



HØGSKOLEN
I ÅLESUND

Aalesund University College

Bacheloroppgave

BI301305 Bacheloroppgave Bioingeniør

Metodevaldering av Gallersyrer på Cobas 6000

Kandidatnr: 12 og 13

Totalt antall sider inkludert forsiden: 75

Innlevert Ålesund, 28.05.15



Aalesund University College

Obligatorisk egenerklæring/gruppeerklæring

Den enkelte student er selv ansvarlig for å sette seg inn i hva som er lovlige hjelpemidler, retningslinjer for bruk av disse og regler om kildebruk. Erklæringen skal bevisstgjøre studentene på deres ansvar og hvilke konsekvenser fusk kan medføre. **Manglende erklæring fritar ikke studentene fra sitt ansvar.**

| Du/dere fyller ut erklæringen ved å klikke i ruten til høyre for den enkelte del 1-6: | | |
|---|---|-------------------------------------|
| 1. | Jeg/vi erklærer herved at min/vår besvarelse er mitt/vårt eget arbeid, og at jeg/vi ikke har brukt andre kilder eller har mottatt annen hjelp enn det som er nevnt i besvarelsen. | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 2. | Jeg/vi erklærer videre at denne besvarelsen: <ul style="list-style-type: none">• ikke har vært brukt til annen eksamen ved annen avdeling/universitet/høgskole innenlands eller utenlands.• ikke refererer til andres arbeid uten at det er oppgitt.• ikke refererer til eget tidligere arbeid uten at det er oppgitt.• har alle referansene oppgitt i litteraturlisten.• ikke er en kopi, duplikat eller avskrift av andres arbeid eller besvarelse. | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 3. | Jeg/vi er kjent med at brudd på ovennevnte er å <u>betrakte som fusk</u> og kan medføre annullering av eksamen og utestengelse fra universiteter og høgskoler i Norge, jf. Universitets- og høgskoleloven §§4-7 og 4-8 og Forskrift om eksamen §§30 og 31. | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 4. | Jeg/vi er kjent med at alle innleverte oppgaver kan bli plagiatkontrollert i Ephorus, se Retningslinjer for elektronisk innlevering og publisering av studiepoenggivende studentoppgaver | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 5. | Jeg/vi er kjent med at høgskolen vil behandle alle saker hvor det forligger mistanke om fusk etter høgskolens studieforskrift §30 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| 6. | Jeg/vi har satt oss inn i regler og retningslinjer i bruk av kilder og referanser på biblioteket sine nettsider | <input checked="" type="checkbox"/> |

Publiseringsavtale

Studiepoeng: 15

Veileder: Willy Sæther og Hege Pharo

Fullmakt til elektronisk publisering av oppgaven

Forfatter(ne) har opphavsrett til oppgaven. Det betyr blant annet enerett til å gjøre verket tilgjengelig for allmennheten ([Åndsverkloven §2](#)).

Alle oppgaver som fyller kriteriene vil bli registrert og publisert i Brage HiÅ med forfatter(ne)s godkjennelse.

Oppgaver som er unntatt offentlighet eller båndlagt vil ikke bli publisert.

Jeg/vi gir herved Høgskolen i Ålesund en vederlagsfri rett til å gjøre oppgaven tilgjengelig for elektronisk publisering:

ja nei

Er oppgaven båndlagt (konfidensiell)?

ja nei

(Båndleggingsavtale må fylles ut)

- Hvis ja:

Kan oppgaven publiseres når båndleggingsperioden er over?

ja nei

Er oppgaven unntatt offentlighet?

ja nei

(inneholder taushetsbelagt informasjon. [Jfr. Offl. §13/Fvl. §13](#))

Dato: 28.05.15

Forord

Denne besvarelsen er skrevet av to bioingeniørstudenter, som går 3. året ved Høgskolen i Ålesund. Vi tok kontakt med Sykehuset Innlandet, avd. Medisinsk biokjemi på Lillehammer i forkant av vår eksterne praksis der, og spurte om de hadde en bacheloroppgave til oss som samtidig kunne være til nytte for sykehuset. Vi fikk positiv respons på vår forespørsel med forslag om å bidra til en innføring av analysen Gallesyrer på analysemaskinen Cobas 6000. Analysen brukes primært som en hasteanalyse for gravide med mistanke om intrahepatisk graviditetsbetenget kolestase. Hittil er denne prøven sendt til Oslo Universitetssykehus, Rikshospitalet.

Dette har vært en spennende, lærerik og utfordrende oppgave, som grovt sett kan deles inn i tre faser. Den første var en planleggingsfase hvor vi måtte kartlegge de parameterne som måtte være med i metodevalideringen. Deretter kom selve analyseringen av prøvematerialet, noe som ble gjort på kveldstid når aktiviteten på sykehuset er lavere enn ellers. Til slutt ble resultatene samlet og ført inn i hovedoppgaven, og en offisiell prosedyre ble skrevet og presentert til medisinsk faglig ansvarlig ved sykehuset for godkjenning.

Vi vil gjerne takke alle som har hjulpet oss under arbeidet med innføringen av analysen og veiledning av oppgaven. Vi vil takke overbioingeniør Hege Pharo ved Cobas 6000 for all god hjelp både før og under innføringen av analysen, sjefsbioingeniør Vigdis Kalkvik for tildelingen av oppgaven, kvalitetsansvarlig Gia Deyab for god hjelp med planleggingen, og Rikshospitalet for tilsendelse av pasientprøver og for hjelp under besvarelsen av kvalitetskrav. Vår veileder ved Høgskolen i Ålesund Willy Sæther skal også takkes for all veiledning med bacheloroppgaven.

Sammendrag

Besvarelsen er skrevet på vegne av Sykehuset Innlandet, avd. Medisinsk biokjemi på Lillehammer, der oppgaven er å innføre analyse av Gallesyrer på Cobas 6000. Analysen er en hasteprobe for gravide med mistanke om intrahepatisk graviditetsbetinget kolestase, og er hittil sendt til Rikshospitalet. Arbeidet gikk ut på å ta en rekke tester for å se om analysen møtte forhåndsbestemte krav, og vurdere om den kunne godkjennes til bruk. Det ble gjort tester for riktighet, repeterbarhet, reproduserbarhet og carry over, der noen av testene ble utført med anonymiserte pasientprøver fra Rikshospitalet.

De analyseringene som ble gjort har havnet godt innenfor de kvalitetskravene som ble stilt, og ut i fra dette kunne innkjøringen godkjennes. Dette til tross for visse komplikasjoner som ble oppdaget etter selve innkjøringen var ferdig, men som løses med påfølgende tiltak.

Innholdsliste

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INNLEDNING | 1 |
| 1.1 | PROBLEMSTILLING | 2 |
| 1.2 | TEORIDEL | 2 |
| 1.2.1 | <i>Gallesyrer</i> | 2 |
| 1.2.2 | <i>Intrahepatisk graviditetsbetinget kolestase</i> | 3 |
| 2 | MATERIALER OG METODER | 5 |
| 2.1 | COBAS 6000 | 5 |
| 2.1.1 | <i>c501-modul</i> | 6 |
| 2.1.2 | <i>e601-modul</i> | 6 |
| 2.1.3 | <i>Praktisk</i> | 7 |
| 2.2 | PRØVERØR OG –MATERIALE | 7 |
| 2.3 | REAGENSER OG KONTROLLER | 8 |
| 2.3.1 | <i>Reagens: Diazyme Total Bile Acids Assay Kit</i> | 8 |
| 2.3.2 | <i>Kontroller</i> | 9 |
| 2.4 | INNFØRINGEN AV GALLESYRER PÅ COBAS 6000 | 10 |
| 2.4.1 | <i>Konfigurering av analysen</i> | 10 |
| 2.4.2 | <i>Repeterbarhet</i> | 12 |
| 2.4.3 | <i>Reproduserbarhet</i> | 13 |
| 2.4.4 | <i>Carry over</i> | 13 |
| 2.4.5 | <i>Kartlegging av riktighet</i> | 13 |
| 2.4.6 | <i>Linearitet</i> | 14 |
| 2.4.7 | <i>Nedre deteksjonsgrense</i> | 14 |
| 2.4.8 | <i>Funksjonell sensitivitet</i> | 14 |
| 3 | RESULTATER | 15 |
| 3.1 | PRESISJON | 15 |
| 3.1.1 | <i>Repeterbarhet</i> | 15 |
| 3.1.2 | <i>Reproduserbarhet</i> | 15 |
| 3.1.3 | <i>Carry over</i> | 16 |
| 3.2 | RIKTIGHET | 16 |
| 3.2.1 | <i>Kartlegging av riktighet</i> | 16 |
| 3.2.2 | <i>Analytisk spesifisitet / Interferens</i> | 17 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.2.3 | <i>Linearitet</i> | 17 |
| 3.3 | MÅLEOMRÅDE | 18 |
| 3.3.1 | <i>Nedre deteksjonsgrense</i> | 18 |
| 3.3.2 | <i>Funksjonell sensitivitet</i> | 19 |
| 4 | DISKUSJON | 20 |
| 4.1 | PRESISJON | 20 |
| 4.2 | NØYAKTIGHET | 20 |
| 4.3 | MÅLEOMRÅDE | 20 |
| 4.4 | GENERELT | 21 |
| 5 | KONKLUSJON | 23 |
| 6 | REFERANSER | 24 |
| 7 | VEDLEGG | 26 |
| 7.1 | VEDLEGG NR: 1 - PLAN FOR METODEVALIDERING / VERIFISERING (GODKJENT) | 26 |
| 7.2 | VEDLEGG NR: 2 - MAIL FRA REK | 30 |
| 7.3 | VEDLEGG NR: 3 - GENERELL BESKRIVELSE – COBAS 6000 | 31 |
| 7.4 | VEDLEGG NR: 4 - METODEVALIDERING/ VERIFISERING – ANALYTISK KVALITET | 35 |
| 7.5 | VEDLEGG NR: 5 - MEDSENDT VEDLEGG TIL REAGENSET FRA PRODUSENT | 46 |
| 7.6 | VEDLEGG NR: 6 - MEDSENDT VEDLEGG TIL LAV KONTROLL FRA PRODUSENT | 48 |
| 7.7 | VEDLEGG NR: 7 - MEDSENDT VEDLEGG TIL HØY KONTROLL FRA PRODUSENT | 50 |
| 7.8 | VEDLEGG NR: 8 - COBAS C PACK MULTI | 52 |
| 7.9 | VEDLEGG NR: 9 – EXCELARK MED TABELLER, GRAFER OG UTREGNINGER | 58 |
| 7.9.1 | <i>Repeterbarhet</i> | 58 |
| 7.9.2 | <i>Reproduserbarhet</i> | 60 |
| 7.9.3 | <i>Linearitet</i> | 61 |
| 7.9.4 | <i>Riktighet</i> | 62 |
| 7.9.5 | <i>Nedre Deteksjonsgrense</i> | 62 |
| 7.9.6 | <i>Carry over</i> | 63 |
| 7.9.7 | <i>Funksjonell sensitivitet</i> | 64 |
| 7.10 | VEDLEGG NR: 10 - GODKJENT PROTOKOLL FOR METODEVALIDERING/ - VERIFISERING | 65 |

1 Innledning

Bakgrunn for valget av oppgaven var at vi ønsket en litt annerledes oppgave enn vi ellers ville fått. Særlig en der vi kunne være til nytte samtidig som vi skrev bacheloroppgaven. Da vi kontaktet Sjefsbioingeniør Vigdis Kalkvik ved sykehuset i Lillehammer fikk vi tilbud om å innføre en analyse som de selv hadde planer om å innføre, men ikke hadde hatt anledning til tidligere. Dette virket som en glimrende oppgave for oss, siden vi kunne avlaste de ansatte ved sykehuset ved å innføre analysen. Det var også en fordel at oppgaven virket relevant i forhold til det daglige arbeidet, og at våre erfaringer ville komme til nytte ved senere anledning. Det viste seg å være en ekstra utfordring å innføre en analyse på en maskin som ikke hadde programvaren for analysen. Dette gjorde at alt måtte legges inn manuelt. Dette ble til stor læring for oss, da vi fikk bedre innsyn i hvordan dette foregår sett i forhold til det teoretiske vi har lært på studiet.

Bakgrunnen for at sykehuset valgte å gi oss akkurat denne oppgaven er som nevnt tidligere at dette er en hasteanalyse som vanligvis sendes til Rikshospitalet. Lillehammer sykehus har en stor Intensiv-nyfødt-avdeling og i desember 2013 fikk Sykehuset tildelt kvinneklinikk, som tar imot potensielt vanskelige fødsler fra hele Hedmark og Oppland (1). Det vil derfor etter all sannsynlighet bli et større behov for analyse av gallesyrer. Arbeidet som utføres vil være en såkalt metodevalidering, hvor vi forsøker å finne ut om metoden som eventuelt skal tas i bruk tilfredsstillende de kvalitetskrav som stilles på forhånd.

I denne besvarelsen skal vi forklare mer om hva denne analysen går ut på, hvilken betydning den har for den gravide og barnet, og hvordan den blir analysert. Vi skal forklare hvordan arbeidet gjøres, beskrive prøvemateriale, reagens, kontroller osv. Besvarelsen vil ha en fyldig material- og metode del, og en forholdsvis liten resultatdel. Dette fordi besvarelsen omhandler en metodevalidering framfor en tradisjonell problemstilling. I diskusjonen og konklusjonen vil vi vurdere hvorvidt innkjøringen av analysen møter de strenge kravene som kreves av et sykehuslaboratorium.

1.1 *Problemstilling*

Problemstillingen for besvarelsen kan ikke formuleres på den tradisjonelle måten. Det er ikke noe direkte spørsmål å besvare i denne oppgaven, siden den går ut på å konfigurere og validere en analyse, som skal vurderes og eventuelt godkjennes til bruk, samt deretter benyttes av laboratoriet på Lillehammer. En metodevalidering har som hensikt å sørge for at en analysemetode tilfredsstillende visse kvalitetskrav. Resultatet vil bli tolket og satt opp mot de krav som er definert av Sykehuset Innlandet, både av studentene og medisinsk faglig ansvarlig. Slik sett er denne oppgaven naturlig avgrenset og mer snever enn en vanlig forskningsbesvarelse. Derfor blir problemstillingen: ”*Innføring og metodevalidering av Gallesyrer på Cobas 6000*”.

Hovedparametrene som skal undersøkes vil være metodens presisjon og nøyaktighet. På forhånd settes kravet til presisjon på $CV < 8\%$. Dette var kravet som Rikshospitalet opprinnelig stilte da de overførte metoden fra manuell til Modular. Dette kravet kan etter hvert justeres til 5,2% for å samsvare med øvrige sykehus. (2)

For nøyaktighet vil det bli utført en metodesammenligning med Rikshospitalet gjennom analyse av tilsendte, anonymiserte pasientprøver. Man vil da se om det er noen signifikant forskjell mellom denne metoden og en metode som alt er i utstrakt bruk.

1.2 *Teoridel*

I teoridelen vil det bli forklart hva gallesyrer er og hvilken funksjon de har i kroppen, samt hva Intrahepatisk graviditetsbetinget kolestase går ut på.

1.2.1 *Gallesyrer*

Gallesyrer er organiske, steroide syrer som dannes fra kolesterol og utgjør omtrent 80% av innholdet i gallen. De dannes i leveren, ved at kolesterolet oksideres til primære gallesyrer som deretter konjugeres med en av to mulige aminosyrer; glysin eller taurin. Disse konjugerte gallesyrene blir også referert til som gallesalter på bakgrunn av sine syre-base egenskaper (3) (4). Konjugering av gallesyrer gjør dem langt mer vannløselige og bedre i stand til å emulgere lipider. Konjugerte gallesyrer er amfipatiske molekyler med en hydrofob og en hydrofil del, og når de skilles ut i duodenum vil de aggregere rundt lipiddråper og danne såkalte miceller (5). Dette er små lipiddråper omgitt av gallesalter, som har sin hydrofobe side vendt mot lipiddråpen og sin hydrofile side vendt mot

tarmlumen. Micellene kan så virkes på av pankreatiske lipaser som bryter ned lipidene tilstrekkelig til at de kan absorberes gjennom tynntarmsveggen (6).

Gallesaltene i tarmen blir etter hvert dekonjugert av bakterielle enzymer og omdannet til sekundære gallesyrer (7). Disse kan reabsorberes gjennom aktiv transport i ileum og returneres til leveren og gjenutskilles gjennom den enterohepatiske sirkulasjonen (3).

Gallen skilles normalt sett ut ved måltider gjennom stimulering av hormonet Cholecystokinin (CCK). CCK dannes i mukosaepitel i tynntarmen og reguleres av sanseceller i duodenum, hvor det da utløser sammentrekning av galleblæren og utskillelsen av galle, i tillegg til utskillelse av fordøyelses-enzymmer fra pankreas (8).

Gallesyrer er normalt sett ikke til stede i blodet i konsentrasjoner større enn 10 $\mu\text{mol/L}$, men denne konsentrasjonen kan øke ved en rekke patologiske tilstander som hyperlipidemi, cholestase og gallestein (3).

1.2.2 Intrahepatisk graviditetsbetinget kolestase

Konsentrasjonen av gallesyrer i blodet vil som nevnt stige ved flere tilstander. For gravide med intrahepatisk graviditetsbetinget kolestase (IGK) kan konsentrasjonen av gallesyrer stige betraktelig, stort sett til mellom 10-100 $\mu\text{mol/L}$, ofte høyere. (3)

Denne tilstanden oppstår oftest i tredje trimester, og hovedsymptomet er kløe med sekundære plager som tretthet, vekttap, epigastriesmerter, mørk urin og gallestein. Det er ikke uvanlig for gravide å ha svangerskapskløe, og tilstandene kan derfor fort forveksles. Kløe ved kolestase vil derimot være mer plagsomt om natten, samt at det lokaliserer seg mest i håndflater og fotsåler. Normal svangerskapskløe vil gå over etter fødsel og det samme vil skje ved kolestase, men denne tilstanden bør observeres og behandles. Det kan i verste fall føre til komplikasjoner som for tidlig fødsel, mekonium (avføringen til fosteret) i fostervannet, føtalt stress (tegn til oksygenmangel hos fosteret), fosterdød og intrakraniell blødning. Insidensen ligger rundt 1,5 %. Hvis man har hatt denne tilstanden ved ett svangerskap derimot, er sjansen for å få det igjen ved senere svangerskap hele 80-90 %. (9) (10)

Årsakene til tilstanden og mekanismen bak er ikke fullstendig kartlagt, men det mistenkes at hormoner og genetiske faktorer ligger mye til grunn (11). Dette er blant annet fordi kolestasen oftest oppstår i tredje trimester, når hormonnivåene er som høyest. Tvilling- og

trillingfødsler viser en høyere insidensrate og er assosiert med høyere hormonnivåer, og tilstanden opphører gjerne etter endt graviditet når hormonproduksjonen normaliseres. (12)

I tillegg til å rekvirere gallesyrer (som er forhøyet i 90 % av tilfellene) rekvireres også leverfunksjons- og gallestaseparametre, som vil være forhøyet i opptil 25-60 % av tilfellene. Dette er parametere som ALAT, Bilirubin, Alkalisk fosfatase og GT. ALAT kan ofte være betydelig forhøyet, mens Bilirubin, Alkalisk fosfatase og GT vil være lettere forhøyet (9). Normalt skal denne prøven tas fastende, fordi konsentrasjonen av gallesyrer vil stige med ca. 50 % etter måltid. Dette er ikke nødvendig å ta hensyn til hos gravide ved mistanke om IGK, da verdiene uansett vil være langt over referanseområdet. (3)

2 Materialer og metoder

2.1 Cobas 6000

Ved Avdeling for medisinsk biokjemi, Lillehammer, driftes 2 COBAS 6000. Disse maskinene analyserer de fleste prøver i klinisk kjemi og immunkjemi som tas internt og poliklinisk, samt prøver som kommer fra primærhelsetjenesten.

Analysene er fordelt mellom disse 2 maskinene slik at prøveflyten er best mulig.

Maskinene er backup for hverandre selv om ikke alle analyser blir utført på begge daglig.

COBAS2 settes i hvilemodus hver kveld mens COBAS1 går hele døgnet og har til enhver tid repertoaret til øyeblikkelig hjelp analysene.

Analysen av gallesyrer blir dermed installert på Cobas 1 siden det er en hasteanalyse som bør være tilgjengelig til enhver tid. (13)



Figur 1: Cobas 6000. Til venstre er core unit, i midten c501-modul, og til høyre e601-modul. (14)

Maskinens core unit (cu150) registrerer type glass og analyser, og transporterer rack videre til analysemodulene. Den har en kapasitet på til sammen 150 prøveglass på en gang, eller to brett på 75 prøveglass hver. Brettene er konstruert slik at prøve-stativene (rack) bare kan settes en vei og dermed avleses av den stasjonære barkodescanneren. I tillegg er der en prioriteringsport, der prøver med ekstra høy prioritet kan settes inn. Disse prøvene blir da sendt fremst i køen til analysering, uavhengig av hvor mange og hvilke prøver som ellers er i maskinen. Denne porten blir blant annet brukt til traumer, trombolyse, hjerneslag eller andre prøver med særlig høy prioritet. Etter at prøvene har blitt satt inn og registrert,

fraktes de på et transportbånd til en prøvekarusell. Her blir de oppbevart etter avpipettering i påvente av ferdig analysering. (13)

2.1.1 c501-modul

C501-modulen består av en ISE-enhet og en fotometri-enhet. ISE-enheten består av en referanseelektrode og tre ioneselektive elektroder; Na, K og Cl. Disse elektrodene har en membran som selektivt binder de aktuelle ionene. Når de er bundet endres spenningen over membranen, og denne endringen måles mot referanseelektroden og konverteres til mmol/L.

Analysene i fotometri-enheten har som prinsipp at kjemiske reaksjoner danner farge/blakking som kan måles. I denne enheten finnes det en karusell med en rekke små kyvetter i. Disse kyvettene skiftes ut en gang i måneden, men blir grundig vasket etter hver analyse. Midt under karusellen er en halogenlampe som fungerer som lyskilde for fotometeret. Bak de roterende kyvettene er en stasjonær boks med detektorer. Disse måler hvor mye lys som absorberes av prøvematerialet i kyvettene. Dette beregnes ut ifra Lambert-Beers lov, og absorbansen måles på en av 12 forskjellige bølgelengder som er spesifikt for reaktanten eller produktet som måles. På Cobas 6000 finnes det to typer fotometriske analysemetoder, endepunktsanalyser og kinetiske analyser/rate-analyser. Endepunktsanalyser benyttes til konsentrasjonsbestemmelse og går ut på at fotometeret ikke måler absorbansen før etter en viss tid, når den kjemiske reaksjonen har nådd en likevekt. Ved kinetiske analyser måler fotometeret endringen i absorbansen under den kjemiske reaksjonsfasen. Endringen vil da være proporsjonal med analyttens konsentrasjon eller aktivitet. Denne metoden kan benyttes til konsentrasjonsbestemmelse, samt måling av enzymaktivitet. (13)

Gallesyrer analyseres ved fotometrisk rateanalyse. (15)

2.1.2 e601-modul

Modul e601 står for de immunkjemiske analysene. Gjennom binding av spesifikke antistoffer kan svært små konsentrasjoner av analytter detekteres. Spesielle signalmolekyler sørger for at antistoffet holdes igjen i måle-cellen og avgir lys når det settes på spenning. Deteksjonsmetoden kalles elektrokjemi-luminescens (ECL = ElectroChemiLuminescence) og er ekstremt følsom og spesifikk. (13) (16)

2.1.3 Praktisk

Det var i starten meningen at innføringen av Gallesyrer skulle gjøres på den Cobas 6000 som er i hvilemodus om natt. Dette på grunn av at den ikke ble brukt i like stor grad på kveldstid som den andre maskinen. Dette hadde gjort det lettere å få tilgang til maskinen uten å være i veien. Men siden Gallesyrer er en hasteanalyse, var det mest hensiktsmessig å konfigurere den på den av maskinene som er tilgjengelig hele døgnet.

Innlasting av reagens skjedde ved hjelp av såkalte MULTI-kassetter. Dette var nødvendig for å laste noe på Cobas-systemet som ikke Roche selv produserer. Siden reagenset som ble tatt i bruk falt innenfor denne kategorien var det nødvendig å beregne mengden reagens som skulle overføres til kassetten. Man måtte ta hensyn til mengden reagens som forbrukes per analyse og hvor mange analyser det var hensiktsmessig å ha kapasitet til med tanke på holdbarhet. Det var ingen hendelser som skulle tilsi at dette var en form for feilkilde, men det er en svakhet for analysen. Det er et trinn hvor det kan oppstå feil og hvor avdelingen bærer det fulle ansvaret for at det gjøres riktig. (17)

2.2 Prøverør og –materiale

Prøverørene som benyttes for analyse av gallesyrer er i hovedsak serumrør med gel, men EDTA-rør eller Li-heparinrør kan også benyttes. I Serumrøret er innsiden kledd med silikapartikler som fremskynder koagulasjonsprosessen. Etter 30 minutter skal koagulasjonen være fullstendig og under sentrifugeringen vil gelen separere serum fra resten av blodet. Siden serumet blir separert vil de kunne holde seg en uke etter prøvetakning i kjøleskap ved 4 °C. Avppippetert er holdbarheten 3 måneder ved -20 °C. (18)

EDTA rør er kledd med K2- eller K3 EDTA på innsiden som fungerer som antikoagulant. Når EDTA-røret sentrifugeres vil det bli en supernatant med EDTA-plasma. Forskjellen på plasma og serum er at plasma fortsatt inneholder fibrinogen, som ikke skal være i serum. I et serumrør vil fibrinogenet ha blitt forbrukt i koagulasjonen og bli liggende under gelen. EDTA-plasma holder seg best i 4 dager i kjøleskap, men kan benyttes i inntil en uke. (18)

Heparinrør inneholder Litium-heparin som er en antikoagulant som aktiverer antitrombin. Med heparinrør unngår man å måtte vente i 30 minutter før sentrifugering, da det kan

sentrifugeres med en gang. Dette røret har også en gel som hindrer blanding etter sentrifugering. Lillehammer benytter ikke heparinrør ved øyeblikkelig hjelp, men trombinrør som akselerer koagulasjonen til ca. 5 minutter. Det har tilsynelatende samme funksjon som heparinrør, i at det egner seg til analyser som haster. Ut i fra et heparinrør blir supernatanten Li-heparin plasma. LI-heparinplasma har mye kortere holdbarhet enn serum (kun 48timer). Dette er grunnen til at laboratoriet foretrekker å bruke serum. (18)

Pasientprøvene som ble benyttet ble tilsendt fra Rikshospitalet. Disse prøvene var nedfrosset, og ble sendt i lag med et ark med svaret på prøvene som de ga ut til sine rekvirenter. Siden dette er prøver som var ekte pasientprøver, ble det sendt en henvendelse til REK (Regional komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk) for å høre om det var behov for tillatelse for å analysere disse prøvene. Men siden prøvene var anonymisert og tidligere brukt til samme formål, analysere gallesyrer, var ikke dette nødvendig. (Vedlegg 2)

2.3 *Reagenser og kontroller*

Her vil det bli forklart kort om de reagensene og kontrollene som ble brukt. Reagenset var som nevnt tidligere ikke utarbeidet for å benyttes på Cobas 6000. Det måtte derfor prepareres manuelt og overføres på reagenskasett som ROCHE har laget til analyser som skal analyseres i åpen kanal. Kontrollene ble løst, fordelt og fryst ned, klar for bruk.

2.3.1 *Reagens: Diazyme Total Bile Acids Assay Kit*

Reagenskittet består av to reagenser, R1 og R2, så vel som en kalibrator. De har følgende sammensetning, hentet fra pakningsvedlegget:

Tabell 1: *Oversikt over sammensetningen av reagens.*

| Reagens | Sammensetning |
|-------------------|---|
| R1 | Thio-NAD > 0.1 mM, Buffer |
| R2 | 3-alfa-HSD > 2kU/L, NADH > 0.1 mM, Buffer |
| Kalibrator | Konjugerte cholsyrer, Buffer |

Prinsippet for reaksjonen går ut på at enzymet 3-alfa-hydroxysteroid dehydrogenase (3-alfa-HSD) omdanner gallesyrer og Thio-NAD til 3-keto steroider og Thio-NADH. Denne

reaksjonen er reversibel, og med et overskudd av NADH til stede vil dannelseshastigheten av Thio-NADH være proporsjonal med konsentrasjonen av gallesyrer. Cobas måler dette ved å lese av og måle endringen i absorbans ved 405 nm, hvor Thio-NADH detekteres.

I tillegg til reagenset kreves det en analysemaskin som er i stand til å pipettere to reagenser og måle absorbans ved 405 nm med temperaturkontroll (37 grader). (2)(15)

Prosedyren går ut på at:

1. 270 µL R1 pipetteres i kyvetten, etterfulgt av 4 µL prøvemateriale, standard eller vann (blank).
2. Prøven inkuberes i 3 minutter ved 37 grader og det utføres blank/autozero absorbans ved 405 nm.
3. Det pipetteres 90 µL R2 i kyvetten, der innholdet blandes og absorbansen leses av etter 60 og 120 sekunder.
4. Endringen i absorbans mellom de to avlesingspunktene brukes til å bestemme den totale konsentrasjonen av gallesyrer ved hjelp av følgende formel:

$$\frac{\text{Prøve } \Delta A_{405\text{nm}}/\text{min} - \text{Blank } \Delta A_{405\text{nm}}/\text{min}}{\text{Standard } \Delta A_{405\text{nm}}/\text{min} - \text{Blank } \Delta A_{405\text{nm}}/\text{min}} * \text{Standard}$$

En kalibrator følger med reagenset. Til 0-kalibrator ble det brukt 0,9%NaCl. (15)

For å kunne sette et eksternt reagens i Cobas c501 må dette skje via en såkalt MULTI pack. Dette er en tom reagenskasett ment for analysetester som ikke er produsert av Roche Diagnostics, og kan tildeles åpne kanaler på instrumentet som bruker selv kan konfigurere. (17)

2.3.2 Kontroller

Kontrollene som ble tatt i bruk var Seronorm Human og Seronorm Human High, som er lyofiliserte (frysetørkede) humane serum produsert av blod fra blodgivere. De brukes som kvalitetskontroll for å overvåke presisjon og nøyaktighet av laboratoriers målemetoder. Før bruk må kontrollene rekonstitueres ved å tilsette 5 ml deionisert vann. Deretter løses innholdet ved blanding med rolig bevegelse i 30 minutter. Kontrollene blir deretter fordelt i ca. 25 kopper med 200 µL kontrollsera per kopp. Disse blir så enten analysert eller frosset ned til senere bruk. De er stabile i 1 måned v/-20°C

I tillegg til at de analyseres i den daglige kontrollrutinen vil kontrollmaterialet også brukes i stedet for pasientprøver ved enkelte utredninger som f.eks. repeterbarhet og linearitet.

(19) (20)

2.4 Innføringen av Gallesyrer på Cobas 6000

Grunnlaget for innføringen kan sees på ”Plan for metodeveiledning/verifisering” (Vedlegg 1). Dette er planen som viser hva som må gjøres for at analysen kan godkjennes for bruk, og den måtte skrives før selve analyseringen kunne begynne. Innføringen er forsøkt gjort på best mulig måte med hensyn til tid, penger og begrensede mengder prøvemateriale. Det kan leses i denne planen at det blant annet skulle utføres en test kalt gjenfinning. Denne ble utelatt fordi det viste seg at den kun var nødvendig hvis det var begrenset tilgang på referansemetoder/ referansematerialer, noe det ikke var. Hver av de testene som ble utført vil bli beskrevet kort, mens alle tabeller, grafer og utregninger er tilgjengelige under vedlegg 9.

2.4.1 Konfigurering av analysen

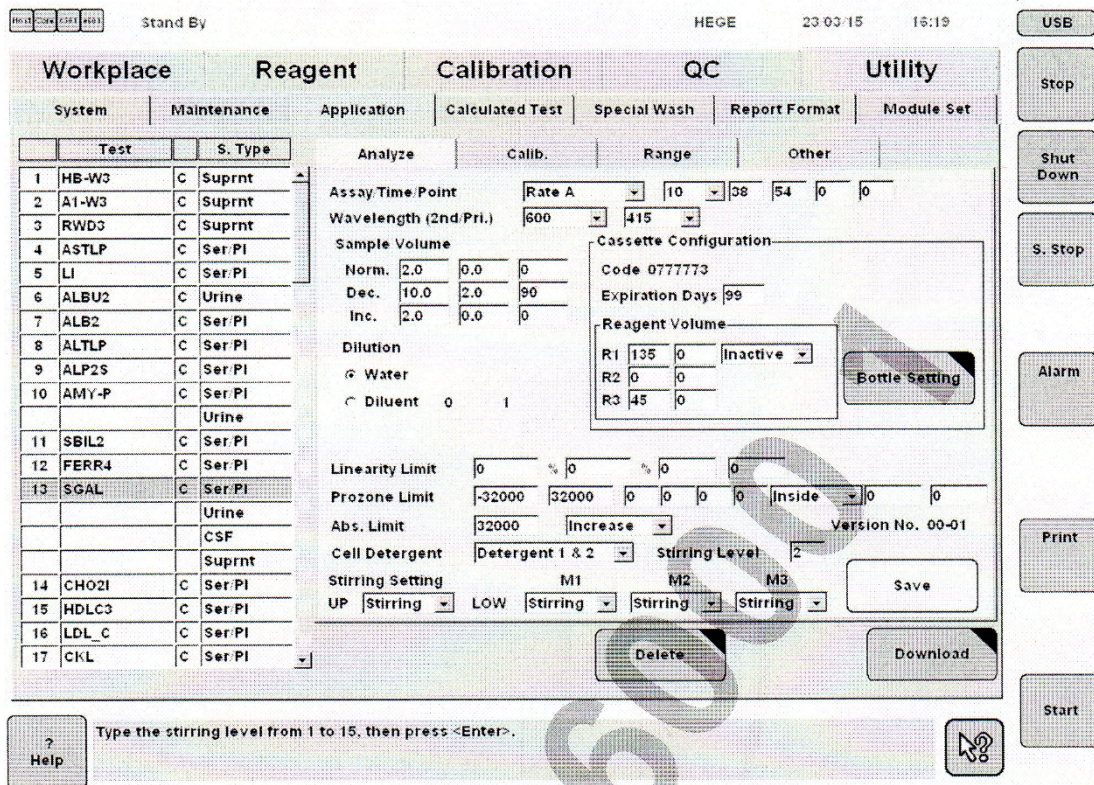
Konfigureringen av analysen, som går ut på å sette inn en analyse i programvaren for Cobas 6000 manuelt, er en svært sentral del for å få maskinen til å analysere prøvene riktig. Derfor kunne ikke oppgaven overlates til studentene, det var et krav fra Roche at den ble utført av kvalifisert personale. Denne delen av innføringen er derfor ikke viktig for denne oppgaven, så kun de mest sentrale delene av konfigureringen vil bli inkludert. Det er også lagt ved noen skjermbilder for å illustrere deler av prosessen (figur 2 og 3).

Det aller første man måtte gjøre var å få at applikasjonsnummer fra ROCHE slik at COBAS kunne kjenne igjen analysen – dette ble lastet ned via COBAS link.

Det neste man må velge ved konfigureringen er generelle parametere som testnavn og måleenhet. Testen ble kalt SGAL som står for Serum-Gallesyrer, og måleenheten er $\mu\text{mol/L}$. Videre måtte man legge inn reagensvolum, prøvevolum, bølgelengden, og en rekke andre grenser som har med måling og pipettering å gjøre. Det er ved mange analyser også viktig å skille mellom analysegrenser for menn og kvinner, samt alder. Det var ikke viktig i dette tilfellet.

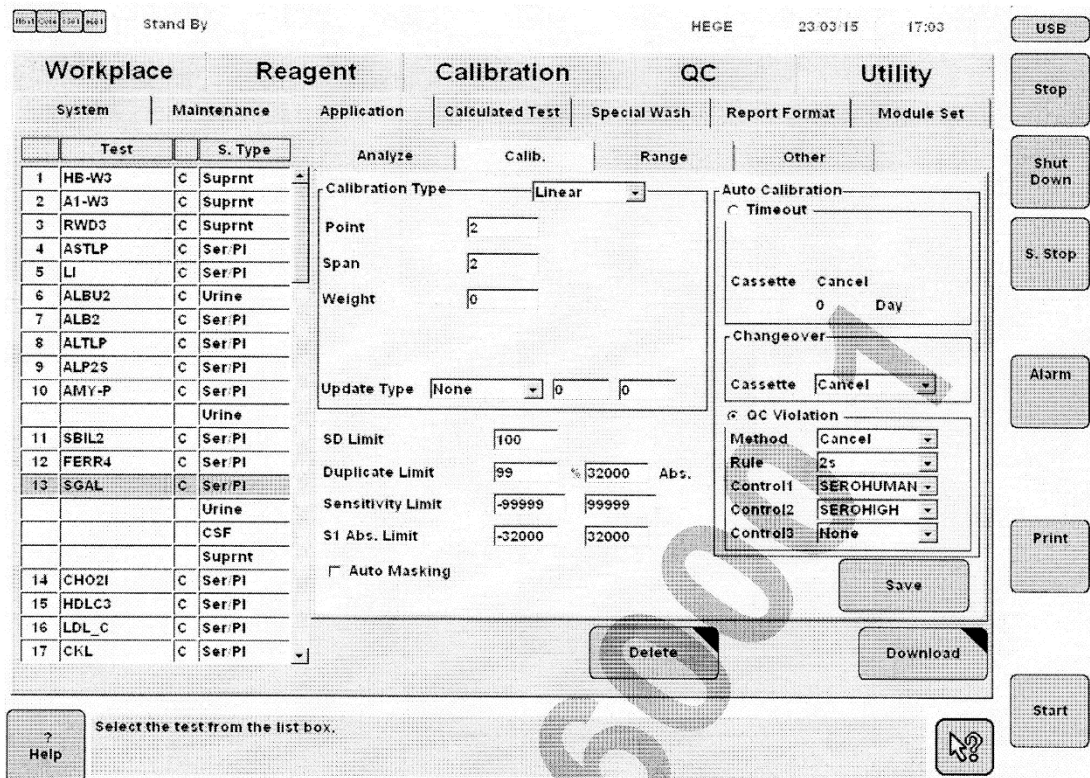
Det skal bemerkes at reagens- og prøvevolum ble satt til halvparten av det som var anbefalt av fabrikanten av reagenset. Dette ble gjort for å spare reagens. Rikshospitalet har

gjort det samme uten at det har hatt noen effekt på analyseresultatene, fordi mengdeforholdene mellom reagensene er de samme.



Figur 2: Et eksempel på hvordan deler av konfigureringen ser ut.

Det neste store steget omhandlet i hovedsak kontroller og kalibreringer. Analysens to kontroller, SeroHuman (lav kontroll) og SeroHigh (høy kontroll) blir valgt, samt at det velges at kontrollvurdering ikke godkjenner kontroller utenfor 2 standardavvik. Hvis den går over/under dette, vil den verdien i plottet bli merket rødt, og tiltak må dermed vurderes. Det blir også valgt at ved kalibreringer skal maskinen gjøre en to-punkts kalibrering. Denne får navnet GALLCAL. Den første kalibreringen som blir gjort etter at analysen var installert ferdig så veldig bra ut. SeroHigh ble programmert til å ha en verdi på 121,0, mens SeroHuman ble programmert til 14,0. Den første kalibreringen viste en verdi på 125,94 på SeroHigh og 15,35 på SeroHuman. Disse verdiene var godt innenfor 2 standardavvik og er veldig bra til å være en manuelt innlagt analyse.



Figur 3: Et annet eksempel på hva som må legges inn ved konfigurering.

Det siste som blir lagt vekt på i denne sammenhengen er at det også må velges et rack til kalibrering, med bestemt posisjon, og det samme til kontroller. Maskinen skal selv kunne lese av hvilket rack man setter inn og dermed oppfatte hvilken analyse den skal kalibrere/analysere kontroll på og hvilken posisjon materialet står i.

2.4.2 Repeterbarhet

Repetbarhet, også kjent som «Innen serie variasjon», er en test av analysens minste variasjon. Målingene utføres under mest mulig like forhold i laboratoriet ved at målemetode, instrument, operatør og brukerbetingelser er de samme. Materialet blir analysert minst 20 ganger i samme serie. Resultatet testes for eventuelle utliggere. For å undersøke repeterbarhet skulle man egentlig måle 20 kontroller i 2 forskjellige nivåer (en høy og en lav). Ved utførelsen ble det valgt å tine opp 10 kontrollkopper av hvert nivå, som skulle analyseres to ganger hver. Dette ble gjort for å spare kontrollmateriale, som hadde blitt rekonstituert noen dager i forveien og frosset ned. Det ble dermed analysert to rack, med 5 lave kontroller i hver, to ganger i rask rekkefølge. Det ble fulgt samme prosedyre med de høye kontrollene. (21) (22)

Resultatene testes for eventuelle utliggere.

2.4.3 Reproduserbarhet

Ved reproduserbarhet tester man total variasjon ved å analysere to kontroller med forskjellige nivåer under ulike målebetingelser. Prosedyren sier at dette helst skal gjøres over 21 ulike dager, men på grunn av tidsbegrensninger ble det valgt å heller gjøre flere analyser til forskjellige tidspunkt over noe færre dager. Det endte dermed opp med 25 analyser i løpet av 20 forskjellige dager.

Reproduserbarhet skiller seg fra repeterbarhet, hvor målebetingelsene skulle være mest mulig like, ved at de samme betingelsene nå skal varieres mest mulig. Det brukes da forskjellige operatører, bruksbetingelser, og målingene gjøres over lengre tid. De fleste analysene ble utført av laboratoriets ansatte på begynnelsen av arbeidsdagen sammen med øvrige kontroller, mens noen ble utført av koordinatører i forkant av testing av andre parametere, senere på døgnet.

Resultatene testes for eventuelle utliggerer. (21) (22)

2.4.4 Carry over

I denne testen ble det forsøkt påvist carry over, eller overdragning. Det vil si i hvilken grad måleresultatet av en prøve påvirkes av størrelsen til foregående prøve(r). Dette er spesielt relevant for komponenter hvor det kan forekomme store forskjeller i måleresultater. Den vanligste situasjonen er at etter at maskinen har analysert en høy prøve, blir prøvemateriale dratt over til neste prøve som da gjerne er lavere, og derfor får ett falskt forhøyet svar. For å eventuelt påvise dette ble det først analysert en lav prøve tre ganger (prøve med ID 13073219, med tidligere målt verdi på 2,14). Deretter skulle en høy og en lav prøve analyseres annenhver gang, med den høye prøven først (ID 11299664, med tidligere målt verdi på 83,31) og deretter den lave (ID 21678069, med tidligere målt verdi på 2,17). Hvis konsentrasjonen på den lave prøven steg på en av målingene, ville carry over være påvist. (22)

2.4.5 Kartlegging av riktighet

For kartlegging av riktighet ble det gjort metodesammenligning med Rikshospitalet, hvorfra Lillehammer ble tilsendt 20 nedfrosede og anonymiserte pasientprøver. Disse var ment å dekke mesteparten av måleområdet. Resultatene ble så plottet i et differanseplott med våre verdier på x-aksen og Rikshospitalets verdier på y-aksen.

2.4.6 Linearitet

Test av linearitet sier noe om metodens evne til å gi måleresultater som er direkte proporsjonale til konsentrasjonen av analytten. Ved denne målingen ble det benyttet kontrollmateriale, der den høye (~121 µmol/L) og lave (~14 µmol/L) kontrollen ble fortynnet med hverandre i 6 nivåer, slik at de ble jevnt fordelt over det meste av måleområdet. Hver kopp inneholdt til sammen 200 µl kontrollmateriale. Resultatene ble plottet og vurdert visuelt, og ved regresjonsanalyse. (22)

Tabell 2: Oversikt over fortynningen av kontrollmaterialet til testing av linearitet.

| Kopp | Andel % lav kontroll | Andel % høy kontroll | Konsentrasjon i µmol/L |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 1 | 100 % | 0 % | 14 |
| 2 | 80 % | 20 % | 35,4 |
| 3 | 60 % | 40 % | 56,8 |
| 4 | 40 % | 60 % | 78,2 |
| 5 | 20 % | 80 % | 99,6 |
| 6 | 0 % | 100 % | 121 |

2.4.7 Nedre deteksjonsgrense

Test av deteksjonsgrense brukes for å angi hvilke resultater som man kan forvente å måle ved et fullstendig fravær av analytten. Dette ble gjort ved at 0-kalibratoren (Fysiologisk saltvann, 9 mg/mL NaCl) ble analysert 20 ganger i serie. Middelerdi og standardavvik ble beregnet og deteksjonsgrensen satt til middelerdi + 3 standardavvik. (22)

2.4.8 Funksjonell sensitivitet

Det man er ute etter ved å teste funksjonell sensitivitet er den laveste konsentrasjonen der CV er maks 20 %. Dette skulle finnes ut ved å analysere en 0-kalibrator (saltvann) og 5 pasientprøver 20 ganger hver, men på grunn av lite prøvemateriale og tidsbegrensninger så ble 6 prøver (en 0-kalibrator og 5 pasientprøver) analysert 10 ganger hver. (22)

3 Resultater

3.1 Presisjon

3.1.1 Repeterbarhet

Testen av repeterbarhet ble gjort med 20 analyser i samme serie på to nivåer, et lavt og et høyt. Det lave nivået fikk en middelvei på 16,01 $\mu\text{mol/L}$ og et standardavvik på 0,263.

Dette gir en variasjonskoeffisient (CV) på 1,65 %.

Det høye nivået fikk etter 20 analyser en middelvei på 130,99, et standardavvik på 1,696 og en CV på 1,29 %.

Det ble ikke oppdaget noen utliggere.

Tabell 3: Oversikt over kumulert resultat på repeterbarhet.

| Prøve | Middelvei ($\mu\text{mol/L}$) | Standardavvik ($\mu\text{mol/L}$) | CV (%) |
|-----------------|------------------------------------|--|--------|
| SeroHuman (lav) | 16,01 | 0,263 | 1,65 |
| SeroHigh (høy) | 130,99 | 1,696 | 1,29 |

3.1.2 Reproduserbarhet

Testen av reproduserbarhet ble som tidligere nevnt gjort med 25 analyser over 20 dager i to nivåer, et lavt og et høyt.

Det lave nivået fikk en målt middelvei på 14,97 $\mu\text{mol/L}$, et standardavvik på 0,457 og en CV på 3,05 %.

Det høye nivået hadde middelvei på 124,76 $\mu\text{mol/L}$, standardavvik på 3,453 og en CV på 2,77 %.

Det ble ikke oppdaget noen utliggere.

Tabell 4: Oversikt over kumulert resultat på reproduserbarhet.

| Prøve | Middelvei ($\mu\text{mol/L}$) | Standardavvik ($\mu\text{mol/L}$) | CV (%) |
|-----------------|------------------------------------|--|--------|
| SeroHuman (lav) | 14,97 | 0,457 | 3,05 |
| SeroHigh (høy) | 124,76 | 3,453 | 2,77 |

3.1.3 Carry over

Etter at den første lave prøven ble analysert tre ganger ble en annen lav og en høy prøve analysert annen hver gang, fem ganger. Resultatet illustreres i diagram 1, hvor den oransje grafen viser resultatene av den høye prøven, og den blå grafen viser resultatene til den lave prøven, i rekkefølge. Carry over ble ikke påvist.

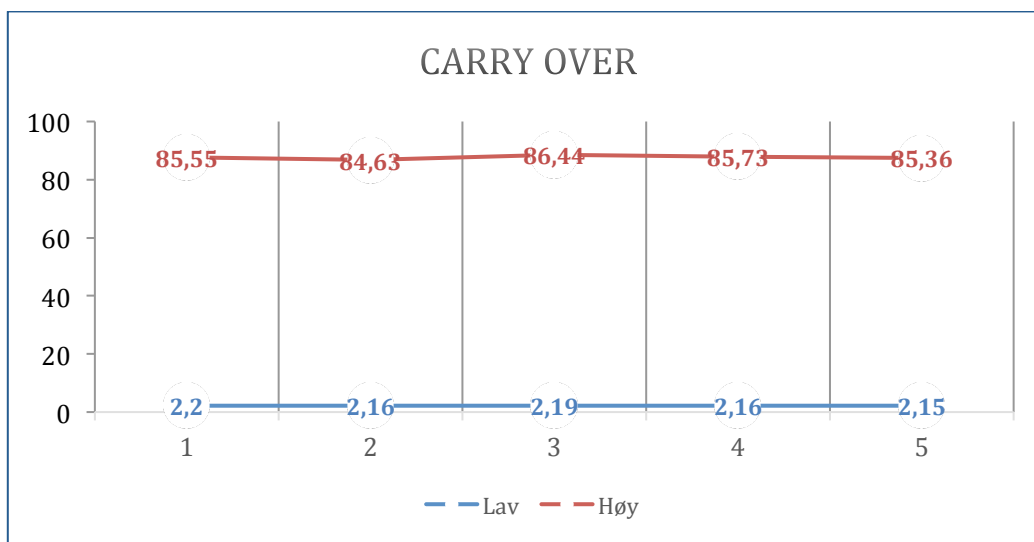


Diagram 1: Diagrammet viser hvorvidt det avleste resultatet av den høye og den lave prøven endrer seg. Carry over påvises dersom noen av prøvene får betraktelig høyere svar senere i sekvensen.

3.2 Riktighet

3.2.1 Kartlegging av riktighet

For testing av riktighet ble det gjort metodesammenligning med Rikshospitalet, som sendte 21 nedfrossede prøver. Disse ble deretter tint opp og analysert i serie. Det ble funnet mest hensiktsmessig å presentere resultatet i et punktdiagram og legge inn en trendlinje for å oppdage eventuelle proporsjonale avvik.

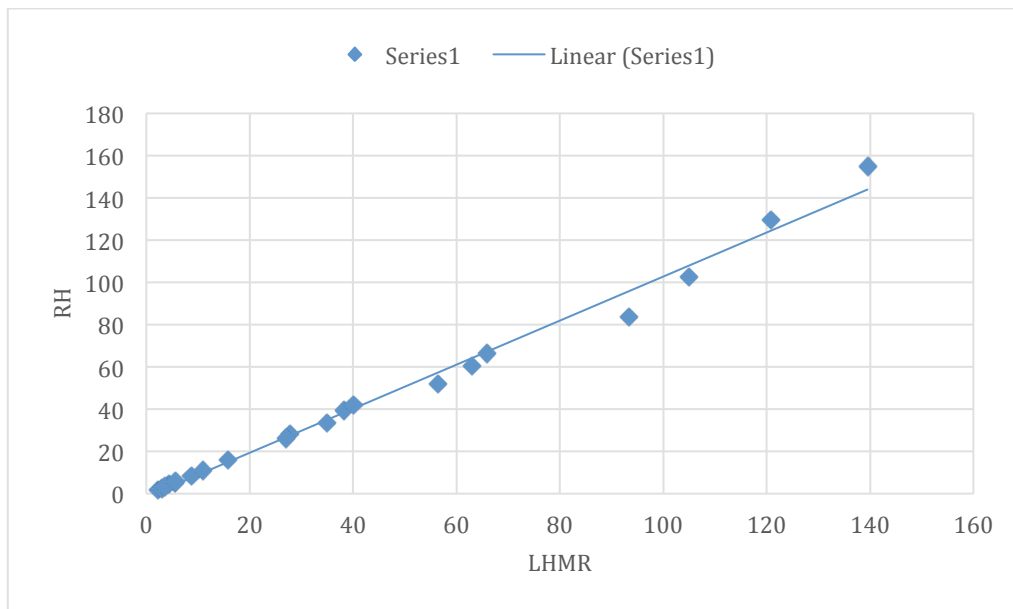


Diagram 2: Hvert punkt representerer den samme prøven, henholdsvis analysert på Rikshospitalet og på Lillehammer. Den lineære trendlinjen viser at metodene følger hverandre godt

Det vises en lineær regresjon mellom Rikshospitalets og Lillehammers metode. For sikkerhets skyld ble det også gjort en parret t-test på de to settene. En tosidig test med signifikans på 0,05 per side ga resultatet $p = 0,774$, noe som regnes som ikke signifikant.

3.2.2 Analytisk spesifisitet / Interferens

Produsenten av reagenset oppgir at følgende konsentrasjoner ga mindre enn 10 % avvik:

Triglyserider: 750 mg/dl.

Askorbinsyre: 50 mg/dl.

Hemoglobin: 500 mg/dl

3.2.3 Linearitet

Test av linearitet ble analysert to ganger grunnet usikkerhet knyttet til blanding av prøvene ved den første analyseringen. Den andre analyseringen viste en liten endring i kurven.

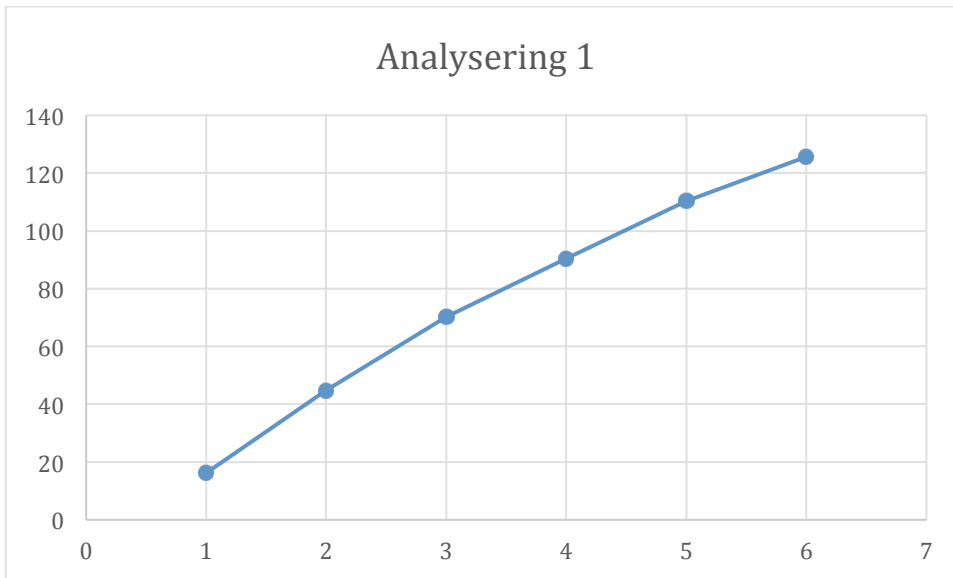


Diagram 3: Første analyse av linearitet viser en liten bue midt på grafen

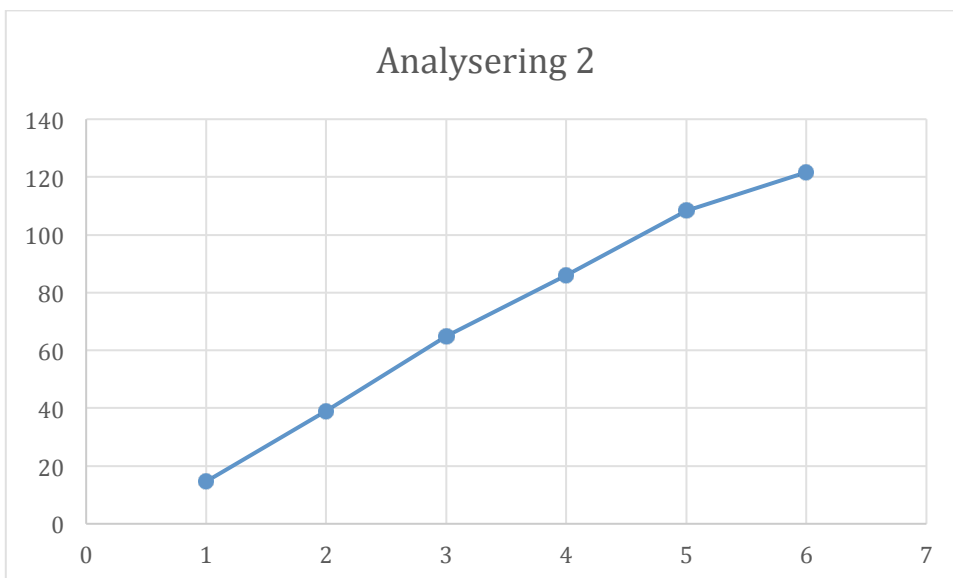


Diagram 4: Andre analyse viser en helt rett graf fram til øvre del av måleområdet.

Merknad: Denne analysen ble utført ikke lenge etter kalibrering og viser god linearitet i måleområdet 0-100 $\mu\text{mol/L}$

3.3 Måleområde

3.3.1 Nedre deteksjonsgrense

Av 20 analyser av fysiologisk saltvann (0,9 % NaCl) ga samtlige bortsett fra tre enten svaret 0,00 eller negativt svar (som utgis av laboratoriet som 0,00). To analyser ga 0,02 mens 1 ga ut 0,01, noe som gir en middelværdi på 0,0025 og standardavvik på 0,0064.

Dersom man følger formelen for utregning av deteksjonsgrense (middelverdi + 3*standardavvik) får man en beregnet grense på 0,0217 µmol/L. Disse utregningene vil uansett gis ut som et avrundet svar på 0,0 µmol/L.

3.3.2 Funksjonell sensitivitet

Det ble gjort til sammen 10 analyser hver på en 0-kalibrator og fem forskjellige pasientprøver. 0-kalibratoren (0,9 % NaCl) ble målt til 0 på samtlige analyser mens pasientprøvene hadde alle resultater godt innenfor kravet på CV < 20 %.

Tabell 5: Oversikt over kumulerte resultat på funksjonell sensitivitet

| Prøve | Middelverdi (µmol/L) | Standardavvik (µmol/L) | CV (%) |
|---------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------|
| 1 | 2,08 | 0,090 | 4,32 |
| 2 | 15,94 | 0,211 | 1,32 |
| 3 | 38,68 | 1,002 | 2,59 |
| 4 | 67,00 | 0,499 | 0,75 |
| 5 | 84,39 | 1,356 | 1,61 |
| 0-kalibrator | 0 | 0 | - |

Konsentrasjon for funksjonell sensitivitet ble ikke påvist, da CV < 20% for alle målte konsentrasjoner.

4 Diskusjon

4.1 *Presisjon*

Det var på forhånd satt et krav til analytisk variasjon på 8 %. Dette var kravet som Rikshospitalet stilte da analysen ble overført fra manuell metode til analysemaskinen Modular. Kravet ble senere justert til 5,2 % for å være overens med øvrige laboratorium som St. Olavs Hospital. Samtlige analyseserier hadde CV under 5,2 %, noe som tyder på at metodens presisjon er godt innenfor det som kan tolereres.

Metoden har vist seg å være sikker mot carry over, da det ikke oppstod noen betydelige endringer i den målte konsentrasjonen til den lave prøven. Dette er også påvist i dokumentasjon fra reagensets produsent.

4.2 *Nøyaktighet*

Metoden viser lovende resultater på metodesammenligningen. Analysesvarene samsvarer godt, spesielt på lave nivåer. Det kan observeres en tendens til større relative avvik i det øvre måleområdet (80+ $\mu\text{mol/L}$), men antallet tilgjengelige pasientprøver i dette området var for lite til å kunne komme med en konklusjon. Den lineære trendlinjen ligger også svært nær $y=x$.

Laboratoriet var ikke i stand til å teste for interferens på grunn av mangel på materialer og erfaring med slike metoder. Siden det fantes tilstrekkelig dokumentasjon fra eksterne kilder ble det bestemt at det ikke var nødvendig å utføre egen testing.

Testen for linearitet ble gjort i to omganger med noen dagers mellomrom, etter det oppstod tvil om at den første hadde blitt utført riktig. Gjennomføringene var prinsipielt identiske, bortsett fra at den andre serien ble analysert få dager etter ny kalibrering, og det ble vist ekstra omhu ved blanding av materialet. Begge grafene ser likevel ut til å vise at analysen er svært lineær i størstedelen av måleområdet.

4.3 *Måleområde*

Et stort antall av analysene i serien resulterte i negative svar. Dette er vanlig for prøver med svært lite analytter, og negative svar blir gitt ut som null. Derfor ble alle negative svar

skrevet som null. Den nedre deteksjonsgrensen ble beregnet til 0,02, noe som gis ut som et svar på 0,0. Siden ingen enkeltanalyser overskred dette resultatet, kan man anse analysen som svært god til å detektere lave verdier. Og siden referanseområdet ligger mellom 0-10 $\mu\text{mol/L}$ vil dette ikke ha noen konsekvens for pasienter med unormale verdier.

Analysen for funksjonell sensitivitet viste en tendens til større relativt standardavvik (CV) i nedre del av måleområdet. Prøven med middelerdi på 2,08 $\mu\text{mol/L}$ hadde en CV på 4,32 %, noe som var langt større enn for noen av de andre nivåene. Det dokumenterte måleområdet lå opp til 180 $\mu\text{mol/L}$, men med begrenset tilgang på prøvemateriale kunne ikke funksjonell sensitivitet påvises. Vi hadde ikke nok materiale på et høyt eller lavt nok nivå til å kunne måle CV > 20%. Man kan likevel se tendensen på andre analyseserier, som det høye nivået av reproduserbarhet (middelerdi 124,76 $\mu\text{mol/L}$, CV 2,77 %) og høyeste nivået av funksjonell sensitivitet (84,39 $\mu\text{mol/L}$, CV 1,61 %). I tillegg viste linearitetsanalysen en god kurve på nedre halvdel av måleområdet.

4.4 *Generelt*

Når det gjaldt innføringen av analysene skjedde det noen endringer underveis. I utgangspunktet var det meningen at vi skulle utføre alt arbeid på egen hånd, men at noe måtte overvåkes av en fagkyndig. Det kom frem av ansatte ved Roche, leverandøren av Cobas 6000, at studenter ikke var godkjente til å utføre konfigureringen. Det ble dermed til at overbioingeniøren ved Cobas 6000 på Lillehammer utføre selve konfigureringen, mens studentene observerte og fikk komme med innspill.

At metodevalideringen skulle utføres parallelt med den ordinære driften av laboratoriet på kveldstid førte noen ganger til forsinkelser. Det var ikke til å unngå at det kom blodprøver med høy prioritet som måtte analyseres på Cobas 1. Arbeidet med valideringen måtte i slike tilfeller vike frem til analysene av disse prioriterte prøvene var ferdige. Som et kompromiss lot avdelingen Cobas 2 være aktiv i lengre tid utover kvelden, samtidig som at arbeidet med valideringen ble fordelt over et større antall kvelder.

Den mest markante feilkilden som strakte seg over flere av analysene som ble utført, var fordamping fra analysekoppene. Siden det ble analysert noen serier der analysekopper fylt med tilstrekkelig materiale ble analysert flere ganger, og en analyse gjerne tok 10-12

minutter, oppstod det en liten, men merkbar endring i avlest konsentrasjon ved påfølgende analyser.

I tillegg var det mangel på prøvemateriale i de høyeste delene av det forhåndsbestemte måleområdet. Vår høyeste pasientprøve hadde en målt verdi på rundt 140-155 $\mu\text{mol/L}$, men her var mengden materiale for lite til å analysere lengre serier, som i noen tilfeller var kravet. Serohuman High-kontrollen var det høyeste nivået med materiale i tilstrekkelige mengder. Selv om ikke alle analysene som ble utført kan regnes som fullgode på grunn av tidsbegrensninger og lite tilgang til prøvemateriale, var flere av våre parametre godt dokumentert på forhånd, og ingen av våre resultater er indikative på noe annet.

Sent i prosessen oppstod det problemer som følge av en misforståelse mellom Lillehammer og Oslo Universitetssykehus (OUS). Applikasjonsveilederen som overbioingeniør hadde mottatt for å legge inn analysen på Cobas stammet fra Ullevål Universitetssykehus, mens de nedfrosede prøvene og resultatene var sendt fra Rikshospitalet. RH bruker analysemaskinen Modular og har et større måleområde enn Ullevåls Cobas. Modular har et måleområde på 0-180 $\mu\text{mol/L}$, mens Cobas har et måleområde på 0-100 $\mu\text{mol/L}$. Dette forklarer den stadige omkjøringen og automatiske fortyningen av våre prøver som lå over 100 $\mu\text{mol/L}$. Før protokollen for metodevalidering/verifisering (Vedlegg 10) kunne godkjennes måtte dette problemet løses. Med god hjelp av overbioingeniøren på Cobas 6000, som tok en rekke telefoner til både RH, Ullevål, Roche og kvalitetsrådgiveren, ble det endelig en løsning på saken. Ved konfigurering hadde det blitt lagt inn linearitet 0-100 og automatisk re-run etter kopi av applikasjonen på Ullevål. Prøvene fra RH med svar >100 ble da automatisk fortynt, men svaret ble feil. Det viste seg at Ullevål, som analyserer på Cobas 6000, har funnet at det ikke går an å fortynne Gallesyrer på denne maskinen. De gir da ut svar >100 , eller de sender prøven til RH som har større linearitet og mulighet for å fortynne. Resultatet av dette var at automatisk re-run ble fjernet og svar ble gitt ut som >100 .

Med tanke på at den høye kontrollen som ble brukt er over 100 $\mu\text{mol/L}$, vil denne og den lave kontrollen bli byttet ut med to kontroller fra et annet firma der begge er innenfor grensen 0-100 $\mu\text{mol/L}$.

5 Konklusjon

Valideringen tilfredstilte sykehusets krav på de mest sentrale parametere, hvilket førte til at analysen ble godkjent til bruk på sykehusets laboratorium etter 15.05.2015, gitt at det i fremtiden tas visse forbehold. Den høye kontrollen som ble tatt i bruk i valideringen lå i et for høyt område i forhold til lineariteten på Cobas 6000 (0-100 $\mu\text{mol/L}$). Prøver med avlest verdi over 100 $\mu\text{mol/L}$ ble automatisk fortynnet og ga feil svar.

Som tiltak må det brukes andre kontroller hvor begge nivåene ligger innenfor linearitetsområde (0-100), og Gallesyrer kan ikke fortynnes på Cobas 6000. Ved eventuell videre testing og godkjenning av egnet kontrollmateriale vil prøvesvar over 100 $\mu\text{mol/L}$ gis ut som ”>100 $\mu\text{mol/L}$ ”


6 Referanser

1. OA.no: I dag åpent den nye kvinneklinikken på Lillehammer; Anne Marit Sletten; Hentet 16. Mars 2015. Tilgjengelig fra: <http://www.oa.no/nyheter/article7052167.ece>
2. Søk etter analyser og undersøkelser. St. Olavs Hospital: Laboratoriemedisinsk klinikk; hentet 27.04.2015. Tilgjengelig fra: http://www.helse-midt.no/ftp/stolav/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html
3. Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi: Gallesyre, P; Ukjent utgiver; Hentet 17. Mars 2015. Tilgjengelig fra: <http://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=ea6a4e22d4d38f9a746a&j=1>
4. Russell DW, The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis; Hentet 15. Mai 2015. Tilgjengelig fra: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161712>
5. Hoffman AF, The function of bile salts in fat absorption. The solvent properties of dilute micellar solutions of conjugated bile salts; Hentet 15. Mai 2015. Tilgjengelig fra: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1202272/>
6. Hofmann, Borgstroem, The intraluminal phase of fat digestion in man: The lipid content of the micellar and oil phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption; Hentet 26. Mai 2015. Tilgjengelig fra: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14162533>
7. Hoffman AF, The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease; Hentet 15. Mai 2015. Tilgjengelig fra: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10597755>
8. Hill. Gastrointestinal Diseases. Burtis, Ashwood, Bruns. Tietz: Fundamentals of clinical chemistry (6th ed). USA: Saunders, Elsevier; 2008. s. 696 – 710
9. Norsk elektronisk legehåndbok: Gallesyrer i Serum; Geir Thue; Hentet 17.Mars 2015. Tilgjengelig fra: <http://nevro.legehandboka.no/prover-og-svar/klinisk-kjemi/blodprover/gallesyrer-i-serum-19263.html>
10. Pusl, Beuers, Intrahepatic cholestasis of pregnancy; Hentet 15. Mai 2015. Tilgjengelig fra: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1891276/>
11. Lammert, Marschall, Glantz, Matern, Intrahepatic cholestasis of pregnancy: molecular pathogenesis, diagnosis and management; Hentet 15. Mai 2015. Tilgjengelig fra: [http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(00\)80139-7/abstract](http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(00)80139-7/abstract)

12. Gonzalez, Reyes, Arrese, Figueroa, Lorca, Andresen et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy in twin pregnancies; Hentet 26. Mai 2015. Tilgjengelig fra:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2768798>
13. Vedlegg 3: Generell beskrivelse – Cobas 6000
14. **Figur 1:** <http://www.roche-diagnostics.co.in/Products/Pages/cobas6000modularplatform.aspx>
(18. Mars 2015)
15. Vedlegg 5: Medsendt vedlegg til reagenset fra produsent
16. Cobas 6000 analyzer series; Ukjent utgiver; Hentet 18. Mars 2015. Tilgjengelig fra:
<http://www.cobas.com/home/product/clinical-and-immunochemistry-testing/cobas-6000-analyzer-series.html>
17. Vedlegg 8: Cobas c pack MULTI
18. Young, Bermes, Haverstick. Specimen Collection and Other Preanalytical Variables. Burtis, Ashwood, Bruns. Tietz: Fundamentals of clinical chemistry (6th ed). USA: Saunders, Elsevier; 2008. s. 42-62
19. Vedlegg 6: Medsendt vedlegg til lav kontroll fra produsent
20. Vedlegg 7: Medsendt vedlegg til høy kontroll fra produsent
21. Norsk Klinisk-kjemisk Kvalitetssikring, Metodevalidering; Hentet 24.04.2015.
Tilgjengelig fra:
http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Rustad_val1.pdf
http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Rustad_val2.pdf
22. Vedlegg 4: Metodevalidering/-verifisering – Analytisk kvalitet

7 Vedlegg

7.1 Vedlegg nr: 1 - Plan for metodevalidering / verifisering (Godkjent)

| | | |
|--|-----------------------------|-------------------------|
|  Sykehuset Innlandet HF | Avd. for Medisinsk biokjemi | Refnr. MeS05.01/01.02-C |
|--|-----------------------------|-------------------------|

Plan for metodevalidering/verifisering.

| | |
|--|--|
| Avdeling: | Medisinsk biokjemi |
| Faggruppe/ seksjon: | Klinisk kjemi Lillehammer |
| Analyse/ metode: | Gallesyrer/ Assay hvor gallesyrer oksideres til ketosteroider vha enzymet 3-alfa-hydroksysteroid-dehydrogenase. I samme prosess blir tio-NAD+ redusert til tio-NADH som kan avleses spektrofotometrisk ved 405 nm. Dannelseshastigheten er proporsjonal med total konsentrasjon av gallesyrer i prøven. |
| Instrument: | Cobas 6000 |
| Årsak: | Etterspørsel fra gynekolog/kvinneklubben |
| Tidsrom: <i>(forventet forbruk av tid)</i> | Mars - Mai 2015 |

| Ansvar | |
|---|---|
| <i>Se pkt 2 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet"</i> | |
| Utførelse | Ansvar |
| Plan og kvalitetskrav | Med.faglig ansv.:Jon Elling Whist Sjefbioingeniør:Vigdis Kalkvik Overbioingeniør:Hege Pharo Koordinator:Hege Pharo/Ola Hillestad og Ann Elin Espeseth (studenter) Kvalitetsrådgiver:Gia Deyab |
| Hovedansvar | Avd. sjef:Lisbeth Vedde |
| Tilretteleggelse i laboratoriedatasystemet og pasientdatasystemet I tillegg må instrumentkoder, analysekoder, rørkoder, kontrollverdier, referanseintervaller, grenseverdier osv. konfigureres i laboratoriedatasystemet. | IT ansvarlig:Ellen Sønsteby |
| Informasjon til rekvirenter | Sjefbioingeniør:Vigdis Kalkvik Med. faglig ansv.:Jon Elling Whist |

Når valideringen/verifiseringen er avsluttet, må analyseprosedyrer skrives og godkjennes.

| Praktisk egnethet | |
|--|--|
| <i>Se pkt 3.1.1 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet"</i> | |
| Vil metoden kunne fungere i laboratoriet? | a) Ja, de som skal kjøre inn/teste metoden er 3.års bioingeniørstudenter og får veiledning av overbioingeniør og fagbioingeniører med god erfaring |
| a) Er nødvendig kompetanse på plass? | b) Nei, de som skal teste analysen skal gjøre hele jobben selv som bachelor oppgave. |
| b) Kreves spesielle personalressurser? | Beregner å utføre testingen på kveldstid, når |
| c) Skal analysen utføres hele døgnet? | |
| d) Er det kun utvalgte personer som skal utføre analysen? | |
| e) Er det kapasitet på instrumentet? | |

Godkjent av: Avd.sjef Lisbeth Vedde

Sykehuset Innlandet 23.02.2015

| | |
|---|--|
| f) Kostnader: total pris per analyse, refusjon | maskinen er minst i bruk. c) Ja, det er en hasteanalyse d) Alle som er opplært på Cobas og jobber i turnus skal kunne utføre analysen e) Ja. Analysen blir sannsynligvis ikke brukt hver dag, men siden dette er en hasteanalyse skal den være tilgjengelig når det trengs f) Reagens og kalibrator koster kroner 9,50 per analyse |
| Oppfyller metoden et definert behov? a) Klinisk nytteverdi b) Egnet for tiltenkt pasientpopulasjon? | a) Analysen skal måle gallesyrer hos gravide med mulig svangerskapsforgiftning. Derfor er det nødvendig med raskt prøvesvar for å hindre komplikasjoner og for tidlig fødsel. b) Gravide med mistanke om intrahepatisk graviditetsbetinget cholestase. |
| Foreligger resultater fra ekstern kvalitetsvurdering/EKV? a) Hvordan er resultatene i forhold til eksisterende metode (nivå, CV innen metodegruppa)? b) Hvor mange brukere av metoden fins det (fortrinnsvis fra Norge)? | a) Det finnes ingen metode for Cobas instrumentene. Rikshospitalet brukte CV \leq 8% som presisjonskrav ved overføring til Modular i 2004 b) Sykehus som bruker denne metoden er: Rikshospitalet, St. Olavs Hospital og Haukeland Universitetssykehus |
| Preanalytiske variabler: Spesielle hensyn ved prøvetaking Holdbarhet før sentrifugering | Analytten analyseres hovedsakelig i serum, men kan også analyseres i EDTA-plasma og heparin-plasma. Når vi benytter serum skal prøven sentrifugeres tidligst etter 30 min, men før det er gått 2 timer. Pasienten skal helst ta prøven fastende, men hos gravide med fare for svangerskapsforgiftning er dette ikke nødvendig, da verdiene vil være unormalt forhøyet. På andre pasientgrupper må prøven tas fastende fordi gallesyrenivået stiger ca 50 % etter inntak av mat |
| Postanalytiske variabler: Overføring til LIS (manuell/online) | Online |
| Dokumentasjoner fra leverandøren: Er alle parametere godt dokumentert? Hvilke må vi vurdere med egne forsøk? | All informasjon finnes i reagensleverandørens pakningsvedlegg. Vi blir likevel nødt til å verifisere en god del selv, siden reagenset kommer fra en annen leverandør enn for analysemaskinen. |

| Kvalitetskrav <i>Se pkt 3.1.2 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet"</i> | |
|---|---|
| Sett kvalitetskrav på forhånd - hvor god må analysen være? Kravene kan for eksempel settes på bakgrunn av: a) Biologisk variasjon (Frasers krav) | <i>Krav til presisjon og riktighet.</i> <i>Lag gjerne en egen tabell hvis det er mange analyser og legg en link her.</i> |

| Kvalitetskrav <i>Se pkt 3.1.2 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet"</i> | |
|--|---|
| b) Fra produsent c) Klinisk nyttverdi d) "State of the art" Publiserte consensus (nasjonale/ internasjonale) e) Samme krav som settes for eksterne kvalitetsvurdering/EKV (akseptgrenser) | Etter korrespondanse med Rikshospitalet, har vi fått oppgitt presisjonskrav på $CV \leq 8\%$ og anser dette som akseptgrense. |

| Analytisk kvalitet: Presisjon <i>Se pkt 3.2 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet"</i> | |
|--|---|
| Repetisjonsbarhet | Målinger utført med minst mulig variasjon i analysebetingelser. Gir et mål på variasjon innenfor serien og analysens minste variasjon. Kontroll kjøres 21 ganger i en og samme serie, i 2 nivåer. Svar testes for slengere og plottes inn i presisjonsskjema |
| Reproduserbarhet | Målinger utført med dag til dag variasjon i analysebetingelser (i eget laboratorium). Gir et mål på total variasjon. Kontroll kjøres 1 gang per dag i 21 forskjellige dager, i 2 nivåer. Svar testes for slengere og plottes inn i presisjonsskjema. |
| Overdraging/ Carry over | Analysere en lav prøve 3 ganger først. Deretter en høy og en lav prøve/kontroll kjøres annen hver gang 5 ganger, for å observere evt endring i målt konsentrasjon pga overdraging av analytt. Hvis prøven med lav konsentrasjon endrer verdi (stiger) er carry over påvist. Svar settes inn i excelark. |

| Analytisk kvalitet: Riktighet <i>Se pkt 3.3 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet"</i> | |
|--|--|
| Sporbarhet | Reagens, kalibrator, kontroll osv kan spores med f.eks Lot nummer og dokumentasjon fra Diazyme (leverandør). |
| Kartlegging av riktighet | 25 pasientprøver som skal dekke hele måleområdet er innhentet fra OUS, som har svar på gallesyreanalysen. Uttestere er blendet for analysesvarene fra OUS og skal analysere pasientprøvene på Cobas. Tallene settes inn i regresjonsarket. |
| Analytisk spesifisitet/ Interferens | Følgende konsentrasjoner gir mindre enn 10% avvik: Triglyserider 750 mg/dl, Askorbinsyre 50 mg/dl, Hemoglobin 500 mg/dl |
| Gjenfinning | Økende mengde analytt tilsettes i en pasientprøve med lav konsentrasjon. Analysert mengde gjenfunnet analytt (%) oppgis. Bruk excel til beregninger. |

| Analytisk kvalitet: Riktighet Se pkt 3.3 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet" | |
|--|---|
| Linearitet | En høy og en lav prøve fortynnes med hverandre i minst fem konsentrasjoner fordelt over hele måleområdet. Prøvene måles i en serie og resultatet plottes i et xy-diagram og vurderes visuelt. Sammenlign med produsent. |
| Holdbarhet | Serum/EDTA-plasma/Lihp-plasma: 1 uke v/4 grader, 3 mnd v/-20 grader. Se pakningsvedlegg |
| Referanseområde | Produsentens metodedokumentasjon og nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi (brukerhandboken.no) angir: 0-10 $\mu\text{mol/L}$ |

| Måleområde Se pkt 3.4 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering - Analytisk kvalitet" | |
|---|--|
| Øvre målegrense | 180 $\mu\text{mol/L}$ |
| Nedre målegrense | 0 $\mu\text{mol/L}$ |
| Nedre deteksjonsgrense | En 0-kalibrator måles minst 10 ganger (helst 20), beregner så middelværdi og standardavvik. Grensen settes til middelværdi + 3 standardavvik. Svar settes inn i presisjonsark. |
| Funksjonell sensitivitet | En 0-prøve og 5 pasientprøver (evt fortynnet kontroll) med ulike konsentrasjoner måles 20 ganger hver (avhengig av mengde materiale). Beregner CV for hver prøve og fremstiller det i et xy-diagram. Funksjonell sensitivitet er den laveste konsentrasjonen der CV er maks 20 % (Excel presisjonsark) |

| Ekstern kvalitetskontroll | |
|---------------------------|-------------------|
| Program | 2520 - Gallesyrer |

| Godkjenning av plan | |
|-----------------------------|--------------------|
| Dato: | 24/3-15 |
| Koordinator: | 2013-15 Hege Pharo |
| Avdelingssjef: | disbetu Jedde |
| Medisinsk faglig ansvarlig: | Jon S. M. M. M. |
| Kvalitetsrådgiver: | Ma Dujer |

Referanser:

MeS05.01/01.02-01 Metodevalidering/verifisering - analytisk kvalitet

7.2 Vedlegg nr: 2 - Mail fra REK

Skriv ut melding i Outlook.com 25.04.15, 17.45

[Skriv ut](#) [Lukk](#)

Sv: REK sør-øst 2015/262 Generell henvendelse fra Ann Elin Espeseth og Ola Hillestad

Fra: **post@helseforskning.etikkom.no**
Sendt: 13. februar 2015 15:34:05
Til: a_espeseth@hotmail.com

Hei!

Viser til innsendt e-post mottatt 04.02.15.

REKs mandat etter helseforskningsloven er å vurdere prosjekter som har som formål å skaffe til veie ny kunnskap om helse og sykdom, jf. §2 og §4 første ledd bokstav a.

Når det gjelder forskning på anonymisert biologisk materiale fremkommer følgende i Ot.prp. nr. 74 (2006-2007):

"Forskning omfatter ikke teknisk og metodemessig utviklingsarbeid som anvender anonymisert biologisk materiale. Loven gjelder således ikke for jevnlig metodejusteringer, rutinemessige kvalitetskontroller, kalibrering og annen produktkontroll hvis formål ikke er å frembringe ny kunnskap om helse og sykdom og som det ikke er naturlig å anse som et systematisk forskningsprosjekt." (s. 149)

I henhold til dette kan det se ut til at deres prosjekt faller utenfor REKs mandat, men REK kan ikke gi et konkret svar kun basert på informasjonen som fremgår av e-posten.

Dersom dere er i tvil om prosjektet vil fremskaffe ny kunnskap om helse og sykdom anbefaler vi å bruke vårt framleggingsvurderingsskjema. Dette skal da inkludere en mer detaljert prosjektbeskrivelse.

Framleggingsvurderingsskjema finnes her:
http://helseforskning.etikkom.no/ikbViewer/page/frister/forskningsprosjekt?p_dim=34769&lan=2&_ikbLanguageCode=n

Vi gjør oppmerksom på at du må logge inn i din portal for å få tilgang til å fylle ut skjemaet. Etter du har logget inn må du gå til "mine saker og nye skjemaer", så til "skjemaer for forskningsprosjekt". Der vil du finne alle våre skjemaer.

Ved eventuelle spørsmål, vennligst ta kontakt med meg.

Med vennlig hilsen

Ingrid Dønåsen
REK sør-øst
Tlf: 22845523


-----Original melding-----

Emne: REK sør-øst

Fra: a_espeseth@hotmail.com

<https://dub114.mail.live.com/ol/mail.mvc/PrintMessages?mkt=nb-no> Side 1 av 2

7.3 Vedlegg nr: 3 - Generell beskrivelse – Cobas 6000

| | | | | | |
|--|--|--|----------------------------|---|--|
|  Sykehuset Innlandet HF | | Divisjon Medisinsk service | | Avd. for Medisinsk biokjemi | |
| Generell beskrivelse - Cobas 6000 | | | | Fagprosedyrer Kjemi MeS05.02.03.01-01 | |
| Utgave: 7.00 | Utarbeidet av: Overbioingeniør Lene Bjøntegaard | Godkjent av: Avd.sjef Lisbeth Vedde | Gjelder fra: 01.09.2013 | Side 1 av 5 | |

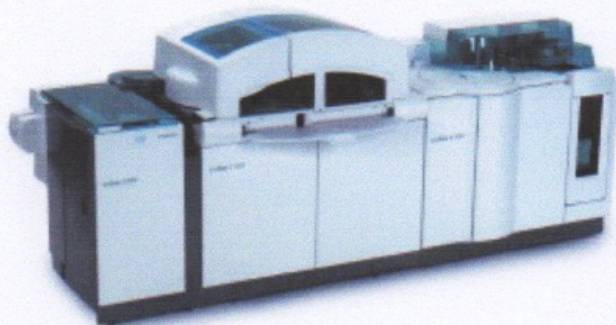
Navn: Cobas 6000

Leverandør: Roche Diagnostics/ Hitachi SYSTEMS – Roche Diagnostics Norge AS

Bruksområde (fagfelt):

Cobas 6000 er et automatisk, konsolidert analysesystem som består av to analysemoduler: **c501** til analysering av klinisk kjemiske analyser og elektrolytter (ISE) og **e601** til analysering av immunkjemiske analyser. Hele analysesystemet kontrolleres av en kontrollenhet som bruker et grafisk brukergrensesnitt for å kontrollere instrumentfunksjonene. En prøvetransportenhet (cu150) styrer transporten av prøver til de ønskede analytiske modulene.

Sykehuset Innlandet har på Avdelinger for laboratoriemedisin, Elverum, Gjøvik, Hamar, Kongsvinger og Lillehammer to Cobas 6000 på hvert sted. Hvert analysesystem består av en c501 og en e601 modul. De to systemene er back-up for hverandre. Storvolum-analyser blir analysert på begge systemene, mens analyser vi analyserer mindre av blir kjørt på "hovedmaskinen".



cobas®6000 Fra venstre cu150 (core unit), c501 og e601.

Måleprinsipper:

c501

ISE-enheten (ISE: Ion Selective Electrodes) består av en referanseelektrode og tre ion-selektive elektroder for hhv. Na, K og Cl. De ion-selektive elektrodene har en membran som selektivt binder det aktuelle ionet. Når ionet bindes til membranen, endres spenningen over membranen. Ion-aktiviteten måles som endring i spenning (EMF) mot referanseelektroden. Indirekte måling betyr at ion-aktiviteten blir målt i et fortynnet prøvemateriale (1:31). EMF-verdiene blir konvertert til mmol/L verdier med en kalkulasjons - algoritme.

Fotometri: Fotometeret måler hvor mye lys av definerte bølgelengder som absorberes av reaktant/produkt i reaksjonen vi måler. Det er lineær sammenheng mellom absorbans og konsentrasjon (Lambert-Beers lov). Absorbansen ved definerte bølgelengder kan måles på grunnlag av farge eller turbiditet ("blakking"). Fotometeret leser av ved 12 definerte bølgelengder og benytter den bølgelengden som er spesifikk for reaktanten/produktet vi måler til beregning. I tillegg benyttes som regel bølgelengde som ikke er spesifikk for reaktant/produkt for å eliminere interferens. Dette kalles bikromatisk avlesning. Det er to typer fotometriske analysemetoder på instrumentet:

- 1) **Endepunktsanalyser:** Fotometeret måler absorbans etter at den kjemiske reaksjonen har nådd likevekt. Denne analysemetoden benyttes til konsentrasjonsbestemmelse.
- 2) **Kinetiske analyser/Rateanalyser:** Fotometeret måler endring (rate) i absorbans under den kjemiske reaksjonsfasen. Endringen er proporsjonal med analyttens konsentrasjon eller aktivitet. Slik analysemetode benyttes til både konsentrasjonsbestemmelse og måling av enzymaktivitet.

Kolorimetri: Absorbansen er et mål på fargeutvikling som følge av den kjemiske reaksjonen.

Turbidimetri: Absorbansen er et mål på turbiditet/ "blakking". Blakkingen kan være en følge av kompleksdannelser av antigen/antistoff - reaksjoner. Analytten kan være enten antigen eller antistoff i reaksjonen, mens reagenset inneholder spesifikt antigen eller antistoff rettet mot analytten. Dette kalles immunturbidimetri.

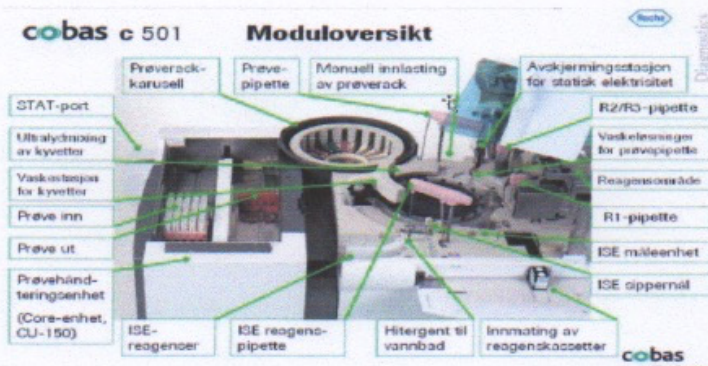
Blakkingen kan også være en følge av proteiners reaksjon med enkelte stoffer i surt eller basisk miljø.

KIMS (Kinetic Interaction of Microparticles): Absorbansen er et mål på dannelsen av aggregater av mikropartikler. Jo mer aggregater, jo høyere absorbans.

Det er to ulike analyseprinsipper:

- 1) Mikropartiklene er coatet med antistoff rettet mot analytt. Reagenset inneholder også antigenkonjugater satt sammen av antigenfragmenter lik analytten. Analytten vil konkurrere om bindingssetene på mikropartiklene. Jo mer analytt, dess færre antigenkonjugater binder seg til mikropartiklene og det dannes færre komplekser. Høy konsentrasjon av analytt gir altså lav absorbans. Dette er et kompetitivt (konkurrerende) analyseprinsipp.
- 2) Mikropartiklene er coatet med antigen lik analytten. Reagenset inneholder også antistoffer rettet mot antigen/analytt. Analytt i prøven vil konkurrere med de coatede mikropartiklene om bindingssetene på antistoffene. Dersom det er lite eller ingen analytt i prøven vil antistoffene binde seg til antigenet på mikropartiklene og det dannes mange komplekser. Som over: Lav konsentrasjon av analytt gir høy absorbans.

EIA (Enzyme Immuno assay): Reagenset inneholder spesifikke antistoffer rettet mot analytten og i tillegg enzymmerket antigen lik analytten som vil konkurrere om bindingssetene på antistoffet. Absorbansen måler fargeendring som følge av enzymaktivitet. Enzymaktiviteten faller når antigenet bindes til antistoff. Stor endring i enzymaktivitet betyr mye bundet enzymbundet antigen og lite analytt i prøven.



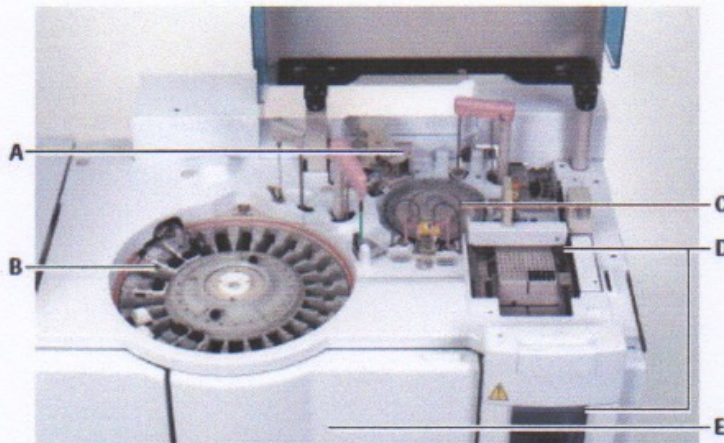
e601:

Alle analysene på e-modulen er immunoassays som benytter samme deteksjonsteknologi, ECL (ElectroChemistryLuminescence). Paramagnetiske mikropartikler coatet med streptavidin benyttes som universell fast fase. Spesifikke antistoffer merket med biotin danner sterke kovalente bindinger med streptavidin på magnetpartiklene. Signalmolekylet er et rutheniumchelate som er koblet til spesifikke antistoffer. Selve deteksjonen foregår i målecellen: Prøveblandingen føres gjennom målecellen. En magnet holder de paramagnetiske partiklene med antistoffer igjen, resten av inkubasjonsblandingen føres bort med ProCell. Det settes spenning på. Stabilt ruthenium, Ru^{2+} , avgir et elektron og går over i en ustabil form, Ru^{3+} . TPA (tripropylamin) i ProCell fungerer som elektrondonor. Ru^{3+} får et elektron og går tilbake til Ru^{2+} , samtidig som et foton sendes ut (eksitasjon). Lyset fanges opp og forsterkes av fotomultiplikatoren.

Det er to typer analyseprinsipper på e601:

- 1) Sandwich test: I trinn 1 settes prøve, reagens 1 (R1, biotinmerket, spesifikt antistoff rettet mot analytt) og reagens 2 (R2, spesifikt antistoff rettet mot analytt merket med Ru-chelat) til. Inkubasjon i 9 minutter: Dersom analytt er til stede, bindes dette til antistoffene både i R1 og R2. I trinn 2 tilsettes magnetpartikler coatet med streptavidin. Inkubasjon i 9 minutter: Antistoffer fra R1 bindes til magnetpartiklene. Magneten settes på. Når målecellen skylles, vil magnetpartiklene sitte igjen. Hvis det er analytt til stede, vil Ru på antistoffer i R2 også henge igjen og vi får signaler fra fotomultiplikatoren. Høyt signal betyr mye analytt til stede.
- 2) Kompetitiv test: I trinn 1 tilsettes prøve og reagens 1 (R1, spesifikt antistoff rettet mot analytt merket med Ru-chelat). Inkubasjon i 9 minutter: Dersom analytt er til stede, bindes dette til de merkede antistoffene. I trinn 2 tilsettes reagens 2 (R2, biotinmerket antigen tilsvarende analytten) og magnetpartikler coatet med streptavidin. Inkubasjon i 9 minutter: Biotinmerket antigen bindes til magnetpartiklene. Magneten settes på. Når

målecellen skylles vil magnetpartiklene sitte igjen. Analytt som har bundet seg til de Ru-merkede antistoffene skylles bort med ProCell. Dersom det er lite eller ingen analytt til stede vil mange Ru-merkede antistoffer feste seg til antigenet på mikropartikkelen og vi får et høyt signal. Høyt signal betyr lite eller ingen analytt til stede.



A PreClean-området
B Reagens-området

C Måle-området
(inkubator og måleenhet)
D Området for engangsubstyr
E Systemreagensområdet
(bak frontdørene)

Cobas e601 sett ovenfra

Lokal fordeling av analyser, se:

Elverum:

[MeS05.02.03.01.01-05 Cobas 6000 -Fordeling av analyser - Elverum](#)

Gjøvik:

[MeS05.02.03.01.02-06 Fordeling av analyser på Cobas1 og Cobas2 - COBAS 6000 - GJØVIK](#)

Hamar:

[MeS05.02.03.01.03-04 Fordeling av analyser på Cobas 1\(Adam\) og Cobas 2\(Eva\)- Hamar](#)

Kongsvinger:

[MeS05.02.03.01.04-02 Cobas 6000 - Fordeling av analyser - Kongsvinger](#)

Lillehammer:

[MeS05.02.03.01.05-03 Fordeling av analyser på Cobas 1 og Cobas 2 - Lillehammer](#)

Referanser

[MeS05.02.03.01.01-05](#)

Cobas 6000 -Fordeling av analyser - Elverum

[MeS05.02.03.01.02-06](#)

Fordeling av analyser på Cobas1 og Cobas2 - COBAS 6000 - GJØVIK

[MeS05.02.03.01.03-04](#)

Fordeling av analyser på Cobas 1(Adam) og Cobas 2(Eva)- Hamar

[MeS05.02.03.01.04-02](#)


Cobas 6000 - Fordeling av analyser - Kongsvinger

[MeS05.02.03.01.05-03](#)

Fordeling av analyser på Cobas 1 og Cobas 2 - Lillehammer

Husk: Utskrift er en kopi. Originalen ligger i kvalitetssystemet.

7.4 Vedlegg nr: 4 - Metodevalidering/verifisering – Analytisk kvalitet

| | | | | | |
|--|---|---------------------------------------|----------------------------|--|--|
|  Sykehuset Innlandet HF | | Divisjon Medisinsk service | | Avd. for Medisinsk biokjemi | |
| Metodevalidering/verifisering - analytisk kvalitet | | | | Avdelingsdokumenter MeS05.01/01.02-01 | |
| Utgave: 3.00 | Utarbeidet av: Kvalitetsgruppa v/ Helene Kjellman | Godkjent av Avd.sjef Lisbeth Vedde | Gjelder fra: 02.02.2015 | Side 1 av 11 | |

1. Hensikt og omfang

Metodevalidering utføres for å dokumentere og teste om analysemetoden tilfredsstillende oppfyller kravene avdelingen har satt for analysekvalitet, slik at metoden kan benyttes til produksjon av pasientsvar. Metodeverifisering innebærer å dokumentere at analysemetoden fungerer som forventet i eget laboratorium.

Hvor omfattende valideringen/verifiseringen bør være avhenger av:

- Type analyse
- Klinisk formål
- Framlagt dokumentasjon

Metodevalidering gjøres når:

- Valideringsdokumentasjon mangler eller er mangelfull.
eks: forskjellig produsent av måleutstyr, reagenser og/eller kalibratorer, slik at det ikke finnes en samlet validering
- Endring av analysemetode, analyseutstyr eller andre større endringer.
eks. når metoden brukes til en analyse i et materiale den ikke er validert for eller når metoden brukes til måling utenfor definert måleområde.
- Hvis metoden kun er delvis validert, supplerer man med det som er nødvendig.

Validering innebærer at laboratoriet selv tester:

Presisjon

- Repeterbarhet og reproduserbarhet
- Overdragning (carry over)

Riktighet

- Kartlegging av riktighet (metodesammenligning/ bruk av referansemateriale)
- Analytisk spesifisitet/ Interferens
- Gjenfinning (recovery)
- Linearitet
- Holdbarhet
- Referanseområde

Måleområde

- Deteksjonsgrenser
- Funksjonell sensitivitet

Metodeverifisering gjøres når:

- Når man tar i bruk et målesystem/målemetode der valideringsdokumentasjon foreligger enten fra leverandør eller annet laboratorium.
- Endringer i analysemetoden/ på analyseutstyr som kan gi betydelig endret analysekvalitet.

Verifisering innebærer at laboratoriet verifiserer minimum følgende med egne tester:

Presisjon (repetbarhet og reproduserbarhet)

Riktighet (metodesammenligning, bruk av referansemateriale)

For å oppfylle de andre punktene for en godkjent protokoll, skal dokumentasjon fra for eksempel produsent/ leverandør foreligge. Dersom det ikke foreligger tilfredsstillende dokumentasjon på enkelte punkter, må avdelingen utføre testingen selv.

For analysemetoden benyttes til produksjon av pasientsvar, skal all dokumentasjon, både eget utført arbeid og innhentet dokumentasjon, samles i en [MeS05.01/01.02-03 Protokoll for metodevalidering/verifisering](#) som til slutt skal godkjennes av koordinator/overbioingeniør på aktuell faggruppe, medisinsk faglig ansvarlig, avdelingssjef og kvalitetsrådgiver.

Alle seksjoner av faggruppene som omfattes av valideringen/verifiseringen skal ha utskrift av godkjent protokoll og oppbevare denne i egen perm for dette. Godkjent protokoll skal også legges på V-område. V:\MED SERVICE\Medisinsk biokjemi\felles\Kvalitet\Validering og verifisering. Med undermapper fordelt på fagområdene: Allergi – Andrologi – Blodgass – Hematologi – Hormoner – Klinisk kjemi – Koagulasjon – Preanalyse – Protein – Rus

Ved metode validering/verifisering på flere like instrumenter, se under PLAN, brukes forenklet protokoll på de instrumenter som ikke har hovedinnkjøringen, se [MeS05.01/01.02-07 Forenklet protokoll for metodeverifisering](#)

2. Ansvar/målgruppe

Avdelingssjef, sjefbioingeniør, medisinsk faglig ansvarlig og kvalitetsrådgiver har det overordnede ansvar. Avdelingssjef peker ut en koordinator.

Koordinator /overbioingeniør/fagbioingeniør har i samarbeid med medisinsk faglig ansvarlig ansvar for planlegging og gjennomføring.

Koordinator innkaller til møter og følger opp arbeidet i hht. planen.

3. Handling

3.1 Plan

Plan for gjennomføring lages av koordinator /overbioingeniør/fagbioingeniør i samarbeid med medisinsk faglig ansvarlig, kvalitetsrådgiver og en IT-ansvarlig bioingeniør før det praktiske arbeidet starter. Avdelingssjef skal godkjenne planen og informere sjefbioingeniør om antatt ressursbruk.

Planen skal inneholde de validering/verifiseringsparametere som anses som nødvendig for analysen, samt krav til resultat av validering/verifisering. Det kan ikke defineres en fast ramme for alle metoder, men alle punkter i planen skal tas stilling til før arbeidet starter. Beskriv hvilken metode man har valgt og begrunn hvorfor. Det skal gå tydelig frem hvor dokumentasjon skal hentes fra dersom ikke laboratoriet selv utfører testing.

[MeS05.01/01.02-02 Plan for metodevalidering/verifisering](#)

Når metoder valideres/verifiseres på flere like instrumenter, foregår hovedinnkjøringen (metodesammenligning og innsamling av dokumentasjon) på EN SEKSJON og koordinator bør være fra den utvalgte seksjonen. Koordinator kan delegere deler av arbeidet til andre seksjoner. Alle instrumenter er omfattet av verifisering av impresisjon og riktighet.

Ved innkjøring av nye analysemetoder på eksisterende utstyr, meldes behov for innkjøring til sjefbioingeniør som melder videre til avdelingssjef. Dersom analysen skal implementeres på flere seksjoner, skal overbioingeniører på disse seksjonene også varsles med en gang. Alle instrumenter er omfattet av verifisering av impresisjon og riktighet.

3.1.1 Praktisk egnethet

Før validering/verifisering starter må man vurdere følgende punkter:

- Vil metoden fungere i laboratoriet?
- Oppfyller metoden et definert behov?
- Føreligger resultater fra eksternt kvalitetsvurdering?
- Preanalytiske variabler
- Postanalytiske variabler
- Dokumentasjon fra leverandøren
- Kostnader

3.1.2 Kvalitetskrav

Før utprøvingen kan starte, må vi sette kvalitetskrav.

Vi setter krav i forhold til presisjon, riktighet og evt andre parametere (eks holdbarhet).

Krav til presisjon kan settes ut fra:

- Krav kan være at en skal verifisere det produsenten angir ($\leq s$ eller CV).
- Krav satt ut fra "State of the art" (hva som er rimelig å forvente ut fra dagens teknologi).
- Krav satt ut fra klinisk nytteverdi.
- Krav satt ut fra akseptgrenser fra eksternt kvalitetsvurdering
- Krav satt ut fra biologisk variasjon (CV_{bw} = intraindividuell biologisk variasjon)
 - Optimalt: $CV_{at} < 0,25 CV_{bw}$
 - Ønsket: $CV_{at} < 0,50 CV_{bw}$
 - Minimum: $CV_{at} < 0,75 CV_{bw}$

CV_{at} : Total analytisk variasjon (reproduserbarhet)

Krav til riktighet kan settes ut fra:

- Biologisk variasjon (CV_{bt} = total biologisk variasjon)
 - Optimalt: B tillatt $< 0,125 CV_{bt}$
 - Ønsket: B tillatt $< 0,250 CV_{bt}$
 - Minimum: B tillatt $< 0,375 CV_{bt}$

$$CV_{bt} = \sqrt{(CV_{bw}^2 + CV_{bb}^2)} \quad (wb = \text{intra, og bb} = \text{inter, -individuell biologisk variasjon}).$$

B: Bias kjent som et konstant avvik/systematisk avvik

- Referanseintervall
 - Optimalt: B tillatt $< 1/32$ av referanseintervallet
 - Ønsket: B tillatt $< 1/16$ "
 - Minimum: B tillatt $< 1/8$ "
- Klinisk nytteverdi
 - Hvis samme analytt måles på flere instrumenter innen laboratorium, bør forskjellen være mindre enn $1/3 CV_{bw}$ (intraindividuell biologisk variasjon)

For data på biologisk variasjon henvises til [Ricos biodatabase](#)

"Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biologic variation."

Ricos biodatabase bygger på Fraser teorien og finnes på Westgaard sin hjemmeside.

3.1.3 Analytisk kvalitet: Presisjon

Beskriv hva man har valgt å gjøre og hvorfor.

3.1.4 Analytisk kvalitet: Riktighet

Beskriv hva man har valgt å gjøre og hvorfor.

3.1.5 Måleområde

Beskriv hva man har valgt å gjøre og hvorfor.

3.1.6 Godkjenning av planen

Planen skal skrives under og godkjennes av avdelingssjef, koordinator, medisinsk ansvarlig og kvalitetsrådgiver.

3.2 Validering/ verifisering av presisjon

Definisjoner:

Presisjon:

Overensstemmelse mellom uavhengige måleresultater oppnådd med en måleprosedyre under spesifiserte betingelser.

Presisjon uttrykkes ved impresisjon og angis i standardavvik (s) og / eller variasjonskoeffisient (CV). Impresisjon er et uttrykk for tilfeldige feil. Vi bestemmer repeterbarhet og intern reproduserbarhet til metoden. Repeterbarheten vurderes i forhold til reproduserbarheten for å finne de vesentligste kildene til tilfeldige feil.

Repeterbarhet:

Målingene utføres under forhold med minst mulig variasjon i analysebetingelsene i eget laboratorium; samme målemetode og måleinstrument, samme operatør og for øvrig samme brukerbetingelser (samme reagenslot, samme kalibrering etc) benyttes. Gir et mål på innen serie variasjon (s_{aw} : standarddeviation analytical within) og er et uttrykk for den minste variasjon som analysemetoden har.

Reproduserbarhet:

Intern reproduserbarhet får man når målingene utføres under forhold med størst mulig variasjon i analysebetingelsene i eget laboratorium med samme metode. Gir et mål på total variasjon (s_{at} : standarddeviation analytical total). Slike variasjoner kan inkludere ulike produksjoner, oppbevaring og behandling av reagens og standard, flere kalibreringer, ulike operatører etc.

Dersom analysen gjøres på flere måleinstrumenter, vil det også gi en variasjon.

Man skal oppgi hvilken del av måleområdet reproduserbarheten gjelder for, og spesifisere hvilke variabler som har inngått i måleperioden.

Ved vurdering av en ny metode må reproduserbarheten vurderes i en periode på minst 20 dager. Reproduserbarheten må også kartlegges i løpet av en lengre tidsperiode (minst tre måneder) for å få med flere variabler. Til dette benyttes data fra intern kvalitetskontroll.

3.2.1 REPETERBARHET OG REPRODUSERBARHET

Alle aktuelle instrumenter skal teste både repeterbarhet og reproduserbarhet. I tillegg skal avdelingen kartlegge reproduserbarheten der resultater fra intern kvalitetskontroll fra alle aktuelle instrumenter danner grunnlaget for beregningen.

Utførelse:

Ved kartlegging av repeterbarhet (s_{av}) benyttes kontrollmateriale eller pasientmateriale. Vanligvis 2-3 prøver (en normal og 1-2 patologiske prøver). Ved kartlegging av reproduserbarhet (s_{re}) må kontrollmateriale benyttes.

- Analyser materialet 21 ganger i samme serie til beregning av repeterbarhet
- Analyser materialet over 21 ulike dager til beregning av reproduserbarhet
- Test resultatene for slengere. Bruk regneark fra NKK se: [NKKs hjemmeside - Metodevalidering - Test for slenger \(Excel ark\)](#)
- Plott resultatene i regneark for beregning av impresisjon. Variabler under testing av reproduserbarhet registreres kontinuerlig i testperioden. Malen finnes på: [MeS05.01/01.02-04 Mal for presisjon - Metodevalidering/ - verifisering](#)

Resultatene og presisjonsparametrene vurderes i forhold til kravene til metodens presisjon angitt ovenfor.

3.2.2 OVERDRAGNING (Carry over)

Definisjon:

Overdraging: Hvilken grad en prøves konsentrasjon av en analytt påvirker den målte konsentrasjon i seriens neste prøve.

Dersom målesystemet muliggjør overdraging, og det ikke foreligger dokumentasjon fra produsenten, bør overdraging undersøkes. Det er spesielt viktig for analyser der konsentrasjonsspennet er stort.

Utførelse:

- En lav og en høy prøve analyseres annen hver gang, eks. 5 ganger hver
- Dersom den lave prøven ikke blir høyere enn den var i utgangspunktet, er ikke carry over påvist
- Dersom instrumentet har egnet program for å teste carry over, kan dette benyttes

3.3 Validering/ verifisering av riktighet

3.3.1 KARTLEGGING AV RIKTIGHET

Definisjoner:

Riktighet: Grad av overensstemmelse mellom gjennomsnittlig verdi oppnådd fra en stor serie måleresultater og en sann verdi. Riktighet er et kvalitativt begrep som forteller i hvilken grad analysemetoden er beheftet med systematisk feil (bias) som uttrykker avviket fra sann verdi. Ved å kalibrere en metode hvor kalibratorens tillagte verdier er sporbare til referansemetode eller referansemateriale høyst mulig i sporbarhetskjeden, etableres sporbarhet for metoden.

Sporbarhet: Egenskap ved resultatet av en måling eller verdien for målestandard slik at den kan relateres til angitte standarder gjennom en ubrutt kjede av sammenligninger, alle med angitt usikkerhet.

Referansemateriale: Et materiale eller stoff hvor en eller flere egenskaper er tilstrekkelig godt kjent til å kunne brukes for kalibrering av utstyr, vurdering av en målemetode eller for å bestemme verdier på materialet eller stoffet

a) Metodesammenligning**Utførelse:**

- Velg ut pasientprøver jevnt fordelt over hele måleområdet, lavt, middels og høyt. Det anbefales minimum 20 pasientprøver, helst i duplikat.
- Analyser prøvene med den komparative metoden (= "kjent" metode) og testmetoden (= ny metode). Undersøkelsen bør helst skje over flere dager, men de samme prøvene må analyseres på begge metodene helst innen samme dag, og aller helst innen et tidsintervall på 4 timer. Hvis man observerer "store" avvik mellom svarene på testmetoden og den komparative metoden på enkelte prøver, bør disse reanalyseres på begge metodene. Dette vil avsløre om forskjellen er reell, eller om det er slengere.
- Kontrollmateriale analyseres med begge metodene i alle serier.

- Resultatene føres inn på regneark fra NKK,

- [NKKs hjemmeside - Metodevalidering - Regresjon, lineær\(excel ark\)](#)

[MeS05.01/01.02-05 Veiledning for regresjon, lineær - NKK regneark](#)

- Dersom regresjonsanalyse er uhensiktsmessig som for eksempel ved et snevert konsentrasjonsnivå, kan man i stede velge parret t-test:
[NKKs hjemmeside - Metodevalidering - T-test](#)
T-test benyttes for å teste om avviket er statistisk signifikant eller ikke.
Forutsetningen for å benytte parret t-test er at det ikke er påvist konsentrasjonsavhengig avvik (=proporsjonalt eller prosentvis avvik).
Dette vurderes ut fra differanseplottene. Selv om det påvises proporsjonalt avvik, kan man dele inn i mindre konsentrasjonsområder og beregne hvert område for seg.

Differanseplot vises når man utfører regresjon med NKKs regneark.

Differansen (y-x) plottes mot y-aksen, mens konsentrasjonen x plottes mot x-aksen.

Plottet vurderes visuelt:

Punktene fordeler seg rundt 0 → ikke avvik mellom metodene.

Punktene fordeler seg over eller under 0 → systematisk avvik mellom metodene.

Punktene stiger eller sunker med økende konsentrasjon → konsentrasjonsavhengig avvik mellom metodene.

b) Bruk av referansemateriale

Ved metodesammenligning bestemmes det om de to metodene har samme riktighet eller ikke, den sier oss ikke noe om metodene gir sann verdi (med mindre den komparative metoden er en referansemetode). En sann verdi må være sporbar til en referansemetode eller et referansemateriale. Bruksstandard ("kalibrator") skal ha oppgitt sporbarhet. Sporbarhet kan verifiseres ved å analysere referansemateriale direkte.

Utførelse:

- Anskaff et referansemateriale (RM) med oppgitt verdi (OV) og standardusikkerhet (uOV) angitt som standardavvik. For rekonstituering og bruk, følg pakningsvedlegg.
- Mål RM og metodens bruksstandard (BS) annenhver gang i en serie, 11 ganger hver. RM₁, BS₁, RM₂, BS₂ RM₁₀, BS₁₀
- Luk ut evt slengere.

[NKKs hjemmeside - Metodevalidering - Test for slengere \(excel ark\)](#)

- Beregn gjennomsnittlig verdi og standardavvik for resultatene for både RM og metodens bruksstandard.
- Vurder gjennomsnittlig verdi av metodens bruksstandard mot dens oppgitte verdi (OV). Er det ikke overensstemmelse må gjennomsnittlig verdi av RM korrigeres før den testes mot den oppgitte verdien av RM.

$$\text{Gjennomsnitt RM korrigert} = \frac{\text{Gjennomsnitt RM (målt)} \times \text{Bruksstandard (oppgitt)}}{\text{Gjennomsnitt bruksstandard (målt)}}$$

- Hypotesetest for korrigert RM mot RMs oppgitte verdi, t-test.

[NKKs hjemmeside - Metodevalidering - Test av riktighet med referansemateriale](#) (Excel regneark)

Her er regnearket for beregning av riktighet ved bruk av NFKK Reference Serum X (Evaluation spreadsheet for X) inkl. sertifikat. Regnearket kan også brukes med andre referansematerialer hvis man endrer dataene for X som er lagt inn i regnearket.

Vurderinger ved metodesammenligning:

Dersom avvikene mellom to metoder er statistisk signifikante, må størrelsen på avvikene vurderes i forhold til kravene til riktighet nevnt ovenfor. Eventuell faktorisering eller endring av referanseområdet må vurderes dersom avviket er klinisk signifikant. Riktigheten av våre analyser blir også vurdert ut fra eksternt kvalitetskontroll

c) Verifisering av riktighet på flere like instrumenter.

Alle aktuelle instrumenter omfattes av validerings-/ verifiseringsarbeidet. Hovedinnkjøringen med metodesammenligning eller bruk av referansematerialet foregår på en seksjon, på ett instrument. Man verifiserer at det ikke er noen statistisk forskjell på hovedinstrument og de andre enkeltinstrumentene ved å sammenligne middelerverdiene på ett og samme kontrollot. Hovedinnkjøringen gjelder således for alle instrumentene.

Utførelse:

- Hovedinstrumentet analyserer kontrollmateriale i minst 2 nivå 11 ganger i samme serie. Ved verifisering av riktighet på klinisk kjemi metoder, vurderes det å ta med en bruksstandard i serien for å korrigere bort eventuelle kalibreringsforskjeller:

$$\text{Korr } \bar{X}_{\text{tr}} = T_{\text{kal}} \cdot \bar{X}_{\text{tr}}$$

$T_{\text{kal}} = \text{oppgitt verdi kalibrator}$
 $\bar{X}_{\text{tr}} = \text{middelverdi kontrollmateriale}$

$\bar{X}_{\text{kal}} = \text{middelverdi kalibrator}$

- Kontroller resultatene for slengere
- [NKKs hjemmeside - Metodevalidering - Test for slengere](#) (excel ark)
- Alle enkeltinstrumenter analyserer kontrollot 11 ganger i samme serie, evt. med korrigering med bruksstandard som beskrevet over.

- Ved innkjøring av immunkjemiske metoder eller andre metoder der en kan vente stor lot-
lot variasjon på reagenser, er det viktig at det benyttes samme reagenslot.
 - Hypotesetest: Er det statistisk signifikant forskjell på middelverdi fra hovedinstrument og
hvert enkelt instrument?
- [NKKs hjemmeside - Metodevalidering - T-test](#)

3.3.2 ANALYTISK SPESIFISITET / INTERFERENS

Definisjoner:

Spesifisitet: En målemetodes evne til å måle bare den komponenten den er forventet å måle.

Interferens: Systematisk feil som skyldes en komponent i prøven, annen enn den som skal måles.

Utførelse:

Interferensforsøk - Høydoseforsøk:

1. Lag en stamløsning som er ca 20 x for sterk i forhold til ønsket sluttkonsentrasjon av
interferenten. (Forslag til slutt konsentrasjon; Hb: 1g/100mL, Bili: 80µmol/L, Triglycerid:
10 mmol/L, Medikamenter 2x øvre verdi i terapeutisk område)
En pasientprøve (evt. pool) deles i to: Interferent prøve og kontrollprøve.
 2. Prøven med og uten interferent måles n ganger i en serie og gjennomsnittlig verdier
beregnes.
 3. Sammenlign de to gjennomsnittsverdiene med t-test.
- [NKKs hjemmeside - Metodevalidering - T-test](#)

Vurdering:

- Dersom ikke interferens påvises, må det antas at det ikke er interferens ved lavere verdier
heller og forsøket avsluttes.
- Dersom interferens påvises, må konsentrasjonen av interferent og graden av interferens
bestemmes. (Dose respons forsøk)

Dose respons forsøk:

Utføres ved å lage en forfynningsrekke av prøven tilsatt interferent i høy konsentrasjon
(interferentprøve) og kontrollprøven (begge forfynnet 19/20, se høydoseforsøk punkt 1).

3.3.3 GJENFINNING (Recovery)

Gjenfinningsforsøk kan være et supplement til testing av riktighet, man får med konkurrerende
interferens. Dette er en test på riktighet når man har begrenset tilgang på referansemeter/
referansemateriale.

Utførelse:

Økende mengder analytt tilsettes en pasientprøve med lav konsentrasjon av analytten. Analysert
mengde gjenfunnet analytt (%) oppgis. Svakheterne ved slike forsøk er at tilsats av ren analytt ikke
alltid er identisk med analyttens molekylære form in vivo, og at en eventuell konstant bias ikke vil
kunne oppdages.

3.3.4 LINEARITET

Definisjon:

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

Utførelse:

En høy og en lav prøve fortynnes med hverandre i minst fem konsentrasjoner fordelt over hele måleområdet. Prøvene måles i en serie. Resultatene plottes i et xy-diagram og lineariteten vurderes visuelt.

3.3.5 HOLDBARHET

Gjelder både reagens, målestandard, kontroll og analytt i prøven. Produsentens fastsettelse av holdbarhet dokumenteres av pakningsvedlegg. Brukerne skal overholde betingelsene beskrevet av produsenten. Dersom man mener oppgitt holdbarhet er unødvendig kort, skal annen holdbarhet valideres med eget holdbarhetsforsøk eller dokumentasjon fra andre brukere som har utført slike forsøk under like betingelser (samme metode og lagringsbetingelser)

Det benyttes to metoder for testing av holdbarhet/stabilitet av prøvemateriale:

Buksemodell og replikatmodell. Begge metodene kan benyttes till testing av normalbetingelser, mens replikatmodellen kun kan benyttes ved introduksjon av for eksempel frysing/tining i holdbarhetstesting.

Se [Link til NKKs hjemmeside](#):

[To metoder for testing av stabilitet av prøvematerialet](#)

3.3.6 REFERANSEOMRÅDE

De fleste referansegrenser er basert på analyseresultater fra en antatt frisk referansepopulasjon. Referanseområdet er vanligvis intervallet som inneholder de midterste 95 % av populasjonen. Referanseområdet kan være avhengig av kjønn og alder. Følgende strategier benyttes når man bestemmer referanseområdet for laboratoriets analysemetoder:

- Testet av laboratoriet selv
- Laboratoriet viderefører referanseområdet man tidligere har valgt
- Bestemt ved samarbeid med andre laboratorier
- Hentet fra vitenskapelig litteratur, evt. konsensus fra ekspertgruppe
- Hentet fra produsentens metodedokumentasjon
- I laboratoriet benyttes nesten uten unntak velprøvde analyser som også andre laboratorier i Norge benytter. Det er derfor svært sjelden det er nødvendig å utføre en validering av referanseområdet. Referanseområder beskrevet av produsent bør verifiseres om data ikke foreligger fra andre brukere med tilsvarende pasientgrunnlag, eller man finner systematisk avvik i sammenligning med metoder som har samme referanseområde.

Utførelse:

Kan skje ved hjelp av omregnings formler fra regresjonsanalysen:

Sett inn verdien for referansegrensene for gammel metode inn i regresjonsligningen funnet ved metodesammenligningen og finn referansegrensene for ny metode. Dersom forskjellen ikke er større enn krav til bias kan de gamle referansegrensene benyttes.

(Prøveresultatene bør ligge innenfor referanseområdet med god spredning og spesielt bør referansegrensene til gammel metode være dekket. Dersom metodesammenligningen inneholder mange patologiske resultater bør man derfor ekskludere disse og beregne ny regresjonsligning. Bruk da denne ligningen for å verifisere referanseområdet).

Eksempel på verifisering av referansegrense ved hjelp av regresjonsligning fra metodesammenligning:

$$X_{\text{gammel metode}} = Y_{\text{ny metode}} - a_{\text{intercept}} / b_{\text{slope}}$$

Serum folat:

Referanseområder:

Pakningsvedlegg Elecsys 2010: 7,0 – 39,7 nmol/l

Auto-Delfia: 5,8 – 23 nmol/l

Modular E, 2 laboratorier >8 nmol/l

Blåboka (veiledende): 6,0 – 24 nmol/l

| Metode | tid | R | Slope | IC | 6,0 | KOMMENTARER |
|---------|---------|-------|---------|-------|-----|---|
| Auto | Des 03 | 0,98 | *0,886 | 1,672 | 8,6 | Samme prøver som over. ny kal. lot |
| Auto D | Jan 04 | 0,99 | *1,013 | 3,287 | 9,2 | Akt. i reagens synker over tid i instr. |
| Auto D | mars 04 | 0,97 | **0,777 | 3,088 | 7,8 | Samme prøver nytt reagens ny kal. |
| Auto D | M04 | 0,97 | **1,282 | 0,421 | 8,1 | Kun lave resultater |
| Centaur | M04 | 0,888 | **0,833 | 1,753 | 6,7 | Likt opp til ca 15, ikke korr. over dette |

6,0 refererer til referanseområdet i blåbok. Utregningen viser hva dette resultatet ville blitt på Modular E satt inn i ligningen for hver metode.

* Annen metode (6) = slope x Modular E + intercept.

**Modular E = Annen metode (6) x slope + Intercept.

Konklusjon: 2 store laboratorier som benytter Modular E: bruker <8 som lav referansegrense.

Det blir valgt å benytte <8 som lav referansegrense.

En fare ved denne metoden er at om det byttes analysemetode flere ganger og denne metoden for endring av referanseområde er benyttet, vil hver omregning kunne akkumulere avvik.

3.4 Validering/ verifisering av måleområde

Definisjoner:

- Måleområde: Det området for målestørrelsen hvor målingen kan foretas med en angitt usikkerhet.
- Nedre deteksjonsgrense: Laveste måleresultat av et stoff som kan påvises ved fraværet av substansen.
- Funksjonell sensitivitet: For komponenter der nedre grense er av stor diagnostisk betydning, settes ofte krav om at impresisjonen skal være <20 %. Denne kvantiteringsgrensen kalles funksjonell sensitivitet.
- Øvre målegrense: Bestemmes av verdien på høyeste kalibrator eller høyeste verdi som gir linearitet.
- Analytisk sensitivitet: Den minste endring i konsentrasjon som gir en signifikant detekterbar endring i avlesning (slope på kalibreringskurven).

3.4.1 NEDRE DETEKSJONSGRENSE

Utførelse:

- En 0-prøve (0-kalibratoren) måles minst 10 ganger, helst 20.
- Beregn middelerdi og standardavvik. (Hvis rådata (eks. absorbans) er tilgjengelig, er det best å benytte disse ved beregningen før konvertering til konsentrasjon)
- Grensen settes til:
middelerdi + 3 standardavvik (ved stigende standardkurve)
eller
middelerdi – 3 standardavvik (ved fallende standardkurve)

3.4.2 FUNKSJONELL SENSITIVITET

Utførelse:

- En 0-prøve og 5-6 andre prøver med ulike konsentrasjoner i det lave området måles 20 ganger.
- Beregn CV
- Fremstill CV som en funksjon av konsentrasjon (xy-diagram).
- Funksjonell sensitivitet er den laveste konsentrasjon der CV er 20 %.

3.5 Ekstern kvalitetskontroll (EKV)

Hvis mulig delta på EKV-program.

3.6 Nedlasting av regneark fra NKKs hjemmeside:

<http://www.nkk-ekv.com/84240410>

- Klikk på aktuelt regneark – save as – på H-område/sikker sone eller ditt eget område.
- Gå til H-område og finn dokumentet – lagre som – Filtype = excel 97 -2003 arbeidsbok på V-område og riktig fagområde:
V:\MED SERVICE\Medisinsk biokjemi\felles\Kvalitet\Validering og verifisering. Med undermapper fordelt på fagområdene: Allergi – Andrologi – Blodgass – Hematologi – Hormoner – Klinisk kjemi - Koagulasjon – Preeanalyse – Protein – Rus
Bruk instrumentet/lokalisasjon/analyse/type regneark i filnavnet.
f.e. ABL-Lillehammer-pH-presisjon og legg filen under Blodgass.

Referanser

- [MeS05.01/01.02-02](#) Plan for metodevalidering/verifisering.
[MeS05.01/01.02-03](#) Protokoll for metodevalidering/verifisering.
[MeS05.01/01.02-04](#) Mal for presisjon - Metodevalidering/ - verifisering
[MeS05.01/01.02-05](#) Veiledning for regresjon, lineær - NKK regneark
[MeS05.01/01.02-07](#) Forenklet protokoll for metodeverifisering
<http://www.Westgard.com/biodatabase1.htm>: "Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biologic variation"

Na-dok 48a Klinisk Kjemi (2004) Norsk Akkreditering.
Verifiseringsprosedyre fra Diakonhjemmet
Metodevalidering- Analytisk kvalitet, 2006 fra Tønsberg
[NKKs hjemmeside - Metodevalidering](#)

7.5 Vedlegg nr: 5 - Medsendt vedlegg til reagenset fra produsent



Total Bile Acids Assay Kit

Configuration

The Diazyme Total Bile Acids reagent is provided in bulk and the following kit configurations:

| Instrument | Catalog No. | Kit Size |
|---------------|-------------|--|
| Universal | DZ042A-K | R1: 2 x 60 mL R2: 2 x 20 mL Cal: 1 x 2 mL |
| Half Kit | DZ042A-K01 | R1: 2 x 30 mL R2: 2 x 10 mL Cal: 1 x 5 mL |
| Beckman CX/LX | DZ042A-KB1 | R1: 2 x 60 mL R2: 2 x 20 mL Cal: DZ042A-CAL* |
| Olympus AU400 | DZ042A-KY1 | |
| Hitachi 917 | DZ042A-KH1 | |

* Note: Calibrators Sold Separately

Intended Use

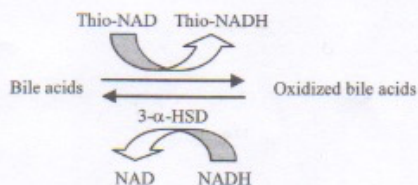
Diazyme Total Bile Acids Assay Kit is intended for the *in vitro* quantitative determination of total bile acids (TBA) in human serum samples. Total bile acids are metabolized in the liver and serve as a marker for normal and abnormal liver function. Serum total bile acids are increased in patients with liver disease.

Clinical Significance^{1,2}

Total bile acids are metabolized in the liver and, hence, serve as a marker for normal liver function. Serum total bile acids are increased in patients with acute hepatitis, chronic hepatitis, liver sclerosis and liver cancer.

Assay Principle

The reagents of the assay kit are in a stable liquid formulation that allows for ease of use coupled with enhanced performance characteristics. In the presence of Thio-NAD, the enzyme 3- α -hydroxysteroid dehydrogenase (3- α -HSD) converts bile acids to 3-keto steroids and Thio-NADH. The reaction is reversible and 3- α -HSD can convert 3-keto steroids and Thio-NADH to bile acids and Thio-NAD. In the presence of excess NADH, the enzyme cycling occurs efficiently and the rate of formation of Thio-NADH is determined by measuring specific change of absorbance at 405 nm.



Materials Required But Not Provided

An analyzer capable of dispensing two reagents and of measuring absorbance at 405 nm with temperature control (37°C).

Diazyme Laboratories

12889 Gregg Court
Poway, CA 92064, USA
Tel: 858-455-4768 / Fax: 858-455-3701
Internet: support@diazyme.com
Website: www.diazyme.com

Reagent Composition

| Reagent | Composition |
|------------|---|
| R1 | Thio-NAD >0.1mM, Buffer |
| R2 | 3- α -HSD >2kU/L, NADH >0.1 mM, Buffer |
| Calibrator | Conjugated cholic acids, Buffer |

Reagent Preparation

Diazyme Total Bile Acids Assay Reagents are ready-to-use, liquid reagents. The intrinsic yellow to yellow-brown color of the TBA reagent does not interfere with the test.

Reagent Stability and Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date printed on the label. Reagents are light sensitive and should be stored at 2-8°C. Reagents from different lots must not be interchanged.

Specimen Collection and Handling

Use fresh patient serum samples. TBA concentration is increased after meals; hence, samples should be collected under fasting conditions. EDTA treated plasma or Lithium heparin plasma samples are suitable for use. Serum or plasma samples are stable for a week at 4°C, or for 3 months at -20°C.

Specimens from patients, who are on Ursodeoxycholic Acid (UDCA) treatment, are not suitable for use with TBA Assay (DZ042A).

Precautions

1. For *in vitro* diagnostic use.
2. Specimens and reagents containing human sourced materials should be handled as if potentially infectious, using safe laboratory procedures such as those outlined in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (HHS Publication Number [CDC] 93-8395).
3. As with any diagnostic test procedure, results should be interpreted considering all other test results and the clinical status of the patient.
4. Avoid swallowing and contact with skin or mucous membranes.

Assay Procedure

1. Pipette 270 μ l R1 into cuvette, to which 4 μ l of sample, standard, or water (as blank) is added.
2. Incubate at 37°C for 3 minutes and blank (autozero) absorbance at 405 nm.
3. Pipette 90 μ l of R2 into the cuvette, mix and immediately monitor the absorbance at 405 nm for 2 minutes.
4. Calculate $\Delta A_{405}/\text{min}$ for sample, blank, and standard by subtracting O.D. value at 60 seconds from O.D. value at 120 seconds.
$$\Delta A_{405}/\text{min} = (\text{O.D. at 120 sec} - \text{O.D. at 60 sec})$$
5. Determine total bile acids concentration using the equation below:

Sample (TBA, $\mu\text{mole/L}$) =

$$\frac{\text{Sample } \Delta A_{405}\text{nm}/\text{min} - \text{Blank } \Delta A_{405}\text{nm}/\text{min}}{\text{Standard } \Delta A_{405}\text{nm}/\text{min} - \text{Blank } \Delta A_{405}\text{nm}/\text{min}} \times \text{Standard}$$

Diazyme Laboratories

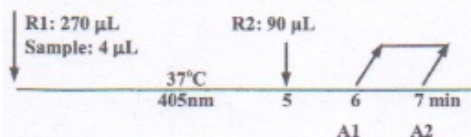
70003 Rev. S

Page 1 of 2

Effective: 10/20/10

If sample bile acids exceed linear range (1-180 $\mu\text{mole/L}$), dilute sample with 0.9% NaCl before assay.

Assay Scheme for Chemistry Analyzers



Application sheets for use of Diazyme Total Bile Acids Enzymatic Cycling Assay on automated clinical chemistry analyzers are available upon request. Please call 858-455-4768 or email: support@diazyme.com.

Calibration

A bile acids calibrator is included with the reagents and, along with 0.9% saline as a zero reference, should be used as directed to calibrate the procedure. Calibration frequency may vary and is dependent on instrument application. For more information, please call 858-455-4768 or email: support@diazyme.com.

Quality Control

We recommend that each laboratory use bile acid controls to validate the performance of bile acid reagents. A set of normal and abnormal range bile acid controls is available from Diazyme Laboratories (Cat. # DZ042A-Con). If the results from the controls fall outside the acceptable limits, as determined by the manufacturer, the test should not be performed. We recommend that your quality control testing follows federal, state, and local guidelines or accreditation requirements.

Results

Bile acids concentration is expressed as $\mu\text{mol/L}$ ($\mu\text{Eq/L}$).

Reference Range³

Serum or plasma containing 0-10 $\mu\text{mole/L}$ bile acids is considered normal range. We suggest that each laboratory establish a range of normal values for the population in their region.

Limitations

- A sample with a bile acids level exceeding the linearity limit should be diluted with 0.9% saline and reassayed incorporating the dilution factor in the calculation of the value.
- Specimens from patients, who are on Ursodeoxycholic Acid (UDCA) treatment, are not suitable for use with TBA Assay (DZ042A).

Performance Characteristics (Hitachi 717)

These performance characteristics were determined at Diazyme Laboratories using automated procedures on a Hitachi 717.

Accuracy

The performance of this assay was compared with the performance of a similar total bile acids assay on a Hitachi 717 analyzer using serum samples.

Fifty-two (52) serum samples ranging from 0.47 – 131.25 $\mu\text{mol/L}$ gave a correlation coefficient of 0.9918. Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 1.1536 (\text{reference method}) - 0.8567 \mu\text{mol/L}$$

A matched set of serum and lithium heparin plasma samples ranging from 0.14 – 21.18 $\mu\text{mol/L}$ gave a correlation coefficient of 0.9805. Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{Lithium heparin} = 0.9972 (\text{serum}) + 0.1178 \mu\text{mol/L}$$

Precision Studies

The intra-assay precision and inter-assay precision were evaluated in samples containing two different bile acid levels (8 μM and 23 μM). The inter-assay precision was evaluated by testing these two level specimens (low = 8 μM and high = 23 μM) in 20 runs. All tests were done using the Hitachi 717 Auto-analyzer instrument. Precision data is summarized in the table below:

Intra-Assay Precision

| | Level 1 (8 μM) | Level 2 (23 μM) |
|----------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Number of Replicates | 20 | 20 |
| Mean | 7.93 | 23.5 |
| SD | 0.31 | 0.3 |
| CV% | 3.9% | 1.3% |

Inter-Assay Precision

| | Level 1 (8 μM) | Level 2 (23 μM) |
|----------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Number of Replicates | 20 | 20 |
| Mean | 8.12 | 23.0 |
| SD | 0.24 | 0.61 |
| CV% | 2.9% | 2.6% |

Linearity

Linearity studies using a Hitachi 717 analyzer showed that Diazyme Total Bile Acids assay has a linear range from 0 to 180 μM .

Interference

Interference for the Diazyme Total Bile Acids Assay was evaluated on a Hitachi 717 analyzer. The following substances normally present in serum produced less than 10% deviation at the listed concentrations: Triglycerides at 750 mg/dL, Ascorbic acid at 50 mg/dL, Bilirubin at 50 mg/dL and Hemoglobin at 500 mg/dL.

References

1. LaRusso, N.F. et al., Dynamics of Enterohepatic Circulation of Bile Acids, *New Engl J M*, 291, 689-692, (1974).
2. Skrede S. et al: Bile acids measured in serum during fasting as a test for liver disease, *Clin Chem* 24: 1095-1099, 1978
3. Wu, Alan H. B. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*. 4th ed. St. Louis, MO: Saunders/Elsevier, 2006. 170-171.



7.6 Vedlegg nr: 6 - Medsendt vedlegg til lav kontroll fra produsent

2014-06 800153

Seronorm™
Human

REF 200805 LOT 1401001 2°C 8°C 2018-02 10 x 5 mL IVD CE

Collaborating laboratories

The analytical data of Seronorm™ Human have been elaborated in collaboration with the following independent laboratories:

- Department of Clinical Chemistry, Åsker og Bærum Hospital, Bærum, Norway
- Først Medical Laboratory, Oslo, Norway
- The Laboratory of SERO AS, Billingstad, Norway
- Department of Medical Biochemistry, St.Olav's Hospital, Trondheim, Norway

EN

Storage and stability
This product will be stable until the expiry date when stored unopened at 2-8 °C.
After reconstitution, all analytes are stable for 7 days when stored tightly capped at 2-8 °C.
Vials to be aliquoted and frozen within 30 minutes are stable 1 month at ≤ -20 °C.

Limitations
All stability data require that bacterial contamination is avoided. Increased turbidity may indicate bacterial growth.
CK is sensitive to temperature changes.
CK and Bilirubin are sensitive to light.

Assignment of values
In line with the requirements of the European IVD Directive 98/79/EC, the reference values are based on reference methods or transferred values in accordance with certified reference materials. At the time of establishment of this package insert, this reference method or material constitute the top of the calibration hierarchy for the given components. These values are presented with shaded background.
The mean analytical values and acceptable ranges given in the table below are derived from replicate analyses obtained through collaboration with a number of independent laboratories and they are specific for this lot. The uncertainty of the analytical value is presented as a single number, U (with a coverage factor k = 2), which takes into account various factors including imprecision of the method applied for the assignment as well as the stability of the given component. Individual laboratory means should fall within the acceptable range. However, variations in the analytical value and acceptable range for each component may vary over time due to differences in reagent and/or calibrator lots as well as the instrument and/or method used. It is therefore recommended that each laboratory establishes its own analytical mean and acceptable range and only use the provided values as a guide. If applicable, the Rilibak range (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)) is provided.
The value assignment has been established in accordance with the Essential Requirements (Annex I) of the IVD Directive) 98/79/EC, and the ISO 17511) International standard.

FR

Conservation et stabilité
Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption lorsqu'il est conservé non ouvert à 2-8 °C.
Après reconstitution, tous les analytes sont stables pendant 7 jours si la solution est conservée, bien fermée, entre 2 et 8 °C.
Les flacons aliquotés et congelés dans les 30 minutes à ≤ -20 °C sont stables pendant un mois.

Limitations
Toutes les données de stabilité exigent l'absence de contamination bactérienne. Une solution trouble du contenu du flacon peut signifier la croissance de bactéries.
La CK est sensible aux variations de température.
La CK et la bilirubine sont sensibles à la lumière.

Attribution des valeurs
Conformément aux dispositions de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro, les valeurs de référence se basent sur les méthodes de référence ou les valeurs transférées conformément aux matériels de référence certifiés. Au moment de la rédaction de cette notice, cette méthode ou ce matériel de référence sont au sommet de la hiérarchie pour les composants donnés. Ces valeurs sont présentées sur fond gris.
Les valeurs analytiques moyennes et les plages acceptables présentées dans le tableau ci-dessous sont dérivées d'analyses en parallèle obtenues par le biais d'une collaboration avec plusieurs laboratoires indépendants et sont spécifiques à ce lot. L'incertitude de la valeur analytique est présentée sous forme de nombre unique, U (avec un facteur de couverture K = 2), qui tient compte de divers facteurs, notamment l'imprécision de la méthode appliquée pour le projet, ainsi que la stabilité dudit composant. Les moyennes de laboratoire individuelles doivent entrer dans la plage acceptable. Cependant, des variations de la valeur analytique et de la plage acceptable pour chaque composant peuvent apparaître au fil du temps en raison de différences de lots de réactif et/ou de calibrateur ainsi que de l'instrument et/ou la méthode utilisée(s). Chaque laboratoire est donc invité à établir ses propres moyennes analytiques et plage acceptable, et à n'utiliser les valeurs fournies qu'à titre d'information. Le cas échéant, la plage Rilibak (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)) est fournie.
L'attribution de valeurs a été établie conformément aux Exigences essentielles (Annexe I) de la Directive 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro), et la Norme internationale ISO 17511).

DE

Lagerung und Stabilität
Dieses Produkt ist bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil wenn es bei 2-8 °C ungeöffnet gelagert wird.
Nach der Rekonstruktion sind alle Analyten für 7 Tage stabil, wenn sie dicht geschlossen bei 2-8 °C.
Der Inhalt Fläschchen ist nach Aliquotieren und Einfrieren innerhalb von 30 Minuten bei ≤ -20 °C 1 Monat stabil.

Einschränkungen
Die Stabilitätsdaten gelten nur, wenn keine bakterielle Kontamination vorliegt. Starke Trübung kann ein Hinweis auf Bakterienwachstum sein.
CK reagiert auf Temperaturänderungen empfindlich.
CK und Bilirubin sind lichtempfindlich.

Zuordnung von werten
In Übereinstimmung mit den Vorschriften der Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika basieren die Referenzwerte auf Referenzverfahren oder extrapolierten Werten zertifizierter Referenzmaterialien. Zum Zeitpunkt der Ausarbeitung dieser Packungsbeilage ist das Referenzverfahren oder -material die erste Wahl für die Kalibrierung der fraglichen Komponente. Diese Werte werden mit schattiertem Hintergrund gezeigt.
Die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten durchschnittlichen analytischen Werte und erlaubten Bereiche sind mittels wiederholter Analysen ermittelt, die durch Zusammenarbeit mit einer Reihe unabhängiger Labors erlangt wurden und spezifisch für diese LOT sind. Die Unsicherheit des analytischen Wertes wird in einer einzigen Zahl, U (mit einem Abdeckungsfaktor K = 2) dargestellt, die verschiedene Faktoren berücksichtigt, darunter die Ungenauigkeit des für die Zuordnung angewandten Verfahrens sowie die Stabilität der gegebenen Komponente. Die einzelnen Labormittelwerte müssen innerhalb des zulässigen Bereichs liegen. Abweichungen im analytischen Wert und zulässigen Bereich für jede Komponente können im Laufe der Zeit aufgrund von Unterschieden im Reagenz und/oder den Kalibratorchargen sowie des verwendeten Instruments und/oder Verfahrens variieren. Deshalb wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen analytischen Durchschnittswert und zulässigen Bereich festlegt und die bereitgestellten Werte lediglich als Orientierungshilfe verwendet. Falls zutreffend, wird der Rilibak Bereich (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)) angegeben.
Die Zuordnung der Werte erfolgte in Übereinstimmung mit Anhang 1 der IVD-Richtlinie) 98/79/EG, „Grundlegende Anforderungen“, und mit dem internationalen Standard ISO 17511).

ES


Conservación y estabilidad
Este producto permanecerá estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserve sin abrir a 2-8 °C.
Tras la reconstitución, todos los analitos son estables durante 10 días cuando se conservan tapados herméticamente a 2-8 °C.
Las porciones distribuidas en frascos y congeladas en un plazo de 30 minutos a ≤ -20 °C son estables durante 1 mes.

Limitaciones
Todos los datos de estabilidad requieren que se evite contaminación bacteriana. Un aumento de la turbidez puede ser un indicio de crecimiento bacteriano.
La creatina-cinasa es sensible a los cambios de temperatura.
La creatina-cinasa y la bilirrubina son sensibles a la luz.

Asignación de valores
De acuerdo con los requisitos de la Directiva 98/79/CE sobre DIV, los valores de referencia se basan en métodos de referencia o valores transferidos de conformidad con materiales de referencia certificados. En el momento de la elaboración de este prospecto de envase, este material o método de referencia constituye el punto más alto de la jerarquía de calibración para los componentes dados. Estos valores se presentan con fondo sombreado.
Los valores analíticos medios y los intervalos aceptables indicados en la tabla siguiente provienen de análisis repetidos obtenidos mediante la colaboración con una serie de laboratorios independientes y son específicos para este lote. La incertidumbre del valor analítico se presenta como un número único, U (con un factor de correlado k = 2), que tiene en cuenta diversos factores, incluida la imprecisión del método aplicado para la asignación, así como la estabilidad del componente dado. Las medias de cada uno de los laboratorios deberían encontrarse dentro del intervalo aceptable. Sin embargo, con el tiempo pueden producirse variaciones en el valor analítico y el intervalo aceptable para cada componente debido a diferencias en los lotes de reactivos o calibradores, así como en el instrumento o método empleado. Por tanto, se recomienda que cada laboratorio establezca su propia media analítica y su propio intervalo aceptable y utilice los valores facilitados únicamente como guía. Si procede, se facilita el intervalo Rilibak (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)).
La asignación de valores se ha establecido de conformidad con los Requisitos esenciales (Anexo I) de la Directiva sobre IVD) 98/79/CE y la norma internacional ISO 17511).

| Component | Analytical value | U | Method/Instrument | Traceability | Acceptable range |
|--------------------|------------------------------|-------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| ALAT | 46 U/L | 5 | IFCC (37 °C) with PSP activation | IFCC | 41 - 52 U/L |
| | 0,77 µkat/L | 0,09 | | | 0,68 - 0,86 µkat/L |
| | 43 U/L | 4 | IFCC (37 °C) without PSP activation | IFCC | 38 - 48 U/L |
| | 0,72 µkat/L | 0,07 | | | 0,63 - 0,80 µkat/L |
| Albumin | 45,7 g/L | 3,6 | BCG | CRM 470 | 40,0 - 51,4 g/L |
| | 4,57 g/dL | 0,36 | | | 4,00 - 5,14 g/dL |
| ALP | 88 U/L | 9 | IFCC (37 °C) | IFCC | 76 - 99 U/L |
| | 1,46 µkat/L | 0,15 | | | 1,27 - 1,65 µkat/L |
| Amylase, pancreas | 55 U/L | 4 | Enzymatic colorimetry (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 46 - 63 U/L 3) |
| | 0,91 µkat/L | 0,07 | | | 0,76 - 1,06 µkat/L |
| Amylase, total | 92 U/L | 6 | IFCC (37 °C) | IFCC | 80 - 104 U/L 3) |
| | 1,54 µkat/L | 0,10 | | | 1,33 - 1,74 µkat/L |
| Apolipoprotein A1 | 1,48 g/L | 0,13 | Immunonephelometry | BCR 393 | 1,23 - 1,73 g/L 3) |
| | 148 mg/dL | 13 | | | 123 - 173 mg/dL |
| Apolipoprotein B | 0,76 g/L | 0,07 | Immunonephelometry | WHO IRP SP3-07 | 0,62 - 0,90 g/L 3) |
| | 76 mg/dL | 7 | | | 62 - 90 mg/dL |
| ASAT | 46 U/L | 5 | IFCC (37 °C) with PSP activation | IFCC | 40 - 51 U/L |
| | 0,76 µkat/L | 0,09 | | | 0,68 - 0,85 µkat/L |
| | 41 U/L | 5 | IFCC (37 °C) without PSP activation | IFCC | 36 - 45 U/L |
| | 0,68 µkat/L | 0,08 | | | 0,60 - 0,75 µkat/L |
| Bile Acid | 14 µmol/L | 2 | Enzymatic, 3-α-HSD | | 11 - 18 µmol/L 3) |
| Bilirubin, direct | 5,5 µmol/L | 0,6 | Diazo | Roche reagent - manual measurement | 4,3 - 6,7 µmol/L 3) |
| | 0,32 mg/dL | 0,04 | | | 0,25 - 0,39 mg/dL |
| Bilirubin, total | 12,6 µmol/L | 1,4 | DPD | Doumas method | 9,9 - 15,4 µmol/L |
| | 0,74 mg/dL | 0,08 | | | 0,58 - 0,90 mg/dL |
| Calcium | 2,27 mmol/L | 0,12 | Arsenazo III | SRM 905b | 2,13 - 2,41 mmol/L |
| | 9,1 mg/dL | 0,5 | | | 8,6 - 9,7 mg/dL |
| | 2,32 mmol/L | 0,08 | NM-BAPTA | SRM 956c L2 | 2,18 - 2,45 mmol/L |
| | 9,3 mg/dL | 0,3 | | | 8,7 - 9,8 mg/dL |
| Chloride | 113 mmol/L | 4 | Direct ISE | | 108 - 118 mmol/L |
| | 401 mg/dL | 13 | | | 383 - 420 mg/dL |
| | 105 mmol/L | 5 | Indirect ISE | Gravimetry | 100 - 109 mmol/L |
| | 371 mg/dL | 17 | | | 354 - 388 mg/dL |
| Cholesterol, HDL | 0,88 mmol/L | 0,09 | Direct enzymatic colorimetry (Roche) | CDC reference method | 0,70 - 1,06 mmol/L 3) |
| | 34 mg/dL | 3 | | | 27 - 41 mg/dL |
| Cholesterol, LDL | 2,75 mmol/L | 0,24 | Direct enzymatic colorimetry (Roche) | beta quantification method | 2,28 - 3,22 mmol/L 3) |
| | 106 mg/dL | 9 | | | 88 - 125 mg/dL |
| Cholesterol, total | 3,99 mmol/L | 0,31 | CHOD/PAP | ID-MS | 3,67 - 4,30 mmol/L 3) |
| | 154 mg/dL | 12 | | | 142 - 166 mg/dL |
| Cholinesterase | 7,91 kU/L | 0,71 | Butyrylthiocholin (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 6,49 - 9,33 kU/L 3) |
| | 132 µkat/L | 12 | | | 108 - 156 µkat/L |
| CK | 115 U/L | 15 | IFCC (37 °C) | IFCC | 100 - 131 U/L 3) |
| | 1,92 µkat/L | 0,26 | | | 1,66 - 2,18 µkat/L |
| CK-MB | 17 U/L | 3 | Immunological UV | ERM-AD455/IFCC | 10 - 23 U/L 3) |
| | 0,28 µkat/L | 0,06 | | | 0,17 - 0,39 µkat/L |
| Copper | 18,5 µmol/L | 1,5 | ICP-MS | SRM 3114 | 15,5 - 21,5 µmol/L 3) |
| | 117 µg/dL | 10 | | | 98 - 136 µg/dL |
| Creatinine | 80 µmol/L | 6 | Enzymatic colorimetry | ID-MS | 71 - 90 µmol/L |
| | 0,91 mg/dL | 0,07 | | | 0,80 - 1,01 mg/dL |
| | 86 µmol/L | 8 | Modified Jaffe with rate blanking | HPLC | 76 - 96 µmol/L |
| | 0,98 mg/dL | 0,09 | | | 0,86 - 1,09 mg/dL |
| CRP | 6,7 mg/L | 0,5 | Immunoturbidimetry | ERM-DA472 | 5,8 - 7,6 mg/L |
| | 0,67 mg/dL | 0,05 | | | 0,58 - 0,76 mg/dL |
| Digoxin | 1,0 nmol/L | | Added amount | | |
| | 0,8 ng/ml | | | | |
| Ferritin | 48 µg/L | 5 | FEIA | WHO 1st IS 80/602 | 41 - 54 µg/L |
| | 107 pmol/L | 11 | | | 93 - 122 pmol/L |
| GGT | 40 U/L | 3 | IFCC (37 °C) | IFCC | 35 - 44 U/L |
| | 0,66 µkat/L | 0,05 | | | 0,59 - 0,74 µkat/L |
| GLDH | 6,3 U/L | 0,8 | DGKC (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 4,6 - 8,0 U/L 3) |
| | 0,11 µkat/L | 0,01 | | | 0,08 - 0,13 µkat/L |
| Glucose | 4,50 mmol/L | 0,38 | HK/G6P-DH | ID-MS | 4,00 - 4,99 mmol/L |
| | 81 mg/dL | 7 | | | 72 - 90 mg/dL |
| HRDH | 126 U/L | 11 | DGKC (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 105 - 147 U/L 3) |
| | 2,10 µkat/L | 0,18 | | | 1,75 - 2,46 µkat/L |
| IgA | 2,35 g/L | 0,20 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 2,06 - 2,63 g/L |
| | 0,235 g/dL | 0,020 | | | 0,206 - 0,263 g/dL |
| IgG | 10,5 g/L | 0,8 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 9,5 - 11,6 g/L |
| | 1,1 g/dL | 0,1 | | | 0,9 - 1,2 g/dL |
| IgM | 1,01 g/L | 0,08 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 0,88 - 1,14 g/L |
| | 0,10 g/dL | 0,01 | | | 0,09 - 0,11 g/dL |
| Iron | 20,3 µmol/L | 1,5 | Ascorbate/FerroZine | Primary reference material | 17,3 - 23,3 µmol/L 3) |
| | 113 µg/dL | 8 | | | 96 - 130 µg/dL |
| Lactate | 2,0 mmol/L | 0,2 | LOD/POD | Primary Standard | 1,8 - 2,3 mmol/L |
| | 18,5 mg/dL | 1,7 | | | 16,4 - 20,5 mg/dL |
| LDH | 145 U/L | 19 | IFCC (37 °C) | IFCC | 126 - 164 U/L 3) |
| | 2,43 µkat/L | 0,32 | | | 2,11 - 2,75 µkat/L |
| Lipase | 47 U/L | 5 | Enzymatic colorimetry (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 42 - 53 U/L |
| | 0,79 µkat/L | 0,08 | | | 0,70 - 0,89 µkat/L |
| Lithium | 0,71 mmol/L | 0,07 | Photometry | SRM 3125a | 0,64 - 0,78 mmol/L 3) |
| | 0,49 mg/dL | 0,05 | | | 0,44 - 0,54 mg/dL |
| Magnesium | 0,87 mmol/L | 0,10 | Xylydyl-blue | AA5 | 0,77 - 0,97 mmol/L 3) |
| | 2,11 mg/dL | 0,24 | | | 1,87 - 2,35 mg/dL |
| Osmolality | 288 mOsm/kg H ₂ O | 20 | Freezing point depression | SRM 919 | 249 - 327 mOsm/kg H ₂ O 3) |
| | 288 mmol/kg H ₂ O | 20 | | | 249 - 327 mmol/kg H ₂ O |
| Phosphorus | 1,00 mmol/L | 0,05 | Ammonium phosphomolybdate | Primary reference material | 0,91 - 1,09 mmol/L |
| | 3,10 mg/dL | 0,17 | | | 2,82 - 3,4 mg/dL |
| Potassium | 3,9 mmol/L | 0,2 | Direct ISE | | 3,7 - 4,1 mmol/L |
| | 15,2 mg/dL | 0,7 | | | 14,6 - 15,9 mg/dL |
| | 3,84 mmol/L | 0,18 | Indirect ISE | Gravimetry | 3,67 - 4,01 mmol/L |
| | 15,0 mg/dL | 0,7 | | | 14,3 - 15,7 mg/dL |
| Protein, total | 68,2 g/L | 5,8 | Bluret | SRM 927d | 62,3 - 74,0 g/L 3) |
| | 6,82 g/dL | 0,58 | | | 6,23 - 7,40 g/dL |
| Sodium | 138 mmol/L | 4 | Direct ISE | | 133 - 142 mmol/L |
| | 316 mg/dL | 9 | | | 307 - 326 mg/dL |
| | 135 mmol/L | 7 | Indirect ISE | Gravimetry | 127 - 142 mmol/L 3) |
| | 310 mg/dL | 17 | | | 293 - 327 mg/dL |
| Theophylline | 70 µmol/L | | Added amount | | |
| Transferrin | 2,65 g/L | 0,25 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 2,40 - 2,91 g/L |
| | 0,265 g/dL | 0,025 | | | 0,240 - 0,291 g/dL |

7.7 Vedlegg nr: 7 - Medsendt vedlegg til høy kontroll fra produsent



Seronorm™
Human High

REF 203005 LOT 1206382 2°C 8°C 2016-08 10 x 5 mL IVD CE

Collaborating laboratories

The analytical data of Seronorm™ Human High have been elaborated in collaboration with the following independent laboratories:

- Department of Clinical Chemistry, Asker og Bærum Hospital, Bærum, Norway
- First Medical Laboratory, Oslo, Norway
- The Laboratory of SERO AS, Billingstad, Norway
- Institute of Clinical Biochemistry, Oslo University Hospital, Oslo, Norway
- INSTAND, ARI, Qualitätskontrolle und Ringversuche, Düsseldorf, Germany

EN

Storage and stability
This product will be stable until the expiry date when stored unopened at 2-8 °C.
After reconstitution, all analytes are stable for 7 days when stored tightly capped at 2-8 °C.
Vials to be aliquoted and frozen within 30 minutes are stable 1 month at ≤ -20 °C.

Limitations
All stability data require that bacterial contamination is avoided. Increased turbidity may indicate bacterial growth.
CK is sensitive to temperature changes.
CK and Bilirubin are sensitive to light.

Assignment of values
In line with the requirements of the European IVD Directive 98/79/EC, the reference values are based on reference methods or transferred values in accordance to certified reference materials. At the time of establishment of this package insert, this reference method or material constitute the top of the calibration hierarchy for the given components. These values are presented with shaded background.
The mean analytical values and acceptable ranges given in the table below are derived from replicate analyses obtained through collaboration with a number of independent laboratories and they are specific for this lot. The uncertainty of the analytical value is presented as a single number, U (with a coverage factor k = 2), which takes into account various factors including imprecision of the method applied for the assignment as well as the stability of the given component, individual laboratory means should fall within the acceptable range. However, variations in the analytical value and acceptable range for each component may vary over time due to differences in reagent and/or calibrator lots as well as the instrument and/or method used. It is therefore recommended that each laboratory establishes its own analytical mean and acceptable range and only use the provided values as a guide if applicable, the RiikBAK range (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)) is provided.
The value assignment has been established in accordance with the Essential Requirements (Annex 1) of the IVD Directive(9) 98/79/EC, and the ISO 17511(1) International standard.

FR

Conservation et stabilité
Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption lorsqu'il est conservé non ouvert à 2-8 °C.
Après reconstitution, tous les analytes sont stables pendant 7 jours si la solution est conservée, bien fermée, entre 2 et 8 °C.
Les flacons aliquotés et congelés dans les 30 minutes à ≤ -20 °C sont stables pendant un mois.

Limitations
Toutes les données de stabilité exigent l'absence de contamination bactérienne. Une solution trouble du contenu du flacon peut signifier la croissance de bactéries.
La CK est sensible aux variations de température.
La CK et la bilirubine sont sensibles à la lumière.

Attribution des valeurs
Conformément aux dispositions de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro, les valeurs de référence se basent sur les méthodes de référence ou les valeurs transférées conformément aux matériels de référence certifiés. Au moment de la rédaction de cette notice, cette méthode ou ce matériel de référence sont au sommet de la hiérarchie pour les composants donnés. Ces valeurs sont présentées sur fond gris.
Les valeurs analytiques moyennes et les plages acceptables présentées dans le tableau ci-dessous sont dérivées d'analyses en parallèle obtenues par le biais d'une collaboration avec plusieurs laboratoires indépendants et sont spécifiques à ce lot. L'incertitude de la valeur analytique est présentée sous forme de nombre unique, U (avec un facteur de couverture K = 2), qui tient compte de divers facteurs, notamment l'imprécision de la méthode appliquée pour le projet, ainsi que la stabilité dudit composant. Les moyennes de laboratoire individuelles doivent entrer dans la plage acceptable. Cependant, des variations de la valeur analytique et de la plage acceptable pour chaque composant peuvent apparaître au fil du temps en raison de différences de lots de réactif et/ou de calibrateur ainsi que de l'instrument et/ou la méthode utilisée. Chaque laboratoire est donc invité à établir ses propres moyennes analytiques et plage acceptable, et à n'utiliser les valeurs fournies qu'à titre d'information. Le cas échéant, la plage RiikBAK (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)) est fournie.
L'attribution de valeurs a été établie conformément aux Exigences essentielles (Annexe 1) de la Directive 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro(9), et la Norme internationale ISO 17511(1).

DE

Lagerung und Stabilität
Dieses Produkt ist bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil wenn es bei 2-8 °C ungeöffnet gelagert wird.
Nach der Rekonstitution sind alle Analyten für 7 Tage stabil, wenn sie dicht geschlossen bei 2-8 °C.
Der Inhalt Fläschchen ist nach Aliquotieren und Einfrieren innerhalb von 30 Minuten bei ≤ -20 °C 1 Monat stabil.

Einschränkungen
Die Stabilitätsdaten gelten nur, wenn keine bakterielle Kontamination vorliegt. Starke Trübung kann ein Hinweis auf Bakterienwachstum sein.
CK reagiert auf Temperaturänderungen empfindlich.
CK und Bilirubin sind lichtempfindlich.

Zuordnung von werten
In Übereinstimmung mit den Vorschriften der Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika basieren die Referenzwerte auf Referenzverfahren oder extrapolierten Werten zertifizierter Referenzmaterialien. Zum Zeitpunkt der Ausarbeitung dieser Packungsbeilage ist das Referenzverfahren oder -material die erste Wahl für die Kalibrierung der fraglichen Komponente. Diese Werte werden mit schattiertem Hintergrund gezeigt.
Die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten durchschnittlichen analytischen Werte und erlaubten Bereiche sind mittels wiederholter Analysen ermittelt, die durch Zusammenarbeit mit einer Reihe unabhängiger Labors erlangt wurden und spezifisch für diese LOT sind. Die Unsicherheit des analytischen Wertes wird in einer einzigen Zahl, U (mit einem Abdeckungsfaktor K = 2) dargestellt, die verschiedene Faktoren berücksichtigt, darunter die Ungenauigkeit des für die Zuordnung angewandten Verfahrens sowie die Stabilität der gegebenen Komponente. Die einzelnen Labormittelwerte müssen innerhalb des zulässigen Bereichs liegen. Abweichungen im analytischen Wert und zulässigen Bereich für jede Komponente können im Laufe der Zeit aufgrund von Unterschieden im Reagens und/oder den Kalibratorchargen sowie des verwendeten Instruments und/oder Verfahrens variieren. Deshalb wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen analytischen Durchschnittswert und zulässigen Bereich festlegt und die bereitgestellten Werte lediglich als Orientierungshilfe verwendet. Falls zutreffend, wird der RiikBAK Bereich (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)) angegeben.
Die Zuordnung der Werte erfolgte in Übereinstimmung mit Anhang 1 der IVD-Richtlinie(9) 98/79/EG, „Grundlegende Anforderungen“, und mit dem internationalen Standard ISO 17511(1).

ES

Conservación y estabilidad
Este producto permanecerá estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserve sin abrir a 2-8 °C.
Tras la reconstitución, todos los analitos son estables durante 10 días cuando se conservan tapados herméticamente a 2-8 °C.
Las porciones distribuidas en frascos y congeladas en un plazo de 30 minutos a ≤ -20 °C son estables durante 1 mes.

Limitaciones
Todos los datos de estabilidad requieren que se evite contaminación bacteriana. Un aumento de la turbidez puede ser un indicio de crecimiento bacteriano.
La creatina-cinasa es sensible a los cambios de temperatura.
La creatina-cinasa y la bilirrubina son sensibles a la luz.

Asignación de valores
De acuerdo con los requisitos de la Directiva 98/79/CE sobre DIV, los valores de referencia se basan en métodos de referencia o valores transferidos de conformidad con materiales de referencia certificados. En el momento de la elaboración de este prospecto de envase, este material o método de referencia constituye el punto más alto de la jerarquía de calibración para los componentes dados. Estos valores se presentan con fondo sombreado.
Los valores analíticos medios y los intervalos aceptables indicados en la tabla siguiente provienen de análisis repetidos obtenidos mediante la colaboración con una serie de laboratorios independientes y son específicos para este lote. La incertidumbre del valor analítico se presenta como un número único, U (con un factor de correlación k = 2), que tiene en cuenta diversos factores, incluida la imprecisión del método aplicado para la asignación, así como la estabilidad del componente dado. Las medias de cada uno de los laboratorios deberían encontrarse dentro del intervalo aceptable. Sin embargo, con el tiempo pueden producirse variaciones en el valor analítico y el intervalo aceptable para cada componente debido a diferencias en los lotes de reactivos o calibradores, así como en el instrumento o método empleado. Por tanto, se recomienda que cada laboratorio establezca su propia media analítica y su propio intervalo aceptable y utilice los valores facilitados únicamente como guía. Si procede, se facilita el intervalo RiikBAK (Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien (2008)).
La asignación de valores se ha establecido de conformidad con los Requisitos esenciales (Anexo I) de la Directiva sobre IVD(9) 98/79/CE y la norma internacional ISO 17511(1).

| Component | Analytical value | U | Method/Instrument | Traceability | Acceptable range |
|--------------------|------------------|-------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------|
| ALAT | 140 U/L | 9 | IFCC-Reference Procedure at 37 °C | | |
| | 2,34 µkat/L | 0,15 | | | |
| | 148 U/L | 17 | IFCC (37 °C) with PSP activation | IFCC | 131 - 165 U/L |
| | 2,47 µkat/L | 0,29 | | | 2,18 - 2,75 µkat/L |
| | 143 U/L | 15 | IFCC (37 °C) without PSP activation | IFCC | 127 - 159 U/L |
| | 2,39 µkat/L | 0,25 | | | 2,11 - 2,66 µkat/L |
| Albumin | 65,5 g/L | 4,8 | BCG | CRM 470 | 57,3 - 73,7 g/L |
| | 6,55 g/dL | 0,48 | | | 5,73 - 7,37 g/dL |
| ALP | 273 U/L | 27 | IFCC (37 °C) | IFCC | 238 - 309 U/L |
| | 4,56 µkat/L | 0,46 | | | 3,97 - 5,15 µkat/L |
| Amylase, pancreas | 222 U/L | 15 | Enzymatic colorimetry (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 192 - 253 U/L |
| | 3,71 µkat/L | 0,26 | | | 3,20 - 4,22 µkat/L |
| Amylase, total | 344 U/L | 25 | IFCC (37 °C) | IFCC | 294 - 394 U/L |
| | 5,74 µkat/L | 0,42 | | | 4,91 - 6,58 µkat/L |
| Apolipoprotein A1 | 2,14 g/L | 0,25 | Immunonephelometry | BCR 393 | 1,64 - 2,65 g/L |
| | 214 mg/dL | 25 | | | 164 - 265 mg/dL |
| Apolipoprotein B | 1,14 g/L | 0,11 | Immunonephelometry | WHO IRP SP3-07 | 0,92 - 1,36 g/L |
| | 114 mg/dL | 11 | | | 92 - 136 mg/dL |
| ASAT | 196 U/L | 12 | IFCC-Reference Procedure at 37 °C | | |
| | 3,27 µkat/L | 0,20 | | | |
| | 211 U/L | 20 | IFCC (37 °C) with PSP activation | IFCC | 187 - 235 U/L |
| | 3,52 µkat/L | 0,33 | | | 3,11 - 3,92 µkat/L |
| | 176 U/L | 22 | IFCC (37 °C) without PSP activation | IFCC | 155 - 198 U/L |
| | 2,94 µkat/L | 0,36 | | | 2,58 - 3,30 µkat/L |
| Bile Acid | 121 µmol/L | 21 | Enzymatic, 3-α-HSD | | 79 - 162 µmol/L |
| | 47 mg/dL | 8 | | | 31 - 64 mg/dL |
| Bilirubin, direct | 14,5 µmol/L | 1,6 | Jendrassik-Grof | Roche reagent - manual measurement | 11,3 - 17,6 µmol/L |
| | 0,85 mg/dL | 0,09 | | | 0,66 - 1,03 mg/dL |
| Bilirubin, total | 64,6 µmol/L | 8,1 | DPD | Doumas method | 56,2 - 73,0 µmol/L |
| | 3,78 mg/dL | 0,48 | | | 3,29 - 4,27 mg/dL |
| Calcium | 3,35 mmol/L | 0,10 | ICP-IDMS | | |
| | 13,4 mg/dL | 0,4 | | | |
| | 3,31 mmol/L | 0,15 | Arsenazo III | SRM 909b | 3,11 - 3,51 mmol/L |
| | 13,3 mg/dL | 0,6 | | | 12,5 - 14,1 mg/dL |
| | 3,29 mmol/L | 0,15 | CPC | SRM 909b | 3,10 - 3,49 mmol/L |
| | 13,2 mg/dL | 0,6 | | | 12,4 - 14,0 mg/dL |
| Chloride | 137 mmol/L | 4 | ICP-IDMS | | |
| | 486 mg/dL | 13 | | | |
| | 139 mmol/L | 5 | Direct ISE | | 133 - 146 mmol/L |
| | 495 mg/dL | 16 | | | 472 - 517 mg/dL |
| | 132 mmol/L | 6 | Indirect ISE | Gravimetry | 126 - 138 mmol/L |
| | 469 mg/dL | 22 | | | 448 - 490 mg/dL |
| Cholesterol, HDL | 1,51 mmol/L | 0,15 | Direct enzymatic colorimetry | SRM 1951a | 1,20 - 1,82 mmol/L |
| | 59 mg/dL | 6 | | | 47 - 71 mg/dL |
| Cholesterol, LDL | 4,03 mmol/L | 0,34 | Direct enzymatic colorimetry | SRM 1951a | 3,34 - 4,72 mmol/L |
| | 156 mg/dL | 13 | | | 129 - 182 mg/dL |
| Cholesterol, total | 5,95 mmol/L | 0,36 | GC-IDMS | | |
| | 230 mg/dL | 14 | | | |
| | 5,99 mmol/L | 0,47 | CHOD/PAP | ID-MS | 5,52 - 6,47 mmol/L |
| | 232 mg/dL | 18 | | | 213 - 250 mg/dL |
| Cholinesterase | 9,65 kU/L | 0,87 | Butyrylthiocholin (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 7,92 - 11,39 kU/L |
| | 161 µkat/L | 14 | | | 132 - 190 µkat/L |
| CK | 323 U/L | 20 | IFCC-Reference Procedure at 37 °C | | |
| | 5,39 µkat/L | 0,33 | | | |
| | 309 U/L | 44 | IFCC/DGKC (37 °C) | IFCC | 264 - 353 U/L |
| | 5,15 µkat/L | 0,74 | | | 4,41 - 5,89 µkat/L |
| CK-MB | 64 U/L | 13 | Immunological UV | ERM-AD455/IFCC | 38 - 89 U/L |
| | 1,07 µkat/L | 0,21 | | | 0,64 - 1,49 µkat/L |
| Copper | 34,3 µmol/L | 3,0 | ICP-MS | SRM 3114 | 28,4 - 40,3 µmol/L |
| | 218 µg/dL | 19 | | | 180 - 256 µg/dL |
| Creatinine | 262 µmol/L | 16 | GC-IDMS | | |
| | 2,96 mg/dL | 0,18 | | | |
| | 271 µmol/L | 20 | Enzymatic colorimetry | ID-MS | 240 - 302 µmol/L |
| | 3,06 mg/dL | 0,23 | | | 2,71 - 3,41 mg/dL |
| | 277 µmol/L | 26 | Modified Jaffé with rate blanking | HPLC | 245 - 309 µmol/L |
| | 3,13 mg/dL | 0,29 | | | 2,77 - 3,49 mg/dL |
| CRP | 1,5 mg/L | 0,1 | Immunoturbidimetry | CRM 470 | 1,3 - 1,7 mg/L |
| | 0,15 mg/dL | 0,01 | | | 0,13 - 0,17 mg/dL |
| Digoxin | 2,5 nmol/L | | Added amount | | |
| | 2,0 ng/mL | | | | |
| Estradiol | 1156 pmol/L | 209 | Tosoh AIA-1800 | CRM 577 | 902 - 1411 pmol/L |
| | 315 ng/L | 57 | | | 245 - 384 ng/L |
| Ferritin | 84 µg/L | 8 | Tosoh AIA-1800 | WHO 1st IS 80/602 | 79 - 95 µg/L |
| | 188 pmol/L | 17 | | | 163 - 214 pmol/L |
| Folate | 20,8 nmol/L | 3,4 | Tosoh AIA-600 II | WHO IS 03/178 | 14,1 - 27,5 nmol/L |
| | 9,2 µg/L | 1,5 | | | 6,2 - 12,1 µg/L |
| GGT | 149 U/L | 10 | IFCC-Reference Procedure at 37 °C | | |
| | 2,49 µkat/L | 0,17 | | | |
| | 175 U/L | 14 | IFCC (37 °C) | IFCC | 155 - 195 U/L |
| | 2,93 µkat/L | 0,23 | | | 2,59 - 3,26 µkat/L |
| GLDH | 10,1 U/L | 1,0 | DGKC (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 8,2 - 12,1 U/L |
| | 0,17 µkat/L | 0,02 | | | 0,14 - 0,20 µkat/L |
| Glucose | 10,9 mmol/L | 0,7 | GC-IDMS | | |
| | 196 mg/dL | 13 | | | |
| | 11,6 mmol/L | 0,9 | HK/G6P-DH | ID-MS | 10,4 - 12,9 mmol/L |
| | 210 mg/dL | 16 | | | 187 - 233 mg/dL |
| HBDH | 310 U/L | 26 | DGKC (37 °C) | Roche reagent - manual measurement | 258 - 362 U/L |
| | 5,18 µkat/L | 0,44 | | | 4,31 - 6,05 µkat/L |
| β-hCG, total | 235 U/L | 22 | Tosoh AIA-1800 | WHO 3rd IS 75/537 | 202 - 268 U/L |
| Homocysteine | 21,0 µmol/L | 2,5 | Enzymatic | SRM 1955 | 16,1 - 26,0 µmol/L |
| | 2,84 mg/L | 0,33 | | | 2,18 - 3,51 mg/L |
| IgA | 5,03 g/L | 0,51 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 4,43 - 5,63 g/L |
| | 0,503 g/dL | 0,051 | | | 0,443 - 0,563 g/dL |
| IgG | 20,1 g/L | 1,7 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 18,1 - 22,1 g/L |
| | 2,01 g/dL | 0,17 | | | 1,81 - 2,21 g/dL |
| IgM | 2,73 g/L | 0,27 | Immunonephelometry | ERM-DA470 | 2,37 - 3,08 g/L |
| | 0,273 g/dL | 0,027 | | | 0,237 - 0,308 g/dL |
| Iron | 41,4 µmol/L | 2,7 | Ascorbate/FerroZine | SRM 937 | 36,1 - 46,7 µmol/L |
| | 231 µg/dL | 15 | | | 201 - 261 µg/dL |

7.8 Vedlegg nr: 8 - Cobas c pack MULTI

04828578001V5.0

MULTI

cobas c pack MULTI
Ordreinformasjon

cobas[®]

| REF | CONTENT | System-ID | Analyseinstrument(er) hvor cobas c kassetten kan brukes |
|-------------------|--------------------|-----------|---|
| 04593138 190 | cobas c pack MULTI | 07 7777 3 | Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501 |
| Åpne/lukkeverktøy | kan rekvireres | | |

Norsk

Systeminformasjon
Applikasjoner til utviklingskanaler: ACN 311-315
Diluenter til utviklingskanaler: ACN 958-960

Tilsett bruk
 Tom reagensbeholder til bruk på Roche/Hitachi cobas c systemer.


Sammendrag
 Applikasjoner til utviklingskanaler er basert på konseptet om åpne kanaler. Før en applikasjon tilpasset utviklingskanaler kan tas i bruk skal den installeres på analyseinstrumentet via cobas link, og alle parametere tastet inn manuelt.

For applikasjoner til utviklingskanaler kan kassettkit bestilles hos Roche Diagnostics (se avsnittet "Ordreinformasjon"). Disse kitene består av en cobas c pack MULTI med flasker i forskjellige størrelser, som på forhånd er merket med en strekkode til utviklingskanaler. Ettersom det er den samme strekkodeetiketten som brukes til alle applikasjoner til utviklingskanaler, må cobas c pack MULTI tildeles til en applikasjon til utviklingskanaler, før den plasseres på analyseinstrumentet.

Analysetestet som ikke er produsert av Roche Diagnostics, med maksimum tre reagenser, kan tildeles til en gitt utviklingskanal. Hvis det skal brukes en diluent til automatisk forfortynning av prøver, må den plasseres på instrumentet i en separat cobas c pack MULTI.

Analysen som er produsert av Roche Diagnostics er beskrevet i de tilhørende metodearkene.

cobas c pack MULTI flaskeinformasjon
 Flaskeposisjoner:



Posisjon A (stor flaske): Maksimum påfyllingsvolum: 25.65 mL
 Maksimal variabel dødvolmen: 1.8 mL
 Minimum dødvolmen i flasken: 3.85 mL
 Maksimum bruksvolum: 20.0 mL

Posisjon B (liten flaske): Maksimum påfyllingsvolum: 18.3 mL
 Maksimal variabel dødvolmen: 0.9 mL
 Minimum dødvolmen i flasken: 2.4 mL
 Maksimum bruksvolum: 15.0 mL

Posisjon C (liten flaske): Maksimum påfyllingsvolum: 18.3 mL
 Maksimal variabel dødvolmen: 0.9 mL
 Minimum dødvolmen i flasken: 2.4 mL
 Maksimum bruksvolum: 15.0 mL

Viktig:

Det variable dødvolmen er avhengig av den totale påfyllingsvolum. Det er nødvendig for korrekt behandling av cobas c pack MULTI på instrumentet.

Reagens- og diluentforberedelse
 Bruk kun det tilbehøret som er oppført i avsnittet "Ordreinformasjon". Bruk alltid en ny cobas c pack MULTI ved tilberedelse av nytt reagens. Gjenbruk aldri tilbehør som er beregnet til engangsbruk, da dette kan resultere i reagenskontaminering og påvirke analyseresultatene.

Feil påfylling av flaskene i cobas c pack MULTI kan medføre et redusert antall analyser eller avvisning av cobas c pack MULTI på instrumentet. Vennligst følg den beskrevne prosedyren trinn for trinn.

Reagens:
 Klargjør reagenset i henhold til anvisningene fra produsenten.

Beregning av bruksvolum:
 For å beregne bruksvolum (V_{bruk}) for hvert reagens skal følgende parametere for en gitt analyse bestemmes først:

- N = Antall analyser som skal utføres pr. cobas c pack MULTI
- V_{pipRX} = Reagenspipetteringsvolumen pr. test i μL for reagens R1, R2 og/eller R3

Viktig:
 Antall tester pr. cobas c pack MULTI må ikke overstige 500.
 Betegnelsen R1, R2 og R3 refererer til reagensparametere i applikasjonsparameter-skjermbildet. Vennligst bruk disse betegnelsene for alle påfølgende trinn selv om det kun brukes et eller to reagenser i testen.

- V_{brukR1} (mL) = $N * V_{\text{pipR1}} (\mu\text{L}) / 1000$
- V_{brukR2} (mL) = $N * V_{\text{pipR2}} (\mu\text{L}) / 1000$
- V_{brukR3} (mL) = $N * V_{\text{pipR3}} (\mu\text{L}) / 1000$

Kun R1 & R2 for Gamedyne

| Eksempel: N = 150 analyser pr. cobas c pack MULTI | |
|---|--|
| V_{pipR1} | = 100 μL pr. analyse |
| V_{pipR2} | = 40 μL pr. analyse |
| V_{pipR3} | = 20 μL pr. analyse |
| Beregning av bruksvolum: | |
| V_{brukR1} | = $150 * 100 / 1000 = 15.0 \text{ mL}$ |
| V_{brukR2} | = $150 * 40 / 1000 = 6.0 \text{ mL}$ |
| V_{brukR3} | = $150 * 20 / 1000 = 3.0 \text{ mL}$ |

Beregning av påfyllingsvolum i flasken:
 Bruk ligningene under for å beregne påfyllingsvolumen (V_{BR}) for hvert reagens. Den første faktoren definerer det variable dødvolmen.

- V_{BR1} (mL) = $1.09 * N * V_{\text{pipR1}} (\mu\text{L}) / 1000 + 3.85$
- V_{BR2} (mL) = $1.06 * N * V_{\text{pipR2}} (\mu\text{L}) / 1000 + 2.4$
- V_{BR3} (mL) = $1.06 * N * V_{\text{pipR3}} (\mu\text{L}) / 1000 + 2.4$

| Eksempel: N = 150 analyser pr. cobas c pack MULTI | |
|---|--|
| V_{pipR1} | = 100 μL pr. analyse |
| V_{pipR2} | = 40 μL pr. analyse |
| V_{pipR3} | = 20 μL pr. analyse |
| Beregning av påfyllingsvolum: | |
| V_{BR1} | = $1.09 * 150 * 100 / 1000 + 3.85 = 20.2 \text{ mL}$ |
| V_{BR2} | = $1.06 * 150 * 40 / 1000 + 2.4 = 8.8 \text{ mL}$ |
| V_{BR3} | = $1.06 * 150 * 20 / 1000 + 2.4 = 5.6 \text{ mL}$ |

Viktig:

2014-06, V 5.0 Norsk 1 / 7

MULTI

cobas c pack MULTI

cobas®

Påfyllingsvolumet for flaske A (f.eks. R1) må ikke overstige 25.65 mL. For flaske B og C (f.eks. R2 og R3) må påfyllingsvolum ikke overstige 18.3 mL. Hvis dette er tilfellet for et av reagensene, må antallet av analyser pr. cobas c pack MULTI reduseres, og bruks- og påfyllingsvolum for alle reagenser beregnes igjen.

Påfylling av cobas c pack MULTI:

Flaskeposisjoner:



Regler for påfylling:

- Fyll som regel posisjon A med R1.
- Fyll som regel posisjon B med R2.
- Fyll som regel posisjon C med R3.

1. Vend **cobas c pack MULTI** mot deg som vist over.
2. Posisjon A på **cobas c pack MULTI** er i midten, posisjon B er til venstre og posisjon C er til høyre på **cobas c pack MULTI**.
3. Skru av lokket på flasken i posisjon A i midten av **cobas c pack MULTI** ved hjelp av åpne/lukkeverktøyet.
4. Fyll den aktuelle volum av R1, beregnet over, i den åpne flasken på **cobas c pack MULTI** (posisjon A).
5. Lukk flasken godt ved hjelp av åpne/lukkeverktøyet.
6. Skru av lokket på flasken i posisjon B til venstre på **cobas c pack MULTI** ved hjelp av åpne/lukkeverktøyet.
7. Fyll den aktuelle volum av R2, beregnet over, i den åpne flasken på **cobas c pack MULTI** (posisjon B).
8. Lukk flasken godt ved hjelp av åpne/lukkeverktøyet.
9. Skru av lokket på flasken i posisjon C til høyre på **cobas c pack MULTI** ved hjelp av åpne/lukkeverktøyet.
10. Fyll den aktuelle volum av R3, beregnet over, i den åpne flasken på **cobas c pack MULTI** (posisjon C).
11. Lukk flasken godt ved hjelp av åpne/lukkeverktøyet.

Eksempel (ved bruk av beregningene over):

Fyll 20.2 mL av R1 i den store flasken midt i **cobas c pack MULTI** (posisjon A).

Fyll 8.8 mL av R2 i den lille flasken til venstre på **cobas c pack MULTI** (posisjon B).

Fyll 5.6 mL av R3 i den lille flasken til høyre på **cobas c pack MULTI** (posisjon C).

Viktig: Alle kombinasjoner av posisjon og reagentstype er mulig. De beskrevne konsekvenser og begrensninger over må vurderes.

Diluent:

Klargjør diluenten i henhold til anvisningene fra produsenten. Den definerte diluentflasken (B, A og/eller C) i **cobas c pack MULTI** skal fylles med den maksimale påfyllingsvolumen og lukkes godt med åpne/lukkeverktøyet. Hvis det brukes mere enn en diluentflaske, skifter instrumentet automatisk til den neste flasken inntil alle flaskene er tomme. På skjermbildet *Dilution and Cleaner Cassette Setting* (*Utility > System > Page 3/4 > knappen [Dil. +*

Clr.]), velges *Bottle Setting* for å taste inn bruksvolumen for de enkelte diluentflaskene.

Posisjon A (stor flaske): Bruksvolum: 19.0 mL

Posisjon B (liten flaske): Bruksvolum: 12.0 mL

Posisjon C (liten flaske): Bruksvolum: 12.0 mL

cobas c pack MULTI er nå klar til bruk.

Viktig:

Før **cobas c pack MULTI** plasseres på instrumentet skal den tildeles en applikasjon på en utviklingskanal.

Spesielle krav til vask skal defineres med vaskesyklus for reagenspipettene og reaksjonskvyettene etter bestemmelse av hver utviklingskanal (DC). Følgende kombinasjoner skal testes inn for hver utviklingskanal (D1 = NaOHd i **cobas c pack**):

Reagenspipette carry-over (avhengig av reagenspipetteringsmønstret som er definert i applikasjonsinnstillingene for DC utviklingskanalen):
Inntasting i *Utility > Special Wash*

cobas c 501:

| nr. | Fra analysereagens | Fra | Til analysereagens | Til | Vaske type | Vaskevol. (µL) |
|-----|--------------------|-----|--------------------|-----|------------|----------------|
| 1 | DC | R1 | ALL | R1 | D1 | 180 |
| 2 | DC | R2 | ALL | R2 | D1 | 180 |
| 3 | DC | R3 | ALL | R3 | D1 | 180 |
| 4 | DC | R2 | ALL | R3 | D1 | 180 |
| 5 | DC | R3 | ALL | R2 | D1 | 180 |

cobas c 311:

| nr. | Fra analysereagens | Fra | Til analysereagens | Til | Vaske type | Vaskevol. (µL) |
|-----|--------------------|-----|--------------------|-----|------------|----------------|
| 1 | DC | R1 | ALL | R1 | D1 | 180 |
| 2 | DC | R2 | ALL | R1 | D1 | 180 |
| 3 | DC | R3 | ALL | R1 | D1 | 180 |
| 4 | DC | R1 | ALL | R2 | D1 | 180 |
| 5 | DC | R2 | ALL | R2 | D1 | 180 |
| 6 | DC | R3 | ALL | R2 | D1 | 180 |
| 7 | DC | R1 | ALL | R3 | D1 | 180 |
| 8 | DC | R2 | ALL | R3 | D1 | 180 |
| 9 | DC | R3 | ALL | R3 | D1 | 180 |

Reduserer carry-over kombinasjonene i henhold til de brukte reagensene i kolonne 3.

Reaksjonskvyette carry-over: Inntasting i *Utility > Special Wash*

cobas c 501 og cobas c 311:

| Analyse | R1 type | R1 vol. (µL) | R2 type | R2 vol. (µL) |
|---------|---------|--------------|---------|--------------|
| DC | D1 | 125 | D1 | 125 |

Når en **cobas c pack MULTI** en gang er fjernet fra instrumentet, kan den ikke settes på igjen. Når en **cobas c pack MULTI** plasseres på instrumentet, registreres den som full i reagenslageret. Hvis en brukt og/eller kun delvis full **cobas c pack MULTI** plasseres på instrumentet, kan antallet av analyser bli redusert eller pakningen vil bli avvist av instrumentet.

Applikasjonsparametere for utviklingskanaler

Installasjon av applikasjoner til utviklingskanaler

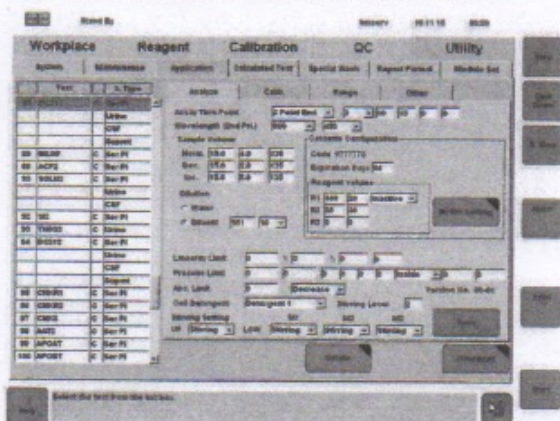
1. Velg *Utility > Application* for å se skjermbildet; Application.
2. Velg *Download* for å åpne skjermbildet; Download.

3. Velg *Application Code* i området *Search Using* og velg en applikasjonskode mellom 311 og 315 fra drop-down-listen.
4. Velg *Search* for å starte søkingen etter de valgte kriterier. Søkeresultatet vises.
5. Marker avmerkningsfeltet i kolonnen *Selection* for å laste ned den gjeldende applikasjonen og velg *Download*.
6. Filoverførselsvinduet åpnes. Velg *OK* for å overføre filen.
7. Vinduet *Confirmation* åpnes. Det korte analysenavnet, som er tildelt til applikasjonen, vises automatisk i skjermbildet *Test Name* (DC311-315). Brukeren kan imidlertid taste inn et annet kort analysenavn (opp til 5 karakterer), hvis det ønskes. Måleenhet og registreringsnummer (kanal) for applikasjonen kan velges her. Vær oppmerksom på at disse definisjonene ikke kan endres senere. Velg *OK* for å laste ned applikasjonen.
8. Velg *Close* for å lukke skjermbildet.
9. På **cobas c 501** analyseinstrumentet: Hvis det er konfigurert flere c-moduler, skal analyseapplikasjonen tildeles til den aktuelle modul (*Utility > Module Set > Test Assignment*).
10. Definer en *Print Order* (printrekkefølge) for testapplikasjonen (*Utility > Report Format*).
11. Definer alle parametere for utviklingskanalen som beskrevet.

Viktig: De følgende skjermbilder er hentet fra **cobas c 501** analyseinstrumentets brukergrensesnitt. Til tross for mindre forskjeller gjelder denne beskrivelsen også for **cobas c 311** analyseinstrumentet.

Definisjon av applikasjonsparametere - kategori; Analyze

For å se Analyze-skjermbildet velges *Utility > Application > Analyze*.



Velg utviklingskanalen fra listen *Test* i den venstre side av skjermbildet.

Assay/Time/Point:

Velg innstillingene analysetype, analysetid og målepunkter for parametere.

- 1. felt: Velg analysetypen fra drop-down-menyen.
- 2. felt: Velg analyseliden fra drop-down-menyen.
- 3. - 6. felt: Tast inn de aktuelle målepunktene i de aktuelle feltene.

Bølgelengde:

Velg den bølgelengde som skal brukes til applikasjonen.

- 1. felt: 2. eller sekundær bølgelengde.
- 2. felt: 1. eller primær bølgelengde.

Hvis applikasjonen er beregnet til monokromatiske målinger, velges *Cancel* i det 1. felt.

Prøvemengde:

På **cobas c** systemet er det mulig å foreta automatisk forfortynning av pasientprøver og kontroller.

- 1. felt: Prøvemengde (μL) av den ufortynnede prøven for voluminnstillingene normal, redusert og øket.
- 2. felt: Prøvemengde (μL) av den forfortynnede prøven for voluminnstillingene normal, redusert og øket.
- 3. felt: Diluentmengde (μL) for mengdeinnstillingene normal, redusert og øket.

Normalt utføres den første analyseringen med normal prøvemengde. Om nødvendig, utføres en reanalysering med redusert eller øket prøvolum. Hvis det brukes redusert prøvemengde utføres reanalyseringen med den forfynnede prøven.

Viktig:

Ved programmering av forfynninger i applikasjoner til utviklingskanaler skal den totale (ufortynnede) prøve- og diluentmengde være minst 100 μL (pga. blanding).

Dilution:

Diluenten for applikasjonen til utviklingskanaler kan defineres i området *Dilution*.

- Vann
- Diluent: Tast inn den aktuelle diluent ACN: 951 (NaCl 9 %), 958, 959 eller 960. Tast dessuten inn forfynningsfaktoren for en konsentrert diluent. Ytterligere opplysninger finnes på *Dilution and Cleaner Cassette Setting* (*Utility > System > Page 3/4 > knappen [Dil. + Cln.]*).

Cassette Configuration:

- Code: 0777773 (fast for utviklingskanaler)
- Expiration Days: Tast inn i dager holdbarheten til reagenset på instrumentet.

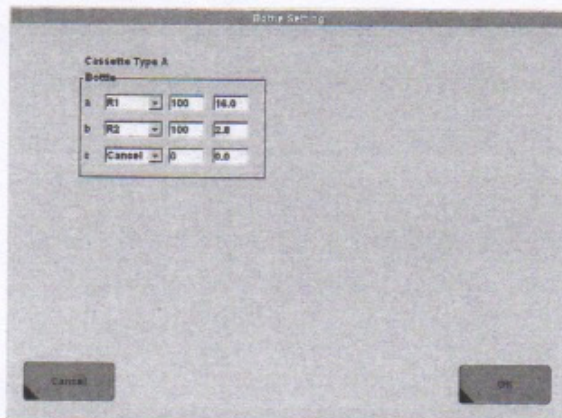
Reagent Volume:

Det kan brukes opp til tre forskjellige reagenser (R1, R2, R3) til en analyse, men vanligvis brukes kun to reagenser (R1 og R2 eller R3). R1 tilsettes umiddelbart etter avpipettering av prøve.

- 1. felt: Reagensavpipetteringsvolum (μL) for hhv. R1, R2 og R3 i μL .
- 2. felt: Det volum vann (μL) som skal tilsettes av systemet etter avpipettering av hhv. R1, R2 og R3.
- 3. felt: Velg alltid *Inactive*.

Bottle Setting:

Flaskeinnstillingene kan testes inn når skjermbildet *Bottle Setting* er åpnet i *Cassette Configuration* området.



- a, b og c angir flaskeposisjonen i **cobas c pack MULTI**.
- 1. felt: Velg reagentstypen fra drop-down-menyen. Velg som regel R1 for a, R2 for b og R3 for c.

MULTI

cobas c pack MULTI

cobas[®]

- 2. felt: Tast inn antall analyser pr. flaske som er identisk med antall analyser pr. cobas c pack MULTI for alle tre reagenser.
- 3. felt: Tast inn den beregnede bruksvolum (mL).

Checks and other settings (for ytterligere opplysninger, se COBI CD):

Linearity Limit:

Ved utførelse av rate-assays, skal forholdet mellom absorpsjonsendringen og tiden være lineær. Hvis lineariteten ligger utenfor grenseverdien, vises et flagg >Lin. ut for resultatet.

- | | | |
|---------|---|--------------------------|
| 1. felt | Linearitetsgrense for rate-assays med 4-16 punkter | [0-100] (0: Ingen sjekk) |
| 2. felt | Linearitetsgrense for rate-assays med ≥ 17 punkter | [0-100] (0: Ingen sjekk) |
| 3. felt | Minste totale andel i målevinduet for å utføre sjekk | [0-32000] |
| 4. felt | Minste forskjell mellom de første 5 (11) punkter og de siste 5 (11) punkter i målevinduet for å utføre sjekk. | [0-32000] |

Prozone Limit:

Sjekk av prozone brukes til å påvise effekten av antigen overskudd ved turbidimetriske immunologiske analyser (immunoassays), som kan føre til deagglutinasjon og påvisning av konsentrasjoner på høyre side av signaldose-virkningskurven (Heidelberger Curve). På grunn av dette kan abnormt høye prøver gi ukorrekte eller til og med falske normale resultater.

Sjekk av prozone grense kan også brukes til å påvise uventede kinetiske reaksjoner ved måling av prøver med gammopati.

- | | | |
|------------|---|------------------------|
| 1. felt | Prozone Limit (nedre grenseverdi) | [-32000-32000] |
| 2. felt | Prozone Limit (øvre grenseverdi) | [-32000-32000] |
| 3. felt | MP1: Målepunkt for 1. slope | [1-70] (0: Annullerer) |
| 4. felt | MP2: Målepunkt for 1. slope | [1-70] (0: Annullerer) |
| 5. felt | MP3: Målepunkt for 2. slope | [1-70] (0: Annullerer) |
| 6. felt | MP4: Målepunkt for 2. slope | [1-70] (0: Annullerer) |
| Liste boks | Definer det området hvor flagget vises | [Inside, Outside] |
| 7. felt | Minste signaldifferanse for 1. slope for å utføre sjekk | [-32000-32000] |
| 8. felt | Minste signaldifferanse for 2. slope for å utføre sjekk | [-32000-32000] |

Abs. Limit (kun for rate-assays):

For rate-assays kan korrekt data ikke oppnås hvis konsentrasjons- eller aktivitetsverdien ligger utenfor det kvantitative område. Av den grunn utføres sjekk med referanse til en øvre og en nedre absorpsjonsgrense. For rate-assays med stigende absorpsjoner er grensen en øvre grense. For rate-assays med fallende absorpsjoner er grensen en nedre grense.

En data alarm (> React) følger, hvis det kun ligger 2 eller færre målepunkter innenfor de angitte absorpsjonsgrensene. Alarmen følger ikke, hvis det er 3 eller flere målepunkter innenfor absorpsjonsgrensene.

- 1. felt: Tast inn absorpsjonsgrense [0-32000 (Abs x 10⁴)].
- 2. felt: Velg den aktuelle analyseretningen fra drop-down-menyen [Decrease, Increase].

Cell Detergent:

Detergjenter brukes generelt til vask av reaksjonskvetten etter måling.

- Detergent 1: Cell Wash Solution I / (CellCln 1) NaOH-D
- Detergent 2: Cell Wash Solution II / (CellCln 2) AcidWash
- Detergent 1 + 2

Stirring Level:

Nivået for ultralydmiksing kan defineres i dette feltet.

Range: [1-15]

Stirring Setting:

Definering av nivået for ultralydmiksing for testapplikasjonen. Vennligst de predefinerte innstillingene må ikke endres.

Definisjon av applikasjonsparametere - kategori; Calib.

For å se Calib.-skjerm bildet velges Utility > Application > Calib.

Området Calibration Type:

- Calibration Type:** Velg den aktuelle kalibreringstypen fra drop-down-menyen.
- Point:** Det kan defineres opp til 6 kalibratorer (punkter) til kalibrering av en test.
- Span:** Den kalibratoren som svarer til span-punktet måles, og den tidligere fremstilte kalibreringskurven justeres til denne verdien for alle tilgjengelige kalibreringstyper.
- Weight:** Man kan bruke en vektfunksjon, som favoriserer kalibreringspunkter med en lavere absorpsjon (eller hastigheten av endringen i absorpsjon) under prosessen for kurvetilpasning. Dette kan gi en mer nøyaktig kurvetilpasning i det aktuelle konsentrasjonsområdet [0,1,2] (ved å taste inn 0, betyr det at vektfunksjonen ikke brukes).

Checks and other settings (for ytterligere opplysninger, se COBI CD):

SD Limit:

Kan defineres til non-lineære eller multipunkts-lineære tester. For hver kalibrator beregnes en absorpsjonsverdi ut fra den gitte konsentrasjonen og den aktuelle kalibreringskurven. Denne beregnede absorpsjonen

MULTI

cobas c pack MULTI

cobas®

markeres, vil analysen automatisk bli rekvirert til reanalysering hver gang et resultat flagges med en data alarm. Hvis *Automatic Rerun* velges, blir prøven på rackrotoren inntil resultatene for analysen er tilgjengelig.

For å aktivere den automatiske reanalyseringsfunksjonen for systemet velges *Start (global knapp)* og i *Automatic Rerun* området, velg *Change*. På det etterfølgende skjerm bilde markeres avmerkingsfeltene *Routine* og/eller *Stat*.

Technical Limit:

Den tekniske grensen angir det konsentrasjonsområde for analytten hvor relasjonen mellom det målte signal (absorbans eller absorbansendingsrate) og konsentrasjonen er vel definert.

Hvis resultatene ligger under den nedre tekniske grensen (< *Test data* alarm) gjentas testen med et større volum. Hvis resultatene ligger over den øvre tekniske grensen (> *Test data* alarm) gjentas analysen med mindre mengde.

- 1. felt: Tast inn den nedre tekniske grense.
- 2. felt: Tast inn den øvre tekniske grense.

Repeat Limit:

For hver analyse kan man taste inn et klinisk relevant område. Hvis analyseresultatet ligger utenfor denne grensen, men innenfor det konsentrasjonsområdet som er definert som den tekniske grense for applikasjonen, blir analysen gjentatt med den samme prøvemengden og fortyrning som ved den første kjøring.

Det konsentrasjonsområde som er tastet inn i *Repeat Limit* skal ligge innenfor det som er tastet inn i *Technical Limit*.

- 1. felt: Tast inn den nedre repetisjonsgrense.
- 2. felt: Tast inn den øvre repetisjonsgrense.

Control Interval Time:

Et timer-basert kontrollintervall kan aktiveres og defineres. Etter utløp av den spesifiserte tid (timer) rekvireres en QC-måling automatisk (årsak: timeout) eller det utløses en auto-QC-måling.

Auto QC On Board Stability:

Aktiverer og definerer i timer, holdbarhet på analytten i kontrollen på instrumentet for å overholde Auto QC-konseptet.

Området Qualitative:

I feltene i den første kolonnen (1-5) kan konsentrasjonsområdets øvre grense tastes inn. Et resultat mindre enn eller lik med den verdien som er definert her, vil bli skrevet ut med den teksten som er tastet inn i det andre feltet. Hvis et resultat er større enn verdien (5), brukes det som er tastet inn i felt (6).

L, H, I (serumindeks)

Definerer sjekkverdiene for resultatene av serumindeksmålingene. Hvis de oppnådde resultatene ligger over de verdiene som er tastet inn, følger et flagg. Hvis det tastes inn 0, utføres det ikke sjekk.

Expected Values area

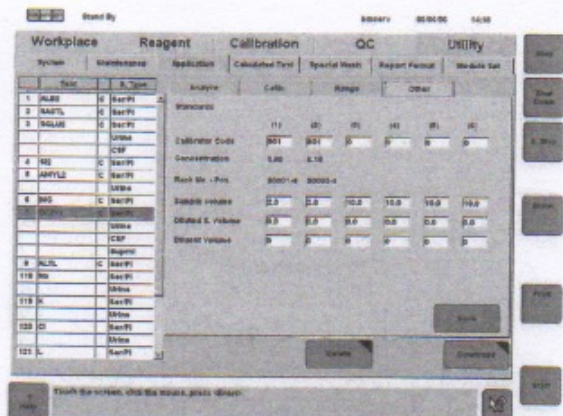
Området *Expected values* brukes til å definere normalområdet for menn og kvinner i tre forskjellige aldersgrupper. Hvis resultatet av en test ligger utenfor de områdene som er tastet inn her, følger en alarm på systemet (*H*, *L*). I den siste linje i hver kategori (male (mann), female (kvinne)) kan det ikke tastes inn en aldersgrense. Disse referanseintervallene gjelder for pasienter som ligger over den øvre grensen for den andre aldersgruppen.

Default area:

- **Sex:** Velg, om referanseintervallet for enten menn eller kvinner skal brukes som standard, hvis kjønn ikke er definert for en prøve.
- **Range:** Velg det referanseinterval som skal brukes som standard, hvis alderen ikke er definert for en prøve.

Endring av applikasjonsparametere - kategori: Others

For å se dette skjerm bildet velges *Utility > Application > Others*.



Calibrator Code:

Tast inn kodenumrene for de aktuelle kalibratorene (911-930) i feltene for kalibratorer (1) til (6). Ikke bruk kalibrator-koder fra produkter fra Roche Diagnostics.

Concentration:

Etter det er tastet inn kalibratorverdier (på skjerm bildet *Calibration > Install*) vises konsentrasjonene her.

Rack No.-Pos.:

Etter rack-tildeling vises racknummer og -posisjon.

Prøvemengde:

Kalibratormengde, som brukes til kalibrering, vises. Hvis en fortyrning er nødvendig, brukes denne mengde til fortyrning.

Fortynnet prøvemengde:

Hvis kalibratormaterialet er fortynt (med diluent (vann)), vises det volum fortynt kalibratormateriale som brukes til kalibrering i dette feltet.

Diluent volume:

Det volum diluent som er brukt til fortyrning vises.

Tildeling av reagenser og diluenter til applikasjoner til utviklingskanaler

1. Til **cobas c 501** analyseinstrumenter: Marker *Open Channel* på skjerm bildet *Reagent > Setting*. Til **cobas c 311** analyseinstrumenter: Marker *Development Channel* på skjerm bildet *Reagent > Setting*.
2. Velg den aktuelle analysen.
3. Marker *Reserve* og *OK* for å lukke vinduet.
4. Plasser en fylt **cobas c pack MULTI** på instrumentet for å tildele den til den valgte analysen.
5. Tildel på tilsvarende måte en **cobas c pack MULTI** med den tilhørende diluenten.

Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Skilletegn for tusengrupper brukes ikke.

Symboler

Roche Diagnostics bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er listet opp i ISO standarden 15223-1.

CONTENT

Pakningsinnhold



Volum etter rekonstitusjon eller blanding

Vesentlige tilføyelser eller endringer er merket med en strek i margin.

© 2014, Roche Diagnostics

7.9 Vedlegg nr: 9 – Excelark med tabeller, grafer og utregninger

7.9.1 Repeterbarhet

Lav kontroll

| Prøve | H | I | L | | µmol/L |
|-------|---|---|---|----|--------|
| 1 | | 0 | 2 | 33 | 15,74 |
| 2 | | 0 | 2 | 33 | 16,26 |
| 3 | | 0 | 2 | 34 | 15,71 |
| 4 | | 2 | 2 | 32 | 16,01 |
| 5 | | 0 | 2 | 32 | 15,72 |
| 6 | | 1 | 2 | 32 | 15,89 |
| 7 | | 0 | 2 | 35 | 16,33 |
| 8 | | 1 | 2 | 34 | 16,13 |
| 9 | | 0 | 2 | 33 | 16,28 |
| 10 | | 1 | 2 | 33 | 16,2 |
| 11 | | 0 | 2 | 33 | 16,08 |
| 12 | | 0 | 2 | 35 | 16,34 |
| 13 | | 0 | 2 | 31 | 16,2 |
| 14 | | 0 | 2 | 32 | 15,96 |
| 15 | | 0 | 2 | 35 | 16,03 |
| 16 | | 0 | 2 | 34 | 15,42 |
| 17 | | 0 | 2 | 32 | 16,4 |
| 18 | | 0 | 2 | 34 | 15,75 |
| 19 | | 0 | 2 | 33 | 15,86 |
| 20 | | 0 | 2 | 33 | 15,85 |

| | |
|-----------------------------|-------------|
| Middelverdi: | 16,008 |
| Standardavvik | 0,263410826 |
| Variasjonskoeffisient (CV): | 1,65 % |

Outlier:

| | |
|-------------|-------|
| Median | 16,02 |
| MAD [3] | 0,21 |
| | |
| | |
| N | 20 |
| N removed | 0 |
| Min | 15,42 |
| Next to min | 15,71 |
| Next to max | 16,34 |
| Max | 16,4 |

| Høy kontroll | | | | | |
|--------------|---|---|---|----|--------|
| Prøve | H | I | L | | µmol/L |
| 21 | | 2 | 6 | 74 | 132,67 |
| 22 | | 3 | 6 | 72 | 132,36 |
| 23 | | 3 | 6 | 71 | 130,82 |
| 24 | | 4 | 6 | 70 | 130,73 |
| 25 | | 4 | 6 | 73 | 132,05 |
| 26 | | 3 | 6 | 73 | 132,08 |
| 27 | | 3 | 6 | 71 | 131,36 |
| 28 | | 3 | 6 | 71 | 132,52 |
| 29 | | 3 | 6 | 69 | 129,73 |
| 30 | | 3 | 6 | 72 | 132,94 |
| 31 | | 2 | 6 | 70 | 130,52 |
| 32 | | 2 | 6 | 69 | 128,29 |
| 33 | | 2 | 6 | 71 | 129,71 |
| 34 | | 1 | 6 | 71 | 129,21 |
| 35 | | 4 | 6 | 68 | 129,43 |
| 36 | | 3 | 6 | 65 | 133,21 |
| 37 | | 3 | 6 | 68 | 132,08 |
| 38 | | 3 | 6 | 68 | 126,75 |
| 39 | | 2 | 6 | 70 | 131,51 |
| 40 | | 3 | 6 | 70 | 131,73 |

| | |
|-----------------------------|-------------|
| Middelverdi: | 130,985 |
| Standardavvik: | 1,695788902 |
| Variasjonskoeffisient (CV): | 1,29 % |

Outlier:

| | |
|-------------|---------|
| Median | 131,435 |
| MAD [3] | 1,005 |
| | |
| | |
| N | 20 |
| N removed | 0 |
| Min | 126,75 |
| Next to min | 128,29 |
| Next to max | 132,94 |
| Max | 133,21 |

7.9.2 Reproduserbarhet

Reproduserbarhet

| Dato | SeroHuman | SeroHigh |
|-------------|-----------|----------|
| 24.03.15 | 15,35 | 125,94 |
| 25.03.15 | 15,56 | 131,5 |
| 25.03.15 | 15,23 | 128,56 |
| 26.03.15 | 15,71 | 127,42 |
| 27.03.15 | 15,37 | 126,61 |
| 28.03.15 | 15,24 | 127,34 |
| 29.03.15 | 15,38 | 127,05 |
| 30.03.15 | 15,41 | 128,46 |
| 31.03.15 | 15,54 | 130,62 |
| 01.04.15 | 15,02 | 128,14 |
| 02.04.15 | 14,9 | 125,68 |
| 04.04.15 | 15,35 | 122,93 |
| 05.04.15 | 14,47 | 125,4 |
| 06.04.15 | 15,01 | 123,44 |
| 07.04.15 | 14,91 | 121,82 |
| 08.04.15 | 14,73 | 123,49 |
| 08.04.15 | 14,52 | 120,52 |
| 08.04.2015* | 15,33 | 126,78 |
| 09.04.15 | 14,29 | 120,38 |
| 09.04.15 | 14,53 | 120,72 |
| 09.04.15 | 14,86 | 123,13 |
| 10.04.15 | 14,71 | 121,63 |
| 11.04.15 | 14,3 | 121,05 |
| 12.04.15 | 14,24 | 120,83 |
| 13.04.15 | 14,29 | 119,55 |

* Kalibrering

| | | |
|---------------|--|-------------|
| SeroHuman | | |
| Middelverdi | | 14,97 |
| Standardavvik | | 0,456608877 |
| CV | | 3,05 % |

| | | |
|---------------|--|-------------|
| SeroHigh | | |
| Middelverdi | | 124,7596 |
| Standardavvik | | 3,452579326 |
| CV | | 2,77 % |

| Outlier: | SeroHuman | SeroHigh |
|-------------|-----------|----------|
| Median | 15,01 | 125,4 |
| MAD [3] | 0,36 | 2,74 |
| | | |
| | | |
| N | 25 | 25 |
| N removed | 0 | 0 |
| Min | 14,24 | 119,55 |
| Next to min | 14,29 | 120,38 |
| Next to max | 15,56 | 130,62 |
| Max | 15,71 | 131,5 |

7.9.3 Linearitet

Kjøring 1

1. gang

| Prøve | H | I | L | μmol/L | |
|-------|---|---|---|--------|--------|
| 1 | | 1 | 1 | 28 | 16,59 |
| 2 | | 1 | 2 | 38 | 47,08 |
| 3 | | 2 | 3 | 48 | 72,02 |
| 4 | | 2 | 4 | 54 | 90,63 |
| 5 | | 2 | 5 | 63 | 111,91 |
| 6 | | 2 | 6 | 66 | 124,9 |

2. gang

| Prøve | H | I | L | μmol/L | |
|-------|---|---|---|--------|--------|
| 1 | | 0 | 1 | 29 | 15,85 |
| 2 | | 0 | 2 | 38 | 42,57 |
| 3 | | 1 | 3 | 47 | 68,46 |
| 4 | | 2 | 4 | 54 | 90,3 |
| 5 | | 4 | 5 | 59 | 108,89 |
| 6 | | 2 | 6 | 68 | 126,22 |

Kjøring 2

1. gang

| Prøve | H | I | L | μmol/L | |
|-------|---|---|---|--------|--------|
| 1 | | 2 | 2 | 32 | 14,65 |
| 2 | | 2 | 2 | 43 | 38,69 |
| 3 | | 3 | 3 | 49 | 64,71 |
| 4 | | 4 | 4 | 54 | 85,66 |
| 5 | | 5 | 5 | 66 | 106,84 |
| 6 | | 4 | 6 | 73 | 120,29 |

2. gang

| Prøve | H | I | L | μmol/L | |
|-------|---|---|---|--------|--------|
| 1 | | 2 | 2 | 33 | 14,65 |
| 2 | | 2 | 2 | 43 | 39,24 |
| 3 | | 2 | 3 | 51 | 65,28 |
| 4 | | 3 | 4 | 57 | 86,25 |
| 5 | | 5 | 5 | 68 | 109,7 |
| 6 | | 5 | 6 | 73 | 122,94 |

7.9.4 Riktighet

| Prøve nr. | ID | H | I | L | µmol/L | | RH (µmol/L) |
|-----------|----------|---|----|----|--------|--------|----------------|
| 1 | 60013322 | | 0 | 4 | 309 | 56,4 | 52 |
| 2 | 15126008 | | 2 | 1 | 17 | 8,74 | 8,6 |
| 3 | 60012927 | | 3 | 1 | 15 | 38,27 | 39,3 |
| 4 | 60015151 | | 8 | 1 | 19 | 104,95 | 102,9 |
| 5 | 60014366 | | 1 | 1 | 15 | 65,79 | 66,3 |
| 6 | 15133950 | | 5 | 1 | 52 | 5,56 | 5,3 |
| 7 | 60013905 | | 0 | 26 | 65 | 139,49 | 155 |
| 8 | 60012925 | | 6 | 1 | 30 | 11,02 | 11,1 |
| 9 | 60014801 | | 24 | 1 | 130 | 27,84 | 28,1 |
| 10 | 13354328 | | 1 | 1 | 35 | 34,96 | 33,4 |
| 11 | 21678069 | | 0 | 1 | 15 | 2,17 | |
| 12 | 13073219 | | 5 | 1 | 22 | 2,14 | 2 |
| 13 | 13069419 | | 1 | 1 | 18 | 3,07 | 2,5 |
| 14 | 13066231 | | 0 | 1 | 582 | 4,47 | 4,6 |
| 15 | 15126111 | | 0 | 1 | 31 | 3,59 | 3,4 |
| 16 | 60013413 | | 4 | 1 | 15 | 40,06 | 41,8 |
| 17 | 60025248 | | 13 | 13 | 49 | 120,79 | 129,6 |
| 18 | 11499664 | | 0 | 1 | 18 | 93,31 | 83,8 |
| 19 | 9616980 | | 1 | 1 | 13 | 27,09 | 26,2 |
| 20 | 15134089 | | 2 | 1 | 18 | 15,76 | 16 |
| 21 | 15134596 | | 7 | 1 | 38 | 5,64 | 5,8 |
| 22 | 60013830 | | 1 | 2 | 18 | 62,97 | 60,5 |

7.9.5 Nedre Deteksjonsgrense

| Prøve | µmol/L |
|-------|--------|
| 1 | 0 |
| 2 | 0 |
| 3 | 0 |
| 4 | 0 |
| 5 | 0 |
| 6 | 0 |
| 7 | 0,02 |
| 8 | 0 |
| 9 | 0,01 |
| 10 | 0 |

| | | |
|----------------------|--|-------------------|
| Middelverdi | | 0,0025 |
| Standardavvik | | 0,00638666 |
| ND: | | 0,02165999 |

| | |
|----|------|
| 11 | 0 |
| 12 | 0 |
| 13 | 0 |
| 14 | 0 |
| 15 | 0,02 |
| 16 | 0 |
| 17 | 0 |
| 18 | 0 |
| 19 | 0 |
| 20 | 0 |

7.9.6 Carry over

Carry-Over

| ID | Prøve | Resultat |
|----------|-------|----------|
| 13073219 | 1 | 2,05 |
| | 2 | 2,04 |
| | 3 | 2,1 |
| 11499664 | 1 | 85,55 |
| 21678029 | 1 | 2,2 |
| 11499664 | 2 | 84,63 |
| 21678029 | 2 | 2,16 |
| 11499664 | 3 | 86,44 |
| 21678029 | 3 | 2,19 |
| 11499664 | 4 | 85,73 |
| 21678029 | 4 | 2,16 |
| 11499664 | 5 | 85,36 |
| 21678029 | 5 | 2,15 |

| Diagram | | | |
|---------|------|-------|--|
| Prøve | Lav | Høy | |
| 1 | 2,2 | 85,55 | |
| 2 | 2,16 | 84,63 | |
| 3 | 2,19 | 86,44 | |
| 4 | 2,16 | 85,73 | |
| 5 | 2,15 | 85,36 | |

7.9.7 Funksjonell sensitivitet

| 0,9 % NaCl | μmol/L |
|------------|--------|
| 1 | 0 |
| 2 | 0 |
| 3 | 0 |
| 4 | 0 |
| 5 | 0 |
| 6 | 0 |
| 7 | 0 |
| 8 | 0 |
| 9 | 0 |
| 10 | 0 |

| | |
|-------------|----------|
| Mean | 0 |
| SD | 0 |

CV

| Prøve 1 | μmol/L |
|---------|--------|
| 1 | 1,96 |
| 2 | 2,06 |
| 3 | 2,06 |
| 4 | 1,96 |
| 5 | 2,05 |
| 6 | 2,16 |
| 7 | 2,25 |
| 8 | 2,1 |
| 9 | 2,15 |
| 10 | 2,04 |

| | |
|-------------|-------------------|
| Mean | 2,079 |
| SD | 0,08987028 |

CV 4,32 %

| Prøve 2 | μmol/L |
|---------|--------|
| 1 | 15,77 |
| 2 | 15,65 |
| 3 | 15,84 |
| 4 | 15,8 |
| 5 | 15,85 |
| 6 | 16,36 |
| 7 | 16,04 |
| 8 | 15,9 |
| 9 | 16,18 |
| 10 | 16 |

| | |
|-------------|-------------------|
| Mean | 15,939 |
| SD | 0,21078952 |

CV 1,32 %

| Prøve 3 | μmol/L |
|---------|--------|
| 1 | 37,3 |
| 2 | 37,28 |
| 3 | 38,2 |
| 4 | 37,92 |
| 5 | 38,29 |
| 6 | 39,83 |
| 7 | 39,7 |
| 8 | 39,59 |
| 9 | 39,6 |
| 10 | 39,09 |

| | |
|-------------|-------------------|
| Mean | 38,68 |
| SD | 1,00166528 |

CV 2,59 %

| Prøve 4 | μmol/L |
|---------|--------|
| 1 | 66,6 |
| 2 | 66,84 |
| 3 | 66,91 |
| 4 | 66,83 |
| 5 | 66,63 |
| 6 | 66,24 |
| 7 | 67,34 |
| 8 | 67,82 |
| 9 | 67,12 |
| 10 | 67,71 |

| | |
|-------------|-------------------|
| Mean | 67,004 |
| SD | 0,49927058 |


CV 0,75 %

| Prøve 5 | μmol/L |
|---------|--------|
| 1 | 81,77 |
| 2 | 82,88 |
| 3 | 84,96 |
| 4 | 85,27 |
| 5 | 85,58 |
| 6 | 84,71 |
| 7 | 82,88 |
| 8 | 84,96 |
| 9 | 85,27 |
| 10 | 85,58 |

| | |
|-------------|-------------------|
| Mean | 84,386 |
| SD | 1,35636934 |

CV 1,61 %

7.10 Vedlegg nr: 10 - Godkjent protokoll for metodevalidering/ -verifisering

| | | | |
|---|------------------------|-----------------------------|--------------------------|
|  | Sykehuset Innlandet HF | Avd. for Medisinsk biokjemi | Refnr. MeS05.01/01.02-03 |
|---|------------------------|-----------------------------|--------------------------|

Protokoll for metodevalidering/verifisering

| | |
|--|--|
| Avdeling: | Medisinsk biokjemi |
| Seksjon/faggruppe: | Klinisk kjemi Lillehammer |
| Analyse: | Gallesyrer |
| Metode/måleprinsipp: | Assay hvor gallesyrer oksideres til ketosteroider vha enzymeret 3-alfa-hydroksysteroid-dehydrogenase. I samme prosess blir tio-NAD ⁺ redusert til tio-NADH som kan avleses spektrofotometrisk ved 405 nm. Dannelseshastigheten er proporsjonal med total konsentrasjon av gallesyrer i prøven. |
| Instrument: | Cobas 6000 |
| Årsak til validering/verifisering: | Etterspørsel fra gynekolog/kvinneklubben |
| Tidsrom for valideringen/verifiseringen: | Mars- Mai 2015 |
| Analysen tas i bruk: <i>(dato for iverksettelse)</i> | |
| Reagenslot/-er som er benyttet: | Reagent 1: BA110140-02 Reagent 2: BA210140-02 |
| Kalibratorlot/-er som er benyttet: | BAS001140-11 |

VALIDERINGSPARAMETERE PRESISJON

Se pkt 3.2 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering – Analytisk kvalitet"

| | |
|--|---|
| Kvalitetskrav | |
| Repererbarhet: | <i>(skriv navn, lotnr., konsentrasjon og leverandør)</i> |
| <ul style="list-style-type: none"> Kontrollmateriale, nivå 1: Kontrollmateriale, nivå 2: | Seronorm Human, Lotnr: 1401001, 14 umol/L, SERO Seronorm Human High, Lotnr: 1206382, 121 umol/L, SERO |
| Reproduserbarhet: | <i>(skriv hvilke kontrollmaterialer som er benyttet og hvordan testingen er utført)</i> |
| | Kontrollmateriale nivå 1 og 2. Kontroll kjøres 1 gang per dag i 21 forskjellige dager, i 2 nivåer. Svar testes for slengere. |
| Overdraging/carry over: | <i>(Hvor er opplysningene hentet fra?)</i> |
| | Testet selv med pasientprøver, ingen carry over påvist. Samt opplysninger hentet fra produsenten Diazyme Laboratories. |
| Kommentar: | Alle tester utført, samt alle resultatene er innefor kravene. |

| Repererbarhet/ innen serie | | | | Kommentar |
|----------------------------|------------|---------|--------|-----------------------|
| | Instrument | | | |
| | Nivå 1 | Nivå 2 | Nivå 3 | |
| Gj.snitt | 16,088 | 130,985 | | Kjørt kun i to nivåer |
| SD | 0,263 | 1,696 | | |
| CV | 1,65 % | 1,29 % | | Innenfor kravet |
| N | 20 | 20 | | |

| Reproduserbarhet/ mellom serie | | | | Kommentar |
|--------------------------------|------------|---------|--------|-----------------------|
| | Instrument | | | |
| | Nivå 1 | Nivå 2 | Nivå 3 | |
| Gj.snitt | 14,970 | 124,760 | | Kjørt kun i to nivåer |
| SD | 0,457 | 3,453 | | |
| CV | 3,05 % | 2,77 % | | Innenfor kravet |
| N | 25 | 25 | | |

**VALIDERINGSPARAMETERE
RIKTIGHET**
Se pkt 3.3 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering – Analytisk kvalitet"

| | |
|--|---|
| Kvalitetskrav: | |
| Sporbarhet | |
| Testmetode: (kalibratoren/-ene) | Hentet fra leverandør, Diazyme Laboratories |
| Komparativ metode: (kalibratoren/-ene) | Bile Acids Calibrator: Lotnr: BAS001140-11 0-kalibrator: 0,9 % Natriumklorid |
| Referansemateriale: (hvis benyttet) | Ikke benyttet |
| Kartlegging av riktighet | |
| a)Metodesammenligning: Korrelasjon: Antall pasientprøver som er benyttet: Konsentrasjonsområde for prøvene: | <i>(skriv antall og hvor mange dager testingen har tatt)</i> Mottok ferdig kjørte pasientprøver fra RH, med medfølgende prøvesvar (kjørt på Modular). God korrelasjon 21 pasientprøver Prøver fra verdiene 2,14 - 139,49 umol/L |
| b)Bruk av referansemateriale: | Pasientprøver fra RH |
| c)Flere like instrumenter: | Ingen |
| Analytisk spesifisitet/interferens | |
| Hvor er opplysninger hentet fra? | Hentet fra Diazyme Laboratories. |
| Gjenfinning | |
| Hvor er opplysninger hentet fra? | Var ikke hensiktsmessig å utføre. |
| Linearitet | |

| | |
|----------------------------------|--|
| Hvor er opplysninger hentet fra? | Testet selv. Lineær opp til 100 |
| Holdbarhet | |
| Hvor er opplysninger hentet fra? | Hentet fra produsenten Diazyme Laboratories. |
| Referanseområde | |
| Hvor er opplysninger hentet fra? | Hentet fra NKK, samt legehåndboken. |

MÅLEOMRÅDE

Se pkt 3.4 i prosedyre "Metodevalidering/verifisering – Analytisk kvalitet"

| | |
|--------------------------|--|
| Øvre målegrense | 100 umol/L |
| Nedre målegrense | 0 umol/L |
| Nedre deteksjonsgrense | 0 umol/L |
| Funksjonell sensitivitet | Grense for funksjonell sensitivitet er ikke påvist, (største CV er 4.32 % ved 2 umol/L). |

RESULTATER FRA EKSTERN KVALITETSVURDERING/EKV:

| | |
|-------------------------|-------------------------------|
| Navn på program / dato: | 2520 - Gallesyrer |
| Eget resultat: | NKK1 = 77,25 NKK2 = 134,83 |
| Metodemean/-median: | NKK1 = 80,7 NKK2 = 157,9 |
| Tillatt avvik: | NKK1 = 9,2 NKK2 = 46,5 |
| Registrert avvik: | NKK1 = 3,45 NKK2 = 23,07 |

Se dokumentasjon, resultater og regneark på følgende v-område: V:\MED SERVICE\Medisinsk biokjemi\felles\Kvalitet\Validering og verifisering\Klinisk kjemi\Lillehammer\Gallesyrer

Vurderinger/konklusjon

Alle krav er overholdt. Den høye kontrollen lå i et for høyt område i forhold til lineariteten på Cobas 6000 (0-100). Prøver over 100 ble automatisk fortynnet og ga da feil svar. Tilltak: Automatisk fortynning er nå fjernet.

Konklusjonen er at det må brukes kontroller fra et annet firma hvor begge nivåene ligger innenfor linearitetsområde (0-100) og gallesyrer kan ikke fortynnes på Cobas 6000. Dette er et kjent problem for de laboratorier som analyserer gallesyrer på Cobas (blant annet OUS, Ullevål), og ved eventuell videre testing og godkjenning av egnet kontrollmateriale vil prøvesvar over 100 gis ut som >100 umol/L.

**Protokoll for metodevalidering/verifisering**

| | |
|---------------------------------|--|
| Dato: | 04.05.2015 |
| Testene er utført av: | Ann Elin O. Espeseth og Ola Hillestad |
| Rapporten er skrevet av: | Ann Elin O. Espeseth og Ola Hillestad |
| Godkjent av: | |
| Avdelingsjef | 12.05.2015 - Avd.sjef Lisbeth Vedde |
| Koordinator | Pharo, Hege |
| Medisinsk faglig ansvarlig | 15.05.2015 - avd.overlege Jon Elling Whist |
| Kvalitetsrådgiver | Deyab, Gia |

Referanser:

[MeS05.01/01.02-01 Metodevalidering/verifisering - analytisk kvalitet](#)

[MeS05.01/01.02-02 Plan for metodevalidering/verifisering](#)