

Luotavuus
Täsmällisyys
Mittausepävarmuus
Osoitettavuus

Häiriöaltuus

Suorituskyky
Oikeellisuus
Määrittämisraja (LOQ)
Herkkyysosoituskyky
Havaitsemisraja (LOD)

Validoinnin suunnittelun opas

Margareta Hägg (toim.)



Validoinnin suunnittelun opas

Margareta Hägg (toim.)

Metrologian neuvottelukunta



ISBN 978-951-38-8469-7 (URL: <http://www.vtt.fi/julkaisut>)

VTT Technology 276

ISSN-L 2242-1211

ISSN 2242-122X (Verkkojulkaisu)

<http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-38-8469-7>

Copyright © VTT 2016

JULKAISIJA – UTGIVARE – PUBLISHER

Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy

PL 1000 (Tekniikantie 4 A, Espoo)

02044 VTT

Puh. 020 722 111, faksi 020 722 7001

Teknologiska forskningscentralen VTT Ab

PB 1000 (Teknikvägen 4 A, Esbo)

FI-02044 VTT

Tfn +358 20 722 111, telefax +358 20 722 7001

VTT Technical Research Centre of Finland Ltd

P.O. Box 1000 (Tekniikantie 4 A, Espoo)

FI-02044 VTT, Finland

Tel. +358 20 722 111, fax +358 20 722 7001

Alkusanat

Menetelmien ja laitteiden validointiin on olemassa paljon ohjeistusta. Kuitenkaan ei aiemmin ole ollut olemassa suomenkielistä teosta, johon olisi koottu asiat, jotka tulee ottaa huomioon validoinnin suunnittelussa.

Metrologian neuvottelukunnan (MNK) validointiryhmä aloitti tämän Validoinnin suunnittelun oppaan laatimisen. Työ saatettiin loppuun Metrologian neuvottelukunnan Koulutus- ja viestintäosastossa neuvottelukunnan kaudella 2014 – 2017.

Tämän oppaan tarkoitus on antaa ohjeita eri testausaloille, erityisesti kemian, mikrobiologian, patologian, immunologian, genetiikan sekä klinisen fysiologian menetelmien ja laitteiden validoinnin suunnitteluun.

Validoinnin suunnittelu on tärkeä osa menetelmän käyttöönotossa, koska validoinnilla arvioidaan mittausten menetelmän suorituskykyä ja menetelmän soveltuvuutta käyttötarkoitukseen. Menetelmää validoitaessa tehdään joukko ennalta suunniteltuja testejä, joilla määritetään tapauskohtaisesti valittujen validointiparametrien arvot. Hyödyntämällä tilastollisia menetelmiä voidaan tunnistaa ne menetelmän kohdat, jotka ovat kriittisiä tuloksen luotettavuuden kannalta. Menetelmä tai laite voidaan ottaa käyttöön vasta sen jälkeen, kun validointi on hyväksytty ja johtopäätökset validoinnista on tehty.

Tarvittavan validoinnin laajuus riippuu mm. siitä, onko käyttöönotettava menetelmä aivan uusi vai ollaanko ottamassa käyttöön menetelmää, joka on jo laajasti käytössä kansallisesti tai kansainvälisesti ja pitääkö ainoastaan tarkistaa menetelmän käyttökelpoisuus omissa olosuhteissa.

Oppaan tekemiseen ovat osallistuneet seuraavat henkilöt:

Andersson Terhi, Tullilaboratorio, Hakola Satu, Evira, Heikkilä Ritva, Heilimo Sara, Tullilaboratorio, Helin Heikki, HUSLAB, Holmström Lars, Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos, Hovinen Taina, Turun ammattikorkeakoulu, Hägg Margareta FINAS, Järvinen Jaana, VTT, Kantanen Marja Leena, Kosunen Antti, STUK, Leivuori Mirja, SYKE, Linko Linnéa, Turun yliopisto, Linko Solveig, HUSLAB, Norppa Hannu, Työterveyslaitos, Nurkka Anu, Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos, Näykki Teemu, SYKE, Salorinne Yrjö, Sarjakoski Tarja, Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos, Venäläinen Eija-Riitta, Evira.

Kiitämme Jenni Kuva-Belfragea, VTT, avusta tämän oppaan viimeistelemisessä sekä kansikuvan suunnittelusta.

Sisällysluettelo

Alkusanat	3
Lyhenteet	5
1. Johdanto	6
2. Validointi ja verifiointi	7
3. Suunnitelma (plan)	9
3.1 Validoinnin kohde, soveltamisala (scope of validation)	9
3.2 Validoinnin tavoite (objective of validation).....	9
3.3 Näyteaineisto (sample material)	10
3.4 Validointiin osallistuvien henkilöiden ja vastuiden nimeäminen	10
3.5 Tavoiteaikataulu	11
3.6 Laitteet	11
3.7 Tilat.....	11
3.8 Validoinnin laajuus ja määritettävät parametrit	11
3.9 Vaatimusten asettaminen.....	14
4. Validoinnin toteutusvaihe ja raportointivaihe	15
5. Validoidun menetelmän käyttöönotto ja laadunvarmistus	17
6. Arkistointi	19
7. Validointiparametrit ja muut validointiin liittyvät termit	20
8. Esimerkkejä käytännön validoinneista	37
8.1 Elintarvikeanalytiikan alue.....	37
8.2 Mikrobiologia	37
8.3 Kliininen mikrobiologia	42
8.4 Immunologiset menetelmät	43
8.5 Kliininen analytiikka	43
8.6 Bioanalytiikka	44
Kirjallisuusluettelo ja syventävää kirjallisuutta	47

Tiivistelmä

Lyhenteet

CC α	Decision Limit
CC β	Detection Capability
C.I.	Confidence Interval
CRM	Certified Reference Material
CV	Coefficient of Variation
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECLIA	Electro-chemiluminescence Immunoassay
EIA	Entzyme Immunoassay
FIA	Fluoroimmunoassay
HRGC-HRMS	High Resolution Gas Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
GMO	Genetically Modified Organism
LLOQ	Lower Limit of Quantitation
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantitation
NMKL	Nordisk metodikkommitte för livsmedel
PCB	PolyChlorinated Biphenyl
PCR	Polymerase Chain Reaction
RM	Reference Material
SD	Standard Deviation
ULOQ	Upper Limit of Quantitation
VIM	International Vocabulary of Metrology

1. Johdanto

Menetelmää validoitaessa tehdään ennalta suunniteltuja testejä, joilla määritetään ta-pauskohtaisesti valittujen validointiparametrien arvot. Hyödyntämällä tilastollisia menetelmiä voidaan tunnistaa menetelmän kohdat, jotka ovat kriittisiä tuloksen luotettavuuden kannalta. Menetelmä tai laite voidaan ottaa käyttöön vasta sen jälkeen, kun validoinnin tulokset on hyväksytty ja johtopäätökset tehty.

Menetelmälle asetettavat vaatimukset voivat olla laboratorion itsensä laatimia tai ne voivat tulla asiakkailta tai viranomaisilta. Nämä tekijät määräävät esimerkiksi, kuinka pieniä pitoisuuksia menetelmällä on pystyttävä määrittämään ja kuinka tarkkoja tulosten tulee olla. Validoinnin hyväksymiskriteerit sen sijaan asettaa laboratorio itse.

Validointi tulee ulottaa kaikkiin tutkittavan testauksen osa-alueisiin näytteenotosta raportointiin ja tulosten tulkintaan asti. Varsinaista näytteen tutkimista edeltävää vaihetta kutsutaan preanalyttiseksi vaiheeksi ja sen jälkeisiä vaiheita postanalytiikan vaiheiksi. Menetelmän validointi pätee vain testatuille käyttöalueille ja parametreille, näytematriiseille, yhdisteille, pitoisuusalueille ja laitteille.

Jos menetelmään tehdään validoinnin jälkeen muutoksia tai sen käyttöä laajennetaan esimerkiksi uudentyypisille näytematriiseille, validoidaan menetelmä tietyiltä osilta uudelleen. Validoinnin jälkeen käyttöönotetun menetelmän toimivuutta seurataan jatkuvasti erilaisten laadunvarmistustoimenpiteiden, kuten sisäisen laadunohjauksen ja ulkoisen laadunarvioinnin avulla. Eräillä toimialoilla tähän on käytössä viranomaisten vahvistamia menettelyjä.

Esimerkiksi säteilyä käyttävissä lääketieteellisissä yksiköissä noudatetaan viranomaisten vahvistamia ja suosittamia menettelyjä, jotka koskevat sekä mittauksia että niihin käytettäviä aineita ja laitteita. Tällöin on validoinnista erityisiä, tälle käyttöalueelle tehtyjä ohjeita ja määräyksiä, joiden määritelmät voivat osittain poiketa tämän oppaan termeistä (ks. esimerkiksi Validation Procedures of Software Applied in Nuclear Instruments, Proceedings of a Technical Meeting held in Vienna, 20–23 November 2006 2007.)

2. Validointi ja verifiointi

Validointiin liittyvien termien käyttö vaihtelee alakohtaisesti. Tämä tarkoittaa, että eri aloilla saatetaan käyttää samasta asiasta erilaisia sanoja ja samalla sanalla saattaa olla alakohtaisesti erilaisia vivahteita. Sanaston käyttö on muuttunut myös ajan kuluessa, joten 1990-luvun kirjallisuudesta poimittujen sanojen tulkinta voi olla nykyisin hieman erilainen kuin alkuperäinen tulkinta. Hyvänä esimerkkinä tästä ovat sanat validointi ja verifiointi. Verifiointi on suppeampi kuin validointi ja toisinaan sitä käytetään, kun menetelmä on jo muualla validoitu tai jos jo validoitu menetelmä laajennetaan käytettäväksi toiselle matriisille. Jotkut käyttävät tästä toiminnasta nimitystä uudelleenvalidointi. Uudelleenvalidointia ja verifiointia ei kuitenkaan tule tulkita universaalisti synonyymeiksi. Esimerkiksi elintarviketeollisuuden prosessivalidoinneilla osoitetaan prosessin odotustenmukainen toimivuus, kun taas verifiointitoiminnalla osoitetaan, että teollisuuslaitoksessa tehdään kaikki tarvittavat toimenpiteet, jotta prosessi toimii kuten validoinnissa on osoitettu. Tässä oppaassa keskitytään kuitenkin menetelmävalidoinnin sanastoon.

Alla Kansainvälisen metrologian sanaston (VIM) lyhyt ja oppaan kirjoittajien laajempi tulkinta sanoista validointi ja verifiointi.

Validointi, varmentaminen (validation)

varmentaminen, että määritellyt vaatimukset ovat käyttötarkoitukseen sopivia (VIM 2.45).

Validointi on menettely, jolla arvioidaan menetelmän ja laitteen soveltuvuutta ja suorituskkyä tiettyyn käyttötarkoitukseen. Validoinnilla tuotetaan vertailuarvoja parametreille, jotka kuvaavat menetelmän luotettavuutta. Validoinnille asetettavat vaatimukset vaihtelevat menetelmän ja sen käyttötarkoituksen mukaan ja ne on asetettava tapauskohtaisesti. Validoinnilla tulee varmentaa, että testitulokset täyttävät lain ja säännöksiin vaatimukset, ovat loogisesti oikeita, käyttötarkoitukseen sopivia ja biologisen tai muun luokituksen mukaisia. Myös asiakkaiden näkökulma on otettava huomioon. Validoinnin laajuus riippuu tutkittavasta analyysimenetelmästä ja sen käyttötarkoituksesta. Laboratorion itsensä kehittämä uusi menetelmä on validoitava ja dokumentoitava täydellisesti.

Verifiointi, varmentaminen (verification)

objektiivisen näytön esittäminen siitä, että tietty kohde täyttää määritellyt vaatimukset (VIM 2.44).

Ero käsitteiden validointi ja verifiointi käytössä on usein epäselvä ja niitä käytetään ristiin. Englannin kielessä määritellään validoinnin ja verifiointin välinen ero seuraavasti:

An easy way of recalling the difference between validation and verification is that validation is ensuring “you built the right product” and verification is ensuring “you built the product right”, (IEEE STANDARD 1059-1993 - IEEE Guide for Software Verification and Validation Plans).

Verifiointi on suppeampi kuin validointi. Verifiointi suoritetaan käyttöönotettaessa mittausmenetelmä, joka on jo käytössä muualla ja on validoitu esimerkiksi diagnostisen tuotteen valmistajan toimesta. Verifiointi tulee kysymykseen myös silloin kun omassa laboratoriossa aiemmin validoituun menetelmään tehdään muutoksia esimerkiksi laitteissa, tietojärjestelmässä, näytematriisissa, analyysimenetelmässä tai näytteen käsittelyssä.

Tämän oppaan kappaleessa 7 esitellään kansainvälisen metrologian sanaston International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms VIM (SFS OPAS 99:2010) määritelmät validointiin liittyville käsitteille ja termeille.

3. Suunnitelma (plan)

Validoinnista laaditaan suunnitelma, joka dokumentoidaan ja hyväksytään ennen työn aloittamista. Suunnitelmasta voidaan poiketa tai siihen voidaan tehdä lisäyksiä, jos validointityön edetessä tällaista tarvetta ilmenee. Muutokset dokumentoidaan.

Seuraavissa luvuissa käsitellään validointisuunnitelmaan kuuluvia asioita, jotka muodostavat validointisuunnitelman rungon (outline of the plan).

3.1 Validoinnin kohde, soveltamisala (scope of validation)

Suunnitelman alussa kuvataan validoinnin kohteena oleva menetelmä tai laite ja sen soveltamisala mukaan lukien käytettävät matriisit.

Validointia suunniteltaessa selvitetään esimerkiksi, onko lainsäädännössä vaatimuksia näytteen esikäsittely- ja analyysimenetelmän, herkkyuden tai määritysrajan suhteen. Menetelmän valitseminen saattaa olla vapaata, kunhan menetelmä täyttää asetetut vaatimukset. Joskus lainsäädännössä taas on yksiselitteisesti sanottu, että analyysimenetelmänä on käytettävä jotain tiettyä menetelmää. Esimerkiksi dioksiinien ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden seulonnassa elintarvikkeista voi käyttää biotestejä ja GC-MS-menetelmiä, mutta varmistukset on tehtävä HRGC-HRMS-menetelmillä.

Uusien laitteiden tai analysaattoreiden käyttöönottoa suunniteltaessa hankitaan tietoa laitevalmistajan suorittamasta validoinnista. Analysaattoreiden käyttöön liittyy usein (diagnostisia) valmisreagensseja jonkin mitattavan suureen pitoisuuden tai ainemäärän määrittämiseksi. Nämä menetelmät ovat laitevalmistajan validoimia ja niistä on saatavilla laitevalmistajan informaatiota ja tutkimustuloksia. Oman laboratorion tehtäväksi jää todentaa eli verifioida, että kyseisellä laitteella tai analysaattorilla saadaan sen käyttötarkoitukseen aiottuja tuloksia ja että analysaattorin tulostaso on vertailukelpoinen aiemmalla laitevarustuksella saatuun tulostasoon. Myös hankittaessa laite, jollainen laboratoriossa jo on, tulee uudelle laitteelle tehdä verifiointi käyttöönoton yhteydessä.

3.2 Validoinnin tavoite (objective of validation)

Oleennaista validoinnissa on, että siinä arvioidaan mittausmenetelmän suorituskykyä sekä myös menetelmän soveltuvuutta tiettyyn tarkoitukseen. Tausta on tunnettava riittävän hyvin, jotta laatutavoitteet osataan asettaa tapauskohtaisesti oikein. Tavoitteet voivat olla laboratorion itsensä asettamia, asiakkailta tai viranomaisilta tulevia. Nämä tekijät mää-

räävät esimerkiksi, kuinka pieniä pitoisuuksia menetelmällä on pystyttävä määrittämään ja kuinka tarkkoja tulosten tulee olla. On arvioitava, onko validoitavalla menetelmällä edes teoriassa mahdollista päästä riittävän alhaiselle pitoisuustasolle. Aina ei kuitenkaan kannata pyrkiä mahdollisimman alhaisiin määritysrajoihin, vaan esimerkiksi voi pyrkiä tunnistamaan menetelmään liittyviä häiriöitä (selektiivisyys, spesifisyys) ja kriittiset suu-reet. Validoinnissa kannattaa keskittyä kriittisiin parametreihin ja tekijöihin, joilla oikeasti on merkitystä tuloksiin eli ei tehdä yli- / alivalidointia.

Esimerkki. Jos lämpötila on kriittinen suure, voivat laboratoriossa saadut tulokset olla merkittävästi erilaisia talvella huoneilman ollessa +21 °C kuin kesällä +28 °C:ssa. Ratkaisu: analyysit tehdään ilmastoidussa huoneessa vakioilämpötilassa.

3.3 Näyteaineisto (sample material)

Validointisuunnitelmassa kuvataan käytettävät näytteet, niiden käsittely ja säilytys sekä häiriötä mahdollisesti aiheuttavat tekijät, kuten kliinisten näytteiden kohdalla esimerkiksi hemolyysi, lipeemisyys ja ikteerisyys.

Matriisin eli näytemateriaalin valinta on keskeistä menetelmää validoitaessa. Validoinnissa käytettävät näytematriisit valitaan sen mukaan, mille matriiseille ja mille mikrobeille/analyyteille menetelmää ollaan validoimassa. Pyrkimyksenä on kattaa eri näytematriisiryhmät.

Esimerkiksi validoitaessa näytematriisia "elintarvikkeet" on yleinen käytäntö validoida vähintään kolme elintarvikeryhmää.

Mikrobiologiassa on optimaalista käyttää luontaisesti kontaminoituneita matriiseja. Usein tämä ei ole mahdollista, jolloin näytematriisit siirrostetaan analysoitavalla mikroilla. Kohdemikrobin pienimmän pitoisuuden tulee olla lähellä määritys- tai toteamisrajaa. Siirrosteen pitoisuus selvitetään pesäkelaskennalla sopivalla elatusalustalla. Näytematriisit sisältävät niille ominaisia mikrobeja, joten taustamikrobien lisäyksen tarvetta ei yleensä ole.

Menetelmän kuvauksessa mainitaan mille näytematriiseille menetelmä soveltuu, esimerkiksi: "maito- ja lihavalmistet", "maitovalmistet", "seerumi ja plasma", "seerumi". Menetelmästä voidaan rajata pois näytematriisit, joille menetelmä ei sovi (esimerkiksi "lihatuotteet, pois lukien raaka jauheliha"). Rajauksen syynä voi olla myös se, että menetelmä sopii vain tietyssä muodossa esiintyville analyteille (esim. tietyt vitamiiniyhdisteet) tai vain elintarvikkeeseen lisätyille analyteille (esim. vitamiinimenetelmät saatetaan joutua rajaamaan vain lisätyille vitamiineille, sillä luontaisten vitamiinien pitoisuudet ovat usein matalia ja vitamiinit ovat tiukasti sitoutuneena näytematriisiin).

3.4 Validointiin osallistuvien henkilöiden ja vastuiden nimeäminen

Validointisuunnitelmaan kirjataan vastuuhenkilöt, esim. suunnitelman tekijä, käytännön työn suorittajat ja suunnitelman ja raportin hyväksyjät. Mikäli validointi on huomattavan

laaja, voidaan tarvittaessa eritellä eri osa-alueiden vastuuhenkilöt ja varahenkilöt (kokonaisvastuu, käytännön vastuu, suunnitteluvastuu, hyväksyjät).

Validoinnin suunnitteluvaiheessa tulee ottaa huomioon myös perehdytyksen suunnittelu ja sen riittävä kattavuus laboratoriohenkilöstön keskuudessa.

3.5 Tavoiteaikataulu

Sovitaan tavoiteaikataulu validoinnille.

3.6 Laitteet

Kirjataan suunnitelmaan validoinnissa käytettävät laitteet ja varmistetaan, että laitteet ovat toimintakunnossa ja ne on jäljitettävästi kalibroitu.

3.7 Tilat

Kuvataan käytettävät tilat ja tiloille mahdollisesti asetetut erityisvaatimukset, esimerkiksi turvalaboratorio tai PCR-tilat. Tila- ja laiteratkaisuilla pyritään usein joko suojelemaan työntekijä näytteeltä (esim. myrkyllisyys tai tartuntavaara) tai suojelemaan näyte työntekijältä ja/tai toisilta näytteiltä (esim. bakteeri/DNA-kontaminaatio tai näytteiden ristikontaminaatio).

3.8 Validoinnin laajuus ja määritettävät parametrit

Validoinnin laajuus valitaan seuraavasti:

- Itse kehitetyt sisäiset menetelmät vaativat laajimman validoinnin.
- Kansainvälisistä julkaisuista otettujen menetelmien validointi vaatii laaja-alaista validointia tai jos validointi on dokumentoitu luotettavasti ja riittävän laajasti, riittää suppea validointi (verifiointi).
- Laite- tai reagenssivalmistajan menetelmät, ohjeista muokatut menetelmät ja kitit (reagenssipakkaukset) lähinnä verifioidaan. Reagenssin tuotantoerän vaihtuessa tulee varmistaa uuden erän toimivuus.
- Mukautuvan pätevyysalueen menetelmät validoidaan laajennusta koskevalta osalta aina, kun uusi näytematriisi tai yhdiste otetaan mukaan menetelmään menetelmäohjeessa olevan kuvauksen mukaisesti.
- Kansalliset ja kansainväliset standardimenetelmät verifioidaan.
- Kun standardimenetelmistä poiketaan, muunneltu osa-alue validoidaan. Tällainen muutos voi olla esim. eri näytematriisi.
- Vakiintuneet menetelmäkokoelmien menetelmät verifioidaan. Menetelmäkokoelmia ovat esim. NMKL ja NordVal.

- Kauan käytössä olleelle ”vanhalle menetelmälle”, tai esim. saman laboratorion toisessa yksikössä validoidulle ja jo käytössä olevalle menetelmälle riittää yleensä verifiointimenettely testauksen toimivuuden osoittamiseen.
- Verifiointi, jos laite vaihtuu tai muutetaan toiseen käyttötilaan.

Kun laitteille tehdään ohjelmistopäivityksiä, tulee toimivuus varmistaa testiajoilla. Nykyaikaisten analysaattorien ja kuvantamislaitteiden ohjelmointi on useimmiten loppukäyttäjälle näkymätöntä. Yleensä luotetaan laitteen valmistajan tekemään validointiin. Laittevalmistajat pyrkivät täyttämään oman alansa standardit ja osa laitteista on käynyt läpi muodollisen tarkastuksen. Esimerkkeinä laitteistoja koskevista ohjeista ovat Yhdysvaltain Food and Drug Administrationin ”Guidance for Industry, FDA Reviewers and Compliance on Off-The-Shelf Software Use in Medical Devices, September 9, 1999” ja European Medicines Agencyn ”Guideline on bioanalytical method validation”.

Tiedonsiirto tutkimuslaitteen käyttäjän omiin tietojärjestelmiin jää usein erillisen asiantuntijaryhmän vastuulle. Tiedonsiirto on soveltuvin keinoin varmennettava ja dokumentoitava.

Mittausten ja kuvien digitaaliselle muodolle on lukuisia eri standardeja. Tutkimusmenetelmän käyttöönoton on varmistuttava siitä, että analyysijärjestelmän validointi kattaa myös siihen liittyvän digitaalisen tiedonkäsittelyn ja siirron edelleen tarvittaviin muihin tietojärjestelmiin. Tarkastelu on tehtävä alakohtaisesti, koska sekä vaatimukset että valmiudet voivat poiketa suuresti toisistaan. Tutkimusmenetelmän käyttöönoton on siksi käytettävä tervettä harkintaa valittaessa kokonaisvalidointiin tarpeellisia asioita.

Taulukossa 1 on esitetty eri testausalueiden validoinneissa yleisimmin määritettäviä parametrejä (seuraava sivu).

Taulukko 1. Validoinnissa käytettävät parametrit.

		Kemia, elintarvike, rehut, kliini- nen, ympäristö ym.		Molekyyli- biologia		Mikrobiologia ja virologia, kliininen		Mikrobiologia elintarvike, rehut, ympäristö ym.		Kliininen fysiologia
		semikvantitatiivinen kvantitatiivinen	kvalitatiivinen	kvantitatiivinen	kvalitatiivinen	kvantitatiivinen	kvalitatiivinen	kvantitatiivinen	kvalitatiivinen	
englanti (VIM)	suomi									
Limit of detection	Havaitsemisraja (LOD)	x	x	x	x	x	x		x	x
Sensitivity	Herkkyys	x	x	x	x	x	x		x	x
Robustness, ruggedness	Häiriöalttius	x	x	x	x		x			x
Linearity	Lineaarisuus	x		x	x*	x		x		x
Measurement range	Mittausalue	x		x		x		x		x
Uncertainty	Mittaus- epävarmuus	x		x		x		x		x
Limit of quantitation	Määrittämisraja (LOQ)	x		x		x		x		x
Trueness	Oikeellisuus	x	x	x	x			x	x	x
	Osoituskyky	x								x
Resolution	Resoluutio	x								x
Recovery	Saanto	x				x		x		x
Selectivity	Selektiivisyys	x	x			x	x	x	x	x
Specificity	Spesifisyys	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Stability	Stabiilisuus	x				x	x			x
Performance	Suorituskyky	x								x
Repeatability	Toistettavuus	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Precision	Täsmällisyys	x		x						x
Reproducibility	Uusittavuus	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Virhelähteet		x		x		x		x	x

* multiplex –menetelmät

Hyvällä suunnittelulla saadaan yhdellä koejärjestelyllä määritettyä useita validointiparametreja. Kvantitatiivisessa analytiikassa vähintään oikeellisuus, uusittavuus, toistettavuus, lineaarisuus, spesifisyys ja määrittäysraja voidaan yhdistää yhteen koesuoritukseen. Mm. mikrobiologiassa luennan toistettavuuden rinnakkaisluennoilla saadaan kerättyä lisäksi mittausepävarmuuden määrittämisessä tarvittavaa aineistoa.

Kvalitatiivisessa menetelmässä määritettävät parametrit: oikeellisuus, virhepositiivisuus, virhenegatiivisuus, toistettavuus, uusittavuus, toteamisraja, spesifisyys ja herkkyys voidaan yhdistää yhteen koejärjestelyyn.

Suunnittelussa on huomioitava, että validointi on voimassa vain testatulla pitoisuustasolla, testatuilla matriiseilla tai validoidulla laiteyksilöllä.

3.9 Vaatimusten asettaminen

Kun mahdollista, validointiparametreille annetaan validointisuunnitelmaa tehtäessä tulosvaatimus, jonka pitää täytyä. Vaatimukset päätetään kaiken käytettävissä olevan tiedon avulla. Näitä tietoja saadaan mm. menetelmäkehityksen aikana ja asiakas- tai viranomaisvaatimuksista. Esimerkiksi menetelmän toistettavuuden vaatimuksena voi olla CV% < 2,0 % tai saantokokeen vaatimuksena saanto > 98 %.

Esimerkiksi uusittavuutta testattaessa voi vaatimuksena olla, että vertailtavat tulokset vastaavat toisiaan 95 % luottamustasolla. Lineaarisuutta testattaessa puolestaan vaaditaan, että regressiosuora kulkee origon kautta 95 % luottamustasolla. Vaatimusten lisäksi validointisuunnitelmassa kerrotaan, miten tulokset tullaan laskemaan ja millaisia tilastollisia menetelmiä tullaan käyttämään tulosten tulkinnassa.

Kvalitatiivisten ja immunologisten kaupallisten testien osalta absoluuttista validoinnin tavoitetta on vaikea asettaa. Testien valmistajien ilmoittamat herkkyys- ja spesifisyysluvut ovat yleensä niin hyviä, että niitä ei ole käytännössä mahdollisuus saavuttaa. Tällöin täytyy käyttää testin validoinnista vastuussa olevan henkilön kokemusta ja ammattitaitoa. Hänen tehtäväkseen jää perustella, miksi ja millä edellytyksillä testi soveltuu käyttöön heidän laboratoriossaan.

4. Validoinnin toteutusvaihe ja raportointivaihe

Validointiin ryhdytään suunnitelman mukaisesti. Tuloksia arvioidaan kriittisesti validoinnin edetessä ja suoritetaan lisätestauksia, mikäli sellaiselle ilmaantuu tarvetta. Muutokset dokumentoidaan. Alkuperäinen hyväksytty suunnitelma arkistoidaan. Onnistunut validointi löytää menetelmän ”akilleenkantapäät”- kohdat, jotka ovat kriittisiä ja jotka on tarkistettava säännöllisesti menetelmää käytettäessä.

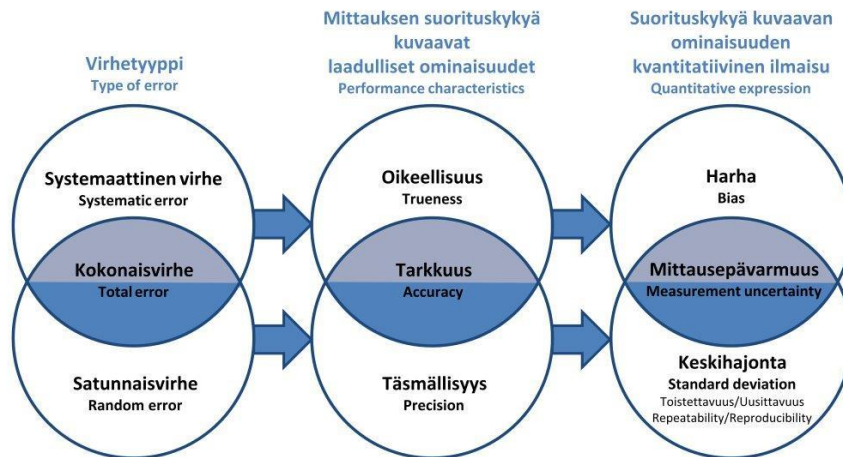
Tulokset lasketaan käyttäen suunniteltuja tilastollisia menetelmiä ja niitä verrataan asetettuihin tavoitteisiin.

Validoinnin toteutuksesta laaditaan yhteenvetoraportti, jossa viitataan aiemmin laadittuun suunnitelmaan. Mikäli suunnitelmasta on poikettu tai validoinnin edetessä on tehty aiemmin suunnittelemtomia jatkotestejä, kirjataan nämä validointiraporttiin. Raportissa tulee käsitellä kaikki suunnitellut validointiparametrit. Tulokset lasketaan käyttäen suunniteltuja tilastollisia menetelmiä ja käytetyt laskukaavat kirjataan. Datan käsittelyssä harharvo outlier voidaan tunnistaa tilastollisin menetelmin käyttämällä ns. harharvotestejä. Käytännössä 95 % luottamustasolla joka kahdeskymmenes mittaustulos voi olla harharvo.

Tulokset kannattaa laskea alusta asti niissä yksiköissä, joissa tulokset tullaan myöhemmin ilmoittamaan. Myös lainsäädäntö saattaa asettaa vaatimuksia tulosten ilmoitustavasta.

Uuden itsekehitetyn menetelmän validoinnissa syntyneet tulokset luovat perustan menetelmän tuleville laatutavoitteille, joita tarkistetaan ajan kuluessa menetelmän jatkuvassa käytössä.

Saaduista tuloksista arvioidaan menetelmän kokonaismittausepävarmuus (laajennettu mittausepävarmuus). Tätä verrataan sallittuun analyttiseen kokonaisvirheeseen eli tavoitteelliseen kokonaismittausepävarmuuteen, joka voi olla joko mittaustuloksia hyödyntävän asiakkaan, laboratorion itsensä tai lainsäädännön asettama. Kuva 1 selvittää eri validointiparametrien suhdetta virhetyyppeihin ja mittausepävarmuuteen.



Kuva 1. Mittaustulosten laatua kuvaavien peruskäsitteiden yhteys toisiinsa (Menditto et al. 2007).

Mikäli mittaustuloksia ei ole riittävästi, mittausepävarmuus arvioidaan alustavasti. Aineistoa kerätään lisää menetelmän käyttöönoton jälkeen ja mittausepävarmuus arvioidaan uudelleen.

Laboratorion pätevyysalueeseen kuuluvat näytematriisit, yhdisteet sekä mahdolliset menetelmämuutokset dokumentoidaan menetelmään. Validointi on voimassa vain testatulla pitoisuustasolla ja testatuilla matriiseilla.

Raporttiin sisällytetään aina johtopäätökset ja päätökset menetelmän käyttöönotosta tai hylkäämisestä. Tässä yhteydessä voidaan menetelmän soveltuvuutta tarvittaessa muuttaa tulosten perusteella.

5. Validoidun menetelmän käyttöönotto ja laadunvarmistus

Menetelmän käyttöönoton yhteydessä määritellään henkilöt, joilla on pätevyys menetelmän suorittamiseen. Validointiprosessin kuluessa siihen osallistuneet henkilöt ovat yleensä pätevyityneet kyseisen menetelmän suorittamiseen.

Validointi ei ole kertaluonteinen toimenpide. Laboratorion tulee kuvata johtamisjärjestelmässään uudelleenvälidoinnin periaatteet. Tällä tarkoitetaan sitä, että laboratorio tietyn väliajoin tarkistaa, onko validointi edelleen paikkansapitävä vai onko tarvetta uusia validointia joltain osin.

Validointitulokset luovat perustan sisäisen laadunohjauksen säännöille. Mittausepävarmuuden arvioinnissa saadaan myös alustava käsitys siitä, minkälainen suorituskyky menetelmällä on tulevissa laboratorioiden välisissä vertailumittauksissa. Menetelmän rutiinikäytössä kertyy tietoa menetelmän toimivuudesta ja suorituskyvystä, mitä on hyvä verrata sovitun ajan kuluttua aiemmin saatuihin validointituloksiin. Jotta näin voidaan menetellä, on validointiraportilla suuri merkitys.

Ulkoisen laadunvarmistus, -arviointi

Ulkoisesta laadunvarmistuksesta voidaan huolehtia vertailumittauksiin tai pätevyyskokeisiin osallistumalla ja kaupallisia sertifoituja referenssimateriaaleja käyttämällä. Laboratorion menestymistä pätevyyskokeessa kuvaa z-arvo, josta voi päätellä onko laboratorion menetelmä toimiva kyseisen analyysin suhteen. Vakiintunut z-arvojen tulkinta on, että kun $|z| < 2$ on tulos hyväksyttävä ja kun $2 < |z| < 3$ on tulos kyseenalainen. Kun $|z| > 3$, tulos ei ole hyväksyttävä. Aina kun $|z| > 2$, on menetelmää tarkasteltava kyseisen analyysin suhteen ja selvitettävä, miksi tulos on poikkeava.

Mikäli ei ole käytettävissä sertifoituja referenssimateriaaleja tai vertailumittauskierroksia, voidaan ulkoista laadunvarmistusta toteuttaa pienimuotoisella laboratorioiden välisellä vertailumittauksella. Suositus on, että vähintään kolme laboratoriota osallistuu vertailuun.

Sisäinen laadunvarmistus, -ohjaus

Sisäisessä laadunvarmistuksessa hyödynnetään kontrollinäytteitä, nollanäytteitä, rinnakkaisnäytteitä, rinnakkaismäärityksiä, toistokokeita, tunnettuja lisäyksiä näytteisiin, ympätyjä näytteitä ja ristiinluentaa. Näitä varmistustuloksia voidaan seurata esimerkiksi valvontakorttien avulla.

Mikäli uusia yhdisteitä tai matriiseja lisätään menetelmään, tehdään tämän yhdisteen osalta täydentävä validointi tehdyn suunnitelman perusteella.

Menetelmän käyttöajan toiminta

Menetelmän toimivuutta seurataan sisäisellä ja ulkoisella laadunvarmistuksella. Toinen termi sisäiselle laadunvarmistukselle on sisäinen laadunohjaus. Toinen termi ulkoiselle laadunvarmistukselle on ulkoinen laadunarviointi.

Validointi voidaan joutua uusimaan tai arvioimaan sen uusimistarve monesta syystä. Tällaisia syitä ovat esimerkiksi

- laboratorion oma laatujärjestelmä/johtamisjärjestelmä/toimintajärjestelmä
- vertailumittausten/pätevyyskokeiden tulokset – toistuva poikkeava tulos vertailumittauksissa tai pätevyyskokeissa
- käytetyn standardin uusi versio
- laitteiden kunto ja uudet laiteversiot tai kokonaan uusi laite
- uusi versio testistä.

6. Arkistointi

Validointiaineiston säilytyksestä ja arkistoinnista tulee huolehtia. Arkistointiaika saattaa olla määritelty lainsäädännössä tai se on määritelty laboratorion arkistointisäännössä. Jotkut asiakirjat säilytetään pysyvästi lainsäädännöstä johtuen. Menetelmiin liittyvää validointiaineistoa on säilytettävä vähintään niin kauan kuin menetelmä on käytössä ja tämänkin jälkeen aineistoa tulee säilyttää vielä arkistointiajan pituisen ajan. Arkistoinnissa on otettava huomioon se, missä muodossa aineisto on. Paperisten dokumenttien ollessa kyseessä asia on selkeä, mutta jos validointiaineistoa on sähköisenä, on varmistettava, että aineisto on luettavissa/saatavilla menetelmän käyttöajan lisäksi arkistointiajan päättymiseen asti.

7. Validointiparametrit ja muut validointiin liittyvät termit

Alla on lueteltu validointiparametreja aakkosjärjestyksessä. Käsitteitä ja termejä kuvataan tässä oppaassa laajemmin kuin VIMissä. Taulukossa 1 on esitetty validointiparametreille soveltuvat käyttöalueet.

Erottelukyky, resoluutio (resolution)

pienin mitattavan **suureen** muutos, joka aiheuttaa havaittavan muutoksen vastaavassa näyttämässä (VIM 4.14)

Funktionaalinen herkkyys (functional sensitivity)

Katso määrittäjäraja.

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Haavoittuvuus (ruggedness)

Katso häiriöalttius.

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Havaitsemisraja, toteamisraja, teoreettinen herkkyys, ilmaisuraja, LOD (limit of detection)

suureen mitattu arvo, joka saadaan tietyllä **mittausmenettelyllä**, jossa todennäköisyys, että ilmaisin virheellisesti jättää ilmaisematta materiaalissa olevan komponentin, on β ja todennäköisyys, että ilmaisin ilmaisee virheellisesti komponentin, on α (VIM 4.18)

Havaitsemisraja on pienin pitoisuus tutkittavaa yhdistettä, mikrobia tai muuta biologista tekijää, joka voidaan todeta luotettavasti. Havaitsemisraja tulee määrittää kattavalle näytematriisijoukolle.

Kvantitatiivisessa kemiassa havaitsemisrajan määrittäminen perustuu taustan hajonnan tutkimiseen analysoimalla nollanäytettä toistuvasti. Käytännössä se määritetään pitoisuudeksi, joka on yhtä suuri kuin kolme kertaa nollanäytteen keskihajonta (99,5 % todennäköisyys normaalijakautuneessa aineistossa). Jos nollanäytteellä ei ole havaittavaa signaalia, voidaan havaitsemisraja määrittää signaalin (S) ja kohinan (N) suhteella, minkä tulee olla suurempi tai yhtä suuri kuin 3 ($S/N \geq 3$). Nollanäytteen sijasta voidaan käyttää myös näytettä, joka sisältää hyvin pienen pitoisuuden mittaavaa analytyä.

Kliinisessä mikrobiologiassa havaitsemisrajan etsiminen voidaan tehdä esim. rikastusliemien toimivuuden tutkimisessa.

Klassinen esimerkki on salmonellarikastusliemen testaus. Liemiviljelyrikastusta käytetään salmonellojen viljelyprosessissa ennen maljaviljelystä. Toteamisraja testataan viljelemällä yksi pesäke esimerkiksi *S. infantis* -kantaan lihaliemiputkeen ja 1 pesäke *E. coli* -kantaan toiseen lihaliemiputkeen. Putkia kasvatetaan yli yön, jolloin putkessa on kasvua n. 10⁹ bakt/ml. *S. infantis* -viljelmästä tehdään laimennussarjat 10⁻⁹ asti. Salmonellalaimennuksista -5,-6,-7,-8 ja -9 pipetoidaan 100 µl seleniittiputkeen ja samalla 100 µl verimaljalle salmonellojen määrän määrittämiseksi. *E. coli* laimennetaan 10⁻¹. Tätä laimennusta pipetoidaan 100 µl jokaiseen seleniittiputkeen. Seuraavana päivänä verimaljoilta lasketaan laimennusten sisältämät bakteerimäärät. Rikastusliemiä kasvatetaan myös yli yön, jonka jälkeen niistä siirrostetaan silmukalla salmonellamaljat. Salmonellojen tulisi kasvaa vielä niistä putkista, joihin on lisätty n. 10 salmonellasolua.

Herkkyyks (sensitivity)

mittausjärjestelmän näyttämän muutoksen suhde sitä vastaavaan muutokseen mitattavan **suureen arvossa** (VIM 4.12)

Herkkyyks on menetelmän kyky todeta vähäiset vaihtelut määritettävien analyttien pitoisuuksissa tietyssä materiaalissa. Kun menetelmä on herkkä, pieni muutos pitoisuudessa antaa suuren muutoksen vasteessa.

Kemian alalla herkkyyks on suoran kulmakerroin käytettäessä lineaarista kalibroitua. Menetelmä on sitä herkempi, mitä jyrkempi kalibraatiosuora on.

Mikrobiologian alalla herkkyydellä tarkoitetaan menetelmän kykyä todeta vähäiset vaihtelut määritettävien mikrobien pitoisuuksissa tietyssä materiaalissa. Kvalitatiivisen menetelmän herkkyyks ilmoitetaan yleensä menetelmän antamien positiivisten tulosten prosenttiosuutena.

$$\text{Herkkyyks} = \frac{OP}{OP + VN}$$

Missä

OP = oikeiden positiivisten lkm.

VN = väärin negatiivisten lkm.

Mikrobiologian alalla käytetään usein termiä herkkyyks, kun todellisuudessa tarkoitetaan toteamisrajaa. Silloin kun puhutaan pienimmästä pesäkemäärästä, mikä menetelmällä pystytään havaitsemaan, tulisi käyttää termiä toteamisraja tai havaitsemisraja.

Laboratoriossa käytettävien menetelmien herkkyydelle voi olla erilaisia vaatimuksia tutkittaessa samaa ominaisuutta, mutta eri käyttötarkoituksessa ja kahdella, ehkä kustannuksiltaan erillisillä menetelmillä. Tässä yhteydessä on hyvä erottaa semikvantitatiiviset tai kvalitatiiviset seulontamenetelmät, varsinaiset laboratoriomenetelmät ja varmistusmenetelmät.

Herkkyys on keskeinen ja tärkeä menetelmän ominaisuus verrattaessa menetelmiä toisiinsa tai tehtäessä täydellistä validointia uutta menetelmää kehitettäessä.

Häiriöalttius, haavoittuvuus (robustness, ruggedness)

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Menetelmän häiriöalttius kuvaa menetelmän kykyä vastustaa pieniä muutoksia testausolosuhteissa ja testauksen eri vaiheissa. Menetelmän häiriöalttiuden testaamisessa arvioidaan ensin ne tekijät, jotka ovat muutosalttiita (esim. lämpötila, pH, reaktioaika) ja tehdään koesuunnitelma määrittämällä riittävä analyysien lukumäärä eri muutossuureiden testaamista varten.

Mikrobiologian alalla huomioon otettavia asioita ovat esimerkiksi työntekijäkohtaiset työskentelyerot kuten pesäkkeiden tulkintaerot, näytematriisin ominaisuudet ja taustamikrobiston luonne. Mikrobiologisissa menetelmissä onkin usein tekijöitä, jotka voivat vaikuttaa määrittämiseen, mutta joiden todellista vaikutusta on vaikea arvioida. Merkittävä mittaus tuloksen epävarmuustekijä on hiukkastilastollinen hajonta, joka aiheutuu analyysin olomuodosta (partikkeleita vs. liukoinen analyysi). Näytteistä tehdyissä rinnakkaisanalyyseissä esiintyykin hajontaa normaalijakaumaa enemmän (ylihajonta). Sallittavaa ylihajontaa ei kuitenkaan ole määritetty.

Kemiallisista analyyseistä tiedetään, että joitakin systemaattisia virheitä voi olla mahdollista poistaa tai korjata, mutta satunnaisvirheitä esiintyy aina. Jos menetelmän mittaus epävarmuutta ei pystytä laskemaan, on erittäin tärkeää kirjata määrittämiseen vaikuttavat tekijät mahdollisimman tarkasti.

Uutta menetelmää kehitettäessä häiriöalttius tulee testata ja häiriöitä aiheuttavat tekijät kirjata.

Ilmaisuraja (limit of detection, LOD)

Katso toteamisraja.

Kvantitointiraja (limit of quantitation, LOQ)

Kvantitointiraja (limit of quantitation, LOQ)

Lineaarisuus (linearity)

Katso mittausalue.

Luottamusväli (confidence interval C.I.)

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Luottamusväli on rajattu alue, jossa näytteen pitoisuus valitulla todennäköisyydellä on (tavallisesti 95 %).

Mittauksen harha, poikkeama (bias)

systemaattisen mittausvirheen estimaatti (VIM 2.18)

Menetelmän kokonaispoikkeama B on tuloksen ja teoreettisen arvon tai standardimenetelmälle sovitun arvon välinen ero.

$B = x - T$, missä x on useampien mittaustuloksien keskiarvo ja T = teoreettinen arvo tai standardimenetelmälle sovittu arvo. Poikkeama voidaan ilmoittaa myös prosentteina:

$$B (\%) = [(x - T)/T] \times 100.$$

Analyysimenetelmän poikkeama muodostuu menetelmään liittyvistä laboratorion riippumattomista systemaattisista virheistä sekä menetelmää käyttävän laboratorion omista systemaattisista virheistä.

Mittausalue, määrittelyalue, toiminta-alue (measuring interval, working interval)

joukko saman **lajin suureiden arvoja**, jotka voidaan mitata tietyllä **mittauslaitteella** tai **mittausjärjestelmällä**, jolle on määritetty **epävarmuus**, määritellyin ehdoin (VIM 4.7)

Mittausalueella tarkoitetaan sitä analyysin pitoisuusaluetta tai suureen vaihtelualuetta, jossa menetelmää voidaan käyttää käyttötarkoitukseensa soveltuvalla tarkkuudella. Optimitoimitusalueella kalibroitisuus on lineaarinen. Lineaarinen alue kuvaa sitä mittausaluetta, jolla analysoidun yhdisteen vaste käyttäytyy lineaarisesti konsentraatioon nähden. Mittausalueen alkupäässä on rajoittavana tekijänä menetelmän toteamis- tai määrittelyraja ja loppupäässä mittalaitteen kyky havainnoida analyysin pitoisuuden tai suureen muutoksia.

Yleensä mittausalueeksi valitaan lineaarinen alue, jossa pienimpänä pitoisuutena on menetelmän luotettavasti saavutettava määrittelyraja. Lineaarinen alue määritetään tekemällä useita mittauksia standardisuureille, kemiassa standardiyhdisteille tai ”spiikkausnäytteille” (käytössä on myös termi lisäysnäyte ja mikrobiologiassa ympätty näyte). Yhdisteen pitoisuuden tulee vaihdella. Määritetään vähintään viisi eri pitoisuutta, kolmella toistolla. Lineaarisuus arvioidaan regressiosuoran graafisesta esityksestä. Regressiokerroin kuvaa suoran sovituksen hyvyttä. Se ei kuitenkaan ole riittävä todentamaan lineaarisuutta. Residuaaliarvojen (mitatun ja regressiosuoran kaavan avulla lasketun arvon ero) jakautuminen graafisessa esityksessä antaa tietoa lineaarisuudesta.

Lineaarilla alueella residuaalit (jäännösarvot) jakautuvat tasaisesti nollan molemmille puolille ilman, että mitään säännönmukaisuutta on havaittavissa.

Kemian alalla hyödynnetään mittanormaaliuoksia (standardiliuoksia, vakioliuoksia, kalibraattoreita) ja mikrobiologiassa siirrostettuja näytteitä. Mittausalue voi olla laajempi kuin lineaarinen alue, mikäli hyväksyttävä tarkkuus ja täsmällisyys saavutetaan myös epälinearisella alueella. Mittausalue voidaan myös jakaa useampaan lineaariseen alueeseen.

Mittausepävarmuus (measurement uncertainty, u)

ei-negatiivinen parametri, joka käytettyjen tietojen perusteella kuvaa **mittaussuurelle** saatujen **arvojen** oletettua vaihtelua (VIM 2.26)

Mittausepävarmuus kuvaa yleisluonteista mittaustulosten vaihtelua ja se on määritelty virherajojen avulla.

Jokaiseen menetelmään liittyy tietty epävarmuus, joka johtuu virheistä tai epätarkkuuksista näytteenotossa, näytteen säilytyksessä, laitteissa ja analyysin eri vaiheissa. Mittausepävarmuus on tulokseen liittyvä arvio rajoista, joiden välissä ”oikea” arvo on tietyllä todennäköisyydellä. Mittausepävarmuus koostuu mittauksessa esiintyvistä sys-

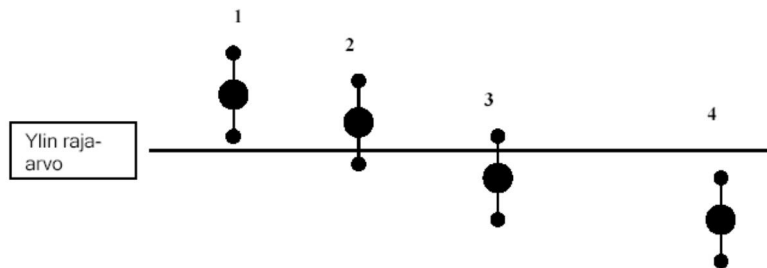
temaattisesta ja satunnaisesta virheestä (Kuva 1). Systemaattista virhettä kuvaa menetelmän oikeellisuus ja satunnaisvirhettä määrittelyn sisäinen toistotarkkuus ja välitason toistotarkkuus.

Kemialliset ja mikrobiologiset menetelmät eroavat toisistaan periaatteellisesti. Kemiallisissa analyyseissä pyritään liuottamalla, uuttamalla, saostamalla, fraktioimalla tms. menettelyillä erottamaan analytti näytematriisista. Jos analyttia joudutaan laimentamaan, se tehdään vasta edellä mainittujen vaiheiden jälkeen. Laimennetunkin analyytin pitoisuus on yleensä suuri, joten satunnainen hajonta vaikuttaa kemiallisissa analyyseissä hyvin vähän.

Mikrobiologiassa sen sijaan analysoidaan menetelmästä riippuen näyte mikrobeineen, materiaaleineen ja häiritsevine taustoineen. Mikrobiologisten määrittelytulosten mittausepävarmuus riippuu itse mittaustuloksesta. Näin ollen ei voida ilmoittaa menetelmäkohtaista mittausepävarmuutta, vaan se arvioidaan erikseen kunkin tuloksen osalta. Mikrobiologisen menetelmän epävarmuus koostuu laboratorion teknisestä epävarmuudesta sekä Poisson-jakaumaan perustuvasta hiukkastilastollisesta hajonnasta. Hiukkastilastolliseen hajontaan ei vaikuta laboratorion työskentely. Laboratorion tekninen epävarmuus koostuu mm. tilavuusmittausten, siirrostilavuuden, laimennuskertoimen, tuloksen laskennan sekä pesäkkeen varmistuksen epävarmuudesta. Mittaustuloksen yhdistetty epävarmuus saadaan yhdistämällä kaikki tai ainakin tärkeimmät analyysin suorittamisen eri vaiheisiin liittyvät epävarmuustekijät. Laboratorio voi määrittellä itse, ilmoittaako se mikrobiologisen menetelmän epävarmuuden laboratorion teknisenä epävarmuutena vai sisällyttääkö se myös hiukkastilastollisen hajonnan epävarmuusarvioon. Epävarmuusarviosta tulee käydä ilmi, kummasta epävarmuudesta on kyse.

Mittausepävarmuuden määrittämisessä tulee huomioida eri pitoisuusalueet.

Mittausepävarmuuden määrittämisessä esiintyvä parametri voi olla esim. keskihajonta (tai sen monikerta) tai puolet luottamusvälin leveydestä. Mittausepävarmuus muodostuu yleensä useista osista. Jotkut näistä osista voidaan arvioida mittaussarjan tulosten tilastollisesta jakautumasta ja niitä voidaan kuvata kokeellisen keskihajonnan avulla. Toisia osia, joita voidaan kuvata samoin keskihajonnan avulla, arvioidaan kokemukseen tai muuhun informaatioon perustuvan oletetun todennäköisyysjakautuman perusteella. On ymmärrettävää, että mittaustulos on paras mittaussuureen arvon estimaatti ja että kaikki epävarmuustekijät vaikuttavat vaihteluun; mukaan lukien ne, jotka aiheutuvat systemaattisista tekijöistä, kuten korjauksista ja referenssinormaaleista.



Kuva 2. 1 = Mittaustulos ja epävarmuusarvio raja-arvon yläpuolella
 2 = Mittaustulos raja-arvon yläpuolella, mutta raja-arvo epävarmuusarvion sisällä
 3 = Mittaustulos raja-arvon alapuolella ja raja-arvo epävarmuusarvion sisällä
 4 = Mittaustulos ja epävarmuusarvio raja-arvon alapuolella.
 (Ehder 2005a; Hiltunen, Linko et al. 2011)

Mittaasepävarmuustietoja tarvitaan, kun halutaan arvioida, onko mittaustuloksen tarkkuus riittävä esim. tietyn päätöksenteon kannalta sekä vertailtaessa eri laboratorioiden tuloksia keskenään. Kuvassa oleva mittaustulos 1 ei täytä epävarmuusarvionkaan perusteella vaatimuksia, kun taas tulos 2 ja 3 ovat mittaasepävarmuuden puitteissa hyväksyttävissä, mutta vaativat tapauskohtaista harkintaa. Tulos 4 osoittaa myös mittaasepävarmuuden osalta täyttävänsä annetut vaatimukset käytetyllä luotettavuusvälillä. (Ehder 2005a).

Tässä yhteydessä on tärkeää erottaa käsitteet mittausvirhe ja mittaasepävarmuus toisistaan. Mittausvirhe on suureen mitatun arvon ja suureen vertailuarvon erotus. Mittausvirhe on siten yksittäinen arvo, jota voidaan käyttää tietyn tuloksen korjaukseen. Mittaasepävarmuus toisaalta on taas muodoltaan vaihteluväli, jota voidaan soveltaa kaikkiin tietyn mittausmenetelmän tuloksiin. (Ehder 2005a; VIM).

Laajennettu mittaasepävarmuus (expanded measurement uncertainty, U) mittauksen yhdistetyn standardiepävarmuuden ja lukua yksi suuremman kertoimen tulo (VIM 2.35)

Pitöisuus ilmoitetaan määrityksen tuloksen luottamusvälinä, jonka voidaan olettaa pitävän sisällään suurimman osan testituloksista.

Jotta laajennettu mittaasepävarmuus saadaan selville, mittauksen yhdistetty standardiepävarmuus kerrotaan kattavuuskertoimella k . Esimerkiksi $k:n$ arvolla 2 todennäköisyys sille, että ”oikea” tulos on rajojen sisällä, on 95 %.

Laajennetun mittaasepävarmuuden laskemiseen on eri menetelmiä ja näissä arvioinneissa voidaan hyödyntää vertailumittauksissa saatuja tuloksia ja sertifioiduilla tai muuten luotettavilla referenssimateriaaleilla saatuja tuloksia. Lisäksi voidaan hyödyntää saantokokeiden tuloksia sekä varsinaisten näytteiden toistomittauksien tuloksia. Mittaasepävarmuuslaskennan avuksi on saatavilla Nordtestin raporttiin TR 537 ja standardiin SFS ISO 11352 perustuva MUKit-mittaasepävarmuusohjelma. Tämän voi ladata maksutta internetistä.

Lainsäädännössä saatetaan vaatia, että mittaustuloksen yhteydessä on ilmoitettava laajennettu mittausepävarmuus (esim. nitraatti ja monet muut vierasaineet).

Mittaustarkkuus (accuracy)

Katso tarkkuus.

Mittausvirhe (measurement error)

suureen mitatun arvon ja suureen vertailuarvon erotus (VIM 2.16)

Määrittäminen (measurement range)

Katso mittausalue.

Määrittäminen, kvantitointiraja, funktionaalinen herkkyys (limit of quantitation, LOQ)

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Kvantitatiivisen määrityksen pitoisuusalaraja väliaineessa (matriisissa) mitattuna, jolle voidaan esittää epävarmuusarvio. (Ehder 2005a)

Alempi määrittäminen (lower limit of quantitation, LLOQ) on alhaisin pitoisuus, joka pystytään määrittämään kvantitatiivisesti validoitavalle menetelmälle halutulla toistettavuudella ja todenmukaisuudella. Määrittäminen määritetään samoin kuin havaitsemisraja, mutta toistettavuuden ja oikeellisuuden tulee pysyä halutuissa rajoissa (esim. $\leq 20\%$). Useimmiten alemman määrittäminen katsotaan olevan 5, 6 tai 10 kertaa nollanäytteen keskihajonta. Tämä on usein sama kuin pienin pitoisuus standardisuoralla. Pitoisuusmäärittäminen alle alemman määrittäminen ei ole hyväksyttävää, joten sen alapuolella menetelmä tuottaa ainoastaan kvalitatiivisia tai semikvantitatiivisia tuloksia. Usein LLOQ:n määrittämisessä käytetään LOD:n kertoimen 3 sijasta muita kertoimia.

Ylempi määrittäminen (upper limit of quantitation, ULOQ) on korkein analysoitavan aineen pitoisuus, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä toistettavuudella ja oikeellisuudella (esim. $\leq 20\%$). Tämä on usein sama kuin korkein pitoisuus standardisuoralla.

Mikäli menetelmällä analysoitavat pitoisuudet ovat korkeita, ei mahdollisimman alhainen määrittäminen ole tavoittelemisen arvoinen asia.

Lainsäädännössä saattaa olla myös tietyt numeeriset vaatimukset toteamis- ja määrittämisrajojen suhteen.

Esimerkiksi nitraatin normi tuoreessa salaatisissa on 2500 - 4500 mg/kg ja analysoidut pitoisuudet ovat yleisesti yli 1000 mg/kg. Tällöin ei alhaisiin määrittämisrahoihin pääseminen ole välttämätöntä. Kun lainsäädännössä on alhaisia normeja analyyteille (esimerkiksi monet vierasaineet, kuten polysykliset aromaattiset hiilivedyt ja aflatoksiinit, joiden normit voivat olla niinkin alhaiset kuin 0,1 - 2 µg/kg) ollaan usein lähellä menetelmän määrittämisrajoja ja tällöin mahdollisimman alhaisiin määrittämisrahoihin pääseminen on erityisen tärkeää.

Esimerkiksi bentso(a)pyreenin määrityksissä elintarvikevalvonnassa määrittäminen tulee olla ainakin 0,9 µg/kg. Bentso(a)pyreenin sallittu enimmäismäärä elintarvikkeeksi tarkoitetuissa öljyissä ja rasvoissa on 2 µg/kg, joten vaaditun minimimäärittäminen ja määritysten vastaiseksi katsotun rajan välillä ei ole suurta eroa.

Mikrobiologian alalla määrittäjäraja on alhaisin lukumääräinen mikrobipitoisuus, joka voidaan määrittää kvantitatiivisesti.

Mikrobiologinen määrittäjäraja nestemäisille näytteille on yleensä maljavaluna <1 pmy/ml ja pintalevityksenä <10 pmy/ml. Kiinteille näytteille vastaavasti maljavaluna <10 pmy/g ja pintalevityksenä <100 pmy/g. Nostamalla analysoitavaa näytemäärää ja tekemällä rinnakkaisia määrittäjärajoja voidaan määrittäjärajaa alentaa. (Elintarvikevirasto Valvonta 13/1997 Mikrobiologisten menetelmien validointiohje).

Oikeellisuus, todenmukaisuus (trueness)

hyvin monen, periaatteessa äärettömän monen toiston tuloksena saatujen **suureen mitattujen arvojen** keskiarvon ja **suureen vertailuarvon** yhtäpitävyys (VIM 2.14)

Menetelmän antamien tulosten oikeellisuuden tutkiminen edellyttää tietoa määritettävän analyysin pitoisuudesta/ominaisuuksista. Oikeellisuus kuvaa analyysituloksen ja tuntemattoman tosiarvon läheisyyttä. Oikeellisuus tulee määrittää eri pitoisuusalueella ja validointimittaukset on suoritettava pitkällä aikavälillä, jotta saadaan selville eri muuttujien mahdolliset vaikutukset. Oikeellisuutta voidaan ilmaista suhteellisena poikkeamana (%). Käytännössä oikeellisuuden arviointi edellyttää varmennetun vertailumateriaalin käyttöä ja/tai osallistumista vertailumittauksiin. Kun varmennettua vertailumateriaalia ei ole käytettävissä, voidaan suorittaa saantokokeita. Oikeellisuutta voidaan myös arvioida vertaamalla validoitavaa menetelmää yleisesti hyväksyttyä referenssimenetelmää vastaan.

Tarkkuuteen vaikuttavat virheet jaetaan systemaattisiin virheisiin ja satunnaisvirheisiin (Kuva 1). Satunnaisvirheiden vaikutusta voidaan vähentää toistamalla määrittäjäraja riittävän monta kertaa, mutta systemaattinen virhe saa aina nollasta poikkeavan arvon. Validoinnin tavoitteena on se, että menetelmässä ei esiinny systemaattista virhettä (esim. virheelinen kalibrointi) ja että satunnaisvirhe on mahdollisimman pieni.

VIM 2.14 huom. 2:n mukaan mittauksen todenmukaisuus on käänteisessä suhteessa systemaattiseen mittausvirheeseen, mutta se ei liity satunnaiseen virheeseen.

Suhteellinen oikeellisuus tarkoittaa referenssimenetelmän ja validoitavan menetelmän antamien tulosten vastaavuutta/lähekkäisyyttä tutkittaessa samoja näytteitä. Suhteellinen oikeellisuus ilmaistaan menetelmien antamien virhepositiivisten ja virhenegatiivisten prosentuaalisilla osuuksilla. Näitä käytetään kvantitatiivisessa analytiikassa, esimerkiksi mikrobiologiassa ja immunologiassa.

Virhepositiivisuus tarkoittaa validoitavan menetelmän antamaa positiivista tulosta silloin, kun näyte ei sisällä tutkittavaa analyttia. Virhenegatiivisuus tarkoittaa sitä, että tutkittava näyte sisältää analyttia, mutta validoitava menetelmä antaa negatiivisen tuloksen.

Poikkeama

Katso mittauksen harha.

**Päätösraja (decision limit, CC α) ja
Osoituskyky (detection capability, CC β)**

Termejä ei ole määritelty VIMissä.

Eläinperäisten näytteiden jäämävalvonnassa noudatetaan päätöksessä 2002/657/EY määriteltyjä rajoja:

Päätösrajaksi (CC α) kutsutaan sitä rajaa (pitoisuutta), jonka kohdalla ja yläpuolella voidaan päätellä virhetodennäköisyydellä α , että näyte on asetettujen vaatimusten vastainen.

Osoituskyky (CC β) on analyysin pienin pitoisuus, joka voidaan näytteessä osoittaa, tunnistaa ja/tai mitata tietyllä virheen β todennäköisyydellä (β -virhe on todennäköisyys saada väärä negatiivinen tulos). Aineille, joille ei ole asetettu vahvistettua sallittua rajaa (MRL-pitoisuus), osoituskyky on alhaisin pitoisuus, jolla kyseinen menetelmä pystyy osoittamaan positiivisen tuloksen. Jos yhdisteille on osoitettu sallittu raja, osoituskyky on se pitoisuus, jolla kyseinen menetelmä pystyy osoittamaan sallitut rajapitoisuudet tilastollisella varmuudella 1- β . Päätösrajan ja osoituskyvyn tarkempi määrittely ja määrittäminen on ohjeistettu mm. komission päätöksessä.

Päätösrajan ja osoituskyvyn laskemiseksi käytetään saannon, toistettavuuden ja/tai uusittavuuden laskemiseksi tehtyjä alhaisimmalla pitoisuustasolla väkevöidyn nollanätematriisiin mittaustuloksia. Päätösraja (CC α) voidaan laskea kaavasta:

$$CC\alpha = C1 + k \times sd$$

missä

C1 = validoinnissa mukana oleva alhaisin pitoisuustaso
k = 2,33 kun C1 = pienin mitattavissa oleva pitoisuus tai
k = 1,64 kun C1 = sallittu raja (MRL)
sd = pitoisuuden C1 toistettavuuden hajonta.

Menetelmän osoituskyky (CC β) voidaan määrittellä vain kun CC α on määritetty. Osoituskyky lasketaan kaavasta:

$$CC\beta = CC\alpha + k \times sd$$

missä

k = 1,64
sd = päätösrajapitoisuuden toistettavuuden hajonta (voidaan harkitusti käyttää myös pitoisuuden C1 hajontaa).

Resoluutio (resolution)

Katso erottelukyky.

Saanto (recovery)

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Saannolla tarkoitetaan näytematriisiin spiikatun (lisätyn, ympätyn) yhdisteen tai näytteeseen lisätyn sisäisen standardin takaisinsaantoa. Saantokokeita tehtäessä lisäys tehdään lähinnä nollanäytematriisiin tai reagenssinollaan, mutta joskus myös lisäys tehdään näytteeseen ja silloin vähennetään näytteessä oleva analyytin määrä. Sisäinen standardi on yhdiste, joka muistuttaa määritettävää yhdistettä, mutta erottuu selvästi siitä.

Saanto -% = (määritetty pitoisuus / lisätty pitoisuus) x 100 %.

Saantoprosentin määrittäminen ei ole aina välttämätöntä, jos katsotaan, että alempi määrittysraja ja tarkkuus (systemaattinen ja satunnainen virhe) ovat hyväksyttävällä tasolla.

Keskimääräinen saanto ja variaatiokerroin (= 100 x keskihajonta / keskiarvo) lasketaan saaduista toistokokeen tuloksista.

Elintarvikemääryksiin liittyvässä lainsäädännössä on saatettu antaa menetelmälle minimivaatimukset saannon ja toistotarkkuuden suhteen. Vaatimuksena esimerkiksi nitraatilla on saanto 90 – 110 % tai 60 – 120 % pitoisuudesta riippuen. Lainsäädännössä voi olla myös maininta siitä korjataanko tulokset saannon suhteen vai ei.

Saantoa voidaan käyttää muun muassa näytteen esikäsittelyn optimoimiseksi.

Selektiivisyys (selectivity)

tietystä, yhden tai useamman **mittaussuureen** arvoja tuottavassa **mittausmenettelyssä** käytetyn **mittausjärjestelmän** kyky pitää kaikkien mittaussuureiden arvot riippumattomina toisistaan ja muista tutkittavaan ilmiöön, kappaleeseen tai aineeseen liittyvistä **suureista** (VIM 4.13)

Selektiivinen menetelmä tuottaa vasteen useille analyteille, joiden joukosta määritettävä analytti pystytään erottamaan yksiselitteisesti. Käytännössä selektiivisyyden testaaminen edellyttää analyysitekniikan hyvää tuntemusta. Laimennussarjan vasteiden ja laimennoksen suhteen on oltava lineaarinen, tai standardisuoran ja näytteeseen tehdyn standardinlisäyssarjan kulmakertoimien on oltava yhtä suuret.

Selektiivisyyskokeilla pyritään selvittämään erilaisten taustatekijöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä. Näytematriisi voi sisältää aineita, jotka häiritsevät analyysiä vahvistamalla tai heikentämällä analyytin signaalia. Häiritsevät aineet itse eivät välttämättä anna havaittavaa signaalia. Taustatekijöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä voidaan selvittää lisäämällä tutkittavia yhdisteitä näytematriisiin. Selektiivisyyskokeet liittyvät usein läheisesti tarkkuuden määrittämiseen, joten huolellisesti suunnitelluilla kokeilla voidaan sekä selektiivisyys että tarkkuus määrittää samojen testitulosten avulla. Näkymättömiä häiriötekijöitä voidaan selvittää lisäämällä tutkittavia yhdisteitä eri pitoisuuksilla näytematriisiin ja liuottimeen ja vertaamalla tehtyjen lisäysten kulmakertoimia. Näkyviä häiriötekijöitä esim. kromatografisissa menetelmissä voidaan tutkia määrittämällä tutkittaville yhdisteille puhtaissa liuottimissa ja näytematriisilisäyksissä kolonnin teoreettinen pohjaluku, resoluutio ja symmetrisyyskijä.

Spesifisyys (specificity)

Termiä ei ole määritelty VIMissä.

Menetelmä on spesifinen, mikäli se tuottaa vasteen ainoastaan tutkittavalle yhdisteelle tai analyyttille. Spesifinen mikrobiologinen menetelmä löytää tutkittavat mikrobit näytteen häiritsevästä tekijöistä huolimatta. Geenitekniikassa alukkeet (eli koettimet, oligot tai primerit ja probi) ovat spesifiset, mikäli ne antavat vasteen vain tutkitulle kohdeorganismille tai DNA-jaksolle.

Eri tekniikoilla on omat spesifisyysongelmansa, joten käytetyn tekniikan perustuntemus on oleellista kokeiden suunnittelussa ja suorittamisessa. Esimerkiksi kromatografiset menetelmät eivät ole spesifisiä. Testit voi aloittaa määrittämällä nollanäytteitä ja sellaista näytematriisia, joka ei sisällä analyyttiä. Tämän jälkeen mitataan analyyttiä sekä mahdollisuuksien mukaan analyytin kaltaisia yhdisteitä, mitkä voisivat esiintyä analyysissä ja häiritä sitä.

Esimerkiksi ulosteviljely, jossa etsitään tavallisimpia ripulin aiheuttajabakteereita, hyödyntää sekä selektiivisyyttä että spesifisyyttä. Selektiivisen maljavalikoiman avulla pyritään kasvattamaan kyseiset taudinaiheuttajat. Elatusaineet eivät ole kuitenkaan riittävän spesifisiä, eli etsitävien bakteerien pesäkemorfologia, kasvutapa, kasvunopeus jne. vaihtelevat, joten pesäkkeitä varmistetaan mm. erilaisilla biokemiallisilla keinoilla ja gram-värjäyksen avulla.

Spesifisyystestaus voidaan tehdä myös kvantitatiivisesti lisäämällä esim. ulostemassaan tunnettuja määriä tutkittavaa mikrobia. Käytännössä mikrobiologiset viljelymenetelmät eivät koskaan ole täydellisen spesifisiä. Pesäkkeiden tulkinta on myös aina subjektiivista.

$$\text{Spesifisyys} = \frac{ON}{ON + VP}$$

missä

ON = oikeiden negatiivisten lkm

VP = väärin positiivisten lkm.

Esimerkiksi geenitekniikassa alukkeiden spesifisyys on menetelmän toimivuuden kannalta kriittinen asia ja se tulee varmentaa validoinnissa. Standardimenetelmien ja sertifioidujen menetelmien spesifisyys on jo testattu ja riittää, että laboratorio toteaa menetelmän spesifisyyden.

Geenitekniisten menetelmien spesifisyys tulee tarkistaa sekä mallintaen (in silico) että kokeellisesti. Mallintamisessa etsitään DNA-sekvenssien vastaavuuksia tekemällä hakuja internetin DNA-tietokannoista (esim. BLAST search). Kokeellisessa testauksessa alukkeiden toimintaa testataan sekä kohdeorganismeilla että lähisukuisilla tai tutkittavissa näytteissä yleisesti esiintyvillä organismeilla. Testauksessa tulisi tarkistaa alukkeiden spesifisyys 20 kohdeorganismilla ja 20 ei-kohdeorganismilla, silloin kun mahdollista. Esim. salmonellan tunnistusmenetelmän spesifisyys testataan 20 salmonella-kannalla ja 20 lähisukuisella tai häiritsevällä kannalla

Täydelliseen spesifisyyteen kaikkien näytteeseen liittyvien komponenttien läsnä ollessa ei useinkaan päästä, vaan on tyydyttävä jonkinasteiseen selektiivisyyteen. Jos menetelmän selektiivisyys on riittävä aiottuun käyttötarkoitukseen, voidaan validointiprosessia jatkaa, muutoin menetelmää on korjattava. Häiriötekijöiden aiheuttajat ja niiden vaikutus tulee selvittää huolellisesti.

Spesifisyyskriteerit on saatettu esittää lainsäädännössä. Siellä voi olla esimerkiksi maininta, ettei väliaineesta aiheutuvia häiriöitä tai spektrihäiriöitä saa esiintyä.

Tarkkuus, mittaustarkkuus, (accuracy)

suureen mitatun arvon ja mittaussuureen todellisen arvon yhtäpitävyys (VIM 2.13)

Termiä mittaustarkkuus ei pitäisi käyttää mittauksen todenmukaisuudesta eikä termiä mittauksen täsmällisyys tulisi käyttää mittaustarkkuudesta, joka kuitenkin liittyy näihin molempiin käsitteisiin.

Tarkkuus (accuracy)= oikeellisuus, todenmukaisuus (trueness)+ täsmällisyys, toistotarkkuus (precision).

Tarkkuus on kvalitatiivinen käsite, jota ilmaistaan kvantitatiivisesti systemaattisen virheen (bias) ja satunnaisvirheen (toistettavuus) summana.

Teoreettinen herkkyys (teoretical sensitivity)

Katso havaitsemisraja.

Todenmukaisuus, oikeellisuus (trueness)

Katso oikeellisuus.

Toiminta-alue (functional range)

Katso mittausalue.

Toteamisraja (limit of detection, LOD)

Katso havaitsemisraja.

Toistettavuus (repeatability)

mittauksen täsmällisyys tiettyjen **toistettavuusehtojen** täytyessä (VIM 2.21)

Toistettavuus on tulosten välinen yhtäpitävyys, kun määritykset tehdään samoissa olosuhteissa, samasta näytteestä, samalla menetelmällä, saman tekijän toimesta, samalla laitteella samassa laboratoriossa, lyhyen aikavälin sisällä. Toistettavuutta voidaan testata joko kvalitatiivisesti tai kvantitatiivisesti.

Kliinisessä mikrobiologiassa testaaminen on pääosin kvalitatiivista tai semikvantitatiivista, joten käytännön esimerkkinä voidaan käyttää virtsanäytteen viljelyä. Testaaja viljelee tunnetun bakteerimäärän omaavaa näytettä (tai useampia näytteitä) 1µl silmukalla selektiiviselle elatusaineelle, esim. Cled-maljoille (10 – 20 maljaa/näyte). Testit tehdään peräkkäin samanlaisilla työvälineillä ja samaa erää oleville elatusainemaljoille. Tuloksista lasketaan ka, SD ja CV%.

Toistettavuus voidaan testata tekemällä useita rinnakkaismäärytyksiä erityyppisistä näytteistä eri pitoisuusalueilla. Näytteinä voidaan käyttää varsinaisia näytteitä, laboratorion sisäisiä valvontanäytteitä, vertailumateriaalia tai saantokoenäytteitä. Näytteistä lasketaan keskimääräinen pitoisuus (keskiarvo), SD ja CV%.

Toistuvuus (repeatability)

Katso toistettavuus.

Täsmällisyys (precision)

sellaisten näyttämien tai suureen mitattujen arvojen yhtäpitävyys, jotka on saatu toistomittauksilla tutkittaessa samaa tai samankaltaisia kohteita hyvin määritellyissä olosuhteissa (VIM 2.15)

Täsmällisyys on mitattujen arvojen vastaavuus, jotka on saatu samalla tai samankaltaiselle kohteelle tietyissä olosuhteissa tehdyillä toistuvilla mittauksilla.

Menetelmän täsmällisyys ilmaistaan kvantitatiivisesti toistettavuudella ja uusittavuudella.

Menetelmän täsmällisyys määritetään tekemällä erilaisia toistokokeita. Toistokokeiden suorittamistavasta riippuen mittaustulosten hajonta (keskihajonta) kuvaa joko menetelmän toistettavuutta tai uusittavuutta.

Mittauksen uusittavuusehdot (reproducibility condition)

mittauksen ehdot, joihin sisältyy eri paikkoja, mittaajia, mittausjärjestelmiä ja samojen tai samankaltaisten kohteiden toistomittauksia (VIM 2.24).

Uusittavuus (reproducibility)

mittauksen täsmällisyys mittauksen uusittavuusehtojen täytyessä (VIM 2.25)

Uusittavuus on tulosten välinen yhtäpitävyys, kun määrytykset tehdään samalla menetelmällä muuttaen yhtä tai useampaa seuraavista: mittauslaite, suorituspaikka, suorittaja tai muu oleellinen tekijä tai tehden mittaukset aikavälein, jotka ovat pitkät verrattuna yksittäisen mittauksen kestoajaan.

Menetelmän uusittavuutta arvioidaan analysoimalla todellisia näytteitä tai vertailumateriaalia ja osallistumalla vertailumittauksiin. Kokonaishajonta kuvaa menetelmän uusittavuutta.

Menetelmän laboratorion sisäistä uusittavuutta testataan valvontanäytteiden tai vertailumateriaalin rinnakkaismäärytyksillä pitkällä aikavälillä. Tulosaineistosta lasketaan keskihajonta rinnakkaisten erotuksen perusteella.

Esim. uusittavuuden testaus on erittäin hyödyllistä toteuttaa herkkyysmääritysten tarkistamisessa. Tarkoitukseen käytetään esim. ATCC-herkkyysmäärityskantoja (esim. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*). Normaalin sisäiseen laadunseurantaan liittyvän testauksen tekijöinä toimivat yksikön laboratoriohoitajat/bioanalytiikot/laborantit vuorotellen. He suorittavat testauksen tarkasti ohjeen/standardin mukaan ja tulokset kirjataan ylös. Variaatio voidaan laskea sovittujen ajanjaksojen puitteissa.

Muita validointiin liittyviä termejä:

Analyytti (analyte)

Analysoitava yhdiste, mikrobi, molekyyli tms.

Harha-arvo (outlier)

Tulossarjoissa esiintyy toisinaan arvoja, jotka näyttävät virheellisiltä. Tulos voidaan poistaa sarjasta, jos tiedetään tai epäillään vahvasti, että määrittystä tehtäessä on tapahtunut virhe. Ääriarvoja voidaan poistaa myös tilastollisen arvioinnin perusteella.

Tilastollisia menetelmiä harha-arvojen tunnistamiseksi on useita, joista yksittäisen tuloksen tarkasteluun sopii esim. Grubbsin testi (ISO 5725).

Metrologinen jäljitettävyys (metrological traceability)

mittaustuloksen ominaisuus, jonka avulla tulos voidaan yhdistää referenssiin dokumentoidulla katkeamattomalla **kalibrointien** ketjulla, jonka jokainen kalibrointi vaikuttaa **mitausepävarmuuteen** (VIM 2.41)

Kontrollinäyte, laadunvalvontanäyte (control sample)

Sisäisessä laadunvarmistuksessa (laadunohjauksessa) ja validoinnissa käytettävä laboratorionäyte, ominaisuuksiltaan ja/tai pitoisuudeltaan tunnettu näyte. Katso vertailuaine ja varmennettu vertailuaine.

Menetelmä (method of measurement)

Standardimenetelmä

Standardimenetelmä on standardisoimisjärjestön julkaisema menetelmä. Standardisoimisjärjestöjä ovat kansainvälinen International Organization for Standardization (ISO), eurooppalainen European Committee for Standardization (CEN) ja kansallinen Suomen Standardisoimisliitto (SFS).

Virallinen menetelmä

Virallinen menetelmä on lainsäädännössä annettu, esim. EU-menetelmä. Se on yleensä standardimenetelmä tai kansainvälisen menetelmäkokoelman menetelmä.

Kansainvälisen menetelmäkokoelman menetelmä

Kansainvälisiä menetelmäkokoelmia ovat International Dairy Federation (IDF), Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea (NMKL, Nordisk Metodikkommitté för Livsmedel, Nordic Committee on Food Analysis) ja Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Menetelmäkokoelmien menetelmäehtoja voidaan validoinnin kannalta pitää samanarvoisina kuin varsinaisia menetelmiä.

Vaihtoehtoinen menetelmä

Vaihtoehtoisia menetelmiä ovat erikoistekniikoihin perustuvat menetelmät, joilla yleensä tarkoitetaan pikamenetelmiä. Tällaisia tekniikoita ovat mm. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ja ATP (Adenosine Triphosphate). Menetelmiin liittyy yleensä kaupallinen sovellutus.

Referenssimenetelmä

Referenssimenetelmä on menetelmä, jonka ominaisuudet tunnetaan perusteellisesti. Menetelmä on selkeästi ja täsmällisesti kuvattu ja sen on osoitettu antavan oikeita ja toistettavia tuloksia. Menetelmää voidaan käyttää muiden saman suureen tutkimiseen tarkoitettujen menetelmien arvioimiseen ja erityisesti vertailuaineiden testaamiseen.

Menetelmämuunnos

Poiketaan menetelmästä jollakin tavalla esim. matriisi-, liuos-, elatusalusta- tai reagenssimuutos.

Sisäinen menetelmä

Sisäisiä menetelmiä voivat olla esim. itse kehitetyt menetelmät, kansainvälisistä julkaisuista otetut menetelmät, laite- tai reagenssivalmistajan ohjeista muokatut menetelmät ja kumottuihin standardeihin perustuvat menetelmät.

Mittanormaali (measurement standard)

suureen määritelmän realisaatio, jolla on ilmoitettu **suureen arvo** ja siihen liittyvä **mittausepävarmuus** ja jota käytetään referenssinä (VIM 5.1)

Pätevyyskoe (laboratory proficiency testing)

Kahden tai useamman laboratorion samojen tai samanlaisten kohteiden tai materiaalien testaamisen organisointi ja suorittaminen sekä tulosten ja pätevyyden arviointi ennalta määrättyjen ehtojen mukaisesti.

Rinnakkaismäärittäminen (replicate determination)

Näytteistä tehdään kaksi tai useampia rinnakkaismäärittämyksiä toistamalla määrittäminen alusta loppuun näytteen esikäsittely mukaan luettuna.

Ristiinluenta (cross assessment)

Visuaalisissa testeissä vähintään kaksi henkilöä tulkitsee samat tulokset.

Satunnaisvirhe (random error)

mittausvirheen osa, joka vaihtelee ennustamattomalla tavalla **mittausta** toistettaessa (VIM 2.19)

Mittaustuloksen ja keskiarvon erotus, joka saadaan toistettaessa suureen saman arvon mittaus samankaltaisissa olosuhteissa.

Systemaattinen virhe (systematic error)

mittausvirheen osa, joka pysyy **mittausta** toistettaessa vakiona tai vaihtelee ennustettavalla tavalla (VIM 2.17)

Mittausvirhe, joka suureen samaa arvoa mitattaessa on samoissa olosuhteissa vakioarvoinen tai olosuhteista jollakin säännönmukaisella tavalla riippuvainen (mutta ei riipu mittauskertojen määrästä).

Stabiilisuus, stabiilius (stability)

Stabiilisuuden testaamisella määritetään:

- analyttien stabiilisuus näytematriisissaan omissa säilytysastioissaan ja tyypillisissä säilytysolosuhteissa vähintään autenttisten näytteiden odotettavissa olevana säilytysaikana. Hajoamista voi tapahtua paitsi näytematriisissa, myös prosessoituissa näytteissä esimerkiksi niiden odottaessa analysointia näytteensyöttäjässä. Myös prosessoitujen näytteiden stabiilisuus säilytyksessä (esim. jääkaapissa) on tutkittava. Uusinta-analyysejä ajatellen myös stabiilisuus uudelleen injektoitaessa tulee selvittää
- pakastuksen ja sulatuksen vaikutus näytteiden, standardien ja kontrollien säilyvyyteen
- näytteiden stabiilisuus testausprosessin aikana (esim. huoneenlämpötilan vaikutus)
- reagenssien säilyvyys ja säilytysolosuhteet eri pitoisuuksilla
- analyysilaitteistojen stabiilisuus (herkkyyden vaihtelu, kalibrointitarve).

Varmennettu vertailuaine, sertifioitu referenssimateriaali (certified reference material, CRM)

vertailuaine, jonka mukana on toimivaltaisen tahon antama dokumentaatio ja jonka avulla saadaan pätevillä menettelyillä yksi tai useampi määritelty ominaisuuden arvo sekä vastaavat epävarmuudet ja jäljitettävyydet (VIM 5.14)

Varmennetuilla vertailumateriaaleilla tarkoitetaan pysyviä, homogeenisia ja hyvin karakterisoituja vertailumateriaaleja. Usein niiden määrittämiseen on käytetty useita eri menetelmiä laboratorioden välisissä vertailuissa. Vertailumateriaalin mukana tulee sertifikaatti, jossa todennetaan, että ainakin vertailuaineen pitoisuus ja mittausepävarmuus on määritetty.

Vertailuaine, referenssimateriaali (reference material, RM)

riittävän homogeeninen ja määriteltyjen ominaisuuksien osalta stabiili materiaali, joka on valmistettu täyttämään käyttötarkoituksen vaatimukset **mittauksessa** tai **nimellisominaisuuksien** tutkimisessa (VIM 5.13)

Vertailumittaus (interlaboratory comparison)

Kahdelle tai useammalle laboratoriolle järjestetty testaus ja mittaustulosten arviointi samasta testausmateriaalista edeltäkin ilmoitetuissa olosuhteissa.

Viitearvo (reference value)

Laboratoriolääketieteen alalla laboratoriotutkimusten tulosityhteenvedossa ilmoitetaan varsinaisen tuloksen yhteydessä niin sanotut normaaliarvot eli ne rajat tai raja-arvot, joiden välissä tai ulkopuolella tuloksen katsotaan olevan "normaali" tietyllä todennäköisyydellä (usein 95 %) ja tiettyyn viiteaineistoon verrattuna. Normaaliarvojen sijasta ammattikielessä puhutaan viitearvoista. Monissa yhteyksissä (esim. eri ikäryhmät, miehet, naiset) tarvitaan spesifiset viitearvot.

Tällä hetkellä ei ole olemassa koko Suomea koskevia yhtäpitäviä viitearvoja. Tämä johtuu siitä, että laboratoriomenetelmien käytännön toteuttamisessa on pieniä eroja laboratorioden välillä. Sen vuoksi jokainen laboratorio joutuu määrittämään omat viitearvonsa/päättämään omista viitearvoistaan.

Immunologia ja virologia: Viitearvot on aina luotava tai verifioitava oman testausjärjestelmän kautta. Kaupallisilla laitteistoilla, joissa käytetään valmistajan reagensseja, on yleensä valmiiksi tuotetut viitearvo-alueet, joiden verifioiminen ei vaadi paljon työtä/näyttemateriaalia. Itsekehittävien testimenetelmien viitearvojen laatiminen saattaa olla haastava tehtävä mm. siksi, että materiaalia on yleensä erittäin vaikea saada ja luotettava testaus edellyttää eritasoisten kontrollien tutkimista. Yleisenä pyrkimyksenä viitearvomateriaalin koon suhteen on ainakin 30 - 100 näytteen testaus. Tämä ei ole läheskään aina mahdollista, joten viitearvot laaditaan usein aluksi pienemmällä näyttemäärällä ja verifiointia täydennetään vähitellen.

Bakteriologiassa ei käytetä termiä viitearvot.

z-arvot (z-score)

Laboratorion menestymistä vertailumittauksessa tai pätevyyskokeessa kuvaa z-arvo. z-arvo on dimensioton suure, joka kertoo kuinka monen keskihajonnan päässä yksittäinen mittaustulos on keskiarvosta.

z-arvo voidaan laskea seuraavasta kaavasta:

$$z = \frac{x - X}{\sigma_p}$$

missä

x = vertailumittaukseen osallistuvan laboratorion saama mittaustulos

X = hyväksytty vertailuarvo

σ_p = pätevyyskokeen tavoitehajonta (populaation keskihajonta) (target standard deviation for the proficiency test).

8. Esimerkkejä käytännön validoinneista

Tähän lukuun on koottu validointiasteen valintaan ja validointisuunnitelman tekemiseen liittyviä esimerkkejä eri aloilta.

8.1 Elintarvikeanalytiikan alue

Elintarvikeanalytiikassa on alueita, joissa kvalitatiivinen tulos riittää. Tällaisia ovat esimerkiksi

- kiellettyjen elintarvikeväriä osoittaminen
- kiellettyjen GMO-lajikkeiden osoittaminen
- salmonellan osoittaminen
- allergeenin osoittaminen.

8.2 Mikrobiologia

Esimerkki 1. Kvalitatiivisen menetelmän herkkyuden ja spesifisyyden määrittäminen (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2015).

Validoitavan menetelmän herkkyuden ja spesifisyyden sekä menetelmän positiivisen ennustearvon ja negatiivisen ennustearvon määrittämiseksi verrataan kontrollinäytteistä referenssimenetelmällä ja validoitavalla menetelmällä saatuja tuloksia toisiinsa.

Kvalitatiivisessa määrittämisessä käytetään kahta luokkakajakoja:

- referenssimenetelmän tulos on joko positiivinen tai negatiivinen ja
- validoitavan menetelmän tulos on joko positiivinen tai negatiivinen.

Kontrollinäytteistä saadut tulokset kirjataan taulukon 2 muotoon, missä a, b, c ja d ovat kyseiseen lokeroon kuuluvien testitulosten määriä ja $n = a + b + c + d$ on testitulosten kokonaismäärä.

Taulukko 2. Tulosten luokkajako.

Validoitava menetelmä	Referenssimenetelmä		
	Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
Positiivinen	a	c	a + c
Negatiivinen	b	d	b + d
Yhteensä	a + b	c + d	n

Referenssimenetelmän sijaan vertailussa voidaan käyttää esimerkiksi itse valmistettuja tai ulkoisen laadunarviointipalvelun näytteitä, joiden tulokset tunnetaan. Tulosten tarkastelussa oletuksena on, että referenssimenetelmän tulos on oikea. Tällöin näistä luvuista a ja d tarkoittavat oikeita tuloksia (oikeat positiiviset ja oikeat negatiiviset), c on virhepositiivisten tulosten määrä ja b on virhenegatiivisten tulosten määrä.

Herkkyys on validoitavalla menetelmällä positiiviseksi tulleiden näytteiden osuus kaikista oikeista positiivisista näytteistä. Herkkyys kuvaa validoitavan menetelmän kykyä löytää positiiviset tapaukset näytteiden joukosta. Hyvin herkkä menetelmä antaa harvoin virhenegatiivisen tuloksen. Herkkyys = $a / (a + b)$.

Spesifisyys on validoitavalla menetelmällä negatiiviseksi tulleiden näytteiden osuus kaikista oikeista negatiivisista näytteistä. Spesifisyys kuvaa validoitavan menetelmän kykyä löytää negatiiviset tapaukset näytteiden joukosta. Hyvin spesifinen menetelmä antaa harvoin virhepositiivisen tuloksen. Spesifisyys = $d / (c + d)$.

Positiivinen ennustearvo on validoitavalla menetelmällä oikean positiivisen tuloksen saaneiden näytteiden osuus kaikista validoitavalla menetelmällä positiiviseksi tulleista näytteistä. Se kuvaa validoitavalla menetelmällä saatavan positiivisen tuloksen luotettavuutta. Positiivinen ennustearvo = $a / (a + c)$. Virhepositiivisuus puolestaan kuvaa validoitavalla menetelmällä saatavien väärin positiivisten tulosten osuutta kaikista validoitavalla menetelmällä positiiviseksi tulleista näytteistä. Virhepositiivisuus = $c / (a + c)$.

Negatiivinen ennustearvo on validoitavalla menetelmällä oikean negatiivisen tuloksen saaneiden näytteiden osuus kaikista validoitavalla menetelmällä negatiiviseksi tulleista näytteistä ja kuvaa validoitavalla menetelmällä saatavan negatiivisen tuloksen luotettavuutta. Negatiivinen ennustearvo = $d / (b + d)$. Virhenegatiivisuus puolestaan kuvaa validoitavalla menetelmällä saatavien väärin negatiivisten tulosten osuutta kaikista validoitavalla menetelmällä negatiiviseksi tulleista näytteistä. Virhenegatiivisuus = $b / (b + d)$.

Esimerkki 2. Kvalitatiivisen mikrobiologian PCR-menetelmän tulosten tarkastelu.

Validoitavana olevalla kvalitatiivisella PCR-menetelmällä on tutkittu sadan näytteen joukko. Oletetaan, että näistä sadasta näytteestä on olemassa ulkoisen laadunarviointipalvelun ilmoittamat tulokset, joita pidetään luotettavina ja tässä tarkastelussa oikeina tuloksina. Taulukossa 3 on tulosten vertailu.

Taulukko 3. Esimerkin 2 tulosten luokkajako.

Validoitava menetelmä	Referenssimenetelmä		
	Positiivinen	Negatiivinen	Yhteensä
Positiivinen	57	2	59
Negatiivinen	3	38	41
Yhteensä	60	40	100

Tällöin validoitavalle menetelmälle saadaan seuraavat arvot:

$$\text{Herkkyy} = 57 / (57 + 3) = 95 \%$$

$$\text{Spesifisyys} = 38 / (2 + 38) = 95 \%$$

$$\text{Positiivinen ennustearvo} = 57 / (57 + 2) = 97 \%$$

$$\text{Negatiivinen ennustearvo} = 38 / (38 + 3) = 93 \%$$

$$\text{Virhepositiivisuus} = 2 / (57 + 2) = 3 \%$$

$$\text{Virhenegatiivisuus} = 3 / (3 + 38) = 7 \%$$

Esimerkki 3. Kvantitatiivisen mikrobiologisen menetelmän validointi

(Terveystieteiden tutkimuskeskus 2015).

Validoinnin tarkoituksena oli osoittaa selektiivisen pesäkelaskentamenetelmän oikeellisuus, laboratorion sisäinen uusittavuus ja pesäkelaskennan toistotarkkuus. Validoinnissa myös vahvistettiin menetelmän määrittäminen ja luotettavan laskenta-alueen ala- ja ylärajat tutkittavassa matriisissa.

Validointi suoritettiin lisäämällä tutkittavaan näytematriisiin tunnetuista kontrollikannoista valmistettu tunnettu bakteeripitoisuus kahdessa eri pitoisuustasossa. Eri henkilöt tekivät koesarjat rinnakkain.

Tulosten oikeellisuus ja uusittavuus tutkittavassa matriisissa

Tutkittiin neljä eri näytettä, joissa ei luontaisesti esiintynyt kohdebakteereita. Kohdebakteerien ja muiden bakteerien seosta lisättiin näytteisiin pitoisuudeltaan tunnetun referenssimateriaalin laimennoksina kahdessa eri pitoisuustasossa.

Saadut tulokset on esitetty taulukossa 4 saantoprosentteina, jotka on laskettu referenssimateriaalin valmistajan antamasta kohdebakteerin pitoisuusarvosta. Saaduista tuloksista havaitaan, että laboratoriossa onnistuttiin havaitsemaan ja laskemaan oikeellisesti siirrostettujen bakteerien pitoisuudet. Saantoprosentteina ilmaistuna saanto oli keskimäärin 87 % ja vaihteli välillä 60 – 133 %. Saadut tulokset ovat hyvin linjassa sen tosiasian kanssa, että mitä pienempi pesäkeluku, sitä epävarmempi tulos, sillä pienemmällä pitoisuustasolla saadut tulokset vaihtelevat enemmän kuin suuremmalla pitoisuustasolla saadut tulokset.

Neljästä eri näytteestä saadut tulokset olivat yhteneväisiä. Samoin eri suorittajien saamat tulokset olivat hyvin linjassa toistensa kanssa, minkä perusteella voidaan todeta, että laboratorio pystyy tuottamaan uusittavia tuloksia.

Taulukko 4. Menetelmällä neljän eri suorittajan neljällä eri näytteellä saamat saantoprosentit. Saannot on laskettu suhteessa referenssiampullista siirrostettuun pitoisuuteen.

Näyte	Henkilö A	Henkilö B	Henkilö C	Henkilö D	Saanto keskimäärin
1. pieni pitoisuus	60	100	100	133	98
1. suuri pitoisuus	87	80	87	80	83
2. pieni pitoisuus	133	127	60	73	98
2. suuri pitoisuus	87	93	80	73	83
3. pieni pitoisuus	60	67	80	87	73
3. suuri pitoisuus	87	80	87	87	85
4. pieni pitoisuus	100	80	80	87	87
4. suuri pitoisuus	80	93	87	87	87
Keskimäärin	86	90	84	87	87

Pesäkelaskennan toistotarkkuus (epävarmuus yhden ja useamman henkilön toistolaskuissa samalta maljalta)

Pesäkelaskennan toistotarkkuus määritettiin kasvualustoilta todetuista varmistuneista kohdepesäkkeistä. Taulukossa 5 on esitetty toistettujen luentojen tulokset, kun henkilöt (A, B, C ja D) laskivat omat maljansa kahteen kertaan. Tutkittavana oli neljä näytettä, joihin siirrostettiin referenssimateriaalia.

Taulukko 5. Menetelmän pesäkelaskennan toistotarkkuus (toistettu luenta). u_z , maljojen pesäkesumman lukemaepävarmuus.

Henkilö	Näyte	1. laskenta	2. laskenta	Keskiarvo	Hajonta	u_z	u_z^2
A	1	123	132	127,5	6,3640	0,0499	0,0025
A	2	15	15	15	0,0000	0,0000	0,0000
A	3	115	142	128,5	19,0919	0,1486	0,0221
A	4	19	19	19	0,0000	0,0000	0,0000
A	5	122	119	120,5	2,1213	0,0176	0,0003
A	6	10	10	10	0,0000	0,0000	0,0000
A	7	138	137	137,5	0,7071	0,0051	0,0000
B	1	96	134	115	26,8701	0,2337	0,0546
B	4	9	9	9	0,0000	0,0000	0,0000
B	5	90	129	109,5	27,5772	0,2518	0,0634
B	6	12	12	12	0,0000	0,0000	0,0000
B	7	95	128	111,5	23,3345	0,2093	0,0438
B	8	12	12	12	0,0000	0,0000	0,0000
C	1	120	134	127	9,8995	0,0779	0,0061
C	2	9	9	9	0,0000	0,0000	0,0000
C	3	128	132	130	2,8284	0,0218	0,0005
C	5	100	127	113,5	19,0919	0,1682	0,0283
C	6	9	9	9	0,0000	0,0000	0,0000
C	7	101	115	108	9,8995	0,0917	0,0084
C	8	15	15	15	0,0000	0,0000	0,0000
C	9	50	53	51,5	2,1213	0,0412	0,0017
D	1	123	124	123,5	0,7071	0,0057	0,0000
D	2	20	20	20	0,0000	0,0000	0,0000
D	3	100	111	105,5	7,7782	0,0737	0,0054
D	4	11	13	12	1,4142	0,1179	0,0139
D	6	13	13	13	0,0000	0,0000	0,0000
D	8	13	13	13	0,0000	0,0000	0,0000
Keskiarvo							0,0093
Keskiarvo (vain alle 100 pesäkeluvut)							0,0011
Keskimääräinen lukemaepävarmuus (keskiarvon neliöjuuri)							0,0964
Keskimääräinen lukemaepävarmuus (vain alle 100 pesäkeluvut, keskiarvon neliöjuuri)							0,0334

Suhteellinen keskihajonnan tavoitearvo toistolaskuissa yhdessä laboratoriossa on $u_z=0,05$ (keskimääräinen lukemaepävarmuus). Tähän tavoitteeseen päästiin, kun aineistosta otettiin huomioon vain sellaisilta maljoilta lasketut tulokset, joilla pesäkelukumäärä oli alle 100. Tuloksen perusteella luotettavan pesäkelaskennan ylärajaksi on asianmukaista asettaa 100 pesäkettä.

Luotettavan pesäkelaskennan alueet

Standardin SFS-ENV ISO 13843 mukaan luotettavan pesäkelaskennan ylärajat määrittyvät mikrobipesäkkeiden tilantarpeesta ja pesäkkeiden välisistä vuorovaikutuksista. Ylärajan voi määrittellä kokonaisuvarmuuden (toistettavuuden), peitto-osuuden tai verrannollisuuden (lineaarisuuden) menetyksen avulla tekemällä hienojakoisen laimennosarjan rinnakkaisnäyttein. SFS Käsikirja 94 (Mikrobiologiset vesitutkimusmenetelmät) mukaan 47...50 mm läpimittaisilla kalvosuodattimilla noin 100 pesäkettä on yleensä yläraja, joka pätee pienille pesäkkeille. Standardin SFS-EN ISO 8199 mukaan sekä kalvosuodatus-tekniikassa että pintalevitystekniikassa pesäkkeiden kokonaismäärän kalvolla (tyypilliset ja epätyypilliset) tulisi olla vähemmän kuin n. 200, mutta suuria pesäkkeitä laskettaessa määrää saatetaan joutua alentamaan.

Määrittämissuorat

Standardin SFS-ENV ISO 13843 mukaan satunnainen pesäkelukumäärän epävarmuus kasvaa jyrkästi lukumäärän pienentyessä ja alle 10 kappaleen lukualueella yksittäiset mittaukset ovat korkeintaan semikvantitatiivisia. Hyvin alhaisissa hiukkaspitoisuuksissa mikrobiologiset menetelmät muuttuvat täten toteamismenetelmiksi ja alemmat toimintarat ovat suureksi osaksi määrittelykysymyksiä. Menetelmien absoluuttinen herkkyys eli pienin menetelmällä määritettävä pitoisuus on 1 pmy / tutkittava tilavuus. Standardin SFS-EN ISO 8199 (Veden laatu. Yleinen ohje mikro-organismien lukumäärien määrittämiseksi viljelymenetelmällä) mukaan kuitenkin niissä tapauksissa, joissa kokonaispesäkeluku on välillä 3...1, tuloksen tarkkuus on liian alhainen kvantitatiivisesti raportoitavaksi.

8.3 Kliininen mikrobiologia

Esimerkki 4 suppea validointi:

Mononukleosi-vasta-aineiden pikatesti on validoitu ja ollut käytössä keskussairaalan laboratoriossa useita vuosia. Sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunarviointi ovat tuottaneet hyviä tuloksia. Sairaanhoidopiirin terveyskeskus haluaa ottaa testin käyttöönsä. Suppea validointi voidaan tehdä esim. seuraavasti: terveyskeskuksen laboratoriohoitajat/bioanalytikot käyvät tutustumassa testaukseen keskussairaalaan ja testaavat sen jälkeen kitin (reagenssipakkauserän) muutamalla (esim. vähintään 20 kpl) tunnetulla negatiivisella ja positiivisella näytteellä. Tulosten analysointi tehdään tarvittaessa yhteistyönä ja testauksesta laaditaan lyhyt raportti.

Esimerkki 5 laaja validointi:

Laboratorio aloittaa *Helicobacter pylori*-antigeenin osoituksen ulosteesta. Koska laboratoriolle ei ole kokemusta ko. testauksesta on aluksi tarpeen selvittää olemassa olevat, mahdollisesti jo laajassa käytössä olevat testausreagenssipakkaukset. Näistä valitaan sekä kirjallisuuden että mahdollisten käyttäjien kokemusten perusteella kaksi parasta. Tällaiseen validointiin olisi tarpeen saada laajahko näytemateriaali: ainakin 30 - 50 kpl negatiivisia ja mielellään lähes yhtä paljon eritasoisia positiivisia näytteitä. Tärkeää olisi päästä vertaamaan testien kyvykkyyttä erotella negatiivisen ja matalan positiivisen tulok-

sen antavat näytteet. Ulosteet testataan rinnan molemmille testireagenssipakkauksilla ja testaukseen sisällytetään sekä sarjojen sisäisen että sarjojen välisen variaation mittaukset. Tulokset analysoidaan tilastollisesti ja saatujen tulosten perusteella laaditaan validointiraportti, jossa esitetään johtopäätökset ja perustelut.

8.4 Immunologiset menetelmät

Immunologiset menetelmät voidaan jakaa eri ryhmiin testituloksen tulkintatavan perusteella seuraavasti

- visuaalisesti tulkittavat testit (esim. agglutinaatio ja fluoresenssi-mikroskopia)
- laitteen avulla mitattavat tulokset (entsyymi-immunologia EIA, immuno-elektrokemiluminesenssi ECLIA, fluoroentsyymi-immunomenetelmä FIA).

Näistä ensimmäiseen ryhmään kuuluvat testit voivat olla myös itse kehitettyjä. Niiden validoinnissa on osoitettava kaikkien muuttujien vaikutus testitulokseen. Tällaisia muuttujia ovat esimerkiksi näytematriisi (seerumi, plasma, likvori, sylki, uloste jne.), poikkeamat normaalinäytteestä (esim. lipeemisyys ja hemolyysi), näytteen säilyvyys, inkubointilämpötila, toistettavuus, uusittavuus, herkkyys, spesifisyys, testin suorittajien käsiala ja tuloksen tulkitsijoiden väliset erot.

Jälkimmäisen ryhmän testit ovat useimmiten kaupallisia ja testivalmistajat ovat ne validoineet. Näitä käyttöön otettaessa tehdään testin verifiointi eli tutkitaan miten testi toimii omassa laboratoriossa. Silloin määritetään toistettavuus, uusittavuus, herkkyys, spesifisyys ja näytematriisin vaikutus. Jos valmistaja on ilmoittanut näytteelle ominaisuuksia, jotka voivat vaikuttaa haitallisesti testitulokseen, on näiden vaikutus testattava tai vastauksessa on huomautettava niiden vaikutuksesta tuloksen oikeellisuuteen. Jos testivalmistaja tuo markkinoille uuden testiversion, on se myös verifioitava.

Useita immunologisia testejä voidaan nykyisin tehdä kliinisen kemian analysaattoreilla. Niiden soveltuvuus oman laboratorion tarkoituksiin tutkitaan samojen periaatteiden mukaisesti kuin muidenkin kaupallisten testien. Jos laboratoriossa otetaan käyttöön toinen samanlainen analysaattori, on senkin toimivuus todettava. Tällöin verrataan uudella ja vanhalla laitteella saatuja tuloksia keskenään. Näin saadaan tietää, onko näillä laitteilla saaduilla tuloksilla eroa.

8.5 Kliininen analytiikka

Lähes kaikkien kliinisen lääketieteen piirissä käytettyjen analysaattoreiden, mitta- ja kuvantamislaitteiden toiminta perustuu erilaisten signaalien detektointiin ja niiden käsitteilyyn tietokoneohjelmien avulla. Sekä laitevalmistajat että viranomaiset pyrkivät varmistamaan lopputuloksen kuhunkin käyttöön sopivaksi. Ohjeita on julkaistu varsinkin U.S.A:n Food and Drug Administrationin toimesta (Guidance Documents (Medical Devices and Radiation-Emitting Products) 2016)

Valmistaja kehoitetaan nykyään dokumentoimaan tuotteensa kattavasti ja jatkuvasti. Säännöt ovat kuitenkin niin yleisiä, että kutakin laitetta tai laitteeseen perustuvaa menetelmää käyttöön otettaessa on perehdyttävä sen sopivuuteen omassa käyttötarkoituksessa. Silloin on käytettävä soveltuvin osin verifiointista ja validoinnista annettuja yleisiä ohjeita.

8.6 Bioanalytiikka

Esimerkki 6. Bioanalyttisen menetelmän validointiparametreista

Seuraavassa on esimerkkejä bioanalyttisen menetelmän validoinnissa käytettävistä parametreista. Perusparametrejä bioanalyttisen menetelmän validoinnin hyväksyttävyyden varmistamiselle ovat tarkkuus, toistettavuus, uusittavuus, selektiivisyys, sensitiivisyys ja säilyvyys.

Tarkkuus (accuracy)

Menetelmän tarkkuus voidaan määrittää seuraavasti

- Verrataan validoitavalla menetelmällä saatuja tuloksia toisella menetelmällä saatuihin tuloksiin. Vertailumenetelmän tarkkuus pitää tuntea.
- Määritetään validoitavalla menetelmällä eritasoisia kontrollinäytteitä, joiden pitoisuus on tunnettu.
- Määritetään pitoisuus omista kontrollinäytteistä, jotka on valmistettu lisäämällä matriisiin tunnettu määrä tutkittavaa analyttiä.

Sarjan sisäinen tarkkuus (within-run accuracy)

Sarjan sisäinen tarkkuus määritetään analysoimalla vähintään viisi rinnakkaisnäytettä neljällä eri pitoisuudella (LLOQ, matala, keskitaso ja korkea). Määritysten keskiarvo saa poiketa korkeintaan 15 % nimellispitoisuudesta (paitsi LLOQ 20 %).

Sarjojen välinen tarkkuus (between-run accuracy)

Sarjojen välinen tarkkuus määritetään analysoimalla vähintään kolme sarjaa, joiden näytteidenkäsittely on tehty vähintään kahtena eri päivänä. Yhden validointisarjan näytemäärän on oltava vähintään tutkimusnäytesarjan kokonaisnäytemäärän (standardit, kontrollit ja tutkittavat näytteet) suuruinen. Määritysten keskiarvo saa poiketa korkeintaan 15 % nimellispitoisuuksista, paitsi LLOQ 20 %.

Toistettavuus (repeatability)

Menetelmän toistettavuus tutkitaan määrittämällä variaatiokerroin (CV%). CV% ilmoittaa tulosten hajonnan, kun määritykset tehdään toistetuksi samasta näytteestä.

Sarjan sisäinen toistettavuus ilmaisee menetelmän toistettavuuden samoissa käyttöolosuhteissa yhden mittausarjan sisällä. Sarjojen välinen toistettavuus ilmaisee menetelmän toistettavuuden laboratorion sisällä eri päivinä, eri laitteilla, eri tarvikkeilla tai eri

henkilöiden suorittamana. Menetelmän validoinnissa ei tavallisesti testata laboratorioiden välistä toistettavuutta.

Määrittysten CV% saa olla korkeintaan 15 %, paitsi LLOQ:lla 20 % sekä sarjan sisäisen toistettavuuden ja sarjojen välisen toistettavuuden osalta.

Selektiivisyys (selectivity)

Menetelmän selektiivisyys tutkitaan käyttämällä vähintään kuuden yksilön näytematriisia. Menetelmä katsotaan selektiiviseksi, kun matriisissa (plasma, virtsa tai muu) olevien häiritsevien endogeenisten tekijöiden tai näytteen muiden komponenttien vaste on alle 20 % määrittymisen alarajan (LLOQ) ja alle 5 % sisäisen standardin vasteesta.

Määrittymisen alaraja (LLOQ) ja yläraja (ULOQ)

Määrittymisen alaraja (LLOQ) on tutkittavan aineen pienimmän pitoisuuden sisältävä standardinäyte, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä täsmävyydellä ja toistettavuudella. LLOQ pitäisi määrittää käyttäen vähintään viittä eri standardinäytettä. LLOQ pitäisi edustaa alinta standardikuvaajan konsentraatiota eikä sitä pidä sekoittaa määrittämissä ja/tai alimpaan kontrollinäytteeseen. Analyttisen menetelmän korkein standardipitoisuus määrittää määrittymisen ylärajan (ULOQ).

Carry-over

Carry-over tutkitaan analysoimalla määrittymisen ULOQ-näytteen jälkeen nollanäytettä, johon ei ole lisätty tutkittavaa analyttia eikä sisäistä standardia. Carry-overin pitää olla alle 20 % määrittymisen LLOQ:n vasteesta ja alle 5 % sisäisen standardin vasteesta.

Lineaarisuus

Lineaarisuus kuvaa analyysimenetelmän kykyä tuottaa mittausvasteita, jotka ovat suoraan (tai tarkoin määritellyn matemaattisen muunnoksen jälkeen) verrannollisia analyttin pitoisuuteen näytteessä menetelmän käyttöalueella.

Seuraavien asioiden pitäisi toteutua määrittäessä lineaarisuutta:

- LLOQ:n deviaatio nimellispitoisuudesta saa olla 20 %
- Standardien (muiden kuin LLOQ) deviaatio nimellispitoisuuksista saa olla enintään ± 15 %.

Näytteen laimentaminen

Näytteen laimentaminen ei saa vaikuttaa menetelmän tarkkuuteen eikä toistettavuuteen. Mikäli on mahdollista, näyte laimennetaan samaan matriisiin kuin, mitä testattavat näytteet edustavat. Jokainen käytettävä laimennoskerroin testataan vähintään viidellä määrittäyksellä. Täsmävyuden pitää olla 85 % - 115 % ja CV% pitää olla ≤ 15 %.

Stabiilisuus (stability)

Analyttin stabiilisuus tutkimusmatriisissa arvioidaan matalan ja korkean pitoisuustason kontrollinäytteillä, jotka analysoidaan heti valmistamisen jälkeen käyttäen vertailukohteenä tuoreita referenssinäytteitä (standardi- ja kontrollinäytteet). Stabiilisuusnäytteiden

mittaustulosten keskiarvoa verrataan nimellispitoisuuteen, josta säilytettyjen näytteiden tulosten keskiarvo saa poiketa korkeintaan $\pm 15\%$.

Kukin säilytyslämpötila ja -aika tutkitaan kullakin pitoisuustasolla vähintään kolmella rinnakkaisnäytteellä.

Pakastus- ja sulatussäilyvyys

Näytteen pakastamisen ja sulatuksen vaikutus analyysin säilyvyyteen tutkitaan vähintään kolmella pakastus- ja sulatussyklillä. Kun näyte on kokonaan sulanut näytteen käsittelylämpötilassa, se pakastetaan vähintään 12 tunniksi ennen seuraavaa sulatusta.

Lyhyt- ja pitkäaikainen säilyvyys

Säilyvyysnäytteet sulatetaan ja pidetään huoneenlämmössä sen ajan, joka pisimmillään kuluu ennen näytteen prosessoinnin aloittamista (4 – 24 h) ja analysoidaan.

Säilyvyysnäytteiden pitää olla tutkimusnäytteiden olosuhteissa vähintään sen ajan, joka pisimmillään kuluu tutkittavan näytteen näytteenotosta sen analysointiin.

Laadunvarmistus

Riittävää määrää kontrolleja tulee käyttää määrityksien laadunvarmistukseen. Kontrollien määrä riippuu analysoitavien näytteiden määrästä ja sarjan pituudesta.

Kirjallisuusluettelo ja syventävää kirjallisuutta

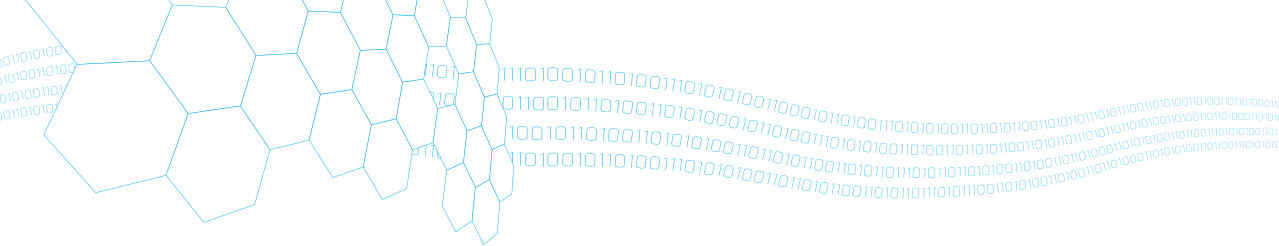
- Bioanalytiikan validointiparametrit, Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation.
Katsottu 4.3.2016.
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070107.pdf>
- Bioanalytiikan validointiparametrit, Guideline on bioanalytical method validation.
Katsottu 4.3.2016.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf
- Broeders, S., Huber I., Grohmann L., Berben, G., Tavernies I., Mazzara M., Roosens N., Morisset D. 2014 Guidelines for validation of qualitative real-time PCR methods, Trends Food Sci Technol, 37:115-126.
- Ehder, T. (toim.) 2005a Kemian Metrologian opas, MIKES, J6/ 2005.
- Ehder, T. (toim.) 2005b Mikrobiologiset vertailukannat, MIKES, J1/2005.
- Ehder, T. (toim.) 2006a Kvantitatiivisen kemian metrologian opas orgaanisten yhdisteiden tunnistukseen, MIKES, J5/2006.
- Ehder, T. (toim.) 2006b Mikrobiologian laboratorion elatusaineiden sisäinen laadunvarmistus, MIKES, J6/2006.
- Elintarvikevirasto Valvonta 10/1997 Kemian analyysimenetelmien validointiohje.
- Elintarvikevirasto Valvonta 13/1997 Mikrobiologisten menetelmien validointiohje.
- Ellison, LR. Williams, A. (Eds) 2012 Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third edition.
- Eurachem Guide 2011 Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes.
- EURACHEM Guide 2011 Terminology in analytical Measurement, Introduction to VIM 3.
- EURACHEM Guide 2012 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition.
- EURACHEM Guide 2014 The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
- European Medicines Agency, EMA/275542/2014. Guideline on bioanalytical method validation.

- Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections), ladattavissa BIPM:n kotisivuilta.
- Guidance Documents (Medical Devices and Radiation-Emitting Products). Katsottu 4.3.2016.
<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/default.htm>
- Hiltunen, E., Linko, L. et al. (toim.) 2011 Laadukkaan mittaamisen perusteet, MIKES J4/2011.
- IEEE STANDARD 1059-1993 - IEEE Guide for Software Verification and Validation Plans.
- International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 2005, 4 version. ICH Harmonised Tri-partite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2(R1).
- ISO/TS 19036:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.
- ISO/TS 19036:2006/Amd 1:2009 Measurement uncertainty of low counts.
- ISO Guide 98-1:2009 Uncertainty of measurement – Part 1: Introduction to the expression of uncertainty in measurement.
- Komission asetus (EY) N:o 213/2001, annettu 9.1.2001.
- Komission päätös 2002/657/EY neuvoston direktiivin 96/23/EY täytäntöönpanosta, annettu 14.8.2002.
- Macarthur, R., Holst, C. 2012 A protocol for the validation of qualitative methods of detection, *Anal. Methods*, 4:2744.
- Menditto, P., Magnusson 2007 Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. *Accred. Qual. Assur* 12:45-47.
- MUkit-mittausepävarmuusohjelma, SYKE, 2012.
http://www.syke.fi/fi-FI/Palvelut/Kalibrointipalvelut_ja_sopimuslaboratorio/MUkit_mittausepavarmuusohjelma
- Mäkinen, I., Suortti, A-M., Saares, R., Niemi, R., Marjanen, J. 1996 Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin.
- Niemelä, S. I. 2001. Mikrobiologian kvantitatiivisten viljelymääritysten mittausepävarmuus. *Mittatekniikan keskus J1/2001*.
- NMKL Procedure 4 2009 Validation of chemical analytical methods.

- NMKL Procedure 5 2003 Estimation and expression of measurement uncertainty in chemical analysis.
- NMKL Procedure 8 2008 Measurement of uncertainty in quantitative microbiological examinations of food.
- NMKL Procedure 9 2007 Evaluation of method bias using certified reference materials.
- NMKL Procedure 23 2008 Guide on quality assurance in microbiological laboratories.
- NMKL Procedure 24 2010 Guidelines for quality assurance for chemical laboratories.
- NMKL Procedure 25 2014 Recovery information in analytical measurement.
- Nordtest Report NT TR 537- Edition 3.1 2012 Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. Ladattavissa Nordtestin kotisivulta.
- Nordtest Report NT TR 569 2007 Sisäinen laadunohjaus. Käsikirja kemian laboratoriolle sekä päivitetty englanninkielinen versio NT TR 569 Edition 4 2011 Internal Quality Control, Handbook for Chemical laboratories. Molemmat ovat ladattavissa Nordtestin kotisivuilta.
- Näykki, T., Magnusson, B., Helm, I., Jalukse, L., Väisänen, T., Leito, I., Comparison of measurement uncertainty estimates using quality control and validation data, J Chem Metrol, 2014, 8 (1): 1–12.
- Näykki, T., Virtanen, A., Leito, I., Software support for the Nordtest method of measurement uncertainty evaluation, Accred Qual Assur 2012, 17:603–612.
- SFS-EN ISO 7218:en 2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs. General requirements and guidance for microbiological examinations.
- SFS-EN ISO 7218:A1:en 2014 Microbiology of food and animal feeding stuffs. General requirements and guidance for microbiological examinations. Amendment 1 (ISO 7218:2007/Amd1; 2013, Corrected version 2014).
- SFS-EN ISO 8199:2008 Veden laatu. Yleinen ohje mikro-organismien lukumäärien määrittämiseksi viljelymenetelmällä.
- SFS-ISO 11352:2012 Estimation of measurement uncertainty bases on validation and quality control data.
- SFS-ENV ISO 13843:2001 Veden laatu. Opas mikrobiologisten menetelmien validoinnista

- SFS-EN ISO 15189:2013 Lääketieteelliset laboratoriot Laatus ja pätevyyttä koskevat vaatimukset.
- SFS-EN ISO 16140/A1:2012 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods.
- SFS-EN ISO/IEC 17025:2005 Testaus- ja kalibroitilaboratorioiden pätevyys. Yleiset vaatimukset.
- SFS-OPAS 99:2010, Kansainvälinen metrologian sanasto (VIM). Perus- ja yleiskäsitteet sekä niihin liittyvät termit, VIM = International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms.
- SFS-KÄSIKIRJA 94-1:2010 Mikrobiologiset vesitutkimusmenetelmät. Osa 1: Yleiset menetelmät.
- SFS-KÄSIKIRJA 94-2:2012 Mikrobiologiset vesitutkimusmenetelmät. Osa 2. Yleisimmät menetelmät indikaattoribakteerien tutkimiseen vesinäytteistä.
- International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) JCGM 200:2012, ladattavissa BIPM:n kotisivuilta.
- Terveiden ja hyvinvoinnin laitos 2011 Kemiallisten menetelmien validointiopas, versio 2.
- Terveiden ja hyvinvoinnin laitos 2015 Mikrobiologisten menetelmien validointiopas, versio 4.
- U.S. Food and Drug Administration 1999 Guidance for Industry, FDA Reviewers and Compliance on Off-The-Shelf Software Use in Medical Devices.
- U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM), 2001, BP, Guidance for Industry, Bioanalytical method Validation.
- Validation Procedures of Software Applied in Nuclear Instruments, Proceedings of a Technical Meeting held in Vienna, 20–23 November 2006 IAEA-TECDOC-1565 Sept 2007.

Nimeke	Validoinnin suunnittelun opas
Tekijä(t)	Margareta Hägg (toim.)
Tiivistelmä	<p>Metrologian neuvottelukunnan (MNK) validointiryhmä aloitti tämän Validoinnin suunnittelun oppaan laatimisen ja työ saatettiin loppuun Metrologian neuvottelukunnan Koulutus- ja viestintäjaostossa neuvottelukunnan kaudella 2014 – 2017.</p> <p>Tämän oppaan tarkoitus on antaa ohjeita eri testausaloille, erityisesti kemian, mikrobiologian, patologian, immunologian, genetiikan sekä kliinisen fysiologian menetelmien ja laitteiden validoinnin suunnitteluun.</p> <p>Menetelmää validoitaessa tehdään ennalta suunniteltuja testejä, joilla määritetään tapauskohtaisesti valittujen validointiparametrien arvot. Menetelmä tai laite voidaan ottaa käyttöön vasta sen jälkeen, kun validoinnin tulokset on hyväksytty ja johtopäätökset tehty.</p> <p>Validointiin liittyvien termien käyttö vaihtelee alakohtaisesti. Sanaston käyttö on muuttunut myös ajan kuluessa, joten 1990-luvun kirjallisuudesta poimittujen sanojen tulkinta voi olla nykyisin hieman erilainen kuin alkuperäinen tulkinta. Hyvänä esimerkkinä tästä ovat sanat validointi ja verifiointi. Verifiointi on suppeampi kuin validointi. Toisinaan verifiointi käytetään, kun menetelmä on jo muualla validoitu tai jos jo validoitu menetelmä laajennetaan käytettäväksi toiselle matriisille.</p> <p>Validoinnista laaditaan suunnitelma, joka dokumentoidaan ja hyväksytään ennen työn aloittamista. Suunnitelmassa ovat validoinnin kohde ja soveltamisala, validoinnin tavoite, näyteaineisto, henkilöiden ja vastuiden nimeäminen, tavoiteaikataulu, laitteet, tilat, validoinnin laajuus ja määriteltävät parametrit sekä vaatimusten asettaminen.</p> <p>Oppaassa on lyhyesti myös validoinnin toteutusvaiheesta ja raportointivaiheesta sekä menetelmän laadunvarmistuksesta käyttöönoton jälkeen.</p> <p>Lisäksi oppaassa selitetään tarkemmin validointiparametrit. Selitykset perustuvat lähinnä VIMiin (International Vocabulary of Metrology), jos parametri on mainittu VIM:issä tai muuten jollakin toisella tavalla.</p> <p>Lopuksi oppaassa on esimerkkejä käytännön validoinnista.</p>
ISBN, ISSN, URN	ISBN 978-951-38-8469-7 (URL: http://www.vtt.fi/julkaisut) ISSN-L 2242-1211 ISSN 2242-122X (Verkkojulkaisu) http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-38-8469-7
Julkaisu-aika	Lokakuu 2016
Kieli	Suomi
Sivumäärä	50 s.
Projektin nimi	
Rahoittajat	
Avainsanat	validointi, verifiointi, validoinnin suunnittelu
Julkaisija	Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy PL 1000, 02044 VTT, puh. 020 722 111



Validoinnin suunnittelun opas

Tämän oppaan tarkoitus on antaa ohjeita eri testausaloille, erityisesti kemian, mikrobiologian, patologian, immunologian, genetiikan sekä kliinisen fysiologian menetelmien ja laitteiden validoinnin suunnitteluun.

Menetelmää validoitaessa tehdään ennalta suunniteltuja testejä, joilla määritetään tapauskohtaisesti valittujen validointiparametrien arvot. Menetelmä tai laite voidaan ottaa käyttöön vasta sen jälkeen, kun validoinnin tulokset on hyväksytty ja johtopäätökset tehty. Validointiin liittyvien termien käyttö vaihtelee alakohtaisesti. Sanaston käyttö on muuttunut myös ajan kuluessa, joten 1990-luvun kirjallisuudesta poimittujen sanojen tulkinta voi olla nykyisin hieman erilainen kuin alkuperäinen tulkinta. Hyvänä esimerkkinä tästä ovat sanat validointi ja verifiointi. Verifiointi on suppeampi kuin validointi. Toisinaan verifiointi käytetään, kun menetelmä on jo muualla validoitu tai jos jo validoitu menetelmä laajennetaan käytettäväksi toiselle matriisille.

Validoinnista laaditaan suunnitelma, joka dokumentoidaan ja hyväksytään ennen työn aloittamista. Suunnitelmassa ovat validoinnin kohde ja soveltamisala, validoinnin tavoite, näyteaineisto, henkilöiden ja vastuiden nimeäminen, tavoiteaikataulu, laitteet, tilat, validoinnin laajuus ja määriteltävät parametrit sekä vaatimusten asettaminen.

Oppaassa on lyhyesti myös validoinnin toteutusvaiheesta ja raportointivaiheesta sekä menetelmän laadunvarmistuksesta käyttöönoton jälkeen.

ISBN 978-951-38-8469-7 (URL: <http://www.vtt.fi/julkaisut>)
ISSN-L 2242-1211
ISSN 2242-122X (Verkkojulkaisu)
<http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-38-8469-7>