

ОБЕСПЕЧЕНИЕ СОПОСТАВИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ТЕСТИРОВАНИЯ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ РАЗНЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ИЛИ МЕТОДОВ ИЗМЕРЕНИЯ.

На практике сотрудники клинико-диагностических лабораторий достаточно часто сталкиваются с проблемой сопоставимости результатов исследования одного лабораторного показателя, выполненного с помощью разных аналитических систем или методов измерения. Часто в медицинских учреждениях проводится динамическое исследование одного и того же анализа в пробе пациента в центральной лаборатории, приемном отделении, либо в отделении реанимации или интенсивной терапии. Очевидно, что в такой ситуации результаты исследования должны быть сопоставимы, иначе возможна неправильная их клиническая интерпретация. Серьезность указанной проблематики отражена в технических требованиях ISO 15189-2015 [1]:

5.6.4 Сопоставимость результатов исследования.

Должны быть определенные способы сравнения использованных процедур, оборудования и методов, и установления сравнимости результатов для проб пациентов, используя клинически оправданные интервалы. Это применимо к одинаковым или различающимся методикам, различным местам выполнения исследований или ко всей совокупности этих факторов.

Примечание – в частном случае результатов измерения, которые метрологически прослежены до того же эталона, результаты описывают как имеющие метрологическую сопоставимость, поскольку калибраторы коммутативные.

Лаборатория должна уведомить пользователей о любых отличиях в сравнимости результатов и обсудить любые влияния на клиническую практику применения измерительных систем, имеющих различающиеся интервалы измерения для одних и тех же измеряемых величин (например, для глюкозы), и изменения методов исследования.

Лаборатория должна документировать, регистрировать и, если возможно, быстро действовать по результатам, полученным при межлабораторных сличениях.

Идентифицированные проблемы или различия должны быть активированы и зарегистрированы поддерживающие действия.

Сопоставимость результатов исследования, выполняемых с помощью двух различных аналитических систем и/или методик постановки, прежде всего, зависит от метрологической прослеживаемости конкретных калибраторов и их коммутативности (отражено в примечании к пункту 5.6.4 ISO 15189:2015) [1]. Действительно, отсутствие прослеживаемости калибровок и некоммутативность калибраторов являются важными причинами возникновения систематических ошибок при выдаче результатов, полученных с помощью разных аналитических тест-систем, что, в свою очередь, приводит к несопоставимым результатам исследования проб биоматериала конкретного пациента.

В настоящем исследовании будет наглядно продемонстрировано, каким образом сравнительный эксперимент и статистика простой регрессии могут помочь в оценке и коррекции величины аналитического смещения, наблюдаемого при измерении одного и того же анализа с помощью двух различных аналитических систем, - чтобы обеспечить сопоставимость результатов клинико-диагностического исследования. Методические

рекомендации основаны на данных документов CLSI EP09-A2 и EP09-A3 [2,3], протокол эксперимента сформирован по итогам сравнительного анализа двух методов (здесь и далее будет использован термин "аналитические системы"). Аналитическая система в упомянутом контексте включает в себя измерительный прибор / оборудование с соответствующим программным обеспечением, калибратор(-ы), реагенты. Создан модельный рабочий инструмент в формате Microsoft Excel, с помощью которого методические рекомендации могут быть реализованы в ходе решения конкретной практической задачи.

Документ EP09-A: цели и область применения.

Назначение документа EP09-A - рекомендовать сотрудникам медицинских лабораторий и производителям аналитических систем и методов схему эксперимента, основанную на исследовании проб пациентов, для оценки средней величины аналитического смещения между двумя аналитическими системами или методами. При этом одна из аналитических систем выступает в качестве системы сравнения, а другая - в качестве тестируемой. Иными словами, документ рекомендует экспериментальный подход только для оценки смещения, но не для его коррекции с целью обеспечения сопоставимости результатов исследования.

В настоящем исследовании цель эксперимента, описываемого EP09-A, расширена: представлен способ коррекции аналитического смещения, позволяющий обеспечить сопоставимость результатов, полученных на двух различных аналитических системах.

EP09-A: термины и определения.

Документы EP09-A содержат протокол эксперимента, основанного на парном исследовании образцов пациентов с разными концентрациями аналита, выполненном на двух аналитических системах, а также описание статистического анализа полученных данных для оценки величины аналитического смещения.

В документах EP09-A приведены определения терминов, связанных с протоколом эксперимента и статистическим и анализом данных. Ниже приведены определения, необходимые для дальнейшего описания коррекции аналитического смещения:

- **Аналитическое смещение (Bias)** - оценка систематической ошибки измерения (JCGM 200:2012)[4]; ПРИМЕЧАНИЕ: В контексте документа EP09-A, аналитическое смещение - это средняя величина аналитического смещения, оцененная на всем протяжении интервала измерения в ходе эксперимента по сравнению двух аналитических систем.
- **Коэффициент корреляции (r) // коэффициент детерминации (r^2)** - мера линейной зависимости между двумя случайными величинами; ПРИМЕЧАНИЕ 1: Величина r может находиться в диапазоне от -1 до 1, то есть от «идеальной» негативной до «идеальной» позитивной величины линейной зависимости; ПРИМЕЧАНИЕ 2: Если $r=0$, то это указывает на отсутствие линейной зависимости.

Сопоставимость (Comparability) – соответствие друг другу результатов определения концентрации аналита в пробах биоматериала пациента, полученных с помощью разных процедур (методик) измерения в рамках одного медицинского учреждения.

ПРИМЕЧАНИЕ: Результаты рассматриваются как сопоставимые, если различие между ними не будет превышать критической величины, приведенной на основании установленных критериев приемлемости.

- **Репликации / повторы (replicate)** – величина, полученная в результате повторного анализа того же самого образца.
- **Простая линейная регрессия (ordinary linear regression (OLR))** – линейная регрессия по методу наименьших квадратов, которая обычно отражает невзвешенную регрессию наименьших квадратов; ПРИМЕЧАНИЕ: Также OLR может описываться как равномерно взвешенная простая регрессия по методу наименьших квадратов.

Регрессия наименьших квадратов – статистический метод описания расположения полученной прямой или кривой массива данных таким образом, чтобы сумма квадратов расстояний от каждой точки от прямой в перпендикулярном направлении по отношению к оси X (то есть, параллельно оси Y), была минимальной. ПРИМЕЧАНИЕ: данная методика позволяет выполнить прямой расчет коэффициентов и оценку соответствующей неопределенности.

График рассеяния//диаграмма рассеяния (scatter plot//scatter diagram) - тип математической диаграммы с использованием Декартовой (прямоугольной) системы координат для представления значений двух определенного набора данных; ПРИМЕЧАНИЕ: Данные отображаются в виде набора точек, каждая из которых соответствует значению одной переменной, определяющей позицию на горизонтальной оси, и величину другой переменной, определяющей позицию на вертикальной оси.

Выброс (outlier) - результат измерения конкретного образца, значение которого настолько существенно отличается от остальных, что дает основание предположить либо его ошибочность, либо принадлежность к другому пулу; ПРИМЕЧАНИЕ 1: Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) определяет выбросы как "множество значений, которые не согласуются с другим множеством значений" (WHO-BS/95.1793)[5]; ПРИМЕЧАНИЕ 2: Для идентификации выбросов могут использоваться статистические тесты, но часто более эффективной является визуальная оценка экспериментальных данных.

- **График различий (difference plot)** – графическое отображение разницы между измеренным значением и референтной концентрацией, откладываемой на оси Y, против референтной величины, откладываемой на оси X; ПРИМЕЧАНИЕ: Часто референтную концентрацию выражают в виде среднего значения результатов измерений.
- **Коммутабельность** – межаналитические свойства референтного материала, калибровочного или контрольного материала, которые сопоставимы с теми, которые наблюдаются в реальных клинических образцах; ПРИМЕЧАНИЕ: Коммутативность материала определяют как «степень, с которой материал даёт те же самые количественные отношения между результатами измерения, полученными в данной совокупности процедур измерения, предназначенных для измерения той же самой величины, что и между ожидаемыми отношениями, полученными при помощи тех же процедур измерения при исследовании других соответствующих материалов» (ISO 15190);
- **Точка принятия решения (точка принятия клинического решения)** – концентрация мезюранда, используемая в качестве пороговой для принятия клинического решения. ПРИМЕЧАНИЕ: Часто т.н. точки принятия решения соответствуют границам референтных интервалов, но также используются и другие концентрации, например, взятые из клинических руководств.
- **Мезюранд** – величина, которую предполагают измерить (JCGM 200:2012) [4];

- **Метрологическая прослеживаемость (metrological traceability)** – свойство результата измерения соотноситься с результатом референса через документированную, непрерывную цепочку калибровок, каждая из которых вносит свой вклад в неопределённость измерения; (JCGM 200:2008 § 2.41) [6];
- **Стандартная неопределённость измерения (standard measurement uncertainty)** - неопределённость измерения, выраженная в виде стандартного отклонения (JCGM 200:2008 § 2.30); ПРИМЕЧАНИЕ 1: Стандартная неопределённость измерения величины x обозначается как u_x или $u(x)$; ПРИМЕЧАНИЕ 2: Квадрат стандартной неопределённости измерения величины x обозначается как u_x^2 или $u^2(x)$.
- **Коэффициент вариации (coefficient of variation (CV))** – для неотрицательной характеристики - отношение стандартного отклонения к среднему значению (ISO 3534-1); ПРИМЕЧАНИЕ 1: Термин «относительное стандартное отклонение» иногда используют в качестве альтернативы термину «коэффициент вариации», но такое использование не рекомендуется; ПРИМЕЧАНИЕ 2: является мерой относительной неprecизионности; часто умножают на 100 и выражают в виде процента, обозначая как % CV.
- **Аналитический диапазон измерения (Analytical measurement range (AMR))** - диапазон значений аналита, который можно измерить при помощи данного метода в пробе напрямую, без какого-либо разведения, концентрирования или другой предварительной обработки, которая не является частью типичного процесса анализа.
- **Систематическая ошибка измерения (systematic measurement error)** – компонент ошибки измерения, который в репликативных измерениях остаётся постоянным или изменяется прогнозируемо.
- **Константная Систематическая Ошибка** - систематическая ошибка, которая имеет одинаковую величину даже при изменении концентрации аналита в пробах.
- **Пропорциональная Систематическая Ошибка** - систематическая ошибка, которая возрастает по мере возрастания в пробах концентрации исследуемого аналита.

Стандартизация - ситуация, наблюдаемая, когда измерения, полученные при помощи аналитических систем (методов) равнозначны и метрологически прослеживаемы вплоть до Международной Системы Единиц (SI) посредством первичного референтного материала высокого порядка и/или референтной процедуры измерения (RMP).

- **Гармонизация** – ситуация, когда результаты измерений, полученные при помощи двух аналитических систем (методов), равнозначны и метрологически прослеживаемы вплоть до референтного материала или метода, полученного на основании консенсусного подхода, в частности, на основании величины среднего значения, вычисленного при помощи различных методов. При этом наличия первичного референтного материала высокого порядка и/или референтной процедуры измерения (RMP) в данной ситуации не предполагается.
- **Регрессия Дёминга** – регрессия, альтернативная простой линейной регрессии, которая применяется в ситуации, когда последняя может быть ненадёжной. Эта технология учитывает величины неprecизионности результатов измерения, полученных при помощи как метода сравнения, так и тестируемого метода. В случае, когда аналитический диапазон результатов измерения аналита, полученных при помощи метода сравнения узок, простая линейная регрессия может давать слишком низкую величину тангенса наклона прямой регрессии (a), а также - слишком малую величину пересечения прямой с осью Y (b). В качестве практического индикатора, показывающего, когда следует применять альтернативную технологию регрессионного анализа, использует-

ся величина коэффициента корреляции: если он менее 0.975, то вместо технологии ORL следует использовать альтернативную, такую, например, как регрессия Деминга.

- **Гетероскедастичность** - неоднородность наблюдений, выражающаяся в неодинаковой (неоднородной) дисперсии случайной ошибки регрессионной модели. Гетероскедастичность противоположна гомоскедастичности, означающей однородность наблюдений, то есть постоянство дисперсии случайных ошибок модели. Оценивается на основании визуальной оценки данных, либо при помощи статистических тестов (Уайта, Спирмена и др.). Если в экспериментальных данных присутствует неприемлемая гетероскедастичность, то вместо OLR можно использовать альтернативные подходы, например взвешенную регрессию или регрессию Пассинга – Бэблока.
- **Взвешенная регрессия (weighted regression)** - технология параметрической регрессии, которая «взвешивает» влияние отдельных результатов пациентов на основе заранее установленного критерия; ПРИМЕЧАНИЕ 1: Часто взвешенная регрессия применяется как для регрессии наименьших квадратов (взвешиваются Y-результаты), так и для регрессии Деминга (взвешиваются результаты X и Y); ПРИМЕЧАНИЕ 2: Схема «взвешивания», как правило, оценивает влияние на результат, которое обратно пропорционально его ожидаемой дисперсии.
- **Регрессия Пассинга - Бэблока (Passing-Bablok regression)** - метод оценки прямой и пересечения ее с осью Y на основании данных эксперимента по сравнению методов с использованием непараметрической процедуры анализа.

Обзор протокола эксперимента по сравнению методов, представленных в EP09-A, и процедуры коррекции аналитического смещения.

Протокол EP09-A предусматривает наличие т.н. ознакомительного периода, в течение которого ответственный персонал лаборатории обучается выполнению всех необходимых процедур: применению аналитических систем, пробоподготовке, калибровке, контролю качества. Рекомендованная продолжительность данного периода - 5 дней - при использовании простых аналитических систем и/или проведении соответствующих тренингов производителей аналитических систем для персонала может быть сокращена.

Протокол эксперимента документа CLSI EP09-A по определению средней величины аналитического смещения между двумя аналитическими системами (методами) основан на парном исследовании концентраций аналита в образцах пациентов. В протоколе выделены ключевые факторы, которые влияют на выполнение сравнительного эксперимента, связанные с выбором системы сравнения и работой с исследуемыми образцами.

Тестируемые образцы. Отбирать и проводить подготовку образцов биоматериала пациентов к исследованию следует в соответствии с принятой в данной лаборатории практикой и рекомендациями производителя аналитической системы. По возможности, взятие образцов следует выполнять в день проведения экспериментальных исследований. Следует избегать хранения образцов. Если в процессе эксперимента будут использоваться образцы пациентов, полученные ранее, следует обеспечить их надлежащее хранение, гарантирующее стабильность аналита и отвечающее требованиям как метода сравнения, так и тестируемого метода. Хранить образцы следует в одинаковых условиях, во избежание вариабельности результатов измерения вследствие влияния различных условий хранения. Если взятый образец по каким-либо причинам выбраковывается, причины выбраковки необходимо документировать.

Выбор аналитической системы (метода) сравнения. В идеале, в аналитической системе сравнения должны применяться референтные методы. Однако в практике медицинских лабораторий это не всегда возможно: в таких случаях следует выбирать в качестве аналитической системы сравнения систему, работающую в центральной (основной) лаборатории. Часто подобная система представляет собой клиничко-химический или иммунохимический автоматический анализатор высокой производительности, интегрированную, модульную рабочую станцию, либо «большой» гематологический автоанализатор. В такой ситуации необходимо, чтобы метод в аналитической системе сравнения был метрологически прослеживаемым к референтным процедуре измерения и материалу посредством метрологически прослеживаемого и коммутативного калибратора. Это обеспечит сопоставимость результатов, получаемых с помощью метода тестируемой аналитической системы, со стандартизированными или гармонизированными результатами аналитической системы сравнения. Важно, чтобы метод сравнения был свободен от влияния на него известных интерферентов. Кроме того, единицы измерения аналита у метода сравнения и тестируемого метода должны быть одинаковы.

- **Аналитический диапазон измерения метода сравнения.** Величина аналитического диапазона метода сравнения должна быть, по крайней мере, не меньше таковой у тестируемого метода. Это позволит определить величину аналитического смещения на всем протяжении аналитического диапазона двух методов.
- **Количество исследуемых образцов.** Протокол эксперимента EP09-A рекомендует использовать как минимум 40 образцов пациентов с концентрациями, равномерно покрывающими весь диапазон измерения методов и включающими точки принятия клинических решений для данного аналита.
- **Выполнение измерений.** Измерения образцов пациентов следует проводить в дублях на двух аналитических системах. Исследование в дублях помогает выявить ошибки, связанные, например, с недостаточным перемешиванием образцов. Дубли должны быть разделены на две аликвоты и исследоваться в обратном порядке. Например, можно исследовать первые аликвоты в следующем порядке: 1,2,3,4,5,6,7,8, а вторые (дубли) аликвоты - в обратном порядке: 8,7,6,5,4,3,2,1. Реверсивный порядок исследования дублей следует применить для двух аналитических систем, но начальные последовательности для них должны быть различны. Таким образом, минимизируется т.н. эффект переноса («carryover») и дрейфа среднего дублей-в пределах одной аналитической серии.
- **Объем образцов пациентов.** Объем образцов должен обеспечивать возможность исследования аналита в дублях при помощи двух аналитических систем. Если объема образца, получаемого от пациента, недостаточно, допустимо смешивать образцы, взятые у двух (но не более) пациентов с приблизительно одинаковыми концентрациями аналита и схожими историями болезни. При работе с образцами цельной крови для такого пулирования требуется серологическая совместимость образцов.
- **Продолжительность эксперимента.** Минимальная продолжительность эксперимента составляет пять рабочих дней с ежедневным исследованием восьми образцов пациентов в дублях при помощи двух аналитических систем. В день постановки продолжительность измерения образцов пациентов не должна превышать двух часов.
- **Контроль качества.** В ходе проведения эксперимента необходимо выполнять процедуру внутрилабораторного контроля качества в соответствии с рекомендациями про-

изготовителя или в соответствии с практикой, принятой в данной лаборатории. Необходимо обеспечить сохранность контрольных карт и по необходимости повторять аналитическую серию в случае выхода результатов из-под контроля.

Рисунок 1. Обзорное представление протокола эксперимента по сравнению методов EP09-A совместно с процедурой коррекции аналитического смещения

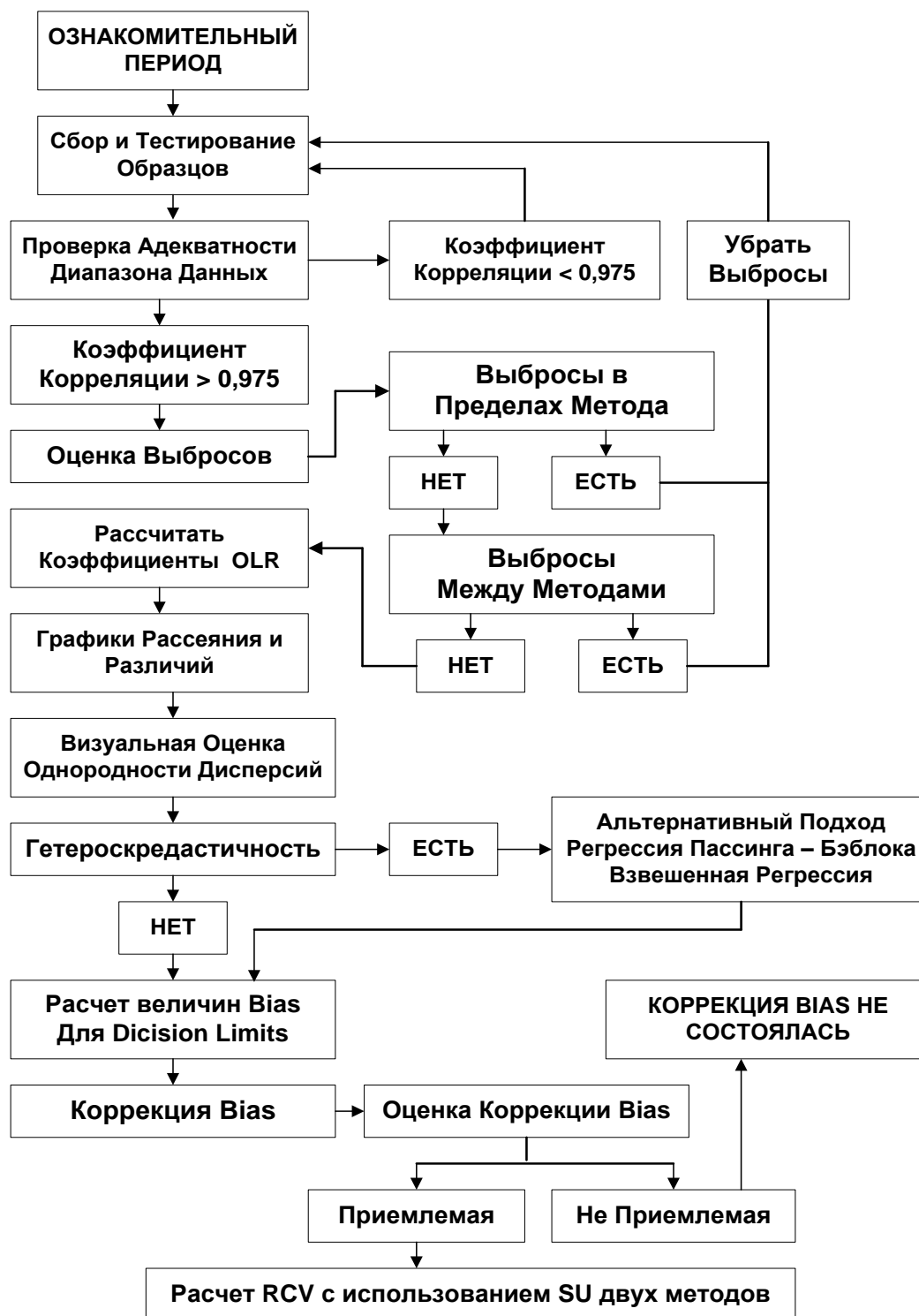


Рисунок 1. Обзор сравнительного эксперимента документа EP09-A и коррекция аналитического смещения. Важной является оценка выбросов и гетероскредастичности. Если разброс данных в верхней части скатерограммы в 3 раза меньше, чем в нижней ее части, то гетероскредастичность считается приемлемой. Если же показатель bias приемлем, можно определять RCV на основе SU (SD, CV).

Выбросы и гетероскредастичность. Выявление выбросов согласно EP09-A предлагается выполнять на основании результатов статистической оценки (см. ниже). В противопо-

ложность этому, оценку неоднородности дисперсий документ рекомендует проводить с помощью визуального анализа графика рассеяния. На рис. 2 представлены примеры графиков рассеяния, демонстрирующих однородность (гомоскредастичность) и неоднородность (гетероскредастичность) дисперсий полученных экспериментальных данных.

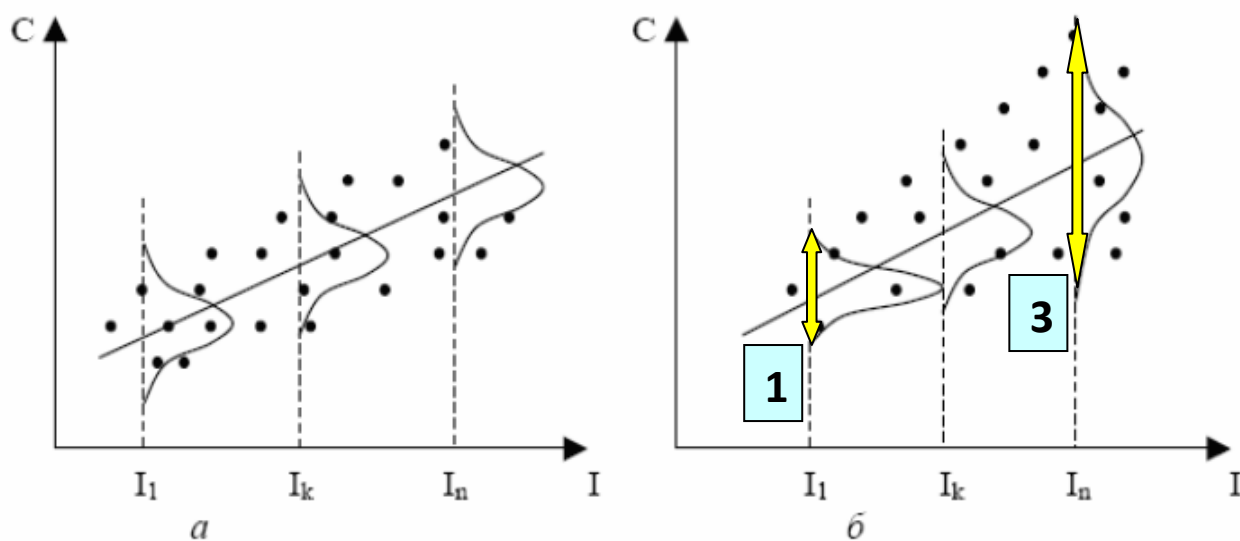


Рисунок 2. Пример гетероскредастичности (неоднородной) и гомоскредастичности (однородной) дисперсий. На графике слева представлена однородная дисперсия, на графике справа - неоднородная дисперсия экспериментальных данных.

Для оценки неоднородности дисперсий экспериментальный протокол ЕР09-А рекомендует использовать визуальный анализ графика рассеяния, предлагая в качестве критерия соотношение 3:1: если разброс данных в верхней части графика в 3 раза меньше, чем в его нижней части, то гетероскредастичность дисперсий экспериментальных данных считается приемлемой.

Следует отметить, что ситуация с неприемлемой неоднородностью дисперсий экспериментальных данных встречается достаточно редко, поскольку ЕР09-А даёт достаточно широкий диапазон приемлемости неоднородности (см. рисунок 2). В связи с этим необходимость применения альтернативных статистических подходов, таких, как взвешенная регрессия или регрессия Пассинга – Бэблока, возникает редко. По данной причине в настоящей работе внимание сфокусировано на основном подходе – простой линейной регрессии. Альтернативные статистические методики и их сравнительная эффективность подробно рассматриваются в соответствующих обзорах и статьях [7,8].

Коррекция аналитического смещения. Процедура коррекции аналитического смещения выполняется на основании статистики простой линейной регрессии. Полученные коэффициенты регрессии, отражающие средние величины пропорциональной и константной систематических ошибок, корректируются в соответствии с величинами этих ошибок. Оценка коррекции аналитического смещения производится на базе модели, включающей пересчет экспериментальных данных метода сравнения на основании скорректированных коэффициентов простой линейной регрессии.

Ниже данный вопрос рассматривается более детально.

Цели и задачи эксперимента по сравнению аналитических систем (методов) документа ЕР09-А и процедуры коррекции аналитического смещения.

- Цель эксперимента по сопоставимости аналитических систем:
 - ✓ Получить на основании модели простой линейной регрессии средние ве-

личины константной и пропорциональной систематических ошибок между двумя аналитическими системами.

- ✓ Получить величины аналитического смещения (bias) в точках принятия клинических решений между двумя аналитическими системами.
 - ✓ Оценить приемлемость полученной величины аналитического смещения в точках принятия клинических решений для практического применения в медицинской практике.
- Цель процедуры коррекции величины аналитического смещения между двумя методами:
 - ✓ Обеспечить сопоставимость результатов измерения, выполненных на разных аналитических системах.

Алгоритм проведения эксперимента по сравнению аналитических систем (методов) EP09-A.

Выполнение экспериментального протокола по сравнению аналитических систем (методов) документа EP09-A и процедуры коррекции аналитического смещения можно представить следующим образом:

- ❖ Вводная информация: общая продолжительность эксперимента составляет 8 рабочих дней. Количество ежедневно исследуемых образцов пациентов - 5. Время исследования образцов пациентов двумя методами – не более двух часов.
 - ❖ Внести в соответствующий журнал информацию о сравниваемых аналитических системах (название прибора, производитель, SN), реагентах и калибраторе (название, производитель, лоты, сроки годности),
 - ❖ Внести в соответствующий журнал информацию об используемых контрольных материалах (название, производитель, лоты, сроки годности).
- В ходе эксперимента, выполнять калибровку аналитических систем (методов) и верифицировать её при помощи процедур внутрилабораторного контроля качества (ВКК) в соответствии с рекомендациями производителя.
 - В каждый из восьми дней эксперимента получить по пять образцов пациентов с разными концентрациями исследуемого аналита.
 - Аликвотировать каждый образец пациента на две пробы как для метода сравнения, так и для тестируемого метода, то есть, в сумме на четыре аликвоты для одного образца (20 аликвот для 5 образцов).
 - Пронумеровать аликвоты и расположить их в штативе в возрастающем порядке нумерации (первые аликвоты) и убывающем порядке (вторые – аликвоты-дубли) для метода сравнения.
 - Пронумеровать аликвоты и расположить их в штативе в убывающем порядке нумерации (первые аликвоты) и в возрастающем порядке (вторые – аликвоты-дубли) для тестируемого метода.
 - Выполнить исследование концентрации аналита в дубликатах при помощи метода сравнения и тестируемого метода в течение не более двух часов.
 - Даты выполнения измерений, результаты измерений, название методов, аналита, единицы измерения и фамилию оператора внести в соответствующую

таблицу Excel рабочего инструмента, прилагаемого к данному материалу (Рисунок 3).

Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples												
Название Аналита		Test Method		Comparison Method			Operator					
Analyte	Glucose	Abbott Glucose		Roche Glucose			Turkowski G					
Units	mg/dl	Abbott Glucose		Roche Glucose			Turkowski G					
Единицы Измерения Аналита		Тестируемый Метод		Метод Сравнения			ФИО Оператора					
Sample Data Recording Sheet				Scatter Plot		Difference Plots			Within-Method D			
Date	Sample	TM	CM	Scale Y	Scale X	Scale X	Scale Y	Scale Y	DY1	DX1		
		RES 2	RES 1	RES 2	MTM	MCM	(MY+MX)/2	MY-MX	% Diff			
12.04.2014	1	87	82	86	80	84,5	83,0	83,8	1,5	1,8	5	6
Day 1	2	165	158	155	158	161,5	156,5	159,0	5,0	3,1	7	3
	3	<p>Сюда Вносить Результаты Измерений образцов пациентов, выполненных при помощи Тестируемого Метода и Метода Сравнения</p>				202,5	198,0	200,3	4,5	2,2	11	8
	4					44,0	48,5	46,3	-4,5	-9,7	2	3
	5					69,0	72,0	70,5	-3,0	-4,3	2	0
6	182,0					176,5	179,3	5,5	3,1	4	1	
Day 2	7	223,5	220,0	221,8	3,5	1,6	7	4				
	8	140,0	137,0	138,5	3,0	2,2	0	2				
	9	170,5	172,5	171,5	-2,0	-1,2	5	5				
	10	87	86	85	83	86,5	78,5	82,5	8,0	9,7	1	1

Рисунок 3. Поля для внесения исходной информации, дат выполнения измерений и результатов в рабочий инструмент документа CLSI EP09-A.

- Если на основании результатов ВЛК или вследствие технических неполадок оборудования результаты аналитической серии отклонены, необходимо удалить и данные эксперимента и далее, найдя и устранив неполадки, выполнить калибровку и ВЛК аналитической системы, а затем - дополнительную аналитическую серию измерений экспериментальных образцов пациентов.

Статистический Анализ Экспериментальных Данных.

Статистический анализ полученных экспериментальных данных в прилагаемом к материалу рабочем инструменте выполняется автоматически. На наглядном примере из приложения к документу EP09-A2 подробно рассмотрены его этапы.

- Анализ экспериментальных данных на наличие выбросов.
 - ✓ Статистический анализ экспериментальных данных на наличие выбросов в рабочем инструменте выполняется автоматически как в рамках одного метода, так и между разными методами (Рисунок 4). Выбросы в таблице подсвечиваются в розовый цвет.
- Равномерность распределения данных в пределах диапазона измерений.
 - ✓ Рабочий инструмент определяет диапазон собранных данных, делит его на три равные части и рассчитывает количество результатов, попадающих в каждую из них в абсолютном количестве и в процентах (Рисунок 5).

Тестирование Выбросов у дублированных результатов методов							
Within-Method Duplicates Check				Test for Outliers for Between Method			
DY1	DX1	DY1'	Тестирование Выбросов Между Методами				
5	6	0,0592	0,0723	1,0	2,0	0,0116	0,0250
42	3	0,2346	0,0192	45,0	0,0	0,2903	0,0000
11	8	0,0543	0,0404	5,0	14,0	0,0248	0,0722
			0,0619				0,1000
			0,0000				0,0278
			0,0057				0,0169
7	4	0,0313	0,0182				0,0090

	Контрольные Границы для Выбросов в Пределах Методов	0,0157	1,0	2,0	0,0078	0,0159
		0,0359	1,0	5,0	0,0118	0,0610
		0,0299				0,0606
2		0,0147	0,0356			0,0559
7	1	0,0651	0,0094			0,0374
MDY1	5,85	Control L	23,4	463,0		4,0094
MDX1	3,775	Control L	15,1	5,7875		0,0501
MDY1'	0,0440	Control L	0,1758	Control Limit		23,15
MDX1'	0,0320	Control L	0,1280	Control Limit		0,2005

Рисунок 4. Ячейки таблицы статистического анализа экспериментальных данных на наличие выбросов в рабочем инструменте документа EP09-A.

Рекомендуется, чтобы результаты парных измерений были равномерно распределены по диапазону данных.

Тем не менее, главным фактором, влияющим на величину неопределённости оценки коэффициентов регрессии, является все же ширина диапазона, а не равномерность распределения данных в нем. Критерием адекватности ширины диапазона данных, в свою очередь, является величина коэффициента корреляции.

Количество Данных в Разных Частях Диапазона в Процентах							
Характеристика Диапазона Данных		Части Диапазона Данных					
Distribution Data Within Range Data							
Range Data	Parts of the Range	Diff	ABS	Percent Value			
Min Value	45,8	Part 1	45,8	115,0	69,2	19	47,5
Median	124,1	Part 2	115,0	184,2	69,2	13	32,5
Max Value	253,5	Part 3	184,2	253,5	69,3	8	20,0

Рисунок 5. Поля определения диапазона данных и оценки равномерности их распределения в диапазоне (рабочий инструмент документа EP09-A).

- Статистика корреляции и простой линейной регрессии (Рисунок 8).
 - Статистика Корреляции
 - ✓ Рабочий инструмент автоматически рассчитывает величины коэффициентов корреляции (r) и детерминации (r^2). Величина коэффициента корреляции указывает, увеличивается ли одна переменная по мере того, как увеличивается другая переменная (положительная величина r) или уменьшается ли

одна переменная по мере того, как увеличивается другая переменная (отрицательная величина r). Т.о., коэффициент корреляции оценивает силу статистической линейной взаимосвязи между парными данными и определяет близость расположения их на одной прямой, наиболее точно описывающей линейное соотношение между ними. Т.е. чем выше значение r , тем ближе к данной линии будут располагаться парные экспериментальные данные, тем меньше их разброс вокруг неё и выше степень линейной взаимосвязи между ними. Справедливо и обратное: чем ниже величина r , тем дальше от линии будут располагаться парные данные, тем больше их разброс вокруг неё и тем меньше их линейная взаимосвязь.

Коэффициент детерминации (r^2) определяет степень дисперсии экспериментальных данных, полученных при помощи метода сравнения (Y), которая объясняется переменными X , то есть данными, полученными при помощи тестируемого метода. То есть, чем выше величина r^2 , тем доля этой объяснимой дисперсии будет выше и наоборот, чем ниже величина r^2 , тем доля объяснимой дисперсии будет ниже. Обобщая: чем выше показатель r^2 , тем большая часть дисперсии данных Y (метод сравнения) —будет объясняться данными X (тестируемый метод) и, следовательно, тем выше степень линейной взаимосвязи между парными данными. Согласно данной теории, чем выше величина коэффициента детерминации, тем лучше парные данные объясняются моделью линейной регрессии. С практической точки зрения, более ценным является то, что величины коэффициентов корреляции и детерминации определяют адекватность ширины диапазона собранных данных. Документ EP09-A дает критерий адекватности диапазона собранных данных на основании значений величин r^2 и r . Если величина $r^2 \geq 0.95$, а величина $r \geq 0.975$, то диапазон собранных экспериментальных данных считается приемлемым. В противном случае эксперимент следует дополнить данными и повторно выполнить корреляционный анализ. В рабочем инструменте EP09-A приемлемость диапазона данных на основании величины коэффициента корреляции рассчитывается автоматически.

- Статистика простой линейной регрессии (OLR).

Рабочий инструмент EP09-A автоматически рассчитывает основные компоненты статистики OLR. Определяются коэффициенты уравнения простой линейной регрессии ($Y=aX+b$ (a,b)) и на их основе - компоненты систематической ошибки (Пропорциональная, константная), а также рассчитывается величина стандартной ошибки регрессии Sy/x . Следует понимать, что величина отклонения от идеальной величины наклона прямой регрессии (a) формирует среднюю величину пропорциональной систематической ошибки, которая выражается в процентах. Здесь идеальной величиной коэффициента a является 1, поскольку тангенс угла наклона регрессионной прямой (45°) равен единице, а такая прямая делит угол 90° на две равные части. В таком случае величина тангенса угла наклона прямой регрессии 0.950 будет формировать значение пропорциональной ошибки, равное пяти процентам: $(1- 0.950)/1 \times 100 = 5\%$. Величину константной систематической ошибки отображает значение точки пересечения прямой регрессии с осью Y (b). На рисунке 6 визуализирована схема, отображающая коэффициенты коэффициентов уравнения линейной регрессии, а на рисунке 7 наглядно представлены

константный и пропорциональный компоненты систематической ошибки.

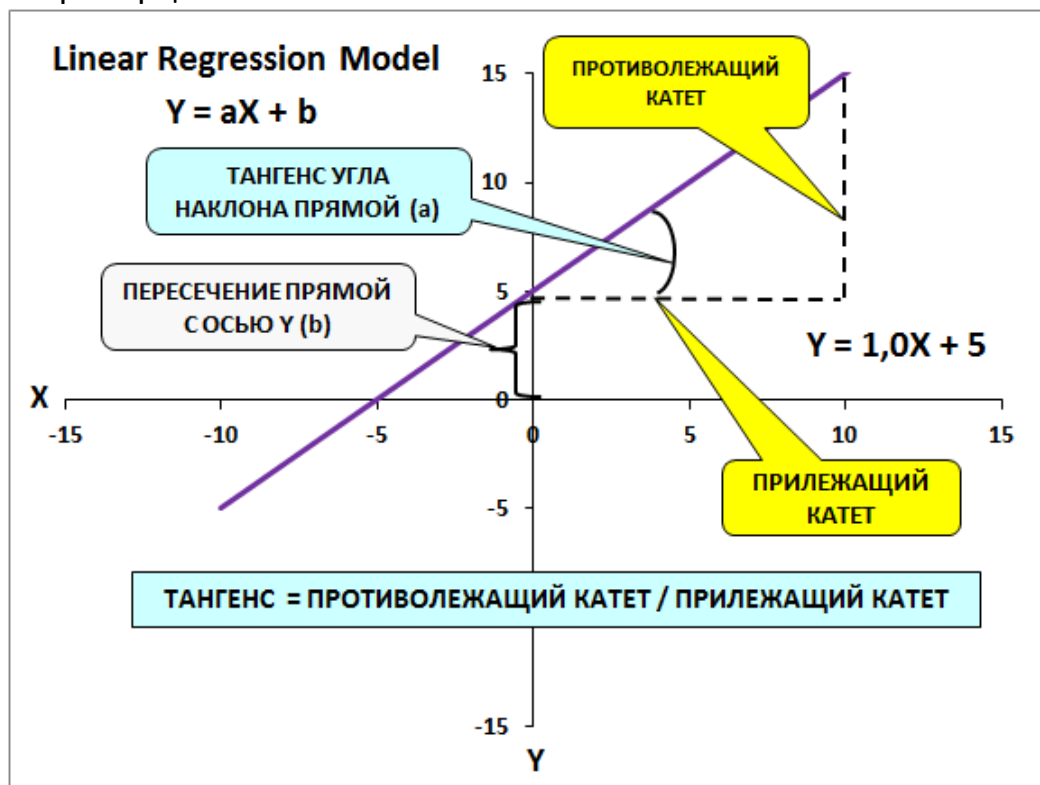


Рисунок 6. Графическое отображение коэффициентов уравнения линейной регрессии. Тангенс угла наклона прямой регрессии формирует коэффициент a , а точка её пересечения с осью Y - коэффициент b .

Пропорциональная систематическая ошибка (Proportional Systematic Error), возникающая между методом сравнения и тестируемым методом, возрастает по мере увеличения концентрации аналита. Часто обусловлена наличием вещества в матрике пробы, которое, взаимодействуя с искомым аналитом, конкурирует тем самым с реагентом аналитической системы. В противоположность этому, константная систематическая ошибка (Constant Systematic Error) не меняется по мере возрастания концентрации аналита в экспериментальных пробах. Эта ошибка обусловлена влиянием на химическую реакцию тестируемого метода интерферентов, находящихся в исследуемых образцах в определённых концентрациях.

Размер стандартной ошибки регрессии (Sy/x) характеризует величину случайной ошибки, возникающей между методом сравнения и тестируемым методом, которая может быть обусловлена как величинами неprecизионности обоих методов, так и интерференциями со стороны матрикса экспериментальных образцов. Идеальной величиной Sy/x является нуль. Между величиной отношения стандартной ошибки регрессии и диапазона данных и величиной коэффициента корреляции существует обратная пропорциональная зависимость [7]: при увеличении отношения « Sy/x : Range» уменьшается величина коэффициента корреляции (r), что приводит к увеличению неопределённости при оценке коэффициентов регрессии [7]. Данная зависимость определяет логику действий в ситуации, когда низкую величину коэффициента вариации ($r < 0,975$) не удаётся повысить ни при помощи устранения выбросов данных, ни с помощью расширения их диапазона. В такой ситуации необходимо выяснить, чем обусловлена величина Sy/x : неprecизионностью методов, либо влиянием матрикса образцов на методы исследу-

дования. Для этого следует определить комбинированную величину неprecisionности метода сравнения и метода тестирования ($S_{a,tot}$) и сравнить ее с значением $S_{y/x}$ [7]. Величину $S_{a,tot}$ рассчитывают по формуле: $S_{a,tot} = (S^2_{CM} + S^2_{TM})^{1/2}$, где S^2_{CM} и S^2_{TM} – показатели дисперсий, соответственно, метода сравнения и тестируемого метода, взятые из кумулятивных данных внутрилабораторного контроля качества. Если величина $S_{y/x}$ приблизительно равна $S_{a,tot}$, необходимо повторить эксперимент, снизив $S_{a,tot}$ путем увеличения количества репликаций (вместо двух выполнять три), тем самым попытаться снизить величину $S_{y/x}$ и повысить r . Если же $S_{y/x}$ значительно выше величины $S_{a,tot}$, $S_{y/x}$ обусловлена влиянием на методы исследования матрикса экспериментальных образцов. В такой ситуации следует воспользоваться альтернативным статистическим подходом, например, регрессией Пассинга – Бэблока или Дёминга.

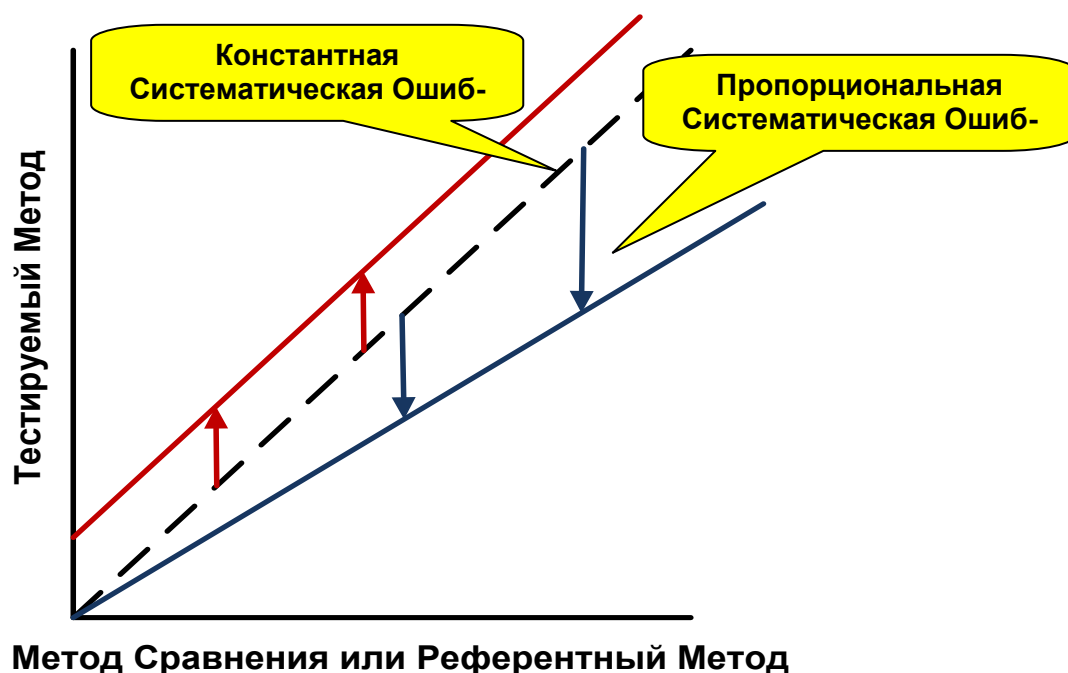


Рисунок 7. Константная (CE) и пропорциональная (PE) систематические ошибки. Величина CE постоянна на всем диапазоне данных, тогда как величина PE возрастает по мере увеличения концентрации исследуемого аналита.

- Оценка и интерпретация величины аналитического смещения (Bias).
 - ✓ В рабочем инструменте EP09-A оценка величины аналитического смещения как в абсолютных, так и относительных единицах (%), выполняется автоматически на двух уровнях принятия клинического решения (рисунок 9). Интерпретация рассчитанной относительной величины аналитического смещения (bias, %) выполняется автоматически путем сравнения её с допустимой величиной, взятой из целевых значений для аналитического качества.

Статистика Корреляции		Средние Систематические Ошибки		Пересечение прямой регрессии с осью Y	
Correlation and Ordinary Least Squares					
Correlation		Mean Systematic Error		Corrected Model	
r^2	0,990	Intercept	-0,628	Константная ошибка	0,628
r	0,995	Constant Error	-0,628	Пропорциональная ошибка	
Conclusion		Slope		Стандартная Ошибка Регрессии	
Acceptable		Proportional Error		5,72	
Standard Error of Regression (Sy/x)				5,72	
Тангенс угла наклона прямой регрессии					

Рисунок 8. Поля в рабочего инструмента EP09-A для расчета статистики корреляции, простой линейной регрессии, а также величин константной и пропорциональной систематических ошибок.

Первый уровень принятия клинического решения		Второй уровень принятия клинического решения	
Расчет величины Аналитического Смещения			
Evaluation of Analytical Bias			
Decision Level 1		Decision Level 2	
Decision Level 1 (CM)	50,0	Decision Level 2 (CM)	120,0
Decision Level 1 (TM)	49,5	Decision Level 2 (TM)	119,8
Absolute Bias (TM - CM)		Относительная величина Аналитического Смещения	
Bias %	0,91	Bias %	0,17
Interpretation Bias Assessment			
Specification		Интерпретация полученных величин Аналитического Смещения	
Bias Value %	2,34		
Decision Level 1	Сравнение целевой и полученной величин аналитического смещения на первом уровне принятия клинического решения		
Bias vs SE			
Acceptable	Acceptable		

Рисунок 9. Поле рабочего инструмента EP09-A для оценки и интерпретации величины аналитического смещения.

- Графики Различий (Bland - Altman plots).
 - ✓ В рабочем инструменте EP09-A формируются два типа графиков различий: 1) график абсолютных различий: по оси X откладываются средние значения концентраций согласно методам сравнения и тестирования, а по оси Y - разницы между средними концентрациями тестируемого метода и метода сравнения; 2) график относительных различий: по оси X откладываются средние значения концентраций согласно методам сравнения и тестирования, а по оси Y - разницы между средними концентрациями тестируемого метода и метода сравнения, **но выраженные в процентах относительно** средних значений концентраций метода сравнения и тестирования.
 - ✓ Два типа графиков различий необходимы для эффективного анализа экспериментальных данных. Так, **график различий в абсолютных значениях более эффективно**, чем график различий в относительных значениях, **позволяет проводить мониторинг в ситуации, когда их величины разли-**

чий постоянны (постоянная вариабельность различий) на протяжении всего диапазона концентраций (рисунок 10). С другой стороны, график различий в относительных значениях, более эффективно позволяет проводить мониторинг различий в том случае, когда их величины возрастают по мере увеличения концентрации аналита (пропорциональная вариабельность различий) в экспериментальных образцах пациентов (рисунок 11).

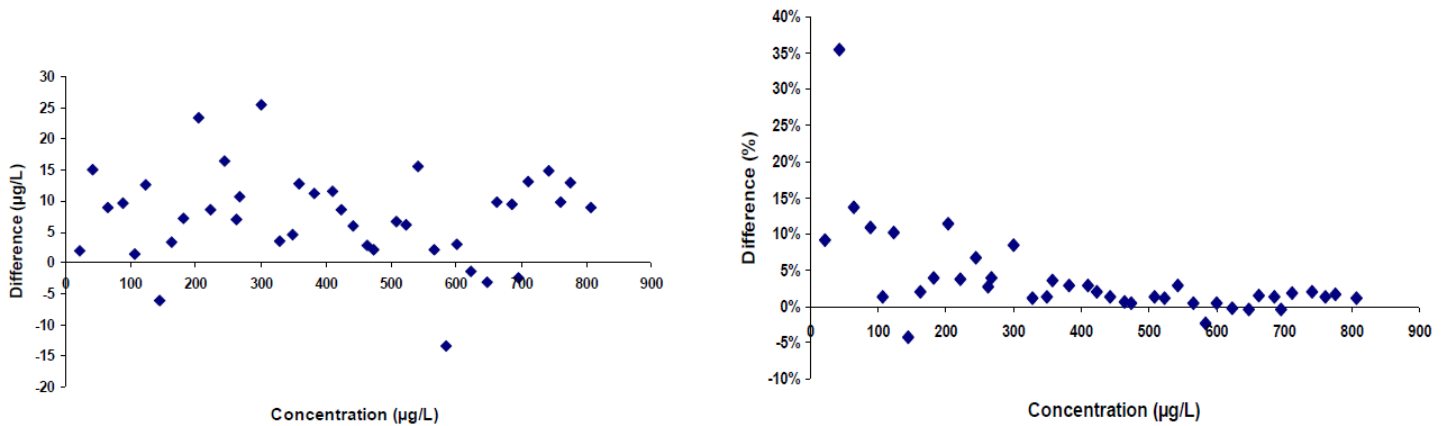


Рисунок 10. Эффективность двух типов графиков отображения различий в ситуации константной их вариабельности. Поскольку данные на графике абсолютных различий (слева) распределены равномерно, он позволяет более эффективно проводить мониторинг.

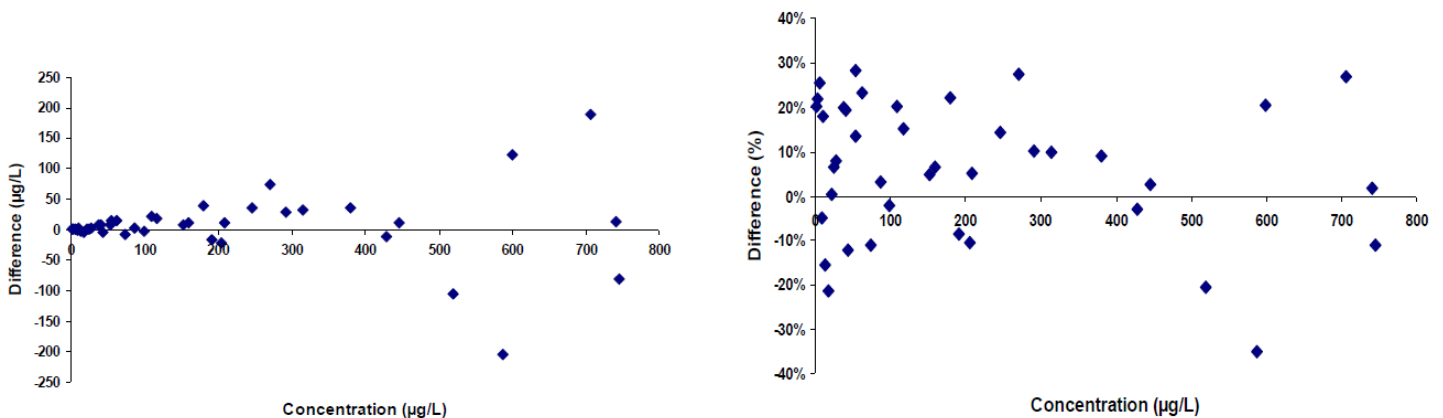


Рисунок 11. Эффективность двух типов графиков для отображения различий в ситуации их пропорциональной вариабельности. Поскольку данные на графике пропорциональных различий (справа) распределены равномерно, он позволяет более эффективно проводить мониторинг.

- **Коррекция аналитического смещения и оценка сопоставимости методов.**

- ✓ Коррекция аналитического смещения в рабочем инструменте EP09-A выполняется автоматически на основании рассчитанных значений коэффициентов простой линейной регрессии, которые отражают средние величины пропорциональной (a) и константной (b) систематических ошибок. Принцип коррекции аналитического смещения заключается в математической “компенсации” полученных величин систематических ошибок, путем расчета скорректированных коэффициентов линейной регрессии, нивелирующих эти ошибки. В результате **формируется корректирующая**

модель простой линейной регрессии, основу которой составляют её **скорректированные коэффициенты**.

Далее рабочий инструмент выполняет оценку эффективности коррекции аналитического смещения. Для этого сначала автоматически пересчитываются результаты экспериментальных данных тестируемого метода на основании величин скорректированных коэффициентов линейной регрессии, а затем рассчитываются **скорректированная** модель линейной регрессии, величины систематических ошибок, скорректированного аналитического смещения, и производится сравнение её с допустимой величиной. На основании сравнения рабочий инструмент определяет приемлемость скорректированного аналитического смещения и, следовательно, - обеспечения сопоставимости двух методов или аналитических систем (рисунок 12,13).

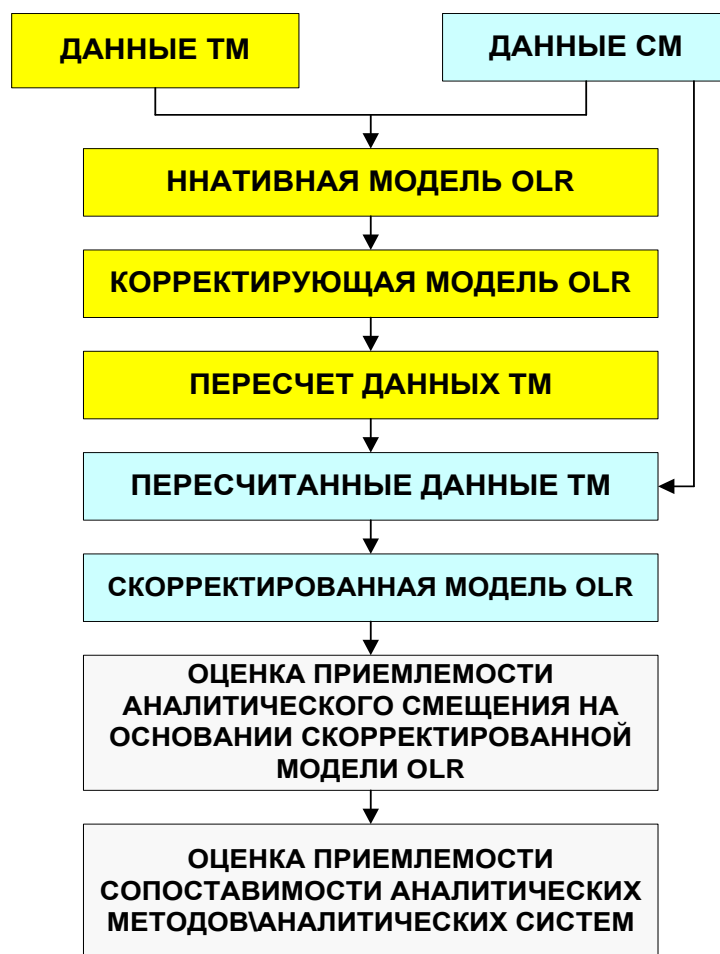


Рисунок 12. Процесс коррекции величины аналитического смещения и оценка приемлемости сопоставимости аналитических систем (методов) рабочим инструментом EP09-A. Сначала создаются корректирующая и скорректированная модели регрессии, далее определяется величина скорректированного аналитического смещения, её приемлемость и приемлемость сопоставимости двух методов или аналитических систем.

Скорректированные Коэффициенты Регрессии				Статистические Расчёты для Скорректированной Модели OLR			
Calculation : Real Model Ordinary Linear Regression							
Correlation		Mean Systematic Error		Corrected Coefficients OLR			
r ²	0,990	Intercept	-0,628	Intercept		0,628	
r	0,995	Constant Error	-0,628				
Conclusion		Slope		Slope		0,996	
Acceptable		Proportional Error		0,4			
Standard Error of Regression (Sy/x)				5,72			
Evaluation of Analytical Bias							
Decision Level 1				Decision Level 2			
Decision Level 1 (CM)		50,0		Decision Level 2 (CM)		120,0	
Decision Level 1 (TM)		49,5		Decision Level 2 (TM)		119,8	
Absolute Bias (TM - CM)		-0,45		Absolute Bias (TM - CM)		-0,21	
Bias %		0,91		Bias %		0,17	
Interpretation Bias Assessment							
Specification							
Bias Value %		2,34					
Decision Level 1				Decision Level 2			
Bias vs SE		Bias vs SE		Bias vs SE		Bias vs SE	
Acceptable		Acceptable					

Calculation : Corrected Model Ordinary Linear Regression			
Correlation		Mean Systematic Error	
r ²	0,990	Intercept	0,002
r	0,995	Constant Error	0,002
Conclusion		Slope	
Acceptable		1,000	
Standard Error of Regression (Sy/x)		5,70	
Evaluation of Analytical Bias			
Decision Level 1		Decision Level 2	
Decision Level 1 (CM)		50,0	
Decision Level 1 (TM)		50,0016	
Absolute Bias (TM - CM)		0,0016	
Bias %		0,0032	
Interpretation Bias Assessment			
Specification			
Bias Value %		2,34	
Decision Level 1		Decision Level 2	
Bias vs SE		Bias vs SE	
Acceptable		Acceptable	

Рисунок 13. Поля для коррекции аналитического смещения, определения скорректированной величины аналитического смещения, оценка её приемлемости и приемлемости обеспечения сопоставимости аналитических систем (методов) в рабочем инструменте EP09-A.

- Коррекция смещения в программном обеспечении тестируемой аналитической системы.
 - ✓ Для коррекции величины смещения метода, применяемого на тестируемой аналитической системе, необходимо внести в соответствующее поле рабочего окна программного обеспечения величины скорректированных коэффициентов простой линейной регрессии (рисунок 14).

Alarm	37.0	Stand-by	12/01/92	12:20
1 Chemistry Parameters				
Test	[BUN]	[00053]	Test Name	[BUN] Unit [mg/dL]
Data Mode	[On Board]		Report Name	[Urea Nitrogen]
Control Interval	[20]		Instrument Factor (Y= aX + b) a [1.0] b [0]	
Expected Value < Serum >			Expected value < Urine >	
Age	(M)	(F)		
[1] [Y]	[4]-[19]	[4]-[19]	[1200]-[2000]	
[12] [Y]	[5]-[18]	[5]-[18]		
	[6]-[19]	[6]-[19]		
Technical Limit < Serum >		< Urine >		
[0]-[150]		[10]-[150]		
STD	Conc.	Pos.	Sample	Pre. Dil. Calib. LotNo. Qualitative [No]
(1)	[0.0]	18	[4]	[0] [0] [501] 000000 (1) [0] []
(2)	[50.9]	21	[4]	[0] [0] [504] 052143 (2) [0] []
(3)	[0]	0	[W]	[0] [0] [999] 000000 (3) [0] []
(4)	[0]	0	[W]	[0] [0] [999] 000000 (4) [0] []
(5)	[0]	0	[W]	[0] [0] [999] 000000 (5) [0] []
(6)	[0]	0	[W]	[0] [0] [999] 000000 (6) [] []
Select Tests via Keyboard : ENTER				

Рисунок 14. Поле рабочего окна программного обеспечения тестируемой аналитической системы для внесения скорректированных величин коэффициентов простой линейной регрессии (выделено красным).

Выводы

- Документ EP09-A Института Клинических Лабораторных Стандартов (США) содержит методологию и протокол, позволяющий специалистам медицинских лабораторий эффективно организовать и провести эксперимент по сравнению аналитических систем или методов.
- Данные эксперимента по сравнению аналитических систем (методов), то есть величины систематических ошибок, можно корректировать, таким образом, скорректировав и величину аналитического смещения, - и обеспечить тем самым сопоставимость результатов, полученных с помощью разных аналитических систем.
- Статистическую обработку данных эксперимента по сравнению методов, коррекцию систематических ошибок и аналитического смещения, а также оценку приемлемости данных коррекции и сопоставимости, легко и удобно выполнить практически с помощью рабочего инструмента документа EP09-A в формате электронных таблиц MS Excel.

Литература

1. ISO15189
Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence. Geneva Switzerland: International Organization for Standardization; 2012.
2. CLSI EP09-A2. Method Comparison and Bias Estimation using Patient Samples. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2002.
3. CLSI EP09-A3. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2013.
4. Bureau International des Poids et Mesures (BIPM). International Vocabulary of Metrology-Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM, 3rd edition, JCGM 200:2012).
5. WHO Expert Committee on Biological Standardization. *Glossary of Terms for Biological Substances Used for Texts of the Requirements*. WHO unpublished document BS/95.1793. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1991.
6. Bureau International des Poids et Mesures (BIPM). International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM, 3rd edition, JCGM 200:2008).
7. Stockl, D.; Dewitte, K.; Thienpont, L.M. Validity of linear regression in method comparison studies: is it limited by the statistical model or the quality of the analytical input data? *Clin. Chem.*, 1998, 44(11), 2340-2346.
8. P. Joanne Cornbleet and Nathan Gochman. Incorrect Least-Square Regression Coefficients in Method – Comparison Analysis. *Clin. Chem.* 25/3, 432 - 438 (1979).