

Biologické variability a hodnoty požadavků na kvalitu měření (APS- analytical performance specification).

B. Friedecký, J. Kratochvíla

EuBIVAS - studie pracovní skupiny EFLM pro biologické variability

Výsledky EuBIVAS (The European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine European Biological Variation Study) pracovní skupiny organizované EFLM (Evropská společnost pro klinickou biochemii a laboratorní medicínu), jsou podkladem stanovení hodnot dvou následujících základních analytických charakteristik, a to kritických referenčních změn měření (RCV) a kritérií analytické kvality (APS) použitelných v mezilaboratorních zkouškách externího hodnocení kvality EHK. Jejich parametry jsou uvedeny v tabulce 1. Stanovují se jako hodnoty intraindividuálních biologických variabilit CV_p , a interindividuálních biologických variabilit CV_g (vše vyjádřeno v %). Z nich se vypočítají hodnoty podle dobře známých a pro úplnost znovu opakovaných vztahů (všechny výsledky výpočtů jsou opět v %):

- $CV_{APS} = 0,5$, CV_i (požadovaná hodnota preciznosti)
- $B_{APS} = 0,25 \cdot (CV_i^2 + CV_g^2)^{1/2}$ (požadovaná hodnota bias)
- $APS = 1,65 \cdot CV_{APS} + B_{APS}$ (požadovaná hodnota celkové chyby-nejistoty)
- $RCV = 2,33 \cdot (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$ (hodnota nesignifikantní kritické referenční změny dvou následujících měření).

Uvedené hodnoty jsou shrnuty do (zatím poněkud neuspořádané) databáze biologických variabilit EFLM na webové adrese: <https://biologicalvariation.eu>.

V tomto informativním sdělení uvedeme základní data, získaná v dosud publikovaných studiích pracovní skupiny EuBIVAS-EFLM o hodnotách APS a jejich konfrontaci s kontrolními limity EHK u několika skupin analytů, stanovených standardizovanými a harmonizovanými postupy. Cílem je aktualizace informací o analytické kvalitě a stupni harmonizace měření a hodnocení jeho kvality.

Metody měření pracovní skupiny EuBIVAS a soubory dat pacientů

U analytů krevního séra (elektrolyty, lipidy, substráty, enzymy) jsou použity standardizované metody stanovení s metrologicky návaznou kalibrací s použitím certifikovaných referenčních materiálů.

V případě stanovení proteinů, kortizolu, bioin-taktního parathirinu PTH 1-84 a prostatického specifického antigenu PSA byly použity analytické měřicí systémy Roche. Kostní markery byly testovány s použitím systémů Elecsys, IDS iSYS a Dia Sorin. V případě troponinu I jsou zatím k dispozici výsledky analytických měřicích systémů Singulex, Siemens Attelica, Abbott Alinity.

K testování bylo použito výsledků souborů 91 jedinců s definovaným stavem zdraví, jejichž vzorky byly testovány vždy v šesti laboratořích. U stanovení PSA bylo použito 37 vzorků mužů, u markerů diabetu šlo o metaanalytická data ze 47 vybraných publikací.

Výsledky

Jsou uvedeny v tabulkách 1 až 6. Hodnoty APS jsou převzaty od autorů studií EuBIVAS. Ke konfrontaci jsou přiřazeny hodnoty D_{max} z programu SEKK a v tabulce 1 ještě i data velké mezinárodní studie EHK pěti evropských států INPUTs tam, kde byla k dispozici.

Komentář a diskuse

Při stanovení elektrolytů, většiny specifických proteinů a glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} jsou hodnoty APS, odvozené z biologických variabilit obvykle významně nižší, než přijatelné rozdíly v % SEKK i dalších národních i mezinárodních programů EHK a jejich aplikace by vedly k nesplnitelným hodnotám kontrolních mezí. V ostatních případech nejsou tyto rozdíly nijak významné (cholesterol, glukóza a další), jindy naopak (triacylglycerol, močovina, kyselina močová a obecně pak i enzymy) by jejich aplikace naopak vedly k přílišné toleranci. Hodnoty celkových chyb u řady rutinních analytů, uvedené v tabulce 1 ukazují, že tyto rozdíly jsou obecně platné bez závislosti na daném programu EHK. Zachycují tak stav současné analytické úrovně měření a ukazují problematičnost použití biologických variabilit.

Uvádíme k zamýšlení několik podstatných informací, které jsou z tabulkových dat zjevné:

- Interference bikarbonátů při stanovení chloridů u metod, používajících referenčních elektrod na bázi kvarterních amoniových bází
- Ve srovnání s mezinárodními studiemi IFCC C-EUBD a US CAP NGSP příliš benevolentní kontrolní meze pro stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} u programu SEKK.

Tabulka 1. Rutinní analyty klinické biochemie

Analyt	APS (%)	D _{max} (%)	TE INPUTS (%)
Sodný kation	0,7	5	3,9
Draselný kation	4,7	7	6,1
Chloridový anion	1,2	7	5,1
Vápník celkový	2,3	8	6,3
Hořčík celkový	3,9	15	11
Fosfáty anorganické	9,5	15	NA
Cholesterol	7,9	9	75
HDL-cholesterol	9,6	15	13
LDL-cholesterol	13,9	15	NA
Triacylglyceroly	28	13	NA
Glukóza	6,0	8	7,5
Močovina	16,4	15	NA
Kyselina močová	11,2	12	12
Celková bílkovina	3,3	9	7,3
Bilirubin	28	21	NA
Kreatinin	6,4	13	NA
ALT	14,4	13	31
AST	13,4	14	27
GGT	15,7	15	21
ALP	10,7	24	27
LD	7,7	18	16
CK	20,4	20	16
α-AMS	13,4	15	21
α-AMS _{pankreat}	11,6	10	NA

Poznámka: TE – celková chyba; NA Nestanovenno

Tabulka 2. Specifické proteiny

Analyt	APS (%)	D _{max} (%)
Alfa-1-antitrypsin	5,3	25
Albumin	3,2	10
Beta-2-mikroglobulin	5,9	21
Ceruloplazmin	7,5	19
Cystatin C	5,6	18
Haptoglobin	27	13
IgA	14	16
IgG	7,3	15
IgM	16,9	18
Transferin	6,2	14
C3-komplement	7,7	17
C4-komplement	12	21

Tabulka 3. Kostní markery

Analyt	APS (%)	D _{max} (%)
Telopeptid kolagenu β CTx	25	17
P1NP	16,5	20
Osteokalcin	16	13
FGF 23	19	17
MPG	10	-

Poznámka: FGF 23 - fibroblastový růstový faktor 23

MGP - Matrix gla-Protein (ukazatel stavu vitamínu K)

Tabulka 4. Prostatický specifický antigen PSA, kortizol, biointaktní PTH 1-84

Analyt	APS (%)	D _{max} (%)
tPSA	16,2	15
fPSA	17,5	16
Poměr fPSA/tPSA	13,4	-
Kortizol (ranní)	19	16
Biointaktní PTH 1-84	18	17

Pozn. tPSA - celkový PSA; fPSA - volný PSA

Tabulka 5. Markery diabetu

Analyt	APS (%)	D _{max} (%)
Glukóza	6,3	8
Glykovaný hemoglobin HbA _{1c}	4,5	13
Fruktózamin	6,0	-

Tabulka 6. Kardiální markery cTnI

Metoda/výrobce	APS (%)	D _{max} (%)
Singulex	25	27
Siemens Attelica	20	-
Abbott Alinity	14	-

- Jednoznačná preference biointaktního 1-84 PTH před druhou generací intaktního PTH, která by se měla výrazněji než dosud projevit i v činnosti poskytovatelů externího hodnocení kvality
- Výrazný negativní efekt nedodělané standardizace stanovení kat. k. ALP (projevující se jak v ČR, tak i v celé ostatní Evropě)
- Vysoká úroveň standardizace stanovení enzymů v ČR v porovnání s ostatní Evropou, nicméně nezbytnost zvýšené důslednosti při používání přídatku pyridoxal-5-fosfátu při měření kat. k. ALT a AST.
- Měření. Situaci nelze do nekonečna řešit hrou na dvě různé metody s různými výsledky měření pro jeden analyt. V době pandemie COVID-19 by možné následky měly být zřejmé.
- Produkce IVD zdravotnických diagnostických prostředků pro realizaci obsoletních metod. Zde lze uvést intaktní PTH, kardiální markery akutních koronárních syndromů mimo troponiny, produkci testovacích souprav pro stanovení kat. k. ALT/AST bez použití přídatku pyridoxal-5-fosfátu a další.
- Charakter informací firemní příbalové dokumentace a informací na webových stránkách, kdy v záplavě obchodních informací zanikají mnohé zásadní informace o principech metod, základních znacích analytických metod a kva-

Hra o trůny?

- Paralelnost výskytu různých generací stejného zdravotnického prostředku IVD na trhu poskytujícího často zcela nesouměřitelné výsledky

litativních datech (např. APS i RCV), které by měly být pracovníkům laboratoří dostupné.

Literatura

1. Carobene A, Marino I, Coskun A, Serteser M, Unsal I, Guerra E. a spol.: The EuBivas project within- and between- subject biological variation data for serum creatinine using enzymatic and alkaline picrate methods and implications for monitoring. *Clin Chem* 2017, 63/9:1527-1536. (kreatinin)
2. Cerriotti F, Garzón-Marco JP, Fernández-Callé P, Maregnani A, Aarsand AK. a spol.: The European Biological Variation Study (EuBIVAS): weekly biological variation of cardiac troponin I estimated by the use of two different high-sensitivity cardiac troponin I assays. *Clin Chem Lab Med* 2020, doi: 10.1515/cclm-2019-1182. (kardiální troponin I Singulex, cTnI hs-Siemens Atellica)
3. Lan NS, Nguyen LT, Vasikaran SD, Jonsson WC, Rankin JM a spol.: Short- and long-term biological variation of cardiac troponin I in healthy individuals, and patients with end-stage renal failure requiring haemodialysis or cardiomyopathy. *Clin Chem Lab Med* 2020, doi:10.1515/cclm-2020-0046. (kardiální troponin I Abbott Alinity)
4. Bottani M, Banfi G, Guerra E, Locatelli M, Aarsand AK. a spol.: European Biological Variation Study (EuBIVAS): within- and between-subject biological variation estimates for serum bioinactive parathyroid hormone based on weekly samplings from 91 healthy participants. *Ann Transl Med* 2020, 8/14:845, <http://dx.doi.org/10.21037/atm-19-4498>. (biointaktní parathirin PTH 1-84)
5. Carobene A, Guerra E, Locatelli M, Cucchiara V, Briganti A. a spol.: Biological variation estimates for prostate specific antigen from the European Biological Variation Study; consequences for diagnosis and monitoring of prostate cancer. *Clin Chim Acta* 2018, 486:185-191. (PSA)
6. Aarsand AK, Diaz-Garzón J, Fernandez-Calle P, Guerra E, Locatelli M. a spol.: EuBIVAS: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Electrolytes, Lipids, Urea, Uric Acid, Total Protein, Total Bilirubin, Direct Bilirubin, and Glucose. *Clin Chem* 2018, 64/9:1380-1393. (rutinní analyty séra)
7. Gonzales-Lao E, Corte Z, Simón M, Ricós C, Coskun A. a spol.: Systematic review of the biological variation data for diabetes related analytes. *Clin Chim Acta* 2019, 488:61-67. (biomarkery diabetu)
8. Cavalier E, Lukas P, Bottani M, Aarsand AK, Ceriotti F. a spol.: European Biological Variation Study (EuBIVAS): within- and between-subject biological variation estimates of β -isomerized C-terminal telopeptide of type I collagen (β -CTX), N-terminal propeptide of type I collagen (PINP), osteocalcin, intact fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated-unphosphorylated matrix-Gla protein-a cooperation between the EFLM Working Group on Biological Variation and the International Osteoporosis Foundation-International Federation of Clinical Chemistry Committee on Bone Metabolism. *Osteoporosis International* 2020, 31:1461-1470. (kostní markery)
9. Carobene A, Roraas T, Solvik U, Sylte MS, Sandberg S. a spol.: Biological variation estimates obtained from 91 healthy study participants for 9 enzymes in serum. *Clin Chem* 2017, 63:1141-1150. (enzymy)
10. Carobene A, Guerra E, Marques Garcia F, Boned B, Locatelli M. a spol.: Biological variation of morning serum cortisol: Updated estimates from the European biological variation study (EuBIVAS) and meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020, 509:268-272. (ranní odběr kortizolu)
11. Carobene A, Aarsland AK, Guerra E, Bartlett A, Coskun A a spol.: European Biological Variation Study (EuBIVAS): Within- and between-subject biological variation data for 15 frequently measured proteins. *Clin Chem* 2019, 65:1031-1041. (proteiny séra)
12. Weykamp C, Secchiero S, Plebani M, Thelen M, Cobbaert C. a spol.: Analytical performance of 17 general chemistry analytes across countries and across manufacturers with INPUtS project of EQA organizers in Italy, the Netherlands, Portugal, United Kingdom and Spain. *Clin Chem Lab Med* 2016, 55:203-211. (INPUtS)