

АО «Вектор-Бест»

**И.Г. Нетесова, О.А. Ярославцева, Л.А. Мостович,
Л.В. Безуглова, М.Р. Бобкова, О.А. Тарасенко**

**ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЕ
ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО
КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА
НЕКОЛИЧЕСТВЕННЫХ МЕТОДОВ
ИММУНОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *in vitro* 3 КЛАССА РИСКА
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Информационно-методическое пособие

Новосибирск
2019

УДК 579
ББК 28
О64

Авторы:

канд.биол.наук **И.Г. Нетесова** – АО «Вектор-Бест», Новосибирск

О.А. Ярославцева – АО «Вектор-Бест», Новосибирск

канд.биол.наук **Л.А. Мостович** – АО «Вектор-Бест», Новосибирск

Л.В. Безуглова – АО «Вектор-Бест», Новосибирск

д-р.мед.наук **Бобкова М.Р.** – НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ,
Москва

д-р.мед.наук **О.А. Тарасенко** – ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздрав-
надзора, Москва

Организация и проведение внутрилабораторного контроля качества неколичественных методов иммунохимического анализа при использовании медицинских изделий для диагностики *in vitro* 3 класса риска для выявления иммунологических маркеров инфекционных заболеваний : информ.-методическое пособие / И.Г. Нетесова, О.А. Ярославцева, Л.А. Мостович, Л.В. Безуглова, М.Р. Бобкова,

О64 О.А. Тарасенко. – Новосибирск, 2019. – 36 с.

ББК 28

1. Введение

Внутрилабораторный контроль качества (ВКК) – система процедур с применением контрольных материалов или на основе статистического анализа результатов исследований проб пациентов для оценки характеристик аналитического качества используемых методик исследования с целью удовлетворения требований по качеству и повседневного мониторинга стабильности результатов [1]. Система процедур ВКК служит для повышения аналитической надежности (достоверности) клинических исследований.

Скрининговые неколичественные исследования методом иммунохимического анализа (ИХА) оперируют количественными данными, но вместо непрерывных значений исследуемого параметра получают данные, имеющие бимодальное распределение – отрицательные и положительные результаты. Это свойство определяет и особенности проведения ВКК для таких методов.

Аналитическая надежность неколичественных методов исследований оценивается по частоте обнаружения исследуемых компонентов, характерных (по морфологии, химическому или биологическому средству с определенными хромофорами, флуорофорами, антителами) для специфических форм патологии, для диагностики которых предназначен данный вид исследования [2].

Контрольные карты Шухарта для альтернативных данных, фиксирующие наличие или отсутствие некоторых характеристик (*серологических маркеров**) у каждой единицы (*образца крови**) рассматриваемой подгруппы (*аналитической серии**), позволяют подсчитать частоту выявления серологического маркера той или иной инфекции в аналитической серии [3].

Основным параметром карт для альтернативных данных является вычисленная средняя частота выявления инфекционного маркера по 20 установочным аналитическим сериям и вычисленные контрольные границы. Выход частоты выявления маркера текущей аналитической серии за верхние контрольные границы указывает на риск появления ложноположительных результатов, выход за нижние контрольные границы – ложноотрицательных результатов. Частота выявления маркера выступает индикатором качества и позволяет следить за рисками появления неправильных результатов исследований [4].

Еще одним индикатором качества выступает контрольный материал (КМ), содержащий инфекционный маркер (маркеры)

* в редакции авторов

в концентрации, насколько это возможно, близкой к значениям клинических решений, что позволяет подтвердить валидность принятых решений [4]. Применение КМ, содержащих маркер в низкой концентрации и не содержащих маркер, в каждой аналитической серии одновременно с исследуемыми пробами пациентов позволяет подтвердить аналитическую надежность результатов и принять решения по их выдаче.

Наборы реагентов для выявления инфекционных агентов в крови с целью возможности ее переливания являются медицинскими изделиями с высоким индивидуальным риском и/или высоким риском для общественного здоровья, относятся к 3 классу, поэтому риски неправильных результатов при проведении анализов должны быть минимизированы [5, 6, 7].

В данном пособии даны рекомендации по организации и проведению ВКК неколичественных методов ИХА с помощью медицинских изделий для диагностики *in vitro* 3 класса на основе частот выявления иммунологических маркеров и с использованием КМ.

2. Основные термины

Медицинские изделия для диагностики *in vitro* (МИ ИВД) – любые инструменты, аппараты, приборы, оборудование, материалы, реагенты, калибраторы, контрольные материалы и прочие изделия, применяемые в медицинских целях отдельно или в сочетании между собой, а также вместе с принадлежностями, необходимыми для применения указанных изделий по назначению (включая специальное программное обеспечение), и предназначенные производителем для применения при исследованиях *in vitro* образцов биологических материалов человека для получения информации относительно физиологического или патологического состояния, врожденной патологии, предрасположенности к определенному клиническому состоянию или болезни, совместимости тканей с потенциальным реципиентом, прогнозирования реакций на терапевтические воздействия, выбора терапевтических средств и (или) контроля лечения [5].

МИ ИВД 3 класса – медицинские изделия с высокой степенью индивидуального риска и/или высокой степенью риска для общественного здоровья. Медицинские изделия, предназначенные для выявления инфекционных агентов в крови, компонентах крови, производных крови, клетках, тканях или органах с целью оценки возможности их переливания или трансплантации, медицинские изделия, предназначенные для выявления инфекционных агентов, которые могут стать причиной болезней, угрожающих жизни человека, с высоким риском распространения и которые обеспечивают решающую информацию для постановки правильного диагноза, относятся к классу 3 [6].

Функциональная характеристика, метрологическое свойство – один из параметров, используемых для функционального (метрологического) свойства медицинского изделия для диагностики *in vitro* [7].

Аналитическая надежность (достоверность) клинических исследований – соответствие полученных аналитических характеристик компонентов исследованного образца биоматериала с их действительными биологическими свойствами или патологическими отклонениями [8].

Аналитическая серия – совокупность измерений лабораторного показателя, выполненных одновременно в одних и тех же условиях без перенастройки и калибровки аналитической системы [10]. При проведении ИХА под аналитической серией под-

разумеается единовременное исследование в одних и тех же условиях образцов крови на одном стрипе или на одном планшете.

Истинно положительный результат подтверждает наличие действительно имеющейся патологии.

Ложноположительный результат подтверждает присутствие патологии, несмотря на ее отсутствие в действительности.

Ложноотрицательный результат исключает наличие патологии, когда она действительно присутствует.

Истинно отрицательный результат исключает наличие патологии в условиях действительного ее отсутствия [2].

ОП_{крит.} – точка разделения (cut off) положительных результатов от отрицательных, вычисляется по формуле изготовителя теста, чаще всего, как ОП К⁻ (отрицательный контроль) + константа. В редких случаях вычисление ОП_{крит.} связано с ОП К⁺ (положительный контроль).

Внутрисерийная воспроизводимость (сходимость измерений) – качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в одной и той же аналитической серии.

Межсерийная воспроизводимость – качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в разных аналитических сериях [9]. В данном случае это межсерийная сходимость, так как анализы выполнены в одной лаборатории.

Установочная серия – серия из 20-ти измерений лабораторного показателя в КМ, по результатам которых рассчитывается среднее квадратическое отклонение (s) и контрольные пределы [10].

Контрольный материал (КМ) – вещество, материал или предмет, предназначенные изготовителем для применения при проверке функциональных характеристик медицинского изделия для диагностики *in vitro* [7].

Индикаторы качества – мера степени, с которой совокупность присущих характеристик удовлетворяет требованиям [4].

Риск – сочетание вероятности причинения вреда и тяжести этого вреда [11].

Лабораторная ошибка – сбой в выполнении запланированного действия, которое должно быть завершено как предполагалось, или использование неправильного плана для достижения цели, происходящее на любой стадии лабораторного цикла, от заказа исследования до получения отчетных результатов и соответствующей интерпретации, и реагирования на них [12].

«МИНИпол» пр-ва АО «Вектор-Бест» – минимальный положительный контроль, содержащий иммунологические маркеры в низкой концентрации, ОП которого после ИХА находится в диапазоне от ОП_{крит.} до $2 \times$ ОП_{крит.}.

- МИНИпол (вариант 1/анти-*T.pallidum*) – содержит антитела к *Treponema pallidum*;
- МИНИпол (вариант 2/НВsAg, анти-ВГС) – содержит НВsAg и антитела к ВГС;
- МИНИпол (вариант 3/НВsAg, анти-ВГС, анти-ВИЧ-1) – содержит НВsAg, антитела к ВГС и ВИЧ-1;
- МИНИпол (вариант 4/НВsAg, анти-ВГС, анти-ВИЧ-1, анти-*T.pallidum*) – содержит НВsAg, антитела к ВГС, ВИЧ-1 и *Treponema pallidum*.

«ОДС» пр-ва АО «Вектор-Бест» – отрицательная донорская сыворотка, не содержащая иммунологические маркеры сифилиса (анти-*T.pallidum*), гепатита В (НВsAg, анти-НВs), гепатита С (анти-ВГС), ВИЧ-инфекции (анти-ВИЧ, р24-антиген ВИЧ-1).

«ВЛК» пр-ва АО «Вектор-Бест» – контрольный материал для оценки сходимости и воспроизводимости измерений инфекционного маркера, ОП которого после ИХА находится в диапазоне от 0,5 ед.опт.пл до 1,5 ед.опт.пл., например, «ВЛК-НВsAg», «ВЛК-анти-ВГС», «ВЛК-анти-ВИЧ-1», «ВЛК-антипаллидум».

3. Организация ВКК неколичественных методов ИХА на основе статистического анализа результатов исследований проб пациентов

3.1. Правила оценки аналитической надежности неколичественных методов исследований

Важнейшей составляющей качества исследований является их аналитическая надежность, характеризующая степень достоверности лабораторных данных об изучаемом анализе и тем самым определяющая возможность использования их при принятии клинических решений. Аналитическая надежность клинических лабораторных исследований характеризуется свойствами методов, которыми они выполняются:

- а) для количественных методов:
 - 1) точностью (правильностью и прецизионностью) измерений,
 - 2) аналитической чувствительностью,
 - 3) аналитической специфичностью;
- б) для неколичественных методов исследования – частотой совпадения обнаружения патологических отклонений изучаемого компонента биоматериала с объективно подтвержденным наличием соответствующего заболевания.

В отношении неколичественных методов применяют оценку по частоте обнаружения с их помощью искомых компонентов биоматериалов, включая компоненты, характерные (по морфологии, химическому или биологическому средству с определенными хромофорами, флуорофорами, антителами) для специфических форм патологии, для диагностики которых предназначен данный вид исследования [2].

Таким образом, для организации ВКК с помощью статистических методов можно использовать такой параметр, как частота выявления маркера.

3.2. Применение контрольных карт Шухарта для альтернативных данных

Контрольные карты Шухарта для альтернативных данных являются инструментом, позволяющим проводить ВКК неколичественных методов ИХА на основе статистического анализа результатов исследования маркера в пробах пациентов. В случае неколичественных методов ИХА альтернативные данные представляют собой информацию о наличии или отсутствии исследуемого

маркера в каждом образце одной аналитической серии. Частота выявления маркера представляет собой долю положительных образцов в общем количестве исследуемых в данной аналитической серии образцов. Контрольные карты по этому признаку называются р-картами [3].

Основным параметром карт для альтернативных данных является средняя частота выявления серологического маркера того или иного заболевания в лаборатории ($P_{\text{ср.}}$), которая может зависеть от множества факторов, включая частоту распространения заболевания в регионе, число образцов в аналитической серии, контингент обследуемых групп населения, профиль ЛПУ, статус лаборатории, аналитические характеристики используемого набора реагентов и т.д. Для оценки среднего значения частоты необходимо последовательно собрать предварительные данные, пока не будет получено 20–25 аналитических серий при непрерывном ходе процесса, который должен быть достаточно стабилен. Использование стандартов, контрольных материалов (слитых сывороток) при проведении установочных аналитических серий, по которым строится р-карта частот, повышает надежность установленных пограничных пределов.

$P_{\text{ср.}} = M/N$, где M – количество выявленных положительных образцов, а N – общее количество исследованных в установочных сериях образцов.

На основе значения $P_{\text{ср.}}$ устанавливаются границы карты. Если объем подгрупп (число исследуемых образцов) меняется незначительно ($\pm 25\%$ от целевого объема подгруппы), то можно ограничиться одним набором контрольных границ, основанным на среднем объеме подгруппы. Формула контрольных границ для контрольных карт, использующих альтернативные данные:

$$P_{\text{ср.}} \pm 3\sigma = P_{\text{ср.}} \pm 3 \times \sqrt{P_{\text{ср.}}(1 - P_{\text{ср.}})/n} ,$$

где $P_{\text{ср.}}$ – среднее значение доли положительных образцов (*частоты выявления маркера в лаборатории*),

σ – истинное внутригрупповое стандартное отклонение,

n – количество исследуемых образцов в аналитической серии.

В лабораторной практике скрининговых исследований чаще всего наблюдается обратная ситуация, когда объем подгруппы значительно изменяется от серии к серии. В этом случае применя-

ют нормированные переменные. Формула получения нормированных значений:

$$Z = \frac{P - P_{\text{ср.}}}{\sqrt{P_{\text{ср.}}(1 - P_{\text{ср.}})/n}}$$

где $P_{\text{ср.}}$ – среднее значение доли положительных образцов,

P – значение доли положительных образцов (*частоты выявления маркера*) в текущей аналитической серии,

n – количество исследуемых образцов в аналитической серии.

При использовании нормированных переменных центральная линия контрольной Z -карты соответствует $Z=0$, линии предупредительных границ соответствуют значениям $Z=+2$, $Z=-2$, контрольных границ $Z=+3$, $Z=-3$. Центральная линия и контрольные границы остаются постоянными независимо от объема подгруппы.

Суть процедуры ВКК по контрольным картам частот состоит в отслеживании аналитических серий с частотами выявления маркера, выходящими за верхние и нижние предупредительные или контрольные границы Z -карты. В таких случаях количество первично положительных образцов в аналитической серии значительно больше (выход за $+3$) или меньше (выход за -3) установленного среднего. Выход за верхние границы карты говорит о том, что существует риск появления ложно положительных результатов, выход за нижние границы указывает на риск ложноотрицательных результатов.

3.3. Нижние границы -2 и -3 Z -карт при $P = 0$

Значение нормированной частоты Z зависит от средней частоты выявления маркера и количества исследуемых образцов в каждой аналитической серии. При низких частотах выявления маркера и/или малом числе образцов для исследования нижним пределом Z -карты будет значение, соответствующее частоте $P=0$, а не нижние контрольные ($Z=-3$) или предупредительные границы ($Z=-2$). Другими словами, значение нормированной частоты Z_i , вычисленное для частоты данной аналитической серии $P_i=0$, не будет достигать нижней контрольной границы -3 или даже предупредительной -2 . При таком ограничении невозможно оценить риск получения ложноотрицательных результатов.

Чтобы нормированная частота Z_i i -й аналитической серии с нулевой частотой выявления маркера ($P_i=0$) попала на контрольные границы -2 или -3 , в аналитической серии необходимо

не менее n образцов крови пациентов, которое можно вычислить, преобразовав формулу:

$$Z_i = \frac{P_i - P_{\text{ср.}}}{\sqrt{P_{\text{ср.}}(1 - P_{\text{ср.}}) / n}} ;$$

если $Z_i = -3$, $P_i = 0$, то $n = 9 \times \frac{1 - P_{\text{ср.}}}{P_{\text{ср.}}}$;

если $Z_i = -2$, $P_i = 0$, то $n = 4 \times \frac{1 - P_{\text{ср.}}}{P_{\text{ср.}}}$.

Взаимосвязь числа исследуемых образцов в аналитической серии со средней частотой выявления маркера $P_{\text{ср.}}$ приведена в таблице 1.

Например, при средней частоте выявления маркера 2% для контроля риска ложноотрицательных результатов в i -й аналитической серии без положительных результатов выявления маркера ($P_i = 0$), чтобы вычисленная для этой i -й аналитической серии нормированная частота Z_i вышла за нижнюю границу -3 ($Z_i > -3$), необходимо в каждой аналитической серии исследовать больше 441 образца крови. Если решено использовать вместо контроль-

Таблица 1

Связь числа исследуемых образцов в аналитической серии со средней частотой выявления маркера $P_{\text{ср.}}$

Частота выявления маркера, %	Количество исследуемых образцов для контроля $P = 0$ на границе -3	Количество исследуемых образцов для контроля $P = 0$ на границе -2
1	891	396
2	441	196
3	291	129
4	216	96
5	171	76
6	141	63
7	120	53
8	104	46
9	91	40
10	81	36
15	51	23
20	36	16

Таблица 2

Ретроспективные данные аналитических серий из КДЛ № 1

Дата проведения анализа	Количество исследуемых образцов (n)	Количество первично положительных образцов (m)	Дата проведения анализа	Количество исследуемых образцов (n)	Количество первично положительных образцов (m)
02.09.15	48	1	23.11.15	56	3
04.09.15	64	3	27.11.15	64	2
08.09.15	48	1	01.12.15	56	2
10.09.15	72	3	03.12.15	72	4
14.09.15	56	2	07.12.15	56	2
18.09.15	56	2	09.12.15	64	5
22.09.15	72	1	21.12.15	72	1
24.09.15	80	2	31.12.15	48	2
28.09.15	80	1	11.01.16	56	2
30.09.15	80	4	13.01.16	56	1
02.10.15	72	4	15.01.16	72	1
06.10.15	64	1	21.01.16	80	3
07.10.15	72	2	27.01.16	80	3
13.10.15	96	4	29.01.16	72	4
15.10.15	96	4	02.02.16	80	1
19.10.15	96	8	04.02.16	64	5
21.10.15	96	4	10.02.16	80	1
23.10.15	88	3	12.02.16	80	6
27.10.15	48	5	16.02.16	56	3
29.10.15	88	2	18.02.16	96	4
02.11.15	80	1	24.02.16	88	10
05.11.15	64	2	26.02.16	80	1
09.11.15	88	5	01.03.16	80	1
11.11.15	96	3	09.03.16	96	1
13.11.15	88	5	11.03.16	96	2
19.11.15	72	2			

ного предела —3 предупредительные границы —2, то необходимое минимальное число образцов для анализа снижается в 9/4 раза и должно быть больше 196.

При увеличении частоты выявления маркера предельное число исследуемых образцов в одной аналитической серии уменьшается: например, при частоте 5% и принятом критерии контроля вероятности ложноотрицательных результатов —2 достаточно взять больше 76 образцов крови пациентов в одно исследование. При критерии —3 необходимо исследовать более 171 образца в одной аналитической серии, чтобы контролировать риск появления ложноотрицательных результатов.

Дополнительный параметр карты — медиана частоты выявления маркера. Медиана — это значение признака, справа и слева от которого находится равное число наблюдений (по 50%). В случае нормального распределения медиана совпадает со средним арифметическим значением. Значение медианы частоты выявления маркера, равное нулю, означает, что в 10 и более из 20 установочных серий нет положительных результатов выявления маркера. В таком случае проведение ВКК по частоте выявления маркера невозможно.

3.4. Примеры построения контрольных карт и проверки возможности выявления рисков ложных результатов

3.4.1. В таблице 2 приведены ретроспективные данные исследования HBsAg в 51 аналитической серии, полученные из КДЛ №1 за период с 02.09.15 по 11.03.16. Каждый месяц проводилось от 6 до 10 исследований на маркер. Во всех аналитических сериях получены первично положительные результаты.

Для расчета $P_{cp.}$ допустим, что в первых 20 аналитических сериях процесс был стабильным. Разделим количество первично положительных результатов на общее количество исследованных образцов: $P_{cp.} = \sum m_k / \sum n_k$, где $k = 1, 2 \dots 20$. $P_{cp.} = 57 / 1472 = 0,04$.

Таким образом, частота выявления HBsAg в КДЛ №1 равна $0,04 \times 100\% = 4\%$. Поскольку объем подгруппы значительно изменяется от серии к серии (от 48 до 96 образцов, в среднем 74), необходимо провести нормировку значений. Для каждой аналитической серии необходимо рассчитать значение частоты выявления маркера и нормированное значение частоты по формулам, указанным в разделе 3.2. Результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3

**Вычисленная нормированная частота выявления маркера
(HBsAg) в 51 аналитических сериях из КДЛ № 1**

Дата проведения анализа	Частота выявления маркера	Нормированная частота	Дата проведения анализа	Частота выявления маркера	Нормированная частота
02.09.15	0,02	-0,63	23.11.15	0,05	0,94
04.09.15	0,05	0,62	27.11.15	0,03	-0,13
08.09.15	0,02	-0,63	01.12.15	0,04	0,08
10.09.15	0,04	0,37	03.12.15	0,06	1,03
14.09.15	0,04	0,08	07.12.15	0,04	0,08
18.09.15	0,04	0,08	09.12.15	0,08	2,11
22.09.15	0,01	-0,96	21.12.15	0,01	-0,96
24.09.15	0,03	-0,43	31.12.15	0,04	0,37
28.09.15	0,01	-1,03	11.01.16	0,04	0,08
30.09.15	0,05	0,77	13.01.16	0,02	-0,77
02.10.15	0,06	1,03	15.01.16	0,01	-0,96
06.10.15	0,02	-0,88	21.01.16	0,04	0,17
07.10.15	0,03	-0,30	27.01.16	0,04	0,17
13.10.15	0,04	0,37	29.01.16	0,06	1,03
15.10.15	0,04	0,37	02.02.16	0,01	-1,03
19.10.15	0,08	2,36	04.02.16	0,08	2,11
21.10.15	0,04	0,37	10.02.16	0,01	-1,03
23.10.15	0,03	0,01	12.02.16	0,08	1,96
27.10.15	0,10	3,36	16.02.16	0,05	0,94
29.10.15	0,02	-0,54	18.02.16	0,04	0,37
02.11.15	0,01	-1,03	24.02.16	0,11	3,81
05.11.15	0,03	-0,13	26.02.16	0,01	-1,03
09.11.15	0,06	1,09	01.03.16	0,01	-1,03
11.11.15	0,03	-0,13	09.03.16	0,01	-1,13
13.11.15	0,06	1,09	11.03.16	0,02	-0,63
19.11.15	0,03	-0,30			

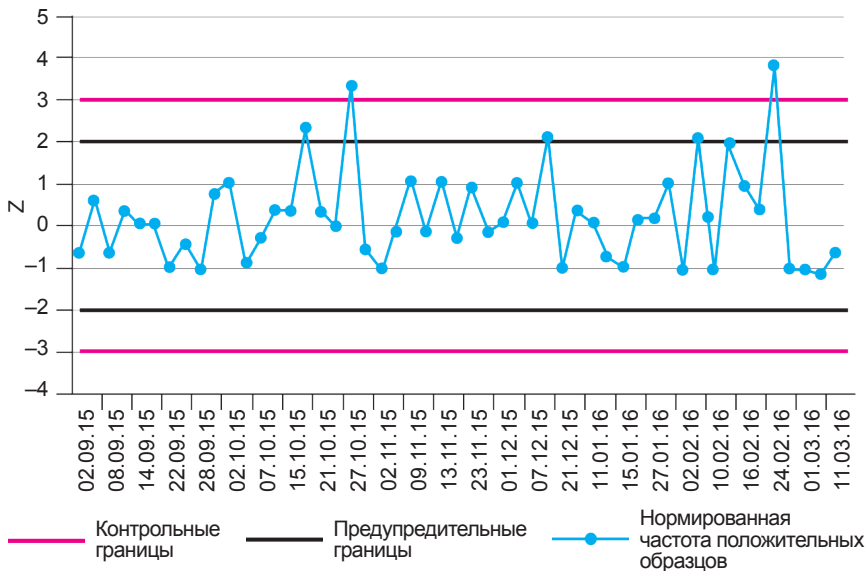


Рис. 1. Z-карта частот HBsAg-положительных образцов.

Z-карта частот выявления HBsAg по данным из КДЛ №1, нанесены значения нормированных частот 51 аналитической серии. По первым 20 вычислена средняя частота $P_{cp.} = 0,04$, для которой нормированная частота $Z = 0$, и контрольные границы, для которых нормированная частота $Z = 3$ со знаком плюс или минус.

На рис. 1 приведена карта нормированных частот Z , или Z-карта выявления HBsAg по данным из таблицы 3. На карту нанесены данные всех аналитических серий, включая установочные (согласно ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 установочные серии тоже наносятся на карту). На карте имеются два выхода за верхние контрольные пределы $+3$ (аналитические серии от 27.10.15 и 24.02.16, в таблице 3 выделены жирным шрифтом), ни одного выхода за нижние контрольные пределы -3 не зафиксировано из-за малого числа исследуемых образцов в каждой аналитической серии (в среднем 74) и относительно низкой частоты выявления HBsAg – 4%.

По формуле для вычисления нормированной частоты Z , приведенной в разделе 3.2., рассчитаем необходимое минимальное количество образцов в одном исследовании для контроля риска получения ложноотрицательных результатов по контрольной карте.

Если нормированная частота $Z = -3$, а частота выявления маркера в текущей i -й аналитической серии $P_i = 0$, то есть, нет ни одного первично положительного результата, тогда

$$n = 9 \times (1 - P_{\text{ср.}}) / P_{\text{ср.}} = 9 \times (1 - 0,04) / 0,04 = 216.$$

Необходимо исследовать более 216 образцов в каждой аналитической серии, чтобы в случае отсутствия первично положительных результатов в i -й серии при средней частоте 0,04 получить выход значения частоты i -й серии на Z -карте за нижние контрольные пределы -3 . Выход значения частоты i -й серии за нижние контрольные пределы -3 Z -карты предполагает корректирующие действия с целью уменьшения риска ложноотрицательных результатов.

Если нормированная частота $Z = -2$, а частота выявления маркера в текущей i -й аналитической серии $P = 0$, то есть, нет ни одного первично положительного результата, тогда

$$n = 4 \times (1 - P_{\text{ср.}}) / P_{\text{ср.}} = 4 \times (1 - 0,04) / 0,04 = 96.$$

Необходимо исследовать более 96 образцов в каждой аналитической серии, чтобы в случае отсутствия первично положительных результатов в i -й серии при средней частоте 0,04 получить выход значения частоты i -й серии за нижние предупредительные пределы -2 Z -карты для контроля риска появления ложноотрицательных результатов и последующих корректирующих действий.

Таким образом, по карте частот выявления HBsAg (рис. 1) возможен только контроль риска получения ложноположительных результатов. Для того, чтобы контролировать риск появления ложноотрицательных результатов хотя бы на уровне -2 Z -карты, необходимо в каждой аналитической серии исследовать больше 96 образцов крови, что возможно, если копить образцы до нужного количества и проводить исследования 3–5 раз в месяц (среднее число образцов для исследований на HBsAg в КДЛ № 1 – 74), но не в ущерб своевременности выдачи результатов. Можно не копить образцы, а принять решение о корректирующих действиях, если маркер не выявляется ни в одном образце i -й аналитической серии. Кроме того, стоит использовать контрольный материал (или слитую сыворотку) с низким содержанием иммунологического маркера для оценки аналитической надежности исследования.

3.4.2. Если контрольную карту строят впервые, то часто оказывается, что процесс статистически не управляем. Среднее значение и контрольные границы, рассчитанные на основе такого

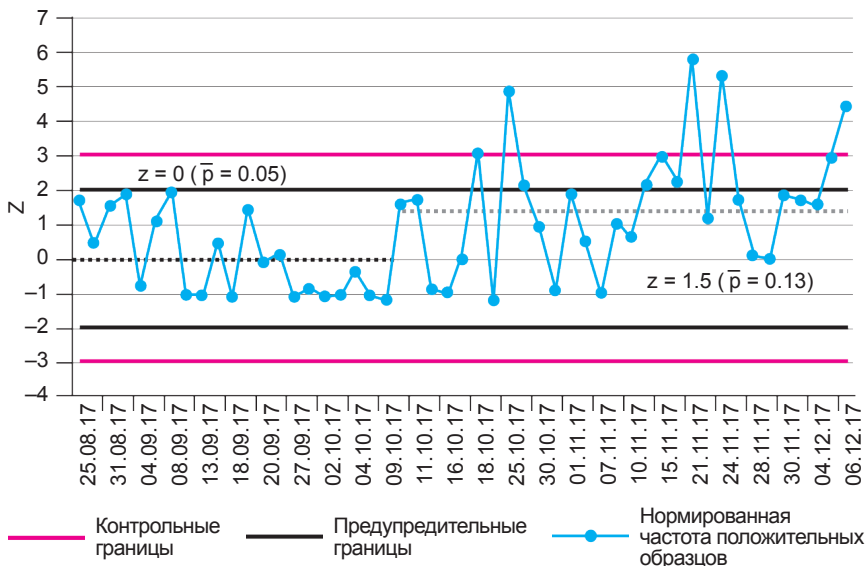


Рис. 2. Z-карта частот HBsAg-положительных образцов.

Z-карта частот выявления HBsAg по данным из КДЛ №2, нанесены нормированные частоты 51 аналитической серии. По первым 20 вычислена средняя частота $P_{\text{ср.}} = 0,05$, для которой нормированная частота $Z = 0$ (черный пунктир), и контрольные границы, для которых нормированная частота $Z = 3$ со знаком плюс или минус (линии красного цвета). Средняя частота для следующих 31 аналитической серии $P_{\text{ср.}} = 0,13$, $Z = 1,51$ также нанесена на карту в виде серой пунктирной линии.

процесса, будут иногда приводить к ошибочным заключениям, поскольку могут оказаться неправильно установленными.

На Z-карте частот выявления HBsAg, построенной по данным КДЛ №2 (рис. 2), виден тренд, то есть тенденция повышения частоты выявления маркера с 11.10.17 по 06.12.17 после проведения установочной серии по ретроспективным данным с 25.08.17 по 09.10.17 и определения параметров карты (среднего значения и границ).

По 20 установочным сериям была установлена средняя нормированная частота $Z = 0$ ($P_{\text{ср.}} = 0,05$), верхняя контрольная граница $+3$, нижняя -3 . Если вычислить среднюю нормированную частоту по следующим 31 аналитическим сериям, то $Z = 1,51$ ($P_{\text{ср.}} = 0,13$), то есть появляется сдвиг центральной линии карты вверх.

При обнаружении тренда (возрастания или убывания параметра карты) необходимо пересмотреть все этапы и результаты

анализов, добавить другие индикаторы качества (например, КМ, не содержащие и содержащие целевой маркер в низкой концентрации) при проведении последующих исследований, чтобы убедиться в их аналитической надежности. Также важной является проверка соответствия выявленного или, наоборот, не выявленного серологического маркера клинической картине специфических форм патологии, для диагностики которых предназначен данный вид исследования. В зависимости от полученных в ходе проверки результатов следует предпринять корректирующие действия.

3.5. Принципы организации ВКК по частоте выявления маркера

Таким образом, чтобы организовать ВКК по частоте выявления маркера, необходимо (см. рис. 3):

- 1) По ретроспективным данным выяснить средние значения частоты выявления первично положительных образцов и количество исследуемых образцов в одной аналитической серии. Если более чем в 50% аналитических серий маркер не выявляется (медиана частоты равна нулю, см. раздел 3.2.), невозможно проводить ВКК по частоте, необходимо использовать КМ или слитые сыворотки для оценки аналитической надежности исследований (см. разделы 5–7).
- 2) Сопоставить полученные значения со значениями, приведенными в таблице 1. Выяснить, сколько образцов необходимо исследовать в одной аналитической серии, чтобы контролировать риск получения ложноотрицательных результатов по Z-карте (см. раздел 4.).
- 3) Возможно объединение числа исследуемых образцов крови пациентов нескольких аналитических серий, выполненных в течение

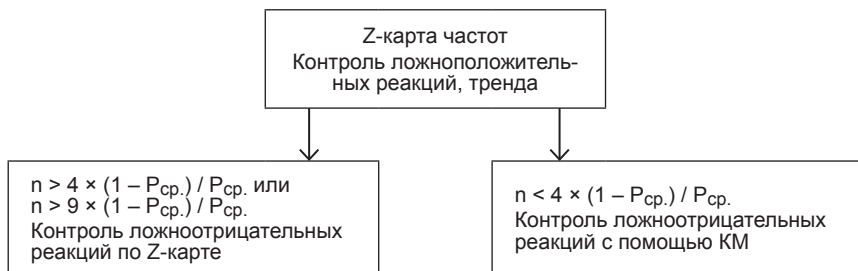


Рис.3. Схема организации ВКК неколичественных методов ИХА.

рабочего дня при сохранении одинаковых условий проведения анализа для ВКК. Выдача результатов в таком случае проводится после оценки объединенной частоты выявления маркера.

- 4) Другой случай увеличения числа исследуемых образцов – накопление образцов в течение нескольких дней до исследования, но не в ущерб своевременности выдачи результатов.
- 5) Если невозможно увеличение числа образцов в аналитической серии, то необходимо использовать КМ или слитые сыворотки для оценки аналитической надежности исследований.

4. Проведение ВКК неколичественных методов ИХА на основе статистического анализа

4.1. Сбор данных и построение Z-карты частоты выявления маркера

4.1.1. Определить по таблице 1 или рассчитать по формуле $n = 4 \times (1 - P_{cp.}) / P_{cp.}$ и $n = 9 \times (1 - P_{cp.}) / P_{cp.}$ необходимое количество образцов в аналитической серии для оценки рисков ложноотрицательных результатов с помощью границ -2 или -3 Z-карты при установленной частоте выявления маркера.

4.1.2. Провести 20–25 установочных серий, контролируя стабильность процесса, используя контрольные материалы, содержащие маркер в низкой концентрации и не содержащие маркер, – например, «МИНИпол», «ОДС» или слитые сыворотки, каждый не менее чем в одной лунке/пробирке, что позволит подтвердить аналитическую надежность исследований (см. разделы 5–7). Результаты установочной серии учитываются, если значения ОП КМ соответствуют установленным требованиям. В противном случае результаты не учитываются, проводится проверка всех этапов, анализ повторяется.

4.1.3. Вычислить среднюю частоту выявления маркера по данным установочных серий. Для каждой серии рассчитать значения частоты и нормированной частоты выявления маркера по формулам:

$$P_{cp.} = \sum m_k / \sum n_k,$$

где $k = 1, 2 \dots 20$;

$$P_k = m_k / n_k,$$

где m_k – количество выявленных положительных образцов в k-ой установочной аналитической серии, а n_k – общее количество исследованных образцов в этой же серии;

$$Z_k = \frac{P_k - P_{cp.}}{\sqrt{P_{cp.}(1 - P_{cp.}) / n_k}}.$$

4.1.4. Построить Z-карту частот: нанести в виде горизонтальных линий контрольные пределы $Z = +3$, $Z = -3$; предупредительные пределы $Z = +2$, $Z = -2$ и центральную линию $Z = 0$.

4.1.5. На Z-карту частот нанести вычисленные значения нормированных частот Z_k для всех установочных аналитических серий. Если все полученные значения Z_k ложатся внутри контрольных границ без выбросов, указывающих на наличие особых причин, то о процессе можно сделать заключение, что он управляем. В этом случае средняя доля выявления положительных результатов $P_{cp.}$ берется как опорное значение для последующего анализа. В случае выхода значения нормированной частоты Z_k за контрольные границы ($Z_k > +3$) проанализировать причины особых условий, устранить их. Исключить значение нормированной частоты Z_k из установочных серий, добавив данные из повторного анализа.

4.2. Анализ данных с помощью Z -карты частоты выявления маркера

4.2.1. В текущей i-й аналитической серии вычислить долю выявления положительных образцов и нормированную частоту:

$$P_i = m_i / n_i,$$

где m_i – количество выявленных положительных образцов в текущей аналитической серии, а n_i – количество исследованных образцов в текущей аналитической серии.

$$Z_i = \frac{P_i - P_{cp.}}{\sqrt{P_{cp.}(1 - P_{cp.}) / n_i}} .$$

4.2.2. Полученное в текущей аналитической серии значение нормированной частоты Z_i нанести на Z-карту частот. Значение Z_i не должно выходить за верхние или нижние контрольные пределы или за установленные и зафиксированные в стандартной операционной процедуре (СОП) по проведению ВКК предупредительные пределы. Например, при частоте выявления HBsAg 3% и среднем числе исследуемых образцов 160 использовать нижнюю предупредительную границу -2 карты для контроля риска появления ложноотрицательных результатов (см. таблицу 1).

4.2.3. Если нормированная частота Z_i выходит за границы верхнего предела $+3$ Z-карты, то для уменьшения риска ложноположительных результатов необходимо повторить анализ первично положительных образцов – возможно, часть их станет отрицательными.

4.2.4. Если нормированная частота Z_i не выходит за границу нижнего предела $-3 Z$ -карты из-за низкой частоты выявления маркера или малого числа исследуемых образцов, рекомендуем в качестве корректирующих действий повторно исследовать образцы 10% серой зоны ниже $OP_{\text{крит.}}$ ($0,9 \times OP_{\text{крит.}}$), чтобы снизить риск возможных ложноотрицательных результатов. Для этого образцы, попавшие в зону $0,9 \times OP_{\text{крит.}}$, исследовать в дублях на следующий день в том же наборе реагентов по той же методике. Если хотя бы в одном из дублей образца из зоны $0,9 \times OP_{\text{крит.}}$ значение ОП выше $OP_{\text{крит.}}$, образец признается реактивным. Если хотя бы в одном из дублей образца из зоны $0,9 \times OP_{\text{крит.}}$ значение ОП остается в серой зоне, образец признается неопределенным, пациенту выдается отрицательный результат и рекомендуется повторное обследование через 6 месяцев [13].

4.2.5. Если нормированная частота Z_i выходит за контрольную границу $-3 Z$ -карты, рекомендуем также применять повторное исследование образцов 10% серой зоны ниже $OP_{\text{крит.}}$ ($0,9 \times OP_{\text{крит.}}$) – возможно, часть их станет положительными.

4.2.6. При повторных анализах рекомендуем использовать КМ «МИНИпол», «ОДС» для подтверждения аналитической надежности исследований.

4.2.7. При проведении ВКК с помощью Z -карты частот выявления маркера необходимо учитывать следующие аспекты:

- а) распространенность заболевания,
- б) функциональные характеристики наборов реагентов,
- в) аналитическая надежность исследования,
- г) контингент обследуемых лиц,
- д) время обследования (сезон),
- е) смена изготовителя набора реагентов,
- ж) число образцов в аналитической серии.

Кроме того, могут иметь место лабораторные ошибки, их воздействие на анализ может быть разнонаправленным. В этом случае рекомендуем повторить исследование всех образцов аналитической серии.

5. Организация и проведение ВКК неколичественных методов ИХА с применением контрольных материалов и слитых сывороток

При отсутствии возможности проведения ВКК по частоте выявления маркера допустимо проведение ВКК с применением контрольных материалов.

Даже если проводится ВКК по частоте выявления маркера, используйте КМ как еще один индикатор качества.

5.1. Требования к контрольным материалам

- В качестве основы для КМ должна использоваться матрица, близкая по составу к исследуемому образцу (сыворотка, плазма и т.д.).
- Согласно ГОСТ Р ИСО 15189-2-15, «лаборатория должна избрать концентрации контрольных материалов, насколько это возможно, близко к значениям клинических решений, тем самым подтверждая валидность принятых решений» [4]. Особенно сложными являются случаи принятия решений, когда значения оптической плотности (ОП) образцов попадают в область чуть ниже или чуть выше критического значения ОП ($OP_{\text{крит.}}$) ($0,8 \times OP_{\text{крит.}} < OP_{\text{обр.}} < 2 \times OP_{\text{крит.}}$).
- Необходимо использовать КМ, содержащие маркер в низкой концентрации и не содержащие маркер, что позволит подтвердить аналитическую надежность исследований и принять решения по их выдаче.
- Анализ контрольных и клинических образцов проводить по одному и тому же протоколу.
- Рекомендуется использовать независимый контрольный материал, который не входит в состав набора реагентов.
- КМ должны обладать длительным сроком годности.
- КМ, изготовленные на основе сыворотки или плазмы крови человека, являются потенциально инфекционными. При обращении с ними необходимо соблюдать меры предосторожности, предусмотренные правилами безопасности инструкции по применению контрольных материалов.
- Если КМ не определяются правильно в наборе реагентов, то они не могут быть использованы для проведения ВКК. Рекомендуется применять контрольные материалы в тех наборах реагентов, в которых они аттестованы (информация об этом должна содержаться в приложении к инструкции по применению КМ). Возможно применение КМ и наборов реагентов одного изготовителя.
- Количество закупаемых КМ одной партии (серии), а также наборов реагентов одной серии должно быть достаточным для проведения оперативного контроля качества в течение не менее 3 месяцев (рекомендуется закупка контрольных материалов в расчете на 1 год).
- Подготовка КМ к исследованию проводится в соответствии с инструкцией по применению КМ. КМ должны исследоваться так же, как и пробы пациентов, т.е. в тех же аналитических сериях и условиях. Хранение КМ проводится в соответствии с инструкцией по применению контрольных материалов.

5.2. Контрольные материалы и слитые сыворотки

Для оценки вариации результатов (внутри и межсерийной сходимости) неколичественного ИХА применяются те же параметры вариационной статистики, что и для оценки разброса результатов, получаемых количественными методами [9], т.е. среднее значение, среднеквадратическое отклонение и коэффициент вариации CV. Использование этих параметров правомочно при условии, что частотные распределения многократного измерения одного и того же иммунологического маркера в одном и том же контрольном материале одним и тем же аналитическим методом имеют вид нормально распределения. Этим условиям соответствует КМ «ВЛК» производства АО «Вектор-Бест» со значениями ОП в области линейной зависимости ОП от содержания исследуемого маркера (примерно от 0,5 о.е. до 1,5 о.е.). Данные исследования этого КМ можно использовать для построения контрольных карт, однако он не имеет аттестованных значений ОП, каждая лаборатория получает свои целевые значения в используемых наборах реагентов.

Для оценки аналитической надежности используют два типа контрольных материалов: отрицательный, не содержащий исследуемый маркер (например, «ОДС» производства АО «Вектор-Бест»), и положительный, с минимальным содержанием исследуемого маркера в зоне принятия решений (до $2 \times \text{ОП}_{\text{крит.}}$), например, «МИНИпол» производства АО «Вектор-Бест».

Если анализ на иммунологический маркер проводится в лаборатории часто (не реже 3 раз в неделю), проведение ВКК возможно с помощью контрольных карт «ВЛК». Для построения контрольных карт используется контрольный материал ВЛК, содержащий целевой маркер (например, «ВЛК-НВsAg», «ВЛК-анти-ВГС», «ВЛК-анти-ВИЧ-1», «ВЛК-антипаллидум» производства АО «Вектор-Бест»). На этапе оценки сходимости в одной аналитической серии и при проведении 20 установочных серий кроме «ВЛК» необходимо использовать контрольные материалы «ОДС» и «МИНИпол» для оценки аналитической надежности результатов этих серий.

Если анализы в лаборатории проводятся 1–2 раза в неделю или реже, невозможно провести установочные серии в сроки до 2 месяцев. В таком случае оперативный контроль ведется в каждой аналитической серии по двум контрольным материалам для проверки аналитической надежности с использованием контрольных материалов «ОДС» и «МИНИпол». Контроль-

ный материал «ВЛК» в этом случае может применяться для оценки сходимости результатов анализа, например, при сравнении работы разных операторов или для других сравнений в зависимости от задач ВКК.

Если нет коммерческих контрольных материалов, необходимо использовать слитые сыворотки пациентов, содержащие и не содержащие целевой маркер.

5.2.1. Приготовление слитых сывороток.

1. Остатки исследованных отрицательных и положительных сывороток, исключая гемолизированные, желтушные и содержащие жир сыворотки, собирать в объеме, необходимом для проведения 25–30 исследований.

2. Слитые сыворотки перемешать, профильтровать через бактериологический и стерильный фильтры.

3. Провести анализ на наличие маркера.

4. Разлить в пробирки типа Eppendorf в объеме, необходимом для проведения одного исследования. Дату розлива и число пробирок указать в соответствующих документах.

5. Аликвоты хранить при температуре минус 20–70°C. В ходе хранения слитых сывороток необходимо проводить ежедневный контроль температурного режима морозильной камеры с внесением значений температуры в соответствующий журнал. Рекомендуем вести учет расхода пробирок со слитыми сыворотками в соответствующем журнале.

5.2.2. Контроль ОП критического (ОП_{крит.}).

Значение ОП_{крит.} позволяет различать положительные и отрицательные результаты анализа. Ошибки, приводящие к неправильному определению значений отрицательного контроля K^- или положительного контроля K^+ (если вычисление ОП_{крит.} связано с K^+), приводят к неправильному вычислению ОП_{крит.}, а значит, к ошибкам в интерпретации исследуемых образцов.

Для повышения надежности контроля качества перед проведением собственно ВКК на основании измерений в 20-ти установочных сериях определяются пределы разброса значений ОП_{крит.}, от которых зависит принятие решения о результатах анализов. Пределы ОП_{крит.} – это диапазон значений от установленного в течение установочной серии минимального значения ОП_{крит.} (min ОП_{крит.}) до максимального значения ОП_{крит.} (max ОП_{крит.}). Все последующие значения ОП_{крит.} должны укладываться в установленные пределы ОП_{крит.}.

6. Проведение ВКК неколичественных методов ИФА с применением контрольных материалов

6.1. ВКК по картам «ВЛК»

(анализ на маркер проводится не реже 3 раз в неделю)

Для проведения ВКК с помощью КМ применяют алгоритм, описанный для ВКК количественных методов [9, 10]. Алгоритм включает в себя три стадии: оценка внутрисерийной сходимости, оценка межсерийной сходимости и непосредственно оперативный контроль.

6.1.1. На первой стадии проводится оценка внутрисерийной сходимости результатов измерений с помощью КМ «ВЛК». Внутри одной аналитической серии исследуют КМ «ВЛК» в 10 повторах. Наряду с этим исследуют контрольные материалы «ОДС» и «МИНИпол», каждый не менее чем в одной лунке/пробирке, для оценки аналитической надежности исследования. Значение ОП «МИНИпол» должно быть выше ОП_{крит.}, значение ОП «ОДС» – ниже ОП_{крит.}. Если эти условия не выполнены, результаты исследованных образцов аналитической серии не принимаются, необходимо выявить причины ошибки, устранить их и повторить анализ. Из полученных 10 значений рассчитывают коэффициент внутрисерийной вариации методики CV₁₀ и сравнивают с табличным (см. табл.4).

$$X = \sum X_i / 10,$$

$$S = \sqrt{\sum (X_i - X)^2 / 9},$$

$$CV_{10} = S / X \times 100\%,$$

где $i = 1, 2, 3... 10$.

Вычисленное значение CV₁₀ в лаборатории не должно превышать предельно допустимое табличное значение CV_{сход.}. Если вычисленный CV₁₀ для данного серологического маркера превышает табличное значение, следует провести работу по снижению внутрисерийной вариации результатов данного вида анализа, а затем повторить исследование. Если внутрисерийная вариация метода отвечает установленным нормам, переходят к следующей стадии.

6.1.2. На второй стадии проводится 20 измерений КМ «ВЛК» (в одной лунке), а также определение пределов значений ОП_{крит.} в 20 аналитических установочных сериях (см. 5.2.2.). Кроме того, в каждой из 20 серий исследуют контрольные материалы «ОДС» и «МИНИпол», каждый не менее чем в одной лунке/пробирке, и оценивают их ОП. Если значение ОП «ОДС» ниже, а значение ОП «МИНИпол» выше значения ОП_{крит.}, то значение ОП «ВЛК» принимается и используется для дальнейших вычислений. Если

хотя бы одно из условий не выполняется, значение ОП «ВЛК» не принимается для дальнейших вычислений. Необходимо найти причины ошибок, устранить их и повторить анализ.

По результатам 20 аналитических серий устанавливают пределы ОП_{крит.} (от min ОП_{крит.} до max ОП_{крит.}) и рассчитывают среднее значение ОП «ВЛК», среднее квадратическое отклонение S и коэффициент вариации CV₂₀:

$$\bar{X} = \sum X_i / 20,$$

$$S = \sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 / 19},$$

$$CV_{20} = S / \bar{X} \times 100\%,$$

где i = 1, 2, 3... 20.

Полученный результат CV₂₀ «ВЛК» сравнивают с предельно допустимым табличным CV_{воспр.} для данного серологического маркера (таблица 4). Если вычисленный CV₂₀ для данного серологического маркера превышает табличное значение, следует провести работу по снижению аналитической вариации метода, после чего провести исследования заново.

Если все показатели удовлетворительны (ОП «ОДС» и ОП «МИНИпол» в 20 установочных сериях, CV₂₀ «ВЛК»), переходят к этапу построения контрольной карты по значениям ОП «ВЛК». Устанавливают пределы карты ±1S, ±2S, ±3S. Наносят полученные значения X, ±2S, ±3S на карту в виде горизонтальных линий (см. рис. 4).

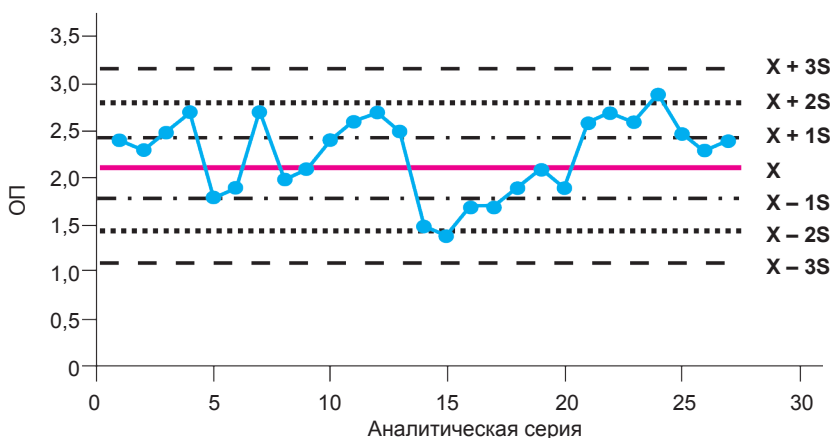
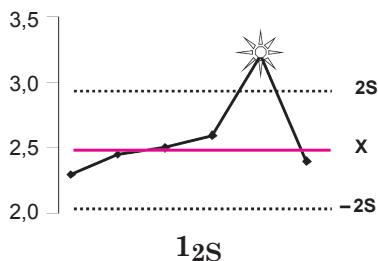


Рис. 4. Контрольная карта

6.1.3. На третьей стадии проводят оперативный контроль с помощью КМ «ВЛК». Контрольные материалы «ОДС» и «МИНИпол» на этой стадии не исследуются.

Вычисленное при оценке результатов значение $ОП_{крит.}$ должно попадать в ранее рассчитанный интервал значений $\min ОП_{крит.} - \max ОП_{крит.}$. Если значение $ОП_{крит.}$ находится вне указанных пределов, значение ОП «ВЛК» не учитывается. Необходимо найти ошибки, устранить их и провести анализ заново. Если значение $ОП_{крит.}$ находится в установленном интервале $\min ОП_{крит.} - \max ОП_{крит.}$, то значение ОП «ВЛК» наносится на карту «ВЛК». Оценку результатов исследования контрольного материала «ВЛК» проводят с использованием контрольных правил Вестгарда (см. ниже).

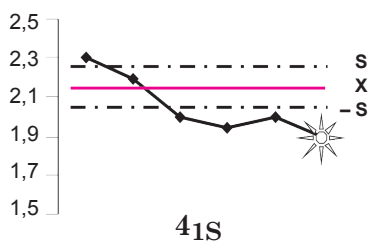
Правила Вестгарда



Правило 12S:

Значение ОП «ВЛК» одной из аналитических серий выходит за пределы $\pm 2S$.

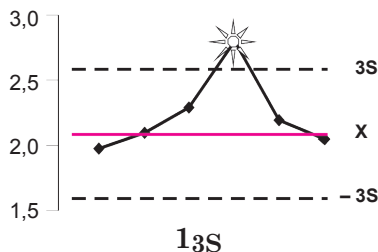
Признак *случайной* ошибки.



Правило 41S:

Четыре последовательных измерения ОП «ВЛК» превышают $+1S$ или лежат ниже предела $-1S$.

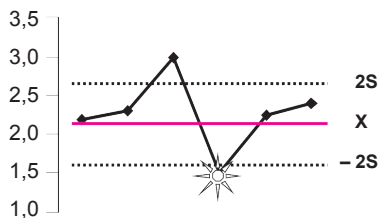
Признак *систематической* ошибки.



Правило 13S:

один из результатов ОП «ВЛК» выходит за пределы $\pm 3S$.

Признак *случайной* ошибки.

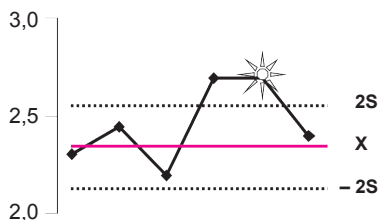


R_{4S}

Правило R_{4S}:

два последовательных контрольных измерения ОП «ВЛК» расположены по разные стороны от «коридора» $\pm 2S$.

Признак *случайной* ошибки.

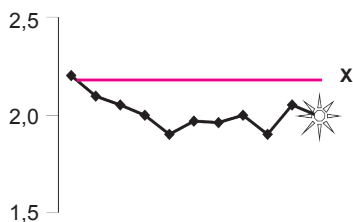


2_{2S}

Правило 2_{2S}:

два последовательных контрольных измерения ОП «ВЛК» превышают предел $+2S$ или лежат ниже предела $-2S$.

Признак *систематической* ошибки.



10_X

Правило 10_X:

десять последовательных измерений ОП «ВЛК» располагаются по одну сторону от линии, соответствующей X .

Признак *систематической* ошибки.

Проверка контрольных правил проводится в определенной последовательности (рис. 2.). Если полученные результаты измерения контрольного материала не выходят за пределы $\pm 2S$ (т.е. не нарушено правило **1_{2S}**), анализ признают удовлетворительным и результаты учитывают. Если не нарушено правило **1_{2S}**, но выявлен признак **4_{1S}**, результаты опыта также учитывают и делают попытку обнаружить причины этого предупреждения.

Если хотя бы один из результатов анализа контрольного материала выходит за пределы $\pm 2S$ (т.е. нарушено правило **1_{2S}**), то проверяется последовательно наличие остальных признаков.

Если при этом нарушено правило **4_{1S}** или хотя бы одно из правил **1_{3S}**, **R_{4S}**, **2_{2S}** или **10_X**, все результаты данного опыта считают неприемлемыми, проведение анализов приостанавли-

вают, выявляют и устраняют возможные причины возникновения погрешностей.

Появление на контрольной карте признаков нарушения правил 1_2S , 1_3S и R_4S свидетельствует о вероятном наличии случайных ошибок в ходе лабораторного процесса. Признаки 2_2S , 4_1S и $10\bar{X}$ более чувствительны к систематическим ошибкам [14].

6.2. Смена контрольного материала

Для поддержания непрерывности внутрилабораторного контроля в период, когда используемого КМ «ВЛК» одной серии остается только на 20 аналитических серий, осуществляют переход на новый КМ «ВЛК» другой серии путем **«перекрывания»**. Для этого новый КМ «ВЛК» другой серии исследуют в течение 20 рабочих дней в каждом опыте параллельно с используемыми КМ «ВЛК», после чего для нового КМ «ВЛК» рассчитывают контрольные пределы и строят новую контрольную карту. В период получения данных 20 аналитических серий возможно вычисление среднего значения ОП «ВЛК» из 2-3 первых полученных значений, при этом возможно использование среднеквадратического отклонения S из предыдущей карты для построения временных контрольных пределов вокруг нового среднего. Переход к новым значениям ОП среднего «ВЛК» и среднеквадратического отклонения S осуществляется после накопления 20 новых значений ОП «ВЛК». Что касается «ОДС» и «МИНИпол», то после окончания одной серии любого из этих КМ вводится другая, необходимости в параллельных постановках нет [15].

6.3. Смена серии набора реагентов

В случае перехода на новую серию набора реагентов исследуют все контрольные материалы «ОДС», «МИНИпол» и «ВЛК» в 20 аналитических сериях, как описано на стадии 2. По полученным 20 значениям «ВЛК» рассчитывают контрольные пределы и строят **новую контрольную карту**. В период получения данных 20 аналитических серий возможно вычисление нового временного среднего значения ОП «ВЛК» из 2-3 первых полученных значений, при этом возможно использование среднеквадратического отклонения S из предыдущей карты для построения контрольных пределов вокруг нового временного среднего. Переход к новым значениям ОП среднего «ВЛК» и среднеквадратического отклонения S осуществляется после накопления 20 новых значений ОП «ВЛК» [15].

Предельно допустимые значения 95% доверительного интервала для индивидуальных значений коэффициента вариации CV, рассчитанные по результатам измерений определяемого показателя в контрольных материалах, содержащих серологические маркеры гепатитов В, С, ВИЧ-инфекции, в лабораториях России в рамках программы внешней оценки качества (ПВОК) АО «Вектор-Бест» [16].

Серологический маркер	CV сход	CV воспр
HBsAg	0–11,3%	0–14,2%
анти-ВГС	0–15%	0–19%
анти-ВИЧ	0–15%	0–19%

6.4. ВКК с помощью «МИНИпол», «ОДС» (анализы на маркер проводятся 1-2 раза в неделю или реже)

6.4.1. Для проведения ВКК используются контрольные материалы «ОДС», «МИНИпол», каждый не менее чем в одной лунке/пробирке, для проверки аналитической надежности в каждой аналитической серии. Если контрольный материал «ОДС» определяется как отрицательный, а контрольный материал «МИНИпол» определяется как положительный, все результаты в данной аналитической серии принимаются. Если оба или один из КМ не удовлетворяет вышеуказанным условиям, результаты данной аналитической серии не принимаются, необходимо найти и устранить ошибку и провести анализ всех исследуемых образцов повторно.

6.4.2. Оценка сходимости результатов, если необходимо, проводится с помощью контрольного материала «ВЛК», как описано в 6.1.1.

7. Заключение

1. Для организации и проведения ВКК неколичественных методов ИХА выявления иммунологических маркеров с помощью медицинских изделий для диагностики 3 класса необходимо использовать такие индикаторы качества, как частота выявления маркера, контрольные материалы с концентрацией маркеров близко к ОП_{крит.} («МИНИпол») и не содержащие маркер («ОДС»), см. рис. 5.
2. В установочных сериях для построения Z-карты применять контрольные материалы «МИНИпол», «ОДС» для оценки аналитической надежности исследований и стабильности процесса.

3. С помощью Z-карты частот можно оценить риск появления ложноположительных реакций, тренда. Для оценки риска ложноотрицательных реакций по Z-карте частот необходимо определенное число образцов для исследования, которое может меняться в зависимости от выбранного нижнего контрольного предела Z-карты.
4. Для корректировки риска ложноположительных результатов проводить повторный анализ первично положительных образцов.
5. Для уменьшения риска ложноотрицательных результатов исследовать повторно образцы 10% серой зоны ниже $OP_{крит.}$ ($0,9 \times OP_{крит.}$).
6. При повторных анализах рекомендуем использовать контрольные материалы «МИНИпол», «ОДС» для подтверждения аналитической надежности исследований.
7. Если более чем в 50% аналитических серий маркер не выявляется, невозможно проводить ВКК по частоте, необходимо использовать КМ или слитые сыворотки.
8. Если анализ на маркер проводится в лаборатории часто (не реже 3 раз в неделю), проведение ВКК возможно с помощью контрольных карт «ВЛК». На этапе оценки сходимости в одной аналитической серии и при проведении 20 установочных серий кроме контрольного материала «ВЛК» необходимо использовать контрольные материалы «ОДС» и «МИНИпол» для оценки аналитической надежности результатов.

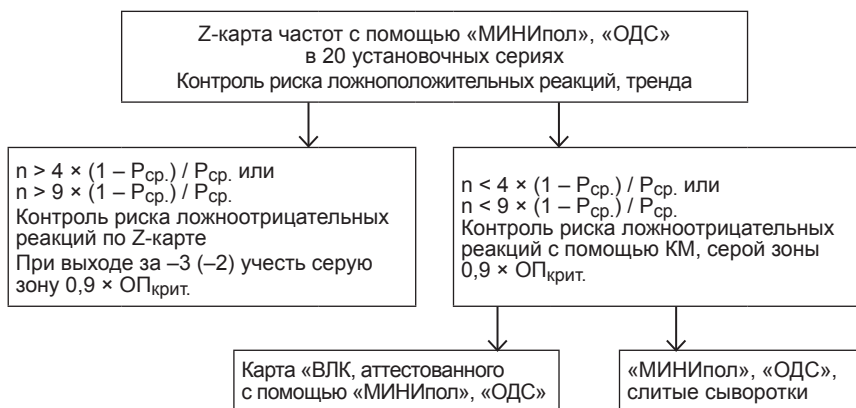


Рис. 5. Схема организации и проведения ВКК неколичественных методов ИХА

9. Если анализ на маркер проводится в лаборатории редко (1-2 раза в неделю), для проведения ВКК применяются два контрольных материала «ОДС», «МИНИпол» для проверки аналитической надежности в каждой аналитической серии.

8. Литература

1. ГОСТ Р 53133.1-4-2008 Контроль качества клинических лабораторных исследований.
2. ГОСТ Р 53022.1-4-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований.
3. ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты Шухарта.
4. ГОСТ Р ИСО 15189-2013 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности.
5. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 12 февраля 2016 г. № 27. «Об утверждении Общих требований безопасности и эффективности медицинских изделий, требований к их маркировке и эксплуатационной документации на них».
6. Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 г. № 4н «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий».
7. ГОСТ Р ИСО 18113.1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
8. Меньшиков В. В. Клинические рекомендации. Обеспечение аналитической достоверности лабораторной информации. М., 2015.
9. Приказ МЗ РФ от 07.02.2000 г. № 45 «Правила внутрилабораторного контроля качества количественных лабораторных исследований».
10. Приказ МЗ РФ от 26.05.2003 г. № 220 Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».
11. ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
12. ГОСТ Р 56395-2015/ISO/TS 22367:2008 Лаборатории медицинские. Снижение ошибок посредством менеджмента риска и постоянного улучшения.
13. Solanki A., Singh A., Chaudhary R. Impact of grey zone samples testing by enzyme-linked immunosorbent assay in enhancing blood safety: experience at a tertiary care hospital in North India // Asian Journal of Transfusion Science. 2016. Vol.10. Pp. 71–74.

14. Бобкова М.Р., Буравцова Е.В., Калашникова Т.В., Покровский В.В., Суворова З.К. Применение контрольных образцов для внутрилабораторного контроля качества скринингового ИФА на наличие антител к ВИЧ: (Методические рекомендации). М., 2004.
15. Нетесова И.Г., Бобкова М.Р. Внутрилабораторный контроль качества неколичественных методов ИФА: Информационно-методическое пособие. Новосибирск: Вектор-Бест, 2011.
16. Нетесова И.Г., Ярославцева О.А., Цой Л.В., Жуков В.А., Нетесов С.В. Результаты участия 360 лабораторий России в Программе Внешней Оценки Качества исследований HBsAg // Клиническая лабораторная диагностика. 2007. № 3. С. 47–50.

Содержание

1. Введение	3
2. Основные термины	5
3. Организация ВКК неколичественных методов ИФА на основе статистического анализа результатов исследований проб пациентов	8
3.1. Правила оценки аналитической надежности неколичественных методов исследований	8
3.2. Применение контрольных карт Шухарта для альтернативных данных	8
3.3. Нижние границы -2 и -3 Z-карт при $P = 0$	10
3.4. Примеры построения контрольных карт и проверки возможности выявления рисков ложных результатов.....	13
3.5. Принципы организации ВКК по частоте выявления маркера	18
4. Проведение ВКК неколичественных методов ИФА на основе статистического анализа	19
4.1. Сбор данных и построение Z-карты частоты выявления маркера	19
4.2. Анализ данных с помощью Z-карты частоты выявления маркера	20
5. Организация и проведение ВКК неколичественных методов ИФА с применением контрольных материалов и слитых сывороток	21
5.1. Требования к контрольным материалам	22
5.2. Контрольные материалы и слитые сыворотки	23
6. Проведение ВКК неколичественных методов ИФА с применением контрольных материалов	25
6.1. ВКК по картам «ВЛК»	25
6.2. Смена контрольного материала	29
6.3. Смена серии набора реагентов	29
6.4. ВКК с помощью «МИНИпол», «ОДС»	30
7. Заключение	30
8. Литература	32

Информационно-методическое пособие

И.Г. Нетесова, О.А. Ярославцева, Л.А. Мостович,
Л.В. Безуглова, М.Р. Бобкова, О.А. Тарасенко

**Организация и проведение внутрилабораторного
контроля качества неколичественных методов
иммунохимического анализа
при использовании медицинских изделий
для диагностики *in vitro* 3 класса риска
для выявления иммунологических маркеров
инфекционных заболеваний**

Верстка

С.А. Сизикова

Подписано в печать 28.03.19. Бумага офсетная. Формат 60×84/16.
Усл.-печ. л. 2,09. Уч.-изд. л. 2. Тираж 1 000 экз.

Отдел оперативной печати АО «Вектор-Бест».
630117, г. Новосибирск-117, а/я 492