

Programy externího hodnocení kvality v čase harmonizace výsledků laboratorních vyšetření

Friedecký B.^{1,2}, Kratochvíla J.¹

¹SEKK s.r.o. Pardubice

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

SOUHRN

Cíl: Přístupy k hodnocení výsledků programů externích hodnocení analytické kvality u laboratorních vyšetření biochemických analytů se standardizovanými metodami měření. Soulad programů EHK s procesy harmonizace výsledků.

Metody: Analýza literárních dat o zásadách Stockholmské deklarace, o návrzích pracovní komise EFLM pro kontrolní limity programů EHK. Analýza výsledků recentních studií, věnovaných soudobému stavu indikátorů analytické kvality, jejich závislosti na stavu standardizace, na úrovni její implementace organizátory programů EHK a rutinními laboratořemi a výrobci testovacích souprav.

Výsledky: Hodnoty bias a celkových chyb publikované v posledních třech letech, pocházející z různých pramenů a experimentů, vykazují významný stupeň shody. Nejnižší difference jsou pozorovány u elektrolytů s výjimkou měření fosfátů, nejvyšší u enzymů a lipidů (HDL a LDL). Difference pocházejí ze dvou významných zdrojů. Prvním je nedostatečná implementace existující standardizace výrobci diagnostik. To je typické pro stanovení katalytických aktivit enzymů, kde se i na trhu dosud udržují vedle metod standardizovaných i metody nestandardizované, nebo nedůsledně standardizované. Druhou příčinou diferencí je samotná analytická kvalita rutinních metod měření. Tuto příčinu lze připsat měření HDL a LDL cholesterolu a glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}. Výsledky ukazují pochybnost používání průměrů „peer group“ (stejnorodých skupin) jako vztažných hodnot a nezbytnost maximálně možné aplikace vztažných hodnot typu robustních průměrů všech měření, nebo hodnot referenčních metod.

Diskuse: Programy externího hodnocení kvality jsou často chápány jako by to byly nástroje k dosažení akreditací laboratoří a data, podporující obchodní politiku firem. Procesy harmonizace laboratorních vyšetření je však jednoznačně řadí do kategorie nástrojů k objektivnímu hodnocení indikátorů analytické kvality. Jako takové by měly používat k hodnocení pomocí srovnávání s referencí a mít maximálně možné eliminovaný přístup hodnocení podle „peer group“. Hodnocení podle „peer group“ je principiálně neslučitelné s harmonizací výsledků měření zejména u standardizovaných metod. Neposkytuje validní informace o analytické kvalitě, zato však budí dojem falešného optimismu o jejím stavu a je potenciálně zdrojem ztráty motivace v harmonizačním procesu. Je znepokojivé, že harmonizace výsledků měření základních analytů krevního séra je doposud po řadě let procesů standardizace a fungování řady národních i mezinárodních programů externího hodnocení kvality z hlediska klinických potřeb nedostatečná. Z hlediska profesionálů z oblasti analytické chemie a chemické metrologie se jeví jako vědecky nedostatečná.

Klíčová slova: standardizace, externí hodnocení kvality, vztažné hodnoty, harmonizace, bias, chyba.

SUMMARY

Friedecký B., Kratochvíla J.: External quality evaluation programs at the time of harmonizing laboratory results

Objective: Principles of assessment for standardized laboratory methods in contemporary EQA programs in era harmonization

Method: Publication on the ways of using control limits according to Stockholm declaration and EFLM working group for EQA acceptance limits. Discussion about bias and total error values of measurement results of standardized laboratory methods within last three years.

Results: Bias and total error values in standardized routine methods, published by different sources show significant degree of agreement. Best situation we can see in case of serum electrolytes measurement except phosphates in some manufacturers. Maximal observed differences between routine methods are in serum enzyme and in lipid (HDL, LDL) measurements. The lack of implementation of standardization is main reason for this situation. Another reason for too big differences may be different analytical quality of routine methods as we can see in case of HbA_{1c} results. Introduced results show clear unsuitability for using „peer group“ values for assessment in EQA programs.

Discussion: EQA programs are not only tools for reaching accreditation documentation or tool of business politics of manufacturers. They are namely tool for objective and valid determination of analytical quality indicators values for standardized methods and analytes. Basic condition for use of EQA programs as integral part of harmonization process is maximal elimination of using „peer group“ as reference values. Real reference values should be generally used for this purpose.

Keywords: standardization, EQA programs, bias, total error, harmonization.

Úvod

Standardizace laboratorních měření v klinické biochemii je v současnosti vypracována formou referenčních měřících systémů k měření řady základních analy-

tů séra i dalších analytů a parametrů: albuminu v moči, cystatinu C v séru, glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} v krvi, nebo hemolýzátch krve. V ostatních případech je však zatím možnost standardizace aktuální jen velmi omezeně, a to zejména pak u imunoanalytických sta-

novení. Z klinického pohledu hraje standardizace klíčovou roli v diagnostických a terapeutických procesech u diabetu, chronické ledvinové choroby, chorob srdce i poruch lipidového metabolismu.

Nástrojem standardizace je metrologická návaznost kalibrace rutinní metody na referenční metodu a/nebo dostupný certifikovaný referenční materiál. Výsledkem standardizace jsou harmonizované, srovnatelné výsledky měření, nezávislé na metodě a přístrojích k měření použitých.

Programy externího hodnocení kvality standardizovaných a harmonizovaných metod se proto vyznačují zejména použitím jediné vztažné hodnoty jako nástroje ke stanovení indikátorů analytické kvality (preciznosti, bias, nejistoty a celkové chyby). Může jít o hodnotu, získanou referenční metodou, nebo o robustní střední hodnotu (aritmetický průměr, medián výsledků účastníků).

Skupiny laboratoří, používajících stejnou metodu/analytický měřicí systém (stejnorodé skupiny - peer group) nejsou vhodným nástrojem hodnocení výsledků EHK standardizovaných/harmonizovaných metod, ale společně s hodnocením individuálních účastníků jsou dalším možným předmětem hodnocení analytické kvality výsledků měření a odborného posuzování (jsou i významným nástrojem edukace). Použití hodnocení výsledků pomocí peer groups je i výpovědí o nedostatečné úrovni stavu standardizace/harmonizace v daném teritoriu a také v mysli laboratorních pracovníků a výrobců diagnostik. Takové hodnocení je v programech EHK, sledujících standardizované analyty, proti logice a smyslu harmonizace jako takové.

Kontrolní limity/meze (D_{max}) programů EHK byly široce diskutovány v roce 1999 na konferenci ve Stockholmu a znovu po 15 letech na první strategické konferenci EFLM o programech EHK v Miláně [1, 2], kde byla i formulována naléhavá důležitost harmonizace jejich hodnot. Neboť jen stejné/podobné kontrolní limity zaručí srovnatelnost hodnocené analytické kvality v rámci evropském i světovém. Různé hodnoty kontrolních limitů (D_{max}) různých systémů EHK vytvářejí nemožnost vzájemného posuzování analytické kvality v různých zemích a těchto programech kvality. To je velmi závažná skutečnost, protože přední světoví výrobci IVD systémů pro laboratorní medicínu působí globálně, prakticky v naprosté většině zemí světa.

Ve skutečnosti jsou zatím aktuální hodnoty kontrolních limitů v různých programech významně různé, jak se lze přesvědčit například na webových stránkách Westgardů [3]. Jejich hodnoty D_{max} se liší od sebe běžně dvojnásobně (například při stanovení cholesterolu, draselného kationu či glukózy), někdy i trojnásobně a více (v případě kreatininu, celkového vápníku, albuminu či glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}).

Cíle sdělení a zdroje dat

Data o stavu standardizace a hodnotách indikátorů analytické kvality, byla získána několika recentními studii. Studie používaly vesměs metod a přístrojových platforem globálních výrobců diagnostik:

Projekt Empower

Mezilaboratorní studie, původně organizovaná univerzitní nemocnicí v Gentu [4]. V roce 2014 bylo její součástí i mezilaboratorní srovnání s použitím nativních sér individuálních dárců. V současnosti probíhá jen studie „Percentiler“, prováděná v laboratořích účastníků pomocí souborů vzorků „zdravých“ ambulantních pacientů u 27 analytů krevního séra [4]. Omezením je používání pouze hodnot analytů v intervalu referenčních mezí. Jsou sledovány difference mezi hodnotami „peer group“ a průměry všech účastníků.

Studie Gent

Bylo použito 20 sér individuálních dárců [5] a vyhodnoceny difference (bias) jednotlivých skupin metod osmi analytů séra (peer group) od vztažné hodnoty, stanovené jako robustní průměr všech měření, nebo jako hodnota referenční metody. Převážně šlo o vzorky v intervalu referenčních mezí, nebo těsně nad ně. Testované byly hodnoty peer group Roche, Abbott, Beckman, Siemens, Ortho-Vitros.

Studie NYPT

Americká studie, napodobující studii Gent s poolem nativních sér. Hodnoceny byly opět difference (bias) průměrů peer group, identických se studií Gent, od vztažných hodnot, získaných jako robustní průměry [6]. Studie pracovala s vyššími rozsahy koncentrací a s vysokým počtem laboratoří ($n = 427$).

Studie AACB (Australasian Association of Clinical Biochemistry)

Vzorky individuálních dárců, doplněné pooly nativních sér ($n=33$), s vysokým rozsahem koncentrací, daleko přesahujícím referenční intervaly, rozdílly vypočteny srovnáním průměrů peer groups s průměry všech měření [7]. Peer groups: Abbott, Beckman (Synchron AU), Siemens (Advia, Dimension), Roche, Ortho-Vitros.

Studie NOR

Vzorky 20 individuálních dárců krve. Hodnoceno pět platforem čtyř výrobců (Abbott, Beckman, Siemens, Roche). Difference vypočteny jako rozdílly průměrů peer group od průměrů všech měření [8].

Zkoušení způsobilosti v programech USA CAP ABL, CAP LN 24

Trojice poolů nativních lidských sér o třech koncentracích s celým obvyklým rozsahem, s hodnotami, získanými referenčními metodami základních lipidů (CAP ABL) a kreatininu (CAP LN 24). Hodnoceny difference peer groups od referenční metody [9,10].

CAP GH 5 (2015)

Zkoušení způsobilosti laboratoří při měření glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} . Výsledky jsou volně přístupné na <http://ngsp.org>. Šlo o 15 vzorků plné krve ve třech cyklech za rok. Hodnocení provedeno srovnáním výsledků laboratoří a peer group průměrů s referenčními metodami.

INPUTS

Mezinárodní program externího hodnocení kvality 17 základních standardizovaných analytů krevního séra s matricí na bázi poolů lidských sér. Hodnoty referenčních metod jako kritérium kvality, hodnoceny výsledky celkových chyb měření [11].

SEKK kontrolní cyklus AKS 4/16

Rutinní program EHK České republiky. Základní analyty krevního séra hodnoceny stanovením celkové chyby měření. Kritériem jsou vztažené hodnoty pro jednotlivé analyty na bázi měření referenčními metodami. Matrice lyofilizovaná, komutabilita dlouhodobě sledovaná jako bias (rozdíl robustních průměrů od referenční metody). Výsledky volně přístupné na <http://www.sekk.cz>

Projekt RELA - IFCC

Program externího hodnocení kvality určený pouze pro referenční laboratoře (akreditované dle ISO 17 025 a/nebo ISO 15 195). Hodnocení pomocí referenčních metod. Lyofilizovaný kontrolní materiál, 2 vzorky ročně. Volně dostupné na webové adrese: <http://www.dgkl-rfb.de> na portálu RfB Bereiche-IFCC RELA surveys.

EQA stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} v Belgii, Německu a Nizozemí

Plná krev jako kontrolní materiál, referenční metoda IFCC jako kritérium hodnocení peer groups (metod). Hodnoceny metody a jejich peer groups podle výrobců a zemí [12].

Výsledky

Tabulka 1 sumarizuje intervaly bias jednotlivých peer group v uvedených studiích. Výsledky ukazují dobrou shodu u většiny, ale ne u všech analytů. Naprosto zjevné jsou nesouhlasné diference mezi peer group hodnotami u lipidů a fosfátů.

Tabulka 2 specifikuje příčiny rozdílů, uvedených v tabulce 1. Část z nich je nezbytné připsat některým metodám a jejich výrobcům, zejména a nejčastěji u skupin Siemens Dimension a Ortho Vitros. Další vysoké hodnoty bias jsou dány velkou závislostí metod měření HDL a LDL cholesterolu na zvýšených koncentracích triglyceridů, a to již od koncentrací nad 2,2 mmol/l.

V Tabulce 3 uvádíme srovnání hodnot celkových chyb pro 16 základních, standardizovaných analytů u dvou různých programů externího hodnocení kvality se třemi skupinami účastníků a šesti peer group, tvořených výsledky metod nejčastějších globálních výrobců. Program SEKK používá lyofilizované kontrolní materiály s dlouhou a systematicky ověřovanou úrovní komutability, systém INPUTS je recentní projekt, založený na použití deseti poolů nativních lidských sér. Účastníci programu INPUTS byli hodnoceni ve dvou separátních skupinách, skupině NL (nizozemští účastníci o počtu 212 laboratoří) a skupině I, E, Pt, UK (italské, španělské, portugalské a britské účastníci) o 90 účastnících. U skupiny NL bylo možné apriori předpokládat vyšší úroveň standardizace. Výsledky byly v obou programech hodnoceny srovnáním s hodnotami referenčních metod (certified reference

Table 1: Intervals of differences in peer groups means from robust means of all participants (%) or from reference values methods

| Analyte | Interval of bias (%) | | | | | | |
|-----------------|----------------------|-----------|-----------|------------|----------|-------------------|-----------------------------------------|
| | Empower | AACB-2014 | Gent-2014 | NYPT-2014 | NOR-2012 | CAP ABL 2012 | CAP LN 24 2013 |
| Glucose | -0.7/10.6 | -3/0.2 | -3/2.1 | -2.6/0.4 | - | - | - |
| Uric Acid | -5.1/6.7 | -7.7/2.8 | -4.6/1.9 | -3.1/5.2 | - | - | - |
| Urea | -14/12 | -9.2/3.8 | NA | NA | - | - | - |
| Albumin | -7.5/7.5 | -1.8/4.2 | NA | NA | -7.4/5.1 | - | - |
| Creatinine | -2.7/5.5 | -3.3/3.9 | -5.5/5.1 | -4.2/5.9 | - | - | -2.0/8.1+ -4.9/09 ++ -4.7/0.4 +++ |
| Protein tot. | -2.9/4.3 | -3.4/2.8 | NA | NA | -0.8/1 | - | - |
| Sodium | -1/1 | -2/0.9 | NA | NA | NA | - | - |
| Potassium | -3/3 | -2.2/2.6 | NA | NA | - | - | - |
| Chloride | -2.9/1 | -2.4/1.2 | NA | NA | - | - | - |
| Calcium | -5.5/1.3 | -2.9/2.8 | NA | NA | -2.6/2.1 | - | - |
| Phosphate | -6.3/6.3 | -3/6.7 | -1.1/14.6 | -2.8/15.4 | - | - | - |
| Cholesterol | -6.3/2.2 | -6.4/3.4 | -0.6/4.4 | -1.8/3.8 | - | -3/3 | - |
| Triglyceride | NA | -8.1/5.2 | -2.3/5.8 | -2.8/5.5 | - | -10/5 | - |
| HDL-Cholesterol | NA | -3.3/3.7 | -5.6/6.7 | -14.1/14.5 | - | -8/5* -12/10** | - |
| LDL-Cholesterol | NA | -4/4 | -0.4/5.2 | -12.9/14.9 | - | -1/12* -7/17** | - |

Notes: (*) triglyceride ≤ 2.18 mmol/l, (**) triglycerides > 2.18 mmol/l; (+) reference value 63 $\mu\text{mol/l}$; (++) reference value 236 $\mu\text{mol/l}$; (+++) reference value 353 $\mu\text{mol/l}$

Table 2: Extreme different peer group values as examples of inadequate level of standardization

| Analyte | Peer groups | Program | Bias _{max} (%) |
|-----------------|-------------|---------|-------------------------|
| Cholesterol | Dimension | Empower | -6.3 |
| | Vitros | Empower | 6.3 |
| Calcium | Dimension | Empower | -5.5 |
| Phosphate | Dimension | Empower | -6.3 |
| | Vitros | NYPT | 15.4 |
| | Vitros | Gent | 14.6 |
| Uric Acid | Vitros | AACC | -7.7 |
| Albumin | Dimension | Empower | -7.5 |
| | Roche | NOR | 5.1 |
| | Architect | NOR | 7.4 |
| LDL-Cholesterol | Siemens | NYSPT | -12.9 |
| | Roche | NYSPT | 14.9 |
| | Abbott | NYSPT | -12 |
| | Siemens | CAP ABL | 12 |
| HDL-Cholesterol | Abbott | NYSPT | 14.5 |
| | Beckman | NYSPT | 14.6 |
| | Siemens | NYSPT | 14.1 |
| | Siemens | CAP ABL | -12 |

Table 3: Total error (TE = |b| + 2 CV [%]) of electrolytes, substrates and enzymes' measurement in two different EQA programs and three participants groups. Groups NL and INPUS are participants in the same EQA program INPUS. Peer groups: Abbott, Siemens Advia, Siemens Dimension, Roche, Beckman Synchron, Beckman Olympus

| Analyte | SEKK | | INPUS NL | INPUS (I, E, PT, UK) | | RCPA-QAP |
|--------------|-------|-------------|----------|----------------------|-------------|----------|
| | Total | Peer groups | Total | Total | Peer groups | |
| Potassium | 3.9 | 3.4 – 4.1 | 4.7 | 6.1 | 3.3 – 7.8 | 5 |
| Sodium | 3.1 | 2.7 – 6.0 | 3.2 | 3.9 | 1.9 – 4.0 | 2 |
| Chloride | 4.8 | 3.0 – 7.1 | 4.0 | 5.1 | 3.4 – 6.1 | 3 |
| Calcium | 4.7 | 3.8 – 7.6 | 5.2 | 6.3 | 4.5 – 8.5 | 4 |
| Uric Acid | 9.2 | 4.5 – 13.5 | 10 | 12 | 4.4 – 17 | 8 |
| Glucose | 6.0 | 5.1 – 18.0 | 6.7 | 7.5 | 2.9 – 8.7 | 8 |
| Protein tot. | 5.1 | 4.0 – 8.6 | 5.4 | 7.3 | 4.5 – 11 | 5 |
| Cholesterol | 8.6 | 6.2 – 8.9 | 7.5 | 7.9 | 4.9 - 10 | 6 |
| ALT | 9.9 | 5.2 – 18.2 | 8.1 | 31 | 20 – 39 | 12 |
| AST | 13.5 | 5.8 – 13.3 | 10 | 27 | 18 – 33 | 12 |
| CK | 13.6 | 10.5 – 17.6 | 11 | 16 | 9.3 – 19 | 10 |
| GGT | 8.1 | 5.8 – 11.2 | 10 | 21 | 11 – 22 | 12 |
| LD | 12.2 | 6.8 – 13.3 | 8.4 | 16 | 6.9 – 19 | 8 |
| α-AMS | 11 | 6.1 – 14.6 | 9.3 | 21 | 11 – 32 | 10 |
| ALP | 36 | 11.3 – 30.3 | 16 | 27 | 15 - 33 | 12 |

value) Výsledky ukazují dobrou úroveň standardizace elektrolytů a organických substrátů a velmi kontroverzní stav standardizace měření rutinních enzymů. Rozdílnost maticí neměla v podstatě na výsledky hodnocení významný vliv. Vyšší stupeň shody skupin SEKK a NL ve srovnání se skupinou (I, E, Pt, UK) je dán vyšší úrovní standardizace měření enzymů v těchto dvou skupinách (dosahuje 90-98 % počtu účastníků). V tabulce 3 uvádíme pro srovnání kontrolní limity australské EHK RCPA-QAP, které jsou v současnosti považovány za nejbližší ideálním požadavkům expertů [1,2].

V Tabulce 4 jsou shrnuty současné problémy, omezující úroveň standardizace měření enzymů. Přes existenci (často mnohaletou) referenčních systémů a dobře fungující síť referenčních laboratoří (program RELA IFCC) zůstává situace standardizace nedobrá. Hlavními problémy jsou: setrvávání u nestandardizovaných metod stanovení LD, ALP, α-AMS, nedůsledné provedení rekalibrací u ALP, α-AMS, nedokonalé provedení měření (například bez přídavků P-5-P při stanovení ALT/AST). I zcela recentní práce [13] dochází k závěrům, shodným s daty v Tabulce 4.

Table 4: Problems about the standardization of enzymes measurement

| Advantages for standardization | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Reference measurement procedures for ALT, AST, α -AMS, ALP, CK, LD, GGT | |
| External quality assessment RELA JCTLM - differences between selected reference laboratories are 2 – 3 % | |
| Authoritative reference labs: Roche, CIRME Milano, Hannover, Canadians, EQA Instand and RfB Bonn in RELA program | |
| Lack of standardization in routine enzyme methods | |
| ALT, AST | reduced using the addition of P-5-P |
| LD | two methods using different substrates |
| ALP | unfinished IFCC calibration (IFCC 2011 method), using obsolete methods (diethanolamine buffer) |

Notes: P-5-P = pyridoxal - 5 - phosphate

Tabulka 5 shrnuje stav současné kvality jednoho z klinicky nejvýznamnějších laboratorních vyšetření, stanovení HbA_{1c}. Čerstvá data z roku 2015 ukazují na jedné straně opticky dobře vypadající stav kvality, avšak na straně druhé, navzdory dokončené a implementované standardizaci měření, příliš velkou závislost kvality na použité metodě měření. V tabulce jsou prezentovány výsledky programu CAP GH 5-NGSP US (3 x 5 vzorků plné krve), výsledky ze studie programů EHK Belgie, Nizozemí a Německa (10 vzorků plné krve), výsledky z programu ERL stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} (vzorky lyofilizovaných hemolyzátů) a RELA IFCC (vzorky lyofilizovaných hemolyzátů) s vztažnými hodnotami, získanými referenčními metodami.

Výsledky, ukazující stav analytické kvality rutinního měření HbA_{1c}, a pocházející z roku 2015 (publikované v roce 2016) ukazují významné rozdíly v kvalitě nejen mezi metodami, ale i u stejných metod, produkovaných různými výrobci (viz intervaly hodnot CV a bias).

Je zřejmé, že při případném použití peer group průměrů k hodnocení laboratoří by došlo ke ztrátě velkého množství informací. Velmi zajímavý je fakt, že po řadě let, v nichž dominovaly imunochemické a HPLC metody, se objevily v rutinní činnosti laboratoří metody kapilární elektroforézy a enzymových stanovení, které mají v některých případech zřejmý potenciál zlepšit analytickou kvalitu měření.

Na druhé straně, jak ukazují výsledky referenčních laboratoří (program RELA IFCC), nelze zatím očekávat nejistotu výsledků měření nižší než 2 mmol/mol.

Hodnocení analytické kvality HbA_{1c} v programech EHK ukazuje jasně neperspektivnost, omezenost a nebezpečí případného použití hodnot peer group jako kritérií analytické kvality laboratoří.

V Tabulce 6 demonstrujeme některé typické vlastnosti často nabízených programů mezilaboratorních hodnocení výrobců („firemní“) programy. Ty pracují bez ohledu na stav a hlavně na cíl harmonizace na bázi peer group jako základních kritérií kvality. Skupiny jsou vytvářené naprosto nesystémově, výsledky jsou rozdrobené do jejich velkého počtu a rozdíly mezi nimi často nelogicky překračují hodnoty kontrolních limitů. O stavu harmonizace metod nedisponují v podstatě žádnou výpovědní hodnotou. Jejich princip je v podstatě jednoznačně směřován jen k bezpečnému získání certifikátů analytické kvality. Ani nestandardizované metody nemohou být v takových programech EHK často zpochybněny, pokud získají svou hodnotu pro svou peer group. A tak výsledky takových programů slouží účelově laboratořím a výrobcům, bez náležitého ohledu na analytickou kvalitu.

Table 5: Analytical quality in standardized measurement of HbA_{1c} strongly depends on used routine method

| Program | CV (%) | b (%) | D _{max} (%) |
|------------------------------------------------|--------------------------|--------------|---------------------------------------|
| CAP GH 2015 | | | |
| All samples | 3.5 | - | 8.6 |
| Interval peer groups | 1.5 – 8.5 | -5.4 / 4.7 | |
| Belgium, Germany, Netherlands 2015 [12] | | | D _{max} (%) / acceptance (%) |
| All samples | 4.1 | - | 10 / 90 8 / 75 |
| Interval peer groups | 1.5 – 5.5 | -3 / 4 | |
| Mosca - Weykamp 2015 [17] | | b (mmol/mol) | - |
| Immunochemically | 1 - 5 | -1 / 2 | - |
| HPLC | 0.5 - 4 | -3.5 / 1.2 | - |
| Capillary electrophoresis | < 1 | < 1.5 | - |
| Enzymatic | 0.5 – 1.5 | -1 / 1.5 | - |
| RELA - IFCC 2015 | Average value (mmol/mol) | | |
| | 60.5 | -2.8 / 1.3 | - |

Table 6: Peer groups and control limits in manufacturers program EQA (RIQAS 2015). Demonstration by using the results in two analytes

| Analyte | Number of peer groups | Interval peer group mean (%) | D _{max} (%) |
|------------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------|
| Creatinine | 15 | 14.4 (-10.6 to 3.8) | 10 |
| α-Amylase | 21 | 37.3 (-15.1 to 22.1) | 9.5 |
| Platform / method peer group | 13 | | |
| Substrate peer group | 8 | | |

Diskuse

Uvedené výsledky výrazně ilustrují současný stav úrovně standardizace měření základních analytů séra na bázi několika studií uznávaných autorů referenčních institucí a v širokém mezinárodním kontextu. Úroveň standardizace je různá pro různé analyty a v různých situacích.

Elektrolyty poskytují výsledky, potvrzující nejlepší úroveň jejich standardizace v současnosti a blíží se optimálním klinickým požadavkům dle potřeb klinické praxe. Ovšem s výjimkou stanovení fosfátů, jmenovitě při použití některých metod (Dimension, Vitros). *Zřejmě problém souběžného stanovení hydrogen- a dihydrogenfosfátů s pomocí poměrně složitých komplexů těžkých kovů, případně reakce s chromogenními barvivy.*

Problematická je situace při měření HDL a LDL cholesterolu, jmenovitě při koncentracích triglyceridů, překračujících už mírně hodnoty referenčních intervalů a diagnostických limitů [9,15,16]. U výsledků cholesterolu v programu EHK SEKK se již několik let občas vyskytuje problém vysoké negativní hodnoty bias u skupiny Dimension, která díky obvykle používanému způsobu hodnocení podle peer group zjevně postrádá motivaci k řešení.

Zcela nedostatečný se zdá být stav standardizace enzymů, jakkoliv jsou jejich referenční systémy IFCC dostatečně dlouhou dobu vypracovány. Příčiny toho stavu nelze odstranit bez účinného zájmu výrobců a bez tlaku na participující laboratoře. Příklady některých programů EHK (německý program RfB Bonn, nizozemský program EHK, český SEKK) ukazují, že k dosažení zlepšeného stavu standardizace je nezbytné vyžadovat používání IFCC metod a nepoužívat jako kritérií hodnocení peer group hodnot. Dosavadní nabídka a pochybná dostupnost non IFCC metod na trhu má na nedostatečnou úroveň standardizace zcela zásadní vliv. Konkrétně lze jako překážku standardizace zmínit metodu Dimension k měření α-amylázy, postrádající kalibraci na IFCC metodu a nedostatečně rekalibrované metody pro stanovení ALP. Zde byla recentně v Itálii nalezena jen 23% úspěšnost, pokud byly hodnoceny pomocí referenční metody IFCC [14]. Dalšími zdroji, bránícími harmonizaci výsledků enzymů je použití zcela rozdílných substrátů u měření LD s více než 200 % diferencí a používání metod bez přídavků P-5-P k měření ALT/AST. Tyto metody (a hodnoty peer group jim odpovídající) jsou dosud běžně přístupné na trhu.

Příklad stanovení ALP velmi dobře dokumentuje nebezpečnost používání hodnot peer group v programech EHK. V případě jejich použití mohou být snadno za analyticky kvalitní považovány metody bez standar-

dizace a bez požadované kvality a de facto jedinou základní podmínkou pro takové pozitivní hodnocení je ustanovení příslušné metodické skupiny. Několik set procent difference mezi skupinami nevádí.

Příklad měření HbA_{1c} je charakteristický a inspirující tím, že se zde na rozdíl od základních analytů krevního séra mnohem důrazněji a úspěšněji prosadily zásady standardizace v celém rozsahu od metrologické návaznosti výsledků měření až po jeho externí hodnocení kvality. Příčinou bude zřejmě intenzivní činnost příslušných pracovních skupin IFCC, EFLM a NGSP, které s úspěchem vsadily na mezinárodní spolupráci.

Příkladnou ukázkou zaostávání programů externího hodnocení kvality za soudobými požadavky procesů harmonizace mohou být některé „firemní“ programy EHK, budící dojem práce s přímo účelově vytvořenými skupinami „peer group“.

Proces harmonizace výsledků měření, který je již několik let neustálým tématem expertů, institucí a managementu a jehož cílem je efektivita a ekonomizace diagnostických a terapeutických vyšetření, není zatím v plné míře akceptován výrobcí a ani uživateli. Jsou sice postulovány a neustále publikovány požadavky na analytickou (a nyní již i na preanalytickou a postanalytickou) kvalitu, nicméně praktický dopad pro výrobce a uživatele programů externího hodnocení kvality je nedostatečný. Zkušenosti potvrzují, že role programů externího hodnocení analytické kvality je do značné míry chápána jako proces, jehož přednostním cílem je získání příslušného, pro akreditace a zdravotní pojišťovny nezbytného certifikačního dokumentu pro laboratoře a sekundárně pro výrobce.

Proto se pořád ještě příliš preferuje přístup hodnocení programů EHK hodnocením pomocí peer group skupin, který zisk certifikátů kvality v podstatě zajišťuje již při splnění minimálně náročných požadavků. Ignoruje se fakt, že nízká náročnost na kritéria kvality nejen nezabezpečuje požadovanou úroveň péče o pacienty, ale inhibuje i samotný průběh standardizace/harmonizace, jak je v případě enzymů jasně zřejmé. Rovněž se ignoruje fakt, že standardizace a harmonizace při měření základních analytů séra přímo vyžaduje používat k hodnocení jediné vztažné hodnoty a že naopak hodnoty peer group jsou subjektem hodnocení a srovnání metod měření vzájemně mezi sebou. Znalost vzájemné srovnatelnosti výsledků různých metod je pro péči o pacienty kritická.

Malý respekt ke standardizaci a metrologii, pro který přístup k peer group hodnotám u standardizovaných postupů svědčí, prozrazuje znepokojivě nízký kontakt s vědou a metrologii.

Velmi obvyklým argumentem pro vyhýbání se vztažným hodnotám a k lpění na hodnocení podle peer group je samozřejmě nikoliv snadnost a bezpečnost takového postupu pro hodnocení kvality výrobců a uživatelů, ale poukazování na nekomutabilitu kontrolních materiálů. Bez ohledu na skutečnosti a data výsledků, se argument nekomutability vynoří jako lochneska pokaždé, když výsledek měření není dobře hodnocený. Nekomutabilita je však v podstatě detekována neakceptovatelnou diferencí bias mezi rutiní a referenční metodou. V případě programu SEKK AKS 4/16 jsou však hodnoty bias zcela akceptovatelné velikosti, jak je možné se přesvědčit v každém komentáři každého kontrolního cyklu. Pravidelné a již letité výjimky pozorujeme občas u cholesterolu, ale již jen u testovací soupravy Dimension. Také u výsledků měření α -amylázy metodou Dimension jsou systematicky zjišťované významné rozdíly od ostatních metod, zde způsobené použitím jiného substrátu, tedy non IFCC metody.

Neexistují žádné důvody vyhýbat se hodnocení výsledků EHK vztažnou hodnotou tam, kde hodnoty celkového bias jsou nevýznamné.

Velmi zajímavá studie kvality různých metod HDL a LDL cholesterolu použila k posouzení komutability měření LDL a HDL osmi různých poolů nativních sér. Ani jeden z nich nebyl „komutabilní“ v případě LDL a jen jediný v případě HDL. Problém spočíval ani ne tak v charakteru materiálu, jako v použitém měřítku komutability. Tím byly hodnoty bias (5 % u HDL a 4 % u LDL), patrně nerealistické při současném stavu analytické technologie [15,16].

Měření imunochemických metod se samozřejmě bez hodnocení v rámci peer group neobejde, ale i tam je uvažování o nekomutabilitě kontrolních materiálů často nekorektní. K spolehlivému vyhodnocení komutability je totiž nezbytné použití referenčních materiálů a metod a ty nebývají u imunochemických metod často k dispozici.

Závěr

Programy externího hodnocení kvality při měření základních analytů séra mají za úkol posuzovat jednak analytickou kompetenci laboratoří, jednak stav standardizace měření a harmonizace výsledků měření.

V současnosti lze konstatovat, že stupeň standardizace měření klesá v řadě elektrolytů – substrátů - enzymů a že zejména u enzymů je bezdůvodně nedostatečný.

Úroveň standardizace je v některých případech u různých měřících systémů velmi odlišná.

Programy externího hodnocení kvality mohou splnit svou roli průběžného monitorování analytické kvality k zajištění bezpečnosti pacienta a finanční efektivity vyšetření, pokud používají vztažných hodnot, kompatibilních s metrologickou návazností a mezinárodně harmonizovaných kontrolních mezí/limitů na bázi Stockholmské hierarchie a odborných pracovních skupin IFCC a EFLM. Nedostatečná implementace standardizace v případech, kdy je již vypracovaná, svědčí pro

nedostatečnou úroveň analytické fáze laboratorních vyšetření a pro malý respekt k analytické chemii jako vědě.

Literatura

1. **Panteghini, M., Sandberg, S.:** Defining analytical performance specifications 15 years after the Stockholm conference. *Clin Chem Lab Med* 2015, 53:829-832.
2. **Dallas Jones, G. R.:** Analytical performance specifications for EQA schemes-need for harmonization. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53, p. 919-924.
3. Webová adresa: <http://www.westgard.com>
4. **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.*, 2015, 53, p. 1197-1204.
5. **Stepman, H. C. M., Tikkinen, V., Stöckl, D., Vesper, H. W., Edwards, S. H., Laitinen, H. et al.** Measurement for 8 common analytes in native sera identify inadequate standardization among 6 routine laboratory assays. *Clin. Chem.*, 2014, 60, p. 855-863.
6. **Rej, R., Norton-Wenzel, C.S.** Assessing analytical accuracy through proficiency testing: Have effects of matrix been overstated? *Clin. Chem.* 2015, 61, p. 433-4.
7. **Koerbin, G., Tate, J. R., Ryan, J., Jones, G. R., Sikaris, K. A., Kanowski, D. et al.** Bias assessment of general chemistry analytes using commutable samples. *Clin. Biochem. Rev.*, 2014, 35, p. 203-11.
8. **Van Houcke, S. K., Rustad, P., Stepman, H. C. H., Kristensen, G. B. B., Stöckl, D., Roraas, T. H. et al.** Calcium, magnesium, albumin and total protein measurement in serum as assessed with 20 fresh-frozen single-donation sera. *Clin. Chem.*, 2012, 11, p. 1597-1599.
9. **Vesper, H. J. W., Wilson, P. W., 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.
10. **Killeen, 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.
11. **Weykamp, C., Secchiero, S., Plebani, M., Thelen, M., Cobbaert, C., Thomas, A. et al.** Analytical performance of 17 general chemistry analytes across countries and across manufacturers with INPUtS project of EQA organizers in Italy, the Netherlands, Portugal, United Kingdom and Spain. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016 DOI:10.1515/cclm-2016-0220.
12. **Kaiser, P., Spannagl, M., van Campenhout, Lenge, Y., Siebelder, C., Weykamp, C. et al.** HbA_{1c}: EQA in Germany, Belgium and the Netherlands using fresh whole blood samples with target values assigned with the IFCC reference system. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, 54, p. 1769-1775.
13. **Infusino, I., Frusciante, P., Braga, F., Panteghini, M.** Progress and impact of enzyme measurement standardization. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, DOI:10.1515/cclm-2016-0661.
14. **Braga, F., Frusciante, E., Infusino, I., Alonso, E., Guerra, E., Cerriotti, 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.

15. **Korzun, W. J., Nilsson, G., Bachmann, L. M., Myers, G. L., Sakurabayashi, I., Nakajima, K.** Difference in bias approach for commutability assessment: application to frozen pools of human serum measured by 8 direct methods for HDL and LDL cholesterol. *Clin. Chem.*, 2015, 61, p. 1107-1113.
16. **Oliveira, M. J., van Deventer, H. E., Baxchmann, L. M., Warnick, G. R., Nakajima, K., Nakamura, M.** Evaluation of four different equations for calculating LDL-C with eight different direct HDL-C assays. *Clin. Chim. Acta*, 2013, 423, p. 135-140.
17. **Mosca, A., Weykamp, C.** Standardization of HbA_{1c}: Are all the pieces in place? 17. 11. 2016. CIRME Milano, Italy.

Do redakce došlo 20. 12. 2016

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