Auswirkungen und Umsetzung der IVD-R in einem großen Europäischen Krankenhauslabor (AKH Wien)

Dr. Thomas Stimpfl

Klinisches Institut für Labormedizin

Bereich Medikamentenanalytik/Toxikologie

GTH 2024
68th Annual Meeting of the Society of Thrombosis and Haemostasis Research
WIEN
27 Feb–1 Mar

MEDICAL UNIVERSITY OF VIENNA
Vienna Healthcare Group
University Hospital Vienna

Abnahme Tag/Zeit
Tag 10 20 30
1 2 3 4 5 6 7 8 9
Stunde 10 20
1 2 3 4 5 6 7 8 9
Minuten 10 20 30 40 50

Projektzahl
T 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
H 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
Z 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
E 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

KEINE TRENNGEL-RÖHRCHEN verwenden, da diese nicht bearbeitet werden können!

Allg. Krankenhaus der Stadt Wien (Medizinischer Universitätscampus)
Klinisches Institut für Labormedizin

1090 Wien
Währinger Gürtel 18-20
Tel.: 01/404 00-53 590

Ebene 5
Probenannahme
KIMCL

Medikamente Toxikologie

Version 16

Diesen Beleg nicht falten!

Markieren Sie richtig!
falsch
richtig

Vor Einsendung einer dringenden Probe bitte den diensthabenden Arzt des KIMCL, AKH-Pager 81-11 49, kontaktieren, andernfalls wird die Probe in der Routine abgearbeitet.

Anfordernde Betriebsstelle
Name:
Adresse:
Station:
Betriebsstellen-Nr.
Tel.-Nr.
BETRIEBSSTELLENETIKETT (lt. KAV-Spitälern Kostenstellenetikett)

Name:
Vorname:
Geb.-Dat.:
weiblich: ☐ männlich: ☐
Vers.-Nummer:
PATIENTENETIKETT

1177611321

Etikett für Einsender
MT 1177611321
Kontrolletikett

☐ Klinische Angaben/Fragestellung

Name der/des anfordernden Ärztin/Arztes (in Blockschrift) Tel.: Fax:

☐ infekt.Mat. ☐ externe Anforderung
☐ ambulant ☐ Forschung
☐ stationär ☐ Abn. Labor
☐ Sonderklasse ☐

Medikamente 02
1177611321 Name Vorname Stat. 1177611321
☐ Keine Materialeinsendung
Li-Heparin-Blut
gekühlt, bei Versendung gefroren

Medikamente 36
1177611321 Name Vorname Stat. 1177611321
☐ Keine Materialeinsendung
Nativ-Blut **ohne** Trenngel

Toxikologie Harn 14
1177611321 Name Vorname Stat. 1177611321
☐ Keine Materialeinsendung
Spontanharn

Medikamente 10
1177611321 Name Vorname Stat. 1177611321
☐ Keine Materialeinsendung
EDTA-Blut

Antibiotika
1 ☐ Ampicillin
2 ☐ Cefepim
3 ☐ Ceftazidim
4 ☐ Linezolid
5 ☐ Meropenem
6 ☐ Piperacillin

Psychopharmaka
7 ☐ Bupropion
8 ☐ Methylphenidat
9 ☐

Toxikologie
10 ☐ Paracetamol
11 ☐ Salicylat

Kardiaka
12 ☐ Digitoxin
13 ☐ Digoxin
14 ☐ Amiodaron
15 ☐

Antibiotika
16 ☐ Amikacin
17 ☐ Gentamycin
18 ☐ Teicoplanin
19 ☐ Tobramycin
20 ☐ Vancomycin

Antimykotika
21 ☐ Fluconazol
22 ☐ Flucytosin
23 ☐ Itraconazol
24 ☐ Ketoconazol
25 ☐ Posaconazol
26 ☐ Voriconazol

Sonstige
27 ☐ Clonazepam
28 ☐ Lithium
29 ☐ Theophyllin
30 ☐ **Hirntoddiagnostik** (Anforderung über Transplantzentrum 40400-40000)

Antiepileptika
31 ☐ Carbamazepin
32 ☐ Carbamazepin-10, 11-epoxid
33 ☐ Ethosuximid
34 ☐ Lamotrigin
35 ☐ Oxcarbazepin
36 ☐ Phenobarbital
37 ☐ Phenytoin
38 ☐ Pregabalin
39 ☐ Primidon
40 ☐ Topiramat
41 ☐ Valproinsäure

Zytostatika
42 ☐ Methotrexat

HIV-Therapeutika
43 ☐ Amprenavir
44 ☐ Atazanavir
45 ☐ Darunavir
46 ☐ Efavirenz
47 ☐ Elvitegravir
48 ☐ Etravirin
49 ☐ Indinavir
50 ☐ Lopinavir
51 ☐ Maraviroc
52 ☐ Nelfinavir
53 ☐ Nevirapin
54 ☐ Raltegravir
55 ☐ Rilpivirin
56 ☐ Ritonavir
57 ☐ Saquinavir
58 ☐
59 ☐
60 ☐
61 ☐
62 ☐
63 ☐

Psycho-pharmaka
64 ☐ Amisulprid
65 ☐ Amitriptylin
66 ☐ Aripiprazol
67 ☐ Atomoxetin
68 ☐ Chlorprothixen
69 ☐ Citalopram
70 ☐ Clomipramin
71 ☐ Clozapin
72 ☐ Desipramin
73 ☐ Doxepin
74 ☐ Duloxetin
75 ☐ Fluoxetin
76 ☐ Fluvoxamin
77 ☐ Haloperidol
78 ☐ Imipramin
79 ☐ Levomepromazin
80 ☐ Maprotilin
81 ☐ Mianserin
82 ☐ Melperon
83 ☐
84 ☐
85 ☐ Milnacipran
86 ☐ Mirtazapin
87 ☐ Moclobemid
88 ☐ Nortriptylin
89 ☐ Olanzapin
90 ☐ Paliperidon
91 ☐ Paroxetin
92 ☐ Perazin
93 ☐ Pipamperon
94 ☐ Promethazin
95 ☐ Protriptylin
96 ☐ Quetiapin
97 ☐ Reboxetin
98 ☐ Risperidon
99 ☐ Sertindol
100 ☐ Sertralin
101 ☐ Sulpirid
102 ☐ Thioridazin
103 ☐ Tianeptin
104 ☐ Tranylcypromin
105 ☐ Trazodon
106 ☐ Trimipramin
107 ☐ Venlafaxin
108 ☐ Vortioxetin
109 ☐ Ziprasidon
110 ☐ Zotepin
111 ☐ Zuclopenthixol
112 ☐
113 ☐
114 ☐
115 ☐
116 ☐
117 ☐
118 ☐
119 ☐

Drogen
120 ☐ Amphetamine
121 ☐ Barbiturate
122 ☐ Benzodiazepine
123 ☐ Cannabinoide
124 ☐ Kokain
125 ☐ Methadon
126 ☐ EDDP
127 ☐ Opiate
128 ☐ 6-MAM
129 ☐ Buprenorphin
130 ☐ Kotinin

Immunsuppressiva
130 ☐ Cyclosporin A
131 ☐ C_2-Spiegel
132 ☐ Tacrolimus (FK 506)
133 ☐ Sirolimus
134 ☐ Everolimus
135 ☐
136 ☐

Immunsuppressiva-Therapie
☐ NTX ☐ Herz/Lungen Tr.
☐ LTX ☐ KMT
☐ MS ☐ andere _____

Verabreichte Medikamente:

VENDO - 239361G - Auflage 64 - 01/21


CHROMSYSTEMS
HAMILTON
MassSTAR
MICROLAB STAR
CHROMSYSTEMS
HAMILTON


www.thulab.de

Device Intended Purpose	Order nos.: 93900/400, 93900/1200, 93900/DWP: The "***MassTox***® Immunosuppressants in whole blood ONE*MINUTE* Test" reagent kit is an in vitro diagnostic medical product designed for professional users in clinical laboratories for the quantitative detection of cyclosporin A, everolimus, sirolimus (rapamycin) and tacrolimus (FK-506) in human EDTA whole blood samples. Sample preparation is carried out manually, and analytic separation is done via liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The kit is intended as a therapeutic drug monitoring test for patients treated with one or several immunosuppressants named above.
Risk Class	C, as per EU Regulation 2017/746, Annex VIII, Rule 3 j
GMDN Code	62017: Multiple immunosuppressant therapeutic drug monitoring IVD, kit, liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS)

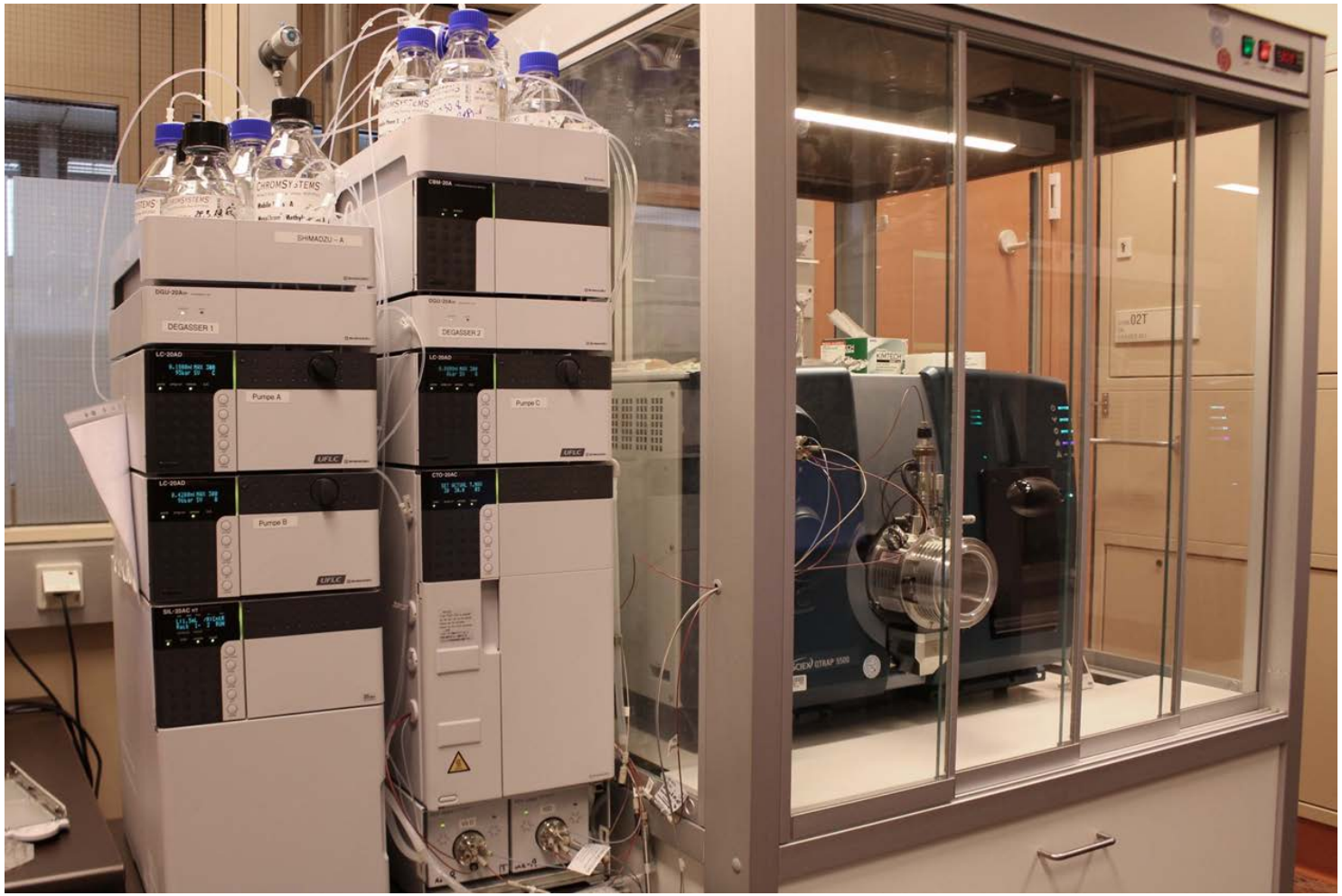
Notified Body	TÜV Süd Product Service GmbH Ridlerstraße 65, 80339 Munich, Germany	Identification No.	0123
Conformity Assessment	Conformity assessment based on a quality management system and on assessment of technical documentation - Annex IX		

Declarations

This EU declaration of conformity is issued under the sole responsibility of the manufacturer.
The devices that are covered by the present declaration are in conformity with the In-Vitro Diagnostic Medical Devices Regulation (2017/746/EU) (IVDR).

Device Intended Purpose	The Chromsystems parameter set "**MassTox®** TDM Series A Parameter Set Neuroleptics 1/EXTENDED in Serum/Plasma" is an *in vitro* diagnostic medical device for professional use in clinical laboratories for the quantitative determination of aripiprazole, dehydroaripiprazole, clozapine, desmethylclozapine, haloperidol, quetiapine, norquetiapine, risperidone and 9-OH-risperidone in human serum or plasma samples as well as olanzapine and N-desmethylolanzapine in human EDTA plasma samples via liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS). Manual sample preparation and chromatographic separation are carried out with the Chromsystems "**MassTox®** TDM BASIC Kit A" (order no. 92111), which provides the required reagents and buffers, and with the "**MassTox®** TDM MasterColumn® Series A" (order no. 92110). The Chromsystems parameter set "**MassTox®** TDM Series A Parameter Set Neuroleptics 1/EXTENDED in Serum/Plasma" is intended as a therapeutic drug monitoring test, medically indicated for patients treated with one or more of the neuroleptic drugs listed above.
Risk Class	B, as per EU Regulation 2017/746, Annex VIII, Rule 6

In-house-in-vitro-Diagnostika basierend auf IVDR-Kits



In-house-in-vitro-Diagnostika

Sicherheits- und Leistungsanforderungen

- IVDR (EU) 2017/746
- Voraussetzung: Kapitel II Artikel 5 Paragraph 5
- Anforderungen von Anhang I

Florent J.L.A. Vanstapel et.al. ISO 15189 is a sufficient instrument to guarantee high-quality manufacture of laboratory developed tests for in-house-use conform requirements of the European In-Vitro-Diagnostics Regulation. **Clin Chem Lab Med 2023; 61(4): 608–626**

Paul C.D. Bank et.al. The end of the laboratory developed test as we know it? Recommendations from a national multidisciplinary taskforce of laboratory specialists on the interpretation of the IVDR and its complications. **Clin Chem Lab Med 2021; 59(3): 491–497**

Appendix A Cross-reference Annex I of REGULATION (EU) 2017/746 to EN ISO 15189

Appendix B Declaration lab-developed tests

Empfehlungen zur Durchführung der Hirntoddiagnostik bei einer geplanten Organentnahme

Entsprechend dem Beschluss des Obersten Sanitätsrates vom 16. November 2013

2 Definition des Hirntodes

Der Hirntod wird definiert als Zustand der irreversibel erloschenen Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstammes. Entsprechend dem aktuellen Stand der Wissenschaft ist der Hirntod identisch mit dem Individualtod eines Menschen.

Risikoklassifizierung: Klasse C nach Anhang VIII Regel 3k:
Management von Patienten, die an einer lebensbedrohenden Krankheit leiden oder deren Zustand lebensbedrohend ist

3.1.2 Spiegelbestimmung bei hoch dosierter Medikation von Barbituraten

Zur Objektivierung einer etwaigen Beeinflussung des EEG und der klinisch neurologischen Beurteilung durch eine hoch dosierte Medikation von Barbituraten (Definition siehe Abschnitt 3.1.1) ist eine Spiegelbestimmung nach den folgenden Kriterien durchzuführen:

Anleitung 1: Bestimmung des Barbituratspiegels

---

1. Die Bestimmung erfolgt aus dem **Blut** der Patientin / des Patienten (nicht aus dem Harn!). Methodenabhängig sind Bestimmungen aus dem Serum, Plasma oder Vollblut durchzuführen.
2. Die eingesetzten Analysemethoden müssen den Vorgaben der ÖGLMKC[2]-Richtlinie „Analytik von therapeutischen Medikamenten-Spiegelbestimmungen im Rahmen der Hirntod-Diagnostik" genügen. Die eingesetzten analytischen Methoden **(immunologische Verfahren LC/MS, GC/MS, HPLC – keine Schnelltests!)** müssen neben der verabreichten Substanz auch die pharmakologisch relevanten Metaboliten erfassen.[3]
3. Die Beurteilung des Ergebnisses muss **in Zusammenhang mit den klinischen Informationen** durchgeführt werden. Dem Labor ist die verabreichte Substanz (Name, Dosis, Dosisschema, Zeitpunkt der letzten Gabe) mitzuteilen.
4. Die eingesetzte Methode, der Kontext der Messung („Medikamentenspiegelbestimmung im Rahmen einer Hirntod-Diagnostik") und der Cut-off-Wert müssen am Laborbefund klar ausgewiesen sein.

2
Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und Klinische Chemie

3
Methohexital kann derzeit mit immunologischen Methoden nicht erfasst werden. Sofern die Dosis im therapeutischen Bereich liegt, kann aufgrund der kurzen Eliminationshalbwertszeit dieser Substanz für den Ausschluss einer etwaigen Beeinflussung das Einhalten einer Wartezeit von zwölf Stunden bei erhaltener Leberfunktion als ausreichend angesehen werden.

Prüfverfahren: Klinische Chemie 37

EINLEITUNG

Zweckbestimmung:
Quantitative Analyse von Thiopental, Pentobarbital und Methohexital im Serum/Plasma als Diagnosehilfe hinsichtlich einer vorliegenden zentral dämpfenden Wirkung im Vorfeld der Diagnostik des irreversiblen Hirnfunktionsausfalls.
Zum Einsatz kommt der CE-IVD-zertifizierte Kit MassTox TDM Serie A der Firma Chromsystems in abgeänderter Form. Da kein kommerzielles Produkt verfügbar ist, wurden Thiopental, Pentobarbital und Methohexital zugefügt („andere Verwendung“: in-house IVD).

Leistungsbewertung:
Die analytische Leistungsbewertung erfolgte durch Validierung nach European Medicines Agency (EMA) Bioanalytical Method Validation Guideline (EMEA/CHMP/EWP/192217/2009). Ein Bericht über die Leistungsfähigkeit des Analyseverfahrens findet sich in Anhang 1, Anhang 2 zeigt die Langzeitstabilität.

Die Anforderungen an die klinische Leistungsfähigkeit ergeben sich aus den Empfehlungen zur Durchführung der Hirntoddiagnostik bei einer geplanten Organentnahme entsprechend dem Beschluss des Obersten Sanitätsrates vom 16. November 2013, Österreichisches Bundesinstitut für Gesundheitswesen, Gesundheit Österreich GmbH (Anhang 3).

Information zur Verwendung des Untersuchungsverfahrens: „Sofern der untere Wert des Referenzbereichs (unabhängig von der Methode) bzw. bei Thiopentalgabe ein Wert von 6 µg/ml überschritten wird, muss entweder mit der Hirntoddiagnostik zugewartet und eine neuerliche Spiegelbestimmung durchgeführt werden oder zusätzlich…“.
Entscheidungsgrenzen des Untersuchungsverfahrens: Thiopental: 6,0 µg/mL; Pentobarbital und Methohexital: 1,0 µg/mL.

Wird ausschließlich für das Transplantzentrum 09D durchgeführt.

Kalibratoren, Kontrollen und Interner Standard werden aus Reinsubstanzen (Giftschrank im Kühlraum bzw. Lade HTD im TK Schrank 3, 5.i2.07) im Vier-Augen-Prinzip hergestellt.

Die Aliquots sind in Boxen im -80°Tiefkühlschrank Eppendorf CryoCube 9011/00994177-000 3. Fach im Raum Nr. 8.i3.07 gelagert, ebenso die Stocklösung ISTD und der Interne Standard.

Kalibratoren 6 Levels – siehe Formular 50752 „HTD LC-MS/MS - Herstellung Kalibratoren“

Kontrollen 3 Levels – siehe Formular 50753 „HTD LC-MS/MS - Herstellung Kontrollen“

Interner Standard – Siehe Formular 50754 „HTD LC-MS/MS - Herstellung Interner Standard“

Kennzeichnung der selbst hergestellten Reagenzien (jedes Gefäß muss etikettiert sein!):
IVD-Kennzeichen, Herstellungs- und Haltbarkeitsdatum, Lot/Chargennummer, Inhaltsmenge, Lagerbedingungen.
(Chargennummer = Herstellungsdatum im Format DD-MM-YY+Kürzel des Herstellers)

z.B.: 

Für jede Serie aus Kalibratoren und Kontrollen 450µl Drug Free Plasma der Firma Chromsystems in einem 1,5ml Safe Eppendorf Cup als Matrix portionieren und ebenfalls bei -80° einlagern.

Haltbarkeit der Kalibratoren, Kontrollen und ISTD: 6 Monate bei -80°C
Hinweis: bei Chargenwechsel die Vorlage aktualisieren

EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE MEDICINES HEALTH

21 July 2011
EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**
Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)

Guideline on bioanalytical method validation

Draft agreed by the Efficacy Working Party	September 2009
Adoption by CHMP for release for consultation	19 November 2009
End of consultation (deadline for comments)	31 May 2010
Agreed by Pharmacokinetics Working Party (PKWP)	June 2011
Adoption by CHMP	21 July 2011
Date for coming into effect	1 February 2012

*The corrections concern: Section 4.1.5. 'Accuracy' (p. 7), paragraph Within-run accuracy: concentration level of MQC; Section 6 'Incurred samples reanalysis' (p. 13), paragraph 2: inclusion of the equation; Section 7.1.1.11. 'Stability of the samples' (p. 16), paragraph 1: deletion of the last sentence 'A bracketing approach may be considered.'; typographical correction in the title of Section 7.3.2 'Acceptance criteria for study sample analysis' (p. 17).

*The corrections concern: Section 4.1 'reference standards' (p. 5), paragraph 2 and 3: eliminated reference to certified standards.

Keywords	***CHMP, EMEA, Guideline, validation, bioanalytical method, analyses***

30 Churchill Place • Canary Wharf • London E14 5EU • United Kingdom
Telephone +44 (0)20 3660 6000 **Facsimile** +44 (0)20 3660 5555
Send a question via our website www.ema.europa.eu/contact

Guideline on bioanalytical method validation

Table of contents

Concentration of Levels and QC's

Thiopental

	Levels
L1:	0.5 µg/mL
L2:	1 µg/mL
L3:	2 µg/mL
L4:	4 µg/mL
L5:	6 µg/mL
L6:	10 µg/mL

	QC's
LLOQ:	0.5 µg/mL
lQC:	1 µg/mL
mQC:	6 µg/mL
hQC:	8 µg/mL

Internal Standard:	Thiopental d5

Selectivity

Thiopental

	Analyte Area Response Thiopental	
	Blank	≙ %
Blank 1	0	0.0%
Blank 2	0	0.0%
Blank 3	0	0.0%
Blank 4	0	0.0%
Blank 5	0	0.0%
Blank 6	0	0.0%
LLOQ mean	985,901	100%
criteria:		20%

	Analyte Area Response Thiopental	
	Zero	≙ %
Zero1	942	0.1%
Zero2	885	0.1%
Zero3	1,320	0.2%
Zero4	1,015	0.2%
Zero5	1,118	0.2%
Zero6	951	0.1%
LLOQ mean	985,901	100%
criteria:		20%

	IS Area Response Thiopental d5	
	Blank	≙ %
Blank 1	0	0.0%
Blank 2	0	0.0%
Blank 3	0	0.0%
Blank 4	0	0.0%
Blank 5	0	0.0%
Blank 6	0	0.0%
IS mean	12,277,738	100%
criteria:		10%

Carry Over

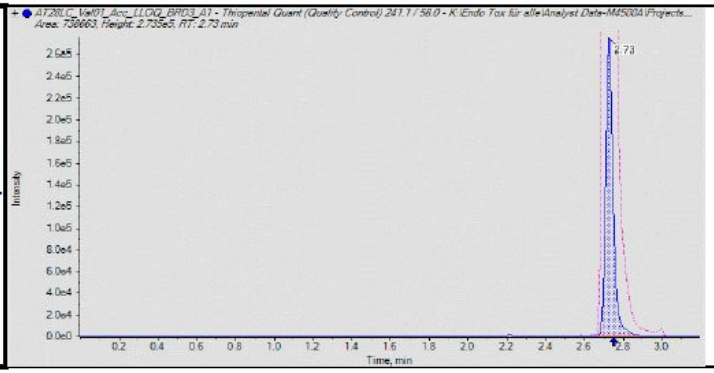
Thiopental

	Analyte Area Response	
		≙ %
L1 A1 (= LLOQ)	984,221	
L1 A2 (= LLOQ)	987,581	
LLOQ mean	985,901	100%
Carry Over A1	12,287	1.3%
Carry Over A2	13,025	1.4%
criteria:		20.0%

	IS Area Response	
		≙ %
L1 A1 (IS)	12,326,302	
L1 A2 (IS)	12,229,174	
IS mean	12,277,738	100%
Blank A1	5,186	0.1%
Blank A2	8,390	0.1%
criteria:		5.0%

LLOQ

Thiopental



Calibration Curve

Thiopental

Level	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5	# 6	slope	intercept	∝	weighing
	levels / calculated Conc.									
conc. ->	0.5 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL	4 µg/mL	6 µg/mL	10 µg/mL				
CC 1 A1	0.51	0.98	1.96	4.04	6.03	9.84	0.15870	-9.38849e-4	0.9998	1/x
CC 1 A2	0.51	0.97	1.96	4.07	6.15	9.97				
CC 2 A1	0.53	0.96	1.98	3.91	5.99	10.1	0.14266	-0.00620	0.99985	
CC 2 A2	0.52	0.97	1.98	3.98	6.04	10.04				
CC 3 A1	0.51	0.99	1.96	4.06	6.03	9.97	0.15963	-0.00255	0.99991	
CC 3 A2	0.51	1	1.96	4.08	5.95	9.99				
CC 4 A1	0.5	1.02	1.97	4	6.09	9.92	0.15978	-0.00409	0.99994	
CC 4 A2	0.5	1	1.95	4.01	6.02	10.02				

Level	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5	# 6	criteria ± 20%	criteria ± 15%				
	levels / accuracy											
conc. ->	0.5 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL	4 µg/mL	6 µg/mL	10 µg/mL	0.5 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL	4 µg/mL	6 µg/mL	10 µg/mL
CC 1 A1	102.00%	98.00%	98.00%	101.00%	100.50%	98.40%	2.0%	-2.0%	-2.0%	1.0%	0.6%	-1.6%
CC 1 A2	102.00%	97.00%	98.00%	101.75%	102.50%	99.70%	2.0%	-3.0%	-2.0%	1.8%	2.6%	-0.3%
CC 2 A1	106.00%	96.00%	99.00%	97.75%	99.83%	101.00%	6.1%	-4.0%	-1.0%	-2.3%	-0.2%	1.0%
CC 2 A2	104.00%	97.00%	99.00%	99.50%	100.67%	100.40%	4.0%	-3.0%	-1.0%	-0.5%	0.7%	0.4%
CC 3 A1	102.00%	99.00%	98.00%	101.50%	100.50%	99.70%	2.0%	-1.0%	-2.0%	1.5%	0.6%	-0.3%
CC 3 A2	102.00%	100.00%	98.00%	102.00%	99.17%	99.90%	2.0%	0.0%	-2.0%	2.0%	-0.9%	-0.1%
CC 4 A1	100.00%	102.00%	98.50%	100.00%	101.50%	99.20%	0.0%	2.0%	-1.5%	0.0%	1.5%	-0.9%
CC 4 A2	100.00%	100.00%	97.50%	100.25%	100.33%	100.20%	0.0%	0.0%	-2.5%	0.3%	0.4%	0.2%

Level	Date of CC production	Date of CC preparation
CC 1	April 11, 2022	April 11, 2022
CC 2	April 11, 2022	April 12, 2022
CC 3	April 11, 2022	April 13, 2022
CC 4	April 11, 2022	April 19, 2022

Criteria:
75% of the CC's have to fulfill 15% of the nominal value
(except 20% for Level # 1).

☑

Accuracy

Thiopental

within run

	Conc.	Day 1 Sample # 1	# 2	# 3	# 4	# 5	mean	Bias (%)	criteria
LLOQ	0.5 µg/mL	0.57	0.57	0.57	0.56	0.57	0.57	13.60%	± 20%
Low QC	1 µg/mL	1.12	1.09	1.11	1.12	1.04	1.1	9.61%	± 15%
Medium QC	6 µg/mL	6.82	6.73	6.81	6.68	6.55	6.72	11.97%	± 15%
High QC	8 µg/mL	9.06	9.15	9.2	8.96	8.91	9.06	13.20%	± 15%

☑

between run

	Conc.	Day 1 Analysis # 1	# 2	# 3	Day 2 Analysis # 1	# 2	# 3	Day 3 Analysis # 1	# 2	# 3	mean	Bias (%)	criteria
LLOQ	0.5 µg/mL	0.58	0.57	0.58	0.5	0.49	0.5	0.52	0.51	0.51	0.53	5.78%	± 20%
Low QC	1 µg/mL	1.05	1.07	1.08	0.99	0.99	0.97	1	0.99	0.99	1.01	1.45%	± 15%
Medium QC	6 µg/mL	6.72	6.67	6.65	5.91	5.96	5.91	5.97	5.88	5.9	6.17	2.91%	± 15%
High QC	8 µg/mL	9.04	9.01	8.86	7.77	7.73	7.56	7.75	7.85	7.87	8.16	2.00%	± 15%

Precision

Thiopental

within run

	Conc.	Day 1 Sample # 1	# 2	# 3	# 4	# 5	mean	stdev	RSD	criteria
LLOQ	0.5 µg/mL	0.57	0.57	0.57	0.56	0.57	0.57	0	0.71%	± 20%
Low QC	1 µg/mL	1.12	1.09	1.11	1.12	1.04	1.1	0.03	2.75%	± 15%
Medium QC	6 µg/mL	6.82	6.73	6.81	6.68	6.55	6.72	0.1	1.47%	± 15%
High QC	8 µg/mL	9.06	9.15	9.2	8.96	8.91	9.06	0.11	1.22%	± 15%

☑

between run

	Conc.	Day 1 Analysis # 1	# 2	# 3	Day 2 Analysis # 1	# 2	# 3	Day 3 Analysis # 1	# 2	# 3	mean	stdev	RSD	criteria
LLOQ	0.5 µg/mL	0.58	0.57	0.58	0.5	0.49	0.5	0.52	0.51	0.51	0.53	0.03	6.58%	± 20%
Low QC	1 µg/mL	1.05	1.07	1.08	0.99	0.99	0.97	1	0.99	0.99	1.01	0.04	3.78%	± 15%
Medium QC	6 µg/mL	6.72	6.67	6.65	5.91	5.96	5.91	5.97	5.88	5.9	6.17	0.36	5.82%	± 15%
High QC	8 µg/mL	9.04	9.01	8.86	7.77	7.73	7.56	7.75	7.85	7.87	8.16	0.58	7.12%	± 15%

~~Dilution Integrity~~

Matrix Effect / Recovery

Set 1: pure solution of the analyte, no matrix
Set 2: Blank matrix spiked with analyte after extraction
Set 3: Blank matrix spiked with analyte before extraction
MF: Matrix Factor

Thiopental

low, 1µg/mL

Set 1 (area response)	
Analyte	IS
1,441,769	9,593,665
1,367,175	9,141,147
mean:	mean:
1,404,472	9,367,406

Matrix*	Set 2 - (area response)		Set 3 - (area response)		MF Analyte	MF IS	IS norm MF	Recovery Analyte	Recovery IS	Recovery
	Analyte	IS	Analyte	IS	Set 2 / Set 1	Set 2 / Set 1	MF Analyte / MF IS	(Set 3/Set2)*100	(Set 3/Set2)*100	IS / Analyte
M1 A1	1,283,414	8,376,156	1,357,204	9,496,762	0.91	0.89	1.02	106%	113%	1.072
M2 A1	1,316,374	7,977,044	1,312,885	9,303,343	0.94	0.85	1.10	100%	117%	1.169
M3 A1	1,280,334	8,234,496	1,441,824	9,711,587	0.91	0.88	1.04	113%	118%	1.047
M4 A1	1,299,100	8,471,447	1,394,147	9,552,325	0.92	0.90	1.02	107%	113%	1.051
M5 A1	1,290,255	8,275,022	1,513,471	9,940,707	0.92	0.88	1.04	117%	120%	1.024
M6 A1	1,301,089	8,291,684	1,427,249	9,750,059	0.93	0.89	1.05	110%	118%	1.072

mean	1.04
stdev	0.03
RSD	2.78%
criteria:	± 15%

mean	1.073
stdev	0.051
RSD	4.71%

high, 8µg/mL

Set 1 (area response)	
Analyte	IS
11,367,103	9,279,452
11,710,884	9,492,686
mean:	mean:
11,538,994	9,386,069

Matrix*	Set 2 - (area response)		Set 3 - (area response)		MF Analyte	MF IS	IS norm MF	Recovery Analyte	Recovery IS	Recovery
	Analyte	IS	Analyte	IS	Set 2 / Set 1	Set 2 / Set 1	MF Analyte / MF IS	(Set 3/Set2)*100	(Set 3/Set2)*100	IS / Analyte
M1 A1	10,400,531	8,397,004	12,680,890	9,918,011	0.90	0.89	1.01	122%	118%	0.969
M2 A1	10,139,565	8,120,231	12,649,108	9,473,598	0.88	0.87	1.02	125%	117%	0.935
M3 A1	10,663,458	8,391,114	13,002,898	9,889,639	0.92	0.89	1.03	122%	118%	0.967
M4 A1	10,209,009	8,220,816	12,632,839	9,899,913	0.88	0.88	1.01	124%	120%	0.973
M5 A1	10,698,379	8,690,929	13,607,561	10,039,271	0.93	0.93	1.00	127%	116%	0.908
M6 A1	10,589,498	8,281,166	13,183,918	10,092,619	0.92	0.88	1.04	124%	122%	0.979

mean	1.02
stdev	0.02
RSD	1.52%
criteria:	± 15%

mean	0.955
stdev	0.028
RSD	2.90%

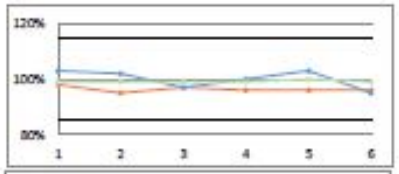
* 6 lots of blank matrix from individual donors

Stability

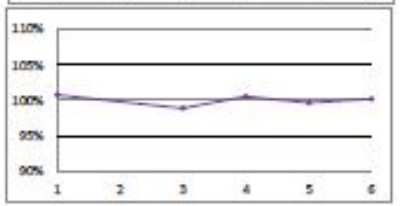
Thiopental

low, 1µg/mL

		Sample and Analysis								
		S1 A1	S2 A1	S3 A1	S1 A2	S2 A2	S3 A2	mean	Bias (%)	criteria
Target	conc. ->	0.98	0.95	0.97	0.96	0.96	0.96	0.96	-3.67%	±15%
F/T	conc. ->	1.03	1.02	0.97	1	1.03	0.95	1	0.00%	
STTS	conc. ->	0.99	0.99	0.99	0.99	1	0.99	0.99	-0.83%	

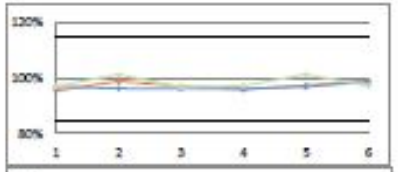


AS-Stab		T-0h	T-1h	T-2h	T-4h	T-6h	T-24h	RSD (Al/Ais)	criteria
	Area Analyte Analysis A1 ->	1238514	1295481	1352819	1395048	1424716	1353108	0.67%	±5%
	Area Analyte Analysis A2 ->	1238965		1346550	1407420	1437800	1358752		
	Area IS Analysis A1 ->	7701643	8117797	8560164	8606235	8895306	8401826		
	Area IS Analysis A2 ->	7583973		8411057	8720365	8956147	8422945		

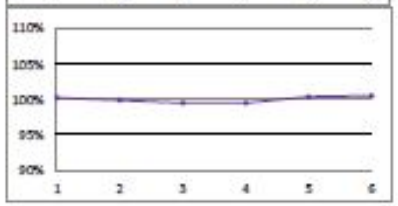


high, 8µg/mL

		Sample and Analysis								
		S1 A1	S2 A1	S3 A1	S1 A2	S2 A2	S3 A2	mean	Bias (%)	criteria
Target	conc. ->	7.63	7.91	7.76	7.67	7.79	7.91	7.78	-2.77%	±15%
F/T	conc. ->	7.75	7.7	7.69	7.69	7.75	7.89	7.75	-3.19%	
STTS	conc. ->	7.77	8.1	7.74	7.78	8.1	7.77	7.88	-1.54%	



AS-Stab		T-0h	T-1h	T-2h	T-4h	T-6h	T-24h	RSD (Al/Ais)	criteria
	Area Analyte Analysis A1 ->	9948199	10290210	10736444	11219652	11489493	11023936	0.41%	±5%
	Area Analyte Analysis A2 ->	10141983	10596703	10914542	11343261	11434168	11259017		
	Area IS Analysis A1 ->	7823731	8136983	8546144	8933574	8932277	8645307		
	Area IS Analysis A2 ->	7929891	8301479	8561015	8892161	9025186	8777222		



Attachment to Validation Protocol

Department of Laboratory Medicine
Analytical Toxicology

Project Code: AT28LC
Substance 3: Thiopental

CC & LTT Measurement results

Calibration Curves

		Production	Preparation	levels / calculated Conc. # 1 0.5µg/mL	# 2 1µg/mL	# 3 2µg/mL	# 4 4µg/mL	# 5 6µg/mL	# 6 10µg/mL	slope	intercept	R	weighting
Target	A1	4/11/2022	4/11/2022	0.51	0.98	1.96	4.04	6.03	9.84	0.15870	-0.00094	0.9998	1/x
	A2			0.51	0.97	1.96	4.07	6.15	9.97				
	A1 Accuracy			102.0%	98.0%	98.0%	101.0%	100.5%	98.4%				
	A2 Accuracy			102.0%	97.0%	98.0%	101.8%	102.5%	99.7%				
CC 5	A1	5/11/2022	5/11/2022	0.51	1	1.96	3.98	5.96	10.09	0.15780	-0.00170	0.99994	1/x
	A2			0.51	1.01	1.96	3.98	6.03	10.02				
	A1 Accuracy			102.0%	100.0%	98.0%	99.5%	99.3%	100.9%				
	A2 Accuracy			102.0%	101.0%	98.0%	99.5%	100.5%	100.2%				
CC 6	A1	6/10/2022	6/10/2022	0.51	1.02	1.9	4.01	6	10.08	0.17725	-0.00460	0.9998	1/x
	A2			0.51	1.02	1.91	3.96	6.01	10.06				
	A1 Accuracy			102.0%	102.0%	95.0%	100.3%	100.0%	100.8%				
	A2 Accuracy			102.0%	102.0%	95.5%	99.0%	100.2%	100.6%				
CC 7	A1	7/11/2022	7/11/2022	0.51	0.99	1.96	3.93	6.16	10.02	0.18369	-0.00645	0.99979	1/x
	A2			0.52	1	1.93	3.92	6.06	9.99				
	A1 Accuracy			102.0%	99.0%	98.0%	98.3%	102.7%	100.2%				
	A2 Accuracy			104.0%	100.0%	96.5%	98.0%	101.0%	99.9%				
CC 8	A1	8/10/2022	8/10/2022	0.52	0.99	1.94	4	6.07	9.97	0.16580	-0.00189	0.99978	1/x
	A2			0.53	0.98	1.93	3.93	5.96	10.18				
	A1 Accuracy			104.0%	99.0%	97.0%	100.0%	101.2%	99.7%				
	A2 Accuracy			106.0%	98.0%	96.5%	98.3%	99.3%	101.8%				
CC 9	A1	9/12/2022	9/12/2022	0.53	0.98	1.9	3.9	6.22	9.89	0.14925	-0.00274	0.99954	1/x
	A2			0.53	0.98	1.92	3.99	5.97	10.18				
	A1 Accuracy			106.0%	98.0%	95.0%	97.5%	103.7%	98.9%				
	A2 Accuracy			106.0%	98.0%	96.0%	99.8%	99.5%	101.8%				
CC 10	A1	10/17/2022	10/17/2022	0.5	1	1.98	3.93	6.02	9.98	0.14807	-0.00610	0.99995	1/x
	A2			0.5	1.02	1.99	4	6.02	10.06				
	A1 Accuracy			100.0%	100.0%	99.0%	98.3%	100.3%	99.8%				
	A2 Accuracy			100.0%	102.0%	99.5%	100.0%	100.3%	100.6%				

Long Term Temps in Serum

	Production	Preparation	Days		# 1	# 2	# 3	# 4	# 5	# 6	MW:	Acceptance Criteria (EMA Guideline) ± 15%	Additional Assessment
												nominal Conc. set as 100%	Target set as 100%
												1µg/mL	lQC: 0.96µg/mL
												8µg/mL	hQC: 7.78µg/mL
												Bias:	
Target	4/11/2022	4/11/2022	0	lQC	0.98	0.95	0.97	0.96	0.96	0.96	0.96	- 3.7%	
				hQC	7.63	7.91	7.76	7.67	7.79	7.91	7.78	- 2.8%	
LTT 1	4/11/2022	5/11/2022	30	lQC	0.96	0.98	0.99	0.94	0.98	0.98	0.97	- 2.8%	0.9%
				hQC	7.75	7.99	7.84	7.55	7.91	7.75	7.8	- 2.5%	0.3%
LTT 2	4/11/2022	6/10/2022	60	lQC	0.99	0.99	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	- 1.7%	2.1%
				hQC	7.73	7.72	8.17	7.71	7.88	8.03	7.87	- 1.6%	1.2%
LTT 3	4/11/2022	7/11/2022	91	lQC	0.93	0.93	0.92	0.94	0.93	0.92	0.93	- 7.2%	- 3.6%
				hQC	7.49	7.49	7.56	7.4	7.42	7.4	7.46	- 6.7%	- 4.1%
LTT 4	4/11/2022	8/10/2022	121	lQC	0.95	0.93	0.93	0.96	0.95	0.93	0.94	- 5.8%	- 2.2%
				hQC	7.51	7.4	7.55	7.43	7.3	7.52	7.45	- 6.9%	- 4.2%
LTT 5	4/11/2022	9/12/2022	154	lQC	1.07	1.07	1.06	1.04	1.05	1.04	1.06	5.5%	9.5%
				hQC	8.18	8.35	8.31	8.08	8.42	8.21	8.26	3.2%	6.2%
LTT 6	4/11/2022	10/17/2022	189	lQC	1.07	1.07	1.09	1.08	1.05	1.06	1.07	7.0%	11.1%
				hQC	8.1	8.09	8.08	8.34	8.26	8.07	8.16	2.0%	4.9%

☑ A Long Term Temp Stability of 189 Days in Serum is proven.

Überprüfung der Methode mittels Rundversuch

Zusammenfassung:

- **Umstellung** von IVDD auf IVDR (EU) 2017/746
- Wenn in absehbarer Zukunft kein IVD-Kit verfügbar: **in-house-IVD** (möglichst auf Basis eines IVD-Kits)
  - Voraussetzung: Kapitel II Artikel 5(5)
  - Anforderungen von Anhang I

Die Umsetzung der IVDR (EU) 2017/746 ist mit beträchtlichem Aufwand verbunden

Literatur zum Hintergrund:

S. Testa et.al. Implementation of the new EUR IVD regulation and relation with ISO15189 accreditation: Guidance is urgently required for haemostasis testing. Int J Lab Hematol (2022) 44 (Suppl. 1): 71-78

Bart R. Lubbers et.al. The New EU Regulation on In Vitro Diagnostic Medical Devices: Implications and Preparatory Actions for Diagnostic Laboratories. HemaSphere (2021) 5:5(e568)

Bart R. Lubbers et.al. Experience With IVDR Implementation in Three Diagnostic Laboratories: Messages to EU Health Institutions, Diagnostic Healthcare Payers, and Authorities. HemaSphere (2023) 7:4(e865)

P. Hoffmüller et.al. Advisory opinion of the AWMF Ad hoc Commission In-vitro Diagnostic Medical Devices regarding in-vitro diagnostic medical devices manufactured and used only within health institutions established in the Union according to Regulation (EU) 2017/746 (IVDR). GMS German Medical Science 2021, Vol. 19

Florent J.L.A. Vanstapel et.al. ISO 15189 is a sufficient instrument to guarantee high-quality manufacture of laboratory developed tests for in-house-use conform requirements of the European In-Vitro-Diagnostics Regulation. Clin Chem Lab Med 2023; 61(4): 608–626

Guidance on the health institution exemption under Article 5(5) of Regulation (EU) 2017/745 and Regulation (EU) 2017/746. Medical Device Coordination Group Document MDCG 2023-1

Literatur zur praktischen Umsetzung:

Paul C.D. Bank et.al. The end of the laboratory developed test as we know it? Recommendations from a national multidisciplinary taskforce of laboratory specialists on the interpretation of the IVDR and its complications. Clin Chem Lab Med 2021; 59(3): 491–497

Appendix A Cross-reference Annex I of REGULATION (EU) 2017/746 to EN ISO 15189

Appendix B Declaration lab-developed tests