

ВЕРИФИКАЦИЯ ПРЕЦИЗИОННОСТИ И ПРАВИЛЬНОСТИ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ И СИСТЕМ НА ОСНОВАНИИ МЕТОДОЛОГИИ ДОКУМЕНТА CLSI EP-15A3.

В предыдущих материалах, мы дали определения валидации и верификации аналитических методов и систем, показали место этих мероприятий в структуре TQM, а также подробно рассмотрели их теоретические аспекты. Кроме того, мы показали, какие требования к валидации и верификации аналитических методов и систем предъявляют наиболее популярные нормативные документы, в частности ISO 15189:2012 и CLIA-88. В последующей серии материалов, мы подробно остановимся на практической реализации этих требований, а именно, на том, как в конкретной лаборатории выполнить верификацию аналитических методов и систем. Свои рекомендации мы будем давать на основании методологий и протоколов, которые даны в соответствующих документах CLSI, сопровождая их рабочими инструментами, созданными в формате электронных таблиц Excel. Начнем с верификации, прецизионности и правильности, поскольку её проведение наиболее часто востребовано в медицинских лабораториях.

Цель и сфера применения документа EP15-A3.

При разработке документа EP15-A3, подкомитет EP15 CLSI преследовал две цели, которые отвечали запросам медицинских лабораторий. Так, лабораториям нужен был документ с протоколом верификации прецизионности и правильности, который бы требовал минимальных финансовых затрат, был простым в выполнении и содержал такой объем измерений, который бы обеспечивал достоверные статистические выводы. Согласно подкомитету CLSI EP15, цели создания документа EP15-A3 были следующие:

“При разработке EP15 подкомитет преследовал две главные цели. Первая заключалась в разработке протокола тестирования, достаточно простого для применения его в медицинских лабораториях вне зависимости от их сложности и финансовых ресурсов, то есть от лабораторий выполняющих прикроватное тестирование или лабораторий врачебных офисов, до больших клинических лабораторий. Вторая цель заключалась в разработке достаточно строгого протокола, который мог бы обеспечить статистически достоверные выводы, относительно результатов верификационных экспериментов”.

Для достижения этих целей, подкомитет разработал пятидневный протокол тестирования, состоящий, по крайней мере, из 25-ти повторных измерений, выполняемых в течение, по крайней мере, 5 рабочих дней для каждого из используемых в эксперименте уровней материала, минимальное количество которых должно быть не менее двух.

Сфера применения документа вытекает из указанных выше целей, которые он преследовал. Документ EP15-A3 следует применять в медицинских лабораториях для верификации величин прецизионности и правильности аналитических методов и систем, заявленных в спецификациях производителя. Главным образом, эту верификацию следует выполнять, когда общепризнанный метод или аналитическая система впервые внедряется в практику медицинской лаборатории, а также после проведения корректирующих мероприятий, выполнявшихся, вследствие неудачных результатов внешней оценки качества или после проведения сложного технического обслуживания аналитической системы.

EP15-A3: определение терминов.

Документ EP15-A3 содержит протокол эксперимента и описание статистического анализа данных для верификации спецификаций производителя по повторяемости, внутрилабораторной прецизионности и правильности. В документе даны следующие определения этих и связанных с ними характеристик аналитической эффективности метода:

- **Повторяемость измерения (Repeatability of measurement)** – это *прецизионность измерения, полученная в условиях повторяемости* (JCGM 200: 2012);
- **Прецизионность измерения (Precision of measurement)** - это близость между показаниями или измеренными значениями величины, полученными посредством выполнения повторных измерений того же самого или схожего объекта при определённых условиях (JCGM 200: 2012); **ПРИМЕЧАНИЕ:** Как правило, термин прецизионность, не выражается количественно, а количественно выражается как *непрецизионность* – в виде стандартного отклонения (SD) или коэффициента вариации (CV%) результатов, полученных в повторных измерениях.
- **Условия повторяемости измерений (Repeatability condition of measurement)** - это условия измерения, включающие ту же самую процедуру измерения, тех же самых операторов, ту же самую систему измерения, те же самые условия работы и в том же самом месте, а также повторные измерения одинакового или схожих объектов, выполненных в течение короткого интервала времени (JCGM 200: 2012);
- **Внутрилабораторная прецизионность (Within-laboratory precision)** - это непрецизионность измерения, полученная в течение определенного периода времени, разными операторами в одном и том же учреждении и на одном и том же оборудовании. Калибраторы и реагенты могут варьировать.
- **Правильность измерения (Trueness of measurements)** – это близость между величиной среднего значения бесконечного количества повторных измерений количественных величин и референтным количественным значением (JCGM 200: 2012); **ПРИМЕЧАНИЕ:** Как правило, правильность выражается в терминах *аналитического смещения (Bias)*.
- **Аналитическое смещение (Bias)** - это оценка систематической ошибки измерения (JCGM 200: 2012);

Обзор протокола документа EP15-A3.

Как упоминалось выше, протокол эксперимента по верификации прецизионности и правильности документа EP15-A3 включает 25 повторных измерений концентрации аналита, выполняемых на двухуровневом материале в течение 5 рабочих дней. Следовательно, при условии эффективного планирования эксперимента, его можно выполнить в течение одной рабочей недели. Эффективность планирования эксперимента, прежде всего, заключается в выборе универсального материала (см.ниже), на основании результатов исследования которого, можно в одном эксперименте верифицировать как прецизионность, так и правильность метода или аналитической системы. На рисунке 1 продемонстрирован процесс выполнения протокола эксперимента документа EP15-A3.

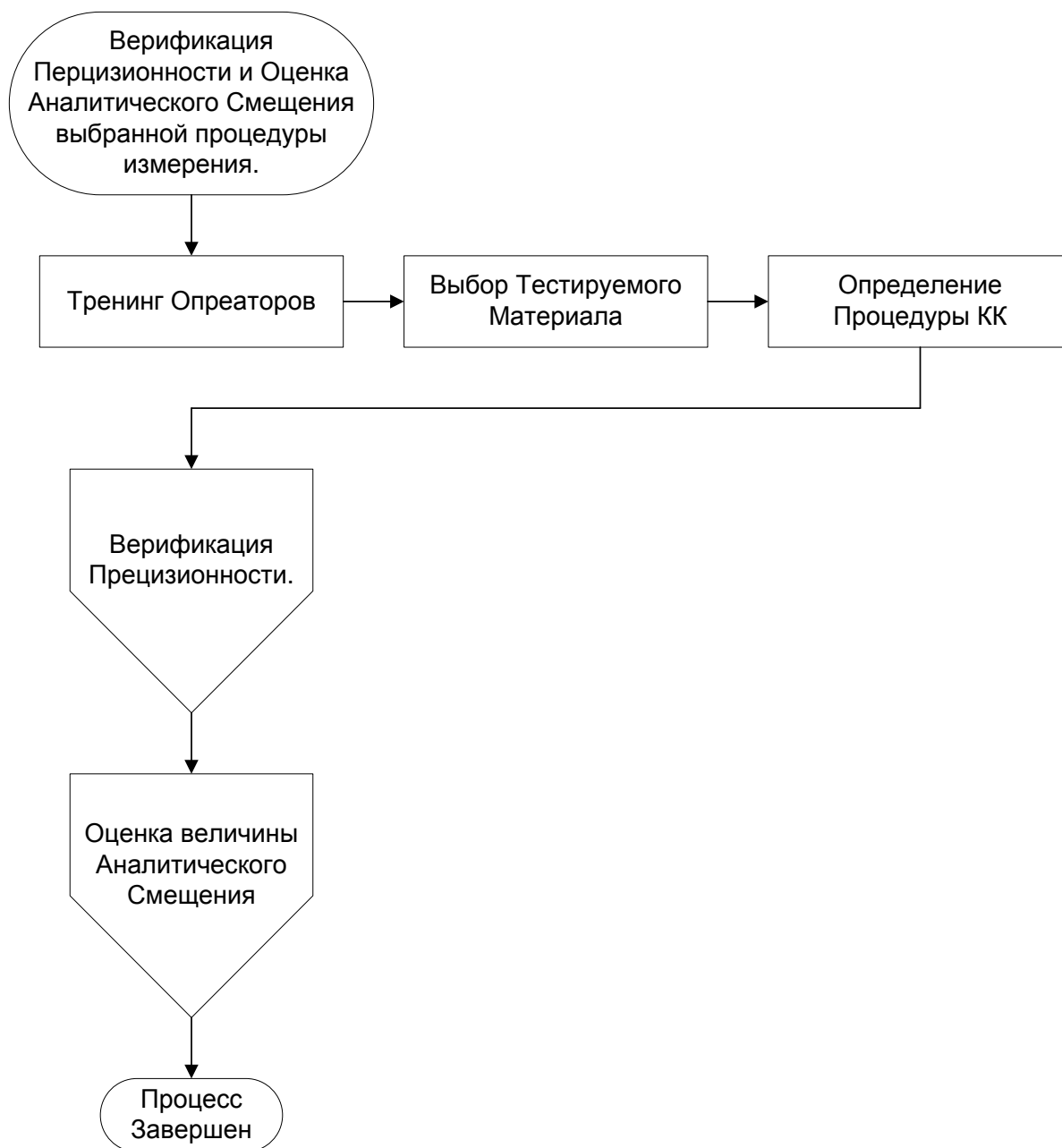


Рисунок 1. Процесс выполнения протокола эксперимента по верификации прецизионности и правильности метода или аналитической системы документа CLSI EP15-A3.

Ознакомительный период необходим для обучения операторов правильной работе на новой для лаборатории аналитической системе, то есть калибровке, ежедневному обслуживанию и рекомендованной производителем процедуре контроля качества. Эта процедура контроля качества должна выполняться операторами в процессе выполнения верификационного эксперимента. Как указывалось выше, краеугольным камнем эффективности планирования и проведения эксперимента является выбор материала тестирования. С одной стороны, выбираемый лабораторией материал должен отвечать требованиям оценки прецизионности, а с другой – правильности. Если такой материал будет выбран, то тогда на основании полученных результатов одного эксперимента, выполненного в течение одной рабочей недели, можно выполнить как верификацию прецизионности, так и правильности аналитического метода или системы. Очевидно, что такой “объединенный” вариант протокола эксперимента является наиболее эффективным, поскольку его выполнение требует от медицинских лабораторий меньших финансовых и временных затрат.

В соответствии с документом EP15-A3, можно представить требования к материалу для выполнения протокола объединённого эксперимента по верификации прецизионности и правильности метода или аналитической системы следующим образом:

- Тестируемый материал должен быть представлен как минимум двумя уровнями концентраций исследуемого аналита.
- Уровни концентраций исследуемого аналита в материале должны быть максимально близки к уровням принятия клинических решений, а также к концентрациям, которые использовались производителем метода или аналитической системы для определения спецификации по прецизионности.
- Тестируемый материал должен быть референтным. В документе дан список наиболее приемлемых источников Референтных Материалов (RM), а именно:
 - ✓ Сертифицированные референтные материалы (Certified Reference Material (CRM)), признанные такими авторитетными организациями как Международная Федерация Клинической Химии и Лабораторной Медицины (International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)), Национальный Институт Стандартов и Технологий (National Institute of Standards and Technology (NIST)) или Объединенный Комитет по Прослеживаемости в Лабораторной Медицине (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM)).
 - ✓ Материалы, взятые из программ Внешней Оценки Качества (ВОК) или программ Профицитного Тестирования (ПТ), где Целевое Значение (Target Value (TV)) аналита оценивалось при помощи референтной процедуры измерения.
 - ✓ Материалы, взятые из программ ВОК, где величина TV аналита оценивалась на основании статистики результатов, полученной как минимум от 10 (лучше 20) участников группового сравнения.
 - ✓ Материалы, концентрации аналита в которых могут быть доведены до определенных величин с незначительной величиной неprecизионности, то есть посредством добавления лекарственного препарата в пул проб пациента, не содержащей этого лекарственного вещества в виде аналита.

Как видно из этого списка, наиболее доступным для медицинских лабораторий являются референтный (контрольный) материал, взятый из программы ВОК. В связи с этим, дальнейшее описание методологии выполнения эксперимента и статистического анализа полученных данных будет основано на выборе специалистами медицинской лаборатории именно такого референтного материала.

Цели и задачи эксперимента по верификации прецизионности и правильности документа EP15-A3.

Поскольку документ EP15-A3 предусматривает выполнение "объединённого" протокола эксперимента по верификации прецизионности и правильности, то его цели и задачи также можно представить в "объединённом" виде.

- **Цели эксперимента по верификации прецизионности и правильности:**
 - ✓ Получить объективные доказательства того, что требования к производителю по прецизионности выполнены.
 - ✓ Получить объективные доказательства отсутствия статистически достоверного аналитического смещения между TV референтного материала и его средним значением, полученным в лаборатории, либо различий между величинами целевого и экспериментального аналитического смещения.
- **Задачи эксперимента по верификации прецизионности и правильности:**
 - ✓ Получить специалистами лаборатории объективные доказательства того, что спецификации производителя метода или аналитической системы по повторяемости и внутрилабораторной прецизионности, указанные в его инструкциях, будут воспроизводиться в результате верификационного эксперимента выполненного в этой лаборатории.
 - ✓ Получить сотрудниками лаборатории объективные доказательства того, что величина Среднего Значения РМ полученного в результате верификационного эксперимента по прецизионности выполненного в данной лаборатории находится в доверительном (верификационном) интервале для его, то есть РМ, Целевого Значения (TV).

Пошаговое описание протокола эксперимента по верификации прецизионности и правильности документа EP15-A3.

Пошаговое выполнение протокола эксперимента по верификации прецизионности и правильности документа EP15-A3 можно представить следующим образом:

- За день до начала эксперимента подготовить 5 аликвот двухуровневого РМ (5 аликвот 1-го уровня и 5 аликвот 2-го уровня) и поместить их в морозильную камеру (температурный режим от -20 до -25°C).
- Внести в соответствующий журнал информацию об измерительном оборудовании (название, производитель, SN), реагентах, контролях, калибраторе и РМ (названия, производитель, лоты, сроки годности), а также о методе исследования.
- Выполнить калибровку аналитической системы и верифицировать ее при помощи выполнения Внутрилабораторного Контроля Качества (ВКК).

- Ежедневно в течение 5-ти дней выполнять одну аналитическую серию, включающую 5 измерений 2-х уровней РМ (25 повторных измерений каждого уровня РМ в течение 5 рабочих дней).
- Результаты, даты выполнения измерений, а также название аналита, единицы измерения и фамилию оператора внести и вносить в соответствующую таблицу рабочего инструмента, прилагаемого к данному материалу, выполненному в формате электронных таблиц Excel (Рисунок 2).

EP15-A3 Precision

Parameter	Ferritin	Replicates	5	Levels	2
Units	ug/l	Days	5	Operator	Turkowski G

ФИО МедТехнолога

Исследуемый Аналит						Единицы Измерения			
Results						Statistics			
Даты Выполнения Исследований						Level 1			
Date	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Sum	Mean	SD	Variance
26.1.16	140	139	138	138	140	695	139,0	1,00	1,0
27.1.16	140	143	141	143	137	704	140,8	2,49	6,2
28.1.16	140	138	136	141	136	691	138,2	2,28	5,2
29.1.16	141	144	Сюда Вносить Результаты Измерений			714	142,8	1,30	1,7
30.1.16	139	140				699	139,8	1,30	1,7
						Level 2			
Date	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Sum	Mean	SD	Variance
26.1.16	606	627	621	606	620	3080	616,0	9,51	90,5
27.1.16	612	610	611	595	630	3058	611,6	12,42	154,3
28.1.16	649	626	636	639	648	3198	639,6	9,45	89,3
29.1.16	615	633	605	616	625	3094	618,8	10,64	113,2
30.1.16	622	632	646	619	623	3142	628,4	10,97	120,3

Рисунок 2. Места ввода начальной информации, дат выполнения измерений и их результатов в рабочий инструмент документа CLSI EP15-A3.

- В ходе выполнения протокола эксперимента выполнять ВКК, а также калибровку аналитической системы в соответствии с рекомендациями производителя.
- Если на основании результатов ВКК или технических неполадок оборудования результаты аналитической серии будут отклонены, то тогда необходимо удалить и данные эксперимента, а потом, найдя и устранив неполадки, выполнить калибровку и ВКК аналитической системы, а затем и дополнительную аналитическую серию измерений РФ.

Статистический Анализ Экспериментальных Данных.

Статистический анализ полученных экспериментальных данных в прилагаемом к этому материалу рабочем инструменте выполняется автоматически. Далее, используя пример, который дан в приложении к документу EP15-A3, мы подробно рассмотрим, как выполняется этот статистический анализ данных.

- Анализ данных эксперимента по верификации прецизионности.
- ✓ Описательная статистика (Рисунок 3). Рассчитывается сумма, среднее значение, стандартное отклонение и дисперсия на основании полученных и внесённых данных по рабочим дням.

Описательная Статистика Descriptive Statistics			
Level 1			
Sum	Mean	SD	Variance
695	139,0	1,00	1,0
Сумма	Стандартное Отклонение		
691	138,2	2,28	5,2
714	142,8	1,30	1,7
Среднее	Дисперсия		
69,8	1,7		
Level 2			
Sum	Mean	SD	Variance
3080	616,0	9,51	90,5
3058	611,6	12,42	154,3
3198	639,6	9,45	89,3
3094	618,8	10,64	113,2
3142	628,4	10,97	120,3

Рисунок 3. Места расчета описательной статистики в рабочем инструменте документа CLSI EP15-A3.

- ✓ Тест Граббса для определения выбросов в полученных данных (Рисунок 4). На основании всех полученных данных рассчитываются среднее и стандартное отклонение, после чего на основании их и фактора Граббса рассчитываются верхняя и нижняя границы теста Граббса. Экспериментальные данные, не попадающие в интервал, формируемый этими границами, рассматриваются как статистические выбросы и в таблице подсвечиваются красным цветом.

Тест Граббса для идентификации выбросов Grubbs Test for Outliers			
GM	SD	GL High	GL Low
140,12	2,30	147,3	132,9
Среднее всех Результатов Измерений			
Стандартное Отклонение всех Результатов Измерений			
GM	SD	GL High	GL Low
622,88	14,11	667,1	578,7
Нижняя Граница Теста Граббса			
Верхняя Граница Теста Граббса			

Рисунок 4. Место работы теста Граббса для идентификации выбросов в рабочем инструменте документа CLSI EP15-A3.

Стандартная процедура работы с результатами эксперимента, идентифицируемые тестом Граббса как статистические выбросы представлена на рисунке 5. Здесь, на первом этапе ключевым является количество этих выбросов на одну аликвоту используемого референтного материала, а также на общее количество полученных экспериментальных данных. Тогда, если это количество будет неприемлемым, верификационный эксперимент повторяют. Если же количество статистических выбросов является приемлемым, то тогда выполнение дальнейших этапов процедуры зависит от того состоится, либо нет верификация по прецизионности с учетом этого приемлемого количества выбросов. Если верификация состоится, тогда верификационный эксперимент не повторяют, если же нет, то тогда следует выполнить статистический анализ полученных экспериментальных данных после исключения результатов, являющихся выбросами. Далее, если результаты верификации на основании этого анализа будут идентичны, то есть верификация не состоится в обоих вариантах, то тогда верификационный эксперимент следует повторить, если же нет, то тогда верификационный эксперимент не повторяют, а выполняют только дополнительные исследования, вместо тех, результаты которых были идентифицированы как статистические выбросы.

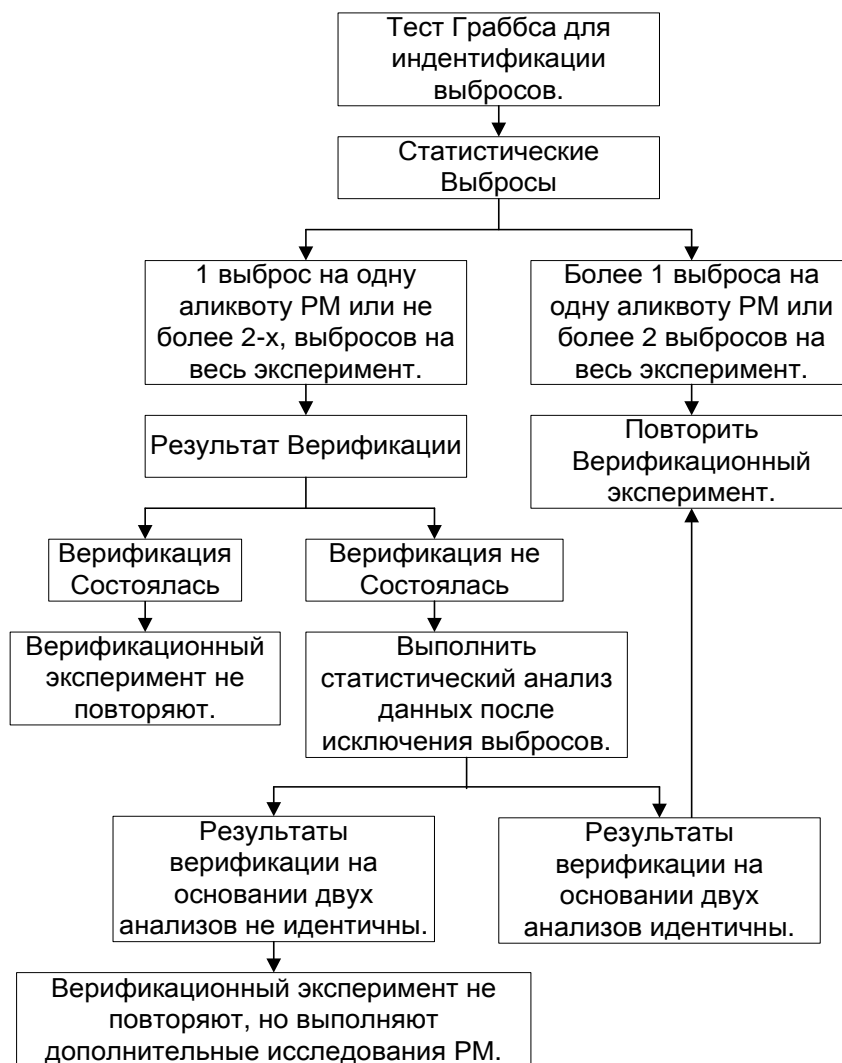


Рисунок 5. Стандартная процедура работы с результатами эксперимента, идентифицированными тестом Граббса как статистические выбросы.

- ✓ Расчет величин неприцезионности выполняется при помощи методологии однофакторного дисперсионного анализа (One-Way ANOVA (Analysis of Variance)). Этот статистический метод, разработанный Рональдом Э.Фишером, служит для оценки различий между средними значениями нескольких (более двух) выборок данных на основе результатов сравнения величин их межгрупповой и внутригрупповой дисперсий. Метод получил свое название именно благодаря тому, что он основан на расчете и сравнительном анализе этих дисперсий. В статистическом анализе данных эксперимента по верификации прецизионности документа EP15-A3 дисперсионный анализ используется только для расчёта дисперсий, но не для их сравнения. Далее, на основании величин рассчитанных межгрупповой и внутригрупповой дисперсий рассчитываются величины повторяемости и внутрилабораторной неприцезионности (Рисунок 6).

ANOVA Table				Calculation						
ANOVA Table				Calculation						
				Level 1		Расчёт величин НеПрицезионности				
Source of Variation	SS (1&2)	DF(1&2)	MS(1&2)	Variance Components	Imprecision					
Between Run	63,44	4	15,86	Vw	3,16	Repeatability	SR	1,78	%CVR	1,27
Within Run	63,20	20	3,16	Vb	Внутригрупповая Дисперсия	SB	1,59	%CVB	1,14	
Total	126,64	24		Vb=Calculated	Within-Laboratory	SWL	2,39	%CVWL	1,70	
				Level 2						
Between Run	2506,24	4	626,56	Vw	113,52	Repeatability	SR	10,7	%CVR	1,71
Within Run	2270,40	20	113,52	Vb	102,61	Between Run	SB	10,1	%CVB	1,63
Total	4776,64	24		Vb=Calculated	Within-Laboratory	SWL	14,7	%CVWL	2,36	

Если величина MS1 будет меньше или равна MS2, то тогда Vb=0

Рисунок 6. Место расчета величин Повторяемости (Repeatability) и Внутрилабораторной Неприцезионности (Within-Laboratory Imprecision) в рабочем инструменте документа CLSI EP15-A3. При помощи однофакторного дисперсионного анализа (One-Way ANOVA) рассчитываются компоненты дисперсий (Внутригрупповая (Vw), и Межгрупповая (Vb)), а затем на их основании рассчитываются величины Повторяемости и Внутрилабораторной Неприцезионности в виде SD (SR, SWL) и CV (CVR, CVWL), которые на рисунке выделены фиолетовыми квадратами. Примечание: если величина Среднего Квадратичного 1 (MS1) будет меньше или равна величине Среднего Квадратичного 2 (MS2), то тогда величину Межгрупповой Дисперсии (Vb) следует принять за нуль.

- ✓ После расчёта экспериментальных величин повторяемости и внутрилабораторной прецизионности, в таблицу рабочего инструмента необходимо ввести величины спецификации производителя (Manufacturer Claims (MC)) по прецизионности, то есть по повторяемости и внутрилабораторной прецизионности, которые, чаще всего, производитель указывает в своих инструкциях (Рисунок 7).

Imprecision Claims From the Manufacturer Package Insert									
Level 1				Level 2					
Repeatability	SD	2,9	CV	1,4	Repeatability	SD	9	CV	1,6
Within-Laboratory	SD	5,1	CV	2,4	Within-Laboratory	SD	12	CV	2,8

Рисунок 7. Место внесения в таблицу рабочего инструмента документа CLSI EP15-A3 величин MC по повторяемости (выделено красным квадратом) и внутрилабораторной прецизионности (выделено зелёным квадратом).

- ✓ Внесенные данные МС по прецизионности необходимы для расчета их верхних верификационных границ (Upper Verification Limit (UVL)), позволяющих ограничить уровень ложных интерпретаций результатов эксперимента по верификации производителя по прецизионности (Рисунок 9). Вследствие того, что величины МС по прецизионности и результат их верификации (экспериментальной оценки) получают в разных по конструкции экспериментах (соответственно, валидационном и верификационном), их сравнение при интерпретации верификационного эксперимента может искажаться только из-за высокой вероятности ложной выбраковки результатов этого сравнения. Верхняя верификационная граница представляет собой верхний 95th перцентиль, ожидаемый для оценки величины непрецизионности спецификации производителя, полученной в эксперименте схожим по конструкции с верификационным. То есть, UVL формирует 95%-ный доверительный уровень для величин МС по прецизионности с целью максимального приближения их к величинам, которые с 95% вероятностью могли бы наблюдаться в верификационном эксперименте, тем самым нивелируя уровень его ложных интерпретаций (Рисунок 8). Величина UVL всегда выше величины МС, по крайней мере, на 30%, поэтому величина непрецизионности, полученная в верификационном эксперименте, может несколько превышать МС и при этом верификация спецификаций производителя по прецизионности может интерпретироваться как состоявшаяся (см. ниже).

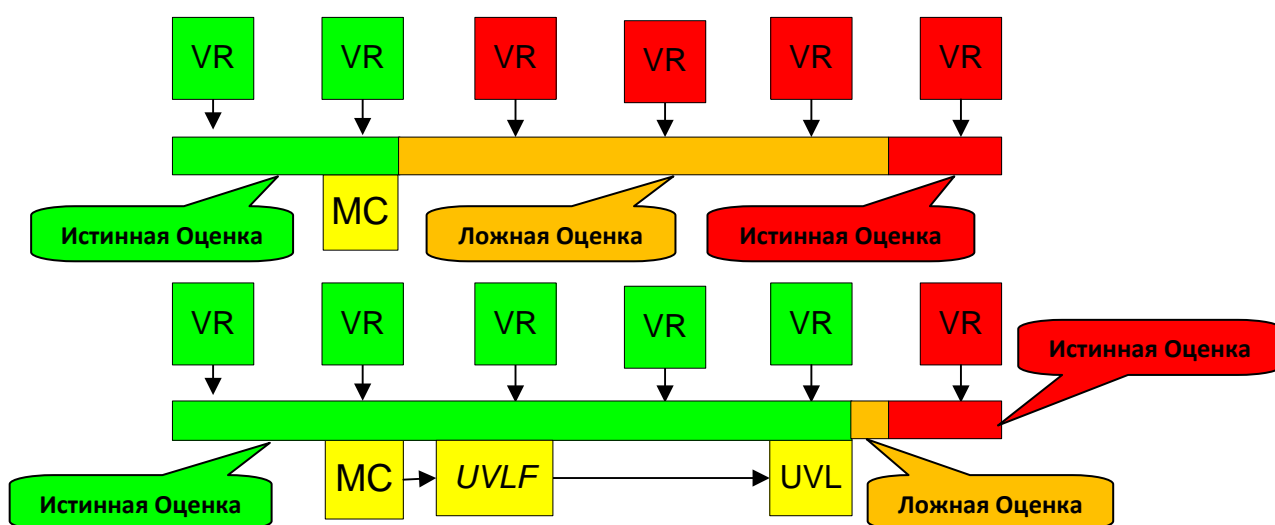


Рисунок 8. Значение верхней верификационной границы (UVL) в нивелировании ложной оценки (интерпретации) результатов верификационного эксперимента. Использование UVL в интерпретации результатов верификационного эксперимента по прецизионности формирует 95% доверительный уровень для величин МС. Это снижает уровень ложных выбраковок результатов этого эксперимента до 10% (5% для результата оценки верификационного эксперимента по повторяемости и 5% для результата оценки верификационного эксперимента по внутрилабораторной прецизионности) для каждого уровня используемого в эксперименте референтного материала.

Расчет UVL в рабочем инструменте выполняется в три этапа (Рисунок 9) с привлечением Таблиц №6 и №7 документа, которые есть и в рабочем инструменте на отдельных листах в формате Excel. Этапы расчета UVL следующие:

- Определение степени свободы соответственно для повторяемости (DFR) и внутрилабораторной прецизионности (DFwISD,DFwICV). При этом, величина DFR рассчитывается в инструменте автоматически, а величины DFwISD,DFwICV берут из Таблицы N6 на основании рассчитанных величин отношения MC по внутрилабораторной прецизионности и повторяемости (PSD, PCV).
- Определение фактора верхней верификационной границы (UVLF) для MC по внутрилабораторной прецизионности и повторяемости, которые берут из Таблицы N7.
- Расчет UVL на основании величин UVLF и MC.

Расчёт Верхней Верификационной Границы (UVL) для Спецификаций Производителя по Прецизионности											
UVLs Calculated for Package Insert Precision Claims											
Level 1						Level 2					
Repeatability		Within-Laboratory				Repeatability		Within-Laboratory			
DFR	20	P(SD)	1,76	UVLFSD	1,51	DFR	20	P(SD)	1,33	UVLFSD	1,39
UVLF	1,31	P(CV)	1,71	UVLFCV	1,51	UVLF	1,31	P(CV)	1,75	UVLFCV	1,51
UVLrSD	3,8	DFwISD	7	UVLwISD	7,7	UVLrSD	11,8	DFwISD	12	UVLwISD	16,7
UVLrCV	1,8	DFwICV	7	UVLwICV	3,6	UVLrCV	2,1	DFwICV	7	UVLwICV	4,2

Рисунок 9. Место расчета в таблице рабочего инструмента документа CLSI EP15-A3 величин UVL. Розовым цветом выделены ячейки таблицы, где расположены параметры расчета, требующие работы с таблицами N6 и N7 документа CLSI EP15-A3.

- ✓ Интерпретация результатов верификационного эксперимента по перцизионности в рабочем эксперименте выполняется на двух уровнях (Рисунок 10):
 - **Первый уровень.** Прямое сравнение рассчитанных в эксперименте величин повторяемости и внутрилабораторной прецизионности с таковыми, представленными в спецификации производителя. Если в результате этого сравнения экспериментальные величины *не будут превышать* величины, указанные в MC, то тогда верификация MC по прецизионности *состоялась*, если же нет, то тогда решающим является результат интерпретации на втором уровне.
 - **Второй уровень.** Сравнение экспериментальных величин повторяемости и внутрилабораторной прецизионности с соответствующими рассчитанными величинами UVLs. Если в результате этого сравнения экспериментальные величины *не будут превышать* величины UVLs, то тогда верификация MC по прецизионности *состоялась*, если же нет, то тогда, верификация *не состоялась*.

Если верификация не состоится, то тогда лаборатория может устранить проблемы с методом или аналитической системой, возможно с помощью производителя, а затем повторить верификационный эксперимент. Альтернативой служит выполнение валидационного эксперимента в соответствии с методологией, изложенной в документе CLSI EP05.

Интерпретация Результатов Верификации Прецизионности											
Interpreting Precision Verification Results											
Level 1						Level 2					
Repeatability	Status	Within-Laboratory	Status	Repeatability	Status	Within-Laboratory	Status	Repeatability	Status	Within-Laboratory	Status
SD	2,9	Pass	SD	5,1	Pass	SD	9	Fail	SD	12	Fail
CV	1,4	Pass	CV	2,4	Pass	CV	1,6	Fail	CV	2,8	Pass
UVLrSD	3,8	Pass	UVLwSD	7,7	Pass	UVLrSD	11,8	Pass	UVLwSD	16,7	Pass
UVLrCV	1,8	Pass	UVLwCV	3,6	Pass	UVLrCV	2,1	Pass	UVLwCV	4,2	Pass

Рисунок 10. Место интерпретации верификационного эксперимента по прецизионности в таблице рабочего инструмента документа CLSI EP15-A3. Первый уровень интерпретации выделен красным квадратом, а второй уровень интерпретации выделен синим квадратом. Используемая аббревиатура: Pass – верификация состоялась; Fail – верификация не состоялась.

- Анализ данных эксперимента по верификации правильности.
 - ✓ На рисунке 11 продемонстрировано место в таблице рабочего инструмента документа EP15-A3, куда следует ввести исходные данные, необходимые для анализа верификационного эксперимента по правильности. Как указывалось выше, наиболее доступным РМ для лабораторий, из списка таковых рекомендованных документом EP15-A3, является референтный (контрольный) материал, взятый из программы ВОК. В связи с этим, разработанный рабочий инструмент, позволяющий эффективно имплементировать методологию верификационного эксперимента по правильности, изложенную в документе EP15-A3, основан на использовании такого РМ. Соответственно, исходные данные и выполняемые на их основании статистические расчёты в рабочем инструменте основаны на соответствующих статистических сценариях В и С документа EP15-A3.

EP15-A3 Trueness

Parameter	Ferritin	Replicates	5	Levels	2
Units	ug/l	Days	5	Operator	Turkowski G

Исходные Данные в соответствии со сценарием В и С

TV, основанное на Групповом Среднем материала ВОК						
Peer Group Mean	Group SD	Participants	Allowable Bias	GM	SR	SWL
142,5	4,5	43	10	14,3	140,12	1,78
Групповое Стандартное Отклонение (SD)			Допустимая величина Аналитического Смещения			
Peer Group Mean	Group SD	Participants	Allowable Bias	GM	SR	SWL
600	Количество Лабораторий, участвующих в ВОК	0,0	622,88	10,7	14,7	

Рисунок 11. Место ввода исходных данных в таблицу рабочего инструмента документа CLSI EP15-A3, необходимых для выполнения верификационного эксперимента по правильности. Здесь, исходными данными являются групповое среднее значение (Peer Group Mean), стандартное отклонение референтного (контрольного) материала ВОК (Group SD), количество участников ВОК (Participants), а также допустимая (целевая) величина аналитического смещения для данного анализа (Allowable Bias).

Как видим, исходные данные для анализа верификационного эксперимента по правильности связаны с характеристикой используемого РМ, а именно с контрольным материалом, который лаборатория исследует в рамках участия в ВОК.

Что же касается других данных этой таблицы (GM,SR,SWL), то они “приходят” из результатов верификационного эксперимента по прецизионности. Именно они объединяют статистический анализ данных двух экспериментов, тем самым повышая эффективность его проведения.

- ✓ Место статистических расчётов и интерпретации результатов верификационного эксперимента по правильности в таблице рабочего инструмента EP15-A3 продемонстрировано на рисунке 12. Статистические расчёты и интерпретацию результатов этого эксперимента выполняемых в таблице рабочего инструмента автоматически, можно представить в виде семи этапов:
 - Расчёт величины стандартной ошибки среднего значения (GM), полученного в верификационном эксперименте по прецизионности (SEM);
 - Расчёт величины стандартной ошибки целевого значения PM (SETV). В нашем случае, как указывалось выше, целевым значением (TV) является Групповое Среднее Значение, контрольного материала BOK, выступающего в качестве PM.
 - Расчёт величины комбинированной ошибки среднего значения (SEM) и целевого значения PM (SETV), то есть величины SECOM.
 - Расчёт отношения стандартной ошибки целевого значения PM и среднего значения, полученного в верификационном эксперименте по прецизионности, то есть SETV/SEM. В документе EP15-A3 это отношение обозначается как *TAU*.
 - При помощи таблицы 15A документа EP15-A3 (которая есть и в рабочем инструменте на отдельном листе в формате Excel) на основании величин *TAU* и количества участников BOK, найти величину степени свободы для SECOM, то есть величину DFC.
 - Расчёт множителя *M* для квантиля распределения Стьюдента (*t*), обеспечивающего вероятность 0.975, что соответствует 95%-ному доверительному интервалу, и рассчитанной величины DFC для SECOM.
 - Расчёт верхней и нижней границ верификационного интервала (LLVI,ULVI) для целевого значения PM по формуле $LLVI/ULVI = TV \pm (M \times SECOM)$.
 - Интерпретация верификационного эксперимента по правильности выполняется на двух уровнях. Первый уровень основан на сравнении величины среднего значения (GM) и верификационного интервала TV. Это – “статистическая” интерпретация. Второй уровень основан на сравнении допустимой и экспериментальной (*Bias Observed*) величин аналитического смещения. Это – “пользовательская” интерпретация, которая является приоритетной. Следует отметить, что с классической точки зрения, второй уровень интерпретации это уже валидация, но не верификация, поскольку сравнение идет уже с допустимыми, а не с техническими требованиями. Тем не менее, в документе EP15-A3 предусмотрен и такой вариант интерпретации верификационного эксперимента.

Итак, логика статистических расчётов, а также интерпретации результатов верификации основана на расчете среднего значения (GM), определении верификационного интервала для целевого значения PM и сравнении его с GM. Если величина GM будет находиться в пределах этого верификационного интервала, то тогда статистическая верификация правильности метода или аналитической системы состоялась, если же нет, то тогда, соответственно, верификация не состоялась. Пользовательская интерпретация основана на сравнении экспериментальной величины и допустимой величины (то есть целевой величины, установленной самой лабораторией) аналитического смещения. Эта верификация является приоритетной, то есть если статистическая верификация не состоится, а пользовательская состоится, то экспериментальная величина аналитического смещения будет считаться верифицированной, то есть приемлемой для лаборатории.

Calculations and Interpreting Trueness Verification Results											
Level 1											
SEM	SETV	SECOM	TAU	DFC	M	Bias Observed	LLVI	ULVI	Status Bias		
0,80	0,69	1,05	0,86	12	2,56	-2,4	1,67	139,8	145,2	NoStatSignificant	UserAcceptable
Level 2											
SEM	SETV	SECOM	TAU	DFC	M	Bias Observed	LLVI	ULVI	Status Bias		
5,01	3,01	5,84	0,60	8	2,75	22,9	3,81	583,9	616,1	StatSignificant	UserAcceptable

Рисунок 12. Место статистических расчётов и интерпретации результатов верификационного эксперимента по правильности в таблице рабочего инструмента EP15-A3. Используемая аббревиатура верификации: NoStatSignificant – статистическая верификация правильности не состоялась; StatSignificant - статистическая верификация правильности состоялась; UserAcceptable – пользовательская верификация правильности состоялась; NoUserAcceptable - пользовательская верификация правильности не состоялась (на рисунке не показана).

Выводы.

- Документ EP15-A3 Института Клинических Лабораторных Стандартов (США) содержит методологию и протокол, позволяющий специалистам медицинских лабораторий эффективно выполнить эксперименты по верификации прецизионности и правильности методов или аналитических систем.
- Эффективность выполнения экспериментов обусловлена структурой протокола, позволяющего провести объединённый эксперимент по верификации прецизионности и правильности с использованием референтного материала, отвечающего определённым критериям.
- Статистическую обработку данных экспериментов, а также интерпретацию их результатов легко и удобно выполнить при помощи рабочего инструмента документа EP15-A3, созданного в формате электронных таблиц Excel.

Литература.

1. CLSI. EP15-A3. User Verification of Performance for Precision and Trueness. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.