


ТЕХНОЛОГИИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И СПЕЦИФИКА ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЦЕНТРАЛИЗАЦИИ

М.И. Прищепина,

ЗАО «АНАЛИТИКА», Москва, mpriishchepa@analytica.ru

 анализ статистических данных последнего десятилетия, проведенный авторами работ [1, 2], показал, что в лабораториях европейских стран около 68% всех источников существенных ошибок результатов исследований имеют отношение к преаналитическому этапу, около 20% — к постаналитическому и только около 12% — к аналитическому этапу. Столь выраженная диспропорция ошибок аналитического и преаналитического этапов объясняется значительным улучшением в последние десятилетия эксплуатационных характеристик аналитических систем, используемых в лабораториях (в основном за счет стандартизации, автоматизации и улучшения технологий [3]), и тем, что методы контроля качества проведения преаналитической фазы начали разрабатываться с большим запозданием — только в самом конце прошлого века [4].

Принципы оценки качества проведения аналитического этапа национальные и международные организации по стандартизации лабораторных исследований начали разрабатывать еще в 50-х годах прошлого столетия [4]. Современные технологии контроля аналитического этапа доведены до такого уровня, когда они могут обеспечивать необходимую для клиницистов сопоставимость результатов исследований, получаемых в разных лабораториях, в разное время и с использованием разных аналитических систем. В настоящее время самое широкое международное признание и распространение получили руководства по ведению контроля качества, разработанные CLSI [5] и Европейской группой экспертов [6], а также руководства Медицинского Совета Германии (RiliBäk) [7, 8]. Эти руководства описывают технологии, которые позволяют лабораториям не только количественно оценивать приемлемость рабочих значений аналитических характеристик внедряемой аналитической системы, но и эффективно контролировать качество ее функционирования в процессе эксплуатации, используя для этого оптимальные параметры ведения оперативного статистического контроля, определяемые с помощью так называемых вероятностных функций «мощности» детектирования (Power Functions) и технологии Sigma-Metrics. В том числе они позволяют определять оптимальное число образцов контрольного материала в аналитической серии и соответствующий набор контрольных правил для своевременного детектирования случаев изменения аналитических характеристик, приводящих к клинически неприемлемым ошибкам текущих результатов. Важно отметить, что рекомендуемые технологии выбора лабораторией оптимальных параметров для ведения оперативного контроля качества функционирования

конкретной аналитической системы учитывают запас прочности рабочих значений ее аналитических характеристик по сравнению с максимально допускаемыми для них значениями. Если текущий статистический контроль позволяет детектировать существенные изменения аналитических характеристик с вероятностью P_{ed} (error detection) не менее 90% и допускает ложную отбраковку аналитических серий, проведенных без существенных изменений аналитических характеристик, с вероятностью P_{fr} (false rejection) менее 5%, то тогда параметры считаются выбранными для контроля данной аналитической системы оптимально.

Несмотря на то, что результаты лабораторных исследований влияют на принятие почти 70% клинических решений [4], и почти 70% источников существенных ошибок имеют прямое отношение к преаналитическому этапу [1, 2], для этого этапа до сих пор не было разработано ни одной методики количественной оценки качества его проведения. Это не означает, что до сих пор не велись работы по разработке методологий контроля и стандартизации отдельных процедур преаналитической фазы лабораторных исследований, то есть процедур, которые осуществляются вне лаборатории и/или без прямого контроля ее сотрудников, включая заказ теста, идентификацию пациента и образца его биопробы, подготовку пациента, процедуру взятия у него образца биопробы, обработку и транспортировку образца в лабораторию.

Общие требования к проведению таких процедур достаточно детально описаны в стандарте ИСО 15189 и частично в европейских нормах 2009 ADR. Тем не менее, ни в одном из этих стандартов не указаны конкретные требования к максимально допускаемым временным и температурным условиям хранения и транспортировки образцов биопроб, в пределах которых биопробы гарантированно сохраняли бы стабильность своего состава и свойств. Более или менее детальные условия транспортировки приведены в руководствах CLSI: для образцов венозной и капиллярной крови соответственно в документах H3-A6 (6-е издание, октябрь 2007) и H04-A3 (6-ое издание, сентябрь 2008); для образцов мочи — в документе GP16-A3 (3-е издание, февраль 2009), образцов крови и плазмы для исследования показателей гемостаза — в документе H21-A5 (5-е издание, январь 2008). Требования в этих руководствах постоянно уточняются по мере накопления новых знаний о стабильности состава и свойств биопроб.

Кроме того, начаты разработки методологий оценки качества проведения отдельных процедур аналитического этапа. Так, например, авторы работы [4] предлагают строить методи-

ки оценки качества проведения процедур преаналитического этапа по аналогии с технологиями контроля аналитического этапа — какие-то вопросы решать за счет внутреннего контроля, а какие-то — за счет внешнего. Внутренний контроль предлагается строить на базе регистрации происшествий, приводящих к существенной ошибке результатов анализа, с последующим вычислением некоего индикатора качества, соответствующего данной процедуре преаналитического этапа. Что касается внешнего контроля, то предполагается, что он должен включать сбор от лабораторий-участников программы информации о количестве и уровне ошибок, совершенных ими на преаналитическом этапе за определенный промежуток времени, с последующим статистическим анализом полученных данных и рассылкой отчетов с результатами анализа каждому участнику.

К сожалению, приходится констатировать, что и в настоящее время все еще отсутствуют общепризнанные рекомендации по количественному контролю качества проведения преаналитического этапа в целом. Также пока нет типовых рекомендаций по количественной оценке влияния той или иной преаналитической процедуры на достоверность результатов исследований содержания аналитов в биопробах пациентов, хотя уже известно, что в случаях несрочных анализов, например при плановых или централизованных лабораторных исследованиях, одной из главных причин ошибок результатов анализа является нестабильность состава биопроб в процессе хранения и/или транспортировки [9, 11]. Точных данных о величинах нестабильности аналитов в биопробах при разных условиях и сроках хранения накоплено не так много. Только в 2011 г. в CLSI было принято решение о включении в собственный план НИОКР разработки руководства по стандартизации исследований в области количественной оценки величины нестабильности содержания аналитов в биопробах [9]. Существующие же рекомендации CLSI носят достаточно общий характер по максимально допустимым срокам хранения образцов мочи и цельной крови до начала лабораторных исследований, по крайней мере те, которые изложены в ранее упомянутых документах H3-A6, H04-A3, GP16-A3 и H21-A5.

В России общие требования к условиям и процедурам преаналитического этапа установлены положениями ГОСТ Р 53079.4-2008 [10]. Приведенные в этом стандарте данные также не содержат конкретной информации об ожидаемых величинах эксплуатационной нестабильности содержания аналитов в биопробах в зависимости от разных условий их хранения и транспортирования, хотя в стандарте и устанавливается общее требование к величине максимально допустимого уровня такой нестабильности. К сожалению, приведенная в стандарте информация по максимально допустимым срокам хранения образцов биопроб также а) не является исчерпывающей в плане номенклатуры аналитов и видов биопроб, б) относится только к условиям стационарного хранения биопроб при определенных температурах и размытых сроках их хранения.

Фактически при централизации исследований всё происходящее с биопробами от их взятия у пациентов в периферийных ЛПУ (ПЛПУ) до анализа в централизованной лаборатории

(ЦЛ) является по отношению к последней своеобразным преаналитическим этапом, на который также распространяются требования ГОСТ Р 53079.4, в том числе и требования к максимально допустимой величине нестабильности содержания аналитов в биопробах пациентов, доставляемых из ПЛПУ в ЦЛ. Следует отметить, что требования к максимально допустимому уровню нестабильности состава биопроб, еще приемлемому для решения клинических задач, установленные стандартом [10] для отечественных лабораторий, очень близки к требованиям, изложенным в рекомендациях рабочей группы по преаналитическим вариациям немецких обществ по клинической химии и по лабораторной медицине [11].

Национальный стандарт РФ [10] определяет в разделе 3.5, что «...максимально допустимая нестабильность, выраженная в процентном отклонении результата после хранения, от исходного уровня не должна превышать половины размера общей ошибки определения, рассчитываемой из суммы биологической и аналитической вариаций данного аналита. Максимально допустимое время хранения измеряется периодом времени, в течение которого в 95% образцов содержание аналита сохраняется на исходном уровне...».

В разделе 4.1 рекомендаций [11] эти требования изложены следующим образом: «Отклонения из-за нестабильности должны быть меньше половины полной ошибки, определяемой суммой биологической и аналитической вариаций. Стабильность образцов крови в течение преаналитической фазы определяется температурой и условиями перевозки в дополнение к другим факторам. Так как фактор времени имеет почти всегда преимущественное влияние, то стабильность следует определять как максимально допустимое время хранения при данных определенных условиях. Соответственно максимально допустимое время хранения определяется как период времени, в течение которого 95% образцов удовлетворяют вышеупомянутым аналитическим требованиям».

Таким образом, оба стандарта устанавливают, что, если «рабочие» величины отклонений результатов из-за нестабильности содержания аналита в биопробах пациентов от взятия до исследования будут превышать максимально допустимые для них значения, то такие результаты будут неприемлемы для решения клинических задач. Эти результаты не будут достоверно соответствовать исходному содержанию аналита в биожидкости пациента.

Из многолетней лабораторной практики известно [11], что даже при соблюдении всех требований к проведению процедур аналитического этапа, установленных в том числе в стандарте [10], включая подготовку пациентов к взятию биопроб, процедуру взятия, сроки и условия хранения биопроб в ПЛПУ и особенно сроки и условия транспортировки биопроб из ПЛПУ в ЦЛ, могут сильно варьировать не только от одного ПЛПУ к другому, но и день ото дня в одном и том же ПЛПУ. Это может приводить к неконтролируемой вариации состава или свойств биопроб еще до начала их анализа в ЦЛ, что в свою очередь может снижать достоверность получаемых результатов, вплоть до их неприемлемости для решения клинических задач.

Из вышесказанного следует: если «рабочие» отклонения результатов анализа из-за нестабильности содержания аналитов

в биопробах, которые планируется доставлять для исследований из ПЛПУ в ЦЛ, будут превышать свои максимально допустимые значения, то такая централизация не имеет смысла. Поэтому принятию решения о централизации исследований того или иного анализа должно предшествовать объективное доказательство того, что централизация не приведёт к нарушению установленных требований к достоверности результатов, и результаты смогут быть использованы с пользой для решения основных клинических задач — скрининга, постановки диагноза и контроля за эффективностью терапии, а не вводить клиницистов в заблуждение. Такое доказательство можно получить путём определения величин реальных отклонений результатов анализа из-за нестабильности содержания анализа в биопробах, доставляемых из конкретного ПЛПУ в ЦЛ в рамках планируемых временных интервалов и заданных условий транспортировки. Это, во-первых, позволит количественно оценивать типовые «рабочие» отклонения результатов от исходного уровня для реальных условий, начиная от взятия биопроб в каждом из периферийных ЛПУ вплоть до их анализа в ЦЛ, и затем на базе полученных данных принимать решение о клинической приемлемости результатов, получаемых в условиях централизации. Во-вторых, позволит в дальнейшем вести оперативный контроль за неизменностью изначально определённого уровня нестабильности для результатов, получаемых в ЦЛ при анализе текущих биопроб от каждой ПЛПУ.

Такая методика с использованием известных в мировой практике подходов была разработана авторами работы [12]. Методика позволяет: а) количественно оценивать типовые отклонения результатов из-за нестабильности содержания анализов в биопробах от момента их взятия в ПЛПУ до момента их анализа в ЦЛ, б) определять приемлемость оцененного уровня нестабильности для решения клинических задач, в) вести в дальнейшем оперативный контроль за неизменностью изначально определённого уровня нестабильности доставляемых биопроб, позволяя принимать решение о клинической приемлемости текущих результатов. Данная методика предполагает, что для всех аналитических систем, используемых в лабораториях периферийных ЛПУ и в ЦЛ данного региона, ведётся внутривлабораторный контроль качества в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53133.2-2008 [13]. Вкратце процедуры этой методики выглядят следующим образом.

На первом этапе ежедневно в течение не менее 20 рабочих дней на статистически значимой выборке текущих биопроб выполняют однократные измерения содержания анализов, определение которых предполагается централизовать. При этом измерения выполняются дважды в течение рабочего дня — сначала в лаборатории периферийного ЛПУ, а затем в ЦЛ. Каждую такую пару значений затем проверяют на статистическую значимость отличия. Если полученные значения для той или иной текущей биопробы отличаются статистически значимо, то тогда для такой пары вычисляют величину отклонения результатов из-за нестабильности состава биопробы в виде разницы между полученными первым и вторым значениями. Если соответствующие пары результатов не отличаются друг от друга статистически значимо, то тогда

величину соответствующего отклонения между ними полагают равной нулю.

На втором этапе вычисляют отклонения результатов из-за нестабильности в виде разности значений содержания анализов в каждой из биопроб, полученные последовательно в ПЛПУ и в ЦЛ, учитывая при этом систематический сдвиг между соответствующей аналитической системой в ПЛПУ и аналитической системой в ЦЛ, который, в свою очередь, определяют заранее путем измерений содержания анализов в образцах одного и того же контрольного материала (КМ).

На третьем этапе определяют приемлемость полученных отклонений результатов из-за нестабильности путём их сравнения с максимально допускаемым для них значением, установленным ГОСТ Р 53079.4. Если не менее 95% из всех полученных за 20 рабочих дней значений для величин отклонений из-за нестабильности для исследуемого анализа не превышают соответствующего предельно допускаемого значения, то тогда типовые эксплуатационные значения для величины отклонения результатов из-за нестабильности, обусловленной временем, условиями хранения и транспортирования, можно считать приемлемыми.

После установления для искомого анализа приемлемости величины отклонений результатов из-за нестабильности биопроб, доставляемых в ЦЛ из данного ПЛПУ, и принятия решения о централизации его исследований, в ЦЛ для соответствующей аналитической системы, помимо статистического контроля по КМ, одновременно начинают вести статистический контроль и по ежедневным средним по пациентам для каждого конкретного ПЛПУ. Текущие данные контроля по ежедневным средним по пациентам каждого ПЛПУ и текущие данные контроля по КМ используются для оценки степени неизменности изначально определённого уровня нестабильности для биопроб, доставленных в ЦЛ из конкретного ПЛПУ. При этом параметры контрольных карт для ведения контроля по ежедневным средним определяют на базе данных результатов по пациентам, накопленным за время проведения исследований по установлению клинической приемлемости «рабочего» уровня нестабильности. При сравнении текущих результатов статистического контроля по КМ и по ежедневным средним по пациентам можно ожидать несколько вариантов исходов:

1. Если аналитическая система в ЦЛ будет находиться под контролем и по данным ежедневных средних результатов пациентов, и по данным результатов анализа КМ, то это будет свидетельствовать об эксплуатационной стабильности аналитических характеристик и неизменности изначально определённого уровня нестабильности для доставленных биопроб. Соответственно весь измерительный процесс, включая аналитические измерения и преаналитические процедуры, связанные с централизацией, будет оставаться под контролем, обеспечивая клиническую приемлемость результатов определения содержания данного анализа в биопробах, полученных из ПЛПУ.
2. Если выход из-под контроля проявится только для текущих ежедневных средних по пациентам из данного ПЛПУ, то это будет свидетельствовать об изменении изначально определённого уровня нестабильности для

биопроб, доставленных из этого ПЛПУ. В этом случае результаты измерений содержания аналита в биопробах, полученных из ПЛПУ, в клинику выдавать нельзя. Взятие проб пациентов в ПЛПУ и доставка их в ЦЛ должны быть повторены.

3. Если выход из-под контроля проявится и для текущих ежедневных средних по пациентам, и для текущих результатов по КМ, то в большинстве случаев это будет свидетельством изменения эксплуатационных значений аналитических характеристик измерительной системы в ЦЛ. В этом случае все текущие результаты измерений содержания данного аналита в биопробах, в том числе полученных из данного ПЛПУ, в клинику выдавать нельзя, пока не будет выявлена причина срабатывания контрольных правил. После выявления и устранения причины выхода аналитической системы из-под контроля анализ текущих проб, в том числе полученных из данного ПЛПУ, следует повторить.
4. Если выход из-под контроля проявится только для текущих результатов по КМ (что маловероятно, хотя и возможно на стадии накопления данных по ежедневным средним), то это будет говорить об изменении рабочих значений аналитических характеристик измерительной системы в ЦЛ. В этом случае, пока не будет выявлена причина срабатывания контрольных правил, все текущие результаты измерений содержания аналита в биопробах, полученных в том числе и из данного ПЛПУ, в клинику выдавать нельзя.

В любом случае, постоянное ведение оперативного контроля неизменности изначально определённого уровня нестабильности для доставляемых биопроб не будет возлагать на централизованную лабораторию никаких особых дополнительных материальных и временных затрат, по крайней мере существенных. Возможно, для ЦЛ потребуются разработка или покупка компьютерной программы для автоматизации расчетов по всем процедурам такого контроля. Что касается разового проведения процедур определения клинической приемлемости «рабочего» уровня нестабильности содержания аналитов в биопробах, то здесь тоже не стоит ожидать существенных материальных затрат. Авторы методики [12] с целью получения статистически надежных данных для количественной оценки клинической приемлемости типового уровня нестабильности биопроб, доставляемых в ЦЛ из каждого ПЛПУ, предлагают проводить для каждого исследуемого аналита в течение 20 рабочих дней измерения содержания аналита в 20 текущих биопробах пациентов дважды — сразу же после забора пробы пациента на аналитической системе непосредственно в данном ПЛПУ, а затем на аналитической системе в ЦЛ после доставки туда пробы. Таким образом, по каждому аналиту, при проведении изысканий на возможность централизации его исследований в биопробах из данного ПЛПУ, необходимо будет проделать около 800 измерений в пробах пациентов — по 400 в ПЛПУ и в ЦЛ. Плюс к этому около 40 исследований содержания аналита в КМ для определения систематического сдвига между аналитической

системой в лаборатории конкретного ПЛПУ и аналитической системой в ЦЛ, число которых сократится до 20 для других ПЛПУ. Таким образом, если в регионе предполагается централизовать исследования какого-либо аналита в биопробах из 50 периферийных ЛПУ, то суммарное количество тестов для объективной оценки возможности централизации в таком регионе составит около 40 000 — в биопробах и около 1 020 — в образцах КМ.

Литература

1. *Mario Plebani*. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44(6): 750-759, 2006.
2. *Kabra J*. Medical errors: impact on clinical laboratories and other critical areas. *Clin Biochem*. 2004; 37:1052-62.
3. *Stankovic AK*. The laboratory is a key partner in assuring patient safety. *Clin Lab Med*. 2004; 24: 1023-35.
4. *Antonia Lopis M., Virtudes Alvarez et al* (2011). Quality Assurance in the Preanalytical Phase, Applications and Experiences of Quality Control, Prof. Ognyan Ivanov (Ed.), ISBN: 978-953-307-236-4, InTech (www.intechopen.com).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute «Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions». Approved Guideline -3d Edition. CLSI Document C24-A3. CLSI catalog: Vol. 26, No. 25. CLSI, June 2006.
6. *Hyltoft Petersen P, Ricos C. et al*. Proposed Guidelines for the Internal Quality Control of Analytical Results in the Medical Laboratory. *Eur J Clin Chem Biochem*. 1996; 34: 983-999.
7. RiliBäk regulation. Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung Quantitativer Laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen: Beschluss des Vorstandes der Bundesärztekammer vom 24 August 2001. *Deutsches Ärzteblatt*. 2001; 98: A2747-A2759.
8. *Reinauer H*. External quality assessment schemes for clinical chemistry in Germany. *Ann 1st Super Sanita*. 1995; 31: 77-86.
9. Consensus Committee on Clinical Chemistry and Toxicology Summary Minutes: Protocols for Establishment of Sample Stability in Clinical Chemistry and Toxicology. March 2011. CLSI, content accessed November 19, 2011.
10. ГОСТ Р 53079.4-2008. Национальный стандарт РФ. «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».
11. The Quality of Diagnostic Samples. Recommendations of the working group on preanalytical variables of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. Darmstadt, Germany: GIT, 2009 (3d Edition).
12. *Петров С.П., Прищепина М.И.* Заявка на изобретение № 2015137987 от 8 сентября 2015 г. «Способ оценки величины нестабильности биопроб».
13. ГОСТ Р 53133.2-2008 Национальный стандарт РФ. «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».