

Standardizační program VDSP 2017 a aspekty současných požadavků na laboratorní vyšetření vitamínu D

Friedecký B., Vávrová J., Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

V časopise Journal AOAC International (časopis Association of Analytical Communities) bylo v roce 2017 publikováno několik prací, shrnujících dosavadní výsledky mezinárodního standardizačního programu pro vitamin D VDSP.

Mezinárodní srovnávací studie byla provedena v 16 laboratořích, z nichž osm použilo některé z metod imunoanalýzy (dále IA) a osm metody na bázi LC-MS/MS. Každá laboratoř analyzovala 50 vzorků individuálních dárců. K vyhodnocení bias byly použity referenční metody NIST a/nebo Ghent, které jsou v podstatě ekvivalentní. Téměř všechny výsledky metody LC-MS/MS (> 99%) vykázaly splnění kritérií VDSP pro preciznost (CV% < 10) a bias (b% < 5). U metod imunoanalýzy vyhovělo kritériu kvality preciznosti VDSP CV% ≤ 10 jen 50% laboratoří a kritériu bias jen 3 z 8 laboratoří [1].

Interval bias se pohyboval u IA metod v intervalu od -20 až 23%, u LC-MS/MS metod v intervalu -6 až 7%. Celková preciznost metod IA byla CV% = 10,8 zatímco u metod LC-MS/MS měla hodnotu CV% = 4,9%. Vše ukazuje na významně vyšší kvalitu LC-MS/MS metod, bez ohledu, zda metody IA jsou v programu VDSP certifikované nebo nikoliv.

Hodnocení výsledků programu DEQAS, který je součástí VDSP od roku 2012, bylo provedeno pomocí výsledků 90 kontrolních vzorků programu. Hodnota bias, kalkulovaná jako diference mezi referenčními hodnotami, stanovenými referenčními metodami NIST a Ghent byla 5,6%. To je více, než požadovaná hodnota 5% [2]. Hodnoty bias u metod LC-MS/MS v programu DEQAS nepřekračují 10%, zatímco hodnoty bias u některých imunoanalytických metod pravidelně překračují hranici 35%. V analytické kvalitě současného měření vitamínu D jsou tedy značné rezervy, mající silnou souvislost s nízkou frekvencí používání metod na bázi LC-MS/MS. 18% účastníků programu DEQAS používalo v roce 2017 rutinně metod LC-MS/MS. Pro srovnání bylo takových laboratoří v programu RfB Bonn jen 2,7% a v programu SEKK jen jeden z účastníků (v cyklu BM 2/17). Výsledky, dosažené v DEQAS umožňují díky občasnému používání spikingu některých použitých kontrolních vzorků metabolity vitamínu D přispět k znalostem interferencí zvýšeného množství vitamínu D2, 3-epi vitamínu D3 a 24,25 dihydroxyvitamínu D při měření 25 hydroxyvitamínu D.

Velká studie VDSP komutability referenčních materiálů byla provedena pomocí 50 vzorků individuálních dárců krve v 17 laboratořích, používajících jak metod IA, tak i LC-MS/MS. Testován byl referenční materiál SRM 972a a kontrolní vzorky EHK CAP ABVD a DEQAS. Velká většina výsledků ukazovala komutabilitu testovaných referenčních materiálů při použití obou typů metod [3]. Zatím jsou CAP VDAB a DEQAS jediné kontrolní materiály s validovanou komutabilitou, vhodné pro výpočet

bias. Trvalý nedostatek jiných vhodných komutabilních kontrolních materiálů v programech EHK je kritický [3] a působí spolu s nízkou četností používaných metod LC-MS/MS jako faktor snižující efektivitu současných programů EHK.

Souhrnný popis nástrojů standardizace měření vitamínu D a klíčové role NIST v programu VDSP je uveden v práci [4]. Zahrnuje referenční metody NIST a Ghent, certifikované referenční materiály SRM 972a, validaci a certifikaci rutinních metod a validaci komutability referenčních materiálů schopných v programech EHK průběžně hodnotit nejen analytickou kompetenci laboratoří, ale i porovnávat kvalitu použitých metod a přístrojů.

Zvýšený podíl frakce vitamínu D2, zvýšené koncentrace 3-epi vitamínu D3 a 24,25-dihydroxyvitamínu D3 ovlivňují významným způsobem výsledky měření celkového 25-hydroxyvitamínu D. K dosažení lepšího hodnocení kvality za podmínek přítomnosti těchto metabolitů byl nyní vyvinut další referenční materiál SRM 2973. Ten disponuje certifikovanými hodnotami celkového 25-hydroxyvitamínu D o koncentraci blízké hodnotě 100 nmol/l a navíc hodnotami 25-hydroxyvitamínu D2, 3-epi-25-hydroxyvitamínu D3 a 24,25-dihydroxyvitamínu D3 [5].

Byla provedena první analytická studie mezilaboratorní srovnatelnosti výsledků měření 24,25-dihydroxyvitamínu D3 šesti laboratořemi v několika zemích. Metodou LC-MS/MS byly stanoveny hodnoty mezilaboratorní reprodukovatelnosti a bias u materiálů SRM 972a a 2973 a materiálů kontrolního programu DEQAS. Bias byl kalkulován jako diference mezi výsledky testujících laboratoří a výsledkem dosaženým navrženou referenční metodou v NIST. Interval bias v testujících laboratořích byl vysoký: od -1,6% až po 36% [6].

Někteří autoři připisují větší klinický význam, než vitamínu D hodnotě VMR (vitamin D metabolite ratio). Jde o poměr 24,25(OH)₂D₃/ 25-OH D (%) a je považován za marker s vysokou potenciální klinickou hodnotou. Čerstvě publikovaná a srovnáním s referenční metodou validovaná byla metoda LC-MS/MS, použitá k srovnání hodnot VMR u skupin pacientů v různých klinických stavech [7]. Byla určena hodnota bias 3% a reprodukovatelnost CV% = 6,4%. Diference VMR (%) u šesti studovaných skupin (zdraví bílí jedinci, Afričané, těhotné ženy, pacienti s osteoporózou, pacienti na hemodialýze, pacienti s chronickou ledvinovou chorobou) byly významné a pohybovaly se v intervalu cca 1 - 8%. Nejnížší hodnotu VMR zjistili u skupiny hemodialyzovaných pacientů (1%), nejvyšší u skupiny zdravých bílých Evropanů (8%).

Odmítání populačního screeningu, regulace požadavků na vyšetření podle klinických situací a z ní plynoucí omezení počtů vyšetření vitamínu D a zamě-

ření požadavků na skupiny pacientů s CKD, osteoporózou a specifickou terapií poruch elektrolytového a kostního metabolismu, jsou základním rysem racionalizace přístupu k požadavkům na vyšetření vitamínu D v diagnostice a terapii [8].

K zajištění regulace požadavků přístupu „choosing wisely“ u vitamínu D bylo nedávno demonstrováno použití elektronické regulace laboratorních vyšetření - computerised physician order entry (CPOE) - na podkladě EHR (elektronické databáze patientských dat), s jehož použitím bylo údajně dosaženo poklesu „nehodných“ požadavků ze 44 na 30% a nárůstu „vhodných“ požadavků z 56 na 70%. Počet osob, u nichž proběhl screening, poklesl z 24 na 74/1000 pacientů [9].

Mezinárodní doporučení KDIGO CKD-MBD 2017 recentně definuje aplikaci vyšetření vitamínu D u pacientů pro diagnózu a terapii chronických ledvinových chorob, hemodialyzovaných pacientů, pacientů po transplantaci, pacientů s osteoporózou a pacientů s terapií, ovlivňující koncentrace Ca, P, PTH a také doporučuje frekvenci požadavků na laboratorní měření [10].

Mezinárodní standardizace měření vitamínu D jasně ukazuje významně vyšší kvalitu metod LC-MS/MS ve srovnání a imunochemickými metodami. Úspěchem programu je poskytnutí a ověření certifikovaných referenčních materiálů SRM-NIST (972a, 2973) a validace komutability dvou kontrolních materiálů. Jsou již k dispozici důležité informace o efektu některých metabolitů vitamínu D a také metody jejich měření.

Závěrem je vhodné zmínit racionalizaci požadavků na měření vitamínu D (choosing wisely) a publikování mezinárodního doporučení KDIGO CKD MBD, tuto racionalizaci významně podporující.

Literatura

1. **Wise, S., Phinney, K., Tai, S., Camara, J., Myers, G., Durazo-Arvizu, R. et al.** Baseline assessment of 25-hydroxyvitamin D assay performance. A vitamin D standardization program (VDSP) interlaboratory comparison study. *J AOAC Int* 2017, doi:10. 5740/jaoacint. 17-0258.
2. **Burdetta, C., Camara, J., Nalin, F., Pritchett, J., Sander, L., Carter, G. Et al.** Establishing an accuracy basis for the vitamin D external quality assessment scheme (DEQAS). *J AOAC Int* 2017 doi:10. 5740/jaoacint. 07-0306

3. **Phinney, K. W., Sempos, C., Tai, S., Camara, J., Wise, S., Eckfeld, J. H. et al.** Baseline assessment of 25-hydroxyvitamin D reference material and proficiency testing/external quality assurance material commutability: A vitamin D standardization program study. *J AOAC Int* 2017, doi:105740/jaoacint. 17-0291.
4. **Wise, S., Tai, S., Burdetta, C., Camara, J., Bedner, M., Lipka, K. A. et al.** Role of the national institute of standards and technology (NIST) in support of the vitamin D initiative of the national institutes of health, office of dietary supplements. *J AOAC Int* 2017, 100, p. 1260-1276.
5. **Tai, S., Nelson, M., Bedner, M., Lang, B., Phinney, K., Sandar, L. et al.** Development of standard reference material (SRM)2973 Vitamin D metabolites in frozen serum (high level). *J AOAC Int* 2017 doi:105740/jaoacint. 17-0182
6. **Wise, S., Tai, S., Nelson, M., Burdetta, C., Camara, J., Hoofnagle, A. et al.** Interlaboratory comparison for the determination of 24, 25-dihydroxyvitamin D in human serum using liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J AOAC Int* 2017, doi:10. 5740/jaoacint. 17-0183
7. **Fabregat-Cabello, N., Farre-Segura, J., Huygebaert, L., Peeters, S., Le Goff, C., Souberbielle, J. C., Cavalier, E.** A pfast and simple method for simultaneous measurement 25 (OH)D, 24, 25 (OH)₂ D and the vitamin D metabolite ratio (VMR) in serum samples by LC-MS/MS. *Clin. Chim. Acta*, 2017, 473 p. 116-123.
8. ABIM Foundation. www.choosingwisely.org
9. **Felcher, A. H., Gold, R., Mosen, D. M., Stoneburner, A. B.** Decrease in unnecessary vitamin D testing using clinical decision support tools making it harder. *JAMIA* 2017, 24, p. 776-780
10. **KDIGO 2017.** Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2017, 7:1-59

Do redakce došlo 2. 10. 2017

Adresa pro korespondenci
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
Střelničná 1680
182 00 Praha 8
e-mail: friedecky@sekk.cz