

# Harmonizace v klinické laboratoři a charakter externího hodnocení kvality v blízké budoucnosti

Friedecký B.<sup>1</sup>, Kratochvíla J.<sup>2</sup>, Jabor A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ÚKBD FN Hradec Králové

<sup>2</sup> SEKK spol. s r.o., Pardubice

<sup>3</sup> OKB, PLM, IKEM Praha

## SOUHRN

Předmětem sdělení jsou předpokládané změny v charakteru a metodice programů externího hodnocení kvality, korespondující s jeho dvěma hlavními trendy pro blízkou budoucnost: s harmonizací měřících postupů a s inovovanými normami a požadavky na in vitro diagnostiku, jak jsou shrnuty v materiálu IVDR (*in vitro* device diagnostics requirements). Konkrétně jde o důslednou standardizaci a harmonizaci výsledků měření opírající se o metrologickou návaznost kalibrace a hrající roli nástroje dozoru nad kvalitou nejen pro klinické laboratoře, ale i pro výrobu souprav a zařízení IVD. Komutabilita kontrolních materiálů, omezenost postupů při použití kontrolních materiálů nekomutabilních, způsoby stanovení a pravidla aplikace specifikací kvality analytických metod (hodnot APS) k tomu patří. Výhody, možnosti a meze použití biologických variabilit jsou dalším důležitým faktorem harmonizačního potenciálu EHK. V době digitalizace klinických laboratoří nemůže být v programech EHK opomíjena preanalytická a postanalytická fáze měření. Nutnost kontinuálních změn EHK je jasná a odpovídá soudobému trendu vývoje. Je třeba provádět potřebné změny kontinuálně, evolučně a vhodným tempem tak, aby bylo dosahováno pokroku maximálně možného v odpovídajícím čase.

**Klíčová slova:** Metrologická návaznost, komutabilita kontrolních materiálů, IVDR 746, harmonizace, externí hodnocení kvality, APS.

## SUMMARY

**Friedecký B., Kratochvíla J., Jabor A.: Harmonization in the clinical laboratory and the nature of external quality assessment in the near future.**

*In vitro* device diagnostics requirements (IVDR 746), harmonization of results, realized by metrological traceability of calibration are the main fields of next development in laboratory medicine. Corresponding face of external quality assurance programs (EQA) are here briefly described. We deal with problems of commutability of control materials and also with analytical performance specification values (APS). The role of biological variation introduced in EuBIVAS database is also briefly mentioned. Problems of using the non-commutable control materials should be solved intensively too. The necessity of stepwise development EQA is clear and leads via commutability control materials and well determined analytical performance values.

**Keywords:** Metrological traceability, commutability, IVDR 746, analytical performance specification, external quality assurance, harmonization.

## Úvod

Programy EHK jsou důležitou součástí zajišťování (assurance) kvality laboratorní činnosti. Jsou určeny:

- pro účastníky programů EHK
- pro výrobce testovacích souprav, přístrojových platforem a prověřování a analytických metod
- pro komunitu zdravotnických pracovníků v klinických laboratořích

Jen náležitá úroveň EHK poskytuje relevantní informace, přesahující významem pouhý nezbytný úřední dokument. Jako zásadní je třeba zdůraznit:

- Účastníci programů EHK musí být orientováni o výsledcích měření a jejich hodnocení hlouběji, než jen jako prostředek zisku certifikátu nebo potvrzení účasti.
- Výrobci by měli používat výsledků EHK i jinak, než jen jako nástroj "public relation".

- Programy EHK by měly být nastaveny pro potřeby zdravotní péče, a ne pro potřeby úřední garance činnosti.

Zažíváme přelomovou dobu, kdy se ukazuje, že je čas uskutečnit řadu změn k dosažení uvedeného cíle. Hlavní motivace ke změnám souvisí s procesy harmonizace výsledků zdravotnických laboratoří.

## Princip a cíl EHK

Obecný princip EHK by měl být v úplnosti založen zejména na:

- srovnání výsledků měření (či hodnocení) účastníka s ostatními
- srovnání výsledků účastníka se správnými/pravdivými hodnotami výsledků měření
- srovnání výsledků účastníka s požadavky klinických a analytických Doporučení

- vyhodnocení správnosti/pravdivosti výsledků výrobců různých IVD diagnostik (In vitro medical devices)
- porovnání detekce, kvantifikace i srovnání kvalitativních měření a vysvětlení systematických bias a přesnosti.

Hlavním cílem EHK je, být jedním z nezbytných nástrojů harmonizace postupů a metod měření: Činnost programů EHK u nás i ve světě se bohužel doposud zabývá harmonizací výsledků měření spíše jen okrajově.

## Harmonizace a její klíčové zdroje

V roce 2020 byly publikovány dvě základní mezinárodní normy (ISO), definující metrologickou návaznost měření a harmonizační protokoly v klinických laboratořích [1, 2] a to:

- ISO 17511:2020 (<https://csnonline.agentura-cas.cz/default.aspx>)
- Popisuje metrologickou návaznost kalibrace a výsledků měření u standardizovaných metod měření.
- ISO 21151:2020 (<https://csnonline.agentura-cas.cz/default.aspx>)
- Popisuje harmonizační protokoly měření u analytů, parametrů a metod bez existence referenčních systémů.

Tyto normy jsou přelomové pro in vitro diagnostiku (IVD), pro jejich výrobce a následně i pro podobu programů EHK.

Podmiňují přechod od staré direktivy IVD MD 98/79 k nové IVDR 2017-746 (In Vitro diagnostics regulation) [3, 4]. Tento přechod má být z rozhodující části realizovaný do konce roku 2025 a do té doby by měla být provedena i úprava programů EHK.

Z mezinárodních institucí, o které se opírá program harmonizace, metrologické návaznosti a následně i žádoucí podoba programů EHK, je třeba uvést především IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) a JCTLM (Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine) a zejména pak aktuálními daty a konkrétními, aktualizovanými informacemi bohatou ICHCLR (International Consortium for Harmonization of Laboratory Results), na kterém se podílí řada organizací z oblasti laboratorní medicíny AACC, IFCC, EQALM a další ([www.harmonization.net](http://www.harmonization.net)). Její data by měla patřit k zásadním materiálům supervize výsledků hodnocení programů EHK včetně programů SEKK.

## Preanalytická EHK

Programy EHK byly vytvořeny původně k hodnocení analytických procesů, ale logicky by měly zahrnovat celkový proces měření a jeho užití, tedy preanalytický (část získání, přípravy a identifikace analytického vzorku) a rovněž postanalytický (jak bylo s výsledkem měření naloženo po jeho dodání žadateli) aspekt.

Preanalytický aspekt EQA je instruktivně popsán ve skandinávské práci [5].

Jeho strukturu lze charakterizovat následovně:

- Dotazníky na téma kritérií odmítnutí vzorků a reakce

klinických pracovišť

- Vzorky k hodnocení interference (sérové indexy)
- Průběžná kvantitativní hodnocení indikátorů kvality.

Dotazníky na téma kritérií odmítnutí vzorků mohou vycházet z existujícího doporučení ČSKB (Česká společnost klinické biochemie). Vzorky a testování a hodnocení interference jsou nově již realizované (i v programu SEKK) hodnocením sérových indexů (lipemie, ikterita, hemolýza). Kvantitativní analýza preanalytických indikátorů kvality by měla být samozřejmou součástí programů EHK, například posouzení a celkové vyhodnocení výročních dat jednotlivých účastníků. Tady by bylo možné představit si úzkou spolupráci poskytovatelů EHK s akreditačními a autorizačními orgány.

## Analytická EHK

Klíčovými problémy programů EHK jsou:

- Kontrolní materiály a jejich vlastnosti
- Vztažné/cílové hodnoty
- Kritéria hodnocení účastníků- APS (analytical performance specifications)

## Komutabilní kontrolní materiály

Komutabilita je vlastností RM a kontrolního materiálu a je definovaná přiměřeností matrice a těsností shody projevující se ekvivalencí matematických vztahů mezi výsledky různých postupů měření u RM a u reprezentativních typů vzorků, které mají být měřeny. Komutabilita referenčních a kontrolních materiálů se testuje podle postupů, publikovaných pracovní skupinou IFCC pro komutabilitu jako míra shody (bias) kontrolního (referenčního) materiálu se souborem nativních lidských biologických vzorků s dostatečným rozsahem hodnot obsahu/koncentrací [6]. Komutabilita má být verifikovaná, ne pouze proklamovaná (ISO 17511:2020). Aplikace komutabilního materiálu v programu EHK přináší řadu významných výhod. Dovoluje:

- simultánní hodnocení bias jak účastníků, tak i metod a testovacích souprav a přístrojových platform výrobců
- možnost agregace výsledků různých programů EHK a různých poskytovatelů EHK
- možnost odvození APS a RCV (kritická referenční změna) z biologických variabilit, uvedených v databázi EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; dostupné na: <https://biologicalvariation.eu>).

Nově plánovaná agregace výsledků EQALM-HALMA je popsána zatím na příkladu sérového kreatininu, hodnoceného v pěti zemích komutabilními kontrolními materiály [7]. Program EQALM-HALMA (European Committee for External Quality Assessment in Laboratory Medicine – Harmonization of Measurands in Laboratory Medicine through Data Aggregation) plánuje agregaci výsledků různých programů EHK postupně pro všechny standardizované analyty a parametry. Zdroje poznatků EQALM-HALMA by měly mít později

klíčový význam v hodnocení výsledků EHK. Stejně tak Program Eur-HbA<sub>1c</sub> (2021-2022) pro stanovení glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> (proběhl již třetí cyklus za účasti více než 5000 účastníků a 32 poskytovatelů EHK z 30 zemí (HbA<sub>1c</sub> trial EQA organisers).

V Tabulce 1 je uvedeno několik významných mezinárodních referenčních systémů měření, sloužících jako opory harmonizace řady klíčových analytů. V Tabulce 2 je uveden seznam kontrolních programů CAP (College of American Pathologists) používajících k provádění EHK komutabilních kontrolních materiálů s metrologickou návazností kalibrace, možných klasifikovat nejen úspěšnost laboratoře, ale i verifikovat použité metody měření.

**Table 1.** Reference systems-scientific base of harmonization measurement and EQA of laboratories and methods

Analytes	Notes
Serum analyte (routine)	Reference methods (ID-MS and selected photometry and
	Certified reference materials for calibration (NIST-SRM)
	Reference method procedures IFCC for enzymes
25-hydroxyvitamin D	VDSP (Vitamin D Standardization Program) uses LC-MS/MS and verifies Fujirebio
Glycated hemoglobin HbA <sub>1c</sub>	NGSP-CAP (National Glycohemoglobin Standardization Program – College of American Pathologists)
	EurA <sub>1c</sub> – HbA <sub>1c</sub> trial EQA organisers; use HPLC-ESI-MS reference method
Lipids (cholesterol, LDL-ch, HDL-ch, triacylglycerides, apo A, apo B)	LPS-CDC (Lipids Standardization Program) uses reference methods ID-MS, ultracentrifugation, produces with EQA program CAP

**Table 2.** EQA program CAP based on commutable materials and standardized methods with accuracy programs

Program	Analyte
ABL	Total spectrum of routine lipid analytes
ABU	Quocient: U-albumin/U-creatinine
LN 24	Calibration function of creatinine and eGFR
GH2/GH5	Glycated hemoglobin HbA <sub>1c</sub> in whole blood
ABVD	25-hydroxyvitamin D
ABGIC	Glucose, insulin, C-peptid
ABS	Steroids (cortisol, estradiol, LH, FSH)
ABTH	Thyroides (TSH, fT4, fT3 harmonized)

## Nekomutabilní kontrolní materiály

Jsou sice obecně výhodnější z hlediska přístupnosti, stability a logistiky, ovšem za cenu mnoha problémů. Velkým problémem jsou někdy vztažné hodnoty, odvozené na bázi středních hodnot metodických skupin (peer-groups). Definice skupin (per group values) jsou často naprosto vágní a běžně dochází k jejich ustanovování téměř "Ad libitum", obvykle v zájmu výrobců a nadměrné blahosklonnosti k účastníkům. Nedostatek a nepřístupnost komutabilních kontrolních

materiálů v postačujícím množství podmiňuje nutnost používání nekomutabilních kontrolních materiálů přes jejich uvedené nevýhody i v budoucnosti. Jako potřebné se v tomto případě zdají některé doposud nepraktikované zásady:

- upřesnit a redukovat počet a druh peer groups skupin na odůvodněné minimum
- komentovat při hodnocení EHK příčiny rozdílů mezi skupinami, jejich trendy v čase a možné následky v interpretaci.

V Tabulce 3 jsou stručně shrnuty rozdíly mezi komutabilními a nekomutabilními kontrolními materiály.

Vývoji analytických technologií v nových oborech laboratorní medicíny (metabolomika, sekvenace, genomika), by se neměl funkční program EHK vyhýbat. Lze předpokládat, že v této oblasti bude hodnocení výsledků založeno na krátkých expertizách, propojujících analytické výsledky s postanalytickou fází, jak to již vidíme v programech EHK hodnotících analyty DNA, RNA (zejména cfDNA a ctDNA).

**Table 3.** Commutable vs non commutable control materials

Commutable	Non Commutable
Typical matrix	
Native patients sample	Liquid or lyophilized processed material
Values	
Derived from reference measurement procedures, one value for assessment	Majority derived statistically; peer group values
Using	
Assessment of laboratories and methods; method verification	Assessment of laboratories, method, equipment groups
Control limits	
Possibility to use of biological variation	The state-of-the-art
Advantages/disadvantages	
Assessment of results quality Calculation of APS and RCV Worse stability, logistics and availability	Assessment only of participant results Better stability, logistics and availability

## Vztažné hodnoty a specifikace analytické kvality (hodnoty APS) v programech EHK

Podle milánského protokolu 2014, vypracovaného na 2. strategické konferenci IFCC roce 2014 jsou hodnoty APS odvozeny z [8]:

- klinických požadavků
- biologické variability
- state-of-the-art.

Použití vztažných hodnot, odvozených z biologických variabilit umožňuje někde již dostatečně bohatá a stále aktualizovaná databáze-EuBIVAS (European biological variation study; [9]). Je s ní počítáno v plánovaných agregačních studiích EQALM – HALMA a je velmi vhodné pracovat s ní edukačně i v programech EHK.

Vztažné hodnoty odvozené z biologických variabilit by měly být využívány (minimálně k edukačním účelům) v programech EHK především u hodnocení analytů a parametrů s ohledem na požadavky mezinárodních Doporučení. Sem patří zejména i česká Doporučení a doporučení ČSKB pro diagnostiku diabetu, chronické ledvinové choroby, dyslipidémie, poruchy kostního metabolismu, akutní koronární syndromy, poruchy funkcí štítné žlázy a další. Také sem patří vztažné hodnoty, související s poznatky, výsledky a požadavky některých mezinárodních referenčních systémů. Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub> (systémy EurA<sub>1c</sub>, NGPS) nebo vitamin D (systém VDSP). Propojení EHK a databáze EuBIVAS lze realizovat kalkulátorem hodnot APS a RCV (reference change value), kterým je tato databáze vybavena. Tabulka 4 demonstruje několik příkladů možného použití u vybraných standardizovaných měření analytů. Zatímco hodnoty APS jsou nezávislé na preciznosti v konkrétní laboratoři, hodnoty RCV jsou na ní závislé významně (v Tabulce 4 je to zřejmé z několika příkladů, kdy jsou použity dvojí hodnoty analytické preciznosti).

Klíčový význam si i nadále podrží vztažné hodnoty typu state-of-the-art. V programu SEKK jsou to často i hodnoty D<sub>max</sub> (pokud neexistuje reference). Pro jejich aplikaci platí zásady, vyslovené již v odstavci o "peer group" metodických skupinách v nekomutabilních kontrolních materiálech. Měla by zde platit zásada, že přednost má možnost redukce vztažných hodnot na co nejnižší počet, ideálně na jedinou (např. CRV, RoM aj.). Ta je v případě existence metrologické návaznosti a komutability realizovaná referenčním metodickým postupem RMP (reference method procedure). V případě, že plnohodnotný referenční systém dosud neexistuje, je popsán střední hodnotou (robustním průměrem souboru).

Dosavadní přístup řady zahraničních programů (i programu SEKK) pomocí hodnot D<sub>max</sub> nelze považovat za univerzální a dostačující nástroj hodnocení. D<sub>max</sub> je jen jedno z kritérií a zdaleka není všespasitelné. Je nutné upozorňovat na situace, kdy laboratoř sice splní D<sub>max</sub>, ale podle APS odvozených z modelů hierarchie (včetně biologické variability) laboratoř kritéria neplní a stimulovat ji tak ve snaze najít lepší řešení (úprava, analytická metoda, přístrojová platforma aj.).

**Table 4.** APS and RCV values of standardized analytes from database EuBIVAS for 95% confidence interval

Analyte	CV (%)	APS (%)	RCV (%)
Sodium	2	1	5.7
Potassium	2	7.3	12.6
Calcium	3	3.4	9.7
Albumin	3	5.2	10.8
Total protein	3	5.2	11
Glucose	3	9.8	16.2
Cholesterol	3	13	16.9
LDL - Cholesterol	5/10	11.5	26.9/36
Creatinine	3	11.1	15.5
ALT	5	24.1	31.2

LD	5	11.5	20.2
Glycated hemoglobin HbA <sub>1c</sub>	4	4.7	11.9
TSH	5/10	36.9	51/56.1
fT4	5/10	9.5	19.4/30.9
25-hydroxyvitamin D	10	18.9	34
PTH	5/10	8.8	45.7/51.6

*Comment:*

- CV – coefficient of variation
- APS – analytical performance specifications
- RCV – reference change value
- *Italica* - values obtained by Roche testkits;
- for some analytes and two determined CV, two different RCV values are given

## Postanalytická EHK

Informace o dopadech a reakcích lékařů a klinických oddělení na laboratorní výsledky, zejména v oblastech aplikace mezinárodních Doporučení, je zatím řešena jen sporadicky a okrajově, přes její extrémní důležitost. Rešerše literatury napovídá, že jde o slabé místo procesu EHK v celosvětovém měřítku. Inspirativní ukázkou dlouhodobého hodnocení postanalytické fáze jsou studie CARMAGUE (kardiální markery).

Uvažovaná spolupráce s NASKL (Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře), jejímž předmětem by mělo být posuzování kvality elektronického přenosu dat, se zdá být velmi žádoucí.

## Praktické aspekty [10, 11]

- pojmout a rekonstruovat programy EHK jako nástroje harmonizace výsledků
- akceptovat normy metrologické návaznosti a harmonizační protokoly
- uplatňovat zvýšený důraz na pre a post-analytické procesy
- strukturalizovat a aktualizovat komentáře supervisorů tak, aby sledovaly soudobé trendy v oblasti měření, klinické interpretace a stavu metrologické návaznosti
- používat komutabilní kontrolní materiály všude, kde je to možné
- aktivně přistupovat k formulaci vztažných hodnot a komentářům výsledků u nekomutabilních kontrolních materiálů.

## Komerční programy EHK

Organizované řadou globálních výrobců používají většinou nekomutabilní kontrolní materiály (vhodné vždy pro EHK organizujícího výrobce) a s velmi volně formulovanými vztažnými hodnotami, v naprosté většině typu "peer group". Jsou vytvářeny a prováděny tak, aby umožnily co nejvyšší způsobilost účastníků a co nejnižším úsilím aby pro výrobce vyprodukovaly zpětně využitelná big data, získaná takto zdarma. Citelně jim chybí princip „třetí strany“, základní předpoklad objektivity.

## Literatura

1. **ČSN EN ISO 17511:2020** In vitro diagnostics medical devices. Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples.
2. **ČSN ISO 21151:2021 IVD MD** Measurement of quantities in samples of biological origin. Requirements for international harmonisation protocols establishing metrological traceability of values assigned to calibrators and human samples.
3. **Regulation (EU) 2017/746** of the European Parliament and of the Council of 5. April 2017 on *in vitro* diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU. Official Journal of the European Union 2017; May 5.: L 117/L 176.
4. **Myers, G. L., Pierson-Perry, J., Beastell, G. H.** The European Union In Vitro Diagnostic Medical Device Regulation 2017/746 (IVDR): overview and implications for the future of laboratory medicine. *eNews-IFCC*, 2019, 1, s. 20-24.
5. **Kristensen, G. B., Aakre, K. M., Kristoffersen, A. H., Sandberg, S.** How to conduct external quality assessment schemes for the pre-analytical phase? *Biochem. Med.*, 2014, 24(1), s. 114-122.
6. **Nilsson, G., Budd, J. R., Greenberg, N., Delatour, V., Rej, R. et al.** IFCC working group for assessing commutability. Part 2: Using the Difference in Bias Between a Reference Material and Clinical Samples. *Clin. Chem.*, 2018, 64(3), s. 455-464.
7. **van der Hagen, E. A. E., Weykamp, C., Sandberg, S., Stavelin, A. V., MacKenzie, F.** Feasibility for aggregation of commutable external quality assessment results to evaluate metrological traceability and agreement among results. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, 59, s. 117-125.
8. **Sandberg, S., Fraser, C. G., Horvath, A. R., Jansen, R., Jones, G. Et al.** Defining analytical performance specifications consensus statement from the 1<sup>st</sup> strategic conference of the European federation of clinical chemistry and laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, 53, s. 833-835.
9. **Carobene, A., Aarsand, A. K., Barlett, W. A., Coskun, A., Diaz-Garzon, J. et al.** The European biological variation study (EuBIVAS): a summary report. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0370>.
10. **Badrick, T., Miller, G. W., Panteghini, M., Delatour, V., Berhall, H., MacKenzie, F. et al.** Interpreting EQA-Understanding Why Commutability of Materials Matter. *Clin. Chem.*, 2022, doi: 10.1093/clinchem/hvac002.
11. **Jones, G. R. D., Delatour, V., Badrick, T.** Metrological traceability and clinical traceability of laboratory results - the role of commutability in external quality assurance. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2022, <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0038>.

Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů

Do redakce došlo 21. 3. 2022

Adresa pro korespondenci  
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.  
Střelnická 1680  
182 00 Praha 8  
e-mail: [friedecky@sekk.cz](mailto:friedecky@sekk.cz)