

Az anyagminták felcserélhetőségének vizsgálata

2020 02 20

A felcserélhetőség az anyagmintákkal (RM) szemben fennálló előfeltétel, amennyiben azok tervezett felhasználása ugyanazon mérendő mennyiségre irányuló különböző mérési eljárások kalibrálása vagy minőségellenőrzése. A jelen alkalmazási jegyzet elmagyarázza a felcserélhetőség fogalmát, és tisztázza az ERM-tanúsítványokon feltüntetett, felcserélhetőségre vonatkozó információkat. Ezen túlmenően, a jelen jegyzet leírja a felcserélhetőségi vizsgálat legfontosabb vonatkozásait.

Szerző: Liesbet Deprez

Európai Bizottság - Közös Kutatási Központ
Retieseweg 111, 2440 Geel, Belgium

Email: liesbet.deprez@ec.europa.eu

BEVEZETÉS

Az ugyanazon mérendő mennyiség vonatkozásában elvégzett különböző mérési eljárások eredményei közötti eltérések számos tudományterületnek (ide értve a klinikai kémiát is) a központi kérdése. Ezeknek a mérési eljárásoknak a szabványosítására vagy harmonizálására irányuló erőfeszítések gyakran támaszkodnak anyagminták felhasználásával végzett kalibrálásra vagy minőségellenőrzésre. A felhasznált anyagminták felcserélhetősége alapvető fontosságú annak érdekében, hogy biztosítani lehessen ezen törekvések sikerét.

A Nemzetközi Metrológiai Értelmező Szótár (VIM 3) meghatározása szerint az anyagminta felcserélhetősége adott hiteles anyagmintának az a tulajdonsága, amit két adott mérési eljárásnak megfelelően az egyik anyagban levő egy megadott mennyiségére kapott mérési eredmények közötti összefüggésnek a más megadott anyagok mérési eredményei között kapott összefüggéssel való szoros egyezősége bizonyít [1]. Közérthetőbb nyelvezettel a felcserélhetőség leírható úgy, mint egy anyagmintának azon tulajdonsága, amely azt jelzi, mennyire jól utánozza az adott anyagminta egy tipikus rutin minta jellemzőit különböző mérési eljárások során egy meghatározott mérendő mennyiség esetében.

HITELES ANYAGMINTÁK FELCSERÉLHETŐSÉGE

AZ ISO 17034 szabvány szerint az anyagminta gyártója felel annak biztosításáért, hogy egy anyagminta (RM) megfeleljen a tervezett felhasználásnak. Ezért amennyiben ez szükséges, az anyagminta felcserélhetőségét meg kell vizsgálni. Az ERM®-RMs esetében a felcserélhetőségre vonatkozó információ megtalálható a tanúsítványokon, a „Használati utasítás és tervezett felhasználás” cím alatt (lásd 1. ábra), vagy a tanúsítási jelentésekben a „felcserélhetőség” cím alatt. Ugyanaz az anyagminta bizonyos mérési eljárások

esetében felcserélhetőnek minősülhet, míg más eljárások esetében nem. A felcserélhetőségi nyilatkozat ezért kizárólag a hivatkozott mérési eljárások tekintetében érvényes.

Az anyagminta fejlesztése során az a cél, hogy az a lehető legnagyobb számú, különböző mérési eljárás során felhasználható legyen, különösen, ha ezek eltérő analitikai mérési elveken alapulnak. Előfordulhat azonban, hogy nem lehetséges minden rendelkezésre álló mérési eljárást lefedni, vagy új mérési eljárások válnak elérhetővé az anyagminta kibocsátását követően. Ezen túlmenően nem felelhetünk meg arról sem, hogy egy konkrét mérési eljárás esetében a mérési eljárás lényeges változásai, mint például a reagens módosított összetétele, érvénytelenítheti a felcserélhetőségi nyilatkozatot.

Amennyiben egy felhasználó egy anyagmintát olyan kalibrálásra vagy egy olyan mérési eljárás minőségellenőrzésére kíván felhasználni, amely nem volt része az anyagminta gyártója által elvégzett felcserélhetőségi vizsgálatnak, a felhasználó felelőssége érvényesíteni az anyagminta felcserélhetőségét a tervezett mérési eljárásra vonatkozóan.

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® Aβ 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 Aβ₁₋₄₂ 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 µL. For smaller sample intakes the user needs to verify the within-vial homogeneity.

1. ábra: Példa a tanúsítvány „Használati utasítás és tervezett felhasználás” című részére

A FELCSERÉLHETŐSÉGI VIZSGÁLATOK LÉNYEGES VONATKOZÁSAI

A jelen lista összefoglalja a felcserélhetőségi vizsgálat lényeges aspektusait. 2018-ban az IFCC felcserélhetőséggel foglalkozó munkacsoportja (WG-C) nyilvánosságra hozta a klinikai kémia területén végzett felcserélhetőségi vizsgálatok általános, kísérleti tervezésére vonatkozó iránymutatásait, ezek képezik a jelen lista alapját [2].

Az anyagminta kezelése

Az anyagminta elkészítésekor a felhasználási utasításban foglaltak, így például a rekonstitúcióra vonatkozó protokoll, szigorúan betartandóak. Amennyiben egy anyagminta az előírások szerint hígításra kerül (például egy kalibrációs görbe előállítására céljából), a hígított formát kötelező feltüntetni a felcserélhetőségi vizsgálatban. Mint ismeretes, a mátrix jelentős hatással bír az anyagminta felcserélhetőségére, ezért az oldószer megválasztása lényeges. Amennyiben kétségek merülnek fel, javasolt, hogy a felhasználó forduljon az anyagminta gyártójához.

A rutin mintákra vonatkozó reprezentatív minták

A felcserélhetőségi vizsgálatban feltüntetett mintáknak az alábbi követelményeknek kell megfelelniük:

- Reprezentatívnak kell lenniük azokra a rutin mintákra nézve, amelyek a valós helyzetben az adott mérési eljárással kerülnek mérésre. A mátrix összetételének különböző változatait, vagy a mérendő mennyiség különböző izoformáit, amelyek a rutin mintákban jelen lehetnek, a lehető legnagyobb mértékben le kell fedni. A mérési eljárás szelektivitási korlátait azonban szintén figyelembe kell venni. Ki kell zárni az ismert zavaró anyagokat vagy mérendő mennyiségek olyan izoformáit tartalmazó mintákat, amelyeket nem lehet megfelelően mérni.

Gyakorlati okok miatt szükséges lehet a felcserélhetőségi vizsgálatban használt mintákat a rutin mintáktól eltérően kezelni. A felcserélhetőségi vizsgálat megkezdése előtt fel kell mérni bármilyen módosításnak a minták felcserélhetőségére gyakorolt hatását (például minták összevonása (pooling), alikvotok készítése, tartós tárolás, fagyasztás, tartósítószer használata).

- A mintában a mérendő mennyiség koncentrációinak az anyagminta koncentrációja körüli ésszerű tartományban kell lennie.
- A rutin minták vizsgálatok közötti (inter-assay) kapcsolatának megbízható megállapítása érdekében a felcserélhetőségi vizsgálat során megfelelő mennyiségű minta felhasználására van szükség. Ezért általában minimum 30 minta felhasználása ajánlott.

A mérési eljárások

A felcserélhetőség vizsgálata két különböző mérési eljárásból származó mérési eredmények összehasonlításán alapszik. A releváns mérési eljárás mellett ki kell választani egy összehasonlító mérési eljárást is. Ideális esetben ez az a mérési eljárás (vagy azon mérési eljárások egyike), amelyet az anyagminta tulajdonságainak leírására használnak. Egyéb esetben egy másik, olyan mérési eljárást is lehet választani, amelyre vonatkozóan a hitelesített anyagminta felcserélhetőséget mutat.

A felcserélhetőségi vizsgálatban foglalt mérési eljárásoknak a mérendő mennyiség tekintetében hasonló szelektivitást kell mutatniuk. A különböző szelektivitással rendelkező mérési eljárásokat a túlzott mértékű mintaszpecifikus hatások jelenléte alapján lehet azonosítani. Ebben az esetben nem lehetséges megbízhatóan megállapítani a rutin minták vizsgálata közötti kapcsolatot, ezért az anyagminta felcserélhetősége nem értékelhető.

Mérési sorozatok

Az anyagmintát és a mintákat megfelelő számú ismétléssel kell vizsgálni. Legalább három ismétlés javasolt, mivel ez technikai hiba esetén lehetővé teszi egy ismételt mérés eltávolítását anélkül, hogy az adott mintára vonatkozó összes eredményt ki kellene zárni. A mérési eljárások megismételhetőségétől függően több ismételt mérésre is szükség lehet.

Ajánlott továbbá az összes mérést egy sorozatban elvégezni, az egyes sorozatok variabilitása által okozott hatás minimalizálása érdekében. Az adott sorozaton (run) belüli analitikai sodródás (drift) jelenlétét úgy lehet lefedni, ha ismételt méréseket végzünk, amelyek során az anyagminta a mérési sorozatokban különböző pozíciókat foglal el.

Statisztikai értékelés

A felcserélhetőség statisztikai értékelése céljából a szakirodalom számos elemzést ír le. A jelen lista céljára mindössze három került kiválasztásra:

1. Regresszió analízis 95%-os előrejelzési tartománnyal

2010-ben került kiadásra a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [3] EP30-A iránymutatása, ami már több éve széles körben használatos a felcserélhetőségi értékelések céljára. Az iránymutatás által leírt megközelítés alapján regresszió analízist kell végezni rutin mintákon két mérési eljárás során kapott eredményekre. Az anyagminta akkor tekinthető felcserélhetőnek, ha annak adatpontja a rutin minták által meghatározott 95%-os előrejelzési tartományon belül van (lásd 2. ábra). Ennek a megközelítési módnak azonban számos hátránya van. Az első, hogy az előrejelzési tartomány szélességét a két mérési eljárásban használt minták eredményei közötti korreláció határozza meg. Gyenge korreláció esetében a minta-specifikus hatásoknak vagy az elemzési variabilitásnak köszönhetően az előrejelzési tartomány meglehetősen tág lesz, ezért valószínűbb, hogy egy anyagminta felcserélhetőnek minősül. A második, hogy az eredmény csak egy igen/nem válasz, ami nem veszi figyelembe az anyagminta adatpontjának elhelyezkedését az előrejelzési tartományon belül (középen vagy szélső értékekhez közel).

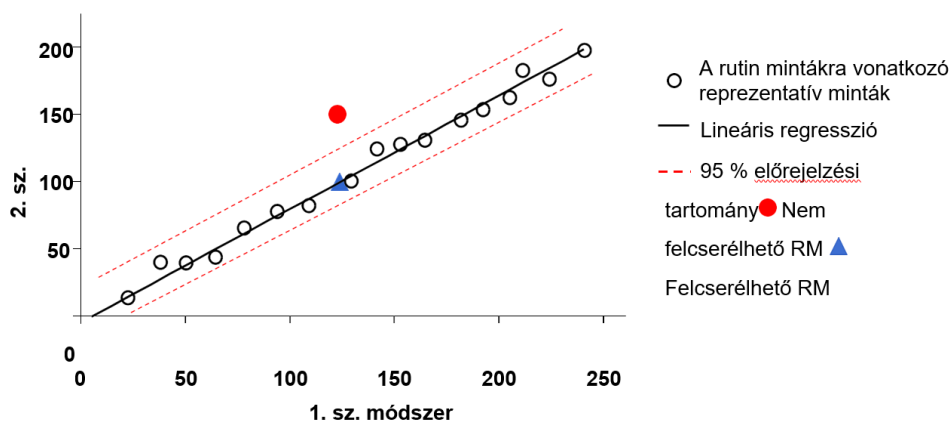
2. Torzítási különbségek elemzése

A „torzítási különbség” elemzése az IFCC WG-C [4] által ajánlott két megközelítési mód egyike. Ez a megközelítési mód számszerűsíti

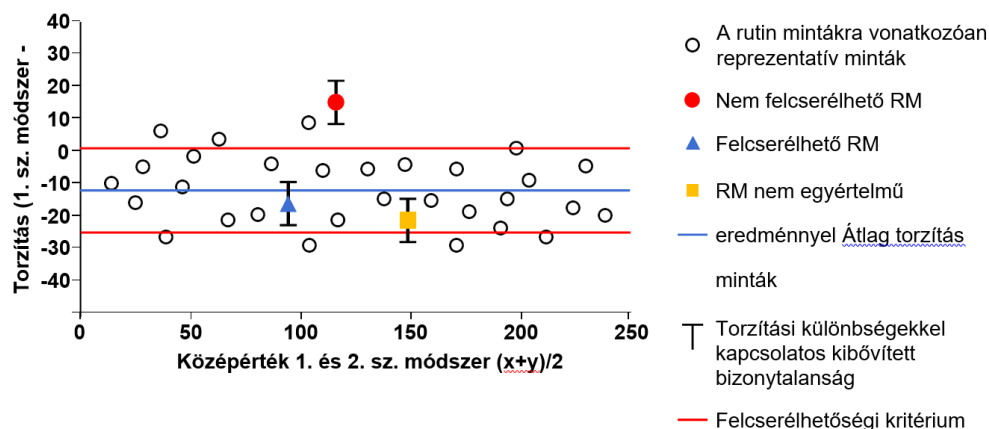
a vizsgált anyagmintán, két mérési eljárással végzett vizsgálatból származó eredmények szisztematikus különbségének (azaz a torzítás) és a rutin mintákra vonatkozó átlagos torzításnak a közelségét. Ezen túlmenően a torzítási különbséghez társított bizonytalanság is becslésre kerül. Egy anyagminta akkor tekinthető felcserélhetőnek, ha a torzítási különbség és az ehhez társított bizonytalanság kisebb, mint egy előre meghatározott felcserélhetőségi kritérium (lásd 3. ábra). A kritériumot az alkalmazási követelmények alapján kell meghatározni. Ez az elemzés nem ad egyértelmű eredményt, ha a társított bizonytalanság átfedésben van a felcserélhetőség kritériumával.

3. Egy anyagminta kalibrálási hatékonyságának elemzése

Az IFCC WG-C által az anyagminta felcserélhetőségének vizsgálatára ajánlott második megközelítési mód a kalibrálás hatékonyságának alkalmazása [5]. Az anyagminta felhasználásával két mérési eljárás kerül kalibrálásra, és az anyagminta akkor minősül felcserélhetőnek, ha a rutin minták vonatkozásában elvégzett két mérési eljárás torzítása az alkalmazási követelmények alapján előre meghatározott, elfogadható ekvivalencia tartományban van. Egy anyagminta akkor minősül nem-felcserélhetőnek, ha a mérési eljárások kalibrálása után a rutin mintákon elvégzett mérések eredményei nem egyeznek meg. Figyelembe kell venni azonban az eltérések egyéb okait is, mint például a kalibrálás illeszkedésének hiánya.



2. ábra: Sematikus diagram a 95%-os előrejelzési tartománnyal regresszió analízis alapján végzett felcserélhetőségi vizsgálat eredményéről.



3. ábra: Sematikus diagram a torzítási különbség megközelítési móddal készült felcserélhetőségi értékelés eredményéről.

[1] Nemzetközi Metrológiai Értelmező Szótár - Alapvető és általános fogalmak, kapcsolódó szakkifejezések (VIM 3 - International vocabulary of metrology - basic and general concepts and associated terms), 3. kiadás, letölthető innen <http://www.bipm.org> vagy mint ISO/IEC 99-12. útmutató, 2007

[2] Miller et al. Clinical Chemistry 64 (2018): 447-54

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Characterisation and Quantification of Commutable Reference Materials for Laboratory Medicine; Approved Guideline. (Felcserélhető anyagminták jellemzése és mennyiségi meghatározása kísérleti orvostudomány céljaira) CLSI EP30-A iránymutatása (ISBN 1-5628-726-X)

[4] Nilsson et al. Clinical Chemistry 64 (2018): 455-64

[5] Budd et al. Clinical Chemistry 64 (2018): 465-74