

Požadavky na kvalitu stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} a možnost využití jeho výsledků pro diagnostické účely

Friedecký B., Kratochvíla J.

SEKK s. r. o. Pardubice

SOUHRN

Práce poskytuje přehled o požadavcích na analytickou kvalitu měření HbA_{1c}, formulovaných důležitými doporučeními, názory předních expertů a používaných v některých známých programech externího hodnocení kvality. Jmenovitě jde o požadavky na preciznost, bias a celkovou chybu. Uvádí dále přehled analytické výkonnosti laboratoří a orientační informaci a analytické kvalitě často frekventovaných metod. Velmi zajímavé jsou údaje o požadované a poskytované četnosti měření. To vše je uvedeno ve srovnání se stavem v České republice. Na základě tohoto srovnání lze usuzovat na větší kvalitu měření HbA_{1c} ve světě, než u nás, podmíněnou patrně významně vyšším počtem kontrolních měření. Podstatnou roli může hrát taky fakt, že ve světě je již běžné využívat HbA_{1c} nejen jako ukazatele stavu léčby, ale i jako ukazatele diagnostikování diabetu. Tento širší přístup k hodnocení HbA_{1c} v ČR doposud chybí. Srovnání naší situace s Norskem jasně ukazuje, že stanovení v režimu POCT není u nás pod kontrolou.

Klíčová slova: HbA_{1c}, preciznost, bias, četnost kontrolních analýz, POCT.

SUMMARY

Friedecký B., Kratochvíla J.: Quality requirements for the determination of glycated hemoglobin HbA_{1c} and possibilities of its application for diagnostic purposes

We introduce the brief review of the requirements for analytical quality in HbA_{1c}, created by important guidelines, experts' meanings, and used in well known external quality assessment programs. Namely requirements on the precision, bias and total errors are showed. Information on the quality of laboratories and often frequented methods are here too. Very interesting are data about requested and provided frequency of control measurements. On the basis of introduced results we can presume higher quality of HbA_{1c} measurement in world than in the Czech Republic, maybe due to these higher required frequency. Very important role can play the fact of using HbA_{1c} not only as therapy, but also diagnostic marker in diabetes. This aspect of diagnostic using the HbA_{1c} is currently not present in the Czech Republic. Comparison of our situation in POCT performance with Norwax reality clearly shows that situation in the Czech Republic is not under control.

Keywords: HbA_{1c}, precision, bias, frequency of control analysis, POCT.

Odkud pocházejí použitá data?

Kontrolní program Noklus (<http://www.noklus.no>) sledoval paralelně v letech 2006 až 2012 výsledky, dosažené v klinických laboratořích nemocnic a výsledky POCT stanovení z ordinací praktických lékařů. Program zahrnoval až 1288 účastníků [1].

Program EHK Evropské referenční laboratoře pro HbA_{1c} (www.euroreflab.com) v Holandsku disponuje podrobným souborem požadavků na preciznost a bias. Použili jsme výsledků, dosažených v roce 2013 (466 účastníků).

Dostupná jsou i data z programu NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) USA, tvořících při měření glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} základ kontrolních programů CAP (College of American Pathologists) a také certifikace laboratoří a metod v USA (www.ngsp.org).

Dále jsme použili dat švédského programu EHK Equalis (www.equalis.se), německého programu RfB Bonn (www.dgkl-rfb.de) a kanadského programu, prováděného laboratořemi provincie Ontario [2].

Byly vzaty v úvahu i požadavky expertů pracovní skupiny IFCC pro stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} tak, jak jsou uvedeny v práci Moscy a spol. [3].

Souhrn požadavků na kvalitu je také součástí stanoviska expertů UK, vycházejících z doporučení WHO z roku 2011 [4, 5].

Požadavky na analytickou kvalitu stanovení HbA_{1c} jsou rovněž uvedeny v NACB (National Academy of Clinical Biochemistry) doporučení pro laboratorní diagnostiku a sledování diabetu [6].

Kriteria analytické kvality

V Tabulkách 1 až 4 jsou shrnuta data o požadovaných hodnotách preciznosti a bias, dále data o celkové chybě měření a o četnosti měření kontrolních vzorků. Preciznost je udávána na základě výsledků měření, získaných různými výpočty. Bias je vhodnější udávat v jednotce měření, než v procentech, kdy je jeho hodnota silně závislá na hodnotě obsahu. Celková chyba měření je rovněž silně závislá na hodnotě obsahu HbA_{1c} ve vzorku. Obojí by mělo být bráno do úvahy při hodnocení kvality výsledků měření. Je třeba brát do úvahy, že doposud se v mnoha programech externího hodnocení kvality používá paralelně jak jednotek % NGSP, tak jednotek mmol/mol IFCC. Požadované hodnoty preciznosti, bias a celkové chyby jsou na typu použité

Table 1. Required precision in HbA_{1c} measurement

Source	CV [%]	Notice
Noklus www.noklus.no	≤ 2.0	Duplicates from control samples
Mosca et al. - IFCC (3)	≤ 2.4	Intermediate precision
EuroRefLab www.euroreflab.com	paired control samples/year	
	< 2.0	Excellent performance
	2 až 3	Good
	3 až 4	Accepted
	4 až 5	Questionable
>5	Unacceptable	
Equalis A. B. www.equalis.se	≤ 2.5	Reproducibility
UK Expert Statement (4)	≤ 3.0	Repeatability
	≤ 5.0	Reproducibility
NACB Guidelines USA 2011 (5)	≤ 2.0	Repeatability
	≤ 3.5	Reproducibility
Westgard 2014 http://www.westgard.com/biodatabase1.htm	≤ 0.9	Biological variation

Table 2. Required values of bias in HbA_{1c} measurement

Source	Bias	Notice
Noklus www.noklus.no	≤ 6.0 %	
Mosca et al. - IFCC (3)	≤ 2 mmol/mol	
EuroRefLab www.euroreflab.com	< 2 mmol/mol	Excellent performance
	2 až 3 mmol/mol	Good
	3 až 4 mmol/mol	Acceptable
	4 až 5 mmol/mol	Questionable
	>5 mmol/mol	Unacceptable
Equalis A. B. www.equalis.se	≤ 1.5 mmol/mol	
CAP – NGSP program www.ngsp.org	≤ 6 %	
Westgard 2014 http://www.westgard.com/biodatabase1.htm	≤ 1.5 %	Biological variation

Table 3. Total error (TE), calculated from required values of precision and bias TE = 1, 65. SD + b)

HbA _{1c} mmol/mol	CV [%]	Bias [mmol/mol]	TE [mmol/mol]
35	2	1	2.2
	2.5	1.5	3.0
	3	3	4.7
48	2	1	2.6
	2.5	1.5	3.5
	3	3	5.4
60	2	1	3.0
	2.5	1.5	4.0
	3	3	6.0
90	2	1	4.0
	2.5	1.5	5.2
	3	3	7.5

Table 4. Frequency of control measurements in some HbA_{1c} EQA programs

Source	Number/year	Matrix	Notice
Equalis A. B. www.equalis.se	10 x 2	Blood (pool)	12 pairs/year
NGSP USA www.ngsp.org			
Certification	4 x 10	Individual donors blood	
CAP NGSP program	2 x 3 (GH2)	Whole blood (pool)	Mandatory participation
	2 x 6 (L 15)	Whole blood (pool)	Voluntary participation
EuroRefLab www.euroreflab.com	10 x 2	Lyophilised hemolysate	12 pairs/year
UK NEQAS www.ukneqas.org.uk	12 x 3	Whole blood (pool)	
Kanada – Ontario (2)	6	Individual donors blood	
SEKK www.sekk.cz	3 x 2	Lyophilised hemolysate	
RfB DGKL Bonn www.dgkl-rfb.de	4 x 2	Lyophilised hemolysate	
Noklus POCT www.noklus.no	2 x 2	Individual donors blood	

jednotky závislé [6]. To je další dodatečný důvod pro urychlené sjednocení výsledků pomocí jednotek IFCC (mmol/mol). Preciznosti CV = 2 % (% NGSP) odpovídá hodnota 3 % pro jednotku IFCC. Celková chyba 6,7 % v jednotkách % NGSP odpovídá hodnotě 8,6 % pro jednotku IFCC (mmol/mol).

Frekvence kontrolních měření je u sledovaných zahraničních programů mnohem vyšší (několikanásobně), než u českého. To může být jednou z příčin lepší kvality laboratorních výsledků v zahraničních programech a jejich možností aplikovat přísnější a pro klinickou praxi vhodnější hodnoty přijatelných rozdílů v % D_{max}.

Výsledky, dosahované v programech externího hodnocení kvality

Tyto výsledky uvádíme v Tabulkách 5 a 6. V nich jsou uvedeny k demonstraci hodnoty některých nejčastěji používaných metod. Jsou převzaty z výsledků

programů, uvedených na webových stránkách organizátorů a s použitím jejich výročních zpráv.

Z těchto dat lze vyčíst i další důležité údaje:

- kvalita zahraničních výsledků je často vyšší, než u nás
- výsledky v zahraničních programech EHK jsou zejména preciznější
- kritéria kvality jsou v zahraničních programech přísnější a vyhovují nejen monitoringu, ale i diagnostice diabetu
- systémy (metody) měření HbA_{1c} vykazují významné rozdíly v kvalitě
- metody HPLC mají lepší preciznost a nižší bias, než imunochemické metody
- dosáhnout hodnot bias pod 3 mmol/mol je obtížné i pro referenční laboratoře, používající referenční metody IFCC
- dosáhnout hodnot preciznosti i bias, shodných s teoretickými hodnotami odvozenými z biologických variací, se zdá být nereálné.

Table 5. Precision of HbA_{1c} measurement in assessed programs

EQAProgram/Adress	CV interlab _r [%]	Notice
CAP NGSP - 2013, www.ngsp.org	3.7	In 2010 CV = 3.85 %
EuroRefLab - 2013, www.euroreflab.com		
All participants	1.6	In 2013
Tosoh G7	1.2	
Variant II	2.2	
Variant	3.9	
Roche (whole group)	3.2	
Beckman Unicel	3.6	
SEKK - 2013, www.sekk.cz		
HPLC	4.9	
Imunochemistry	7.0	
Arkray-Menarini, Tosoh, Variant	4.0	3 - 5 %

Table 5. - Continuation

EQAProgram/Adress	CV interlab _r [%]	Notice
RfB DGKL Bonn - 2013, www.dgkl-rfb.de		GH 4/13
HPLC	4.1	
Imunochemistry	6.6	
Menarini	< 3.0	
Ontario Canada 2010 (2)		
HPLC	2.6	
Imunochemistry	3.5	

Table 6. Bias of HbA_{1c} measurement in some EQA programs for selected, frequently used methods

Program/Adress	Bias [mmol/mol]	Notice
EuroRefLab - 2013, www.euroreflab.com		
Menarini, Tosoh, Roche	≤ 1	
Another method groups	up to 5	
SEKK - 2013, www.sekk.cz		
Menarini- Arkray, Variant	≤ 1	
Tosoh	2 - 3	
Roche, Beckman	1.8 - 3.8	
RfB DGKL Bonn - 2013, www.dgkl-rfb.de		
HPLC	0 - 5	
Imunoanalysis	5 - 6	
UK NEQAS - 2012, www.ukneqas.org.uk	1.9	
CAP NGSP - 2013, www.ngsp.org	3.5 - 1 %	Available value is in %
RELA IFCC, www.dgkl-rfb.de	2.3	Year 2012 for mean 51.1 mmol/mol
	3.4	Year 2012 for mean 67.8 mmol/mol

POCT versus klinické laboratoře. Překvapení bez jasného vysvětlení.

V Tabulce 7 jsou uvedeny recentně publikované výsledky hodnocení kvality POCT systémů, používaných v ordinacích praktických lékařů v Norsku a Švédsku [1]. Kvalita je zde hodnocena netradičně počtem účastníků, kteří vyhověli dvěma analytickým kritériím. Požadavkům na preciznost a bias. Podobně hodnotí účastníky také Evropská referenční laboratoř pro stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} (European Reference Laboratory for Glycohemoglobin, Winter-swijk, Holandsko).

Publikované výsledky z Norska přinášejí překvapující fakta:

- výsledky měření některých POCT systémů jsou srovnatelné a dokonce lepší, než výsledky měření klinických laboratoř
- počty účastníků, vyhovujících kritériím, nezvykle kolísají v čase
- výsledky POCT systémů jsou však vynikající jen pro dva ve Skandinávii dlouhodobě prověřené a používané POCT systémy: Afinion a Siemens DCA (2000, 2000+, Vantage) již ne pro systém NycoCard
- v rutinním používání je jen velmi omezený počet přístrojů POCT (prověřený testováním SKUP - <http://www.skup.nu/>) [7].

U těchto výsledků lze pozorovat překvapivě široký rozsah sledovaných četností počtu laboratoř, vyhovujících nastaveným kritériím kvality. Příčinou sotva může být rozdílná kvalita kontrolního materiálu. Spíš by to mohl být symptom, že kritéria jsou skutečně nastavena „na doraz“.

Srovnání s poměry při hodnocení kvality POCT při měření HbA_{1c} ukazuje, že u nás máme obecně přístupná data ve srovnání s Norskem jen od zlomku používaných POCT přístrojů (40 v roce 2014), 47 na konci roku 2012. To nestačí na validní závěry o kvalitě a ani nedovoluje odhadnout, kolik POCT přístrojů je asi bez externího hodnocení kvality, nebo v rámci externích hodnocení, o nichž není zpráv.

O kvalitě dobře prověřených POCT systémů pro stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} bylo referováno již v roce 2006 australskými autory. Už tenkrát si mohli dovolit organizátoři EHK zvolit přijatelný rozdíl / kontrolní limit $D_{max} = 4\%$, ovšem za podmínky jednotného používání přístrojů DCA, s vysoce organizovanými firemními službami a s existencí intenzivních programů edukace a výcviku. To v našich podmínkách zcela chybí. Podle zkušeností z programů SEKK je hodnota zatímní dosažené reprodukovatelnosti nad 3% a existují POCT přístroje až s trojnásobně horší její hodnotou (www.sekk.cz Výsledky cyklů GHP).

Table 7. Results of parallel assessment of POCT and clinical laboratories in HbA_{1c} measurement. Noklus 2006 – 2012 (1).

POCT system	Frequency of results with CV ≤ 2, 0% and bias ≤ 6%	
	Mean [%]	Interval [%]
Afinion	72	59 - 87
DCA (2000, 2000+, Vantage)	79	72 – 88
NycoCard	29	12 – 43
Clinical laboratories	68	54 - 84

Certifikace metod a laboratoří (USA)

Od roku 2006 není pozorována žádná změna v úrovni kvality (zde například viz údaje NGSP v tabulkách). Certifikace platí jeden rok jak pro laboratoře, tak i pro metody. Laboratoře získávají certifikáty pro konkrétní metodu, kterou používají (používají-li metody dvě, potřebují i dva certifikáty). U metod se certifikují šarže reagensů, šarže kalibrátorů a u metod HPLC i šarže chromatografických kolon. Seznam udělených certifikací je každý měsíc aktualizovaný. ADA (American Diabetes Association) doporučuje klinikům používat služeb certifikovaných laboratoří.

Stručné poučení na závěr

Ve světě se na rozdíl od nás již běžně používá stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} nejen jako ukazatel stavu kompenzace diabetika, ale jako diagnostický test diabetu. I proto jsou přísnější požadavky na analytickou kvalitu logické. Tím se vysvětluje i mnohem vyšší intenzita kontroly analytické kvality, než ta, na kterou jsme zvyklí.

U nás neexistuje žádná za řeč stojící regulace systémů POCT. Ta by měla zahrnovat nejen analytickou kontrolu, ale i pravidla výběru přístrojů, edukační programy, účinná pravidla účasti v kontrolních programech a srovnávání s klinickými laboratořemi. Výsledky kontrol u nás nejsou průběžně hodnocené a publikované. V tomto bodu jsme na úrovni rozvoje země, kde problém monitorování stavu diabetiků jakoby zůstával stále ve sféře mechanismů „neviditelné ruky trhu“.

Literatura

1. **Solvik, U. O., Roraas, T., Christenson, N. G., Sandberg, S.** Diagnosis Diabetes Mellitus: Performance of Hemoglobin A_{1c} Point-Of-Care Instruments in General Practice Offices. *Clin. Chem.* 2013, 12, p. 1790-1801.
2. **Aslan, B., Gun-Munro, J., Flynn, G. J.** Role of proficiency testing in monitoring of standardization of hemoglobin A_{1c} methods. *Accred. Qual. Assur.*, 2012, 17/4, p. 419-424.
3. **Mosca, A., Lapolla, A., Gillery, P.** Glycemic control in the clinical management of diabetic patients. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51, p. 753-766.
4. **John, W. G.** Expert position statement. Use of HbA_{1c} in the diagnosis of diabetes mellitus in the UK. The implementation of World Health Organization Guidance 2011. *Diabet. Med.*, 2012, 29, p. 1350-1357.
5. **Sacks, D. B., Arnold, M., Baktris, G. L., Bruns, D. E., Horvath, A. R., Kirkman, M. S. et al.** The guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin. Chem.*, 2011, 57, E1-47.
6. **Weykamp, C., Mosca, A., Gillery, P., Panteghini, M.** The analytical goals for hemoglobin A_{1c} measurement in IFCC units and National Glycohemoglobin Standardization Program units are different. *Clin. Chem.*, 2011, 57, p. 1204-1206
7. **Friedecký, B., Kratochvíla, J.** SKUP – cesta ke zvýšení kvality péče o pacienty. *Prakt. Lék.*, 2012, 92 (10), p. 492-495.

Do redakce došlo 13. 6. 2014

Adresa pro korespondenci
 RNDr. Bedřich Friedecký Ph.D.
 SEKK, spol. s r.o.
 Za Pasáží 9
 530 02 Pardubice
 e-mail: Friedecky@sekk.cz