

Utvärdering av referensmaterials kommutabilitet

20.2.2020

Kommutabilitet är en grundförutsättning för de referensmaterial (hädanefter förkortat som RM) som är avsedda att användas för kalibrering eller kvalitetskontroll av olika mätrutiner som är inriktade på samma mätstorhet. Denna applikationsrapport beskriver konceptet kommutabilitet och förklarar den information om kommutabilitet som finns i ERM-certifikaten. Dessutom förklaras de viktigaste aspekterna av en kommutabilitetsstudie.

Författare: Liesbet Deprez

Europeiska kommissionens gemensamma forskningscentrum (JRC)

Retieseweg 111, 2440 Geel, Belgien

E-post: liesbet.deprez@ec.europa.eu

INLEDNING

Inom flera vetenskapliga områden (inklusive klinisk kemi) är bristen på överensstämmelse mellan resultat från olika mätrutiner som är inriktade på samma mätstorhet ett stort problem. Arbetet med att standardisera eller harmonisera dessa mätrutiner är ofta beroende av användningen av RM för kalibrering eller kvalitetskontroll. Kommutabiliteten hos de RM som används är absolut nödvändig för att se till att dessa ansträngningar blir en framgång.

VIM (The International Vocabulary of Metrology) definierar ett referensmaterials kommutabilitet som den egenskap som påvisas av en mycket stor överensstämmelse mellan mätresultatens förhållande för en angiven mängd av detta material – som har erhållits enligt två givna mätrutiner – och den relation man fått fram bland mätresultaten för rutinproverna [1]. I mer vardagligt tal kan kommutabilitet definieras som en egenskap hos ett RM som anger hur väl ett RM efterliknar egenskaperna hos ett typiskt rutinprov i flera mätrutiner för en angiven mätstorhet.

KOMMUTABILITET HOS CRM

I enlighet med ISO 17034 är det producenterna av referensmaterial som är skyldiga att se till att ett RM är lämpat för avsett bruk. Ett referensmaterials kommutabilitet måste därför utvärderas, i de fall där det är lämpligt. För ERM[®]-RM återfinns informationen rörande kommutabilitet i certifikaten, under "bruksanvisning och avsedd användning" (se bild 1), eller i certifieringsrapporten, under rubriken "kommutabilitet". Samma RM kan vara kommutabelt för vissa mätrutiner men icke-kommutabelt för andra. En kommutabilitetsförklaring är därför endast giltig för de angivna mätrutinerna.

Under arbetet med att ta fram RM görs ansträngningar för att inkludera så många olika mätrutiner som möjligt, särskilt om de baseras

på klart avgränsade, analytiska mätprinciper. Det kanske dock inte är praktiskt möjligt att inkludera alla tillgängliga mätrutiner. Eller så kan nya mätrutiner bli tillgängliga efter att referensmaterialet har offentliggjorts. Man bör också ha i åtanke att omfattande ändringar i mätrutinen – till exempel ändrad reagensformulering – kan ogiltigförklara kommutabilitetsförklaringen för en specifik mätrutin.

Om en användare har för avsikt att använda ett RM för kalibrering eller kvalitetskontroll i en mätrutin som inte finns inkluderad i den kommutabilitetsutvärdering som utförts av RM-producenten, är det användaren som har skyldighet att kontrollera referensmaterialets kommutabilitet för den mätrutin som man har för avsikt att använda.

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.

Bild 1: Exempel på den del av ett certifikat där bruksanvisningar och avsedd användning står angivna.

VÄSENTLIGA ASPEKTER VID STUDIER AV KOMMUTABILITET

I denna lista sammanfattas de viktigaste aspekterna vid genomförandet av en kommutabilitetsstudie. Under 2018 publicerade arbetsgruppen IFCC om kommutabilitet (WG-C) sina riktlinjer gällande den allmänna experimentdesignen av kommutabilitetsstudier för klinisk kemi. Det är dessa som har använts som bas för listan [2].

Hantering av RM

Bruksanvisningarna, till exempel rekonstruktionsprotokoll, måste följas strikt när RM förbereds. Om man har för avsikt att späda ut RM (till exempel för att skapa en kalibreringskurva) måste de utspädda formerna tas med i kommutabilitetsstudien. Det är känt att matrisen har en stor inverkan på referensmaterialets kommutabilitet och därför är valet av utspädningsmedel mycket viktigt. Användarna uppmanas kontakta RM-producenten vid eventuella tveksamheter.

Prover som är representativa för rutinprover

De prover som ingår i kommutabilitetsstudien måste uppfylla följande krav:

- De måste vara representativa för de rutinprover som kommer att mätas upp med den mätutin som är av intresse i den verkliga situationen. Man bör i så stor utsträckning som möjligt ta med variationer i matrissammansättningen eller de olika isoformerna av mätstorheten som kan finnas i rutinproverna. Dock bör man även ta hänsyn till begränsningar vad gäller selektiviteten för mätutinen. Prover som innehåller kända störsubstanser eller isoformer av mätstorheten – och som inte kan mätas på ett korrekt sätt – ska uteslutas. Av praktiska skäl kan det vara nödvändigt att behandla prover som används i kommutabilitetsstudien på ett annorlunda sätt än rutinprover. Effekterna av eventuella modifieringar (till exempel, provpoolning, förberedelse av alikvoter, långtidsförvaring, frysning samt användning av konserveringsmedel) av proverna vad gäller kommutabiliteten måste utvärderas innan kommutabilitetsstudien påbörjas.
- Mätstorhetens koncentrationer i proverna ska omfatta ett rimligt intervall runt referensmaterialets koncentration.
- Tillräckligt många prover måste tas med i kommutabiliteten för att kunna fastställa ett inter-assay-förhållande mellan rutinproverna på ett tillförlitligt sätt. Därför krävs det normalt minst 30 prover.

Mätrutinerna

En utvärdering av kommutabiliteten baseras på jämförelsen mellan mätresultat från två olika mätrutiner. Förutom den mätutin som är av intresse ska man även välja ut en mätutin för jämförelse (en komparator). Det optimala är att denna mätutin är den rutin som används för karaktärisering av referensmaterialet (eller en av dessa om man använder flera). I annat

fall kan man välja en mätutin för vilken CRM har visat sig vara kommutabelt.

De mätrutiner som inkluderas i kommutabilitetsstudien måste ha en likartad selektivitet för mätstorheten. Mätrutiner med en annorlunda selektivitet kan identifieras via förekomsten av en överdriven mängd provspecifika effekter. I detta fall är det inte möjligt att fastställa ett förhållande mellan analyserna (assayer) av rutinprover på ett tillförlitligt sätt. Därför kan referensmaterialets kommutabilitet inte utvärderas.

Mätserier

Både RM och proverna ska mätas i ett lämpligt antal replikat. Minst tre replikat rekommenderas eftersom det gör att man kan annullera en replikatmätning i händelse av tekniska fel, utan att man behöver annullera alla resultat för det provet. Beroende på mätrutinernas repeterbarhet kan fler replikatmätningar behöva utföras.

Det är även rekommendabelt att utföra alla mätningar i en enda serie för att minimera effekterna av variabiliteten mellan olika serier. Problem med förekomst av en analytisk avvikelse inom en och samma serie, kan lösas genom att utföra replikatmätningar på RM i olika positioner i mätserien.

Statistisk utvärdering

Flera analyser beskrivs i litteraturen vad gäller statistisk utvärdering av kommutabiliteten. Endast tre av dessa har valts ut för denna lista:

1. Regressionsanalys med ett 95-procentigt prediktionsintervall

Riktlinjerna EP30-A från CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [3] publicerades 2010 och har använts i stor omfattning för kommutabilitetsutvärderingar under flera år. Dessa riktlinjer beskriver en metod där en regressionsanalys utförs på de mätresultat som erhållits från rutinproverna med två olika mätrutiner. Ett RM anses vara kommutabelt om dess datapunkt faller inom det 95-procentiga prediktionsintervallet som fastställts via rutinproverna (se bild 2). Denna metod har dock flera nackdelar. För det första bestäms prediktionsintervallets bredd av sambandet mellan testresultaten från de två mätrutinerna. Om korrelationen är dålig, på grund av provspecifika effekter eller assay-variabilitet, kommer prediktionsintervallet att bli ganska stort och därmed blir det mer troligt att ett RM anses vara kommutabelt. För det andra blir utgången endast ett svar av typen ja/nej, utan att ta hänsyn till datapunktens placering för RM inom prediktionsintervallet (centrerat kontra långt ut mot kanterna).

2. Skillnad i biasanalyser

Analyser av "skillnaden i bias" är en av de två metoder som rekommenderas av IFCC WG-C [4]. I detta tillvägagångssätt används det systematiska felet för resultaten från de två mätrutinerna (det vill säga, bias) för testat RM och det genomsnittliga systematiska felet för rutinproverna. Man kvantifierar hur nära varandra dessa systematiska fel ligger. Dessutom uppskattar man den osäkerhet som är kopplad till skillnaden i bias. Ett RM anses vara kommutabelt om skillnaden i bias och den associerade osäkerheten är mindre än det förhållsdefinierade kriteriet för kommutabilitet (se bild 3). Kriteriet ska baseras på tillämpningskraven. Denna analys leder till ett ofullständigt resultat när den associerade osäkerheten överlappar kommutabilitetskriteriet.

3. Analys av ett referensmaterials kalibreringseffektivitet

I den andra metoden som rekommenderas av IFCC WG-C används kalibreringseffektiviteten för ett RM för att bedöma dess kommutabilitet [5]. Två mätrutiner kalibreras med hjälp av RM och det anses vara kommutabelt om det systematiska felet i resultaten för rutinproverna från de två mätrutinerna ligger inom en förhållsdefinierad, acceptabel nivå av likvärdighet med utgångspunkt från tillämpningskraven. Ett RM anses vara icke-kommutabelt om resultaten för rutinproverna inte stämmer överens efter kalibreringen av mätrutinerna. Dock bör man även ta med andra skäl till bristande överensstämmelse i beräkningarna, till exempel bristen på kalibreringsanpassning.

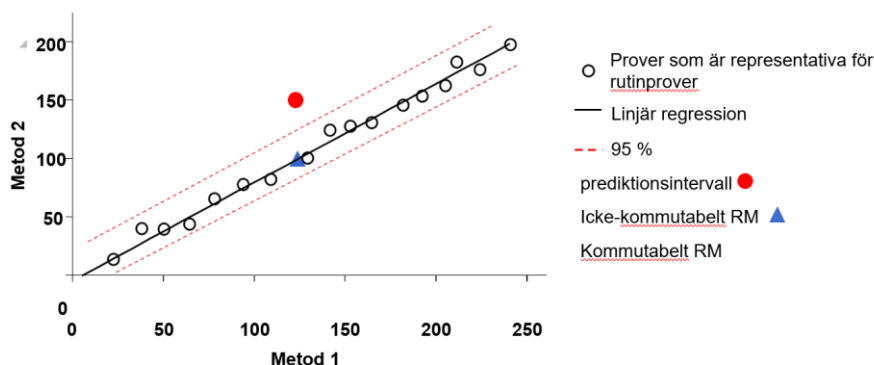


Bild 2: Schematiskt diagram som visar resultatet från en kommutabilitetsutvärdering där man använt en regressionsanalys med ett 95-procentigt prediktionsintervall.

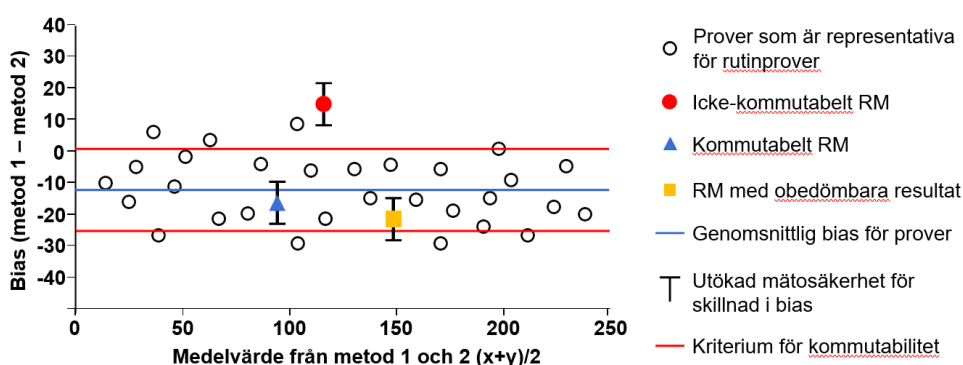


Bild 3: Schematiskt diagram som visar resultatet från en kommutabilitetsutvärdering där man använt en metod med skillnad i bias.

[1] International vocabulary of metrology - basic and general concepts and associated terms, tredje utgåvan. (VIM 3); finns att tillgå på <http://www.bipm.org> eller som ISO/IEC-guide 99-12:2007

[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. CLSI-dokument EP30-A (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