



**ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
КОМИТЕТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

**ОСНОВЫ СТАТИСТИКИ
И МЕТОДЫ ВЕДЕНИЯ КОНТРОЛЯ
КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Методические рекомендации
(№ 18)**



Москва – 1997

ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
КОМИТЕТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

"Согласовано"
Председатель УМС
Комитета здравоохранения г. Москвы

Л.Г. Костомарова
07 июля 1997 г.

"Утверждаю"

Председатель
Комитета здравоохранения г. Москвы

А.П. Сельцовский
07 июля 1997 г.

ОСНОВЫ СТАТИСТИКИ
И МЕТОДЫ ВЕДЕНИЯ КОНТРОЛЯ
КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Методические рекомендации
(№ 18)

Главный специалист по клинической лабора-
торной диагностике Комитета здравоохра-
нения г. Москвы

К.М. Тительман
20 июня 1997 г.

Москва – 1997

Учреждение-разработчик: Акционерное общество "Аналитика".

Составители: Т.А. Куликова; канд. хим. наук Е.С. Новикова; И.В. Прищепа;
канд. тех. наук М.И. Прищепа.

Рецензенты: гл. спец. по клинич. лабораторной диагностике МЗ РФ проф.
В.В. Долгов; гл. спец. по лабораторному делу Комитета здравоохра-
нения г. Москвы, канд. мед. наук. К.М. Тительман.

Предназначение: для врачей-лаборантов.

"Главная задача лаборатории – предоставление ориентировочных результатов надежных качественных и количественных результатов исследований проб пациентов. Поэтому все лаборатории должны иметь систему контроля и поддержания качества их работы."

(Всемирная организация здравоохранения)

"Ведение контроля качества является долгом лабораторного персонала по отношению к больному"

(Международная федерация по клинической химии)

1. Основные термины и понятия математической статистики

Даже самые лучшие аналитические методы определения концентрации веществ в пробах не дают одинакового результата при повторных измерениях. Всегда существует некоторый разброс результатов вокруг среднего значения. Это происходит из-за того, что любая процедура измерения включает ряд шагов (измерение оптической плотности, дозирование, пробоподготовка, инкубация и т.д.) и на каждом из них может возникнуть ошибка, которая изменит конечный результат. Результат измерения, таким образом, содержит вклады всех этих ошибок. Заранее неизвестно, куда и на сколько сдвинется из-за этого конечный результат измерения. Ошибка такого рода называется случайной.

Второй важный момент, который следует принять во внимание, – ни один аналитический метод не дает абсолютно правильных результатов, т.е. без систематического (постоянного) сдвига относительно истинной величины, даже если получать результаты, вычисляя среднее большой серии повторных измерений. Такие ошибки называются систематическими ошибками.

Наличие случайных и систематических ошибок при всех измерениях, проводимых в лаборатории, является причиной, по которой требуется обязательное проведение контроля качества. Ниже перечислены основные определения и статистические формулы, которые используются при этой процедуре.

В о с п р о и з в о д и м о с т ь – совпадение результатов повторных измерений одной и той же пробы.

Для численной оценки воспроизводимости используется такое понятие математической статистики, как "стандартное отклонение" или "среднеквадратическая ошибка". Чем больше стандартное отклонение, тем хуже воспроизводимость. Поэтому более пра-

вильным было бы для численной оценки совпадения результатов повторных измерений употреблять термин "невоспроизводимость".

"П р а в и л ь н о с т ь" – совпадение среднего результата серии повторных измерений и истинного значения.

Точно так же, как и в случае с воспроизводимостью, более правильным для оценки разницы между средним в серии повторных измерений и истинным значением являлось бы использование термина "неправильность". Эту величину можно также назвать "систематической ошибкой" или "постоянным сдвигом".

Нормальный закон распределения

Чтобы оценить, как именно распределены значения, полученные в серии повторных измерений, необходимо построить так называемую функцию плотности распределения. Ее можно построить следующим образом:

- ☛ Получить некоторое количество результатов повторных измерений.
- ☛ Весь диапазон между минимальным и максимальным полученным значениями разбить на интервалы равной длины.
- ☛ Из середины каждого интервала восстановить перпендикуляр с высотой, пропорциональной количеству значений, которые попали в данный интервал.

☛ Вершины перпендикуляров соединить между собой.

При использовании статистических методов в контроле качества измерений практически всегда предполагается, что случайно в серии повторных измерений величины действительно случайно отклоняются от среднего значения и распределены вокруг него в соответствии с так называемым нормальным законом (Гаусса). Функция плотности нормального распределения приведена на рис. 1.

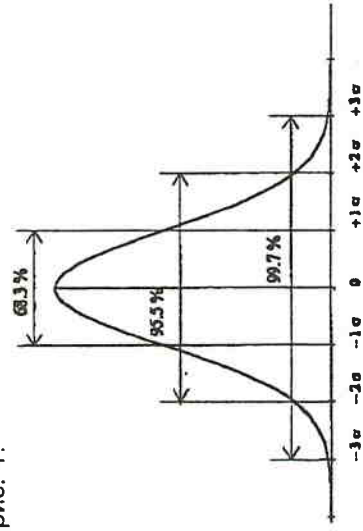


Рис. 1 График функции нормального (гаусса) распределения

В действительности, функция такой гладкой и симметричной не бывает, но чем больше количество полученных результатов, тем ближе вид такой функции к идеальному.

Поясним вид этой функции. Например, проводится серия вторых измерений концентрации компонента в пробе. Исследованное включает ряд последовательных шагов (дозирование пробы, реактивов, измерение оптической плотности и т.п.). Каждый шаг дает вклад в общую ошибку, которая сдвинет конечный результат в большую или меньшую сторону. При этом шансы того, что результат будет сдвинут относительно среднего, равны (нет причин полагать, что пипетки, например, больше "любят" завышать количество дозируемой жидкости, чем занижать). Шансы получить очень сильное отклонение от среднего малы: для этого надо, чтобы все или большинство действующих факторов сдвигали результат в одну и ту же сторону, что маловероятно. Наиболее вероятен случай, когда все факторы более или менее уравновешивают друг друга, поэтому большинство значений находится близко к среднему.

Нормальное распределение имеет 3 важные характеристики: среднее значение ($X_{\text{ср}}$), стандартное отклонение или среднеквадратическая ошибка (σ) и коэффициент вариации.

Стандартное отклонение вычисляется по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - X_{\text{ср}})^2}{N - 1}}$$

где σ – среднеквадратическая ошибка (стандартное отклонение);

X_i – результат i -го измерения;

$X_{\text{ср}}$ – среднее значение;

N – количество результатов.

Расчет стандартного отклонения при использовании калькуляторов удобнее производить по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N X_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^N X_i)^2}{N}}{N - 1}}$$

Применяется эта величина для оценки воспроизводимости при повторных измерениях. Чем она больше, тем хуже воспроизводи-

мость измерений, т.е. тем большая разница может получиться между результатами повторных измерений одной и той же пробы).

Нужно запомнить следующее: если при проведении серии повторных измерений систематическая ошибка не менялась, то отклонение полученных результатов от среднего значения является случайным и результаты распределяются по нормальному закону. При этом 68,3% всех полученных значений отклоняются от среднего в одну или в другую сторону на величину не более 1σ ; 95,5% — не более чем на 2σ ; 99,7% — не более чем на 3σ , т.е. в среднем только один результат из 3 может отклоняться от среднего значения более, чем на σ ; только один результат из 20 последовательных результатов может отклоняться от $X_{ср}$ более, чем на 3σ . Этот факт нам понадобится для понимания правил анализа контрольных карт.

Коэффициент вариации (CV%); измеряется в процентах) равен стандартному отклонению (σ), деленному на среднее значение ($X_{ср}$) и умноженному на 100, т.е. коэффициент вариации — это стандартное отклонение, выраженное в процентах от среднего значения. Коэффициент вариации более легок для восприятия, чем стандартное отклонение.

Рассмотрим соотношение между систематической и случайной ошибками. Систематическая ошибка присутствует систематически, при каждом измерении и всегда сдвигает получаемый результат в одну и ту же сторону. Средний результат при этом тоже сдвигается туда же. При этом воспроизводимость результатов может быть хорошей или плохой. Соотношение систематической и случайной ошибок показано на рис. 2. Систематическая и случайная составляющие полной ошибки между собой никак не связаны. Воспроизводимые результаты могут быть неправильными, а правильные — плохо воспроизводимыми. Наглядно все возможные варианты соотношения случайной и систематической ошибок представлены на рис. 3.

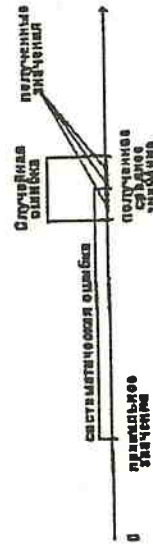


Рис. 2. К понятиям систематической и случайной ошибок

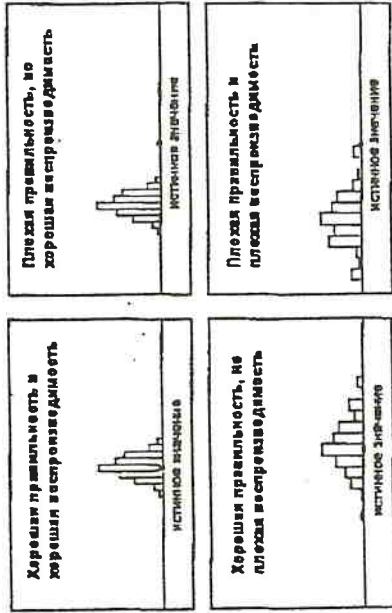


Рис. 3. Варианты соотношения случайной и систематической ошибок

Отклонение единичного измерения от правильного значения является результатом суммарного воздействия систематической и случайной ошибок.

2. Внутрिलाбораторный контроль качества

2.1. Основные принципы и этапы внутрिलाбораторного контроля качества

Внутрिलाбораторный контроль качества предполагает контроль за всеми процедурами лабораторного исследования биоматериалов на всех его этапах, начиная с подготовки пациента и кончая использованием результатов в клинике. В соответствии с этим, контроль качества включает следующие этапы:

П р е а л и т и ч е с к и й э т а п . Контролю подлежат процедуры: подготовка пациента, сбор биоматериала, идентификация проб, первичная обработка проб, использование консервантов, транспортировка проб, хранение проб до анализа.

А н а л и т и ч е с к и й э т а п . Контролю подлежат дозирование, проведение реакции (перемешивание, термостатирование, время реакции и т.п.), измерение (фотометрирование, флуориметрирование, счет клеток и т.п.), расчет результатов, перенос от пробы к пробе и др.

П о с т а н а л и т и ч е с к и й э т а п . Контролю подлежат оформление бланка с результатами, оценка результата, доведение результата до сведения лечащего врача.

Аналитический этап внутрилабораторного контроля качества подразделяется на:

- превентивный контроль — установление аналитических характеристик метода и мер по поддержанию их на должном уровне (т.е. как надо работать, чтобы получать точные результаты);
- оперативный контроль — анализ результатов и контроль измерительных средств сразу же после расчета результатов (например, контроль оптической плотности, контроль калибровки, контроль температуры инкубатора или измерительной кюветы и т.п.);
- ретроспективный или статистический контроль — ведение контрольных карт и анализ качества работы лаборатории по ним.

Превентивный контроль качества заключается в предварительном исследовании еще до ввода метода в рутинный анализ следующих аналитических характеристик метода:

- воспроизводимость (случайная составляющая полной ошибки результата). При этом необходимо исследовать воспроизводимость в серии (которую иногда называют сходимостью), воспроизводимость между сериями (для лабораторий, выполняющих более одной серии в день) и воспроизводимость между днями;
- правильность (систематическая составляющая полной ошибки результата);

- аналитический диапазон (линейность);
- чувствительность и минимально определяемое количество;
- специфичность.

Если в лаборатории используются только коммерческие методы, то в инструкциях к методам указаны, как правило, аналитический диапазон, чувствительность и специфичность. Лаборатории требуются только принять их во внимание и учитывать при работе. В этом случае необходимо оценить только воспроизводимость и правильность, т.к. они зависят не только от используемого метода, но и от самой лаборатории (например, обученность и аккуратность персонала, условия окружающей среды и др.).

Если же лаборатория самостоятельно модифицирует коммерческий метод или использует самодельные реактивы, то она должна провести исследование всех вышеперечисленных характеристик.

Оперативный контроль подразумевает:

- контроль всех результатов измерения (например, оптических плотностей, флюоресценций и т.п.). Все результаты измерения должны уложиться в допустимый диапазон, обычно указанный в инструкции к прибору;
- контроль рассчитанных концентраций в пробах. Все концентрации должны уложиться в допустимый диапазон (аналитический диапазон) используемого метода;

- контроль результата измерения пробы с нулевой концентрацией (бланка). Результат измерения бланка должен уложиться в определенные границы, зависящие от используемого метода;

- контроль калибровки, например, ее крутизна (калибровка не должна быть слишком крутой или слишком пологой), характера (возрастающая или убывающая), результатов измерения стандартов (калибраторов) и т.п.;
- визуальный контроль воспроизводимости, если используются дубликаты;

- контроль вида кинетической зависимости (наклон, линейность и т.д.) при кинетических измерениях;
- контроль условий проведения реакции (температуры и т.п.).

Все конкретные требования для процедур оперативного контроля и перечень этих процедур должны быть сформулированы на этапе превентивного контроля качества.

2.2. Ретроспективный контроль качества

Основной задачей ретроспективного контроля качества является регулярный контроль воспроизводимости и правильности используемых методов с целью раннего выявления изменений их характеристик и поддержания этих характеристик на неизменном уровне.

Для того, чтобы контроль качества был эффективным, он должен быть быстрым, информативным, простым в выполнении и облегчающим принятие решений.

Одним из наиболее эффективных решений этих задач является ведение контрольных карт. Наиболее широко используются карта Шухарта (Левин-Дженингса) и карта кумулятивных сумм (рис. 4, 5), примеры построения которых приводятся ниже. Для построения таких карт могут использоваться как результаты исследований контрольного материала, так и результаты исследований проб пациентов.

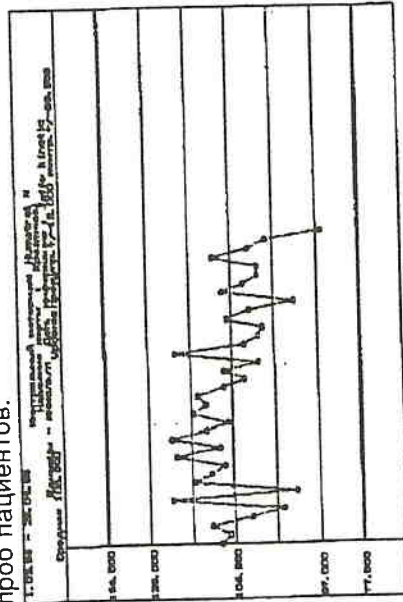


Рис. 3 Карта Шухарта

2.2.1. Карта Шухарта с использованием специальных контрольных материалов или слитой сыворотки (контроль правильности и воспроизводимости)

Измерение контрольного материала должно проводиться не менее одного раза в серию, а крупные лаборатории должны проводить измерение контрольного материала через каждые 20–30 проб пациентов. Обычно на карту наносят все контрольные результаты в по рядке их поступления. Крупные лаборатории, измеряющие контрольный материал более одного раза за серию, могут вести карту Шухарта по средним, т.е. наносить на карту среднее значение по всем измерениям данного контрольного материала в серии.

Каждый раз при получении новой партии контрольного материала (с другими значениями параметров) необходимо построить новую контрольную карту.

Последовательность построения карты Шухарта:

1. Измеряется 20–30 раз концентрация (или активность) исследуемого вещества в используемом контрольном материале, причем измерять надо так же, как это будет делаться в рутинном анализе, т.е. если будет проводиться одно измерение в день. Потребуются 20–30 дней, чтобы собрать нужное количество результатов. Если будут проводиться 2 измерения в день, то потребуются 10–15 дней и т.д.

2. По полученным результатам вычисляются среднее значение (C_{cp}), стандартное отклонение (σ) и $CV\%$.

3. Сильно отклоняющиеся от среднего значения результаты ("выбросы") могут сдвинуть среднее значение и увеличить стандартное отклонение. Поэтому, если после проведения расчета выясняется, что какой-либо результат отклоняется от среднего более чем на 3σ , он должен быть исключен из расчета. После этого среднее значение, стандартное отклонение и $CV\%$ должны быть перерассчитаны заново. Однако таких результатов должно быть не больше одного (см. раздел 1). Если же их больше, то надо выяснить причину, по которой это могло произойти.

4. Рассчитанный $CV\%$ надо сравнить с допустимым для данного параметра $CV\%$ (см. п. 2.2.5). Если рассчитанный $CV\%$ больше, то необходимо исследовать причины плохой воспроизводимости и устранить их.

5. Если в контрольном материале имеются аттестованное значение и допустимый интервал для данного метода, то рассчитанное среднее значение надо сравнить с аттестованным значением

(см. п. 2.2.6). Среднее значение не должно отклоняться от аттестованного значения более чем на половину допустимого значения σ (см. 2.2.5).

6. Рассчитываются предупредительные границы карты $C_{cp} - 2\sigma$, $C_{cp} + 2\sigma$, и контрольные границы $C_{cp} - 3\sigma$, $C_{cp} + 3\sigma$.

7. Теперь можно построить карту, нанеся C_{cp} в качестве центральной линии карты (ось X) и параллельно ей две предупредительные и две контрольные границы.

После этого можно начинать вести карту, т.е. наносить последующие результаты измерения концентрации или активности вещества в контрольном материале на график (см. рис. 4).

Если воспроизводимость и правильность проводимых измерений сохраняются на неизменном уровне, то все следующие результаты измерения контрольного материала должны подчиняться правилам, которые являются следствиями нормального закона распределения: получаемые результаты должны приблизительно поровну располагаться по обе стороны от среднего значения, не должны непрерывно возрастать или убывать и не должны очень сильно отклоняться от среднего значения. На основе этого были выработаны следующие правила интерпретации карты Шухарта:

"Строгие" правила:

1. Ни один из результатов не должен отклоняться от X_{cp} более чем на 3σ (только 1 из 333 последовательных результатов может "нарушить" это правило);

2. Два результата подряд не должны отклоняться от среднего значения X_{cp} более, чем на 2σ .

"Предупредительные" правила:

1. Два результата из последовательных 20 не должны отклоняться от среднего значения X_{cp} более чем на 2σ ;

2. Семь результатов подряд не должны лежать по одну сторону от среднего.

3. Семь результатов подряд не должны иметь тенденцию к возрастанию или убыванию.

4. Три результата подряд не должны отклоняться от среднего значения X_{cp} более чем на σ .

Если при нанесении на карту очередного результата происходит нарушение одного из "строгих" правил, то результаты всей серии не должны выдаваться лабораторией, пока не будут выявлены причины ошибки и ее возможные последствия при интерпретации результатов пациентов.

Если же нарушено одно из "предупредительных" правил, то результаты выдаваться могут, однако необходимо выявить причину

ны, приводящие к изменению характеристик метода, пока ситуация еще не вышла из-под контроля.

Карта Шухарта позволяет контролировать как правильность, так и воспроизводимость метода.

Типичные примеры, когда ситуация выходит из-под контроля, приведены на рис. 5 а-е. На рис. 5а показан выход результата за 3 σ, что свидетельствует о грубой ошибке при исследовании, либо о недопустимо резком изменении характеристик метода (правильности и (или) воспроизводимости).

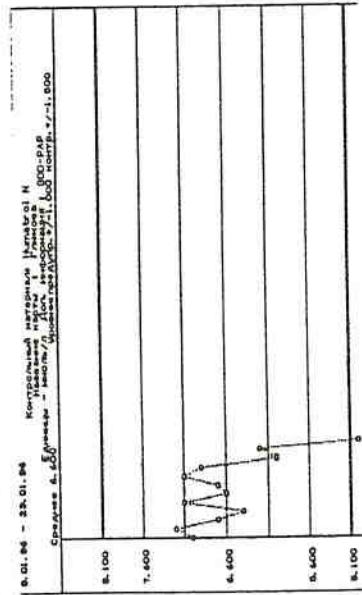


Рис. 5а. Выход точки контроля за границу.

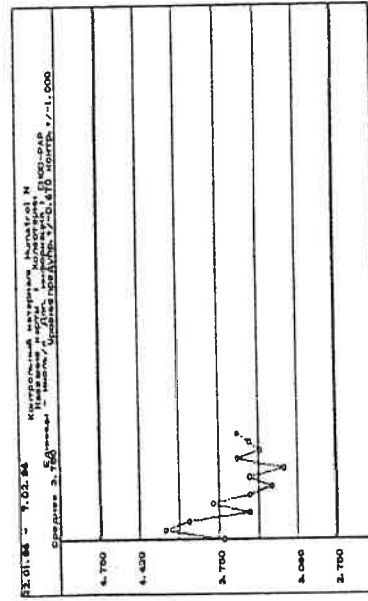


Рис. 5б. Последние 7 значений ниже среднего.

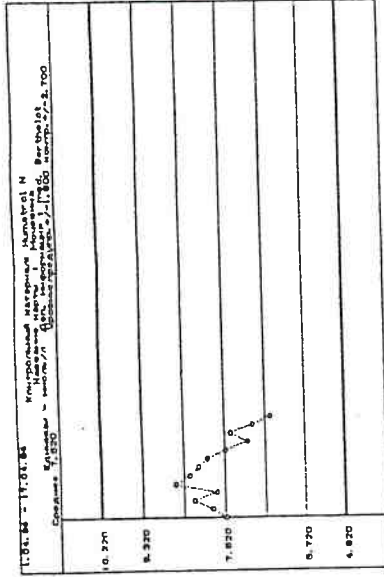


Рис. 5с. Тенденция к уменьшению у 7 последних значений.

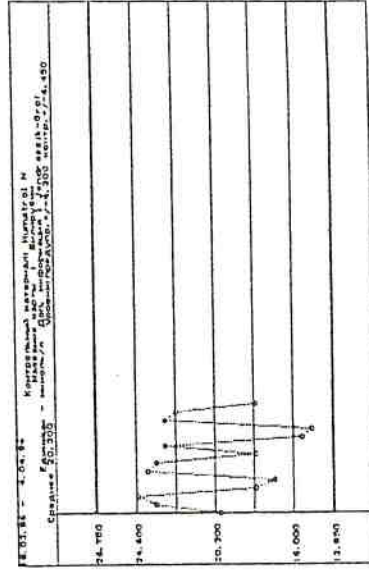


Рис. 5д. Плохая воспроизводимость при сохранении правильности

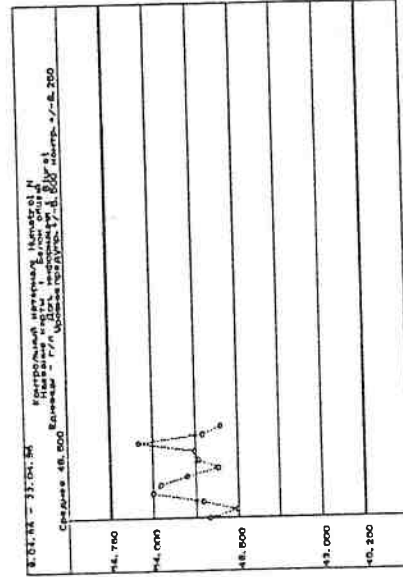


Рис. 5е. Плохая правильность.