Kalibrace analytických měření a riziko péče o pacienty

B. Friedecký, J. Kratochvíla, M.Budina

SEKK Pardubice

www.sekk.cz

Smokovec 2009

VIM 3 *(Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny)*

- Dokument vytvořil BIPM „Pracovní skupina pro Pokyny v metrologii“
- JCGM/WG2 (Joint committee for Guides in Metrology)
- Dokument má celosvětovou platnost a nahrazuje VIM3 z roku 1993 až 1997
- Originální verze je simultánně dvoujazyčná (francouzká a anglická)
- **Základní problém současnosti – překlad odborných pojmů do národních jazyků!**

VIM 3 - 2008 *(ISO Guide 99)* společně vytvořilo a schválilo 8 organizací včetně IFCC

Kde lze nalézt VIM 3?

- Aktuálně na stránkách:
  http://www.ifcc.org
  http://www.bipm.org/
- V ČR je nutné jej koupit (český překlad existuje):
  http://www.unmz.cz/cz/50/produkty_sluzby.htm

Pojmy kalibrace a nový VIM3 (2008) - ISO Guide 99

- **Kalibrace**
- **Kalibrační hierarchie**
- **Kalibrační diagram**
- **Kalibrační křivka**
- **Kalibrátor** ***(standard použitý ke kalibraci)***
- **Komutabilita**

Kalibrace a metrologická návaznost - odstavce 2.39 až 2.41

Standardy a reference odstavce 5.1 až 5.15

Kalibrace 2.39 – VIM3 (2008)

2.39 (6.11)
kalibrace

činnost, která za specifikovaných podmínek v prvním kroku stanoví vztah mezi **hodnotami veličiny** s **nejistotami měření** poskytnutými **etalony** a odpovídajícími **indikacemi** s přidruženými nejistotami měření a ve druhém kroku použije tyto informace ke stanovení vztahu pro získání **výsledku měření** z indikace

POZNÁMKA 1 Kalibrace smí být vyjádřena údajem, kalibrační funkcí, **kalibračním diagramem**, **kalibrační křivkou** nebo kalibrační tabulkou. V některých případech se smí skládat ze součtových nebo násobných **korekcí** indikace s přidruženou nejistotou měření.

Kalibrace – VIM3 (2008)

- **Hierarchie kalibrace 2.40**

2.40
hierarchie kalibrace

sled **kalibrací** od reference ke konečnému **měřidlu**, kde závěr každé kalibrace závisí na závěru předchozí kalibrace

POZNÁMKA 1 **Nejistota měření** se nevyhnutelně zvyšuje s počtem kalibrací ve sledu kalibrací.

Kalibrace – VIM3 (2008)
Komutabilita RM 5.15

5.15
komutabilita referenčního materiálu

vlastnost **referenčního materiálu** demonstrovaná těsností shody mezi vztahem mezi **výsledky měření** stanovené **veličiny** na daném materiálu, získanými dvěma danými **postupy měření**, a vztahem získaným mezi výsledky měření jiných specifikovaných materiálů

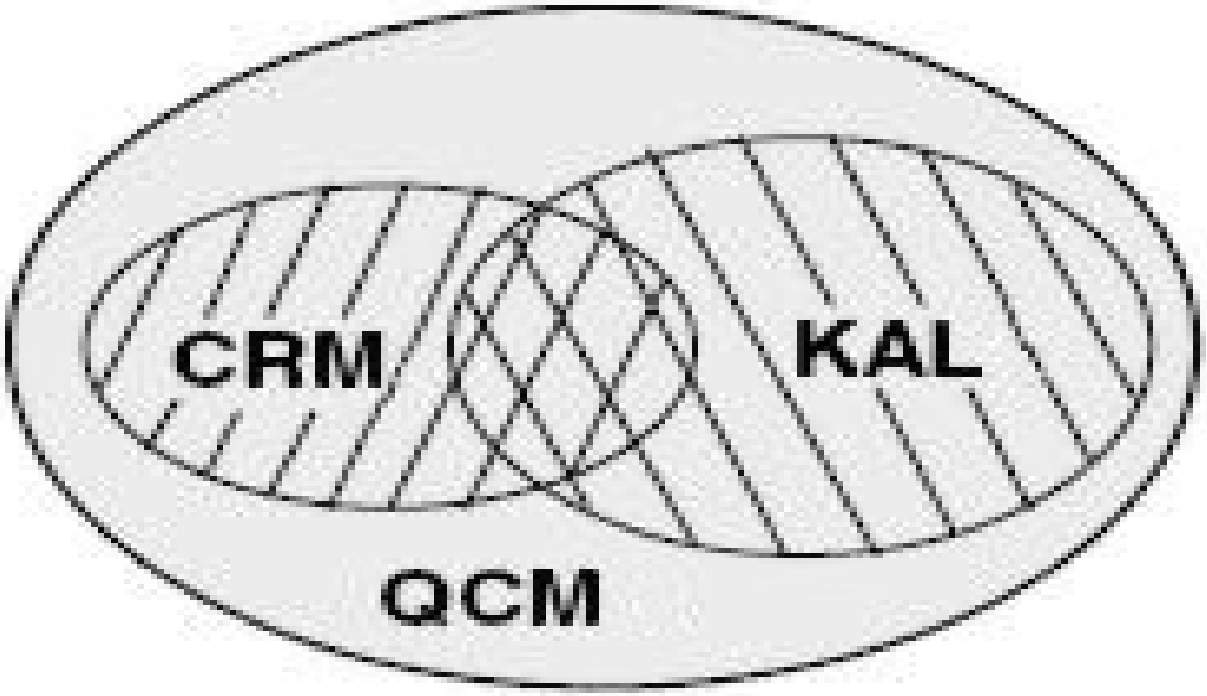
POZNÁMKA 1 V definici zmíněným referenčním materiálem je obvykle **kalibrátor** a další specifikované materiály jsou obvykle běžné vzorky.

POZNÁMKA 2 Postupy měření uvedené v definici jsou míněny postupy měření předcházejícího a následujícího referenčního materiálu (kalibrátoru) v hierarchii kalibrace (viz ISO 17511).

Rodina referenčních materiálů

(*H.Emons: Accred Qual Assur 2006*)

V nové versi mezinárodního metrologického slovníku VIM-3 patří kalibrátory, kontrolní a referenční materiály do jedné "rodiny" (2008)



Vlastnosti referenčních materiálů (a také kalibrátorů)

- Hlavními atributy jsou HOMOGENITA , STABILITA A KOMUTABILITA
- Hlavními funkcemi jsou KALIBRACE (přenos hodnot do rutinních laboratoří) a HODNOCENÍ, VERIFIKACE A VALIDACE rutinních analytických metod

Přenos referenčních hodnot praktický mikrotest

Kolik je hodnot jednoho kalibrátoru pro daný analyt, přenesených z jedné referenční hodnoty?

Odpověď (metrologická návaznost):

- Šest (pro dvě metody a tři přístrojové platformy
- Jedna (pro všechny metody a přístrojové platformy musí být stejná!)

Komutabilita a norma ISO 17511

- Kalibrace IVD musí podle klíčové normy ISO 17511 splňovat (mimo jiné) to, <u>že kalibrátor je komutabilní</u>
- Explicitně uvedeno v odstavci 7.1 c)
- Komutabilita – matriční přiměřenost kalibrátoru IVD musí být jednoznačně prokázána!

Nekomutabilita kalibrátorů

- Nekomutabilní kalibrátor zvyšuje kalibrační systematickou chybu o chybu, pocházející z jeho nevhodné matrice
- Výrobce zajímá více nekomutabilita kontrolních materiálů a méně nekomutabilita kalibrátorů
- Kladou větší důraz na hodnocení, než na zásadní přenos hodnot – řetězec návaznosti (metrologická návaznost) do rutinní praxe klinické laboratoře

Informace výrobců o změnách kalibrace

- Predikované odchylky nejsou doložené
- Referenční intervaly nejsou ověřené
- Metrologické názvosloví je „amatérské“ a často chybné (nesoulad s VIM3)
- Na trhu se udržují vedle sebe šarže před úpravou a po ní i když poskytují rozdílné výsledky!
- Výrobci a zákazníci se dožadují úspěšnosti v EHK vždy ve všech případech!

- 21 století je dobou diktátu „řízení kvality“
- Kvalita se prokazuje dokumentem (a tím směřuje k ideologii…)

Problematika kreatininu Informace o programu zlepšení kvality

Základní data a informace na

www.ifcc.org ikona NKDEP

Creatinine Standardization Program

- Společné doporučení ČSKB a České nefrologické společnosti na www.cskb.cz

Rekalibrace kreatininu podle NKDEP/IFCC

- Restandardizace IVD kitů s cílem dosažení návaznosti výsledků měření na referenční metodu (ID-MS)
- Srovnatelnost výsledků měření dosažených různými metodami a měřícími analytickými systémy – problém kalibrace
- Přechod na výpočet eGFR podle vzorce MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)
- Jen srovnatelnost výsledků měření sérového kreatininu zajistí srovnatelnost určených hodnot eGFR

Přehled bias EQA SEKK a RIfB DGKL Bonn

The bias overview (EQA results 2007)

The same control material was used in German and Czech programs of EQA.

$RMP_{creatinine}$ = 94.9 µmol/L

	Bias [%]	
Group	***DGKL (Germany)***	***SEKK (Czech)***
Jaffé (all participants)	+14.1	+15,8
Jaffé (Roche)	+4,8	+9,6
Enzymatic methods	+0,1	-2,2

Comment: The numbers show that restandardisation of Jaffé method was not solved and great improvement was done in traceability of enzymatic methods.

Referenční materiál SRM® 967 NIST

- Směs nativních lidských krevních sér, zamrazených při -80° C a rozesílaných na místa použití v suchém ledu
- K získání certifikovaných hodnot jsou použité primární referenční metody ID-GC/MS a ID-LC/MS

Hladina 1 66,5 $\mu mol.l^{-1}$

rozšířená nejistota U_c = 2,8 %

Hladina 2 346,2 $\mu mol.l^{-1}$

rozšířená nejistota U_c = 2,1 %

Rekalibrace S-kreatininu a dokumentace výrobce o nové generaci kitu

- Nová metoda/kit „Creatinine XXX“ poskytuje výsledky měření v průměru o 5,3 µmol.l^{-1} nižší než současná! Nedoloženo.
- Jedná se o novou metodu/kit „návazný na IDMS“? (Celá charakteristika v návodu)
- Chybí mez detekce, mez stanovitelnosti, pracovní rozsah. (Obvyklé)
- Žádost o úpravu referenčních intervalů uživatelem (Proč a jak?). Použít referenčních intervalů IFCC nebo pomoci zorganizovat v zemi multicentrickou studii by bylo inteligentnější, ale o mnoho dražší...)

Rekalibrace S-kreatininu a dokumentace výrobce o nové generaci kitu

- 9 až 12 měsíců bude oficiální expedice staré a nové soupravy, i když neposkytují stejné výsledky
- Vzorec pro eGFR ignoruje, že v ČR se užívá jednotky ml/s/1,73 m^2
- Implicitní požadavek na SEKK, aby zvlášť a jinak hodnotil výsledky starého a nového kitu
- To znamená hodnotit správné a nesprávné výsledky zvlášť tak, aby i nesprávné výsledky byly správné?
- Tedy rozdělit do podskupin zvlášť hodnocených novou i starou metodu
- Bez ohledu na návaznost / nenávaznost

Změna kalibrace myoglobinu

- Dle výrobce se jedná o „novou šarži vnitřního referenčního standardu“
- V dokumentaci výrobce se uvádí předpokládaný posuv hodnot závislý na koncentraci myoglobinu
- Intervalu koncentrací 50 až 150 µg/l odpovídá posun hodnot 3 až 12 µg/l
- Rozdíly nejsou úměrné koncentracím myoglobinu
- Nic není doloženo experimentálními daty. Je to jen konstatováno strohou řečí byrokratických pokynů…

Rekalibrace S-bilirubinu

- Ponecháno plně na uživateli zda a kdy k ní přistoupí (Přesun odpovědnosti)
- Přitom se změna (dle návodu výrobce) dotkne hodnocení pacientských výsledků!
- Jedná se o „reasignaci“ cílových hodnot celkového bilirubinu! (Co to je? PTYDEPE…?)
- Dojde ke snížení naměřených výsledků o 10% až 17%
- To je více, než požadovaný bias, odvozený z biologických variací (10%)
- Není doložena a realizovaná návaznost ačkoliv referenční metoda (Doumas) a SRM 916a NIST jsou k dispozici
- Řádná návaznost by poskytla jen jednu návaznou hodnotu kalibrátoru

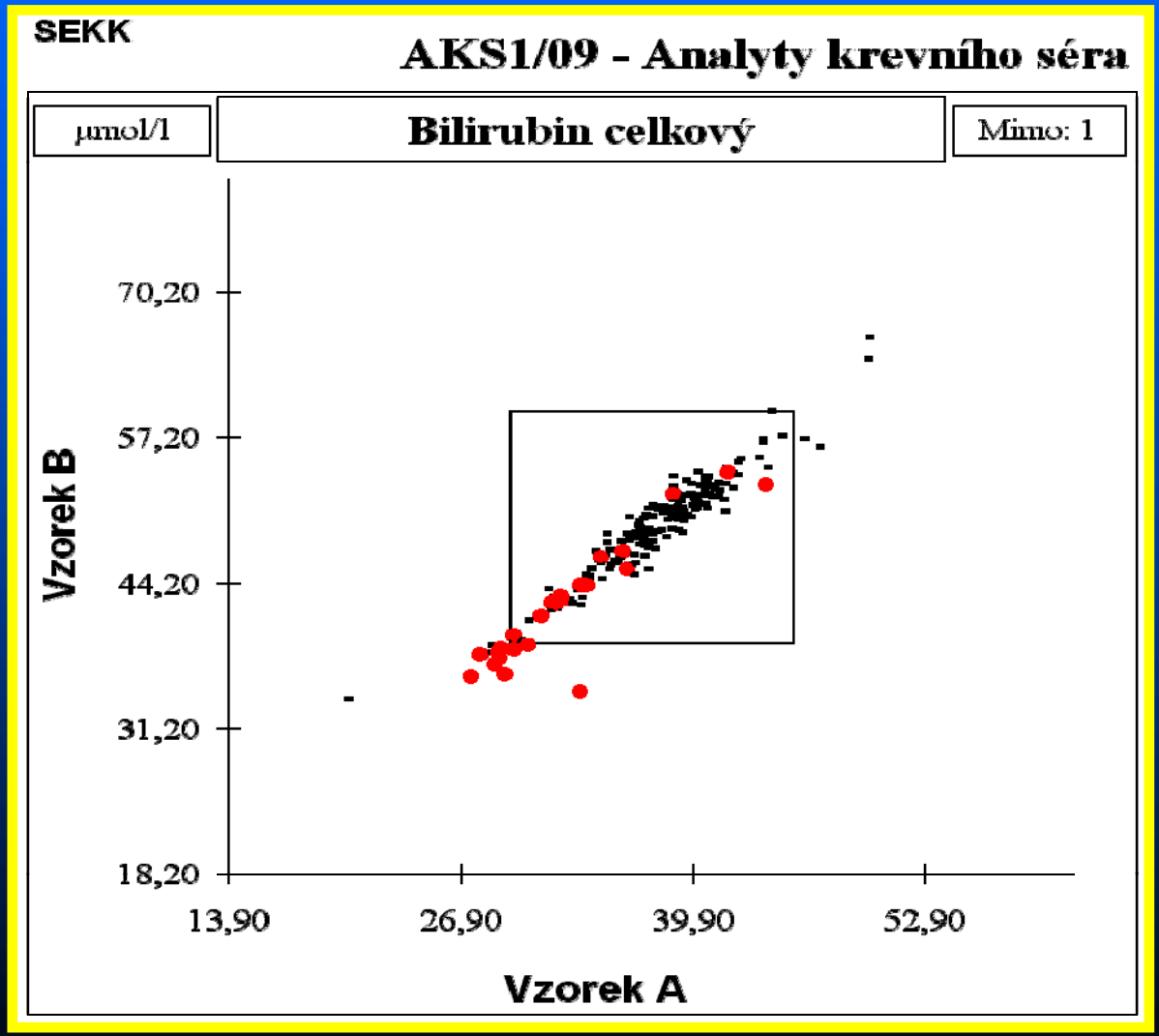
Bilirubin RELA 2007 (IFCC)

- Diference mezi 5 světovými referenčními laboratořemi maximálně 2,5% až 3 %
- Stanovení prováděno referenční Doumasovou metodou
- K dispozici je referenční materiál:

SRM 916a NIST

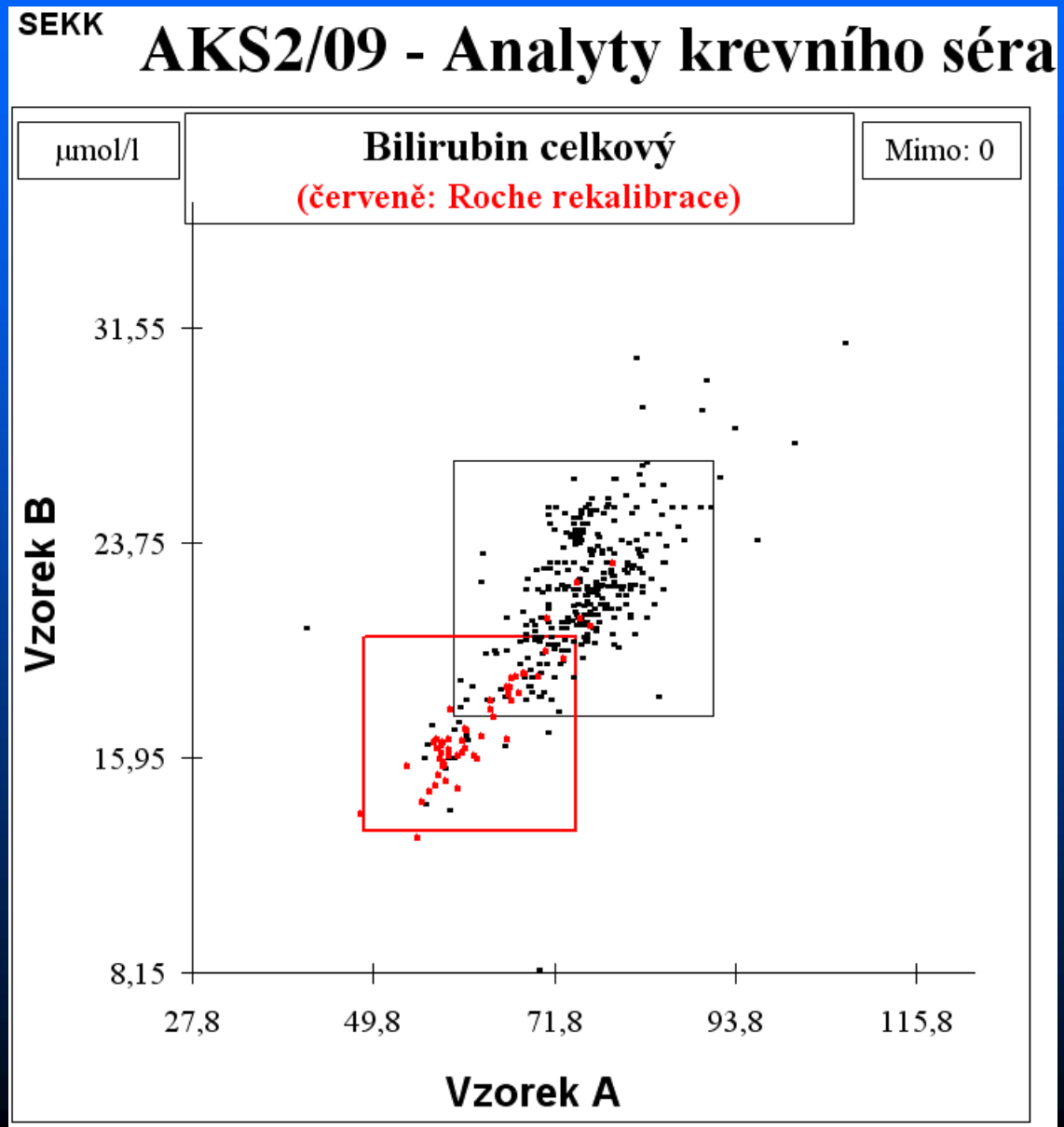
Rekalibrace S-bilirubinu

Kontrolní cyklus AKS1/09 (rekalibr.-červeně)



Rekalibrace S-bilirubinu

AKS2/09 n = 107; (rekalibr. červeně, n = 54)



Náš výrobce - náš pán!

- Informoval výrobce o změně kalibrace odborné společnosti?
- Dává výrobce šanci uživateli, aby se rozhodl o volbě kalibrace?
- Umožňuje paralelně dvě sady odlišných výsledků, měřených stejnou metodou a stejným analytickým systémem?
- Bylo při rekalibraci účinně využito existujících referencí a postupů?
- Byli konsultováni neonatologové?

Negativní role EHK při kalibraci a rekalibraci

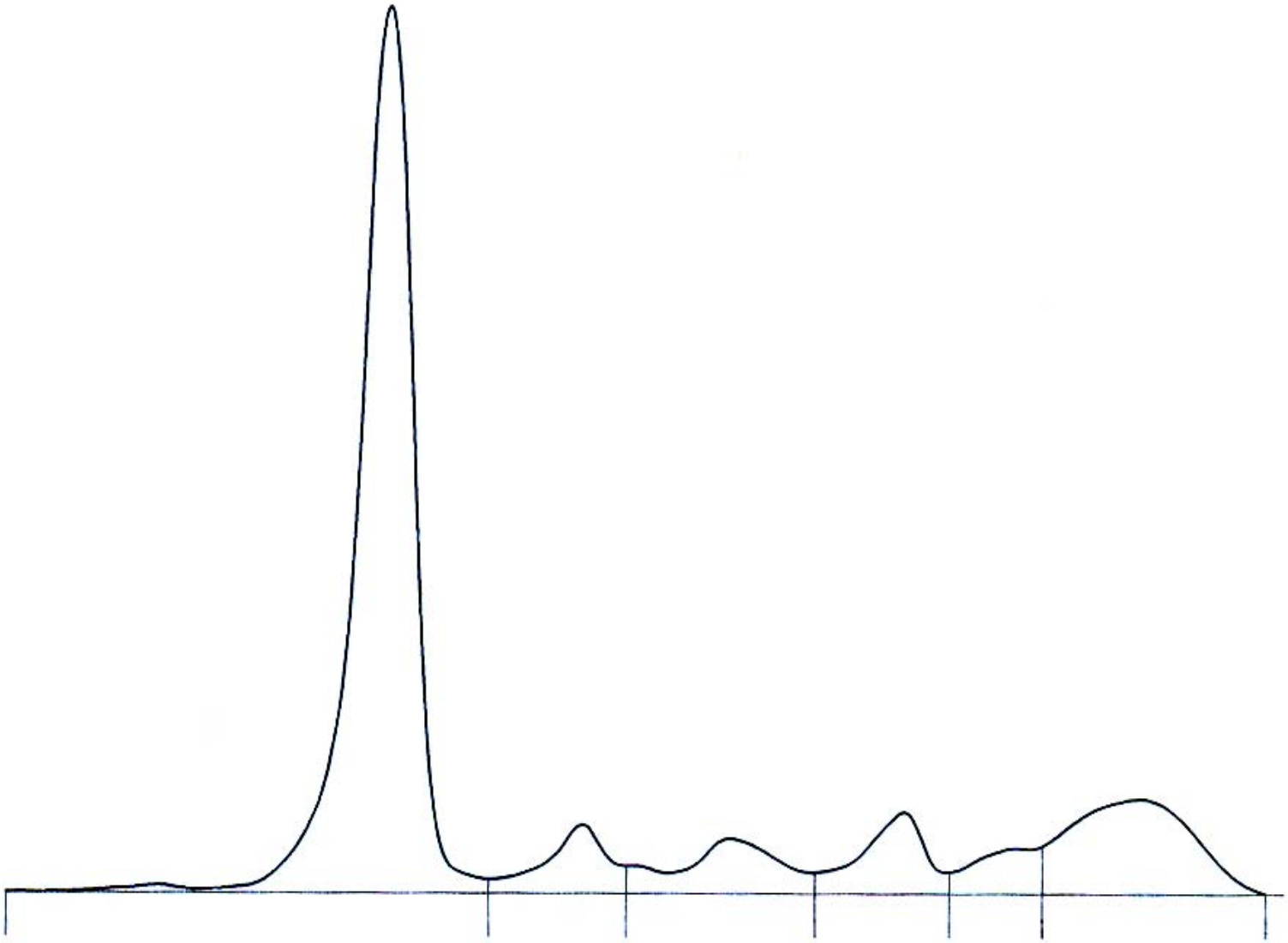
- Roche stará kalibrace 75,3 $\mu mol.l^{-1}$
- Roche rekalibrace 61,5 $\mu mol.l^{-1}$
- ALTM 74,3 $\mu mol.l^{-1}$

- Hodnocení podle „per group“ vede k tomu, že obě kalibrace jsou vyhovující a že tedy není nutná žádná korekce!!!!

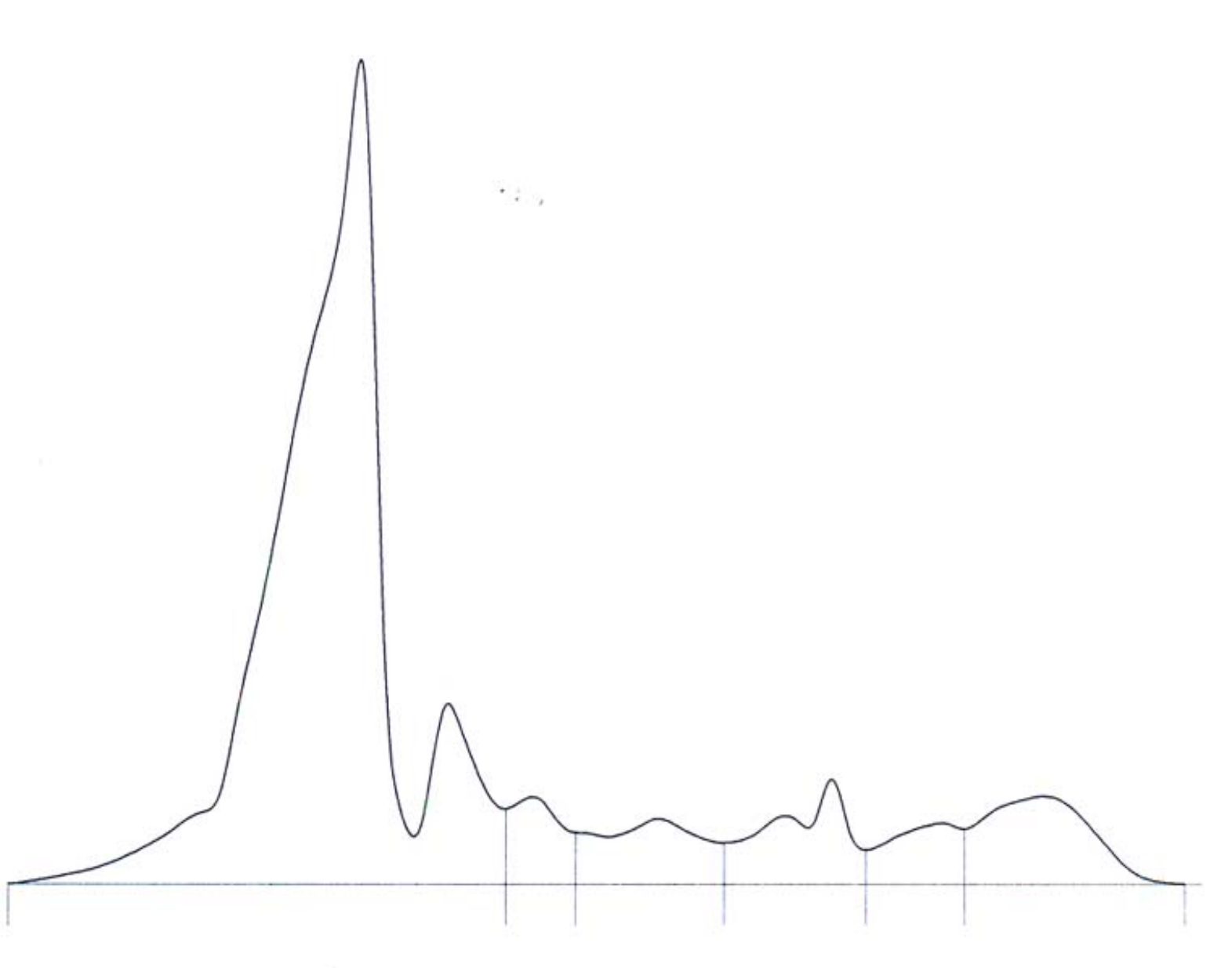
Stanovení albuminu

(RMP Vz. A = 40,12 g.l^{-1}; Vz. B = 35,37 g.l^{-1})

Přístrojová platforma	Výsledek A [g.l^{-1}]	Bias A [%]	Výsledek B [g.l^{-1}]	Bias B [%]
A (n = 6)	42,4	5,8	38,3	8,1
B (n = 21)	41,4	3,2	37,5	6,1
C (n = 6)	41,0	2,2	37,2	5,1



Stanovení albuminu: Kapilární elektroforéza - pacient



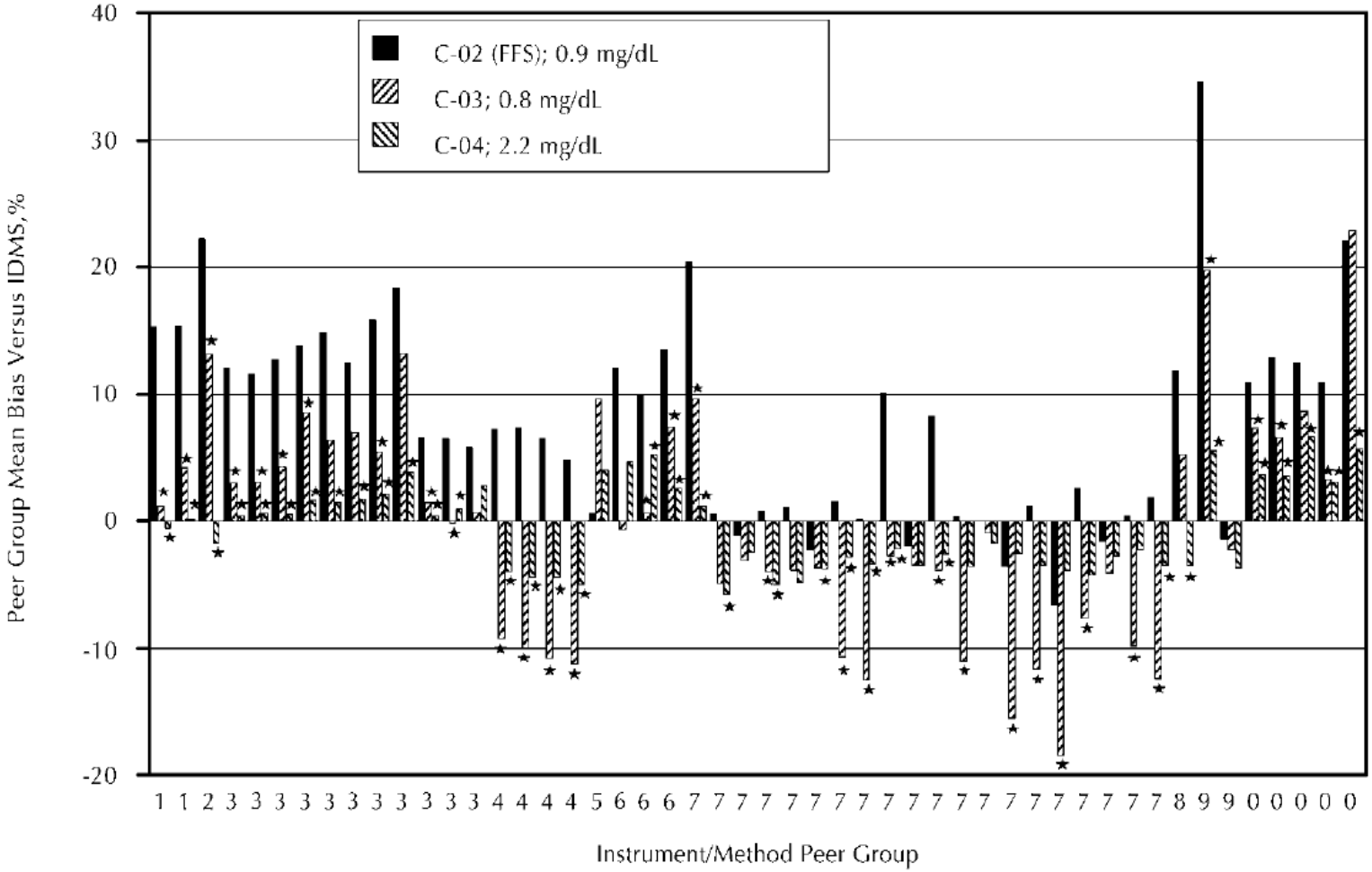
Stanovení albuminu: Kapilární elektroforéza - kalibrátor Roche cfas

Hodnocení „peer-group“(CAP) USA

- Každá kombinace kitu a výrobního typu přístroje má svou zvlášť hodnocenou skupinu
- To eliminuje jakoukoliv stopu matricových vlivů
- Současně to i eliminuje veškeré možnosti posouzení a následné korekce případného bias (všichni jsme stejně dobří!)
- Přitom právě bias je největším problémem klinické chemie (Gambino clin chem; Thienpontová – cclm)
- Laboratořím pak stačí pro úspěšnost v EHK udržovat vysokou přesnost a nestarat se důsledně o kalibraci
- Stejně je to často jen „black-box“
- Specialita - hodnota CV % u podskupin CAP bývá ne právě zřídka nulová!

Grafické zobrazení výsledků CAP

(Arch Pathol Lab Med 2005)



Interpretace grafu

- Přítomnost významné kalibrační chyby (bias) u 75% výsledků „komutabilního“ nativního séra
- Výsledky demonstrují příliš vysokou hodnotu bias. Demonstrace nekomutability je oproti tomu velmi vágní
- Nejpodstatnějším problémem je vysoká hodnota bias, problémy s nekomutabilitou jsou zde druhořadé

BNP a NT-proBNP

- Systematické diference u BNP až 170% mezi metodami
- Systematické diference u NT-proBNP 20% mezi metodami
- Recovery BNP po lyofilizaci 52% až 65% podle soupravy
- Recovery NT-proBNP po lyofilizaci 64% až 91% podle soupravy
- **Kalibrátory jsou ale lyofilizované !!!**

Kalibrace stanovení na ABR systémech POCT

- Vnitřní kontrola kvality a EHK mají jiný měřící módus (OQ mode), než vzorky pacientů (patient mode).
- Případnou systematickou chybu měření nelze dostatečně rychle identifikovat (je maskována použitím dvou různých modů měření)
- Jde o pacienty v kritickém stavu
- Konkrétní rizika přístupu pozorována na měření iCa

NORIP 2000
test kalibrátorů

- Kalibrátory výrobců IVD byly použity v mezilaboratorním experimentu (49 laboratoří)
- Bias cca 20 analytů hodnocen pomocí dvou CRM - nativního a lyofilizátu
- Počet měření s bias kalibrátoru nad 4,7% ($\geq$ 0,375.$CV_{biol.celková}$) byl 54% u nativního a 55% u lyofilizovaného CRM

Nejistota definice analytů při kalibraci

- Imunochemie definuje analyty obvykle podle použitých epitopů reagenčních protilátek
- Z 15 souprav stanovení cTnI/T v současnosti měly jen dvě stejnou trojici záchytných a detekčních protilátek
- To vylučuje standardizaci imunochemických měření
- Důvodem pro tento stav jsou výrobní patenty
- Důsledkem stavu je riziko závažného poškození pacientů

Důsledek nejistoty definice analytu

- Klinikové by měli být velmi opatrní při hodnocení výsledků měření různých imunochemických metod u stejných analytů

- *(Klasická věta řady publikací o imunochemických stanoveních)*

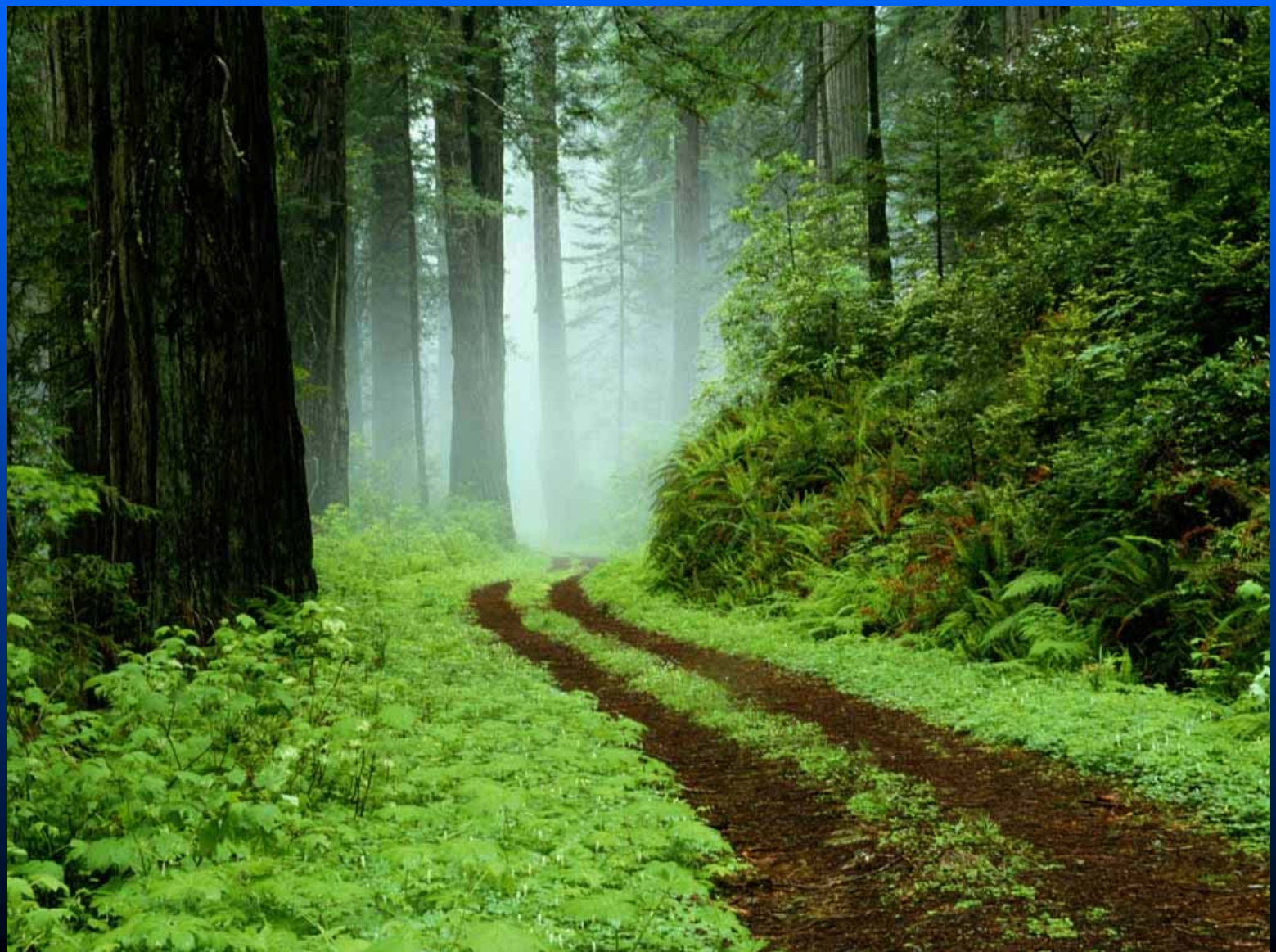
Proces kalibrace a jeho realizace

- Proces kalibrace má unifikační efekt (věda - kalibrační teorie částic a podobně)
- Proces výrobní produkce má občas diversifikační efekt (obchod)
- Proces zdravotní péče může být často riskantní (život)!

Závěr

Pravý standard si žádá, abychom definovali, co rozumíme jednotkou měření, která zůstává stále stejná bez ohledu na to, kde a kdy se koná měření

*****

(John D. Barrow: Nové teorie všeho, 2008)

Děkujeme Vám za pozornost