



Verifitseerimise soovitused kliinilises mikrobioloogias

Yusuf et al. (2024) ja ELMÜ juhendi (2018) võrdlus

Siiri Kõljalg

TÜK Ühendlabor, kliinilise mikrobioloogia ja mükobakterioloogia osakond

27.03.2025 Pärnu



Tartu Ülikooli Kliinikum
Ühendlabor

Allikad

- ▶ Erlangga Yusuf *et al.* (2024). How to verify and validate a clinical microbiology test before it can be used in routine diagnostics: a practical guide. Clin Microbiol Infect 30:1261-1269
- ▶ ELMÜ juhend "Verifitseerimine kliinilise mikrobioloogia laboris" (2018)



Sissejuhatus

- ▶ Enne uue mikrobioloogilise testi kasutuselevõttu tuleb selle usaldusväärsus kinnitada
- ▶ ISO 15189:2022 ja IVDR 2017/746 määrused nõuavad valideerimis- ja verifitseerimisprotseduure



Miks on uut testi vaja?

- ▶ Uued testid lubavad paremat täpsust, kiiremaid tulemusi ja madalamaid kulusid
- ▶ Antibiootikumiresistentsuse esilekerkimine tingib vajaduse uute testide järele
- ▶ Regulatsioonid nõuavad vastavust uuendatud standarditele



Yusuf et al. (2024)

Rahvusvahelised standardid (ISO 15189:2022 ja IVDR):

- ▶ Verifitseerimine $\neq$ valideerimine:
 - ▶ Verifitseerimine kinnitab kommertsiaalse meetodi toimivust laboritingimustes (CE-IVD märgistusega testid)
 - ▶ Valideerimine on vajalik laboris arendatud või modifitseeritud meetoditele
- ▶ IVDR nõuded:
 - ▶ Kõrgema riskiklassiga testid (klass B-D) vajavad pidevat järelmonitooringut (sisene ja väline kontroll)



Testimisplaani koostamine

- ▶ **Enne** verifitseerimist või valideerimist tuleb koostada detailne plaan
- ▶ Peamised elemendid:
 - Viitestandardi valik
 - Proovi suuruse määramine
 - Aktsepteerimiskriteeriumite määratlemine
- ▶ Kuidas käituda piiripealsete tulemustega (*near cut-off value*) arvutustest eemaldada alandada aktsepteerimise kriteeriume

Viitestandardi (*reference standard*) valik

- ▶ Täiuslikku 'kuldstandardit' ei ole kõikide testide jaoks
- ▶ Viitestandardiks võivad olla olemasolevad testid, kliiniline diagnoos või laboratoorsed leiud
- ▶ Valitud standard mõjutab testi täpsuse arvutamist
- ▶ Verifikatsiooni korral enamasti seni kasutatav test



Proovi suuruse määramine

Valideerimine nõuab tavaliselt rohkem proove kui verifitseerimine

- ▶ Valideerimine ≥ 50 pos. ja ≥ 100 neg. proovi
- ▶ Verifitseerimine ≥ 20 proovi (50/50 pos/neg)
- ▶ AST verifitseerimine ≥ 30 mikroobi sh resistentsed tüved (CLSI)

- ▶ Väike proovide arv võib vähendada statistilist usaldusväärsust.
Näit. 1/10 positiivsest ebaõnnestub, sensitiivsus 100%>90%
- ▶ Tuleb leida tasakaal praktilisuse ja statistilise täpsuse vahel

Testimise protseduurid

Kaks peamist lähenemist:

1. Paralleelne testimine (prospektiivne): Uus ja viitestandard testitakse samal patsiendiproovil

▶ jooksvalt (N: UTI)

2. Retrospektiivne võrdlus: Kasutatakse säilitatud proove või eelmisi testiandmeid patsiendiproovil

▶ kui haiguse sagedus madal (immuunanalüüs, NAAT)

Testi hindamine

► Peamised parameetrid:

- **Täpsus:** Kui hästi vastab tulemus viitestandardile
- **Korratavus:** Kui ühtlased on tulemused korduvate testimiste korral
- **Tundlikkus ja spetsiifilisus:** Võime tuvastada tõelisi positiivseid ja negatiivseid tulemusi



Tulemuste lahknevuste lahendamine

- ▶ Erinevused uue ja viitestandardi testi tulemuste vahel tuleb lahendada
- ▶ Kolmanda testi kasutamine, kliiniline hindamine või testi kordamine
- ▶ Lahendamisprotsessis tuleb vältida kallutatust



Antibiootikumitundlikkuse testimine (AST)

- ▶ AST meetodid varieeruvad automatiseeritud ja manuaalsete süsteemide vahel
- ▶ Isegi CE-IVD märgistusega AST testid vajavad enne kasutamist verifitseerimist
- ▶ Testimisel tuleb arvesse võtta nii resistentseid kui ka mitteresistentseid tüvesid
- ▶ CLSI: vähemalt 30 isolaati
- ▶ Kindlasti paralleelne testimine samast inokulumist
- ▶ Korratavus: 3 isolaati 3x päevas 5 päeva jooksul



ELMÜ juhendi (2018) põhipunktid

- ▶ Kohustuslikud parameetrid:
 - ▶ Tõesus (*accuracy*): $\geq 90\%$ kokkulangevus referentsmeetodiga.
 - ▶ Täpsus (*precision*): $\geq 95\%$ kordustulemused
- ▶ Eritähelepanu alad:
 - ▶ Automaatne antibiogramm: 30 isolaati (sh ESBL/KPC tootjad)
 - ▶ Verekülvisüsteemide uued pudelitüübid



Võrdlus (Yusuf vs ELMÜ)

Parameeter	Yusuf et al. (2024)	ELMÜ (2018)
Regulatiivne alus	IVDR, ISO 15189 CLSI/ASM standardid	CLSI/ASM standardid
Proovide maht (AST)	30 isolaati	30 isolaati
Lahknevuste lahendus	Kolmas meetod, molekulaarne meetod või sama testi kordamine	Pole kirjeldatud
MIK interpretatsioon	EA + CA ¹ (CLSI)	EUCASTi kriteeriumid EA + CA ¹

¹EA Essential agreement, CA Categorical agreement The proportion of isolates that are classified in the same susceptibility category by the test as the susceptibility category determined by the reference standard



Tartu Ülikooli Kliinikum
Ühendlabor

Võrdlus: Yusuf *et al.* vs ELMÜ

- ▶ Yusuf et al.: standardiseeritud, rangem
- ▶ ELMÜ: paindlik, vajaduspõhine

ChatGPT



Tartu Ülikooli Kliinikum
Ühendlabor

Järeldused

- ▶ ELMÜ pakub paindlikkust, Yusuf *et al.* täiendab rahvusvaheliste standarditega
- ▶ Oluline on selged aktsepteeritavad kriteeriumid enne testi alustamist
- ▶ ELMÜ juhendi uuendamine (ISO ja IVDR, lahknevuste lahendamine)



Tänan!

- ▶ Anne Must
- ▶ OpenAI, Inc.

Tänan kuulamast!



Tartu Ülikooli Kliinikum
Ühendlabor