

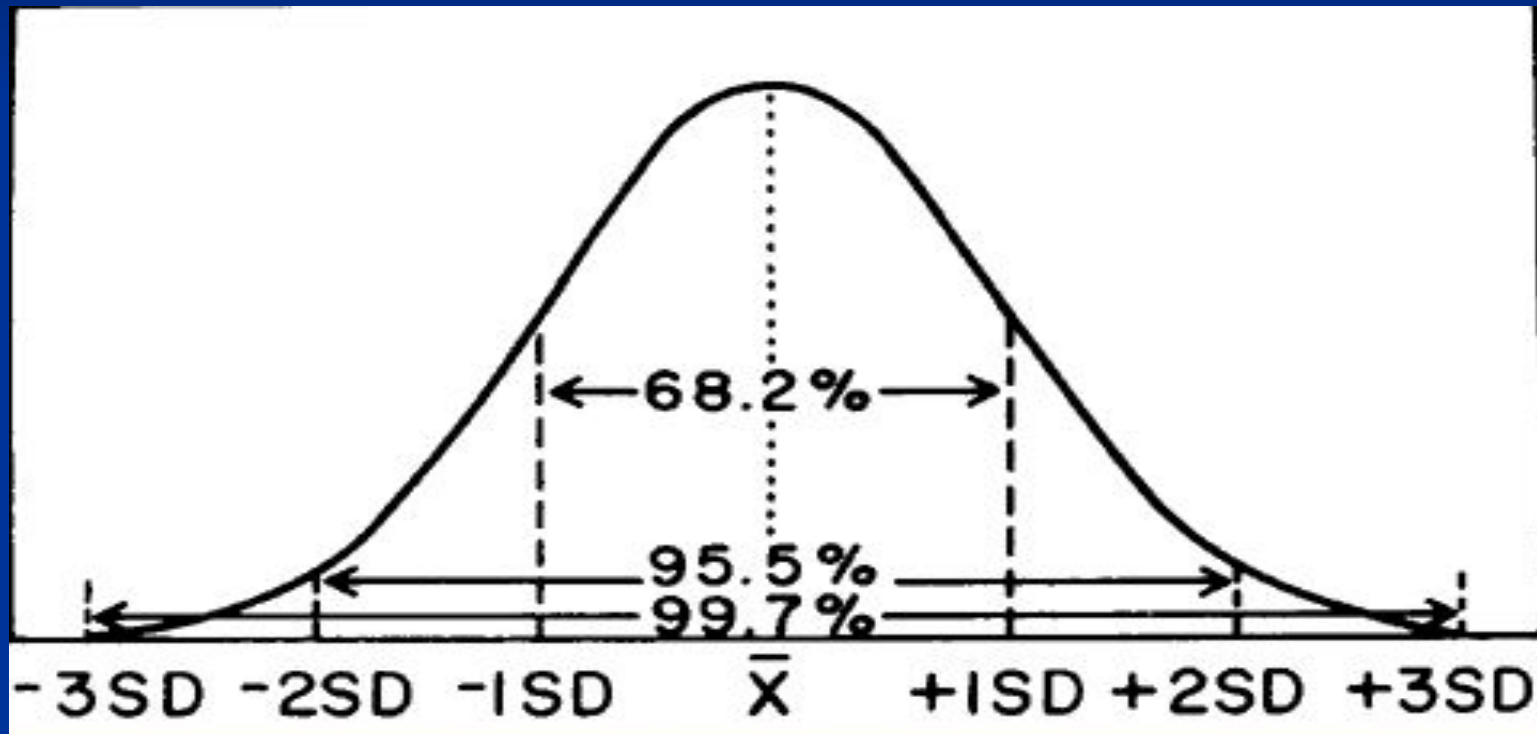
**Основные понятия
клинической химии.
Контроль качества**

Тема №2

Референтные пределы

- Референтные уровни – пределы значений биохимических показателей, определенные на большой популяции здоровых людей (группируемых по возрасту и полу, со стандартизацией некоторых факторов – натошак, один. способ забора и метод исследования). Дают представление о диапазоне в котором располагаются нормальные величины. Отклонение от референтной величины не обязательно патология.

Часто распределения результатов в референсной популяции имеет вид Гауссовой кривой (первая группа лаб. показателей)



- *Вторая группа лаб. показателей.*

Для которых невозможно рассчитать среднюю величину и среднеквадр. отклонение. Тогда определяют пределы нормальных колебания (отсекая 3% самых мал. и 3% самых больших).



Лучшие реф. границы для конкретного человека

- Стабильные результаты лабораторных исследований, полученные при его обследовании в течение нескольких лет.

Дата печати результата: 11.03.2009 19:50

Исследование	Результат	Единицы	Референсные значения	Комментарий
Гематокрит	39.4	%	35.0 - 45.0	
Гемоглобин	13.6	г/дл	11.7 - 15.5	
Эритроциты	4.21	млн/мкл	3.80 - 5.10	
MCV (ср. объем эритроц.)	93.6	фл	81.0 - 100.0	
MCH (ср. содер. Hb в эр.)	32.3	пг	27.0 - 34.0	
MCHC (ср. конц. Hb в эр.)	34.5	г/дл	32.0 - 36.0	
Тромбоциты	207	тыс/мкл	150 - 400	
Лейкоциты	7.63	тыс/мкл	4.50 - 11.00	
Нейтрофилы (общ. число)	61.3	%	48.0 - 78.0	
Лимфоциты	31.2	%	19.0 - 37.0	
Моноциты	6.6	%	3.0 - 11.0	
Эозинофилы	0.5 *	%	1.0 - 5.0	
Базофилы	0.4	%	< 1.0	
СОЭ (по Вестергрену)	8	мм/ч	< 20	
Глюкоза	4.7	ммоль/л	3.9 - 5.8	

Факторы, оказывающие влияние на результаты исследований

- Проблема многообразия таких факторов
- Проблема «общей вариации»
- Понятие о диагностической чувствительности и специфичности
- Проблема порогов решений (требующих принятия диагн. или лечебных действий)

Алгоритм последовательности оценки результата исследования

- 1 Технический уровень
- 2 Биологический уровень
- 3 Нозологический уровень
- ДИАГНОЗ, ПРОГНОЗ

Компоненты общей вариации

Общая
вариация

Внутри-
индивидуальная
биологическая
вариация

Биоритмы, диета,
физическая
активность,
алкоголь, никотин
и т.д.

Меж-
индивидуальная
биологическая
вариация

Раса, пол,
возраст,
беременность

Аналитическая
вариация

Воспроизводимость
измерений

Внеаналитическая
вариация

Преаналитика:
взятие и
подготовка пробы,
влияния
(гемолиз...)

Проблема референсных интервалов

В Италии верхний предел АЛТ для мужчин от 40 до 90 Ед/л

Аналит	Mass Gen Hospital (Kratz NEJM, 1998)	Karolinska Hospital (Kalner Clin Chem Lab Med, 2000)	Шведская популяция
Альбумин	31-41	37-51	32-48
Магний	0.7-1.0	0.7-1.0	0.6-1.1
Железо	5.4-28.7	11-32	2-32
Фибриноген	1.75-4.0	2.0-4.2	1.8- 8.7
Мочевина	2.9-8.9	3.0-8.0	1.9 -7.6
Мочевая к-та	137-506	120-450	150-568
Калий	3.5-5.0	3.4-5.2	3.4-5.0
Фосфор, неорг.	0.84-1.45	0.6-1.5	0.7-1.6

Возраст

Влияние на отдельные анализы у взрослых



Альбумин
Кальций

Клиренс креатинина
Фосфор, неорг.
pO₂

Протромбиновое время

(Эритроциты)
(МСНС)
(Калий)



Холестерол
СОЭ
Ферритин
Глюкоза

(Щелочная фосфатаза)
(Амилаза)
(Креатинин)
(γ-ГТ)
(Иммуноглобулины)
(ЛДГ)
(Натрий)
(Мочевина)
(Мочевая кислота)

В скобках: только
тенденция

Лекарственные препараты

Влияние на количество тромбоцитов

- Антибактериальные препараты: цефалоспорины, левомецетин, котримоксазол, эритромицин, изониазид, (окси)тетрациклин, ПАСК, рифампицин, стрептомицин, сульфаниламиды.
- Противосудорожные препараты: карбамазепин, мефенитоин, метосуксимид, фенсуксимид, параметадион, фенитоин, триметадион.
- Анальгетики, противоревматические средства: ацетилсалициловая кислота, индометацин, парацетамол, фенацетин, фенилбутазон (бутадион).
- Мочегонные препараты: диакарб, фуросемид, ртутные диуретики, спиронолактон, тиазидные диуретики.
- Гипогликемические средства: карбутамид, хлорпропамид, инсулин, толтамид.
- Психотропные препараты: апронал, карбонал, барбитураты, аминазин, диазепам, метпропаман, фенотиазин, промазин.
- Прочие: а-метилдопа, антигистаминные, карбимазол, дигитоксин, гепарин, мерказолил, преднизолон, стибофен, витамин К (водные растворы).

Аналитическая вариация

(основные критерии по которым оценивается метод)

- **Точность** (систематическая разница не должна превышать допустимых величин? Для $\text{Na} < 3$ ммоль/л)
- **Воспроизводимость** (в одной и той же пробе несколько раз и в одной и той же серии проб, с расчётом \bar{X} , сред.кв.откл S , коэф. вариации V)
- **Специфичность (аналитическая)** - способность метода определять тот компонент, для которого он предназначен
- **Чувствительность (аналитическая)** - наименьшая концентрация вещества, которое можно обнаружить этим методом.

Врач обязан

учитывают (понимать) влияния патологических факторов, определяющих отклонение результата анализа за пределы реф. границ (что есть – анализ патологической вариации на нозологическом уровне)

Здесь врачу необходимо знать

чувствительность

специфичность

прогностическую ценность

порог принятия решений лабораторных тестов

- Чувствительность - вероятность положительного результата у больного (редко «пропускает» больных)
- Специфичность – вероятность отрицательного ответа у здорового («не относит» здоровых к больным)

Определяются на основании статистического анализа

Зависят от выбора точки разделения (cutoff)

Чем чувствительнее тест, тем выше его предсказательная ценность (ПЦ) его отрицательного результата, чем специфичнее тест, тем выше ПЦ его положительного результата.

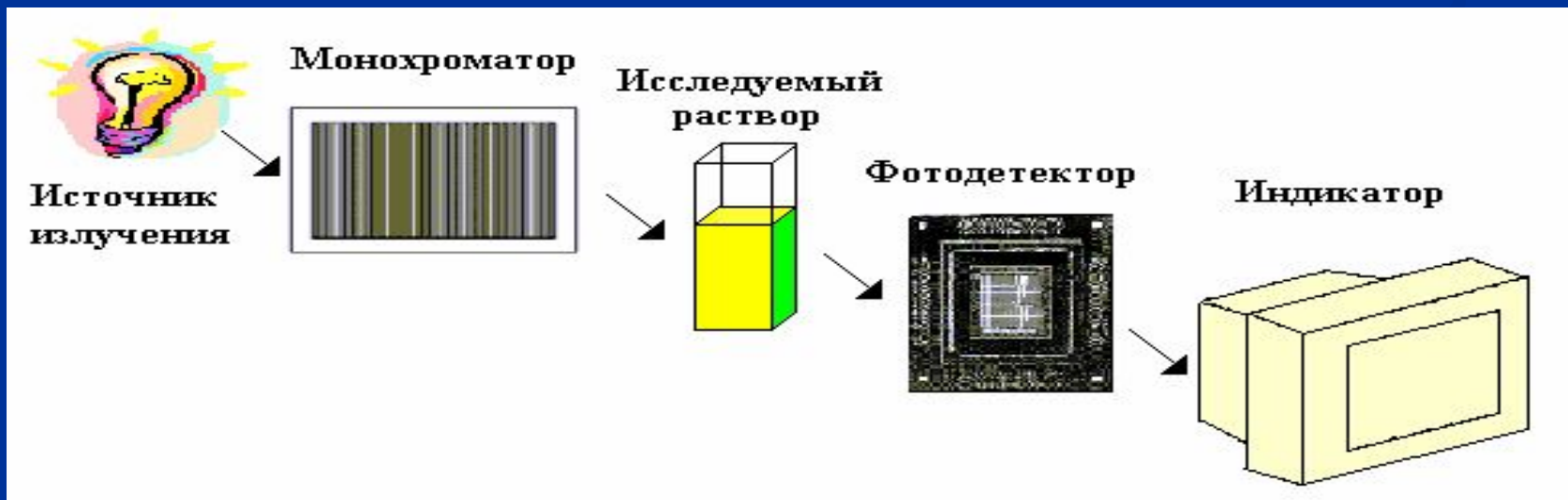
Основные аналитические методы клинической биохимии

- Оптические методы исследования веществ основаны на способности этих веществ порождать оптическое излучение или взаимодействовать с ним.
- Фотометрические методы основаны на измерении светопоглощения растворов. Фотометрические методы применяются также в тех случаях, когда изучается способность веществ рассеивать (*нефелометрия*) и пропускать излучение (*турбидиметрия*), переизлучать поглощенное излучение (*флуориметрия*), изменять степень поляризации излучения при прохождении его через оптически активные вещества (*поляриметрия*).
- Спектрофотометрия - определение зависимости фотометрических величин от длины волны излучения .
- Спектроскопия или эмиссионный спектральный анализ - определение излучательной способности веществ в зависимости от длины волны излучения.

Простейшая фотометрическая схема

ФОТОМЕТРИЯ В ЛАБОРАТОРНОЙ
ПРАКТИКЕ, 2004

В.В.ДОЛГОВ, Е.Н.ОВАНЕСОВ, К.А.ЩЕТНИКОВИЧ



Основные аналитические методы клинической биохимии

- Фотометрические
- Флюориметрические
- Хемилюминесцентные
- Клоттинговые
- Турбидиметрические
- Нефелометрические
- Ион-селективные
- Спектральные
- Рефрактометрические
- Электрофоретические
- Хроматографические

**Требования
к методам**

аналитические

медицинские

технические

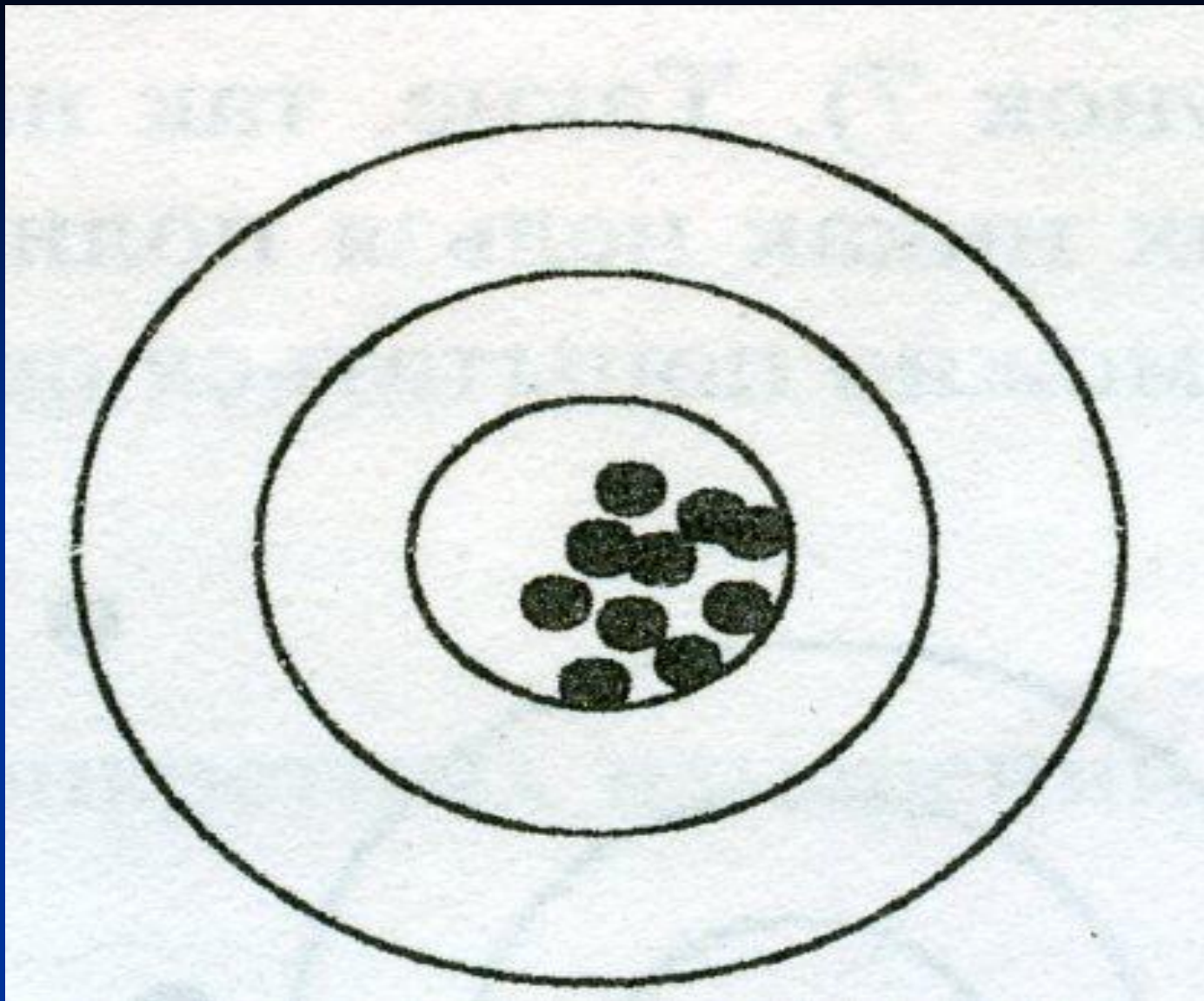
Аналитические требования

- **Аналитическая надёжность** Основные критерии надёжности метода- **точность** и **воспроизводимость**. (Приказ МРФ №282 28.09.98)

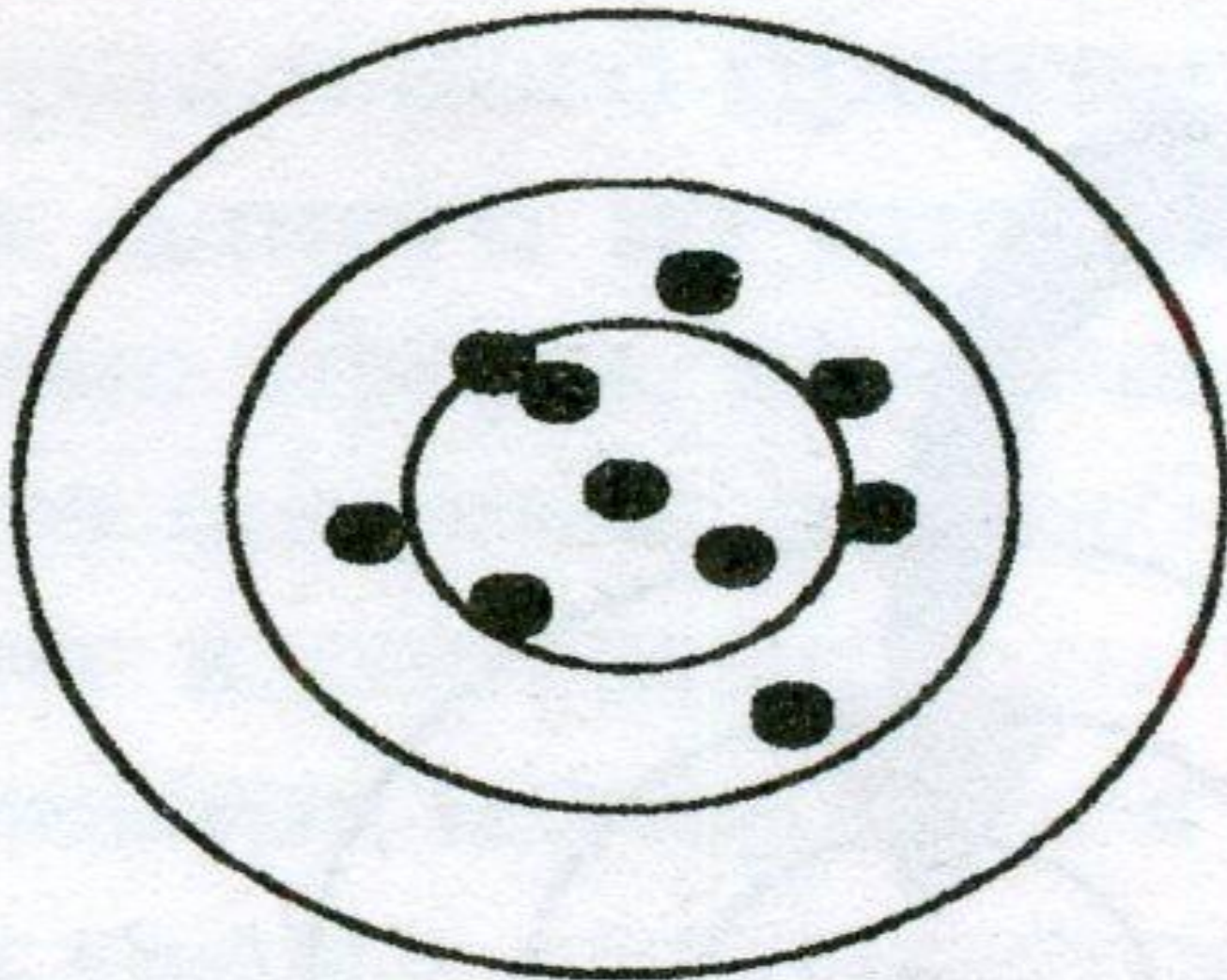
Точность говорит о достоверности метода в определении им концентрации данного вещества. Реф. метод, который наиболее точно определяет конц. вещ., называют «золотой стандарт» (приемлимость метода зависит ещё и от определяемого вещ., например Na – отклонения в 3 ммоль/л неприемлемы, а для определения гормонов методами ИФА – приемлема, т.к. использование разл. препаратов АТ даёт различные матричные эффекты)

Методы сравнивают из одной пробы, определяя их корреляцию (формула), если Коэф.кор. > 0.9 , то метод хорошо согласуется с референтным.

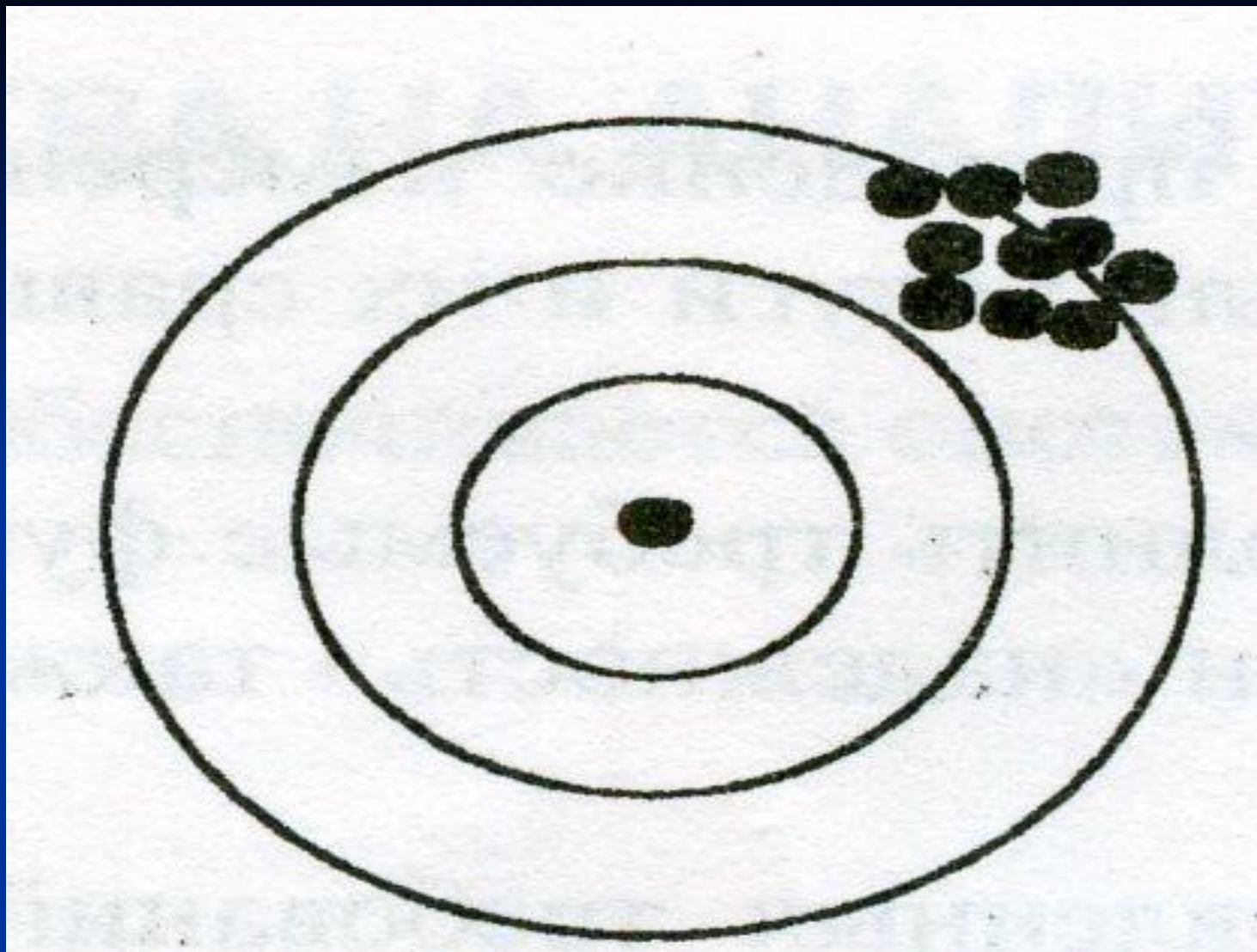
Воспроизводимость- в одной пробе, в один день и в той же пробе на след. день, вычисляя коэф. вариации ($< 5\%$, для ферм $< 10\%$)



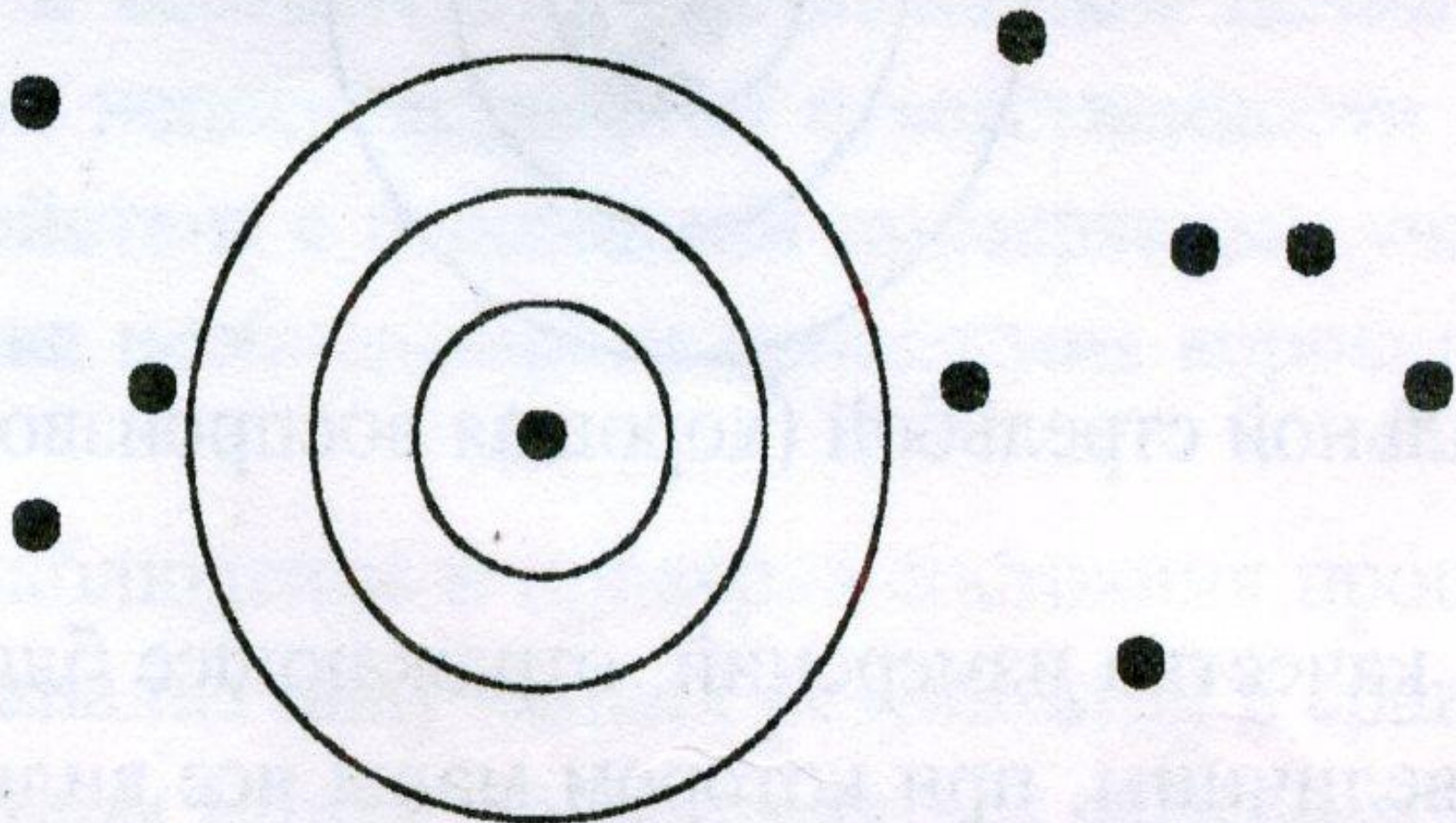
**Хорошая воспроизводимость и хорошая
правильность**



**Хорошая правильность плохая
воспроизводимость**



**Хорошая воспроизводимость и плохая
правильность**



**Плохая воспроизводимость, плохая
правильность**

медицинские требования

- Цель – клиническое предназначение, плановое амбулаторное исследование или скрининг, экстренное при критическом состоянии
- Информативность (чувствительность и специфичность (не путать по отнош. к патологии))
- Своевременность
- Безопасность для пациента (при расс. склерозе – очень малое кол. СМЖ)

Технические требования

- Последние достижения на рубеже науки и техники.
- Безопасность для персонала

Самостоятельно продолжите

Приемлемо к анализаторам – обучение инженеров.

Унификация

Научно обоснованный выбор единых аналитических процедур в наибольшей мере удовлетворяющих современному уровню развития медицинской науки и потребностям практики, обеспечивающих надежность, воспроизводимость, сопоставимость результатов биохимических исследований, выполняемых в разных лабораториях.

США – законодательные акты Конгресса

Страны Евросоюза – европейские стандарты (EN 45000)

ISO – международная организация по стандартизации

Основные требования заказчика

■ Пациента:

- Достоверность результата
- Скорость выполнения анализа
- Безопасность
- Доступность 24 часа 7 дней в неделю
- Широкий спектр услуг по низкой цене
- Наличие «человеческого контакта»

■ Врача:

- Достоверность результата
- Высокая чувствительность, специфичность и диагностическая значимость тестов
- Скорость выполнения анализа, возможность проведения теста у постели больного
- Минимальный объем пробы (для педиатрии)

Контроль качества клинических лабораторных исследований -

Система мер по повышению
надежности результатов
лабораторных исследований

«Обеспечение качества в клинической» лабораторной
диагностике, 2004

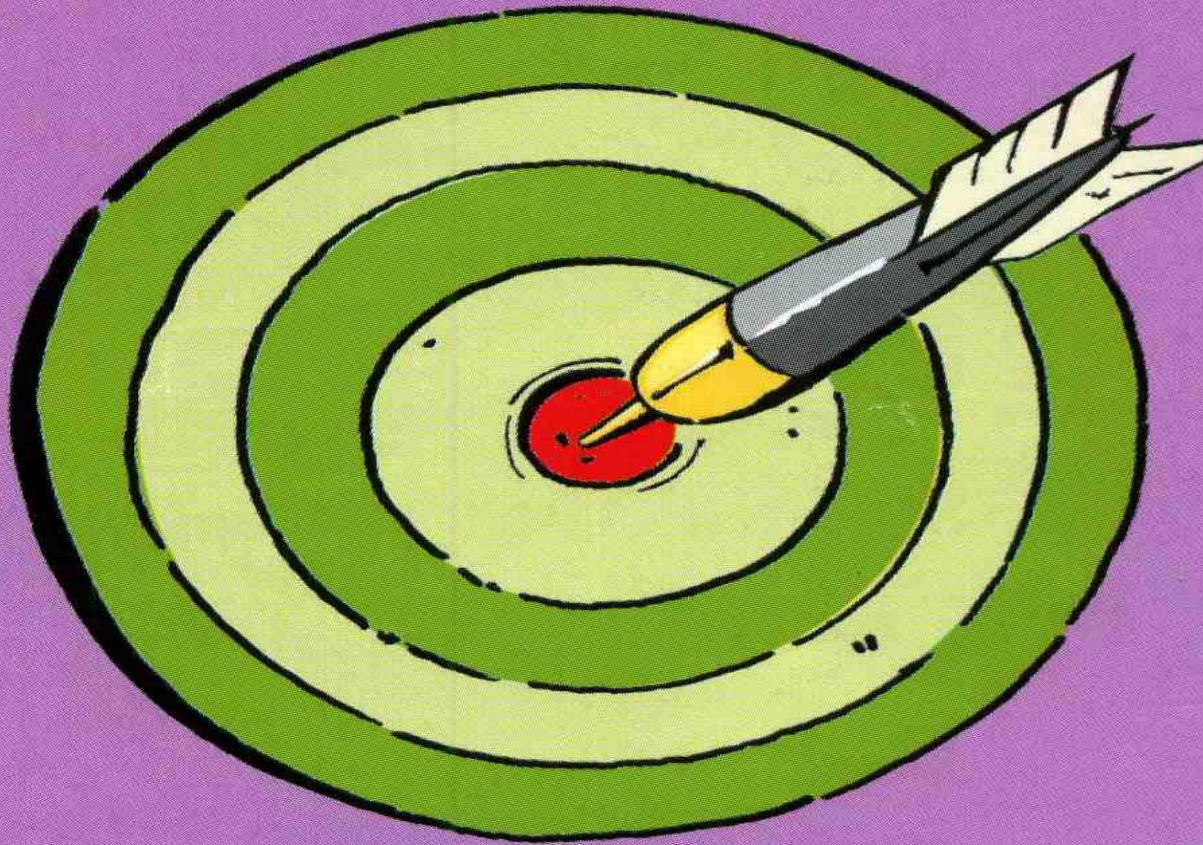
Мошкин А.В., Долгов В.В.

Применительно к медицинским лабораториям понятие «качество»

«...- это правильно и своевременно назначенный тест для нуждающегося в нем пациенту, выполненный на достаточном аналитическом уровне с необходимой информацией для его интерпретации»



Лабораторная ошибка



Возможные ошибки лабораторных исследований

Случайные - неопределенные по величине и знаку ошибки, в появлении которых не наблюдается закономерности.

- сопутствуют любому измерению
- проявляются в некотором различии результатов измерения одного и того же элемента, выполненного данным методом.

Обусловлены: 1) свойствами пробы.

2) точностью измерительного инструмента.

3) точностью работы персонала лаборатории («человеческий фактор»).

Систематические – происходят по определенным причинам. Одинаковые по знаку, они либо увеличивают, либо уменьшают истинные результаты.

После выяснения причины, вызывающей систематическую ошибку, ее можно устранить или ввести поправочный коэффициент.

Обусловлены: 1) методические ошибки (наиболее трудно устранимые)

2) применяемыми приборами и реактивами.

3) оперативными факторами, происходящими от неправильного или неточного выполнения операции.

4) индивидуальными, личными способностями оператора, его органами чувств, привычками.

Внутрилабораторный контроль качества

(количественные методы)

Цель-проверка результатов измерений каждого анализа в каждой аналитической серии, выявление и устранение отклонений от стабильного выполнения путем и применения специальных алгоритмов оценки.

Требования к аналитическому КК, сегодня в России, изложены в 2-х документах:

- 1) Правила внутрилабораторного контроля качества количественных клинических лабораторных исследований, **приказ Минздрава РФ от 07.02.2000 №45**
- 2) Правила проведения ВКК количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов, **отраслевой стандарт утвержден 26.05.03 №220**

Система обеспечения качества в лаборатории

1. Задача: получение качественных результатов
2. Современные, надежные методы исследования
3. Приборы - высокая точность измерений, своевременное обслуживание
4. Реагенты, калибраторы (калибровка), контрольные материалы
5. Квалификация персонала
6. Ведение ВКК, участие в системах ВОК
7. Стандартизация пре- и постаналитического этапа
8. Контроль проводимых мероприятий

Контрольный материалы,

используется для оценки погрешности

измерений

Аттестованные

(правильность,
воспроизводимость)

Неаттестованные

(воспроизводимость)

КОНТРОЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

(требования при выборе и применению)

- выбор КМ (матрица - близость по своим свойствам к пробам пациентов, наличие показателей и методов)
- 2 (3) уровня КМ, норма и патология
- стабильность показателей в КМ
- флаконная вариация
- условия приготовления (пипетка класса А, качество воды)
- условия хранения (температура, аликвоты) и применения (как пробы пациентов)
- КМ нельзя использовать для калибровки методов

- Правило применения контрольных материалов иной фирмы, чем калибратор и реагенты.
- Сливная контрольная сыворотка (необх. проводить часто установочные серии. т.к. он не стабилен, достигается только один уровень анализа, + дешевизна)

КОНТРОЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И КАЛИБРАТОРЫ

«Dia-Sys»

«TruLab N», «TruLab P», «TruCal U», «TruLab CRP hs»

«HUMAN»

«Humatrol N», «Humatrol P», «Serodos»

«Roche»

«Roche Control Serum» «Humatrol P» «Serodos», «Roche Lipid Control Serum», «Roch Calibrator»

«Cormay»

«Cormay Serum N», «Cormay Serum P», «Calibrator»

«BioRad»

«Lipocheck Level 1», «Lipocheck Level 2»

«Behringer Mannheim»

«Precinorm», «Precipath» серий U, L, E, IM, RF, S.

Статистические основы оценки погрешности количественных методов исследований с применением контрольных материалов

- Среднее арифметическое значение X_{cp}

$$X_{cp} = \sum X_i / n$$

- Коэффициент вариации $CV\%$

$$CV\% = \frac{S}{X_{cp}} \times 100$$

- Среднее квадратичное отклонение S

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - x_{cp})^2}{N - 1}}$$

- Относительная систематическая погрешность или смещение $B\%$

- $B\% = ((X_{cp} - Y_3) / Y_3) \cdot 100$

Порядок проведения внутрилабораторного контроля качества (ВКК) (по положениям ИСО 91500.13.0001-2003, введенные в обращение приказом №220 от 26.05.2003)

Стадия 1 Оценка сходимости результатов измерения

Стадия 2 Выполнение установочных серий измерений с оценкой воспроизводимости измерений, построение контрольных карт.

Стадия 3 Проведение оперативного контроля качества результатов лабораторных исследований в каждой аналитической серии по правилам Вестгардта

Оценка сходимости (внутрисерийной воспроизводимости) метода

- измерение концентрации (активности) показателя в КМ или пробе пациента 10 раз подряд в одной серии измерений
- расчет по полученным результатам X_{cp} , S , $CV_{cx} \%$

$$CV_{cx} \% \leq 0,5 CV_{10} \% \text{ (табл.1 Приказ, стандарт)}$$

- **НОВЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ**
- **ДРУГОЙ МЕТОД**
- **СМЕНА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ РЕАГЕНТОВ**
- **НОВЫЙ АНАЛИЗАТОР / ПОСЛЕ РЕМОНТА**
- **ПОИСК ПРИЧИНЫ ПЛОХОЙ МЕЖСЕРИЙНОЙ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ МЕТОДА**

Стадия 2 Выполнение установочных серий измерений с оценкой воспроизводимости измерений, построение контрольных карт (3 этапа)

- однократное измерение концентрации (активности) показателя в КМ не менее 1) 10 и 2) 20 серий подряд 3) построение карт
- расчет по полученным результатам - $X_{\text{ср}}$, S , $CV\%$, $B\%$
- если 1 результат $> X_{\text{ср}} + 3S$, он из расчета исключается и $X_{\text{ср}}$, S , $CV\%$ рассчитываются заново
- сравнение: $CV\%_{\text{расч}} < CV_{10 \text{ и } 20}\%$ и $B\%_{\text{расч}} < B_{10 \text{ и } 20}\%$ (табл.1 Приказ, стандарт)

ДОПУСТИМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ CV% и B%

Исследование биологических жидкостей	Код ОКПМУ	B _{10'} , %	CV _{10'} , %	B _{20'} , %	CV _{20'} , %
1. Исследование уровня АЛТ	09.05.042	±17	16	±15	15
2. Исследование уровня альбумина	09.05.011	±5	4	±4	4
4. Исследование уровня АСТ	09.05.041	±11	11	±10	10
5. Исследование уровня общего белка	09.05.010	±5	3	±5	3
6. Исследование уровня общ. билирубина	09.05.021	±17	16	±15	15
7. Исследование уровня глюкозы	09.05.023	±6	5	±5	5
8. Исследование уровня креатинина	09.05.020	±11	8	±10	7
9. Исследование уровня мочевины	09.05.017	±11	11	±10	10
10. Исследование уровня холестерина	09.05.026	±9	8	±8	7
12. Исследов. уровня общего гемоглобина	09.05.003	±5	4	±4	4
13. Исследование уровня эритроцитов	08.05.003	±7	4	±6	4

Построение контрольной карты

- Среднее контрольной карты — среднее значение из установочной серии - $X_{\text{ср}}$ не использовать аттестованное значение из инструкции к КМ
- Расчет пределов контрольной карты:
 - предупредительные границы $X_{\text{ср}} \pm S$ и $X_{\text{ср}} \pm 2S$,
 - контрольные границы $X_{\text{ср}} \pm 3S$ не использовать пределы, указанные в инструкции к КМ
- Закрытые системы
- Контрольная карта для патологического уровня

Оперативный контроль

Цель- поддержание стабильности аналитической системы

- в каждой аналитической серии проводится по 1 измерению для двух уровней КМ (норма и патология)
- результаты наносятся на контрольную карту
- приемлемость оценивается по правилам Вестгарда
- перерасчет $CV\%$ и пределов КК по итогам 50-80 серий
- смена контрольного материала
- ведение ВКК с использованием компьютерных программ («QС», «Q-control», «Алтей» и др.)

ПРАВИЛА ВЕСТГАРДА

1_{2S} (предупред. критерий) – если одно контрольное измерение оказалось за пределами $X_{ср} \pm 2S$, тогда проводится проверка нижеследующих контрольных признаков:

1_{3S} – одно контрольное измерение выходит за пределы ($X_{ср} \pm 3S$);

2_{2S} – два последовательны контрольных измерения превышают предел ($X_{ср} \pm 2S$) или лежат ниже ($X_{ср} - 2S$);

R_{4S} – два контрольных измерения одной аналитической серии находятся по разные стороны от коридора $X_{ср} \pm 2S$ (этот признак не проверяется при одном измерении в серии одного контрольного материала);

4_{1S} – четыре послед-ных контрольных измерения превышают предел ($X_{ср} + 1S$) или лежат ниже ($X_{ср} - 1S$);

$10x$ – десять послед-ных контрольных измерений лежат по одну сторону от $X_{ср}$.

Если ни один из контрольных признаков не выявлен, серия принимается, и результаты пациентов сообщаются врачам.

Если присутствует хотя бы один из вышеперечисленных контрольных признаков, аналитическая серия бракуется. Следует найти источник ошибки, устранить причину, после чего переделывается вся серия – и контрольные материалы, и пациенты.



№	Анализатор или группа методик	Кол-во
3	Synchron	6
4	Integra	19
5	Cobas Mira	6
6	Cardiac R	
7	Osmomet	

Контрольная серия	Материал	Вид контроля	Кол. шт	Начало	Окончание	Активность
T хлор	Precinom, Precipath	По двум материалам	121	07.06.2004		Активна

Установочная серия для Synchron\хлор\хлор

Требования ОСТ к исследованию (Хлориды, концентрация в сыворотке):
 MAX CV 10: 3,30; MAX B 10: 3,40; MAX CV 20: 3,00; MAX B 20: 3,00

Исполнитель: Арефьева И.А. Реактивы: Synchron Дата проведения с 07.06.2004 по 30.06.2004



CV 10: 0,65 B 10: 6,46 Рекомендации: Серия не соответствует ОСТ

CV 20: 1,26 B 20: 5,68

Построить карту: По аттестованным значениям Xa: 87,80 Sa: 2,60

Использованы аттестованные значения контрольного материала.



CV 10: 0,59 B 10: 3,57 Рекомендации: Серия не соответствует ОСТ

CV 20: 0,69 B 20: 3,10

Построить карту: По аттестованным значениям Xa: 117,00 Sa: 4,00

Использованы аттестованные значения контрольного материала.

OK Отмена

МЕТОДИКА ИДЕТ ПРАВИЛЬНО.

● Методика идёт правильно ● Предупредительный критерий ● Решающий критерий

Правила для оценки результатов внутреннего контроля качества

<u>Критерий и его описание</u>	<u>Тип ошибки</u>
1 _{2SD}	- один результат в серии вышел за предел $X_{cp} \pm 2\sigma$ <i>Сигнал для применения других критериев !</i>
1 _{3SD}	- один результат в серии вышел за предел $X_{cp} \pm 3\sigma$ случайная
R _{4SD}	- разница между двумя измерениями в серии превышает 4σ случайная
2 _{2SD}	- два последовательных измерения в серии вышли за предел $X_{cp} \pm 2\sigma$ или $X_{cp} \pm 2\sigma$ систематическая
4 _{1SD}	- четыре последовательных измерения в серии вышли за предел $X_{cp} \pm \sigma$ или $X_{cp} \pm \sigma$ систематическая
10 _X	- десять последовательных измерений лежат по одну сторону от средней линии (X_{cp}). <i>Может применяться самостоятельно !</i>

Примеры применения правил оценки КК

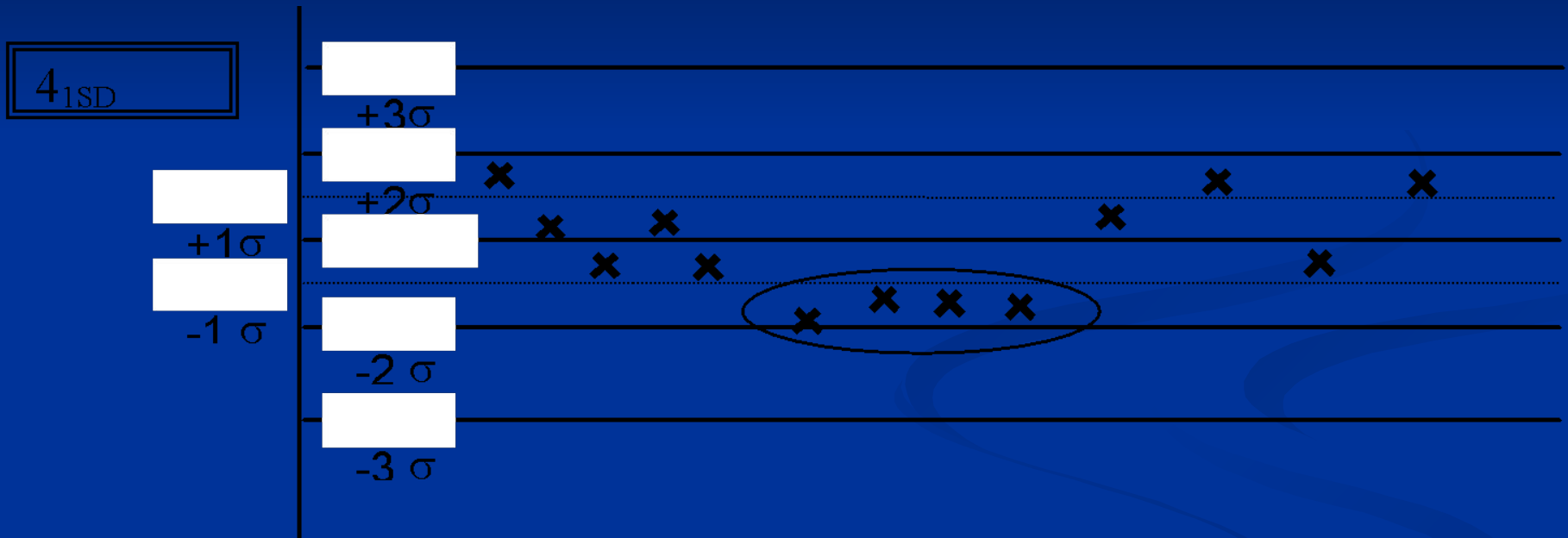
1_{2SD}



Примеры применения правил оценки КК



Примеры применения правил оценки КК



Проведите обслуживание прибора, калибровку

Примеры применения правил оценки КК

10 X



Проведите обслуживание прибора, калибровку

Что делать, если для показателя нет допустимых значений $CV\%$ и $B\%$

- Вести ВКК по правилам, описанным в нормативных документах
- Определить и контролировать свой $CV\%$
- Следовать рекомендации общемировой практики – минимальный $CV\%$
- Сравнить свой $CV\%$ с данными других лабораторий, с $CV\%$ биол.вар.
- Участвовать в системах внешней оценки качества

Внешний контроль качества

Контроль, осуществляемый внешней организацией с целью обеспечения сравнимости результатов, получаемых в разных лабораториях.

ФСВОК – федеральная система внешней оценки качества клинических лабораторных исследований в России

Международные системы: Labquality, Swedac, CPA

Основные отличия внутреннего и внешнего КК

Внутренний контроль:

-

организует и проводит лаборатория
ежедневно

лучше выявляет случайные ошибки

-

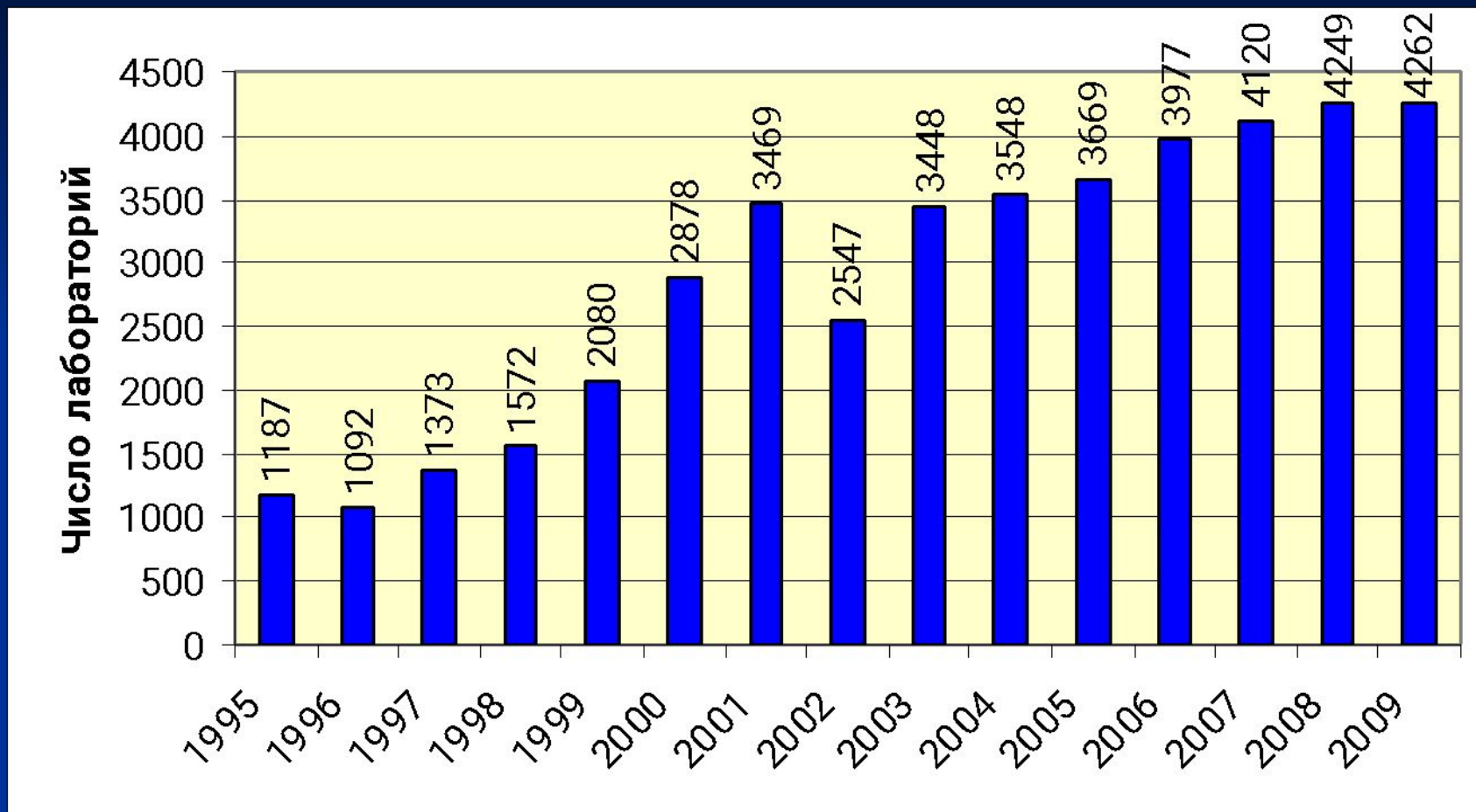
проводит некая организация
периодически

лучше выявляет систематические ошибки

1995-2009: число разделов и участников ФСВОК

	<u>1995</u>	<u>2009</u>
Разделов	8	83 
Участников	1557	7500 
Число участников раздела «Биохимия»	1187	 1262
Число участников раздела «Анализ мочи»	1308	 903

Прогресс раздела «Биохимия крови» ФСВОК



Увеличение доли удовлетворительных результатов по правильности достоверно с $p < 10^{-195}$, по воспроизводимости - с $p < 10^{-500}$.

Санитарные нормы

- **Весь исследуемый биологический материал, а также контрольные материалы считаются потенциально биологически опасными**