Klinik Mikrobiyoloji Laboratuarında Validasyon ve Verifikasyon Kursu
12 Kasım 2011 Cumartesi
Salon C (BUNIN SALONU)

Kursun Amacı:

Katılımcılara; klinik mikrobiyoloji laboratuarlarında doğru, geçerli ve güvenilir testlerin kullanılması için uygulanması gereken validasyon ve verifikasyon prensipleri hakkında genel bilgileri vermek ve değişik test grupları için örnekleri interaktif olarak paylaşmak.

Kurs Programı

09.00-09.20	Tanışma ve kurs programının tanıtımı	Neriman AYDIN
09.20-09.40	Tanımlar	Neriman AYDIN
09.40-10.00	Belgeler, Kurallar	Arzu SAYINER
10.00-10.20	Validasyon	Alpay ÖZBEK
10.20-10.40	Çay-Kahve arası	
10-40-11.00	Verifikasyon	Tijen ÖZACAR
11.00-11.20	Verifikasyon (Duyarlılık testleri)	Murat TELLİ
11.20-12.00	Grup çalışması	
13.00-13.50	Grup çalışmalarının sunumu	
13.50-14.10	Antibiyotik duyarlılık testi (ticari olarak üretilmiş)	Murat TELLİ
14.10-14.30	Moleküler test (laboratuarda üretilmiş)	Arzu SAYINER
14.30-14.50	Çay-Kahve arası	
14-50-15.10	Serolojik test (Kalitatif ve Kantitatif ELISA, ticari üretilmiş)	Tijen ÖZACAR
15.10-15.30	Serolojik test (ELISA, ticari, laboratuarda modifikasyon)	Alpay ÖZBEK
15.30-16.00	Genel değerlendirme ve katılım belgelerinin dağıtımı	

Kurs Sorumlusu Neriman AYDIN

TANIMLAR

Dr. Neriman AYDIN

Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

1. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi
Klinik Mikrobiyoloji Laboratuarında Validasyon Verifikasyon Kursu

In-vitro tanı

- Sürekli doğru sonuç
- Amaca uygun
- Zamanında
- Uygun maliyet

In-vitro tanı elemanları

- Kitler
- Reaktifler
- Analit spesifik reaktifler (ASR)
- Cihazlar/Makineler
- Kalibratörler

Analit

- Bir örnekteki ölçümü yapılacak veya gösterilecek bileşen veya organizma
  - Antijen
  - Antikor
  - Nükleik asit
  - Enzim
  - Suş
  - Metabolik ürün

Analit spesifik reaktifler (ASR)

- Analitin ortaya konması için gerekli maddeler
  - Antikor (monoklonal/poliklonal)
  - Spesifik reseptör proteinleri
  - Ligandlar
  - Nükleik asit sekansları
  - vb
- Laboratuvar temelli testlerin ana elemanları

Test tipleri

- Tanı için onaylı (CE/FDA onaylı)
- Laboratuvarda geliştirilen
- Sadece araştırma amaçlı
- Kullanıcı tarafından değiştirilen onaylı

Laboratuvarda geliştirilmiş test

- “in-house” test
  - Ticari ürünle veya laboratuvda üretilen reaktifle
- Yoğun verifikasyon işlemleri gerektirir
- Araştırma veya deneme amaçlı ürünlerle yapılabilir
  - “For investigational use only”-IUO veya “For research use only”-RUO olarak sayılmaz

Yeni test

- Bir laboratuvarda önceden kullanılmamış test
- Yöntem veya uygulama değişikliği
- Referans laboratuvarında kullanılmış bir “in house” testin kullanılması

  – Yeni bir analitin araştırılması/tanımlanması
  – Yeni bir metodolojinin kullanılması
  – Bir analitin yeni bir yaklaşımla araştırılması
  – “Manuel” metoddan otomatik medoda geçme
  – Var olan teknolojiye yeni bir uygulama
  – Bir testi yeni “matrix”te uygulama (farklı örnekte)

Eski test

- Laboratuvarda kullanılmakta olan analit vb
  - (ABD'de 24 Nisan 2003'ten önce/CLIA)
- Verifikasyon/performans özelliklerini belirlemek gerekli değil

Kalite Güvencesi

- Laboratuvar testlerinin sürekli olarak takip edilmesi ve geliştirilmesi
  - Güvenirlik
  - Etkinlik/verimlilik
  - Klinik yarar
- Validasyon

Altın standart

- Doğru tanı yöntemi
  - Güncel olarak kabul edilen
  - %100 doğru olması gerekli değil
- Referans yöntem olarak kullanılır

  - Yeni bir test altın standarttan daha doğru olabilir
    - Yanlış pozitif/yanlış negatif hangi testte?
    - Hastalığın gerçekliği bilinmiyorsa hangi test doğru?
    - Üçüncü test “gerçek” altın standart olabilir mi?
    - Yeni test gerçek altın standart mı?

Referans yöntem

- Bir yöntemin doğruluğunu değerlendirmek için kullanılan referans yöntem veya referans materyal
  - Doğru tanımlama için gerekli koşulları ve prosedürü kesin ve açık olarak belirlenmiş
  - Doğruluk ve kesinlik değerleri belirlenmiş

- Bir yöntem kabul edilebilir doğruluk ve kesinlik değerleri hakemli dergilerde yayınlanmadıkça referans yöntem olarak kabul edilmez

İnsidans

- Bir zaman dilimindeki yeni vakalar
- İnsidans hızı/yeni vaka

Prevalans

- Popülasyondaki hastalık sıklığı
  - Nokta prevalans
  - Zaman dilimi prevalansı

Doğruluk (Accuracy)

- Teknik doğruluk
  - Bir testin gerçek doğruya yakınlığı
    - Referans metoda göre
    - İki test arasında
- Klinik doğruluk
  - Bir testin bir analit veya hastalık için karar verme ve dışlama yeteneği

Doğruluk ("Accuracy")

$$\frac{\text{Doğru sonuçların sayısı}}{\text{Toplam sayı}} \times 100$$

Kesinlik (Precision)

- Bir analitin aynı prosedür ile tekrarlanması ile elde edilen sonuçları arasındaki uyum
  - Çalışma içi (“intra assay”)
  - Çalışmalar arasında (“inter assay)

$$\frac{\text{Uyumlu sonuç sayısı}}{\text{Toplam sonuç sayısı}} \times 100$$

Kesinlik (Precision)

Doğruluğu (accuracy) garanti etmez

- Tekrarlanabirlik (reproducubility) ile aynı anlama gelir
  - Kesinlik-kantitatif testler
  - Tekrarlanabilirlik-kalitatif testler
- Bir testi hastanın izlemi ve yönetiminde kullanılabilmek için gerekli

Duyarlılık

- Testin gerçek pozitifleri saptayabilme oranı
- Testin saptadığı pozitiflerin, tüm pozitiflere oranı
  - Klinik duyarlılık
    - Bir testin spesifik bir hastalığı olanlarda hastalığı doğru olarak belirleme yeteneği
  - Analitik duyarlılık
    - Küçük miktarların ölçülebilmesi/saptama sınırı

$$\frac{\text{Gerçek pozitif sayısı}}{\text{Gerçek pozitif sayısı+yanlış negatif sayısı}} \times 100$$

Saptama sınırı (Analitik duyarlılık)

Saptanabilen en düşük konsantrasyon (≥%95)

(…ng/ml, …IU/ml)

Kantitasyon sınırları (Dinamik aralık)

Kabul edilebilir doğruluk ve güvenilirlikte saptanan en düşük ve en yüksek düzeyler

Özgüllük

- Testin gerçek negatifleri saptayabilme oranı
- Testin saptadığı gerçek negatiflerin tüm negatiflere oranı
  - Klinik özgüllük
    - İnfekte olmayan tüm hastaları doğru tanımlama yeteneği
  - Analitik özgüllük
    - Analitik metodun ölçülmesi tasarlanmış analiti saptama yeteneği

$$\frac{\text{Gerçek negatifler}}{\text{Gerçek negatifler+ yanlış pozitifler}} \text{ X100}$$

Pozitif Prediktif değer/ Pozitif tahmin değeri

- Testin saptadığı pozitiflerin gerçekten pozitif olma olasılığı

$$\frac{\text{Gerçek pozitif}}{\text{Gerçek pozitif+yanlış pozitif}} \text{ X100}$$

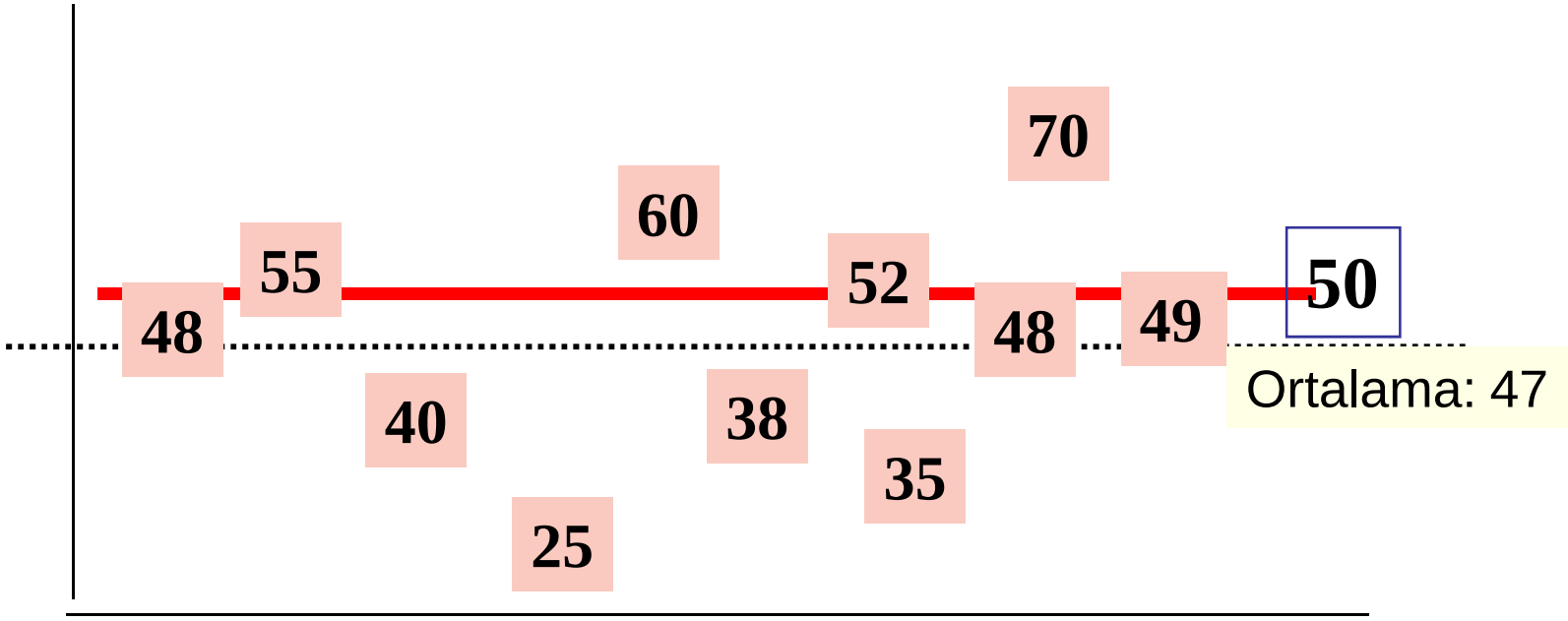
  - Prevalans ve özgüllükten etkilenir

Negatif Prediktif Değer/ Negatif tahmin değeri

- Testin saptadığı negatiflerin gerçekten negatif olma olasılığı

$$\frac{\text{Gerçek negatif}}{\text{Gerçek negatif+yanlış negatif}} \times 100$$

Prevalans ve duyarlılıktan etkilenir



STANDART SAPMA (SD) ±

SD = 12.7

("Standard Deviation")
Değişkenliğin (dağılımın) ölçümü =
Ölçülen populasyondaki değişikliğin pozitif kare kökü (+/-)
SD= √ [Σ(a-b)2/n-1)]

DEĞİŞKENLİK KATSAYISI (CV)

CV = %27

("Coefficient of Variation") (%)
Standart sapmanın ortalamaya oranı

Validasyon (Onaylama)

- Farklı tanımlar var
- Metod/test performansının sürekli sağlanması (Cumitech 31A)
  - Test hala çalışıyor mu?
    - Kalite kontrol işlemleri (günlük, haftalık, aylık)
    - Yeterlilik testleri
    - Alet temizliği/kalibrasyonu
    - Çalışan yetkinlik testleri
    - ……
    - ……

Verifikasyon (Doğrulama)

- Bir testen beklenen performansı doğrulama
- Test çalışıyor mu?
  - Onaylı testler
  - Onaylı testlerde değişiklik
  - Laboratuvara geliştirilen testler
  - Sadece araştırma amaçlı testler

Kaynak

Cumitech 31 A

Verfication and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory, 2009, ASM Press, Washington, USA.