

Application Note 8



Procjena zamjenjivosti referentnog materijala

20.2.2020

Zamjenjivost je preuvjet za referentne materijale koji su namijenjeni za uporabu za umjeravanje ili kontrolu kvalitete postupaka mjerenja koji se odnose na istu mjerenu veličinu. Ova uputa za primjenu objašnjava pojam zamjenjivosti i pojašnjava informacije o zamjenjivosti koje se navode na certifikatima ERM. Uz to, ova uputa također opisuje najvažnije aspekte ispitivanja zamjenjivosti.

UVOD

U nekoliko znanstvenih područja (uključujući kliničku kemiju) nesukladnost rezultata između različitih postupaka mjerenja koja se odnose na istu mjeru veličinu predstavlja veliki problem. Napori za standardizaciju ili usklađivanje ovih mjernih postupaka često se temelje na uporabi referentnih materijala za umjeravanje ili kontrolu kvalitete. Zamjenjivost upotrijebljenih referentnih materijala od temeljne je važnosti kako bi ti napori bili uspješni.

Međunarodni mjeriteljski rječnik (VIM) definira zamjenjivost referentnog materijala kao svojstvo dane referentne tvari kojim se dokazuje bliskost slaganja između odnosa među mernim rezultatima za navedenu veličinu u toj tvari dobivenu u skladu s dva dana merna postupka i odnosa koji se dobije među mernim rezultatima za druge obične uzorce [1]. U svakodnevnom jeziku zamjenjivost se može opisati kao svojstvo referentnog materijala koje pokazuje u kolikoj mjeri referentni materijal oponaša osobine tipičnog običnog uzorka u različitom postupcima mjerenja za mernu veličinu.

ZAMJENJIVOST REFERENTNOG MATERIJALA

Prema standardu ISO 17034, proizvođač referentnog materijala dužan je osigurati da referentni materijal bude prikladan za predviđenu namjenu. Stoga zamjenjivost referentnog materijala treba ocijeniti kada je to moguće. Za referentne materijale ERM®, informacije o zamjenjivosti mogu se pronaći na certifikatima, pod rubrikom „upute za upotrebu i namjeravanu uporabu“ (vidi Sliku 1) ili na certifikacijskim izvješćima, pod zaglavljem „zamjenjivost“. Isti referentni materijal može biti zamjenjiv za neke mjerne postupke, ali nezamjenjiv za druge postupke. Iskaz zamjenjivosti je stoga valjan samo za navedene mjerne postupke.

Tijekom razvoja referentnog materijala ulazu se napori kako bi se uključio što veći mogući

broj mernih postupaka, osobito ako se temelje na različitim analitičkim mernim načelima. Međutim, možda neće biti moguće uključiti sve dostupne mjerne postupke ili novi merni postupci mogu postati dostupni nakon izdavanja referentnog materijala. Uz to, trebalo bi voditi računa o tome da bitne promjene u mernom postupku, kao što je izmijenjena formula reagensa, mogu poništiti iskaz zamjenjivosti za određeni merni postupak.

Ako korisnik namjerava upotrebljavati referentni materijal za umjeravanje ili kontrolu kvalitete mernog postupka koji nije bio obuhvaćen procjenom zamjenjivosti koju je proveo proizvođač referentnog materijala, korisnik je dužan provjeriti zamjenjivost referentnog materijala za merni postupak koji se namjerava upotrijebiti.

INSTRUCTIONS FOR USE AND INTENDED USE

The vials shall be thawed at room temperature. Avoid vortexing or inverting the vial in order to prevent contact between the solution and additional surface of the vial.

The materials are intended for the calibration of methods, quality control and/or the assessment of method performance. As with any reference material, they can be used for establishing control charts or in validation studies. ERM-DA482/IFCC was shown to be commutable for the combination of the following routine measurement procedures:

- EUROIMMUN beta-amyloid (1-42) (EUROIMMUN AG, Lübeck, DE)
- IBL Amyloid-beta (1-42) CSF ELISA (IBL International GmbH, Hamburg, DE)
- INNOTEST® β -AMYLOID(1-42) (Fujirebio Europe, N.V., Gent, BE)
- Lumipulse® (Fujirebio Europe N.V., Gent, BE)
- V-PLEX® A β Peptide Panel 1 (6E10) (Meso Scale Discovery, LLC., Rockville, MD, US)
- Roche Elecsys β -amyloid (1-42) (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, DE)

If ERM-DA482/IFCC is used for the calibration of other A β -1 α routine measurement procedures it should be verified by the user that the material or its dilutions used are commutable. The minimum sample intake for which within-vial homogeneity was proven is 15 μ L. For smaller sample intakes the user needs to verify the within-vial homogeneity.

Slika 1.: Primjer odjeljka certifikata s uputama za uporabu i namjeravanu uporabu.

KLJUČNI ASPEKTI ISPITIVANJA ZAMJENJIVOSTI

Na ovom se popisu navodi sažetak aspekata pripreme ispitivanja zamjenjivosti. Radna skupina IFCC-a o zamjenjivosti (WG-C) objavila je 2018. smjernice o općem dizajnu ispitivanja zamjenjivosti za kliničku kemiju i na njima se temelji ovaj popis [2].

Rukovanje referentnim materijalom

Upute za uporabu, kao što je protokol za otapanje, moraju se strogo poštovati kada se priprema referentni materijal. Ako se referentni materijal namjerava otapati (na primjer, za uspostavljanje krivulje umjeravanja), otopljeni oblici moraju biti obuhvaćeni ispitivanjem zamjenjivosti. Poznato je da matrica ima znatan učinak na zamjenjivost referentnog materijala, stoga je odabir otapala od ključne važnosti. U slučaju sumnje, korisnicima se savjetuje da se obrate proizvođaču referentnog materijala.

Reprezentativni uzorci za obične uzorke

Uzorci koji se upotrebljavaju u ispitivanju zamjenjivosti trebali bi ispunjavati sljedeće zahtjeve:

- Trebali bi biti reprezentativni za obične uzorke koji će se mjeriti mjernim postupkom relevantnim u stvarnoj životnoj situaciji. Varijacije u sastavu matrice ili razni izoblici mjerne veličine koji mogu biti prisutni u običnim uzorcima trebali bi biti obuhvaćeni u što većoj mjeri. Međutim, također bi trebalo uzeti u obzir ograničenja selektivnosti mjernog postupka. Uzorke koji sadrže poznate interreferirajuće tvari ili izoblike mjerne veličine koji se ne mogu ispravno izmjeriti trebalo bi isključiti.
- Iz praktičnih razloga moglo bi biti potrebno uzorke koji se upotrebljavaju u ispitivanju zamjenjivosti obraditi drugačije nego obične uzorke. Učinak svake izmjene (npr., okupljanje uzorka, priprema alikvota, dugotrajna pohrana, zamrzavanje i upotreba konzervansa) na zamjenjivost uzorka trebao bi se procijeniti prije početka ispitivanja zamjenjivosti.
- Koncentracije mjerne količine u uzorcima trebale bi pokrivati razuman odsječak oko koncentracije referentnog materijala.
- Kako bi se pouzdano utvrdio odnos običnih uzorka unutar istog kompleta, zamjenjivost bi trebala obuhvatiti dovoljan broj uzorka. Stoga je obično potrebno najmanje 30 uzorka.

Mjerni postupci

Procjena zamjenjivosti temelji se na usporedbi rezultata mjerjenja dobivenih dvama različitim mjernim postupcima. Uz mjerni postupak koji je predmet interesa treba odabrat i usporedni mjerni postupak. Idealno bi bilo da to bude mjerni postupak (ili jedan od mjernih postupaka) koji se upotrebljava za karakterizaciju referentnog materijala. Ako ne,

može se odabrat drugi mjerni postupak, za koji se pokazalo da je CRM zamjenjiv.

Mjerni postupci uključeni u ispitivanje zamjenjivosti moraju imati sličnu selektivnost za mjeru veličinu. Mjerni postupci s drugačijom selektivnošću mogu se prepoznati zahvaljujući prisutnosti prekomjernih posebnih učinaka uzorka. U tom slučaju nije moguće uspostaviti pouzdanu vezu između testova za obične uzorke te se stoga zamjenjivost referentnog materijala.

Mjerne serije

Referentni materijal i uzorci trebali bi se mjeriti u odgovarajućem broju opetovanih mjerena. Preporučuju se najmanje tri opetovana mjerena jer se tako omogućuje uklanjanje jednog opetovanog mjerena u slučaju tehničke greške, a da se ne trebaju ukloniti svi rezultati za taj uzorak. Ovisno o mogućnosti ponavljanja mjernih postupaka, može biti potrebno više opetovanih mjerena.

Također se preporučuje provedba mjerena u jednom ciklusu kako bi se smanjio učinak varijabilnosti između ciklusa. Prisutnost analitičkog pomaka unutar jednog ciklusa može se nadomjestiti provedbom opetovanih mjerena na referentnom materijalu na različitim položajima u mjernim nizovima.

Statistička procjena

U literaturi je opisano nekoliko analiza za statističku procjenu zamjenjivosti. Za popis su odabrane samo tri analize:

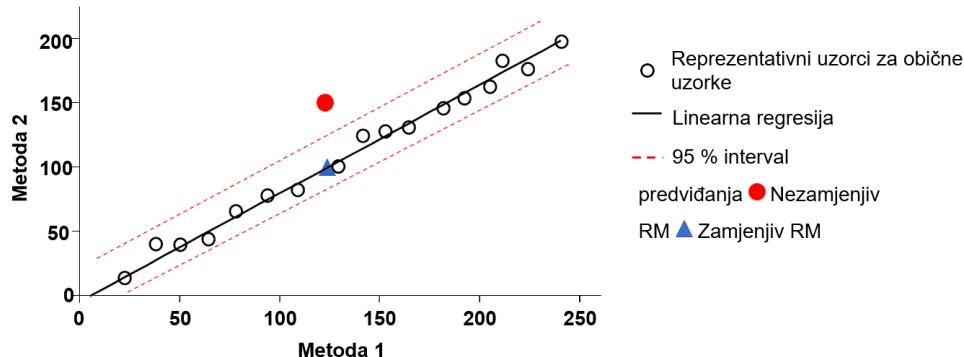
1. Regresijska analiza s 95 % intervala predviđanja

Smjernica EP30-A Instituta za standarde u kliničkom laboratoriju (CLSI) [3] objavljena je 2010. i u širokoj je uporabi u procjeni zamjenjivosti već nekoliko godina. Smjernica opisuje pristup u kojem se regresijska analiza provodi na rezultatima mjerjenja dobivenima za obične uzorke s dva mjerna postupka. Smatra se da je referentni materijal zamjenjiv ako njegovi podaci ulaze u 95 % interval predviđanja utvrđen običnim uzorcima (vidi Sliku 2.). Međutim, ovaj pristup ima nekoliko nedostataka. Prvo, raspon intervala predviđanja utvrđuje se korelacijom između rezultata uzorka dvaju mjernih postupaka. Ako je korelacija slaba zbog posebnih učinaka uzorka ili varijabilnosti testova, interval predviđanja bit će prilično širok i povećava se vjerojatnost da se referentni materijal smatra zamjenjivim. Drugo, rezultat se dobiva samo u obliku da/ne odgovora, a ne uzima se u obzir položaj točku podataka referentnog materijala unutar intervala predviđanja (u sredini s tendencijom prema granicama).

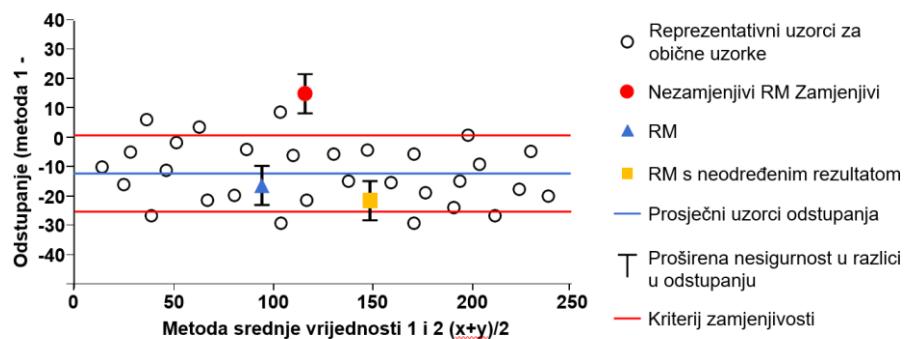
2. Razlika u analizi odstupanja

Analiza „razlike u odstupanju“ jedan je od dvaju pristupa koje predlaže IFCC WG-C [4]. Ovaj pristup količinski izražava bliskost sustavne razlike između rezultata dvaju mjernih postupaka (npr. odstupanje) za testirani referentni materijal s prosječnom pristranošću običnih uzoraka. Uz to, nesigurnost povezana s razlikom u odstupanju također se procjenjuje. Referentni materijal smatra se zamjenjivim ako je razlika u odstupanju i povezanoj nesigurnosti manja nego unaprijed utvrđen kriterij zamjenjivosti (vidi Sliku 3.). Kriterij bi se trebao temeljiti na zahtjevima primjene. Rezultat analize neodređen je kada se povezana nesigurnost preklapa s kriterijem zamjenjivosti.

3. Analiza učinkovitosti umjeravanja referentnog materijala



Slika 2.: Shematski prikaz rezultata procjene zamjenjivosti prema regresijskoj analizi s 95 % intervalom predviđanja.



Slika 3.: Shematski prikaz rezultata procjene zamjenjivosti prema pristupu u razlici u odstupanju.

- [1] Međunarodni mjeriteljski rječnik - osnovni i opći pojmovi i pridruženi nazivi, 3. izd. (VIM 3) dostupno na <http://www.bipm.org> ili kao vodič ISO/IEC 99-12:2007
- [2] Miller i dr. Klinička kemija 64 (2018):447-54
- [3] Institut za standarde u kliničkom laboratoriju (CLSI). Karakterizacija i kvantifikacija zamjenjivih referentnih materijala za laboratorijsku medicinu; Odobrene smjernice. CLSI dokument EP30-A (ISBN 1-5628-726-X)
- [4] Nilsson i dr. Klinička kemija 64 (2018):455-64
- [5] Budd i dr. Klinička kemija 64 (2018):465-74

Drugi pristup koji preporučuje IFCC WG-C upotrebljava učinkovitost umjeravanja referentnog materijala kako bi se procijenila njegova zamjenjivost [5]. Dva mjerna postupka umjeravaju se upotrebom referentnog materijala, a referenti se materijal smatra zamjenjivim ako je odstupanje između rezultata dvaju mjernih postupaka za obične uzorke unutar unaprijed utvrđene prihvatljive razine jednakovrijednosti koja se temelju na zahtjevima primjene. Smatra se da referentni materijal nije zamjenjiv u slučaju da se nakon umjeravanja mjernih postupaka rezultati običnih uzoraka ne podudaraju. Međutim, također treba uzeti u obzir i druge razloge neslaganja, kao što je nedostatak podudarnosti umjeravanja.