

DEQAS - mezinárodní program hodnocení kvality stanovení vitamínu D

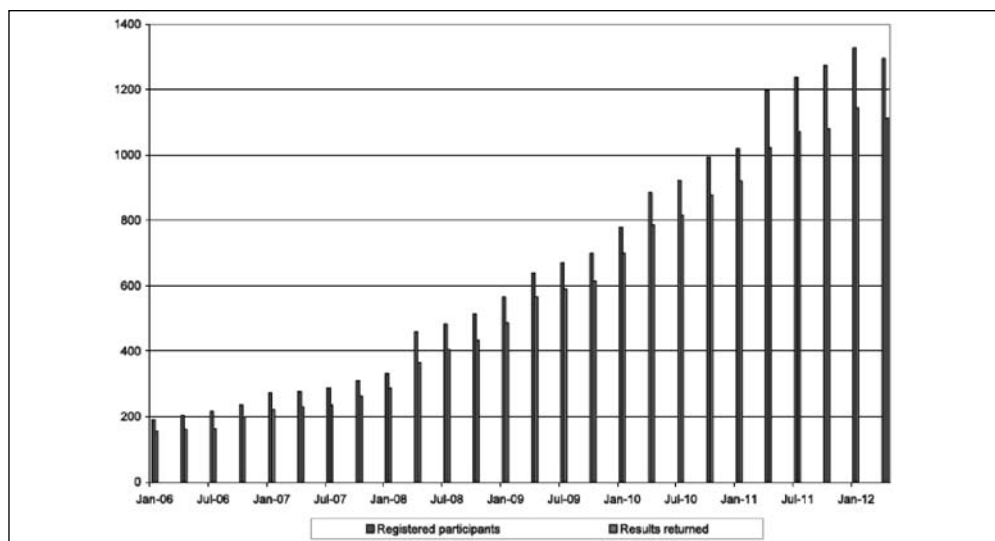
J. Vávrová, B. Friedecký

Popis programu

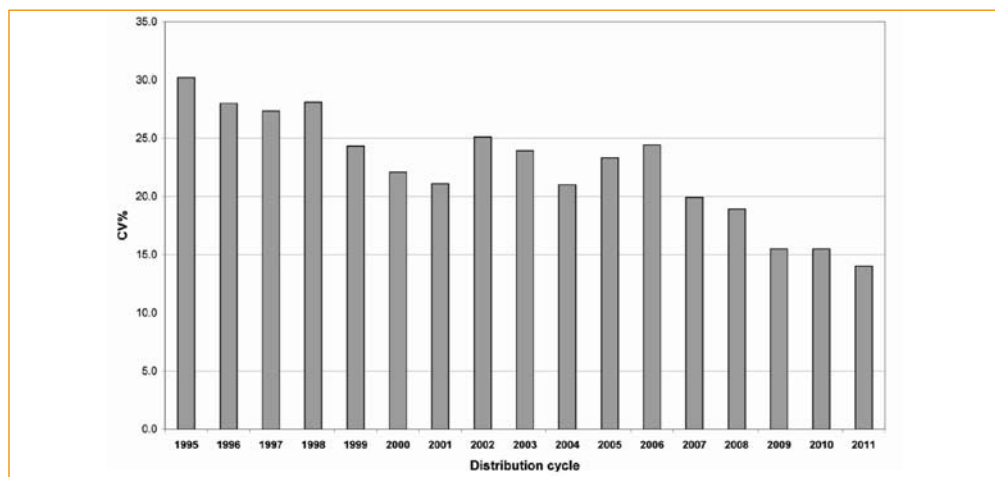
DEQAS (Vitamin D external quality assessment scheme). Určen pro dva analyty: 25-hydroxyvitamin D (celkový) a 1,25-dihydroxyvitamin D [(25-OH)D a 1,25(OH)₂D].

Rozesílá se po pěti vzorcích kontrolního materiálu čtvrtletně. Materiál je získán jako směs vzorků pacientů s hemochromatózou a je považován pracovníky organizace za komutabilní. DEQAS je zapojen do spolupráce s VDSP (Vitamin D Standardization Project), spočívající v metodologické spolupráci a v ověřování komutability VDSP sám je zase součástí vládní organizace USA pro doplňky výživy (Office of Dietary Supplements).

Počet účastníků DEQAS vzrostl od ledna 2006 do ledna 2012 z 200 na 1315, což odpovídá prudkému nárůstu zájmu o toto vyšetření. Na počátku roku 2012 se programu DEQAS účastnila pracoviště ze 48 zemí. Naprostá většina účastníků analyzuje všechny čtvrtletní cykly (Graf 1, graf 2).



Graf 1



Graf 2

Spektrum metod měření a jeho vývoj

V tabulce 1 je uveden velmi stručný vývoj v čase metodologie stanovení 25 OH D

Tabulka 1. Vývoj metodologie stanovení 25 hydroxyvitaminu D

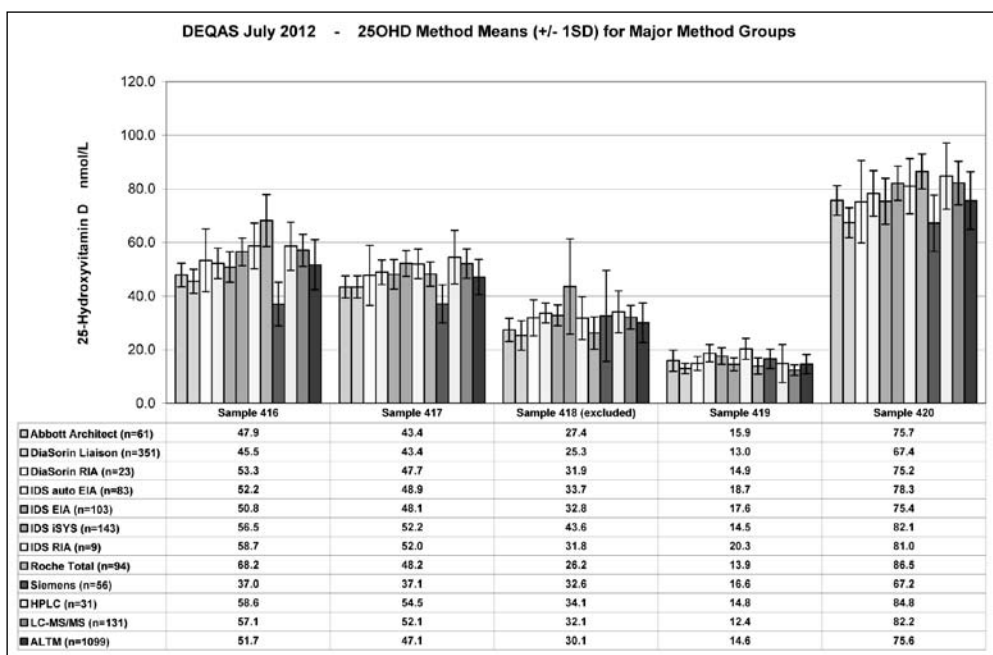
Metoda	Od roku
HPLC	1991
RIA DiaSorin	1993
Automatizovaná imunochemiluminiscence DiaSorin	2004
LC-MS/MS	2005
Roche Elektroimunoluminiscence 25 OHD ₃	2007
Automatizované imunoanalýzy celkový 25 OHD (Abbott Architect, Roche Elecsys, Siemens Advia)	2011

Reprodukovatelnost a systematické diference

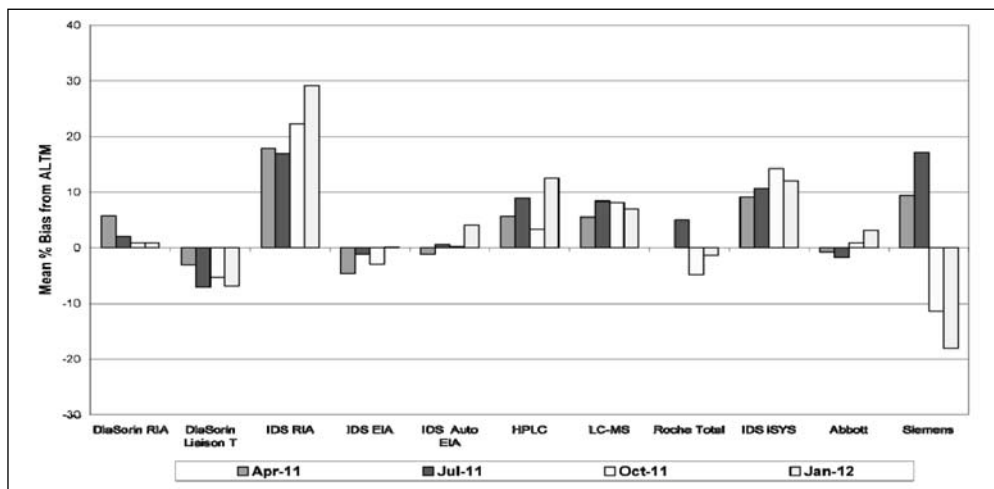
Graf 2 ukazuje dvojnásobné zlepšení reprodukovatelnosti v období od roku 1995 po rok 2011. Hodnota se zlepšila z 30 % na < 15 %. Z grafu je také patrné zlepšení reprodukovatelnosti od roku 2009 díky počátku použití certifikovaného referenčního materiálu SRM 972 pro kalibraci diagnostik výrobců.

Přes zlepšení úrovně kalibrace a dosažení výrazně lepší reprodukovatelnosti poskytují různé metody výsledky s významnými systematickými diferencemi mezi sebou (Graf 3). V grafu 4 jsou zobrazeny některé možné příčiny systematických diferencí mezi průměry jednotlivých metod a průměrem všech účastníků. Jsou to zejména:

- různá reakce s 3-epi-25-hydroxyvitaminem D₃, který zvyšuje hodnoty celkovém 25-hydroxyvitaminu D u separačních metod oproti imunoanalytickým metodám
- diference, které vznikají různou úrovní provedení kalibrace/rekalibrace u výrobců a mohou se například projevit při výměně šarží (Siemens Advia)



Graf 3



Graf 4

Reprodukovatelnost ve skupinách metod

Demonstrujeme na výsledcích cyklu duben 2012. Data uvádíme v tabulce 2. Jde o číselné hodnoty alternativní údajům grafu 4. Reprodukovatelnost různých metod se od sebe odlišuje až dvojnásobně.

Tabulka 2. Reprodukovatelnost stanovení DEQAS – duben 2012

Metoda	CV%
Abbott Architect	9,6
DiaSorin RIA	15,3
DiaSorin Liaison	8,9
Roche total	11,7
Siemens Advia	19,7
LC-MS/MS	10,2
HPLC	13,4
IDS-iSYS	8,6

Bias a recovery 25-hydroxyvitaminu D₂ a 3-epi-25-hydroxyvitaminu D₃

V roce 2010 se hodnota bias, zjištěná jako odchylka průměru výsledků jednotlivých metod od navržené referenční metody LC-MS/MS NIST pohybovala u různých metod v intervalu - 5,4 % až 16,2 %, v roce 2011 v intervalu -5,6 % až 11,5 %.

Přídavek endogenního 25 OH D₂ u imunochemických metod vykázal ve srovnání se separačními metodami HPLC a LC-MS/MS významně nižší hodnotu recovery. Z toho důvodu byly zatím používány v cyklech DEQAS pouze ty, které obsahovaly

nulový nebo velmi nízký podíl 25 OD D₂. Tento požadavek je technicky spojen bez obtíží, neboť séra dárců krve, určená pro přípravu materiálů DEQAS skutečně obsahují prakticky pouze 25 OH D₃. Problém s obtížností stanovení 25- hydroxyvitaminu D₂ imunochemickými metodami se týká zejména těch zemí, kde se používá k suplementaci (např. USA).

Výsledky měření ve vzorcích s přidáním 3-epi-hydroxyvitaminem D₃ ukázaly, že tento přídavek lze zachytit s hodnotou recovery, blízkou 100 % pouze separačními (HPLC a LC-MS/MS) metodami, zatímco imunochemické metody (s výjimkou metody Roche, která částečně na jeho přídavek reaguje) tento přídavek vůbec nedetekují. To může mít klinické důsledky hlavně u novorozenců, kde tento derivát tvoří až 50 % z hodnoty celkového 25-hydroxyvitaminu D. Nicméně se 3-epi-25 OHD₃ vyskytuje v menších a proměnlivých koncentracích i u dospělých jedinců, takže problém jeho přítomnosti a stanovení je významný a dosud nevyřešený.

Stanovení 1,25-dihydroxyvitaminu D v DEQAS

Od roku 2006 do současnosti narostl počet účastníků cca méně než trojnásobně (z asi 60 na asi 160). Zlepšení reprodukovatelnosti v čase od roku 2003 do roku 2007 z 23 % na 17 % bylo později vystřídáno opětovým nárůstem rozptylu na 28 % v roce 2011. Ten je nutné připsat rozšířením používaných RIA metod o metody enzymoimunoanalytické. Teprve zcela recentně se objevili i účastníci, používající separační metody LC-MS/MS.

Data byla zpracována podle přehledu (Review 2012 DEQAS) poskytovaného účastníkům programu.