

Cyklus: FC2/18 – Kalprotektin ve stolici

Tento cyklus byl realizován v souladu s dokumentem *Plán EHK 2018*, který je k dispozici na adrese www.sekk.cz v oddíle EHK. V tomto dokumentu naleznete informace, které se týkají jak tohoto konkrétního cyklu, tak EHK obecně. Kontakt na poskytovatele EHK a na koordinátora EHK naleznete na www.sekk.cz v oddíle O nás.

Vzorky

Vzorky byly připraveny na pracovišti subdodavatele a šlo o nativní vzorky stolice.

Vzorky A i B pocházely od 43leté nemocné s těžkou formou Crohnovy nemoci, která je po opakovaných resekcích tenkého a tlustého střeva a aktuálně má třetím rokem trvalou derivační ileostomii. Jde o kortikodependentní nemocnou, u které došlo k selhání biologické léčby inhibitory TNF-alfa a která je aktuálně na biologické terapii ustekinumabem. Přes tuto léčbu má denně bolesti břicha, noční obtíže, je unavená a hubne. Ve stolici odcházející ileostomií pozoruje občas příměs čerstvé krve. Vzorek A byl obsahem ileostomického sáčku z ranní porce stolice, vzorek B byl obsahem ileostomického sáčku z večerní porce stolice.

Dále byl do tohoto cyklu zařazen **vzorek C** (studie bez vlivu na úspěšnost účastníků), což byl eluát stolice v ředění 1:10 připravený ze vzorku B.

Komentář supervizora

Výsledky nám zaslalo 51 účastníků, z toho 5 ze Slovenska.

Způsob zpracování výsledků

Vztažné hodnoty jsou v tomto programu EHK určovány na základě konsenzu.

Předmětem hodnocení jsou pouze **kvalitativní výsledky**. V případě kvalitativních výsledků dochází ke konsenzu tehdy, jestliže se shodne alespoň 80 % účastníků, kteří uvedli platný výsledek.

Kvantitativní výsledky jsou obtížně hodnotitelné z důvodu vysokého rozptylu (dlouhodobě pozorujeme CV řádově 50 %). Přehled kvantitativních výsledků, které je nutné považovat spíše za doplňující informaci, naleznete v kompletní statistice, kterou dostáváte.

Kvalitativní výsledky

U obou vzorků bylo dosaženo jasného kvalitativního konsenzu.

Několik účastníků v poznámce uvedlo, že vzorky byly příliš řídké. Vzhledem k charakteristice cílové skupiny pacientů, pro kterou je stanovení fekálního kalprotektinu určeno, není vzorek tekuté stolice pro stanovení fekálního kalprotektinu neobvyklým jevem. Laboratoře by měly s příjmem takového materiálu u svých postupů počítat a být schopny tyto vzorky zpracovat. Pokud laboratoř vzorky s méně obvyklou konzistencí nebo příměsí zpracovat neumí, je ke zvážení, zda se má vůbec detekci markerů lokálního střevního zánětu ze stolice zabývat. Jedním z cílů cyklu je právě ověření schopnosti laboratoří zpracovat vzorky, se kterými se lze v každodenní praxi běžně setkat. V případech tekuté konzistence stolice je při přípravě vzorkových eluátů vhodnější volit postup, kdy je nativní vzorek spolu s extrakčním pufrům v poměru předepsaném výrobcem do ředící zkumavky pipetován. A to za předpokladu, že 1 mL stolice váží přibližně 1 g. Případně lze pro nadávkování tekutého vzorku použít laboratorní váhy. Použití standardních odběrových zkumavek je u těchto vzorků obvykle příčinou významně nižších, v krajním případě až falešně negativních výsledků.

Kvantitativní výsledky

Kvantitativní výsledky se (stejně jako v minulých cyklech) pohybovaly v extrémně širokém intervalu takto:

| | <i>Kalprotektin [µg/g]</i> | |
|----------|----------------------------|----------------|
| | <i>Minimum</i> | <i>Maximum</i> |
| Vzorek A | 70 | 1200 |
| Vzorek B | 20 | 1000 |

Poznámka k preanalytické fázi (možné zdroje chyb u kvantitativních výsledků)

Významný rozptyl absolutních hodnot koncentrací fekálního kalprotektinu naměřených účastníky je s největší pravděpodobností zásadně ovlivněn preanalytickou fází vyšetření. V případě vzorků stolice s tekutou konzistencí mohou konvenční odběrové systémy i navzdory pečlivému odběru vnášet do stanovení chybu a výsledky zde mohou být významně ovlivněny směrem k nižším hodnotám. Na rozdíl od jiných biologických materiálů ovlivňuje složení vzorku stolice např. relativní poměr pevných a tekutých složek, který má vliv na nutné konstantní množství stolice pro testování, což rovněž může způsobit analytické chyby. Důrazně doporučujeme všem laboratořím, aby ke zhotovení eluátů používaly pouze standardizované odběrové zkumavky, které jsou doporučeny výrobcem použité diagnostické soupravy, a aby si přesnost zhotovení eluátu ověřily analýzou opakovatelnosti a reprodukovatelnosti přípravy eluátů. Při pochybnostech o výsledku nebo při konzistenci vzorku, která je pro standardní odběrové systémy nevhodná, je vždy vhodné použít referenční techniku zhotovení eluátu, tj. navážení stolice a přesné odměření extrakčního roztoku.

Rovněž výrobci odběrových systémů by se situací, kdy je použito standardní odběrové zkumavky vzhledem ke konzistenci stolice nevhodné, měli počítat. Pro tyto případy by měli zákazníkům poskytnout možnost alternativního

Cyklus: FC2/18 – Kalprotektin ve stolici

zpracování vzorků tak, aby stanovení bylo možné provést (za podmínky, že je odběr těchto vzorků proveden do odběrových systémů, které alternativní zpracování umožňují, tj. i za podmínky dodatečné edukace pacienta). V opačném případě může dojít k situaci, kdy v důsledku obtíží s preanalytickou fází budou možným ovlivněním výsledků zasaženi především pacienti, kteří toto vyšetření potřebují nejvíce.

Klinický pohled

Uvádí se, že v České republice žije přes 10 000 stomiků a na Slovensku přes 4 000 stomiků. Derivační stomie u nemocných s IBD představují pro pacienty velkou zátěž psychickou, sociální, fyzickou i ekonomickou. Aktivita základního střevního onemocnění může vést též ke stomickým komplikacím (krvácení až nekróza stomie, infekce, píštěl, stenóza stomie nebo např. peristomální dermatitida). Proto je schopnost přesného změření koncentrace kalprotektinu v obsahu ileostomického sáčku důležitým úkolem laboratoří, které poskytují servis pracovištím pečujícím o nemocné s IBD a jinými střevními chorobami.

Pro tento cyklus byl zvolen biologický materiál od jedné nemocné, který byl odebrán v různých časech jednoho dne – ráno a večer. Tzv. within-day variabilita fekálních hladin kalprotektinu totiž představuje klinicky významný problém. Výsledky letos publikované práce Fedorakovy pracovní skupiny (*Du et al, J Clin Gastroenterol, 2018*) poukazují na to, že hodnoty z ranních měření mohou být signifikantně nižší ve srovnání s analýzami večerních vzorků, a to zejména u osob s aktivní formou idiopatického střevního zánětu. K analýzám je proto z důvodu standardizace doporučován vždy první ranní vzorek stolice.

Hodnoty cut-off

Účastníci cyklu uvedli své cut-off takto:

| <i>Cut-off</i> [µg/g] | <i>Počet účastníků</i> |
|--------------------------|--|
| 50 | 46 |
| 49, 70, 100, 200 | každou z těchto hodnot uvedli nejvýše 2 účastníci |

Účastníci by měli používat cut-off v souladu s dokumentací výrobce, event. referenční rozmezí stanovené vlastní studií či publikací v recenzovaném/impaktovaném odborném tisku. Je ovšem potřebné počítat s tím (a v souladu s tím informovat spolupracující klinická pracoviště), že referenční hodnoty hladin fekálního kalprotektinu se poměrně významně liší v závislosti na věku (*Oord, J Clin Lab Invest 2014*) a že pozitivní prediktivní hodnota testu (PPV) pro diagnózu IBD významně stoupá při cut-off hodnotě 250 µg/g (*Manceau, Clin Chem Lab Med 2017*).

Dlouhodobá úspěšnost

V následující tabulce je uveden přehled celkové úspěšnosti účastníků tohoto cyklu za poslední 2 roky. V záhlaví sloupců jsou uvedena jednotlivá pásma úspěšnosti (0 % ... nulová úspěšnost; 50 % ... úspěšnost 1 až 50 %; 75 % ... úspěšnost 51 až 75 % atd.). Na dalších 2 řádcích je pak absolutní a relativní počet účastníků, kteří příslušné úspěšnosti dosáhli.

| <i>Úspěšnost</i> | | 0 % | 50 % | 75 % | 80 % | 85 % | 90 % | 95 % | 99 % | 100 % |
|------------------|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Počet | absolutní | 0 | 4 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 37 |
| | relativní | - | 7,8 % | 20 % | - | - | - | - | - | 73 % |

Poznámka: Svou vlastní celkovou úspěšnost za poslední 2 roky naleznete ve svém výsledkovém listu.

Celková úspěšnost většiny účastníků tohoto cyklu za poslední 2 roky je 75 % nebo vyšší.

Úspěšnost 50 % nebo nižší zaznamenali 4 (tj. 5,8 %) účastníci, pro které by se mělo jednat o impuls ke zlepšení.

Formální nedostatky

Dokumentace cyklu obsahuje i tento odstavec:

Poznámka k číselníku principů měření: Kvantitativní laterální průtoková analýza patří k analytickým metodám založeným na chromatografickém principu, a proto uveďte "Chromatografické metody" (M = 7). Stejně postupujte i v případě "Imunochromatografických" metod.

Zdá se, že někteří z účastníků tuto informaci přehlédli a jako princip měření uvedli M = 99 s poznámkou např. „Kvantitativní laterální průtoková analýza“. Prosíme, věnujte pozornost instrukcím, které dostáváte (v uvedeném případě měl být uveden princip měření M = 7 a textová poznámka pak již není nutná).

Studie: vzorek C

Do tohoto cyklu jsme zařadili ještě jeden vzorek (eluát) proto, abychom znovu ověřili použitelnost tohoto typu materiálu (nad rámec studií, které probíhaly při zavádění programu FC na systému EHK). Děkujeme všem účastníkům, že provedli měření i v tomto vzorku. Výsledky získané ve vzorku C nemají žádný vliv na úspěšnost účastníků. Statistika kvalitativních i kvantitativních výsledků pro vzorek C je k dispozici na webu.

Cyklus: FC2/18 – Kalprotektin ve stolici

Vzorek C byl eluát vzorku B připravený v ředění 1:10. Vzhledem k poměru stolice a extrakčního činidla, který neodpovídá poměru, který je pro použité extrakční činidlo předepsán, lze u takto připraveného eluátu předpokládat pro nedokonalou extrakci nižší výsledky než u vzorků A nebo B. Nicméně i vzorek C byl po kvalitativní stránce pozitivní. Výsledky účastníků byly o něco horší než v případě nativních vzorků A a B (konsenzus byl dosažen, rozptýl výsledků měření byl ale větší). Někteří účastníci uvedli, že tento typ vzorku nemohou zpracovat, protože použitý extrakční pufr není kompatibilní s jejich systémem.

Podle kvantitativních výsledků, uvedených účastníky u dvou nejpočetněji zastoupených výrobců (Bühlmann, Orgentec), byla odchylka způsobená přípravou vstupního extraktu v poměru 1:10 pomocí extrakčního činidla jiného výrobce (zde Orgentec) při analýze na soupravách Bühlmann přibližně +25 %. Celkový variační koeficient byl $CV_C = 77\%$ (pro srovnání – u nativních vzorků byl $CV_A = 56\%$ a $CV_B = 70\%$). Vliv použitého extrakčního média se tak na celkové variabilitě výsledků podílí sice významně, ovšem pravděpodobně méně, než je vliv ostatních preanalytických činností a samotné analytické fáze.

Kvantitativní výsledky se pohybovaly v extrémně širokém intervalu takto:

| | <i>Kalprotektin [$\mu\text{g/g}$]</i> | |
|----------|--|----------------|
| | <i>Minimum</i> | <i>Maximum</i> |
| Vzorek C | 6,5 | 10200 |

Tato studie znovu potvrdila již dříve zjištěná fakta, tedy že nejvhodnějším materiálem pro tento program je nativní stolice.

Odborná supervize: Ing. Miroslav Hindoš
VFN - Klinická imunologie a alergologie
laboratoř ÚLBLD a 1. LF UK
Praha
e-mail: miroslav.hindos@vfn.cz

MUDr. Karin Malíčková
VFN - Klinická imunologie a alergologie
laboratoř ÚLBLD a 1. LF UK
Praha
e-mail: karin.malickova@vfn.cz

Seznam všech supervizorů včetně kontaktů na ně je k dispozici na adrese www.sekk.cz v oddíle EHK.

Závěrečná zpráva s výjimkou příloh je veřejná (je zveřejněna jako součást souhrnného vyhodnocení cyklu na www.sekk.cz). Jednotlivé přílohy, označené kódem konkrétního účastníka EHK, jsou určeny pouze pro potřebu tohoto účastníka.

Přílohy

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu dále dostávají:

| <i>Název přílohy</i> | <i>Poznámka</i> |
|--|---|
| Osvědčení o účasti | Dostávají účastníci, kteří splnili podmínky pro jeho vystavení. |
| Výsledkový list (kvalitativní výsledky) | Dostávají účastníci, kteří uvedli kvalitativní výsledky. |
| Výsledkový list (kvantitativní výsledky) | Dostávají účastníci, kteří uvedli kvantitativní výsledky. |
| Komplexní statistika | Pouze pro zkoušky s kvantitativními výsledky a dvěma vzorky. |
| <i>Poznámky:</i> | |
| <ul style="list-style-type: none">Vysvětlení obsahu jednotlivých zpráv naleznete na adrese www.sekk.cz v oddíle EHK pod odkazem Zprávy pro účastníky EHK.Souhrnný přehled výsledků tohoto cyklu je k dispozici na adrese www.sekk.cz. | |

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka.