

Doporučení pro validace a verifikace postupů laboratorních vyšetření ve zdravotnických laboratořích

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

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 až 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. 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]:

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

3. 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.

4. 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 ně-

kteře ze základnřích termřnřů nejistotnřho přřstupu k mřřenř: precision = preciznost, measurement trueness = pravdivost mřřenř a measurement accuracy = přesnost mřřenř.

5. Proč je nutnř validace/verifikace

Vřsledky analytickřch mřřenř majř mimořřdně silnř dopad v praxi. Ve zdravotnickř laboratoři mohou rozhodnřm a nřkdy i fatálnřm zpřsobem ovlivnit zdraví, kvalitu řivota a nřkdy i samotnř řivot pacienta.

Provřdět mřřenř v dostatečně kvalitě je profesionálnř povinnost analytika. Validace/verifikace je činnost, kterou si laboratoř zajřřřuje kvalitu dat při rutinnřm provozu. Je to činnost, kteřř, je-li spravně provedena, se laboratoři při rutinnřm pouřřivnř validovaněho postupu vyplatř.

Validace/verifikace poskytuje potřebnř data pro odhad nejistoty mřřenř (respektive intervalu spolehlivosti vřsledkř mřřenř).

Akreditace neboli formálnř potvrzenř odborně kompetence laboratoře, vyřazuje pouřřivnř řdně validovanřch a verifikovanřch metod (mřřicřch systřmř).

6. Kdo provřdř validace/verifikace

6.1. Vřrobci diagnostik

Podle nařřenř IVD 98/79 EC smř vřrobce uvřdět na trh Evropskě unie pouze validovaně mřřicř systřmy. Postup a rozsah validace IVD MD je dãn normou ČSN EN 13612 [11].

Pro vřrobce uvřdřjicř svě produkty na trh v USA rovně platř, že ty jsou validovaně v rozsahu daněm dokumentem *Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry* [12], vytvořeněm pod vedenřm FDA.

6.2. Profesionálnř organizace analytikř

AOAC – mř za cřl přřspět k celosvřtově dřvřřehodnosti analytickřch vřsledkř (a třm i analytickě chemie a analytickřch chemikř). Tato asociace mř vyvinutu řadu validačnřch, verifikačnřch a certifikačnřch programř a spolupracuje s institucemi typu FDA, takže zasahuje takě přřmo do laboratornř medicřny. Analytickě metody, kteřř publikuje ve svěm kompendiu, označuje jako validovaně, protože prošly procesem validace zahrnujicřm mezilaboratornř porovnřnř. AOAC vydala vlastnř nřvod, jak verifikovat analytickě metody, je dostupnř v čeřtině jako součást přřručky řady Kvalimetrie [4].

6.3. Zdravotnickř laboratoře

Konečnou odpovřdnost za adekvnřnř validaci nebo verifikaci postupu mřřenř vřak nese samotnř zdravotnickř laboratoř. Mřra řsilř, kteřř musř vlastnř laboratoř při validaci nebo verifikaci vyvinout, se vřrazně liřř podle toho, zda přředmětem validace/verifikace je novř postup vyvinutř v laboratoři či metoda standardnř nebo

oficiálnř, kteřř prošla i plnou mezilaboratornř validaci a běžně se v oboru pouřřivř.

Jestliže validačnř řdaje pochřzejř z dokumentace vřrobce a jsou podlořeny experimenty v laboratořich vřrobce, profesionálnřch organizaci a v kalibračnřch/referenčnřch laboratořich, pak laboratoř musř tato data neustřle doplřovat a verifikovat. Hlavnřmi nřstroji, kteřřmi toho lze docřlit jsou:

- Dodrřovnř standardnřch operačnřch postupř vřrobkř splňujicřch pořžadavky nařřenř IVD 98/79 EC 2017.
- Provřděnř pravidelně kontroly kvality (vnitřnř i externř kontrola kvality).
- Vypracovnř a revize SOP, při kteřř se rozhodujicř dřraz klade na hodnocenř vřsledkř mezilaboratornřch porovnřvřnř a studiř.
- Přřběžně a soustavně vzdělřvřnř pracovnřkř.
- Přřběžně sledovnř dokumentř a informaci poskytovanřch referenčnřmi institucemi a organizacemi typu JCTLM, LGC, AOAC.

Trend modernřho analytickěho mřřenř je jasnř. Pouřřivat validovaně testovacř soupravy a validovaně analytickě mřřicř systřmy a přeněst hlavnř pozornost laboratoři na odhady nejistot mřřenř, kontrolu kvality, edukaci, soustavně sledovnř informaci a implementaci novřch poznatkř do praxe laboratornř činnosti.

7. Kdy se provřdř validace

- Přřd zahřjenřm rutinnřho pouřřivnř nově analytickě metody/mřřicřho systřmu v laboratoři, přřčemž jde o metodu, kteřř nebyla validovřna vřrobcem.
- Pokud rozřřřime pouřřitř střvajicř metody o dalř řcěl (např. rozřřřime mřřenř o dalř druh biologickěho materiřlu), nad rřmec oblasti pouřřitř deklarovaně vřrobcem.
- Při přřevzetř metody (typu in house) z jině laboratoře nebo z publikace.
- Přřd zavedenřm nově (jině) testovacř soupravy.
- Při vřznamně změně instrumentace.
- Ukazuje-li řřizenř kvality a EHK přřetrvřvajicř zřvařnř problem.
- Podle validačnřho plřnu.

8. Kdy se provřdř verifikace

- Přřd zahřjenřm rutinnřho pouřřivnř nově, ale vřrobcem jřř validovaně standardnř metody/mřřicřho systřmu.
- Ukazuje-li řřizenř kvality problem.
- Podle plřnu verifikaci, v zřvislosti na stabilitě a robustnosti metody.

9. Rozsah validace a verifikace

Rozsah a hloubka validace musř vřdy odpovřdat potřebě zřskat dostatek řdajř k rozhodnutř, zda metoda je skutečně vhodnř pro zamřřlenř řcěl [1]. U verifikace pak k potvrzenř, že metoda je schopna vykazovat v podmřnkřch laboratoře takovou vřkonnost (analytic-

ké 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.

9.1. 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].

9.2. 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 výkonostních 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.

9.3. 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.

9.4. 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.

10. Sestavení plánu validace nebo verifikace

Jak u validace, tak i verifikace se experimentálně získané hodnoty výkonostních 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]:

- Zamýšlené použití postupu laboratorního vyšetření.
- Specifikaci měřené veličiny.
- Výběr relevantních výkonostních parametrů postupu.
- Kritéria pro přijetí postupu jako vhodného pro daný účel.
- Způsob provedení experimentů.
- Určení odpovědných pracovníků k provedení validace/verifikace, posouzení výsledků a vypracování a schválení zprávy.

11. 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 výrobcem 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.
- Provéřit, 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.

12. Výkonostní charakteristiky postupu laboratorního vyšetření

Konkrétní volba, které z výkonostních 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 výkonostní charakteristiky postupu laboratorního vyšetření pro validaci a verifikaci parametry, které shrnuje Tabulka 1. Které z nich jsou relevantní pro daný analytický postup, by mělo být předmětem odborného posouzení.

Tabulka 1. Výkonostní charakteristiky pro validaci/verifikaci analytického postupu

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

Pokud nejsou některé konkrétní výkonostní 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 výkonostních 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].

12.1. Hlediska úzce související s validací/verifikací

- Účel měření.
- Definice analytu a parametru.
- Preanalytické 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 měřících 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 měřících přístrojových systémů pro stejnou měřenou veličinu, je třeba provést příslušnou 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 matricových 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 laboratoř 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, popsáný v normě ISO 15189 [1]. Řešení dílčích problémů bez vazby na ostatní je irelevantní.

13. 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].

14. 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.

15. 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.
- Navrhněte způsob řízení kvality.
- Vypracujte příslušné SOP.
- Určete kritéria a vypracujte plán revalidace.

16. 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 (laborať 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 prověřte dostatečné seznámení personálu s přístrojem a metodou, prověření a kalibraci přístrojové a výpočetní techniky včetně statistických programů.
- Provedte experimenty.
- Shrňte a vyhodnoťte výsledky, vypracujte zprávu o verifikaci.
- Navrhněte způsob řízení kvality.
- Vypracujte příslušné SOP.
- Určete kritéria a vypracujte plán opakování verifikace.

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

Literatura

1. **ČSN EN ISO 15189:2013 ed. 2.** Zdravotnické laboratoře - Požadavky na kvalitu a způsobilost. ČAS 2013.
2. **Suchánek, M., Milde, D. (Eds.).** Kvalimetrie 20. Vhodnost analytických metod pro daný účel., *EURACHEM-ČR*,

Praha, 2015. Přeloženo z: **Magnusson, B., Örnemark, U. (Eds.)** The Fitness for Purpose of Analytical Methods. *Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2nd Edition, 2014.

3. **Barwick V. (Ed.).** Planning and Reporting Method Validation Studies. *Supplement to Eurachem Guide on the Fitness for Purpose of Analytical Methods*, 2019, Dostupné z WWW: <http://www.eurachem.org>.
4. **Suchánek, M., Milde, D. (Eds.).** Kvalimetrie 18. Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod. *EURACHEM-ČR*, Praha, 2013. Přeloženo z: How to Meet ISO 17025 Requirements for Method Verification. *AOAC International Guide*, 2007, Dostupné z WWW: www.eurachem.cz.
5. **Theodorsson, E., Magnusson, B.** Full method validation in clinical chemistry. *Accred. Qual. Assur.*, 2017, 22, s. 235–246.
6. General Accreditation Guidance – Validation and verification of quantitative and qualitative test methods NATA 2018. Dostupné z WWW: <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, s. 1501–1508.
8. **Roelofsen-de Beer, R., Wielders, J., Boursier, G., Vodnik, T., Vanstapel F. et al.** 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), s. 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 z WWW: <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, S. L. R., Wood, R.** Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report) *Pure Appl. Chem.*, 2002, 74(5), s. 835–855.
16. **Vermeesch, P., Frans, G., von Meyer, A., Costelloe, S., Lippi, G. et al.** How to meet ISO 15189:2012 pre-analytical requirements in clinical laboratories? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2021, DOI:10.1515/cclm-2020-1859.

Schváleno výborem ČSKB: 1. 3. 2021