

Алгоритм создания стандартной операционной процедуры (СОП) для количественных методов исследований.

Несколько вступительных слов.

Уважаемые Коллеги! Как известно, наличие СОПов, в том числе для количественных методов исследований, является показателем высокого уровня организации внутренних процессов в лаборатории.

При различных аккредитациях наличие СОПов, по сути, является ожидаемым.

В таких документах, как ИСО 15189, GLP, GCP, однозначно говорится о необходимости создания СОПов.

СОПы по количественным методам вызывают, по нашему опыту, наибольшее число вопросов у тех сотрудников, которые их готовят.

Проблема кроется в том, что количественные методы исследований, особенно выполняемые на современных анализаторах, в части процедуры исследования образца биоматериала, являются жестко регламентированными производителем. И в лабораториях часто путают СОП на количественный метод с инструкцией производителя.

На наш взгляд СОП для количественного метода должен содержать намного больше, чем непосредственно процедуры выполнения исследования.

В данном небольшом обзоре мы опишем наш подход к созданию СОПа для количественных методов.

Целями создания СОПа по количественным методам исследований в лаборатории являются:

- 1) Жесткая регламентация всех рабочих процедур по планированию, выполнению, оценке и мониторингованию для конкретного вида исследования или, что допускается, по группе исследований (в рамках GCP, GLP, а также при аттестации МВИ, регламентация должна быть привязана только к конкретному виду исследования)
- 2) Четкое распределение ответственности и полномочий между персоналом
- 3) Применяемы в данной лаборатории методы планирования аналитического качества для конкретной методики
- 4) Процедура верификации и, если требуется, валидации
- 5) Определение стратегии внутреннего контроля качества (сигмаметрия, выбор количества контрольных точек, выбор контрольных правил, оценка мощности, принятие решений по статистическим подходам к оценке результатов и т.д.)
- 6) Выбор системы внешней оценки качества
- 7) Определение критериев качества

Все это необходимо для оценки достигнутого и повышения текущего качества лабораторных исследований в соответствии с требованиями к качеству международных организаций, стандартов, приказов и других рекомендаций и нормативных документов. Все это ведет к минимизации ложных выбросов аналитической серии при существенном снижении затрат на расходы контрольных материалов.

Ответственными за создания данного документа являются врачи клинической лабораторной диагностики каждого подразделения лаборатории под руководством ответственного за ВКК и заведующего лабораторией.

Рекомендуемые разделы СОПа:

1. Назначение и область применения.

В данном разделе необходимо указать, для чего применяется данный СОП в конкретной лаборатории, кто обязан следовать данному СОПу. Особое внимание необходимо уделить тем лабораториям, где данный СОП прописан для сотрудников разных подразделений. В этом случае согласующие подписи на СОПе должны включать всех руководителей данных подразделений.

2. Нормативные ссылки

В данном пункте указываются все приказы, ГОСТы, международные рекомендации, стандарты, используемые при создании СОПа.

3. Термины и определения.

В данном разделе указываются термины и дается им определение, используемые в данном документе.

Если в документе применяются термины и определения из какого-либо национального или международного стандарта, то это необходимо указать (примеры: ГОСТ Р ИСО 15189, Международный словарь по метрологии и т.п.)

4. Выбор аналитического количественного метода сотрудниками лаборатории.

Процесс планирования качества (Под термином «планирование качества» в рамках данного документа мы понимаем всеохватывающий процесс, начиная с выбора метода исследования, заканчивая выдачей результатов.) в лаборатории начинается с выбора

аналитического метода. Целью выбора аналитического метода является выбор такого метода, который будет отвечать всем требованиям, предъявленным к его аналитическим характеристикам. Необходимо помнить, что эти требования зависят от типа лаборатории, ее основного круга пациентов, требований врачей, подразделений и ЛПУ, которых обслуживает лаборатория и т.д. Основными характеристиками метода, на которые необходимо обратить внимание, являются следующие:

- аппликационные – определяют: может ли данный метод быть реализован в лаборатории. К ним относятся: стоимость теста, типы анализируемых образцов, объем образца, время оборота теста, нагрузку на лабораторию, требуемое оборудование и требования к персоналу, а также рабочее пространство лаборатории, портативность и безопасность выполнения метода.
- методологические - связаны с аналитической чувствительностью и аналитической специфичностью метода исследования. В данном аспекте обращают внимание на тип химической реакции, условия реакции, принципы стандартизации и калибровки.
- рабочие - включают рабочий диапазон, воспроизводимость, интерференцию, правильность и предел детекции.

После того, как выбрали аналитический метод, переходим к его верификации/валидации (Существует множество подходов к определению данных терминов. В данном случае мы говорим о подтверждении соответствия характеристик метода, указанных производителем. Или, в случае их отсутствия, их установке – при необходимости.).

5. Проведение верификации/валидации выбранных количественных методов исследования аналитов.

В настоящее время все больше и больше в лабораторную практику внедряются современные аналитические системы мировых производителей. Но их использование в лабораторной практике не говорит нам о том, что именно на этом анализаторе мы получим результаты с нужными нами точностными характеристиками. Данные аналитические системы только позволяют нам достичь высокого качества лабораторных исследований под руководством сотрудников лабораторий с учетом всех фактор, которые могут оказывать влияние на стабильную работу аналитической системы. Поэтому не случайно в новой версии стандарта ISO 15189:2012 появились два новых термина: валидация и верификация лабораторных методов исследований.

Согласно п. 3.26 новой версии стандарта ISO 5189:2012 «Лаборатории медицинские. Требования к качеству и компетентности» » **валидация** (validation) - это подтверждение, путем предоставления объективных доказательств соответствия требованиям предназначенного применения или использования, т.е. мы должны сравнить полученные спецификации по аналитическому качеству со стандартами качества. (CLIA-88, RiliBÄK, CAP Point-of-Care Checklist-2003, Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53133.2-2008 «Контроль качества клинических лабораторных исследований», часть 2 «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов», приказ от 7 февраля 2000 г. №45 «О системе мер повышения контроля качества клинических лабораторных исследований в учреждения здравоохранения Российской Федерации». Причем валидация методов проводится в том случае если:

- a) методы, применяемы в лаборатории, являются не стандартными;
- b) методы, разработанные лабораторией;
- c) стандартные методы, примененные вне области своего предназначенного применения;
- d) валидированные методы, подвергшиеся модификации.

И основными аналитическими характеристиками, которые необходимо валидировать, согласно рекомендациям CLSI (**Clinical and Laboratory Standards Institute, Институт клинических и лабораторных стандартов**) являются:

- a) линейность (рабочий диапазон) согласно протоколу CLSI EP6-A «Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline»
- b) прецизионность CLSI EP5-A2 «User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-Second Edition»
- c) правильность CLSI EP9-A2 «Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples Approved, Guideline – Second Edition»
- d) аналитическую чувствительность CLSI EP17-A «Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline»
- e) аналитическая специфичность CLSI EP14-A2 «Evaluation of Matrix Effects; Approved Guideline – Second Edition» (), EP7-A2 «Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second, Edition»
- f) референтные интервалы CLSI C28-A «Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory» (Определение, установление и верификация референтных интервалов в клинической лаборатории)

Но, как правило, в лаборатории проводят верификацию аналитических методов. Согласно п. 3.27 ISO 15189:2012 «Лаборатории медицинские. Требования к качеству и компетентности» говорится, что верификация (verification): подтверждение, путем предоставления объективных законодательств выполнения специфицированных требований, т.е. мы должны подтвердить спецификации разработчика метода по аналитическому качеству. В основе верификационных процедур лежит объективное доказательство того, что спецификации по аналитическому качеству,

заявленные производителем, должны воспроизводиться на практике в любой клинико-диагностической лаборатории. По сути, мы должны определить ошибку, которая есть в результатах тестов и убедиться на практике в том, что размер этой ошибки не будет критично влиять на интерпритацию результатов тестов и на проведение контроля качества лабораторных исследований с учетом вариабельности условий в лаборатории.

В каких же случаях следует проводить верификацию метода?
(<http://15189.ru/data/documents/Method-Validation-Verification-in-MedLab.pdf>.

Дата обращения 20 августа)

а) При введении нового метода или тест-системы в рутинную практику лаборатории

б) После проведения сервисного обслуживания аналитической системы

с) При возникновении вопросов с аналитической эффективностью тест-системы.

С учетом того, что в Российской Федерации каждая аналитическая тест-система проходит регистрацию с оценкой множества параметров ее характеристик, то на практике для объективной оценки работы аналитической системы в условиях деятельности лаборатории достаточно верифицировать:

а) прецизионность измерения, включая воспроизводимость, сходимоссть и повторяемость;

б) сопоставимость с результатами пациентов, полученными при помощи используемой ранее или референтной аналитической процедуры.

На первом этапе процесса верификации необходимо подтвердить согласно протоколу (James O. Westgard, PhD. Internal quality control: planning and implementation strategies. http://www.westgard.com/downloads/cat_view/52-papers) CLSI EP15-A2 «User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-Second Edition» (Верификация прецизионности и правильности), что выбранный лабораторией количественный метод

исследования соответствует заявленным спецификациям производителя по определению прецизионности и правильности.

Основные требования, прописанные в стандарте CLSI EP15-A2 по определению прецизионности и правильности.

1. Необходимо выбрать контрольный материал с концентрациями аналита близкими к уровням принятия клинического решения. Контрольный материал, используемый для верификации спецификаций производителя, следует выбирать так, чтобы его концентрации были близки к уровням принятия клинического решения, а также и к концентрациям, которые использовались производителем для определения своей спецификации по прецизионности. Если есть возможность, то контрольные материалы должны быть идентичны тем, которые использовал производитель для определения своих спецификаций, либо они должны быть очень схожими материалами (должны иметь схожий матрикс).

2. Ежедневно в течение пяти дней выполнить одну аналитическую серию измерений, состоящую из трех повторов для каждой из двух концентраций и внести полученные данные в протокол. А так же необходимо ввести в протокол среднее значение контрольного материала, который использовал производитель, и коэффициент вариации производителя (CV), указанный так же в инструкции. Протокол CLSI EP15-A2 для внесения полученных данных находится на сайте 15189.ru

3. Если, вследствие процедур контроля качества или из-за технических трудностей аналитическая серия должна быть отклонена, то тогда необходимо удалить данные и выполнить дополнительную аналитическую серию измерений.

4. В процессе выполнения протокола также необходимо проводить и рутинный ВКК в соответствии с рекомендациями производителя.

5. Пробы для определения правильности могут тестироваться в той же самой аналитической серии.

6. Калибровать аналитическую систему следует точно так, как

указано в инструкции производителя для операторов. Если производитель указал, что его данные для спецификации по прецизионности были получены в результате множественных калибровочных циклов, тогда оператор в течение эксперимента может провести повторную калибровку аналитической системы.

Для обеспечения верхней границы спецификации производителя по точности, EP15 рекомендует рассчитать величину “верификационного значения” (VV). Если верификационное значение больше лабораторного SD, то данные производителя считаются верифицированными. Соответственно, лаборатория имеет полное право проводить лабораторные исследования данным методом и выдавать результаты пациентам.

Следующим шагом в проведении верификации метода является оценка правильности согласно протоколу CLSI EP15-A2 «User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-Second Edition» (Верификация прецизионности и правильности). Алгоритм и требования к проведению исследований согласно данному протоколу размещен на сайте <http://15189.ru/data/documents/Method-Verification-in-MedLab.pdf>.

6. Предварительная оценка достигнутого качества на основе данных по биологической вариации.

После того, как метод был верифицирован в лаборатории, следующим этапом в планировании качества является оценка достигнутого качества с помощью статистических характеристик ведения контроля аналитического качества. Для этого в первую очередь мы должны определить требования к качеству. Данные требования к качеству каждая лаборатория устанавливает свои в зависимости от возможности аналитической системы, регулярности сервисного обслуживания, возможности использования контрольных материалов, условий поставки и хранения регентов. В раздел 3.3 национального стандарта ГОСТ Р 53022.2-2008 «Требования к качеству

клинических лабораторных исследований», часть 2 «Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность)» говорится, что «решение о применении требований по точности лабораторных исследований...принимаются руководителем учреждения по представлению заведующего лабораторией».

В настоящее время существует несколько подходов к определению требований к качеству:

а) биологическая модель требований к качеству количественных методов исследований на основе общей аналитической ошибки (TEa), внутрииндивидуальной (Cvi) и межиндивидуальной вариации (CVG) и смещения (B)/ Все необходимые данные по биологической вариации можно получить на сайте <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. Данный подход рекомендован национальным стандартом ГОСТ Р 53022.2-2008 «Требования к качеству клинических лабораторных исследований» часть 2 «Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность)».

б) клиническая модель требований к качеству - группа клиницистов-экспертов устанавливает требования к качеству для отдельных аналитов, например, холестерина, HbA1c (гликозилированного гемоглобина). Это наилучший подход, высший, по стокгольмской конференции 1999г, т.к. данные требования устанавливает сам клиницист и полученные результаты исследования при данных требованиях качеством, будут для него руководством к действию в отношении диагностики и лечения пациента. Но надо отметить, что порой требования, определенные клиницистом к тому или иному аналиту, недостижимы на используемых аналитических системах в лаборатории. Поэтому решение данного вопроса об установлении к качеству количественного метода исследования будет оставаться за заведующим лабораторией.

Приказ № 45 от 07.02.2000 г «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения

Российской Федерации» и ОС 91500.13.0001-2003, введенный в обращение МЗ РФ № 220 от 26.05.2003г, был создан на основе биологической модели.

Обращаем внимание на то, что предельно допустимые значения (ПДЗ), смещения (В) и коэффициента вариации (CV) из приложения А стандарта ГОСТ Р 53133.2-2008 г «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований.» Часть 2. «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов» не могут рассматриваться как требования к качеству, т. к. данные значения определены только для установочной серии перед проведением ежедневного внутрилабораторного контроля качества.

с) согласованный подход к требованиям аналитического качества. Обычно их определяют организаторы национальных программ ВОК. Суть подхода сводится к тому, чтобы установить такие требования к качеству измерений, которые могут поддерживать большинство лабораторий. Данный подход не дает объективную оценку качества лабораторных исследований, а это способ соответствовать качеству измерений в большинстве лабораторий. (МР «Планирование аналитического качества количественных лабораторных исследований с использованием контрольных материалов», И. А. Арефьева, М. М. Федорова, А. В. Мошкин-2013 г-с. 46-47)

Еще одним из немаловажных статистических параметров, применяемых для оценки достигнутого и улучшения качества лабораторных процессов, является методология Шесть Сигм. Она основана на подходе к совершенствованию процессов через поиск и исключение причин дефектов и снижении вариаций, фокусируясь на критически важных для потребителя выходных факторах. В ее основе лежит зависимость статистической вариации процесса от количества дефектов. На практике способность процесса тестирования и аналитическое качество результатов рассчитывают

сначала вариацию процесса и величину аналитического смещения, после чего, используя в качестве спецификаций величину TEa определяют величину Z-значение по формуле: $Z = TEa\% - Bias\% / CV\%$. После определения способности процессов тестирования проводят сигмаметрию с помощью «Нормализованного графика принятия решения», которым можно воспользоваться на сайте <http://15189.ru/data/documents/MEDxChart.xls> и определяют приемлемость аналитических методов в зависимости от различных требований к аналитическому качеству.

7. Алгоритм определения требований к аналитическому качеству количественных методов исследований в лаборатории. (МР «Планирование аналитического качества количественных лабораторных исследований с использованием контрольных материалов», И. А. Арефьева, М. М. Федорова, А. В. Мошкин-2013 г-с. 28-34)

7.1 После проведения сигмаметрии всех количественных методов выделяем аналиты с сигмой >6 и устанавливаем к ним требования на оптимальном уровне и затем заново пересчитываем количество сигм. Формулы расчета определения требования к качеству аналитов на оптимальном уровне представлены в таблице №1.

Таблица № 1

Три уровня требований к аналитическому качеству на основе биологической вариации

минимальный	приемлемый (базовый)	оптимальный
$CV_{\max} < 0,75 * CV_i$	$CV_{\max} < 0,5 * CV_i$	$CV_{\max} < 0,25 * CV_i$
$B_{\max} < 0,375 * \sqrt{CV_i^2 + CV_G^2}$	$B_{\max} < 0,5 * \sqrt{CV_i^2 + CV_G^2}$	$B_{\max} < 0,125 * \sqrt{CV_i^2 + CV_G^2}$
$TE_a < 1,65 * (0,75 * CV_i) + 0,375 * \sqrt{CV_i^2 + CV_G^2}$	$TE_a < 1,65 * (0,5 * CV_i) + 0,25 * \sqrt{CV_i^2 + CV_G^2}$	$TE_a < 1,65 * (0,25 * CV_i) + 0,125 * \sqrt{CV_i^2 + CV_G^2}$

CV_i -коэффициент внутрииндивидуальной биологической вариации

CV_G - коэффициент межиндивидуальной биологической вариации

B_{\max} - целевое значение смещения

CV_{\max} -целевое значение коэффициента общей аналитической вариации

7.2 После пересчета для аналитов с количеством сигм >4 , устанавливают оптимальные требования к качеству; если же сигма < 4 , то устанавливаем базовый уровень качества и стараются его удерживать.

7.3 Если во время проведения предварительной оценки качества на основе установления базовых требований к качеству исследуемых аналитов, сигма <4 , то для таких аналитов устанавливаем минимальный уровень качества и пересчитываем количество сигм для этих аналитов. Формулы расчета определения требования к качеству аналитов на базовом уровне представлены в таблице № 1.

8. Оценка результатов сигмаметрии и планирование проведения ВКК. ((МР «Планирование аналитического качества количественных лабораторных исследований с использованием контрольных материалов», И. А. Арефьева, М. М. Федорова, А. В. Мошкин-2013 г-с. 28-34)

Проведя сигмаметрию и определив приемлемость аналитического качества исследуемых аналитов, переходим к выбору статистических контрольных правил и количеству контрольных измерений.

8.1 Если $\text{Sigma} > 6$, то означает, что нет проблем с данным методом исследования аналита и соответственно это позволяет снизить количество исследований контрольных материалов до одного уровня, анализируемых через день, и использовать одно запрещающее правило $1_{3,5\sigma}$.

8.2 Если Sigma от 4 до 6, то означает, что есть систематические ошибки, которые позволяют задуматься об улучшении качества, и в данном случае рекомендуется применять запрещающее правило $1_{2,5\sigma}$ для двух уровней контрольного материала, анализируемых ежедневно.

8.3 Если Sigma от 3 до 4, то означает, что есть серьезные проблемы с аналитическими характеристиками метода и необходимо применять мультиправила Вестгарда для двух контрольных материалов, исследуемых дважды в день. Мультиправила Вестгарда представлены на рисунке № 1.

8.4 Если $\text{Sigma} < 3$, то это говорит о том, что аналитическая система не стабильна и необходимо сменить данный метод исследования аналита. Алгоритм по определению требований к качеству на основании сигмаметрии и выбора статистических контрольных правил представлен на рисунке № 2. Подводя итог необходимо отметить, что только планирование аналитического качества обеспечивает высокую вероятность обнаружения ошибок и низкую вероятность ложного выброса аналитической серии.

9. Выбор системы внешней оценки качества (ВОК).

Внешняя оценка качества позволяет дать объективную проверку результатов лаборатории, полученных на аналитических системах, путем их сравнения с другими лабораториями с целью оценки правильности результатов.

Согласно приказу № 45 от 07.02.2000 г «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации» п. 1.5.3 «Регулярно проводимая внешняя оценка качества и повседневно проводимый внутрилабораторный контроль качества дополняют, но не заменяют друг друга: внешняя оценка качества направлена прежде всего на выявление систематических ошибок лабораторных методов и обеспечение единства измерений на всей территории страны, а внутрилабораторный контроль качества предназначен для поддержания стабильности аналитической системы, выявления и устранения недопустимых случайных и систематических погрешностей».

Как же выбрать оптимальную программу внешней оценки качества заведующему лаборатории? (А. В. Мошкин, В. В. Долгов «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике», М.2004,-с.117-118)

1. У фирм, предлагающих контрольные материалы для проведения ВОК необходимо выяснить предлагаемые программы для ВОК.
2. Матрицу контрольных материалов (КМ) (желательно использовать матрицу КМ на основе человеческой)
3. Как часто проводятся исследования (желательно 1 раз в месяц)
4. Сроки получения лабораторией отчетов о результатах проведенных исследований (рекомендовано срок не более 4-х недель, но в идеале на 2-3 день)
5. форма отчета-на бумажном носителе или по электронной почте, его удобность. Информативность, доступность.
6. Количество лабораторий, участвующих в программе (чем больше, тем

лучше).

7. Как формируются группы сравнения.

8. Как оценивают результат в группах сравнения.

9. Какие пределы приемлемости результатов используют и как они установлены.

10. Стоимость участия в такой программе.

10. Проведение исследование биоматериала на аналитической системе.

Исследование биоматериала на анализаторах, его калибровка проводится строго согласно инструкции производителя.

11. Выдача результатов

Согласно ГОСТ Р 53133.2-20008 ГОСТ Р 53133.2-2008 г «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований.» Часть 2. «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов» решение о приемлемости результатов проведения ВКК решает врач ответственный за качество исследований. В случае получения неудовлетворительных результатов ВКК, аналитическая серия признается неприемлемой, результаты пациентов бракуются, делается запись в журнале «Регистрация отбракованных результатов внутрилабораторного контроля качества», останавливается работа аналитической системы и выясняется причина возникновения ошибки. После устранения причин, повлекших за собой возникновение данной ошибки, измерение контрольного материала и образцы пациентов повторяются.

Вся информация, касающаяся пациента, обслуживаемого лабораторией, а также информации о взаимодействии клинициста и лаборатории, должна быть конфиденциальной и защищена согласно Федеральному закону РФ от 27 июля 2006 года № 152-ФЗ «О персональных данных». Выдача результатов

проводится на бумажном бланке-ответа или отправляется по электронной почте и является точной, неизменяемой копией бумажных бланков ответов. На усмотрение каждой лаборатории по данному пункту может быть создана отдельная процедура-СОП.

Рисунок №1

Мультиправила Вестгарда,



Рисунок № 2

Алгоритм по определению требований к качеству

