Příručka k vnitřní kontrole kvality

Příručka k vnitřní kontrole kvality

Editor: Luděk Šprongl

Autoři: Vladimír Bartoš, Marek Budina, Marie Kašparová, Josef Kratochvíla, Zdeněk Kubíček, Jakub Minář, Miloš Pollak, Martin Radina, Lubor Stančík, Luděk Šprongl, Miroslav Verner, František Všianský, Dana Trávníčková,

ISBN 978-80-254-1130-8

OBSAH:

Seznam zkratek 6
Úvod 8
Kapitola 1. Teorie kontroly kvality 10
1.1. Definice kvality 10
1.2. Zabezpečování kvality (Quality assurance) 11
1.3. SPC – statistické řízení procesu 11
1.3.1. Regulační diagramy jako nástroj SPC 13
1.3.2. Výpočet směrodatné odchylky pro použití v regulačních diagramech 13
1.3.3 Plány OCAP 18
1.3.4. Statistické požadavky na data kontroly kvality a jejich porušení 18
1.4. Cíle SPC 23
1.5. Požadavky na kvalitu 24
1.6. Doporučení na závěr 25
Kapitola 2. – Kontrola kvality v klinické laboratoři 26
2.1 Analytická variabilita metody 26
2.2 Bias - vychýlení 27
2.3 Celková povolená chyba - TEa 28
2.4 Kritická diference (RCV) 30
2.5 Delta check 31
Kapitola 3. Postupy pro vnitřní kontrolu kvality 32
3.1. Westgardova pravidla a jejich použití 32
3.1.1 Popis Westgardových pravidel 32
3.1.2 Nastavení Westgardových pravidel. 39
3.2 Algoritmus AON (průměr normálních hodnot pacientských dat) 41
3.3 Moderní regulační diagramy. 42
3.3.1 Regulační diagram CUSUM 42
3.3.2 Diagramy EWMA 44
3.3.3 Dynamický EWMA 45
3.3.4 Graf EWMV 46
3.3.5 Hotellingův diagram 47
Kapitola 4. Způsobilost procesů 48
4.1. Indexy způsobilosti 48
4.1.1 Stavy procesu 49
4.1.2. Indexy způsobilosti 49
4.2. 6 σ – six sigma 53
4.2.1 Aplikace sigmametriky do praxe zdravotnických laboratoří 55
4.2.2 Six sigma v klinické laboratoři, charakteristiky procesu
– průměr, směrodatná odchylka a bias 55
4.2.3. Six sigma a graf operačních specifikací 56
4.2.4 Závěr 57

Kapitola 5. Souvislost EHK a VKK ... 58
5.1. EHK a jeho role v procesu zajišťování kvality ... 58
5.2. Mezilehlá přesnost a bias (vychýlení) ... 58
5.3. Nástroje pro integraci výsledků VKK a EHK ... 59
5.3.1. Westgardův lineární vztah ... 59
5.3.2. Macdonaldovy vztahy ... 60
5.3.3. Sigmametrie (six sigma) ... 63
5.4. Odhady nejistot ... 66
Kapitola 6. Poznámky k praktickým aplikacím ... 70
6.1. Vnitřní kontrola kvality imunoanalytických metod ... 70
6.1.1. Přístup k realizaci VKK imunoanalytických metod ... 70
6.1.2. Volba kontrolních materiálů ... 72
6.1.3. Doplňkové kontrolní parametry u manuálních metod ... 73
6.1.4. Realizace VKK ... 76
6.2. Vnitřní kontrola kvality pro systémy POCT ... 80
6.3. VKK pro kvalitativní a „semikvantitativní“ metody ... 83
6.4. Reakce na nevyhovující kontrolní měření ... 84
Příloha – praktické příklady: ... 85
Poznámky ke konkrétním příkladům aplikace VKK
u imunoanalytických vyšetření ... 86
Provádění vnitřní kontroly kvality u kvalitativních (semikvantitativních)
testů – analýza moče testovacími proužky ... 89
Praktický postup – VKK pro draselných iontů ... 90
Praktický postup – VKK pro stanovení albuminu ... 93
Praktický postup – VKK pro stanovení glukózy ... 94
Praktický postup – VKK pro stanovení katalytické koncentrace ALT ... 96
Praktický postup – VKK pro stanovení parametrů ABR ... 99
Doporučení o vnitřní kontrole kvality ... 102
Závěr ... 105

Seznam zkratek

ANOVA – Analysis of Variance
ARIMA – AutoRegressive Integrated Moving Average
ARL – Average Run Lenght, průměrná délka série
CLIA – Clinical Laboratory Improvement Amendments
CLSI – Clinical and Laboratory Standard Institute
CQI – Continual Quality Improvement, kontinuální zlepšování kvality
CUSUM – Cumulative Summary, kumulativní součet
CV, CV_A – Variační koeficient
CV_I – Intraindividuální biologická variabilita, vyjádřená jako variační koeficient
CV_G – Interindividuální (skupinová) biologická variabilita, vyjádřená jako variační koeficient
EHK – Externí hodnocení kvality
EQC – Equivalent (electronical) Quality Control, ekvivalentní (elektronická) kontrola kvality
EWMA – Exponentially Weighted Moving Average, exponenciálně vážený pohyblivý průměr
EWMV – Exponentially Weighted Moving Variance, exponenciálně vážený pohyblivý rozptyl
FIR – Fast Initial Response
IA – Immunoassay, imunoanalytická metoda
iQM – Intelligent Quality Management, inteligentní řízení kvality
IVD – In Vitro Diagnostics
JIP – Jednotka intensivní péče
LCL – Low Control Limit, dolní kontrolní limit
LSL – Low Specification Limit, dolní specifikační limit
MA – Moving Average, pohyblivý průměr
OCAP – Out of Control Action Plan
OPS – Graf operačních specifikací
QA – Quality Assurance, zajištění kvality
QC – Quality Control, kontrola (řízení) kvality
QI – Quality Improvements, zlepšování kvality
QLP – Quality of Laboratory process, kvalita laboratorních činností
QP – Quality Planning, plánování kvality
POCT – Point of Care Testing, testy v místě péče
RCV – Reference Change Value, kritická diference
SD, SD_A – Směrodatná odchylka
SD_I – Intraindividuální biologická variabilita, vyjádřená jako směrodatná odchylka
SD_G – Interindividuální (skupinová) biologická variabilita, vyjádřená jako směrodatná odchylka

SD_T – Celková variabilita procesu, vyjádřená jako variační koeficient
SEKK – Systém externí kontroly kvality
SPC – Statistical Process Control, statistické řízení procesu
TAT – Turn Around Time, čas od odběru vzorku do předání výsledku
TE_a – Total Error Allowable, celková povolená chyba
TMU – Total (Target) Measurement Uncertainty, celková (cílová) nejistota měření
TQM – Total Quality Management, celkové řízení kvality
TV – Target Value, cílová hodnota
UCL – Upper Control Limit, horní kontrolní limit
USL – Upper Specification Limit, horní specifikační limit
VKK – Vnitřní kontrola kvality
WHO – World Health Organization; Světová zdravotnická organizace

Úvod

Martin Radina, Luděk Šprongl

Definice VKK dle WHO: VKK jsou postupy, které jsou prováděny personálem laboratoří ke kontinuálnímu hodnocení laboratorní práce a zejména patologických výsledků, aby se rozhodlo, zda jsou tyto dostatečně validní k uvolnění lékařům (buď k podpoře klinických závěrů nebo pro epidemiologické nebo výzkumné účely). Postupy VKK mají okamžitý efekt na laboratorní práci a měly by vést ke kontrole, popř. k vyloučení analytické série laboratorních výsledků.

Soustředění se na chyby v laboratorní medicíně je důležitou součástí mezinárodních snah týkajících se bezpečí pacientů. Včasné a správné sdělení laboratorních výsledků je jedním z pilířů efektivní diagnostiky a léčby. Téměř dvě třetiny rozhodnutí o přijetí či propuštění pacientů z nemocnice, stejně jako o předepsání léků, jsou založeny na laboratorních výsledcích.

Požadavky na vznik a provádění VKK jsou obsaženy i v základní normě týkající se klinických laboratoří – ČSN EN ISO 15189:2004. Tyto požadavky jsou obsaženy v kapitole 5.6.1 a 5.6.2.

Řízení kvality v klinické laboratoři je systém vytvořený ke zvýšení pravděpodobnosti, že každý výsledek vydaný laboratoří je validní a použitelný lékaři při diagnostickém a terapeutickém rozhodovacím procesu. Cílem řízení kvality je detekovat analytické chyby, v ideálním případě všechny ty, které mohou negativně ovlivnit rozhodovací medicínský proces.

Příručka je určena pro pracovníky laboratoří, kteří se podílejí na procesu řízení kvality a mají zájem tento systém dopracovat na nejlepší možnou úroveň. Příručka se věnuje základům teorie řízení kvality, probírá principy řízení kvality v klinických laboratořích stejně jako základní používané postupy při vnitřní kontrole kvality. Dále se věnuje souvislostem vnitřní kontroly kvality a externího hodnocení kvality, využití sigma metriky a postupům při hodnocení výsledků ve vnitřní kontrole kvality.

Analytická kvalita je definována v pokynech pro autory článků v časopise Clinical Chemistry následovně: Získané výsledky výkonnostních charakteristik je potřeba objektivně porovnat s dobře dokumentovanými požadavky na kvalitu jako jsou state of art publikovaná data, či požadavky organizátorů externího hodnocení kvality nebo doporučení expertních skupin.

Na zajištění kvality ve zdravotnických organizacích je kladen stále vyšší důraz především v souvislosti s bezpečím pacientů při diagnostickém anebo léčebném procesu. Tak jsou tlaky na ekonomiku péče spojeny i s požadavky na zlepšování kvality. Tyto v podstatě protichůdné požadavky na redukci nákladů na straně jedné a zlepšování kvality na straně druhé mohou zdravotnické organizace řešit i používáním nových systémů řízení kvality.

Ve zdravotnictví se nelze na řízení kvality dívat pouze jako na pouhé sledování výsledků analýzy kontrolního materiálu. Jednoznačně je potřeba pracovat podle principů „Komplexního řízení kvality“ (Total quality management, TQM).

Prvky vnitřní kontroly kvality se začaly prosazovat v laboratořích v průběhu 60. let minulého století. Jejich zavádění bylo z počátku velmi nepopulární, neboť stály a stojí čas, peníze a vyžadují odborné znalosti. Doposud převládají názory, že stačí odstranit chyby v pre- a postanalytické fázi, případně že odpovídající technologie a školení odborní pracovníci jsou sami o sobě zárukou kvality.

V 70. letech se přechází z principu pouhé kontroly kvality na systém zajištění kvality – Quality Assurance (QA). Tento pohled však znamenal především sledování analytické účinnosti a případně posuzování TAT.

Pod ekonomickým tlakem se pak v 80. a 90. letech přechází k CQI a TQM. TQM znamená jak filosofii řízení pro rozvoj organizace, tak procesy řízení pro zlepšování kvality ve všech činnostech.

Kvalitu lze mj. definovat i jako shodu analytických parametrů s požadavky uživatelů či zákazníků. Přesněji to pak znamená vyhovět požadavkům a očekáváním uživatelů služeb a zákazníků. U klinických laboratoří jsou uživateli služeb především lékaři, zákazníky pak pacienti a plátci péče. V této souvislosti je nutno porozumět i vztahu mezi kvalitou a cenou. Příkladem je opakování testů při nedostatečné analytické kvalitě. Porozumění vztahu ceny a kvality vede k novým pohledům na ně, zlepšování kvality znamená snížení nákladů. Při lepší analytické kvalitě laboratoř eliminuje opakování testů, tedy pokud se zlepší kvalita, sníží se zbytečná práce a sníží se náklady. Tvůrcem tohoto základního procesu je W. Edwards Deming, který prosadil myšlenku, že zlepšování kvality vede ke zvyšování produktivity a tím i ke snižování nákladů.

Pro TQM platí tzv. 5Q

- Plánování kvality (QP) – analytické, měřicí a kontrolní procedury (včetně objednávání testů, odběru a transportu vzorků a dat). Úkolem je především ochrana před možnými problémy.
- Kvalita laboratorního procesu (QLP) – kvalifikace personálu, přístroje a údržba, měřicí postupy. Úkolem je standardizovat laboratorní činnost.
- Řízení kvality (QC) – sledování a hodnocení procesů v laboratoři.
- Zajištění kvality (QA) – monitorování činností, TAT, označování vzorků.
- Zlepšování kvality (QI) – řešení problémů týkajících se kvality, stálé zlepšování procesů.

Celý postup je cyklický a směřuje k celkovému zlepšování kvality.

Pro funkčnost celého systému si laboratoře musí umět naplánovat kvantitativní požadavky na kvalitu, aby byly schopny zhodnotit stávající procesy a plánovat požadavky pro procesy nové. Laboratoř tedy musí být schopna definovat cíle své služby a nastavit požadavky na klinickou a analytickou kvalitu zajišťovaných testů. Bez nastavení těchto cílů nelze určit, zda bylo dosaženo požadované analytické kvality a nelze ani identifikovat procesy, které je nutno zlepšit, ani plánovat nové postupy a procesy.

Cíle kvality nelze postavit na jednotném principu. Mění se mezi laboratořemi, závisí na určení zdravotnické organizace či na profesionálním zájmu lékařů, využívajících služby dané laboratoře. Dále musí být požadavky na kvalitu v souladu s ekonomickými možnostmi. Nemusí být tedy vhodné nastavit nejvyšší možné požadavky na kvalitu, zvláště pokud na to nejsou k dispozici finanční prostředky. Na místě je nastavit požadavky na kvalitu realisticky tak, aby vyhovovaly a byly úměrné lékařským požadavkům.

Na závěr úvodu je nutno poznamenat, že v celém textu je používaná terminologie dle v ČR používané praxe.

Kapitola 1. Teorie kontroly kvality

Zdeněk Kubíček, Miloš Pollak, Dana Trávníčková

Motto

Quality assurance in clinical chemistry--time to go from theory to action

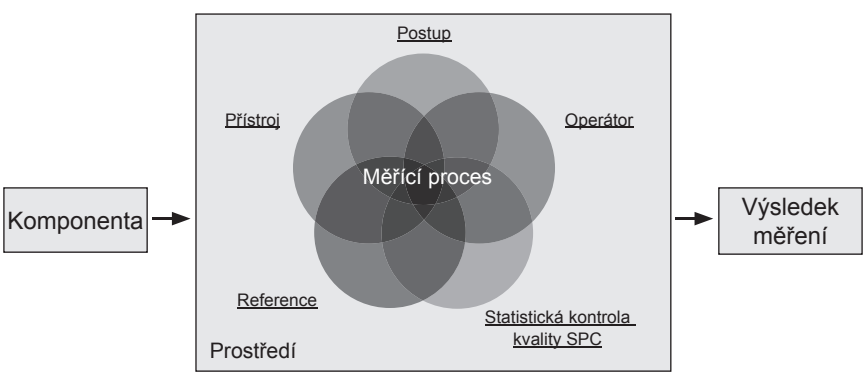
Název článku v Scand J Clin Lab Invest. 1986

1.1 Definice kvality

Navzdory častému používání pojmu kvalita je jeho definice obtížná. Je nepochybné, že správná definice vystihuje spojení s účelem používání produktu nebo služby, např. *„Kvalita výrobku je souhrnem vlastností podmiňujících způsobilost uspokojit potřeby odpovídající účelu jeho používání“*. Na významu role zákazníka objednávajícího produkt či službu nemění nic ani to, že mnohdy přímý zákazník nemá příliš přesnou představu o svých potřebách. Pojetí kvality a jejího řízení (QC, kontrola kvality) ve zdravotnických diagnostických laboratořích libovolného typu je bližší definice uvedená Westgardem jako *„Postup pro monitorování pracovního procesu detekující problémy a zajišťující nápravu ještě před dodáním produktu nebo služby“*.

Některé definice kladou důraz nejen na spokojenost zákazníka, ale i na efektivní využívání lidských, technologických a finančních zdrojů. Ať již přijmeme jakoukoliv definici kvality, spolehlivý výsledek vyžaduje nejen potřebné technické vybavení, ale práci a úsilí celého pracovního týmu, bez ohledu na funkci zastávanou v laboratoři.

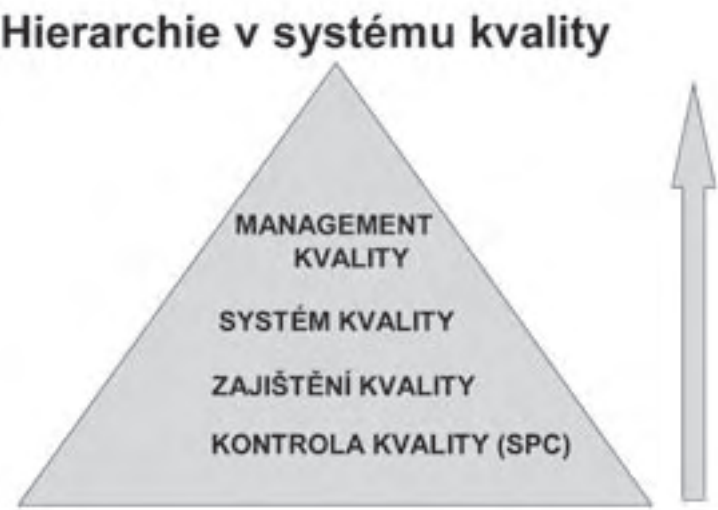
Chemický měřicí proces chápeme jako analytický postup definované struktury, který byl přiveden do stavu statistické regulace. Statistická kontrola (řízení) procesu (často označovaná zkratkou SPC) představuje hlavní součást systému kvality na pracovišti laboratorního nebo výrobního typu. Kontrolní proces nelze od měřicí části oddělit, neboť spolu vytváří analytický postup. Schematicky je to znázorněno na obr. 1.1.



Obr. 1.1 Měření jako proces

1.2 Zabezpečování kvality (Quality assurance)

Zabezpečováním kvality nazýváme systémový přístup k řízení kvality, který umožní detekovat a redukovat chyby, zlepšovat srovnatelnost výsledků v čase i mezi laboratořemi a bere v úvahu i náklady. Je nutné mít na paměti, že náklady na „dobrou“ kvalitu představují menší část toho, co ve skutečnosti zaplatíme za „špatnou“ kvalitu. V dalším textu se budeme zabývat výhradně kontrolou kvality, přesněji statistickou kontrolou kvality, ve smyslu následujícího obrázku. Obrázek 1.2 vystihuje hierarchickou strukturu systému kvality.



Obr. 1.2 Systém zajištění kvality, statistické řízení procesu (SPC).

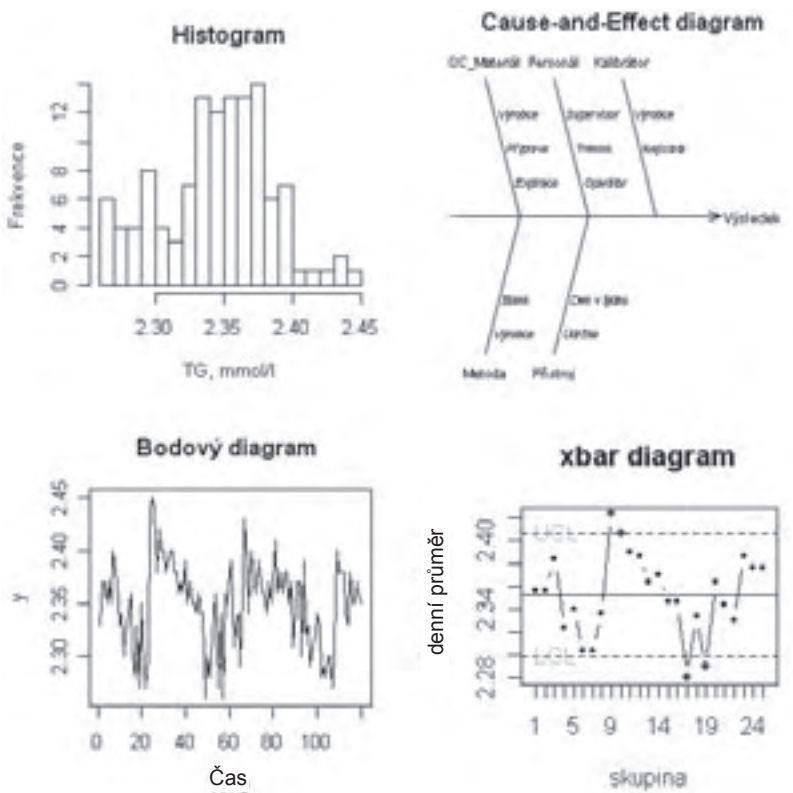
1.3 SPC – statistické řízení procesu

Pokud pojmeme kontrolu kvality jako souhrn postupů a technik pro kontinuální sledování a hodnocení výsledků s okamžitým efektem na jejich uvolnění pro klinické využití, máme vedle obecně známých a používaných regulačních diagramů k dispozici sadu dalších nástrojů. Tato sada je v literatuře nazývána např. „magnificient seven, Q seven“ apod. Jsou to:

- Kontrolní tabulky
- Vývojové diagramy
- Histogramy nebo diagram „stem and leaf“
- Diagramy příčin a následků
- Paretův diagram
- Bodové diagramy
- Regulační diagramy

Kontrolní tabulky pomáhají získat přesnější, především kvantitativní přehled o problémech. Uplatní se během fáze sběru dat.

Podobně jako vývojové diagramy umožňují detailní popis procesu, ale také poskytují informace o tocích a interakcích, které během procesu nastávají. Diagram příčin a následků (cause and effect) umožňuje zobrazit v jasné formě všechny faktory a jejich vzájemný vztah a identifikovat problémové oblasti. Není náhodou, že stejný typ diagramu je aplikován pro výpočet nejistoty výsledku. Paretův diagram je grafický nástroj i tabulka k odhalení rozhodujících příčin, které se podílejí na problémech (Pareto uváděl známé zjednodušení - 80 % problémů má jen 20 % příčin, zaměříme-li se na těchto 20 %, můžeme dosáhnout významných zlepšení). Histogram patří do nástrojů exploratorní statistiky, podobně jako bodové diagramy (scattergramy). Uplatní se během zkoumání předpokladů o datech – nepřítomnosti, či výskytu autokorelace a posouzení vlastností rozložení z hlediska normality. Diagram stonek s listy (stem and leaf) je variantou histogramu, ale v našich zemích zřídka používaný. Ukázky vybraných nástrojů pro zlepšování kvality jsou na obrázku 1.3.



Obr. 1.3 Nástroje pro zlepšování kvality

1.3.1 Regulační diagramy jako nástroj SPC

Převažujícím způsobem zpracování údajů kontrolních měření – v našem případě výsledků analýz – je využití regulačních diagramů. Regulační diagramy se používají všude tam, kde se postupně v čase získávají informace o kvalitě v podobě sledovaných parametrů kvality, znaků kvality. Nejčastěji to bývá měřená koncentrace, rozpětí v řadě dvou nebo více měření, popř. jejich směrodatná odchylka vynesená oproti pořadovému číslu měření, datu nebo jinému vyjádření času. Střední linie obvykle vyjadřuje průměrnou hodnotu znaku kvality (očekávanou hodnotu), diagram vždy obsahuje oba regulační limity – horní regulační limit UCL (upper control limit) a dolní regulační limit LCL (lower control limit).

Zatímco k odhadu střední linie (central line) použijeme aritmetický průměr, popř. medián, nevychýlený odhad směrodatné odchylky σ v podobě SD je závislý na uspořádání měření a typu regulačního diagramu. Spolehlivé určení směrodatné odchylky představuje klíč k správnému určení LCL a UCL a tím i k efektivnímu použití regulačního diagramu. K výpočtu kontrolních limitů se nejčastěji používají 3 směrodatné odchylky, což odpovídá pravděpodobnosti p = 0,0027.

Kontrolní limity pro data seskupená do podskupin se vypočtou podle vzorců:

$$LCL = \bar{x} - SD\frac{3}{\sqrt{n}} \;;\; UCL = \bar{x} + SD\frac{3}{\sqrt{n}},$$

kde SD je směrodatná odchylka uvnitř série.

Pro neseskupená, individuální data (vynášeny jsou jednotlivé hodnoty) platí

$$LCL = \bar{x} - 3SD \text{ a } UCL = \bar{x} + 3SD$$

kde SD je směrodatná odchylka vypočtená z pohyblivého rozpětí (viz níže).

1.3.2 Výpočet směrodatné odchylky pro použití v regulačních diagramech

V tabulce1.1 jsou uvedena data, která jsou dále použita jako příklad pro výpočty, resp. odhady směrodatné odchylky jak pro neseskupená, tak pro seskupená měření. V tabulce 1.2 je pak uveden přehled výsledků.

1.3.2.1 Individuální, neseskupená kontrolní měření

1. Standardní postup výpočtu $SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$ je platný pouze v případě, že proces je ve stavu statistické regulace a nevyskytuje se např. trend. Vypočítané SD jako odhad σ je 0,168.

2. Při aplikaci SPC je však obvyklejší a správnější vypočítávat směrodatnou odchylku pro regulační diagram z pohyblivých rozpětí následných hodnot souboru. Pokud $\overline{MR}$ je průměrné pohyblivé rozpětí, směrodatná odchylka je dána výrazem $SD = \frac{\overline{MR}}{1{,}128}$. Hodnota 1,128 je konstanta d2 z tabulky 1.3, pro průměrné pohyblivé rozpětí ze dvou sousedních hodnot. V níže uvedeném případě se jedná o 29 diferencí (tab. 1.1), pro něž $\overline{MR}$ = 0,167 a $SD = \frac{\overline{MR}}{1{,}128}$ = 0,148.

Tab. 1.1: Příklad různých přístupů výpočtu směrodatné odchylky v oblasti SPC

n	X1	X2	X3	Průměr (X1…X3)	Variační rozpětí R (X1…X3)	SD (X1…X3)	Δ – rozdíl mezi po sobě jdoucími měřeními (absolutní hodnoty X11-X21; X21-X31; X31-X12… atd) – **pohyblivé rozpětí**		
1	4,97	5,02	4,84	4,943	0,18	0,093	0,05	0,18	0,26
2	5,10	5,09	5,23	5,140	0,14	0,078	0,01	0,14	0,13
3	5,10	4,95	5,07	5,040	0,15	0,79	0,15	0,12	0,00
4	5,07	5,03	5,08	5,060	0,05	0,026	0,04	0,05	0,09
5	5,17	5,01	4,97	5,050	0,20	0,106	0,16	0,04	0,07
6	5,04	4,93	4,78	4,917	0,26	0,131	0,11	0,15	0,26
7	5,04	4,94	4,67	4,883	0,37	0,191	0,10	0,27	0,53
8	5,20	5,10	5,41	5,237	0,31	0,158	0,10	0,31	0,27
9	5,14	5,24	5,02	5,133	0,22	0,110	0,10	0,22	0,34
10	5,36	5,11	5,46	5,31	0,35	0,18	0,25	0,35	
				5,0713	**0,223**	**0,1153**	($\overline{MR}$) **0,167**		

Tab. 1.2: Příklady výsledků odhadů s různými způsoby

	0,12	Skutečné σ
$SD = \sqrt{\frac{(x_i - \overline{x})^2}{n-1}}$	0,168	Standardní postup, není vhodný pro seskupená data
$SD = \frac{\overline{MR}}{d2}$	0,148	Z průměru($\overline{MR}$) pohyblivých diferencí dvou sousedních vzorků (neseskupená data)
$SD = \overline{R} / d2$	0,132	d2(3) = 1,693
$SD = \frac{1}{k}\sum_{j=1}^{k} s_j / c4$	0,130	c4(3) = 0,8862
$SD = \sqrt{MS_R} / c4$	0,123	c4(20) = 0,9869

Tab. 1.3: Hodnoty koeficientu d2 pro výpočet směrodatné odchylky z rozpětí

n	2	3	4	5	6	7	8	9	10
d2	1,128	1,693	2,059	2,326	2,534	2,704	2,847	2,970	3,078

1.3.2.2 Výpočet směrodatné odchylky kontrolních měření seskupených do podskupin

1. Při vytváření podskupin měřených výsledků, což je nejtypičtější příklad uspořádání kontrolních měření nejen v průmyslu, ale i v laboratorní medicíně (v daném příkladu jsou skupiny tvořeny trojicí hodnot X1 – X3, které představují 3 měření téhož kontrolního vzorku v jednom dni) se vypočte SD podle vzorce $SD = \overline{R} / d2$, kde konstanta d2 z tabulky 1.3 je zvolena pro n=3, což je počet měření v seskupení. Vypočtená SD představuje nevychýlený odhad směrodatné odchylky uvnitř série, $\overline{R}$ je průměrné rozpětí ze sledovaných skupin, $SD = \overline{R} / d2$ =0,223/1,693=0,132.

2. Pro výpočet SD lze použít i průměrnou směrodatnou odchylku ve skupinách (tab. 1.1) a vydělit ji korekčním faktorem obecně označovaným c4, který zajišťuje nevychýlenost odhadu. Pro výraz $SD = \frac{1}{n}\sum_{j=1}^{n} s_j / c4$ nalezneme faktor c4 v tabulce 1.4. Pro data z příkladu vychází SD = 0,1153/0,8862=0,130.

Tab. 1.4: Hodnoty koeficientu c4 pro výpočet směrodatné odchylky z průměrné **SD** *jednotlivých skupin*

n	2	3	4	5	6	7	8	9	10
c4	0,7979	0,8862	0,9213	0,9400	0,9515	0,9594	0,9650	0,9693	0,9727

Konstantu c4 závislou na n, lze vypočítat podle vzorce:

$c4 = \sqrt{\frac{2}{n-1}} * \frac{\Gamma(n-1)}{\Gamma((n-1)/2)}$, kde funkce Γ, někdy také označována jako Eulerův integrál druhého druhu, se používá pro popis některých rozdělení ve statistice.

Pro větší n lze výpočet zjednodušit na vzorec: $c4 = 1 - \frac{1}{4n-1}$.

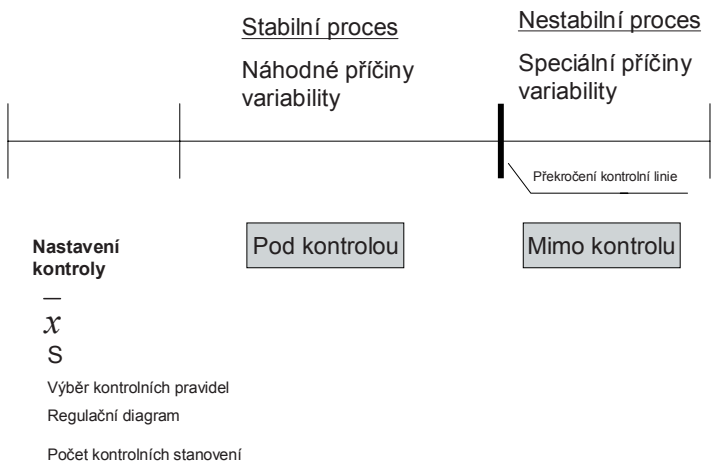
3. Podobně lze s výhodou směrodatnou odchylku komponent získat analýzou rozptylu tabulky ANOVA. Odmocnina z průměrného čtverce residuí tabulky ANOVA představuje směrodatnou odchylku uvnitř série. Nevychýlený odhad $SD = \sqrt{MS_R} / c4$ získáme korekcí koeficientem c4; pro velký počet stupňů volnosti platí zjednodušený výpočet z tabulky 2-3 $c4 = 1 - \frac{1}{4n-1}$. Tedy $SD = \sqrt{0{,}01563} / 0{,}9869$ = 0,123.

Tab. 1.5: Výsledky analýzy programem ANOVA

Zdroj variability	Počet stupňů volnosti	Suma čtverců odchylek	Průměr sumy čtverců	F	Fkrit	p
Mezi výběry	9	0,510213	0,05669	3,627797	2,392814	0,007852
Všechny výběry (residua)	20	0,312533	0,015627			
celkem	29	0,822747				

Vyhodnocení jednoduchých diagramů je prosté - sledovaný proces (tzn. měření) může být uvnitř limitů, pak je proces „pod kontrolou“ (in - control), nebo mimo limity, pak je proces „mimo kontrolu“ (out of control). S takovým modelem přišel ve třicátých letech minulého století W.A. Shewhart, proto se často tyto diagramy označují jako Shewhartovy. V roce 1950 doporučili použití Shewhartových diagramů v klinické laboratoři S. Levey a E. R. Jennings, proto se můžeme často setkat i s označením Levey-Jennings (L-J chart) diagramy. Regulační diagramy mají těsnou souvislost s problematikou testování hypotéz. Na diagram „$\bar{x}$“, do kterého vynášíme průměrné hodnoty z několika následujících kontrolních měření, můžeme nahlížet jako na postupně se opakující test průměru výběru s průměrem populace (střední hodnotou regulačního diagramu). Analogicky můžeme s postupy testování hypotéz uvažovat o chybě I. druhu regulačního diagramu (případ, kdy vyvodíme, že proces je mimo kontrolu, ačkoliv tomu tak ve skutečnosti není) a pravděpodobnosti chyby II. druhu (proces považujeme pod kontrolou, ačkoliv tomu tak není). Je zřejmé, že proces s vysokou pravděpodobností chyby prvního druhu (pravděpodobností falešného zamítnutí) vede v konečném důsledku ke snížení důvěry ve statistickou regulaci, a tak následně i ke zhoršení kvality.

Jako charakteristiky znaků kvality se používají průměr $\bar{x}$, směrodatná odchylka SD, variační rozpětí R apod. Regulační diagram „$\bar{x}$“ je výhodný a užitečný především tam, kde získání znaku je snadné a rychlé a nepřináší dodatečné náklady. Speciální typy regulačních diagramů, které využívají kumulativní součty (CUSUM), pohyblivé průměry (MA – moving average), vycházejí z metod analýzy časových řad. Je možné sestrojovat i vícerozměrné regulační diagramy, pokud sledujeme více znaků současně (tzv. Hotellingovy regulační diagramy).



Obr. 1.4 Hodnocení kontrolních diagramů

Používání regulačních diagramů má dlouhou historii a existuje přinejmenším pět důvodů jejich obliby:

- regulační diagramy se ukázaly vhodnou technikou pro zlepšování produktivity (v případě laboratoře zabraňují neustálému zbytečnému opakování měření)
- regulační diagramy jsou efektivní v prevenci chyb
- aplikace regulačních diagramů zabraňuje zbytečným adjustacím procesu (kalibrace)
- regulační diagramy poskytují operátorovi podklad pro okamžité rozhodnutí o stavu procesu
- regulační diagramy poskytují informace o způsobilosti procesu.

SPC v laboratorních oborech má tu výhodu, že proces je jednoduchý a dobře známý (chemické měření), rovněž tak jsou ustálené a obecně akceptované jeho základní charakteristiky (znaky), kterými jsou přesnost a pravdivost (vyjádřena kvantitativně jako bias). Také dlouhodobá zkušenost se statistickými pojmy a praktické provádění kontroly kvality přispívá k pochopení a akceptování strategie regulačních diagramů.

1.3.3 Plány OCAP

Velmi podstatnou částí kontroly kvality jsou tzv. „plány OCAP“. Nejslabším článkem kontroly kvality v klinických laboratořích bývají právě „špatné“ zvyky při stavu procesu „mimo kontrolu“. Mezi taková pochybení patří opakování kontrolních stanovení (se stejným nebo jiným kontrolním materiálem) bez jakékoliv akce, která by vedla k analýze a odstranění problémů. Regulační diagram může při opakované analýze signalizovat stav „pod kontrolou“, a to na základě náhodných vlivů, a tím se pouze prodlouží doba, po kterou neproběhne řádná analýza problémů a náprava příčiny. Přitom důkladný rozbor regulačního diagramu (výskyt náhodné nebo spíše systematické chyby, chování různých koncentračních úrovní kontrolních materiálů) spolu se souvisejícími okolnostmi analýzy (nové reagencie, výměna šarže reagencií, problém nastává u určitých typů reakcí, vlnových délek apod.) vede obvykle k rychlému nalezení závady, jejímu odstranění a ověření stavu procesu novou analýzou kontrolních materiálů. Vyžaduje však plánovitý přístup analytika a zkušenost.

1.3.4 Statistické požadavky na data kontroly kvality a jejich porušení

Vlastnosti výsledků získaných při kontrolních měřeních musíme ověřovat na nezbytné předpoklady jak ve fázi přípravy a konstrukce regulačního diagramu, tak i ve fázi, ve které se snažíme zjistit, zda je sledovaný proces pod kontrolou, nebo mimo ni. Sledujeme následující vlastnosti:

- normalitu, symetrii rozložení (nástrojem je histogram, popř. diagram stem and leaf)
- autokorelaci – zda měření nejsou vzájemně korelována (nástrojem jsou bodové diagramy „posunutých“ měření a výpočet autokorelačního koeficientu)
- zda data neobsahují vybočující měření – hrubé chyby
- konstantnost střední hodnoty, homogenitu (nástrojem je rozbor zobrazení regulačního diagramu vhodného typu).

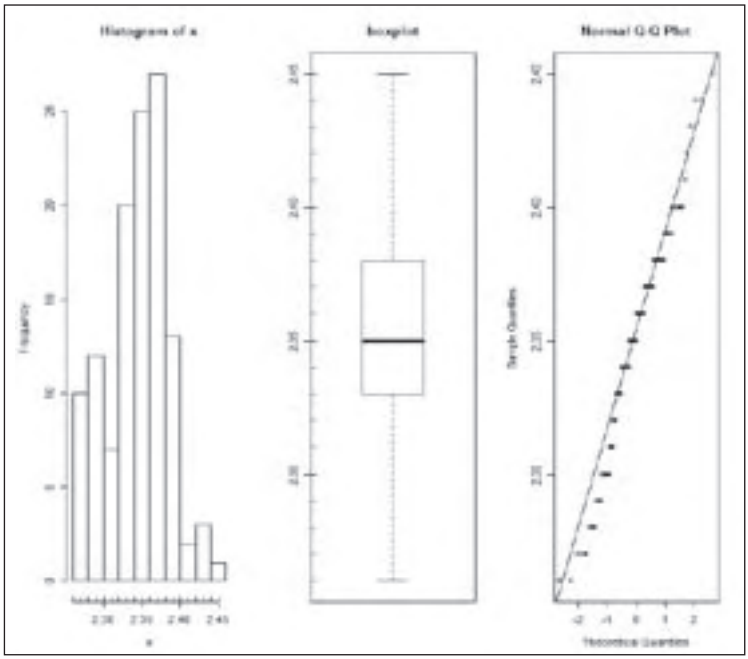
Tab.1.6: Triacylglyceroly, n=120: modelová data pro aplikaci exploratorní statistiky a pro výpočet autokorelačního koeficientu, popř. směrodatné odchylky regulačního diagramu (hodnoty jsou seřazeny po řádcích).

2,33	2,37	2,37	2,35	2,37	2,35	2,40	2,38	2,37	2,33
2,34	2,30	2,32	2,34	2,36	2,30	2,28	2,33	2,27	2,35
2,29	2,27	2,30	2,44	2,45	2,44	2,38	2,42	2,40	2,40
2,38	2,39	2,40	2,40	2,38	2,38	2,36	2,37	2,36	2,39
2,35	2,37	2,35	2,35	2,34	2,36	2,34	2,34	2,26	2,30
2,28	2,30	2,34	2,36	2,27	2,34	2,26	2,36	2,35	2,38
2,39	2,31	2,33	2,34	2,29	2,36	2,43	2,39	2,34	2,40
2,37	2,36	2,39	2,38	2,36	2,36	2,34	2,37	2,35	2,37
2,41	2,36	2,38	2,36	2,38	2,38	2,35	2,37	2,31	2,34
2,37	2,37	2,30	2,39	2,32	2,33	2,29	2,31	2,32	2,34
2,33	2,28	2,29	2,28	2,30	2,30	2,27	2,31	2,40	2,38
2,38	2,38	2,34	2,33	2,38	2,35	2,35	2,37	2,36	2,35

Normalita

Normalitu nebo míru symetrie lze odhadnout z histogramu, popř. Q-Q grafu, který navíc, podobně jako krabicový graf (box plot), vede k odhadu či identifikaci odlehlých hodnot. Nenormality se výrazně neprojeví v případě výběrů, kde n >5, u regulačních diagramů „$\bar{x}$“.

V případě hrubých odchylek nebo v diagramech pro individuální hodnoty je možné data normalizovat vhodnou transformací (Boxova-Coxova, mocninná, popř. logaritmická transformace). Ta je vhodná tam, kde sledované hodnoty přesahují velikost řádu. Regulační diagram se vede na transformovaných proměnných. Další možností je použít asymetrické limity v regulačním diagramu. Ukázka aplikace nástrojů exploratorní statistiky ke kontrole normality je na obrázku 1.5 při aplikaci dat z tabulky 1.6 – výsledky stanovení triacylglycerolů.



Obr. 1.5: Aplikace nástrojů exploratorní statistiky ke kontrole normality. Histogram, krabicový graf, Q-Q graf z dat v tab. 1.6. Existující odchylky od normality nejsou pro aplikaci QC kritické.

Autokorelace

Výskyt autokorelace v kontrolních datech je pro chemii a biochemii obzvláště typický. Při autokorelaci je i-tý výsledek závislý na výsledcích předcházejících měření i-1, i-2 apod. Podle toho rozlišujeme tzv. řád autokorelace. K popisu se obvykle používá zjednodušení autoregresního modelu $x_i = a_0 + a_1(x_i - a_0) + \varepsilon_i$, kde ε_i označuje tzv. bílý šum s normálním rozložením N(0,σ^2). Těsnost vztahu mezi následujícími měřeními lze charakterizovat autokorelačním koeficientem

$$\rho = \frac{\mathrm{cov}(xi, x_{i-1})}{\mathrm{var}(x_i)},$$

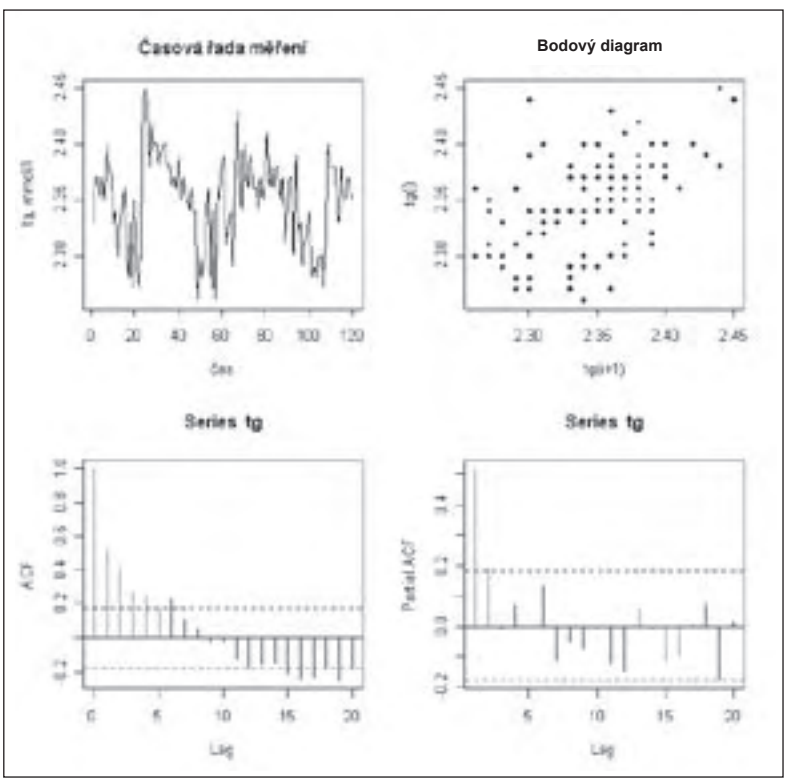
který je nevýznamně rozdílný od nuly pro nezávislá data.

Nejpodstatnější z hlediska analytika je skutečnost, že s rostoucím autokorelačním koeficientem roste i variabilita dat podle vztahu

$$\sigma_0{}^2 = \frac{\sigma^2}{1-\rho^2},$$

která zhoršuje kvalitu sledovaného procesu.

K autokorelaci dochází vždy, jestliže rychlost změn ovlivňujících faktorů, např. stárnutí činidel v analyzátorech, je relativně mnohem pomalejší proces vzhledem k frekvenci kontrolních měření. Proto moderní SPC pohlíží na kontrolní měření jako na časovou řadu korelovaných měření a používá také prostředků a pojmů analýzy časových řad – autokorelační funkce nebo parciální autokorelační funkce, metoda ARIMA pro popis a předpověď. Aniž bychom zacházeli do statistických podrobností, uvedeme, že po identifikaci modelu a odhadů parametrů časové řady využijeme pro konstrukci regulačních diagramů v případě výskytu autokorelace tzv. residuí $e_i = x_i - \hat{x}_i$ (rozdílu i-tého výsledku a jeho odhadu--předpovědi). Popřípadě můžeme využít dynamický EWMA s jednokrokovou predikcí střední hodnoty a rozptylu. Obvykle má však autokorelace zcela konkrétní příčinu vyplývající z podstaty měření (stárnutí reagencií, kalibrátorů, ISE elektrod). Je vhodnější tuto příčinu odstranit, než provádět složité operace s daty, což nepochybně povede ke zlepšení kvality v podobě snížené variability měření. Na druhé straně k detekci autokorelace nám poslouží ty nejjednoduší statistické nástroje - zobrazení časové řady měření a bodového diagramu závislosti $x_{(i-1)} \sim x_i$, jako je tomu na obrázku 1.6.



Obr. 1.6: Detekce autokorelace (data z tab. 1.6)

Popis a vysvětlivky k obr. 1.6:

Časová řada měření je graf posloupnosti výsledků (osa x) a jejich číselné hodnoty

Bodový diagram je konstruován vynesením sousedních výsledků měření proti sobě (x_i – osa y, proti x_{i+1} – osa x)

Grafy Series tg – závislost velikosti autokorelačního koeficientu (osa y) na řádu autokorelace (osa x)

Autokorelační koeficient 1. řádu vypočtený z dat v tabulce 1.6:

$$\rho = \frac{\mathrm{cov}(x_i, x_{i-1})}{\mathrm{var}(x_i)} = \frac{0{,}00086}{0{,}00164} = 0{,}52\,,$$

kde cov(x_t,x_{t-1}) je kovariance vypočtená jako průměr součinu odchylek $(x_i - \bar{x}_i)$ a $(x_{i-1} - \bar{x}_{i-1})$ a var(x_i) je rozptyl. Výsledek ρ = 0,52 potvrzuje významnou autokorelaci.

Tab.1.7. Výpočet absolutních hodnot diferencí výsledků sousedních měření triacylglycerolů (jiné uspořádání dat z tab. 1.6)

n	(1)	(2)	d=|(1)-(2)|
1	2,33		
2	2,37	2,33	0,04
…	2,37	2,37	0
…	2,35	2,37	0,02
…	…	…	…
…	…	…	…
…	…	…	…
…	2,37	2,35	0,02
119	2,36	2,37	0,01
120	2,35	2,36	0,01

Směrodatná odchylka počítaná z diferencí sousedních měření (viz tab. 1.7, resp tab. 1.6): $SD = \bar{d} / d2 = 0{,}0302521 / 1{,}128 = 0{,}02681924$, kde průměrná diference $\bar{d} = 0{,}0302521$ je vypočtena ze 119 diferencí. Koeficient d2 (pro dvě sousední měření) je převzat z tabulky 1.3.

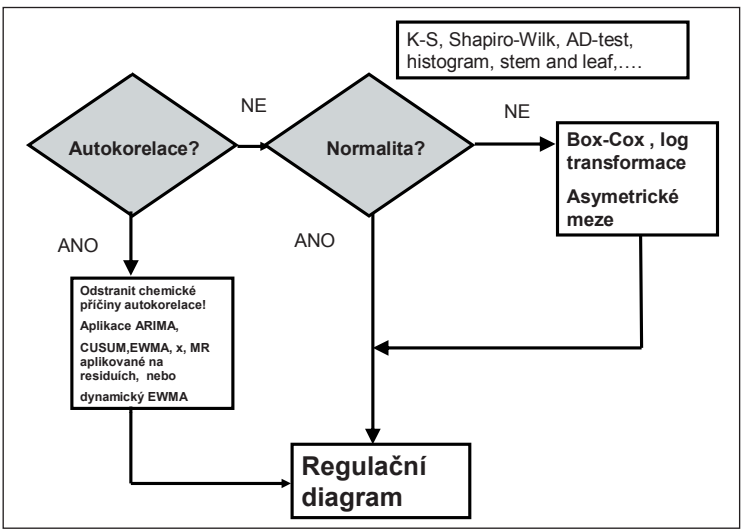
Významnost korelace posunutých měření lze však v prvním přiblížení dobře odhadnout a nebo spočítat jednoduchými prostředky (tabulkový procesor, kalkulačka). Snadněji lze spočítat celou autokorelační funkci za pomoci profesionálních programů i s odpovídajícími intervaly spolehlivosti a grafickým výstupem.

Při zjištění autokorelace obvykle měření neseskupujeme, nýbrž použijeme regulačních diagramů pro jednotlivá měření. Důvod je zřejmý - jednak seskupení kontrolních měření maskuje autokorelaci a také rozložení není jednoduché popsat.

Vybočující měření

Vybočující měření představují zcela obecný problém nejen v oblasti kontroly kvality. Určitým řešením je použít pro odhady výběrových charakteristik polohy a rozptylu robustní ekvivalenty těchto charakteristik.

Mechanické používání regulačních diagramů bez ověřování předpokladů pro jejich konstrukci může vyvolávat pochybnosti o účinnosti těchto statistických postupů a snížení zájmu a důvěry operátorů. Hlavního cíle kontroly kvality - zlepšování kvality vyjádřené snížením variability – pak není dosaženo.



Obr. 1.7 Statistické předpoklady na data pro kontrolu kvality

1.4 Cíle SPC

Cílem statistické vnitřní kontroly kvality je vybrat k analytickému postupu vhodná kontrolní pravidla = regulační diagramy, která zabezpečí:

- vysokou pravděpodobnost detekce (rozpoznání) chyby - $\mathbf{p}_{ed}$ (ed - error detection)
- nízkou pravděpodobnost falešného zamítnutí série - $\mathbf{p}_{fr}$ (fr - false rejection)
- bezprostřední rozhodnutí o přijetí nebo odmítnutí vyšetřovaného vzorku nebo série vzorků.

Analogii regulačního diagramu a testování hypotéz jsme již zmínili. V tomto smyslu je bod uvnitř limitů regulačního diagramu ekvivalentní nemožnosti zamítnout nulovou hypotézu statistické kontroly. Překročí-li bod vymezený interval, odpovídá to odmítnutí nulové hypotézy statistické kontroly $\mu_1 = \mu$. Tato analogie má i svá omezení - např. při skokové změně střední hodnoty.

1.5 Požadavky na kvalitu

Obtížnost této kritické části SPC vyplývá z nedostatku jasné koncepce a nejednotné terminologie. Jeví se užitečné uvědomit si rozdíl mezi analytickými požadavky na kvalitu, klinickými požadavky na kvalitu a operačními specifikacemi (znaky) procesu – směrodatnou odchylkou, bias, regulačním diagramem a počtem kontrolních stanovení. Dále je nutné brát na zřetel rozdílné pohledy a údaje, se kterými pracuje výrobce IVD (přesnost, bias), manažer kvality (splnění kritérií auditu, soulad s normou) a analytik, kterého musí zajímat vedle cílů kvality hlavně transformace na potřebné charakteristiky procesu a podrobnosti SPC (typ regulačních diagramů, počet kontrolních stanovení v sérii, splnění předpokladů statistické kontroly kvality, praktičnost provedení). Přesnost a pravdivost jsou analytické znaky procesu, nikoliv požadavky na kvalitu. Navíc to nejsou pojmy, kterými by vyjadřovali svoje požadavky naši zákazníci – lékaři a sestry - protože je nepoužívají při své práci k rozhodování.

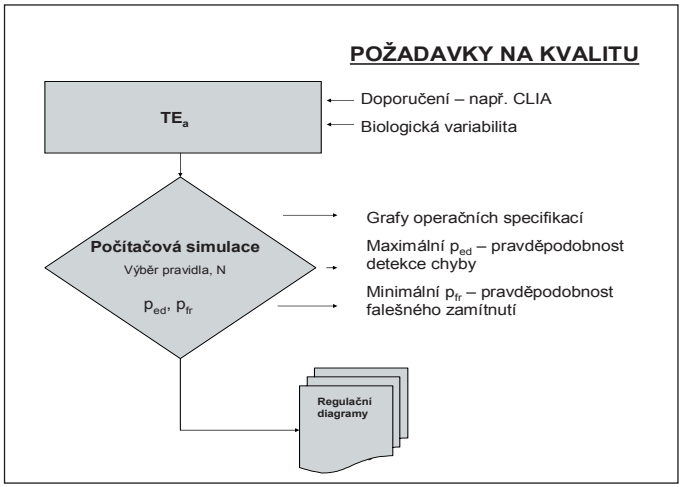
Významný posun při vymezení hierarchie modelů pro tvorbu požadavku na kvalitu směrem k analýze medicínských upotřebení výsledku přinesl Stockholmský protokol z roku 1999.

Praktické požadavky na kvalitu mohou vycházet ze tří zdrojů:

- klinické požadavky v podobě rozhodovacího intervalu D_{int}, který popisuje klinicky významnou změnu v testované hodnotě vyjádřenou v procentech
- požadavky na základě pozorované biologické variability, kdy požadovaná analytická přesnost je odvozována z intra-individuálního variačního koeficientu ($CV_A = 0{,}5 * CV_I$) a hodnota $bias_A$ je vypočítávána ze součtu čtverců intra-individuálního a inter-individuálního variačního koeficientu ($bias_A = 0{,}25*(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$), Z hodnot CV_A a $bias_A$ jsou vypočítávány kritické náhodné a systematické chyby pro aplikaci v grafech silových křivek jednotlivých kontrolních pravidel anebo OPS grafech (grafy operačních specifikací).
- analytické požadavky v podobě celkové přípustné analytické chyby TE_a nebo TMU (TE_a = bias + 1,65*CV, popř. jiný model).

Tyto požadavky je třeba transformovat do operačních specifikací – přesnosti, bias, kontrolních pravidel a počtu kontrolních stanovení.

Analytické požadavky vyjádřené pomocí TE_a se jeví jako doposud nejvhodnější především pro svoji srozumitelnost použitého modelu a také skutečnost, že odráží analytické možnosti vymezené současnou přístrojovou technikou. Kvalitní odhady biologické variability představují cestu ke specifikacím založeným na klinických požadavcích – monitorování individuálního pacienta a tvorbu diagnózy na základě referenčních mezí platných pro celou populaci.



Obr. 1.8 Požadavky na kvalitu v laboratorní medicíně

1.6 Doporučení na závěr

Co zadat do internetového vyhledávače společně s výrazem kvalita (quality)?

SCP, control, assurance, six sigma, W. Edwards Deming, Joseph M. Juran, Walter A. Shewhart, Levey-Jennings, J. O. Westgard, kvalita, Meloun a Militký, K. Kupka.

Literatura

1. Montgomery, Douglas C.: Introduction to Statistical Quality Control, John Wiley & Sons, 2001, ISBN 0-471-31648-2.
2. Meloun M., Militký J.: Kompendium statistického zpracování dat, Metody a řešené úlohy včetně CD, Praha, Academia, 2002, ISBN 80-200-1008-4.
3. Koruna I., Plzák Z., Friedecký B., Kratochvíla J.: Metrologická terminologie v analytické laboratoři, Pardubice, SEKK, CD 2003, ISBN 80-238-9775-6.
4 Kupka K.: Zajištění kvality analytických výsledků, Sborník přednášek ze semináře 28,-30.3.2002 v Komorní Lhotce, Český Těšín, 2 Theta, s. 201, ISBN 80-86380-02-5.
5. Friedecký B., Kratochvíla J.: Analytická kvalita v klinické laboratoři, Pardubice, SEKK, CD 2002.
6. www.westgard.com
7. Ihaka R., Gentleman R.: A language for data analysis and graphics, Journal of Computational and Graphical Statistics 5: 299-314 (1996).
8. Special Issue, Scan J Clin Lab Invest 1999; 59 (No. 7)

Kapitola 2. - Kontrola kvality v klinické laboratoři

Jakub Minář, Lubor Stančík

2.1 Analytická variabilita metody

Analyty stanovované v klinických laboratořích se neodmyslitelně vyznačují určitou variabilitou, která je dána preanalytickou variabilitou, variabilitou analytickou a intraindividuální biologickou variabilitou, kterou rozumíme rozptyl hodnot analytu daný biologickými vlivy a jejich působením v čase u biologického jedince. Interindividuální biologická variabilita pak představuje rozptyl mezi průměrnými hodnotami analytu u různých jedinců téže populace. Všechny tyto variability mají náhodný charakter a můžeme u nich proto předpokládat normální (Gaussovské) rozdělení. Pro matematický popis těchto veličin lze pak vyjádřit tuto variabilitu směrodatnou odchylku *SD*. Označíme-li analytickou variabilitu jako SD_A a intraindividuální biologickou variabilitu jako SD_I, pak pro celkovou variabilitu SD_T dostáváme následující vztah:

$$SD_T = \sqrt{SD_A^{\ 2} + SD_I^{\ 2}}$$

Použijeme-li pro vyjádření variabilit variační koeficienty, je výpočetní vztah analogický.

$$CV_T = \sqrt{CV_A^{\ 2} + CV_I^{\ 2}}$$

Výše příspěvku analytické variability k celkové variabilitě výsledku je uvedena v tabulce.

Poměr CV_A/CV_I	Příspěvek k celkové variabilitě výsledku (%)
1	41,4
2	123,6
0,75	25
0,5	11,8
0,25	3,1

Za optimální je považován stav, kdy je analytická variabilita nejvíce jednou čtvrtinou intraindividuální biologické variability: $CV_A < 0{,}25CV_I$. Za dobrý lze považovat i poměr $CV_A < 0{,}5CV_I$. V určitých případech, kde současná technologie a metodologie neumožňuje dosažení lepších výsledků, lze akceptovat analytickou variabilitu ve výši tří čtvrtin intraindividuální biologické variability: $CV_A < 0{,}75CV_I$.

2.2 Bias - vychýlení

Systematickou chybu měření představuje bias (vychýlení) jako rozdíl mezi naměřenou a očekávanou hodnotou. Bias je nutno zahrnout do celkové povolené chyby a rovněž je potřeba uvažovat jeho vliv při posuzování výsledků vzhledem ke stanoveným referenčním intervalům.

Uvažujeme-li stanovení referenčních mezí obvyklým způsobem – vyloučením 2,5 % hodnot z každé strany distribuční křivky výsledků při Gaussovském rozdělení, pak při pozitivním bias roste počet pacientů s falešně vysokým výsledkem a klesá počet pacientů s falešně nízkým výsledkem. Ze zvonovitého tvaru Gaussovy křivky lze vyvodit, že počet pacientů s falešně vysokým výsledkem je vyšší než počet pacientů s výsledkem falešně nízkým. Při negativním bias je situace opačná - vyšší je počet pacientů s falešně nízkým výsledkem než pacientů s výsledkem falešně vysokým.

Při stanovení referenčních mezí přihlížíme k intraindividuální a interindividuální biologické variabilitě. Vyjádříme-li obě tyto veličiny formou variačních koeficientů, pak pro jejich celkový příspěvek, který můžeme označit jako „skupinovou" biologickou variabilitu, dostáváme vztah:

$$\sqrt{CV_I^{\,2} + CV_G^{\,2}}$$

kde CV_I je intraindividuální a CV_G interindividuální biologická variabilita. Analytický bias B_A by pak měl být menší než jedna čtvrtina výše zmíněné skupinové biologické variability.

Při této velikosti bias B_A a stanovení referenčního intervalu, viz výše, je na jedné straně distribuční křivky mimo mez 4,4 % výsledků a na druhé straně 1,4 % výsledků. Celkově pak leží mimo stanovený referenční interval 5,8 % výsledků, což je pouze o 0,8 % více než 5 % (2x 2,5 %), které obvykle vylučujeme.

Bias jako násobek skupinové biologické variability	Výsledky ležící mimo stanovený referenční interval	Navýšení falešně patologických výsledků (%)
0,375	6,7	34
0,250	5,8	16
0,125	5,1	2

Akceptovatelná velikost bias je i 3/8 skupinové biologické variability

$$B_A \leq 0{,}375\sqrt{CV_I^{\,2} + CV_G^{\,2}}$$

při této velikosti bias leží na jedné straně distribuční křivky mimo zvolený referenční interval 5,7 % výsledků a na druhé straně 1 % výsledků (6,7 % celkem).

Ideální bias je menší než 1/8 této variability

$$B_A \leq 0{,}125\sqrt{CV_I^{\,2} + CV_G^{\,2}}$$

V tomto případě leží mimo referenční meze 3,3 % výsledků na jedné straně křivky a 1,8 % výsledků na straně druhé (celkem 5,1 %).

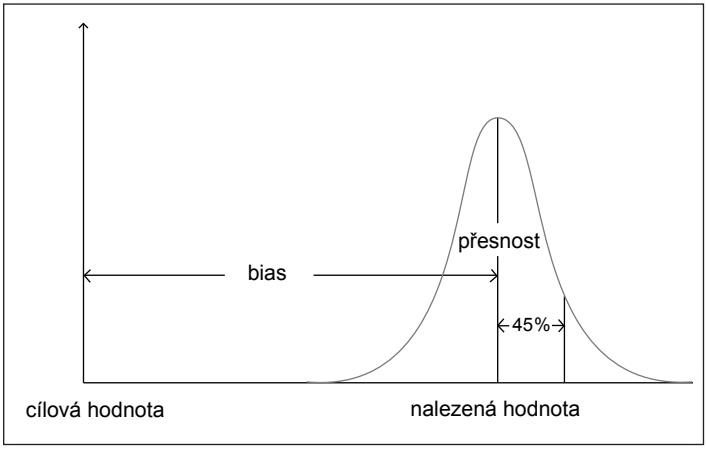
2.3 Celková povolená chyba - TE_a

Pro celkovou povolenou chybu (TE_a) platí vztah

$$B_A \leq 0{,}25\sqrt{CV_I^{\,2} + CV_G^{\,2}}$$

$TE_a = B_A + z*SD\ (CV)$, kde z může být v rozmezí 1 - 4.

Hodnoty z pro 95 % a 99 % interval jsou 1,65 respektive 2,33.



Obrázek 2.1: Grafické znázornění matematického vztahu pro TE_a

Nejčastěji používaný vzorec $TE_a = B_A + 1{,}65*CV_A$ vychází z kvantilu jednostranného intervalu normálního rozdělení, pod kterým leží 95 % naměřených hodnot (viz obrázek č. 2.1). Jednostranné Z skóre má v tomto případě hodnotu 1,65.

Aplikujeme-li v daném vzorci kritéria pro akceptovatelný bias a variabilitu výsledku, pak pro celkovou přípustnou chybu dostáváme vztahy:

pro akceptovatelnou kvalitu stanovení

$$TEa \leq 1{,}65(0{,}5CV_I) + 0{,}25\sqrt{CV_I^{\,2} + CV_G^{\,2}}$$

pro minimální kvalitu stanovení

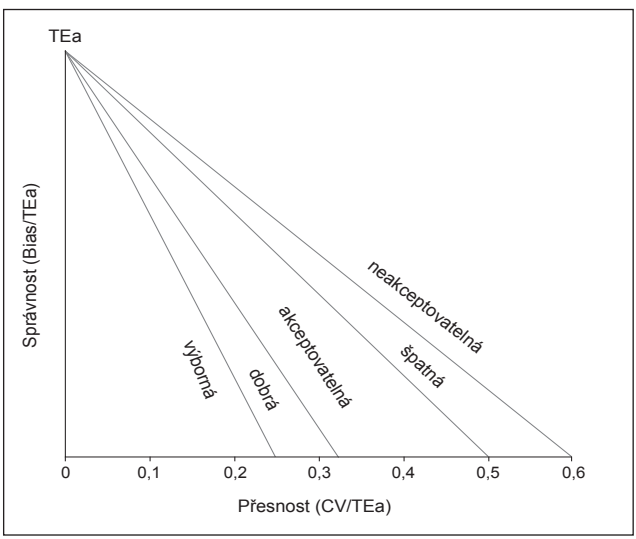
$$TEa \leq 1{,}65(0{,}75CV_I) + 0{,}375\sqrt{CV_I^{\ 2} + CV_G^{\ 2}}$$

pro optimální kvalitu stanovení.

$$TEa \leq 1{,}65(0{,}25CV_I) + 0{,}125\sqrt{CV_I^{\ 2} + CV_G^{\ 2}}$$

Hodnoty intraindividuálních CV_I a interindividuálních CV_G biologických variabilit je možno získat z různých informačních pramenů, např. www.westgard.com. Hodnotu celkové povolené chyby TE_a je také možno převzít ze systému EHK (TE_a, *TMU*).

Vyjádříme-li analytickou správnost dané metody jako poměr bias B_A a celkové povolené chyby a analytickou přesnost jako poměr variačního koeficientu CV_A a celkové povolené chyby, můžeme pro zjištění analytické kvality dané metody použít následující rozhodovací graf.



Obr. 2.2 Rozhodovací graf

Na osu *x* vynášíme poměr CV_A/TE_a s tím, že významnými jsou body $TE_a/4$, $TE_a/3$ a $TE_a/2$. Hraničním je bod $TE_a/1{,}65$. Na osu *y* vynášíme poměr B_A/TE_a.

Metoda s výbornou analytickou kvalitou pak v rutinním provozu klade minimální nároky na kontrolu kvality. Metoda s dobrou analytickou kvalitou vyžaduje při rutinním provozování cílené plánování systému kontroly kvality. Při akceptovatelné kvalitě metody lze konstatovat, že poskytuje dobré výsledky v případě, že všechny parametry metody jsou optimalizovány, ale bude problematické tuto metodu používat v rutinním provozu. Metoda se špatnou analytickou kvalitou je pro rutinní použití nevhodná.

2.4 Kritická diference (RCV)

Zajištění kvality výsledků v klinické laboratoři nestojí pouze na měření kontrolních materiálů a následném zpracování statistickým aparátem. Ten sice nabídne kvalifikovaný odhad celkové nejistoty měření, který je případně nižší než nejistota požadovaná, a proto je pro pacienta a jeho lékaře přínosem, ale nepostihne část náhodných chyb měření a nebere přímo v úvahu biologickou variabilitu (proměnlivost) daného analytu.

Přestože možnost kontroly analytických metod měřením kontrolních vzorků je zásadní, pro určení kvality výsledků je důležité též dlouhodobě pracovat i se statistikami výsledků samotných pacientských vzorků. Typicky dlouhodobý průměr metody nebo nastavení delta-checků, např. na základě spočítaných kritických diferencí, jsou v klinické oblasti stěžejní. Také grafické znázornění významně se měnících hodnot výsledků uvolněných laboratoří je přínosné.

Aby bylo možné optimálně nastavit sledování odchylek od dlouhodobého průměru metody, je nutné vzít v úvahu, o jakou laboratoř se jedná. V případě nemocničních zařízení je předpoklad většího rozptylu hodnot výsledků hospitalizovaných pacientů, než u zařízení „state alone" s pacienty léčenými ambulantně. V prvním případě je nutné vyloučit převážně data pacientů v těžkých stavech, ve druhém data pacientů klinicky pravděpodobně zdravých. Dlouhodobý průměr a jeho odchylku je doporučeno nastavit v půlročních intervalech. Denní počet stanovení pro užití k výpočtu průměru nemá být menší než 20.

Důležitým měřítkem hodnocení analytických výsledků v čase je kritická diference. Jedná se o relativní rozdíl mezi dvěma po sobě jdoucími výsledky měření, který lze při dané úrovni analytické variability a biologické variability označit za významný pro námi zvolený interval spolehlivosti.

Výpočet kritické diference RCV:

$$RCV = \sqrt{2} * Z * \sqrt{CV_A^{\ 2} + CV_I^{\ 2}}$$

pro 95% interval spolehlivosti, kde Z=1,96:

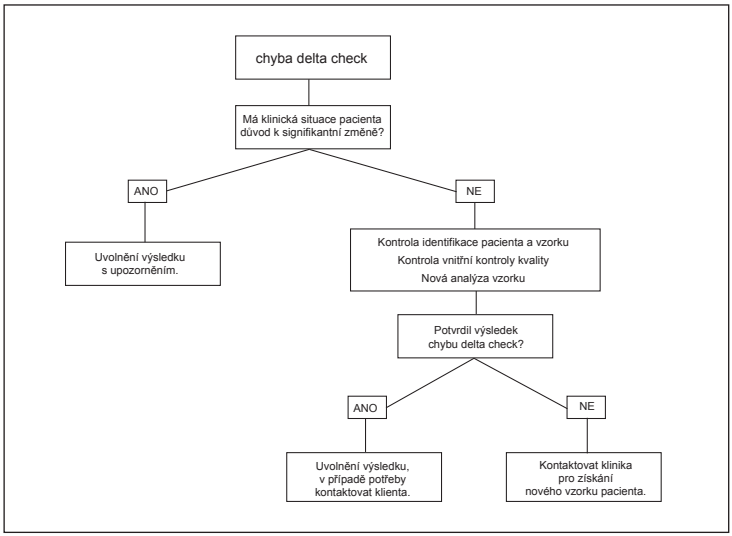
$$RCV = 2{,}77\sqrt{CV_A^{\ 2} + CV_I^{\ 2}}$$

nebo pokud známe vychýlení (B_A) metody:

$$RCV = B_A + 2{,}33\sqrt{CV_A^{\ 2} + CV_I^{\ 2}}$$

2.5 Delta check

Nastavení delta-checků pro autovalidaci po sobě jdoucích výsledků u jednoho pacienta je na základě výpočtu kritické diference relativně jednoduché, známe-li však biologickou variabilitu daného analytu. Např. v případě léčiv je situace mnohdy jasnější díky známému farmakokinetickému chování léčiva. Delta-checky lze počítat jako relativní rozdíly mezi jednotlivými stanoveními analytu, ale také jako absolutní odchylky dvou výsledků. Problém nastává v situacích, kde není biologická variabilita známá a analyt je endogenní povahy. V takových případech je nutné delta-checky nastavit velmi přísně a postupně, díky zkušenosti lékařů, provádět kontrolu výsledků a optimalizovat hodnoty delta-checků. Tedy povolit z nastavené přísnosti tolik, kolik praktická zkušenost kliniků ukáže. Následující schéma ukazuje, jak se zachovat, když dojde k porušení pravidel, chybě delta-check.



Obr. 2.3 Schéma použití delta-check

Literatura:

1. Fraser C. G.: Biological variation: From Principles to Practice, ACC Press 2001, ISBN 1-890883-49-2
2. Friedecký B., Kratochvíla J., Kubíček Z.: Metrologie chemických měření v laboratorní medicíně 2006, SEKK 2006, ISBN 80-239-7567-7
3. Koruna I., Friedecký B., Plzák Z., Kratochvíla J.: Metrologická terminologie v analytické laboratoři, CD – ROM, SEKK 2003
4. www.westgard.com

Kapitola 3. Postupy pro vnitřní kontrolu kvality

Luděk Šprongl, František Všianský

3.1 Westgardova pravidla a jejich použití

3.1.1 Popis Westgardových pravidel

Poznámka úvodem: v této kapitole směrodatná odchylka SD = s v názvech pravidel, s - ponecháno v souladu s dlouhodobě používaným značením.

James O. Westgard vytvořil spolu s kolegy jednoduchý a snadno použitelný systém pro detekci chyb v analytickém procesu – Westgardova pravidla.

Základní koncept publikoval se svými kolegy prof. Westgard v roce 1981. Byl založen na procesech statistické kontroly kvality používané v průmyslu od padesátých let minulého století. Westgardovo schéma má 6 základních pravidel: 1-3s, 2-2s, R-4s, 1-2s, 4-1s a 10x. Tato pravidla lze používat buď samostatně, nebo v kombinaci (multi-pravidla) pro hodnocení kvality analytických postupů.

Důvody pro použití uvedených pravidel:

- Minimalizovat zbytečná opakování měření, pokud by se používalo pouze pravidlo 1-2s pro odmítnutí série
- Zvýšit pravděpodobnost záchytu chyby oproti použití pouze pravidla 1-3s
- Využít pravidla pro rozpoznání náhodné a systematické chyby (1-3s a R-4s detekuje náhodnou chybu; 2-2s, 4-1s a 10x detekují systematickou chybu).

Vysvětlení čísel v pravidlech: číslo před pomlčkou znamená, jak často situace nastala, za pomlčkou je velikost odchylky vyjádřená jako násobek směrodatné odchylky.

<u>Základní pravidla</u>

1-2s

Varovné pravidlo, jedna hodnota přesáhla průměr o 2 SD na libovolnou stranu.

Pokud laboratoř použije pouze toto pravidlo jako rozhodující, může nesprávně označit jak výsledek kontrolního měření, tak výsledky u pacientů za špatné.

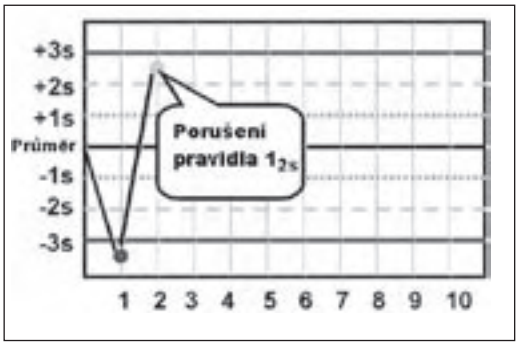
Analytická série nemusí být obvykle odmítnuta, pokud jsou výsledky měření VKK mimo limit 2SD, ale uvnitř limitu 3SD. Přibližně 4,5 % validních výsledků VKK je mezi limitem 2SD a 3SD. Pokud pracuje laboratoř pouze s pravidlem 1- 2s, příliš často odmítá validní výsledky.

Pravidlo 1-2s bylo původně určeno jako varovné pravidlo pro manuální použití Westgardových pravidel. Pokud je jedno kontrolní měření mimo limit 2SD při manuální aplikaci Westgardových pravidel, je potřeba zkontrolovat další výsledky kontrolních mě-

ření jak v sérii, tak mezi sériemi. Pak je teprve možno rozhodnout o přijetí či odmítnutí série výsledků. Při použití počítačového hodnocení Westgardových pravidel obvykle není nutné použít uvedené pravidlo.

Procenta zbytečně odmítnutých sérií:
5 % při měření VKK na jedné hladině,
10 % při dvou hladinách,
14 % při třech hladinách.

Nepříznivé důsledky falešného odmítnutí – ekonomické ztráty z opakování testů, zbytečná práce a prodloužení TAT.

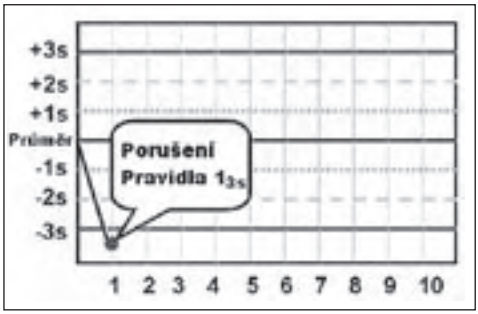


Obr. 3.1.1

1-2,5s
Pravidlo indikující především náhodnou chybou, ale může znamenat i systematickou chybu. Uplatňuje se pouze uvnitř série, nepatří mezi hlavní pravidla.

1-3s
Toto pravidlo odhaluje neakceptovatelnou náhodnou chybu nebo počátek velké systematické chyby. Překročení limitu 3SD je vždy důvodem k odmítnutí série. Falešně odmítnutých sérií je totiž pouze 0,3 %, tedy 3 z 1000. Při jednom měření za den pak je to 1 série za rok.

Porušení tohoto pravidla, ač je statisticky významné, nemusí být biologicky či klinicky relevantní. Řada analytických systémů je totiž podstatně přesnější, než je potřeba z medicínského hlediska.



Obr. 3.1.2

1-3,5s

Porušení tohoto pravidla indikuje náhodnou chybu, ale může souviset i se systematickou chybou. Pro opakování série stačí, aby byla jedna kontrola mimo 3,5SD limit. Toto pravidlo se aplikuje pouze v sérii.

1-4s

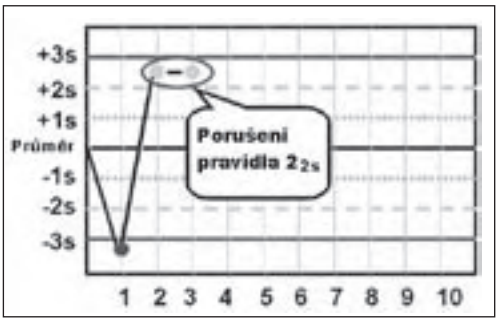
Porušení tohoto pravidla indikuje náhodnou chybu, ale může souviset i se systematickou chybou. Pro opakování série stačí, aby byla jedna kontrola mimo 4SD limit. Toto pravidlo se aplikuje pouze v sérii.

2-2s

Pravidlo odhalující pouze systematickou chybu, podmínkou je porušení pravidla 1-2s 2x za sebou na stejné straně průměru. Pravidlo se aplikuje uvnitř série i mezi sériemi.

Uvnitř série: dvě kontrolní měření jsou vzdálena na stejnou stranu od průměru o více než 2SD. Systematická chyba se projevuje zřejmě v celé oblasti kalibrační křivky.

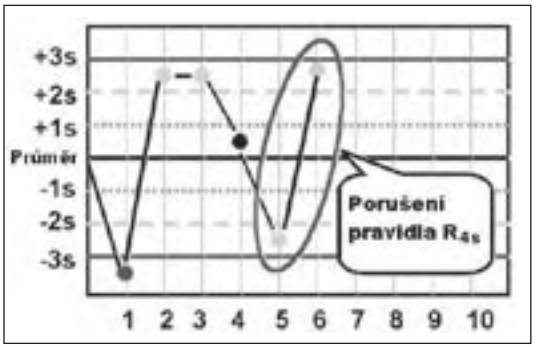
Dvě série po sobě je na stejné hladině vzdálenost výsledku kontrolního měření o více než 2SD od průměru na stejnou stranu. Jedná se o systematickou chybu projevující se pouze v části kalibrační křivky.



Obr. 3.1.3

R-4s

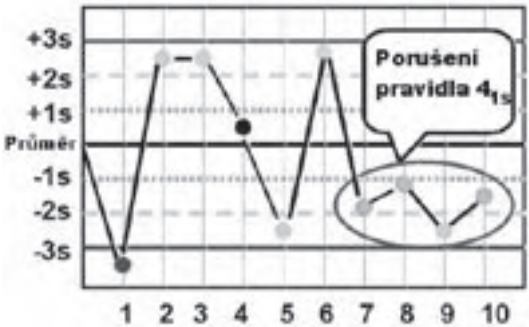
Toto pravidlo identifikuje náhodnou chybu a je aplikovatelné pouze pro aktuální sérii. Opakování série se provádí, pokud dojde k rozdílu 4s mezi dvěmi kontrolními měřeními v jedné sérii. Například byly v jedné sérii měřeny kontrolní vzorky na hladině jedna a dvě. Výsledek hladiny 1 byl 2,3 SD nad průměrem a výsledek pro hladinu 2 byl 1,8 SD pod průměrem. Pak je celkový rozdíl výsledků větší než 4SD (2,3SD –(-1,8SD)) = 4,1SD.



Obr. 3.1.4

3-1s a 4-1s

Poslední 4 nebo 3 hodnoty kontrolních měření jsou vzdáleny o více než 1SD od průměru stejným směrem. Pravidlo se hodnotí jak uvnitř jednoho kontrolního materiálu (pro jednu hladinu), tak mezi kontrolními materiály (hladinami). V prvém případě jde o systematickou chybu v menší oblasti měřicího rozsahu, ve druhém jde o systematickou chybu v celém měřicím rozsahu.

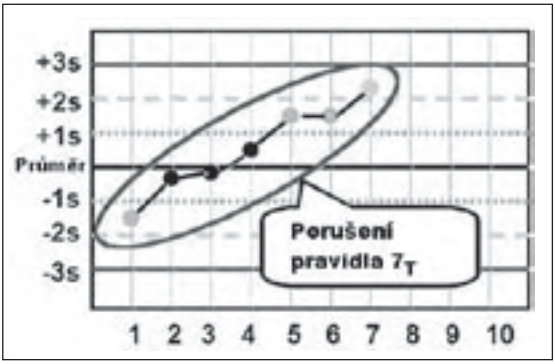


Obr. 3.1.5

Sedmibodový trend, 7-T

Pravidlo 7-T je porušeno, pokud 7 výsledků kontrolních měření na jedné hladině po sobě

buď stále stoupá, nebo klesá. Znamená to, že každý výsledek je vyšší nebo nižší než předchozí. Jde o trend signalizující problém v metodě, pravděpodobně související se stabilitou reagencií a tudíž neplatnost kalibrace.

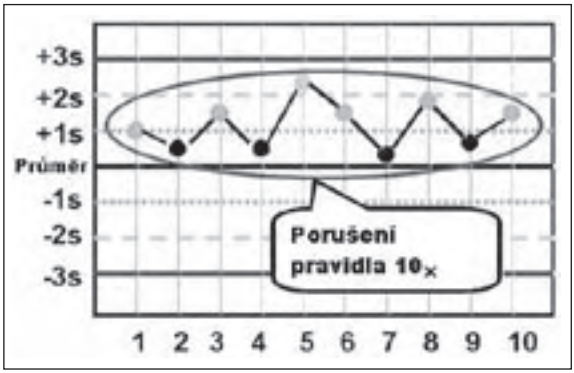


Obr. 3.1.6

N-x

Pravidlo N-x je porušeno, pokud 7, 8, 9, 10 nebo 12 výsledků je na stejné straně od průměru. Pravidlo se hodnotí jak uvnitř jednoho kontrolního materiálu (pro jednu hladinu), tak mezi kontrolními materiály (hladinami). V prvém případě jde o systematickou chybu v menší oblasti měřicího rozsahu, ve druhém jde o systematickou chybu v celém měřicím rozsahu.

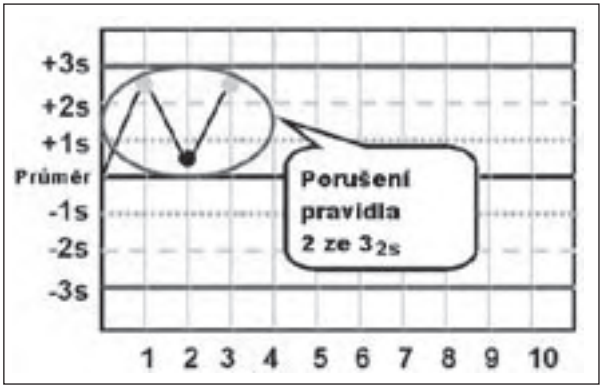
Pravidlo 7-x je mnohem citlivější než 12-x a lze daleko dříve objevit možnou systematickou chybu.



Obr.3. 1.7

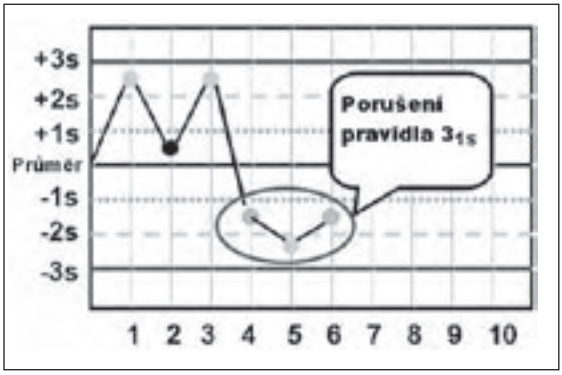
Pravidla vhodnější při použití 3 různých kontrol

2 ze 3-2s
Nutno opakovat sérii.



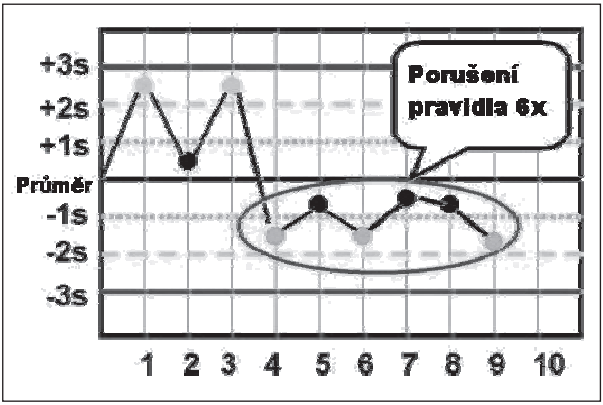
Obr. 3.1.8

3-1s
3 hodnoty za sebou na jednu stranu od průměru o 1SD, nutné opakování



Obr. 3.1.9

6x (9x)
Obdoba 10x



Obr. 3.1.10

Obecně platí, že se opakování provádí až po úpravě metody (intervenci). Nutno vždy posoudit, zda je problém v metodě či jinde (chybně připravená kontrola, problémy s přístrojem).

Tzv. multi-pravidla QC používá k posouzení více pravidel najednou (na bázi 6 hlavních pravidel), čímž se snižuje riziko zbytečných opakování analýz. Za použití vhodných počítačových programů lze volit pro každou metodu optimální kombinaci jakýchkoliv Westgardových pravidel.

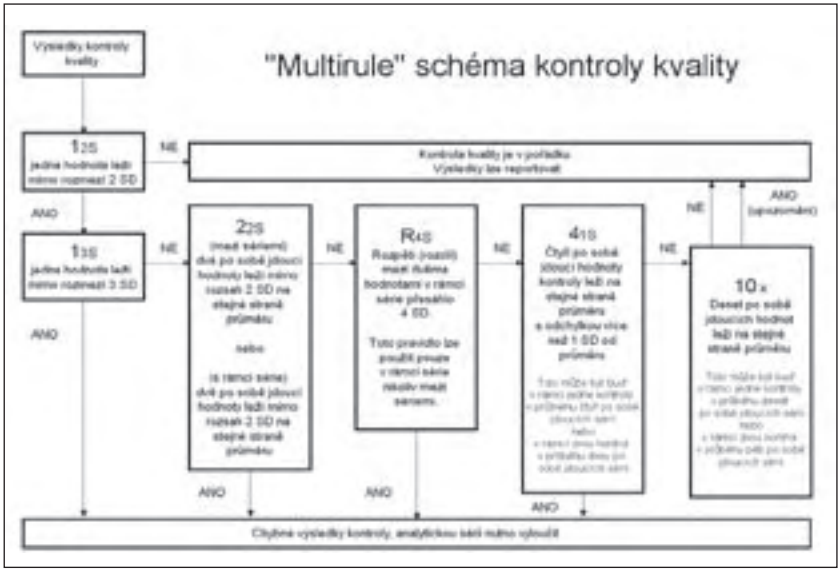
Většina dostupných programů pro zajištění QC, a to jak na přístrojích, tak v laboratorních informačních systémech či speciálních programech pro VKK, umožňuje práci s výše uvedenými pravidly.

3.1.2 Nastavení Westgardových pravidel

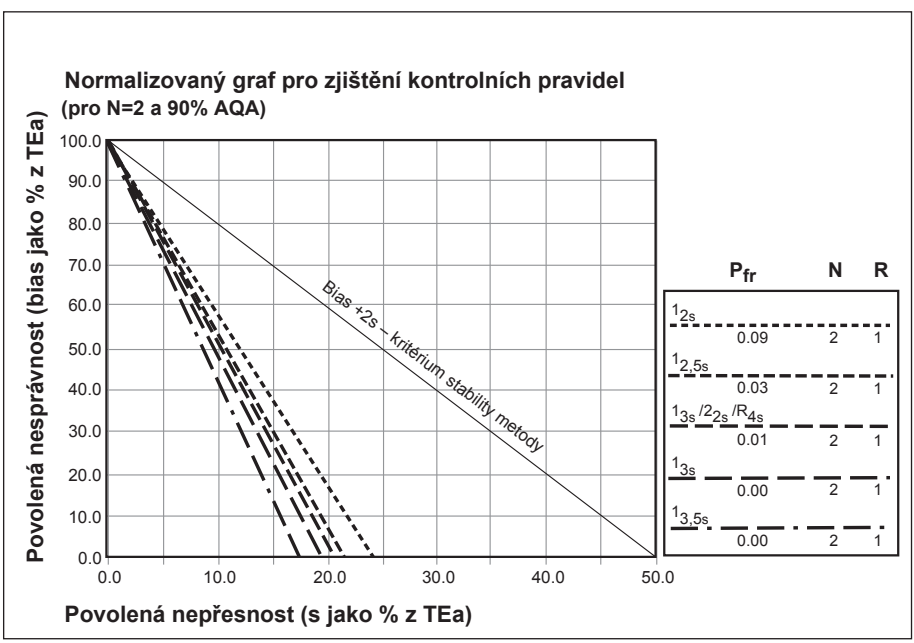
V podstatě existují 3 cesty závislé na programovém vybavení laboratoře. První možností je použití tzv. Westgardových Multipravidel. Tento princip je jednoduchý a je popsán na obr. 3.1.11 jak pro 2, tak pro 3 hladiny kontrol. Systém se neohlíží na kvalitu metody a hodnoty falešného odmítnutí série, stejně jako nezachycení chyby, jsou poměrně vysoké. Metoda je však jednotně použitelná pro všechny metody v laboratoři. V podstatě jde o následující postup (pro 2 hladiny):

- Určit varovné a odmítací pravidla (1-2s proti 1-3s/2-2s/R4s/4-1s/10x) se dvěma kontrolními vzorky v sérii.
- Použít dvě hladiny.
- Interpretace varovných pravidel – oba výsledky kontrolních měření je porušují, zkontrolovat všechny výsledky.
- Jedna kontrola mimo rozmezí, posoudit další kontrolní data, posoudit všechny kontrolní výsledky v sérii podle 1-3s, 2-2s a R4s.
- Aplikovat 2-2s na minulé 2 série, 4-1s na poslední 4 měření pro jeden materiál a na poslední dvě měření pro oba materiály, použít kontrolu 10x na posledních 5 sérií pro všechny materiály.
- Pokud žádné z pravidel v bodě 3 a 4 není porušeno, výsledky jsou v pořádku, v opačném případě nelze výsledky potvrdit.
  Řešení problému následujícím způsobem:
  - Podle porušených pravidel rozpoznat, zda jde o náhodnou nebo systematickou chybu.
  - Zkontrolovat dodržení pracovních postupů.
  - Zkontrolovat analytický proces a identifikovat zdroj problému.
- Odstranit problém a znovu měřit kontrolní vzorky.
- Zopakovat nebo potvrdit výsledky pacientských vzorků.

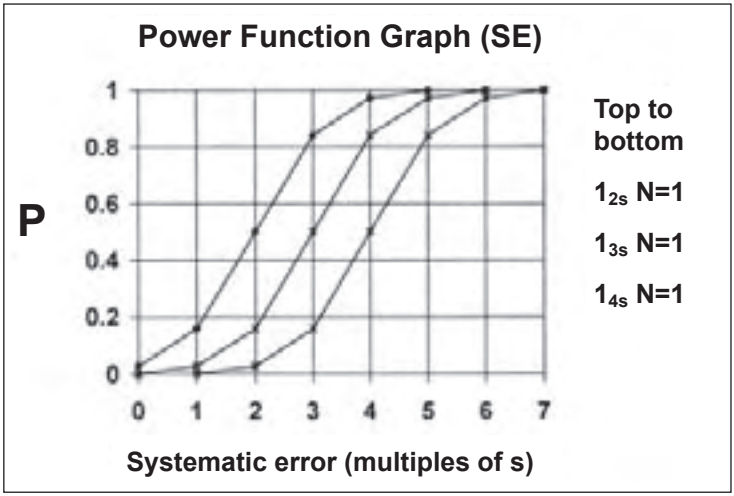
Druhou možností je použití tzv. normalizovaných grafů (obr. 3.1.12). Na ose x je vyneseno vychýlení (bias) jako procenta maximální povolené chyby pro danou metodu. Na ose y je pak vynesena nepřesnost (CV) s maximem 50 % maximální povolené chyby. Úhlopříčka mezi těmito maximy představuje přijatelnou analytickou kvalitu. Do grafu vyneseme hodnoty bias a nepřesnosti naší metody (opět jako procento maximální povolené chyby). Pokud by výsledky byly nad úhlopříčkou, je metoda nevyhovující. Pod úhlopříčkou je několik přímek, charakteristických pro určitá jednotlivá Westgardova pravidla či jejich kombinaci. Z grafu zvolíme pravidla pro přímku nejblíže napravo od bodu specifikujícího naší metodu. V tabulce napravo od grafu zjistíme pro vybraná pravidla i pravděpodobnost falešného odmítnutí série. Tato pravděpodobnost je zjištěna z tzv. grafu silokřivek (obr. 3.1.13), což je závislost odmítnutí výsledků analytické série na velikosti detekované chyby pro stanovený počet měření.



Obr. 3.1.11



Obr. 3.1.12



Obr. 3.1.13

Poslední, a ideální, možností je využití programového vybavení pro výběr vhodných pravidel. Po zadání potřebných údajů (bias, nepřesnost, maximální povolená chyba, potřebná pravděpodobnost detekce chyby, počet hladin kontrolních vzorků, počet měření kontrol v analytické sérii…) nám program nabídne optimální pravidla. Pokud je takový program propojen i s programem na vyhodnocování VKK, automaticky pracuje podle takto nastavených pravidel.

3.2 Algoritmus AON (průměr normálních hodnot pacientských dat)

Tento systém byl navržen Hoffmanem a Waidem v roce 1965. Pracuje s rutinními výsledky pacientů, které jsou uvnitř referenčního rozmezí a následně se sledují průměry těchto hodnot. Na tyto hodnoty jsou pak aplikovány procedury používané v systémech vnitřní kontroly kvality.

Základními údaji jsou hodnoty SD_{pop} (standardní odchylka pro výsledky pacientů) a SD_{meas} (standardní odchylka metody). Z těchto hodnot se stanoví jejich poměr (pohybuje se obvykle od 2 do 15 (extrémy jsou Na s 1,5; FSH s 20 či triacylglyceroly s 32), pro celé hodnoty poměru jsou k dispozici grafy silokřivek.

Podstatné je, z kolika vzorků se stanoví průměr normálních hodnot. V laboratořích to může být od 10 po několik tisíc. Podle poměru SD_{pop} / SD_{meas} a maximální povolené chyby lze stanovit minimální potřebný počet vzorků. Metodika je tak velmi vhodná jen pro vybrané analyty (např.: ALP, ALT, AST, Ca, Cl, Kreatinin, Glukóza, Hemoglobin, K, Na, Urea, WBC). Pro jiné je nepříliš vhodná vzhledem k riziku vyšší pravděpodobnosti falešného odmítnutí série (např.: CK, FSH, Cholesterol, LH, Triacylglyceroly).

Při vlastním hodnocení se pak pracuje podle Westgardových pravidel. Systém AON tedy zatím nemůže nahradit klasický postup VKK s používáním kontrolních materiálů, ale pro vybrané metody je účinným pomocníkem a u těchto metod lze snížit frekvenci vlastních kontrolních měření.

Významným vylepšením této metody je postup dle Parvina. Kombinuje se metoda AON s níže popsanou metodou EWMA. Pracuje se tedy s pohyblivými váženými průměry průměru pacientských normálních vzorků. Kombinace tohoto postupu (lze počítat prakticky po každém měření) s klasickými postupy dle Westgarda pak výrazně snižuje počet chybných měření před vlastním odhalením problému.

Literatura:

1. Bishop J., Nix A. B. J.: Comparison of Quality Control Rules Used in Clinical Chemistry Laboratories; Clin. Chem. 39:8, 1638-1649 (1993)
2. Fraser C. G.: Biological Variation, AACC, 2001, ISBN 1-890883-49-2
3. Westgard J. O., Barry P. L.: Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes, AACC, 1995, ISBN 0-915274-35-3
4. Westgard J. O.: Six Sigma Quality Design and Control, Westgard QC Inc., 2001, ISBN 1-886958-16-5
5. Westgard J. O.: Basic Planning for Quality, Westgard QC Inc., 2000, ISBN 1-886958-13-0
6. Westgard J. O.: Basic QC Practices, Westgard QC Inc., 1998, ISBN 1-886958-09-2
7. Westgard J. O., Smith F. A., Mountain P. J., Boss B.: Design and assessment of average of normals (AON) patient data algorithms to maximaze run lengths for automatic process control, Clin. Chem. 42:10, 1683-1688, 1996
8. Parvin – osobní sdělení

3.3 Moderní regulační diagramy

Tyto regulační diagramy se snaží odstranit nevýhody klasických regulačních diagramů, které při jejich konstrukci vychází z určitých předpokladů, jako je normalita dat, nezávislost v datech (autokorelace), stacionární průběh kontrolního procesu, a na druhé straně se snaží, aby diagramy reagovaly citlivěji na změnu variability, nebo změnu střední hodnoty kontrolovaného procesu. V neposlední řadě existuje snaha o zjednodušení regulačních diagramů při kontrole více veličin, které mezi sebou korelují.

3.3.1 Regulační diagram CUSUM

Diagram je založen na metodě použití kumulativních sum odchylek od střední hodnoty (průměru). Tento regulační diagram se dá použít jak pro jednotlivé měření, tak i pro

průměry. První kontrolní CUSUM diagram navrhl Page (1954). CUSUM graf obsahuje všechny informace o následných hodnotách vzorku vynášením kumulativních sum odchylek od cílové hodnoty. Jestliže μ_0 je cílová hodnota a x_j měřená hodnota, můžeme kumulativní sumu odchylek do určitého *i-tého* pořadí měření vyjádřit následujícím vzorcem.

$$C_i = \sum_{j=1}^{i} (x_j - \mu_0)$$

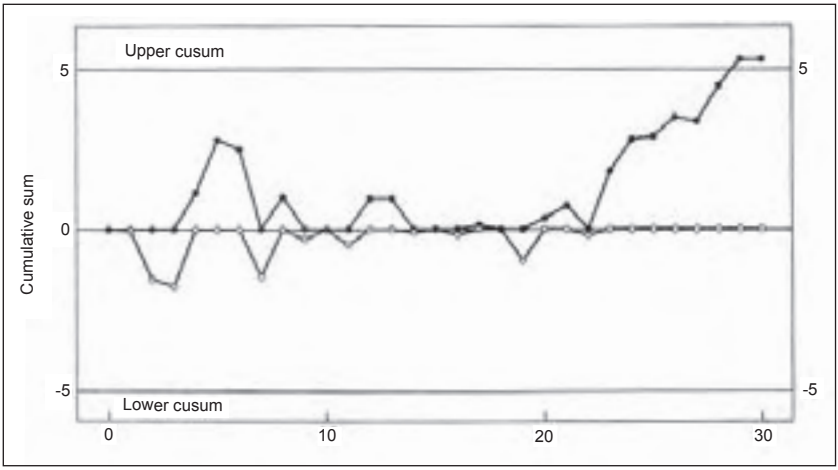
Pro vlastní vyhodnocení kumulativních součtů jsou možné dvě metody. Grafická metoda pomocí V-masky, která se už nepoužívá, a tabulární, neboli algoritmetická, která je v současnosti více preferována.

Při této metodě evidujeme statistiku C^+, která sumuje kladné odchylky měřicího procesu od cílové hodnoty a statistiku C^-, která sumuje záporné odchylky od cílové hodnoty. Matematicky můžeme výpočet vyjádřit následovně:

$$C_i^+ = \max\left[0, x_i - (\mu_0 + K) + C_{i-1}^+\right]$$
$$C_i^- = \max\left[0, (\mu_0 - K) - x_i + C_{i-1}^-\right]$$

Konstanta K nám udává, na jak velké posunutí v jednotkách směrodatné odchylky (***σ)*** má regulační diagram reagovat. Za porušení pravidel se považuje překročení limitů ±***H***. Pro konstrukci regulačních limitů se nejčastěji volí limity H=4, nebo H=5.

V roce 1982 byla uvedena modifikace CUSUM diagramu Lucasem a Crosierem, která spočívá ve zvýšení senzitivity na začátku procesu (start-up). To znamená, že při překročení kontrolních limitů nedochází k vynulování sumace na nulu, ale nastaví se startovací hodnota standardně na hodnotu *H/2*. Tato technika se nazývá FIR (fast initial response).



Obr. 3.3.1

Jestliže měřenou veličinu x_i standardizujeme podle vztahu $y_i=(x_i-\mu_0)/\sigma$, můžeme vytvořit novou veličinu:

$$\nu_i = \frac{\sqrt{|y_i|} - 0{,}822}{0{,}349}$$

která je více citlivá na změny hodnot rozptylu, než na změny hodnoty průměru. Jednotlivé CUSUM součty pro odchylky se vypočtou následovně:

$$S_i^+ = \max\left[0, \nu_i - k + S_{i-1}^+\right]$$
$$S_i^- = \max\left[0, -k - \nu_i + S_{i-1}^-\right]$$

Interpretace tohoto diagramu je podobná jako diagramu pro průměr. Jestliže se směrodatná odchylka zvětšuje, S_i^+ roste, eventuálně překročí hodnotu *h,* a pokud se směrodatná odchylka snižuje, hodnota S_i^- se zvyšuje a eventuálně překročí limit *h.*

3.3.2 Diagramy EWMA

EWMA kontrolní diagram byl poprvé uveden Robertsem v roce 1959. Do klinické biochemie jej zavedl Neubauer (Clin Chem 1997; 43:594-601). Název je zkratkou výrazu Exponentially Weighted Moving Average, neboli exponenciálně vážené klouzavé průměry (někdy nazývané exponenciální zapomínání).

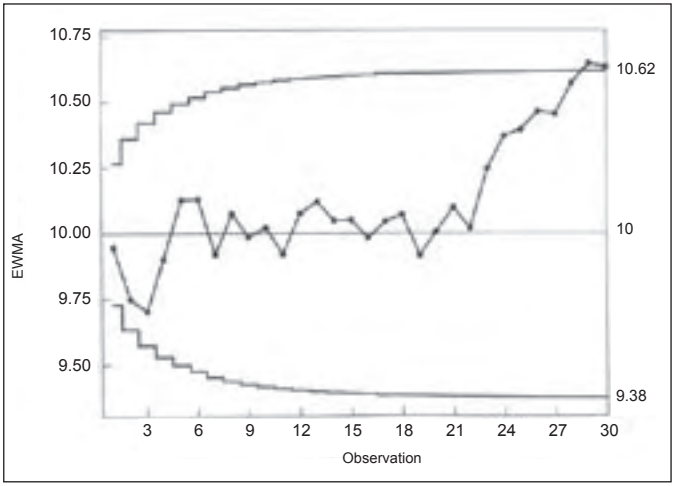
Každý bod diagramu W_j je váženým průměrem nově naměřené hodnoty x_j a posledního bodu diagramu W_{j-1}. Základním volitelným parametrem diagramu EWMA je váha *r*, která může nabývat hodnot mezi 0 a 1. Čím nižší hodnota *r*, tím pomaleji reagují vynášené hodnoty W_j na lokální změny sledovaného parametru. Volbou parametru *r* lze diagram nastavit tak, aby nereagoval na lokální odchylky od cílové hodnoty tak rychle, jako Shewhartův kontrolní diagram. Tento diagram má tendenci zvýraznit systematickou dlouhodobější odchylku tím, že se vrací pomaleji k cílové hodnotě, než vlastní měřená veličina. Tato vlastnost je tím výraznější, čím je *r* menší.

$$W_j = rx_j + (1-r)W_{j-1}$$

Hodnota *r* se volí obvykle v intervalu mezi 0.15 a 0.4, nejčastěji má hodnotu r=0.25. Pro konstrukci regulačních limitů se volí pravidlo 3 sigma.

$$UCL = \mu_0 + L\sigma\sqrt{\frac{r}{(2-r)}\left[1-(1-r)^{2i}\right]}$$

$$LCL = \mu_0 - L\sigma\sqrt{\frac{r}{(2-r)}\left[1-(1-r)^{2i}\right]}$$



Obr. 3.3.2

Nejčastěji se velikost L volí 2.7,nebo 3.
σ je směrodatná odchylka pozorovaných hodnot x_i. Výraz pro větší hodnoty i se limitně blíží hodnotě 1.

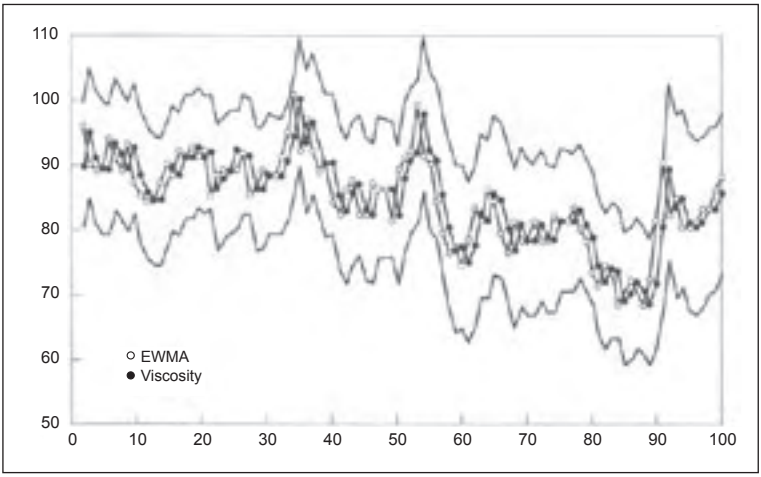
Mezi jeho velké přednosti patří skutečnost, že je velmi citlivý na malé odchylky systematické chyby a je robustní proti nenormalitám (šikmosti) a možné autokorelaci ve srovnání s klasickým Shewhartovým kontrolním diagramem.

3.3.3 Dynamický EWMA

Pokud kontrolovaný proces vykazuje známky silné autokorelace, je vhodné použít tento typ regulačního diagramu. Jeho výhodou je, že kontrolní limity se automaticky mění v závislosti na čase a přizpůsobují se vlastnostem tohoto dynamického procesu. Kontrolní limity se vypočtou následovně:

$$UCL_{t+1} = z_t + 3\sigma$$
$$LCL_{t+1} = z_t - 3\sigma$$

Hodnotu σ lze odhadnout několika způsoby, vycházejícími z autoregresivního modelu daného kontrolního procesu.



Obr. 3.3.3

3.3.4 Graf EWMV

K monitorování přesnosti, vyjádřené pomocí směrodatné odchylky, nebo rozptylu, se používá modifikace EWMA grafu, který odvodili MacGregor a Harris (1993) a označuje se jako EWMV (exponenciálně vážené klouzavé rozptyly). Do regulačního diagramu se vynáší statistika *S*, která se vypočte dle následujícího vzorce:

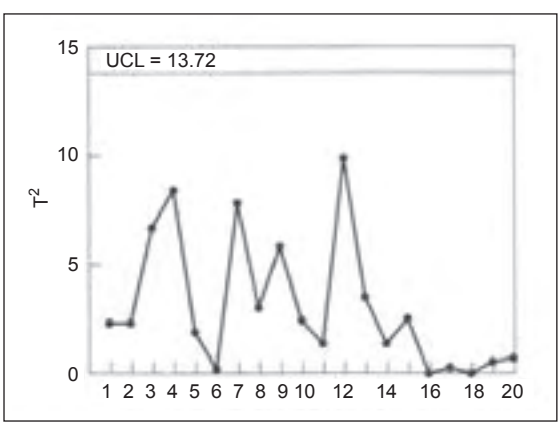
$$S_i^2 = r(x_i - z_i)^2 + (1-r)S_{i-1}^2$$

kde hodnota z_i je získaná z EWMA grafu. Kontrolní limity se pro tento kontrolní graf vypočtou následujícím způsobem:

$$UCL = \sigma_0 \sqrt{\frac{\chi_{\nu,\alpha/2}}{\nu}}$$

$$LCL = \sigma_0 \sqrt{\frac{\chi_{\nu,1-(\alpha/2)}}{\nu}}$$

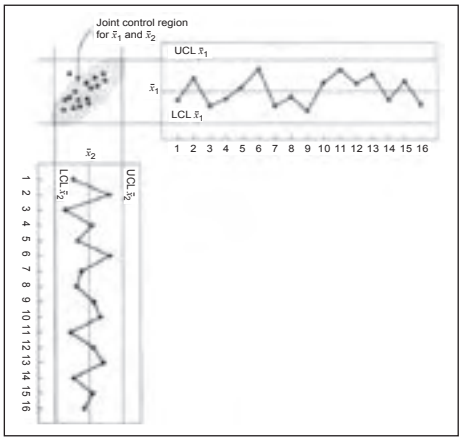
Tyto regulační limity jsou závislé pouze na chí-kvadrát rozdělení, počtu stupňů volnosti (ν) a počáteční směrodatné odchylce (σ_0).



Obr. 3.3.4

3.3.5 Hotellingův diagram

Používá se pro znázornění více proměnných měřených současně v jednom regulačním diagramu. Lze jej použít například pro zobrazení výsledků kontrol pro daný sledovaný analyt a kontrolní měření prováděné na více koncentračních hladinách. Diagram zjednodušuje pohled na kontrolní proces. Jeho výhodou je, že je citlivý na korelaci mezi proměnnými. Jak je znázorněno na spodním obrázku při sledování dvou znaků, které mezi sebou korelují, jednotlivé Shewhartovy kontrolní diagramy neodhalí bod, který leží mimo elipsu spolehlivosti, kdežto v Hotellingově regulačním diagramu již překročí horní kontrolní limit. Čím více jsou hodnoty mezi sebou korelované, tím více jsou klasické individuální regulační diagramy „zkreslené“. Konstrukce Hotellingova regulačního diagramu vychází z výpočtu Mahalanobisovy vzdálenosti ve vícerozměrném prostoru.



Obr. 3.3.5

Hotellingova statistika se označuje jako $\boldsymbol{T^2}$ a její výpočet vychází z kovarianční matice C_0 a vektoru průměru vzorků:

$$T^2 = (x - \bar{x})^T C_0 (x - \bar{x})$$

Toto rozdělení je kladné, asymetrické a regulační limity se vypočtou podle kvantilů Fisherova F-rozdělení, kde $\boldsymbol{p}$ je počet proměnných parametrů a $\boldsymbol{m}$ je počet dat.

$$UCL = \frac{p(m+1)(m-1)}{m^2 - mp} F_{\alpha,p,m-p}\, 0$$

$$LCL = 0$$

Literatura:

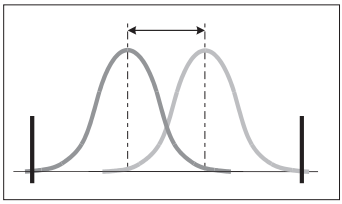
1. Montgomery Douglas C. Introduction to Statistical Quality Control Fifth Edition. John Wiley & Sons, 2005. ISBN 0-471-66122-8
2. Kupka K.: Statistické řízení jakosti. Trilobyte,1997. ISBN 80-238-1818-X
3. Forrest W. Breyfogle III: Implementing Six Sigma, Second Edition. John Wiley & Sons, 2003. ISBN 0-471-2657

Kapitola 4. Způsobilost procesů

Zdeněk Kubíček, Miloš Pollak, Dana Trávníčková

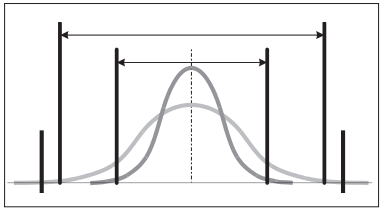
4.1 Indexy způsobilosti

Aby bylo možno proces (analýzu) regulovat, je třeba znát jeho charakteristiky, které se zjišťují z naměřených hodnot během jeho pozorování. Výsledky pozorování se zaznamenávají v pořadí, ve kterém opouštějí proces. Při statistickém zpracování se výsledky uspořádají do histogramu a posoudí se jejich rozložení. Pak se výsledky posoudí prostřednictvím charakteristických ukazatelů – polohy (obr. 1), rozptylu (obr. 2) a typu rozložení (obr. 3).



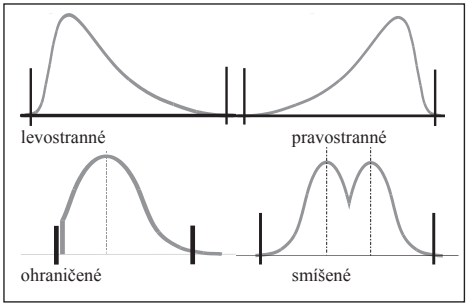
Obrázek 4.1 Ukazatele polohy

Jako ukazatele polohy se používají aritmetický průměr, klouzavý průměr nebo medián.



Obrázek 4.2 Ukazatele rozptylu

Jako ukazatele rozptylu se používají rozpětí (rozdíl mezi minimální a maximální hodnotou), klouzavé rozpětí nebo standardní (směrodatná) odchylka.



Obrázek 4.3 Typy rozložení

4.1.1 Stavy procesu

V závislosti na přítomnosti náhodných a systematických vlivů, na jejich podílu a úrovni, se proces může nacházet ve dvou základních stavech.

4.1.1.1 Proces mimo statistickou kontrolu

Příčinou rozptylu jsou systematické vlivy. Prostřednictvím techniky regulačních diagramů je třeba vyhledávat okamžiky jejich působení, analyzovat jejich bezprostřední příčiny a přiměřeným způsobem je eliminovat.

4.1.1.2 Proces pod statistickou kontrolou

Jedinou příčinou rozptylu jsou náhodné vlivy. Tento stav není automatizovanému procesu dán přírodou, ale je spíše cílem, kterého se dosahuje postupným vylučováním systematických příčin rozptylu. Z tohoto důvodu je hlavním úkolem systému řízení procesu dodávat statistický signál v případě přítomnosti systematických příčin rozptylu a naopak, zabránit nesprávným signálům, jestliže takové příčiny neexistují. Díky tomu je možné přijímat vhodná opatření k odstranění těchto systematických vlivů a zabránit jejich novému vzniku.

4.1.1.3 Způsobilost procesu

Způsobilost (schopnost) procesu je mírou skutečné kvality procesu ve vztahu ke specifikaci. Zjišťujeme ji po odstranění všech systematických vlivů - tedy ve stavu, kdy je proces pod statistickou kontrolou. Při vyšetřování způsobilosti procesu se zkoumá pouze rozptyl způsobený náhodnými vlivy. Jestliže je příliš velký, nemůže tento proces poskytovat výsledky, které trvale plní požadavky na ně kladené. Takový proces je potřeba prověřit a provést potřebná nápravná opatření.

4.1.2 Indexy způsobilosti

Indexy způsobilosti jsou všeobecně používané charakteristiky pro vyjádření schopnosti procesu vyhovět požadavkům vystihnutým obvykle pomocí cílové hodnoty TV (Target Value) a horního a dolního specifikačního limitu (USL a LSL). Charakteristiky standardně používané pro výpočet indexu způsobilosti jsou odhad směrodatné odchylky *SD* a střední hodnoty $\overline{x}$ (aritmetický průměr). Úkolem indexu způsobilosti je jednoduše vyjádřit vztah mezi hodnotami, *TV, LSL, USL* a skutečným procesem. Indexy způsobilosti mají úzkou souvislost se zlepšováním kvality. K hlavním cílům zlepšování kvality a zvyšování způsobilosti patří:

- zmenšit variabilitu
- zajistit, aby $\overline{x} = TV$

Mezi základní pojmy nejčastěji používané v souvislosti se způsobilostí procesu patří:

- cílová hodnota *TV*
- specifikační limity *USL* a *LSL*
- nevyhovující hodnota výsledku (neshoda)
- P_{nes} jako podíl nevyhovujících hodnot (neshod)
- *ARL* jako střední doba do výskytu nevyhovující hodnoty

Cílová hodnota TV je hodnota, k níž se má proces přiblížit (požadovaná střední hodnota procesu).

Specifikační limity *USL* a *LSL* jsou limity určené pro znak kvality s ohledem na požadovanou variabilitu. Na určení specifikačních limitů rozhodujícím způsobem závisí hodnota indexu způsobilosti.

Nevyhovující hodnota (neshoda) je v tomto případě hodnota, která leží mimo specifikační limity.

P_{nes} – podíl nevyhovujících hodnot (neshod) je zároveň pravděpodobností výskytu nevyhovujících hodnot. Uvádí se v relativní hodnotě (0 až 1), v procentech (počet neshod na získaných 100 hodnot) nebo v ppm (počet neshod na získaný 1 000 000 hodnot). Podíl nevyhovujících hodnot je jedním z kritérií při posuzovaní způsobilosti procesu. Jeho odhad velmi závisí na modelu rozdělení skutečného procesu a na výskytu vybočujících hodnot ve vzorku dat.

ARL (Average Run Lenght) se nazývá střední doba mezi poruchami (přesně jde o střední délku řady mezi dvěma bezprostředně následujícími výskyty nevyhovujících hodnot, popř. překročeními regulačního limitu): $ARL = 1/ P_{nes}$. Při posuzování pravděpodobnosti výskytu nevyhovujících hodnot je tedy *ARL* alternativní hodnota se shodnou vypovídací schopností jako P_{nes}.

4.1.2.1 Index způsobilosti C_p

Index způsobilosti C_p je mírou potenciální schopnosti procesu zajistit, aby hodnota sledovaného znaku kvality ležela uvnitř tolerančních limitů. Lze ho stanovit pouze v případech, kdy jsou specifikovány oboustranné toleranční limity. Hodnota indexu C_p je poměrem maximálně přípustné a skutečné variability hodnot znaku kvality bez ohledu na jejich umístění v tolerančním poli. Index C_p tedy charakterizuje potenciální možnosti procesu dané jeho variabilitou (schopnost procesu zajistit, aby se sledovaný znak „vešel“ do tolerance), ale již nic neříká o tom, jak jsou tyto možnosti ve skutečnosti využity. Pro normální rozdělení dat se počítá podle vztahu:

$$Cp = \frac{USL - LSL}{6\,SD}$$

4.1.2.2 Index způsobilosti Cpk

Na rozdíl od indexu C_p, index C_{pk} zohledňuje nejen variabilitu sledovaného znaku kvality, ale i jeho polohu vůči tolerančním limitům. Index C_{pk} tedy charakterizuje skutečnou způsobilost procesu dodržovat předepsané toleranční limity. Jeho hodnota vyjadřuje poměr vzdálenosti střední hodnoty sledovaného znaku od bližšího tolerančního limitu k polovině skutečné variability hodnot. Index C_{pk} lze vypočítat jak v případě oboustranné, tak jednostranné tolerance.

$$Cpk = \min\langle CPU; CPL\rangle; \quad CPU = \frac{USL - \bar{x}}{3\,SD}; \quad CPL = \frac{\bar{x} - LSL}{3\,SD}$$

C_{pk} může nabývat i záporných hodnot. Jedná se o situace, kdy střední hodnota sledovaného znaku kvality překročí některý z tolerančních limitů. V praxi by to znamenalo, že proces produkuje více než 50 % nevyhovujících výstupů. Častěji se jedná o případy, kdy jsou nesprávně stanoveny toleranční limity. Pro praktické stanovení indexu C_{pk} je třeba kromě odhadu směrodatné odchylky stanovit i střední hodnotu sledovaného znaku. K odhadu střední hodnoty se používá aritmetický průměr všech hodnot.

4.1.2.3 Index způsobilosti C_{pm}

Index způsobilosti C_{pm} porovnává maximálně přípustnou variabilitu sledovaného znaku kvality danou šířkou tolerančního pole s jeho skutečnou variabilitou kolem cílové (optimální) hodnoty *T*. Tento index tedy zohledňuje jak variabilitu hodnot sledovaného znaku kvality, tak míru dosažení optimální hodnoty. Lze ho stanovit pouze v případě oboustranné tolerance a měl by být používán pouze tehdy, kdy cílová hodnota leží ve středu tolerančního pole.

Pro lepší interpretaci dosažené hodnoty indexu C_{pm} je vhodné současné uvedení indexu C_p, jež umožní posoudit, v jaké míře je dosažená hodnota ovlivněna přirozenou variabilitou sledovaného znaku a v jaké míře posunem střední hodnoty znaku vůči cílové hodnotě.

$$Cpm = \frac{USL - LSL}{6\sqrt{SD^2 + (\bar{x} - T)^2}}$$

4.1.2.4 Index způsobilosti C_{pmk}

Index způsobilosti C_{pmk} porovnává vzdálenost střední hodnoty sledovaného znaku kvality k bližšímu tolerančnímu limitu s polovinou variability znaku kolem cílové hodnoty.

$$Cpmk = \min\left\{\frac{\bar{x} - LSL}{3\sqrt{SD^2 + (\bar{x} - T)^2}}; \frac{USL - \bar{x}}{3\sqrt{SD^2 + (\bar{x} - T)^2}}\right\}$$

Mezi hodnotami indexů způsobilosti platí nerovnost $C_{pmk} \leq C_{pm} \leq C_{pk} \leq C_p$. Rovnost indexů způsobilosti platí pouze v případě, že střední hodnota je shodná s *T,* která leží ve středu tolerančního pole.

Obecně lze konstatovat, že analytické procesy, kterých hodnota C_{pk} leží mezi 1,0 až 1,33, jsou spolehlivé. Procesy pod hodnotou C_{pk} 1,0 jsou méně spolehlivé s vyšší pravděpodobností výskytu nesprávného výsledku (neshody). Procesy nad hodnotu C_{pk} 1,33 jsou velmi dobře spolehlivé a při hodnotě vyšší než 1,67 se jedná o vysokou spolehlivost procesu s velmi nízkou pravděpodobností výskytu neshody.

Příklad:

TV = 1,5 µkat/l, TE_a = 21%, $\bar{x}$ = 1,31 µkat/l, SD = 0,046, bias = 12,5%, VK = 3,51%, LSL = 1,19, USL = 1,81

$$Cp = \frac{USL - LSL}{6\,SD} \qquad Cp = \frac{1{,}81 - 1{,}19}{6.0{,}046} = \frac{0{,}62}{0{,}276} = 2{,}246$$

$$Cpk = \min\langle CPU; CPL \rangle$$

$$CPL = \frac{\bar{x} - LSL}{3\,SD} = \qquad CPL = \frac{1{,}31 - 1{,}19}{3.0{,}046} = \frac{0{,}12}{0{,}138} = 0{,}869$$

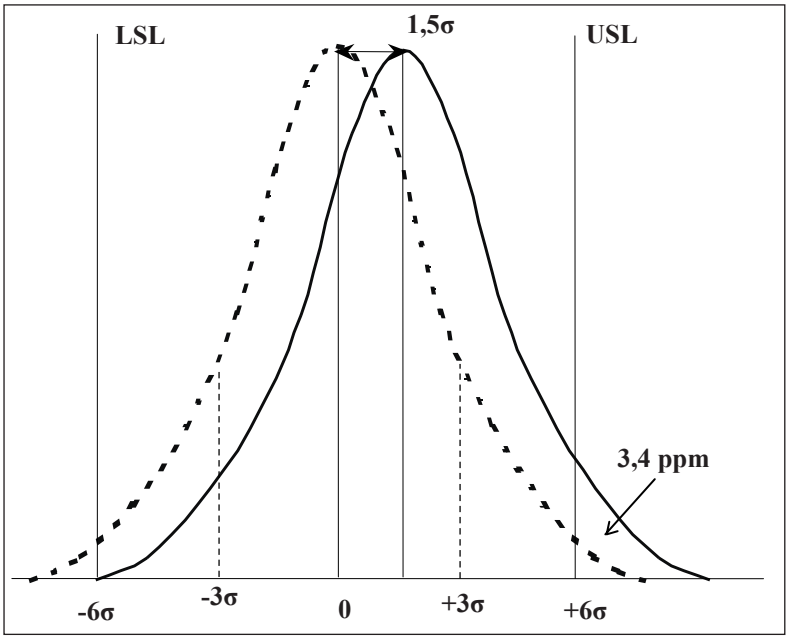
$$CPU = \frac{USL - \bar{x}}{3\,SD} \qquad CPU = \frac{1{,}81 - 1{,}31}{3.0{,}046} = \frac{0{,}5}{0{,}138} = 3{,}62$$

$$Cpk = \min\langle 3{,}62; 0{,}869 \rangle = 0{,}869$$

4.2. 6 σ – six sigma

Pod tímto, v češtině již zdomácnělým názvem, byla v roce 1987 ve firmě Motorola zavedena nová strategie přístupu ke kontrole kvality výrobků, která se brzy stala synonymem „světově uznávané kvality“. Jejím cílem bylo dosažení chybovosti (výrobního) procesu, která nepřesáhne 3,4 ppm resp. dpm (part per million, resp. defect per million), tj. 3,4 chyby na jeden milion procesů (výrobků). Dva základní požadavky na způsobilost procesu (analýzy) jsou:

- směrodatná odchylka SD (σ) nesmí být větší než 1/12 šířky tolerančních limitů (celkové povolené chyby)
- střední hodnota μ nesmí ležet od středu tolerančního pole (cílové hodnoty, TV) dále než 1,5 SD.



Obr. 4.4 Způsobilost six sigma (LSL resp. USL – toleranční limity procesu – nižší resp. vyšší)

Tabulka 1: Závislost počtu chyb procesu (ppm) na velikosti σ při TV ≡ μ a při posunu μ o 1,5 σ

σ(sigma)	počet chyb (ppm)	
	TV ≡ μ	posun μ o 1,5 σ
1	317311	691462
2	45500	308538
2,5	12419	158655
3	2700	66807
3,5	465	22750
4	63,3	6210
4,5	6,8	1350
5	0,573	233
5,5	0,038	31,7
6	0,002	3,4

Strategie six sigma vychází z předpokladu, jak je uvedeno výše, že proces (v případě laboratoří výsledky opakovaných měření) má normální rozložení a dále z toho, že nelze zajistit, aby střední hodnota procesu (průměr měření - x_{pr}) byla totožná s cílovou hodnotou (TV). Tyto dvě veličiny se od sebe obvykle liší a pro strategii six sigma se předpokládá odchylka maximálně 1,5 SD (σ), což odpovídá 12,5 % tolerančního pole. Tyto premisy a počet chyb pro různé hodnoty σ (v ppm) jsou znázorněny na obr. 1 a v tabulce 1. Dalším předpokladem pro aplikaci této tzv. sigmametriky je definice, resp. určení maximální povolené chyby TE_a jednoho procesu (měření). Cílem strategie pak je dosáhnout, aby velikost sigma, která se vypočte jako poměr maximální povolené chyby (TE_a) a relativní směrodatné odchylky (SD_r) byla ≥6:

$$\sigma = \frac{TE_a}{SD_r}$$

kde TE_a je definována jako rozdíl tolerančních limitů: TE_a = USL – LSL.

Po roce 2000 se tato tzv. sigmametrika začala zavádět i do zdravotnických laboratoří. Westgard [1)] pro výpočet σ zavádí vzorec:

$$\sigma = \frac{TE_a - bias}{SD_r},$$

čímž pro analýzy, u kterých se liší cílová hodnota od průměru (což platí pro většinu analytických metod), ještě zpřísňuje kritéria strategie six sigma. Pro praxi zdravotnických laboratoří je však podle našeho názoru postačující výpočet σ bez použití hodnoty bias i

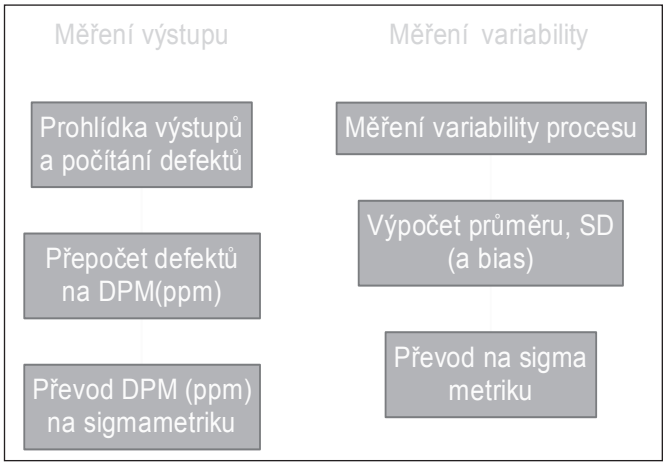
vzhledem k problematičnosti stanovení biasu, ať již z důvodů „nejistoty“ cílových hodnot v kontrolních materiálech nebo malého počtu měření při aplikaci doporučeného způsobu stanovení bias apod.

4.2.1 Aplikace sigmametriky do praxe zdravotnických laboratoří

Při zavádění sigmametriky by měly být splněny následující předpoklady:

- nepřítomnost autokorelace mezi daty
- normální tvar rozložení
- stabilita střední hodnoty

K sigmametrice v obecném smyslu existují dvě cesty znázorněné na následujících schématech – cesta měření výstupu (počítání defektů), která je vhodná pro automatické, vysoce četné procesy výroby, a cesta měření variability, která se aplikuje ve zdravotnických laboratořích.



(Schéma)

4.2.2 Six sigma v klinické laboratoři, charakteristiky procesu – průměr, směrodatná odchylka a bias

Výhodou prostředí klinických laboratoří je jasně definovaný proces (analýza biologického materiálu s výsledkem množství, koncentrace, aktivity apod.) a přesné, v oboru dlouhodobě používané charakteristiky – směrodatná odchylka jako míra variability (přesnosti resp. nepřesnosti) a bias jako míra vychýlení. V laboratořích existuje rovněž dobře propracovaný systém sběru kontrolních dat a nechybí zkušenosti se statistikou při jejich

zpracování. Na druhé straně zcela chybí porozumění, jak definovat nebo převzít potřebný toleranční interval. Obecně je možné definovat tři cesty k získání tolerančního intervalu:

- analytická kritéria výsledku (TE_a) odvozená z biologické variability
- kritéria mezilaboratorních srovnávání (PT kritéria)
- klinická kritéria výsledku (D_{int})
- individuální kritéria pro SD, bias

4.2.3 Six sigma a graf operačních specifikací

Jestliže je v úvodu označena six sigma jako správná strategie přístupu ke kontrole kvality, pak grafy operačních specifikací (OPSChart)[2)] jsou správná technologie při zavádění kontrolního systému. Při méně sofistikovaném přístupu lze na základě odhadnuté sigma-metriky odhadnout typ kontrolního pravidla a potřebný počet kontrolních měření ve vyšetřované sérii. Následující tabulka je hrubě orientační, dobře však poslouží pro praxi tomu, kdo nemá počítačový program pro vyhodnocování.

Tabulka 2: Výběr kontrolních pravidel a počtu kontrol v sérii v závislosti na vypočtené σ

Sigma metrika	n počet kontrol	Kontrolní pravidlo	Komentář
$\sigma \geq 6$	1	Jakékoliv vhodné kontrolní pravidlo, např. 1-3s.	Kontrolní pravidlo se volí pouze s ohledem na únosnou pravděpodobnost falešného zamítnutí série p_{fr}
$6 > \sigma \geq 5$	2, nebo 3	1–2,5s (nebo 1-3s)	
$5 > \sigma \geq 4$	4 až 6	1-2,5s (nebo1-3s)/2-2s/R-4s/4-1s	
$4 > \sigma \geq 3$	(únosné) maximum > 6		Zvýšit frekvenci kontrol funkce přístroje, provedení verifikace a preventivní údržba
$\sigma < 3$			Poohlédnout se po nové metodě nebo přístroji (platí výjimky)

V případě, že má laboratoř možnost realizovat regulační diagram na počítači a jsou k dispozici kontrolní pravidla s lepší pravděpodobností chyby např. EWMA pro detekci malé systematické chyby, jistě je použije namísto klasických pravidel 1- 3s. Princip tabulky však platí nadále – čím je vyšší σ (6 a více), tím stačí jednodušší statistické sledování. Čím více se hodnota σ přibližuje 3, tím spíše je nutno zvažovat, jestli je příčinou zvolená metoda anebo instrumentace nebo je pro danou metodu zvoleno příliš „tvrdé“ kritérium, TE_a. Kritickou veličinou ve výpočtu je i bias, pokud se pro výpočet σ zvolí Westgardův vzorec[1)]. Někdy, především u nízkých hodnot, bývá toleranční interval udán absolutně

v jednotkách množství, koncentrace apod. To je při aplikaci sigmametriky třeba akceptovat. Jindy je šíře tolerančního intervalu doporučena „volně“, někdy naznačuje pouze potřebnost na základě malé biologické variability parametru (Na^+).

V následujících dvou příkladech je znázorněn vliv volby TE_a, resp. velikost bias, na hodnotu σ.

Př. 1: TV ALT = 0,50 ukat/l; TE_a = 21%; bias = 0%; VK= 8% σ = 2,62

Komentář: Pro tuto katalytickou koncentraci ALT je TE_a 21% příliš „tvrdá“; z analytického, klinického a v neposlední řadě i ekonomického hlediska by mohlo být přijatelných i 40%, čemuž by odpovídala σ = 5 a přístup k volbě kontrolních pravidel pro tuto úroveň katalytické koncentrace enzymu by mohl být úplně jiný.

Př. 2: vstup:a) TV ALT = 1,50 ukat/l; TE_a = 21%; bias = 12,5%; VK= 3,51% σ = 2,42
b) TV ALT = 1,50 ukat/l; TE_a = 21%; bias = 0%; VK= 3,51% σ = 5,98

Komentář: Vzhledem k „nejistotě“ TV je lépe používat variantu výpočtu σ bez použití bias

4.2.4 Závěr

Správná aplikace strategie six sigma do praxe zdravotnických analytických laboratoří může přinést významné zlepšení kvality při současném zjednodušení posuzování výsledků kontroly. V neposlední řadě může přinést i snížení nákladů spojené s možným snížením počtu kontrolních analýz.

Literatura

1. Westgard J. O.: Six Sigma Quality – Design and Control, 2nd Ed., 2006, ISBN 1-886958-23-8.
2. http.//www.westgard.com
3. http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/index.htm

Kapitola 5. Souvislost EHK a VKK

Marek Budina, Jaroslav Kratochvíla

5.1 EHK a jeho role v procesu zajišťování kvality

EHK je součástí procesů zajištění kvality v analytických laboratořích a je organizováno a vyhodnocováno poskytovateli EHK (EQA providers). Principem EHK je provádění mezilaboratorního porovnávání zkoušek a obvykle má tyto fáze:

- rozeslání kontrolních vzorků účastníkům poskytovatelem
- jejich měření v laboratořích účastníků
- vrácení výsledků měření poskytovateli
- vyhodnocení výsledků podle předem daných kritérií
- rozeslání vyhodnocení jednotlivým účastníkům

EHK vhodně doplňuje jiné prvky procesu zajištění kvality, kterými jsou vnitřní kontrola kvality, validace/verifikace a měření dostupných referenčních a kontrolních materiálů. Porovnání vlastních výsledků s dalšími účastníky umožní laboratoři detekci případných neočekávaných zdrojů chyby/nejistoty, usnadní odstranění analytických problémů, je podpůrným nástrojem zlepšování kvality a v mnoha případech je účinným prostředkem verifikace návaznosti výsledků měření. Data EHK mohou účinně přispět k odhadu nejistoty výsledků měření.

Na základě informací získaných v procesu VKK může každá laboratoř (s jistou mírou pravděpodobnosti) předpokládat, zda dokáže kvalitně zvládnout i EHK a oba druhy kontroly - vnitřní a externí - jsou tak bytostně propojeny. V případě dokonalého objektivního a dlouhodobého přehledu o vlastním VKK (v souladu s Doporučením VKK), lze i s velkou pravděpodobností spolehlivě odhadnout, jaké budou výsledky měření analytů a parametrů při účasti v EHK.

Programy EHK, založené na respektování ILAC G13 [2] a ISO Guide 43.1 [1], vychází z použití vhodných kontrolních materiálů (v souladu s mezinárodními doporučeními), které jsou rozesílány účastníkům podle předem daného časového plánu. Cílové hodnoty zkoušek se určují dle ISO 13528 [4] a ve shodě se závěry BIPM/JCTLM a jsou účastníkům sdělovány až jako součást hodnocení výsledků příslušného kontrolního cyklu EHK. Výsledky hodnocení jsou založeny na statistických způsobech zpracování dat opět dle ISO 13528. Všichni účastníci EHK musí obdržet po každém cyklu dostatečné informace o svých výsledcích a komplexní statistické hodnocení.

5.2 Mezilehlá přesnost a bias (vychýlení)

Základními údaji pro hodnocení výsledků VKK a její provázání s výsledky a požadavky EHK jsou mezilehlá přesnost a bias (vychýlení).

Mezilehlá přesnost (intermediate precision) je těsnost souhlasu (shody) mezi nezávislý-

mi výsledky zkoušky získanými za předem specifikovaných podmínek. Těmito podmínkami se rozumí použití souboru dat získaných měřením kontrolních vzorků shodnou měřicí metodou, na stejném místě, opakovanými měřeními stejných kontrolních vzorků za delší časové období, přičemž v tomto časovém úseku je přípustná nová kalibrace, změna kalibrátoru, změna operátora i měřicího systému (volně přeloženo dle VIM 3, FDIS 2007). Za časovou řadu se obvykle bere minimálně n = 15 měření za 1 kalendářní měsíc i více (tedy např. při stanovení kontrolních vzorků v počtu 2x denně, je počet kontrolních vzorků v časové řadě n = 60). Po vyloučení odlehlých hodnot se vypočte směrodatná odchylka (SD) dle vztahu:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1}\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}$$

kde je:

n ... počet měření (kontrolních vzorků)

x_i ... i-té měření (výsledek)

$\bar{x}$ ... aritmetický průměr

a variační koeficient (CV):

$$CV = 100 \cdot \frac{s}{\bar{x}} \quad [\%]$$

Bias (b) je rozdíl mezi střední hodnotou výsledků měření a přijatou referenční (vztažnou) hodnotou:

$$b = \bar{x}_{lab} - X_{ref}$$

kde je:

b ... bias (vychýlení)

$\bar{x}_{lab}$ ... průměr výsledků měření laboratoře

X_{ref} ... referenční (vztažná) hodnota

Laboratoř může určit bias na základě měření materiálu, který je vybaven dokumentem dokládajícím návaznost hodnot obsahu na vyšší metrologický standard včetně odhadu nejistot těchto hodnot.

5.3 Nástroje pro integraci výsledků VKK a EHK

Existuje řada způsobů, jak korelovat data získaná ve VKK s výsledky EHK. V následujících odstavcích uvádíme alespoň několik nejběžnějších metod.

5.3.1 Westgardův lineární vztah

Nejjednodušší a dlouhodobě používaný postup je založen na bázi Westgardova lineárního vztahu, který celkovou analytickou chybu (TE_{anal}) definuje takto:

$$TE_{anal} \leq b + z \cdot CV$$

kde je:

b ... bias/vychýlení (získaný z VKK)
z ... statistický násobek
CV ... variační koeficient (získaný z VKK)

Pro maximální přípustnou celkovou chybu (TE_{max}) dostáváme (při volbě z = 2 (viz níže):

$$TE_{\max} = b_{\max} + 2 \cdot CV_{\max} = TMU$$

kde je:

b_{max} ... maximální přípustné bias/vychýlení
CV_{max} ... maximální přípustný variační koeficient (získaný z VKK)
TMU .. cílová nejistota měření EHK (toleranční rozpětí)

Pro testy založené na předpokladu normálního rozložení a α= 5 % (CI = 95 %) je pro oboustranný test z = 1,96 (což lze s dobrým přiblížením nahradit hodnotou Z = 2).

5.3.2 Macdonaldovy vztahy

Jako další příklad lze uvést způsob korelace dat VKK a EHK, vycházející z práce Macdonalda [7] a použitý i v novém Rilibäku 2008 [5].

Celkovou chybu měření (Δ) definuje Macdonald následujícím vztahem (odmocnina z průměru čtverců odchylek měření od správné (pravdivé) hodnoty):

$$\Delta = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(x_i - X_{ref})^2}$$

kde je:

n .. počet měření (kontrolních vzorků)
x_i ... i-té měření (výsledek)
X_{ref} ... referenční hodnota

Protože platí:

$$\sum_{i=1}^{n}(x_i - X_{ref})^2 = \sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{x})^2 + n(\overline{x} - X_{ref})^2$$

lze uvedený vztah upravit takto (odmocnina ze součtu rozptylu měření a čtverce odhadu systematické chyby):

$$\Delta = \sqrt{\frac{n-1}{n} SD^2 + b^2}$$

kde je:

SD ... směrodatná odchylka
b ... bias/vychýlení

Jestliže jsou pro hodnotu směrodatné odchylky a bias dána určitá omezení (maximální limity/meze označené níže ε) např. doporučeními, vyhláškami nebo zákony takto:

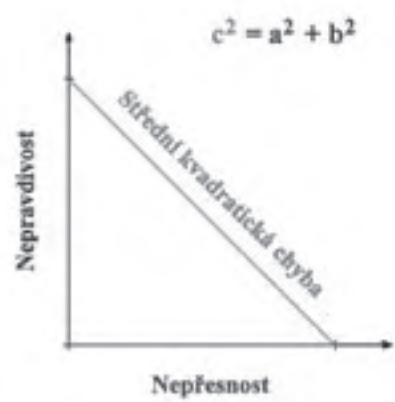
$$SD \leq \varepsilon_s$$

$$b \leq \varepsilon_b$$

pak lze dle výše uvedených vztahů klást omezení (limit) i pro celkovou chybu měření Δ takto:

$$\left| x_{lab} - x_{ref} \right| = \Delta \leq \varepsilon_\Delta = \sqrt{\frac{n-1}{n} \varepsilon_s^2 + \varepsilon_b^2}$$

Pro dostatečně velké n se výraz $\left(\frac{n-1}{n}\right)$ blíží jedné a výše uvedený vztah můžeme velice jednoduše demonstrovat pomocí následujícího obrázku dle Pythagorovy věty:



Tento vztah pak určuje mezní hodnotu celkové chyby jednoho měření, přičemž klade na měření laboratoře přísnější kritéria než Westgardův vztah, který by při použití stejné symboliky měl podobu:

$$\Delta \leq \varepsilon_b + 2 \cdot \varepsilon_s$$

Pokud pak jsou dvě měření téhož kontrolního vzorku či referenčního materiálu zpracovávaná rutinně odchýlená o více než povolené meze, nelze výsledek série uvolnit a je reálné, že i výsledky měření daného analytu či parametru v kontrolním cyklu EHK budou zatíženy větší chybou než je povolené TMU v daném kontrolním cyklu.

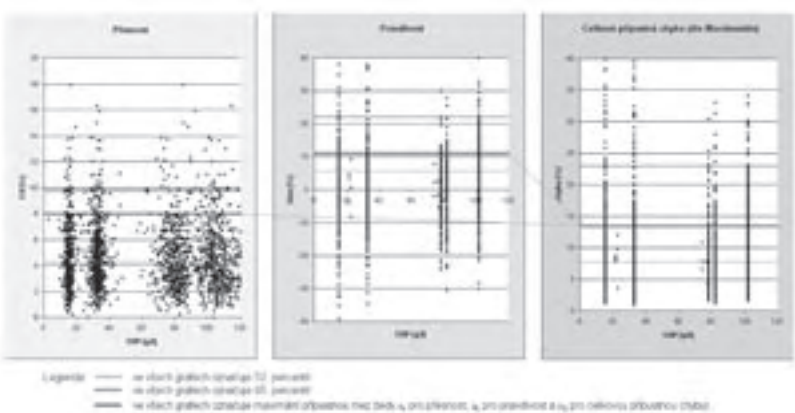
Na druhé straně má při dlouhodobém plnění podmínek laboratoř jistotu, že v EHK uspěje.

Následující tabulka, kde jsou „vstupní data“ (ε) převzata z Rilibäku 2004, demonstruje v posledním sloupci nový přístup dle Rilibäku 2008 (v záhlaví jsou uvedeny použité vzorce; „r“ v indexech označuje relativní hodnoty v %; n = 15).

Analyt	***Maximální nepřesnost***	***Maximální nepravdivost***	***Celková chyba TMU v EHK***	***Nový přístup (Macdonald)***
	$\varepsilon_{s,r} = 100\frac{\varepsilon_s}{\bar{x}}$	$\varepsilon_{b,r} = 100\frac{\varepsilon_b}{X_{ref}}$	$\varepsilon_{b,r} + 2 \cdot \varepsilon_{s,r}$	$\sqrt{\frac{n-1}{n}\varepsilon_{s,r}^2 + \varepsilon_{b,r}^2}$
Albumin	6 %	11 %	23 %	12 %
Vápník celkový	3 %	5 %	11 %	5,8 %
Cholesterol	4 %	6 %	14 %	7,1 %
Glukóza	5 %	6 %	16 %	7,7 %
Kreatinin	6 %	10 %	22 %	12 %
HbA_{1c}	6 %	8 %	20 %	9,9 %
CRP	8 %	11 %	27 %	13 %

Pokud účastník sleduje soustavně maximální povolené odchylky jednotlivých měření dle posledního sloupce výše uvedené tabulky (jako zdroj dat může sloužit Rilibäk 2008, Příloha B, sloupec 3, kde jsou tyto hodnoty uvedeny pro několik set analytů a parametrů), může na základě vlastních výsledků opakovaného měření s vysokou pravděpodobností odhadnout, zda bude v kontrolním cyklu EHK úspěšný či nikoli.

Nový přístup dle Rilibäk 2008 dokumentujeme níže na obrázku pomocí dat získaných od účastníků EHK SEKK v kontrolních cyklech CRP v letech 2005 a 2006:



Při daných maximech ε_s = 8 % a ε_b = 11 % dostáváme výpočtem (pro n = 15) dle Macdonaldova vztahu ε_ε = 13,4 % (poloha těchto limitů je v obrázku označena modře a pro srovnání jsou uvedeny percentily získané z reálných dat).

5.3.3 Sigmametrie (six sigma)

Protože o principech sigmametrie pojednává samostatná kapitola, uvádíme na tomto místě jen ukázku praktické aplikace sigmametrie na dvou typech kontrolních cyklů.

Měřítkem výkonu je přitom velikost six sigma (σ):

$$\sigma = \frac{TMU - |b|}{CV}$$

kde je:

TMU ... toleranční rozpětí
b ... bias
CV ... variační koeficient
(všechny údaje v %)

Obecně se považuje hodnota $\sigma \geq 6{,}0$ (pravidlo six sigma) za indikátor vynikající kvality a hodnota $\sigma < 3{,}0$ za indikátor nepřijatelně nízké kvality.

Pokud jsou jako cílové hodnoty v tomto některém cyklu použity průměry výsledků měření (ALTM), je bias b = 0 a vztah se pak zjednoduší na:

$$\sigma = \frac{TMU}{CV}$$

Příklad 1

Nejprve se podíváme na výsledky EHK v několika rutinních kontrolních cyklech. Vypočetli jsme hodnoty sigma z výsledků všech účastníků příslušných kontrolních cyklů SEKK bez rozdělení na skupiny podle metod/kitů a jako průměr dosažený u obou vzorků. Výsledky potvrzují vcelku očekávanou úroveň kvality měření jednotlivých zkoušek. *Hodnoty sigma nad 6,0 (excelentní) a pod 3,0 (s nedostatečnou kvalitou) jsou znázorněny tučně:*

Cyklus	***Analyt***	***Sigmametrie***
AM2/06	Sodný kation	5,6
	Chloridový anion	4,9
	Vápník celkový	**2,7**
	Osmolalita	**8,1**
	Kreatinin	3,7
	Glukóza	4,9
CRP1/07	C-reaktivní protein	3,8
AKS2/07	Sodný kation	4,5
	Celková bílkovina	4,5
	Osmolalita	**7,5**
	Cholesterol	**2,1**
	Glukóza	3,8
	Kreatinin	3,7
	GGT	3,7

V následující tabulce je uveden vztah mezi velikostí sigma a očekávanou neúspěšností v EHK:

Velikost Sigma	***Neúspěšnost v EHK***
3	8 %
3,2	5 %
3,9	1 %
4,1	0,5 %
4,6	0,01 %

Příklad 2

Druhým příkladem je stanovení glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}).

Pokud do výše uvedeného vzorce dosadíme TMU = 18 %, bias b = 3 % a CV = 5 %, dostaneme velikost $\sigma_{\dot{}}$ = 3,0.

K dosažení $\sigma_{\dot{}}$ = 4,5 (poměrně dobrý standard) je zapotřebí buď snížit požadavky nebo zvýšit kvalitu měření!

Snížení požadavků by reprezentovalo zvýšení hodnoty TMU alespoň na 25,5 %.

Zvýšení kvality měření může být reprezentováno menším CV nebo b (nebo obojím). Např. při b = 0 je přípustné CV až 4,0 %, při b = 1 % pak 3,8 %.

5.3.4 E_n skóre

Výpočet E_n skóre se provádí dle následujícího vztahu:

$$E_n = \frac{x_{lab} - X_{ref}}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}}$$

kde je: x_{lab} ... výsledek měření laboratoře
X_{ref} ... referenční (vztažná) hodnota
U_{lab} ... rozšířená nejistota výsledku měření laboratoře
U_{ref} ... rozšířená nejistota referenční (vztažné) hodnoty

V případě E_n skóre platí „čím menší, tím lepší“. Za hraniční hodnotu je obvykle považováno $|E_n| = 1$ – při této velikosti E_n se výsledek laboratoře shoduje s referenční hodnotou s pravděpodobností 95 %. Optimálních výsledků tedy laboratoř dosahuje, pokud $|E_n| \leq 1$.

Jako příklad můžeme uvést výpočet založený na reálných datech pro draselný kation. Za předpokladu, že U_{lab} = 5 % a U_{ref} = 2 %, je pro dosažení $|E_n| \leq 1$ potřebná diference výsledku laboratoře od vztažné (zde většinou referenční) hodnoty ≤ 5,4 %.

Pokud jako modelový analyt zvolíme glukózu, U_{lab} = 7 % a U_{ref} = 1 %, pak je potřebná diference od referenční hodnoty ≤ 7,1%.

5.3.5 Zeta skóre (ζ)

V současnosti je tento parametr doporučován jako nejvhodnější (protože využívá všeobecně dostupné standardní nejistoty bez rozšíření faktorem) pro analytické postupy měření [8,10].

$$\zeta = \frac{x_{lab} - X_{ref}}{\sqrt{u_{lab}^2 + u_{ref}^2}}$$

kde je: x_{lab} ... výsledek měření laboratoře
X_{ref} ... referenční (vztažná) hodnota
u_{lab} ... standardní nejistota výsledku měření laboratoře
u_{ref} ... standardní nejistota referenční (vztažné) hodnoty

V případě ζ skóre opět platí „čím menší, tím lepší“. Za hraniční hodnotu je obvykle považováno $|\zeta| = 2$. Optimálních výsledků tedy laboratoř dosahuje, pokud $|\zeta| \leq 2$. Principiálně se jedná o podobný skórovací postup jako v případě E_n skóre.

5.3.6 Z-skóre

Jedná se o dlouhodobě používaný postup, který však je v současné době některými autory opouštěn. Přesto jej však mnohé systémy EHK v Evropě i nadále používají (např. ECAT Foundation) pro jeho jednoduchost a přehlednost. Z-skóre je spočteno dle následujícího vztahu:

$$Z = \frac{x - \bar{x}}{s}$$

kde je: x ... výsledek účastníka
$\bar{x}$ ... aritmetický průměr všech výsledků (s vyloučením odlehlých)
s ... směrodatná odchylka všech výsledků

Pokud jsou výsledky účastníků hodnoceny v rámci EHK podle Z-skóre (což bývá běžné v případech, kdy nejsou stanoveny pevné TMU), pak je obvykle interpretace Z-skóre, dosaženého účastníkem, následující:

$\lvert Z \rvert \leq 1$	výborný výsledek, bez připomínek
$1 < \lvert Z \rvert \leq 2$	dobrý, akceptovatelný výsledek
$2 < \lvert Z \rvert \leq 3$	pochybný výsledek, důvod k prověření
$\lvert Z \rvert > 3$	významná (hrubá) chyba ve stanovení

Výše uvedená kritéria se mohou v praxi mírně měnit, což vede k tomu, že přístup pomocí Z-skóre není jednotný ve všech případech (tedy pro všechny analyty a systémy EHK).

Někdy se též používá přístup označovaný jako „fitness for purpose“, kdy se skóre počítá dle vztahu podobného výše uvedenému, kde je ale směrodatná odchylka nahrazena rozšířenou nejistotou měření v dané laboratoři (U_{lab}) [9]:

$$skóre_{FFP} = \frac{x - \bar{x}}{U_{lab}}$$

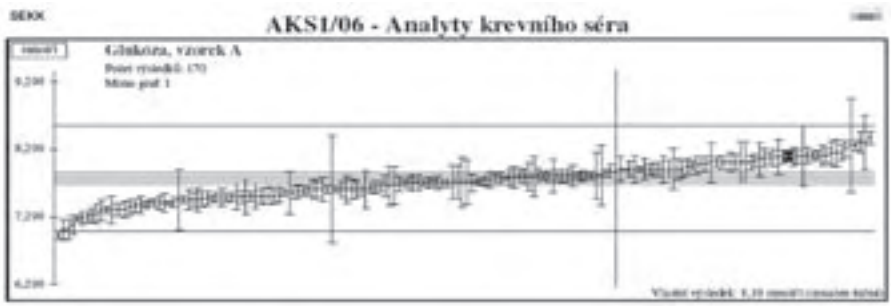
Tento postup je zacílen „na laboratoř“, protože ve jmenovateli je odhad vlastní nejistoty. Hranicí přijatelnosti výsledku je pak $|skóre_{FFP}| \leq 1$.

5.4 Odhady nejistot

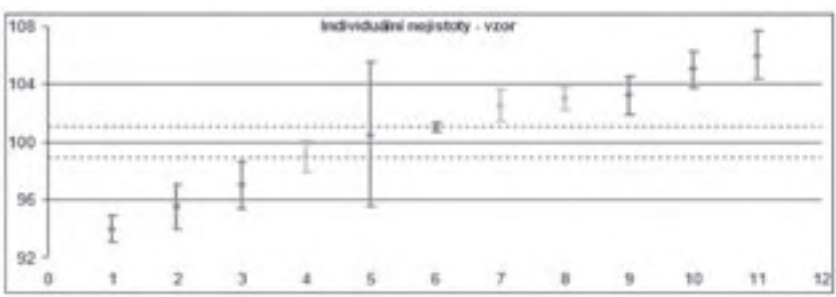
Jak je vidět v mnoha odstavcích kapitoly 5.3, je novým trendem v provádění EHK to, že se u výsledků prováděných zkoušek vyžaduje rovněž uvedení vlastního odhadu nejistoty výsledků měření. Výpočet vychází z Doporučení pro určování odhadu nejistot publikovaném v roce 2006 [6]. Tento výpočet samozřejmě opět vychází z dat získaných v procesu VKK. V rámci EHK lze pak data o nejistotách, získaná od účastníků, použít v zásadě dvěma způsoby:

- V edukační rovině, kdy je účastníkům poskytnuta zpětná vazba v podobě informací o odhadech nejistot v rámci celého souboru účastníků s tím, že porovnání vlastního odhadu s ostatními je nástrojem sloužícím pro odhad spolehlivosti určení vlastní nejistoty.
- Odhady nejistot lze užít i k hodnocení výsledků účastníků, kde se posuzování „správnosti“ výsledku posouvá od obvyklého bodového odhadu k pravděpodobnostnímu modelu a intervalovému odhadu výsledku zkoušky (viz kapitola 5.3).

První z uvedených přístupů lze demonstrovat na aktuálním přístupu k odhadům nejistot výsledků v rámci EHK SEKK. Účastníci EHK zde dostávají od poskytovatele bodové grafy s odhady nejistot (zobrazení vlastních výsledků s odhady nejistot). Pro každou zkoušku a vzorek je k dispozici jeden graf. V záhlaví grafu je uveden název analytu/parametru a označení vzorku. Dále je zde uveden počet výsledků zobrazených v grafu a počet výsledků, které svou velikostí přesahují rozsah osy y grafu (jsou mimo graf). Prostřední vodorovná přímka zobrazuje polohu cílové hodnoty. Přerušované vodorovné čáry po obou stranách této přímky zobrazují udanou nejistotu této cílové hodnoty (nebo odhad této nejistoty). Horní a dolní plné přímky pak vymezují oblast tolerančního rozpětí. Výsledky jednotlivých účastníků jsou zobrazeny jako vzestupně seřazené body, přičemž ke každému bodu je po obou stranách zkonstruována úsečka, představující účastníkem udaný odhad velikosti vlastní nejistoty výsledku měření získaný z vlastní VKK. V pravém dolním rohu grafu je uveden výsledek účastníka a v grafu je vlastní výsledek označen tučně. Příklad je uveden na následujícím obrázku:



Základní interpretaci polohy vlastního výsledku a velikosti nejistoty uvádíme na modelovém příkladu dle obrázku níže:



1. Laboratoře 1, 2, 10 a 11 uvedly výsledky stanovení mimo toleranční rozpětí.
2. Laboratoře 3 a 9 uvedly výsledky uvnitř tolerančního rozpětí, avšak odhad nejistoty jejich stanovení (vymezující oblast pravděpodobné skutečné hodnoty) z pásu tolerančního rozpětí vybočuje (i když pouze jednostranně). K jejich správnému výsledku měření tak kromě jejich dobré práce přispěla v tomto případě i trocha štěstí (pravděpodobnost, že jejich výsledek mohl padnout mimo toleranční pás, není zanedbatelná).

3. Extrémní hodnotu odhadu vlastní standardní nejistoty udala laboratoř 5: výsledek měření je v téměř ideální shodě s cílovou hodnotou, avšak odhad jeho nejistoty je tak vysoký, že naměřená hodnota může se značnou pravděpodobností ležet i mimo toleranční pás. Uvážíme-li, že odhad nerozšířené nejistoty odpovídá v Gaussově rozložení přibližně 70% pravděpodobnosti, pak by tato laboratoř pravděpodobně uspěla jen v necelých 7 měřeních z 10, což vskutku není mnoho.
4. Určitým způsobem lze za extrémní považovat i výsledek laboratoře 6, která udala odhad nejistoty vlastního výsledku měření řádově nižší než ostatní účastníci i než je udaná nejistota cílové hodnoty (přerušované přímky). Je vidět, že i zdánlivě vynikající výsledek může být podezřelý.

Z přehledů odhadů nejistot uváděných účastníky EHK a publikovaných v komentářích a vlastního odhadu nejistoty v dané laboratoři lze též odhadnout možnost úspěšného absolvování EHK. Vysoké vlastní odhady nejistot výsledků měření anebo naopak super nízké oproti průměru účastníků EHK jsou indikátorem použití špatné analytické metody, kitu, přístroje, systému (nebo chybného postupu určení odhadu nejistoty) a mohou vést k problematickým výsledkům daného pracoviště v EHK.

Použití odhadů nejistot k vlastnímu hodnocení výsledků EHK je uvedeno výše v kapitole 5.3.

Zásadním problémem při použití odhadů nejistot v systémech EHK zůstává často nepřijatelně velký rozptyl odhadů nejistot, které laboratoře uvádějí. Rozptyl přesahující i 2 řády mnohdy není výjimečným úkazem. Příklad níže je uveden hlavně proto, abychom případným účastníkům pomohli k dosažení realističtějších odhadů vlastních nejistot v klinických laboratořích – jinými slovy lze říci, že jednoduchým postupem uvedeným v příkladu lze získat „modelový“ odhad nejistoty a s ním porovnat odhad ve vlastní laboratoři. Liší-li se tyto odhady velmi významně (řádově), je pravděpodobné, že došlo k chybě.

Příklad: Modelový případ odhadu nejistot pro několik analytů

Uvedený model výpočtu odhadů kombinovaných nejistot vychází z metodiky uvedené v [6] a opírá se o data z kontrolního cyklu EHK SEKK AKS4/06. Odhad byl proveden na základě vstupních údajů uvedených v tabulce níže, přičemž odhad nejistoty bias byl zanedbán – vypočtený odhad kombinované nejistoty je pak uveden v posledním sloupci.

Mezilehlá přesnost byla získána jako průměrná hodnota z údajů účastníků.

Nejistota referenční hodnoty byla převzata z tabulky uvedené v komentáři k vyhodnocení cyklu (absolutní hodnoty kombinovaných rozšířených nejistot byly přepočteny na relativní a nerozšířené).

Bias byl odvozen z odchylek průměrů v cyklu AKS4/06 od referenčních hodnot.

Takto byly získány hodnoty odhadů kombinovaných nejistot měření pro „virtuální“ laboratoř, která by dosáhla průměrných hodnot mezilehlé přesnosti a vychýlení/bias v uvedeném cyklu. Nejistota referenčních hodnot je stejná pro všechny uživatele. Korektní výpočet ve všech laboratořích účastníků by se projevil mnohem užším intervalem hodnot odhadů kombinovaných nejistot. Ty by se lišily pouze v závislosti na různé úrovni mezilehlých přesností a bias v rozdílných laboratořích.

Tabulka s odhady nejistot virtuální laboratoře, dosahující průměrných hodnot mezilehlé přesnosti a bias				
Analyt	***Mezilehlá přesnost [%]***	u_{RMV} ***[%]***	***Bias [%]***	u_c ***[%]***
Sodný kation	1,2	0,64	0,21	**1,4**
Draselný kation	1,6	1,3	1,0	**2,3**
Chloridový anion	1,4	0,85	1,4	**2,1**
Vápník celkový	2,0	1,11	1,2	**2,6**
Hořčík celkový	2,9	1,5	2,8	**4,3**
Celková bílkovina	1,9	1,1	1,5	**2,6**
Albumin	1,8	2,5	4,0	**5,0**
Cholesterol	1,9	0,49	4,0	**4,4**
Glukóza	1,9	0,50	1,8	**2,7**
Kyselina močová	2,1	0,51	1,3	**2,5**
Kreatinin	3,1	0,59	2,3	**3,9**
AST	2,6	1,9	0,98	**3,4**
ALT	2,9	1,9	2,3	**4,1**
CK	2,7	2,6	4,9	**6,2**
GGT	2,3	2,2	5,3	**6,2**

Literatura:

1. ISO Guide 43-1: 1997. Proficiency testing by interlaboratory comparison
2. ILAC G13:2000 Guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency testing
3. Certifikace 2008. Dostupné na webové adrese http://www.sekk.cz/
4. ISO 13528:2003. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. ISO 2003.
5. Rilibäk 2008. Dostupné na webové adrese: http://www.bundesaerztekammer.de/
6. Suchánek M., Friedecký B., Kratochvíla J., Budina M., Bartoš V.: Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření/klinických testů v klinických laboratořích. Klin Biochem Metab (2006) 1 43 - 53. Dostupné na webové adrese http://www.sekk.cz v oddíle Infoservis
7. Macdonald R.:Quality assessment of quantitative analytical results in laboratory medicine by root square of measurement deviation. J Lab Med 2006 30/3 111 – 117.
8. Thompson M., Ellison S. L. R., Wood R.: The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. Pure Appl Chem 2006,78,145-196 (Dostupné na www.iupac.org)
9. Wong S. K.: A comparison of performance statistics for proficiency testing programmes, Accred Qual Assur 2007, 12/2, 59 - 66
10. Thompson M., Ellison S. L. R.: Fitness for purpose – the integrating theme of the revised harmonised protocol for proficiency testing in analytical chemistry laboratories. Accred Qual Assur 2006, 11, 373 – 378.

Kapitola 6. Poznámky k praktickým aplikacím

Vladimír Bartoš, Luděk Šprongl, Miroslav Verner, Marie Kašparová

6.1 Vnitřní kontrola kvality imunoanalytických metod

Imunoanalytické metody jsou dnes obvykle včleněny do komplexu dalších vyšetřovacích metod prováděných v laboratoři a tak je i systém VKK většinou budován komplexně v rámci celé laboratoře. Přístup k operativnímu řízení kvality by se v případě imunoanalytických metod neměl lišit od přístupu k jiným analytickým metodám používaným v klinických laboratořích. Teoretickým aspektům i obecným principům praktickému fungování tohoto systému jsou věnovány předcházející kapitoly příručky. V této části je uvedeno několik poznámek, které s problematikou provádění VKK u IA metod souvisejí, nebo jsou pro ni typické.

Rozhodování odpovědného managementu laboratoře bývá v případě imunoanalytických vyšetření často ovlivňováno jejich relativně vysokou cenou a z úsporných důvodů je pak provádění kontrolních měření v rámci VKK redukováno, bohužel, někdy až pod únosnou mez. Je třeba zdůraznit, že i v tomto případě se jedná o analytické metody a neexistuje žádné opodstatnění k tomu, proč by těmto metodám měla být věnována menší pozornost a implicitně jim tak byla přisuzována větší důvěra v jejich kvalitu. Naopak, mělo by se k nim přistupovat s vědomím, že se jedná o metody, které jsou principiálně náchylnější k výskytu odchylek a chyb (s ohledem na charakter používaných reagencií a množství faktorů, jež mohou výsledek imunochemické reakce ovlivňovat).

J. O. Westgard uvádí, že imunoanalýzy jsou metodami s větší variabilitou výsledků, než tomu bývá obvyklé u rutinních metod v biochemii nebo hematologii. Pro dosažení obdobné účinnosti VKK je pak u těchto metod většinou zapotřebí provádět více kontrolních měření (pomocí měření většího počtu různých kontrolních vzorků, nebo jejich vícenásobným měřením, např. v dubletech). Je zřejmé, že toto navýšení počtu kontrolních měření s sebou přináší zvýšení nákladů na VKK, a tím i na samotné laboratorní vyšetření.

6.1.1 Přístup k realizaci VKK imunoanalytických metod

Strategii realizace operativního řízení kvality imunoanalytických metod je vhodné na pracovišti volit podle konkrétního způsobu provádění těchto vyšetřovacích metod. V současné době je v klinických laboratořích využívána řada jejich různých variant, rozlišovaných obvykle podle způsobu detekce odezvy imunochemické reakce (radioimunoanalýzy, enzymoimunoanalýzy, imunoanalytické metody s fluorescenční nebo luminiscenční detekcí). Volba přístupu k realizaci VKK je obvykle ovlivněna způsobem zpracování vzorků (resp. požadavků na vyšetření). IA metody mohou být prováděny manuálně, nebo dnes již ve většině laboratoří automaticky, s využitím řady různých imunoanalyzátorů. Míra automatizace zároveň obvykle určuje způsob zpracování vzorků - dávkové („batch

analysis“), nebo po pacientech („random access“). Zatímco pro manuální zpracování je charakteristický dávkový způsob, většina analyzátorů dnes již využívá zpracování vzorků po pacientech.

6.1.1.1 Manuální metody

Pro metody prováděné manuálně - především radioimunoanalytické metody (RIA nebo IRMA) anebo enzymoimunoanalytické metody využívající mikrotitrační destičky (obvykle označované jako ELISA) - je charakteristický dávkový způsob zpracování vzorků. Tento způsob bývá využíván i některými typy analyzátorů s nízkou úrovní automatizace. Podíl manuálních metod na celkovém počtu provedených IA vyšetření má zákonitě klesající tendenci.

Z hlediska vzniku možných chyb je pro manuální metody, díky většímu podílu lidského faktoru, zvýšena pravděpodobnost výskytu náhodných a hrubých chyb. Vedle toho, úroveň technologického designu dnešních IA metod (separace pomocí pevné fáze, nekompetitivní formáty s nadbytkem reagencií apod.) pozitivně ovlivňuje jejich robustnost. Díky tomu nemusí být při manuálním provedení IA metod zvýšena pravděpodobnost výskytu systematických odchylek. Tyto skutečnosti je vhodné mít na zřeteli při případném řešení neshodných situací zjištěných při hodnocení výsledků měření v rámci VKK.

Frekvence provádění kontrolních měření VKK je u manuálních metod více méně dána jejich dávkovým zpracováním. Analytická série je zde jasně definována zpracovávanou dávkou vzorků (obvykle bez omezení její velikosti) a odtud implicitně vyplývá požadavek analyzovat kontrolní vzorky VKK s každou dávkou vzorků. Současně je tak i dána jasně ohraničená množina vzorků, kterých se dotýká případné rozhodování o opakování analýzy, jestliže jsou získány neshodné výsledky měření VKK.

6.1.1.2 Automatizované metody

Pro moderní imunoanalyzátory s vysokou mírou automatizace je charakteristické zpracování požadavků způsobem random access. Díky tomu je i přístup k realizaci VKK při využití této techniky zcela srovnatelný s jeho prováděním u jiných laboratorních vyšetření.

Z hlediska vzniku možných chyb převládá při tomto způsobu zpracování spíše výskyt systematických odchylek (způsobených např. stárnutím reagencií nebo pomocných substancí, změnou funkčních charakteristik přístroje vlivem jeho nesprávné údržby, poškozením apod.).

Volba frekvence kontrolních měření VKK je v případě automatizovaných metod obtížnější. Určení velikosti analytické série je na rozdíl od manuálních metod méně jednoznačné. Obvykle se místo definovaného počtu analyzovaných vzorků volí spíše časový úsek. Za předpokladu jeho maximální délky 24 hodin to pro praxi znamená, že u parametrů stanovovaných denně musí být kontrolní měření prováděna alespoň 1x za den. Pokud

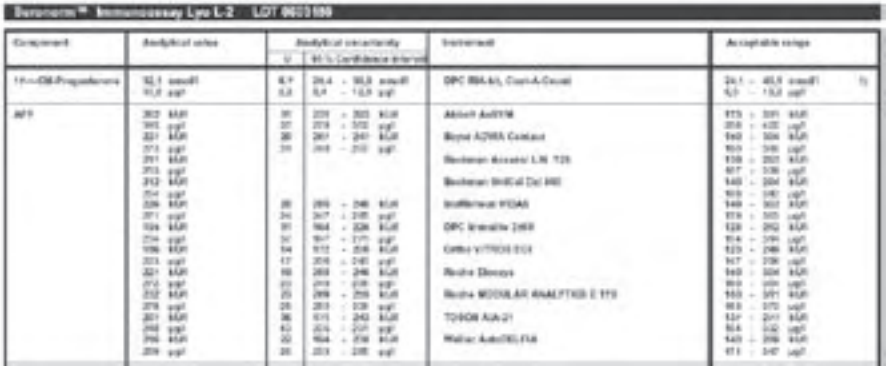
jsou některé parametry stanovovány jen v určitý den, pak by měly být tentýž den rovněž analyzovány kontrolní vzorky pro VKK.

6.1.2 Volba kontrolních materiálů

Obdobně jako pro jiné vyšetřovací metody je možno v případě realizace VKK imunoanalytických metod používat principiálně tři druhy kontrolních materiálů:

- vzorky nezávislých výrobců kontrolních materiálů (třetí strana)
- kontrolní vzorky výrobce používaného IVD
- vlastní kontrolní vzorky

První varianta je možností ideální se zaručovanou dlouhodobou stabilitou, zároveň však obvykle nejdražší. Většinou se však jedná o multianalytové vzorky použitelné pro sledování více různých analytů. V případě IA metod bývá častou skutečností, že se v závislosti na způsobu uměle připravovaných vzorků nebo specifičnosti jednotlivých analytických systémů mohou poměrně významně lišit koncentrace daného analytu stanovované pomocí různých systémů. Výrobce obvykle udává cílové koncentrace platné pro nejužívanější analytické systémy (viz obr. 6.1). Je třeba sledovat, zda pro konkrétní účel a systém je tato cílová hodnota dostupná resp. vhodná.



Obr. 6.1 Rozdíly cílových hodnot v závislosti na použitém analytickém systému.

Jestliže tomu tak není, je možno použít kontrolní vzorky bez výrobcem deklarovaných koncentrací, ve kterých si laboratoř otestuje hladinu analytu předem sama. Stabilita těchto materiálů je obvykle dostatečná, ale obsah sledované látky v souvislosti s konkrétní potřebou je také neovlivnitelný.

Kontrolní vzorky dodávané výrobcem IVD jsou z hlediska vhodnosti koncentrace sledovaného analytu příhodnější, jejich stabilita bývá rovněž postačující, ale velikost jednotlivých výrobních šarží nebývá tak velká jako u specializovaných výrobců kontrolních materiálů a je nutno častěji počítat s jejich změnami. Tyto kontrolní vzorky však bývají často připravovány ve stejné matrici a shodným způsobem jako kalibrátory používané ke

kalibraci metody. Díky tomu pak nemusí objektivně odhalit možné posuny výsledků analyzovaných reálných vzorků pacientů způsobené např. změnou šarže kalibrátorů. Rovněž nemusí být spolehlivým měřítkem pro posuzování správnosti metody.

Částečným řešením výše zmíněných problémů může být použití třetího typu kontrolních vzorků připravených v laboratoři. Obvykle jako směsný materiál připravený smícháním vybraných vzorků po analýze s odpovídající koncentrací a kvalitou. Jejich využití je nejen východiskem ze situace, kdy není k dispozici kontrolní materiál s vhodnou koncentrací, ale zároveň bývá i nejlevnější variantou pro realizaci systému VKK. Je třeba však mít na paměti potenciální infekčnost vzorků připravených v laboratoři a také potenciální problémy s jejich stabilitou. Velká část analytů, stanovovaných pomocí IA metod, je však poměrně stabilní i za podmínek, které lze v laboratoři běžně zajistit. I přesto se však v současné době stále častěji dává přednost materiálům komerčním, mimo jiné i s ohledem na možné problémy při případném prokazování souhlasu poskytovatelů biologického materiálu s jeho využitím k tomuto účelu.

Při realizaci systému VKK jsou obvykle v jedné analytické sérii používány dva až tři kontrolní vzorky s různými koncentracemi stanovovaného analytu. Je vhodné volit tyto koncentrace blízké důležitým rozhodovacím limitům, nebo vzhledem k nelineárnímu charakteru kalibračních závislostí u IA metod, v okolí interceptů I_{20}, I_{50} nebo I_{80} (někdy také ED_{20}, …). S ohledem na výše uvedené je rovněž vhodné používat pro danou IA metodu kontrolní vzorky různého typu, tedy z různých zdrojů. Pro snížení ekonomické náročnosti takovéhoto systému je možné používat vlastní stabilní kontrolní vzorky, nebo například při používání tří kontrolních vzorků provádět postupně v jednotlivých analytických sériích pouze střídavé měření vždy dvou z nich (1. a 2., 2. a 3., 3. a 1.).

Matrice kontrolních materiálů by samozřejmě měla v maximální možné míře odpovídat matrici běžně analyzovaných vzorků. Pokud jsou ve stejných analytických sériích zpracovávány standardně různé biologické materiály (např. sérum - moč, nebo sérum - plodová voda), měl by být v příslušné analytické sérii vždy analyzován alespoň jeden kontrolní vzorek, jehož matrice je shodná s matricí takto analyzovaných vzorků.

Jestliže jsou analyzované vzorky před provedením analýzy nějakým způsobem upravovány (ředění, extrakce apod.), měly by být stejným způsobem zpracovány rovněž vzorky kontrolní.

Tam, kde u manuálních metod může hrozit ovlivnění výsledků nestejně dlouhou dobou inkubace způsobenou prodlevou mezi pipetováním prvního a posledního vzorku (tzv. „drift“), je vhodné tuto skutečnost sledovat zařazením stejného kontrolního vzorku na počátek a na konec analytické série.

6.1.3 Doplňkové kontrolní parametry u manuálních metod

Jak bylo uvedeno výše, jsou manuální metody v principu náchylnější k výskytu náhodných chyb. Při odhalování příčiny nálezu neshodného výsledku kontrolního měření VKK

může účinně pomoci sledování některých doplňkových kontrolních parametrů. Tento proces není nikterak ekonomicky náročný a nevyžaduje provádění dodatečných měření. K tomuto účelu jsou využívány pouze informace, které dnes poskytuje prakticky každý vyhodnocovací software, používaný pro hodnocení manuálních imunoanalytických metod.

a. *Celková aktivita vzorku (T)*

Je možné měřit ji pouze u radioimunoanalytických metod a udává celkovou aktivitu radioindikátoru použitého v daném stanovení. Je základem pro výpočet jiných parametrů, lze jej využít i ke kontrole stability měřicího zařízení:

$$T = cpm_T$$

b. *Maximální odezva kalibrátoru (B_0, B_{MAX})*

Je to nejvyšší hodnota měřeného odezvového parametru kalibrátoru a je ukazatelem množství specificky vázané frakce. O který kalibrátor se jedná, závisí na skutečnosti, zda jde o kompetitivní nebo nekompetitivní imunoanalytickou metodu.

U kompetitivních metod to je kalibrátor s nulovou koncentrací určované látky. V případě radioimunoanalytických metod (RIA) se vyjadřuje v % jako podíl četností nulového kalibrátoru (cpm_{B0}) a celkové aktivity (cpm_T):

$$B0 = cpm_{B0} / cpmT$$

U nekompetitivních se jedná o odezvu posledního kalibrátoru (tedy s nejvyšší koncentrací). V případě radioimunoanalytických metod (IRMA) se vyjadřuje v % jako podíl četností posledního kalibrátoru (cpm_{Bmax}) a celkové aktivity (cpm_T):

$$Bmax = cpm_{Bmax}/cpm_T$$

c. *Podíl nespecifické vazby (N)* se určuje především u radioimunoanalytických kompetitivních metod, kde je důležitou charakteristikou užitého separačního postupu. Určuje se obvykle pomocí vzorků, do nichž nebyla přidána specifická protilátka, ale byla nahrazena stejným objemem pufru. Vyjadřuje se v % jako podíl průměrných četností vzorku pro stanovení nespecifické vazby (cpm_N) a celkové aktivity (cpm_T):

$$N = cpm_N / cpm_T$$

d. *Tvar kalibrační závislosti*

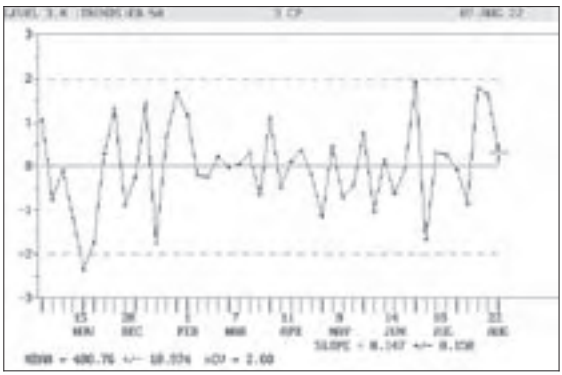
Lze ho posuzovat vizuálně pomocí srovnání s kalibračními závislostmi z předcházejících stanovení.

K sofistikovanějšímu sledování se používají charakteristiky proložení kalibrační závislosti – například hodnoty interceptů (I_{20}, I_{50} resp. I_{80}), případně směrnice v určitém bodě (obvykle odpovídajícím I_{50}), které charakterizují její tvar a průběh a jsou uváděny většinou software pro hodnocení manuálních imunoanalýz.

Jiným způsobem je sledování zpětného odečtu koncentrací jednotlivých kalibrátorů a jejich srovnání s deklarovanými hodnotami koncentrací. Pro tyto účely je možné sledovat hodnotu reziduálního rozptylu.

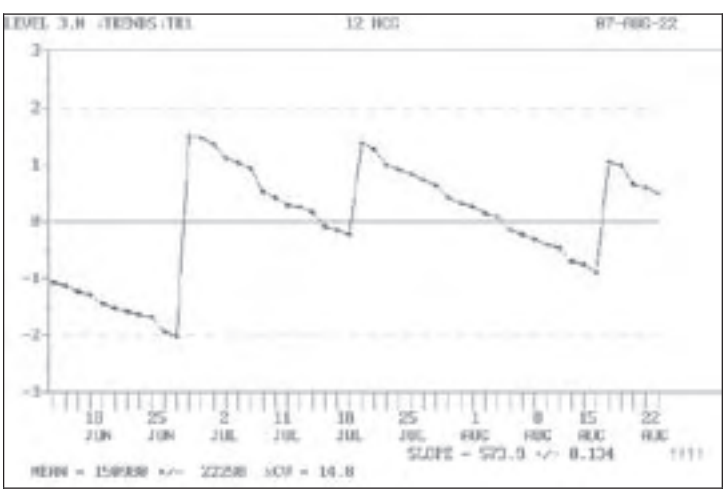
Hodnoty doplňkových kontrolních parametrů je vhodné sledovat průběžně v čase ob-

dobným grafickým způsobem, jako jsou monitorovány výsledky měření kontrolních vzorků. Obvykle se v Levey-Jennings grafu vynáší jako centrální linie průměrná hodnota sledovaného parametru a jako limity ±2·SD resp. ±3·SD. (viz obr. 6.2)



Obr. 6.2 Dlouhodobé sledování doplňkového kontrolního parametru – interceptu I_{50} (vyšetření C-peptid)

V případě některých z parametrů je však třeba mít na zřeteli jejich přirozené kolísání s určitým trendem. Například při sledování hodnoty celkové aktivity u radioimunoanalytických metod, kdy tento parametr během používání jedné šarže diagnostické soupravy klesá s ohledem na přirozený rozpad radioizotopu použitého ke značení indikátoru. (viz obr. 6.3). V tomto případě je varující skutečností indikace hodnoty vybočující z odpovídajícího trendu.



Obr. 6.3 Dlouhodobé sledování doplňkového kontrolního parametru – celková aktivita (vyšetření hCG)

S kontrolou kvality manuálních imunoanalytických metod úzce souvisí i zajištění spolehlivého provedení základních operací, tj. např. pipetování vzorků, dávkování reagencií, měření odezvového parametru. Proto je samozřejmě nutné pravidelně kontrolovat přesnost a správnost pipet, dávkovacích zařízení, přesnost a stabilitu měřicích přístrojů.

6.1.4 Realizace VKK

Jak již bylo uvedeno dříve, praktická realizace kontrolních měření u imunoanalytických metod, ani jejich hodnocení, se principiálně neliší od situace u ostatních rutinních. Rozdíl je především v časté závislosti výsledků na použití konkrétní imunoanalytické metody. Tato skutečnost sice na vlastní sledování metody v rámci provádění VKK nemá zásadní vliv (pokud ovšem nedochází ke změně metody). Projevuje se spíše v okamžiku, kdy je třeba posuzovat správnost konkrétní metody, tedy opřít se o cílovou hodnotu, vzhledem k níž se počítá odchylka metody. Jen pro několik málo používaných imunoanalytických vyšetření existují referenční metody, vůči nimž by se dala odchylka rutinní metody adekvátně stanovit. V ostatních případech lze zodpovědně určit pouze odchylku od deklarací, provedených výrobcem konkrétního diagnostického prostředku, nebo snad s větší objektivitou, od deklarací provedených nezávislým výrobcem kontrolních materiálů. Rovněž jindy doporučované zhodnocení odchylky dané metody na základě výsledků dosažených v systémech externího posuzování kvality lze více méně provést pouze omezeně, vzhledem k cílovým hodnotám platným pro konkrétní analytický systém.

V publikovaných databázích existují údaje o biologických variabilitách také pro celou řadu analytů stanovovaných pomocí imunoanalytických metod (např. viz tabulka 6.1) a z těchto údajů lze, jak bylo uvedeno výše, odvodit také hodnoty požadované přesnosti a odchylky metody. Vzhledem k tomu, že však v mnoha případech není k dispozici možnost objektivního určení odchylky rutinní metody, lze postupy VKK využívající při hodnocení bias metody používat jen s tímto omezením. Dalším problémem je skutečnost, že publikované údaje se často odlišují v závislosti na svých zdrojích, resp. způsobu použitého výpočtu. V tabulce 6.2 jsou uvedeny údaje pro několik analytů tak, jak jsou publikovány ve směrnice Německé lékařské komory o zajištění kvality kvantitativních laboratorních vyšetření, které jsou platné v SRN. Jestliže není takto závazně stanoveno, jaké hodnoty nepřesnosti resp. odchylky jsou závazné pro použití v rutinní praxi, pak je na zvážení laboratorního managementu, jaké postupy pro realizaci systému VKK ve své laboratoři zvolí.

Pro stanovení přípustných hodnot nepřesnosti, resp. bias analytické metody, lze vycházet například také z maximálně přípustných tolerančních rozmezí pro externí hodnocení kvality (viz tabulka 6.3). Je však třeba upozornit, že v případě kontrolního systému SEKK jsou v případě imunoanalytických kontrolních cyklů E1, E2 nebo TM používané hodnoty TMU, které jsou získány na základě empirického zhodnocení obvykle úrovně mezilaboratorní nepřesnosti výsledků, nikoliv z hodnot inter- a intraindividuální biologické variability jednotlivých sledovaných parametrů.

V případě IA metod jsou tak nejčastěji používány některá z Westgardových multipravi-

del, obvykle tak, jak je nabízí nebo dovoluje vyhodnocovací software používaný pro hodnocení manuálních imunoanalýz, programové vybavení jednotlivých imunoanalyzátorů, nebo úroveň LIS. Westgard sám zmiňuje vhodnost provádění většího počtu kontrolních měření v rámci jedné analytické série (N = 4-6, přičemž se může jednat o měření 2 resp. 3 různých kontrolních materiálů prováděná v dubletech).

Jednodušší a velmi často užívanou formou realizace systému VKK u IA metod je samozřejmě sledování výsledků kontrolních měření pomocí regulačních diagramů, ovšem opět s určitým problémem případného posuzování správnosti metody na závěr kontrolního cyklu.

Literatura:

1. Price C. P., Newman D. J.: Principles and practice of immunoassay, 2nd edition, 1997, ISBN 0-333-6250048
2. Wild D.: The immunoassay handbook, 2nd edition, 2001, ISBN 1-56159-270-6
3. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, Deutschen Ärzteblatt 100, Heft 50, 12. Dezember 2003, Seite A 3335 – 3338; [www.bundesaerztekammer.de/]
4. Westgard J. O.: Internal quality control: planning and implementation strategies, Ann Clin Biochem 2003; 40: 593-611
5. Westgard J. O.: Immunoassay QC with higher N multirules, [www.westgard.com/qcapp4.htm]
6. Závada M. a kol.: Lokální kontrola kvality rutinních metod radiosaturační analýzy,1990, zpráva rezortního úkolu MZ ČR: DÚ 30-03-01
7. Závada M. a kol.: Kontrola kvality RIA, 1982, ČSKAE Praha

Tabulka 6.1: Nepřesnost, bias a celková chyba měření vybraných analytů, odvozená z biologické variabily.
Zdroj: Ricos C, et al.: Current databases on biologic variation: pros, cons and progress, Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500, prezentováno na www.westgard.com (poslední aktualizace z roku 2006)

	Analyte	Biological Variation		Desirable specification (%)		
		CV_I	CV_G	I	B	TE_a
S-	17-Hydroxyprogesterone	19.6	52.4	9.8	14.0	30.2
S-	α-Fetoprotein (non hepatic carcinoma)	12.0	46.0	6.0	11.9	12.8
S-	Aldosterone	29.4	40.1	14.7	12.4	36.7
U-	Aldosterone, concentration	32.6	39.0	16.3	12.7	39.6
S-	Androstendione	11.1	51.1	5.6	13.1	22.2
S-	β-2-Microglobulin	5.9	15.5	3.0	4.1	9.0
S-	CA 125 antigen	29.2	48.2	14.6	14.1	38.2
S-	CA 15.3 antigen	6.2	62.9	3.1	15.8	20.9
S-	CA 19.9 antigen	16.2	102.0	8.0	25.8	39.0
S-	CA 549 antigen	9.1	33.4	4.6	8.7	16.2
S-	Carbohydrate deficient transferrin	7.1	38.7	3.6	9.8	15.7
S-	Carcinoembryonic antigen (CEA)	12.7	55.6	6.4	14.3	24.7
S-	Cortisol	20.9	45.6	10.5	12.5	29.8
S-	C Peptide	9.3	13.3	4.7	4.1	11.7
U-	C-Telopeptide type I collagen (s-CTx)	9.6	30.6	4.8	8.0	15.9
S-	Cyfra 21.1	21.8	---	10.9	---	---
S-	Dehydroepiandrosterone sulfate	4.2	29.3	2.1	7.4	10.9
S-	Estradiol	18.1	19.7	9.1	6.7	21.6
S-	Folate	24.0	73.0	12.0	19.2	39.0
S-	Follicle stimulating hormone	8.7	18.0	4.4	5.0	12.2
S-	Free testosterone	9.3	---	4.7	---	---
S-	Free thyroxine (FT4)	7.6	12.2	3.8	3.6	9.9
S-	Free Triiodothyronine (FT3)	7.9	---	4.0	---	---
S-	Insulin	21.1	58.3	10.6	15.5	32.9
S-	Luteinizing hormone	14.5	27.8	7.3	7.8	19.8
S-	Myoglobin	13.9	29.6	7.0	8.2	19.6
S-	Osteocalcin	7.2	27.0	3.6	7.0	12.9
S-	Prolactin (men)	6.9	61.2	3.5	15.4	21.1
S-	Prostatic specific antigen (PSA)	18.1	72.4	9.1	18.7	33.6
S-	SCC antigen	39.4	35.7	19.7	13.3	45.8
S-	Sex hormone binding globulin (SHBG)	12.1	42.7	6.1	11.1	21.1
S-	Testosterone	9.3	23.7	4.7	6.4	14.0
S-	Thyroglobulin	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2
S-	Thyroid stimulating hormone (TSH)	19.3	19.7	9.7	6.9	22.8
S-	Thyroxin binding globulin (TBG)	6.0	6.0	3.0	2.1	7.1
S-	Thyroxine (T4)	4.9	10.9	2.5	3.0	7.0
S-	Tissue polypeptide antigen (TPA)	28.7	40.4	14.4	12.4	36.1
S-	Tissue polypeptide spec.antigen (TPS)	36.1	108.0	18.1	28.5	58.3
S-	Triiodothyronine (T3)	8.7	17.2	4.4	4.8	12.0
B-	Vitamin B12	15.0	69.0	7.5	17.7	30.0

CV_W – intraindividuální, CV_G - interindividuální, I – přesnost, B – bias, TE_a – celková chyba

Tabulka 6.2: Ukázka maximálně přípustných hodnot nepřesnosti a odchylky některých imunoanalytických metod, uváděné ve směrnici Německé lékařské komory (zdroj: www.bundesaerztekammer.de/)

Richtlinie zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen Seite 22

1	2	3	4	5	6	7
Lfd. Nr.	Analyt	Größenart	Zielwert [1]	Maximal zulässige Unpräzision	Maximal zulässige Unrichtigkeit	Maximal zulässige Abweichung des Einzelwertes
46	Testosteron	Stoffmengenkonzentration, Massenkonzentration	RMW	12 %	15 %	42 %
47	Theophyllin	Stoffmengenkonzentration, Massenkonzentration	RMW	8 %	10 %	26 %
48	Thyroxin (gesamt, T4)	Stoffmengenkonzentration, Massenkonzentration	RMW	8 %	10 %	26 %
49	Thyreotropes Hormon (TSH)	Internationale Einheiten	SW	9 %	10 %	28 %
50	Trijodthyronin (gesamt, T3)	Stoffmengenkonzentration, Massenkonzentration	SW	10 %	11 %	31 %
51	Triglyceride (Gesamt-Glycerin)	Stoffmengenkonzentration, Massenkonzentration	RMW	5 %	8 %	18 %
52	Thromboplastinzeit (Quick)	Relative Gerinnungszeit, INR	SW	7 %	9 %	23 %
53	Valproinsäure	Stoffmengenkonzentration, Massenkonzentration	SW	8 %	8 %	24 %

Tabulka 6.3: Ukázka hodnot cílových nejistot měření v systému EHK SEKK – kontrolní cykly E1 (zdroj: www.sekk.cz/)

Zkouška		**Cílová nejistota měření pro EHK (TMU)**	
		certifikace srovnatelnosti	***certifikace návaznosti***
T3 celkový	konc. > 1,5 nmol/l konc. ≤ 1,5 nmol/l	17 % 0,255 nmol/l	23 % 0,345 nmol/l
T4 celkový		13 %	17 %
TSH		14 %	-
T4 volný		13 %	-
T3 volný	konc. > 4 pmol/l konc. ≤ 4 pmol/l	15 % 0,6 pmol/l	- -
Feritin		22 %	-
Estriol volný		31 %	41 %
Kortizol		20 %	27 %
Estradiol	konc. > 200 pmol/l konc. ≤ 200 pmol/l	24 % 48 pmol/l	32 % 64 pmol/l
Aldosteron		24 %	32 %
Progesteron		21 %	28 %
Testosteron		24 %	32 %
17-OH-Progesteron	konc. > 6 nmol/l konc. ≤ 6 nmol/l	26 % 1,56 nmol/l	35 % 2,1 nmol/l
DHEA-sulfát		21 %	-
TBG		17 %	-

6.2 Vnitřní kontrola kvality pro systémy POCT

S postupnou centralizací laboratoří vznikl problém rychlosti dodání výsledků na pracoviště urgentního typu - JIP, záchranná služba, příjmová oddělení. Proto vznikly technologie umožňující měření některých laboratorních parametrů přímo u pacienta. Tyto postupy umožňují rychlejší rozhodování v diagnostice a o dalším léčebném postupu.

Problémem při zajištění vnitřní kontroly kvality metodik POCT je to, že osoby pracující s těmito systémy nejsou kvalifikované v laboratorních oborech. Systém musí být proto maximálně jednoduchý a přehledný.

Ve světě existují dvoje určená pravidla pro VKK u POCT.

Požadavky CLIA v USA:

- 1x za 8 hodin VKK pro plyny pO_2 a pCO_2
- Ostatní analyty 2 hladiny 1x denně
- EQC – Equivalent quality control je možná (viz postupy níže)
- Požadavky podle typu VKK
- Validace VKK

Požadavky Rilibäk 2008 v SRN:

- Kontrolní měření minimálně 2x za 24 hodin, ale nejméně však vždy 1x každých 16 hodin
- Nutné kontrolní měření vždy ihned po každém zásahu do POCT systému (kalibrace, nová šarže reagencii, oprava aj.)
- Dlouhodobé písemně dokumentované sledování provedení této VKK
- Povoleny všechny dále uvedené typy VKK
- EHK 4x ročně povinně
- Stanoveny povolené odchylky výsledků měření
- Určení mezní hodnoty celkové chyby jednoho měření (kap. 5.3.2)
- Certifikát EHK platí 6 měsíců
- Porušení těchto zásad obsluhou je až trestně postižitelné (Zákon MPG par. 26)

Základní požadavky kontroly kvality jsou následující:

- Pro analýzu krevních plynů a elektrolytů měřit na třech hladinách každý den, kdy se měření používá pro pacienty. Musí být dodržována doporučení výrobců pro kalibrace, údržbu a kontrolu linearity. Pokud se používají ruční POCT přístroje s elektronickou kontrolou, musí být tato před zavedením validována denním používáním kapalných kontrolních vzorků. Ty musí být nadále používány podle doporučení výrobce, vhodné je alespoň jednou týdně.
- Glukometry je také nutno denně kontrolovat na dvou hladinách.
- Obecně se doporučuje, aby osobní glukometry (pokud jsou používány k monitorování a léčbě pacientů) měly stanoveny postup úvodní kontroly vzhledem k hlavní labora-

toři. Dále musí být určeno, jak často a v jakých situacích se kontrolní měření opakuje (např. po změně dávky insulinu).

- Denně kontrola na dvou hladinách platí i pro ostatní analyty v režimu POCT.
- U proužkových testů je nutno dodržovat pokyny výrobce. Pokud výrobce neurčuje postup pro kontrolu kvality, musí ho definovat zdravotnické zařízení, případně daný obor komplementu. Například často nejsou stanovena pravidla pro používání testovacích močových proužků. Pak je nutno provést pozitivní kontrolu při otevření nové krabičky a následně jednou za týden až měsíc. Pro testy s kontrolou je nutno výsledky dokumentovat.
- Podle obecných zkušeností je těžké zajistit správné provedení a zaznamenání kontrolních měření na odděleních. Proto je nutno hledat optimální a účinné řešení v rámci celého zdravotnického zařízení.

Optimálním přístupem k VKK u POCT je tedy dodržování standardních postupů zajišťovaných pracovníky laboratoří. Ne vždy je však tento postup snadno zajistitelný. Některé přístroje jsou určeny na jedno použití a tudíž nelze praktikovat obvyklý postup. Jiným problémem je vzdálenost systémů POCT od laboratoře a nemožnost stálého dohledu. Proto existují alternativní postupy.

Přístroje se zabudovanou kontrolou

Mnohé systémy na jedno použití s kvalitativním měřením mají zabudovánu kontrolu, která je analyzována současně se vzorkem. Většinou však jde pouze o negativní kontrolu, každou šarži je potřeba minimálně jednou týdně kontrolovat i pozitivním kontrolním vzorkem.

Náhradní (ekvivalentní) kontrola

Některé přístroje POCT využívají náhradní kontroly, které se skládají z opakované používané referenční kazety nebo podobného zařízení jako jsou barevné proužky. Ty simulují určitou hladinu analytu ve vzorku. Pokud se vloží tento kontrolní proužek do přístroje, ten naměří tzv. kontrolní hodnotu. Kritizovaným nedostatkem je kontrola pouze některé části zařízení. Systém lze používat, musí však být validován za použití obvyklých kapalných kontrol.

Elektronická kontrola

Současné techniky pro POCT jsou velmi sofistikované digitálně-elektronické systémy, které obsahují mnoho vnitřních kontrolních funkcí, jež jsou počítačově zpracovávány. Pak souběžně s měřením vzorku dochází ke zpracování dat z vnitřních elektronických kontrolních funkcí. Kontrolují se tak napětí, odezvy signálu, bubliny ve vzorku, tlak, stáří reagencií apod. Výsledek vzorku je vydán jen v případě vyhovujících hodnot kontrolních funkcí. Opět je nevýhodou, že nejde o kontrolu celého analytického systému. Tento postup VKK je akceptovatelný za podmínky vstupní validace a pravidelného ověřování kapalnými kontrolními vzorky.

Automatická kontrola

Některé přístroje POCT obsahují vlastní kontrolní vzorky. Ty jsou automaticky měřeny v nastavené frekvenci bez vlivu obsluhy. Pokud je výsledek kontrolního měření mimo nastavené kontrolní limity, přístroj neumožní měřit pacientské vzorky. To je možno teprve po zásahu a nového měření kontrolního vzorku. Opětné zprovoznění přístroje je obvykle v kompetenci dohlížející osoby.

iQM – inteligentní řízení kvality

Na jednom z přístrojů POCT (měření krevních plynů, elektrolytů a glukózy) byl zaveden systém tzv. inteligentního řízení kvality – iQM. Jde o uzavřený, plně automatický systém, nezávislý na obsluze, s novým přístupem k zajištění kvality. Přístrojem protékají jak kalibrační roztoky, tak roztoky kontrolující proces (Process Control Solution). Přístroj neustále kontroluje odezvu jednotlivých sensorů a vyhodnocuje je v čase. Pro odezvu jsou nastaveny toleranční limity, postup je podobný jako při práci s klasickými kontrolními vzorky. Vzhledem k frekvenci těchto měření se značně zkracuje doba pro záchyt chyby.

I u tohoto systému platí požadavek validace oproti klasickému postupu.

Vhodným doplňkem systémů VKK pro POCT je tzv. vzdálená správa dat. Všechny údaje o měřených kontrolních vzorků se dostávají do laboratoře on – line. Zde pak může odpovědný pracovník okamžitě zareagovat, včetně možnosti odpojení přístroje.

Literatura:

1. Bourlier K.: The Hitchhiker´s Guide to Point-of-Care Testing, AACC Press, 1998
2. Burtis A. C., Ashwood E. R., Bruns D. E.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Elsevier Saunders, 2006, p 299-319
3. Kaplan L. A., Pesce A. J., Kazmierczak S. C.: Clinical Chemistry; Theory, Analysis, Correlation, Mosby, 2003, p 303-319
4. Kost G. J.: Principles and Practice of Point-of-Care Testing, Lippincot/Williams and Wilkins, 2002
5. Kost G. J.: Preventing medical errors in point-of-care testing, Arch. Patol. Lab. Med. 125:1307-1315, 2001
6. Lewandrowski K.: Clinical Chemistry; Laboratory management and Clinical Correlations, Lippincott/Williams and Wilkins, 2002, p. 175-194
7. Nichols J. H.: Point-of Care Testing, Performance Improvement and Evidence-Based Outcomes, Marce Dekker Inc, 2003
8. Price Ch. P., St John A., Hicks J. M.: Point-of Care Testing, AACC Press, 2004
9. Price Ch. P., St John A.: Point-of-Care Testing for Managers and Policymakers: From Rapid Testing to Better Outcomes, AACC Press, 2006
10. Point of Care, The Journal of Near-Patient Testing and Technology

6.3 VKK pro kvalitativní a „semikvantitativní“ metody

Kvalitativní (a semikvantitativní) diagnostické testy jsou používány v řadě oborů klinické laboratoře. Postupy vyhodnocení metod pro takové testy se liší pro každou oborovou laboratoř, často s důrazem na rozdílné problematiky jak u návrhu experimentu, tak i u analýzy dat a interpretace.

Klinické využití

Kvalitativní testy mohou být klinicky využity pro screeningový, diagnostický, konfirmační nebo monitorovací účel. Citlivost, specifičnost, prediktivní hodnoty a účinnost testu určuje klinickou užitečnost kvalitativního testu stejně jako pro kvantitativní test.

Screeningové testy

Screeningové testy obecně produkují více falešně pozitivních výsledků než diagnostické nebo konfirmační testy. Pokud existuje dobrý konfirmační test a pokud sociálně-ekonomický dopad falešně-pozitivních výsledků screeningových testů není velký, je jejich nízká specifičnost tolerována.

Diagnostické testy

Klinický požadavek pro včasnou a správnou léčbu požaduje diagnostické testy s vysokou citlivostí a specifičností. Pokud po diagnostickém testu vždy následuje konfirmační test, může být požadovaná specifičnost poněkud nižší.

Konfirmační testy

Konfirmační testy jsou používány pro následné ověření výsledků screeningových, nebo diagnostických testů. Verifikace či konfirmace výsledku předcházejícího testu umožňuje klinickému lékaři určit diagnózu. Konfirmační testy jsou navrženy tak, aby byly specifické (v případě nutnosti na úkor citlivosti) a mají vysokou pozitivní prediktivní hodnotu.

Kontroly

Vhodné kontrolní materiály jsou nezbytné pro zajištění konzistentního provádění testu. Kontrola(y) poskytované výrobcem musí být použity podle jeho pokynů. Další stabilní komerční kontroly nebo klinické kontroly mohou být použity, pokud se prokáže, že kontroly nevykazují matricové efekty. Pro celou řadu kvalitativních testů je dostačující každodenní použití negativní a pozitivní kontroly. Některé kvalitativní testovací metody mohou požadovat častější testování kontrol. Některé kvalitativní testy produkují číselné výsledky, které mohou být zaznamenávány jako kvantitativní kontroly metody pro zhodnocení chování testu (s odkazem na CLSI dokument C24 - *Statistical Quality for Control for Quantitative Measurements*: *Principles and Definitions for more information*). Jakmile není dosaženo očekávaných výsledků kontrolních měření, musí být učiněno nápravné opatření.

Negativní a pozitivní kontroly

V každé sérii měření by měly být testovány kontrolní materiály pro prokázání, že metoda je v souladu s očekávanými požadavky, a tím se mohou data považovat za validní.

6.4 Reakce na nevyhovující kontrolní měření

Nedílnou, a velmi významnou součástí VKK, je způsob reakce na nevyhovující výsledek kontrolního měření. Samozřejmě je zásadou opakovat kontrolní měření až po úpravě analytického procesu. Ne vždy však je nevyhovující výsledek zapříčiněn pouze problémem v analytické metodě. Pro reakci na nevyhovující výsledek lze postupovat následujícím způsobem:

1. Zhodnotit, kde může být problém.
2. Odstranit problém.
3. Zkontrolovat upravený stav.
4. Najít, která měření ze série od minulého kontrolního měření je nutno zopakovat.
5. Zopakovat vybrané vzorky.
6. Zahájit další sérii měření.

Nevyhovující výsledek je určen podle postupů popsaných v předešlých kapitolách. Pro další práci je podstatné, zda je problematický výsledek u jednoho či více analytů. Pokud je problém u více analytů, je potřeba hledat problémy i jinde, než jen v metodě. Většina analytů s odklonem na stejnou stranu od cílové hodnoty bude patrně důsledkem špatně rozpuštěného kontrolního materiálu (platí samozřejmě jen pro lyofilyzáty). Nemusí jít o všechny analyty, neboť povolená míra chyby je různá. Dalším problémem, který se projeví u více analytů, avšak náhodně s odklonem na obě strany, je špatná homogenizace. Především tam, kde se kontrolní vzorek po rozpuštění rozpipetuje a alikvoty se zamrazí. Chyby se pak mění i s jednotlivými alikvoty. Pravděpodobně však nebude problém stejný na více hladinách. V uvedených případech je vhodné připravit nový kontrolní vzorek. Odstranění problému zde totiž znamená použití validního kontrolního vzorku.

Problém spojený s nevyhovujícími výsledky celé řady metod může být také zapříčiněn problémy přístroje (dávkování, energie lampy mimo stanovený rozsah, nedokonalé mytí kyvet apod.). Problém zůstane i při použití nově a dobře připraveného kontrolního materiálu. K odstranění problému pak vede servisní zásah a po něm samozřejmě následuje nové měření kontrolních vzorků.

Obvyklejší je však případ problémů u jednotlivých metod. Pak je nutno odstranit je přímo zde. Obvykle souvisí se stárnutím reagencií. Prvním vhodným krokem je vizuální kontrola reagencií. Pokud se zdají být v pořádku, následuje rekalibrace metody. Pokud má reagencie neobvyklou barvu či zákal, je nutné roztoky vyměnit. Vhodné je ověřit případnou přípravu reagencií. Po těchto zásazích následuje opakované kontrolní měření vybraných analytů na všech hladinách. V případě přetrvávajícího problému po pouhé rekalibraci a kontrole bude zřejmě vhodné vyměnit roztoky.

Po odstranění problému přichází rozhodnutí, které vzorky ze série od posledního kontrolního měření zopakovat. Samozřejmě zde záleží i na zkušenostech toho, kdo rozhodnutí udělá. Prvním krokem by měla být kontrola výsledků naměřených hodnot u pacientů, validita výsledků a jejich možná změna v rámci kumulativních výsledků. K tomu slouží

postupy popsané v kapitole 2 – využití kritické diference (RCV) a delta-check. Přesto je zapotřebí přistoupit i k experimentu, pokud nechceme opakovat celou sérii. Vyjdeme z počtu vzorků, které byly změřeny v uplynulé sérii. Při počtu vzorků do 50 změříme každý pátý vzorek, nad 50 každý desátý vzorek. Zopakujeme všechny vzorky, které následují po posledním vzorku, který má ve shodě původní a nové výsledky. Tyto nově změřené hodnoty pak musí nahradit původní. Potom už lze pokračovat s novou sérií měření.

Příloha – praktické příklady:

Poznámky ke konkrétním příkladům aplikace VKK u imunoanalytických vyšetření

V. Bartoš

Příklad 1: Stanovení testosteronu

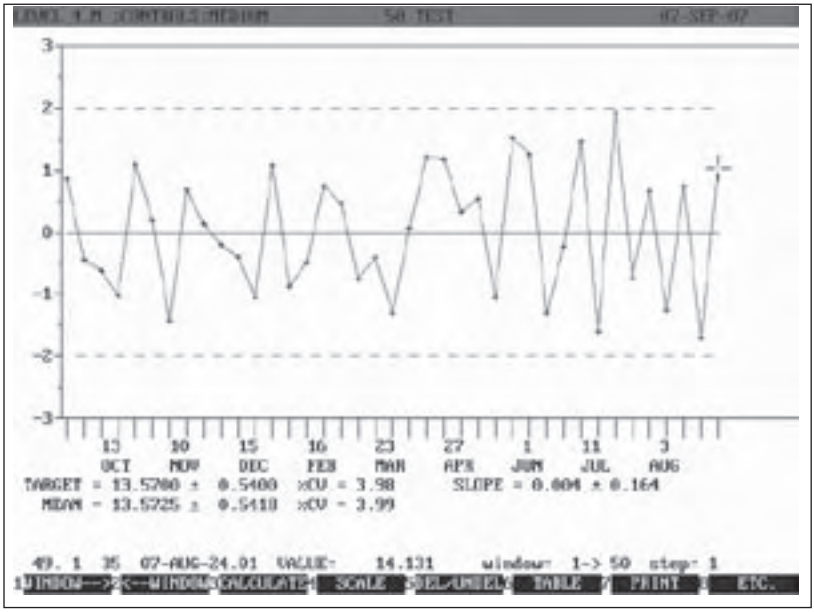
V databázi biologických variabilit uvedeno:

CV_I = 9,3 %

CV_G = 23,7 %

Odtud vyplývá pro $TE_a = 0{,}5 \cdot CV_I + 0{,}25 \cdot (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 14$ %

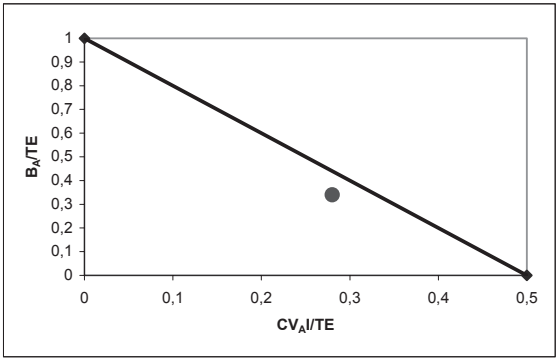
Dlouhodobá přesnost na základě předcházejících výsledků v VKK pro kontrolní vzorek s koncentrací 13,6 nmol/l: $CV_A = 3{,}99$ %



Odchylka laboratoře: na základě výsledků EHK u kontrolního vzorku s obdobnou koncentrací testosteronu:

TV (referenční metoda):	14,5 nmol/l
Výsledek laboratoře:	15,2 nmol/l
Bias:	0,7 nmol/l
Bias (%):	4,83 %

Konstrukce Operačního bodu
$B_A/TE_a = 4{,}83/14 = 0{,}34$
$CV_A/TE_a = 3{,}98/14 = 0{,}28$



Výše popsaným způsobem lze vybrat z normalizovaných grafů nejvhodnější kombinaci Westgardových pravidel. Další realizace VKK je pak stejná jako v případě jiných analytických metod.

Uvedený postup však nemusí mít vždy univerzální možnost použití. Problémem nebývá určení přesnosti metody, příčinou jsou především problémy spojené s určením hodnoty bias metody, tedy B_A. Pro většinu analytů stanovovaných pomocí imunoanalytických metod totiž nejsou dostupné referenční metody, takže není vlastně možné hodnověrně určit správnost metody. V kombinaci s touto skutečností se navíc velmi často projevuje silná závislost výsledků EHK na konkrétně použitém imunoanalytickém systému (a to i u analytů, pro které existují referenční metody). Pokud by pak byla za „správnou“ cílovou hodnotu TV brána hodnota celkového průměru všech metod, byla by v některých případech značně zkreslená. Relevantnější cílovou hodnotou tak je spíše odhad střední hodnoty, vypočítaný z výsledků účastníků používajících stejný analytický systém. Jinou možností pro určení odchylky metody je posouzení jejího bias vzhledem k cílové hodnotě kontrolního vzorku definované jeho výrobcem pro používaný analytický systém.

Běžněji je v případě IA metod používáno obvyklé kombinované Westgardovo pravidlo při současném provedení několika kontrolních měření v analytické sérii (N = 2 – 6), bez optimalizace jejich výběru pomocí OPS. Jak aplikovat a interpretovat konkrétním způsobem např. pravidlo 1-3s/2-2s/r-4s/4-1s/10x při měření 2 kontrolních vzorků v analytické sérii, je podrobněji popsáno v příkladu 2.

Příklad 2: Interpretace výsledků dvou kontrolních vzorků v analytické sérii při aplikaci kombinovaného pravidla 1-3s/2-2s/r-4s/4-1s/10x pro vyloučení série, kterému předchází varovné pravidlo 1-2s

1. Provede se analýza kontrolních vzorků A a B (vzorky s rozdílnou koncentrací sledovaného analytu, každý vzorek se analyzuje pouze 1x.
2. Pomocí varovného pravidla 1-2s se posoudí, zda jednotlivé výsledky kontrolních měření y_A a y_B leží uvnitř kontrolních limitů pro každý z nich, tedy zda platí nerovnosti:
$$\bar{x}_A - 2 \cdot s_A \le y_A \le \bar{x}_A + 2 \cdot s_A \quad \text{resp.} \quad \bar{x}_B - 2 \cdot s_B \le y_B \le \bar{x}_B + 2 \cdot s_B$$
3. V případě, že výsledky obou kontrolních měření splňují odpovídající podmínky, je vše v pořádku a výsledky vzorků v sérii je možno uvolnit.
4. Jestliže ani jeden z výsledků odpovídající podmínku nesplňuje, je třeba výsledky vzorků v sérii odmítnout.
5. V případě, že pro jeden z výsledků odpovídající nerovnost neplatí, pokračuje se podle následujících bodů.
6. Je třeba prověřit, zda oba výsledky, tedy y_A i y_B splňují podmínky:
$$\bar{x}_A - 3 \cdot s_A \le y_A \le \bar{x}_A + 3 \cdot s_A \quad \text{resp.} \quad \bar{x}_B - 3 \cdot s_B \le y_B \le \bar{x}_B + 3 \cdot s_B$$
jestliže ano, pokračuje se v prověřování dále, v opačném případě se série odmítne.
7. Prověří se, zda rozpětí mezi výsledky y_A a y_B z aktuální série je větší než 4s, (tato situace nastane například, jestliže výsledek y_A leží pod průměrem $\bar{x}_A$ o $1{,}8 \cdot s_A$ a výsledek y_B o $2{,}3 \cdot s_B$ nad průměrem $\bar{x}_B$). Jestliže ano, série se zamítne.
8. Prověří se, zda pro výsledky y_A z posledních dvou sérií platí, že splňují podmínku
$$\bar{x}_A - 2 \cdot s_A \le y_A \le \bar{x}_A + 2 \cdot s_A .$$
Totéž se odpovídajícím způsobem provede také pro poslední dva výsledky y_B. Jestliže v některém případě není podmínka splněna, série se zamítne.
9. Prověří se pravidlo 4-1s platí pro výsledky vzorku A z posledních 4 sérií, obdobně také pro poslední 4 výsledky vzorku B. V případě porušení pravidla se série zamítne.
10. Pravidlo 4-1s se prověří také tak, že se ověří, zda platí pro poslední 2 výsledky vzorku A a 2 poslední výsledky vzorku B. Při jeho porušení se opět série zamítne.
11. Prověří se pravidlo10x tak, že se posoudí posledních 5 výsledků vzorku A a posledních 5 výsledků vzorku B tím způsobem, zda nejsou všechny nižší než odpovídající průměry nebo naopak všechny vyšší. Při porušení pravidla se opět série zamítne.
12. Jestliže nedojde k odmítnutí série ani v jednom z uvedených kroků, výsledky vzorků ze série se uvolní, i když bylo původně u jednoho ze vzorků porušeno pravidlo 1-2s.

Pozn.: V případě, že jsou použity 3 různé kontrolní vzorky, je pro testování odmítnutí série doporučeno použití kombinovaného pravidla ve tvaru:1-3s/2ze3-2s/R-4s/3-1s/6x.

Provádění vnitřní kontroly kvality u kvalitativních (semikvantitativních) testů – analýza moče testovacími proužky

M. Verner, M. Kašparová

Kontroly by měly být použity dle pokynů výrobce. Jako kontrolní materiál je použita kontrolní moč k tomu účelu určená - kontrola negativní, kontrola pozitivní - s uvedením číselných výsledků (arbitrární jednotky odvozené od látkové nebo hmotnostní koncentrace nebo výsledky přímo v jednotkách látkové nebo hmotnostní koncentrace)

Močové analyzátory

Dostačující je každodenní použití negativní a pozitivní kontroly nejlépe na začátku denní série.

V případě změny šarže diagnostických proužků je nutné vždy provést měření jak negativní, tak pozitivní kontroly.

Kontrolní vzorky jsou v analyzátoru zpracovávány v režimu kontrolního modulu, pokud je tento součástí analyzátoru. Jestliže není dosaženo očekávaných výsledků – (pozitivní, negativní, číselné hodnoty) – je nutné provést nápravné opatření (např. kalibrace atp.) a opakovat kontrolní měření.

Hodnocení testovacích proužků vizuálně

Měla by platit stejná pravidla pro provádění kontrol, to je na začátku denní série. V případě neshody je nutné provést nápravné opatření (např. prověření kvality používaných testovacích proužků).

Příklad postupu testování kvalitativní metody: pozitivní a negativní kontrolní materiály (doporučené výrobcem) jsou testovány během každé série testu metody.

Test metody může probíhat po dobu deseti dnů (sérií) tak, že je v každé sérii naměřeno po jedné sadě kontrolních materiálů (pozitivní + negativní kontrola) v duplikátu, tzn. je získáno celkem 20 (resp. 20+20) hodnot opakovaných měření. V případě, že je test metody prováděn 20 dní, pak jsou měřeny sady kontrolních materiálů v každé sérii bez opakování, tzn. také je získáno 20 (resp.20+20) hodnot opakovaných měření.

Pokud kontrolní materiály nedávají odpovídající výsledky, daná série musí být odmítnuta. Laboratoř musí prošetřit příčinu zamítnutých výsledků VKK, provést nápravná opatření a znovu provést testování zamítnutých vyšetření. V desetidenním testu metody může být zamítnuta nejvíce jedna série, nebo dvě série ve dvacetidenním testu. Pokud se vyskytne více zamítnutých sérií, než je uvedeno výše, laboratoř musí přerušit testování a konzultovat situaci s výrobcem diagnostického kitu (analyzátoru) pro identifikaci příčiny a implementaci nápravných opatření.

Praktický postup – VKK pro draselných iontů

L. Šprongl

Měření na dvou hladinách

Krok 1: Nastavení požadovaných parametrů – CV

A. Podle biologických variabilit

Biologické variability:
intraindividuální – 4, 8%
interindividuální – 5,6 %

Z toho vypočtená teoretická TE_a = 5,8 %.

Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: -1 %.

Pak platí při CV= (TE_a-bias)/2 = (5,8-1)/2 = 2,4 % pro akceptovatelnou kvalitu (viz kapitola 2).

Pro optimální kvalitu CV=(TE_a-bias)/3 = (5,8 – 1)/3 = 1,6 %.
Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 1,6, použijeme dále hodnotu CV = 1,6 %.

Pokud je hodnota CV z validace 1,6 – 2,4 %, použijeme hodnotu CV= 2,4 %.

Pokud je hodnota nad 2,4 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = TE_a/3 pro dostatečnou kvalitu a CV = TE_a/4 pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 1,9 % a 1,4 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

B. Podle hodnot z externího hodnocení kvality

Cílová TE_a dle organizátorů EHK = 8 %.

Z toho vypočtená teoretická TE_a = 5,8 %.

Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: -1 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (8-1)/2 = 3,5 % pro dostatečnou kvalitu.

Pro optimální kvalitu CV= (TE_a-bias)/3 = (8 – 1)/3 = 2,3 %.
Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 2,3, použijeme dále hodnotu CV = 2,3 %.

Pokud je hodnota CV z validace 2,3 – 3,5 %, použijeme hodnotu CV= 3,5 %.

Pokud je hodnota nad 3,5 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = TE_a/3 pro dostatečnou kvalitu a CV = TE_a/4 pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 2,7 % a 2,0 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

Pro stanovení draselného iontu je patrné, že lze plnit i přísnější podmínky dle teorie, což má nesporný přínos pro kvalitu péče o pacienty.

Krok 2: Frekvence měření

A. Laboratoř s nepřetržitým provozem

Dle doporučení o VKK minimálně jednou za směnu u provozu ze službou, ve směnném provozu vždy s výměnou směny. Nutno však posoudit velikost série a počet případně opakovaných vzorků. Je většinou vhodné, aby počet vzorků mezi kontrolním měřením nepřekročil počet 100, lze však střídat hladiny kontrolního vzorku.

B. Laboratoř pouze s denním provozem

Teoreticky stačí jednou za den měřit kontrolní vzorky na dvou hladinách. Vzhledem k posouzení celé série je toto nutné provést na závěr pracovního dne. Z praktických důvodů je proto vhodné měřit na začátku dne i na konci.

Krok 3: Posouzení výsledků

A. Westgardova multipravidla

1. Provede se analýza kontrolních vzorků A a B (vzorky s rozdílnou koncentrací sledovaného analytu, každý vzorek se analyzuje pouze 1x).
2. Pomocí varovného pravidla 1-2s (s odpovídá CV z nastavení parametrů) se posoudí, zda jednotlivé výsledky kontrolních měření vzorku y_A i y_B leží uvnitř kontrolních limitů pro každý z nich, tedy zda platí nerovnosti:

$$\bar{x}_A - 2 \cdot s_A \le y_A \le \bar{x}_A + 2 \cdot s_A \quad \text{resp.} \quad \bar{x}_B - 2 \cdot s_B \le y_B \le \bar{x}_B + 2 \cdot s_B$$

3. V případě, že výsledky obou kontrolních měření splňují odpovídající podmínky, je vše v pořádku a výsledky vzorků v sérii je možno uvolnit.
4. Jestliže ani jeden z výsledků odpovídající podmínku nesplňuje, je třeba výsledky vzorků v sérii odmítnout (postupovat podle kapitoly 6.4).
5. V případě, že pro jeden z výsledků odpovídající nerovnost neplatí, pokračuje se podle následujících bodů.

Je třeba prověřit, zda oba výsledky, tedy y_A i y_B splňují podmínky:

$$\overline{x}_A - 3 \cdot s_A \le y_A \le \overline{x}_A + 3 \cdot s_A \quad \text{resp.} \quad \overline{x}_B - 3 \cdot s_B \le y_B \le \overline{x}_B + 3 \cdot s_B$$

jestliže ano, pokračuje se v prověřování dále, v opačném případě se série odmítne.

6. Prověří se, zda rozpětí mezi výsledky y_A a y_B z aktuální série je větší než 4s (tato situace nastane například, jestliže výsledek y_A leží pod průměrem $\overline{x}_A$ o $1{,}8 \cdot s_A$ a výsledek y_B o $2{,}3 \cdot s_B$ nad průměrem $\overline{x}_B$). Jestliže ano, série se zamítne.
7. Prověří se, zda pro výsledky y_A z posledních dvou sérií platí, že splňují podmínku

$$\overline{x}_A - 2 \cdot s_A \le y_A \le \overline{x}_A + 2 \cdot s_A .$$

Totéž se odpovídajícím způsobem provede také pro poslední dva výsledky y_B.

Jestliže v některém případě není podmínka splněna, série se zamítne.

8. Prověří se pravidlo 4-1s platí pro výsledky vzorku A z posledních 4 sérií, obdobně také pro poslední 4 výsledky vzorku B. V případě porušení pravidla se série zamítne.
9. Pravidlo 4-1s se prověří také tak, že se ověří, zda platí pro poslední 2 výsledky vzorku A a 2 poslední výsledky vzorku B. Při jeho porušení se opět série zamítne.
10. Jestliže nedojde k odmítnutí série ani v jednom z uvedených kroků, výsledky vzorků ze série se uvolní, i když bylo původně u jednoho ze vzorků porušeno pravidlo 1-2s.

Pozn.: V grafickém uspořádání při použití Levey-Jenningsových grafů lze posuzovat vizuálně.

B. Specifická Westgardova pravidla pro daný test – plánování VKK

1. Za použití specifických programů. Program po zadání analytických parametrů přímo navrhne příslušná Westgardova pravidla, z nichž má uživatel obvykle možnost výběru (vybírá se pravidlo s největší pravděpodobností detekce chyby a s nejnižší pravděpodobností falešného odmítnutí série). Porušení kteréhokoliv z nich pak znamená odmítnutí série. Nastavení pravidel je potřebné jednou měsíčně ověřovat.
2. Za použití OPS grafů. Tyto si lze stáhnout z www.westgard.com. Pracuje se s procenty povolené chyby. Do grafu se vynesou analytické parametry naší metody. Pokud je bod vpravo od úhlopříčky, metoda není vhodná. Pokud je v levé části grafu, vybereme vhodná pravidla – přímka nejblíže napravo od operačního bodu (viz kapitola 3).

C. Použití jiných postupů

V teoretické části byly citovány i jiné postupy, které si laboratoř může sama vytvořit.

Praktický postup – VKK pro stanovení albuminu.

Měření na dvou kontrolních hladinách

Krok 1: Nastavení požadovaných parametrů – CV

A. Podle biologických variabilit
Biologické variability:
intraindividuální – 3,1 %
interindividuální – 4,2 %

Z toho vypočtená teoretická TE_a = 3,9 %.

Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: -1 %.

Pak platí při CV== (TE_a – bias)/ 2 = (3,9 -1)/2 = 1,45 % pro dostatečnou kvalitu (viz kapitola 2).
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (3,9 – 1)/3 = 0,97 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 1,0, použijeme dále hodnotu CV = 1,0 %.
Pokud je hodnota CV z validace 1,0 – 1,45 %, použijeme hodnotu CV= 1,45 %.
Pokud je hodnota nad 1,45 %, není metoda použitelná. To bude u albuminu problém. Proto budeme pravděpodobně postupovat podle varianty B.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = TE_a/3 pro dostatečnou kvalitu a CV = TE_a/4 pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 1,3 % a cca 1,0 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

B. Podle hodnot z externího hodnocení kvality
Cílová TE_a dle organizátorů EHK = 9 %.
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: -1 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (9-1)/2 = 4 % pro dostatečnou kvalitu.
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (9 – 1)/3 = 2,7 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 2,7 %, použijeme dále hodnotu CV = 2,7 %.
Pokud je hodnota CV z validace 2,7 – 4 %, použijeme hodnotu CV= 4 %.
Pokud je hodnota nad 4 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 3 % a 2,25 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

Pro stanovení albuminu je patrné, že je potřeba pracovat podle bodu B. Teoretická TE_a vede k prakticky nesplnitelným požadavkům na parametry metody.

Další kroky totožné s postupem pro stanovení draselného iontu.

Praktický postup – VKK pro stanovení glukózy

Krok 1: Nastavení požadovaných parametrů – CV

A. Podle biologických variabilit
Biologické variability:
intraindividuální – 6,5 %
interindividuální – 7,7 %

Z toho vypočtená teoretická TE_a = 7,9 % (zaokrouhlit na 8 %).
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +2 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (8 - 2)/2 = 3 % pro dostatečnou kvalitu (viz kapitola 2).
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (8 - 2)/3 = 2 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 2 %, použijeme dále hodnotu CV = 2 %.
Pokud je hodnota CV z validace 2 – 3 %, použijeme hodnotu CV= 3 %.
Pokud je hodnota CV nad 3 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 2,7 % a cca 2 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

B. Podle hodnot z externího hodnocení kvality
Cílová TE_a dle organizátorů EHK = 10 %.
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +2 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (10 - 2)/2 = 4 % pro dostatečnou kvalitu.
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (10 - 2)/3 = 2,7 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 2,7 %, použijeme dále hodnotu CV = 2,7 %.
Pokud je hodnota CV z validace 2,7 – 4 %, použijeme hodnotu CV= 4 %.
Pokud je hodnota nad 4 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = TE_a/3 pro dostatečnou kvalitu a CV = TE_a/4 pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 3,3 % a 2,5 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

Krok 2: Frekvence měření

A. Laboratoř s nepřetržitým provozem

Dle doporučení o VKK minimálně jednou za směnu u provozu ze službou, ve směnném provozu vždy s výměnou směny. Nutno však posoudit velikost série a počet případně opakovaných vzorků. Je většinou vhodné, aby počet vzorků mezi kontrolním měřením nepřekročil počet 100, lze však střídat hladiny kontrolního vzorku.

B. Laboratoř pouze s denním provozem
Teoreticky stačí jednou za den měřit kontrolní vzorky na dvou hladinách. Vzhledem k posouzení celé série je toto nutné provést na závěr pracovního dne. Z praktických důvodů je proto vhodné měřit na začátku dne i na konci.

Pozn.: Uvedené platí jak pro práci na biochemických analyzátorech, tak pro práci se stolními glukometry. Neplatí však pro POCT metody a osobní glukometry.

Krok 3: Posouzení výsledků

Viz postup pro stanovení draselného iontu.

Praktický postup – VKK pro stanovení katalytické koncentrace ALT

U ALT a dalších enzymů je vhodné používat materiály se třemi kontrolními hladinami. Zvláště tam, kde jsou pacienti s vyššími hladinami ALT. Lépe se tak hlídá stabilita reagencií. Uvedený postup je pro tři kontrolní hladiny.

Krok 1: Nastavení požadovaných parametrů - CV

A. Podle biologických variabilit
Biologické variability:
intraindividuální – 24,3 %
interindividuální – 31,6 %
Z toho vypočtená teoretická TE_a = 32,1 % (zaokrouhlit na 32 %).
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +3 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (32 -3)/2 = 14,5 % pro akceptovatelnou kvalitu (viz kapitola 2).
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (32 – 3)/3 = 9,7 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 10, použijeme dále hodnotu CV = 10 %.
Pokud je hodnota CV z validace 10 – 14,5 %, použijeme hodnotu CV= 14,5 %.
Pokud je hodnota nad 14,5 %, není metoda použitelná. Tato kritéria jsou za současného stavu analytiky velmi měkká. Proto bude lépe postupovat podle varianty B.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = TE_a/3 pro dostatečnou kvalitu a CV = TE_a/4 pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 10,7 % a cca 8 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

B. Podle hodnot z externího hodnocení kvality
Cílová TE_a dle organizátorů EHK = 21 %
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +3 %

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (21 - 3)/2 = 9 % pro dostatečnou kvalitu.
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (21 - 3)/3 = 6 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 6, použijeme dále hodnotu CV = 6 %.
Pokud je hodnota CV z validace 6 – 9 %, použijeme hodnotu CV= 9 %.

Pokud je hodnota nad 9 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 7 % a 5,25 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

Pro stanovení katalytické koncentrace ALT je patrné, že lze plnit i přísnější podmínky dle teorie, což má nesporný přínos pro kvalitu péče o pacienty.

Krok 2: Frekvence měření

A. Laboratoř s nepřetržitým provozem

Dle doporučení o VKK minimálně jednou za směnu u provozu ze službou, ve směnném provozu vždy s výměnou směny. Nutno však posoudit velikost série a počet případně opakovaných vzorků. Většinou je vhodné, aby počet vzorků mezi kontrolním měřením nepřekročil počet 100, lze však střídat hladiny kontrolního vzorku. Třetí hladina stačí měřit 2x - 3x týdně.

B. Laboratoř pouze s denním provozem

Teoreticky stačí jednou za den měřit kontrolní vzorky na dvou hladinách. Vzhledem k posouzení celé série je toto nutné provést na závěr pracovního dne. Z praktických důvodů je proto vhodné měřit na začátku dne i na konci. V těchto laboratořích obvykle postačí dvě kontrolní hladiny, krok 3 je stejný jako pro stanovení draselného iontu.

Krok 3: Posouzení výsledků

A. Westgardova multipravidla

1. Provede se analýza kontrolních vzorků A, B a C (vzorky s rozdílnou koncentrací sledovaného analytu, každý vzorek se analyzuje pouze 1x).
2. Pomocí varovného pravidla 1-2s (s odpovídá CV z nastavení parametrů) se posoudí, zda jednotlivé výsledky kontrolních měření vzorku y_A, y_B a y_c leží uvnitř kontrolních limitů pro každý z nich danými vzdáleností ±2s od cílové hodnoty na obě strany.
3. V případě, že výsledky všech třech kontrolních měření splňují odpovídající podmínky, je vše v pořádku a výsledky vzorků v sérii je možno uvolnit.
4. Jestliže jeden nebo dva z výsledků odpovídající podmínku nesplňuje, je třeba výsledky vzorků v sérii odmítnout.
5. V případě, že jen pro jeden z výsledků uvedené pravidlo neplatí, pokračuje se podle následujících bodů.

6. Je třeba prověřit, zda všechny tři výsledky jsou uvnitř vzdálenosti ±3s od cílové hodnoty, jestliže ano, pokračuje se v prověřování dále, v opačném případě se série odmítne.
7. Prověří se, zda rozpětí mezi některými výsledky z aktuální série je větší než 4s (tato situace nastane například, jestliže výsledek y_A leží pod průměrem $\overline{x}_A$ o $1{,}8 \cdot s_A$ a výsledek y_B o $2{,}3 \cdot s_B$ nad průměrem $\overline{x}_B$). Jestliže ano, série se zamítne.
8. Prověří se, zda pro výsledky y_A z posledních dvou sérií platí, že splňují podmínku

$$\overline{x}_A - 2 \cdot s_A \leq y_A \leq \overline{x}_A + 2 \cdot s_A .$$

9. Totéž se odpovídajícím způsobem provede také pro poslední dva výsledky y_B a y_c.
10. Jestliže v některém případě není podmínka splněna, série se zamítne.
11. Prověří se pravidlo 4-1s platí pro výsledky vzorku A z posledních 4 sérií, obdobně také pro poslední 4 výsledky vzorku B a vzorku C. V případě porušení pravidla se série zamítne.
12. Pravidlo 4-1s se prověří také tak, že se ověří, zda platí pro jakékoliv poslední 4 výsledky z kombinace tří vzorků.
13. Jestliže nedojde k odmítnutí série ani v jednom z uvedených kroků, výsledky vzorků ze série se uvolní, i když bylo původně u jednoho ze vzorků porušeno pravidlo 1-2s.

B. Specifická Westgardova pravidla pro daný test

1. Za použití specifických programů. Program po zadání analytických parametrů přímo navrhne příslušná Westgardova pravidla. Porušení kteréhokoliv z nich pak znamená odmítnutí série. Nastavení pravidel je potřebné jednou měsíčně ověřovat.
2. Za použití OPS grafů. Tyto si lze stáhnout z www.westgard.com. Pracuje se s procenty povolené chyby. Do grafu se vynesou analytické parametry naší metody. Pokud je bod vpravo od úhlopříčky, metoda není vhodná. Pokud je v levé části grafu, vybereme vhodná pravidla – přímka nejblíže napravo od našeho bodu.

C. Použití jiných postupů

V teoretické části byly citovány i jiné postupy, které si laboratoř může sama vytvořit.

Praktický postup – VKK pro stanovení parametrů ABR

Přístroj musí vždy vyhovovat pro všechny měřené parametry – pH, pO_2, pCO_2

Krok 1: Nastavení požadovaných parametrů - CV

A. Podle biologických variabilit

pH
intraindividuální –3,5 %
interindividuální – 2 %
Z toho vypočtená teoretická TE_a = 3,9 % (zaokrouhlit na 4 %).
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +1 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (4 - 1)/2 = 1,5 % pro dostatečnou kvalitu (viz kapitola 2).
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (4 - 1)/3 = 1 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 1 %, použijeme dále hodnotu CV = 1 %.
Pokud je hodnota CV z validace 1-1,5 %, použijeme hodnotu CV= 1,5 %.
Pokud je hodnota CV nad 1,5 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = TE_a/3 pro dostatečnou kvalitu a CV = TE_a/4 pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 1,3 % a 1 %.

pCO_2
intraindividuální – 4,8 %
interindividuální – 5,3 %
Z toho vypočtená teoretická TE_a = 5,7 %.
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: - 1,2 %.

Pak platí při CV= (TE_a – bias)/ 2 = (5,7 – 1,2)/2 = 2,25 % pro dostatečnou kvalitu (viz kapitola 2).
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (5,7 – 1,2)/3 = 1,5 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 1,5 %, použijeme dále hodnotu CV = 1,5 %.
Pokud je hodnota CV z validace 1,5 – 2,25 %, použijeme hodnotu CV= 2,25 %.
Pokud je hodnota CV nad 2,25 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 1,9 % a cca 1,4 %

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

pO_2
Hodnoty pro teoretický výpočet nejsou dostupné

B. Podle hodnot z externího hodnocení kvality

pH
Cílová TE_a dle organizátorů EHK = 1 %.
Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +0,3 %.

Pak platí pří CV= (TE_a – bias)/ 2 = (1 – 0,3)/2 = 0,35 % pro dostatečnou kvalitu.
Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (1 – 0,3)/3 =0,23 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 0,23 %, použijeme dále hodnotu CV = 0,23 %.
Pokud je hodnota CV z validace 0,23 – 0,35 %, použijeme hodnotu CV= 0,35 %.
Pokud je hodnota nad 0,35 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 0,33 % a 0,25 %.

Pro stanovení pH je patrné, že požadavky organizátorů jsou přísnější než teoretické. Pak se laboratoř musí držet hodnot podle EHK.

pCO_2

Cílová TE_a dle organizátorů EHK = 12 %.

Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: -2 %.
Pak platí pří CV= (TE_a – bias)/ 2 = (12 - 2)/2 =5 % pro dostatečnou kvalitu.
Pro optimální kvalitu CV = (TE_a – bias)/ 3 = (12 - 2)/3 = 3,3 %.

Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 3,3 %, použijeme dále hodnotu CV =3,3 %.
Pokud je hodnota CV z validace 3,3 – 5 %, použijeme hodnotu CV=5 %.
Pokud je hodnota nad 5 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 4 % a 3 %.

Pozn.: Pro stanovení pCO_2 je situace odlišná, celková chyba je mírnější od organizátorů EHK, než je teoretická.

pO_2
Cílová TE_a dle organizátorů EHK =16 %.

Z validace či EHK zná laboratoř bias, např.: +2 %.

Pak platí pří CV= (TE_a – bias)/ 2 = (16 - 2)/2 = 7 % pro dostatečnou kvalitu.

Pro optimální kvalitu CV= (TE_a – bias)/ 3 = (16 - 2)/3 = 4,7 %.
Z validace známe hodnotu CV. Pokud je pod 4,7 %, použijeme dále hodnotu CV =4,7 %

Pokud je hodnota CV z validace 4,7 – 7 %, použijeme hodnotu CV= 7 %.

Pokud je hodnota nad 7 %, není metoda použitelná.

Pokud neznáme hodnotu bias, předpokládáme z dříve uvedeného, že představuje stejný díl v celkové chybě jako CV. Pak pro CV platí buď CV = $TE_a/3$ pro dostatečnou kvalitu a CV = $TE_a/4$ pro optimální kvalitu. CV se pak mění na hodnoty 5,3 % a 4 %.

Poznámka: Pokud je hodnota CV z laboratoře značně lepší než požadovaná z výpočtu, lze pracovat i s touto. Nutno však každý měsíc přehodnotit na základě výsledků z VKK.

Krok 2: Frekvence měření

V každém 24hodinovém cyklu změřit minimálně jednou všechny 3 kontrolní hladiny. Lze měřit jak najednou, tak i rozložení po 8 hodinách. Druhá varianta je lepší z hlediska včasného záchytu problému.

Krok 3: Posouzení výsledků

Postupujeme dle kroků uvedených pro stanovení katalytické koncentrace ALT – 3 hladiny.

Doporučení o vnitřní kontrole kvality

Autoři: J. Kratochvíla, Z. Kubíček, J. Minář, M. Pollak, M. Radina, L. Stančík, L. Šprongl, M. Verner, F. Všianský

1. Úvod

Vnitřní kontrola kvality (VKK) je jedním z nástrojů k zajištění bezpečí pacientů.

Kontrola kvality v klinické laboratoři je systém vytvořený ke zvýšení pravděpodobnosti, že každý výsledek vydaný laboratoří je validní a použitelný lékaři při diagnostickém a terapeutickém rozhodovacím procesu. Cílem kontroly kvality je detekovat a minimalizovat analytické chyby, které mohou negativně ovlivnit rozhodovací medicínský proces.

V praxi to znamená, že laboratoř měří kontrolní vzorky a porovnává je s očekávanými hodnotami.

Doporučení by mělo pomoci laboratořím všech typů (bez ohledu na velikost, spektrum a četnost testů) vytvořit vlastní funkční systém kontroly kvality.

Systém VKK by měl být:
- jednoduchý
- přehledný
- ekonomický
- účinný
- v souladu s legislativními požadavky (direktiva EU IVD MD)
- v souladu s odbornými poznatky
- v souladu s normativními požadavky
- užitečný při stanovení analytických znaků metod

V systému VKK je potřeba nastavit:
- používané kontrolní materiály
- frekvenci měření
- způsob hodnocení výsledků

2. Volba kontrolního materiálu

Kontrolní vzorky by měly být pokud možno na bázi lidské matrice. Možné je používat materiály jak s cílovými (vztažnými) hodnotami, tak bez nich. Vhodnější jsou materiály v kapalné fázi (méně doplňkových látek, menší možnost chyby při rozpouštění). Doporučuje se provádět kontrolní měření alespoň na dvou hladinách (lépe je však pracovat na třech hladinách), optimálně od jednoho výrobce. Koncentrace (měřené hodnoty) analytů by se pokud možno měly blížit klinicky rozhodujícím hladinám.

Postup pro ověření nebo stanovení cílových hodnot kontrolního materiálu a směrodatné odchylky měřicího procesu závisí na rozhodnutí odpovědného analytika laboratoře, minimem je 20 měření v intervalu 5 dnů.

Při práci s kontrolními materiály je vždy nutno dodržovat pokyny výrobce.

3. Frekvence

Substráty, enzymy a elektrolyty

Všechny hladiny minimálně jednou za analytickou sérii, která odpovídá jedné pracovní směně. Maximální přípustná doba analytické série je 24 hodin.

Parametry ABR.

Všechny 3 hladiny jednou denně, nejlépe vždy po 8 hodinách jedna hladina.

Ostatní analyty

Optimem 3 hladiny denně, minimálně pak střídavě jedna hladina denně.

Kontrolní vzorky se měří vždy pouze pro analýzy, které se ten den zajišťují.

Další podmínkou je měřit kontrolní vzorky vždy po výměně reagencií, po kalibraci, po servisním zásahu v měřicí části přístroje a při pochybnostech o funkci analytického systému.

4. Nastavení systému a hodnocení

Hodnocení je nutné rozdělit na krátkodobé (reakce na výsledky a rozhodnutí s tím související) a dlouhodobé (změny v nastavení systému, hodnocení analytických parametrů).

Nástrojem pro krátkodobé hodnocení jsou regulační diagramy, pro dlouhodobé hodnocení se používají indexy spolehlivosti.

Zamýšlená kvalita je obvykle vyjádřena termínem celkové povolené chyby (TE_a – Total Error Allowable), nebo cílové nejistoty měření (TMU – Target Measurement Uncertainity), kterou můžeme buď odhadnout z biologických variabilit (proměnlivostí) nebo použít hodnoty doporučené odbornými společnostmi pro externí hodnocení kvality (EHK).

Kontrolní vzorky se měří jako rutinní vzorky pacientů. Výsledky je pak nutno ihned vyhodnocovat a minimálně jednou měsíčně zkontrolovat, zda se nemění analytické parametry měření.

Všechny výsledky VKK je nutno uchovávat po dobu určenou platnou legislativou.

Nastavení vnitřní kontroly kvality se ověří výsledky z EHK. Při zjištěných neshodách je třeba prověřit celý systém.

5. Využití výsledků

Výsledky získané v procesu vnitřní kontroly kvality lze použít pro verifikaci a validaci metod, stejně jako při odhadu nejistoty výsledků měření.

Literatura

1. Burtis A. C., Ashwood E. R., Bruns D. E.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Elsevier Saunders, 2006,
2. Fraser C. G.: Biological Variation, AACC, 2001
3. Kaplan L. A., Pesce A. J., Kazmierczak S. C.: Clinical Chemistry; Theory, Analysis, Correlation, Mosby, 2003,
4. Lewandrowski K.: Clinical Chemistry; Laboratory management and Clinical Correlations, Lippincott/Williams and Wilkins, 2002,
5. Westgard J. O., Barry P. L.: Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes, AACC, 1995
6. Westgard J. O.: Six Sigma Quality Design and Control, Westgard QC Inc., 2001
7. Westgard J. O.: Basic Planning for Quality, Westgard QC Inc., 2000
8. Westgard J. O.: Basic QC Practices, Westgard QC Inc., 1998
9. Westgard J. O., Smith F. A., Mountain P. J., Boss B.: Design and assessment of average of normals (AON) patient data algorithms to maximaze run lengths for automatic process control, Clin. Chem. 42:10, 1683-1688, 1996
10. Neubauer A. S.: The EWMA control chart: properties and comparison with other quality-control procedures by computer simulation, Clin. Chem. 43:4, 594-601, 1997
11. Dechert J., Case E. K.: Multivariete approach to quality control in clinical chemistry, Clin. Chem. 44:9, 1959-1963, 1998
12. ČSN EN ISO 15189:2004 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na jakost a způsobilost
13. EN ISO 22870:2006 Laboratorní vyšetření u pacienta - Požadavky na jakost a způsobilost
14. ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří
15. International vocabulary of basic and general terms in metrology, 1993, ISBN 92-67-01075-1
16. DIS Guide 99
17. www.westgard.com

Závěr

Příručka byla vypracována, jak již bylo uvedeno, aby sloužila laboratořím při vytvoření vhodného systému VKK. Dále má sloužit k pochopení principů kontroly kvality a i jako učební text.

Závěrem je nutno zdůraznit, že samotný systém VKK není jediným sloupem zajištění kvality v laboratoři. Bez dodržování pracovních postupů podle pokynů výrobců jak přístrojů, tak reagencií ztrácí jakýkoliv systém VKK smysl. Stejně tak ho nelze dobře naplánovat bez dostatečně provedených validací či verifikací analytických postupů v laboratoři používaných.

REJSTŘÍK

6

6 σ – six sigma 52

A

akceptovatelná kvalita stanovení 28
Algoritmus AON 39
ALTM 64
analytická variabilita 25
ANOVA 15
ARIMA 20
aritmetický průměr 11
ARL 49
asymetrické limity 19
autokorelace 18,19,21,41
autokorelační funkce 20
autokorelační koeficient 18,19
autoregresivní model 44
Average Run Lenght ..... viz ARL

B

bias 17,23
bodové diagramy 18
box plot ..... viz krabicový graf

C

Celková aktivita vzorku 78
celková povolená chyba 28
central line ..... viz střední linie
cílová hodnota 48
CLIA 87
CLSI dokument C24 91
Crosier 42
CUSUM .... 41,42. viz kumulativní součty

Č

Časová řada měření 20

D

delta-check 31
Deming Edwards W. 7
Diagnostické testy 91
diagram „stem and leaf“ 10
diagram Paretův 10
Diagram příčin a následků 10
Diagram stonek s listy... viz diagram stem and leaf
diagram Shewhartův 43
Diagramy bodové 10
Diagramy příčin a následků 10
diagramy regulační 10
Diagramy regulační 11
diagramy Shewhartovy 15
diagramy Levey - Jennings 15
dolní regulační limit 11

E

EHK 57
ELISA 74
E_n skóre 66
Eulerův integrál 15
EWMA 20,40,42
exploratorní statistiky 18
Exponentially Weighted Moving Average viz EWMA

F

falešné zamítnutí série 22
FIR 42
Fisherovo F-rozdělení 45

G

Glukometry 87
graf Leavy-Jennings 79
graf operačních specifikací 55
graf silokřivek 38
grafy operačních specifikací 23
Grafy Series tg 20
grafy silových křivek 23

H

Harris 44
hierarchická struktura systému kvality ... 9
hierarchie modelů 23
histogram 19
Histogramy 10

Hoffman 39
homogenita..... 18
horní regulační limit..... 11
Hotellingova statistika 45
Hotellingovy regulační diagramy 16
Hotellingův diagram 44

CH

chyba I. druhu 16
chyba II. druhu 16

I

Ideální bias 27
imunoanalyzátory..... 75
Index způsobilosti C_p 49
Index způsobilosti C_{pk} 49
Index způsobilosti C_{pm} 50
Index způsobilosti C_{pmk} 50
Indexy způsobilosti 46
intercept..... 77,78
interindividuální biologická variabilita. 26
intermediate precision..... viz mezilehlá přesnost
intra-individální variační koeficient..... 23
intraindividuální biologická variabilita. 25
iQM 89
IRMA 74

J

Jennings E. R. 15

K

kalibrační závislost..... 78
Koeficient d2..... 21
Konstanta c4..... 14
konstantnost střední hodnoty 18
Kontrolní tabulky..... 10
korekční faktor c4 14
kovariance..... 21
krabicový graf..... 19
Kritická diference..... 29
kumulativní součty..... 16
Kvalita laboratorního procesu..... 7

L

Levey S. 15
L-J chart ...viz diagramy Levey - Jennings
lower control limitviz dolní regulační limit
Lucas 42

M

Macdonaldovy vztahy..... 60
Macdonaldův vztah..... 64
MacGregor 44
magnificient seven 10
Mahalanobisova vzdálenost..... 45
Matrice kontrolních materiálů..... 77
Maximální odezva kalibrátoru 78
medián..... 11
Mezilehlá přesnost 58
minimální kvalita stanovení..... 28
míra symetrie 19
Močové analyzátory..... 97
moving average.... viz pohyblivé průměry

N

Náhradní kontrola 88
Nenormalita..... 19
Normalita 19
normalizované grafy 38
normální rozdělení 25

O

optimální kvalita stanovení..... 28

P

parciální autokorelační funkce..... 20
Plánování kvality 7
plány OCAP 17
POCT 87
pohyblivé průměry..... 16
pravdivost..... 23
Pravidla N-x 36
Pravidlo 1-2,5s 34
Pravidlo 1-2s 33
Pravidlo 1-3,5s 34
Pravidlo 1-3s 34

Pravidlo 1-4s 34
Pravidlo 2-2s 34
Pravidlo 3-1s a 4-1s 35
Pravidlo R-4s 35
preanalytická variabilita 25
Process Control Solution 89
průměr populace 16
průměr výběru 16
Přesnost 23
Pythagorova věta 61

Q

Q-Q graf 19
Quality Assurance 7

R

RCV ..... viz Kritická diference
regulační diagram 23
Regulační diagram 17
regulační diagramy 16,41
RIA 74
Rilibäk 62,87
rozdělení Gaussovské ..... viz normální rozdělení
Rozhodovací graf 29

Ř

Řízení kvality 6

S

scattergramy ..... viz Diagramy bodové
Screeningové testy 91
Sedmibodový trend, 7-T 35
Shewhart W. A. 15
sigmametrika 53,54
Sigmametrika 64
skupinová biologická variabilita 26
směrodatná odchylka 23
SPC ..... viz Statistická kontrola procesu
specifikační limity 48
Stavy procesu 46
střední hodnota regulačního diagramu ..... viz průměr populace
Střední linie 11

T

Target Value ..... viz cílová hodnota
Těsnost vztahu 19
toleranční pole 53
Total quality management 6
TQM ..... viz Total quality management
transformace Boxova-Coxova 19
transformace logaritmická 19
transformace mocninná 19

U

ukazatele polohy 46
ukazatele rozptylu 46
upper control limit ..... viz horní regulační limit

V

variabilita dat 19
Vybočující měření 22
Vývojové diagramy 10

W

Waid 39
Westgard 9
Westgard James O. 32
Westgard Multirule 37
Westgard Multirules 80
Westgardova pravidla 32
Westgardův lineární vztah 59

Z

Z skóre 28
Zajištění kvality 7
Zeta skóre 66
Zlepšování kvality 7
Způsobilost procesu 47
Z-skóre 67