	0,81	1,75	3,98	3,11	2,74	4,61
C.V. %	6,43	6,19	2,94	3,82	22,06	10,02	10,74	11,36
Candida IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	18	18	18	18	6	6	6	6
Priemer U/ml	18,86	31,03	38,75	6,74	17,26	29,72	39,79	6,28
SD U/ml	1,24	1,17	3,19	0,29	1,92	1,78	1,55	0,69
C.V. %	6,58	3,78	8,23	4,35	11,11	5,99	3,90	10,98
Candida IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	6	6	6	6
Priemer U/ml	42,80	20,41	29,53	10,57	44,14	18,09	26,95	10,12
SD U/ml	3,57	1,65	2,75	0,46	6,11	0,98	3,26	0,54
C.V. %	8,35	8,08	9,31	4,35	13,85	5,43	12,09	5,33
Candida IgM	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	6	6	6	6
Priemer U/ml	17,36	9,20	11,00	43,23	16,79	8,11	11,44	45,69
SD U/ml	1,17	0,41	0,83	1,97	1,54	0,60	0,47	3,20
C.V. %	6,73	4,46	7,56	4,56	9,17	7,35	4,10	7,01
DNP IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	16	16	16	16
Priemer U/ml	8,14	20,28	36,60	39,94	8,56	21,09	35,41	40,10
SD U/ml	1,00	1,51	1,73	1,40	0,90	2,71	3,39	3,68
C.V. %	12,32	7,47	4,71	3,49	10,57	12,86	9,56	9,18

Tabuľka 2:

Opakovateľnosti a reprodukovateľnosť semikvantitatívnych ELISA súprav

	Opakovateľnosť				Reprodukovateľnosť			
Kazeín IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	20	20	20	20
Priemer IP	0,606	1,194	2,040	2,890	0,578	1,026	1,793	2,710
SD IP	0,037	0,030	0,076	0,051	0,085	0,063	0,086	0,196
C.V. %	6,08	2,50	3,75	1,77	14,74	6,15	4,81	7,23
Kazeín IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	20	20	20	20
Priemer IP	0,586	1,238	2,074	2,711	0,574	1,184	2,008	2,646
SD IP	0,032	0,050	0,072	0,088	0,028	0,071	0,094	0,144
C.V. %	5,53	4,06	3,49	3,24	4,43	6,01	4,69	5,46
Laktoglobulín IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	14	14	14	14
Priemer IP	0,509	1,364	1,866	2,797	0,502	1,159	1,591	2,328
SD IP	0,032	0,045	0,069	0,085	0,039	0,044	0,048	0,043
C.V. %	6,29	3,29	3,71	3,02	7,71	3,78	3,02	1,85
Laktoglobulín IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	14	14	14	14
Priemer IP	0,564	1,168	1,684	2,524	0,530	1,154	1,476	2,405
SD IP	0,022	0,047	0,034	0,061	0,044	0,060	0,094	0,174
C.V. %	3,84	4,04	2,00	2,41	8,46	5,19	6,40	7,23
Laktalbumín IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	14	14	14	14
Priemer IP	0,725	1,248	1,937	2,379	0,681	1,222	1,920	2,425
SD IP	0,059	0,079	0,080	0,148	0,057	0,085	0,132	0,159
C.V. %	8,15	6,34	4,12	6,22	8,34	6,97	6,88	6,57
Laktalbumín IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	12	12	12	12
Priemer IP	0,743	1,146	1,921	1,655	0,770	1,238	2,027	1,716
SD IP	0,036	0,101	0,047	0,068	0,110	0,091	0,128	0,090
C.V. %	4,84	8,85	2,48	4,10	14,34	7,34	6,31	5,25

	Opakovateľnosť				Reprodukovateľnosť			
Sója IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	18	18	18	18
Priemer IP	0,952	0,576	1,287	3,151	0,913	0,564	1,176	3,175
SD IP	0,035	0,038	0,068	0,115	0,164	0,035	0,123	0,275
C.V. %	3,64	6,51	5,30	3,65	17,98	6,23	10,49	8,67
Sója IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	18	18	18	18
Priemer IP	0,456	0,918	1,635	2,129	0,473	0,919	1,553	2,236
SD IP	0,028	0,045	0,085	0,139	0,028	0,076	0,118	0,108
C.V. %	6,06	4,94	5,18	6,55	5,93	8,28	7,60	4,81
Ovalbumín IgA	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	22	22	22	22
Priemer IP	0,761	0,953	1,456	1,997	0,789	1,053	1,528	1,952
SD IP	0,037	0,078	0,084	0,123	0,117	0,127	0,203	0,266
C.V. %	8,22	8,22	5,76	6,17	14,99	12,09	13,30	13,60
Ovalbumín IgG	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 4
Počet stanovení	16	16	16	16	20	20	20	20
Priemer IP	0,704	0,927	1,212	1,722	0,712	0,912	1,237	1,725
SD IP	0,051	0,059	0,079	0,205	0,047	0,042	0,059	0,098
C.V. %	7,26	6,39	6,54	11,89	6,57	4,59	4,78	5,66

Tabuľka 3:

Odhad kombinovaných dielčích neistôt za rok 2016

Testovaná súprava	U _{r. opak}	U _{r. repro}	U _{r. tot}
ELISA-anti-	[%]	[%]	[%]
MILK IgA	7,51	14,44	16,28
MILK IgG	6,57	12,74	14,33
MILK IgM	4,76	8,91	10,10
Gliadín deamid.IgA	3,86	4,56	5,97
Gliadín deamid.IgG	6,80	5,88	8,99
Gliadín IgA	6,95	7,25	10,04
Gliadín IgG	8,09	10,07	13,23
ASCA IgA	5,69	8,79	10,47
ASCA IgG	5,26	11,12	12,30
ASCA IgM	5,07	14,42	15,29
Candida IgA	6,00	8,59	10,48
Candida IgG	7,76	9,94	12,61
Candida IgM	5,98	7,14	9,31
DNP IgG	7,78	10,64	13,18
Kazeín IgA	3,88	9,09	9,88
Kazeín IgG	4,18	5,19	10,47
Beta-Laktoglobul. IgA	8,57	4,64	9,74
Beta-Laktoglobul. IgG	2,89	4,64	7,50
Alfa-Laktalbumín IgA	6,37	7,01	9,88
Alfa-Laktalbumín IgG	5,58	9,04	10,52
Sója IgA	4,93	11,70	12,70
Sója IgG	5,72	6,80	8,89
Ovalbumín IgA	7,89	13,50	15,63
Ovalbumín IgG	8,33	5,45	9,96

Záver:

Pre všetky vyrábané súpravy vo firme Biogema v. d. sme vypočítali opakovateľnosti a reprodukovateľnosti, ktoré sme získali z údajov z výstupných kontrol v roku 2016. Na základe stanovených hodnôt sme určili odhad kombinovaných dielčích neistôt pre jednotlivé súpravy.

Výrobcovia testovacích súprav pre laboratórnu medicínu sú povinní uvádzať niektoré výkonové charakteristiky testovacích súprav, z ktorých môže byť odhadnutá neistota výsledkov merania. Dúfame, že naše informácie pomôžu klinickým laboratóriám zabezpečiť spoľahlivé výsledky meraní.

Použitá literatúra:

Fridecký B., Štröngl L., Kratochvíla J.: Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích. Doporučení výboru České společnosti klinické biochemie . 16. 11. 2004

Suchánek M., Fridecký B., Kratochvíla J., Budina M., Bartoš V.: Doporučení pro určení odhadu nejistot výsledku měření klinických testů v klinických laboratořích . Praha 16. 11. 2005

Bartoš V., Budina M., Fridecký B, Kratochvíla J.,Springer D., Šafarčík K.: Doporučení k výpočtu nejistot kvantitativních výsledků měření v klinických laboratořích. 11.11.2014
http://www.sekk.cz/infoservis/2014_nejistoty_doporuceni.pdf