



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
ИСО 21474-2—
202

Медицинские изделия для диагностики *in vitro*
МУЛЬТИПЛЕКСНОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
Часть 2
ВАЛИДАЦИЯ И ВЕРИФИКАЦИЯ

(ISO 21474-2:2022, IDT)

Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его утверждения

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Ассоциацией специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины» (Ассоциация «ФЛМ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 380 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы ин витро»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 202 г. №

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 21474-2:2022 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Мультиплексные молекулярные методы для определения содержания нуклеиновых кислот. Часть 2. Валидация и верификация» (ISO 21474-2:2022 «In vitro diagnostic medical devices – Multiplex molecular testing for nucleic acids – Part 3: Validation and verification», IDT).

Международный стандарт разработан Техническим комитетом ТК 212 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы ин витро» Международной организации по стандартизации (ИСО).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (www.rst.gov.ru)

© ISO, 2022

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 202

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения	
2 Нормативные ссылки	
3 Термины и определения	
4 Общие требования	
4.1 Общие сведения	
4.2 Требования к лаборатории	
4.3 Необходимые реагенты	
4.4 Аппараты и оборудование	
4.5 Справочные и контрольные материалы	
4.5.1 Общие сведения	
4.5.2 Эндогенная нуклеиновая кислота	
4.5.3 Негеномные стандартные материалы (RMs)	
4.6 Калибровка анализа	
4.7 Диапазон входного сигнала	
5 Оценка эксплуатационных характеристик	
5.1 Общие сведения	
5.2 Аналитическая специфичность	
5.2.1 Аналитическая реактивность	
5.2.2 Предел заготовки	
5.2.3 Перекрестная реактивность	
5.2.4 Исключительность	
5.2.5 Мешающие вещества и перенос	
5.3 Диапазон достоверного сигнала, отчетный и контрольный диапазоны	
5.4 Предел обнаружения мультиплексной молекулярной тест-платформы (LODP)	
5.5 Точность и неопределенность измерений	
5.6 Исследования точности и сравнения методов	
Приложение А (справочное) Сертифицированные стандартные образцы (СО)	
Приложение В (справочное) Пример эталонных материалов генома человека (RMs)	
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам	
Библиография	

Введение

Первое поколение медицинских изделий для диагностики *in vitro* (IVD) для молекулярных исследований на основе нуклеиновых кислот было нацелено на обнаружение или количественное определение одной последовательности нуклеиновых кислот (например, вирусной РНК, мРНК или геномной ДНК) в клиническом образце. Для сравнения, мультиплексное молекулярное исследование одновременно измеряет несколько интересующих последовательностей нуклеиновых кислот в одной реакционной пробирке или системе. Разработка и клиническое использование мультиплексных медицинских устройств IVD быстро расширяются благодаря технологическому прогрессу и новому выяснению клинического значения многих биомаркеров.

Конкуренция между реакциями в мультиплексных молекулярных исследованиях может предъявлять более строгие требования к чистоте образца, исходным реагентам и платформам для предотвращения неспецифических реакций и фонового сигнала. По сравнению с анализом одной цели, мультиплексные молекулярные исследования требуют большего количества контролей, более сложных алгоритмов оценки эффективности/анализа данных и более сложного представления результатов.

Лаборатории могут разрабатывать анализы своими силами («тест, разработанный в лаборатории (LDT)», «in-house test» или «тест собственного производства») или использовать коммерчески доступные мультиплексные анализы с использованием различных технологий и приборных платформ. С ростом доступности и использования мультиплексных молекулярных исследований все больше возникает необходимость в руководстве по разработке, валидации, верификации, контролю, анализу данных и применению мультиплексных молекулярных исследований. Для того чтобы мультиплексное молекулярное исследование надежно выполняло свое предназначение, необходимо контролировать процесс от получения образца и подготовки нуклеиновой кислоты к исследованию до оценки данных и представления результатов. Мультиплексное молекулярное исследование ставит перед лабораторией серьезные задачи в отношении соответствующей валидации и верификации, получения соответствующих контрольных материалов, анализа данных и отчетности. Сложность анализа данных и представления результатов возрастает по сравнению с

однокомплексными анализами. Более того, наличие достаточного количества соответствующих контрольных и эталонных материалов (RM) для надлежащей валидации и верификации мультиплексных молекулярных исследований является серьезной проблемой. Однако использование методов частичного или полного секвенирования может быть полезным для квалификации контрольных материалов. В настоящем стандарте описаны рекомендации по различным аспектам валидации и верификации измерений с помощью мультиплексных молекулярных исследований с целью обеспечения воспроизводимости результатов таких исследований при разработке и внедрении мультиплексных молекулярных исследований на нуклеиновые кислоты для клинического использования.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медицинские изделия для диагностики *in vitro*
МУЛЬТИПЛЕКСНОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ
КИСЛОТ
Часть 2
ВАЛИДАЦИЯ И ВЕРИФИКАЦИЯ

In vitro diagnostic medical devices. Multiplex molecular testing for nucleic acids. Part 2.
Validation and verification

Дата введения — 202

1 Область применения

В настоящем стандарте приведены общие требования к валидации и верификации мультиплексных молекулярных тестов, которые одновременно определяют две или более целевых последовательностей нуклеиновых кислот, представляющих интерес. Данный документ применим ко всем мультиплексным методам, используемым для исследования с помощью медицинских изделий IVD и лабораторно разработанных тестов (LDT). Он содержит информацию как для качественного, так и для количественного выявления целевых последовательностей нуклеиновых кислот.

Настоящий стандарт предназначен для руководства по проведению мультиплексных исследований, позволяющих обнаруживать и/или количественно определять целевые последовательности нуклеиновых кислот человека или целевые последовательности нуклеиновых кислот микробных патогенов в клинических образцах человека.

Настоящий стандарт применим к любому молекулярному диагностическому исследованию *in vitro* (IVD), выполняемому медицинскими лабораториями. Он также предназначен для использования клиентами лабораторий, разработчиками и производителями IVD, биобанками, учреждениями и коммерческими организациями, проводящими биомедицинские исследования, а также регулирующими органами. Данный документ не применим к метагеномике.

Примечание – Процедура исследования, разработанная для собственного использования лабораторией, часто называется «тестом, разработанным лабораторией», «LDT» или «внутренним тестом».

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированной ссылки применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированной – последнее издание (включая все изменения)]:

ISO 15189:2022, Medical laboratories – Requirements for quality and competence (Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности)

ISO 21474-1, In vitro diagnostic medical devices – Multiplex molecular testing for nucleic acids – Part 1: Terminology and general requirements for nucleic acid quality evaluation (Медицинские изделия для диагностики in vitro. Мультиплексные молекулярные методы для определения содержания нуклеиновых кислот. Часть 1. Терминология и общие требования к оценке качества нуклеиновых кислот)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ИСО 21474-1, а также следующий термин с соответствующим определением.

Терминологические базы данных ИСО и МЭК доступны по следующим интернет-адресам:

- платформа онлайн-просмотра ИСО по адресу: <http://www.iso.org/obp>;
- электопедия МЭК по адресу: <http://www.electropedia.org/>.

3.1 аналитическая чувствительность (analytical sensitivity): Отношение изменения показаний измерения к соответствующему изменению значения измеряемой величины.

[ИСО 18113-1:2009, А.3.3, изменено - сноски с 1 по 4 были удалены [1]]

3.2 диагностическая чувствительность (diagnostic sensitivity): Способность методики исследования in vitro (IVD) давать положительные результаты, связанные с определенным заболеванием или состоянием.

[ИСО 18113-1:2009, А.3.15, изменено - сноски с 1 по 4 были удалены [1]]

4 Общие требования

4.1 Общие сведения

Мультиплексные молекулярные тесты – это медицинские изделия IVD, которые обнаруживают и/или измеряют несколько последовательностей нуклеиновых кислот одновременно, например, мультиплексная ПЦР, ДНК-микрочипы и методики, основанные на массивном параллельном секвенировании.

В случае мультиплексных молекулярных тестов на нуклеиновую кислоту конкуренция между отдельными реакциями может предъявлять более строгие требования к чистоте образца, вводу образца, реагентам и платформам, чтобы избежать неспецифических реакций и фонового сигнала. По сравнению с однокомплексным анализом, мультиплексные молекулярные тесты могут иметь большее количество контролей, более сложные алгоритмы оценки эффективности/анализа данных и более сложное представление результатов.

Деятельность по валидации направлена на обеспечение определения эксплуатационных характеристик для предполагаемого использования, которое осуществляется в процессе разработки теста либо производителем, либо лабораторией. План проверки и валидации, создаваемый производителями для IVD и лабораториями для LDT, должен быть направлен на установление таких характеристик, как точность, специфичность, прецизионность, LOD/диапазон анализа и перекрестная реактивность/мешающее вещество. При планировании разработки теста должно быть определено предполагаемое использование, включая типы образцов, которые будут использоваться. Производитель экспертизы должен указать инструкции по процессу экспертизы. Они должны соблюдаться. При изменении каких-либо процессов или методов в процессе верификации и после внедрения лаборатория должна провести валидацию анализа с новыми. Лаборатория должна провести верификацию, чтобы заранее подтвердить входные спецификации, необходимые для тестирования пациента. Затем лаборатория осуществляет постоянный контроль качества (QA) мультиплексных молекулярных тестов путем документального контроля процедур, обучения операторов, рутинного контроля качества (QC), проверки квалификации, калибровки приборов и соотнесения результатов с клиническими заключениями.

На достоверность и надежность результатов мультиплексных молекулярных тестов могут влиять все этапы лабораторного процесса, включая первичный сбор,

транспортировку, хранение и обработку образцов на преаналитическом этапе, а также сам аналитический этап.

Примечание – Руководство CLSI, MM17-A [2], содержит рекомендации по различным аспектам верификации и валидации мультиплексного тестирования.

4.2 Требования к лаборатории

Требования к качеству и компетентности медицинских лабораторий должны соответствовать требованиям, описанным в ИСО 15189.

Для анализов, которые не полностью интегрированы в одну одноразовую установку или на одну платформу (от образца до результата), обработка образцов должна проводиться в отдельных рабочих зонах/помещениях, как указано в ИСО 22174:2005, пункт 6 [3].

Случайное загрязнение ДНК и РНК может происходить из аэрозолей, содержащих шаблоны, такие как ампликоны, полученные из ранее амплифицированных НА (нуклеиновых кислот). Вследствие этого организация рабочей зоны в лаборатории и надлежащая практика должны быть основаны на следующем:

- систематическое изложение методологических шагов, связанных с получением результатов, и
- принцип «прямого потока» для обработки образцов.

Последнее обеспечивает физическое разделение ДНК и РНК в испытуемом материале. Более подробную информацию можно найти в стандарте ИСО 21571 [4].

4.3 Необходимые реагенты

Все реагенты и материалы, используемые в анализе, должны быть идентичны или эквивалентны тем, которые указаны в методе. В противном случае все реактивы и материалы должны быть соответствующего класса для молекулярной биологии, например, вода, не содержащая ДНКазы и РНКазы.

Эти реагенты должны храниться и использоваться в соответствии с рекомендациями поставщика или согласно спецификациям лабораторного контроля качества.

Необходимо подтвердить/проверить характеристики и качество реагентов [например, флуоресцентного красителя(ей), буферов] и количество внешнего стандарта измерения, или эталонного материала (RM), который добавляется в

реакционную смесь.

Все критические реагенты должны быть проверены на функциональность перед включением в официальную оценку эффективности. В мультиплексных молекулярных тестах функциональность следует оценивать с помощью синтетических контролей, если невозможно установить ее для всех мишеней с помощью геномных образцов.

Если производитель экспертизы предоставляет инструкции по хранению и использованию коммерческого набора для измерений, они должны соблюдаться. Если производитель экспертизы не предоставляет таких инструкций, они должны быть определены и утверждены лабораторией, и им следует следовать.

4.4 Приборы и оборудование

Лаборатория должна использовать надлежащим образом валидированное (т. е. сертифицированное по установке, эксплуатации и производительности) и обслуживаемое оборудование в соответствии с инструкциями производителей и требованиями, приведенными в ИСО 15189. В дополнение к стандартному лабораторному оборудованию, специфическое оборудование для мультиплексного анализа описано в соответствующих отдельных стандартах, например, ИСО 16578 для микрочипов [5].

Там, где это возможно, следует регулярно проводить калибровку и вести учет оборудования, работа которого может повлиять на получаемые данные.

4.5 Справочные и контрольные материалы

4.5.1 Общие сведения

При наличии эталонных материалов (ЭМ) они должны быть отобраны таким образом, чтобы соответствовать своему назначению. При отсутствии РМ необходимо спланировать, разработать и задокументировать альтернативные подходы.

RMс должны рассматриваться для валидации мультиплексного молекулярного тестирования нуклеиновой кислоты. RMс также могут использоваться для качественных или количественных методов, выполняя множество различных функций, таких как калибровка и оценка процедуры исследования. Особенно при геномном анализе с использованием методов массового параллельного секвенирования геномные РМ могут варьировать данные о последовательности в зависимости от выбранного материала (см. приложения А и В); поэтому РМ для таких методов должны рассматриваться на предмет соответствия предполагаемому

использованию.

Лаборатория должна использовать контрольные материалы, которые реагируют на исследуемую систему как можно ближе к образцу пациента, как указано в ИСО 15189. Если такие контрольные материалы недоступны, невозможно протестировать все зонды, присутствующие в панели, для приемки реагентов или контроля достоверности. Лаборатория адаптирует свои меры, принимая во внимание, в частности, клинические условия.

Результаты экспертизы должны быть оценены для подтверждения того, что качество образца соответствует предполагаемому использованию. При проведении оценки должно быть рассмотрено использование РМ (см. приложения А и В), включая негеномные (см. 4.5.3) и геномные (см. 4.5.2) РМ.

Чтобы подтвердить использование различных матриц, необходимо проводить анализы с перегрузкой (spiking).

Если производитель предоставляет инструкции по хранению и использованию РМ и контрольных материалов для измерений, они должны соблюдаться. Если производитель экспертизы не предоставляет таких инструкций, они должны быть определены и утверждены лабораторией, и им следует руководствоваться.

4.5.2 Эндогенная нуклеиновая кислота

Геномная ДНК (гДНК) – это материал QC, наиболее близко напоминающий образцы пациентов, и наиболее предпочтительный, хотя и не всегда самый эффективный. Наличие или отсутствие мутаций или вариантов в любом материале (например, в иммортализованных линиях клеток человека, очищенной гДНК, бактериальных/микробных культурах и бактериальной гДНК) должно быть подтверждено или проверено лабораторией для каждой новой партии, полученной перед использованием.

В качестве альтернативного контрольного материала гДНК можно использовать синтетическую рекомбинантную сконструированную или искусственно созданную длинную ДНК, например, рекомбинантные искусственные хромосомы (см. 4.5.3). В качестве контрольного материала можно использовать несколько транскриптов генов домашнего хозяйства.

Примечание – К генам жизненно важных функций относятся, например, бета-актин, GAPDH и циклофилин.

4.5.3 Негеномные стандартные материалы (RMs)

Негеномные материалы QC являются синтетическими, рекомбинантными, инженерными или искусственно созданными, и часто состоят из плазмид, благодаря их стабильности и простоте использования. Негеномные материалы QC имеют большое значение и особенно подходят для мультиплексных анализов, поскольку они могут быть сконструированы таким образом, чтобы содержать все варианты последовательностей в сегментах генов в одном образце, выявляемых в анализе. Негеномные контроли следует выбирать для целей контроля качества тщательно, чтобы убедиться, что они подходят для мониторинга нужных параметров системы. Существуют опасения и ограничения в отношении негеномных контролей. Некоторые тест-системы и/или программное обеспечение не рассчитаны на правильную идентификацию нескольких аллелей, содержащихся в мультиплексном контроле. Негеномные контроли должны быть добавлены к материалу пациента, и поэтому они не могут вести себя точно так же, как материал, полученный от пациента, на протяжении всего процесса анализа. Эта ситуация вызывает особую озабоченность, когда существует разумная вероятность неправильной прайминга или ложноположительных результатов из-за присутствия псевдогенов или других последовательностей, обычно обладающих высокой гомологией с интересующей мишенью.

Негеномные РМ могут использоваться не только для анализа ДНК, но и для анализа РНК.

Примечание – ДНК или РНК RMs могут быть оценены путем установления метрологической прослеживаемости от сертифицированных РМ, таких как NMIJ CRM 6205-a и NMIJ CRM 6204-b.

4.6 Калибровка анализа

При количественных измерениях, например, в анализах на основе qPCR, необходимо использовать соответствующее количество калибровочных точек и повторов, охватывающих диапазон достоверного сигнала. Калибровка влияет на неопределенность измерений (MU). Более подробно калибровка ПЦР описана в ИСО 20395 [16].

Альтернативные геномной ДНК или мРНК калибровочные РМ могут быть рассмотрены для использования при условии, что они демонстрируют

эквивалентную производительность по сравнению с РМ геномной ДНК и геномной ДНК, выделенной из образца, или РМ мРНК и мРНК, выделенной из образца.

Пример – В качестве альтернативы геномной ДНК или мРНК для калибровочных РМ можно использовать серию разведений плазмиды или синтетической дсДНК, содержащей целевую последовательность, или плазмиды или синтетической дсДНК и ssРНК.

4.7 Диапазон входного сигнала

Исходная нуклеиновая кислота должна быть титрована для оптимизации диапазона концентраций, чтобы обеспечить обнаружение каждой целевой последовательности в конкретном анализе, например, типичные диапазоны для ПЦР, массивов и секвенирования.

5 Оценка эксплуатационных характеристик

5.1 Общие сведения

Протокол валидации должен начинаться с четкого определения предполагаемого использования, что определит типы образцов и характеристики, которые необходимо рассмотреть.

Протокол валидации должен быть тщательно разработан, чтобы обеспечить максимально эффективное рассмотрение всех соответствующих параметров. На основе планирования проектирования и разработки лаборатория должна провести валидацию предполагаемого использования теста в сравнении с существующим предикатным устройством, если таковое имеется. Если предикатное устройство недоступно, лаборатория должна подтвердить предполагаемое использование с помощью соответствующим образом разработанных исследований. В соответствии с планом валидации лаборатория должна описать и задокументировать соответствующие характеристики теста в связи с заболеванием или другим клиническим контекстом, оцениваемым с помощью теста. Лаборатория должна определить те характеристики теста, которые в решающей степени связаны с клинической значимостью и клинической полезностью теста. Эти характеристики должны быть задокументированы как характеристики клинической эффективности. Более подробную информацию о тесте с использованием амплификации

нуклеиновых кислот для выявления микробных патогенов см. в ИСО 17822 [17].

Для оценки аналитических характеристик необходимо тестировать мультиплексную молекулярную тест-систему в ее окончательной конфигурации, а не в отдельных однокомплексных экспериментах.

При проведении мультиплексных молекулярных тестов следует, в частности, следующие моменты:

- тип и гетерогенность образца;
- LOD, который необходим с клинической точки зрения;
- генетическая неразборчивость и нестабильность последовательностей-мишеней.

Пример – Примерами генетической неразборчивости и нестабильности целевых последовательностей являются гетерогенность последовательностей как в рамках заболевания, так и при его прогрессировании, специфичность при рассмотрении близкородственных целевых последовательностей, генетическое происхождение – приобретенное или наследственное – при рассмотрении наследования заболевания, а также генетическая ассоциация при рассмотрении диагностики, прогноза или лечения заболевания.

Примечание – Рекомендации по практическому руководству для лабораторий в отношении валидации и верификации массивного параллельного секвенирования для генетических заболеваний представлены в литературе [6], [7], [8].

В процессе проверки метода поставщика необходимо решить следующие основные вопросы:

- проблема тестирования всех имеющихся в панели датчиков;
- проблема (или даже невозможность) предоставления статистически значимого количества образцов, чтобы сделать вывод о достоверности тестов, в частности, «положительных образцов»;
- вопрос сравнения метода с более ранним методом;
- сложная проблема использования внутренних QC для всех целей панели.

При выборе тестов для оценки аналитических характеристик следует учитывать конструкцию или принципы работы IVD, а также предполагаемое использование или назначение. Например, предел количественного определения

(LoQ) не может быть применим к IVD, который выдает качественный или бинарный результат.

5.2 Аналитическая специфичность

5.2.1 Аналитическая реактивность

Поскольку такие аналиты, как варианты последовательностей или специфические для патогенов последовательности, часто по-разному реагируют на вариабельность реагентов, для получения точных результатов следует, по возможности, тестировать все целевые аналиты. Должны быть определены основные аналиты, обнаруженные с помощью выбранного реагента. Информация об основных аналитах должна быть включена в минимальные спецификации реагентов. Те аналиты, которые наиболее чувствительны к параметрам реагентов, должны быть определены и использованы для установления минимальных спецификаций для реагентов. Для анализа на выявление патогенов следует включать слабopоложительные образцы, например, с установленным пределом обнаружения (LOD) концентрации или с числом копий, эмпирически установленным на нижней диагностическом диапазоне. Также можно использовать ранее отрицательные образцы, загруженные (spiked) определенным количеством копий.

Аналитическая специфичность может быть установлена и продемонстрирована с помощью различных тестов. Ниже перечислены рутинные тесты, позволяющие установить аналитическую специфичность и реактивность. Аналитическая специфичность анализа – это его способность обнаруживать и идентифицировать только предполагаемые последовательности или биомаркеры. Подход к демонстрации специфичности заключается в том, что анализ должен обнаружить предполагаемую цель (цели) в пределах отчетного диапазона. Способность анализа обнаруживать и идентифицировать надуманные или RM, содержащие предполагаемые цели в различных концентрациях (например, на уровне или вблизи LOD, в два-три раза выше LOD и выше), является подходом в сочетании с другими тестами (например, перекрестной реактивностью) для демонстрации специфичности.

В мультиплексных молекулярных тестах, основанных на ПЦР, относительные концентрации праймеров и зондов должны быть сбалансированы и оптимизированы, чтобы обеспечить обнаружение каждой целевой последовательности, максимизируя эффективность амплификации и минимизируя вторичные структуры, например, стебель-петлю, псевдонопку, чтобы оптимизировать обнаружение продукта.

В ПЦР, чтобы сбалансировать конкуренцию реакций, эффективность может быть максимизирована путем оценки каждого отдельного параметра в зависимости от накопления продуктов. Взаимодействие зондов можно измерить с помощью однокомплексных и мультиплексных реакций с одними и теми же наборами зондов; интенсивность сигнала и пороги пересечения можно сравнить, чтобы выявить вредные интерактивные эффекты, возникающие при использовании мультиплексных праймеров и зондов.

5.2.2 Предел заготовки

Термин «предел холостого хода» – это наивысший результат измерения, который, вероятно, будет наблюдаться для холостого образца. Сигнал может наблюдаться в отсутствие какого-либо аналита. Обычно это вызвано димеризацией праймеров. Димеризация праймеров может происходить все чаще по мере увеличения количества пар праймеров в реакции. Чтобы свести к минимуму образование праймеров-димеров, необходимо отбирать последовательности праймеров, чтобы избежать гомологии на 3' конце среди всех праймеров в реакции; также полезно содержать G или C на 3' конце праймеров, чтобы зажать праймер и предотвратить «дыхание» концов, увеличивая эффективность праймирования. «Дыхание» ДНК происходит, когда концы не остаются отожженными, а расходятся или расщепляются. Существуют модифицированные полимеразы, которые предотвращают неспецифическую амплификацию до тех пор, пока не активируются и не включаются в реакцию после первоначальной инкубации при высокой температуре.

Носитель должен быть включен в холостой образец, поскольку холостые образцы, не содержащие нуклеиновой кислоты, не позволяют оценить низкий уровень загрязнения из-за отсутствия эффекта носителя.

Примечание – Хорошо разработанные методы амплификации нуклеиновых кислот (NAAT) на основе зондов не будут иметь сигнала в отсутствие шаблона и, следовательно, не будут иметь предела холостого хода.

5.2.3 Перекрестная реактивность

Для определения перекрестных реакций мультиплексного анализа с аналитами, отличными от тех, для измерения которых он предназначен, необходимо использовать панель близкородственных организмов/аллелей. Праймеры/зонды

должны быть разработаны с учетом видовой специфичности. В анализах на выявление вирусов праймеры/зонды должны быть разработаны таким образом, чтобы исключить случайную перекрестную реакцию с ДНК генома человека и бактерий. В процессе разработки необходимо провести *in silico* анализ, включая поиск в базе данных нуклеиновых кислот, для подтверждения видовой специфичности, исключающей возможность случайной перекрестной реакции с человеком и бактериями.

При мультиплексном определении патогенов следует оценить влияние клинически значимых сопутствующих инфекций, чтобы убедиться, что они не влияют на результаты анализа ни на один из патогенов, выявляемых с помощью анализа. Также должно быть оценено влияние образца, имитирующего клинические образцы с высоким фоновым уровнем геномной ДНК человека.

5.2.4 Исключительность

Для мультиплексного выявления целевых вариантов внутри аллелей праймеры/зонды должны быть разработаны с учетом специфичности вариантов.

5.2.5 Мешающие вещества и перенос

Мешающие вещества относятся к ингибирующим соединениям из образца или процесса экстракции и обычно вызывают ложноотрицательные результаты. Возможные источники помех для теста должны быть конкретно определены, и влияние каждого из них должно систематически оцениваться в ходе верификации и валидации. Риск переноса загрязнения должен оцениваться на каждом этапе анализа. Контроль отсутствия шаблона должен быть включен в каждый цикл, если это необходимо.

Выбор мешающих веществ, эндогенных и экзогенных, зависит от типа образца и этапов обработки образца или предварительной экспертизы перед тестированием.

Перенос – признанная проблема массового параллельного секвенирования генома человека, предназначенного для выявления вариантов с низким аллельным бременем. При разработке исследований должны быть предусмотрены процедуры, позволяющие избежать переноса из одного образца в другой. Биоинформационные подходы могут быть использованы для обнаружения загрязнения образцов от человека к человеку, чтобы контролировать перенос.

Примечание – При массивном параллельном секвенировании генома человека значительное влияние оказывают повторяющиеся последовательности и псевдогены. В

случае сильно фрагментированной ДНК короткие считывания могут быть неправильно выровнены, если они происходят от псевдогенов, и давать ложноположительные результаты. Псевдогены и высокоповторяющиеся последовательности могут снижать количество целевых чтений за счет истощения захваченных зондов, что приводит к заниженной оценке обнаружения целей.

5.3 Диапазон достоверного сигнала, отчетный диапазон и контрольный диапазон

Определение диапазона надежного сигнала, такого как LOD и линейный диапазон в мультиплексном молекулярном тесте, должно быть обеспечено в ходе верификации и валидации. Метод будет применим только в этом диапазоне. Сигнал аналита должен быть достоверным в пределах диапазона достоверного сигнала.

Перекрестные сигналы должны быть установлены эмпирически. Если критерии используются для различения ряда аналитов, исследуемых мультиплексной молекулярной тест-системой, они должны быть адекватно проверены в исследованиях перекрестной реактивности и соответствующих аналитических оценках, таких как оценка LOD и прецизионности.

Отчетный диапазон – это диапазон всех результатов обследования, которые считаются достоверными. Референсный диапазон – это диапазон нормальных значений. Отчетный и референсный диапазоны должны определяться в зависимости от предполагаемого использования.

Примечание – В мультиплексных молекулярных исследованиях генома человека, основанных на массивном параллельном секвенировании, референсный диапазон включает варианты, которые считаются доброкачественными или непатогенными, в дополнение к референсному геному человека, который представляет собой компиляцию нескольких геномов здоровых людей.

5.4 Предел обнаружения мультиплексной молекулярной тест-платформы (LODP)

В случае мультиплексных молекулярных тестов LOD следует оценивать, по возможности, для всех мишеней в рамках анализа. Если возможно, следует определить ЛОД для каждой основной мишени. При выборе подходящих мишеней для тестирования ЛОД критерием отбора должна быть распространенность или

сложность обнаружения. В число целей должны входить, по крайней мере, наиболее распространенные и наиболее сложные для обнаружения. Для остальных целей следует выбрать самую низкую концентрацию целевого аналита, которая может быть стабильно обнаружена в

Необходимо предоставить ≥ 95 % измерений образцов.

Использование LODP следует рассматривать вместо LOD, когда целевые последовательности состоят из смеси последовательностей, которые должны быть обнаружены и не должны быть обнаружены, независимо от используемой платформы.

В мультиплексных молекулярных тестах не всегда возможно определить LOD каждой тестируемой мишени. Если требуется определить LOD отдельных мишеней, можно использовать внешний стандарт измерения (или RM) для экспериментального определения предела репрезентативности мишеней на данной платформе. Количество каждого аналита, подлежащего обнаружению, должно быть выше LODP.

Экспериментальный LODP связан с аналитической частью, качеством/количеством аналита и абсолютным LODP метода обнаружения. Эти значения должны быть подтверждены путем межлабораторного сравнения с использованием соответствующих стандартных и контрольных образцов, а самый низкий уровень внешнего стандарта измерения (или RM), полученный экспериментальным путем, должен иметь коэффициент ложноотрицательных результатов менее или равный 5 %.

В процессе оценки эффективности, включая определение LOD, необходимо оценить любую перекрестную реактивность между праймерами/зондами, используемыми в системе. Критерии приемки оценки эффективности должны включать описание, которое всесторонне рассматривает всю систему анализа, состоящую из отдельных детектируемых аналитов.

Примечание 1 – На сайте NMII CRM 6204-а приведен пример внешнего стандарта измерения, который может быть универсально использован для экспрессии РНК.

Примечание 2 – Если соответствующие эталонные или контрольные образцы недоступны, в качестве РМ используются альтернативные варианты, такие как международные обычные калибраторы или рабочие калибраторы, подготовленные лабораториями и производителями своими силами. Лаборатория гарантирует

взаимозаменяемость любого РМ, используемого для целей валидации.

5.5 Точность и неопределенность измерений

При исследовании прецизионности необходимо учитывать такие источники вариабельности, как прибор, лаборатория, оператор, концентрация образца, источник образца, партия реагента, цикл, день и время суток, если это имеет значение.

Прецизионные исследования должны включать сложные образцы, например, близкие к LOD (например, в 2 – 3 раза превышающие LOD) или близкие к клиническому пределу.

В исследованиях повторяемости должны быть представлены редкие аллели, чтобы обеспечить точность определения их присутствия. В каждую серию испытаний на повторяемость следует включать разумную смесь вариантов.

Панель воспроизводимости должна включать каждый аналит.

Для качественных тестов, имеющих в основе количественные результаты, прецизионность можно измерить с помощью коэффициентов вариации (CV) для каждого источника вариации и анализа компонентов дисперсии для общей вариации. Для определения точности следует использовать образцы, реактивные на аналиты, измеряемые в мультиплексных молекулярных тестах, а также по крайней мере несколько образцов, неактивных на все мишени/аналиты.

Примечание 1 – Использование CV не подходит для методов NAAT, в которых используются произвольные флуоресцентные единицы, такие как Cq/Ct. CV также не подходит с математической точки зрения для измерений нуклеиновых кислот, которые следуют логарифмически нормальному распределению.

MU можно определить как предполагаемый диапазон значений, в котором находится истинное значение измерения. Для качественных испытаний, имеющих в основе количественные результаты, MU может быть оценен на основе информации о точности и смещении, предоставленной экспериментами, проведенными при верификации метода.

В мультиплексных молекулярных тестах не всегда возможно определить MU каждой тестируемой мишени. Если требуется определить MU отдельных мишеней, можно использовать внешний измерительный стандарт (или RMs) для экспериментального определения MU репрезентативных мишеней на данной платформе. Совокупный MU исследования должен быть больше, чем MU каждой мишени.

Примечание 2 – Практическое руководство по оценке MU приведено в

ИСО/TS 20914 [9].

5.6 Исследования точности и сравнения методов

Точность включает в себя различные элементы, такие как аналитическая/диагностическая чувствительность и специфичность, положительное прогностическое значение (PPV) и отрицательное прогностическое значение (NPV), процентное согласие, частота ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Показатели анализа должны сравниваться с установленным референтным методом или компаратором, другим валидированным молекулярным IVD медицинским изделием или с РМП, или с тем и другим. Они должны быть установлены путем соответствующего статистического анализа набора данных, полученных в ходе надлежащим образом разработанного исследования.

сравнительное исследование методов. Для установления точности, как на уровне отдельных аналитов, так и всей системы, должны быть выбраны соответствующие методы анализа данных и эталонные методы.

Примечание 1 – При использовании неререференсного стандарта для сравнения при оценке нового теста невозможно напрямую рассчитать несмещенные оценки чувствительности и специфичности. Такие же численные расчеты могут применяться, если оценки называются не чувствительностью и специфичностью, а положительным процентным согласием (PPA) и отрицательным процентным согласием.

Аналитическая/диагностическая чувствительность/PPV для некоторых мишеней/аллелей мультиплексной панели часто бывает неоднозначной. В таких случаях для разработки теста необходимо получить как можно больше положительных образцов для сравнения методов, а также получить дополнительные данные с использованием альтернативного источника образцов. Дополнительные данные могут дать публикации, в которых изучалась диагностическая чувствительность для этих редких целей с помощью одного и того же анализа.

В случае массивного параллельного секвенирования, для каждого зарегистрированного класса вариантов (т.е. SNVs, indels, CNAs, SVs) должны быть установлены и задокументированы показатели PPA и PPV, если это необходимо.

Примечание 2 – В некоторых отчетах описаны рамки для соответствующего минимального количества образцов для мультиплексного молекулярного тестирования, включая валидацию/верификацию тестов с массивным параллельным секвенированием, при анализе с 95 % достоверностью и 95 % надежностью, которые не описаны в данном документе [6], [7].

Приложение А

(справочное)

Сертифицированные стандартные образцы (СО)

А.1 Использование сертифицированных стандартных образцов (CRM) нуклеиновых кислот

А.1.1 Общие сведения

Более подробное описание использования сертифицированных стандартных образцов (CRM) и референтных материалов (RM) приведено в Руководстве ИСО 33 [10].

А.1.2 Проверка результатов экспертизы и неопределенность измерений (MU)

Оценка смещения (разницы между измеренным и истинным значением) является одним из наиболее сложных элементов проверки экспертизы, но соответствующие RM могут предоставить ценную информацию в пределах неопределенности сертифицированного значения (значений) RM и неопределенности валидируемой экспертизы. Хотя прослеживаемые сертифицированные значения очень желательны, оценка различий в смещении между двумя или более экспертизами может быть установлена с помощью менее строго сертифицированных RM. Очевидно, что RM должны быть в пределах области исследования, например, по типу матрицы, концентрации аналита. В идеале рекомендуется тестировать несколько RM, охватывающих весь диапазон экспертизы. Если оцениваются незначительные модификации хорошо зарекомендовавшей себя экспертизы, можно использовать менее строгие исследования смещения.

Повторные измерения RM, охватывающие весь диапазон переменных, допустимых в проверяемом исследовании, могут быть использованы для оценки неопределенности, связанной с любым смещением, которое обычно корректируется.

Неопределенность, связанная с RM, контролируется так, чтобы она не превышала одной трети от погрешности измерения образца.

А.1.3 Калибровка

Обычно для калибровки измерительного этапа экспертизы используется чистая субстанция RM. Другие компоненты экспертизы, такие как переваривание, разделение и дериватизация образца, разумеется, не учитываются, а потеря аналита, загрязнение и помехи и связанные с ними неопределенности рассматриваются как часть верификации экспертизы. Неопределенность, связанная с чистотой RM, вносит вклад в общую неопределенность измерения. Например, RM, сертифицированный как 99,9 % чистый, с расширенной неопределенностью U ($k=2$) 0,1 % будет вносить компонент неопределенности 0,1 % в общий бюджет MU. В случае анализа следовых веществ этот уровень неопределенности редко будет важным, но для аналитических работ можно ожидать, что он будет значительным.

В некоторых других исследованиях, основанных на спектроскопическом анализе, таких как рентгенофлуоресцентный анализ (XRF), используются матричные RM для калибровки всего аналитического процесса. Помимо близкого соответствия матрицы, форма аналита в образцах и RMs будет одинаковой, а аналитические концентрации RMs будут соответствовать концентрациям образцов.

Руководство ИСО 33 [10] и Reference [13] содержат дополнительную полезную информацию.

А.1.4 Контроль качества (QC) и обеспечение качества (QA)

Для внутреннего контроля качества требование о наличии сертифицированных значений свойств может быть смягчено, но при этом необходимо обеспечить достаточную однородность и стабильность. Аналогичные требования предъявляются к образцам, используемым для определения того, насколько хорошо или плохо согласуются результаты измерений, выполненных в разных лабораториях. В случае проверки квалификации однородность является необходимо оценить и проконтролировать стабильность образцов в течение времени проведения испытания. Хотя это и желательно, стоимость сертификации значений свойств образцов для проверки квалификации часто не позволяет это сделать, и вместо этого часто используются средние значения, принятые на основе консенсуса. Как следствие, часто остаются сомнения в надежности установленных значений, используемых в схемах проверки квалификации. Это связано с тем, что, хотя консенсусное среднее значение набора данных имеет определенное значение, "большинство" не обязательно верно, и, как следствие, значения несут в себе некоторый нераскрытый элемент неопределенности. Таким образом, интерпретация

данных квалификационного тестирования должна проводиться с осторожностью. Организации, проводящие квалификационные испытания и отвечающие требованиям ИСО 17043 [12], учитывают неопределенность при оперировании результатами.

А.2 Оценка пригодности стандартных образцов (RM)

Как указывалось ранее, ключевым параметром качества является неопределенность, связанная с сертифицированным значением, и надежность оценки неопределенности. Бюджеты неопределенности рассчитываются следующим образом: Данные сертификации указываются вместе с расширенной неопределенностью, U , с использованием коэффициента охвата $k=2$, который дает уровень доверия приблизительно 95 %.

Однако полные данные о неопределенности часто недоступны, поэтому следует рассмотреть другие критерии качества. Кроме того, не специалист может быть не в состоянии полностью оценить «сертификационные» данные, поэтому желательно иметь список проверки качества или систему утверждения качества третьей стороной. Такие системы находятся в стадии разработки, но потребуется некоторое время для их полного становления.

А.3 Сертификаты и подтверждающие отчеты

В идеале необходимо иметь сертификат в соответствии с Руководством ИСО 31 [13] и отчет о процедурах определения характеристик, сертификации и статистического анализа в соответствии с Руководством ИСО 35 [14]. Однако многие РМ, особенно старые материалы и материалы, специально не производимые как РМ, не могут полностью соответствовать Руководству ИСО 31 и Руководству ИСО 35. Альтернативная, эквивалентная информация в любой доступной форме, которая обеспечивает достоверное подтверждение соответствия, может считаться приемлемой. В качестве примера можно привести следующие документы: технические отчеты, торговые спецификации, статьи в журналах или отчеты о научных встречах, а также переписку с поставщиками.

Приложение В

(справочное)

Пример эталонных материалов генома человека (RMs)

В.1 Использование материалов о геноме человека

Более подробное описание использования сертифицированных стандартных образцов (CRMs) и стандартных образцов (RMs) приведено в Руководстве ИСО 33 [10].

Протокол оценки пригодности геномных материалов человека (hGMs) подробно представлен на рисунке В.1 и рассматривается ниже. Предполагается, что пользователь должен оценить пригодность и соответствие цели любого РМ на основе требований заказчика и аналитических требований. Необходимо учитывать следующие факторы:

а) Пригодность hGMs зависит от деталей аналитической спецификации. Важными могут быть матричные эффекты и другие факторы, такие как фрагментация. К числу факторов, которые необходимо учитывать, относятся:

- 1) Измерительный материал, включая аналит,
- 2) Диапазон измерений (вызов и/или глубина),
- 3) Совпадение матриц и потенциальные помехи,
- 4) Размер выборки,
- 5) Однородность и стабильность,
- 6) Комбинированный МУ в мультиплексном анализе,
- 7) Процедуры определения стоимости (измерительные и статистические).

б) Достоверность данных о неопределенности, включая соответствие ключевых процедур Руководству ИСО 35 [14] и ИСО/IEC Guide 98-3 [15].

с) История производителя и материала. Например, если используемый генетически модифицированный материал подвергался межлабораторному сравнению, перекрестному контролю с использованием различных методов, или имеется опыт использования в нескольких лабораториях в течение нескольких лет.

д) Наличие отчета, соответствующего Руководству ИСО 31 [13].

Все или некоторые требования будут указаны в спецификации заказчика и

аналитической спецификации, но часто от аналитика требуется профессиональное суждение.

Наконец, качество не обязательно равнозначно малой погрешности, поэтому необходимо использовать критерии пригодности.

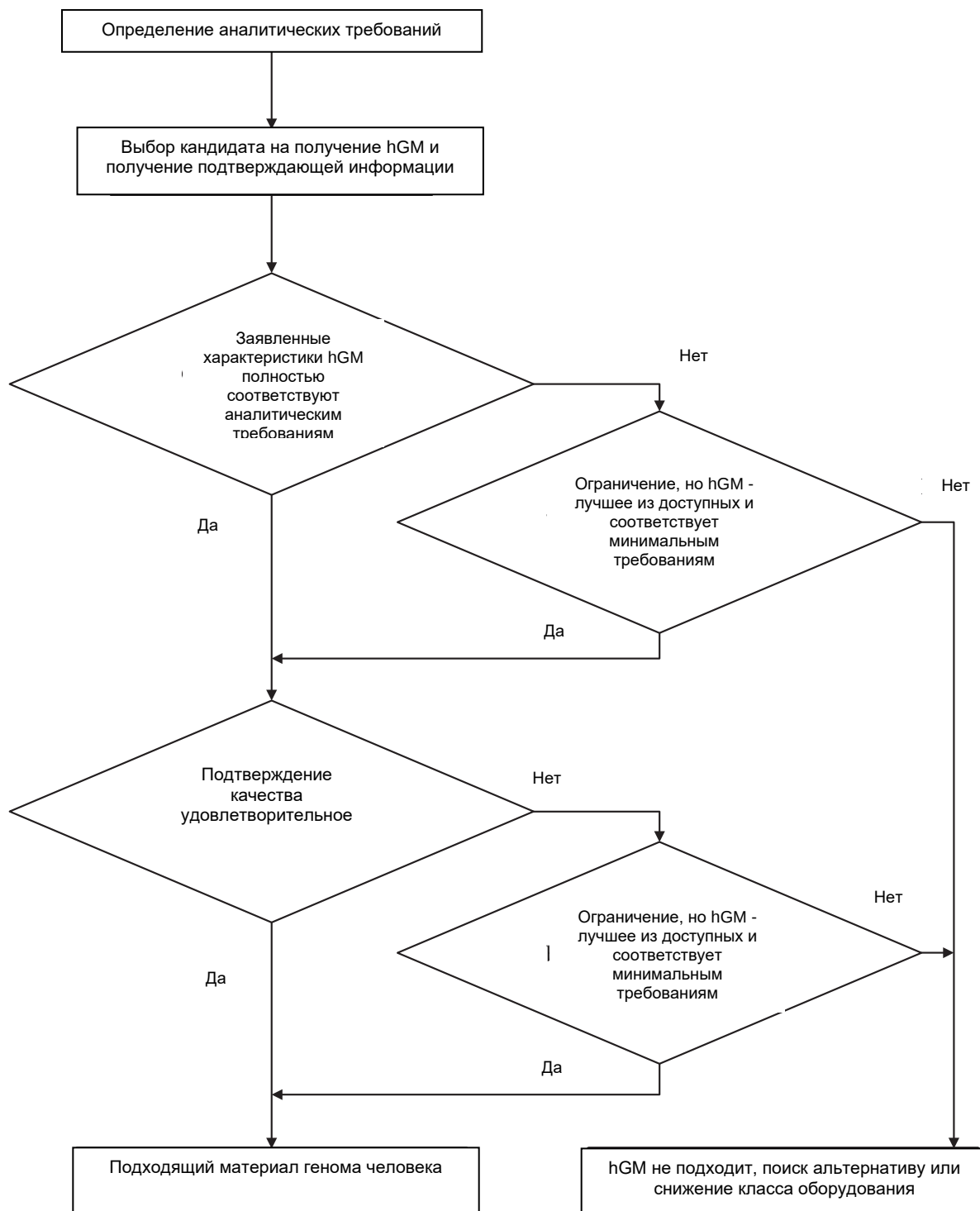


Рисунок В.1 – Оценка пригодности материала генома человека

В.2 Сертификаты и подтверждающие отчеты

В.2.1 Сертификаты и подтверждающие отчеты

В идеале необходимо иметь сертификат в соответствии с Руководством ИСО 31 [13] и отчет о процедурах определения характеристик, сертификации и статистического анализа в соответствии с Руководством ИСО 35 [14]. Однако многие

PM, особенно старые материалы и материалы, специально не производимые как PM, не могут быть полностью приведены в соответствие с Руководством ИСО 31 и Руководством ИСО 35. Альтернативные, эквивалентные Информация в любой доступной форме, которая предоставляет достоверные доказательства соответствия, может считаться приемлемой. В качестве примера можно привести следующие документы: технические отчеты, торговые спецификации, статьи в журналах или отчеты о научных встречах, а также переписку с поставщиками.

В.2.2 Оценка пригодности материалов генома человека

Лаборатории должны объяснить и обосновать основу отбора всех генетически модифицированных модулей и, конечно, любое решение не использовать незаконный генетически модифицированный модуль. В отсутствие конкретной информации невозможно оценить качество hGM. Строгость оценки зависит от критичности измерений, уровня технических требований и ожидаемого влияния конкретного hGM на достоверность измерений. Формальная оценка пригодности ожидается только в том случае, если выбор hGM существенно влияет на результаты измерений.

В.3 Внутренняя подготовка материалов для генома человека

Высококачественные hGMs требуют больших усилий и затрат, и если материалы доступны из других источников, то обычно лаборатории нерентабельно делать свои собственные. Однако, если это необходимо, существуют руководства, которые помогут неспециалистам подготовить собственные hGMs.

Необходимо рассмотреть следующие ключевые вопросы:

- выбор материалов, например, уместность, родной материал против шипов, подготовка материала;
- проверка однородности, подготовка и упаковка, например, однородность, загрязнение, стабильность;
- испытания на стабильность, сертификационные исследования, оценка неопределенности, документация и контроль качества, утверждение сертификации, хранение и распространение.

Приложение ДА
(справочное)

**Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов
национальным стандартам**

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ISO 15189:2022	IDT	ГОСТ Р ИСО 15189—2024 «Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности»
ISO 21474-1	IDT	ГОСТ Р ИСО 21474-1 «Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Мультиплексные молекулярные методы для определения содержания нуклеиновых кислот. Часть 1. Терминология и общие требования к оценке качества нуклеиновых кислот»
Примечание – В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта: - IDT – идентичный стандарт.		

Библиография

- [1] ISO 18113-1:2009, In vitro diagnostic medical devices — Information supplied by the manufacturer (labelling) — Part 1: Terms, definitions and general requirements (Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования)
- [2] CLSI, Verification and Validation of Multiplex Nucleic Acid Assays Approved Guideline CLSI document MM17-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008
- [3] ISO 22174:2005, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions (Микробиология пищевой продукции и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Общие требования и определения)
- [4] ISO 21571, Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Nucleic acid extraction (Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и производных продуктов. Экстрагирование нуклеиновых кислот)
- [5] ISO 16578, Molecular biomarker analysis — General definitions and requirements for microarray detection of specific nucleic acid sequences (Анализ молекулярных биомаркеров. Требования к обнаружению на микрочипах специфических последовательностей нуклеиновых кислот)
- [6] Jennings LJ et al., Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. Mol Diagn. 2017 May; 19(3): 341-365.
- [7] Mattocks CJ et al., A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. Eur J Hum Genet. 2010; 18(12):1276-88.
- [8] Aziz N et al., College of American Pathologists' laboratory standards for next-generation sequencing clinical tests. Arch Pathol Lab Med. 2015 Apr; 139(4):481-93.
- [9] ISO/TS 20914:2019, Medical laboratories — Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty (Медицинские лаборатории. Практическое руководство

по оцениванию неопределенности измерения)

- [10] ISO Guide 33:2015, Reference materials — Good practice in using reference materials (Стандартные образцы. Надлежащая практика применения стандартных образцов)
- [11] ISO 17511:2020, In vitro diagnostic medical devices — Requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples (Медицинские изделия для диагностики in vitro. Требования к установлению метрологической прослеживаемости значений, присваиваемых калибраторам, материалам контроля и образцам биологического материала человека)
- [12] ISO/IEC 17043, Conformity assessment — General requirements for proficiency testing (Оценка соответствия. Основные требования к проведению проверки квалификации)
- [13] ISO Guide 31:2015, Reference materials — Contents of certificates, labels and accompanying documentation (Стандартные образцы. Содержание сертификатов, этикеток и сопроводительной документации)
- [14] ISO Guide 35:2017, Reference materials — Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability [Стандартные образцы. Общие и статистические принципы сертификации (аттестации)]
- [15] ISO Guide 98-3, Uncertainty of measurement — Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995) (Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения)
- [16] ISO 20395, Biotechnology — Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences — qPCR and dPCR (Биотехнология. Требования к оценке эффективности методов количественного определения последовательностей нуклеиновых кислот-мишеней. Количественная ПЦР и цифровая ПЦР)
- [17] ISO 17822, In vitro diagnostic test systems — Nucleic acid amplification-based examination procedures for detection and identification of microbial pathogens — Laboratory quality practice guide (Наборы реагентов для диагностики in vitro. Процедуры исследования, основанные на амплификации нуклеиновых кислот, для обнаружения и идентификации патогенных микроорганизмов. Руководство по обеспечению качества лаборатории)

УДК 57.085.2:006.354

ОКС 11.100.10

Ключевые слова: медицинские изделия для диагностики IVD, мультиплексные молекулярные методы, валидация, верификация
