

МИНИСТЕРСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДЕЛАМ
ГРАЖДАНСКОЙ ОБОРОНЫ, ЧРЕЗВЫЧАЙНЫМ СИТУАЦИЯМ
И ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ СТИХИЙНЫХ БЕДСТВИЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
имени А.М.Никифорова»

**Методика валидации лабораторного метода
как способ расширения диагностических
возможностей многопрофильного
стационара**

Учебно-методическое пособие

Санкт-Петербург
2022

Методика валидации лабораторного метода как способ расширения диагностических возможностей многопрофильного стационара: ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России. – СПб. : ИПЦ «Измайловский», 2022. - 33 с.

Авторы: к.б.н. Алхутова Н.А., к.м.н. Ковязина Н.А., д.б.н. профессор Зыбина Н.Н., д.м.н. профессор Калинина Н.М., Бояркина М.П.

В учебно-методическом пособии представлена информация о проведении валидационного исследования, которое является обязательным этапом при разработке новых или модификации стандартных методик. Валидация представляет собой документально оформленное подтверждение пригодности определенной методики, процедуры, процесса или системы для использования в определенных целях (ТКП 030-3013 «Надлежащая производственная практика»). Учебно-методическое пособие содержит вариант валидации модифицированной комбинации тестов для определения риска злокачественных опухолей яичника (индекса ROMA), при использовании методов Ca125 «Architect», Abbott (США) и Ca125 «Access2», Beckman Coulter (США). Приводятся критерии пригодности системы реагентов для расчета индекса ROMA, которые содержатся в перечне выбранных валидационных характеристик. Приведенный в учебно-методическом пособии пример валидационного исследования может быть использован для расширения диагностических возможностей лабораторий многопрофильных стационаров. Приведен пример развернутого отчёта о выполненном исследовании опухолевого маркера СА-125. Приводятся вопросы для проверки усвоенного материала.

Учебно-методическое пособие предназначено для практического применения в медицинских учреждениях МЧС России, поликлиниках (лазаретах) вузов и спасательных формирований МЧС России, имеющих лаборатории, врачами различных специальностей, специалистами клинической лабораторной диагностики для планирования и обеспечения качества исследований. Оно рекомендуется для использования в образовательном процессе института ДПО «Экстремальная медицина» ФГБУ ВЦЭРМ им.А.М. Никифорова МЧС России при реализации вариативной части образовательных программ высшего образования в ординаторе и аспирантуре по специальностям 31.08.05 Клиническая лабораторная диагностика, 31.08.05 Терапия, 30.08.05 Клиническая лабораторная диагностика, а также при проведении циклов повышения квалификации врачей и специалистов по лабораторной диагностике.

Рецензенты:

Печеникова В. А. - д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России;

Леонтьев О.В. – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедры терапии и интегративной медицины института дополнительного профессионального образования «Экстремальная медицина» ФГБУ ВЦЭРМ им А.М. Никифорова МЧС России.

Содержание

Введение.....	4
1. Проблемы диагностики рака яичников.....	5
2. Общие положения.....	9
3. Организация и порядок проведения метода валидации	10
3.1. Оценка правильности результатов исследования	11
3.2. Оценка прецизионности результатов исследований	14
3.3. Оценка сходимости результатов исследования	14
3.4. Оценка воспроизводимости результатов исследования	15
3.5. Точность результатов исследования	16
4. Протокол валидации	22
Заключение.....	24
Приложение.....	25
Контрольные вопросы.....	27
Список литературы.....	29
Учебно-методическое и информационное обеспечение.....	32

Введение

Интенсивное развитие лабораторной медицины, доступность и разнообразие новейшего аналитического оборудования и систем реагентов существенно расширили диагностические возможности лабораторий многопрофильных стационаров, позволили внедрить в практику новые, более чувствительные и специфичные, методы исследования. В то же время, возросшие требования к функциональным характеристикам лабораторных тестов обуславливают актуальность внедрения в деятельность лаборатории надежных инструментов обеспечения их качества, в частности – валидации. Валидация представляет собой документально оформленное подтверждение пригодности методики, процедуры, процесса или системы для использования в определенных целях (ТКП 030-3013 «Надлежащая производственная практика»). Проведение валидационного исследования является обязательным этапом при разработке новых или модификации стандартных методик. Однако лаборатории при проведении валидации сталкиваются с определенными трудностями, которые связаны со следующими несоответствиями:

- в деятельность лабораторий не входит в обязательном порядке внедрение валидации методик/методов;
- отсутствуют нормативные требования по проведению методики валидации;
- отсутствует достаточная квалификация у сотрудников лаборатории для проведения валидации методов/методик (несоответствие п.5.4 ISO/IEC 17025).

Учебно-методическое пособие содержит вариант валидации модифицированной комбинации тестов для определения риска злокачественных опухолей яичника (индекса ROMA), подтверждающей единство измерений концентрации опухолевого антигена Ca125 при использовании аналитических методов Ca125 «Architect», Abbott (США) и Ca125 «Access2», Beckman Coulter (США). Приводятся критерии пригодности системы реагентов для расчета индекса ROMA, которые содержатся в перечне предложенных в учебно-методическом пособии валидационных характеристик.

Приводится протокол валидации с перечнем валидационных характеристик рассмотренных аналитических систем.

Учебно-методическое пособие может быть использовано при проведении циклов повышения квалификации врачей различных специальностей, специалистов клинической лабораторной диагностики, в образовательном процессе студентов медицинских и биологических факультетов. Приведенный в учебно-методическом пособии пример валидационного исследования может быть использован для расширения диагностических возможностей лабораторий многопрофильных стационаров с сопоставимыми показателями аналитического качества.

1. Проблемы диагностики рака яичников

В Европе смертность от рака яичников (РЯ) составляет 3,6-9,3 на 100 000 и занимает 4 место среди наиболее частых причин смерти женщин. До настоящего времени около 70 % вновь выявленных случаев РЯ представляют собой распространенный опухолевый процесс. Данное обстоятельство является причиной низкой пятилетней выживаемости больных РЯ (35 % для всех стадий) [12, 14, 15]. Однако на основе стохастической модели показано, что изменение РЯ на момент постановки диагноза с III стадии на I стадию увеличивает продолжительность жизни до 3,4 года для каждого больного [19] и снижает смертность на 43 % [22]. Шанс достичь пятилетней выживаемости имеют 9 из 10 женщин, у которых РЯ был выявлен на I стадии [25], 7 из 10 женщин при выявлении РЯ на II стадии и менее чем 20 % женщин при обнаружении поздней стадии заболевания [17].

В 90 % случаев РЯ имеет эпителиальное происхождение, 80-85 % из которых, в свою очередь, относятся к серозному, 10 % - к эндометриоидному, а 5 % - к светлоклеточному типу опухоли. Эндометриоидные и светлоклеточные опухоли относительно хорошо выявляются на ранних стадиях, в отличие от серозных, 72 % которых на момент выявления соответствуют III или IV стадии

по классификации Международной организации Гинекологов и Акушеров (FIGO).

По молекулярно-генетическим характеристикам опухолевые клетки подразделяются на две группы. Опухоли второго типа являются высокодифференцированными биологически агрессивными опухолями, имеют нестабильность и мутацию в гене TP53. Серозные опухоли яичников относятся ко второй группе опухолей. Выделяют наследственно обусловленные опухоли яичников (5-10 %), связанные с мутациями BRCA1 и BRCA2, которые также относятся ко второй группе. Женщины с мутациями BRCA1 имеют риск развития РЯ от 26 % до 54 %, с мутацией BRCA2 от 10 % до 23 %.

Рак яичников не имеет явно выраженных и специфичных симптомов, часто воспринимается как проявление аднексита и других неопухолевых заболеваний малого таза. Несмотря на то, что большую часть выявленных случаев образований в малом тазу составляют доброкачественные опухоли, до проведения оперативного вмешательства необходимо оценить риск наличия злокачественного процесса [14, 29]. В настоящее время существуют следующие методы диагностики РЯ: клинический осмотр, лучевые методы визуализации, генетическое консультирование и лабораторные исследования биомаркеров [7, 16, 21]. Определение уровня СА125 в сыворотке крови входит в алгоритм ведения пациенток с раком яичников (РЯ). Уровень СА125 составляет более 35 Ед / мл примерно у 95-99 % женщин на III-IV стадии серозного рака яичников [28] и лишь у 1-5 % здоровых женщин; у женщин в постменопаузе дискриминационный уровень ниже 35 Ед / мл [27]. Известно, что уровень СА 125 в 50-60 % случаев повышен на ранней стадии РЯ, 80-90 % на стадии II и в более 90 % на стадиях III и IV. Специфичность этого теста (при использовании границы принятия клинического решения равной 35 Ед/мл) для женщин старше 50 лет составляет 98,5 % [7].

Однако в настоящее время этот маркер одобрен отечественными и зарубежными профессиональными сообществами и организациями лишь только для мониторинга лечения и выявления рецидивов заболевания [16, 25].

Ca-125 ассоциирован в основном с серозным типом РЯ. Ca125 – это эпитоп трансмембранного гликопротеина муцина-16, который продуцируется целомическим эпителием, входит в состав слизистой оболочки дыхательного, пищеварительного и урогенитального трактов и в некотором количестве находится в бронхоальвеолярной, внутрибрюшинной и плевральной жидкостях.

Вследствие своего происхождения, Ca125 не продуцируется при развитии неэпителиальных опухолей яичников, не экспрессируется в эпителиальных опухолях слизистого типа, и его уровень также остается в пределах референтных значений в 40-60 % случаев при плоскоклеточных и железисто-плоскоклеточных опухолях яичников и эндометрия [23, 25].

Применение УЗИ в качестве скринингового метода имеет клиническую чувствительность по данным крупномасштабного многоцентрового исследования UKSTOCS в Великобритании (2009 г.) - 75 % [24], по данным Национального руководства по онкологии (2008 г.) – 100 % [16]. Имеются данные о чувствительности и специфичности более совершенных методов визуализации, таких как ПЭТ и КТ, которые составили 100 % и 92,5 % при обследовании 97 женщин с новообразованиями малого таза [12]. Данные о чувствительности и специфичности МРТ как наиболее точного метода лучевой диагностики относительно РЯ в литературе не представлены. Стоимость КТ, ПЭТ и МРТ исследований считается слишком высокой для проведения скринингового обследования популяции.

Определение уровня опухолевого антигена HE4 служит способом получения дополнительной диагностической информации, поскольку его повышение, по мнению многих авторов, является наиболее точным лабораторным предиктором злокачественного процесса в отношении серозноклеточного РЯ [14, 20]. HE4 (белок 4 эпидермиса человека) принадлежит семейству ингибиторов протеиназ. Это кислый гликопротеин с четырьмя дисульфидными связями в ядре, с предполагаемыми свойствами ингибитора трипсина. Ген HE4 кодирует белок с молекулярной массой 20-25 кДа. Биологическая функция HE4 неизвестна. Предполагается, что он обладает

антипротеазной и противовоспалительной активностью. Белок HE4 в небольших количествах присутствует в нормальном эпителии репродуктивных органов, верхних дыхательных путей и поджелудочной железы. Повышенная продукция белка выявлена при раке яичников и эндометрия, редко - при распространенной форме аденокарциномы легких. Отдельные гистологические типы рака яичника, такие как герминогенные и мукоидные, редко экспрессируют HE4 [20, 26]. Показано, что чувствительность определения белка HE4 для выявления РЯ (особенно на ранних стадиях заболевания) составляет 67 % при специфичности 96 %. При этом комплексное использование HE4 и Ca125 повышает диагностическую чувствительность до 76 % при сопоставимой специфичности. Применение комплекса HE4 и Ca125 позволяет снизить количество ложноположительных результатов лабораторного обследования по сравнению с использованием только одного Ca125 [14, 26]. Разработан алгоритм расчета риска злокачественных опухолей яичника (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) ROMA, который учитывает значение концентраций белка HE4 и опухолевого антигена Ca125, а также менопаузальный статус женщин [18]. При этом Американская FDA U.S. (Food and Drug Administration) ограничила перечень тест-систем для определения опухолевого маркера Ca125. Определить индекс ROMA можно, используя или открытую иммуноферментную систему фирмы HE4 + Ca125 «Fujirebio», Швеция или закрытую систему HE4 + Ca125 «Architect», Abbott, США [18].

Достаточно узкий перечень тест – систем, пригодных по рекомендации U.S. FDA для расчета индекса ROMA, ограничивает диагностические возможности пациентов и врачей клиницистов. Однако U.S. FDA допускает использование других систем реагентов для расчета индекса ROMA при условии проведения собственной процедуры валидации. В этом случае на основании проведенного валидационного исследования с использованием формулы расчета индекса ROMA, указанного производителем тест-системы, рекомендуется самостоятельно определить критический уровень ROMA в зависимости от менопаузального статуса пациентов [18].

2. Общие положения

Согласно СТБ ИСО/МЭК 17025 «лаборатория должна валидировать нестандартные методы, разработанные лабораторией, стандартные методы, применяемые для более широких целей, чем они предназначены, а также усложненные и модифицированные стандартные методы, чтобы подтвердить, что данные методы подходят для применения по назначению».

Поскольку валидации подлежат ранее введенные в использование методы после внесения в них изменений условий проведения и/ или замены применяемых средств измерений и/или оборудования, целью настоящей валидации метода определения опухолевого маркера Ca125 «Access2», Beckman Coulter (США) для расчета индекса ROMA является:

- доказательство единства измерений содержания опухолевого антигена

Ca125, полученных с применением тест – систем «Architect» Ca125, Abbott (США) и Ca125 «Access2», Beckman Coulter (США), для использования их в клиничко-диагностических лабораториях, аккредитованных в установленном порядке на проведение этих исследований [2, 3, 4, 5, 6, 8, 9].

- установление пригодности использования комбинации тестов Ca125 «Access2», Beckman Coulter (США) и HE4 «Fujirebio», Швеция, для расчета индекса ROMA [8, 9, 10, 11].

Процедуру валидации проводят с применением оборудования и средств измерения, аттестованных и внесенных в реестр Госстандартом России или Минздравом России. Средства измерения должны иметь документы, подтверждающие их поверку или калибровку, выданные организациями, уполномоченными на соответствующий вид деятельности [13].

Согласно руководству ЕС по принципам надлежащей практики (GMP) «документированным подтверждением обоснованности (правильности) выбора методики испытаний, гарантирующее получение ожидаемых и воспроизводимых результатов, соответствующих поставленной цели - является валидация методики испытаний» [6, 13].

Перечень определяемых валидационных параметров тест - систем в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»:

1. Правильность (смещение метода измерений);
2. Прецизионность (сходимость, внутрилабораторная и межлабораторная воспроизводимость);
3. Линейность;
4. Предел количественного определения;
5. Специфичность;
6. Чувствительность.

Учитывая, что U.S. FDA рекомендовала Ca125 «Architect», Abbott для расчета индекса ROMA, указанная тест - система является референтной, а Ca125 «Access2», Beckman Coulter тест - системой сравнения.

3. Организация и порядок проведения метода валидации

Для проведения собственной процедуры валидации тестов «Architect» Ca125, Abbott (США) и Ca125 «Access2», Beckman Coulter (США) с расчетом индекса ROMA исследовали 18 и 25 образцов сыворотки крови женщин в постменопаузе и пременопаузе соответственно (n =43). Этим же пациентам определяли опухолевый маркер Ca125 «Fujirebio», Швеция. Материалом для исследования служили образцы сыворотки крови женщин. Кровь забирали утром натощак в вакуумные пробирки, центрифугирование проводили при 2900 об/мин, 10 мин. Допускалось однократное замораживание до -20° С с последующим оттаиванием при комнатной температуре [2].

Внутрилабораторный контроль качества и оценку воспроизводимости проводили с помощью контрольного материала Lyphochek Tumor Marker Plus, lot 4570, BIO-RAD, США [10]. Внешний контроль качества проводили на основании результатов участия в международной системе внешней оценки качества EQAS, Bio-Rad, США. Опухолевый маркер Ca125 определяли иммуно-хемилюминесцентным методом на анализаторах «Access2», Beckman Coulter,

США и «Architect», Abbott, США. Анализируемое вещество в калибраторах «Access2» Ca125 (OV Monitor Calibrators) соответствует стандартам рабочих калибраторов производителя. Соответствие заводских стандартов основано на стандарте EN ISO 17511 (данные, содержащиеся в инструкции к системе реагентов). Единого международного признанного стандарта для Ca 125 на сегодняшний день не существует. Белок HE4 определяли иммуноферментным методом с использованием тест-системы HE4 «Fujirebio», Швеция и комплексного анализатора SUNRISE, TEKAN, США. Концентрацию белка HE4 рассчитывали с помощью компьютерной программы MAGELAN. Индекс ROMA рассчитывали по формулам, указанным в инструкции к системе реагентов для определения белка HE4. Нормальный верхний предел определений Ca125 на обоих анализаторах составляет 35,0 ЕД/мл. Преаналитический этап соответствовал рекомендациям, содержащимся в инструкциях к наборам реагентов. Экспериментальная часть была проведена в течение пяти дней [6,13].

3.1. Оценка правильности результатов исследования

В клинико-диагностической лаборатории основным способом оценки правильности является участие в системе внешней оценки качества (ВОК). Более того, в литературных источниках встречается мнение специалистов лабораторной диагностики, что «смещение, полученное из результатов внешней оценки качества, является единственным показателем правильности лабораторных измерений» [1].

Наша лаборатория участвует в ВОК более 10 лет. Накопленный опыт за столь длительный период позволил провести ретроспективный анализ участия в ВОК Ca125 «Access2» и использовать полученные в EQAS 2014 г. результаты для проведения данного исследования. Протоколы международного контроля качества EQAS по определению Ca125 на автоматических анализаторах «Access2», Beckman Coulter и Ca125 «Architect», Abbott за 2014 год представлены на рис.1 и 2.

Beckman Coulter Access, LXi 725, DxC 600i IA Systems (U/mL)

Batch #	1			2			3			4		
Sample #	3	6	9	4	8	11	2	5	10	1	7	12
Lab Result	22.45	23	21.6	33.1	32	-	-	62.3	63.6	-	95.15	89.1
Comparator Mean	23.5	24.3	23.3	32.3	32.1	32.2	62.3	62.9	62.0	92.1	92.3	93.6
Comparator Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer
Your Lab's Z-score	-0.68	-0.74	-1.63	0.48	-0.06	-	-	-0.15	0.35	-	0.59	-0.86
Your Batch Z-score	-0.80			0.19			0.14			-0.11		
Reference Values												

	Batch 1: Cycle Comparative Statistics						Batch 2: Cycle Comparative Statistics					
	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias
Your Mode <input checked="" type="radio"/>	611	23.0	2.00	8.70	0.202	-2.74	599	31.6	2.55	8.07	0.261	2.95
Your Method <input checked="" type="checkbox"/>	2415	19.4	2.53	13.0	0.129	15.1	2412	26.7	3.64	13.6	0.185	22.0
Your Peer <input checked="" type="radio"/>	140	23.7	1.64	6.92	0.346	-5.55	140	32.2	1.90	5.89	0.400	1.09
	Batch 3: Cycle Comparative Statistics						Batch 4: Cycle Comparative Statistics					
	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias
Your Mode <input checked="" type="radio"/>	604	60.9	5.35	8.78	0.544	3.31	579	90.3	7.65	8.48	0.795	2.07
Your Method <input checked="" type="checkbox"/>	2398	48.8	6.64	13.6	0.339	29.0	2330	71.7	9.99	13.9	0.517	28.4
Your Peer <input checked="" type="radio"/>	135	62.4	4.08	6.55	0.879	0.947	130	92.7	5.56	6.00	1.22	-0.654

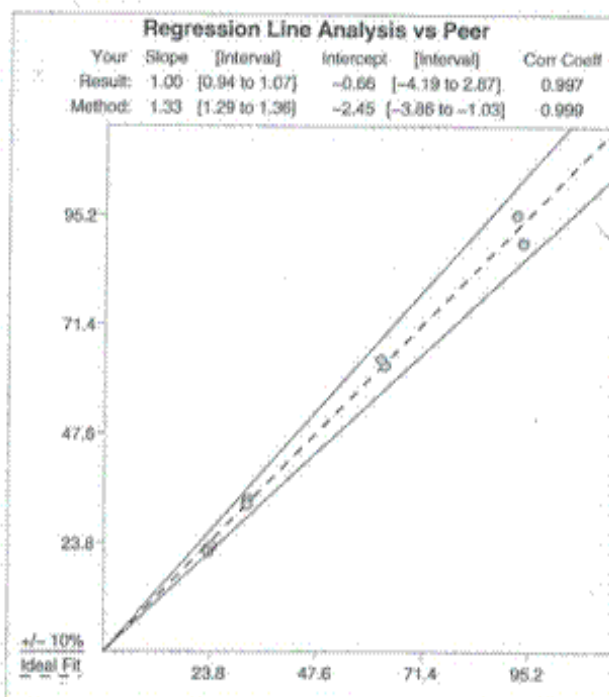
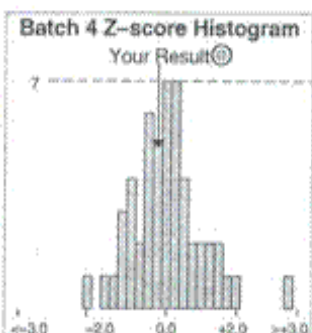
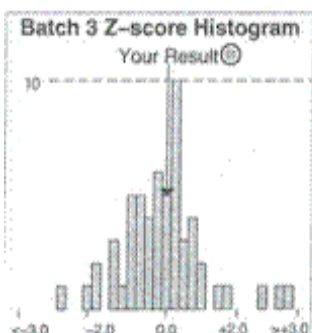
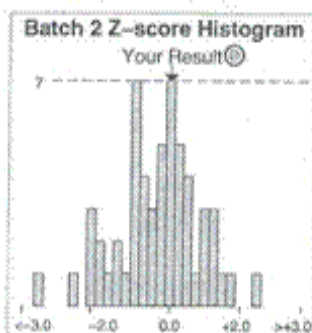
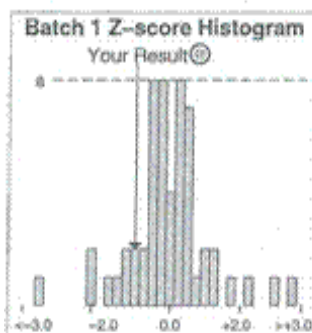
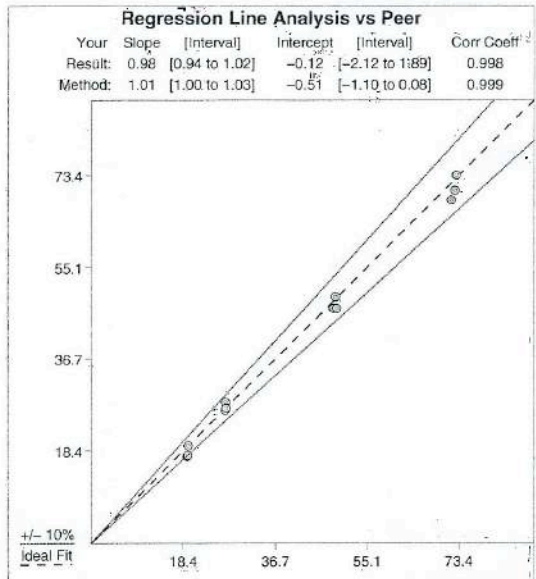
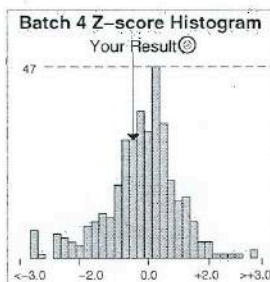
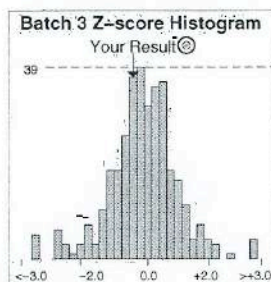
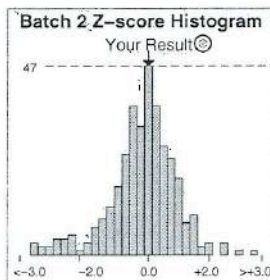
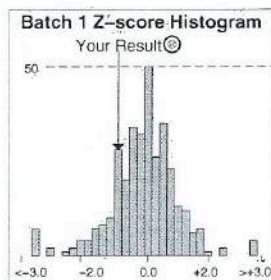


Рис. 1. Протокол EQAS определения уровня Ca125 на автоматическом анализаторе «Access2» за 2014 г.

Abbott AEROSET/ARCHITECT (c, i, ci models) (IU/mL)

Batch #	1			2			3			4		
Sample #	3	6	9	4	8	11	2	5	10	1	7	12
Lab Result	17.2	17.4	19.3	27.9	26.3	26.75	46.8	46.8	49.1	68.5	70.4	73.4
Comparator Mean	19.1	19.2	19.3	26.7	26.7	26.8	48.3	48.9	48.6	71.9	72.6	72.9
Comparator Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer	Peer
Your Lab's Z-score	-1.15	-1.06	-0.01	0.51	-0.16	-0.04	-0.37	-0.52	0.14	-0.64	-0.43	0.09
Your Batch Z-score	-0.75			0.11			-0.28			-0.32		
Reference Values												

	Batch 1: Cycle Comparative Statistics						Batch 2: Cycle Comparative Statistics					
	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias
Your Mode	3566	17.4	2.05	11.8	0.086	3.29	3574	24.0	2.67	11.1	0.112	12.6
Your Method	2415	19.4	2.53	13.0	0.129	-7.46	2412	26.7	3.64	13.6	0.185	1.12
Your Peer	921	19.2	1.64	8.54	0.135	-6.42	928	26.7	2.25	8.41	0.185	0.896
	Batch 3: Cycle Comparative Statistics						Batch 4: Cycle Comparative Statistics					
	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias	N	Mean	SD	CV	U ¹	Mean Bias
Your Mode	3541	43.5	4.76	11.0	0.200	9.45	3454	63.4	7.48	11.8	0.318	11.6
Your Method	2398	48.8	6.64	13.6	0.339	-2.53	2330	71.7	9.99	13.9	0.517	-1.33
Your Peer	922	48.6	3.78	7.77	0.311	-2.15	892	72.5	5.33	7.36	0.447	-2.34



Comments:

CA 125

Рис. 2. Протокол EQAS определения уровня Ca125 на автоматическом анализаторе «Architect» за 2014 г.

Для анализаторов «Access2» (рис. 1) и «Architect» (рис. 2) были проанализированы смещения (Batch Z-score) шести референтных образцов в зоне «нормальной» концентрации опухолевого антигена, трех референтных образцов в зоне «принятия клинического решения» и трех референтных образцов в зоне концентрации опухолевого маркера «выше нормы».

Установлено, что в течение 12 месяцев участия в BOK EQAS значения систематической погрешности не превышали $\pm 1,0$ SD независимо от концентрации аналита в контрольном образце. На основании данных, представленных на рис. 1, 2, и анализа смещений Batch Z-score и B% в течение длительного периода времени сделали заключение, что правильность определения Ca125 на обоих анализаторах сопоставимая и удовлетворительная.

3.2. Оценка прецизионности результатов исследования

Для количественных методов исследований существуют требования к характеристикам повторяемости прецизионности, заключающиеся в пределах случайной погрешности и указанные в ГОСТ Р ИСО 5725-1. Случайные погрешности проявляются в дисперсии (разбросе) результатов однородных измерений и выражаются в среднеквадратичном отклонении (SD) или коэффициенте вариации (CV%) [3]. Данная характеристика зависит от случайных факторов и не связана с «истинным» значением измеряемой величины, выражается величиной стандартного отклонения результатов измерений. Сходимость и воспроизводимость являются равнозначно экстремальными составляющими прецизионности.

3.3 Оценка сходимости результатов исследования

В эксперименте по оценке сходимости использовали два образца сыворотки пациентов с различной концентрацией Ca125 в пробе в шести параллелях. Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты определения Ca125 на анализаторе «Access2» в шести параллелях двух проб пациентов с разной концентрацией аналита

Номер и характеристика параллелей	Концентрация СА125, Ед/мл	
	Проба № 1, диапазон выше нормы	Проба № 2, на уровне верхней границы нормы
1	60.0	33.2
2	57.8	32.3
3	58.1	32.6
4	59.5	32.0
5	59.0	32.4
6	58.0	31.9
Хср.	58.73	32.4
SD	0.902	0.469
CV%	1.54	1.54

Коэффициент вариации для 6 параллельных измерений не превысил 2 %, что свидетельствует об удовлетворительной сходимости.

3.4. Оценка воспроизводимости результатов исследования

Для эксперимента по оценке воспроизводимости нами был использован один лот трехуровневого коммерческого аттестованного контрольного материала фирмы BIO-RAD Lymphochek Tumor Marker Plus Control (табл. 2).

Таблица 2

Данные внутрилабораторного контроля качества с использованием Lymphochek Tumor Marker Plus Control, Lot 54570, полученные на анализаторах «Access2» и «Architect» в 2014 г.

Анализатор	Контрольный материал Lymphochek Tumor Marker Plus	Ожидаемое значение	SD	Полученное значение	SD	CV%	B%	n
Access2	Control 54571	21,50	1,73	20.86	1.20	5.75	- 2,93	96
	Control 54572	56.10	4.50	53.19	2.90	5.45	- 5,26	96
	Control 54573	218.4	19.91	207.55	10.13	4.88	- 4,96	96
Architect	Control 54571	32.15	4.03	31.29	1.89	6.06	- 2,6	51
	Control 54572	80.1	26.75	80.49	4.43	5.89	0,48	51
	Control 54573	214.5	26.75	206.94	12.19	5.89	- 3,52	51

Значения всех CV% независимо от концентрации аналита в контрольном образце (табл. 2) уложились в диапазон 4,8 % – 6,06 % (допустимый диапазон до 10 %). Производителем тест- системы Ca125 «Access2» приведены заводские CV%: 6,3 % для концентрации 23,6 ЕД/мл и 5,3 % для концентрации 74,7 ЕД/мл. Коэффициенты вариации, полученные в ходе эксперимента, соответствуют CV%, заявленным производителем.

Полученные результаты были использованы для установления уровня точности исследований, выполненных на анализаторах «Access2» и «Architect».

3.5. Точность результатов исследования

Точность количественных лабораторных исследований оценивается по предельно допустимым значениям аналитических погрешностей (B% и CV%) и может соответствовать 1-му – минимальному, 2-му – базовому, 3-му – повышенному уровням точности [11].

Мы оценили смещения (B%) (табл. 3) для Ca125 на соответствие уровням точности, указанным в приложении к Национальному стандарту РФ ГОСТ Р53022.2-2008. Смещения, полученные с использованием контрольного материала Lyphochek Tumor Marker Plus Control, lot 54570 на автоматических анализаторах «Access2» и «Architect», соответствуют третьему, повышенному уровню точности.

Из таблицы 3 следует, что смещение (B%), полученное при определении Ca125 на анализаторах «Access2» и «Architect», соответствует третьему, самому высокому уровню точности (B% фактическое < B% целевого). Несмотря на то, что значения CV% для Ca125 (табл. 3), полученные на обоих анализаторах соответствуют базовому – второму уровню точности, значение CV%, полученное на анализаторе «Access2» при исследовании 1-го уровня контрольного материала (в зоне концентрации принятия клинического решения), соответствует 3-му, повышенному уровню точности.

Целевые, предельно допустимые и фактические значения величины смещения (В%) и (CV%) для СА125, полученные на анализаторах «Access2» и «Architect»

Анализатор	Контрольный материал Luphochek Tumor Marker Plus, лот	CV % факт.	В % факт	Второй базовый уровень точности ГОСТ Р 53022.2-2008				Третий повышенный уровень точности ГОСТ Р 53022.2-2008			
				Целевые значения, %		Предельно допустимые значения, %		Целевые значения, %		Предельно допустимые значения, %	
				CV	±B	CV	±B	CV	±B	CV	±B
Access2	54571	5,75	-2,93	6,8	12.11	9,32	15.09	3,4	6.06	4,66	7.55
	54572	4,45	-5,26								
	54573	4,48	-4,96								
Architect	54571	6,06	-2,6	6,8	12.11	9,32	15.09	3,4	6.06	4,66	7.55
	54572	5,89	0,48								
	54573	5,89	-3,52								

Дополнительным способом оценки стабильности аналитической системы является относительно недавно внедренный в лабораторную диагностику метод «Шести сигм».

Метод заключается в оценке значимости отклонений (погрешностей) на пре-, пост- и аналитическом этапе лабораторной деятельности. Качество считается высоким, если TE_{max} (максимальная допустимая аналитическая ошибка) больше или равна шести CV% (при условии нулевого смещения) [1, 11]. При проведении данного исследования в соответствии с полученными ранее значениями В% и CV% для определения опухолевого антигена Са125 был принят базовый уровень точности. Количество сигм рассчитали по формуле:

$$\text{Sigma} = (TE_{max} - B) / CV_a, \text{ где:}$$

- TE_{max} – установленные в лаборатории требования к аналитическому качеству;
- CV_a – долгосрочный коэффициент вариации, полученный из результатов внутрилабораторного контроля качества;
- В – смещение из результатов ВОК EQAS.

Критерии оценки:

- $\geq 5,0$ Sigma – отсутствие проблем в аналитической системе при определении аналита [1].

- 4,0 - 5,0 Sigma – требуется провести анализ и мероприятия по улучшению показателей контроля качества.

Количество сигм превысило 5,0 на всех трех уровнях концентрации контрольного материала Lyphochek Tumor Marker Plus Control, Lot 54570 (табл. 4), что свидетельствует о стабильности метода определения опухолевого антигена Ca125 на автоматических анализаторах «Access2» и «Architect» на базовом уровне.

Таблица 4

Количество сигм, полученных для Ca125, если TE_{max} соответствует 2-му (базовому) уровню точности

Анализатор	Контрольный материал Lyphochek Tumor Marker Plus	TE_{max} 2-й базовый уровень	CV_a , %	B , %	Sigma	CV_{max} , % 2-й базовый уровень	B_{max} , % 2-й базовый уровень
Access2	Control 54571	35	5,75	2,93	5.57	12.4	15
	Control 54572		4,45	5,26	6.68		
	Control 54573		4,88	4,96	6.1		
Architect	Control 54571	35	6,06	2,6	5.3	12.4	15
	Control 54572		5,89	0,48	5.86		
	Control 54573		5,89	3,52	5.34		

Далее провели сравнительное, на обоих анализаторах, определение опухолевого антигена Ca125 в сыворотке крови 43 женщин с доброкачественными образованиями органов малого таза, результаты которого представлены на рисунке 3 и в таблице 5.

Сравнение результатов исследований, выполненных на разных анализаторах, провели с использованием уравнения линейной регрессии. Уравнение линейной регрессии позволяет рассчитать смещение в клинически значимой зоне, которое в силу своей вариабельности может существенно измениться в результате калибровки за счет изменения Slope и Intercept - основных характеристик калибровочной кривой, от которых зависит расчетная

величина концентрации Ca125. Slope – это угол наклона линии регрессии относительно оси x (x - (Ca125 «Access2»), y - (Ca125 «Architect»). Intercept - смещение линии регрессии по оси ординат относительно оси x. Для построения графиков мы воспользовались калькулятором, расположенным на сайте <http://www.westgard.com/validation-tools-2.htm>.

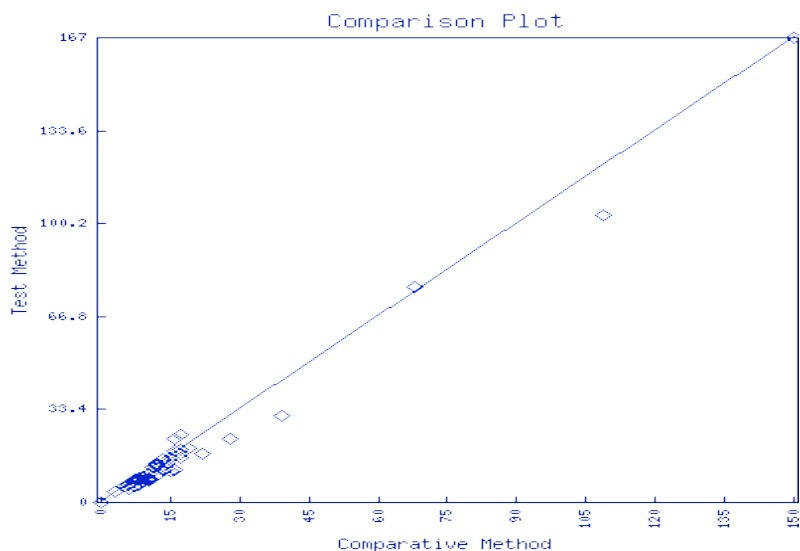


Рис. 3. Линейная регрессия, полученная при сравнении результатов определения СА 125 в сыворотке крови пациентов с использованием двух анализаторов: «Access2» и «Architect»
(Slope =1.0658, y-intercept =1.4160, S_{resid} =3.7279, r =0.99180)

Таблица 5

Сравнение основных показателей, полученных при определении СА125 на «Access2» и «Architect»

Метод	п набл.	М	Me	Min	Max	Процентиль 5.000000	Процентиль 95.00000	SD
СА 125 Access	43	16,56	12,10	3,900	167,4	6,000	24,20	24,38
СА 125 Architect	43	15,60	11,80	4,100	149,8	5,100	28,00	21,88

В соответствии с целью нашего исследования рассчитали индекс ROMA для комплексов тестов Ca125 «Access2» + HE4 «Fujirebio» и Ca125 «Architect» +

HE4 «Fujirebio» в зависимости от статуса менопаузы у 43 обследованных женщин (рис. 4, табл. 6).

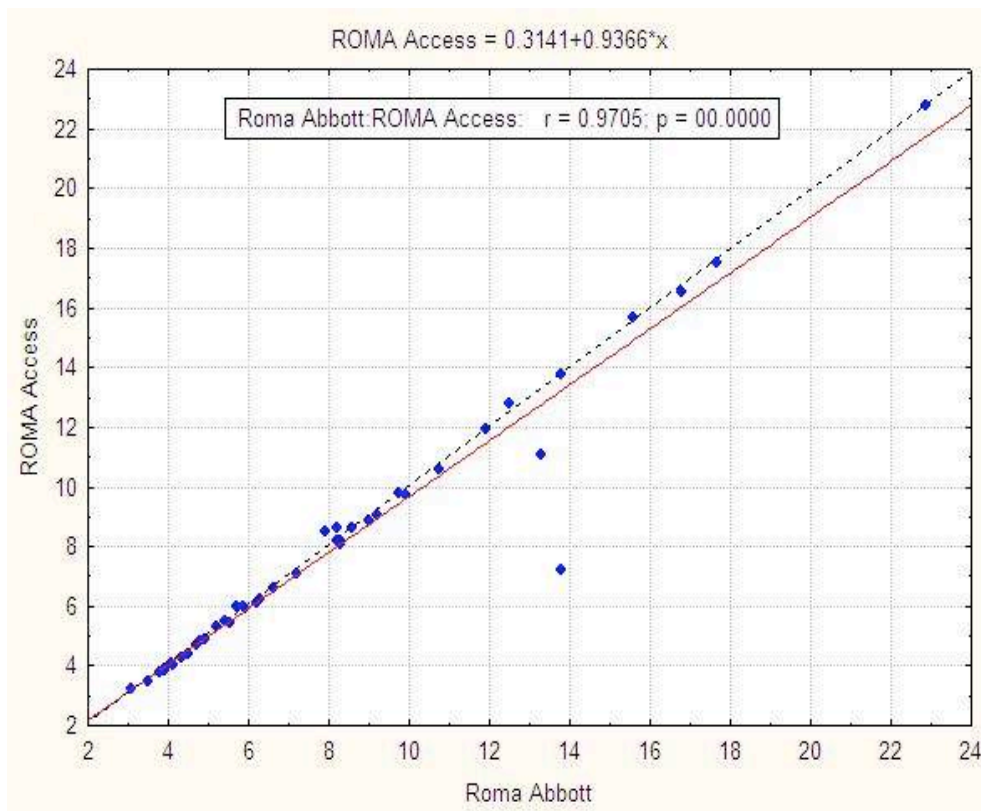


Рис. 4. Линейная регрессия, полученная при сравнении результатов расчета индекса ROMA с использованием двух аналитических систем: «Access2» + HE4 «Fujirebio» и «Architect» + HE4 «Fujirebio».

Таблица 6

Критерий Вилкоксона парного рангового сравнения индекса ROMA (Ca125 «Access2» + HE4 «Fujirebio») и ROMA (CA125«Architect» +HE4 «Fujirebio»)

Методы	Число наблюдений	Критерий Вилкоксона парного рангового сравнения, p
ROMA Ca125Access &HE4 Fujirebio ROMACa125 Architect & HE4 Fujirebio	43	0,172

Статистический анализ не показал значимых различий в значениях индекса ROMA при использовании тестов Ca125 «Access2» + HE4 «Fujirebio» и Ca125 «Architect» + HE4 «Fujirebio»: p =0,172.

Так как мы использовали валидированные системы реагентов для определения Ca125, то такие параметры, как линейность, предел количественного определения и специфичность уже были исследованы их производителями.

В инструкциях к системам реагентов для определения Ca125 содержатся сведения, что на анализаторе «Access2» концентрация CA125 с достоверностью 95 % может быть измерена в аналитическом диапазоне 0,5 - 5000 ЕД/мл, на анализаторе «Architect» - в диапазоне 1,0 - 1000 ЕД/мл. Ca125 «Access2» не демонстрирует hook-эффект до 120000 ЕД/мл, «Architect» - до 180 000 ЕД/мл.

Расчет относительных чувствительности и специфичности для «Access2» были основаны на верхнем номинальном пределе 35 ЕД/мл. Анализы выполнялись на 141 пробе пациентов с исходно поставленным диагнозом рака яичников (стадии от I до IV). Относительные чувствительность и специфичность, основанные на 141 пробе пациентов, составили 95,8 % и 98,9 % соответственно. Клиническая чувствительность и специфичность на этом же верхнем номинальном пределе рассчитывалась по данным 45 проб сыворотки крови женщин с исходно поставленным диагнозом РЯ, у которых было диагностировано прогрессирование заболевания. Клиническая специфичность рассчитывалась по данным проб сыворотки пациентов, у которых на момент отбора пробы было диагностировано отсутствие заболевания. На основе этих двух популяций клиническая чувствительность и специфичность составили 84,4 % и 82,5 % соответственно.

Расчет клинической чувствительности и специфичности для «Architect» были основаны также на верхнем номинальном пределе 35 ЕД/мл. Клиническая чувствительность Ca125 «Architect» рассчитывалась при динамическом исследовании 63 образцов сыворотки крови пациентов с установленным диагнозом карциномы яичников. 98 % положительных образцов сыворотки крови пациентов коррелировали с прогрессией заболевания. Клиническую специфичность рассчитывали определением Ca125 в сыворотке крови 811 здоровых пациентов. Клиническая специфичность составила 94,4 %.

Согласно данным, содержащимся в инструкциях к системам реагентов, линейность тестов определяли неоднократным разбавлением трех проб, содержащих разные концентрации Ca125. На анализаторе «Access2» средний процент восстановления составил 108,3 %, а средний выход трех разведенных образцов, содержащих разные концентрации Ca125 «Architect», был равен 103,6 %. Исследование проводили в соответствии с протоколом EP6-P2 Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS).

4. Протокол валидации

Принятие решения о валидности комбинации методов было принято на основании совокупной оценки валидационных характеристик рассмотренных аналитических систем (табл. 7).

Приведенные в таблице данные демонстрируют совпадение качественных и количественных характеристик сравниваемых аналитических систем для расчета индекса ROMA: Ca125 «Access2» + HE4 «Fujirebio» и Ca125 «Architect» + HE4 «Fujirebio».

Таким образом, на основании данных, полученных при валидации, критические значения индекса ROMA для оценки риска злокачественных эпителиальных опухолей яичников для комплекса Ca125 «Access2», Beckman Coulter, США + HE4 «Fujirebio», Швеция соответствуют рекомендованным для комбинации методов Ca125 «Architect», Abbott, США + HE4 «Fujirebio» Швеция:

- для женщин в пременопаузе $\geq 13,1$ % - высокий риск наличия эпителиального рака яичников;
- для женщин в постменопаузе $\geq 27,7$ % - высокий риск наличия эпителиального рака яичников.

Протокол валидации

Показатель	Ca125 «Access 2», Beckman Coulter, США	Ca125 «Architect», Abbott, США	Результат оценки
Единицы измерения	ЕД/мл	ЕД/мл	совпадает
Диапазон нормы	0-35 ЕД/мл	0-35 ЕД/мл	совпадает
Рабочий диапазон	0,5 -5000 ЕД/мл	1,0 – 1000 ЕД/мл	сопоставимо
Hook - эффект	от 120000 ЕД/мл	от 180000 ЕД/мл	сопоставимо
Линейность	Средний выход трех разведенных образцов, содержащих разные концентрации Ca125 равен		сопоставимо
	108,3 %	103,6 %	
Клиническая чувствительность, %	84,4	85,0	сопоставимо
Клиническая специфичность, %	82,5	83,0	сопоставимо
Качественная оценка, n=43	Норма n =41 Выше нормы n =2	Норма n = 40 Выше нормы n =3	сопоставимо
Правильность, EQAS	удовлетворительная	удовлетворительная	совпадает
Сходимость, CV%	1,54	1,54	совпадает
Внутрилабораторная воспроизводимость, CV%	5,36	5,94	соответствует базовому уровню точности
Уровень точности по коэффициенту вариации CV%	Второй базовый уровень точности	Второй базовый уровень точности	совпадает
Уровень точности по смещению ±В%	Третий повышенный уровень точности	Третий повышенный уровень точности	совпадает
Количество Sigma	6,1	5,5	>/= 5,0
Количественная оценка результатов при расчете индекса ROMA	Критерий Вилкоксона парного рангового сравнения P =0,172		Значимых отличий нет

Заключение

Значительные сложности раннего выявления рака яичников стимулируют поиск новых, более чувствительных и специфичных, методов диагностики, в том числе, лабораторных. Разработан алгоритм расчета риска злокачественных опухолей яичника (ROMA), который учитывает значение концентраций белка HE4 и опухолевого антигена Ca125, а также менопаузальный статус женщин. Однако в перечне систем реагентов для определения Ca125, валидированных Американской FDA U.S. для расчета прогностического в отношении рака яичников индекса ROMA, отсутствует система реагентов CA125 «Access2», Beckman Coulter, США, что ограничивало диагностические возможности врачей нашего многопрофильного стационара.

Однако Американская FDA U.S. допускает расширение перечня систем реагентов для расчета индекса ROMA при условии проведения собственного валидационного исследования. В учебно-методическом пособии содержится вариант валидации модифицированной комбинации тестов с учетом аналитических характеристик методов. Приводится пример расчета критического уровня ROMA с учетом менопаузального статуса пациенток.

Результаты валидационного исследования, представленные в методическом пособии, могут быть приняты в других лабораториях с сопоставимыми верифицированными аналитическими характеристиками метода. Представленная в учебно-методическом пособии информация может оказаться полезной студентам медицинских и биологических факультетов, гинекологам, онкологам и врачам общей практики, а также специалистам клинической лабораторной диагностики для планирования и обеспечения качества исследований.

В Приложении содержится пример отчета о выполненном количественном определении опухолевого антигена Ca125 с дополнительными сведениями, которые помогут врачу-клиницисту обеспечить мультивариантную оценку полученного результата исследования и принять правильное и объективное клиническое решение.

В отчете о выполненном количественном определении уровня онкомаркера следует включать следующие компоненты, обеспечивающие мультивариантность постаналитической оценки и объективную характеристику аналитического качества исследования:

1. Название аналитического метода и контейнера для биологического образца;
2. Информация об аналитической чувствительности метода исследования;
3. Информация об аналитической специфичности метода исследования;
4. Неопределенность результата измерения и оценка достоверности аналитической динамики результатов лабораторного теста;
5. Информация об индивидуальной биологической вариации аналита;
6. Информация о нестандартных условиях долабораторного преаналитического этапа;
7. Информация об известных референтных сведениях для исследуемого показателя (границах и медианах референтных интервалов, пороговых значениях и др.).

Сформированный с учётом перечисленных компонентов развернутый отчёт о выполненном исследовании уровня СА-125 в сыворотке крови пациентки Б представлен на рисунке 5.

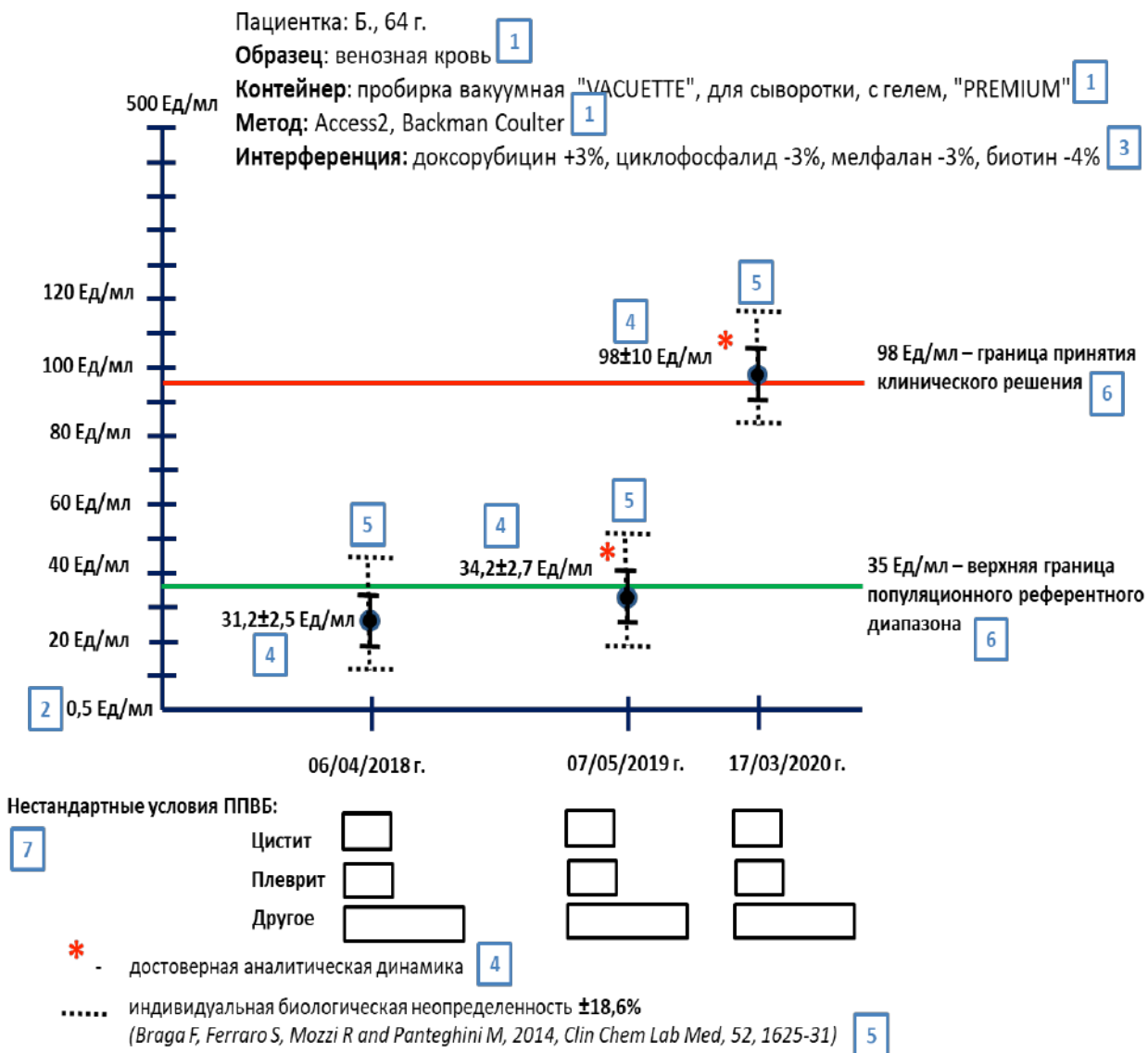


Рис. 5. Пример развернутого отчёта о выполненном исследовании уровня СА-125 в сыворотке крови пациентки Б в динамике

Контрольные вопросы

Вопрос 1. Какие методы являются наиболее распространенными для диагностики рака яичников?

1. Клинический осмотр и лучевые методы визуализации.
2. Лучевые методы визуализации, генетическое консультирование.
3. Клинический осмотр, лучевые методы визуализации и лабораторное исследования биомаркеров.

Вопрос 2. Что означает валидация метода/методики?

1. Способность метода в пределах заданного диапазона давать результаты, величина которых изменяется в линейной зависимости от количества специфичного аналита в стандартном образце.
2. Документированное подтверждение пригодности метода для использования в клинко-диагностической лаборатории.
3. Степень близости друг к другу независимых результатов, полученных в стандартизованных условиях: одним и тем же методом, на идентичных объектах испытаний, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же комплекта оборудования и средств измерения.

Вопрос 3. В каких случаях лаборатория должна проводить процедуру валидации метода/методики?

При использовании:

1. Нестандартных методов, разработанных лабораторией.
2. Стандартных методов, применяемых для более широких целей, чем они предназначены.
3. Усложненных и модифицированных стандартных методов, чтобы подтвердить, что данные методы подходят для применения по назначению.
4. Все вышеперечисленное.

Вопрос 4. Перечислите основные валидационные аналитические характеристики метода.

1. Правильность.
2. Прецизионность.
3. Сходимость и воспроизводимость.
4. Точность.
5. Линейность, предел количественного определения и специфичность.
6. Все вышеперечисленное.

Вопрос 5. Какой тип рака яичников хорошо выявляется на ранних стадиях заболевания?

1. Серозный тип опухоли.
2. Эндометриоидный тип опухоли.
3. Светлоклеточный тип опухоли.

Вопрос 6. Определение какого опухолевого маркера, по мнению многих авторов, является наиболее точным лабораторным предиктором злокачественного процесса в отношении серозно-клеточного РЯ.

1. HE4.
2. Ca125.
3. Ca72-4.
4. Ca242.

Ответы: 1-3; 2-2; 3-4; 4-6; 5-2,3; 6-1,2.

Список литературы

1. Арефьева И.А., Федорова М.М., Мошкин А. В. Планирование аналитического качества количественных лабораторных исследований с использованием коммерческих контрольных материалов // Методические рекомендации. Москва, 2013. - С. 10-31.
2. Гудер В.Г., Нарайанан Ш., Виссер Г., Цавтв Б. Диагностические пробы: от пациента до лаборатории. Влияние преаналитических факторов на качество результатов лабораторных исследований. 4-е изд./ Пер. с англ. В.В. Меньшикова. М.: Лабора, 2010. -117с.
3. Государственный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 5725.1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения. Часть 6. Использование значений точности на практике.
4. ГОСТ Р 53079.1-20081 "Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований». Часть 2, 4.
5. ГОСТ Р ИСО 9001-2008 "Системы менеджмента качества. Требования".
6. EURACHEM Guide. Пригодность к использованию аналитических методов. // Руководство для лабораторий по валидации методов и сопутствующим вопросам.
7. Клинические рекомендации европейского общества онкологии (ESMO) по диагностике, лечению и наблюдению при раке яичников. Москва, 2002 г.
8. Мошкин А. В, Долгов В. В. Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике. // Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. Москва: Медиздат, 2004. - С.110.
9. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 15189-2012. Лаборатории медицинские. Требования к качеству и компетентности.
10. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53133.2-2008 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических

лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрिलाбораторного контроля качества количественных лабораторных исследований.

11. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53022.3-2-2008 технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надёжности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность). Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

12. Новикова Е.Г., Ронина Е.А., Корнеева И.А. Злокачественные опухоли яичников / Онкология. Национальное руководство. Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. – М.: ГЭОТАР Медиа, – 2008. – С.812 - 819.

13. Писарев В.В. Валидация аналитических методов: практическое применение. М: (www.pisarev.ru)

14. Сергеева Н.С., Маршутина *Н.В.* Опухولةассоциированные маркеры в скрининговых программах, направленных на активное выявление рака яичников: реальность, проблемы и перспективы. // Практическая онкология. Проблемы скрининга в онкологии. 2010. 11(2). –С 110-119

15. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность). М.; 2011.- 259 с.

16. Чиссов В.И. Онкология: национальное руководство. Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 1072 с.

17. Aletti G. D., Dowdy S. C., Podratz K. C., Cliby W. A. Relationship among surgical complexity, short-term morbidity, and overall survival in primary surgery for advanced ovarian cancer. Am J Obstet Gynecol 2007;197:676

18. Baldwin L. M., Trivers K. F., Matthews B., et al. Vignette-based study of ovarian cancer screening: Do U.S. physicians report adhering to evidence-based recommendations? // Ann Intern Med - 2012. 156 - P. 182–194.

19. Baker T. R., Piver M. S. Etiology, biology, and epidemiology of ovarian cancer. *Semin Surg Oncol* 1994; 10(4):242–8.
20. Bouchard D., Morisset D., Bourbonnais Y. et al. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer // *Lancet Oncol.* –2006. – Vol.7. – P.167_174.
21. Farghaly S. A. Advances in diagnosis and management of ovarian cancer. S.A. Farghaly (ed.). N.Y., 2014. Pp. 33–58
22. Havrilesky L. J., Sanders G. D., Kulasingam S., Myers E. R. Reducing ovarian cancer mortality through screening: is it possible, and can we afford it? *Gynecol Oncol* 2008;111:179–87.
23. Hogdall E. V., Christensen L., Kjaer S. K., et al. CA 125 expression pattern, prognosis and correlation with serum CA 125 in ovarian tumor patients. From The Danish “MALOVA” Ovarian Cancer Study. *Gynecol Oncol.* 2007; 104:508-15.
24. Menon U., Gentry-Maharaj A., Hallett R. et al. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Lancet Oncol* 2009; 10(4):327–40.
25. Montagnana M., Danese E., S. Giudici M. Franchi G. C. Guidi, M. Plebani, G. Lippi. Advances in Clinical Chemistry Chapter 1 - HE4 in ovarian cancer: From Discovery to clinical application Volume 55, 2011, Pages 1-20
26. Skates S. J., Menon U., MacDonald N. et al. Calculation of the risk of ovarian cancer from serial CA 125 values for preclinical detection in postmenopausal women // *Clin. Oncol.* 2003. Vol. 21. Suppl. P. 206-210.
27. Tumor markers in gynaecological cancers – EGTM recommendations European Group on Tumor Markers. *Anticancer Res.* 1999. Vol. 19. #4a P2807-2810
28. Tuxen M. K. Tumor marker CA125 in ovarian cancer. *J. Tumor Marker Oncol.* 2001. Vol. 16. 1. P.-49-67
29. Ueland F. R., Desimone C. P., Seamon L. G., et al. Effectiveness of a multivariate index assay in the preoperative assessment of ovarian tumors. // *Obstet Gynecol* 2011; 117:1289 -97.

Учебно-методическое и информационное обеспечение

№ п/п	Наименование
1.	Арефьева И.А., Федорова М.М., Мошкин А.В. Планирование аналитического качества количественных лабораторных исследований с использованием коммерческих контрольных материалов // Методические рекомендации. Москва, 2013. - С. 10-31.
2.	Гудер В.Г., Нарайанан Ш., Виссер Г., Цавтв Б. Диагностические пробы: от пациента до лаборатории. Влияние преаналитических факторов на качество результатов лабораторных исследований. 4-е изд./ Пер. с англ. В.В. Меньшикова. М.: Лабора, 2010. - 117 с.
3.	Клинические рекомендации европейского общества онкологии (ESMO) по диагностике, лечению и наблюдению при раке яичников. Москва, 2002 г.
4.	Мошкин А.В., Долгов В.В. Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике. // Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. Москва: Медиздат, 2004. – 110 с.
5.	Новикова Е.Г., Ронина Е.А., Корнеева И.А. Злокачественные опухоли яичников / Онкология. Национальное руководство. Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. – М.: ГЭОТАР Медиа, – 2008. – С. 812 - 819.
6.	Чиссов В.И. Онкология: национальное руководство. Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 1072 с.

Нормативные документы

№ п/п	Наименование
1.	Государственный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 5725.1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения. Часть 6. Использование значений точности на практике.
2.	ГОСТ Р 53079.1-20081 "Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований». Часть 2, 4.
3.	ГОСТ Р ИСО 9001-2008 "Системы менеджмента качества. Требования".
4.	Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 15189-2012. Лаборатории медицинские. Требования к качеству и компетентности.

5.	Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53133.2-2008 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных лабораторных исследований.
6.	Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53022.3-2-2008 технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надёжности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность). Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

**Ресурсы информационно-телекоммуникационной сети «ИНТЕРНЕТ»
дисциплины (модуля)**

№ п/п	Наименование ресурса	Адрес сайта
1.	Центральная научная медицинская библиотека	www.scsml.rssi.ru
2.	Научная электронная библиотека	http://elibrary.ru
3.	Westgard validation	http://www.westgard.com/validation-tools-2.htm .