

Příloha č. 1

Zápis

z 31. jednání Rady pro akreditaci klinických laboratoří ČLS JEP konaného dne 29. června 2009 v LD ČLS v Praze

Přítomni:

Dr. Adámková, Dr. Brozmanová, Ing. Černá, Doc. Dušková, Dr. Lochman, Ing. Matějka, Dr. Ondra, Prof. Palička, Doc. Pecka, Prof. Penka, Prof. Ryška, Dr. Řeháček, Dr. Scharfen, Ing. Štědrý, Dr. Žampachová

Omluveni:

Prof. Anzenbacher, Dr. Beková, Prof. Brdička, Doc. Dastych, Prof. Ehrmann, Doc. Kopecký, Prof. Michalová, Dr. Písačka, Ing. Šprongl

Hosté (NASKL):

prof. Jabor, Kotrbatý

Centrum pro kvalitu při SZÚ:

Dr. Chaloupková – omluvena

Program:

1. Kontrola zápisu z 30. zasedání: zápis byl členy Rady odsouhlasen, připomínky nebyly.
2. Mandát členů Rady: vzhledem k tomu, že uplynuly další dva roky, je potřeba, aby výbory odborných společností znovu nominovaly (či potvrdily stávající nominaci) členy Rady pro příští dvouleté období. Předseda napíše předsedům jednotlivých odborných společností
3. Validace a verifikace metod: Dr. Lochman stručně informoval o materiálu, připraveném odbornou pracovní skupinou. Materiál je přílohou tohoto zápisu; členové Rady jej promyslí, dle potřeby projednají ve svých odborných společnostech a zašlou připomínky či komentáře nejpozději do 15. září k rukám pana Kotrbatého (mail: jiri.kotrbaty@ikem.cz). Příští jednání Rady projedná připomínky a komentáře – je předpoklad, že by jich nemělo být mnoho a neměly by již být zásadního charakteru, protože text byl již opakovaně projednáván připomínky již byly zahrnuty
4. Prof. Jabor informoval o průběhu Auditů I a přípravě Auditů II. Pokud jde o kontrolu splnění personálních nepodkročitelných minim, vychází se při Auditě z písemných údajů personálních oddělení zdravotnických pracovišť (v tomto smyslu bude jednoznačně upraven Kontrolní list Auditů).
5. Návaznost Auditů I a Auditů II: široká diskuse o možnosti opakování Auditů I nebo nutnosti splnit po absolvování Auditů I následně Audit II. Rada předpokládá, že odborné společnosti

budou v průběhu času klást větší a větší důraz na kvalitu a v tomto smyslu modifikovat své požadavky na „nepodkročitelná minima“

6. Problematika transportu vzorků: většina odborných společností má potřeby preanalytické fáze definovány (např. v SOP). Rada žádá, aby nevyhnutelnou součástí SOP jednotlivých metod či Laboratorní příručky byla data o možnosti a podmínkách transportu vzorků (podložená validními odbornými podklady a publikacemi) a pověřuje NASKL, aby kontrola těchto údajů a jejich dodržování byla součástí Auditů I i II. Kriteria pro transport a uchovávání vzorků by měla harmonizovat odborná společnost a Rada žádá odborné společnosti, aby tyto údaje předložily k mezioborové diskusi na Radě pro akreditaci. Dr. Scharfen upozornil i na „postanalytickou fázi“ – tedy na otázku interpretací výsledků z jiných laboratoří
7. Zpráva NASKL: od začátku roku proběhlo 16 úspěšných Auditů I (zveřejněno na webu NASKL) a jeden neúspěšný Audit I, jeden Audit II byl odložen (nedostatek v předložené dokumentaci). Pro zájemce z laboratoří připravena série školení: již proběhlo jednodenní školení interních auditorů, bylo zahájeno třídní školení manažerů kvality a správců dokumentace, připraveno je školení metrologů. Na podzim proběhnou tradiční semináře pro registrované laboratoře a pro posuzovatele. Vzorová dokumentace byla zveřejněna a bude doplněna do září 2009. Konsultační návštěvy se osvědčily a úspěšně probíhají. Byly připraveny vnitřní předpisy pro registraci slovenských laboratoří (v současné době je již registrována jedna slovenská laboratoř). Pravidelně se aktualizují webové stránky, NASKL byl prezentován na několika seminářích i v tisku.
8. Rada bere na vědomí, že NASKL bude prezentovat své aktivity na sympoziu v Antverpách (Quality in Medical Laboratories 2010).
9. Doc. Pecka informoval o jednání na MZ, kde zaznělo, že v novém katalogu prací je specifikováno postavení VŠ nelékařů a že laboranti mohou být zařazeni v mzdové kategorii 8 – 11. Informoval na tomto jednání MZ o výrazném nedostatku zdravotních laborantů a hrozícím zhoršení personální situace v této kategorii
10. Prof. Jabor předal seznam registrovaných laboratoří (stav k 29. 6. 2009, celkem 351 registrovaných odborností) zástupcům jednotlivých odborností; souborný materiál za všechny odbornosti je v příloze tohoto zápisu.

Prof. Palička ukončil jednání v 16:10. Příští jednání Rady bude na obvyklém místě od 14:15, dne 5. října 2009.

Zapsal: VP

V HK dne 29. června 2009

2 přílohy

POSTUP PRO VALIDACI/VERIFIKACI METODY¹

Před zavedením nové analytické metody do rutinního laboratorního provozu je třeba prověřit, že její pracovní postup splňuje požadavky na něj kladené a validovat jej. Validaci výrobků s CE značkou nebo certifikované FDA provádí výrobce testovacích souprav a měřících systémů (diagnostik). Metody „home made/in house“, komerční metody postrádající CE značku nebo certifikát FDA a metody s CE značkou nebo FDA certifikátem, kde byla zavedena výrazná změna v analytickém postupu, je třeba validovat přímo v dané laboratoři. Před zavedením validované metody do nabídky rutinních metod poskytovaných laboratoři a dále je nutné v pravidelných (optimálně ročních) intervalech ověřit, že daný analytický měřicí postup je v klinické laboratoři plně funkční pomocí verifikace.

1. Validace

Validace metody má vždy klinický a analytický aspekt. Prvním a základním aspektem je, že metoda splňuje potřeby uživatelů laboratorních služeb (klinický aspekt). U metod s CE značkou nebo certifikátem FDA to dokládá výrobce. Je vhodné podpořit a ověřit údaje výrobce ještě výsledky nezávislých studií publikovaných v redigovaných pracích a časopisech, nebo v mezinárodních, národních či regionálních směrnicích. Je-li to zapotřebí, je nutno použít i výsledky vlastních studií a ověřit tak jeho údaje. U „home made/in house“ metod je tento způsob nezbytný. Druhým aspektem je validace vlastního analytického postupu (základní znaky analytické metody)

Z hlediska způsobu a formy vydávání výsledků lze metody dělit na

- kvantitativní (kontinuální stupnice hodnot vydávaných výsledků měření),
- kvalitativní (dvě a více kategorií hodnot výsledků měření).

Pojem „semikvantitativní“ (kategoriální hodnocení výsledků, např. titry) není doporučen.

O konkrétním obsahu a rozsahu validace resp. verifikace pro jednotlivá vyšetření a analýzy vždy rozhoduje management laboratoře s uvedením důvodů, proč se v daném rozsahu tyto úkony pro konkrétní analýzy či vyšetření provádí .

Doporučenými charakteristikami ověřovanými v rámci analytické části validace jsou:

1.1. Postup validace pro kvantitativní metodu²:

- **Stanovení opakovatelnosti** (dříve používané termíny „v sérii“, „intraassay“) – je třeba použít minimálně 2 vzorky (kontrolní nebo patientské) o různých hodnotách (jeden vzorek v dolní polovině rozsahu/intervalu měřitelných hodnot a jeden v horní polovině intervalu měřitelných hodnot, resp. v blízkosti klinicky rozhodujících hladin) a každý testovat v minimálně 20-ti replikacích během jedné analýzy - pro každý vzorek vypočítat aritmetický průměr (AM), směrodatnou odchylku (SD) a variační koeficient (CV) při vyloučení odlehlých hodnot. Při použití vhodného referenčního materiálu, je-li dostupný, s hodnotami typu RMP či AV (popř. kontrolního vzorku s ověřenou hodnotou obsahu analytu či hodnotou parametru) lze současně se stanovením opakovatelnosti určit vychýlení/bias.³
- **Stanovení mezilehlé přesnosti** (intermediate precision, dříve používané pojmy „mezi sériemi“, „interassay“, nově mezilehlá preciznost) – je třeba použít minimálně 2 vzorky (kontrolní nebo patientské) o různých hodnotách (jeden vzorek v dolní polovině rozsahu/intervalu měřitelných hodnot a

¹ Tento dokument vychází z doporučení **Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích, autoři:** Bedřich Friedecký, Luděk Šprongl, Josef Kratochvíla, vydáno: 16.11.2004, dostupné na webové adrese: <http://www.cskb.cz>, který byl upraven a doplněn pro potřeby odbornosti 222, 801, 802, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818 a 823 pracovní skupinou při Radě pro akreditaci dne 13.5.2009.

² Kvantitativní metodou se pro účely tohoto materiálu rozumí metoda, kde se měřením získává spojitý charakter výsledků. Vedení laboratoře klasifikuje prováděné metody z tohoto hlediska na kvantitativní nebo kvalitativní.

³ V odbornosti 812 se u stanovení opakovatelnosti vyžadují minimálně 3 různé hodnoty obsahu.

jeden v horní polovině pracovního rozsahu/intervalu měřitelných hodnot, resp. v blízkosti klinicky rozhodujících hladin) a každý analyzovat v 20-ti různých analýzách (sériích/běžích) realizovaných v různých dnech - pro každý vzorek vypočítat základní statistické parametry AM, SD a CV při vyloučení odlehlých hodnot.⁴

- **Vychýlení (bias) metody:** odhad systematické chyby měření pomocí analýzy referenčního nebo kontrolního materiálu s ověřenou hodnotou složky, pokud existuje. Ideální jsou maticové referenční materiály, s vysokým stupněm komutability, které disponují cílovými hodnotami analytů a parametrů získanými referenčními postupy měření. Je třeba změřit minimálně 10 replikátů vzorku za podmínek opakovatelnosti, vypočítat hodnoty AM, SD a CV a z nich bias, resp. výtěžnost.
- **Ověření meze detekce (LoD) a meze stanovitelnosti (LoQ).** Výrobce by měl poskytovat uživateli tyto hodnoty stanovené podle protokolu EP17-A (CLSI USA).
 - **Úsporný postup stanovení hodnoty meze detekce LoD** (Limit of detection)
Změřit 10 vzorků blanku v sérii, vypočítat hodnotu 3 SD blanku (někdy se uvádí i hodnota 6 SD). Stanovit hodnotu LoD jako hodnotu složky, odpovídající hodnotě 3 SD blanku (pomocí rutinně používané kalibrace dané laboratorní metody)
U separačních technik lze mez detekce definovat jako koncentrace analytu, jehož výška píku odpovídá třinásovkou výšky šumu základní linie zjištěné analýzou 5 – 10 vzorků blanku
 - **Postup stanovení hodnoty meze stanovitelnosti LoQ** (Limit of quantification)
Vypočítat mez stanovitelnosti podle vztahu $LoQ = 3 * LoD$. U několika (doporučuje se u deseti) vzorků o sestupné hodnotě obsahu se stanoví mezilehlá přesnost měřením v deseti různých dnech. Nejnižší dosaženou hodnotu složky vzorku, u něhož docílíme lepší než požadované mezilehlé přesnosti, ztotožníme s hodnotou meze stanovitelnosti. Hodnota požadované mezilehlé přesnosti bývá v klinické laboratoři $CV = 20 \%$
U separačních technik je mez stanovitelnosti definována jako koncentrace analytu, jehož výška píku odpovídá desetinasobku výšky šumu základní linie. Možné je také experimentální stanovení nejnižší koncentrace dle postupu uvedeného výše.
- **Srovnání s referenční metodou** - min. 40 vzorků o koncentracích v celém rozsahu kalibrace (pracovní rozsah, minimálně však 75 % možného rozsahu hodnot) - analyzovaných oběma metodami. Tento experiment lze spojit s určením klinické citlivosti a specifčnosti tam, kde je to vyžadováno. Výsledek porovnání s referenční metodou lze znázornit pomocí grafu a korelační analýzy (určení korelačního koeficientu, příp. sestavení přepočítávací rovnice). K tomuto lze využít:
 - **Blandův-Altmanův rozdílový diagram**, kdy se na osu x umístí průměry obou metod a na osu y diference obou metod (s výhodou vyjádřené v %).
 - **Graf regresní závislosti**, kdy na ose x je opět lokalizovaná hodnota srovnávací metody.
 - **Passingovy-Bablokovy neparametrické regrese** před lineární regresi (OLR).
 - **Demingovy vážené regrese**

V případě špatně korelujících analytů (autoprotilátky) se doporučuje porovnat shodu klinického hodnocení výsledků měření vzhledem k referenčním intervalům resp. cut-off hodnotám.

- **Ověření kalibrační funkce a pracovního rozsahu**
 - linearita
 - výtěžnost při ředění
 - recovery
 - kalibrace
 - „hook“ efekt a efekt prozóny
 - „carryover“
 - resp. další

Tyto znaky je nutné stanovit s ohledem na uznávané postupy a v případech, je-li to možné.

- **Interferenci (ve vhodných situacích)**

⁴ V odbornosti 812 se u stanovení opakovatelnosti vyžadují minimálně 3 různé hodnoty obsahu.

Analyzují se vzorky matrice o nulovém obsahu interferentů a vzorky matrice s možnými interferenty.

Sleduje se zejména vliv interferentů uvedených v dokumentaci výrobce IVD (hemoglobin, bilirubin, lipidy, léky), případně dostupných látek podle požadavků uživatele (například s molekulou podobnou stanovovanému analytu).

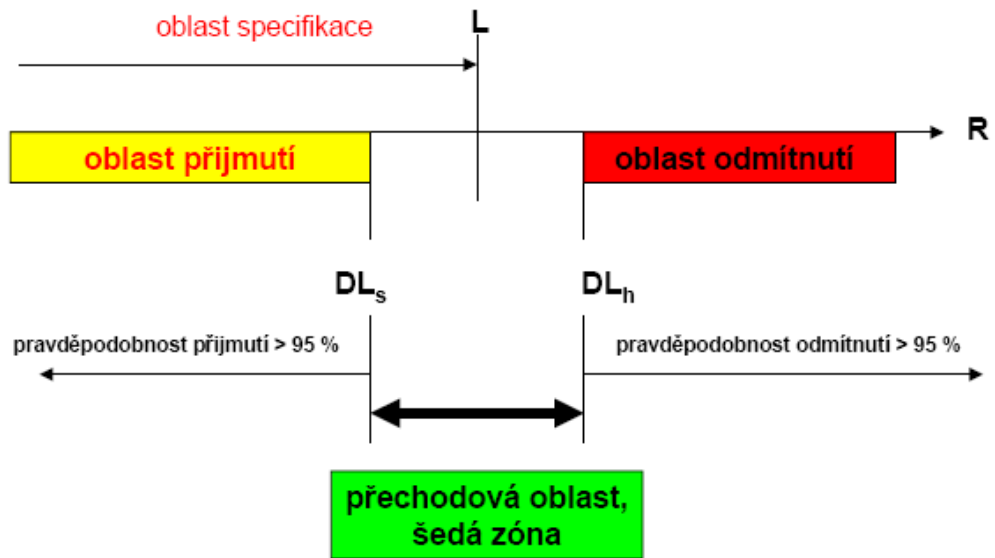
- **Robustnost (ve vhodných situacích)**
Robustnost je schopnost metody poskytovat přijatelné výsledky měření i v případě, že dojde k malým odchylkám od měřicího postupu či složení vzorku. Udává její spolehlivost při běžném používání. Zjišťuje se v rutinním provozu (např. vliv stárnutí kolony).
- **Odhad nejistoty výsledků vyšetření**
Pro stanovení odhadu nejistoty měření lze aplikovat postup uvedený v doporučení „[Určení odhadů nejistot výsledků měření klinických testů v klinických laboratořích](http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--odhad-nejistot-vysledku-mereni)“, dostupné na <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--odhad-nejistot-vysledku-mereni>. Pokud nelze jinak, je zapotřebí určit odhad alespoň formou reprodukovatelnosti (odhad standardní nejistoty).

Klinické aspekty validace kvantitativních metod

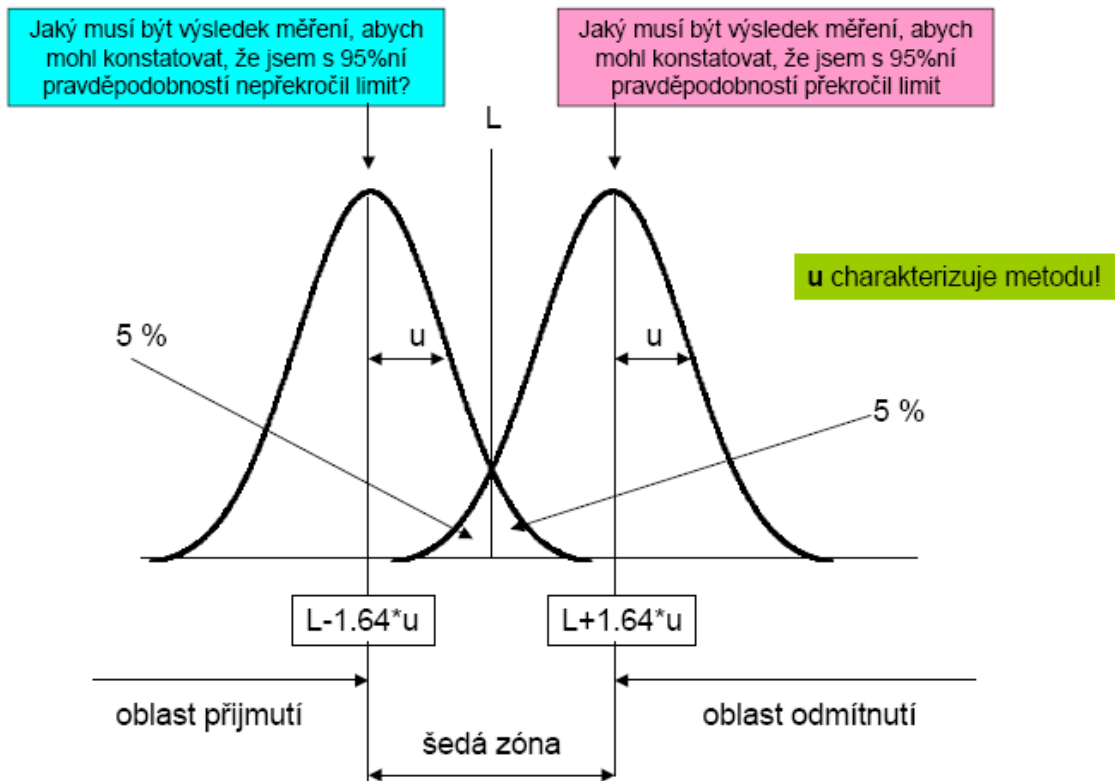
- **Určení referenčního intervalu** - provádí se bude doplněno podle C28-A3
- **Klinická citlivost a specifčnost** - minimálně 20 pozitivních vzorků (patologických) a 20 negativních vzorků (referenčních jedinců) - výsledek vyjádřit v procentech. Je nutno uvést podrobně kritéria, jak byli vybráni a definováni dárci pozitivních a negativních vzorků. K vyhodnocení je vhodné použít např. kontingenční tabulky.

1.2. Postup validace pro kvalitativní metodu:

Kvalitativní metodou se rozumí metoda, která poskytuje výsledky v kategoriích. Klasické kvalitativní metody používají dvě kategorie (negativní, pozitivní) v závislosti na hodnotě limitu (L – diskrétní hodnota), event. ve tři kategorie negativní, v oblasti mezi referenčního intervalu (přechodová šedá zóna/hraniční hodnota – výsledek zkoušky je neprůkazný) a pozitivní. Přitom oblast pod přechodovou zónou značí, že s 95% pravděpodobností je výsledek měření/zkoušky negativní (oblast přijmutí - DL_s) a naopak výsledek měření/zkoušky nad přechodovou zónou značí, že výsledek zkoušky je s 95% pravděpodobností pozitivní (oblast odmítnutí – DL_h). Obr. 1 uvádí výše uvedené v grafické podobě. Negativním výsledkem přitom je „oblast specifikace“ do hodnoty rozhodovacího limitu/meze.



Přítom obr. 2 charakterizuje přechodovou (šedou) zónu určenou odhady nejistot výsledků měření (u) v této oblasti, matematicky pak určuje přechodovou zónu rozmezí dle vztahu $L \pm 1,64u$ ($L \pm k_\alpha \cdot u$), kde u = odhad nejistoty výsledků měření (lze použít standardní nejistotu, tedy SD) a $k_\alpha = 1,64$ je koeficient pro interval spolehlivosti 95% ($\alpha = 0,05$ (5%)).



Interval spolehlivosti referenční meze (a tedy i zónu s neprůkaznými výsledky zkoušky) přitom definuje/uvádí povolený (**ještě klinicky použitelný**) odhad nejistoty měření v této oblasti od hodnoty referenční meze/limitu. Meze/limity volí uživatel sám, či dle doporučení výrobce tak, aby byl splněn účel zamýšleného použití.

Citace: ILAC G8 (1996); ISO 10576-1 (2003).

- **Stanovení opakovatelnosti (v sérii - intraassay)** – je třeba použít minimálně 2 vzorky: vždy negativní a pozitivní a každý testovat v minimálně 20-ti replikacích během jedné série měření a vyhodnotit v procentech shodu. Je-li vyhodnocení prováděno pomocí měření, je nutné, aby negativní a pozitivní vzorek poskytoval měřitelné hodnoty. Pracovní skupina nedošla ke shodě o významu stanovení v oblasti neprůkazného výsledku zkoušky (výsledek zkoušky nelze určit / hraniční).
- **Stanovení reprodukovatelnosti (mezi sériemi - interassay)** – je třeba použít minimálně 2 vzorky: vždy negativní a pozitivní a každý testovat v minimálně 20-ti různých analýzách (běžích) prováděných v různých dnech a vyhodnotit v procentech shodu. Je-li vyhodnocení prováděno pomocí měření, je nutné, aby negativní a pozitivní vzorek poskytoval měřitelné hodnoty. Pracovní skupina nedošla ke shodě o významu stanovení v oblasti neprůkazného výsledku zkoušky (výsledek zkoušky nelze určit / hraniční).
- **Klinická citlivost a specifčnost** - min. 20 pozitivních (patologických) a 20 negativních (fyziologických) vzorků - výsledek vyjádřit v procentech. Je nutno uvést podrobně kritéria, jak byly vybráni a definováni dárci pozitivních a negativních vzorků. K vyhodnocení je vhodné použít např. kontingenční tabulky.
- **Srovnání se srovnávací metodou** (pokud existuje) - minimálně 20 pozitivních (patologických) a 20 negativních (fyziologických) vzorků (pokud možno v celém pásmu možných výsledků) - analyzovaných oběma metodami a vyhodnotit graficky) nebo srovnáním relativních četností, Chi - kvadrátem apod. (v toxikologii platí pro imunochemickou metodu ?? *zde tomu nerozumím*).

Pojem semikvantitativní, kterým jsou často označovány např. titrační metody klasické sérologie, vyhodnocování koncentrací spec. IgE v RAST třídách apod., metrologie nezná. Tyto metody se řadí mezi kvalitativní metody vyhodnocující výsledky ve více kategoriích. Platí pro ně pravidla uvedená výše.

2. Verifikace

I pro verifikaci platí, že je zapotřebí analytickou metodu verifikovat jak klinicky tak analyticky. Klinická verifikace by měla probíhat v pravidelných intervalech a lze pro ni využít výsledky nezávislých studií publikovaných v odborných časopisech nebo v mezinárodních či národních směrnících, dále výsledky vlastních studií nebo údaje získané v rámci zpětné vazby od žadatelů zkoušek/analýz/vyšetření – lékařů.

Při verifikaci se ověřují základní funkční charakteristiky analytické metody realizované v konkrétních podmínkách laboratoře, tedy na konkrétním analytickém měřicím systému. Při ověření je posuzována shoda zjištěných hodnot vybraných charakteristik s údaji uváděných výrobcem nebo zjištěných při validaci. Nejsou-li tyto k dispozici, určuje si kritéria pro verifikaci laboratoř sama.

Frekvence verifikací

Doporučovaná frekvence pro provádění periodických verifikací je 1 x ročně. Mimořádné verifikace musí laboratoř provést při zásadních inovacích téhož výrobku IVD, resp. při opakovaných neshodách týkajících se konkrétního vyšetření (neúspěch v EHK případně VKK, stížnosti klientů apod.).

Obsah verifikací

O konkrétním obsahu a rozsahu verifikace pro jednotlivá vyšetření vždy rozhoduje management laboratoře s ohledem na důvody, proč se verifikace provádí a specifika konkrétního vyšetření.

Doporučenými charakteristikami ověřovanými v rámci verifikace jsou předmětem následujících postupů.

1.1. Postup verifikace pro kvantitativní metodu⁵:

- **Stanovení opakovatelnosti** (dříve používané termíny „v sérii“, „intraassay“) – je třeba použít minimálně 1 vzorek (kontrolní nebo patientský) a testovat jej v minimálně 10-ti replikacích během jedné analýzy - pro každý vzorek vypočítat aritmetický průměr (AM), směrodatnou odchylku (SD) a variační koeficient (CV) při vyloučení odlehlých hodnot. Při použití vhodného referenčního materiálu s hodnotami typu RMP či AV (popř. kontrolní vzorek s ověřenou koncentrací analytu) lze současně se stanovením opakovatelnosti určit vychýlení/bias.⁶
- **Stanovení mezilehlé přesnosti (intermediate precision, dříve používané pojmy „mezi sériemi“, „interassay“, nově mezilehlá preciznost)** – je třeba použít minimálně 2 vzorky (kontrolní nebo patientské) o 2 různých hodnotách (jeden vzorek v dolní polovině rozsahu/intervalu měřitelných hodnot a jeden v horní polovině pracovního rozsahu/intervalu měřitelných hodnot, resp. v blízkosti klinicky rozhodujících hladin) a každý analyzovat v 10-ti různých analýzách (sériích/běžích) realizovaných v různých dnech - pro každý vzorek vypočítat základní statistické parametry AM, SD a CV při vyloučení odlehlých hodnot. Variantně lze mezilehlou přesnost ověřit na základě dat pořízených v rámci operativního řízení kvality, tj. vyhodnocením minimálně 10 výsledků pro 2 hodnoty obsahu kontrolních vzorků.
- **Vychýlení (bias) metody:** odhad systematické chyby měření pomocí analýzy referenčního nebo kontrolního materiálu s ověřenou hodnotou složky, pokud existuje. Ideální jsou matricové referenční materiály, s vysokým stupněm komutability, které disponují cílovými hodnotami analytů a parametrů získanými referenčními postupy měření. Doporučuje se třeba změřit minimálně 10 replikátů vzorku za podmínek opakovatelnosti, vypočítat hodnoty AM, SD a CV a z nich bias, resp. výtěžnost.⁷
- **Verifikace referenčních intervalů**
Ověření referenčních mezí lze realizovat na dvou úrovních:
 - a) **Kontrola údajů o referenčních intervalech**
Provádí se vždy a zahrnuje kontrolu shody údajů o referenčních intervalech a rozhodovacích limitech uváděných v interní dokumentaci, v informacích poskytovaných klientům laboratoře a informací poskytovaných výrobcem IVDD. Může obsahovat i porovnání s údaji literárními nebo doporučenými odbornými společnostmi. Součástí kontroly je i prověření konzistence používaných jednotek měření se soustavou SI jednotek.
 - b) **Experimentální ověření referenčních intervalů**
Provádí se pouze při zavedení nové měřicí metody, změně diagnostik nebo při modifikacích postupů výrobce IVDD. Postupuje se podle dokumentu C28-A3. Vyšetří se 20 vzorků od zdravých probandů (z hlediska testovaného vyšetření) případně ověřených předcházející resp. nemodifikovanou metodou.
Referenční interval se považuje za ověřený pokud:
 - hodnoty alespoň 19 výsledků leží uvnitř referenčního intervalu
 - hodnoty 18 výsledků leží uvnitř referenčního intervalu a při opakovaném experimentu s novými 20 vzorky je splněno předchozí kritérium.

⁵ Kvantitativní metodou se pro účely tohoto materiálu rozumí metoda, kde se měřením získává spojitý charakter výsledků. Vedení laboratoře klasifikuje prováděné metody z tohoto hlediska mezi kvantitativní nebo kvalitativní.

⁶ V odbornosti 812 se u stanovení opakovatelnosti vyžadují minimálně 2 koncentrace.

⁷ Nižší počet replikátů lze připustit pouze v případě, že to umožňuje opakovatelnost metody – pro tento postup ale nemá pracovní skupina v současné době racionální zdůvodnění. V krajním případě lze využít výsledky externího hodnocení kvality.

2.2. Postup verifikace pro kvalitativní metodu:

- Stanovení **opakovatelnosti** (intraassay) – minimálně 1 vzorek (**kontrolní nebo patientský**) je třeba testovat v min. 10-ti replikacích během jedné analýzy a vyhodnotit v procentech shodu s deklarovanou hodnotou.
- Stanovení **reprodukovatelnosti** (interassay) – minimálně 1 vzorek, ideálně 2 o různých hodnotách testovat v min. 5-ti různých analýzách (běžích) a vyhodnotit v procentech shodu s deklarovanou hodnotou v čase.
- **Klinická citlivost a specifčnost** - minimálně 10 pozitivních vzorků (od probandů, kde byla referenční metodou prokázána pozitivita, pokud takováto metoda neexistuje, pak od probandů, u nichž je doloženo, že pozitivní hodnotu lze s vysokou pravděpodobností očekávat) a 10 negativních vzorků (referenčních jedinců, u nichž prokazatelně nelze pozitivní hodnotu očekávat, nebo byl negativní výsledek dosažen referenční metodou) - výsledek vyjádřit v procentech. Je nutno zodpovědně zvolit pozitivní a negativní vzorky s ohledem na nejistotu limitní hodnoty. Je nutno uvést podrobně kritéria, jak byli vybráni a definováni dárce pozitivních a negativních vzorků. Počet pozitivních vzorků může být nižší u metod se vzácným výskytem pozitivit.

3. Literatura

B. Friedecký, L. Šprongl, J. Kratochvíla, Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích, doporučení ČSKB, 16.11.2004

Reviewer of Guidance. Validation of Chromatographic Methods. Center of Drug Evaluation and Research (CDER), CMC 3, 1994.

Guidance for Industry. Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology. The International Conference on Harmonisation of Thechnical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 1996.

Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. Biopharmaceutics – Center for Drug Evaluation and reaserch (CDER), Center for Veterinary Medicine (CMV) and the Food and Drug Administration (FDA), 2001.

Cerioti, F., Hinzmann, R., Panteghini, M.: Reference intervals: the way forward. Ann. Clin. Biochem., 46, 2009, s. 8 – 17.