Áp dụng hướng dẫn EP15A3 của CLSI trong xác nhận phương pháp định lượng glucose máu bằng máy Accu-chek Inform II

Lê Hoàng Bích Nga[1, 2], Trần Thị Thuý Quỳnh[1], Lê Lâm Kiều Oanh[1], Nguyễn Thị Ngọc Lan[1, 2*]

[1]Trường Đại học Y Hà Nội
[2]Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Ngày nhận bài 5/10/2022; ngày chuyển phản biện 8/10/2022; ngày nhận phản biện 19/10/2022; ngày chấp nhận đăng 24/10/2022

Tóm tắt:

Xác nhận đặc tính hiệu năng kỹ thuật của phương pháp xét nghiệm là một yêu cầu thiết yếu trong phòng xét nghiệm nhằm đảm bảo cung cấp kết quả xét nghiệm đáng tin cậy cho chẩn đoán và điều trị. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá kết quả xác nhận phương pháp định lượng glucose máu bằng máy Accu-chek Inform II tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Phương pháp và vật liệu nghiên cứu: Vật liệu nội kiểm do nhà sản xuất cung cấp để tiến hành thực nghiệm đánh giá độ chụm, độ đúng xét nghiệm glucose máu trên máy Accu-chek Inform II theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute - Viện Tiêu chuẩn về xét nghiệm lâm sàng). Kết quả của độ lệch chuẩn (SD) trong một lần chạy và SD giữa các lần chạy của 2 mức nội kiểm (QC - Quality control) trong thực nghiệm nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất, giá trị trung bình quan sát không nằm trong khoảng xác minh nhưng độ chệch Bias nhỏ hơn mức độ cho phép. Độ đúng và độ chụm của xét nghiệm glucose máu được thực hiện trên máy Accu-chek Inform II tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội được xác nhận phù hợp với công bố của nhà sản xuất.

Từ khóa: **Accu-chek Inform II, EP15A3, nồng độ glucose máu, xác nhận phương pháp.**

Chỉ số phân loại: **3.5**

Application of CLSI's EP15A3 guideline in Accu-chek Inform II method verification

Hoang Bich Nga Le[1, 2], Thi Thuy Quynh Tran[1], Lam Kieu Oanh Le[1], Thi Ngoc Lan Nguyen[1, 2*]

[1]Hanoi Medical University
[2]Hanoi Medical University Hospital

Received 5 October 2022, accepted 24 October 2022

Abstract:

Method validation is an essential laboratory requirement to ensure reliable test results for diagnosis and treatment. This study aims to evaluate the determination of blood glucose level method by the Accu-chek Inform II analyzer at Hanoi Medical University Hospital. Method and materials: Internal control materials were provided by the manufacturer to conduct experiments to evaluate the precision, accuracy and linearity of blood glucose testing on the Accu-chek Inform II analyzer according to the guideline EP15A3 of the Clinical and Laboratory Standards Institute. Results: The within-run precision and within-laboratory precision of two experimental quality control levels are less than the manufacturer's claim, the observed mean is not within the verification interval, but the Bias is less than the allowable Bias. The accuracy and precision of the blood glucose test performed on the Accu-chek Inform II analyzer used at the Hanoi Medical University Hospital were confirmed in accordance with the manufacturer's claims.

Keywords: **Accu-chek Inform II, blood glucose level, EP15A3, method validation.**

Classification number: **3.5**

Đặt vấn đề

Xác nhận phương pháp là khẳng định bằng kiểm tra các bằng chứng khách quan cho thấy các yêu cầu cụ thể của một phương pháp định sử dụng có thể đáp ứng được. Việc xác nhận phương pháp phân tích cần được tiến hành trước khi đưa thiết bị mới, kỹ thuật xét nghiệm mới vào sử dụng nhằm xác nhận các tiêu chuẩn kỹ thuật mà nhà sản xuất đã công bố là đúng trong điều kiện của phòng xét nghiệm [1].

Máy Accu-chek Inform II được thiết kế để định lượng đường huyết bằng máu tĩnh mạch, máu mao mạch, máu động mạch và máu trẻ sơ sinh giúp hỗ trợ theo dõi kiểm soát đường huyết. Hệ thống này thiết kế dành cho nhân viên y tế đo lượng nồng độ glucose máu và tự động ghi lại kết quả, bao gồm cả kết quả QC tại giường nhằm hỗ trợ nâng cao chất lượng chăm sóc bệnh nhân [2]. Để khẳng định kết quả xét nghiệm trên hệ thống phân tích này là chính xác, đáng tin cậy như nhà sản xuất công bố, cần phải xác nhận phương pháp trước khi đưa vào sử dụng tại phòng xét nghiệm.

EP15A3 của CLSI hướng dẫn xác nhận độ chụm và độ đúng của phương pháp. Độ chụm được sử dụng để mô tả mức độ gần nhau giữa các kết quả của những lần thực hiện độc lập trên cùng một mẫu và cùng một điều kiện được biểu thị định lượng thông qua SD và hệ số biến thiên (CV) [3]. Độ đúng chỉ mức độ gần nhau giữa kết quả đo và giá trị thực của phép đo, một phương pháp xét nghiệm thu được kết quả đúng khi kết quả xấp xỉ bằng trị số thực của nó. Hướng dẫn EP15A3 của CLSI được áp dụng rộng rãi vì quy trình kỹ thuật đơn giản nhằm tiết kiệm tối đa các nguồn lực nhưng vẫn đảm bảo tính nghiêm ngặt, đánh giá được đồng thời độ đúng và độ chụm, có thể áp dụng trong các phòng xét nghiệm khác nhau về trang thiết bị, kỹ thuật, nhân lực [4].

[*]Tác giả liên hệ: Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá kết quả xác nhận phương pháp định lượng glucose máu bằng máy Accu-chek Inform II tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Chất liệu nghiên cứu: 2 mẫu QC với 2 mức nồng độ, que test máy Accu-chek do nhà sản xuất cung cấp (Hãng Roche).

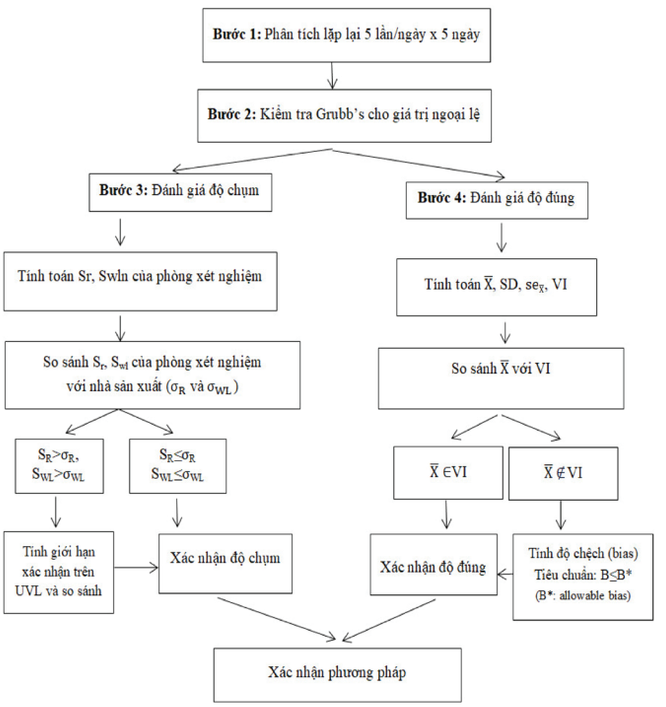
Địa điểm và thời gian nghiên cứu: Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, từ ngày 28/6/2022 đến 10/8/2022.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng xét nghiệm.

Nguyên lý xét nghiệm đường máu mao mạch trên máy là nguyên lý điện hoá.

Enzyme Mut-QGH có trên que thử sẽ chuyển glucose trong mẫu máu thành gluconolactone. Phản ứng tạo ra dòng điện một chiều, máy đo sẽ định lượng được nồng độ glucose. Sơ đồ nghiên cứu được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu xác nhận phương pháp máy Accu-chek Inform II. S_R, S_{WL}: độ lệch chuẩn trong một lần chạy và giữa các lần chạy 2 mức QC của phòng xét nghiệm; σ_R, σ_{WL}: độ lệch chuẩn trong một lần chạy và giữa các lần chạy của nhà sản xuất; $\bar{X}$: giá trị trung bình quan sát; UVL: giới hạn xác nhận trên; $se_{\bar{x}}$: Sai số chuẩn hệ thống; VI: Khoảng xác nhận.

Nghiên cứu sử dụng cùng một thực nghiệm để đánh giá đồng thời độ chụm và độ đúng của phương pháp xét nghiệm theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI. Cụ thể:

Bước 1: Phân tích lặp lại mỗi ngày 5 lần mỗi mẫu kiểm tra chất lượng ở hai mức nồng độ kiểm tra chất lượng, tiến hành trong 5 ngày liên tiếp.

Bước 2: Kiểm tra Grubb's cho các số liệu ngoại lệ. Một kết quả được coi là giá trị ngoại lệ nếu nó nằm ngoài khoảng giới hạn Grubb's.

Grubb's limits = Mean ± G × SD

trong đó: Mean: giá trị trung bình của số liệu thu được; G: hệ số của Grubb's được tra từ bảng Grubb's (G=3,135).

Bước 3: Đánh giá độ chụm.

So sánh SD của phòng xét nghiệm với độ chụm của nhà sản xuất hoặc khoảng chấp nhận tính toán được của độ chụm.

- Tính toán phương sai. Sử dụng công cụ phân tích ANOVA một chiều trên Excel để tính toán phương sai giữa các lần chạy lặp lại (V_w và V_B).

V_w=MS2, nếu MS1<MS2 thì V_B=0; ngược lại V_B=(MS1 – MS2)/n_o

trong đó: V_w: phương sai lặp lại (trong ngày); V_B: phương sai giữa các ngày; MS1: bình phương trung bình giữa các ngày; MS2: bình phương trung bình trong ngày; n_o là số lần chạy/ngày (thực nghiệm này là 5).

- So sánh độ chụm ước tính với công bố của nhà sản xuất. So sánh độ chụm ước tính của phòng xét nghiệm ở cả 2 mức QC với công bố của nhà sản xuất. Nếu độ chụm của phòng xét nghiệm vượt quá công bố nhà xản xuất, cần tính UVL (Uupper verification limit - giới hạn xác nhận) để so sánh. Tính giới hạn xác nhận cho độ chụm (UVL_R) như sau:

dfR = N - k = 25 - 5 = 20, với N là tổng số kết quả; k = n_0 là số lần chạy.

$UVL_R = F \times \sigma_R$

Tính giới hạn xác nhận cho độ chụm (UVL_{WL}) như sau:

df_{WL} tra cứu dựa trên tỷ lệ $p = \frac{\sigma_{WL}}{\sigma_R}$ theo bảng giá trị p và số lần chạy.

$UVL_{WL} = F \times \sigma_{WL}$

Bước 4: Đánh giá độ đúng.

- Tính toán sai số chuẩn của giá trị trung bình ($se_{\bar{x}}$).

$$se_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{1}{nRun} \times (S_{WL}^2 - (\frac{nRep-1}{nRep}) \times S_R^2)}$$

trong đó: nRun = 5, nRep = 5.

- Sai số chuẩn của giá trị đích (se_{RM}) giả định là 0 khi sử dụng mẫu QC.

- Tính sai số chuẩn kết hợp (se_c).

- Tính bậc tự do kết hợp (df_C).

- Xác định m theo hàm t student có độ chính xác 95% cho 2 mức QC.

- Tính khoảng xác nhận (VI - Verification interval).

Tính toán thống kê để đưa ra khoảng giá trị xác nhận của phương pháp. Nếu giá trị trung bình của vật liệu kiểm tra nằm trong khoảng xác nhận thì độ đúng của phòng xét nghiệm được xác nhận phù hợp với công bố của nhà sản xuất.

Trường hợp giá trị trung bình nằm ngoài khoảng xác nhận cần tiến hành tính độ chệch Bias giữa giá trị trung bình đo được với TV theo công thức sau:

$$\text{Bias} = \frac{\bar{X} - TV}{\bar{X}} \times 100\%$$

trong đó: TV là giá trị đích nhà sản xuất cung cấp.

So sánh Bias với Bias được cho phép (theo RCPA). Nếu BiasBias được cho phép thì độ đúng được xác nhận.

Đạo đức nghiên cứu

Vật liệu sử dụng là các mẫu QC thương mại, không thực hiện trên mẫu bệnh phẩm.

Kết quả

Đánh giá độ chụm

Tiến hành thực nghiệm trên 2 mức QC theo hướng dẫn EP15A3. Kết quả bảng 1 cho thấy, với QC1 giới hạn Grubb's là 2,474-2,75 (mmol/l); với QC2 giới hạn Grubbs là 16,17-17,717 (mmol/l). Tất cả các kết quả chạy lặp lại của 2 mức QC đều nằm trong giới hạn, nên không có số liệu lạc cần loại bỏ trong thực nghiệm.

Bảng 1. Xác định giới hạn Grubb's cho xét nghiệm.

Số lần chạy	QC 1					QC 2				
	Ngày 1	*Ngày 2*	*Ngày 3*	*Ngày 4*	*Ngày 5*	*Ngày 1*	*Ngày 2*	*Ngày 3*	*Ngày 4*	*Ngày 5*
1	2,6	2,6	2,6	2,7	2,6	16,8	16,9	16,8	17,1	17,2
2	2,6	2,7	2,6	2,6	2,6	16,9	17,2	16,8	17,1	16,9
3	2,6	2,6	2,6	2,7	2,6	17,3	17,3	16,6	16,8	17,1
4	2,6	2,6	2,6	2,5	2,6	17	16,5	16,4	16,7	17,2
5	2,6	2,7	2,6	2,6	2,6	16,8	16,9	16,9	17,1	17,3
Mean	2,612					16,944				
SD	0,043969687					0,246779254				
CV	1,683372379					1,456440354				
G	3,135					3,135				
Giới hạn Grubb's dưới	2,474					16,170				
Giới hạn Grubb's trên	2,74s					17,717				

Độ chụm ước tính của phòng xét nghiệm ở cả 2 mức QC nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất (QC1: S_R=0,04<0,1=, S_{WL}=0,04<0,1=; QC2: S_R=0,22<0,6=, S_{WL}=0,25<0,3=. Do vậy, độ chụm được xác nhận (bảng 2).

Bảng 2. Độ chụm ước tính bằng phân tích phương sai một chiều.

Anova	QC1						QC2					
Source of Variation	*SS*	*Df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	0,0064	4	0,0016	0,8	0,5393	2,866	0,4936	4	0,1234	2,549	0,071	2,866
Within Groups	0,04	20	0,002				0,968	20	0,0484			
Total	0,0464	24					1,4616	24				
MS1	0,0016						0,1234					
MS2	0,002						0,0484					
Vb	0						0,02					
Vw	0,002						0,05					
Sr	0,04						0,22					
Swl	0,04						0,25					
σR	0,1						0,6					
Σwl	0,1						0,3					
Nhận xét	Xác nhận						Xác nhận					

Đánh giá độ đúng

Kết quả bảng 3 cho thấy, giá trị trung bình quan sát của thực nghiệm ở cả 2 mức QC đều không nằm trong khoảng xác nhận, nhưng giá trị Bias nhỏ hơn với giá trị Bias được chấp nhận (4,5<8%, 2,1<8%) nên độ đúng của xét nghiệm được xác nhận.

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đúng.

	QC1	QC2
Giá trị trung bình	2,61	16,94
S_R	0,04	0,22
S_{WL}	0,04	0,25
Sai số chuẩn trung bình quan sát	0,008944272	0,070256672
Sai số chuẩn vật liệu tham chiếu	0	0
Sai số chuẩn hệ thống	0,008944272	0,070256672
Bậc tự do dfc = nRun - 1	4	4
Xác định m theo hàm student có độ chính xác 95% cho 2 mức QC	3,5	3,5
Giá trị đích (TV)	2,5	16,6
Khoảng xác nhận trên VI = TV + m*	2,47	16,35
Khoảng xác nhận dưới VI = TV - m*	2,53	16,85
Độ chệch Bias	4,5%	2,1%
Độ chệch tiêu chuẩn	8%	8%
Đánh giá	Xác nhận	Xác nhận

Bàn luận

EP15A3 là một hướng dẫn của tổ chức CLSI ban hành để hướng dẫn các phòng xét nghiệm xác nhận độ đúng và độ chụm của phương pháp xét nghiệm. Đây là quy trình đơn giản, tiết kiệm, dễ áp dụng và được các phòng xét nghiệm sử dụng phổ biến. Nghiên cứu này được tiến hành theo hướng dẫn EP15A3 nhằm xác nhận phương pháp xét nghiệm glucose máu trên máy Accu-chek Inform II.

Thực nghiệm đánh giá độ chụm được thực hiện bằng việc phân tích mẫu QC với 2 mức nồng độ lặp lại 5 lần trong mỗi lần chạy, trong 5 ngày liên tục. Tính toán các chỉ số giá trị trung bình, phương sai từ số liệu thu được, độ chụm ngắn hạn, độ chụm dài hạn và so sánh với công bố của nhà sản xuất. Tiêu chuẩn xác nhận theo hướng dẫn EP15A3 là độ chụm ngắn hạn và độ chụm dài hạn của phòng xét nghiệm nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất, trong trường hợp lớn hơn công bố của nhà sản xuất cần ước tính và so sánh với giới hạn xác nhận trên của phương pháp. Kết quả của thực nghiệm cho thấy, độ chụm trong một lần chạy và độ chụm giữa các lần chạy của xét nghiệm nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất ở cả 2 mức QC (QC1: S_R=0,04<0,1=, S_{WL}=0,04<0,1=; QC2: S_R=0,22<0,6=, S_{WL}=0,25<0,3= nên độ chụm của phương pháp được xác nhận. Ở trường hợp này, không cần tính giới hạn xác nhận trên cho độ chụm (UVL). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của T.D. Jeong và cs (2016) [5] khi tiến hành đánh giá quy mô lớn hiệu năng phương pháp máy Accu-chek Inform II trên 238 thiết bị, trong đó đánh giá độ chụm của 12 thiết bị theo hướng dẫn của EP05-A2. Theo nghiên cứu này, các thông số tiến hành thực nghiệm (CV mức 1: 2,7%; CV mức 2: 1,9%) đảm bảo độ chụm. Một nghiên cứu khác của A. Brouwers và cs (2005) [6] khi tiến hành nghiên cứu hiệu suất lâm sàng và phân tích máy đo nồng độ glucose máu Accu-chek Inform II cũng chỉ ra rằng độ chụm của phương pháp được xác nhận.

Thực nghiệm đánh giá độ đúng sử dụng các số liệu thu được từ chính thực nghiệm đánh giá độ chụm. Độ đúng được đánh giá qua giá trị trung bình quan sát, khoảng xác nhận. Theo hướng dẫn EP15A3, giá trị trung bình nằm trong khoảng xác nhận thì độ đúng được xác nhận (hay độ lệch được chấp nhận). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này giá trị trung bình đo được nằm ngoài khoảng xác nhận nên cần tiến hành tính độ lệch Bias (QC1: 4,5%, QC2: 2,1%) và so sánh với độ lệch chấp nhận. Nhiều tổ chức có uy tín như Hiệp hội Bệnh học Hoa Kỳ (College of American Pathologists), Phòng thí nghiệm Sức khỏe và Môi trường của Bang Wisconsin (Wisconsin State Labratory of Hygience), Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) có quy định về độ lệch chấp nhận hay dựa vào biến thiên sinh học quy định về độ lệch để xác định độ đúng khác nhau. Nghiên cứu này chúng tôi dựa vào tiêu chí chấp nhận độ lệch tối đa cho phép là 8% của RCPA (Chương trình ngoại kiểm tra chất lượng hóa sinh của Hiệp hội Hoàng gia Úc). Như vậy, theo kết quả thực nghiệm độ đúng được xác nhận.

Kết luận

Phương pháp xét nghiệm định lượng glucose máu trên máy Accu-chek Inform II cho thấy, độ chụm ngắn hạn là 0,04 ở mức QC1, 0,22 ở mức QC2 và độ chụm dài hạn là 0,04 ở mức QC1, 0,25 ở mức QC2 đều nhỏ hơn độ chụm của nhà sản xuất nên được công nhận. Khoảng xác nhận ở 2 mức nồng độ lần lượt là 2,47-2,53 (QC1) và 16,35-16,85 (QC2), giá trị trung bình quan sát được nằm ngoài khoảng xác nhận nhưng độ lệch (QC1: 4,5%, QC2: 2,1%) nhỏ hơn độ lệch tối đa cho phép là 8% nên độ đúng cũng được xác nhận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M.D.K. Linnet, J.C. Boyd (2016), "Selection and analytical evaluation of methods-with statistical techniques", *Basicmedical Key*, **2**, https://basicmedicalkey.com/selection-and-analytical-evaluation-of-methods-with-statistical-techniques/, accessed 20 September 2022.

[2] Roche Diagnostic GmbH (2017), *Máy xét nghiệm đường huyết Accu-Chek Inform II: Tóm tắt hướng dẫn vận hành thiết bị*, https://dmec.moh.gov.vn/documents/10182/3098079/upload_00062921_1505471594424.pdf?version=1.0&fileId=3127312, accessed 10 September 2022.

[3] R.N. Carey, F.P. Anderson, H. George, et al. (2006), "LSI EP15-A2 - User verification of performance for precision and trueness", *Clinical & Laboratory Standards Institute*, **25(17)**, pp.2-3.

[4] N. Carey, A.P. Durham, W.W. Hauck, et al. (2014), "EP15-A3 user verification of precision and estimation of bias", *Clinical & Laboratory Standards Institute*, **34(12)**, pp.1-13.

[5] T.D. Jeong, E.J. Cho, D.H. Ko, et al. (2016), "Large-scale performance evaluation of Accu-Chek inform II point-of-care glucose meters", *Scand. J. Clin. Lab. Invest*., **76(8)**, pp.657-663.

[6] A. Brouwers, D. Bernard, M. Langlois (2005), "Clinical and analytical performance of the Accu-chek Inform point-of-care glucose meter", *The Journal of Near-Patient Testing & Technology*, **4(1)**, pp.36-40.