

Program standardizace vitamínu D

Palivec L.

Co je to Program standardizace vitamínu D?

Na velký boom ve stanovení vitamínu D v posledních letech zareagovali všichni významní výrobci imunochemických souprav zařízením soupravy na stanovení 25-hydroxyvitamínu D do svého portfolia. Přehled dostupných metodik a jednotlivých výrobců včetně problematiky standardizace stanovení vitamínu D je přehledně popsán v předchozím příspěvku FONS (Vávrová J., Friedecký B.: Zpráva o srovnatelnosti, standardizaci a hodnocení výsledků vitamínu D, FONS XX).

Problematickou standardizace Vitamínu D (Vitamin D Standardization Program – VDSP) se od listopadu 2010 zabývají v National Institutes of Health (NIH) Office of Dietary Supplements (ODS). Cílem VDSP je zlepšit stanovení, vyhodnocení a léčbu nedostatku a deficitu hladiny vitamínu D prostřednictvím standardizovaného laboratorního měření celkového 25-hydroxyvitamínu D v séru. Dílčí kroky vedoucí k tomu cíli jsou:

1. Standardizace stanovení vitamínu D v národních zdravotních průzkumech (databázích) zúčastněných zemí.
2. Zajištění, aby dodavatelé/výrobci souprav poskytovali standardizovanou metodu pro klinické a výzkumné laboratoře.
3. Organizace mezinárodního výzkumného programu zaměřeného na vitamin D a jeho laboratorní stanovení.

Kdo se aktuálně účastní projektu VDSP?

VDSP je přístupný pro výrobce souprav, klinické, komerční a výzkumné laboratoře a národní zdravotní průzkumy. Do projektu jsou aktivně zapojeny instituce:

- U.S. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements (ODS),
- U.S. National Institute of Standards and Technology (NIST),
- U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC),
- Laboratory for Analytical Chemistry, Ghent University, Belgium,

- Vitamin D External Quality Assessment Scheme, U.K. (DEQAS)
- College of American Pathologists (CAP)
- American Association of Clinical Chemists (AACC)
- International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)
- The National Health Surveys of Australia, Canada, Germany, Ireland, Mexico, South Korea, United Kingdom, United States

Proces standardizace vitamínu D

Standardizovaná metoda pro stanovení 25-hydroxyvitamínu D v séru je taková metoda, která vykazuje požadovanou přesnost a je srovnatelná s mezinárodním standardem a referenční metodou (Reference Method Procedure – RMP) dlouhodobě v čase, nezávisle na místě a použitím principu metody. Celý proces standardizace lze rozdělit do čtyř kroků:

Krok 1: Vývoj Referenčního měřicího systému (RMS)

RMS je sada materiálu, kterou lze použít k sestavení kalibračního řetězce resp. návaznosti mezi pravdivou hodnotou (hodnota získaná měřením RMS pomocí RMP) a hodnotou získanou rutinní klinickou nebo výzkumnou laboratoří. VDSP stanovila:

- a) jako RMP „zlatý standard“ metodu stanovení 25-hydroxyvitamínu D HPLC MS/MS University v Ghentu
- b) jako RMS byl vybrán standardní materiál National Institute of Standards and Technology (NIST)

Výsledek stanovení při použití tohoto materiálu a této metody je považován za pravdivou hodnotu koncentrace 25-hydroxyvitamínu D v séru.

Naprostá většina klinických a výzkumných laboratoří měří celkový 25-hydroxyvitamin D na komerčních soupravách. Laboratoře podle správné laboratorní praxe musí přísně dodržovat postup doporučený výrobcem. Na druhou stranu mají omezenou kontrolu nad tím, jak je výrobce navázaný na RMP. **Odtud je zřejmé, že přístup výrobců diagnostických souprav k procesu standardizace hraje klíčovou roli.**

Krok 2: Kalibrace komerční soupravy na RMS

Za navázání komerčně dostupné metody na RMP je zodpovědný výrobce této metody. Lze jej provést buďto změřením RMS (NIST) nebo změřením sady vzorků od dárců, jejichž koncentrace byla ověřena na referenční metodě RMP. Návaznost výrobce je sledována ve dvou fázích.

První fáze je zaměřena na vyhodnocení průměru (%) BIAS metody výrobce od RMP, kdy průměrný (%) BIAS od RMP musí ležet v intervalu $\pm 5\%$. Pokud výrobce splní požadované kritérium, obdrží certifikát na dobu 1 roku.

Druhá fáze sleduje dlouhodobý (%) BIAS a přesnost stanovení (% CV), kdy průměrný (%) BIAS od RMP musí ležet v intervalu $\pm 5\%$ a přesnost stanovení (% CV musí být $< 10\%$). Pokud výrobce splní požadovaná kritéria, je mu certifikát prodloužen.

Krok 3: Kalibrace rutinních klinických laboratoří na RMS

Rutinní klinické laboratoře se na RMP mohou navázat díky účasti v systému EHK, který má své okružní vzorky navázané na RMS. U nás je k tomuto účelu poměrně hojně využívaný program DEQAS (Vitamin D External Quality Assessment Scheme).

Tyto první tři kroky VDSP představují nepřerušovaný řetězec metrologické návaznosti metody stanovení 25-hydroxy vitamínu D mezi koncovým uživatelem a RMP. Rutinní metody jsou tedy kalibrovány a standardizovány na RMP. Tímto je zajištěno vydávání správné koncentrace celkového 25-hydroxy vitamínu D v séru.

Krok 4: Verifikace stanovení koncových uživatelů s cílem zajištění shody mezi jednotlivými metodami

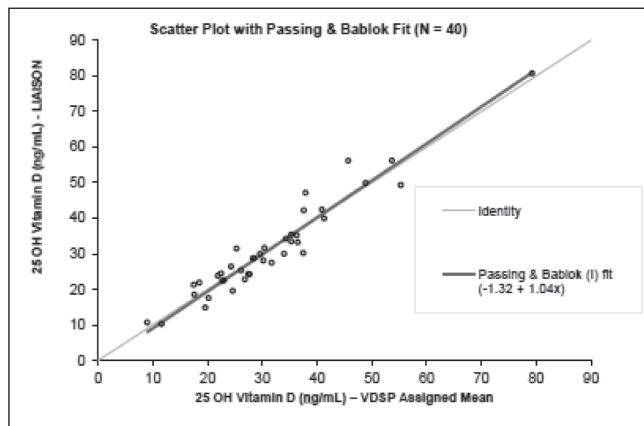
Tento krok zajišťuje dlouhodobé sledování shody mezi různými metodami jednotlivých koncových uživatelů. Jako vhodný RMS lze použít např. vzorky systému EHK DEQAS. Laboraťor pro úspěšné splnění standardizačních kritérií musí dlouhodobě splňovat podmínky: průměrný (%) BIAS od RMP leží v intervalu $\pm 5\%$; přesnost stanovení (% CV) je $< 10\%$.

DiaSorin a VDSP

DiaSorin, jakožto světový leader ve stanovení vitamínu D, se účastní VDSP s metodou stanovení LIAISON 25 OH Vitamin D TOTAL na analyzátořech řady LIAISON (chemiluminiscenční detekce). V první fázi byl vyhodnocen (%) BIAS od RMP na 40 vybraných vzorcích dárců, jejichž koncentrace byla ověřena RMP. **Dosažený výsledek průměrná (%) BIAS odchylka = 0,3% spolehlivě splňuje požadované kritérium** (% BIAS od RMP $\pm 5\%$). Korelace mezi naměřenou hodnotou a VDSP referenční hodnotou je ukázána na Obr. 1. Díky tomuto výsledku nebylo nutné z důvodu VDSP jakkoliv upravovat kalibraci metody. Zároveň tento výsledek demonstruje, že metoda LIAISON 25 OH Vitamin D TOTAL již před samotným VDSP vykazovala výsledky bez významného BIAS vůči současné RMP. Tento fakt je podstatný především z hlediska dlouhodobého sledování hladiny koncentrace celkového 25-hydroxy vitamínu D.

Aktuálně probíhá druhá fáze standardizace, která je zaměřena na dlouhodobé sledování kvalitativních parametrů metody (% BIAS od RMP a přesnost stanovení % CV). Vyhodnocení probíhá na 10 slepých vzorcích dodaných nezávislou organizací U.S. Centers for Disease Control and Prevention v celkem čtyřech kvartálních cyklech. První cyklus prošel DiaSorin s výsledky **průměrná (%) BIAS odchylka = - 0,77% a průměrná přesnost stanovení 2,18 % CV. Tyto výsledky spolehlivě splňují požadovaná kritéria** (% BIAS od RMP $\pm 5\%$ a přesnost stanovení % CV $< 10\%$).

Dokončení druhé fáze VDSP a obdržení certifikátu očekáváme po změření zbývajících cyklů vzorků, tedy koncem tohoto roku.



Passing & Bablok
LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay = $-1.32 + 1.04x$
 $r = 0.962$

Obr. 1 Korelace mezi naměřenou hodnotou a VDSP referenční hodnotou