Externí hodnocení kvality kardiálních biomarkerů

B. Friedecký, J.Kratochvíla, M.Budina
SEKK Pardubice
www.sekk.cz

Smokovec 2009

Základní biomarkery srdečního poškození

- Charakter EBM

1. Troponiny cTnT, cTnI (akutní poškození)

2. BNP, NT- proBNP (chronická poškození)

Požadavky na přesnost a EHK

- cTn I/T

  cut-off - 99 percentil

  CV ≤ 10 %

- BNP/NT-pro BNP

  Cut off (pracovní dokumentace výrobců a dle lékařských doporučení)

  CV ≤ 15 %

- Programy EHK mají být zaměřeny i na koncentrace blízké hodnotám cut-off!

Experimentální data CV %

- Experimentální prověřování přesností měření cTnI/T i BNP/NT- proBNP poskytuje často v oblasti hodnot cut-off hodnoty CV vyšší, než 10% až 15%

Clin Chem Lab Med 2008 46 1489-1500 a další práce

Ultrasensitivní stanovení cTn

Ultrasensitivní cTnT má hodnotu 99 percentilu < 0,01 $\mu g.l^{-1}$

- Ultrasensitivní cTnI (Beckman, Siemens Bayer) mají cut off cca 0,03 $\mu g.l^{-1}$ (30 $ng.l^{-1}$)
- Skutečná koncentrace cTn u zdravé populace je ještě o řád nižší (cTnI metodou TMS má mez detekce ~ 1,7 $ng.l^{-1}$

Zvýšená citlivost a nároky na přesnost měření

- Obtížné splnění požadavků na přesnost
- Při cut-off cTnT (ultrasensitivní) 0,01 $\mu g.l^{-1}$ je hodnota CV= 10% = 0,001 $\mu g.l^{-1}$
- Je nutné začít důsledně pracovat s hodnotami meze blanku, meze detekce a meze stanovitelnosti dle dokumentu CLSI EP17-A
- Jinak nelze v tomto případě přesnost CV $\leq$ 10% spolehlivě odlišit od přesnosti CV > 10%

Přesnost cTn v EHK programech

- Výsledek je striktně závislý na kitu a přístroji – skupině (peer-group)- v případě cTnI – hodnocení po systémech
- Často pak i na jen „malé inovaci“ přístroje a kitu („nová generace“)
- Musí být posuzován pro každou skupinu laboratoří a anal. platforem zvlášť
- Výrobci by měli pečlivěji regulovat výměnu „generací“ tak, aby nebyly v současném užívání další podskupiny u stejně definované skupiny

Přesnost cTnT-SEKK

- Z let 2003 až 2008 je hodnoceno 12 vzorků
- Z šesti vzorků o koncentraci cTnT $\leq$ 0,1 µg.l^{-1} nedosáhl žádný z nich CV $\leq$ 10%

- CV (průměr) pro < 0,1 µg.l^{-1} = 17,1%
- CV (průměr) pro > 0,1 µg.l^{-1} = 7,95%

Přesnost cTnT- UK NEQAS 2008

- 8 vzorků s koncentrací cTnT < 0,1 $\mu g.l^{-1}$
- U Elecsysu ani jeden s CV < 10 %
- U Modularu 5 (62,5%) výsledků pod CV =10%

Přesnost cTnT- DGKL 2008

- 4 kontrolní cykly (8 vzorků)

- Rozmezí koncentrací

  0,52 až 3,99 $\mu g.l^{-1}$ cTnT

- Ani v jednom případě nebylo dosaženo hodnoty CV < 10 %

Přesnost cTnI - SEKK 2008

7 hodnocených skupin s průměrnou hodnotou < 0,1 $\mu g.l^{-1}$ cTnI

29% výsledků s hodnotou CV > 10 %

cTnI UK NEQAS únor 2009

Koncentrace cTnI ~[$\mu g.l^{-1}$]	Počet ~ [%]	CV ~ [%]
< 0,1	33	< 10
0,11 – 0,5	50	< 10
> 0,5	79	< 10

Přesnost cTnI RIfB DGKL – 2008

I u vysokých koncentrací cTnI je řada metod s přesností nad požadovanou hodnotu 10 %

Rozsah hodnot ~[$\mu g.l^{-1}$]	CV < 10 %	CV > 10 %
0,6 až 5,4	66	34

Rozsah hodnot = Mediány

Vývoj kvality stanovení cTnT v čase

- Nejlepší reprodukovatelnosti bylo dosaženo v roce 2004 (CV = 5,9%)
- V roce 2008 se pohybovala reprodukovatelnost podle koncentrace cTnI dle CV v intervalu 10,1% až 23,1%
- Zvýšení produkce (počtu šarží) a počtu instrumentálních platforem je důvodem jevu

Vývoj reprodukovatelnosti cTnI v čase

Roky	RIfB DGKL ~ [%]	SEKK ~ [%]
2005	47,4 až 51,4	37,1 až 48,2
2008	30,7 až 47,1	46,3 až 57,2

Velmi omezený pozitivní vliv SRM 2921 NIST USA

Četnost kontrolních vzorků v různých programech EHK

- NEQAS 12 cyklů po 3 vzorcích ročně
- DGKL 4 cykly po 2 vzorcích ročně
- SEKK 2 cykly po 2 vzorcích ročně

Účast laboratoří v EHK

- Všechny laboratoře se účastní všech kontrolních cyklů v UK NEQAS i RIfB DGKL Bonn
- V programu SEKK se účastní obou cyklů stejný počet laboratoří <u>až od roku 2007</u>
- Dříve bylo v druhém ročním cyklu jen cca 50% účastníků cyklu prvního

Vliv matrice kontrolního materiálu cTn - 2005

- Nativní materiál (Labquality Finsko)
  CV = 51,5%
- Komerční lyofilizáty (DGKL Německo)
  CV = 47,4% až 51,4%
- Komerční lyofilizáty (SEKK ČR)
  CV = 37,1% až 48,2%

<u>Vliv matrice není nutné přeceňovat ve srovnání s vlivem protilátek a světové standardizace</u>

Vliv kalibrace

- Při měření nízkých koncentrací analytů (blízko meze stanovitelnosti) může být chyba pouhého proložení kalibrační křivky až 15% !!!!
- Výrobci by měli používat dostatečně velký počet kalibračních bodu při kalibraci rutinních měření a to zejména v oblasti cut off
- Současná situace: v oblasti cut off 1 až 2 kal. body (z toho jeden nulový kalibrátor)

cTnI příklad – polyn. třetího stupně

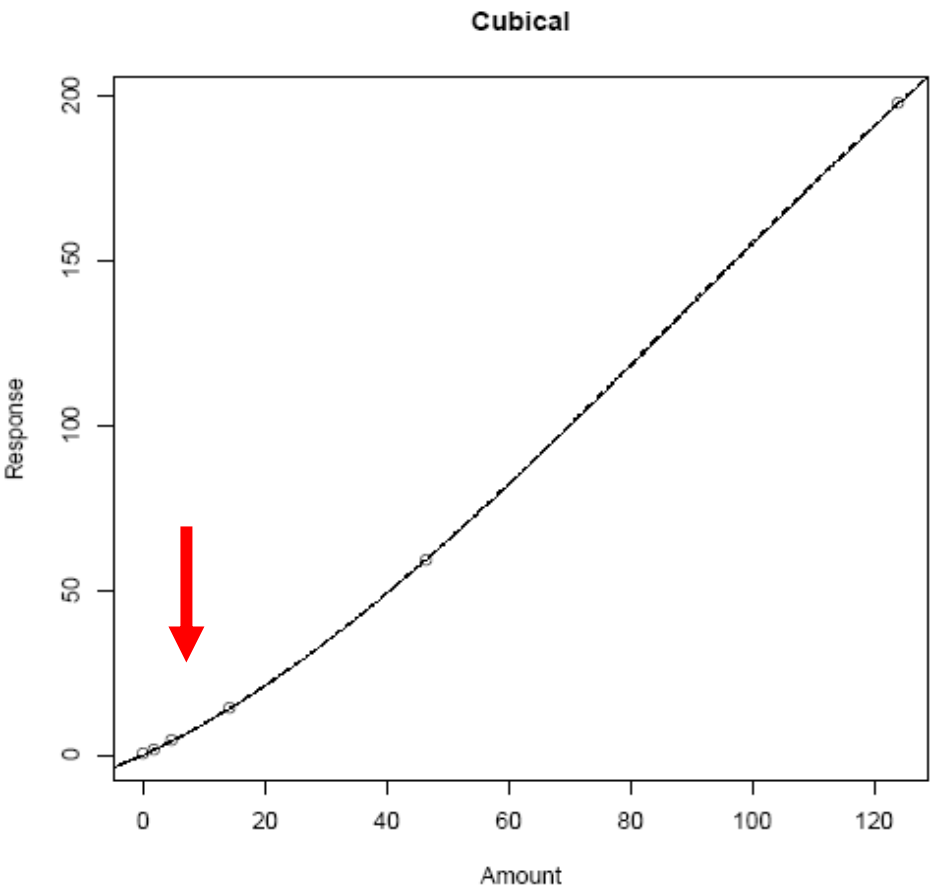
Celá kalibrační funkce

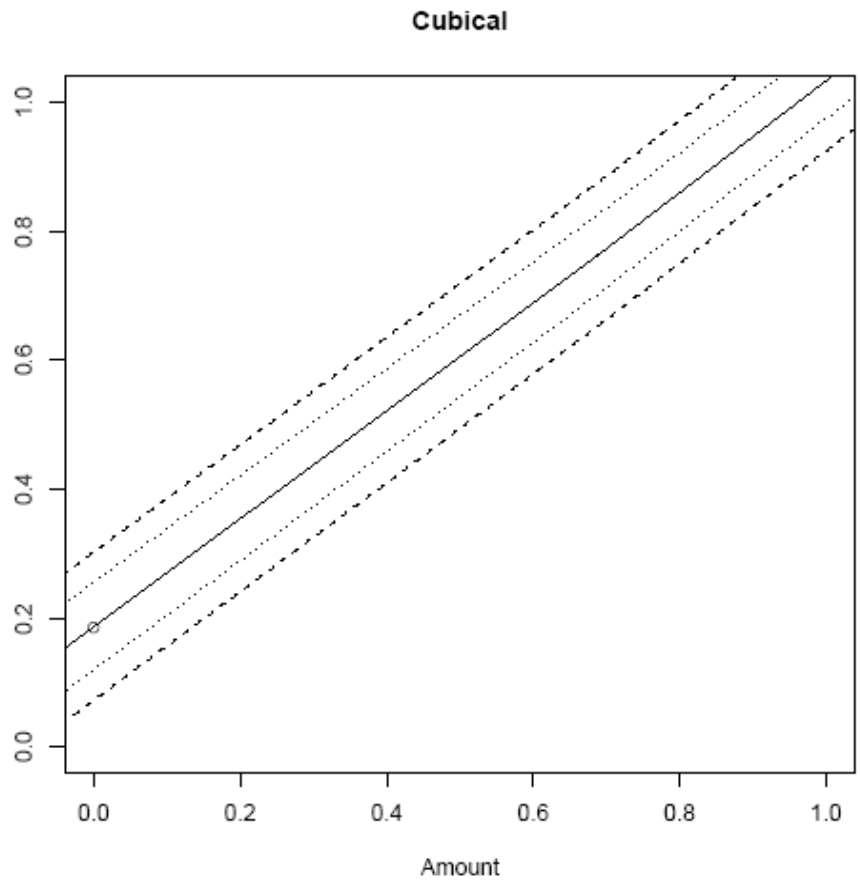
0 – 124 µg/l

cTnI – SEKK KM2/07

Detail kalibrační funkce

0 – 1,0 µg/l





Kontrolní limity TMU pro cTn

- Z požadavků doporučení NACB/IFCC/ESC/ACC

TMU = 3 . CV = 3 .10 = 30%

- RIfB DGKL TMU = 33%

(od roku 2009 - Neue Rillibäk 2008 - McDonald)

- Bio Rad TMU = 30% až 50%
- SEKK původní TMU = 30%
- SEKK po započtení nejistoty proložení kalibrace TMU = 34%

Různé metody cTn = různost diagnostických rozhodnutí

- Clin Chem Lab Med 2008 46,1489-1500

- Osm různých metod měření cTnI a cTnT

  poskytlo 53% až 78% výsledků nad 99 percentil!!!

Biologické variace a kritické diference

- Nutnost několika opakovaných stanovení troponinů u pacientů s podezřením na akutní koronární syndrom
- Biologická variabilita v rozmezí 0 až 4 hodiny CV_i = 9,7 %
- Odpovídající kritická diference (RCV) v rozmezí -32% až +46%
- Biologická variabilita 0 až 8 týdnů CV_i = 14%
- Odpovídající kritická diference

  -45% až +81%

NT- proBNP - SEKK 2008

- Reprodukovatelnost u dominantních kitů Roche a Dimension DPC byla v intervalu CV 3,5% až 6,5%
- Většina chyb způsobena záměnou molárních jednotek s hmotnostními

BNP v italském programu CardioOrmocheck

(clin chem lab med 48/6 2009)

- Reprodukovatelnost BNP (mezi kity) CV = **46,4%**
- Reprodukovatelnost mezi kity NT-proBNP CV = **7,3%**
- Systematické diference mezi kity BNP až **170%**
- Systematické diference mezi kity NT-proBNP až **20%**

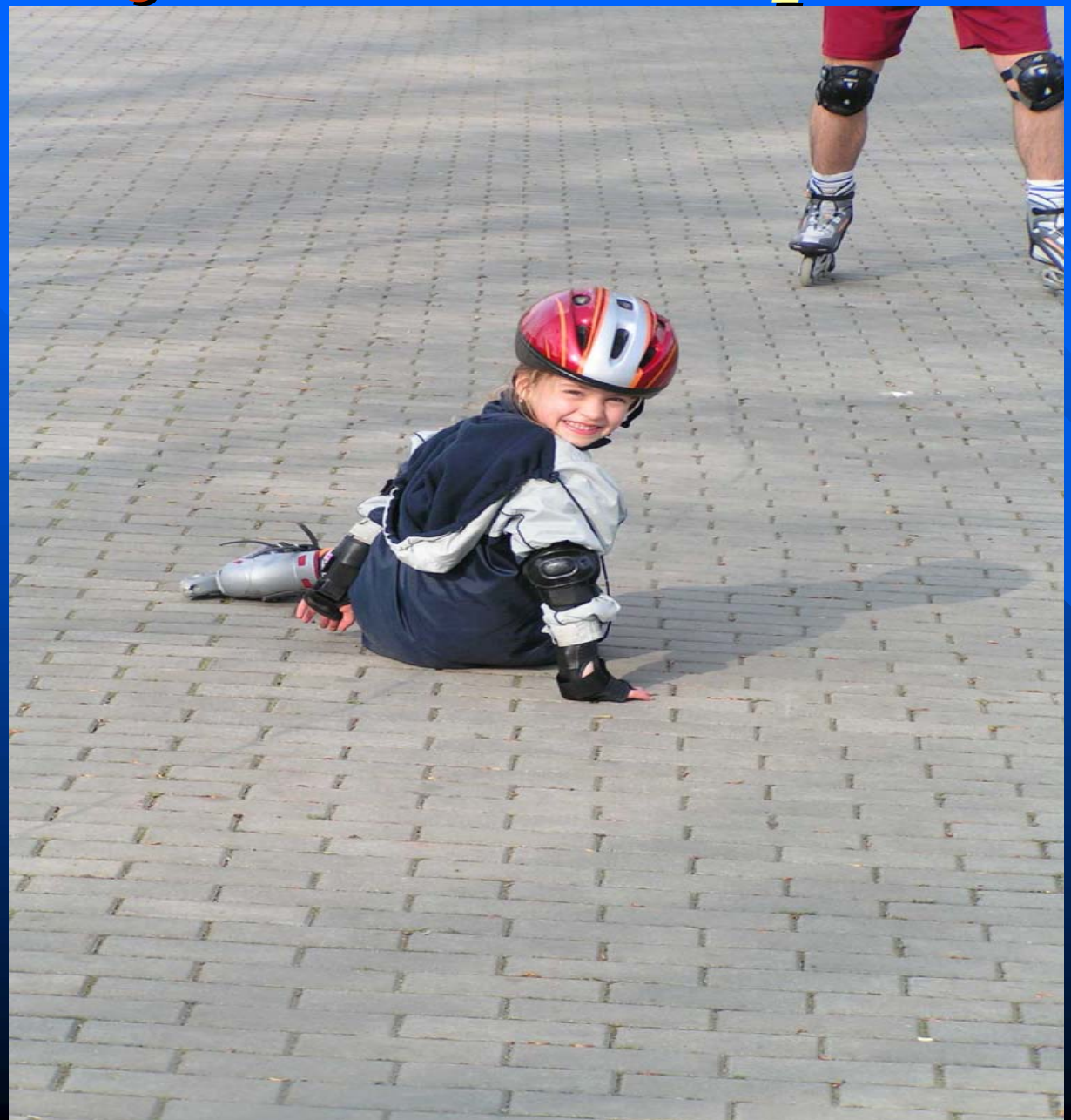
NP-přesnost u cut-off koncentrací

Anal. systém	BNP ~[%]	NT-proBNP [%]
Elecsys		12
Modular		7,5
Dimension		30
AxSYM	46	
Advia Centaur	43	
Access	14	
Triage	30	

Shrnutí

- Kontrolní limity EHK jsou zejména v oblastech kolem cut-off těžko splnitelné
- Tento stav je u různých programů EHK velmi podobný a lze jej považovat za obecný
- Diference mezi různými šaržemi a přístrojovými platformami, používanými v různých laboratořích přispívá ke snížení reprodukovatelnosti
- Situace se velmi liší u různých kitů a systémů
- Optimální kontrolní materiály jsou velmi obtížně dostupné, případně i (u BNP) zatím nedostupné

Řešení

- Zvýšit hodnotu kontrolního limitu TMU aspoň pro koncentrace pod nejnižším kalibračním bodem?
- Zvýšení četnosti kontrolních cyklů?
- Zohlednění biologických variací zvýšením počtu odběrů?
- Podstatné zlepšení kalibrace (počty kalibračních bodů v oblasti meze stanovitelnosti a cut off)!

Děkujeme Vám *za pozornost*