

УДК 616-07:658-562(045)

Л.А. КОШЕВАЯ

ОБЕСПЕЧЕНИЕ АНАЛИТИЧЕСКОЙ НАДЕЖНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Национальный авиационный университет,
03058, пр. Космонавта Комарова, 1, г. Киев, Украина,
Тел.(044)4067442, E-mail: bikat_nau@mail.ru*

Аннотация. Показана возможность установления предельно допустимой погрешности результатов клинико-диагностических исследований и оценивание их неопределенности с учетом биологической вариации объекта исследований.

Анотація. Показана можливість встановлення гранично допустимої похибки результатів клініко-діагностичних досліджень та оцінювання їх невизначеності з урахуванням біологічної варіації об'єкта досліджень.

Abstract. Shown the possibility of establishing the maximum permissible error of the results of clinical-diagnostic studies and evaluation of uncertainty in view of the biological variation of the research object.

Ключевые слова: биологическая вариация, аналитическая вариация, точность, правильность, прецизионность, коэффициент вариации, методика выполнения измерений

ВВЕДЕНИЕ

Для своевременного распознавания различных заболеваний биологического объекта (человека), т. е. проведения диагностики заболеваний и оценки эффективности лечебных воздействий используют различные технические средства, в том числе и средства измерений, которые позволяют получать измерительную информацию о функциональных показателях биологического объекта (БО). Изменчивость и индивидуальный разброс параметров БО, их взаимосвязь, нелинейность этих связей, наличие высокого уровня помех – все это делает задачу объективной оценки состояния БО довольно сложной. Современная номенклатура клинических лабораторных исследований насчитывает свыше тысячи лабораторных тестов, позволяющих получить аналитически надежную и клинически высокоинформативную информацию. При неточности лабораторных данных риск клинических затруднений достигает 26% - 30%, а риск неоправданных действий врача составляет 7% - 12% [1]. Таким образом, целевым параметром аналитической надежности клинических лабораторных исследований является их способность достоверно разграничивать свойственные состояниям здоровья и патологии значения содержания определенных аналитов в составе биоматериалов.

ИСТОЧНИКИ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клиническое лабораторное исследование можно рассматривать как преобразование и регистрацию сигнала, несущего информацию о содержании определяемого компонента. Процесс исследования БО сопровождается воздействием большого количества трудно учитываемых как внутрिलाбораторных, так и внелабораторных факторов на преаналитическом, аналитическом и постаналитическом этапах, поэтому важной является оценка соответствия получаемых количественных и качественных характеристик БО его действительному состоянию.

Биологический объект. Биологический объект как особый объект исследований описывается комплексом медико-биологических показателей (группами физических, биохимических, психологических параметров), определяемых в процессе исследований. Из-за недостаточной изученности БО затруднено получение адекватных математических моделей между регистрируемыми параметрами и соответствующими им биологическими показателями. Величины этих параметров могут быть не известны с точностью, достаточной для использования точечной оценки, могут варьировать в популяции, в силу чего входная величина является интервальной, а выходная величина – неоднозначной.

Діагностическим признаком патологій являється відхилення показателів від середнестатистических величин, прийнятих для досліджуваного об'єкта. При цьому слід диференціювати відхилення, обумовлені патологією, називані патологіческою варіацією, від змінчивості результатів досліджень, обумовлених процедурою вимірювання – аналітическою варіацією.

В якості основи для оцінки точності розрізнення патологіческою і аналітическою варіацій і для установлення єдиних вимог применительно до кожного аналізу прийнято існуюче естесвенну фундаментальну основу свойство складу біоматеріалів людини – біологіческою варіація в різних комбінаціях її компонентів: внутрішньодивідуальної і міждивідуальної варіацій.

Внутрішньодивідуальна варіація — коливання вимірюваної величини у окремих людях в різне час і в різних умовах. Наприклад, добовий варіабельність маси тіла і концентрації глюкози в плазмі крові впливають на оцінку їх істинних значень. Крім спонтанної добової, тижневої, річної ритміки, крім випадкових змін, зв'язаних з дієтою або роботою, внутрішньодивідуальна варіація включає зміни, зв'язані з захворюваннями і лікуванням. Правильна методика дослідження складає в тому, щоб відокремити випадкові внутрішньодивідуальні зміни від досліджуваних і виділити їх на фоні міждивідуальних змін.

Міждивідуальна (груповий) варіація — це різниця вимірюваної величини між окремими БО. Міждивідуальна варіація, підкоряючись статистическим закономірностям, представляє собою інтервали коливань вимірюваної величини груп людей, об'єднаних по певній ознаці (стать, вік, етніческою або професійна належність і т.п.).

На рис. 1 показано співвідношення внутрішньодивідуальної, міждивідуальної і аналітическою варіацій з змінами при захворюванні. Істинне миттєве значення ознаки 1, при багаторазовому вимірюванні визначається з певним розбросом і відхиленням результатів внаслідок аналітическою похибки. Розброс відповідає випадковій похибці 2, а зміщення від істинного значення величини А — систематическою похибкою методики вимірювання. При вимірюванні того ж ознаки повторно в тече тижня або місяців виявляються більш широкі внутрішньодивідуальні варіації 3. При цьому середнє значення (медіанне, модальне) відрізняється від однократно виміреного значення В. В процесі розвитку захворювання ознака змінюється 4, але на ранніх стадіях хвороби зазвичай знаходиться в межах міждивідуальної варіації 6. Лише при подальшому розвитку хвороби величина ознаки виходить за межі типових для популяції величин 5. При аналізі даних дослідник має справу з результатами вимірювань, в яких можливо проявлення всіх компонентів варіації [2].

Частими проявленнями біологіческою варіації, що відображають реакцію організму на різні фактори зовнішнього середовища, є преаналітическою варіація, обумовлена впливом умов підготовки досліджуваного до лабораторного тесту і взяття зразка біоматеріалу, і ятрогенна варіація, що відображає різного роду діагностическі і лікувальні впливи на пацієнта перед проведенням лабораторного тесту.

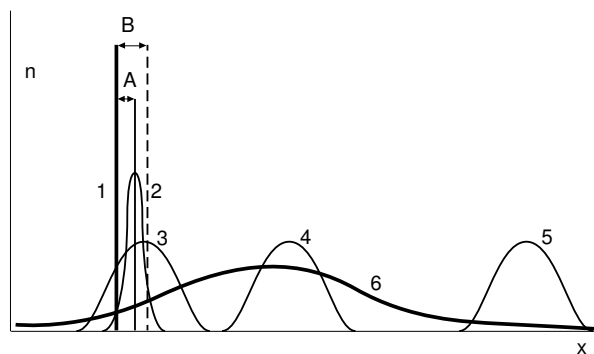


Рис.1. Співвідношення внутрішньодивідуальної, міждивідуальної і аналітическою варіацій з змінами при захворюванні

Основним компонентом загальної варіації є аналітическою варіація, яка включає наступні складові.

Аналітическою процедура. Точність виконання аналітическою процедури визначається, в першу чергу, похибками методики, обумовленими недостаточним знанням або неповним урахуванням при розробці методики всіх обставин, які можуть викривити результат аналізу, виконаного по такій методиці. Так, вже після тривалої експлуатації методик визначення ряду речовин в виділеннях організму людини, було виявлено, що використання деяких методик призводить до суттєвому зниженню результатів.

Во-вторых, неадекватным применением методики, когда для анализа веществ, не являющихся достаточно близкими (в аналитическом смысле) тем, на которые была рассчитана эта методика.

В-третьих, наличием указаний, которые не могут быть точно выполнены, например «нагревать до появления паров», или «тщательно перемешать», или «следить за чистотой реактивов и воды».

В-четвертых, наличием погрешностей, обусловленных отбором и подготовкой проб, а также градуировкой приборов и личными особенностями оператора.

Несовершенство аппаратуры и условий ее эксплуатации. Подобные погрешности нормируют в виде допускаемых предельных значений либо определяют при поверке.

Контроль правильности результатов. Погрешности контроля правильности анализов обусловлены, как правило, недостаточно высоким качеством стандартных образцов и аналогичных веществ, а также вызваны возможным несоответствием характеристик этих веществ и анализируемых проб.

В лабораторных исследованиях всегда стремятся уменьшить аналитическую вариацию. Высокая аналитическая вариация, зависящая от непонятных причин или от различий в работе лаборантов, может приводить к тому, что разница результатов у двух пациентов будет объясняться не различиями их состояния здоровья, а тем, что пробы обрабатывали разные лаборанты.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При тщательно выполненной методике полученный результат будет характеризоваться метрологическими характеристиками методики, полученными при ее аттестации. К ним относятся воспроизводимость, внутрилабораторная прецизионность, повторяемость, правильность, пределы воспроизводимости и повторяемости, коэффициент вариации, неопределённость. Метрологические характеристики результата являются важнейшей оценкой их приемлемости, поэтому для всех количественных испытаний должны быть установлены требования к оценке метрологических характеристик результата.

Разработка объективно обоснованных требований к точности клинических лабораторных исследований состоит в установлении предельно допустимых значений аналитических погрешностей количественных методик исследований (измерений) физических величин (состава и свойств компонентов биологических материалов, анализов) в образцах биологических материалов, взятых у пациентов. В соответствии с [3] при оценке точности измерений каждый результат измерений у рассматривают как сумму трех составляющих:

$$y = m + B + e, \quad (1)$$

где m – общее среднее значение (математическое ожидание); B – лабораторная составляющая систематической погрешности в условиях повторяемости; e – случайная составляющая погрешности каждого результата измерения в условиях повторяемости.

Как видно из выражения (1), точность результата зависит не только от потенциальных возможностей методики, но и от реальных условий работы каждой клинической лаборатории. В реальных условиях измерений лабораторная составляющая систематической погрешности (смещение) при выполнении конкретной методики измерений относится к общему среднему результату измерений или к установленному аттестованному значению. Случайная составляющая погрешности результата измерения характеризует прецизионность, то есть степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в конкретных регламентированных условиях. Размер случайной погрешности проявляется в дисперсии результатов однородных измерений и выражается среднеквадратичным отклонением или коэффициентом вариации.

Статистической основой оценки показателей точности является допущение о том, что частотные распределения результатов многократных измерений одного и того же параметра по одной и той же методике имеют вид нормального распределения. Для оценки случайных и систематических составляющих используют среднее арифметическое значение \bar{x} , среднеквадратическое отклонение,

полученное в условиях повторяемости s [3], и коэффициент вариации $CV = \frac{s}{\bar{x}}$.

Коэффициент вариации результатов исследований (общая аналитическая вариация) характеризует предельно допускаемую случайную аналитическую погрешность, которая при незначительном аналитическом смещении не должна превышать половины показателя внутрииндивидуальной вариации:

$$CV_a < 0,5CV_i, \quad (2)$$

где CV_a – коэффициент аналитической вариации полученных результатов; CV_i – коэффициент

биологической внутрииндивидуальной вариации.

Смещение B определяется близостью среднего арифметического \bar{x} к опорному значению измеряемой величины μ и может быть выражено в процентах $B = \frac{\bar{x} - \mu}{\mu} 100\%$.

Предельно допускаяемая систематическая аналитическая погрешность, характеризуемая относительным аналитическим смещением B , %, при незначительной случайной погрешности должна удовлетворять неравенству:

$$B < 0,25(CV_i^2 + CV_G^2) \cdot 1/2, \quad (3)$$

где CV_G - коэффициент биологической межиндивидуальной (групповой) вариации.

Рассчитанные значения предельно допускаемых погрешностей по выражениям (2) и (3) представляют базовый (желательный) уровень требований к точности лабораторных исследований. В связи с тем, что реальные аналитические возможности методик исследований ряда аналитов и характеристики точности доступных измерительных приборов не позволяют во всех случаях обеспечить такой уровень точности результатов, возможно использование дифференцированных биологически обоснованных критериев прецизионности и правильности исследований с использованием коэффициентов, повышающих или понижающих уровень требований точности (см. табл. 1) [1].

Таблица 1.

Коэффициенты для расчета различных уровней точности результатов

Уровень точности	Общая аналитическая вариация	Относительное аналитическое смещение
Повышенный (оптимальный)	0,25	0,125
Пониженный (минимальный)	0,75	0,375

В составленном по статистическим данным [1] банке данных в качестве наиболее достоверной количественной характеристики биологической вариации приведены медианы коэффициентов межиндивидуальной и внутрииндивидуальной вариации аналитов, часто исследуемых в клиничко-диагностических лабораториях. Выбор медианы в качестве интегральной объективной количественной характеристики вариации позволяет избежать влияния экстремальных или выпадающих значений в отдельных пробах. Исходя из данных о биологической вариации можно рассчитать биологически обоснованные допускаемые значения общей аналитической вариации и относительного аналитического смещения для любого аналита.

Требования к аналитической точности следует устанавливать с учетом клинических потребностей: для результатов исследований, предназначенных для диагностики – показателей правильности, для результатов, получаемых при мониторинге течения заболеваний – прецизионности. Рекомендуются следующие варианты расчетов предельных допускаемых значений погрешностей.

Для диагностических целей предельные значения систематической погрешности должны соответствовать неравенству (3), а предельные значения случайной погрешности неравенству:

$$B < 0,58(CV_i^2 + CV_G^2) \cdot 1/2; \quad (4)$$

Для целей мониторинга заболеваний, предельное значение систематической погрешности Δ_{SE} должно соответствовать неравенству $\Delta_{SE} < 0,33CV_i$ а предельное значение случайной погрешности CV_a – неравенству (2).

Допускаемая разница значений результатов Δ , полученных для диагностических целей и целей мониторинга, используемых для исследования одной и той же величины в одной лаборатории не должна превышать одну треть от размера внутрииндивидуальной вариации для данного аналита $\Delta < 0,33CV_i$.

УСТАНОВЛЕНИЕ ДОПУСКАЕМЫХ ЗНАЧЕНИЙ ХАРАКТЕРИСТИК АНАЛИТИЧЕСКИХ ПОГРЕШНОСТЕЙ

Для установления предельно допускаемых значений аналитических погрешностей используются результаты исследований 1-2 контрольных проб в первых 10 и 20 аналитических сериях. При этом предельно допускаемое значение коэффициента вариации (показателя прецизионности исследований) рассчитывают по формуле:

$$CV_m = \gamma \sqrt{\chi_{m-1}^2 / (m-1)^2},$$

где γ – рассчитанное на основе биологической вариации конкретного лабораторного показателя значение

коэффициента общей аналитической вариации (CV); χ^2_{m-1} – статистика Пирсона с уровнем значимости $\alpha = 0,05$ и $(m - 1)$ числом степеней свободы (при $m = 10$, $\chi^2_{m-1} = 16,92$; при $m = 20$, $\chi^2_{m-1} = 30,14$).

Предельно допустимое значение относительного аналитического смещения (показатель правильности исследований) рассчитывают по формуле:

$$B_m = \pm [\delta + 1,96\gamma\sqrt{m}]$$

где δ – конкретное значение величины относительного смещения; γ – конкретное значение коэффициента общей аналитической вариации; 1,96 – квантиль стандартного нормального распределения для уровня значимости $\alpha = 0,05$.

ОЦЕНИВАНИЕ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ

Без указания неопределённости результат измерения не может быть правильно интерпретирован, поэтому неопределённость рассматривается как неотъемлемая часть результата [4]. Чтобы найти оценку неопределенности нужно проследить все этапы МВИ с целью выявления всех источников погрешности, которые могут внести вклад в суммарную неопределённость. Например, если точность методики устанавливалась с помощью стандартного образца, то неопределённость его аттестованного значения должна входить как составляющая в неопределённость результата, получаемого по этой методике. Зачастую без экспериментальной проверки выделить факторы, влияющие на аналитический сигнал (результат анализа), не представляется возможным. При этом нужно не только количественно оценить эффект фактора в соответствии с моделью измерений, но и найти условия анализа, при которых он будет незначим.

Для клинико-диагностических исследований в большинстве случаев модель процесса измерений неизвестна, поэтому предпочтительным можно считать подход, базирующийся на том, что точность методики измерений безотносительна к модели процесса измерений [5]. Так как, в соответствии с [6] неопределенность характеризует рассеивание возможных значений измеряемой величины, которые привели к результату y , то справедливо, что неопределенность единичного результата определяется выражением

$$u(y) = s(y).$$

Исходя из этого, для выражения (1) можно записать:

$$\text{var}(y) = \text{var}(B) + \text{var}(e).$$

Так как в соответствии с [3] $\text{var}(B) = s_L^2$, а $\text{var}(e) = s_r^2$, можно записать для единичного результата неопределенность по типу А:

$$u(y) = \sqrt{s_L^2 + s_r^2}.$$

С другой стороны, дисперсия воспроизводимости методики измерений характеризуется выражением:

$$\sigma_R^2 = \sqrt{s_L^2 + \sigma_r^2}.$$

Таким образом, можно прийти к заключению, что неопределенность результатов исследований, проводимых по определенной методике, характеризуется СКО воспроизводимости данной методики.

Если присутствует составляющая, характеризующая смещение результата, обусловленное неидеальностью методики, то соответствующая составляющая суммарной стандартной неопределенности определяется из выражения:

$$u^2(\hat{\delta}) = s_{\hat{\delta}}^2 + u^2(\mu),$$

где $u(\mu)$ – неопределенность аттестованного значения μ , используемого для оценки правильности.

В этом случае неопределенность результатов, получаемых в лаборатории по аттестованной методике, определится как

$$u(y) = \sqrt{s_R^2 + u^2(\hat{\delta})}.$$

Таким образом, стандартное отклонение смещения методики δ , лабораторная составляющая

смещения B и влияние случайных величин e полностью характеризуют изменчивость при проведении исследований и используются в нормативных документах, регламентирующих методику анализа, как показатели качества этой методики.

При нормировании неопределенности результатов, получаемых по определенной методике во время ее аттестации, используются однородные образцы биоматериалов. Однако при рутинных анализах возникают дополнительные источники неопределенности, которые не были учтены при аттестации методики. В первую очередь, это касается неопределенности, обусловленной различием проб материалов или образцов, которую можно оценить на основании промежуточной прецизионности [3], вводя дополнения в исходное модельное уравнение (1):

$$y = \mu + \delta + B + \sum_i c_i x'_i + e$$

где x'_i – отклонение от номинального значения x_i ; при котором проводилась аттестация методики, c_i – коэффициент чувствительности, равный $\partial y / \partial x_i$.

Таким образом, сумма $\sum_i c_i x'_i$ учитывает воздействия, не включенные в параметры δ , B или e при аттестации методики.

ВЫВОДЫ

1. Биологическому объекту как объекту исследований присуще свойство состава биоматериалов – биологическая вариация, значения которой необходимо учитывать при установлении предельно допускаемых значений погрешности результатов исследований.

2. Следует дифференцировать отклонения, обусловленные патологией от изменчивости результатов исследований, обусловленных процедурой измерения – аналитической вариацией.

3. Аналитическая вариация, обусловленная неточностью работы средств измерений, неточностью дозировки и чистоты реактивов, проведением процедуры измерения с нарушениями методики, является основным компонентом общей вариации, которую следует уменьшать известными способами.

4. Для обеспечения требований современных стандартов по представлению результатов с оцененной неопределенностью при клинических лабораторных исследованиях целесообразно использовать метод оценивания неопределенности безотносительно к модели измерений, используя статистические показатели точности, установленные в методике выполнения измерений при ее аттестации.

5. Оценивание неопределенности результата клинических лабораторных исследований с использованием статистических характеристик методики, предельно допускаемые значения которых установлены с учетом значений биологической вариации объекта, применение мер по уменьшению аналитической вариации обеспечивают аналитическую надежность получаемых лабораторией результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Ч.2.ГОСТ Р 53022-2:2008. М.: Стандартинформ, 2009, 27 с. (Национальный стандарт РФ)
2. Власов В.В. Эпидемиология: учебн. Пособие [для студ.высш. учебн.зав.]/ В.В.Власов.– М.: Гэотар-Мед, 2004.– 464с
3. Точність (правильність і прецизійність) методів та результатів вимірювання. Частина 1. Основні положення та визначення: (ISO/IEC 5725-1:1994, IDT): ДСТУ ГОСТ ИСО 5725-1:2005. –[Чинний від 2006-07-01].– К.: Держспоживстандарт України, 2006.– 31 с.– (Національний стандарт України).
4. Medical Laboratories – particular requirements for quality and competence. (Лабораторії медичні. Окремі вимоги до якості та компетентності):EN ISO 15189:2003. – (Європейський стандарт).
5. Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation (Настанови по використанню повторюваності, відтворюваності та правильності при оцінюванні невизначеності вимірювань: ISO/TS 21748:2004. – (Міжнародний стандарт).
6. Метрологія. Застосування «Руководства по выражению неопределенности измерений»: ДСТУ-Н РМГ 43:2006. – [Чинний від 2007-01-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2006. – 20 с. – (Национальный стандарт Украины).

Надійшла до редакції 03.12.2012 р.

КОШЕВАЯ Л.А. – д.т.н., проф. кафедри біокибернетики и аэрокосмической медицины Национального авиационного университета, Киев, Украина.