

Бюллетень АМТех. 2024. № 1. С 2-16.

AMTECH Bulletin. 2024;(1):2-16.

Проблемы и решения

Научная статья

ISBN 978-5-6051207-4-2

Исследование интерференции медицинских изделий для диагностики *in vitro*

Владимир Валерьевич Масленников

Ассоциация по поддержке медицинских технологий (АМТех), Москва,
Россия, chairman@amtech.moscow , <https://orcid.org/0000-0003-2195-3698>

Аннотация. В статье представлены сведения по исследованию влияющих факторов, в том числе, интерференции для медицинских изделий для *in vitro* диагностики (ИВД). Представлен обзор влияющих факторов и место интерференции среди них. Описаны источники экзогенных и эндогенных интерферентов. Представлены подходы к оценке влияния интерферентов в точках принятия клинических решений. Описаны подходы к процедурам оценки влияния интерферентов и методики приготовления растворов для исследования интерференции. Описаны дополнительные аспекты оценки влияния интерференции на результаты иммунохимических исследований и представлена формула расчета перекрестной реактивности.

Ключевые слова: влияющая величина, аналитическая специфичность, интерферент, перекрестная реактивность, эндогенные интерференты, экзогенные интерференты, предел интерференции, избирательность, смещение измерения, систематическая погрешность измерения, медицинские изделия для диагностики *in vitro* (ИВД), ИВД, аналитическая система, открытая система, оценка соответствия.

Для цитирования: Масленников В.В. Исследование интерференции медицинских изделий для диагностики *in vitro* // Бюллетень АМТех. 2024. № 1. С. 2-16.

Problems and solutions

Original article

Vladimir V. Maslennikov

Association for furthering Medical Technologies (AMTECH), Moscow,
Russia, chairman@amtech.moscow, <https://orcid.org/0000-0003-2195-3698>

Abstract. The article presents information on the study of influencing factors, including interference for medical devices for *in vitro* diagnostics (IVD). An overview of the influencing factors and the place of interference among them is presented. The sources of exogenous and endogenous interference are described.

Approaches to assessing the impact of interferents at clinical decision-making points are presented. Approaches to the procedures for assessing the effect of interference and methods for preparing solutions for interference research are described. Additional aspects of assessing the effect of interference on the results of immunochemical studies are described and a formula for calculating cross-reactivity is presented.

Keywords: interfering quantity, analytical specificity, interferent, cross-reactivity, endogenous interferents, exogenous interferents, interference limit, selectivity, measurement bias, systematic measurement error, in vitro diagnostic medical devices (IVD), IVD, analytical system, open system, conformity assessment.

For citation: Maslennikov V. V. Exploration of interference for medical devices for in vitro diagnostics. AMTECH Bulletin. 2024:(1):2-16. (in Russ.).

Введение

В статье представлены сведения, предназначенные для разработчиков и производителей тест-систем для диагностики in vitro (ИВД). Отдельные элементы могут быть использованы первой, второй и третьей сторонами при оценке соответствия. Кроме того, они могут быть использованы при экспертизе качества, эффективности и безопасности ИВД.

Описанные подходы распространяются на изучение влияния эндогенных и экзогенных интерферентов. Кроме того, описанные подходы могут быть применены к оценке влияния перекрестно реагирующих субстанций (метаболиты измеряемой величины, аутоантитела, близкородственные штаммы микроорганизмов и т.п.) при условии, что их содержание (концентрация) известно и выражена количественно.

К экзогенным интерферентам относятся, главным образом, лекарственные препараты.

К эндогенным интерферентам относятся вещества, которые в норме присутствуют в биологических жидкостях организма, либо появляющиеся в результате патологического процесса. Это, например, билирубин, триглицериды, гемоглобин, общий белок и т.д.

Интерференция является одним из аспектов более широкого явления, вызываемого влияющими факторами. Поэтому исследование интерференции не распространяется на оценку влияния таких факторов, как физиологические состояния (беременность, пожилой возраст, циркадные ритмы и т.п.) или факторов окружающей среды (жара, холод, влажность, солнечный свет, ионизирующее и микроволновое излучение и т.п.) [1].

Влияние интерферентов рассматривается как один из факторов систематической ошибки (смещения).

Терминология

Аналитическая специфичность (analytical specificity): способность методики измерения обнаружить или измерить только измеряемую величину в присутствии других величин, представленных в пробе (ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, А.2.6) [2].

Перекрестная реактивность (cross-reactivity): степень, с которой вещество, отличающееся от аналита, связывается с реагентом в процессе иммунохимической методики измерения конкурентного связывания (ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, А.3.12) [2].

Влияющая величина (interfering quantity): величина, при прямом измерении не влияющая на величину, которую действительно измеряют, но оказывающая влияние на отношение между показанием и результатом измерения (ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, А.3.18) [2].

Интерферирующая величина, интерферент (interfering quantity, interferent): величина, которая не является измеряемой величиной, но оказывает влияние на результат измерения (ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, А.3.19) [2].

Избирательность (selectivity of a measuring system, selectivity): Свойство средства измерений или измерительной системы, применяемой согласно установленной методике измерений для получения измеренных значений одной или нескольких измеряемых величин, заключающееся в независимости значений этих величин друг от друга и от влияющих величин объекта измерения (РМГ 29-2013, 7.38) [3].

Смещение измерения (bias of measurements, bias): оценка систематической погрешности измерения (ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, А.3.25) [2].

Систематическая погрешность измерения (systematic measurement error, systematic error): компонент погрешности измерения, который в параллельных измерениях остается постоянным или варьирует предсказуемым образом (ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, А.3.54) [2].

Система (system): совокупность элементов, находящихся в отношениях и связях друг с другом, которая образует определенную целостность, единство.

Открытая система (open system): система, обменивающаяся с окружающей средой веществом, энергией, информацией.

Аналитическая система (analytical system): часть системы, за исключением измеряемой величины.

Предел интерференции (interference limit): диапазон значений измеряемой величины, содержащей интерферент, который считается приемлемым.

Предмет обсуждения

Важным понятием является понятие «система». Система, применительно к диагностике *in vitro*, состоит из аналитической системы

(анализатор ИВД вместе с принадлежностями и дополнительным оборудованием, а также набором реагентов для выявления или оценки измеряемой величины) и собственно измеряемой величины. Рассматриваемая система является открытой, т.е. обменивается с окружающей средой как минимум веществом и энергией. Система подвержена воздействию влияющих факторов, включая интерференты. В рассматриваемую систему также входит наблюдатель (оператор, исследователь, т.е. человек, как субъект), однако в данной статье столь широкая система не рассматривается. Влияние субъекта обычно оценивается в риск-менеджменте.

Важно иметь в виду, что в лабораторной медицине широко используется термин «закрытая аналитическая система». «Закрытость» устанавливается производителем в отношении используемых наборов реагентов. Производитель тем самым заявляет, что его аналитическая система может корректно работать лишь с конкретными наборами реагентов. Открытые аналитические системы позволяют работать с наборами реагентов или реагентами множества производителей. Следует также иметь в виду, что и закрытые, и открытые аналитические системы, безусловно, являются открытыми в отношении взаимодействия с окружающей средой, т.е. подвержены воздействию влияющих факторов.

Аналитическая система также, как и система в целом, рассматривается как целостность, т.е. оцениваются лишь входы и выходы без обсуждения внутренних взаимосвязей («черный ящик»). Например, для анализатора, входящего в аналитическую систему, не оценивается его способность правильно дозировать растворы и биоматериал, точно выдерживать время инкубации, время и ускорение центрифугирования, правильность калибровки, правильность выбора длины волны детекции и т.п. Оценивается исключительно результат измерения.

Источники интерферентов

Ситуации, которые могут привести к появлению эндогенных и экзогенных интерферентов в биологических образцах могут быть следующими [1]:

- патологические состояния, в результате которых в биологических образцах появляются те или иные метаболиты (сахарный диабет, множественная миелома, аутоиммунные заболевания, гепатиты, сердечно-сосудистые заболевания и т.п.);
- экзогенные соединения, вводимые пациенту в процессе лечения (лекарственные препараты, парентеральное питание и т.п.);
- продукты питания (грейпфрут, алкоголь, пищевые добавки, консерванты, антиоксиданты и т.п.);
- эндогенные вещества, присутствующие в биологическом образце в ненормальных количествах из-за патологического состояния

(билирубин, иммуноглобулины и их фрагменты, парапротеины, липопротеины и т.п.);

- изменение матрицы биологического образца (лизис форменных элементов крови, приводящий к высвобождению внутриклеточных компонентов, например, калий, антиоксиданты, клеточная ДНК и т.п.);
- загрязняющие вещества, случайно попавшие в образец (крем для рук, пыльца растений, тальк с перчаток, сигаретный дым и т.п.);
- эффект переноса на аналитическом этапе исследования пробы при использовании автоматического анализатора;
- вещества и соединения, входящие в состав пробирок и контейнеров для сбора биологического материала (консерванты, антиагреганты, коагулянты и антикоагулянты, высокомолекулярные соединения, например, декстраны, аминокислоты и т.п.).

Существует ряд ситуаций, которые относятся к влияющим факторам и не могут быть интерференцией:

- физиологические эффекты *in vivo*, например, изменение концентрации измеряемой величины в организме в ответ на введение лекарственного препарата (гормоны, ферменты, триглицериды), антинуклеарный фактор при лекарственной волчанке и т.п.;
- химическое изменение аналита или измеряемой величины, например, под действием гидролиза, света, окисления и т.п.;
- изменение измеряемой величины под действием физических факторов, например, высокой или низкой температуры, вибрации и т.п.;
- испарение или разбавление образца;
- длительное хранение образца (например, гликолиз).

Интерференты и точки принятия медицинских решений

При исследовании интерференции на её величину могут влиять как концентрация интерферента, так и измеряемой величины [1]. Для любой измеряемой величины наиболее важными являются значения, которые являются точки принятия медицинских решений [1]. В CLSI EP07 [1] приведены три примера установления точек принятия медицинских решений.

Первый подход состоит в установлении референтного интервала для измеряемой величины. Границы референтного интервала, т.е. точки принятия медицинского решения, устанавливаются «норму» и «патологию». Когда влияние интерферента определяется количественно, важно учитывать, какое количество интерферента могло бы вызвать интерференцию, имеющую медицинское значение. Также необходимо иметь в виду, что для различных

методик измерения одной и той же измеряемой величины точки принятия медицинских решений могут быть существенно разными.

Второй подход заключается в выборе одной или нескольких концентраций измеряемой величины, которые принимаются за точки принятия медицинских решений. Например, во многих случаях, несмотря на наличие референтного интервала, за точку принятия медицинского решения принимают концентрацию измеряемой величины, вдвое превышающую верхнюю границу референтного интервала. Возможны другие способы установления точек принятия медицинских решений, например, на основе клинических рекомендаций или правил, установленных в нормативных документах.

Третьим примером установления точек принятия медицинских решений являются токсическая концентрация измеряемой величины, критическое значение измеряемой величины и концентрация, указывающая на дефицит измеряемой величины.

Не всегда необходимо или возможно протестировать все концентрации, имеющие медицинское значение. В одних случаях зависимость эффекта интерференции от концентрации интерферента при заданном значении измеряемой величины линейна, в других случаях нет.

Установление зависимости концентрации интерферента от эффекта интерференции в точках принятия медицинских решений является задачей производителя. Также задачей производителя является разработка простых методов подтверждения установленных характеристик, т.е. оценки соответствия.

Часто бывает достаточным проверить отсутствие интерференции при низких, средних и высоких значениях измеряемой величины в диапазоне измерения аналитической системы. В некотором смысле указанные диапазоны также могут считаться точками принятия медицинских решений.

Для качественных анализов с бинарными ответами «положительный» и «отрицательный» в CLSI EP07 [1] потенциальные интерференты следует тестировать при концентрациях или значениях сигнала/отсечки для достоверно отрицательных концентраций измеряемой величины и концентраций, дающих низкий положительный результат в данной аналитической системе. Под достоверно отрицательной концентрацией понимается концентрация измеряемой величины, которая дает «отрицательный» результат в 95% случаев. Под низкой положительной концентрацией понимают концентрацию измеряемой величины, начиная с которой получают «положительный» ответ в 95% случаях и более. Иными словами, для LoD.

Также возможна оценка интерференции для результатов исследований, представляемых в категориальной шкале. Задачей при этом будет установление способа преобразования категориального ответа в бинарный и применение выше предложенного способа. Например, для систем окраски препаратов цельной крови окраска ядра может быть сиреневой или какой-то

другой, например, слишком бледной, т.е. используется достаточно произвольная дихотомия. Иными словами, дихотомия в данном случае имеет вид сиреневый, либо какой-то другой, т.е. не сиреневый. Производитель наборов для окраски должен предусмотреть все применимые возможные варианты интерпретации результатов. Для интерпретации результатов и оценки соответствия может быть применен способ расчета каппы Коэна или другие варианты каппы, как меры экспертного согласия.

Для полуколичественных тестов, у которых результат представляется в интервальной шкале измерения, также может быть применен способ бинарной оценки. Кроме того, могут быть применены методики непараметрического регрессионного анализа, например, Пассинга-Баблока или Бленда-Альмана, или непараметрического дисперсионного анализа, например, Манна-Уитни или Фридмана.

Еще раз необходимо отметить, что все методики должны быть разработаны производителем вместе с критериями принятия решений об их соответствии установленным требованиям.

Потенциальные интерференты

Прежде всего, производитель должен составить список потенциально интерферирующих веществ, после чего приступить к оценке их влияния. При этом значительная часть веществ из списка будет удалена, т.к. они не будут оказывать влияния на результат измерений.

Для предварительного выбора интерферентов полезно использовать сведения из CLSI EP37 [4] для экзогенных и эндогенных интерферентов.

Кроме того, опубликовано значительное количество работ по исследованию интерферентов, в которых представлено значительное количество дополнительной информации, например, [5].

В документе CLSI EP07 [1] предлагается использовать следующие вещества или состояния для выбора потенциальных интерферентов:

- лизис эритроцитов (гемолиз), лейкоцитарный лизис, лизис тромбоцитов, желтуха и липемия;
- распространенные отпускаемые по рецепту и безрецептурные лекарства, для которых в качестве интерферентов рассматриваются только действующие вещества без учета влияния дополнительных компонентов;
- аномальные биохимические метаболиты, ожидаемые в популяции пациентов, для которых предназначен тест (целевая группа);
- препараты, наиболее часто назначаемые пациентам из целевой группы;
- препараты или вещества, включая их метаболиты, которые могут повлиять на процедуры измерения из-за их химических или физических свойств;

- добавки для образцов, такие как антикоагулянты (например, гепарин, ЭДТА, цитрат, оксалат) и консерванты (например, фторид натрия, йодоацетат, соляная кислота);

- вещества, которые могут контактировать с образцами во время сбора и обработки (например, устройства для отделения сыворотки, контейнеры для сбора образцов и их содержимое, катетеры, растворы для промывания катетеров (гепарин, цитрат натрия), дезинфицирующие средства для кожи, чистящие средства для рук и лосьоны, моющие средства для мытья стекол, тальк с опудренных перчаток);

- пищевые вещества, которые, как известно, влияют на определенные тесты (например, кофеин, бета-каротин, семена мака);

- вещества, появляющиеся в образце как результат реакции на чужеродные белки (например, гетерофильные антитела), аутоиммунные реакции (например, аутоантитела) или злокачественные новообразования (например, парапротеины или фрагменты иммуноглобулинов, углеводные антигены).

Как было указано выше, следует разделить собственно интерференты и влияющие факторы.

Дополнительно к описанному в CLSI EP07 [1] приводится перечень источников интерферентов, которые могут быть удалены из рассмотрения ввиду низкого риска присутствия интерферента:

- вещества, по существу идентичные по составу и структуре тем, которые уже включены в список, однако все структурные аналоги должны быть протестированы с использованием процедур измерения, основанных на сродстве антитела, фермента или другого специфического связывающего белка;

- вещества, которые, как было доказано, не влияют на процедуры измерений, основанные на том же научном принципе;

- соединения, которые вряд ли будут оказывать влияние, основываясь на экспертных знаниях об их химических свойствах и процедуре измерения;

- лекарства, назначаемые в дозе, слишком низкой, чтобы вызвать интерференцию, основываясь на знании процедуры измерения;

- лекарственные средства или вещества, выводящиеся из организма или метаболизирующиеся настолько быстро, что они не будут присутствовать в мешающей концентрации во время взятия образцов;

Производителю следует иметь ввиду рекомендации CLSI EP07 [1] в отношении выбора концентраций интерферентов для тестирования. Для скрининга потенциальные лекарственные интерференты оцениваются в концентрациях, которые в три раза превышают самую высокую концентрацию в биоматериале, наблюдаемую при медикаментозной терапии. Для эндогенных веществ рекомендуемая концентрация более переменчива (CLSI EP37 [4] для экзогенных и эндогенных интерферентов).

Предварительное тестирование интерферентов

В CLSI EP07 [1] предлагается использовать парно-разностный метод предварительного тестирования интерферентов. Парно-разностный метод состоит в том, что определение измеряемой величины сначала проводят в пробе без добавления интерферента, затем с добавлением. Рассчитывают разницу для измеренных концентраций измеряемой величины δ . Вещества, которые демонстрируют значимые с медицинской точки зрения различия, считаются интерферентами и подвергаются дополнительной оценке для определения взаимосвязи между концентрацией интерферента, уровнем измеряемой величины и степенью интерференции.

У парно-разностного метода имеются некоторые особенности и ограничения:

- свойства соединений, добавленных к образцу, могут отличаться от свойств соединения, циркулирующего *in vivo*;
- различные эффекты интерферентов могут компенсироваться концентрациями интерферентов и измеряемой величиной. Например, гемоглобин (интерферент) всегда следует оценивать на предмет интерференции при более чем одной концентрации билирубина;
- введение интерферентов в образцы цельной крови может вызвать гемолиз, а также различия в распределении жидкости или другие эффекты;
- введение интерферентов в жидкости организма для тестирования высоких концентраций на рекомендуемом уровне тестирования, в три раза превышающем максимальную концентрацию, наблюдаемую клинически, может оказаться невозможным из-за таких ограничений, как растворимость интерферента или другие физические ограничения при подготовке тестируемого образца.

Предварительное тестирование интерферентов предполагает проведение постановок в некотором количестве повторов. Ситуация не всегда очевидна, поэтому в CLSI EP07 описывается процедура выбора и расчета количества повторов измерений [1].

Подготовка образцов

В исключительно редких случаях удастся получить достаточное количество биоматериала от одного пациента. Поэтому обычно готовят пул образцов, представляющих собой смесь образцов от разных пациентов. Указанный пул образцов называют базовым. Ниже представлены соображения по подготовке базового пула образцов на основании информации из CLSI EP07 [1].

1. Образцы (например, цельную кровь, сыворотку, плазму, мочу), следует отбирать у нескольких здоровых людей, которые не принимают препараты или пищевые добавки. При этом пробы не должны быть иктеричными, липемичными, мутными или гемолизированными. Пул должен отражать, насколько это возможно, матрицу образцов, в которых обычно

проводится измерение концентрации интересующей измеряемой величины. Образцы, отобранные у отдельных доноров, должны транспортироваться и храниться в условиях, соответствующих инструкциям по применению оцениваемой процедуры измерения. Производитель должен обеспечить стабильность базового пула образцов. Это может быть достигнуто путем добавления к базовому пулу различных стабилизаторов и консервантов. Также не следует забывать о биологической безопасности персонала, работающего с биоматериалом человека. Если изучение инфекционных агентов не является целью оцениваемой аналитической системы, то желательно провести процедуру инактивации возбудителя.

2. Когда нативные образцы недоступны, с некоторой осторожностью можно рассматривать другие типы образцов, такие как лиофилизированные, изготовленные из подходящего сырья для имитации образцов пациентов. Такие образцы могут иметь матрицу, измененную по сравнению с матрицей образцов человека, предназначенных для рутинного исследования. Подготовленные образцы могут содержать консерванты и стабилизаторы, а также нереалистичные сочетания измеряемых величин. Например, для имитации лимфоцитов и моноцитов человека производитель может использовать эритроциты птиц или крокодилов. Такие образцы могут демонстрировать эффекты интерференции, которые отличаются от нативных образцов человека.

3. Необходимую концентрацию интерферента в базовом пуле создают специально, обычно путем добавления чистого интерферента. При изготовлении базового пула могут быть использованы образцы, уже содержащие некоторое количество эндогенного интерферента. Исходная концентрация интерферента должна быть учтена в финальной концентрации при помощи дополнительных процедур измерения в маточном растворе интерферентов.

Подготовка маточного раствора интерферента

При тестировании потенциальных интерферентов в качестве добавки следует использовать материал максимально возможной чистоты. При использовании менее чистых материалов причиной наблюдаемой интерференции может быть вещество, отличное от предполагаемого. В связи с этим категорически не рекомендуется использовать готовые лекарственные формы. Они могут содержать вспомогательные вещества такие как консерванты, бактерицидные вещества, фунгициды, антиоксиданты, красители, ароматизаторы, оксиды металлов, противоионы (например, Трилон В), жиры, масла (в том числе эфирные), смачиватели и ПАВ (например, мыла различной природы), высокомолекулярные компоненты (например, декстраны или полиэтиленгликоли различной молекулярной массы), компоненты растительного, животного или человеческого

происхождения, наполнители, сиккативы и т.п. Любое из них может быть истинной причиной наблюдаемого эффекта интерференции.

Существуют лекарственные препараты, в которых действующее вещество (потенциальный интерферент), содержится в относительно простой матрице, например, в физиологическом растворе. Имеются также лиофильно высушенные лекарственные формы, для которых в качестве растворителя используется вода для инъекций. Производитель может рекомендовать для оценки интерференции подобные лекарственные формы после изучения возможного матричного эффекта.

Важным моментом при изготовлении маточного раствора интерферентов является растворитель. Производитель должен выбрать подходящий растворитель, в котором интерферент достаточно растворим. Производитель должен быть полностью уверен в том, что используемый растворитель сам по себе не является интерферентом в отношении аналитической системы и измеряемой величины.

В CLSI EP07 [1] указываются следующие возможные растворители:

- вода необходимой чистоты;
- водный буферный раствор (например, фосфатно-солевой буфер);
- разбавленный HCl или NaOH;
- предельные спирты (например, этанол или метанол);
- ацетон;
- диметилсульфоксид (ДМСО);
- хлороформ;
- другие органические растворители.

Органические растворители требуют особого внимания. Летучие растворители должны быть защищены от испарения. Многие органические растворители обладают очень низкой растворимостью в воде или могут воздействовать на образец, измеряемую величину или аналитическую систему. Например, хлороформ нуждается в разведении в сыворотке крови как минимум в соотношении 1:100 из-за его низкой растворимости. Кроме того, высокие концентрации растворителей могут привести к выпадению белка.

При использовании базового пула образцов производитель должен оценить исходное содержание интерферентов.

В связи с указанным для первоначального изучения интерферентов следует всегда использовать растворы одного интерферента.

Производитель может использовать и смеси нескольких интерферентов. Однако необходимы достоверные доказательства того, что в приготовленных смесях отсутствует матричный эффект для каждого интерферента.

Использование смесовых маточных растворов интерферентов очень удобно при оценке соответствия. Причем не только для самого производителя (оценка соответствия первой стороны), но и при оценке

соответствия третьей стороны, например, в испытательных и клинико-диагностических лабораториях, проводящих клинические испытания ИВД.

Следует понимать, что количество интерферентов в одной смеси ограничивается растворителем и степенью разбавления матрицы образца базового пула (см. выше). Обычно стараются не допустить чрезмерного разбавления матрицы. Приемлемым для большинства задач является разбавление матрицы на 5-10%. Исходя из указанного и подбирают концентрацию интерферента в маточном растворе. Обычно готовят маточные растворы интерферентов, в которых концентрация интерферента в 10-20 раз превышает пороговую. Для экзогенных интерферентов выполнить указанное условие обычно не составляет труда. Но в отношении эндогенных интерферентов, возникают значительные сложности. Например, не удастся создать концентрацию билирубина в маточном растворе, превышающую пороговую более чем в 10 раз вследствие возникающих сложностей при его растворении в воде или водных растворах.

Оценка соответствия

Согласно ГОСТ Р ИСО/МЭК 17000 [6], оценка соответствия – это демонстрация того, что заданные требования выполнены.

Требования, т.е. в рассматриваемом контексте это перечень интерферентов, пределы интерференции для каждого интерферента, методики подтверждения, устанавливает производитель ИВД.

Подтверждение установленных требований может проводиться по-разному. Выделяют три стороны оценки соответствия по ГОСТ Р ИСО/МЭК 17000 [6].

Первая сторона – производитель. Производитель подтверждает установленные им же требования в ходе предварительных испытаний, выходного и периодического контроля и в других случаях.

Вторая сторона – это клинико-диагностическая лаборатория, в которой используются изделия ИВД. Чаще всего в КДЛ оценка соответствия интерферентов не проводится, но может быть проведена.

Третья сторона – это независимые испытательные лаборатории и лаборатории регулятора. Третья сторона проводит подтверждение установленных производителем требований по методикам производителя. При этом используются критерии приемлемости, также установленные производителем.

Совершенно очевидно, что прежде чем что-то подтвердить необходимо иметь информацию об установленных требованиях. Как правило всю методическую часть предоставляет производитель. Сюда относится перечень интерферентов, инструкции по приготовлению маточных растворов интерферентов и базовых пулов образцов, методики проведения постановок и методы расчетов для подтверждения пороговых концентраций интерферентов. Производителем должен быть создан отчет по исследованию

интерферентов. Как правило, в полном объёме указанный отчет не предоставляется в комплекте регистрационных документов. Однако предоставляемый в комплекте регистрационных документов отчет о подтверждении установленных требований от производителя должен быть достаточно полным, чтобы оценка соответствия могла быть проведена. Производитель должен быть готов к тому, чтобы предоставить дополнительную информацию по исследованию интерферентов по запросу регулятора.

Как правило, вещества не вызывающие интерференции, либо низкие (до пороговые) концентрации потенциально интерферирующего вещества никого не интересуют, поскольку не имеют значения. Значение имеют лишь те концентрации интерферента, выше которых наблюдается существенное влияние на результат измерения. Зависимость доза-эффект для интерферентов, возможно, имеет научное значение, но для практического применения ИВД нет. Производитель на свое усмотрение может представить подобную информацию в отчете по исследованию влияния интерферентов.

Оценка соответствия интерферентов не предполагает использование каких-либо эталонов, в том числе стандартных образцов, т.к. их использование нецелесообразно экономически и избыточно с точки зрения оценки соответствия. Их вполне могут заменить химические вещества различной чистоты (чем чище, тем лучше). Также могут использоваться фармацевтические стандарты. В связи с указанным, оценка соответствия для интерферентов напоминает процедуру контроля качества, когда оценивается лишь соответствие полученного значения измеряемой величины установленному требованию. Для оценки соответствия интерферентов устанавливается факт того, что рассчитанное значение интерференции не выходит из заданного диапазона (для двустороннего варианта), или не выходит за установленную границу (для одностороннего варианта).

Весьма существенным является соблюдение методических указаний производителя. В противном случае расходящиеся результаты будет невозможно интерпретировать и может быть сделан необоснованный вывод либо о соответствии, либо о несоответствии.

При проведении оценки соответствия интерференции достаточно провести постановки подготовленного образца с пороговой концентрацией интерферента в 10 повторах. Возможны другие обоснованные условия. Поскольку оценка интерференции является оценкой систематической ошибки, то её оценивают, как относительную погрешность и выражают в процентах. Чаще всего предел интерференции задают как 10%. Однако это должно быть указано в документации производителя.

Таким образом, оценку соответствия при исследовании интерферентов можно представить в следующей последовательности действий.

1. Производитель устанавливает перечень интерферентов.

2. Производитель устанавливает либо предел интерференции, либо максимальное значение относительной погрешности для среднего в аналитической серии из N повторов.
3. Устанавливается количество повторов N.
4. Готовится базовый пул образцов и маточный раствор интерферента или смеси интерферентов.
5. Готовят по 10 лабораторных образцов базового пула образцов и тестовых растворов интерферентов (аналитическая серия образцов).
6. Проводят постановку аналитической серии образцов, причем все лабораторные пробы ставятся в случайном порядке. Постановку обычно проводят в условиях повторяемости.
7. Проводят расчет среднего значения измеряемой величины в базовом пуле образцов, тестовом растворе интерферента/интерферентов и рассчитывают относительную погрешность.
8. Сравнивают полученные результаты с установленными критериями приемлемости (установленными требованиями).
9. Делают вывод о соответствии или несоответствии.

Особенности интерференции для процедур измерения на основе иммунохимических реакций

Значительная часть серологических маркеров в биологических жидкостях определяется при помощи методик, основанных на иммунохимических реакциях, т.е. на основе специфического взаимодействия антител с соответствующими антигенами. Проблема заключается в том, что используемые антитела имеют различную степень сродства к своему антигену и могут иметь сродство к другим антигенам в биологическом образце. Кроме того, на иммунохимическую измерительную систему могут влиять другие интерференты. Механизмы их влияния могут быть совершенно различными, в том числе и иммунохимическими.

Производитель ИВД должен всесторонне исследовать проблему перекрестной реактивности и представить в технической документации необходимую информацию.

В CLSI EP07 [1] для иммунохимических систем представлена количественная характеристика для перекрестной реактивности – процент кроссреактивности (Кроссреактивность, %), которая рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{Кроссреактивность, \%} = \frac{\text{Измеренное значение} - \text{Истинное значение}}{\text{Концентрация кроссреагента}} \cdot 100\%$$

Понятно, что кроссреактивность может быть определена либо для количественных систем, либо для качественных с непрерывной измеряемой характеристикой (коэффициент позитивности).

Положения комплексного подхода к оценке интерференции

При исследовании интерферентов следует учитывать следующие положения.

1. Интерференты необходимо разделять на логически обоснованные группы (эндогенные и экзогенные).
2. Интерферентом может быть конкретная субстанция максимально возможной, либо приемлемой чистоты.
3. Допускается использовать растворы чистых веществ в простой матрице. При этом должно быть продемонстрировано отсутствие матричного эффекта. В качестве источника интерферентов не следует использовать готовые лекарственные формы сложного состава, в следствие того, что при выявлении интерференции её источник будет неизвестен.
4. Идеальными источниками экзогенных интерферентов являются химически чистые вещества. Вполне приемлемым источником экзогенных интерферентов являются лекарственные препараты, представляющие собой растворы действующего вещества в простой матрице (вода, этиловый спирт, физиологический раствор) или лиофильно высушенные. Отсутствие матричного эффекта должно быть доказано производителем.
5. В качестве источника эндогенных интерферентов могут быть использованы суррогатные образцы, полученные либо непосредственно от пациентов (пулированные образцы), либо искусственно приготовленные из пулированных образцов методом добавок. Конечная концентрация интерферента должна быть подтверждена надежными методами.
6. Для оценки интерференции допускается использование смеси интерферентов. Отсутствие взаимного влияния интерферентов должно быть доказано.
7. При изготовлении базовых растворов интерферентов на основе суррогатных образцов, степень разбавления последних не должна превышать 5-10%.
8. Концентрации базовых растворов интерферентов должны быть в 10-20 раз больше конечных концентраций интерферентов в лабораторных пробах суррогатных образцов для того, чтобы обеспечить их минимальное разбавление.
9. Методика и критерии приемлемости результатов тестирования интерферентов должны быть установлены производителем.
10. При оценке соответствия интерференции должны использоваться разработанные производителем пределы интерференции.

11. При оценке соответствия должны использоваться лишь пороговые концентрации интерферентов в точках принятия медицинских решений или при низких, средних и высоких концентрациях измеряемой величины в диапазоне измерения аналитической системы.
12. Оценка соответствия интерференции состоит в демонстрации того, что измеренное среднее значение измеряемой величины, полученное в серии из 10 повторностей, после добавления интерферента не выходит за установленные границы предела интерференции, либо относительная погрешность среднего не превышает 10%.

Список источников

- [1]. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- [2]. ГОСТ Р ИСО 18113-1–2009 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- [3]. РМГ 29-2013 Метрология. Основные термины и определения.
- [4]. CLSI. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. 1st ed. CLSI supplement EP37. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- [5]. O. Sonntag and A. Scholer. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001; 38: 376-385.
- [6]. ГОСТ Р ИСО/МЭК 17000-2022 Оценка соответствия. Словарь и общие принципы.

References

- [1]. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- [2]. ISO 18113-1:2009 In vitro diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 1: Terms, definitions and general requirements.
- [3]. RMG 29-2013 State system for ensuring the uniformity of measurements. Metrology. Basic terms and definitions.
- [4]. CLSI. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. 1st ed. CLSI supplement EP37. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- [5]. O. Sonntag and A. Scholer. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001; 38: 376-385.

[6]. ISO/IEC 17000:2020 Conformity assessment. Vocabulary and general principles.

© Масленников В. В., 2024