

cobas[®] MPX TYRIMO SU cobas[®] 6800 Systems
PATIKRINIMO PLANAS

Organizacijos pavadinimas ir adresas:

VIEŠOJI ĮSTAIGA NACIONALINIS KRAUJO CENTRAS
ŽOLYNO G. 34, VILNIUS

Patikrinimo planą parengė ir suderino:

UAB "Roche Lietuva"

VšĮ Nacionalinis kraujo centras

(pareigos, vardas, pavardė, parašas, data)

(pareigos, vardas, pavardė, parašas, data)

Patvirtino:

Patikrinimo planą peržiūrėjo ir patvirtino šie asmenys:

Kraujo laboratorinio ištyrimo skyriaus vedėjas

Kokybės užtikrinimo skyriaus vedėjas

INFORMACIJA APIE DOKUMENTĄ

cobas[®]MPX tyrimas patikrinamas vadovaujantis šiame dokumente nurodytu tyrimo metodo patikrinimo planu. Tyrimo metodo patikrinimo metu bus tikrinama ar atliekant tyrimus su turima įranga, turimomis sąlygomis, dirbant skirtingiems darbuotojams įmanoma pasiekti reagentų gamintojo instrukcijoje nurodytas funkcionalumo charakteristikas.

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimas atliekamas su cobas[®]6800 System. cobas[®]MPX yra kokybinis sudėtinis *in vitro* tyrimas, skirtas donorų mėginių atrankiniam ištyrimui dėl ŽIV-1 M grupės RNR, ŽIV-1 O grupės RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR plazmos ir serumo mėginiuose.

DOKUMENTACIJA

Ruošiant tyrimo metodo patikrinimo protokolą remtasi European Pharmacopoeia 7.0 (07/2010:20621) 2.6.21 skyriaus *Nucleic Acid Amplification Techniques* rekomendacijomis.

ĮRANGA

- cobas[®] 6800 sistema (kat. nr. 05524245001, 06301037001, 06349595001), serijos numeris 1149;
- cobas p680 instrumentas (kat. nr. 06570577001), serijos numeris 7924;
- SW cobas[®] 6800/8800 v1.4.7 (kat. nr. 09277137001);
- SW cobas Synergy App. v.1.5 (IVD) (kat. nr. 09490809001)
- SW cobas[®] MPX ASAP v12.2.0 (kat. nr. 09396250001).

MEDŽIAGOS

- Kvirtasis PSO tarptautinis standartas ŽIV-1 NAT tyrimams, NIBSC kodas: 16/194. Koncentracija $1,259 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HIV-1 16-194.pdf).
- Antrasis PSO tarptautinis standartas ŽIV-2 NAT tyrimams, NIBSC kodas: 16/296. Koncentracija $1,442 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HIV-2 16-296.pdf).
- Kvirtasis PSO tarptautinis standartas HBV NAT tyrimams, NIBSC kodas: 10/266. Koncentracija $9,55 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HBV 10-266.pdf).
- Šeštasis PSO tarptautinis standartas HCV NAT tyrimams, NIBSC kodas: 18/184. Koncentracija $2,57 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HCV 18-184.pdf).
- Šviežiai šaldytos žmogaus plazmos kaupiniai, nereaktyvūs dėl HCV RNR, ŽIV RNR, HBV DNR, (National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)).

PRIEMONĖS

cobas[®] 6800 Systems reagentai ir priemonės

1 lentelė

Katalogo numeris	Pavadinimas	Partijos numeris	Galiojimo laikas
6997511190	cobas omni Specimen Diluent		
6997538190	cobas omni Lysis Reagent		
6997503190	cobas omni Wash Reagent		
6997546190	cobas omni MGP Reagent		
5534925001	cobas omni Pipette Tips		
5534917001	cobas omni Processing Plate		
5534941001	cobas omni Amplification Plate		
9051554190	cobas [®] NHP Negative Control Kit		
9040846190	cobas [®] MPX Control Kit		
9040862190	cobas [®] MPX		
6438776001	Secondary tubes		

Papildomos priemonės

- X500 MICROTUBE NATURAL 5 ml (kat. nr. 11926955, Fisher Scientific) arba ekvivalentas;
- X500 Centrifuge Tube, 15 ml (kat. nr. 11765075, Fisher Scientific) arba ekvivalentas;
- Kintamo tūrio pipetė „Hirschmann labopette“, Nr. 15504817, matavimo ribos 100 ÷ 1000 µl arba ekvivalentas;
- Automatinės pipetės antgaliai ZAP Premier LTS Tips, 100 ÷ 1200 µl (sterilūs, be DNazių ir RNAzių) arba ekvivalentas.

Visos patikrinimui naudotos medžiagos ir priemonės laikomos ir transportuojamos laikantis jų gamintojo naudojimo instrukcijose nurodytų laikymo ir transportavimo reikalavimų.

ŽIV-1 RNR nustatymo naudojant cobas[®]MPX tyrimą patikrinimo planas

Žinomos koncentracijos tirpalų paruošimas

Žinomos koncentracijos tirpalai paruošiami atliekant serijinius ŽIV-1 RNR referentinio standarto (ketvirtasis PSO tarptautinis standartas ŽIV-1 NAT tyrimams, NIBSC kodas: 16/194. Koncentracija $1,259 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HIV-1 16-194.pdf) skiedimus nereaktyvia žmogaus plazma (NIBSC).

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimas ŽIV-1 RNR nustatymui

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimo metu vertinamos šios tyrimo metodo funkcionalumo charakteristikos:

1. Glaudumas (angl. *Precision*);
2. Tikslumas (angl. *Accuracy*): diagnostinis specifiškumas, diagnostinis jautrumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė, aptikimo riba;
3. Patikimumas (angl. *Robustness*);
4. Kryžminis užterštumas (angl. *Cross-contamination*).

Patikrinimas atliekamas naudojant cobas[®]MPX sudėtinį ŽIV-1 M grupės RNR, ŽIV-1 O grupės RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR nukleorūgščių tyrimą. Tai kokybinis ŽIV-1 RNR tyrimo metodas.

1. Glaudumas (angl. *precision*) yra atkuriamumas – tai yra atsitiktinės klaidos diapazono nustatymo procesas. Glaudumas išreiškiamas teigiamų rezultatų atkartojamumu procentais (%).

cobas[®]MPX tyrimo metodo gamintojo nurodomas glaudumas (atkartojamumas) įvertinamas panaudojant 3 ŽIV-1 RNR koncentracijų mėginius: $0,5 \times LoD$ – [72,2 – 91,7]% $1,0 \times LoD$ – [94,4 – 100]%; $3,0 \times LoD$ – 100%.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje atkartojamumui nustatyti naudojami trijų ŽIV-1 RNR koncentracijų mėginiai: 77,1 TV/mL; 25,7 TV/mL ir 12,85 TV/mL. Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams. Iš viso gaunami 24 kiekvienos koncentracijos mėginio rezultatai. Apskaičiuojant mėginių, kuriems gautas teigiamas ŽIV rezultatas, procentą, įvertinama, ar teigiamas rezultatas atitinka gamintojo nurodytą atkartojamumo intervalą.

Priimtino kriterijai: Gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė yra palyginama su gamintojo pateikta atkartojamumo verte. Laboratorijoje gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė turi patekti į gamintojo nurodytus atkartojamumo intervalus. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

2. Tikslumas (angl. *Accuracy*) yra tikrosios vertės nustatymas tiriamajai medžiagai. Tikslumo patvirtinimas užtikrina, kad tyrimo rezultatai yra teisingi ir patikimi. Tyrimo metodo tikslumą apibrėžia jo jautrumas, specifiškumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė ir aptikimo riba.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje cobas®MPX tyrimo metodo ŽIV-1 diagnostinio jautrumo, specifiškumo, neigiamos prognostinės vertės ir teigiamos prognostinės vertės įvertinimui tirama 100 ŽIV-1 RNR nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 58 skirtingos, už LoD didesnės (2570 TV/ml – 10 mėg.; 77,1 TV/ml – 24 mėg; 25,7 TV/ml – 24 mėg.) koncentracijos ŽIV-1 RNR teigiamų mėginių.

cobas®MPX tyrimo metodo diagnostinis jautrumas ŽIV-1 įvertinamas apskaičiuojant teisingai teigiamų rezultatų dažnį.

cobas®MPX tyrimo metodo diagnostinis specifiškumas ŽIV-1 įvertinamas apskaičiuojant teisingai neigiamų rezultatų dažnį.

Įvertinama cobas®MPX tyrimo metodo teigiama prognostinė vertė ŽIV-1 ir neigiama prognostinė vertė ŽIV-1.

cobas®MPX tyrimo metodo aptikimo ribos įvertinimui naudojamos 3 ŽIV-1 žinomos koncentracijos mėginių skiedimų serijos (77,1 TV/mL; 25,7 TV/mL ir 12,85 TV/mL). Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams, taip gaunant po 24 tyrimų rezultatus kiekvienam tiriamam ŽIV-1 koncentracijos mėginiui. cobas®MPX tyrimo metodo aptikimo riba (95% patikimumo intervalui) apskaičiuojama naudojant statistinį įvertinimo metodą pagrįstą atsako ir tiesės krypties koeficiento standartiniu nuokrypiu (angl. *based on SD of the response and the slope*).

Priimtino kriterijai: Nustatyta aptikimo riba (mažiausia ŽIV-1 koncentracija, kuri aptinkama 95% tiriamų mėginių) turi būti žemesnė arba lygi gamintojo nurodytai vertei (ŽIV-1 LoD – 25,7 TV/ml). Nereaktyvios žmogaus plazmos kaupiniuose neturi būti aptikta ŽIV-1 RNR (diagnostinis specifiškumas lygus 100%). Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

3. Patikimumas (angl. *Robustness*) nusako analitinio tyrimo procedūros gebėjimą likti nepakitusia nepaisant smulkių metodo parametrų svyravimų ir nurodo tyrimo metodo patikimumą jį naudojant įprastinėmis laboratorijos sąlygomis.

cobas®MPX tyrimo metodo patikimumas įvertintas remiantis Eur. Ph. Versija 7.0. 2.6.21. skyriuje nurodytais reikalavimais kokybinių tyrimų patikimumo patikrinimui, tiriant 20 3x LoD koncentracijos (77,1 TV/mL) ŽIV-1 RNR mėginių.

Priimtino kriterijai: Visi 20 ištirtų 3x LoD koncentracijos (77,1 TV/mL) ŽIV-1 RNR mėginių turi turėti teigiamą ŽIV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

4. Kryžminis užterštumas (angl. *cross-contamination*) nurodo tikimybę, kad tyrimo atlikimo metu tiriamoji analizė iš vieno mėginio gali patekti į kitą mėginį ir būti jame identifikuota.

cobas[®]MPX tyrimo metodo kryžminio užterštumo įvertinimui vieno sistemos paleidimo metu tiriama 10 ŽIV-1 neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 10 aukštos ŽIV-1 koncentracijos (2570 TV/mL; 10² kartų didesnė nei ŽIV-1 RNR aptikimo riba) mėginių, mėginius į sistemą įkeliant šachmatų principu (teigiami mėginiai išsidėstę greta neigiamų).

Priimtino kriterijai: Visi 10 ištirtų ŽIV-1 neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių turi turėti neigiamą ŽIV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

ŽIV-2 RNR nustatymo naudojant cobas[®]MPX tyrimą patikrinimo planas

Žinomos koncentracijos tirpalų paruošimas

Žinomos koncentracijos tirpalai paruošiami atliekant serijinius ŽIV-2 RNR referentinio standarto (antrasis PSO tarptautinis standartas ŽIV-2 NAT tyrimams, NIBSC kodas: 16/296. Koncentracija $1,442 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HIV-2 16-296.pdf)) skiedimus nereaktyvia žmogaus plazma (NIBSC).

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimas ŽIV-1 RNR nustatymui

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimo metu vertinamos šios tyrimo metodo funkcionalumo charakteristikos:

1. Glaudumas (angl. *Precision*);
2. Tikslumas (angl. *Accuracy*): diagnostinis specifiškumas, diagnostinis jautrumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė, aptikimo riba;
3. Patikimumas (angl. *Robustness*);
4. Kryžminis užterštumas (angl. *Cross-contamination*).

Patikrinimas atliekamas naudojant cobas[®]MPX sudėtinį ŽIV-1 M grupės RNR, ŽIV-1 O grupės RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR nukleorūgščių tyrimą. Tai kokybinis ŽIV-2 RNR tyrimo metodas.

1. Glaudumas (angl. *precision*) yra atkuriamumas – tai yra atsitiktinės klaidos diapazono nustatymo procesas. Glaudumas išreiškiamas teigiamų rezultatų atkartojamumu procentais (%).

cobas[®]MPX tyrimo metodo gamintojo nurodomas glaudumas (atkartojamumas) įvertinamas panaudojant 3 ŽIV-2 RNR koncentracijų mėginius: $0,5 \times \text{LoD}$ – [69,4 – 80,0]% $1,0 \times \text{LoD}$ – [97,2 – 100]%; $3,0 \times \text{LoD}$ – 100%.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje atkartojamumui nustatyti naudojami trijų ŽIV-2 RNR koncentracijų mėginiai: 12,0 TV/mL; 4,0 TV/mL ir 2,0 TV/mL. Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams. Iš viso gaunami 24 kiekvienos koncentracijos mėginio rezultatai. Apskaičiuojant mėginių, kuriems gautas teigiamas ŽIV rezultatas, procentą, įvertinama, ar teigiamas rezultatas atitinka gamintojo nurodytą atkartojamumo intervalą.

Priimtino kriterijai: Gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė yra palyginama su gamintojo pateikta atkartojamumo verte. Laboratorijoje gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė turi patekti į gamintojo nurodytus atkartojamumo intervalus. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

2. Tikslumas (angl. *Accuracy*) yra tikrosios vertės nustatymas tiriamajai medžiagai. Tikslumo patvirtinimas užtikrina, kad tyrimo rezultatai yra teisingi ir patikimi. Tyrimo metodo tikslumą apibrėžia jo jautrumas, specifiškumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė ir aptikimo riba.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje cobas®MPX tyrimo metodo ŽIV-2 diagnostinio jautrumo, specifiškumo, neigiamos prognostinės vertės ir teigiamos prognostinės vertės įvertinimui tirama 100 ŽIV-2 RNR nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 58 skirtingos, už LoD didesnės (400 TV/ml – 10 mėg.; 12 TV/ml – 24 mėg.; 4 TV/ml – 24 mėg.) koncentracijos ŽIV-2 RNR teigiamų mėginių.

cobas®MPX tyrimo metodo diagnostinis jautrumas ŽIV-2 įvertinamas apskaičiuojant teisingai teigiamų rezultatų dažnį.

cobas®MPX tyrimo metodo diagnostinis specifiškumas ŽIV-2 įvertinamas apskaičiuojant teisingai neigiamų rezultatų dažnį.

Įvertinama cobas®MPX tyrimo metodo teigiama prognostinė vertė ŽIV-2 ir neigiama prognostinė vertė ŽIV-2.

cobas®MPX tyrimo metodo aptikimo ribos įvertinimui naudojamos 3 ŽIV-2 žinomos koncentracijos mėginių skiedimų serijos (12 TV/mL; 4 TV/mL ir 2 TV/mL). Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams, taip gaunant po 24 tyrimų rezultatus kiekvienam tiriamam ŽIV-2 koncentracijos mėginiui. cobas®MPX tyrimo metodo aptikimo riba (95% patikimumo intervalui) apskaičiuojama naudojant statistinį įvertinimo metodą pagrįstą atsako ir tiesės krypties koeficiento standartiniu nuokrypiu (angl. *based on SD of the response and the slope*).

Priimtino kriterijai: Nustatyta aptikimo riba (mažiausia ŽIV-2 koncentracija, kuri aptinkama 95% tiriamų mėginių) turi būti žemesnė arba lygi gamintojo nurodytai vertei (ŽIV-2 LoD – 4 TV/ml). Nereaktyvios žmogaus plazmos kaupiniuose neturi būti aptikta ŽIV-2 RNR (diagnostinis specifiškumas lygus 100%). Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

3. Patikimumas (angl. *Robustness*) nusako analitinio tyrimo procedūros gebėjimą likti nepakitusia nepaisant smulkių metodo parametrų svyravimų ir nurodo tyrimo metodo patikimumą jį naudojant įprastinėmis laboratorijos sąlygomis.

cobas®MPX tyrimo metodo patikimumas įvertintas remiantis Eur. Ph. Versija 7.0. 2.6.21. skyriuje nurodytais reikalavimais kokybinių tyrimų patikimumo patikrinimui, tiriant 20 3x LoD koncentracijos (12 TV/mL) ŽIV-2 RNR mėginių.

Priimtino kriterijai: Visi 20 ištirtų 3x LoD koncentracijos (12 TV/mL) ŽIV-2 RNR mėginių turi turėti teigiamą ŽIV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

4. Kryžminis užterštumas (angl. *cross-contamination*) nurodo tikimybę, kad tyrimo atlikimo metu tiriamoji analizė iš vieno mėginio gali patekti į kitą mėginį ir būti jame identifikuota.

cobas®MPX tyrimo metodo kryžminio užterštumo įvertinimui vieno sistemos paleidimo metu tiriama 10 ŽIV-2 neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 10 aukštos ŽIV-2 koncentracijos (400 TV/mL; 10^2 kartų didesnė nei ŽIV-2 RNR aptikimo riba) mėginių, mėginius į sistemą įkeliant šachmatų principu (teigiami mėginiai išsidėstę greta neigiamų).

Priimtino kriterijai: Visi 10 ištirtų ŽIV-1 neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių turi turėti neigiamą ŽIV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

HBV DNR nustatymo naudojant cobas®MPX tyrimą patikrinimo planas

Žinomos koncentracijos tirpalų paruošimas

Žinomos koncentracijos tirpalai paruošiami atliekant serijinius HBV DNR referentinio standarto (Ketvirtasis PSO tarptautinis standartas HBV NAT tyrimams, NIBSC kodas: 10/266. Koncentracija $9,55 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HBV 10-266.pdf)) skiedimus nereaktyvia žmogaus plazma (NIBSC).

cobas®MPX tyrimo metodo patikrinimas HBV DNR nustatymui

cobas®MPX tyrimo metodo patikrinimo metu vertinamos šios tyrimo metodo funkcionalumo charakteristikos:

1. Glaudumas (angl. *Precision*);
2. Tikslumas (angl. *Accuracy*): diagnostinis specifiškumas, diagnostinis jautrumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė, aptikimo riba;
3. Patikimumas (angl. *Robustness*);
4. Kryžminis užterštumas (angl. *Cross-contamination*).

Patikrinimas atliekamas naudojant cobas®MPX sudėtinį ŽIV-1 M grupės RNR, ŽIV-1 O grupės RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR nukleorūgščių tyrimą. Tai kokybinis HBV DNR tyrimo metodas.

1. Glaudumas (angl. *precision*) yra atkuriamumas – tai yra atsitiktinės klaidos diapazono nustatymo procesas. Glaudumas išreiškiamas teigiamų rezultatų atkartojamumu procentais (%).

cobas®MPX tyrimo metodo gamintojo nurodomas glaudumas (atkartojamumas) įvertinamas panaudojant 3 HBV DNR koncentracijų mėginius: $0,5 \times \text{LoD}$ – [72,2 – 80,6]% $1,0 \times \text{LoD}$ – 100%; $3,0 \times \text{LoD}$ – 100%.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje atkartojamumui nustatyti naudojami trijų HBV DNR koncentracijų mėginiai: 4,2 TV/mL; 1,4 TV/mL ir 0,7 TV/mL. Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams. Iš viso gaunami 24 kiekvienos koncentracijos mėginio rezultatai. Apskaičiuojant mėginių, kuriems gautas teigiamas HBV rezultatas, procentą, įvertinama, ar teigiamas rezultatas atitinka gamintojo nurodytą atkartojamumo intervalą.

Priimtino kriterijai: Gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė yra palyginama su gamintojo pateikta atkartojamumo verte. Laboratorijoje gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė turi patekti į gamintojo nurodytus atkartojamumo intervalus. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

2. Tikslumas (angl. *Accuracy*) yra tikrosios vertės nustatymas tiriamajai medžiagai. Tikslumo patvirtinimas užtikrina, kad tyrimo rezultatai yra teisingi ir patikimi. Tyrimo metodo tikslumą apibrėžia jo jautrumas, specifiškumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė ir aptikimo riba.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje cobas[®]MPX tyrimo metodo HBV diagnostinio jautrumo, specifiškumo, neigiamos prognostinės vertės ir teigiamos prognostinės vertės įvertinimui tiriama 100 HBV DNR nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 58 skirtingos, už LoD didesnės (140 TV/ml – 10 mėg.; 4,2 TV/ml – 24 mėg.; 1,4 TV/ml – 24 mėg.) koncentracijos HBV DNR teigiamų mėginių.

cobas[®]MPX tyrimo metodo diagnostinis jautrumas HBV įvertinamas apskaičiuojant teisingai teigiamų rezultatų dažnį.

cobas[®]MPX tyrimo metodo diagnostinis specifiškumas HBV įvertinamas apskaičiuojant teisingai neigiamų rezultatų dažnį.

Įvertinama cobas[®]MPX tyrimo metodo teigiama prognostinė vertė HBV ir neigiama prognostinė vertė HBV.

cobas[®]MPX tyrimo metodo aptikimo ribos įvertinimui naudojamos 3 HBV žinomos koncentracijos mėginių skiedimų serijos (4,2 TV/mL; 1,4 TV/mL ir 0,7 TV/mL). Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams, taip gaunant po 24 tyrimų rezultatus kiekvienam tiriamam HBV koncentracijos mėginiui. cobas[®]MPX tyrimo metodo aptikimo riba (95% patikimumo intervalui) apskaičiuojama naudojant statistinį įvertinimo metodą pagrįstą atsako ir tiesės krypties koeficiento standartiniu nuokrypiu (angl. *based on SD of the response and the slope*).

Priimtino kriterijai: Nustatyta aptikimo riba (mažiausia HBV koncentracija, kuri aptinkama 95% tiriamų mėginių) turi būti žemesnė arba lygi gamintojo nurodytai vertei (HBV LoD – 1,4 TV/ml). Nereaktyvios žmogaus plazmos kaupiniuose neturi būti aptikta HBV DNR (diagnostinis specifiškumas lygus 100%). Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

3. Patikimumas (angl. *Robustness*) nusako analitinio tyrimo procedūros gebėjimą likti nepakitusia nepaisant smulkių metodo parametrų svyravimų ir nurodo tyrimo metodo patikimumą jį naudojant įprastinėmis laboratorijos sąlygomis.

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikimumas įvertintas remiantis Eur. Ph. Versija 7.0. 2.6.21. skyriuje nurodytais reikalavimais kokybinių tyrimų patikimumo patikrinimui, tiriant 20 3x LoD koncentracijos (4,2 TV/mL) HBV DNR mėginių.

Priimtino kriterijai: Visi 20 ištirtų 3x LoD koncentracijos (4,2 TV/mL) HBV DNR mėginių turi turėti teigiamą HBV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

4. Kryžminis užterštumas (angl. *cross-contamination*) nurodo tikimybę, kad tyrimo atlikimo metu tiriamoji analizė iš vieno mėginio gali patekti į kitą mėginį ir būti jame identifikuota.

cobas[®]MPX tyrimo metodo kryžminio užterštumo įvertinimui vieno sistemos paleidimo metu tiriama 10 HBV neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 10 aukštos HBV koncentracijos (140 TV/mL; 10^2 kartų didesnė nei HBV DNR aptikimo riba) mėginių, mėginius į sistemą įkeliant šachmatų principu (teigiami mėginiai išsidėstę greta neigiamų).

Priimtino kriterijai: Visi 10 ištirtų HBV neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių turi turėti neigiamą HBV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

HCV RNR nustatymo naudojant cobas[®]MPX tyrimą patikrinimo planas

Žinomos koncentracijos tirpalų paruošimas

Žinomos koncentracijos tirpalai paruošiami atliekant serijinius HCV RNR referentinio standarto (šeštasis PSO tarptautinis standartas HCV NAT tyrimams, NIBSC kodas: 18/184. Koncentracija $2,57 \times 10^5$ TV/ml (Žr. HCV 18-184.pdf) skiedimus nereaktyvia žmogaus plazma (NIBSC).

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimas HCV RNR nustatymui

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikrinimo metu vertinamos šios tyrimo metodo funkcionalumo charakteristikos:

1. Glaudumas (angl. *Precision*);
2. Tikslumas (angl. *Accuracy*): diagnostinis specifiškumas, diagnostinis jautrumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė, aptikimo riba;
3. Patikimumas (angl. *Robustness*);
4. Kryžminis užterštumas (angl. *Cross-contamination*).

Patikrinimas atliekamas naudojant cobas[®]MPX sudėtinį ŽIV-1 M grupės RNR, ŽIV-1 O grupės RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR nukleorūgščių tyrimą. Tai kokybinis HCV RNR tyrimo metodas.

1. Glaudumas (angl. *precision*) yra atkuriamumas – tai yra atsitiktinės klaidos diapazono nustatymo procesas. Glaudumas išreiškiamas teigiamų rezultatų atkartojamumu procentais (%).

cobas[®]MPX tyrimo metodo gamintojo nurodomas glaudumas (atkartojamumas) įvertinamas panaudojant 3 HCV RNR koncentracijų mėginius: $0,5 \times \text{LoD}$ – [66,7 - 91,2]%, $1,0 \times \text{LoD}$ – [97,2 – 100]%; $3,0 \times \text{LoD}$ – 100%.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje atkartojamumui nustatyti naudojami trijų HCV RNR koncentracijų mėginiai: 21,0 TV/mL; 7,0 TV/mL ir 3,5 TV/mL. Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams. Iš viso gaunami 24 kiekvienos koncentracijos mėginio rezultatai. Apskaičiuojant mėginių, kuriems gautas teigiamas HCV rezultatas, procentą, įvertinama, ar teigiamas rezultatas atitinka gamintojo nurodytą atkartojamumo intervalą.

Priimtino kriterijai: Gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė yra palyginama su gamintojo pateikta atkartojamumo verte. Laboratorijoje gauta teigiamų rezultatų procentinė reikšmė turi patekti į gamintojo nurodytus atkartojamumo intervalus. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

2. Tikslumas (angl. *Accuracy*) yra tikrosios vertės nustatymas tiriamajai medžiagai. Tikslumo patvirtinimas užtikrina, kad tyrimo rezultatai yra teisingi ir patikimi. Tyrimo metodo tikslumą apibrėžia jo jautrumas, specifiškumas, teigiama prognostinė vertė, neigiama prognostinė vertė ir aptikimo riba.

KLIS Molekulinės biologijos laboratorijoje cobas[®]MPX tyrimo metodo HCV diagnostinio jautrumo, specifiškumo, neigiamos prognostinės vertės ir teigiamos prognostinės vertės įvertinimui tiriama 100 HCV RNR nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 58 skirtingos, už LoD didesnės (700 TV/ml – 10 mėg.; 21 TV/ml – 24 mėg.; 7 TV/ml – 24 mėg.) koncentracijos HCV RNR teigiamų mėginių.

cobas[®]MPX tyrimo metodo diagnostinis jautrumas HCV įvertinamas apskaičiuojant teisingai teigiamų rezultatų dažnį.

cobas[®]MPX tyrimo metodo diagnostinis specifiškumas HCV įvertinamas apskaičiuojant teisingai neigiamų rezultatų dažnį.

Įvertinama cobas[®]MPX tyrimo metodo teigiama prognostinė vertė HCV ir neigiama prognostinė vertė HCV.

cobas[®]MPX tyrimo metodo aptikimo ribos įvertinimui naudojamos 3 HCV žinomos koncentracijos mėginių skiedimų serijos (21 TV/mL; 7 TV/mL ir 3,5 TV/mL). Kiekvienos koncentracijos mėginiai tiriami 3 dienas iš eilės po 8 kartus, tyrimą atliekant trims skirtingiems operatoriams, taip gaunant po 24 tyrimų rezultatus kiekvienam tiriamam HCV koncentracijos mėginiui. cobas[®]MPX tyrimo metodo aptikimo riba (95% patikimumo intervalui) apskaičiuojama naudojant statistinį įvertinimo metodą pagrįstą atsako ir tiesės krypties koeficiento standartiniu nuokrypiu (angl. *based on SD of the response and the slope*).

Priimtino kriterijai: Nustatyta aptikimo riba (mažiausia HCV koncentracija, kuri aptinkama 95% tiriamų mėginių) turi būti žemesnė arba lygi gamintojo nurodytai vertei (HCV LoD – 7 TV/ml). Nereaktyvios žmogaus plazmos kaupiniuose neturi būti aptikta HCV RNR (diagnostinis specifiškumas lygus 100%). Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

3. Patikimumas (angl. *Robustness*) nusako analitinio tyrimo procedūros gebėjimą likti nepakitusia nepaisant smulkių metodo parametrų svyravimų ir nurodo tyrimo metodo patikimumą jį naudojant įprastinėmis laboratorijos sąlygomis.

cobas[®]MPX tyrimo metodo patikimumas įvertintas remiantis Eur. Ph. Versija 7.0. 2.6.21. skyriuje nurodytais reikalavimais kokybinių tyrimų patikimumo patikrinimui, tiriant 20 3x LoD koncentracijos (21 TV/mL) HCV RNR mėginių.

Priimtino kriterijai: Visi 20 ištirtų 3x LoD koncentracijos (21 TV/mL) HCV RNR mėginių turi turėti teigiamą HCV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.

4. Kryžminis užterštumas (angl. *cross-contamination*) nurodo tikimybę, kad tyrimo atlikimo metu tiriamoji analizė iš vieno mėginio gali patekti į kitą mėginį ir būti jame identifikuota.

cobas[®]MPX tyrimo metodo kryžminio užterštumo įvertinimui vieno sistemos paleidimo metu tiriama 10 HCV neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių ir 10 aukštos HCV koncentracijos (700 TV/mL; 10^2 kartų didesnė nei HCV RNR aptikimo riba) mėginių, mėginius į sistemą įkeliant šachmatų principu (teigiami mėginiai išsidėstę greta neigiamų).

Priimtino kriterijai: Visi 10 ištirtų HCV neigiamų nereaktyvios žmogaus plazmos kaupinių mėginių turi turėti neigiamą HCV rezultatą. Jeigu tyrimo rezultatai neatitinka numatytų kriterijų, KLIS vedėjas kartu su KUS vedėju priima sprendimą dėl tyrimo metodo priimtino.