

2017

STRATEGIRAPPORT VIROLOGI OG SEROLOGI

STRATEGIMØTE OKTOBER 2016

Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder

Program • Oppsummering • Abstrakter

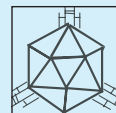
Redaktører:

Pål A. Jenum, Vestre Viken HF

Dagny Haug Dorenberg, Folkehelseinstituttet

Dag Hvidsten, Universitetssykehuset Nord-Norge

Øyvind Kommedal, Haukeland universitetssjukehus



Referansegruppe for ekstern
kvalitetssikring i virologi og serologi

**STRATEGIMØTE
Oktober 2016**

**KVALITETSKONTROLL AV
INFEKSJONSSEROLOGISKE METODER**

PROGRAM
OPPSUMMERING
ABSTRAKTER

Redaktører:

Pål A. Jenum, Vestre Viken HF

Dagny Haug Dorenberg, Folkehelseinstituttet

Dag Hvidsten, Universitetssykehuset Nord-Norge

Øyvind Kommedal, Haukeland universitetssjukehus

Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi

ISBN elektronisk utgave: ISBN: 978-82-8082-858-3

Innholdsfortegnelse

Forord	3
Program	5
Sammendrag og anbefalinger	6
Abstraktheft	11
Hva er kvalitet?	11
Valg av analyser	13
Validering og verifisering	15
Kalibrering av åpne systemer versus «black-box» systemer	20
Interne kontrollsystemer.....	23
Feil og usikkerhet	31
Uspesifikke reaksjoner og kryssreaksjoner	36
Avvikskriterier	38
Sammenlignende laboratorieprøving, SLP	41
Tolkning av serologiske resultater	46
Vedlegg I: Begreper og definisjoner	49
Deltagerliste	54

Forord

I regi av «Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi» ble det holdt strategimøte om «Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder» den 27. oktober 2016 ved Gjestehuset, Lovisenberg, i Oslo.

For 15 år siden, i 2001, arrangerte «Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi» et strategimøte med tittel «Kvalitetskontroll av serologiske analyser». På det tidspunktet var akkreditering innen mikrobiologi i sin aller spede begynnelse som bare noen få laboratorier hadde begynt å «snuse på». Akkrediteringsstandarden som gjaldt den gang, NS-ISO 17025, var en generell laboratoriestandard hvor mange formuleringer var fremmed for vårt fagområde. Denne standarden er senere for medisinske laboratorier erstattet av en mer tilpasset standard, NS-ISO 15189, som ikke bare er rettet mot laboratoriets driftsmessige og analytiske virksomhet, men som også har klart fokus på brukerne av laboratorietjenestene og deres behov. Det betyr at tolkning og formidling av svar er blitt en viktig del når kvalitetsarbeidet skal tilrettelegges og vurderes. Siden 2001 har det også vært en betydelig endring i hvilke metoder som anvendes innen infeksjonsserologisk diagnostikk. Mange metoder er faset ut, og mange nye ulike instrumenter er kommet inn. Nå er også mange laboratorier akkreditert og har derfor fått et mer bevisst forhold til de ulike kvalitetskontrollelementene. Referansegruppen har derfor funnet tiden moden for igjen å ta opp dette temaet i strategimøtesammenheng. Tanken og ønsket for programkomiteen har vært at møtet og den påfølgende rapport skal være en praktisk «brugerhåndbok» som gir veiledning i hvordan de ulike krav til kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske analyser kan oppfylles i samsvar med akkrediteringsstandarden. Vi håper resultatet fyller denne intensjonen.

Pål A. Jenum
Leder av programkomiteén

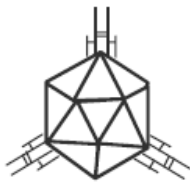
Programmet var satt sammen av en programkomite bestående av Dagny Haug Dorenberg, Dag Hvidsten, Øyvind Kommedal og Pål A. Jenum (leder).

Møteledere var Pål Jenum (del I), Dagny Haug Dorenberg (del II) og Øyvind Kommedal (del III).

Programkomiteens medlemmer og møtelederne er også redaktører av rapporten.

Rapporten inneholder oppsummering og anbefalinger slik det kom fram på møtet samt sammendrag av foredragene (manuskriptene) som er gjengitt i sin helhet.

Oslo, juni 2017



”Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi”
inviterer landets mikrobiologiske laboratorier til strategimøte om

Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder

Møtedato: 27.10.2016 **Møtested:** Gjestehuset, Lovisenberg sykehus, Oslo

Program:

Møteledere:

Pål A. Jenum, Dagny Haug Dorenberg, Øyvind Kommedal

Tidspunkt	Tid	Tittel	Foredragsholder
09.45 – 10.00	15 min	Frukt og kaffe	
10.00 – 10.05	5 min	Velkommen Innledning ved leder for referansegruppen	Gro Njølstad
		Del I: Møteleder Pål A. Jenum	
10:05 – 10:30	20+5 min	Hva er kvalitet ?	Pål A. Jenum
10:30 – 11:00	20+5 min	Valg av analyser	Øyvind Kommedal
11:00 – 11:30	25+5 min	Validering / verifisering	Dag Hvidsten
11:30 – 11:45	15 min	Kaffepause	
11:45 – 12:05	15+5 min	Åpne systemer versus «Black-box» systemer	Anne Grændsen
12:05 – 12:30	20+5 min	Interne kontrollsystemer	Tone Berge
12:30 – 13:15	45 min	Lunch	
		Del II: Møteleder Dagny Haug Dorenberg	
13:15 – 13:55	35+5 min	Feil og usikkerhet	Pål A. Jenum
13:55 – 14:15	15+5 min	Uspesifikke reaksjoner, kryssreaksjoner	Øyvind Kommedal
14:15 – 14:35	15+5 min	Avvikskriterier	Pål A. Jenum
14:35 – 14:50	15 min	Kaffepause	
		Del III: Møteleder Øyvind Kommedal	
14:50 – 15:10	15+5 min	Sammenlignende laboratorieprøving SLP	Dagny Haug Dorenberg
15:10 – 15:45	30+5 min	Tolkning	Svein Arne Nordbø
15:45 – 16:00	15 min	Oppsummering.	Pål A. Jenum

Sammendrag

Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder

Kvalitet kan defineres som evnen til å tilfredsstille brukerens krav og forventninger.

Nasjonale krav og standarder

Spesialisthelsetjenesteloven LOV-1999-07-02-61 (sist endret LOV-2016-06-17-48).
Norsk Standard NS-EN ISO 15189:2012 Medisinske laboratorier.

Valg av analyser

Valg av analyse er et resultat av lokal vurdering av flere hensyn:

- Testens anvendelse (uten bruk av supplerende test, med bruk av supplerende test, som supplerende test)
- Ytelsesdokumentasjon basert på produsent-uavhengige rapporter
- Sensitivitet og spesifisitet i relasjon til klinisk problemstilling,
- Praktiske forhold (kompleksitet, utstyrsavhengighet, analysetid)

Begrunnelse for valg dokumenteres i kvalitetssystemet.

Validering og verifisering

Validering er bekreftelsen fra en undersøkelse og fremskaffing av objektive bevis på at de spesielle krav for tilsiktet bruk er innfridd (eksempel ny egenprodusert/in-house metode). Verifisering av en metode benyttes når metoden er validert av andre som for eksempel ved bruk av kommersielle metoder, og det kun skal dokumenteres at metoden fungerer som forventet i eget laboratorium.

Validerings/verifiseringsplan

Validering/verifisering skal følge en definert plan.

Validerings/verifiseringsansvarlig skal defineres sammen med de ulike deltakernes roller i arbeidet.

Planen skal:

- beskrive hensikten med arbeidet.
- definere eventuell sammenlignende test.
- beskrive hvilke materiale og hvilke analyser som skal utføres.
- definere omfanget av validering/verifisering (antall prøver (negative, gråsoner, positiv) og replikater/kjøringer).
- beskrive hvilke analyseparametere som skal vurderes
- definere akseptkriterier knyttet til resultatene før valideringen/verifiseringen utføres.
- dateres og signeres av validerings/verifiseringsansvarlig.

Som tillegg til planen kan relevante valideringer/verifiseringer utført ved annet laboratorium vedlegges og vektlegges som grunnlag i arbeidet.

I valg av materiale bør det tilstrebes å analysere «sporbare» materialer, for eksempel internasjonal gullstandard (IU/ml), sera utsendt som del av sammenlignende laboratorieprøvinger (SLP), og/eller kliniske materialer hvor diagnosen er bekreftet ved andre analyser (for eksempel PCR).

Validerings/verifiseringsrapport

Validering/verifisering skal munne ut i en rapport som skal:

- gjengi resultatene og vurdere disse i relasjon til eventuell sammenlignende test.
- gi en tolkning av valgte analyseparametere i relasjon til anvendt klinisk bruk.
- trekke konklusjon om akseptkriteriene er oppfylt.
- dateres og signeres av validerings/verifiseringsansvarlig som skal bekrefte/avkrefte om metoden kan tas i bruk.

«Black-box» analysesystemer

Når utstyret er konstruert slik at enkeltelementer, som for eksempel volum og temperatur, ikke kan enkelt og uavhengig kontrolleres i samsvar med krav i Norsk Standard NS-EN ISO 15189, kan ytelse og målenøyaktighet baseres på «sluttprodukt-validering», det vil si mot Internasjonal standard, ved SLP-deltakelse, eller ved bruk av sertifiserte referansematerialer.

Kalibrering av instrumentet skal følge produsents anvisning og utføres etter definerte regler av kvalifisert personell. Kalibreringsprosedyrene skal være beskrevet.

Det er krav om serviceavtale. All service skal ledsages av datert og signert skriftlig rapport som definerer hva som er utført og konklusjon for status.

Før instrumentet tas i rutinebruk etter service, skal kontrollmaterialer analyseres med tilfredsstillende resultat dersom dette ikke inngår som del av selve servicen.

Interne kontrollsystemer

Det interne kontrollsystemet skal bidra til at analysen til enhver tid fungerer etter hensikten.

Kit-avhengige kontroller

Hovedfunksjon:

Definere om aktuelt oppsett er gyldig. Gyldighetskriteriene er definert av produsent.

Kontrollene definerer som regel cut-off-nivået ved hvert oppsett i henhold til formel gitt av produsent.

Kontrollene kan fungere som kalibratorer i oppsettet med relasjon mot internasjonal standard (standardkurve).

Kit-uavhengige kontroller

Hovedfunksjoner:

Overvåke presisjon (usikkerhet), endringer i sensitivitet og trender.

Kommersielle eller egenproduserte kontroller kan anvendes.

Egenproduserte kontroller bør verifiseres ved et annet laboratorium.

Konsentrasjon: Kontrollen(e) skal ligge nær de kliniske beslutningsnivåene. I relasjon til cut-off bør kontrollen ligge i området 1,5 – 2,5 x cut-off. Kontrollene kan eventuelt fortynnes i

negativt serum for å oppnå riktig konsentrasjon. Porsjonerte bruksfortynninger kan fryses og brukes over tid. Holdbarhet må overvåkes med trendanalyser.

Hyppighet: Hovedregel er analyse av kit-uavhengig kontroll ved hvert oppsett. Avvik fra dette må begrunnes.

Kontrollovervåkning

Resultatene fra kit-kontrollene skal registreres og følges fortløpende.

Forventet verdi og godkjente avvik fra denne skal angis. Statistiske metoder som gjennomsnitt, standardavvik og variasjonskoeffisient (CV%) bør benyttes ($CV\% = 100\% \times SD / \text{Gjennomsnitt}$). Gjennomsnitt/standardavvik/CV% kan beregnes ut fra 20-30 målinger.

Feil, usikkerhet og avvik

Usikkerhet

Usikkerhetsområdet (presisjonen) angis normalt som Gjennomsnitt ± 2 SD.

Ved enkeltmåling vil verdien med 95% sannsynlighet ligge innenfor dette området.

Kontrollens usikkerhetsområde kan antas å gjelde også for det nærliggende kliniske brytningspunkt.

Eksempel: $\text{Cut-off} \pm (2CV\% \times \text{Cut-off})$.

En CV% <5% kan anses meget god, 5-10% som god, 10-15% som akseptabel.

Ved CV% innenfor samme lot på >15% bør det, i relasjon til klinisk bruk, vurderes om analysen kan forbedres, bør erstattes eller utgå.

Endringer i CV% og derav endring i gråsonerområdene skal følges opp regelmessig.

Erfaring med testens stabilitet kan medvirke til å bestemme hvor hyppig slik oppfølgingen skal skje, som for eksempel månedlig, kvartalsvis eller halvårlig.

Endringer i CV% som følge av skifte i lot er ikke nødvendigvis et uttrykk for endring i testens usikkerhet, men skyldes mest sannsynlig endring i testens sensitivitet.

Store endringer som følge av skifte i lot, må tas opp med kit-leverandør.

Ved nivåendring i kit-uavhengig kontroll knyttet til skifte av lot vil 5-10 repetisjoner kunne danne grunnlag for ny gjennomsnittsverdi.

Enkelte produsenter definerer gråsonerområdet/grenseverdiområdet kun på den ene siden av cut-off. Dette er ulogisk. Praktisk bør da laboratoriet velge en cut-off midt i det angitte grenseområde i stedet for angivelsen fra produsenten, og deretter beregne sitt eget grenseverdiområde i forhold til denne endrede cut-off-verdien.

Feil

Feil kan kun måles dersom det finnes en "gullstandard" (f.eks. internasjonal standard).

Feil i testen (mangel på nøyaktighet) uttrykkes ved avstanden mellom forventet verdi og målt verdi og angis ved gjennomsnittets avvik i % fra forventet verdi.

Feil utover $\pm 5\%$, i alle fall ved feil utover testens forventede usikkerhet hvis denne er større enn 5%, bør føre til at enkeltresultater korrigeres med beregnet faktor eller formel før godkjenning.

Avvik

Enhver test skal ha definerte regler for hvilke måleresultater som skal anses som avvikende.

Ved registrert avvik må det vurderes, i relasjon til klinisk problemstilling, om enkelte eller alle prøver primært skal reanalyseres eller om resultatene skal forkastes.

Ved gjentatt avvik ved reanalyse skal resultatene forkastes.

Når resultatene forkastes skal feilkilder gjennomgås og retting utføres før ny analyse gjennomføres.

Følgende Westgaard-regler for kit-uavhengig kontroll bør benyttes som grunnlag for avviksregistrering:

- Enkeltmåling utenfor 3 SD av gjennomsnitt
- To påfølgende målinger mellom 2 og 3 SD på samme side av gjennomsnitt
- Sju målinger etter hverandre som hele tiden blir høyere eller lavere

Uspesifikke reaksjoner og kryssreaksjoner

Falskt positive reaksjoner kan skyldes

- Kryssreaktivitet
- Polyklonal aktivering
- Assay interferens

Kryssreaktivitet: Skyldes identiske eller nærbeslektede antigener mellom ulike mikrober. Testavhengig betinget i antigensammensetningen i testen. Vanligst for IgM-påvisning, men IgG- kryssreaktivitet kan også forekomme innad i samme virusfamilie og er vanlig hos for eksempel flavivirus.

Erkjent kryssaktivitet kan ha fordeler ved at antistoff mot ulike species innen samme genus kan detekteres i en og samme test.

Polyklonal aktivering: Generell aktivering av B-celler. Kan gi immunsvær mot nærliggende species eller helt andre mikrober og er ikke nødvendigvis universal. Kan gi betydelige tolkningsproblemer. Spesielt kan kombinasjon av kryssreaksjon og polyklonal aktivering gi en sterk sekundærrespons som «overskygger» den reelle primærrespons (eksempel sekundær CMV-antistoff aktivering ved primær EBV-infeksjon).

Assay-interferens: Faktorer i pasientprøven som gir reaksjon i testen. Mange er ukjente, men klassiske eksempler er Rheumatoid faktor og anti-dyre-antistoffer.

Sammenlignende laboratorieprøving (SLP)

Hensikten med SLP er å etablere sporbarhet for analysesystemene gjennom ekstern kvalitetskontroll. Innen mikrobiologi er hovedregelen at sporbarhet mot SI-systemet ikke er mulig. Derfor er deltakelse i SLP viktig for å sikre analysekvalitet og SLP-deltagelse er obligatorisk dersom analysen skal akkrediteres.

Det finnes en rekke kommersielle leverandører av ulike SLP-programmer.

Laboratoriene bør regelmessig gjennomgå sine SLP-deltagelser

For analyser som ikke er tilgjengelige i slike SLP-program kan inter-laboratorieavtaler som dekker slike analyser gjøre nytten.

Alle SLP-resultater skal kunne dokumenteres og skal bekreftes gjennomgått med relevant personell. Eventuelle avvik skal følges opp.

Tolkning

Relevante kliniske opplysninger er avgjørende for god tolkning.

Det er viktig å skille mellom analytisk tolkning og klinisk tolkning:

Et sant negativt analytisk svar kan være falskt negativt som klinisk tolkning.

Et sant positivt analytisk svar kan være falskt positivt som klinisk tolkning.

Kunnskap om og erfaring med testens egenskaper og ytelse over tid er viktig for god tolkning.

Presisjonen i tolkningen kan forbedres ved bruk av supplerende og/eller konfirmerende tester.

Testing av parsera kan være nødvendig for god tolkning.

Alle analyser bør ha et grenseområde knyttet til kliniske beslutningspunkt, og usikkerheten knyttet til grenseverdiresultater bør kommenteres.

Testresultater fra pasienter som er immunsupprimert eller har fått immunglobuliner, vaksine eller blodprodukter bør tolkes med forsiktighet.

Alle positive funn bør kommenteres.

Tilfelle hvor negative funn skal kommenteres bør defineres.

Bruk av standardiserte svarkommentarer for typiske funn anbefales, samtidig som individuelle kommentarer må kunne benyttes.

Bruk av ulike styrkegrader i tolkningen for de enkelte analyser bør gjennomgås og harmoniseres: For eksempel «bekrefter», «taler for», «sannsynlig», «mulig», «kan ikke utelukke», osv.

Hva er kvalitet?

Definisjon Kvalitet (Store norske leksikon):

Evnen til å tilfredsstille kundens eller brukerens krav og forventninger

Hvorfor kvalitet?

Sikre at pasientene får best mulig utredning og behandling

Hva er brukerens krav og forventninger?

- En analyse tilgjengelig som er relevant for aktuell klinisk problemstilling
- Et riktig analytisk svar
- Et raskt svar
- Et riktig tolket svar
- Et svar som kan bekrefte eller utelukke en diagnose

Hva er kvalitetskontroll?

Sikre at kundens krav og forventninger innfris:

- Sikre at riktige analyser benyttes
- Sikre at analysene utføres riktig
- Sikre at riktig svar gis ut raskt
- Sikre at svaret tolkes og formidles riktig
- Sikre at man hele tiden vurderer forbedringer
- Sikre at alt dette gjelder til enhver tid

Teori: Den ideelle situasjon hvor kvalitetssystemet sikrer at alt vi utfører blir riktig

Praksis: Den faktiske situasjon hvor kvalitetssystemet bidrar til at det vi utfører blir godt nok

Nasjonale krav og standarder

Spesialisthelsetjenesteloven LOV-1999-07-02-61 (sist endret LOV-2016-06-17-48).

Utvalgte punkter:

- Formål: Fremme folkehelsen og motvirke sykdom/skade. Bidra til å sikre kvalitet, likeverdighet, ressursutnyttelse og tilgjengelighet. Alt tilpasset pasientens behov §1-1
- Omfatter medisinske laboratorietjenester §2-1a
- Krever systematisk arbeid for kvalitetsforbedring §3-4a

Norsk Standard NS-EN ISO 15189:2012 Medisinske laboratorier.

Krav til kvalitet og kompetanse

- Standarden må oppfylles dersom analysevirksomheten skal akkrediteres
- Akkreditering for medisinske laboratorier er i Norge frivillig (i Sverige obligatorisk)
- Akkreditering innebærer bedømming av uavhengig tredjepart (Norsk Akkreditering med egne/innleide tekniske bedømmere)
- Akkreditering må oppdateres årlig

Hva omfatter kvalitetskontroll?

GENERELLE ELEMENTER

- Ledelsesstruktur og ansvarsfordeling
- Regelmessig gjennomgang av hele virksomheten (intern revisjon og ledelsens gjennomgang)
- Valg av og avtaler med - leverandører og underleverandører
- Informasjon til og fra rekvirentene
- Klage- og avviksregistrering og -behandling
- Opplæring – nyopplæring og vedlikeholdskompetanse
- Utstyr valg – validering – drift – vedlikehold
- Elektroniske systemer

SPESIELLE ELEMENTER – ANALYSENE

- Valg av metode
- Validering / verifisering av analyser
- Metodebeskrivelse
- Løpende kontroll av analyser
- Tolkning og vurdering

Kvalitetskontroll omfatter derfor ALLE deler av virksomheten.

Avgrensning av tema i Strategimøtet

Programmet viser hvilke temaer som er valgt.

Hovedfokus er på selve analysen og resultatene som fremkommer.

Preanalytiske forhold og ledelses- og utdannelses/kompetanse-forhold er utelatt

Relasjoner til laboratoriedatasystemer omtales ikke spesielt

Utstyr omtales i noen grad: spesielt betydningen av valg av utstyr og kontrollforhold knyttet til «black-box» systemer

Valg av analyser

Valg av hvilke tester man vil prøve ut er til en viss grad avhengig av hvordan man skal bruke testen:

- Diagnostikk uten supplerende test:
Både sensitivitet og spesifisitet er viktig. Krav vil avhenge av epidemiologi, alvorlighetsgrad og hva som er «vanlig» for det aktuelle agens
- Diagnostikk før supplerende test:
Lavere spesifisitet kan aksepteres, men høy sensitivitet er viktig. Likeledes praktiske aspekter ved utførelsen
- Som supplerende test:
Sensitivitet og spesifisitet er viktig. En mer omstendelig prosedyre kan aksepteres siden antallet prøver vil være lavere
- Diagnostikk med konsekvenser for behandling hos alvorlig syke pasienter:
Sensitivitet er særlig viktig. Spesifisitet også viktig, men bruk av supplerende test kan være akseptabelt her. Testen bør ha fleksible oppsett og kunne settes opp på kort varsel uten at man kaster bort reagenser eller må gjøre for store omprioriteringer i driften.

Videre er der en rekke praktiske og økonomiske hensyn:

- Pris per test, antall kontroller per kjøring, hensiktsmessig holdbarhet/pakningsstørrelse
- Analysetid, hyppige ØH-prøver, kompleksitet på protokoll
- Automatiserte eller manuelle oppsett, kompatibilitet med eksisterende automasjonsplattformer og eventuelle konsekvenser for kapasitet på ulike plattformer

Et av de viktigste elementene i den innledende valgfase er å søke i litteraturen etter produsentavhengige vurderinger av de aktuelle testene. I tillegg til kvaliteten på studie og tidsskrift må man særlig for publikasjoner av ikke-nordisk opphav huske at det kan foreligge ulik distribusjon av forskjellige genotyper/species i ulike geografiske områder (E.g. parotitt, Borrelia) og at det også kan forekomme ulike former for/ulik forekomst av uspesifikk reaktivitet i ulike populasjoner (F.eks rickettsioser v.s Borrelia eller MS v.s nevroborreliose).

En utprøving av aktuelle tester kan utføres prospektivt eller på historiske sera eller som en kombinasjon av disse. Kommersielle kvalitetspaneler kan også med fordel inkluderes i en utprøving når disse er tilgjengelig.

En prospektiv vurdering gir gode muligheter for å kvalitetssikre inkluderte prøver med henblikk på klinikk og epidemiologi, og sikrer at hele spekteret av spesifikke og uspesifikke reaktiviteter i befolkningen inkluderes. Den kan imidlertid ta lang tid og bli kostbar med en uforholdsmessig stor andel negative prøver. Ved sammenligning av flere kit kan arbeidsmengden også bli uakseptabel.

Bruk av arkivprøver med kjent status basert på en annen test kan gi en rask og effektiv utprøving, men har en del fallgruver:

- For høy sensitivitet hvis bare sterkt positive inkluderes
- For høy spesifisitet hvis bare klart negative inkluderes
- For høy spesifisitet fordi den negative populasjonen ikke er like heterogen som i virkeligheten
- Ofte mindre mulighet for klinisk/epidemiologisk evaluering av svakt positive/gråsonerprøver
- For lav sensitivitet i forhold til gammel metode fordi svakt positive fra gammel metode er med, men ikke falskt negative

Antallet prøver som inkluderes i en utprøving påvirker konfidensintervallet for beregnet sensitivitet og spesifisitet etter formelen $p \pm 1.96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$, der p er beregnet/antatt sensitivitet/spesifisitet angitt som desimaltall og n er antall prøver.

Validering og verifisering

Validering

Validering er en omfattende testing av en metode.

Validering er bekreftelsen fra en undersøkelse og fremskaffing av objektivt bevis på at de spesielle krav for tilsiktet bruk er innfridd (1). Det gjøres en validering når man skal teste en (ny) metode som ikke har vært brukt av andre (ofte en egenprodusert (in-house)-metode).

Verifisering

Verifisering av en metode brukes når metoden er dokumentert av andre; den brukes når en ny metode skal sammenliknes med og forhåpentligvis erstatte den gamle. Gammel metode fungerer som «sann» i sammenlikningen. Verifisering går ut på å dokumentere at metoden fungerer som forventet i eget laboratorium.

Validering versus verifisering

En validering er en omfattende undersøkelse som tester bl.a. holdbarhet, linearitet, interferens, robusthet, carry-over og nedre målegrense. Dette kalles *teknisk validering* og gjøres sjelden. Når det gjelder serologi, gjøres det så å si alltid en *teknisk verifisering*. Og det gjøres nesten aldri en *klinisk validering*; i veiledningsdokumentet fra Norsk Akkreditering står det imidlertid: «I tillegg til en teknisk validering må prøvesvar alltid gjennom en klinisk validering, der resultat av teknisk analyse og sammenstilling av resultater veies mot kliniske funn og opplysninger.» Videre: «Vurdering av analyseprosedyrens yteevne stopper ikke etter at den er validert og tatt i bruk. Det skal være en løpende oppfølging av analyseprosedyren for å sikre at den fortsatt er gyldig og holder mål (2).

Ved endringer i eksisterende metoder der det inkluderes nye prøvematerialer (objekter), nye parametere eller der man går over til nytt analyseprinsipp, skal metoden alltid *valideres*.

Begrepe validering og verifisering brukes om hverandre, og uttrykk som teknisk validering, klinisk validering og valideringsansvarlig er godt innarbeidet selv om det vi gjør innen serologien, er så å si utelukkende *verifiseringer* (derfor brukes fortrinnsvis dette begrepet heretter).

Plan og rapport

En verifisering må ha en nøye gjennomtenkt plan og rapport. Dette er et utdrag av UNNs plan/rapport:

- Forhåndsvurdering og prioritering gjøres ut fra den dokumentasjon som foreligger.
- Det utpekes en ansvarlig for hver verifisering, han/hun sørger for at det skrives plan. Verifiseringen har ulike ansvarlige: prosjektansvarlig, medisinsk ansvarlig, en som er ansvarlig for praktisk gjennomføring, og en som har ansvar for utfylling av rapporten. Før prosessen er det praktisk og viktig at disse har **et møte** om verifiseringen.
- Hver verifiseringsplan skal godkjennes av både verifiseringsansvarlig og medisinsk faglig ansvarlig. Avdelingsoverlegen har overordnet ansvar for verifiseringen.
- *Før* godkjenning av planen skal det defineres ett eller flere akseptkriterier, dvs. hvilke resultater som skal oppfylles for at metoden skal kunne godkjennes for bruk.
- Føring av resultater og resultatberegning: det skal angis...
 - antall prøver som er undersøkt og av hvem
 - tidsrom når undersøkelsene er utført (skal angis nøyaktig)
 - utstyr, reagenser (lotnummer osv.) som er brukt

- resultater
- beregninger, bl.a. måleområde og sensitivitet, skal være oversiktlig presentert
- hvor resultater arkiveres
- IKT- testing og konfigurasjon:
 - En del av verifiseringen omfatter nødvendige endringer i «LIS» og i det elektroniske tjenestetilbudet til rekvirentene
- I rapporten er det en **sjekkliste** til utfylling. Hvem som skal utføre ut de enkelte punktene, fremgår av sjekklista. Lista skal gjøre det enkelt å ta den verifiserte analysemetoden over i rutinedrift.
- Evaluering og konklusjon: Den verifiseringsansvarlige lager en evaluering, og den medisinsk ansvarlige lager en konklusjon.
- Oppsummering: Verifiseringen skal sammenfattes i rapporten som består av:
 - Planen
 - Resultater (sammenfattet og oversiktlig presentert)
 - Evaluering og konklusjon
 - Underskrifter
 - Signert versjon arkiveres (på et bestemt sted).

I planen skal prinsippene for gammel og ny metode beskrives. Generelt vil det være slik at den nye metoden skal være like god som eller bedre enn den gamle; SLP-prøvene skal besvares korrekt og presisjonen skal ligge innenfor leverandørens spesifikasjoner.

Ved *valideringer* kan det være aktuelt at alt det som står i kolonnen nedenfor gjøres (2). Ved *verifiseringer* er det tilstrekkelig med et utvalg (merket V):

➤ Preanalytiske forhold	
➤ Deteksjonsgrense	
➤ Måleområde	
➤ Sensitivitet	
➤ Spesifisitet	
➤ Linearitet	
➤ Interferenser	
V Riktighet	<u>Kriterier:</u>
V Nøyaktighet	Systematisk feil: lavest mulig ¹
V Presisjon (repetisjonsbarhet)	R _m 90 – 110%
V Presisjon (reproduserbarhet)	CV% < 10%
V SLP-deltakelse	CV% < 15%
V Intern kvalitetskontroll	
V Annet (beskriv):	
○ Samsvar (minor/major/very major avvik)	
○ ev. Bland-Altman-plot	
○ ev. Kappa (κ)	

Presisjon

defineres som *overensstemmelse mellom uavhengige måleresultater oppnådd med en måleprosedyre under spesifiserte betingelser* (2). Presisjonen er et kvalitativt begrep for spredningen i en tallgruppe. Er tallene relativt like, er presisjonen god; er de svært forskjellige, er presisjonen dårlig. Presisjonen vises med spredningsmål (*standardavvik og*

¹ Ved systematisk feil av en viss størrelse, f.eks. $\geq 5\%$, vil det være nødvendig å legge inn en korreksjonsfaktor eller –formel før resultatet sendes til rekvirent.

variasjonskoeffisient, se nedenfor). Presisjonen sier noe om metodens pålitelighet. Presisjonen bestemmes med *repeterbarhet* og *reproduserbarhet*.

Repeterbarhet

Intraseriell presisjon (*within-run*). Dette er et estimat for den minste måleusikkerhet som kan oppnås med analysemetoden (1). Målingene kan gjøres på ulike måter:

- A) Målinger utført i samme serie (3): gjøres vanligvis på samme dag og av samme person. Alle faktorer holdes *konstante*. Analysen gjøres i hele området (negativ/gråsoner/positiv). Eksempel: Én negativ prøve, to positive og én prøve i gråsoner, 5 replikater² av hver; til sammen analyseres ca. 20 rør/brønner. Middelverdi, *standardavvik* (SD) og *variasjonskoeffisienten*, CV %, regnes ut. Det er ønskelig med lavest mulig CV % (<10 %).
- B) To eller flere kontrollmaterialer og/eller pasientprøver som dekker måleområdet; disse analyseres f.eks. 20 ganger hver (1).
- C) Utvalgte pasientprøver kan analyseres som *duplikater* (x_1 og x_2). Ved denne fremgangsmåten beregnes repeterbarheten slik:
 X_{mid} er middelverdien av alle målingene i serien og N er antall prøver (= antall målinger/2).

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_1 - x_2)^2}{2N}} \quad CV(\%) = \frac{S}{X_{mid}} \cdot 100$$

OBS! Formelen ved duplikattesting er en annerledes formel for standardavviket, S, enn hva vi ellers bruker. Dette kalles Dahlbergs metode. Utvalget av prøver bør gjøres slik at man kan beregne repeterbarheten (presisjonen) ved lav, middels og høy konsentrasjon (1).

Reproduserbarhet

Interseriell presisjon (*between-run*). Stikkordet er *forskjellig*: analysene gjøres på forskjellige dager, helst av forskjellige personer; mange faktorer bør forandres for å teste ut metoden: dvs. flere analyseserier, flere loter² av både standard og reagenser, flere operatører osv. Testingen av reproduserbarhet burde gå over lengre tid (noe som ofte er upraktisk og dermed vanskelig å gjennomføre). Det forenkles ved at de samme replikatene (som nevnt under repeterbarhet) testes to eller flere påfølgende dager. Det kalles *intern reproduserbarhet* når analysene gjøres på samme sted/lab. Reproduserbarhet forventes å bli høyere enn repeterbarhet. De samme utregningene som nevnt under repeterbarhet (A) gjøres for alle prøvene (5 replikater av hver av 4 prøver over flere dager). Det er ønskelig med CV% < 15% for hvert av områdene som testes.

Riktighet

defineres som *grad av overensstemmelse mellom gjennomsnittsverdi oppnådd fra en stor serie måleresultater og en sann verdi* (2). Dette er avstanden mellom den «sanne» verdi og målepopulasjonens middelverdi/median. Forskjellen mellom sann verdi (dvs. fasit, en standard eller en forventningsverdi) og middelverdien/medianen skyldes *systematiske feil*, og dette kan uttrykkes kvantitativt (det kalles også *bias*, B)(1):

$$\% \text{ feil} = [(X_{\text{sann verdi}} - X_{\text{målt verdi}}) / X_{\text{sann verdi}}] (\%)$$

Forskjellen mellom en *enkeltverdi* og sann verdi, kalles *nøyaktighet* (2, 3):

$$R_m = C_{\text{obs}} / C_{\text{crm}}, \text{ der } C_{\text{obs}} \text{ er målt verdi, og } C_{\text{crm}} \text{ er sertifisert referanseverdi.}$$

Eksempel: En *Bordetella pertussis* kalibrator har en referanseverdi på 100 IU/l. Vi finner et gjennomsnitt på 84,5 IU/l. Da blir % feil = (100,0 – 84,5)/100 (%) = 15,5 %, og *nøyaktigheten*, $R_m = 84,5/100 = 0,845$.

² Ved AMS, UNN, analyseres ofte 5 replikater på hvert nivå. Dette er ikke ideelt; det anbefales 20 replikater.

Vurdering av samsvar

Antall prøver ved verifisering når det foreligger dokumentasjon:
Ca. 20-30 prøver fra hele måleområdet, negativ (n = 5-10), gråsoner (n = 10) og positiv (n = 5-10). I tillegg analyseres SLP-prøver.

Ved sammenlikninger mellom to metoder kan man sette opp resultatene i en **3 X 3-tabell** i et regneark (fig. 1):

A) % samsvar:

$[(D5+E6+F7)/G8 = 76,7 \%,$

very major avvik: $[F5/G8 = 3,3 \%,]$ osv.

B) utregning av kappa (κ) ved å sette tallene inn i en kalkulator på Internett: f.eks.

<https://www.graphpad.com/quickcalcs/>.

Kappa kan si noe om samsvar («agreement») mellom to metoder som testes; det sies ikke noe om testene er gode eller dårlige. *Vektet kappa:* man kan rangere svarene med positiv/gråsoner/ negativ for både rader og kolonner. I tabellen blir kappa = 0,63 og vektet kappa = 0,66 (fig. 1). Svaret av kappa-utregningen vurderes ut fra en noe omdiskutert skala:

$\kappa < 0,20$: dårlig

$\kappa = 0,21-0,40$: svak (fair)

$\kappa = 0,41-0,60$: moderat (moderate)

$\kappa = 0,61-0,80$: god (good)

$\kappa > 0,8$: svært god (very good)

C) *Sensitiviteten* til ny metode: $[D5/D8]$ (Fig.1).

Spesifisiteten til ny metode: $[F7/F9]$.

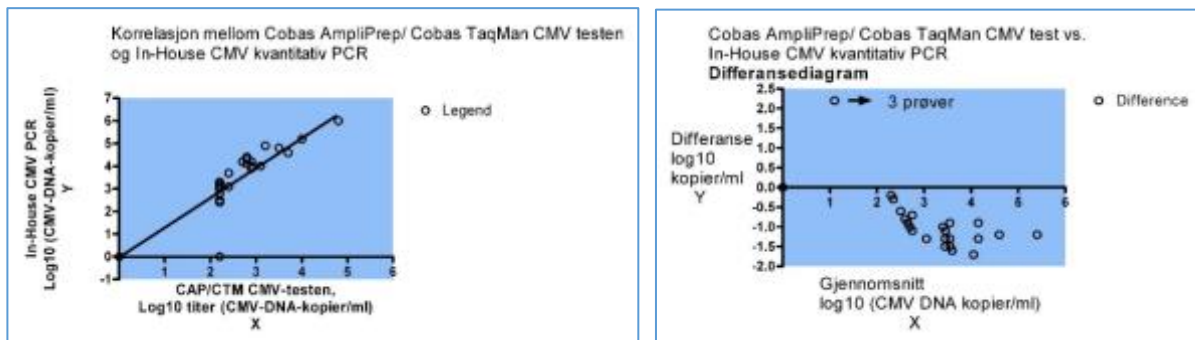
Figur 1 3 X 3-tab			D	E	F	G
			Gammel ("sann") metode el. referansem metode			Radsum
			Posi- tive	Grense- verdi	Nega- tive	
5	Ny metode	Pos	12	3	1	16
		Grense	0	5	2	7
		Neg	1	0	6	7
8	Kolonne- -sum		13	8	9	30

Grafisk framstilling: Sammenlikning av to analysemetoder

A) XY-diagram er det enkleste. Identitetslinjen $X = Y$ bør alltid tegnes inn (4).

B) Differansediagrammer fremstiller differansen mellom to avhengige tallgrupper på Y-aksen (dvs. $Y - X$). Bland-Altman-plot (fig. 2, høyre) er en variant av differansediagrammet:

Differansen mellom enkeltverdiene ($Y - X$) plottes på Y-aksen, og middelverdien av



Figur 2. CMV-DNA. Gammel in-house-metode og ny metode (Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan) ble validert (kopier/ml; log10). Venstre: Korrelasjon XY-plot. Korrelasjonskoeffisient, Spearman, $r = +1$. Høyre: Bland-Altman-plot (Y-akse: $(Y-X)$; X-akse: $(Y+X)/2$). Det er store differansene i resultatene til de to metodene og dermed lite samsvar. Det ser ut som forskjellen mellom svarene øker ved høyere verdier.

enkeltverdiene, $(Y + X)/2$, settes på X-aksen. Diagrammet brukes i metodesammenlikning og vurderes visuelt. Korrelasjon (korrelasjonskoeffisienten, r) viser ikke samsvar på en god måte; da er Bland-Altman-plot bedre (5).

Slengere

Svært avvikende resultater («slengere») skal ikke elimineres uten videre, men først reanalyseres (4). Hvis resultatet forblir «slenger», skal det med i figuren, men ikke i utregningen.

Her er to tester som kan brukes til å sjekke om et oppsett har en «slenger» blant svarene:

- Z-score og/eller
- Q-test

Se <http://www.nkk-ekv.com/> «Velkommen til NKKs hjemmeside» (Norsk Klinisk-kjemisk Kvalitetssikring). Se under *Metodevalidering*: test for slengere. Det er en Excel-fil. Man blir veiledet i vurdering av svaret.

Samarbeid mellom laboratoriene

Laboratoriene gjør et omfattende og tidkrevende arbeid med verifiseringer og valideringer. Dette arbeidet burde kunne deles med andre. En ferdig rapport med vedlegg av statistikk og utregninger på regneark, kan legges ut på MikInfo, eller enklere - man kunne signalisere på MikInfo at en slik undersøkelse var gjort slik at interesserte laboratorier inviteres til å ta kontakt. Synliggjøring og formidling av slikt arbeid kan også virke skjerpene.

Noen gjør sammenlikninger (f.eks. utført av studenter) av flere assays som resulterer i tydelige konklusjoner om hvilke som er best. Dette er nyttig informasjon for kollegaer på andre laboratorier.

Norsk Akkreditering sier: «Samarbeid om validering mellom flere laboratorier er en fordel» (2). Dette gjelder bl.a. når et laboratorium ikke finner kommersielle kvalitetssikringsprogram (SLP) for en analyse. Da må man sammenlikne med tilsvarende resultater fra andre laboratorier.


Referanser

1. Validering/verifisering av klinisk kjemiske analyser. Norsk Klinisk-kjemisk kvalitetskontroll, februar 2002. http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Val_NKK.pdf
2. Veiledningsdokument NA Dok. nr. 48b. Medisinsk mikrobiologi, 2016. <http://www.akkreditert.no/globalassets/na-dokumenter/dok00083.pdf>
3. Thoresen TS. Statistikk for laboratoriet. 2.utg. Tromsø: Lundblad Media, 2011
4. Mørkrid L. Statistiske vurderinger ved endring av analysemetode. Klinisk kemi i Norden 1998; 2:59-64.
5. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986; i: 307-310-984

Se for øvrig VEDLEGG 1, Begreper og definisjoner fra NA Dok.48b, side 48.

Ny versjon 01.11.2016.

Kalibrering av åpne systemer versus «black-box» systemer




Referansegruppe for
Ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi



Strategimøte 2016 om
Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder

Kalibrering av åpne systemer versus «lukkede» systemer
Anne Grændsen
Norsk akkreditering


NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE




ISO 15189:2012 - 5.3 Analyse utstyr



Kalibrering



Kontroll /
kontrollkort



Vedlikehold,
service og
reparasjon

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



ISO 15189:2012 - 5.3.1.4 Kalibrering av utstyr

Dokumentert prosedyre for kalibrering av utstyr som direkte eller indirekte påvirker analyseresultatene:

- ta hensyn til **vilkår for bruk** og **produsentens anvisninger**
- registrere **metrologisk sporbarhet** for kalibreringsstandarden og sporbar kalibrering av utstyrsenheten
- **verifisere påkrevd målenøyaktighet og målesystemets funksjon** med definerte mellomrom
- registrere **kalibreringsstatusen** og datoen for rekalkibrering
- sikre at **tidligere kalibreringsfaktorer er korrekt oppdatert** dersom kalibreringen resulterer i et sett av korreksjonsfaktorer
- **beskyttelsestiltak for å hindre justering** eller tukling som kan gjøre analyseresultatene ugyldige

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



Kalibrering – NA's politikk

- Kalibreringslaboratorium akkreditert av akkrediteringsorgan som har signert EAs/ILACs MLA/MRA
- Nasjonale laboratorier som har signert BIPMs MRA aksepteres på lik linje med akkrediterte laboratorier
- Forutsatt at tilstrekkelig teknisk kompetanse er tilgjengelig i organisasjonen kan den utføre kalibrering av eget utstyr internt. Disse må utarbeide detaljerte kalibreringsprosedyrer og beregne måleusikkerhet i henhold til NA Dok. 52

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



ISO 15189:2012 - 5.3.1.4 Metrologisk sporbarhet

- Metrologisk sporbarhet → referansemateriale eller referanseprosedyre for den høyeste metrologiske rekkefølgen som er tilgjengelig (**akkreditert kalibrering?**)
- Når dette ikke er mulig / relevant, skal andre måter som sørger for tillit til resultatene anvendes, inkludert, men ikke begrenset til:
 - bruk av sertifisert referansemateriale
 - analyse eller kalibrering ved hjelp av en annen prosedyre
 - standarder eller metoder valgt ved gjensidig samtykke, som er klart fastsatt, spesifisert, karakterisert og gjensidig avtalt av alle berørte parter



NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



Hvor ofte skal man kalibrere?



- NA-Dok 26 a-c for harmonisert praksis for enkelte nøkkelparametre
- Er kravene i NA-Dok 26 a-c hensiktsmessige for alle laboratorier?
 - Termoelementer som ikke benyttes i oksiderende/korroderende/mekanisk belastende miljø, moderne vekter med neglisjerbar drift etc.
- Skal laboratoriene selv vurdere og fastsette frekvens for kalibreringer?

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



ILAC G24 (2007) Guidelines for the determination of calibration intervals of measuring instruments

- Faktorer som påvirker frekvensen av recalibreringer
 - Typen instrument (væske i glass- vs resistanstermometre)
 - Tendens til å drifte
 - Produsentens anvisninger
 - Miljømessige forhold og type bruk (i felt?). Høytemperaturreffekter på termoelementer?
 - Kontrollfrekvens
 - Vedlikehold og service

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



ILAC G24 (2007) Guidelines for the determination of calibration intervals of measuring instruments

- SQC – kontrollkort (kalendertid)
 - Kalibreringspunkter plottes mot tid. Optimalt kalibreringsintervall beregnes på bakgrunn av spredning og (midlere) drift
- Brukstid
 - Kalibreringsintervall baseres på antall timer i bruk, kostnadene direkte knyttet til brukstid. E.g. optiske filtre, termoelementer, instrumenter som utsettes for mekanisk belastning/slitasje under bruk)
 - Drift under lagring? Stor drift ved en serie korte sykluser?
 - Installering av timere
 - Dårlig forutsigbarhet, utløp av kalibrering er ikke knyttet til en bestemt dato

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE



Kalibrering og kontroll

- **Kalibrering (sporbar?)** - avvik fra sann verdi
- **Kontroll / kontrollkort** - påse at utstyres måleevne ikke endres over tid
- Sammenligne et instrument mot en normal eller et annet instrument som er mer nøyaktig
- Enkeltmålinger
- Plottes i kontrollkort
- Sammenligning mot et referansemateriale
- Kontrollfrekvens basert på faglig grunnlag
 - Type utstyr
 - Bruksmåte & bruksfrekvens
 - Laboratoriets krav til nøyaktighet
 - Tendens til å drifte

NORSK AKKREDITERING TRYGGHET OG ANERKJENNELSE

Tone Berge

Enhet for virologi og infeksjonsimmunologi, Avdeling for mikrobiologi,
Oslo universitetssykehus, Rikshospitalet.

Interne kontrollsystemer

Norsk ISO STANDARD 15189:2012 5.6.2 Kvalitetskontroll

Laboratoriet skal utforme kvalitetskontrollprosedyrer som bekrefter at den ønskede kvaliteten på resultatene er oppnådd.

5.6.2.2 Kvalitetskontrollmaterialer. Laboratoriet skal bruke kvalitetskontrollmaterialer som reagerer i analysesystemet på en måte som ligger så nær pasientprøvene som mulig. Kvalitetskontrollmaterialer skal analyseres regelmessig med en hyppighet som er basert på prosedyrens stabilitet og risikoen for at pasienten skades som følge av et feilaktig resultat.

MERKNAD 1: Laboratoriet bør så langt det er mulig, velge konsentrasjoner av kontrollmaterialer ved eller i nærheten av kliniske beslutningsgrenser for å sikre gyldigheten av beslutningene som tas.

MERKNAD 2: Bruk av uavhengig kontrollmaterialer fra tredjepart bør vurderes, enten i stedet for eller i tillegg til eventuelle kontrollmaterialer levert av produsenten av reagensen eller instrumentet.

Kit-avhengige kontroller

De fleste infeksjonsserologiske metoder utføres på automatiske analyseplattformer. Analyseplattformene leveres med instrument-avhengige reagenser, kalibratorer og kontroller. Kontrollene er veldefinerte og leveres med ulike målenivå. For kvantitative analyser slik at de dekker store deler av måleområdet, eks anti-HBs; kontrollnivå 1: 15 mIU/mL og kontrollnivå 2: 80 mIU/mL.

Kit-avhengige kontroller kan være kalibrert i forhold til en internasjonal standard.

- For å sikre sporbarhet til internasjonal standard bør laboratoriet med jevne mellomrom kontrollere at målte resultater forholder seg til standarden.
- Leverandøren av kit-avhengige kontroller har vanligvis definert **hyppighet** av kontrolloppsett. Disse reglene må følges for at pasientresultatene skal være gyldige.

Utfordring: Leverandører av kit-avhengige kontroller definerer ofte et stort godkjent måleområde for sine kontroller. Eks. anti-HBs, kontroll 1, godkjent måleområde mellom 10 og 20 mIU/ml. Kontroll 2, godkjent område mellom 59,2 og 100,8 mIU/ml. Å måle at kontrollen er innenfor produsentdefinert, godkjent, område vil derfor ikke avdekke annet enn grove målefeil. I tillegg er som regel kontrollenes måleområde lagt langt over klinisk beslutningsgrense og kan derfor ikke benyttes til overvåkning i følge standard 15189, 5.6.2.2, merknad 1.

Kit-uavhengige kontroller

Siden kit-avhengige kontroller som regel ikke er egnet til bruk som kontrollmateriale for overvåkning av en analyses kvalitet og presisjon, er det behov for etablering av en, evt flere kit-uavhengige kontroller til dette formålet.

Kontrollen bør, som standard 15189 presiserer, leveres av tredjepart, med en konsentrasjon nær beslutningsgrensen (cut-off).

Aktuelle leverandører av tredjepartskontroller kan være:

- Nasjonalt folkehelseinstitutt
- Accurun
- Bio-Rad
- The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)
- Virotech

Konsentrasjon/nivå

Det er blitt betydelig bedre utvalg av kommersielle kit-uavhengige kontroller innen infeksjonsserologi de senere år, men de leveres fortsatt ofte uten analysesertifikat med oppgitt konsentrasjon for analysering i ulike plattformer. Det er derfor som regel behov for justering av konsentrasjonen for at kontrollen skal tilfredsstillende kravet om måleverdi nær beslutningsgrensen (cut-off).

Kontrollens gjennomsnittlige måleverdi bør tilstrebes å ligge mellom 1-2 x cut-off. Kontrollen bør ikke fortynnes slik at enkeltmålinger havner **under** beslutningsgrensen, dvs at gjennomsnittsverdien minus 2x standaravvik er over grensen.

Kontrollen bør fortynnes i medium tilsvarende negativt pasientmateriale og dette må være godkjent som prøvemateriale for testen.

Antall

Dersom uavhengig kontroll inngår som driftskontroll for en kvantitativ analyse bør det alltid vurderes om det er nok med en kontroll, evt om flere konsentrasjonsnivåer bør overvåkes i tillegg til kontrollen nær beslutningsgrensen.

Hyppighet

Kit-uavhengig kontroll bør være en **daglig** driftskontroll på grunn av kontrollens tilpassede konsentrasjonsnivå (1-2 x cut-off). Kit-avhengige kontroller opererer med større godkjente grenser enn ± 2 SD, i tillegg til at de ikke har konsentrasjoner nær beslutningsgrensen. Godkjent resultat for uavhengig kontrollmateriale må derfor ligge til grunn for frigivelse av pasientresultater.

Dersom det kan være vanskelig å skaffe uavhengig kontrollmateriale, kan det godtas sjeldnere enn daglige oppsett. Analysen må da være stabil og ha god presisjon.

Fordeling og oppbevaring

Kontrollmateriale bør fordeles i passende batcher slik at det blir færrest mulig fryse/tine sykluser. Gjerne til en ukes forbruk dersom det er mest praktisk, eller som "engangskontroll". Dersom større batcher av fortynnet kontrollmateriale velges, må holdbarhet i kjøleskap testes ut for hver enkelt analyse.

Benyttes kommersielle tredjeparts kontrollmateriale ufortynnet, følges produsentens anvisninger for oppbevaring.

Kontrollmateriale langtidsoppbevares best i fryser (-20/-70 grader).

Holdbarhet

Kontrollen bør produseres i ett så stort volum at kontrollmaterialet fra samme batch kan benyttes over et lengre tidsrom. Allment aksepterte grenser for holdbarhet for fortynnede kontroller er 2 år ved -20 °C. Dersom kontrollens verdi etter denne tid fortsetter å være stabil, kan holdbarhet mer enn 2 år overskrides.

Når kommersielle tredjepartskontroller benyttes ufortynnet, følges produsentens holdbarhetsgrenser.

Egenprodusert kontroll

Enkelte antistoffer, eks sjeldne IgM antistoffer, kan være vanskelig å få tak i hos kommersielle leverandører. Det kan derfor være nødvendig å produsere kontrollmateriale fra eget eller referanselaboratoriums arkiv. Egenproduserte kontroller av-identifiseres og må benyttes i batch for å unngå sporbarhet til enkeltindivider.

Egenproduserte kontroller må verifiseres ved annet laboratorium, helst referanselaboratorium, for å bekrefte kontrollens egnethet. Dokumentasjon for verifisert kontroll oppbevares sammen med produksjonsdata. Det bør være samsvar mellom målt verdi fra annen lab til egen lab, med verdier innenfor ± 2 SD.

Materiale fra kommersielle SLP leverandører kan også benyttes til egenprodusert kontroll. Batches, fortynnes og fordeles som øvrig kontrollmateriale.

Internasjonale standarder som kontrollmateriale

Dersom det foreligger internasjonalt tilgjengelig referansemateriale ("WHO-standarder"), kan dette med fordel benyttes som kit-uavhengig kontrollmateriale. Referansemateriale kan fortynnes til ønsket verdi nær beslutningsgrensen og målt verdi kan på denne måten alltid sammenlignes direkte med en fasitverdi, for eksempel godt egnet kontrollmateriale til anti-HBs analysen.

Sertifisert referansemateriale kan også benyttes som kontroll for å innstille egenprodusert uavhengig kontroll, sekundær referansekontroll.

Det forutsettes at den kommersielle analysen er kalibrert mot det samme referansematerialet som benyttes som kontrollmateriale.

Når referansemateriale fortynnes og fordeles, behøver ikke dette være en dyrere løsning enn bruk av andre kommersielle kontroller.

Utfordring: Det kan være begrenset tilgang til standardisert referansemateriale fra leverandøren (NIBSC).

Foreløpig tilgjengelig for få infeksjonsserologiske analyser.

5.6.2.3 Data for kvalitetskontroll. *Laboratoriet skal ha en prosedyre for å hindre at pasientens resultater frigis når kvalitetskontrollen ikke ligger innenfor godkjenningsskriteriene. Når kvalitetskontrollen ligger utenfor godkjenningsskriteriene og angir at analyseresultatene sannsynligvis inneholder klinisk signifikante feil, så skal resultatene forkastes, og relevante pasientprøver skal analyseres på nytt etter at feilen er blitt rettet og metodespesifikasjonen er blitt verifisert. Laboratoriet skal også evaluere resultatene fra pasientprøver som ble analysert etter siste vellykkede kvalitetskontrollresultat. Data fra kvalitetskontrollen skal gjennomgås med regelmessige mellomrom for å avdekke trender i analysekvaliteten som kan angi problemer i analysesystemet. Når slike trender oppdages, skal forebyggende tiltak iverksettes og registreres.*

MERKNAD: Statistiske og ikke-statistiske teknikker for prosessstyring bør brukes der det er mulig, for å kontinuerlig overvåke analysesystemets kvalitet.

Kontrollovervåkningssystem

Registrering av kit-avhengige og kit-uavhengige kontroller bør gjøres i et system som tillater statistisk behandling av data og som varsler ved avvik. Statistisk behandling bør inneholde beregning av standardavvik (SD) og variasjonskoeffisient (CV %). Systemet bør kunne overvåke tilfeldige og systematiske feil og vise alarmgrenser og aksjonsgrenser. Siden det er

den kit-uavhengige kontrollen som har verdier nær beslutningsgrensen, er det viktig at det er denne som overvåkes med alarm- og aksjonsgrenser. De kit-avhengige kontrollene kan ha godkjente måleverdier siden deres godkjentområde ofte er større enn $\pm 2 SD$, mens kit-uavhengigkontroll kan være utenfor godkjent område.

Systemet bør også fange opp trender, dvs påfølgende måleverdier som viser synkende eller stigende tendens.

- Alarmgrense for kit-uavhengig kontroll i infeksjonsserologi bør være $\pm 2SD$.
- Aksjonsgrense for kit-uavhengig kontroll i infeksjonsserologi bør være $\pm 3SD$

I tillegg til statistisk behandling av data med varsling, bør systemet også inneholde sporbarhet til benyttede lotnumre, rekalkibreringer, kontroll-lotnumre, batchnummer av kit-uavhengig kontroller og sporbarhet til utførende teknikere.

Det er flere ulike kontrollovervåkningssystemer tilgjengelig for infeksjonsserologiske analyser:

- Laboratorieinformasjonssystemet Miclis. Fordel: Elektronisk overføring av kontroller direkte fra instrumenter
- Pål Jenums excelfiler. Fordel: direkte utregning av "analysegråsoner".
- Evt andre Levy-Jennings overvåkningssystemer, som benytter gjennomsnittsverdi som "sann" verdi og som angir SD og CV % fortløpende i definerte måletidsrom.

Når det ikke foreligger fasit for angitt konsentrasjon for kit-uavhengigkontroll, er det viktig at overvåkningssystemet beregner gjennomsnittsverdi av kontrollen. Dette kan gjøres ved å beregne fra 20 eller 30 målinger. Gjennomsnittsverdi av 30 målinger vil være "fasit" for kontrollen og benyttes som grunnlag ved beregning av SD og CV %.

Utfordring: Å finne kvalitetskontrollsystemer som beregner gjennomsnittsverdi og ikke baserer seg på sann verdi. Sjelden å finne kontrollregistreringssystem som er tilpasset for biokjemiske- og infeksjonsserologiske analyser samtidig.

Overvåking av analysesystemer

Infeksjonsserologiske analyser utført på samme analyseplattform bør overvåkes over tid, kfr siste punkt i 5.6.2.3 Data for kvalitetskontroll.

Dersom det skjer en stigning i CV % for flere analyser på samme instrument, bør dette feilsøkes. Det kan oppstå flere systematiske feil som først oppdages etter sammenligning av felles analysekvalitet, eks dårlig batch av felles reagenser, dårlig vannkvalitet ol.

Her vises ett eksempel (fra RH) hvordan sammenligning av analysekvalitet kan gjennomføres:

VK % kit-uavhengige kontroller - Serologi														
Opprettet	24.01.2013 tb													
korr	12.02.2014 tb													
Ar: 2016														
Analyse	Januar	Februar	Mars	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Desember	Snitt 2016	Kommentar:
Liatison														
BOGL	5,7	5,5	6,3	7,5	6,2	6,0	5,1						6,0	
BOML	5,2	4,7	7,1	7,0	5,5	5,5	5,8						5,8	
BGSL	7,8	4,3	4,1	5,9	7,1	6,8	6,5						6,1	
BMSL	6,5	5,9	12,9	10,4	6,7	7,4	6,9						8,1	
CGAL L	53,3	54,0	49,7	48,3	47,7	37,4	32,8						46,2	For lav verdi til vurdering
CGAL M	14,3	13,1	12,5	12,8	19,0	19,2	19,3						15,7	
CGAL H	13,1	12,1	13,4	14,0	13,0	11,3	11,8						12,7	
EBNL	6,5	6,0	9,7	5,4	8,9	9,2	7,9						7,7	
EBGL	5,8	3,9	7,1	5,3	4,9	5,3	3,8						5,2	Ny ktr 29.02.
EBML	15,7	13,5	7,0	8,1	10,3	8,9	6,4						10,0	
HSLG	8,2	10,9	10,5	10,6	8,6	6,4	8,2						9,1	
HBCM	9,0	9,8	7,8	8,0	6,9	6,5	5,5						7,6	
PAGL	13,5	16,0	16,5	13,7	21,5	17,6	15,6						16,2	Arsak?? Meldt DisSortin
PAML	13,3	10,9	8,5	9,6	11,3	9,6	8,2						10,2	
TRPL	9,0	2,2	8,7	7,8	4,2	3,6	2,6						5,5	
VZGL	11,5	10,8	9,4	12,5	12,0	13,9	9,5						11,4	
Architect														
CMMA	16,7	12,3	9,7	12,6	14,8	10,2	12,1						12,6	Jan: Ny lot
CMVA	17,7	12,2	22,5	25,5	17,1	12,3	14,3						17,4	28.1: avvik, årsak til høy VK%? 11/08
HBSA	5,7	5,9	6,9	7,1	7,9	4,3	4,0						6,0	11/08: Pga tilfeller med lav kluk, her
HBCA	6,4	6,1	3,0	5,4	5,0	9,5	13,6						7,0	
HBAA	8,7	8,5	5,1	6,4	9,0	8,1	7,2						7,6	
HCVA	11,3	17,2	14,8	12,2	10,6	13,6	6,9						12,6	febr: Avvik: lotvariasjon
HAGA	6,5	6,5	6,8	10,8	14,6	16,1	7,2						9,8	Høy VK% juni: årsak: lotskifte 09.06
HAMA	6,9	8,4	7,9	15,5	22,1	11,4	8,5						11,5	lotskifte 01.06
HIVA ag	15,9	12,3	6,9	7,4	5,5	16,7	8,6						10,5	Juni: avvik årsak til høy VK%
HIVA -1	12,6	9,3	13,0	13,2	13,1	7,9	8,2						11,0	
HIVA -2	12,3	8,0	13,5	13,3	12,1	9,5	9,0						11,1	
HTLA	5,4	6,7	5,2	6,4	8,0	12,3	6,0						7,1	11/08: Avvik skyldes lotskifte på reag
RUGA	5,3	5,6	8,3	7,7	13,5	6,1	8,1						7,8	
TOGA	6,8	6,4	7,5	6,7	6,9	6,5	6,5						6,8	
TOMA	8,1	7,9	6,6	7,6	13,4	11,4	7,5						8,9	
Halvautomatiske/manuelle														
GAAG	24,8	24,5	28,2	30,1	32,4	20,3	21,8						26,0	ny kluk 12.4.
TBQF	9,0	6,6	5,0	4,7	4,8	7,2	7						6,3	
TOAV L	10,1	11,1	10,8	11,0	12,4	12,3	11,9						11,4	
TOAV M	16,7	10,2	10,1	10,0	9,1	9,2	8,8						10,6	
TOAV H	23,4	20,4	20,0	20,0	16,1	6,2	6,3						16,1	
TOAE	16,4	17,7	17,5	17,6	17,6	18,2	18,7						17,7	
TOGE	22,6	28,7	28,6	29,1	29,4	28,3	27,4						27,5	2 avvik i mars årsak til høy VK%
TOME	11,6	10,1	10,0	10,1	10,3	11,3	12,0						10,8	

Kvalitetsmål for infeksjonsserologiske analyser

Automatiske metoder bør ha CV % < 10.

Utfordring: CV % blir ofte høyere når lot-variasjoner inkluderes.

5.3.1.4 Kalibrering av utstyr og metrologisk sporbarhet. *Laboratoriet skal ha en dokumentert prosedyre for kalibrering av utstyret som direkte eller indirekte påvirker analyseresultatene. Prosedyren omfatter:*

- å ta hensyn til vilkår for bruk og produsentens anvisninger
- å registrere metrologisk sporbarhet for kalibreringsstandardene og sporbar kalibrering av utstyrsenheten
- å verifisere påkrevd målenøyaktighet og målesystemets funksjon med definerte mellomrom
- å registrere kalibreringsstatusen og dato for recalibrering
- å sikre at tidligere kalibreringsfaktorer er korrekt oppdatert dersom kalibreringen resulterer i et sett av korreksjonsfaktorer
- beskyttelsestiltak for å hindre justering eller tukling som kan gjøre analyseresultatene ugyldige.

Metrologisk sporbarhet skal være til et referansemateriale eller til en referanseprosedyre for den høyeste metrologiske rekkefølgen som er tilgjengelig.

MERNAD: Dokumentasjon av kalibreringens sporbarhet til et høyere nivå i sporbarhetskjeden av referansemateriale eller referanseprosedyre kan leveres av en produsent av analysesystemer. Slik dokumentasjon er akseptabel så lenge produsentens analysesystem og kalibreringsprosedyrer brukes uten endringer.

Når dette ikke er mulig eller relevant, skal andre måter som sørger for tillit til resultatene anvendes, inkludert, men ikke begrenset til følgende:

- bruk av sertifisert referansemateriale
- analyse eller kalibrering ved hjelp av en annen prosedyre
- standarder eller metoder valgt ved gjensidig samtykke, som er klart fastsatt, spesifisert, karakterisert og gjensidig avtalt av alle berørte parter.

Bruk av kalibratører

Kalibrering bestemmer en analytisk/diagnostisk cut-off og er grunnlaget for en kvantitativ mengdeangivelse i ett måleinstrument. Kalibratørene kan være ett-punkts, eller flerpunkts dersom de skal gi grunnlag til en standardrekke. Alle nye reagenslotter må kalibreres.

Kalibratører kan være uavhengig av reagenslot eller være tilpasset spesifikke reagenslotnumre.

Det er alltid viktig å følge produsentens anvisning for bruk av kalibratører. Etter at kalibrering er utført, er det viktig at både kit-avhengige og -uavhengige kontroller settes opp og at resultatene sammenlignes med tidligere kontrollverdier i kontrollovervåkingssystemet.

Når skal det recalibreres?

- Når kalibreringsutskriften viser at kalibreringen ikke er godkjent
- Dersom produsenten angir et gitt intervall mellom kalibrering, må det recalibreres
- Dersom kit-uavhengig kontroll viser en trend med stigende eller synkende verdier, bør recalibrering utføres

Utfordring: Ved flere replikater av en kalibrator, kan kalibreringen godkjennes selv om **kun en av flere** måleverdier er innenfor definert, godkjent kalibratorområde. Hva har dette å si for analysekvaliteten?

Kan det kreves at alle replikater er innenfor definert godkjent måleområde før kalibrering kan godkjennes?

REFERANSER

- NA dok 48b. Medisinsk mikrobiologi. Januar 2004
- Kvalitetskontroll av serologiske analyser. Ed. Jenum PA, Haukenes G, Simonsen GS. Virologisk-serologisk strategimøte 2.11.2001
- Norsk Standard NS-EN ISO/IEC 15189:2012 Medisinske laboratorier Krav til kvalitet og kompetanse

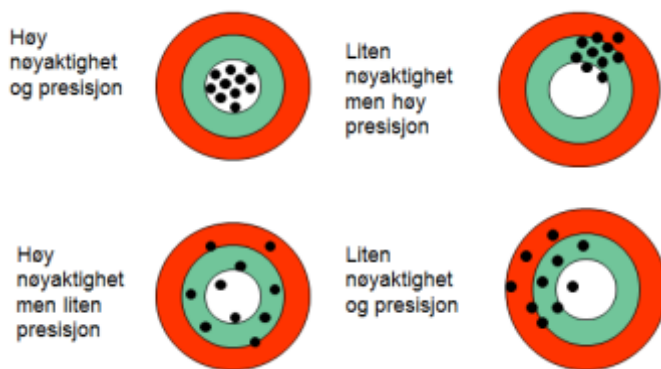
Feil og usikkerhet

ISO 15189: 5.5.1.4 Måleusikkerhet for kvantitative måleverdier

Laboratoriet skal bestemme måleusikkerheten for hver måleprosedyre i analysefasen for å rapportere kvantitative måleverdier fra pasientprøver. Laboratoriet skal definere krav for måleusikkerhet i hver måleprosedyre og regelmessig gjennomgå estimer for måleusikkerheten.

Definisjoner

Feil:	Avvik fra sann verdi/vedtatt standard	Motsats: Nøyaktighet
Usikkerhet:	Spredning ved gjentatt måling Intervallet hvor sann verdi befinner seg	Motsats: Presisjon



Feil/nøyaktighet uttrykkes i % avvik for gjennomsnittet av en serie gjentatte målinger i forhold til sann verdi/standard, som forutsettes kjent.

Usikkerhet uttrykkes i variasjonskoeffisient (CV) som er mål for spredning. Denne uttrykkes ved standardavviket (SD) i % av gjennomsnittet for en serie gjentatte målinger (CV%)

Formel standardavvik:

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

Formelen forteller: Vi ser på hvert tall x_i i datamengden. Avvikene fra middelerdien \bar{x} blir kvadrert, og alle disse kvadrerte tallene summeres. Vi dividerer så summen med antall data i utvalget, og vi tar til slutt kvadratrota av svaret.

Hvor mange gjentatte målinger er nødvendig for et presist mål på variasjonskoeffisienten?

Eksempel:

5 målinger:	250–275–300–325–350 :	Snitt=300, SD=39,53	CV%=13,2%
10 målinger:	Samme resultat på 5 neste:	Snitt=300, SD=37,27	CV%=12,4%
15 målinger:	Samme resultat på 5 neste:	Snitt=300, SD=36,60	CV%=12,2%

20 målinger: Samme resultat på 5 neste: Snitt=300, SD=36,27 CV%=12,1%
 25 målinger: Samme resultat på 5 neste: Snitt=300, SD=36,08 CV%=12,0%
 30 målinger: Samme resultat på 5 neste: Snitt=300, SD=35,96 CV%=12,0%
 30 målinger er alltid nok. 20 målinger er tilstrekkelig.
 10 målinger for lite, med mindre CV% er veldig lav.

Hvilket målenivå skal usikkerheten bestemmes ved?

Ved aktuelle kliniske beslutningspunkt.

Det vil si ved cut-off for kvalitative positiv-negativ analyser.

For kvantitative analyser som f.eks anti-HBs ved både 10 IU/L og 100 IU/L som skiller mellom beskyttelse og varig beskyttelse etter fullvaksinering.

(PS: Etter Strategimøtet det kommet nye retningslinjer som angir at >10 IU/L etter fullvaksinering kan anses gi varig beskyttelse mot HBV-infeksjon)

Hvor ofte skal måleusikkerheten estimeres?

Erfaring med hvor stor variasjonen i usikkerheten er kan være bestemmende.

Omtrent halvårlig ved rimelig stabile forhold.

Hvordan definere gråsoner?

De fleste kit-leverandører definerer cut-off i sine analyseprosedyrer

(enkelte angir kun negativt område, gråsonerområde og positivt område).

Cut-off angir grensen mellom analytisk negativt og analytisk positivt resultat.

Gråsoner benyttes som en betegnelse på måleområdet hvor det ikke er sikkert om resultatet analytisk sett er positivt eller negativt.

Cut-off vil logisk befinne seg midt i dette gråsonerområdet.

Størrelsen på gråsonerområdet defineres vanligvis som $\text{Cut-off} \pm (2\text{CV}\% \times \text{Cut-off})$.

En negativ prøve er en prøve som har verdi $< \text{Cut-off} - (2\text{CV}\% \times \text{Cut-off})$.

En positiv prøve er en prøve som har verdi $> \text{Cut-off} + (2\text{CV}\% \times \text{Cut-off})$.

Eksempel på periodevis registrering av usikkerhet/gråsonerbestemmelse (fra Excel):

Anti-HAV-IgG		20.4.12	20.12.12	26.7.13	22.1.14	17.11.14	24.6.15	7.1.16
HAG	Cut-off (CO)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Mean uav.ktr	2,67	1,69	1,82	1,68	1,91	1,87	1,76
	SD	0,18	0,11	0,17	0,10	0,15	0,10	0,14
	CV %	6,9	6,5	9,2	5,7	7,7	5,1	7,9
	Nedre grense CO-2SD	0,86	0,87	0,82	0,89	0,85	0,90	0,84
	Øvre grense CO+2SD	1,14	1,13	1,18	1,11	1,15	1,10	1,16
	Definert nedre grense	0,85	0,85	0,80	0,85	0,85	0,85	0,80
	Definert øvre grense	1,15	1,15	1,20	1,15	1,15	1,15	1,20

Gulmarkering viser endring i gråsonerområdet fra tidligere.

Analytisk rapporteres måleverdier i gråsonerområdet som «grenseverdi».

Enkelte produsenter definerer et fast gråsonerområde/grenseverdiområde for sine tester.

Hvert laboratorium må imidlertid selv definere gråsonerområdet (ISO 15189) som kan vise seg være smalere (mindre usikkerhet) eller bredere (større usikkerhet) enn hva produsenten angir.

Hva er akseptabel CV%?

Antigen og spesielt av antistoff er biologiske parametre som kan fremvise betydelig individuell målevariasjon i det aktuelle testsystemet. Erfaring tilsier at usikkerheten er større i manuelle og halvautomatiske testsystemer enn i helautomatiske testsystemer. I sistnevnte er CV% ofte under 5% og sjelden over 10% som grovt kan anses som aksjonsgrense. I manuelle systemer kan CV% overstige 10%, men ved verdier over 15% bør testprosedyrene gjennomgås. Andelen av prøveresultater som ligger i gråsonområdet kan også gi indikasjon om testen er akseptabel, det vil si er egnet til å skille positiv fra negativ konklusjon.

Hvordan håndtere endringer i CV% som følge av lot-skifte og/eller skifte av uavhengig kontroll?

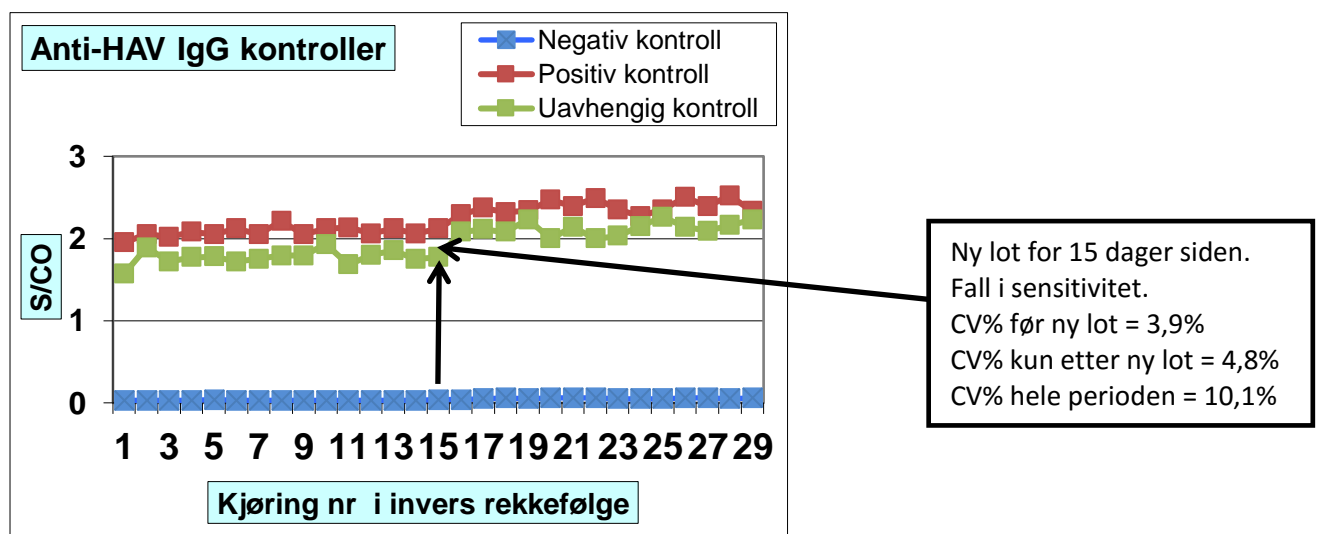
Ved ny kit-lot kan den uavhengige kontrollen gjøre et sprang opp eller ned. Dette er et uttrykk for endring i sensitivitet mellom ulike lot og ikke nødvendigvis en endring i usikkerheten, selv om dette tilsynelatende gir en økning i CV% i den fortløpende registreringen.

Ved skifte av kit-uavhengig kontroll vil også mengdemålingen kunne ligge på et annet nivå uten at dette betyr en endring i testens usikkerhet.

Eksempel på sensitivitetsendring knyttet til lotskifte (tallgrunnlaget neste side):

Eksemplet viser at usikkerheten for hver lot er meget liten hele tiden ($CV < 5\%$), men endringen i følsomhet ved ny lot gjør at CV% får et kraftig utslag. Dette er ikke et avvik knyttet til usikkerhetsmålingene, men til sensitivitet i systemet. Om fall/økning i sensitivitet er av en slik størrelse at det kvalifiserer for avviksmelding må vurderes i hvert enkelt tilfelle.

Det er selvsagt også mulig å beregne CV% og usikkerhetsområde over et større område enn 30 målinger, for eksempel for et halvt eller et helt år, og derved også inkludere konsekvensene av eventuelle skifter i reagenslot og uavhengig kontroll. Dersom CV% da likevel er lav er alt "såre vel", men ved høy CV% vil man lett kunne få tolkningsproblemer siden usikkerheten målt over et langt tidsrom ikke nødvendigvis gjenspeiler usikkerheten på det tidspunktet prøven ble analysert som angitt i eksemplet over.



		Anti HAV IgG (S/CO)							
Dato	Nr		Negativ kontroll	Positiv kontroll	Uavhengig kontroll	Gråsoner øvre nedre			
Snitt	Siste 30		0,04	2,23	1,94			Cut-off	
SD	Siste 30		0,01	0,17	0,20	1,203		1	
CV%			30,0%	7,6%	10,1%	0,797			
						Uavh. Ktr. Avvik fra snitt	Relatert til siste 30	Real time	
15.07.2016	1		0,03	1,95	1,57	-19,1%			CV=4,8%
14.07.2016	2		0,03	2,05	1,89	-2,6%			
13.07.2016	3		0,03	2,02	1,72	-11,3%			
12.07.2016	4		0,03	2,08	1,77	-8,8%			
11.07.2016	5		0,04	2,05	1,78	-8,2%			
08.07.2016	6		0,03	2,12	1,72	-11,3%			
07.07.2016	7		0,03	2,05	1,75	-9,8%			
06.07.2016	8		0,03	2,21	1,79	-7,7%			
05.07.2016	9		0,03	2,05	1,79	-7,7%			
04.07.2016	10		0,03	2,12	1,93	-0,5%			
01.07.2016	11		0,03	2,13	1,68	-13,4%		OBS	
30.06.2016	12		0,03	2,06	1,80	-7,2%		OBS	
29.06.2016	13		0,03	2,12	1,85	-4,6%			
28.06.2016	14		0,03	2,06	1,75	-9,8%		OBS	
27.06.2016	15	nytt reagenslot	0,04	2,12	1,77	-8,8%		OBS	
24.06.2016	16		0,04	2,29	2,08	7,2%			CV=3,9%
23.06.2016	17		0,05	2,37	2,11	8,8%			
22.06.2016	18		0,06	2,32	2,08	7,2%			
21.06.2016	19		0,05	2,34	2,23	14,9%			
20.06.2016	20		0,06	2,47	2,00	3,1%			
17.06.2016	21		0,06	2,39	2,14	10,3%			
16.06.2016	22		0,06	2,49	2,00	3,1%			
15.06.2016	23		0,05	2,35	2,03	4,6%			
14.06.2016	24		0,05	2,27	2,15	10,8%			
13.06.2016	25		0,05	2,35	2,26	16,5%			
10.06.2016	26		0,06	2,50	2,14	10,3%			
09.06.2016	27		0,06	2,39	2,09	7,7%			
08.06.2016	28		0,05	2,52	2,16	11,3%			
07.06.2016	29		0,06	2,33	2,23	14,9%			

Måling og korrigering av feil

En forutsetning for å kunne måle grad av feil er at det finnes en definert «gullstandard» med kjent konsentrasjon. I infeksjonsserologien finnes internasjonale standarder kun for noen få analyser som for eksempel Rubella-antistoff, anti-HBs og Toxoplasma-antistoff. Mengden uttrykkes i internasjonale enheter (IU) per volumenhet (liter eller milliliter).

Laboratoriet kan anskaffe slik standard og teste om denne ved ulike fortyndninger gir den forventede mengde IU per volumenhet. Målt avvik fra forventet verdi, som i størrelse ligger utenfor testens usikkerhetsområde, kan korrigeres ved innføring av en korreksjonsfaktor eller en korreksjonsformel.

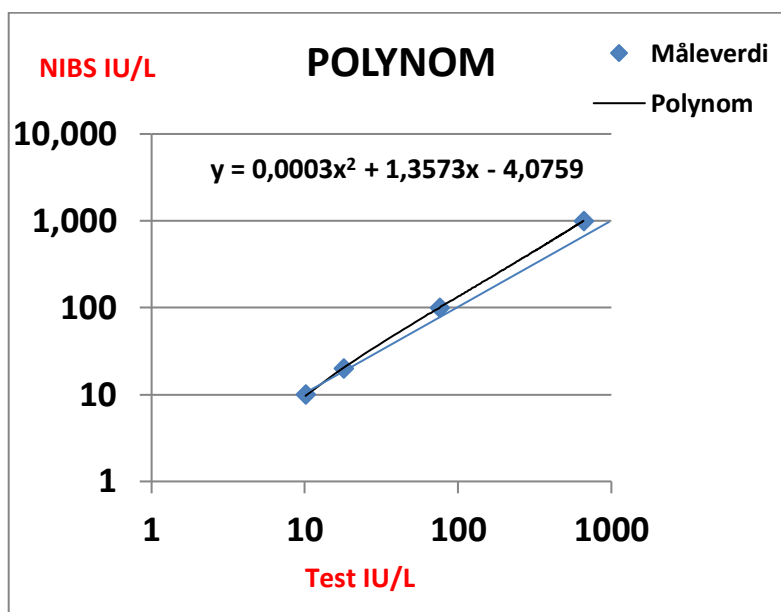
Korreksjonsfaktor benyttes for kvantitative analyser når den prosentvise feilen (avvik fra sann verdi) er konstant over den klinisk relevante delen av måleskalaen.

Korreksjonsformel kan være aktuelt dersom feilen øker eller avtar men økende mengde.

Internasjonale standarder kan være en begrenset og/eller kostbar ressurs. Laboratoriet kan etablere et internt referanseserum som er kalibrert mot internasjonal standard til bruk som kituavhengig kontroll i rutinen. Relasjonen mot internasjonal standard må være dokumentert.

Eksempel på testing av NIBSC anti-HBs:

NIBSC anti-HBs referanse 07/164 IU/L	Måleverdi snitt n=10	CV %	Usikkerhetsområde +/- 2SD		Korreksjonsfaktor (Referanse/snitt måleverdi)	Etter korrigering ut fra Polynom tilpassing
			øvre	nedre		
1 000	657,51	3,4 %	701,8	613,2	1,52	1018,06
100	75,55	2,7 %	79,7	71,5	1,32	100,19
20	17,96	3,1 %	19,1	16,8	1,11	20,40
10	10,11	2,8 %	10,7	9,5	0,99	9,67



Uspesifikke reaksjoner og kryssreaksjoner

Uspesifikk reaktivitet innenfor serologisk diagnostikk omfatter tre ulike fenomener:

- 1) **Kryssreaktivitet:** Antistoff som kan binde seg til andre antigener enn det som i utgangspunktet stimulerte det. I vår kontekst antistoff som binder til antigener fra ulike species (poly-spesifikke antistoff)
- 2) **Polyklonal aktivering:** Ett agens stimulerer B-celler som produserer antistoff mot andre agens
- 3) **Assay-interferens:** Pasienten har antistoff som interagerer med testen på ikke-tiltenkte måter

Kryssreaktivitet er vanligere for IgM (polyspesifikk) enn IgG. Burde i utgangspunktet være mulig å unngå, unntatt når man forsøker å skille mellom nært beslektede arter (typisk innenfor bakteriologi). Veldig ofte test-avhengig. Rekombinante antigener og monoklonale antistoff gir i prinsippet mindre sannsynlighet for (og mer forutsigbarhet i forhold til) kryssreaktivitet enn rensede antigener og antistoff ekstrahert fra sera, men det kan også være tilfeller der for eksempel rensede antigener gir en langt bedre test enn rekombinante antigener.

Kryssreaktivitet kan være ønskelig i en del tilfeller når man vil detektere flere species med samme kliniske betydning innenfor samme genus, for eksempel *Borrelia* spp. eller Herpes-simplexvirus 1/2.

Polyklonal aktivering foregår kontinuerlig og trigges av en rekke infeksjose agens. Både IgG og IgM-produksjon kan aktiveres. En hypotese er at polyklonal aktivering bidrar til opprettholdelse av spesifikk immunitet ved aktivering av B-memory celler. Styrken på den polyklonale stimuleringen varierer betydelig mellom ulike agens og ulike agens påvirker ulike kloner av B-celler.

Det kan være vanskelig å skille mellom polyklonal aktivering og kryssreaktivitet. Uspesifikk reaktivitet med nært beslektede agens alene kan tyde på kryssreaktivitet, mens reaktivitet mot en rekke ubeslektede agens og beslektede agens typisk indikerer polyklonal aktivering. Liten korrelasjon mellom varighet av reaktivitet og uspesifikk reaktivitet tyder også på polyklonal aktivering.

Kryssreaktivitet er rapportert for eksempel mellom *E. coli* K1 og *N. meningitidis* gr. B, mellom *Brucella* og *Yersinia enterocolitica* serogruppe O:9, mellom parainfluenzavirus og parotittvirus, mellom Hepatitt E og CMV/EBV og mellom ulike Flavivirus. Agens som er kjent for kraftig polyklonal aktivering omfatter for eksempel EBV, CMV, parvovirus B19, HIV i tidlig fase, Hepatitt A og *Mycoplasma pneumoniae*.

Uavhengig av bestilling, bør man vurdere alltid å analysere agens med kjent kryssreaktivitet og agens som er relevant i forhold til polyklonal aktivering samtidig, alternativt som reflekstest. I særdeleshet hvis klinikken også kan være overlappende. Eksempler på dette er

CMV og EBV, EBV og parvovirus B19 ved meslingevirus-IgM og parvovirus ved isolert borrelia-IgM og leddsmerter.

De viktigste årsakene til assay interferens er Rheumatoid faktor (RF) og anti-dyre-antistoff. Sandwich-ELISA, CLIA og CMIA-baserte tester har mindre problemer knyttet til RF siden det vaskes før tilsetning av deteksjonsantistoff, mens innføring av humaniserte, monoklonale antistoff innenfor billed-diagnostikk og behandling har redusert forekomsten av anti-dyre-antistoff i pasientpopulasjonen.

Avvikskriterier

ISO 15189: 5.6.2.3 Data for kvalitetskontroll

.... Når kvalitetskontrollen ligger utenfor godkjenningskriteriene og angir at analyseresultatene sannsynligvis inneholder klinisk signifikante feil, skal resultatene forkastes, og relevante pasientprøver skal analyseres på nytt etter at feilen har blitt rettet og metodespesifikasjonen har blitt verifisert.

... Statistiske og ikke-statistiske teknikker for prosessstyring bør brukes der det er mulig, for å kontinuerlig overvåke kvaliteten.

Avvik oppstår når analysens godkjenningskriterier ikke går inn.

Godkjenningskriterier

Godkjenningskriterier og håndtering av avvik fra disse skal fremgå av prosedyren.

Dette omfatter kriterier for godkjenning av

- nøyaktighet (feilgrenser relatert til standard)
- kitavhengige kontroller
- kituavhengige kontroller

Nøyaktighet

Når testen er innstilt i forhold til en internasjonal standard, eventuelt ved inklusjon av en korreksjonsfaktor eller –formel, bør ikke avviket fra sann verdi relevant for klinisk bedømming overskride 5%.

Er dette tilfelle bør avviket bokføres og korreksjonsfaktoren/formelen gjennomgås på nytt og eventuelt korrigeres.

Kitavhengige kontroller angir om oppsettet er gyldig. Godkjenningskriteriene er gitt av produsent.

Dersom oppsettet ikke er gyldig i henhold til kitavhengige kontroller, bør i prinsippet oppsettet gjentas.

- Dersom reanalysen er ok anses hendelsen ikke som avvik, såfremt denne fremgangsmåten er definert i prosedyren.
Denne reanalysen kan avgrensnes til kun prøver som vurderes å ligge i grenseland for klinisk konklusjon («relevante pasientprøver»).
- Dersom reanalysen ikke er ok må avvik meldes, og alle elementer som inngår i analysen og som kan påvirke resultatet, gjennomgås og avdekkede feil/uklarheter justeres: Reagenser, temperatur, volum, holdbarhet, målesystem, etc.
Dersom årsak til avviket ikke avdekkes må leverandør kontaktes, med tanke på å avdekke feil ved lot.

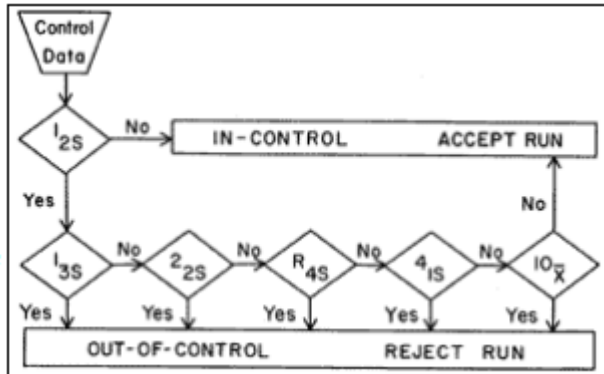
Kituavhengige kontroller angir om usikkerheten, og evt. feil, er akseptable.

Godkjenningskriteriene defineres av laboratoriet.

Ulike systemer for å definere avviksgrenser for usikkerhet finnes.

De fleste benytter en eller flere av Westgaard-reglene.

De enkelte reglene har deskriptive «kortnavn», og reglene følger en sekvensiell logikk som angitt i diagrammet:

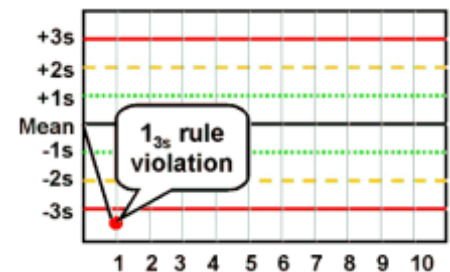


De enkelte reglene er følgende:

1_{2s} : En måling ligger mellom 2 og 3 SD fra gjennomsnittet
 Anses ikke som avvik, men som en varsko, siden statistisk 1/20 (5%) av målingene vil gi et slikt resultat



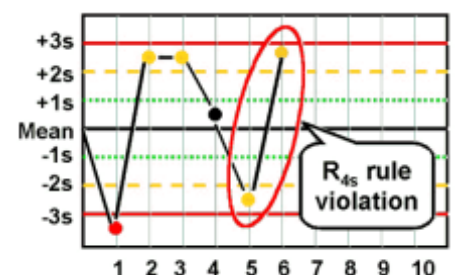
1_{3s} : En måling ligger utenfor 3 SD fra gjennomsnittet
 Anses som avvik siden statistisk mindre enn 1/100 (1%) vil gi et slikt resultat



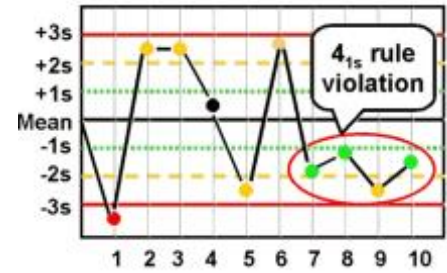
2_{2s} : To påfølgende målinger ligger mellom 2 og 3 SD på samme side av gjennomsnittet.
 Anses som avvik siden sensitiviteten kan ha endret seg



R_{4s} : To målinger i samme oppsett ligger henholdsvis mellom -2 og -3SD og mellom +2 og +3SD fra gjennomsnittet (spenner over 4 SD).
 Anses som avvik, men vil ikke gjelde dersom man ikke analyserer kituavhengig kontroll i duplikat.

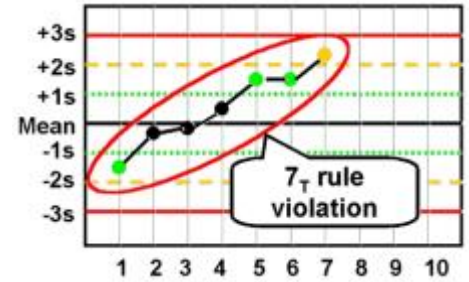


4_{1s}: Fire målinger etter hverandre ligger utenfor 1 SD fra gjennomsnittet. Anses som avvik siden sensitiviteten kan ha endret seg



Flere regler finnes. Tar med en ekstra som har som mål å avdekke trend.

7_T: Sju målinger etter hverandre som hele tiden blir høyere eller lavere. Anses som varsko/avvik siden sensitiviteten gradvis synes å være i ferd med å endres



Sammenlignende laboratorieprøving, SLP.

Internkontrollsystem

I Norge er alle som yter helsetjenester pålagt å ha et internkontrollsystem i «§3 i Lov om statlig tilsyn» (1) og alle medisinsk mikrobiologiske laboratorier skal ha et kvalitetssystem som er basert på de sentrale akkrediteringskrav i den internasjonale standardiseringsorganisasjonen (ISO) 15189:2012 «Medisinske laboratorier – Særskilte krav til kvalitet og kompetanse» (2) Også laboratorier som ikke velger å søke akkreditering, bør forholde seg til kravene i standarden.

Sporbarhet

For å sikre at et laboratorium måler det som er gjenstand for målinger, riktig, er det nødvendig å etablere sporbarhet for måleresultatet mot det internasjonale systemet for enheter (SI-enhet). I medisinsk mikrobiologi er det imidlertid oftest ikke praktisk mulig å etablere sporbarhet til SI-enheter. Dette gjelder i vår praksis alle serologiske metoder hvor analyser for påvisning av spesifikke antistoff inngår siden standardiserte referansemetoder ikke er etablert for antistoffpåvisning. Det er derfor viktig om mulig å etablere sporbarhet tilbake til et internasjonalt referansemateriale. Hvis man for eksempel måler total-IgG, så kan resultatet rapporteres i SI-enheter (f.eks. g/l). Uansett om internasjonale standarder finnes og benyttes skal alle metoder være gjenstand for ekstern kvalitetskontroll (3).

Ekstern kvalitetskontroll er en viktig del av kontrollsystemet og omfatter all ekstern uavhengig kontroll som bidrar til å sikre laboratoriets sporbarhet og analysekvalitet, og alle analyser bør om mulig omfattes av et eksternt kvalitetsprogram.

Eksterne kvalitetsprogram

- 1) Bedømming av Norsk Akkreditering
- 2) Tilsyn av offentlige etater (Statens helsetilsyn, Statens legemiddelverk)
- 3) Deltakelse i et spesifikt analyserettet uavhengig eksternt kvalitetsprogram (External Quality Assessment (EQA)), eller på norsk som sammenlignende laboratorieprøving (SLP) og er definert som en organisering, sammenligning og evaluering av analyse på samme eller liknende prøver av to eller flere laboratorier i overensstemmelse med forhåndsbestemte betingelser.
- 4) Sammenligning av prøver gjennom avtaler mellom utvalgte laboratorier hvor flere av analyseresultatene fra ett laboratorium blir sammenlignet med tilsvarende resultater fra ett eller flere andre laboratorier. For sammenligning mellom laboratorier må det inngås egne inter-laboratorieavtaler som definerer de aktuelle analyser, hva som utveksles, hvor hyppig og hvordan ansvar for utsending og besvarelse er fordelt.

Noen av de eksterne kvalitetsprogrammer er obligatoriske, enten som krav til akkreditering eller ved lov. Noen er valgfrie som ledd i kvalifikasjonsarbeid (4).

Utveksling av enkeltprøver mellom laboratorier for å gi støtte til, supplere eller verifisere (konfirmerende testing) egne analyseresultater eller ved for eksempel bruk av referansemateriale (KIUK), regnes ikke som fullverdig ekstern kvalitetskontroll i denne sammenheng, og kan derfor ikke erstatte deltakelse i eksternt kontrollprogram (5).

Ved spesielle analysemetoder som ikke er akkrediterte og krever særskilt opplæring av laboratoriepersonell, kan kurs og workshops med eller uten sertifisering organiseres, for eksempel av en SLP-arrangør, en kommersiell aktør eller et referanselaboratorium. Et eksempel her kan være immunfluoresens-diagnostikk.

Sammenlignende laboratorieprøving (SLP)

SLP-(ringtest)-prinsippet

Sammenlignende laboratorieprøving (SLP) arrangeres av eksterne uavhengige regionale, nasjonale eller internasjonale organer som tilbyr deltakelse i spesifiserte programmer (enkelt analyser, analysepanel som blodscreening av infeksjonssykdommer eller sykdomsrelaterte analysepanel som for eksempel hepatitter). Hensikten er at laboratoriene som mottar materiale med ukjent agens/antistoffer skal analysere dette på rutinemessig lik linje som en pasientprøve innen den aktuelle tidsfrist.

Slik kan hele prosessen følges og teste kvalitet i alle ledd; fra mottak av prøven, behandling, analyseforløp, resultatvurdering og bevarelse. Resultatene returneres SLP-arrangør med oversikt over hvilke metoder som er brukt. Preliminær fasit foreligger ofte når deltagerne har levert sine resultat. En sluttrapport utarbeides der alle resultatene fra de deltagende laboratoriene oppsummeres og sammenlignes, og hvilke metoder som er brukt. Som oftest inngår det ingen klinisk og medisinsk vurdering i disse programmene, som stort sett kun er resultatorientert. Unntak her er de nasjonale (virologisk-serologiske) ringtester som Folkehelseinstituttet er arrangør av (5).

SLP som parameter i kvalitetsovervåkning:

Der det er mulig og hensiktsmessig skal laboratoriet delta i program for SLP, nasjonalt og/eller internasjonalt, i et omfang som dekker hele analyserepertoaret, og på en slik måte at den er godt integrert i analysemetodene der alle analytikere deltar jevnlig, for å kunne fange opp feil, avdekke avvik og mangler. Kvalitetskontroller defineres med tiltaksgrenser og resultatene registreres fortløpende med trendanalyser. Ved avvikende resultater gjennomføres en årsaksanalyse med påfølgende korrigerende tiltak som skal sammenfattes i en avviks- eller evalueringsrapport. Det er et krav om at laboratoriet beskriver og vurderer sine egne prestasjoner ved SLP. Disse resultatene skal gjennomgås lokalt med alle involverte i laboratordriften, for eksempel på avdelingsmøter, med påfølgende dokumentasjon at dette er gjort. Dokumentasjon på SLP deltagelse oppbevares i 3 år etter at analyseprosedyren er tatt i bruk (3).

Krav til SLP-arrangører og andre typer inter-laboratorieavtaler

For valg av ekstern kvalitetskontroller må man vurdere behov, egnethet og kvalitet. Valg av kontroller dokumenteres i laboratoriets kvalitetssystem. De organisasjonene laboratoriet velger å benytte for ekstern kvalitetskontroll (SLP, kontroll -eller referansemateriale) bør være veletablerte og anerkjente i miljøet og helst teknisk sett i samsvar med retningslinjer i ISO/IEC 17043 «Samsvarsvurdering-Generelle krav til kvalifikasjonsprøving» og helst akkreditert som SLP arrangør (6).

Noen sentrale faktorer ved SLP-avviks-eller evalueringsrapport som bør vurderes:

(utdrag fra NA DOK.nr. 48b: Medisinsk mikrobiolog (3) i kursiv)

1. *SLP-materialets sammensetning og beskaffenhet, samt angitt holdbarhet i forhold til forsendelse, oppbevaring og analysedato.*
2. *Ved kvalitative og evt. kvantitative undersøkelser vil vurderingen måtte baseres på hvilke beslutningsgrenser og hvilken analytisk sensitivitet og spesifisitet som er gjeldende for metoden som er brukt.*
3. *Kommentarer og tolkninger i resultatrapporten.*
4. *SLP-materialets målenivå for den aktuelle komponenten og metodens analytiske variasjon i dette området. Det er viktig å vurdere om for eksempel SLP-resultatet representerer et rent teknisk analytisk problem (grenseverdi og «cut-off» problematikk) eller om det for eksempel representerer et biologisk fenomen knyttet til enkelte kliniske problemstillinger som for eksempel kryssreaksjoner.*
5. *Hvorvidt avvik representerer en trend eller om det knytter seg til et enkeltresultat.*
6. *Overvåkningsdata i samme periode, for eksempel data fra intern kvalitetskontroll).*
7. *Løpende vurdering om problemstillinger fra arrangør er aktuelle og dekkende for laboratoriet.*

Fordeler ved bruk av SLP

1. Krav til bruk av SLP som ekstern kvalitetskontroll ved akkreditering oppfylles.
2. Tilby sammenligning av analysemetoder -og resultater fra forskjellige laboratorier.
3. Sørger for en tidlig varsling ved systemiske problemer knyttet til kitt eller analysemetoder.
4. Sørger for en objektiv kvalitetsvurdering på tester.
5. SLP materiale kan benyttes til utprøving av nye metoder (kjent positiv prøve) og til bruk som KIUK.
6. Indikerer områder som trenger forbedring.
7. Identifiserer behov for opplæring og trening.
8. Kostnadseffektiv, kan teste mange analyser med en testprøve.

Begrensninger ved bruk av SLP:

1. SLP alene er ofte mangelfull og er kun et supplement til annen ekstern kvalitetskontroll.
2. Testene er ofte svært forenklede og forutsigbare. Prøven (analytten) ligger sjeldent tett opp mot klinisk beslutningsgrense (svakt reaktive prøver) og unngår dermed problemstillinger rundt tolkningen av slike resultat.
3. Mangler ofte en medisinsk tolkning knyttet til en medisinsk problemstilling, og er kun resultatorienterte.
4. Indikasjon på testing er sjelden en problemstilling (pre-analytiske forhold).
5. Tidkrevende med hensyn til påmelding, bestilling, loggføring, dokumentering og innsendelse av svarrapporter.
6. Svarrapportskjemaer kan virke uklare og interpretasjoner kan bli feil.
7. Sluttrapporter kan være lite individualiserte og vanskelige å tolke.
8. Tilsendt prøvemateriale kan være ødelagt eller endret under transport.
9. For mange deltagelser i eksterne kvalitetsprogrammer av samme analyse er ofte unødvendige og lite kostnadseffektive.

Noen viktige SLP leverandører med noen «kommentarer» fra deltagende laboratorier:

Neqas (<http://www.ukneqasmicro.org.uk>): Britisk arrangør av SLP innen medisinsk mikrobiologi med bredt diagnostisk tilbud med rundt 390 programmer fra 26 sentre med over 8000 deltagende laboratorier fra 140 land. «Tilbud om hyppig deltagelse (4ggr/år). SLP'ene er brukervennlig og gir god historikk for hvert enkelt laboratorium. SLP'ene kan være litt forutsigbare og gi svar som forventet «godt innenfor» eller resulterer i «alltid» max score.»

QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics) (<http://www.qcmd.org>): SLP-arrangør innen nukleinsyrebasert diagnostikk, men har også et bredt repertoar innen virologi-serologi (feks panel for blodgiverscreening) med over 2000 deltagere i over 100 land. «Mye brukt SLP med brukervennlige rapporteringssider og lange svarfrister som kan være fint i en travel hverdag. Noen agens sendes ut kun én gang i året og kan være litt lite med hensyn til akkreditering. Rapportene kan være vanskelige å tolke med lite kommentarer.»

Labquality (<http://www.labquality.fi>): Finsk arrangør av SLP innen medisinsk mikrobiologi, medisinsk biokjemi og patologi og med 152 EQA-programmer. De tilbyr også «point-of-care (POC)»-diagnostikk og «integrert» SLP som vurderer pre-og postanalytiske forhold. Dessuten tilbyr de også SLP for mikroplate-avlesere. «De har mange utsendelser per år som er en fordel. Ulempen er en litt omstendelig e-rapportering med lite brukervennlige sider (finsk/engelsk), men har bedret seg noe de siste årene.»

Equalis (<http://www.equalis.se>): Equalis (akkreditert SLP arrangør av Swedac) tilbyr diagnostiske panel innen områdene mikrobiologi, kjemi og patologi i Sverige, men tilbyr også andre lands laboratorier deltagelse. «De lager lange svarrapporter som tar lang tid å jobbe seg gjennom, men gir også informasjon om de ulike testene som kan være nyttig. Det kan være vanskelig å finne de riktige svaralternativene (eller å gi kommentarer) i svarrapportene. Det er korte svarfrister, og det tar lang tid før rapport foreligger.»

INSTAND (<http://www.instand-ev.de/en>): Tyskdrevet selskap og arrangør av eksterne kvalitetsprogram med hovedmål å støtte forskning og vitenskap rundt eksternt kvalitetsarbeid. De tilbyr bredt tilbud innen genmolekylær-, virologisk- og serologisk diagnostikk, i tillegg til andre klinisk kjemiske analyser, med rundt 350 ulike EQA-programmer. «Det er en fordel med automatisk fornying av abonnement. De elektroniske rapportene er gode og omfattende selv om de kommer noe sent og litt vanskelig tilgjengelige. Svarrapportene er lite brukervennlige som ikke kan sendes inn som elektronisk svarrapport (fortsatt på fax).»

FHI «Ringtest» (<https://www.fhi.no>): FHI har ansvar for det nasjonale programmet for ekstern kvalitetsvurdering innen mikrobiologi (ringtester) med tilbud innen bakteriologisk-, virologisk og serologisk diagnostikk. Siden 1982 har alle medisinske mikrobiologiske laboratorier blitt invitert til deltagelse i «virologisk-serologisk ringtest» hvor en klinisk problemstilling belyses og tolkning av analyseresultat vurderes. «Ringtesten stimulerer til nasjonal harmonisering av svarrapporter mellom laboratorier. Bedring med elektronisk

svarrapport. Noe omstendelig spørsmål rundt laboratorienes svarrutiner. Lang svarrapporttid og lange kommentarer til rapportering.»

Referanser:

1. «Lov om statlig tilsyn» under § 3. *Plikt til å opprette internkontrollsystem og tilsyn med at det føres internkontroll». Lovdata 1984.*
2. ISO 15189 «Medisinske laboratorier «Særskilte krav til kvalitet og kompetanse».
3. NA Dok. Nr.48b Medisinsk mikrobiologi.
4. Ref. EA-4/10:202. Accreditation for Microbiological Laboratories. European cooperation for Accreditation (EA)).
5. «Kvalitetskontroll av serologiske analyser», Virologisk-serologisk strategirapport 2001.
6. ISO/IEC 17043 «Samsvarsvurdering-Generelle krav til kvalifikasjonsprøvning».

Ny versjon (tillegg «noen viktige SLP leverandører) 21.12.16

Tolkning av serologiske resultater

Analytisk tolkning

Tolkning av infeksjonsserologiske analyser kan by på utfordringer. Kvaliteten på antigenene som benyttes i de ulike testene er helt avgjørende for både sensitivitet og spesifisitet. Rensede antigener av hele mikroben gir ofte lavere spesifisitet enn om man benytter spesifikke rekombinante antigener eller syntetiske peptider.

Primærinfeksjon

Sensitiviteten kan variere betydelig både for IgG og IgM testene. Vanligvis påvises IgM-antistoffene før eller samtidig med IgG antistoffene, men i enkelte tester kan det være motsatt (f.eks. parvovirus B19 og varicella-zoster virus) (1). Positiv IgM alene må tolkes med stor varsomhet hvis det ikke er typisk klinikk. Det samme gjelder for lavt IgG-titer uten IgM-respons ved suspekt klinikk. En signifikant titerstigning/serokonversjon er ofte et bedre diagnostisk kriterium på en primærinfeksjon enn påvisning av spesifikt IgM i en enkelt prøve. Høye IgG titre kan persistere i lang tid og bør tolkes med stor varsomhet.

Noen ganger kan det påvises spesifikt IgM eller høyt titer mot flere agens i samme serumprøve, og det kan være vanskelig å avgjøre om det dreier seg om kryssreaksjoner, polyklonal aktivering eller reelle multiple infeksjoner. Andre ganger kan det være vanskelig å påvise spesifikke antistoffer mot det aktuelle agens i akutfasen (sen serokonversjon), til tross for typisk klinikk og evt. tidligere agenspåvisning.

Aviditetstesting kan være et nyttig for å skille mellom en ny eller gammel infeksjon, men det er viktig å kjenne egenskapene til den testen man benytter godt da det kan være stor kvalitetsforskjell mellom ulike kommersielle tester (2).

Svært høye antistofftitre kan gi en prosone-effekt (falskt negativt resultat) i enkelte tester. Mest utsatt er agglutinasjonstestene. Det er derfor viktig å reteste "negative" sera i høyere fortyninger hvis man har en slik mistanke.

Reaktiverte infeksjoner

Ved en reaktivert infeksjon får man en rask IgG-respons (booster-effekt) som kan være ledsaget av en svak IgM-respons, men ofte ser man bare et høyt IgG-titer, avhengig av hvilken test som benyttes. Det kan derfor være vanskelig å skille serologisk mellom en reaktivert infeksjon/reinfeksjon og tidligere gjennomgått infeksjon. I slike tilfeller er det bedre å påvise agens direkte med PCR i aktuelt prøvemateriale.

Immunstatusundersøkelser

Immunitetstesting etter vaksinasjon kan være en utfordring på grunn av ulikheter i sensitivitet mellom forskjellige kommersielle tester for samme agens, til tross for at de fleste er kalibrert mot en internasjonal standard når denne finnes (3). Immunresponsen etter vaksinasjon er også svakere enn etter en naturlig gjennomgått infeksjon (4).

Konfirmasjonstester

Pasienter som tester positiv i screeningtest for «følsomme» analyser som trenger å bli verifisert med supplerende tester før man konkluderer, bør fortrinnsvis betegnes som «reaktiv», ledsaget av kommentar om etterfølgende testing. Western blot og rekombinante blotter er mye brukt som konfirmasjonstester. Kriteriene for positivitet kan variere, og i tidlig serokonversjonsfase kan ett eller flere av de spesifikke båndene mangle. Det kan derfor være aktuelt med oppfølgingsprøver fra pasienten.

Nøytralisasjonstester er de mest spesifikke serologiske testene vi har og benyttes bl.a. til verifisering av positiv HBsAg test. Testen er spesielt viktig å utføre når HBV-DNA er negativ. Det kan imidlertid være vanskelig å tolke grad av nøytralisasjon ved meget svake reaksjoner.

Nøytralisasjonstest i cellekultur for å påvise spesifikke virusantistoffer (f.eks. adeno- og enterovirus) er ressurskrevende og gjøres kun på referanselaboratorier.

Klinisk tolkning

Normalt immunforsvar

Negative prøveresultater blir ofte besvart uten ytterligere kommentarer med mindre det er snakk om prøver tidlig i sykdomsforløpet eller vurdering av alternative tester for samme agens. Falske negative resultater forekommer også når virusmengden i blodet er spesiell høy, som ved parvovirus B19 infeksjoner (1).

I slike tilfeller er det viktig å påvise virus med PCR.

Svakt positive resultater eller grenseverdier kan være en utfordring å tolke. De fleste benytter kommersielle tester som angir svaralternativer etter avlesningsresultatet. Ikke alle kitleverandører oppgir noen gråsoner, og har en fastsatt cut-off som skiller skarpt mellom negativt og positivt resultat. Dette er uheldig da erfaringen tilsier at den valgte cut-off ikke alltid er hensiktsmessig satt. Det er derfor all grunn til å være varsom med tolkningen av resultater som er i nærheten av grenseverdien. Det er først og fremst grenseverdier for IgM som bør kommenteres da dette kan være uspesifikke reaksjoner, reaktiverede infeksjoner eller en primærinfeksjon i tidlig fase. Av og til kan det skyldes immunologiske faktorer hos pasientene (autoimmunitet, immundefekter/sykdommer, parasittinfeksjoner etc.) eller behandlingen de har fått (immunsuppresjon, transfusjoner, immunoglobuliner, vaksiner, dialyse, cytostatika etc.). Klinisk informasjon og evt. andre testresultater vil ofte være avgjørende for tolkningen.

Mangelfulle kliniske opplysninger er også en utfordring. Noen ganger er det ingen opplysninger i det hele tatt, og andre ganger står det kanskje kun et stikkord som «stikkskade» uten at man vet om prøven er fra smitekilden eller fra den eksponerte personen. Det hender også at det er rekvidert flere analyser med «infeksjon?» som eneste opplysning, hvor et positivt IgM-resultat ikke alltid er så lett å tolke.

Uventede resultater bør alltid repeteres. I tillegg kan det være aktuelt å utføre supplerende analyser, undersøke tidligere tatte prøver hvis dette er tilgjengelig, eller be om ny prøve.

Immunsupprimerte pasienter

Pasienter med nedsatt immunforsvar har ofte dårlig antistoffrespons og det kan være vanskelig å oppnå beskyttende mengder antistoff ved vaksinasjon. Disse pasientene får ofte tilført immunglobuliner og andre blodprodukter uten at dette er opplyst på rekvisisjonen. Dette kan føre til villedende resultater og vanskeliggjør tolkningen.

Konklusjon

Det er mange måter å kommentere et serologisk prøveresultat på, og det er viktig å sammenholde analysefunnet med tilgjengelig klinisk informasjon. En viss standardisering av kommentarene er ønskelig, men visse ulikheter må aksepteres ut fra lokale erfaringer.

Det er viktig at de som er ansvarlige for diagnostikken har god kjennskap til de enkelte testene og instrumentene som disse analysene blir kjørt på. Det tar ofte tid å opparbeide slik erfaring, og det kan derfor være tilrådelig å ikke skifte tester for ofte uten at det er godt faglig begrunnet.

Referanser

1. Bredl S, Plentz A, Wenzel JJ, Pfister H, Möst J, Modrow S. False-negative serology in patients with acute parvovirus B19 infection. *J Clin Virol* 201; 51: 115–120.
2. Revello MG, Genini E, Gorini G, Klersy C, Piralla A, Gerna G. Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *J Clin Virol* 2010; 48: 255-9.
3. Bouthry E, Furione M, Huzly D, Ogee-Nwankwo A, Hao LJ, Adebayo A, Icenogle J, Sarasini A, Revello MG, Grangeot-Keros L, Vauloup-Fellous C. Assessing Immunity to Rubella Virus: a Plea for Standardization of IgG (Immuno)assays. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 1720 –1725.
4. Vauloup-Fellous C, Grangeot-Keros L. Humoral Immune Response after Primary Rubella Virus Infection and after Vaccination. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 644–647.

Ny versjon 09.01.17

VEDLEGG 1 Begreper og definisjoner

(Noen utdrag fra **NA Dok. nr. 48b: Medisinsk mikrobiologi Dok.id.: D00083. 2016**)

«Definisjoner er angitt i kursiv. Oversettelse av definisjonene, kommentarene og synonymene er komitéens ansvar. Referanser knyttet til begreper og definisjoner finnes på slutten av vedlegget.»
(NA-Dok.nr. 48b)

beslutningskriterium, beslutningsgrense

Grenseverdi eller karakteristisk mønster av verdier for flere størrelser som benyttes ved medisinsk diagnostikk eller annen tolkning av resultater.

NA-kommentar: Lokalisering av beslutningsgrensen i forhold til de gruppene av resultater som skal atskilles, bestemmer kriteriets diagnostiske sensitivitet og spesifisitet.

deteksjonsgrense

Laveste måleresultat med en gitt måleprosedyre som kan godtas på et gitt konfidensnivå som forskjellig fra målemengden som oppnås på sant negativ(e) prøve(r) Eng. limit of determination [2].

NA-kommentar: Der det ikke er mulig å definere et slikt konfidensnivå, kan deteksjonsgrensen defineres som laveste måleresultat med en gitt måleprosedyre som kan godtas som forskjellig fra målemengden som oppnås på negativ(e) prøve(r). Eng. limit of detection [2].

ekstern kvalitetskontroll

Objektiv sammenligning av måleresultater ved hjelp av ekstern organisasjon. Innebærer regelmessig utsendelse av kontrollmateriale som kan ligne autentisk pasientmateriale, og for hver komponent som inngår, sammenligning av laboratoriets resultat med en tillagt verdi.

NA-kommentar: SLP er en form for ekstern kvalitetskontroll.

interferens (eng. interference)

Systematisk målefeil som skyldes en komponent i prøven annen enn den som skal måles. Eksempel: Ulike substanser som hemmer polymerasekjedereaksjonen (PCR).

intern kvalitetskontroll (eng. internal quality control)

Operasjonelle teknikker og aktiviteter på et produksjonssted som man benytter for å forsikre seg om at krav til kvalitet av tjenester tilfredsstilles.

NA-kommentar: Begrepet intern kvalitetskontroll omfatter et program for kvalitetskontroll innen laboratoriet. Intern kvalitetskontroll er synonymt med kvalitetsstyring.

Ref.gruppens kommentar: Må ikke forveksles med internkontroll (IK).

kalibrering (eng. calibration)

Sett av operasjoner som etablerer, under spesifiserte betingelser, sammenhengen mellom verdier et instrument eller et målesystem viser, eller verdier representert ved måleutstyr, og korresponderende kjente verdier av målestørrelsen [3].

konfidensintervall (eng. confidence interval)

Intervall der man med en gitt sannsynlighet kan angi at resultater av en måling vil komme.

konsensus (eng. consensus)

Alminnelig enighet, karakterisert ved at ingen betydningsfull berørt part er vedvarende uenig på vesentlige punkter, som er oppnådd gjennom en prosess der det er prøvd å ta hensyn til alle parter det angår, og forlike eventuelle motstridende argumenter [9].

NA-kommentar: Konsensus innebærer ikke nødvendigvis enstemmighet.

kontrollmateriale

Materiale som benyttes til intern eller ekstern kvalitetskontroll, og måles i overensstemmelse med samme eller deler av samme måleprosedyre som brukes for ukjente prøver, for å overvåke analytisk yteevne [4].

linearitet (eng. linearity)

Den del av en metodes måleområde der det er en lineær sammenheng mellom måleresultater (x) og standard (y), slik at sammenhengen kan angis på formen $y = ax + b$ der a og b er konstanter.

NA-kommentar: For en metode vil (tilnærmet) linearitet oftest foreligge bare for en del av måleområdet.

matriks (eng. matrix)

Alle deler av et prøvemateriale unntatt det som skal måles [8].

måleresultat (eng. result of a measurement)

Verdi, bestemt gjennom måling, som tillegges målestørrelsen [3].

målestørrelse (eng. measurand)

Spesifisert størrelse som skal måles [3].

NA-kommentar: Vil innen medisinsk mikrobiologi oppfattes som synonymt med måleenhet. Eksempler: Antall bakterier/ml urin, antistofftiter.

måleusikkerhet (eng. uncertainty of measurement)

Et estimat som karakteriserer spredningen av verdier som inneholder den sanne verdi av målestørrelsen [3].

presisjon (eng. precision)

Overensstemmelse mellom uavhengige måleresultater oppnådd med en måleprosedyre under spesifiserte betingelser [5].

NA-kommentar: Presisjonen måles i form av variasjonskoeffisienten.

referansemateriale (eng. reference material)

Et materiale hvor en eller flere egenskaper er tilstrekkelig veletablerte til å kunne brukes til kalibrering av utstyr, vurdering av målemetoder eller til fastleggelse av verdier på materialer [6].

referansemetode

En faglig akseptert metode som klart og entydig beskriver de nødvendige betingelser for målinger hvor resultatet har vist en nøyaktighet og presisjon som samsvarer med tilsiktet bruk.

referansestandard (eng. reference standard)

En standard, vanligvis av høyeste metrologiske kvalitet tilgjengelig på et gitt sted eller i en gitt organisasjon, fra hvilke målinger utført der er avledet [3].

repeterbarhet (eng. repeatability)

Overensstemmelse mellom resultatene av påfølgende målinger av samme målestørrelse utført under samme målebetingelser [3].

reproduserbarhet (eng. reproducibility)

Overensstemmelse mellom resultatene av påfølgende målinger av samme målestørrelse

utført under endrete målebetingelser [3].

riktighet (eng. trueness)

Grad av overensstemmelse mellom gjennomsnittsverdi oppnådd fra en stor serie måleresultater og en sann verdi [7].

NA-kommentar: Aktuelt ved kvantitative målinger. Riktighet er ikke det samme som nøyaktighet (en enkeltmålings avstand fra sann verdi).

robusthet (eng. robustness eller ruggedness)

En metodes evne til å motstå påvirkning fra ytre forhold.

NA-kommentar: En metodes robusthet kan vurderes ved bevisst å innføre små endringer i og rundt metoden for å se hva slags konsekvenser det gir.

sammenlignende laboratorieprøving (SLP) (eng. proficiency testing (PT))

Organisering, sammenligning, og evaluering av analyse på samme eller lignende prøver av to eller flere laboratorier i overensstemmelse med forhåndsbestemte betingelser

NA-kommentar: Se også "ekstern kvalitetskontroll".

sann verdi (eng. true value)

Verdi konsistent med definisjonen av en gitt spesifisert størrelse [3].

NA-kommentar: Sann verdi er et idealisert begrep og er aldri eksakt kjent.

sensitivitet, analytisk

Den andel av sant positive prøver som identifiseres som positive av en test [1].

sensitivitet, diagnostisk

Den andel av pasienter med en bestemt tilstand, som gir positivt resultat.

sertifisert referansemateriale (eng. certified reference material)

Referansemateriale, med tilhørende sertifikat, hvor en eller flere verdier for egenskaper er sertifisert med en prosedyre som etablerer sporbarhet ved en nøyaktig realisering av enheten som verdiene for egenskapene er uttrykt med, og for hvilke hver sertifisert verdi er knyttet til en usikkerhet på et angitt konfidensnivå [3].

spesifisitet, analytisk

Den andel av sant negative prøver som identifiseres som negative av en test [1].

spesifisitet, diagnostisk

Den andel av pasienter uten en bestemt tilstand, som gir negativt resultat.

sporbarhet (eng. traceability)

Egenskap ved resultatet av en måling eller verdien for en standard slik at den kan relateres til angitte standarder gjennom en ubrutt kjede av sammenligninger, alle med angitte usikkerheter [3].

standardavvik (SD)

Standardavviket er et mål for spredningen rundt middelveien (gjennomsnittet) i en samling av flere resultater.

NA-kommentar: Matematisk uttrykt er standardavviket kvadratroten av variansen.

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

SD = standardavvik, x_i = enkeltresultatens verdi, \bar{x} = resultatens middelvei, n = antall målinger.

standardmetode

Offisiell metode utgitt av et anerkjent organ og som normalt er tilfredsstillende validert.

systematisk feil

Middelvei av et stort antall av gjentatte målinger av samme målestørrelse målt under repeterbarhetsbetingelser, minus den sanne verdi av målestørrelsen [3].

NA-kommentar: Eksempler på systematiske feil er mangler ved metoden, manglende analyseerfaring, instrumentfeil og feil ved kjemikaler eller standardløsninger.

tilfeldig feil

Resultatet av en måling minus middelveien som ville være resultatet av et uendelig antall målinger av samme målestørrelse utført under repeterbarhetsbetingelser [3].

NA-kommentar: Tilfeldig feil er ofte reflektert i uforutsigbare svingninger som forekommer ved bruk av en metode.

tillagt verdi

Beste estimat av målestørrelsen for et referansemateriale [7].

NA-kommentar: Synonyme betegnelser er oppgitt verdi, målverdi eller fasitverdi.

validering (eng. validation)

Bekreftelse fra en undersøkelse og fremskaffing av objektivt bevis på at de spesielle kravene for en bestemt tiltenkt anvendelse tilfredsstilles [8].

variasjonskoeffisient (CV)

Et mål for spredningen av måleresultatene ved å beregne hvor stor prosent av middelveien standardavviket utgjør.

NA-kommentar: Synonymt med relativt standard avvik.

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

SD = standardavvik, \bar{x} = resultatens middelvei

verifikasjon av overensstemmelse

Bekreftelse ved undersøkelse av bevis, på at et produkt, en metode eller en tjeneste oppfyller spesifiserte krav.

Referanser til begreper og definisjoner

1. Altman DG. Practical Statistics for Medical Research. Chapman and Hall. 1991.
2. EA-4/10:2002 (tidligere EAL-G18, 1996). Accreditation for Microbiological Laboratories. European cooperation for Accreditation (EA).
3. International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (VIM), 2.edition. ISO, 1993.
4. ISO/REMCO/N271. Final version.
5. ISO 3534-1 Statistics – Vocabulary and symbols. Part 1: Probability and general statistical terms. 1993.
6. ISO Guide 30, 2.edition. Terms and definitions used in connection with reference materials. 1992.
7. NA Dok 48a. Klinisk kjemi. Norsk Akkreditering, Kjeller 2001.
8. NS-EN ISO/IEC 17025:2005 Generelle krav til prøvings- og kalibreringslaboratoriers kompetanse. Norsk Standard, Oslo.
9. NS-EN 45020. General terms and their definitions concerning standardization and related activities, 2. utg., 1994.

Deltagerliste**Strategimøte i virologi 27. okt. 2016: Kvalitetskontroll av serologiske metoder.**

Foredragsholdere og møteledere	Institusjon/sykehus	Funksjon	Email adresse
Gro Njølstad	Haukeland universitetssykehus	Referanse gruppeleder	gro.njolstad@helse-bergen.no
Pål A. Jenum	Vestre Viken	programleder møteleder	PJENUM@vestreviken.no
Øyvind Kommedal	Haukeland universitetssykehus	program/møteleder	oyvind.kommedal@helse-bergen.no
Dag Hvidsten	Universitetssykehuset Nord-Norge	program	Dag.Hvidsten@unn.no
Anne Grændsen	Norsk Akkreditering		agr@akkreditert.no
Tone Berge	Oslo Universitetssykehus		Tone.Berge@ous-hf.no
Dagny Dorenberg	Folkehelseinstituttet	program/møteleder	DagnyHaug.Dorenberg@fhi.no
Svein Nordbø	St. Olavs Hospital		svein.a.nordbo@ntnu.no
Øvrige deltakere			
Veselka Dimova Svetoslavova	Akershus universitetssykehus		Veselka.Petrova.Dimova.Svetoslavova@ahus.no
Nora Elisabeth Nyquist	Akershus universitetssykehus	observatør	Nora.Elisabeth.Nyquist@ahus.no
Kristin Modalsli	Folkehelseinstituttet	SMLV observatør	kristinrasmussen.modalsli@fhi.no
Paula Hillestad	Folkehelseinstituttet	SMLV observatør	Paula.Hillestad@fhi.no
Kirsten Bygdås	Folkehelseinstituttet	SMLV observatør	kirsten.irene.bygdas@fhi.no
Susanne Dudman	Folkehelseinstituttet		Susanne.Gjeruldsen.Dudman@fhi.no
Audun Aase	Folkehelseinstituttet	SMLI representant	audun.aase@fhi.no
Gunnar Hoddevik	Folkehelseinstituttet		Hoddevik.Gunnar@fhi.no
Ingeborg Aaberge	Folkehelseinstituttet		ingeborg.aaberge@fhi.no
Anita Kanestrøm	Folkehelseinstituttet		anita.kanestrom@fhi.no
Martin Steinbakk	Folkehelseinstituttet	arbeidsutvalg bakteriologi	martin.steinbakk@fhi.no
Siri Laura Feruglio	Folkehelseinstituttet	beredskapslab	siri.laura.feruglio@fhi.no
Inger Sofie Samdal Vik	Folkehelseinstituttet		IngerSofieSamdal.Vik@fhi.no
Kaja Sverdrup Borge	Folkehelseinstituttet		KajaSverdrup.Borge@fhi.no
Trygve Tjade	Fürst medisinske laboratorium		ttjade@furst.no
Reidar Hjetland	Førde Sentralsykehus	representant	reidar.hjetland@helse-forde.no
Liv Jorunn Sønsteby	Haugesund sjukehus Fonna		Liv.Jorun.Sonsteby@helse-fonna.no
Eirik Storøy Johansen	Helse Møre og Romsdal Molde	observatør	Eirik.Storoy.Johansen@helse-mr.no
Simreen Kaur Johal	Nordlandssykehuset	observatør	simreen.kaur.johal@nordlandssykehuset.no
Kjetil K. Melbye	UIO		k.k.melby@medisin.uio.no
Grete Birkeland Kro	OUS	representant	gbirke@ous-hf.no
Ellen Holter	OUS-Rikshospitalet	representant	eholter@ous-hf.no
Andreas Lind	OUS-Ullevål	representant	UXLNDR@ous-hf.no

Tore Taksdal Stubhaug	OUS-Ullevål	observatør	torstu@ous-hf.no
Lisebet Haarr	Stavanger Universitetssykehus		elisebet.haarr@sus.no
Hans-Johnny S. Nilsen	St. Olavs Hospital		Hans-Johnny.Schelderup.Nilsen@stolav.no
Anne Grete Wågø	St. Olavs Hospital		anne.grete.wago@stolav.no
Gunnhild Osnes Kittang	Stavanger Universitetssykehus	observatør	gunnhild.osnes.kittang@sus.no
Aina Haugen Lykkja	Sykehuset Innlandet Lillehammer		AinaRosenbergHaugen@sykehuset-innlandet.no
Hanne Millenaar Jørgensen	Sykehuset Innlandet Lillehammer		HanneMillenaarJorgensen@sykehuset-innlandet.no
Hilde Holstad Garberg	Sykehuset Levanger		hhgarberg@ntebb.no
Yngvar Tveten	Sykehuset Telemark	representant	Yngvar.Tveten@sthf.no
Åshild Marvik-Rødland	Sykehuset Vestfold	observatør	aamarv@siv.no
Sara Debes	Sykehuset Østfold	representant	sara.molvig.debes@so-hf.no
Unn Houge	Sørlandet Sykehus Kristiansand		unn.houge@sshf.no
Sølvi Noraas	Sørlandet Sykehus Kristiansand		solvi.nordaas@sshf.no
Hilde Strand	Sørlandet Sykehus Kristiansand	observatør	hilde.strand@sshf.no
Anne Visdal	Unilabs Telelab	observatør	Anne.Visdal@unilabs.com
Tore Lier	Universitetssykehuset Nord-Norge	laboratoriets representant	tore.lier@unn.no
Garth Tylden	Universitetssykehuset Nord-Norge	ref. gruppen	Garth.Daryl.Tylden@unn.no
Annette Onken	Vestre Viken Bærum	representant	annette.onken@vestreviken.no
Ane Kristine Natvik	Vestre Viken Bærum	observatør	anenat@vestreviken.no
Einar T. Werme	Vestre Viken Drammen		WEME@vestreviken.no
Terese LS Karlsen	Vestre Viken - Drammen		telkar@vestreviken.no
Regine Barlinn	Folkehelseinstituttet		regine.barlinn@fhi.no
Arne Martin Slåtsve	UNN		arne.martin.slatsve@unn.no
Bjørn Berdal	Forsvarets mikrobiologisk laboratorium		bberdal@gmail.com

Utgitt av Folkehelseinstituttet
Mars 2017
Postboks 4404 Nydalen
NO-0403 Oslo
Telefon: 21 07 70 00
Rapporten kan lastes ned gratis fra
Folkehelseinstituttets nettsider www.fhi.no