



Editor: Zbyněk Plzák (plzak@iic.cas.cz)

## Porovnání výsledků analytických metod

*Charakterizace výkonnosti analytické měřicí metody je jedním z důležitých znaků analytického měřicího systému, zejména pro rozhodování, jaká analytická metoda je vhodná pro daný účel. Tento metodický list by měl pomoci při řešení tohoto úkolu v laboratoři.*

### 1 Úvod

Porovnání výsledků analytických metod (měřících postupů) je jedním z klíčových prvků systému řízení kvality (interní, externí). Používá se rovněž při interní validaci nově vytvořené metody vůči referenční metodě nebo při validaci metody mezilaboratorním pokusem.

Matematicko-statistické metody vyhodnocování výsledků závisí na plánu experimentu, resp. na tvaru experimentální matice primárních dat. Postupovat můžeme dvojím způsobem:

- grafické zobrazení experimentální matice
- numerické vyhodnocení experimentální matice

Experimentální matice se vytváří buď měřením jednoho vzorku dvěma metodami v různých laboratořích, nebo měřením několika vzorků s různým obsahem analytu dvěma metodami v jedné laboratoři.

### 2 Grafické metody

#### 2.1 Youdenův graf

Youdenův graf je používán pro vyhodnocování celé řady experimentálních situací. Ukážeme si jeho použití při zjišťování systematické odchylky (bias, vychýlení) měřicího postupu (metody) mezilaboratorním pokusem.

##### Algoritmus vytvoření experimentální matice

- a) organizátor připraví dva vzorky (A, B) s podobnou matricí a s podobným obsahem analytu
- b) rozešle vzorky laboratořím (min. 30)
- c) každá laboratoř analyzuje oba vzorky stejným měřicím postupem (stejný Standardní pracovní postup (SOP))
- d) každý z obou vzorků je analyzován dvakrát (duplikátní stanovení)

##### Grafické zpracování

Organizátor mezilaboratorního postupu vypočítá:

celkový průměr všech stanovení vzorků A a B:  $\bar{\bar{x}}_A, \bar{\bar{x}}_B$

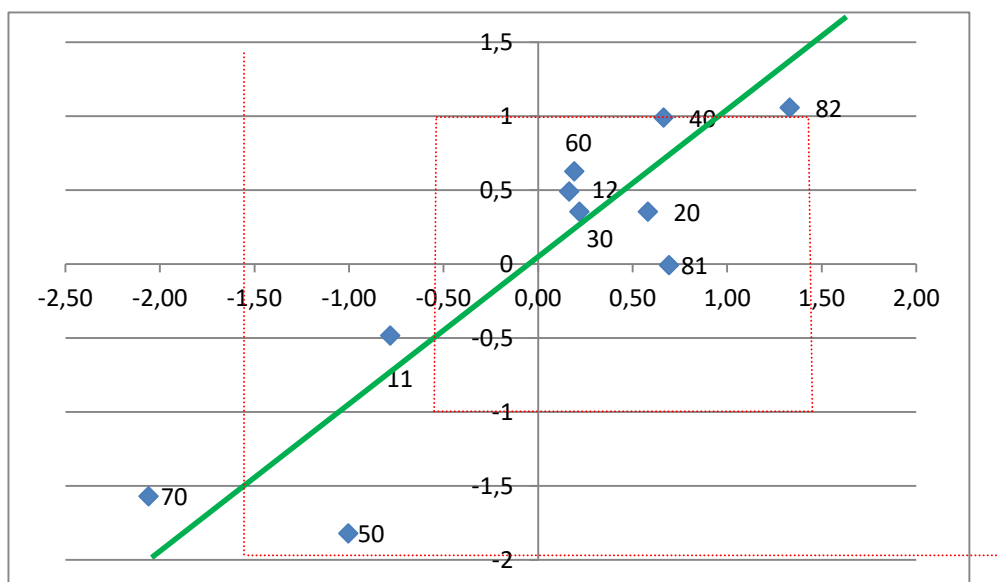
průměry stanovení obou vzorků jednotlivých laboratořích (např. pro i-tou laboratoř):  $\bar{x}_{A,i}, \bar{x}_{B,i}$

Poté se vytvoří dvourozměrný graf, ve kterém na osu x vynášíme hodnoty pro vzorek A, na osu y hodnoty vzorku B. Každý bod v grafu je tedy dán hodnotami  $\bar{x}_{A,i}$  a  $\bar{x}_{B,i}$  pro vzorky A a B pro jednu laboratoř. V bodech celkových průměrů pro oba vzorky vedeme rovnoběžky s osami x a y, jejich průsečíkem potom přímkou pod úhlem 45°. Dále vytvoříme elipsu společného intervalu spolehlivosti. Body, které jsou vně elipsy a jsou umístěny v levém spodním kvadrantu nebo v pravém horním kvadrantu indikují systematickou odchylku. Náznornější je tzv. normalizovaný Youdenův graf,

ve kterém se souřadnice jednotlivých bodů počítají podle vztahů

$$\frac{\bar{x}_{A,i} - \bar{\bar{x}}_A}{s_A} \quad \text{a} \quad \frac{\bar{x}_{B,i} - \bar{\bar{x}}_B}{s_B}$$

kde  $s$  jsou směrodatné odchylky počítané standardním způsobem. Příklad normalizovaného Youdenova grafu je na obr. 1. V grafu jsou zobrazeny jednotlivé laboratoře čísla, přímka pod úhlem 45° a obdélníky  $\pm 1s$  jednotek a  $\pm 2s$  jednotek. Jednotlivé body posuzujeme stejně jako v předchozím případě.



Obr. 1. Normalizovaný Youdenův graf  
osa x: hodnoty vzorku A; osa y: hodnoty vzorku B  
jednotlivé laboratoře (počet 10) jsou v grafu označeny čísly

## 2.2 Bland-Altmanův diagram

Bland-Altmanův diagram se využívá hlavně v laboratorní medicíně (v klinické biochemii a hematologii aj.). Je to grafická závislost rozdílu výsledků dvou měřících postupů pro jeden vzorek na průměru výsledků obou postupů.

Pokud zobrazíme závislost rozdílu výsledků na průměru obou metod v Excelu, můžeme jednoduchými statistickými prostředky Excelu vyhodnotit, zda je úsek či směrnice významná, tj. zda existuje systematická či proporcionální odchylka jedné metody vůči druhé.

Experimentální matice byla převzata<sup>1</sup> a má tvar uvedený v Tab. I:

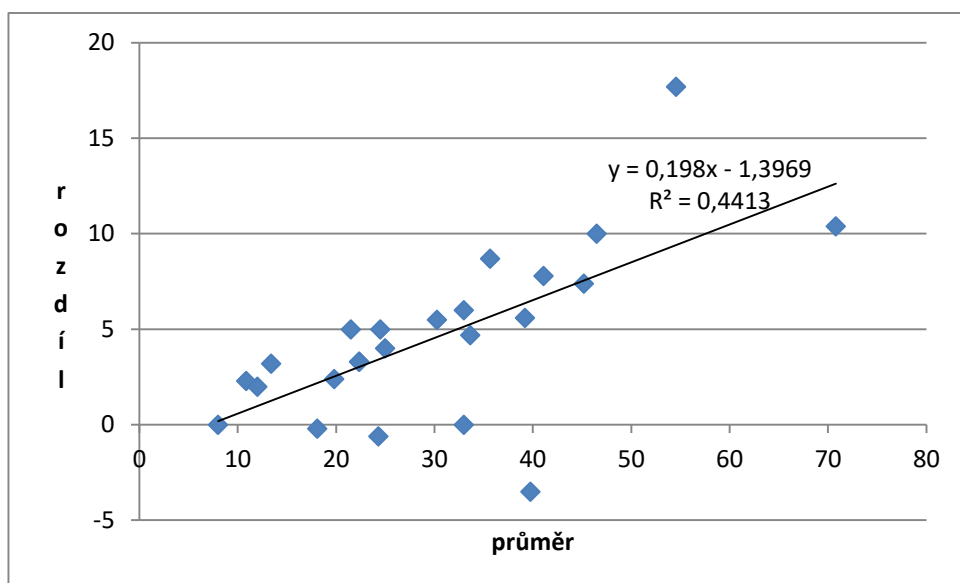
Tabulka I.

Experimentální matice pro srovnání dvou metod

metoda 1	metoda 2	průměr	rozdíl
63,4	45,7	54,55	17,7
48,9	41,5	45,2	7,4
38	41,5	39,75	-3,5
51,5	41,5	46,5	10
42	36,4	39,2	5,6
76	65,6	70,8	10,4
36	30	33	6
27	23	25	4

24	19	21,5	5
12	9,7	10,85	2,3
33	27,5	30,25	5,5
40	31,3	35,65	8,7
13	11	12	2
15	11,8	13,4	3,2
8	8	8	0
24	20,7	22,35	3,3
24	24,6	24,3	-0,6
36	31,3	33,65	4,7
18	18,2	18,1	-0,2
45	37,2	41,1	7,8
21	18,6	19,8	2,4
33	33	33	0
24	20,7	22,35	3,3
27	22	24,5	5

Grafické zpracování této experimentální matice je na obr. 2.



Obr. 2. Bland-Altmanův diagram

Test významnosti úseku ( $b_1$ ) a hypotézy, zda směrnice ( $b_2$ ) je jednotková, v regresní rovnici  $y = b_1 + b_2x$  lze provést následovně:

$$T_{b1} = \frac{|b_1|}{s_{b1}}, \quad T_{b2} = \frac{|b_2 - 1|}{s_{b2}},$$

kde  $s_{bi}$  je směrodatná odchylka úseku či směrnice. Vypočtené  $T_{bi}$  se srovná s kritickou hodnotou t-rozdělení,  $t_{0,975; n-2}$ . Tentýž test lze provést i analýzou rozptylu, která je součástí Excelu (*Analýza dat-Regrese*). V tomto případě test prokázal nevýznamnost úseku a významnost směrnice. Lze tedy konstatovat, že metoda 2 vykazuje proporcionalní odchylku od metody 1 (odchylka je závislá na

obsahu analytu). Systematická odchylka nebyla prokázána.

### 3 Numerické metody

Numerické metody pro srovnávání dvou měřících postupů jsou závislé na údajích v experimentální matici. Pokud výsledky měření vzorků oběma metodami nejsou doplněny kombinovanou nejistotou, můžeme použít např. standardní *párové* testy v parametrickém či neparametrickém provedení (Studentův test, Wilcoxonův test<sup>2</sup>). V případě, že výsledky měření jsou doplněny údajem o kombinované nejistotě, je možno použít regresních metod.

#### 3.1 Studentův test

Experimentální matice je organizována stejně, jako v případě Band-Altmanova diagramu. Vypočítáme průměrnou hodnotu rozdílů ( $x_d$ ) a příslušnou výběrovou směrodatnou odchylku ( $s_d$ ). Testové kritérium má tvar

$$T = \frac{\bar{x}_d}{(s_d/\sqrt{n})}$$

a srovnáváme ho s kritickou hodnotou t-rozdělení  $t_{0,975;n-1}$ . Pro náš případ předchozí experimentální matice je  $T = 5,05$ ,  $t_{0,975;n-1} = 2,07$ . Metoda 2 vykazuje významný rozdíl vůči metodě 1.

#### 3.2 Regresní metody

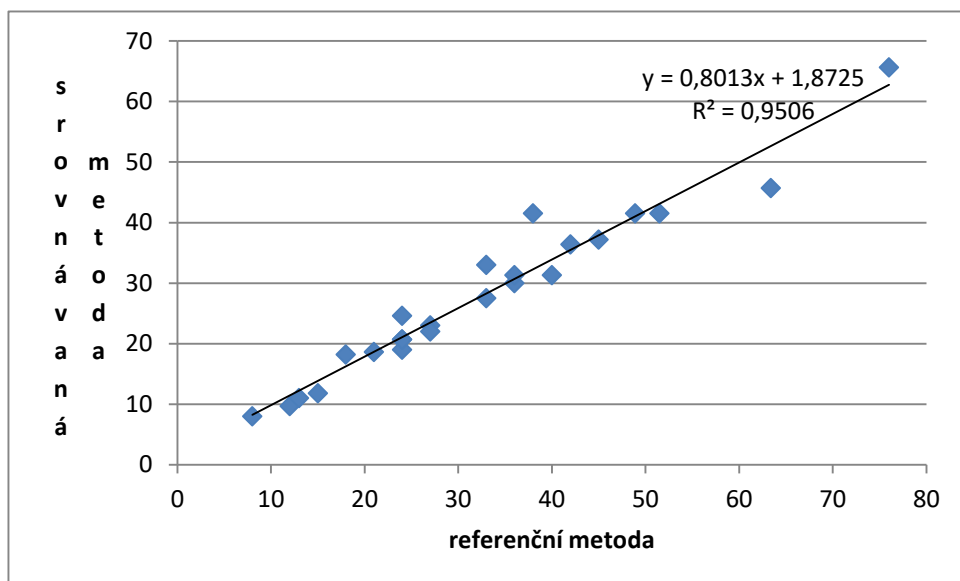
Hodnoty výsledků (včetně nejistot) referenční metody budeme považovat za hodnoty nezávisle proměnné veličiny ( $x$ ), hodnoty výsledků srovnávané metody za hodnoty závisle proměnné veličiny ( $y$ ). Experimentální matice má tvar:

x	u(x)	y	u(y)
1	0,01	100	10
.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....

V případě takto organizovaných dat nemůžeme použít prosté lineární regrese. V literatuře existuje celá řada regresních metod, které využívají této struktury experimentální matice. Mezi regresní metody, které se používají např. v laboratorní medicíně, patří parametrická Demingova regrese nebo Passing-Bablokova neparametrická regrese. Tyto složité výpočetní postupy jsou uvedeny např. v programovém souboru MEDCALC<sup>3</sup> ([www.medcalc.org](http://www.medcalc.org)), který je dostupný za 400 USD.

České uživatele odkazujeme na **KVALIMETRII 16**<sup>4</sup> (dostupné ke stažení na: <http://www.eurachem.cz/publikace.php>) a na programový soubor v Excelu *porovnani\_postupu\_60.xls*. Soubor obsahuje šablonu pro porovnání referenčního postupu s novým postupem pro max. 60 vzorků. Obsahuje rovněž test na přítomnost systematické či proporcionální odchylky srovnávané metody s metodou referenční. Validace excelovského souboru prokázala vhodnost použitého algoritmu pro regresi s nejistotami hodnot na obou osách.

Pro rychlou orientaci můžeme použít prostou lineární regresi, stejně jako v případě grafických metod. Pro úplnost uvádíme zpracování datové matice lineární regresi. Toto zpracování je jedním z dalších příkladů použití *Youdenovy* metody. Na obrázku 3 je zobrazena prostá lineární regrese příslušné datové matice (viz Tabulka I).



Obr. 3. Youdenův graf pro výsledky dvou metod – referenční a srovnávané

Testy významnosti úseku a směrnice potvrdily, že existuje proporcionální odchylka. Systematická odchylka srovnávané metody s metodou referenční je nevýznamná. Závěry jsou tedy totožné s Bland – Altmanovou grafickou metodou.

Zpracoval: M. Suchánek

Znění Metodického listu prošlo v roce 2018 revizí. Verze z roku 2012 je nadále platná, byla aktualizována jen dostupnost odkazu 4.

## Literatura

1. (<http://www.medlabstats.com/bland/BLAND-AND-ALTMAN-PLOTS-IN-EXCEL.pdf>).
2. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A, D.L. Massart, B.G.M. Vandegiste, L.M.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, Elsevier 1997, ISBN 0-444-89724-0.
3. Programový soubor pro laboratorní medicínu MEDCAL, <http://www.medcalc.org/>.
4. KVALIMETRIE 16. Statistické metody v metrologii a analytické chemii. Řešené příklady na CD-ROM v Excelu M. Suchánek, EURACHEM-ČR 2009, ISBN 80-86322-04-1. (Tisková verze vyprodána, dostupné ke stažení na: <http://www.eurachem.cz/publikace.php>).