

|                                                                   |                    |                           |                                |                                 |                          |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            |                    |                           |                                |                                 | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                    |                           |                                |                                 | Brukerveiledning LKB     |
| Versjon:<br>7.00                                                  | Dok.id.:<br>D03983 | Gyldig fra:<br>04.05.2017 | Dok.ansvarlig:<br>Bjørn Bolann | Godkjent av:<br>Anne Grete Thue | Side:<br>1 av 25         |

Prosedyren er skrevet av: [Bjørn Bolann](#), Marit Sverresdotter Sylte

Prosedyren godkjennes av: avdelingssjef

## Formål

Retningslinjer beskrevet i dette dokumentet sammen med dokumentene listet nedenfor danner laboratoriets protokoll for validering og verifisering av nye analysemetoder som skal settes i rutinedrift, samt analysemetoder som skal oppdateres.

[Validering/verifisering av molekylærbiologiske analysemetoder](#)

[Validering/verifisering av kromatografiske og massespektrometribaserte analysemetoder](#)

Rapportskjema (mal):

[LKB MAL - Validering/verifisering av klinisk kjemiske analysemetoder \(rapportskjema\)](#)

[LKB MAL - Validering/verifisering av molekylærbiologiske analysemetoder \(rapportskjema\)](#)

[LKB MAL - Validering/verifisering av kromatografiske og massespektrometribaserte analysemetoder \(rapportskjema\)](#)

Planskjema (mal):

[LKB MAL - Validering/verifisering av klinisk kjemiske analysemetoder \(planskjema\)](#)

[LKB MAL - Validering/verifisering av molekylærbiologiske analysemetoder \(planskjema\)](#)

[LKB MAL - Validering/verifisering av kromatografiske og massespektrometribaserte analysemetoder \(planskjema\)](#)

Protokollen kan brukes ved innkjøring av både rutinemetoder og forskningsmetoder.

Protokollen dekker metodevalideringen, men gir også anbefalinger på hva som bør gjøres når metoden tas i bruk i rutinedrift.

All dokumentasjon som er nødvendig når analysemetoder skal valideres eller verifiseres er samlet i en veileder: [Veileder til validering eller verifisering av analysemetoder](#)

## Målgruppe

Alle som arbeider med å validere eller verifisere analysemetoder / analyseinstrumenter.

## Endringslogg

| Versjon | Endringer i forhold til forrige versjon                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Signatur og dato |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 7.00    | <p>Har satt inn et nytt kap 17. Kap 17 skal gi noen tips for hva man skal ta med i en konklusjon/oppsummering av verifiseringsrapporten.</p> <p>Litt mer teori i kap. 11.</p> <p>Satt inn nye linker for dem som ikke fungerte</p> <p>Satt inn tekst om måleområder kap 10.6</p> <p>Fjernet begrepet garanti CV</p> <p>Ryddet litt i overskrifter og nummerering</p> | 21.04.2017, mryn |

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 2 av 25           |

## Innhold

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INNLEDNING .....</b>                                                     | <b>4</b>  |
| <b>2. BEGREPENE VALIDERING/VERIFISERING.....</b>                               | <b>5</b>  |
| <b>3. SAMARBEID.....</b>                                                       | <b>5</b>  |
| <b>4. VALG AV INSTRUMENT OG METODE .....</b>                                   | <b>6</b>  |
| <b>5. DOKUMENTASJON AV PRODUSENT.....</b>                                      | <b>6</b>  |
| <b>6. IVD DIREKTIVET, CE-MERKING .....</b>                                     | <b>6</b>  |
| <b>7. KLINISK NYTTEVERDI.....</b>                                              | <b>6</b>  |
| <b>8. VALG AV VALIDERINGSPARAMETRE FOR ANALYTISK KVALITET.....</b>             | <b>7</b>  |
| <b>9. VALIDERING AV ANALYSEMETODE.....</b>                                     | <b>7</b>  |
| <b>10. TEKNISK INNKJØRING, DIV. VALIDERINGSPARAMETRE.....</b>                  | <b>7</b>  |
| 10.1 Installering av instrument .....                                          | 7         |
| 10.2 Linearitet.....                                                           | 7         |
| 10.3 Recovery (gjennfinning) .....                                             | 8         |
| 10.4 Deteksjonsgrense.....                                                     | 8         |
| 10.5 Innen-serie presisjon.....                                                | 8         |
| 10.6 Måleområder .....                                                         | 8         |
| 10.6.1 Kvantifiseringsgrenser/teknisk måleområde fra produsent .....           | 8         |
| 10.6.2 Akkreditert måleområde.....                                             | 9         |
| 10.6.3 Rapporteringsområde .....                                               | 9         |
| 10.7 Interferens .....                                                         | 9         |
| 10.8 Carry-over/overdraging .....                                              | 9         |
| <b>11. PRESISJON .....</b>                                                     | <b>9</b>  |
| 11.1 Presisjonsforsøk .....                                                    | 9         |
| 11.1.1 Innen-serie presisjon (Repeterbarhet) .....                             | 10        |
| 11.1.2 Reproduserbarhet.....                                                   | 10        |
| 11.1.3 Fastsetting av analytisk variasjon i akkreditert måleområde .....       | 10        |
| 11.2 Robusthet .....                                                           | 11        |
| <b>12. SAMMENLIGNING AV ANALYSEMETODER.....</b>                                | <b>11</b> |
| 12.1 Paret t-test .....                                                        | 11        |
| 12.2 Utregning av prosentvis avvik mellom analysemetodene.....                 | 12        |
| 12.3 Passing Bablok regresjon.....                                             | 12        |
| 12.4 Pearson correlation coefficient R .....                                   | 12        |
| 12.5 Limits of agreement.....                                                  | 12        |
| <b>13. HOLDBARHET, LOT-SKIFTE.....</b>                                         | <b>13</b> |
| 13.1 Holdbarhet.....                                                           | 13        |
| 13.2 Lot-skifte av reagenser og kalibratorer .....                             | 13        |
| 13.3 Kalibrering og daglig drift .....                                         | 13        |
| <b>14. ANALYTISK KVALITETSKONTROLL OG KVALITETSMÅL .....</b>                   | <b>13</b> |
| 14.1 Intern analytisk kvalitetskontroll.....                                   | 13        |
| 14.2 Ekstern kvalitetskontroll .....                                           | 13        |
| 14.3 Kvalitetsmål .....                                                        | 14        |
| 14.4 Presentasjon av kvalitetsmål fra ulike organisasjoner .....               | 14        |
| 14.4.1 Biodatabase, biologisk variasjon (Ricos) .....                          | 14        |
| 14.4.2 Labquality analytisk kvalitetskrav .....                                | 15        |
| 14.4.3 NKKs Rapportveileder: Akseptgrenser for ekstern kvalitetskontroll ..... | 15        |
| 14.4.4 Analytiske kvalitetsmål.....                                            | 16        |
| 14.4.5 Ulike kvalitetsmål for hematologiske parametre .....                    | 16        |

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 3 av 25           |

|            |                                                              |           |
|------------|--------------------------------------------------------------|-----------|
| 14.4.6     | Preanalytiske kvalitetsmål .....                             | 16        |
| 14.4.7     | Kliniske kvalitetskrav .....                                 | 17        |
| 14.4.8     | Biologisk variasjon hos pasienter med ulike sykdommer .....  | 17        |
| 14.4.9     | Europeiske mål .....                                         | 17        |
| 14.5       | Kriterier for akseptabel analytisk kvalitet, 6 sigma .....   | 18        |
| 14.5.1     | Avviksbudsjett .....                                         | 18        |
| 14.5.2     | Six sigma konseptet .....                                    | 18        |
| 14.5.3     | 6 sigma mål .....                                            | 18        |
| 14.5.4     | Størrelse på feil som oppdages av QC .....                   | 18        |
| <b>15.</b> | <b>RIKTIGHET .....</b>                                       | <b>19</b> |
| <b>16.</b> | <b>REFERANSEOMRÅDER .....</b>                                | <b>20</b> |
| <b>17.</b> | <b>PREANALYTISKE FORHOLD .....</b>                           | <b>20</b> |
| <b>18.</b> | <b>USIKKERHETSBUDSJETT FOR ANALYSEN .....</b>                | <b>20</b> |
| 18.1       | Preanalytisk usikkerhet .....                                | 20        |
| 18.2       | Usikkerhet i kalibrering .....                               | 20        |
| 18.3       | Usikkerhet i en korreksjonsfaktor (intercept/slope) .....    | 20        |
| 18.4       | Usikkerhet i Bland Altman plott/differanseplott .....        | 21        |
| 18.5       | Sum av varianser og bias i usikkerhetsbudsjett .....         | 21        |
| <b>19.</b> | <b>UTARBEIDELSE AV PROSEDYRER .....</b>                      | <b>21</b> |
| <b>20.</b> | <b>RAPPORT .....</b>                                         | <b>22</b> |
| <b>21.</b> | <b>INFORMASJON TIL REKVIRENTER .....</b>                     | <b>22</b> |
| <b>22.</b> | <b>ENDRING AV MASTERDATA .....</b>                           | <b>22</b> |
| <b>23.</b> | <b>KONKLUSJON/OPPSUMMERING AV VERIFISERINGSRAPPORT .....</b> | <b>22</b> |
| <b>24.</b> | <b>EKSEMPLER PÅ PLOT FRA ANALYSE IT .....</b>                | <b>23</b> |
| <b>25.</b> | <b>APPENDIX A .....</b>                                      | <b>24</b> |
| <b>26.</b> | <b>REFERANSER .....</b>                                      | <b>25</b> |

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 4 av 25           |

## 1. Innledning

Alt utstyr og metoder som benyttes ved den analytiske virksomheten, skal være validert der dette er praktisk mulig. “Validering” betyr i denne sammenhengen hovedsakelig at produsenten av utstyret har utstedt en erklæring, der det fremgår at utstyret tilfredstiller kravene i [Forskrift om medisinsk utstyr](#) eller tilsvarende forskrifter i andre EU-land. Denne typen utstyr og metoder er CE-merket.

Alt utstyr og metoder som er CE-merket, må verifiseres før det tas i bruk.

Protokollen er å betrakte som et rammeverk, siden omfanget av den praktiske verifiseringen vil måtte tilpasses situasjonen i hvert enkelt tilfelle. Malen er skrevet med tanke på validering/verifisering av kvantitative og kvalitative metoder som planlegges tatt i bruk i rutinen ved Laboratorium for klinisk kjemi, og for metoder til forskningsformål, samt metoder som skal oppdateres. Hvert av punktene skal besvares i protokollen. Det skrives en begrunnelse dersom de ikke er utført.

Dersom det benyttes egenutviklede metoder, eller det foretas modifikasjoner av produsentens CE-merkede metoder, må det også foretas en validering.

Validerings- eller verifiseringsrapporter opprettes i EK som resultatdokumenter og godkjennes av seksjonslegen. For fleksibel akkreditering: [02.13.4.4.3-20 Fleksibel akkreditering](#).

Protokollen er i tråd med metodevalideringsmalen utarbeidet av NKK (Norsk Klinisk-Kjemisk Kvalitetskontroll). NKK-malen er en veiledning for implementering av nye analysemetoder i klinisk-kjemisk virksomhet i Norge. Man kan innhente mer utfyllende informasjon og litteraturreferanser i NKK-malen. Det meste av terminologien som brukes i dette dokumentet er nærmere beskrevet i [02.13.4.5.1.1-04 Terminologi](#)

Før den eksperimentelle delen av valideringen starter må følgende være avklart:

- Hva som skal måles (komponentnavn, kjemisk forbindelse etc.), hvilken form (f.eks. oksidert/reduert form, proteinbundet/fritt, eller total konsentrasjon), hvilket prøvemateriale (f.eks. serum, plasma, urin etc.). For molekylærbiologiske analyser, hvilke DNA-variasjoner som skal måles og hvilket prøvemateriale som skal brukes (DNA, RNA, DNA fra blod eller fra spesielle celletyper etc.).
- Hvilken analysemetode som er valgt, og tilgjengelig dokumentasjon av denne (litteraturreferanser, valideringsrapporter etc.).
- Hvordan måleresultatenes sporbarhet skal etableres.
- Etablere kvalitetsmål. Valideringsplanen bør ta utgangspunkt i målingens hensikt og hvilken nytteverdi den forventes å ha i klinisk bruk. På basis av dette bør kvalitetsmålene for metoden spesifiseres og metodens egenskaper bestemmes. Under den øvrige valideringen skal det så kontrolleres at disse målene er oppfylte.
- Hvem som er ansvarlig for valideringsprosessen, herunder planlegging, analysering, dokumentasjon, beregninger og utforming av sluttprotokoll.
- I hvilket tidsrom valideringen skal skje.

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 5 av 25           |

## 2. Begrepene validering/verifisering

Dersom produsentens dokumentasjon av metodevalideringen er god nok (se kapittel om IVD Direktivet, CE-merking nedenfor), kan laboratoriets validering i mange tilfeller begrenses til verifisering av produsentens opplysninger, dvs. enkle kontroller av spesifiserte egenskaper.

Verifisering er mest aktuelt ved innkjøring av rutinemetoder, mens validering kan være aktuelt ved innkjøring av forskningsmetoder, og metoder der det ikke foreligger god nok metodevalideringsdokumentasjon.

Validering er aktuelt ved:

- Innføring av en ny analysemetode der valideringsdokumentasjon ikke foreligger, eller er mangelfull.
- Endringer ved analysemetoden.
- Delvis validert analysemetode der det er aktuelt å supplere med det som anses nødvendig for å kunne dokumentere tilfredsstillende kvalitet, og så verifisere på de områdene der man finner det nødvendig.

Verifisering er aktuelt ved:

- Implementering av en ny analysemetode der valideringsdokumentasjon foreligger, enten fra leverandør eller annet laboratorium. Man kan nøye seg med å fremskaffe dokumentasjon på valideringen, og det er da tilstrekkelig å verifisere at metoden fungerer med samme kvalitet på eget laboratorium.
- Mindre metodeendringer som lot-skifte av reagens og kalibrator, som kan tenkes å føre til endret analysekvalitet.

## 3. Samarbeid

På et tidlig tidspunkt nedsettes en arbeidsgruppe. Arbeidsgruppen fordeler ansvarsområder og arbeidsoppgaver innenfor planlegging, analysing, dokumentasjon, statistiske beregninger, utfylling av valideringsskjema, og utforming av valideringsrapport og prosedyrer.

Arbeidsgruppen avholder statusmøter ved behov, for godkjenning av arbeidet som er utført, videre fremdrift og avklaring av aktuelle spørsmål. Det skrives referat fra hvert møte.

Det lages en plan som viser hvilke arbeidsoppgaver som skal være gjennomført ved bestemte tidspunkt. Seksjonsleder ved aktuell analytisk seksjon leder innkjøringen.

Deltakere i arbeidsgruppe:    Seksjonsleder ved analytisk seksjon  
                                          Seksjonslege ved analytisk seksjon  
                                          Den som skal utføre analysearbeidet ved fra analytisk seksjon  
                                          Valideringsansvarlig fra fleksibel akkreditering\*

Deltakere ved statusmøter:    Arbeidsgruppen

\* Det vurderes i hvert enkelt tilfelle om valideringsansvarlig fra fleksibel akkreditering skal delta på møter.

Fleksibel akkreditering krever at en valideringsansvarlig godkjenner valideringsplan og valideringsrapport, [02.13.4.4.3-20 Fleksibel akkreditering](#).

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 6 av 25           |

## 4. Valg av instrument og metode

Valg av analysemetoder foretas i samarbeid mellom seksjonsleder og seksjonslege og besluttes av avdelingsledelsen etter behandling i legemøtet.

Valideringsrapporten bør inneholde en kort begrunnelse av hvorfor det aktuelle instrumentet og analysemetoder ble valgt. Opplysningene skrives inn i validerings-/verifiseringsskjemaet under punktet Bakgrunn for validering/verifisering. Grad av automasjon, analysekapasitet, analyseetid, driftssikkerhet, personalbehov, metodenes sporbarhet, kalibrering, tillaging av reagenser, type prøvemateriale, kostnader m.m. er viktige bidrag ved vurdering av utstyr.

## 5. Dokumentasjon av produsent

Instrument/metode må være veldokumentert, og det må foreligge metodedokumentasjon fra produsent. Litteratursøk bør gjøres for å skaffe mer dokumentasjon om de aktuelle metoder, og om det f.eks. er utført sammenligningsstudier. Det kan være aktuelt å hente informasjon fra andre laboratorier som har samme instrument og metode, om hvilke erfaringer de har gjort seg, men validering som er utført på andre laboratorier lar seg ikke alltid overføre til vår arbeidssituasjon.

Dersom man vurderer at leverandørens og andres dokumentasjon er god nok, kan man begrense seg til enkle kontroller av spesifiserte egenskaper, som kun en verifisering av opplysninger. Dersom man velger å begrense protokollen, må det begrunnes i valideringsrapporten.

Selv om det kan innhentes valideringsdokumentasjon fra andre instanser, er det likevel laboratoriets ansvar å forvisse seg om at måleutstyret fungerer med tilfredsstillende kvalitet lokalt.

## 6. IVD Direktivet, CE-merking

IVD Direktiv (In Vitro Diagnostic Direktiv) er retningslinjer bestemt av EU, og som gjelder innenfor EØS-området. Det stilles krav til reagensprodusenter om sporbarhet i forhold til referansemeter/referansematerialer. Produsenten må oppgi usikkerheten til kalibratorverdier og kontroller. Det må også dokumenteres at metoder er validert med hensyn til bl.a. analytisk sensitivitet, diagnostisk sensitivitet, analytisk spesifisitet, diagnostisk spesifisitet, riktighet, presisjon, interferens, deteksjonsgrense.

Produkter som oppfyller kravene i henhold til IVD direktivet CE merkes. CE-merking viser at utstyret oppfyller kravene i ett eller flere direktiver og at utstyret dermed kan omsettes fritt innenfor EØS-området.

Fra 07.12.05 vil det kun være CE-merkede produkter som kan brukes.

Når vi lager egne reagenser, merkes de i henhold til beskrivelser i [02.13.4.17.8-38](#)  
Egenproduksjon av in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr.

## 7. Klinisk nytteverdi

Med klinisk nytteverdi menes analysens evne til å hjelpe legen til riktig behandling. For laboratoriene kan det være aktuelt å vurdere om analyser fremdeles har sin berettigelse i laboratoriet. Hvis det dreier seg om innføring av en ny analyse, bør laboratoriet gjøre en selvstendig vurdering av tiltenkt klinisk nytteverdi som diagnostisk nøyaktighet og klinisk kvalitet [NKK Validering/verifisering av klinisk kjemiske analyser, febr. 2002].

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 7 av 25           |

## 8. Valg av valideringsparametre for analytisk kvalitet

**Følgende parametre kan inngå i en validering av analytisk kvalitet:**

- Linearitet
- Recovery/Riktighet/Sporbarhet
- Deteksjonsgrense/ analytisk følsomhet
- Kvantifiseringsgrenser / Måleområde
- Presisjon (innen serie-, mellom-serie-, mellom-dag-, total presisjon)
- Sensitivitet/spesifisitet
- Analytisk spesifisitet, interferens, ”carry over”
- Holdbarhetsstudier
- Robusthet

## 9. Validering av analysemetode

Innkjøringen kan deles opp i ulike faser:

- Teknisk innkjøring, div. valideringsparametre.
- Presisjonsforsøk, korrelasjonsforsøk.
- Holdbarhet, lot-skifte, opplæring.
- Analytisk kvalitetskontroll, kvalitetsmål, riktighet, referanseområder, preanalytiske forhold, måleusikkerhet, utarbeidelse av prosedyrer.

For medisinsk bruk av analysen kan det være nødvendig å gjennomgå alle punktene i malen. Til forskningsformål, der det er ønskelig å få opplysninger om populasjoner, kan det være tilstrekkelig å se på aktuelle tekniske valideringsparametre, samt å utføre en korrelasjonsanalyse mot kjent metode.

Malen gir ikke detaljert beskrivelse av hvordan de ulike valideringsforsøkene skal gjennomføres.

## 10. Teknisk innkjøring, div. valideringsparametre

### 10.1 Installering av instrument

Teknisk kontroll av instrumentet utføres. Opplæring og ”bli kjent periode” på instrumentet. Reagenser tillages, kalibrering utføres, og prøver analyseres.

### 10.2 Linearitet

Betegner en analysemetodes evne (innen et gitt konsentrasjonsområde) til å gi måleresultater som er direkte proporsjonal til konsentrasjonen av analytten.

Det testes for sammenhengen mellom målesignal (f.eks. OD) og målestørrelse (f.eks. konsentrasjon). Denne skal være beskrevet av en rett linje  $y = ax + b$ .

I et linearitetsforsøk analyseres en rekke standardløsninger med forskjellig konsentrasjon.

Disse løsningene skal dekke et bredt konsentrasjonsområde av en spesifikk analytt.

CLSI anbefaler å analysere 5 ulike konsentrasjoner, som hver analyseres 3 ganger.

Målet er å oppnå linearitet ved analysing av både standardløsninger og pasientprøver.

Ikke alle standardkurver er lineære.

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 8 av 25           |

### 10.3 Recovery (gjennfinning)

Recovery er metodens evne til å gjenfinne en bestemt mengde analytt som tilsettes prøven. Det undersøkes om metoden kan måle analytten når andre stoffer er tilstede i prøvematerialet. Recovery sier noe om metodens proporsjonale (konsentrasjonsavhengige) systematiske feil. Ideell recovery er 100 %. Det beregnes prosentvis avvik mellom tilsatt og gjenfunnet mengde analytt.

Eventuelt kan standard addisjonsmetode brukes, dvs. kjente mengder av en analytt tilsettes et prøvemateriale som allerede inneholder en ukjent mengde av den samme analytten.

Recoveryforsøk kan sees på som et linearitetsforsøk for pasientprøver. En svakhet med forsøket er at tilsats av ren analytt ikke alltid vil medføre at denne vil være identisk med analyttens molekylære form in vivo.

### 10.4 Deteksjonsgrense

Deteksjonsgrensen angir den laveste målbare konsentrasjonen av en analytt som ved en gitt sannsynlighet kan skilles fra null. Bestemmes kun for komponenter som kan forekomme nær 0-punktet, f.eks. spormetaller, medikamenter, tumormarkører, enkelte giftstoffer osv. 0-kalibrator, eller en blankprøve analyseres 20 ganger. Middelverdi og standardavvik beregnes. Deteksjonsgrensen settes som +3SD over middelverdien.

### 10.5 Innen-serie presisjon

Et pasientmateriale (f.eks. normal serumpool) og et kommersielt kontrollmateriale analyseres 20 ganger hver i en serie i løpet av 1 dag. Alle resultater skrives direkte inn i et Excel regneark (lagret på LKB Felles), og innen-serie presisjonen beregnes automatisk. Man oppnår et estimat av innen-serie presisjonen som derettes sammenlignes mot den CV produsenten selv oppgir for metoden. Dersom CV % er akseptabel kan man gå videre i utprøvingen.

### 10.6 Måleområder

Eksempel for S-Kreatinin:

|                                   |                            |
|-----------------------------------|----------------------------|
| <b>Akkreditert måleområde</b>     | 20 - 650 $\mu\text{mol/L}$ |
| <b>Måleområde (fra produsent)</b> | 3 - 2652 $\mu\text{mol/L}$ |
| <b>Rapporteringsområde</b>        | 3 - 5304 $\mu\text{mol/L}$ |

#### 10.6.1 Kvantifiseringsgrenser/teknisk måleområde fra produsent

Det området for målestørrelsen hvor målinger kan foretas med angitt usikkerhet. Måleområdet er definert av nedre og øvre kvantifiseringsgrense, og kan tilsvare produsentens oppgitte måleområde. Fortynnede prøver inngår ikke i dette måleområdet.

#### Øvre kvantifiseringsgrense

Kan være bestemt av:

- Verdien av høyeste kalibrator.
- Høyeste måleverdi som gir linearitet.
- Den høyeste konsentrasjon som gir  $CV \leq$  en bestemt verdi.

#### Nedre kvantifiseringsgrense

Kan være bestemt av:

- Deteksjonsgrensen (for kvantitative metoder)
- Den laveste konsentrasjon som f.eks. gir  $CV \leq 20\%$



| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 9 av 25           |

### 10.6.2 Akkreditert måleområde

Akkreditert måleområde er det måleområdet for analysen hvor CV er kjent i hele måleområdet. Det akkrediterte måleområde vil for mange analyser kunne ligge lavere i nivå enn produsentens tekniske måleområde og analysens rapporteringsområde. Det akkrediterte måleområdet legges inn i metodedelen av analyseoversikten:

[Metodeinformasjon i analyseoversikten.no](#)

### 10.6.3 Rapporteringsområde

Tilsvaret laveste og høyeste analyseresultat som utgis. Her inkluderes også måleområdet ved fortynnede prøver.

## 10.7 Interferens

Systematisk feil som skyldes en substans i prøven, annen enn den som skal måles. Det finnes et stort antall mulige interferenter. Det kan være endogene substanser, optiske interferenter som hemoglobin, lipider og bilirubin, samt medikamenter, prøvetilsetningsstoffer etc. Data om interferens bør finnes i produsentens metodeinformasjon. Hvis grenseverdier ikke oppgis, bør slike utarbeides ved tilsetningsforsøk. Innledningsvis kan det testes på interferens ved å tilsette en prøve det stoffet man mistenker kan gi interferens, samtidig som den originale prøven fortynnes tilsvarende. Deretter analyseres begge prøver, og differansen beregnes.

Grad av interferens som kan aksepteres bør vurderes på bakgrunn av medisinske krav.

## 10.8 Carry-over/overdraging

Her undersøkes i hvilken grad konsentrasjonen av en analytt i en prøve påvirker den målte konsentrasjon i seriens neste prøve.

Hvilken grad av overdraging (%) som kan aksepteres kan variere fra analytt til analytt. Carry-over er spesielt viktig å undersøke for analyser der konsentrasjonsspennet er stort, eller i tilfeller der analysesystemet er kjent å ha en svakhet. For å teste carry-over analyseres først en prøve med høy konsentrasjon, deretter to prøver med lav konsentrasjon. Ved carry-over vil resultatet på den første lave prøven være høyere enn resultatet på den andre lave prøven. Enkelte analysekombinasjoner er også følsomme for overdraging av reagens. I slike tilfeller bør produsenten opplyse om dette slik at nødvendige forholdsregler kan tas.

## 11. Presisjon

En prøveserie er et intervall der analysen er forventet å være stabil. Det kan være en gruppe analyseringer som er adskilt fra andre ved f. eks. avbrekk i virksomheten, etterfylling av reagens eller andre tiltak som regelmessig gjøres ved daglig drift. En vanlig arbeidsdag kan inneholde én eller flere prøveserier. Beskriv hva en prøveserie er på det gjeldende instrumentet.

Alle resultater fra presisjonskjøringer føres fortløpende inn i regneark, og beregninger utføres etter gjeldende statistiske metoder.

### 11.1 Presisjonsforsøk

Presisjon er en overensstemmelse mellom uavhengige måleresultater oppnådd med en måleprosedyre under angitte betingelser.

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 10 av 25          |

### 11.1.1 Innen-serie presisjon (Repeterbarhet)

Overensstemmelse mellom resultatene av påfølgende målinger av samme målestørrelse utført under samme målebetingelser.

Innen-serie presisjonen gir et estimat på den minste måleusikkerheten som kan oppnås med analysemetoden. Det tilstrebes mest mulig like analysebetingelser, som f.eks. samme operatør, samme bruksbetingelser, og at analyseringen utføres over et kort tidsrom. Nytt av å teste repeterbarhet er å kunne se verdiene i forhold til reproduserbarhet, for bedre å kunne vurdere hvor de vesentlige kildene til metodens upresisjon ligger. Det bør utføres presisjonsforsøk i hele måleområdet.

### 11.1.2 Reproduserbarhet

Overensstemmelse mellom resultatene av påfølgende målinger av samme målestørrelse utført under endrede målebetingelser.

Reproduserbarheten skal referere til den delen av måleområdet den gjelder for, og spesifisering av hvilke variable som har inngått i perioden. Her ønskes variasjon i analysebetingelsene, flere analyseserier, flere ”loter” både på kalibrator og reagenser, flere operatører osv. Reproduserbarhet bør omfatte en lengre periode f.eks. et ½ år. Reproduserbarhet blir ofte brukt som et mål for analytisk måleusikkerhet.

Fordi en metodes presisjon påvirkes av konsentrasjonsnivå, bør presisjon bestemmes i hele måleområdet, og viktig også nær beslutningsgrensene. Det brukes prøvemateriale på min. 3 nivåer, f.eks. serum-pool og kommersielle kontrollmaterialer.

Hvert prøvemateriale analyseres 2 ganger i første prøveserie hver dag, og dersom det er flere daglige prøveserier, 2 ganger i en senere prøveserie samme dag. Dette gjøres hver dag i 20 dager. Alle resultater skrives inn i Excel regneark: MAL analyse pres.+korr.xls, lagret på F:\Metodevalideringsdokumentasjon, hvor innen-serie-, mellom-serie-, mellom-dag-, og total analytisk presisjon beregnes automatisk i henhold til CLSI. De samme presisjonsberegningene kan også gjøres i statistikkprogrammet Analyse-IT. Presisjonsforsøk kan også utføres i henhold til Appendix A.

Oppnådd CV % vurderes opp mot produsentens oppgitte CV, og mot de krav som er satt for metoden. Opplysninger om analytiske krav til analysen noteres i validerings-/verifiseringsrapporten. Presisjonsdata presenteres i egen tabell (konsentrasjon, CV, og SD).

### 11.1.3 Fastsetting av analytisk variasjon i akkreditert måleområde

Laboratoriet må ha kjennskap til CV i hele det akkrediterte måleområdet. Ved lave og høye konsentrasjoner brukes tilgjengelig pasientmateriale. Analytiske variasjon som utgis til rekvirenter bør dekke det konsentrasjonsområdet hvor de fleste pasientprøvene fordeler seg. For noen analyser er det akkrediterte måleområdet bestemt nær det tekniske måleområdet som er oppgitt fra produsent, for noen analyser er det basert på området der de fleste resultatene fordeler seg, og for noen analyser er det bestemt ut fra tilgjengelige lave/høye pasientprøver.

Analytisk CV som utgis til våre rekvirenter registreres i:

- Analyseoversikten.no
- Publiseres på nettet til våre rekvirenter: <https://helse-bergen.no/seksjon/LKB/Documents/ek%20akkrediterte%20m%C3%A5leomr%C3%A5der.pdf>

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 11 av 25          |

Se mer info [Analysevariasjon for LKBs analyser](#) om hvordan fastsette analytisk variasjon som skal utgis på liste som er publisert til våre rekvirenter.

## 11.2 Robusthet

Ved validering av en metodes robusthet er det viktig å fremkalle aktuelle ytre forhold som kan tenkes å påvirke metoden, som for eksempel endringer i fysiske omgivelser, skifte av reagens- eller bruksstandard-lot, skifte av operatør, etc. Robusthet bør valideres/verifiseres over tid, slik at flest mulige faktorer som kan tenkes å påvirke metoden kan fanges opp [2].

Ved angivelse av robusthet bør de «påtrykte» ytre forhold som har vært tilstede beskrives. Ved validering av en metodes robusthet er det viktig å fremkalle aktuelle ytre forhold som kan tenkes å påvirke metoden, som for eksempel fysiske omgivelser, skifte av reagens- eller bruksstandardlot, skifte av operatør, skifte av primere og prøber. Robusthet bør valideres over tid, slik at forhold som kan tenkes å påvirke metoden kan fanges opp.

## 12. Sammenligning av analysemetoder

Det beregnes samsvar mellom den nye metoden og eksisterende («gammel») metode på laboratoriet, evt. mot et referanseinstrument.

Prøvemateriale tappes av pasienter, og det tilstrebes måleverdier spredt over hele det aktuelle måleområdet. Særlig ønskes verdier rundt referansegrenser og kliniske aksjonsgrenser.

Det analyseres 120 prøver (slik at resultatene om nødvendig kan inndeles i 3 ulike nivåer), fordelt over minst 5 dager. Det bør være mellom 20 - 40 parallellmålinger i hvert nivå.

Resultatene skrives inn i Excel regneark: MAL analyse pres.+korr.xls, lagret på F:\Metodevalideringsdokumentasjon, eller i statistikkprogrammet Analyse-IT.

Evt. avvik mellom metodene påvises ved hjelp av differanseplott, paret t-test og lineær regresjonsanalyse.

Lineær regresjon benytter minste kvadraters metode, der variasjonen kun er tilstede i Y-variabelen. I metodevalideringsstudier brukes ofte Deming's metode, og/eller Passing Bablok's metode. Deming's metode tillater variasjon i både X- og Y-variablene. Passing og Bablok's metode tillater variasjon i både X- og Y-variablene, men er ikke-parametrisk og påvirkes dermed lite av ekstreme avvik mellom X og Y.

### 12.1 Paret t-test

Når den nye metoden sammenlignes mot den gamle, kan den ene metoden vise en fast tendens til å overgå den andre. Vi kaller dette for bias, og estimerer den ved  $\text{Middel}_{\text{differanse}} \pm 95\% \text{ CI}$ . Konfidensintervallet til  $\text{middel}_{\text{differanse}}$  er mye smalere enn middelverdien for hvert av datasettene, fordi mellom-person variasjonen er tatt bort.

Fordi man arbeider med differanser er det realistisk å anta tilnærmet normal fordeling.

Estimater av  $\text{middel}_{\text{differanse}}$  og  $\text{SD}_{\text{differanse}}$  er meningsfulle kun hvis vi kan anta at bias og variasjon er ensartet for hele konsentrasjonsområdet av måleresultatene.

Antagelsen kan sjekkes grafisk ved å vurdere differanseplotene. I differanseplotet avsettes differansen «Ny – gammel metode» langs y-aksen, og gammel metode settes langs x-aksen (statistiker har godkjent det). Alternativt settes gjennomsnitt mellom ny og gammel metode langs x-aksen.

Det mest vanlige avviket fra antagelsen er at differansene øker eller minker ved økende konsentrasjon på x-aksen.

Siden det ofte analyseres prøver over et stort konsentrasjonsområde, er det som regel ikke gunstig å utføre paret t-test for hele konsentrasjonsområdet under ett. Paret t-test forutsetter av

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 12 av 25          |

avviket mellom metodene er et rent konsentrasjonsuavhengig avvik. Konsentrasjonsområdet kan inndeles i ulike konsentrasjonsområder (f.eks. lavt, medium, høyt nivå), etter visuell bedømming av differanseplotet, og deretter utføres par t-test basert på prøver i de ulike konsentrasjonsområdene.

## 12.2 Utrekning av prosentvis avvik mellom analysemetodene

Analyse IT beregner differansen mellom gammel og ny metode for hvert tallpar, og deretter det prosentvise avviket mellom metodene for hvert tallpar. Deretter beregner Analyse-IT gjennomsnittet av de parvise prosentvise forskjellene (mean difference %). Det beregnes egentlig gjennomsnitt av brøker.

En annen måte er å beregne gjennomsnitt for dataene for gammelt instrument og gjennomsnitt for dataene ved nytt instrument, og deretter beregne prosentvis forskjell mellom de to middelerverdiene. I dette siste tilfellet drar man også med seg mellom-person variasjonen som gir et bredere konfidensintervall for middelerverdiene.

Å beregne et gjennomsnitt av alle de parvise differansene, og deretter avviket mot middelerverdi av gammel metode vil gi det samme prosentvise avviket som i det forrige tilfellet.

| Prøve        | 48t  | Fersk | Differanse<br>48t - fersk | Parvis<br>% forskjell | Hvert prosentvis forskjell her er en brøk                                                                                                                    |
|--------------|------|-------|---------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1            | 4,8  | 4,9   | -0,1                      | -2,04                 |                                                                                                                                                              |
| 2            | 5,6  | 5,5   | 0,1                       | 1,82                  |                                                                                                                                                              |
| 3            | 2,1  | 1,5   | 0,6                       | 40,00                 |                                                                                                                                                              |
| 4            | 5,8  | 5,7   | 0,1                       | 1,75                  |                                                                                                                                                              |
| 5            | 4,5  | 4,7   | -0,2                      | -4,28                 |                                                                                                                                                              |
| 6            | 3,1  | 3     | 0,1                       | 3,33                  |                                                                                                                                                              |
| 7            | 7    | 7     | 0                         | 0,00                  |                                                                                                                                                              |
| 8            | 4,4  | 4,5   | -0,1                      | -2,22                 |                                                                                                                                                              |
| 9            | 5    | 5     | 0                         | 0,00                  |                                                                                                                                                              |
| 10           | 5,5  | 5,4   | 0,1                       | 1,85                  |                                                                                                                                                              |
| Gjennomsnitt | 4,78 | 4,72  | 0,060                     | 4,024                 | Her tar man et gjennomsnitt av 10 brøker, og det beregnes et gjennomsnitt av de parvise prosentvise forskjellene. Påvirkes mest av store enkelt forskjeller? |
|              |      |       |                           | 1,271                 | Prosentvis forskjell mellom gjennomsnittene<br>(C19 - D19)/D19*100                                                                                           |

## 12.3 Passing Bablok regresjon

Passing Bablok regresjon lager en linje som beskriver forholdet mellom to variabler. Den er robust, ikke-parametrisk, og er ikke sensitiv for outliers eller fordelingen av feil.

Konfidens intervallene for parameter estimatene er basert på normal tilnærming eller bootstrap. Konfidens grafene rundt regresjonslinjen og ved spesifikke punkter på linjen er oppnådd ved bootstrap.

## 12.4 Pearson correlation coefficient R

R ligger mellom -1 til +1. Positiv R betyr at når den ene metoden øker i konsentrasjonen så øker også den andre metoden i konsentrasjon.

+1 indikerer en perfekt linear sammenheng, og -1 en perfekt negativ lineær sammenheng. Det er god korrelasjon og linear assosiasjon mellom X og Y når R nærmer seg 1.

## 12.5 Limits of agreement

Det kan vurderes om forskjell mellom to analysemetoder kan aksepteres ved å beregne intervallet 95 % limits of agreement:

Middel<sub>differanse</sub>  $\pm$  2 · SD<sub>differanse</sub>

Limits of agreement definerer området hvor de fleste av differansene mellom de to målingene ligger. Hvis differansene innenfor grensene ikke er klinisk viktige, kan de to metodene brukes

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 13 av 25          |

omhverandre. Limits of agreement inkluderer både systematisk (bias) og tilfeldig feil (pressjon).

Dersom en av metodene er en referansem metode kan limits of agreement brukes som et mål for den totale feilen (the total error) til en måleprosedyre (Krouwer, 2002).

## 13. Holdbarhet, lot-skifte

### 13.1 Holdbarhet

Ofte aksepteres produsentens fastsettelse av holdbarhet for reagens, kalibrator, kontrollmaterialer og prøvematerialet. Brukerens ansvar blir derfor å sørge for at oppbevaringsbetingelsene er i overensstemmelse med produsentens krav.

I noen tilfeller kan holdbarheten være satt unødvendig kort, derfor kan det være nyttig å teste holdbarheten selv. Norsk Akkreditering tillater ikke bruk av reagenser som har gått ut på dato.

### 13.2 Lot-skifte av reagenser og kalibratorer

Lotskifte av kalibrator og reagens kan for enkelte teknologier, f.eks. immunoassay, være forbundet med et nivåskifte for pasientresultatene. For metoder der dette er et problem, bør det settes krav til tillatt endring ved lotskifte, og det må verifiseres at disse kravene er tilfredsstillt når det skiftes til ny lot. Tillatt avvik fra gammel lot vil være avhengig av type metode og hvilke deler av måleområdet det gjelder. Kravet bør sees i sammenheng med den garantien leverandøren oppgir. For immunoassays oppgis ofte  $\pm 5 - 10\%$  skifte i nivå fra et lotnummer av reagenser/kalibratorer til et annet.

Ofte er det endringer i kalibratorene som forbindes med fare for nivåskift i pasientresultatene, og det kan derfor være aktuelt å analysere det nye kalibratorsettet som prøver, og vurdere resultatene mot de tillagte verdiene fra produsenten. I de tilfeller der kalibrator og reagens leveres som "matched" sett, må hele det nye settet testes mot det gamle.

### 13.3 Kalibrering og daglig drift

Prosedyrer for kalibrering og daglig drift fastlegges. Flere bioingeniører får opplæring i bruk av instrumentet.

## 14. Analytisk kvalitetskontroll og kvalitetsmål

### 14.1 Intern analytisk kvalitetskontroll

Prosedyre for intern kvalitetskontroll velges iht. [02.13.4.18-02 Intern kvalitetskontroll ved seksjonene](#).

Henviser til egne retningslinjer for valg av kontrollmateriale, fastsetting av fasit, etablering av akseptgrenser og aksjonsgrenser, fastsetting av kontrollregler m.m.

Tillatt total analytisk feil for metoden bestemmes ved å bruke formelen oppgitt i neste kapittel.

### 14.2 Ekstern kvalitetskontroll

Det tilstrebes at alle analyser skal være tilknyttet et eksternt kvalitetskontrollprogram. Eksterne kvalitetskontrollprogram gjør det mulig å sammenligne metodens riktighet mot andre laboratorier med samme metode, og dessuten få informasjon om hvilke andre metoder som finnes på markedet, og i hvilke nivåer de måler. Se rutiner [02.13.4.18-03 Ekstern analytisk kvalitetsvurdering](#).

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 14 av 25          |

### 14.3 Kvalitetsmål

I henhold til ISO 15189 5.5.4:

”Spesifikasjoner av ytelse for hver prosedyre brukt i en analyse skal gjelde for den påtenkte bruken av den aktuelle prosedyren”.

I henhold til ISO 15189 5.5.6:

”Laboratoriet skal på anmodning gjøre sin liste over gjeldende analyseprosedyrer, inkludert krav til primærrør og relevante spesifikasjoner og krav til ytelse, tilgjengelig for brukerne av laboratorietjenestene før endringen blir innført”.

Generelle medisinske krav for en laboratorietest:

- Analyseresultater må nøyaktig reflektere pasientens tilstand.
- Endringer i serie-prøver må reflektere pasientens endringer, og ikke instrument variasjon (bias og presisjon).
- Bias må ikke flytte pasienten fra en diagnose-gruppe til en annen.
- Serie-forandringer hos en pasient må kunne skilles fra biologisk variasjon.

I validerings-planskjemaet skal ulike kvalitetsmål bestemmes, og i validerings-rapportskjemaet skal de oppnådde resultatene vurderes opp mot de ulike kvalitetsmålene for:

- Holdbarhet/lotnr skifte av reagenser
- Preanalytiske forhold
- Linearitet
- Carry-over
- Interferens
- Analytisk presisjon
- Riktighet
- Korrelasjon – krav til maks avvik fra sammenlignende metode

Det er publisert flere modeller for hvordan kvalitetsspesifikasjoner skal settes, som f.eks. at tillatt totalfeil på analysen kan bestemmes, enten fra kliniske kriterier, eller på grunnlag av biologisk variasjon.

Kliniske kvalitetsmål brukes for de analyser hvor det eksisterer slike mål enten nasjonalt eller internasjonalt. For de analyser det er etablert internasjonale kvalitetskrav (f.eks. HbA1c) for presisjon og riktighet, vil laboratoriet til enhver tid søke å oppfylle disse kravene.

Seksjonslegen og seksjonsleder ved analytisk seksjon har ansvar for å etablere kvalitetsmål for analysemetodene. Seksjonslegen og seksjonsleder ved Seksjon for kontroll og utvikling kan gi nødvendig faglig veiledning.

### 14.4 Presentasjon av kvalitetsmål fra ulike organisasjoner

#### 14.4.1 Biodatabase, biologisk variasjon (Ricos)

Ønskelige spesifikasjoner for total feil, impresisjon, og systematisk feil (bias) er avledet fra intra- og inter-individuell biologisk variasjon: <http://westgard.com/biodatabase1.htm>

Listen blir oppdatert hvert andre år av Ricos og hennes kollegaer:

Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress." Scand J Clin Lab Invest 1999; 59:491-500.

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 15 av 25          |

Listen inneholder data for:

CV<sub>w</sub> = intra-individuell biologisk variasjon

CV<sub>g</sub> = inter-individuell biologisk variasjon

I % = ønskelig spesifisering for impresisjon

B % = ønskelig spesifisering for unøyaktighet (bias)

TE % = ønskelig spesifisering for tillatt total feil

Formler:

Krav til impresisjon: I % < 0.5 CV<sub>w</sub>

Krav til bias: B % < 0.25 (CV<sub>w</sub><sup>2</sup> + CV<sub>g</sub><sup>2</sup>)<sup>1/2</sup>

Krav til total tillatt feil: TE % < 1.65 x 0.5 CV<sub>w</sub> + 0.25(CV<sub>w</sub><sup>2</sup> + CV<sub>g</sub><sup>2</sup>)<sup>1/2</sup>

Et strengere krav til bias er: B % < 0.125 (CV<sub>w</sub><sup>2</sup> + CV<sub>g</sub><sup>2</sup>)<sup>1/2</sup>

Krav til bias: B % < 0.25 (CV<sub>w</sub><sup>2</sup> + CV<sub>g</sub><sup>2</sup>)<sup>1/2</sup> tilsvarer ¼ av mellom-person biologisk variasjon, eller ¼ av et SD i referanseområdet. Siden et referanseområde består av 4 SD, så blir kravet 1/16 av referanseområdet.

Et EFLM prosjekt for biologisk variasjon er på gang med å etablere nye estimater for intra-individuell biologisk variasjon, og dermed også nye data for kvalitetsspesifikasjoner.

Mer informasjon om dette prosjektet kommer.

Se mer info om prosjektet:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27169681>

Første artikkel i EFLM prosjektet har tittel: «Sample collections from healthy volunteers for biological variation estimates' update: a new project undertaken by the Working Group on Biological Variation established by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine”.

#### 14.4.2 Labquality analytisk kvalitetskrav

Labquality oppgir at organisasjoner for ekstern kvalitetsvurdering bruker analytiske kvalitetsmål basert på ulike filosofi avhengig av formål for bruk av kvalitetsmålene, og generelt kvalitetsnivå på laboratoriene ved det aktuelle tidspunktet.

Kriteriet brukt for analytisk kvalitetsmål er basert på kliniske krav, biologisk variasjon, ”the state of the art”, kommentarer av eksperter og referanseintervall avhengig av hvilken analytt det gjelder.

[Link til “Labquality Analytical quality goals 27.11.2008”](#)

Labquality oppgir også de samme krav basert på biologisk variasjon som nevnt ovenfor, men skriver i tillegg at:

Bias bør være < 1/16 av referanseintervallet, og impresisjon bør være mindre enn den impresisjonen som kan oppnås av de 50% beste laboratoriene som deltar i ekstern kvalitetskontroll.

#### 14.4.3 NKKs Rapportveileder: Akseptgrenser for ekstern kvalitetskontroll

[Link til “NKKs Rapportveileder – Generell del 08.03.11”](#)



| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 16 av 25          |

De fleste EKV-organisasjoner angir veiledende akseptgrenser ment som veiledning i å vurdere det enkelte laboratoriums avvik fra tillagt verdi. Akseptgrenser kan defineres som de grensene et EKV-resultat bør ligge innenfor for at analysens kvalitet skal vurderes som akseptabel.

Tillagt/fasit verdi  $\pm TEa$  ("total error allowable") er et forslag til kvalitetsmål for komponenten hvor  $TEa$  angir akseptgrensene (kan beregnes som  $TEa = Bias + 1,65 \times CV_A$  der  $Bias$  og  $CV_A$  er kvalitetsmål for hhv. systematiske og tilfældige feil).

$TEa$  er den maksimale feil, som opp til 5 % av alle resultater et laboratorium produserer, kan ha. Dersom dine resultater med få avvik ligger innenfor disse akseptgrensene, har du rimelig god kontroll på din analyse.  $TEa$  kan fastsettes basert på klinisk nytte eller den kan beregnes fra analytisk mål for systematisk og tilfældig feil basert på biologisk variasjon.

For de vanligste analysene innen medisinsk biokjemi, er grensene for Labqualitys vedkommende dels beregnet ut fra biologisk variasjon (protein, albumin, kreatinin, ferritin), dels er grensene basert på kliniske krav (natrium, bilirubin), men de fleste akseptgrensene er tilpasset etter "state of the art", dvs. hva det er rimelig å kunne forvente ut fra dagens teknologi (enzymene, hormoner, hjerte- og tumormarkører).

Labquality benytter den samme prosentvise akseptgrensen for hele måleområdet. Ved lave konsentrasjoner kan det prosentvise avviket få en høyere verdi, uten at det trenger og tillegges noe særlig betydning.

Laboratoriene bedømmer gjerne sine resultater ut fra foreslåtte akseptgrenser, men det er opp til laboratoriet selv å avgjøre hvilken kvalitet som er akseptabel for sitt formål.

Se egen tabell for akseptgrenser i Labquality programmer i NKKs Rapportveileder (følg link ovenfor).

#### 14.4.4 Analytiske kvalitetsmål

##### *Presisjon*

Det må utføres presisjonsforsøk i ulike konsentrasjonsnivå. Presisjonen bør være like god som produsent av metode har oppnådd, og bør heller ikke være dårligere enn "gammel" metode. Presisjonen bør også være like god som tilsvarende sammenlignbare metoder, og oppfylle kravet basert på biologisk variasjon.

##### *Riktighet*

Her må man sikre seg at lot til lot variasjonen (lot til lot variasjon reagens og kalibrator, kalibrering) ikke overstiger krav til bias, og at bias over tid varierer mellom å være et positivt avvik og et negativt avvik i sammenligningen mot tidligere lot. Produsent har et mål for hvor stor lot til lot variasjon de aksepterer.

#### 14.4.5 Ulike kvalitetsmål for hematologiske parametre

Les side 18 – 21 i CLSI guiden:

["H26-A2 Validation, Verification, and Quality Assurance of Automated Hematology Analyzers; 2<sup>nd</sup> Edition, June 2010"](#)

#### 14.4.6 Preanalytiske kvalitetsmål

For å gjøre preanalytisk usikkerhet minst mulig er det bl.a. viktig å bruke en type blodprøverør, og følge anbefalt/standardisert prosedyre for prøvehåndtering:

[F:\CLSI guider\H18-A4 Procedure for the handling and processing of blood specimens mai 2010.pdf](#)



| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 17 av 25          |

Prøvetaking: Stase, teknikk, blanding, volum, rekkefølge.  
 Prøvebehandling: Gelrør, sentrifugering, interferens, transport, rørpost, forsinkelser, lyspåvirkning, holdbarhet.

Når det byttes blodprøverør skal det testes mot det eksisterende røret. Hvis forskjellen er uakseptabel må man kontakte produsent av røret, metode eller instrument for mer informasjon. Referanse: <F:\CLSI guider\GP34-A Validation and Verification of Tubes for venous and Capillary Blood.pdf>

Det må gjøres holdbarhetsforsøk hvis det ikke finnes dokumentasjon, eller det ikke er utført holdbarhetsforsøk av leverandør av rør.

Hvis analytten som skal måles er ustabil og har kort holdbarhet må preanalytisk rutine håndteres i henhold til det. En analytt er holdbar hvis den endrer seg  $\leq$  ett analytisk SD.

#### 14.4.7 Kliniske kvalitetskrav

<https://www.westgard.com/clinical.htm>

Tabellen inneholder informasjon om klinisk kvalitetskrav som beskriver medisinsk viktige endringer i analyseresultater, eller beslutningsintervall ( $D_{int}$ ) uttrykt som en prosent forandring ved et bestemt beslutningsnivå ( $D_{int}$  = forandring dividert på beslutningsnivå multiplisert med 100 for å få prosent). Kilden til disse beslutningsintervallene er en artikkel av Skendzel, Barnett, and Platt, og en serie av anbefalinger for lipid tester fra the National Cholesterol Education Program (NCEP).

#### 14.4.8 Biologisk variasjon hos pasienter med ulike sykdommer

Dette er en database (2009) som inneholder data for biologisk variasjon hos syke:

<https://www.westgard.com/biodatabasedisease.htm>

Original artikkel: Carmen Ricos, Natalia Iglesias, Jose-Vicente Garcia-Lario, Margarita Simon, Fernando Cava, Amparo Hernandez, Carmen Perich, Joanna Minchinela, Virtudes Alvarez, Maria-Vicenta Domenench, Carlos-Victor Jimenez, Carmen Biosca, and Raquel Tena, Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences, Ann Clin Biochem 2007;44:343-352

#### 14.4.9 Europeiske mål

European biologic goals and biologic allowable total errors fra 1999:

<http://westgard.com/europe.htm>

#### Oppsummering kvalitetsmål:

Både plan og resultatskjema for metodevalidering/verifisering inneholder nå krav om at det må settes konkrete kvalitetsmål i henholdsvis plan for verifisering, og at det må evalueres om kvalitetsmålene lar seg oppnå (resultatskjema).

I tilfeller hvor det er vanskelig å tallfeste et kvalitetsmål eller det er vanskelig å beregne usikkerheten eller bias må prosedyren beskrives som sikrer at optimal kvalitet oppnås og opprettholdes.

Se kap. 13.3 for fastsettelse av kvalitetsmål. Kvalitetskrav for bias basert på biologisk variasjon er vanligst å bruke. Man kan også f.eks. bruke akseptable avvik fra ekstern kvalitetskontrollprogram. For presisjon er målet ofte bedre presisjon eller samme presisjon som tidligere metode.

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 18 av 25          |

## 14.5 Kriterier for akseptabel analytisk kvalitet, 6 sigma

- Bestemme ”tillatt” analytisk variasjon ( $SD_{\text{analytisk}}$ ) og systematisk avvik (SE).
- Bestemme ”tillatt” totalfeil ( $TE_{\text{total}}$ ).

### Kvalitetsmål fra biologisk variasjon

$$SD_{\text{totalt}} = \sqrt{SD_{\text{preanalytisk}}^2 + SD_{\text{analytisk}}^2 + SD_{\text{intraindividuell biologisk variasjon}}^2}$$

#### 14.5.1 Avviksbudsjett

Stable Imprecision ( $SD_{\text{analytisk}}$ ) + Stable Inaccuracy ( $SE_{\text{stable}}$ ) + QC Safety Margin ( $SE_{\text{critical}}$ )

$$TE_a = SE_{\text{stable}} + SE_{\text{critical}} + 1,65 SD_{\text{analytisk}}$$

#### 14.5.2 Six sigma konseptet

Sigma-verdi = tillatt avvik målt i antall  $SD_{\text{analytisk}}$ .

Grensen for tillatt totalfeil ( $TE_{\text{analytisk}}$ ) settes først. 6 sigma er et avviksbudsjett hvor avvik er angitt med normalfordelingen som skala.

#### 14.5.3 6 sigma mål

| Presisjon                                                    | Riktighet                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $SD_{\text{analytisk}} \leq 1/6$ av toleransespesifikasjonen | Systematisk avvik (SE) $\leq 1,5 SD_{\text{analytisk}}$                                                        |
| *Dvs. tillatt totalavvik $\geq 6 SD_{\text{analytisk}}$      | Effekt av et skift på 1,5 i avvik er liten (bestemt på grunnlag av synsing), man har da igjen 4,5 SD å ”gå på” |

\*Eksempel:  $SD_a = 1/6$ , gir  $TE_a = 6SD$ , gir tillatt systematisk avvik på 4,35  $SD_a$  ( $6 - 1,65$ ).

Man kan ikke ha et slikt avvik hele tiden, men man kan tillate seg å oppdage det, og så gjøre noe med det.

### Hvordan beregne ”sigma”?

| Hvis SE = 0                                               | Hvis SE $\neq$ 0                                                 |
|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Sigma = $TE_{\text{analytisk}} / SD_{\text{analytisk}}$   | Sigma = $(TE_{\text{analytisk}} - SE) / SD_{\text{analytisk}}$   |
| = tillatt totalfeil målt i antall $SD_{\text{analytisk}}$ | = tillatt avvik utover SE, målt i antall $SD_{\text{analytisk}}$ |

#### 14.5.4 Størrelse på feil som oppdages av QC

##### Valg av kontrollregel

- Ved bruk av:  $1_{3s}/2_{2s}$  (2 kontroller pr serie, samme nivå)

Hvis vi har et systematisk avvik på 3,3 SD så er det 90% sjanse for å oppdage den ved denne kontrollregelen (Pfr 0,01).

Omregnet til tillatt totalfeil gir dette:

$$3,3 SD + 1,65 SD = 4,95 SD$$

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 19 av 25          |

Dvs. at hvis vi har en CV på 2 % så tillater vi en totalfeil ( $TE_a$ ) på  $(2\% * 5) = 10\%$  som faktisk er vår tillatte totalfeil. Så må man vurdere om dette er godt nok.

- Ved bruk av:  $1_{3s}$  (1 kontroll pr. serie)

Hvis vi har et systematisk avvik på 4,4 SD så er det 90% sjanse for å oppdage den ved denne kontrollregelen (Pfr 0,00).

- Ved bruk av:  $1_{2s}$  (1 kontroll pr. serie)

Hvis vi har et systematisk avvik på 3,4 SD så er det 90% sjanse for å oppdage den ved denne kontrollregelen (Pfr 0,05).

- Ved bruk av:  $1_{2s}$  (2 kontroller pr. serie)

Hvis vi har et systematisk avvik på 2,6 SD så er det 90% sjanse for å oppdage den ved denne kontrollregelen (Pfr 0,09).

## 15. Riktighet

Grad av overensstemmelse mellom gjennomsnittlig verdi fremskaffet fra en stor serie måleresultater og en sann verdi.

Som utgangspunkt for validering av riktighet bør man ha innhentet dokumentasjon for metodens sporbarhet. Sporbarhet innebærer at målingene refererer seg til et standardmateriale, eller en målemetode så langt oppe i sporbarhetskjeden som det er rimelig å forvente for vedkommende komponent, og at måleresultatet oppgies med måleusikkerhet. Leverandør/producent bør kunne fremskaffe dokumentasjon på sporbarhet (både for kalibrator og analysemetode) så langt dette er praktisk mulig. Hvor høyt man kommer i sporbarhetskjeden, avhenger av tilgjengeligheten av referansemeter og referansematerialer som kan sikre overføring nedover i kjeden.

### Metodens riktighet kan valideres ved:

- Å analysere et referansemateriale som har sporbarhet i overensstemmelse med metodens sporbarhet. F.eks. kan dette være et sertifisert referansemateriale (CRM).
- Selvlaget kalibrator (oppveid stoff), evt. utføre standard addisjonsmetode som under recoveryforsøk.
- Sammenligninger med andre metoder ved eget eller andre laboratorier. Sammenlignende metode bør være en anerkjent og godt dokumentert metode. Ved slike sammenligninger bør det benyttes pasientmateriale som spenner over hele måleområdet. For enkelte måleprinsipper (f.eks. immunoassay, hematologi) kan det være aktuelt å inkludere pasientprøver fra ulike sykdomsgrupper.

Metodens riktighet bør alltid verifiseres av laboratoriet, både av hensyn til gyldigheten av referansegrensene, og av hensyn til overensstemmelse mellom laboratorier innenfor et geografisk område. Se dokument om sporbarhet [02.13.4.17.8-08 Etablering av sporbarhet for analysemetoder](#).

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 20 av 25          |

## 16. Referanseområder

Som regel oppgir produsenten et veiledende referanseområde for analysen.

Referanseområdene som oppgis er ofte hentet fra litteraturen, etablert for flere år siden, og det er som oftest brukt en annen populasjon enn den norske befolkningen.

Nytt referanseområde må etableres hvis:

- Metoden er nyopprettet, og komponenten ikke tidligere har vært analysert på laboratoriet.
- Korrelasjonen mellom ny og gammel metode viser avvik som kan få klinisk betydning.
- Mistanke om at eksisterende/gammel metode har endret riktighet.
- Sporbarheten for referanseområdet for eksisterende /gammel metode er mangelfull.

Se rutiner i 02.13.4.17.8-09 Etablering og gjennomgang av referanseområder.

## 17. Preanalytiske forhold

Ved etablering av ny analyse bør valideringen også omfatte preanalytiske forhold som er av betydning for måleresultatet.

Prøvetaking, prøvebehandling, type prøvemateriale, type vakuumrør, oppbevaring og holdbarhet av prøvematerialet er preanalytiske forhold som bør kartlegges i forhold til innvirkning på analyseresultatet.

## 18. Usikkerhetsbudsjett for analysen

I henhold til ISO 15189 5.6.2:

”Laboratoriet skal bestemme usikkerheten ved resultater når dette er relevant og mulig.

Usikkerhetskomponenter av betydning skal tas i betraktning. Kilder som bidrar til usikkerheten, kan omfatte prøvetaking, prøveforberedelse, valg av prøveporsjon, kalibratorer, referansemateriale, hvilke mengder som er brukt, utstyret som brukes, miljømessige forhold, prøvens tilstand og bytte av operatør”.

Det er viktig å få frem hvilke usikkerhetskilder som bidrar til pasientresultatets usikkerhet og hvilke kilder som bidrar til å gi resultatet en systematisk feil.

### 18.1 Preanalytisk usikkerhet

Åpne linken <F:\KONTROLL OG UTVIKLING\Fleksibel akkreditering\Estimation of the minimal preanalytical uncertainty for 15 clinical chemistry serum analytes.pdf>

På linje 2 i tabell 3 side 1333 i den publiserte artikkelen finnes estimert minimal preanalytisk usikkerhet ved optimal prøvebehandling for 15 klinisk kjemiske parametre.

### 18.2 Usikkerhet i kalibrering

Kalibratorens sporbarhet og usikkerhet bør oppgis. Hver gang analysen kalibreres vil riktigheten påvirkes og vi vil få små nivåskifte. Usikkerheten som tilføres ved ulike kalibreringer vil gjenspeiles i langtids CV basert på internkvalitetskontrollkjøringer.

Når man endrer kalibratorlotnummer kan det oppstå et nivåskifte, og en evt. samkjøring mot et fastinstrument må nøye kontrolleres og korregeringsfaktor evt. justeres.

### 18.3 Usikkerhet i en korreksjonsfaktor (intercept/slope)

Korrelasjonen mellom alternativ metode og referansem metode bør dekke hele konsentrasjonsområdet (minimum N=30 resultater).

95 % konfidensintervall for slope og intercept dekker usikkerhetsområdet:

Eksempel:

$$y = ax + b$$

|           | Coefficient | SE     | p       | 95% CI of Coefficient |
|-----------|-------------|--------|---------|-----------------------|
| Intercept | 0,7692      | 0,4185 | 0,0696  | -0,0631 to 1,6016     |
| Slope     | 0,8957      | 0,0199 | <0.0001 | 0,8561 to 0,9353      |

## 18.4 Usikkerhet i Bland Altman plott/differanseplott

I samkjøringsplott plottes differanser langs y-aksen, og middelverdi av dataene fra begge instrumenter langs x-aksen.

95% limits of agreement (grenser for overensstemmelse) som inneholder 95% av differansene kan brukes som usikkerhetsgrenser. Hvis denne spredningen er akseptabel å ha mellom to ulike instrumenter så kan disse grensene opprettholdes som grenser.

Hvis dataene viser en klinisk signifikant bias mellom metodene, må den alternative metoden faktoriseres mot den andre metoden. Hvis spredningen på differansene er for stor til å kunne aksepteres, så må det vurderes å ikke analysere prøver på begge instrumenter. Hvis begge metoder har høy CV så vil differansene få enda større spredning, og man må vurdere om det er akseptabelt.

## 18.5 Sum av varianser og bias i usikkerhetsbudsjett

F:\KONTROLL OG UTVIKLING\Fleksibel akkreditering\A model for an Uncertainty budget.pdf

Bias i analyseresultater vil øke ved økende bruk av alternative metoder (ikke optimal metode). Men kombinert bias (sum av systematiske avvik) vil ikke nødvendigvis øke ved økende antall usikkerhetskilder, pga. at biasene i noen grad vil nøytralisere hverandre.

Men når man adderer varianser så vil den kombinerte variansen øke, men små varianser vil ha liten innflytelse på den kombinerte variansen.

Kombinert SD (kvadratroten av den kombinerte variansen) er vanligvis en mer tolkbar kvantitet enn varians, og den blir bare lett påvirket av mange små variansbidrag.

Sum av differanser:

$$D = D_1 + D_2 + D_3 + \dots + D_k$$

Forutsetning: Alle differanser må være uavhengige av hverandre, og ha same fordeling.

Sum av varianser:

$$\text{Var}(D) = \text{Var}(D_1) + \text{Var}(D_2) + \text{Var}(D_3) + \dots + \text{Var}(D_k)$$

Forutsetning: Alle varianser må være uavhengige av hverandre, og ha same fordeling.

Å beregne den totale usikkerheten er vanskelig, fordi man ikke kjenner alle elementene og/eller usikkerhetene de enkelte elementene bidrar med. Laboratoriene bestemmer oftest den analytiske måleusikkerheten empirisk ut fra reproduktibilitetsforsøk. Den analytiske måleusikkerheten omfatter usikkerheten av enkeltelementene i måleprosessen, som f.eks. usikkerhet i kalibrator, pipettering, standardkurve, måling av prøven etc. For å lære usikkerhetsfaktorene ved metoden bedre å kjenne, kan det være fornuftig å forsøke å estimere de viktigste bidragene.

## 19. Utarbeidelse av prosedyrer

Ved skriving av prosedyrer for rutinemetoder følges den malen som laboratoriet har utarbeidet: "Driftsprosedyre, analytisk."

Det må legges inn informasjon i metodetdelen av [www.analyseoversikten.no](http://www.analyseoversikten.no) etter følgende liste [Metodeinformasjon i analyseoversikten.no](#)

|                                                                   |                 |               |                        |                          |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| <b>Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder</b> |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                            | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 22 av 25          |

## 20. Rapport

Avsluttet valideringsprosess samles i en rapport som gjennomgås av avdelingsledelsen (for medisinsk bruk), og/eller instituttledelsen for endelig godkjenning. Det må foreligge dokumentasjon både av undersøkelser som laboratoriet selv har gjort, og det som er validert evt. utenfor laboratoriet.

Rapporten bør inneholde bl.a.: Tidsrom og informasjon om hvem som har utført undersøkelsene, beskrivelse av forsøkene, presentasjon av resultater, statistikk, kurver og vurderinger, lotnr. på reagenser, kalibratorer, og kontroller, henvisning til litteratur som inngår, kvalitetskrav, og konklusjon.

Det er laget et eget valideringsskjema som må fylles ut. [02.13.4.22.1-38 LKB MAL - Validering/verifisering av klinisk kjemiske analysemetoder \(rapportskjema\)](#) Beskriv også evt. problemer som har dukket opp under innkjøringen, og løsningen av disse.

## 21. Informasjon til rekvirenter

Ved validering av en analyse som ikke tidligere har vært utført på LKB bør det lages en labinformasjon som inneholder opplysninger om bl.a. kliniske indikasjoner, referanseområder, prøvemateriale etc. Labinformasjon legges også ut på intranettet. Ved overgang til en ny analysemetode må det gis informasjon til rekvirenter og ansvarshavende for forsknings-prosjekter, hvis den nye metoden gir nivåendringer, og/eller endring i referanseområder. I en kort tidsperiode legges det også inn en svarkommentar sammen med analyseresultatene i labdatasystemet, som gjør rekvirenten oppmerksom på en evt. nivåendring og/eller endring av referanseområde.

Den elektroniske analyseoversikten [www.analyseoversikten.no](http://www.analyseoversikten.no) må også oppdateres i henhold til ny analyse, endringer i metode, referanseområder etc.

## 22. Endring av masterdata

Det er laget et skjema [02.13.4.22.1-4 LKB MAL - Skjema for endring av masterdata](#) som skal fylles ut og leveres IT-gruppen ved LKB for diverse endringer og nye opplysninger i labdatasystemet.

Skjemaet skal fylles ut ved ny analyse, ved endringer i metoden, ny metode, overføring av en analyse til et annet instrument, endring av referanseområdet, opprettelse av standardkommentarer m.m.

## 23. Konklusjon/oppsummering av verifiseringsrapport

Man bør oppsummere resultater fra paret t-test, absolutt og % avvik mellom analysemetodene, regresjonen, og evt. korrelasjons koeffisient og limits of agreement. Viser paret t-test signifikant statistisk avvik? Diskuter om avviket er konstant i hele konsentrasjonsområdet.

Både presisjonsdataene og avviket mellom ny og gammel metode skal vurderes mot de kvalitetsmålene som er satt i valideringsplanen.

*Vurdering av bias (avvik mellom ny og gammel metode) mot kvalitetsspesifikasjoner:*

Bias kan utregnes i absolutt verdi som  $\text{Middel}_{\text{differanse}} \pm 95\% \text{ CI}$ , og som gjennomsnitt av de parvise prosentvise differansene  $\text{Middel}_{\text{differanse}} \% \pm 95\% \text{ CI}$ .

$\text{Middel}_{\text{differanse}}$  inkludert 95% CI må i sin helhet ligge lavere en kvalitetskravet for at en skal være sikker på at kvalitetskravet er oppfylt. Hvis  $\text{Middel}_{\text{differanse}}$  ikke er sign. forskjellig fra

null, så kan vi ikke påvise et avvik. Men det kan likevel ikke utelukkes at et avvik er tilstede. Vi har bare ikke klart å påvise det.

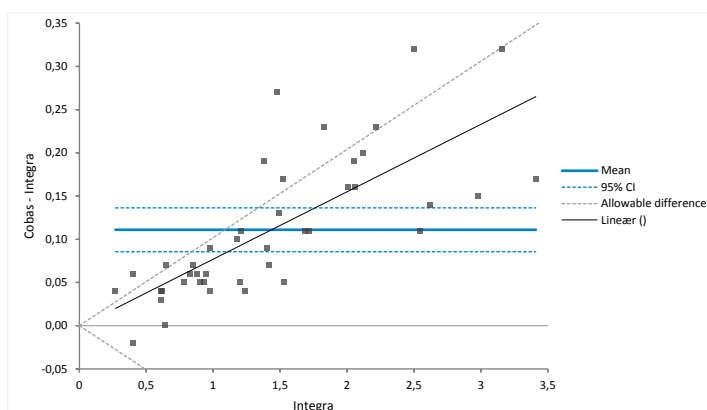
Hvis det «ikke-signifikante avviket» er av betydelig størrelse og den analytiske variasjonen er høy, så vurderer å utvide studien med flere data.

Hvis  $\text{Middel}_{\text{differanse}} \pm 95\% \text{ CI}$  i sin helhet er høyere enn kvalitetskravet har vi påvist et avvik som ikke er akseptabelt i forhold til kvalitetskravet vi har satt. Hvis  $\text{Middel}_{\text{differanse}} \pm 95\% \text{ CI}$  går utover kvalitetskravet, kan et ikke-akseptabelt avvik ikke utelukkes.

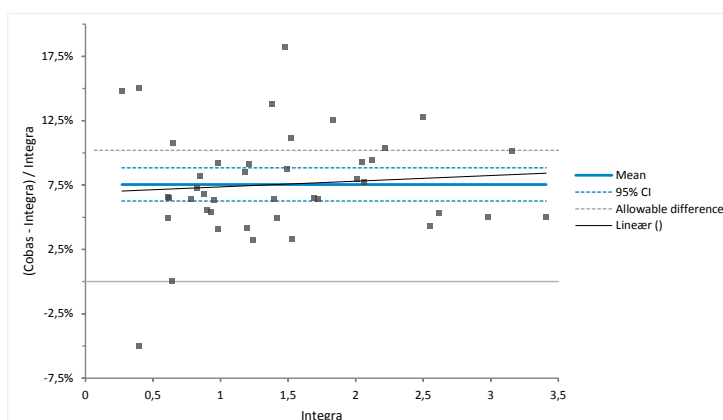
For regresjonen  $y = ax + b$  så sjekk om 95 % konfidensintervall for stigningstallet ( $a = \text{slope}$ ) inneholder 1, og om 95 % konfidensintervall for konstantleddet ( $b = \text{intercept}$ ) inneholder 0. Hvis  $a \neq 1$  så er det et proporsjonalt avvik mellom metodene, og hvis  $b \neq 0$  er det et konstant avvik mellom metodene. Begge typer avvik kan forekomme samtidig.

Hvis avviket ikke er innenfor det akseptable kvalitetsmålet må det vurderes om den nye metoden skal faktoriseres mot den gamle (anbefales ikke), eller om referanseområdet skal justeres. Evt. bør flere reagensloter testes om de gir samme avvik. Rekvirenten skal ha beskjed hvis nivåendringen kan påvirke kliniske beslutninger.

## 24. Eksempler på plot fra Analyse It

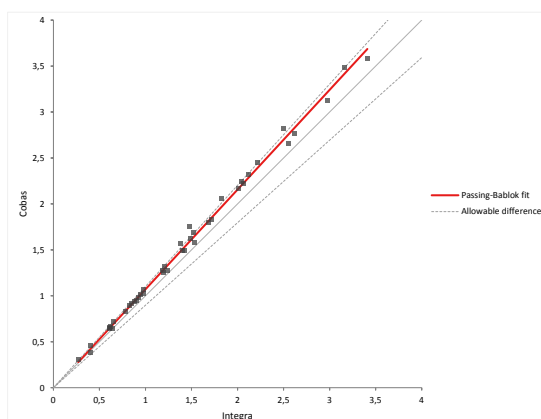


| Parameter       | Estimate | 95% CI           | SE     |
|-----------------|----------|------------------|--------|
| Mean difference | 0,111    | 0,0856 to 0,1363 | 0,0126 |



| Parameter       | Estimate | 95% CI           | SE     |
|-----------------|----------|------------------|--------|
| Mean difference | 7,55 %   | 6,260% to 8,839% | 0,638% |





Passing-Bablok fit

Equation | Cobas = -0,01383 + 1,085 Integra

| Parameter | Estimate | Bootstrap 95% CI    |
|-----------|----------|---------------------|
| Intercept | -0,01383 | -0,04265 to 0,01506 |
| Slope     | 1,085    | 1,054 to 1,115      |

CI based on 999 bootstrap samples.

## 25. Appendix A

### Repeterbarhet ("Innen-serie variasjon")

Man beregner differansene mellom 1. måling i 1. serie og 2. måling i 1. serie. Tilsvarende beregnes differansene mellom 1. og 2. måling i 2. serie.

$SD_{\text{innen-serie}}$  beregnes fra differansene i hvert tallpar etter formelen

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (d_i^2)}{2p}}$$

der  $d$  er differansen i hvert tallpar og  $p$  er antall tallpar.

### Reproduserbarhet (mellom-serie)

For hver dag beregnes differansen mellom 1. måling i 1. serie og 1. måling i 2. serie. Tilsvarende beregnes differansen mellom 2. måling i 1. serie og 2. måling i 2. serie.

$SD_{\text{mellom-serie}}$  beregnes etter samme formel som  $SD_{\text{innen-serie}}$ . Måleresultatene kontrolleres (med parret t-test) for evt. systematisk avvik mellom seriene (for å avsløre drift i systemet).

Netto mellom-serie variasjon (som ikke inkluderer innen-serie variasjon) kan beregnes ved å sammenholde resultatet med innen-serie variasjon.

### Reproduserbarhet innen laboratoriet (total analytisk variasjon)

For hvert materiale bruker man ett analyseresultat fra hver dag, tilfeldig fordelt blant de 4 analyseringer. Total analytisk variasjon beregnes etter den vanlige formelen

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

| Validering/verifisering av analyseinstrumenter og -metoder |                 |               |                        | Ref.nr.: 02.13.4.17.8-05 |
|------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|------------------------|--------------------------|
| Helse Bergen Lab. for klinisk biokjemi                     | Dok.id.: D03983 | Versjon: 7.00 | Gyldig til: 04.05.2019 | Side : 25 av 25          |

Måleresultatene fremstilles grafisk («Levey-Jennings chart»).

Netto mellom-dag variasjon (som ikke inkluderer innen- og mellom-serie variasjon) kan beregnes fra total, mellom-serie og innen-serie variasjon.

## 26. Referanser

### Interne referanser

- 02.13.4.4.3-20    Fleksibel akkreditering
- 02.13.4.5.1.1-04   Terminologi
- 02.13.4.14.1-03   Elektromedisinsk utstyr, dokumentasjon av vedlikehold og programvareoppgraderinger
- 02.13.4.17.8-04   Metodeinformasjon i analyseoversikten.no
- 02.13.4.17.8-06   Validering/verifisering av molekylærbiologiske analysemetoder
- 02.13.4.17.8-07   Analysevariasjon for LKBs analyser
- 02.13.4.17.8-08   Etablering av sporbarhet for analysemetoder
- 02.13.4.17.8-09   Etablering og gjennomgang av referanseområder
- 02.13.4.17.8-10   Måling av reproduktibilitet innen laboratoriet
- 02.13.4.17.8-35   Validering/verifisering av kromatografiske og massespektrometribaserte analysemetoder
- 02.13.4.17.8-38   Egenproduksjon av in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
- 02.13.4.17.14-    Veileder til validering eller verifisering av analysemetoder
- 02.13.4.18-02    Intern kvalitetskontroll ved seksjonene
- 02.13.4.18-03    Ekstern analytisk kvalitetsvurdering
- 02.13.4.18-04    Samkjøring av analysemetoder
- 02.13.4.22.1-4    LKB MAL - Skjema for endring av masterdata
- 02.13.4.22.1-38   LKB MAL - Validering/verifisering av klinisk kjemiske analysemetoder (rapportskjema)
- 02.13.4.22.1-39   LKB Anmodning om endring av prøvebehandling og/eller prøveflyt i Preanalytisk seksjon
- 02.13.4.22.1-40   LKB MAL - Validering/verifisering av molekylærbiologiske analysemetoder (rapportskjema)
- 02.13.4.22.1-47   LKB MAL - Validering/verifisering av kromatografiske og massespektrometribaserte analysemetoder (rapportskjema)
- 02.13.4.22.1-53   LKB MAL - Validering/verifisering av klinisk kjemiske analysemetoder (planskjema)
- 02.13.4.22.1-54   LKB MAL - Validering/verifisering av molekylærbiologiske analysemetoder (planskjema)
- 02.13.4.22.1-55   LKB MAL - Validering/verifisering av kromatografiske og massespektrometribaserte analysemetoder (planskjema)

### Eksterne referanser

- Klinisk kjemi NA Dok 48a
- P4 Måleusikkerhet for kjemiske analyser. Rapport fra sektorkomite P4. Oslo: Justervesenet 2000. (<http://www.justervesenet.no/na/dokumenter/p4.pdf>)
- Peters T, Westgard JO 1987 Evaluation of methods. In: Fundamentals of clinical chemistry. Tietz NW (ed). W B Saunders Co., Philadelphia 1987
- NCCLS (CLSI) 1999 Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline (NCCLS Document EP5-A). NCCLS, Wayne, PA 1999
- Bland JM, Altman DG 1994 One and two sided tests of significance. BMJ 1994;309:248
- Hollis S 1996 Analysis of method comparison studies. Ann Clin Biochem 1996;33:1-4
- Westgard JO 1996 Error budgets for quality management: practical tools for planning and assuring the analytical quality of laboratory testing processes. Clin Lab Manage Rev 1996;10:377-403
- Westgard JO 1999 Basic metod validation. Madison Wisconsin: Westgard Quality Corporation, 1999
- NS-EN ISO 15189:2007 Medisinske laboratorier - Særskilte krav til kvalitet og kompetanse, Oslo: Standard Norge, 2007 (papirkopi hos kvalitetsleder)
- NS-EN-ISO 15189:2012 Medisinske laboratorier - Krav til kvalitet og kompetanse. Norsk Standard (hos kvalitetsleder).
- EP5-A (NCCLS (CLSI) 1999) Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline (NCCLS Document EP5-A). NCCLS, Wayne, PA 1999 (kopi ved K&U)