

Tikralaikės PGR metodų validacija ir verifikacija klinikinėje laboratorijoje: reikalavimai ir iššūkiai

qRT-PCR method validation and verification in clinical laboratory: requirements and challenges

Vaiva Patamsytė

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Kardiologijos institutas, Molekulinės kardiologijos laboratorija

Lithuanian University of Health Sciences, Institute of Cardiology, Laboratory of Molecular Cardiology

El. paštas.: vaiva.patamsyte@lsmu.lt

Tikralaikė polimerazės grandininės reakcija yra plačiai taikomas metodas molekulinėje diagnostikoje infekcinių ligų, onkologinių ir genetinių tyrimų srityse. Siekiant užtikrinti rezultatų patikimumą klinikinėje aplinkoje, būtina užtikrinti metodų validaciją ir verifikaciją, vadovaujantis tarptautiniais standartais. ISO 20395:2019 standartas apibrėžia aiškius reikalavimus nukleorūgščių kiekybinės analizės metodų validacijai, įskaitant tikralaikę polimerazės grandininės reakciją, tuo tarpu Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (ES) 2017/746 dėl *in vitro* diagnostikos medicinos priemonių įpareigoja klinikines laboratorijas atlikti metodų verifikaciją prieš jų pritaikymą diagnostinėje praktikoje.

Validacijos procesas apima šiuos esminius parametrus: (1) analitinį preciziškumą – tyrimų pakartojamumą ir atkuriamumą tarp skirtingų tyrimų dienų, operatorių ar prietaisų; (2) tikslumą – matuojamų reikšmių nukrypimą nuo žinomos reikšmės (vidinės kontrolės); (3) specifiškumą ir jautrumą – gebėjimą atpažinti tikslinę seką ir atskirti ją nuo kitų, nespecifinių nukleorūgščių; (4) aptikimo ribą ir kiekybinę ribą – mažiausią analitės koncentraciją, kurią galima patikimai aptikti arba kiekybiškai įvertinti; (5) patikimumą – metodo atsparumą techniniams svyravimams ar mėginio degradacijai. Tuo tarpu verifikacijos tikslas – įsitikinti, kad metodas konkrečioje laboratorijoje veikia pagal gamintojo arba pačios laboratorijos nustatytus parametrus. Didžiausi

iššūkiai kyla užtikrinant rezultatų pakartojamumą, ypač dirbant su mažos koncentracijos mėginiais ar sudėtingomis matricomis.

Efektyvi tikralaikės polimerazės grandininė reakcijos validacija ir verifikacija yra neatsiejama nuo pacientų saugos, klinikinių sprendimų priėmimo kokybės ir laboratorijų atitikties Europos Parlamento ir Tarybos reglamentui 2017/746.

Reikšminiai žodžiai: ISO 20395:2019, (ES) 2017/746, preciziškumas, tikslumas, specifiškumas, jautrumas, patikimumas