

# Problémy recalibrace souprav firmy Roche pro stanovení troponinu T hs v letech 2009-2012

Friedecký B., Kratochvíla J.

Za hs (high sensitive) metody stanovení kardiálních proteinů cTn se považují (konsensuálně) takové, které jsou schopné naměřit ve formě kvantitativních výsledků nad hodnotou meze detekce LoD víc, než 50 % jedinců referenční populace. Ve srovnání s dosavadními metodami cTn je to zvýšení analytické citlivosti cca 10x až 100x! Je to tedy dramatická změna měření zejména v oblasti hodnot uvnitř referenčních intervalů a v oblasti jejich mírně zvýšených hodnot, která může mít důsledky pro diagnostickou klasifikaci. Až do nedávna byla za metodu typu hs, uplatněnou v praxi jen metoda stanovení hs cTnT, ale pouze mimo USA, nikoliv v USA samotném, kde neměla potřebný certifikát FDA. V současnosti se však objevuje řada metod hs cTnI v důsledku jejich uvolnění pro trh vlivem schválení úřadem FDA (Food and Drug Administration). Při prověřování celé existující palety metod typu hs vznikla řada problémů, z nichž je zajímavá diskuze kolem metody hs cTnT, snad právě pro rozpor v jejím používání v Evropě a její dosavadní nemožnosti použití v USA. Tato diskuze je ukázkou přesahu analytických problémů (majících kořeny v nedostatečné standardizaci měření cTn) do klinické oblasti a stojí za to o ní stručně informovat.

První diskuzní sdělení o tomto problému pochází od amerických autorů v roce 2012 (1). Následně došlo k dost rozsáhlé diskuzi k této problematice, která přinesla některé zajímavé poznatky a stanoviska. Autoři (1) pozorovali u hs cTnT nedostatečně vysokou schopnost kvantitativně hodnotit výsledky referenční populace v požadovaném (50 % a vyšším) rozsahu u šarží hs cTnT, vyrobených do cca května 2012 a následně dramatické zvýšení míry kvantifikovatelnosti (výsledků měření nad hodnotu LoD) po recalibraci kitů firmou Roche v květnu 2012 (od šarží hs cTnT 167345 a 167 650) ve srovnání se starou kalibrací předešlých (šesti) šarží. Toto zvýšení bylo asi 2,5 násobné (z 27 % na cca 66 %) a teprve ono posunulo testovací soupravu cTnT-hs Roche do skupiny skutečných metod hs s více, než 50% četností výsledků při měření referenční populace nad LoD. **Za zmínku stojí námitka vůči firmě,**

**že nedostatečně seznámila klinické laboratoře s firemním bulletinem, který tuto recalibraci oznamoval.**

Odpověď firmy Roche na kritiku Appleho a Jaffeho nebyla podle našich názorů ve všech ohledech přesvědčivá (2).

Hallermayer a spol. považují malé difference mezi starou a novou kalibrací za tolerovatelné a bez vlivu na klinické implikace. Upozorňují, že diagnostika musí být založena na souvislostech laboratorních nálezů s klinickými, a že rozhodující je změna hs cTnT v čase (delta hodnota). Problémem tvrzení ale je, že není v souladu s třetí univerzální definicí AMI, podle které je nutné považovat za klinicky významnou a hodnocení podléhající **každou hodnotu cTn nad 99 percentil!** Přitom změny po recalibraci soupravy, dosahují přibližně hodnoty 5 ng/l cTnT, což je velmi blízké změně 7 ng/l cTnT, považované pro hs cTnT Roche za signifikantní hodnotu výše uvedené změny v čase. Argument, že systematicky negativní nebo pozitivní chyba nemá vliv na změnu v čase (delta hodnotu) není použitelný, protože systematické chyby mění velmi důležitou hodnotu 99 percentilu (tedy hodnotu referenčního intervalu).

Následuje studie francouzských autorů (3), kteří při srovnání staré a nové kalibrace zjistili difference 6 ng/l cTnT-hs pro nominální hodnoty 5 až 8 ng/l hs cTnT, a 5 ng/l pro nominální hodnoty 8 až 20 ng/l a 4 ng/l pro nominální hodnoty 20-50 ng/l cTnT-hs. **Po recalibraci se změnil počet výsledků referenční populace pod mezí detekce (LoD) z 22,7 % na 5,8 %.** To nasvědčuje tomu, že důsledky provedené recalibrace pro klinické hodnocení nemusí být nevýznamné. Navíc ve shodě s prací (1), byla informace firmy o recalibraci ve Francii podle tvrzení autorů (3) nedostatečná a patrně se k řadě laboratoří vůbec nedostala.

Podle Kanaďanů (4) mají různé kalibrované šarže cTnT-hs za následek **různé faktické hodnoty 99 percentilů, které mohou nabývat jiných hodnot, než uvádí výrobce v pracovních návodech.** Tyto rozdíly se podle autorů neprojeví ani tak u diagnostiky infarktů myokardu, jako při použití ke stratifikaci rizika dalších srdečních komplikací, kdy jsou už velmi významné.

Další názor (5) vyčíslil průměrnou diferencí mezi starou a novou kalibrací na průměrnou hodnotu 5,8 ng/l, což podle autorů nemůže vůbec vyloučit výskyt chybných diagnostických klasifikací.

Dále přispěli do zajímavé diskuze o květnové recalibraci cTnT-hs z roku 2012 Italové (6). Regresní analýza mezi šarží, kalibrovanou po staru (šarže 163704) a kalibrovanou (šarže 167345) vykazovala neuspoko-

kojivou hodnotu korelačního koeficientu  $r = 0,826$ . Po recalibraci se počet kvantifikovatelných výsledků referenční populace zvýšil na 66 % z předkalibračních 34 % (Apple původně uváděl jen 27 %). **Teprve po recalibraci v květnu 2012 jsou tedy u cTnT-hs splněny podmínky pro zařazení soupravy cTnT-hs do kategorie metod typu hs.**

Novozélandská studie je neméně zajímavá a atraktivní zejména spoluúčastí vedoucí pracovní skupiny IFCC pro kardiální markery (J. Tate) (7).

Vzorky krví pacientů z urgentního oddělení (emergency department - ED), skladované v letech 2008 až 2011 při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  byly znovu reanalyzovány soupravou cTnT-hs, a to jak šarží před recalibrací, tak i po ní. Po recalibraci klesl počet vzorků pod hodnotu  $5\text{ ng/l cTnT}$  (což je hodnota LoD) z 66 % na 27 %. Čili opět teprve recalibrace umožnila považovat kit cTnT-hs za opravdovou metodu typu hs. **Průměrná diference mezi vzorky před a po recalibraci byla +38 %.** Citlivost vzrostla po recalibraci z 94 % na 96 %. Specifičnost klesla z 88 % na 82,5 %. Reálný efekt na špatnou klasifikaci pacientů není dramatický (2), ale pro výsledky klinických studií diagnostické efektivity více než významný. **Vlastní příčinou je snad porušení řetězce metrologické návaznosti pracovního kalibrátoru na referenční standard.** Jinak řečeno, jedná se možná o nedostatečnou verifikaci metrologické návaznosti pracovních kalibrátorů (asi už od roku 2009). V tomto příspěvku je také jasně řečeno, že **při používání metod typu hs bude nutné používat ke kontrole kvality i kontrolní materiály o koncentraci cTnT pohybující se kolem hodnot 99. percentilů.**

### Stručná rekapitulace problematiky recalibrace

Nutnost zlepšit verifikaci metrologické návaznosti hodnot pracovních kalibrátorů u jednotlivých výrobních šarží souprav hs-cTnT.

Zajistit podmínky pro efektivní kontrolu analytické kvality stanovení cTnT zejména v oblastech 99 percentilů.

Zlepšit kvalitu informací výrobců koncovým uživatelům – klinickým laboratořím. Dosáhnout tak rychlejšího odstraňování analytických a následně i postanalytických chyb.

Odstraňovat chyby přiměřenými prostředky (úpravou kalibrace, zlepšením metodického postupu, používáním komutabilních kontrolních materiálů atd.), ale nikoliv jen změnami postupů hodnocení kvality výsledků měření analytických kontrol (kouskování do dalších skupin, nadměrná manipulace s hodnotami kontrolních limitů).

Při tvorbě a formulaci klinických doporučení je třeba brát důsledně ohled na analytické možnosti stanovení hs-cTnT, metrologickou návaznost pracovních kalibrátorů a též na výsledky analytické kontroly kvality (vnitřní a externí hodnocení kvality).

### Literatura

1. Apple FS, Jaffe AS.: Clinical implications of a recent adjustment to the high-sensitivity cardiac troponin T assay: User beware. Clin Chem 2012,58:1599-1600.
2. Hallermayer K, Jarausch J, Mernasart-Volker S, Zaugg C, Ziegler A.: Implications of Adjustment of High-Sensitivity Cardiac Troponin T Assays. Clin Chem 2013,59:572-574.
3. Kuster N, Dupuy AM, Monnier K, Baptista G, Bargnoux AS a spol.: Inmplications of Adjustment of High-Sensitivity Cardiac Troponin T Assays. Clin Chem 2013,59:570-571.
4. Kavsak PA, Hill SA, McQuenn MJ, Devereaux PJ.: Implications of Adjustment of High-Sensitivity Cardiac Troponin T Assays. Clin Chem 2013,59:574-575.
5. Hammersten O, Jacobson CE, Widegren M, Danylchenko T, Jaffe AS.: Long-time quality assessment of the Elecsys Troponin T hs assay. Clin Biochem 2013 (v tisku dx.doi.org/10.1016/j.clin.biochem.2013.03.022).
6. Franzini M, Masotti S, Prontera C, Passino C, Clerico A.: Clinical implications of a recent adjustment to the high-sensitivity cardiac troponin T assay: some results. Clin Chem Lab Med (v tisku 2013 DOI 10.1515/cclm-2013-0108).
7. Parsonage WA, Tate JR, Greenslade JH, Hammett CJ, Ungerer JJP a spol.: Effect of recalibration of the hs-TnT assay in diagnostic performance. Clin Chem Lab Med (v tisku 2013 DOI 10.1515/cclm-2013-0490).