

,Praktické cvičení č. _____ datum _____ jméno _____

Téma praktika:

Seznámit se s dokumentací dle požadavků normy ISO 15 189 pro akreditaci zdravotnických laboratoří.

Seznámení se s systémem interní a externí kontroly kvality ve zdravotnické laboratoři. Požadavky na validace/ verifikace analytických metod.

Okruhy k nastudování a dotazy:

- 1) Seznamte se s protokolem a používanými pojmy
- 2) Co je to správná laboratorní práce (stručně)
- 3) K čemu slouží interní kontrola kvality
- 4) Zopakujte si vzorce pro výpočet bias a variačního koeficientu

Přístroje a pomůcky:

**Vybraná dokumentace oddělení klinické biochemie
Automatický biochemický analyzátor**

Úkoly:

- 1) Seznámit se s dokumentací podporující činnost akreditované laboratoře (příručka kvality, směrnice, instrukce, pravidelné audity, záznamy, nápravná a preventivní opatření atd.)
- 2) Seznámit s dokumenty SLP – SOPV, SOPT , SOPL
- 3) Vypracujte stručný laboratorní postup (část SOPV) pro laktátdehydrogenasu tak, aby obsahoval princip metody, přípravu chemikálií, j, informace o ředění, kalibraci a kontrole, interferencích.
- 4) Seznámit se s systémem interní a externí kontrolou kvality
- 5) Na automatickém biochemickém analyzátoru prohlédnout individuální a kumulované výsledky interní kontroly kvality (IKK) a nastavená Westgardova pravidla.

Hlavním nástrojem detekce náhodných a systematických chyb je aplikace Westgardových pravidel v laboratorních programech vnitřní kontroly kvality. Tento postup je též založen na statistickém sledování kontrolních měření za použití průměru měření jako střední hodnoty určující centrální – nulovou linii regulačního diagramu (S-grafu). Rozhodovací pravidla pro detekci chyby jsou dána parametrem měření $Xz.s$, který určuje kontrolní linii a to, kolika násobkům (z) směrodatné odchylky (s) a kolikrát se může kontrolní měření přiblížit či je překročit.

Pravidlo 1_{2s} je varovné a jeho překročení není důvodem k odmítnutí série, ostatních pět uvedených pravidel je důvodem k odmítnutí série a k zásadním korekcím v postupu měření.

Pravidla

1_{2s}	kontroluje se, jestli alespoň jeden výsledek kontroly překročil $\pm 2s$
1_{3s}	kontroluje se, jestli alespoň jeden výsledek kontroly překročil $\pm 3s$
2_{2s}	kontroluje se, jestli dva po sobě jdoucí výsledky kontroly překročily buď $2s$ nebo $-2s$
R_{4s}	kontroluje se, jestli rozdíl (variační rozpětí) mezi dvěma výsledky kontrolního vzorku $> 4s$
4_{1s}	kontroluje se, jestli 4 po sobě jdoucí výsledky téhož kontrolního vzorku přesahují buď $4 \times 1s$ nebo $4 \times (-1s)$
10_x	kontroluje se, zda 10 po sobě jdoucích výsledků stanovení téhož kontrolního vzorku je na jedné nebo druhé straně průměru

Nejčastěji je regulační diagram dle Westgarda definovaný podle zavedené symboliky takto:

$1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_1s/10x$

6) Stanovit opakovatelnost měření na automatickém biochemickém analyzátoru pro v kontrolním materiálu:

Opakovatelnost je přesnost stanovená za podmínek opakovatelnosti. Podmínky opakovatelnosti měření jsou následující: stejná metoda, stejná laboratoř, stejný přístroj, stejný operátor, stejná kalibrace, jediná série měření, krátký časový interval. Často se pod pojmem opakovatelnost myslí přesnost v sérii (within run, slangově se někdy používá i pojem intraassay).

Číslo měření	Hladina 1	Hladina 2
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
Průměr		
SD		
VK		

7) Vypsat reprodukovatelnost měření pro stanovovaný analyt v tomtéž materiálu

Reprodukovatelnost je přesnost, stanovená za podmínek reprodukovatelnosti. Obvyklými případy reprodukovatelnosti jsou: laboratorní reprodukovatelnost mezi sériemi, mezi dny. Nejdůležitějším zdrojem dat laboratorní reprodukovatelnosti je vnitřní kontrola kvality.

Průměr	Hladina 1	Hladina 2
SD		
VK		

8) Vypočítat bias

Pravdivost (bias) měření je statistický odhad velikosti systematické chyby měření. Je to rozdíl (obvykle vyjádřený v %) mezi průměrem velkého počtu měření (AM) a cílovou hodnotou (TV).

$$\text{Výpočet: Bias (\%)} = \frac{|AM-TV|}{TV} \times 100$$

AM.....aritmetický průměr
TV.....cílová hodnota

Vypočítat kombinovanou nejistotu pro naměřenou koncentraci

Nejistota měření je definována jako údaj, který charakterizuje rozsah, v němž se výsledek měření nachází (s danou pravděpodobností). Nejistota by měla být součástí výsledku měření.

Zdroje nejistot měření v laboratoři:

Za předpokladu striktního dodržování zásad preanalytické fáze a při používání moderní analytické technologie, disponující vysokým stupněm automatizace či robotizace (které umožňují i dosažení vynikající reprodukovatelnosti) platí pro soudobou rutinní automatizovanou analýzu, že je možné redukovat zdroje nejistot na zásadní druhy:

- náhodné změny a odchylky
- úroveň zajištění jakosti
- úroveň kalibrace

Z toho plyne, že monitorování přesnosti a kvantifikace systematických chyb měření umožní kvalifikovaný odhad nejistot měření. Hlavním zdrojem dat pro odhad nejistot měření jsou proto data vnitřní kontroly kvality a mezilaboratorního porovnávání zkoušek. Preanalytické a biologické zdroje nejistoty je nutno zjistit z dat výrobců, z literatury a certifikátů. Preanalytické zdroje lze redukovat standardizací preanalytických procesů, biologické zdroje, pocházející z biologické variability, pouze zvýšením počtu měření.

analyt		
materiál	Hladina 1	Hladina 2
Target Value		
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
průměr		
sm.odch.opakovatelnosti		
CV opak %		
Bias %		
CV repro %		
U (komb,rel)		

Odhad relativní kombinované nejistoty (%) zahrnuje:

Dlouhodobou přesnost (mezilehlou preciznost, reprodukovatelnost), systematickou odchylku (bias)

$$u_{r,celk} = \sqrt{u_{r,repro}^2 + B_r^2 + u_{r,ref}^2 + u_{r,x}^2}$$

$u_{r,celk}$celková relativní kombinovaná nejistota (%)

$u_{r,repro}$dlouhodobá přesnost = reprodukovatelnost (CV %)

$u_{r,x}$opakovatelnost (%)

B_rbias (%)

$u_{r,ref}$relativní nejistota RM (%)

VALIDAČNÍ / VERIFIKAČNÍ PROTOKOL

Název metody:

Typ metody:

Experimentální a statistické postupy validace / verifikace v laboratoři jsou dle doporučení ČSKB:
Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření / klinických testů v klinických laboratořích,
Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích.

Opakovatelnost, Bias (Viz záznam kalkulace nejistoty, dokumentace k referenčnímu materiálu)

	Hladina 1	Hladina 2
Datum měření		
Měřený materiál (exspirace)		
Cílová hodnota (jednotky)		
Nejistota cílové hodnoty		
Průměr (n=...)		
CV opak %		
Bias %		

Mezilehlá preciznost (reprodukovatelnost)

	Hladina 1	Hladina 2
Měřený materiál IKK		
Šarže / expirace		
Hodnota (jednotky)		
Sledované období		
CV repro %		

Validační data výrobce: (Viz dokumentace výrobce)

Opakovatelnost...

Mezilehlá preciznost (reprodukovatelnost)...

Mez detekce ...

Mez stanovitelnosti / funkční citlivost ...

Linearita / měřicí rozsah metody ...

Odhad nejistoty měření

(Viz záznam kalkulace nejistoty)

	koncentrace	Typ nejistoty	Standardní nejistota	Rozšířená nejistota (k=2)
Hladina 1			%	%
Hladina 2			%	%
Hladina 3			%	%

Pozn. Typ nejistoty - RKN (Relativní kombinovaná nejistota)

- CV (variační koeficient reprodukovatelnosti)

Závěr: Metodu lze/nelze použít pro stanovení