

# Lesk a bída kalibrace

B. Friedecký, J. Kratochvíla

## VIM - 3

Je Mezinárodní slovník metrologie-International vocabulary of metrology. Basic and general concepts and associated terms. (VIM). Na konci roku 2007 byl publikován jako norma ISO Guide 99:2007. V současnosti je v elektronické podobě umístěn na <http://www.ifcc.org>. VIM3 byl schválen většinou světových států v roce 2008 a přeložen do českého jazyka. V češtině je dostupný ke koupi na webové adrese: [http://www.unmz.cz/cz/50/produkty\\_sluzby.htm](http://www.unmz.cz/cz/50/produkty_sluzby.htm) jako TNI 010115 kat. č. 83031 za 700,- Kč).

VIM-3 definuje základní metrologické pojmy a je zamýšlen jako podklad pro celosvětově platnou koncepci metrologie. V oblasti laboratorní medicíny (a nejen v ní) jsou získávány informace zásadně měření. Je tedy logické vyžadovat, aby byla měření správná, přesná a srovnatelná. Už proto, že informace laboratorní medicíny slouží jako podstatná část diagnostických a terapeutických procesů. Zdálo by se tedy samozřejmě, že vědecká pravidla procesů měření jsou v laboratorní medicíně dodržována na vysoké úrovni. Ve skutečnosti tomu tak není, i když se výrobci nástrojů měření k nim výslovně hlásí prostřednictvím Směrnice IVD 98/79. Je příliš mnoho problémů, které vedou k nevhodně nízké úrovni pravdivosti a srovnatelnosti výsledků měření, a které jsou způsobeny nedostatečným aplikováním zásad metrologie. Nedostatečná srovnatelnost a přítomnost systematických chyb snižuje informační hodnoty diagnostiky, terapeutických postupů, ale i velkých klinických studií. Zvyšuje beztak již velká rizika zdravotní péče a snižuje důvěryhodnost celého oboru v očích odborné i laické veřejnosti.

## JE PRAVDIVOST ŠÍPKOVÁ RŮŽENKA?

Tohoto přirovnání použila prof. Thienpontová (L. Thienpont, Clin Chem Lab Med 2008, 46, 1220-1222). Všimla si, jak těžké je pro lékaře dosahovat úspěšných splnění kritérií doporučení pro koncentrace PTH, protože různost a nesrovnatelnost výsledků, dosahovaných různými metodami poskytuje dezinformace namísto informací. Stejná je situace při stanovení vitamínu D. Před několika lety vyčíslil Klee, že jen bias stanovení celkového Ca v séru v intervalu 0,025 až 0,125 mmol. l<sup>-1</sup> může odpovídat za dodatečné náklady na zdravotní péči v intervalu 60 až 166 milionů USD ročně (podle kurzů roku 1999). Klee také upozorňuje na fakt, že

variace mezi výrobními šaržemi TSH překračovaly hodnotu 10%. Nechybí postřehy o neetičnosti počínání firem, které vyrábějí metody s různými výsledky a příliš vysokou variabilitou mezi šaržemi. V červnovém čísle časopisu Clinical Chemistry je zajímavá diskuze o použití hmotnostní spektrometrie. Oblastí, kde je největší zájem o aplikaci MS metod je kromě toxikologie opět endokrinologie. Jako důvody jsou opět uváděny nesrovnatelné výsledky různých metod imunochemických stanovení (Clin. Chem. 2009, 55/6: Mass spektrometry in the clinical laboratory“ hod dave de bone and where do we need to be“ - elektronický text).

Konkrétně se zmiňují o estradiolu, testosteronu, volném kortizolu v moči. Řešení vidí v MS metodologii a tuto metodiku také již používají jako náhradu imunochemie.

Z patnácti reagenčních kitů na stanovení kardiálních troponinů mají jen dva stejné reagenční protilátky. Pokud se vznesne nebo napíše nesmělá námitka, že bez sjednocení reagenčních protilátek k standardizaci imunochemických analytů nikdy nedojde, replikuje se ihned zcela jistě nutností patentové ochrany. **Má ale také někdo patent na diagnostiku chorob?** Má velký smysl mluvit v takovém myšlenkovém prostředí neustále o managementu rizika zdravotní péče?

## KOLIK HODNOT MÁ MÍT PRACOVNÍ KALIBRÁTOR?

Standard je ztělesnění jednotky. Jednotka je konstanta, nezávislá na době a místě její aplikace. (To platí pro hmotnost, délku, rychlost a další jednotky, stejně jako pro koncentraci - SI jednotky). Kalibrátor je standard, kterým se přepočítává indikace přístroje na hodnotu měření. Pracovní kalibrátor má mít hodnotu odvozenou z reference, tedy návaznou (stejně jako závaží vašich vah by mělo mít zprostředkovaně odvození z prototypu mezinárodního kilogramu).

Přístroje, které generují různou indikaci pro stejné vzorky, mají někde vlastní systematickou chybu. Například v nainstalované metodě. Nebo je „standard nestandardní“, například je velmi často nekomutabilní. Existence několika hodnot v jednom kalibrátoru pro jeden analyt indikuje s pravděpodobností, blížící se jistotě:

- závadu v kalibrátoru (nekomutabilitu)
- nebo závadu v analytické metodě.

Obě se projevují zejména zvýšením bias.

Pokud lze pochopit obtížnost standardizace, pak zanášení kalibračních a metrologických problémů do oblastí s jasně definovanými kalibrátory a s plně vyvinutou referencí (tedy s existujícími standardy) je

nepochopení vlastní analytiky. A také zcela rozporné s módními proklamacemi o bezpečnosti pacientů a managementu rizika. Máme na mysli například metrologický horror při současně probíhající rekalibraci bilirubinu. Návaznost měření bilirubinu by měla být zajištěna principiálně velmi snadno, protože referenční metoda i certifikovaný referenční materiál běžně už řadu let existují.

## METROLOGICKÁ LHOSTEJNOST

Sami si často „znečišťujeme“ naše metrologické prostředí. Používáme k vyjádření výsledků měření téhož analytu několika jednotek, s často číselně odlišnými hodnotami. Tím vytváříme nemalé riziko pro pacienty. Žijeme ve věku mobility a přenosu informací. Přenášet matoucí informace je vždy nebezpečné.

V prostředí o dostatečné metrologické gramotnosti by snad ani k zmíněné „bilirubinové“ anomálii nedošlo. Zafungovala by autocenzura.

Podíl organizátorů EHK na takové situaci je nezanedbatelný. Máme na mysli přehnané dělení na velké počty vyhodnocovaných skupin, a to i v případech, kdy je to neologické, metrologicky chybné a zbytečné. Tedy opět v případech, kdy existuje reference a jsou přístupné nástroje metrologické návaznosti.

Pokud dojde k výrazné restandardizaci, nebo i jen malé změně v metodě, je okamžitě vyžadováno vytvoření další peer group skupiny pro hodnocení v EHK. Přitom doby současného používání staré a nové metody jsou často významné. Jak se pak pozná případná nutnost vyladění a dodatečných korekcí? Jak se rozpoznají lepší analytické systémy měření od horších. Vyšší bias od nižšího? Například v případě rekalibrovaného bilirubinu se stane prostě to, že obě podskupiny (stará i nová kalibrace) budou díky separátnímu hodnocení vyhovovat. Firma neutrpí újmu na zisku a pověsti, laboratoři nebudou

**Tabulka 1: Rekalibrace bilirubinu**

Šarže kalibrátoru	Interval hodnot ( $\mu\text{mol. l}^{-1}$ )	Diference (%)
180118	68, 9 až 76, 1	10, 4
178817	66, 6 až 73, 7	9, 6

**Maximální akceptovatelná hodnota bias při měření bilirubinu, odvozená jako čtvrtina celkové biologické variace je 10 % (!).**

Schéma u bilirubinu by vypadalo (podle ISO 17511 a ve shodě s VIM-3) následně:

Referenční postup měření - Jendrassik-Gróf v modifikaci Doumas

Referenční kalibrátor: SRM 916 NIST

Odvození hodnoty produkčního „master kalibrátoru“ srovnáním rutinních platform a referencí.

zkomplikován život otázkami auditorů a nadřízených manažerů a pacient to snad přežije. Časem zásoby staršího kalibrátoru budou vyčerpané a na určitou dobu zavládné při měření analytu klid. Až do další rekalibrace.

## METROLOGIZACE V MEZÍCH ZÁKONA

Podmínka návaznosti je vyžadována ve Směrnici IVD 98/79. V případě existence příslušných referencí by neměl být problém jejího splnění. Výrobci si však patrně představují pod pojmem návaznosti pořízení příslušné dokumentace a její uznání v procesech auditů a dozorových návštěv. Tato dokumentace se dá pořídit velmi snadno. Často stačí porovnat novou metodu se starou téže firmy. Firmou opuštěná (zastaralá) metoda se stává „referencí“ pro novou, progresivnější. Metrologické (tedy vědecké) výstupy je jakoby přestaly zajímat. Ale za nimi jsou pacienti a lékaři. Namísto probouzení Šipkových Růženek uspáváme další.

Kde leží obecné příčiny těchto tendencí? Domníváme se, že by se dalo uvažovat o:

- výrobě příliš vysokých počtů výrobních šarží
- produkci vzájemně nekompatibilních platform (často převzatých v procesu globalizace od různých původních výrobců)
- nerespektování principů metrologie, a zejména obecného principu standardů jako definicí jednotek
- přehnané preferenci obchodních zájmů.

## DEMONSTRACE

### 1. Rekalibrace bilirubinu Roche

V tabulce 1 jsou uvedeny intervaly hodnot nové kalibrace pro dvě vybrané šarže kalibrátoru.

Výsledek by měl být stejný (uvnitř intervalu odhadu nejistoty měření).

### 2. Stanovení albuminu (Kontrolní cyklus AKS109).

Cílové hodnoty: Vzorek A = 40, 12 g. l<sup>-1</sup>; Vzorek B = 35, 37 g. l<sup>-1</sup> albuminu.

V tabulce 2 uvádíme hodnoty bias pro tři přístrojové platformy téhož výrobce. Každá z nich má proti pravidlům metrologie určeno svou vlastní hodnotu v totožném pracovním kalibrátoru.

**Tabulka 2. Bias stanovení albuminu v séru u tří platforem stejného výrobce.**

Přístrojová platforma (n)	Výsledek A [g. l <sup>-1</sup> ]	Bias A [%]	Výsledek B [g. l <sup>-1</sup> ]	Bias B [%]
A (n = 6)	42, 4	5, 8	38, 3	8, 1
B (n = 21)	41, 4	3, 2	37, 5	6, 1
C (n = 6)	41, 0	2, 2	37, 2	5, 1

Názorný příklad, že ani „na platformu korigované“ hodnoty kalibrátorů nepomohou tam, kde jsou další „neznámé“ zdroje systematických chyb. Vysvětlením může být kombinace nespecifičnosti barevných reakcí pro stanovení albuminu a nekomutability kalibrátoru. Pro nekomutabilitu kalibrátoru existují v tomto případě těžko vyvrátitelné indicie.

Kam až takto nastavený systém maximálního počtu stejnorodých skupin vede, dokazuje například EHK CAP USA. Počet peer groups skupin v systému externího hodnocení kvality CAP (USA) u analytů, kde průkazně existují reference metrologické návaznosti uvádí tabulka 3.

Analyt	Počet hodnocených skupin	Reprodukovatelnost (%)
Cholesterol	20	3, 0 až 3, 5
Glukóza	31	2, 3 až 4, 8
Chloridy	25	1, 9 až 3, 4

## SHRNUTÍ

O kvalitě (spolehlivosti) výsledku měření rozhoduje výrobce přístrojové platformy a jí pracující laboratoř. Výrobce prostřednictvím analyzátoru, reagensů, standardizací analytického postupu a kalibrací.

Laboratoř kalibrací a dodržováním metodického postupu výrobce, při kterém převádí naměřený signál na koncentraci analytu. **Za výsledek měření však odpovídá výhradně laboratoř!**