



**Institut für Laboratoriumsmedizin,
Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik**

**Standards, Kontroversen und Perspektiven in
der Qualitätssicherung der Labordiagnostik
des Wachstumshormonmangels
(bei Kindern und Jugendlichen)**

Juergen Kratzsch

Berlin, 3. Juli 2009

Wachstumshormonmangel (GHD)

Häufigkeit 1: 4000-1:20000

Verdacht auf GHD wenn

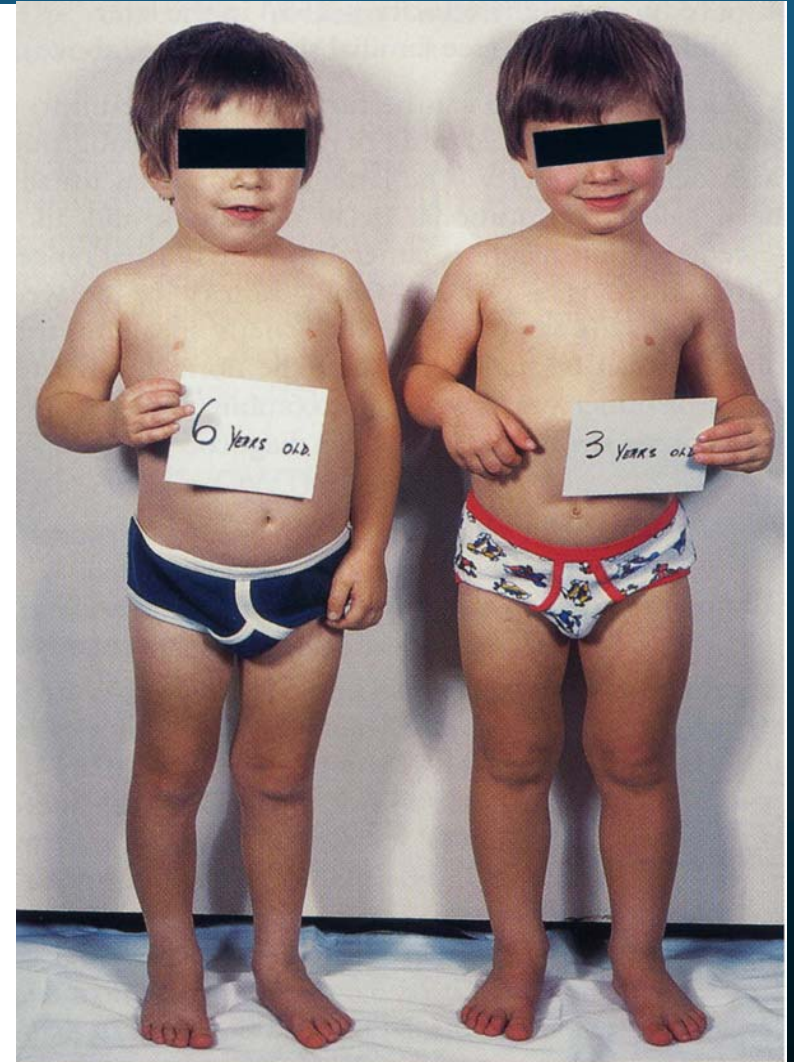
- Körperlängenwachstum ↓ ↓ ↓
- Reifungsverzögerung des Skeletts
- Serum IGF-I/IGFBP-3 ↓ ↓ ↓

Diagnose mittels **2 pathologischen GH-Stimulationstests**

Klinische Konsequenzen:

- Kleinwuchs
- vermehrte metabolische Störungen
- erhöhte Morbidität/Mortalität

Therapie: rhGH



Diagnose GHD bei Kinder-und Jugendlichen

0021-972X/00/08.00/0
The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism
Copyright © 2000 by The Endocrine Society

Vol. 85, No. 11
Printed in U.S.A.

CONSENSUS

Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Growth Hormone (GH) Deficiency in Childhood and Adolescence: Summary Statement of the GH Research Society*

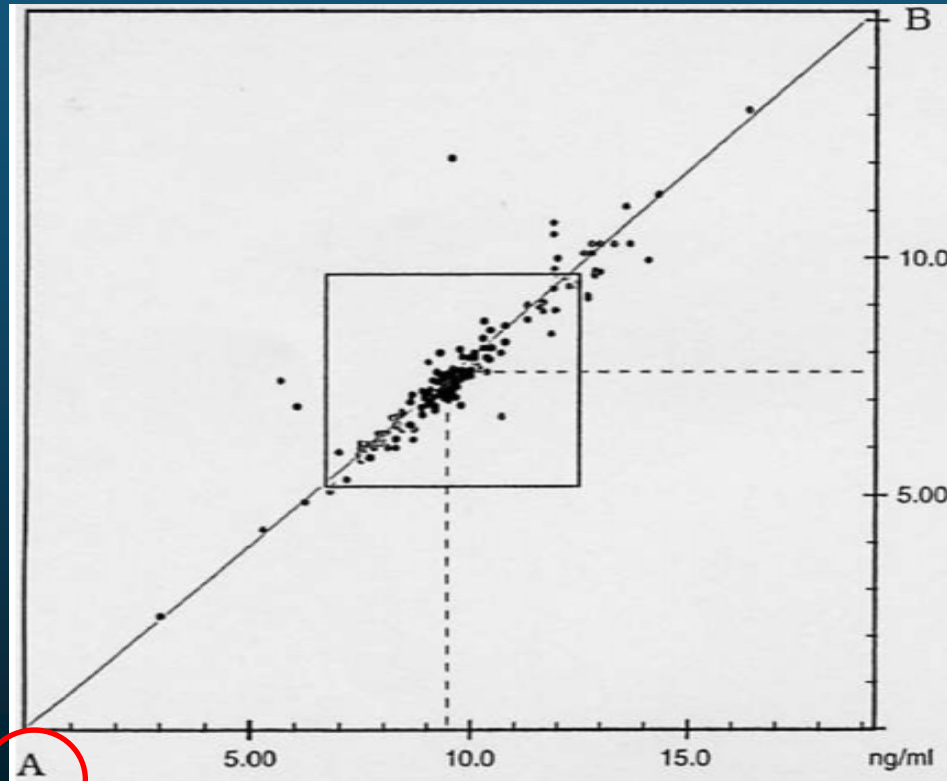
In a child with clinical criteria for GHD, a peak GH concentration below 10 $\mu\text{g/L}$ has traditionally been used to support the diagnosis. This value needs to be revised when using newer monoclonal-based assays and recombinant hGH reference preparations. There exists a continuum of GH

Empfehlung APE 2009: 8 $\mu\text{g/L}$ <http://www.uni-duesseldorf.de/awmf/III/089-001m.htm>

Voraussetzung für Methoden-unabhängige cut-point Diagnostik: hGH-Werte müssen vergleichbar sein !!!

Sind hGH-Messungen in Deutschland vergleichbar?

Ringversuch DGKL 1/2009



**174 Einsender,
22 verschiedene Methoden**

Probe A:

MW+/-SA: 9,66+/-1,83 µg/L

VK: 18,9%

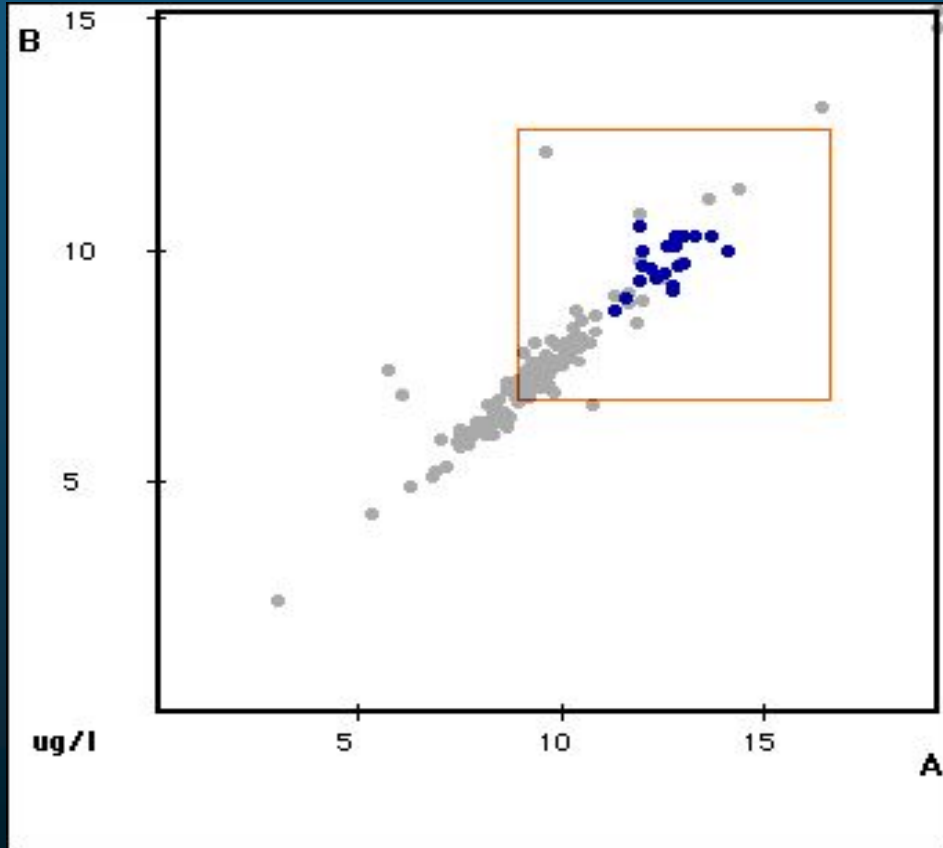
Bereich: 3,02-22,5 µg/L

Welche systematischen Unterschiede im Ergebnis von verschiedenen Assaymethoden gibt es?

Wie groß ist die Interlabor-Variabilität für einzelne Assaymethoden?

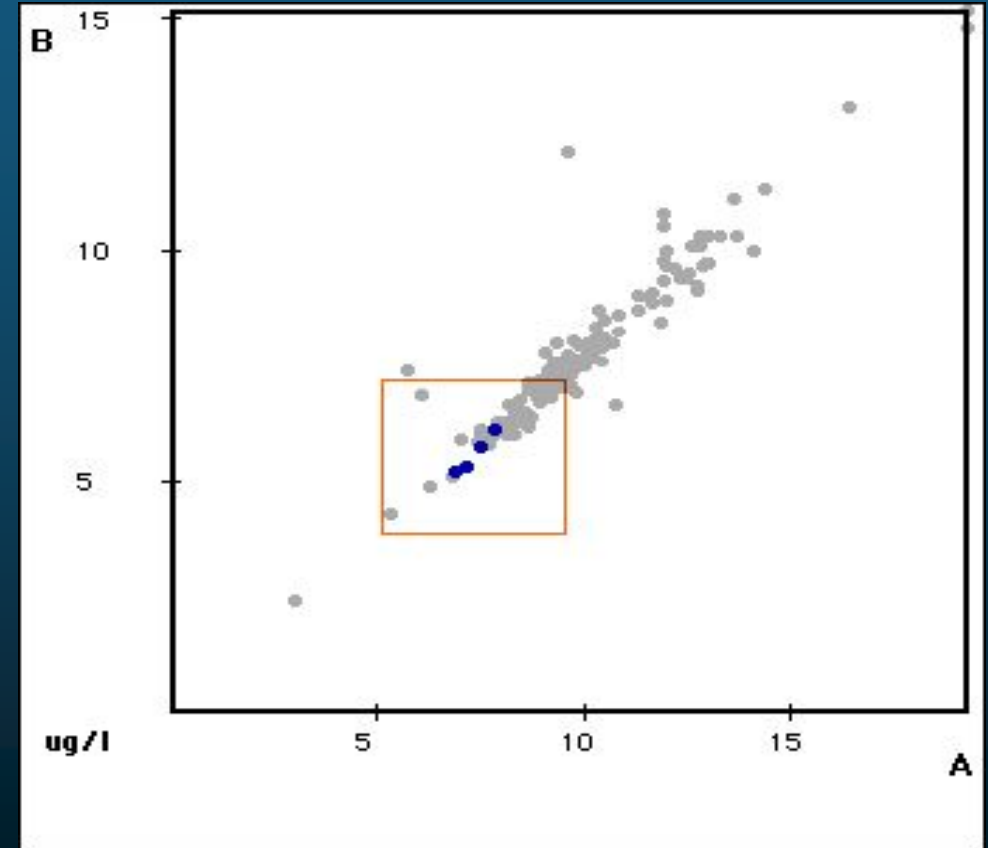
Methoden-abhängige Differenzen der hGH-Messung

RV (DGKL 1/2009)



Assay Methode 1: n=20
Bereich 11,3 –14,1 $\mu\text{g/L}$

➔ Normal



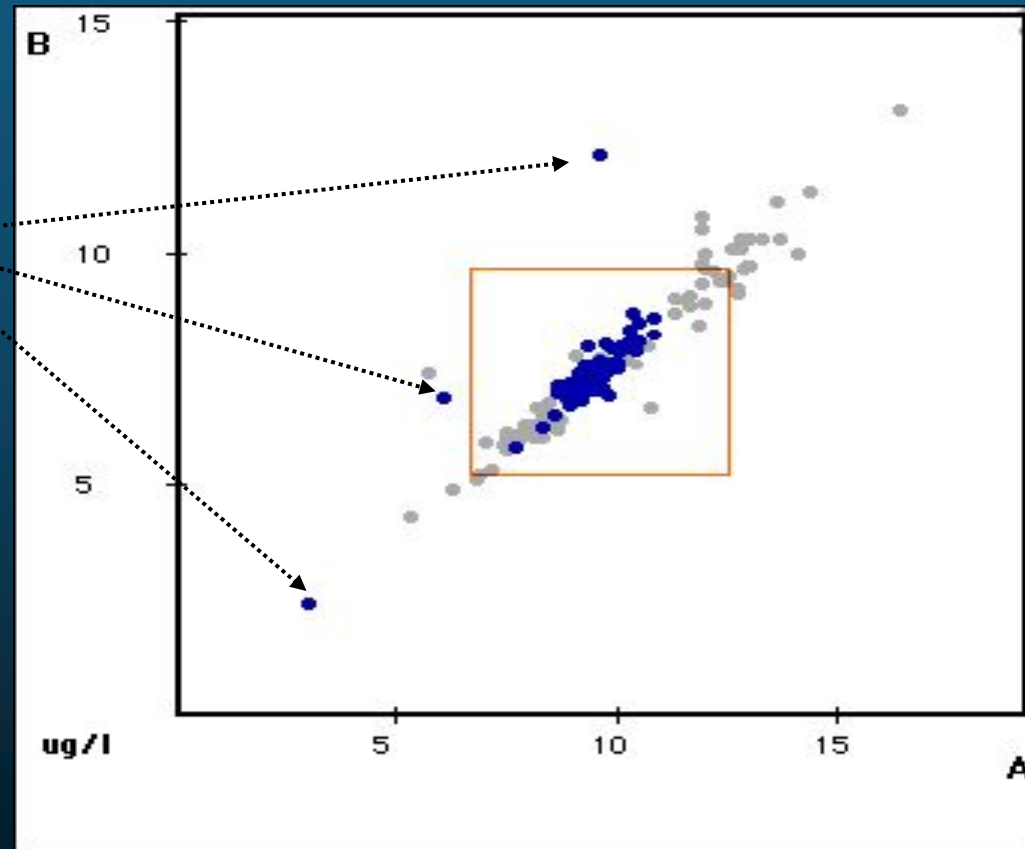
Assay Methode 2: n=4
Bereich 6,9-7,8 $\mu\text{g/L}$

➔ GHD

Inter-Labor Variabilität der hGH-Messungen

RV DGKL 1/2009)

Ausreißer ???



n=77: VK 10,7 %

Bereich 3,02-10,8 $\mu\text{g/L}$

Median: 9,57 $\mu\text{g/L}$; 16.-84.Perz. 9,0-10,2 $\mu\text{g/L}$

Ursachen für systematische Methoden-abhängigen Differenzen von hGH Assays

1) Durch Differenzen in der Epitopspezifität wird die molekulare Heterogenität des GH-Proteins nicht von den Antiseren verschiedener Assays gleichartig erkannt

2) Verwendung von verschiedenen Kalibratoren für die Standardisierung

1982: WHO 80/505 (2,6 IU=1mg)

1994: WHO 88/624 (3,0 IU=1mg)

2001: WHO 98/574 (3,0 IU=1mg)

3) Einfluss von hGH-Bindungsprotein auf die Antigen-Antikörper Wechselwirkung ?

Konzepte zur Verbesserung der Vergleichbarkeit von hGH-Messwerten

- 1) Mathematische Anpassung der hGH Messwerte
- 2) Verwendung eines einheitlichen Kalibrators IS 98/574 durch die Diagnostika-Produzenten
- 3) Blockierung von Störeffekten durch GH-Bindungsprotein im jeweiligen Assay

Können diese Konzepte zu einer besseren Vergleichbarkeit der Diagnose GHD bei Kindern und Jugendlichen führen ?

➡ Pilotstudie 2008/9

Pilotstudie 2008/9

Proben

Restserum von 316 Kindern und Jugendlichen mit der Verdachtsdiagnose GHD und hGH Messwerten $<15 \mu\text{g/L}$ (Immulite 2000)

Methoden, Hersteller, Kalibrator für die hGH Standardisierung

Auto DELFIA	IRMA	RIA	ELISA	IMMULITE 2000	LIAISON	Dxl 800
Perkin Elmer	DSL	In-house	Mediagnost	Siemens	DiaSorin	Beckman Coulter
80/505	88/624	98/574				

≈ Verwendung durch 85% aller Einsender der Ringversuche von Instand und DGKL

Ergebnisse

Konzentrations-abhängige Variationskoeffizienten für die Bestimmung von Einzelproben mittels 7 hGH-Assaymethoden

hGH ($\mu\text{g/L}$)	< 1,0 (n=33)	1,00-4,99 (n=106)	5,00-10,0 (n=121)	> 10,0 (n=56)
VK (%) (MW \pm SA)	74,5 \pm 52,3	30,1 \pm 10,9	25,4 \pm 8,7	24,4 \pm 8,5



Hohe VK-Werte von etwa 25% im Bereich des cut-points

Vergleich der hGH-Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$) von 7 Assay-Methoden

	Siemens IL2000	BC- Dxl	Auto- DELPIA	Tueb. RIA	DiaSorin Liaison	DSL- IRMA	Mediag ELISA	Alle
MW	5,90	3,89	5,63	4,24	4,77	3,18	3,91	4,50
SD	3,75	2,75	3,83	2,42	3,15	2,36	2,74	3,18
Median	5,44	3,46	4,95	3,90	4,20	2,67	3,55	3,99
x_{\min}	0,06	0,03	0,04	0,80	0,10	0,01	0,01	0,01
x_{\max}	14,8	12,7	16,5	11,7	15,2	11,3	13,8	16,50
25,Perc,	2,99	1,62	2,46	2,20	2,25	1,41	1,73	1,99
75,Perc,	8,48	5,96	8,61	5,85	7,10	4,99	5,88	6,50

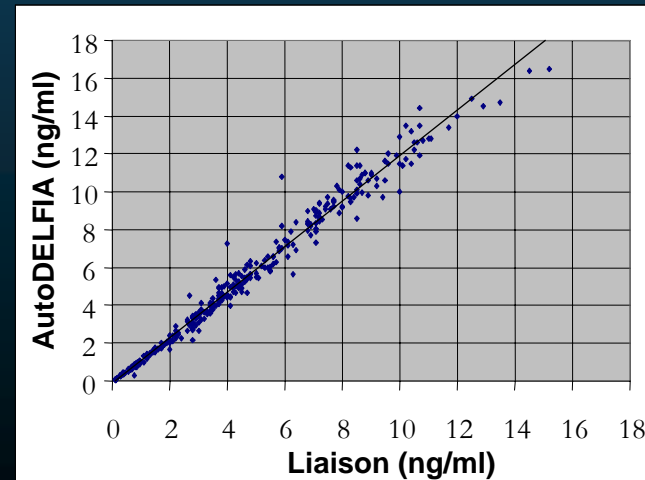
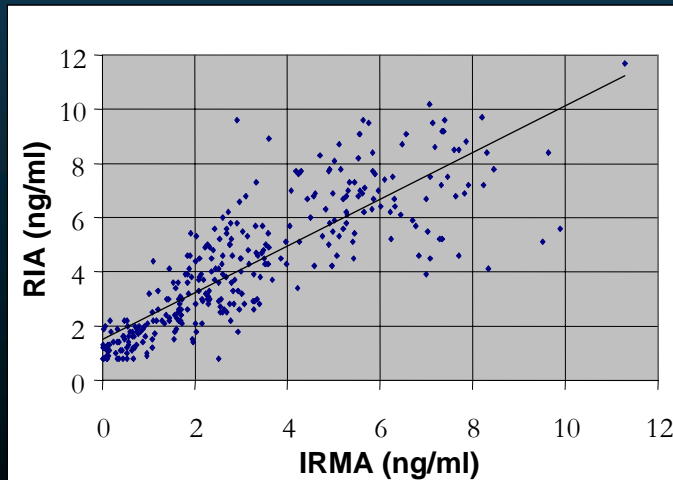


**Etwa 100% Methoden-abhängige Unterschiede im Ergebnis
der Messungen**

Korrelation der hGH-Werte zwischen den individuellen Assay-Methoden

Variationskoeffizient „r“ (p<0,001)

	RIA	DELFLA	Dxl	Liaison	IL2000	IRMA
DELFLA	0,87					
Dxl	0,97	0,92				
Liaison	0,86	0,99	0,91			
IL2000	0,86	0,95	0,92	0,94		
IRMA	0,83	0,92	0,89	0,91	0,95	
Mediag,	0,97	0,90	0,98	0,89	0,90	0,88



Mathematische Harmonisierung für hGH-Werte

1) Lineare Regression

- Berechnung einer Regressionsgerade zwischen einem „Goldstandard“ und allen anderen Assay-Methoden
- Rücktransformation aller Messwerte entsprechend der Regressionsgleichung

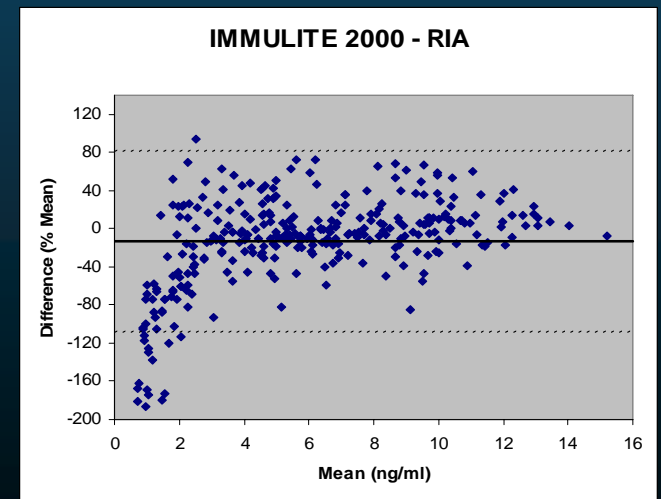
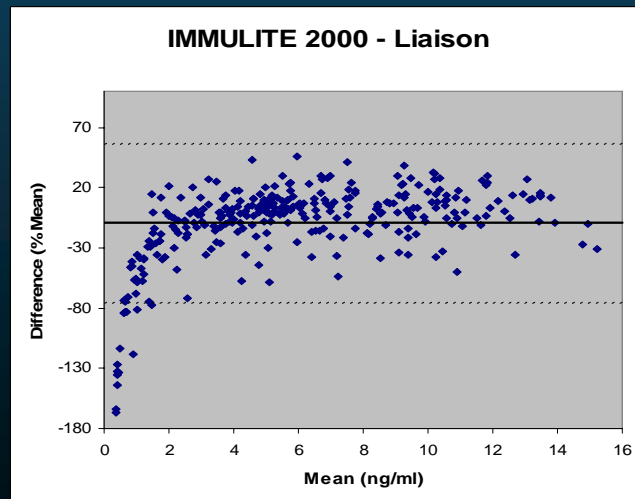
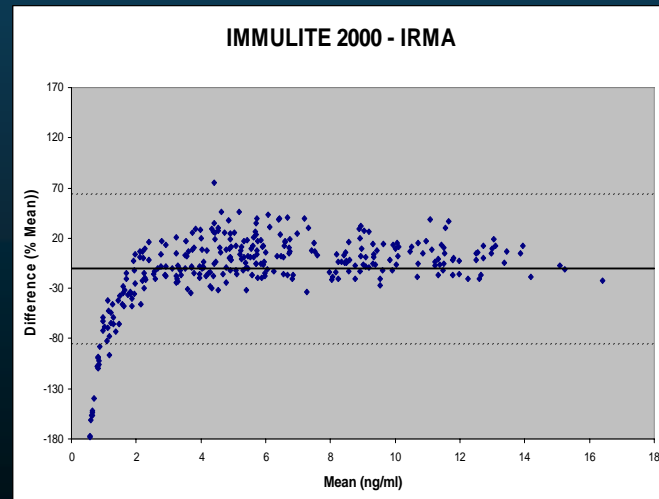
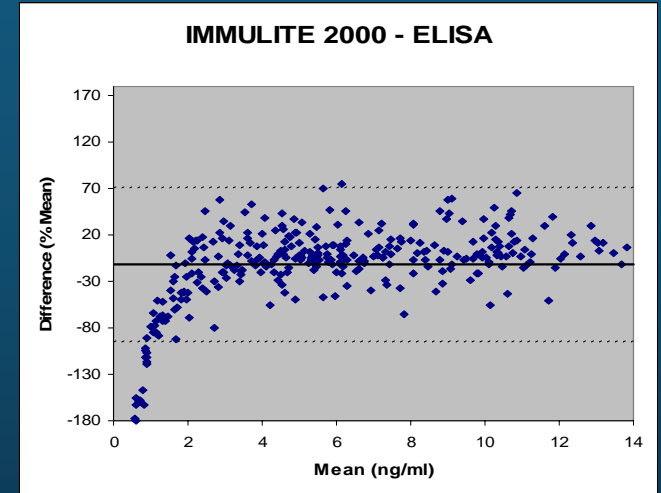
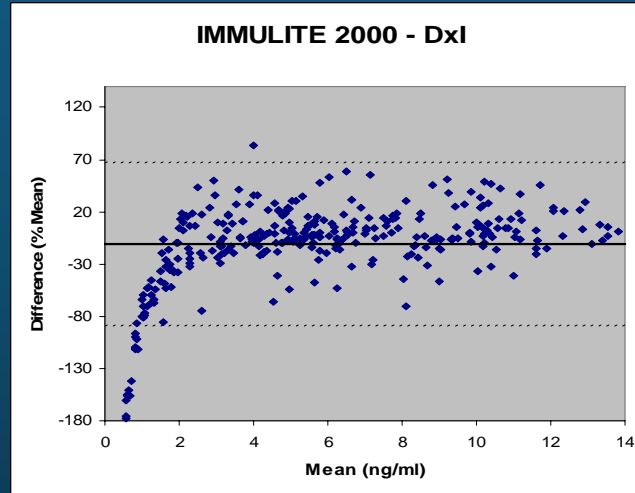
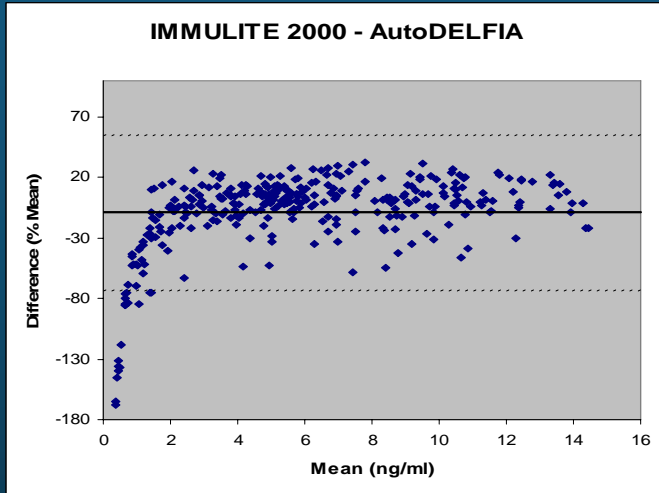
2) Konversionsfaktor

- Verhältnis zwischen dem MW der Ergebnisse aller Assaymethoden im Bereich zwischen 7-10 $\mu\text{g/L}$ und dem MW der entsprechenden Proben der jeweiligen einzelnen Assay-Methode
- Rücktransformation aller Messwerte entsprechend des Konversionsfaktors

Konzentrationsabhängige VK-Werte der hGH-Bestimmung nach Harmonisierung

hGH (µg/L)	Variationskoeffizient (%)			
	Unverrechnete Werte	Unverrechnet, Kal. 98/574 (n=5)	Konversions- Faktor	Lineare Regression
< 1,0 (n=33)	74,5 ± 52,3	35,7 ± 18,6	79,5 ± 56,0	32,2 ± 3,9
1,00-4,99 (n=106)	30,1 ± 10,9	24,8 ± 14,8	19,5 ± 11,7	12,1 ± 7,1
5,00-10,0 (n=121)	25,4 ± 8,7	19,7 ± 11,6	13,8 ± 7,6	11,7 ± 6,6
> 10,0 (n=56)	24,4 ± 8,5	21,5 ± 10,9	12,2 ± 8,8	11,2 ± 8,0

Linearität der hGH-Messwerte nach Harmonisierung



Vergleich der Diagnose GHD vs. Nicht-GHD vor und nach Harmonisierung

Anzahl von hGH-Werten unter dem cut-point 8 ng/ml (% von n=315)

	Unverrechnete Werte		Lineare Regression		Konversionsfactor	
	GHD	%	GHD	%	GHD	%
Immulite	223	70,8	223	70,8	261	82,9
AutoDELFI A	223	70,8	219	69,5	267	84,8
ELISA	288	92,0	228	72,8	268	85,6
IRMA	306	97,1	223	70,8	255	81,0
Liaison	257	81,6	221	70,2	267	84,8
RIA	289	91,7	235	74,6	281	89,2
UniCel Dxl	289	91,7	229	72,7	270	85,7
VK (%)		12,7		2,5		3,0

Die mathematische Harmonisierung führt zu einer deutlichen Verbesserung in der Vergleichbarkeit der Diagnose GHD

Einfluss von GH-Bindungsprotein auf die hGH-Konzentration

Korrelation für GH-Bindungsprotein (DSL) vs hGH-Messwert

Variablen	N	Spearman R	t(N-2)	p-Niveau
GHBP & Beckmann-Coulter Dxl	316	-0,074	-1,312	0,191
GHBP & AutoDELFIA	316	-0,073	-1,299	0,195
GHBP & RIA Tuebingen	316	-0,032	-0,565	0,572
GHBP & Liaison	316	-0,027	-0,477	0,634
GHBP & Immulite	316	-0,089	-1,578	0,116
GHBP & IRMA DSL	315	-0,101	-1,802	0,072
GHBP & Mediagnost ELISA	314	-0,056	-0,997	0,319



Keine Änderung der Ergebnisse nach Adjustierung der Daten auf Geschlecht und Alter als Einflussfaktoren

Zusammenfassung

- Der derzeitige Methoden-unabhängige VK für die Bestimmung von hGH beträgt ca. 25% im Bereich des cut-points für die Diagnostik von GHD bei Kindern und Jugendlichen.
- Die ausschließliche Verwendung des Kalibrator 98/574 reduziert den VK-Wert auf etwa 20%.
- Eine zusätzliche mathematische Harmonisierung kann den Variationskoeffizient weiter auf 11-14% vermindern, was im Bereich der Interlaborvariabilität von Vollautomaten liegt und zu einer deutlichen Verbesserung der Vergleichbarkeit der Diagnose GHD führt.
- Ähnliche Ansätze zur Harmonisierung der hGH Messung in den Niederlanden und Japan unterstützen unsere Ergebnisse.

Schlussfolgerungen

Die mathematische Harmonisierung der hGH-Messung scheint ein geeignetes Verfahren zur Verbesserung der Qualität in der Labordiagnostik des GHD bei Kindern und Jugendlichen zu sein.

Die Einführung eines solchen diagnostischen Hilfsmittels in die Praxis des endokrinologischen Labors ist realistisch, bedarf aber kollektiver Anstrengungen von Vertretern der Qualitätskontrollenrichtungen sowie der DGKL und der AG Pädiatrische Endokrinologie.

Danke !

Oliver Blankenstein, Berlin

Gerhard Binder, Tübingen

Annegret Heider, Halle

Antje Körner, Leipzig

Wieland Kiess, Leipzig

Joachim Thiery, Leipzig

Alec Ross, Nijmegen

INSTAND eV

Statistical Harmonisation of hGH Results: The Dutch Approach

(Concept of the Dutch Foundation for Quality Assessment in Clinical Laboratories; Ross A, Clin Chem Lab Med 2008)

- Cut-point GHD for children and adolescents: 6,6 ng/ml
- Serum from healthy volunteers in whom GH production is stimulated by exercise is used to establish a consensus sample
- The target of the consensus sample must be established as the mean of current methods of about 6,6 ng/ml, The patient's hGH results has to be transferred to the harmonization result by a conversion factor,
- The procedure has been successfully accepted in the practical work of endocrinological laboratories for some years

Statistical Harmonisation of hGH Results: The Dutch Approach

Example for the re-calculation of hGH levels by harmonization

- 1) Consensus level of the harmonization sample is sent to the lab and defined to have a target level of 5,80 ng/ml
- 2) Patients sample A (directly measured): 4,67 ng/ml
- 3) Harmonization sample (directly measured): 6,33 ng/ml
- 4) Harmonization of sample A to:
 $4,67 \times 5,8 / 6,33 = 4,28 \text{ ng/ml}$

Statistical Harmonisation of hGH Results: The Dutch Approach

