

Matricové vlivy u laboratorních vzorků

Matricí vzorku se rozumí vzorek bez stanovovaného analytu. Matricovým vlivem se rozumí jakékoliv nežádoucí ovlivnění výsledku stanovení analytu matricí, ve které se nachází. Analytická specifická je definována jako schopnost metody stanovovat jen analyt, tedy schopnost měření bez interferencí matrice a jiných analytů [1]. S matricovými vlivy úzce souvisí pojem komutability. Na rozdíl od matricových vlivů, jejichž výskyt lze předpokládat u všech typů vzorků, pojem komutability souvisí s referenčními materiály.

Komutabilita je vlastností referenčního materiálu a vyjadřuje schopnost jeho matrice neovlivňovat výsledky stanovení analytu ani při jeho použití jako kalibrátoru, ani při použití jako kontrolního materiálu. Takto je definována v Mezinárodním metrologickém slovníku VIM-3, odstavec 5.15 [2]. Nedostatečná komutabilita vede ke vzniku systematické chyby měření – bias.

Výrobci diagnostik a účastníci programů externích hodnocení kvality často redukuje pojem nekomutability z účelových důvodů pouze na kontrolní materiály a pomíjejí problémy nekomutability kalibrátorů. Účelem je obvykle jednoduše a bez nutnosti hlubšího zamyšlení a testování vysvětlit problémy a chyby, detekované v programech EHK. Rizikem takového přístupu je následné detailní dělení na podskupiny při hodnocení výsledků EHK (zkoušení způsobilosti), odůvodňované dosažením objektivitu hodnocení účastníků EHK, a to i v případech, kdy je standardizace měření na vysoké úrovni a principiálně takovému dělení odporuje. Takový přístup může vést ke klamnému zanedbání analytických a kalibračních problémů. Příslušné skupiny jsou v pořádku a difference mezi nimi se připíše matricovým vlivům – nekomutabilitě kontrolních materiálů. Jde mimo jiné o přenášení odpovědnosti ze strany výrobců na stranu organizátorů EHK bez ohledu na to, jaké jsou skutečné příčiny chyb. Široká recentní studie [3] hodnotila komutabilitu 18 kontrolních materiálů u 82 analytů s použitím 661 šarží činidel. 40,9% výsledků analýz bylo vyhodnoceno jako nekomutabilní. Jaké kontrolní materiály byly testovány? Šlo o materiály vesměs určené pro vnitřní kontrolu kvality, často jmenovitě přímo pro konkrétní analytický systém výrobce, identického s výrobcem měřicího systému. Devět z nich pocházelo od firmy Bio-Rad, další od MAS, Microgenics, Siemens. Součástí testování však nebyl žádný materiál určený pro EHK a vyrobený podle specifikací organizátorů (tailor made). Je otázkou, zda jsou výrobci za uvedených okolností vůbec motivováni, aby jejich kontrolní materiál poskytoval správné výsledky na jiném než vlastním systému. Proč by se měli za daných okolností problémem komutability vůbec trápit? Je zvláštní, že míra nekomutability byla v tomto experimentu velmi silně závislá na metodě a instrumentaci. Například procenta zjištěné nekomutability pro imunochemické metody se pohybovala v závislosti na analytickém systému v rozmezí 14–48% a pro metody ISE v intervalu 29–58%. Taková silná závislost na metodách a přístrojích však budí nedůvěru, zda pozorované problémy lze

skutečně beze zbytku připsat nekomutabilitě. Vysvětluje však docela dobře efekt dělení výsledků EHK do co největšího počtu skupin, uspořádaných právě podle metod a přístrojů.

Kontrolní materiály EHK „bez matricových vlivů – komutabilní“ jsou čas od času používány v kontrolních programech CAP-USA. Jde o hluboce zmrazené směsi sér pacientů bez aditiv a konzervantů, nelyofilizovaných. V experimentu publikovaném v roce 2008 [4] byly u deseti analytů porovnány výsledky „komutabilního“ s výsledky běžných kontrolních sér používaných v programu CAP-USA (Bio-Rad). Statistické rozdíly mezi „komutabilními“ a „nekomutabilními“ materiály byly nalezeny u 30% výsledků. Pokud však srovnáme hodnoty bias (diference průměrů od RMP) komutabilního materiálu CAP s hodnotami bias u materiálů používaných v programech DGKL a SEKK, žádné významné rozdíly nenalezneme, i když se v případě materiálů DGKL/SEKK jedná o materiály lyofilizované a konzervované [5]. Tento fakt a dlouholeté praktické zkušenosti vedou k závěru, že kontrolní materiály, dostatečně komutabilní pro dobře standardizované analyty, jsou v zásadě k dispozici, je však nutné je testováním vybrat a tedy vyvinout v tom směru jistě úsilí.

Materiály vnitřní kontroly kvality patrně nebývají na komutabilitu testovány, protože se spoléhá na to, že při systému, kdy materiál, reagentie a přístroje pocházejí od stejného výrobce, nedojde k detekci chyb. Problémy při případné změně šarže se vyřeší rozposláním upravených přiřazených hodnot, problémy při použití neidentických výrobců kontrolního materiálu a analytického systému nepřicházejí při použití vysoce sofistikovaných systémů v imunochemii a POCT často vůbec do úvahy.

Mnohem méně studovaný a málo diskutovaný je problém matricových vlivů samotných klinických vzorků. Přitom je velmi optimistické předpokládat, že by se nevyskytovaly například u pacientů v závažných klinických stavech a/nebo při intenzivní terapii. Někdy se nelze ubránit myšlence, že se projevuje více zájmu o výsledky kontrol a certifikáty způsobilosti než o výsledky pacientů a jejich zdraví. Jako recentní příklad matricových vlivů u vzorků pacientů při běžných imunochemických vyšetřeních mohou posloužit výsledky studie pracovní skupiny IFCC o thyroidních hormonech, publikované v roce 2010 [6]. Séra s významným vlivem matrice o neznámé příčině lze detekovat poté, když se provede recalibrace výsledků získaných řadou rutinních imunochemických systémů pomocí metody ID-MS. U sér pacientů, kde se po recalibraci neodstranila (respektive dostatečně neredukovala) systematická chyba u některé nebo několika metod, lze předpokládat matricové vlivy (nebo jak píší autoři „sample-related“ výsledky). Bylo studováno 11–15 kitů, pět analytů (TSH, T4, T3, fT4 a fT3) a zaznamenáno nezanedbatelné množství patientských vzorků s matricovými vlivy při měření T4, T3, fT4 a fT3, zatímco u TSH tyto vlivy zaznamenány nebyly.

V práci prezentované v tomto čísle našeho časopisu [7] je popsána dosti podrobně problematika maticových vlivů u metod LC-MS a LC-MS-MS. Charakter těchto vysoce progresivních metod nutí studovat, detekovat a potlačovat maticové vlivy jako integrální součást analytického procesu. Znalost maticových efektů a jejich potlačení je zde nejen nezbytnou podmínkou správnosti výsledků analýz, ale také myšlenkově obohacuje. Pomáhá potlačovat neobyčejně rozšířenou, ale velmi simplifikovanou až účelově omezenou představu o maticových vlivech jako dominujícím zdroji chyb. Může navrátit do laboratoří realističtější a vědecktější pohled na analytické procesy všem, kdo o to stojí.

Literatura

1. *Metrologická terminologie*. Přístupno na www.sekk.cz (22. 2. 2011)
2. *Mezinárodní metrologický slovník*. Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM-3). TNI 01 0115:2009.
3. **Miller, W. G., Ereš, A., Cunningham, T. D., Oladipo, O., Scott, M. G., Johnson, R. E.** Commutability limitations influence quality control results with different reagent lots". *Clin. Chem.*, 2011, 57, p. 76–83.

4. **Miller, G. W., Myers, G. L., Ashwood, E. R., Killeen, A. A., Wang, E., Ehlers, G. W. et al.** State of the art in trueness and interlaboratory harmonization for 10 analytes in general clinical chemistry. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2008, 132, p. 838–846.
5. **Friedecký, B., Kratochvíla, J., Budina, M.** Estimation of trueness of measurement results obtained in external quality assessment. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2009, 47, p. 489–490.
6. **Thienpont, L. M., van Uytfaenge, K., Beestall, G., Faix, J. D., Ielri, T., Miller, W. G. et al.** Report of the IFCC working group for standardization of thyroid function tests. Part 2: Free thyroxine and free triiodothyronine. *Clin. Chem.*, 2010, 56, p. 912–920.
7. **Klapková, E., Uřinová, R., Průša, R.** Vliv maticových efektů při vývoji a validaci metod vysokoúčinné chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. *Klin. Biochem. Metab.*, 2011, 1, s. 5–8.

RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
Ústav klinické biochemie a diagnostiky
LF UK a FN Hradec Králové