

Návaznost a nejistota



Euroskeptici tvrdí, že vstup do Evropské unie přinesl velký nárůst byrokracie na všech úrovních, vyšší potřebu úředníků, formulářů, dotazníků atd. Nechci s tímto názorem polemizovat, protože život mě naučil, že nic není zadarmo a prakticky každá změna má rub a líc. Zda je to změna k lepšímu nebo k horšímu záleží na tom, zda převáží pozitiva, nebo negativa a to je závislé na úhlu pohledu, protože stejný důsledek může někdo vnímat jako plus a druhý jako mínus. Jak praví české přísloví „není člověk ten, který by se zavděčil lidem všem“. Ke změně už došlo. V tomto článku se pokusíme popsat její dopad na klinickou biochemii. Posouzení už je na Vás.

Se vstupem do Evropské unie začaly i pro nás platit její zákony a nařízení. Na první pohled viditelnou změnou je značka CE. Tuto značku dává na svůj výrobek výrobce (tedy ne žádný auditor ani notifikovaná osoba) a zaručuje tím, že výrobek splňuje IVDD, tedy požadavky, které jsou kladeny na skupinu zdravotnických prostředků in vitro. Týká se zejména vlastností, které souvisí s termíny analytické sensitivity, diagnostické sensitivity, analytické specificity, diagnostické specificity, správnosti, opakovatelnosti, reprodukovatelnosti, včetně kontroly známých relevantních interferencí, a limitů detekce specifikovaných výrobcem. Tato direktiva obsahuje kromě jiného i požadavky na metrologickou návaznost hodnot přiřazených kalibrátorům a kontrolám, která musí být zajištěna přes dostupný referenční materiál a/nebo referenční měřicí postup (Normy ISO 17511, ISO 18153). Protože nic nemůže být ponecháno náhodě, jsou i referenční měřicí postupy, referenční materiály a referenční měřicí laboratoře popsány příslušnými normami (ISO 15193, ISO 15194 a ISO 15195). Je velmi pravděpodobné, že nezačnete shánět dotyčné normy a pilně

je studovat, protože to je povinnost výrobce. Pro vztah mezi uživatelem a výrobcem jsou důležité dva časové termíny:

od 7. prosince 2003

- výrobci smějí prodávat pouze produkty se značkou CE
- uživatelé smějí používat i produkty bez značky CE

od 7. prosince 2005

- uživatelé smějí používat pouze produkty se značkou CE.

Jinými slovy výrobci už více než dva roky nesmějí prodávat výrobky, které by nesplňovaly příslušná nařízení pro jednotlivé skupiny výrobků, zatímco do prosince minulého roku si uživatelé mohli vybrat, jaké produkty budou používat. Od tohoto data by všechny používané IVD produkty měly mít značku CE.

Nechci Vás obtěžovat tím, co všechno musí plnit výrobce, ale chci Vás upozornit na to, co by od uvedeného data měl plnit uživatel:

1. Měl by výrobky správně používat, tedy v souladu s doporučením výrobce.
2. Jakékoliv vlastní modifikace by si

měl uživatel sám validovat a zároveň přebrat svůj díl zodpovědnosti.

3. Údržbu a servis zařízení by měl provádět podle doporučení výrobce.

Co se tedy změnilo značkou CE ve vztahu k certifikaci a akreditaci.

„Před“ - Uživatel si validoval všechno sám - metody i postupy.

„Po“ - Uzavřené analytické systémy (přístroj - reagentie - kalibrátor) jsou validovány výrobcem - výrobce při splnění všech doporučení za ně přebírá zodpovědnost. Uživatel metody pouze verifikuje (ověřuje jejich správnou funkci pomocí interní kontroly kvality) a musí tedy validovat pouze svoje postupy, procesy a toky.

Všechny potřebné informace o používaném systému je tedy výrobce povinen dodat uživateli.

Návaznost

„Výsledek měření nebo hodnota měřítka musí být zajištěna kalibrátorem a kontrolou přes **dostupný referenční materiál nebo referenční metodu**, obvykle národní

nebo mezinárodní standardy *prostřednictvím nepřerušeno řetězce porovnání* se stanovenou nejistotou ve všech stupních.“

Tato poněkud komplikovaně znějící definice a jí popsany postup by měl zajistit, že výsledek vyšetření pacienta na systému uživatele bude srovnatelný s tím, který by byl stanoven referenční metodou nebo metodou kalibrovanou na referenční materiál, v ideálním případě referenční metodou kalibrovanou na referenční materiál s nejistotou definovanou výrobcem.

Ve většině případů je referenční metoda velmi drahá, nebo minimálně nevhodná k rutinnímu použití. Totéž (tedy zejména vysoká cena) platí také pro referenční materiál. Je tedy velmi důležité, aby srovnatelnost výsledků byla zajištěna tímto výše definovaným komplikovaným způsobem.

Na následujícím známém obrázku je zobrazen postup zajištění návaznosti (obr. 1).

Postupně se přechází od primárního

měřicího postupu a primárního kalibrátoru přes méně komplikované měřicí postupy a dostupnější kalibrační materiály až k uživatelskému postupu (metodě) kalibrovanému příslušným (k danému systému) komerčním kalibračním materiálem a pomocí takto nastaveného analytického systému se stanoví příslušná veličina v pacientském vzorku. V každém stupni je třeba stanovit nejistotu stanovení. Je logické, že každým stupněm se nejistota zvyšuje, což je znázorněno na grafu v pravé části obrázku.

Protože se jednotlivé analyty liší svým složením od jednoduchých iontů (Na^+ , K^+ , Cl^-), přes jednoduché sloučeniny (urea, kreatinin), proteiny až např. k hormonům, liší se i možnosti, jak kalibračních materiálů od primárních standardů k certifikovaným referenčním materiálům, tak i referenční postupy. Na následujícím obrázku je znázorněna pyramida, na jejímž základně jsou analyty, pro které (zatím) neexistují

ani referenční kalibrační materiály, ani postupy (těch je nejvíce) a na jejím vrcholu naopak ty, pro které existují obě nejvyšší možné referenční možnosti současně (obr. 2).

Firma Roche provádí většinou standardizaci ve dvou krocích:

1. krok - nastavení Master lot kalibrátoru vůči referenční metodě/kalibrátoru.
2. krok - nastavení komerčního kalibrátoru vůči Master lot kalibrátoru.

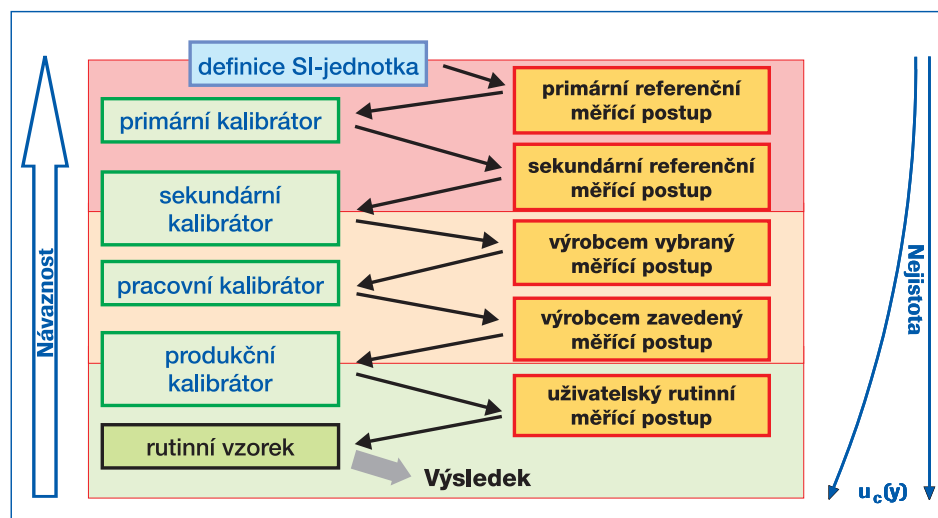
V dalším si probereme ukázky jednotlivých typů standardizace.

Na následujícím obrázku (obr. 3) je znázorněna referenční standardizace - nastavení Master lot kalibrátoru na referenční metodu. Pooly séra se stanoví referenční metodou. Potom se stejné pooly stanoví rutinní metodou kalibrovanou na Master lot kalibrátor a jeho hodnota se koriguje tak, aby regrese mezi oběma metodami byla $y = x$, tedy v obecné rovnici $y = ax + b$ byl koeficient $a = 1$ a koeficient $b = 0$.

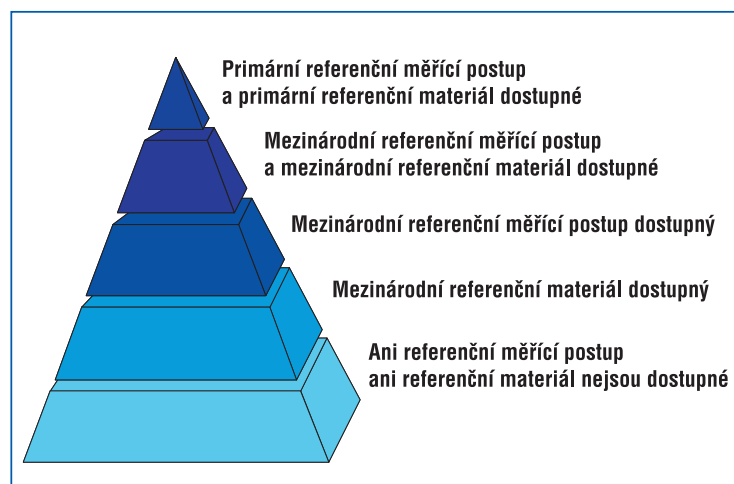
V případě standardizace referenčním kalibrátorem se použijí ve dvou kanálech analyzátoru stejné rutinní metody. V jednom se metoda nakalibruje referenčním kalibrátorem a ve druhém Master lot kalibrátorem. V obou kanálech se stanoví lidská séra pokrývající pokud možno celý měřicí rozsah. Hodnota Master lot kalibrátoru se potom upraví tak, aby při lineární regresi byl koeficient $a = 1$ a koeficient $b = 0$ (obr. 4).

Podobným způsobem se potom hodnota z Master lot kalibrátoru přenesou na komerční kalibrátor (obr. 5).

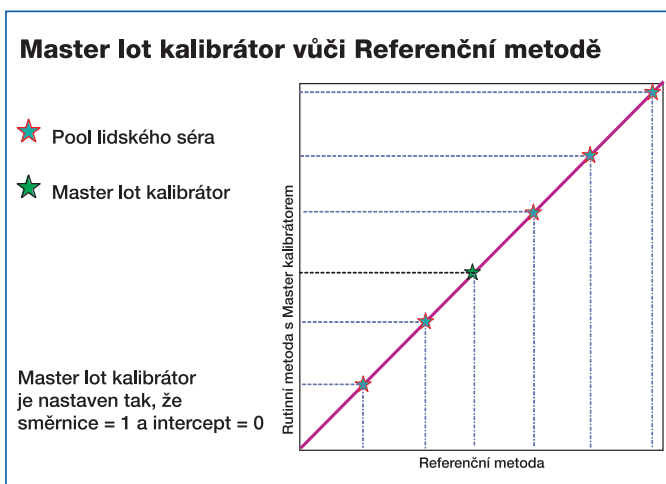
V případě analytů, k jejichž stanovení se používají metody „klasické“ klinické bi-



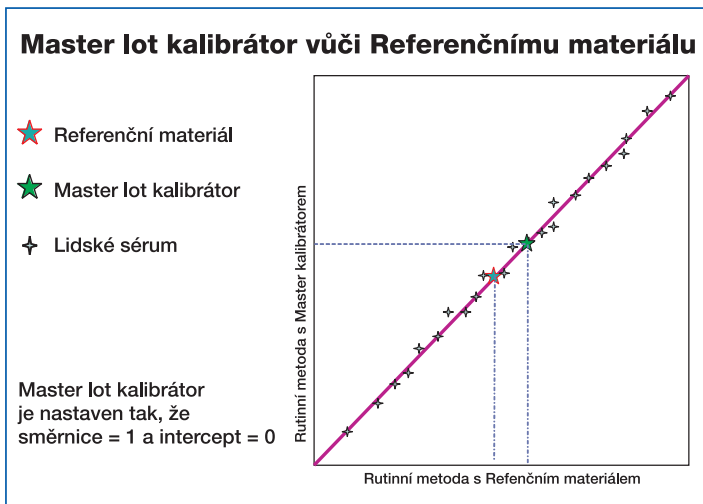
Obr. 1: Návaznost - nejistota



Obr. 2: Pyramida návaznosti



Obr. 3:



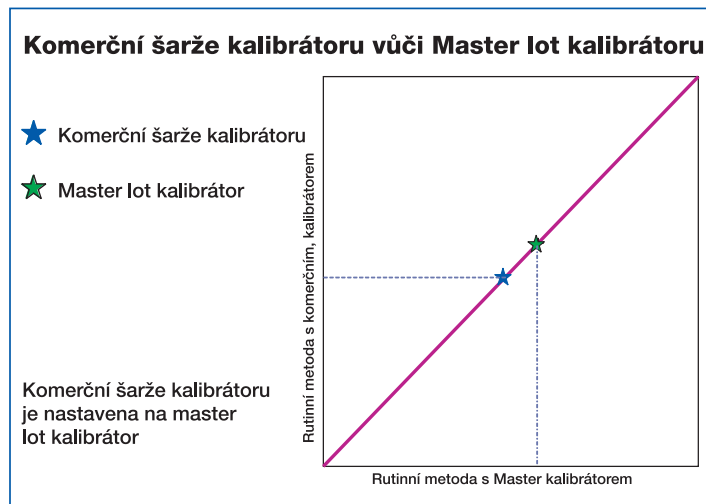
Obr. 4:

ochemie resp. homogenní imunoanalýzy, jejichž složení je vesměs přesně definované, je standardizace takto relativně jednoduchá. Pro lepší přehled uvádíme příklady skupin analytů CC/HIA s používanou metodou standardizace (tab. 1).

Poněkud komplikovanější situace je

Chemicky definované materiály <i>glukosa, kreatinin, kyselina močová...</i>	obecně přijatá referenční metoda <i>ID-MS, plamenová fotometrie...</i>
Enzymová aktivita <i>ALP, CK, LDH...</i>	obecně akceptované měřicí podmínky <i>molární absorpční koeficient</i>
Komplexní materiál bez referenční metody <i>Proteiny</i>	referenční materiál <i>CRM 470 (ERM DA 470), SRM 909b</i>
Chemicky definovaný materiál bez referenční metody <i>fosfáty, laktát...</i>	primární standard <i>navážená čistá substance</i>

Tab. 1: Příklady skupin analytů CC/HIA s používanou metodou standardizace



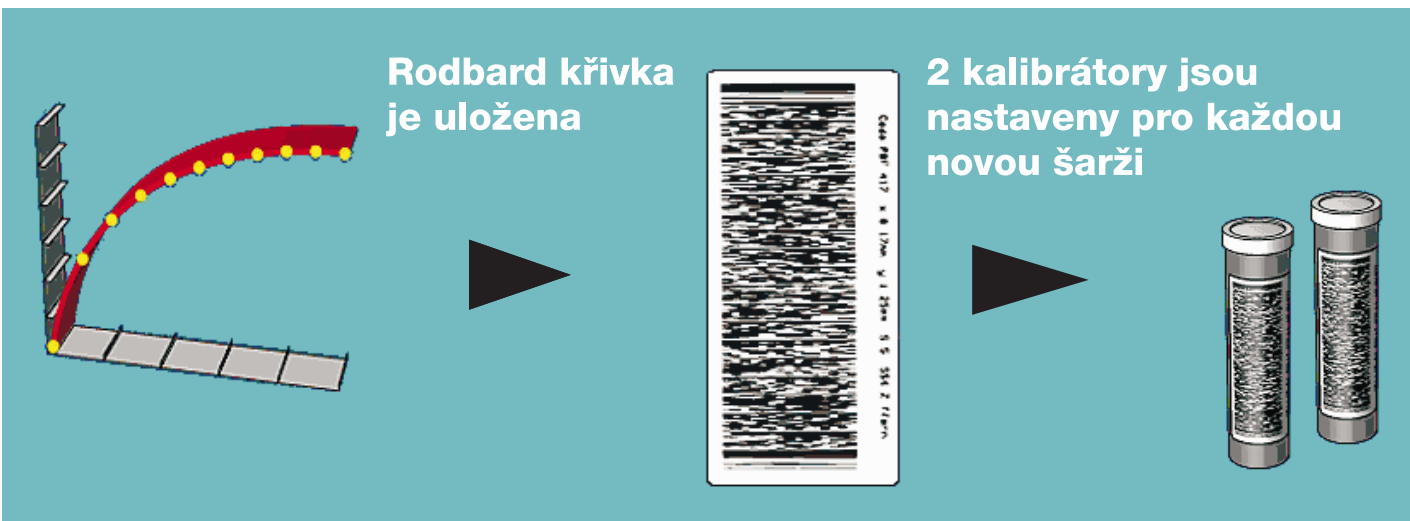
Obr. 5:

u parametrů stanovovaných metodami heterogenní imunoanalýzy. I zde existují referenční metody (např. ekvilivovaná dialýza pro FT3, nebo GC-ID-MS pro Estradiol), nebo referenční materiály (např. WHO 80/558 pro TSH). I zde se standardizace provádí ve dvou krocích.

V prvním kroku se připraví Master lot reagentie a srovnáním s referenční metodou nebo referenčním materiálem přes panel lidských sér nastaví 5 až 12 Master kalibrátorů pokrývajících celý měřicí rozsah, to vše na čtyřech Master přístrojích.

V druhém kroku se na stejných Master přístrojích při použití komerčních šarží reagentií kalibrovaných pomocí 5 až 12 Master kalibrátorů připraví, opět srovnáním lineární regresi pomocí panelu lidských sér, potřebné dva komerční kalibrátory, které splňují zadaná kritéria. Jde o povolenou toleranci směrnice od hodnoty 1 (většinou $\pm 3 - 5 \%$) a intercept definovaný pro každou metodu.

Na obrázku 6 je znázorněna realizace kalibrace pro rutinní použití, kde je pěti až dvanáctibodová kalibrační křivka (Master kalibrátor) uložena v dvourozměrném čárovém kódu reagenční kazety a přenos kalibrace na rutinní přístroj se provádí pomocí dvou rutinních kalibračních roztoků.



Obr. 6: Realizace kalibrace pro rutinní použití