

Doporučení SLI ČSAKI

Praktické provádění validace a verifikace metod v2

Doporučení SLI ČSAKI pro provedení verifikací a validací imunologických metod vychází z Doporučení pro validace a verifikace postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích autorů Plzáka, Kratochvíly, Frideckého a Šprongla vydané v časopise Klinická biochemie a metabolismus 2/2021.

Imunologické metody mají svá specifika a proto některé požadované výkonnostní charakteristiky výše uvedeného doporučení nelze povést. Velkým problémem pro validaci/verifikaci imunologických metod je metrologická návaznost nebo hodnocení pravdivosti měření (bias). Certifikované referenční materiály nebo mezinárodní standardy/etalony jsou dostupné pouze pro velmi nízký počet vyšetření.

Každá zdravotnická laboratoř musí mít vypracovaný plán validací, resp. verifikací. Plán je vypracován osobou s patřičnými odbornými znalostmi a kompetencemi a musí být schválen VŠ pracovníkem ve zdravotnictví se specializovanou způsobilostí v oboru alergologie a klinická imunologie. Je-li interval validací/verifikací prodloužen na období delší jak jeden rok, je třeba tuto skutečnost mít řádně zdokumentovanou a odůvodněnou.

A. Validace metod

Validace je definována jako potvrzení prostřednictvím poskytnutí objektivních důkazů, že požadavky na specifické zamýšlené použití nebo specifickou aplikaci metody byly splněny. Zdravotnické laboratoře ve většině případů používají postupy laboratorních vyšetření, které byly validovány výrobcem in vitro diagnostik (Diagnostické soupravy označené IVD, resp. IVDR a CE). Validace metody se provádí před měřením klinických vzorků a v případě změny v postupu u této validované metody. Následně se u této metody provádí jen verifikace.

Nejsou-li validační údaje (výkonnostní charakteristiky, metrologická návaznost) dostupné v příbalové informaci k diagnostické soupravě, a ani je není výrobce soupravy schopen poskytnout (in-house metody), pak musí uživatel provést kompletní validaci v rozsahu uvedeném níže.

Konečnou odpovědnost za validaci postupu nese laboratoř.

Kdy se provádí validace:

1. Před zavedením nové metody, která nebyla validována výrobcem (in house metody / LTD / komerční metody RUO)
2. Při změně v postupu oproti doporučení výrobce např: použití jiných než doporučených reagensů od výrobce, významné odchýlení od doporučeného postupu výrobce, použití jiného biologického materiálu.
3. Podle validačního plánu

Rozsah validace:

1. Výrobce poskytuje omezená validační data

Pracoviště by mělo provést validaci pro chybějící analytické parametry, které výrobce neposkytuje:

- Preciznost (opakovatelnost, mezilehlá preciznost) – vždy.
- Bias (vychýlení), výtěžnost (pouze v případě je-li dostupný CRM)
- Pracovní rozsah, mez detekce a stanovitelnosti, linearitu.
- Interference (hemolýza, ikterita, lipemie)
- Porovnání s jinou metodou (minimálně na 10 vzorcích v co nejširším rozsahu)
- Referenční intervaly a klinické rozhodovací meze

2. Modifikované již dříve validované postupy

Srovnání výsledků validace původní a modifikované metody ve výše uvedeném rozsahu.

3. Metody vyvinuté laboratoří nebo přijaté z jiné laboratoře (plná validace)

Pro validaci tohoto typu metod doporučuje SLI ČSAKI používat validační kritéria dle doporučení ČSKB: Doporučení pro validace a verifikace postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích z 1. 3. 2021 (dostupné např. [na www.cskb.cz/wp-content/uploads/2021/03/Doporučení-pro-validace-a-verifikace-postupu-laboratornich-vysetreni-ve-zdravotnickych-laboratorich.pdf](http://www.cskb.cz/wp-content/uploads/2021/03/Doporučení-pro-validace-a-verifikace-postupu-laboratornich-vysetreni-ve-zdravotnickych-laboratorich.pdf)) nebo Klin. Biochem. Metab., 29 (50), 2021, No. 2, p. 78–83), v nejširší možné míře, ad. problém návaznosti imunologických metod.

B. Verifikace metod

Verifikaci podléhají všechny metody v laboratoři a je třeba ji v pravidelných intervalech opakovat dle interních předpisů laboratoře. Verifikace se provádí vždy:

- Při zavedení nové metody s CE značkou, resp. FDA certifikátem
- Při změně měřicího zařízení (s výjimkou uvedenou v odstavci s validací)
- Změně místa provádění
- Při pochybnostech o kvalitě výsledků, nesplnění kritérií pro EHK nebo IKK
- U validovaných metod
- Dle plánu verifikace

1. Kvantitativní (a tzv. „semikvantitativní“) metody

1.1. Vstupní (prvotní) verifikace

1.1.1. Mezilehlá preciznost (reprodukovatelnost): minimálně 10 měření na 2 hladinách v delším časovém intervalu. Data je možné vyhodnocovat i při různých šaržích reagentů a po kalibracích. Je možno použít komerční kontrolní materiál nebo patientské vzorky. Doporučuje se využít výsledků interní kontroly kvality (IKK). V případě použití IKK, kde koncentrace analytu blízká nule, jsou variační koeficienty poměrně velké, proto se v tomto případě pouze hodnotí, zda jsou výsledky negativní a CV se ve verifikačním dokumentu neuvádí. Vyhodnocuje se každoročně.

1.1.2. Preciznost (opakovatelnost): 6–10 opakování na 1 hladině (u jednoho vzorku) v rámci jednoho měření. Je možno použít komerční kontrolní nebo patientský vzorek. Ideální koncentrace analytu je v hraničních hodnotách metody.

1.1.3. Pravdivost měření (bias) – pouze je-li k dispozici certifikovaný referenční materiál

1.1.4. Nejistota – do výpočtu celkové (kombinované) nejistoty se u imunologických metod zahrnuje pouze nejistota charakterizující mezilehlou preciznost pro pozitivní IKK, případně i pro nízkou IKK, jedná-li se o kontrolu s měřitelnými hodnotami. Je-li uvedena pro kalibrátor nejistota např. u CLIA metod, pak se do výpočtu zahrnuje nejistota kalibrátoru. V případě vícebodové kalibrace se pro výpočet použije nejistota kalibrátoru, jenž je hodnotou nejbližší průměrné koncentraci IKK, kterou použijeme pro výpočet nejistoty). Do výpočtu nejistoty se nezahrnuje Opakovatelnost ani Pravdivost měření.

1.2. Opakovaná (průběžná) verifikace (dle verifikačního plánu)

1.2.1. Mezilehlá preciznost (reprodukovatelnost): 10 opakování (replikací) na 2 hladinách (u dvou vzorků). viz bod 1.1.1. Vyhodnocení každý rok.

1.2.2. Nejistota

Viz bod 1.1.4.

2. Kvalitativní metody

U validovaných kvalitativních metod je nutno dodržovat přesně postup výrobce a mít vytvořený program interní a externí kontroly. U kvalitativní metody se provádí verifikace z 8-10 opakování metody v čase (mezilehlá preciznost) na vhodných IKK. Výsledkem by měl být shodný nález (hodnocení) ve všech opakováních.

C. Validační / verifikační protokol

Zjištěné výsledky validace nebo verifikace je třeba zapsat do příslušného validačního (verifikačního) protokolu. Ten by měl obsahovat:

1. přesnou identifikaci testované soupravy (reagencie),
2. účel použití
3. identifikaci použitých kontrolních vzorků (příp. identifikaci referenční metody či referenční soupravy) a to včetně použité/použitých šarží IKK
4. identifikaci použitého měřicího zařízení
5. časové údaje týkající se mezilehlé preciznosti (časový interval),
6. časové údaje týkající se opakovatelnosti (datum měření)
7. hodnotu nejistoty kalibrátoru, je-li dostupná,

8. adekvátní výkonnostní charakteristiky – hodnoty, které budou sloužit k posouzení výsledku nejistoty – např. validační data výrobce, D_{max} z certifikovaných cyklů EHK, nejsou-li k dispozici, pak je stanoví odpovědný VŠ pracovník (nutné řádné odůvodnění)

9. vypočtenou hodnotu nejistoty pro každou hladinu z mezilehlé preciznosti zvlášť.

10. datum vyhodnocení validačního (verifikačního) protokolu,

11. jméno a podpis osoby zodpovědné za vypracování validačního (verifikačního) protokolu

12. závěr jehož výsledkem je zda metoda splňuje nebo nesplňuje požadovaná kritéria – porovnání s hodnotou v bodě 7.

13. jméno a podpis schvalujícího pracovníka (U nesdílených výkonů VŠ pracovník ve zdravotnictví se specializovanou způsobilostí v oboru alergologie a klinická imunologie).

.

Literatura:

Plzák Z., Kratochvíla J., Friedecký B., Šprongl L.: Doporučení pro validace a verifikace postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích, Klin. Biochem. Metab., 29 (50), 2021, No. 2, p. 78-83.

Bartoš V., Budina M., Friedecký B., Kratochvíla J., Springer D., Šafarčík K.: Doporučení k vyjadřování nejistot kvantitativních výsledků měření ve zdravotnických laboratořích, Klin. Biochem. Metab., 29 (50), 2021, No. 2, p. 84-93.

Zpracovali: Radomír Pilný, Štěpánka Luxová ve spolupráci s odbornými posuzovateli ČIA pro odbornost 813

Schváleno výborem SLI ČSAKI per rollam 03/2026