

# Doporučení pro validace a verifikace postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích

Datum vydání: 1. 3. 2021

Zpracovali: Z. Plzák, J. Kratochvíla, B. Friedecký, L. Šprongl

## Obsah

1. Úvod.....	2
2. Zkratky .....	2
3. Předmět validace v laboratoři.....	2
4. Předmět verifikace v laboratoři.....	3
5. Terminologie.....	3
6. Proč je nutná validace/verifikace.....	3
7. Kdo provádí validace/verifikace.....	3
7.1. Výrobci diagnostik.....	3
7.2. Profesionální organizace analytiků .....	4
7.3. Zdravotnické laboratoře .....	4
8. Kdy se provádí validace.....	4
9. Kdy se provádí verifikace.....	4
10. Rozsah a intenzita validace a verifikace .....	5
10.1. Verifikace validovaných kvalitativních zkoušek .....	5
10.2. Verifikace validovaných kvantitativních zkoušek .....	5
10.3. Validace provedených modifikací původně validované metody .....	6
10.4. Kvantitativní zkoušky vyvinuté laboratoří (in-house).....	6
11. Sestavení plánu validace nebo verifikace.....	6
12. Provedení plánu validace nebo verifikace je následující .....	7
13. Výkonnostní charakteristiky postupu laboratorního vyšetření.....	7
13.1. Hlediska úzce související s validací/verifikací .....	8
14. Dokumentace .....	8
15. Uvedení do provozu.....	8
16. Shrnutí zásad validace.....	9
17. Shrnutí zásad verifikace.....	9
18. Literatura .....	9

## 1. Úvod

Od posledního vydání *Doporučení k provádění validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích* uplynulo již 10 let. Za tuto dobu byly publikovány nové verze dokumentů, o které se toto Doporučení opírá. Především vyšla nová norma ČSN EN ISO 15189 [1], podle které jsou zdravotnické laboratoře akreditovány a která specifikuje požadavky na validaci a verifikaci používaných analytických metod, postupů laboratorních vyšetření. Vyšlo i nové, přepracované vydání příručky EURACHEM [2, 3] zabývající se tímto tématem a další dokumenty zabývající se detailně validací a verifikací metod v laboratořích [4, 5, 6, 7]. V neposlední řadě bylo publikováno aktuální stanovisko pracovní skupiny Akreditace a ISO/CEN normy Evropské federace klinické chemie a laboratorní medicíny (EFLM) [8] k validaci a verifikaci postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích, ze kterého u tohoto nového znění Doporučení vycházíme.

## 2. Zkratky

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CEN	Comité Européen de Normalisation (European Committee for Standardization)
CLIA	Clinical Laboratory Improvement Amendments USA
CRM	Certified Reference Material
EFLM	Evropská federace klinické chemie a laboratorní medicíny
EHK	Externí hodnocení kvality
FDA	Food and Drug Administration USA
IVD MD	In vitro diagnostic – medical device
ISO	International Organization for Standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
JCTLM	Join Committee on Traceability in Laboratory Medicine
LGC	Laboratory of the Government Chemist
POCT	Point of Care Testing (Laboratorní metoda prováděná u lůžka nemocného nebo v prvním kontaktu s ním)
SEKK	Systém Externí Kontroly Kvality
SOP	Standardní Operační Postup
SRM	Standard Reference Material
WG-PRE	Working Group for the Preanalytical Phase

## 3. Předmět validace v laboratoři

Validaci definuje ČSN EN ISO 15189 [1] a Slovník managementu kvality [9] jako potvrzení prostřednictvím poskytnutí objektivních důkazů, že požadavky na specifické zamýšlené použití nebo specifickou aplikaci byly splněny.

Validace potvrzuje, že měřicí postup/měřicí systém/ výrobek IVD MD je schopen plnit požadavky na ně kladené. Jinak řečeno, že laboratorní vyšetření realizované danou měřicí metodou je schopno poskytovat výsledky - reprodukovatelná měření v požadovaném rozsahu, s požadovanou mezí stanovitelnosti, precizností, bias (vychýlením) a nejistotou, k tomu, aby mohla být činěna odpovídající diagnostická a terapeutická rozhodnutí.

Ve zdravotnické laboratoři se v naprosté většině používají již validované postupy laboratorních vyšetření, produkované výrobcí in vitro diagnostik v souladu se Směrnicí IVD 98/79 EC (2017) nebo v souladu s požadavky FDA. Zdravotnická laboratoř by neměla používat jiné než validované metody. Proces validace provádí laboratoř pouze, pokud postupy laboratorních vyšetření jsou [1, 8]:

- a) Nestandardní.
- b) Navržené nebo vyvinuté laboratoří (in-house).
- c) Validované postupy laboratorních vyšetření používané mimo rámec jejich zamýšleného rozsahu použití.
- d) Validované postupy laboratorních vyšetření, které byly následně upraveny.

#### 4. Předmět verifikace v laboratoři

Verifikaci (ověřování) definuje ČSN EN ISO 15189 [1] a Slovník managementu [9] jako potvrzení prostřednictvím poskytnutí objektivních důkazů, že specifikované požadavky byly splněny. Tedy potvrzení, že jsou dosaženy funkční vlastnosti nebo zákonné požadavky na měřicí systém a potvrzení prostřednictvím objektivních experimentálních důkazů, že data o analytických charakteristikách deklarovaná výrobcem, jinou laboratoří nebo referenční institucí jsou v dané laboratoři s použitím konkrétního měřicího systému dosažena.

Je stanoveno, že validované postupy laboratorních vyšetření používané beze změn musí podléhat nezávislé verifikaci v laboratoři předtím, než je zahájeno jejich rutinní používání [1]. Cílem verifikace je objektivní experimentální průkaz, že laboratoř je schopná dosáhnout výkonnostních parametrů (nejčastěji základních analytických charakteristik metod), které výrobce/původce uvádí (nebo má uvádět) ve své dokumentaci. Pojem verifikace představuje v laboratořích proces ověřování, zda je laboratoř schopna dosáhnout při zavádění již validovaných metod deklarovanou výkonnost metody, nikoliv tedy prověření obecné vhodnosti metody pro daný účel. I když verifikace pracuje s nástroji obdobnými jako u validace, a tak prokazuje způsobilost personálu laboratoře a způsobilost zařízení a prostředí ve vztahu k provádění daného měřicího postupu, je to v užším rozsahu a daleko méně pro laboratoř náročné než validace.

Verifikací pak rozumíme, že měřicí postup/systém/výrobek IVD MD je plně funkční v konkrétní laboratoři. V tomto doporučení budeme operovat s pojmem verifikace pouze v souvislosti s výrobky uvedenými na trh v souladu se zásadami nařízení IVD 98/79 EC (2017). V ostatních případech je na místě užití termínu validace.

#### 5. Terminologie

V tomto dokumentu je použita terminologie vycházející z ČSN EN ISO 15189 [1] a elektronicky publikovaného textu „Metrologická terminologie v klinické a analytické laboratoři“ (3. přepracované a doplněné vydání SEKK 2021), který je volně dostupný na <http://sekk.cz/terminologie/index.php>. Tento dokument přejímá vybrané pojmy a termíny tak, jak jsou definovány ve třetím vydání mezinárodního metrologického slovníku VIM3 a jeho překladu do českého jazyka publikovaném jako TNI 01 0115:2009 [10] a volně dostupného na <https://www.unmz.cz/metrologie/slovniky/>. Mimo jiné jsou v něm používány tyto české ekvivalenty pro některé ze základních termínů nejistotního přístupu k měření: precision = preciznost, measurement trueness = pravdivost měření a measurement accuracy = přesnost měření.

#### 6. Proč je nutná validace/verifikace

Výsledky analytických měření mají mimořádně silný dopad v praxi. Ve zdravotnické laboratoři mohou rozhodným a někdy i fatálním způsobem ovlivnit zdraví, kvalitu života a někdy i samotný život pacienta.

Provádět měření v dostatečné kvalitě je profesionální povinností analytika. Validace/verifikace je činnost, kterou si laboratoř zajišťuje kvalitu dat při rutinním provozu. Je to činnost, která, je-li správně provedena, se laboratoři při rutinním používání validovaného postupu vyplatí.

Validace/verifikace poskytuje potřebná data pro odhad nejistoty měření (respektive intervalu spolehlivosti výsledků měření).

Akreditace, neboli formální potvrzení odborné kompetence laboratoře, vyžaduje používání řádně validovaných a verifikovaných metod (měřicích systémů).

#### 7. Kdo provádí validace/verifikace

##### 7.1. Výrobci diagnostik

Podle nařízení IVD 98/79 EC smí výrobce uvádět na trh Evropské unie pouze validované měřicí systémy. Postup a rozsah validace IVD MD je dán normou ČSN EN 13612 [11].

Pro výrobce uvádějící své produkty na trh v USA rovněž platí, že ty jsou validované v rozsahu daném dokumentem *Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry* [12], vytvořeném pod vedením FDA.

## 7.2. Profesionální organizace analytiků

AOAC – má za cíl přispět k celosvětové důvěryhodnosti analytických výsledků (a tím i analytické chemie a analytických chemiků). Tato asociace má vyvinutu řadu validačních, verifikačních a certifikačních programů a spolupracuje s institucemi typu FDA, takže zasahuje také přímo do laboratorní medicíny. Analytické metody, které publikuje ve svém kompendiu, označuje jako validované, protože prošly procesem validace zahrnujícím mezilaboratorní porovnání. AOAC vydala vlastní návod, jak verifikovat analytické metody, je dostupný v češtině jako součást příručky řady Kvalimetrie [4].

## 7.3. Zdravotnické laboratoře

**Konečnou odpovědnost za adekvátní validaci nebo verifikaci postupu měření však nese samotná zdravotnická laboratoř.** Míra úsilí, které musí vlastní laboratoř při validaci nebo verifikaci vyvinout, se výrazně liší podle toho, zda předmětem validace/verifikace je nový postup vyvinutý v laboratoři či metoda standardní nebo oficiální, která prošla i plnou mezilaboratorní validací a běžně se v oboru používá.

Jestliže validační údaje pocházejí z dokumentace výrobců a jsou podloženy experimenty v laboratořích výrobců, profesionálních organizací a v kalibračních/referenčních laboratořích, pak laboratoř musí tato data neustále doplňovat a verifikovat. Hlavními nástroji, kterými toho lze docílit jsou:

- Dodržování standardních operačních postupů výrobků splňujících požadavky nařízení IVD 98/79 EC 2017.
- Provádění pravidelné kontroly kvality (vnitřní i externí kontrola kvality).
- Vypracování a revize SOP, při které se rozhodující důraz klade na hodnocení výsledků mezilaboratorních porovnávání a studií.
- Průběžné a soustavné vzdělávání pracovníků.
- Průběžné sledování dokumentů a informací poskytovaných referenčními institucemi a organizacemi typu JCTLM, LGC, AOAC.

Trend moderního analytického měření je jasný. Používat validované testovací soupravy a validované analytické měřicí systémy a přenést hlavní pozornost laboratořích na odhady nejistot měření, kontrolu kvality, edukaci, soustavné sledování informací a implementaci nových poznatků do praxe laboratorní činnosti.

## **8. Kdy se provádí validace**

- Před zahájením rutinního používání nové analytické metody/měřicího systému v laboratoři, přičemž jde o metodu, která nebyla validována výrobcem.
- Pokud rozšíříme použití stávající metody o další účel (např. rozšíříme měření o další druh biologického materiálu), nad rámec oblasti použití deklarované výrobcem.
- Při převzetí metody (typu in house) z jiné laboratoře nebo z publikace.
- Před zavedením nové (jiné) testovací soupravy.
- Při významné změně instrumentace.
- Ukazuje-li řízení kvality a EHK přetrvávající závažný problém.
- Podle validačního plánu.

## **9. Kdy se provádí verifikace**

- Před zahájením rutinního používání nové, ale výrobcem již validované standardní metody/měřicího systému.
- Ukazuje-li řízení kvality problém.
- Podle plánu verifikací, v závislosti na stabilitě a robustnosti metody.

## 10. Rozsah validace a verifikace

Rozsah a hloubka validace musí vždy odpovídat potřebě získat dostatek údajů k rozhodnutí, zda metoda je skutečně vhodná pro zamýšlený účel [1]. U verifikace pak k potvrzení, že metoda je schopna vykazovat v podmínkách laboratoře takovou výkonnost (analytické charakteristiky), že může být rutinně pro zamýšlený účel používána. Validační/verifikační plány jsou dány charakterem validované/verifikované metody. Validace/verifikace kvalitativní metody vyžaduje významně menší úsilí než validace/verifikace metody kvantitativní. Metody validované výrobcem – výrobky IVD MD disponující značením CE a postupy prověřené mezilaboratorní validační studií vyžadují nižší rozsah prověrky než metody vyvinuté samotnou laboratoří (tj. typu in house) nebo laboratoří podstatně modifikované, či z jiné laboratoře přejeté.

Rozsah validace/verifikace se stanovují ve validačním/verifikačním plánu.

Z hlediska validace/verifikace a jejího potřebného rozsahu lze laboratorní zkoušky rozdělit do pěti skupin:

1. Kvalitativní zkoušky prováděné pomocí výrobků IVD vybavených značkou shody CE.
2. Kvantitativní zkoušky prováděné pomocí výrobků IVD vybavených značkou shody CE.
3. Kvantitativní zkoušky prováděné pomocí výrobků IVD vybavených značkou CE, ale s použitím modifikovaného postupu.
4. Kvantitativní zkoušky vyvinuté laboratoří (in-house).
5. Kvalitativní zkoušky vyvinuté laboratoří (in-house).

Validace a verifikace pro výše uvedené skupiny metod jsou odlišné a jsou podrobněji popsány v následujících odstavcích. Validace musí být tak rozsáhlá, jak je to nezbytné pro rozhodnutí o použitelnosti dané metody.

### 10.1. Verifikace validovaných kvalitativních zkoušek

U této skupiny metod je jediným požadavkem striktní dodržování pracovních postupů výrobců (final CLIA Rules Part V, dostupné na <http://www.westgard.com>). I tento typ metod by měl mít vytvořený program vnitřní a externí kontroly kvality. Kontrolní materiály má podle znění nařízení 98/79 EC doporučovat, dodávat a charakterizovat výrobce IVD podle normy ISO 15198 [13].

### 10.2. Verifikace validovaných kvantitativních zkoušek

Jde o metody, které používají prostředky splňující požadavky nařízení IVD 98/79 EC a opatřené značkou CE. Tam se laboratoř omezí na verifikaci základních předem validovaných parametrů.

Do této kategorie patří většina laboratorních zkoušek. Značení CE u výrobků IVD znamená potvrzení shody jejich vlastností s požadovanými, to znamená, že před uvedením na trh bylo shledáno, že vyhovují požadavkům Evropského nařízení 98/79 EC. Výrobce IVD má tedy ustanoven systém managementu kvality podle normy ISO 13485 [14] a jeho výrobky byly validovány postupy požadovanými normou EN 13612 [11]. Z faktu, že laboratoř používá výrobky vyhovující nařízení IVD 98/79 EC vyplývají pro ni následující povinnosti, umožňující požadovat odpovědnost výrobce za kvalitu výrobku IVD MD:

- Výrobek se musí používat v souladu s jeho zamýšleným použitím, které je výrobcem deklarováno.
- Uživatel musí dodržet postup výrobcem uvedený (nesmí v žádném případě a jakkoliv tento postup modifikovat).
- Uživatel musí použít výrobcem uvedený analytický měřicí systém (nesmí v žádném případě a jakkoliv tento analytický měřicí systém modifikovat).
- Uživatel provádí namísto rozsáhlé validace základní verifikaci vlastností těchto výrobků s použitím jednoduchého verifikačního plánu.

Účelem verifikace metod IVD je potvrzení, že získané hodnoty analytických a výkonnostních charakteristik jsou ve shodě s hodnotami deklarovanými výrobcem a že jich lze v konkrétní laboratoři docílit za běžných podmínek rutinní činnosti.

Předmětem verifikace není tedy samotný výrobek IVD, ale schopnost realizovat měřicí proces v konkrétní laboratoři v daném čase a prostoru.

Výstupem verifikace by měla být i seriózně odhadnutá hodnota nejistoty měření. Minimem verifikačního plánu výrobků IVD MD je:

- Preciznost (opakovatelnost, mezilehlá preciznost).
- Bias (vychýlení) kvantifikovaný jako výtěžnost (recovery).
- Pracovní rozsah.

Tyto znaky jsou nezbytné pro základní odhad nejistoty výsledků měření. Laboratoř může v případě potřeby verifikovat i další analytické znaky.

### 10.3. Validace provedených modifikací původně validované metody

Příkladem je použití testovací soupravy/analytického měřicího systému IVD MD, u něhož byl nějakým způsobem modifikován postup. Takto modifikovaná testovací souprava by měla být podrobena „křížové“ validaci. Ta se provádí (podle [11]) srovnáním výsledků validace původní a modifikované metody. Cílem je dokumentovat, že modifikací nedošlo k porušení shody vlastností s požadavky specifikovanými pro dané použití

### 10.4. Kvantitativní zkoušky vyvinuté laboratoří (in-house)

**Taková metoda musí být validována v plném rozsahu.** Do této kategorie patří metody vyvinuté laboratoří (in house) nebo metody přejeté z jiné laboratoře. V tomto případě je nezbytné používat podstatně širší a komplexnější validační plán a zkoumat:

- Preciznost (opakovatelnost, mezilehlá preciznost).
- Bias (vychýlení), výtěžnost.
- Pracovní rozsah, mez detekce a stanovitelnosti, linearitu.
- Interference.
- Porovnání s jinou metodou.
- Referenční intervaly a klinické rozhodovací meze.

Podrobně se validací z pozice jednotlivé laboratoře zabývá IUPAC Technical Report Harmonized Guidelines for Single-laboratory Validation of Methods of Analysis [15] a rozpracovává přístup laboratoře v mnoha variantách.

## 11. Sestavení plánu validace nebo verifikace

Jak u validace, tak i verifikace se experimentálně získané hodnoty výkonnostních charakteristik postupu vyšetření (např. hodnoty opakovatelnosti, mezilehlé preciznosti a pracovního rozsahu) srovnávají s daty uvedenými v pracovní dokumentaci výrobců měřicího systému nebo dokumentaci původce analytického postupu nebo daty získanými v průběhu předchozí validace. Tato předem stanovená kritéria, spolu s definicí měřené veličiny a zvolenými testovanými charakteristikami daného postupu tvoří jádro plánu. Validace i verifikace tedy musí probíhat podle předem stanoveného plánu, který je schválen pracovníkem s příslušnou odbornou úrovní a měl by zahrnovat minimálně tyto prvky [8]:

1. zamýšlené použití postupu laboratorního vyšetření
2. specifikaci měřené veličiny
3. výběr relevantních výkonnostních parametrů postupu
4. kritéria pro přijetí postupu jako vhodného pro daný účel
5. způsob provedení experimentů
6. určení odpovědných pracovníků k provedení validace/verifikace, posouzení výsledků a vypracování a schválení zprávy.

## 12. Provedení plánu validace nebo verifikace je následující

- Formulovat požadavky, kterých má být pro daný účel použití dosaženo (u výrobků IVD MD jsou tyto požadavky součástí pracovní dokumentace dodané výrobcí a laboratoř pouze verifikuje jejich platnost).
- Určit rozsah validace/verifikace, tj. výběr validačních parametrů – základním kritériem je získat dostatek údajů, aby bylo možno posoudit, zda metoda je vhodná pro zamýšlený účel, vypracovat plán.
- Provéřít, zda použitá analytická instrumentace má kvalifikaci pro daný účel, tj. že její technické parametry jsou postačující pro daný účel, že byla řádně kalibrována apod.
- Vybrat vzorky, na kterých se experimenty realizují.
- Provést příslušné experimenty.
- Vyhodnotit výsledky.
- Pokud je nutné, provést opatření k tomu, aby byly specifikované požadavky splněny.
- Vytvořit dokumentaci validace/verifikace ve formě zprávy.

## 13. Výkonnostní charakteristiky postupu laboratorního vyšetření

Konkrétní volba, které z výkonnostních charakteristik budou testovány a jak, je komplexní záležitostí vyžadující odborné posouzení. Obecně se navrhuje [8] použít přístup analýzy rizik (tedy profesionálního hodnocení) k tomu, aby se dosáhlo požadované rovnováhy mezi splněním stanovených požadavků a získáním statisticky spolehlivých dat za přiměřených nákladů pro rozhodnutí, zda testovaný parametr je v souladu s předem stanoveným kritériem. Z těchto důvodů v tomto dokumentu na rozdíl od minulého Doporučení, nebudou uváděny počty vzorků požadovaných pro jednotlivé validační anebo verifikační experimenty ani nebudou předepisovány úrovně jednotlivých parametrů. Jedním zjednodušujícím doporučením není možno pokrýt požadavky, které pestrá paleta laboratorních vyšetření prováděných ve zdravotnických laboratořích vyžaduje. Doporučuje se pečlivě zvážit, k čemu bude laboratorní vyšetření sloužit a zhodnotit všechny informace, které jsou k tomuto postupu vyšetření dostupné.

Norma ČSN EN ISO 15189 [1] a odkaz [8] uvádějí jako výkonnostní charakteristiky postupu laboratorního vyšetření pro validaci a verifikaci parametry, které shrnuje následující tabulka. Které z nich jsou relevantní pro daný analytický postup, by mělo být předmětem odborného posouzení.

**Tab. 1.** Výkonnostní charakteristiky pro validaci/verifikaci analytického postupu

Validace	Verifikace
<ul style="list-style-type: none"><li>• pravdivost měření</li><li>• přesnost měření</li><li>• preciznost měření včetně opakovatelnosti měření a mezilehlé preciznosti měření</li><li>• nejistota měření</li><li>• analytická specifická včetně interferujících látek</li><li>• referenční interval a klinické rozhodovací meze</li><li>• analytická citlivost</li><li>• mez detekce a mez stanovitelnosti</li><li>• měřicí rozsah</li><li>• diagnostická specifická</li><li>• diagnostická citlivost (senzitivita)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• preciznost měření - opakovatelnost</li><li>• mezilehlá preciznost</li><li>• pravdivost měření - bias</li><li>• pracovní rozsah, mez detekce</li><li>• stabilita</li><li>• porovnání s jinou metodou, pokud je možné</li><li>• klinické rozhodovací meze</li><li>• interference</li><li>• nejistota měření</li></ul>

Pokud nejsou některé konkrétní výkonnostní charakteristiky vzhledem k povaze postupu vyšetření nebo prevalenci chorobného stavu použitelné, nebo spolehlivě vyhodnotitelné, měla by tato skutečnost být zdokumentována a zdůvodněna

O definici jednotlivých výkonnostních parametrů, návrhu, provedení a hodnocení validačních a verifikačních experimentů pojednává podrobně příručka EURACHEM [2] a i několik dalších dostupných

dokumentů [5, 6, 11, 15]. Pragmatický přístup k zajištění verifikace ve velké klinické laboratoři popisuje Antonelli a spol. [7].

### 13.1. Hlediska úzce související s validací/verifikací

- Účel měření.
- Definice analytu a parametru.
- Preamalytické postupy - odběr vzorků, identifikace vzorků a pacientů, transport a zacházení se vzorkem. Zde je k dispozici řada doporučení pracovní skupiny EFLM pro preanalytickou fázi -EFLM-WG-PRE [16].
- Souhrn minimálních požadavků na kvalitu měřicího přístroje.
- Metrologická návaznost hodnot měřicích standardů (kalibrátorů). Kalibrace měření.
- Pokud přejímá laboratoř jinde používanou metodu bez dostatku informací a dat o její validaci, pouze její verifikace nepostačuje a je nutno provést validaci ve vlastní laboratoři.
- Když se používá více měřicích přístrojových systémů pro stejnou měřenou veličinu, je třeba provést patřičnou verifikaci pro každý přístrojový měřicí systém.
- Jestliže postup laboratorního vyšetření je modifikován je nutno zvážit a zdokumentovat jaký je dopad konkrétní modifikace (např. snížení objemu vzorku v pediatrii) na výkonnostní charakteristiky postupu a navrhnout rozsah dodatečné validace/verifikace postupu.
- Bias, eventuálně výtěžnost. Je ideální stanovit bias s použitím maticových certifikovaných referenčních materiálů, které disponují hodnotami obsahu analytů získanými referenčními postupy měření (CRM a SRM). Takové vzorky jsou pro rutinní laboratoř často nedostupné. V praxi je nezbytné volit postup, kdy laboratoř porovnává své výsledky s výsledky ostatních laboratoří používajících stejné kontrolní materiály. Toto srovnání lze realizovat pomocí kontrolních materiálů použitých předtím v programech EHK. Hodnota bias získaná za podmínek opakovatelnosti je vhodná pro zpracování do odhadu nejistoty měření.
- Porovnatelnost metod. Ideální srovnávací metodou je referenční měřicí postup. V rutinní praxi je obvykle nedostupný. Postupuje se proto tak, že se nová rutinní metoda/postup/analytický systém srovnává s jinou rutinní metodou/postupem/ analytickým systémem, která byla předem validovaná. Pokud validujeme POCT metodu/analytický systém, pak používáme rutinní laboratorní metody jako metody srovnávací.
- Ověření platnosti použitých výpočtů.
- Citlivost, linearita, měřicí rozsah, mez detekce, mez stanovitelnosti.
- Robustnost.
- Nejistota měření.
- Ustanovení minimálního programu řízení kvality a jeho limitních parametrů.
- Kompletní dokumentace řízení kvality.

Všechny uvedené položky musí tvořit v laboratoři integrovaný, kontinuálně řešený a monitorovaný celek, popsany v normě ISO 15189 [1]. Řešení dílčích problémů bez vazby na ostatní je irelevantní.

## 14. Dokumentace

Dokumentace validace/verifikace v laboratoři sestává z plánu validace/verifikace, získaných výsledků včetně primárních dat a zprávy o validaci/verifikaci obsahující prohlášení, zda metoda vyhovuje zamýšlenému použití. Získané výsledky musí být prokazatelně porovnávány s kritérii pro přijetí specifikovanými v plánu validace/verifikace. Zpráva musí být zkontrolována a schválena pracovníkem na odpovídající odborné úrovni. Výsledky a zprávu je třeba uchovávat minimálně po dobu používání daného postupu laboratorního vyšetření. Vhodný formát plánu a zprávy popisuje dodatek ke Kvalimetrii 20 [3].

## 15. Uvedení do provozu

Pro postup laboratorního vyšetření, který úspěšně prošel validací nebo verifikací se musí vypracovat SOP a vhodné postupy vnitřní a externí kontroly kvality se stanovením mezních hodnot zdravotního významu. Uvedení do provozu se musí provést podle obecných zásad platných v laboratoři. Pokud se znovu zavádí postup vyšetření po provedené změně, je vhodné informovat o změně žadatele, zejména tam, kde by to mohlo znamenat změnu v interpretaci výsledků.



## 16. Shrnutí zásad validace

Laboratoř musí validovat postupy laboratorních vyšetření pocházející z následujících zdrojů:

a) nestandardní a neharmonizované metody; b) metody navržené nebo vyvinuté laboratoři; c) standardní metody používané mimo rámec jejich zamýšleného rozsahu použití; d) validované metody, které byly následně upraveny.

Za tímto účelem:

- Určete a dokumentujte validační parametry a analytické charakteristiky (údaje výrobců o analytických charakteristikách metody/měřicího systému).
- Stanovte a dokumentujte příslušná kritéria (hodnoty analytických charakteristik specifikujících požadavky na to, aby měřicí systém vyhovoval zamýšlenému použití).
- Naplánujte validační experimenty.
- Před započítím experimentů proveďte dostatečné seznámení s přístrojem a metodou, podrobnou instruktaž personálu, prověření a kalibraci přístrojové a výpočetní techniky včetně statistických programů.
- Proveďte experimenty.
- V případě potřeby přehodnoťte kritéria a opakujte experimenty.
- Shrňte a vyhodnoťte výsledky, vypracujte validační zprávu.
- Navrhňte způsob řízení kvality.
- Vypracujte příslušné SOP.
- Určete kritéria a vypracujte plán revalidace.

## 17. Shrnutí zásad verifikace

Validované postupy laboratorních vyšetření používané beze změn musí podléhat nezávislé verifikaci v podmínkách laboratoře předtím, než je zahájeno jejich rutinní používání.

Za tímto účelem:

- Vyberte a dokumentujte klíčové charakteristiky analytické metody pro verifikaci (laboratoř musí získat od výrobce/původce metody informace pro potvrzení výkonnostních charakteristik daného postupu) a stanovte požadované hodnoty výkonnostních charakteristik metody.
- Naplánujte experimenty pro verifikaci.
- Před započítím experimentů proveďte dostatečné seznámení personálu s přístrojem a metodou, prověření a kalibraci přístrojové a výpočetní techniky včetně statistických programů.
- Proveďte experimenty.
- Shrňte a vyhodnoťte výsledky, vypracujte zprávu o verifikaci.
- Navrhňte způsob řízení kvality.
- Vypracujte příslušné SOP.
- Určete kritéria a vypracujte plán opakování verifikace.

## 18. Literatura

1. ČSN EN ISO 15189:2013 ed. 2. Zdravotnické laboratoře - Požadavky na kvalitu a způsobilost. ČAS 2013.
2. Kvalimetrie 20. Vhodnost analytických metod pro daný účel. M. Suchánek a D. Milde (Eds.), EURACHEM-ČR, Praha, 2015. Přeloženo z The Fitness for Purpose of Analytical Methods. Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Editoři B. Magnusson, U. Örnemark. Second Edition 2014.
3. Planning and Reporting Method Validation Studies – Supplement to Eurachem Guide on the Fitness for Purpose of Analytical Methods (2019). V. Barwick (Ed.), Dostupné na <http://www.eurachem.org>.
4. Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod. Přeloženo z How to Meet ISO 17025 Requirements for Method Verification. AOAC International Guide 2007. In Kvalimetrie 18, M. Suchánek a D. Milde (Eds.), EURACHEM-ČR, Praha, 2013, dostupné na [www.eurachem.cz](http://www.eurachem.cz).
5. Theodorsson E, Magnusson B.: Full method validation in clinical chemistry. Accred Qual Assur 2017, 22:235–246.

6. General Accreditation Guidance —Validation and verification of quantitative and qualitative test methods NATA 2018. Dostupné na <https://www.nata.com.au/phocadownload/gen-accreditation-guidance/Validation-and-Verification-of-Quantitative-and-Qualitative-Test-Methods.pdf>.
7. Antonelli G, Padoan A, Aita A, Sciacovelli L, Plebani M.: Verification of examination procedures in clinical laboratory for imprecision, trueness and diagnostic accuracy according to ISO15189:2012: a pragmatic approach. Clin Chem Lab Med 2017, 55:1501-1508.
8. Roelofsen-de Beer R, Wielders J, Boursier G, Vodnik T, Vanstapel F. a spol.: Validation and verification procedures in medical laboratories: opinion of the EFLM Working Group Accreditation and ISO/CEN standards (WG-A/ISO) on dealing with ISO 15189:2012 demands for method verification and validation. Clin Chem Lab Med 2019, 57/3:361-367.
9. ČSN EN ISO 9000:2016. Systémy managementu kvality - Základní principy a slovník. ČAS 2016.
10. TNI 01 0115:2009. Mezinárodní metrologický slovník. Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM).
11. ČSN EN 13612:2002. Hodnocení funkce zdravotnických prostředků pro diagnostiku in vitro. ČAS 2002.
12. Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry. FDA 2018. Dostupné na <https://www.fda.gov/media/70858/download>.
13. ISO 15198:2004. Clinical laboratory medicine – In vitro diagnostic medical devices – Validation of user quality control procedures by the manufacturer. ISO Geneve 2004.
14. ČSN EN ISO 13485 ed. 2 :2016. Zdravotnické prostředky – Systémy managementu kvality – Požadavky pro účely předpisů. ČAS 2016.
15. Thompson M, Ellison SLR, Wood R.: Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report) Pure and Appl. Chem 2002, 74/5:835–855.
16. Vermeesch P, Frans G, von Meyer A, Costelloe S, Lippi G. a spol.: How to meet ISO 15189:2012 pre-analytical requirements in clinical laboratories? Clin Chem Lab Med 2021, DOI:10.1515/cclm-2020-1859.