

# Referenční materiály a *in vitro* diagnostika

Friedecký B.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové, SEKK, spol. s r. o. Pardubice

### SOUHRN

Kalibrátory a kontrolní materiály jsou členy společné rodiny referenčních materiálů a liší se pouze růzností zamýšlených účelů použití. Při jejich hodnocení proto musí být používáno stejných měřítek včetně hodnocení jejich komutability. Obvyklý přístup, hledající veškeré zdroje chyb a problémů v nekomutabilitě kontrolních materiálů, je alibistický, nepřijatelně zjednodušený a metrologicky nekompetentní. Výrobky IVD jsou nenahraditelným východiskem činnosti klinické laboratoře, avšak musí být přístupné kritickému hodnocení. Je to jeden z možných zdrojů jejich dalšího zlepšování.

*Klíčová slova:* metrologická návaznost, kalibrátor, kontrolní materiál, komutabilita, IVD.

### SUMMARY

#### Friedecký B.: Reference materials and *in vitro* diagnosis

Both calibrators and control materials are members of reference materials family. They are only intended for different purposes. All characteristics of both kinds of materials including commutability should be assessed according to the same criteria. Usually seeking the problems of IVD dominantly in non-commutability of control materials is too simplified and shows insufficient knowledge of metrology in chemistry.

*Key words:* metrological traceability, calibrator, control material, commutability, IVD.

Referenční materiály (RM) jsou analytické standardy měření s dostatečnou homogenitou a stabilitou, používané ke kalibraci chemických měření (kalibrátory), pro stanovení hodnot jiných referenčních materiálů (primární a certifikované RM) a ke kontrole kvality měření (kontrolní materiály). Hodnoty referenčních materiálů mají vykazovat metrologickou návaznost buď k jednotce měření, nebo k referenčnímu materiálu vyšší metrologické třídy. Rozdíl mezi kalibrátorem a kontrolním materiálem není principiální, ale spočívá v jeho určení pro zamýšlené použití [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Kalibrátor je RM použitý ke kalibraci měření, kontrolní materiál ke stanovení a verifikaci bias a přesnosti (nejistoty) měření. Z jejich principiální shodnosti plyne, že se na ně musí klást stejné požadavky.

Nejdiskutovanější vlastností referenčních materiálů je přiměřenost jejich matrice (komutabilita, někdy kontroverzně překládaná jako zaměnitelnost). Jde o vlastnost materiálu, která znamená, že matematický vztah mezi výsledky měření referenčního materiálu, získanými rutinní a referenční metodou, a výsledky měření vzorků, získanými referenční a rutinní metodou, je stejný [1]. Jde v podstatě o to, aby ani matrice kalibrátorů, ani matrice kontrolních materiálů neovlivňovaly významně výsledky měření.

Hluboce zažitým omylem je požadovat komutabilitu jen po kontrolních materiálech a neoprávněně snímat její nezbytnost z pracovních kalibrátorů IVD. Hloubka zažití souvisí nepochybně s tím, že takové vysvětlení je jednoduché a pro uživatele i výrobce výhodné. Takové stanovisko je v příkrém rozporu se všemi už uvedenými základními dokumenty teorie a praxe měření. Je v rozporu i s požadavky normy ISO 17511 [7], o kterou se opírá povinnost výrobců zajišťovat návaznost vý-

sledků, kodifikovaná ve Směrnici 98/79 ES [8]. Způsob, jak jsou z certifikovaných a/nebo primárních referenčních materiálů odvozovány hodnoty pracovních kalibrátorů a kontrolních materiálů IVD a jak je tedy zajišťována návaznost výsledků získaných IVD, jsou popsány právě v této normě. Text normy ISO 17511 je v plném souhlasu s tím, co zde bylo výše uvedeno. Z této normy vychází pojetí návaznosti a referenčních materiálů Směrnice 98/79 ES, takže rozdílný výklad komutability kontrolních materiálů a kalibrátorů odvolávající se na Směrnici je chybný, nepodložený a vychází z nepochopení základních metrologických principů. Naopak ISO 17511 silně akcentuje právě potřebu komutability kalibrátorů (odstavce 7.2 a 7.3).

Návaznost výsledků na referenční materiál (metodu) je nutnou podmínkou srovnatelnosti mezi metodami a laboratořemi bez závislosti na použité metodě měření. Tento nezpochybnitelný fakt je zřejmý už z názvu jednoho ze základních dokumentů analytické chemie, který pojednává o zajištění návaznosti jako nezbytné podmínky srovnatelnosti, a je dostupný z webové adresy [9] nebo z českého překladu [10].

Odvození hodnoty různých pracovních kalibrátorů různých produktů IVD od totožného certifikovaného referenčního materiálu je podmínkou realizace návaznosti a dosažení smysluplné srovnatelnosti výsledků měření. Notorický nedostatek komutabilních kalibrátorů působí problémy plynoucí ze špatné srovnatelnosti výsledků [11, 12].

Ve skutečnosti používá laboratorní diagnostika běžně měření analytů, jejichž výsledky jsou silně závislé na použité metodě, přístroji a kitu. Zejména to platí pro imunochemické metody, na jejichž nesrovnatelné výsledky jsme se natolik adaptovali, že občas nám před-

stava výsledků závislých jen na látkovém množství analytu připadá podivná. Důvody nesrovnatelnosti jsou známé a jejich podstatou je zejména různost reagenčních protilátek. Standardizace reagenčních protilátek by byla velmi žádoucí, ale její dosažení se zdá být v nedohlednu [13, 14].

Tato nesrovnatelnost je v praxi z nezbytnosti akceptovaná, implementovaná do směrnic diagnostiky a lékařské péče, zohledněna programy externího hodnocení kvality a vyjádřena v základní normě metrologické návaznosti výrobků IVD ISO 17511 respektováním odvozování hodnot pracovních kalibrátorů z metod, které si výrobce zvolí sám (pokud není referenční materiál a/nebo referenční metoda k dispozici). Je však třeba mít na paměti, že jde o nedokonalost měřících metod, ne o nevyhnutelnou vlastnost imunochemických, a už vůbec ne dalších měření.

Shrneme-li souvislosti mezi kalibrací měření, hodnotou bias, návazností výsledků a programy EHK, dojdeme k následujícím závěrům.

A) Kalibrátory, které mají hodnoty získané odvozením od reference, slouží k zajištění metrologické návaznosti výsledků.

*Měly by mít dobře dokumentován kalibrační protokol přenosu hodnot z reference, verifikovanou komutabilitu a uvedenou nejistotu hodnot.*

B) Kontrolní materiály, které mají hodnoty získané odvozením z reference, slouží k posouzení (stanovení, verifikaci) bias, tedy v podstatě k verifikaci kalibrace.

*Měly by mít dokumentovány stejné parametry jako kalibrátory.*

C) Návaznost je garantem dosažení požadované hodnoty bias. Bias je nástrojem jejího prověřování.

*Jde o komplementární procesy předpokládající rovnovážné pojetí kalibrace a kontrolních měření. Srovnatelné výsledky mají srovnatelnou hodnotu bias (získanou pomocí stejné referenční metody).*

D) Účast laboratoří v programech EHK je vyžadována jako součást procesu zajištění návaznosti výsledků měření (ISO 17025:2005, ISO 15189:2003).

*V tomto smyslu si programy EHK neprotiřečí se Směrnicí IVD 98/79. Směrnice IVD zavazuje výrobce ke garanci návaznosti, programy EHK ji mají verifikovat, což je výslovně uvedeno v normě ISO 17025 [15].*

Pravidla pro tvorbu a používání referenčních materiálů jsou dobře podložena a není žádný racionální důvod nerespektovat je. Jejich ignorování může být dáno preferencí obchodních zájmů před ostatními, ale také neznalostí. Problémy kontrolních materiálů EHK samozřejmě existují v nemalém množství a rozsahu, ale používání zaklínadla nekomutability při každém problému výrobku IVD je zavádějící. Může odvádět pozornost od jiných problémů, které se neprojevují jen v době měření vzorků EHK, ale dlouhodobě při analýze vzorků pacientů. Může jít o nestabilitu kalibračních hodnot u různých šarží kalibrátorů. Při výměně kalibrátoru výrobku IVD byla pozorována více než 2% kalibrační chyba při měření glukózy [16] a 5,4% chyba při náhlé změně kalibrační hodnoty u vápníku, provedené výrobcem až v době používání šarže [17].

Takový „zaklínací“ přístup suverénně, ale neoprávněně pomíjí průkazné a často popisované problémy s kalibrátory a standardizací. Nutnost srovnatelnosti výsledků měření je často bagatelizována poukazem na to, že jejich klinická interpretace je zabezpečena i za podmínek nesrovnatelnosti výsledků. Praxe ukazuje, že je tomu jinak. Při měření PSA [18] poskytují různé systémy IVD výsledky, které vykazují rozdílné hodnoty ROC analýz, tedy rozdílné hodnoty diagnostické senzitivity a specifity. V případě sérového kreatininu jsou výsledkem analytické nesrovnatelnosti různé hodnoty odhadu glomerulární filtrace (GFR) poskytující špatně srovnatelná diagnostická rozhodování u ledvinových chorob [19]. V současnosti není jasný klinický význam stanovení CRP pro prognózu rizika kardiálních chorob a jediné, co se zdá být jasné, je, že příčinou je nedobry stav analytického měření [20, 21]. Bylo by možné pokračovat ještě hodně dlouho. Lze říci, že v řadě případů právě aplikace rozvinutějších způsobů klinického hodnocení odhalují analytické problémy, které měly být známy předem.

Přístup jednostranného zdůrazňování nedokonalosti kontrolních materiálů hraničí občas s analytickým populismem, který má pro všechno jednoduchá vysvětlení a nezdržuje se hledáním souvislostí a principů. Jeho zpětný dopad na způsob uvažování laboratorního personálu může být devastující. Vždy má větší platnost prověřený fakt než deklarovaná zásada. Směrnice 98/79 je koneckonců legislativním, nikoliv analytickým dokumentem a z jejího textu jasně plyne, že je pro laboratoře uživatelů určena k informaci. Její bezesporu klíčový význam je dán snahou o regulaci trhu, nikoliv snahou o regulaci analytických procesů. K řízení kvality v laboratoři jsou určeny zcela jiné normy a pokyny [14, 21]. Záruky kvality musí být vždy prověřovány experimenty a zkušenostmi a nikdy ne pouze písemně deklarovány.

## Literatura

1. Third edition of the International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM-3). 2007.
2. **Emons, H.** The “RM family” – Identification of all its members. *Accred. Qual. Assur.*, 2006, 10, p. 690–691.
3. ISO Guide 30. Reference materials – terms and definitions used in connection with reference materials. ISO, 1992.
4. ISO Guide 31. Reference materials – content of certificates and labels. ISO, 2003.
5. ISO Guide 34. Reference materials-general requirements of the competence of reference materials producers. ISO, 2004.
6. ISO Guide 35. Reference materials-general and statistical principles for certification. ISO, 2005.
7. ČSN ISO 17511. Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro. Měření veličin v biologických vzorcích. Metrologická návaznost hodnot přiřazených kalibrátorům a kontrolním materiálům. Český normalizační institut, 2004.
8. Directive 98/79 EC of the European Parliament and of the Council on in vitro diagnostic medical devices, 1998.

9. Eurachem/CITAC – Traceability in chemical measurements. A guide to achieving comparable results in chemical measurements (2003). Dostupné na WWW: <http://www.eurachem.org>.
10. Kvalimetrie 14. Pokyn Eurachem/CITAC. Nánavnost chemických měření. Průvodce k dosažení srovnatelných výsledků chemických měření. Eurachem – ČR, 2004.
11. **Greg Miller, W., Myers, G., Rej, R.** Why commutability matter? *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 553–554.
12. **Panteghini, M., Forrest, J. C.** Standardization in laboratory medicine. *Clin. Chim. Acta*.
13. **Stenman, U. H.** Improving immunoassay performance by antibody engineering. *Clin. Chem.*, 2005, 51, p. 801–802.
14. **Sturgeon, C.** Expecting the unexpected—the continued need for vigilance in tumour markers assay. *Ann. Clin. Biochem.*, 2006, 43, p. 247–248.
15. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO 2005.
16. **Padró-Miquel, A., Fuentes-Arderiu, X.** Lack of randomness of internal quality control data: An alert for the in vitro diagnostic industry. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.*, 2007, 67, p. 253–255.
17. **Bais, R.** What information should manufacturers provide on their products? *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 1624–1625.
18. **Stephan, C., Klaas, M., Mueller, C., Schnorr, D., Loening, S. A., Jung, K.** Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: an update. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 59–64.
19. **Myers, G., Greg Miller, W., Coresh, J., Fleming, J., Greenberg, N. et al.** Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the laboratory working group of the national kidney disease education program. *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 5–18.
20. **Rifai, N., Ballantyne, C. M., Cushman, M., Levy, D., Myers, G. L.** High-sensitivity C-reactive protein assays: Is there a need for differentiation? *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 1254–1256.
21. **Callaghan, J. V., Gutman, S. I.** Food and drug administration guidance for C-reactive protein assays: Matching claims with performance data
22. ISO 15189. Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence. ISO 2003.

Do redakce došlo 30. 4. 2007.

Adresa pro korespondenci:  
 RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.  
 ÚKBD LF UK a FN  
 Sokolská 581  
 500 05 Hradec Králové  
 e-mail: [friedecky@sekk.cz](mailto:friedecky@sekk.cz)

## Filip Křepelka

# EVROPSKÉ ZDRAVOTNICKÉ PRÁVO



 LexisNexis CZ s. r. o.  
 nakladatel řady Orac

Svým obsahem ojedinělá publikace pedagoga PF MU v Brně JUDr. Filipa Křepelky, Ph.D., jejíž význam koresponduje se vstupem ČR do EU, který přináší nemalé právní změny – vedle vnitrostátního práva se začíná uplatňovat nový právní řád nadnárodní. Důležitá je především unifikace norem vývoje, výroby a odbytu léčiv a dalšího zdravotnického materiálu, harmonizace kvalifikace zdravotníků nebo koordinace soustav veřejného financování zdravotní péče o migranty. Kromě právníků zejména zdravotníci, manažeři zdravotnických zařízení či úředníci zdravotnické správy určitě ocení tuto publikaci jako praktickou pomůcku.

**A5, 120 stran, 90 Kč**

 LexisNexis CZ s. r. o.

**LexisNexis CZ s. r. o.,**  
 Limuzská 2110/8, 100 00 Praha 10  
 tel.: 274 013 268, fax: 274 013 256  
 e-mail: [obchod@lexisnexus.cz](mailto:obchod@lexisnexus.cz),  
[www.lexisnexus.cz](http://www.lexisnexus.cz)