

Biologické variability, milánský model analytické kvality a problémy jeho aplikace

B. Friedecký, J. Kratochvíla

Data hodnot intraindividuálních (CVi) a interindividuálních (CVg) variabilit umožňují vypočítat signifikance změn následných výsledků měření (RCV - reference change values), hodnoty individuálních referenčních intervalů, tedy kvantifikovat relace mezi analytickými výsledky měření a homeostázou. Milánský model řízení kvality, publikovaný experty evropské federace laboratorní medicíny (EFLM) v roce 2014 klade navíc důraz na analytické specifikace (APS) u programů externích hodnocení kvality (EHK) odvozených z klinických cílů nebo z biologických variabilit. Protože přístupy, založené na klinických cílech (outcome přístupy) jsou zatím v důsledku nedostatečného stavu harmonizace měření aktuálně nedostupné, je důraz kladen především na biologické variability.

Milánský model má ambice vytvořit konzistentní systém indikátorů kvality pro systémy externího hodnocení kvality, nejistot měření, referenčních změn měření a procesů validace a verifikace. Předložená informace se pokouší shrnout zásady tohoto modelu a konfrontovat ho s předchozím stavem.

Databáze biologických variabilit EFLM BV www.biologicalvariation.eu

Databáze je založena na studiích EuBIVAS, hodnotících standardní soubory pacientů s definovaným stavem zdraví a genderu a na předchozích desítkách jiných publikací a metaanalytických studií, popsanych a dokumentovaných v databázi samotné.

Obsahuje přes 2700 hodnot CVi a CVg. Disponuje kalkulaátorem k odvození hodnot nejistot měření (MAU) a celkových chyb měření (TAE). Nejistoty jsou určeny jako indikátory kvality pro laboratorní validace a verifikace. Hodnoty celkových chyb pak jako hodnoty požadavků programů EHK - analytical performance specification (APS).

Milánský model analytické kvality bioanalytů a programy EHK

Je stručně popsán tabulkou 1. Cílem modelu je dosáhnout v budoucnosti maxima APS, odvozených „outcome“ přístupem a minima APS, odvozených jako „state of the art“ tedy závislých na metodě, typu IVDR a podobně. Momentálně je kladen důraz na odvození APS právě z biologických variabilit.

Tvorba APS podle milánského modelu se zjevně pokouší převést hodnoty APS, definované v normě pro EHK ISO

17043:2023 v zcela obecné podobě do konkrétnější podoby pro jednotlivé analyty.

Tabulka 1. Typy hodnot APS v programech EHK podle milánského modelu

Klinické požadavky („outcome“ přístup)
Biologické variability
Současný stav analytiky (the state of the art přístup)

Hodnoty TAE a MAU

Jsou v databázi EFLM BV uváděny vždy diferencované v třech hodnotách (tabulka 2)

Tabulka 2. Diferenciace hodnot MAU, TAE, APS

Stav	Faktor výpočtu z biologických variabilit
Optimální	0,25
Žádoucí	0,5
Minimální	0,75

Použitý způsob diferenciací MAU a TAE se nezdá být jasně odůvodněný.

Existují programy EHK, jmenovitě se hlásící k biologickým variabilitám, jako zdroji APS. Lze uvést systémy RCPA QAP (Austrálie) a SKLM (Nizozemsko).

Hodnoty APS podle milánského modelu zdaleka nejsou akceptovány obecně. Programy poskytovatelů EHK RfB Bonn (Referenzinstitut für Bioanalytik) a INSTAND Düsseldorf (Německo) a CLIA (USA) postupují při jejich formulaci empiričtěji. Oba programy EHK v Německu (RfB, INSTAND) používají právně závazné Směrnice Německé spolkové lékařské komory (RILIBÄK) s hodnotami APS vypočtenými jako součty relativních druhých mocnin diferencí od průměrů. Hodnoty APS CLIA USA jsou určeny jako konsensus expertů a uveřejněny v příslušném federálním registru. Modely EHK, které se explicitně hlásí k biologickým variabilitám musí z praktických důvodů u řady analytů pracovat s řadou výjimek.

V řadě případů s hodnotami biologických variabilit EFLM jako nástrojem tvorby APS nelze počítat. A to rozhodně ne v případech některých základních analytů jako Na, Ca, Cl, celkového proteinu, albuminu, HbA_{1c}. Tam programy EHK, hlásící se k biologickým variabilitám musí sáhnout ke kompromisům (například k hodnotě APS pro glykovaný hemoglobin HbA_{1c} = 8 %, jasně převyšující minimální hodnotu EFLM BV databáze).

Publikovaná data ukazují, že srovnatelnost hodnot APS různých poskytovatelů EHK a jejich systémů zůstává navzdory pokusu EFLM o harmonizaci velmi nedokonalá. Další informace o této nesrovnatelnosti jsou aktuálně uveřejněny na webu www.westgard.com. Consolidated Comparison of Chemistry and Toxicology Specifications

V případech imunochemických stanovení se nemohou biologické variability k stanovení APS použít pro vysokou závislost výsledků na metodách a IVD už vůbec.

Výsledek laboratoře v programu EHK signifikantně informuje o pravdivosti (bias) měření za předpokladu:

- Dostatečné komutability kontrolního vzorku.
- Vztažné hodnoty, získané referenční metodou.

Tento typ programů je velmi řídký díky jeho technické a finanční náročnosti. Publikovaných výsledků agregačních studií, které používají výsledků několika různých programů EHK je jen poskrovnu ačkoliv právě ony by mohl hrát v harmonizaci výsledků měření, v aplikacích strojového učení (machine learning) a v „outcome“ přístupech kontroly kvality zcela zásadní roli. (Tabulka 3).

Tabulka 3. Odkazy na agregační studie EHK s komutabilními kontrolními materiály

HbA _{1c}	https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.288795
Kreatinin	https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0736
Glukóza v plazmě	https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0532

V tom ohledu se zdá, že odvozování APS z biologických variabilit nepřineslo významný průlom.

Nejistota měření a biologické variability

Dokumentace hodnot nejistot měření jsou požadavkem akreditační normy ISO 15189:2022 (odstavec 7.3.4). Publikování těchto hodnot formou tabulek a grafů jako součástí komentářů výsledků kontrolních cyklů je (nepovinnou a nehodnocenou) součástí programů EHK poskytovatele SEKK u řady analytů krevního séra, proteinů, HbA_{1c} a dalších. Pohled na výsledky nejistot ukazuje, že z 25 až 30 % jde o hodnoty nesmyslné, buď nižší než nejistoty kalibrátorů nebo naopak velmi vysoké, překračující hodnoty požadovaných kontrolních mezí. Dlouhodobá produkce takového množství nesmyslných hodnot napovídá, že se ani v průběhu akreditací, ani v programu EHK o ně de facto nikdo adekvátně nezajímá.

Nejistoty odvozené z biologických variabilit a publikované v databázi EFLM BV (jako hodnoty MAU) se zdá být přínosný, neboť by mohl eliminovat těžké chyby laboratorních výpočtů. Nicméně tabulka (tab. 3) nás vyvede z omylu. Hodnoty MAU v databázi EFLM BV jsou totiž opět pro každý analyt hned trojí (optimální, žádaný a minimální). Dosažení reálné mezilaboratorní srovnatelnosti hodnot nejistot je tedy opět iluzorní.

Tabulka 4. Nejistoty měření (U_c v %). SEKK vs EF

Analyt	SEKK _{min}	SEKK _{max}	SEKK _{průměr}	EFLM _{opt}	EFLM _{des}	EFLM _{min}
Glukóza	1,1	7,8	3,3	2,5	5	7,5
Cholesterol	0,2	8,7	3,6	2,6	5,3	7,9
Draslík	0,02	6,1	2,5	2	4	6

Doporučení k výpočtu nejistot České společnosti klinické biochemie (www.cskb.cz 2021) je založeno na kombinaci preciznosti na bázi dat interní kontroly kvality a dat nejistot referenčních materiálů (resp. pracovních kalibrátorů). Tato metoda se hodí jen pro vybrané spektrum harmonizovaných (standardizovaných) metod, realizovaných produkty IVDR. Navíc navzdory své jednoduchosti se jeví pro řadu laboratoří nevládnutelná. Pracovní skupina pro stanovení nejistot měření EFLM navrhla v roce 2022 simplifikovaný postup, založený na datech interní kontroly kvality provedené za vymezených podmínek tak, aby se redukoval vliv bias měření, při jehož započítávání do nejistoty se dělají časté chyby. Jeho aplikace v praxi se jeví jako rozumný postup, ne sice exaktní, ale odolnější vůči chybám laboratoří. Mohl by pomoci při důslednějším provádění akreditačních prověrek.

Schéma zjednodušeného stanovení kombinované nejistoty podle pracovní skupiny EFLM 2022

- Pořídít data interní kontroly kvality.
- Vypočítat je z výsledků jedné šarže kontrolního materiálu.
- Použít nejméně 300 výsledků měření.
- Vypočítat hodnoty standardní nejistoty (u_c) jako mezilehlé preciznosti za uvedených podmínek.
- Vypočítat rozšířenou nejistotu dle $U_c = 2 \cdot u_c$
- Opakovat s další šarží kontrolního vzorku interní kontroly kvality.

Závěr

Pracovníci klinických laboratoří by se měli v databázi EFLM BV dobře orientovat a být schopni data aplikovat zvláště u problémů nejistot, validací a referenčních změn (RCV).

Zásadní trend digitalizované laboratorní medicíny lze vystihnout větou od dat (výsledků) k informacím. Základními nástroji tohoto trendu jsou hodnoty nejistot měření a RCV. Úroveň výpočtů nejistot je však varovná. Dotazníková šetření o znalosti a použití hodnot RCV, provedená v posledních letech v zahraničí také ukázala nepřilíhající optimistické závěry. Jsou tedy informace v tomto článku potřebné.

Součástí sdělení je šest odkazů na webové adresy literárních zdrojů. Jejich plné texty jsou přístupné v elektronické verzi práce.