

UNIVERZITET U BEOGRADU

FARMACEUTSKI FAKULTET

Vera Lukić

**PRIMENA *MOVING AVERAGE* PROCEDURA
KAO DODATNOG ALATA ZA
KONTINUIRANU KONTROLU KVALITETA
ANALITIČKOG RADA U MEDICINSKOJ
LABORATORIJI**

doktorska disertacija

Beograd, 2022.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Vera Lukić

**APPLICATION OF MOVING AVERAGE
PROCEDURES AS AN ADDITIONAL TOOL
FOR CONTINUOUS QUALITY CONTROL OF
ANALYTICAL WORK IN THE MEDICAL
LABORATORY**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2022.

Mentor:

Dr sc. Svetlana Ignjatović
redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Članovi komisije za odbranu doktorske disertacije:

Dr sc. Aleksandra Topić
redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Violeta Dopsaj
redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Sandra Šipetić Grujičić
redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet

Datum odbrane: _____

HVALA!

Mojoj mentorki, prof. dr Svetlani Ignjatović, za pruženu šansu i ukazano poverenje.

Mojoj majci, za sve što sam postala.

Mom Vladeti, za sigurnu tačku oslonca u svakoj životnoj situaciji.

Mojoj Jeleni, jer svemu daje smisao.

Sažetak

PRIMENA MOVING AVERAGE PROCEDURA KAO DODATNOG ALATA ZA KONTINUIRANU KONTROLU KVALITETA ANALITIČKOG RADA U MEDICINSKOJ LABORATORIJI

Uvod: Tradicionalno se unutrašnja kontrola kvaliteta (QC) analitičkog rada u medicinskim laboratorijama sprovodi testiranjem komercijalno dostupnih kontrolnih materijala u određenim vremenskim intervalima. Međutim, ova kontrola ima svoje nedostatke, a to su: intermitentnost, problem komutabilnosti, kao i cena materijala i rada. S obzirom na to, u savremenoj laboratorijskoj praksi razmatra se izrada QC plana zasnovanog na riziku i uvođenje kontrolnih procedura zasnovanih na rezultatima pacijenata (eng. *patient-based real-time quality control*, PBRTQC). PBRTQC je, za razliku od tradicionalne, kontinuirana, oslobođena problema komutabilnosti i bez troškova kontrolnog materijala. Jedan od mogućih načina korišćenja rezultata pacijenata u svrhu kontrole kvaliteta analitičkog rada jeste *moving average* (MA). MA podrazumeva izračunavanje prosečne vrednosti iz dobijenog seta rezultata pacijenata i dalje korišćenje te vrednosti u kontrolne svrhe. Učestalost QC merenja u QC planu zasnovanom na riziku zavisi od sigma metrike testa, kao mere kvaliteta. Za testove čija sigma metrika ima niske vrednosti potrebne su kontrolne strategije koje su kompleksne i skupe. Kod ovakvih testova može se razmotriti uvođenje PBRTQC procedura u rutinski plan kontrole kvaliteta. I pitanje izrade QC plana zasnovanog na riziku, kao i pitanje implementacije MA kontrolnih procedura, nedovoljno su istraženi u slučaju laboratorija sa malim dnevnim obimom testiranja.

Ciljevi: Ciljevi ovog naučnog istraživanja bili su da se u medicinskoj laboratoriji sa malim dnevnim obimom testiranja odaberu i optimizuju MA procedure za deset biohemijskih analita, da se optimizovane MA procedure kroz LIS implementiraju u

rutinski rad laboratorije, da se uspostavi protokol za postupanje sa MA alarmima i da se MA procedure integrišu u laboratorijski QC plan zasnovan na riziku.

Materijal i metode: Studija je izvedena na 10 analita: albumin, aspartat aminotransferaza (AST), kreatinin, kalcijum, hloridi, holesterol, HDL (*high density lipoprotein*)-holesterol, kalijum, natrijum i ukupni proteini. Izbor optimalnih MA procedura izvršen je metodom simulacije detekcije *bias*-a (odstupanje, pristrasnost, bias, eng. *bias*). Potom su optimizovane MA procedure implementirane u laboratorijski informacioni sistem (LIS) i vršeno je praćenje i analiza pojave MA alarma. Sva MA izračunavanja i simulacije, kao i optimizacija i validacija MA procedura izvedeni su pomoću namenske *online* aplikacije MA Generator (*Huvaros B.V., Bloemendaal, The Netherlands*). Plan višestepene omeđene kontrole kvaliteta je za svaki od 10 ispitivanih analita napravljen pomoću Westgardovog kalkulatora za učestalost izvođenja QC, koji je izračunao *patient-risk* sigma metriku i veličinu serije između dva kontrolna merenja.

Rezultati: Kao optimalne MA procedure, za kalijum, kreatinin i ukupne proteine su odabrane procedure eksponencijalno ponderisanog pokretnog proseka (EWMA), a za albumin, AST, kalcijum, hloride, holesterol, HDL-holesterol i natrijum proste MA procedure. Tokom 6 meseci registrovano je 17 MA alarma, što predstavlja 0,023% od ukupnog broja generisanih MA vrednosti. Njihov uzrok bio je u 65% slučajeva preanalitičkog porekla, u 12% analitičkog i u 23% slučajeva uzrok nije nađen. AST, HDL-holesterol i kalijum su imali *patient-risk* sigma metriku veću od 6, albumin i holesterol veću od 5, kreatinin, hloridi, kalcijum i ukupni proteini između 4 i 5, a natrijum manju od 4. Na osnovu podataka iz kalkulatora za učestalost izvođenja kontrole i karakteristika optimizovanih MA procedura, sačinjen je QC plan. Kao početna (*start-up*) QC procedura koja će se koristiti na početku dana za svih 10 analita, odabrano je višestruko kontrolno pravilo 1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s N3. Što se tiče QC procedure koja će omeđiti kraj dnevne serije (*monitor QC*) kod 6 testova sa *patient-risk* sigma metrikom većom od 4,5 (albumin, AST, HDL-holesterol, hloridi, holesterol i kalijum) moguće je *monitor QC* proceduru zameniti MA procedurom. Za preostala 4

testa (kalcijum, kreatinin, natrijum i ukupni proteini) neophodno je zadržati i *monitor* QC proceduru (odabrana je 1:2s N2), ali joj pridodati i MA kontrolu radi dodatne sigurnosti.

Zaključci: Ovo naučno istraživanje je pokazalo da je u medicinskoj laboratoriji sa malim dnevnim obimom testiranja moguće uspešno optimizovati MA procedure za biohemijske analite, implementirati ih u LIS i izraditi algoritam za postupanje u slučaju pojave MA alarma. Takođe, moguće je MA procedure integrisati u QC plan zasnovan na riziku.

Ključne reči: kontrola kvaliteta, kontrola kvaliteta u realnom vremenu bazirana na rezultatima pacijenata, *moving average*, plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku

Naučna oblast: Medicinske nauke - farmacija

Uža naučna oblast: Medicinska biohemija

Abstract

APPLICATION OF MOVING AVERAGE PROCEDURES AS AN ADDITIONAL TOOL FOR CONTINUOUS QUALITY CONTROL OF ANALYTICAL WORK IN THE MEDICAL LABORATORY

Introduction: Traditionally, the internal quality control (QC) of analytical work in medical laboratories is carried out by testing commercially available control materials at certain time intervals. However, this type of control has drawbacks, including intermittency, the problem of commutability, and the cost of materials and labor. Therefore, modern laboratory practice considers the development of risk-based QC plans and the introduction of patient-based real-time quality control (PBRTQC) procedures. Unlike traditional QC, PBRTQC is continuous, free of the problem of commutability and the cost of control material. One of the possible ways to use patient results for the quality control of analytical work is the moving average (MA). MA involves calculating the average value from the obtained set of patient results and further using that value for control purposes. The frequency of QC measurements in a risk-based QC plan depends on the sigma metrics of the test as a measure of quality. Tests with low values of sigma metrics require control strategies that are complex and expensive. The laboratory may consider introducing PBRTQC procedures into a routine QC plan in such tests. In the case of laboratories with a small daily testing volume, the issue of developing a risk-based QC plan and implementing MA control procedures remains insufficiently investigated.

Objectives: The objectives of this scientific research were to select and optimize MA procedures for 10 biochemical analytes in a medical laboratory with a small daily volume of testing, to implement optimized MA procedures through the laboratory information system (LIS) in routine laboratory work, to establish a protocol for handling MA alarms, and to integrate MA procedures into a laboratory risk-based QC plan.

Material and methods: The study was performed on 10 analytes: albumin, aspartate aminotransferase (AST), creatinine, calcium, chloride, cholesterol, HDL (high-density lipoprotein)-cholesterol, potassium, sodium, and total protein. The optimal MA procedures were selected by the bias detection simulation method. Then, the optimized MA procedures were implemented in the LIS, allowing the monitoring and analysis of the occurrence of MA alarms. All MA calculations and simulations, and the optimization and validation of MA procedures, were performed using a dedicated online application MA Generator (Huvaros B.V., Bloemendaal, The Netherlands). A multi-stage bracketed QC plan was made for each of the 10 examined analytes using a Westgard QC frequency calculator, which calculates patient-risk sigma metrics and run size between two control measurements.

Results: Exponentially weighted moving average (EWMA) procedures were selected as optimal MA procedures for potassium, creatinine, and total protein, and simple MA procedures for albumin, AST, calcium, chloride, cholesterol, HDL-cholesterol, and sodium. During 6 months, 17 MA alarms were registered, which represents 0.023% of the total number of generated MA values. Their cause was of pre-analytical origin in 65% of cases, of analytical origin in 12%, and in 23% the cause was not found. AST, HDL-cholesterol, and potassium had patient-risk sigma metrics greater than 6, albumin and cholesterol greater than 5, creatinine, chloride, calcium, and total protein between 4 and 5, and sodium less than 4. A QC plan was made based on the QC frequency calculator data and the characteristics of optimized MA procedures. A multiple control rule of 1: 3s / 2 of 3: 2s / 3: 1s N3 was selected as the start-up QC procedure to be used at the beginning of the day for all 10 analytes. Regarding the QC procedure that will bracket the end of the daily series (QC monitoring), the QC monitoring procedure can be replaced with a MA procedure in 6 tests (albumin, AST, HDL-cholesterol, chloride, cholesterol, and potassium) with a patient-risk sigma metric greater than 4.5. For the remaining 4 tests (calcium, creatinine, sodium, and total protein), it is necessary to keep the monitoring QC procedure (1: 2s N2 was selected) but add a MA control for additional safety.

Conclusions: This scientific research has shown that in a medical laboratory with a small daily testing volume, it is possible to successfully optimize MA procedures for biochemical analytes, implement them in the LIS and develop an algorithm for dealing with MA alarms. In addition, MA procedures can be integrated into a risk-based quality control plan.

Key words: quality control, patient-based real-time quality control, moving average, risk-based quality control plan

Field of science: Medical sciences - Pharmacy

Scientific subfield: Medical biochemistry

LISTA SKRAĆENICA KORIŠĆENIH U TEKSTU

AST	aspartat aminotransferaza	eng. <i>Aspartate Aminotransferase</i>
BV	biološka varijacija	eng. <i>Biological Variation</i>
CLIA	amandmani za unapređenje kliničkih laboratorija	eng. <i>Clinical Laboratory Improvement Amendments</i>
CLSI	Institut za kliničke i laboratorijske standarde	eng. <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
EFLM	Evropska federacija za laboratorijsku medicinu	eng. <i>European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>
EQA/PT	spoljna kontrola kvaliteta/ profesionalno testiranje	eng. <i>External Quality Assessment/Proficiency Testing</i>
EuBIVAS	evropska studija o biološkoj varijaciji	eng. <i>European Biological Variation Study</i>
EWMA	eksponencijalno ponderisani pokretni prosek	eng. <i>Exponentially Weighted Moving Average</i>
HDL- holesterol	holesterol u lipoproteinima velike gustine	eng. <i>High-Density Lipoprotein</i>
IFCC	Međunarodna federacija za kliničku hemiju i laboratorijsku medicinu	eng. <i>International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>
IQC	unutrašnja kontrola kvaliteta	eng. <i>Internal Quality Control</i>
Kv	koeficijent varijacije	eng. <i>Coefficient of Variation</i>
LIS	laboratorijski informacioni sistem	eng. <i>Laboratory Information System</i>
MA	pokretni prosek	eng. <i>Moving Average</i>
MaxE (N_{UF})	maksimalni očekivani broj neprihvatljivih rezultata pacijenata	eng. <i>Maximum Expected Number of Unreliable Final Patient Results</i>
PBRTQC	kontrola kvaliteta u realnom vremenu zasnovana na rezultatima pacijenata	eng. <i>Patient-Based Real-Time Quality Control</i>
Ped	verovatnoća detekcije greške	eng. <i>Probability of error detection</i>

Pfr	verovatnoća lažnog odbacivanja	eng. <i>Probability of false rejection</i>
RCPA	Kraljevski koledž patologa Australazije	eng. <i>The Royal College of Pathologists of Australasia</i>
RCV	vrednost značajne promene	eng. <i>Reference Change Value</i>
RiliBAK	smernice Nemačke lekarske komore	nem. <i>Richtlinien der Bundesärztekammer</i>
QC	kontrola kvaliteta	eng. <i>Quality Control</i>
Sd	standardna devijacija	eng. <i>Standard Deviation</i>
SID	identifikaciona oznaka uzorka	eng. <i>Sample Identification</i>
SQC	statistička kontrola kvaliteta	eng. <i>Statistical Quality Control</i>
TAT	obrotno vreme	eng. <i>Turn Around Time</i>
TEa	ukupna dozvoljena greška	eng. <i>Total allowable Error</i>
TQM	ukupno upravljanje kvalitetom	eng. <i>Total Quality Management</i>

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 KVALITET U LABORATORIJSKOJ DIJAGNOSTICI	1
1.2 TRADICIONALNA KONTROLA KVALITETA U MEDICINSKIM LABORATORIJAMA .	2
1.2.1 Izbor QC materijala	4
1.2.2 Pojmovi analitičkog <i>bias-a</i> , nepreciznosti i tačnosti	6
1.2.3 Grafički prikaz i interpretacija rezultata unutrašnje kontrole kvaliteta	9
1.2.4 Evaluacija rezultata unutrašnje kontrole kvaliteta	10
1.2.5 Nedostaci tradicionalne kontrole kvaliteta	13
1.3 PLAN KONTROLE KVALITETA ZASNOVAN NA RIZIKU	15
1.3.1 Sigma metrika	18
1.3.2 Izrada QC plana na osnovu sigma metrike	24
1.4 KONTROLA KVALITETA ZASNOVANA NA REZULTATIMA PACIJENATA	25
1.4.1 Delta provera sa prethodnim rezultatom pacijenta	25
1.4.2 Verifikacija usaglašenosti rezultata između više instrumenata	26
1.4.3 Sveobuhvatna kontrola procesa laboratorijskog testiranja u realnom vremenu zasnovana na rezultatima pacijenata (PBRTQC)	27
1.4.4 Tehnike PBRTQC	27
1.4.5 <i>Moving average</i> kontrolne procedure	29
1.4.6 Prednosti PBRTQC	31
1.4.7 Ograničenja upotrebe PBRTQC	33
1.4.8 Trenutna situacija u vezi sa primenom PBRTQC	36
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	37
3. MATERIJAL I METODE	38
3.1 MATERIJAL	38
3.2 METODE	39
3.2.1 Izbor optimalnih MA procedura metodom simulacije detekcije <i>bias-a</i>	39
3.2.2. Validacija MA procedura	42
3.2.3 Implementacija MA procedura u LIS	42
3.2.4 Praćenje i analiza MA alarma	43
3.2.5 Izračunavanje sigma metrike	44
3.2.6 Izrada plana višestepene omeđene kontrole kvaliteta zasnovanog na riziku	45
3.3 STATISTIČKA ANALIZA	47
4. REZULTATI	48
4.1 REZULTATI PACIJENATA NA OSNOVU KOJIH JE IZVRŠEN IZBOR, OPTIMIZACIJA I VALIDACIJA MA PROCEDURA	48

4.2 POREĐENJE RAZLIČITIH MA PROCEDURA.....	49
4.3 VALIDACIJA MA PROCEDURA	70
4.4 IZBOR OPTIMALNIH MA PROCEDURA	75
4.5 ANALIZA MA ALARMA	79
4.6 SIGMA METRIKA I QC PLAN ZASNOVAN NA RIZIKU	83
5. DISKUSIJA	90
5.1 NOVITETI STUDIJE	90
5.2 SPECIFIČNOSTI OPTIMIZACIJE I VALIDACIJE MA PROCEDURA U LABORATORIJI PRIMARNOG NIVOVA ZDRAVSTVENE ZAŠTITE	91
5.2.1 Veličina bloka kod MA ili ponderskog faktora kod EWMA.....	92
5.2.2 Granice odsecanja	93
5.3. OPCIJE ZA OPTIMIZACIJU I VALIDACIJU MA PROCEDURA	94
5.4 TEHNIČKI ZAHTEVI ZA IMPLEMENTACIJU MA PROCEDURA U RUTINSKI RAD LABORATORIJE	96
5.5 UPRAVLJANJE MA ALARMIMA	98
5.6 INTEGRACIJA MA PROCEDURA U PLAN KONTROLE KVALITETA ZASNOVAN NA RIZIKU	100
5.7 PROBLEM TE_a KAO KLINIČKI ZNAČAJNOG BIAS- a I KAO MERE ZAHTEVA ZA KVALITET TESTA	104
5.8 DALJA ISTRAŽIVANJA - OGRANIČENJA STUDIJE	106
6. ZAKLJUČCI.....	107
7. LITERATURA.....	109
8. BIOGRAFIJA AUTORA.....	124

1. UVOD

1.1 KVALITET U LABORATORIJSKOJ DIJAGNOSTICI

Postavljanje tačne dijagnoze može se smatrati najvažnijim zadatkom prilikom pružanja medicinskih usluga iz koga proizilaze svi ostali postupci lečenja, praćenja i brige o pacijentu. Međutim, dijagnostičke greške su naša realnost (1, 2). Prema podacima američkog Instituta za medicinu (*Institute of Medicine*) svake godine se oko 5% odraslih pacijenata u Sjedinjenim Američkim Državama suočava sa posledicama dijagnostičke greške. Izveštaj ove organizacije navodi da se smanjenje broja dijagnostičkih grešaka može postići samo kroz integrisani pristup koji će obuhvatiti unapređenja u svim medicinskim disciplinama koje učestvuju u procesu dijagnostike. Kontinuirani rad na poboljšanju dijagnostičkog procesa predstavlja ne samo profesionalni, već i moralni imperativ (3). Laboratorijsko testiranje je najčešće korišćena dijagnostička procedura u savremenoj medicini (4, 5). S obzirom na to, uticaj koji laboratorijske greške mogu imati na ishod lečenja pacijenata je ogroman (6). Osim za postavljanje dijagnoze, laboratorijsko testiranje je neophodno za praćenje toka bolesti, praćenje efekata primenjenih terapija kao i za prognozu dugoročnog stanja pacijenta. S obzirom na to da je osnovni zadatak laboratorijskog testiranja merenje određenog analita u uzorku pacijenta, ono kao i svako drugo merenje podrazumeva određenu dozu merne nesigurnosti, odnosno nosi rizik od greške. Dakle, sa jedne strane je nedvosmisleno jasno da pravovremeno izdavanje tačnih laboratorijskih rezultata predstavlja kritičnu komponentu donošenja valjanih kliničkih odluka. Međutim, sa druge strane, istovremeno je neophodna svest o tome da laboratorijske greške mogu voditi postavljanju pogrešne dijagnoze ili odlaganju otpočinjanja lečenja, sa ozbiljnim posledicama po pacijenta. Stoga strategija uspostavljanja dijagnostičke izvrsnosti kojoj savremena medicina teži neodvojivo uključuje i laboratorijsku dijagnostiku (7). Zbog svega navedenog, nameće se potreba za strogom kontrolom kvaliteta u medicinskim

laboratorijama, kako bi se mogućnost greške u izdatim rezultatima pacijenata svela na minimum.

1.2 TRADICIONALNA KONTROLA KVALITETA U MEDICINSKIM LABORATORIJAMA

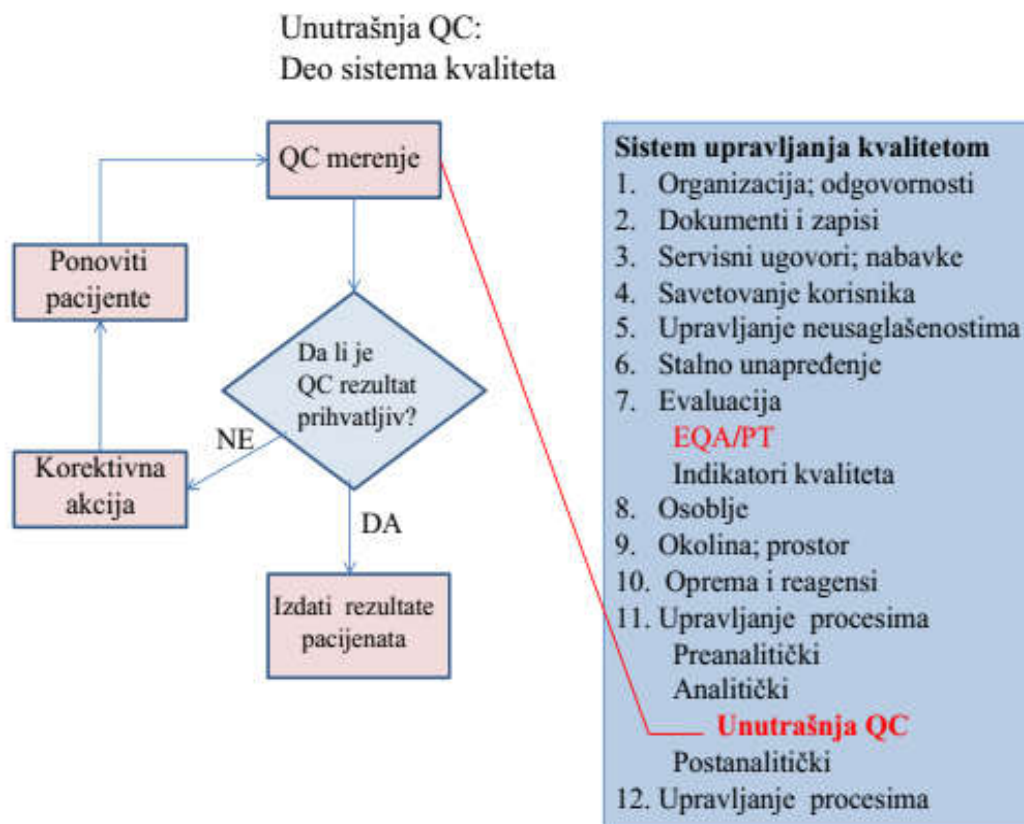
Kontrola kvaliteta (eng. *Quality Control, QC, Statistical Quality Control, SQC*) je jedan od osnovnih principa na kojima počiva analitički rad medicinskih laboratorija i kojim se garantuje izdavanje tačnih rezultata pacijenata (8). Tradicionalno se unutrašnja QC (eng. *Internal Quality Control, IQC*) analitičkog rada laboratorije sprovodi testiranjem komercijalno dostupnih kontrolnih materijala, čija je očekivana vrednost poznata unapred, u određenim vremenskim intervalima.

Ova vrsta kontrole je adekvatno podržana od strane savremenih laboratorijskih instrumenata kao i informacionih sistema. Ako je rezultat merenja QC uzorka u okviru prihvatljivih granica, smatra se da je merna procedura stabilna, odnosno da se izvodi prema očekivanim specifikacijama iz čega proističe da se rezultati pacijenata mogu izdavati sa velikom verovatnoćom da su pogodni za kliničku upotrebu (8-10). U suprotnom, ako QC rezultat ne zadovoljava definisane kriterijume, to znači da se merna procedura ne izvodi korektno, odnosno da postoji velika verovatnoća da rezultati pacijenata nisu pogodni za donošenje kliničkih odluka. Tada je neophodno preduzimanje korektivnih aktivnosti. Kada korektivne mere dovedu do ponovnog uspostavljanja stanja stabilnih performansi merne procedure, testiranje uzoraka pacijenata se mora ponoviti. Ukoliko su pogrešni rezultati već izdati pre nego što je greška otkrivena, onda nakon ponovljenog testiranja moraju biti izdati novi, tačni rezultati (8). Šematski prikaz navedenog je dat na Slici 1. Naravno, ukoliko su kriterijumi prihvatljivosti QC definisani tako da upozoravaju na postepene promene u mernoj proceduri, npr. pomeranje ("driftovanje") kalibracije, onda korektivne mere mogu biti preduzete pre nego što greška postane toliko velika da negativno utiče na rezultate pacijenata, te ponavljanje testiranja neće biti neophodno.

Osim redovnog sprovođenja unutrašnje kontrole, laboratorije takođe učestvuju i u programima spoljašnje QC. Spoljašnja QC ili program profesionalnog testiranja (EQA/PT, eng. *External Quality Assessment / Proficiency Testing*) jeste proces kontrole tačnosti analitičkog metoda na osnovu međulaboratorijskog poređenja (11). Kontrolni uzorci se u ovom procesu dobijaju od nezavisnog organizatora, a očekivane vrednosti u njima nisu poznate laboratoriji. Rezultati spoljašnje kontrole se upoređuju sa rezultatima iz drugih laboratorija da bi se potvrdilo da se testiranje u laboratoriji izvodi u skladu sa očekivanim performansama, ali i da bi se proverila tačnost analitičkog metoda poređenjem performansi između više laboratorija (8, 12).

Slika 1 prikazuje da QC treba razumeti u sklopu šireg konteksta, kao deo sistema laboratorijskog upravljanja kvalitetom. Naime, standard ISO 9000 definiše QC kao „deo upravljanja kvalitetom fokusiran na zadovoljavanje zahteva kvaliteta“. U medicinskim laboratorijama, QC podrazumeva aktivnosti pomoću kojih se prate performanse merne procedure kako bi se osigurali pouzdani rezultati koji će biti pogodni za donošenje kliničkih odluka. Unutrašnja QC predstavlja skup aktivnosti koje se sprovode kako bi se odstupanje od definisanih analitičkih ciljeva uočilo što je moguće ranije (13).

U kontekstu sistema upravljanja kvalitetom, unutrašnja QC je u kategoriji upravljanja procesima zato što je njena primarna svrha da se statistički evaluira merne procedure kako bi se verifikovalo da se ona izvodi unutar očekivanih analitičkih specifikacija u trenutku kada se vrši testiranje uzoraka pacijenata ili kako bi se identifikovala promena u izvođenju koja treba da bude korigovana. Sa druge strane, spoljašnja QC pripada kategoriji evaluacije i provere zato što je njena primarna funkcija procenjivanje da li su procedure merenja u skladu sa specifikacijama za slaganje rezultata između više laboratorija (8).



Slika 1. Mesto unutrašnje QC u sistemu laboratorijskog upravljanja kvalitetom

(Slika prema: Miller GW, Sandberg S. Quality Control of the Analytical Examination Process. U: Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 6th ed., St. Louis: Elsevier Inc.; 2018, p. 122)

1.2.1 Izbor QC materijala

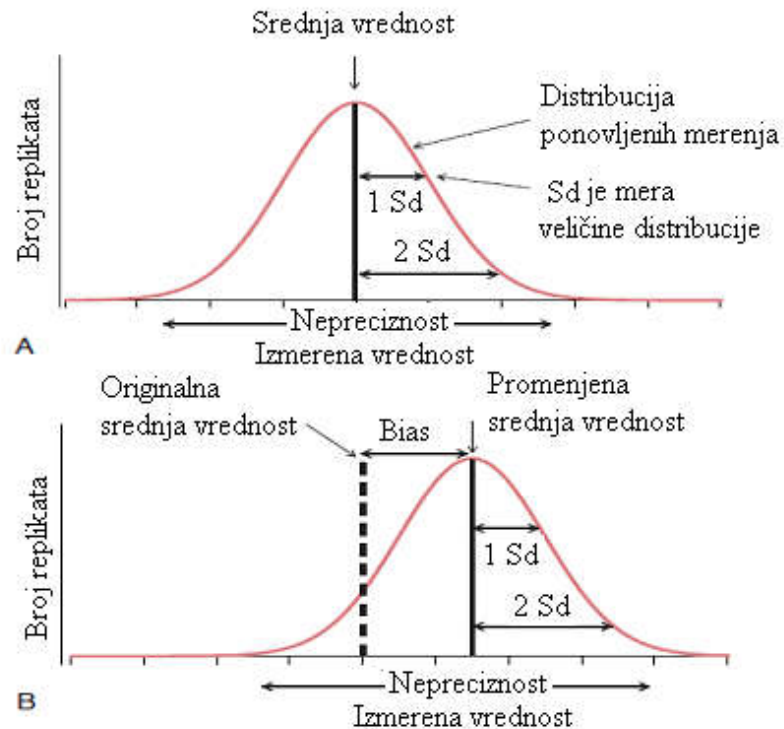
QC materijali (kontrole) su materijali koji sadrže analite koje laboratorija određuje i koriste se za otkrivanje grešaka u analitičkom procesu. Uobičajeno se koriste dva ili tri različita QC materijala sa različitim koncentracijama (nivoima) analita, čime se omogućava provera performansi laboratorijskih metoda kroz ceo njihov merni opseg (11). Ukoliko su dostupni, važno je analizirati i one QC materijale čije su koncentracije blizu granica mernog intervala procedure koja se kontroliše, jer će se pojava greške u mernom sistemu pre odraziti na te koncentracije, nego na ostale. Naime, za testove koji

imaju linearni odgovor u celom svom mernom opsegu, sa velikom se verovatnoćom može pretpostaviti da su njihove performanse kroz ceo taj interval prihvatljive, ukoliko rezultati QC merenja u blizini granica mernog intervala zadovoljavaju kriterijume prihvatljivosti. Kod nelinearnih mernih procedura indikovana je upotreba dodatnih QC materijala sa više različitih koncentracija (8). Potrebno je da kontrole pokrivaju i fiziološki i patološki opseg koncentracija. Takođe, poželjno je analizirati i QC materijale sa koncentracijama analita koje su blizu medicinskih granica odlučivanja (npr. za troponin, D-dimer, hemoglobin A1c, glukozu) (12). Korišćenje dodatnih kontrola za pojedine analite može biti potrebno u slučaju multiparametarskih QC materijala, kod kojih se usled problema rastvorljivosti ili zbog međusobnih interakcija između različitih konstituenata može desiti da koncentracije analita nisu na nivoima optimalnim za sve merne procedure (8).

Za laboratorije je poželjno korišćenje jedne iste proizvođačke serije (*lot-a*) QC materijala tokom što dužeg vremenskog perioda. Takva praksa omogućava uspostavljanje pouzdanih kriterijuma za evaluaciju QC rezultata što olakšava otkrivanje greške u mernom sistemu, sprečava lažne alarme i smanjuje ograničenja u interpretaciji kontrolnih vrednosti nakon zamene *lot-a* reagensa i kalibratora (8). Stoga je prilikom izbora QC materijala neophodno da oni budu stabilni za dugotrajnu upotrebu, poželjno godinu dana ili više od toga. Međutim, ovde je potreban oprez: uprkos odličnoj stabilnosti analita tokom skladištenja neotvorenog QC materijala, ipak se mora računati na izvestan stepen postepenog propadanja koje može dovesti do pomeranja QC vrednosti, odnosno zahtevati njihovu korekciju tokom perioda trajanja jednog *lot-a* kontrole. Sa druge strane, nakon otvaranja, rekonstitucije ili odmrzavanja QC materijala, stabilnost analita može biti značajan izvor varijabilnosti QC rezultata. Stoga je vreme provedeno na sobnoj temperaturi i vreme provedeno bez zatvarača sa mogućnošću isparavanja neophodno kontrolisati u svakoj laboratoriji, jer se stabilnost u konkretnim uslovima može razlikovati u odnosu na navode proizvođača QC materijala (8).

1.2.2 Pojmovi analitičkog *bias*-a, nepreciznosti i tačnosti

U vezi sa kontrolom kvaliteta neophodno je definisati pojmove *bias*-a, nepreciznosti i tačnosti. *Bias* (odstupanje, pristrasnost, bias, eng. *bias*) je razlika između prosečne izmerene vrednosti i prave vrednosti. Obrnuto je proporcionalan istinitosti (eng. *trueness*) koja se definiše kao blizina slaganja između prosečne vrednosti velike serije rezultata merenja i prave vrednosti (8). Istinitost govori o tome koliko je tačno kalibracija jedne merne procedure sledljiva do referentnog sistema i ona predstavlja kvalitativnu meru. Kvantitativna mera istinitosti jeste *bias*, koji je povezan sa sistematskom greškom merenja, dakle onom vrstom greške u mernom sistemu koja sistematski pomera rezultate na jednu stranu i ne može se eliminisati ponavljanjem merenja, već zahteva korektivnu akciju. Preciznost je kvalitativni termin koji se definiše kao blizina slaganja između rezultata nezavisnih ponovljenih merenja (8). Kvantitativno se preciznost izražava nepreciznošću, pomoću statističke veličine – koeficijenta varijacije (K_v) (eng. *Coefficient of Variation, CV*). K_v se izračunava iz većeg broja vrednosti unutrašnje kontrole kvaliteta dobijenih u određenom vremenskom periodu. Nepreciznost je povezana isključivo sa slučajnom greškom merenja. Slučajna greška se može javiti pri svakom merenju i nepredvidljiva je, jer je posledica malih varijacija u uzorku i analizatoru. Na Slici 2 je prikazana distribucija rezultata ponovljenih QC merenja. Na njoj se može uočiti kako *bias*, odnosno sistematska greška “pomera” rezultate u jednu stranu, ali i kako slučajne greške slede normalnu raspodelu. Takođe treba imati u vidu da sistematska i slučajna greška imaju zbirni efekat na rezultate merenja.



Slika 2. Distribucija rezultata QC merenja

A) Distribucija rezultata pokazuje srednju vrednost i očekivanu nepreciznost za ponovljena merenja QC uzorka.

B) Bias nastao nakon promene u kalibraciji.

(Slika prema: Miller GW, Sandberg S. Quality Control of the Analytical Examination Process. U: Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 6th ed., St. Louis: Elsevier Inc.; 2018, p. 126)

Slika 2A ilustruje značenje *bias*-a i nepreciznosti za mernu proceduru koji moraju biti poznati da bi se napravio QC plan. Horizontalna osa predstavlja pojedinačne izmerene vrednosti, dok je na vertikalnoj osi broj ponovljenih merenja izvedenih na alikvotima QC materijala sa istom vrednošću (odnosno učestalost svake vrednosti sa horizontalne ose). Crvena linija pokazuje rasipanje rezultata ponovljenih merenja alikvota istog QC materijala, što je slučajna nepreciznost merenja. Rezultati ponovljenih merenja QC uzorka slede normalnu (Gausovu) raspodelu pa se rasipanje može opisati standardnom devijacijom (Sd) (11). Sd je mera očekivane nepreciznosti merne

procedure kada je izvođenje u okviru specifikacija. Grafički prikaz ove raspodele ima oblik zvona čiji se krajevi asimptotski približavaju x-osi. Najviša tačka zvona odgovara vrednosti sa najvišom učestalošću pojavljivanja (mod), a kod normalne raspodele mod je jednak medijani i srednjoj vrednosti (11). Treba zapaziti da se rezultati blizu srednje vrednosti javljaju mnogo češće nego rezultati daleko od sredine. Interval od ± 1 Sd uključuje 68,26% izmerenih vrednosti, interval od ± 2 Sd njih 95,46%, a interval od ± 3 Sd sadrži 99,73% svih vrednosti (11). Ispravna kalibracija merne procedure eliminiše sistematski *bias*, tako da srednja vrednost ponovljenih merenja QC uzorka postaje očekivana vrednost za taj QC uzorak kada se merna procedura izvodi u okviru specifikacija (8). QC vrednosti uvek sadrže grešku, čak i ako se određivanje izvodi pod potpuno istim uslovima. Ta greška je minimalna slučajna greška procesa. Ako postoje i drugi izvori slučajnih grešaka, onda će Sd merenja biti viša (11).

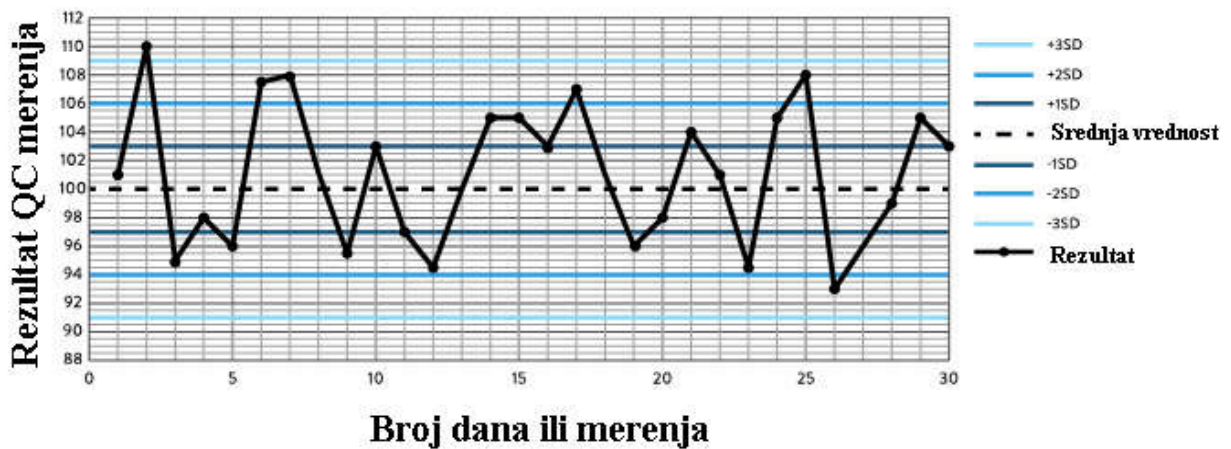
Međutim, u slučaju postojanja sistematske greške, srednja vrednost QC merenja će biti pomerena u odnosu na srednju vrednost kontrolnih granica (11). Takva situacija prikazana je na Slici 2B na kojoj je sistematski *bias* uveden u rezultate zbog promene kalibracije. Ovde *bias* predstavlja razliku između izmerene vrednosti i očekivane vrednosti za QC materijal. Pri tome nepreciznost ostaje ista kao i pre pojave *bias*-a, jer je malo verovatno da će se promena nepreciznosti desiti baš u istom trenutku kada se pojavio i *bias* (8). Kriterijumi za prihvatljivost QC rezultata se baziraju na verovatnoći da pojedinačni QC rezultat bude drugačiji od varijabilnosti rezultata koja je očekivana kada se merna procedura izvodi u okviru specifikacija.

Termin tačnost (eng. *accuracy*) odnosi se na pojedinačni rezultat i predstavlja kombinaciju *bias*-a i nepreciznosti koji su uočeni za to konkretno merenje. Kada je reč o pojedinačnom rezultatu pacijenta, on može biti pod uticajem različitih interferirajućih supstanci prisutnih u uzorku. Stoga je ukupna greška merenja u uzorku pacijenta kombinacija *bias*-a merne procedure, nepreciznosti i uzorak-specifičnog *bias*-a uzrokovanog interferencijama. Za razliku od toga, pojedinačni QC uzorak je pod uticajem samo sistematskog *bias*-a i nepreciznosti merne procedure, iz čega proističe da

SQC ne evaluira potencijalni uticaj interferirajućih supstanci na rezultat iz uzorka pojedinačnog pacijenta. Stoga, nepreciznost uočena na QC rezultatima jeste mera varijabilnosti očekivane za pojedinačni rezultat pacijenta, ali one koja je uzrokovana nepreciznošću same merne procedure i obično je nezavisna od interferirajućih supstanci koje prevashodno utiču na *bias* (8).

1.2.3 Grafički prikaz i interpretacija rezultata unutrašnje kontrole kvaliteta

Najjednostavniji način za uočavanje greške jeste vizuelni pregled QC procesa, a za to je neophodan grafički prikaz. Rezultati unutrašnje QC se grafički najčešće prikazuju u formi Levi-Dženinga (eng. *Levey-Jennings*) kontrolne karte, čiji je primer dat na Slici 3. Ovaj grafički prikaz predstavlja adaptaciju Shewhart grafika koji je originalno razvijen za statističku kontrolu u industriji (14, 15). Levey-Jennings kontrolna karta je grafikon koji na x-osi prikazuje vreme merenja (ili broj analitičke serije), a na y-osi rezultate QC merenja. Dakle, ova grafička prezentacija prikazuje svaki uzastopni QC rezultat tokom vremena i distribuciju tih rezultata u odnosu na srednju vrednost. Na taj način se omogućava brzo vizuelno otkrivanje svih vrsta analitičkih grešaka (i slučajne i sistematske) kao i procena njihove veličine (11). Srednja horizontalna linija na Levey-Jennings karti predstavlja ciljnu, odnosno očekivanu vrednost QC rezultata, dok 6 linija standardnih devijacija (3 pozitivne i 3 negativne) predstavljaju očekivanu nepreciznost. S obzirom na to da je i Levey-Jennings karta zasnovana na normalnoj raspodeli, rezultati treba da se distribuiraju uniformno oko sredine, sa rezultatima uglavnom bliže srednjoj vrednosti nego ekstremnim vrednostima distribucije. Interpretacija pojedinačnog QC rezultata bazira se na njegovoj verovatnoći da bude deo očekivane distribucije rezultata za mernu proceduru kada se procedura izvodi ispravno (8).



Slika 3. Primer Levey-Jennings kontrolne karte

(Slika prema Westgard J, Westgard S. *Six-sigma based quality control. Abbott diagnostics*, 2016)

1.2.4 Evaluacija rezultata unutrašnje kontrole kvaliteta

Pravila za evaluaciju rezultata unutrašnje QC i kriterijumi za njihovu prihvatljivost zasnivaju se na verovatnoći otkrivanja značajne analitičke greške uz prihvatljivo nisku stopu lažnih alarma. Rezultati iz kontrolnih uzoraka se evaluiraju korišćenjem interpretativnih pravila koja se ustanovljavaju nakon razmatranja dve verovatnoće: verovatnoće za otkrivanje grešaka koje predstavljaju rizik po pacijenta (eng. *probability of error detection*, P_{ed}) i verovatnoće lažnog odbacivanja rezultata (eng. *probability of false rejection*, P_{fr}). P_{ed} je mera šanse za otkrivanje greške ako postoji problem u analitičkom sistemu i poželjno je da bude što je moguće veća. P_{fr} predstavlja rizik od odbacivanja serije rezultata u odsustvu bilo kakvog problema sa analitičkim sistemom i treba da bude što je moguće manja (12). Dakle, da bi se mogla odabrati odgovarajuća QC pravila, prvo se moraju ustanoviti željene karakteristike performansi kontrolnog procesa za svaki analit (8). Performanse QC procedura zavise kako od broja kontrolnih merenja, tako i od pravila za odlučivanje koja se primenjuju na dobijene QC rezultate. Što je veći broj kontrolnih merenja i što su striktnija kontrolna pravila, to je veća i P_{ed} . Međutim, time se, nažalost, istovremeno povećava i P_{fr} (16). Stoga je prilikom dizajniranja QC plana neophodno naći balans između sposobnosti za

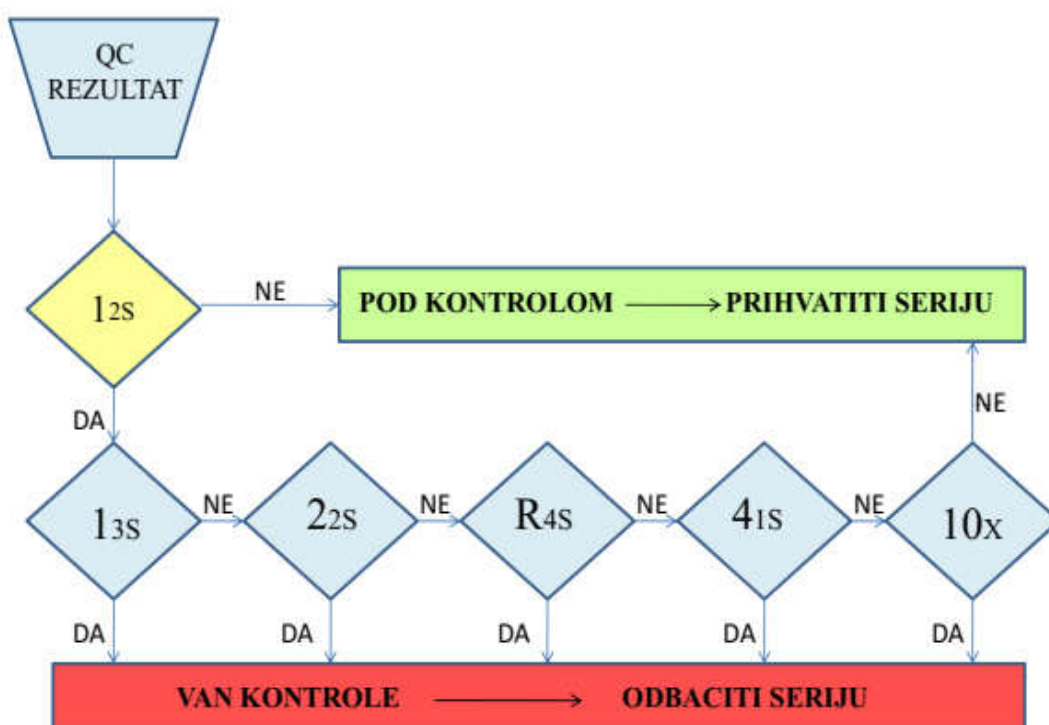
otkrivanje greške i potencijalne učestalosti lažnog odbacivanja. Od kontrolnih pravila se očekuje da imaju minimalnu verovatnoću otkrivanja medicinski značajne sitematske greške od 90% ($P_{ed} \geq 90\%$), a da pri tome verovatnoća lažnog odbacivanja ostane manja od 5 % ($P_{fr} 5\%$) (17). Kod ovih razmatranja pod greškom se podrazumeva tzv. kritična greška. Kritična greška predstavlja minimalnu grešku koja treba da bude otkrivena pomoću kontrolne procedure kako bi se sprečile neželjene kliničke posledice izdavanja laboratorijskog rezultata koji sadrži grešku (18). Za evaluaciju rezultata unutrašnje kontrole kvaliteta, najčešće se koriste Westgardova (eng. *James Westgard*) kontrolna pravila, uvedena još pre 40 godina (15). Kontrolno pravilo predstavlja kriterijum odlučivanja da li je analitička serija pod kontrolom ili ne (18). Postoje pojedinačna i višestruka Westgardova pravila. Konvencionalni način izražavanja interpretativnih QC pravila je pomoću skraćenica popularizovanih u kliničkim laboratorijama od strane Westgarda (8). Te skraćenice su zapravo simboli opšte forme A_L , gde A predstavlja broj kontrolnih merenja ili statistiku, a L kontrolni limit (18). Primeri pojedinačnih kontrolnih pravila prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Westgardova pojedinačna kontrolna pravila

Pravilo	Značenje pravila
1_{3s}	analitička serija se odbacuje, ako je 1 rezultat QC merenja izvan limita srednja vrednost $\pm 3 S_d$
1_{2s}	analitička serija se odbacuje, ako je 1 rezultat QC merenja izvan limita srednja vrednost $\pm 2 S_d$
2_{2s}	analitička serija se odbacuje, ako su 2 uzastopna rezultata QC merenja izvan limita srednja vrednost $+2S_d$ ili srednja vrednost $-2 S_d$ (sa iste strane limita)
R_{4s}	analitička serija se odbacuje, ako je 1 rezultat QC merenja izvan opsega srednja vrednost $+2S_d$, a drugi izvan opsega srednja vrednost $-2 S_d$
4_{1s}	analitička serija se odbacuje, ako su 4 uzastopna rezultata QC merenja izvan limita srednja vrednost $+1 S_d$ ili srednja vrednost $-1 S_d$ (sa iste strane limita)
10_x	analitička serija se odbacuje, ako je 10 uzastopnih rezultata QC merenja na istoj strani u odnosu na srednju vrednost

(Tabela napravljena na osnovu podataka iz *Westgard JO. Internal quality control: planning and implementation strategies. Ann Clin Biochem 2003;40:593-611.*)

Preporučuje se da se efikasnost interpretativnih QC pravila poveća kombinovanjem 2 ili više pravila i njihovom istovremenom primenom kao višestrukih pravila (8). Takvo je, na primer, pravilo $1_{3s}/ 2_{2s}/ R_{4s}/ 4_{1s}/ 10x$, koje kombinuje 5 pojedinačnih Westgardovih pravila. Njegova primena prikazana je na Slici 4. Višestruka pravila imaju bolje performanse nego pojedinačna, jer omogućavaju veliku verovatnoću detekcije greške uz malu verovatnoću lažnog odbacivanja.



Slika 4. Primena Westgardovog višestrukog pravila $1_{3s}/ 2_{2s}/ R_{4s}/ 4_{1s}/ 10x$, nakon inicijalnog upozoravajućeg pravila 1_{2s}

(Slika prema podacima sa www.westgard.com)

Uprkos dugom postojanju, upotreba Westgardovih kontrolnih pravila u mnogim laboratorijama još uvek nije optimizovana (19). Postoje značajne razlike u načinu na koji laboratorije sprovode kontrolu, odnosno ankete pokazuju da definisanje QC strategija, primena QC pravila i učestalost QC merenja i dalje umnogome variraju od laboratorije

do laboratorije (20). Sve češće se postavlja pitanje da li je tradicionalna kontrola dovoljna za brzo otkrivanje analitičkih grešaka (21).

1.2.5 Nedostaci tradicionalne kontrole kvaliteta

Iako je tradicionalna kontrola kvaliteta kamen temeljac analitičke kontrole u medicinskim laboratorijama, ovaj pristup ima određenih nedostataka. To su, pre svega: intermitentnost izvođenja kontrole, problem komutabilnosti, kao i cena materijala i rada (22).

Naime, učestalost izvođenja kontrolnih merenja varira u zavisnosti od konkretnog plana obezbeđenja kontrole kvaliteta u svakoj pojedinačnoj laboratoriji, ali u mnogim laboratorijama u svetu ona odgovara tek minimalnom zahtevu regulatornih tela, a to znači jednom u 24 sata, uz primenu samo jednog statističkog pravila (20, 23). Zbog intermitentnosti sprovođenja ove kontrole postoji rizik da analitičko odstupanje koje se pojavi između dva kontrolna merenja ostane neotkriveno, a da se za to vreme izdaju rezultati pacijenata koji sadrže grešku (9, 24). Dakle, po svojoj prirodi, ova vrsta kontrole je retrospektivna. Sem toga, jedan od principa koje podrazumeva tradicionalna QC jeste i taj da se greška koja se pojavi u analitičkom sistemu održava do sledećeg QC merenja. Pokazalo se da to nije sasvim tačno, odnosno da se između dva QC događaja mogu pojavljivati intermitentne ili iregularne greške koje ne mogu biti otkrivene pomoću tradicionalne QC (4, 25). QC procedure otkrivaju samo perzistentna stanja greške u onoj vremenskoj tački kada se QC uzorak zapravo meri (8).

Problem nekomutabilnosti javlja se zbog razlika između matriksa kontrolnog materijala i stvarnih uzoraka pacijenata, usled čega se kontrolni uzorak u mernom sistemu ne ponaša na identičan način kao uzorak pacijenta. Nekomutabilnost se smatra jednim od glavnih nedostataka komercijalnih QC materijala. Komutabilan QC materijal je onaj koji u mernoj proceduri reaguje tako da daje rezultat koji se blisko slaže sa rezultatom očekivanim u stvarnom uzorku pacijenta koji sadrži istu količinu analita (8). Značajan stepen nekomutabilnosti može se uočiti u čak 40% tečnih kontrolnih materijala

komercijalno dostupnih na tržištu (26). Prilikom proizvodnje kontrolnih materijala, proizvođači često ne koriste matriks ljudskog porekla, već jeftiniji i dostupniji životinjski matriks (npr. goveđi serum). Dalje se ovom materijalu dodaju različiti delimično prečišćeni humani i ne-humanu aditivi da bi se dostigle željene koncentracije analita, kao i različiti stabilizatori, inhibitori i konzervansi. Sve te proizvođačke procedure menjaju proteine, ćelije i druge komponente, odnosno menjaju sastav matriksa (10). Sve zajedno, ovo dovodi do nekomutabilnosti kontrolnog materijala, a to potencijalno kompromituje i osetljivost i specifičnost ove vrste kontrole. Pošto nedostatak osetljivosti smanjuje sposobnost otkrivanja stvarne greške, a nedostatak specifičnosti znači povećanje verovatnoće lažnog odbacivanja, jasno je da nekomutabilnost u krajnjem ishodu vodi potencijalnom izdavanju netačnih rezultata pacijenata ili pak nepotrebnom odbacivanju ispravnih rezultata (24). Osim toga, za neke kontrolne materijale naznačene su specifične vrednosti analita za određeni analizator, a ne prava ciljna vrednost. Iako se time može delimično kompenzovati nedostatak komutabilnosti, vrlo često ovi kontrolni materijali zapravo replikuju *bias* testa i prekidaju vezu sa lancem sledljivosti (27). U tom slučaju, ovakvi kontrolni materijali ne mogu garantovati tačnost i stabilnost kalibracije (24). Zbog nekomutabilnosti, posebne procedure su potrebne kada se menja *lot* reagensa ili kada se upoređuju QC rezultati između dve ili više mernih procedura. Naime, uticaj alteracije matriksa na *recovery* analita nije predvidljiv i često se razlikuje za različite *lot*-ove QC materijala, različite *lot*-ove reagensa u okviru jedne merne procedure i različite merne procedure (8).

Na kraju, sami kontrolni materijali nisu jeftini, kao ni troškovi njihovog analiziranja. U ovom trenutku troškovi kontrole kvaliteta imaju značajan udeo u ukupnim troškovima laboratorijskih merenja (28). Tome, naravno, treba dodati i utrošak vremena laboratorijskog osoblja na izvođenje QC merenja i analiziranje dobijenih rezultata (29).

Zbog svega navedenog, nameće se potreba za uvođenjem dodatnih kontrolnih mehanizama koji bi mogli prevazići ove nedostatke i obezbediti kontinuirani nadzor

nad analitičkim procesom. Takođe, da bi se sprečilo izdavanje pogrešnih rezultata pacijenata ako dođe do greške između dva kontrolna merenja, postoji potreba za razvojem QC planova zasnovanih na upravljanju rizikom (30).

1.3 PLAN KONTROLE KVALITETA ZASNOVAN NA RIZIKU

QC plan se dizajnira sa ciljem da potvrdi prihvatljive performanse merne procedure i identifikuje greške koje mogu predstavljati rizik po pacijenta. Prema smernicama C24-Ed4 - *Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions* - koje je 2016. godine objavio Institut za kliničke i laboratorijske standarde (*Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI*), pažljivo planiranje IQC procedure podrazumeva nekoliko koraka: definisanje zahteva kvaliteta za test, izbor odgovarajućeg kontrolnog materijala, utvrđivanje karakteristika performansi merne procedure kada je pod kontrolom (preciznost i *bias*), identifikovanje kandidatskih QC procedura, predviđanje verovatnoće da će kandidatske QC procedure otkrivati situacije kada su performanse merne procedure izvan specifikacije, definisanje poželjnih ciljeva QC performansi, izbor prikladne QC strategije (13, 18, 31). Da bi se izradio plan IQC, u praksi je potrebno definisati sledeće stavke: broj kontrola koje se rade i približnu koncentraciju analita u tim kontrolama, ciljnu vrednost za svaku kontrolu i Sd koja se koristi u QC pravilima, pravila za evaluaciju QC rezultata i učestalost testiranja QC uzoraka (8).

Sa aspekta QC plana, sve merne procedure mogu se svrstati u jednu od dve opšte kategorije. Jedan tip su *batch* merenja u kojima su rezultati i uzoraka pacijenata i kontrolnih uzoraka gotovi pre izdavanja rezultata. Pri tome se rezultati pacijenata ne izdaju ako se merenjem QC uzoraka ustanovi greška. Drugi tip su „kontinuirani“ merni procesi u kojima se rezultati pacijenata izdaju tokom intervala između dva QC merenja. Ovde postoji mogućnost da su netačni rezultati već izdati, a da je greška otkrivena pri sledećem merenju QC uzorka. Posledično, izbor kriterijuma za evaluaciju QC rezultata i

učestalost QC merenja predstavljaju značajna razmataranja prilikom dizajniranja QC plana (8).

Standard ISO 15189 zahteva da „laboratorija definiše procedure IQC kako bi se verifikovalo postizanje namenjenog kvaliteta rezultata“ (32). „Namenjeni kvalitet“ se odnosi na zahteve kvaliteta za test, odnosno neophodnu preciznost i tačnost (13). Stoga dizajn QC plana mora uzeti u obzir sposobnost analitičkih performansi merne procedure i rizik nastanka štete po pacijenta koja bi mogla nastati u slučaju korišćenja pogrešnog laboratorijskog rezultata za donošenje kliničkih odluka. Međutim, potrebno je naglasiti da uspostavljanje specifikacija analitičkih performansi da bi se zadovoljili medicinski zahtevi i evaluacija verovatnoće štete uzrokovane pogrešnim rezultatom predstavljaju izazov, jer može biti teško ustanoviti vezu između analitičkih performansi i ishoda za pacijenta (8).

Iz svega navedenog proističe da jedna od glavnih stavki prilikom dizajniranja QC plana jeste utvrđivanje učestalosti izvođenja kontrolnih merenja. Učestalost merenja QC uzoraka zavisi od više faktora. To su: analitička stabilnost merne procedure, rizik od nanošenja štete pacijentu izdavanjem netačnog rezultata pre nego što značajna greška bude otkrivena pri sledećem predviđenom QC merenju, broj rezultata pacijenata izdatih u vremenskom periodu kada bi postojala neotkrivena greška, rekalkibracija ili postupci održavanja analizatora koji mogu izmeniti trenutno stanje performansi merne procedure (8). Utvrđivanje učestalosti kontrolnog merenja je od izuzetne važnosti za laboratorije. Uviđajući problem definisanja učestalosti kontrole, u CLSI smernicama C24-Ed4 preporučuje se dizajniranje QC plana koji je zasnovan na riziku (33). Pri tome se misli na medicinski rizik po pacijenta usled donošenja kliničke odluke na osnovu laboratorijskog rezultata koji sadrži grešku. Pogrešan rezultat laboratorijskog testiranja je opasno stanje koje potencijalno može nauditi pacijentu u zavisnosti od toga kakvo je činjenje ili nečinjenje kliničara bazirano na tom rezultatu. Upravo taj rizik od kliničke akcije preduzete pre nego što je značajna merna greška otkrivena jeste važan faktor za češće QC testiranje nego što to zahteva analitička stabilnost ili regulatorna tela. Češće

QC testiranje je racionalno kako bi se izbegla situacija otkrivanja greške u mernoj proceduri više sati nakon što je lekar doneo kliničku odluku baziranu na netačnom rezultatu, odnosno kako bi se minimizovao rizik po pacijenta. Sa praktičnog stanovišta, cena medicinske greške pa i cena ponavljanja sumnjivih rezultata pacijenata od poslednjeg prihvatljivog QC rezultata, može biti skuplja nego planirano češće QC testiranje koje će otkriti stanje greške u što kraćem vremenskom roku (8).

Već pomenuti dokument C24-Ed4 preporučuje da glavni fokus kontrolnih strategija treba staviti na učestalost kontrolnih merenja i vezu te učestalosti sa rizikom po pacijenta. Takođe se predlaže uvođenje dodatne metrike za QC performanse koje su direktno povezane sa rizikom po pacijente (33). Iz toga proističe da tradicionalne mere performansi kao što su P_{ed} i P_{fr} nisu dovoljne za upravljanje rizikom. Uveden je pojam omeđene (eng. *bracketed*) kontrole, koji podrazumeva da se kontrolni uzorci mere zajedno sa uzorcima pacijenata u određenim intervalima i interpretiraju u smislu da ako su kontrole prihvatljive, onda su i rezultati pacijenata između te dve kontrole prihvatljivi (30). To u praktičnom radu znači da se rezultati pacijenata ne izdaju pre izvođenja kontrole koja ih omeđuje i procene prihvatljivosti njenog rezultata. Upravo zbog toga je kod dizajniranja plana omeđene kontrole neophodno uvođenje dodatnog parametra za procenu performansi, a to je učestalost kontrolnih merenja (34). Dakle, za ustanovljavanje QC plana zasnovanog na riziku potrebno je definisati: kontrolna pravila, broj kontrolnih merenja i njihovu učestalost (34). Plan se može izraditi kao višestepeni, u kome se razlikuju početni QC dizajn (eng. *start-up*) i QC dizajn za praćenje (eng. *monitor*). Početni dizajn definiše broj kontrolnih merenja i kontrolna pravila za prvi QC događaj (na početku radnog dana ili smene), a dizajn za praćenje definiše broj kontrolnih merenja i kontrolna pravila za naredne, "omeđujuće" QC događaje koji omogućavaju izdavanje rezultata pacijenata (30). Performanse kontrolne procedure mogu biti validovane ustanovljavanjem očekivanog broja nepouzdanih rezultata pacijenata koji bi bili generisani zbog stanja greške, kao i procenom da li je rizik od izdavanja nepouzdanih rezultata pacijenata prihvatljiv. Upravo taj očekivani broj nepouzdanih rezultata pacijenata izdatih između poslednjeg prihvatljivog QC

merjenja i otkrivanja stanja greške može se koristiti kao parametar za dizajniranje QC strategije koja zadovoljava kriterijume prihvatljivog rizika za laboratoriju (35). Učestalost kontrolnih merjenja u QC planu zasnovanom na riziku definiše se na osnovu parametra MaxE (N_{UF}) (eng. *Maximum Expected Number of Unreliable Final Patient Results*) koji predstavlja maksimalni očekivani broj neprihvatljivih rezultata pacijenata koji bi bili izdati tokom trajanja neotkrivenog stanja greške između dva kontrolna merjenja (36). Izračunavanje ovog parametra je veoma kompleksno i stoga je on nepraktičan za rutinsko korišćenje u laboratorijama (37). Praktičan podatak koji je laboratorijama zapravo neophodan za ustanovljavanje QC učestalosti, jeste veličina serije (eng. *run size*), tj. broj uzoraka pacijenata između dva kontrolna merjenja (38). U tom smislu, izračunavanje je pojednostavljeno konstruisanjem nomograma veličine serije uzoraka između dva kontrolna merjenja (39). Odnedavno je ustanovljavanje ovog elementa QC plana i dodatno olakšano dostupnošću *online* kalkulatora za veličinu serije na Westgardovom vebsajtu (38). Za korišćenje ovog kalkulatora, kao i prethodno nomograma, potrebno je poznavanje sigma metrike laboratorijskog testa.

1.3.1 Sigma metrika

Prilikom dizajniranja QC plana neophodno je znati kako performanse merne procedure odgovaraju kliničkim zahtevima za interpretaciju rezultata pacijenata. Da bi se procenilo koliko dobro se laboratorijska merna procedura izvodi u odnosu na medicinske zahteve, uobičajeno se koristi sigma metrika.

„Šest sigma“ (eng. *Six-sigma*) model široko je prihvaćen u industriji, biznisu, ali i zdravstvenom sektoru kao najnovija verzija sveukupnog upravljanja kvalitetom (eng. *total quality management, TQM*). Smatra se moćnim upravljačkim alatom koji ima potencijal da značajno smanji broj grešaka koje nastaju tokom nekog procesa (40). *Six-sigma* je zapravo mera kvaliteta kojom se kvantifikuju karakteristike mernog procesa, kao broj defekata na milion proizvoda (41). Koncept je inicijalno uveden u korporaciji “Motorola” u Sjedinjenim Američkim Državama osamdesetih godina prošlog veka sa

ciljem smanjenja varijacija u proizvodnji, a kasnije je prihvaćen i u laboratorijskoj medicini (42). Danas se u medicinskim laboratorijama ovaj alat široko primenjuje za objektivnu procenu performansi merne procedure, odnosno za procenu koliko se dobro merna procedura izvodi u odnosu na medicinske zahteve, a sledstveno i za poboljšanje tačnosti i preciznosti rezultata testova. *Six-Sigma* koncept ustanovljava verovatnoću da se pri izvođenju merne procedure u skladu sa njenim specifikacijama pojavi određeni broj netačnih rezultata koji mogu predstavljati rizik od nanošenja štete pacijentu (8). U cilju pojednostavljenja koncepta, kako se defekti u procesu ne bi brojali, već izračunavali, uvedena je sigma metrika. Dakle, *Six-sigma* koncept definiše performanse testa u smislu sigma metrike (43). Sigma metrika predstavlja broj defekata u odnosu na milion procesa, što se u laboratorijskoj medicini obično smatra brojem netačnih ili pogrešnih rezultata ispitivanja izraženim kao odnos prema broju urađenih testova (41). Ona zapravo predstavlja verovatnoću sa kojom se očekuje da se dati broj netačnih rezultata, koji mogu prouzrokovati rizik od štete po pacijenta, pojavi kada se merna procedura izvodi po specifikacijama. Sigma metrika je skala od 1 do 6 koja je reper za klasifikovanje kvaliteta laboratorijskih testova (ali i proizvodnih procesa u bilo kojoj privrednoj delatnosti). Sigma je grčko slovo koje označava S_d , a sigma skala upravo izražava varijabilnost mernog procesa u standardnim devijacijama spram varijabilnosti koja je prihvatljiva u smislu da neće izazvati grešku u dijagnozi ili lečenju pacijenta (8). Broj „šest“ u nazivu potiče od činjenice da je cilj ovog koncepta da se varijacije u procesu toliko smanje da $6 S_d$ može stati u granice tolerancije. Kada neka merna procedura pripada kategoriji „6 sigma“ to znači da je varijabilnost u mernom procesu dovoljno manja od medicinskog zahteva da netačni zahtevi budu veoma retki. „4 sigma“ merna procedura je manje robusna i ima veću verovatnoću da se može pojaviti netačan rezultat, ali još uvek sa prilično niskom učestalošću. Nasuprot tome, merna procedura klasifikovana kao „2 sigma“ će, čak i kada zadovoljava svoje specifikacije performansi, proizvoditi toliko netačnih rezultata da se ne može smatrati pouzdanom za korišćenje u dijagnostici i terapiji pacijenata (8).

Vrednost sigma metrike 6 svrstava posmatrani merni proces u „svetsku klasu“ kvaliteta, 5 je „odlično“, 4 „dobro“, 3 „granično“, 2 „loše“ i 1 „neprihvatljivo“. Verovatnoća prihvatljivog rezultata ili rezultata koji sadrži grešku na osnovu vrednosti sigma metrike, prikazana je na Slici 5.

Sigma vrednost	Procenat rezultata u okviru specifikacija	Procenat rezultata sa greškom (defekt)	Greške (defekti) na milion mogućnosti
1	68	32	317311
2	95,5	4,5	45500
3	99,7	0,3	2700
4	99,994	0,006	63
5	99,99994	0,00006	0,6
6	99,9999998	0,0000002	0,002

Slika 5. Verovatnoća prihvatljivog ili pogrešnog rezultata na osnovu sigma metrike

(Slika prema: Miller GW, Sandberg S. Quality Control of the Analytical Examination Process. U: Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 6th ed., St. Louis: Elsevier Inc.; 2018, p. 128)

Da bi se sigma metrika uopšte mogla izračunati, potrebno je poznavati, pre svega - zahtev za kvalitet, a potom i nepreciznost i netačnost testa koji se ocenjuje (41). Sigma metrika meri kvalitet testa objektivno i kvantitativno, kombinujući pri tome 3 tradicionalna elementa koji se koriste za evaluaciju performansi testa: ukupna dozvoljena greška (eng. *Allowable Total Error*, TEa), *bias* i preciznost, prema formuli: $\text{Sigma} = (\text{TEa} - \text{Bias}) / K_v$ (44).

Podacima o nepreciznosti i *bias*-u za testove koje koriste, laboratorije već raspolažu. Preciznost se izražava kroz Sd. Sd se izračunava iz podataka o unutrašnjoj QC pri čemu je jako važno da se procena Sd napravi iz QC podataka koji reprezentuju sve ili većinu komponenti varijabilnosti koje se pojavljuju tokom dužeg vremenskog

perioda (8). Što se tiče *bias*-a, laboratorijama je teško da procene *bias* između rezultata dobijenog korišćenom mernom procedurom u poređenju sa tačnom vrednošću baziranom na referentnoj mernoj proceduri. Međutim, za potrebe QC dizajna *bias* se može izračunati na osnovu rezultata programa spoljašnje kontrole kvaliteta rada. Treća varijabla neophodna za izračunavanje sigma metrike jeste TEa.

1.3.1.1 Izbor TEa

Prvi korak u pravljenju QC planova treba da bude definisanje kvaliteta zahtevanog za kliničku namenu, odnosno specifikacija analitičkih performansi (45, 46). Istraživanja pokazuju da, kada je u pitanju definisanje zahteva za kvalitet, većina laboratorija kao ciljni parametar kvaliteta koristi upravo TEa (41, 44, 45, 47). TEa predstavlja performanse merne procedure koje se zahtevaju da bi se omogućilo adekvatno medicinsko odlučivanje bazirano na rezultatima laboratorijskog testa (8). Drugim rečima, TEa predstavlja klinički značajnu razliku između izmerene vrednosti i stvarne vrednosti (44). Pomoću nje se, zapravo, najbolje izražavaju granice tolerancije u laboratoriji. TEa se može široko definisati kao maksimalni iznos greške (*bias* plus nepreciznost) koji se može tolerisati pre nego što merenje dovede do klinički značajno pogrešnog rezultata (43, 44). Ona zavisi od karakteristika analitičkog metoda, ali i samog analita. Cilj SQC jeste da obezbedi da ukupna greška merenja (zbir sistematske i slučajne) bude manja od TEa (11). Primarni cilj primene sigma metrike u medicinskim laboratorijama jeste ustanovljavanje prikladnih QC procedura. Međutim, koje god procedure da se biraju, glavni cilj koji treba dostići i glavna stavka koja oblikuje QC plan jeste upravo TEa (48). Može se reći da glavni problem izračunavanja sigma metrike u medicinskim laboratorijama jeste upravo nedostatak pouzdanog izvora za TEa (49). U tom smislu načinjeno je više pokušaja u cilju harmonizacije (50, 51). Konsenzus preporuke za utvrđivanje zahteva kvaliteta za svaki test usvojene su na Milanskoj konferenciji 2015. godine i predviđaju tri hijerarhijska nivoa za ustanovljavanje TEa, odnosno tri modela bazirana na: ishodu, biološkoj varijaciji i *state-of-art* (50). U ovim preporukama se kaže da „namena testa, stvarna svrha korišćenja analitičkih specifikacija performansi od različitih zainteresovanih strana i kvalitet dostupnih

dokaza iza svakog modela mogu uticati na izbor najboljeg pristupa“ (50). S obzirom na to da medicinska namena testa varira (npr. skrining, dijagnoza, praćenje efekata terapije) i da se analitičke metode i instrumenti kontinuirano usavršavaju, postavljanje ciljeva kvaliteta ne treba da bude rigidno (52).

Model 1 za uspostavljanje specifikacije performansi jeste baziran na studiji ishoda (tj. ispitivanju uticaja analitičkih performansi merne procedure na klinički ishod). Preporučljiv je onda kada analit ima centralnu i dobro definisanu ulogu u donošenju odluka u vezi sa određenom bolešću (46). Studije ishoda mogu biti direktna procena kliničkog ishoda za grupu pacijenata ili procena „indirektnog“ ishoda kada se ispituju posledice analitičkih performansi na, npr, kliničku klasifikaciju ili odluke, a time i na verovatnoću određenog ishoda po pacijenta. Ove verovatnoće treba zajednički da razmotre laboratorijski specijalisti i kliničari, kako bi se došlo do najprikladnijih specifikacija performansi (50). Indirektne studije ishoda se često koriste za uspostavljanje TEa u vodičima laboratorijske prakse (npr. za holesterol ili kreatinin). Nedostatak ovog modela je to što je on koristan jedino onda kada su veze između analita, kliničkog odlučivanja i kliničkog ishoda jake, što je slučaj samo za mali broj analita (8).

Model 2 bazira TEa na intraindividualnim i interindividualnim biološkim varijacijama analita (8, 53). Ovaj model nije povezan sa kliničkim efektima ili medicinskim zahtevima za analitički kvalitet. Umesto toga, ovaj model pokušava da minimizuje razmeru (količnik) između „analitičkog“ šuma i „biološkog signala“ uz pretpostavku da će mali količnik identifikovati performanse merne procedure koje odgovaraju medicinskim zahtevima. Dostupni su podaci za optimalnu, poželjnu i minimalnu TEa baziranu na biološkoj varijaciji (54). Međutim, ove podatke treba koristiti oprezno, jer procene biološke varijacije variraju između različitih istraživanja, dovodeći u sumnju poverenje u date vrednosti. Npr, izveštaji o biološkoj varijaciji za AST, ALT i GGT variraju između 11% i 58%, 3% i 32%, i 4% i 14%, ponaosob, u različitim studijama (55). Takođe, treba imati u vidu i da se biološka varijacija obično

izračunava iz podataka zdravih individua, a da može biti drugačija u patološkim stanjima. Godinama unazad postoje inicijative za poboljšanje podataka o biološkoj varijaciji i uputstva kako TEa treba procenjivati iz biološke varijacije (56). U tom cilju, Evropska federacija za laboratorijsku medicinu (eng. *European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, EFLM) je formirala radnu grupu za biološku varijaciju (eng. *EFLM Working Group on Biological Variation*) koja je sproveda obimnu studiju EuBIVAS (eng. *European Biological Variation Study*) čiji su rezultati doneli pomak u harmonizaciji različitih vrednosti biološke varijacije (57–59).

Model 3 bazira specifikaciju performansi na „*state-of-art*“ principu, odnosno uzima u obzir najviši nivo performansi koji je tehnički dostižan (46). Prednost ovog modela je što su podaci lako dostupni. Nedostatak je što možda ne postoji povezanost između onoga što je tehnički dostižno i onoga što je potrebno za medicinsko odlučivanje o dijagnozi i terapiji pacijenta.

Opšte je prihvaćeno da prednost treba dati Modelu 1 kad god su takve informacije dostupne ili modelu 2 kao polaznoj tački za procenu TEa (50). Naravno, rukovodilac laboratorije se može konsultovati sa kliničarima o prikladnoj TEa za konkretnu populaciju koju ustanova zbrinjava.

Važno je naglasiti da je sigma metrika visoko zavisna od toga koja vrednost TEa se koristi za izračunavanje, a izvori podataka za TEa su različiti: CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*, SAD), *Ricos goals*, RCPA (*The Royal College of Pathologists of Australasia*) Allowable Performance, RiliBAK (nem. *Richtlinien der Bundesärztekammer*), *Spanish Minimum goals*, EuBIVAS studija (44, 60). Dve najšire korišćene vrednosti TEa su one zasnovane na biološkoj varijaciji (ranije Rikos granice, a danas EuBIVAS baza) i one koje je propisala CLIA (43, 61, 62). Što su vrednosti TEa strožije, to je ocena performansi metode niža (43). Činjenica je da su specifikacije TEa zasnovane na biološkoj varijaciji za neke analite tako stroge da trenutno ne postoje merne metode koje ih mogu dostići (44, 45, 57).

1.3.2 Izrada QC plana na osnovu sigma metrike

Nakon izračunavanja sigma metrike, moguće je na osnovu nje sačiniti optimalan QC plan. Za testove čija sigma metrika ima niske vrednosti potrebne su kontrolne strategije koje su kompleksne i skupe, u smislu učestalosti, broja kontrolnih uzoraka i broja kontrolnih pravila koja se moraju primeniti (41). U Tabeli 2 prikazana su Westgardova kontrolna pravila koja su prikladna za evaluaciju rezultata QC merenja za testove sa različitim sigma vrednostima.

Tabela 2. Westgardova kontrolna pravila u zavisnosti od sigma metrike testa

Sigma	Westgardovo pravilo	n	Ped (%)	Pfr (%)
≥ 6,0	1 _{3s}	2	≥ 99,2	0,6
5,8	1 _{3s}	2	98,4	0,6
5,6	1 _{3s}	2	97,1	0,6
5,4	1 _{3s}	2	94,9	0,6
5,2	1 _{3s}	2	91,6	0,6
5,0	1 _{3s} /2 _{2s}	2	94,3	0,6
4,8	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s}	2	98,4	1,2
4,6	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s}	2	96,7	1,2
4,4	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s}	2	94	1,2
4,2	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s}	2	90	1,2
4,0	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s} /10 _x	2	97	1,3
3,8	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s} /10 _x	2	93,9	1,3
3,6	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s} /10 _x	2	90	1,3
3,5	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s} /10 _x	4	90	3,5
3,4	1 _{3s} /2 _{2s} /R _{4s} /4 _{1s} /10 _x	4	84,9	3,5

Sigma - vrednost sigma metrike testa; n - broj QC merenja; Ped - verovatnoća detekcije greške; Pfr - verovatnoća lažnog odbacivanja

(Tabela prevedena iz Yin L, Li G, Hu D. *Application of quality specification based on biological variation in planning quality control strategy. Clin Chem Lab Med.* 2012;50:1843-4)

1.4 KONTROLA KVALITETA ZASNOVANA NA REZULTATIMA PACIJENATA

Iz svega navedenog, proističe potreba za iznalaženjem dodatnih kontrolnih mehanizama koji bi prevazišli nedostatke tradicionalne kontrole kvaliteta i istovremeno ojačali nadzor nad testovima sa niskom sigma metrikom. U tu svrhu u savremenoj laboratorijskoj praksi se razmatra ideja kontrole kvaliteta u realnom vremenu zasnovane na rezultatima pacijenata (eng. *Patient-Based Real-Time Quality Control*, PBRTQC). Ovaj koncept kontrole kvaliteta podrazumeva korišćenje u kontrolne svrhe samih rezultata pacijenata koje laboratorija svakodnevno generiše (24).

Rezultati pacijenata se u laboratorijama koriste na različite načine za kontrolu nekih segmenata analitičkog procesa. Među najčešće korišćenim su delta provera u odnosu na prethodni rezultat pacijenta i verifikacija usaglašenosti između različitih instrumenata.

1.4.1 Delta provera sa prethodnim rezultatom pacijenta

Delta provera (eng. *delta check*) predstavlja poređenje pacijentovog trenutnog rezultata sa njegovim prethodnim rezultatom za isti analit. *Delta check* vrednosti mogu se ustanoviti na 3 načina. Prvi način je empirijsko definisanje *delta check* vrednosti koje se bazira na iskustvu. Vremenom može biti potrebno ove vrednosti prilagođavati kako ne bi generisale previše lažnih alarma. Drugi način podrazumeva da laboratorija, na osnovu velikog broja uzastopnih parova rezultata pacijenata iz svoje baze podataka, izračuna razlike (delta vrednosti) i unese ih u histogram distribucije frekvencija. Zatim se *delta check* vrednosti identifikuju kao određeni procenat, npr. 5% ili 1% od opaženih delta vrednosti. Treći način jeste izračunavanje vrednosti značajne promene (eng. *Reference Change Value*, RCV). RCV vrednosti zasnivaju se na analitičkoj i intraindividualnoj varijabilnosti, tako da pomoću njih ustanovljene *delta check* vrednosti otkrivaju one serijske rezultate jednog pacijenta gde se razlika među njima ne može obrazložiti analitičkom ili biološkom varijacijom (8).

Koji god pristup da se odabere za ustanovljavanje *delta check* vrednosti, potrebno je voditi računa o tome da razlika između rezultata koja dovodi do *delta check* alarma bude dovoljno velika da se izbegne preveliki broj lažnih alarma, ali ipak adekvatna da omogući identifikaciju uzoraka koji zahtevaju preispitivanje. Pomoću ove provere mogu se otkriti različiti tipovi grešaka u pojedinačnom rezultatu pacijenta, ali je najkorisnija za otkrivanje pogrešno obeleženih uzoraka (identifikaciona greška) i uzoraka izmenjenih usled dilucije intravenskim rastvorima (63). Može biti korisna i za otkrivanje interferirajućih supstanci u uzorku pacijenta. Međutim, za otkrivanje analitičkih grešaka, granične vrednosti su male u odnosu na fiziološke promene koncentracije analita što može uzrokovati veliki broj lažnih alarma, te *delta check* ovde nije adekvatna ideja (8).

1.4.2 Verifikacija usaglašenosti rezultata između više instrumenata

Još jedan mogući način korišćenja rezultata pacijenata u QC svrhe jeste verifikacija usaglašenosti rezultata pacijenata kada se analit meri koristeći više instrumenta (čak i ako oni koriste istu metodu istog proizvođača) ili različite metode u okviru iste laboratorije. Dobra laboratorijska praksa nalaže da višestruki instrumenti ili metode za iste analite budu kalibrisani tako da daju iste rezultate pacijenata. Ukoliko se pokaže da je potrebno, postavke kalibracije jedne merne procedure se mogu izmeniti kako bi rezultati pacijenata bili ekvivalentni onima iz druge merne procedure. Na ovaj način se omogućava upotreba zajedničkih referentnih opsega i obezbeđuje kontinuitet rezultata bez obzira na kom analizatoru su mereni, čime se sprečavaju kliničke nedoumice oko interpretacije laboratorijskih nalaza. U svrhu verifikacije usaglašenosti rezultata, jedna procedura se može odabrati kao primarna i u odnosu na nju se podešavaju druge procedure. Ta primarna procedura se bira uzimajući u obzir stabilnost njenih performansi, sledljivost kalibracije do međunarodnog referentnog sistema, analitičku selektivnost za analit i podložnost interferencijama. Potom se alikvot uzorka pacijenta meri pomoću svake od mernih procedura koje se evaluiraju i po potrebi se vrše korekcije da se postigne slaganje rezultata sa procedurom koja je

odabrana kao primarna. Učestalost izvođenja ove verifikacije laboratorija određuje u zavisnosti od stabilnosti merne procedure, učestalosti zamene *lot*-a reagensa i kalibratora i u skladu sa kliničkim zahtevima za konkretan test (8).

Za verifikaciju slaganja rezultata više mernih procedura ili instrumenata ne preporučuju se rezultati merenja QC uzoraka, zbog već pomenutog problema nekomutabilnosti. Pouzdaniji zaključci se izvode ako se za ovu namenu koriste uzorci pacijenata (8).

1.4.3 Sveobuhvatna kontrola procesa laboratorijskog testiranja u realnom vremenu zasnovana na rezultatima pacijenata (PBRTQC)

Navedene opcije (delta provera i verifikacija usaglašenosti rezultata) su primeri upotrebe rezultata pacijenata za kontrolu pojedinih segmenata laboratorijskog rada. Međutim, godinama unazad u stručnoj javnosti se razmatraju mogućnosti da se na rezultatima pacijenata zasnuje kompletan QC sistem koji bi kompenzovao nedostatke tradicionalne QC. Informacija o kvalitetu sadržana u rezultatu jednog pacijenta je svakako mala, ali kako analitički proces teče i broj obrađenih uzoraka pacijenata raste, tako i količina informacija o kvalitetu raste i postaje dragocena za proces kontrole (64). Rezultati pacijenata se u svrhu uspostavljanja QC sistema mogu koristiti na više načina. Oni se obrađuju različitim tehnikama u smislu transformacije podataka, uklanjanja ekstremnih vrednosti i različitih kompleksnih izračunavanja (24, 65). Suština svih tih tehnika je da se iz rezultata većeg broja pacijenata izračunava jedan parametar (uglavnom ili srednja vrednost ili medijana) koji se redovno ažurira sa svakim dodatnim analiziranim uzorkom (66). Taj izračunati parametar se kontinuirano upoređuje sa unapred određenim kontrolnim granicama.

1.4.4 Tehnike PBRTQC

Postoji veći broj tehnika za izvođenje PBRTQC. Tu spadaju: prosek normala (eng. *Average of Normals*, AON), pokretni prosek (eng. *Moving Average*, MA), pokretna

medijana (eng. *Moving Median*), pokretna standardna devijacija (eng. *Moving Standard Deviation*, MovSD), pokretna suma broja označenih rezultata (eng. *Moving Sum of the Number of Flagged Results*, MovSO), procenat rezultata izvan referentnog opsega (eng. *Percentage of Reference Interval Outliers*), prosek delte (eng. *Average of Delta*, AOD). Najstariji opisani način korišćenja rezultata pacijenata u kontrolne svrhe jeste AON. Prvi su ga uveli Hofman i saradnici 1965. godine računajući prosečnu vrednost iz serija od po 10 rezultata pacijenata (67). Pri tom su rezultati izvan referentnog opsega isključivani iz izračunavanja, a kontrolne granice su određivane kao 95% interval poverenja. Kontrola je vršena na dnevnom ili nedeljnom nivou za protekli period, zbog čega AON nije bio pokazatelj odstupanja u realnom vremenu, već samo retrospektivno. Ideju primene AON procedura za kontrolu kvaliteta u medicinskim laboratorijama su kasnije razrađivali i drugi autori, ali se tehnika pokazala nedovoljno osetljivom za otkrivanje sistematske greške (68–70). Naime, zajednička karakteristika svih tih ranih radova o AON jeste bila da su u računanje ulazili samo rezultati koji su bili unutar referentnog opsega, što je predstavljalo ozbiljno ograničenje ovog kontrolnog alata, odnosno činilo ga manje osetljivim (66, 71). Poslednjih decenija, kada je ponovo počelo da raste interesovanje istraživača za upotrebu rezultata pacijenata u kontrolne svrhe, opisane su i druge PBRTQC tehnike. Tako na primer, pokretna medijana rezultata pacijenata se može koristiti za praćenje dugoročne analitičke stabilnosti (72, 73). Takođe je pokazano da se može primeniti kao dodatak tradicionalnoj QC (74). Treba pomenuti da je tehnika pokretne medijane iskorišćena i za šemu spoljašnje QC (75, 76). Liu i saradnici su opisali pokretnu standardnu devijaciju rezultata pacijenata kao tehniku koja poboljšava otkrivanje nepreciznosti laboratorijskih testova u odnosu na samu tradicionalnu QC (77). Pokretna suma broja označenih rezultata za neki test prati broj rezultata koji su označeni zato što su iznad ili ispod određene granične vrednosti, npr. limita detekcije (78). Ova kontrolna tehnika je posebno pogodna za otkrivanje malih odstupanja pri niskim koncentracijama analita, a koje mogu biti od kliničke važnosti za klasifikaciju pacijenata (66). Konceptualno slična prethodnoj je i metoda procenta rezultata izvan referentnog opsega. Prosek delte je tehnika praćenja prosečne vrednosti

delta provere (poređenje trenutnog sa prethodnim rezultatom istog pacijenta) za uzastopne vrednosti pacijenata (63, 79).

1.4.5 *Moving average* kontrolne procedure

Jedan od mogućih načina korišćenja rezultata pacijenata u svrhu kontrole kvaliteta analitičkog rada jeste pokretni prosek (eng. *Moving Average*, MA) (9, 80). MA podrazumeva izračunavanje prosečne vrednosti nekog analita iz serije rezultata pacijenata i dalje korišćenje te vrednosti u kontrolne svrhe. Naziva se pokretnim, jer se vrši preračunavanje MA vrednosti svaki put kada se sa analizatora primi novi rezultat, odnosno podaci se kontinuirano ažuriraju i evaluiraju, kako se uzorci pacijenata analiziraju. To znači da čim se generiše novi rezultat pacijenta, on se inkorporira u blok (serija rezultata iz koje se vrši izračunavanje), dok se odbacuje najstariji rezultat iz bloka i srednja vrednost se ponovo izračunava. Na ovaj način, srednja vrednost je "pokretna", odnosno neprekidno se preračunava za fiksnu veličinu bloka sa svakim novim rezultatom. Pokretna srednja vrednost se zatim kontinuirano, sa svakim novim dostupnim rezultatom, poredi sa kontrolnim granicama i kada se te granice prevaziđu, biće označeno da je otkrivena greška. Za definisanje MA kontrolne procedure potrebno je odabrati sledeće parametre: algoritam (odnosno formulu za izračunavanje), veličinu bloka ili ponderskog faktora (u zavisnosti od odabrane formule), granice odsecanja i kontrolne granice (81).

Najčešće korišćeni algoritmi za izračunavanje MA vrednosti su: prosti MA, eksponencijalno ponderisani MA (eng. *Exponentially Weighted Moving Average*, EWMA) i Bulov algoritam (XB) (82). Prosti MA je neponderisana srednja vrednost odabranog broja uzastopnih rezultata pacijenata. Taj odabrani broj rezultata koji se koriste za izračunavanje naziva se veličina bloka. EWMA je formula za izračunavanje prosečne vrednosti koja uključuje prethodna merenja modifikovana eksponencijalnim ponderskim faktorom. Ponderisanje za svaki rezultat se menja eksponencijalno, prilagođavanjem „važnosti“ dodeljene novijim merenjima u poređenju sa starijima. Što

je ponderski faktor manji, to se novim rezultatima pridaje manji značaj i obrnuto – pri većim ponderskim faktorima, umanjuje se značaj starijih rezultata (83). Za EWMA procedure je od ranije pokazano da imaju dobru sposobnost otkrivanja malih analitičkih pomaka i da ih otkrivaju ranije nego postojeća tradicionalna QC pravila (84).

Bulov algoritam je složena formula čija je suštinska ideja izračunavanje srednje vrednosti poslednjih 20 rezultata pacijenata, ali uključujući tu i srednju vrednost prethodne serije od 20 rezultata (85). Ovu kalkulaciju razvio je dr Brajan Bul sa saradnicima sedamdesetih godina prošlog veka za detektovanje analitičkih odstupanja u radu hematoloških brojača (85). Brzo prihvatanje ovog algoritma kao QC alata u hematološkim laboratorijama, verovatno leži u specifičnostima po kojima se njihova QC razlikuje u odnosu na onu koja se sprovodi za biohemijske analite. Naime, zbog kompleksnosti dobijanja kontrolnog materijala sa sintetičkim krvnih ćelijama, nabavka hematoloških kontrola po razumnoj ceni je problematična, a i rokovi trajanja tih QC materijala su kratki. Zbog toga su za kontrolu u hematologiji često korišćeni uzorci pacijenata, po tipu kontrole “juče-danas” ili kao “drift” kontrola koja se analizira više puta tokom jednog dana (66). Teorijska osnova za upotrebu Bulovog algoritma leži u činjenici da eritrocitni indeksi (MCV, MCH i MCHC) pokazuju veoma mala odstupanja u jednoj populaciji. Sa druge strane, njihove promene odražavaju analitička odstupanja vrednosti hemoglobina, hematokrita i broja eritrocita. Pokazano je da ovaj QC alat efikasno otkriva velike *bias*-e i da sposobnost detekcije raste sa povećanjem veličine bloka (86). Kao i kod AON i ovde se detekcija *bias*-a odlaže sve dok se ne popuni ceo blok rezultata (66). Zahvaljujući činjenici da je Bulov algoritam fabrički podešen na većini hematoloških brojača, analiza krvne slike je jedini segment rada medicinskih laboratorija u kome su PBRTQC procedure prisutne već godinama unazad.

Osim izbora algoritma, za definisanje MA procedure je potrebno odabrati granice odsecanja koje predstavljaju krajnje tačke opsega koncentracija ispitivanih analita koje su uključene u izračunavanje MA. Dakle, postoje gornja i donja granica odsecanja. Rezultati pacijenata koji se nalaze između te dve vrednosti, ulaze u MA izračunavanje.

Rezultati pacijenata koji su ispod donje ili iznad gornje granice odsecanja, ne uključuju se u MA izračunavanje.

Na kraju, za svaku MA proceduru potrebno je odrediti kontrolne granice, tj. MA vrednosti nakon čijeg prevazilaženja će biti signaliziran problem sa kontrolom. I ovde postoje dve vrednosti: donja i gornja kontrolna granica. Ako se izračunata MA vrednost nalazi između njih, smatra se da je analitički sistem pod kontrolom. Ukoliko je izračunata MA vrednost manja od donje ili veća od gornje kontrolne granice, smatra se da je situacija van kontrole, odnosno u analitičkom sistemu postoji greška (64). Kontrolne granice mogu biti određene na više načina: kao minimalna i maksimalna izračunata MA vrednost, kao 95% ili 99% interval poverenja, pomoću RCV ili pomoću Sd (87).

1.4.6 Prednosti PBRTQC

Koncept kontrole kvaliteta zasnovane na rezultatima pacijenata poseduje brojne karakteristike koje mu daju prednost nad tradicionalnom QC: kontinuiranost kontrolnog procesa, otklanjanje problema nekomutabilnosti, smanjenje utroška kontrolnog materijala kao i utroška dodatnog vremena za njegovo analiziranje, dobra osetljivost i specifičnost u otkrivanju greške (9). S obzirom na to da je kod PBRTQC kontrolni uzorak zapravo sami uzorak pacijenta, ovde ne postoji problem uticaja matriksa kontrolnog materijala, odnosno sama priroda PBRTQC-a rešava problem komutabilnosti koji je prisutan kod tradicionalne QC. Takođe, PBRTQC je pogodna za neke ređe izvođene testove, za koje ne postoji konvencionalni kontrolni materijal (66). Kao posebna specifičnost, izdvaja se i sposobnost PBRTQC da nadomesti nemogućnost tradicionalne QC da otkriva jako male *bias*-e koji mogu biti od izuzetnog kliničkog značaja u slučaju visoko osetljivih testova kao što je npr. srčani troponin T (88).

Dalje, PBRTQC rešava problem diskontinuiranosti od koga pati tradicionalna QC. Naime, kod PBRTQC svaki uzorak pacijenta je deo kontrolnog procesa i sa svakim dobijenim rezultatom analitički proces se ponovo procenjuje. Dakle, kontrola se odvija

istovremeno dok analitički proces teče, ne čekajući neku fiksnu tačku u vremenu kada će se desiti QC događaj i kvalitet analitičkog procesa biti retrospektivno procenjen (24). Na taj način PBRTQC uspostavlja kontinuiranu kontrolu kvaliteta koja se dešava u realnom vremenu.

PBRTQC ima sposobnost otkrivanja različitih tipova laboratorijskih grešaka. Ako govorimo o tradicionalnoj podeli laboratorijskih grešaka na sistematske i slučajne, tradicionalna QC otkriva samo sistematske, podrazumevajući pri tom da one perzistiraju do sledećeg kontrolnog merenja (66). Međutim, u laboratorijskoj praksi sreću se i intermitentne greške (npr. uzrokovane privremenim problemom sa delovima analizatora ili neadekvatnim pipetiranjem zbog parcijalne opstrukcije igle za uzorkovanje) koje se ne mogu otkriti tradicionalnom QC, ali ih PBRTQC detektuje (25, 66). Dakle, PBRTQC ima sposobnost otkrivanja kako sistematskih grešaka koje se održavaju, tako i prolaznih grešaka koje bi ostale neprimećene od strane tradicionalne QC (89). Takođe, PBRTQC je korisna za otkrivanje odstupanja rezultata pacijenata uzrokovanih promenama *lot*-a reagensa (10). U tom smislu je ova kontrola pogodna za praćenje dugoročne stabilnosti nekog testa (90). Kada se govori o razlikama između PBRTQC i tradicionalne QC, jedna od njih upravo jeste ta da PBRTQC kontroliše i preanalitičku i analitičku fazu laboratorijskog testiranja, a tradicionalna samo analitičku (24). Naime, jedna od prednosti PBRTQC jeste da može otkriti greške vezane za uzorkovanje, pripremu, transport ili čuvanje uzoraka, što tradicionalna QC ne može (24, 66).

Konačno, kod PBRTQC nema troškova nabavke kontrolnog materijala, kao ni dodatnog utroška reagensa za potrebe kontrolnih merenja, što je svakako od značaja ako se ima na umu da se pred savremene laboratorije konstantno postavlja zahtev za racionalizaciju trošenja materijalnih sredstava (66). Podaci iz literature pokazuju da se zahvaljujući implementaciji PBRTQC u laboratorijama može postići smanjenje korišćenja tradicionalnih QC materijala za 75-80% i smanjenje ponavljanja testiranja za

50% (91). Sumarno poređenje razlika između tradicionalne QC i PBRTQC dato je u Tabeli 3.

Tabela 3. Uporedne karakteristike tradicionalne QC i PBRTQC

iQC	PBRTQC
Intermitentna	Kontinuirana
Nosi rizik komutabilnosti	Komutabilna po svom dizajnu
Kontroliše različite nivoe analita	Predstavlja jedan (prosečan) nivo analita
Zahteva QC materijale	Uvek dostupna
Najmoćnija za testove sa visokom sigma metrikom	Najmoćnija za testove sa niskom sigma metrikom

iQC - unutrašnja kontrola kvaliteta; PBRTQC - kontrola kvaliteta zasnovana na rezultatima pacijenata

(Tabela prevedena iz: *van Rossum H, Bietenbeck A, Cervinski M, Katayev A, Loh T, Badrick T. Benefits, limitations and controversies on patient-based real-time quality control (PBRTQC) and the evidence behind the practice. Clin Chem Lab. 2021;59(7): 1213-1220.*)

1.4.7 Ograničenja upotrebe PBRTQC

Zbog svih navedenih prednosti, PBRTQC koncept kontrole kvaliteta deluje privlačno. Međutim, iako poznata decenijama unazad, PBRTQC nikada nije ušla u širu primenu u medicinskim laboratorijama, sa izuzetkom Bulovog algoritma na hematološkim analizatorima. Najšire gledano, uzroci nekorišćenja PBRTQC su bili nedostatak informaciono-tehnološke podrške i slaba motivacija laboratorijskih stručnjaka da se uhvate u koštac sa ovim kompleksnim pristupom kontroli kvaliteta (10). Kada se sagledaju svi detalji, razlozi za to su višestruki.

Jedan od glavnih jeste složenost definisanja optimalnih PBRTQC procedura za svaki analit (92). Naime, PBRTQC procedure su specifične za svaki test i svaku laboratoriju i zavise od specifičnosti populacije pacijenata, logistike, analitičkih metoda koje se koriste, dnevnog broja testova. Stoga ove kontrolne procedure ne mogu biti generalizovane niti preuzete iz nekog drugog izvora, već zahtevaju pojedinačni izbor, optimizaciju i validaciju (81).

Drugi razlog koji ograničava primenu PBRTQC procedura je nedostatak uvida u sposobnost odabranih PBRTQC procedura da otkriju klinički značajan *bias*. Ako se uporede razlike u statističkom konceptu tradicionalne QC i PBRTQC, statistička osnova tradicionalne QC je relativno jednostavna: replikati merenja dva ili više kontrolnih uzoraka slede Gausovu raspodelu. Za razliku od toga, statistika PBRTQC je daleko složenija. Pre svega, rezultati pacijenata koji predstavljaju kontrolne uzorke, ne slede normalnu raspodelu. Osim toga, oni su pod uticajem diurnalnih varijacija, kao i činjenice da u laboratoriju mogu stizati grupisani sa određenih bolničkih odeljenja ili od pacijenata sa sličnom patologijom (66). Ove karakteristike ograničavaju metode pomoću kojih je moguće proceniti performanse PBRTQC. Na primer, od PBRTQC se kao i od tradicionalne QC očekuje da treba da ima što bolju sposobnost otkrivanja kritične greške (92). Međutim, kod ovog tipa kontrole, P_{ed} i P_{fr} postaju problematični parametri, jer P_{ed} nije konstantna, već varira sa svakim novim izračunavanjem prilikom dobijanja novog rezultata pacijenta (66). Posebno se postavlja pitanje sposobnosti PBRTQC procedura da detektuju pojavu *bias*-a za ređe zahtevane testove i u laboratorijama sa malim dnevnim brojem uzoraka i urađenih testova, a to u do sada dostupnoj literaturi nije detaljnije obrađivano (93).

Dalje, jedan od preduslova za uspostavljanje PBRTQC jeste i detaljno poznavanje svakog pojedinačnog analita. Osnovna ideja PBRTQC jeste korišćenje rezultata pacijenata u cilju otkrivanja promene u performansama testa, a ne promene populacije koju laboratorija testira (94). U tom kontekstu, biološka varijacija testirane populacije se može smatrati ometajućim faktorom koji smanjuje efikasnost otkrivanja greške i stoga treba da bude minimizovan (24). Da bi se to postiglo, neophodan preduslov za uspostavljanje PBRTQC jeste razumevanje raspodele rezultata analita od interesa u populaciji koju laboratorija testira. Takav uvid će omogućiti dve stvari: izbor statističkih procedura koje treba primeniti na rezultate pre nego što se pristupi PBRTQC izračunavanjima, ali i pomoći u razumevanju i nalaženju uzroka pojave PBRTQC alarma (24). Osim u celoj populaciji, korisno je sagledati i distribuciju rezultata analita u različitim subpopulacijama: na primer kod dece, trudnica, muškaraca ili žena i slično

(24). Nakon sagledavanja raspodele rezultata u populaciji, potrebno je takođe ustanoviti i obrazac testiranja u laboratoriji, u smislu raspodele pacijenata određene patologije po određenim danima u nedelji, razlike u zastupljenosti pacijenata sa određenih odeljenja radnim danima i vikendom ili raspored dopremanja uzoraka sa određenog odeljenja po određenoj satnici u radnom danu, jer svi ti faktori mogu uticati na raspodelu rezultata (24, 80). Uz sve ovo treba pomenuti i da rezultati pacijenata kod većine testova značajno odstupaju od normalne raspodele (koja se generalno podrazumeva kada se evaluiraju rezultati tradicionalne QC), a to utiče na performanse PBRTQC procedura (64, 95).

Nakon ustanovljavanja optimalnih PBRTQC procedura, postavlja se pitanje ima li laboratorijski informacioni sistem (LIS) kojim laboratorija raspolaže mogućnosti da podrži implementaciju PBRTQC. Ova kontrola kvaliteta je u statističkom i softverskom smislu značajno zahtevnija u odnosu na tradicionalnu, jer iziskuje složenu manipulaciju rezultatima pacijenata u realnom vremenu, takoreći "uživo", odnosno istovremeno sa njihovim generisanjem na analizatorima (96). Postoji čitav niz zahteva koje LIS treba da ispunjava kako bi kontrola kvaliteta bila sprovedena u realnom vremenu i svako odstupanje u analitičkom sistemu bilo blagovremeno uočeno (97). U prethodnim decenijama takva informatička rešenja nisu postojala. Danas, kada je LIS podrazumevani deo moderne laboratorije, svejedno postoji pitanje da li konkretan softver u svakoj laboratoriji ima predviđenu opciju za PBRTQC ili je potrebna nadogradnja i da li je ona moguća.

I konačno, izuzetno važno pitanje u vezi sa uvođenjem PBRTQC u rutinsku upotrebu, jeste ustanovljavanje pravila za postupanje u situacijama kada je PBRTQC kontrola van granica prihvatljivosti, s obzirom da za to još uvek nema zvaničnih vodiča (80, 98). Dakle, čak iako laboratorija uspešno sprovede kompleksnu implementaciju PBRTQC, ostaje pitanje kako tačno postupati onda kada taj kontrolni sistem signalizira da je analitički proces potencijalno van kontrole.

1.4.8 Trenutna situacija u vezi sa primenom PBRTQC

Poslednjih godina ponovo raste interesovanje istraživača za PBRTQC, zahvaljujući dostupnosti softverskih aplikacija koje mogu da pruže podršku i vrše sva neophodna izračunavanja (88, 92). Izuzetno je živa istraživačka aktivnost na polju optimizacije različitih parametara PBRTQC procedura, njihove primene u rutinskom radu laboratorija i ustanovljavanju sposobnosti tih procedura da otkrivaju različite vrste grešaka (9, 24). Objavljuju se novi predlozi za načine na koje bi PBRTQC procedure mogle da se optimizuju za rutinsku upotrebu (93, 94). Jedan od tih predloga je metoda simulacije detekcije *bias*-a koju su predložili Van Rosum i saradnici (81). Oni su detaljno opisali upotrebu MA krivih detekcije *bias*-a i MA validacionih grafika (99). Ova metoda podrazumeva softversko uvođenje *bias*-a u istorijski set rezultata pacijenata, a potom testiranje sposobnosti različitih MA procedura da taj *bias* otkriju. U savremenoj medicinskoj praksi, kratko obrtno vreme laboratorije (eng. *Turn Around Time*, TAT) i laka dostupnost laboratorijskih rezultata kao podrška kliničkim putevima za sve dijagnoze, a naročito za zbrinjavanje akutnih stanja, postali su imperativ (90). Takve okolnosti neminovno zahtevaju kontinuiranu kontrolu kvaliteta laboratorijskog rada.

Važnost primene MA kontrolnih procedura na globalnom nivou dodatno je naglašena formiranjem radne grupe Međunarodne federacije za kliničku hemiju (eng. *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, IFCC) za kontrolu kvaliteta u realnom vremenu baziranu na rezultatima pacijenata (eng. *Working Group on Patient Based Real Time Quality Control*) (100). Takođe, razmatraju se i mogućnosti integracije tradicionalne QC sa PBRTQC (30, 98).

Međutim, bez obzira na intenzivnu naučnu aktivnost u oblasti QC, pitanje implementacije PBRTQC kontrolnih procedura, kao i pitanje izrade plana kontrole kvaliteta zasnovanog na riziku, nedovoljno su istraženi u slučaju laboratorija sa malim dnevnim obimom testiranja.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Dostupni literaturni podaci ukazuju na to da bi uključivanje PBRTQC u rutinske QC planove u medicinskim laboratorijama moglo doprineti unapređenju kvaliteta laboratorijskog testiranja. Shodno tome, cilj ovog naučnog istraživanja bio je da se MA procedure, po prvi put u Srbiji, primene kao dodatni alat za kontrolu kvaliteta analitičkog rada u medicinskoj laboratoriji sa malim dnevnim obimom testiranja i da se ustanovi da li je MA procedure moguće integrisati u plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku.

U tom smislu bilo je neophodno:

- da se u medicinskoj laboratoriji metod simulacije detekcije *bias*-a primeni na istorijski set rezultata pacijenata;
- da se pomoću MA Generator softverske aplikacije odaberu, optimizuju i validuju MA procedure za deset biohemijskih analita;
- da se optimizovane MA procedure implementiraju u LIS;
- da se implementirane MA procedure primene u realnom vremenu u rutinskom radu laboratorije;
- da se uspostavi protokol za postupanje sa MA alarmima;
- da se izvrši klasifikacija ispitivanih testova na osnovu sigma metrike;
- da se sačini plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku;
- da se MA procedure integrišu u laboratorijski plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku.

3. MATERIJAL I METODE

3.1 MATERIJAL

Studija je izvedena na Odeljenju za laboratorijska ispitivanja Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika "Železnice Srbije" u Beogradu. Dizajnirana je kao retrospektivno analiziranje podataka iz LIS-a i podataka iz unutrašnje i spoljašnje QC. Za izvođenje studije dobijena je saglasnost Etičkog odbora Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika "Železnice Srbije" u Beogradu.

Materijal su predstavljali rezultati pacijenata preuzeti iz LIS-a (Next Lab, Bit Impex, Beograd) za 10 biohemijskih analita: albumin, AST (aspartat aminotransferaza), HDL-holesterol (holesterol iz lipoproteina visoke gustine, eng. *High-Density Lipoproteins*), hloridi, holesterol, kalcijum, kalijum, kreatinin, natrijum i ukupni proteini. Izbor analita zasnovan je na prosečnom dnevnom broju testova koji se izvode u laboratoriji. AST, HDL-holesterol, holesterol i kreatinin su predstavljali testove sa velikim dnevnim brojem izvođenja, kalijum i natrijum sa srednjim, a albumin, hloridi, kalcijum i ukupni proteini su bili predstavnici testova sa malim dnevnim brojem u našoj laboratoriji. Svi rezultati preuzeti iz LIS-a poticali su od odraslih ambulantnih pacijenata iz opšte populacije, jer naša ustanova pripada primarnom nivou zdravstvene zaštite, bez odeljenja specifične patologije. Korišćene su numeričke vrednosti rezultata, kao i tačno vreme merenja na analizatoru (datum, sat, minut, sekunda), ali se uz rezultate nisu preuzimali identifikacioni niti demografski podaci pacijenata. Svi testovi rađeni su na biohemijskom analizatoru Architect c16000 (*Abbott, Abbott Park, IL, USA*), originalnim reagensima. Za optimizaciju i validaciju MA procedura, iz LIS-a su preuzeti rezultati pacijenata dobijeni u periodu januar – jun 2018. godine. Odlučili smo se da taj validacioni set rezultata pacijenata potiče iz šestomesečnog perioda kako bi obuhvatio različite varijabilnosti analitičkog sistema kao što su promena *lot*-a kalibratora ili reagensa, održavanje analizatora i slično. Nakon izbora MA procedura izvršena je

njihova implementacija u LIS. Evidentiranje MA alarma i analiza njihovih uzroka vršena je na rezultatima pacijenata iz LIS-a za period jul – decembar 2019.

Za izradu plana kontrole kvaliteta zasnovanog na riziku korišćeni su rezultati unutrašnje i spoljašnje kontrole za ispitivane analite iz perioda jul 2019. - jun 2020.

3.2 METODE

3.2.1 Izbor optimalnih MA procedura metodom simulacije detekcije bias-a

Metodu simulacije detekcije *bias*-a detaljno je razradio Van Rossum (80, 81, 99). Ova metoda imitira detekciju greške pomoću MA na realističan način dajući podatke o broju rezultata potrebnih za otkrivanje greške određene veličine. Postupak obuhvata ispitivanje različitih kombinacija parametara MA procedure za svaki analit i procenu sposobnosti svake ispitivane MA procedure da otkrije *bias*-e različitih veličina pomoću namenskog softvera (101).

Za svaki od 10 ispitivanih biohemijskih analita napravljen je izbor sledećih MA parametara: inkluzioni kriterijumi (granica odsecanja, eng. *truncation limit*), formula za izračunavanje (prosti MA ili EWMA), veličina bloka ili ponderskog faktora (u zavisnosti od formule) i kontrolne granice.

Jedini korišćeni inkluzioni kriterijumi bili su granice odsecanja, a ne demografski ili klinički podaci pacijenata. Granice odsecanja su krajnje tačke opsega koncentracija ispitivanih analita koje su uključene u izračunavanje MA. Vrednosti van ovih granica su *outliers* (ekstremne vrednosti) i isključene su iz izračunavanja. Izbor granica odsecanja zavisi od populacije pacijenata sa kojima laboratorija radi, odnosno rezultata koji se dobijaju. Mi smo pri izboru potencijalnih granica odsecanja koristili literaturne podatke, kao i metodu pokušaja i greške, a imajući pritom u vidu i distribuciju vrednosti koncentracija ispitivanih analita u našoj laboratoriji. Testirane su sledeće granice odsecanja: za albumin – donja granica 30 g/L; za AST – gornja granica 50 U/L; za holesterol – gornja granica 8 mmol/L; za kalijum – gornja granica 6 mmol/L; za

kreatinin – gornja granica 150, 200, 300 i 400 $\mu\text{mol/L}$; za natrijum – donja granica 130 mmol/L , gornja granica 145 mmol/L . Za svaki od ovih 6 analita, izračunavanja su prvo obavljena bez inkluzionih kriterijuma, a zatim sa njima. Za preostala 4 analita (HDL-holesterol, hloridi, kalcijum i ukupni proteini) granice odsecanja nisu testirane zbog odsustva ekstremnih vrednosti u populaciji sa kojom laboratorija radi.

Za izračunavanje MA vrednosti korišćene su 2 formule: prosti MA i EWMA. I prosta MA i EWMA formula su ispitane za svaki analit. Prosti MA je računat po formuli:

$$Z_{(t)} = X_{(t)}/n + X_{(t-1)}/n + X_{(t-2)}/n + \dots + X_{(t-n+1)}/n,$$

gde je $Z_{(t)}$ izračunata srednja vrednost na rezultatu broj t , X je rezultat, n je veličina bloka. Veličina bloka je broj uzastopnih rezultata testa koji se koriste za izračunavanje MA vrednosti u prostom MA algoritmu. Svaki put kada se primi novi rezultat sa analizatora, MA se ponovo izračunava iz onog broja rezultata koji je konfigurisan kao veličina bloka. Korišćene su sledeće veličine bloka, na osnovu podataka iz literature: 5, 10, 25, 50 i 100 rezultata (81). EWMA je računat po formuli:

$$Z_{(t)} = \lambda X_{(t)} + (1-\lambda)Z_{(t-1)},$$

gde je $Z_{(t)}$ izračunata srednja vrednost na rezultatu broj t , X je rezultat, a λ je ponderski faktor koji može imati vrednosti od 0 do 1. Kao polazna tačka za $Z_{(t-1)}$ korišćena je srednja vrednost ukupne populacije (izračunata iz referentnog opsega za taj analit). Za svaki novi rezultat primljen sa analizatora, ponovo se izračunava nova MA vrednost. Ponderski faktor je koeficijent koji određuje koliko trenutni i prethodni rezultati testa utiču na izračunavanje u EWMA algoritmu. Može imati vrednosti između 0 i 1. Korišćeni su sledeći ponderski faktori, zasnovano na podacima iz literature: 0,2, 0,1, 0,05 i 0,02 (81).

Kontrolne granice su MA vrednosti nakon čijeg prevazilaženja se generiše MA alarm. Za uspostavljanje gornje i donje kontrolne granice MA procedure, korišćene su minimalna i maksimalna dobijena vrednost MA. Ovakvim izborom kontrolnih granica

trebalo bi da skoro u potpunosti bude izbegnuto generisanje lažnih alarma kada se optimizovane MA procedure stave u rutinski rad. Ove minimalne i maksimalne vrednosti su izračunate za svaku kombinaciju formule izračunavanja i granica odsecanja, a takođe i bez granica odsecanja.

Simulacija *bias*-a je vršena na svakih 400 uzastopnih rezultata. Uvedene su sledeće veličine *bias*-a u rezultate svih ispitivanih analita: -50%, -40%, -30%, -20%, -10%, -5%, -3%, -1%, 1%, 3%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% i 50%. Osim toga, za svaki analit dodatno je uveden *bias* veličine TEa za taj test, smatrajući TEa klinički značajnim *bias*-om. Kao vrednost TEa korišćeni su CLIA podaci (62). Za testove za koje CLIA ne daje procenat već apsolutnu vrednost TEa (kalcijum, kalijum i natrijum), koristili smo podatke iz rada Westgarda i sar (60). Autori tog rada su definisali procenat TEa za svaki od ovih testova na nivoima analita koji su najkritičniji za donošenje medicinskih odluka. Vrednosti TEa su zaokružene na najbliži ceo broj, pošto softver ne dozvoljava upotrebu decimalnih brojeva. Dakle, uvedeni dodatni *bias*-i su bili: za kreatinin $\pm 15\%$, za kalijum $\pm 18\%$ (TEa 17,97%) i za natrijum $\pm 4\%$ (TEa 3,57%). Za ostalih 7 analita, TEa se podudarala sa već testiranim *bias*-ima.

Dobijeni rezultati su predstavljeni i analizirani pomoću MA krivih detekcije *bias*-a opisanih od strane Van Rosuma (99). Za svaku ispitivanu kombinaciju MA parametara (granica odsecanja, formula, veličina bloka ili ponderskog faktora i kontrolne granice), konstruisana je odgovarajuća kriva detekcije *bias*-a. Krive su konstruisane korišćenjem grafika na kojima je na x-osi veličina uvedenog *bias*-a izraženog u procentima, a na y-osi broj rezultata neophodnih da bi se ispitivanom MA procedurom detektovao određeni *bias*. Konstruisanje krivih za svaki analit je ponavljano više puta kako bi se ispitaio uticaj svih varijabli od interesa (formula za izračunavanje, granice odsecanja, veličina bloka ili ponderskog faktora). Na istom grafiku je konstruisano više krivih kandidata, koje predstavljaju različite MA procedure za jedan analit, kako bi se moglo vršiti vizuelno poređenje različitih MA procedura. Ova vizuelna procena bila je osnov za izbor svih elemenata optimalne MA procedure:

granice odsecanja, formula za izračunavanje, veličina bloka ili ponderskog faktora i kontrolne granice.

3.2.2. Validacija MA procedura

Nakon izbora optimalne MA procedure za svaki od ispitivanih analita, izvršena je validacija odabranih procedura pomoću validacionih grafika opisanih od strane Van Rosuma (99). Validacioni grafici su stubičasti dijagrami, kod kojih je na x osi prikazana veličina *bias*-a izražena u procentima, a na y osi broj rezultata neophodnih za otkrivanje *bias*-a. Stubići predstavljaju medijanu potrebnog broja rezultata, a linije (*error bars*) minimalni i maksimalni broj, čime se dobija detaljan uvid u sposobnost otkrivanja *bias*-a za svaku razmatranu proceduru. Medijana broja rezultata potrebnih za otkrivanje određenog *bias*-a pokazuje da će u 50% slučajeva *bias* biti otkriven u manjem od tog broja rezultata, a u 50% slučajeva u većem od toga. Linije (*error bars*) nam daju podatke o minimalnom i maksimalnom broju rezultata u kojima će se sigurno otkriti određeni *bias*, iz čega zaključujemo da li je to moguće u okviru dnevnog broja testova koji laboratorija radi, što je i bila osnova naše strategije optimizacije. Veličine *bias*-a na x osi su identične onima koje su uvedene u set rezultata tokom procesa simulacije.

3.2.3 Implementacija MA procedura u LIS

Potom je izvršena implementacija optimizovanih MA procedura u LIS. Na naš zahtev, programer je izvršio određena programska podešavanja. Kao prvo, programski je definisano koja forma identifikacione oznake uzorka (*sample ID*, *SID*) će učestvovati u kalkulaciji MA, pa su na taj način iz obračuna MA isključena sva merenja kontrolnih uzoraka (i unutrašnja i spoljašnja QC). Kao drugo, omogućeno je da korisnik unese u LIS sledeće parametre za svaki laboratorijski test: formula za izračunavanje MA (prosti MA ili EWMA), donja i gornja granica odsecanja, veličina bloka ili vrednost ponderskog faktora (u zavisnosti od formule) i donja i gornja kontrolna granica. Pri prijemu rezultata od analizatora, program prvo proverava formu *SID*-a i ako forma nije zadovoljena, ne uključuje rezultat u MA proceduru. Potom se vrednost sa analizatora

upoređuje sa zadatim granicama odsecanja i ako je izvan inkluzionog opsega, rezultat opet ne ulazi u MA kalkulaciju. Ako rezultat zadovoljava kriterijume za uključivanje u MA proceduru, na osnovu podešene formule program sračunava vrednost MA za tekući rezultat. Za svaki novi rezultat primljen sa analizatora, MA vrednost se rekalkuliše. Ukoliko je izračunata vrednost MA ispod donje ili iznad gornje kontrolne granice, LIS generiše MA alarm.

MA alarm je vizuelno upozorenje da je MA vrednost koja je izračunata za neki analit izvan zadatih kontrolnih granica. Takođe, LIS daje tabelarni pregled MA vrednosti sa označenim vrednostima pacijenata na kojima je postojao alarm kao i grafički prikaz svih vrednosti MA za pojedinačni analit. Na grafiku su istovremeno prikazani rezultati pacijenata primljeni sa analizatora i MA vrednosti izračunate za svaki od njih.

Funkcionisanje opisanog programskog rešenja prvo je provereno na istorijskom setu rezultata pacijenata iz prethodna 3 meseca i ustanovljeno je da nisu potrebne modifikacije. Potom se prešlo na testiranje u realnom vremenu u periodu od 6 meseci. Redovni rad laboratorije i sprovođenje tradicionalne QC nisu ometani, zato što je ceo koncept MA bio u LIS-u vidljiv sa naloga samo jednog biohemičara sa posebnim pristupnim pravima, dok su svi ostali operateri u LIS-u radili po već ustaljenim laboratorijskim procedurama.

3.2.4 Praćenje i analiza MA alarma

Performanse 10 implementiranih MA procedura procenjene su praćenjem pojave MA alarma. Za analizu MA alarma korišćeni su sledeći postupci: pregled rezultata pacijenata (sa traganjem za ekstremnom vrednošću i preanalitičkim problemima), ponovna analiza uzoraka pacijenata iz stabilnog perioda, analiza uzoraka unutrašnje kontrole, pregled poruka o nepravilnostima u radu i o održavanju analizatora. Unutrašnja kontrola za svaki analit rađena je pomoću 3 kontrolna uzorka, uz primenu Westgardovih kontrolnih pravila. Što se tiče ponovne analize uzoraka pacijenata,

stabilnim periodom za određeni analit smatran je prethodni radni dan u kome nije bilo MA alarma na tom analitu uz unutrašnju QC na početku smene u dozvoljenim okvirima na dan pojave MA alarma. Kao što su opisali Liu i saradnici (102), retestirali smo po 3 uzorka pacijenata i smatrali da postoji analitičko odstupanje ako je razlika između originalnog i retestiranog rezultata bila veća od 2 analitičke Sd (izračunate iz QC podataka sa analizatora) u barem jednom od 3 retestirana uzorka. Inače, svih 10 ispitivanih analita su u uzorcima seruma čuvanim pod standardnim laboratorijskim uslovima (na 2 do 8 °C, bez ugruška ili serum separatora) stabilni više od 72 sata, što je maksimalni razmak između dva radna dana u našoj laboratoriji.

3.2.5 Izračunavanje sigma metrike

Za svih 10 ispitivanih analita, sigma metrika je računata po formuli:

$$\text{Sigma} = (\text{TEa} - \text{Bias}) / \text{Kv},$$

pri čemu su sve vrednosti u formuli izražene u %. Vrednost TEa uzeta je iz CLIA podataka (62). Pri tome, za testove za koje CLIA ne daje procentnu već apsolutnu vrednost TEa (kalcijum, kalijum i natrijum), procentne vrednosti izračunate su u odnosu na ciljnu vrednost svakog nivoa kontrolnog materijala. Kv je izračunat iz podataka o unutrašnjoj kontroli kvaliteta sa biohemijskog analizatora za period od 6 uzastopnih meseci. Korišćen je jedan *lot* komercijalno dostupnog kontrolnog materijala (*Multichem S, Technopath, USA*) sa 3 nivoa koncentracija. Vrednost *bias*-a za svaki analit izračunata je na osnovu rezultata mesečnog programa spoljašnje QC u kome laboratorija učestvuje (*EQAS, BioRad, USA*). Iz rezultata spoljašnje kontrole za 12 uzastopnih meseci, odabrane su one vrednosti koje odgovaraju ciljnim vrednostima analita u nivoima materijala korišćenog za unutrašnju kontrolu. Za svaki od tri nivoa unutrašnje kontrole, nađena su po 3 uzorka spoljašnje kontrole odgovarajućih koncentracija. Za svaku tu grupu od tri uzorka, izračunata je aritmetička sredina *bias*-a dobijenih u spoljašnjoj kontroli i ta vrednost je smatrana *bias*-om za odgovarajući nivo koncentracije analita.

3.2.6 Izrada plana višestepene omeđene kontrole kvaliteta zasnovanog na riziku

Plan višestepene omeđene QC je za svaki ispitivani analit napravljen pomoću Westgardovog kalkulatora za učestalost izvođenja QC (*QC Frequency or Run Size Calculator*) koji je dostupan na http://tools.westgard.com/frequency_calculator3.shtml (103). U kalkulator je potrebno uneti sledeće podatke za svaki nivo kontrolnog materijala (u našem slučaju 3): ciljnu koncentraciju, preciznost, *bias* i TEa. Ciljne koncentracije uzeli smo iz liste sa vrednostima proizvođača, a preciznost, *bias* i TEa odredili na isti način kao što je već objašnjeno pri izračunavanju sigma metrike. Faktor rizika po pacijenta (*Patient Risk Factor*) koji odgovara vrednosti MaxE (Nuf) smo u kalkulatoru podesili na 1. Time smo obezbedili da, ako analitička greška nastupi između dva QC događaja, broj pogrešnih rezultata pacijenata ne bude veći od jedan (38).

Za svaki nivo kontrolnog materijala kalkulator, osim izračunate vrednosti sigma metrike, daje i sigma vrednost rizika po pacijenta (*Patient Risk Sigma*). *Patient-risk* sigma je jednaka izračunatoj sigmi kada je ova manja ili jednaka 6; ako je izračunata sigma veća od 6, sigma vrednost rizika po pacijenta je uvek 6. Osim za pojedinačne kontrolne nivoe, kalkulator računa i prosečnu *patient-risk* sigmu, kao aritmetičku sredinu *patient-risk* sigma vrednosti za sva 3 nivoa. Ovu srednju *patient-risk* sigma vrednost smo nadalje smatrali sigma vrednošću testa i na osnovu nje klasifikovali testove u 3 grupe za izradu kontrolne strategije: strategija visoke sigme ($\text{sigma} \geq 5,0$), strategija srednje sigme ($4,5 \leq \text{sigma} < 5,0$) i strategija niske sigme ($3,5 \leq \text{sigma} < 4,5$) (104).

Na kraju, kalkulator daje kontrolne procedure koje su kandidati za izradu kontrolne strategije zasnovane na riziku, zajedno sa veličinom serije rezultata koje treba "omeđiti" kontrolom. Ponuđene SQC procedure, ukoliko se koriste 3 nivoa kontrolnog materijala, prikazane su u Tabeli 4.

Tabela 4. Kandidatske SQC procedure i značenje pravila

SQC procedura	N	Pfr (%)	Značenje kontrolnog pravila
			Analitička serija se odbacuje ako ...
1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s/ 6:X	6	0,07	jedan QC rezultat prevazilazi 3 SD limit / ili dva od tri QC rezultata prevazilaze 2 SD limit / ili tri QC rezultata prevazilaze 1 SD limit/ ili je šest uzastopnih QC rezultata sa iste strane srednje vrednosti
1:2.5s	6	0,06	jedan QC rezultat prevazilazi 2.5 SD limit
1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s	3	0,02	jedan QC rezultat prevazilazi 3 SD limit / ili dva od tri QC rezultata prevazilaze 2 SD limit / ili tri QC rezultata prevazilaze 1 SD limit
1: 2,5s	3	0,03	jedan QC rezultat prevazilazi 2,5 SD limit
1: 3s	3	0,01	jedan QC rezultat prevazilazi 3 SD limit
1: 2s	1	0,05	jedan QC rezultat prevazilazi 2 SD limit
1: 2,5s	1	0,01	jedan QC rezultat prevazilazi 2,5 SD limit
1: 3s	1	0,00	jedan QC rezultat prevazilazi 3 SD limit

N – broj kontrolnih merenja po QC događaju; SQC – statistička kontrola kvaliteta; Pfr – verovatnoća lažnog odbacivanja

(Tabela sastavljena na osnovu podataka sa www.westgard.com)

Pre uvrštavanja podataka iz kalkulatora u QC plan, definisan je maksimalni dnevni broj testova u našoj laboratoriji (na osnovu podataka iz LIS-a za prethodnih 6 meseci) i željeni interval izveštavanja (veličina serije uzoraka pacijenata nakon koje se rezultati izdaju korisnicima). S obzirom na mali dnevni broj testova u našoj laboratoriji (za ispitivane analite taj broj se kreće od 30 do 150 dnevno) i organizaciju rada (jednosmerni rad, bez urgentne službe i hitnih zahteva), odabrali smo da interval izveštavanja bude jednak dnevnom broju testova. Potom su, prema smernicama iz literature (30), napravljeni početni (*start-up*) QC plan koji će se izvoditi na početku svakog radnog dana pre početka analiziranja uzoraka pacijenata i QC plan za praćenje

(*monitor*) koji će se izvoditi periodično tokom radnog dana (u našem slučaju na kraju dana).

Kao *start-up* plan je odabran onaj QC dizajn čija je veličina serije prema kalkulatoru jednaka ili veća od procenjenog dnevnog broja testova koje radimo. Kao *monitor* plan kontrole kvaliteta je odabran onaj QC dizajn čija je veličina serije prema kalkulatoru jednaka ili veća od našeg željenog intervala izveštavanja i čiji je P_{fr} (naveden u *Run size* kalkulatoru) $\leq 0,05$.

3.3 STATISTIČKA ANALIZA

Normalnost raspodele analiziranih podataka rezultata pacijenata testirana je *Shapiro-Wilk* testom pomoću statističkog softvera IBM SPSS Statistics, verzija 25.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA).

Sva MA izračunavanja i simulacije, kao i optimizacija i validacija MA procedura izvedeni su pomoću namenske *online* aplikacije MA Generator (Huvaros B.V., Bloemendaal, The Netherlands) (101).

Sva izračunavanja vezana za sigma-metriku i učestalost QC merenja, odnosno veličinu serije, izvršena su pomoću kalkulatora dostupnog na:

http://tools.westgard.com/frequency_calculator3.shtml (103).

4. REZULTATI

4.1 REZULTATI PACIJENATA NA OSNOVU KOJIH JE IZVRŠEN IZBOR, OPTIMIZACIJA I VALIDACIJA MA PROCEDURA

Simulacija detekcije *bias*-a izvršena je na ukupnom broju od 87.092 rezultata pacijenata za 10 ispitivanih analita. Karakteristike analiziranih setova podataka (broj rezultata korišćenih za MA kalkulacije, dnevni broj testova i opsezi koncentracija ispitivanih analita u rezultatima pacijenata) prikazani su u Tabeli 5.

Tabela 5. Karakteristike analiziranih setova rezultata

Analit	Ukupan broj rezultata	Prosečan dnevni broj rezultata	Medijana (Q1-Q3) koncentracije	Minimalna koncentracija	Maksimalna koncentracija
Albumin (g/L)	2408	20	43 (41-44)	20	52
AST (IU/L)	16.450	135	18 (16-22)	3	1856
HDL-holesterol (mmol/L)	13.843	113	1,27 (1,05-1,53)	0,15	4,43
Hloridi (mmol/L)	4271	35	104 (102-105)	87	114
Holesterol (mmol/L)	14.244	117	5,43 (4,70-6,24)	1,87	22,36
Kalcijum (mmol/L)	3228	26	2,33 (2,26-2,39)	1,92	3,20
Kalijum (mmol/L)	7299	60	4,3 (4,1-4,6)	2,8	7,4
Kreatinin (µmol/L)	14.800	121	70 (63-80)	26	971
Natrijum (mmol/L)	6663	55	140 (139-141)	123	149
Ukupni proteini (g/L)	3886	32	72 (69-75)	39	100

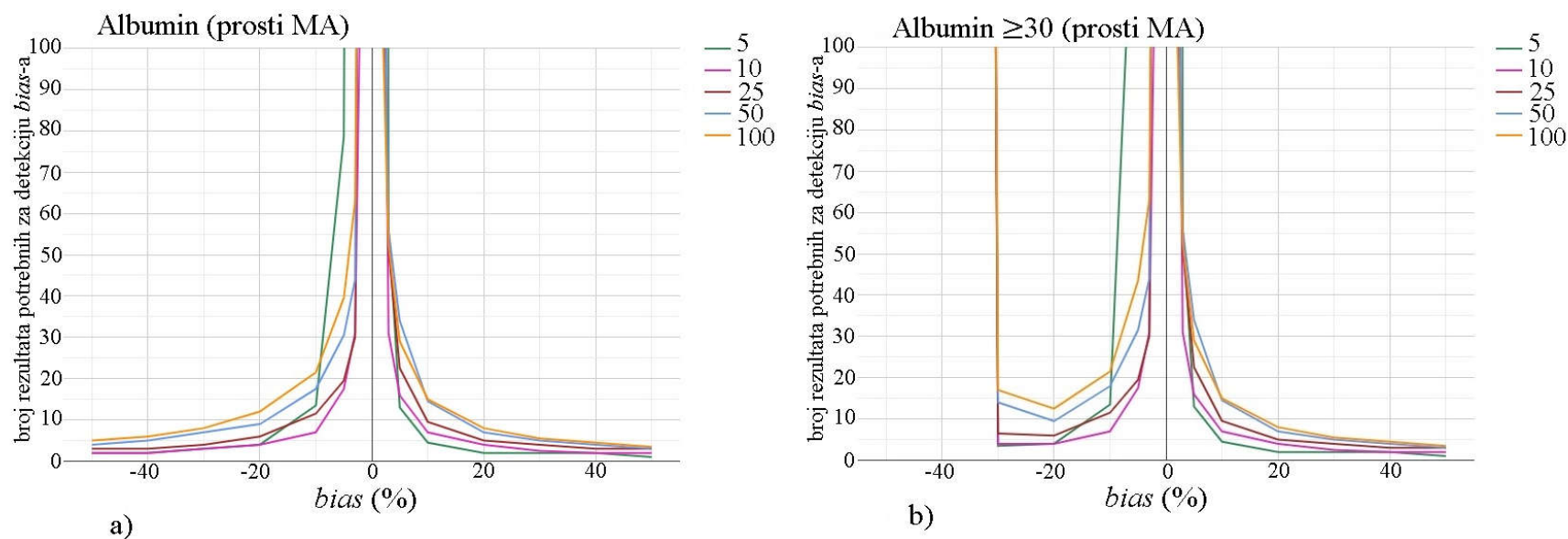
Pošto podaci ne slede normalnu raspodelu (ShapiroWilk test za svih 10 analita, $p = 0.000$), vrednosti koncentracija su prikazane kao medijana i interkvartilni opsezi (Q1-Q3). Osim toga, date su minimalna i maksimalna koncentracija za svaki analit.

4.2 POREĐENJE RAZLIČITIH MA PROCEDURA

Više kandidatskih krivih detekcije *bias*-a je konstruisano na istom grafiku, od kojih je svaka predstavljala različitu MA proceduru za jedan analit. To je omogućilo vizuelno poređenje različitih MA procedura, kao što je za albumin prikazano na Slikama 6 i 7. Na Slici 6 su prikazane proste MA procedure za albumin. Iz grafikona 6b vidi se da su za albumin MA procedure bez granica odsecanja bile bolje nego one sa granicama odsecanja, zato što uvođenje donjeg limita odsecanja od 30 g/L nije popravilo detekciju malih *bias*-a, a onemogućilo je detekciju negativnih *bias*-a većih od 30%.

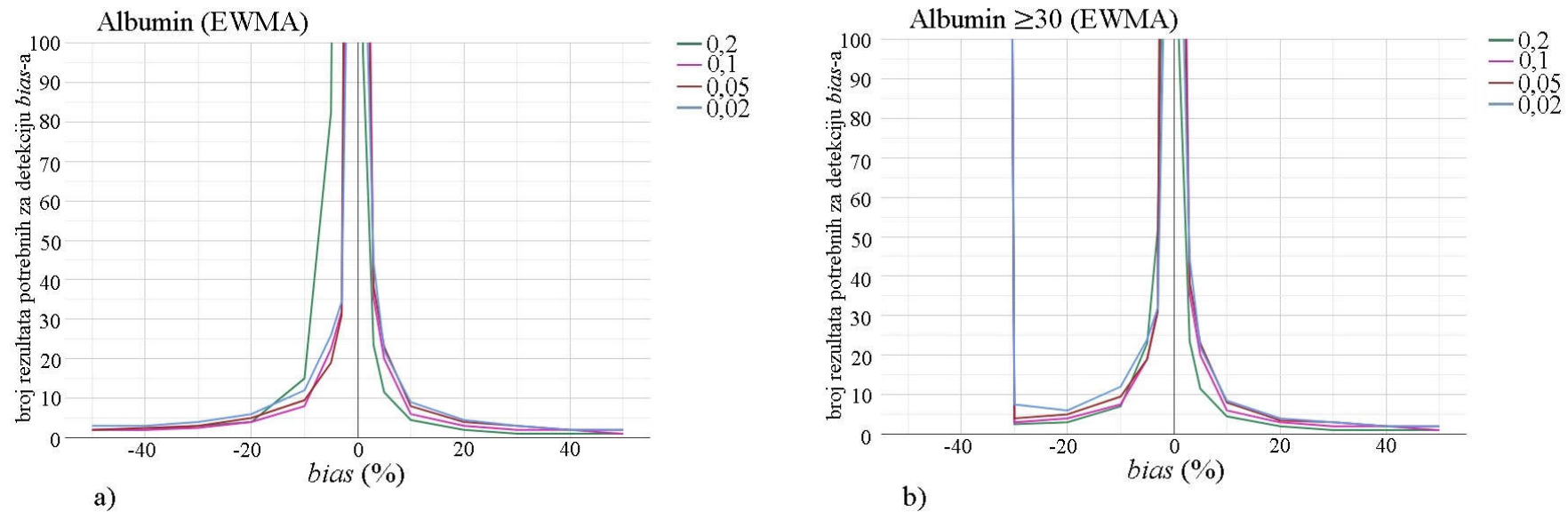
Slika 7 prikazuje EWMA procedure za albumin. Analogno kao i na Slici 6 i ovde se uočava da uvođenje donje granice odsecanja ne dovodi do poboljšanja karakteristika MA procedure. Poređenjem Slika 6 i 7, može se zaključiti da za albumin prosta MA formula ima bolje performanse za otkrivanje *bias*-a nego EWMA.

Slično je pokazano za natrijum, na Slikama 8, 9 i 10. Na Slici 8 prikazane su karakteristike prostih MA i EWMA procedura za natrijum. Uvođenje gornjeg limita odsecanja od 145 mmol/L dovelo je do beznačajnog poboljšanja u detekciji malih *bias*-a za natrijum, ali je značajno ugrozilo otkrivanje pozitivnih *bias*-a većih od 5%, kao što je pokazano na Slici 9. Kada je za natrijum uvedena i donja granica odsecanja od 130 mmol/L, to je onemogućilo otkrivanje negativnih *bias*-a većih od 5%, kao što se vidi na Slici 10.



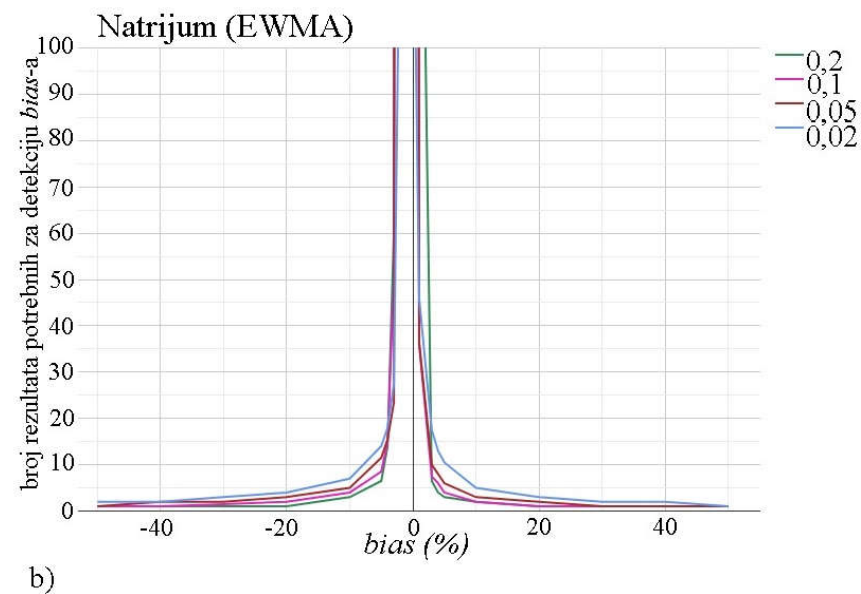
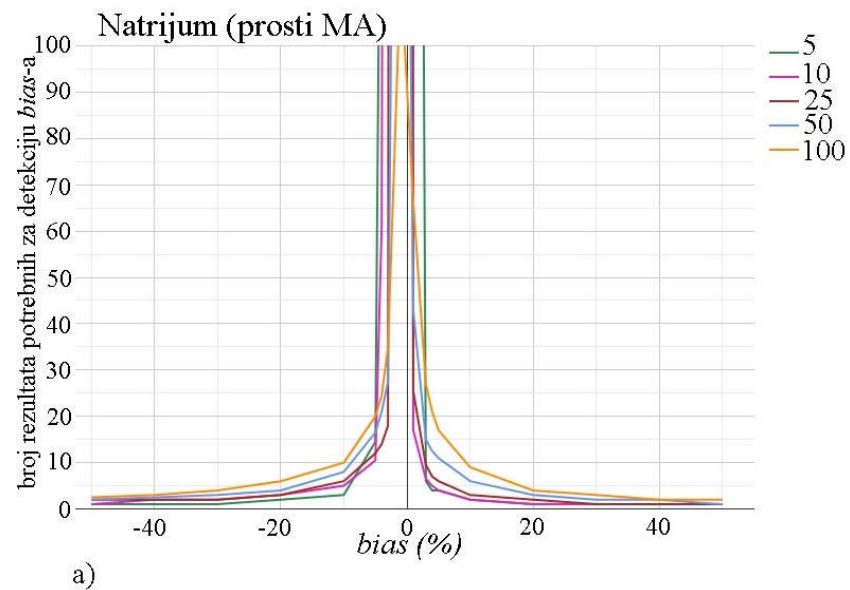
Slika 6. Poređenje višestrukih MA krivih za albumin - proste MA procedure bez i sa granicom odsecanja

Krive predstavljaju medijanu broja rezultata potrebnih za otkrivanje *bias*-a. Različite boje predstavljaju MA procedure sa različitom veličinom bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za izračunavanje prostog MA. Na Slici 6a su proste MA procedure bez granice odsecanja, a na Slici 6b iste te procedure ali sa donjom granicom odsecanja 30 g/L.



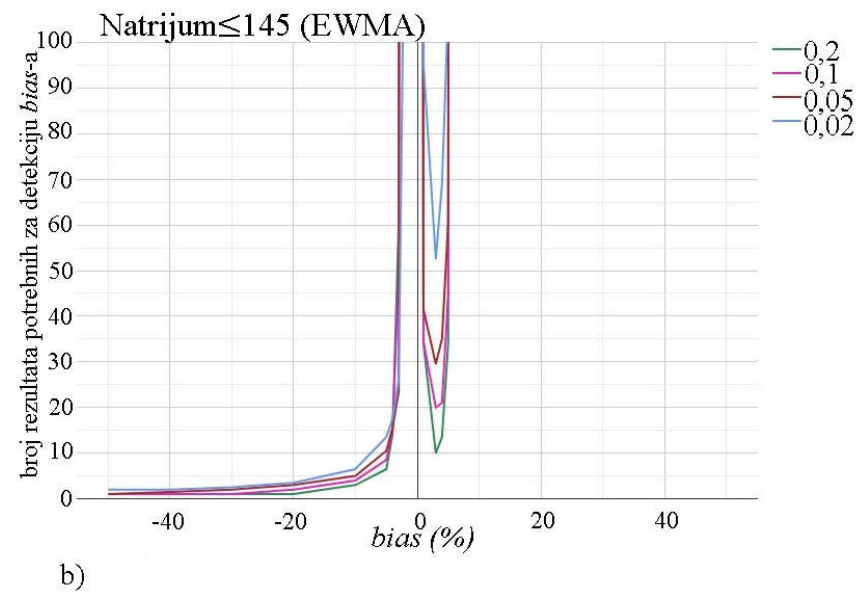
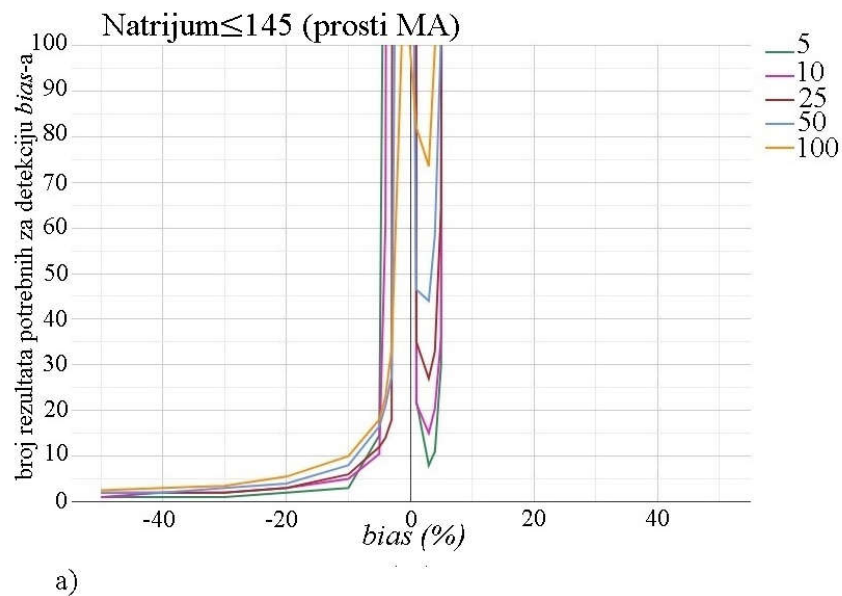
Slika 7. Poređenje višestrukih MA krivih za albumin - EWMA procedure bez i sa granicom odsecanja

Krive predstavljaju medijanu broja rezultata potrebnih za otkrivanje *bias*-a. Različite boje predstavljaju MA procedure sa različitim ponderским faktorima (0,2, 0,1, 0,05 i 0,02) za izračunavanje EWMA. Na Slici 7a su EWMA procedure bez granice odsecanja, a na Slici 7b iste te procedure ali sa donjom granicom odsecanja 30 g/L.



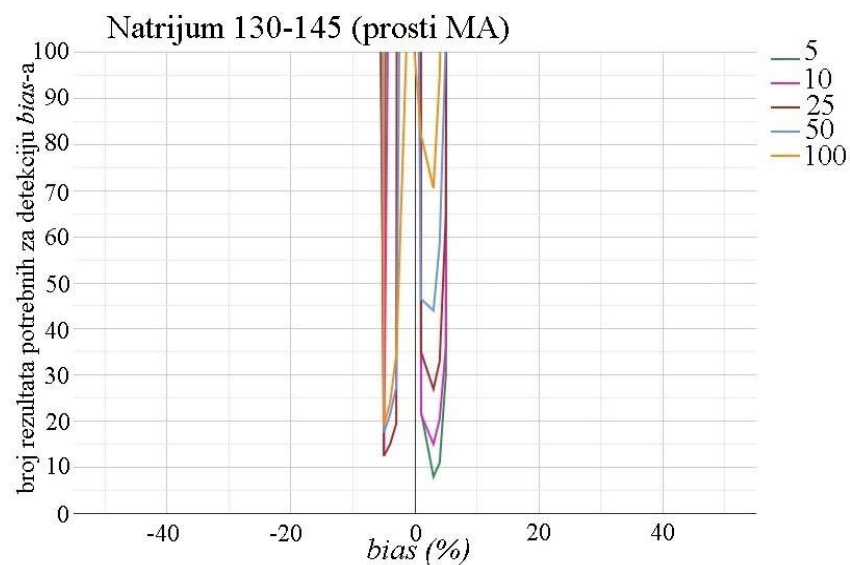
Slika 8. Poređenje višestrukih MA krivih za natrijum – proste MA i EWMA procedure bez granice odsecanja

8a) MA krive za natrijum pri različitim veličinama bloka za prosti MA, bez granica odsecanja. 8b) MA krive za natrijum pri različitim ponderskim faktorima za EWMA, bez granica odsecanja.

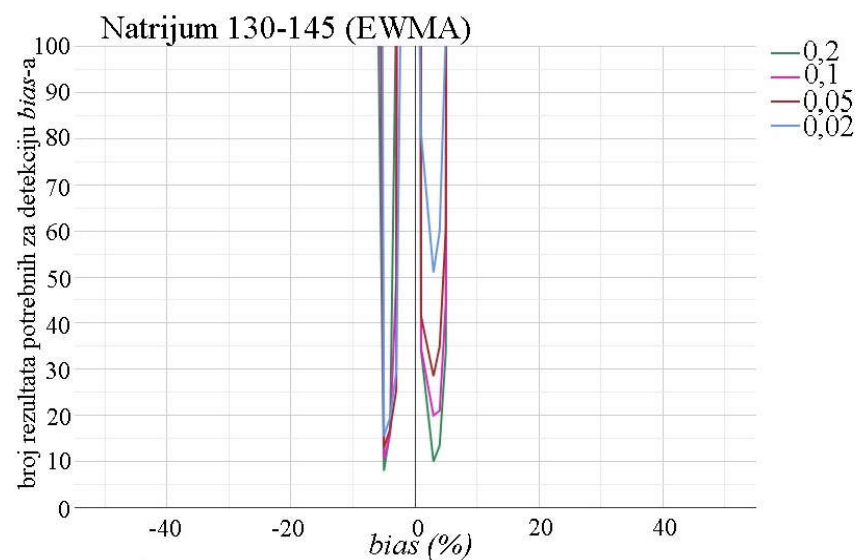


Slika 9. Poređenje višestrukih MA krivih za natrijum – proste MA i EWMA procedure sa gornjom granicom odsecanja

9a) Krive za iste MA procedure kao na Slici 8a, ali nakon uvođenja gornjeg limita odsecanja od 145 mmol/L. 9b) Krive za iste EWMA procedure kao na Slici 8b, ali nakon uvođenja gornjeg limita odsecanja od 145 mmol/L.



a)



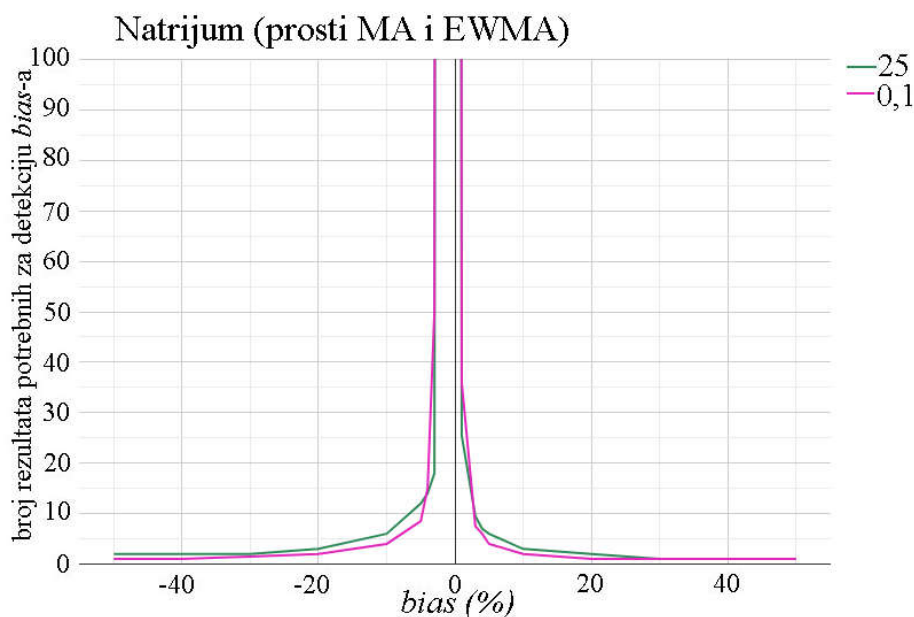
b)

Slika 10. Poređenje višestrukih MA krivih za natrijum – proste MA i EWMA procedure sa donjom i gornjom granicom odsecanja

10a) Krive za iste MA procedure kao na Slici 8a, ali sa donjom i gornjom granicom odsecanja ($130 \text{ mmol/L} \leq \text{Na} \leq 145 \text{ mmol/L}$).

10b) Krive za iste EWMA procedure kao na Slici 8b, ali sa donjom i gornjom granicom odsecanja ($130 \text{ mmol/L} \leq \text{Na} \leq 145 \text{ mmol/L}$).

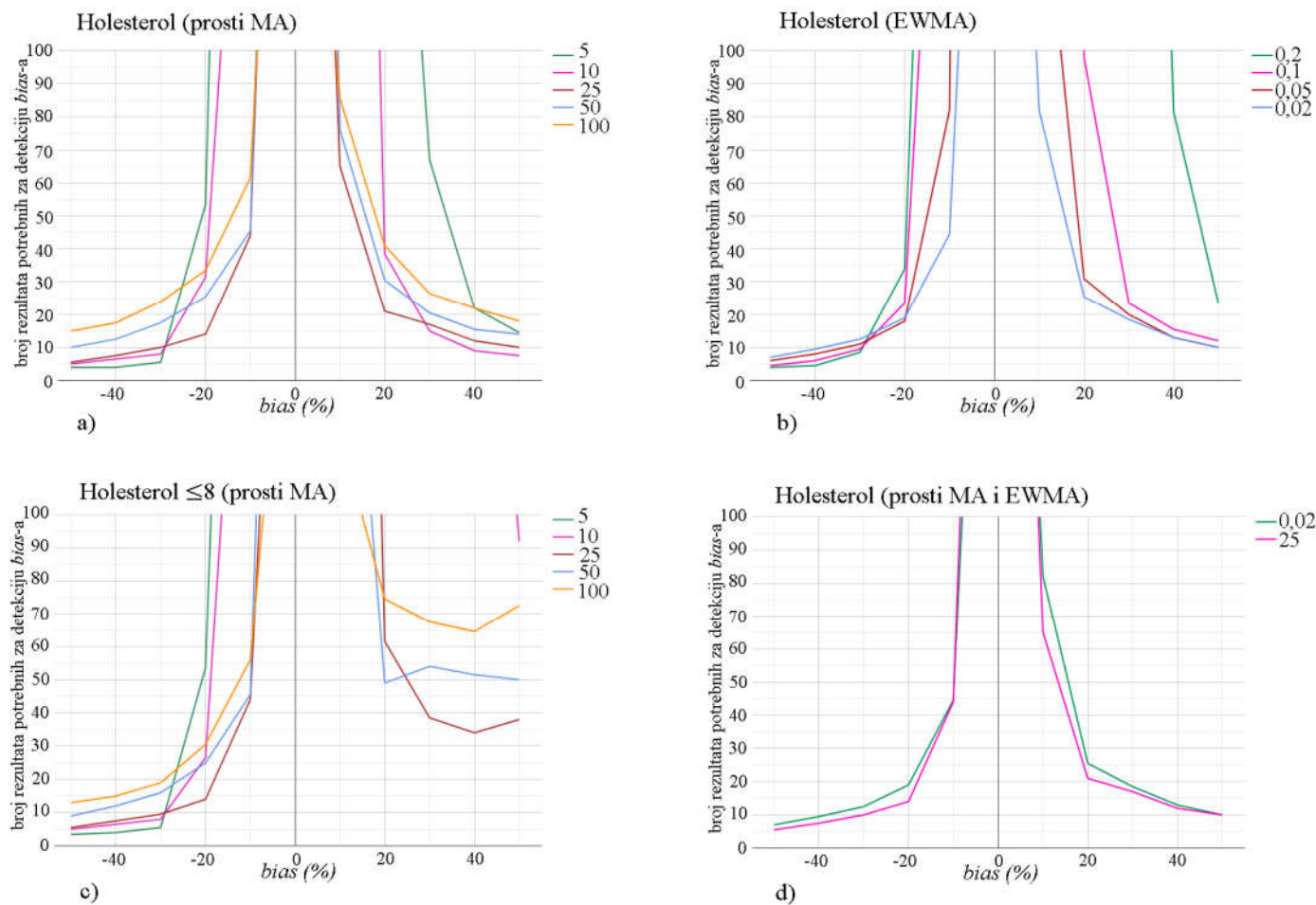
Na osnovu rezultata prikazanih na Slikama 8, 9 i 10, odabrane su dve kandidatske MA procedure za natrijum i upoređene na grafiku prikazanom na Slici 11. Vizuelna procena ukazuje da prosta MA procedura u ovom slučaju ima bolje performanse u domenu otkrivanja malih *bias*-a.



Slika 11. Poređenje dve kandidatske MA krive za natrijum

Upoređene su prosta MA procedura sa veličinom bloka 25 i EWMA procedura sa ponderskim faktorom 0,1.

Na Slici 12 su prikazane multiple krive detekcije *bias*-a za holesterol, i to na grafikonu 12a) proste MA procedure, a na grafikonu 12b) EWMA procedure. Pošto je uočeno da proste MA procedure imaju bolje performanse, naročito kada je u pitanju otkrivanje pozitivnih *bias*-a, one su dodatno testirane sa granicom odsecanja od 8 mmol/L (grafikon 12c). Međutim, to je dovelo do smanjene sposobnosti otkrivanja *bias*-a. Stoga su na kraju, kao što je prikazano na grafikonu 12d, upoređene 2 krive kandidatkinje bez granica odsecanja (jedna iz MA, a druga iz EWMA grupe procedura) i to one koje su na graficima 12a) i 12b) procenjene kao najbolje.



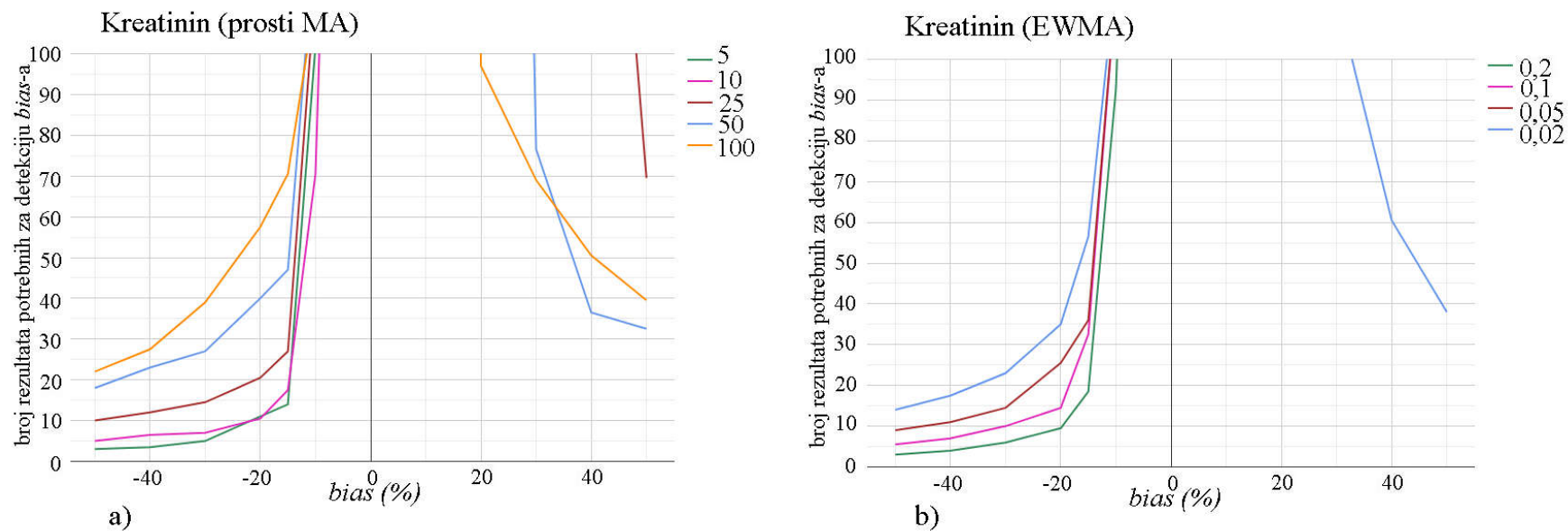
Slika 12. Poređenje višestrukih MA krivih za holesterol

MA krive za holesterol pri različitim veličinama bloka za prosti MA (12a) i pri različitim vrednostima ponderskog faktora za EWMA (12b), bez granica odsecanja. 12c) MA krive za holesterol pri različitim veličinama bloka za prosti MA uz gornju granicu odsecanja od 8 mmol/L. 12d) MA krive za holesterol za EWMA sa ponderskim faktorom 0,02 i prosti MA sa veličinom bloka od 25 rezultata.

Za razliku od albumina, natrijuma i holesterola, uvođenje granice odsecanja za kreatinin popravilo je performanse MA procedure, naročito kada je reč o pozitivnim *bias*-ima. Poređenje krivih detekcije *bias*-a za različite formule i ponderske faktore, pokazalo je da EWMA algoritam ima prednost nad prostim MA procedurama za kreatinin i da je ponderski faktor 0,1 bio optimalan za ovu kalkulaciju (Slike 13 i 14). Granica odsecanja od 150 $\mu\text{mol/L}$ se pokazala kao optimalna za kreatinin (Slika 15).

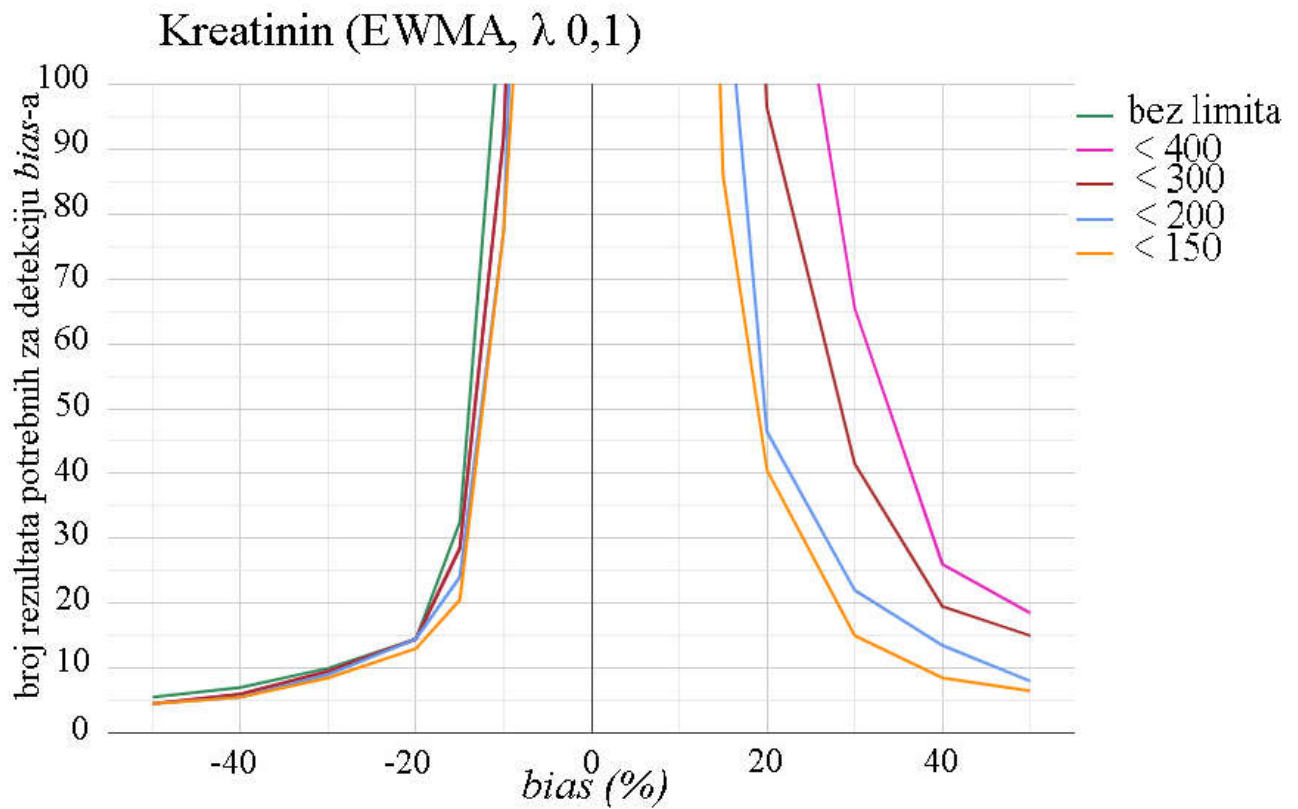
Na Slici 16 prikazane su višestruke proste MA i EWMA krive za AST bez granice odsecanja. Iz grafikona 16a) i 16b) uočava se da je otkrivanje pozitivnih *bias*-a gotovo nemoguće bez granica odsecanja, bez obzira na to da li se koriste MA ili EWMA procedure. Slično kao kod kreatinina, i u slučaju AST-a uvođenje gornje granice odsecanja dovelo je do poboljšanja sposobnosti otkrivanja *bias*-a, pre svega pozitivnih. Na Slici 17 date su višestruke krive za AST, sa gornjom granicom odsecanja od 50 IU/L.

Na Slici 18 prikazane su višestruke proste MA krive za kalijum, bez granice odsecanja i sa njom. Slika 19 prikazuje višestruke EWMA krive za kalijum, bez granice odsecanja i sa njom.



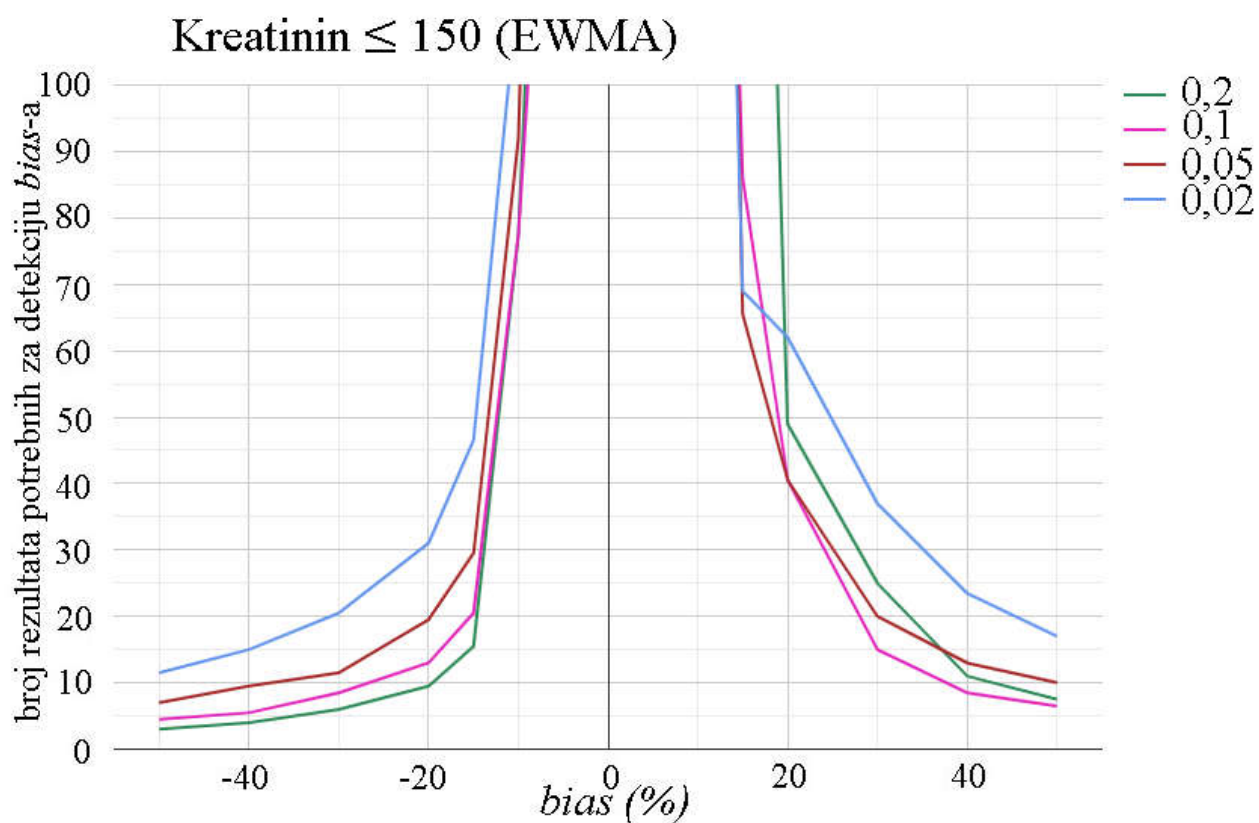
Slika 13. Poređenje višestrukih MA krivih za kreatinin – MA i EWMA procedure bez granica odsecanja

Različite boje prikazuju MA procedure sa različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za izračunavanje prostog MA bez granica odsecanja (13a) ili sa različitim ponderskim faktorima (0,2, 0,1, 0,05 i 0,02) za izračunavanje EWMA bez granica odsecanja (13b).



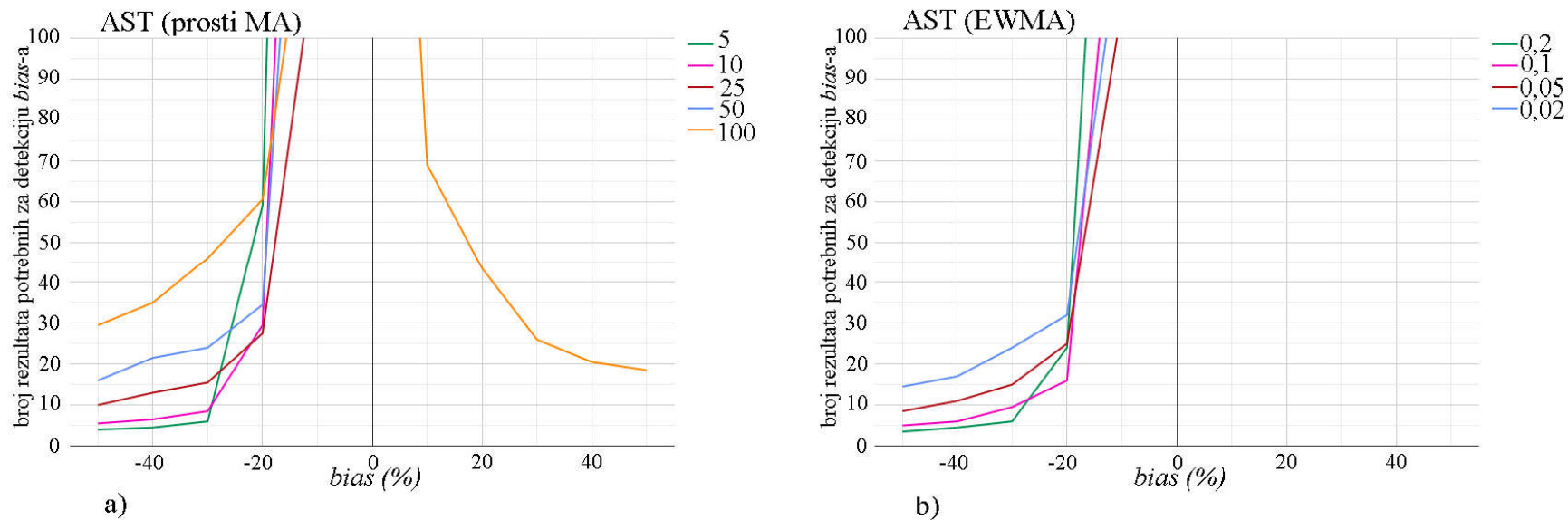
Slika 14. Uticaj različitih granica odsecanja na MA procedure za kreatinin

Različite boje prikazuju EWMA procedure (ponderski faktor 0,1) sa različitim gornjim granicama odsecanja (400 $\mu\text{mol/L}$, 300 $\mu\text{mol/L}$, 200 $\mu\text{mol/L}$ i 150 $\mu\text{mol/L}$)



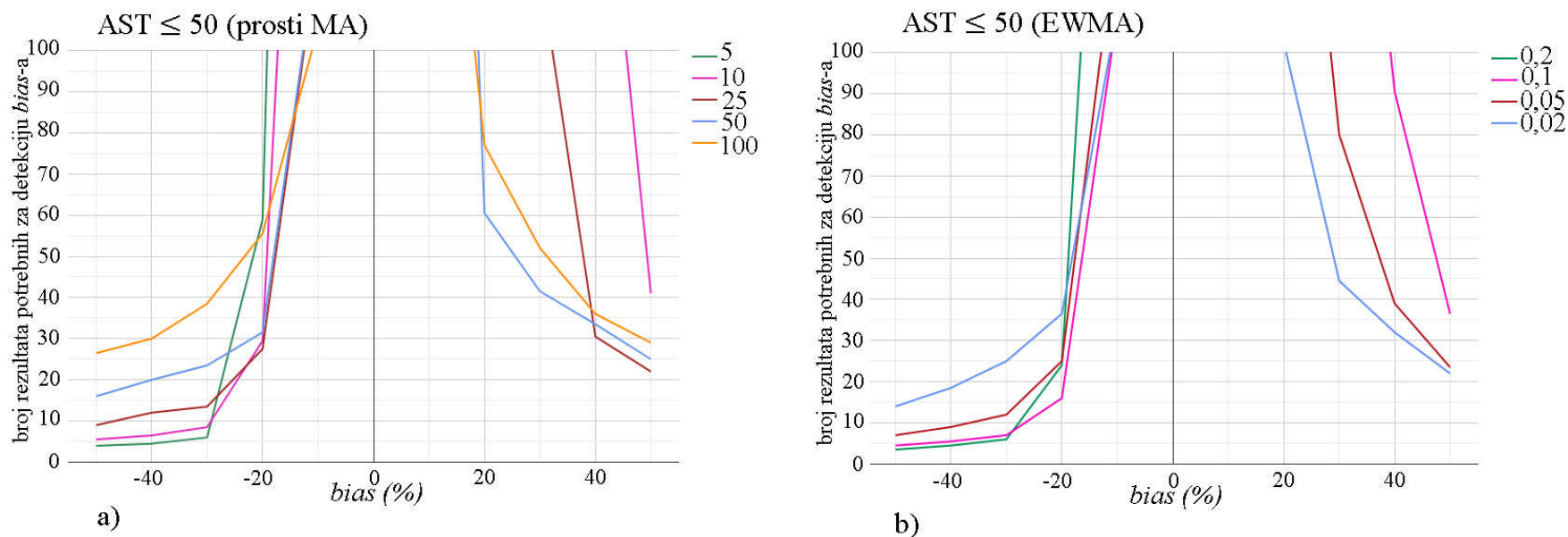
Slika 15. Uticaj različitih ponderskih faktora na MA procedure za kreatinin

Različite boje prikazuju EWMA procedure sa različitim ponderskim faktorima (0,02, 0,05, 0,1, 0,2) pri gornjoj granici odsecanja od 150 $\mu\text{mol/L}$.



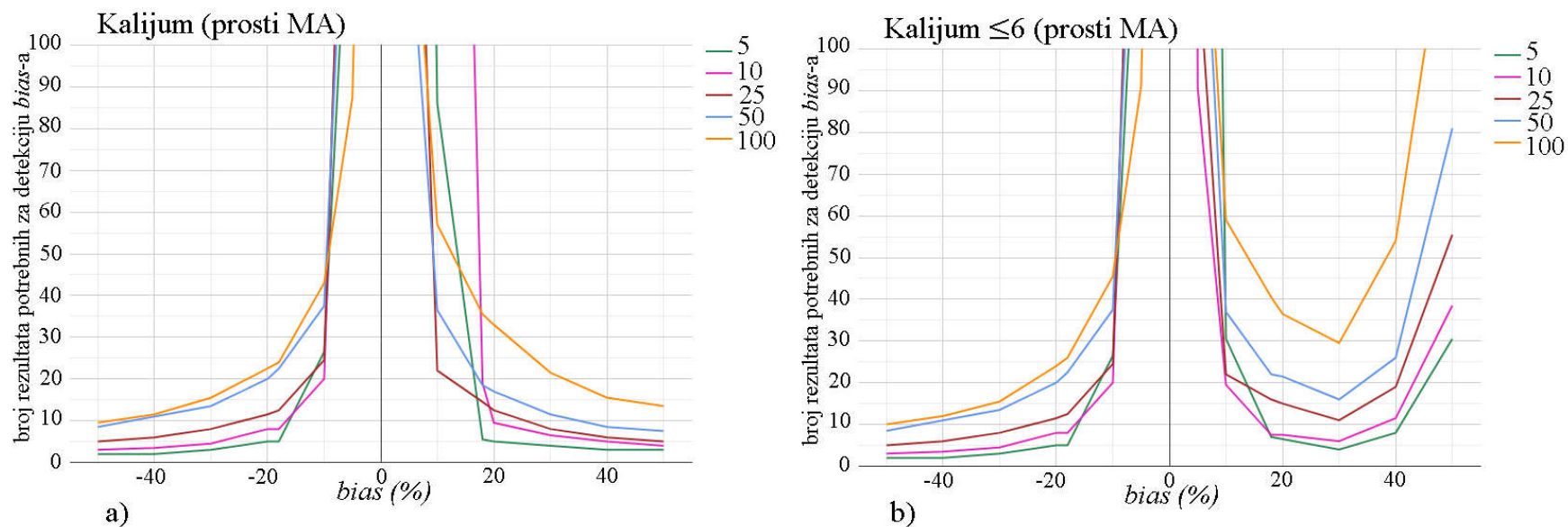
Slika 16. Poređenje višestrukih MA krivih za AST - MA i EWMA procedure bez granica odsecanja

Različite boje prikazuju MA procedure sa različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za izračunavanje prostog MA bez granica odsecanja (16a) ili sa različitim ponderskim faktorima (0,2, 0,1, 0,05 i 0,02) za izračunavanje EWMA bez granica odsecanja (16b).



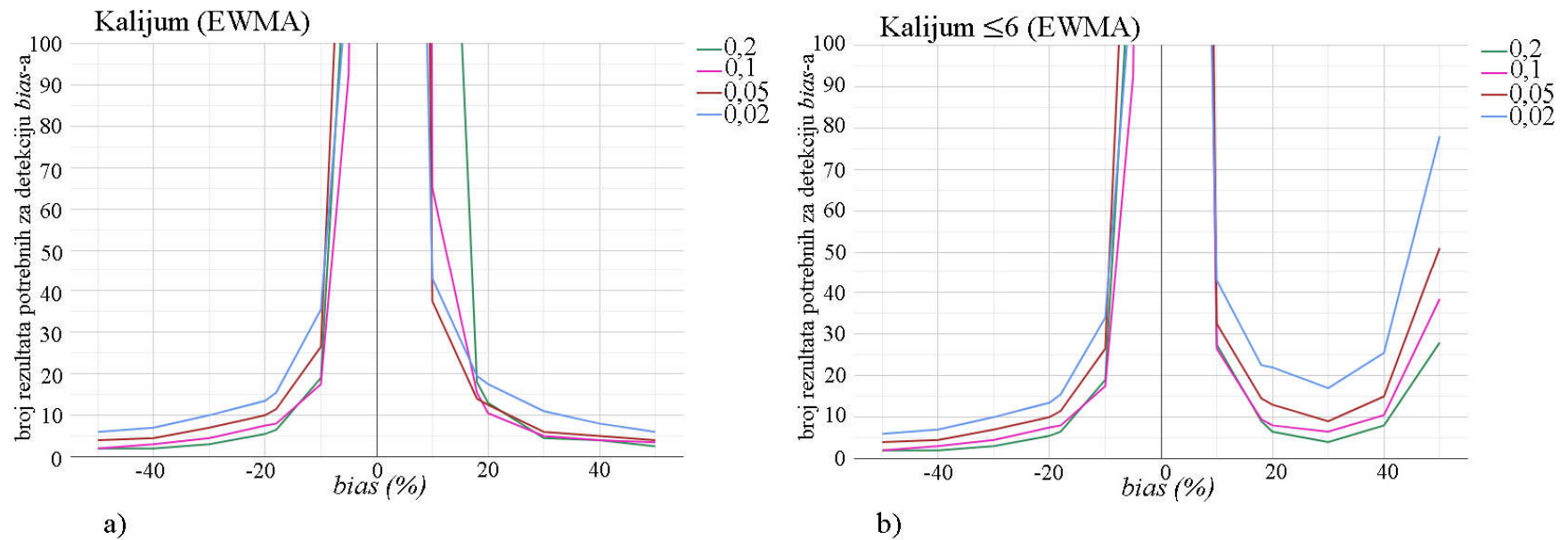
Slika 17. Uticaj gornje granice odsecanja na MA procedure za AST

Različite boje prikazuju MA procedure sa različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za izračunavanje prostog MA sa gornjom granicom odsecanja od 50 U/L (17a) ili sa različitim ponderskim faktorima (0,2, 0,1, 0,05 i 0,02) za izračunavanje EWMA sa gornjom granicom odsecanja od 50 U/L (17b).



Slika 18. Poređenje višestrukih prostih MA procedura za kalijum, bez granice odsecanja i sa njom

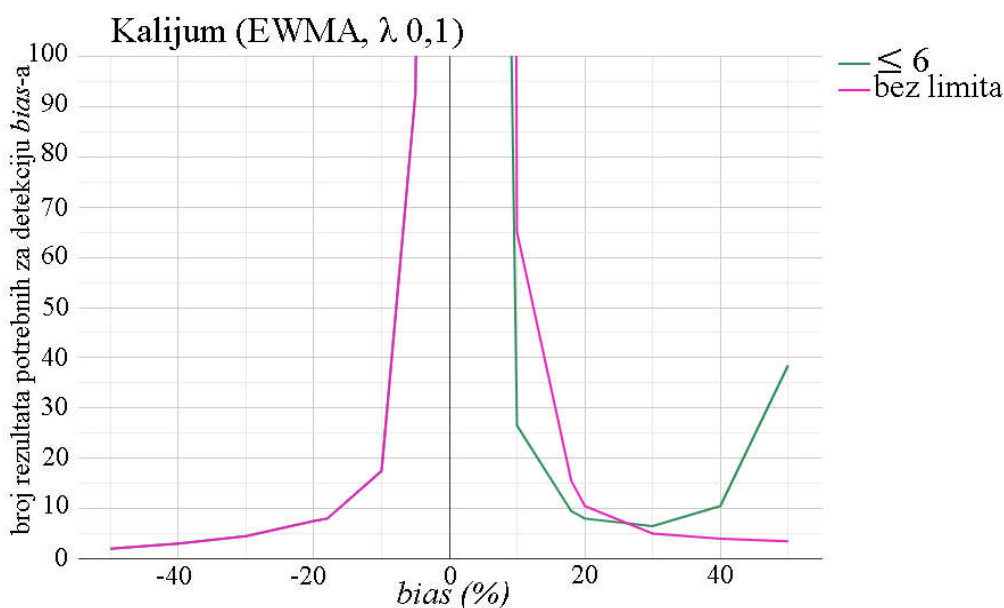
Različite boje prikazuju MA procedure sa različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za izračunavanje prostog MA bez granice odsecanja (18a) i sa gornjom granicom odsecanja od 6 mmol/L (18b).



Slika 19. Poređenje višestrukih EWMA procedura za kalijum, bez granice odsecanja i sa njom

Različite boje prikazuju MA procedure sa različitim sa različitim ponderskim faktorima (0,2, 0,1, 0,05 i 0,02) za izračunavanje EWMA bez granice odsecanja (19a) i sa gornjom granicom odsecanja od 6 mmol/L (19b).

Analizom grafikona na Slikama 18 i 19, odabrane su dve MA procedure kao najbolje za kalijum: EWMA, sa ponderskim faktorom 0,1 i granicom odsecanja 6 mmol/L i EWMA sa ponderskim faktorom 0,1, bez granice odsecanja. Poređenje te dve kandidatske krive na istom grafikonu (Slika 20) je pokazalo da za kalijum EWMA procedura sa gornjom granicom odsecanja od 6 mmol/L ima bolje performanse u otkrivanju pozitivnih *bias*-a, dok su se za negativne *bias*-e krive poklopile, odnosno njihove karakteristike pri otkrivanju negativnih *bias*-a su bile identične.

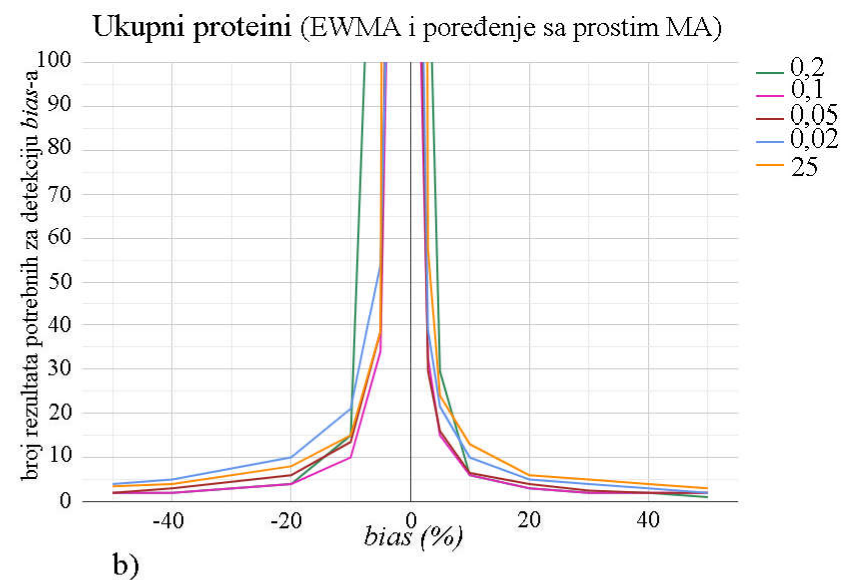
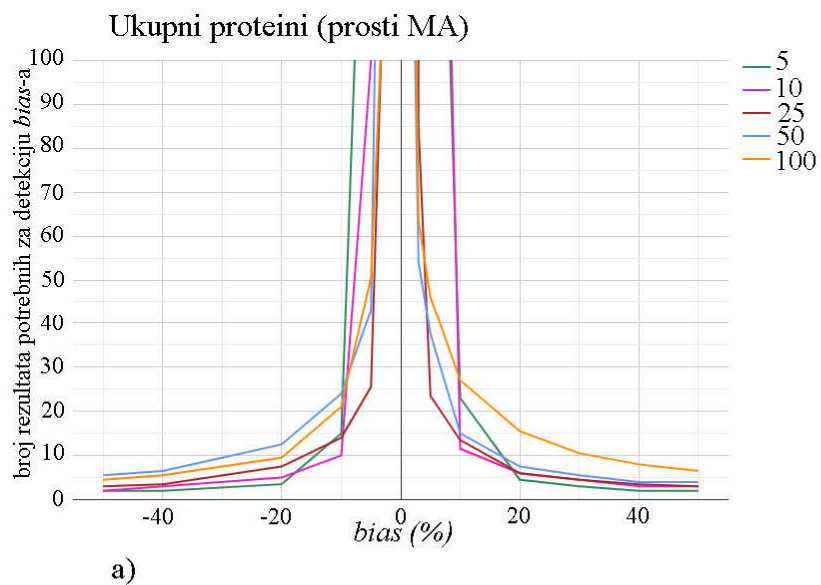


Slika 20. Poređenje dve kandidatske MA krive za kalijum

EWMA procedura sa ponderskim faktorom 0,1, bez granice odsecanja i sa gornjom granicom odsecanja 6 mmol/L.

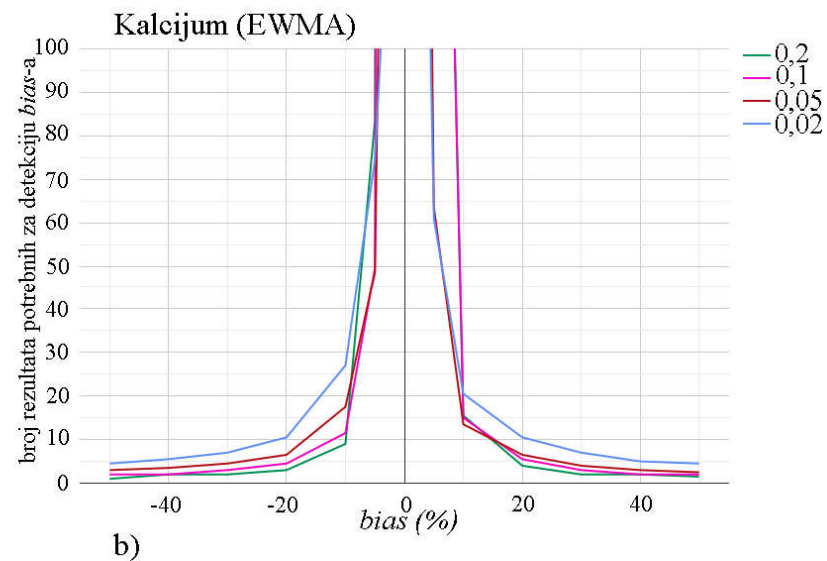
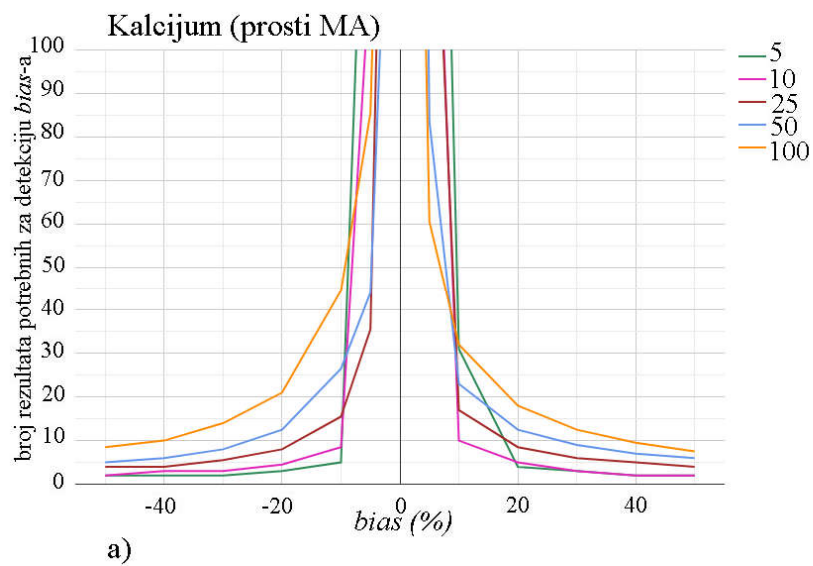
Analiza grafikona na Slici 21 pokazala je da su u slučaju ukupnih proteina EWMA procedure imale bolje karakteristike u odnosu na proste MA procedure.

Za razliku od ukupnih proteina, proste MA procedure pokazale su se boljim nego EWMA kada su u pitanju bili kalcijum (Slika 22), HDL-holesterol (Slika 23) i hloridi (Slika 24).



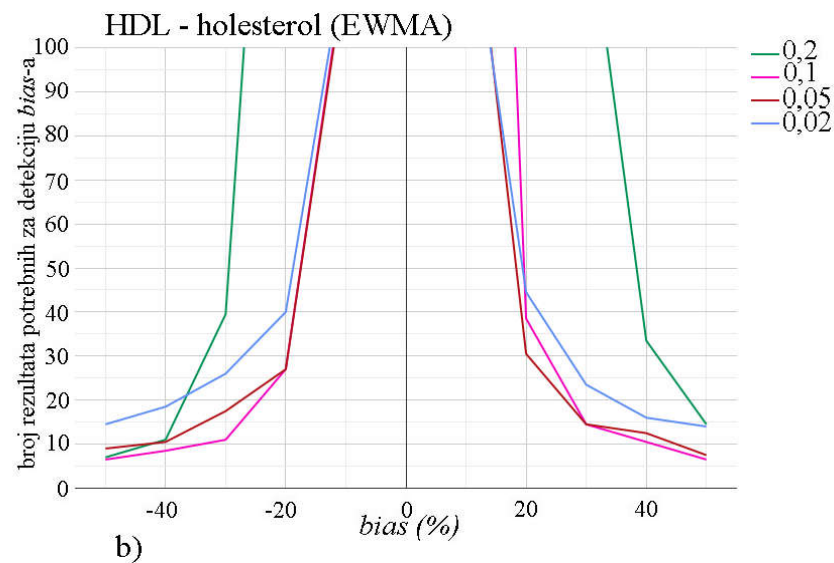
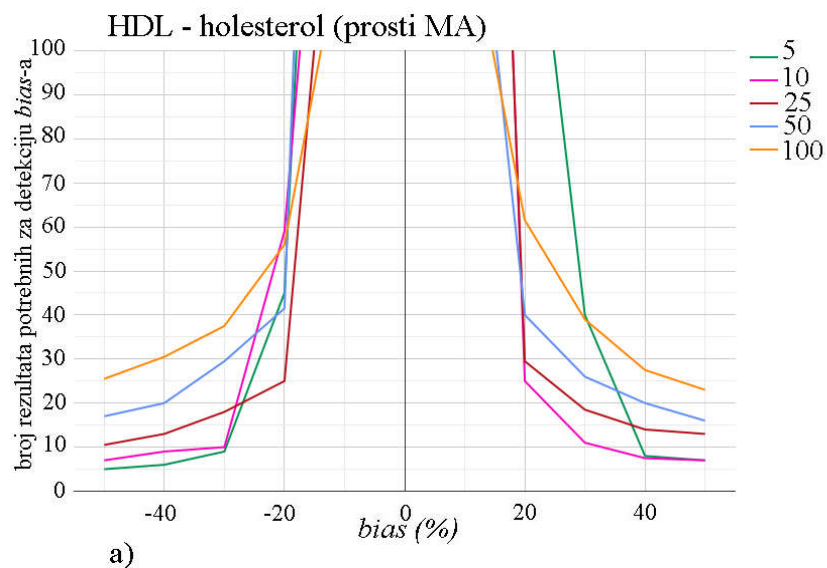
Slika 21. Poređenje višestrukih MA krivih za ukupne proteine

21a) MA krive za ukupne proteine pri različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za prosti MA. 21b) MA krive za ukupne proteine pri različitim vrednostima ponderskog faktora za EWMA (0,2, 0,1 0,05, 0,02) i najbolja kriva sa grafika 10a (prosti MA, veličina bloka 25 rezultata).



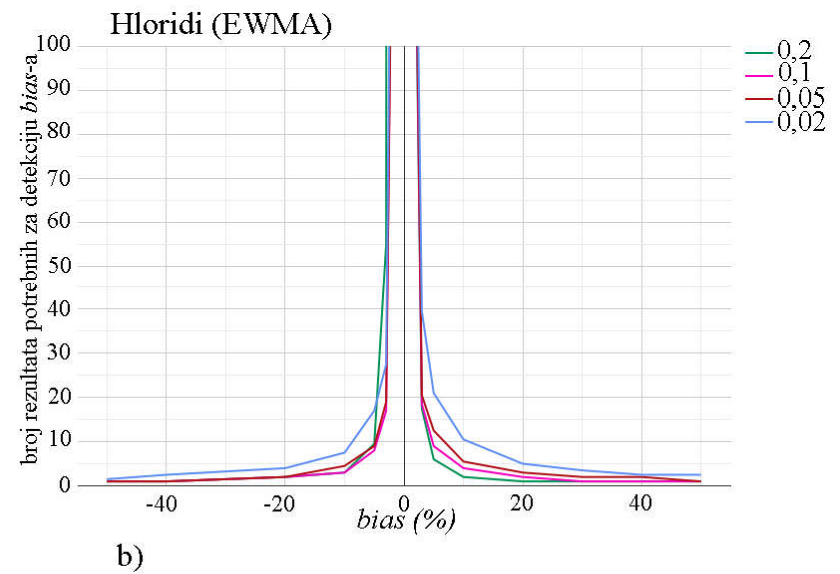
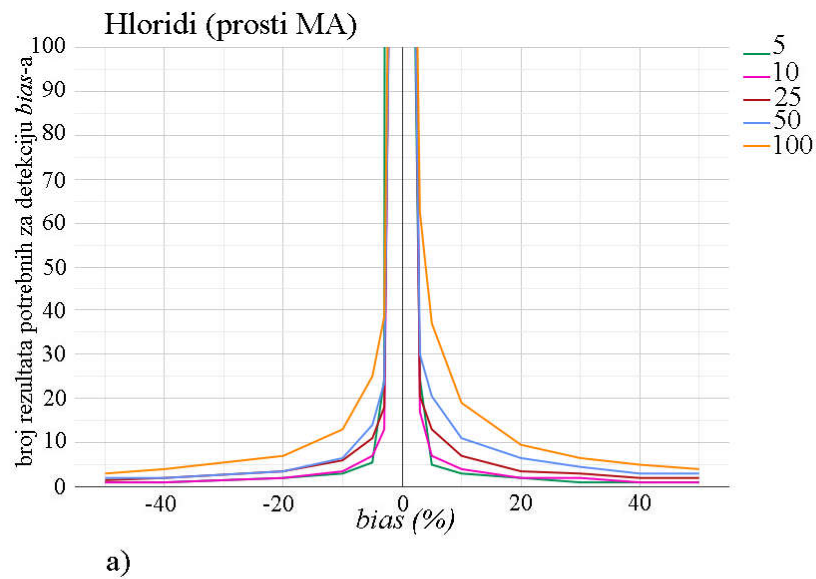
Slika 22. Poređenje višestrukih MA krivih za kalcijum

MA krive za kalcijum pri različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za prosti MA (22a) i pri različitim vrednostima ponderuskog faktora (0,2, 0,1, 0,05, 0,02) za EWMA (22b).



Slika 23. Poređenje višestrukih MA krivih za HDL - holesterol

23a) MA krive za HDL-holesterol pri različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za prosti MA. 23b) MA krive za HDL holesterol pri različitim vrednostima ponderskog faktora za EWMA (0,2, 0,1 0,05, 0,02)

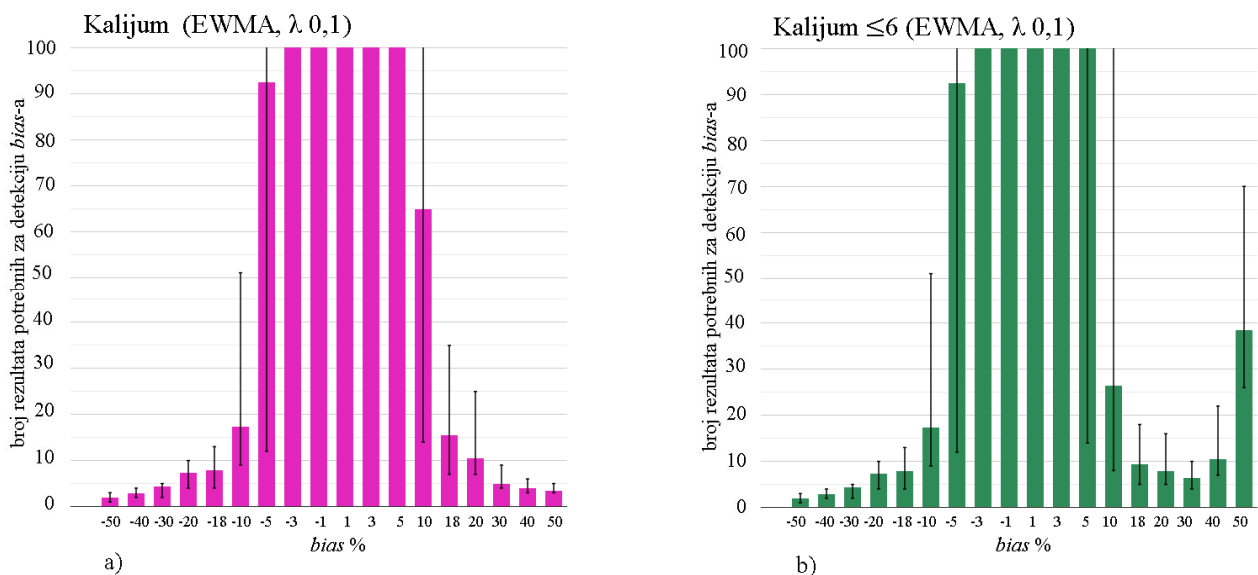


Slika 24. Poređenje višestrukih MA krivih za hloride

MA krive za hloride pri različitim veličinama bloka (5, 10, 25, 50 i 100 rezultata) za prosti MA (24a) i pri različitim vrednostima ponderskog faktora (0,2, 0,1, 0,05, 0,02) za EWMA (24b).

4.3 VALIDACIJA MA PROCEDURA

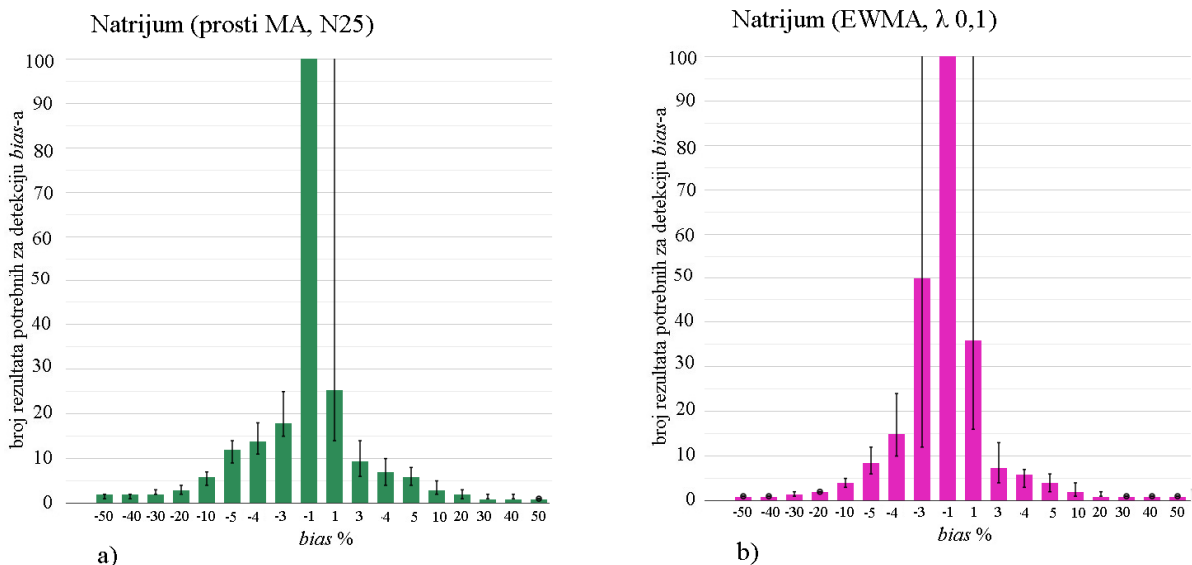
Korišćenjem validacionih grafika, za svaku odabranu MA proceduru su ustanovljeni detalji njene sposobnosti otkrivanja *bias*-a. Nadalje, bilo je moguće precizno odrediti detalje otkrivanja *bias*-a za dve MA procedure između kojih je već uočena razlika u krivima detekcije *bias*-a, kao što je bio slučaj sa kalijumom (Slike 20 i 25). Odabrana MA procedura za kalijum je bila sposobna da otkrije *bias* veličine TEa malo brže, a manje *bias*-e između 10 i 18% mnogo brže u odnosu na drugu kandidatsku krivu. U ovom slučaju, detekcija pozitivnih *bias*-a većih od 40% je sporija, ali još uvek moguća u okviru dnevnog proseka broja testova u našoj laboratoriji.



Slika 25. Poređenje validacionih grafika za kalijum

EWMA procedura sa ponderiskim faktorom 0,1 bez granice odsecanja (25a) i sa gornjom granicom odsecanja od 6 mmol/L (25b). Stubići predstavljaju medijanu broja, a linije greške minimalni i maksimalni broj rezultata potrebnih za detekciju *bias*-a.

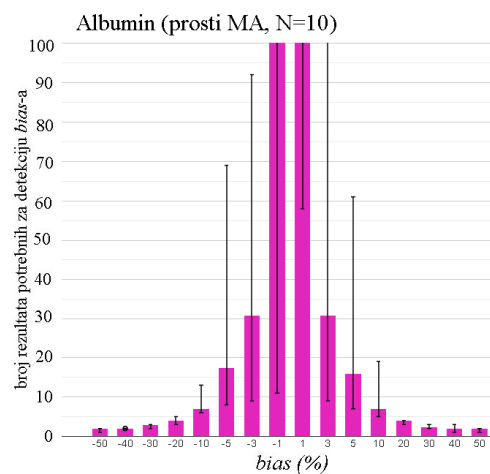
Takođe, pomoću validacionih grafika, bilo je moguće definitivno izabrati između dve kandidatske procedure sa vrlo sličnim krivim detekcije *bias*-a, kao što je pokazano za natrijum na Slici 26.



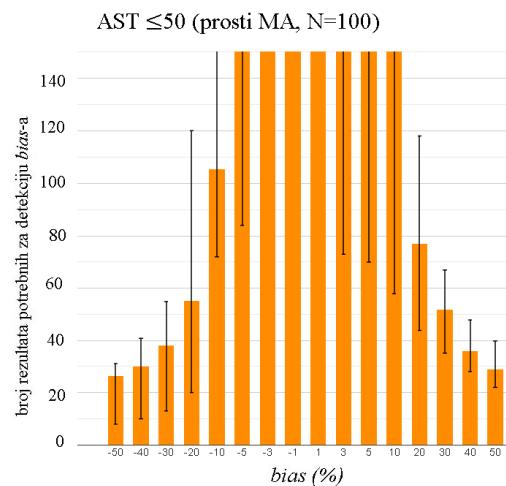
Slika 26. Poređenje validacionih grafika za natrijum

Prosta MA procedura sa veličinom bloka 25 rezultata (26a). EWMA procedura sa ponderiskim faktorom 0,1 (26b). Stubići predstavljaju medijanu broja, a linije greške minimalni i maksimalni broj rezultata potrebnih za detekciju *bias*-a.

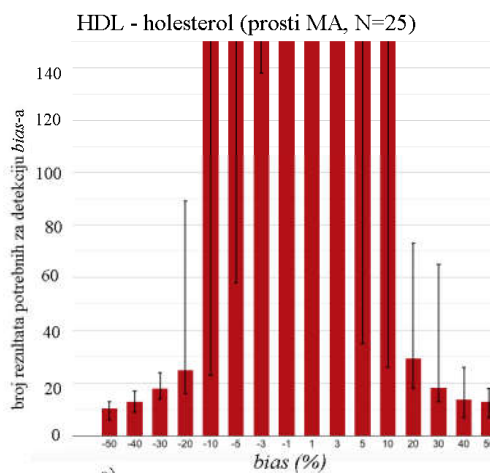
Na osnovu očitavanja sa MA validacionih grafika, ustanovili smo MA procedure pomoću kojih je moguće otkriti klinički značajan *bias* u jednoj petini do jednoj četvrtini dnevne produkcije kalijuma, u jednoj petini do jednoj trećini dnevnog broja rezultata natrijuma i u okviru dnevne produkcije albumina (uprkos jako maloj učestalosti zahteva za ovaj test). Takođe, utvrdili smo MA procedure koje imaju sposobnost otkrivanja klinički značajnog *bias*-a u jednoj petini do jednoj polovini dnevnog broja testova HDL- holesterola, jednoj trećini do jednoj polovini za hloride, jednoj polovini do dve trećine dnevnog broja za kalcijum, jednoj polovini dnevne produkcije za ukupne proteine i u okviru dnevnog broja testova za AST. Za kreatinin, negativan klinički značajan *bias* je sigurno bilo moguće otkriti u jednoj trećini dnevne produkcije, dok je otkrivanje pozitivnog *bias*-a u okviru dve trećine dnevnog broja rezultata bilo izvesno u oko 50% slučajeva. U slučaju holesterola, otkrivanje klinički značajnih negativnih *bias*-a je bilo sigurno u okviru dnevnog broja testova, a pozitivnih izvesno u 50% slučajeva u okviru jedne polovine dnevnog broja. Validacioni grafici za svih 10 ispitivanih analita prikazani su na Slikama 27, 28 i 29.



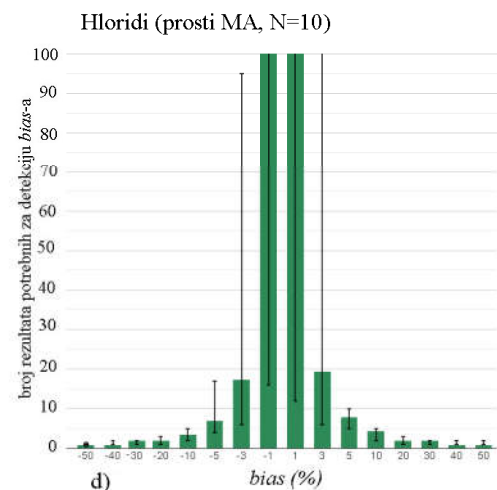
a)



b)



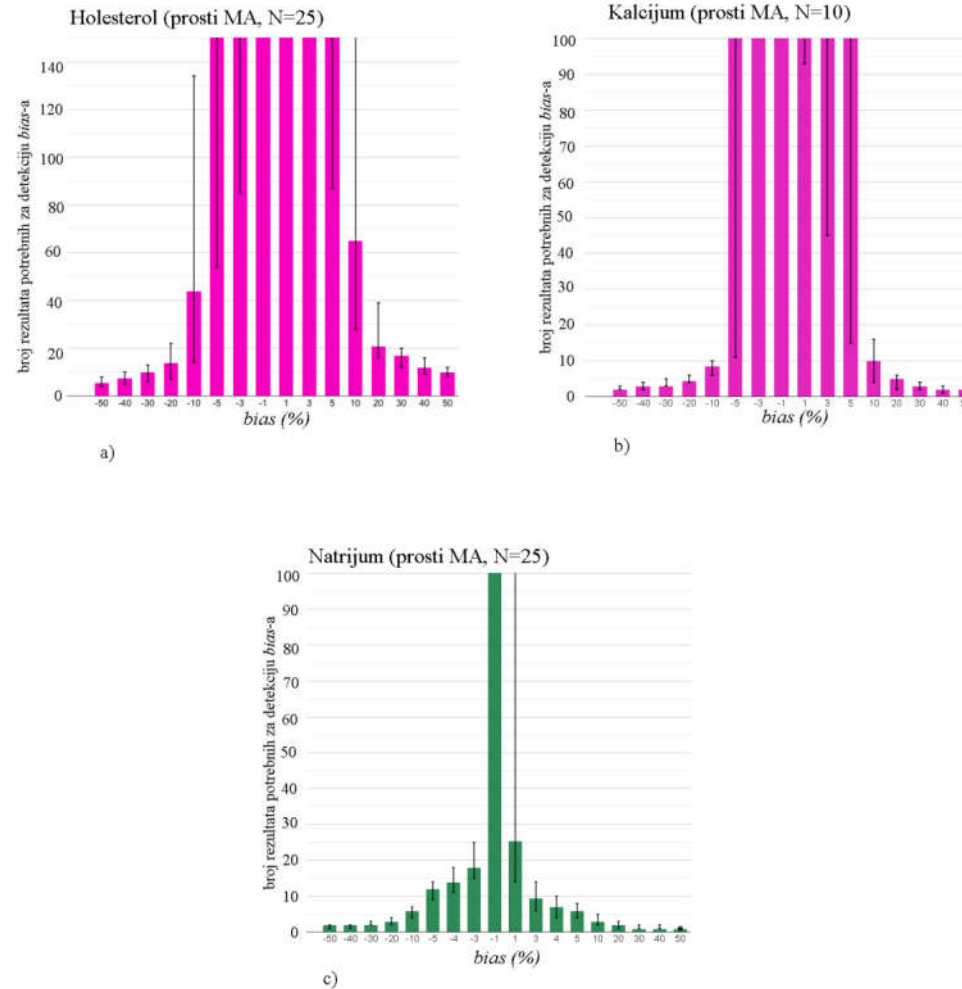
c)



d)

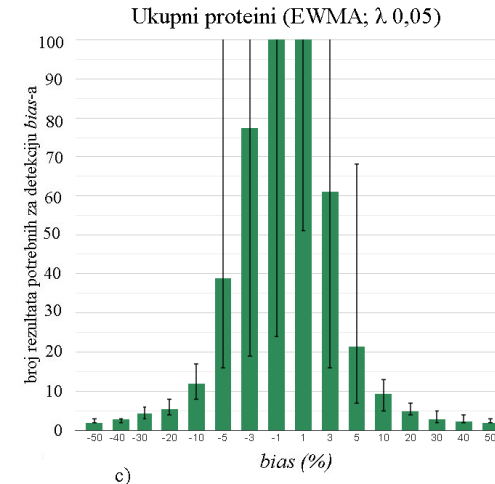
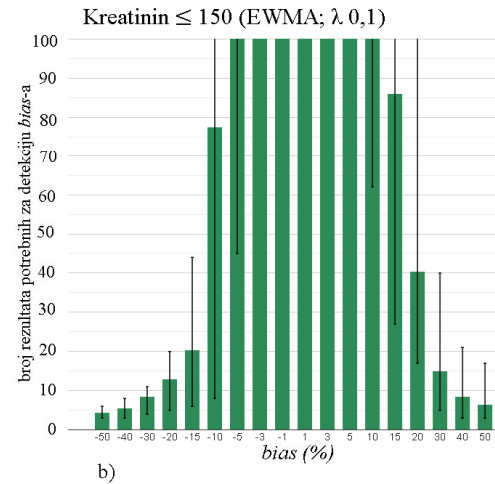
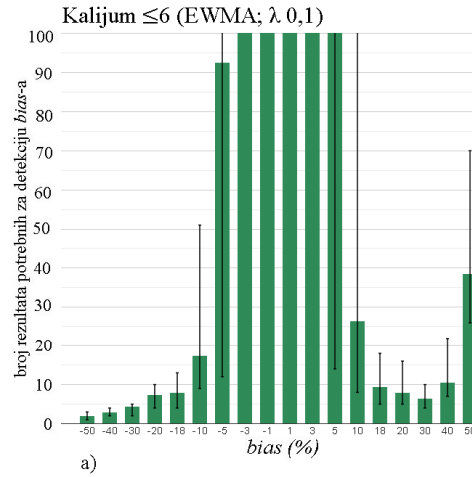
Slika 27. Validacioni grafici za albumin, AST, HDL-holesterol i hloride

Za svaku veličinu *bias*-a, sa grafika se očitava medijana, minimalni i maksimalni broj rezultata potrebnih za detekciju *bias*-a. Stubići predstavljaju medijanu, a linije greške minimalni i maksimalni broj. Granica odsecanja za AST je izražena u U/L. N - veličina bloka za prosti MA.



Slika 28. Validacioni grafici za holesterol, kalcijum i natrijum

Za svaku veličinu *bias*-a, sa grafika se očitava medijana, minimalni i maksimalni broj rezultata potrebnih za detekciju *bias*-a. Stubići predstavljaju medijanu, a linije greške minimalni i maksimalni broj. N - veličina bloka za prosti MA



Slika 29. Validacioni grafici za kalijum, kreatinin i ukupne proteine

Za svaku veličinu *bias*-a, sa grafika se očitava medijana, minimalni i maksimalni broj rezultata potrebnih za detekciju *bias*-a. Stubići predstavljaju medijanu, a linije greške minimalni i maksimalni broj. λ – ponderski faktor

4.4 IZBOR OPTIMALNIH MA PROCEDURA

Uzimajući u obzir sve navedeno, odabrana je po jedna optimalna MA procedura za svaki od 10 ispitivanih biohemijskih analita. Karakteristike tih optimalnih MA procedura prikazane su u Tabeli 6.

Tabela 6. Algoritam za izračunavanje, granice odsecanja i kontrolne granice za MA procedure koje su odabrane kao optimalne za svaki od 10 ispitivanih analita

Analit	Algoritam za izračunavanje	Granice odsecanja		Kontrolne granice	
		donja	gornja	donja	gornja
Albumin (g/L)	Prosti MA N=10	/	/	40	46
AST (IU/L)	Prosti MA N=100	/	50	17	22
HDL-holesterol (mmol/L)	Prosti MA N=25	/	/	1,05	1,61
Hloridi (mmol/L)	Prosti MA N=10	/	/	100	107
Holesterol (mmol/L)	Prosti MA N=25	/	/	4,76	6,39
Kalcijum (mmol/L)	Prosti MA N=10	/	/	2,20	2,61
Kalijum (mmol/L)	EWMA $\lambda=0,1$	/	6,0	3,9	4,8
Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	EWMA $\lambda=0,1$	/	150	62	90
Natrijum (mmol/L)	Prosti MA N=25	/	/	137	142
Ukupni proteini (g/L)	EWMA $\lambda=0,05$	/	/	69	75

MA - moving average; EWMA - exponentially weighted moving average; N - veličina bloka; λ - ponderski faktor

Sposobnost odabranih MA procedura da otkrivaju klinički značajan *bias* prikazana je u Tabeli 7. Broj rezultata potrebnih za detekciju *bias*-a veličine TEa očitao je sa MA validacionih grafika. Međutim, tokom trajanja studije u našoj ustanovi sprovedena je i racionalizacija laboratorijske dijagnostike, što je dovelo do dodatnog smanjenja dnevnog broja testova za većinu ispitivanih analita. Uprkos tome, analizom podataka iz Tabele 8 se može konstatovati da su i nakon tog smanjenja odabrane MA procedure bile sposobne da detektuju klinički značajan *bias* u okviru dnevnog broja testova.

Tabela 7. Sposobnost optimizovanih MA procedura za otkrivanje *bias*-a pre racionalizacije dnevnog broja testova

Analit	Prosečan dnevni broj testova pre racionalizacije	TEa (%) (CLIA)	Broj rezultata potrebnih za otkrivanje <i>bias</i> -a veličine TEa		
			Minimum	Medijana	Maksimum
Albumin	20	-10	6	7	13
		+10	5	7	19
AST	135	-20	20	55	120
		+20	44	77	118
HDL- holesterol	113	-30	14	18	24
		+30	13	18	65
Hloridi	35	-5	4	7	17
		+5	5	8	10
Holesterol	117	-10	14	44	134
		+10	28	65	225
Kalcijum	26	-10	6	8	10
		+10	4	10	16
Kalijum	60	-18	4	8	13
		+18	5	9	18
Kreatinin	121	-15	6	20	44
		+15	27	86	360
Natrijum	55	-4	11	14	18
		+4	4	7	10
Ukupni proteini	32	-10	8	12	17
		+10	5	9	13

TEa - ukupna dozvoljena greška; CLIA - *Clinical Laboratory Improvement Amendments*

Tabela 8. Sposobnost optimizovanih MA procedura za otkrivanje *bias*-a nakon racionalizacije dnevnog broja testova

Analit	Prosečan dnevni broj testova nakon racionalizacije	TEa (%) (CLIA)	Broj rezultata potrebnih za otkrivanje <i>bias</i> -a veličine TEa		
			Minimum	Medijana	Maksimum
Albumin	20	-10	6	7	13
		+10	5	7	19
AST	120	-20	20	55	120
		+20	44	77	118
HDL-holesterol	93	-30	14	18	24
		+30	13	18	65
Hloridi	23	-5	4	7	17
		+5	5	8	10
Holesterol	96	-10	14	44	134
		+10	28	65	225
Kalcijum	21	-10	6	8	10
		+10	4	10	16
Kalijum	42	-18	4	8	13
		+18	5	9	18
Kreatinin	103	-15	6	20	44
		+15	27	86	360
Natrijum	39	-4	11	14	18
		+4	4	7	10
Ukupni proteini	22	-10	8	12	17
		+10	5	9	13

TEa - ukupna dozvoljena greška; CLIA - *Clinical Laboratory Improvement Amendments*

Podaci iz Tabele 8 pokazuju da će optimizovane MA procedure sigurno otkriti i pozitivan i negativan klinički značajan *bias* u okviru racionalizovanog dnevnog broja testova za 8 od 10 ispitivanih analita (albumin, AST, HDL-holesterol, hloridi, kalcijum, kalijum, natrijum i ukupni proteini), kao i negativan *bias* za kreatinin. Za pozitivan i negativan *bias* natrijuma i pozitivan *bias* kreatinina verovatnoća otkrivanja u okviru dnevnog broja testova iznosila je 50%.

Povrh toga, pet od deset optimizovanih MA procedura (albumin, AST, holesterol, natrijum i ukupni proteini) je bilo sposobno da otkrije i *bias* veličine TEa bazirane na podacima o biološkoj varijaciji i one su prikazane u Tabeli 9.

Tabela 9. Sposobnost optimizovanih MA procedura da u okviru dnevnog broja testova otkrivaju minimalnu TEa zasnovanu na biološkoj varijaciji

Analit	Prosečan dnevni broj testova	Minimalna TEa (%) zasnovana na biološkoj varijaciji	Broj rezultata potrebnih za otkrivanje <i>bias</i> -a veličine TEa		
			Minimum	Medijana	Maksimum
Albumin	20	- 5	8	18	69
		+ 5	7	16	61
AST	120	- 20	20	55	120
		+ 20	44	77	118
Holesterol	96	-10	14	44	134
		+ 10	28	65	225
Natrijum	39	+ 1	14	25	180
Ukupni proteini	22	+ 5	7	21	68

TEa – ukupna dozvoljena greška; CLIA – *Clinical Laboratory Improvement Amendments*

4.5 ANALIZA MA ALARMA

U periodu od 6 meseci, ukupno je generisano 73.059 MA vrednosti za 10 ispitivanih biohemijskih analita. Za to vreme registrovano je 17 MA alarma, što je predstavljalo 0,023% od ukupnog broja MA vrednosti. Broj MA alarma po pojedinačnim analitima prikazan je u Tabeli 10.

Tabela 10. Broj MA alarma po analitu

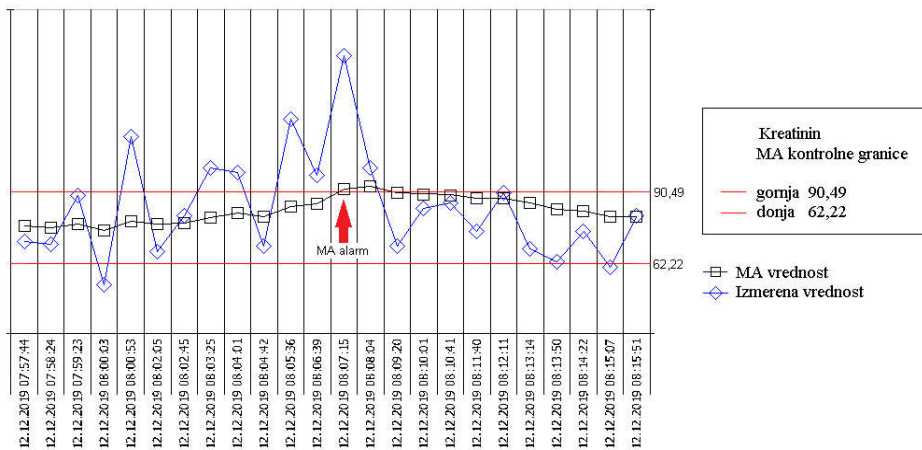
Analit	Broj generisanih MA vrednosti	Broj MA alarma	Procenat MA alarma (%)
Albumin	2538	1	0,039
AST	15.095	2	0,013
HDL-holesterol	11.707	2	0,017
Hloridi	2894	0	0,000
Holesterol	12.147	3	0,025
Kalcijum	2667	0	0,000
Kalijum	5280	1	0,019
Kreatinin	13.008	2	0,015
Natrijum	4891	5	0,102
Ukupni proteini	2832	1	0,035

Za svaki MA alarm, LIS je dao tabelarni i grafički prikaz koji pomažu u analizi uzroka alarma, kao što je na Slici 30 prikazano na primeru MA alarma za kreatinin.

Svaki MA alarm je evaluiran prema algoritmu koji je prikazan na Slici 31.

Tabela 11 prikazuje koji koraci algoritma su korišćeni u ispitivanju svakog MA alarma i koji uzroci alarma su otkriveni za albumin, AST, kalcijum i kreatinin. U Tabeli 12 prikazano je isto to, ali za HDL-holesterol, holesterol, natrijum i ukupne proteine.

Kreatinin			
Vreme merenja	Izmerena vrednost	MA vrednost	MA alarm
12.12.2019 07:57:44	71,00	77,23	N
12.12.2019 07:58:24	70,00	76,51	N
12.12.2019 07:59:23	89,00	77,76	N
12.12.2019 08:00:03	54,00	75,38	N
12.12.2019 08:00:53	112,00	79,04	N
12.12.2019 08:02:05	67,00	77,84	N
12.12.2019 08:02:45	81,00	78,16	N
12.12.2019 08:03:25	100,00	80,34	N
12.12.2019 08:04:01	98,00	82,11	N
12.12.2019 08:04:42	69,00	80,80	N
12.12.2019 08:05:36	119,00	84,62	N
12.12.2019 08:06:39	97,00	85,85	N
12.12.2019 08:07:15	144,00	91,67	D
12.12.2019 08:08:04	100,00	92,50	D
12.12.2019 08:09:20	69,00	90,15	N
12.12.2019 08:10:01	84,00	89,54	N
12.12.2019 08:10:41	86,00	89,18	N
12.12.2019 08:11:40	75,00	87,76	N
12.12.2019 08:12:11	90,00	87,99	N
12.12.2019 08:13:14	68,00	85,99	N
12.12.2019 08:13:50	63,00	83,69	N
12.12.2019 08:14:22	75,00	82,82	N
12.12.2019 08:15:07	61,00	80,64	N
12.12.2019 08:15:51	81,00	80,68	N



Slika 30. Tabelarni i grafički prikaz MA alarma za kreatinin u LIS-u.
(U tabeli: D = da, N = ne)

- 1) Pregledati rezultate pacijenata za test na kome se alarm pojavio
- 2) Uočiti od kog rezultata se pojavljuje alarm, kao i kakvi su rezultati koji mu prethode
- 3) Uočiti da li je bilo ekstremnih vrednosti
- 4) Ako ima ekstremnih vrednosti:
 - i) proveriti da li je pacijent i ranije imao takve rezultate
 - (a) ako jeste: isključiti tog pacijenta iz budućih MA kalkulacija
 - (b) ako nije: proveriti da li postoji neki preanalitički problem u tom uzorku
- 5) Ako nema ekstremnih vrednosti ili ako u prethodnom koraku nije nađen njihov uzrok:
 - i) Analizirati uzorke unutrašnje kontrole kvaliteta.
 - ii) Analizirati 3 uzorka pacijenata od prethodnog dana
 - (a) Ako su obe ove kontrole u okviru prihvatljivih kriterijuma, nastaviti sa izdavanjem rezultata pacijenata.
 - (b) Ako bar jedna od ove dve kontrole nije u okviru prihvatljivih limita, preduzeti korektivne mere prema planu za obezbeđenje kvaliteta rada u laboratoriji; reanalizirati uzorke pacijenata pre izdavanja rezultata.
 - iii) Pregledati poruke o eventualnim nepravilnostima u radu aparata, kao i zapise o održavanju aparata i, ako je potrebno, preduzeti korektivne mere

Slika 31. Algoritam za ispitivanje MA alarma

Tabela 11. Procedure za ispitivanje MA alarma i otkriveni uzroci za albumin, AST, kalijum i kreatinin

Analit	MA alarm	Izvedene procedure za ispitivanje MA alarma					Akcije preduzete u vezi sa rezultatima pacijenata
		Pregled rezultata pacijenata	Uočen preanalitički problem	Retestiranje 3 uzorka pacijenata od prethodnog dana (1:2s pravilo)	IQC (3 nivoa, 1:2s pravilo)	Pregled evidencije o održavanju i greškama analizatora	
Albumin	1. Niski	Da: 2 uzastopna niska rezultata	Da; Oba pacijenta su trudnice	Ne	Ne	Ne	Rezultati izdati
AST	1. Visoki	Da	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati
	2. Visoki	Da: 3 uzastopna rezultata blizu gornje granice odsecanja	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati
Kalijum	1. Niski	Da: 1 nizak rezultat ponovljen	Ne	Ne	Ne	Ne	Rezultati izdati
Kreatinin	1. Visoki	Da: 1 rezultat blizu gornje granice odsecanja	Da: Pacijent ima istoriju povišenih vrednosti kreatinina	Ne	Ne	Ne	Rezultati izdati Pacijent isključen iz budućih MA kalkulacija
	2. Visoki	Da: 3 rezultata blizu gornje granice odsecanja	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati

IQC – unutrašnja kontrola kvaliteta (eng. *internal quality control*); niski MA alarm – prevaziđena donja kontrolna granica; visoki MA alarm – prevaziđena gornja kontrolna granica; OK – kontrolno pravilo 1:2s nije prekršeno ili u evidenciji o održavanju i greškama analizatora nisu registrovane nepravilnosti

Tabela 12. Procedure za ispitivanje MA alarma i otkriveni uzroci za HDL-holesterol, holesterol, natrijum i ukupne proteine

Analit	MA alarm	Izvedene procedure za ispitivanje MA alarma					Akcije preduzete u vezi sa rezultatima pacijenata
		Pregled rezultata pacijenata	Uočen preanalitički problem	Retestiranje 3 uzorka pacijenata od prethodnog dana (1:2s pravilo)	IQC (3 nivoa, 1:2s pravilo)	Pregled evidencije o održavanju i greškama analizatora	
HDL-holesterol	1. Niski	Da: 1 nizak rezultat	Da: Pacijent ima istoriju veoma niskih vrednosti HDL-holesterola	Ne	Ne	Ne	Rezultati izdati Pacijent isključen iz budućih MA kalkulacija
	2. Niski	Da	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati
Holesterol	1. Visoki	Da: 1 veoma visok rezultat	Da: Pacijent ima istoriju veoma visokih vrednosti holesterola	Ne	Ne	Ne	Rezultati izdati Pacijent isključen iz budućih MA kalkulacija
	2. Visoki	Da: 1 veoma visok rezultat	Da: Pacijent ima istoriju veoma visokih vrednosti holesterola	Ne	Ne	Ne	Rezultati izdati Pacijent isključen iz budućih MA kalkulacija
	3. Visoki	Da	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati
Natrijum	1. Visoki	Da: 1 visok rezultat	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati
	2. Visoki	Da: 1 veoma visok rezultat	Da: Uzorak razblažen fiziološkim rastvorom	Ne	Ne	Ne	Test ponovljen iz originalnog (nerazblaženog) uzorka Rezultati izdati
	3. Visoki	Da	Ne	Da	Da OK (ali 0.5 SD pomak naviše)	Da OK	Urađena rekaliibracija Uzorci pacijenata retestirani i izdati novi rezultati
	4. Niski	Da	Ne	Da OK	Da OK	Da OK	Rezultati izdati
	5. Niski	Da	Ne	Da	Da OK (ali 0.4 SD pomak naniže)	Da OK	Urađena rekaliibracija Uzorci pacijenata retestirani i izdati novi rezultati
Ukupni proteini	1. Visoki	Da: 1 veoma visok rezultat	Da: Lipemičan serum	Ne	Ne	Ne	Tražen novi uzorak Rezultati izdati

Kao deo evaluacije alarma 3 i 5 za natrijum, nakon rekaliibracije, ponovo su analizirani uzorci pacijenata od tog dana. Razlika u koncentracijama natrijuma između originalnih i retestiranih rezultata ni kod jednog pacijenta nije bila veća od 4 mmol/L što je CLIA definisala kao TEa za ovaj analit.

Tokom evaluacije alarma za ukupne proteine, kao uzrok je otkrivena lipemija. Pošto naš biohemijski analizator simultano prenosi u LIS rezultate zahtevanih testova i HIL testa (prisustvo hemolize, ikterusa i lipemije), pojava alarma uzrokovanih interferencijama ne može biti eliminisana, ali uzrok može biti lako otkriven korišćenjem algoritma prikazanog na Slici 18.

Ušesće pojedinih grupa uzroka u ukupnom broju MA alarma prikazano je u Tabeli 13.

Tabela 13. Grupe otkrivenih uzroka MA alarma

Uzrok MA alarma	Broj alarma	Procenat od ukupnog broja alarma (%)
Abnormalni rezultati pacijenta	9	53
Preanalitički problem	2	12
Malo analitičko odstupanje	2	12
Uzrok nije otkriven	4	23

4.6 SIGMA METRIKA I QC PLAN ZASNOVAN NA RIZIKU

U Tabeli 14 prikazani su ulazni podaci koji su uneti u *Run-size* kalkulator (http://tools.westgard.com/frequency_calculator3.shtml.) za sva 3 nivoa svakog od 10 ispitivanih analita i vrednosti sigma metrike koje je kalkulator dao za svaki od njih. Prosečne vrednosti sigma metrike za svaki analit prikazane su u Tabeli 15.

Tabela 15. Prosečne vrednosti sigma metrike za 10 ispitivanih analita

Analit	Prosečne vrednosti sigma metrike	
	Av Sigma (%)	Av Risk Sigma (%)
Albumin	7,38	5,51
AST	12,86	6,00
HDL-holesterol	8,17	6,00
Hloridi	5,54	4,75
Holesterol	5,03	5,03
Kalcijum	4,09	4,09
Kalijum	11,84	6,00
Kreatinin	4,79	4,79
Natrijum	3,89	3,89
Ukupni proteini	4,06	4,06

Sve sigma vrednosti izračunate su pomoću *Run-size* kalkulatora. *Patient-risk* faktor u svim izračunavanjima bio je 1. Av Sigma – prosečna izračunata sigma, Av Risk Sigma – prosečna *patient-risk* sigma

Iz Tabele 15 se vidi da je od 10 ispitivanih testova, njih pet (albumin, AST, HDL-holesterol, holesterol, kalijum) imalo *patient-risk* sigma metriku veću od 5, dva testa između 4,5 i 5 (hloridi i kreatinin), dva testa (kalcijum i ukupni proteini) između 4 i 4,5, a najlošiji je bio natrijum sa izračunatom sigmom od 3,89.

Na osnovu toga, testovi su razvrstani u 3 grupe za izradu kontrolne strategije, što je prikazano u Tabeli 16.

Tabela 16. Kategorizacija 10 ispitivanih testova prema vrednosti *patient-risk* sigma metrike

Kategorija za kontrolnu strategiju baziranu na riziku	Testovi
Visoka sigma (sigma \geq 5,0)	albumin, AST, holesterol, HDL-holesterol, kalijum
Srednja sigma (4,5 \leq sigma < 5,0)	hloridi, kreatinin
Niska sigma (3,5 \leq sigma < 4,5)	kalcijum, natrijum, ukupni proteini

U Tabeli 17 prikazane su veličine serije koje je *Run-size* kalkulator izračunao za različita kontrolna pravila.

Tabela 14. Sigma metrika za svaki od 3 kontrolna nivoa 10 ispitivanih analita

	Nivo 1					Nivo 2					Nivo 3				
	TEa (%)	Bias (%)	Kv (%)	Sigma (%)	Risk Sigma (%)	TEa (%)	Bias (%)	Kv (%)	Sigma (%)	Risk Sigma (%)	TEa (%)	Bias (%)	Kv (%)	Sigma (%)	Risk Sigma (%)
Albumin	10,00	2,77	1,60	4,52	4,52	10,00	2,24	0,88	8,82	6,00	10,00	1,91	0,92	8,79	6,00
AST	20,00	2,47	2,15	8,15	6,00	20,00	1,14	1,36	13,87	6,00	20,00	0,97	1,15	16,55	6,00
HDL-holesterol	30,00	2,45	3,11	8,86	6,00	30,00	2,56	3,41	8,05	6,00	30,00	3,68	3,46	7,61	6,00
Hloridi	5,00	0,58	1,23	3,59	3,59	5,00	0,75	0,91	4,67	4,67	5,00	0,65	0,52	8,37	6,00
Holesterol	10,00	2,50	1,62	4,63	4,63	10,00	2,79	1,35	5,34	5,34	10,00	2,71	1,42	5,13	5,13
Kalcijum	15,43	2,40	3,01	4,33	4,33	10,55	1,87	2,21	3,93	3,93	8,14	2,39	1,43	4,02	4,02
Kalijum	18,66	1,38	0,95	18,19	6,00	11,09	1,02	1,01	9,97	6,00	7,54	0,77	0,92	7,36	6,00
Kreatinin	15,00	2,12	3,13	4,12	4,12	15,00	1,85	2,96	4,44	4,44	15,00	0,97	2,42	5,80	5,80
Natrijum	3,22	0,26	0,73	4,05	4,05	2,76	0,40	0,55	4,29	4,29	2,38	0,28	0,63	3,33	3,33
Ukupni proteini	10,00	1,10	2,46	3,62	3,62	10,00	1,65	2,06	4,05	4,05	10,00	3,31	1,48	4,52	4,52

Podaci za TEa iz CLIA, podaci za *bias* iz programa spoljašnje QC, podaci za Kv iz unutrašnje QC. Sve sigma vrednosti izračunate su pomoću *Run-size* kalkulatora. *Patient-risk* faktor u svim izračunavanjima bio je 1.

TEa - ukupna dozvoljena greška; CV - koeficijent varijacije

Tabela 17. Veličine serije za kandidatske QC procedure za 10 ispitivanih analita

Analit (Maksimalni dnevni broj = Željeni interval izdavanja)	Albumin (30)	AST (150)	Kalcijum (30)	Hloridi (50)	Holesterol (120)	Kreatinin (120)	HDL - holesterol (120)	Kalijum (50)	Natrijum (50)	Ukupni proteini (30)
Kontrolna procedura										
1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s/ 6:X N6 (p _{fr} 0.07)	1000	1000	842	1000	1000	1000	1000	1000	453	770
1:2,5s N6 (p _{fr} 0.06)	1000	1000	926	1000	1000	1000	1000	1000	522	853
1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s N3 * (p _{fr} 0.02)	1000	1000	178	1000	1000	1000	1000	1000	100	164
1:2.5s N3 (p _{fr} 0.03)	1000	1000	234	1000	1000	1000	1000	1000	142	218
1:3s N3 (p _{fr} 0.01)	1000	1000	51	284	590	308	1000	1000	30	47
1:2s N1 † (p _{fr} 0.05)	1000	1000	70	253	436	269	1000	1000	47	66
1:2,5s N1 (p _{fr} 0.01)	390	1000	25	91	156	96	1000	1000	17	24
1:3s N1 (p _{fr} 0.00)	140	363	9	33	56	35	363	363	6	9

Veličina serije za svaku kandidatsku QC proceduru izračunata je pomoću *Run size* kalkulatora.

* Odabrana za *start-up* QC proceduru

† Odabrana za *monitor* QC proceduru

N - broj kontrolnih merenja po QC događaju; P_{fr} - verovatnoća lažnog odbacivanja

Iz Tabele 14 smo kao *start-up* QC proceduru za svih 10 testova odabrali najjednostavnije višestruko pravilo koje odgovara svim ispitivanim testovima i koje podrazumeva 3 merenja (da bi smo kroz tri nivoa kontrolnog materijala pokrili što širi opseg koncentracija). U našem slučaju to je 1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s N3 višestruko kontrolno pravilo sa verovatnoćom lažnog odbacivanja $P_{fr} = 0,02$. Veličina serije izračunata za to kontrolno pravilo višestruko premašuje maksimalni dnevni broj testova za svih deset ispitivanih analita. Kao *monitor* QC proceduru, koja će omeđiti kraj dnevne serije, za testove sa niskom sigma metrikom (kalcijum, natrijum, ukupni proteini) i kreatinin iz kategorije srednje sigme, smo odabrali jednostruko QC pravilo sa jednim merenjem koje odgovara za sva ta 4 testa i to je 1:2s N1 sa verovatnoćom odbacivanja $P_{fr} = 0,05$. Kako bi veličina serije bila istovremeno odgovarajuća za sva 4 testa (veličina serije za natrijum je granično odgovarajuća), nije bilo moguće odabrati pravilo sa manjom P_{fr} . S obzirom na sigma vrednosti ta 4 testa, odabranoj SQC *monitor* proceduri smo dodali i optimizovane MA procedure za te analite kako bi se povećala verovatnoća otkrivanja potencijalne greške u okviru dnevnog broja testova koje laboratorija izvodi. Za testove iz kategorije visoke sigma metrike (albumin, AST, holesterol, HDL-holesterol, kalijum) i hloride iz kategorije srednje sigme, kao *monitor* QC procedure smo odabrali optimizovane MA procedure za te analite. Ta odluka zasnovana je na sigma vrednosti, veličini serije iz Tabele 17 koja višestruko premašuje željeni interval izdavanja za te testove i sposobnosti optimizovanih MA procedura za te analite da otkrivaju *bias* kritične veličine.

Uzimajući u obzir podatke iz Tabela 8, 15 i 17 napravili smo višestepeni plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku, prikazan u Tabeli 18. Ovaj plan objedinjuje tradicionalne i MA kontrolne procedure, te smo ga stoga nazvali integrisanim.

Tabela 18. Integrisani višestepeni plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku

Analit	<i>Start-up</i> QC procedura	<i>Monitor</i> QC procedura
Albumin, AST, hloridi, holesterol, HDL-holesterol, kalijum	1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s N3	MA
Kalcijum, kreatinin, natrijum, ukupni proteini	1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s N3	1:2s N1 and MA

QC - kontrola kvaliteta, MA - *moving average*

5. DISKUSIJA

5.1 NOVITETI STUDIJE

Ova studija donela je nekoliko noviteta u oblasti dodatnih mehanizama za kontrolu kvaliteta analitičkog rada u medicinskoj laboratoriji. Kao prvo, po prvi put u našoj zemlji je pokazano da je optimizacija MA procedura moguća u laboratoriji sa malim dnevnim obimom testiranja. Takođe, ustanovili smo da se primenom MA procedura može otkriti klinički značajan *bias* i na manje frekventnim testovima. Kao drugo, pokazali smo da se i u laboratorijama sa malim dnevnim obimom testiranja na primarnom nivou zdravstvene zaštite, MA procedure mogu uspešno implementirati u rutinski rad i koristiti kao dodatni alat za analitičku kontrolu kvaliteta u realnom vremenu. Nasuprot tome, u do sada objavljenim radovima, autori su izneli iskustva sa primenom PBRTQC u laboratorijama bolnica i univerzitetskih klinika sa velikim dnevnim obimom testiranja, dok se mali dnevni broj uzoraka uglavnom smatra nepovoljnim faktorom za otkrivanje *bias*-a (80, 81, 105). Takođe, prema trenutno dostupnim literaturnim podacima, ovo je prvi put da se PBRTQC implementira kao dodatna kontrola kvaliteta za biohemijske testove u medicinskoj laboratoriji u Srbiji. Jasno je da će globalni naponi da se promoviše ideja PBRTQC ostvariti svoj cilj samo ako ovaj tip kontrole kvaliteta bude lokalno zaživeo u što većem broju laboratorija širom sveta (24, 97, 100, 106). Smatramo da naš rad predstavlja doprinos ovoj globalnoj ideji i može pomoći u promeni paradigme tradicionalne QC u našoj zemlji (10, 91). I konačno, još jedan novitet koji je donela ova studija jeste da smo pokazali da je i u laboratoriji sa malim dnevnim obimom testiranja moguće izraditi QC plan zasnovan na riziku koji objedinjuje tradicionalnu QC i MA procedure. Naime, u radovima o upotrebi *run size* kalkulatora, kao i ranije *run size* nomograma, govori se o potrebama laboratorija sa velikim brojem testova za ovom vrstom kontrole (41, 90, 93, 107). Slično je i sa radovima koji se bave metodama implementacije PBRTQC procedura u planove kontrole kvaliteta (8, 84, 99). Međutim, jasno je da je i u laboratorijama sa malim dnevnim brojem testova, kao što je naš slučaj, neophodno da se rizik od izdavanja netačnog rezultata svede na

minimum.

Rezultati naše studije ukazali su na 3 ključna preduslova za rutinsku upotrebu PBRTQC koncepta u medicinskim laboratorijama: dostupnost namenskog softvera za izbor optimalnih MA procedura, adekvatnu implementaciju MA u LIS-u i postojanje procedura za upravljanje MA alarmima.

5.2 SPECIFIČNOSTI OPTIMIZACIJE I VALIDACIJE MA PROCEDURA U LABORATORIJI PRIMARNOG NIVOVA ZDRAVSTVENE ZAŠTITE

Naša studija je istakla prednosti primene MA procedura u laboratoriji koja radi na primarnom nivou zdravstvene zaštite. Poznato je da optimalni parametri jedne PBRTQC procedure prevashodno zavise od populacije pacijenata iz čijih rezultata su ti parametri izračunati (96). Karakteristike naše populacije pacijenata rešile su neke poteškoće sa kojima su se drugi istraživači susretali. Kao prvo, nije bilo potrebe da se razdvajaju rezultati ambulantnih i stacionarnih pacijenata (94). Takođe, primetna je razlika u medijani, kao i u minimalnim i maksimalnim vrednostima analiziranih setova podataka u našem radu, u poređenju sa drugim istraživačima, jer su vrednosti u populaciji sa kojom radi naša laboratorija homogene (99). Pored toga, nije bilo neželjenog efekta vikenda na MA procedure koji je uočljiv u bolničkim laboratorijama, gde se ekstremne vrednosti uglavnom javljaju vikendom (68, 80). Sve ovo je u saglasnosti sa zapažanjima drugih autora da u laboratorijama na primarnom nivou zdravstvene zaštite MA procedure mogu pokazati bolje performanse nego u bolnicama (81).

Takođe, treba reći da je činjenica da naša laboratorija raspolaže samo jednim biohemijским analizatorom, na neki način olakšala izbor MA kontrolnih procedura sa optimalnim performansama, za razliku od laboratorija u kojima se izbor komplikuje usled prisustva većeg broja različitih analizatora u upotrebi (96). Naime, u laboratorijama sa više analizatora, neophodna je optimizacija PBRTQC procedura za

svaki od njih. U protivnom, ako se optimizuju zajedničke PBRTQC procedure za sve analizatore, umanjuje se njihova sposobnost detekcije greške, jer se time relaksiraju kontrolne granice, a i umanjuje efekat greške ako se ona javi na samo jednom instrumentu (96).

5.2.1 Veličina bloka kod MA ili ponderskog faktora kod EWMA

Prilikom izbora parametara algoritma za izračunavanje, naši najvažniji nalazi su se odnosili na ponderske faktore ili veličinu bloka i granice odsecanja. Naša studija je pokazala da ni mali ponderski faktori u EWMA, niti veliki blokovi u prostom MA, nisu uvek najbolja opcija, kao što pokazuje *Power Function* analiza. Istina je da algoritam za izračunavanje sa malim ponderskim faktorom poboljšava brzo otkrivanje malih odstupanja, ali je tada potrebno više rezultata da bi se otkrili veliki *bias*-i (99). Za dva od tri testa u kojima smo izabrali EWMA proceduru (kalijum i kreatinin), optimalni ponderski faktor je bio 0,1, drugi po veličini od četiri testirana. Takođe, pokazali smo da su u 6 od 7 slučajeva prostog MA, optimalne veličine bloka bile one sa manjim brojem rezultata u bloku. Naime, iako su za proste MA procedure ispitivani blokovi veličine do 100 uzoraka, blokovi od 10 uzoraka za albumin, kalcijum i hloride i 25 uzoraka za natrijum, holesterol i HDL-holesterol su se pokazali kao optimalni. Poznato je da parametri koji imaju velike varijacije u rezultatima imaju loše MA performanse (68). Drugi autori su pokazali da smanjivanje veličine bloka povećava brzinu otkrivanja greške, ali i povećava broj lažnih alarma (87). S obzirom na nisku biološku varijaciju natrijuma i albumina, očekivano je bilo ono što smo i pokazali - da su manje veličine bloka odabrane kao optimalne, dok bi biomarkeri sa većom biološkom varijacijom, kao što su gvožđe ili bilirubin, verovatno zahtevali veći broj rezultata u bloku (61). Takođe smo potvrdili da se konstantna veličina bloka ne može definisati kao univerzalni model (68). Treba još napomenuti da veliki blokovi ne odlažu početak "rada" PBRTQC, kao što se to nekada tvrdi (87). Na primeru AST-a u našoj studiji, gde je veličina bloka bila 100,

prvi današnji rezultat pacijenata ulazi u blok sa 99 jučerašnjih rezultata, odnosno PBRTQC je aktivna čim analizator počne da radi.

5.2.2 Granice odsecanja

Kada su u pitanju inkluzioni kriterijumi, potrebu za njihovim uvođenjem su navodili već pionirski radovi u oblasti PBRTQC (68). Uticaj granica odsecanja na performanse PBRTQC procedure zavisi od samih granica odsecanja, ali takođe i od algoritma za izračunavanje i vrste greške koja se otkriva u analitičkom sistemu (87). I danas pojedini autori tvrde da je za adekvatno otkrivanje greške pomoću PBRTQC, neophodno definisati granice odsecanja za svaku kontrolnu proceduru, čime se eliminiše efekat heterogenosti rezultata u populaciji pacijenata koja proističe iz razlika u starosti, polu, zdravstvenom stanju i slično (108). Međutim, za razliku od njih, a u skladu sa Van Rosumovim rezultatima, mi smo ustanovili da postavljanje granice odsecanja može odložiti otkrivanje velikih *bias*-a zbog isključenja određenog broja rezultata iz MA proračuna (68, 81). Pri tome, gornja granica odsecanja odlaže otkrivanje velikih pozitivnih, a donja granica otkrivanje velikih negativnih *bias*-a. U našem slučaju, u populaciji koja nema mnogo ekstremnih vrednosti, najbolja detekcija *bias*-a se postiže sa najširim inkluzionim kriterijumima. Ali u bolničkim uslovima, za razliku od nas, Van Rosum i saradnici su dobili optimalnu MA proceduru za albumin sa donjom granicom odsecanja od 20 g/L, ili za natrijum sa donjom granicom odsecanja od 125 mmol/L i gornjom granicom od 150 mmol/L. Međutim, u svakoj populaciji, pa i u opštoj populaciji koja dolazi u laboratorije na primarnom nivou zdravstvene zaštite, kao što je naša, javlja se određeni procenat ekstremnih vrednosti. Zbog njihovog prisustva, postavljanje inkluzionih kriterijuma daje bolje performanse za neke testove, pa su, kao što smo pokazali, optimalne procedure za AST, kalijum i kreatinin bile upravo one sa granicama odsecanja (68). Iz našeg rada proističe da granice odsecanja ne treba posmatrati kao obavezni parametar MA procedure, već se potreba za njima mora procenjivati za svaki analit ponaosob, a u zavisnosti od populacije pacijenata sa kojima

laboratorija radi. Pri tome se numerička vrednost granica odsecanja može odrediti na osnovu podataka iz literature i metode pokušaja i greške kao što smo mi činili, ili na osnovu statističkih parametara (referentni opseg, Sd) ili pak na osnovu podataka o biološkoj varijaciji (67, 90, 108).

5.3. OPCIJE ZA OPTIMIZACIJU I VALIDACIJU MA PROCEDURA

Idealna kontrolna procedura bi trebalo da što brže otkriva pojavu greške, a da pri tome što ređe daje lažne alarme (87). Na neki način, kod PBRTQC postoji konflikt između želje da greška bude što pre otkrivena, ali i istovremeno potrebe da se prikupi određeni broj rezultata pacijenata iz kojih se može izvesti relevantan zaključak o stanju analitičkog sistema (64). U razrešenju tog konflikta ne mogu pomoći mere performansi koje se koriste kod tradicionalne QC, kao što je Ped. Naime, Ped će uvek rasti kako se povećava broj rezultata pacijenata koji ulaze u izračunavanje MA ili neke druge PBRTQC procedure, ali će se pri tome smanjivati brzina kojom ta MA procedura otkriva grešku. Zato je za procenu performansi PBRTQC procedura, daleko važniji parametar broj rezultata potrebnih za otkrivanje greške (64).

Za razliku od tradicionalne QC, uspostavljanje PBRTQC procedura se vrši pojedinačno za svaku laboratoriju i to ne pomoću standardne statistike već pomoću simulacionih analiza, što dalje otežava laboratorijama pristup metodama za optimizaciju (109). Pošto ne postoji precizna definicija optimalne MA procedure, mi smo optimizaciju uradili sa namerom da MA koristimo kao dodatni alat za kontinuiranu QC koji bi omogućio praćenje analitičkog procesa između dva merenja kontrolnih uzoraka (99). Stoga je prvi kriterijum optimizacije za nas bio da uspostavimo MA proceduru za svaki analit koja bi bila sposobna da otkrije klinički značajan *bias* u okviru dnevnog broja testova, koji inače ne bi bio otkriven do sledećeg merenja kontrolnog uzorka. Drugi kriterijum koji smo koristili u optimizaciji bio je da je MA procedura bila sposobna da otkrije sve *bias*-e veće od TEa, pošto su svi oni, naravno, klinički značajni (92, 110). Kombinovanjem ova dva kriterijuma, napravili smo

individualne kompromise za svaki analit. Kada su dve MA procedure bile približno podjednako dobre u otkrivanju *bias*-a veličine TEa, ali je jedna značajno lošije otkrivala veće *bias*-e, odustajali smo od nje. Sa druge strane, tamo gde je bilo moguće pronaći MA proceduru koja bi brzo otkrila *bias* veličine TEa i manji od toga, dok je otkrivanje većih *bias*-a, iako odloženo, ostalo moguće u okviru dnevnog broja testova naše laboratorije, takvoj proceduri je data prednost. Ključno sredstvo u određivanju ovih detalja o sposobnosti MA procedura da otkriju određene *bias*-e bili su MA validacioni grafici koji nude statistički jasne podatke (99). Ova praksa se razlikuje od metode „simuliranog kaljenja“, koja koristi prosečan broj ugroženih uzoraka pacijenata do otkrivanja greške (ANPed parametar) na osnovu srednje vrednosti broja uzoraka, a ne njihove medijane (94). Da bi kontinuirana MA QC imala smisla, broj rezultata pacijenata potrebnih za otkrivanje klinički značajnih *bias*-a ne bi trebalo da bude veći od broja uzoraka koji se analiziraju između dva QC merenja (93). Ovo pitanje je posebno važno za manje česte testove, kao što je albumin u našoj studiji. Iz svega navedenog, jasno je da izbor MA procedura za svaki test zahteva mnogo finog podešavanja i ni na koji način ne može biti opšte pravilo (68).

Do sada su objavljene različite metode validacije PBRTQC procedura (81, 98, 106). U proteklim decenijama za optimizaciju i validaciju MA procedura korišćeni su vizuelna evaluacija i *Power Function* analiza (68, 85). Poslednjih godina, predložene su nove metode u tu svrhu. Na primer, Sampson i saradnici (93) su opisali CUSUM logističku regresiju za uspostavljanje kontrolnih procedura na osnovu rezultata pacijenata, dok su Ng i saradnici (94) predstavili „algoritam simuliranog kaljenja“. Takođe su opisane i verovatnoća detekcije TEa i prosečan broj rezultata pacijenata pogođenih pre otkrivanja greške (106). Ali među svim ovim metodama, mi smo odlučili da koristimo metodu simulacije detekcije *bias*-a zasnovanu na krivima detekcije *bias*-a i validacionim graficima, koju je opisao Van Rosum (81, 99), iz dva razloga. Prvi je taj što ova metoda, kroz lako razumljiv grafički prikaz, nudi detaljan uvid u sposobnost odabrane MA procedure da otkrije klinički značajan *bias* u okviru dnevnog broja testova, što je kritična karakteristika kontrolnog postupka za laboratoriju sa relativno

malim obimom testiranja (99, 104). Drugi razlog je dostupnost namenskog softvera (*MA Generator*) (90, 101). Ova *online* aplikacija nam je omogućila da brzo i jednostavno izvršimo proračune sa velikim brojem varijacija različitih parametara.

Pored toga, želeli smo da u našoj laboratoriji, na skoro identičan način, ponovimo MA eksperiment koji je već objavio drugi autor (81, 99), imajući u vidu da se danas sve više govori o krizi reproducibilnosti u medicinskim istraživanjima, čak i u vezi sa analitičkim performansama rutinskih laboratorijskih testova (111). Smatrajući da je za unapređenje istraživanja i praktičnu primenu rezultata istraživanja u rutinskom laboratorijskom radu neophodno da se uverimo u ponovljivost istraživanja, odlučili smo da ponovimo eksperiment istom metodom i na način koji su već opisali holandski autori, ali u našim laboratorijskim uslovima (81, 99, 111).

Treba još naglasiti i da je MA izračunavanje, ma koliko složeno bilo, samo jedna komponenta daleko većeg sistema kvaliteta koji treba uspostaviti u svakoj pojedinačnoj laboratoriji koja želi da koristi PBRTQC u rutinskom radu (112).

5.4 TEHNIČKI ZAHTEVI ZA IMPLEMENTACIJU MA PROCEDURA U RUTINSKI RAD LABORATORIJE

Naša studija je istakla 2 ključna tehnička preduslova za rutinsku upotrebu PBRTQC koncepta u medicinskim laboratorijama: dostupnost namenskog softvera za izbor optimalnih MA procedura i njihovu validaciju, a potom dostupnost LIS-a koji omogućava adekvatnu implementaciju MA. Zbog složenosti izračunavanja koja su neophodna ukoliko se laboratorija odluči da koristi ovu vrstu QC, potreban je softver koji vrši sve proračune za svaku MA proceduru, zatim omogućava njihovo poređenje da bi se izabrala optimalna, a takođe pruža mogućnost validacije MA procedura (105, 113). Ovaj složeni pristup validaciji bio je moguć zahvaljujući dostupnosti *online* aplikacije *MA Generator* (101). Poznato je da je jedan od najvećih izazova za široku primenu PBRTQC, upravo pitanje dostupnosti adekvatnog informacionog sistema koji može da ekstrahuje, analizira i prezentuje podatke uz minimalno angažovanje

laboratorijskih specijalista (24, 89). Dalje, pokazali smo da je PBRTQC takođe dostižan i u laboratorijama čiji LIS inicijalno nema opciju za PBRTQC. Loh i saradnici (97) su sistematizovali karakteristike koje LIS treba da poseduje da bi efikasno omogućio PBRTQC. Na osnovu njih su u našoj laboratoriji razvijena dodatna softverska rešenja koja su omogućila primenu MA procedura. U našem slučaju, za uspešnu implementaciju PBRTQC u LIS ključne su bile: detaljne preporuke IFCC grupe, proaktivan stav biohemičara u prilagođavanju ovih preporuka lokalnim zahtevima i saradnja programera koji je prepoznao značaj dodavanja ovih opcija u LIS (97).

Naša studija je takođe pokazala i da je važno da LIS nudi mogućnost korišćenja različitih formula za izračunavanje MA, pošto smo pokazali da nije jedna formula optimalna za sve analite. Mnogi programi nude samo jedan algoritam za računanje, a to nije dobra opcija jer različiti algoritmi mogu imati pozitivne ili negativne efekte na performanse PBRTQC procedura. Stoga se slažemo sa tvrdnjom drugih autora da bi LIS trebalo da omogućava barem prosti MA, EWMA i XB algoritam (65, 97, 109).

Poslednjih godina aktuelna je tema "velikih podataka" (eng. *big data*) u medicini. Pojam *big data* može se različito shvatati u različitim oblastima medicine, ali u svakom slučaju, sa aspekta informacionih tehnologija, podrazumeva količinu podataka koja predstavlja izazov za postojeću informatičku infrastrukturu i zahteva njene modifikacije. Savremene laboratorije su svakako generatori ogromne količine podataka na svakodnevnom nivou. Osim samih rezultata testiranja, laboratorije raspolažu demografskim podacima o pacijentu i njegovoj dijagnozi, potom podacima o vremenu uzorkovanja, vremenu prijema uzorka u laboratoriju, vremenu slanja zahteva analizatoru i vremenu prijema rezultata sa analizatora u LIS, integritetu uzorka (serumski indeksi - hemoliza, ikterus, lipemija). Svi ti podaci mogu biti obrađivani u razne svrhe, kao što su uspostavljanje referentnih opsega za određene populacije, procena iskorišćenosti testova i racionalnosti ordiniranja laboratorijske dijagnostike, ali se i PBRTQC može smatrati primenom *big data* u oblasti laboratorijske kontrole kvaliteta (114). Naime, jedan od preduslova za implementaciju PBRTQC upravo i jeste

mogućnost LIS-a da obrađuje ogromnu količinu podataka u realnom vremenu (114).

5.5 UPRAVLJANJE MA ALARMIMA

Konačno, nakon uspešnog izbora i implementacije MA kontrolnih procedura u LIS, potrebno je definisati strategiju za postupanje sa MA alarmima. Pre svega, važno je naglasiti neophodnost da LIS generiše MA alarme u realnom vremenu, odnosno onog trenutka kada je MA kontrolno pravilo prekršeno i da su ti alarmi jasno signalizirani odgovornom osoblju. Samo tako se može u potpunosti ispoljiti "real time" priroda PBRTQC, odnosno obezbediti adekvatne i pravovremene korektivne akcije koje će sprečiti izdavanje netačnih rezultata pacijenata (109). Prilikom izrade algoritma za obradu MA alarma, rukovodili smo se iskustvima, rešenjima i preporukama drugih autora (9, 24, 98, 102). Međutim, morali smo da prilagodimo ove smernice situaciji u konkretnoj laboratoriji. Pošto su naši rezultati pokazali da je 65% MA alarma uzrokovano ili pojedinačnim patološkim nalazom ili preanalitičkim problemom u uzorku, bilo je potpuno opravdano započeti evaluaciju alarma pregledom rezultata pacijenata koji su generisani pre alarma, kako preporučuju Badrik i saradnici (24). Opcija LIS koja omogućava da se pacijent sa hroničnom patološkom vrednošću nekog parametra isključi iz budućih MA kalkulacija, koju su ranije koristili drugi autori, takođe se pokazala korisnom u našoj laboratoriji (98). Iz literature je već poznato da PBRTQC alarm može biti uzrokovan ekstremnim rezultatima pojedinih pacijenata ili analizom materijala koji ne potiče od pacijenata i da se ovakve situacije rešavaju isključivanjem ovih uzoraka iz daljih kalkulacija (24). Rezultati našeg rada su u skladu sa navedenim literaturnim podacima (25, 66) i ne smatramo ih lažnim alarmima, već dokazom da su MA kontrolne procedure sposobne da otkrivaju različite vrste laboratorijskih grešaka, odnosno da kontrolišu sve faze procesa testiranja. Radovi drugih autora (25, 75, 90, 115, 116) već su pokazali kapacitet PBRTQC za otkrivanje različitih problema u ukupnom procesu laboratorijskog testiranja, kao što su intermitentni problemi u radu analizatora, dugotrajna stabilnost reagensa, varijacije

reagensa sa promenom proizvođačke serije, problem komutabilnosti. Verujemo da pokazana osetljivost PBRTQC-a pruža dodatnu sigurnost omogućavajući brzo otkrivanje bilo koje situacije koja odstupa od uobičajene, nezavisno od toga da li je uzrokovana preanalitičkim ili analitičkim problemom.

Ponovljeno testiranje na drugom analizatoru kao jedan od koraka ka pronalaženju uzroka alarma nije bila opcija za nas, jer laboratorija raspolaže samo jednim biohemijskim analizatorom (98). Slažući se sa stavom drugih autora (24) da sama analiza unutrašnje QC nije dovoljna za procenu MA alarma, odlučili smo se za pristup koji su opisali Liu i saradnici (102), a koji podrazumeva ponovnu analizu uzoraka pacijenata iz stabilnog perioda na istom analizatoru.

Prosečna učestalost MA alarma u našoj studiji nije dovela do zamora alarmima, što je jedan od ključnih zahteva za uključivanje MA u svakodnevnu laboratorijsku praksu (24, 25). Prosečnim brojem od tri alarma mesečno se može upravljati čak i u laboratoriji sa malim brojem laboratorijskih specijalista koji se mogu posvetiti evaluaciji svakog alarma. Zbog toga nismo vršili nikakva dodatna MA podešavanja koja bi povećala specifičnost, ali izvesno je i smanjila osetljivost ovog kontrolnog alata (24). Naravno, tokom rutinske primene MA procedura, može biti potrebno još finih podešavanja na osnovu uočenih performansi ovog alata. Procenat pojave MA alarma u odnosu na ukupan generisani broj MA vrednosti bio je u saglasnosti sa rezultatima koje su objavili drugi autori (80, 106). Kao i u radu van Rosuma, MA alarmi su se najčešće javljali na natrijumu (106). Natrijum je jedan od testova koji se smatraju idealnim za sprovođenje PBRTQC zbog male biološke varijacije, a izuzetno visokih zahteva iz specifikacije analitičkih performansi (80, 94). Primetno je da nije bilo kršenja kontrolnih pravila tradicionalne QC koja bi zahtevala korektivne mere, iako su mali pomaci u poređenju sa prethodnim kontrolnim merenjem otkriveni na Levey-Jennings grafikonu dva puta. Ovo može ukazivati na to da je, za neke testove, PBRTQC osetljivija od tradicionalne QC u otkrivanju *bias*-a. Sa druge strane, klinički značaj ovih *bias*-a je diskutabilan, posebno u laboratoriji na primarnom nivou zdravstvene zaštite (106).

Istovremeno, slažemo se sa zapažanjem Ng i saradnika (112) da bi trebalo ispitati da li bi češća recalibracija testa za natrijum (češće od minimalne preporuke proizvođača reagensa) smanjila učestalost MA alarma na ovom testu. Međutim, ovde se može postaviti i pitanje da li bi neka druga tehnika PBRTQC bila pogodnija za natrijum. Naime, drugi autori su za natrijum koristili tehniku pokretne medijane, smatrajući da ona daje manje lažnih alarma za taj test (65, 96).

Iako je uspostavljanje protokola za postupanje sa MA alarmima izuzetno zahtevan zadatak, podaci iz članaka drugih autora koji ukazuju na uštedu troškova i vremena, sugerišu da je vredno investirati u protokole za obradu MA alarma (91). Naravno, u bliskoj budućnosti možemo očekivati da će alati za mašinsko učenje (eng. *machine learning*) u velikoj meri eliminisati potrebu za radom laboratorijskih specijalista u ovoj oblasti, odnosno da će olakšati izbor i optimizaciju MA procedura, ali i upravljanje MA alarmima u rutinskom radu (66, 117). Naše iskustvo iz ove naučne studije u saglasnosti je sa mišljenjem Ng-a i saradnika (112) da je prevođenje teorijskih postulata MA u rutinsku QC proceduru u realnom vremenu izuzetno zahtevan zadatak koji iziskuje detaljnu razradu i pažljivu implementaciju u svakodnevni laboratorijski rad.

5.6 INTEGRACIJA MA PROCEDURA U PLAN KONTROLE KVALITETA ZASNOVAN NA RIZIKU

Poznato je da je jedan od krupnijih izazova u pravljenju QC plana u medicinskim laboratorijama upravo situacija sa više različitih testova na istom analizatoru, koji nemaju svi iste performanse, tj. istu sigma metriku (38). Da bismo QC plan učinili što jednostavnijim za implementaciju u rutinski rad, mi smo se odlučili za pristup unifikovanja strategije, sa što je moguće manje različitih pravila (104). Stoga je odabrano samo jedno *start-up* i jedno *monitor* SQC pravilo za sve ispitivane testove.

Što se tiče dodavanja PBRTQC u plan tradicionalne SQC, slažemo se sa drugim autorima (9, 24, 66) da sama PBRTQC nije dovoljna, ali da svakako zaslužuje svoje mesto u rutinskom radu laboratorije, kao dodatak tradicionalnoj kontroli. Zahvaljujući činjenici da se dešava u realnom vremenu i zasniva direktno na rezultatima pacijenata, PBRTQC bi mogla predstavljati adekvatan odgovor rastućim zahtevima za upravljanje kvalitetom zasnovano na riziku koje je postavio CLSI (33). I tradicionalna QC i PBRTQC imaju svoje prednosti, ali i svoje nedostatke i stoga je najsvrsishodnije koristiti ih kao međusobno komplementarne i njihovim kombinovanjem sačiniti jedinstveni QC plan u laboratoriji (9, 22, 98). Kao što su opisali Li i saradnici (87), i mi smo kao *start-up* kontrolu na početku radnog dana koristili tradicionalnu QC sa pravilima odabranim shodno sigma metrici testova. Ako je ta *start-up* kontrola u prihvatljivim granicama, analizator počinje sa merenjem uzoraka pacijenata i od tog trenutka je aktivna PBRTQC kao alat za kontinuiranu kontrolu analitičkog sistema u realnom vremenu. Za razliku od van Rosuma i saradnika koji su PBRTQC priključivali tradicionalnoj QC kod testova sa sigma vrednošću manjom od 4, mi smo, u pokušaju da objedinimo najbolje iz ova dva kontrolna koncepta, u ovoj studiji prikazali potencijalnu upotrebu MA kontrolnih procedura kod testova sa različitim vrednostima sigma metrike (98).

Kod testova sa *patient-risk* sigma vrednošću većom od 5 (albumin i holesterol), a pogotovu većom od 6 (AST, HDL-holesterol i kalijum), zamenili smo *monitor* SQC procedure, MA procedurama. Racionalno objašnjenje ove zamene se zasniva na 2 činioca: prvi je mali dnevni broj testova koji laboratorija radi u odnosu na veličinu serije između dva kontrolna merenja koju nam omogućava *start-up* pravilo, a drugi sposobnost optimizovanih MA procedura da otkrivaju *bias* kritične veličine u okviru dnevnog broja testova. Naime, za svih 5 ovih testova, veličina serije izračunata za *start-up* kontrolno pravilo je 1000 testova što je 6,6 do 33,3 puta više od maksimalnog dnevnog broja za svaki od tih testova. Istovremeno, za albumin, AST, HDL-holesterol i kalijum optimizovane MA procedure će otkriti *bias* kritične veličine u jednoj petini do četiri petine dnevnog broja rezultata, što ih čini pouzdanom zamenom za *monitor* SQC proceduru. U ovu grupu testova smo svrstali i holesterol, iako performanse njegove MA

procedure nisu tako dobre kao za prethodna 4 analita. Opravdanje za to smo našli u podacima da je sigma vrednost ovog testa visoka, a pri tome medijana broja rezultata koji su MA proceduri potrebni za otkrivanje kritičnog *bias*-a iznosi između jedne trećine i jedne polovine dnevnog broja testova za pozitivne *bias*-e, dok je za negativne *bias*-e broj potrebnih rezultata blizu maksimalnog dnevnog broja testova.

Na drugom kraju sigma skale, kod testova sa niskim ili graničnim performansama, kao što su u našem slučaju natrijum ($\sigma < 4$) ili kalcijum i ukupni proteini (sigma tek malo iznad 4), MA procedure takođe imaju svoje mesto, ali kao dopuna definisanoj *monitor* SQC proceduri. Naime, ovde je veličina serije između dva QC događaja neuporedivo manja nego kod testova sa sigmom $> 4,5$ i *monitor* SQC procedura je neophodna, ali s obzirom na dobre performanse MA procedura (odnosno sposobnost otkrivanja klinički značajnog *bias*-a), mišljenja smo da MA pruža dodatnu sigurnost između dva SQC događaja. U slučaju da se tada pojavi odstupanje u analitičkom sistemu, ono će biti signalizirano MA alarmom i tada možemo izvesti SQC ne čekajući interval predviđen planom i potvrditi ili opovrgnuti postojanje problema koji zahteva korektivnu akciju. Sposobnost MA procedure za natrijum da otkriva klinički značajan *bias* već u jednoj trećini dnevnog broja rezultata, omogućila nam je izbor jedne iste SQC *monitor* procedure za sve ispitivane testove, iako je izračunata veličina serije za natrijum diskretno manja u odnosu na maksimalni dnevni broj testova.

Kada su u pitanju testovi iz grupe srednje sigma metrike, bili smo oprezniji nego kod testova sa visokom sigma metrikom, uprkos činjenici da je i za njih veličina serije koju pokriva *start-up* pravilo 1000 testova, dakle višestruko veća od njihovog dnevnog broja. Postupili smo različito za hloride i kreatinin, a na osnovu karakteristika MA procedure. Pošto za hloride MA procedura otkriva klinički značajan *bias* u jednoj trećini dnevnog broja testova, svrstali smo ih u testove kod kojih je MA zamena za *monitor* SQC. U slučaju kreatinina, odlučili smo se da ipak zadržimo i *monitor* SQC proceduru, jer postojeća MA procedura za njega ne garantuje otkrivanje pozitivnog kritičnog *bias*-a u okviru dnevne produkcije testova.

Nezavisno od vrednosti sigma metrike testa, treba još napomenuti da smo, s obzirom na činjenicu da PBRTQC ima sposobnost otkrivanja i preanalitičkih i analitičkih grešaka, smatrali da dodavanje ove vrste procedura u QC plan može biti od višestruke koristi za laboratoriju (24, 66).

Rezultati našeg rada su u skladu sa stavovima autora koji su članovi IFCC WG: tradicionalna QC ostaje osnova QC plana, ali se ona uspešno dopunjuje i ojačava MA procedurama (109). Takođe se slažemo sa Westgardovim stanovištem (17) da uopšte ne treba odlučivati koja je od ove dve kontrole bolja, već da treba razumeti da su tradicionalna QC i MA najbolje kada se koriste zajedno i da samo tako one predstavljaju put ka unapređenju ukupnog kvaliteta laboratorijskog testiranja.

Kod izrade višestepenog QC plana, treba imati u vidu da povećanje učestalosti kontrolnih merenja neminovno povećava troškove laboratorije. To predstavlja poseban problem za male laboratorije, gde procentualno učešće kontrola u ukupnom dnevnom broju testova može postati neprihvatljiv trošak, čak i u slučaju testova sa dobrom sigma metrikom, za razliku od laboratorija sa velikim obimom testiranja (30). U tom smislu, smatramo značajnim što je naš rad pokazao da uključivanje PBRTQC procedura u plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku doprinosi i smanjenju troškova vezanih za QC, jer je za 5 od 10 ispitivanih testova ovakav koncept omogućio zamenu *monitor* SQC procedure optimizovanom MA procedurom. Radovi drugih autora su već pokazali da primena PBRTQC donosi značajne uštede kako novca tako i vremena (91).

Na ovom mestu, razmišljanje bi moglo ići i u drugom smeru: da li je laboratoriji sa malim dnevnim brojem testova uopšte potreban višestepeni omeđeni plan kontrole kvaliteta ili nam veličina serije izračunata za *start-up* kontrolnu proceduru pruža sigurnost u tačnost izdatih rezultata do kraja radnog dana? Mišljenja smo da je koncept sprovođenja QC jednom u 24 sata zastareo i da je potrebno menjati ga savremenim shvatanjima (20). Globalne inicijative imaju svoj puni smisao samo ako su široko prihvaćene na lokalnom nivou. U protivnom, i QC plan zasnovan na riziku i PBRTQC će ostati samo zanimljive mogućnosti ili pak QC strategije samo za velike referentne ili

univerzitetske laboratorije (89). Smatramo da svaka laboratorija, bez obzira na veličinu svog obima posla, ima i pravo i dužnost da prati savremene trendove u planiranju QC kako bi svojim korisnicima garantovala pouzdanost rezultata koje izdaje. U tom smislu, neophodno je uložiti napor u prilagođavanje opštih smernica u odnosu na potrebe ili mogućnosti konkretne laboratorije (104). Ovaj rad vidimo kao naš doprinos takvom razmišljanju: višestepena omeđena kontrola kvaliteta u laboratoriji sa malim dnevnim brojem testova – da, ali uz podešavanja na osnovu *patient-risk* sigma metrike i uz pomoć MA procedura.

5.7 PROBLEM TE_a KAO KLINIČKI ZNAČAJNOG BIAS-a I KAO MERE ZAHTEVA ZA KVALITET TESTA

Kada je reč o definisanju klinički značajnog *bias*-a, odnosno kritične greške, različiti autori su ga različito definisali (87). Mi smo odabrali TE_a kao kritični *bias*, sledeći preporuke IFCC radne grupe za PBRTQC. Oni navode da se optimizacija i validacija PBRTQC procedura često zasnivaju na pouzdanoj detekciji TE_a (106, 109). Takođe, u više radova koji se bave tehnikama kontrole kvaliteta, TE_a se smatra graničnom vrednošću za otkrivanje klinički značajne greške (9, 10, 92, 98, 118). Rezultat testa se smatra neprihvatljivim, ako njegova analitička greška prevazilazi TE_a (64). Takođe, jedan od ključnih parametara za izračunavanje sigma metrike, a time i veličine serije između dva QC merenja, jeste zahtev za kvalitet za konkretni test, u formi TE_a (104).

Kada se diskutuje o različitim izvorima podataka za TE_a, do danas nije izvršena njihova standardizacija ili harmonizacija, niti u aktuelnoj literaturi postoji konsenzus o ovom pitanju (50, 60). Na neki način, ostavljena je sloboda pojedinačnim laboratorijama da odaberu specifikaciju performansi prema sopstvenim praktičnim potrebama, odnosno da izaberu ciljeve koji su praktični i dostižni za testove koje rade. Stoga smo se mi odlučili za CLIA podatke (62), jer su još i pre otpočinjanja ove studije upravo oni korišćeni za izračunavanje sigma metrike u našoj laboratoriji i jer su nam te

performanse dostižne (50). Pri tome smo, naravno, svesni postojanja drugih i daleko strožijih specifikacija performansi, uključujući i one zasnovane na biološkoj varijaciji (57, 60, 98). Međutim, za neke testove, među kojima su i četiri ispitivana u našoj studiji (albumin, hloridi, kalcijum i natrijum), mala biološka varijacija dovodi do vrlo male TEa, odnosno zahtevi za kvalitet bazirani na biološkoj varijaciji su izuzetno strogi i za posledicu imaju niske vrednosti sigma metrike ovih testova. Pod takvim okolnostima neophodna su brojna višestruka pravila tradicionalne QC. S obzirom na to da je niska biološka varijacija povoljan faktor za performanse PBRTQC, onda se MA čini kao dobar dodatak tradicionalnoj QC kod ovih testova (87). Međutim, poznato je iz već objavljenih studija da čak i MA procedure teško otkrivaju TEa zasnovanu na biološkoj varijaciji (98). To nas može dovesti i do pitanja da li primenjujemo razumne kriterijume za analitičke performanse, ili ti kriterijumi predstavljaju suštinski nedostižne ciljeve sa našom trenutnom tehnologijom (43). Ipak, u našoj studiji smo ispitali i ovo i otkrili da se minimalna TEa zasnovana na biološkoj varijaciji može otkriti pomoću optimizovanih MA procedura u okviru dnevnog broja testova – uvek za AST i holesterol i u oko 50% slučajeva za albumin, ukupne proteine i natrijum (za poslednja dva, samo za pozitivan *bias*). Rezultati naše studije koji ukazuju da su analitičke specifikacije zasnovane na biološkoj varijaciji teško dostižne su u saglasnosti sa Kelesom i saradnicima (48). Oni su pokazali da čak i kada se koriste podaci proizvođača reagenasa o *bias*-u i nepreciznosti, samo polovina ispitivanih testova postiže sigma vrednosti veće od 6, dok četvrtina testova ne postiže sigma vrednosti veće od 3, ukoliko se za TEa koriste podaci zasnovani na biološkoj varijaciji (48). Yin i sar. su zaključili da je upotreba specifikacija kvaliteta zasnovana isključivo na biološkoj varijaciji kontroverzna i da se istovremeno moraju imati na umu dve stvari: medicinska namena testa i trenutno stanje *state-of-art* (metode, tehnologije, analizatori) (53). U tom smislu se nameće i zaključak da laboratorije treba da u svakodnevnom radu koriste TEa vrednosti koje su racionalne i dostižne, dok ciljevi zasnovani na biološkoj varijaciji treba da budu vodič proizvođačima laboratorijskih testova i opreme u cilju unapređivanja postojećih tehnologija i metoda (48).

U narednom periodu, mi ćemo svakako raditi i na unapređenju sigma metrike naših testova: smanjenje K_v i *bias*-a bi potencijalno moglo obezbediti i primenu strožijih TEa. Ovo je u skladu sa stavom Yin i sar. (52) da konačni cilj svake laboratorije treba da bude težnja ka dostizanju što višeg nivoa kvaliteta kroz kontinuirani proces unapređivanja.

5.8 DALJA ISTRAŽIVANJA - OGRANIČENJA STUDIJE

Što se tiče ograničenja naše studije, koja ujedno predstavljaju i prostor za dalja istraživanja, ona se pre svega odnose na činjenicu da su i optimizacija i implementacija MA procedura obavljene na 10 biohemijskih analita, a potom je i plan kontrole kvaliteta zasnovan na riziku izrađen samo za tih 10 testova. Trenutna situacija sa implementacijom PBRTQC je takva da se većina autora odlučuje upravo za pristup poput našeg: ovaj tip kontrole se prvo uvodi na nekoliko testova, a onda se primena postepeno proširuje i na ostale (87). Sva ta istraživanja trebalo bi proširiti na sve testove koje naša laboratorija radi, što će predstavljati poseban izazov kod onih analita koji imaju veliku biološku varijaciju, a mali broj zahteva za izvođenje. Takođe, bilo bi potrebno ispitati koliko će često u rutinskoj praksi MA procedure detektovati problem pre zakazane *monitor* SQC procedure.

6. ZAKLJUČCI

- Metod simulacije detekcije *bias*-a uspešno je primenjen na istorijski set rezultata pacijenata, čime je pokazano da je pogodan za specifično definisanje svih parametara MA procedura (formula, veličina bloka ili ponderskog faktora, granice odsecanja) koje mora biti izvršeno u svakoj pojedinačnoj laboratoriji.
- Pomoću MA Generator softverske aplikacije, na osnovu krivih detekcije *bias*-a i validacionih grafika, definisane su i optimizovane MA procedure za biohemijske analite koje su sposobne da otkrivaju klinički značajan *bias* u okviru dnevnog broja testova koje laboratorija radi. Za albumin, AST, HDL-holesterol, hloride, holesterol, kalcijum i natrijum odabrane su proste MA, a za kalijum, kreatinin i ukupne proteine EWMA procedure. Uvođenje granice odsecanja popravilo je performanse MA procedura za AST, kalijum i kreatinin.
- Optimizovane MA procedure su uspešno implementirane u LIS za svih deset ispitivanih biohemijskih analita i to kako za one sa velikim dnevnim brojem izvođenja (AST, HDL-holesterol, holesterol i kreatinin), tako i za one sa srednjim (kalijum i natrijum), ali i za one sa malim dnevnim brojem testova (albumin, hloridi, kalcijum i ukupni proteini). Time je, po prvi put u našoj zemlji, pokazano da je optimalne MA procedure moguće definisati i u medicinskim laboratorijama koje imaju mali dnevni obim testiranja.
- Implementirane MA procedure uspešno su primenjene za kontinuiranu analitičku kontrolu kvaliteta u realnom vremenu u rutinskom radu laboratorije. Stopa pojavljivanja MA alarma iznosila je 0,023%. Prema dostupnim literaturnim podacima ovaj kontrolni alat prvi put je u Srbiji primenjen na biohemijske analite.
- Za postupanje sa MA alarmima dizajniran je i uspešno primenjen algoritam koji obuhvata pregled rezultata pacijenata od strane biohemičara, ponovnu analizu

uzoraka pacijenata iz stabilnog perioda, analizu uzoraka unutrašnje kontrole kvaliteta i pregled neispravnosti analizatora i evidencije podataka o održavanju.

- Klasifikacija ispitivanih testova na osnovu sigma metrike pokazala je da albumin, AST, HDL-holesterol, holesterol i kalijum pripadaju kategoriji visoke sigme ($\sigma \geq 5,0$), hloridi i kreatinin srednjoj sigmi ($4,5 \leq \sigma < 5,0$), a kalcijum, natrijum i ukupni proteini niskoj sigma metrici ($3,5 \leq \sigma < 4,5$).
- Uspešno je napravljen QC plan zasnovan na riziku, uzimajući u obzir sigma metriku svakog ispitivanog testa, dnevni broj određivanja i željeni interval izdavanja rezultata. Kao *start-up* QC procedura odabrano je jedno višestruko QC pravilo koje odgovara za svih 10 ispitivanih testova - 1:3s/ 2 od 3:2s/ 3:1s N3 kontrolno pravilo. Za *monitor* QC proceduru, odabrano je jednostruko QC pravilo sa jednim merenjem koje opet odgovara svim ispitivanim testovima i to je 1:2s N1.
- MA procedure su integrisane u laboratorijski QC plan zasnovan na riziku, rukovodeći se pri tom kategorijom sigma metrike kojoj test pripada, ali i sposobnošću MA procedure za otkrivanje klinički značajnog *bias*-a u okviru dnevnog broja izvođenja testova u laboratoriji. Shodno tome, za albumin, AST, hloride, HDL-holesterol, holesterol i kalijum, *monitor* QC procedura je zamenjena MA procedurom. Sa druge strane, za kalcijum, kreatinin, natrijum i ukupne proteine MA procedura je pridodata *monitor* QC proceduri.
- Ovo naučno istraživanje je pokazalo da je u medicinskoj laboratoriji sa malim dnevnim obimom testiranja moguće uspešno izvršiti niz zadataka koji svi zajedno omogućavaju primenu kontrolnih procedura baziranih na rezultatima pacijenata u svakodnevnom radu laboratorije čime se ojačava QC plan i dodatno unapređuje kvalitet izdatih laboratorijskih rezultata.

7. LITERATURA

1. Makary MA, Daniel M. Medical error – the third leading cause of death in the US. *BMJ*. 2016;353:i2139. <https://doi.org/10.1136/bmj.i2139>.
2. Saber Tehrani AS, Lee H, Mathews SC, Shore A, Makary MA, Pronovost PJ, et al. 25-Year summary of US malpractice claims for diagnostic errors 1986–2010: an analysis from the National Practitioner Data Bank. *BMJ Qual Saf*. 2013;22:672–80. <https://doi.org/10.1136/bmjqs-2012-001550>.
3. Balogh EP, Miller BT, Ball JR. *Improving Diagnosis in Health Care*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2015. <https://doi.org/10.17226/21794>.
4. Vogeser M, Seger C. Irregular analytical errors in diagnostic testing – a novel concept. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56:386–96. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0454>.
5. Hallworth MJ. The ‘70% claim’: what is the evidence base? *Ann Clin Biochem*. 2011;48:487–8. <https://doi.org/10.1258/acb.2011.011177>.
6. Ngo A, Gandhi P, Miller WG. Frequency that Laboratory Tests Influence Medical Decisions. *J Appl Lab Med*. 2017;1:410–4. <https://doi.org/10.1373/jalm.2016.021634>.
7. Lubin IM, Astles JR, Shahangian S, Madison B, Parry R, Schmidt RL, et al. Bringing the clinical laboratory into the strategy to advance diagnostic excellence. *Diagnosis*. 2021;8:281–94. <https://doi.org/10.1515/dx-2020-0119>.
8. Miller GW, Sandberg S. Quality Control of the Analytical Examination Process. In: Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT (eds.) *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 6th ed. St. Louis: Elsevier Inc.; 2018. p. 121–156.

9. Badrick T, Cervinski M, Loh TP. A primer on patient-based quality control techniques. *Clin Biochem*. 2019;64:1-5.
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.12.004>.
10. Katayev A, Fleming JK. Past, present, and future of laboratory quality control: patient-based real-time quality control or when getting more quality at less cost is not wishful thinking. *J Lab Precis Med*. 2020;5:28. <https://doi.org/10.21037/jlpm-2019-qc-03>.
11. Karkalousos P, Evangelopoulos A. Quality Control in Clinical Laboratories. In: Ivanov O (ed). *Applications and Experiences of Quality Control*. InTech; 2011. p.331-361. Available from: <http://www.intechopen.com/books/applications-and-experiences-of-quality-control/quality-control-in-clinical-laboratories>.
12. Giannoli JM, Albarede S, Avellan T, Bouilloux JP, Cartier R, Cohen R, et al. Recommendations for the application and follow-up of quality controls in medical laboratories. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31:020501. <https://doi.org/10.11613/BM.2021.020501>.
13. Ceriotti F, Brugnoni D, Mattioli S. How to define a significant deviation from the expected internal quality control result. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53:913-8. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-1149>.
14. Levey S, Jennings ER. The use of Control Charts in the Clinical Laboratory. *Am J Clin Pathol*. 1950;20:1059-66. https://doi.org/10.1093/ajcp/20.11_ts.1059.
15. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem*. 1981;27:493-501.
16. Westgard JO, Groth T, Aronsson T, Falk H, de Verdier CH. Performance characteristics of rules for internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. *Clin Chem*. 1977;23:1857-67.
17. Bayat H, Westgard SA, Westgard JO. Multirule Procedures vs Moving Average Algorithms for IQC: An appropriate comparison reveals how best to combine

- their strengths. *Clin Biochem.* 2022;102:50–5.
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2022.01.001>.
18. Westgard JO. Internal quality control: planning and implementation strategies. *Ann Clin Biochem.* 2003;40:593–611.
<https://doi.org/10.1258/000456303770367199>.
 19. Schoenmakers CHH, Naus AJM, Vermeer HJ, van Loon D, Steen G. Practical application of Sigma Metrics QC procedures in clinical chemistry. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49:1837–43. <https://doi.org/10.1515/cclm.2011.249>.
 20. Rosenbaum MW, Flood JG, Melanson SE, Baumann NA, Marzinke MA, Rai AJ et al. Quality control practices for chemistry and immunochemistry in a cohort of 21 large academic medical centers. *Am J Clin Pathol.* 2018;150:96–104.
<https://doi.org/10.1093/ajcp/aqy033>.
 21. Parvin CA. Planning Statistical Quality Control to Minimize Patient Risk: It's About Time. *Clin Chem.* 2018;64:249–50.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.282038>.
 22. Bennett ST. Continuous improvement in continuous quality control. *Clin Chem.* 2016;62:1299–301. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.263244>.
 23. Li T, Wang W, Zhao H, He F, Zhong K, Yuan S, et al. Quality specification and status of internal quality control of cardiac biomarkers in China from 2011 to 2016. *J Clin Lab Anal.* 2018;32: e22324. <https://doi.org/10.1002/jcla.22324>.
 24. Badrick T, Bietenbeck A, Cervinski MA, Katayev A, van Rossum HH, Loh TP, on behalf of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Committee on Analytical Quality. Patient- based real-time quality control: review and recommendations. *Clin Chem.* 2019;65:962–71.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2019.305482>.

25. van Rossum HH, Kemperman H. Moving average for continuous quality control: time to move to implementation in daily practice? *Clin Chem.* 2017;63:1041-3. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.269258>.
26. Miller WG, Ereth A, Cunningham TD, Oladipo O, Scott MG, Johnson RE. Commutability Limitations Influence Quality Control Results with Different Reagent Lots. *Clin Chem.* 2011;57:76-83. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.148106>.
27. Miller WG, Greenberg N, Budd J, Delatour V. The evolving role of commutability in metrological traceability. *Clin Chim Acta.* 2021;514: 84-9. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.12.021>.
28. Howanitz PJ, Tetrault GA, Steindel SJ. Clinical laboratory quality control: a costly process now out of control. *Clin Chim Acta.* 1997;260:163-74. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(96\)06494-7](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(96)06494-7).
29. Elbireer A, Gable AR, Jackson JB. Cost of Quality at a Clinical Laboratory in a Resource-Limited Country. *Lab Med.* 2010;41:429-33. <https://doi.org/10.1309/LMCZ0ZFR80QWIBEM>.
30. Westgard JO, Bayat H, Westgard SA. Planning risk-based SQC schedules for bracketed operation of continuous production analyzers. *Clin Chem.* 2018;64:289-96. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.278291>.
31. CLSI C24-Ed4 Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne PA, 2016.
32. SRP EN ISO 15189:2014 Medicinske laboratorije - Zahtevi za kvalitet i kompetentnost
33. Parvin CA. What's New in Laboratory Statistical Quality Control Guidance? The 4th Edition of CLSI C24, Statistical Quality Control for Quantitative Measurement

- Procedures: Principles and Definitions. *J Appl Lab Med*. 2017;1:581–4.
<https://doi.org/10.1373/jalm.2016.022269>.
34. Westgard JO, Westgard SA. Establishing evidence-based statistical quality control practices. *Am J Clin Pathol*. 2019;151:364–70.
<https://doi.org/10.1093/AJCP/AQY158>.
 35. Yundt-Pacheco J, Parvin CA. Validating the Performance of QC Procedures. *Clin Lab Med*. 2013;33:75–88. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2012.11.006>.
 36. Yago M, Alcover S. Selecting statistical procedures for quality control planning based on risk management. *Clin Chem*. 2016;62:959–65.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.254094>.
 37. Parvin CA. Assessing the impact of the frequency of quality control testing on the quality of reported patient results. *Clin Chem*. 2008;54:2049–54.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.113639>.
 38. Westgard JO, Bayat H, Westgard SA. Planning SQC strategies and adapting QC frequency for patient risk. *Clin Chim Acta*. 2021;523:1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.08.028>.
 39. Bayat H, Westgard SA, Westgard JO. Planning Risk-Based Statistical Quality Control Strategies: Graphical Tools to Support the New Clinical and Laboratory Standards Institute C24-Ed4 Guidance. *J Appl Lab Med*. 2017;2:211–21.
<https://doi.org/10.1373/jalm.2017.023192>.
 40. Oosterhuis WP, Coskun A. Sigma metrics in laboratory medicine revisited: We are on the right road with the wrong map. *Biochem Med (Zagreb)*. 2018;28(2).
<https://doi.org/10.11613/BM.2018.020503>.
 41. Westgard S, Bayat H, Westgard JO. Analytical sigma metrics: A review of six sigma implementation tools for medical laboratories, *Biochem Med (Zagreb)*. 2018;28:020502. <https://doi.org/10.11613/BM.2018.020502>.

42. Nevalainen D, Berte L, Kraft C, Leigh E, Picaso L, Morgan T. Evaluating Laboratory Performance on Quality Indicators With the Six Sigma Scale. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124:516–9. <https://doi.org/10.5858/2000-124-0516-ELPOQI>.
43. Feldhammer M, Brown M, Colby J, Bryksin J, Milstid B, Nichols JH. A Survey of Sigma Metrics across Three Academic Medical Centers. *J Appl Lab Med*. 2021;6:1264–75. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfab028>.
44. Hens K, Berth M, Armbruster D, Westgard S. Sigma metrics used to assess analytical quality of clinical chemistry assays: importance of the allowable total error (TEa) target. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52:973–80. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-1090>.
45. Westgard JO, Westgard SA. Quality control review: implementing a scientifically based quality control system. *Ann Clin Biochem*. 2016;53:32–50. <https://doi.org/10.1177/0004563215597248>.
46. Panteghini M, Ceriotti F, Jones G, Oosterhuis W, Plebani M, Sandberg S. Strategies to define performance specifications in laboratory medicine: 3 years on from the Milan Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:1849–56. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0772>.
47. Survey on use of analytical goals. Available at www.westgard.com/global-goal-results.htm (Accessed 1st July 2021).
48. Keleş M. Evaluation of the clinical chemistry tests analytical performance with Sigma Metric by using different quality specifications - Comparison of analyser actual performance with manufacturer data. *Biochem Med (Zagreb)*. 2022;32:010703 <https://doi.org/10.11613/BM.2022.010703>.
49. Oosterhuis WP, Sandberg S. Proposal for the modification of the conventional model for establishing performance specifications. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53:925–37. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-1146>.

50. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53:833–5. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0067>.
51. Fraser CG, Kallner A, Kenny D, Petersen PH. Introduction: strategies to set global quality specifications in laboratory medicine. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999;59:477–8.
52. Yin L, Li G, Hu D. Application of quality specification based on biological variation in planning quality control strategy. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50:1843–4. <https://doi.org/10.1515/cclm-2011-0939>.
53. Lund F, Petersen PH, Fraser CG, Sölétormos G. Calculation of limits for significant bidirectional changes in two or more serial results of a biomarker based on a computer simulation model. *Ann Clin Biochem.* 2015;52:434–40. <https://doi.org/10.1177/0004563214555163>.
54. Perich C, Minchinela J, Ricós C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Doménech MV, et al. Biological variation database: structure and criteria used for generation and update. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53:299–305. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0739>.
55. Carobene A, Braga F, Roraas T, Sandberg S, Bartlett WA. A systematic review of data on biological variation for alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and γ -glutamyl transferase. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51:1997–2007. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0096>.
56. Panteghini M, Sandberg S. Defining analytical performance specifications 15 years after the Stockholm conference. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53:829–32. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0303>.

57. Carobene A, Aarsand AK, Bartlett WA, Coskun A, Diaz-Garzon J, Fernandez-Calle P, et al. The European Biological Variation Study (EuBIVAS): a summary report. *Clin Chem Lab Med*. 2022;60:505–17. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0370>.
58. Bartlett WA, Braga F, Carobene A, Coşkun A, Prusa R, Fernandez-Calle P, et al. A checklist for critical appraisal of studies of biological variation. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53:879–85. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-1127>.
59. Aarsand AK, Díaz-Garzón J, Fernandez-Calle P, Guerra E, Locatelli M, Bartlett WA, et al. The EuBIVAS: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Electrolytes, Lipids, Urea, Uric Acid, Total Protein, Total Bilirubin, Direct Bilirubin, and Glucose. *Clin Chem*. 2018;64:1380–93. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.288415>.
60. Westgard S, Petrides V, Schneider S, Berman M, Herzogenrath J, Orzechowski A. Assessing precision, bias and sigma-metrics of 53 measurands of the Alinity ci system. *Clin Biochem*. 2017;50:1216–21. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.09.005>.
61. Ricós C, Alvarez V, Cava F, García-Lario J, Hernández A, Jiménez C, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59:491–500. <https://doi.org/10.1080/00365519950185229>.
62. CLIA proficiency testing criteria for acceptable analytical performance. *Fed Regist*. 1992;57:7002-186. Available at <https://www.westgard.com/clia.htm> (Accessed 13th March 2019).
63. Jones GRD. Average of delta: a new quality control tool for clinical laboratories. *Ann Clin Biochem*. 2016;53:133–40. <https://doi.org/10.1177/0004563215581400>.
64. Ye JJ, Ingels SC, Parvin CA. Performance evaluation and planning for patient-based quality control procedures. *Am J Clin Pathol*. 2000;113:240–8. <https://doi.org/10.1309/V5BT-BAWP-1WBF-14W6>.

65. Bietenbeck A, Cervinski MA, Katayev A, Loh TP, van Rossum HH, Badrick T. Understanding Patient-Based Real-Time Quality Control Using Simulation Modeling. *Clin Chem*. 2020;66:1072–83. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa094>.
66. Badrick T, Bietenbeck A, Katayev A, van Rossum HH, Loh TP, Cervinski MA, on behalf of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Committee on Analytical Quality. Implementation of patient-based real-time quality control. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2020;57:532-547. <https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1765731>.
67. Hoffmann RG, Waid ME. The “Average of Normals” Method of Quality Control. *Am J Clin Pathol*. 1965;43:134–41. <https://doi.org/10.1093/ajcp/43.2.134>.
68. Cembrowski GS, Chandler EP, Westgard JO. Assessment of “Average of Normals” Quality Control Procedures and Guidelines for Implementation. *Am J Clin Pathol*. 1984;81:492–9. <https://doi.org/10.1093/ajcp/81.4.492>.
69. Lewis PW, Dixon K. Action limits for internal quality control. *Clin Chim Acta*. 1971;35:21–32. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(71\)90288-9](https://doi.org/10.1016/0009-8981(71)90288-9).
70. Begtrup H, Leroy S, Thyregod P. ‘Average of Normals’ Used as Control of Accuracy, and a Comparison with other Controls. *Scand J Clin Lab Invest*. 1971;27:247–53. <https://doi.org/10.3109/00365517109080215>.
71. Reed AH. Use of patient data for quality control of clinical laboratory tests. *Clin Chem*. 1970;16:129–34.
72. Lott JA, Smith DA, Mitchell LC, Moeschberger ML. Use of medians and “average of normals” of patients’ data for assessment of long-term analytical stability. *Clin Chem*. 1996;42:888–92.
73. Hansen SI, Petersen PH, Lund F, Fraser CG. Plasma creatinine medians from patients partitioned by gender and age used as a tool for assessment of analytical

- stability at different concentrations. *Clin Chem Lab Med.* 2019;58:69–76.
<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0334>.
74. Bietenbeck A, Thaler MA, Luppia PB, Klawonn F. Stronger together: Aggregated z-values of traditional quality control measurements and patient medians improve detection of biases. *Clin Chem.* 2017;63:1377–87.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.269845>.
 75. de Grande LAC, Goossens K, van Uytfanghe K, Stöckl D, Thienpont LM. The Empower project – a new way of assessing and monitoring test comparability and stability. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53: 1197-204. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0959>.
 76. Goossens K, Brinkmann T, Thienpont LM. On-line flagging monitoring – a new quality management tool for the analytical phase. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53: 2015;53:e269-e270. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0066>.
 77. Liu J, Tan CH, Badrick T, Loh TP. Moving standard deviation and moving sum of outliers as quality tools for monitoring analytical precision. *Clin Biochem.* 2018;52: 112–6. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.10.009>.
 78. Liu J, Tan CH, Badrick T, Loh TP. Moving sum of number of positive patient result as a quality control tool. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:1709–14.
<https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0950>.
 79. Cembrowski GS, Xu Q, Cervinski MA. Average of Patient Deltas: Patient-Based Quality Control Utilizing the Mean Within-Patient Analyte Variation. *Clin Chem.* 2021;67:1019–29. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab057>.
 80. Rossum HHV, Kemperman H. Implementation and application of moving average as continuous analytical quality control instrument demonstrated for 24 routine chemistry assays. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(8): 1142–1151.
<https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0696>.

81. van Rossum HH, Kemperman H. A method for optimization and validation of moving average as continuous analytical quality control instrument demonstrated for creatinine. *Clin Chim Acta*. 2016;457:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.03.008>.
82. Smith FA, Kroft SH. Exponentially Adjusted Moving Mean Procedure for Quality Control: An Optimized Patient Sample Control Procedure. *Am J Clin Pathol*. 1996;105:44-51. <https://doi.org/10.1093/ajcp/105.1.44>.
83. Linnet K. The exponentially weighted moving average (EWMA) rule compared with traditionally used quality control rules. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44:396-9. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.077>.
84. Neubauer AS. The EWMA control chart: properties and comparison with other quality-control procedures by computer simulation. *Clin Chem*. 1997;43:594-601.
85. Bull BS, Elashoff RM, Heilbron DC, Couperus J. A Study of Various Estimators for the Derivation of Quality Control Procedures from Patient Erythrocyte Indices. *Am J Clin Pathol*. 1974;61:473-81. <https://doi.org/10.1093/ajcp/61.4.473>.
86. Cembrowski GS, Westgard JO. Quality Control of Multichannel Hematology Analyzers: Evaluation of Bull's Algorithm. *Am J Clin Pathol*. 1985;83:337-45. <https://doi.org/10.1093/ajcp/83.3.337>.
87. Li Y, Yu Q, Zhang X, Chen X. Comparison and optimization of various moving patient-based real-time quality control procedures for serum sodium. *J Clin Lab Anal*. 2021;35:e23985. <https://doi.org/10.1002/jcla.23985>.
88. Li T, Cao S, Wang Y, Xiong Y, He Y, Ke P, et al. Moving Rate of Positive Patient Results as a Quality Control Tool for High-Sensitivity Cardiac Troponin T Assays. *Ann Lab Med*. 2021;41:51-9. <https://doi.org/10.3343/alm.2021.41.1.51>.
89. Cervinski MA. Pushing Patient-Based Quality Control Forward through Regression. *Clin Chem*. 2021;67:1299-300. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab155>.

90. van Rossum HH, Huijsman MN, Meeues C, van den Broek D. Optimization and validation of moving average quality control for the INR and aPTT coagulation tests. *J Lab Precis Med.* 2020;5:27-7. <https://doi.org/10.21037/jlpm-19-104>.
91. Fleming JK, Katayev A. Changing the paradigm of laboratory quality control through implementation of real-time test results monitoring: For patients by patients. *Clin Biochem.* 2015;48:508-13. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.12.016>.
92. van Rossum HH. Moving average quality control: Principles, practical application and future perspectives. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57:773-82. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0795>.
93. Sampson ML, Gounden V, van Deventer HE, Remaley AT. CUSUM-Logistic Regression analysis for the rapid detection of errors in clinical laboratory test results. *Clin Biochem.* 2016;49:201-7. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.10.019>.
94. Ng D, Polito FA, Cervinski MA. Optimization of a moving averages program using a simulated annealing algorithm: The goal is to monitor the process not the patients. *Clin Chem.* 2016;62:1361-71. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.257055>.
95. Westgard JO, Smith FA, Mountain PJ, Boss S. Design and assessment of average of normals (AON) patient data algorithms to maximize run lengths for automatic process control. *Clin Chem.* 1996;42:1683-8.
96. Zhou Q, Loh TP, Badrick T, Lim CY. Impact of combining data from multiple instruments on performance of patient-based real-time quality control. *Biochem Med (Zagreb).* 2021;31:020705. <https://doi.org/10.11613/BM.2021.020705>.
97. Loh TP, Bietenbeck A, Cervinski MA, Katayev A, van Rossum HH, Badrick T. Recommendations for laboratory informatics specifications needed for the

- application of patient- based real time quality control. *Clin Chim Acta*. 2019;495:625–9. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.06.009>.
98. van Rossum HH, van den Broek D. Design and implementation of quality control plans that integrate moving average and internal quality control: Incorporating the best of both worlds. *Clin Chem Lab Med*. 2019;57:1329–38. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0027>.
 99. van Rossum HH, Kemperman H. Optimization and validation of moving average quality control procedures using bias detection curves and moving average validation charts. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:218–24. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0270>.
 100. Badrick T, Bietenbeck A, Cervinski MA, Katayev A, Loh TP, van Rossum HH. Introducing the WG on patient based real time quality control. *IFCC e-news*. 2019;9:8–10.
 101. MA generator. Available at: www.huvaros.com. (Accessed: March 2nd 2020).
 102. Liu J, Tan CH, Loh TP, Badrick T. Verification of out-of-control situations detected by “average of normal” approach. *Clin Biochem*. 2016;49:1248–53. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.07.012>.
 103. Run – size calculator. Available at: http://tools.westgard.com/frequency_calculator3.shtml. (Accessed: November 10th 2021).
 104. Westgard SA, Bayat H, Westgard JO. A multi-test planning model for risk based statistical quality control strategies. *Clin Chim Acta*. 2021;523:216–23. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.09.020>.
 105. van Rossum HH, van den Broek D. Ten-Month Evaluation of the Routine Application of Patient Moving Average for Real-Time Quality Control in a Hospital Setting. *J Appl Lab Med*. 2020;5:1184–93. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa071>.

106. Loh TP, Bietenbeck A, Cervinski MA, van Rossum HH, Katayev A, Badrick T. Recommendation for performance verification of patient-based real-time quality control. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58:1205–13. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1024>.
107. Zeng Y, He H, Qin K, Zhang M, An Z, Huang H. Practical application of the sigma-metric run size nomogram for multistage bracketed statistical quality control analysis of eight enzymes. *Clin Chim Acta.* 2019;492:57–61. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.006>.
108. Coşkun A, Çavuşoğlu C, Serteser M, Serdar M, Kilercik M, Aksungar F, et al. Truncation limits of patient-based real-time quality control: a new model derived from between-subject biological variations. *Clin Chem Lab Med.* 2021;59:e133–e136. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0111>.
109. van Rossum HH, Bietenbeck A, Cervinski MA, Katayev A, Loh TP, Badrick TC. Benefits, limitations, and controversies on patient-based real-time quality control (PBRTQC) and the evidence behind the practice. *Clin Chem Lab Med.* 2021; 59:1213–20. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0072>.
110. Theodorsson E. Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry. *Bioanalysis.* 2012;4:305–20. <https://doi.org/10.4155/bio.11.311>.
111. Ioannidis JPA. The reproducibility wars: successful, unsuccessful, uninterpretable, exact, conceptual, triangulated, contested replication. *Clin Chem.* 2017;63:943–5. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.271965>.
112. Ng DP, Herman DS. How to Implement Patient-Based Quality Control: Trial and Error. *J Appl Lab Med.* 2020;5:1153–5. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa132>.
113. van Rossum HH. When internal quality control is insufficient or inefficient: Consider patient-based real-time quality control! *Ann Clin Biochem.* 2020;57:198–201. <https://doi.org/10.1177/0004563220912273>.

114. Tolan N, Parnas ML, Baudhuin LM, Cervinski MA, Chan AS, Holmes DT, et al. "Big Data" in Laboratory Medicine. *Clin Chem*. 2015;61:1433–40. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.248591>.
115. Hinge M, Lund ED, Brandslund I, Plesner T, Madsen JS. Patient pools and the use of "patient means" are valuable tools in quality control illustrated by a bone-specific alkaline phosphatase assay. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54:403–6. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0308>.
116. Goossens K, van Uytvanghe K, Twomey PJ, Thienpont LM, Participating Laboratories. Monitoring laboratory data across manufacturers and laboratories – A prerequisite to make "Big Data" work. *Clin Chim Acta*. 2015;445:12–18. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.03.003>.
117. Herman DS, Rhoads DD, Schulz WL, Durant TJS. Artificial Intelligence and Mapping a New Direction in Laboratory Medicine: A Review. *Clin Chem*. 2021;67:1466–82. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab165>.
118. Duan X, Wang B, Zhu J, Shao W, Wang H, Shen J, et al. Assessment of patient-based real-time quality control algorithm performance on different types of analytical error. *Clin Chim Acta*. 2020;511:329–35. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.10.006>.

8. BIOGRAFIJA AUTORA

Vera Lukić je rođena 1975. godine u Bijeljini gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1993/94. godine, a diplomirala 01.11.1999. sa prosečnom ocenom 8,74. Specijalističke studije iz Kliničke biohemije na Medicinskom fakultetu u Beogradu završila je polaganjem specijalističkog ispita 25.06.2008. godine sa ocenom „odličan“. Doktorske akademske studije - modul Medicinska biohemija na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2016/2017. Dobitnica je godišnje nagrade najboljim studentima doktorskih akademskih studija Farmaceutskog fakulteta koja joj je dodeljena 22.10.2019.

Od 2001. godine je zaposlena u Zavodu za zdravstvenu zaštitu radnika “Železnice Srbije” u Beogradu, gde i danas radi na mestu načelnika Odeljenja za laboratorijska ispitivanja.

Član je Sekcije za kliničku biohemiju Srpskog lekarskog društva i Izvršnog odbora Društva medicinskih biohemičara Srbije, a od 2020. godine i član Akademije Evropske federacije za laboratorijsku medicinu (EFLM) sa sertifikatom evropskog specijaliste laboratorijske medicine (EuSpLM).

Od 2013. godine je mentor za deo specijalističkog staža za specijalizante Kliničke biohemije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, a od 2018. godine takođe i mentor praktične nastave za studente osnovnih i specijalističkih studija Medicinske biohemije Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Autor je 4 rada objavljena u celosti i 14 objavljenih sažetaka sa međunarodnih skupova. Dobitnica je nagrade za najbolji poster na skupu *14th EFLM Continuous Postgraduate Course in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* održanom 2014. godine u Dubrovniku. Do sada je održala 9 predavanja na međunarodnim i 11 na domaćim stručnim skupovima. Jedan je od predavača u EFLM projektu *Syllabus course*.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Вера Лукић

Број индекса 28/2016

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

“Примена *moving average* процедура као додатног алата за континуирану контролу квалитета аналитичког рада у медицинској лабораторији”

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 06.07.2022.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Вера Лукић

Број индекса 28/2016

Студијски програм Медицинска биохемија

Наслов рада “Примена *moving average* процедура као додатног алата за континуирану контролу квалитета аналитичког рада у медицинској лабораторији”

Ментор dr sc. Светлана Игњатовић, редовни професор,
Фармацеутски факултет - Универзитет у Београду

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 06.07.2022.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

“Примена *moving average* процедура као додатног алата за континуирану контролу квалитета аналитичког рада у медицинској лабораторији”

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 06.07.2022.

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.