

Проведение верификационных экспериментов на практике согласно протоколу CLSI EP15-A3

Клименкова О.А.
Турковский Г.

Ранее в наших статьях, посвященных планированию аналитического качества, было подробно описано что такое валидация и верификация аналитических методов и цель их применения в лабораторной практике. В настоящей статье мы постараемся изложить пошаговую инструкцию проведения верификационных экспериментов согласно документу Института Клинических Лабораторных Стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP 15-A3.

В документе ISO 15189 Медицинские лаборатории - Требования к качеству и компетенции (ISO 15189 Medical laboratories - Requirements for quality and competence) пункт 5. 5. 1. 2 указано, что методики исследований, применяемые без модификации, должны быть подвергнуты независимой верификации перед введением в повседневное использование, т. е. на практике, это означает, что в каждой медицинской лаборатории должны быть проведены мероприятия по подтверждению спецификаций производителя метода, а именно: по прецизионности (случайной ошибке) и правильности (систематической ошибке). Данные мероприятия изложены в документе Института Клинических Лабораторных Стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP 15-A3, разработанным Др. Нейл Кэрри (Neill Carey), председателем комитета CLSI EP15 в сотрудничестве с Др. Вестгард. Основными целями CLSI EP 15-A3 явились разработка протокола тестирования, достаточно простого для применения его в медицинских лабораториях вне зависимости от их сложности и финансовых ресурсов. Вторая цель заключалась в разработке достаточно строгого протокола, который мог бы обеспечить статистически достоверные выводы, относительно верификационных исследований. Для достижения этих целей, комитет разработал протоколы тестирования и упрощенные рабочие таблицы для всех собранных данных, статистических расчетов и определения наблюдаемой прецизионности и правильности. В EP15 описаны 3 протокола : первый протокол предназначен для определения прецизионности и основан на ежедневном выполнении 3 репликаций контрольных проб в течение 5 дней; второй протокол предназначен для определения правильности и основан на выполнении исследований 20 образцов пациентов и, наконец, третий протокол предназначен для определения правильности на основании анализа по - крайней мере двух референтных материалов с ассигнованными значениями. Данные протоколы можно скачать по ссылке _____

Протокол CLSI EP15-A3 для определения прецизионности

Для его заполнения необходимо соблюдать следующие условия проведения верификационного исследования:

1. Выбрать контрольный материал с концентрациями аналита близкими к уровням принятия клинического решения. Если есть возможность, то контрольные материалы должны быть идентичны тем, которые использовал производитель для определения своих спецификаций, либо они должны быть очень схожими материалами (должны иметь схожий матрикс).

2. Ежедневно в течение пяти дней выполнять одну аналитическую серию измерений, состоящую из трех повторов для каждой из двух концентраций и внести данные, соответственно, 1-й день в ячейки B5:D5, 2-ой день в ячейки B6:D6, 3-й день в ячейки B7:D7, 4-й день в ячейки B8:D8, 5-й день в ячейки B9:D9.

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

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

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

6. Калибровать аналитическую систему следует точно так, как указано в инструкции производителя для операторов. Если производитель указал, что его данные для спецификации по прецизионности были получены в результате множественных калибровочных циклов, тогда оператор в течение эксперимента может провести повторную калибровку аналитической системы”.

Расчеты: введя полученные данные за 5 дней, получаются следующие статистические характеристики:

1. Для данных в ячейках E5-E9 рассчитана величина общего среднего значения.

2. Для данных в ячейке E14 рассчитана средняя величина внутрисерийной дисперсии.

3. Для данных в ячейке E16 рассчитана величина межсерийного стандартного отклонения. (2,147).

4. Для данных в ячейке E17 рассчитана величина межсерийной дисперсии.

5. Для данных в ячейке E18 рассчитано отношение внутрисерийной и межсерийной дисперсий.

6. Для данных в ячейке E19 указана величина общей дисперсии.
7. Для данных в ячейке E20 указана величина внутрилабораторного SD.
8. Для данных в ячейке E21 указана величина внутрилабораторного CV.

Верификация спецификации производителя по прецизионности

Для обеспечения верхней границы спецификации производителя по точности, EP15 рекомендует рассчитывать величину “верификационного значения”, указанную в ячейке E41. Если лаборатория получает величину внутрилабораторного SD ниже этого верификационного значения, **тогда верификация производителя будет подтверждена.**

Протокол EP15-A3 относительно правильности с использованием проб пациентов

Обычной практикой является валидация аналитической эффективности нового метода посредством анализа проб пациентов при помощи нового метода и метода подлежащего замене. Допускается, что результаты, полученные при помощи метода сравнения, представляют собой правильные значения и являются основой, на которой производитель получил свои спецификации по правильности или аналитическому смещению. Вероятно, это будет аксиомой, если новый метод является обновленным вариантом предыдущего метода или предыдущей аналитической системы. Если же нет, тогда, для того, чтобы быть уверенным в надежности работы метода сравнения в условиях лаборатории, а также в том, что заявленные спецификации производителя соответствуют действительности, следует выполнить тщательное изучение спецификаций производителя.

Для заполнения протокола рекомендуется выполнить следующие действия:

1. Провести исследование 20 проб, концентрации которых должны охватывать рабочий диапазон метода. Полученные данные внести в протокол;
2. Свежие образцы проб пациентов следует тестировать способом, который характерен для рутинных операций в данной медицинской лаборатории ;
3. Для гарантии стабильности условий работы и валидности результатов тестирования, параллельно выполнять процедуры ВКК;
4. Для идентификации каких-либо противоречивых результатов, выполнять оперативный анализ получаемых данных ;
5. Для получения графического отображения данных, программа автоматически рассчитает разницу между парными результатами

тестирования, после чего построит график различий, отложив на оси Y полученную разницу, а на оси X - результаты, полученные при помощи метода сравнения ;

6. Используя полученные данные для определения средней разницы между методами (аналитического смещения), а также стандартного отклонения различий, программа рассчитает статистику парного t- теста;

7. Для сравнения наблюдаемой величины аналитического смещения и спецификации производителя в программе будут рассчитаны доверительные и \или верификационные границы.

8. На нашем примере, если производитель заявляет, что величина аналитического смещения равна 2.00 мг\дл, то тогда верификационные пределы производителя, рассчитанные таким способом, составят от 4.77 до - 0.77 мг\дл, как это и продемонстрировано в электронной таблице.

9. Учитывая, что наблюдаемая величина аналитического смещения 2.50 мг\дл, указанная в ячейке D26, попадает в верификационный интервал, то эти данные верифицируют спецификации производителя. Следует также отметить, что доверительный интервал покрывает и спецификации производителя. Это также верифицирует то, что полученные данные согласуются со спецификацией производителя.

Протокол EP15 относительно правильности с использованием референтных материалов.

Протокол EP15 предлагает и второй подход для верификации правильности метода, основанный на анализе референтных материалов с ассигнованными значениями. Эти материалы следует тщательно отбирать на основании их пригодности для анализа клиническими методами и аналитическими системами. Ниже представлен список референтных материалов :

О Сертифицированные Референтные Материалы (Certified Reference Materials (CRM)) доступные для некоторых аналитов из Американского Национального Института Стандартов и Технологий (US National Institute of Standards and Technology (NIST)) ;

О Референтные материалы с ассигнованными значениями, полученными в программах профитного тестирования;

О Материалы производителей, имеющие ассигнованные значения ;

О Материалы из программ внешней оценки качества (External Quality Assessment (EQA) programs) ;

О Материалы от сторонних производителей, которым были ассигнованы значения при помощи анализа в нескольких лабораториях;

О Стандартные материалы, которые могут быть подготовлены до известных концентраций.

Протокол EP15 рекомендует, чтобы, по крайней мере, было выбрано 2 материала, представляющих высокие и низкие концентрации рабочего диапазона данного метода. Материалы должны быть подготовлены в соответствии с рекомендациями производителей, анализироваться в 2 повторах для одной аналитической серии с выполнением 3 - 5 аналитических серий. Полученные данные измерения необходимо внести в протокол, в котором будет рассчитано среднее значения и SD, а также доверительные интервалы, которые помогут верифицировать ассигнованные значения. На нашем примере, рассчитанный 95% доверительный интервал составляет от 36,7 до 38,7 мг\дл и в него не попадает ассигнованное значение 40,0 мг\дл. Таким образом, эти экспериментальные данные не верифицировали правильность метода.

Такой подход в реализации требований ISO 15189:2012, основанный на проведении верификации согласно протоколу CLSI EP15-A2, должен стать стандартной практикой в медицинских лабораториях для верификации спецификаций производителя по прецизионности и правильности и лежать в основе планирования качества. Это позволит обнаружить ошибки еще на стадии внедрения аналитического метода в лабораторную диагностику, тем самым избежать получение недостоверных результатов исследований, а соответственно, повысить безопасность пациента.