

# Návaznost výsledků měření v laboratorní medicíně (LM)

B.Friedecký, J.Kratochvíla,

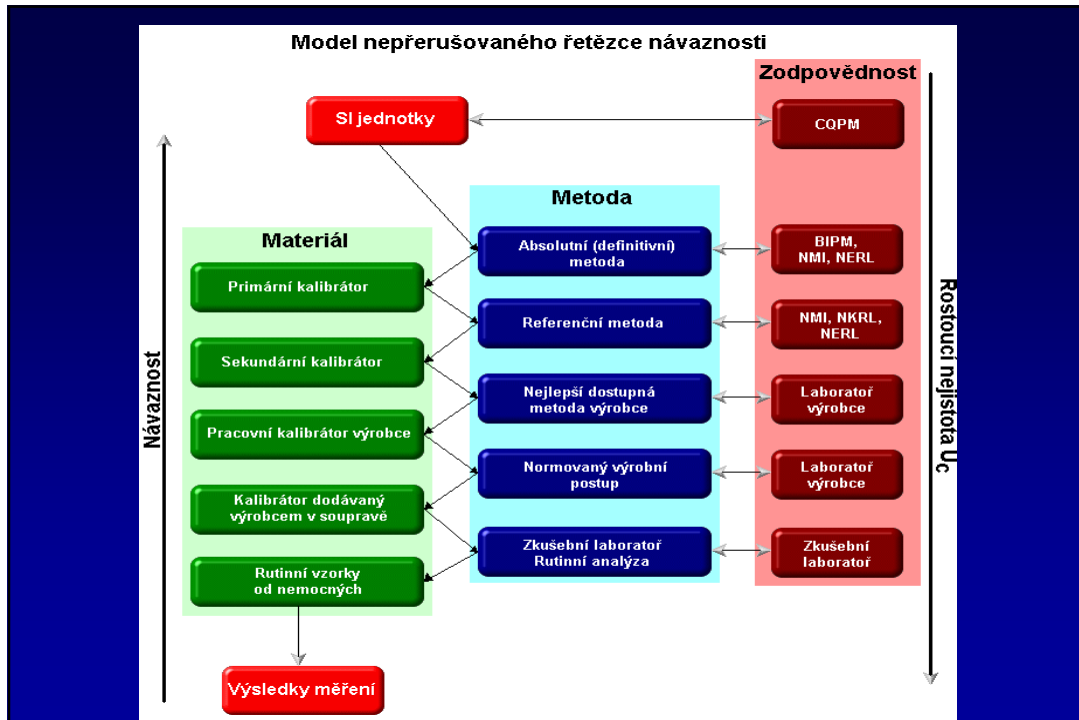
SEKK Pardubice

[www.sekk.cz](http://www.sekk.cz)

Eurachem - VŠCHT leden 2005

## Návaznost měření

Vlastnost výsledku měření nebo hodnoty **etalonu**, kterou může být určen vztah k uvedeným referencím, zpravidla národním nebo mezinárodním etalonům, přes neporušený řetězec porovnávání, jejichž **nejistoty** jsou uvedeny (přejato z ČSN 01 0115 odst. 6.10).



## Cíle návaznosti v LM

- ❑ Zajistit akceptovatelnou pravdivost výsledků měření
- ❑ Zajistit jejich porovnatelnost
- ❑ Zvýšit důvěru zákazníka  
(kompetence, akreditace)
- ❑ Objektivizovat rozhodování  
(v diagnostice a terapii)

## Nástroje, normy, doporučení

- referenční metody (ISO 15193)
- referenční materiály (ISO 15194; ISO Guide 35, 3 Ed.2003; EA 04/14: 2003)
- referenční laboratoře (ISO 15195)
- Návaznost hodnot pracovních kalibrátorů (ISO 17511; ISO 18153 - enzymy)
- Obecné pojetí návaznosti v anal. chemii (EURACHEM/CITAC Guide 2003 Traceability in Chemical Measurements) – Kvalimetrie 14

## Mezinárodní orgány realizace návaznosti

### Obecná analytická chemie

- **EURACHEM** (European Association for Cooperation in Analytical Chemistry)
- **CITAC** (Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry)
- **IUPAC** (International Union of Pure and Applied Chemistry)

## Zdravotnictví – laboratorní medicína Evropská Direktiva - 98/79 EC

\*  
**Zákonný předpis zemí EU regulující výrobu, vlastnosti a prodej zařízení vyráběných a prodávaných k posuzování zdraví a chorob in vitro**  
\*

## Direktiva IVD MD

- Směrnice Evropské Unie **IVD MD (In vitro diagnostic medical devices)**
- založená na zákonném předpisu Evropské Komise z roku 1999 (Directive 98/79/EC)
- implementovaná jako národní zákon do legislativy všech členských zemí EU v roce 2000
- regulace trhu na bázi metrologie!
- Označení  - **Deklarace shody**

## Evropská Direktiva - 98/79 EC a návaznost

- Po výrobcích IVD MD se vyžaduje:  
**NÁVAZNOST HODNOT  
PRACOVNÍCH KALIBRÁTORŮ!**
- Realizace této návaznosti na příslušnou referenci je popsána v normách

**ISO 17511 a ISO 18153**

\*

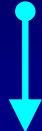
## Realizace návaznosti v LM

- Limitována neznalostí struktury mnoha analytů, neexistencí nebo nedostupností řady referenčních materiálů
- Normy ISO 17511 a ISO 18153 jsou k těmto problémům dost velkorysé
- Platí zásada ....„**aspoň nějaká návaznost**“  
*(například v indikovaných případech stačí porovnávací studie nového výrobku se starším téhož výrobce)*

## Mezinárodní orgány realizace návaznosti v LM

### Laboratorní medicína


BIPM



JCTLM

(Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine – 4 working groups)

## Joint Committee of Traceability in Laboratory Medicine - JCTLM

- Zajišťování návaznosti zejména u výrobků IVD MD (značení  )
- Dobře dostupná jsou zatím data o CRMs / LM, referenčních měřících postupech / LM a nově o referenčních laboratořích LM - Excelové tabulky na webové adrese:

<http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm/>



Zastřešující a řídicí organizací je BIPM

## Databáze JCTLM

- Data o referenčních materiálech, referenčních postupech a *referenčních laboratořích (od roku 2005)* jsou volně dostupná na webových adresách:

❖ [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz)

❖ [www.bipm.org](http://www.bipm.org)

❖ [www.ifcc.org](http://www.ifcc.org)

❖ [www.cmi.cz](http://www.cmi.cz)

- Jsou pravidelně aktualizovaná..... (k 1.1.2005 je v seznamu 150 ref. materiálů a 100 ref. metod)

## BIPM/JCTLM - Quality Manual (August 2004)

### JCTLM – WG-2 (L.Siekmann, L.Thienpont)

JCTLM WG2 is establishing criteria and processes for assessing the competencies required by ISO 15195 for Reference Measurement Laboratories to be included on the JCTLM lists. These Reference Measurement Laboratories will be required to participate in formal inter-laboratory comparisons to allow assessment of their competence in the implementation of Reference Measurement Procedures on a measurand-by-measurand basis. Data from the inter-laboratory comparisons will also be used to assess the comparability of different higher order Reference Measurement Procedures for the same measurand. The initial list of Reference Laboratories identified through this process should be available in 2005.

## Realizace návaznosti a referenční body v LM

1. Kalibrační a kontrolní materiály
2. Metody a přístrojová instrumentace  
(*analytická specifičnost*)
3. Referenční laboratoře

\*

**Výrobce IVD se musí opírat právě o tyto referenční body a musí o nich řádně informovat uživatele!!!**

# Program RM/SRM<sup>®</sup> - NIST pro 2004 - 2005

## Health Care Measurements:

... supporting the national reference system and the IVD industry

### ❖ Maintain and Refine Definitive Methods for 12 Health Status Markers

Calcium	Cancer, Blood Clotting
Chloride	Kidney Function
Cholesterol	Heart Disease
Creatinine	Kidney Function
Glucose	Diabetes
Lithium	Antipsychotic Treatment
Magnesium	Heart Disease
Potassium	Electrolyte Balance
Sodium	Electrolyte Balance
Triglycerides	Heart Disease
Urea	Kidney Function
Uric Acid	Gout

### ❖ Establish Reference Systems for New Clinical Markers - Highest Priorities

Troponin-I	Myocardial Infarction
Glycated Hemo.	Diabetes Status
Homocysteine	Risk of Heart Disease
P <sub>23</sub> DNA	Breast Cancer
TSH	Thyroid Function
Speciated Iron	Hemochromatosis, Anemia
Human Serum Alb.	Renal Failure
PSA	Prostate Cancer
Cadmium & Mercury	Toxic Metal Poisoning
Cortisol	Endocrine Function
Thyroxine	Thyroid Function
Folates	Neural Tube Defects

#### Characteristics of current markers:

- Relatively small well-defined molecular or elemental species

#### Measurement Challenges for new markers:

- High molecular mass proteins (>20,000 daltons)
- Heterogeneity of the protein
- Separation of different forms of the proteins
- Serum matrix complex; analyte level low
- Stability of analytes
- *Standardization necessary before medical diagnostic benefit can be realized*

## K čemu je návaznost ?

K zajištění pravdivosti a srovnatelnosti bez ohledu na laboratoř, zemi, provenienci měřidla (kitu, metody, přístroje)!!!

\*

Dovést analytická měření na úroveň měření fyzikálních (času, délky, hmotnosti atd.).

Návaznost není užitečná k ničemu jinému,

ale je to snad málo?

## „CHECK LIST“ REFERENČNÍ METODY MĚŘENÍ GLUKÓZY PODLE JCTLM

Jednotka	SI jednotka
Vzorek	Krevní sérum
Referenční princip měření	ID-GC/MS
Referenční instituce	NIST
Kalibrátor	SRM <sup>®</sup> - NIST 917
Pracovní rozsah	2 – 20 mmol.l <sup>-1</sup>
Kombinovaná nejistota	$U_{\max} \leq 1,5\%$

### Realizace návaznosti v klinické laboratoři je velmi problematická

U biologických analytů je k dispozici jen asi v 10 až 20% případů referenční materiál/metoda měření!

Norma ISO 17511:2003 se proto vyznačuje velkou tolerancí k výrobcům IVD MD.

*Rozeznává 5 možností, jak realizovat navázání IVD MD k referenci - některé z nich jdou výrobcí velmi vstřícně.*

## TRACEABILITY – CASES 1 - 5

Transfer protocols

Case	RMP	Reference material	Example
1 (SI)	X (primary)	X (primary)	Glucose, Cholesterol
2 (non-SI)	X*	X*	Enzymes
3 (non-SI)	X*	–	Hemostatic factors
4 (non-SI)	–	X*	Spec. proteins
5 (non-SI)	–	–	Tumor markers

\*International conventional RMP & RM

## Požadavky na návaznost v systémech řízení kvality

jsou explicitně vyjádřeny v příslušných kapitolách norem způsobilosti („akreditačních“)

- Pro **referenční laboratoře** v laboratorní medicíně v **ISO 15195**
- Pro analytické laboratoře v **ISO 17025**
- Pro klinické (lékařské) laboratoře v **ISO 15189**

## Prvky empirické návaznosti biologických materiálů podle WHO a IFCC

- Jednotka měření – arbitrární jednotka (IU)
- Referenční materiál – fyzikální standard (International Standard = IS)
- Přiřazení hodnoty IS:
  1. Mezinárodní mezilaboratorní pokusy (*round-robin trials* aj.)
  2. Použití konvenčně zvolené (dohodnuté) mezinárodní „referenční„ metody

## Schéma empirické návaznosti výsledků měření analytů a biologických látek o nedostatečně definované struktuře

Empirická jednotka

IS (fyzikální standard)

IU (přiřazení hodnoty)

Pracovní kalibrátor  
(odvození od IU/IS)

## Mezinárodní referenční měřicí systémy v LM

- **NCEP** (National Cholesterol Education System) - diagnostika ischemické srdeční choroby
- **NGSP** (National Glycated Hemoglobin Standardization Program) – sledování stavu kompenzace diabetu

Informace o struktuře a činnosti jsou volně dostupné na webové adrese:

[http:// www.aacc.org](http://www.aacc.org)

## Struktura NCEP - cholesterol

- Primární referenční materiál NIST:  
SRM<sup>®</sup> 911 jako ztělesnění SI jednotky
- Primární měřicí metoda ID-GC/MS  
(ID-LC/MS)
- Mezinárodní síť referenčních laboratoří s kontinuálně sledovanou způsobilostí NERL (cca 12 referenčních laboratoří)

## **Funkce systému NCEP**

- Certifikace analytických systémů pro rutinní měření cholesterolu
- Přenos hodnot z primárního kalibrátoru na hodnoty pracovních kalibrátorů rutinních měření v řetězci metrologické návaznosti

## **Struktura systému NGSP – HbA<sub>1c</sub>**

- Referenční postup měření zvolený konsensem
- Mezinárodní síť referenčních laboratoří s kontinuálně sledovanou způsobilostí – systémem řízení kvality

## Návaznost – glykovaný hemoglobin Základní struktura

- HbA<sub>1c</sub> je hexapeptid přesně známého složení – návaznost výsledků měření lze realizovat!

\*

*glukóza – Val – His – Leu – Thr – Pro – Glu*

## Tvorba referenčního materiálu HbA<sub>1c</sub> – přechodový stav metrologické a empirické návaznosti (důležitost zapojení nových technologií (DNA, proteomika a jiné) do procesů realizace návaznosti)



## Funkce systému NGSP - HbA<sub>1c</sub>

- Certifikace diagnostických systémů výrobců pro rutinní měření
- Přenos hodnot určených referenční metodou na pracovní kalibrátory rutinních metod standardizovanými porovnávacími experimenty
- V současnosti jsou **dvě referenční metody** (DCCT a IFCC), dva přenosy, dvě sady výsledků, **dvě rozdílná kritéria** pro klinické sledování stavu diabetu!

## Specifika návaznosti v LM - 1

- Problémy se znalostí struktury analytů a látek (proteinů, hormonů, CA-markerů, epitopů antigenů...)
- Následné problémy s definicí jednotek a jejich realizací ve formě referenčních materiálů
- ***Možné řešení - Podíl na rozvoji a aplikaci proteomiky***

## Specifika návaznosti v LM - 2

- Hodnoty bias jsou vysoké (viz IMEP-17)
- Nutnost a současně obtížnost korekce výsledků na hodnoty bias a seriózní zahrnutí této hodnoty do odhadu kombinované nejistoty
- Zkreslování kritérií hodnocení výsledků vlivem špatně korigovaného bias – **pozor !!!** **kritéria zde rozhodují o individuálním osudu člověka**  
**(zásadní problém referenčních intervalů)**

## Specifika návaznosti v LM - 3 Referenční intervaly

- **Kritéria interpretace výsledků měření v klinické laboratoři (projekt NORIP)**
- Referenční intervaly - statistické vyhodnocení souboru „zdravých“ pacientů
- Rozhodovací meze (cut-off), dělí populaci na „zdravou“ a s chorobou na podkladě mezinárodních/národních konsenzů
- **Role návaznosti je zde značná**
- **Existence bias a zvýšená nejistota dezinterpretuje hodnoty referenčních intervalů a rozhodovacích limitů!**

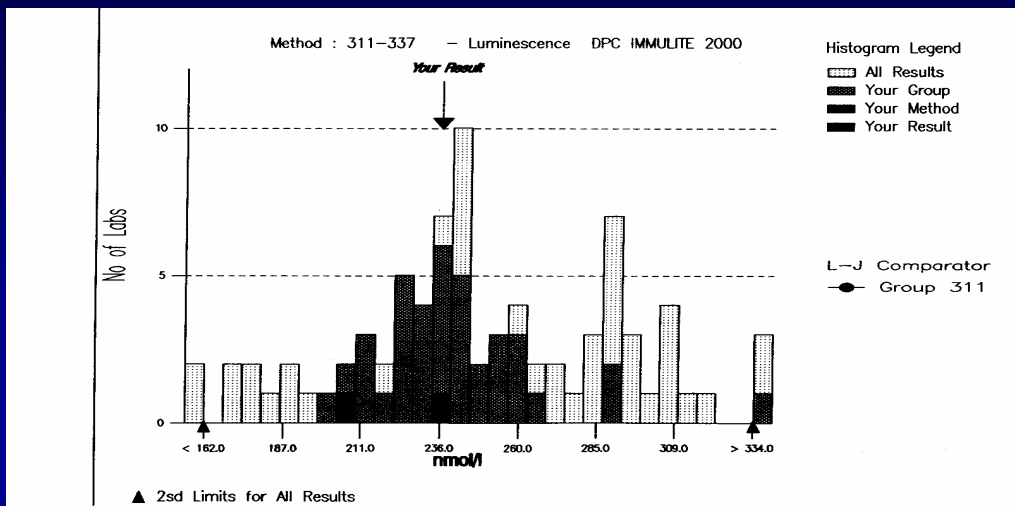
## Ovlivnění klinické interpretace bias a nejistotou

- 6,1 mmol.l<sup>-1</sup> glukóza ...hranice zvýšeného rizika diabetu
- 7 mmol.l<sup>-1</sup> glukóza...přítomnost diabetu
- Při komb. rozšířené nejistotě  $U_c = \pm 0,6 \text{ mmol.l}^{-1}$  se obě hodnoty překrývají
- Při negativním bias nezachytíme všechny diabetické a rizikové osoby
- Při pozitivním bias jejich počty přeceníme
- Zkreslení - pozitivní a / nebo negativní predikce zkoušky

## Specifika návaznosti v LM - 4

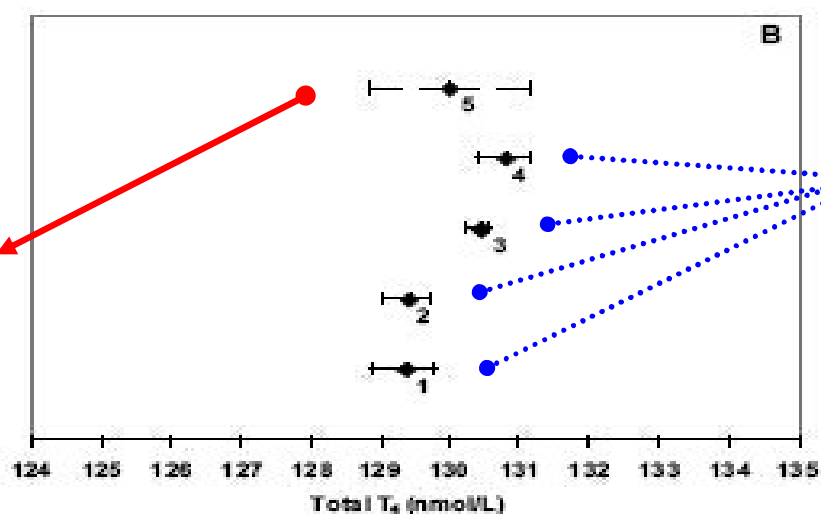
- Globalizace měření (IVDD 98/79 EC)
- Možnost/pokus o zvládnutí nezvládnutelného (to je realizace návaznosti v LM)
- Nastolení vysoké úrovně porovnatelnosti
- Redukce analytických dovedností
- Přesun analytické činnosti z periferie do center, motivovaných množstvím extraanalytických a extramedicinských zájmů

## Ovlivnění distribuce výsledků úrovní návaznosti – thyroxin (T4) – existence RM!



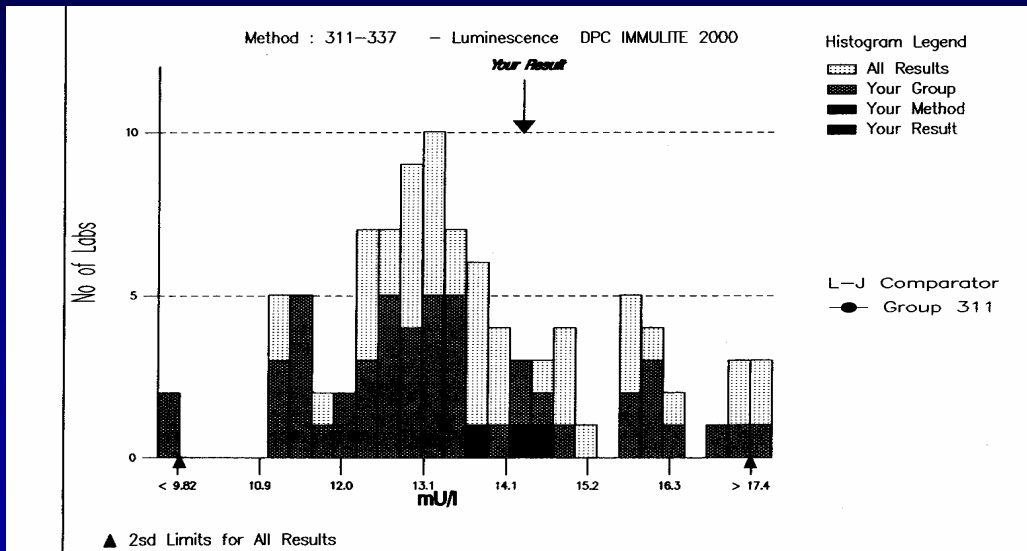
**Návaznost T4:**  $CV_{\text{mezilab}}$  souboru RL při měření T4 (Iyof. vzorky 2 konc.) ( $CV_{\text{inlab}} \geq 0,5\%$ ;  $CV_{\text{betweenlab}} \geq 0,6\%$ ) (Iyof. vzorky konc. v  $\text{nmol.l}^{-1}$ ;  $AM_{T4} = 130 \pm 1,2 \text{ nmol.l}^{-1}$ ).

Průměrné SD - 4 RefLab ze sítě NERL

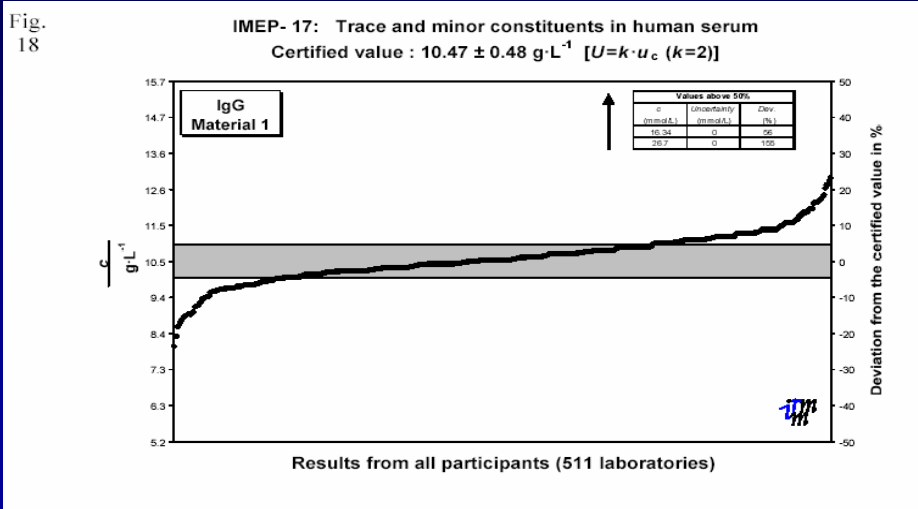


SD refer. laboratoří (ID-GC/MS)  
ze n = 6 měření

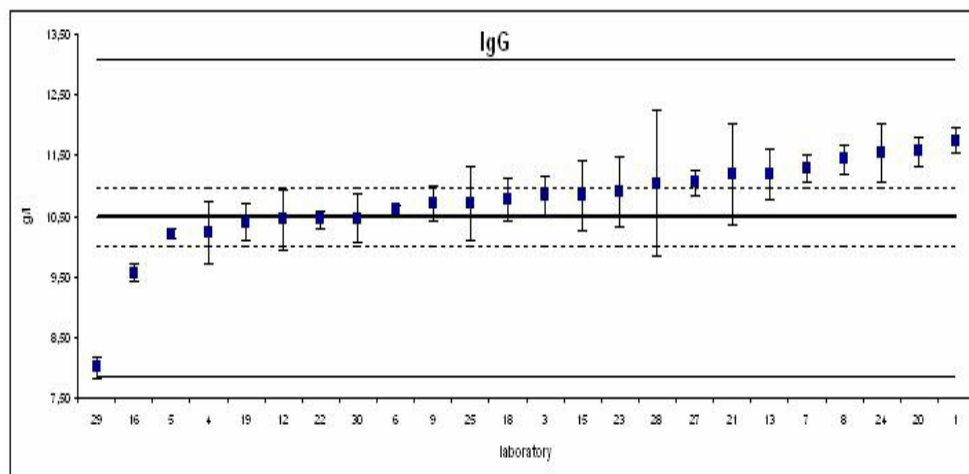
## Ovlivnění distribuce výsledků úrovní návaznosti – thyreotropin (TSH) – neexistence RM



## IMEP-17 Vyhodnocení výsledků stanovení IgG (All) n = 511



## IMEP-17 Vyhodnocení výsledků stanovení IgG (CZ) n = 30



## ZÁVĚR

Vývoj návaznosti výsledků měření a hodnocení analytické i klinické kvality měření prošel a prochází v laboratorní medicíně za poslední léta dramatickým progresivním vývojem (*iniciováním i ekonomicky*).

\*

Tento vývoj je již částečně akceptován kliniky a zdá se být nezvratným v dostupné časové dimenzi

**Děkujeme Vám**  
za pozornost!