

Dopis redakci: Známe skutečný stav analytické kvality základních biochemických markerů? Albumin v moči a lipidy v krvi jako příklady.

Bedřich Friedecký

SEKK s.r.o. Pardubice

Vážená redakce.

Četnost chyb analytické fáze je v posledních letech běžně považována za významně nižší, než četnost chyb extra (pre+post) analytické fáze. Skutečně se četnost analytických chyb pohybuje v rozmezí cca 10 – 15 % z celkového počtu chyb, jak se v poslední době neustále a opakovaně tvrdí [1]? Je to realita nebo jen módní dobová mantra? V případě pravdivosti by bylo možné považovat analytickou fázi vyšetření za v podstatě blízkou vyřešení, což by bylo zvláště vyhovující pro výrobce. Není zde přání otcem myšlenky?

V protikladu k tomu optimismu nelze přehlédnout existenci problémů s harmonizací a standardizací, neberoucí konce [2, 3]. Jak validní jsou indikátory kvality analytické fáze a které to vůbec jsou? Je počet výsledků vyhovujících kritériím programů EHK tak, jak je uváděn například v práci Plebaniho a spol. [1], reálným indikátorem této kvality? Podle mnohem kvalifikovanějšího přístupu, definovaného Stockholmskou deklarací, jsou skutečným indikátorem kvality analytické fáze hodnoty bias, celkové chyby (TE) a nejistoty [2]. Už samotné zjištění těchto hodnot je bez dostatečné úrovně harmonizace a standardizace obtížné až nemožné. V důsledku toho je logické, že při neznalosti hodnot bias, TE a nejistot není dostatečně známa ani kvalita analytické fáze. Výsledky EHK nemají schopnost obecně sloužit jako indikátor analytické kvality z řady důvodů. Hodnoty akceptovaných kontrolních limitů jsou až několikanásobně odlišné program od programu, měření většiny analytů jsou tak nedostatečně standardizovaná, že neznáme jejich referenční hodnoty, a tím ani hodnoty bias a kombinované nejistoty, takže nemůžeme dostatečně postihnout ani úroveň srovnatelnosti metod. Není třeba se soustředit na hodnoty imunochemických analytů, trpících těmito problémy chronicky, ale podívejme se na situaci u analytů považovaných za velmi dobře poznané. Natolik údajně dobře, že kliničtí experti neváhali navrhnout na podkladě výsledků jejich měření důkladně zpracovanou, sofistikovanou a za medicínu podloženou důkazy (EBM) považovanou klinická doporučení k účelům diagnózy a sledování chorob (guidelines).

Diagnostika a klasifikace chronické ledvinové choroby [4, 5] a sledování ledvinových funkcí u diabetiků [6, 7] jsou recentně založeny na podkladě rutinních metod měření albuminu v moči nebo na podkladě stanovení poměru ACR (albumin/kreatinin) v moči, získaného rovněž z hodnot rutinních metod měření.

Jaká je srovnatelnost rutinních metod, produkovaných řadou různých výrobců a používaných v různých laboratořích? Dvě nedávno publikované práce [8, 9] potvrzují existenci významných systematických diferencí rutinních metod jak u výsledků albuminu, tak i u výsledků ACR. Jejich velikosti jsou významné (Tabulka 1).

Table 1. Bias values of routine urine albumin methods calculated in studies (7,8)

Study	Concentration mg/l	Interval bias for U-albumin	Interval bias for ACR
7	≤ 30	± 25 %	
	31 - 200	-10 to 25 %	
8		± 35 %	-20 to -10 %

Jednotlivé metody stanovení albuminu v moči vykazují hodnoty bias proti referenční LC-MS/MS metodě diference -10 až +35 % v závislosti na koncentraci analytu ve vzorcích. Při výpočtu ACR byly zjištěny vždy negativní hodnoty bias (-10 až -20 %). Ukazuje se tedy potřeba aplikovat u rutinních metod jejich návaznost na referenční systém [10], aby byla diagnostická klasifikace co nejméně závislá na použité rutinní metodě. Tento systém je již několik let navržen a verifikován [11]. Je shrnut v Tabulce 2. Jak je zřejmé ze studií [8, 9], není však ani při měření v rutinních laboratořích, ani při tvorbě doporučení, [4, 5, 6, 7] respektován.

Table 2. Reference system for urine albumin measurement

Reference materials	Reference procedure
15 N-albumin SRM 2925 NIST ERM DA 470k/IFCC SRM 3667 NIST	ID-LC-MS/MS after tryptic digestion, internal standard 15N albumin, bias verification SRM 2925 NIST human albumin CV % = 0.6-4.1 recovery 97-104 %

Velmi problematická je i situace při hodnocení analytické kvality měření základních lipidových analytů diagnostiky rizika aterosklerózy a kardiovaskulárního rizika, jmenovitě LDL a HDL cholesterolu. Indikátory analytické kvality podle požadavků Národního cholesterolového edukačního programu (Adult Treatment IV) jsou stanoveny na hodnoty bias 4 % (LDL) a 5 % (HDL). Při kontrole pravdivosti pomocí poolů lidských sér s certifikovanou komutabilitou nebylo možné požadovaných hodnot dosáhnout

v roce 2011 u vzorků s již mírně zvýšenými triglyceridy (2,2 mmol/l) u všech testovaných metod LDL a u více než poloviny metod HDL [12]. U vzorků s triglyceridy pod 2 mmol/l bylo možné dosáhnout požadavku na bias.

V roce 2015 testoval pro potřebu standardizace lipidů v CDC (Center for Disease Control and Prevention) velmi autoritativní tým autorů osm poolů nativních lidských sér (4 od zdravých a 4 od nemocných lidí) na komutabilitu s použitím osmi běžných rutinních metod měření HDL a LDL. K posouzení komutability bylo použito klasického způsobu vyhodnocením diferencí mezi referenční (metoda „betaklasifikace“) a rutinními metodami. Diference byly hodnoceny buď pomocí požadovaných hodnot bias (4 % pro LDL a 5 % pro HDL), nebo statistickým vyhodnocením nejistoty měření. Závěry, ke kterým se došlo, byly poněkud překvapivé:

- vyhodnocení komutability záviselo na metodě vyhodnocení,
- u HDL byl jako komutabilní vyhodnocen pouze jediný vzorek z osmi, a to jen jedním ze dvou způsobů vyhodnocení,
- u LDL nebyl vyhodnocen jako komutabilní ani jediný vzorek,
- pooly sér nejsou údajně vhodným materiálem ke sledování hodnot bias, je údajně nutné používat vzorků individuálních dárců nebo pacientů,
- ani testy komutability pozitivně vycházející podle CLSI C37 údajně nezaručují zjištění seriózní hodnoty bias u LDL/HDL.

Experiment nebyl zaměřen na použité metody, ale pouze na použité kontrolní materiály. Závěrem toho všeho by mohla být následující tvrzení:

- požadované hodnoty bias pro LDL a HDL jsou v současnosti nesplnitelné,
- rutinní metody měření LDL a HDL nejsou dostatečně spolehlivé a patrně není doposud dost poznatků o srovnatelnosti jejich analytické kvality,
- analytická báze, na které jsou postavena EBM klinická doporučení, je méně spolehlivá, než by bylo zapotřebí.

Nicméně uvedené problémy nijak nebrání v úspěšnosti laboratoří (a výrobců!) v programech EHK. V programech SEKK a RfB Německo se úspěšnost laboratoří při měření albuminu v moči pohybuje mezi 90 - 95 %. Program SEKK hodnotí i úspěšnost ACR s hodnotami 87 - 90 %. Úspěšnost měření HDL a LDL se u obou uvedených programů pohybuje v rozmezí 95 - 98 %. Z hlediska programů EHK jsou zmíněné metody zcela bezproblémové, z hlediska hodnot bias a z toho plynoucích možných problémů v diagnóze a sledování je však u nich problémů víc, než dost. Jediným způsobem řešení jsou standardizační a harmonizační procesy a postupná (po krocích prováděná) transformace programů EHK na proces jejich verifikace.

Literatura

1. **Plebani, M., Chioza, M. L., Sciacovelli, M.** Towards harmonization of quality indicators in laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51, p. 188-195

2. Special Issue CCLM:1st EFLM Strategic Conference/“Defining analytical performance goals-15 years after Stockholm Conference“. 2015, p. 6.
3. **Friedecký, B., Kratochvíla, J.** Bias měření základních analytů krevního séra. Výsledky a interpretace soudobých studií. *Klin. Biochem. Metab.*, 2015, 23, p. 105-108.
4. **KDIGO 2012.** Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2013, 3 (Suppl), p. 1-150
5. **Zima, T., Racek, J., Tesař, V., Viklický, O., Teplan, V., Schuck, O. et al.** Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin České nefrologické společnosti ČLS JEP a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP. *Klin. Biochem. Metab.*, 2014, 22, p. 138-152
6. **American Diabetes Association.** Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2013, 36, S11-66
7. **Sacks, D. R., Arnold, A., Baktris, G. I., Bruns, D. E., Horvath, A. R., Kirkman, S. R. et al.** Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin. Chem.*, 2011, 57, p. 41-46
8. **Bachmann, L. M., Nilson, G., Bruns, D. E., McQuenn, M. J., Lieske, J. C., Zakowski, J. J. et al.** State of the art for measurement of urine albumin: comparison of routine measurement procedures to isotope dilution tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.*, 2014, 60, p. 471-480
9. **Jacobson, B. E., Secombe, D. W., Katayev, A., Kevin, A.** A study examining the bias of albumin and albumin/creatinine ratio measurements in urine. DOI 10.1515/cclm-2014-1105
10. **Graziani, M. S., Panthegini, M.** The standardization of the urine albumin assays: no longer deferrable. DOI 10.1515/cclm-2015-0831
11. **Lieske, J., Bondar, O., Miller, W. G., Bachmann, L. H., Narva, A. S., Itoh, Y. et al.** A reference system for urinary albumin: current status. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51, p. 981-989
12. **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.
13. **Korzun, W. J., Nilsson, G., Bachmann, L. H., Myers, G. L., Sakurabayashi, I., Nakajima, K. et al.** Difference in bias approach for commutability assessment: Application to frozen pools of human serum measured by direct methods for HDL and LDL cholesterol. *Clin. Chem.*, 2015, 61, p. 1107-1113

Podpořeno MZ ČR - RVO (FNHK, 00179906)

Do redakce došlo 25. 10. 2015

Adresa pro korespondenci
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
ÚKBD Fakultní nemocnice
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
friedecky@sekk.cz