

Referenční metoda pro stanovení katalytické koncentrace ALP, byť s přídomkem IFCC, je podmínka nutná, avšak nikoliv postačující

J. Kratochvíla, P. Sedlák

S téměř dvouletým zpožděním konstatuje Italská laboratorní praxe v oblasti analytiky stanovení kat. k. ALP (1) obecně shodné závěry, které jsme publikovali u nás v (2) a (3). Bohužel tato shoda není důvodem k radosti a k uspokojení, ale právě naopak. Stejně tak naše prvenství spíše mrzí, neboť dokumentuje mimo jiné další dva promarněné roky v zajištění mezilaboratorní přenositelnosti výsledků měření ALP. A to vše za situace, kdy základní kámen reference, referenční metoda stanovení kat. k. ALP, byl položen a publikován již v roce 2011 (4).

Metodika:

Původním záměrem italské studie vypracované v CIRME (Centre for metrological traceability in laboratory medicine – webová adresa: <http://users.unimi.it/cirme/home/index.php?selCategoria=210>) sídlícím na milánské univerzitě (Universita degli Studi di Milano) a spolupracujícím s italskou společností klinické biochemie a laboratorní medicíny

SIBioC, bylo vygenerovat dosud chybějící referenční intervaly stanovení ALP (dle metody IFCC 2011 (4)) pro pediatrickou populaci. Proto byl zvolen i odpovídající model a vytyčeny analytické parametry, kvantifikované pomocí bias, odvozeného z biologické variability. Byl realizován speciální cyklus EHK na 13 vybraných akreditovaných pracovištích laboratorní medicíny ve velkých univerzitních centrech (Milán, Verona, Boloña, Turín, Parma, Řím, Padova aj.) pracujících s analytickou měřicí technikou hlavních světových výrobců dle IVD. Použité analytické systémy globálních výrobců jsou uvedeny v tabulce 1.

Srovnání bylo provedeno na speciálně připravených [připravilo akreditované pracoviště kalibrační laboratoře CIRME Milano pracující a kontrolované v cyklech IFCC RELA (webová adresa: http://www.dgkl-rfb.de:81/4Daction/g_search_REL/RELA2015/00000000000000000000)] komutabilních lidských vzorcích krevního séra s definovaným zastoupením izoenzymů ALP, a to hned na třech úrovních katalytické koncentrace ALP. Vzorky byly zmrazeny na -80 °C a expedovány v suchém ledu. U všech tří vzorků byly přitom stanoveny na témže pracovišti referenční hodnoty typu CRV (certified reference value) s definovanou nejistotou o hodnotách 0,999 $\mu\text{kat/l}$; 3,116 $\mu\text{kat/l}$ a 6,693 $\mu\text{kat/l}$ ALP a pro tyto pak hodnoty kombinované rozšířené nejistoty 3,7%; 2,8% a 2,5% při faktoru rozšíření $k = 2$. Jinými slovy zvolená pracoviště firemně závislou **instrumentací dle IVD, jako uceleným analytickým měřicím systémem otestovala na těchto firemně nezávislých, společných vzorcích s lidskou matricí analytickou kvalitu a bias výsledků měření pro ALP**. Každá laboratoř prováděla po tři dny tři měření těchto vzorků s tím, že konečné statistické vyhodnocení

Výrobce	Anal. systém	Kalibrátor	Deklarovaná rozšířená nejistota ^a
Abbott	Architect	Calibration factor	Neuvedena
Beckman	AU	System calibrator	6,0 %
	Synchron	Enzyme validator level 1 and 2	6,22 a 1,86 %
Roche	Cobas c	C.f.a.s.	0,59 %
	Integra	C.f.a.s.	1,22 %
	Modular	C.f.a.s.	1,65 %
Siemens	Dimension	ALPI Calibrator	4,51 % ^b
	Advia	Chemistry Calibrator Control 1 and 2	3,7 a 1,0 %

^a Rozšířená nejistota ($k = 2$); nekombinovaná se selektivními prvky řetězce metrologické návaznosti

^b Kombinovaná rozšířená nejistota ($k = 2$)

provedlo CIRME Milán. Vedlejším produktem už jen přípravné fáze k odvození referenčních pediatrických intervalů bylo nepříjemné zjištění, že teoretické bias splnila pouze jediná pracující laboratoř, v akceptovatelných mezích pak pracovalo pouze osm laboratoří, to vše v silné závislosti na provozovaném firemním analytickém měřícím systému pro stanovení kat. k. ALP. Italové tak prakticky zmapovali svůj národní „laboratorní terén“ a došli k obdobným až shodným závěrům jako my dříve. Vše bylo realizováno na přísně řízeném, těžce napadnutelném modelu s těžko zpochybnitelnými výsledky.

Náš přístup byl mírně odlišný. Na dvou pracovištích byly otestovány komerční kontrolní vzorky a kalibrační materiály (prakticky až na dva tuzemské výrobce) v totožném zastoupení globálních výrobců. Vše na identické přístrojové instrumentaci. Konstatované závěry z diferencí mezi získanými výsledky byly následně prověřeny a kvantifikovány opakovaně ve vyhodnocení několika běžných rutinních cyklů AKS SEKK, tedy obdobně v široce rozmanitém prostředí analytické instrumentace dle IVD. Totéž pak bylo provedeno ještě po roce s retrospektivou dalších kontrolních cyklů SEKK (3).

Závěry:

Přes rozdílný postup získání závěrů o současném stavu analytiky stanovení kat. k. ALP v obou zemích, jsou konečné závěry až nápadně shodné. Jejich objektivitu, firemní nestrannost a obecnou nepodjatost obou národních systémů EHK (italského a českého) to jen povyšuje. Italským kolegům nutno složit hold v nekompromisních postojích, tvrdých a zejména adresných formulacích příčin a viníků (vyjímáme z textu: “This study proves, once again, that EQA based on consensus values (such as peer-group means or other indicator of central tendency) and quality specifications derived from non-objective models (such as the measurement state-of-the-art) may fail to highlight analytical problems or even can lead to false securities associated with those measurements.”). Obdobně, byť velmi diplomatické, obecné a raději téměř neadresné formulace ze strany SEKK, bývají obvykle na našem trhu i tak přijímány ke škodě věci samotné, alergicky, či naopak s arogantním přehlížením.

Přejme si jen, aby závěry italských kolegů (spoluautorem je i bývalý vědecký sekretář IFCC a jeden z vedoucích pracovníků komise pro enzymy IFCC/C-RSE) vyprovokovaly správnou reakci na příslušných místech globálních výrobců a vedení IFCC a komplexní standardizace stanovení kat. k. ALP byla rychle a zdárně završena.

Jízlivá poznámka autorů na závěr

Ve shodě s italskými kolegy si dovolíme ryzé komerční a strnulý přístup výrobců IVD okomentovat: S výjimkou firemních IVD Siemens se ostatní „globální hráči“ vlastně jen pokouší více či méně úspěšně o restandardizaci svých původních letitých testovacích souprav IVD pro stanovení kat. k. ALP. Nepochopitelně ignorují zásadní a nutnou standardizační podmínku, tj. shodné složení reakční směsi s referenční metodou. Místo důsledné aplikace referenční metody do svého výrobního programu jsme již několik let svědky statistických a pseudokalibračních hrátek, jak získané výsledky těmito starými soupravami IVD transformovat do škál od roku 2011 platné referenční metody ALP IFCC.

Literatura:

1. **Braga F, Frusciante E, Infusino I, Aloisio E, Guerra E, Ceriotti F, Panteghini M.:** Evaluation of the trueness of serum alkaline phosphatase measurement in a group of Italian laboratories. Clin Chem Lab Med 2016, DOI 10.1515/cclm-2016-0605.
2. **Sedlák P, Friedecký B, Kratochvíla J, Budina M.:** Stav standardizace stanovení katalytické koncentrace alkalické fosfatázy (ALP) a další vývoj. Klin Biochem Metab 2015, 23/44:21-26.
3. **Sedlák P, Kratochvíla J.:** Standardizace stanovení ALP na etapy...FONS 2016 2 19-22.
4. **Schumann G, Klauke R, Canalias F, Bossert-Reuter S, Franck PFH, Gella FJ et al.:** IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37° C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clin Chem Lab Med 2011, 49/9:1439 - 1446.