

Systematické diference, kalibrace, matrice.

Pět zamyšlení nad výsledky EHK

B. Friedecký

Pravdivost výsledků osmi analytů séra

Tabulka 1 ukazuje data, dovolující srovnat hodnoty bias, stanovené pomocí směsi nativních lidských sér (data CAP-C 02 USA) s daty, získanými v standardním programu EHK SEKK pomocí lyofilizovaných materiálů AKS 4/11. (*U cyklu AKS4/11 použity vzorky A pro Na, KP, Mg, kyselinu močovou a ureu a vzorek B pro Cl a glukózu.*) Výsledky jsou uvedeny u osmi základních analytů krevního séra jako intervaly bias (odchytky průměrů od referenčních hodnot) jednotlivých skupin použitých metod/kitu/instrumentace. Tato data charakterizují současnou úroveň měření základních analytů krevního séra. Byla uveřejněna v práci Greg Miller W, Myers GL, Ashwood ER a spol. Arch Pathol Lab Med, 132, 2008, 838-846

Jen u výsledků měření Cl byl zaznamenán nesoulad mezi výsledky obou materiálů, u ostatních jsou však hodnoty bias u obou typů kontrolního materiálu nevýznamně odlišné. U Na a K se zajímavě ukazuje při vyhodnocení obou typů kontrolních materiálů přímá metoda ISE jako metoda s nejvyšší systematickou chybou.

Dále jsou v tabulce uvedeny hodnoty průměrného bias v cyklu AKS 4/11 a nejistot referenčních hodnot (U ref).

U šesti analytů je hodnota bias nižší, než 1% a než nejistoty výsledků referenčních hodnot. To ukazuje na perfektní kalibraci a standardizaci a také znamená nepřítomnost významných matricových vlivů, a tím i oprávněnost použití kontrolních materiálů k posouzení velikostí systematických chyb.

Data tabulky 1 dovolují tvrdit, že pravdivost měření účastníků EHK SEKK je u sedmi uvedených analytů (mimo Cl) shodná s úrovní v USA a že v EHK SEKK jsou aspoň **pro tyto analyty používány kontrolní materiály o dostatečném stupni komutability.**

V práci Miller WG, Ereik A, Cunningham TD a spol. Clin Chem 2011, 57-76-83 je tvrzeno, že 41% kontrolních materiálů je nekomutabilních, neschopných k použití pro stanovení pravdivosti

měření a následně, že je nutné hodnotit účastníky EHK ve skupinách podle metod, kitů, instrumentace. Výpověď lyofilizovaných komerčních kontrolních materiálů AKS 4/11 o kvalitě a pravdivosti osmi základních analytů krevního séra byla však (s výjimkou Cl) shodná s daty, poskytnutými směsí nativních patientských. Zřejmě byly použity dobře volené kontrolní materiály o kvalitní matici (asi některé ze zbývajících 59 %). Hodnocení podle skupin bez použití hodnot získaných referenčními metodami, vykazuje zásadní nedostatek-neposkytne informace o systematických diferencích, pocházejících například z rozdílných kalibrací a rozdílné úrovně standardizace. Panuje však velká ochota řady lidí vyměnit tuto pozitivitu za jistotu certifikátu, která uspokojí auditory. Hodnocení ve skupinách je bezmála zárukou takové jistoty.

Je legitimní pokládat si otázku, proč se kontrolní materiály o nekvalitní matici vyrábějí v takovém množství a k čemu jsou tedy vlastně určeny. Nejspíš k obchodování a k vnitřní kontrole kvality, kde jejich matricová nepřiměřenost nevede a kde může často být výhodou, neboť se vymyká srovnání s jinými entitami. V dubnovém čísle 2012 bulletinu AACC Clinical Laboratory News (přístupné na www.aacc.org) vychází čerstvě článek autorů z CAP (College of American Pathologists) článek o tomto problému: Horowitz GL, Roberts MD. Proficiency testing – are accuracy based surveys the future standards? Přes opatrné a realistické konstatování, že důsledně zavedení systému, kdy se v programech EHK hodnotí pravdivost, je a ještě bude složité, poskytují autoři jednoznačně pozitivní odpověď. **Toto je skutečně budoucnost programů EHK!** Kdekoliv je to možné a verifikované, je třeba prosazovat trend k programům EHK, schopným pravdivost měření objektivně a správně vyhodnotit už nyní. Opačné trendy, snažící se co nejvíce bazírovat na hodnocení podle skupin a silně se prosazující v myslích lidí z laboratoří a od firem i tam, kde je to neodůvodněné, jsou sice pro mnohé pohodlné, ale principiálně chybné.

Nad zprávou expertů NCEP o úrovni měření lipidů

Nedávno byla uveřejněna studie už mnoho let známého Národního cholesterolového edukačního programu NCEP- Vesper HW, Wilson PWF, Rifai N. (Clin Chem 2012, 58:523-527) - charakterizující současný stav měření základních lipidových analytů. Data studie byla získána měřením tří polů nativních směs sér pacientů ve 140-190 rutinních laboratořích. Studie byla organizována pracovníky CAP (College of American Pathologists). Současná úroveň měření lipidových analytů v klinických

Tabulka 1. Intervaly bias (%) diagnostických kitů výrobců. SEKK (AKS4/11) a CAP (C 02)

Analyt	CAP	SEKK		
	Interval bias (%)	Interval bias (%)	Celkový bias (%)	U ref (%)
Na	-0,4 až 2,8	-0,22 až 1,4	0,2	1,3
K	-2,1 až 2,1	-1,2 až 0,8	0,3	1,2
Cl	-6,1 až 0,4	-1,7 až 5,8	2,6	1,8
P	0 až 4,8	-3,8 až 3,8	0,5	1,0
Kys. moč.	-8,3 až 6,2	-4,7 až 5,6	3,3	6,3
Glukóza	-2,6 až 2,4	-0,9 až 3,1	0,9	1,1
Mg	-5 až 7,5	-0,8 až 8,9	0,7	1,0
urea	-9,8 až 9,0	-2,8 až 2,5	1,0	1,0

laboratořích je posouzena hodnotami bias. **Zde je na místě zdůraznit, že bez znalosti hodnot bias a systematických diferencí je nemožné vyhodnotit efektivitu a význam laboratorních vyšetření a že hodnocení kontrolních analýz po skupinách není v tomto ohledu moc platné.** U cholesterolu a triglyceridů byla prokázána podstatně lepší kvalita měření a s jedinou malou výjimkou u cholesterolu nebyly požadované hodnoty bias překročeny. (Tabulka 2). Avšak osm z 13 skupin u HDL a všech osm (!) skupin u LDL měly aspoň jednu ze tří hodnot bias vyšší, než požadovanou. Zásadní novinkou je, že u LDL byly hodnoceny nově jen přímé metody měření. Zatím dominovalo hodnocení výsledků dosažených pomocí Friedewaldovy formule.

Je zajímavé, že v hodnocení CAP byla vzata do úvahy jen diagnostika globálních výrobců Abbott, Beckman, Roche, Siemens, Vitros. To reflektuje stav používaných metod USA. V České republice je situace diametrálně odlišná, protože se ve srovnání

se stavem ve světě používá běžně produktů menších výrobců (45 % účastníků při měření cholesterolu a dokonce 47 % u glukózy v cyklu AKS4/11). V tabulce 3 demonstrujeme velikosti diferencí mezi průměry výsledku skupin metod v cyklech AKS 4 (11B u cholesterolu a triglyceridů a RFA 2/11 u HDL a LDL). Diference mezi výsledky, dosaženými diagnostiky různých globálních výrobců zhruba odpovídají v ČR diferencím od referenčních metod v programu CAP. Používání diagnostik malých výrobců velikost diferencí významně nesnižuje, snad s výjimkou LDL (tabulka 3).

Hodnocení účastníků EHK podle skupin by rozhodně nebylo vhodné, neboť standardizace měření lipidů je dostatečná k tomu, aby nebyly výsledky závislé na použitých metodách (ani u malých výrobců), ani by nevedlo k vyšší úspěšnosti laboratořích v programu EHK. Program EHK SEKK poskytuje dobrou orientaci o stavu měření lipidů v laboratořích účastníků, který je ve shodě se světovým standardem.

Tabulka 2. Hodnoty bias (%) u lipidových analytů v programech CAP. Zaokrouhloeno na celá čísla.

	SEKK	CAP	Požadované bias
Cholesterol		-3 až 3	3
Triglyceridy	-3 až 6	-10 až 5	7 (10*)
HDL	- 5 až 7	-12 až 5	5
LDL (přímé metody)	-4 až +4	-1 až 15	4

* pro vztažnou hodnotu 0,94 mmol/l

Deficit standardizace u ALP

V tabulce 4 jsou vyhodnoceny výsledky stanovení ALP v programu EHK SEKK v průběhu cca 15 měsíců.

Existují významné systematické diference mezi diagnostickými kity různých výrobců. Výsledky Roche vykazují nejnižší průměr, výsledky Beckman Olympus nejvyšší průměr, výsledky ostatních leží

někde mezi nimi. Úroveň diferencí byla po celou sledovanou dobu stabilní. Tato stabilita silně svědčí pro rozdílnou úroveň kalibrace jako pravděpodobnou příčinu rozdílů. Úroveň kalibrace by bylo možné sjednotit na bázi již existující, publikované a schválené referenční metody IFCC a diference by se významně snížily. Namísto toho jsme svědky občasného a již výše zmiňovaného naléhání na

Tabulka 3. Systematické difference (%) u lipidů v programu EHK SEKK. AKS1/11 B (cholesterol, triglyceridy), RFA 2/11 (LDL, HDL). Zaokrouhлено na celá čísla

Analyt	Globální producenti *	Všichni producenti
Cholesterol	-2 až 1	-3 až 1
Triglyceridy	-3 až 10	-3 až 10
HDL	-2 až 1	-3 až 2
LDL	-3 až 6	-10 až 6

* Abbott, Beckman, Roche, Siemens

rozdělení do menších podskupin a na hodnocení v jejich rámci. Takový přístup však nedovolí posoudit úroveň pravdivosti metod měření a orientovat se ve stavu standardizace. Systematické difference u ALP jsou více než pravděpodobně reflexí nerealizované standardizace stanovení. Lze tvrdit, že největší současné úsilí u ALP by mělo směřovat k důsledné recalibraci všech rutinních metod podle standardizace IFCC a teprve pak případně k dalším krokům (bude-li jich poté ještě vůbec zapotřebí). Případná orientace na problém komutability zde vede k zamaskování skutečného problému nedostatečné standardizace.

Tabulka 4. Diference mezi výsledky Roche-R a Beckman Olympus -O v čase u ALP.

AKS4/10 A	21%
AKS4/11 B	24%
AKS 1/12 B	23%

Thyreoidní hormony. Deficit standardizace, nulita komutability.

V rámci činnosti pracovní skupiny IFCC pro thyreoidní hormony byly získány výsledky u velkého souboru sér pacientů s použitím 14 (fT3) až 16 (TSH, fT4) systémů globálních výrobců kitů a instrumentace Abbott, Beckman Coulter, Siemens, Roche, Bio Mérieux, Vitros (Thienpont LM a spol Clin Chem 2010, 56:912-918 a Clin Chem 2010, 56:902-911).

U TSH byly zjištěny difference mezi skupinami až 40 %, u fT4 až 30 % a u fT3 až 25 %. Uvedené systematické difference ukazují nízkou úroveň srovnatelnosti výsledků měření u TSH a malý pozitivní vliv již existující standardizace u FT4 a FT3. Hodnocení účastníků EHK se provádí zde pochopitelně po skupinách, odpovídajících kitům a instrumentaci výrobců-zde je to metoda volby. Hodnocení po skupinách (po systémech kit/přístroj) dovoluje programům EHK bez problémů vyhodnotit práci laboratoří, avšak vůbec nereaguje na difference mezi skupinami, na neuspokojivou úroveň standardizace a na možné nepříznivé důsledky pro pacienty. Je dost možné, že problémy při stanovení některých hormonů imunochemickými metodami budou v budoucnu silným stimulem pro používání separačních metod i v rutinní praxi. V případě thyreoidních hormonů se stávají problémy a spory o komutabilitě bezpředmětné. Z definice komutability plyne, že její úroveň zde „díky“ vysokému stupni nesrovnatelnosti rutinních metod s referenčními jak u nativních, tak i u komerčních sér vůbec nelze zjistit a posoudit. Přicházíme tak o mnoho. Nejenže nedisponujeme srovnatelnými výsledky pro pacienty, nemáme ani objektivní měřítko pro kvalitu kalibrátorů a kontrolních materiálů (kterým komutabilita bezesporu je) a přicházíme i o fackovacího panáka, na kterého lze ledacos svést.