

Laboratóriumok közötti összemérés a
KRIO Intézet Zrt. és a LabMagister Kft. részvételével

Készítette: Dr. Száraz Leonóra KRIO Intézet Zrt.
Dr. Hajnal Ágnes LabMagister Kft.
Dr. Mikus Endre LabMagister Kft.

Átvizsgálta: Dr. Sárkány Erika QualiCont Nonprofit Kft.

KRIO Intézet Zrt.
1026 Budapest, Kelemen László u.
Adószám: 12038112-2-41
25

Jóváhagyta:



Dr. Száraz Leonóra
KRIO Intézet Zrt.

Labmagister Kft.
1032 Budapest, San Marco u. 68. 5/19.
K&H Bank 10401213-50526555-53741009
Adószám: 23923768-2-41



Dr. Mikus Endre
LabMagister Kft.



Dr. Sárkány Erika
QualiCont Nonprofit Kft.

QualiCont
In Vitro Diagnosztikai Minőségellenőrzési
Nonprofit Korlátolt Felelősségű Társaság
6720 Szeged, Somogyi Béla u. 6. I/3.
Adószám: 18457926-1-06
Szlsz.: 12067008-00144506-00100003
1. sz.

Budapest, 2018.03.06.

Tartalom

1. Cél.....	3
2. Bevezetés	3
3. A laboratóriumok közötti összemérés gyakorlati kivitelezése	3
4. Eredmények	5
5. Következtetés	7

1. Cél

Az összemérés fő célja, hogy a KRIO Intézet Zrt. laboratóriuma egy független, külső minőségbiztosítási körvizsgálatokat szervező cég együttműködésével jártasságot igazoljon köldökszinórvér volumenredukciós feldolgozásával nyert terápiás minta vérképző őssejt számának (CD34+, CD45+ hematopoietikus őssejtek) áramlási citométerrel történő meghatározásában.

Az összemérés sikeresnek tekinthető abban az esetben, amennyiben a két cég megfelelő egységei ugyanazon köldökszinórvér mintából, ugyanazon paraméterek mérése esetén a biológiai minták méréséből adódó, előre meghatározott statisztikai hibahatáron belül ugyanazon eredményeket kapják.

2. Bevezetés

Annak érdekében, hogy a laboratóriumok a szerződéses partnereik, az egészségügyi hatóság ill. az akkreditáló testületek számára igazolják, hogy a méréseiket helyesen, a szakma követelményei szerint végzik és elvárható mértékben pontos eredményeket adnak meg, megfelelő EQA – External Quality Assessment, így konkrétan jártassági vizsgálatok (PT, proficiency testing schemes) – és hazai vagy nemzetközi körelemzések hiányában összemérés formájában bizonyos mintákat megoszthatnak egymással. A megosztott mintákat mindkét laboratórium a saját laboratóriumi környezetében, személyzetével, mintaelőkészítési technikájával és műszereivel/eljárásaival, egymástól függetlenül elemzi. A minta mérése során a laboratóriumok részben, vagy egészben ugyanazon paramétereket mérik. A független mérés és eredményközlés nyomán született adatokat összevetik és megállapítják, hogy a laboratóriumok milyen mértékű egyezéssel mérik egyazon mintából az egyes paramétereket és számolják az eredményeket. A kapott eredmények alapján egy független minőségellenőrző szervezet, ez esetben a QualiCont Nonprofit Kft. minősíti, hogy a dokumentumban szereplő következtetések összhangban vannak-e a közölt adatokkal.

3. A laboratóriumok közötti összemérés gyakorlati kivitelezése

A jelen laboratóriumok közötti összemérésben a KRIO Intézet Zrt. és a LabMagister Kft. vett részt, egymás közötti mintamegosztás alkalmazásával. Egy mélyfagyasztva tárolt köldökszinórvér minta (KVHU161122025) CD34+, CD45+ kettős pozitív vérképző őssejtek fehérvérsejtszáma vonatkoztatott %-ának összehasonlítását végezték el, amit a KRIO Intézet számára az AABB akkreditáló testülete kötelező minősítő vizsgálatként ír elő.

A köldökszinórvér minta eredete: a köldökszinórvér minta a KRIO Intézetnél került korábban volumenredukciós technológiával feldolgozásra, programozott fagyasztásra, majd -160 °C körüli hőmérsékleten tárolásra. A lemondott minta anonimizálása a vonatkozó EüM rendelet szerint a megosztás során megtörtént. A KRIO Intézetből a köldökszinórvér mintát az Intézet által megbízott szállító (TamTraCo Kft.) vitte a LabMagister Kft. telephelyére. A szállítás cryoshipperben, mélyfagyasztott állapotban, hőmérséklet kontroll mellett történt. A szállítás alatt a minta hőmérséklete végig -150 °C alatt volt, amelyről a logger (EBI 310 V1.24.0, 73100215) visszaolvasása adott tájékoztatást.

A mélyfagyasztott minta felolvasztása mindkét laboratóriumban 37 °C-os vízfürdőben történt.

A mintaelőkészítés, a reagensek, fluoreszcens festékek, a felhasznált áramlási citométerek, az alkalmazott kapuzási stratégia és az eredményközlés különböző a két laboratóriumban.

Mintaelőkészítés:

LabMagister Kft.: A teljes felolvasás után a mintából 30-30-30 µL-nyi vért pipettáztak egy mikrokémcsőbe és hozzáadták a kit leiratának megfelelő mennyiségű „BD CD45/CD34 Multitest” festéket. 15 perces inkubáció után a mintához hozzátettek 300 µL-nyi lizáló oldatot. Újabb 15 perces inkubáció után a mintákat mérték FACS Canto II. áramlási citométerrel. A laboratórium a következő kapuzási eljárásrendet alkalmazta a CD34+ sejtek azonosítására:

Összes eseményszám

Singletek azonosítása FSC-H/SSC-H

Leukocy populáció behatárolása FSC/SSC plot-on

CD45+ sejtek azonosítása CD45 FITC-A / SSC – A ploton

CD34+ sejtek azonosítása a CD34-PE/SSC-A ploton

KRIO Intézet Zrt.:

Két módszerrel történt a CD34+, CD45+ kettős pozitív sejtek meghatározása:

a., Trucount (BD Trucount™ Tubes) csöves mérés (időszakosan végzett belső ellenőrző mérés):

A felolvasztott köldökszinórvérből 3*50 µL mintát pipettáztak egy-egy megfelelően előkészített Trucount csőbe és követték a kit hivatalos leiratát. Mindhárom mintát három egymást követő alkalommal mérték le. Az egy mintához tartozó párhuzamos mérések eredményéből átlagot és szórást számoltak. A méréshez használt készülék: BD FACS Calibur (SN: E4049).

b., Napi rutin mérés:

A felolvasztott köldökszinórvérből 3*50 µL mintát pipettáztak mikrokémcsövekbe és követték a CD 34 ⁽⁸⁶¹²⁾ PE és a CD 45 ^(2D1) FITC festékek BD által meghatározott minta-előkészítési protokollját.

A méréshez használt készülék: BD FACS Calibur (SN: E4049).

Eredmények rögzítése, statisztikai analízis:

Az eredmények táblázatos összesítését a laboratóriumok külön-külön végezték.

A statisztikai analízist a megküldött adatok ismeretében a KRIO Intézet Zrt. készítette.

4. Eredmények

4.1.LabMagister Kft. eredményei

A laboratórium feldolgozatlan eredményeit az 1. Melléklet tartalmazza. A kiértékeléshez felhasznált eredményeket az 1. Táblázat ismerteti.

	CD 34+sejtek CD 45+ sejtek %-ában
Mérés 1.	0,27
Mérés 2.	0,30
Mérés 3.	0,33
Átlag:	0,30

1. Táblázat: LabMagister Kft. CD34+sejtek %-os eredményei

4.2.KRIO Intézet Zrt. eredményei

a., Trucount csöves mérés

A laboratórium feldolgozatlan eredményeit a 2. Melléklet tartalmazza. A kiértékeléshez felhasznált eredményeket a 2. Táblázat ismerteti.

G2 kapunál kapott eredmények	1. Minta	2. Minta	3. Minta
1. Mérés	0,24	0,26	0,24
2. Mérés	0,26	0,3	0,25
3. Mérés	0,25	0,3	0,27
Átlag	0,25	0,29	0,25

2. Táblázat: Trucount csöves mérés – CD 34+sejtek %-os eredményei

b., Napi rutin mérés

A laboratórium feldolgozatlan eredményeit a 3. Melléklet tartalmazza. A kiértékeléshez felhasznált eredményeket a 3. Táblázat ismerteti.

	CD 34+ sejtek a WBC sejtek %-ában
Mérés 1.	0,24
Mérés 2.	0,26
Mérés 3.	0,3
Átlag	0,27

3. Táblázat: Napi rutin mérés – CD 34+sejtek a WBC sejtek %-ában

4.3. Statisztikai analízis

4.3.1. LabMagister Kft. és a KRIO Intézet Zrt. Trucount csöves mérésének összehasonlítása

A két laboratórium által közölt eredmények a szórásnégyzeteket összehasonlító F-próba szerint (ld. 4. Melléklet) szignifikánsan egymástól nem különböző szórást mutattak, így a három-három párhuzamos mérés két mintás t-próbával összevethetővé vált (ld. 4. Melléklet). Ez a statisztikai próba azt igazolta, hogy a mérési átlagok egymástól szignifikáns mértékben nem különböztek, tehát a két laboratórium eredményei azonosnak tekinthetők.

4.3.2. LabMagister Kft. és a KRIO Intézet Zrt. napi rutin mérésének összehasonlítása

A két laboratórium által közölt eredmények a szórásnégyzeteket összehasonlító F-próba szerint szignifikánsan egymástól nem különböző szórást mutattak, így a három-három párhuzamos mérés két mintás t-próbával összevethetővé vált (ld. 5. Melléklet). Ez a statisztikai próba azt igazolta, hogy a mérési átlagok egymástól szignifikáns mértékben nem különböztek, tehát a két laboratórium eredményei azonosnak tekinthetők.

4.3.3. A KRIO Intézet Trucount csöves és napi rutin mérésének összehasonlítása

Megtörtént a KRIO Intézet Zrt. két különböző mérési módszerrel kapott eredményeinek összevetése a korábbi kétlépcsős statisztikai eljárásrend szerint (ld. 6. Melléklet), amely igazolta, hogy a két módszer szignifikánsan nem különbözik egymástól.

5. Következtetés

A statisztikai analízisek azt igazolták, hogy a két laboratórium mérési eredményei azonosnak tekinthetők. A KRIO Intézet Zrt. két mérési módszere sem mutatott szignifikáns különbséget egymástól.