

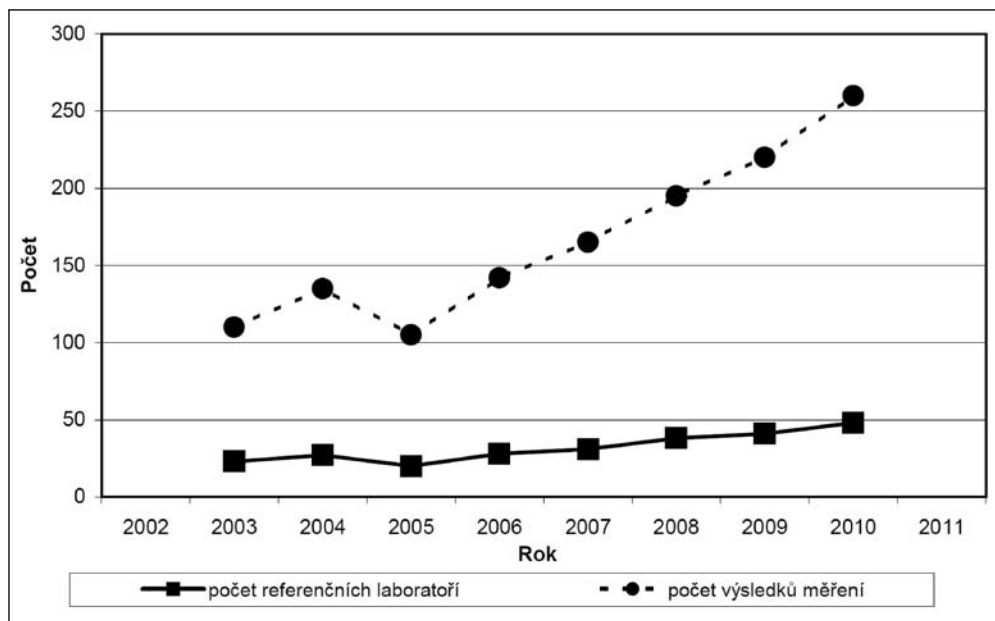
RELA - externí hodnocení kvality referenčních laboratoří IFCC

J. Kratochvíla

Systém RELA - externí hodnocení kvality pro referenční laboratoře vznikl v letech 2001-2002 na popud vědecké sekce IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) ve spolupráci s BIPM (Bureau international des poids et mesures) a zejména JCTLM (Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine). Tyto programy zkoušení způsobilosti celosvětově připravila a kvalitně odladila pracovní skupina 2 (WG-2; L. M. Thienpont, L. Siekmann) této komise JCTLM. Prováděním RELA systému EHK pak byla pověřena DGKL (Deutsche Vereinigte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e. V.) a její kmenové zařízení Referenzinstitut für Bioanalytik DGKL Bonn (RIB Bonn) - Organizátor EHK pro laboratorní medicínu v Německu [1].

Informace o všech požadavcích na účast v RELA jakož i **zásadní podmínky této účasti (akreditace referenční/kalibrační laboratoře podle normy ISO 17025 a ISO 15195)** jsou opět trvale k dispozici na webových stránkách JCTLM/BIPM. Přitom zejmé-

na požadavky na účastníky, aby byli akreditováni dle ISO 15195 (Laboratory medicine — Requirements for reference measurement Laboratories) jsou tvrdé a nadstandardní například vzhledem k normě ISO 15189 pro rutinní klinické laboratoře, avšak jen jejich splnění zajišťuje dostatečnou kompetenci **referenčních laboratoří (RML)** v provádění referenčních měření. Výsledky těchto referenčních měření systémem RELA v rámci zkoušení způsobilosti jsou pak zveřejňovány každoročně, stejně jako totožnost každého účastníka RELA. Kontrolní cykly RELA realizované dvěma zaslanými kontrolními vzorky většinou s různou hodnotou analytu v každém jsou pro jednotlivé analyty a parametry organizovány vždy 1x ročně. Od roku 2003 se počet stanovovaných analytů a parametrů (anorganické a organické analyty, substráty, enzymy, proteiny hormony, léky, glykovaný hemoglobin) stále rozšiřuje. Stejně i postupně celosvětově roste počet referenčních laboratoří, které splňují tvrdá kritéria požadované akreditace, jak uvádí **graf 1**. I když je počet RML v současnosti vyšší než 50, nejsou tyto rozloženy rovnoměrně. S politováním musíme konstatovat, že v zemích bývalého východního bloku není ani jediná. V zajímavém, ale již nepříliš překvapivém protikladu je jich hned několik v Čínské lidové republice. Ani u nás není žel dosud žádná RML, přes dlouholeté úsilí některých jedinců a snahu a pomoc RIB Bonn i WG-2 (L. M. Thienpont, L. Siekmann). A přitom se jedná vedle zajímavé a cenné odborné práce i o ekonomicky přínosnou práci. RML určující referenční



Graf 1. Počet referenčních laboratoří a počet jejich výsledků měření v průběhu let.

hodnoty měření i s certifikátem (na západ od nás) a pracující většinou pro IVD výrobce, poskytovatele EHK či jiné zájemce si často účtují podle zvoleného analytu či parametru ceny v tisících Euro za jednu takovou určenou RMV hodnotu.

Oficiální internetové stránky systému RELA (<http://www.dgkl-rfb.de:81/index.shtml>), jsou trvale přístupné všem zájemcům.

Celkové výsledky pro jednotlivé analyty a parametry jsou vždy uspořádány do přehledných tabulek výsledků měření jednotlivých RML včetně kvalifikovaných odhadů referenčních nejistot, použitých referenčních metod měření a Youdenova grafu shrnujícího všechny výsledky obou kontrolních vzorků pro daný analyt a parametr. Jedná se tedy o obdobné členění, jaké uvádí pro rutinní cykly EHK např. SEKK Pardubice. I když neexistuje žádný oficiální protokol pro tato referenční měření, předpokládá se, že všichni účastníci (tedy RML a často i laboratoře národních metrologických ústavů) pracují přesně dle určených referenčních měřících postupů a pomocí referenčních materiálů v souladu s normami ISO 15193 a ISO 15194. Certifikace referenčního postupu vyžaduje průměrný počet opakovaných referenčních měření za podmínek opakovatelnosti a celkové preciznosti, proto dostává každý účastník RELA vždy 5 lahvíček téhož kontrolního vzorku (lyofilizovaný vzorek na bázi lidského séra). Časový interval mezi dodáním vzorků a odesláním výsledků referenčních měření do Bonnu je 6 měsíců. Vedle toho i účastník uvádí, zda je jím použitý referenční měření/postup uveden v databázi JCTLM/BIPM, zda byl nějak modifikován, proč atd. Pokud tomu tak je, musí svůj referenční postup podrobně popsat a tento je podroben přísné prověrce, zda jej za referenční postup vůbec považovat lze. Stejně jsou i v souladu s výše uvedenými normami a GUM určeny a uvedeny rozšířené odhady nejistot výsledků referenčních měření. V první fázi vyhodnocování výsledků RELA probíhá tzv. „vnitřní hodnocení“ jak výsledků měření dané RML, tak i použitých referenčních postupů v rámci vyhodnocovacího centra RIB Bonn (4 týdny). V této fázi je totožnost účastníků důležitá a oni mohou ještě své výsledky z hodnocení stáhnout. Pokud tak neučiní a souhlasí se zveřejněním, jsou již výsledky měření nadále umístěny na webové adrese RELA a volně přístupné. Od roku 2007 jsou ještě uváděny v Youdenových grafech tzv. „Limits of Equivalence“ (LOE; hranice/mez ekvivalence). Toto předběžné empirické kritérium nelze považovat za „třídění“ a nemá regulační dopad na výsledky RML. Je však edukačním parametrem, který dobře ukazuje kvalitu výkonnosti RML a její event. zlepšení/zhoršení. Nastavení tohoto parametru je 4 : 1 (v USA známý systém „four to one rule“; z amerického národního standardu ANSI / NCSL Z540-1-1994) přibližně ukazuje, že referenční postupy jsou 4x preciznější než rutinní [2]. Tedy hodnoty LOE uvedené v tab. 1 níže, jsou někde přibližně 3x až 4x menší než rutinní odchylky D_{max} používaná např. v SEKK Pardubice (ale přesně odpovídají hodnotám $1/4 D_{max}$ uvedeným v Rilibäk 2009).

tru je 4 : 1 (v USA známý systém „four to one rule“; z amerického národního standardu ANSI / NCSL Z540-1-1994) přibližně ukazuje, že referenční postupy jsou 4x preciznější než rutinní [2]. Tedy hodnoty LOE uvedené v tab. 1 níže, jsou někde přibližně 3x až 4x menší než rutinní odchylky D_{max} používaná např. v SEKK Pardubice (ale přesně odpovídají hodnotám $1/4 D_{max}$ uvedeným v Rilibäk 2009).

Tabulka 1. Mez ekvivalence v porovnání s D_{max} SEKK a D_{max} Rilibäk

Analyt	Mez ekvivalence (LOE) ~[%]	D_{max} SEKK (Rilibäk) ~[%]
Kreatinin	5,0	15 (20)
Glukóza	3,75	7,5 (15)
Bilirubin celk.	5,5	21 (22)
Cholesterol	3,25	8,5 (13)
Bílkovina celková	2,5	9 (10)
Sodný kation	1,25	5 (5)
ALT	5,25	15 (21)
α -AMS	5,25	15 (-)

LOE je spočítáno na základě výsledků měření minimálně 5 RML pracujících výhradně referenčními metodami uvedenými v databázi JCTLM/BIPM.

Každý výsledek referenčního měření dané RML v RELA je uveden s určenou nejistotou měření.

Účastníci RELA určují vlastní rozšířenou kombinovanou nejistotu svých výsledků měření dle GUM. Tato se skládá s „náhodného podílu“ vypočteného z opakovaných měření a vynásobeného koeficientem (v závislosti na počtu nezávislých měření) a „systematického podílu“, který je odvozen z řady publikovaných a známých určení a zahrnuje nejistoty z vážení a pipetování, čistoty reagentů, teploty měření, kalibrátorů atd. Kombinovaná rozšířená nejistota se určuje pro interval spolehlivosti 95 %. Na rozdíl od rutinních laboratoří se určuje nejistota jako průměr či medián z nejistot z více nezávislých měření. I proto se předpokládá, že by výsledky referenčních měření včetně nejistot měly být v intervalu LOE (pravidlo 4 : 1).

Pracující referenční/kalibrační laboratoře jsou i porovnávány vzájemně dle následujícího vzorce:

$$\frac{\Delta_{lab(x)-lab(y)}}{\sqrt{U_{lab(x)}^2 + U_{lab(y)}^2}} \leq 1 \quad \text{kde}$$

$\Delta_{lab(x)-lab(y)}$ je rozdíl RELA výsledků účastníků x a y

Tabulka 2. Počty referenčních laboratoří (RML) v RELA pro vybrané analyty v průběhu let (2003 až 2011)

Analyt	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Kreatinin	3	10	5	2	2	5	3	12	4
Glukóza	3	4	6	5	10	12	11	16	10
Bilirubin celk.	2	2	2	2	5	3	5	9	11
Cholesterol	9	8	7	5	5	8	12	8	12
Bílkovina celková	2	7	3	4	3	4	9	11	13
Sodný kation	6	5	4	3	6	5	6	6	8
ALT	10	5	7	13	16	15	18	23	21
α -AMS	2	4	3	6	13	12	15	17	16
HbA _{1c}	3	0	2	4	4	5	6	8	6

$U_{lab(x)}$ a $U_{lab(y)}$ je rozšířená kombinovaná nejistota výsledku měření účastníků x a y

Pokud je rozdíl výsledků referenčních měření blízký nule včetně jejich nejistot, lze předpokládat, že oba účastníci měřili stejným způsobem.

Organizátor RIB Bonn určuje při každé příležitosti 1x ročně jeden klíčový analyt (key measurand) tak, aby se takových měření zúčastnila většina účastníků. Cílem je zajistit lepší smysluplné porovnání výsledků měření více účastníků RELA. Mnoho účastníků nemá totiž samozřejmě akreditována všechna měření analytů a parametrů, ale jen ně-

kteří (některé RML pak jen minimum). I mezi účastníky jsou RML s více, či méně zkušenostmi s referencí a referenčními měřeními a navíc při nižším počtu účastníků než 5 nelze spolehlivě určit LOE. Tabulka 2 uvádí některé počty RML pro některé analyty v průběhu let.

Literatura

1. Kessler A. a spol.: External Quality Assessment Scheme for reference laboratories – review of 8 years' experience. Clin Chem Lab Med 2013 v tisku
2. Quality Digest dostupné na: http://www.qualitydigest.com/feb05/articles/04_article.shtml