

Harmonizace stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} ve světě a u nás

B. Friedecký, J. Kratochvíla

K posouzení stavu standardizace měření základního parametru diagnostiky a monitorování diabetu a k edukaci existují v současné době dvě klíčové mezinárodní organizace.

C-EUBD

www.ifcc.org Education in the Use of Biomarkers in Diabetes (C-EUBD) (1, 2)

Jedná se o pracovní skupinu IFCC. Práce skupiny a její cíle jsou téměř výhradně zaměřeny na kvalitu a interpretaci výsledků měření HbA_{1c} včetně POCT

systemů. Navazuje na úspěšnou práci pracovní skupiny IFCC (Task Force on Implementation of HbA_{1c} Standardization) ukončenou v roce 2017.

NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program)

www.ngsp.org Harmonizing Hemoglobin A_{1c} Testing (3)

Jedná se o mezinárodní (hlavně USA a Velká Británie) pracovní skupinu zabývající se certifikací metod a laboratoří pro stanovení HbA_{1c} a podílející se na programu EHK CAP (College of American Pathologists) - EQA CAP GH5.

Mezinárodní programy EHK (externího hodnocení kvality)

Programy obou institucí jsou statisticky robustní a cenné díky velkému počtu účastníků s metrologickou návazností jejich metod na referenční měření, která umožňuje sledování úrovně harmonizace u metod, laboratoří a v případech C-EUBD i jednotlivých zemí (Tabulka 1). Zajímavé je použití dvou různě

Tabulka 1. Parametry kontrolních programů C-EUBD a NGSP CAP

	2018	2019
C-EUBD IFCC		
Počet účastníků	2166	3038
Počet zemí	17	20
Počet programů EHK	17	25
Referenční hodnoty	odvozeny z referenční metody IFCC, totožné pro plnou krev i lyofilizovaný hemolyzát	
Jednotky měření	mmol/mol	
Vzorek A	42,4	35,2
Vzorek B	57,9	70,1
Skupiny metod (n > 5)	23	30
Kontrolní materiály	2	2
Plná krev (programy EHK)	10	17
Lyofilizovaný hemolyzát (programy EHK)	10	13
NGSP CAP USA		
Počet účastníků	2400 až 3400	2370 až 3140
Počet vzorků za rok	3 x 3	3 x 5
Referenční hodnoty	odvozeny z referenční metody IFCC	
Jednotky měření	% HbA _{1c}	
Skupiny metod	24	21 až 25
Kontrolní materiál	Plná krev	

Tabulka 2. Preciznost a bias v studiích C-EUBD a NGSP

Parametry	C-EUBD 2018	C-EUBD 2019	NGSP CAP 2018
CV [%] (plná krev)	4,4	4,6	3,0
Bias [mmol/mol] (plná krev)	0,2	0,4	0,4**
CV [%] (lyofilizát)	4,9	4,5*	-
Bias [mmol/mol] (lyofilizát)	-0,5	0,1*	-

*) jen účastníci SEKK 2019/2020

***) po přepočtu pomocí „master“ rovnice

ných jednotek měření v obou programech s nutností přepočtu jednotky % HbA_{1c} na jednotky mmol/mol „master“ rovnicí ($X_{\text{mmol/mol}} = (X_{\text{NGSP/DCCT}} - 2,152) / 0,09148$). Tento přepočtení je sice dosud akceptovatelný, nicméně přináší určité potíže, například způsobuje virtuálně odlišné hodnoty preciznosti a bias u výsledků identických vzorků.

Současný stav ukazuje, že kritičtější než hodnota bias, spolehlivě minimalizovaná dostatečným stupněm standardizace a referenční metodiky, je pro kvalitu stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} mezilaboratorní preciznost výsledků měření. Její zlepšení je hlavní rezervou zvyšování kvality výsledků měření HbA_{1c}. Dvojí jednotky působí nepříliš vhodný „kolaterální efekt“. Vlivem nutnosti přepočtů jsou hodnoty preciznosti a bias virtuálně příznivější při použití jednotek % HbA_{1c}, než při použití jednotek mmol/mol. Parametry analytické kvality v cyklu C-EUBD jsou srovnatelné pro oba typy použitých vzorků – plné krve i lyofilizovaného hemolyzátu, pocházejících ze stejného poolu krve. Tuto shodu a relativní nezávislost na typu matrice kontrolních vzorků však nelze zobecnit a komutabilita kontrolních materiálů na bázi lyofilizovaných

hemolyzátu je jevem ne tak častým. Výsledky dvou cyklů C-EBBD také ukazují, že za rok 2019 nedošlo k pokroku v kvalitě a její parametry zůstaly nezměněné, respektive se nepatrně zhoršily (možná v důsledku většího počtu účastníků, jednotlivých zemí a poskytovatelů programů EHK).

Tabulky 3 a 4 diskriminují četnost hodnot variačního koeficientu a bias, dosažených v letech 2018 a 2019 v studiích C-EUBD. Plyne z nich:

- nízký počet problémů s hodnotami bias u jednotlivých přístrojových skupin výrobců
- nízký počet problémů s hodnotami bias při diskriminaci podle zemí účastníků
- rozhodně nikoliv ideální preciznost měření prakticky u pětiny přístrojových skupin i zemí
- velmi mírné snížení analytické kvality v roce 2019 oproti roku 2018, které ale může souviset se zvýšením počtu účastníků, programů EHK a jednotlivých zemí
- spolehlivá úroveň kvality účastníků EHK SEKK, a vhodnost eventuálního budoucího zavedení kontrolních materiálů na bázi vzorků plné krve.

Tabulka 3. Diskriminace hodnot preciznosti a bias podle přístrojových skupin jednotlivých výrobců. Program C-EUBD, kontrolní vzorky z plné krve.

Preciznost (CV [%])	Četnost výsledků (%)	
	2018	2019
≤ 3	29	19
≤ 5	54	62
>5	17	19
Bias (mmol/mol)		
≤ 1	75	53
≤ 2	17	34
≤ 3,5	4	13
≥ 3,5	4	0

Tabulka 4. Diskriminace průměrných hodnot preciznosti a bias podle jednotlivých zemí. Program C-EUBD, kontrolní vzorky z plné krve

Preciznost (CV [%])	Četnost výsledků (%)	
	2018	2019
≤ 4	60	44
≤ 5	20	38
>5	20	18
Bias (mmol/mol)		
≤ 1	100	100

Problematictější metody v letech 2018 až 2019 s hodnotami CV > 5 a bias b > 2

U výsledků programů C-EUBD jsou to zejména analytické metody na přístrojových platformách Beckman AU, Siemens Advia, Tosoh G7 a pak v roce 2019 se objevivší metody HemoCue (zřejmě systémy POCT HbA_{1c} 501).

U programů NGSP je systematicky problémovou metodou Beckman AU. Další, podle C-EUBD problémové metody Tosoh G7 a Siemens Advia, se již programů NGSP neúčastní.

Siemens Advia není ani v seznamu certifikovaných metod NGSP, nově je však již certifikován systém Siemens Atellica, ale ne s imunochemickou metodou, nýbrž s enzymatickou metodou stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}.

Z dvou systémů Beckman není systém AU, vykazující v obou programech problematictější kvalitu v certifikačním seznamu NGSP uveden, ovšem přístrojové platformy Unicel DxC series téhož výrobce, dosahující vyšší kvality v obou mezinárodních programech, certifikovány NGSP jsou.

U imunochemických metod Roche patří certifikované systémy již kompletně ke třetí generaci, čímž vymizely problémy, pozorované ještě v roce 2018 a připisované tenkrát mixu 2. a 3. generace metod Roche na trhu některých zemí.

Problém komutability kontrolních materiálů při stanovení HbA_{1c}

Z výsledků cyklů C-EUBD by se mohlo usoudit, že mezi kontrolními vzorky plné krve a lyofilizovaných hemolyzátů z totožného poolu není významný rozdíl. Francouzští autoři však testovali 23 komerčních kontrolních materiálů a zjistili, že jen velmi málo z nich vykazuje dostatečnou komutabilitu a u velké většiny lze usuzovat na podstatné ovlivnění maticí, jejímž důsledkem jsou hodnoty bias až v rozmezí -30 až 15 % (4, 5). Tedy neúměrně vyšší, než bylo pozorováno

v cyklech C-EUBD 2018 a 2019 a NGSP CAP. Takže i zde (jako u ostatních analytů a kontrolních vzorků) platí, že arteficiální kontrolní materiály jsou vhodné k použití pro EHK a k posouzení bias metod a účastníků jen po důsledné verifikaci jejich komutability. To je ve shodě s normou nového harmonizačního protokolu (6). Několikrát v kontrolních programech SEKKu použitý lyofilizovaný hemolyzát testovaný European Reference Laboratory for Glycohemoglobin, Winterswijk, Nizozemsko (vedoucím laboratoře je Dr. Cas Weykamp) požadavky na dostatečnou komutabilitu vždy splňoval.

Podrobnější studie autorů z čínských referenčních laboratoří ukázala aktuálně, že komutabilita materiálů typu plné krve byla dobrá téměř u všech metod, zatímco u lyofilizovaných hemolyzátů měla odpovídající úroveň jen u podstatné části separačních metod, zatímco u některých (ne všech) imunochemických metod byla pozorována významná úroveň nekomutability (7). U vzorků plné krve bez aditiv je možné očekávat komutabilitu, ale u vzorků v lyofilizované podobě je nezbytné komutabilitu otestovat ještě před jejich aplikací v programech kontroly kvality a použít je až po jejím potvrzení. Komutabilita se verifikuje dvěma možnými způsoby.

Metodou CLSI- EP14-A3 na bázi regresní analýzy dle Deminga a metodami pracovní skupiny IFCC na bázi srovnání bias testovaných kontrolních vzorků paralelně se vzorky pacientů (8). Je zajímavé, že obě použité oficiálně uznávané metody verifikace bias nevedly v uvedeném studii k stoprocentně ekvivalentním závěrům.

Literatura

1. EurA1 trial group: EurA_{1c}. The European HbA_{1c} Trial to Investigate the Performance of HbA_{1c} Assays in 2166 Laboratories across 17 Countries and 24 Manufacturers by Use of the IFCC Model for Quality Targets. Clin Chem 2018, 64/8:1183-1192.

2. C-EUBD. Provisional report EuRAAA_{1c} 2019. HbA_{1c} trial, EQA organisers.
3. Harmonizing Hemoglobin A_{1c} Testing. Dostupné na: www.ngsp.org
4. Delatour V, Clouet-Foralson N, Jaisson S, Kaiser P, Gillery P.: Trueness assessment of HbA_{1c} routine assays: are processed EQA materials up to the job? Clin Chem Lab Med 2019, 57/10:1623-1631.
5. Delatour V, Clouet-Foralson N, Jaisson S, Kaiser P, Gillery P.: Beware of Noncommutability of External Quality Assessment Materials for Hemoglobin A_{1c}. Clin Chem 2020, 66/2:390-393.
6. ISO 21151:2020. Requirements for international harmonization protocols establishing metrological traceability of values assigned to calibrators and human samples. ISO Geneve 2020.
7. Zhang T.: The commutability assessment of EQA materials and certified reference materials for HbA_{1c}. JCTLM meeting 2019, Sévres.
8. Friedecký B, Kratochvíla J.: Pracovní skupina WG IFCC 2018. Komutabilita referenčních, kalibračních a kontrolních materiálů. FONS 2018, 4/18:31-36.