

ANALÜÜTIDE VERIFITSEERIMISE JUHEND MEDITSIINILABORITES

SISUKORD

1. EESMÄRK	1
2. MÕISTED	1
3. TEGEVUSKIRJELDUS	3
3.1. Kliinilise keemia ja hematoloogia uuringud.....	5
3.2. Immuunhematoloogia uuringud	7
3.3. Antigeeni ja antikeha uuringud.....	9
3.4. Nakkustekitajate uuringud nukleiinhapete amplifitseerimise tehnikaga (NAT).....	10
3.5. Voolutsütomeetria uuringud	12
3.6. Mikrobioloogilised uuringud.....	13
3.7. Geneetilised uuringud	15
Lisa 1. Kvaliteedi määratlused verifitseerimise plaani koostamisel.....	17
Lisa 2. Ülemise verifitseerimise piiri ja statistiliste erandite arvutamine	19
Lisa 3. Tõesuse hindamise kriteeriumid	21
Kasutatud kirjandus.....	22

1. EESMÄRK

Juhendi eesmärk on analüütide verifitseerimistega seotud toimingute (kordustäpsuse ja tõesuse) sätestamine meditsiinilaborites, et verifitseerimiste kavandamine, läbiviimine, tulemuste analüüsimine ning hindamine toimuksid nõuetekohaselt ja sarnastest põhimõtetest lähtudes.

Käesolev juhend annab meditsiinilaborile juhiseid CE-IVD ja IVDR märgisega toodete verifitseerimise protseduuriks, selleks et täita standardi EVS-EN ISO 15189:2022 vastavat nõuet.

2. MÕISTED

Analüüt on komponent, mille sisaldust proovimaterjalis määratakse.

Meditsiinilabor on labor inimkehast pärinevate materjalide uuringuteks, mille eesmärk on saada informatsiooni haiguste diagnoosimiseks, ennetamiseks või raviks.

Valideerimine on objektiivsete tõendite abil kinnituse andmine, et nõuded kindlal ettenähtud otstarbel kasutamiseks või rakendamiseks on täidetud.²

Verifitseerimine (nõuetekohasuse tõendamine) on objektiivse tõenduse esitamine, et määratletud nõuded on täidetud.² See on kinnituse saamine selle kohta, et kõnealust meetodit asjaomastes tingimustes rakendades on võimalik püsivalt saavutada soovitud tulemusi. Üldjuhul verifitseerimine

EESTI LABORIMEDITSIINI ÜHING
ESTONIAN SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE

viiakse läbi enne meetodi tavakasutusse võtmist ja verifitseerimise käigus saadud patsienditulemusi ei väljastata.

Tõesus (trueness) on suure hulga mõõtmistulemuste keskmise väärtuse lähedus tegelikule väärtusele. Mõõdetakse süstemaatilist viga (systematic error, SE).⁴

Kordustäpsus (precision) on sõltumatute mõõtmistulemuste lähedus üksteisele antud tingimustel. Mõõdetakse juhuslikku viga (random error, RE), koondab korduvuse ja vahelmise kordustäpsuse andmed.⁴

Korduvus (repeatability) on kordustäpsus korduvuse tingimusel (aeg), s.t. seeriasiseselt.⁴

Vaheline kordustäpsus (intermediate precision) on kordustäpsus erinevatel tingimustel (aeg, kalibratsioon, operaator, analüsaator), s.t. seeriade vahel.⁴

Täpsus (accuracy) on mõõtmistulemuse lähedus mõõdetava väärtuse tõesele väärtusele, koondab tõesuse ja kordustäpsuse andmed.

Tõesus, kordustäpsus ja täpsus on kvalitatiivsed mõisted. Tõesuse kvantitatiivseks väljendamiseks on **erinevus** või **nihe (bias)**. Kordustäpsuse kvantitatiivseks väljendamiseks on **hajuvus (imprecision)** ehk **varieeruvus/variatsioon**, arvutatakse seeriasisese ja seeriade vahelise hajuvuse andmetel ja väljendatakse variatsioonikoefitsiendina (CV). Täpsuse kvantitatiivseks väljendamiseks on vaja nii erinevuse kui hajuvuse andmeid, sest täpsusele avaldavad mõju juhuslikud ja süstemaatilised vead koos - sellega mõõdetakse koguviga (total error, TE).⁴

Reverifitseerimine ehk osaline verifitseerimine on kasutuskohasuse tõendamine vähendatud ulatuses. Seda rakendatakse siis, kui võetakse kasutusele verifitseeritud analüüdi meetodi uus põlvkond (reaktiivide uus generatsioon) või lisandub olemasolevale verifitseeritud analüsaatorile teine samasugune analüsaator (või kui analüsaatori asukohta laboris muudetakse. Analüsaatori remondi või asukoha muutumise puhul tuleb teostada vajalikud tehnilised kvalifitseerimisprotseduurid, mis kinnitavad analüsaatori töökölblikkust (see on tootja hooldusinseneri pädevuses) ning viia läbi kvaliteedikontroll.⁶ Reverifitseerimisele peab eelnema varasemalt teostatud verifitseerimine.

Retrospektiivne verifitseerimine ehk tagasivaateline verifitseerimine viiakse läbi pikema perioodi vältel saadud kontrollmaterjalide ja/või patsiendiproovide mõõtmistulemuste alusel. See on põhjendatud selliste labori meetodite korral, mida iseloomustab pikk katseandmete kogumise periood. Viiakse läbi igapäevase töö käigus ja saadud patsienditulemused kuuluvad väljastamisele.

Referentsmaterjal (RM) on kindlaksmääratud kontsentratsiooniga ning sertifikaadiga varustatud materjal. Referentsmaterjal on seotud kindla jälgitavuse ahelaga, mille igal etapil on olemas nõuded laiendmõõtemääramatuse osas. Üldjuhul kasutatakse referentsmaterjale sisestandardite või sisekontrollide tootmisel ja meetodi valideerimiseks.

Kontrollmaterjal (edaspidi: KM) on materjal, mis sisaldab ühte või mitut analüüti, millele kontrollmaterjali tootja või väline kontrollikeskus on avaldanud analüüdi sihtväärtuse ja kontrollvahemiku.

Kontrolltüvi (edaspidi: KT) on biokeemiliste, nukleiinhappelise järjestusega või muul viisil iseloomustatud mikroorganismi (viirus, seen, bakter) tüvi.

Patsiendimaterjal (edaspidi: PM) on labori uuringuteks patsiendilt võetud proovimaterjal.

CE tähis on vastavusmärgis. Tootele või selle pakendile lisatav visuaalne kinnitus, et vastavushindamine Euroopa Liidus kehtivatele õigusaktidele on tehtud ja toode vastab nõuetele. CE-märgis on sertifitseerimistähis, mis kinnitab, et toodet on hinnatud ning see vastab Euroopa Majanduspiirkonna (EMP) keskkonnakaitse-, tervise- ja ohutusnõuetele. Ei ole kvaliteedi ega päritolumärk.¹⁸

IVD tähis on vastavusmärgis. Tootele või selle pakendile lisatav visuaalne kinnitus, et vastavushindamine on tehtud ja toode vastab direktiivile *The In vitro Diagnostics Directive*. IVD-märgistus näitab, et tootja on meetodi valideerinud. Uut IVD-meetodit kasutusele võttes ja tootjajuhendit järgides tuleb laboris see meetod verifitseerida.

IVDR tähis on vastavusmärgis (asendas IVD tähist 2022 aastal). Tootele või selle pakendile lisatav visuaalne kinnitus, et vastavushindamine on tehtud ja toode vastab määrusele *The In vitro Diagnostics Regulation*. IVDR märgistus näitab, et tootja on meetodi valideerinud. Uut IVDR-meetodit kasutusele võttes ja tootjajuhendit järgides tuleb laboris see meetod verifitseerida. Kui meetodil puudub IVDR tähis (või on tegemist laboris välja töötatud meetodiga), siis teostatakse täielik valideerimine ehk siis tõesusele, kordustäpsusele lisaks ka vastavalt lineaarsus, sensitiivsus, spetsiifilisus, referentsväärtused ja/või otsustuspiirid, reagentide ja proovimaterjalide stabiilsus jne. Valideerimise tegevuskirjeldust käsitletakse juhendis „Analüütide analüütilise valideerimise juhend meditsiinilaborites“.

3. TEGEVUSKIRJELDUS

Meditsiinilabor koostab lähtudes uuringutulemuste kavatsetud kasutamiskiisist asjakohase verifitseerimisplaani ja kehtestab verifitseerimise eesmärgid.

Verifitseerimisel tuleb teostada kordustäpsuse ja tõesuse protseduurid.^{7,15,4} Kordustäpsus peab olema tehtud võimalusel kahel analüüdi tasemel (madal ja kõrge või negatiivne ja positiivne), mõnel analüüdil aga kolmel analüüdi tasemel (nt otsustuspiiri lähedal olev tase).

Kui eelmist meetodit ei ole võimalik kasutada, siis tuleb tõesuse hindamisel kasutada tulemuste võrdlust sertifitseeritud kontrollmaterjalidega, välise kvaliteedikontrolliga, võrdluskatseid teiste laboritega või kinnitust kliinilise diagnoosiga.

Kordusmõõtmiste ning hindamispäevade arv verifitseerimisel määratakse ELMÜ töörühma kvaliteedimääratlustest (minimaalne, soovituslik, optimaalne) lähtudes. Kvantitatiivsete testide

EESTI LABORIMEDITSIINI ÜHING
ESTONIAN SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE

korral tuleb hierarhias optimaalset ja soovituslikku taset eelistada minimaalsele tasemele. Minimaalse taseme kasutamine tuleb põhjendada. Kvalitatiivsete testide (kliiniline keemia, hematoloogia, antigeen-antikeha testid Ag-Ak) osas võib kasutada ka minimaalset taset, kui pole otstarbekas ega põhjendatud soovitusliku või optimaalse taseme kasutamine. Kui mõne analüüdi puhul ei ole võimalik kasutada ELMÜ töörühma kvaliteedimääratlusi (või kvaliteedimääratlus puudub), koostab labor verifitseerimise plaani, põhjendades korduste ja võrdluseks vajalike proovimaterjalide arvu.

Mitmeparametriliste uuringute puhul (nukleiinhappe uuringud (NAT), allergia, autoimmuunsus jne) peaks verifitseerimine hõlmama kliiniliselt olulisi ja/või populatsioonis enam levinud parameetreid.

Analüütide verifitseerimiseks kasutatakse üldjuhul patsientidelt saadud proovimaterjale (PM) ja/või kommertspäritolu kontrollmaterjale (KM). Vajadusel võib meetodi (nt NAT) verifitseerimiseks ja valideerimiseks kasutada ka referentsmaterjale (RM) ja kontrolltüve (KT).

Verifitseerimiseks kasutatakse ainult kvaliteetseid (ei kasutata hemolüütilisi, lipeemilisi, ikteerilisi proove) ja nõuetekohaselt säilitatud (aeg, temperatuur) proovimaterjale.

Käesolevas juhendis käsitletakse kvantitatiivsete ja kvalitatiivsete analüütide verifitseerimist eraldi.

Kui saadud verifitseerimistulemused ei vasta püstitatud kriteeriumitele (eriti minimaalse verifitseerimisplaani korral), siis tuleb suurendada proovimaterjalide ja seeriade arvu, et statistiliselt suurema andmehulga alusel selgitada välja, kas verifitseeritav meetodika vastab labori nõutele ja on üldse sobilik kasutamiseks.

Verifitseerimise plaani kordustäpsuse ja tõesuse kvaliteedi määratluste tabelid on toodud dokumendi lõpus „Lisa 1“.

Ülemise verifitseerimise piiri ja statistiliste erandite arvutamise tabelid on toodud dokumendis „Lisa 2“. Tõesuse hindamise kriteeriumid on toodud dokumendis „Lisa 3“.

Statistilise tulemuse hinnanguks on võimalik kasutada erinevaid tarkvaraprogramme:

- Kallneri Exceli põhise tabelarvutustarkvara (<https://www.acb.org.uk/our-resources/science-knowledge-hub/measurement-verification.html>)
- Finbiosoft tarkvara ValidationManager <https://finbiosoft.com/validation-manager/>.

3.1. KLIINILISE KEEMIA JA HEMATOLOOGIA UURINGUD

KVANTITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 5 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel tasemel ehk kokku 50 tulemust.⁴ Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 30 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 12 tulemust (Vt Lisa 1, tabel 1).

Tulemuste esitamise viis

Statistiliste ebatäpsuste vähendamiseks on soovitatav kasutada ühe komakoha võrra täpsemat tulemust kui patsienditulemuste väljastamisel.³

Verifitseerimise tulemusi võrreldakse tootjajuhendi andmetega. Oleks soovitatav hinnata enne variatsioonikordaja arvutamist kordustulemuste hajuvust, et elimineerida arvutusest statistilised erandid (arvutused on toodud lisas 2).

Optimaalse eesmärgi puhul on lubatud välja arvata 2 hälbinud/kõrvalekaldunud tulemust. Soovitusliku eesmärgi puhul on lubatud välja arvata 1 tulemus. Minimaalse määratluse puhul ei ole lubatud välja arvata ühtegi tulemust. Piiridest välja läinud tulemuste puhul tuleb lisada korduste seeria.

Vajaduse korral tuleb teostada täiendavad arvutused – nt ülemise verifitseerimispiiri (ÜVP) arvutamine või tulemuste statistiliste erandite hindamine. ÜVP (ülemise verifitseerimispiiri) arvutamine põhineb tootja avaldatud ja kasutaja laboris saadud andmetel. ÜVP arvutused on toodud Lisas 2.

Kui laboris saadud kordustäpsuse tulemused ületavad ÜVP, tuleb kasutada eesmäärke, mis põhinevad kas bioloogilisel varieeruvusel (<https://biologicalvariation.eu/>), ravijuhistel või on erialasiselt kokku lepitud.

Eesmärkväärtused lähtudes bioloogilisest variatsioonist

Labori andmed	Bioloogiline varieeruvus	Soovituslik	Optimaalne	Minimaalne	Piiripealne
CV _{1WL}	CV _i	0,5 CV _i	0,25 CV _i	0,75 CV _i	1,0 CV _i
CV _{2WL}	CV _i	0,5 CV _i	0,25 CV _i	0,75 CV _i	1,0 CV _i

CV_i - individuaalne bioloogiline varieeruvus (*within-subject biological variation*)

CV_{WL} -laborisisene varieeruvus (*within-laboratory* või *total precision*)

TÕESUS

Tõesuse või meetodite erinevuse hindamisel võib kasutada kontrollmaterjale ja/või patsiendi proovimaterjale. Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisa (Lisa 1, tabel 2).

Tõesuse hinnang kontrollmaterjalidega

Kui kordustäpsust on hinnatud teadaoleva kontsentratsiooniga kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas. Labori keskmise väärtuse ja kontrollmaterjali sihtväärtuse vaheline erinevus ei tohiks ületada 2 standardhälvet ($\leq 2SD$).

Tõesuse hinnang patsiendi proovimaterjalidega

Uue meetodi tõesust hinnatakse mõõtetulemuste võrdlemisel varem kasutatud laborimeetodiga.

Võrdluses kasutatud analüüdi mõõtetulemused peavad olema määramispiirkonna sees ning korrapäraselt hajutatud.

Kui meetodite vahel esineb statistiline erinevus, tuleb hinnata, kas leitud erinevus on kliiniliselt oluline.

Erinevuse hindamisel võib kasutada eesmärke, mis põhinevad bioloogilisel varieeruvusel, ravijuhistel või on erialasiselt kokku lepitud.

Eesmärkväärtused lähtudes bioloogilisest variatsioonist

Labori andmed	Bioloogiline varieeruvus	Soovituslik	Optimaalne	Minimaalne
Bias, %	CV_G	$B_A < 0,250 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$	$B_A < 0,125 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$	$B_A < 0,375 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

CV_G - grupisisene bioloogiline varieeruvus (*within-group biological variation*)

CV_I - individuaalne bioloogiline varieeruvus (*within-subject biological variation*)

Bias, % - meetodite vaheline keskmine erinevus, %.

Retrospektiivsel verifitseerimisel võib tõesuse hindamiseks kasutada välise kvaliteedikontrolli andmeid või kinnitust kliinilise diagnoosiga.

KVALITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

Kordustäpsuse hinnang tuleb teha kahel (võimaluse korral kolmel) tasemel ehk negatiivse ja positiivsega materjaliga (võimaluse korral otsustuspiiri *cut-off* lähedal, piiripealne materjal).

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel (kolmel) erineval tasemel ehk ühtekokku 30 (45) tulemust. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel (kolmel) tasemel, kokku 12 (18) tulemust.

Minimaalse määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 2 päeva jooksul kahel (kolmel) tasemel, kokku 8 (12) tulemust. Materjali piiratud säilivuse puhul võib teha kordusmõõtmist ühel päeval, kokku 6 tulemust. (Vt Lisa 1, tabel 1).

Optimaalsel määratluse puhul on lubatud välja arvata 2 tulemust, soovitusliku eesmärgi puhul on lubatud välja arvata 1 tulemus. Minimaalse määratluse puhul ei ole lubatud välja arvata ühtegi tulemust. Piiridest välja läinud tulemuste puhul tuleb lisada korduste seeria.

TÕESUS

Tõesuse hinnang kontrollmaterjalidega

Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas. Laboris saadud tulemusi võrreldakse kontrollmaterjali tootja infomaterjali andmetega. Hinnang dokumenteeritakse.

Tõesuse hinnang patsiendi proovimaterjalidega

Soovitav on võrrelda kaht meetodit patsientide proovimaterjalidega. Analüüside väärtused peavad olema korrapäraselt hajutatud (negatiivsed, piiripealsed ja positiivsed).

Retrospektiivsel verifitseerimisel ja valideerimisel võib tõesuse hindamiseks kasutada välise kvaliteedikontrolli andmeid või kinnitust kliinilise diagnoosiga.

3.2 IMMUNHEMATOLOOGIA UURINGUD

Verifitseerimiseks tuleb kasutada proovimaterjali vastavalt labori uuringualuste profiilile - sh vastsündinud, geriaatrilised patsiendid, hematoloogilised, luuüdi tüvirakkude ja organtransplantatsiooni patsiendid, rasedad, veredoonorid. Lisaks reeglipäraselt interpreteeritava tulemusega uuringumaterjalile kasutada määramatu/ebaselge tulemusega proovimaterjale (näiteks ABO otsese ja pöördgrupi lahknevus, kimäärsed tulemused, nõrgad antigeenid/veregrupi alagrupid, nõrkade ja/või komplekssete antikehadega uuringumaterjalid). Võimalusel kasutada kommertsiaalseid kontrollmaterjale ja võrdluskatsete materjale. Verifitseerimiseks sobivat kontrollmaterjali võib hankida immunhematoloogia referentlaborist.

KORDUSTÄPSUS

Kordustäpsuse hinnang tuleb teha kahel tasemel (positiivne ja negatiivne) 3 päeva jooksul (Lisa 1, tabel 1). Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel erineval tasemel ehk ühtekokku 18 tulemust. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3

EESTI LABORIMEDITSIINI ÜHING
ESTONIAN SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE

päeva jooksul kahel tasemel, kokku 12 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse 1 mõõtmise 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 6 tulemust. Materjali piiratud säilivuse puhul võib teha kordusmõõtmist ühel päeval, kokku 6 tulemust.

TÕESUS

AB0 veregrupp

AB0-veregrupi verifitseerimiseks tuleb valida vereproove igast veregrupist. Miinimum soovituslik AB0 veregrupi proovimaterjali kogus on kokku 20 proovi. Lisaks kasutada võimalusel vereproove A2 ja A2B alagruppidega.

RhD kuuluvus

RhD kuuluvuse verifitseerimiseks on vaja RhD positiivset ja RhD negatiivset ning nõrga D ehk kinnitatud weak D variandiga uuringumaterjali.

Teised veregruppide antigeenid või fenotüübid

Teiste veregruppide antigeenide või fenotüüpide määramisel tuleb valida uuritava antigeeni suhtes heterosügootselt positiivset ja negatiivset uuringumaterjali, võimalusel ka nõrku alavariante.

Alloantikehade skriining ja identifitseerimine

Kliiniliselt olulised alloantikehad, millede määramine verifitseerimisel on vajalik: anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-K, anti-Fya, anti-Fyb, anti-Jka, anti-Jkb, anti-S ja anti-s. Võimalusel tuleb valida kontrollmaterjal nii, et verifitseerimisel oleks kaetud iga eelpool nimetatud antikeha. Miinimum nõue on vähemalt 8 erineva antikehaga kontrollmaterjali. Võimalusel kasutada erineva reaktsiooniskooriga positiivset proovimaterjali.

Direktne antiglobuliini test (DAT)

DATi verifitseerimiseks on vaja kinnitatud DAT positiivset ja DAT negatiivset vereproovi. Kui labor kasutab monospetsiifilist anti-IgG, siis peab DAT positiivne kontrollmaterjal olema kinnitatud IgG positiivne.

Sobivusuuring

Sobivusuuringu verifitseerimiseks tuleb kasutada sobivusproovis negatiivset ja positiivset tulemust andvat materjali, lisaks uurida teoreetiliselt AB0 sobiva ja mittesobiva kombinatsiooniga vereproove. Soovituslikult tuleb kasutada ka materjali, kus AB0-mittesobivana sobitatakse nõrga AB0 alagrupiga mittesobivat doonoriverd.

Tulemuste aktsepteeritavus

Tuleb hinnata saadud tulemuste kokkulangevust. Tõesust hinnates peab tulemuse positiivne/negatiivne kokkulangevus olema 100%. Kordustäpsuse osas ei tohi 4 palli skaalal hinnatud positiivsed tulemused erineda rohkem kui 1 palli võrra. Neist kriteeriumitest erinevate tulemuste korral peavad lahknevused olema põhjendatud.

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisas (Lisa 1, tabel 2).

3.3 ANTIGEENI JA ANTIKEHA UURINGUD

KVANTITATIIVNE MEETOD

KORDUSTÄPSUS

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 5 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel erineval tasemel ehk ühtekokku 50 tulemust.⁴ Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 30 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 12 tulemust. (Vt Lisa 1, tabel 1).

Retrospektiivne verifitseerimine teostada optimaalsel tasemel (hinnang antakse 50-mõõtetulemuse alusel).

TÕESUS

Tõesuse hindamiseks kasutatakse patsiendi ja/või kontrollmaterjali. Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas.

Labori keskmise väärtuse ja kontrollmaterjali sihtväärtuse vaheline erinevus ei tohiks ületada 2 standardhälvet ($\leq 2SD$).

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisas (Lisa 1, tabel 2).

Erandjuhtudel, kui ei ole võimalik saada piisaval arvul võrdlusproovimaterjali, siis otsustab proovimaterjalide arvu erialaspetsialist.

Retrospektiivsel verifitseerimisel võib tõesuse hindamiseks kasutada välise kvaliteedikontrolli andmeid või kinnitust kliinilise diagnoosiga.

KVALITATIIVNE MEETOD

KORDUSTÄPSUS

Kordustäpsuse hinnang tuleb teha kahel (võimaluse korral kolmel) tasemel ehk negatiivse ja positiivsega materjaliga (võimaluse korral otsustuspiiri *cut-off* lähedal).

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel (kolmel) erineval tasemel ehk ühtekokku 30 (45) tulemust. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel (kolmel) tasemel, kokku 12 (18) tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 2 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 8 tulemust. Materjali piiratud säilivuse puhul võib teha kordusmõõtmist ühel päeval, kokku 6 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Saadud andmete põhjal arvutatakse tulemuste kokkulangevus.

Optimaalsel määratluse puhul on lubatud välja arvata 2 tulemust, soovitusliku eesmärgi puhul on lubatud välja arvata 1 tulemus. Minimaalse määratluse puhul ei ole lubatud välja arvata ühtegi tulemust. Piiridest välja läinud tulemuste puhul tuleb lisada korduste seeria.

Retrospektiivne verifitseerimine teostada optimaalsel tasemel (hinnang antakse 30 (45)-mõõtetulemuse alusel). Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks valideerimisel on toodud lisas (Lisa 3, tabel 2).

TÕESUS

Tõesuse hindamiseks kasutatakse patsiendi- ja/või kontrollmaterjali. Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas. Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisas (Lisa 1, tabel 2).

Retrospektiivsel verifitseerimisel ja valideerimisel võib tõesuse hindamiseks kasutada välise kvaliteedikontrolli andmeid või kinnitust kliinilise diagnoosiga.

3.4 NAKKUSTEKITAJATE UURINGUD NUKLEINHAPETE AMPLIFITSEERIMISE TEHNIKAGA (NAT)

Kordustäpsuse teostamiseks võib kasutada nii referentsmaterjale (RM), kontrolltüve (KT), kontrollmaterjale (KM) kui ka patsiendimaterjale (PM). Tõesuse hindamiseks kasutatakse kontrolltüve (KT) ja/või kontrollmaterjali (KM) ja/või referentsmaterjali (RM). Kõiki neid materjale nimetatakse verifitseerimismaterjalideks. Kui puudub eelnev, siis kasutatakse teise testsüsteemiga teada oleva tulemusega või kliiniliselt kinnitatud diagnoosiga patsientide proovimaterjale.

Verifitseerida tuleks kõik erinevat tüüpi proovimaterjalid, detekteeritavad patogeene liigid, genotüübid.⁷ Välja arvatud juhtudel kui verifitseerimine hõlmab suurt arvu geenivariante või patogeene (nt. HPV genotüübid, multipleks analüüsid jne.) - sellisel juhul verifitseeritakse enam levinud ja kliiniliselt kõige olulisemad tüübid/geenivariandid/patogeene.⁷ Verifitseerimise protsess peab hõlmab kogutöövoogu alates proovimaterjali kogumisest kuni vastuste tõlgendamiseni.

KVANTITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

Sobilikud verifitseerimismaterjalid: RM, KT, KM, PM.

Optimaalse määratluse järgi kasutatakse 3 positiivset ja 3 piiripealset verifitseerimismaterjali, mida analüüsitakse seeria siseselt kahes korduses 3 päeva jooksul, kokku 36 tulemust (Lisa 1, tabel 1). Soovitusliku määratluse järgi kasutatakse 2 positiivset ja 2 piiripealset verifitseerimismaterjali, mida analüüsitakse seeria siseselt kahes korduses 3 päeva jooksul, kokku 24 tulemust (Lisa 1, tabel 1). Minimaalse määratluse järgi kasutatakse 1 positiivset ja 1 piiripealset verifitseerimismaterjali, mida analüüsitakse seeria siseselt kahes korduses 3 päeva jooksul, kokku 12 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Multipleks analüüside puhul võib kasutada igaks mõõtmiseks patogeenide/genotüüpide segu. Kui ei ole võimalik hinnata kõiki parameetreid, tuleks hinnata kolme kuni viit paneeli kuuluvat patogeeni/mutatsiooni/genotüüpi, millest vähemalt üks peab olema negatiivne.

TÕESUS

Sobilikud verifitseerimismaterjalid: eelistatult PM, RM, KT, KM.

Optimaalse määratluse järgi kasutatakse 9 positiivset, 3 piiripealset (sobiva verifitseerimismaterjali olemasolul) ja 2 negatiivset verifitseerimismaterjali, kokku 11 (14) tulemust. Soovitusliku määratluse järgi kasutatakse 6 positiivset, 3 piiripealset (sobiva verifitseerimismaterjali olemasolul) ja 2 negatiivset verifitseerimismaterjali, kokku 8 (11) tulemust. Minimaalse määratluse järgi kasutatakse 3 positiivset, 3 piiripealset (sobiva verifitseerimismaterjali olemasolul) ja 2 negatiivset verifitseerimismaterjali, kokku 5 (8) tulemust.

Kvantitatiivse NAT analüüsi puhul võrreldakse omavahel logaritmilisi tulemusi, lubatud varieeruvus peaks jääma 0.5 log piiresse (saadud tulemusest üles või allapoole +/- 0,5 log muutus).

KVALITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

Sobilikud verifitseerimismaterjalid: RM, KT, KM, PM.

Kordustäpsuse hinnang tuleb teha erinevate tasemetega: kõrge kontsentratsiooniga positiivne materjal (positiivne) ja läviväärtust pisut ületava kontsentratsiooniga ja/või madala kontsentratsiooniga allpool läviväärtust materjal (piiripealne).

Multipleks analüüside puhul tuleks hinnata kolme kuni viit paneeli kuuluvat patogeeni/mutatsiooni/genotüüpi, millest vähemalt üks peab olema negatiivne. Kasutada võib erinevate patogeenide/mutatsioonide/genotüüpide segu.

Optimaalse määratluse järgi kasutatakse 2 positiivset ja 2 piiripealset verifitseerimismaterjali, mida analüüsitakse seeria siseselt kahes korduses 3 päeva jooksul, kokku 24 tulemust (Lisa 1, tabel 1). Soovitusliku määratluse järgi kasutatakse 2 positiivset ja 2 piiripealset verifitseerimismaterjali, mida analüüsitakse seeria siseselt ühes korduses 3 päeva jooksul, kokku 12 tulemust (Lisa 1, tabel 1). Minimaalse määratluse järgi kasutatakse 1 positiivset ja 1 piiripealset verifitseerimismaterjali, mida analüüsitakse seeria siseselt ühes korduses 3 päeva jooksul, kokku 6 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

TÕESUS

Sobilikud verifitseerimismaterjalid: PM, RM, KT, KM.

Optimaalse määratluse järgi kasutatakse 9 positiivset, 2 piiripealset (sobiva verifitseerimismaterjali olemasolul) ja 2 negatiivset verifitseerimismaterjali, kokku 11 (13) tulemust. Soovitusliku määratluse järgi kasutatakse 6 positiivset, 2 piiripealset (sobiva verifitseerimismaterjali olemasolul) ja 2 negatiivset verifitseerimismaterjali, kokku 8 (10) tulemust. Minimaalse määratluse järgi kasutatakse 3 positiivset, 2 piiripealset (sobiva verifitseerimismaterjali olemasolul) ja 2 negatiivset verifitseerimismaterjali, kokku 5 (7) tulemust.

3.5 VOOLUTSÜTOMEETRIA UURINGUD

KVANTITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 18 tulemust. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 2 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 12 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse kordusmõõtmised 1 päeva jooksul kolmel tasemel, kokku 9 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Kordustäpsust on võimalik hinnata retrospektiivselt igapäevase sisemise kvaliteedikontrolli andmete põhjal.

TÕESUS

Tõesuse hindamiseks kasutatakse nii patsiendi- kui ka kontrollmaterjali. Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas.

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisa (Lisa 1, tabel 2).

3.6 MIKROBIOLOOGILISED UURINGUD

Mikrobioloogia valdkonnas verifitseeritakse automatiseeritud analüüse. Manuaalsed meetodid, millele on rakendatud sisemine ja väline kvaliteedi kontroll ja antibakteriaalse tundlikkuse osas EUCASTi kokkulepped, ei vaja täiendavat verifitseerimist. Kui laboris ei ole manuaalsetel meetoditel neid nõudeid täidetud, siis tuleb ka need meetodid kohapeal verifitseerida.

ANTIBAKTERIAALSE TUNDLIKKUSE MÄÄRAMINE ANALÜSAATORIGA

Mikroobitüved on soovitatav valida nii, et nad esindaksid antud laboris sagedamini esinevaid liike ja antibakteriaalse resistentsuse fenotüüpe. Kasutada võib isolaate patsiendi materjalist (PM), kontrolltüved ja välise kvaliteedi kontrolli süsteemi kaudu omandatud tüved (KT).

KORDUSTÄPSUS

Kordustäpsuse jaoks kasutatakse 5 isolaati, millest vähemalt kaks on resistentsed.

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul 5 isolaadiga, kokku 45 tulemust.¹⁴ Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 2 päeva jooksul 2 isolaadiga, kokku 12 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse kordusmõõtmised 1 päeva jooksul kolme isolaadiga, kokku 9 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Hindamise kriteerium: aktsepteeritav tulemus kordustäpsusel $\geq 95\%$.

Mõõtmise täpsuse (kordustäpsuse) arvutamine antibiootikumi **minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooni** (MIK) määramisel:

Katsete arv, milles MIK väärtus ± 1 lahjendus, võrreldes referents MIK

----- x 100

Katsete koguarv

Tulemust võib väljendada kõikide antibiootikumide ja mikroobiliikide kohta koos või eraldi

Mõõtmise täpsuse (kordustäpsuse) arvutamine antibiootikumi tundlikkuse määramise **interpreteeritava tulemuse** (tundlik, tundlik kõrges kontsentratsioonis, resistentne) korral:

Katsete arv, milles AB tundlikkuse interpretatsioon vastas referentsinterpretatsioonile

----- X
100

Katsete koguarv

Tulemust võib väljendada kõikide antibiootikumide ja mikroobiliikide kohta koos või eraldi.

TÕESUS

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud tabelis (Lisa 1, tabel 2).

Antibiootikumtundlikkuse EUCAST metoodika ja hindamiskriteeriumite sisseviimisel lähtuda vastavast dokumendist (<http://www.eucast.org>)

MIKROOBIDE IDENTIFITSEERIMINE ANALÜSAATORIGA

KORDUSTÄPSUS

Kordustäpsuse jaoks kasutada isolaate (patsiendi materjalist isolaadid ja/või kontrollmaterjalide isolaadid).

Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul 5 isolaadiga, kokku 45 tulemust.¹⁴ Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 2 päeva jooksul 2 isolaadiga, kokku 12 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse kordusmõõtmised 1 päeva jooksul kolme isolaadiga, kokku 9 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Hindamise kriteerium: aktsepteeritav tulemus kordustäpsusel $\geq 95\%$.

TÕESUS

Tõesust hinnatakse varem kasutatud laborimeetodi vastu, mis on laboris regulaarselt kontrollitud ja millega labor osales välises kvaliteedikontrollis.

Positiivseid ja negatiivseid proovimaterjale määratakse paralleelselt uue ja vana meetodiga.

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisas (Lisa 1, tabel 2).

Mikroobide tüvede automaatne identifitseerimine.

Meetodite verifitseerimiseks soovitatakse kasutada kliiniliselt olulisi isolaate, lisaks tüüptüved ja välise kvaliteedi kontrolli süsteemi kaudu omandatud tüved.

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisas (Lisa 1, tabel 2).

Verekülvi süsteemid

Verifitseerimine on vajalik juhtudel, kui uuel süsteemil on erinevat tüüpi verekülvi pudelid. Süsteemi riist- ja tarkvara muutuste korral piisab süsteemi töötamise tehnilisest tõestusest.

Valitakse veres sagedamini esinevad mikroobid vastavalt konkreetsele laborile. Verekülvipudelisise süstitakse tootja poolt minimaalselt nõutud kogus antibiootikumivaba steriilset inimese verd ja mikroobisuspensiooni 0,1 PMÜ/ml vere kohta (umbkaudne mikroobikontsentratsioon sepsise korral).

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud on toodud lisas (Lisa 1, tabel 2).

Meetod on verifitseeritud, kui süsteemi tuvastab kõik organismid tootja poolt määratud aja jooksul.

3.7 GENEETILISED UURINGUD

MOLEKULAARGENEETIKA UURINGUD

Molekulaargeneetilised analüüsid võivad olla kas kvalitatiivsed, kvantitatiivsed või poolkvantitatiivsed. Kvalitatiivsete analüüside puhul ei ole tulemus mitte ainult positiivne või negatiivne, vaid määratakse ka sügootsus st kas antud patsient on heterosügoot, homosügoot või *wild type* (WT).¹⁷

KORDUSTÄPSUS

Võimalusel võtta kordustäpsuse määramiseks heterosügoot, homosügoot ja WT. Kui tootjapoolne kvaliteedikontroll on üks eelnevalt nimetatutest, siis võib kasutada ka seda kordustäpsuse määramiseks. Juhul kui populatsioonis on vastava geeni mutatsioonide sagedus väike, siis võib verifitseerimiseks kasutada ka ainult WT uuritavaid proove.

Geneetiliste uuringute puhul viiakse kordusmõõtmised võimalusel läbi kolmel päeval. Päevade sisemine kordusmõõtmine ei anna geneetiliste uuringute puhul lisaväärtust. Kvantitatiivsete ja poolkvantitatiivsete uuringute puhul tuleb lähtuda verifitseerimisplaani koostamisel sellest, millised on tootjapoolsed valideerimise tulemused.

Sekveneerimisanalüüside puhul viiakse kordustäpsus läbi bioinformaatilise analüüsi ja sekveneerimise toorandmete faili abil. Bioinformaatiline analüüs või sekveneerimisfailide järjestuse analüüs teostatakse kahe töötaja või erinevatel päevadel sama töötaja poolt ning tulemuse osas peab saama sama arvu referentsjärjestusest erinevaid muutusi või sama genotüübi.

TÕESUS

EESTI LABORIMEDITSIINI ÜHING
ESTONIAN SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE

Juhul kui analüüsi teostamiseks on lubatud erinevad proovimaterjali tüübid, siis peab teostama tõesuse hindamise kõikide materjali tüüpidega. Kui verifitseerimine hõlmab suurt arvu geenivariante, siis sellisel juhul verifitseeritakse populatsioonis enam levinud tüübid/geenivariandid.

TSÜTOGENEETILISED UURINGUD

SUBMIKROSKOOPILISED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

Submikroskoobiline analüüsi katsele järgneb katsetulemuse bioinformaatiline analüüs, mille abil formuleerub analüüsi tulemus. Arvutatakse päevade vaheline kordustäpsus algmaterjalist alates koos bioinformaatilise analüüsiga. Juhul kui muudetakse ainult bioinformaatilise analüüsi läbiviimise programmi, siis viiakse kordustäpsus läbi ainult bioinformaatilisele analüüsile, korrates seda erinevate töötajate poolt 1 tsütokiibi (12 proovimaterjali) analüüs.

TÕESUS

Tõesuse määramiseks kasutatakse võimalusel kontrollmaterjali või siis patsiendi materjale. Kui tegemist on meetodi uuendamisega, siis võrreldakse omavahel vana meetod vs uuendatud meetod. Kui tegemist on uue meetodiga, siis tõesuse hindamiseks kasutatakse kas kliiniliselt tõestatud juhtu või alternatiivset meetodit, millega saab leidu kinnitada.

Minimaalselt teostatakse 5 võrdlust kas algmaterjalist või kui algmaterjali ei ole piisavalt, siis punktist, kus materjali saab jagada kaheks.

FISH MEETODIL UURINGUD

KORDUSTÄPSUS

FISH meetodi puhul määratakse kordustäpsus 5 preparaadi analüüsimisel 2 erineva teostaja vahel.

TÕESUS

Kui tegemist on meetodi uuendamisega, siis võrreldakse omavahel vana meetod vs uuendatud meetod. Kui tegemist on uue meetodiga, siis tõesuse hindamiseks kasutatakse kas kliiniliselt tõestatud juhtu või alternatiivset meetodit, millega saab leidu kinnitada. Minimaalselt teostatakse 5 võrdlust kas algmaterjalist või kui algmaterjali ei ole piisavalt, siis punktist, kus materjali saab jagada kaheks.

EESTI LABORIMEDITSIINI ÜHING
ESTONIAN SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE

LISA1. KVALITEEDI MÄÄRATLUSED VERIFITSEERIMISE PLAANI KOOSTAMISEL

Tabel 1. Kordustäpsuse plaan

	Proovimaterjalide tasemed-ridade arv; korduste arv päevas- n; päevade arv- k: n ₁ + n ₂ +...+n _k		
	Optimaalne	Soovituslik	Minimaalne
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvantitatiivne)	N=50 5+5+5+5+5 ⁴ 5+5+5+5+5	N=30 3+3+3+3+3 3+3+3+3+3	N=12 2+2+2 2+2+2
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvalitatiivne)	N=30 (45) 3+3+3+3+3 3+3+3+3+3 (3+3+3+3+3, piiripealne)	N=12 (18) 2+2+2 2+2+2 (2+2+2, piiripealne)	N=8 (12) 2+2 2+2 (2+2, piiripealne)
NAT (kvantitatiivne)	N=36 2+2+2, positiivne 2+2+2, positiivne 2+2+2, positiivne 2+2+2, piiripealne 2+2+2, piiripealne 2+2+2, piiripealne	N=24 2+2+2, positiivne 2+2+2, positiivne 2+2+2, piiripealne 2+2+2, piiripealne	N=12 2+2+2, positiivne 2+2+2, piiripealne
NAT (kvalitatiivne)	N=24 2+2+2, positiivne 2+2+2, positiivne 2+2+2, piiripealne 2+2+2, piiripealne	N=12 1+1+1, positiivne 1+1+1, positiivne 1+1+1, piiripealne 1+1+1, piiripealne	N=6 1+1+1, positiivne 1+1+1, piiripealne
Immuunhematoloogia	N=18 3+3+3, positiivne 3+3+3, negatiivne	N=12 2+2+2, positiivne 2+2+2, negatiivne	N=6 1+1+1, positiivne 1+1+1, negatiivne
Voolutsütomeetria	N=18 3+3+3 3+3+3	N=12 3+3 3+3	N=9 3 3 3
Mikrobioloogia	N=45 3+3+3 3+3+3 3+3+3 3+3+3 3+3+3	N=12 3+3 3+3	N=9 3 3 3

EESTI LABORIMEDITSIINI ÜHING
ESTONIAN SOCIETY FOR LABORATORY MEDICINE

Tabel 2. Tõesuse plaan (erinevuse hindamine, eelmise meetodiga võrdlus)

	Optimaalne	Soovituslik	Minimaalne
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvantitatiivne)	40 ^{4,20}	20	6
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvalitatiivne)	20	10	6
NAT (kvantitatiivne)	14 (11) (9 positiivset 3 piiripealset 2 negatiivset)	11 (8) (6 positiivset 3 piiripealset 2 negatiivset)	8 (5) (3 positiivset 3 piiripealset 2 negatiivset)
NAT (kvalitatiivne)	13 (11) (9 positiivset 2 piiripealset 2 negatiivset)	10 (8) (6 positiivset 2 piiripealset 2 negatiivset)	7 (5) (3 positiivset 2 piiripealset 2 negatiivset)
Immuunhematoloogia (va ABO)	10	6	3
Voolutsütomeetria,	10	6	3
Mikrobioloogia	20	10	6

LISA 2. ÜLEMISE VERIFITSEERIMISE PIIRI JA STATISTILISTE ERANDITE ARVUTAMINE**1. Ülemise verifitseerimispiiri (ÜVP) arvutamine**

ÜVP arvutus põhineb⁴:

1. erinevate kordustäpsuse kategooriate nii **korduvuse** (*repeatability*) kui laborisisesese (*within laboratory imprecision*) **kordustäpsuse** vabadusastme (*degree of freedom, df*) hindamisel
2. ÜVP faktori F leidmisel
3. ÜVP arvutamisel leitud ÜVP faktori F ja tootja avaldatud andmete alusel.

Korduvuse vabadusastme (df_R) ja F leidmine

Korduvuse puhul vabadusastme (df_R) hinnang baseerub **laboris** kasutusel oleval eksperimendi põhimõttel ehk seeriade ja korduste arvu = $N-k$, kus N on tulemuste koguarv ja k seeriade arv. Tabelis 1 on toodud df_R ja F vastavalt valitud määratlusele.

Tabel 1. **Korduvuse** F erinevate määratluste puhul.

Määratlus	Tasemed	N , tulemuste arv	k , seeriade arv	df_R	F (korduvuse)
optimaalne	PM1 või KM1	25	5	20	1,31
	PM2 või KM2	25	5	20	1,31
soovituslik	PM1 või KM1	15	5	10	1,43
	PM2 või KM2	15	5	10	1,43
minimaalne	PM1 või KM1	6	3	3	Ei ole avaldatud
	PM2 või KM2	6	3	3	Ei ole avaldatud

Kordustäpsuse vabadusastme (df_{WL}) ja F leidmine

Kordustäpsuse (*within-laboratory imprecision*) hindamine põhineb tootja avaldatud andmeid.

Tuleb arvutada **tootja andmete puhul** suhe (p) järgmise valemi järgi:

$$p = SD_{WL} / SD_R \text{ või } CV_{WL} / CV_R$$

SD_{WL} ja CV_{WL} on **tootja valideerimise** protokollis kordustäpsuse (*within-laboratory, intermediate imprecision*) standardhälve ja variatsiooni kordaja

SD_R ja CV_R on **tootja valideerimise** protokollis korduvuse (*repeatability*) standardhälve ja variatsiooni kordaja.

Tabel 2. p suhte hindamine lähtudes **tootja** avaldatud andmetest

Tootja andmed	<i>Repeatability</i> Korduvus	<i>Within-laboratory imprecision</i> <i>Intermediate imprecision</i> Vaheline kordustäpsus	p -suhe
PM1 või KM1	SD_{1R} või CV_{1R}	SD_{1WL} või CV_{1WL}	SD_{1WL} / SD_{1R} või CV_{1WL} / CV_{1R}
PM2 või KM2	SD_{2R} või CV_{2R}	SD_{2WL} või CV_{2WL}	SD_{2WL} / SD_{2R} või CV_{2WL} / CV_{2R}

Pärast suhte p arvutamist tuleb leida tabelist 3 vastav vabaduse aste (df_{WL}) ja kordaja F .

Tabel 3. **Kordustäpsuse** vabaduse aste df_{WL} ja kordaja F lähtudes **tootja** $p = SD_{WL} / SD_R$ arvust ning optimaalse eesmärgi sihtmärgi puhul (5 päeva ja 5 kordust iga päev), kui on kasutatud vähemalt 2 tasemel materjale (PM1/KM1 ja PM2/KM2).

p	2,74	2,06	1,78	1,62	1,51	1,41	1,37	1,32	1,28	1,24	1,21	1,19	1,16	1,14	1,12	1,10
df_{WL}	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
F	1,60	1,55	1,51	1,48	1,45	1,43	1,41	1,39	1,38	1,37	1,35	1,34	1,33	1,32	1,31	1,31

Ülemise verifitseerimispiiri (ÜVP) arvutamine

ÜVP tuleb arvutada valemi $SD \times F$ või $CV \times F$ järgi korduvuse ja kordustäpsuse kohta eraldi.

Tabel 4 . Ülemine verifitseerimispiir

	PM1 või KM1	PM2 või KM2
Tootja andmed	SD_{1R} või CV_{1R}	SD_{2R} või CV_{2R}
Leitud F (korduvus)	Tabel 1	Tabel 1
ÜVP _R (korduvuse)	$SD_{1R} \times F$ või $CV_{1R} \times F$	$SD_{2R} \times F$ või $CV_{2R} \times F$
Leitud F (kordustäpsus)	Tabel 3	Tabel 3
ÜVP _{WL} (kordustäpsus)	$SD_{1WL} \times F$ või $CV_{1WL} \times F$	$SD_{2WL} \times F$ või $CV_{2WL} \times F$

2.Statistiliste erandite hindamine optimaalse määratluse puhul

Tabel 5. Statistiliste erandite hindamine optimaalse määratluse puhul

	Keskmine väärtus	Standardhälve	Grubbsi faktor	Grubbsi piirid	Statistilised erandid
PM1 või KM1	25 tulemuste keskmine, X_1	25 tulemuste SD	3,135	$G_{1a} = X_1 - 3,135 \times SD$ $G_{1ü} = X_1 + 3,135 \times SD$	$G_{1a} < X_{11} \dots X_{125} > G_{1ü}$
PM2 või KM2	25 tulemuste keskmine, X_2	25 tulemuste SD	3,135	$G_{2a} = X_2 - 3,135 \times SD$ $G_{2ü} = X_2 + 3,135 \times SD$	$G_{2a} < X_{21} \dots X_{225} > G_{2ü}$

LISA 3. TÕESUSE HINDAMISE KRITEERIUMID

Tabel 1. Kvantitatiivsed analüüsid

Erialasisene kokkulepe erinevuse hindamisel

Kvaliteedi tase	Bias
Optimaalne	≤10%
Soovituslik	>10 ≤30%
Minimaalne	lähtudes varasema/uue meetodi omadustest

Tabel 2. Kvalitatiivsed analüüsid

Saadud kokkulangevust tuleb hinnata.

Erialasisene kokkulepe kokkulangevuse hinnangul

Kvaliteedi tase	Kokkulangevus
Optimaalne	90-100%
Soovituslik	67-89%
Minimaalne	lähtudes varasema/uue meetodi omadustest

KASUTATUD KIRJANDUS

1. Tervishoiuteenuste korraldamise seadus (TTKS) RTI 2001,50,284 ja määrus nr. 128 „Tervishoiuteenuste kvaliteedi tagamise nõuded“
2. Meditsiinilaborid. Kvaliteedi ja kompetentsi erinõuded (ISO 15189:2022)
3. CLSI EP05-A3 Evaluation of precision of quantitative measurement procedures
4. CLSI EP15-A3 User verification of precision and estimating of bias
5. CLSI EP12-A3 User protocols for evaluation of qualitative test performance
6. CLSI GP 37-A Quality management systems: equipment
- 7 CLSI MM17 Verification and validation of multiplex nucleic acid assays
8. CLSI MM19-A Establish of molecular testing
9. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. Rabenau et al J.Clin. Virol. 2007. Oct;40(2):93-8. Epub 2007 Sep 4
10. CLSI MM 06-A2 Quantitative molecular methods for infectious diseases
11. KennyD, Fraser CG, Hytolf Petersen P, Kallner A. Consensus agreement. Scand J Clin Lab Invest 1999; 59:585
- 12.Clark, R. B., M. A. Lewinski, M. J. Loeffelholz, and R. J. Tibbetts, 2009. Cumitech 31A, Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory. Coordinating ed., S. E. Sharp. ASM Press, Washington, DC.
13. CLSI M100-S22 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing
14. CLSI M52 Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems.
15. CLSI M58-A1 Methods for the Identification of Cultured Microorganisms Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry.
- 16.Tibbetts, R. J. Verification and Validation of Tests Used in the Clinical Microbiology Laboratory. Clinical Microbiology Newsletter, 2015; 37, 19
17. Molecular Diagnostics: For the Clinical Laboratorian Coleman et al, 2006
18. RT I 1999,92,825 Toote nõuetele vastavuse tõendamise seadus.
19. CLSI I/LA26-A2 Perfomance of single cell immune response assays.
- 20 CLSI EP-09-A3 Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guidline-Third Edition, 2013.