

The image features a decorative graphic on the right side consisting of several overlapping circles and connecting lines. A large orange circle is partially visible at the top right. A smaller orange circle is in the middle right. A dark blue line connects the middle orange circle to a larger orange circle below it. Another dark blue line connects this larger orange circle to a light purple circle at the bottom right. The text is positioned to the left of these elements.

6. Контроль процессов – введение в КОНТРОЛЬ качества

Значение в системе управления качеством

6-1: Введение

Контроль процессов является одним из основных элементов системы управления качеством и представляет собой контроль действий, производимых во время обращения с пробами и в процессе исследований в целях обеспечения правильных и надежных результатов. Обращение с пробами, рассмотренное в главе 5, и все процессы контроля качества (КК) являются частью контроля процессов.

КК проверяет действия, относящиеся к периоду собственно исследования или аналитическому периоду. Цель КК состоит в том, чтобы выявить, оценить и исправить ошибки, которые случаются из-за проблем с аналитической системой, из-за условий работы или неверных действий сотрудников, до того, как будет выдан отчет с результатами анализов пациентов.



Что такое КК?

КК – это та часть управления качеством, которая нацелена на выполнение требований по качеству (ИСО 9000:2005 [3.4.10]). Проще говоря, в рамках КК «контрольные» материалы с известным составом исследуют параллельно с пробами от пациентов для того, чтобы проверить правильность и воспроизводимость всего аналитического процесса. КК требуется для аккредитации лаборатории.

В 1981 году ВОЗ использовала термин «внутренний контроль качества» (ВКК), определенный как «набор процедур для проведения непрерывной оценки работы лаборатории и получаемых результатов». Термины КК и ВКК иногда используют взаимозаменяемо; страна и культурные предпочтения влияют на то, какой термин больше в ходу.

В последние годы в некоторых ситуациях термин «внутренний контроль качества» стал вносить путаницу из-за различных связанных с ним значений. Некоторые производители тест-систем для качественных анализов включили «встроенный» контроль в состав своих наборов, и иногда они называют такой контроль внутренним. Другие производители включают свой собственный контрольный материал в продаваемые тест-системы и также называют его «внутренним контролем», имея в виду, что материал предназначен для

КК для
различных
методов

этого конкретного набора. И наконец, кто-то называет любые материалы для контроля качества, используемые при постановках анализов, внутренним контролем качества – в соответствии с определением ВОЗ от 1981 г.

Во избежание путаницы мы будем использовать здесь термин «контроль качества», подразумевая использование контрольных материалов для проверки правильности и воспроизводимости всех процессов этапа исследования или аналитического этапа.

Процессы контроля качества различаются в зависимости от того, какие методы применяются в лабораторных исследованиях: количественные, качественные или полуколичественные. Различия между этими типами исследований заключаются в следующем.

Количественные исследования определяют количество анализируемого вещества в пробе, и измерения должны быть точными и воспроизводимыми. Результат измерения представлен в виде числового значения, выраженного в определенных единицах. Например, результат анализа глюкозы в крови может быть представлен как 3,5 ммоль/л.

Качественные исследования определяют наличие или отсутствие анализируемого вещества или оценивают свойства клеток, например их морфологию. Результаты выражают не числами, а качественными терминами, такими как «положительный», «отрицательный», «реактивный», «нереактивный», «в пределах нормы» или «патологический», «наличие роста» или «отсутствие роста». Примером качественных исследований могут быть микроскопические исследования, серологические процедуры, устанавливающие наличие или отсутствие антигенов и антител, и многие микробиологические процедуры.

Полуколичественные исследования похожи на качественные тем, что их результаты выражаются не в числах. Разница заключается в том, что результаты этих анализов представляют собой **оценку** количества анализируемого вещества. Результаты могут быть выражены терминами «следы», «умеренно», или «1+», «2+» или «3+». Примерами являются тест-полоски для мочи, тесты в таблетках на выявление кетоновых тел и серологические тесты на агглютинацию. В некоторых серологических тестах результаты часто выражают в титрах – в этом случае с использованием числовых значений, но полученных в результате оценки, а не в результате точного определения количества.

Некоторые микроскопические исследования считаются полуколичественными, поскольку результаты выражают в оценке числа клеток в поле зрения под малым или большим увеличением. Например, микроскопическое исследование мочи может выдать результат «0–5 эритроцитов в поле зрения под большим увеличением».

Поскольку процессы контроля качества различаются для этих разных типов исследований, сведения о КК разделены на две главы. В главе 7 рассмотрен КК количественных исследований, а в главе 8 – качественных и полуколичественных исследований.

Элементы программы КК

Независимо от типа проводимого исследования этапы внедрения и выполнения программы КК включают:

- разработку задокументированных правил и процедур, в том числе корректирующих действий;
- обучение всех сотрудников лаборатории;
- обеспечение полной документации;
- проверку данных контроля качества.

Эти этапы будут детально рассмотрены в главах 7 и 8.

Выводы

- КК – это часть системы управления качеством и используется для проверки аналитического этапа исследований.
- Цель КК состоит в том, чтобы до того, как будет выдан отчет с результатами анализов пациента, выявить, оценить и исправить ошибки, которые происходят из-за проблем с аналитической системой, из-за условий работы или неверных действий сотрудников.
- Используют различные методы КК для проверки количественных, качественных и полуколичественных анализов.

The image features a decorative graphic on the right side. It consists of several overlapping circles and lines. A large orange circle is partially visible at the top right. Below it, a dark blue line with a white double-line border connects to a large, solid orange circle. From the bottom of this orange circle, another dark blue line with a white double-line border connects to a light gray circle at the bottom. The text is positioned to the left of these graphic elements.

7. Контроль процессов – контроль качества количественных исследований

Значение в системе управления качеством

7-1: Общие сведения

Контроль качества (КК) – это компонент контроля процессов, и он является важным элементом системы управления качеством. Он проверяет процессы, которые относятся собственно к проведению исследования, и позволяет выявить ошибки в аналитической системе. Эти ошибки могут быть следствием проблем с аналитической системой, неблагоприятных условий работы или действий сотрудников. КК дает лаборатории уверенность в том, что результаты анализов правильны и надежны, до того, как будут выданы отчеты с результатами анализов.

Данная глава объясняет, как применяют методы КК в количественных лабораторных исследованиях.



Обзор процесса

Количественные анализы измеряют количество вещества в пробе, выдавая числовой результат. Например, количественный анализ глюкозы может дать результат 6,1 ммоль/л. Поскольку количественные анализы выдают числовые значения, то к результатам, полученным с материалом КК, можно применить статистические методы, для того чтобы различить серии «в контроле» и «вне контроля». Для этого вначале вычисляют интервал приемлемых значений контроля, а затем анализируют контроль вместе с пробами пациентов и проверяют, попало ли значение контроля в установленной интервал.

Как часть системы управления качеством лаборатория должна ввести программу КК для всех количественных анализов. Оценивая качество каждой серии анализов, лаборатория сможет определить, являются ли результаты анализов пациентов правильными и надежными.

Процесс внедрения

Этапы внедрения программы КК следующие:

- разработайте правила и процедуры,
- назначьте ответственных за отслеживание и анализ,
- обучите весь персонал соблюдению правил и процедур,
- выберите хороший материал для КК,
- установите контрольные пределы для выбранных материалов КК,
- разработайте графики для нанесения контрольных значений (они называются графиками Леви-Дженнинга),
- создайте систему отслеживания контрольных значений,
- при необходимости немедленно выполняйте корректирующие действия,
- ведите записи результатов КК и предпринятых корректирующих действий.

7-2: Контрольные материалы

Определение контрольных материалов

Контроль – это материал, содержащий установленное количество вещества, которое подлежит анализу, – анализируемого вещества. Контроли анализируются в то же время и тем же методом, что и пробы пациентов. Назначение контроля – в проверке надежности аналитической системы, а также в оценке работы сотрудников и условий работы, которые могут влиять на результаты.

Различие между контролями и калибраторами

Важно не путать калибраторы и контрольные материалы. Калибраторы – это растворы с заданной концентрацией, которые используют до начала измерений для установления шкалы (калибровки) прибора, набора или системы. Калибраторы обычно поставляются производителями приборов. Они не должны использоваться в качестве контролей, так как они служат для калибровки прибора. Калибраторы называют также стандартами (стандартными растворами), но термин «калибратор» предпочтительней. Как правило, калибраторы отличаются по составу от проб пациентов.

Характеристики контрольных материалов

Исключительно важно выбрать подходящие контрольные материалы. При их выборе необходимо руководствоваться следующими характеристиками:

- Контроли должны соответствовать выбранному диагностическому анализу – вещество, которое измеряют в анализе, должно присутствовать в контроле в такой форме, которая поддается измерению.
- Количество анализируемого вещества в контролях должно быть близко к значениям анализов, важным для клинических решений; это означает, что контроли должны представлять и низкие, и высокие значения.
- Контроли должны соответствовать по своему составу (матрице) пробам пациентов; часто это означает, что контроли сделаны на основе сыворотки крови, но могут быть также на основе плазмы, мочи или других материалов.

Эффективнее будет запастись контролями на несколько месяцев, поэтому получать их лучше всего в большом количестве.

Виды и источники контрольных материалов

Контрольные материалы могут быть доступны в разном виде: замороженные, лиофилизированные или стабилизированные химическими консервантами. Лيوфилизированные материалы требуется реконструировать или растворить, очень аккуратно пипетируя, чтобы обеспечить правильную концентрацию анализируемого вещества.

Контрольные материалы могут быть куплены, получены из центральной лаборатории или референс-лаборатории или приготовлены на месте путем смешивания сывороток от разных пациентов.

Купленные контрольные материалы бывают аттестованными или неаттестованными. Аттестованные контрольные материалы имеют установленное значение, определенное и предоставляемое производителем. При использовании аттестованных контрольных материалов лаборатория должна подтвердить это значение своими собственными методами. Аттестованные контрольные материалы стоят дороже, чем неаттестованные.



Выбор контролей

Если лаборатория использует неаттестованные или приготовленные в лаборатории контрольные материалы, то она должна определить установленное значение анализируемого вещества.

Использование контрольных материалов, приготовленных в лаборатории, потребует затрат на выполнение этапов валидации и анализа. Преимуществом будет то, что лаборатория может приготовить большое количество контроля с точной характеристикой.

Помните, что материалы КК обычно основаны на сыворотке. При обращении с ними необходимо соблюдать общие меры безопасности.

При выборе контролей для конкретного метода отдавайте предпочтения значениям, которые перекроют точки, важные для принятия клинических решений, например один контроль с нормальным значением и один либо с высоким, либо с низким значением, но находящимися в клинически значимых пределах.

Контроли обычно доступны в высоком, нормальном и низком диапазонах. На рисунке показаны диапазоны нормальных, а также патологических и критических высоких и низких значений. Для некоторых анализов могут быть важными контроли со значениями у нижней границы чувствительности.



Приготовление и хранение контрольных материалов

При приготовлении и хранении материалов КК важно точно следовать инструкции производителя по их растворению и хранению. Если используется контрольный материал, приготовленный в лаборатории, заморозьте аликвоты и храните их в морозильной камере, так чтобы можно было ежедневно оттаивать и использовать небольшое количество. Не замораживайте контрольные материалы повторно. Следите за температурой в морозильных камерах, чтобы избежать порчи анализируемого вещества во всех замороженных контрольных материалах.

Используйте пипетки, чтобы добавить точное количество требуемого растворителя к тем лиофилизированным контролям, которые необходимо растворить.

7-3: Установление интервала значений контрольного материала

Анализ контроля в течение некоторого времени

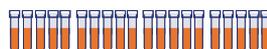
Следующим шагом после приобретения или приготовления контрольного материала будет определение интервала его допустимых значений. Интервал позволит лаборатории судить, была ли проведенная серия анализов «в контроле» или, если значения контроля вышли из допустимого интервала, – «вне контроля». Интервал допустимых значений контроля определяют путем многократного исследования контрольного материала в течение некоторого времени. Как минимум должно быть получено 20 значений в течение 20–30 дней. При сборе этих данных необходимо предусмотреть, чтобы имели место все вариации в процедурах, которые обычно происходят при ежедневном выполнении анализов; например, если обычно разные сотрудники проводят анализы, то каждый из них должен получить часть данных.

Как только данные будут собраны, лаборатория должна будет рассчитать среднее значение и стандартное отклонение результатов. Свойством повторяющихся измерений является некоторая степень разброса показателей. Разброс может быть результатом разных навыков работы сотрудников, условий работы или характеристик прибора. Определенная степень изменчивости – это нормально, даже если все перечисленные выше факторы контролируются. Стандартное отклонение дает меру такой изменчивости. Этот процесс проиллюстрирован на рисунке.

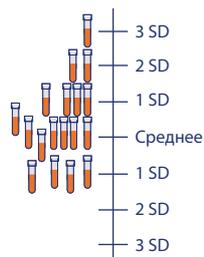
Получите контрольные материалы



Проанализируйте каждый контроль 20 раз в течение 30 дней



Рассчитайте среднее и +/- 1, 2, 3 стандартных отклонений



Одна из задач программы КК – установить, когда имеется нормальный разброс показателей, а когда случается ошибка.

Характеристики повторных измерений

Несколько важных теоретических понятий используют при определении нормальной вариации в аналитической системе. Материалы КК анализируют для получения количественного выражения вариации и установления нормального диапазона, а также для снижения риска ошибок.

Разброс многократных измерений будет распределяться вокруг средней точки или положения. Это свойство повторных измерений известно как **стремление к среднему**.

Существует три показателя стремления результатов многократных измерений к среднему:

- **Мода**, наиболее часто встречаемое значение.
- **Медиана**, средняя точка значений, которые ранжированы по порядку величин.
- **Среднее арифметическое значение**. Среднее арифметическое (или часто называемое просто «среднее») – показатель стремления к среднему, наиболее часто используемый в лабораторном КК.

Обозначения в статистике

Статистические обозначения – это символы, используемые в математических формулах для вычисления статистических показателей. В этой главе будут использованы следующие символы:

Σ сумма

N число данных (результатов или наблюдений)

X_1 отдельный результат

$X_1 - X_n$ данные от первого до n ($1-n$), где n последний результат

\bar{X} обозначение среднего

$\sqrt{\quad}$ квадратный корень.

Среднее арифметическое

Формула для вычисления среднего арифметического:

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 \dots X_n}{N}$$

В качестве примера для расчета среднего можно взять результаты иммуноферментного анализа (ИФА). Метод таков: собрать данные в виде отношений оптической плотности к пороговому значению, сложить значения и поделить на число измерений.

До расчета интервала КК

Цель получения 20 результатов анализа пробы КК заключается в том, чтобы получить количественные характеристики нормальной вариации и установить интервал для пробы КК. Используйте результаты этих измерений, чтобы определить интервал КК для исследований.

Если одно или два значения в группе полученных данных окажутся слишком высокими или слишком низкими, то их следует исключить из расчета интервала КК. Такие измерения называют **«выпадающими значениями»**.

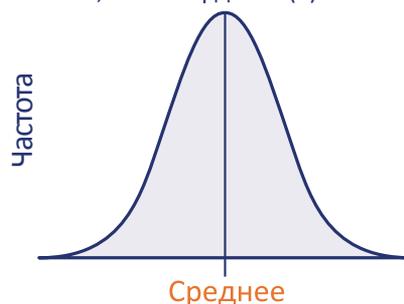
- Если более 2 значений из 20 полученных оказались выпадающими, это свидетельствует о том, что с данными что-то не в порядке и их нельзя использовать.
- Выявите и устраните проблему и повторите сбор данных.

Нормальное распределение

Если провести множество измерений и построить график результатов, то получится колоколообразная кривая, так как результаты собираются около среднего. Такое распределение называется **нормальным распределением** (или распределением Гаусса).

Это распределение можно увидеть, если полученные данные нанести на ось абсцисс (X), а частоту, с которой они встречаются, на ось ординат (Y).

Показанная на графике справа кривая нормального распределения в действительности является теоретической кривой, которую можно получить, если нанести большое число измерений. На основании теории полагают, что распределение значений, полученных при измерениях КК, является нормальным.



Точность и воспроизводимость

Если проводить измерения много раз, то полученное среднее будет очень близким к истинному среднему.

Точность – это близость результатов измерений к истинному значению.

Воспроизводимость – это степень разброса в измерениях.

- Чем меньше разброс в группе измерений, тем выше воспроизводимость.
- При более воспроизводимых измерениях ширина кривой меньше, так как все значения оказываются ближе к среднему.

Смещение – это разница между ожидаемым результатом измерения и принятой величиной, установленной эталонным методом.

О надежности метода судят с точки зрения точности и воспроизводимости.

Пример с мишенью

Понять термины «точность» и «воспроизводимость» поможет простой пример с мишенью. Центр мишени – «яблочко» – представляет собой установленное значение, которое является истинным и несмещенным. Если все данные группы «попали в яблочко», то группа значений – **точная**.

Чем ближе друг к другу располагаются попадания, тем выше их **воспроизводимость**. Если большинство точек «падает в яблочко», как на **левой мишени**, то они и точные, и воспроизводимые.



Точные = воспроизводимые и несмещенные

На **средней мишени**

данные воспроизводимые, но не точные, так как они, хотя и сгруппированы вместе, но не попадают в «яблочко». На **правой мишени** показана группа невоспроизводимых попаданий.

Измерения могут быть воспроизводимыми, но неточными в тех случаях, когда величины близки друг к другу, но не попадают в «яблочко». Эти величины называются **смещенными**. Рисунок в середине показывает группу воспроизводимых, но смещенных измерений.



Оценки разброса

Целью контроля качества является проверка точности и воспроизводимости лабораторных исследований до выдачи отчета с результатами анализов пациентов.

Методы, используемые в клинических лабораториях, характеризуются разным диапазоном отклонений от среднего значения; следовательно, некоторые из них более воспроизводимые, чем другие. Чтобы определить допустимый разброс, лаборатория должна рассчитать стандартное отклонение (SD) для 20 значений контроля. Это важно, потому что по законам нормального распределения если измерения подчиняются этому распределению, то:

- 68,3% значений окажется в интервале между «среднее значение минус 1 SD» и «среднее значение плюс 1 SD» (в интервале среднее \pm 1 SD);
- 95,5% окажется в интервале среднее \pm 2 SD;
- 99,7% окажется в интервале среднее \pm 3 SD.

То, что эти числа относятся ко всем нормальным распределениям, и позволяет лаборатории определить пределы для материала КК.

После того как для ряда измерений КК рассчитаны среднее значение и SD, материал КК, который исследуется вместе с пробами пациентов, должен попадать в эти пределы.

Стандартное отклонение

Стандартное отклонение (SD) – это показатель разброса в группе значений. Этот показатель крайне полезен лабораториям для анализа результатов КК.

Формула для вычисления стандартного отклонения:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Число отдельных измерений (значений) в группе данных обозначено буквой «n». При вычислении среднего значения число независимых измерений уменьшают на единицу, до n-1. Деление на «число измерений минус 1» (n-1) уменьшает смещение.

Вычисление доверительных пределов для контроля

Среднее значение и значения ± 1 , 2, и 3 SD нужны для разработки графика, на который наносят каждодневные контрольные значения.

- Для расчета ± 2 SD умножьте величину SD на 2, затем добавьте этот результат к среднему значению и отнимите его от среднего.
- Для расчета ± 3 SD умножьте величину SD на 3, затем добавьте этот результат к среднему значению и отнимите его от среднего.

Из любой группы данных 68,3% попадут в пределы «среднее ± 1 SD», 95,5% – в пределы «среднее ± 2 SD» и 99,7% – в пределы «среднее ± 3 SD».

При использовании только одного контроля мы считаем, что серия «в контроле», если значение контроля попадает в интервал «среднее ± 2 SD».

Коэффициент вариации

Коэффициент вариации (CV) – это стандартное отклонение, выраженное в процентах от среднего.

$$CV (\%) = \frac{SD}{\text{Среднее}} \times 100$$

CV используют для проверки воспроизводимости. Если лаборатория заменяет один метод анализа на другой, то можно использовать CV, чтобы сравнить воспроизводимость методов. В идеале величина коэффициента вариации должна быть менее 5%.

Использование графиков для анализа и проверки

Получение данных для карт Леви-Дженнинга

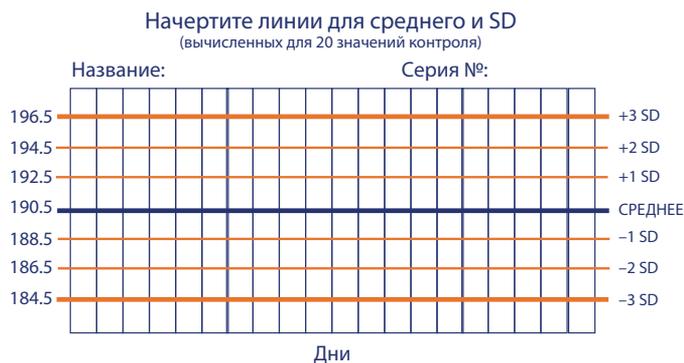
Карты Леви-Дженнинга

7-4: Графическое представление контрольных интервалов

Когда соответствующие пределы контрольных значений установлены, для каждодневной проверки будет очень удобно, если эти пределы представлены графически. Широко используемым способом такого графического представления являются карты Леви-Дженнинга.

Первым шагом в разработке карт Леви-Дженнинга для последующего ежедневного использования в лаборатории будет вычисление среднего значения и стандартного отклонения 20 измерений контроля, как это описано в разделе 7-3.

Затем рисуют карту Леви-Дженнинга, на которую наносят среднее значение и $\pm 1, 2$ и 3 стандартных отклонений (SD). Как показано на рисунке ниже, среднее обозначается горизонтальной линией, проведенной через центр графика. Через соответствующие интервалы вверх и вниз от среднего отмечают SD, через которые проводят горизонтальные линии.



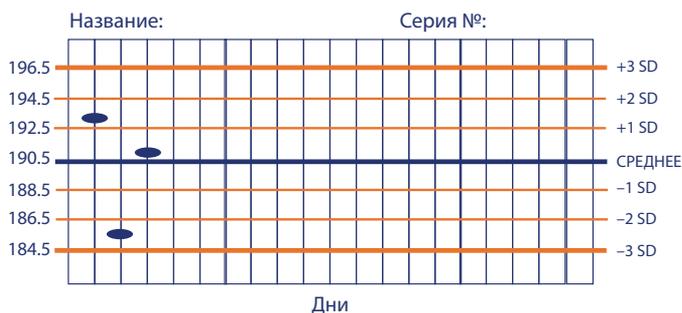
Данная карта Леви-Дженнинга была разработана на основе 20 повторных измерений контрольных проб. Для того чтобы использовать карту Леви-Дженнинга для регистрации и ежедневной проверки показателей контроля, отметьте на оси абсцисс (X) дни, серии или другие периоды, когда ставится КК. Поставьте на карте название анализа и серийный номер используемого контроля.

7-5: Интерпретация результатов контроля качества

Нанесение значений контроля

Контрольные пробы, которые исследуются вместе с пробами пациентов, теперь могут быть использованы, чтобы определять, были ли ежедневные постановки «в контроле». Контрольная проба должна быть включена в каждую постановку.

Нанесите значение контроля на карту Леви-Дженнинга. Если значение в пределах ± 2 SD, то серия может считаться «в контроле».



Значения, нанесенные на эту карту, были получены на 1-й, 2-й и 3-й день после того, как карта была сделана. В этом случае 2-е значение оказалось «вне контроля», потому что оно вышло из интервала в 2 SD.

Если используется только один контроль и его значение выходит из интервала в 2 SD, то серия считается «вне контроля» и признается неприемлемой.

Число используемых контролей

Если нет возможности использовать больше одного контроля, то выберите такой контроль, значение которого будет в нормальном диапазоне анализируемого вещества. При оценке серии приемлемыми будут считаться все результаты, если значение контроля в серии попадает в интервал ± 2 SD. При использовании этой системы 4,5% правильных результатов будут считаться неприемлемыми.

Для повышения эффективности и правильности следует использовать два или три контроля в каждой аналитической серии. В этом случае, чтобы не отвергать серии, которые, возможно, являются приемлемыми, используют другой набор правил. Эти правила применил к лабораторному КК специалист по клиническим исследованиям, химик Джеймс Вестгард. Систему правил Вестгарда применяют тогда, когда в каждой аналитической серии исследуют два контроля с разными установленными значениями и используют карты Леви-Дженнинга для каждого из контролей.

Использование трех контролей в каждой аналитической серии даст еще большую уверенность в точности результатов. При использовании трех контролей выберите низкое, высокое и нормальное значения. Есть правила Вестгарда и для системы с тремя контролями.

Выявление ошибок

Ошибки аналитического процесса могут быть случайными или систематическими.

Ошибки являются случайными, когда разброс показателей КК не закономерен. Этот тип погрешностей обычно не вызывается ошибкой аналитической системы, поэтому такие ошибки, как правило, не воспроизводятся. Случайная ошибка является причиной для признания результатов анализа неудовлетворительными только в том случае, если контроль выходит из интервала $\pm 2 SD$.

Систематические ошибки являются неприемлемыми, так как они указывают на то, что происходит ошибка в аналитической системе. Такие ошибки должны быть исправлены. Примерами систематических ошибок являются сдвиг и тенденция.

Сдвиг и тенденция

Бывают случаи, когда показатели контроля попадают в пределы $2 SD$, но тем не менее могут быть причиной для озабоченности. Карты Леви-Дженнинга помогут различить нормальную вариацию и систематическую ошибку.

Сдвигом называют явление, когда **за внезапным изменением** следуют **шесть или более** последовательных результатов КК, которые располагаются по одну сторону от среднего значения, но обычно в пределах 95%, так, словно они сгруппировались вокруг нового среднего значения. Когда такое случается в шестой раз, это называют сдвигом и результаты считают неприемлемыми.

Тенденцией называют явление, когда **в шести или более** аналитических сериях показатели контроля постепенно, но постоянно сдвигаются в одном направлении. Линия, проведенная через эти значения, может или пересекать значение среднего, или располагаться только по одну сторону от среднего. Когда такое случается в шестой раз, это называют тенденцией и результаты считают неприемлемыми.

Источник проблем должен быть выявлен и устранен до того, как будет выдан отчет с результатами анализов пациентов.

Неопределенность измерений

Так как при измерениях имеет место вариация, то всегда остается неопределенность в отношении истинного значения. Неопределенность представляет собой интервал значений, в котором с большой долей вероятности будет находиться истинное значение. В большинстве ситуаций интервал неопределенности имеет по оценке охват в 95%. В большинстве случаев интервал $\pm 2 SD$ считают приемлемым в качестве меры неопределенности, задаваемой случайным разбросом.

Степень разброса, однако, также зависит от используемого метода. Более точные методы характеризуются меньшей неопределенностью, потому что степень разброса в интервале 95% будет меньше.

Лаборатории должны стремиться использовать высокоточные методы и всегда следовать стандартным операционным процедурам.

Если КК «вне контроля»



Решение проблем

7-6: Использование результатов контроля качества

Если значение контрольной пробы, включенной в аналитическую серию, выходит из установленных пределов, то серия считается «вне контроля». Когда это случается, лаборатория должна предпринять следующие шаги.

- Выполнение анализов должно быть остановлено, и сотрудник должен постараться немедленно выявить и устранить причину проблемы.
- Как только вероятный источник ошибки будет выявлен и корректирующие действия проведены, контрольный материал должен быть перепроверен. Если он дает правильные значения, то должен быть повторен анализ проб пациентов вместе с другой пробой КК. Не повторяйте просто анализ, пока не найдена причина ошибки и не проведены корректирующие действия.
- Результаты анализов **должны выдаваться только после того**, как проблема будет разрешена и контроли дадут правильные значения.

Для разрешения проблем, связанных с контролем качества, полезно установить в лаборатории правила и процедуры для проведения корректирующих действий. Часто производители оборудования и реагентов предоставляют полезные рекомендации. Используйте любые доступные рекомендации по поиску и устранению проблем.

Следует рассмотреть следующие возможные причины:

- порча реагентов или тест-систем,
- порча контрольного материала,
- ошибка сотрудника,
- несоблюдение инструкции производителя,
- устаревший вариант протокола исследования,
- проблемы с оборудованием,
- неправильная калибровка.

7-7: Выводы

Выводы

Программа КК для количественных исследований является необходимой для обеспечения правильности и надежности лабораторных анализов. Лаборатория должна ввести программу КК для проверки всех количественных исследований. Задokumentированные правила и процедуры, которым следуют все сотрудники лаборатории, будут частью этой программы.

Основные обязанности по управлению программой КК обычно возложены на менеджера по качеству или сотрудника, отвечающего за качество. Это лицо должно регулярно проверять и анализировать все результаты КК. Записи результатов КК должны быть полными и доступными.

Для проверки количественных исследований используют статистический анализ, и карты Леви-Дженнинга являются полезным графическим средством для таких проверок.

В случаях, когда контрольные значения выходят из установленных пределов, должны быть проведены поиск причин и корректирующие действия; проблема должна быть устранена до выдачи результатов анализов проб от пациентов. Таким образом, хорошие протоколы по поиску и устранению неисправностей и по корректирующим действиям являются важной частью процесса контроля качества.

Основные положения

- Программа КК позволит лаборатории различить нормальный разброс и ошибки.
- Программа КК помогает отслеживать точность и воспроизводимость лабораторных исследований.
- Отчет с результатами анализов проб от пациентов не должен выдаваться, если результаты КК аналитической серии не соответствуют установленным в лаборатории значениям.

A decorative graphic on the right side of the page. It features a large orange circle on the left, a smaller orange circle on the right, and a light purple circle at the bottom. Two dark blue lines with white borders connect the orange circles, and another dark blue line with a white border connects the orange circle to the purple circle. The text is positioned in the upper left area of the page, partially overlapping the orange circle.

8. Контроль процессов – контроль качества качественных и полуколичественных исследований

Значение
в системе
управления
качеством

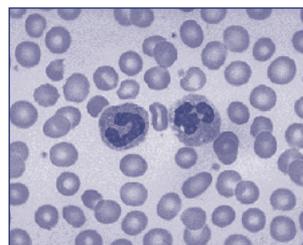
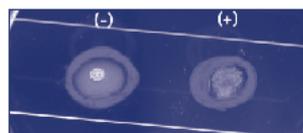
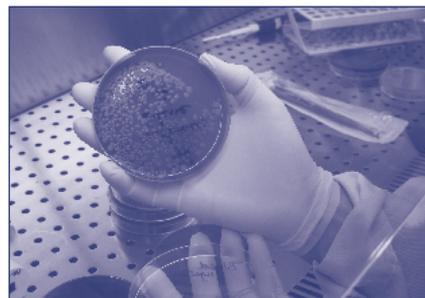
8-1: Общие сведения

Контроль качества (КК) – это компонент контроля процессов, и он является важным элементом системы управления качеством. Он проверяет процессы, которые относятся к собственно проведению исследования, и позволяет выявить ошибки в аналитической системе. Эти ошибки могут быть следствием проблем с аналитической системой, неблагоприятных условий работы или действий сотрудников. КК дает лаборатории уверенность в том, что результаты анализов являются точными и надежными, до того, как будет выдан отчет с результатами анализов проб от пациентов.

Данная глава объясняет, как применять методы контроля качества в качественных и полуколичественных лабораторных исследованиях.

Качественные исследования – это те исследования, которые определяют наличие или отсутствие анализируемого вещества или оценивают клеточные характеристики, например морфологию клетки. Результаты выражают не числами, а описательными или качественными терминами, такими как «положительный», «отрицательный», «реактивный», «нереактивный», «норма» или «патология».

Примерами качественных исследований будут микроскопические исследования морфологии клеток и наличия паразитов, серологические исследования на присутствие или отсутствие антигенов и антител,



Качественные
и полу-
количественные
исследования

Важные
принципы

некоторые бактериологические исследования и некоторые молекулярные методы.

Полуколичественные исследования похожи на качественные, они не определяют точного количества вещества. Разница заключается в том, что результатом этих анализов является **оценка** количества анализируемого вещества. В некоторых случаях эту оценку выражают в цифрах. Так, результаты полуколичественных анализов могут быть представлены как «следы», «1+», «2+» или «3+» или «положительный при 1:160» (титр или разведение). Примерами полуколичественных анализов будут тест-полоски для мочи, тесты в таблетках на выявление кетоновых тел и серологические тесты на агглютинацию.

Некоторые микроскопические исследования считаются полуколичественными, поскольку результаты выражают в оценке числа клеток в поле зрения под малым или большим увеличением. Например, микроскопическое исследование мочи может дать результат «0–5 эритроцитов в поле зрения под большим увеличением».

Как и в случае количественных анализов, до того, как передать результаты запросившему лицу, важно убедиться, что результаты качественных и полуколичественных анализов являются правильными.

Во многих таких исследованиях провести КК не так легко, как в количественных исследованиях. Поэтому, в дополнение к традиционным методам КК, тщательное выполнение других процессов в системе качества приобретает особую значимость. Ниже приведены некоторые важные общие принципы качества, применимые к качественным и полуколичественным анализам.

- Обращение с пробами является важным аспектом для всех лабораторных анализов. Для исследований, которые зависят от наличия живых организмов в пробах, потребуется более тщательный контроль и лучшее взаимодействие с персоналом вне лаборатории (см. главу 5).
- Мотивированный квалифицированный персонал, который понимает, что соблюдение принципов КК – это залог качества.
- Термостаты, холодильники, микроскопы, автоклавы и другое оборудование должны заботливо обслуживаться и тщательно контролироваться (см. главу 3).
- Положительные и отрицательные контроли должны применяться для проверки эффективности тех анализов, в которых используют специальные штаммы или реагенты, а также для анализов на конечный результат, таких как агглютинация или изменение цвета, и для других анализов с нечисловыми результатами.



- Реагенты должны храниться в соответствии с инструкциями производителей, должны быть помечены датой, когда их открыли и начали использовать, и должны быть списаны по истечении срока годности (см. главу 4).
- Для непрерывного улучшения системы качества в лаборатории необходимым является ведение записей по всем процессам КК и корректирующим действиям (см. главу 16).
- При возникновении проблем найдите и ликвидируйте их источник, а затем повторите анализ (см. главу 14).

Если результаты КК не соответствуют требованиям, отчет с результатами анализов проб от пациентов выдавать не следует.

8-2: Материалы контроля качества

Типы контролей

В исследованиях, относящихся к качественным и полуколичественным, используют разнообразные контрольные материалы. Контроли могут быть встроенными (в наборе или в процедуре), традиционными, т. е. похожими на пробы пациентов, или могут представлять собой контрольные культуры для бактериологических исследований.

Встроенные контроли

К встроенным контролям относят такие контроли, которые интегрированы в конструкцию аналитической системы, например в приспособление для теста из набора. Обычно на устройстве для теста отмечено определенное место, где в случае срабатывания или несрабатывания положительного и отрицательного контролей появляются окрашенные линии, полоски или точки. Таким образом, эти контроли ставятся автоматически при проведении каждого анализа. В инструкциях производителей такие контроли могут называться контролями на процедуру, встроенными контролями или внутренними контролями.



Большинство встроенных контролей проверяют только часть аналитического этапа, и тест-системы различаются по тому, что именно контролируют встроенные в них контроли. Например, встроенные в некоторые тест-системы контроли могут показывать, что все реагенты, которыми пропитано устройство, являются активными и работают правильно, тогда как в других тест-системах встроенные контроли показывают только то, что проба была добавлена и что раствор правильно прошел через устройство. Важно внимательно прочитать инструкцию производителя для того, чтобы понять, что именно контролируют встроенные контроли, и определить, нужны ли дополнительные контроли.

Примерами тест-систем со встроенными контролями являются экспресс-анализы на выявление антигенов и антител, например для выявления инфекционных заболеваний (ВИЧ/СПИД, грипп, болезнь Лайма, стрептококковая инфекция, инфекционный мононуклеоз), наркотиков, беременности или скрытого кровотечения в фекалиях.

Несмотря на то что встроенные контроли дают некоторую степень уверенности в правильности результатов, они не контролируют все условия, которые могут повлиять на результат. Для большей уверенности в правильности и надежности результатов исследований рекомендуется периодически анализировать традиционные контрольные материалы, похожие на пробы пациентов.

Иногда встроенные контроли называют внутренними контролями.



Традиционные контроли

Традиционные контроли приготовлены так, чтобы они имитировали пробы от пациентов, и для оценки аналитического процесса их исследуют вместе с пробами от пациентов. Положительные контроли должны давать ожидаемую реакцию, а отрицательные контроли должны не давать реакции, т. е. давать отрицательную реакцию на анализируемое вещество. Для того чтобы адекватно оценить качество анализа, необходимо использовать контроль такого же состава (матрицы), что и пробы от пациентов, включая вязкость, мутность и цвет. Контрольные материалы часто получают в лиофилизированном виде, и перед использованием их необходимо аккуратно реконструировать или растворить. Некоторые производители поставляют контроли вместе со своими тест-системами, но чаще их приходится покупать отдельно.

Традиционные контроли оценивают процесс исследования полнее, чем встроенные контроли. Они оценивают правильность всей аналитической системы, приемлемость условий окружающей среды (температура, влажность, рабочее место) и то, насколько правильно действует человек, выполняющий анализ.

Положительные и отрицательные контроли рекомендуются для многих качественных и полуколичественных анализов, включая определенные процедуры, при которых используются специальные красители или реагенты, а также для анализов по конечному результату, такому как, например, агглютинация или изменение цвета. Обычно такие контроли должны использоваться при каждой постановке анализа. Использование контроля также поможет проверить новую серию тест-системы или реагента, температуру в местах хранения и на рабочих местах и оценить процесс выполнения анализа новыми сотрудниками.

При использовании традиционных контролей для качественных и полуколичественных исследований необходимо соблюдать следующие правила:

- проводите исследование контрольных материалов так же, как и проб от пациентов;
- используйте положительный и отрицательный контроли желательно один раз в день постановки анализа, или, по меньшей мере, с частотой, указанной производителем;
- выберите положительный контроль, близкий к границе чувствительности анализа, для уверенности, что аналитическая система выявляет слабopоложительные реакции;
- для анализа агглютинации включите слабopоложительный контроль наряду с отрицательным и более сильным положительным контролями;
- для анализов, включающих этап выделения, например некоторых экспресс-анализов на выявление стрептококка группы А, выберите контроли, которые выявят ошибки в процессе выделения.

Контрольные культуры

Для КК в микробиологии используют живые контрольные микроорганизмы с известными реакциями для подтверждения того, что красители, реагенты и среды работают правильно. Эти культуры должны быть в наличии и аккуратно поддерживаться в виде стоков и рабочих культур. Для каждой реакции должны исследоваться как бактерии, дающие положительный результат, так и бактерии, дающие отрицательный результат.

Перечисленные ниже организации предоставляют эталонные штаммы, которые можно получить через местных поставщиков:

- ATCC (American Type Culture Collection) – Американская коллекция типовых культур,
- NTCC (National Type Culture Collection) – Национальная коллекция типовых культур (Великобритания),
- CIP (Pasteur Institute Collection) – Коллекция института Пастера (Франция).

Купленные эталонные штаммы поставляют обычно в лиофилизированном виде, и они должны храниться в холодильнике. После того как они реконструированы, высеяны на чашки и проверены на чистоту, из них можно выращивать рабочие культуры для контроля качества.

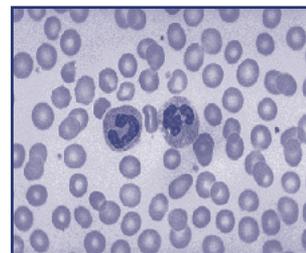
Некоторые лаборатории предпочитают использовать для КК изоляты, полученные в собственной лаборатории. В этом случае изоляты следует регулярно проверять, чтобы убедиться, что их исследуемые реакции не меняются с течением времени.

8-3: Контроль качества красителей

Красители используют во многих качественных и полуколичественных анализах для микроскопической оценки морфологии клеток, паразитов и бактерий, а также для определения их наличия или отсутствия. Красители используют в микроскопических исследованиях, которые предоставляют информацию для предварительного или окончательного диагнозов. Их часто применяют в гематологии, при анализе мочи, в цитологии, гистологии, бактериологии, паразитологии и в других видах лабораторных исследований.

В микробиологии для окрашивания фиксированных препаратов для выявления паразитов в фекалиях часто используют такие красители, как акридиновый оранжевый, трехцветный краситель и железный гематоксилин, а краситель Гимза – для выявления возбудителя малярии. Окраска по Граму используется для идентификации бактерий и дрожжевых грибов в колониях и пробах. Кислотоустойчивые красители являются особенно важными для предварительного диагноза, так как выращивание культуры микобактерий занимает несколько недель. Во многих лабораториях невозможно провести культуральное исследование *Mycobacterium tuberculosis*, и окончательный диагноз ставится на основании кислотоустойчивого окрашивания мазков. На свежих препаратах фекальных проб используют раствор йода для выявления цист и яиц, а гидроксид калия – для выявления элементов грибов.

Для исследования мазков крови используют краситель, который позволяет ясно видеть эритроциты, лейкоциты, тромбоциты и включения внутри клеток. Для различения клеток крови наиболее часто используют окрашивание по методу Райта, а в некоторых гематологических исследованиях используют специальные красители, чтобы отличить инфекцию от лейкемии.



В цитологических и гистологических исследованиях используют широкий набор красителей для получения информации, важной для постановки диагноза. Существует много других красителей для специальных целей.

Общие элементы КК будут сходны: красители должны быть правильно приготовлены и правильно храниться, их следует проверять, чтобы знать, что они работают, как положено. Помните, что многие микроскопические исследования с применением красителей являются исключительно важными для диагностики многих заболеваний.

Обращение с красителями

Некоторые красители закупают, а другие готовят в лаборатории в соответствии с установленными протоколами. Как только красители приготовлены, на флаконы следует прикрепить этикетку со следующей информацией:

- название красителя;
- концентрация;
- дата приготовления;
- дата начала использования;
- дата истечения срока годности / срок использования;
- инициалы сотрудника, приготовившего краситель.

Полезно вести журнал, в который записывать информацию о каждом используемом красителе, включая номер серии и дату получения. Дата истечения срока годности должна быть указана на этикетке. Некоторые красители со временем портятся и теряют свои свойства.

Красители следует всегда хранить при подходящей температуре и в соответствующем флаконе. Некоторые красители должны быть защищены от света. Иногда из концентрированных растворов готовят рабочие растворы. В этих случаях следует внимательно следить за хранением рабочих растворов.

Контроль качества

Поскольку красители играют очень важную роль, их следует проверять с положительным и отрицательным материалами КК один раз в день исследования, чтобы убедиться, что реагенты активны и дают правильные результаты. В большинстве случаев положительный и отрицательный контроли следует окрашивать вместе с каждой серией предметных стекол от пациентов. Все результаты КК должны быть записаны после каждого исследования контролей.

Красители следует также проверять на наличие осадка, образование кристаллов и бактериальное загрязнение. Правильное обращение с концентрированными и рабочими растворами красителей является важным компонентом системы, обеспечивающей хорошее качество микроскопических исследований.

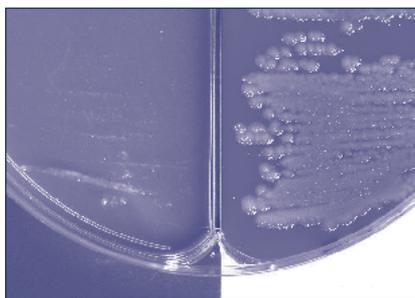
Помните, что многие красители токсичны, и при работе с ними соблюдайте соответствующие меры безопасности.



Для сред
необходим КК

8-4: Контроль качества микробиологических сред

Качество сред, используемых в микробиологической лаборатории, является ключевым условием получения правильных и надежных результатов. Некоторые среды являются необходимыми для выделения микробов, поэтому очень важно, чтобы они работали как положено. Процедуры КК предоставят уверенность, что среда не была контаминирована до использования и обеспечит рост того микроорганизма, который был на нее посеян.



Проверка
рабочих свойств

Рабочие свойства всех сред, используемых в лаборатории, должны быть подтверждены соответствующими методами КК. Для приготовленных в лаборатории сред эта оценка должна проводиться для каждой заново приготовленной партии; для всех закупленных сред проверка рабочих свойств должна проводиться для каждой новой серии.

Во всех случаях среды, приготовленные в лаборатории или купленные, должны быть тщательно проверены на:

- стерильность – инкубировать в течение ночи перед тем, как использовать;
- внешний вид – проверить на мутность, необычный цвет; поверхность агара – на достаточную влажность и ровность;
- pH;
- способность поддерживать рост – с помощью контрольных микроорганизмов;
- способность выдавать соответствующие биохимические результаты – с помощью контрольных микроорганизмов.

Использование контрольных микроорганизмов для проверки

Лаборатория должна располагать достаточным запасом контрольных, эталонных микроорганизмов, для того чтобы проверять все среды и тест-системы. Некоторые примеры важных контрольных микроорганизмов и проверяемых сред включают:

- *Escherichia coli* (ATCC 25922): МакКонки или эозин метиленовый синий (ЭМС), некоторые тесты на чувствительность к антимикробным препаратам.
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923): кровяной агар, маннитол-солевой агар и некоторые тесты на чувствительность к антимикробным препаратам.
- *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 49226): шоколадный агар и агар Тайер-Мартина.

Для селективных сред – параллельно с микроорганизмом, рост которого должен поддерживаться, посейте и контрольный микроорганизм, рост которого должен быть ингибирован. Удалите всю партию сред, которая не работает как положено.

Для дифференциальных сред – посейте на среду контрольные микроорганизмы, которые должны показать ожидаемые реакции. Например, на агар ЭМС и МакКонки высейте как бактерии, ферментирующие лактозу, так и бактерии, не ферментирующие лактозу, чтобы проверить, образуются ли колонии правильного вида.

Примечание: при приготовлении сред для обычных культур предпочтительно использовать овечью или лошадиную кровь. Не следует использовать кровяной агар, приготовленный на основе человеческой крови, так как он не даст правильной картины гемолиза при идентификации определенных микроорганизмов, а также может содержать ингибиторы. Кроме того, человеческая кровь может быть биологически опасной.

Журнал записи сред, приготовленных в лаборатории

Важно тщательно вести записи обо всех питательных средах, приготовленных в лаборатории. В журнал необходимо записывать следующее:

- дату и имя сотрудника, приготовившего среду;
- название среды, номер серии и производитель;
- число приготовленных чашек, пробирок, бутылок или флаконов;
- присвоенный номер партии;
- цвет, консистенция, внешний вид;
- число чашек, использованных для КК;
- результаты теста на стерильность через 24 и 48 часов;
- тест(ы) на рост;
- pH.

Исследования
с нечисловыми
результатами

8-5: Выводы

Качественные и полуколичественные исследования – это те исследования, которые дают нечисловые результаты. Качественные исследования позволяют определить наличие или отсутствие вещества или оценить характеристики клеток, например их морфологию. Полуколичественные исследования дают оценку того, как много содержится исследуемого вещества.

Качественные и полуколичественные исследования должны проверяться процессами КК. В этих процессах необходимо использовать контроли, которые максимально сходны по составу с пробами от пациентов. Во всех случаях, когда это возможно, должны быть использованы контроли качества, с помощью которых проверяется правильность работы тест-систем, реагентов, красителей и микробиологических сред.

Лаборатория должна ввести в действие программу КК для всех качественных и полуколичественных анализов. Для введения этой программы установите правила, обучите сотрудников, распределите обязанности и обеспечьте персонал всеми необходимыми для этого ресурсами. Убедитесь, что записи данных по контролю качества проводятся в полном объеме и что эти данные просматриваются сотрудником, ответственным за качество, и руководителем лаборатории.

Основные
положения

- Все сотрудники должны выполнять правила и процедуры КК.
- Всегда записывайте результаты КК и предпринятых корректирующих действий.
- **Если результаты КК неудовлетворительны, не выдавайте отчет с результатами анализов проб от пациентов.**