

JUHEND

ANALÜÜTIDE VERIFITSEERIMINE MEDITSIINILABORITES

JUHENDI KOOSTAJAD: Agnes Ivanov, Mehis Bakhoff, Ingrid Hein, Kai Jõers, Tiina Kahre, Piret Kedars, Ulvi-Kaire Kongo, Liisa Kuhi, Siiri Kõljalg, Marge Kütt, Kai Lauri, Ave Lellep, Maiga Mägi, Sergei Mihhailov, Aivar Orav, Sinne Pajula, Raili Randoja, Elve Raukas, Eva Reinmaa, Kadri Rohtla, Monyca Sepp, Keiu Soorm, Pille Tammur, Karel Tomberg, Kaja Vaagen ELMÜ kvaliteedi töörühma nimel.

SISUKORD

1. EESMÄRK	1	3.4 Nakkustekitajate uuringud nukleiinhapete amplifitseerimise tehnikaga (NAT)	6	3.6.3 Verekülvi süsteemid	8
2. MÕISTED	2	Kvantitatiivsed uuringud	6	3.7 Geneetilised uuringud	8
3. TEGEVUSKIRJELDUS	2	Kordustäpsus 6		3.7.1 Molekulaargeneetika uuringud	8
3.1. Kliinilise keemia ja hematoloogia uuringud	3	Tõesus 6		Kordustäpsus 8	
Kvantitatiivsed uuringud	3	Kvalitatiivsed uuringud	6	Tõesus 8	
Kordustäpsus 3		Kordustäpsus 6		3.7.2 Tsütogeneetilised uuringud	8
Tõesus 3		Tõesus 6		3.7.2.1 Submikroskoopilised uuringud	8
Kvalitatiivsed uuringud	4	3.5 Voolutsütomeetria uuringud	6	Kordustäpsus 8	
Kordustäpsus 4		Kvantitatiivsed uuringud	6	Tõesus 8	
Tõesus 4		Kordustäpsus 6		3.7.2.2 FISH meetodil uuringud ..	8
3.2 Immuunohematoloogia uuringud	4	Tõesus 6		Kordustäpsus 8	
Kordustäpsus 4		3.6 Mikrobioloogilised uuringud	7	Tõesus 9	
Tõesus 4		3.6.1 Antibakteriaalse tundlikkuse määramine analüsaatoriga	7	Lisa 1. Kvaliteedi määratlused verifitseerimise plaani koostamisel	9
3.3 Antigeeni ja antikeha uuringud	5	Kordustäpsus 7		Lisa 2. Ülemise verifitseerimise piiri ja statistiliste erandite arvutamine	9
Kvantitatiivne meetod	5	Tõesus 7		Kasutatud kirjandus	10
Kordustäpsus 5		3.6.2 Mikroobide identifitseerimine analüsaatoriga	7		
Tõesus 5		Kordustäpsus 7			
Kvalitatiivne meetod	5	Tõesus 7			
Kordustäpsus 5					
Tõesus 5					

1. EESMÄRK

Juhendi eesmärk on analüütide verifitseerimisega seotud toimingute sätestamine meditsiinilaborites, et verifitseerimise kavandamine, läbiviimine, tulemuste analüüsimine ning hindamine toimuksid nõuetekohaselt ja sarnastest põhimõtetest lähtudes.

Käesolev juhend annab meditsiinilaborile juhiseid CE-IVD märgisega toodete verifitseerimise protseduuriks, selleks et täita standardis EVS-EN ISO 15189:2012 verifitseerimise nõuet.

2. MÕISTED

Analüüt- on laborianalüüsiks võetud proovis olev aine (komponent), mille sisaldust määratakse.

Meditsiinilabor on labor inimkehas 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 täidetud².

Verifitseerimine (nõuetekohasuse tõendamine) on objektiivse tõenduse esitamine, et määratletud nõuded on täidetud². See on kinnituse saamine selle kohta, et kõnealust meetodit asjaomastes tingimustes rakendades on võimalik püsivalt saavutada soovitud tulemusi. Verifitseerimine viiakse läbi enne meetodi tavakasutusse võtmist ja verifitseerimise käigus saadud patsienditulemusi ei väljastata.

Tõesus (trueness)- suure hulga mõõtmistulemuste saadud keskmise väärtuse ja tegeliku väärtuse vahel lähedus. Mõõdetakse süstemaatilist viga (systematic error, SE)⁴.

Kordustäpsus (precision)- sõltumatute mõõtmistulemuste lähedus üksteisele antud tingimusel. Mõõdetakse juhuslikku viga (random error, RE)⁴

Korduvus (repeatability)- kordustäpsus korduvuse tingimusel (aeg)⁴.

Vaheline kordustäpsus (intermediate precision)- kordustäpsus erinevatel tingimustel (aeg, kalibratsiooni, operaator, analüsaator)⁴

Täpsus (accuracy)- mõõtmistulemuse lähedus mõõdetava väärtuse tõesele väärtusele. Mõõdetakse koguviga (total error, TE)⁴.

Tõesus, kordustäpsus ja täpsus on kvalitatiivsed mõisted. Tõesuse kvantitatiivseks väljendamiseks on **erinevus** või **nihe (bias)**. Kordustäpsuse kvantitatiivseks väljendamiseks on **hajuvus (imprecision)**. Täpsuse kvantitatiivseks väljendamiseks on vaja nii erinevuse kui hajuvuse andmeid, sest täpsusele avaldavad mõju juhuslikud ja süstemaatilised vead koos.

Reverifitseerimine ehk osaline verifitseerimine on kasutuskohasuse tõendamine vähendatud ulatuses. Seda rakendatakse siis, kui võetakse kasutusele verifitseeritud analüüdi meetodi uus põlvkond (reaktiivide uus generatsioon) või uus analüsaator olemasoleva (verifitseeritud) analüsaatori asemel või backup-iks või kui analüsaatori asukohta laboris muudetakse. Analüsaatori remondi või asukoha muutumise puhul tuleb teostada vajalikud tehnilised kvalifitseerimisprotseduurid, mis kinnitavad analüsaatori töökoiblikkust (see on tootja hooldusinseneri pädevuses) ning viia läbi kvaliteedikontroll. ⁶ Reverifitseerimisele peab eelnema 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. Kontrollmaterjali võib valmistada ise, lisades proovimaterjalile vajalikku analüüdi või analüüte.

Kontrolltüvi (edaspidi: KT) 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. Ei ole kvaliteedi ega päritolumärk¹⁸.

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.

3. TEGEVUSKIRJELDUS

Meditsiinilabor koostab lähtudes uuringutulemuste kavatsatud kasutamiseviisist asjakohase verifitseerimisplaani ja kehtestab verifitseerimise eesmärgid.

Verifitseerimisel tuleb teostada kordustäpsuse ja tõesuse protseduurid^{7,15}. Kordustäpsus peab olema tehtud võimalusel kahel analüüdi sisaldusel (madal ja kõrge või negatiivne ja positiivne), mõnel analüüdil aga kolmel analüüdi sisaldusel (nt otsustuspiiri lähedal olev tase). Kui tõesust hinnatakse kahe meetodi võrdluste läbiviimisel ning uue meetodiga tehakse paralleelmääramisi, siis on andmed uue meetodi kordustäpsuse hindamiseks olemas. Kordustäpsuste ning hindamispäevade arv verifitseerimisel määratakse ELMÜ töörühma kvaliteedimääratlustest (minimaalne, soovituslik, optimaalne) lähtudes. Kui see on võimalik ja otstarbekas, tuleb hierarhias optimaalset ja soovituslikku taset eelistada minimaalsele tasemele. Minimaalse taseme kasutamine tuleb põhjendada. Kui mõne analüüdi puhul ei ole võimalik kasutada ELMÜ töörühma kvaliteedimääratlusi koostab labor verifitseerimise plaani, põhjendades korduste ja võrdluseks vajalike proovimaterjalide arvu vähendamist.

Mitmeparameetriliste uuringute puhul (NAT, allergia, autoimmunitet jne) peaks verifitseerimine hõlmama kliiniliselt olulisi ja/või populatsioonis enam levinud parameetreid.

Analüütide verifitseerimiseks kasutatakse üldjuhul patsientidelt saadud proovimaterjale (PM) ja/või kommerts-päritolu kontrollmaterjale (KM). Vajadusel võib meetodi (nt NAT) verifitseerimiseks 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.

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”.

Statistilise tulemuse hinnanguks on soovitatav kvantitatiivsete meetodite puhul kasutada A.Kallneri Excel-i põhists tabelarvutustarkvara (www.acb.org.uk)

3.1 Kliinilise keemia ja hematoloogia uuringud

KVANTITATIIVSED UURINGUD

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 kordusmõõtmised 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 6+6=12 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Tulemuste esitamise viis

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

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 tulemust. Soovitusliku eesmärgi puhul on lubatud välja arvata 1 tulemust. 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 ning ÜVP väärtus võib olla kuni 30% kõrgem kui tootja juhendis esitatud CV%. ÜVP arvutused on toodud Lisas 2.

Kui laboris saadud kordustäpsuse tulemused ületavad ÜVP, tuleb kasutada sihtmärke, mis põhinevad bioloogilisel varieeruvusel (www.westgard.com) ja ravijuhistel või on erialasiseselt kokku lepitud.

Eesmärkväärtused lähtudes bioloogilisest variatsioonist

Labori andmed	Bioloogiline varieeruvus	Soovituslik	Optimaalne	Minimaalne
CV1 _{WL}	CV _I	0,5 CV _I	0,25 CV _I	0,75 CV _I
CV2 _{WL}	CV _I	0,5 CV _I	0,25 CV _I	0,75 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 lisas (Lisa 1, tabel 2).

Tõesuse hinnang kontrollmaterjalidega

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 ($\leq 2SD$).

Tõesuse hinnang patsiendi materjalidega

Uue meetodi tõesust hinnatakse võrreldes mõõtetulemusi 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 sihtmärke, mis põhinevad bioloogilisel varieeruvusel ja ravijuhistel või on erialasiseselt 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, %

Erialasine kokkulepe erinevuse hindamisel

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

KVALITATIIVSED UURINGUD

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 kordusmõõtmised 2 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 12 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.

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

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

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

Võrdluste tulemused

Meetod X (eelmine)		Meetod Y (uus)			
		Positiivsed	Negatiivsed	Kokku	Kokkulangevus, %
	Positiivsed	a	b	a + b	100 x a / (a + c)
	Negatiivsed	c	d	c + d	100 x d / (b + d)
	Kokku	a + c	b + d	N	100 x (a + d) / N

Saadud kokkulangevust tuleb hinnata.

Erialasine kokkulepe erinevuse hindamisel

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

3.2 Immuunohematoloogia uuringud

Immuunohematoloogia valdkonnas verifitseeritakse olemasolevaid (laboris kasutusel olevaid) manuaalseid ja automatiseeritud analüüte tööprotsessis läbiviidud muudatuste järgselt eesmärgiga tõendada, et uuringuprotsess on jätkuvalt kontrolli all. Verifitseerimine viiakse läbi vähemalt kolmel järjestikusel päeval. Verifitseerimiseks tuleb kasutada patsientide proovimaterjali vastavalt laboris uuritavate patsientide profiilile - näiteks vastsündinud, geriaatrilised patsiendid, hematoloogilised, luudi tüvirakkude ja organtransplantatsiooni patsiendid, rasedad ning määratletud antigeense ja antikehade konfiguratsiooniga kontrollmaterjali. Uuringumaterjalid valitakse soovituslikult lahknevate või kimäärsete tulemustega, nõrkade antigeenide/veregrupi alagruppide, nõrkade ja komplekssete antikehadega ning negatiivsete antikehade sõeltesti ja kindlaksmääratud veregruppide järgi

KORDUSTÄPSUS Kordustäpsuse hinnang tuleb teha kahel tasemel (positiivne materjal ja negatiivne materjal) 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 päeva jooksul kolmel tasemel, kokku 18 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse mõõtmised 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 6 tulemust. Materjali piiratud säilivuse puhul võib teha kordusmõõtmist ühel päeval, kokku 6 tulemust.

TÕESUS ABO-veregrupi verifitseerimiseks tuleb valida vereproove igast veregrupist O ja A, B või AB. RhD kuuluvuse verifitseerimiseks on vaja RhD positiivset ja RhD negatiivset ning nõrga D ehk kinnitatud weak D variandiga

uuringumaterjali. Teiste veregruppide antigeenide või fenotüüpide määramisel tuleb valida uuritava antigeeni suhtes heterosügootselt positiivset ja negatiivset uuringumaterjali. Alloantikehade määramise verifitseerimiseks tuleb kasutada kontrollmaterjale, mis sisaldavad anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-K, anti-Fya, anti-Fyb, anti-Jka, anti-Jkb, anti-S või anti-s. Võimalusel tuleb valida kontrollmaterjal nii, et verifitseerimisel oleks kaetud iga eelpool toodud kliiniliselt oluliseks loetava antikehaga uuringumaterjal, kuid mitte vähem kui 8 erineva antikehaga kontrollmaterjali. 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. Sobivusproovide verifitseerimiseks tuleb uurida teoreetiliselt ABO mittesobiva kombinatsiooniga vereproovi ja sobivusproovi, kus ABO-mittesobivana sobitatakse nõrga ABO alagrupiga mittesobivat doonoriverd. Negatiivse sobivusproovi kontrollina kasutatakse teoreetiliselt sobivat doonoriverd. Verifitseerimiseks sobivat kontrollmaterjali võib hankida immunohematoloogia referentlaborist.

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

Tuleb hinnata saadud kokkulangevust. Kokkulangevus peab olema 100%. Lubatud erinevus on täpsustunud tulemus.

3.3 Antigeeni ja antikeha uuringud

KVANTITATIIVNE MEETOD

KORDUSTÄPSUS Optimaalse määratluse järgi teostatakse 5 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel erineval tasemel ehk ühtekokku 50 tulemust⁴. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 5 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 30 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse kordusmõõtmised 2 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 6+6=12 tulemust (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 võrdusproovimaterjali, siis otsustab proovimaterjalide arvu erialaspetsialist.

Retrospektiivsel verifitseerimisel võib tõesuse hindamiseks kasutada välise kontrolli andmeid.

Erialasisene kokkulepe erinevuse hindamisel

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

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 kordusmõõtmised 2 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 12 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).

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 lisas (Lisa 1, tabel 2).

Retrospektiivsel verifitseerimisel võib tõesuse hindamiseks kasutada välise kontrolli andmeid.

Erialasisene kokkulepe erinevuse hindamisel

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

3.4 Nakkustekitajate uuringud nukleiinhapete amplifitseerimise tehnikaga (NAT)

Kordustäpsust ja tõesust võib hinnata kasutades referentsmaterjale, kontrolltüve, kontrollmaterjale (väline kvaliteedikontroll) ja/või patsiendi proovimaterjale. Laboris kasutatavad erinevat tüüpi proovimaterjalid on kaasatud kõiki uuringu etappe (alates algmaterjalist) hõlmavasse verifitseerimisse⁷.

KVANTITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS Kordustäpsuse hinnang tuleb teha kahel (võimalusel kolmel) tasemel (kõrge kontsentratsiooniga positiivne materjal, läviväärtust pisut ületava kontsentratsiooniga ja/või madala kontsentratsiooniga allpool läviväärtust materjal ja negatiivne materjal) 3 päeva jooksul. Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel (kolmel) erineval tasemel ehk ühtekokku 18 (27) tulemust. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel (kolmel) tasemel, kokku 12 (18) tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse mõõtmised 3 päeva jooksul kahel (kolmel) tasemel, kokku 6 (9) tulemust. Materjali piiratud säilivuse puhul võib teha kordusmõõtmist ühel päeval, kokku 6 (9) tulemust (Lisa 1, tabel 1).

Retrospektiivne verifitseerimine teostada optimaalsel tasemel (hinnang antakse 18 (27)-mõõtetulemuse alusel).

TÕESUS Tõesuse hindamiseks kasutatakse nii patsiendi- kui ka kontrollmaterjali. Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas. Soovitav on 3 tasemel kontrollmaterjalid: kõrge kontsentratsiooniga positiivne materjal, läviväärtust pisut ületava kontsentratsiooniga ja/või madala kontsentratsiooniga allpool läviväärtust materjal ja negatiivne materjal. Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas. Optimaalne määratlus on 20 proovimaterjali, soovituslik määratlus on 10 proovimaterjali ja minimaalne on 6 materjali (nendest vähemalt 3 positiivset) (Lisa 1, tabel 2).

NAT puhul võrreldakse omavahel logaritmilisi tulemusi ja tulemuste tõlgendamisi.

Erialasene kokkulepe
kokkulangevuse
hindamisel

Kvaliteedi tase	Kokkulangevus
Optimaalne	kõik tulemuste tõlgendused on kokku langevad
Minimaalne	lähtudes varasema/uee meetodi omadustest

KVALITATIIVSED UURINGUD

KORDUSTÄPSUS Kordustäpsuse hinnang tuleb teha kahel tasemel (positiivne materjal ja negatiivne materjal) 3 päeva jooksul. Optimaalse määratluse järgi teostatakse 3 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kahel erineval tasemel ehk ühtekokku 18 tulemust. Soovitusliku määratluse järgi teostatakse 2 kordusmõõtmist 3 päeva jooksul kolmel tasemel, kokku 12 tulemust. Minimaalse määratluse järgi teostatakse mõõtmised 3 päeva jooksul kahel tasemel, kokku 6 tulemust. Materjali piiratud säilivuse puhul võib teha kordusmõõtmist ühel päeval, kokku 6 tulemust (Lisa 1, tabel 1).

TÕESUS Soovitav on 3 tasemel kontrollmaterjalid (tugevalt positiivne materjal, positiivne materjal alumise määramispiiri lähedal ja negatiivne materjal). Kui kordustäpsust on hinnatud kontrollmaterjalidega, siis on vajalikud andmed tõesuse hindamiseks olemas. Optimaalne määratlus on 20 proovimaterjali (10 positiivset ja 10 negatiivset), soovituslik määratlus on 6 proovimaterjali (3 positiivset ja 3 negatiivset) ja minimaalne on 3 proovimaterjali (nendest vähemalt 1 positiivne) (Lisa 1, tabel 2).

Erialasene kokkulepe
kokkulangevuse
hindamisel

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

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 lisas (Lisa 1, tabel 2).

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

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.

3.6.1 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:

$$\frac{\text{Katsete arv, milles MIK väärtus } \pm 1 \text{ lahendus, võrreldes referents MIK}}{\text{Katsete koguarv}} \times 100$$

Tulemust võib väljendada kõikide antibiootikumide ja mikroobiliikide kohta koos või eraldi

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

$$\frac{\text{Katsete arv, milles AB tundlikkuse interpretatsioon vastas referentsinterpretatsioonile}}{\text{Katsete koguarv}} \times 100$$

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 meetodika ja hindamiskriteeriumite sisseviimisel lähtuda vastavast dokumentid (<http://www.eucast.org>)

Kvaliteedi tase	Kokkulangevus
Optimaalne	$\geq 90\%$ ¹⁴
Minimaalne	lähtudes varasema/uee meetodi omadustest

3.6.2 Mikroobide identifitseerimine analüsaatoriga

KORDUSTÄPSUS Kordustäpsuse jaoks kasutada isolaate (patsiendi materjalist isolaadid ja/või kontrollmaterjalid 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). Hindamiskriteeriumid on kirjeldatud p.3.6.1.

Mikroobide tüvede automaatne identifitseerimine.

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

Kvaliteedi määratlused tõesuse plaani koostamiseks on toodud lisa (Lisa 1, tabel 2). Hindamiskriteeriumid on kirjeldatud p.3.6.1.

3.6.3 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 mikroobi vastavalt konkreetsele laborile. Verekülvipudelis 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 lisa (Lisa 1, tabel 2).

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

3.7 Geneetilised uuringud

3.7.1 Molekulaargeneetika uuringud

Molekulaargeneetiliste analüüside puhul arvestatakse, et siin on tegemist nii kvalitatiivsete, kvantitatiivsete kui ka poolkvantitatiivsete analüüsidega. Samuti arvestatakse sellega, et kvalitatiivsete analüüside puhul ei ole mitte ainult positiivne, negatiivne analüüsitulemus vaid ka heterosügoot, homosügoot või *wild type* (WT). Kui verifitseerimise käigus on analüüsitulemused kas „invalid“ märgena või ei anna üheselt mõistetavat tulemust, siis on lubatud tulemust kas mitte arvesse võtta või interpreteerida spetsialisti poolt algandmete põhjal.

KORDUSTÄPSUS Võimalusel võtta kordustäpsuse määramiseks heterosügoot, homosügoot ja WT. Kui tootja-poolne 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, olenevalt analüüsi teostamise sagedusest. Päevade sisemine kordusmõõtmine ei anna geneetiliste uuringute puhul lisaväärtust. Kvantitatiivsete ja poolkvantitatiivsete uuringute puhul tuleb lähtuda verifitseerimisplaani koostamisel sellest, kas meetod on eelnevalt verifitseeritud või millised on tootjapoolsed verifitseerimissoovitused ning piirid.

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 Juhul kui analüüsi teostamiseks on lubatud erinevad proovimaterjalid, siis peab teostama tõesuse erinevate materjalidega (v.a. juhul kui analüüs on lubatud teostada nii proovimaterjalist kui ka sama kitiga eraldatud DNast). Kui tegemist on kitiga, mis määrab samaaegselt mitut mutatsiooni (N: EGFR 59 mutatsiooni), siis kontrollida ainult Eestis enim levinud mutatsioonid/polümorfisme. Tõesuse kontrollimiseks võib kasutada nii kliinilise diagnoosiga patsiendi proove, teise meetodiga kinnitatud analüüsitulemusega proovimaterjale, konsensustulemusega välise kontrolli proovimaterjale või kontrollmaterjale.

3.7.2 Tsütogeneetilised uuringud

Geneetiliste analüüside puhul arvestatakse sellega, et mutatsioonide/polümorfismide esinemissagedus võib populatsioonis olla madal.

3.7.2.1 Submikroskoopilised uuringud

KORDUSTÄPSUS Submikroskoopiline 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.

3.7.2.2 FISH meetodil uuringud

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

TÖESUS Kui tegemist on meetodi uuendamisega, siis võrreldakse omavahel vana meetod vs uuendatud meetod. Kui tegemist on uue meetodiga, siis töesuse 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.

Lisa 1. Kvaliteedi määratlused verifitseerimise plaani koostamisel

TABEL 1. Kordustäpsuse plaan

	Proovimaterjalide tasemed-ridade arv; korduste arv päevas- n; päevade arv- k: $n_1 + n_2 + \dots + n_k$		
	Optimaalne	Soovituslik	Minimaalne
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvantitatiivne)	5+5+5+5+5 5+5+5+5+5	3+3+3+3+3 3+3+3+3+3	3+3 3+3
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvalitatiivne)	3+3+3+3+3 3+3+3+3+3 (3+3+3+3+3, cut-off)	2+2+2 2+2+2 (2+2+2, cut-off)	3+3 3+3
NAT (kvantitatiivne)	3+3+3 3+3+3 (3+3+3, cut-off)	2+2 2+2 (2+2, cut-off)	1+1+1 1+1+1 (1+1+1, cut-off)
NAT (kvalitatiivne), immuunohematoloogia	3+3+3 3+3+3	2+2 2+2	1+1+1 1+1+1
Voolutsütomeetria	3+3+3 3+3+3	3+3 3+3	3 3 3
Mikrobioloogia	3+3+3 3+3+3 3+3+3 3+3+3	3+3 3+3	3 3 3

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

	Optimaalne	Soovituslik	Minimaalne
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvantitatiivne)	40	20	6
Kliiniline keemia, Ag-Ak (kvalitatiivne)	20	10	6
NAT (kvantitatiivne)	20	10	6
NAT (kvalitatiivne)	20	6	3
Voolutsütomeetria, immuunohematoloogia	10	6	3
Mikrobioloogia	20	10	6

Lisa 2. Ülemise verifitseerimise piiri ja statistiliste erandite arvutamine

1. Ülemise verifitseerimispiiri (ÜVP) arvutamine

1. ÜVP arvutus põhineb⁴:

erinevate kordustäpsuse kategooriate nii **korduvuse** (*repeatability*) kui laborisisesse (*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** protokolliga kordustäpsuse (*within-laboratory, intermediate imprecision*) standardhälve ja variatsiooni kordaja

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

TABEL 2. p suhte hindamine lähtudes tootja avaldatud andmetest

Tootja andmed	Repeatability	Within-laboratory imprecision	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	Standard hälve	Grubbsi faktor	Grubbsi piirid	Statistilised erandid
PM1 või KM1	25 tulemuste keskmine, X_1	25 tulemuste SD	3,135	$G_{1a} = X_1 - 3,135 \times SD$ $G_{1u} = X_1 + 3,135 \times SD$	$G_{1a} < X_1, \dots, X_{125} > G_{1u}$
PM2 või KM2	25 tulemuste keskmine, X_2	25 tulemuste SD	3,135	$G_{2a} = X_2 - 3,135 \times SD$ $G_{2u} = X_2 + 3,135 \times SD$	$G_{2a} < X_2, \dots, X_{225} > G_{2u}$

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 15189:2012)
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-A2 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. Kenny D, 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. Cumi-tech 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 Performance of single cell immune response assays.