

Validatieplan voor guanidinoacetaat en creatine in bloedspots m.b.v. FIA-MS/MS

Algemene gegevens

Een volledig ingevuld plan dient als verificatie/validatie protocol. Dit moet worden ingevuld voorafgaand aan de validatie/verificatie.

Datum:	
Betrokken laboratorium:	Metabool Laboratorium
Verantwoordelijk laboratoriumhoofd of wetenschappelijk onderzoeker:	Desiree Smith
Coördinatie van de validatie/verificatie:	Desiree Smith
Het betreft een:	Validatie
Het betreft een validatie/verificatie van een:	Methode
Titel:	Guanidinoacetaat en creatine in bloedspots m.b.v. FIA-MS/MS
Beoogde toepassing:	Bepalen van guanidinoacetaat en creatine in bloedspots van pasgeborenen m.b.v. FIA-MS/MS
Principe methode:	Guanidinoacetaat en creatine worden m.b.v. methanol waar aan een isotopisch gelabelde interne standaard is toegevoegd geëxtraheerd uit bloedspots en vervolgens gemeten met FIA-MS/MS
Rapporteren resultaten:	Kwantitatief
Samenstelling reagentia:	Neobase II kit
Arbo- en milieuaspecten:	- Patiëntenmateriaal moet behandeld worden als zijnde besmet - Methanol moet afgevoerd worden in halogeenarm afvalvat - Bloedspots afvoeren als Specifiek Ziekenhuis Afval in SZA vaten
Naam (+firma) apparaat:	Perkin Elmer Qsight 220
Serienummer apparaat:	
Firma reagentia:	
CE markering apparaat	n.v.t.*
CE markering reagentia	n.v.t.*
Totale toegestane analytische fout (TEa = total allowable error)	$< 0,5 CV_{\text{individueel}}$
Totale toegestane imprecisie (Tia = total allowable imprecision)	$< 0.25 (CV_{\text{individueel}}^2 + CV_{\text{range}}^2)^{1/2}$
Medische kritische concentratie	Te bepalen
Bijlage**	- - - -

* Doorhalen wat niet van toepassing is

** Eventueel kan literatuur of een beleidsnotitie worden toegevoegd als bijlage

Validatieplan voor guanidinoacetaat en creatine in bloedspots m.b.v. FIA-MS/MS

Prestatie karakteristieken

Welke prestatie karakteristieken worden geverifieerd of gevalideerd en welke acceptatiecriteria worden gehanteerd?

Indien deze niet getest worden in deze validatie/verificatie, dan een bron vermelden van eerder uitgevoerd onderzoek of toelichten waarom dit niet van toepassing is. Zie voor beschrijving van de karakteristieken SOP [Validatie en verificatie apparatuur en methoden – procedure KC en HL](#).

	Te verrichten onderzoek of bron van reeds uitgevoerd onderzoek of toelichting waarom niet van toepassing	Acceptatie criteria
Precisie ^{a c e g}	Intra-assay en inter-assay variatie zullen bepaald worden door respectievelijk verschillende concentratie samples 5 maal in 1 serie en in duplo in 5 series te meten.	<10%
Juistheid ^{a c g}	Voor het vaststellen van de juistheid van de resultaten zal referentiemateriaal van CDC gebruikt worden. Vier verschillende concentraties. Voor creatine + 0; 100; 300 en 500 µmol/L. Voor guanidinoacetaat + 0; 5; 10 en 20 µmol/L.	<10%
Meetonzekerheid ^{a c g}	Effect van een 2 ^e operator zal bepaald worden.	<10%
Referentiewaarden ^{b c}	Voor het vaststellen van referentiewaarden zullen ~600 bloedspots van pasgeborenen (toegezegd door RIVM) gebruikt worden.	Referentiewaarden zullen vergeleken worden met literatuurwaarden. Grubb's uitbijtertest zal uitgevoerd worden.
Lineariteit ^{b c}	De lineariteit wordt m.b.v een standaard in water en in bloed bepaald. Voor guanidinoacetaat: 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2; 4; 8; 12; 16; 20; 40; 80; 120; 160; 200; 400; 800; 1200; 1600; 2000 pmol. Voor creatine: 10; 20; 30; 40; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 1000; 2000; 3000; 4000; 5000; 10.000; 20.000; 30.000; 40.000; 50.000 pmol. De laagste concentratie wordt 10x gemeten om de CV te bepalen.	Voor guanidinoacetaat minimaal lineair tot 100 µM. Voor creatine minimaal lineair tot 1000 µM. Dit zijn de te verwachte ranges.
Bepalingsgrenzen (meetbereik, detectielimiet en kwantificatielimiet) ^{b c g}	De detectielimiet (signaal/ruis>3) en kwantificatielimiet (signaal/ruis>10) zullen m.b.v. een (verdund) bloedspot sample bepaald worden. In water wordt de range van lineariteit gebruikt.	Controle range voor guanidinoacetaat is ongeveer 0,5-10 µM en voor creatine 130 – 900 µM. De kwantificatielimiet zou 10x lager moeten liggen.
Recovery ^{b c}	De recovery wordt bepaald door bloed te spiken met verschillende bekende hoeveelheden guanidinoacetaat en creatine en van dit bloed bloedspots te maken. Voor guanidinoacetaat: 5; 10; 25; 50; 100 pmol. Voor creatine: 125; 250; 675; 1250; 2500 pmol. Dit wordt gemeten in triplo.	100% ±15%
Interferenties ^{b c}	M.b.v. meten van 2 fragmenten en de ratio daarvan zal bepaald worden of er interferenties zijn (referentiewaarden samples).	
Carry-over ^{b c f}	De carry-over wordt bepaald door een laag en hoog sample afwisselend te meten volgens het volgende patroon: L1, L2, L3, H1, H2, L4, H3, H4, L5, L6, L7, L8, H5, H6, L9, H7, H8, L10, H9, H10, L11. Het	< 1%

Validatieplan voor guanidinoacetaat en creatine in bloedspots m.b.v. FIA-MS/MS

	gemiddelde van L2, L3, L6, L7 en L8 wordt bepaald. En het gemiddelde van L4, L5, L9, L10 en L11 wordt bepaald. De carry-over is het verschil tussen deze 2.	
Drift	Drie verschillende level bloedspots worden meegenomen in elke serie (vooraan, midden en achteraan). Drift wordt bepaald tijdens de run en tussen meerdere runs.	
Stabiliteit (monstermateriaal, reagens) ^{b c}	De stabiliteit van de standaard zal bepaald worden voor 1, 2, 5 en 10 vries-dooi cycli, tot 1 week bij kamertemperatuur en koelkast. Stabiliteit van het monster wordt bij 3 temperaturen (20°C, 25 °C en 30 °C) bepaald tot 1 week (=opsturen materiaal) en bij 20°C tot 6 weken (=afroeden screening).	< 5%
Alternatief monstermateriaal (bijv. EDTA- ipv heparineplasma) ^{b d}	N.v.t.	
Diagnostische specificiteit en sensitiviteit ^{b d}	Data van externe centra zal meegenomen worden indien referentiewaarden overeenkomen.	
Minimale monstervolume en het dode volume ^e	N.v.t.	
Gebruikersgemak ^g	N.v.t.	
Gevoeligheid voor storingen ^g	N.v.t.	
ICT koppeling (bv. end-to-end test) ^h	N.v.t.	

^a minimale prestatie karakteristieken die getest moeten worden bij een **verificatie** van een kwantitatieve methode. Indien deze niet kunnen worden gedaan, beargumenteren waarom niet.

^b optionele prestatiekarakteristieken die kunnen worden getest indien dit nodig wordt geacht bij een **verificatie** van een kwantitatieve methode.

^c minimale prestatie karakteristieken die getest moeten worden bij een **validatie** van een kwantitatieve methode. Indien deze niet kunnen worden gedaan, beargumenteren waarom niet.

^d optionele prestatiekarakteristieken die kunnen worden getest indien dit nodig wordt geacht bij een **validatie** van een kwantitatieve methode.

^e minimale prestatie karakteristieken die moeten worden getest bij een **apparaat verificatie**, Indien deze niet kunnen worden gedaan, beargumenteren waarom niet.

^f optionele prestatie karakteristieken die kunnen worden getest bij een **apparaat verificatie** indien mogelijk en nuttig

^g mogelijke prestatie karakteristieken die beoordeeld kunnen worden voor **POCT-onderzoeksprocedures**. Voor sommige POCT-apparaten (bijv. glucosemeters) geldt dat 1 apparaat uitgebreid wordt geverifieerd, waarna volgende apparaten via een kortere ingangscntrole geïmplementeerd kunnen worden.

^h na alle aanpassingen aan methoden en/of apparaten geldt dat de ICT koppeling getest dient te worden. Indien het een grote aanpassing betreft, wordt dit een apart project voor het GLIMS team waarover een rapport zal worden geschreven.

Kwaliteitscontrole

Interne kwaliteitscontrole	Ja Zo ja, welke? Gespikte bloedspots
Externe kwaliteitscontrole	Ja Zo ja, welke? CDC newborn screening, indien mogelijk

* Doorhalen wat niet van toepassing is

Planning

Validatieplan voor guanidinoacetaat en creatine in bloedspots m.b.v. FIA-MS/MS

	Beoogde deadline
Uitvoeren bepalingen	Aug-Okt 2019
Opstellen validatie rapport	Nov 2019
Implementatie nieuwe methode	Validatie voor extern

Handtekeningen

Naam / functie	Handtekening	Datum
Desiree Smith / onderzoeker		
Gajja Salomons / hoofd ML		