

Testování výrobků IVD ve světě

B. Friedecký

CÍL SDĚLENÍ:

Poskytnout přehled dat o testování a vlastnostech důležitých laboratorních diagnostik z publikací v časopisech *Clinical Chemistry* a *Clinical Chemistry Laboratory Medicine* (leden 2006 až srpen 2007)

PSA

Měřicí systémy všech velkých výrobců poskytují nesrovnatelné výsledky celkového PSA (tPSA). Ještě podstatně hůře jsou srovnatelné výsledky volného PSA (% fPSA) (1). K dosažení srovnatelnosti nevedlo ani když byly různé systémy kalibrovány na totožný mezinárodní kalibrátor WHO. Tento kalibrátor se tedy chová jako „nekomutabilní“ (2) Nesrovnatelnost a nezaměnitelnost výsledků, dosažených různými systémy v různých laboratořích má za následek problémy v diagnostice chorob prostaty, jejich výsledky jsou příliš závislé na použitém měřicím systému.

Aldosteron

Byly srovnány in house metody RIA s kity výrobců Adaltis, DSL a Nichols. Pozorované difference jsou více než 100% a rostou se snižujícími se koncentracemi analytu. Systémy mají velmi odlišné hodnoty mezi detekce/stanovitelnosti. Hodnoty cut-off udávané výrobcem nelze údajně považovat za spolehlivé (3).

CRP

U CRP se předpokládá už řadu let jeho významná prognostická cena jako biomarkeru kardiálních chorob, speciálně pak jako ukazatele prognózy stavu (morbidity/mortality) pacientů. Překážkou vyhodnocení průkaznosti vyšetření CRP jsou analytické problémy, zejména nedostatek dat, které by verifikovaly spolehlivost měření nízkých koncentrací. Rozdílná kvalita a validita diagnostických kitů vedla orgány FDA (Food and Drug Administration USA) k regulaci trhu pomocí příznání nebo upření přídatného jména kardiální-c- v názvu kitu, tedy v rozlišování c-CRP a hs-CRP. Kriteřiem byly pro FDA výsledky, dosažené v programu EHK. Diskuzi (dost ostrou) o tomto problému nalezneme v dvojčlanku (4, 5).

Ca 19-9

Výsledky, dosažené systémy různých výrobců jsou stále špatně srovnatelné a vykazují významné systematické difference. Nesrovnatelné jsou nejen

číselné hodnoty výsledků, ale i počty měření nad cut-off u různých systémů, pohybující se v intervalu 52-59 % (6).

HBSAg

Porovnány byly kity Abbott Auszyme a DPC Immulite 2000. U DPC byla nalezena početná skupina výsledků typu „WR“ (slabě reaktivní), která nebyla u Abbottu přítomná. Avšak jen u části materiálů typu „WR“ byla pomocí PCR nalezena DNA viru hepatitidy B, čili potvrzena specifická reakce (7).

Specifické IgE

Tři in vitro systémy (ImmunoCAP, Immulite 2000, Advia Centaur) byly porovnány pro čtyři alergenů s kožními testy při zohlednění anamnézy. Byly nalezeny diskrepance vůči kožním testům od 24 až do 100 %. In vitro systémy vykazovaly velmi odlišné hodnoty sensitivity a specifčnosti (8).

Kreatinin a GFR

Odhad eGFR pomocí doporučeného výpočtu rovnice MDRD si vynutil potřebu zásadní recalibrace měření sérového kreatininu u všech diagnostických kitů na trhu. Důvodem je dosažení srovnatelnosti výsledků eGFR zejména v oblasti koncentrací do cca 133 $\mu\text{mol/l}$, neboli v oblasti její nejvyšší výpočtově hodnoty pro diagnosu ledvinové choroby (9). Jen za podmínky řádné recalibrace referenční metodou ID-MS lze dosáhnout srovnatelnosti hodnot eGFR pomocí vztahu MDRD (10). Přitom i před oficiálním vyhlášením kampaně recalibrace měření S-kreatininu deklarovali výrobci existenci návaznosti výsledků měření svými výrobky IVD, takže teoreticky by potřeba nové recalibrace měření neměla vůbec nastat.

Insulin

Velká studie 11 metod stanovení insulínu. 10 metod bylo na bázi chemiluminiscenčních imunostanovení, 1 byla RIA (11). Rozpětí hodnot recovery, interval diferencí průměrů jednotlivých systémů od průměru všech -47 až 47 pmol/l, rozpětí směrnice lineární regrese rovnice -0,32 až +0,22. Tedy víc, než dvojnásobné rozdíly. Předpokládanými důvody jsou rozdílná specifčnost, nesouhlasná kalibrace, nesjednocené a nevalidované přepočítací faktory z mU/l na pmol/l. Sumárně: kity nejsou odpovídajícím způsobem validované! Kalibrace byla nesouhlasná, přestože bylo použito u všech metod totožného kalibrátoru.

Druhá pracovní skupina hodnotila stav standardizace imunochemických měření insulínu v přibližně stejné době z pověření ADA (Americké Diabetologické Asociace). Vyhodnotila 12 kitů devíti výrobců.

Opakovatelnost měření se pohybovala mezi 4-39 %, mezilaboratorní reprodukovatelnost dokonce mezi 12-66 %. Kalibrace byla odvozená ze stejného certifikovaného referenčního materiálu, ale tato skutečnost potřebný pozitivní vliv nevykázala. Jen 6 kitů dosáhlo celkové chyby pod 32 % (12).

Gentská laboratoř validovala metodu ID-LC-MS/MS (14) se záměrem vytvořit na jejím principu referenční metodu měření insulinu. Ze čtyř imunochemických kitů (Roche, Abbott, Beckman, DPC) pouze jeden poskytl s metodou ID-LC-MS/MS slušně srovnatelné výsledky. Tři další zaznamenaly velké diference. Po rekalibraci imunochemických metod na ID-LC/MS/MS klesla jejich celková chyba pod 32 % (což je kontrolní limit ADA - Americké diabetologické asociace).

Troponiny

Podle všech mezinárodních doporučení o diagnostice srdečních chorob pomocí biochemických markerů včetně poslední verze doporučení NACB (National Academy of Clinical Biochemistry) jsou cTnI a cTnT ekvivalentní při použití (15).

Zavedení certifikovaného referenčního materiálu SRM-NIST 2921 k odvození hodnot pracovních kalibrátorů nevedlo k potřebné úrovni srovnatelnosti (14), takže číselné hodnoty i hodnoty cut-off, dosažené s použitím různých měřících systémů zůstávají přes určité přiblížení stále velmi různé, prostě nesrovnatelné. V poslední verzi doporučení NACB je poprvé explicitně formulován požadavek na standardizaci měření cTnI. Tím se rozumí nejen návaznost hodnot pracovních kalibrátorů na SRM-NIST 2921, ale i sjednocení reagenčních protilátek. Bylo publikováno, že nové, právě na trh uváděné „generace“ kitů cTnI (Ortho, Beckman, Abbott) poskytují zcela nesrovnatelné četnosti diagnostických klasifikací akutního koronárního syndromu (16)

Anti-CP

Detekce protilátek proti citrulinovým proteům je považována za silný nástroj diagnostiky revmatické artritidy. V uvedené práci bylo testováno 11 diagnostických kitů, založených na imunoenzymových reakcích (17). Výsledky se významně lišily přesností a diagnostickou efektivitou. Hodnoty AUC-ROC kolísaly v intervalu 0,79-0,92. Hodnoty sensitivity při fixní specifitě (98,5 %) se pohybovaly mezi 41-74 %. Byly testovány výhradně kity druhých a třetích generací.

Cystatin C

Autoři (18) ukázali, že při použití stejného diagnostického kitu na měřících systémech různých výrobců byly získány hodnoty až o 50 % rozdílné eGFR. Přitom

hodnoty v kontrolních materiálech vnitřní kontroly kvality nezaznamenaly žádnou diferenci. Příčinou jevu je rozdílná imunoreaktivita pracovního kalibrátoru a kontrolních materiálů ve srovnání se vzorky sér pacientů. To bylo prokázáno dilučními pokusy. Jedním z důsledků je například překvapivé zjištění, že laboratoře, které poskytují velmi srovnatelné výsledky měření kontrolních sér poskytují současně málo srovnatelné výsledky měření sér pacientů (doufejme, že nejde o „nekomutabilní“ pacienty).

ZÁVĚRY

Problémy se srovnatelností výsledků diagnostik přetrvávají a jsou systematicky testované, obvykle za významné podpory výrobců.

Příčinou jsou obvykle rozdílná specifita reagentů a nekomutabilita referenčních materiálů (kalibrátorů a kontrolních materiálů)

Je nutné systematické testování a hodnocení výsledků včetně programů EHK. Je naprosto nutné i systematické testování a vyhodnocování výrobků s potvrzením shody s požadavky Směrnice IVD.

LITERATURA

- Stephan C, Klaas M, Mueller C a spol. Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: An update. *Clin Chem*, 2006, 52, 59-64)
- Kort SAR, Martens F, Vanderpucke H. Comparison of 6 automated assays for total and free prostate-specific antigen with special reference to their reactivity toward the WHO 96/670 reference preparation. *Clin Chem* 2006, 52, 1568-1574
- Schirpenbach C, Seiler I, Maser-Gluth C a spol. Automated chemiluminescence-immunoassay for aldosterone during dynamic testing. Comparison to radioimmunoassays with and without extraction test. *Clin Chem*, 2006, 52, 1749-1755
- Rifai N, Ballantyne CM, Cushman M, Levy D, Myers GL. High sensitivity C-reactive protein and cardiac C-reactive protein assays: Is there a need to differentiate? *Clin Chem* 2006, 52, 1254-1256
- Callaghan JV, Gutman SJ. Guidance for D-reactive protein assays: matching claims with performance data. *Clin Chem* 2006, 52, 1256-1257
- Passerini R, Riggio D, Salvatici M a spol. Interchangeability of measurements of CA 19-9 in serum with four frequently used assays: An update. *Clin Chem Lab Med* 2007, 45, 100-104

7. Chen D, Kaplan LA. Performance of a new-generation chemiluminiscent assay for hepatitis B surface antigen. *Clin Chem* 2006, 52, 1592-1598
8. Libber JC, Van Hoyeveld E, Kochuyt A-M, Weykamp C, Bossuyt X. In vitro determination of allergen-specific serum IgE. Comparative analysis of three methods. *Clin Chem Lab Med*, 2007, 45, 413-415
9. Panteghini M, Myers GL, Greg Miller W, Greenberg N. The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44:1287-1292
10. Levey AS, Coresh J, Greene t a spol. Expressing the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem*, 2007, 53, 766-772
11. Manley SE, Stratton IM, Clark PM, Luzio SD. Comparison of 11 human insulin assays: Implication for clinical investigation and research. *Clin Chem*, 53, 2007, 922-932
12. Marcovina S, Bowster RR, Greg Miller W a spol. Standardization of insulin immunoassays. Report of the American Diabetes Assotiation workgroup. *Clin Chem*, 2007, 53, 711-716
13. Rodriguez-Cabaleiro N, van Uytfangte K, Stove V, Fiers T, Thienpont L. Pilot study for the standardization of insulin immunoassays with isotope dilution-liquid chromatography/tandem spectrometry. *Clin Chem*, 2007, 53, 1462-1469.
14. NACB/IFCC. Analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007, 53, 547-551
15. Christenson RH? Duh SH, Apple FS a spol. Toward standardization of cardiac troponin I measurements. Part II. Assessing commutability of candidate reference materials and harmonization of evidence troponin I assays. *Clin Chem* 2006, 52, 1558-1560
16. AppleFS, Murakami MM. serum and plasma 99 th percentile for three 2nd-generation assays. *Clin Chem*, 2007, 53, 1558-1560
17. Bizzaro N, Tonutti E, Tozoli R, Villalte D. Analytical and diagnostic characteristics of 11 2-nd and 3-rd generation immunoeyzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins. *Clin Chem*, 2007, 53, 1527-1533
18. Flondin M, Hansson L-O, Larsson A. Variations in assay protocol for the Dako cystatin C method may change patient results by 50% withoput changing the results for controls. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44, 1481-1485