

Variabilita mezi šaržemi reagensií a kalibrátorů a její důsledky pro verifikaci měření

Friedecký B.

ÚKBD Fakultní nemocnice, Hradec Králové

SOUHRN

Uvádíme recentní literární data o variabilitě výsledků laboratorních měření, způsobené změnami šarží reagensií, reagenčních systémů a kalibrátorů (lot-to-lot variation). Tato variabilita může být u některých analytů a metod měření velmi významná a je například popsána její velikost, přesahující 10 %. Důsledky pro diagnostiku a pro hodnocení analytické kvality jsou významné. V případě glukometrů je variabilita mezi šaržemi reagensií aplikována do příslušné normy kvality ISO 15197, v ostatních případech však nebylo dosud její hodnocení a aplikace obvyklé. V sdělení uvádíme současné možnosti vyhodnocování těchto variací v hodnocení různých šarží reagensií a kalibrátorů a v některých mezilaboratorních pokusech (Empower). Vyhodnocování variability mezi šaržemi by mělo být regulérní součástí procesů verifikace laboratorních metod a součástí verifikačních protokolů při akreditacích.

Klíčová slova: šarže, reagentie, kalibrátory, variabilita, verifikace.

SUMMARY

Friedecký B.: Variability between batches of reagents and calibrators and its consequences for measurement verification

We deals with recently published data on the lot-to-lot variation in laboratory measurements by some important analytes. This variability can reach in some cases more than 10 %. We discuss possible significant impacts for diagnostic processes and also for external quality assessment. Lot-to-lot variability in the diagnostic strips of glucose POCT and self-monitoring measurement systems are applied as integral part of ISO 15197 standard. We introduce ways and possibilities for establishment and assessment of these variations. Quantification and documentation of lot-to-lot variation is necessary tool for verification of measurement methods in clinical laboratories.

Keywords: lot, reagents, calibrators, variation, verification.

Sledování stability a variability šarží v klinické laboratoři

Mezinárodní norma pro akreditace klinických laboratoří ISO 15189:2013 explicitně vyžaduje sledování dlouhodobé stability indikátorů analytické kvality. Toto sledování ukazuje mnohdy významnou velikost diferencí, způsobených změnami šarží reagensií nebo kalibrátorů [1].

V literatuře lze například najít řadu dat o variabilitách mezi šaržemi diagnostických proužků u glukometrů. Lot-to-lot variabilita (% difference mezi průměry měření u jednotlivých šarží), se pohybuje u různých výrobců od 1 % až k hodnotám 13 % [2 – 5], je různá u různých výrobců a je významná (například 7 %) i u dlouhodobě hodnocených šarží reagensií stejného výrobce [6]. Hodnocení variability lot-to-lot u tří různých šarží diagnostických proužků je součástí normy ISO 15197 pro testování kvality glukometrů a rovněž pro testování glukometrů skandinávskou organizací SKUP [7].

Variabilita mezi šaržemi (lot-to-lot) může být zdrojem klinicky významných chyb, rizik péče o zdraví, nepříznivých vlivů na hodnocení externí hodnoty kvality a je nezbytné se s jejími důsledky vyrovnávat [8]. V databázi Pubmed bylo nalezeno k 5. dubnu 2016 150 odkazů pro heslo „lot-to-lot variability“. Odkazy zahrnují širokou škálu problémů s variabilitou šarží reagensií a produk-

tů. Jako příklady lze uvést kromě laboratorních reagensií jehly k nitrooční aplikaci léků, vakcíny, buněčné kultury, transkutánní senzory a samozřejmě zejména kity analytických metod.

Výsledky systematického, kvantitativního sledování variabilit u různých šarží reagensií a kalibrátorů, používaných v klinických laboratořích se čteněji publikují až v posledních třech letech. Avšak již v roce 2006 pozoroval Bais při změně šarží kalibrátoru (Roche) varovně vysokou systematickou diferencí 0,11 mmol/l u měření Ca [9]. A již dva roky předtím vyčíslila studie NIST chybu 0,1 mmol/l u stanovení Ca na zvýšení finančních nákladů o 150 milionů USD vlivem negativního ovlivnění diagnostického procesu u cca 3,5 milionů pacientů [10].

Rozsáhlé sledování stability výsledků měření řady základních analytů krevního séra a vyčíslení variabilit, způsobených změnami šarží reagensií a kalibrátorů bylo provedeno pracovníky gentské university na dvou belgických univerzitních pracovištích [11]. Jako nástroje pro posouzení stability měření a variability při změně šarží byly použity změny hodnot 50 percentilů výsledků ambulantních pacientů a výsledků vnitřní kontroly kvality. Změny bias a CV% v čase (více než 4 týdny) přisouzené změnám šarží, byly významné. U Ca byl zaznamenán bias, pocházející z variability šarží cca $\pm 4\%$, u P cca $\pm 7\%$. Zvláště nápadné byly variace mezi šaržemi u imunochemických metod fT4 a TSH. Diferencím v hodnotách analytických indikátorů kvality odpoví-

dají diference v počtech výsledků pod dolní a nad horní hranicí referenčních intervalů. Například u Ca počet výsledků pod dolní hranicí referenčního limitu kolísá vlivem změny šarží mezi 19 – 40 % výsledků a počet výsledků nad horní hranicí referenčního intervalu mezi 1 – 12 %.

Systém Empower, pokus o dlouhodobé hodnocení stability měření, je organizovaný od roku 2014 pracovníky Univerzity Gent (Linda Thienpontová) a konzultační firmou STT-Consulting (Dietmar Stöckl). Programu se účastnilo cca 125 laboratoří z Evropy, Austrálie, USA, Asie včetně dvou laboratoří z České republiky. Na činnosti se podílely kalibrační laboratoře firem Abbott, Beckman, Siemens, Ortho Clinical, Roche. Náplní práce je:

- verifikace a hodnocení kalibračních funkcí metod různých výrobců s použitím sér individuálních dárců krve
- sledování dlouhodobé stability a variability mezi šaržemi

Příslušná data lze nalézt na adrese www.stt-consulting.com. Program Empower byl prezentován v publikaci [12] a jejím elektronickém supplementu.

Hodnocení stability a variability měření při změně šarží jsou popsána i v dalších případech.

U asi 6600 pacientů byla měřena koncentrace HbA_{1c} dvěma šaržemi imunochemické metody Roche (Tina Quant 3. generace). Rozdíly mezi šaržemi byly vysoce významné. U pacientů činily 4,4 mmol/mol a paralelně i zhruba stejné diference byly zjištěny u výsledků kontrolních materiálů. To jsou diference klinicky zásadní a v tomto případě identifikovatelné kontrolou kvality [13].

Rychlé imunochemické testy k vyšetření hladin opiátů poskytly vlivem změn šarží 1 – 4 % falešně pozitivních a až 12 % falešně negativních klasifikací. U Oxycodonu to bylo 12 – 27 % falešných pozitivit a až 15 % falešných negativit. Stanovení Metadonu ukázalo až 18 % falešných pozitivit a až 4 % falešných negativit [14].

Lot-to-lot variabilita kitů INNOTEST působila významný počet změn klinických klasifikací pacientů u 12 % výsledků amyloidu-beta 1-42, u 1 % při měření t-tau proteinu a u 26 % při měření p-tau proteinu v mozkomíšním moku [15].

Program externího hodnocení kvality Noklus vyhodnotil variabilitu mezi šaržemi reagensů při měření albuminu v moči, stanovení albumin kreatininového kvocientu ACR metodami Afinion a DCA Siemens a při měření INR metodami CoaguChek Roche [16]. Diference výsledků, způsobené růzností šarží byly u ACR až 11 % jak u kontrolních vzorků, tak i u vzorků nativních močí. Při měření INR byly významné diference pozorovány u kontrolních vzorků, ale nikoliv u nativních vzorků pacientů, u kreatininu v moči nebyla variabilita šarží pozorována.

Variabilitu šarží je zapotřebí hodnotit jak u analytů, tak i použitých kontrolních materiálů. Variabilita mezi šaržemi je u měření některých analytů velmi významná i při použití omezeného počtu metod a zřejmě se zvyšuje při jejich zvyšujícím se počtu. V řadě případů způsobuje variabilita šarží problémy při interpretaci výsledků měření v diagnostickém procesu [13 – 16].

Verifikace a variabilita šarží

Cílem verifikace je splnění požadavků akreditace laboratoře podle normy ISO 15189:2012 [17].

Prvořadými kroky verifikace jsou:

- zajištění a dokumentace kalibrační hierarchie, nejlépe návaznosti, pokud existuje
- minimalizace hodnot bias jako důsledek správné kalibrace
- určení nejistoty měření jako hlavního indikátoru kvality měření

Nedostatek dat, poskytovaných výrobcem IVD významně proces verifikace laboratořím ztěžuje. Zejména není často v dokumentaci výrobců dostatečně dokumentován popis kalibrační hierarchie. Obvykle se vyskytuje jen slovní popis bez konkrétních dat. Chybí nebo nejsou spolehlivá data o nejistotách referenčních materiálů, použitých ke kalibraci a analytické kontrole [18].

Variabilita mezi šaržemi reagensů a kalibrátorů je novější, dříve málo diskutované, nyní s vyšší frekvencí zkoumané téma verifikace analytické kvality klinických laboratoří.

Práce z roku 2014 zmiňuje variabilitu šarží jako častý zdroj nejistoty interpretace výsledků měření [19]. Není doposud vyvinut přijatelně efektivní a jednoduchý způsob, jak tyto variability detekovat. Absence detekce variability mezi šaržemi snižuje hodnotu validace metody měření [20]. Jihokorejská autoři publikovali návrh postupu validace stability měření při změně šarží reagensů [21] u 61 analytů, 8 přístrojů a 360 šarží reagensů. Podkladem jejich návrhu je měření 3 – 5 vzorků pacientů a tří hladin koncentrací kontrolních materiálů při každé změně šarží. Významnosti diferencí výsledků u pacientů a kontrol jsou vyhodnoceny U testem, aby byly vyloučeny případné vlivy nekomutability kontrolních materiálů. Četnost signifikantních změn vlivem změny šarží byla nezanedbatelná - 7,8 %. Jako kritérium významnosti změn výsledků po změně staré šarže reagensie za novou použili autoři u jednotlivých analytů hodnot 1 SD výsledků interní kontroly kvality. Stejně kritérium doporučují i pro sledování při změnách šarží kontrolních materiálů vnitřní kontroly kvality.

V procesu verifikace a v programech externího hodnocení kvality by mělo být aplikováno, podobně jako je tomu u glukometru a ISO 15197, hodnocení variability šarží reagensů a kalibrátorů. U verifikací jejich zavedením, hodnocením, dokumentováním a případným harmonizováním termínů dílčích procesů s termíny změny šarží [17 – 21], u externího hodnocení kvality s registrováním šarží a zavedením postupů pro jejich hodnocení [8, 16]. Bylo by vhodné aktualizovat s ohledem na variace mezi šaržemi současné znění doporučení ČSKB o validaci a verifikaci v klinických laboratořích [22].

Literatura

1. **ISO 15197:2013.** In vitro diagnostic test systems: requirements for blood glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. Geneva. 2013.

2. **Baumstark, A., Pleus, S., Schmid, C., Link, M., Haug, C.** Lot-to-lot variability of test strips and accuracy assessment of systems for self-monitoring for blood glucose according to ISO 15197. *J. Diabet. Sci. Technol.*, 2012, 6/5, p. 1076-1086.
3. **Brazg, R. L., Kleff, L. D., Partin, C. C.** Performance variability of seven commonly used for self-monitoring of a blood glucose systems: clinical considerations for patients and providers. *J. Diabet. Sci. Technol.*, 2013, 7, p. 144-152
4. **Muller, P., Hattener, A., Stephan, P.** Assessing system accuracy of blood glucose monitoring systems using rectangle target plot. *J. Diabet. Sci. Technol.*, 2015 pii:19322968815612496.
5. **Baumstark, A., Pleus, S., Schmid, C., Link, M., Haug, C., Freckmann, G.** Lot-to-lot variability of test strips and accuracy assessment of systems for self-monitoring of blood glucose. *J. Diabet. Sci. Technol.*, 2012, 6, p. 1076-1086.
6. **Hofmans, M., Oyaert, M., De Schriver, P., Nobels, F., Van Hoovels, L.** Clinical laboratories have a critical role in test strips lot management in glucose point-of-care testing. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, 54 (5), e155-159
7. <http://www.skup.nu>
8. **Miller G. W.** Time to Pay Attention to Reagent and Calibrator Lots for Proficiency Testing. *Clin. Chem.*, 2016, doi:10.1373/clinchem.2016.255802
9. **Bais, R.** What Information Should manufacturers Provide on Their Procedures? *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 1624-1625.
10. <http://www.nist.gov/director/prog-ofc/report04-1.pdf>
11. **Van Houcke, S. K., Stepman, H. C. M., Thienpont, L. M., Fiers, T., Stove, V. et al.** Long-term stability of laboratory tests and practical implications for quality management. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51, p. 1227-1231
12. **De Grande, L. A. C., Goosens, K., Van Uytendaele, K., Stockl, D., Thienpont, L. M.** The Empower project - a new way of assessing and monitoring test comparability and stability. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53:1197-1204
13. **Thaler, M. A., Jakoubov, R., Bietenbeck, A., Luppa, P. B.** Clinically relevant lot-to-lot reagent difference in a commercial immunoturbidimetric assay for glycated hemoglobin A_{1c}. *Clin. Biochem.*, 2015, 48, p. 1167-1170
14. **Hayden, J. A., Schmeling, M., Hoofnagle, A. N.** Lot-to-lot variations in a quantitative Lateral-Flow Immunoassay for chronic pain drug monitoring. *Clin. Chem.*, 2014, 60, p. 896-897
15. **Vos, J. B., Visser, P. J., Verhey, F., Aalten, P., Knol, D. et al.** Variability of CSF Alzheimers disease biomarkers: Implications for Clinical Practice. *Plos One*, 2014, 9:e100784
16. **Stavelin, A., Riksheim, B. O., Christiansen, N. G., Sandberg, S.** The importance of reagent lot registration in external quality assurance/proficiency testing schemes. *Clin. Chem.*, 2016. DOI:10.1073/clinchem.2015.247585
17. **Topic, E., Nikolac, N., Panteghini, M., Theodorsson, E., Salvagnano, G. L., Miller, M. et al.** How to assess the quality of your analytical methods? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, DOI:10.1515/cclm-2015-0869
18. **Braga, F., Panteghini, M.** Verification of in vitro medical diagnostics (IVD) metrological traceability. Responsibilities and strategies. *Clin. Chim. Acta*, 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcca.2013.11.022>
19. **Bais, R., Chester, D.** More on Lot-to-Lot Changes. *Clin. Chem.*, 2014, 60, p. 413-414.
20. **Algeciras-Schimmich, A., Bruns, D. E., Boyd, J. C., Bryant, S. C., LaFortune, K. A., Grebe, S. K.** Failure of current laboratory protocols to detect lot-to-lot reagent differences: finding and possible solutions. *Clin. Chem.*, 2013, 59, p. 1187-1194
21. **Cho, M. C., Kim, S. Y., Jeong, T. D., Lee, W., Chua, S., Min, W. K.** Statistical validation of reagent lot changes in the clinical chemistry laboratory can confer insights on good clinical laboratory. *Ann. Clin. Biochem.*, 2014, 51, p. 688-694.
22. **Friedecký, B., Šprongl, L., Kratochvíla, J., Plzák, Z.** Doporučení k provedení validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích. *Klin. Biochem. Metab.*, 2011, 1, p. 36-44.

Do redakce došlo 21. 4. 2016

Adresa pro korespondenci
 RNDr. Bedřich Friedecký Ph.D.
 ÚKBD FN Hradec Králové
 Sokolská 581
 500 05 Hradec Králové
 e-mail: friedecky@sekk.cz