

# Rückführbarkeit und Messunsicherheit – eine Orientierung

Die Begriffe »Rückführbarkeit« (englisch: traceability) und »Messunsicherheit« (englisch: measurement uncertainty) spielen nicht nur im analytischen Laboratorium, sondern auch im Alltagsleben eine wichtige Rolle – im Allgemeinen sind wir uns dessen aber nicht bewusst. Ein Beispiel: Wenn wir im Supermarkt 200g Käse kaufen und uns darauf verlassen, wirklich 200g zu bekommen, gehen wir davon aus, dass die Waage im Supermarkt korrekt kalibriert ist und ihre Ergebnisse auf eine anerkannte Norm rückführbar sind. Angenommen, wir trauen der Waage im Supermarkt nicht, wiegen den Käse zu Hause nach und messen 202g. Dann würden wir intuitiv entscheiden, dass dies eine akzeptable Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Waagen ist – ohne dabei an den Begriff Messunsicherheit zu denken.

Rückführbarkeit und Messunsicherheit sind die Grundlage für die Zuverlässigkeit und Vergleichbarkeit von Messergebnissen. Sie sind unverzichtbar, um Fragen zu beantworten wie:

- »Stimmen zwei Ergebnisse aus verschiedenen Laboratorien überein?«
- »Liegt die Leukozyten-Konzentration unterhalb des Grenzwerts?«
- »Zeigt dieses Ergebnis einen Anstieg der Hämoglobin-Konzentration im Vergleich zum Vortag?«



## Was bedeutet Rückführbarkeit?

Die Rückführbarkeit für die Waage im Supermarkt könnte wie folgt aussehen: Die Waage wird regelmäßig durch die Eichbehörde überprüft und bei Bedarf kalibriert (in diesem Falle spricht man von »geeicht«), was durch das Eichsiegel auf der Waage bestätigt wird. Die Überprüfung erfolgt anhand der Messung von zertifizierten Gewichten (Massenormale) höchster Genauigkeit, deren exakte Massen von der zuständigen nationalen Institution bestimmt werden. Die Bestimmung der Massen erfolgt durch Vergleichsmessungen mit dem nationalen Referenz-Normal, dessen Masse wiederum durch Vergleichsmessungen mit dem internationalen Referenz-Normal bestimmt wurde. Dieser »Internationale Kilogrammprototyp« – besser bekannt als das »Urkilogramm« – befindet sich im »Internationalen Büro für Maß und Gewicht« (BIPM) bei Paris, und die Masse des Urkilogramms bildet die Definition der Einheit »Kilogramm«.

Die vorangegangene vereinfachte Beschreibung überspringt einige Schritte – dennoch verdeutlicht sie, wie das Ergebnis der Waage im Supermarkt rückführbar ist auf das Urkilogramm als die international anerkannte Bezugsgröße (Referenz).

Das »Internationale Wörterbuch der Metrologie (VIM)«<sup>[1]</sup> definiert den Begriff »Rückführbarkeit« als

**»Eigenschaft eines Messergebnisses, durch die das Ergebnis mittels einer dokumentierten ununterbrochenen Kette von Kalibrationsschritten mit einer Bezugsgröße (Referenz) in Beziehung gesetzt wird, wobei jeder Schritt in der Kette zur Messunsicherheit beiträgt.«**

Die »ununterbrochene Kette von Kalibrationsschritten« wird als Rückführbarkeitskette (englisch: traceability chain) bezeichnet. Durch diese Kette wird das Ergebnis zu einer allgemein anerkannten und akzeptierten Bezugsgröße in Beziehung gesetzt. In unserem Beispiel ist das Urkilogramm die Bezugsgröße, auf die das Messergebnis der Waage im Supermarkt rückgeführt wird. Die Bezugsgröße kann ein Material oder eine Messmethode sein. Jeder Schritt in der Rückführbarkeitskette ist mit Messunsicherheiten verbunden, die bei der Ermittlung der Gesamt-Messunsicherheit des Ergebnisses berücksichtigt werden müssen. Angaben zur Messunsicherheit sind ein wichtiger Bestandteil der Rückführbarkeit. Dies lässt sich leicht verstehen, wenn man sich fragt, wie viel Vertrauen man zu einem Wäge-Ergebnis von 200 g hätte, das zwar auf das Urkilogramm rückführbar ist, aber eine Messunsicherheit von  $\pm 50$  g hat – für eine Waage im Supermarkt wäre das viel zu ungenau.

### Was bedeutet Messunsicherheit?

Ein Messergebnis wird häufig als einzelner Wert angegeben, aber eigentlich repräsentiert es eine Verteilung von Werten, die der Messgröße zugeordnet werden können. Dies liegt daran, dass ein Messergebnis von vielfältigen Faktoren beeinflusst wird. Diese Werte-Verteilung wird durch die Messunsicherheit charakterisiert. Sie fasst die Hauptfaktoren zusammen, die das Ergebnis beeinflussen und repräsentiert somit das Ausmaß des möglichen Fehlers des Ergebnisses. Die Messunsicherheit definiert ein Intervall, in dem der Wert der Messgröße mit hoher Wahrscheinlichkeit liegt.

100,5 g  $\longrightarrow$   $100,5 \pm 0,3$  g ( $k=2$ ) (Der Erweiterungsfaktor  $k$  wird weiter unten erläutert.)

Betrachten wir als Beispiel die Messunsicherheit beim Pipettieren. Das pipettierte Volumen wird von der Reproduzierbarkeit des Pipettiervorgangs und von der Kalibration der Pipette beeinflusst, die in unserem Beispiel durch wiederholtes Pipettieren und Wägen von Wasser erfolgt. Die Kalibration der Pipette wird von der Reproduzierbarkeit des Pipettiervorgangs beim Kalibrieren, der Dichte des Wassers und der Kalibration der Waage beeinflusst. Aus all diesen Einflussgrößen ergibt sich die Messunsicherheit des pipettierten Volumens.

## Warum sind Rückführbarkeit und Messunsicherheit wichtig?

Durch die Rückführbarkeit auf eine allgemein anerkannte Bezugsgröße, wie z. B. das Urkilogramm oder eine international anerkannte Referenzmethode, werden Messergebnisse auf eine allgemein anerkannte Grundlage als Basis für die Richtigkeit der Ergebnisse gestellt – ein wichtiger Baustein für die Zuverlässigkeit von Ergebnissen. Der Bezug auf eine gemeinsame Grundlage ist eine wichtige Voraussetzung für die Vergleichbarkeit von Ergebnissen. Die Rückführbarkeitskette zeigt, wie das Ergebnis mit dieser Grundlage verknüpft ist und liefert damit wichtige Informationen, anhand welcher Schritte und mit Hilfe welcher Materialien die Rückführbarkeit gewährleistet wird.

Die Messunsicherheit definiert das Intervall, in dem der Wert der Messgröße mit hoher Wahrscheinlichkeit liegt. Diese Information ist essenziell, um Ergebnisse miteinander oder mit einem vorgegebenen Wert/Wertebereich (z. B. ein Grenzwert oder ein Referenzbereich) vergleichen zu können. Die Messunsicherheit macht eine Aussage über den Grad der Übereinstimmung, der zwischen verschiedenen Ergebnissen zu erwarten ist. Sie ist ein wichtiges Werkzeug, um zu beurteilen, ob ein Verfahren ausreichend zuverlässige Werte liefert oder ob Verbesserungsbedarf besteht. Im Allgemeinen verbinden wir mit dem Ausdruck »Unsicherheit« so etwas wie »Zweifel«. Im Gegensatz dazu vermittelt die Kenntnis der Messunsicherheit erhöhtes Vertrauen in die Validität eines Messergebnisses.

## Wie wird die Rückführbarkeit labormedizinischer Untersuchungsergebnisse gewährleistet?

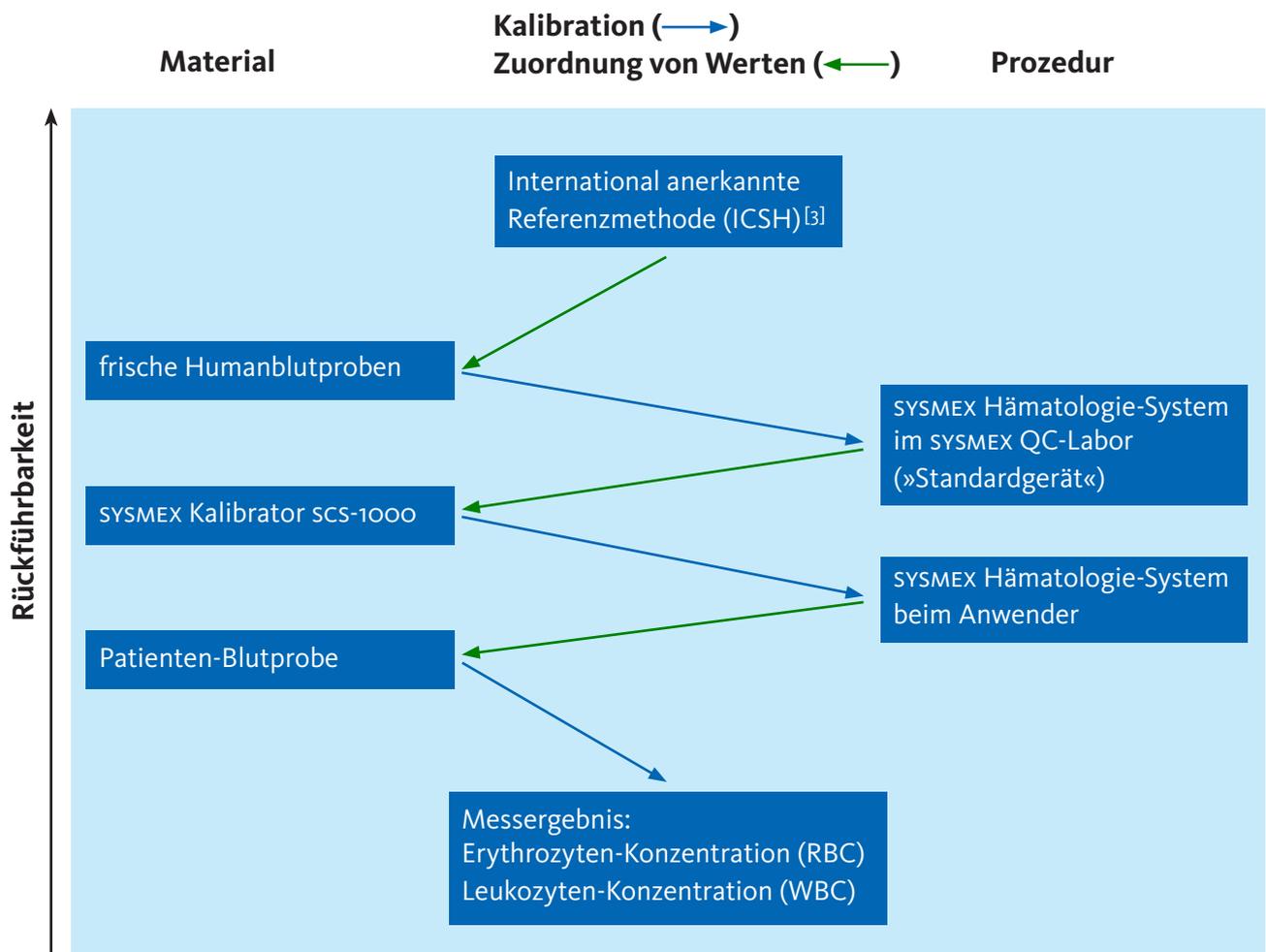
Bei den meisten quantitativen labormedizinischen Messverfahren erfolgt die Kalibration über vom Hersteller zur Verfügung gestellte Kalibratoren. Nach der Richtlinie 98/79/EG der Europäischen Union über in-vitro-Diagnostika (»IVD-Direktive«) ist der Hersteller verpflichtet, die Rückführbarkeit der den Kalibratoren zugeordneten Werte auf Bezugsgrößen höherer metrologischer Ordnung zu gewährleisten. Die internationale Norm ISO 17511<sup>[2]</sup> definiert Prozeduren für die Gewährleistung der Rückführbarkeit in Abhängigkeit davon, welcher Art die Bezugsgröße höchster metrologischer Ordnung ist.

Im oben dargestellten Beispiel der Waage im Supermarkt lässt sich das Messergebnis auf die Definition der Einheit »Kilogramm« (d.h. das Urkilogramm) als Bezugsgröße höchster metrologischer Ordnung rückführen – der ideale Endpunkt einer Rückführbarkeitskette. Im Bereich der Labormedizin gibt es aber nur wenige Messverfahren, die sich auf die Definition der grundlegenden physikalischen Einheiten rückführen lassen. In vielen Fällen bilden international anerkannte Referenzmaterialien oder international anerkannte Referenzmethoden den Endpunkt der Rückführbarkeitskette – die Bezugsgröße höchster metrologischer Ordnung wird in diesen Fällen durch internationale Vereinbarungen, d.h. Empfehlungen internationaler, wissenschaftlicher Organisationen oder der Weltgesundheitsorganisation (WHO), festgelegt. Es gibt aber auch viele Fälle, in denen keine international anerkannten Referenzmaterialien oder -methoden zur Verfügung stehen und ein ausgewähltes Messverfahren des Herstellers eines Tests den Endpunkt der Rückführbarkeitskette bildet.

## Rückführbarkeit beim Kalibrator scs-1000 für SYSMEX Hämatologie-Systeme

Der Kalibrator scs-1000 (Sysmex Calibrator System) ist für die Kalibration bzw. die Verifizierung der Kalibration für die Messgrößen Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit und Thrombozyten vorgesehen – die 5 hämatologischen Messgrößen, für die international anerkannte Referenzmethoden zur automatischen Messung zur Verfügung stehen. Die Zielwerte des scs-1000 sind auf diese international anerkannten Referenzmethoden rückführbar, entsprechend den Empfehlungen der internationalen, wissenschaftlichen Organisationen ICSH und CLSI\*. Die Rückführbarkeitskette ist entsprechend dem Kapitel 5.4 der ISO 17511 aufgebaut und wird in der folgenden Abbildung für die Messgrößen Erythrozyten (RBC) und Leukozyten (WBC) als Beispiel dargestellt. Im Gegensatz zur vereinfachten Form in der Abbildung auf Seite 1 sind links die verwendeten Materialien und rechts die Messprozeduren dargestellt.

(\* ICSH: International Council for Standardization in Haematology, CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute)



In den SYSMEX QC-Laboratorien stehen von jedem SYSMEX Hämatologie-System Serienmodelle, die hier als »Standardgeräte« bezeichnet werden. Diese werden regelmäßig mit frischen Humanblutproben direkt gegen die international anerkannten Referenzmethoden kalibriert. Das bedeutet, die frischen Blutproben werden in den QC-Laboratorien mit den Referenzmethoden und den Standardgeräten gemessen. Falls notwendig, wird die Kalibration der Standardgeräte angepasst, so dass die Ergebnisse mit den nach den Referenzmethoden bestimmten Ergebnissen übereinstimmen. An diesen Standardgeräten werden die Zielwerte für den scs-1000 bestimmt. Der scs-1000 wird am SYSMEX Hämatologie-System beim Anwender gemessen und bei Bedarf das System kalibriert. Über diese Kette sind die Ergebnisse von Patientenproben, die an diesem Anwender-System gemessen werden, auf die international anerkannten Referenzmethoden rückführbar.

### **Wie wird die Messunsicherheit ermittelt und was bedeutet die »erweiterte Messunsicherheit«?**

Der erste Schritt bei der Ermittlung der Messunsicherheit ist, sich klar zu machen, von welchen Größen das Ergebnis abhängt – einschließlich der gesamten Rückführbarkeitskette.

Der zweite Schritt ist die Identifizierung aller relevanten Quellen der Messunsicherheit. Dies umfasst die Faktoren, die das Ergebnis oder die Größen, von denen dieses abhängt, beeinflussen. Dabei sind alle Schritte der Rückführbarkeitskette und der gesamte Weg der Probe zu berücksichtigen. Um den Aufwand für die Ermittlung der Messunsicherheit in vernünftigen Grenzen zu halten, sollte man beachten, dass die Gesamt-Messunsicherheit von den Hauptbeiträgen bestimmt wird und kleine Beiträge so gut wie keinen Einfluss haben. Man kann sich also bei der Ermittlung der Messunsicherheit auf die wichtigsten Einflussgrößen beschränken. Wenn man z.B. bei dem oben genannten Fall der Pipette die Temperatur des Wassers bestimmt und die Dichte entsprechend berechnet, ist die mit der Dichte des Wassers verbundene Messunsicherheit vernachlässigbar klein und muss bei der Berechnung der Gesamt-Messunsicherheit des pipettierten Volumens nicht berücksichtigt werden.

Der dritte Schritt ist die Quantifizierung der Beiträge zur Messunsicherheit. Dies kann z.B. durch statistische Auswertung experimenteller Daten oder unter Verwendung von Informationen wie Hersteller-Spezifikationen oder Daten von Kalibrierzertifikaten erfolgen. Es kann aber auch auf Erfahrungen basierende Abschätzungen beinhalten. In vielen Fällen können Daten aus der Methodvalidierung oder Qualitätskontrolle herangezogen werden.

Entsprechend dem mathematischen Konzept des »Leitfadens zur Angabe der Messunsicherheit (GUM)«<sup>[4]</sup> werden alle Beiträge in Form von Standardabweichungen ausgedrückt und in einem vierten Schritt nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz zur Gesamt-Messunsicherheit kombiniert.

Im letzten Schritt wird durch Multiplikation mit einem Erweiterungsfaktor  $k$  die »erweiterte Messunsicherheit« berechnet. Die erweiterte Messunsicherheit definiert ein Intervall, in dem der Wert der Messgröße mit hoher Wahrscheinlichkeit liegt. In den meisten Fällen wird ein Erweiterungsfaktor von  $k=2$  benutzt; dies entspricht einer Wahrscheinlichkeit von näherungsweise 95% (unter der Voraussetzung, dass bestimmte statistische Bedingungen erfüllt sind). Bei der Angabe einer Messunsicherheit muss der Erweiterungsfaktor immer mit angegeben werden: Einerseits, damit die zugrunde liegende Wahrscheinlichkeit erkennbar ist und andererseits, damit die nicht-erweiterte Messunsicherheit (d.h. die Messunsicherheit in Form einer einfachen Standardabweichung) errechnet werden kann, falls man diese für weitere Berechnungen benötigt. Dies ist z.B. der Fall, wenn man die Messunsicherheit des Zielwertes eines Kalibrators als einen Beitrag zur Berechnung der Gesamt-Messunsicherheit für die Ergebnisse von Patientenproben einsetzt.

Die erweiterten Messunsicherheiten für die Zielwerte des SYSMEX Kalibrators SCS-1000 wurden entsprechend dem hier beschriebenen Konzept ermittelt. Detailliertere Informationen über dieses Konzept und zur Ermittlung der Messunsicherheit der Zielwerte des SCS-1000 finden Sie in dem englischsprachigen Artikel »Measurement Uncertainty of Values Assigned to Sysmex Haematology Calibrator SCS-1000«, erschienen im SYSMEX Journal International [5], den wir Ihnen auf Anfrage gern zusenden.

### **Was ist bei der Ermittlung der Messunsicherheit meiner Ergebnisse zu beachten?**

Bei der Ermittlung der Messunsicherheit für die Ergebnisse von Patientenproben sind alle Faktoren in Betracht zu ziehen, die das Ergebnis beeinflussen können. Dies können einerseits Faktoren sein, die das analytische Verfahren und die Vorgänge im Laboratorium beeinflussen, z.B. Probenlagerung und -handhabung, Probenvorbereitung inkl. Aliquotierung von Proben, Kalibratoren, Referenzmaterialien, verwendete Ausrüstung wie Messgeräte, Pipetten und Waagen, Variation der Umgebungsbedingungen und unterschiedliche Anwender. Andererseits unterliegt die Probe, schon bevor sie ins Laboratorium kommt, Einflüssen, die sich deutlich auf das Ergebnis auswirken können, wie Probennahme, -handhabung, Transport- und Lagerbedingungen. Wenn Angaben zur Messunsicherheit gemacht werden, muss immer klar sein, worauf sich die Angaben beziehen – z.B., dass es sich allein um die Messunsicherheit des analytischen Verfahrens handelt.

Betrachtet man die Messunsicherheit des analytischen Verfahrens, beispielsweise die Messung von Blutproben an einem SYSMEX Hämatologie-System, ist zu beachten, dass die Messunsicherheit des Kalibrators nur eine Komponente der Gesamt-Messunsicherheit ist. Hinzu kommen Faktoren wie z.B. die Reproduzierbarkeit der Messung des Kalibrators und der Patientenproben über längere Zeit, unter Berücksichtigung von Einflüssen wie Variation der Umgebungsbedingungen, unterschiedliche Anwender, Reparaturen/Wartungen, Reagenzchargenwechsel u.a.

Ein pragmatischer Ansatz zur Abschätzung der mit der Langzeit-Stabilität verbundenen Messunsicherheit kann die Verwendung von Reproduzierbarkeitsdaten aus der täglichen Qualitätskontrolle sein.

Bei der Ermittlung der Messunsicherheit ist zu prüfen, ob es für verschiedene Konzentrationsbereiche signifikante Unterschiede gibt, oder ob die gleiche Messunsicherheit für den gesamten Konzentrationsbereich einer Messgröße angegeben werden kann. Wie oben beschrieben, wird die Gesamt-Messunsicherheit weitgehend von den stärksten Einflussfaktoren bestimmt, daher sollte man sich bei der Ermittlung auf die Hauptbeiträge konzentrieren, um den Aufwand in vertretbarem Umfang zu halten.

In vielen Fällen ist die Messunsicherheit des analytischen Verfahrens, verglichen mit anderen Fehlerquellen, klein. Während der prä- und postanalytischen Phase können viele bzw. massive Fehler auftreten und die Beachtung dieser Faktoren ist ein wichtiger Teil der Bemühungen, zuverlässige Untersuchungsergebnisse zu liefern.

## Akkreditierung

Die internationale Norm ISO 15189<sup>[6]</sup>, die auf den internationalen Normen ISO 9001 und ISO/IEC 17025 basiert, ist die allgemeine Grundlage zur Akkreditierung von medizinischen Laboratorien in Deutschland. Diese Norm fordert von medizinischen Laboratorien, die Rückführbarkeit von Ergebnissen sicherzustellen und die Messunsicherheit der Ergebnisse zu ermitteln (im Abschnitt 5.6 über die Sicherung der Qualität von Untersuchungsverfahren). Wie die Anforderungen im Rahmen Ihrer Akkreditierung im Detail aussehen, kann Ihnen Ihre Akkreditierungsstelle beantworten.

Mit dem Kalibrator scs-1000 für Ihr SYSMEX Hämatologie-System steht ein Produkt zur Verfügung, das es ermöglicht, die Anforderungen der ISO 15189 bezüglich Rückführbarkeit und Messunsicherheit zu erfüllen: Die Verwendung von scs-1000 ermöglicht es Ihnen, die Rückführbarkeit der Ergebnisse Ihres Hämatologie-Systems auf internationale Referenzmethoden zu gewährleisten. Und die Daten zur Messunsicherheit der Zielwerte des scs-1000 sind ein Bestandteil der Gesamt-Messunsicherheit der Ergebnisse Ihrer Patientenproben. Bei Bedarf können Sie Unterlagen zur Rückführbarkeit und Daten zur Messunsicherheit für den scs-1000 bei SYSMEX anfordern.

## Literatur

- [1] ISO / IEC Guide 99:2007 International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM, 3<sup>rd</sup> edition)
- [2] DIN EN ISO 17511:2003-11 In-vitro-Diagnostika – Messung von Größen in Proben biologischen Ursprungs – Metrologische Rückführbarkeit von Werten, die Kalibriermaterialien und Kontrollmaterialien zugeordnet sind
- [3] ICSH Expert Panel on Cytometry: Reference method for the enumeration of erythrocytes and leukocytes. Clin Lab Haemat. 1994; 16:131-138
- [4] ISO/IEC Guide 98: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM), Genf (1995)
- [5] Measurement Uncertainty of Values Assigned to SYSMEX Haematology Calibrator scs-1000. Roos C, Shinkai E, Fujimoto K. SYSMEX J Int. 18:31-37, 2008
- [6] DIN EN ISO 15189:2007-08 Medizinische Laboratorien – Besondere Anforderungen an die Qualität und Kompetenz