

Metrologie v denní praxi klinické laboratoře

Friedecký B., Kratochvíla J., SEKK, 2011

Obsah

- n Standardizace, komunikace
- n Metrologická návaznost
- n Referenční materiály
- n Metrologická návaznost laboratorních diagnostik a anal. systémů
- n Metrologická návaznost v programech zkoušení způsobilosti a akreditaci
- n Nejistota výsledků měření
- n Příklady

STANDARDIZACE

Metrologická návaznost, standardizace, srovnatelnost

Cílem standardizace je dosažení srovnatelnosti výsledků měření měřené veličiny, analytu a složek, měřených v různých laboratořích různými metodami a měřicími systémy u stejných analytů a měřených veličin.

Nástrojem standardizace je metrologická návaznost výsledků měření.

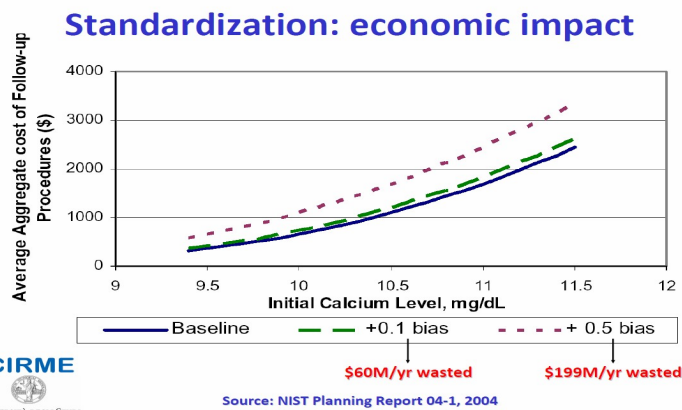
Význam standardizace

- ◆ Možnost získání obecně platných referenčních intervalů a rozhodovacích limitů, ovlivněných jen věkem, pohlavím, etnikem a neovlivněných metodou měření
- ◆ Hodnocení v EHK se provádí srovnáním výsledků analýzy s referenční vztažnou hodnotou, získanou referenční metodou (pokud tato existuje)
- ◆ Diference výsledků měření a referenční hodnoty představuje bias - vychýlení metody

Důsledky nesrovnatelnosti výsledků měření

- ◆ klinické (diagnostické chyby)
- ◆ ekonomické (nutnost opakování analýz)
- ◆ etické (nesrovnalosti v klinické interpretaci) - rozdílné diagnostické a terapeutické závěry a léčba při vyšetřování stejného pacienta v jiné laboratoři
- ◆ nepřehlednost hodnocení EHK (nutnost hodnocení podle principů měření, výrobců diagnostik, měřicích systémů apod.)

Ekonomický dopad hodnoty bias při měření sérového vápníku (Ca). Pětinásobně zvýšená hodnota bias zvýší více než třikrát finanční náklady zdravotnického zařízení, protože výsledky stanovení Ca mimo referenční interval vyžadují kolem deseti dalších návazných analýz a vyšetření (laboratorních i zobrazovacích).



Důsledky nedostatečné standardizace

- ◆ Každá analytická metoda poskytuje jiné hodnoty referenčních intervalů (rozhodovacích limitů)
- ◆ V EHK se hodnotí výsledky měření ve skupinách bez možnosti určit, která je kvalitnější
- ◆ Nelze stanovit exaktně hodnotu bias / vychýlení

Problém definice analytů, měřených veličin a složek

- ◆ Složitost některých analytů a složek a nedobrá znalost jejich struktury jsou obecným problémem laboratorní medicíny. Jeho následkem je, že často nelze vytvořit odpovídající referenční materiály a určit referenci
- ◆ Mnoho analytů a parametrů, ale málo referenčních materiálů a referenčních metod, jsou dalším problémem

Příklad – měřené analyty při stanovení vitamínu D

- ◆ 25-hydroxyvitamin D2
- ◆ 25-hydroxyvitamin D3
- ◆ 25-hydroxyvitamin D
- ◆ 3-epi-25-hydroxyvitamin D3
- ◆ 1,25 dihydroxyvitamin D

Jak posoudit stav nutriční resp. nutnost suplementace, když neměříme totožný analyt?

Nástroj metrologické komunikace

Mezinárodní metrologický slovník pojmů 2007 (VIM 3)

ISO Guide 99: 2007

Dostupné volně na www.bipm.org a www.ifcc.org (VIM 3) a v českém překladu pak na www.unmz.cz

Aplikace pro laboratorní medicínu: www.sekk.cz/terminologie

Řídí se komunikace mezi výrobcí a zákazníky/laboratořemi metrologickým slovníkem VIM3?

- ◆ Výrobci nerespektují metrologický slovník a používají zcela zvláštních novotvarů a zvláštní řeči s nepřesnou informační hodnotou:
- ◆ „Reassignace“ (přiřazení jiné hodnoty referenčnímu materiálu)
- ◆ „Reformulace“ (změna postupu měření a/nebo kalibrace)
- ◆ „Konsolidace kontrol“ (změna repertoáru kontrolních materiálů výrobce)
- ◆ a řada dalších podivností...

Co potřebuje lékař a pacient?

- ◆ Pravdivost, preciznost a srovnatelnost výsledků měření jsou základními očekávanými vlastnostmi laboratorních výsledků
- ◆ Odpovídající a celosvětově platné referenční intervaly a rozhodovací limity
- ◆ A tím zaručenou platnost národních a mezinárodních doporučení a algoritmů

METROLOGICKÁ NÁVAZNOST

Cíl metrologické návaznosti

Pravdivosti a srovnatelnosti výsledků měření lze dosáhnout pouze pomocí metrologické návaznosti

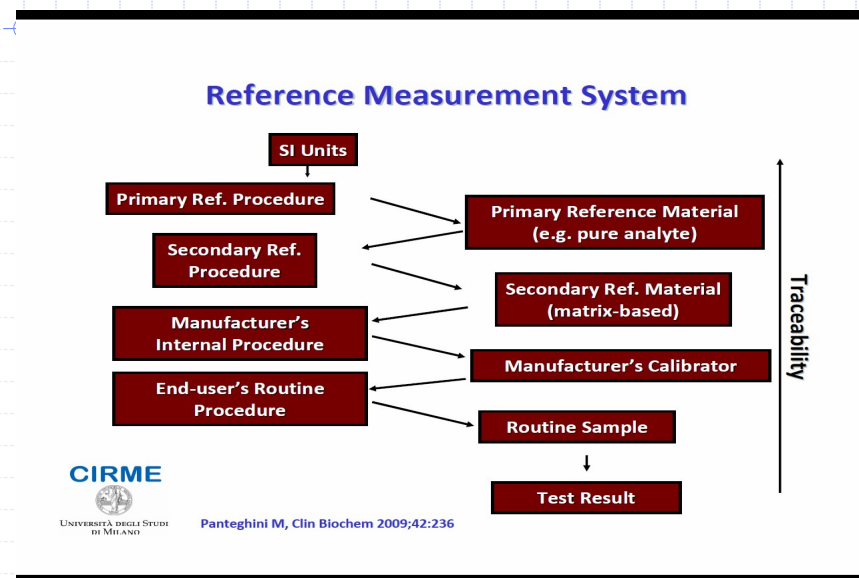
Metrologicky návazný výsledek měření

- ◆ Metrologicky návazný výsledek měření je srovnatelný s výsledkem, návazným na stejnou referenci, získaným jinou metodou a jiným analytickým měřicím systémem v jiné laboratoři, jiným pracovníkem a v jiném čase.

Kompletní metrologický řetězec návaznosti

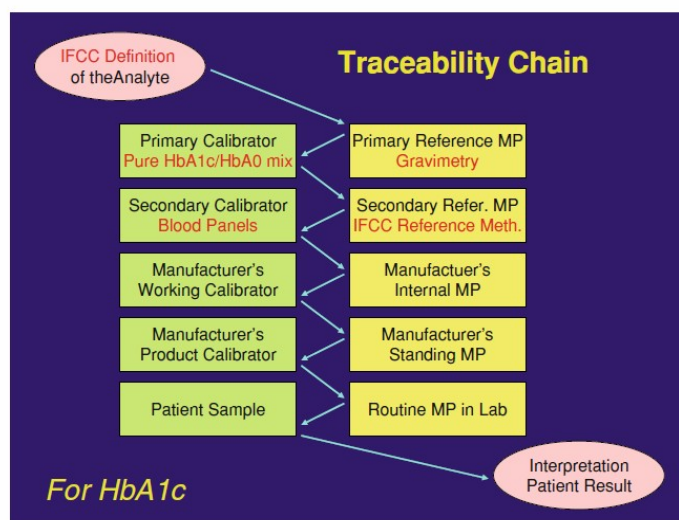
- ◆ Vrcholem schématu metrologické návaznosti je **SI** jednotka látkového množství - **mol**
- ◆ Ztělesněním jednotky je primární referenční materiál **PRM**
- ◆ Referenčním měřicím postupem, kalibrovaným PRM se hodnota jednotky přeneše na certifikovaný matricový referenční materiál **CRM**
- ◆ Pomocí CRM se přeneše hodnota na **master kalibrátor** výrobce diagnostika - rutinní metody
- ◆ Pomocí CRM nebo master kalibrátoru se hodnota přeneše na **pracovní kalibrátor** kitu

Grafické znázornění metrologické návaznosti výsledku rutinní metody na referenci tvořenou SI jednotkou, primárním referenčním materiálem a referenční metodou



Řetězec metrologické návaznosti stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}

MP = postup měření



Neúplný řetězec metrologické návaznosti

- ◆ Pokud není k dispozici referenční metoda, referenční materiál, povoluje norma ISO 17511 považovat za vrchol pyramid návaznosti interní/měřicí standard – metodický postup výrobce, nebo konvenční dohodu expertů apod.
- ◆ Takový přístup ovšem nezaručuje mezilaboratorní srovnatelnost a interní standardy/postupy výrobce a konvence jsou uživatelům často neznámé

REFERENČNÍ MATERIÁLY

Referenční materiály (RM)

- ◆ Referenční materiály jsou analytické standardy chemického složení a látkového množství
- ◆ Ztělesňují měřicí jednotky/veličiny látkových, hmotnostních nebo arbitrárních množství, obsahů či koncentrací
- ◆ Základními vlastnostmi jsou čistota, homogenita, spolehlivé určení vztažných hodnot a přiměřenost matrice (komutabilita)
- ◆ Mezi RM patří i kalibrátory a kontrolní materiály

Kalibrátory

- ◆ Referenční materiály použité ke kalibraci
- ◆ Pracovní kalibrátor - poslední člen kalibrační hierarchie používaný „koncovým“ uživatelem
- ◆ Je nutné znát odhad nejistoty jeho hodnoty pro výpočet nejistoty výsledků měření a výpočet kalibrační křivky

Kalibrace dle VIM 3

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

Pracovní kalibrátory s respektováním metrologické návaznosti

- q Hodnota měřené veličiny odvozená z certifikovaného referenčního materiálu pomocí nepřerušovaného řetězce metrologické návaznosti
- q Dostatečný počet různých kalibrátorů (kalibračních bodů)
- q Komutabilita (matriční přiměřenost)

Primární referenční materiály (PRM)

- ◆ Referenční materiály nejvyšší dostupné metrologické třídy
- ◆ Jejich hodnota je určena bez srovnání s jiným materiálem, například stanovením hmotnosti, délky či času apod.
- ◆ Obvykle jde o substanci látky o vysoké čistotě
- ◆ Slouží jako kalibrátory referenčních měřicích postupů

Certifikované referenční materiály (CRM)

- ◆ Certifikovaná hodnota je stanovena referenčním měřicím postupem, kalibrovaným primárním referenčním materiálem
- ◆ V certifikátu je uvedena nejistota certifikované hodnoty
- ◆ Certifikovaný referenční materiál je matricový a měl by být komutabilní

Kompletní „rodina“ referenčních materiálů

- ◆ PRM (primární referenční materiály)
 - ◆ CRM (certifikované referenční materiály)
 - ◆ Mater kalibrátory a kalibrátory rutinních metod
 - ◆ QCM (rutinní kontrolní materiály)
- QCM jsou někdy nekomutabilní, s hodnotami bez metrol. návaznosti a s výpovědní hodnotou o kvalitě výsledků měření jen pro určitý systém měření a ne pro jiné. Známé jsou zejména jako materiály vnitřní kontroly kvality.*

Kalibrační certifikáty jsou plnohodnotnou dokumentací metrologické návaznosti

Obsahují:

- q Postup přiřazení hodnoty měřené veličiny
- q Vlastnosti kalibrátoru
- q Účel použití kalibrátoru
- q Hodnoty a nejistoty kalibrátoru
- q Zdroj materiálu
- q Popis metrologické návaznosti hodnot

Ve skutečnosti je metrol. návaznost často dokládána výrobcí jen deklarativními stručnými větami a často ani to ne!

Použití referenčních materiálů

- ◆ Kalibrace měřicích postupů
- ◆ Zkoušení způsobilosti prostřednictvím mezilaboratorní porovnávání (EHK)
- ◆ Validace a verifikace vychýlení/bias
- ◆ Nejistoty výsledků měření

K validaci vychýlení musí být použitý komutabilní materiál

Evropské referenční materiály (ERM)

- ◆ Evropské referenční materiály jsou společnými produkty IRMM Geel (Ústav pro referenční materiály a měření (organizace [EC JRC](#), sídlí v Geelu, Belgie), LGC Teddington (Velká Británie) a BAM (Německý spolkový úřad pro výzkum a zkoušení materiálů (sídlí v Berlíně, Německo))
- ◆ Některé referenční materiály laboratorní medicíny již patří mezi ERM. Například ERM-DA 470k/IFCC pro specifické proteiny

Komutabilita – matriční přiměřenost

- ◆ Jde o stav, kdy poměr mezi výsledky měření dvěma různými metodami je pro RM a reálné vzorky stejný
- ◆ Výsledky měření referenčních materiálů a reálných vzorků pacientů jsou ekvivalentní a mají stejnou výpovědní hodnotu
- ◆ Pojem komutability se vztahuje obecně na RM, je však někdy chybně vztahován pouze ke kontrolním materiálům
- ◆ Pojetí komutability, vztažené jak na kontrolní materiály, tak i na kalibrátory je jasné i z norem návaznosti ISO 17511 a ISO 18153

Komutabilita referenčního materiálu

- ◆ Testuje se srovnáním vzorků RM se vzorky nativních lidských sér (často zmrazenými)
- ◆ Ty jsou považovány za standard komutability
- ◆ Komutabilita referenčních materiálů je míra shody jejich chování při měření s nativními vzorky
- ◆ Shodnost se posuzuje regresní analýzou respektive posouzením výtěžnosti stanovení

Referenční postupy měření

- ◆ Vědecký charakter metody (plné pochopení postupu měření)
- ◆ Vysoká specifičnost dosahovaná použitím separačních metod
- ◆ Dokonalý popis postupu měření formou SOP
- ◆ Bez vlivu matrice
- ◆ Metrologická návaznost na jednotku měření je zajištěna kalibrací pomocí PRM
- ◆ Předem jsou deklarována základní metrologická kritéria měření (bias, opakovatelnost, reprodukovatelnost, účast v RELA aj.)

Hodnocení pravdivosti rutinní metody měření

- ◆ Měření referenčního materiálu (nejlépe certifikovaného) a výpočet difference mezi výsledkem měření a certifikovanou hodnotou (bias)

Nebo alternativně

- ◆ Srovnáním výsledků měření rutinní metody s referenčním postupem měření za použití dostatečného počtu biol. materiálů pacientů (například 60 a více vzorků) a vyhodnocení regresí a/nebo Blandovým-Altmanovým diagramem či jinými statistickými postupy

JCTLM

- ◆ Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine - Mezinárodní společná komise pro návaznost v laboratorní medicíně
- ◆ Součást - Mezinárodního úřadu pro míry a váhy (Sèvres) – BIPM
- ◆ Obsahem činnosti je studium referenčních metod, referenčních materiálů a metrologické návaznosti výsledků měření získaných použitím prostředků IVD a dále registrace a kontrola referenčních laboratoří. Spravuje databázi referenčních materiálů a referenčních metod.
- ◆ Web: www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm;
www.ifcc.org; www.bipm.org

Referenční materiály a JCTLM

Na webových stránkách JCTLM lze pro daný analyt či měřenou veličinu vyhledat:

- ◆ název/typ referenčního materiálu
- ◆ matrici
- ◆ výrobce a dodavatele
- ◆ kontakty
- ◆ certifikáty

Referenční postupy měření a JCTLM

Na webových stránkách JCTLM lze pro daný analyt či měřenou veličinu vyhledat:

- ◆ název referenčního postupu
- ◆ princip měření
- ◆ použitelné matrice
- ◆ zařízení pracující tímto referenčním postupem
- ◆ literaturu

Sítě referenčních laboratoří

Pro některé analyty a měřené veličiny jsou ustaveny sítě referenčních laboratoří např.:

NGSP pro stanovení glykovaného hemoglobinu
 HbA_{1c}

National Glycated Proteins Standardization Program

CMRLN pro lipidy

Cholesterol Measurement Reference Laboratories
Network

Odborným garantem činnosti referenčních laboratoří je
JCTLM (BIPM, IFCC).

JCTLM/IFCC organizuje i speciální program zkoušení
způsobilosti EHK referenčních laboratoří **RELA**



(RELA organizuje pro JCTLM/IFCC RfB DGKL Bonn,
Německo)

Užitečné webové stránky o referenčních materiálech

- ◆ <http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm/>
stránky JCTLM se snadným vyhledáváním
referenčních materiálů a metod
- ◆ <http://www.nist.gov>
vyhledávání PRM, CRM a jejich certifikátů,
produkovaných Národním institutem pro standardy a
technologie (NIST USA)
- ◆ <http://www.irmm.jrc.be>
vyhledávání referenčních materiálů a jejich certifikátů
IRMM, IFCC a ERM
- ◆ http://www.lgcpromochem.com/home/home_de.aspx
referenční materiály a standardy pro celou oblast
analytické chemie

Ukázka databáze JCTLM - referenční materiál

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

 **Database of higher-order reference materials, measurement methods/procedures and services** 

Bureau International des Poids et Mesures JCTLM Database
Laboratory medicine and *in vitro* diagnostics

> You are here : JCTLM-DB + -

JCTLM database: Laboratory medicine and *in vitro* diagnostics

▼ Analyte keyword search for reference materials, measurement methods/procedures and services

Type an analyte name in part or full, e.g. cholesterol


Refine search by analyte category Refine search by matrix category

Proteins Whole blood


Refine search by country

Please select your requirement :

Higher-order reference materials
 Reference measurement methods/procedures
 Reference measurement services

 39


Ukázka databáze JCTLM - referenční metoda



List of reference measurement services

This file was created on 04 November 2010 from the JCTLM-DB website (<http://www.bipm.org/jctlm/>)
 Your search criteria: Reference measurement services; Analyte: ALT; Analyte category: Enzymes; Matrix category: Blood serum

CIRME, Italy	
Phone : +39 02 2604 2806	Contact person : Prof. Mauro Panteghini
Fax : +39 02 5031 9835	Email : mauro.panteghini@unimi.it
Analyte	alanine aminotransferase (ALT)
Material or matrix	blood serum, blood plasma
Applicable material or matrix	human serum or plasma (heparin); lyophilized, fresh, or frozen
Quantity	Catalytic activity concentration
Service measurement range	0.063 μ kat/l to 4.17 μ kat/l The conversion factor for enzyme catalytic activity concentrations: 1 U/L = 0.01667 μ kat/L
Expanded uncertainty (level of confidence 95%)	(not available) to 2.3% The uncertainty of the lower limit of the measurement range is not available as this enzyme value is clinically irrelevant
Interlaboratory comparison results	RELA - IFCC External Quality assessment scheme for Reference Laboratories in Laboratory Medicine at http://www.dgkl-rb.de/81/index.shtml
Measurement principle	Siekmann et al., <i>Clin. Chem. Lab. Med.</i> , 2002, 40 , 739-745 Kinetic spectrophotometry
JCTLM reference measurement method/procedure	IFCC reference measurement procedure (37 °C) for ALT

 39

Webové stránky metrologických doporučení

◆ www.eurachem.cz; www.eurachem.org

◆ Dostupné směrnice pro validaci, návaznost, odhad nejistoty měření, detekční schopnosti analytické metody (mez detekce a stanovitelnosti), referenční materiály, akreditaci, posuzování kvality, preanalytickou fázi. Dostupné publikace řady „Kvalimetrie“ (7 až 17)

◆ www.cmi.cz; www.unmz.cz

◆ Všeobecné weby českých státních metrologických organizací

IVD A METROLOGICKÁ NÁVAZNOST

Směrnice 98/79/EC (IVD MD), výrobce a klinická laboratoř

- ◆ Směrnice zavazuje výrobce k dodržování pravidel metrologie, zejména metrologické návaznosti a odhadu nejistot
- ◆ Zavazuje laboratoř k přesnému dodržování pracovních postupů výrobce (beze změn)
- ◆ Případné změny vůči postupu výrobce musí laboratoř validovat
- ◆ Reguluje laboratorní medicínu na bázi metrologie

Metrologie v dokumentaci IVD

- ◆ Prostředek IVD má mít dokumentovány metrologickou návaznost svých kalibrátorů k vyšší metrologické úrovni, uvedenu nejistotu výsledků měření a prokázány matriční přiměřenost (komutabilitu)

Nedostatky v praxi jsou značné

Verifikace prostředků IVD

- ◆ Podle Směrnice 98/79/EC poskytuje výrobce uživateli hodnoty základních výkonnostních charakteristik měřicího postupu
- ◆ Tyto hodnoty by měly být v souladu s požadavky na zamýšlený účel použití a musí být uživatelem verifikovány
- ◆ Praktický postup verifikace znamená zjistit hodnoty základních výkonnostních charakteristik metody a porovnat je s těmi, které udává výrobce
- ◆ Jde minimálně o preciznost, bias, pracovní rozsah (linearitu), detekční meze analytické metody (mez stanovitelnosti a detekce)

Vývoj standardizace a výrobci IVD

- ◆ Pokud se ověří a zavede nová referenční metoda/referenční materiál je povinností výrobce co nejdříve je použít v zájmu zajištění metrologické návaznosti výsledků měření
- ◆ Řada globálních výrobců anal. měřících systémů a diagnostik se svými laboratořemi i pracovníky často na celosvětovém vývoji reference podílí

METROLOGICKÁ NÁVAZNOST V PROGRAMECH ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI A AKREDITACI

Metrologie a akreditace

- Metrologie v normě ISO 15189 je obsažena v její Kapitole 5 - Technické požadavky na laboratoře: Podkapitola „Kalibrace a návaznost“

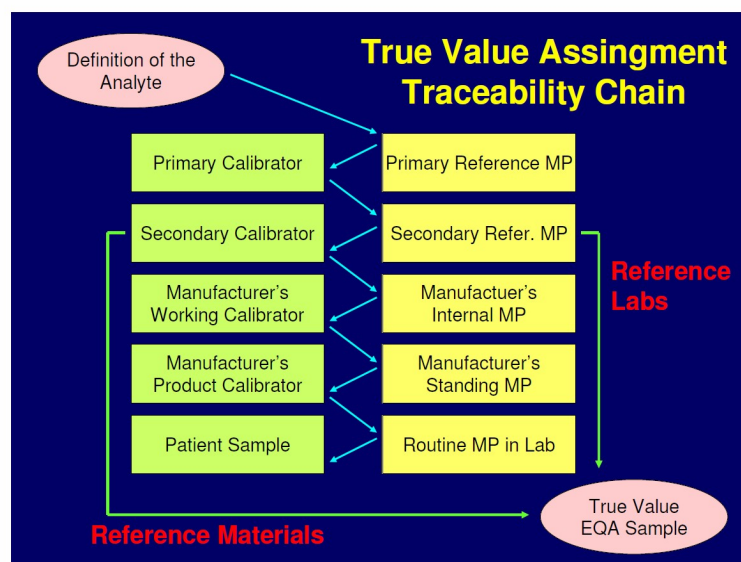
Účast v programu EHK je pro akreditovanou klinickou laboratoř „conditio sine qua non“

Zkoušení způsobilosti (EHK) a metrologická návaznost

Rysy ideálního mezilaboratorního porovnávání v programech EHK, respektujících návaznost

- q Komutabilní vzorky EHK
- q Vztažné hodnoty určené referenčními metodami
- q Bias metod, anal. měřících systémů a klinických laboratoří

Ideální schéma EHK s metrologickou návazností na referenci a s možností stanovení bias



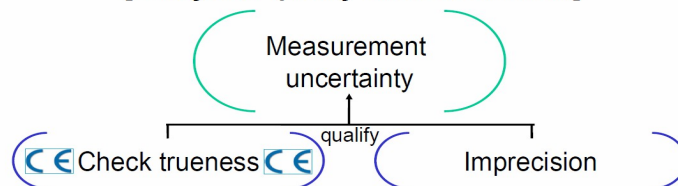
Přijatelné odchylky (D_{\max}) jsou v programech různých poskytovatelů EHK různé (důsledek nízkého podílu metrol. návaznosti)

	Interval D_{\max} (šest poskytovatelů EHK)
Na	2 % až 5 %
K	4 % až 10 %
Ca	4 % až 10 %
Cholesterol	7 % až 13 %
Glukóza	6 % až 15 %
Kreatinin	10 % až 20 %
ALT	15 % až 21 %

Za podmínek metrol. návaznosti jsou programy EHK schopné hodnotit i nejistoty měření. Programy vnitřní kontroly kvality pouze monitorují spolehlivost měřicího systému

Analytical Quality Control in the Traceability Era

External Quality Assessment [Analytical quality of measurement]



NEJISTOTA VÝSLEDKU MĚŘENÍ

Dílčí složky odhadu nejistoty

- ◆ Opakovatelnost
- ◆ Mezilehlá preciznost
- ◆ Bias
- ◆ Nejistota referenčního materiálu
- ◆ *Podle pravidla propagace nejistot se z nich počítá celková (kombinovaná) nejistota*
- ◆ *Suchánek M. a kol.: Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření/klinických testů v klinických laboratořích. Klin Biochem Metab 2006 1 43-53.*

Mezilehlá preciznost

- ◆ Zdrojem mohou být data validace/verifikace nebo vnitřní kontroly kvality
- ◆ Interval sběru dat by měl být zhruba 6 až 12 měsíců

Bias (vychýlení)

- ◆ Bias se zjistí z výsledků měření referenčního materiálu za podmínky opakovatelnosti po statistickém zpracování

Nejistota hodnoty referenčního materiálu

- ◆ Zjistí se v certifikátu / dokumentace výrobce RM
- ◆ Je obvykle uveden způsob jak byla určena
- ◆ Je obvykle udávána jako kombinovaná rozšířená nejistota pro $k = 2$ (přibližně 95% interval spolehlivosti)

Typy dílčích nejistot

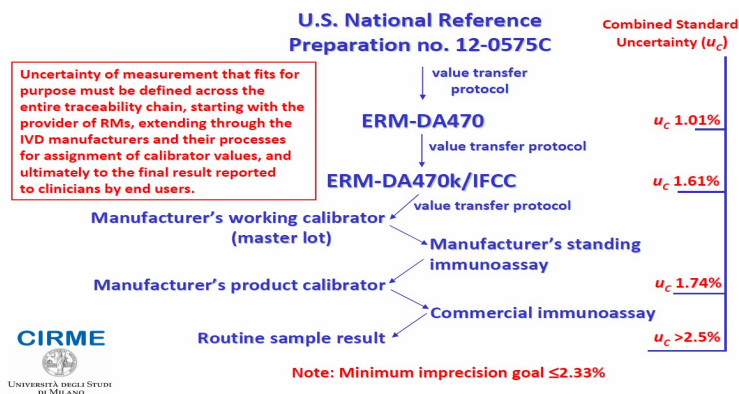
- ◆ Nejistoty typu A – získané statistickým zpracováním naměřených údajů
- ◆ Nejistoty typu B - data převzatá z externí dokumentace (certifikát, literatura, prac. návod apod.)
- ◆ Oba typy jsou rovnocenné

Pravidlo šíření (propagace) nejistot

- ◆ Dílčí nejistoty se vyčíslí ve stejných jednotkách
 - ◆ Sečtením jejich čtverců a odmocněním tohoto součtu se získá kombinovaná nejistota u (resp. její odhad)
 - ◆ Vynásobením koeficientem rozšíření k se získá rozšířená nejistota U
 - ◆ $U = k \cdot u$
- Obvyklá hodnota $k = 2$ odpovídá přibližně 95% intervalu spolehlivosti

Minimální velikost odhadu nejistoty musí být větší, než je nejistota pracovního kalibrátoru

Serum albumin: Metrological traceability chain



PŘÍKLADY

Klíčové maticové referenční sérové materiály NIST pro klinické laboratoře

SRM 965 glukóza
SRM 967 kreatinin
SRM 1951 cholesterol, triacylglyceroly

Certifikované hodnoty, jejich nejistoty, použité referenční postupy měření a ostatní potřebná data naleznete v certifikátech RM , které jsou volně dostupné na

www.nist.gov

Referenční materiály sérových specifických proteinů

- ◆ Materiál ERM DA 470k/IFCC (2010) s certifikovanými hodnotami 13 proteinů
- ◆ Materiál ERM DA 471/IFCC (2010) s certifikovanou hodnotou cystatinu C
- ◆ Materiál ERM DA 472/IFCC (2008) s certifikovanou hodnotou CRP

Enzymy - příklad úspěšné celosvětové standardizace

- ◆ Stejná referenční metoda
- ◆ Referenční materiály IRMM/IFCC
- ◆ Odvození pracovní kalibrace ze stejného CRM
- ◆ Výsledkem jsou obecně platné referenční intervaly
- ◆ Závislé jen na věku a etnicitě
- ◆ Nezávislé na metodě stanovení

Referenční systémy IFCC pro enzymy

	Reference Method	Ref. Material
AST	Clin Chem Lab Med 2002;40:725-33	IRMM/IFCC 457
ALT	Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24	IRMM/IFCC 454
gGT	Clin Chem Lab Med 2002;40:734-38	IRMM/IFCC 452
LDH	Clin Chem Lab Med 2002;40:643-48	IRMM/IFCC 453
CK	Clin Chem Lab Med 2002;40:635-42	IRMM/IFCC 455
AMY	Clin Chem Lab Med 2006;44:1146-55	IRMM/IFCC 456
ALP	Clin Chem Lab Med 2011,49:	4-nitrofenol ϵ 405nm

Standardizace stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}

Celosvětová standardizace garantovaná mezinárodními odbornými společnostmi klinické biochemie (IFCC), diabetologie (ADA, EASD, IFD) i pediatrické diabetologie (ISPAP)

Standardizace stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c}

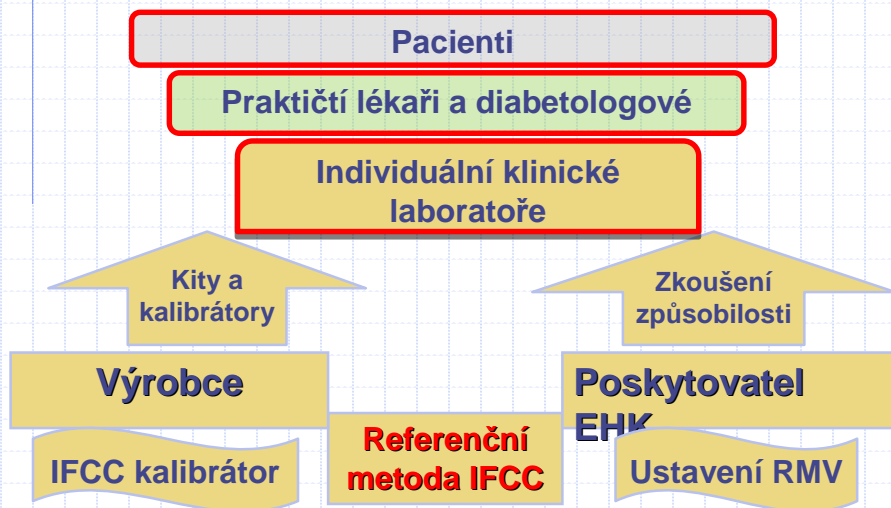
- ◆ Referenční metoda HPLC/MS
- ◆ Jednotka mmol/mol (IFCC)
(alternativně v USA % DCCT)
- ◆ Master equation: přepočítání DCCT na IFCC
- ◆ Certifikovaný referenční materiál IRMM 466 a IRMM 467

Referenční analytický systém stanovení glyk. hemoglobinu HbA_{1c}

- Ø Definice analytu (HbA_{1c}): **Adukt glukózy s N-terminální aminoskupinou valinu b-řetězce hemoglobinu { N-(1-deoxyfruktosyl) hemoglobin} – glykovaná forma**
- Ø HbA₀ je pak neglykovaná forma HbA_{1c}
- Ø Po izolaci a hemolýze erytrocytů dochází k enzymovému štěpení hemoglobinu a rozlišení směsi peptidů metodami HPLC-ESI/MS či HPLC-CE. Jako kalibrátor slouží směs čistých hemoglobinů HbA_{1c} a HbA₀. Hodnota hemoglobinu je v kalibrátorech stanovena referenční metodou Mezinárodní hematologické společnosti (ICHHS).
- Ø Výsledkem stanovení je poměr mmol HbA_{1c} ku mol směsi (HbA_{1c} a HbA₀). **Proto základní SI jednotkou HbA_{1c} je mmol/mol HbA_{1c}.**

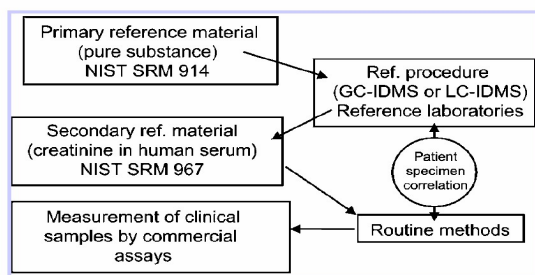
Zavedení referenčního systému pro stanovení HbA_{1c} v letech 2009 – 2011

Koordinovaná akce



Měření sérového kreatininu se sice opírá o návazný referenční systém, ale je zatížené nespecifičností metod, používajících Jaffého reakce, takže schéma funguje jen pro enzymatické rutinní metody

Reference System for Creatinine

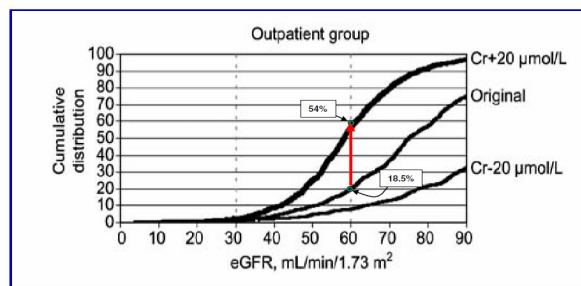


Standardizace není vždy účinná - kreatinin

- ◆ Standardizace založena na odvození hodnoty pracovního kalibrátoru z referenční metody ID-MS
- ◆ Selhává při používání nespecifické Jaffého metody a tam vede k falešně vysokým výsledkům kreatininu a k falešně nízkým výsledkům eGFR u pacientů
- ◆ Pozitivní bias (kreatinin) a s ním spojené podhodnocení eGFR jsou pozorované u nízkých koncentrací do cca 140 $\mu\text{mol/l}$
- ◆ Nejsou pozorované u enzymatické metody

Systematická chyba při měření kreatininu metodou Jaffé působí dramatické difference hodnot eGFR u pacientů

Effect of analytic inaccuracy in creatinine on the distribution of estimated GFR values



Efekt účinné standardizace stanovení kat.k. a-AMS

Vývoj CV v programech EHK v čase:

◆ 2002: CV cca 47 %



◆ 2010: CV cca 6 % (!!!)

Efekt účinné standardizace HbA_{1c}

Vývoj CV v programech EHK v čase:

◆ 1998 CV cca 12 %



◆ 2010 CV cca 6,1%

Efekt účinné standardizace specifických proteinů

Vývoj CV v programech EHK v čase – po zavedení ERM DA 470k/IFCC (původně BCR CRM 470):

Stanovení IgM

◆ 1994 (bez IFCC kal.) CV cca 20 %



◆ 2010 (IFCC kalibrace) CV cca 6,2 %