

Bias měření základních analytů krevního séra. Výsledky a interpretace soudobých studií.

Friedecký B.^{1,2}, Kratochvíla J.²

¹ÚKBD Fakultní nemocnice Hradec Králové

²SEKK s.r.o. Pardubice, Za Pasáží 1609

Prostřednictvím měření docházíme k vědění
(H. Kamerlingh-Onnes)

SOUHRN

Cíl práce: Komentování hodnot bias, recentně dosažených u základních analytů séra u čtyř komutabilních referenčních materiálů a konfrontace s výsledky programu SEKK AKS z let 2012-2014.

Metody: U komutabilních referenčních materiálů šlo o séra individuálních dárců krve, nebo nativní pooly lidských sér. Jednalo se o vzorky Ghent, AACB (Australian Association of Clinical Biochemistry) a CAP (College of American Pathologists) s potvrzenou komutabilitou. Vzorky cyklu AKS SEKK byly standardní lyofilizované materiály, sice dodané komerčním výrobcem bez osvědčení o komutabilitě, ale ověřené dlouholetým používáním. Hodnoty bias byly kalkulovány jako rozdíly mezi průměry skupin laboratoří, používajících reagensií a metod stejných výrobců a vztažnými hodnotami. Ty byly určeny jako robustní průměry výsledků všech účastníků, nebo jako hodnoty, určené referenčními metodami.

Výsledky, diskuse: Velká většina bias nepřekročila hodnotu $b \leq 4\%$. Nebyly nalezeny žádné významné závislosti výsledků bias na typu matrice kontrolních vzorků. Nalezené vyšší hodnoty bias měly jiné příčiny, než matricové vlivy. V případě stanovení fosfátů a kyseliny močové byly svázané vždy s metodou jediného, nebo dvou výrobců a dají se přičíst diferencím v kalibračních nastaveních. Menší ojedinělé, hraničně významné difference byly nalezeny u triacylglycerolů a kreatininu. U albuminu pak byly příčinou rozdíly mezi metodami BCG (bromkresolová zeleň) a BCP (bromkresolový purpur) a absence referenční metody. V případě stanovení HDL a LDL cholesterolu stačila zapřičinit vysoké hodnoty bias již mírně zvýšená koncentrace triacylglycerolů. Obecně jsou hodnoty bias podstatně vyšší, než jsou požadavky na ně, odvozené z hodnot biologických variací. Cílem standardizace je další snížení hodnot bias, cílem programů EHK by (i podle představ IFCC) mělo být provádění verifikace metrologické návaznosti. Při měření základních analytů séra, vyznačujících se vysokým stupněm standardizace nebyly pozorovány žádné podstatné vlivy matrice použitých referenčních materiálů.

Klíčová slova: Standardizace, harmonizace, bias měření, elektrolyty, organické substráty.

SUMMARY

Friedecký B., Kratochvíla J.: Bias in measuring basic analytes of blood serum: Results and interpretation of present studies

Objective: Comment of bias values reached in recent results of four commutable reference materials and programs in general blood serum analytes and their comparison with results of EQA program SEKK-AKS in 2012-2014.

Methods: As commutable reference materials were used sets of individual blood donors and non spiked and spiked frozen native serum pools. Bias values were calculated as differences of manufacturer groups means from robust mean of all participants. In some cases were used values obtained by reference methods.

Results, discussion: Majority of bias values did not exceeded 4%. No significant dependency on the on the kind of matrix was observed. Some large bias values were observed only exceptionally in some methods of uric acid and phosphate. Measurement of albumin was influenced by differences between BCG and BCP methods, higher concentration of triglycerides is reason of large bias in HDL and LDL method. Commonly are bias values higher than requested, from biological variations derived. No significant matrix influence on the bias value was observed in measurement of general blood serum analyzed. We think that ex post commutability evaluation of EQA program results based on the use standard lyophilized materials can be realized by assessment relation of bias to uncertainty of reference values. There is necessary to prefer reference method values or robust mean values as criterion not only for proficiency of participants and also for monitoring of level in standardization.

Keywords: Standardization, harmonization, bias of measurement, electrolytes, organic substrates.

Úvod

Systematické chyby měření mohou mít několik příčin. Neadekvátní úroveň kalibrace, matricové vlivy, nebo nedostatečnou analytickou specifičnost metody. Uvádíme recentně publikované hodnoty bias, dosažené zahraničními autory měřením čtyř druhů referenčních materiálů, otestovaných na komutabilitu u základních analytů krevního séra. Šlo o materiály založené buď na

vzorcích individuálních dárců krve, nebo na nativních poolech, jak bez přídavku analytů, tak i s přídavky (spikované vzorky).

Nástrojem dosažení minimálních hodnot bias je standardizace. Účelem standardizace je minimalizovat hodnoty bias tak, aby netvořily signifikantní součást kombinovaných nejistot a nezpůsobovaly významnou závislost referenčních intervalů na metodách měření a na laboratořích.

Kritériem přijatelnosti bias, které by mělo zajišťovat dostatečnou nezávislost referenčních intervalů na použitých metodách, jsou podle konsenzu jeho hodnoty, odvozené z biologických variabilit analytů. Kritériem, vycházejícím z koncepce nejistot měření je požadavek, aby velikost bias nepřekračovala rozšířenou nejistotu hodnot referenčních metod ($b \leq U_{ref}$), což je považováno za mez, kdy bias nemá významný vliv na kombinovanou nejistotu měření, a tudíž nemusí být do ní započítáván.

Data ze současných studií hodnot bias, provedených na komutabilních referenčních materiálech jsme konfrontovali s daty, získanými v intervalu let 2012-2014 v programu EHK SEKK (kontrolní cykly AKS), které nebyly oficiálně testované na komutabilitu, ale které jsou úspěšně používány již řadu let.

Materiál a metody

Charakteristiky studií hodnot bias u komutabilních referenčních materiálů jsou uvedeny v Tabulkách 1-3. V Tabulce 1 jsou stručné charakteristiky materiálů, v Tabulce 2 seznam hodnocených metod-diagnostických kitů a v Tabulce 3 teoretické požadavky na hodnoty bias, odvozené z biologických variabilit (získané z databáze, přístupné na www.westgard.com).

Table 1. Reference materials used for recent big data determination of bias in general chemistry analytes

Material	Characteristics	Literature
Ghent-Empower	<ul style="list-style-type: none"> • 20 commutable samples from single blood donors • mean of all results or reference method values as criterion for bias calculation 	1, 2, 3, 4
AACB	<ul style="list-style-type: none"> • 24 commutable samples from individual donors + 9 native commutable pools • mean of all results as criterion for bias calculation 	4, 5
CAP ABL	<ul style="list-style-type: none"> • commutable human serum pools, three concentrations, • reference method values of lipid analytes as criterion for bias calculation 	4, 6
CAP LN 24	<ul style="list-style-type: none"> • commutable human pools, three concentrations • reference method values of creatinine as criterion for bias calculation 	4, 7

Notices : CAP –College of American Pathologists, AACB Australian Association of Clinical Biochemistry

Hodnoty bias jednotlivých metod z Tabulky 2 byly kalkulovány jako difference mezi jejich průměry a vztažnou hodnotou (průměry všech měření nebo hodnotami referenčních metod - viz Tabulka 1). Stejný postup, označovaný jako „Big data“ byl použit k hodnocení výsledků programu SEKK v letech 2012-2014.

Table 2. Assessed methods

Abbott Architect
Beckman DcX
Beckman Olympus
Roche Modular
Roche Cobas
Siemens Advia
Siemens Dimension
Ortho Vitros
Thermo

Table 3. Required bias values derived from biological variation

Analyte	b (%)
Albumin	2.1
Total protein	2.0
Uric acid	2.4
Urea	2.8
Creatinine	3.2
Cholesterol	2.1
Triglyceride	4.8
Sodium	0.3
Potassium	2.7
Calcium	3.6
Chloride	2.2
Phosphate	1.7
HDL	10.4
LDL	8.2

Výsledky a diskuse

Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 4. Hodnoty bias většinou nepřekračují hodnotu $b < 4\%$.

Vyšší hodnoty bias u komutabilních materiálů, pozorované zejména u fosfátů a kyseliny močové byly omezené na dva výrobce (Tabulka 5) a mohly by být

vysvětleny problematickým kalibračním nastavením. Pozorované intervaly bias závisí také významně na spektru používaných rutinních metod. Například fakt, že české laboratoře nepoužívají při měření fosfátů metody Ortho Vitros se významně projevuje na pozorovaném intervalu bias.

Vyšší hodnoty bias u albuminu mohou být vysvětleny differencemi mezi metodami BCG a BCP a absencí referenční metody. Vysoké hodnoty bias při měření HDL a LDL cholesterolu jsou způsobeny analytickými interferencemi rutinních metod při již mírně zvýšených hladinách triacylglycerolů.

Výjimečná, nejasná a nejednoznačná je příčina situace u metody Siemens -Dimension při měření cholesterolu, a to jak u programu SEKK (bias je cca -15%), tak i u komutabilního materiálu AACB (bias - 6,4%) .

Vliv matrice na hodnoty bias byl malý. O tom svědčí nejen data tabulky 4, ale i srovnání hodnot bias s hodnotami nejistot referenčních materiálů u materiálů AKS-SEKK (Tabulka 6). Zde je podpořena domněnka

Table 4. Big data of bias vs data SEKK survey AKS in electrolytes and substrates introduced as interval of bias % values (methods means- reference value)

Analyte	Ghent-Empower	AACB	CAP ABL	CAP LN 24	SEKK
Total protein	-0.8/1.0	-3.4/2.8			-1.1/0.9
Albumin	-5.4/10.0	-1.8/4.2			-7.3/2.0
Glucose	-3.0/2.1	-3.0/1.2			-2.6/3.0
Uric acid	-4.9/7.3	-7.7/2.8			-4.2/2.5
Urea	n.a.	-9.2/3.8			-3.5/4.2
Sodium	-1.0/1.0	-2.0/0.9			-1.4/1.4
Potassium	-3.0/3.0	-2.2/2.6			-3.3/3.8
Chloride	-2.0/2.0	-2.4/1.2			-2.5/1.4
Calcium	-2.6/2.1	-2.9/2.8			-2.0/0.9
Phosphate	-1.1/14.6	-3.0/6.7			-1.1/4.5
Triglycerides	-2.3/5.8	-8.1/6.2	-10.0/5.0		-3.0/3.7
Cholesterol	-0.6/4.4	-6.4/3.4	±3.0		±4.0
HDL	-8.3/6.7	-3.3/3.7	-15.0/10.0		
LDL	-1.3/5.2	-4.0/4.0	-8.0/22.0		
Creatinine	-5.5/5.1	-3.3/3.7		-4.1/8.1	4.7/1.6

Notices

Samples CAP ABL had increased triglycerides concentration 2.2 mmol/L. Data Siemens Dimension in cholesterol results were excluded

Table 5. Methods having bias over ±4%

	Ghent Empower	AACB
Phosphate	Ortho Vitros	Ortho Vitros, Beckman DXC
Creatinine	Beckman DXC	Siemens Advia
Urea		Beckman DXC
Triacylglycerols	Beckman DXC	
Cholesterol		Siemens Dimension
Uric acid	Thermo	Siemens Dimension

Table 6. Bias and uncertainty of reference values of control material SEKK (survey AKS2/14)

Analyte	Bias (%)	U _{ref} (%)
Sodium	1.0	1.5
Potassium	0.6	1.6
Chloride	2.05	2.05
Calcium	1.5	1.4
Magnesium	0.5	1.3
Glucose	1.2	1.0
Uric acid	0.65	1.0
ALT	0.65	2.2
LD	1.1	2.2
GGT	2.5	1.5

Bias = (RoM-RV/RV) x100; RV = result of reference value; RoM = robust mean of measurement; U_{ref} = expanded reference uncertainty

Table 7. SEKK.Program AKS in 2012-2014. Intervals bias in some analytes using by reference method values (RMP) or robust mean (RoM)

Analyte	b% interval	
	RMP	RoM
Potassium	± 2.0	-3.0/2.0
Calcium	± 3.0	-3.0/2.0
Glucose	-3.0/2.0	± 2.0

o dostatečné komutabilitě materiálů SEKK pro hodnocení většiny základních analytů krevního séra. Také Tabulka 7 podporuje názor o dostatečné komutabilitě materiálů SEKK-AKS na příkladech kalia, glukózy a vápníku s dlouhodobým trváním (3 roky) nevýznamných diferencí mezi hodnocením podle výsledků referenčních metod a podle robustních průměrů.

Pečlivý výběr standardních lyofilizovaných kontrolních materiálů, ex post vyhodnocení jejich komutability porovnáním bias s nejistotou referenčních materiálů a pečlivé hodnocení výsledků EHK programu dovolí používat výsledků měření standardních programů EHK nejen k posuzování způsobilosti laboratoří, ale také k hodnocení bias, nejistot a stavu standardizace základních analytů krevního séra podobně, jako u referenčních materiálů s verifikovanou komutabilitou a v budoucnu pro verifikaci metrologické návaznosti měření, jak plánuje pro roli programů EHK organizace IFCC [8]. Z uvedených výsledků je totiž potřeba dalšího snižování hodnot bias zřejmá. Stejně zřejmé je, že k dosažení spolehlivé metrologické návaznosti nejsou postačující věty a odstavce pracovní dokumentace výrobců, ale je potřebná objektivní a průběžná verifikace třetí stranou.

Literatura

1. **Van Houcke, S. K., Rustad, P., Stepman, H. C. M., Kristensen, G. B. B., Stöckl, D., Roraas, T. H., Sandberg, S., Thienpont, L. M.** Calcium, magnesium, albumin and total protein measurement in serum as assessed with 20 fresh-frozen single donation sera. *Clin. Chem.*, 2012, 58, p. 1597-1599.
2. **Stepman, H. C. H., Tiikkainen, U., Stöckl, D., Vesper, H. W., Edwards, S. H., Laitinen, H., Pelanti, J., Thienpont, L. M. et al.** Measurements for 8 common analytes in native sera identifies inadequate standardization among 6 routine laboratory assays. *Clin. Chem.*, 2014, 60, p. 855-863.
3. **De Grande, L. A. C., Goossens, K., Van Uytphange, K., Stöckl, D., Thienpont, L. M.** The Empower project - a new way of assessing and monitoring test comparability and stability. *Clin. Chem. Lab. Med.*, DOI 1515/cclm-2014-0959.
4. **CLSI.** Characterization and quantification of commutable reference materials for laboratory medicine-approved guideline. *CLSI document C 53-A*. Wayne 2010.
5. **Koerbin, G., Tate, J. R., Ryan, J., Jones, G. R., Sikaris, K. et al.** Bias assessment of general chemistry analytes using commutable samples. *Clin. Biochem.*, 2014, 35, p. 203-211
6. **Vesper, H. W., Wilson, P. W. F., Rifai, N.** A message from the laboratory community to the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel IV. *Clin. Chem.*, 2012, 58, p. 523-527.
7. **Killen, A. A., Ashwood, E. R., Ventura, C. B., Styer, P.** Recent trends in performance and current state of creatinine assays. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2013, 137, p. 496-502.
8. **Friedecký, B., Kratochvíla, J.** Harmonizace výsledků měření-trend světové laboratorní medicíny. Jaký bude dopad v české laboratorní medicíně. *FONS 2/2015*

Do redakce došlo 16. 6. 2015

Adresa pro korespondenci
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
SEKK spol. s r.o.
Za Pasáží 1609
532 01 Pardubice
e-mail: friedecky@sekk.cz